





دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

گروه باغبانی و صنایع غذایی

پایان نامه کارشناسی ارشد

تولید امولسیون روغن هسته انار پایدار شده با نانو ژل حاوی اسانس آویشن
شیرازی (*Zataria multiflora*) و ارزیابی اکسیداتیو آن

نگارنده: نیر شهبازی

اساتید راهنما

دکتر احمد رجایی

دکتر میثم طباطبائی

اساتید مشاور

دکتر افشین محسنی فر

دکتر حجت اله بداقی

بهمن ۱۳۹۶

شماره: ۱۳۹۶/۱۱/۱۵
تاریخ:

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

فرم شماره (۳) صورت جلسه نهایی دفاع از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

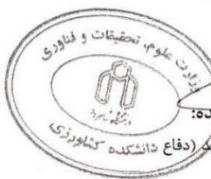
با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانوم نیر شهبازی با شماره دانشجویی ۹۴۱۰۶۰۴ رشته کشاورزی گرایش صنایع غذایی تحت عنوان

تولید امولسیون روغن هسته انار پایدار شده با نانو ژل حاوی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و ارزیابی اکسیداتیو آن

که در تاریخ ۱۳۹۶/۱۱/۱۰ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می گردد:

<input type="checkbox"/> مردود <input checked="" type="checkbox"/> قبول (با درجه: <u>بسیار خوب</u>)			
نوع تحقیق: <input checked="" type="checkbox"/> عملی <input type="checkbox"/> نظری			
اعضاء	مرتبه علمی	نام و نام خانوادگی	عضو هیأت داوران
	استادیار	دکتر احمد رجایی	۱- اساتید راهنما
	استادیار	دکتر میثم طباطبایی	۲- اساتید مشاور
	استادیار	دکتر حجت اله بدایی	۳- نماینده تحصیلات تکمیلی
	استادیار	دکتر کامبیز جهان بین	۴- استاد ممتحن اول
	استادیار	دکتر حمیدرضا صمدلوی	۵- استاد ممتحن دوم

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: دکتر محمد رضا عامریان



تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

تیسره: در صورتی که کسی مردود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع دانشکده کشاورزی)

مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود.

تشکر و قدردانی

ستایش و سپاس بیکران بایسته آن الهه یکتا به خاطر همه مهربانی هایش و تمام همراهی هایش. قبل از هر چیز این پایان نامه را با خلوص تمام نثار وجود دو عزیزی می کنم که عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است، قلب های بزرگشان فریادرس است و محبت های بی دریغشان هرگز فروکش نمی کند. عزیزانی که در تمامی مراحل زندگی و دروان تحصیل همواره مشوق و پشتیبان اینجانب بوده اند و من در برابر عظمتشان، ناتوان و عاجز از تشکر کردن هستم:

پدر و مادر مهربانم و همچنین از برادرانم به خاطر همراهی ام در تمامی مراحل درس و زندگی ام. وظیفه شاگردی خود می دانم تا مراتب سپاس و قدردانی ویژه خویش را با صمیمیت هرچه تمام تر به محضر استاد راهنمای گرانمایه و بزرگوایم، جناب آقای دکتر احمد رجائی که در کنار مقام استادی برای من حکم معلم اخلاق را نیز دارند و لذت آموختن و یادگیری را در محضر پربارشان تجربه کرده ام، تقدیم کنم.

از جناب آقای دکتر کامبیز جهان بین، که با راهنمایی های ارزنده خود راهگشای اینجانب بوده و وقت ارزشمند خود را صرف خواندن پایان نامه اینجانب و داوری آن نموده اند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

فرصت را مغتنم شمرده، قدردان زحمات کسانی خواهم بود که بنحوی بنده را مورد لطف و عنایت خویش قرار داده اند :

جناب آقای دکتر حکیمی تبار مدیر گروه محترم

جناب آقای دکتر میثم طباطبایی استاد راهنمای دوم

جناب آقای دکتر افشین محسنی فر استاد مشاور اول

جناب آقای دکتر حجت اله بدایق استاد مشاور دوم

جناب آقای دکتر حمید رضا صمد لوئی استاد ارجمند و داور محترم

جناب آقای آقا حسینی مسئول محترم آزمایشگاه صنایع غذایی

جناب آقای مهندس حسینی مسئول محترم آزمایشگاه باغبانی

جناب آقای مهندس مطهری مسئول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی

سرکار خانوم مهندس عبدالهی مسئول محترم آزمایشگاه حشره شناسی

هم گروهی محترم آقای مهندس مجید عطاریان

هم گروهی محترم خانم مهندس الناز حسینی

هم گروهی محترم خانم مهندس مریم عبدالهی

همکلاسی محترم خانوم مهندس طیبه زارعی

همکلاسی محترم خانم مهندس سارا حسینعلیزاده

همکلاسی محترم خانم زهرا رهگویی

همکلاسی محترم خانم مهندس محبوبه نبی

و تمامی عزیزان و مسئولان محترم آموزش و دانشکده کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تعهد نامه

اینجانب **نیر شهبازی** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی گروه باغبانی و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه تولید امولسیون روغن هسته انار پایدار شده با نانو ژل حاوی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و ارزیابی اکسیداتیو آن تحت راهنمایی دکتر احمد رجایی متعهد می شوم .

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام «دانشگاه صنعتی شاهرود» و یا «Shahrood University of Technology» به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

هدف از این پژوهش دستیابی به امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار با استفاده از نانوزل کیتوزان- کاپریک اسید و بررسی تاثیر درونپوشانی اسانس آویشن شیرازی بر پایداری اکسیداتیو روغن هسته انار بود. نتایج آزمون کروماتوگرافی گازی نشان داد که حدود ۵۴٪ روغن هسته انار از پونیسیک اسید که یک اسید چرب ۱۸ کربنه با ۳ پیوند غیر اشباع است، تشکیل شده است. در ادامه این تحقیق کاپریک اسید به زنجیره های کیتوزان در درصد های مختلف برای بهبود خواص امولسیون کنندگی آن اضافه شد. نتایج حاصل از طیف FTIR تشکیل پیوند بین کیتوزان و کاپریک اسید را تأیید کرد. همچنین نتایج عکس های میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که تشکیل نانو ذرات با افزایش نسبت کاپریک اسید به کیتوزان بهبود یافت. در ادامه اثر نسبت های مختلف کاپریک اسید به کیتوزان، pH های متفاوت و میزان روغن بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار به مدت یک هفته مورد بررسی قرار گرفت. پس از نگهداری نمونه ها در دمای محیط پایداری امولسیونها با استفاده از تصاویر میکروسکوپی و محاسبه اندازه ذرات با نرم افزار image j مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد پایدارترین حالت امولسیون در $pH=8$ ، نانوزل با ۵۰٪ کاپریک اسید و میزان روغن ۱۰۰ میکرولیتر حاصل شد. پس از تعیین مناسبترین شرایط امولسیون پیکرینگ، پایداری اکسیداتیو آن در شرایط مختلف از جمله عدم وجود اسانس و همچنین امولسیون پیکرینگ به همراه مقادیر مختلف ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر/ لیتر اسانس آویشن شیرازی درونپوشانی شده در روغن و نانوزل به همراه امولسیون پایدار شده با توئین ۸۰ (شاهد) توسط آزمونهای پراکسید و TBA در طی ۲۲ روز در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که امولسیون تولید شده توسط نانوزل کیتوزان- کاپریک اسید پایداری اکسیداتیو کمتری نسبت به امولسیون حاوی توئین ۸۰ داشت. همچنین نتایج آزمون پراکسید نشان داد که درونپوشانی اسانس آویشن شیرازی در نانوزل نسبت به درونپوشانی در روغن توانست پایداری اکسیداتیو بیشتری را ایجاد کند.

کلید واژه ها: روغن هسته انار، امولسیون پیکرینگ، نانوذله کیتوزان، اسانس آویشن شیرازی، پایداری

اکسیداسیون

لیست مقالات استخراج شده از پایان نامه

- ✓ تولید و ارزیابی امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانو ژل کیتوزان
- ✓ بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار حاوی اسانس آویشن

فهرست

فصل اول	۱
کلیات	۱
مقدمه	۲
۱-۱- کلیاتی در مورد انار <i>Punica granatum</i>	۵
۱-۱-۱- انواع انار	۵
۱-۱-۲- عناصر و ترکیبات موجود در انار	۵
۱-۱-۳- روغن هسته انار	۶
۱-۱-۳-۱- خاصیت آنتی اکسیدانی روغن هسته انار	۷
۱-۱-۳-۲- پیشگیری از بیماری های قلبی و عروقی	۸
۱-۱-۳-۳- خاصیت ضد سرطانی	۸
۱-۲- آویشن شیرازی	۹
۱-۲-۱- خواص درمانی آویشن	۹
۱-۳- اکسیداسیون روغن ها و چربی ها	۱۰
۱-۳-۱- روش های ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغن ها	۱۱
۱-۳-۱-۱- عدد پراکسید	۱۲
۱-۳-۱-۲- عدد تیوباربیتریک اسید (TBA)	۱۲
۱-۴- آنتی اکسیدان ها	۱۳
۱-۵- نانو فناوری	۱۴
۱-۵-۱- کاربرد فناوری نانو در صنایع غذایی	۱۵
۱-۶- پوشش دهی (انکپسولاسیون) ترکیبات و مزایای آن	۱۵
۱-۷- امولسیون ها	۱۷
۱-۸- نانو امولسیون ها	۱۹
۱-۸-۱- روش های تولید نانو امولسیون	۱۹
۱-۸-۱-۱- روش های پر انرژی	۱۹
۱-۸-۱-۲- روش کم انرژی	۲۲
۱-۹- امولسیفایر	۲۳

۱۰-۱	ماکروامولسیون ها	۲۴
۱۱-۱	میکروامولسیون ها	۲۵
۱۲-۱	امولسیون پیکرینگ	۲۵
۱۳-۱	کیتوزان	۲۷
۱-۱۳-۱	ساختار کیتوزان	۲۷
۲-۱۳-۱	خاصیت شلاته کنندگی کیتوزان	۲۸
۳-۱۳-۱	خاصیت هیدروفوبی و هیدروفیلی کیتوزان	۲۸
۴-۱۳-۱	ویژگی های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی کیتوزان	۲۹
۱۴-۱	کاپریک اسید	۲۹
۱۵-۱	نانوژل ها	۳۰
۱-۱۵-۱	روش های شیمیایی تولید نانوژل	۳۲
۲-۱۵-۱	روش فیزیکی تولید نانوژل	۳۲
	فصل دوم	۳۵
	مروری بر منابع	۳۵
۱-۲	مروری بر پژوهش های مربوط به روغن هسته انار	۳۶
۲-۲	مروری بر پژوهش های انجام شده در مورد آپشن شیرازی	۳۶
۳-۲	مروری بر پژوهش های کیتوزان	۳۷
۴-۲	مروری بر پژوهش های امولسیون پیکرینگ و پایداری آن	۳۸
۵-۲	مروری بر پژوهش های درونپوشانی و اکسیداسیون	۴۰
۶-۲	مروری بر پژوهش های نانوژل	۴۰
	فصل سوم	۴۳
	مواد و روشها	۴۳
۱-۳	مواد و تجهیزات مورد نیاز آزمایشگاهی	۴۴
۱-۱-۳	مواد اولیه مورد استفاده	۴۴
۲-۱-۳	تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی مورد استفاده	۴۵
۲-۳	روش ها	۴۶
۱-۲-۳	تعیین پروفایل اسید های چرب روغن هسته انار	۴۶
۲-۲-۳	آماده سازی و تولید نانوژل کیتوزان-کاپریک اسید	۴۶

۴۷	۳-۲-۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذله کیتوزان- کاپریک اسید.....
۴۷	۳-۲-۳-۱- طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR).....
۴۸	۳-۲-۳-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM).....
۴۸	۳-۲-۴- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ.....
۴۹	۳-۲-۴-۱- آماده سازی و تهیه نمونه های امولسیون پیکرینگ برای بررسی تاثیر pH.....
۴۹	۳-۲-۴-۲- آماده سازی و تهیه نمونه های امولسیون پیکرینگ برای بررسی تاثیر غلظت نانوذله.....
۵۰	۳-۲-۴-۳- آماده سازی و تهیه نمونه های امولسیون پیکرینگ برای بررسی تاثیر میزان روغن.....
۵۰	۳-۲-۵- بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ.....
۵۰	۳-۲-۵-۱- میکروسکوپ نوری.....
۵۰	۳-۲-۵-۲- محاسبه شاخص خامه ای شدن (Creaming test).....
۵۱	۳-۲-۵-۳- سنجش اندازه ذرات امولسیون.....
۵۲	۳-۲-۶- بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار با اسانس آویشن شیرازی.....
۵۲	۳-۲-۶-۱- آماده سازی و تهیه نمونه ها.....
۵۳	۳-۲-۶-۲- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با آزمون پراکسید.....
۵۴	۳-۲-۶-۳- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با تست TBA.....
۵۵	۳-۲-۷- تجزیه و تحلیل داده های آماری.....
۵۵	۳-۲-۸- محل و مراحل انجام آزمایش.....
۵۷	فصل چهارم.....
۵۷	بحث و نتیجه گیری.....
۵۸	۴-۱- تعیین پروفایل اسید های چرب روغن هسته انار.....
۶۰	۴-۲- بررسی ساختار نانوذله.....
۶۰	۴-۲-۱- بررسی طیف FT-IR.....
۶۳	۴-۲-۲- بررسی ساختار نانوذله ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM).....
۶۵	۴-۳- بررسی عوامل مختلف بر روی پایداری امولسیون پیکرینگ.....
۶۵	۴-۳-۱- بررسی اثر pH روی پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار.....
۷۳	۴-۳-۲- بررسی تاثیر نسبت کاپریک اسید به کیتوزان روی پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار.....
۸۰	۴-۳-۳- بررسی تاثیر میزان روغن هسته انار بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایداری شده با نانوذله کیتوزان- کاپریک اسید.....
۸۶	۴-۴- بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی درون پوشانی شده (انکپسولاسیون) بر شکل و اندازه ذرات نانوذله.....

۸۷.....	۴-۵- ارزیابی پایداری اکسیداتیو.....
۹۸.....	نتیجه گیری:.....
۹۹.....	پیشنهادات.....
۱۰۰.....	منابع.....

فهرست شکل ها

۱۸.....	شکل ۱-۱: (الف) امولسیون آب در روغن و (ب) امولسیون روغن در آب.....
۱۸.....	شکل ۱-۲: تفاوت انواع دیسپرسیون های کلوئیدی.....
۲۰.....	شکل ۱-۳: هموژنایزر فشار بالا.....
۲۱.....	شکل ۱-۴: میکروفلویدایزر.....
۲۱.....	شکل ۱-۵: پروبسونیکاتور.....
۲۳.....	شکل ۱-۶: طرح شماتیک مکانیسم تولید خود به خودی امولسیون.....
۲۶.....	شکل ۱-۷ الف: امولسیون کلاسیک (بر اساس سورفاکتانت)، ب: امولسیون پیکرینگ.....
۲۸.....	شکل ۱-۸: ساختار مولکولی کیتوزان.....
۳۰.....	شکل ۱-۹: ساختار دو بعدی اسید کاپریک.....
۳۳.....	شکل ۱-۱۰: خود تجمعی نانوزل ها.....
۴۸.....	شکل ۳-۱: دستگاه طیف سنجی مادون قرمز، FT-IR مدل ۴۳۰.....
۶۱.....	شکل ۴-۱: طیف های FTIR مربوط به الف: کیتوزان، ب: کاپریک اسید ج: نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید.....
۶۴.....	شکل ۴-۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید با درصدهای مختلف کاپریک اسید.....
۶۶.....	شکل ۴-۳: عکس های دیجیتالی نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید در pH های مختلف.....
۶۷.....	شکل ۴-۴: درصد خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید در pH های مختلف بعد از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.....

- شکل ۴-۵: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید در pHهای مختلف.....۶۸
- شکل ۴-۶: اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با pHهای مختلف در روز اول آماده سازی نمونه ها.....۷۰
- شکل ۴-۷: اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با pHهای مختلف پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.....۷۰
- شکل ۴-۸: شکل ظاهری نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با غلظت های مختلف.....۷۳
- شکل ۴-۹: درصد خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید در غلظت های مختلف پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.....۷۴
- شکل ۴-۱۰: عکس های میکروسکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با غلظت های مختلف درصد کاپریک اسید به کیتوزان.....۷۶
- شکل ۴-۱۱: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با غلظت های مختلف نمونه ها روز اول.....۷۷
- شکل ۴-۱۲: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید در غلظت های مختلف پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق بدون جابه جایی.....۷۸
- شکل ۴-۱۳: عکس های دیجیتالی امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت.....۸۱
- شکل ۴-۱۴: درصد خامه ای شدن نمونه ها امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت بر حسب (μL) پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.....۸۱
- شکل ۴-۱۵: عکس های میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت با عدسی ۴۰. (الف) نمونه ها ۳ ساعت بعد، (ب) نمونه ها پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.....۸۳

- شکل ۴-۱۶: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذل کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت بعد از ۳ ساعت.....۸۴
- شکل ۴-۱۷: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذل کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.....۸۴
- شکل ۴-۱۸: عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذل کیتوزان-کاپریک اسید حاوی اسانس آویشن شیرازی.....۸۷

فهرست جداول

- جدول شماره ۴-۱ غلظت و درصد اسیدهای چرب نمونه روغن هسته انار(غلظت بر حسب میلی گرم بر یک گرم روغن) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی.....۵۸
- جدول شماره ۴-۲: تفکیک اسید های چرب روغن هسته انار بر حسب اشباع و غیر اشباع.....۶۰
- جدول شماره ۴-۳: مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۹، ۱۵ و ۲۲ نگهداری شده در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد.....۸۹
- جدول ۴-۴: مقادیر TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۹، ۱۵ و ۲۲ نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد.....۹۵

فصل اول

کلیات

مقدمه

امروزه مصرف کنندگان ذائقه شان به علت تغییر روند زندگی، تغییر کرده و علاقه به غذاهایی دارند که علاوه بر رفع گرسنگی و تامین مواد مغذی ضروری، باعث بهبود وضعیت سلامتی و شادابی فیزیکی و ذهنی و پیشگیری از بیماری های وابسته به تغذیه شود. در اروپا و آمریکا، غذاهای فراسودمند به سرعت رشد آن ها رو به افزایش است (Sheikhshoaei et al. 2013).

انار با نام علمی *Punica granatum* یکی از قدیمی ترین میوه های خوراکی به شمار می رود که در مقایسه با دیگر میوه ها دارای غلظت بالایی از پلی فنل هاست. روغن هسته انار، یکی از شش روغن گیاهی شناخته شده غنی از ایزومرهای اسید چرب لینولنیک کنژوگه (CLnA) می باشد. اسید های چرب کنژوگه دارای پیوندهای دوگانه متناوب اند که مصرف آن ها برای مقابله با انواع سرطان، چاقی مفرط، دیابت و بیماری های قلبی توصیه می گردد. همچنین این روغن غنی ترین منبع گیاهی شناخته شده از ترکیبات استروئیدی با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می باشد و دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات استرولی از جمله بتا- سیتوسترول (فیتواسترول غالب این روغن)، استیگماسترول و کمپسترول و نیز ترکیبات توکولی از نوع آلفا، بتا (توکوفرول غالب) و گاما در این روغن وجود دارد. اسید چرب ۱۸ کربنه با ۳ باند مضاعف که اسید چرب غالب این روغن است، اسید پونیسیک می باشد که به ابر CLnA معروف است (فرهمند & حدادخداپرست ۲۰۱۳).

سطح قطره امولسیون جایی که واکنشهای زنجیره اکسیداسیون رایج است، مکان مناسبی برای اکسایش می باشد. هیدروپراکسید چربی ها محصولات اولیه اکسیداسیون، دارای ترکیبات فعال سطحی بوده و تمایل به تجمع در قطرات امولسیون روغن در آب می باشند (McClements et al. 2000).

امولسیون پیکرینگ، امولسیون‌های از هر نوع، روغن در آب (O/W) یا آب در روغن (W/O)، یا حتی چند گانه است، که توسط ذرات جامد تثبیت شده است (Aveyard et al. 2003; Lomova et al. 2010). تمرکز امولسیون پیکرینگ بر پایه استفاده از ذرات معدنی (جامد) با ذرات با منشا بیولوژی برای تولید امولسیون غذایی می‌باشد. ذرات تمایل به جذب برگشت ناپذیر در سطح قطرات دارند که باعث ایجاد یک مانع فیزیکی در مقابل پرواکسیدان می‌شوند. از دیگر مزایای پیکرینگ می‌توان به مقاومت بالا در برابر انعقاد اشاره کرد (McClements et al. 2000). تحقیقات متعددی در سالهای اخیر در زمینه امولسیون پیکرینگ انجام شده است. از جمله می‌توان به تحقیق کارگر و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرد که توانایی پتانسیلی امولسیون پیکرینگ به منظور افزایش ثبات اکسیدانی امولسیون روغن در آب را مورد بررسی قرار دادند (Kargar et al. 2012). همچنین تحقیق Jie Xiao و همکاران (۲۰۱۶) در مورد تثبیت امولسیون بر پایه نانوذرات کافیرین (کفیران) می‌توان اشاره کرد (Xiao et al. 2016). Cheong و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی پایداری نانوامولسیون پیکرینگ دانه‌های روغنی کناف در آب را که با مخلوط سدیم کازئینات، توئین ۲۰ و بتا-سیکلودکسترین پایدار شده بود، مورد بررسی قرار دادند (Cheong et al. 2016). در تحقیق دیگر کورکومین در نانو ذرات زئین/کیتوزان درون پوشانی گردید و در ادامه به منظور پایداری امولسیون روغن در آب استفاده شد (L.-J. L. Wang et al. 2015).

نانوتکنولوژی عمدتاً با درک و کنترل ماده در اندازه نانو (۱-۱۰۰ nm)، جاییکه ترکیبات توانایی کاربردهای جدیدی می‌یابند، شناخته شده‌اند. خواص فیزیکوشیمیایی (از جمله رنگ، حلالیت، ویسکوزیته، انتشار، قدرت مواد و سمیت) و خواص بیولوژیکی ساختارها و سیستمها در اندازه نانو اساساً با هم‌تایان خود در اندازه میکرو متفاوتند و بعلاوه اثرات متقابل آنها و تک مولکولها، کاربردهای

عملکردی و ساختاری جدید و بی‌همتایی را نشان می‌دهند. نتایج بالقوه کاربرد نانوتکنولوژی در غذا شامل بسیاری از جنبه‌ها از جمله بسته‌بندی مواد، سیستم موثر تحویل مواد مغذی، فرمولاسیون با توانایی زیستی بهبود یافته می‌باشد (Tamjidi et al. 2013). یکی از زمینه‌های کاربرد نانو در صنایع غذایی درون‌پوشانی کردن ترکیبات حساس به شرایط محیطی و یا ترکیبات فرار از جمله اسانس‌های گیاهی می‌باشد. روش‌های مختلفی به منظور درون‌پوشانی کردن وجود دارد که یکی از روش‌های جدید استفاده از نانو ژل می‌باشد. درون‌پوشانی اسانس‌های گیاهی درون نانو ژل باعث آزاد شدن کنترل شده و تدریجی ترکیبات می‌شود. (Khalili, Mohsenifar, Beyki, Zhavah, Rahmani-cherati, et al. 2015; Cheong et al. 2016).

اسانس‌های گیاهی ترکیبات فرار، کمپلکس، معطر و طبیعی هستند که توسط گیاهان آروماتیک به عنوان متابولیت‌های ثانویه برای دفاع در برابر فساد ریزنده‌ها تولید می‌شوند. وجود اسانس‌های فرار گیاهان خوراکی، نگرانی در مورد ایمنی کاربرد آن‌ها را در مواد غذایی به حداقل می‌رساند (Djeddi et al. 2009). اسانس‌ها اغلب دارای ویژگی‌های ضدباکتری، ضدقارچی، ضدویروسی و ضداکسایشی می‌باشند (Rodríguez et al. 2011). آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* متعلق به خانواده لامیناسه است. مؤثرترین ترکیبات آن تایمول (Thymol) و کاراکرول (Caracrol) است (Shafiee & Javidnia 1997).

با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این تحقیق تولید نانو ذرات کیتوزان به همراه اسانس آویشن شیرازی و استفاده از این نانو ذرات در جهت تولید امولسیون روغن هسته انار و بررسی میزان پایداری اکسیداتیو امولسیون تولید شده می‌باشد.

۱-۱- کلیاتی در مورد انار *Punica granatum*

انار که در بین مسلمانان به میوه بهشتی معروف و متعلق به تیره "Punicaceae" است بومی ایران بوده و اکنون در بیشتر نقاط ایران و کشورهای مدیترانه ای (سوریه، یونان، ترکیه) و همینطور در کشورهای فرانسه، پرتغال، اسپانیا، شوروی، ترکمنستان و مناطقی که زمستانهای ملایم و تابستانهای طولانی دارند کشت می شود (قاسمی راد، ۱۳۶۰).

انار از جمله درختانی است که علاوه بر داشتن میوه شیرین و خوشمزه، گل، پوست میوه، پوست ریشه و پوست ساقه آن از قدیم در پزشکی بعنوان دارو و در صنایع رنگرزی و رنگسازی مورد استفاده قرار می گرفته است. در بعضی مناطق هم بعلت داشتن گل‌های بسیار قشنگ و منفرد و بزرگ به عنوان گیاه زینتی کاشته می شود (بی نام، ۱۳۶۳).

انار درختی کم توقع و مقاوم در برابر آفات و کم آبی بوده و دارای محصول فراوان و طول عمر زیادی است. علاوه بر آنکه میوه انار قابل نگهداری است همینطور می توان آن را به فراورده های دیگری مثل آب انار، کنسانتره، شربت، ژله، سرکه و ... تبدیل نمود (بی نام، ۱۳۶۳).

۱-۱-۱- انواع انار

واریت‌های انار از نظر طعم و مزه، ضخامت پوست، درشتی میوه و رنگ دانه، زودرس و یا دیررس بودن متفاوت می باشد و در مناطق مختلف دارای نام‌های گوناگون بوده و هر یک کاربرد بخصوصی دارد (بی نام، ۱۳۶۳).

۱-۱-۲- عناصر و ترکیبات موجود در انار

مواد آلی:

مطالعات دانشمندان و محققین در طی سال‌های اخیر تا حدودی عناصر و ترکیبات موجود در انار را آشکار ساخته است. چنانچه مودام بی و راجاگوپال (Mudambi et al. 1977) وجود ویتامین ث را در آب انار اعلام کردند، تی سویوکی و ناکاتسوکاسا (Tsuyuki et al. 1981) در تحقیقات خود وجود مواد

لیپیدی را در دانه های انار گزارش کرده اند. همچنین اعلام کردند که تفاله انار دارای مقادیر قابل توجهی مواد لیپیدی، قندهای احیاء کننده، پروتئینها، ویتامین ها و عناصری می باشد که ارزش تغذیه ای محصولاتی را که با آب انار مخلوط می شود بالا می برد.

اسید های سیتریک و مالیک، اسید های عمده انار و گلوکز و فروکتوز قند های اصلی آن می باشند (Shulman et al. 1984). در تحقیقاتی که شالمن و همکاران (Shulman et al. 1984) روی رشد و رسیدن انار انجام داده اند به این نتیجه رسیده اند که با رسیدن بیشتر میوه تا زمان برداشت درصد آب میوه نیز بیشتر شده و به طور متوسط مقدار آن به ۴۰٪ وزن انار می رسد. همینطور مقدار تقریبی ترکیبات قندی در انار در طی رسیدن انار افزایش می یابد. تانن ماده دیگری است که در پوست انار وجود دارد و باعث طعم تلخ آب میوه می گردد (Sharma & Sharma 1990).

مواد معدنی :

مودام بی و همکاران (Mudambi et al. 1977) در روسیه که تحقیقات خود را بر روی ترکیبات انار (سوریه) انجام دادند اعلام کردند که عناصر Pb ، V ، Al ، Sn ، Ti ، Z ، Ni ، Zn ، P ، Mg ، Ca ، Na ، k در انار وجود دارند. عناصر جزئی موجود در انار می باشند.

۱-۱-۳- روغن هسته انار

Eikani و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که به طور متوسط، به ازای هر کیلوگرم انار، ۱۴۳-۳۷ گرم دانه انار وجود دارد. هم چنین هسته انار به طور متوسط دارای ۲۵٪ چربی است. این روغن به علت خواص منحصر به فرد خود، در گروه روغن های خشک قرار می گیرد. روغن دانه انار یکی از ۶ روغن گیاهی شناخته شده حاوی اسید های چرب کنژوگه مثل اسید لینولنیک کنژوگه (CLnA) است. اسید های چرب کنژوگه دارای پیوند های دوگانه متناوب اند که مصرف آن ها برای مقابله با انواع سرطان، چاقی مفرط، دیابت و بیماری های قلبی توصیه می گردد.

این روغن حاوی غلظت های بالایی از استروئید جنسی (استران) می باشد که حدود ۱۷ میلی گرم بر کیلوگرم دانه خشک گزارش شده است. تحقیقات نشان می دهند که ترکیبات استروئیدی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی هستند.

فیتواسترول غالب این روغن B-سیتواسترول و توکوفرول غالب آن B- توکوفرول است. خواص ویژه درمانی این روغن نیز به علت وجود همین ترکیبات است.

اسید چرب ۱۸ کربنه با ۳ باند مضاعف که به صورت عمده در این روغن یافت می گردد، اسید پونیسیک است که به CLnA معروف است. از نقطه نظر ساختار شیمیایی، این اسید حاوی ۶۶٪ باند دوگانه سیس و ۳۳٪ باند دوگانه ترانس می باشد. این اسید دارای خواص ضدالتهابی و تسکین دهنده درد های عضلانی است. هم چنین دارای خواص آنتی اکسیدانی بوده و از اکسیداسیون اسید های چرب جلوگیری می نماید.

خواص غذا دارویی این روغن شامل کاهش کلسترول خون، جلوگیری از انواع سرطان های سینه و پروستات، ضدالتهاب و جلوگیری از گرفتگی عروق است. این روغن دارای خواص آنتی اکسیدانی مشابه با چای سبز می باشد (فرهمند & حدادخداپرست، ۲۰۱۳)

۱-۳-۱-۱- خاصیت آنتی اکسیدانی روغن هسته انار

بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی روغن هسته و آب انار به وجود ترکیبات فنلی از قبیل پونیکالاژین^۱، پونیکالین^۲، اسید گالیک^۳ و به ویژه اسید الاژیک^۴ وابسته است. اسید آلاژیک آنتی اکسیدانی است که مصارف غذایی نیز دارد.

^۱ Punicalagins

^۲ Punicalin

^۳ Galic acid

^۴ Ellagic acid

بررسی های فارماکولوژیکی نشان داده اند که آنتی اکسیدان ها در کاهش عوامل خطر بیماری های قلبی-شریانی موثری دارند. اثرات آنتی اکسیداتیو و بازدارندگی از فعالیت آنزیم های ایکوزانوئید ترکیبات روغن دانه انار گزارش شده است.

دانشمندان از سال ۲۰۰۰ به قدرت بالای آنتی اکسیدانی انار پی بردند. این میوه، حاوی آنتی اکسیدان هایی از جمله ویتامین C، B- کاروتن، کاتشین ها، گالوکاتشین ها و آنتوسیانین می باشد.

انار غنی از ترکیبات زیست فعال از جمله پلی فنل ها و فلاونوئید هاست که قدرت آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارند. تحقیقات انجام شده ثابت کرده که انار در به دام انداختن رادیکال های آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون لیپوپروتئین ها با دانسیته کم (LDL) بسیار نقش دارد (فرهمند & حدادخداپرست، ۲۰۱۳).

