

## بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی میکروامولسیون‌های حاوی بتا-سیتواسترول بر پایه روغن کنجد

عاطفه پورجاهد<sup>۱\*</sup>، حبیب اله عباسی<sup>۲</sup>

۱- استادیار گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول

۲- استادیار گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی جندی شاپور دزفول

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۰۱)

### چکیده

در سال‌های اخیر، فیتواسترول‌ها به طور گسترده‌ای به عنوان یک افزودنی در مواد غذایی با هدف تنظیم سطح کلسترول پلاسما، و نیز به عنوان افزودنی در مواد آرایشی و داروسازی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. نقطه ذوب بالا و نامحلول بودن آن‌ها در آب و روغن، افزودن فیتواسترول‌ها را به مواد غذایی با مشکل مواجه می‌کند. در این مطالعه، میکروامولسیون‌هایی حاوی بتا-سیتواسترول با فرمولاسیون مختلف از ترکیب روغن کنجد و توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت و مخلوط اتانول/پروپیلن گلیکول به عنوان کوسورفکتانت تهیه شد و برای کاهش اندازه ذره از هموژنایزر اولتراسونیک استفاده گردید. درصد روغن و همچنین نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت در نمونه‌ها تغییر داده شد تا فرمولاسیون بهینه به دست آید. میانگین قطر حجمی ذرات حدود ۵۰ نانومتر و پایین‌تر بود. ارتباط معناداری بین افزودن بتا-سیتواسترول به نمونه‌ها و میانگین قطر حجمی و شاخص پراکندگی میکروامولسیون‌ها یافت نشد ( $p > 0/05$ ). همچنین میانگین قطر حجمی، با افزایش درصد روغن و افزایش نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت به طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). متوسط شاخص پراکندگی همه نمونه‌ها زیر ۰/۵ بود. ویسکوزیته و کشش سطحی نمونه‌ها با افزایش درصد روغن و افزودن بتا-سیتواسترول به نمونه‌ها به طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). همچنین پایداری نمونه‌ها در دماهای مختلف پیش‌بینی شده برای نگهداری و استفاده مطلوب بود. بهترین نتایج به دست آمده برای نمونه حاوی ۴۰ درصد روغن، با نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت ۱:۲ بود که افزودن بتا-سیتواسترول به آن، تاثیر نامطلوبی بر نتایج به دست آمده نداشت.

**کلید واژگان:** میکروامولسیون، روغن، سورفکتانت، کوسورفکتانت

\*مسئول مکاتبات: atpourjahed@jsu.ac.ir

## ۱- مقدمه

از پراکنندگی کلونیدی آیزوتروپیک روغن، آب و سورفکتانت در ترکیب با یک عامل کوسورفکتانت، محلول‌های تک‌فاز، شفاف و از نظر ترمودینامیکی پایداری حاصل می‌شود که به عنوان میکرومولسیون شناخته می‌شوند [۱-۴]. تفاوت اصلی بین امولسیون‌ها و میکرومولسیون‌ها بر مبنای تفاوت بین اندازه و شکل ذرات پخش شده در فاز پیوسته است [۲].

میکرومولسیون‌ها سیستم‌های رهایش داروی بر پایه روغن هستند که به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته و برای انحلال دارو استفاده شده‌اند [۵-۸]. از دیگر خصوصیات میکرومولسیون‌ها می‌توان به کثش سطحی کم، فصل مشترک زیاد، ویسکوزیته کم و سهولت تولید و آماده سازی آن‌ها اشاره کرد [۹ و ۱۰]. این سیستم‌ها همچنین موجب بهبود انحلال داروهای با قابلیت انحلال ضعیف، افزایش دسترسی زیستی دارو، محافظت از داروهای ناپایدار در برابر شرایط محیطی و افزایش طول عمر دارو و ترکیبات زیست فعال مواد غذایی می‌شوند [۱-۴].

استروئول‌های گیاهی، ترکیبات طبیعی در غشای سلول‌های گیاهی هستند [۱۱-۱۳] که متداول‌ترین آن‌ها، کامپستروئول، بتا-سیتواستروئول و استیگما-استروئول هستند [۱۱]. فیتواستروئول‌ها به طور گسترده‌ای به عنوان یک افزودنی در مواد غذایی، مواد آرایشی و نیز در داروسازی مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۱]. هدف اولیه افزودن فیتواستروئول‌ها به مواد غذایی، بهبود سطح کلسترول پلاسما است. جذب کلسترول نیازمند انحلال کلسترول در میسل‌های درون روده است؛ این میسل‌ها اجازه می‌دهند که ترکیبات آب‌گریزی مانند کلسترول، اسیدهای چرب و ویتامین‌های محلول در چربی، با غشای اپیکال سلول‌های پوشاننده روده تماس پیدا کنند و به این ترتیب جذب این سلول‌ها شوند [۱۴]. به دلیل تشابه ساختاری فیتواستروئول‌ها با کلسترول، فیتواستروئول‌ها می‌توانند بر جذب کلسترول، اثر بازدارندگی رقابتی داشته باشند [۱۵ و ۱۶]. مطالعات نشان داده است که مصرف ۲ تا ۳ گرم از استروئول‌ها و استانول‌های گیاهی می‌تواند تقریباً موجب کاهش ۱۰ درصدی سطح کلسترول خون و کاهش ۱۵ درصدی سطح لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL) در خون شود [۱۰ و ۱۳ و ۱۷]. بنابراین، می‌توان محصولات غذایی غنی از فیتواستروئول را به منظور تنظیم سطح کلسترول در افراد دارای میزان کلسترول بالا در

جهت جلوگیری از بیماری‌های قلبی -عروقی تهیه کرد [۱۸ و ۱۹] یا از فیتواستروئول‌ها، به شکل قرص [۲۰ و ۲۱] یا ژل خوراکی [۲۲] به عنوان دارو بهره برد. اضافه کردن فیتواستروئول‌ها به مواد غذایی، به این دلیل که محلول در آب نیستند و به سختی در چربی‌ها و روغن‌ها حل می‌شوند، با مشکل مواجه است [۱۰]؛ به علاوه، نقطه ذوب بالای فیتواستروئول‌های خالص [۹] عاملی است که از مایع شدن آن‌ها و به دنبال آن اضافه کردن آن‌ها به مواد غذایی، جلوگیری می‌کند. همچنین کریستالیزاسیون قابل ملاحظه استروئول‌ها در فاز روغنی مواد غذایی، یک بافت گوشتی، واکسی و غیرقابل قبول ایجاد می‌کند؛ بنابراین بیشتر فیتواستروئول‌ها برای غنی سازی مواد غذایی استری می‌شوند. کاربرد استری کردن فیتواستروئول‌ها، استفاده از آن‌ها را به غنی‌سازی مواد غذایی با چربی بالا محدود می‌کند [۱۰]. محققان دریافته‌اند که امولسیون سازی از فیتواستروئول‌ها، منجر به افزایش قابلیت حل شدن آن‌ها در آب می‌شود [۲۳-۲۷].

