

مدل‌سازی و بهینه‌سازی کیفی و پایداری نانوکمپلکس‌های کلوئیدی جهت کاربرد در نوشیدنی‌های اسیدی شفاف

شقایق شیخ زاده^۱، محمد علیزاده^{*۲}، محمود رضازاد^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۰۸)

چکیده

امروزه کاربرد پلیمرهای طبیعی زیست تحریب‌پذیر از جمله پروتئین‌ها و پلی‌ساقاکاریدها در تهیه نانو ذرات در صنایع غذایی و دارویی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. این پژوهش با هدف مدل‌سازی و بهینه‌سازی تولید نانوکمپلکس‌های سه جزئی پروتئین، پلی‌ساقاکارید و امولسیفایر کوچک مولکول و بررسی پایداری آنها با استفاده از طرح Box-Behnken گرفت. برای هر پاسخ با استفاده از آنالیز رگرسیون خطی چندگانه، مدل‌های چند جمله‌ای درجه دوم به دست آمد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مدل‌های همه پاسخ‌ها بسیار معنی دار بودند ($p < 0.0001$). همچنین همه مدل‌های پیش‌بینی شده دارای ضرایب تبیین و تبیین اصلاح شده بالایی بودند که تضمین کننده برآورش رضایت‌بخش مدل‌های رگرسیون به داده‌های آزمایشی است. با استفاده از روش تابع مطلوبیت شرایط فرآوری بهینه بر حسب غلظت سدیم کازرینات (۱۵٪)، غلظت صمغ عربی (۵۴٪)، غلظت تویین (۲۰٪) و pH (۴/۹۷) بدست آمد. در این نقطه بهینه، اندازه ذرات (۶۷/۸ نانومتر)، اسپن (۰/۹۰)، کدورت (۰/۲۴)، رشد اندازه ذرات (۰/۰۳۴)، رشد توزیع اندازه ذرات (۰/۰۰۳) و رشد کدورت نانوکمپلکس‌ها (۰/۰۱۶) بدست آمد. میزان تابع مطلوبیت بهینه سازی ۰/۸۷ بود که نشان دهنده برآورده شدن مطلوب اهداف می‌باشد. در نتیجه نانو ذرات بدست آمده را می‌توان به عنوان سیستم حامل مواد مغذی جهت استفاده در غذاهای عملگرا و محصولات نوشیدنی شفاف با pH پایین مورد استفاده قرار داد.

کلید واژگان: نانو ذرات، بیوپلیمر، کدورت، پایداری، سطح پاسخ.

*مسئول مکاتبات: m.alizadeh@urmia.ac.ir

۱- مقدمه

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که به منظور برآذش مدلی که پارامترهای ورودی فرآیند و پاسخ‌های خروجی را به هم ارتباط می‌دهد، استفاده می‌شود [۸] و همچنین بطور گستره‌ای برای بهینه سازی فرآیندها در صنایع غذایی به کار می‌رود.

هدف این پژوهش بدست آوردن نانوفرمولاسیون جدید برای کپسوله کردن مواد فعال آب گریز با استفاده از پلیمرهای طبیعی (پروتئین و پلی ساکارید) و بدون استفاده از سورفاکtant سمی و یا مواد کراس لینک کننده که همه به نوعی برای سلامتی مضر هستند، می‌باشد. از طرفی دیگر در این مطالعه از یک روش ساده و بدون نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی پیشرفتی از جمله هموژنیزاتور و امواج فرا صوت استفاده شده است، که بسیار ارزان قیمت و با صرفه می‌باشد. همچنین در اکثر روش‌های تهیه نانوذرات از pH ۷ یا بالاتر استفاده می‌شود و موقع افروختن این نانوذرات به محصولات لبنی و نوشیدنی اسیدی، این نانوذرات سریعاً دچار ناپایداری و رسوب و درنتیجه رهاسازی ماده فعال می‌شوند. بدین منظور برای غنی سازی این محصولات نیاز به نانوذراتی داریم که در شرایط اسیدی تهیه شده باشند و در محیط اسیدی به مدت حداقل یک ماه پایدار باشند. در مطالعه حاضر نانوذرات در pH های ۵-۴/۸ و ۵/۲ تهیه شدند و غلظتها مختلف پلیمرها با استفاده از روش سطح پاسخ برای بدست آوردن شرایط بهینه با کوچکترین اندازه ذرات، بالاترین یکنواختی اندازه ذرات، کمترین کدورت و بالاترین پایداری (حداقل رشد اندازه و توزیع اندازه ذرات و حداقل رشد کدورت)، جهت استفاده در محصولات غذایی و نوشیدنی‌های اسیدی شفاف مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

۱-۲ مواد

سدیم کارزینات از شرکت DMV هلند تهیه شد. صمغ عربی از شرکت شارلو اسپانیا و تویین ۲۰ از شرکت سیگما آمریکا خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آمان تهیه شدند.

۲-۲ روش ها

۱-۲-۲ ۱-آماده سازی محلول ها

از مزایای مهم سیستم‌های حامل کلوئیدی توانایی آنها در افزایش ریست دسترسی مواد فعال آب گریز بدون دخالت در ویژگیهای عملکردی محصول از جمله ظاهر، پایداری، بافت و مزه آن است [۱]. نانو ذرات بیopolymerی، ساختارهای کلوئیدی هستند که از یک یا چند نوع مولکول بیopolymerی که کاربردهای بالقوه متعددی در صنعت غذایی دارند، تشکیل شده‌اند [۲]. اخیراً به علت افزایش علاقه به استفاده از بیopolymerهای طبیعی در محصولات غذایی، پروتئین‌ها به طور گستره‌ای در تهیه نانوذرات مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال، پایداری محلول‌های کلوئیدی تهیه شده با پروتئین، بسیار به شرایط محیطی وابسته است و در محیط‌های با قدرت یونی بالا pH پایین و دمای بالا سریعاً ناپایدار می‌شوند [۳]. حضور لایه پلی ساکاریدی اطراف قطرات پروتئینی منجر به بهبود پایداری امولسیون پروتئینی نسبت به استرسهای محیطی و تغییر رفتار رئولوژیکی محلول کلوئیدی می‌شود [۳]. در واقع تشکیل کمپلکس‌های الکترواستاتیکی غیر کوالانسی بین پروتئین و پلی ساکارید منجر به تشکیل ویژگیهای متفاوتی در مقایسه با دو بیopolymer بصورت مجرماً می‌شود، که به علت اثر سینزیزیستی ویژگیهای عملکردی پروتئین و پلی ساکارید می‌باشد. پروتئین کازین به علت غیررسمی، ارزان بودن، دسترسی آسان و ویژگی‌های عملکردی خوب، در میان پروتئین‌هایی که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، به عنوان حامل ترکیبات مغذی بیشترین توجه را به خود جلب کرده است [۴]. صمغ عربی نیز به علت ویژگی‌های فیزیکی و عملکردی بسیار عالی شامل حلalیت بالا، پایداری pH، غیررسمی بودن و ویژگی‌های امولیسیفاری خوب به عنوان پلی ساکارید کاربرد زیادی دارد [۵]. سورفاکtant‌های غیریونی از جمله سری تویین نسبت به سورفاکtant‌های یونی به علت غیررسمی بودن در صنایع غذایی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند [۶]. تویین ۲۰، استر اسیدچرب سوربیتان پلی اکسی‌اتیلن می‌باشد که به طور گستره در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷]. در بسیاری از مطالعات موجود در زمینه تهیه نانو ذرات، از سورفاکtant‌ها، حللهای سمی و مواد مصنوعی به منظور پایداری سیستم استفاده شده است و یا تجهیزات و دستگاههایی مورد نیاز بوده که به هزینه و انرژی زیادی نیاز دارند.