۱-۳-۲- پیشگیری از بیماری های قلبی و عروقی

آنتی اکسیدان های موجود در این روغن در کاهش عواملی که باعث بروز بیماری های قلبی می شود از جمله تنش های اکسیداتیو و فشار سیستولیک خون بسیار موثراند. تغذیه با روغن هسته انار، سبب کاهش بارز در انباشتگی تری گلیسرید ها و اسید های چرب تک غیر اشباع در کبد می گردد.

روغن هسته انار حاوی مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیر اشباع از نوع امگا ۳ است که نقش حائز اهمیتی در پیشگیری از بروز بیماری های قلب - عروقی دارد (فرهمند & حدادخداپرست، ۲۰۱۳).

۱-۳-۳- خاصیت ضد سرطانی

تحقیقات نشان می دهند که روغن هسته انار دارای خواص ضد سرطانی است. این روغن منبع غنی از فیتواستروژن هاست. فیتواستروژن ها دارای اثر مشابه با هورمون های استروژنی انسان می باشند. روغن هسته انار دارای فیتواستروژن های متفاوتی بوده و از بروز بیماری های مرتبط با هورمون ها از جمله سرطان پستان و دهانه رحم جلوگیری می کند.

هم چنین بررسی ها نشان داده که مصرف رژیم غذایی حاوی روغن هسته انار، به علت غنی بودن از اسید های چرب چند غیراشباعی می تواند از بروز سرطان کولون جلوگیری نماید.

این روغن در نابود سازی و جلوگیری از تشکیل سلول های سرطانی وابسته و غیر وابسته به استروژن موثر است (فرهمند & حدادخداپرست، ۲۰۱۳).

۱-۲- آویشن شیرازی

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* یکی از شناخته شده ترین گیاهان متعلق به خانواده (Lamiaceae) و دارویی است و از تیره نعنا (Lamiaceae) می باشد.

آویشن، درختچه های کوتاه و پرشاخه است که برگ های نازک و متقابل دارد. برگ های بدون دمبرگ و از لحاظ شکل بسیار متنوع بوده، ممکن است بیضوی تا خطی یا به طرف راس لوزوی شکل باشد. برگ های جوان دارای کرک های پشمی کمی هستند. گل ها دارای سنبله هایی در نوک شاخه تجمع یافته اند و دارای گل های سفید و چتری و منفرد است. ریشه هایش کاملاً محکم و ساقه اش بسیار منشعب است. گیاه رایحه معطری دارد و بصورت وحشی در خاک های خشک و سنگلاخ های مناطق مدیترانه و ترجیحاً در نواحی آفتاب گیر رویش دارد. در اروپا طی فصل های بهار و تابستان جمع آوری می شود. گونه های مختلف آن در کوهستان های ایران در بخش مرکزی و جنوبی ایران می روید. قسمت مورد استفاده گیاه برگ و گل های گیاه است (امامی و آهی، ۱۳۸۷).

۱-۲-۱- خواص درمانی آویشن

این گیاه از گیاهان دارویی است که در طب سنتی برای بهبودی نارحتی های گوارشی، ضدنفخ، مقوی معده و درمان دل درد، رفع سرماخوردگی، ضد التهاب، آرام بخش و ضد تب کاربرد دارد (Naghbi et al. 2010). در رایحه درمانی یکی از گیاهان مورد توجه است زیرا دارای اثرات ضد عفونت می باشد و اساس آن در درمان سیاه سرفه و همچنین ابتلا به انگل انکیوستوما (نوعی کرم قلابدار) موثر است. از این گیاه به واسطه اثر پاک کننده اش در تهیه فرآوردهایی مانند اقسام دهانشویه ها استفاده می شود.

گیاه مذکور شدیداً مورد علاقه زنبور هاست و عسل حاصل از آن خواص گیاه اصلی را دارا می باشد (امامی و آهی، ۱۳۸۷).

ترکیبات اصلی آویشن شیرازی خشک شامل تیمول (۲۵/۱۸٪)، کراواکرول (۶۱/۲۹٪)، در حالی که مواد تشکیل دهنده اصلی از گیاه تازه شامل تیمول (۴۸/۸٪)، کراواکرول (۱۲/۶٪)، P-Cymene (۵/۱۳٪)، لینالول (۲۵٪) و پیروپینن (۹/۹۵٪) می باشد (Braun & Cohen 2015).

۱-۳- اکسیداسیون روغن ها و چربی ها

اکسیداسیون لیپید یکی از علل اصلی فساد مواد غذایی حاوی چربی ها و روغن ها است. در روغن های خوراکی و غذاهای حاوی چربی منجر به توسعه و تولید طعم های نامطلوب می گردد که عموماً تندی (رانسیدیتی اکسیداسیونی) نامیده می شوند و موجب کاهش مقبولیت این غذاها می شود. به علاوه، واکنش های اکسیداسیونی ارزش غذایی مواد را کاهش می دهند و برخی از محصولات خاص اکسیداسیونی سمی هستند. البته باید در نظر گرفت که تحت شرایط خاص، در برخی مواقع مقدار محدودی از اکسیداسیون لیپیدها برای مثال در پنیرهای رسیده و برخی از غذاهای سرخ شده مطلوب است.

اتواکسیداسیون، واکنش با اکسیژن مولکولی با مکانیسم خود کاتالیزوری، اصلی ترین واکنش اکسیداسیونی است که باعث تخریب لیپیدها می شود. اگرچه لیپیدها از طریق فوتواکسیداسیون (اکسیداسیون نوری یا اکسیداسیون از طریق اکسیژن یگانه) و اکسیداسیون آنزیمی (آنزیم لیپواکسیژناز) نیز اکسید می شوند (آزادمرد دمیرچی، ۱۳۸۹).

روغن ها و چربی ها مانند بسیاری از مواد اشباع نشده توسط اکسیژن هوا اکسید می شوند و نتیجه ی اکسیداسیون مداوم روغن، ظهور تندی همراه با بو و طعم نامطبوع است. ترکیبات حاصل از اکسیداسیون بر طعم روغن ها اثر می گذارند و چنانچه اکسیداسیون در سطح پیشرفته ای صورت گرفته باشد آن ها را غیر قابل مصرف می کنند. به طور کلی بد طعمی روغن ها باید مرتبط با میزان

پراکسید آن ها باشد. روغن ها و چربی ها به تدریج اکسیژن محیط را جذب می کنند و این جذب اکسیژن تا مدتی که آن را دوره ی القا می گویند، بدون این که تغییری در بو و طعم روغن ظاهر گردد ادامه می یابد. در صنایع غذایی باید با استفاده از یک سری ها روش ها از اکسیداسیون چربی ها جلوگیری کرد. مهمترین عوامل موثر در اکسیداسیون چربی ها، نوع اسید چرب، حرارت، اکسیژن، رطوبت، فلزات سنگین، نور، سطح تماس و بسته بندی است. اکسیداسیون چربی ها تحت تاثیر فلزات، نور و گرما و چندین عامل دیگر تشدید شده و می توان با جلوگیری از عمل پرواکسیدان ها و یا استفاده از آنتی اکسیدان ها از انجام آن جلوگیری کرد. فرآورده های اکسیداسیون اولیه، هیدروپراکسید های آللیک هستند. در این حالت پیوند های دوگانه باقی ماند، ولی شکل فضایی و موقعیت آن ها در اسید های چرب تغییر می کند. این ترکیبات به طور مستقیم در ایجاد طعم نامطلوب نقشی نداشته اما مولکول های ناپایداری بوده که به سادگی و طی واکنش های ثانویه به آلدهید های کوتاه زنجیر و ترکیبات دیگر تبدیل می شوند (حبیبه کردساردویی، ۱۳۸۹).

۱-۳-۱- روش های ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغن ها

هر کدام از روش های ارزیابی اکسیداتیو روغن ها و چربی ها محدودیت هایی دارد و انتخاب یک روش بهینه بسیار مشکل است. به همین دلیل کاربرد بیش از یک روش برای ارزیابی پیشرفت اکسیداسیون توصیه می شود. برخی از مهم ترین روش ها در زیر ذکر شده است.

تجزیه های حسی - دی ان های مزدوج - عدد پراکسید - عدد تیوباربتوریک اسید (TBA) - عدد پارا آنیزیدین - محصولات اکسیداسیون مزدوج شونده - طیف بینی فروسرخ.

به دلیل محدودیت فقط به توضیح مورد های پرداخته خواهد شد که در این پایان نامه استفاده شده است.

۱-۳-۱-۱- عدد پراکسید

پراکسید محصول اولیه ی اکسیداسیون مواد چرب است و به طور کلی هر قدر که درجه غیر اشباعیت روغن ها بیشتر باشد روغن و یا ماده ی چرب آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارد. وقتی که میزان پراکسید به حد معینی برسد، تغییرات مختلفی صورت گرفته و مواد فرار آلدیدی و کتونی ایجاد می شوند که در ایجاد بو و طعم نامطلوب مواد چرب موثر می باشند. در طول اکسیداسیون عدد اکسیداسیون افزایش می یابد ولی در مراحل پیشرفته ی اکسیداسیون، به دلیل تجزیه ی پراکسید و تبدیل آن به دیگر فرآورده های اکسیداسیون، عدد پراکسید به مرور زمان شروع به کاهش می نماید. عدد پراکسید را معمولاً با روش یدومتری تعیین می کنند و برحسب میلی اکی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن بیان می کنند. پراکسید می تواند ید موجود در پتاسیم یدید را آزاد کند، مقدار ید آزاد شده را می توان با سدیم تیوسولفات اندازه گرفت. در اندازه گیری پراکسیدها با روش یدومتری، جذب ید در پیوندهای اشباع نشده و آزاد شدن ید از پتاسیم یدید به علت اکسیژن موجود در محلول تیتراسیون، دو منبع اصلی خطا هستند (حبیبه کردساردویی، ۱۳۸۹).

۱-۳-۱-۲- عدد تیوباربتوریک اسید (TBA)

آزمایش TBA یک روش مرسوم برای اندازه گیری محصولات ثانویه ی اکسیداسیون چربی هاست. این روش برای تعیین مقدار مالون دی آلدید محصول مهم تجزیه ای روغن ها و چربی های غیر اشباع با سه یا تعداد بیشتری پیوند دوگانه است. عدد TBA مقدار مالون آلدیدی است که در ۱۰۰۰ گرم چربی وجود دارد. استفاده از عدد TBA برای سنجش فساد ناشی از اکسیداسیون روغن ها را می توان یک روش کمکی برای سایر روش ها از جمله اندازه گیری پراکسید، اسیدیته و تندی به حساب آورد. فرآورده های اکسیداسیون چربی های غیر اشباع با TBA ایجاد یک کمپلکس قرمز رنگی می کند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۲-۵۳۵ نانومتر جذب خوبی دارد. نتایج نشان می دهد که دو مولکول TBA با یک مولکول مالون آلدید واکنش می دهد. بعضی از ترکیبات (به غیر از محصولات اکسیداسیون) نیز در واکنش با TBA ایجاد کمپلکس رنگی می نمایند و در نتیجه در انجام آزمایش

ایجاد خطا می شود، از جمله ی این ترکیبات می توان به ساکاروز اشاره نمود (حبیبه کردساردویی، ۱۳۸۹).

۱-۴- آنتی اکسیدان ها

هر ماده ای که در غلظت های پایین در مقایسه با سوسترای قابل اکسید شدن حضور داشته باشد و قادر باشد به طور معنی داری موجب تاخیر یا جلوگیری از اکسیداسیون آن سوستر شود بعنوان آنتی اکسیدان شناخته می شود. قوانین مربوط به فرآورده های غذایی، آنتی اکسیدان ها را جزء افزودنی های غذایی طبقه بندی می کنند و آنها را به این صورت تعریف می کنند : " موادی که بمنظور نگه داری غذا مورد استفاده قرار می گرفته و موجب تاخیر در فساد، رانسیدیتی، یا بیرنگ شدن ناشی از اکسیداسیون می شوند". آنتی اکسیدان ها ممکن است از اجزای سازنده طبیعی غذاها باشند یا ممکن است بطور عمدی به فرآورده های غذایی اضافه شوند یا در طی فرآوری تشکیل شوند. هدف از کاربرد و استفاده از آنتی اکسیدان ها در روغن ها و چربی ها تاخیر در شروع اکسیداسیون یا کاهش سرعت واکنش های اکسید کننده می باشد. اکسیداسیون شیمیای لیپید ها ترکیباتی با بوها و طعم های مختلف تولید می کند و روی سایر مولکول ها در غذاها نیز تاثیر می گذارد. هدف اصلی استفاده از یک آنتی اکسیدان بعنوان افزودنی غذایی حفظ کیفیت غذا و افزایش عمر نگهداری آن می باشد. استفاده از آنتی اکسیدان ها، ضایعات مواد خام و افت مواد مغذی را کاهش می دهد و انواع چربی هایی را که می توانند در فرآورده های ویژه مورد استفاده قرار بگیرند را توسعه می دهد. بنابراین آنتی اکسیدان ها افزودنی های مفیدی می باشند و در فرآوری و تولید مواد غذایی این امکان را فراهم می سازند که بطور اقتصادی از روغن ها و چربی ها در فرمولاسیون محصول استفاده شود (آزاد مرد دمیرچی، ۱۳۸۹).

۱-۵- نانو فناوری

نانوفناوری عموماً بعنوان "درک کنترل ماده در ابعاد نانو، تقریباً ۱۰۰-۱ نانومتر، جایی که پدیده ها، کاربردهای جدید پیدا میکنند" تعریف میشود. یک نانو ماده، یک نهاد جداگانه است که در یک یا چند بعد دارای ابعاد ۱۰۰ نانومتر یا کمتر میباشد. خواص فیزیکیوشیمیایی (از جمله رنگ، حلالیت، ویسکوزیته، ضریب انتشار، قدرت مواد و سمیت) و خواص بیولوژیکی ساختارها و سیستم ها در ابعاد نانو، در مقایسه با هم‌تایان ماکرو اندازه، مربوط به بر هم کنش تک اتمها و مولکولها بوده که منجر به حصول کاربردهای جدید و بی‌همتا میشود (Neethirajan & Jayas 2011).

افزایش دانش و تکنولوژی های پیشرفته منجر به ابداع سیستم های تحویل نانوساختار برای مواد غذا- دارو شده است (مثل نانوحامل های لیپیدی، نانولیپوزوم، نانوفیبرها و نانوحامل های پلی ساکارید- سورفکتانت ترکیبی و ...). بسیاری از این محصولات جدید موجب بهبود در حلالیت، حفاظت در طول فرآیند، ماندگاری و هضم بوده و قادر به رهاسازی برنامه ریزی شده و بهبود در توانایی زیستی مواد غذا-دارو هستند (Livney 2015).

نانوفرمولاسیونها براساس جنس دیواره به سه گروه تقسیم میشوند: نانوحامل های بر پایه لیپید و سورفکتانت، نانوحامل های بر پایه پلی ساکارید و نانوحامل های بر پایه پروتئین (Oehlke et al. 2014). نانوحامل های بر پایه لیپید و سورفکتانت شامل نانولیپوزوم ها، نانومولسیون ها، نانوذرات لیپید جامد (SLN)، نانو حامل های لیپیدی (NLC)، میسل، سیستم تحویل دارو امولسیونه خودبخودی، نانوسوسپانسیون ها است. نانوحامل های بر پایه پلی ساکارید شامل نانوذرات پلیمر و میسل های پلیمری است. نانوحامل های بر پایه پروتئین نیز شامل میسل های کازئین و پروتئین های پیچیده گوناگون مثل آلبومین، ژلاتین، پروتئین آب پنیر، پروتئین سویا، پروتئین شیر و ذرت است. از آنجائیکه هر کدام از این سیستم ها، مزایای خاصی مثل راندمان کپسولاسیون، پایداری ذرات، حلالیت آبی، جذب دهانی و دسترسی زیستی دارند، درک ویژگیهای ترکیبات هسته و نانوفرمولاسیون ها برای طراحی بهترین سیستم تحویل غذا-داروهای چربی دوست ضروری است.

۱-۵-۱- کاربرد فناوری نانو در صنایع غذایی

فناوری نانو، کاربرد های فراوانی در صنعت غذا، دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد که از جمله کاربرد های آن در صنایع غذایی می توان به استفاده در مواد بسته بندی، کشاورزی و فرآیند های تولید غذا اشاره نمود. با استفاده از فناوری نانو امکان اعمال تغییر در مواد غذایی و اضافه کردن افزودنی های مورد نظر در اندازه های بسیار ریز و دستکاری محتویات فیزیکی مواد غذایی وجود دارد و در نتیجه کیفیت مواد غذایی و هضم و جذب غذا در بدن بهبود یافته و محصولات جدید با طعم ها و رنگ های مختلف حاصل می شود. ترکیبات غیر قابل حل در آب یا روغن در مقیاس نانو به راحتی حل می شوند، حتی این امکان وجود دارد موادی که عموماً پس از مصرف در معده آزاد می شوند، به صورت آزاد نشده به طرف روده هدایت شوند و از آنجا مستقیماً جذب شده و وارد گردش خون شوند (Joseph & Morrison 2006).

۱-۶- پوشش دهی (انکپسولاسیون) ترکیبات و مزایای آن

درون پوشانی فرایندی است که باعث حفظ خصوصیات طبیعی و ذاتی محصول در طی مدت زمان می شود. یکی از کاربرد های فناوری نانو در فرآوری مواد غذایی، پوشش دهی ترکیبات فعال و مغذی با پوشش های خوراکی با اندازه نانو و میکرو و افزودن این ذرات به مواد خوراکی است. نانوانکپسولاسیون را می توان به عنوان تکنولوژی قراردعی مواد مایع، جامد و گازی شکل درون کپسول های کوچک بیان نمود که در ادامه این کپسول ها محتویات درون خود را در مقادیر کنترل شده در طی بازه های زمانی طولانی مدت، در مناطق هدف رها می کنند (Champagne & Fustier 2007). این تکنیک مواد واکنش پذیر را از سایر اجزای سیستم غذایی جداسازی و انتشار آن ها را کنترل می کند (Bédié et al. 2008; Weiss et al. 2008). با استفاده از روش های جدید انکپسولاسیون (درون پوشانی)، حلالیت، پایداری در مقابل اکسیداسیون و ایزومریزاسیون و هم چنین

قابلیت زیستی ویتامین های محلول در چربی و کاروتنوئیدها بخصوص بتا کاروتن، به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد (Ax et al. 2001).

استفاده از نانو حامل ها برای ترکیبات غذا- داروی آبگریز (نوتریسیتیکال) مانند ویتامین می تواند مزایای متعددی از جمله کنترل رهایش در یک مکان و زمان معین (Gouin 2004)، پایداری محصول درون پوشانی شده در برابر نور، حرارت و اکسیژن طی فرایند و نگه داری درون ماتریکس غذایی، افزایش حلالیت ترکیبات آبگریز در محیط های آبی مانند انواع نوشیدنی ها و شیر کم چرب، دسترسی زیستی بالاتر آنها به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای قطرات و عدم کاهش شفافیت، بعلت کوچک بودن اندازه را داشته باشد (Shimoni & Gustavo 2009). از این تکنیک در زمینه های مختلف صنایع غذایی، داروسازی مواد آرایشی و بهداشتی استفاده می شود. کاربردهای غذایی عبارتند از:

- حصول رنگ یکنواخت در ماده غذایی؛
- بازدارندگی در مقابل pH، تغییرات قدرت یونی و درجه حرارت شدید؛
- پوشش دادن طعم ها یا بوهای نامطلوب؛
- جداسازی گونه های واکنش دهنده از یکدیگر؛

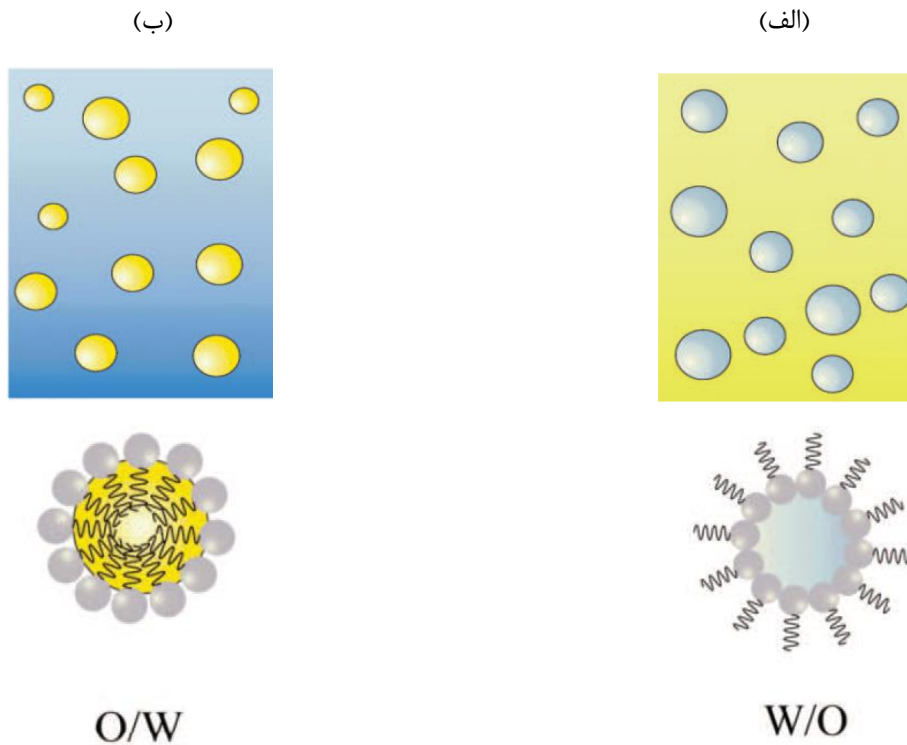
علاوه بر این، در عین حالی که نانوانکپسولاسیون قابلیت پخش پذیری و توزیع ترکیبات نامحلول در آب را افزایش می دهد، نبایست بر روی خواص حسی، رنگ و طعم محصول تاثیر گذار باشد (Vos et al. 2010; Champagne & Fustier 2007). حفظ ترکیب درون پوشانی شده طی فرایند انتقال به ماده غذایی و هم چنین در طی مدت نگه داری، بایستی در بیشترین حد باشد (Sauvant et al. 2012). به منظور موثر بودن سیستم های انتقالی (دارو، غذا و ژن)، ترکیبات درون پوشانی کننده بایستی از مواد طبیعی تهیه شوند و از نظر ایمنی و سلامتی (GRAS) قابل قبول، ارزان قیمت و دارای

اندازه نانو باشند و از تجزیه نابه هنگام آنها جلوگیری شود و سیستم های رهایش باید با دیگر ترکیبات موجود در سیستم، از نظر خواص فیزیکوشیمیایی و کیفی محصول نهایی (ظاهر، بافت، طعم و زمان ماندگاری) سازگار باشند. نکته مهم اینکه در فناوری نانو، تنها کوچک بودن اندازه ذره مد نظر نیست، بلکه تغییر در خصوصیات ذاتی ذره همراه با تغییر در اندازه آن نیز، باید مورد توجه قرار گیرد (Liu et al. 2007).

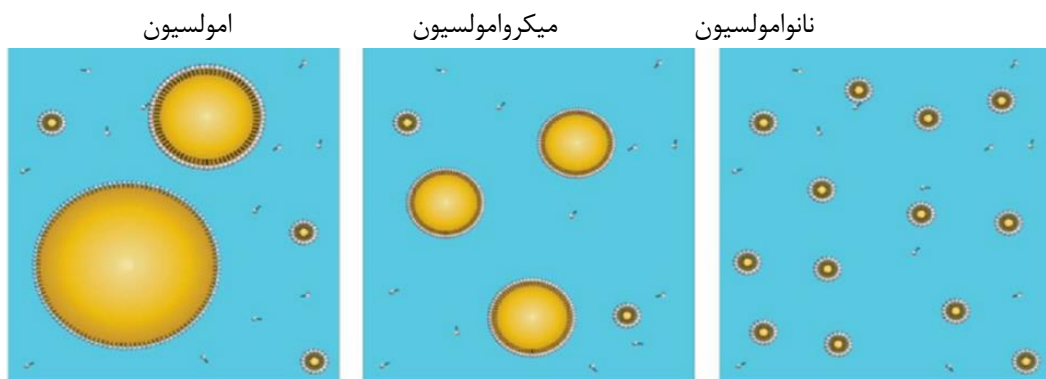
انتخاب مناسب فرایند، امولسیفایرها و دیگر ترکیبات مورد استفاده، مهم ترین عوامل جهت به دست آوردن ذراتی با اندازه و رنگ مطلوب برای هر کاربردی است. البته کنترل دقیق و درست فرایند نیز در طول فرایند تولید فرمولاسیون ها ضروری است (Tamjidi et al. 2013).

۱-۷- امولسیون ها

امولسیون دیسپرسیونی از دو مایع غیر قابل امتزاج می باشد که یکی از فازها (فاز پراکنده یا فاز داخلی) به صورت قطرات کروی در داخل فاز دیگر (فاز پیوسته یا فاز خارجی) پراکنده شده است و نیز لایه بین سطحی بین دو فاز وجود دارد که توسط مولکول های فعال سطحی اشغال شده است. در اکثر غذاها قطر این قطرات بین ۱۰۰ میکرومتر تا ۱۰۰ نانومتر قرار می گیرد.



شکل ۱-۱: (الف) امولسیون آب در روغن (W/O) و (ب) امولسیون روغن در آب (O/W). (McClements et al., 2011).



ترمودینامیکی ناپایدار

$$d > 100$$

در برابر نور مات

ترمودینامیکی ناپایدار

$$d < 100 \text{ nm}$$

شفاف یا کمی کدر

ترمودینامیکی پایدار

$$d < 100 \text{ nm}$$

شفاف یا کمی کدر

شکل ۱-۲: تفاوت انواع دیسپرسیون های کلئیدی (McClements et al., 2011).

امولسیون ها براساس سهم نسبی هر کدام از فازهای آبی و روغنی به امولسیون های روغن در آب (O/W) و آب در روغن (W/O) که در شکل (۱-۱) نشان داده شده و براساس اندازه به امولسیون های

متداول (ماکرومولسیون ها)، نانوامولسیون ها و میکرومولسیون ها تقسیم می شوند (McClements et al. 2011). در شکل (۱-۲) انواع دیسپرسیون های کلوییدی که به ویژه در صنعت نوشیدنی ها قابل استفاده اند و تفاوت آنها نشان داده شده است.

۱-۸- نانوامولسیون ها

نانوامولسیون ها حاوی قطرات نانو مقیاس در دیسپرسیون های کلوییدی چند فازی اند که با حل کردن یک مایع در مایع غیر قابل امتزاج و شکستن فیزیکی ناشی از گسیختگی تشکیل می شوند. نانوامولسیون ها دارای اندازه قطرات ۲۰-۲۰۰ نانومتر هستند. قطر قطرات آن ها کوچکتر از طول موج نور است. بنابراین نور را خیلی ضعیف پراکنده می کنند و ظاهری شفاف دارند. این یکی از ویژگی های بسیار مطلوب نانو امولسیون ها برای کاربرد آنها بعنوان حامل مواد مغذی در نوشیدنی ها می باشد. نانو امولسیون ها به دلیل کاهش اندازه قطرات در محدوده نانو، سیستم های موفق در افزایش شفافیت، افزایش پایداری سینتیکی، افزایش دسترسی زیستی و کارایی ترکیبات هیدروفوبیک اند و دارای مشخصات رئولوژیکی منحصر به فرد هستند. این حامل ها، سیستم های نامتعادل بوده و از لحاظ ترمودینامیکی ناپایدارند، بنابراین دارای تمایل خود به خودی در جدا شدن به دو فاز مجزا می باشند اما پایداری سینتیکی نسبتاً زیادی حتی تا چندین سال دارا هستند (Gutiérrez et al. 2008).

۱-۸-۱- روش های تولید نانو امولسیون

روش های مختلفی برای تولید نانو امولسیون ها استفاده می شود که به طور کلی می توان به انواع روش های کم انرژی و پرانرژی تقسیم بندی نمود.

۱-۸-۱-۱- روش های پر انرژی

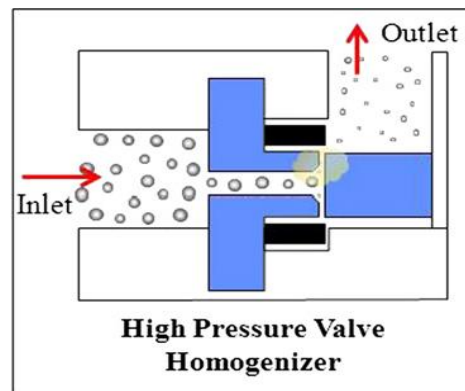
در این روش ها از تجهیزات مکانیکی که قادر به تولید نیرو های شدیدی هستند، استفاده می شود که موجب انحلال مخلوط روغن، آب و امولسیفایر و تشکیل قطرات کوچک فاز پراکنده در داخل فاز پیوسته می شوند (McClements 2012). تولید نانوامولسیون با روش های پرانرژی بوسیله ترکیب

انتخاب شده (مانند سورفکتانت و ترکیبات عملکردی) و مقدار انرژی به کاربرد شده کنترل می شود (Silva et al. 2012).

فرآیند های مکانیکی در تولید نانوامولسیون براساس تجهیزات مورد استفاده به سه دسته تقسیم می شوند :

الف: هموژنیزاسیون فشار بالا

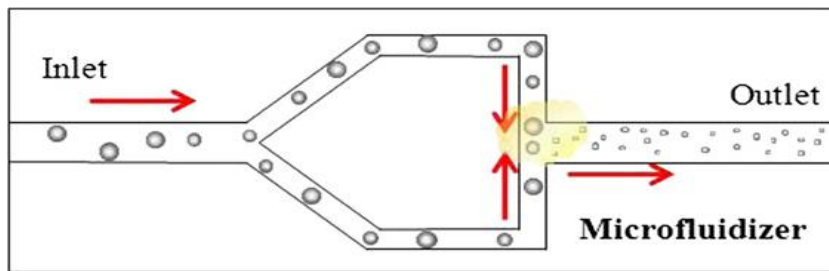
مخلوط تحت فشار خیلی بالا از طریق یک دریچه محدود کننده پمپ می شود (شکل ۱-۳) فشار برشی بسیار بالا، کاویتاسیون و جریان متلاطم موجب قطرات خیلی ریز می شود (Silva et al. 2012) انتخاب نوع هموژنایزر و شرایط مورد استفاده به خصوصیات ماده ای که هموژنیزه می شود (مانند ویسکوزیته، کشش بین سطحی و حساسیت به تنش برشی) و نیز ویژگی های امولسیونی نهایی (مانند غلظت، اندازه قطرات، ویسکوزیته) بستگی دارد (McClements 2012).



شکل ۱-۳: هموژنایزر فشار بالا (McClements 2012).

ب : میکروفلودایزر

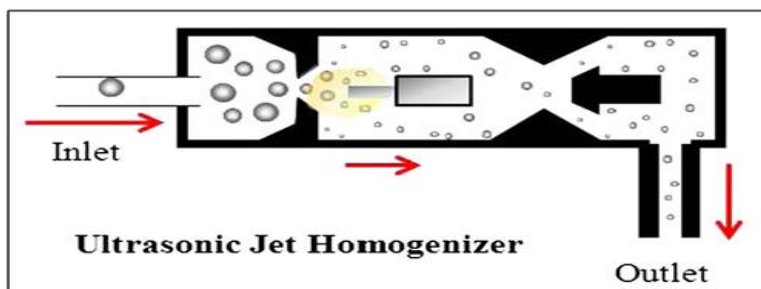
ماکرو امولسیون توسط پمپ فشار قوی وارد یک محفظه می شود شکل (۴-۱) در این محفظه دو جریان از ماکروامولسیون از دو کانال مخالف با سرعت بالا به هم برخورد می کنند و با ایجاد یک نیروی برشی بسیار قوی، قطرات ریز امولسیون را تولید می کنند. طراحی آن مشابه هموژنایزر فشار بالا می باشد (McClements 2012).



شکل ۱-۴: میکرو فلودایزر (McClements 2012).