در پژوهشی که توسط ایزدی و همکاران انجام شد، غنی سازی ماست با فیتواستروئول‌ها و بهینه سازی شرایط فرآیند آن مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار، امولسیون با چهار جز اصلی تهیه و به ماست اضافه گردید. نتایج به دست آمده، نشان داد که غنی سازی نمونه‌ها با فیتواستروئول موجب کاهش میزان آب اندازی و ویسکوزیته و افزایش قدرت ژل نسبت به نمونه شاهد شد اما تغییری در اسیدیته نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد ایجاد نشد [۲۸]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط فان‌لئونگ و همکاران انجام شد، میکرومولسیون‌های حاوی فیتواستروئول که محلول در آب بود، برای استفاده در صنایع غذایی تهیه شد. با بهینه کردن پارامترهای فرآیند، حداقل اندازه ذره ۳۲۸ نانومتر و حداقل شاخص پراکنندگی ۰/۱۵۹ به دست آمد [۱۰].

تری‌گلیسریدهای با زنجیره بلند و روغن‌های تری‌گلیسرید با زنجیره متوسط، با درجه‌های مختلف اشباع در طراحی میکرومولسیون‌ها به کار برده شده‌اند؛ سایر فازهای روغنی مانند روغن زیتون، ذرت، دانه سویا، پالم، کنجد، آفتابگردان، پنبه دانه، چربی‌های حیوانی و تری‌گلیسریدهای با زنجیره کوتاه، مانند تریاستین و میگلیول ۸۱۲ همچنین ایزوپروپیل میریستات، روغن جوجوبا و متیل یا اتیل اولئات‌ها، به عنوان فاز روغنی در تهیه میکرومولسیون‌ها استفاده شدند

[۲۹]

پراکندگی آن در محیط‌های آلی و آبی، انتخاب فرمولاسیون بهینه از میان ترکیب روغن، آب و مخلوط سورفکتانت/کوسورفکتانت است. میانگین قطر حجمی ذرات، شاخص پراکندگی، ویسکوزیته، کشش سطحی، پایداری فیزیکی و pH به عنوان پارامترهای مهم مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از روغن‌های خوراکی و ترکیبات زیست سازگار در تهیه میکروامولسیون‌ها برای درون‌پوشانی ترکیب سودمند بتا-سیتواسترول، مهم‌ترین مزیت این مطالعه نسبت به سایر پژوهش‌ها است. طبق مطالعاتی که انجام شد، پژوهشی در زمینه درون‌پوشانی بتا-سیتواسترول با مواد با درجه خوراکی به دست نیامد. همچنین در این پژوهش، از هم‌وزن‌نایز اولتراسونیک برای کاهش اندازه ذره و بارگذاری موثرتر بتا-سیتواسترول درون میکروامولسیون‌ها استفاده شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

در تهیه ترکیب میکروامولسیون‌ها از روغن کنجد با درصد خلوص مناسب محصول شرکت ثمر، ایران استفاده شد. از توئین ۸۰ تهیه شده از شرکت Sigma، آلمان به عنوان سورفکتانت استفاده شد. همچنین پروپیلن‌گلیکول و اتانول محصول شرکت Merck، آلمان به عنوان کوسورفکتانت و آب دیونیزه محصول زلال‌طب شیمی، استفاده شد. فیتواسترول متشکل از بتا-سیتواسترول از Sigma-Aldrich، آلمان، خریداری شد. سایر مواد شیمیایی با درجه خلوص تجزیه‌ای بوده و از Merck، آلمان تهیه شدند.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- تهیه دیاگرام فازی

برای تعیین غلظت‌هایی از ترکیبات که منجر به تشکیل میکروامولسیون می‌شود، دیاگرام فازی آن رسم شد؛ برای رسم این دیاگرام از روش تیتراسیون با آب استفاده شد. دیاگرام سه فازی از ترکیب روغن کنجد و مخلوط سورفکتانت: کوسورفکتانت با نسبت وزنی ۱:۲، ۱:۳ و ۱:۴ تهیه شد. از توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت برای تهیه میکروامولسیون‌ها و از ترکیب اتانول/پروپیلن‌گلیکول با نسبت ۱/۱ به عنوان کوسورفکتانت استفاده شد. فاز روغنی و مخلوط سورفکتانت/کوسورفکتانت با نسبت‌های

روغن کنجد، یک روغن خوراکی است که به دلیل محتوای بالای روغن در دانه‌های کنجد نسبت به سایر روغن‌های خوراکی، خواص ضدالتهابی، ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته است [۳۰].

در مطالعه‌ای که توسط سینگ و همکاران انجام شد، فرمولاسیون‌های دوفازی از روغن کنجد، با استفاده از مخلوطی از اسپن ۸۰ و توئین ۸۰ به عنوان مخلوط سورفکتانت تهیه شد. میکروامولسیون‌ها در غلظت بالای ۶۰ درصد از مخلوط سورفکتانت به دست آمد. داروی مدل مترونیدازول، در میکروامولسیون‌ها بارگذاری شد. ویسکوزیته و پایداری بالاتری در میکروامولسیون‌های دارای نسبت آب/سورفکتانت کم‌تر به دست آمد. میکروامولسیون‌ها به میزان ۴۲ تا ۴۷ درصد افزایش در مقدار مترونیدازول آزاد شده، نسبت به رهایش داروی غیرفعال از خود نشان دادند و پروفایل رهایش دارو دارای درجه صفر بود [۳۱].

در پژوهش دیگری که توسط گل محمدزاده و همکاران انجام شد، میکروامولسیون‌هایی از نوع روغن در آب برای رهایش خوراکی رالوکسیفن هیدروکلراید بر پایه روغن کنجد و سورفکتانت توئین ۸۰ تهیه شد. در این فرمولاسیون، از گلیسرین خوراکی و اسپن ۸۰ به عنوان کوسورفکتانت استفاده گردید. اندازه ذره در تمام میکروامولسیون‌ها، بدون بارگذاری دارو، در محدوده  $0.3 \pm 31/25$  نانومتر و با بارگذاری دارو، در محدوده  $0.1 \pm 60/9$  نانومتر بود. نتایج نشان داد که این سیستم میکروامولسیون توانست پروفایل رهایش داروی رالوکسیفن هیدروکلراید را نسبت به دوزهای متداول بهبود بخشیده و کنترل کند [۳۲].

در مطالعه‌ای که توسط پریو و کالوو انجام شد، میکروامولسیون‌هایی بر پایه توئین ۸۰ که یک سورفکتانت غیر یونی، غیر سمی و زیست سازگار است، با هدف کاربرد در تهیه داروها آماده شد. نتایج، پایداری بالای این میکروامولسیون‌ها را نشان داد. وجود یک الکل به عنوان کوسورفکتانت موجب بهبود انحلال پذیری سورفکتانت در فاز روغنی شد و ویسکوزیته مخلوط را کاهش داد که منجر به فعالیت سطحی بهتر گردید [۳۳].