توزیع اندازه ذرات با استفاده از عدد اسپن (معادله ۲) که بهنای منحنی توزیع اندازه ذرات و شاخص یکنواختی قطر ذرات است محاسبه شد:

$$\text{Span} = D(90\%) - D(10\%)/D(50\%) \quad (معادله ۲)$$

۲-۳-۲ اندازه گیری کدورت

کدورت نمونه‌ها ۱ روز بعد از تهیه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-سماورابنفش در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. دقیق جذب نوری این دستگاه $\text{abs}_{0/0.3}$ می‌باشد. به منظور اندازه گیری کدورت سیستم‌های کمپلکس، نمونه‌ها قبل از آزمون به منظور اطمینان از همگن بودن ذرات و جلوگیری از هر گونه تغییر در کدورت ناشی از رسوب احتمالی ذرات، به مدت ۲ تا ۳ ثانیه توسط ورتسکس به شدت همزده شدند. از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد.

۲-۳-۳ بررسی پایداری نانو ذرات

زمانیکه نانو ذرات بیوپلیمری وارد یک سیستم غذایی می‌شوند باید در طول مدت زمان مورد انتظار ماندگاری محصول، پایدار باقی بمانند. به منظور تعیین میزان پایداری نانوکمپلکس‌های ۳ جزئی تولیدی، اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و کدورت محلولهای کلولیتی بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد.

۲-۳-۴ تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه اثر ۴ متغیر مستقل شامل غلاظت سدیم کازئینات (A)، غلاظت صمغ عربی (B)، غلاظت تویین (C) و pH (D) در ۳ سطح با بکارگیری طرح آماری Box- Behnken مورد ارزیابی قرار گرفت. با کاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص‌های اندازه گیری شده در قالب یک چند جمله‌ای درجه دوم طبق معادله ۳ مدلسازی شدند.

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_1 x_1 + \sum \beta_{ij} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (\text{معادله } 3)$$

Y_i پاسخ پیش‌بینی شده و β_0 ضریب ثابت، اثرات خطی، اثر مربعات و β_{ij} اثرات متقابل هستند و X_i متغیرهای مستقل کابنده شده هستند. مقادیر ضرایب تبیین (R^2) و ضرایب تبیین اصلاح شده ($-\text{adj}R^2$) به منظور نشان دادن کفایت برازش مدل مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودار از نرم‌افزار SAS نسخه ۹,۲ استفاده شد.

محلول‌های سدیم کازئینات، صمغ عربی و تویین ۲۰ با افزودن تدریجی مقادیر مورد نیاز از آنها به بافر فسفات ۵ میلی مولار pH ۷ در ظروف جداگانه و تحت همزن مغناطیسی با سرعت متوسط تهیه شدند [۹]. محلول‌ها دارای ۰٪ سدیم آزید به عنوان عامل ضد میکروبی بودند. محلول‌ها باید بمدت یک شبانه روز در دمای ۴ درجه سانتی گراد به منظور جذب کامل آب نگهداری شوند [۹]. قبل از استفاده، محلول‌ها به منظور حذف ذرات جامد نامحلول و جباب‌های هوا تحت دور rpm ۶۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند.

۲-۲-۲ تهیه نانوکمپلکس

مطابق غلاظت‌های مورد نظر در طرح (جدول ۱)، به محلول سدیم کازئینات تهیه شده از روز قبل، غلاظتهای مختلفی از صمغ عربی و تویین ۲۰ بصورت قطره قطره در دمای محیط و دور همزن ۵۰۰ rpm با نسبت حجمی ۱:۱:۱ افزوده شد [۹]. سپس فاز آبی شامل حلال اتانول قطره قطره به فاز آبی (محلول سدیم کازئینات / صمغ عربی / تویین ۲۰) که در حال همزده مداوم بر روی همزن می‌باشد اضافه گردید [۱۰]. در مرحله بعدی با استفاده از سرنگ انسولین ۸۳۰ تیتر کردن تا pH ۱۰ های مورد نظر در طرح با هیدروکلریک اسید ۰/۱ و ۱/۰ نرمال در دمای اتاق انجام گرفت. pH محلول‌ها به طور مداوم توسط pH متر اندازه گیری شد. محلول مورد نظر به مدت ۱ ساعت در دمای محیط و دور همزن ۵۰۰ rpm همزده شد. سپس حلال اتانول موجود در محلول با استفاده از دستگاه روتاری اوپرатор تحت خلا تبخیر شد.

۲-۳ روش انجام آزمون‌ها

۲-۳-۱ تعیین اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات اندازه گیری توزیع اندازه ذرات و میانگین قطر حجمی ذرات با استفاده از دستگاه آنالیز کننده تفرق نوری لیزری مدل Shimadzu, SALD 2101 (Shimadzu, SALD 2101) ساخت ژاپن انجام شد. دقیق اندازه گیری قطر ذرات این دستگاه ۱۰ نانومتر تا ۵۰۰ میکرومتر می‌باشد. اندازه ذرات براساس میانگین قطر حجمی ذرات گوارش شد.

در معادله (۱)، n_i تعداد ذرات با قطر d_i می‌باشد.

$$D [4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (\text{معادله } 1)$$

Table 1. Levels and codes of independent variables used in the RSM design

Independent Variables	Symbol	Coded levels			Interval
		-1	0	1	
Sodium caseinate (% w/w)	A	0.1	0.2	0.3	0.1
Arabic gum (% w/w)	B	0.5	0.75	1	0.25
Tween 20 (% w/w)	C	0	0.1	0.2	0.1
pH	D	4.8	5	5.2	0.2

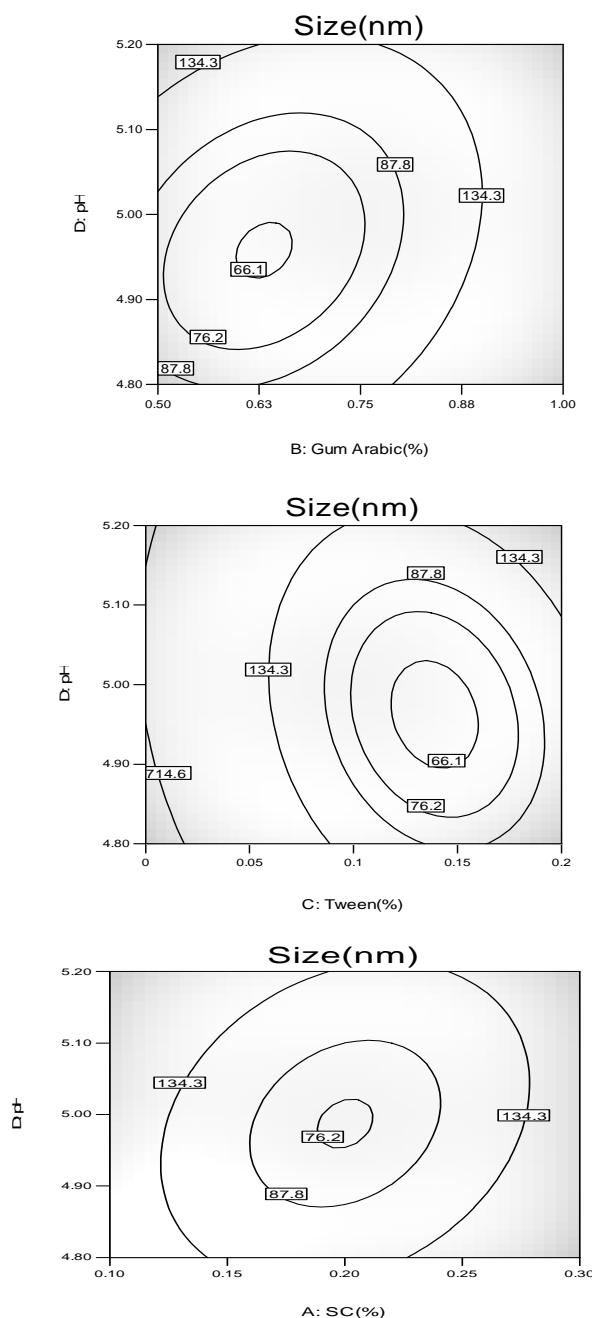


Fig 1 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on Ln (particle size). a) SC and pH, b) GA and pH, c) pH and T20.

