

دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی

تولید امولسیون روغن بذر کتان با استفاده از نانوذله حاوی اسانس میخک
(*Dianthus Caryophyllus*) و بررسی پایداری اکسیداتیو آن

نگارنده:

الناز سادات حسینی

اساتید راهنما:

دکتر احمد رجایی

دکتر میثم طباطبایی

اساتید مشاور:

دکتر افشین محسنی فر

دکتر کامبیز جهان بین

آبان ۱۳۹۶

شماره: ۴۷۴
تاریخ: ۱۳۹۶/۹/۲۹

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

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

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم / آقای الناز سادات حسینی شماره دانشجویی ۹۴۰۵۹۲۴ رشته کشاورزی گرایش علوم و مهندسی صنایع غذایی - علوم مواد غذایی تحت عنوان تولید امولسیون روغن بذر کتان با استفاده از نانوذله حاوی اسانس میخک (*Dianthus caryophyllus*) و بررسی پایداری اکسیداتیو آن که در تاریخ ۹۶/۰۸/۲۹ 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>خیلی خوب</u>)
<input checked="" type="checkbox"/> عملی	<input type="checkbox"/> نظری

امضاء	مرتبه علمی	نام و نام خانوادگی	عضو هیأت داوران
	استاد	احمد رجایی	۱- استاد راهنمای اول
		میثم طباطبایی	۲- استاد راهنمای دوم
	استاد	افشین محسنی فر کامبیز جهان بین	۳- استاد مشاور
	استاد	مسعود حکیمی تبار	۴- نماینده تحصیلات تکمیلی
	استاد	حمیدرضا صمد لویی	۵- استاد ممتحن اول
		قدمعلی باقریان دهقی	۶- استاد ممتحن دوم

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: محمد رضا عامریان

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

این پایان نامه را ضمن تشکر و سپاس بیکران و در کمال افتخار و امتنان تقدیم می‌نمایم به:

- محضر ارزشمند پدر و مادر عزیز و مهربانم که در سختی ما و دشواری های زندگی، همواره یاری دلسوز و خداکار و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده اند. آن دو فرشته ای که از خواسته هایشان گذشتند، سختی ها را به جان خریدند و خود را سپر بلای مشکلات و ناملایمات گردن زد تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده ام برسم.

- بهسر مهربانم به پاس قدردانی با قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از سلامت، امنیت، آرامش و آسایش برای من فراهم آورد، سیه مهربانش سایه ساز زندگی می باشد و نشانه لطف الهی در زندگی من است. او که اسوه صبر و تحمل بوده و مشکلات مسیر را برایم تسهیل نمود.

- خواهرم که وجودش شادی بخش و صفایش مایه آرامش من است.

- اساتید فریخته و فرزانه جناب آقای دکتر احمد رجایی و جناب آقای دکتر میثم طباطبائی که زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند و بانگ های دلانیز و گفته های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمودند و همواره راهنما و راه گشای نگارنده در اتمام و اكمال پایان نامه بودند. جناب آقای دکتر افشین محسنی فرو و جناب آقای دکتر کاظم جبهان بین که زحمت مشاوره این رساله را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید.

خدایا توفیق خدمتی سرشار از شور و نشاط و همراه و همسوا علم و دانش و پژوهش جهت رشد و شکوفایی ایران کنسال عنایت بفرما.

تعهد نامه

اینجانب الناز سادات حسینی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه تولید امولسیون روغن دانه کتان با استفاده از نانوذله حاوی اسانس میخک (*Caryophyllus Dianthus*) و بررسی پایداری اکسیداتیو آن تحت راهنمایی دکتر احمد رجائی - دکتر میثم طباطبایی 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 ۹۶/۸/۲۹

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.

* متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد .

چکیده

هدف از این پژوهش دستیابی به امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان پایدار با استفاده از نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک و بررسی تاثیر درونپوشانی اسانس میخک بر پایداری اکسیداتیو روغن بذر کتان بود. به همین منظور در مرحله اول تحقیق، اسید میرستیک به زنجیره های کیتوزان در درصدهای مختلف برای بهبود خواص امولسیون کنندگی آن اضافه شد. نتایج حاصل از طیف (FT-IR) تشکیل پیوند بین کیتوزان و اسید میرستیک را تأیید کرد. همچنین، نتایج عکس های میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که تشکیل نانو ذرات با افزایش درصد اسید میرستیک روی کیتوزان بهبود یافت. در ادامه اثر درصدهای مختلف اسید میرستیک به کیتوزان، pH های متفاوت و میزان روغن بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان به مدت یک هفته مورد بررسی قرار گرفت. پس از نگهداری نمونه ها در دمای محیط پایداری امولسیون ها 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 $pH=8$ ، نانوذله با ۷۵ درصد اسید میرستیک و میزان روغن ۱۰۰ میکرولیتر حاصل شد، که این نتایج ارتباط مستقیمی با ساختار نانوذله داشت. پس از بهینه سازی 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 میخک درونپوشانی شده در روغن و نانوذله به همراه امولسیون تشکیل شده با امولسیفایر توئین ۸۰ توسط آزمون های پراکسید و TBA مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ها برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو به مدت ۱۵ روز در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بررسی ها نشان داد که امولسیون های تولید شده توسط نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک پایداری اکسیداتیو بیشتری نسبت به امولسیون حاوی توئین ۸۰ دارند. همچنین، نتایج نشان داد که درونپوشانی اسانس میخک به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در نانوذله نسبت به درونپوشانی در روغن توانسته پایداری اکسیداتیو بیشتری را ایجاد کند. علاوه بر این، پایداری اکسیداتیو با افزایش میزان اسانس درونپوشانی شده بهبود بیشتری یافت.

کلید واژه‌ها: امولسیون پیکرینگ، نانوذله، روغن بذر کتان، اسانس میخک، پایداری اکسیداتیو

لیست مقالات استخراج شده از پایان نامه

۱. اثر اسانس میخک درونپوشانی شده در نانوذله کیتوزان بر پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن بذر

کتان

۲. اثر pH بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان تولید شده با نانوذله کیتوزان

فصل اول: کلیات

مقدمه ۲

۱-۱- روغن بذر کتان ۵

۱-۲- اسانس میخک ۱۰

۱-۳- اکسیداسیون روغن ۱۰

۱-۴- درونپوشانی یا انکپسولاسیون ۱۴

۱-۵- امولسیون ۱۶

۱-۶- برهم کنش های کلئیدی ۱۹

۱-۶-۱- برهم کنش های استریک ۲۰

۱-۷- امولسیون پیکرینگ ۲۰

۱-۸- کیتوزان ۲۵

۱-۹- اسید میرستیک ۲۷

۱-۱۰- نانوتکنولوژی در صنایع غذایی ۲۸

۱-۱۱- نانوزل ۳۰

۱-۱۱-۱- روش شیمیایی تولید نانوزل ۳۳

۱-۱۱-۱-۱- روش میسل کوپلیمر دسته ای ۳۳

۱-۱۱-۲- روش فیزیکی تولید نانوزل ۳۴

۱-۱۱-۲-۱- تجمع خودبخودی ۳۴

فصل دوم: مروری بر منابع

۲-۱- پژوهش های مربوط به روغن بذر کتان ۳۸

۲-۲- پژوهش های مربوط به اسانس میخک ۳۹

۲-۳- پژوهش های مربوط به کیتوزان ۳۹

۲-۴- پژوهش های مربوط به امولسیون پیکرینگ و پایداری آن ۴۰

۲-۵- پژوهش های مربوط به درونپوشانی و اکسیداسیون ۵۰

۲-۶- پژوهش های مربوط به نانوزل ۵۲

فصل سوم: مواد و روش ها

- ۳-۱- مواد و تجهیزات..... ۵۶
- ۳-۱-۱- مواد اولیه..... ۵۶
- ۳-۱-۲- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی..... ۵۷
- ۳-۲- روش ها..... ۵۷
- ۳-۲-۱- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن بذر کتان..... ۵۷
- ۳-۲-۲- آماده سازی نانوژل کیتوزان- اسید میرستیک..... ۵۸
- ۳-۲-۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانوژل کیتوزان- اسید میرستیک..... ۵۸
- ۳-۲-۳-۱- طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR)..... ۵۸
- ۳-۲-۳-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)..... ۵۹
- ۳-۲-۴- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ..... ۶۰
- ۳-۲-۴-۱- آماده سازی نمونه ها برای بررسی تاثیر pH..... ۶۰
- ۳-۲-۴-۲- آماده سازی نمونه ها برای بررسی تاثیر درصد مولی اسید میرستیک به کیتوزان..... ۶۰
- ۳-۲-۴-۳- آماده سازی نمونه ها برای بررسی تاثیر میزان روغن..... ۶۱
- ۳-۲-۵- بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ..... ۶۱
- ۳-۲-۵-۱- میکروسکوپ نوری..... ۶۱
- ۳-۲-۵-۲- محاسبه ضریب خامه ای شدن..... ۶۲
- ۳-۲-۶- بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان با اسانس میخک..... ۶۳
- ۳-۲-۶-۱- آماده سازی نمونه ها..... ۶۳
- ۳-۲-۶-۲- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با آزمون پراکسید..... ۶۴
- ۳-۲-۶-۳- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با تست TBA..... ۶۵
- ۳-۲-۷- تجزیه و تحلیل داده ها..... ۶۶

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- ۴-۱- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن بذر کتان..... ۶۸
- ۴-۲- بررسی ساختار نانوژل ها..... ۶۹
- ۴-۲-۱- بررسی طیف (FT-IR)..... ۶۹
- ۴-۲-۲- بررسی ساختار نانوژل ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی..... ۷۳

۷۶.....	۳-۴- بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ.....
۷۶.....	۳-۴-۱- بررسی تاثیر pH بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان.....
۸۳.....	۳-۴-۲- بررسی تاثیر درصد مولی اسید میرستیک به کیتوزان بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان.....
۹۰.....	۳-۴-۳- بررسی تاثیر میزان روغن بذر کتان بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان.....
۹۶.....	۴-۴- بررسی اثر اسانس میخک درونپوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات نانوذله.....
۹۷.....	۴-۵- ارزیابی پایداری اکسیداتیو.....
۱۰۶.....	نتیجه گیری.....
۱۰۷.....	پیشنهادات.....
۱۰۸.....	منابع.....

فهرست اشکال

- شکل ۱-۱: ساختار اسیدهای چرب غالب در کتان..... ۶
- شکل ۱-۲: شکل شماتیک امولسیون معمولی و امولسیون پیکرینگ..... ۲۰
- شکل ۱-۳: استیل زدایی کیتین و تشکیل کیتوزان..... ۲۶
- شکل ۱-۴: ساختار شیمیایی اسید میرستیک..... ۲۷
- شکل ۱-۵: طبقه بندی نانوذله ها براساس ساختارشان..... ۳۱
- شکل ۱-۶: آماده سازی نانوذله ها با روش میسل کوپلیمر دسته ای..... ۳۴
- شکل ۱-۷: رفتار تجمعی خودبخودی نانوذله..... ۳۵
- شکل ۳-۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (سمت راست) و دستگاه پوشش دهنده طلا روی نمونه (سمت چپ)..... ۶۰
- شکل ۳-۲: میکروسکوپ نوری..... ۶۲
- شکل ۳-۳: اسپکتروفتومتر نور مرئی..... ۶۵
- شکل ۳-۴: سانتیفریوژ..... ۶۶
- شکل ۴-۱: طیف های (FT-IR) مربوط به الف: کیتوزان. ب: اسید میرستیک. ج: نانوذله های کیتوزان- اسید میرستیک با درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد..... ۷۱
- شکل ۴-۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک با درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک الف: ۰ درصد، ب: ۲۵ درصد، ج: ۵۰ درصد و د: ۷۵ درصد..... ۷۵
- شکل ۴-۳: تصاویر نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک در pH های مختلف در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی..... ۷۶
- شکل ۴-۴: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در pH های مختلف ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ بعد از ۳ ساعت (۴۰x) (الف) و بعد از ۷ روز (pH های ۸، ۱۰ و ۱۲ با عدسی ۱۰۰x) (ب)..... ۷۹
- شکل ۴-۵: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در pH های مختلف ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ بعد از ۳ ساعت (الف) و بعد از ۷ روز (ب). حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است..... ۸۰
- شکل ۴-۶: تصاویر نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی..... ۸۳
- شکل ۴-۷: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان بعد از ۳ ساعت (الف) (کیتوزان اصلاح نشده با عدسی ۴۰x نمونه ها با درصدهای مولی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ با عدسی ۱۰۰x) و بعد از ۷ روز (ب) (کیتوزان اصلاح نشده با عدسی ۴۰x و نمونه ها با درصدهای مولی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ با عدسی ۱۰۰x)..... ۸۵

فهرست اشکال

شکل ۴-۸: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با درصدهای مولی مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد اسید میرستیک به کیتوزان و کیتوزان اصلاح نشده بعد از ۳ ساعت (الف) و بعد از ۷ روز (ب). حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است ۸۷

شکل ۴-۹: تصاویر نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک (۷۵ درصد مولی اسید میرستیک) و $pH=8$ در مقادیر مختلف ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی..... ۹۰

شکل ۴-۱۰: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در مقادیر مختلف روغن بذر کتان بعد از ۳ ساعت (الف) (همه ی مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر با عدسی $40\times$ و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر با عدسی $100\times$) و بعد از ۷ روز (ب) (مقادیر ۱۰ و ۵۰ میکرولیتر با عدسی $40\times$ و مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر با عدسی $100\times$)..... ۹۳

شکل ۴-۱۱: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده در مقادیر مختلف ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان بعد از ۳ ساعت (الف) و بعد از ۷ روز (ب). حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است..... ۹۴

شکل ۴-۱۲: عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک با ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک حاوی اسانس میخک..... ۹۷

فهرست جداول

- جدول ۱-۱: نسبت های اسیدهای چرب در روغن بذر کتان..... ۷
- جدول ۱-۲: مقادیر توکوفرول ها و استرول ها در روغن بذر کتان..... ۹
- جدول ۳-۱: ترکیبات مهم اسانس میخک..... ۵۶
- جدول ۴-۱: غلظت و درصد اسیدهای چرب نمونه کتان (غلظت برحسب میلی گرم بر یک گرم روغن)..... ۶۹
- جدول ۴-۲: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در pH های ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است..... ۷۷
- جدول ۴-۳: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است..... ۸۴
- جدول ۴-۴: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در مقادیر مختلف روغن در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است..... ۹۱
- جدول ۴-۵: میانگین و انحراف معیار مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۱۵ نگهداری شده در دمای ۳۵ 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..... ۹۸
- جدول ۴-۶: میانگین و انحراف معیار مقادیر TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۱۵ نگهداری در دمای ۳۵ 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..... ۱۰۳

فصل اول:

کلیات

مقدمه

بذر کتان از جمله بذرهای روغنی است که در آب و هوای معتدل رشد کرده و انواع مختلفی دارد (Hall et al., 2016). نام لاتین کتان *Linum usitatissimum* به معنی بسیار مفید می باشد (Tripathi and Marker, 2013). بذر کتان منبع خوبی از اسیدهای چرب ضروری (ω -3) از نوع اسید آلفا لینولنیک می باشد. همچنین، بذر کتان منبع خوب لیگنان، فیبر رژیمی، پروتئین، مواد معدنی و برخی از ویتامین ها است. علاوه بر این، کنجاله بذر کتان روغن گیری شده به عنوان خوراک دام در کشورهای توسعه یافته به فراوانی به کار برده می شود (Alshafe et al., 2015; Oomah and Mazza, 1998). از این روغن در کشورهای اروپای شرقی به عنوان روغن های خوراکی استفاده می شود ولی کاربردی در تولید مارگارین و شورتینگ ندارد، از جمله ویژگی های آن می توان به بوی ماندگار و تند آن، سرعت بالای اتواکسیدان و پلیمریزاسیون گرمایی آن اشاره کرد که آن را تبدیل به روغنی نامناسب برای سالاد و پخت می نماید (Lazzari and Chiantore, 1999). میزان اسیدهای چرب اشباع در این روغن به صورت ناچیز بوده در حالی که مقدار اسیدهای چرب (ω -3) به فراوانی در آن یافت شده است. از جمله بیماری هایی که اسیدهای چرب (ω -3) در بهبود آن نقش دارد، شامل: بیماری های قلبی-عروقی، سرطان سینه و پروستات، میگرن و انواع سردردها، استرس، ناباروری، بیماری های گوارشی، اختلالات بینایی، سکته، سرطان، دیابت و اختلالات روده ای-معدده ای می باشد (Oomah and Mazza, 1998).

اسیدهای چرب (ω -3) به دلیل کاربردهای درمانی و تغذیه ای زیادی که دارند در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته اند، اما حساسیت بالای آن ها به اکسیداسیون، استفاده آن ها را در مواد غذایی دچار مشکل کرده است. روش های مختلفی برای محافظت از این ترکیبات از جمله استفاده از آنتی اکسیدان و درونپوشانی وجود دارد (Waraho et al., 2011).

در سال های اخیر آگاهی مصرف کنندگان از اثرات سمی آنتی اکسیدان های مصنوعی باعث استقبال آن ها از مواد افزودنی طبیعی شده است (Wardle, 2005). اسانس ها منابع خوبی از آنتی اکسیدان ها هستند که دارای پتانسیل بالایی در حذف رادیکال آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون چربی می باشند و نقش بسزایی در حفظ سلامت بشر دارند، همچنین، این ترکیبات دارای خاصیت ضدسرطانی می باشند (Dziki et al., 2014). اسانس میخک با نام علمی *Dianthus caryophyllus* از جمله قوی ترین آنتی اکسیدان های طبیعی می باشد. ترکیب شیمیایی موجود در اسانس میخک شامل: اوژنول، اربوفیلین، الکل بنزیلیک، بنزوات دو متیل، فورفول و اتیلن می باشد (Lee and Shibamoto, 2001).

نانو فناوری عبارت است از تولید، دستکاری و کاربرد موادی که حداقل یک بعد آن ها کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. خواص فیزیکی شیمیایی و زیستی ساختارها و سیستم ها در مقیاس نانو به طور اساسی با مقیاس میکرو متفاوت است؛ بدلیل برهم کنش های منفرد اتم ها و مولکول ها که بدان وسیله کاربردهای منحصر بفرد و جدیدی را ایجاد می کنند (Tamjidi et al., 2013). اخیرا تلاش و سرمایه گذاری زیادی در زمینه نانو فناوری به منظور کاربرد آن در صنایع غذایی در حال انجام است. یکی از کاربردهای عمده نانو فناوری در صنعت غذا به طراحی و کاربرد سیستم های کنترل رهایش مربوط می شود. حامل ها با مقیاس نانو در مقایسه با انواع میکرو توزیع اندازه نسبتا باریکی دارند، پایداری سینتیکی طولانی مدت یا پایداری ترمودینامیکی دارند، حلالیت و دستیابی زیستی مواد زیست فعال را افزایش می دهند و کنترل رهایش راحت تری دارند؛ به همین دلیل، اخیرا اهمیت زیادی در انتقال اجزای فعال پیدا کرده اند. نانوحامل ها را می توان به ۳ دسته لیپیدی، پلیمری و لیپیدی- پلیمری تقسیم بندی نمود. نانوذله ها جزء دسته نانوحامل های پلیمری محسوب می شوند. نانوذله ها به شبکه ای از زنجیره های هیدروفیلیک و هیدروفوبیک در مقیاس نانو اطلاق می شود، که دارای مقدار قابل توجهی آب هستند. نانوذله ها کاربرد بسیاری در زمینه های مختلف از جمله: مهندسی بافت، بیوتکنولوژی و دارو دارند. نانوذله ها به دلیل کوچک بودن، خلل و فرج زیاد، شبکه های

ماکرومولکولی، گنجایش و استحکام بالا، قدرت واکنش پذیری با فاکتورهای محیطی، متورم شدن در آب، زیست تخریب پذیری، پاسخ غیرایمونولوژی، مهار تهاجم به وسیله ی سیستم رتیکولوپلاست، آزادسازی درمانی و ویژگی های دیگر می توانند به عنوان حامل استفاده شوند. در ساخت نانوزل ها از پلیمرهای زیست سازگار و زیست تخریب پذیر مانند: کیتوزان، هیالورونات، دکستران، سلولز، پولولان، آلژینات و ... استفاده می شود. مطالعات نشان داده که با درونپوشانی اسانس ها به دلیل آزادسازی تدریجی، اثرات این ترکیبات افزایش می یابد (Chacko et al., 2012). محققان زیادی اکسایش چربی ها و روغن های امولسیون ها را مورد مطالعه قرار داده اند. مکانیسم اکسایش در سامانه های روغنی و امولسیونی متفاوت است. محققان پیشین همواره بر این مسئله اتفاق نظر داشته اند که اکسایش در امولسیون ها پدیده پیچیده ای است و عوامل موثر بر آن پیچیده تر و متنوع تر هستند (McClements and Decker, 2000).

