

تأثیر امولسیفایرها و صمغ‌های بومی روی تشکیل و برخی ویژگی‌های فیزیکی و رئولوژیکی نانوامولسیون اسانس روغنی پوست پرتقال

عادل میرمجیدی^۱، سلیمان عباسی^{۲*}، زهره حمیدی اصفهانی^۲، محمدحسین عزیزی^۳

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

۲- دانشیار، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

۳- استاد، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۷)

چکیده

در این پژوهش، تأثیر نوع امولسیفایر (Tween 20, Tween 60, Tween 80، کازینات سدیم، WPC و WPI)، نسبت امولسیفایر (Tween 80) به فاز روغنی (اسانس روغنی پوست پرتقال) در هشت سطح (۱، ۱/۵، ۱/۷۵، ۲، ۲/۲۵، ۲/۵، ۲/۷۵ و ۳: ۱) و امکان به‌کارگیری شکل کامل، بخش محلول و نامحلول دو نوع صمغ بومی (صمغ فارسی و کتیرا) به‌صورت تکی و ترکیبی در فرمولاسیون، بر تشکیل و برخی ویژگی‌های نانوامولسیون‌های تهیه شده از اسانس روغنی پوست پرتقال بررسی شد. برای تولید نانوامولسیون‌ها از روش امولسیون‌سازی با فراصوت استفاده شد و میانگین اندازه قطرات (Z-average)، شاخص بس‌پاشیدگی (PDI)، گرانیوی، رفتار جریان‌ی نانوامولسیون‌ها، پایداری فیزیکی فرمولاسیون‌های منتخب در دمای ۲۵°C به مدت ۹۰ روز و همچنین مقدار انرژی مصرفی در طی فرایند بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت امولسیفایر یا نسبت امولسیفایر به فاز روغنی (Surfactant-to-oil ratio, SOR) تأثیر معنی‌داری ($P < 0.0001$) بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده داشتند و نمونه‌های تولید شده با نسبت ۱:۲ (امولسیفایر: اسانس) کمترین مقدار Z-average را دارا بودند. در ضمن، امکان حذف امولسیفایر (Tween 80) با جایگزینی آن توسط صمغ‌ها و امولسیفایرهای پروتئینی برای تشکیل نانوامولسیون پایدار میسر نگردید. در ادامه مشخص شد که تنها بخش محلول صمغ فارسی و کتیرا (به‌صورت تکی و ترکیبی) قابلیت به‌کارگیری در ساختار و تشکیل نانوامولسیون‌های پایدار را داشتند و حضور آن‌ها در فرمولاسیون تأثیر معنی‌داری ($P < 0.0001$) بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده داشت. همچنین، رفتار جریان‌ی نانوامولسیون‌های تولید شده نیوتنی بود و تأثیر مدت زمان نگهداری بر مقدار Z-average نمونه‌ها نیز معنی‌دار بود ($P < 0.0001$).

کلید واژه‌گان: نانوامولسیون، امولسیفایر، صمغ، اسانس روغنی پوست پرتقال، رئولوژی

۱- مقدمه

اسانس روغنی پوست پرتقال یکی از متداول‌ترین و مهم‌ترین اسانس‌های مورد مصرف در صنایع غذایی و دارویی است. شهرت زیاد اسانس روغنی پوست پرتقال به دلیل عطر بسیار مطبوع و خوشایند آن است که معطر بودن آن، پذیرش و در نتیجه بهره‌مندی افراد را از خواص درمانی آن آسان کرده است [۱ و ۲]. از ترکیبات عمده اسانس روغنی پوست پرتقال می‌توان به ۹۴٪ لیمونن (Limonen)، ۲٪ میرسن (myrcene)، ۵٪ لینالول (Linalool)، ۵٪ اکتانال (Octanal)، ۴٪ دکانال (Decanal)، ۱٪ نرال (Neral)، ۱٪ جناریال (Geraniol) و... اشاره کرد [۳].

به دلیل عطر ویژه و قیمت پایین، استفاده از چنین ترکیبی همواره مطلوب صنایع غذایی بوده، اما کاربرد آن با مشکلاتی همچون عدم سازگاری و انحلال‌پذیری در اکثر محیط‌های غذایی، فرار بودن و ناپایداری در طول فرآوری و نگهداری فرآورده همراه بوده است. لذا، یافتن راه‌کارهایی برای افزایش پایداری این اسانس روغنی در محیط‌های غذایی و کنترل رهایش آن در زمان مورد نیاز اهمیت به‌سزایی دارد. در این راستا، به نظر می‌رسد که فناوری ساخت امولسیون یکی از مهم‌ترین فرایندها برای افزایش حلالیت، نانوکپسوله کردن و محافظت این ترکیبات باشد [۴].

امولسیون‌ها، تعلیق‌های کلوئیدی ناهمگنی هستند که از اختلاط دو مایع غیرقابل امتزاج تشکیل می‌شوند. این سامانه‌ها از نظر ترمودینامیکی نامتعادل بوده و ممکن است به تدریج پایداری خود را از دست بدهند [۵]. در سامانه‌های امولسیونی، ویژگی‌هایی مانند پایداری، رئولوژی، ظاهر، رنگ و بافت بستگی به اندازه قطرات و توزیع اندازه قطرات آن‌ها دارد [۶ و ۷]. بنابراین، پایش، پیش‌بینی، اندازه‌گیری و گزارش اندازه قطرات امولسیون اهمیت ویژه‌ای داشته و بدین منظور از روش‌ها و دستگاه‌های مختلفی استفاده می‌شود. در این راستا، روش پراش نوری پویا (Dynamic light scattering, DLS) یکی از فناوری‌های اخیر بوده که برای تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا میکرون و همچنین اندازه‌گیری پتانسیل زتا برای ارزیابی ثبات و پایداری بالقوه سامانه‌های کلوئیدی به کار می‌رود [۸ و ۹]. به‌طورکلی، اندازه قطرات امولسیون‌ها به عوامل متعددی وابسته است که مهم‌ترین آن‌ها،

روش و شرایط تولید و نیز نوع و غلظت ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها می‌باشد [۶، ۷ و ۱۰].

نانوامولسیون‌ها نیز نوعی امولسیون هستند که قطر قطرات آن‌ها در ابعاد نانومتری (به‌طور معمول در محدوده ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتر) بوده و اغلب در منابع علمی تحت عناوین مینی‌امولسیون، نانوامولسیون، امولسیون‌های فوق‌ریز، امولسیون‌های زیرمیکرون و غیره یاد می‌شوند. نانوامولسیون‌ها به واسطه ویژگی اندازه، با چشم غیرمسلح به‌صورت شفاف و نیمه شفاف قابل مشاهده بوده و به لحاظ پایداری سینتیکی بالا، گرانروی کم، شفافیت زیاد، پایداری بالا در برابر پدیده‌های ترسیب، خامه‌ای شدن، به هم پیوستن و فلوکوله شدن برای کاربردهای صنعتی زیادی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۱، ۱۲ و ۱۳]. روش‌های مختلفی برای تولید نانوامولسیون‌ها وجود دارند که هر یک دارای مزایا و معایبی بوده و هر کدام باعث تولید نانوامولسیون‌هایی با خصوصیات متفاوت می‌شوند [۶، ۷ و ۱۰]. در ضمن، نانوامولسیون‌ها سامانه‌های غیرتعادلی هستند که به‌صورت خودبه‌خودی تشکیل نمی‌شوند. بنابراین، اعمال نوعی انرژی، عموماً انرژی حاصل از تجهیزات مکانیکی یا انرژی شیمیایی حاصل از اجزا و ترکیبات، برای تشکیل آن‌ها مورد نیاز است [۶، ۷، ۱۰، ۱۲ و ۱۳]. از جمله روش‌هایی که امروزه برای تهیه نانوامولسیون‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند، استفاده از امواج فراصوت می‌باشد. امواج فراصوت با شدت بالا از طریق ظهور اثرات مکانیکی پدیده کاویتاسیون، یعنی ایجاد نیروهای برشی شدید و اعمال فشار و دما قادر به ایجاد تغییر در ویژگی‌های مواد تحت فرایند هستند [۱۴، ۱۵ و ۱۶]. از جمله مزایای استفاده از این روش در تولید نانوامولسیون‌ها می‌توان به مصرف انرژی کمتر، استفاده از مقادیر کمتر امولسیفایر، تولید امولسیون یکنواخت‌تر با اندازه قطرات کوچکتر، دستیابی به حداقل بس‌پاشیدگی و در نتیجه پایداری بیشتر نانوامولسیون، نسبت به سایر روش‌های مکانیکی اشاره کرد [۷، ۱۳، ۱۵ و ۱۶].