۵-۳-۲ بهینه سازی

به منظور بهینه سازی پاسخ های موثر در تولید نانوذرات پایدار از روش تابع مطلوبیت استفاده شد. در روش تابع مطلوبیت، مطلوبیت آماری بین صفر و یک است. سطح پایین آن نشان دهنده عدم دستیابی به هدف مورد نظر می باشد و سطح بالای آن نشان دهنده برآورده شدن کامل هدف مورد نظر می باشد. وقتی هدف، بهینه سازی چندین پاسخ بطور همزمان باشد، مطلوبیت هر یک از پاسخ ها تعیین شده و میانگین هندسی آنها به عنوان شاخص برآورده شدن همزنمان هدف ها مورد استفاده قرار می گیرد. در این مطالعه بهینه سازی با رسیدن به اهداف حداقل اندازه، حداقل توزیع اندازه ذرات و حداقل کدورت و همچنین رسیدن به بالاترین میزان پایداری یعنی حداقل رشد اندازه، حداقل توزیع اندازه ذرات و حداقل رشد کدورت انجام شد.

۳- نتایج و بحث

pH یکی از مهم ترین فاکتورهای موثر بر تشکیل کمپلکسهای پروتئین - پلی ساکاریدی می باشد. زیرا pH تعداد گروههای بااردار حمل شده توسط بیو پلیمرها (گروههای آمینو و کربوکسیلات) را تحت تاثیر قرار می دهد [11].

وابستگی اندازه ذرات به pH و غلظت سدیم کازینیات در شکل ۱-الف نشان داده شده است. با توجه به شکل مشاهده می شود که اندازه ذرات ابتدا کاهش و سپس بطور قابل توجهی با افزایش هر دو فاکتور pH و غلظت سدیم کازینیات افزایش یافت و کوچکترین اندازه ذرات وقتی که pH و غلظت سدیم کازینیات به ترتیب ۴/۹۸ و ۰/۱۸٪ بود، بدست آمد.

در شکل ۱-ب اثر متقابل بین غلظت صمغ عربی و pH بر اندازه ذرات را وقتی که غلظت های توابیع ۲۰ و سدیم کازینیات به ترتیب در ۰/۱ و ۰/۲٪ ثابت در نظر گرفته شده است، را نشان می دهد.

صمغ عربی می‌باشد. در واقع زمانیکه پروتئین نزدیک به حالت خشتش قرار دارد به حضور پلی‌ساقارید به منظور جلوگیری از تجمع بسیار وابسته است [۱۲]. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات و صمغ عربی تاثیر pH بر اندازه ذرات کاهش یافت. نتیجه بدست آمده در تطابق کامل با مطالعه weinbreck است [۱۳]. اندازه ذرات همانطور که غلظت تویین ۲۰ در رنج ۰ تا ۱۴٪ افزایش و pH در رنج ۵/۲ تا ۵ کاهش یافت، کوچکتر شد (شکل ۱-ج).

اما حدوداً در غلظت ۱۴٪ تویین ۲۰ و pH ۵/۲ اندازه ذرات افزایش یافت، که نشان دهنده اثر معنی‌دار تویین ۲۰ و pH بر اندازه ذرات است. آنالیز حاصل از داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل سدیم کازئینات-صمغ عربی بر اندازه ذرات معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.01$) (p). زمانیکه در غلظت ثابتی از صمغ عربی (۰/۰۵٪) غلظت سدیم کازئینات از ۰/۱ به ۰/۳٪ افزایش می‌یابد، اندازه ذرات سیستم بطرور قابل توجهی افزایش یافت.

همانطور که مشاهده می‌شود اندازه ذرات ابتدا با کاهش غلظت صمغ عربی از ۱ به ۰/۶۸٪ و pH از ۵/۲ به ۴/۹۵ کاهش یافت. اما در غلظت پایین صمغ عربی و pH پایین، اندازه ذرات افزایش یافت. در واقع در غلظت صمغ عربی اندازه ذرات کوچکترین ذرات با قطر میانگین ۷۶-۷۲ نانومتر بدست آمدند و خارج از این رنج، اندازه ذرات افزایش یافت. همانطور که در شکل ۱-ب مشاهده می‌شود بر همکنش دو طرفه بین غلظت صمغ عربی و pH، با توجه به نمودار کانتورپلات بیضوی شکل، معنی‌دار است. با کاهش pH از ۵/۲ به ۵، اندازه ذرات از ۲۰۵ نانومتر به ۷۵ نانومتر کاهش یافت. با کاهش pH، صمغ عربی بیشتری مورد نیاز است، زیرا همانطور که pH کاهش می‌یابد، قسمت‌های باردار مثبت مولکول‌های سدیم کازئینات افزایش می‌یابد. بنابراین غلظت مورد نیاز صمغ عربی که دارای مولکول‌های با بار منفی می‌باشد برای واکشن با آنها به منظور تولید ذرات کوچک افزایش می‌یابد. در pH ۴/۸ نزدیک به PI سدیم کازئینات اندازه ذرات شدیداً تحت تاثیر غلظت

Table 2 Regression coefficients of the second-order polynomial model for the response variables (analysis has been performed using coded units)

Factors	Ln(size)	SE ^a	Ln (Span)	SE ^a	Ln (Turbidity)	SE ^a	Ln(size growth)	SE ^a	Ln (span growth)	SE ^a	Sqrt (Turbidity growth)	SE ^a
Linear	4.321	0.098	-0.245	0.104	-0.816	0.073	-3.63	0.336	-5.846	0.276	0.13	0.024
A	-0.025ns	0.066	-0.100ns	0.092	0.576***	0.059	0.55*	0.165	0.688***	0.129	-0.041*	0.014
B	0.573***	0.055	-	-	0.427***	0.063	-0.066ns	0.180	0.605**	0.153	-0.021ns	0.019
C	-0.914***	0.057	-0.700***	0.123	-0.147*	0.059	1.72***	0.250	0.792**	0.188	0.006ns	0.023
D	0.062ns	0.047	-0.215ns	0.093	-0.114ns	0.085	0.19ns	0.171	-0.105ns	0.140	0.067***	0.016
Interaction												
AB	0.718*	0.170	-	-	-	-	-	-	-0.731*	0.239	-	-
AC	-1.234***	0.140	-1.38***	0.195	-	-	-	-	1.129**	0.239	-	-
AD	-0.346**	0.074	0.496*	0.128	-	-	-	-	-	-	-	-
BC	-	-	-	-	-	-	-	-	1.498**	0.311	-0.095*	0.043
BD	-0.298*	0.085	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CD	0.305*	0.085	1.033**	0.248	-	-	-	-	-	-	-	-
Quadratic												
A ²	1.002***	0.096	0.768***	0.130	-	-	0.92*	0.255	1.875***	0.211	0.72**	0.023
B ²	0.668***	0.089	-	-	-	-	0.57*	0.259	0.682*	0.214	-	-
C ²	1.246***	0.081	1.510***	0.137	0.333**	0.085	2.44***	0.314	2.349***	0.242	0.17***	0.027
D ²	0.486***	0.081	-	-	0.261*	0.084	1.22**	0.262	1.262***	0.215	0.08**	0.023
R ²	0.984		0.938		0.879		0.867		0.950		0.834	
Adj-R ²	0.967		0.910		0.848		0.805		0.913		0.756	
F-value	58.955		34.196		27.98		13.95		26.02		10.71	
Probability of F	<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001		<0.0001	

A: SC concentration (wt%); B: GA concentration (wt%); C: T20 concentration (wt%); D: pH. a:Standard Error

n.s.: Non significant. Significant at * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ & *** $P < 0.0001$.