سطح قطره امولسیون جایی که واکنش های 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 دارند (Frankel et al., 1994).

ساخت امولسیون پیکرینگ یک استراتژی امیدوارکننده ای به منظور افزایش پایداری اکسیدانی امولسیون لیپیدها از طریق شکل گیری ساختار سطحی مبتنی بر ذرات می باشد (Binks and Horozov, 2006; Dickinson, 2010).

امولسیون پیکرینگ به امولسیونی اتلاق می شود، که در تشکیل امولسیون از ذرات جامد به عنوان جایگزین امولسیفایر استفاده می شود (Schmitt et al., 2014). امولسیون های پیکرینگ در سال های اخیر توجهات زیادی را به دلیل مزایای زیاد آن ها نسبت به سورفکتانت به خود جلب کرده است (Mwangi et al., 2016). از جمله این مزایا می توان به جذب برگشت ناپذیر در سطح قطرات اشاره کرد که باعث ایجاد یک مانع فیزیکی در مقابل پراکسیدان می شود. از دیگر مزایای پیکرینگ می توان

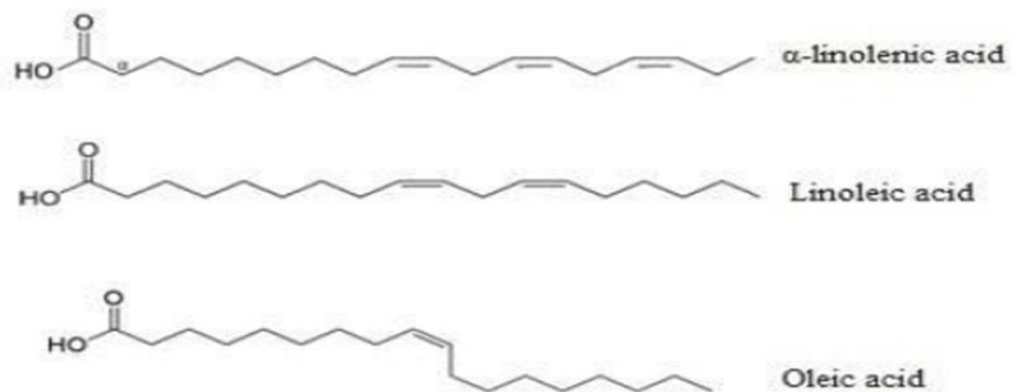
مقاومت بالا در برابر انعقاد و سمیت کمتر را نام برد (Waraho et al., 2011; Wei et al., 2012).
امولسیون پیکرینگ بر ایجاد فرمولاسیون مناسب برای انکپسولاسیون ترکیبات زیست فعال در صنایع غذایی و دارویی تمرکز کرده است (Shah et al., 2016). از انواع ذرات نانو که در پایداری امولسیون استفاده می شود می توان به زئین (Feng and Lee, 2016)، گلیسینین (Liu and Tang, 2016)، کیتوزان (Mwangi et al., 2016)، نشاسته (Leclercq and Nardello-Rataj, 2016; Timgren et al., 2011)، سیلیکا (Han Yan et al., 2015)، رشته های پروتئینی بتالاکتوگلوبولین (Gao et al., 2017)، کلسیم کربنات (Binks et al., 2017)، نانوسلولز مشتقات گیاهی (Gestranus et al., 2016)، تیتانیا (Zahn and Kickelbick, 2014)، پروتئین نخود فرنگی (Liang and Tang, 2014) اشاره کرد. اکثر ذرات نام برده آبدوست اند، به همین علت، این ذرات نمی توانند نقش پایدارکنندگی خوبی را در امولسیون ایفا کنند. در این حالت باید اصلاح سطح در آن ها انجام پذیرد، به طوری که هر دو خاصیت آبدوستی و آبریزی را داشته باشند (Cauvin et al., 2005).

با توجه به توضیحات داده شده، هدف از این تحقیق، اصلاح کیتوزان با استفاده از ایجاد پیوند میان کیتوزان و اسید میرستیک و تولید نانوذرات کیتوزان به همراه اسانس میخک و استفاده از این نانوذرات در جهت تولید امولسیون روغن بذر کتان و بررسی میزان پایداری اکسیداتیو امولسیون های تولید شده می باشد.

۱-۱- روغن بذر کتان

بذر کتان (*Linum usitatissimum*) گیاهی یکساله است که به خانواده کتان تعلق دارد. کتان دارای ۲۰۰ گونه شناخته شده می باشد (Gouda et al., 2016). کتان گیاه خودگرده افشانی است که در ابتدا از کشورهای آسیای مرکزی و مناطق مدیترانه ای، بین النهرین، آسیا و مصر سرچشمه گرفته است و همچنین، در کانادا و ایالات متحده رشد می کند. زراعت کتان تاریخ ۵۰۰۰ ساله دارد و به عنوان دانه ی روغنی و فیبری شناخته شده است به طوری که، به آن ملکه ی فیبر گویند (Jian-

(zhong, 2016). کتان غنی از چربی، پروتئین و فیبر می باشد. ترکیبات کتان می تواند در اثر ژنتیک، محیط رشد و فرآوری و روش های آنالیز تغییر کند. محتوی پروتئین کتان با افزایش میزان چربی کاهش می یابد (Morris, 2007). از مقدار کل لیپیدها در کتان (حدود ۳۰ درصد)، ۵۳ درصد اسید آلفا لینولنیک (ALA^1)، ۱۷ درصد اسید لینولنیک (LA^2)، ۱۹ درصد اسید اولئیک (شکل ۱-۱)، ۳ درصد اسید استئاریک و ۵ درصد اسید پالمیتیک می باشد، که نسبت ($\omega-6$):($\omega-3$) طبق مقادیر بالا حدودا ۰/۳:۱ می شود. بنابراین، کتان منبع غنی از ($\omega-3$) می باشد (Salama, 2007).



شکل ۱-۱: ساختار اسیده‌های چرب غالب در کتان

روغن بذر کتان به دو روش پرس سرد و استخراج با حلال بدست می آید. برای مصارف غذایی از روش پرس سرد استفاده می شود و به آن "Flaxseed oil" می گویند. روغن استخراج شده معمولا برای مصارف صنعتی و غیرغذایی هم بکار برده می شود. در این مورد به آن "Linseed oil" گفته می شود که در تولید رنگ، جلادهنده، پوشش کف اتاق و موارد دیگر استفاده می شود (Hall et al., 2016).

کتان حاوی ۲۶-۴۵ درصد روغن می باشد. تقریبا ۲۲ درصد روغن در پوشش دانه و ۴ درصد در رویان متمرکز شده است. حدود ۷۰ درصد کل روغن تولیدی در کل دنیا برای مصارف تکنیکی و ۳۰ درصد آن برای تولیدات غذایی مورد استفاده قرار گرفته است (Nykter et al., 2006). بذر کتان از

¹ALA: Alpha Linolenic Acid

²LA: Linoleic Acid

نظر بسیاری از ترکیبات مغذی از جمله: اسیدهای چرب چند غیراشباعی، پروتئین و لیگنان ها غنی می باشد (Popa et al., 2012). ترکیب اصلی اغلب روغن های گیاهی تری آسیل گلیسرول (TAG^۳) می باشد. ترکیبات شیمیایی TAG های روغن دانه کتان به خوبی شناخته شده است. نسبت های ۵ اسید چرب اصلی به نام های آلفا لینولنیک، پالمیتیک، استئاریک، اولئیک و لینولئیک موجود در روغن دانه کتان در جدول ۱-۱ آورده شده است (Hall et al., 2016). روغن بذر کتان شامل ۵۰ درصد اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA^۴) می باشد و یکی از غنی ترین منابع گیاهی ALA است (Kaul et al., 2008).

جدول ۱-۱: نسبت های اسیدهای چرب در روغن بذر کتان (Hall et al., 2016)

Fatty Acid	%wt
14:0 (Myristic acid)	Trace
16:0 (Palmitic acid)	5.0- 7.0
16:1 (Palmitoleic acid)	Trace- 0.2
18.0 (Stearic acid)	2.0- 6.0
18:1 (cis Δ 9) (Oleic acid)	17.9- 19.0
18:2 (cis Δ 9,12) (Linoleic acid)	14.7- 24.1
α - 18:3 (cis Δ 9,12,15) (α - Linolenic acid)	47.4- 58.7
20:0 (Arachidic acid)	Trace- 0.4

اسیدهای چرب ضروری شامل اسید لینولنیک و اسید لینولئیک نمی توانند در داخل بدن سنتز شوند. بنابراین، این اسیدهای چرب تنها می توانند از طریق غذا تامین شوند. اسیدهای چرب لینولنیک دارای

^۳TAG: Triacylglycerol

^۴PUFA: Polyunsaturated Fatty Acid

خصوصیات مفیدی برای سلامتی بشر هستند. از جمله این خصوصیات شامل: ضد فشار خون، جلوگیری از تنگ شدن عروق، ضد سرطان، جلوگیری از لخته شدن خون، کاهش دهنده لیپوپروتئین با دانسیته کم (LDL^۵)، افزایش دهنده نرخ متابولیک و سوخت و ساز چربی می باشد (Teh and Birch, 2013). مطابق آنچه ذکر شد، اغلب فعالیت بیولوژیکی شناخته شده کتان مربوط به اسید آلفا لینولنیک می باشد (Popa et al., 2012).

میزان بالای ALA بعضی از خصوصیات فیزیوشیمیایی روغن بذر کتان را تحت تاثیر قرار می دهد، به عنوان مثال، روغن بذر کتان با مقادیر بالای ALA دارای وزن مخصوص بالاتر و نقطه اشتعال و ذوب پایین تری نسبت به روغن بذر کتان با مقادیر کم ALA هستند (Hall et al., 2016).

مقادیر بالای (۳-ω) و اسیدهای چرب چند غیراشباعی موجود در روغن کتان باعث افزایش حساسیت این روغن در برابر نور، اکسیژن و گرما شده است (Tripathi and Marker, 2013). اکسیداسیون روغن بذر کتان در طی فرآوری نامناسب و انبار کردن، ارزش تغذیه ای آن را کاهش می دهد و باعث ایجاد طعم نامطلوب در روغن می شود. با وجود عوامل ناپایداری مشخص، روغن بذر کتان آنتی اکسیدان هایی دارند که از روغن در هنگام نگهداری، محافظت می کنند. کتان دارای چندین ترکیب زیست فعال شناخته شده شامل: لیگنان ها، فنولیک اسیدها، رنگدانه های آنتوسیانین، فلاونول ها، فلاون ها و اسید فیتیک می باشد که همه ی آن ها ممکن است در قدرت آنتی اکسیدانی بذر کتان نقش داشته باشد. غلظت این آنتی اکسیدان ها در روغن بذر کتان تحت تاثیر روش استخراج و تیمار روغن است. علاوه بر این، تصفیه کردن ممکن است ترکیبات ناچیزی که در عمر نگهداری روغن تاثیر دارند را کاهش دهد. روغن تصفیه نشده ممکن است دارای ارزش تغذیه ای بیشتر و ماندگاری طولانی تری نسبت به روغن بذر کتان تصفیه شده باشد. به عبارت دیگر، روش پرس سرد شامل حرارت دهی و

^۵LDL: Low-Density Lipoprotein

تیمارهای شیمیایی نمی شود و استخراج روغن در این روش تحت شرایط ملایم صورت گرفته و مناسب تر است (Sharav et al., 2014).

ترکیبات غیرصابونی سهم کمی را در روغن های گیاهی به خود اختصاص داده اند. با این حال، این گروه شامل ترکیباتی هستند که نقش مهمی برای حفاظت در برابر اکسیداسیون لیپید از خود نشان می دهند و همچنین، طعم و کیفیت تغذیه ای روغن را تحت تاثیر قرار می دهند. روغن بذر کتان از نظر مقادیر ترکیبات صابونی کننده تقریباً مشابه با روغن های دیگر می باشد. این روغن دارای مقادیر کمی توکوفرول های کل و مقادیر زیادی Δ^5 -اوناسترول، توکوتریانول ها و پلاستوکرومانول - ۸ می باشد. پلاستوکرومانول - ۸ آنتی اکسیدان قوی است و ممکن است در پایداری روغن بذر کتان تاثیر داشته باشد (Hall et al., 2016). مقادیر استرول ها و توکوفرول های موجود در روغن کتان در جدول ۱- ۲ آورده شده است.

جدول ۱- ۲: مقادیر توکوفرول ها و استرول ها در روغن بذر کتان (Hall et al., 2016)

Sterols	%wt
Brassicasterol	1
Campesterol	27
Stigmasterol	8
β -Sitosterol	50
Δ^5 -Avenasterol	10
Total sterols (g/kg)	2.3
Tocopherols	ppm
α -Tocopherol	20
γ -Tocopherol	200
δ -Tocopherol	7
Plastochromanol- 8	120
Total tocopherols	347

۱-۲- اسانس میخک

میخک ها شکوفه های خشک شده درختی از خانواده Myrtaceae می باشند. اسانس میخک با نام علمی *Dianthus Caryophyllus* از جمله قوی ترین آنتی اکسیدان های طبیعی است. ترکیب شیمیایی موجود در اسانس میخک شامل: اوژنول، اربوفیلین، الکل بنزیلیک، بنزوات دو متیل، فورفورول و اتیلن می باشد (Lee and Shibamoto, 2001).

اسانس میخک به عنوان منابعی از عوامل ضد میکروبی در مقابل باکتری های دهانی بشمار می آید، به همین دلیل، در درمان بیماری های مربوط به دندان از آن استفاده می شود. گزارش شده که از اسانس میخک برای درمان اختلالات آلرژیک و بیماری های تنگی نفس استفاده شده است. علاوه بر این، میخک به طور گسترده برای درمان بیماری های سیستم های گوارشی، عفونت های قارچی و باکتریایی و دندان درد استفاده می شود (Gülçin et al., 2004). تحقیقات نشان داده که اسانس میخک دارای اثرات آنتی اکسیدانی قوی است (Abdel-Wahhab and Aly, 2005). اسانس میخک در برابر نور، گرما و اکسیژن حساسیت نشان داده و مدت ماندگاری کوتاهی در شرایط نگهداری نامناسب دارد. تحقیقات نشان داده است که درجه حرارت بالای سرخ کردن، کاهش قابل توجهی را در فعالیت آنتی اکسیدانی و دیگر خصوصیات فیزیکوشیمیایی اسانس میخک اعمال می کند (Chatterjee and Bhattacharjee, 2013).

۱-۳- اکسیداسیون روغن

اکسیداسیون یک واکنش شیمیایی است که الکترون ها را از یک ماده به عامل اکسید کننده منتقل می کند. واکنش های اکسیداسیون می تواند رادیکال آزاد تولید کند که آغازگر واکنش های زنجیره ای است و باعث تخریب سلول می شود (Hamid et al., 2010). امولسیون های غذایی از ابتدای تولید تا پایان مصرف تحت تیمارهای فیزیکی - شیمیایی قرار می گیرند. در این

شرایط و در حضور اکسیژن، ترکیبات فعال شیمیایی ممکن است اکسید شوند. از بین آن ها اسیدهای چرب چند غیراشباعی (PUFA) به طور ویژه ای مستعد اکسیداسیون هستند. اکسیداسیون لیپید تاثیرات قابل توجهی بر کیفیت تکنیکی، حسی و تغذیه ای مواد غذایی دارد. اکسیداسیون لیپید باعث به هدر رفتن ترکیبات مغذی و منجر به شکل گیری رادیکال های آزاد و ترکیبات سمی می شود (Berton-Carabin et al., 2014). رادیکال های آزاد تاثیر شدیدی در بیماری های مزمن مانند: تصلب شرایین، اختلالات مغزی و سرطان دارند (صمدلوئی و همکاران، ۱۳۸۶).

اکسیداسیون روغن های خوراکی تحت تاثیر انرژی مصرف شده از جمله: نور یا حرارت، ترکیب اسیدهای چرب، نوع اکسیژن و ترکیبات فرعی از جمله: فلزات، پیگمنت ها، فسفولیپیدها، اسیدهای چرب آزاد و مونو و دی آسید گلیسرول ها و آنتی اکسیدان ها قرار می گیرد (Choe and Min, 2006).

محققان زیادی اکسایش چربی ها و روغن های امولسیون ها را مورد مطالعه قرار داده اند. مکانیسم اکسایش در سامانه های روغنی و امولسیونی متفاوت است. محققان پیشین همواره بر این مسئله اتفاق نظر داشته اند که اکسایش در امولسیون ها پدیده پیچیده ای است و عوامل موثر بر آن پیچیده تر و متنوع تر هستند؛ قطرات روغن، بار الکتریکی امولسیون، نوع و اندازه امولسیفایر، رفتار امولسیفایر در فصل مشترک آب- روغن از جمله عوامل موثر بر واکنش های اکسایش چربی در امولسیون ها می باشند (Berton-Carabin et al., 2014; Cauvin et al., 2005).

یکی از مکانیسم های اصلی که باعث اکسیداسیون لیپید در امولسیون ها می شود برهم کنش بین هیدروپراکسیدهای لیپیدی که در سطح قطره تجمع یافته اند و فلزات واسطه (استقرار یافته در فاز آبی) که تجزیه هیدروپراکسیدهای لیپیدی به رادیکال های آزاد با واکنش پذیری بالا (از جمله ی آن ها رادیکال های آلوکسیل و پراکسیل) را تسریع می بخشند، می باشد. یک روش

بالقوه برای افزایش پایداری اکسیداسیون لیپیدی بازدارندگی توانایی آهن برای واکنش با هیدروپراکسید است. فاکتورهای موثر که می تواند توانایی آهن را تحت تاثیر قرار دهد، تجمع فیزیکی پراکسیدان ها در فاز پیوسته (برای حفاظت از پراکسیدان ها برای ایجاد تماس نزدیک با سطح قطره) و خصوصیات لایه ای قطره (بار، ضخامت و غیره) می باشند (Kargar et al., 2012). اکسیداسیون لیپید فرآیند اصلی زوال است که در طی فرآیند گرمایی روغن های گیاهی شامل مولکول های لیپید با چند پیوند غیراشباع رخ می دهد. این موضوع به خوبی شناخته شده که روغن های خوراکی که برای پخت و پز در دماهای بالا در حضور اکسیژن استفاده می شود در معرض اکسیداسیون گرمایی، پلیمریزاسیون و هیدرولیز قرار دارند و باعث تولید محصولات تجزیه ای می شوند که نه تنها طعم نامطلوب را ایجاد می کند بلکه می تواند کیفیت تغذیه ای محصولات سرخ شده را کاهش دهد (Poiana, 2012).

اکسیداسیون یک واکنش تک مرحله ای نیست بلکه ترکیبی از واکنش های مختلف می باشد. مراحل اکسیداسیون شامل: سه مرحله آغازین، توسعه و پایانی است. در مرحله آغازین، مولکول اکسیژن با اسیدهای چرب غیراشباع وارد واکنش می شود و هیدروپراکسیدها و رادیکال های آزاد را تولید می کند. در مرحله دوم، اکسیداسیون توسط محصولات شیمیایی تولید شده در مرحله اول ادامه میابد و واکنش های زنجیره ای رادیکال آزاد شکل می گیرد. در مرحله ی پایانی، رادیکال های آزاد به هم ملحق شده و از فرم رادیکالی خارج می شوند (İnanç and Maskan, 2012). هنگامی که، روغن اکسید می شود مجموعه ای از محصولات تجزیه شده را در مراحل مختلف تولید می کند. در ابتدا محصولات اولیه اکسیداسیون شامل: پراکسیدها، دی ان ها و اسیدهای چرب آزاد و سپس محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل: کربونیل ها، آلدئیدها و تری ان ها و در نهایت سومین محصولات تولید می شود.