همان‌گونه که پیش‌تر نیز گفته شد نوع و غلظت ترکیبات تشکیل دهنده امولسیون‌ها نقش موثر و به‌سزایی در تعیین ویژگی‌های آن‌ها دارند. بنابراین، برای بهبود ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و پایداری نانوامولسیون‌ها، انتخاب نوع ترکیبات و همچنین نسبت به‌کارگیری آن‌ها در فرمولاسیون از جایگاه و اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. ساختار اصلی

علمی در برخی از زمینه‌ها، به‌ویژه در خصوص عوامل موثر بر تشکیل نانوامولسیون‌های روغن در آب اسانس‌های روغنی با بهره‌گیری از فناوری فراصوت، تحقیق در این زمینه‌ها یک نیاز ضروری تلقی می‌گردد. از اینرو، در پژوهش حاضر سعی شد تا تاثیر نوع و غلظت امولسیفایر و نیز امکان به‌کارگیری صمغ‌های فارسی و کتیرا بر تشکیل و برخی ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و پایداری نانوامولسیون اسانس روغنی پوست پرتقال و همچنین، مقدار انرژی مصرفی در حین فرایند امولسیون‌سازی ارزیابی شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

اسانس روغنی پوست پرتقال از شرکت گیاه اسانس (گرگان، ایران) در زمستان سال ۱۳۹۰ تهیه شد. امولسیفایرهای کوچک مولکول (Tween 80، Tween 60 و Tween 20)، کازئینات سدیم (حاوی ۹۰٪ پروتئین)، کنسانتره پروتئینی آب پنیر (WPC, Simplesse 100، حاوی ۵۳٪ پروتئین) و ایزوله پروتئینی آب پنیر (WPI, BiPRO، حاوی ۹۷٪ پروتئین) به ترتیب از کارخانه مواد شیمیایی Merck آلمان، شرکت Sigma-Aldrich آلمان، شرکت CP Kelco دانمارک و شرکت Davisco آمریکا تهیه شدند. همچنین، صمغ فارسی و کتیرا نیز از فروشگاه‌های عطاری سستی خریداری شدند. برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب دیونیزه استفاده گردید.

۲-۲- تهیه پودر صمغ کتیرا و صمغ فارسی

کتیرا از نوع نواری، با ظاهری شفاف متمایل به زرد کم‌رنگ، و نیز کلوخه‌های صمغ فارسی به‌وسیله آسیاب خانگی (Moulinex، ساخت کشور فرانسه) پودر شدند و پس از عبور دادن از سری الک‌ها (شرکت الک آزمایشگاهی دماوند، تهران)، ذرات زیر مش ۶۰ جمع‌آوری و در ظرف دربسته نگه‌داری شدند (۲۰ و ۲۱).

۲-۳- تهیه پراکنش صمغ فارسی

برای تهیه پراکنش صمغ فارسی، پودر صمغ به میزان لازم برای تهیه محلول ۳ درصد وزنی-وزنی توسط ترازو (Tecator، ساخت کشور سوئیس) توزین شد و به تدریج به بشر حاوی آب دیونیزه که روی همزن مغناطیسی (Heidolph-MR

نانوامولسیون‌ها از آب، فاز روغنی و امولسیفایر تشکیل می‌شود [۱۰]. با این وجود، ممکن است در برخی از فرمولاسیون‌ها به‌منظور بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی از هیدروکلوئیدها نیز استفاده شود. در این راستا، نوع و غلظت امولسیفایر یکی از مهم‌ترین عوامل موثر بر ویژگی‌های سامانه‌های نانوامولسیونی می‌باشد. برای مثال، در همین ارتباط تاثیر امولسیفایرهای کوچک و بزرگ مولکول روی خصوصیات نانوامولسیون‌های بتاکاروتن تهیه شده با همگن‌ساز فشار بالا توسط ماو و همکاران [۹] مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که تاثیر امولسیفایرهای کوچک مولکول مانند Tween 20 و دکالگیرسول منو لورات نسبت به امولسیفایرهای بزرگ مولکول پروتئینی و پلی‌ساکاریدی در کاهش اندازه قطرات بیشتر بود. کیان و همکاران [۱۷] نیز در تحقیقی مشابه دریافتند که نانوامولسیون‌های روغن ذرت تهیه شده با سورفاکتانت‌های کوچک مولکول در مقایسه با نمونه‌های تولید شده با پروتئین‌ها، اندازه قطرات کوچکتری داشتند. اصولاً، شکل‌گیری قطرات نانوامولسیون به‌واسطه برهم‌کنش دو پدیده، یعنی شکستن قطرات و دیگری، به‌هم پیوستگی قطرات تشکیل شده کنترل می‌شود. در این میان، نرخ به‌هم پیوستگی قطرات توسط فعالیت سطحی و غلظت امولسیفایر تعیین می‌شود [۱۶]. همچنین، نتایج تحقیقات جعفری [۱۸]، لای [۱۶] و راثو و همکاران [۱۴] نیز نشان دادند که ضمن موثر بودن نوع امولسیفایر روی ویژگی‌های امولسیون‌ها، برای هر سامانه امولسیونی به غلظت بهینه‌ای از امولسیفایر نیاز است و افزایش بیش از اندازه آن منجر به رشد اندازه قطرات و متعاقباً کاهش پایداری امولسیون می‌شود.

اخیراً به‌دلیل تمایل و توجه زیاد مصرف کنندگان مواد غذایی به کاهش افزودنی‌های غذایی از محصولات غذایی فرموله شده، پرداختن به موضوع امکان‌سنجی جایگزینی افزودنی‌ها با مواد طبیعی، اهمیت ویژه‌ای یافته است. در این خصوص، با توجه به ماهیت عملکردی برخی از صمغ‌های بومی مانند صمغ فارسی و کتیرا، به‌ویژه توانایی آن‌ها به‌عنوان عامل امولسیون‌کننده و پایدارکننده امولسیون، انتظار می‌رود که در صورت امکان به‌کارگیری آن‌ها در ساختار نانوامولسیون‌ها، بتوان برخی از ویژگی‌های سامانه‌های نانوامولسیونی را بهبود بخشید [۱۹].

با توجه به علاقه‌مندی روز افزون در زمینه بهبود ویژگی‌های سامانه‌های نانوامولسیونی در چند سال اخیر و کمبود مستندات

مرحله مخلوط کردن به صورت تدریجی و یکنواخت انجام شد. عملیات همزدن با استفاده از همزن مغناطیسی، به مدت یک ساعت در دمای محیط انجام گرفت تا محلول‌های یکنواختی حاصل گردد. سپس برای جذب کامل آب، محلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال نگهداری شدند [۱۷] و [۱۸].

۲-۷- روش تهیه نانوامولسیون‌ها

به منظور بررسی تاثیر نوع و غلظت امولسیفایر بر برخی ویژگی‌های سامانه‌های نانوامولسیونی، فرمولاسیون‌هایی حاوی ۱٪ اسانس و نسبت‌های مختلف انواع امولسیفایر (Tween 20، Tween 60، Tween 80)، کازئینات سدیم، WPC و WPI به اسانس (۱، ۱/۵، ۱/۷۵، ۲، ۲/۲۵، ۲/۵، ۲/۷۵ و ۳) تهیه شدند. همچنین، به منظور ارزیابی امکان جایگزینی صمغ‌ها به جای سورفاکتانت‌های کوچک مولکول و نیز امکان‌سنجی به کارگیری آن‌ها در ساختارهای نانوامولسیونی، فرمولاسیون‌های متعددی حاوی "اسانس و امولسیفایر (Tween 80)"، "اسانس و محلول کامل صمغ‌ها به صورت تکی و ترکیبی"، "اسانس و فازهای محلول هر یک از صمغ‌ها به صورت تکی و ترکیبی"، "اسانس و فازهای نامحلول هر یک از صمغ‌ها به صورت تکی و ترکیبی" و نیز "اسانس، امولسیفایر (Tween 80) و هر یک از صمغ‌ها (به شکل‌های کامل، بخش محلول و نامحلول) به صورت تکی و ترکیبی" تهیه شدند. در این راستا، نمونه‌های امولسیونی روغن در آب با استفاده از اسانس روغنی پوست پرتقال به عنوان فاز روغنی و محلول هر یک از امولسیفایرها، یا محلول هر یک از صمغ‌ها (به شکل‌های کامل، بخش محلول و نامحلول) به صورت تکی و ترکیبی، یا محلول متشکل از Tween 80 و هر یک از صمغ‌ها (در اشکال مذکور) به صورت تکی و ترکیبی به عنوان فاز آبی تهیه شدند. همه تعلیق‌های کلوتیدی آماده شده حاوی ۱٪ اسانس و ۹۹٪ فاز آبی بودند.