پ : امواج اولتراسوند

زمانی که دو مایع غیر قابل امتزاج (آب و روغن) در حضور یک سورفکتانت، در معرض امواج فراصوت با فرکانس بالا قرار می گیرند، در نتیجه آشفته‌گی بین سطحی قطراتی از روغن دوارد فاز آبی می شود. سپس در اثر تشکیل حباب های بخار و در نتیجه ی پدیده کاپیتاسیون، قطرات روغن درون فاز آبی می شکنند و قطراتی با اندازه نانو را تولید می کنند (شکل ۱-۵) (Kentish et al. 2008). اگرچه اولتراسوند یک نیروی برشی عالی را برای شکستن قطرات به کار می برد، سرعت انعقاد قطرات بوسیله فعالیت سطحی و غلظت سورفکتانت و ویسکوزیته فاز های روغن و آب تعیین می شود. کاربرد این روش در مقیاس صنعتی بطور کارآمد ثابت نشده است (Li & Chiang 2012).



شکل ۱-۵: پروب سونیکاتور (McClements 2012).

ت : امولسیفیکاسیون غشایی

در این روش ابتدا فاز روغن در یک محفظه تحت فشار که از یک طرف به سیلندر نیتروژن و از طرف دیگر به اتاقک غشا متصل است، ریخته می شود. دریچه سیلندر نیتروژن با فشار ثابت باز شده سپس فاز آبی حاوی سورفکتانت به وسیله ی پمپ جابه جایی مثبت به اتاقک غشا پمپ می شود. روغن از طریق منافذ غشا به فاز آبی در اتاقک غشا نفوذ کرده و بعد از تماس فاز روغن با فاز آب نانو امولسیون تولید می شود (Laouini et al. 2012).

ث : تجهیزات سرعت بالا – تجهیزات استاتور/ روتور (مانند الترا- توراکس)

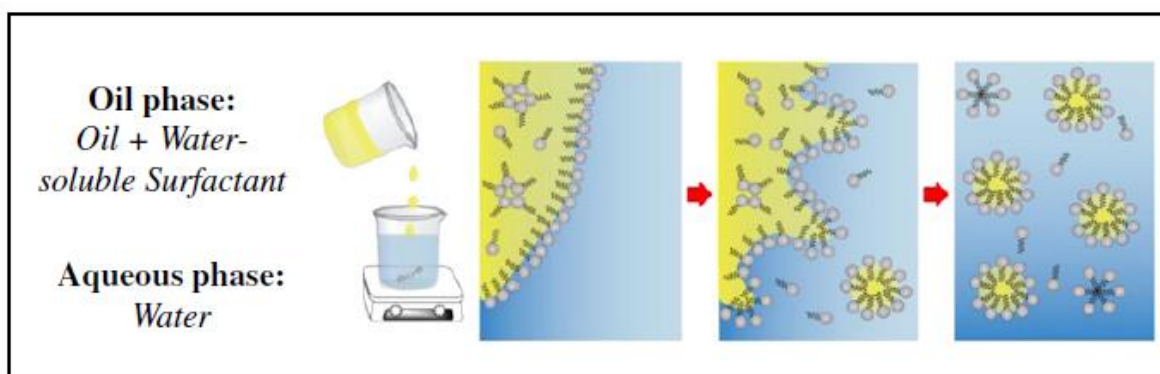
در مقایسه با سایر روش های پرانرژی، یک دیسپرسیون خوب را از لحاظ اندازه ذرات فراهم نمی کند و انرژی تولیدی اکثرا به شکل گرما هدر می رود (Mahdi et al. 2008; Silva et al. 2012).

۱-۸-۱-۲- روش کم انرژی

روش های کم انرژی به طور عمده به کنترل پدیده بین سطحی در مرز بین فاز های آب – روغن تکیه دارند و به شدت به ماهیت هر مولکول فعال سطحی حاضر مثل حلالیت و ساختار مولکولی آنها وابسته است (Rao & McClements 2011). در این روش ها از خصوصیات فیزیکوشیمیایی سیستم برای تولید امولسیون استفاده می شود. مطالعات نشان داده اند که روش های کم انرژی اغلب در تولید ذرات ریز از روش های پر انرژی کارآمدتر هستند و محدودیت این روش ها شامل استفاده از مقادیر بالای سورفاکتانت و انتخاب دقیق نوع سورفاکتانت و نوع فاز روغن است. به طوری باید از غلظت های نسبتا بالا از امولسیفایرهای سنتزی استفاده شود و هم چنین نمی توان از پروتئین ها و پلی ساکاریدها به عنوان امولسیفایر برای تولید آنها استفاده نمود. این امر استفاده از این روش ها را در بسیاری از مصارف غذایی محدود می کند (Rao & McClements 2011; Silva et al. 2012).

امولسیفایرهای مورد استفاده در این تکنیک، سورفاکتانت های ریز مولکول بوده که قادر به پایدار کردن هر دو نوع امولسیون آب در روغن (حداقل در کوتاه مدت) و امولسیون روغن در آب (در بلند

مدت) هستند. یکی از انواع روش های کم انرژی تولید خود به خودی امولسیون یا روش جوانه زنی سورفاکتانت در فاز آبی است که در نتیجه تیتراسیون یک فاز آلی حاوی محلول هموژنیزه روغن، سورفاکتانت هیدروفیل و حلال قابل امتزاج با آب در فاز آبی صورت می گیرد. امولسیفیکاسیون خودبه خودی توسط مکانیزم های مختلف مثل انتشار مواد موجود در محلول بین دو فاز، آشفتهگی بین سطحی، گرادیان کشش سطحی و مکانیزم پراکندگی انجام می گیرد که احتمالا تحت تاثیر ترکیبات سیستم و ویژگی های فیزیکوشیمیایی آنها مثل ویژگی های فیزیکی فاز روغنی و سورفاکتانت است (Silva et al. 2012). هر کدام از فازها حاوی اجزایی هستند که با فاز دیگر غیر قابل امتزاجند؛ یکی از فازها حاوی روغن و دیگری حاوی آب است؛ زمانی که دو فاز در مجاورت هم قرار می گیرند، سورفاکتانت که در هر دو فاز قابل امتزاج است، به تدریج از فازی که در آن حضور داشت به فاز دیگر مهاجرت می کند. با مهاجرت این ترکیب، مساحت بین سطحی افزایش می یابد، آشفتهگی بین سطحی ایجاد می شود و در نهایت امولسیون تشکیل می شود (شکل ۱-۶). می توان با تغییر دادن شرایط هم زدن و نوع فازهایی که برای تولید امولسیون از آن ها استفاده شده بود، اندازه قطرات را کنترل نمود (Rao & McClements 2011)



شکل ۱-۶: طرح شماتیک مکانیزم تولید خود به خودی امولسیون (McClements 2012).

۱-۹- امولسیفایر

به منظور پایداری نانو امولسیون ها یک امولسیفایر یا ترکیبی از امولسیفایرها مورد نیاز است. امولسیفایرها مولکول های فعال سطحی با سر آبدوست (معمولا الکل پلی هیدریک یا اکسید اتیلن) و

دم آبگریز (معمولا اسید چرب یا الکل چرب) هستند. این مولکول ها در سطح بین دو فاز جذب می شوند و موجب کاهش کشش سطحی و در نتیجه جلوگیری و یا کاهش تجمع قطرات فاز پراکنده با افزایش نیروی دافعه بین آن ها می شوند. پایداری نانو امولسیون به عوامل محیطی مانند pH، قدرت یونی، حرارت دادن، خنک کردن بستگی دارد و پایداری بلند مدت امولسیون ها به شدت تحت تاثیر نوع امولسیفایر (یا ترکیبی از آنها) می باشد. در امولسیون امولسیفایر باید به سرعت سطح جدید را پوشش دهد. بنابراین انتخاب نوع امولسیفایر بسیار مهم است. بطور کلی در امولسیون های غذایی دو نوع ترکیب فعال سطحی استفاده می شوند: سورفکتانت های ریز مولکول (مانند مونو گلیسرید ها، استرهای ساکارز و) و سورفکتانت های درشت مولکول (مانند: پروتئین و نشاسته اصلاح شده) (Silva et al. 2012; McClements 2012).

۱-۱۰-۱- ماکروامولسیون ها

ماکروامولسیون ها از لحاظ ترمودینامیکی ناپایدارند بنابراین در طول زمان تمایل به شکست امولسیون (جداشدن دوفاز از یکدیگر) دارند. در این امولسیون ها قطر قطرات مشابه طول موج نور است بنابراین نور را به شدت پراکنده می کند و ظاهری کدر یا مات دارند (Rao & McClements 2012).

ماکرو امولسیون ها به انواع امولسیون های چند لایه و دو گانه طبقه بندی می شوند. در امولسیون های چند لایه قطرات روغن با یک سورفکتانت و یک یا چند پلیمر با بار مناسب پایدار می شوند. در این امولسیون ها نوع پلیمر، نفوذ پذیری پلیمر، واکنش آن نسبت به تنش های محیطی و ضخامت لایه بین سطحی، عوامل موثر در عملکرد مثبت لایه بین سطحی هستند. امولسیون دوگانه یا چند گانه شامل امولسیون های (w/o) پراکنده شده در یک فاز آبی (w/o/w) و امولسیون های (o/w) پراکنده شده در یک فاز روغنی (o/w/o) می باشند. این نوع امولسیون ها در تحویل اجزاء فعال هیدروفیلک ناپایدار، بوسیله ی فاز آبی داخلی، قابل توجه هستند (McClements & Li 2010).

۱۱-۱- میکروامولسیون ها

میکروامولسیون ها مخلوط های خود تجمع یافته از آب، روغن، سورفکتانت و گاهی اوقات کوسورفکتانت و یا کوحلال می باشند که دارای قطراتی با شعاع متوسط ۱۰۰-۲ نانومتر هستند بنابراین مانند نانو امولسیون ها از لحاظ نوری شفاف اند. این حامل ها، سیستم های تعادلی اند یعنی از لحاظ ترمودینامیکی پایدارند و به همین دلیل خود بخودی تشکیل می شوند و پایداری آن ها به روش تولیدشان بستگی ندارد، با این حال ممکن است از لحاظ سینتیکی ناپایدار باشند (Rao & McClements 2011). میکرو امولسیون ها نسبت به نانو امولسیون ها معایبی دارند از جمله اینکه : در غلظت های بالای سورفکتانت (غلظت بحرانی تشکیل میسل) تولید می شوند. ظرفیت بارگیری آن ها کمتر است مخصوصا زمانی که تری گلیسرید ها بعنوان فاز پراکنده استفاده می شوند. محدودیت تولید میکروامولسیون های خوراکی بدلیل محدودیت انتخاب امولسیفایر های خوراکی است. اگرچه میکروامولسیون ها از امولسیون ها پایدارترند، اما به رقیق سازی بیشتر نمونه ها به دلیل استفاده از مقدار بالای سورفکتانت برای تولید نیاز دارند (Rao & McClements 2012).

۱۲-۱- امولسیون پیکرینگ

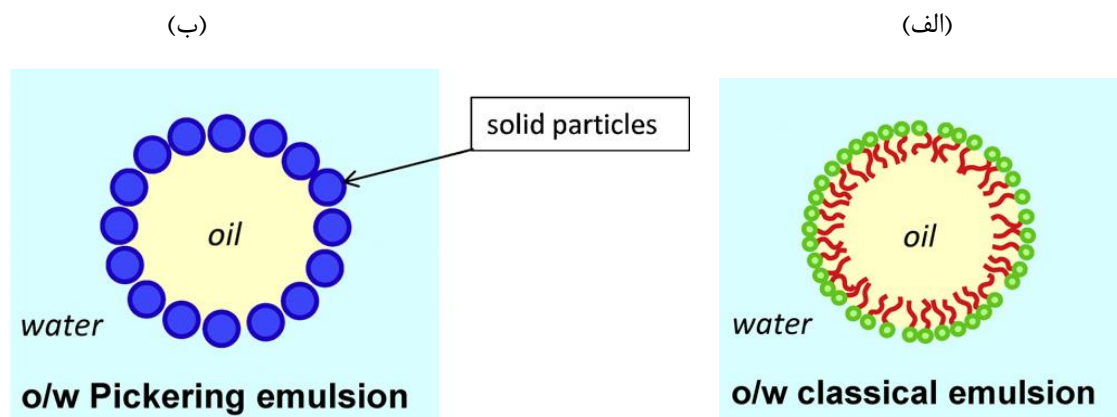
فرق عمده روش پیکرینگ امولسیون با سایر روش ها در استفاده از عوامل فعال سطحی است. در این روش، به جای استفاده از عوامل فعال سطحی (آنیونی، کاتیونی، غیر یونی) که موادی با جرم مولکولی کم هستند، از ذرات جامد برای پایدار کردن قطره های مونومر استفاده می شود.

از انواع ذرات نانو می توان در امولسیون پیکرینگ استفاده کرد، مانند SiO_2 ، سیلیکات های صفحه ای (به ویژه مونت موریلونیت و لایونیت)، روی اکسید (ZnO)، سریم اکسید (CeO_2)، تیتانیوم اکسید (TiO_2) و نانوبلورهای سلولوز. از آنجا که TiO_2 و ZnO به شکل فیزیکی سدکننده نور هستند، در مواد آرایشی (کرم های ضد آفتاب) نیز کاربرد گسترده ای دارند. اکثر ذرات یاد شده آبدوست اند، به همین علت این ذرات نمی توانند نقش پایدار کننده را در امولسیون پیکرینگ ایفا کنند.

در این حالت، باید اصلاح سطح در آنها انجام پذیرد، به طوری که هر دو خاصیت آبدوستی و آبگریزی را داشته باشند. از آزمون هایی که برای اندازه گیری مقدار آبدوستی و آبگریزی می توان انجام داد، اندازه گیری زاویه تماس ذره با آب (Contact angle) است (خمیس آبادی و همکاران، ۲۰۱۲).

انوع زیادی از امولسیون های (O/W) در محصولات غذایی شامل شیر هموژنیزه، مایونز، کره، سس و مانند آن ها وجود دارد. اخیرا بهبود کیفیت امولسیون با ذرات ریز کلوئیدی به عنوان امولسیون کننده ها به یک موضوع مورد علاقه برای محققان دانشگاه و صنعت تبدیل شده است. در مقایسه با سورفاکتانت های سنتی، تثبیت کننده های ذرات دارای مزایایی برای پایداری بین ۲ فاز هستند مثل سازگاری با محیط زیست و غیر سمی بودن (Ye et al. 2017).

امولسیون پیکرینگ، امولسیون از هر نوعی می تواند باشد، از جمله امولسیون روغن در آب (O/W)، آب در روغن (W/O)، و یا حتی امولسیون چند گانه که در آن ذرات جامد در موقعیت سورفاکتانت تثبیت شده اند. شکل (۷-۱) نشان دهنده شکل ظاهری امولسیون پیکرینگ و کلاسیک می باشد.



شکل ۷-۱ الف: امولسیون کلاسیک (براساس سورفاکتانت)، ب: امولسیون پیکرینگ. در قسمت (ب) ذرات جامد در سطح روغن در آب به وسیله ی تثبیت قطرات به جای مولکول های سورفاکتانت جذب می شوند.

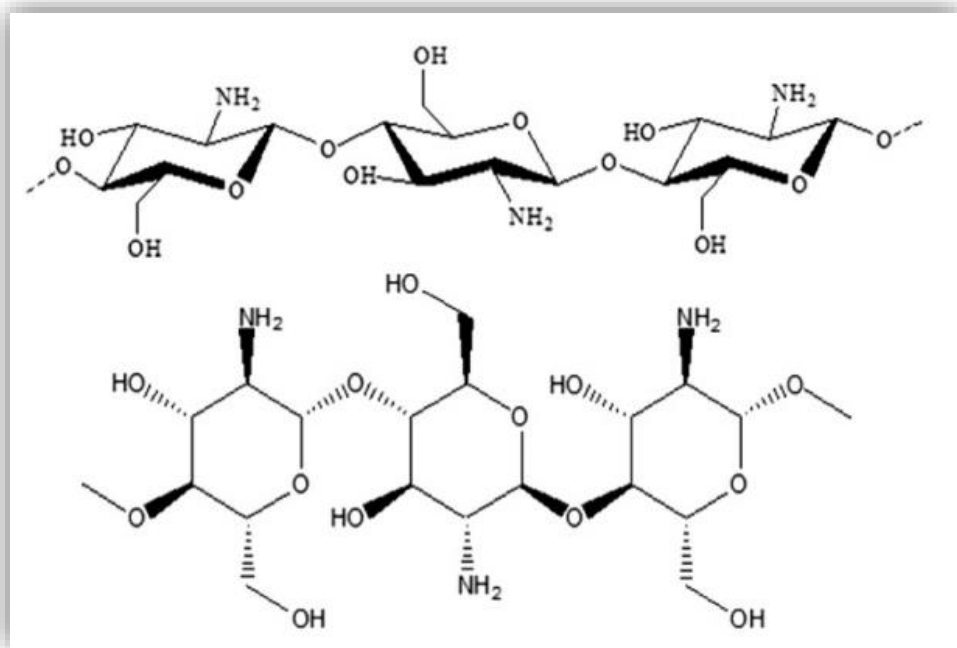
امولسیون پیکرینگ خواص اساسی امولسیون کلاسیک را حفظ می کند. امولسیون پیکرینگ می تواند جایگزین یک امولسیون کلاسیک در اکثر کاربردهای امولسیون شود. تثبیت به وسیله ی ذرات جامد،

خواص ویژه ای را برای امولسیون ها به وجود می آورد. مقاومت بالا در برابر انعقاد یا (coalescence) یکی از مزایای اصلی تثبیت توسط ذرات جامد است. اگرچه در مورد سورفاکتانت، تثبیت قطرات امولسیون به وسیله ی جذب ذرات جامد در سطح قطرات امولسیون اتفاق می افتد، مکانیزم جذب در این نوع ذرات بسیار متفاوت از حالت سورفاکتانت است. مرطوب شدن جزئی سطح قطرات جامد به وسیله ی آب و روغن، منشا مهار قوی ذرات جامد در سطح روغن و آب است (Chevalier & Bolzinger 2013).

۱-۱۳- کیتوزان

۱-۱۳-۱- ساختار کیتوزان

کیتوزان کو پلی ساکارید شامل حلقه های پیرانوز بتا (۱و۴) ۲استر آمید ۲ داکسی D-B گلوکز بتا (۱و۴) ۲ آمینو ۲ داکسی D-B گلوکز است که با اتصالات گلیکوزید متصل شده اند. کیتوزان دارای گروه آمینی است که باعث می شود سطح آن بصورت مثبت باردار باشد. درجه داستیلاسیون کیتوزان تجاری معمولا بین ۷۰ تا ۹۵ درصد است و وزن مولکولی آن ۱۰ تا ۱۰۰۰ کیلو دالتون است (Aider 2010). ساختار مولکولی کیتوزان و مشتقات آن نقش مهمی در تولید خودبخودی دارد. شکل (۸-۱) ساختار مولکولی کیتوزان را نشان میدهد.



شکل ۱-۸: ساختار مولکولی کیتوزان (Yang et al., 2014).

۱-۱۳-۲- خاصیت شلاته کنندگی کیتوزان

کیتوزان در محیط های اسیدی دارای قدرت شلاته کنندگی بسیار بالایی روی یون های فلزی مختلف مانند Mg^{2+} ، Fe^{2+} ، Co^{2+} ، Zn^{2+} ، Ni^{2+} و Cu^{2+} است. لذا در صنایع مختلف به عنوان یک ماده حذف کننده یون های فلزی از محیط مورد استفاده قرار می گیرد (Keogh & O'kenedy 1998).

کیتوزان می تواند با شلاته کردن این یون های فلزی و خارج کردن آن ها از دسترس سلول ها نقش ضد میکروبی ایفا کند. کیتوزان نه تنها در محیط اسیدی بلکه در شرایط خنثی نیز می تواند این نقش خود را ایفا کند (Aider 2010).

۱-۱۳-۳- خاصیت هیدروفوبی و هیدروفیلی کیتوزان

خاصیت هیدروفیلی کیتوزان را می توان با استفاده از قابلیت انحلال آن در آب مشخص کرد. اصلاحات شیمیایی در ساختار کیتوزان می تواند منجر به افزایش قابلیت انحلال آن شود، لذا تولید کیتوزانی که

محلول در آب باشد هدف اصلی تحقیقات در زمینه خواص ضد میکروبی کیتوزان می باشد. از جمله این اصلاحات می توان به قلیایی کردن، آسیله کردن، چهارگانه کردن و متیله کردن اشاره کرد (Nallamuthu et al. 2014).

۱-۱۳-۴- ویژگی های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی کیتوزان

کیتوزان دارای درجه داستیلاسیون و جرم های مولکولی متفاوتی است که این دو جزو ویژگی های فیزیکوشیمیایی مهم کیتوزان است. درجه داستیلاسیون بعنوان درصد گروه های آمین در پلیمر تعریف می شود. درجه داستیلاسیون و وزن مولکولی کیتوزان می تواند با تغییر شرایط واکنش در طول تولید کیتوزان از کیتین تغییر یابد (Liu et al. 2014).

۱-۱۴- کاپریک اسید

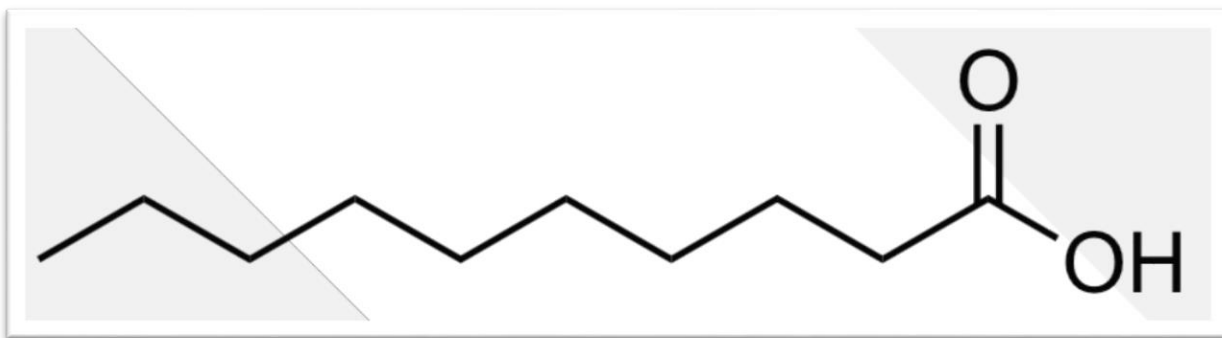
کاپریک اسید با نام شیمیایی یا آیوپاک آن دکانویک اسید (Decanoic acid)، اسید چربی با فرمول شیمیایی $C_{10}H_{20}O_2$ و وزن مولکولی ۱۷۲/۲۶۸ گرم بر مول است.

شکل ظاهری این ترکیب، یک جامد بلور یا کریستال های سفید، دارای بوی بسیار بد و ناخوشایند است.

نقطه ذوب آن ۳۱/۵ درجه سلسیوس می باشد. همچنین دارای نقطه جوش ۲۷۰ درجه ی سلسیوس و تراکم نسبی ۰/۸۸۸۵ و شاخص انکساری ۱/۴۱۶۹ است.

عملا در آب نامحلول، ولی در اکثر حلال های آلی مثل الکل، اتر، بنزن، کلروفرم و دی سولفید کربن و اسید نیتریک رقیق محلول می باشد و غیر سمی است.

شکل (۹-۱) ساختار دو بعدی اسید چرب کاپریک را نشان می دهد.



شکل ۱-۹: ساختار دو بعدی اسید کاپریک (PubChem) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

۱-۱۵- نانوژل ها

ژل ها شبکه های بسیاری با پیوندهای عرضی (شیمیایی یا فیزیکی) و پیکربندی سه بعدی هستند که در یک حلال مناسب رفتار تورمی از خود نشان می دهند؛ اگر این حلال آب باشد، این ذرات را هیدروژل می نامند. این ویژگی هیدروژل ها را از سایر بسپارها متمایز می سازد. میکروژل ها و نانوژل ها نیز دارای پیوند های عرضی درون مولکولی می باشند که قطر حالت متورم آن ها بین ۱۰-۱۰۰۰ نانومتر است. پیوند های عرضی فیزیکی می توانند به وسیله ی درهم گره خوردگی زنجیرها، ایجاد بلور در ساختار بسپار نمایند و یا از برهم کنش های ضعیفی مثل پیوند هیدروژنی یا واندروالسی تشکیل شوند.

نانوژل های بسیاری گستره وسیعی از کاربرد را در دارورسانی، زیست فن آوری و زیست پزشکی دارند که به علت ساختار شیمیایی تنظیم پذیر، ساختار فیزیکی سه بعدی، خواص مکانیکی مناسب، میزان جذب آب زیاد و زیست سازگاری آن ها می باشد. نانوژل های بسیاری به دلیل داشتن نانوحفره ها، قابلیت تورم در آب، شبکه ی با پیوند های عرضی و سازگاری با شرایط زیستی، برای تحویل دارو، پروتئین (آنزیم، انسولین، پادتن و ...)، نوکلئیک اسیدها (DNA و پلاسمید ها) یا جذب سریع مولکول های مورد نیاز از مایعات زیستی کاربرد دارند.

از مهم ترین مشخصات ساختاری نانوژل های بسپاری آن است که ویژگی های هیدروژل و نانوذرات را به صورت مشترک دارند. برخلاف نانوذرات که به دلیل ویژگی های سطحی استفاد می شوند، مهندسی به کار رفته در نانوژل ها برای تهیه ی نانوساختارهایی است که بتواند زیست مولکول ها را در شبکه های بسپاری با پیوند های عرضی به دام بیندازند و نانوژل های حساس به محرک هایی مانند دما، pH، میدان مغناطیسی و ... در خدمت سلامت بشر قرار گیرند.

مهم ترین مزیت های نانوژل ها عبارت است از:

- ✓ زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری بالا
- ✓ جلوگیری از حذف نانوژل ها به وسیله ی سیستم ایمنی بدن
- ✓ قابلیت تراوش مناسب در نتیجه ی اندازه ی کوچک آن ها
- ✓ استفاده برای داروهای آب دوست، آب گریز و مواد حل شونده ی باردار
- ✓ دارا بودن ویژگی های مناسب به عنوان یک حمل کننده

نانوژل ها دارای معایبی نیز می باشند که در مقابل برتری های ذکر شده بسیار ناچیز است:

- ✓ روش های گران قیمت و پرهزینه برای حذف کامل حلال و عامل سطح فعال در پایان فرایند تهیه ی نانوژل
- ✓ امکان باقی ماندن جزیی عامل سطح فعال و تک پار که می تواند سمی و خطرناک باشد.

کاربرد نانوژل ها

- ✓ نانوژل ها به عنوان عوامل ژن درمانی
- ✓ خاصیت روبشی
- ✓ کپسوله کردن آنزیم
- ✓ انسولین رسانی

✓ نانوزل برای درمان اختلالات عصبی

✓ ترمیم بافت استخوان (زرنگار، ۲۰۱۳).

۱-۱۵-۱- روش های شیمیایی تولید نانوزل

➤ پیوند عرضی شیمیایی به وسیله ی بسپارش امولسیون

➤ روش پرتو کافت پالسی

➤ واکنش فوتو فنتون

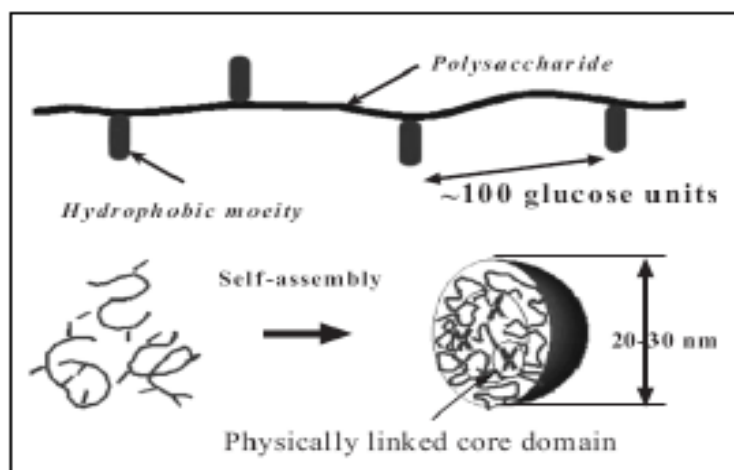
➤ بسپارش نوری (زرنگار، ۲۰۱۳)

۱-۱۵-۲- روش فیزیکی تولید نانوزل

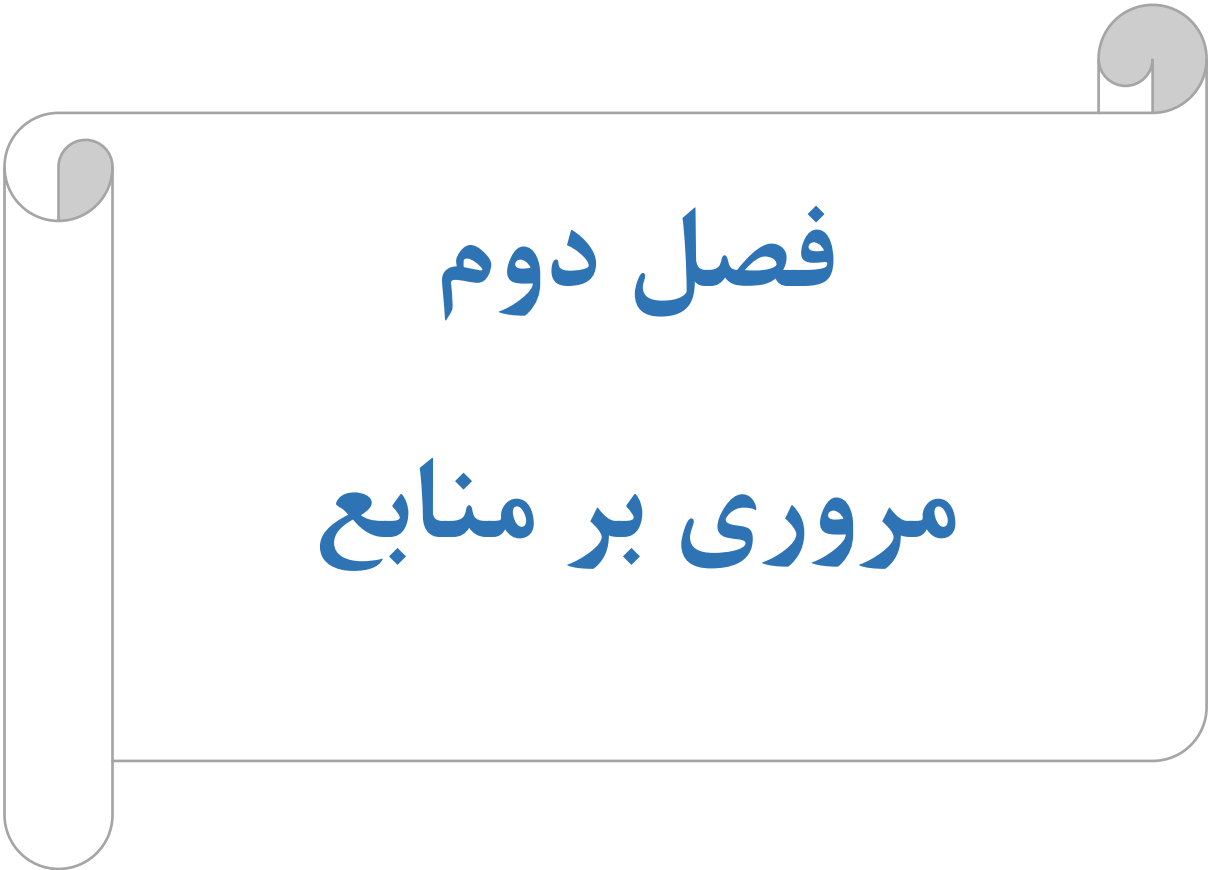
✓ خود تجمعی فیزیکی بسپارها

این روشی است که در این پژوهش از آن استفاده کرده ایم و به توضیحی کوتاه از آن می پردازیم.