هدف اصلی این پژوهش، درون‌پوشانی فیتواسترول در میکروامولسیون‌هایی بر پایه روغن کنجد، به منظور بهبود

مقدار مشخصی از نمونه بین ۴ الی ۵ سی سی از نمونه درون سلول‌های زتا یک بار مصرف قرار گرفت و نتایج به کمک نرم‌افزار ثبت گردید.

#### ۲-۲-۴- اندازه‌گیری pH

مقادیر pH برای نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به کمک دستگاه pH مترمحصول کمپانی WTW مشخص شد تا میزان تاثیر احتمالی نمونه‌ها در pH نمونه‌های غذایی بررسی شود. همه اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و متوسط اندازه pH گزارش گردید [۱].

#### ۲-۲-۵- اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته میکرومولسیون‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از دستگاه ویسکومتر Brookfield DV-II+Pro (Brookfield محصول ایالات متحده با استفاده از اسپیندل شماره ۳۴ و با نرخ برش ۱۰۰ rpm انجام شد. همه اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و متوسط اندازه ویسکوزیته برای هر نمونه گزارش گردید [۳۱].

#### ۲-۲-۶- پایداری فیزیکی

پایداری میکرومولسیون‌های تهیه شده بر اساس دما و سانتیفریوژ کردن بررسی شد. میکرومولسیون‌ها در دماهای مختلف ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و جدایش فازی، تجمع و رسوب‌دهی آن‌ها هم به روش مشاهداتی و هم به کمک بررسی میانگین قطر حجمی ذرات بررسی شد. اندازه قطر حجمی چهار نمونه میکرومولسیون در زمان ۳۰ روز پس از سنتز و با شرایط نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس بررسی گردید. همچنین با استفاده از دستگاه سانتیفریوژ محصول شرکت پل ایده‌آل تجهیز با سرعت بالا در دور ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه سانتیفریوژ گردید و تغییر در همگنی آن‌ها بررسی شد [۱].

#### ۲-۲-۷- اندازه‌گیری کشش سطحی

کشش سطحی نانومولسیون‌ها در ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کشش بین سطحی به روش قطره آویزان CA-ES20، محصول شرکت فناوری ازدیاد برداشت فارس به دست آمد. همه اندازه‌گیری‌ها سه بار تکرار شد و متوسط اندازه کشش سطحی گزارش گردید [۳۱].

#### ۲-۲-۸- تحلیل آماری

تحلیل آماری بر اساس طرح کاملاً تصادفی پس از سه بار تکرار انجام شد. برای تحلیل آماری از روش ANOVA چند

وزنی ۱:۹، ۲:۸، ۳:۷، ۴:۶، ۵:۵، ۶:۴، ۷:۳، ۸:۲، ۹:۱ و ۱۰:۰ با هم مخلوط شدند. سپس این مخلوط‌ها با اضافه کردن آب دیونیزه به صورت قطره قطره رقیق‌سازی شد و همزمان با اضافه کردن قطرات آب، مخلوط با سرعت ملایم هم زده شد. مخلوط‌هایی که تحت این شرایط به یک مایع کاملاً شفاف تبدیل شدند، به عنوان میکرومولسیون در نظر گرفته شدند و به صورت نقطه در دیاگرام فازی نشان داده شدند و محدوده مشخص شده توسط این نقاط به عنوان محدوده میکرومولسیون در نظر گرفته شد [۱].

#### ۲-۲-۲- تهیه میکرومولسیون‌ها

برای تهیه میکرومولسیون‌ها، سه متغیر در نظر گرفته شد که شامل نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت، درصد روغن و وجود بتا-سیتواسترول در نمونه‌ها بود. هشت فرمولاسیون مختلف بر اساس دیاگرام فازی به دست آمده، برای نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت (۱:۲ و ۱:۳)، درصد روغن (۴۰ درصد و ۵۰ درصد) و وجود بتا-سیتواسترول تهیه شد.

برای تهیه میکرومولسیون‌ها، مخلوط سورفکتانت/کوسورفکتانت، که از قبل بتا-سیتواسترول در آن، به اندازه ۵ درصد وزنی (برای نمونه‌های حاوی بتا-سیتواسترول)، به صورت سوسپانسیون درآمده بود، و پس از آن آب دیونیزه به فاز روغنی اضافه شد [۱]. سپس برای کاهش اندازه ذره امولسیون‌های تهیه شده از دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک، مدل UHP-400 محصول شرکت توسعه فناوری مافوق صوت استفاده شد. این دستگاه دارای توان ۴۰۰ وات بوده و زمان هر پالس آن ۶۰ ثانیه است. کل مدت زمان هموژنیزاسیون ۵ دقیقه بود. استفاده از هموژنایزر اولتراسونیک به تشکیل به تشکیل میکرومولسیون‌های با اندازه کوچک‌تر کمک کرد. از آنجا که تولید انرژی توسط اولتراسوند ممکن است به ساختار میکرومولسیون‌ها آسیب برساند، از حمام یخ برای حفظ ساختار آن‌ها استفاده شد و در ضمن بازه‌های توقفین پالس‌ها سه ثانیه بود. همچنین پروب اولتراسوند در امولسیون نزدیک سطح نگه داشته شد تا تمام امولسیون به طور مساوی امواج اولتراسوند دریافت کنند.

#### ۲-۲-۳- تعیین اندازه ذره

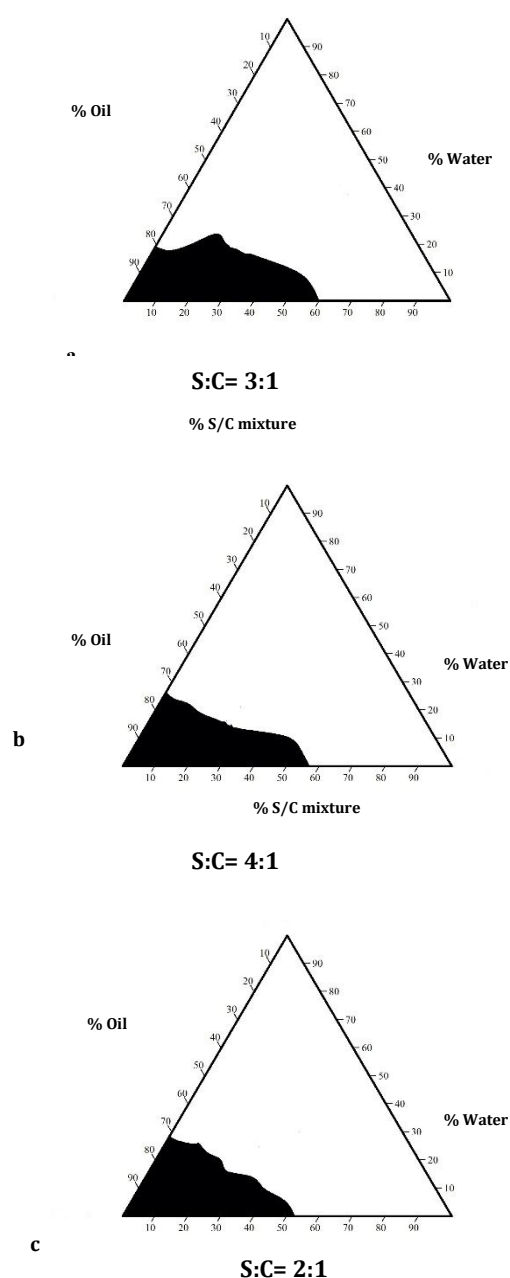
میانگین قطر حجمی ذرات و شاخص پراکندگی نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به کمک دستگاه Zen 3600 Zetasizer محصول کمپانی Malvern اندازه‌گیری شد. ابتدا