همه نمونه‌های امولسیونی طی دو مرحله آماده شدند. ابتدا، فازهای آبی و روغنی به نسبت‌های مذکور در داخل یک بشر شیشه‌ای در دمای اتاق به کمک یک همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۷۰۰ دور بر دقیقه مخلوط شدند. سپس به منظور تهیه نانوامولسیون، از یک دستگاه مولد امواج فراصوت (Misonix)، مدل ۴۰۰۰، فرکانس ۲۰ کیلو هرتز، ساخت

3001، ساخت کشور آلمان) قرار داشت اضافه شد تا پراکنش یکنواختی حاصل گردد. به منظور جلوگیری از فساد میکروبی، مقدار ۰/۰۰۴٪ سدیم آزاید به پراکنش حاصل اضافه شد. سپس برای جذب کامل آب، پراکنش به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (Kottermann)، ساخت کشور آلمان) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شد [۲۱].

۲-۴- تهیه پراکنش صمغ کتیرا

برای تهیه پراکنش ۰/۵ درصد وزنی-وزنی، پودر کتیرا به میزان لازم توسط ترازو (Tecator، ساخت کشور سوئیس) توزین شد. برای جلوگیری از ایجاد کلوخه‌های ریز به هنگام حل کردن پودر کتیرا در آب، مرحله مخلوط کردن به صورت تدریجی و یکنواخت انجام شد. بدین منظور پودر کتیرا به طور تدریجی و پیوسته به بشر حاوی آب دیونیزه که روی همزن مغناطیسی (Heidolph-MR 3001، ساخت کشور آلمان) قرار داشت اضافه شد تا پراکنش شفاف و یکنواختی حاصل گردد. برای جلوگیری از فساد میکروبی، مقدار ۰/۰۰۴٪ سدیم آزاید به پراکنش حاصل اضافه شد. سپس برای جذب کامل آب، پراکنش به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط نگهداری شد [۲۰].

۲-۵- جداسازی بخش‌های محلول و نامحلول

صمغ فارسی و کتیرا

در این مرحله، پراکنش‌های آماده شده هر یک از صمغ‌ها به فاکون‌های پلاستیکی ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شدند. سپس بخش‌های محلول و نامحلول آن‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (Sigma، مدل K ۳۰-۳، ساخت کشور آلمان)، در شتاب $20000g$ به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جداسازی شدند. در مرحله بعد، هر یک از بخش‌ها به طور دستی جداسازی و پس از اندازه‌گیری وزن فازها، میزان ماده خشک آن‌ها توسط آون (EHRET، مدل TKL 4105، ساخت کشور آلمان) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد [۲۰ و ۲۱].

۲-۶- تهیه محلول امولسیفایرهای پروتئینی

محلول‌های کازئینات سدیم، WPC و WPI در غلظت‌های مورد نظر تهیه شدند. برای جلوگیری از ایجاد کلوخه‌های ریز به هنگام حل کردن پودر هر یک از این مواد در آب دیونیزه،

میانگین اندازه قطرات گزارش می‌گردد. همچنین، شاخص بس‌پاشیدگی (Polydispersity index, PDI) با توجه به منحنی توزیع اندازه ذرات توسط نرم افزار دستگاه محاسبه و به‌عنوان توزیع اندازه قطرات گزارش می‌شود. این شاخص به صورت یک عدد بدون بعد در محدوده ۰ تا ۱ بیان می‌شود. چنانچه همه قطرات یک امولسیون دارای یک اندازه باشند، مقدار عددی این شاخص کوچکتر بوده و نشان دهنده حالت تک تعلیقی یا همگن بودن محیط امولسیون می‌باشد، در صورتی که وجود دامنه‌ای از قطرات با اندازه‌های مختلف منجر به بزرگتر شدن آن شده و بیانگر حالت چند تعلیقی یا گسترده بودن توزیع اندازه ذرات سامانه می‌باشد [۸، ۹، ۱۶ و ۱۹].

۹-۲- اندازه‌گیری‌های رئولوژیکی

به‌منظور بررسی رفتار رئولوژیکی نانوامولسیون‌های تهیه شده از گرانروی سنج دورانی (Brookfield، مدل LVDV-III Ultra، ساخت کشور آمریکا) استفاده گردید. با استفاده از این نوع گرانروی سنج که مجهز به سیستم UL Adapter (مختص اندازه‌گیری گرانروی‌های بسیار کم) بود، تنش برشی به‌عنوان تابعی از سرعت برشی اندازه‌گیری گردید. دمای اطراف ظرف حاوی نمونه نیز توسط سیرکولاتور در دمای ۲۵ درجه سانتی-گراد حفظ شد. برای اندازه‌گیری تنش برشی و گرانروی به صورت تابعی از سرعت برشی و همچنین تعیین نوع رفتار جریانی نمونه‌ها از روش افزایش و کاهش شیب‌دار سرعت برشی (Speed ramp) استفاده شد. برای این منظور در فاصله زمانی ۵ دقیقه، سرعت برشی از ۰/۰۱ تا ۱۷۱/۲ (بر ثانیه) افزایش و طی ۵ دقیقه بعدی از ۱۷۱/۲ به ۰/۰۱ (بر ثانیه) کاهش یافت. ضمناً به‌منظور بررسی وابستگی زمانی نمونه‌ها، تغییرات گرانروی نسبت به زمان در مدت ۲ دقیقه در سرعت برشی ثابت ۹۱/۷۳ بر ثانیه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید [۲۲ و ۲۳].

۱۰-۲- ارزیابی پایداری نانوامولسیون‌ها

نانوامولسیون‌های تهیه شده به بطری‌های شیشه‌ای ۲۵ میلی‌لیتری با سرپوش پلاستیکی متقل و در فویل آلومینیومی پیچیده شدند. سپس به مدت ۳ ماه در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. پایداری نمونه‌ها از طریق مشاهده وضعیت ظاهری و نیز با اندازه‌گیری تغییرات حاصل در میانگین اندازه قطرات نانوامولسیون‌ها در فواصل زمانی ۳۰ روز، ارزیابی شد.

کشور آمریکا) استفاده شد. در این مرحله، پیش‌مخلوط امولسیونی به ظرف ویژه اعمال فراصوت که به شکل یک استوانه دوجداره شیشه‌ای به قطر داخلی ۶۵ و عمق ۹۰ میلی-متر بود، منتقل گردید. انتقال امواج فراصوت از مبدل پیزوالکتریک به پیش‌مخلوط امولسیونی داخل ظرف دو جداره توسط یک سونوترود از جنس تیتانیوم به قطر ۱۹/۱ میلی‌متر که تا عمق ۱ سانتی‌متر زیر سطح پیش‌مخلوط غوطه‌ور شده بود، انجام شد. همه فرمولاسیون‌ها تحت شرایط یکسان امولسیون‌سازی با فراصوت، یعنی شدت فراصوت ۱۰۰٪، زمان صوت‌دهی ۱۲۰ ثانیه و دمای فرایند ۲۵ درجه سانتی‌گراد، قرار گرفتند. به‌منظور پایش دقیق دمای فرایند در حین صوت‌دهی، در داخل ظرف طراحی شده یک مارپیچ شیشه‌ای نیز تعبیه گردید. از این‌رو، دمای پیش‌مخلوط امولسیونی در طول مدت صوت‌دهی به کمک چرخش مداوم سیال سردکننده (ضد یخ) در بین دو جداره ظرف و نیز مارپیچ درون آن، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد حفظ گردید. چرخش سیال سردکننده و پایش دمای ظرف حاوی نمونه توسط دستگاه سیرکولاتور (Lauda، مدل RA8، ساخت کشور آلمان) انجام شد. در ضمن، مقدار انرژی مصرفی در طی فرایند امولسیون‌سازی به کمک فراصوت، از روی صفحه نمایش‌گر دستگاه مولد امواج فراصوت در خاتمه فرایند خوانده شد.