تحقیقات زیادی بر روی آنتی اکسیدان های طبیعی و سنتزی برای جلوگیری از سرعت اکسیداسیون لیپید در امولسیون ها بوسیله ی غیرفعال کردن آهن در فاز پیوسته یا تمیز کردن

رادیکال آزاد انجام شده است. روش موثر دیگر برای جلوگیری از اکسیداسیون تغییر موقعیت فیزیکی پراکسیدان ها در سیستم، از طریق استفاده از سورفکتانت ها می باشد. به دلیل اینکه سورفکتانت ها می توانند میسل هایی را در فاز پیوسته تشکیل دهند. این میسل ها می توانند برهم کنش بین آهن و هیدروپراکسید را از طریق جداسازی پراکسیدان ها (در فاز پیوسته) از هیدروپراکسیدها (جاگرفته در سطح مشترک قطره) کاهش دهند. برخی مطالعات نشان داده است که سرعت اکسیداسیون همچنین، می تواند توسط بار سطح مشترک قطره کنترل شود. به عنوان مثال، پروتئین ها به دلیل داشتن بار مثبت از نظر الکترواستاتیکی آهن را پس می زنند و باعث کاهش سرعت اکسیداسیون می شوند. به عبارت دیگر، سطح مشترک قطره با بار منفی جذب بار مثبت پراکسیدان ها (آهن) شده و پراکسیدان با هیدروپراکسید برهم کنش داشته و اکسیداسیون لپید اتفاق می افتد. علاوه بر این، ذرات جامد استفاده شده در امولسیون پیکرینگ از طریق تشکیل لایه ی بین سطحی ضخیم تر در پایداری اکسیداتیو نقش دارند (Kargar et al., 2012).

اندازه گیری اکسیداسیون شامل تست هایی می شود که محصولات اولیه و ثانویه حاصل از اکسیداسیون را اندازه گیری می کند. رایج ترین آزمایش، تست پراکسید (PV^۶) است. روغن هایی که به شدت رنسیده شده اند دارای PV^۶ تقلیل یافته هستند. بنابراین، تست آنیزیدین (AV^۷) و تست توتوکس برای نمایش اکسیداسیون به طور واضح استفاده می شود. اندازه گیری های دیگر برای اکسیداسیون وجود دارد از جمله ی آن ها تست اسید (اسیدهای چرب آزاد) (FFA^۸) ، تست اسید تیوباربیتوریک (TBA^۹) و تست آیودین (IV^{۱۰}) می باشد. ترکیبات فرار فضای بالایی می توانند با استفاده از تکنولوژی های بینی مصنوعی مورد آزمایش قرار بگیرد (Shahidi et al., 2005).

^۶PV: Peroxide Value

^۷AV: Anisidine Value

^۸FFA: Free Fatty Acid

^۹TBA: Thiobarbituric Acid Value

^{۱۰}IV: Iodin Value

۱-۴- درونپوشانی یا انکپسولاسیون

در سال های اخیر، صنایع غذایی نیازمند افزودن ترکیبات عملگرا در محصولات تولیدی می باشد. اما این ترکیبات معمولا نسبت به محیط، فرآیند و یا شرایط معده و روده حساسیت نشان می دهند. بنابراین، انکپسولاسیون رویکرد مناسبی برای حفاظت از این ترکیبات می باشد (Risch, 1995).

انکپسولاسیون به فرآیند به دام اندازی یک جزء (عوامل فعال) بوسیله ی جزء دیگر (مواد کپسول) را گویند. جزء انکپسوله شده می تواند هسته، مواد فعال، پرکننده یا فاز درونی نامیده شود و جزءای که از طریق آن عمل انکپسوله کردن صورت می گیرد را اغلب پوشش، غشا، دیواره، کپسول، مواد حامل یا فاز خارجی می نامند (Zuidam and Nedović, 2010).

در صنعت غذا، انکپسولاسیون با اهداف مختلفی صورت می گیرد. انکپسولاسیون ابزار مناسبی برای بهبود تحویل ترکیبات زیست فعال (مانند: آنتی اکسیدان ها، مواد معدنی، ویتامین ها، فیتوسترول ها، لوتئین، اسیدهای چرب و لیکوپن) و سلول های زنده (مانند: پروبیوتیک ها) بوسیله مواد غذایی می باشد (de Vos et al., 2010). در بیشتر موارد، اشاره به تکنولوژی می کند که در آن ترکیبات زیست فعال به طور کامل بوسیله حصار فیزیکی احاطه و حفظ می شود. همچنین، می تواند به عنوان تکنولوژی برای بسته بندی مواد جامد، مایع و گازی در کپسول های کوچک تعریف شود که محتوی خود را در سرعت های کنترل شده و در زمان های طولانی تحت شرایط تعریف شده آزاد می کند (Nedovic et al., 2011). سایز ذرات انکپسوله شده ممکن است در حد ماکرو (< 5000 میکرومتر)، میکرو (۱-۵۰۰۰ میکرومتر) و نانو (> 1 میکرومتر) باشد (Jafari et al., 2008). در سال های اخیر، سیستم های تحویل در مقیاس نانو توجه زیادی را در صنعت داروسازی و غذایی به خود جلب کرده است. در میان نانوحامل ها، نانوکمپلکس های پلی الکترولیت بیوپلیمری (PEC^{11}) به دلیل زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری بالا و همینطور ظرفیت بارگیری خوب اهمیت ویژه ای دارند

(Zhou et al., 2016). نانوکمپلکس پروتئین- پلی ساکارید برای تحویل داروها و مواد مغذی در دهه های اخیر بکار رفته است. در این حامل ها پروتئین ها با ترکیبات زیست فعال لیپوفیلیک پیوند برقرار کرده و آن ها را حمل می کند، در حالی که، پلی ساکاریدها به عنوان پوششی هیدروفیلیک از پروتئین در برابر هیدرولیز آنزیماتیک در شکم محافظت کرده و باعث رهایش کنترل شده می شود (Feng et al., 2016).

اولین مرحله در انکپسولاسیون ترکیبات غذایی انتخاب مواد مناسب دیواره است. تنوع گسترده ای از پلیمرهای طبیعی و سنتزی برای انتخاب کپسول وجود دارد که با توجه به مواد هسته و ویژگی های مورد نظر باید مناسب ترین گزینه را انتخاب نمود. برای انکپسولاسیون مواد طعم دهنده و روغن، ایده آل ترین گزینه برای کپسول باید دارای ویژگی های خاصی باشند از جمله: خصوصیات امولسیون کنندگی داشته باشند، غشا خوبی را تشکیل دهند، رطوبت پذیری کمی از خود نشان دهند، کم هزینه و بدون طعم باشند، در مقابل محرک ها پایدار باشند و از ترکیبات به خوبی محافظت نماید (Jafari et al., 2008).

تکنیک های مختلفی برای انکپسولاسیون وجود دارد که شامل: خشک کردن پاششی، اکستروژن، سرد کردن پاششی، توده ای کردن، امولسیفیکاسیون، خشک کردن انجمادی، پوشش بستر سیال و روش های دیگر شامل: استفاده از لیپوزوم و سیکلو دکسترین که به دلیل هزینه بالا کمتر کاربرد دارد (Risch, 1995).

همانطور که در بالا ذکر شد، روش های مختلفی برای انکپسولاسیون وجود دارد. اما، هیچ کدام از آن ها نمی تواند به عنوان روش عمومی برای ترکیبات غذایی زیست فعال قابل استفاده باشد. به دلیل اینکه، هر کدام از ترکیبات غذایی زیست فعال، ساختار مولکولی مشخص به خود را دارند و تفاوت زیادی در وزن مولکولی، قطبیت، حلالیت و غیره آن ها وجود دارد. بنابراین، در انتخاب روش مناسب

¹¹PEC: Biopolymer PolyElectrolyte nanoComplex

برای انکپسولاسیون باید نیازهای مولکولی و فیزیکی شیمیایی ترکیبات در نظر گرفته شود. همچنین، روش انکپسولاسیون انتخابی باید بتواند ترکیبات زیست فعال را از نابودی (مانند: اکسیداسیون و هیدرولیز) حفظ کند تا این ترکیبات بتوانند عملکرد خود را به صورت کامل نشان دهند (de Vos et al., 2010).

برخی خصوصیات ترکیبات فعال بر اثر انکپسولاسیون ممکن است تغییر کند. به عنوان مثال، خصوصیات مربوط به جریان و کنترل می تواند بوسیله ی تبدیل یک مایع به فرم کپسول شده پودری بهبود یابد. مواد رطوبت پذیر از رطوبت حفظ می شوند و پایداری ترکیبات فرار و حساس به حرارت، نور و اکسیداسیون حاصل می شود (Jafari et al., 2008).

امولسیون W/O می تواند برای درونپوشانی و کنترل رهایش اجزاء فعال هیدروفیلک از جمله: ویتامین های محلول در آب، مواد معطر، رنگ ها، پروتئین ها، کربوهیدرات ها و مواد معدنی به منظور مغذی کردن مواد غذایی بر پایه ی چربی مورد استفاده قرار بگیرد (Prichapan et al., 2017).

۱-۵- امولسیون

امولسیون شامل دو مایع غیرقابل امتزاج می باشد، که یکی از مایع ها به صورت قطرات ریز کروی در داخل دیگری پراکنده می شود (McClements and Decker, 2000). در صنایع غذایی، دو مایع غیرقابل امتزاج معمولاً روغن و آب می باشد، اما همیشه این نکته الزامی نیست و به عنوان مثال، یک محصول می تواند امولسیون آب در آب باشد. در صنایع غذایی امولسیون مفهوم گسترده تری را شامل می شوند و می توانند سیستم هایی که ممکن است گاز، جامد و یا کریستال های مایع باشد مثل: خمیر کیک، بستنی، مایونز و غیره را در برگیرد (Rousseau, 2000). خصوصیات حسی و فیزیکی شیمیایی محصولات غذایی بر پایه ی امولسیون به شدت تحت تاثیر مشخصات قطرات تشکیل دهنده ی آن مانند: غلظت، سایز، بار و واکنش های آن قرار دارد. قطر قطرات تشکیل دهنده ی محصولات

غذایی امولسیون می تواند در محدوده ۰/۱-۱۰۰ میکرومتر باشد. امولسیون ها براساس توزیع نسبی فازهای مختلف به دو دسته ی اصلی تقسیم بندی می شوند: ۱- امولسیون O/W که قطرات روغن در فاز آبی پراکنده شده و ۲- امولسیون W/O که قطرات آب در فاز روغنی پراکنده شده است. ماده ای که قطرات را تشکیل می دهد معمولا فاز پراکنده، فاز ناپیوسته یا فاز درونی نامیده می شود و به مایع پیرامون آن فاز پیوسته یا فاز خارجی می گویند. فرآیندی که آب و روغن توده را به امولسیون تبدیل می کند و سایز ذرات را در امولسیون کاهش می دهد به عنوان هموژنیزاسیون شناخته شده است. در صنایع غذایی هموژنیزاسیون با هم زدن مکانیکی شدید در مخلوطی از مایع با دستگاهی به نام هموژنایزر که انواع مختلفی دارد، مانند: میکسر با برش بالا، هموژنایزر با فشار بالا، آسیاب کلوئیدی، میکروفلودایزر و هموژنایزر فراصوت صورت می گیرد. برخلاف میکروامولسیون ها، ماکروامولسیون ها ذاتا از نظر ترمودینامیکی ناپایدار هستند به دلیل اینکه، تماس بین مولکول های آب و روغن نامطلوب می باشد و باعث تفکیک دو جزء از هم می شود (McClements, 2007). امولسیون ها از نظر پایداری سینتیکی به ۳ دسته زیر تقسیم می شوند:

۱- امولسیون های سست: این امولسیون ها در چند دقیقه از هم جدا می شوند. به آب جدا شده، آب آزاد نیز گفته می شود.

۲- امولسیون های متوسط: این امولسیون ها در ۱۰ دقیقه یا بیشتر جدا می شوند.

۳- امولسیون های سخت: جداسازی گاهی بصورت نسبی و در بیشتر از چند ساعت یا حتی چند روز اتفاق می افتد.

پایداری امولسیون به عوامل متعدد از جمله: اندازه ذرات، ویژگی های غشای آن ها، گرانیروی فاز پیوسته، اختلاف چگالی دو فاز، pH فاز آبی، نوع و شدت تنش های محیطی نظیر: فرآیندهای حرارتی، انجماد و رفع انجماد بستگی دارد (Kokal, 2005).

پایدارسازی قطرات امولسیون می تواند بوسیله ی کاهش کشش سطحی از طریق سورفکتانت ها با وزن مولکولی کوچک (^{۱۲}SMWS) یا شکل گیری فیلم های بین سطحی فضایی بوسیله پروتئین ها و هیدروکلئیدها و یا بوسیله ی شکل گیری مانع فیزیکی از طریق ذرات کلونیدی فعال سطحی صورت گیرد (Xiao et al., 2016).

در صنایع غذایی تولید امولسیونی که از نظر ترمودینامیکی به مدت طولانی پایدار باشد نیازمند همکاری ترکیباتی به نام امولسیفایر است. امولسیفایرها عوامل فعال سطحی هستند که در سطح قطرات امولسیون جذب شده و پوشش محافظی را برای جلوگیری از تراکم قطرات با یکدیگر شکل می دهند. امولسیفایرها می توانند مولکول های کوچک سورفکتانت مانند: پلی سوربات ها و فسفولیپیدها و یا پروتئین ها مانند: پروتئین شیر و یا عوامل سفت کننده مانند: صمغ و ژلاتین باشند (Rousseau, 2000). امولسیفایرها متشکل از یک سر آبدوست و یک دم آبگریز هستند که در لایه ی بین سطحی آب و روغن جذب می شود (Duffus et al., 2016). همچنین، امولسیفایرها کشش بین سطحی را کاهش داده و باعث کاهش مقدار انرژی مکانیکی مورد نیاز جهت تشکیل امولسیون می شوند و شکستن قطرات امولسیون در طی هموژنیزاسیون را آسان کرده و به تشکیل امولسیونی با قطرات کوچکتر کمک می کنند. این پایدارکننده ها مانع مکانیسم های ترسیب، فلوک شدن، انعقاد، ادغام و وارونگی فاز می شوند (Kokal, 2005). خصوصیات رئولوژیکی بین سطحی و ساختارهای میکرو تاثیرات قابل توجهی در پایداری بین سطحی دارد و پایداری امولسیون های غذایی را تعیین می کنند. به عنوان مثال، سورفکتانت ها با وزن مولکولی کوچک (SMWS) پخش شوندگی و جذب سریعتری دارند و لایه ی بین سطحی مایع دینامیکی را شکل می دهند. قطرات امولسیون شکل گرفته شده ممکن است کوچک باشد اما به دلیل برهمکنش جزئی SMWS و جذب برگشت پذیر آن، لایه بین سطحی می تواند ضعیف باشد. بنابراین، امولسیون پایدار شده با SMWS در طی نگهداری طولانی

^{۱۲}SMWS: Small Molecular Weight Surfactants

مدت نمی تواند پایدار بماند. علاوه بر این، لایه بین سطحی نازک قادر نیست در مقابل انعقاد بین قطرات امولسیون به دلیل دفع فضایی محدودشان مقاومت کند. بیوپلیمرهای انعطاف پذیر از جمله، پروتئین و پلی ساکارید لایه بین سطحی ضخیم تری را شکل می دهد که دارای مدول ویسکوالاستیک بالاتر می باشد و بنابراین، می تواند پایداری خوبی را برای قطرات امولسیون ایجاد کند. برهم کنش بین بیوپلیمرهای جذب شده علت اصلی مدول ویسکوالاستیک بین سطحی هستند. لایه بین سطحی شکل گرفته ضخیم، می تواند دافعه فضایی بین قطرات امولسیون ایجاد کند و باعث پایداری امولسیون شود. ساختار و خصوصیات بیوپلیمرها تحت تاثیر فاکتورهای محیطی مانند: pH، قدرت یونی و دما است (Gao et al., 2017).

۱-۶- برهم کنش های کلوئیدی

امولسیون های غذایی که از ذرات کلوئیدی با اندازه هایی در محدوده ی چند نانومتر تا چند میکرومتر تشکیل شده باشند را محلول کلوئیدی می نامند. بسیاری از ویژگی های فیزیکوشیمیایی مواد غذایی تحت تاثیر مشخصات ذرات کلوئیدی و برهم کنش آن ها با یکدیگر می باشد. برهم کنش بین ذرات کلوئیدی تحت تاثیر ۳ فاکتور قرار می گیرد:

۱- برهم کنش داخل ذره و مولکول

۲- برهم کنش بین ذرات کلوئیدی

۳- برهم کنش بین ذرات کلوئیدی و فاز پیوسته

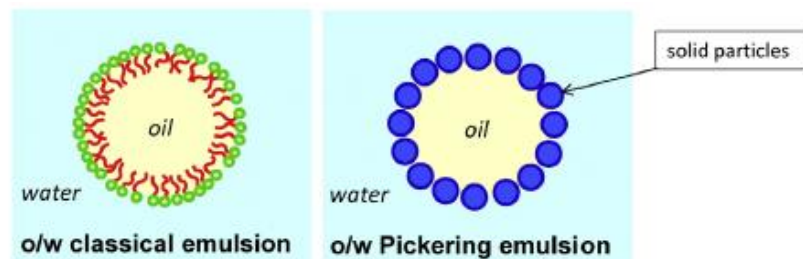
تمامی برهم کنش ها در ۳ قالب: ۱- واندروالس ۲- الکتروستاتیک ۳- استریک جای می گیرند.

۱-۶-۱- برهم کنش های استریک

قطرات در اغلب امولسیون های غذایی بوسیله ی لایه ی نازکی از مولکول های امولسیفایرها از جمله: سورفکتانت ها، فسفولیپیدها، پروتئین ها یا پلی ساکاریدها پوشانده می شوند. هنگامی که دو قطره به اندازه کافی به یکدیگر نزدیک می شوند، لایه های امولسیفایر شروع به برهم کنش با یکدیگر می کنند. برهم کنش های استریک نتیجه ی در هم آمیختن و متراکم شدن لایه های بین سطحی می باشد. در قطرات نزدیک به هم، برهم کنش های استریک به شدت دفع کننده بوده و بنابراین، ممکن است مانع به هم پیوستن قطرات به یکدیگر شوند. بزرگی و محدوده ی برهم کنش های استریک به شدت تحت تاثیر خصوصیات لایه های بین سطحی (مانند: ضخامت، رئولوژی و برهم کنش های مولکولی) بوده و بنابراین وابسته به نوع امولسیفایر می باشد (McClements, 2015).

۱-۷-۱- امولسیون پیکرینگ

امولسیون های ساخته شده بدون استفاده از امولسیفایر در صنایع مختلف توجه زیادی را به خود جلب کرده است. جایگزین کردن ذرات جامد و تولید امولسیون هایی که پیکرینگ نامیده می شود، یک راه حل هوشمندانه برای مقابله با معایب امولسیفایر شامل: تحریک پذیری، سمیت، به دام انداختن هوا، کف کنندگی و برهم کنش با ماده زنده شناخته شده است (Frelichowska et al., 2010). تصویر امولسیون معمولی و امولسیون پیکرینگ در شکل ۱-۲ نشان داده شده است. امولسیون پیکرینگ اولین بار توسط رامسدن و پیکرینگ در اوایل قرن ۱۹ کشف شد (Yang et al., 2017).