نانوزل ها می توانند به وسیله ی خودتجمعی فیزیکی بسپارها تشکیل شوند. هم بسپار های دوگانه دوست (بسپار های با ساختار آبدوست و آب گریز) بسیار مورد توجه می باشند؛ زیرا این هم بسپارها در حلال گزینشی تجمع می یابند و نانو مایسل ها را تشکیل می دهند. رفتار مایسلی هم بسپارها، می تواند با تغییر در اندازه ی دسته ها و نوع بسپار آبدوست یا آب گریز، نسب اجزای سازنده و نوع معماری آن ها و یا در اثر عوامل خارجی مانند تغییر دما، حلال، حرارت یا افزودن الکترولیت و کمک حلال تحت تاثیر قرار گیرد. در طی این فرایند، مولکول های کوچک دارو و ابر مولکول های درمانی مانند ژن ها و پروتئین ها می تواند در داخل نانوساختارهای مایسلی جای گیرند. مطابق (شکل ۱-۱۰) در خود تجمعی فیزیکی بسپارها، بخش های آب گریز، درون شبکه ی بسپاری جمع می شوند و محیط مناسبی برای داروهای آب گریز فراهم می نمایند تا کمپلکس نانوزل تشکیل شود (زرنگار، ۲۰۱۳).



شکل ۱-۱۰: خود تجمعی نانوزل ها

A decorative graphic of a scroll with a light gray border and rounded corners. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving inward. The text is centered on the scroll.

فصل دوم

مروری بر منابع

۱-۲ مروری بر پژوهش های مربوط به روغن هسته انار

- ✓ فرهمند و همکاران (۱۳۹۲)، به مطالعه ای درباره خواص روغن هسته انار و روش های استخراج آن پرداختند. از آنجایی که در فرآوری صنعتی انار، حجم زیادی از ضایعات مربوط به دانه هاست، لذا امید است با بکارگیری روش های نوین و مناسب استخراج، ضمن تهیه روغنی با ارزش تغذیه ای بالا، کمترین آسیب به روغن استحصالی وارد شود.
- ✓ بصیری و همکاران (۲۰۱۱)، برای بررسی خواص آنتی اکسیدانی هسته انار، با استفاده از حلال های مختلف با درجات مختلف قطبیت، عصاره های مختلف از هسته انار تهیه کردند. راندمان تولید عصاره هگزانی بدست آمده از هسته بالاترین مقدار بود.
- ✓ اسپویرت و همکاران (۱۹۹۹) در پژوهشی که انجام دادند، وجود یا عدم وجود آنتی اکسیدان ها در هسته انار را مورد بررسی قرار دادند. آن ها روغن هسته انار را با روش پرس سرد استخراج کردند و ویژگی آنتی اکسیدانی روغن هسته انار را سنجیدند و دریافتند که فعالیت آن نزدیک به آنتی اکسیدان تجاری BHA است.

۲-۲- مروری بر پژوهش های انجام شده در مورد آویشن شیرازی

- ✓ خلیلی و همکاران (۱۳۹۲)، مطالعه ای درباره ی تاثیر عصاره ی روغنی آویشن انکپسوله شده در نانوزل های کایتوسانی در ممانعت از رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس انجام دادند. به طور کلی، نتایج بدست آمده ضمن تایید خاصیت ضد قارچی قابل توجه اسانس آویشن بر روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس، نشان داد که با توجه به فراریت این اسانس و ناپایداری آن در برابر عوامل محیطی، انکپسوله کردن آن نه تنها می تواند خاصیت ضد قارچی اسانس را ارتقا بخشد بلکه از طرف دیگر، به طور قابل ملاحظه ای نیمه عمر اسانس را افزایش داد.
- ✓ عباسی فر و همکاران در سال (۱۳۸۶)، تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر رفتار استافیلوکوکوس اورئوس در پنیر فتا را مورد ارزیابی قرار دادند. در این مطالعه اسانس گیاه آویشن شیرازی به

روش تقطیر با بخار آب استخراج و ترکیب آن با دستگاه گاز کروماتوگرافی طیف سنج جرمی تعیین می گردد.

✓ گندمی و همکاران (۲۰۰۹) (Gandomi et al. 2009)، مطالعه ای درباره ی تاثیر اسانس آویشن شیرازی بر رشد و تشکیل آفلاتوکسین به وسیله ی *آسپرژیلوس فلاووس* در محیط کشت و پنیر پرداختند.

✓ هینداتو و همکاران (۲۰۱۵) اثر نانوکپسولاسیون اسانس آویشن را بر فعالیت ضد میکروبی آن بررسی کردند. آنها اثر نانوزل کیتوزان - بنزوئیک حاوی اسانس آویشن را بر باکتریهای *سالمونلا تایفی موریم*، *یرسینیا پستیس*، *شیگلاسونی*، *لیستریامونوسیتوژنز* و *آسپرژیلوس نایجر* بررسی کردند که نتایج حاکی از افزایش خواص ضد باکتری و قارچی نانوزل مربوطه بود.

۳-۲- مروری بر پژوهش های کیتوزان

✓ شهیدی و همکاران (۱۹۹۹) کاربرد کیتوزان را در مواد غذایی بررسی کرده و خاصیت غیر معمول ضد میکروبی کیتوزان را علیه گروه های مختلف میکروارگانیسم ها گزارش کردند. آنها دریافتند بعلت وجود بار مثبت روی کربن شماره ۲ مونومر گلوکزآمین در pH برابر ۶، کیتوزان قابلیت حل پذیری بیشتری داشته و خاصیت ضد میکروبی آن نیز نسبت به کیتین افزایش می یابد. همچنین کیتوزان می تواند به عنوان شلاته کننده فلزات در غذا و جلوگیری از رشد توکسین در غذاها بکار رود.

✓ نیکولای آئلنی و همکاران (۲۰۰۹)، میکرو ذرات بر پایه کیتوزان حاوی تانیک اسید و رها سازی کنترل شده آن را بررسی کردند.

- ✓ نات راجان و همکاران (۲۰۱۴) کیتوزان را به همراه نانو آلژینات و اسانس زردچوبه و علف لیمو استفاده کردند. بدلیل ناپایداری، و فرار بودن و نامحلول بودن در آب، وقتی اندازه ذرات آن به زیر ۳۰۰ نانومتر رسید، پایداری افزایش قابل توجهی نشان داد.
- ✓ بازرگانی و همکاران (۲۰۱۴) اثر آب انار بر گوشت سینه مرغ همراه با کیتوزان و اسانس را در طول مدت نگهداری بررسی کردند. پس از غوطه ورکردن گوشت در آب انار آن را با کیتوزان و اسانس پوشش داده و به مدت ۲۰ روز نگهداری کردند. بررسی ها نشان داد بار میکروبی (سودوموناس، انتروباکتر، لاکتیک اسید باکتریها و باکتریهای سایکروتروفیک و همچنین قارچها) میزان TBA و اکسیداسیون پروتئین ها بسیار پایین تر از نمونه کنترل بود.
- ✓ پارابهاران (۲۰۱۵) فعالیت زیستی کیتوزان و مشتقات آن را بررسی کرد. مشتقات کیتوزان در وزن مولکولی کم، متوسط و زیاد ساخته شد. نتایج تحقیق خواصی نظیر تغییر پذیری زیستی، ضد میکروبی، ضد التهابی و ترمیم بافت را در کیتوزان و هر سه مشتق آن تایید کرد.

۲-۴- مروری بر پژوهش های امولسیون پیکرینگ و پایداری آن

- ✓ کارگر و همکاران (۲۰۱۲) به تحقیقی در زمینه امولسیون پیکرینگ پرداختند، که توانایی پتانسیلی امولسیون پیکرینگ به منظور افزایش ثبات اکسیدانی امولسیون روغن در آب را مورد بررسی قرار دادند.
- ✓ لوو و همکاران (۲۰۱۲) به مطالعه ای درباره ی سیستم امولسیون برگشت پذیر ساده که توسط pH براساس کیتوزان بدون هیچ اصلاح هیدروفوبیک تنظیم شود پرداختند.
- ✓ Jie Xiao و همکاران (۲۰۱۶) به تحقیقی درباره ی تثبیت امولسیون بر پایه نانوذرات کافیرین (کفیران) پرداختند.

✓ Cheong و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی پایداری نانوامولسیون پیکرینگ دانه ی روغنی کناف در آب که با مخلوط سدیم کازئینات، توئین ۲۰ و بتا-سیکلودکسترین پایدار شده بود، مورد بررسی قرار دادند. نانوامولسیون پیکرینگ روغن در آب تولید شد و توسط مخلوط امولسیفایر بهینه شد. در ادامه اثر برهمکنش سدیم کازئینات و توئین ۲۰ روی ترکیب نانوامولسیون مطالعه شد. نتایج نشان داد که اثر سینرژیک میان آنها به پایداری نانوامولسیون پیکرینگ کمک می کند.

✓ Yiming Feng و همکارانش (۲۰۱۶) در پژوهشی که انجام دادند، مشخص شد که بکارگیری سدیم کازئینات برای بهبود سطح ذرات کلوییدی زئین منجر به پایداری امولسیون روغن در آب می شود. نانوذرات کلوییدی زئین در سطح مشترک آب و روغن جذب شده و امولسیون پیکرینگ را شکل می دهد، اما این امولسیون پیکرینگ بعلت قابلیت رطوبت پذیری ضعیف بصورت ناپایدار می باشد. تصاویر میکروسکوپی نشان داد که پیوستگی سدیم کازئینات پوشش سطحی امولسیون پیکرینگ را بهبود می بخشد. نانو کمپلکس زئین/کازئینات سدیم امولسیون های پیکرینگ را استحکام بخشید و همچنین پایداری سانتیفرژی بیشتری را نسبت به امولسیون های زئین ساده در اغلب pH ها و مقاومت های یونی نشان داد.

✓ رامین شاه و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی دیگر آماده سازی و بهینه سازی امولسیون پیکرینگ پایدار شده توسط ذرات نانو کیتوزان-تری پلی فسفات برای درون پوشانی کورکومین (ماده موثر زرد چوبه) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بعد از بهینه سازی، امولسیون پیکرینگ با پایداری طولانی تر، مقاومت بیشتر در برابر pH و توزیع یکنواخت ذرات ساخته شد.

✓ Jie Xiao و همکاران (۲۰۱۶)، در پژوهشی رفتار رئولوژیکی و میکروساختاری امولسیون های پیکرینگ پایدار شده توسط نانوذرات کافیرین (پروتئین پرولامینی سورگوم) را مورد بررسی

قرار دادند. نتایج این تحقیق این ترکیب را به عنوان یک پایدار کننده طبیعی برای امولسیون پیکرینگ معرفی کرد.

۲-۵- مروری بر پژوهش های درونپوشانی و اکسیداسیون

- ✓ کلثونیک گون کالوس دا روزا و همکاران (۲۰۱۳)، میکروانکپسولاسیون گالیک اسید در کیتوزان و بتا سیکلو دکسترین و گزانتان را بررسی کردند.
- ✓ خلیلی و همکاران (۲۰۱۴) در زمینه درون پوشانی اسانس درون نانوزل به بررسی انکپسولاسیون اسانس آویشن در نانوزل کیتوزان-بنزوئیک اسید با افزایش فعالیت آنتی میکروبی در برابر کپک آسپرژیلوس فلاووس پرداختند.
- ✓ بلانکو و همکاران (۲۰۱۴) نانوحامل های ضد باکتریال را در سیستم های غذایی بررسی کردند.
- ✓ ونگ و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی دیگر کورکومین در نانوذرات زئین/کیتوزان درون پوشانی گردید و در ادامه به منظور پایداری امولسیون روغن در آب استفاده شد. نتایج ارزیابی پایداری اکسیداتیو نشان داد که این نانو ذرات باعث افزایش پایداری اکسیداتیو امولسیون شده اند.
- ✓ اسپوزیتو و همکاران (۲۰۱۵)، اقدام به بهینه سازی روش کپسوله کردن داروهای گرانیقیمت کانابینوئیدز در حامل های لیپیدی نانساختار شده به روش ذوب و فراصوت کردند. در این تحقیق شکل، توزیع اندازه و بازدهی کپسولاسیون مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۶- مروری بر پژوهش های نانوزل

- ✓ وان ویمول پاسانفان و همکاران (۲۰۰۷) اتصال گالیک اسید به کیتوزان را بعنوان واحد های آنتی اکسیدانی بررسی کردند. ترکیب کیتوزان و گالیک اسید که از اتصال ساده (اتیل دی متیل آمینو پروپیل کربو دی ایمید) بدست آمد.

- ✓ هی کیونگ و همکاران (۲۰۰۹) آماده سازی کمپلکس گالیک اسید کیتوزان و کاربرد آن برای جذب ترکیب موتازن و کارسینوژن را بررسی کردند.
- ✓ فریرا و همکاران (۲۰۱۱) نانوذله تولید شده از پولولان با مکانیسم خودبخودی که روشی ارزان و ساده است را مورد بررسی قرار دادند. پولولان اصلاح شده، با هیدروکسی متیل آکریلات یا وینیل متاآکریلات واکنش داده، سپس با هگزا دکانتیول منجر به تولید یک ماده آمفی فیلیک شده، در نتیجه با تولید خودبخودی در آب و واکنش های زنجیره های آلکیل، نانوذله بدست آمد.
- ✓ جیانمینگ و همکاران (۲۰۱۳)، آنتی اکسیدان های فنلی متصل به کیتوزان را از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی بررسی کردند.
- ✓ بیکی و همکاران (۲۰۱۴) اثر نانوذله کیتوزان-اسید سینامیک با اسانس نعنا را بر آسپرژیلوس فلاووس در گوجه فرنگی مطالعه کردند. نتایج نشان داد که با درونپوشانی اسانس نعنا در نانوذله کیتوزان-اسید سینامیک خاصیت ضد قارچی اسانس افزایش یافت.
- ✓ ژاوه و همکاران (۲۰۱۴) اثر نانوذله اسید کافئیک و اسانس روغنی زیره را بر روی رشد آسپرژیلوس نایجر مطالعه کردند. بازدهی انکپسولاسیون حدود ۸۵٪ و میزان اسانس آزاد شده در طول یک هفته ۷۸٪ بود. نتایج نشان داد بعلت فراریت و ناپایداری اسانس زیره، کپسوله کردن درونپوشانی آن می تواند باعث بهبود و افزایش اثر آن شود.
- ✓ خلیلی و همکاران (۲۰۱۴) اثر نانوذله کیتوزان-اسید بنزوئیک حاوی اسانس آویشن را بر آسپرژیلوس نایجر در گوجه فرنگی بررسی کردند. نتایج، خواص ضد قارچی و افزایش عمر نگهداری گوجه فرنگی را تایید کرد.
- ✓ هینداپور و همکاران (۲۰۱۴) نانوذله هیبریدی کیتوزان-گلیکولیپید را برای کپسوله کردن فوکوگزانتین بکار بردند و به این نتیجه رسیدند که پایداری و دسترسی زیستی فوکوگزانتین

درونپوشانی شده نسبت به زمان بکار برده شده بدون نانوذله فوگوزانتین آزاد افزایش قابل توجهی نشان داده است.

✓ آلیک و همکاران (۲۰۱۵) اثر نانوذله های پلی ساکاریدی را در سیستم تحویل دارو بررسی کردند که نتایج خوبی در درمان سرطان بدست آوردند.

فصل سوم

مواد و روشها

در این فصل، مواد به کار رفته، روش های تولید و بهینه سازی فرمولاسیون نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید، روش های انجام آنالیزهای مربوطه به منظور تعیین ویژگی های روغن هسته انار و نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید، پایداری اکسیداتیو و ماندگاری نانوذله طی مدت زمان نگه داری شرح داده شده است.

۳-۱- مواد و تجهیزات مورد نیاز آزمایشگاهی

۳-۱-۱- مواد اولیه مورد استفاده

- ✓ روغن هسته انار از شرکت oil seed (ایران-کرج)
- ✓ اسانس آویشن شیرازی از شرکت باریج اسانس (ایران-کاشان) (عمده ترکیبات آن تیمول ۳۸/۵٪، کارواکرول ۳۵/۱٪، پارا-سیمن ۸/۲٪، گاما-ترپینن ۲/۵٪ و بتا کاریوفیلین ۲/۲٪)
- ✓ کیتوزان از شرکت سیگما آلدریج (کشور آلمان)
- ✓ کاپریک اسید از شرکت سیگما آلدریج (کشور آلمان)
- ✓ کلرید آهن از شرکت سیگما آلدریج (کشور آلمان)
- ✓ ۱-اتیل-۳-(۳-دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید از شرکت فولوکا (کشور آمریکا)
- ✓ استیک اسید ۹۹/۷٪ از شرکت مرک (کشور آلمان)
- ✓ سدیم هیدروکسید از شرکت مرک (کشور آلمان)
- ✓ حلال اتانول از شرکت مرک (کشور آلمان)
- ✓ کیومن هیدروپراکسید از شرکت مرک (کشور آلمان)
- ✓ متانول از (اطلس شیمی _ ایران)
- ✓ کلروفرم از شرکت سامچون (کشور کره)
- ✓ آمونیوم تیوسیانات از شرکت سامچون (کشور کره)

- ✓ تری کلرواستیک اسید ۹۹٪ از شرکت سامچون (کشور کره)
- ✓ آب مقطر از آزمایشگاه دانشکده از دستگاه تقطیر GFL مدل ۲۰۰۴ (کشور آلمان)
- ✓ اسید کلریدریک ۳۷٪ از شرکت مرک (کشور آلمان)
- ✓ آب دیونیزه (دوبار تقطیر) از آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود
- ✓ پلی اکسی اتیلن (۲۰) سوربیتان مونوآلثات - تویین ۸۰ از شرکت مرک (کشور آلمان)

۳-۱-۲- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی مورد استفاده

برای انجام این پژوهش از لوازم و دستگاه های زیر استفاده گردید :

- ✓ ترازوی آزمایشگاهی دیجیتالی، مدل AT261 با دقت ۰/۰۰۱ گرم شرکت Mettler (کشور سوئیس)
- ✓ ترازوی دیجیتالی، مدل PG603-S با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم شرکت Mettler (کشور سوئیس)
- ✓ دستگاه حمام التروسونیک، مدل P ۳۰ h, elma (کشور آلمان)
- ✓ pH متر مدل mettler Toledo (کشور سوئیس)
- ✓ همزن دستی با دور موتور ۵۵۰۰ دور در دقیقه
- ✓ کروماتوگرافی گازی ۴۶۰۰ Unicam مجهز به آشکارکننده نوع FID ، نسبت بین دو شکاف ۱/۱۰۰ و ستون نوع (ID: 0.25 mm*0.22µm*30) Capillary, BPX70
- ✓ میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ساخت شرکت KYKY ، مدل EM۳۲۰۰ و حداکثر ولتاژ KV 30
- ✓ دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی مدل Ultrospec 2000 (Scintec, انگلستان).
- ✓ دستگاه سانتریفوژ مدل R ۵۸۱۰ (eppendorf, آلمان).
- ✓ آون Memmert ساخت کشور آلمان
- ✓ دستگاه طیف سنج مادون قرمز FT-IR مدل ۴۳۰ (jascow, ساخت ژاپن)

- ✓ میکروسکوپ نوری مدل GX Microscopes، ساخت کشور ژاپن
- ✓ دوربین دیجیتالی I*us 115 HS مدل Canon ساخت (کشور ژاپن)

و شیشه آلات آزمایشگاهی مانند: بشر، پیپت، بورت، استوانه مدرج، شیشه ساعت، بالن ژوژه، ارلن مایر

۳-۲- روش ها

۳-۲-۱- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن هسته انار

جهت تعیین ترکیب اسید چرب روغن، آماده سازی نمونه به صورت مشتق متیل استر انجام شد (چریتی، ۱۹۷۳) و به منظور تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن هسته انار از دستگاه کروماتوگرافی گازی به مشخصات: Unicam 4600 مجهز به آشکارکننده نوع FID، نسبت بین دو شکاف ۱/۱۰۰ و ستون نوع :

۳۰۰ Capillary, BPX70 (ID: 0.25 mm*0.22µm*30) استفاده شد. درجه حرارت آشکار کننده ۳۰۰ درجه سانتیگراد، دمای انجکتور ۲۵۰ درجه سانتی گراد، مقدار تزریق نمونه ۱ میکرولیتر بود. درجه حرارت آون دستگاه ابتدا به مدت ۵ دقیقه در ۱۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به ۱۸۰ درجه سانتیگراد رسید و در این درجه حرارت ۹ دقیقه ثابت ماند. گاز حامل هلیوم با سرعت ۱/۲ میلی لیتر بر دقیقه بود. برای تعیین مقدار اسیدهای چرب از منحنی استاندارد خارجی استفاده شد. (آزمایشگاه گروه علوم دام و طیور دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس).

۳-۲-۲- آماده سازی و تولید نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید

کاپریک اسید از طریق اتصالات آمیدی و از طریق واکنش های واسطه ای ۱-تیل-۳-(۳-دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید (EDC) مطابق با روش ارائه شده توسط خلیلی و همکاران (۲۰۱۵) به کیتوزان متصل شد. در ابتدا، ۱ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر استیک اسید آبی (۱٪ حجمی/حجمی) حل شد. پس از افزودن ۸۵ میلی لیتر اتانول، محلول حاصل تحت امواج فراصوت قرار داده

شد. از طرف دیگر، ۶۶۸ میکرولیتر EDC با ۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۳۷۵ میلی گرم کاپریک اسید حل شده در مقدار مشخصی اتانول (مقدار ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد کیتوزان استفاده شده) مخلوط شد. سپس هر دو محلول به مدت ۵ ساعت مخلوط و بهم زده شد. بعد از آن pH با استفاده از هیدروکسید سدیم (۱ مولار) برای آماده سازی نانوذله روی ۸/۵-۹ تنظیم شد. سپس مخلوط برای بهبود یافتن نانوذله آماده شده، سانتریفیوژ شد. نانوذله بدست آمده برای حذف مواد واکنش نداده توسط اتانول و آب مقطر چندین مرتبه شسته شد. محلول شفاف نانوذله در نهایت توسط فیلتر واتمن با مش ۰/۲ میکرومتر فیلتر شد.

۳-۲-۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوذله کیتوزان- کاپریک اسید

۳-۲-۳-۱- طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR)

برای تأیید اتصال کووالانسی گروه های کربوکسیل اسید چرب به گروه های آمین آزاد کیتوزان از دستگاه FT-IR استفاده شد. برای این منظور از کیتوزان، کاپریک اسید و نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید طیف FT-IR تهیه شد. برای تهیه طیف ابتدا از هر سه ترکیب فیلم های خشک شده تهیه شد و سپس با ۱۰۰ میلی گرم برمید پتاسیم مخلوط و به صورت قرص تبدیل شد. سپس طیف مواد با استفاده از دستگاه طیف سنجی مادون قرمز، FT-IR مدل ۴۳۰ (Jasco، ساخت ژاپن) شکل (۱-۳) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و در محدوده $4000-500\text{ cm}^{-1}$ ثبت گردید (خلیلی و همکاران، ۲۰۱۵).



شکل ۳-۱: دستگاه طیف سنجی مادون قرمز، FT-IR مدل ۴۳۰ (Jasco، ساخت ژاپن)

۳-۲-۲-۳- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

مورفولوژی و سایز نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور سه قطره از نانوذله تازه رقیق شده روی لام ریخته شد، این کار بدین صورت انجام شد که یک قطره از نانوذله تازه رقیق شده روی لام ریخته و خشک شد و سپس قطره های دیگر به همین ترتیب اضافه شد و سپس در معرض هوا خشک و در ادامه نمونه با طلا پوشش داده شد. سپس ویژگی های مورفولوژی نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ساخت شرکت KYKY، مدل EM ۳۲۰۰ و حداکثر ولتاژ ۳۰ KV مورد بررسی قرار گرفت (آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی مهندس عبدالحمید رضایی، تهران).

۳-۲-۴- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ

برای تهیه امولسیون های پیکرینگ از روغن هسته انار به عنوان فاز پراکنده، آب مقطر به عنوان فاز پیوسته و نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید به عنوان پایدار کننده استفاده شد. برای تهیه امولسیون پیکرینگ اثر سه فاکتور pH، غلظت نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید و مقادیر روغن بر روی پایداری امولسیون های پیکرینگ پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۲-۴-۱- آماده سازی و تهیه نمونه های امولسیون پیکرینگ برای بررسی تاثیر pH

به منظور بررسی اثر pH های مختلف (۲، ۵، ۸، ۱۰) روی پایداری امولسیون پیکرینگ و همچنین تعیین pH مناسب برای تولید امولسیون پیکرینگ با بیشترین پایداری، ابتدا به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوژل کیتوزان-اسید استئاریک (با غلظت ۵۰٪ کاپریک اسید به کیتوزان)، ۱۰۰ میکرولیتر روغن افزوده شد و به مدت یک دقیقه با همزن با سرعت ۵۵۰۰ دور بر دقیقه، به طور مداوم همزده شد. سپس pH های مختلف با سود یک نرمال تنظیم شد و به مدت یک دقیقه دیگر همزده شدند در ادامه مقدار ۸۰۰ میکرولیتر آب به هر یک از نمونه ها افزوده شد و به مدت یک دقیقه دیگر نیز همزده شدند. سپس در حمام فراصوت (Elma ساخت کشور آلمان) در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند.

۳-۲-۴-۲- آماده سازی و تهیه نمونه های امولسیون پیکرینگ برای بررسی تاثیر غلظت نانوژل

در ادامه نانوژل ها با نسبت های مختلف کاپریک اسید به کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵)٪ برای بررسی تاثیر غلظت های مختلف کاپریک اسید به کیتوزان روی پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده شد. ابتدا مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از نانوژل ها با غلظت های مختلف به ۱۰۰ میکرولیتر روغن آفتابگردان اضافه و سپس به مدت یک دقیقه با همزن، همزده شدند و پس از تنظیم pH (بهترین pH به دست آمده در بخش قبلی) نمونه ها به مدت یک دقیقه دیگر همزده شدند. سپس مقدار ۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن ها افزوده و یک دقیقه نیز همزده شدند و به مدت ۵ دقیقه در حمام فاصوت (Elma ساخت کشور آلمان) با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

۳-۲-۴-۳- آماده سازی و تهیه نمونه های امولسیون پیکرینگ برای بررسی تاثیر میزان روغن

پس از تعیین pH و غلظت نانوذله مناسب، برای بررسی اثر روغن در تولید امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار در آب، از مقادیر مختلف روغن هسته انار (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰) میکرولیتر استفاده شد. برای تهیه امولسیون های پیکرینگ ابتدا به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت مناسب به دست آمده در مرحله قبلی، مقادیر مختلف روغن آفتابگردان افزوده شد و به مدت یک دقیقه همزده شدند. سپس pH مناسب تنظیم شد و به مدت یک دقیقه دیگر همزده شدند. سپس ۸۰۰ میکرولیتر آب به هر نمونه افزوده و به مدت یک دقیقه دیگر نیز همزده شدند و به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت (مدل Elma ساخت کشور آلمان) با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از آماده سازی امولسیون های پیکرینگ از آن ها با میکروسکوپ نوری (مدل GX Microscopes ساخت کشور استرالیا) و دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل پس از ۳ ساعت و پس از ۷ روز نگهداری در دمای محیط عکس گرفته شد.

۳-۲-۵- بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ

۳-۲-۵-۱- میکروسکوپ نوری

برای مشاهده شکل و اندازه ذرات امولسیون، از میکروسکوپ نوری مدل GX Microscopes، ساخت کشور ژاپن استفاده شد. به این صورت که با رقیق کردن امولسیون به نسبت ۱۰ برابر با آب مقطر، ۱ قطره روی لام ریخته و زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ و ۴۰ بررسی شد. سپس با استفاده از دوربین دیجیتال Canon، ساخت ژاپن در روز اول و هفتم از همه نمونه ها عکسبرداری شد.

۳-۲-۵-۲- محاسبه شاخص خامه ای شدن (Creaming test)

شاخص خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ آماده شده مطابق روش Cheong و همکاران ۲۰۱۶ مورد ارزیابی قرار گرفت. به این صورت که ۲ میلی لیتر از هر نمونه نانو امولسیون در داخل شیشه

های آزمایش انتقال داده شد و درب آن ها محکم بسته شد تا از تبخیر آن ها جلوگیری شود و سپس در دمای اتاق (درجه سلسیوس) $(25^{\circ} \pm 2^{\circ})$ و به مدت ۷ روز نگه داری شد. بعد از این مدت هر یک از امولسیون های درون شیشه، به یک لایه ی خامه ای غیر شفاف در قسمت بالایی شیشه و یک لایه سرمی شفاف در قسمت پایینی شیشه جداسازی شدند. بعد از ۷ روز نگه داری، شاخص خامه ای شدن به عنوان شاخص پایداری بلند مدت اندازه گیری شد.

شاخص خامه ای شدن به وسیله ی فرمول (معادله ۳-۳) زیر و با استفاده از خط کش اندازه گیری و محاسبه شد:

$$\text{معادله ۳-۳: اندیس خامه ای شدن} \quad (\text{CD})\% = (H_L / H_E)$$

که در این فرمول H_E ارتفاع کل امولسیون و H_L ارتفاع لایه ی کرم امولسیون می باشد

شاخص خامه ای شدن اطلاعاتی غیر مستقیم درباره ی میزان انعقاد قطره در امولسیون و همچنین وضعیت پایداری امولسیون را تخمین می زند.

۳-۲-۵-۳- سنجش اندازه ذرات امولسیون

برای سنجش اندازه ذرات امولسیون از نرم افزار Image J استفاده شد. روش کار به این صورت بود که پس از تصویربرداری با دوربین دیجیتالی از نمونه های امولسیون در روزهای اول و هفتم با استفاده از نرم افزار Adobe Photoshop CS5، خط مقیاس اندازه گیری شد و با قرار دادن در برنامه Image J اندازه ذرات امولسیون بدست آمد.

۳-۲-۶- بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار با اسانس آویشن

شیرازی

۳-۲-۶-۱- آماده سازی و تهیه نمونه ها

برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو شش نمونه به روش زیر تهیه شدند و به مدت ۲۲ روز در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در آون (مدل Memmert ساخت کشور آلمان) قرار داده شدند و روند اکسیداسیون آن ها در بازه های زمانی ۴-۶ روز یک بار مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱-نمونه امولسیون پیکرینگ : برای تهیه این نمونه، بهترین شرایط از نظر pH، میزان روغن و نسبت کاپریک اسید به کیتوزان استفاده شد. مابقی شرایط تهیه امولسیون مشابه بخش (۲-۳-۱-۵-) بود.

۲-نمونه امولسیون حاوی توئین : برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه روش تهیه نمونه ۱ بود به جز اینکه برای پایداری امولسیون، معادل وزنی نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید از توئین ۸۰ استفاده شد.

۳-نمونه حاوی ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی در روغن: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون ۱ بود با این تفاوت که درون روغن هسته انار قبل از استفاده ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی اضافه شد.

۴-نمونه حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی در روغن: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون پیکرینگ بهینه بود با این تفاوت که درون روغن هسته انار قبل از استفاده ۱۰۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی اضافه شد.

۵-نمونه حاوی ۲۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی در نانوذله: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون ۱ بود با این تفاوت که درون نانوذله مورد استفاده قبل از استفاده ۲۰۰ ppm

اسانس آویشن شیرازی (معادل مقدار اسانسی که در روغن نمونه ۳ استفاده شده بود) با استفاده از روش هادیان و همکاران (۱۳۹۵) درون پوشانی شد (هادیان و همکاران، ۱۳۹۵).

۶-نمونه حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی در نانوژل: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسون ۱ بود با این تفاوت که درون نانوژل مورد استفاده قبل از استفاده ۱۰۰۰ ppm اسانس آویشن شیرازی (معادل مقدار اسانسی که در روغن نمونه ۴ استفاده شده بود) با استفاده از روش هادیان و همکاران (۱۳۹۵) درون پوشانی شد (هادیان و همکاران، ۱۳۹۵).