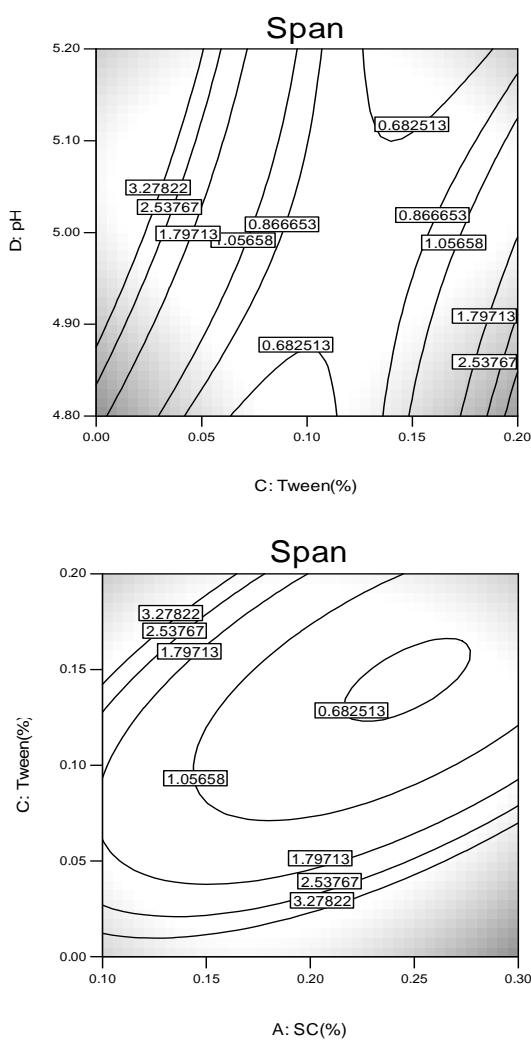


Fig 2 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on span. a) SC and T20, b) pH and T20.

۳-۳- بررسی کدورت

اظاهر محصول یکی از مهمترین ویژگی های کیفی محصولات غذایی می باشد. کدورت محلولهای کلوریدی به متوسط اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات، غلظت و شاخص انكساری نسبی هر ذره موجود در محلول بستگی دارد [۱۶] بنابراین تغییر در کدورت نشان دهنده تغییر در اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و غلظت می باشد [۱۶]. کدورت محلولهای کلوریدی خالص و محلولهای حاوی نانوذرات به عنوان تابعی از غلظت اجزا و pH مورد بررسی قرار گرفت. با کاهش pH از ۷ تا ۴، محلول خالص صمع عربی شفاف ماند و کدورت محلول تغییری نکرد و نزدیک به صفر بود. زیرا ذرات به علت دافعه الکترواستاتیکی قوی بین مولکول های دارای بار منفی پلی ساکارید، تمایل به تجمع و تشکیل ذرات بزرگتر را ندارند و تحت تاثیر pH قرار

زیرا با افزایش غلظت سدیم کازئینات در غلظت ثابت صمع عربی، مولکول های پلی ساکارید موجود در سیستم به منظور پوشاندن کامل سطح مولکول های پروتئین ناکافی می باشند و بیش از یک مولکول پروتئین به طور همزمان به یک زنجیره پلی ساکاریدی متصل می شوند [۱۴]، در نتیجه پدیده انبوهش ناشی از تشکیل پل رخ می دهد [۱۵]. به علت کافی نبودن دافعه الکترواستاتیکی ناشی از بارهای سطحی ذرات، در غیاب توزیع ۲۰ ذرات پس از برخورد بهم پیوسته و در نتیجه افزایش اندازه ذرات و در نتیجه رسوب ذرات در غیاب توزیع ۲۰ رخ داد. در حالیکه توزیع ۲۰ به عنوان مانع (پایداری استری) از نزدیک شدن ذرات، تجمع و افزایش اندازه ذرات سیستم جلوگیری کرده و نمونه های دارای توزیع ۲۰ دارای اندازه ذرات کوچکتری بودند.

۲-۳- فاکتورهای موثر بر توزیع اندازه ذرات (اسپن)

تاثیر ۴ متغیر مستقل بر مقدار اسپن با ضرایب معادله رگرسیونی چند جمله ای درجه دو در جدول ۲ مشاهده می شود. ضریب تبیین این مدل ۰/۹۳۸ بود که نشان دهنده شایستگی مناسب مدل برای پاسخ اسپن می باشد. مطابق با شکل ۲-الف، مشاهده می شود که هر دو متغیر سدیم کازئینات و توزیع ۲۰، شاخص اسپن را تحت تاثیر قرار می دهند. مقدار اسپن با افزایش غلظت سدیم کازئینات، افزایش يافت. به عبارتی در غلظت های بالاتر سدیم کازئینات، سیستم دارای ذرات ناهمگون بیشتری نسبت به غلظت های پایین تر سدیم کازئینات می باشد. با افزایش غلظت توزیع ۲۰ از ۰ تا ۱/۰٪، مقدار اسپن به طور قابل توجهی کاهش یافت. اثر متقابل بین غلظت توزیع ۲۰ و pH بر اسپن زمانیکه غلظت صمع عربی و غلظت سدیم کازئینات به ترتیب در ۰/۰/۷۵٪ و ۰/۰/۲٪ ثابت نگه داشته شد، نشان داد که مقادیر اسپن ابتدا با افزایش غلظت توزیع ۲۰ از ۰ تا ۱/۰٪ و کاهش pH از ۵/۲٪ کاهش یافت، اما در غلظت بالای توزیع ۲۰ و در pH پایین افزایش یافت (شکل ۲-ب).

این نتیجه توسط نتایج اندازه‌گیری اندازه ذرات که نشان داد که در عدم حضور تویین ۲۰ بزرگترین ذرات بوجود آمدند، تأیید می‌شود. در غلظت‌های میانه تویین ۲۰، نمونه‌ها دارای کدورت کمتری بودند، که احتمالاً به علت کاهش تجمع مولکول‌های پروتئین می‌باشد که نشان دهنده این است که محلول‌ها دارای کمپلکس‌های پایداری بوده و ذرات جهت پراکنده کردن نور بسیار کوچک هستند. در نتیجه منجر به ایجاد محلول‌های شفاف با حداقل کدورت می‌شوند. نکته جالب توجه این است که با افزایش غلظت تویین ۲۰ از ۰/۱ به ۰/۲٪، پراکنده‌گی نور ذرات دوباره افزایش یافت. دلیل این افزایش علاوه بر بزرگ شدن اندازه ذرات این است که در واقع حضور سورفاکтанت تویین ۲۰ در غلظت بالا می‌تواند شاخص انکسار نسبی را تغییر دهد.

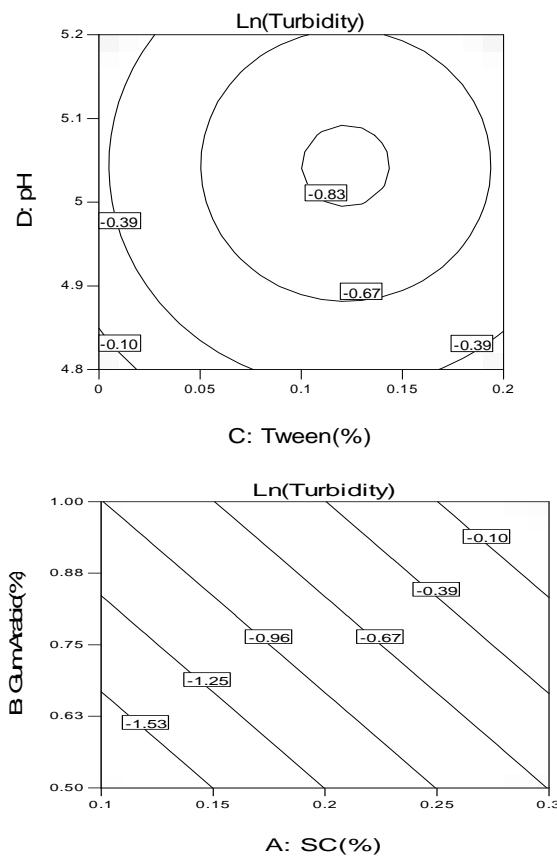


Fig 3 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on \ln (Turbidity). a) pH and T20, b) GA and SC.