طرفه در نرم افزار MINITAB نسخه ۱۷ استفاده شد. حروف متفاوت در ستون های جدول به ترتیب، نشان دهنده تفاوت معنی دار رابطه هر سطر و ستون با درصد روغن، نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت و وجود بتا- سیتواسترول در نمونه ها است.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- دیاگرام فازی

دیاگرام های فازی رسم شده برای نسبت های مختلف سورفکتانت: کوسورفکتانت (۲:۱، ۳:۱ و ۴:۱) در شکل ۱ نشان داد که عرض ناحیه میکروامولسیون با افزایش نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت کاهش یافته است. در استفاده از سیستم های میکروامولسیون به عنوان حامل ترکیبات فعال، عرض دیاگرام فازی از طول آن اهمیت بیشتری دارد، زیرا عرض دیاگرام، مستقیماً با مقدار روغن در سیستم متناسب است و بالاتر بودن مقدار روغن باعث درون پوشانی مقدار بیشتری از دارو یا ترکیب فعال می شود [۳۲]. بنابراین، نمونه های با نسبت ۲:۱ و ۳:۱ از سورفکتانت: کوسورفکتانت که دارای محتوای روغن بالاتری بودند، برای تهیه نمونه های اصلی انتخاب شدند، که ترکیب آن ها در جدول ۱ گزارش شده است. همچنین به منظور مقایسه اثر فیتواسترول بر خصوصیات میکروامولسیون های تهیه شده، نیمی از نمونه ها با محتوای بتا - سیتواسترول و نیمی دیگر بدن بتا - سیتواسترول تهیه شد.



**Fig 1** Pseudo-ternary phase diagram of microemulsions with surfactant: cosurfactant ratio of (a) 2:1, (b) 3:1 and (c) 4:1.

**Table 1** Formulations for preparation of microemulsions

Sample	Oil (gr)	Surfactant (gr)	Cosurfactant (gr)	Water (gr)	$\beta$ - sitosterol (gr)
1	0.4	0.4	0.2	0.33	0.207
2	0.5	0.34	0.16	0.25	0.195
3	0.4	0.4	0.2	0.33	0
4	0.5	0.34	0.16	0.25	0
5	0.4	0.45	0.15	0.33	0.207
6	0.5	0.39	0.13	0.33	0.210
7	0.4	0.45	0.15	0.33	0
8	0.5	0.39	0.13	0.33	0

### ۳-۲- میانگین قطر حجمی ذرات و شاخص پراکندگی

تشکیل شد. مطالعات قبلی [۳۳] نشان داد که توئین ۸۰ اگر چه یک سورفکتانت غیریونی، غیرسمی، زیست سازگار و ارزان است، اما نیاز به حضور یک عامل فعال سطحی به عنوان کوسورفکتانت دارد تا بتواند میکروامولسیون بسازد [۳۵ و ۳۶]. این ترکیبات اغلب از میان گروهی انتخاب می‌شوند که قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی و یا یک پیوند قوی دیگر با سورفکتانت باشد؛ الکل‌های محلول در آب از جمله این ترکیبات هستند [۳۳]. الکل‌ها قادرند به سطح میسل متصل شده و خود را در بین سرهای سورفکتانت جایگذاری کنند [۳۷]. نفوذ الکل به فیلم سطحی، دافعه بین دمه‌های آب‌گریز سورفکتانت را در سطح کاهش داد و موجب بهبود انحلال سورفکتانت در فاز روغنی می‌شود [۳۳ و ۳۷]. افزایش طول زنجیره هیدروکربنی کوسورفکتانت فعالیت سطحی آن را افزایش داده و موجب پایداری بیشتر می‌شود. به همین دلیل از مخلوط اتانول و پروپیلن گلیکول به عنوان کوسورفکتانت استفاده گردید. همچنین یکی دیگر از دلایل انتخاب اتانول در ترکیب کوسورفکتانت این بود که ساختار تا حدودی قطبی بتا-سیتواسترول در اتانول به عنوان یک حلال قطبی پروتونی قابل حل بود [۱۰]. همچنین رابطه معناداری میان افزایش متوسط شاخص پراکندگی میکروامولسیون‌ها با افزایش نسبت سورفکتانت در مخلوط سورفکتانت / کوسورفکتانت به دست نیامد ( $p < 0.05$ ).

نتایج (جدول ۳ (پ)) نشان داد که با افزودن بتا-سیتواسترول به ترکیب میکروامولسیون‌ها، متوسط اندازه میانگین قطر حجمی از ۳۷/۶۵۸ به ۴۳/۶۹۶ نانومتر افزایش یافت اما از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری بین این نتایج مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). همچنین رابطه معناداری میان متوسط شاخص پراکندگی میکروامولسیون‌ها با افزودن بتا-سیتواسترول به دست نیامد ( $p < 0.05$ ).