۳-۲-۶-۲- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با آزمون پراکسید

پراکسید محصول اولیه ی اکسیداسیون مواد چرب است. عدد پروکسید هیدروپراکسید های تولید شده توسط واکنش های اکسیداسیون را تخمین می زند. برای اندازه گیری عدد پراکسید پس از آماده سازی محلول کلرید آهن (II) و محلول ۳۰٪ تیوسیانات آمونیوم، ۹/۸ میلی لیتر کلروفرم / متانول (۳:۷ حجمی / حجمی) به ۱۰ میکرولیتر نمونه افزوده شد و ۲-۴ ثانیه مخلوط شد. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول ۳۰٪ آمونیوم تیوسیانات (وزنی / حجمی) افزوده و به مدت ۲-۴ مخلوط شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آهن به نمونه افزوده شد. بعد از ۲۰ دقیقه جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر نور مرئی مدل مدل Ultraspec 2000 (Scintec، انگلستان) در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. محلول شاهد کلروفرم / متانول (۳:۷ حجمی / حجمی) بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های ۰/۵ تا ۳ میکرولیتر / لیتر کیومن هیدروپراکسید تهیه و توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد و در نرم افزار اکسل ۲۰۱۶ منحنی استاندارد آن بر طبق معادله ۳-۴ رسم گردید. عدد پراکسید (PV) به صورت میکرومول پراکسید در کیلوگرم روغن بیان شد (Waraho et al. 2011).

$$Y = 0.047 X + 0.016$$

معادله ۳-۴:

Y = میزان جذب خوانده شده

X = غلظت بر حسب میکرولیتر / لیتر

۳-۲-۳-۳- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با تست TBA

تغییرات در محصولات ثانویه اکسیداسیون امولسیون پیکرینگ از طریق اندازه گیری مقدار TBARS^۱ مطابق با روش توصیف شده توسط مکدونالد و هالتین تعیین شد (mcdonald & hultin. 1987).

برای آزمایش ۲ میلی لیتر محلول TBA (۱۵ گرم تری کلرو استیک اسید + ۰/۳۷۵ گرم TBA + ۱/۷۶ میلی گرم هیدروکلریدریک اسید ۱۲ نرمال + ۸۲/۹ میلی لیتر آب) به ۱ میلی لیتر نمونه (۱۰۰ میکرولیتر نمونه امولسیون پیکرینگ + ۹۰۰ میکرولیتر آب) اضافه شد. سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب سرد قرار گرفتند. در نهایت مخلوط نمونه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه با سانتریفوژ مدل R ۵۸۱۰ (Eppendorf، آلمان) سانتریفوژ شد. اندازه گیری جذب در ۵۳۲ نانومتر انجام شد. محلول شاهد محلول حاوی تمام مواد ذکر شده به جز نمونه امولسیون بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های مختلفی از ۱،۳،۳-تتراهیدروکسی پروپان (مالون دی آلدهید) تهیه شد و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتری نور مرئی مدل Ultrospec ۲۰۰۰، در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و در نرم افزار اکسل ۲۰۱۶ منحنی استاندارد آن رسم گردید. عدد TBARS به صورت میکرومول مالون آلدهید در کیلوگرم روغن بر اساس معادله ۳-۵ بیان شد (venkateshwarlu. 2014).

$$Y = 0.1231 X - 0.1434 \quad \text{معادله ۳-۵:}$$

Y = میزان جذب خوانده شده

X = غلظت بر حسب میکرولیتر / لیتر

۳-۲-۷- تجزیه و تحلیل داده های آماری

تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. میانگین و انحراف استاندارد (SD) با استفاده از نرم افزار میکروسافت اکسل ۲۰۱۶ محاسبه شد. آنالیز واریانس یکطرفه و همچنین آزمون چند دامنه دانکن برای مقایسه اختلاف ها در سطح ۵٪ با نرم افزار SPSS 16.0 محاسبه گردید.

۳-۲-۸- محل و مراحل انجام آزمایش

آزمایشها در آزمایشگاه صنایع غذایی، گیاهپزشکی، باغبانی، خاک شناسی واقع در دانشکده کشاورزی بسطام دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شد.

A decorative scroll frame with a light gray border and rounded corners. The top and bottom edges are slightly curved, and there are small gray circular accents at the top corners, resembling the ends of a scroll.

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری

۱-۴ تعیین پروفایل اسید های چرب روغن هسته انار

در جدول شماره (۱-۴) ترکیب اسید های چرب روغن هسته انار که به روش کروماتوگرافی گازی به دست آمده، نشان داده شده است. نتایج حاصل از پروفایل اسید های چرب نشان می دهد، که در کل ۱۴ اسید چرب با استفاده از این دستگاه به دست آمده که از این میان اسید چرب های پونیسیک اسید، اسید چرب ناشناخته ۲، اولئیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیتیک اسید، استئاریک اسید بالاترین میزان را به خود اختصاص می دهند. این نتایج با نتایج تحقیقات قبلی که بالاترین میزان اسید های چرب را به ترتیب درصدشان پونیسیک اسید (۱۸:۳) < لینولئیک اسید (۱۸:۲) < اولئیک اسید (۱۸:۱) < پالمیتیک اسید (۱۶:۰) < استئاریک اسید (۱۸:۰) گزارش کرده اند، با اندک ناچیزی تفاوت مطابقت دارد (Abbasi et al. 2008). علت این تفاوت ناچیز را می توانیم به تفاوت در استفاده از روش های مختلف استخراج روغن و همچنین تفاوت در وارسته و محل کشت انار اشاره کنیم.

جدول (۱-۴) غلظت و درصد اسیدهای چرب نمونه روغن هسته انار(غلظت بر حسب میلی گرم بر یک گرم روغن) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی

درصد	غلظت (میلی گرم / گرم روغن)	اسید چرب
۰/۰۵۰	۰/۳۶۸	C۱۴:۰
۴/۰۹۲	۳۰/۲۱۵	C۱۶:۰
۰/۰۹۲	۰/۶۷۶	C۱۶:۱
۰/۱۰۰	۰/۷۳۶	C۱۷:۰
۳/۰۲۲	۲۲/۳۱۱	C۱۸:۰
۹/۵۷۱	۷۰/۶۶۴	C۱۸:۱ (n-۶) c
۸/۹۸۰	۶۶/۳۰۴	C۱۸:۲ (n-۶)
۴/۰۵۷	۲۹/۹۵۴	C۱۸:۳ (n-۳) W۳
۰/۲۹۳	۲/۱۶۴	C۲۰:۰
۰/۵۷۱	۴/۲۱۳	C۲۱:۰
۵۴/۰۵۰	۳۹۹/۰۶۰	C۱۸:۳ (پونیسیک اسید)
۳/۸۴۸	۲۸/۴۱۴	ناشناخته ۱
۹/۷۹۵	۷۲/۳۲۱	ناشناخته ۲
۱/۴۷۹	۱۰/۹۱۹	ناشناخته ۳

با توجه به جدول شماره (۴-۱) بیشترین غلظت که حدود ۳۴۰ میلی گرم در گرم روغن می باشد مربوط به اسید پونیسیک (اکتادکا تریئو ئیک اسید) بود که یک اسید چرب ۱۸ کربنه با ۳ بانده مزدوج می باشد. هم چنین طبق جدول (۴-۱) تقریباً ۵۵٪ روغن هسته انار، یعنی بیش از نصف ترکیب این روغن را، اسید پونیسیک تشکیل می دهد. این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات قبلی مطابقت دارد که مقدار اسید پونیسیک را تا حدود ۷۵/۷۶٪ نیز اعلام کرده اند (فرهمند و حداد خداپرست، ۲۰۱۳). همچنین با توجه به جدول شماره (۴-۲) که اسیدهای چرب به تفکیک اشباع و غیر اشباع بودن تقسیم شده اند، نشان می دهد که تنها درصد کمی از اسیدهای چرب روغن هسته انار از اسیدهای چرب اشباع (SFA) تشکیل شده است و درصد بیشتری از روغن را، اسیدهای چرب غیراشباع (UFA) تشکیل می دهد. این نتایج با نتایج حاصل از تحقیقات قبلی که بیان کردند حدود ۸۰٪ از اسیدهای چرب روغن هسته انار از نوع غیراشباع است مطابقت دارد (بصیری و همکاران، ۲۰۱۱). لینولئیک و لینولنیک اسید، اسیدهای چرب ضروری بوده که بدن قادر به سنتز آنها نمی باشد و نقش مهمی در متابولیسم بدن ایفا می کنند. روغن هسته انار حاوی مقادیر بالایی اسیدهای چرب غیر اشباع از نوع امگا ۳ و امگا ۶ است که نقش حائز اهمیتی در پیشگیری از بروز بیماری های قلبی - عروقی دارد (فرهمند و حدادخداپرست، ۲۰۱۳). اسیدهای چرب چند غیراشباعی نقش مهم در پیشگیری از گرفتگی عروق دارند. آن ها همچنین پیش ساز ترکیبات بیوشیمیایی از جمله پروستاگلاندین ها می باشند.

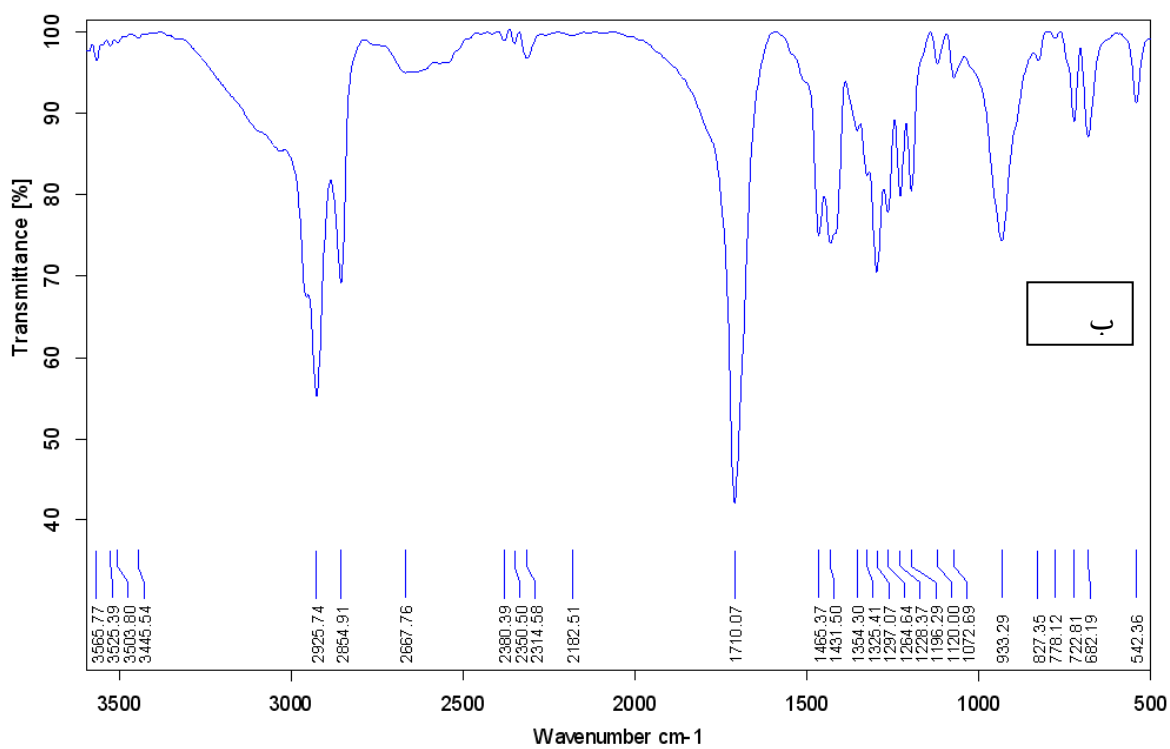
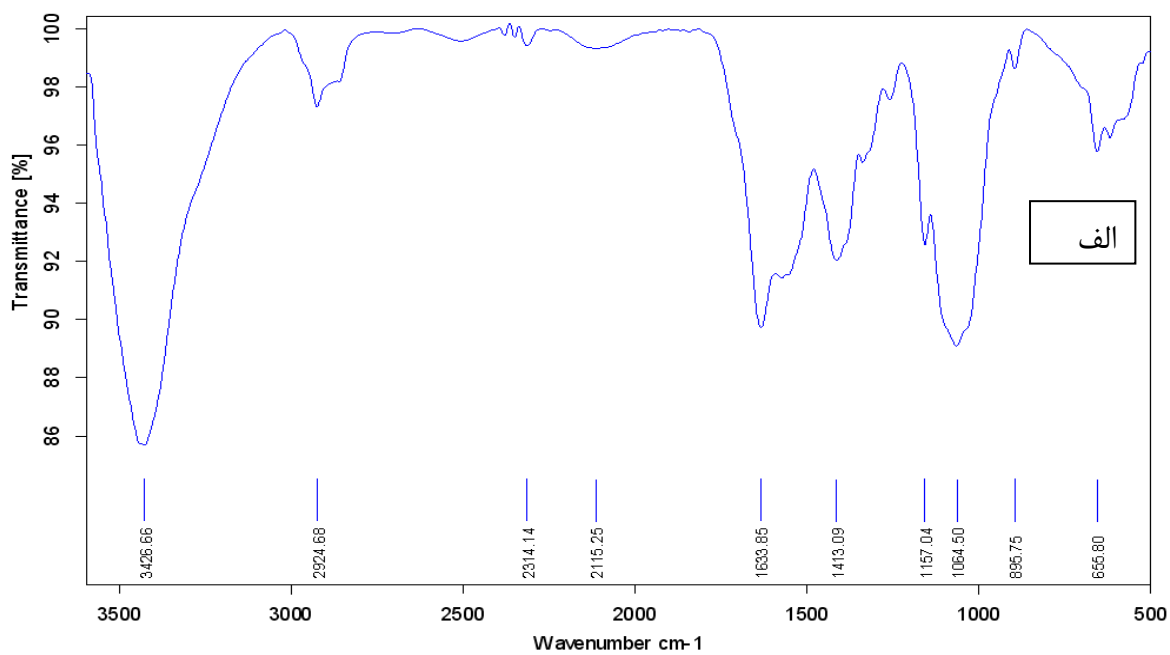
جدول شماره (۲-۴): تفکیک اسید های چرب روغن هسته انار بر حسب اشباع و غیر اشباع

درصد اسید های چرب اشباع (SFA)					درصد اسید های چرب غیر اشباع (UFA)			
مارگارید ک اسید	آراشیدید ک اسید	استئارید ک اسید	پالمیتی ک اسید	میریستی ک اسید	آلفا لینولنی ک اسید	اولئید ک اسید	لینولئید ک اسید	پونیسید ک اسید
۱۷:۰	۲۰:۰	۱۸:۰	۱۶:۰	۱۴:۰	۱۸:۳ ω3	۱۸:۱	۱۸:۲	۱۸:۳
۰/۱	۰/۲۹	۳/۰۲	۴/۰۹	۰/۰۵	۴/۰۵۷	۹/۵۷	۸/۹۸	۵۴/۰۵

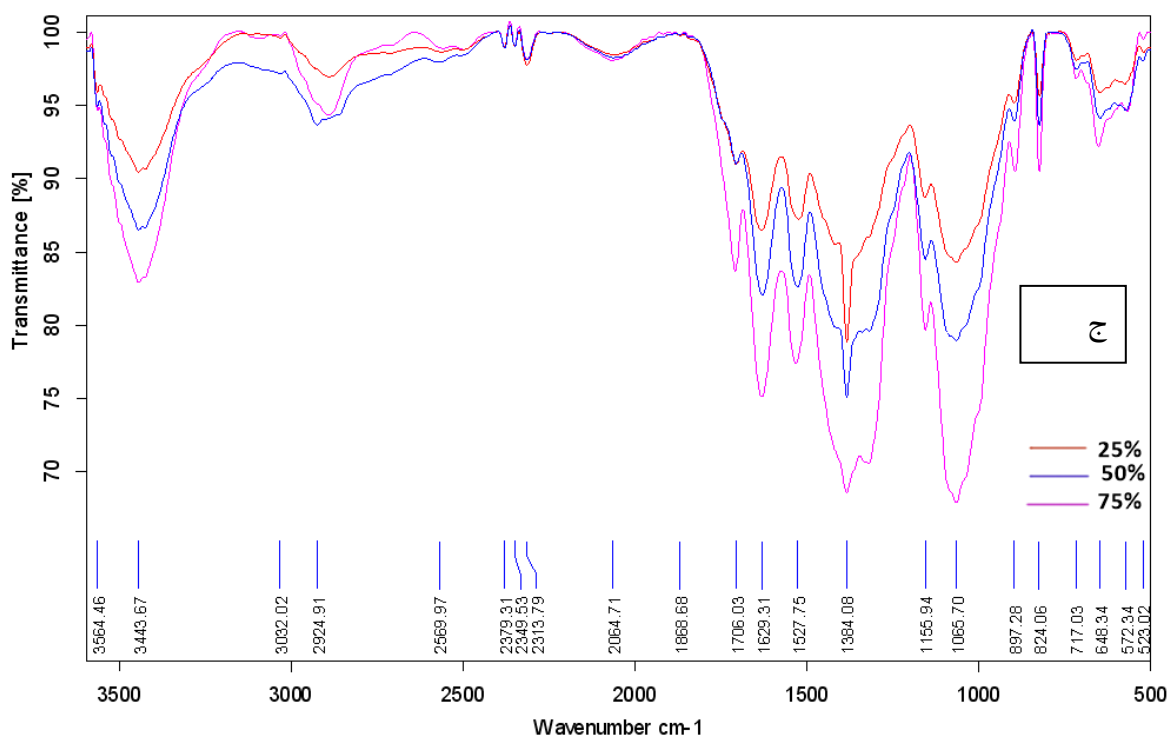
۲-۴ بررسی ساختار نانوذل

۱-۲-۴ بررسی طیف FT-IR

در مرحله اول این تحقیق نانوذل با مکانیسم خود تجمعی، با استفاده از کیتوزان اصلاح شده تهیه گردید. به منظور اصلاح کیتوزان، قسمتی از گروههای آمینوی آزاد کیتوزان به گروه های کاپریک اسید در نسبت های مختلف با استفاده از حد واسط EDC متصل شدند. به منظور تایید باند ایجاد شده بین گروه آمین کیتوزان و کربوکسیل کاپریک اسید طیف سنج FT-IR استفاده شد. در شکل (۱-۴) طیف های FT-IR مربوط به کیتوزان، کاپریک اسید و نانوذل های کیتوزان- کاپریک اسید (درصد کاپریک اسید به کیتوزان ۲۵، ۵۰ و ۷۵) نشان داده شده است.



شکل ۴-۱: طیف های FTIR مربوط به الف: کیتوزان، ب: کاپریک اسید ج: نانوزل کیتوزان - کاپریک اسید (۲۵ ، ۵۰ و ۷۵٪) کاپریک اسید.



در شکل (۱-۴-الف) طیف کیتوزان جذب در ناحیه $3500-3400 \text{ cm}^{-1}$ را نشان می دهد که این مربوط به گروه هیدروکسیل کیتوزان می باشد. در 2924 cm^{-1} پیک مربوط به ارتعاش کششی گروههای CH_2 است. در 2115 و 1634 cm^{-1} به ترتیب پیک ها مربوط به ارتعاشات کششی گروههای N-C و N-H آمید کیتوزان (گروههای آمین دی استیله نشده) مشاهده می شود. پیک در 1413 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C-H موجود در حلقه های قند است (Chiono et al., 2008; Peng et al., 2010).

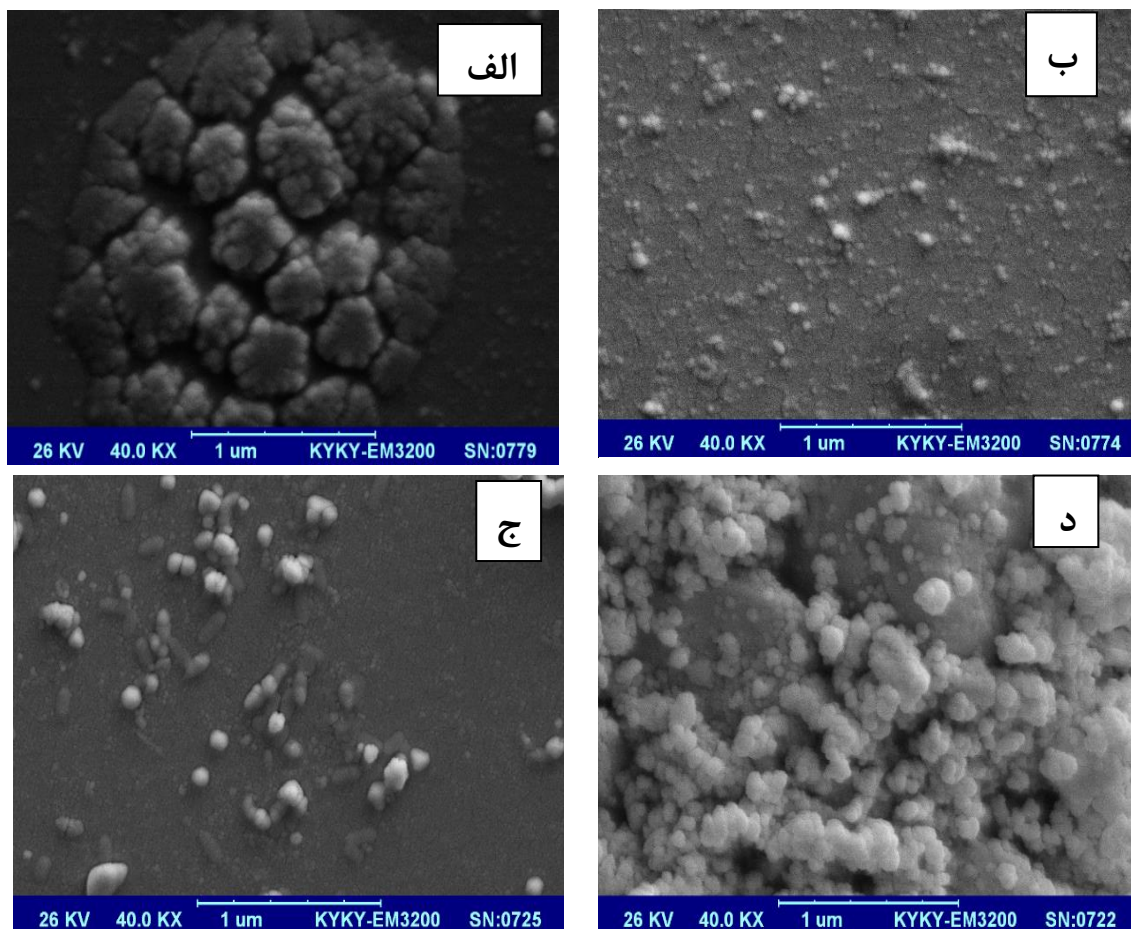
در شکل (۱-۴-ب) طیف مربوط به کاپریک اسید نشان داده شده است. پیکهای شناسایی شده در 2917 cm^{-1} و 2849 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C-H گروههای CH_2 . پیک 1701 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C=O گروه کربوکسیل اسید چرب، 1470 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی C-H گروههای CH_2 و گروه CH_3 اسید چرب، 1261 cm^{-1} ارتعاش کششی C-O گروه کربوکسیل اسید چرب، 940 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی O-H اسید کربوکسیلیک، و پیک های 721 و 686

مربوط به ارتعاش خمشی C-H است.

در شکل (۱-۴-ج) طیف های مربوط به نانوذلهای کیتوزان- کاپریک اسید در نسبت های مختلف نشان داده شده است. با توجه به شکل (۱-۴-ج) پیک های مشاهده شده در نواحی ۲۰۶۴، ۱۷۰۶، ۱۶۲۹ و ۱۵۲۷ به ترتیب مربوط به پیوندهای N-C گروه آمید، C=O مربوط به ارتعاش کششی گروه کربوکسیل اسید چرب و N-H گروه آمید هستند. با توجه به شکل (۱-۴-ج) مشاهده می شود که با افزایش نسبت کاپریک اسید به کیتوزان از ۲۵ به ۷۵ درصد، شدت این پیک ها نیز افزایش پیدا کرده است. این نتایج نشان می دهد که اتصالات آمیدی بین کیتوزان و کاپریک اسید به خوبی شکل گرفته است.

۴-۲-۲ بررسی ساختار نانوذلهای توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی برای نانوذلهای کیتوزان- کاپریک اسید با درصدهای مختلف کاپریک اسید در شکل شماره (۴-۲) نشان داده شده است. با توجه به تصاویر می توان بیان کرد که در غلظت ۰٪ کاپریک اسید، یعنی در حالتی که کیتوزان بدون اصلاح برای تهیه نانو ذرات استفاده شد، تشکیل نانوذرات به خوبی نتوانسته شکل بگیرد اما با اضافه شدن کاپریک اسید به زنجیر های کیتوزان تشکیل ذرات بهتر صورت گرفته است. با توجه به شکل (۴-۲) می توان بیان کرد که با افزایش درصد کاپریک اسید به کیتوزان شکل نانوذرات یکنواخت تر و کروی تر شده است. همانطور که در تصاویر نشان داده شده است، در غلظت ۷۵٪ کاپریک اسید مشاهده می شود که بیشتر ذرات در محدوده زیر ۱۰۰ نانومتر هستند. تشکیل بهتر نانوذرات در درصدهای بالاتر کاپریک اسید را احتمالاً می توان به افزایش خاصیت آبگریزی زنجیره های کیتوزان مربوط دانست که این افزایش خاصیت آبگریزی نتوانسته به تجمع بهتر رشته های کیتوزان و تشکیل نانوذرات کمک کند.



شکل ۴-۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوزل کیتوزان - کاپریک اسید با درصدهای مختلف کاپریک اسید.
الف: ۰٪، ب: ۲۵٪، ج: ۵۰٪ و د: ۷۵٪.

کیتوزان یک پلیمر سازگار بیولوژیکی است که هیچ واکنش آلرژی زایی ندارد. بعلاوه از متابولیسم آن مواد غیر سمی نظیر قندهای آمینی تولید میشود، که کاملاً توسط بدن قابل جذب میباشد. مطالعات زیادی در مورد فرمولاسیون نانو/میکروژل کیتوزان با استفاده از پیوند دهنده های عرضی مختلف گزارش شده است (Nasti et al. 2009; Lee et al. 2012).

برای مثال نستی و همکاران (۲۰۰۹) از پلیمر کیتوزان نانو ذراتی در مقیاس ۱۶۰ و ۲۶۰ نانومتر با استفاده از اتصالات جانبی تری پلی فسفات ساختند. همچنین گزارش آنها مبین یونی بودن پیوندهای عرضی بین این نانوذرات بود. در مطالعه دیگری توسط لی و همکاران (۲۰۱۲) از پلیمر کیتوزان و آلژینات، با استفاده از اتصال دهنده جنیپین، هیدروژلی در مقیاس ۲ میکرومتر تولید گردید.

در مطالعه جوهر و همکاران (۲۰۱۲) از پلیمر کیتوزان و گلیکول با استفاده از روش تولید خودبخودی نانوذلی در ابعاد ۲۰۰ نانومتر تهیه شد. این محققین بیان داشتند که اثرات آب گریزی/ آب دوستی در تشکیل میسل ها بسیار مهم بوده و مناسبت ترین مکانیسم برای شکل گیری میسل ها می باشد.

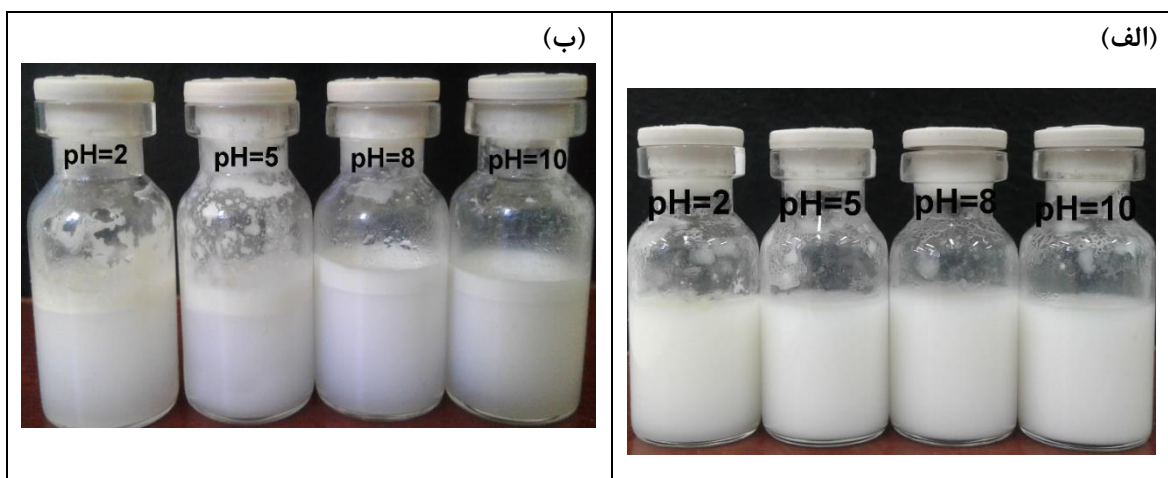
شاه و همکاران (۲۰۱۶) در تهیه نانوذرات کیتوزان- تری پلی فسفات به این نتیجه دست یافتند که اندازه نانوذرات با افزایش نسبت جرمی کیتوزان: تری پلی فسفات کاهش یافت و توزیع اندازه ذرات یکنواخت تر و باریکتر شد. این اتفاق به گروه های فسفات آنیونی در تری پلی فسفات که با آمین های پلیمر کیتوزان برهم کنش دارند ربط داده شد. علاوه بر این در مقادیر پایین نسبت جرمی کیتوزان: تری پلی فسفات، بین ذرات کوچکتر اتصالات عرضی ایجاد شد که این موجب شد که خوشه هایی بزرگتر از ذرات در محلول ایجاد شود (Shah et al., 2016). بیکی و همکاران (۲۰۱۴) در انکپسولاسیون اسانس نعناع در نانوذل کیتوزان- سینامیک اسید، با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی کروی بودن ساختار نانوذل را نشان دادند و همچنین تعیین کردند اندازه ذرات نانوذل کیتوزان- سینامیک اسید کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود (Beyki et al. 2014). ژاوه و همکاران (۲۰۱۵) درونپوشانی اسانس زیره سبز در نانوذل کیتوزان- کافئیک اسید را انجام دادند. نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی کروی بودن ساختار و توزیع یکسان نانوذل های سنتزی را نشان داد (Zhavah et al. 2015).

۳-۴ بررسی عوامل مختلف بر روی پایداری امولسیون پیکرینگ

۳-۴-۱ بررسی اثر pH روی پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار

میزان pH، نقش مهمی را در آماده سازی و پایداری اغلب امولسیونهای پیکرینگ روغن در آب (O/W) دارد (Ye et al. 2017).

پس از آماده سازی نمونه های امولسیون پیکرینگ در همان روز اول آماده سازی پس از ۳ ساعت، عکس دیجیتالی از نمونه های آماده شده تهیه شد که در شکل شماره (۳-۴) آورده شده است. همانطور که از تصویر ظاهری شکل (۳-۴-الف) پیدا هست هیچ تفاوتی در این تیمارها مشاهده نشد و امولسیون ها از نظر ظاهری پایدار بودند. در ادامه نمونه های آماده شده در محیط آزمایشگاه، بدون هیچ جابه جایی به مدت ۷ روز نگه داری شد. سپس از نمونه ها پس از ۷ روز دوباره عکس دیجیتالی شکل (۳-۴-ب) تهیه شد.