۸-۲- تعیین پتانسیل زتا، اندازه قطرات و

توزیع اندازه ذرات

پتانسیل زتای فرمولاسیون‌های منتخب و نیز اندازه قطرات و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون‌های تهیه شده، با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Malvern، مدل Nano-ZS90، ساخت کشور انگلستان) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. تعیین اندازه ذرات امولسیون‌ها توسط این دستگاه به کمک روش پراش دینامیکی نور انجام می‌شود که در واقع حرکت براونی ذرات را درون سامانه‌های کلونیدی اندازه‌گیری می‌نماید. این دستگاه با توجه به سرعت حرکت نانوذررات که رابطه معکوسی با اندازه آن‌ها دارد، قادر است توزیع اندازه نانوذررات را بر حسب میانگین شدت نور متفرق شده (Z-average) به‌دست آورد. به‌طوری که هرچه اندازه میانگین شدت نور پراش یافته بزرگتر باشد، یعنی حرکت براونی نانوذررات کمتر بوده است. قطر اندازه‌گیری شده در این روش، قطر هیدرودینامیکی ذرات نامیده شده و میانگین قطر قطرات (Z-average) به‌عنوان

۲-۱۱- روش‌های آماری

این تحقیق در قالب کاملاً تصادفی اجرا و نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 تجزیه و تحلیل شد. اندازه‌گیری-های کمی و کیفی در سه تکرار اجرا و میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ مقایسه شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- وضعیت ظاهری نانوامولسیون‌ها

مطابق شکل ۱ (الف)، ارزیابی وضعیت ظاهری نانوامولسیون-های تولید شده نشان داد که تشکیل نانوامولسیون اسانس روغنی پوست پرتقال با فرمولاسیون‌های حاوی ۱٪ اسانس و نسبت‌های مختلف Tween 80 به اسانس ($SOR \leq 3$) امکان‌پذیر بوده و در SOR معادل ۱ و ۱/۲۵ نمونه‌های حاصل، ظاهری نیمه‌شفاف و در $SOR \geq 1/5$ ظاهری کاملاً شفاف داشتند. همچنین، با توجه به نزدیکی نسبت آب دوستی به آب گریزی (عدد HLB) سورفاکتانت‌های کوچک مولکول غیر یونی (Tween 80، Tween 60 و Tween 20)، نمونه‌های تولید شده از آن‌ها در غلظت و فرایند امولسیون-سازی یکسان، از نظر ظاهری تفاوت زیادی باهم نداشتند ولی همان‌گونه که در شکل ۱ (ب) دیده می‌شود، نمونه‌های تولید شده با Tween 80 شفاف‌تر بودند. در حالی‌که، ارزیابی وضعیت ظاهری (شکل‌های ۱ (ج) و ۱ (د)) و میانگین اندازه قطرات نانوامولسیون‌های تولید شده با امولسیفایرهای بزرگ مولکول پروتئینی (کازئینات سدیم، WPC و WPI) نشان داد که این امولسیفایرها در مقایسه با Tween 80 (در غلظت و فرایند امولسیون‌سازی یکسان) قابلیت تشکیل نانوامولسیون‌های پایدار را نداشتند و تنها WPI توانست به‌صورت ترکیبی با Tween 80 (در نسبت‌های ۱:۱ و ۴:۱ WPI : Tween 80) نمونه‌های مطلوب و پایداری تشکیل دهد. در این راستا به نظر می‌رسد، بالاتر بودن وزن مولکولی امولسیفایرهای پروتئینی در مقایسه با سورفاکتانت‌های کوچک مولکول منجر به سینتیک جذب آهسته شده و این امر باعث می‌شود که این ترکیبات نتوانند با سرعت مناسبی خود را به سطح قطرات کوچک اسانس رسانده و مانع از به هم پیوستن و امتزاج آن‌ها پس از تشکیل گردند. کتان و مک‌کلمتس (۲۰۱۱) نیز در

پژوهشی مشابه دریافتند که نانوامولسیون‌های روغن ذرت تهیه شده با Tween 20 در مقایسه با نمونه‌های تولید شده با کازئینات سدیم، اندازه قطرات کوچکتری داشتند و دلیل این امر را مربوط به سینتیک جذب آهسته امولسیفایرهای پروتئینی دانستند [۱۷]. همچنین در تحقیق دیگری که توسط جعفری و همکاران (۲۰۰۷) روی کارایی بیوپلیمرها در تولید امولسیون‌های زیر میکرون صورت گرفت، مشخص گردید که بیوپلیمرهای پروتئینی (WPC) و پلی‌ساکاریدی (نشاسته اصلاح شده، Hi-Cap) در مقایسه با سورفاکتانت‌های کوچک مولکول، به علت سینتیک جذب آهسته‌تر از کفایت پایین‌تری برای تولید نانوامولسیون‌ها برخوردار هستند [۱۸]. از طرف دیگر، امکان حذف Tween 80 با جایگزینی آن توسط صمغ فارسی و کتیرا برای تشکیل نانوامولسیون پایدار میسر نگردید. همچنین، در فرمولاسیون‌های حاوی محلول کامل و نیز بخش نامحلول هر یک از صمغ‌ها، پس از گذشت ۴۸ ساعت ناخالصی‌هایی به شکل رسوب یا توده نمایان گردید، در صورتی‌که در فرمولاسیون‌های حاوی بخش محلول چنین مشکلی مشاهده نشد. در ضمن، ارزیابی‌های اولیه نشان داد که صمغ‌ها فقط به همراه Tween 80 و حداکثر در غلظت (w/w) ۰/۲۵٪ موجب تشکیل نانوامولسیون پایدار شدند. در این راستا، با توجه به وضعیت ظاهری و پایداری نمونه‌های تولید شده، فرمولاسیون‌های متعددی (مطابق جدول ۲) برای بررسی تأثیر حضور صمغ‌ها بر خصوصیات سامانه‌های نانوامولسیونی انتخاب شدند.

۳-۲- ویژگی‌های اندازه قطرات و توزیع اندازه

آن‌ها

۳-۲-۱- تأثیر غلظت امولسیفایر

نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تأثیر غلظت امولسیفایر روی میانگین اندازه قطرات (Z-average) و شاخص بس‌پاشیدگی (PDI) نمونه‌های حاصل معنی‌دار بود ($P < 0.001$). در جدول ۱ اثر غلظت امولسیفایر یا به بیان دیگر نسبت امولسیفایر به اسانس (SOR) بر ویژگی‌های بررسی شده، بر مبنای مقایسه میانگین‌ها نشان داده شده است.



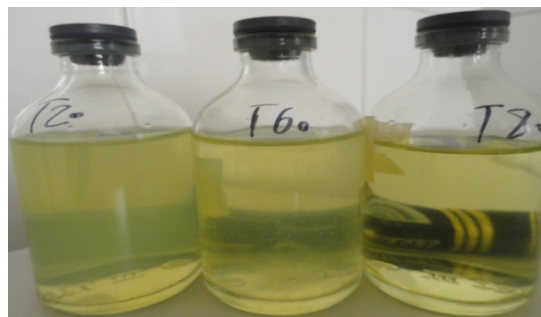
(ب)



(الف)



(د)



(ج)

شکل ۱ وضعیت ظاهری (الف) نانوامولسیون‌های حاوی ۱٪ اسانس و نسبت‌های مختلف Tween 80 ($1 \leq \text{SOR} \leq 3$) مقدار SOR از سمت راست به چپ تصویر افزایش یافته است). (ب) نمونه‌های تولید شده با سورفاکتانت‌های کوچک مولکول (از راست به چپ تصویر، Tween 80، Tween 20 و 60). (ج) نمونه‌های تولید شده با کازئینات سدیم (راست) و WPC (چپ). (د) نمونه‌های تولید شده با WPI و Tween 80 (از راست به چپ تصویر، ترکیب WPI : Tween 80 در نسبت‌های ۱:۴، ۱:۱، ۴:۱ و WPI به تنهایی)

جدول ۱ مقایسه تأثیر نسبت امولسیفایر به اسانس (SOR) روی میانگین اندازه قطرات، شاخص بس‌پاشیدگی و گرانیوی نانوامولسیون اسانس روغنی پوست پرتقال و مقدار انرژی مصرفی در حین فرایند.