۴-۳ بررسی پایداری نانو ذرات

نیروی محركه جداسازی فاز در محلول‌های کلوئیدی شامل ۲ دسته اصلی تجمع شونده^۱ و جدا شونده^۲ می‌باشد [۱۹]. در

نمی‌گیرند. محلول تویین ۲۰ نیز در طول تغییر pH همچنان شفاف بود و تغییری نکرد. زیرا به علت فقدان گروه‌های یونی در مولکول‌های آن، تحت تاثیر pH قرار نمی‌گیرد. در حالیکه در مورد محلول خالص سدیم کازئینات، کدورت به عنوان تابعی از pH تغییر کرد. این تغییر در pH نزدیک به نقطه ایزوکلریک سدیم کازئینات قابل توجه بود. زیرا همانطور که می‌دانیم پروتئین در pH نزدیک به نقطه ایزوکلریک خود دارای بار خالص خنثی می‌باشد. در نتیجه به علت عدم وجود دافعه الکترواستاتیکی قوی، مولکولهای سدیم کازئینات دچار خود تجمعی شده و از آنجاییکه ذرات جدید تشکیل شده به اندازه کافی جهت پراکنده کردن نور بزرگ بودند، مقادیر کدورت افزایش یافت. جهت اندازه‌گیری کدورت محلولهای کمپلکس، به منظور اطمینان از همگن بودن محلول و جلوگیری از هر گونه تغییر در کدورت، به علت رسوب ذرات، نمونه‌ها قبل از آنالیز به شدت همزده شدند. کدورت محلول‌های دارای نانوکمپلکس روند متفاوتی از محلول‌های انفرادی اجزا را نشان داد، این تفاوت گواهی ایجاد برهمنکشن بین مولکولهای پروتئین، پلی ساکارید و سورفاکتانت می‌باشد. شکل ۳(الف) اثر موازی غلظت سدیم کازئینات و صمغ عربی بر کدورت سیستم را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سدیم کازئینات، شفافیت سیستم کاهش یافت. در حالت کلی، افزایش نمایی در کدورت وقتی که غلظت هر دو فاکتور افزایش یافت، مشاهده شد، که نشان دهنده افزایش در اندازه ذرات یا تعداد کمپلکس‌های تشکیل شده می‌باشد [۱۷] که منجر به افزایش شدت پراکنده‌گی نور ناشی از کمپلکس‌های بزرگ تشکیل شده می‌شود. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط قربانی و همکاران (۲۰۱۴) مبنی بر اینکه کدورت محلول‌ها با افزایش غلظت بیopolymerها افزایش می‌یابد، مطابقت دارد [۱۸]. با توجه به شکل ۳، غلظت تویین ۲۰ و pH هر دو دارای اثر درجه ۲ بر کدورت سیستم هستند. کدورت ابتدا اندکی کاهش یافت و سپس سریعاً با کاهش هر ۲ متغیر افزایش یافت و حداقل کدورت وقتی که غلظت تویین ۲۰ و pH به ترتیب ۰٪ و ۴/۸ رسید، بدست آمد. کدورت محلول‌ها با کاهش بیشتر pH از ۵ تا ۴/۸، بویژه در موارد غلظت بالای بیopolymerها و عدم حضور تویین ۲۰ به طور نمایی افزایش یافت که نشان دهنده این است که توده‌های تشکیل شده جهت پراکنده کردن قوی نور، به اندازه کافی بزرگ هستند. در این مطالعه، بیشترین کدورت در غلظت بالای بیopolymerها و عدم حضور تویین ۲۰ مشاهده شد (شکل ۳-ب).

1. associative
2. segregative

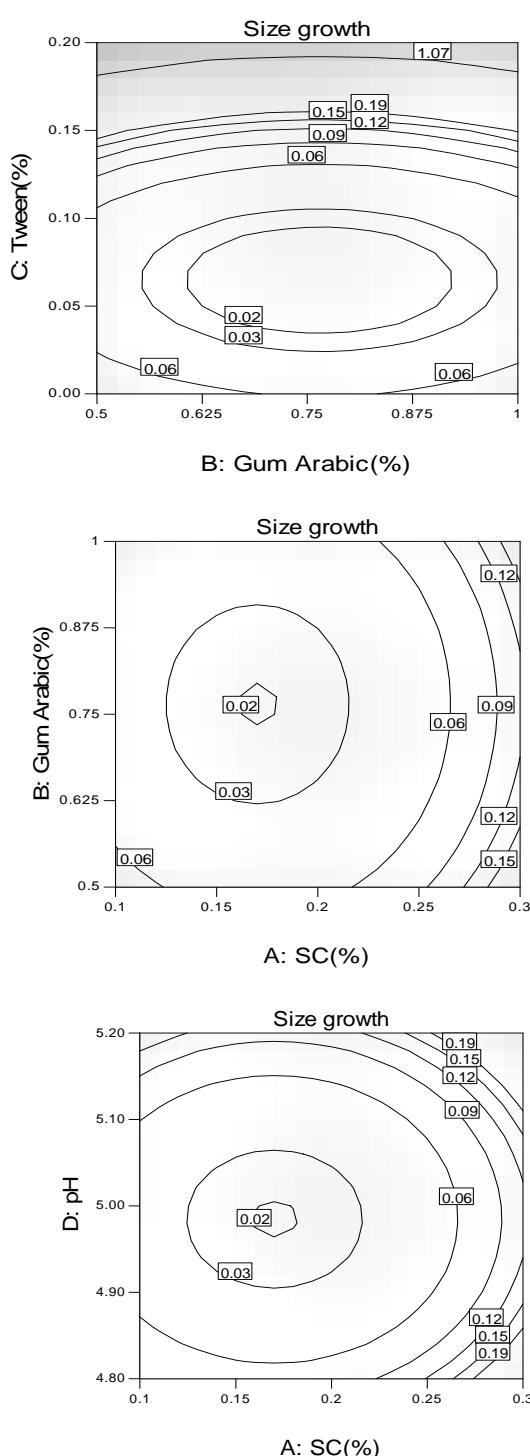


Fig 4 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on particle size growth after one month storage at 4 °C. a) GA and SC, b) T20 and GA, c) pH and SC.