شکل ۱-۲: شکل شماتیک امولسیون معمولی و امولسیون پیکرینگ (Chevalier and Bolzinger, 2013)

ذرات بکاربرده شده می توانند در مقیاس نانو یا میکرو باشند (Diaz-Salmeron et al., 2016). در حضور روغن و آب، این ذرات در سطح مشترک آب و روغن جذب می شوند (Leclercq and Nardello-Rataj, 2016). برخلاف امولسیون های ساده، قابلیت ترشوندگی این ذرات در سطح مشترک آب- روغن، پایداری و نوع امولسیون پیکرینگ را مشخص می کند (Wei et al., 2012). این مشخصه بوسیله خصوصیات آبدوستی و آبگریزی سطح ذره تعیین می شود (Han Yan et al., 2015). تحقیقات نشان داده است، ذرات با ترشوندگی متوسط ($\Theta = 90^\circ$) خصوصیات بهینه ای برای پایداری امولسیون دارد. اگر زاویه تماس بهینه (Θ) ذرات جذب شده بین 94° تا 110° درجه باشد امولسیون آب در روغن و اگر 70° تا 86° درجه باشد امولسیون روغن در آب است. ذرات با آبدوستی بالا (زاویه تماس کم) و آبگریزی بالا (زاویه تماس بالا) توانایی پایدار کردن هیچ گونه امولسیونی را ندارد (Zhang et al., 2017).

ذرات جامد که به عنوان پایدارکننده امولسیون پیکرینگ استفاده می شوند، باید دارای ویژگی هایی باشند: ۱- ذرات باید به طور نسبی توسط هر دو فاز پیوسته و پراکنده، تر شوند و به عبارت دیگر، ویژگی ترشوندگی تنها با یک فاز را نداشته باشند. تا راندمان جذب سطح مشترک کافی بدست آورند. ۲- سایز ذره باید به طور قابل توجهی کوچکتر از سایز قطره امولسیون مورد نظر باشد (Xiao et al., 2016).

مطالعات اخیر نشان داده است، امولسیون های پیکرینگی که در آن قطرات با نانوذرات پوشانده شده باشند، دارای بیشترین پایداری هستند. لازم به ذکر است، قطرات امولسیون باید بزرگ (> 100 نانومتر) باشند، به دلیل اینکه، قطرات کوچک نمی توانند به طور کامل پوشانده شوند. مناطق خالی سطح مشترک روغن- آب منجر به انعقاد یا فلوکه شدن قطره می شود به دلیل اینکه، سیستم در تلاش است تا مساحت بین سطحی کل را در سطح مشترک روغن- آب به حداقل برساند. به عبارت

دیگر، امولسیون پیکرینگ با قطرات کوچک در طول زمان از طریق کریمینگ یا خامه ای شدن تمایل به ناپایدار شدن دارند (Kuipers, 2009).

ذرات کلوئیدی با منشا غذایی به عنوان پایدارکننده امولسیون پیکرینگ کاربرد بالقوه ای در فرمولاسیون غذایی و دارویی به منظور دستیابی به رهایش کنترل شده و افزایش پایداری در برابر اکسیداسیون ترکیبات زیست فعال دارند (Liu and Tang, 2016). این ذرات به طور تقریبی به سه دسته اصلی تقسیم می شوند: ۱- نوع پلی ساکاریدی مانند: سلولز، کیتین، نانوکریستال های نشاسته (یا نانوکره ها) و نشاسته اصلاح شده با ویژگی آبگریزی.

۲- نوع پروتئینی مانند: زئین، نانوذرات پروتئین سویا، نانوذرات پروتئین نخود فرنگی، هیدروژل یا نانوذرات پروتئین آب پنیر و گرانول های تخم مرغ.

۳- انواع دیگر مانند: فلاونوئید ها و ذرات لیپیدی جامد.

اگرچه ذرات بر پایه نشاسته یا گرانول ها بیشترین نوع پایدارکننده های امولسیون پیکرینگ هستند که بکار می روند، اما، معمولا به اصلاح سطح اضافی برای بهبود عملکرد امولسیفیکاسیونشان نیاز دارند. علاوه بر این، امولسیون شکل گرفته با این روش عموماً زبر و خشن با اندازه ذرات بزرگ هستند. برخلاف آن ها، پروتئین ها فعالیت سطحی خوبی دارند و همچنین، این ذرات برای امولسیفیکاسیون با فشار بالا مانند، میکروسیال سازی مناسب هستند و در نتیجه امولسیون های پیکرینگ با ذرات مناسبی را فرموله می کنند (Liu and Tang, 2016).

امولسیون های پیکرینگ می توانند بوسیله ی ذرات فعال بین سطحی مختلف مانند: ذرات غیرآلی، ذرات کامپوزیتی آلی- غیرآلی، میکروژل ها و ذرات زیستی پایدار شوند (Yang et al., 2017). اغلب ذرات کلوئیدی غیرآلی و زیستی شناخته شده بسیار آبدوست هستند. بنابراین، پخش شوندگی آهسته ای دارند و پوشش دهی بین سطحی کمی در هنگام امولسیفیکاسیون از خود بروز می دهند. روش های متعددی برای بهبود خصوصیات سطحی این ذرات وجود دارد که شامل، استفاده از سورفکتانت

های مولکولی کوچک همچون لسیتین است که اثر سینرژیستی یا هم افزایی بر این ذرات بگذارند. روش دیگر، بکار بردن تکنیک های فرآوری همچون، حرارت دهی و پرتو دهی در تولید ذرات کلوئیدی بدون بکار بردن سورفکتانت می باشد، که این روش نسبت به روش اول به دلیل اثرات جانبی سورفکتانت ارجحیت دارد (Feng and Lee, 2016).

تعدادی از ذرات جامد گزارش شده در مقالات که در صنایع مختلف کاربرد دارند، شامل: گلیسینین سویا (Liu and Tang, 2016b)، زئین (Feng and Lee, 2016)، سیکلودکسترین (Leclercq and Nardello-Rataj, 2016)، نشاسته (Marto et al., 2016; Tan et al., 2012; Timgren et al., 2011)، پروتئین (Gao et al., 2017)، سیلیکا (Fuma and Kawaguchi, 2015)، نانوکریستال های سلولز (Zoppe et al., 2012)، TiO_2 (Lyu et al., 2015)، کافیرین (Xiao et al., 2016)، گلیادین (Hu et al., 2016)، کیتوزان (Mwangi et al., 2016; Nan et al., 2014, 2014; Zhang et al., 2015)، پروتئین نخود فرنگی (Liang and Tang, 2014)، رس (Reger et al., 2012) و فلاونوئید (Luo et al., 2012) می باشند.

امولسیون پیکرینگ با استفاده از روش های سنتی از جمله: هموژنیزاسیون فشار بالا، سیستم های مولد چرخان و دستگاه های فراصوت تولید می شوند. همچنین، می توان آن ها را از طریق سطوح غشایی و متخلخل میکرو تولید کرد که بر بعضی عیوب روش های سنتی مانند: راندمان انرژی پایین، برش بالا و افزایش دما که باعث صدمه زدن به خصوصیات کاربردی محصولات می شود غلبه کرد (Sabouni and Gomaa, 2015).

خصوصیات امولسیون های پیکرینگ معمولاً بوسیله ی سایز ذره، رطوبت پذیری ذره، غلظت ذره، نسبت روغن به آب، pH، غلظت نمک و نوع حلال تعیین می شود (Diaz-Salmeron et al., 2016).

این نوع از امولسیون به دلایل مختلف از جمله: پایداری فوق العاده آن ها در برابر انعقاد، پایداری بالای آن ها در برابر تغییرات شرایط فرآوری (pH، غلظت نمک، دما و غیره)، سمیت کمتر، سازگاری با

محیط زیست، قابلیت تنظیم نفوذپذیری بین سطحی و کف کنندگی کمتر در صنایع مختلف برای تولید غذا، مواد دارویی و آرایشی، بهبود روغن خام و جداسازی روغن و به عنوان الگوهایی برای تولید مواد عملگرا میکرو و نانو و میکروکپسول هایی با دیواره ذرات کلوئیدی (کلوئیدوزوم) کاربرد دارند (Wei et al., 2015). پایداری بالای امولسیون پیکرینگ به اتصال ذرات پایدارکننده در سطح مشترک قطرات نسبت داده شده است که انرژی آزاد در سطح مشترک را تغییر می دهد و با ایجاد یک مانع فیزیکی از انعقاد قطرات جلوگیری می کند (Sabouni and Gomaa, 2015).

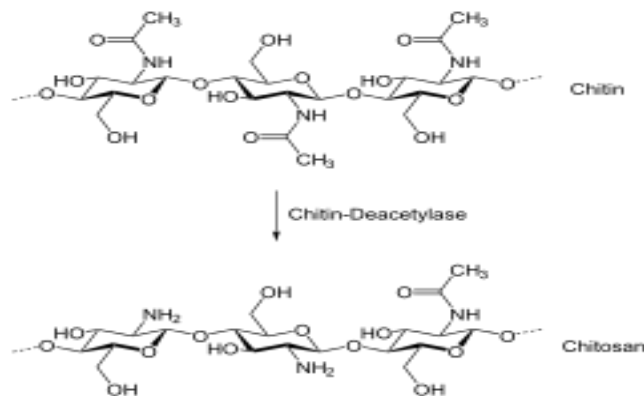
دو مکانیسم اصلی برای پایداری امولسیون پیکرینگ با ذرات جامد در نظر گرفته شده است: مکانیسم اول شامل، جذب ذرات جامد به سطح مشترک آب-روغن و تشکیل لایه سخت است که با ایجاد ممانعت مکانیکی از انعقاد قطرات جلوگیری می کند. اتصال ذرات جامد برگشت پذیر نمی باشد و همین موضوع باعث ایجاد پایداری موثرتر نسبت به جذب سورفکتانت می شود. مکانیسم دوم از طریق برهمکنش ذره-ذره که باعث پایداری امولسیون پیکرینگ می شود. به عبارت دیگر، با برهم کنش بین ذرات شبکه ی سه بعدی در فاز پیوسته شکل گرفته که باعث افزایش ویسکوزیته و پایداری می شود (Kpogbemabou et al., 2014).

همچنین، شکل گیری امولسیون پیکرینگ به عنوان یک استراتژی امیدوارکننده برای افزایش پایداری اکسیداتیو لیپید از طریق شکل گیری لایه ی بین سطحی بر پایه ذره در نظر گرفته شده است. همانطور که گفته شد، ذرات جامد تمایل به جذب برگشت ناپذیر دارند که این امر باعث ایجاد مانع فیزیکی در برابر پراکسیدان ها می شود.

۱-۸- کیتوزان

از میان ماکرومولکول های زیستی، پلی ساکاریدها بدلیل در دسترس بودن در طبیعت ذرات خوبی برای تولید امولسیون پیکرینگ می باشند. به عنوان مثال، ذرات میکرو و نانو کیتوزان (CS^{13}) پایدارکننده های خوبی برای ساخت امولسیون از روغن های غیرقابل هضم هستند. کیتوزان یک پلی ساکارید خطی و غنی از آمین است که از استیل زدایی جزئی آلکیلی کیتین شکل گرفته و از واحدهای تکراری D- گلوکز آمین و N- استیل-D- گلوکز آمین که با پیوندهای گلیکوزیدی B (۱-۴) به هم متصل شده اند، تشکیل شده است (Mwangi et al., 2016). درجه استیل زدایی کیتوزان تجاری به طور میانگین بین ۶۰-۱۰۰ درصد می باشد. روش معمول برای سنتز کیتوزان استیل زدایی با استفاده از سدیم هیدروکسید به عنوان معرف و آب به عنوان حلال است (Ahlaifi et al., 2013). شکل ۱-۳ استیل زدایی کیتین و تشکیل کیتوزان را نشان می دهد (Tsigos et al., 2000). کیتوزان بعد از سلولز دومین بیوپلیمر فراوان در طبیعت می باشد که از پوشش خارجی خرچنگ، میگو و دیگر سخت پوستان بدست می آید (Dashti et al., 2015). کیتوزان یکی از بیوپلیمرهای طبیعی در جهان است که دارای مقدار بسیار کمی بار مثبت (آمین های پروتون دار شده) می باشد (Shah et al., 2016). ماهیت مثبت کیتوزان در شرایطی که تعداد زیادی از پلی ساکاریدها یا دارای بار منفی و یا خنثی در یک محیط اسیدی هستند، بسیار قابل اهمیت است. این ویژگی چنین اجازه ای به کیتوزان می دهد که با دیگر پلیمرهای طبیعی و یا سنتزی که دارای بار منفی هستند ترکیب های الکترواستاتیک یا ساختارهای چندگانه تشکیل دهد (Cheung et al., 2015).

¹³CS: Chitosan



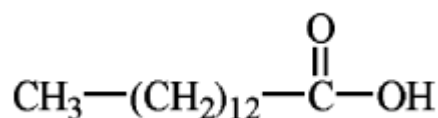
شکل ۱-۳: استیل زدایی کیتین و تشکیل کیتوزان (Tsigos et al., 2000)

کیتوزان دارای گروه های هیدروکسیل و آمین آزاد در ساختمان خود هستند و قابل حل در محلول های آبی اسید رقیق شده می باشند (Wei et al., 2012). مطابق این ساختار، کیتوزان پلیمر حساس به pH می باشد. چون که در pH پایین، آمین های کیتوزان پروتون می گیرند و دارای بار مثبت می شوند که این امر باعث می شود کیتوزان یک پلی الکترولیت کاتیونی حلال در آب باشد. در pH بالا این آمین ها پروتون زدایی شده و پلیمر بار خود را از دست داده و غیرقابل حل می شود (Liu et al., 2012). مقدار pK_a گروه های آمین واحدهای D-گلوکزآمین زمانی که درجه استیل زدایی بیشتر از ۷۵ درصد باشد، تمایل به ۶/۵ دارد و بنابراین کیتوزان متحمل یک تغییر سل-ژل در محیط آبی می شود. مهمتر از آن، تراکم هایی که در $pH > pK_a$ شکل می گیرند تمایل بیشتر به روغن در نتیجه افزایش آبگریزی دارد. نانوذرات کیتوزان به عنوان سیستم های تحویل دارو، نانوفیبرها، افزودنی غذا، عامل کمکی در فرآوری غذا، مکمل های رژیمی، حسگرهای زیستی و فیلم های خوراکی مورد استفاده قرار گرفته اند (Mwangi et al., 2016; Shah et al., 2016). در سال های اخیر، کیتوزان به دلیل ایمن بودن، زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری توجه زیادی را در انکپسولاسیون ترکیبات زیست فعال به خود جلب کرده است. همچنین، کیتوزان ظرفیت بارگیری و تحویل ترکیبات زیست فعال حساس از جمله: داروهای لیپوفیلیک، ترکیبات پلی فنولیک و ویتامین ها را دارد (Mohammadi et al., 2015). به ویژه کیتوزان به دلیل داشتن خصوصیات منحصر به فرد خود می تواند نانوذرات

کاربردی با ویژگی های مختلف از جمله: قابلیت پخش شوندگی خوب در آب، سمیت کمتر، فعالیت ضد میکروبی، زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری ایجاد کند (Yan et al., 2017).

۱- ۹- اسید میرستیک

نام دیگر اسید میرستیک با فرمول مولکولی $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$ ، اسید تترا دکانویک می باشد. اسید میرستیک یک اسید چرب خطی و اشباع ۱۴ کربنه می باشد که ساختار شیمیایی آن در شکل ۱-۴ نشان داده شده است. به نمک یا استر اسید میرستیک، میرستات گفته می شود (Shilling, 1990). اسید میرستیک، اسید چربی می باشد که به وفور در چربی های گیاهی و جانوری وجود دارد. در صنایع غذایی، اسید میرستیک به عنوان ادویه چند منظوره و طعم دهنده، به عنوان عامل ضد کف و به عنوان پوشش مرکبات استفاده شده است (Burdock and Carabin, 2007). همچنین، در صابون ها، لوازم بهداشتی و کرم های اصلاح کاربرد دارد و اغلب به صورت استر ایزوپروپیل میرستات هستند (Chang and Chow, 2007).



شکل ۱-۴: ساختار شیمیایی اسید میرستیک (Shilling, 1990)

اسید میرستیک ماده ای می باشد که در دمای اتاق بصورت کریستال های سفید یا متمایل به زرد شیشه ای با بوی ضعیف روغنی- مومی و طعم مومی و ملایم وجود دارد. اسید میرستیک نامحلول در آب می باشد و دارای وزن مولکولی ۲۲۸/۳۷ گرم بر مول، نقطه ذوب ۵۳/۹ درجه سانتی گراد و نقطه جوش ۲۵۰ درجه سانتی گراد است (deMan, 2007).

۱-۱۰- نانوتکنولوژی در صنایع غذایی

نانوتکنولوژی نخستین بار در سال ۱۹۵۹ مطرح شد. واژه نانو تکنولوژی در رابطه با موادی بکار می رود که در یک یا چند بعد دارای اندازه ی ۰/۱ تا ۱۰۰ نانومتر باشند. نانوتکنولوژی در واقع بر مبنای دستکاری، کنترل و اجتماع اتم ها و مولکول ها برای شکل گیری مواد، ساختارها، ترکیبات، ابزارها و سیستم ها در مقیاس نانو می باشد. در نانوتکنولوژی هدف بکارگیری علم نانو خصوصا برای اهداف صنعتی و تجاری است. به طور حتم، این مواد در نتیجه سایشان باید خصوصیات متفاوت با مواد حجیم (در مقیاس میکرو یا بزرگتر) از خود بروز دهند. این تفاوت ها شامل: استحکام فیزیکی، واکنش پذیری شیمیایی، هدایت الکتریکی، خاصیت مغناطیسی و اثرات بصری می شود. علاوه بر این، در نانومواد نسبت سطح به حجم افزایش یافته، که این موضوع برای فرآیندهایی که در سطح رخ می دهد مانند، کاتالیز قابل اهمیت می باشد (Flipponi, 2013). به عبارت دیگر، سرچشمه این اختلافات برهم کنش تک اتم ها و مولکول ها بوده که باعث ظهور کاربردهای جدید می شود (Chacko et al., 2012).

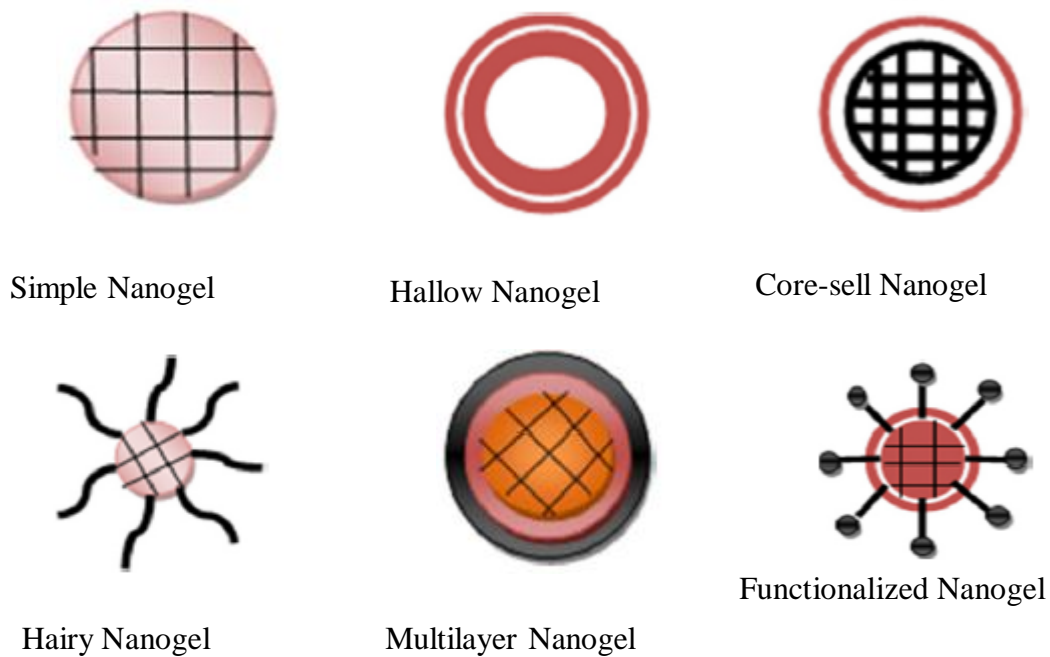
پیشرفت های سریع در علم نانو و نانوتکنولوژی چشم انداز جدیدی برای بسیاری از صنایع و مصرف کنندگان در سال های اخیر گشوده است. نانوتکنولوژی در صنایع غذایی در زمینه های مختلفی از جمله: مواد اولیه بسته بندی، سیستم های تحویل مواد مغذی موثر، فرمولاسیون ها با دسترسی زیستی بهبود یافته و ابزارهای جدید برای بیولوژی سلولی و مولکولی کاربرد بالقوه دارد (Tamjidi et al., 2013). کاربردهای نانوتکنولوژی مربوط به غذا فواید بسیاری را برای مصرف کنندگان فراهم می کند، این فواید شامل: کاهش در استفاده از نگهدارنده ها، نمک، چربی و سورفکتانت ها در محصولات غذایی، بهبود و یا ایجاد طعم، بافت و احساس دهانی از طریق فرآوری در مقیاس نانو می باشد (Chaudhry and Castle, 2011).