میانگین قطر حجمی و شاخص پراکندگی ذرات میکروامولسیون‌ها برای تمام نمونه‌های تهیه شده با مشخصات فرمولاسیون آن‌ها در جدول ۲ گزارش شده است. همچنین تحلیل آماری این نتایج بر حسب درصد روغن، نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت و وجود بتا-سیتواسترول به ترتیب در جدول‌های ۳ (الف)، ۳ (ب) و ۳ (پ)، نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میانگین قطر حجمی ذرات میکروامولسیون‌های تهیه شده در محدوده ۱۹ تا ۶۸ نانومتر و شاخص پراکندگی مربوط به این ذرات در محدوده ۰/۲۵ تا ۰/۳۶ تغییر کرد. همچنین شاخص پراکندگی برای تمام نمونه‌ها در محدوده زیر ۰/۵ است که نشان دهنده یکنواختی در توزیع اندازه ذرات و همگنی میکروامولسیون‌ها است. تحلیل آماری نتایج (جدول ۳ (الف)) نشان داد که با افزایش درصد روغن در فرمولاسیون از ۴۰ درصد به ۵۰ درصد متوسط اندازه ذره به طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). میزان روغن در فرمولاسیون میکروامولسیون‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا هر دو فاز آب و سورفکتانت برای تشکیل ذرات میکروامولسیون در یک فیلم روغنی نفوذ می‌کنند [۳۴]. همان طور که مشاهده شد، با افزایش درصد روغن در فرمولاسیون، اگر چه متوسط قطر حجمی افزایش یافت، اما همچنان اندازه ذرات در محدوده زیر ۵۰۰ نانومتر است که میکروامولسیون محسوب می‌شود. تحلیل آماری نتایج (جدول ۳ (ب)) نشان داد که با افزایش نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت در فرمولاسیون از ۱:۲ به ۱:۳ به طور معناداری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). با بیشتر شدن میزان کوسورفکتانت در مخلوط سورفکتانت / کوسورفکتانت (در نسبت ۱:۲) فعالیت سطحی مخلوط در فرمولاسیون میکروامولسیون‌ها افزایش یافت و در نتیجه میکروامولسیون‌هایی با میانگین قطر حجمی کوچک‌تر

**Table 2** Mean particle diameter and polydispersity index (PDI) of microemulsions

PDI	Mean diameter (nm)	$\beta$ - sitosterol	S:C ratio	Oil (%)	Sample
0.282±0.01	29.309±0.115	+	2:1	40	1
0.292±0.05	35.481±0.3	+	2:1	50	2
0.251±0.021	19.463±0.218	-	2:1	40	3
0.358±0.056	53.827±0.18	-	2:1	50	4
0.0309±0.013	41.280±0.195	+	3:1	40	5
0.332±0.06	68.713±0.129	+	3:1	50	6
0.296±0.05	32.957±0.13	-	3:1	40	7
0.310±0.032	62.386±0.234	-	3:1	50	8

**Table 3(a).** Mean particle diameter ( $p < 0.05$ ) and polydispersity index (PDI) ( $p > 0.05$ ) of microemulsions versus oil percentage

PDI	Mean diameter (nm)	Oil (%)
0.323 <sup>a</sup>	30.752 <sup>b</sup>	40
0.2845 <sup>a</sup>	50.602 <sup>a</sup>	50

**Table 3(b).** Mean particle diameter ( $p < 0.05$ ) and polydispersity index (PDI) ( $p > 0.05$ ) of microemulsions versus S:C ratio

PDI	Mean diameter (nm)	S:C ratio
0.31175 <sup>a</sup>	30.020 <sup>b</sup>	2:1
0.29575 <sup>a</sup>	51.334 <sup>a</sup>	3:1

**Table 3(c)** Mean particle diameter ( $p > 0.05$ ) and polydispersity index (PDI) ( $p > 0.05$ ) of microemulsions versus  $\beta$ -sitosterol containing

PDI	Mean diameter (nm)	$\beta$ -sitosterol
0.30375 <sup>a</sup>	43.696 <sup>a</sup>	+
0.30375 <sup>a</sup>	37.658 <sup>a</sup>	-

**Table 5(a)** pH ( $p > 0.05$ ) of microemulsions versus oil percentage

pH	Oil (%)
0.323 <sup>a</sup>	40
0.2845 <sup>a</sup>	50

**Table 5(b).** pH ( $p < 0.05$ ) of microemulsions versus S:C ratio

pH	S:C ratio
5.475 <sup>b</sup>	2:1
6.59 <sup>a</sup>	3:1

**Table 5(c)** pH ( $p > 0.05$ ) of microemulsions versus  $\beta$ -sitosterol containing

pH	$\beta$ -sitosterol
6.075 <sup>a</sup>	+
5.99 <sup>a</sup>	-

### ۳-۳- اندازه گیری pH

اندازه‌گیری pH نمونه‌های میکرومولسیون نشان داد که تمامی نمونه‌ها دارای pH مناسب بوده که این اعداد pH بهترین شرایط برای کاربرد مورد نظر میکرومولسیون‌ها را فراهم می‌کنند (جدول ۴). تحلیل آماری نتایج نشان داد که رابطه معناداری بین افزایش درصد روغن در نمونه‌ها با میانگین اندازه pH آن‌ها (جدول ۵ الف) وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). افزایش نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت از ۱:۲ به ۱:۳ موجب افزایش معنادار میانگین اندازه pH (جدول ۵ ب) شد ( $p < 0.05$ )؛ که این مساله را می‌توان به وجود درصد بالاتری از توئین ۸۰ به عنوان یک سورفکتانت خنثی نسبت داد که موجب نزدیک‌تر شدن عدد میانگین pH به محدوده خنثی می‌شود. همچنین افزودن بتا-سیتواسترول به میکرومولسیون‌ها (جدول ۵ پ) تاثیر معناداری بر میانگین اندازه pH نداشت ( $p > 0.05$ ).

**Table 4** pH of microemulsions

pH	$\beta$ -sitosterol	S:C ratio	Oil (%)	Sample
5.05±0.08	+	2:1	40	1
5.62±0.11	+	2:1	50	2
5.36±0.2	-	2:1	40	3
5.87±0.12	-	2:1	50	4
6.7±0.25	+	3:1	40	5
6.93±0.03	+	3:1	50	6
6.71±0.09	-	3:1	40	7
6.02±0.11	-	3:1	50	8

### ۳-۴- ویسکوزیته و کشش سطحی

میانگین ویسکوزیته و کشش سطحی میکرومولسیون‌های تهیه شده بر حسب مشخصات فرمولاسیون آن‌ها در جدول ۶ گزارش شده است. همچنین تحلیل آماری این نتایج بر حسب درصد روغن، نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت و وجود بتا-سیتواسترول به ترتیب در جدول‌های ۷ الف)، ۷ ب) و ۷ پ)، نشان داده شده است. تحلیل آماری نتایج نشان می‌دهد که افزایش درصد روغن در ترکیب میکرومولسیون‌ها سبب شد که هم ویسکوزیته و هم کشش سطحی نمونه‌ها به طور معناداری افزایش یابد ( $p < 0.05$ )؛ این حالت به دلیل بیشتر

متوسط مقدار ویسکوزیته و کشش سطحی نمونه‌ها نداشت ( $p > 0.05$ ). همچنین افزودن بتا-سیواسترول به میکروامولسیون‌ها موجب افزایش معنادار متوسط مقدار ویسکوزیته شد. کشش سطحی نمونه‌ها با افزودن بتا-سیواسترول از  $30.8150 \text{ mN/m}$  به  $27.06975 \text{ mN/m}$  کاهش یافت که این نتیجه در مطالعه‌ای که توسط زایچوفسکی و همکاران انجام شد، مورد تایید قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که این کاهش ناشی از ماهیت دوگانه دوست ساختار فیتواسترول است [۲۵].