ویژگی	Z-average (نانومتر)	PDI	گرانیوی (میلی پاسکال.ثانیه)	مقدار انرژی مصرفی (ژول)	SOR
۱	۵۷/۵۰۵ ^f	۰/۲۹۱ ^a	۱/۲۱۵ ^a	۱۵۱۱۴ ^{ab}	۱
۱/۵	۳۳/۷۵۵ ^e	۰/۴۲۷ ^b	۱/۲۱۰ ^a	۱۵۱۸۴ ^{bc}	۱/۵
۱/۷۵	۲۷/۱۱۵ ^d	۰/۴۵۳ ^c	۱/۲۱۵ ^a	۱۵۰۴۴ ^a	۱/۷۵
۲	۱۷/۲۹۰ ^a	۰/۴۷۳ ^d	۱/۲۳۵ ^b	۱۵۱۲۷ ^{abc}	۲
۲/۲۵	۲۰/۹۲۵ ^c	۰/۵۰۶ ^{ef}	۱/۲۴۰ ^b	۱۵۲۱۴ ^c	۲/۲۵
۲/۵	۲۱/۱۰۰ ^c	۰/۵۱۹ ^f	۱/۲۴۰ ^b	۱۵۱۷۳ ^{bc}	۲/۵
۲/۷۵	۱۹/۵۶۵ ^b	۰/۵۱۳ ^f	۱/۲۴۵ ^b	۱۵۱۰۹ ^{ab}	۲/۷۵
۳	۱۹/۵۴۵ ^b	۰/۴۸۹ ^{de}	۱/۳۶۵ ^c	۱۵۶۰۲ ^d	۳

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند.

average را دارند و اختلاف آن‌ها در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است. اصولاً برای هر سامانه امولسیون به غلظت بهینه‌ای از امولسیفایر نیاز است. نتایج تحقیقات جعفری و همکاران

همان‌طور که مشاهده می‌شود از نظر Z-average، نمونه‌های تهیه شده با نسبت ۲ برابری امولسیفایر کمترین و نمونه‌های تهیه شده با نسبت ۱ برابری امولسیفایر بیشترین مقدار Z-

۳-۲-۲- تاثیر حضور صمغ

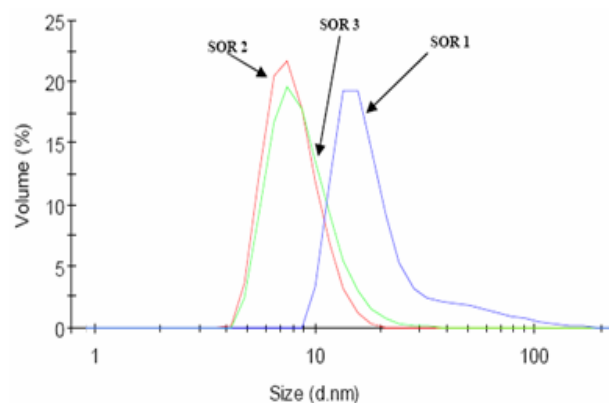
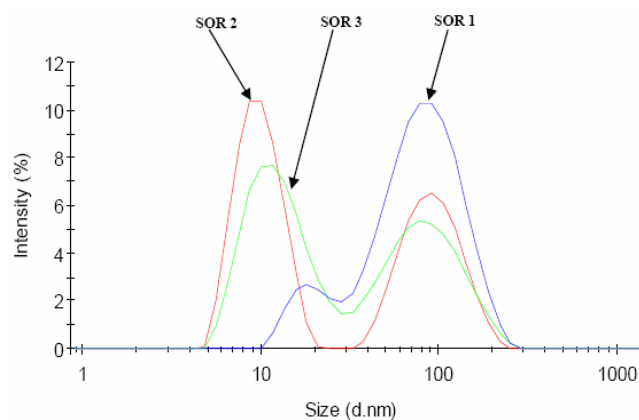
نتایج تجزیه و تحلیل آماری هم نشان داد که تاثیر حضور بخش محلول صمغ فارسی و کتیرا به صورت تکی و ترکیبی در ساختار نانوامولسیون‌های تولید شده روی میانگین اندازه قطرات و شاخص بس‌پاشیدگی نمونه‌های حاصل معنی‌دار بود ($P < 0.001$). در جدول ۲ اثر حضور بخش محلول صمغ‌ها بر ویژگی‌های بررسی شده، بر مبنای مقایسه میانگین‌ها نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود حضور بخش محلول صمغ‌ها بر ساختار نانوامولسیون‌ها در غلظت مشخص شده منجر به کاهش اندازه قطرات امولسیون گردید و فرمولاسیون شماره ۵ کمترین مقدار و فرمولاسیون شماره ۱ (فاقد صمغ) بیشترین مقدار Z-average را دارا بودند و اختلاف آن‌ها در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بود. همچنین، شکل‌های ۲ (ب) و ۲ (ج) نیز نشان می‌دهند که با حضور صمغ، منحنی توزیع اندازه قطرات نمونه‌های مربوطه به‌طور مشهودی به سمت چپ نمودار متمایل شده‌اند که بیانگر کاهش Z-average می‌باشد. به نظر می‌رسد کاهش اندازه قطرات به واسطه نقش امولسیفایری فاز محلول هر یک از صمغ‌ها باشد. وقتی که مخلوطی از امولسیفایرها در سامانه امولسیون حضور داشته باشند، مولکول‌های مختلف برای جذب به سطح مشترک روغن-آب با هم رقابت نموده و کشش بین سطحی را بیشتر کاهش می‌دهند که در نهایت منجر به کاهش اندازه قطرات خواهد شد. از طرف دیگر، حضور مقدار مناسبی از صمغ در ساختار نانوامولسیون به واسطه افزایش گرانیروی فاز پیوسته منجر به کاهش نرخ تصادم قطرات و کاهش به هم پیوستگی مجدد آن‌ها می‌شود که این امر نیز روی اندازه قطرات امولسیون تاثیرگذار خواهد بود [۱۷ و ۱۸].

نتایج این پژوهش نشان داد که حضور بخش محلول صمغ کتیرا در ساختار نانوامولسیون‌ها (فرمولاسیون F3)، در مقایسه با صمغ فارسی (فرمولاسیون F2) در کاهش اندازه ذرات موثرتر بود.

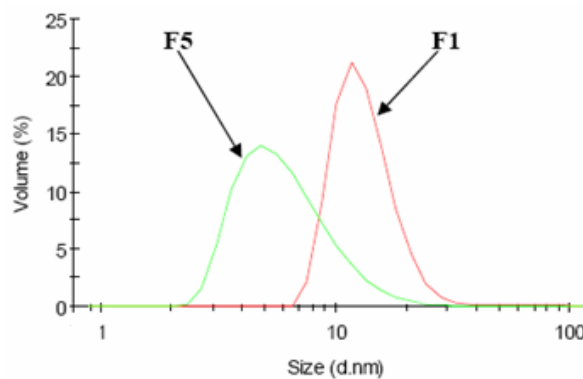
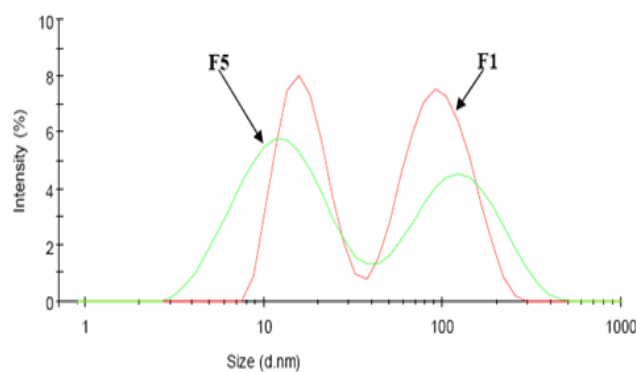
مقایسه میانگین‌های PDI نیز نشان داد که فرمولاسیون ۱ کمترین و فرمولاسیون ۴ بیشترین مقدار PDI را دارا بودند. به نظر می‌رسد حضور بخش محلول صمغ‌ها در سامانه نانوامولسیونی در افزایش شاخص PDI موثر بوده است.