نانوحامل ها به نانوموادى اتلاق مى شود كه از آن به عنوان يك نمونه حامل براى ديگر اجزاء استفاده مى شود (Qian et al., 2012). سايز نانوحامل ها در محدوده ۱-۱۰۰۰ نانومتر مى باشد (Singh and Lillard, 2009). در مقايسه با سيستم هاى حامل ميكرو، سيستم نانو داراى مزيت هاىي مى باشد. نانوحامل ها از نظر ترموديناميكي پايدار هستند و پايدارى سينتيكي طولانى مدت از خود بروز مى دهند. اين سيستم ها سطح بيشتري را ايجاد مى كنند و داراى پتانسيل بيشتري براى افزايش حلاليت و دسترسى زيستى تركيبات زيست فعال هستند. همچنين، سيستم هاى حامل در مقايس نانو، رهايش كنترل شده و هدفمند بهتري را ايجاد مى كند. بايد خاطر نشان كرد كه، محدوده هاى بالاتر از ۶۰۰ نانومتر در مقالات براى نانوحامل ها گزارش شده است. احتمالاً، اين انحراف از تعريف مقايس نانو به دلايل خاصى بر مى گردد: اين سيستم ها شامل، مجموعه اى از ذرات هستند كه داراى اندازه ۱-۱۰۰ نانومتر مى باشد و ذرات با اندازه بالاتر از ۶۰۰ نانومتر اثراتى مشابه با ذرات در اندازه هاى ۱-۱۰۰ نانومتر را در سيستم گوارشى انسان اعمال مى كنند (Tamjidi et al., 2013). نانوحامل هاىي كه معمولاً استفاده مى شوند شامل: ميسل ها، پليمرها، مواد برپايه ي كربين، ليپوزوم ها، هيدروژل ها، نانوذرات و ديگر اجزاء مى باشند (Kang et al., 2015; Qian et al., 2012). اجزاء بسيار كوچك مى توانند از طريق نيروى هيدروفوبيك، برهم كنش هاى الكترواستاتيكي و يا واكنش هاى شيميايي در داخل نانوحامل ها محصور شوند (Dai and Tan, 2015).

سيستم هاى نانوحامل در داروسازى، آرايشى و صنايع غذايي کاربرد بسيارى دارند (Xiao et al., 2016). نانوذرات ويژگى هاى مثبت ترى نسبت به سيستم هاى انكپسولاسيون معمولى در رابطه با راندمان رهايش و انكپسولاسيون بروز مى دهند (Roy et al., 1999). سيستم هاى نانوحامل ها به طور كلى به دو گروه، سيستم هاى بر مبناي ليپيد و پليمر تقسيم بندى مى شوند (Sawant and Dodiya, 2008).

۱-۱۱- نانوژل

نانوژل ها جزء دسته ی نانوحامل های پلیمری می باشند. نانوژل ها، هیدروژل های سه بعدی در مقیاس نانو می باشند که بوسیله ی اتصال بین شبکه های پلیمری قابل تورم با ظرفیت بالا برای نگهداری آب، بدون حل شدن در محیط آبی شکل می گیرند. نانوژل ها می توانند از انواع مختلف پلیمرهای طبیعی، سنتزی و یا ترکیبی از آن ها تشکیل شوند. پلیمرهای طبیعی به علت عدم سمیت، دسترسی آسان، قیمت مناسب و همچنین، به دلیل داشتن گروه های عاملی فراوان برای برقراری اتصالات عرضی نسبت به پلیمرهای سنتزی در الویت قرار دارند. خصوصیات نانوژل از جمله: سایز، بار، تخلخل، آمفی فیلیکی، نرمی و تخریب پذیری با تغییر در ترکیب شیمیایی نانوژل می تواند تغییر داده شود. نانوژل ها اغلب به صورت ذرات کروی هستند اما، با پیشرفت های اخیر در روش های سنتز نانوژل، می توان نانوژل های با اشکال مختلف تولید کرد (Rolland et al., 2005). انواع مختلفی از نانوژل ها مانند: نانوژل های ساده (Simple Nanogels)، نانوژل های توخالی حساس به pH یا دما (Hallow Nanogels)، نانوژل های هسته- پوسته (Core-shell Nanogels)، نانوژل های مویی (Hairy Nanogels)، نانوژل های چندعاملی (Functionalized Nanogels) و چندلایه ای (Multilayer Nanogels) وجود دارند. طبقه بندی نانوژل ها براساس ساختارشان در شکل ۱-۵ نشان داده شده است (Sharma et al., 2016).



شکل ۱-۵: طبقه بندی نانوزل ها براساس ساختارشان (Sharma et al., 2014)

اغلب نانوزل ها دارای ماهیت هیدروفیلیک بوده و سازگاری زیستی بالا به همراه ظرفیت بارگیری بالای مولکول های هدف را دارا می باشند. همچنین، به دلیل ساختار شیمیایی تنظیم پذیر، ساختار فیزیکی سه بعدی، خواص مکانیکی مناسب، میزان جذب آب زیاد و زیست سازگاری در داروسازی، زیست فن آوری و زیست پزشکی کاربرد گسترده ای دارند (Hamidi et al., 2008). نانوزل نه تنها از محتوی خود در برابر نابودی و تجزیه شدن حفاظت می کند، بلکه به دلیل خصوصیات همچون: رفتار تحریک پذیر، نرمی و تورم پذیری برای حصول یک پاسخ قابل کنترل در ناحیه ی هدف مشارکت فعالانه دارند (Kabanov and Vinogradov, 2009; Stuart et al., 2010). بنابراین، اثربخشی، پایداری فیزیکی و خصوصیات رهایش را بهبود می بخشند (Abreu et al., 2012). انعطاف پذیری ساختمان نانوزل ها اجازه ی ادغام مجموعه ای از مولکول های مهمان، از نانوذرات غیرآلی گرفته تا ماکرومولکول های زیستی مانند: پروتئین و DNA ها را از طریق تغییرات مناسب در مواد اولیه مورد استفاده برای ساخت و ساز خود و بدون اینکه رفتار سل-ژل آن ها به خطر بیفتد را می دهد (Ayame

(et al., 2008; Oh et al., 2009). نانوذله ها به دليل كوچك بودن اندازه ذرات، ويژگي انتقال خوب و ظرفيت نفوذ بالايي دارند. همچنين، آزاد سازي مواد مورد نظر از نانوذله را مي توان بوسيله ي تراكم عامل اتصال دهنده كنترل كرد. از نانوذله ها مي توان براي انتقال هر دو مواد آبدوست و آبگريز استفاده نمود. علاوه بر مزايای بسيار، نانوذله ها داراي محدوديت هايي در راندمان بارگيري مواد و تنظيم رهايش مواد نيز مي باشند. همچنين، حضور سورفكتانت و مونومرها در فرمولاسيون نانوذله ممكن است اثر سوء داشته باشد (Sharma et al., 2016).

نانوذله ها به دو نوع مختلف نانوهيدروژل و نانوآرگانوژل (نانوذله هاي ميسلي) تقسيم مي شوند. نوع اول از هيدروژل هايي در مقياس نانو تشكيل شده است كه مي تواند مقدار قابل توجهي آب را به راحتی جذب كند و داراي درجه تورم بالايي در آب مي باشند. در حالي كه، نوع دوم نانوذله هاي هيدروفوبيك مي باشند و تمايل بيشتري به اجزاء روغني دارند. در واقع، نانوآرگانوژل ها نانوذرات شبیه ميسل هستند كه در تماس با آب تجمع پيدا كرده و قسمت هاي هيدروفوبيك خود را در مركز جا مي دهند (Khalili et al., 2015).

بارگذاري دارو و تركيبات مورد نظر در سه روش: ۱- روش افزايش مستقيم ۲- روش دياليز و ۳- روش غوطه وري صورت مي گيرد. در روش افزايش مستقيم مواد مورد نظر در فاز آبي امولسيون، در تركيب با مونومرها قبل از تهيه ي نانوذله حل مي شوند. طي اين روش، محلول ماده ي مورد نظر به طور مستقيم در محلول پليمر پخش خواهد شد (Patnaik et al., 2007). در روش دياليز، بارگيري از طريق قرار دادن كيسه ي دياليز حاوي ذرات پليمر در محلول دارو يا ماده مورد نظر در آب انجام مي شود و سپس از طريق شست و شو مواد اضافه و رها شده، بايد حذف گردد. كيسه ي دياليز حاوي نانوذله بارگيري شده با ماده مورد نظر بايد به مدت ۲ روز در آب سرد خيس داده شود. در روش آخر نانوذله را به مدت ۲۴ ساعت در محلول فوق اشباع از ماده قرار داده تا بارگيري صورت گيرد (Sahiner et al., 2007).

نانوژل‌ها براساس روش شبکه‌کننده ای آن‌ها به دو دسته، نانوژل شبکه‌شده با روش شیمیایی و فیزیکی تقسیم می‌شوند:

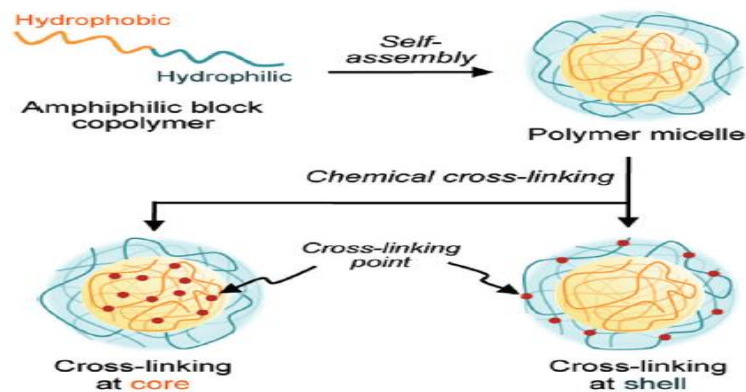
۱-۱۱-۱- روش شیمیایی تولید نانوژل

در این روش اتصال عرضی شیمیایی شامل، شکل‌گیری پیوندهای کووالانسی بین شاخه‌های پلیمری در طی پلیمریزاسیون مونومرهایی با وزن مولکولی کم یا اتصال عرضی بین پیش‌سازهای پلیمر ایجاد می‌شود. انواع روش‌های شیمیایی شامل: پلیمریزاسیون همگن، پرتوکافت پالسی، واکنش فوتو-فنتون، پلیمریزاسیون نوری، نانوالگو، روش بالا-پایین با استفاده از لیتوگرافی و روش میسل کوپلیمر دسته‌ای می‌باشد (Sasaki and Akiyoshi, 2010; A. Sharma et al., 2014; Shidhaye et al., 2008). روش شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق روش میسل کوپلیمر دسته‌ای است که در ادامه این روش به طور کامل توضیح داده شده است. بیشترین روش بکار برده برای آماده‌سازی نانوژل‌هایی با اتصالات عرضی شیمیایی استفاده از واکنش‌های پلیمریزاسیون همگن در حضور اتصال‌دهنده‌های دو عاملی یا چند عاملی است (O'Reilly et al., 2006). این نکته را باید خاطر نشان کرد، خصوصیات نانوژل‌ها وابسته به پیوندهای شیمیایی و گروه‌های عاملی حاضر در شبکه‌ی ژل می‌باشد (Zhavah et al., 2015).

۱-۱۱-۱-۱- روش میسل کوپلیمر دسته‌ای

کوپلیمرهای دسته‌ای دوگانه دوست، به عنوان میسل‌های پلیمری مونودی‌سپرس در محیط آبی شناخته می‌شوند. نانوژل‌های پایدار با توزیع اندازه‌ی باریک بوسیله‌ی اتصال‌دهنده‌های عرضی شیمیایی کووالانسی بین شاخه‌های هیدروفیل و هیدروفوب در میسل‌های پلیمری مطابق شکل ۱-۶ بدست می‌آیند. روش‌های اتصال‌دهنده‌ی شیمیایی متنوعی شامل: اتصال‌دهنده‌ی پیوند آمیدی با حواسط کربودی‌امید (Fujii et al., 2005; Wooley and Remsen, 1998)، شیمی کلیک (واکنش حلقه‌زایی ۱ و ۳-دوقطبی آلکین و آزید با کاتالیزور مس، جهت تهیه‌ی ترکیبات حلقوی تری‌آزول

است.) (Zhang et al., 2008) و اتصال دهنده های نوری (Shi et al., 2008) وجود دارند. علاوه بر این، نانوذلهای حساس به ردوکس می توانند با استفاده از پیوندهای دی سولفیدی به عنوان روش اتصال دهنده تولید شوند (Morimoto et al., 2008).



شکل ۱-۶: آماده سازی نانوذلهای حساس به ردوکس با روش میسل کاپلیمر دسته ای (Sasaki and Akiyoshi, 2010)

۱-۱۱-۲- روش فیزیکی تولید نانوذله

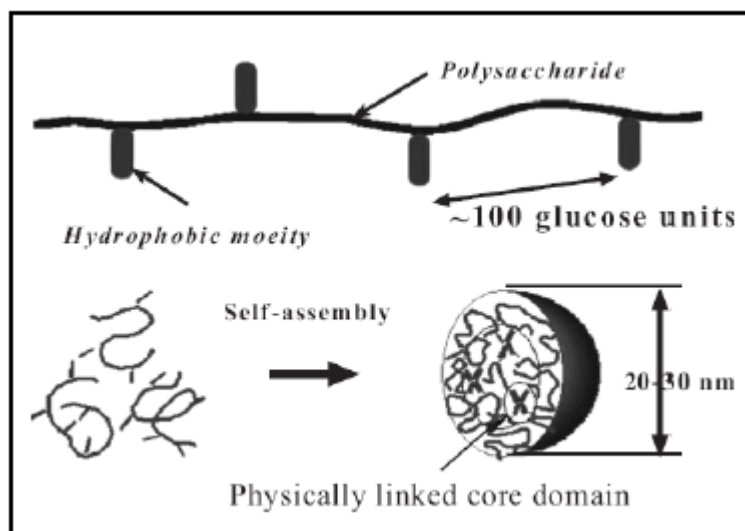
در این روش سیستم ها با اتصالات عرضی فیزیکی تحت شرایط ملایم شکل گرفته و نسبت به همتایان خود که دارای اتصالات عرضی کووالانسی است، حساسیت بیشتری از خود نشان می دهند و این موضوع به این خاطر می باشد که آن ها از طریق برهم کنش های ضعیف بین شاخه های پلیمری، از جمله: پیوندهای هیدروژنی، برهم کنش های هیدروفوبیک یا برهم کنش های یونی پایدار می شوند (Sasaki and Akiyoshi, 2010).

۱-۱۱-۲-۱- تجمع خودبخودی

پلی ساکاریدهایی که به طور جزئی بوسیله ی گروه های هیدروفوبیک تغییر داده شده اند را پلی ساکاریدهای هیدروفوب شده می نامند، که تجمع خودبخودی درون مولکولی منحصربه فردی را در محلول آبی رقیق نشان می دهند و نانوذلهای پایدار و مونودیسپرس با اندازه ذرات ۲۰-۳۰ نانومتر

را شکل می دهند. به عبارت دیگر، نانوذله‌ها از روش تجمع خودبخودی می‌توانند حاصل شوند. پلیمرهای مشابه دوگانه دوست (پلیمرهایی با ساختار هیدروفیل و هیدروفوب) به دلیل تجمع گزینشی در حلال و تشکیل نانومیسل‌ها توجه زیادی را در رابطه با این موضوع به خود جلب کرده است (Shidhaye et al., 2008).

همانطور که در شکل ۱-۷ نشان داده شده است، این نانوذرات با گروه‌های هیدروفوبیک بسته‌ی هیدروفوبیکی را در داخل شبکه‌ی پلیمری ایجاد می‌کند. بنابراین، محیط مناسبی را برای داروها و مواد هیدروفوبیک برای تشکیل کمپلکس نانوذله فراهم می‌کند (Akiyoshi et al., 1997; Rekha and Sharma, 2007).



شکل ۱-۷: رفتار تجمعی خودبخودی نانوذله (Shidhaye et al., 2008)

روش تجمع خودبخودی، دارای مزایای منحصر به فردی چون: مقرون به صرفه، ساده و انعطاف پذیری می‌باشد و از همه مهمتر فرآیند با حداقل انرژی ترمودینامیکی سیستم رخ می‌دهد که باعث ایجاد ساختار قوی و پایدار می‌شود (Zhaveh et al., 2015).

فصل دوم:

مروری بر منابع

۲-۱- پژوهش های مربوط به روغن بذر کتان

- ❖ جیان- ژونگ^{۱۴} (۲۰۱۶) به خلاصه ی مطالعات اخیر در رابطه با زیست شناسی مولکولی کتان شامل: تکنولوژی نشانگر مولکولی، ساخت و ساز نقشه ی ژنتیکی و مهندسی ژنتیک، به منظور ارائه منبعی مناسب برای درک بهتر و زمینه ای برای تحقیق بیشتر محققان در این زمینه پرداخت (Jian-zhong, 2016).
- ❖ شاراو^{۱۵} و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی تاثیر سیکلولینوپپتید بر پایداری اکسیداتیو روغن بذر کتان پرداختند و به این نتیجه دست یافتند، افزودن سیکلولینوپپتید به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی باعث افزایش پایداری اکسیداتیو روغن بذر کتان می شود (Sharav et al., 2014).
- ❖ برناچیا^{۱۶} و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی ترکیب شیمیایی بذر کتان و تاثیر آن بر سلامتی پرداختند (Bernacchia et al., 2014).
- ❖ ته^{۱۷} و بیرچ^{۱۸} (۲۰۱۳) به بررسی خصوصیات کیفی و فیزیکو شیمیایی روغن بذرها ی کتان، شاهدانه و کانولا استخراج شده با روش کلدپرس پرداختند (Teh and Birch, 2013).
- ❖ پوپا^{۱۹} و همکاران (۲۰۱۲) ترکیب اسیدهای چرب و خصوصیات روغن بذر کتان را مورد بررسی قرار دادند (Popa et al., 2012).
- ❖ سینق^{۲۰} و همکاران (۲۰۱۱) به مطالعه بر روی بذر کتان به عنوان منبع تغذیه ای و منبع فیبر پرداختند (Singh et al., 2011).

^{۱۴}Jian- zhong

^{۱۵}Sharav

^{۱۶}Bernacchia

^{۱۷}Teh

^{۱۸}Birch

^{۱۹}Popa

^{۲۰}Singh

۲-۲- پژوهش های مربوط به اسانس میخک

- ❖ سبالی^{۲۱} و همکاران (۲۰۱۵) به پژوهشی در رابطه با آماده سازی و بررسی خصوصیات روغن های ضروری میخک انکپسوله شده در لیپوزوم حاصل از فسفولیپید سویا به منظور افزایش پایداری میخک پرداختند (Sebaaly et al., 2015).
- ❖ کورتاس- روجاس^{۲۲} و همکاران (۲۰۱۴) به مطالعه انکپسولاسیون اسانس میخک غنی از اوژنول در حامل های لیپیدی جامد پرداختند (Cortés-Rojas et al., 2014).
- ❖ چاترجی^{۲۳} و بی هاتاچارجی^{۲۴} (۲۰۱۳) به بررسی مقایسه ای اثر آنتی اکسیدانی اسانس میخک غنی از اوژنول، انکپسوله شده و انکپسوله نشده بر روغن سویا پرداختند و به این نتیجه دست یافتند، با انکپسوله کردن اسانس میخک امکان رهایش کنترل شده آنتی اکسیدان در روغن سویا فراهم شد (Chatterjee and Bhattacharjee, 2013).