در نمونه های دارای غلظت ۰/۰٪ تویین ۲۰، تجمع قابل توجهی بعد از ۲۴ ساعت رخ داد. ناپایداری دیسپرسیون در غلظت بالای تویین ۲۰ همانطور که قبل ذکر شد با دفرمه شدن ساختمان سدیم کازئینات ارتباط دارد. چرا که در حالت کلی

فرآیندهای تجمع شونده، نیروی محرکه اصلی برای جداسازی فاز یک نیروی جذب کننده تقریباً قوی بین انواع مختلف بیopolymerهای موجود در محلول، از جمله جاذبه الکترواستاتیک بین بیopolymerهای باردار مخالف می باشد [۲۰]. در فرآیندهای جداسازنده نیروی محرکه برای جداسازی فاز یک نیروی دافعه است [۲۱]. وقتی نیروی محرکه برای جداسازی فاز، دافعه است، سیستم حاصل، ناسازگار از نظر ترمودینامیکی گفته می شود. از طرف دیگر وقتی نیروی محرکه جداسازی فاز، جاذبه باشد سیستم حاصل به عنوان سازگار از نظر ترمودینامیکی گفته می شود [۲۲]. اصطلاح پایداری محلول کلوبیدی به توانایی یک محلول به مقاومت در برابر تغییرات در ویژگی های فیزیکی و شیمیایی آن در طول زمان گفته می شود. در این مطالعه هدف بررسی ناپایداری فیزیکی نانو ذرات می باشد. شکل ۴ کانتورپلات های اثر متغیرهای مستقل را بر رشد اندازه ذرات در طول یک ماه نگهداری را نشان می دهد. در بین فاکتورهای مورد بررسی غلظت تویین ۲۰ بیشترین تاثیر را بر کنترل افزایش اندازه ذرات داشت ($p<0.0001$). همانطور که در شکل ۴ مشاهده می شود نمونه های فاقد تویین ۲۰، که از ابتدا نیز دارای اندازه ذرات بزرگتری بودند، بعد از یک ماه نگهداری دچار افزایش اندازه ذرات قابل توجهی شدند. بویژه نمونه های دارای غلظت بالای بیopolymerها در عدم حضور تویین ۲۰ افزایش اندازه بیشتری داشتند. در نمونه های دارای غلظت میانه تویین ۲۰ (۰/۰/۱٪)، تفاوتی در اندازه ذرات بعد از زمان نگهداری رخ نداد و این نمونه ها جز پایدارترین نمونه ها بودند.

یکی از عوامل موثر در ناپایداری محلول های کلوبیدی در طول نگهداری، فلوکه شدن می باشد. به طور کلی فلوکه شدن با پایداری الکترواستاتیکی یا استری مهار می شود [۲۳]. روش اصلی برای جلوگیری از فلوکه شدن ذرات، فراهم کردن انرژی الکترواستاتیکی کافی (بار سطحی) بین ذرات است. اما در این مطالعه، به علت ناکافی بودن پایداری الکترواستاتیکی (متداول نبودن بار سطحی بیopolymerها)، پایداری نانوذرات در اثر افزودن سورفاکtant (پایداری استری) بدست آمد.

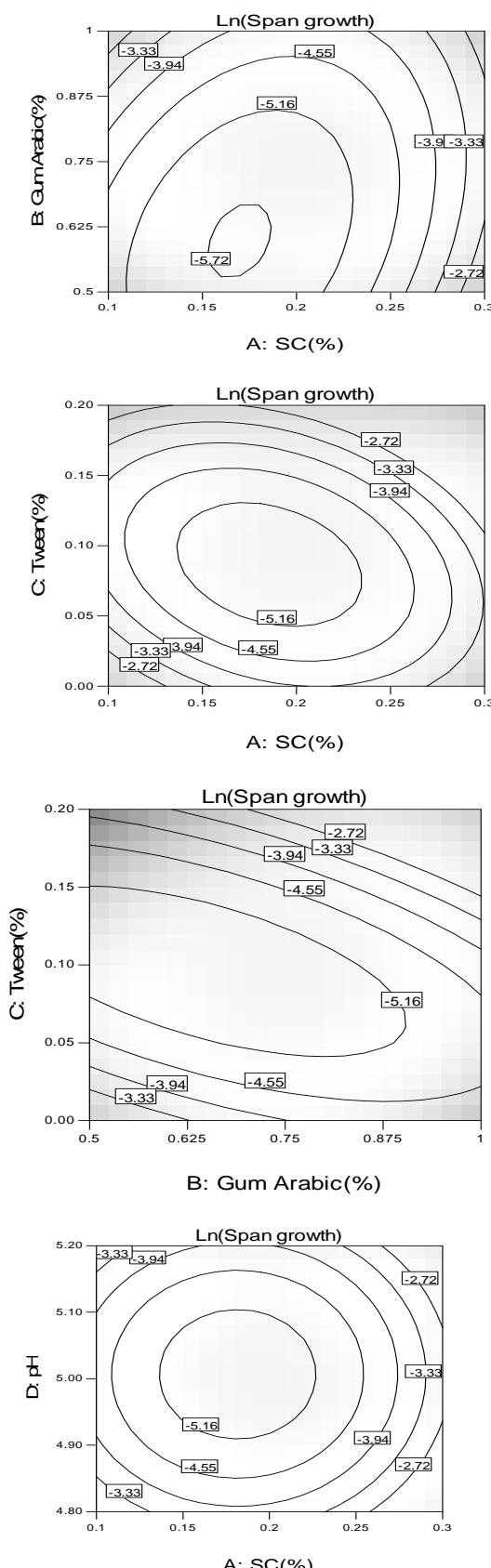


Fig 5 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on $\ln(\text{span growth})$ after one month storage at 4°C . a) GA and SC, b) T20 and SC, c) pH and SC, d) T20 and GA.

پایداری و ناپایداری ساختار پروتئین در اثر اتصال با سورفاکتانت به نوع و غلظت مولکول‌های سورفاکتانت، مولکول‌های پروتئین موجود و شرایطی محیطی بستگی دارد [۲۴]. در غلظت صمغ عربی 0.05% ، بویژه در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات (0.03%) و عدم حضور تویین ۲۰ تفاوت قابل توجهی در اندازه ذرات در طول زمان مشاهده شد. همچنین در غلظت‌های بالای صمغ عربی (0.1%) رشد اندازه ذرات در طول زمان نگهداری قابل توجه بود. زیرا تجمع مولکول‌های صمغ عربی اضافی بین ذرات، منجر به فلوكه شدن ناشی از تشکیل پل شد. در $\text{pH } 8/4$ و غلظت بالای سدیم کازئینات 0.03% محلول کلوئیدی ناپایدار بود و اندازه ذرات افزایش قابل توجهی داشتند. به علت دارابودن اندازه ذرات بزرگتر نمونه‌های حاوی غلظت بالای بیوپلیمرها این نمونه‌ها بیشترین افزایش اندازه ذرات را نشان دادند. در حالیکه اندازه ذرات نمونه‌هایی که حاوی 0.1% تویین، 0.075% صمغ عربی و 0.02% سدیم کازئینات بودند، بعد از گذشت مدت زمان ۱ ماه تغییر قابل توجهی نکرد.

رشد توزیع اندازه ذرات در حضور غلظت 0.01% تویین بسیار جزئی بود و نمونه‌ها پایداری خوبی داشتند. یکی از دلایل ایجاد پایداری خوب توسط سورفاکتانت این است که از ابتدا نیز نانو ذرات تولیدی در حضور غلظت میانه تویین ۲۰ دارای اندازه ذرات بسیار کوچک و یکنواختی ذرات بالایی بودند. مطالعات بسیاری نشان دادند که سیستم‌های دارای اندازه ذرات کوچک و توزیع اندازه ذرات یکنواخت نسبت به سیستم‌های با اندازه ذرات بزرگتر و هتروژن پایداری بیشتری دارند [۲۵]. فرآیند استوالد رایپینینگ، فرآیندی است که در آن ذرات بزرگتر با صرف ذرات کوچکتر رشد می‌کنند. پیش شرط لازم برای رخ دادن استوالد رایپینینگ این است که سیستم باید پلی‌دیسپرس باشد یعنی توزیع اندازه ذرات غیر یکنواخت و ناهمگن باشند [۲۶]. پدیده استوالد رایپینینگ به طور قابل توجهی زمانیکه هر ۳ جز با غلظت‌های سدیم کازئینات 0.02% ، صمغ عربی 0.05% و تویین 0.01% در سیستم حاضر بودند و 5 بود به تاخیر افتاد. زیرا در این رنج غلظت، به علت اندازه ذرات همگن، سرعت زبر شدن با کاهش نیروی محرکه موثر بسیار به تاخیر افتاد. در واقع رشد انداک توزیع اندازه ذرات منجر به تمایل کمتر ذرات به تجمع و پدیده استوالد رایپینینگ می‌شود.