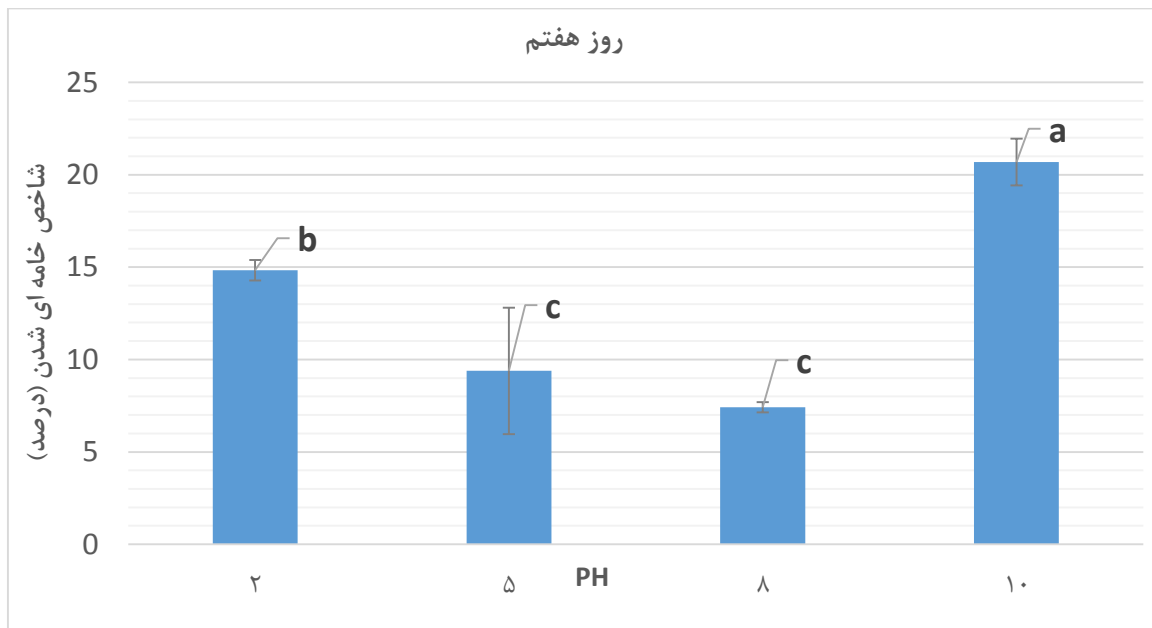


شکل ۳-۴: عکس های دیجیتالی نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید در pH های مختلف. (الف): امولسیون های پیکرینگ در روز اول آماده سازی نمونه ها، (ب): امولسیون های پیکرینگ پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.

شکل شماره (۳-۴-ب) نشان دهنده تصویر ظاهری نمونه های امولسیون پیکرینگ بعد از ۷ روز نگه داری می باشد. تصویر ظاهری، دو فاز شدن یا خامه ای شدن را نشان می دهد که این خامه ای شدن با اندکی تفاوت در همه ی نمونه ها وجود دارد. به طوری که این دو فاز شدن در $pH=10$ بیشتر از همه نمونه ها و در $pH=8$ و $pH=5$ با اندکی تفاوت کمتر از سایر نمونه ها به صورت ظاهری دیده شد.

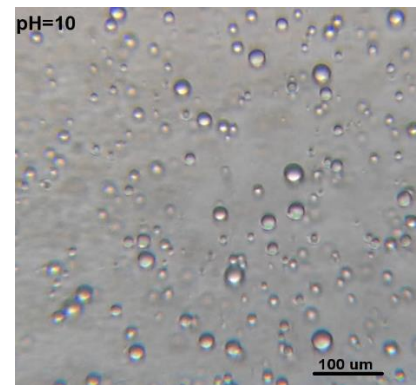
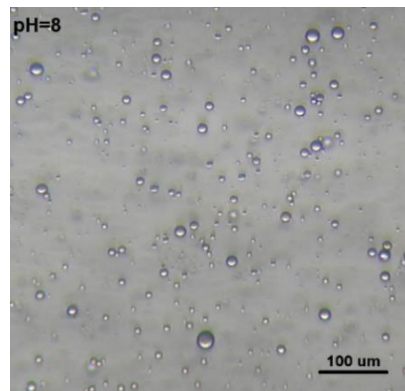
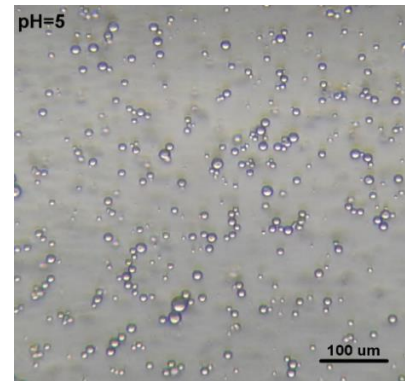
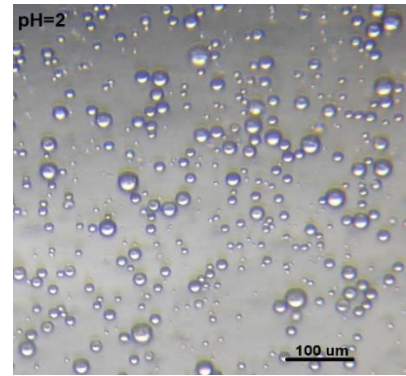
شاخص خامه ای شدن با استفاده از اندازه گیری ارتفاع لایه خامه ای و همچنین ارتفاع کل امولسیون محاسبه شد و مورد مطالعه قرار گرفت. خامه ای شدن در روز اول (۳ ساعت) پس از آماده سازی نمونه ها به دلیل پایداری امولسیون مشاهده نشد، به معنی دیگر شاخص خامه ای شدن در روز اول

برابر صفر بود. ولی همانطور که در نمودار شکل (۴-۴) نشان داده شده است در $\text{pH}=10$ بیشترین درصد خامه ای شدن و $\text{pH}=5$ و $\text{pH}=8$ با اندکی تفاوت کمترین درصد خامه ای شدن را نسبت به سایر نمونه ها داشتند. $\text{pH}=2$ نیز درصد خامه ای شدن بیشتر از $\text{pH}=5$ و $\text{pH}=8$ و کمتر از $\text{pH}=10$ را نشان داد.

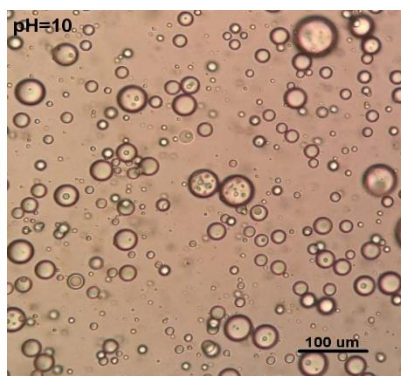
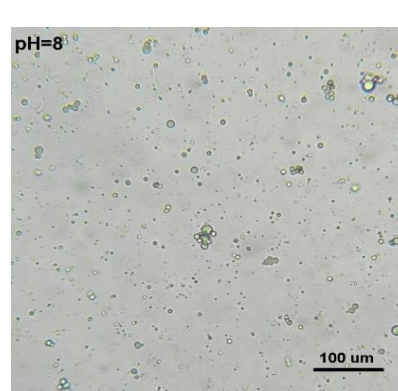
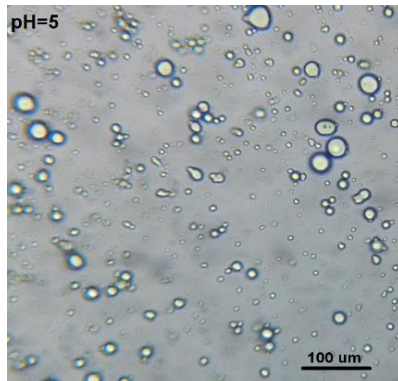
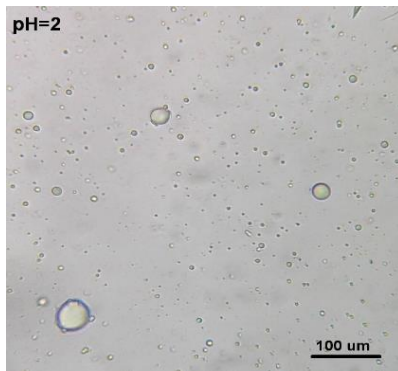


شکل ۴-۴: درصد خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید در pH های مختلف بعد از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق. حروف لاتین مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری و حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری بین نمونه ها در سطح معنی داری ۰.۰۵٪ آزمون دانکن است.

(الف)



(ب)

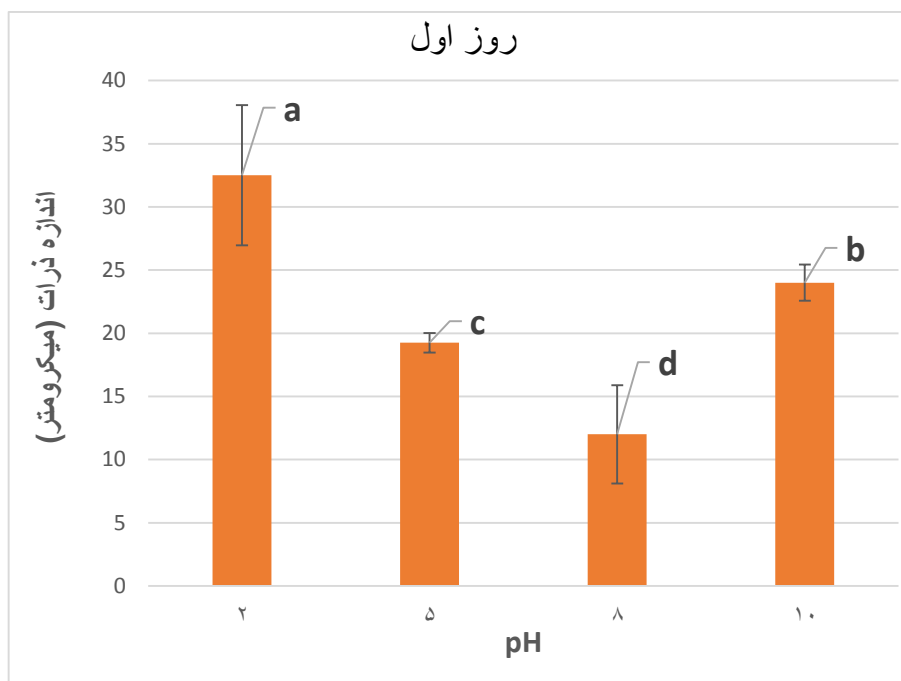


شکل ۴-۵: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید در pH های مختلف با عدسی * ۴۰ (الف): نمونه ها روز اول آماده سازی (ب): نمونه ها پس از ۷ روز نگه داری.

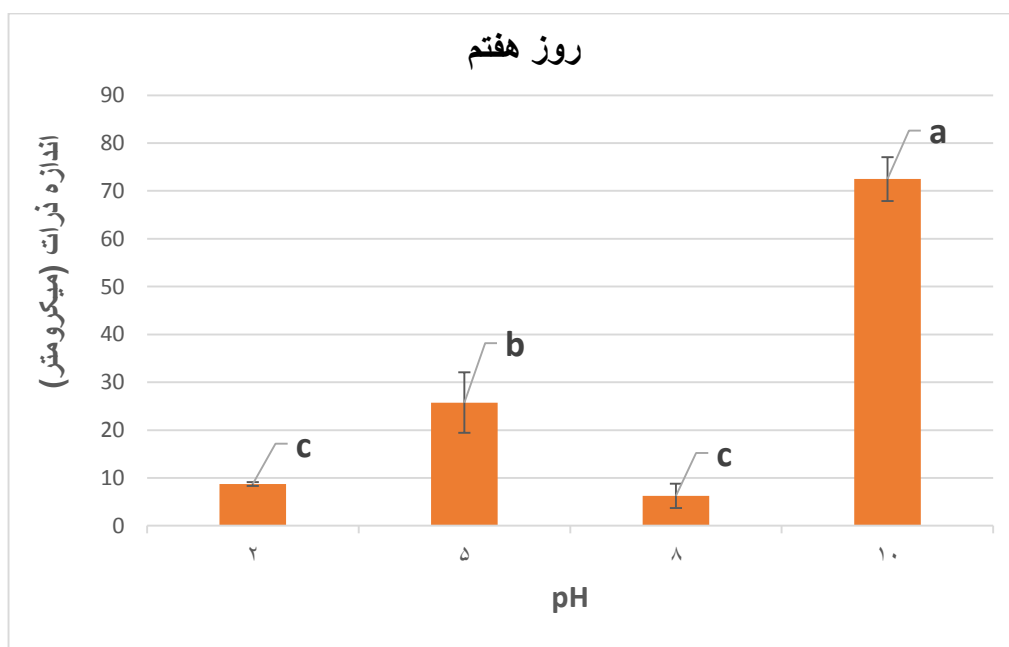
در ادامه برای بدست آوردن نتیجه دقیق تر از تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری و محاسبه ی اندازه ذرات استفاده شد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری در pH های مختلف بعد از ۳ ساعت و در روز هفتم به ترتیب در قسمت (الف) و (ب) شکل شماره (۴-۵) آورده شده است.

همانطور که در شکل (۴-۵-الف) نشان داده شده است بعد از آماده سازی ذرات امولسیون پیکرینگ در $pH=2$ اختلاف زیادی نسبت به سایر نمونه ها داشت و دارای بزرگترین قطرات بود. بزرگ شدن قطرات در این pH احتمالاً از انعقاد و فلوکه شدن بین قطرات امولسیون نشات گرفته است. در صورتی که در $pH=8$ ذرات امولسیون پیکرینگ از سایر نمونه ها کوچکتر بود. بعد از ۷ روز دومرتبه از نمونه ها تصاویر میکروسکوپی تهیه شد. در روز هفتم، شکل (۴-۵-ب)، $pH=10$ و سپس $pH=5$ به ترتیب دارای بزرگترین ذرات بودند و همچنین کوچکترین ذرات به $pH=8$ تعلق داشت.

با استفاده از تصاویر میکروسکوپی و به کمک نرم افزار $image\ z$ اندازه ی ذرات هر کدام از نمونه ها به صورت عددی محاسبه شد. اندازه ذرات و سطح معنی داری آنها در سطح $P<0.05$ در شکل شماره (۴-۶-سه ساعت) و شکل (۴-۷-روز هفتم) نشان داده شده است.



شکل ۴-۶: اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با pH های مختلف در روز اول آماده سازی نمونه ها. حروف لاتین مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی داری بین نمونه ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.



شکل ۴-۷: اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با pH های مختلف پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق. حروف لاتین مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری بین نمونه در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.

مطابق شکل (۴-۶)، سه ساعت پس از آماده سازی نمونه ها، اندازه ذرات اختلاف زیادی با یکدیگر داشتند و امولسیون پیکرینگ در $pH=2$ با میانگین اندازه ذرات $32/5$ میکرومتر بیشترین و $pH=8$ با میانگین اندازه ذرات 12 میکرومتر کوچکترین ذرات را داشتند. اندازه ذرات در $pH=8$ اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد با نمونه های دیگر نشان داد. نتایج اندازه گیری ذرات در روز هفتم (شکل ۴-۷) نشان داد که در $pH=10$ امولسیون پیکرینگ با میانگین اندازه ذرات $72/5$ میکرومتر بیشترین اندازه ذرات و $pH=8$ با میانگین اندازه ذرات $6/5$ کوچکترین اندازه ذرات را به خود اختصاص داد.

نتایج این قسمت را اینگونه می توان تفسیر کرد که با توجه به اینکه کیتوزان یک پلی ساکارید کاتیونی است و روی سطح آن بارهای مثبت قرار دارد، در pH های کمی بازی، بارهای مثبت آن خنثی شده و کیتوزان به حالت رسوب در آمده که در این حالت کیتوزان می تواند بهتر سطح ذرات روغن را پوشش دهد (Liu et al., 2012). نتایج مشابهی با نتایج حاصل از این تحقیق توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. اموانگی و همکاران (۲۰۱۶) به این نتیجه دست یافتند که امولسیون پیکرینگ پایدار شده به وسیله کیتوزان در $pH=7$ و $pH=8$ در پایدارترین حالت خود در برابر انعقاد قطره و خامه ای شدن بودند. این محققین بیان داشتند که این مشاهدات ممکن است به دلیل کاهش دافعه های الکتروستاتیکی که منجر به تجمع شاخه های پلیمری در سطح مشترک روغن-آب و در نتیجه تقویت فیلم بین سطحی باشد. متقابلاً، کاهش در نیروی دافعه ممکن است اجازه ی رسوب ذرات کیتوزان جذب نشده در قطرات را داده باشد که این منجر به تقویت فیلم بین سطحی شده باشد. همچنین کاهش pH باعث افزایش ضریب خامه ای شدن و افزایش اندازه قطره شد، که این نتیجه مربوط به پروتونه شدن گروه های آمین در واحد های گلوکوزآمین و افزایش دافعه الکتروستاتیکی بین شاخه های پلیمری و در نتیجه حل شدن ذرات و نازک شدن فیلم بین سطحی بود (Mwangi et al., 2016). لیو و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقات خود به این نتیجه دست یافتند که

کیتوزان به دلیل داشتن گروه های آمین نسبت به تغییرات pH حساس است. کیتوزان در pH حدود ۴/۱ حل شده و با افزایش pH آمین های کیتوزان پروتون زدایی شد. بنابراین در pH=۴/۱ به دلیل حلالیت کیتوزان امولسیون مناسبی شکل نگرفت ولی با افزایش pH، کیتوزان نامحلول شد و توانست در سطح مشترک روغن-آب تجمع کند و تشکیل امولسیون پیکرینگ دهد. مطابق با نتایج این تحقیق، امولسیون های پایدار شده بوسیله ی تراکم های کیتوزان در $pH > 6/5$ به مدت ۲ ماه پایدار بودند. در حالیکه، امولسیون های پایدار شده بوسیله ی نانوذرات شکل گرفته در $pH < 6/5$ ناپایدار بودند و امولسیون بعد از ۲ روز از بین رفت (Liu et al., 2012). وی و همکاران (۲۰۱۲) در استفاده از کیتوزان به عنوان پایدار کننده در تولید امولسیون پیکرینگ حساس به pH به این موضوع پی بردند که در pH های پایین (کمتر از حدود ۶) آمین های کیتوزان پروتونه شده و باعث حلالیت آن شد. در حالیکه در pH های بالا (نزدیک ۶/۶) پروتون زدایی آمین های کیتوزان توانست باعث تجمع پلیمری و به تبع آن تشکیل امولسیون شود (Wei et al., 2012). همچنین نان و همکاران (۲۰۱۴) در پایدارسازی امولسیون پیکرینگ توسط ذرات آلژینات با پوشش کیتوزانی به این مطلب دست یافتند که در pH های پایینتر از pK_a مولکول های کیتوزان (۶/۵)، ذرات به دلیل دافعه ی الکتروستاتیکی بین پلیمرهای کیتوزانی در ذرات، متورم شدند. این متورم شدن باعث هیدروفیلیک شدن بیشتر ذرات شد و آنها نتوانستند در سطح مشترک روغن-آب به خوبی قرار گیرند و بنابراین باعث ناپایداری امولسیون پیکرینگ شدند. همچنین در pH بالاتر از ۹ جداسازی فاز به علت حلالیت ذرات اتفاق افتاد. در نتیجه امولسیون پیکرینگ تنها توانست در $pH < 9$ و $pH < 4/6$ در برابر انعقاد پایدار باشد (Nan et al. 2014).

با توجه به نتایج درصد خامه ای شدن و اندازه ذرات می توان بیان کرد که $pH=8$ نسبت به pH های دیگر اثر بهتری بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار در آب داشته است.

۲-۳-۴ بررسی تاثیر نسبت کاپریک اسید به کیتوزان روی پایداری امولسیون پیکرینگ روغن

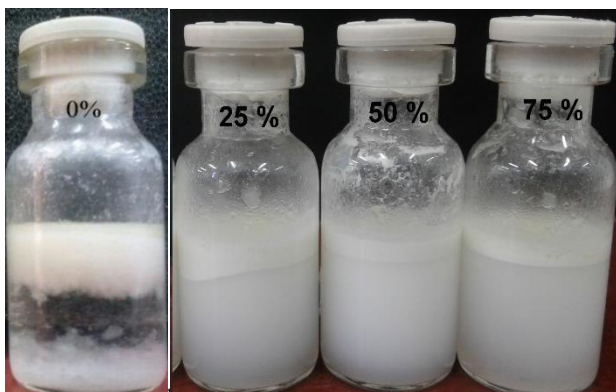
هسته انار

پس از انتخاب $\text{pH}=8$ به عنوان pH مناسبتر، برای تعیین نسبت مناسب کاپریک اسید به کیتوزان و تاثیر آن روی پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار، ۴ امولسیون پیکرینگ با نسبت های مختلف کاپریک اسید به کیتوزان شامل ۰٪، ۲۵٪، ۵۰٪، ۷۵٪ در $\text{pH}=8$ تهیه شد. پس از آماده سازی نمونه ها در همان روز اول (۳ ساعت)، عکس از شیشه نمونه ها با غلظت های مختلف تهیه شد که در شکل شماره (۴-۸) آورده شده است. با توجه به شکل (۴-۸-الف)، نمونه های (۳ ساعت) آماده سازی کاملا پایدار بوده و در همه نسبت ها امولسیون پایداری تشکیل شد. در ادامه نمونه ها به مدت ۷ روز در دمای اتاق بدون هیچ جا به جایی نگه داری شد. همانطور که شکل (۴-۸-ب) نشان می دهد لایه خامه ای در سطح امولسیون ها پس از ۷ روز نگهداری تشکیل شد.

(الف)



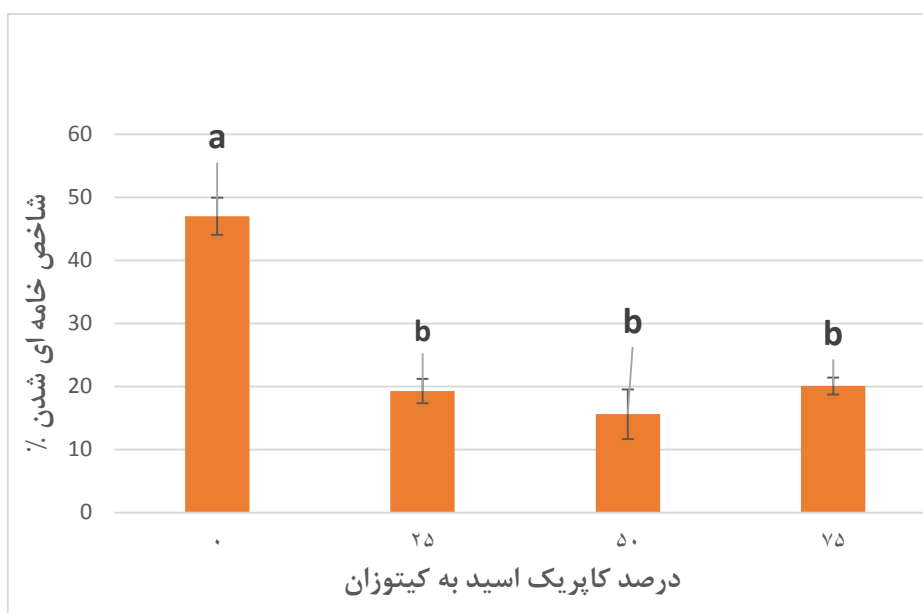
(ب)



۴-۸: شکل ظاهری نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید با غلظت های مختلف. (الف): امولسیون های پیکرینگ در روز اول آماده سازی (ب): امولسیون های پیکرینگ پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق

با توجه به شکل (۴-۸) میزان خامه ای شدن در غلظت ۰٪ بیشتر از بقیه غلظت ها بود. تصاویر ظاهری شیشه های آزمایشگاهی بیانگر نتایج دقیقی نبود و ما برای بدست آوردن نتایج دقیقتر از شاخص خامه ای شدن، عکس میکروسکوپ نوری امولسیون ها با نسبت های مختلف و همچنین میانگین اندازه قطرات استفاده کردیم.

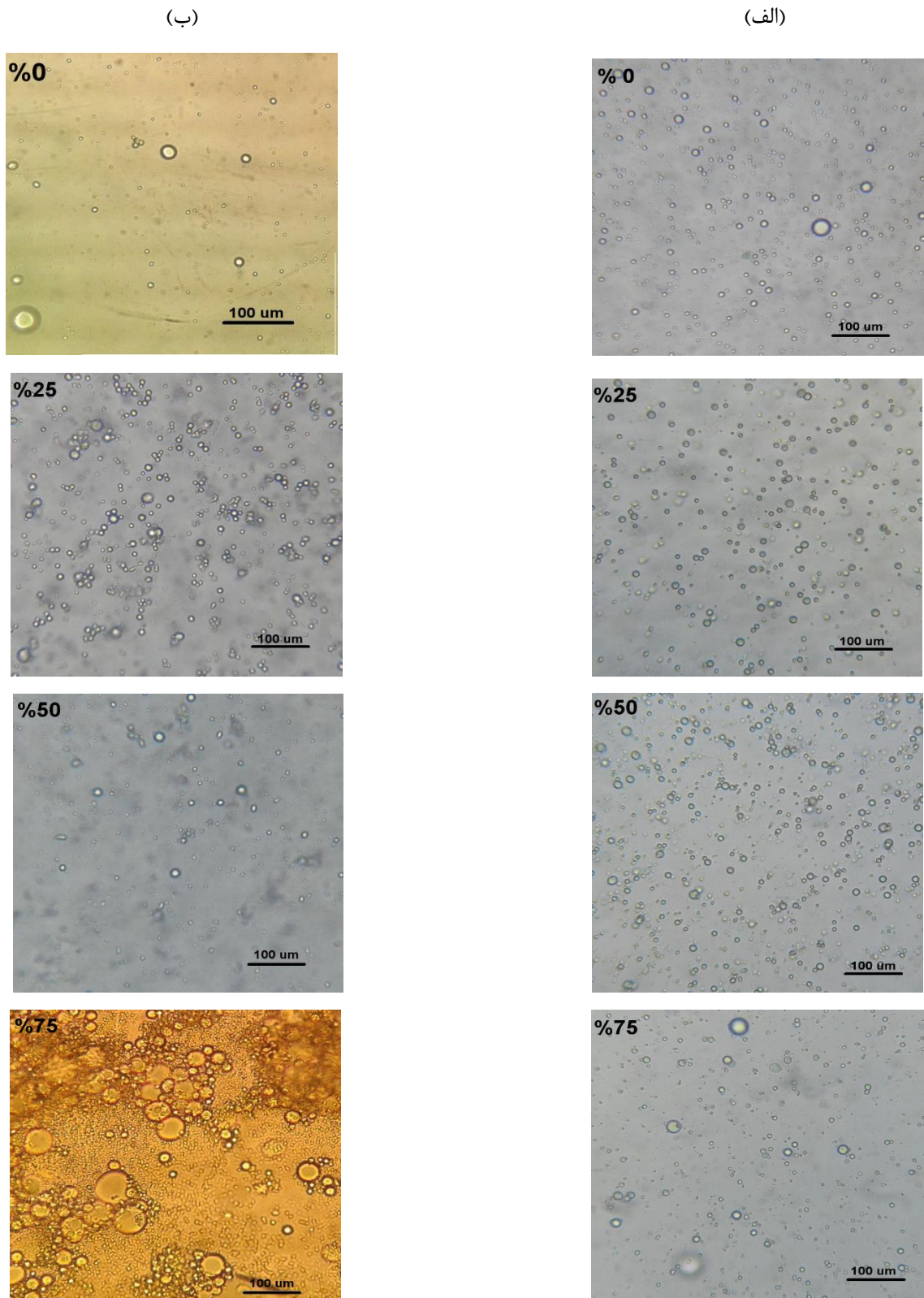
در شکل شماره (۴-۹) درصد خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ در نسبت های مختلف کاپریک اسید به کیتوزان نشان داده شده است. همانطور که در نمودار مشاهده می شود بیشترین میزان خامه ای شدن مربوط به نسبت ۰٪ و کمترین میزان خامه ای شدن مربوط به نسبت ۵۰٪ کاپریک اسید به کیتوزان بود. اگرچه اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵٪ مشاهده نگردید.



شکل ۴-۹: درصد خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید در غلظت های مختلف پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق. حروف لاتین مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری بین نمونه ها و حروف لاتین غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.

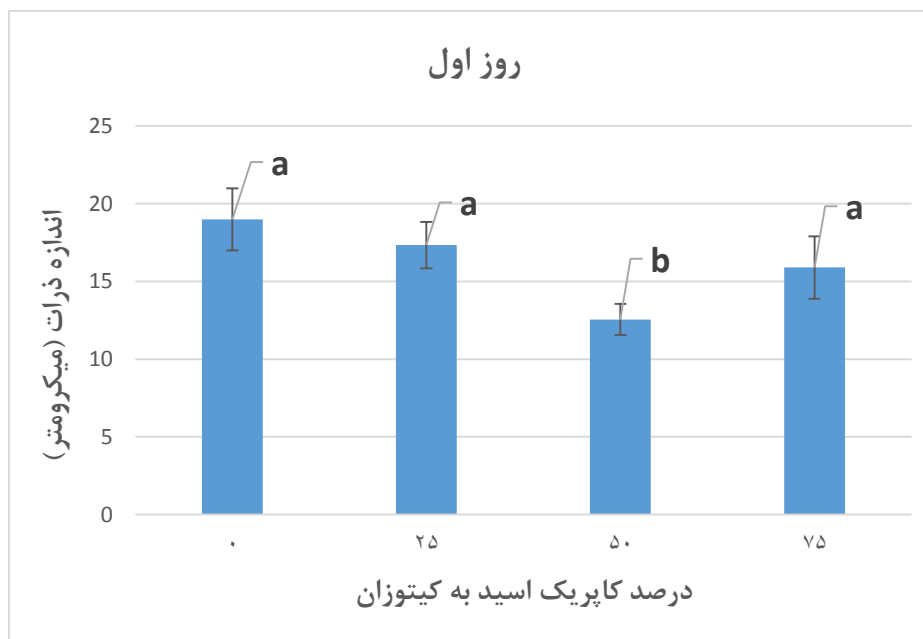
در ادامه برای رسیدن به نتیجه دقیق تر عکس های میکروسکوپ نوری از امولسیون ها تهیه شد و سپس میانگین اندازه قطرات توسط نرم افزار image z محاسبه شد. عکس های حاصل از

میکروسکوپ نوری نمونه ها با نسبت های مختلف در شکل شماره (۴-۱۰) نشان داده شده است.
شکل (۴-۱۰-الف) نشان دهنده عکس های میکروسکوپ نوری ۳ ساعت بعد و شکل (۴-۱۰-ب) نشان دهنده عکس های میکروسکوپ نوری نمونه های امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار بعد از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق بدون هیچ جا به جایی فیزیکی را نشان می دهد.

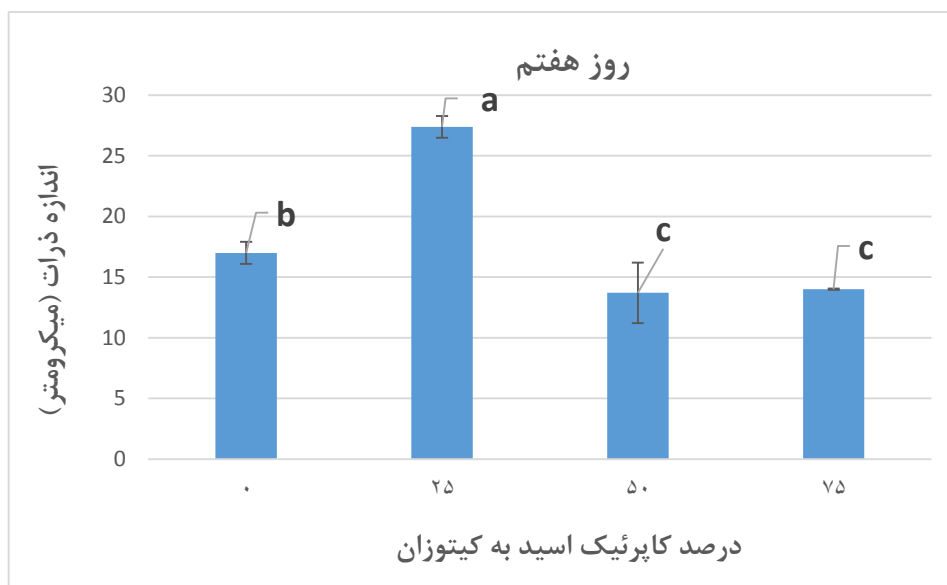


شکل ۴-۱۰: عکس های میکروسکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با غلظت های مختلف درصد کاپریک اسید به کیتوزان با عدسی * ۴۰. (الف): نمونه ها روز اول آماده سازی (ب): نمونه ها پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.