شدن مقدار روغن کنجد در ترکیب میکروامولسیون‌ها است که سبب شد تا ویسکوزیته و کشش سطحی نمونه‌ها به ویسکوزیته و کشش سطحی روغن نزدیک‌تر شود که مطالعه انجام شده توسط مقیمی‌پور و همکاران برای نمونه‌هایی با ۵ و ۳۰ درصد روغن نشان داد که بیشترین مقدار ویسکوزیته و کشش سطحی برای نمونه‌های حاوی ۳۰ درصد روغن بود [۱].

تحلیل آماری نتایج نشان داد که تغییر نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت در مخلوط سورفکتانت تاثیر معنی‌داری در

**Table 6** The Viscosity and surface tension of microemulsions

Surface tension (mN/m)	Viscosity (cps)	$\beta$ -sitosterol	S:C ratio	Oil (%)	Sample
26.9±0.01	35.749±0.205	+	2:1	40	1
27.54±0.08	40.520±0.1	+	2:1	50	2
27.06±0.17	30.960±0.019	-	2:1	40	3
32.15±0.1	35.800±0.208	-	2:1	50	4
26.93±0.11	35.870±0.136	+	3:1	40	5
29.02±0.02	45.400±0.225	+	3:1	50	6
30.35±0.05	30.850±0.14	-	3:1	40	7
33.70±0.14	36.500±0.141	-	3:1	50	8

**Table 7(a)** Viscosity ( $p < 0.05$ ) and surface tension ( $p < 0.05$ ) of microemulsions versus oil percentage

Surface tension (mN/m)	Viscosity (cps)	Oil (%)
27.81 <sup>b</sup>	33.8573 <sup>b</sup>	40
30.6025 <sup>a</sup>	39.555 <sup>a</sup>	50

**Table 7(b)** Viscosity ( $p > 0.05$ ) and surface tension ( $p > 0.05$ ) of microemulsions versus S:C ratio

Surface tension (mN/m)	Viscosity (cps)	S:C ratio
28.4125 <sup>a</sup>	35.7572 <sup>a</sup>	2:1
30 <sup>a</sup>	37.655 <sup>a</sup>	3:1

**Table 7(c)** Viscosity ( $p < 0.05$ ) and surface tension ( $p < 0.05$ ) of microemulsions versus  $\beta$ -sitosterol containing

Surface tension (mN/m)	Viscosity (cps)	$\beta$ -sitosterol
27.5975 <sup>b</sup>	39.8848 <sup>a</sup>	+
30.8150 <sup>a</sup>	33.5275 <sup>b</sup>	-

((الف)) نشان داد که رابطه معناداری بین پایداری میکروامولسیون‌ها با درصد روغن کنجد، چه در دمای ۴ درجه و چه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد وجود ندارد. همچنین تحلیل آماری انجام شده بر حسب نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت نشان داد که پایداری میکروامولسیون‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با افزایش نسبت از ۱:۲ به ۱:۳ به طور معناداری از متوسط ۳۰/۲۵ روز به ۲۹ روز کاهش می‌یابد. از آنجا که گروه‌های OH در ساختار کوسورفکتانت

### ۳-۵- پایداری فیزیکی

تست پایداری فیزیکی میکروامولسیون‌ها به صورت مشاهداتی انجام شد و پایداری در دماهای ۴ و ۲۵ درجه بررسی گردید. نتایج آزمون مشاهداتی تا قبل از دوفازی، ته‌نشینی یا بهم چسبیدن و تجمع ذرات در جدول ۸ ارائه شده است. مشاهدات نشان داد که متوسط زمان پایداری میکروامولسیون‌ها در دمای ۴ درجه حدود ۲۹ تا ۳۰ روز و در دمای ۲۵ درجه حدود ۱۱ تا ۱۲ روز بود. تحلیل آماری تست پایداری فیزیکی (جدول ۹



همچنین افزودن بتا- سیتواسترول به نمونه‌ها تاثیر معناداری بر تحلیل آماری نتایج نداشت.

بین گروه‌های قطبی ملکول سورفکتانت و ملکول‌های آب و زنجیره‌های هیدروکربنی آن بین گروه‌های غیرقطبی سورفکتانت قرار می‌گیرند [۳۸]، بیشتر بودن مقدار کوسورفکتانت در مخلوط موجب پایداری بیشتر ساختار میکروامولسیون‌ها شد، همان طور که در مطالعات قبل این نتیجه تایید شده بود [۳۸-۴۰].

**Table 8** The stability of microemulsions in 4 °C and 25 °C

Stability in 25°C (days)	Stability in 4 °C (days)	β- sitosterol	S:C ratio	Oil (%)	Sample
12±1	30±1	+	2:1	40	1
12±2	31±1	+	2:1	50	2
12±1	30±2	-	2:1	40	3
12±1	30±1	-	2:1	50	4
12±1	29±1	+	3:1	40	5
11±1	29±1	+	3:1	50	6
12±1	29±1	-	3:1	40	7
11±1	29±1	-	3:1	50	8

**Table 9 (a)** Stability in 4 °C (p>0.05) and 25 °C (p>0.05) of microemulsions versus oil percentage

Stability in 25°C (days)	Stability in 4 °C (days)	Oil (%)
12 <sup>a</sup>	29.5 <sup>a</sup>	40
11.5 <sup>a</sup>	29.75 <sup>a</sup>	50

**Table 9(b)** Stability in 4 °C (p<0.05) and 25 °C (p>0.05) of microemulsions versus S:C ratio

Stability in 25°C (days)	Stability in 4 °C (days)	S:C ratio
12 <sup>a</sup>	30.25 <sup>a</sup>	2:1
11.5 <sup>a</sup>	29 <sup>b</sup>	3:1

**Table 9(c)** Stability in 4 °C (p>0.05) and 25 °C (p>0.05) of microemulsions versus β-sitosterol containing

Stability in 25°C (days)	Stability in 4 °C (days)	β-sitosterol
11.75 <sup>a</sup>	29.75 <sup>a</sup>	+
11.75 <sup>a</sup>	29.5 <sup>a</sup>	-

**Table 10** The mean diameter and polydispersity index of some microemulsions in 4 °C after 30 days

PDI	Mean diameter (nm)	β- sitosterol	S:C ratio	Oil (%)
0.503	303.74	+	2:1	40
0.621	362.98	+	2:1	50
0.498	284.3	-	2:1	40
0.583	324.5	+	3:1	40

اندازه بزرگ‌تر و شاخص پراکندگی بالاتری بود. این نشان داد که با گذشت زمان پایداری میکروامولسیون‌ها کاهش یافت و تمایل آن‌ها برای تجمع و رسوب‌دهی بیشتر شد. همچنین تمامی نمونه‌ها پس از ۴۰ دقیقه سانتریفیوژ کردن با دور rpm ۱۰۰۰۰ در دمای محیط به حالت دو فاز تبدیل شدند.