۲-۳- پژوهش های مربوط به کیتوزان

- ❖ یوان^{۲۵} و همکاران (۲۰۱۶) به پژوهش در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی پوشش ها و فیلم های کیتوزان حاوی روغن های ضروری و کاربرد آن ها در سیستم های غذایی پرداختند. طبق این پژوهش، ادغام روغن های ضروری باعث افزایش قابل توجه خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و قارچی فیلم های کیتوزانی شد. از این فیلم ها معمولا برای افزایش ماندگاری و کاهش اکسیداسیون لیپید در محصولات گوشتی و ماهی استفاده می شود (Yuan et al., 2016).

^{۲۱}Sebaaly

^{۲۲}Cortés- Rojas

^{۲۳}Chatterjee

^{۲۴}Bhattacharjee

^{۲۵}Yuan

❖ چی فای چونگ^{۲۶} و همکاران (۲۰۱۵) به مطالعه درمورد کاربردهای زیست پزشکی و داروسازی کیتوزان پرداختند (Cheung et al., 2015).

❖ محمدی^{۲۷} و همکاران (۲۰۱۵) در رابطه با افزایش مدت ماندگاری خیار در طی نگهداری سرد بوسیله ی نانوذرات کیتوزان بارگیری شده با روغن های ضروری دارچین پژوهش انجام دادند. مطابق نتایج، استفاده از این پوشش روش مناسبی برای افزایش مدت ماندگاری و بهبود خصوصیات کیفی خیار بود (Mohammadi et al., 2015).

❖ علفی^{۲۸} و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی سینتیک N-د استیل زدایی کیتین استخراج شده از صدف های میگو جمع آوری شده از نواحی ساحلی مراکش برای بدست آوردن کیتوزان پرداختند (Ahlaifi et al., 2013).

❖ ابرو^{۲۹} و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی کاربرد نانوذل های کیتوزان / صمغ آکاژو برای انکپسولاسیون روغن های ضروری پرداختند (Abreu et al., 2012).

۲-۴- پژوهش های مربوط به امولسیون پیکرینگ و پایداری آن

❖ گاو^{۳۰} و همکاران (۲۰۱۷) به مطالعه تاثیر pH و غلظت رشته ها برامولسیون های پیکرینگ خوراکی پایدار شده با رشته های پروتئینی پرداختند. در این تحقیق از رشته های پروتئینی بتا لاکتوگلوبولین در غلظت ها و pH های مختلف استفاده شد. نتایج نشان داد، این رشته های پروتئینی در غلظت مناسب رشته ها (۵-۲۰ میلی گرم / میلی لیتر) و در pH های دور از نقطه ایزوالکتریک (۵/۲) بتا لاکتوگلوبولین موجب، پایداری فیزیکی امولسیون پیکرینگ و جلوگیری از انعقاد طی ۵۶ روز شد (Gao et al., 2017).

^{۲۶}Chi fai Cheung

^{۲۷}Mohammadi

^{۲۸}Ahlaifi

^{۲۹}Abreu

^{۳۰}Gao

❖ جورکگرن^{۳۱} و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی اصلاحات هیدروفوبیکی و هیدروفیلیکی ذرات سیلیکای کلئیدی برای امولسیون های پیکرینگ پرداختند. نتایج نشان داد، عاملدار کردن سیلیکا با عوامل هیدروفیلیک موجب کاهش چگالی بار سطحی، وابستگی به pH و رفتار فلوکه شدن قابل کنترل و فعالیت سطحی شد و عاملدار کردن با عوامل هیدروفوبیک باعث، تولید امولسیون هایی با قطرات کوچکتر در مقایسه با امولسیون با سیلیکای اصلاح نشده، شد. در نهایت، عملکرد امولسیفیکاسیون هنگامی که از ترکیب گروه های هیدروفوبیک و هیدروفیلیک استفاده شد، بهبود بیشتری یافت (Björkegren et al., 2017).

❖ بینکر^{۳۲} و همکاران (۲۰۱۷) به مطالعه در مورد پایدارسازی پیکرینگ غذایی کف ها بوسیله هیدروفوب کردن ذرات کلسیم کربنات پرداختند. در این تحقیق، به دلیل آن که کلسیم کربنات دارای خاصیت هیدروفیلیکی و عدم فعالیت سطحی بود با استفاده از امولسیفایرهای با بار منفی و دارای منشا غذایی عمل هیدروفوب کردن بر روی آن صورت گرفت. نتایج نشان داد، استفاده از چنین ذرات کلسیم کربنات موجب پایداری زیاد کف های آبی شد (Binks et al., 2017).

❖ زئو^{۳۳} و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی ساخت، میکروساختار، پایداری و پروفایل هضم امولسیون دوگانه بدست آمده از امولسیون پیکرینگ پایدار شده بوسیله نانوذرات کافیرین پرداختند. در این تحقیق، امولسیون پیکرینگ دوگانه W/O/W با استفاده از نانوذرات کافیرین تهیه شد (Xiao et al., 2017).

❖ هنگ^{۳۴} و همکاران (۲۰۱۷) به مطالعه فاکتورهای موثر در پایداری و نوع امولسیون پایدارشده با هیدروکسی اپتایت پرداختند. طبق نتایج حاصل شده، پایداری امولسیون با افزایش غلظت هیدروکسی اپتایت، سرعت و زمان امولسیفیکاسیون افزایش یافت. همچنین، زمانی که pH در

^{۳۱}Björkegren

^{۳۲}Binks

^{۳۳}Xiao

۱۰ تنظیم شد بیشترین پایداری بدست آمد. با تنظیم پارامترها هردو امولسیون W/O و O/W حاصل شد (Zhang et al., 2017).

❖ ویتبی^{۳۵} و همکاران (۲۰۱۶) به تحقیق بر روی ناپایدار شدن امولسیون پیکرینگ توسط فلوکه شدن و اتصال قطره پرداختند. چگونگی ناپایدار شدن امولسیون حاوی قطره آب پوشیده شده توسط ذرات نانورس در حلال های آلی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، ناپایدار شدن هنگامی رخ داد که ذرات به طور ضعیف توسط حلال مرطوب شدند، در این حالت اتصال قطرات در مخلوط افزایش یافت. علاوه بر این، گسستگی لایه ی بین سطحی باعث فلوکه شدن ذرات و ایجاد قطرات ناپایدار آب در امولسیون شد (Whitby et al., 2016).

❖ وو^{۳۶} و هویمما^{۳۷} (۲۰۱۶) به مطالعه در مورد امولسیون های پیکرینگ پرداختند و اثر خصوصیات نانو و میکروذرات را در آماده سازی و خصوصیات امولسیون پیکرینگ مورد ارزیابی قرار دادند. همچنین، در مورد روش های تهیه ی امولسیون های پیکرینگ اطلاعاتی را بدست آوردند (Wu and Ma, 2016).

❖ موانگی^{۳۸} و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی تاثیرات فاکتورهای محیطی بر پایداری فیزیکی امولسیون پیکرینگ پایدار شده بوسیله ذرات کیتوزان پرداختند. طبق نتایج، با افزایش غلظت کیتوزان و نمک پایداری خامه ای شدن افزایش یافت. امولسیون پیکرینگ در pH=۷ و بالاتر دارای بیشترین پایداری بود. همچنین، امولسیون در دماهای پایین تر از ۵۰ درجه سانتی گراد پایدار بود و افزایش دما موجب خامه ای شدن و انعقاد قطرات شد (Mwangi et al., 2016).

^{۳۴}Zhang

^{۳۵}Whitby

^{۳۶}Wu

^{۳۷}Hui Ma

^{۳۸}Mwangi

❖ شاه^{۳۹} و همکاران (۲۰۱۶) در رابطه با آماده سازی و بهینه سازی امولسیون پایدار شده بوسیله ی نانوذرات کیتوزان- تری پلی فسفات برای انکپسولاسیون زردچوبه پژوهشی را انجام دادند. مطابق این پژوهش، تاثیر شرایط آماده سازی مانند: زمان نگهداری، pH و نمک بر پایداری امولسیون پیکرینگ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، پس از بهینه سازی، امولسیون پیکرینگ می تواند راندمان مناسبی را برای تحویل ترکیب زیست فعال زردچوبه ایجاد کند (Shah et al., 2016).

❖ موانگی و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی از امولسیون پیکرینگ روغن در آب به عنوان الگو و با استفاده از روشی آسان، برای شکل گیری میکروکپسول های کیتوزان با اتصالات عرضی یونی در pH های مختلف استفاده کردند. مطابق نتایج، اندازه میکروکپسول ها و اتصالات عرضی تحت تاثیر pH قرار داشت. (Mwangi et al., 2016).

❖ چیونگ^{۴۰} و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی پایداری نانوامولسیون پیکرینگ روغن دانه کنف در آب که با مخلوط سدیم کازئینات، توئین ۲۰ و بتا-سیکلودکسترین پایدار شد، پرداختند. همچنین، در این تحقیق اثر برهم کنش سدیم کازئینات و توئین ۲۰ بر نانوامولسیون مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، اثر سینرژیک میان آن ها به پایداری امولسیون پیکرینگ کمک کرد (Cheong et al., 2016).

❖ لیو^{۴۱} و تنگ^{۴۲} (۲۰۱۶) به بررسی خصوصیات ساختاری و امولسیونی و جذب در لایه بین سطحی گلیسینین سویا به عنوان پایدار کننده غذایی امولسیون پیکرینگ پرداختند (Liu and Tang, 2016).

❖ لکلرک^{۴۳} و ناردالا-راتاج^{۴۴} (۲۰۱۶) به بررسی امولسیون های پیکرینگ با استفاده از سیکلو دکسترین به عنوان محلولی هوشمند برای تحویل موضعی مشتقات آزول ضدقارچ پرداختند.

^{۳۹} Shah

^{۴۰} Cheong

^{۴۱} Liu

نتایج ثابت کرد، امولسیون پیکرینگ بدست آمده در برابر انعقاد بسیار پایدار بود. این امولسیون پیکرینگ همچنین، برای تحویل مشتقات آزول ضدقارچ بسیار کارآمد بود (Leclercq and Nardello-Rataj, 2016).

❖ دیاز- سالمرون^{۴۵} و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی ساختار و پایداری حرارتی امولسیون پیکرینگ با آلفا دکستروز پرداختند. طبق این پژوهش، تمایل روغن به پخش شدن در حفره های آلفا دکستروز فاکتور تعیین کننده ای در امولسیفیکاسیون و پایداری حرارتی بود. نتایج نشان داد تجزیه، ذوب شدن و باز شدن رشته ها که به صورت تدریجی اتفاق افتاد، در دماهای بالا، نزدیک یا بالاتر از ۱۰۰ درجه سانتی گراد پایان پذیرفت (Diaz-Salmeron et al., 2016).

❖ جیسترانیس^{۴۶} و همکاران (۲۰۱۶) رفتار فازی و سائز قطره امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با مواد نانوسلولزی مشتق شده گیاهی را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، از سه آمفی فیلک شامل نانوفیبریل های سلولزی بدون اصلاح شیمیایی (CNF)، نانوفیبریل های سلولزی اکسید شده- TEMPO (T-CNF) و نانوکریستال های سلولزی (CNC) به عنوان پایدارکننده استفاده شد. همه ی امولسیون ها به سرعت خامه ای شدند و لایه ی خامه ای برای مدت حداقل ۱ ماه پایدار باقی ماند. حجم لایه ی خامه ای شکل گرفته بوسیله CNF و T-CNF و همچنین، پایداری آن ها در شرایط مختلف بیشتر از امولسیون پایدار شده با CNC بود. که این نتیجه به شبکه ی شکل گرفته بوسیله ی فیبریل های بلندتر ربط داده شد (Gestranius et al., 2016).

^{۴۲}Tang

^{۴۳}Leclercq

^{۴۴}Nardello- Rataj

^{۴۵}Diaz- Salmeron

^{۴۶}Gestranius

❖ زئو و همکاران (۲۰۱۶) به مطالعه در مورد پیشرفت در ساخت، خصوصیات و روش های تحقیقاتی در امولسیون های پیکرینگ پایدار شده بوسیله ذرات با منشا غذایی پرداختند (Xiao et al., 2016).

❖ هو^{۴۷} و همکاران (۲۰۱۶) به مطالعه در مورد تولید و خصوصیات امولسیون های پیکرینگ و امولسیون های درونی بالای پیکرینگ پایدار شده بوسیله ی ذرات کلوئیدی گلیادین پرداختند. طبق این پژوهش، این ذرات می توانند امولسیون های O/W پایدار و بدون استفاده از سورفاکتانت، با سایز ذرات در مقیاس میکرو، تحت شرایط آزمایشگاهی در pH=۴ و بالاتر تولید کنند. بین خصوصیات کلوئیدی دیسپرسیون های گلیادین و خصوصیات امولسیون رابطه ی واضحی وجود داشت (Hu et al., 2016).

❖ فنگ^{۴۸} و لی (۲۰۱۶) به مطالعه اصلاح سطحی ذرات کلوئیدی زئین با سدیم کازئینات برای پایداری امولسیون پیکرینگ روغن در آب پرداختند. در این پژوهش، نانوذرات کلوئیدی زئین به دلیل قابلیت رطوبت پذیری ضعیف توانایی تشکیل امولسیون پیکرینگ پایدار را نداشت. از طریق اصلاح سطحی زئین با بکارگیری سدیم کازئینات به نانوکمپلکسی دست یافتند، که توانایی استحکام بخشیدن به امولسیون های پیکرینگ و همچنین، افزایش پایداری سانتیفریوژی در اغلب pH ها و مقاومت های یونی را داشت (Feng and Lee, 2016).

❖ دفوس^{۴۹} و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی مقایسه ای ظرفیت تعدادی از ذرات غذایی برای تشکیل امولسیون های پیکرینگ O/W و W/O پایدار پرداختند. در این تحقیق، از ذرات پلی ساکارید و فلاونوئید استفاده شد (Duffus et al., 2016).

❖ زئو و همکاران (۲۰۱۶) به مطالعه بر روی رفتار رئولوژیکی و میکروساختار امولسیون های پیکرینگ پایدار شده توسط نانوذرات کافیرین (پروتئین پرولامینی سورگوم) پرداختند. نتایج

^{۴۷}Hu

^{۴۸}Feng

نشان داد، توزیع اندازه قطرات امولسیون و خصوصیات رئولوژیکی امولسیون پایدار شده بوسیله ذرات کافیرین تحت تاثیر غلظت ذرات بکار رفته، میزان روغن و قدرت یونی در فاز آبی بود. علاوه بر این، نتایج کافیرین را به عنوان یک پایدار کننده ی طبیعی معرفی کرد (Xiao et al., 2016).

❖ لیو و همکاران (۲۰۱۶) به پژوهش در زمینه بهبود امولسیفیکاسیون و جذب بین سطحی بوسیله ی غربالگری الکترواستاتیک در امولسیون های پیکرینگ پایدار شده بوسیله گلیسینین سویا به عنوان پایدار کننده با منشا غذایی پرداختند. نتایج اهمیت بار سطحی برای امولسیفیکاسیون و رفتارهای بین سطحی برای ذرات بر پایه ی پروتئین و همچنین، فرمولاسیون امولسیون های پیکرینگ پایدار شده بوسیله ی ذرات باردار را نشان داد (Liu et al., 2016).

❖ سونگ^{۵۰} و همکاران (۲۰۱۵) به آماده سازی و مطالعه بر روی خصوصیات امولسیون پیکرینگ پایدار شده توسط ذرات نشاسته هیدروفوبیک پرداختند. نتایج نشان داد، پارامترهای مختلفی از جمله: غلظت ذرات نشاسته، مقدار روغن و pH در آماده سازی امولسیون پیکرینگ نقش داشت. خصوصیات رئولوژیکی ثابت کرد، امولسیون پیکرینگ رفتاری مشابه با سیال سودوپلاستیک از خود نشان داد. بررسی میکروساختار امولسیون پیکرینگ نشان داد، ذرات نشاسته در لایه بین سطحی روغن- آب تجمع پیدا کرده و لایه ی چگالی را شکل داد و موجب پایداری امولسیون پیکرینگ شد (Song et al., 2015).

❖ هنگ و همکاران (۲۰۱۵) به مطالعه پایداری امولسیون پیکرینگ با استفاده از کمپلکس ذرات پلی استایرن و کیتوزان پرداختند. طبق نتایج بدست آمده، امولسیون با کمپلکس ذرات پلی استایرن و کیتوزان پایداری بیشتری نسبت به امولسون پایدار شده با هر کدام از آن ها به صورت جداگانه داشت (Zhang et al., 2015).

^{۴۹}Duffus

^{۵۰}Song

❖ شارما^{۵۱} و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی پایداری حرارتی امولسیون پیکرینگ روغن در آب در حضور نانوذرات، سورفکتانت و پلیمر پرداختند. مطابق نتایج، نانوذرات در حضور سورفکتانت و پلیمر به طور سینرژیستی در سطح مشترک روغن- آب واکنش داد. سیستم های امولسیونی با نانوذرات هیدروفوبیک جزئی در حضور پلیمر و سورفکتانت پایداری حرارتی بیشتری را در مقایسه با نانوذرات کاملاً هیدروفیلیک نشان داد. در حضور نمک، پایداری حرارتی نانوذرات در دماهای بالا بیشتر شد (Sharma et al., 2015).

❖ یان^{۵۲} و همکاران (۲۰۱۵) امولسیون پیکرینگ پایدار شده بوسیله ی نانورشته های سیلیکا را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، امولسیون های روغن در آب و آب در روغن بوسیله ی نانورشته های هیدروفیلیک و آمفی فیلک پایدار شدند. نتایج نشان داد، نانورشته های سیلیکای هیدروفیلیک توانست از طریق تشکیل در سطح قطره، امولسیون های روغن در آب پایدار تهیه کند (Yan et al., 2015).

❖ سبت^{۵۳} و فردت^{۵۴} (۲۰۱۵) به بررسی تاثیر خصوصیات روغن، ذرات و آب بر تولید امولسیون های پیکرینگ پرداختند. در این پژوهش سایز، غلظت و خیس شوندگی ذرات و همچنین، ویسکوزیته روغن و خصوصیات فازآبی (pH و شوری) مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته ها اهمیت مکانیسم پایداری را در فرآیند امولسیفیکاسیون نشان داد. نتایج نشان داد، پایداری قطره ارتباط نزدیکی با برخورد قطره- ذره داشت و بسیار حساس به ویسکوزیته روغن، سایز ذره و توانایی خیس شوندگی بود. درحالیکه، خصوصیات فاز آبی پایداری را از طریق اثری که در برهم کنش ذره (فلوکه شدن) داشت، نشان داد (Tsabet and Fradette, 2015).

^{۵۱}Sharma

^{۵۲}Yan

^{۵۳}Tsabet

^{۵۴}Fradette

❖ پاگبمابا^{۵۵} و همکاران (۲۰۱۴) امولسیون های پیکرینگ روغن در آب پایدار شده بوسیله ی فیلوسیلیکات ها در محتوی جامد بالا را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، آماده سازی و خصوصیات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده بوسیله سه فیلوسیلیکات مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه نشان داد، امولسیون های O/W پایدار بدون استفاده از سورفکتانت و تیمارهای سطحی حاصل شد. هر سه فیلوسیلیکات ها باعث محدود کردن مکانیسم انعقاد و پایداری طولانی مدت امولسیون شد. رفتار رئولوژیکی این امولسیون ها بیانگر ساختارهای محکم بود (Kpogbemabou et al., 2014).