(۲۰۰۷)، رائو و مک‌کلمنتس (۲۰۱۱) و لای و چیانگ (۲۰۱۲) نیز نشان دادند که در تولید امولسیون‌ها به غلظت بهینه‌ای از امولسیفایر نیاز است [۱۴، ۱۶ و ۱۸]. شکل‌گیری قطرات نانوامولسیون به واسطه برهم‌کنش دو پدیده، یعنی شکستن قطرات و دیگری، به هم پیوستگی قطرات تشکیل شده کنترل می‌شود. اگرچه فرایند فراصوت نیروی برشی مناسبی را برای شکستن قطرات فراهم می‌سازد، ولی نرخ به هم پیوستگی قطرات توسط فعالیت سطحی و غلظت امولسیفایر تعیین می‌شود [۱۶]. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که رابطه نزدیکی بین اندازه قطرات امولسیون و غلظت امولسیفایر وجود دارد. به نظر می‌رسد که در SOR پایین، به دلیل اندازه بسیار ریز ذرات اسانس و در نتیجه افزایش بیش از حد سطح مشترک، سورفاکتانت کافی برای جذب روی سطح قطرات تازه تشکیل شده، قبل از به هم پیوستگی آنها وجود ندارد و این امر منجر به افزایش اندازه قطرات می‌شود. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که افزایش SOR از ۱ تا ۲ به صورت معنی‌داری منجر به کاهش اندازه قطرات گردید، زیرا قطرات تازه تشکیل شده مقدار امولسیفایر کافی برای پایدار ماندن در اختیار داشتند. با این وجود، مقدار Z-average نمونه‌ها با افزایش SOR از ۲ تا ۳ روند افزایشی نشان داد. همچنین، شکل ۲ (الف) نیز نشان می‌دهد که با افزایش SOR از ۱ تا ۲، منحنی توزیع اندازه قطرات نمونه‌های مربوطه به‌طور مشهودی به سمت چپ نمودار متمایل شده‌اند که بیانگر کاهش Z-average می‌باشد. از آن‌جا که مساحت سطح کل قطرات، نرخ نفوذ و جذب سورفاکتانت به سطح قطرات تازه تشکیل شده، به غلظت سورفاکتانت وابسته‌اند، ممکن است سورفاکتانت اضافی منجر به کاهش نرخ نفوذ و در نتیجه به هم پیوستگی قطرات امولسیون گردد [۱۶].

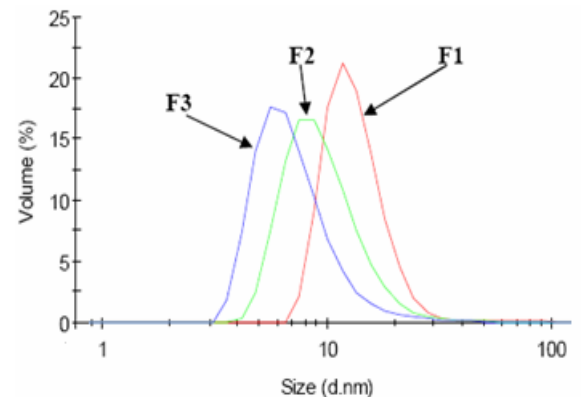
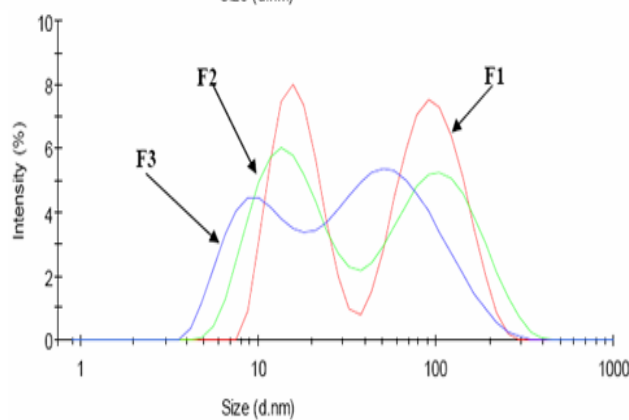
مقایسه میانگین‌های PDI نیز نشان داد که با افزایش SOR، شاخص بس‌پاشیدگی نمونه‌های حاصل روند افزایشی داشتند. به نظر می‌رسد افزایش نسبت امولسیفایر، از یک سو اندازه قطرات امولسیون را کاهش داده و از سوی دیگر حضور امولسیفایر اضافی در سامانه منجر به رشد اندازه قطرات و نیز توزیع اندازه آن‌ها و در نتیجه افزایش شاخص بس‌پاشیدگی شده است.



الف



ب



ج

شکل ۲ نمودارهای توزیع اندازه قطرات بر حسب حجم (راست) و شدت تفرق نور (چپ) الف) نانوامولسیون‌های حاوی ۱٪ اسانس و نسبت‌های مختلف Tween 80 (SOR برابر ۱، ۲ و ۳). ب) فرمولاسیون‌های F1 (بدون صمغ) و F5 (حاوی ۰/۲۵٪ فاز محلول صمغ فارسی و کتیرا به صورت ترکیبی با نسبت (۷۵ : ۲۵)). ج) فرمولاسیون‌های F1، F2 (حاوی فاز محلول صمغ فارسی) و F3 (حاوی فاز محلول کتیرا).

جدول ۲ مقایسهٔ تاثیر حضور صمغ (نوع فرمولاسیون) روی میانگین اندازهٔ قطرات، شاخص بس‌پاشیدگی و گرانیروی نانوامولسیون اسانس روغنی پوست پرتقال و مقدار انرژی مصرفی در حین فرایند.

ویژگی	Z-average (نانومتر)	PDI	گرانیروی (میلی پاسکالتیاه)	مقدار انرژی مصرفی (ژول)	نوع فرمولاسیون
Tween 80/۱:۲ اسانس (F1)	۳۰/۳۷ ^d	۰/۴۶۴ ^a	۱/۰۳۵ ^a	۱۴۹۹۰ ^a	
(F2) ۱:۱ اسانس + Tween 80/۰/۲۵ فاز محلول صمغ فارسی	۲۵/۳۹ ^c	۰/۵۰۸ ^{bc}	۱/۴۴۰ ^b	۱۵۵۳۶ ^c	
(F3) ۱:۱ اسانس + Tween 80/۰/۲۵ فاز محلول کتیرا	۲۲/۲۷ ^b	۰/۴۹۹ ^b	۱/۶۶۵ ^c	۱۵۲۷۴ ^b	
(F4) ۱:۱ اسانس + Tween 80/۰/۲۵ فاز محلول صمغ فارسی و کتیرا بصورت ترکیبی با نسبت (۵۰:۵۰)	۱۹/۶۱ ^a	۰/۵۳۶ ^d	۱/۹۵۵ ^c	۱۵۴۶۶ ^c	
(F5) ۱:۱ اسانس + Tween 80/۰/۲۵ فاز محلول صمغ فارسی و کتیرا بصورت ترکیبی با نسبت (۲۵:۷۵)	۱۹/۴۸ ^a	۰/۵۱۲ ^c	۱/۶۹۵ ^d	۱۵۲۰۸ ^b	

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند.

و ۱۸]. از طرفی مشاهده شد که نقش کتیرا در افزایش گرانیروی به‌طور معنی‌داری بیشتر از صمغ فارسی بود.

۳-۳-۲- رفتار جریان

با توجه به برازش داده‌های حاصل از شکل ۳ (الف) (نمودار تنش برشی در مقابل سرعت برشی) و نیز معادلهٔ برازش شده، مناسب‌ترین مدل پیش‌بینی شده به‌منظور تعیین رفتار جریان نانوامولسیون‌ها، مدل نیوتنی بود. همان‌گونه که در این شکل مشاهده می‌شود، سرعت برشی با تنش برشی رابطهٔ مستقیم دارد. همچنین مطابق آنچه که در شکل ۳ (ب) قابل مشاهده است، در محدودهٔ جریان آرام، گرانیروی مستقل از سرعت برشی می‌باشد که حاکی از آن است که محصول رفتار نیوتنی دارد. در ضمن، در نمودار تنش برشی- سرعت برشی نمونه‌ها، حلقهٔ پس‌ماند مشاهده نمی‌گردد. در شکل ۳ (ج) نیز مشاهده می‌شود که در سرعت برشی ثابت با افزایش زمان برش، گرانیروی ثابت و به‌عبارتی گرانیروی نمونه‌ها مستقل از زمان بوده است که در واقع این روند نیز بیانگر رفتار نیوتنی می‌باشد [۲۲ و ۲۳]. یادآوری می‌شود که چنین رفتاری در تمامی نمونه‌ها مشاهده شد. همچنین، تغییر قابل ملاحظه‌ای در رفتار جریان نمونه‌های منتخب پس از سه ماه نگهداری در دمای ۲۵°C مشاهده نگردید.