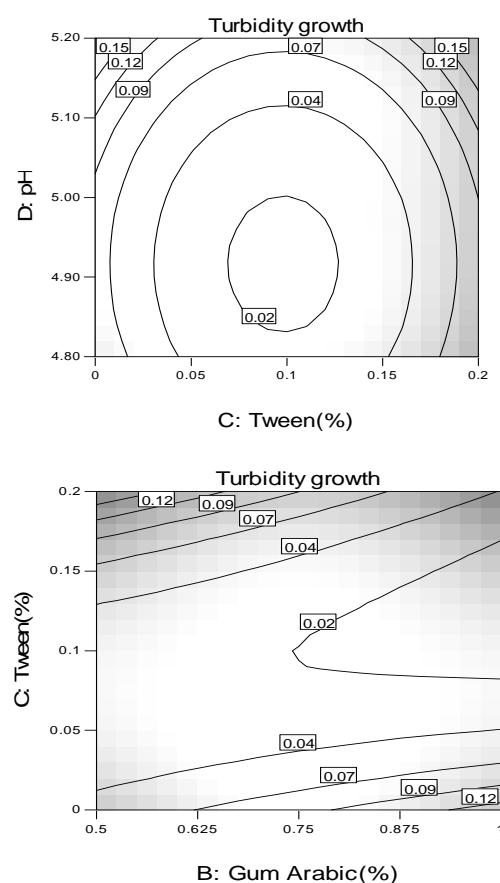


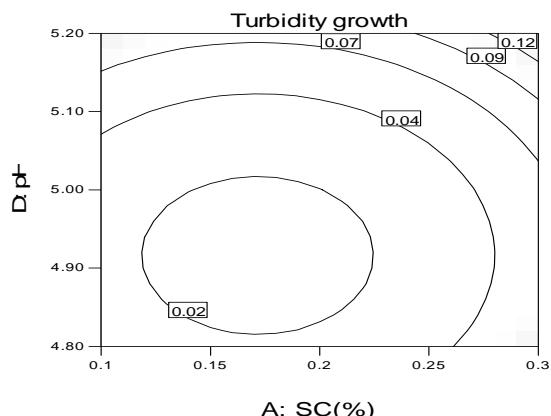
Fig 6 Contour plot showing the effect of component concentration and pH on Turbidity growth after one month storage at 4 °C. a) T20 and GA, b) pH and SC, c) pH and T20.

۶-۳- بهینه سازی

نتایج حاصل از بهینه‌سازی با استفاده از روش تابع مطلوبیت نشان داد که اثر پایدارکنندگی سینرژیستی بسیار خوب بین ۳ ترکیب سدیم کازئینات، صمغ عربی و تویین ۲۰ وجود دارد. شکل ۷ نمودارهای تابع مطلوبیت را نشان می‌دهد. میزان تابع مطلوبیت بهینه سازی ۰/۸۷ بود که نشان دهنده برآورده شدن مطلوب اهداف می‌باشد. با توجه به نمودارها شرایط بهینه بصورت سدیم کازئینات ۱۵٪، صمغ عربی ۵۴٪، تویین ۲۰٪ و pH ۴/۹۷ بدست آمد، که منجر به کاهش اندازه ذرات تا ۶۸/۷۱ نانومتر، کاهش توزیع اندازه ذرات تا ۰/۹، کاهش کدورت تا ۰/۲۴ و کاهش رشد اندازه ذرات تا ۰/۰۳۴، کاهش رشد توزیع اندازه ذرات ۰/۰۰۳ و کاهش رشد کدورت ۰/۰۱۶ شد.

تحت شرایط یکسان نگهداری تعدادی از محلول‌های بیوپلیمری بعد از گذشت مدت زمان نه چنان زیادی به ۲ یا چند فاز جدا شدند. نمونه‌ها با مقادیر کدورت بالا که در قسمت قبلی اشاره شد، ته نشینی و رسوب آشکار بعد از ۱ ماه نگهداری را نشان دادند. در نتیجه این نمونه‌ها برای استفاده به عنوان سیستم‌های حامل پایدار در صنعت غذا مناسب نیستند. در نمونه‌هایی که دارای ۰/۰۱٪ تویین ۲۰ بودند رسوبی مشاهده نشد و کدورت محلول تغییری نکرد (شکل ۶). این نمونه‌ها با توجه به داده‌های اندازه نیز بسیار پایدار بودند، و جهت استفاده در نوشیدنی‌های شفاف اسیدی مناسب می‌باشند. نمونه‌هایی که حاوی ۰/۰۲٪ تویین ۲۰ بودند بعد از گذشت ۴۸ ساعت چهار رسوب شدید شدند. این نمونه‌ها بعد از گذشت ۱ هفته بطور کامل به ۲ لایه مجزا، جدا شده و لایه بالای شفاف و لایه پایین کدر بود. علت کدر بودن لایه پایین، انباسته شدن تجمعات پروتئین و پلی ساکارید و ته نشینی آنها بود. علت این پدیده، ناپایداری سدیم کازئینات در برابر غلظت بالای تویین ۲۰ می‌باشد.

با توجه به نتایج بدست آمده، اگرچه بعضی از کمپلکس‌ها (سدیم کازئینات ۰/۰۳٪، صمغ عربی ۷۵٪ و تویین ۰/۰۱٪) نور را با شدت بالا پراکنده کردند، یعنی کدورت اولیه بالایی داشتند، بعد از مدت زمان ۱ ماه نگهداری، کدورت این محلول‌ها تغییر قابل محسوسی نکرد. بنابراین این نمونه‌ها نیز می‌توانند به عنوان سیستم حامل مواد مغذی برای کاربرد در نکtar یا حتی آبمیوه‌های شفاف وقتی که در غلظت‌های پایین تر مورد استفاده قرار می‌گیرند، مناسب باشند.



کاربرد این نانوکمپلکس‌های تولیدی را جهت کپسوله کردن مواد فعال هیدروفوبی مورد بررسی قرار خواهیم داد.

۵- منابع

- [1] Patel A.R, Velikov K.P. (2011). Colloidal delivery systems in foods: A general comparison with oral drug delivery. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1958-1964.
- [2] Weiss J, Takhistov P, McClements D.J. (2006). Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9), R107-R116.
- [3] Wei Z, Gao Y. (2016). Physicochemical properties of β -carotene bilayer emulsions coated by milk proteins and chitosaneEGCG conjugates. *Food Hydrocolloids*, 52, 590-599.
- [4] Liu L, Zhao Q, Liu T, Kong J, Long Z, Zhao M. (2012). Sodium caseinate/carboxymethylcellulose interactions at oil–water interface: Relationship to emulsion stability. *Food Chem*, 132 (4):1822-1829.
- [5] Coelho S, Moreno-Flores S, Toca-Herrera J.L. (2011). Nanostructure of polysaccharide complexes. *J Colloid Interface Sci*, 363 (2):450-455.
- [6] Choi K-O, Aditya N.P, Ko S. (2014). Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. *Food Chem*, 147 (0):239-244.
- [7] Picone C. S. F, Cunha R. L. (2013). Formation of nano and microstructures by polysorbate–chitosan association. *Colloids Surf, A*, 418 (0):29-38.
- [8] Myers R.H. (2002). *D.C. Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. Montgomery, Wiley, New York.
- [9] Ye A, Flanagan J, Singh H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum Arabic. *Biopolymers*, 82:121-133.
- [10] Anarjan N, Tan C.P. (2013) Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. *Food Hydrocoll*, 30 (1):437-447.