همچنین شکل های شماره ی (۴-۱۱) و (۴-۱۲) به ترتیب میانگین اندازه ذرات یا قطرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نسبت های مختلف کاپریک اسید به کیتوزان را در ۳ ساعت روز اول و روز هفتم نشان می دهد.



شکل ۴-۱۱: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با غلظت های مختلف نمونه ها روز اول آماده سازی (۳ ساعت). حروف لاتین مشابه داخل نمودار بیانگر عدم اختلاف معنی داری بین نمونه ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.



شکل ۴-۱۲: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید در غلظت های مختلف پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق بدون جابه جایی با عدسی *۴۰. حروف لاتین غیر مشابه داخل نمودار نشان دهنده اختلاف معنی داری بین نمونه ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.

نتایج شکل (۴-۱۱) نشان می دهد که در روز اول کوچکترین ذرات مربوط به غلظت ۵۰٪ است که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با بقیه نمونه ها داشت. در روز اول بزرگترین ذرات مربوط به غلظت ۰٪ (کیتوزان بدون کاپریک اسید) بود اگرچه از نظر آماری اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین اندازه ذرات نمونه ها در غلظت های ۰، ۲۵ و ۷۵٪ مشاهده نگردید. با توجه به شکل (۴-۱۲) در روز هفتم کوچکترین ذرات مربوط به غلظت ۵۰٪ بود اگرچه اختلاف ذرات آن با نمونه ۷۵٪ کم بود و از نظر آماری در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده نشد.

نتایج کلی نشان داد که با افزایش درصد کاپریک اسید در نانوزل تا حدود ۵۰٪ پایداری افزایش یافت و افزایش بیشتر کاپریک اسید تا حدود ۷۵٪ تاثیر معنی داری بر افزایش پایداری امولسیون نداشته است. نتیجه بدست آمده احتمالاً به بارهای مثبت کیتوزان و خاصیت هیدروفیلیک آن مربوط است. به عبارت دیگر، کیتوزان اصلاح نشده به دلیل داشتن گروه های آمین در ساختار شیمیایی خود دارای ماهیت هیدروفیلیک بیشتری بوده و توانایی پایدار کردن امولسیون روغن در آب کمتری داشت. با

اضافه شدن کاپریک اسید، بارهای مثبت کیتوزان تا حدی خنثی شده و ماهیت آمفی فیلیک پیدا کرده است. هنگامی که غلظت اسید افزایش یافت، قسمت دوگانه دوست نیز زیاد شده و در نتیجه ذرات نانوزل کیتوزان- کاپریک اسید بهتر توانستند در سطح مشترک آب و روغن قرار گیرند.

نتایج به دست آمده در این آزمایش با نتایج دیگر محققین در این زمینه مطابقت دارد. السابی و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقات خود بیان کردند کیتوزان به دلیل فعالیت سطحی کمی که داشت نتوانست امولسیفایر خوبی برای امولسیون روغن در آب باشد، این مطلب با ساختار شیمیایی آن تطابق داشت. به عبارت دیگر، کیتوزان پلی ساکاریدی با گروه های کاتیونی آمین و گروه های هیدروکسیل در ساختار است که باعث خاصیت هیدروفیلی آن می شود و برای پایدار سازی امولسیون با کیتوزان باید اصلاح سطح بر روی کیتوزان صورت گیرد (Elsabee et al., 2009). هانگ و همکاران (۲۰۱۵) از کمپلکس پلی استایرن و کیتوزان برای پایدار کردن امولسیون پیکرینگ استفاده کردند. در این تحقیق به این نتیجه دست یافتند که با افزودن کیتوزان به پلی استایرن به دلیل هیدروفیل بودن کیتوزان، رطوبت پذیری ذرات پلی استایرن تغییر کرد که این مطلب می تواند دلیلی برای توانایی جذب پلی استایرن اصلاح شده با کیتوزان در سطح مشترک روغن- آب باشد. افزودن کیتوزان به دلیل داشتن بار مثبت و خلاف جهت بار پلی استایرن باعث فلوکه شدن پلی استایرن و جذب آن در سطح مشترک شد. همچنین در این مطالعه نشان داده شد امولسیون پیکرینگ تشکیل شده توسط کیتوزان به سرعت و کاملاً دوفاز شد و شدیداً ناپایدار بود. با افزایش کیتوزان، برهم کنش های سینرژیست بین کیتوزان و پلی استایرن رخ داد و باعث افزایش توانایی تشکیل امولسیون و پایدار شدن آن شد. در حالیکه با افزایش بیش از حد کیتوزان، به دلیل هیدروفیل شدن زیاد پلی استایرن، توانایی جذب پلی استایرن اصلاح شده در سطح مشترک روغن- آب کاهش یافت و منجر به ناپایداری و افزایش سائز قطرات شد (Zhang et al., 2015). فنگ و لی (۲۰۱۶) در پایدارسازی امولسیون پیکرینگ توسط زئین اصلاح شده با سدیم کازئینات به این نتیجه دست یافتند که با افزایش مقدار سدیم کازئینات به

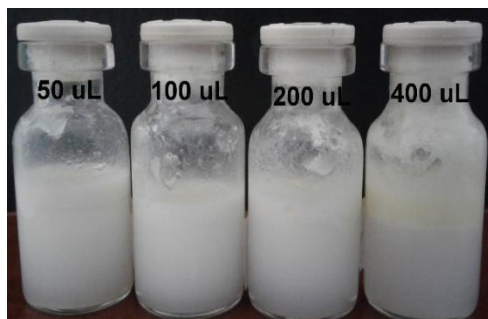
منظور کمک به تعادل بین گروه های هیدروفیلیک و هیدروفوبیک در سطح ذره زئین و بهبود خصوصیات بین سطحی برای تسهیل جذب ذره، میزان پوشش دادن سطح قطره افزایش یافت و باعث افزایش پایداری امولسیون پیکرینگ شد. سدیم کازئینات اضافی که در سطح قطره جذب نشدند با ایجاد شبکه و اتصالاتی در فضای بین قطرات باعث پایداری بیشتر امولسیون شدند (Feng & Lee, 2016). همچنین هانگ و همکاران (۲۰۱۷) پی بردند افزایش غلظت پلی ال-لاکتیک اسید باعث افزایش برهمکنش آن با نانو ذرات هیدروکسی اپتایت شده و این امکان را فراهم کرد که ذرات هیدروکسی اپتایت بیشتر از آنکه در فاز آبی پراکنده باشند در سطح مشترک روغن-آب ثابت شوند و در نتیجه امولسیون پایداری بیشتری در برابر انعقاد از خود نشان داد و سایز قطره کاهش یافت (Zhang et al., 2017).

با توجه به نتایج این قسمت نانوژل دارای نسبت کاپریک اسید به کیتوزان ۵۰٪ به عنوان نانوژل مناسب برای قسمت های بعدی انتخاب شد.

۴-۳-۳- بررسی تاثیر میزان روغن هسته انار بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوژل کیتوزان-کاپریک اسید

در ادامه تاثیر میزان روغن هسته انار بر پایداری امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با نانوژل کیتوزان-کاپریک اسید ($pH=8$ و نسبت کاپریک اسید به کیتوزان ۵۰٪) بررسی شد. پس از آماده سازی امولسیون ها در همان روز اول (۳ساعت) عکس های دیجیتالی از نمونه ها با میزان روغن مختلف ($50\mu L$ ، $100\mu L$ ، $200\mu L$ ، $400\mu L$) تهیه شد، شکل (۴-۱۳-الف). همچنین عکس دیجیتالی از نمونه ها پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق بدون جا به جایی فیزیکی تهیه شد، شکل شماره (۴-۱۳-ب). نتایج نشان داد نمونه ها در روز اول (۳ ساعت) آماده سازی پایداری بودند ولی پس از ۷ روز نگه داری ناپایداری در امولسیون ها مشاهده شد. برای بررسی دقیقتر و رسیدن به نتایج بهتر از شاخص خامه ای شدن استفاده شد.

(ب)

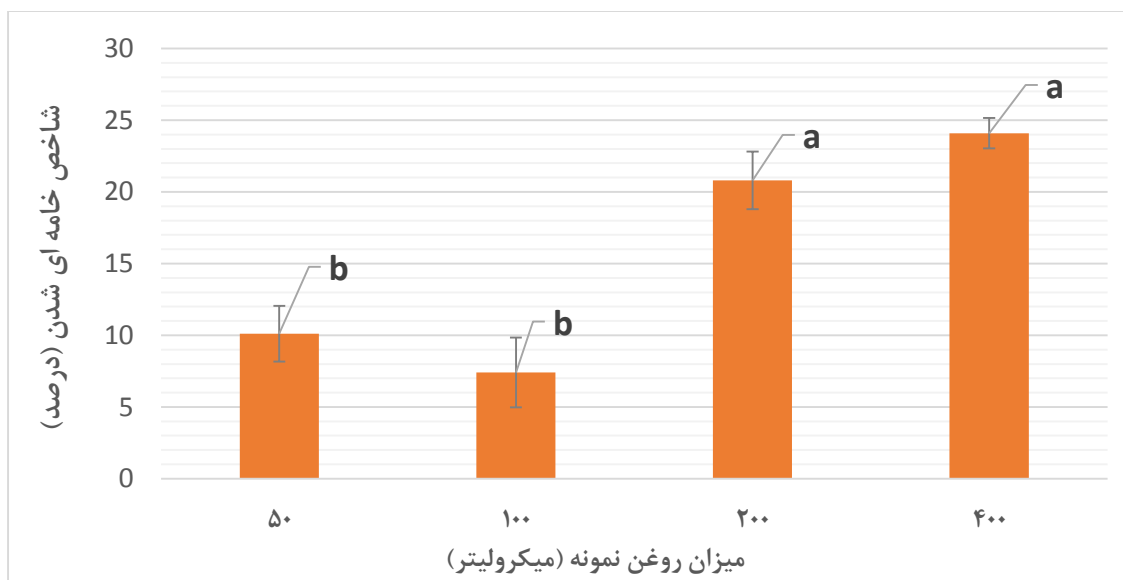


(الف)



شکل ۴-۱۳: عکس های دیجیتالی امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت. (الف): نمونه ها روز اول (۳ ساعت)، (ب): نمونه ها پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.

شاخص خامه ای شدن با استفاده از اندازه گیری ارتفاع لایه خامه ای و همچنین ارتفاع کل امولسیون محاسبه شد و مورد مطالعه قرار گرفت. شکل (۴-۱۴) شاخص خامه ای شدن نمونه های مختلف امولسیون پیکرینگ با میزان روغن های متفاوت بر حسب میکرولیتر را نشان می دهد.

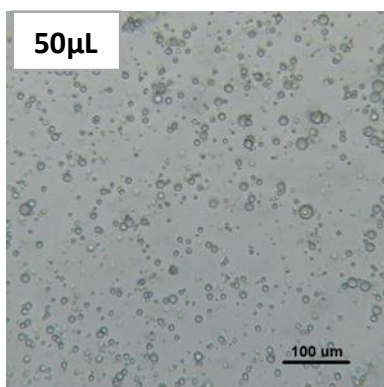


شکل ۴-۱۴: درصد خامه ای شدن نمونه ها امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت بر حسب (μL) پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق. حروف لاتین مشابه داخل نمودار نشان دهنده اختلاف غیر معنی داری و حروف لاتین غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.

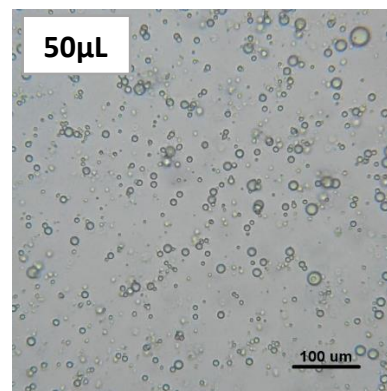
همانطور که شکل (۴-۱۴) نشان می دهد درصد خامه ای شدن در نمونه ۱۰۰ میکرولیتر کمتر از سایر نمونه ها بود، البته اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین نمونه ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر مشاهده نشد. بیشترین میزان خامه ای شدن نیز در مورد نمونه ۴۰۰ میکرولیتر مشاهده شد که البته اختلاف معنی داری با غلظت ۲۰۰ میکرولیتر در سطح ۵٪ نداشت. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار روغن میزان خامه ای شدن نیز افزایش پیدا کرد. البته لازم به ذکر است که نتایج حاصل از میزان خامه ای شدن نمونه ها برای ارزیابی اثر روغن بر میزان پایداری امولسیون چندان قابل توجه نیست چون حجم قسمت خامه ای شده به شدت تحت تاثیر میزان روغن استفاده شده می باشد. بنابراین استفاده از نتایج این بخش برای بررسی میزان پایداری امولسیونها دقیق نمی باشد.

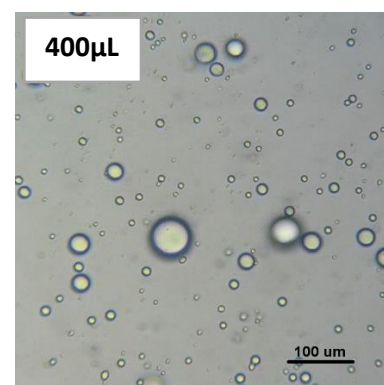
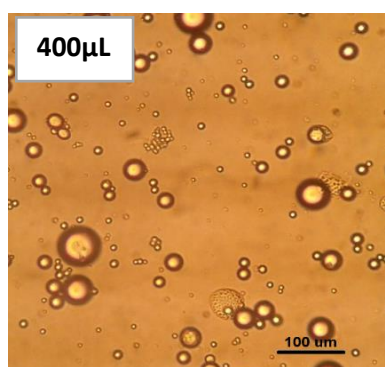
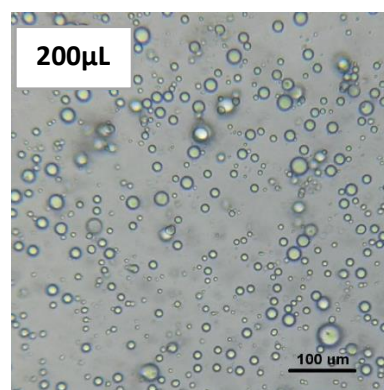
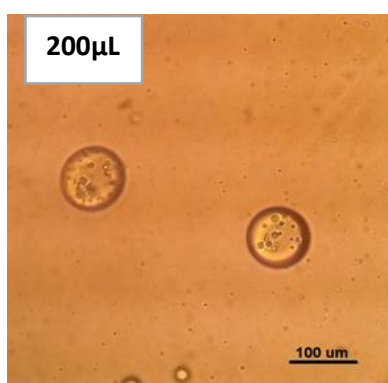
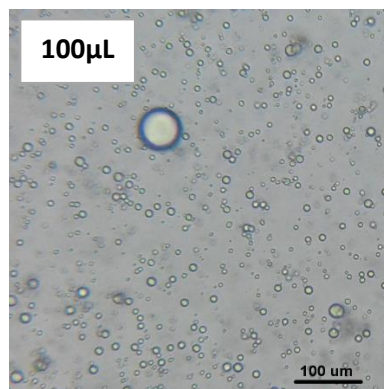
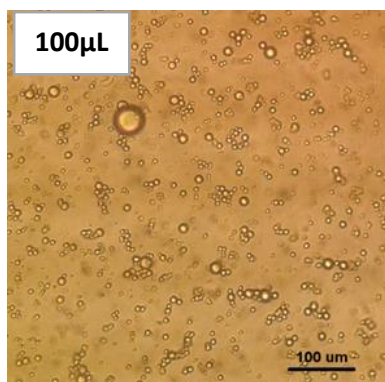
به منظور بررسی بهتر پایداری، تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری نمونه ها در غلظت های مختلف روغن هسته انار بعد از آماده سازی (۳ ساعت) و در روز هفتم در شکل (۴-۱۵) نشان داده شده است.

(ب)



(الف)

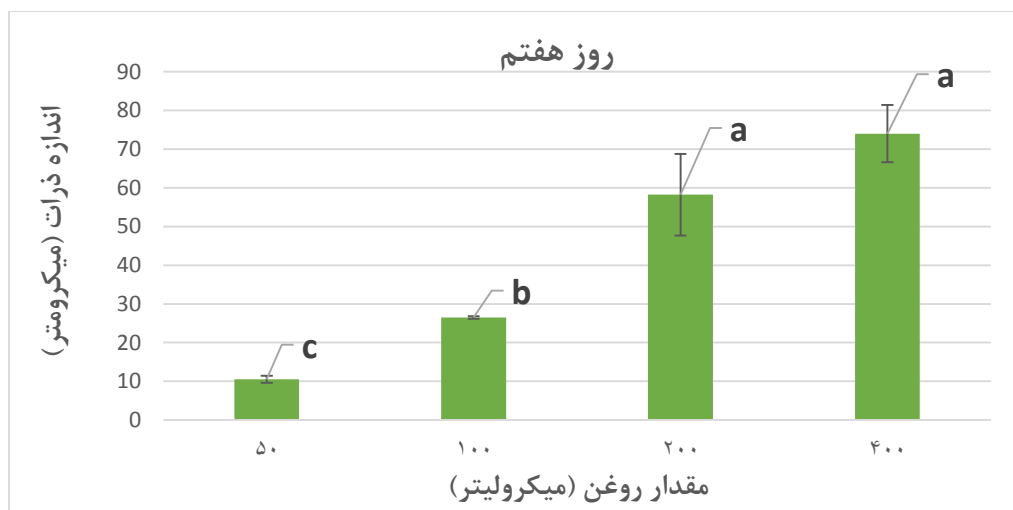




شکل ۴-۱۵: عکس های میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان- کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت با عدسی ۴۰. (الف): نمونه ها ۳ ساعت بعد، (ب) نمونه ها پس از ۷ روز نگه داری در دمای اتاق.



شکل ۴-۱۶: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت بعد از ۳ ساعت. حروف لاتین مشابه داخل نمودار بیانگر عدم اختلاف معنی داری بین نمونه ها و حروف لاتین غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی داری بین نمونه ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.



شکل ۴-۱۷: نمودار اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن هسته انار پایدار شده با نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید با میزان روغن متفاوت پس از ۷ روز نگهداری در دمای اتاق بدون جابه جایی با عدسی *۴۰. حروف لاتین غیر مشابه داخل نمودار نشان دهنده اختلاف معنی داری و حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری بین نمونه ها در سطح ۵٪ آزمون دانکن است.

برای بررسی دقیق تر پایداری از تصاویر میکروسکوپ نوری و نرم افزار z image برای محاسبه عددی اندازه قطرات استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه گیری ها برای امولسیون های پیکرینگ بعد از آماده سازی (۳ ساعت) در شکل (۴-۱۶) و روز هفتم در شکل (۴-۱۷) نشان داده شده است. همانطور که در شکل (۴-۱۶) مشاهده می شود، امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۴۰۰ میکرولیتر نسبت به سایر نمونه ها دارای بزرگترین ذرات بود که اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ با نمونه ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر داشت اما اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ با نمونه ۲۰۰ میکرولیتر نداشت. امولسیون های با مقدار روغن ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر دارای کوچکترین ذرات بودند که در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشت. در روز هفتم، شکل (۴-۱۷) نمونه با مقدار روغن ۵۰ میکرولیتر کوچکترین و نمونه ها با مقادیر روغن ۴۰۰ میکرولیتر بزرگترین قطرات امولسیون را داشتند. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از نسبت های بالای روغن باعث افزایش اندازه قطرات می شود که این احتمالاً به این دلیل بود که مقدار نانوژل برای پوشاندن سطح قطرات امولسیون کافی نبود که این موجب انعقاد و ناپایداری امولسیون می شود.

ژئو و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند، هنگامی که مقدار روغن از ۰/۳ به ۰/۷ در غلظت ثابت کافیرین افزایش یافت، ذرات پروتئینی در دسترس برای پایدارسازی سطح مشترک کاهش یافت. بنابراین تنها قطرات بزرگ امولسیون شکل گرفت. میانگین سایز قطرات به طور تدریجی با افزایش غلظت فاز روغنی افزایش یافت. از این رو حجم امولسیونی که می توانست پایدار باشد وابسته به سطح مشترک پوشیده شده توسط ذرات و مقدار ذرات پروتئینی برای مهاجرت به سطح مشترک بود (Xiao et al. 2016). همچنین شاه و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ توسط نانوذرات کیتوزان-تری پلی فسفات به این نتیجه دست یافتند که با افزایش میزان روغن اندازه قطرات امولسیون به دلیل کاهش یافتن تعداد ذرات برای پایدار کردن امولسیون، افزایش یافت و در مقادیر بالای روغن امولسیون ناپایدار شد (Shah et al. 2016).

موانگی و همکاران (۲۰۱۶) به این موضوع اشاره کردند که با افزایش مقدار روغن میانگین سایز قطرات امولسیون پیکرینگ به طور قابل توجهی زیاد شد. این افزایش احتمالاً به دلیل میزان نسبتاً کم ذرات کیتوزان در دسترس در افزایش روغن و وقوع پدیده ی انعقاد، ایجاد شد (Mwangi et al. 2016).

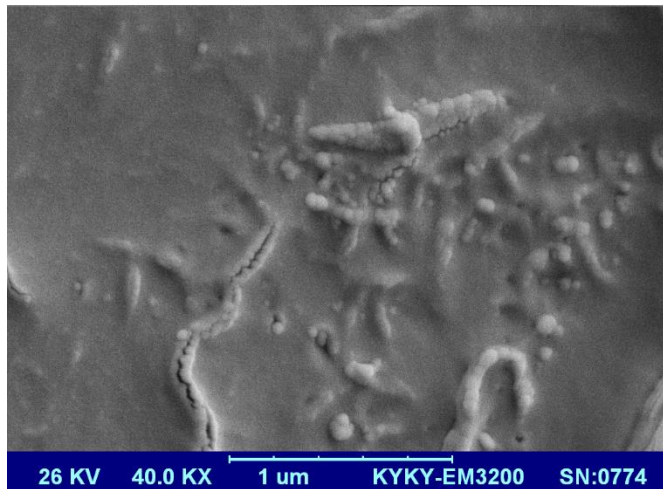
هانگ و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی تاثیر نسبت روغن به آب بر پایداری امولسیون پیکرینگ پایدار شده با هیدروکسی اپتایت به این نتیجه دست یافتند که پایداری امولسیون با کاهش نسبت روغن-آب افزایش یافت. در امولسیون با پایداری بالا با نسبت روغن-آب کمتر از ۳:۲ هیچ گونه انعقاد واضحی در بین قطرات روغن بعد از ۷۲ ساعت دیده نشد. نتایج نشان داد بعد از ۷۲ ساعت هیچ گونه افزایش سایزی در قطرات دیده نشد که نشان دهنده ی پایداری بالای امولسیون بود (Huang et al. 2017). با توجه به نتایج این قسمت میزان روغن ۱۰۰ میکرولیتر به عنوان میزان روغن مناسب برای قسمت های بعدی انتخاب شد.

۴-۴- بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی درون پوشانی شده (انکپسولاسیون) بر شکل و

اندازه ذرات نانوذله

در آزمایشات قبل نانوذله با غلظت ۵۰٪ کاپریک اسید به عنوان نانوذله مناسب برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار در آب انتخاب شد. در ادامه آزمایشات اسانس آویشن شیرازی در دو غلظت ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر در نانوذله با غلظت ۵۰٪ کاپریک اسید درونپوشانی شد و در مرحله بعد برای بررسی اثر آنها در پایداری اکسیداتیو به همراه تیمارهای دیگر استفاده شد. به منظور بررسی اینکه درونپوشانی اسانس آویشن شیرازی چه اثری روی اندازه ذرات داشته است، از نانوذله با بیشترین غلظت اسانس آویشن شیرازی (۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر) عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شد که در شکل (۴-۱۸) عکس مربوطه نشان داده شده است. عکس میکروسکوپی الکترونی نانوذله حاوی اسانس در مقایسه با عکس نانوذله بدون اسانس نشان می دهد که یکنواختی توزیع اندازه ذرات کمتر

شده است که این نشان می دهد که درونپوشانی اسانس می تواند همگن بود اندازه ذرات را تغییر بدهد.



شکل ۴-۱۸: عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوژل کیتوزان-کاپریک اسید حاوی اسانس آویشن شیرازی

۴-۵- ارزیابی پایداری اکسیداتیو

برای بررسی پایداری اکسیداتیو نمونه های آماده شده، از شش تیمار مختلف شامل امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار در شرایط مناسب به دست آمده از تست پایداری (pH=8، درصد کاپریک اسید = ۵۰٪ و میزان روغن هسته انار = ۱۰۰ میکرولیتر) و بدون اسانس، امولسیون روغن هسته انار پایدار شده با امولسیفایر توئین ۸۰ بدون اسانس، امولسیون پیکرینگ با ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر اسانس آویشن شیرازی درونپوشانی شده در نانوژل، امولسیون پیکرینگ با ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر اسانس درونپوشانی شده در نانوژل، امولسیون پیکرینگ با ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر اسانس درونپوشانی شده در روغن و امولسیون پیکرینگ با ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر اسانس درونپوشانس شده در روغن استفاده شد. به دلیل اینکه پراکسید به عنوان محصول اولیه اکسیداسیون شناخته شده است از اندازه گیری آن برای تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون استفاده شد. پراکسید ها همونطور که گفته شد

محصولات ابتدایی اکسیداسیون لیپید هستند و نقش مهمی در اتواکسیداسیون لیپیدها ایفا می کنند و در ادامه به کربونیلها و دیگر ترکیبات ثانویه تجزیه می شوند (Kumari et al. 2014).

نتایج آزمون پراکسید برای ارزیابی محصولات اولیه اکسیداسیون تولیدی برای شش تیمار در بازه های زمانی مختلف در جدول شماره (۳-۴) نشان داده شده است.

جدول ۳-۴: مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۹، ۱۵ و ۲۲ نگهداری شده در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد. حروف کوچک لاتین (a-e) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ردیف در سطح $P < 0.05$ و حروف بزرگ (A-D) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ستون در سطح $P < 0.05$ است.

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز نهم	روز پانزدهم	روز بیست و دوم
امولسیون پیکرینگ	$217/89 \pm 10/6$ a-D	$303/75 \pm 18/9$ a-C	$337/34 \pm 1/3$ b-B	$351/34 \pm 1/3$ c-AB	$368/6 \pm 21/9$ c-A
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن)	$201/56 \pm 13/9$ a-D	$289/28 \pm 9/1$ a-D	$418/06 \pm 20/3$ a-C	$639/69 \pm 12/5$ a-B	$1073/62 \pm 23/7$ a-A
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن)	$163/77 \pm 18/1$ c-D	$207/16 \pm 15/3$ c-D	$424/13 \pm 43/3$ a-C	$523/51 \pm 13/9$ a-B	$888/85 \pm 26/5$ b-A
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوژل)	$208/56 \pm 16/7$ a-D	$251/49 \pm 9/1$ b-D	$349/94 \pm 20/9$ b-C	$483/85 \pm 11/9$ b-B	$622/9 \pm 18/3$ d-A
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوژل)	$195/96 \pm 8/3$ ab-D	$284/62 \pm 13/3$ a-C	$299/55 \pm 13/9$ b-BC	$314/01 \pm 13/3$ c-AB	$329/41 \pm 13/3$ c-A
امولسیون با توئین	$171/23 \pm 14/7$ bc-B	$179/17 \pm 12/5$ d-B	$333/14 \pm 16/7$ b-A	$193/16 \pm 19/5$ d-B	$141/84 \pm 7/7$ e-C

نتایج پراکسید در روز اول در مورد تمامی تیمارها نشان می دهد که میزان پراکسید در روز اول زیاد می باشد که این زیاد بودن میزان پراکسید در روز اول احتمالاً می تواند به حساس بودن روغن هسته انار و همچنین اثر فرایند تشکیل امولسیون مربوط باشد. در طی فرایند امولسیون از همزدن شدید و همچنین امواج فراصوت استفاده گردید که هر دو عامل می توانند باعث افزایش اکسیداسیون شوند.

همانطور که در جدول (۳-۴) مشاهده می شود، مقدار پراکسید برای نمونه امولسیون پیکرینگ بدون اسانس در روز اول ۲۱۷/۸۹ میکرومول / کیلوگرم روغن بود و روز چهارم با شیب صعودی به ۳۰۳/۷۵ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید و پس از آن روند افزایشی ملایمی در میزان پراکسید تا روز ۲۲ در میزان آن مشاهده شد. این افزایش در سطح ۵٪ معنی دار بود.

مقدار پراکسید نمونه امولسیون با امولسیفایر توئین ۸۰ از روز اول تا روز نهم با شدت و به طور معنی داری در سطح ۵٪ افزایش یافت و از ۱۷۱/۲۳ به ۳۳۳/۱۴ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید و پس از آن روند کاهشی معنی داری در نمونه مشاهده شد و به ۱۴۱/۸۴ میکرومول / کیلوگرم روغن در روز بیست و دوم رسید. همانطور که می دانیم میزان عدد پراکسید همواره در حال افزایش نمی باشد، بلکه تا مدتی افزایش یافته و بعد از این که به سطح مشخصی رسید شکسته شده و ترکیبات جانبی حاصل می گردد (صمدلوئی و همکاران، ۱۳۸۶). این کاهش پراکسید می تواند به دلیل شکسته شدن ترکیبات اولیه اکسیداسیون به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون باشد (Akoh and Min, 2008).

بررسی میزان پراکسید تولیدی در نمونه های امولسیون پیکرینگ با اسانس ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در روغن نشان داد در این نمونه ها پراکسید از روز اول تا روز چهارم با اختلاف غیر معنی داری در سطح ۵٪ افزایش ملایم و کندی داشت که در نمونه اسانس ۲۰۰ از ۲۰۱/۵۶ به ۲۸۹/۲۸ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید و از روز چهارم تا روز بیست و دوم با شیب تندی افزایش صعودی و معنی دار داشت و به ۱۰۷۳/۶۲ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید که دارای بیشترین میزان عدد پراکسید در مقایسه با تیمارهای دیگر بود. همچنین در نمونه اسانس ۱۰۰۰ از روز اول تا چهارم با افزایش ملایم و غیر معنی دار از ۱۶۳/۷۷ به ۲۰۷/۱۶ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید و از روز

چهارم تا روز بیست و دوم با شیب تند و معنی دار ولی ملایمتر نسبت به اسانس ۲۰۰ به ۸۸۸/۸۵ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید. بالا بودن میزان پراکسید در این دو نمونه در طول دوره نگهداری احتمالاً به دی امولسیفیکشن نمونه ها مربوط می باشد. در مورد این دو نمونه پس از ۲۲ دو روز نگهداری کل امولسیون به فاز سرمی تبدیل شد که این پدیده در نمونه حاوی اسانس ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در روغن بیشتر بود، همچنین در این نمونه کوالسنس نیز صورت گرفت و روغن در روز آخر جدا شده بود که بخشی از این افزایش میزان پراکسید در نمونه های حاوی اسانس درون پوشانی شده در روغن در مقایسه با تیمارهای دیگر را می توان به از بین رفتن ساختار امولسیون مربوط دانست که در این حالت اثر پوششی ذرات نانوذله که یک عامل مهم در مقابل اکسیداسیون است از بین رفته بود. علاوه بر این بالاتر بودن میزان پراکسید در نمونه های اسانس درونپوشانی شده در روغن در مقایسه با نمونه های حاوی اسانس درونپوشانی شده در نانوذله می تواند به خاصیت پراکسیدانی این اسانس ها در این غلظت ها مربوط باشد که در حالتی که اسانس مستقیماً در داخل روغن استفاده شده بیشتر بوده است.