❖ لیانج^{۵۶} و تنگ^{۵۷} (۲۰۱۴) پایدارسازی پیکرینگ توسط پروتئین نخود فرنگی برای امولسیون روغن در آب در pH=۳ را مورد بررسی قرار دادند. در pH=۳ اغلب پروتئین ها در فرم نانوذرات و وابسته به غلظت، دارای قطر هیدرودینامیک ۱۳۴ - ۱۶۵ نانومتر بودند. برای امولسیون های شکل گرفته در یک میزان روغن خاص، افزایش غلظت باعث کاهش قابل توجه در سایز امولسیون بود. درحالیکه، پایداری کریمینگ به طور قابل توجهی افزایش یافت (Liang and Tang, 2014).

❖ نان^{۵۸} و همکاران (۲۰۱۴) به مطالعه بر روی ذرات آلزینات پوشانده شده با کیتوزان به عنوان امولسیفایر برای آماده سازی امولسیون های پیکرینگ وابسته به محرک های مختلف پرداختند. طبق این پژوهش، آلزینات به دلیل دارا بودن ماهیت آبدوست نتوانست به عنوان امولسیفایر عمل کند، پوشاندن این ذرات با کیتوزان که دارای خاصیت هیدروفوبیک بود مشکل را حل کرد. مطابق این آزمایش، پایداری امولسیون پیکرینگ تحت تاثیر عوامل مختلفی چون: اندازه ذرات، pH و غلظت نمک در فاز آبی بود (Nan et al., 2014).

^{۵۵}Kpogbemabou

^{۵۶}Liang

^{۵۷}Tang

^{۵۸}Nan

❖ کارگر^{۵۹} و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی توانایی امولسیون پیکرینگ با ذرات غذایی برای افزایش پایداری اکسیداتیو امولسیون های روغن در آب پرداختند. طبق نتایج، ذرات با ایجاد لایه بین سطحی ضخیم اطراف قطرات روغن باعث، جلوگیری از اکسیداسیون لیپید شد. با افزایش غلظت ذرات این توانایی افزایش یافت (Kargar et al., 2012).

❖ وی^{۶۰} و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی استفاده از نانوذرات کیتوزان به عنوان امولسیفایر خاص برای آماده سازی امولسیون های پیکرینگ پاسخگو به pH و میکروکپسول های PLGA پرداختند. در نتیجه این تحقیق، به امولسیون پیکرینگ پایدار با پاسخویی عالی به pH دست یافتند. همچنین، میکروکپسول هایی با اتصالات عرضی قوی طی این تحقیق تولید شد (Wei et al., 2012).

❖ لیو و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی امولسیون ساده و برگشت پذیر متغیر با pH با استفاده از کیتوزان پرداختند و به این نتیجه دست یافتند، کیتوزان در pH بالا رسوب کرد و موجب، پایداری امولسیون پیکرینگ شد و در pH پایین به دلیل حلالیت کیتوزان امولسیون تشکیل نشد (Liu et al., 2012).

❖ رگر^{۶۱} و همکاران (۲۰۱۲) امولسیون های پیکرینگ پایدار شده بوسیله رس پوشیده شده توسط آمفی فیل را مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه نشان داد، همه ی ترکیبات آمفی فیلیک مانند: سورفکتانت، پلیمرها، کوپلیمرها و پروتئین ها به طور قوی با ذرات رس درآب باند تشکیل دادند (Reger et al., 2012).

❖ لو^{۶۲} و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی تاثیر pH بر توانایی فلاونوئیدها برای عمل کردن به عنوان پایدارکننده های امولسیون پیکرینگ پرداختند. در این مطالعه، از سه فلاونوئید تیلروساید، روتین و نارنجین به عنوان پایدار کننده امولسیون های پیکرینگ روغن در آب استفاده شد.

^{۵۹}Kargar

^{۶۰}Wei

^{۶۱}Reger

بهبود پایداری امولسیون در pH بالاتر بوسیله افزایش قابل توجه در پتانسیل زتا ذرات فلاوونوئیدها در pH=8 بهتر توضیح داده شد که باعث، بهبود بخشیدن توزیع ذره و افزایش بار در قطره پایدار شده بوسیله آن ها بود (Luo et al., 2012).

❖ جورز^{۶۳} و ویتبی^{۶۴} (۲۰۱۲) ناپایداری امولسیون پیکرینگ در غلظت های کم ذره را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، امولسیون ها در غلظت هایی از ذرات سیلیکا تشکیل شد که قادر به محافظت در برابر ناپایدار شدن نبودند. مطابق نتایج، ناپایدار شدن در ابتدا از طریق ترکیبی از فلوک شدن قطره و نفوذ اتفاق افتاد (Juárez and Whitby, 2012).

❖ تیمگرین^{۶۵} و همکاران (۲۰۱۱) به پژوهش در مورد ذرات نشاسته برای امولسیون های پیکرینگ غذایی پرداختند. در این پژوهش، از غلظت های مختلف گرانول های نشاسته استفاده شد. سایز قطره، بستگی به غلظت نشاسته و خصوصیات ممانعت کنندگی لایه نشاسته پایدار شده با حرارت داشت. گرانول های نشاسته با استفاده از اکتینیل سوکسینات انهیدرید برای افزایش هیدروفوبیکی نشاسته اصلاح شد. این امولسیون های پیکرینگ به مدت ۸ هفته نگهداری در برابر انعقاد پایدار بودند (Timgren et al., 2011).

۲-۵- پژوهش های مربوط به درونپوشانی و اکسیداسیون

❖ وانگ^{۶۶} و همکاران (۲۰۱۵) ساخت و خصوصیات آنتی اکسیدانی امولسیون های پیکرینگ پایدار شده بوسیله ذرات کمپلکس زئین/ کیتوزان را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، سعی شد از طریق دستکاری لایه ی بین سطحی امولسیون با استفاده از ذرات کمپلکس زئین/ کیتوزان قطرات چربی را از پراکسیداسیون حفظ کنند. نانوذرات زئین/ کیتوزان

^{۶۲}Luo

^{۶۳}Juárez

^{۶۴}Whitby

^{۶۵}Timgren

^{۶۶}Wang

حساس به اکسیداسیون نبوده و تجمع هدفمند زردچوبه به عنوان یک آنتی اکسیدان در سطح مشترک با استفاده نانوذرات زئین/ کیتوزان، دیواره آنتی اکسیدانی را در اطراف قطرات پراکنده شکل داد و منجر به، بهبود بیشتر پایداری اکسیداتیو امولسیون شد (Wang et al., 2015).

❖ خلیلی^{۶۷} و همکاران (۲۰۱۵) در رابطه با انکپسولاسیون روغن های ضروری آویشن در نانوذله کیتوزان- اسید بنزوئیک با فعالیت ضد میکروبی افزایش یافته در برابر اسپرژیلوس فلاووس دست به تحقیق زدند. نتایج نشان داد، نانوذله کیتوزان- اسید بنزوئیک اثر سینرژیستی بر خصوصیات ضد میکروبی آویشن داشت. علاوه بر این، به دلیل فراریت و ناپایداری روغن های ضروری، انکپسولاسیون بوسیله نانوذله موجب افزایش قابل توجه در مدت ماندگاری و خصوصیات ضد میکروبی آن شد (Khalili et al., 2015).

❖ ژاوه^{۶۸} و همکاران (۲۰۱۵) انکپسولاسیون روغن های ضروری زیره سیاه در نانوذله کیتوزان- اسید کافئیک با فعالیت ضد میکروبی افزایش یافته در برابر اسپرژیلوس فلاووس را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد، بدلیل فراریت و ناپایداری روغن ها هنگامی که در معرض فاکتورهای محیطی قرار گرفتند، انکپسولاسیون به طور قابل توجهی عملکرد آن را در غلظت کمتر بهبود بخشید (Zhaveh et al., 2015).

❖ برتون- کارابین^{۶۹} و همکاران (۲۰۱۴) اکسیداسیون لیپید درامولسیون روغن درآب و مشارکت لایه عرضی در این واکنش را مورد ارزیابی قرار دادند. در این پژوهش، کنترل محل واکنش در ماتریس غذا به عنوان راه حل جایگزین برای استفاده از آنتی اکسیدان ها بویژه آنتی اکسیدان های سنتزی به منظور جلوگیری از اکسیداسیون مطرح شد (Berton- Carabin et al., 2014).

^{۶۷}Khalili

^{۶۸}Zhaveh

^{۶۹}Berton- Carabin

❖ کوماری^{۷۰} و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی اثر اسانس و عصاره آبی زنجبیل در پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن در آب ماهی پرداختند. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره آبی نشان داد، فنولیک کل در اسانس بالاتر از عصاره آبی در غلظت یکسان بود. علاوه بر این، اسانس و عصاره آبی همراه با یکدیگر به طور قابل توجهی عملکرد بهتری را نشان دادند و همچنین، این دو توانستند همراه با هم به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی در امولسیون های آب در روغن ماهی بکار رود (Kumari et al., 2015).

۲-۶- پژوهش های مربوط به نانوذل

❖ هو^{۷۱} و همکاران (۲۰۱۶) به مطالعه در مورد نانوذل های کمپلکس لیپوپروتئین با دانسیته کم/ پکتین به عنوان حامل هایی برای زردچوبه پرداختند. در این تحقیق، نسبت جرمی زردچوبه/ لیپوپروتئین با دانسیته بالا نقش ضروری را در تعیین سایز ذره و راندمان انکپسولاسیون ایفا کرد. نانوذل های لیپوپروتئین با دانسیته بالا/ پکتین پایداری بسیار بالایی در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش با آنزیم های هضم کننده و همچنین، توانایی بالایی در رهایش کنترل شده زردچوبه از خود نشان داد (Zhou et al., 2016).

❖ فنگ و همکاران (۲۰۱۶) بهبود خصوصیات دسترسی زیستی زردچوبه در نانوذل های اوالبومین- دکستران که بوسیله واکنش های میلارد تهیه شد را مورد ارزیابی قرار دادند. مطابق نتایج، تغییر شکل زردچوبه در نانوذل ها به طور قابل توجهی بیشتر از نانوذرات اوالبومین بود. به عبارت دیگر، دسترسی زیستی زردچوبه در نانوذل و نانوذرات شبیه به هم بود. همچنین، نانوذل اوالبومین- دکستران دارای پتانسیل بالقوه ای به عنوان حامل برای مغذی سازی غذاها و نوشیدنی ها بوده است (Feng et al., 2016).

^{۷۰}Kumari

^{۷۱}Zhou

- ❖ شارما و همکاران (۲۰۱۶) نانوذله را به عنوان یک ابزار پیشرفته تحویل دارو مورد ارزیابی قرار دادند. هدف از این تحقیق کلی، بدست آوردن اطلاعات کامل در مورد نانوذله، روش سنتز و کاربرد آن در رشته های مختلف بود (Sharma et al., 2016).
- ❖ سلطانا^{۷۲} و همکاران (۲۰۱۳) به مطالعه کلی سیستم تحویل داروی نانوذله پرداختند. نانوذله ها به دلیل داشتن ویژگی های مختلف از جمله: ظرفیت بالا، دسترسی زیستی و زیست تخریب پذیری برای طراحی سیستم های تحویل بسیار مناسب بودند. هدف از این تحقیق، توصیف پیشرفت های اخیر برای بارگذاری توسط نانوذله بود. همچنین، کاربردهای زیست پزشکی و روش های سنتز و مکانیسم های رهایش از حامل های نانوذله در این مطالعه ذکر شد (Sultana et al., 2013).

فصل سوم:

مواد و روش ها

در این فصل، مواد بکار رفته، روش های تولید نانوذله، روش های تهیه و بهینه سازی فرمولاسیون امولسیون پیکرینگ روغن دانه کتان پایدار شده بوسیله ی نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک و اندازه گیری پایداری اکسیداتیو آن در حضور اسانس میخک طی مدت زمان نگهداری ذکر شده است.

۳-۱- مواد و تجهیزات

۳-۱-۱- مواد اولیه

کیتوزان، اسید میرستیک ، اسید استیک، متانول، اتانول، سدیم هیدروکسید و کیومن هیدروپراکسید از شرکت مرک آلمان خریداری شد. ۱- اتیل-۳- (۳- دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید (EDC) از شرکت فلوکا امریکا و توئین ۸۰، آمونیوم تیوسیانات و کلروفرم از شرکت سامچون کره تهیه شد. اسید هیدروکلرید ۳۷ درصد از شرکت کارلو اربا ایتالیا ، کلرید آهن (II) از شرکت تیتراکم ایران و تری کلرید اسید استیک ۹۹ درصد از شرکت کمیکالز کره خریداری شد. اسید تیوباربتوریک (TBA) و ۱،۱،۳،۳- تتراهیدروکسی پروپان از شرکت سیگما آلدریج امریکا تهیه شد. روغن بذر کتان از شرکت روغن کشی نیری تهران و اسانس میخک از شرکت باربیج اسانس (در جدول ۳-۱ عمده ترکیبات موجود در اسانس مورد استفاده در این تحقیق نشان داده شده است). خریداری شد.

جدول ۳-۱: ترکیبات مهم اسانس میخک

نوع ترکیب	درصد
اوژنول	۶۳/۴
کاریوفیلن	۱۶
اوژنیل استات	۱۳/۱

۳-۱-۲- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

- همزن دستی با دور موتور ۵۵۰۰ دور در دقیقه
- دستگاه حمام اولتراسونیک H ۳۰ P (Elma, آلمان)
- هیتر IKA C-MAG HSV
- دستگاه آون Memmert
- دستگاه اسپکتوفتومتری نور مرئی UV۲۱۵۰ (UNICO, امریکا)
- دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل ۴۶۰۰ (Unicam, امریکا)
- میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل EM ۳۲۰۰ (KYKY, چین)
- دستگاه آب مقطرگیری ۲۰۰۴ (GFL, آلمان)
- میکروسکوپ نوری GX, ژاپن
- دستگاه سانتریفیوژ مدل ۵۸۱۰R (Eppendorf, آلمان)
- دستگاه pH متر (METTLER TOLEDO, سوئیس)
- دستگاه (FT-IR) مدل ۴۳۰ (Jascow, ژاپن)

۳-۲- روش ها

۳-۲-۱- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن بذر کتان

به منظور تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن بذر کتان از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل ۴۶۰۰ (Unicam- امریکا) با آشکارساز یونیزاسیون شعله (FID) و با ستون موئین BPXY۰ به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر استفاده شد. گاز حامل مورد استفاده هلیوم بود و حجم تزریق ۰/۲۲ میکرومتر و نسبت تزریق ۱:۱۰۰ استفاده شد. دمای محل تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد و دمای آشکار ساز ۳۰۰ درجه سانتی گراد در نظر گرفته شد. برنامه ی دمایی به این صورت بود: در ابتدا دمای محفظه گرمکن ۱۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بود و با سرعت ۲۰ درجه سانتی گراد/ دقیقه به دمای ۱۸۰

درجه سانتی گراد رسانده شد و در دمای ۱۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۹ دقیقه باقی ماند و بعد با سرعت ۲۰ درجه سانتی گراد/دقیقه به دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد رسانده شد و در دمای ۲۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۵ دقیقه باقی ماند.

۳-۲-۲- آماده سازی نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک

اسید میرستیک از طریق اتصالات آمیدی و از طریق واکنش های واسطه ای ۱- اتیل-۳- (۳-دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید (EDC) مطابق با روش ارائه شده توسط چن و همکاران در سال ۲۰۰۳ (Chen et al., 2003) به کیتوزان متصل شد. در ابتدا، ۰/۵ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک آبی (۱ درصد 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 (ترکیب حد واسط) با ۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۳۷۵ میلی گرم اسید میرستیک 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- اسید میرستیک

۳-۲-۳-۱- طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR^۳)

طیف مادون قرمز نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک با استفاده از اسپکترومتر مادون قرمز

FT-IR-۴۳۰ در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد ثبت شد. دستگاه با محدوده فرکانس $500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$

عمل کرد. برای آنالیز اسید میرستیک و نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک در درصد های مولی مختلف

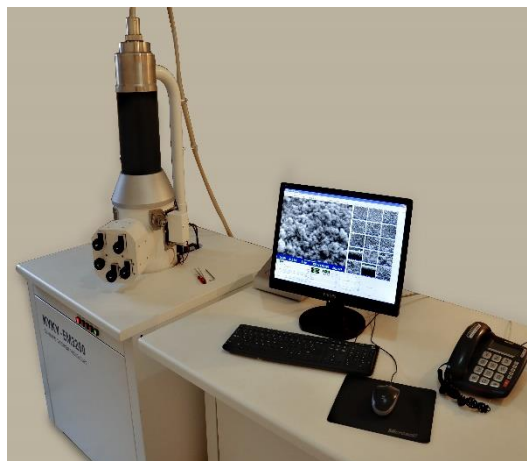
^۳FT-IR: Fourier Transform Infrared

اسید میرستیک به کیتوزان خشک شده، به صورت جداگانه با ۱۰۰ میلی گرم KBr مخلوط شد و پس از تهیه قرص توسط دستگاه ثبت شد.

۳-۲-۳-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM^{۷۴})

مورفولوژی نانوذل کیتوزان- اسید میرستیک در درصدهای مولی متفاوت اسید میرستیک به کیتوزان ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد و همینطور نانوذل کیتوزان- اسید میرستیک با اسانس درونپوشانی شده با استفاده از دستگاه SEM مدل EM۳۲۰۰ (Unicam- امریکا) آنالیز شد. در شکل ۳-۲ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (سمت راست) و دستگاه پوشش دهنده طلا روی نمونه (سمت چپ) نشان داده شده است. برای آنالیز ۱ قطره از هر کدام از نمونه ها به صورت جداگانه بر روی لام ریخته و در محیط و با استفاده از هوا خشک شد. برای نمونه ی نانوذل ابتدا ۱ سی سی از هر کدام از نمونه نانوذل برداشته و پس از ۵ دقیقه اولتراسوند در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد با ۹۹ سی سی آب مقطر مخلوط شدند. در نهایت، یک قطره از هر کدام از نمونه ها پس از خشک شدن در دمای محیط و پوشش دهی با طلا برای آنالیز استفاده شد. برای مشاهده نانوذل ها دستگاه بر روی ولتاژ پایین (۱۰ کیلووات) تنظیم شد. به دلیل اینکه، در ولتاژهای بالا نانوذل های کیتوزان- اسید میرستیک بوسیله ی جریان الکترونی قوی گرم شده و باعث تغییر شکل و حتی تجزیه شدن سریع آن ها می شود (Beyki et al., 2014).

^{۷۴}SEM: Scanning Electron Microscopy



شکل ۳-۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (سمت راست) و دستگاه پوشش دهنده طلا روی نمونه (سمت چپ)

۳-۲-۴- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ

۳-۲-۴-۱- آماده سازی نمونه ها برای بررسی تاثیر pH

برای آماده سازی نمونه ها، ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوذله ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک/ کیتوزان (غلظت نانوذله در محلول ۱ درصد بود) افزوده و به مدت ۱ دقیقه بوسیله همزن با سرعت ۵۵۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق عمل هم زدن انجام شد. سپس pH های مختلف با NaOH ۱ نرمال حاصل شد. در نهایت، ۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن ها اضافه و بعد از ۱ دقیقه هم زدن، به مدت ۵ دقیقه در حمام اولتراسوند با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند.

۳-۲-۴-۲- آماده سازی نمونه ها برای بررسی تاثیر درصد اسید میرستیک به کیتوزان

برای تهیه این نمونه ها ۱۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوذله های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک/ کیتوزان افزوده و به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۵۵۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق بهم زده شدند. در مرحله ی بعد pH محلول روی بهترین pH بدست آمده از نتایج مرحله قبل تنظیم شد. در مرحله ی پایانی، ۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن ها اضافه و پس از ۱ دقیقه بهم زدن، نمونه ها ۵ دقیقه در حمام اولتراسوند با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

۳-۲-۴-۳- آماده سازی نمونه ها برای بررسی تاثیر میزان روغن

در این آزمایش برای آماده سازی امولسیون های پیکرینگ برای بررسی تاثیر میزان روغن های مختلف بر پایداری، ابتدا مقادیر مختلف ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوذله با بهترین درصد مولی اسید میرستیک/ کیتوزان بدست آمده از مرحله قبل اضافه و مخلوط ها به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق هم زده شدند. در مرحله بعد، pH محلول روی بهترین pH بدست آمده از مراحل قبل تنظیم شد. در نهایت، بعد از افزودن ۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر به نمونه ها و ۱ دقیقه هم زدن، نمونه ها در حمام اولتراسوند با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند.