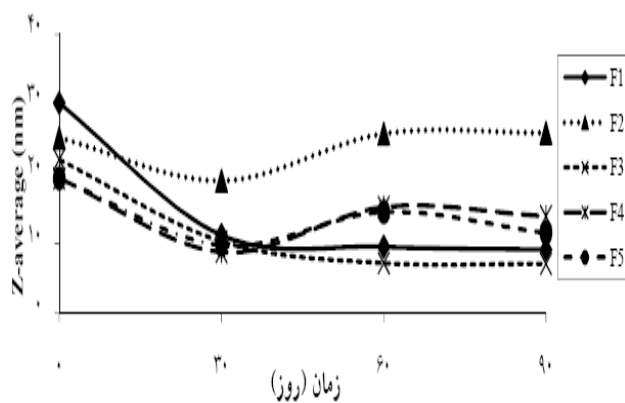
بزرگتر بودن مقدار عددی پتانسیل زتا در فرمولاسیون حاوی صمغ، به معنای وجود نیروی دافعهٔ بیشتر بین قطرات و تمایل کمتر آن‌ها برای به‌هم چسبیدن است که در این حالت قطرات یکدیگر را دفع نموده و سبب پایدار ماندن سامانه می‌شود [۹].

۳-۳-۳- ویژگی‌های رئولوژیکی

۳-۳-۱- گرانیروی

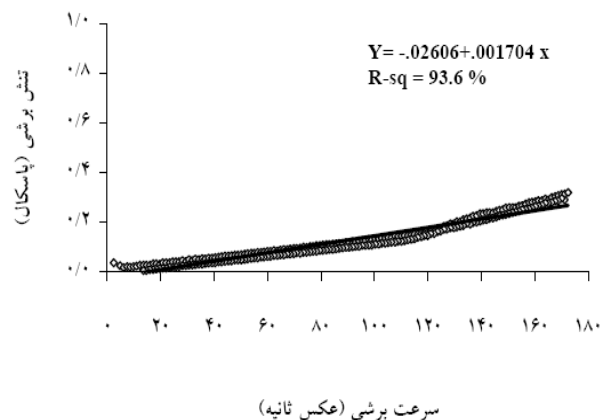
نتایج تجزیه و تحلیل آماری (جدول ۱ و ۲) نشان داد که تاثیر غلظت امولسیفایر و نیز حضور صمغ روی مقدار گرانیروی نمونه‌های حاصل معنی‌دار بود ($P < 0.001$). همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش SOR، گرانیروی نمونه‌ها به مقدار جزئی ولی به‌صورت معنی‌دار افزایش یافت. به نظر می‌رسد که با افزایش نسبت امولسیفایر، جزء وزنی فاز پیوستهٔ امولسیون و متعاقباً گرانیروی آن افزایش یافته و این تغییر منجر به افزایش گرانیروی کل سامانه شده است [۲۲ و ۲۳]. همچنین با حضور صمغ در ساختار نانوامولسیون‌ها، مقدار گرانیروی به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است، به‌طوری که فرمولاسیون ۱ کمترین و فرمولاسیون ۵ بیشترین مقدار گرانیروی را داشتند. به نظر می‌رسد که این افزایش به‌واسطهٔ ماهیت عملکردی و قابلیت صمغ‌ها در افزایش گرانیروی فاز پیوستهٔ امولسیون‌ها باشد [۱۷].

در کاربردهای تجاری و صنعتی ممکن است تعلیق‌های کلئیدی قبل از مصرف برای مدت زمان‌های متفاوتی نگهداری شوند. بر این اساس، به منظور بررسی تاثیر زمان نگهداری روی پایداری نانوامولسیون‌ها، نمونه‌های تولید شده (فرمولاسیون‌های ۱ تا ۵)، در دمای 25°C به مدت ۳ ماه نگهداری و در فواصل زمانی ۳۰ روز، میانگین اندازه قطرات آن‌ها ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد که تاثیر زمان نگهداری بر Z-average نمونه‌ها معنی‌دار ($P < 0.0001$) بود. روند تغییرات Z-average نمونه‌های مورد بررسی طی سه ماه نگهداری در دمای 25°C در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، مقدار Z-average نمونه‌های نگهداری شده در طی ۳۰ روز اول، با شیب بیشتر، روند کاهشی و پس از آن، با شیب بسیار کمتری، روند افزایشی داشته است. به نظر می‌رسد، روند کاهشی Z-average در طی ۳۰ روز اول به دلیل کاهش تدریجی سد انرژی جنبشی (Kinetic energy barrier) موجود در سامانه باشد که به تبع آن نمونه‌ها تدریجاً به حالت تعادل سینتیکی می‌رسند.

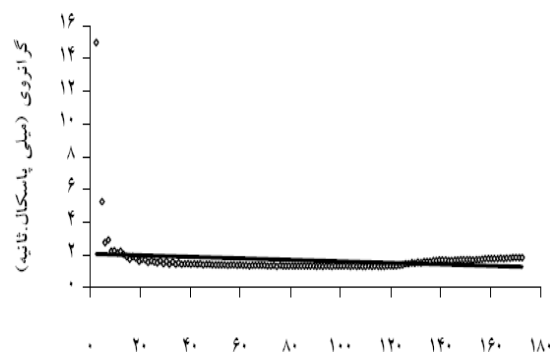


شکل ۴ روند تغییرات میانگین اندازه قطرات فرمولاسیون‌های مورد بررسی طی سه ماه نگهداری در دمای 25°C

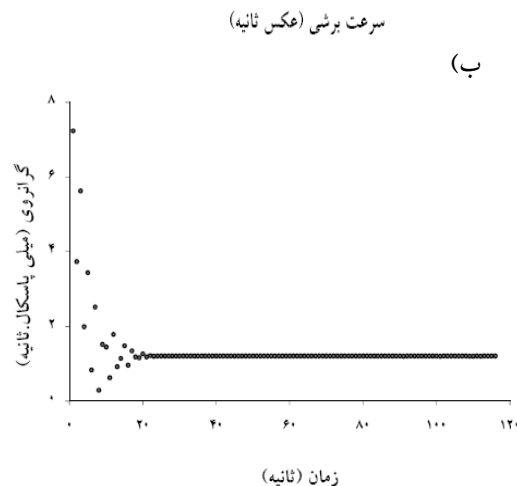
گزارش شده است که در سامانه‌های شامل روغن، آب و سورفاکتانت در دمای محیط یک سد انرژی جنبشی ناشی از وجود کشش بین سطحی روغن-آب وجود دارد که از رسیدن این سامانه‌ها به بالاترین حالت تعادل سینتیکی جلوگیری می‌نماید. احتمالاً با کاهش این سد در طول زمان، رسیدن سامانه به حالت تعادل سینتیکی افزایش می‌یابد [۱۴]. در حالی که، روند افزایشی Z-average بعد از ۳۰ روز اول، به واسطه تصادم قطرات و نیز پدیده‌هایی از جمله به هم پیوستگی مجدد



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۳ نمودارهای رفتار جریانی نانوامولسیون‌های اسانس روغنی پوست پرتقال: (الف) تنش برشی در مقابل سرعت برشی، (ب) گرانشی در مقابل سرعت برشی و (ج) گرانشی در مقابل زمان دمای 25°C .

۳-۴- پایداری فیزیکی نانوامولسیون‌ها

نانوامولسیون‌های پایدار را داشتند و حضور آن‌ها در فرمولاسیون تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده داشت. همچنین، رفتار جریان‌ی نانوامولسیون‌های تولید شده شبیه رفتار نیوتنی بود و تاثیر مدت زمان نگهداری نیز بر مقدار Z-average نمونه‌ها بسیار معنی‌دار بود.