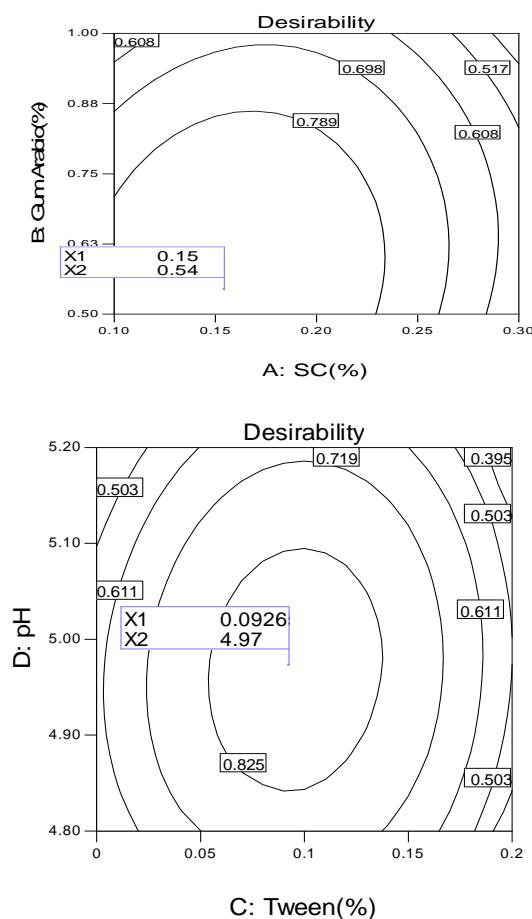


Fig 7 Desirability function plots indicating the region of optimal preparation variables.

۶- نتیجه گیری

همبستگی بالا بین متغیرهای مستقل و وایسته نشان داد که مدل چند جمله‌ای درجه دو برای بهینه سازی نانوکمپلکس‌ها با استفاده از سدیم کازئینات، صمغ عربی و تویین ۲۰ به عنوان پایدارکننده می‌تواند به کار برده شود. نتایج آنالیز واریانس و نمودارهای کانتورپلات نشان داد که هر ۴ فاکتور مورد بررسی (غلاظت سدیم کازئینات، صمغ عربی و تویین ۲۰ و pH) تاثیر معنی دار بر پاسخ‌های مورد بررسی داشتند. نتایج نشان داد که مدت ماندگاری محلول‌های کلوئیدی حاوی نانوذرات به طور قابل توجهی در حضور سورفاکтанت غیر یونی تویین ۲۰ افزایش یافت. شرایط بهینه فرآیند با استفاده از آنالیز سطح پاسخ تحت غلاظت سدیم کازئینات ۰/۱۵٪، غلاظت صمغ عربی ۰/۰۵٪، غلاظت تویین ۰/۰۹٪ و pH ۴/۹۷ تعیین شد. در این سطوح تعیین شده غلاظت اجزا و pH، سیستم شفاف و بسیار پایدار بود و مناسب جهت افزودن به محصولات غذایی و نوشیدنی‌های اسیدی شفاف (و یا غیر شفاف) می‌باشد. در مطالعات بعدی

- delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1865–1880.
- [20] de Kruif C.G, Weinbreck F, de Vries R. (2004). Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 340–349.
- [21] Tolstoguzov V. (2002). Thermodynamic aspects of biopolymer functionality in biological systems, foods, and beverages. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(2), 89.
- [22] Nayak A.K, Das B, Maji R. (2012). Calcium alginate/gum Arabic beads containing glibenclamide: Development and in vitro characterization. *Int J Biol Macromol*, 51 (5):1070-1078.
- [23] Liu W, Sun D, Li C, Liu Q, Xu J. (2006). Formation and stability of paraffin oil-in-water nano-emulsions prepared by the emulsion inversion point method. *J. Colloid Interface Sci.* 303 557–563.
- [24] Li Y, McClements DJ. (2013). Influence of non-ionic surfactant on electrostatic complexation of protein-coated oil droplets and ionic biopolymers (alginate and chitosan). *Food Hydrocolloids*, 33(2), 368-375.
- [25] Ribeiro H.S, Chu B.S, Ichikawab S, Nakajima M. (2008). Preparation of nanodispersions containing b-carotene by solvent displacement method. *Food Hydrocolloids*, 22, 12–17.
- [26] Verma S, Kumar S, Gokhale R, Burgess D.J. (2011). Physical stability of nanosuspensions: Investigation of the role of stabilizers on Ostwald ripening. *International Journal of Pharmaceutics*, 406, 145–152.
- [11] Ye A. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications – a review. *Int J Food Sci Technol*, 43 (3):406-415.
- [12] Ron N, Zimet P, Bargarum J, Livney Y. D. (2010) Beta-lactoglobulin–polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. *Int Dairy J*, 20 (10):686-693.
- [13] Weinbreck F, de Vries R, Schrooyen P, de Kruif C.G. (2003). Complex Coacervation of Whey Proteins and Gum Arabic. *Biomacromolecules*, 4 (2):293-303.
- [14] Dickinson E. (1998). Stability and rheological implications of electrostatic milk protein–polysaccharide interactions. *Trends Food Sci Technol*, 9 (10):347-354.
- [15] Dickinson E, Ritzoulis C, Povey M. J. (1999). Stability of Emulsions Containing Both Sodium Caseinate and Tween 20. *J Colloid Interface Sci*; 212(2), 466-473.
- [16] Mirhosseini H, Tan C.P, Hamid N.S.A, Yusof S. (2008). Optimization of the contents of Arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, polydispersity index and density in orange beverage emulsion. *Food Hydrocoll*, 22 (7):1212-1223.
- [17] Schmitt C, Sanchez C, Thomas F, Hardy J. (1999). Complex coacervation between β -lactoglobulin and acacia gum in aqueous medium. *Food Hydrocoll* 13 (6):483-496.
- [18] Ghorbani S, Ghorbani E, Mohammadifar M.A. (2014). Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous medium. *Food Hydrocoll*, 34 (0):161-168.
- [19] Matalanis A, Jones O. G, McClements D.J. (2011). Structured biopolymer-based

Modeling and optimization of qualitative characteristics and stability of colloidal nanocomplexes for application in clear acidic drinks

Sheikhzadeh, Sh. ¹, Alizadeh, M. ^{2*}, Rezazad, M. ³

1. M.Sc in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Associate Prof., Dept.of Food Science and Technology, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
3. Associate Prof., Dept.of Food Science and Technology, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: 2015/11/22 Accepted: 2016/05/28)

Nowadays, natural biopolymers such as proteins and polysaccharides in the preparation of biodegradable nanoparticles in food and pharmaceutical industries are of particular interest. The aim of this study was modeling and optimization of three component nanocomplex (protein, polysaccharide and small molecule emulsifier) production and study their stability using the Box-Behnken design. For each response, second order polynomial models were developed using multiple linear regression analysis. Analysis of variance confirmed that the models were highly significant ($p<0.001$) for all response variables and also showed that all of the predictive models had high R-Squared and Adjust R-Squared, thus ensuring a satisfactory fitness of the regression models to the experimental data. Using desirability function, optimal processing conditions was achieved in the sodium caseinate concentration (0/15%), Arabic gum concentration (0/54%), Tween 20 concentration (0/09%) and pH (4/79). At this optimum zone, particle size (68/71), particle size distribution (0/9), and turbidity (0/24), particle size growth (0/034), particle size distribution growth (0/003) and turbidity growth (0/016). The multiobjective desirability was equal to 0.87 that, indicates the fulfillment of optimization goals. These nanodispersions may be useful as nutrients delivery systems for utilisation in functional food and drink products with low pH.

Keywords: Nanoparticle, Biopolymer, Turbidity, Stability, Response Surface Methodology.

* Corresponding Author E-Mail Address: m.alizadeh@urmia.ac.ir