میزان پراکسید در نمونه امولسیون پیکرینگ با اسانس ۲۰۰ ppm درونپوشانی شده در نانوذله از روز اول تا چهارم با شیب بسیار ملایم و سرعت کند، افزایش غیرمعنی داری داشت و از ۲۰۸/۵۶ به ۲۵۱/۴۹ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید و سپس تا روز بیست و دوم با افزایش معنی داری در سطح ۵٪ به ۶۲۲/۹ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید. همچنین در نمونه امولسیون پیکرینگ با اسانس آویشن شیرازی ۱۰۰۰ ppm درونپوشانی شده در نانوذله میزان پراکسید از روز اول تا بیست و دوم افزایش کند و ملایمی تری نسبت به نمونه قبلی داشت و با اختلاف نسبتاً معنی دار از ۱۹۵/۹۶ به ۳۲۹/۴۱ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید. به طور کلی با مقایسه میزان پراکسید در بین تیمارهای مختلف در روز های متفاوت می توان گفت که نمونه حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله بیشترین پایداری اکسیداتیو را داشته است و بعد از بیست و دو روز در این نمونه نسبت به سایر

نمونه ها عدد پراکسید افزایش کمتری داشته است و روند افزایش بسیار ملایم بوده است. با مقایسه نتایج پراکسید در نمونه های حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوزل می توان گفت که غلظت بیشتر، نقش مؤثرتری در تأخیر اکسیداسیون داشته است. این پایداری را می توانیم چنین تفسیر کنیم که در نمونه های حاوی ۱۰۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm اسانس درون پوشانی شده در نانوزل نسبت به نمونه هایی که اسانس در روغن درون پوشانی شده، جداسازی فازها صورت نگرفته است. این نتیجه نشان می دهد که درون پوشانی اسانس آویشن شیرازی در نانوزل توانسته پایداری فیزیکی امولسیون را نیز افزایش دهد که این نتیجه احتمالاً به افزایش میزان آبگریزی نانوزل به دلیل ماهیت آبگریزی اسانس مربوط می باشد. این نتیجه نشان می دهد که با درون پوشانی ترکیبات آبگریز خاصیت امولسیون کنندگی نانوزل بهبود می یابد.

همانطور که نتایج نشان می دهد، امولسیون پیکرینگ بدون اضافه کردن اسانس تا حدودی باعث کاهش سرعت اکسیداسیون شد. این توانایی احتمالاً با بار مثبت قطرات امولسیون پوشیده شده با نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید ارتباط داشت، زیرا در غلظت ۵۰٪ نانوزل که در این نمونه به استفاده شد، تمامی آمین های کیتوزان به کاپریک اسید متصل نشده و تعدادی گروه های آمین به صورت آزاد وجود داشت که باعث مثبت شدن بار نانوزل و ماهیت هیدروفیل آن شد (Khalili et al., 2015). بار قطرات امولسیون در جذب و دفع فلزات شرکت کننده در اکسیداسیون تاثیر دارند (Arnadottir, 2013). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که اکسیداسیون لیپید هنگامی که قطرات به طور مثبت باردار شدند نسبت به زمانی که دارای بار منفی بودند کمتر بوده است. به دلیل اینکه بار سطحی مثبت یون های فلزی پرواکسیدان با بار مثبت را دفع کرده و مانع برهم کنش لیپید-آهن و اکسیداسیون لیپید می شود (Berton-Carabin et al. 2014; Mei 1998). با وجود این که نانوزل کیتوزان-کاپریک اسید تاثیر زیادی در جلوگیری از افزایش شدید عدد پراکسید در این نمونه داشت ولی امولسیون با امولسیفایر توئین ۸۰ در نهایت عدد پراکسید کمتری نسبت به امولسیون پیکرینگ نشان داد هرچند تا روز نهم عدد پراکسید نمونه توئین افزایش یافت و در روزهای آخر دچار شکست شد.

البته توئین ۸۰ نیز می تواند دارای مقداری خاصیت آنتی اکسیدانی باشد. می (۱۹۹۸) در تحقیقات خود به این مطلب اشاره کرد که امولسیفایرهای حاوی قند مانند توئین ها ممکن است به عنوان بازدارنده های رادیکال آزاد عمل کنند و در نتیجه موجب به تاخیر انداختن اکسیداسیون لیپید شوند (Mei 1998). علاوه بر این اثر بهتر امولسیفایر توئین نسبت به نانوذله کیتوزان در به تاخیر انداختن اکسیداسیون را احتمالاً می توان به قدرت امولسیفایری کمتر نانوذله کیتوزان-کاپریک اسید مربوط دانست که به ویژه در روز های انتهایی امولسیون پیکرینگ دچار جداسازی فاز روغن شده بود و ذرات نانوذله نتوانسته اند اثرات حفاظتی خود را به خوبی انجام دهند اما در مورد توئین اثر پوششی توئین تا روزهای آخر به دلیل پایدار بودن امولسیون وجود داشته است.

با مقایسه میان درونپوشانی اسانس با مقدار یکسان در روغن و نانوذله این نتیجه حاصل شد که پس از بیست و دو روز نگه داری نمونه های امولسیون پیکرینگ، نمونه اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله کمترین میزان و نمونه اسانس ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن بیشترین میزان پراکسید را نشان دادند. به طور کلی درونپوشانی اسانس آویشن شیرازی در نانوذله اثر بهتری در کاهش روند اکسیداسیون روغن هسته انار داشت و پایداری اکسیداسیون را بهتر بهبود بخشید، که در غلظت ۱۰۰۰ ppm نسبت به ۲۰۰ ppm این پایداری بیشتر بود. با توجه به اینکه اکسیداسیون امولسیون ها در سطح مشترک فاز روغنی با فاز آبی رخ می دهد. به همین دلیل وجود آنتی اکسیدان ها در سطح قطرات روغن امکان بازدارندگی از اکسیداسیون بیشتری نسبت به زمانی که اسانس در داخل روغن استفاده شود، فراهم می کند (Wang et al. 2015). در مورد نتایج این تحقیق نیز زمانی که اسانس داخل نانوذله درونپوشانی شده بود به دلیل اینکه این ذرات در سطح روغن قرار داشتند، اسانس آویشن شیرازی بهتر توانست نسبت به حالتی که اسانس داخل روغن بود از اکسیداسیون جلوگیری کند. ونگ و همکاران (۲۰۱۵) کورکومین (پلی فنول حاصل از زردچوبه) که خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارد را در کمپلکس کیتوزان-ژئین درونپوشانی نمودند و برای تهیه امولسیون

پیکرینگ روغن ذرت در آب استفاده کردند. این محققین دریافتند زمانی که کورکومین درون کمپلکس کیتوزان-زئین قرار گرفته بود نسبت به زمانی که کورکومین به روغن ذرت اضافه شده بود، توانست میزان اکسیداسیون روغن را بیشتر کاهش دهد (Wang et al. 2015) که این یافته با نتایج این تحقیق مشابه است. همچنین می توان بیان کرد که احتمالاً اسانس درونپوشانی شده در نانوذله با آزاد سازی تدریجی تاثیر بیشتری در کاهش سرعت اکسیداسیون داشته است. تحقیقات ثابت کرده که آنکپسولاسیون اثر قابل توجهی در مدت ماندگاری اسانس داشته و توانسته از آن در مقابل شرایط محیطی محافظت کند. علاوه بر این درونپوشانی در نانوذله می تواند باعث رهایش کنترل شده اسانس از نانوذله در حین دوره ی آزمایش شود و این خود موجب افزایش اثرات آنتی اکسیدانی اسانس شود (Khalili, Mohsenifar, Beyki, Zhavah, Rahmani-cherati, et al. 2015).

جدول ۴-۴: مقادیر TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۹، ۱۵ و ۲۲ نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد. حروف کوچک لاتین (a-e) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ردیف در سطح $P < 0.05$ و حروف بزرگ (A-D) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ستون در سطح $P < 0.05$ است.

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز نهم	روز پانزدهم	روز بیست و دوم
امولسیون پیکرینگ	۱۳۵/۷۵ ± ۲/۹۶ ^{d-C}	۱۴۹/۱۱ ± ۳/۹۵ ^{bc-C}	۲۷۹/۲۲ ± ۲۳/۷۴ ^{a-B}	۴۴۱/۴۹ ± ۲/۹۶ ^{a-A}	۴۱۳/۲ ± ۸/۴ ^{a-A}
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۲۰۰ میکرولیتر/لیتر) درونپوشانی شده در روغن	۱۵۹ ± ۱۱/۳۷ ^{c-BC}	۱۲۹/۳۲ ± ۲/۱ ^{c-C}	۱۷۹/۲۹ ± ۹/۳۹ ^{bc-B}	۲۹۲/۰۸ ± ۱۴/۸ ^{ab-A}	۲۴۵/۹۱ ± ۱۱/۶ ^{b-B}
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر) درونپوشانی شده در روغن	۱۵۵/۷ ± ۰/۷۵ ^{c-B}	۱۵۹ ± ۲۳/۹۳ ^{bc-B}	۲۰۷/۱۶ ± ۲۱/۲۸ ^{b-B}	۲۶۹/۱۶ ± ۱۸/۵۵ ^{b-A}	۱۶۲/۱۳ ± ۱۲/۷۷ ^{b-B}
امولسیون پیکرینگ حاوی (۲۰۰ میکرولیتر/لیتر) درونپوشانی شده در نانوژل	۱۹۸/۲۵ ± ۱۵/۶ ^{b-BC}	۱۸۱/۲۶ ± ۱۹/۸ ^{ab-C}	۲۰۰/۲۳ ± ۲۴/۶۸ ^{b-BC}	۳۳۰/۶۷ ± ۲۷/۲۱ ^{ab-A}	۳۳۳/۴۸ ± ۶۶/۶۸ ^{a-AB}
امولسیون پیکرینگ حاوی اسانس (۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر) درونپوشانی شده در نانوژل	۲۹۶/۲۱ ± ۰/۷۵ ^{a-B}	۱۹۴/۲۹ ± ۲۲/۵۱ ^{a-C}	۲۱۰/۹۵ ± ۱۷/۳۱ ^{b-C}	۳۹۶/۴۷ ± ۲۵/۶۶ ^{ab-A}	۴۰۶/۲۰ ± ۲۵/۹ ^{a-B}
امولسیون با توئین	۱۴۱/۵۲ ± ۶/۱ ^{c-B}	۱۶۳/۷ ± ۵/۱ ^{bc-AB}	۱۶۷/۴۱ ± ۷/۴ ^{c-A}	۱۸۱/۵۹ ± ۱۳/۱۱ ^{c-A}	۱۸۳/۵۷ ± ۱۹/۰۴ ^{b-A}

به دلیل شکسته شدن پراکسید و تولید محصولات ثانویه برای بررسی پایداری اکسیداتیو علاوه بر بررسی پراکسید، از آزمون هایی که ترکیبات ثانویه را اندازه می گیرد یعنی آزمون TBA نیز استفاده می شود (Dashti et al. 2015). نتایج آزمون TBA برای شش تیمار مختلف در روزهای ۱، ۴، ۹، ۱۵، ۲۲ و نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد در جدول شماره (۴-۴) نشان داده شده است.

در نمونه امولسیون پیکرینگ بهینه بدون اسانس مقدار TBA از ۱۳۵/۷۵ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز اول به ۴۴۱/۴۹ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز پانزدهم رسید. این افزایش به صورت صعودی و معنی دار بود و پس از آن به ۴۱۳/۲ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز بیست و دوم رسید و به آهستگی کم شد، این کاهش در سطح ۵٪ معنی دار نبود.

در مورد نمونه امولسیون با امولسیفایر توئین ۸۰ این مقدار از ۱۴۱/۵۲ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز اول به ۱۸۳/۵۷ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز بیست و دوم رسید این افزایش به صورت صعودی با شیب ملایم و کم بود و در سطح ۵٪ از روز اول تا روز چهارم معنی دار بود ولی از روز نهم تا روز بیست و دوم این افزایش صعودی ملایم و در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری نشان نداد، بنابراین می توان گفت در این فاصله مقدار TBA تقریباً ثابت بود.

با بررسی محصولات ثانویه اکسیداسیون در نمونه امولسیون با اسانس ۲۰۰ ppm درونپوشانی شده در روغن به این نتیجه می رسیم که مقدار TBA در روز اول از ۱۵۹ میلی مول / کیلوگرم روغن به ۲۴۵/۹۱ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز بیست و دوم رسید.

همچنین شاخص در نمونه امولسیون با اسانس ۱۰۰۰ ppm درونپوشانی شده در روغن از ۱۵۵/۷ میلی مول / کیلوگرم روغن به ۲۶۹/۱۶ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز پانزدهم رسید، این افزایش از روز اول تا روز نهم با شیب بسیار ملایم بود و در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری از خود نشان نداد، که می توان حاکی از این باشد که در این دوره زمانی مقدار TBA ثابت بوده است ولی در روز پانزدهم مقدار افزایش در سطح ۵٪ معنی دار بود و پس از آن به ۱۶۳/۱۳ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز

بیست و دوم رسید و مقدار آن کاهش یافت که این کاهش در سطح ۵٪ معنی دار بود. همچنین با مقایسه دو نمونه امولسیون درونپوشانی شده در روغن به این نتیجه می‌رسیم که در نمونه حاوی اسانس ۲۰۰ ppm افزایش میزان TBA بیشتر از نمونه ۱۰۰۰ ppm درونپوشانی شده در روغن بود. به طور کلی ۱۰۰۰ ppm در کاهش محصولات ثانویه نسبت به غلظت ۲۰۰ ppm موثرتر بود.

در نمونه با اسانس ۲۰۰ ppm درونپوشانی شده در نانوذل در روز اول دارای TBA ۱۹۸/۲۵ میلی مول / کیلوگرم روغن بود که این مقدار در روز چهارم به ۱۸۱/۱۹ میلی مول / کیلوگرم روغن کاهش یافت که اختلاف معنی دار بود و سپس این مقدار با اختلاف معنی داری افزایش صعودی داشته و به ۳۳۳/۴۸ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز بیست و دوم رسید. همچنین در نمونه با اسانس ۱۰۰۰ ppm درونپوشانی شده در نانوذل مقدار TBA از ۲۹۶/۲۱ میلی مول / کیلوگرم روغن به ۱۹۴/۲۹ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز چهارم رسید و سپس تا روز بیست و دوم به طور معنی دار افزایش یافت و در نهایت به ۴۰۶/۲۰ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید.

به طور کلی تغییرات TBA در نمونه امولسیون توپین کمتر از نمونه های دیگر بود که با نتایج حاصل از آزمون پراکسید مطابقت داشت. به طور کلی روند تغییرات TBA در برخی موارد با روند تغییرات پراکسید هماهنگی نداشت این که احتمالاً به نامناسب بودن این شاخص برای بررسی محصولات ثانویه در سامانه امولسیون روغن هسته انار مربوط است. به همین دلیل در تحقیقات بعدی به منظور بررسی فرآیند اکسیداسیون و تشکیل محصولات ثانویه در سامانه امولسیون پیکرینگ روغن هسته انار بهتر است از روش های دیگری از جمله روش آنیزیدین یا تعیین گازهای فرار استفاده شود.

نتیجه گیری:

نتایج پروفایل اسیدهای چرب روغن هسته انار نشان داد که اسید چرب غالب در این روغن اسید پونیسیک بود. نتایج طیف FT-IR اتصال موفقیت آمیز بین کیتوزان و کاپریک اسید را نشان داد. طبق نتایج حاصل از بررسی ساختار کیتوزان اصلاح نشده و درصدهای مختلف نانوذله کیتوزان- کاپریک اسید توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی این نتیجه بدست آمد که کیتوزان اصلاح نشده نتوانست نانوذرات یکنواخت تشکیل دهد و افزودن کاپریک اسید به دلیل ایجاد ماهیت هیدروفوبیک در کیتوزان باعث ایجاد نانوذرات یکنواخت تر شد. با افزایش میزان غلظت کاپریک اسید این روند بهبود بیشتری یافت. نتایج حاصل از اثر متغیرهای درصد کاپریک اسید به کیتوزان، pH و میزان روغن بر پایداری امولسیون روغن هسته انار نشان داد که امولسیون پیکرینگ در pH های خنثی و کمی قلیایی پایداری بیشتری نسبت به محیط های خیلی قلیایی و اسیدی از خود نشان داد. این نتیجه به خنثی شدن بارهای مثبت و رسوب کیتوزان در لایه ی بین سطحی در این محدوده pH و حلالیت آن در محیط های قلیایی و اسیدی شدید نسبت داده شد. افزایش نسبت کاپریک اسید به کیتوزان تا مقدار مشخصی باعث کاهش اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ و پایداری بیشتر آن شد. همچنین مقدار روغن در پایداری امولسیون پیکرینگ تاثیر داشت و افزایش بیش از حد روغن موجب افزایش اندازه قطرات و ناپایداری امولسیون پیکرینگ گشت. با دستیابی به فرمولاسیون مناسب برای آماده سازی امولسیون پیکرینگ، پایداری اکسیداتیو آن تحت شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمون پراکسید و TBA نشان داد که امولسیفایر توپین ۸۰ در مقایسه با نانوذله کیتوزان- کاپریک اسید توانایی بیشتری در پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن هسته انار داشت. همچنین نتایج آزمون پراکسید نشان داد که درونپوشانی اسانس آویشن شیرازی در نانوذله در مقایسه با درونپوشانی اسانس در روغن اثر بهتری در پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن هسته انار داشت.

پیشنهادات

- ✓ خواص دیگر امولسیونهای پیکرینگ تولیدشده در این پژوهش از جمله خواص رئولوژیکی مورد بررسی قرار گیرد
- ✓ اثر نانوژل های کیتوزان اصلاح شده با ترکیبات دیگر نیز مورد بررسی و مقایسه با یکدیگر قرار گیرد.
- ✓ پیشنهاد می شود تحقیقات بیشتری با محوریت مقایسه سطح تاثیر انواع نانوژل ها و اسانس ها بر روغن و دیگر محصولات صورت گیرد.

منابع

- بی نام. ۱۳۶۳. نشریه ترویجی انار و انارکاری. جهاد دانشگاهی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- قاسمی راد، عباس. ۱۳۶۰. احداث باغ انار. وزارت کشاورزی و عمران روستایی - سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی ایستگاه کشاورزی شهرستان ساوه.
- امامی، آ؛ آهی، ع (۱۳۸۷). گیاهشناسی دارویی. مرکز نشر دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران تهران، صص ۲۷۵، ۳۴۵، ۳۴۴، ۳۳۰.
- پزشکی، اکرم. et al., 1394. تهیه نانوامولسیون های حامل ویتامین A پالمیتات به روش خودبه خودی: بررسی تاثیر سورفاکتانت و فاز روغنی بر اندازه قطرات و پایداری. , pp.299-314.۴
- حمیدرضا، ص.، محمدحسین، ع. & محسن، ب. ۱۳۸۶. اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا. , ۱۴, pp.193-200. (4)
- فرهمند، ع. & حدادخداپرست، م.ح. ۱۳۹۲. روغن هسته انار: مروری بر خواص و روش های استخراج In. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی.
- Abbasi, H. et al., 2008. Extraction of essential oils from the seeds of pomegranate using organic solvents and supercritical CO₂. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(1), pp.83-89.
- Aider, M., 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), pp.837-842. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>.
- Árnadóttir, Þ., 2013. Nano-laminated Fish Oil Droplets: Influence of Chitosan Charge Density on Emulsion Stability.
- Aveyard, R., Binks, B.P. & Clint, J.H., 2003. Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100, pp.503-546.
- Ax, K. et al., 2001. Oil-in-water emulsions as carriers of bioavailable carotenoids. *PARTEC Processing, Nuremberg*.

- Bédié, G.K., Turgeon, S.L. & Makhlouf, J., 2008. Formation of native whey protein isolate–low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloids*, 22(5), pp.836–844.
- Berton-Carabin, C.C., Ropers, M.H. & Genot, C., 2014. Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), pp.945–977.
- Beyki, M. et al., 2014. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan – cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops & Products*, 54, pp.310–319. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.033>.
- Braun, L. & Cohen, M., 2015. *Herbs and Natural Supplements, Volume 2: An Evidence-Based Guide*, Elsevier Health Sciences.
- Champagne, C.P. & Fustier, P., 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current opinion in biotechnology*, 18(2), pp.184–190.
- Chatterjee, D. & Bhattacharjee, P., 2013. Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil : Shelf-life and frying stability of soybean oil. *Journal of Food Engineering*, 117(4), pp.545–550.
- Cheong, A.M. et al., 2016. Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil-in-water Pickering nanoemulsions stabilised by mixture of sodium caseinate, Tween 20 and β -cyclodextrin. *Food Hydrocolloids*, 52(February), pp.934–941.
- Chevalier, Y. & Bolzinger, M.-A., 2013. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, pp.23–34. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>.
- Chiono, V. et al., 2008. Genipin-crosslinked chitosan/gelatin blends for biomedical applications. *Journal of Materials*.
- Dashti, N.G. et al., 2015. Antioxidant Effect of Thyme Essential Oil on Oxidative Stability of Chicken Nuggets. *ETP International Journal of Food Engineering*,

1(2), pp.115–120.

- Djeddi, S. et al., 2009. Composition and anti-microbiological activity of the essential oil of *Pelargonium capitatum* L.(Geraniaceae) from Algeria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(1), pp.1–5.
- Elsabee, M.Z., Morsi, R.E. & Al-Sabagh, A.M., 2009. Surface active properties of chitosan and its derivatives. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), pp.1–16.
- Feng, Y. & Lee, Y., 2016. Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilize oil-in-water pickering emulsion. *Food Hydrocolloids*, 56, pp.292–302.
- Gandomi, H. et al., 2009. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese. *Food and chemical toxicology*, 47(10), pp.2397–2400. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.05.024>.
- Gouin, S., 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, 15(7), pp.330–347.
- Gutiérrez, J.M. et al., 2008. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 13(4), pp.245–251.
- Joseph, T. & Morrison, M., 2006. Nanotechnology in Agriculture and Food. Nanoforum Report. 2006. *Institute of nanotechnology*.
- Kargar, M. et al., 2012. Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Journal of colloid and interface science*, 366(1), pp.209–215. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2011.09.073>.
- Kentish, S. et al., 2008. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), pp.170–175.
- Keogh, M.K. & O’kennedy, B.T., 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*, 63(1), pp.108–112.
- Khalili, S.T., Mohsenifar, A., Beyki, M., Zhavah, S., Rahmani-cherati, T., et al., 2015.

- Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), pp.502–508. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.054>.
- Khalili, S.T., Mohsenifar, A., Beyki, M., Zhavah, S., Rahmani-Cherati, T., et al., 2015. Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), pp.502–508.
- Laouini, A. et al., 2012. Membrane emulsification: A promising alternative for vitamin E encapsulation within nano-emulsion. *Journal of membrane science*, 423, pp.85–96.
- Lee, J. et al., 2012. Self-assembled glycol chitosan nanogels containing palmityl-acylated exendin-4 peptide as a long-acting anti-diabetic inhalation system. *Journal of Controlled Release*, 161(3), pp.728–734.
- Li, P.-H. & Chiang, B.-H., 2012. Process optimization and stability of D-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 19(1), pp.192–197.
- Liu, H. et al., 2012. Simple, Reversible Emulsion System Switched by pH on the Basis of Chitosan without Any Hydrophobic Modification. *Langmuir*, 28(30), pp.11017–11024.
- Liu, J. et al., 2014. Free radical mediated grafting of chitosan with caffeic and ferulic acids: Structures and antioxidant activity. *International journal of biological macromolecules*, 65, pp.97–106.
- Liu, J. et al., 2007. Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *International journal of pharmaceutics*, 328(2), pp.191–195.
- Livney, Y.D., 2015. Nanostructured delivery systems in food: latest developments and potential future directions. *Current Opinion in Food Science*, 3, pp.125–135. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2015.06.010>.
- Lomova, M. V, Sukhorukov, G.B. & Antipina, M.N., 2010. Antioxidant coating of

- micronsize droplets for prevention of lipid peroxidation in oil-in-water emulsion. *ACS applied materials & interfaces*, 2(12), pp.3669–3676.
- Mahdi, S. et al., 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food hydrocolloids*, 22(7), pp.1191–1202.
- McClements, D.J. et al., 2011. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), pp.285–330.
- McClements, D.J., 2012. Crystals and crystallization in oil-in-water emulsions: Implications for emulsion-based delivery systems. *Advances in colloid and interface science*, 174, pp.1–30.
- McClements, D.J. et al., 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of Food Science*, 65(8), pp.1270–1282.
- McClements, D.J. & Li, Y., 2010. Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in colloid and interface science*, 159(2), pp.213–228.
- Mei, L., 1998. Lipid oxidation in emulsions as affected by droplet surface properties and interactions among droplets, antioxidants, and other co-existing substances. *Doctoral Dissertations Available from Proquest*.
- Mudambi, R. et al., 1977. Vitamin C content of some fruits grown in Nigeria. *International Journal of Food Science & Technology*, 12(2), pp.189–191.
- Mwangi, W.W. et al., 2016. Effects of environmental factors on the physical stability of pickering-emulsions stabilized by chitosan particles. *Food Hydrocolloids*, 60, pp.543–550.
- Naghbi, F. et al., 2010. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, pp.63–79.
- Nallamuthu, I., Devi, A. & Khanum, F., 2014. Chlorogenic acid loaded chitosan nanoparticles with sustained release property, retained antioxidant activity and enhanced bioavailability. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(3),

- pp.203–211. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.09.005>.
- Nan, F. et al., 2014. Uniform chitosan-coated alginate particles as emulsifiers for preparation of stable Pickering emulsions with stimulus dependence. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 456(1), pp.246–252.
- Nasti, A. et al., 2009. Chitosan/TPP and Chitosan/TPP-hyaluronic Acid Nanoparticles: Systematic Optimisation of the Preparative Process and Preliminary Biological Evaluation. *Pharmaceutical Research*, 26(8), pp.1918–1930.
- Neethirajan, S. & Jayas, D.S., 2011. Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and bioprocess technology*, 4(1), pp.39–47.
- Oehlke, K. et al., 2014. Potential bioavailability enhancement of bioactive compounds using food-grade engineered nanomaterials: a review of the existing evidence. *Food & function*, 5(7), pp.1341–1359.
- Peng, H. et al., 2010. Vanillin cross-linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol. *Food Chemistry*.
- Rao, J. & McClements, D.J., 2011. Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: fabrication from sucrose monopalmitate & lemon oil. *Food hydrocolloids*, 25(6), pp.1413–1423. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.004>.
- Rao, J. & McClements, D.J., 2012. Lemon oil solubilization in mixed surfactant solutions: Rationalizing microemulsion & nanoemulsion formation. *Food Hydrocolloids*, 26(1), pp.268–276.
- Rayner, M. et al., 2014. Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 458, pp.48–62. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.03.053>.
- Rodríguez, F.P. et al., 2011. A mathematical risk model for Escherichia coli O157: H7 cross-contamination of lettuce during processing. *Food microbiology*, 28(4), pp.694–701.

- Sauvant, P. et al., 2012. Vitamin A enrichment: Caution with encapsulation strategies used for food applications. *Food Research International*, 46(2), pp.469–479.
- Shafiee, A. & Javidnia, K., 1997. Composition of essential oil of *Zataria multiflora*. *Planta medica*, 63(4), pp.371–372.
- Shah, B.R. et al., 2016. Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation. *Food Hydrocolloids*, 52, pp.369–377.
- Sharma, S.D. & Sharma, V.K., 1990. Variation for chemical characters in some promising strains of wild pomegranate (*Punica granatum* L.). *Euphytica*, 49(2), pp.131–133.
- Sheikhshoaei, F., Abbasi, S. & Sahari, M.A., 2013. Effects of various factors on the oxidative stability of ω -3 fatty acid-enriched Doogh (Iranian yoghurt drink). *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7(4), pp.1–10.
- Shimoni, E. & Gustavo, B., 2009. Nanotechnology for foods: delivery systems. In *IUFoST World Congress Book: Global Issues in Food Sci. Technol.* pp. 411–424.
- Shulman, Y., Fainberstein, L. & Lavee, S., 1984. Pomegranate fruit development and maturation. *Journal of Horticultural Science*, 59(2), pp.265–274.
- Silva, H.D., Cerqueira, M.Â. & Vicente, A.A., 2012. Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), pp.854–867.
- Tamjidi, F. et al., 2013. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, pp.29–43. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.03.002>.
- Tsuyuki, H., Itoh, S. & Nakatsukasa, Y., 1981. Studies on the lipids in pomegranate seeds. *Bulletin of the College of Agriculture and Veterinary Medicine Nihon University*.
- Vos, P. De et al., 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4),

pp.292–302.

- Wang, L. et al., 2015. Fabrication and characterization of antioxidant Pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs). *Journal of agricultural*.
- Wang, L.-J.L. et al., 2015. Fabrication and characterization of antioxidant pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs). *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(9), pp.2514–2524.
- Wang, L.J. et al., 2015. Fabrication and characterization of antioxidant pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(9), pp.2514–2524.
- Wei, Z. et al., 2012. Chitosan nanoparticles as particular emulsifier for preparation of novel pH-responsive Pickering emulsions and PLGA microcapsules. *Polymer*, 53(6), pp.1229–1235.
- Weiss, J. et al., 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3(2), pp.146–154.
- Xiao, J. et al., 2016. Kafirin nanoparticles-stabilized Pickering emulsions: Microstructure and rheological behavior. *Food Hydrocolloids*, 54, pp.30–39.
- Ye, F. et al., 2017. Elucidation of stabilizing oil-in-water Pickering emulsion with different modified maize starch-based nanoparticles. *Food Chemistry*, 229, pp.152–158.
- Zhang, M. et al., 2017. Factors influencing the stability and type of hydroxyapatite stabilized Pickering emulsion. *Materials Science and Engineering C*, 70, pp.396–404.
- Zhang, S., Zhou, Y. & Yang, C., 2015. Pickering emulsions stabilized by the complex of polystyrene particles and chitosan. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 482, pp.338–344.
- Zhaveh, S. et al., 2015. Encapsulation of Cuminum cyminum essential oils in chitosan-caffeic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops and Products*, 69, pp.251–256.

Abstract:

The aim of this study was to obtain a stable Pickering emulsion pomegranate seed oil (PSO) using chitosan-capric acid nanogel and investigate the effect of encapsulation *Zataria multiflora* essential oil (ZEO) on the oxidative stability of PSO. The results of the gas chromatography test showed that about 54% of the PSO is composed of punicic acid, which was 18-carbon fatty acid with 3 unsaturated bonds. In the following, capric acid was added to chitosan chains in different percentages to improve its emulsifier properties. The results of the FTIR spectrum confirmed the formation of the bond between chitosan and capric acid. Also, the results of scanning electron microscopy (SEM) showed that the formation of nanoparticles was improved by increasing the percentage of capric acid to chitosan. Then, the effect of different percentages of capric acid to chitosan, different pH and oil content on the stability of pomegranate seed oil Pickering emulsion for one week was investigated. After storage of the samples at ambient temperature, the stability of the emulsions was evaluated using microscopic images and particle size calculation with image j software. The results showed that the most stable emulsion was in pH=8, the nanogel with 50% capric acid and the 100 μ l oil content. After determining the most suitable conditions of the pickering emulsion, the oxidative stability in different conditions such as the absence of essential oil and also the pickering emulsion with various amounts of 200 and 1000 μ l/ liter of encapsulated ZEO in PSO and nanogel with an emulsion stabilized by Tween 80 were evaluated by peroxide and TBA values during 22 days at 45 °C. The results showed that the emulsion produced by the nanogel have a lower oxidative stability than emulsion containing Tween 80. Also, the results showed that encapsulated ZEO in the nanogel had more oxidative stability than encapsulating that in the PSO.

Keywords: Pickering emulsion; Chitosan nanogel; Pomegranate seed oil; *Zataria multiflora* essential oil; Oxidative stability.



Shahrood University of Technology

Faculty Of Agriculture

M.Sc. Thesis in Food Sciences

**Production of pomegranate seed oil emulsion
stabilized with nano gel containing *Zataria
multiflora* essential oils and it's oxidative
assessment**

By: Nayyer SHahbazi

Supervisor :

Dr. Ahmad Rajaii

Dr.meysam tabatabayii

Advisor:

Dr.Afshin mohsenifar

Dr. Hojatollah Bodaghi

January 2018