۵- منابع

- [1] Teixeira, M.I., Andrade, L.R., Farina, M. and Rocha-Leao, M.H.M. 2004. Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. *Mater. Sci. Eng.*, C. 24, 653–658.
- [2] Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., Cellier, J. and Duke, P.A.K. 2002. *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press. London.
- [3] Ashurst, P.R. 1999. *Food Flavorings*. Aspen Publishers, Inc. Maryland.
- [4] Peter, S., Given, J.R. 2009. Encapsulation of flavors in emulsions for beverages. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 14, 43–47.
- [5] Deman, J.M. 1990. *Principles of Food Chemistry*. (2nd Ed). Van Nostrand Reinhold. New York.
- [6] Gutierrez, J.M., Gonzalez, C., Maestro, A., Sole, I., Pey, C.M. and Nolla, J. 2008. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 13, 245–251.
- [7] Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J. and Solans, C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci.* 108–109, 303–318.
- [8] Tang, S.Y., Manickam, S., Wei, T.K. and Nashiru, B. 2012. Formulation development and optimization of a novel Cremophore EL-based nanoemulsion using ultrasound cavitation. *Ultrason. Sonochem.* 19, 330–345.
- [9] Mao, L., Xu, D., Yang, J., Yuan, F., Gao, Y. and Zhao, J. 2009. Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization. *Food Technol. Biotechnol.* 47 (3): 336–342.
- [10] Silva, H.D., Cerqueira, M.N. and Vicente, A.A. 2012. Nanoemulsions for food applications: Development and characterization. *Food Bioprocess Tech.* 5, 854–867.

آن‌ها و رسیدگی استوالد (Ostwald ripening) می‌باشد که متعاقباً منجر به افزایش اندازه قطرات می‌شوند [۱۴ و ۱۸].

۳-۵- تاثیر متغیرهای اعمال شده روی میزان انرژی مصرفی در فرایند امولسیون‌سازی با فراصوت

نتایج تجزیه و تحلیل آماری (جداول ۱ و ۲) نشان داد که تاثیر غلظت امولسیفایر و نیز حضور صمغ روی مقدار انرژی مصرفی در فرایند امولسیون‌سازی با فراصوت معنی‌دار بود ($P < 0.0001$). همان‌گونه که مشاهده می‌شود، با افزایش SOR و نیز حضور صمغ در ساختار نانوامولسیون‌ها، انرژی بیشتری برای تولید نمونه‌های مربوطه صرف شده است. همان‌طور که پیش‌تر نیز گفته شد، با افزایش SOR و یا حضور صمغ در فرمولاسیون، گرانی‌وز فاز پیوسته امولسیون افزایش می‌یابد. از آن‌جاکه گرانی‌وز از عوامل موثر بر آستانه حفره‌زایی (کاویتاسیون) در فرایند فراصوت به‌شمار می‌رود [۲۴]، لذا پیش‌بینی می‌شود که با زیاد شدن گرانی‌وز و به تبع آن بالا رفتن آستانه کاویتاسیون، مقدار مصرف انرژی در حین فرایند فراصوت افزایش یابد.

۴- نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان دادند که تشکیل نانوامولسیون اسانس روغنی پوست پرتقال با فرمولاسیون‌های حاوی ۱٪ اسانس و نسبت‌های مختلف Tween 80 ($1 \leq \text{SOR} \leq 3$) بهره‌گیری از روش امولسیون‌سازی با فراصوت امکان‌پذیر است. همچنین، غلظت امولسیفایر تاثیر بسیار معنی‌داری بر ویژگی‌های سامانه‌های نانوامولسیونی داشت. در ضمن، نوع امولسیفایر نیز روی تشکیل نانوامولسیون‌های پایدار تاثیر داشت. به‌طوری‌که امکان حذف امولسیفایر (Tween 80) با جایگزینی آن توسط امولسیفایرهای پروتئینی برای تشکیل نانوامولسیون پایدار میسر نگردید و تنها WPI توانست به‌صورت ترکیبی با Tween 80 نمونه‌های پایداری تشکیل دهد. به‌علاوه مشاهده شد که امکان تشکیل نانوامولسیون پایدار، تنها با به‌کارگیری صمغ و بدون حضور امولسیفایر میسر نگردید. همچنین، مشخص شد که تنها بخش محلول صمغ‌های فارسی و کتیرا (به‌صورت تکی و ترکیبی) به همراه امولسیفایر قابلیت به‌کارگیری در ساختار و تشکیل

- particle size. *Food Hydrocolloid*. 25, 1000–1008.
- [18] Jafari, S.M., He, Y. and Bhandari, B. 2007. Effectiveness of encapsulating biopolymers to produce sub-micron emulsions by high energy emulsification techniques. *Food Res. Int.* 40, 862–873.
- [19] Mohammadi, S., Abbasi, S. and Hamidi, Z. 2011. Effects of hydrocolloids on physical stability, rheological and sensory properties of milk–orange juice mixture. *Iranian J. Nutr. Sci. and Food Technol.* 5 (4): 1–12. (in Farsi)
- [20] Abbasi, S. and Rahimi, S. 2005. Influence of concentration, temperature, pH, and rotational speed on the flow behavior of Iranian gum tragacanth (Katira) solution. *Iranian J. Food Sci. Technol.* 2 (4): 29–42. (in Farsi)
- [21] Abbasi, S., Mohammadi, S. and Rahimi, S. 2011. Partial substitution of gelatin with Persian gum and use of Olibanum in production of functional pastille. *Iranian J. Biosystems Eng.* 42 (1): 121–131. (in Farsi)
- [22] Barnes, H. A. 2008. *A Handbook of Elementary Rheology*. Abbasi, S. Marz-e-Danesh Publications. Tehran. (in Farsi)
- [23] Bourne, M. C.. 2007. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Abbasi, S. Marz-e-Danesh Publications. Tehran. (in Farsi)
- [24] Mason, T.J. 1999. *Sonochemistry*. (First Ed). Oxford University Press Inc. New York.
- [11] McClements, D.J. 2005. *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques*. (2nd Ed). CRC Press, Boca Raton. Florida.
- [12] Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N. and Garcia-Celma, M.J. 2005. Nano-emulsions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 10, 102–110.
- [13] Jafari, S.M., He, Y. and Bhandari, B. 2007. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *J. Food Eng.* 82, 478–488.
- [14] Rao, J. and McClements, D.J. 2011. Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Influence of composition and preparation method. *J. Agric. Food Chem.* 59, 5026–5035.
- [15] Kentish, S., Wooster, T.J., Ashokkumar, M., Balachandran, S., Mawson, R. and Simons, L. 2008. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innov. Food Sci. Emerg.* 9, 170–175.
- [16] Li, P.H. and Chiang, B.H. 2012. Process optimization and stability of D-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* 19, 192–197.
- [17] Qian, C. and McClements, D.J. 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting

Effect of emulsifiers and local gums on the formation, some physical and rheological properties of orange peel essential oil nanoemulsions

Mir Majidi, A. ¹, Abbasi, S. ^{2*}, Hamidi Esfahani, Z. ², Azizi, M. H. ³

1. PhD student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares, Tehran–Iran.
2. Associate Prof, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran–Iran.
3. Prof, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran–Iran.

(Received: 92/1/27 Accepted: 92/11/7)

In the present study, the influence of various emulsifiers (Tween 80, Tween 60, Tween 20, Sodium caseinate, WPC and WPI), ratio of emulsifier (Tween 80) to oil phase (orange peel essential oil) at eight levels (1, 1.5, 1.75, 2, 2.25, 2.5, 2.75, and 3:1), and the possibility of using complete form, soluble and insoluble fractions of the two native gums (Persian gum and gum tragacanth) individually and combined in the formulations on the formation and some properties of orange peel essential oil nanoemulsions was evaluated. Ultrasonic emulsification technique was used to produce nanoemulsions and the mean droplet diameter (Z-average), polydispersity index, viscosity, flow behavior, physical stability of selected formulations during storage (up to 90 days at 25°C), as well as the total input energy during process was evaluated. Our results showed that surfactant-to-oil ratio (SOR) had a significant effect on the mentioned properties ($P < 0.0001$) where the lowest Z-average was observed at $SOR=2$. Meanwhile, none of the local gums and proteins were able to form nanoemulsions in the absence of emulsifier (Tween 80). Moreover, their soluble fractions (individually and combined at reasonably low concentration) showed significant effect ($P < 0.0001$) on the measured properties in the presence of emulsifier. Furthermore, the flow behavior of nanoemulsions was Newtonian, and the effect of storage time on the Z-average value was significant ($P < 0.0001$).

Keywords: Nanoemulsions, Emulsifier, Gum, Orange peel essential oil, Rheology.

* Corresponding Author E-Mail Address: sabbasifood@modares.ac.ir