اندازه قطر حجمی چهار نمونه میکروامولسیون در زمان ۳۰ روز پس از سنتز و با شرایط نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در جدول ۱۰ مشخص شده‌اند. قطر حجمی ذرات با گذشت ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای ۴ درجه برای نمونه‌ها به میانگین ۳۱۸/۸۸ نانومتر و شاخص پراکندگی به میانگین ۰/۵۵۱ رسید که نسبت به ذرات میکروامولسیون پس از سنتز دارای

- [3] Kumar A, Kushwaha V, Sharma PK. (2014). Pharmaceutical Microemulsion: Formulation, Characterization and Drug Deliveries Across Skin. *International Journal of Drug Development and Research*. 6(1):1-21.
- [4] Hegde RR, Verma A, Ghosh A. (2013). Microemulsion: New Insights into the Ocular Drug Delivery. *ISRN Pharmaceutics*. 2013.
- [5] Wen H, Jung H, Li X. (2015). Drug Delivery Approaches in Addressing Clinical Pharmacology-related Issues: Opportunities and Challenges. *The AAPS Journal*. 17(6): 1327-1340.
- [6] Luk Y-Y, Abbott NL. (2002). Applications of Functional Surfactants. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 7(5-6): 267-275.
- [7] Liu R. (2008). Emulsions, Microemulsions, and Lipid-based Drug Delivery Systems for Drug Solubilization and Delivery—Part II: Oral Applications. *Water-Insoluble Drug Formulation, Second Edition*. CRC Press. 233-60.
- [8] Gupta P, Shi Y, Cannon JB. (2018). Emulsions, Microemulsions, and Lipid-based Drug Delivery Systems for Drug Solubilization and Delivery—Part I: Parenteral Applications. *Water-Insoluble Drug Formulation, Third Edition*: CRC Press. 211-245.
- [9] Alexander M, Lopez AA, Fang Y, Corredig M. (2012). Incorporation of Phytosterols in Soy Phospholipids Nanoliposomes: Encapsulation Efficiency and Stability. *LWT-Food Science and Technology*. 47(2):427-436.
- [10] Leong WF, Che Man YB, Lai OM, Long K, Misran M, Tan CP. (2009). Optimization of Processing Parameters for the Preparation of Phytosterol Microemulsions by the Solvent Displacement Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(18):8426-8433.
- [11] Watson RR, Preedy VR. (2003). *Nutrition and Heart Disease: Causation and Prevention*: CRC Press.
- [12] Ostlund Jr RE. (2004). Phytosterols and Cholesterol Metabolism. *Current Opinion in Lipidology*. 15(1):37-41.
- [13] Kobayashi M, Hamada T, Goto H, Imaizumi K, Ikeda I. (2008). Comparison of Effects of Dietary Unesterified and Esterified Plant Sterols on Cholesterol Absorption in Rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 54(3):210-214.

## ۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی میکروامولسیون‌های تهیه شده برای درون پوشانی بتا - سیتواسترول مناسب بود. استفاده از هموژنایزر اولتراسونیک موجب تشکیل ذره‌هایی با میانگین قطر حجمی حدود ۵۰ نانومتر و پایین‌تر با شاخص پراکندگی مناسب شد که با افزایش درصد روغن در فرمولاسیون و همچنین افزایش نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت این اندازه‌ها به طور معناداری افزایش یافت که این امر موجب کاهش پایداری نمونه‌های تهیه شده گردید. افزایش درصد روغن در ترکیب میکروامولسیون‌ها سبب شد که هم ویسکوزیته و هم کشش سطحی نمونه‌ها به طور معناداری افزایش یابد. همچنین افزودن بتا- سیتواسترول به میکروامولسیون‌ها موجب کاهش معنادار متوسط مقدار کشش سطحی و افزایش ویسکوزیته نمونه‌ها شد. همچنین پایداری نمونه‌ها در دماهای مختلف پیش‌بینی شده برای نگهداری و استفاده مطلوب بود. اندازه‌گیری قطر حجمی ذرات و شاخص پراکندگی در زمان ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای ۴ درجه تایید کرد که پایداری میکروامولسیون‌ها با گذشت زمان کاهش می‌یابد. بهترین نتایج به دست آمده برای نمونه حاوی ۴۰ درصد روغن، با نسبت سورفکتانت: کوسورفکتانت ۱:۲ بود که افزودن بتا - سیتواسترول به آن، تاثیر نامطلوبی بر نتایج به دست آمده نداشت. استفاده از میکروامولسیون‌ها برای درون پوشانی فیتواسترول‌ها موجب کاهش اندازه ذره و جلوگیری از کریستالیزاسیون فیتواسترول‌ها می‌گردد که به بهبود عملکرد فیتواسترول در کاهش کلسترول کمک می‌کند [۲۵ و ۲۷]. از این میکروامولسیون‌های تهیه شده می‌توان هم به عنوان غذا دارو و هم به عنوان افزودنی به مواد غذایی استفاده کرد.

## ۵- منابع

- [1] Moghimipour E, Salimi A, Leis F. (2012). Preparation and Evaluation of Tretinoin Microemulsion based on Pseudo-Ternary Phase Diagram. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2(2): 141-147.
- [2] Saini JK, Nautiyal U, Kumar M, Singh D, Anwar F. (2014). Microemulsions: A Potential Novel Drug Delivery System. *International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research*. 2(1):15-20.

- Bulk Oil. *Food Chemistry*. 102(1):161-167.
- [25] Zychowski LM, Mettu S, Dagastine RR, Kelly AL, O'Mahony JA, Auty MA. (2019). Physical and Interfacial Characterization of Phytosterols in Oil-in-Water Triacylglycerol-based Emulsions. *Food Structure*. 19: 100101.
- [26] He Y, Chen H, Lei Z, Cao J, Tan Y. (2017). Optimization of Emulsifying Effectiveness of Phytosterol in Milk Using Two-Level Fractional Factorial Design. *Acta Universitatis Cibiniensis Series E: Food Technology*. 21(2):25-32.
- [27] Moschakis T, Dergiade I, Lazaridou A, Biliaderis CG, Katsanidis E. (2017). Modulating the Physical State and Functionality of Phytosterols by Emulsification and Organogel Formation: Application in a Model Yogurt System. *Journal of Functional Foods*. 33:386-395.
- [28] Izadi Z, Garoosi G, Nasirpour A, Ahmadi J, Bahrami B. (2011). Optimization of Producing Enriched Yogurt With Phytosterols in Order To Reducing Cholesterol Content. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 7 (2): 156-163.
- [29] Mahajan H, Rasal A. (2013). Microemulsions for Nasal Drug Delivery Systems: An Overview. *International Journal Pharmaceutical Nanotechnology*. 5(4):1825-1831.
- [30] Wei W, Qi X, Wang L, Zhang Y, Hua W, Li D, LV H, Zhang X. (2011). Characterization of the Sesame (*Sesamum indicum* L.) Global Transcriptome using Illumina paired-end Sequencing and Development of EST-SSR Markers. *BMC Genomics*. 12(1):451.
- [31] Singh VK, Anis A, Al-Zahrani S, Pal K. (2015). Microemulsions of Sorbitans and its Derivatives for Iontophoretic Drug Delivery. *International Journal Electrochemical Sciences*. 10:2239-52.
- [32] Golmohammadzadeh S, Farhadian N, Biriace A, Dehghani F, Khameneh B. (2017). Preparation, Characterization and in vitro Evaluation of Microemulsion of Raloxifene Hydrochloride. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 43(10):1619-1625.
- [33] Prieto C, Calvo L. (2013). Performance of the Biocompatible Surfactant Tween 80, for the Formation of Microemulsions Suitable for New Pharmaceutical Processing. *Journal of Applied Chemistry*. 2013.
- [34] Chen J, Ma X-h, Yao G-l, Zhang W-t, [14] MacKay DS, Jones PJ. (2011). Phytosterols in Human Nutrition: Type, Formulation, Delivery, and Physiological Function. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 113(12):1427-1432.
- [15] Jones PJ, AbuMweis SS. (2009). Phytosterols as Functional Food Ingredients: Linkages to Cardiovascular Disease and Cancer. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*. 12(2):147-151.
- [16] Ostlund Jr RE. (2007). Phytosterols, Cholesterol Absorption and Healthy Diets. *Lipids*. 42(1):41-45.
- [17] Gylling H, Simonen P. (2015). Phytosterols, Phytostanols, and Lipoprotein Metabolism. *Nutrients*. 7(9):7965-7977.
- [18] Brufau G, Canela MA, Rafecas M. (2008). Phytosterols: Physiologic and Metabolic Aspects Related to Cholesterol-Lowering Properties. *Nutrition Research*. 28(4):217-225.
- [19] Rozner S, Popov I, Uvarov V, Aserin A, Garti N. (2009). Templated Cocrystallization of Cholesterol and Phytosterols From Microemulsions. *Journal of Crystal Growth*. 311(16):4022-4033.
- [20] Goldberg AC, Ostlund Jr RE, Bateman JH, Schimmoeller L, McPherson TB, Spilburg CA. (2006). Effect of Plant Stanol Tablets on Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering in Patients on Statin Drugs. *The American Journal of Cardiology*. 97(3):376-379.
- [21] Bohn T, Tian Q, Chitchumroonchokchai C, Failla ML, Schwartz SJ, Cotter R, Waksman JA. (2007). Supplementation of Test Meals with Fat-free Phytosterol Products can Reduce Cholesterol Micellarization during Simulated Digestion and Cholesterol Accumulation by Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(2):267-272.
- [22] Quilez J, Garcia-Lorda P, Salas-Salvado J. (2003). Potential Uses and Benefits of Phytosterols in Diet: Present Situation and Future Directions. *Clinical Nutrition*. 22(4):343-351.
- [23] Leong W-F, Lai O-M, Long K, Man YBC, Misran M, Tan C-P. (2011). Preparation and Characterisation of Water-Soluble Phytosterol Nanodispersions. *Food Chemistry*. 129(1):77-83.
- [24] Cercaci L, Rodriguez-Estrada MT, Lercker G, Decker EA. (2007). Phytosterol Oxidation in Oil-in-Water Emulsions and

- [38] Zeng Z, Zhou G, Wang X, Huang EZ, Zhan X, Liu J, Wang S, Wang A, Li H, Pei X, Xie T. (2010). Preparation, Characterization and Relative Bioavailability of Oral Elemene o/w Microemulsion. *International Journal of Nanomedicine*. 5:567-572.
- [39] Resende KX, Corrêa MA, Oliveira AGd, Scarpa MV. (2008). Effect of Cosurfactant on the Supramolecular Structure and Physicochemical Properties of Non-ionic Biocompatible Microemulsions. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 44(1):35-42.
- [40] Sisak MAA, Daik R, Ramli S. (2017). Study On The Effect Of Oil Phase And Co-Surfactant On Microemulsion Systems. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 21(6):1409-16.
- Zhao Y. (2018). Microemulsion-based Anthocyanin Systems: Effect of Surfactants, Cosurfactants, and its Stability. *International Journal of Food Properties*. 21(1):1152-65.
- [35] Khalil E, Al-Sotari ST, Taha MO. (2012). Formulation and Characterization of IPM/Water/Nonionic-Ionic Surfactant Microemulsions. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 6(2): 187-198.
- [36] Yew HC, Misran MB. (2016). Nonionic Mixed Surfactant Stabilized Water - in - Oil Microemulsions for Active Ingredient In Vitro Sustained Release. *Journal of Surfactants and Detergents*. 19(1):49-56.
- [37] Elfiyani R, Amalia A, Septian YP. (2017). Effect of using the Combination of Tween 80 and Ethanol on the Forming and Physical Stability of Microemulsion of Eucalyptus Oil as Antibacterial. *Journal of Young Pharmacists*. 9(1):s1-s4.

## Physical and chemical properties of $\beta$ -sitosterol containing microemulsions based on sesame oil

Pourjahed, A. <sup>1\*</sup>, Abbasi, H. <sup>2</sup>

1. Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Jundi-Shapur University of Technology, Dezful, Khuzestan, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Jundi-Shapur University of Technology, Dezful, Khuzestan, Iran.

(Received: 2019/04/07 Accepted:2019/05/22)

In recent years, phytosterols have been widely used as an additive in foods to regulation cholesterol level in the plasma, in cosmetics and pharmaceuticals. The high melting point and insolubility in water and oil make it difficult to add phytosterols to food. In this study, microemulsion containing  $\beta$ -sitosterol with different formulations were prepared from sesame oil and tween 80 as surfactant and a mixture of ethanol/propylene glycol as cosurfactant; An ultrasonic homogenizer was used to reduce the particle size. Oil percentage and the ratio of surfactant: cosurfactant was changed in the samples to obtain an optimal formulation. The mean particle diameter was about 50 nm and lower. There was no significant relationship between  $\beta$ -sitosterol containing, mean diameter and polydispersity index of microemulsions ( $p > 0.05$ ). The mean particle diameter was increased when oil content and the ratio of surfactant: cosurfactant increased ( $p < 0.05$ ). Poly dispersity index of the samples were below 0.5. The viscosity and surface tension of the samples increased with the increase in oil content and  $\beta$ -sitosterol addition ( $p < 0.05$ ). The stability of the samples was also predicted at various temperatures. The best results were obtained for the sample containing 40% oil, with a surfactant: cosurfactant ratio of 2:1, and the addition of  $\beta$ -sitosterol did not have an adverse effect on the results.

**Keywords:** Microemulsion, Oil, Surfactant, Cosurfactant.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: [atpourjahed@jsu.ac.ir](mailto:atpourjahed@jsu.ac.ir)