۳-۲-۵- بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ

۳-۲-۵-۱- میکروسکوپ نوری

برای بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ در سه آزمایش مختلف از تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری (GX-ژاپن) استفاده شد. در شکل ۳-۲ تصویر میکروسکوپ نوری نشان داده شده است. از همه ی نمونه ها در روز اول (۳ ساعت بعد از آماده سازی) و بعد از ۷ روز با استفاده از میکروسکوپ نوری تصاویری تهیه شد. برای آنالیز یک قطره از قسمت سرمی نمونه بر روی لام ریخته و یک عدد لامل بر روی نمونه قرار داده شد. برای مشاهده نمونه از دو بزرگنمایی ۱۰۰× و ۴۰× در دمای اتاق استفاده شد. در ادامه، اندازه ذرات نمونه ها با استفاده از نرم افزار image محاسبه شد (Cheong et al., 2016).



شکل ۳-۲: میکروسکوپ نوری

۳-۲-۵-۲- محاسبه ضریب خامه ای شدن

ضریب خامه ای شدن به طور غیرمستقیم اطلاعات لازم برای تخمین میزان انعقاد قطرات و پایداری امولسیون را در اختیار می گذارد. به عبارت دیگر، ضریب خامه ای شدن بالاتر نشان دهنده سرعت بالاتر خامه ای شدن و اندازه بزرگتر ذرات می باشد. بررسی میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ مطابق با روش کومانچای و مککلمنت انجام شد (Keowmaneechai and McClements, 2002). امولسیون بعد از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری در دمای اتاق به دو فاز مجزا که شامل قسمت بالایی (لایه ی خامه ای) و قسمت زیرین (لایه ی سرمی) بود، تقسیم شد. ضریب خامه ای شدن $(CI^{۷۵})$ از فرمول زیر محاسبه شد:

$$CI(\%) = (Hc/Ht) \times 100 \quad \text{معادله (۳-۱):}$$

^{۷۵}CI: Creaming Index

برای این آنالیز ارتفاع لایه ی خامه ای ($Hc^{۶}$) و ارتفاع کل ($Ht^{۷}$) امولسیون پیکرینگ ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی با خط کش اندازه گیری شد و با جایگذاری در فرمول بالا ضریب خامه ای شدن حاصل شد (cheong et al., 2016).

۳-۲-۶- بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن دانه کتان با اسانس میخک

۳-۲-۶-۱- آماده سازی نمونه ها

برای بررسی پایداری اکسیداتیو ۶ تیمار مختلف با شرایط بهینه امولسیون پیکرینگ بدست آمده از آزمایش پایداری تهیه شد و به فاصله زمانی معین آزمون های پراکسید و TBA انجام شد. نحوه ی تهیه ی ۶ تیمار در زیر ذکر شده است:

۱- امولسیون پیکرینگ بهینه

۲- امولسیون با امولسیفایر توئین ۸۰: برای تهیه این امولسیون تمام شرایط مشابه امولسیون بهینه پیکرینگ بود به جز ماده امولسیون کننده. در این نمونه دقیقاً معادل نانوزل استفاده شده در امولسیون پیکرینگ بهینه و به جای آن امولسیفایر توئین ۸۰ اضافه شد.

۳- امولسیون پیکرینگ بهینه با اسانس میخک اضافه شده در روغن به میزان ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر: در این نمونه قبل از اضافه کردن روغن دانه کتان به امولسیون میزان ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر اسانس میخک به روغن اضافه شد.

۴- امولسیون پیکرینگ بهینه با اسانس میخک اضافه شده در روغن به میزان ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر: در این نمونه قبل از اضافه کردن روغن دانه کتان به امولسیون میزان ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر اسانس میخک به روغن اضافه شد.

^۶Hc: Heights of cream layer

^۷Ht: Total heights

۵- امولسیون پیکرینگ با اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در نانوژل: در مورد این نمونه همان میزان اسانسی که در مورد نمونه ۳ به روغن اضافه شده بود درون نانوژل با استفاده از روش هادیان و همکاران (۱۳۹۵) درونپوشانی شد (هادیان و همکاران، ۱۳۹۵) و سپس نانوژل حاوی اسانس برای تهیه امولسیون استفاده شد.

۶- امولسیون پیکرینگ با اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در نانوژل: در مورد این نمونه همان میزان اسانسی که در مورد نمونه ۴ به روغن اضافه شده بود درون نانوژل با استفاده از روش هادیان و همکاران (۱۳۹۵) درونپوشانی شد و سپس نانوژل حاوی اسانس برای تهیه امولسیون استفاده شد.

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

عدد پراکسید، میزان هیدروپراکسیدهای تولید شده ناشی از واکنش‌های اولیه اکسیداسیون را نشان می‌دهد. محصولات اولیه اکسیداسیون موجود در نمونه‌ها مطابق با روش شانتا و دکر (۱۹۹۴) تعیین شد (Shantha and Decker, 1994). برای اندازه‌گیری عدد پراکسید پس از آماده‌سازی، محلول کلرید آهن (II) و محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیم، 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 درصد آمونیم تیوسیانات (وزنی/حجمی) افزوده و به مدت ۲-۴ ثانیه 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 UV۲۱۵۰ (Unico، امریکا) در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. در شکل ۳-۳ تصویر اسپکتروفتومتر نور مرئی نشان داده شده است. محلول شاهد کلروفرم/متانول (۳:۷ حجمی/حجمی) بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت‌های ۰/۵ تا ۳ میکرولیتر/لیتر کیومن تهیه و توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد و در

برنامه اکسل منحنی استاندارد (معادله ۳-۲) آن رسم گردید. عدد پراکسید (PV) به صورت میکرومول پراکسید در کیلوگرم روغن بیان شد (Waraho et al., 2011).

$$\text{معادله (۳-۲): } Y = 0.047 X + 0.016$$

$Y =$ میزان جذب خوانده شده ، $X =$ غلظت پراکسید بر حسب میکرولیتر/لیتر



شکل ۳-۳: اسپکتروفتومتر نور مرئی

۳-۲-۶-۳- ارزیابی پایداری اکسیداتیو با تست TBA

تغییرات در محصولات ثانویه اکسیداسیون امولسیون پیکرینگ، از طریق اندازه گیری مقدار TBARS^{۷۸} مطابق با روش توصیف شده توسط مکدونالد و هالتین تعیین شد (Mcdonald and Hultin, 1987). برای آزمایش ۲ میلی لیتر محلول TBA (۱۵ گرم تری کلرو اسید استیک + ۰/۳۷۵ گرم TBA + ۱/۷۶ میلی گرم اسید هیدروکلریدریک ۱۲ نرمال + ۸۲/۹ میلی لیتر آب مقطر) 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 به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفیوژ مدل R۵۸۱۰ (ependorf, آلمان) سانتریفیوژ شد. در شکل ۳-۴ تصویر سانتریفیوژ نشان داده شده

است. 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 (معادله (۳-۳)) غلظت های مختلفی از ۱، ۱، ۳، ۳- تتراهیدروکسی پروپان تهیه شد و توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید. عدد TBARS به صورت میکرومول مالون آلدئید در کیلوگرم روغن بیان شد (Venkateswarlu G, 2014).

$$Y = 0.1231 X - 0.1434 \quad \text{معادله (۳-۲)}$$

$Y =$ میزان جذب خوانده شده ، $X =$ غلظت مالون آلدئید بر حسب میکرولیتر/ لیتر



شکل ۳-۴: سانتریفیوژ

۳-۲-۷- تجزیه و تحلیل داده ها

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

^۸TBARS: ThibarBituric Acid Reactive Substances

فصل چہارم:

بحث و

نتیجہ گیری

۴-۱- تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن بذر کتان

در جدول ۴-۱ پروفایل اسیدهای چرب حاصل از کروماتوگرافی گازی نشان داده شده است. نتایج حاصل از پروفایل اسیدهای چرب نشان می دهد، حدود ۵۲ درصد اسیدهای چرب روغن بذر کتان را اسیدهای چرب (۳- ω) تشکیل داده اند. با توجه به جدول ۴-۱ تنها ۱۰ درصد اسیدهای چرب روغن بذر کتان از اسیدهای چرب اشباع تشکیل شده است. نتایج هال و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد، در روغن بذر کتان میزان اسیدهای چرب (۳- ω) بین ۴۷/۴-۵۸/۷ درصد و میزان اسیدهای چرب اشباع بین ۷-۱۳ درصد بود که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد (Hall et al., 2016). نیکتر و کیمالین (۲۰۰۶) در مطالعات خود بیان کردند، روغن بذر کتان به طور قابل توجهی میزان بالای اسید چرب آلفا لینولنیک دارد و این میزان بین ۳۴/۱-۶۴/۶ درصد متغیر است و این تغییرات به گونه های مختلف و روش های آنالیز مربوط می شود (Nykter et al., 2006). پوپا و همکاران (۲۰۱۲) اسیدهای چرب روغن بذر کتان را اندازه گیری کردند. طبق نتایج، میزان اسید چرب آلفا لینولنیک ۵۳/۲۱ درصد و اسید چرب لینولنیک ۲۵ درصد و اسیدهای چرب اشباع به طور تقریبی کمتر از ۱۰ درصد بود (Popa et al., 2012). همچنین، با توجه به جدول ۴-۱ نسبت اسیدهای چرب (۳- ω) به (۶- ω) به طور تقریبی ۱:۳ است که این نتیجه با یافته های داوون و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد (Daun et al., 2003). سیمپالس (۲۰۰۲) میزان اسیدهای چرب آلفا لینولنیک را ۵۳ درصد، لینولنیک ۱۷ درصد، اولئیک ۱۹ درصد و اسیدهای چرب اشباع را حدود ۹ درصد اندازه گیری کرد و نسبت اسیدهای چرب (۳- ω): (۶- ω) را ۱:۰/۳ تخمین زد (Simopoulos, 2002). علاوه بر این، نتایج نشان می دهد، روغن بذر کتان به دلیل داشتن اسیدهای چرب غیراشباع فراوان و وجود بیش از ۵۰ درصد اسیدهای چرب (۳- ω) یک روغن حساس به اکسیداسیون می باشد. براوول و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند، اسیدهای چرب غیراشباع فراوان در روغن بذر کتان علاوه بر فواید بسیار باعث حساس شدن روغن به اکسیداسیون در شرایط نامطلوب فرآوری و نگهداری مواد غذایی می شود

(Brühl et al., 2007). کیوبو (۱۹۹۰) در مطالعات خود بیان کرد، سطح بالای اسیدهای چرب چند غیراشباعی در روغن بذر کتان، آن را تبدیل به روغنی مستعد در برابر اکسیداسیون کرده است (Kubow, 1990).

جدول ۴-۱: پروفایل و درصد اسیدهای چرب روغن بذر کتان

ترکیب	درصد
C16:0	۶۱/۵۰
C16:1	۰/۱۸۳
C18:0	۳/۹۵۰
C18:1	۲۲/۳۲۰
C18:2(n-6) ω6	۱۵/۷۹۶
C18:3(n-3) ω3	۵۱/۶۸۰
اسیدهای چرب اشباع	۱۰
اسیدهای چرب تک اشباعی	۲۲/۵
اسیدهای چرب چند غیراشباعی	۶۷/۵
نسبت (۳-ω) به (۶-ω)	۳/۲۷

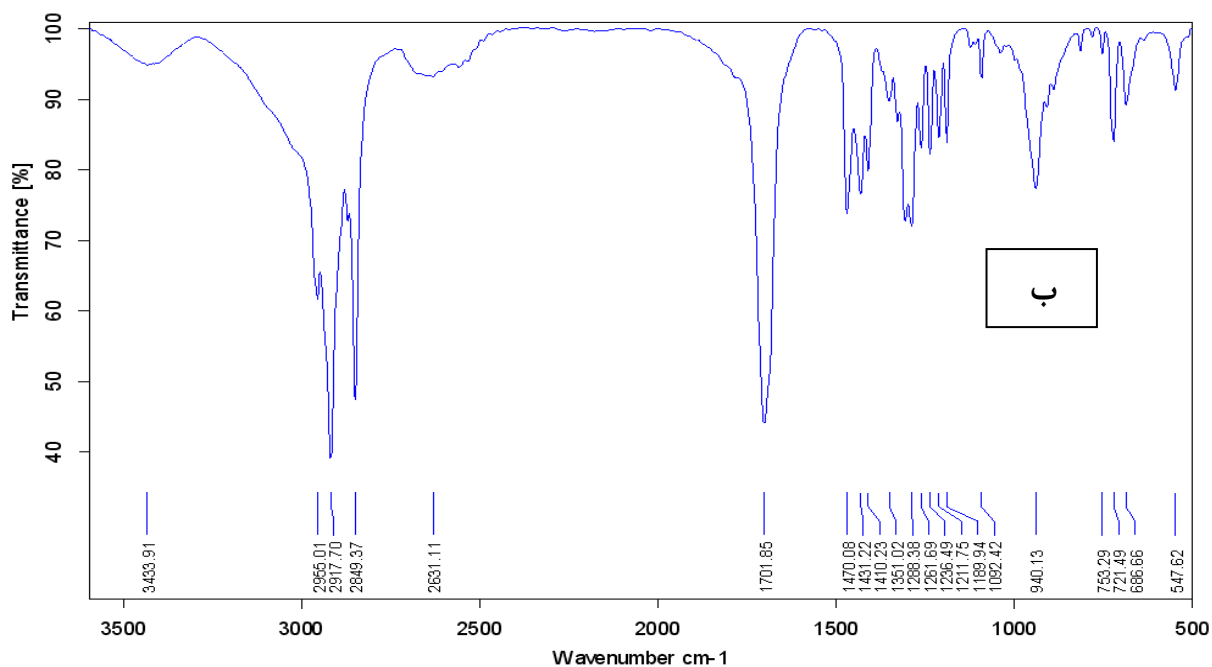
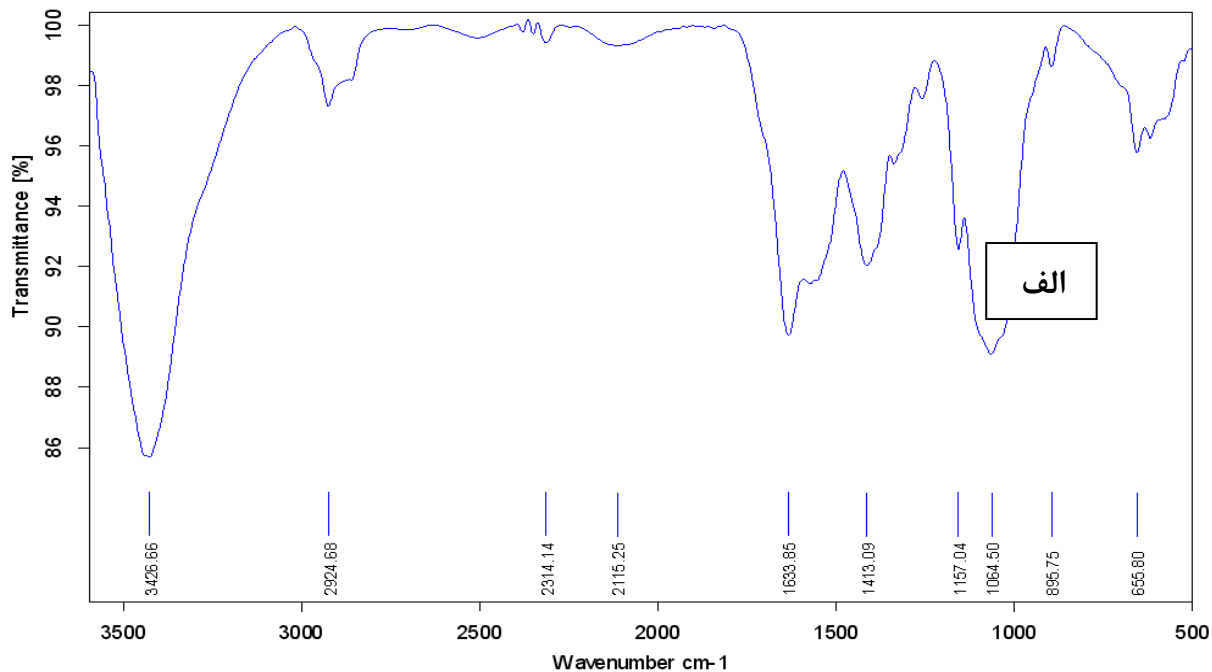
۴-۲- بررسی ساختار نانوذله ها

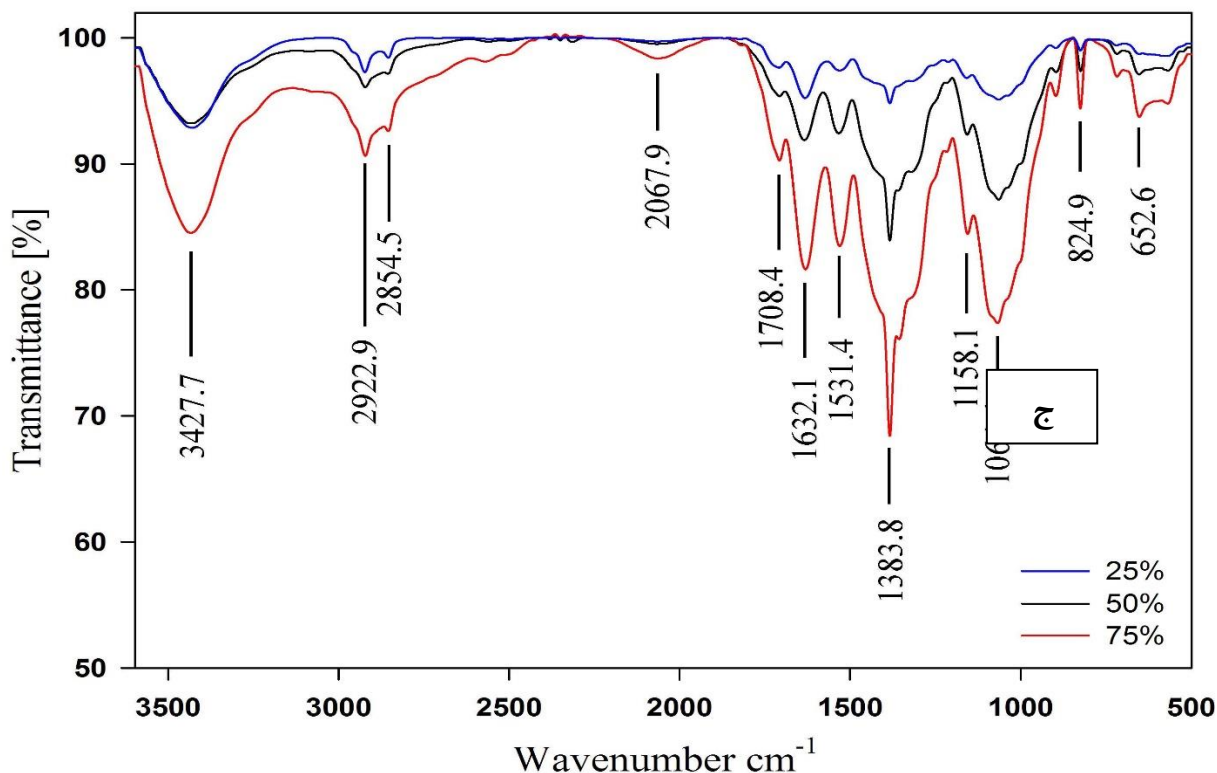
۴-۲-۱- بررسی طیف (FT-IR)

در مرحله اول این تحقیق، نانوذله با مکانیسم خودتجمعی، با استفاده از کیتوزان اصلاح شده تهیه گردید. به منظور اصلاح کیتوزان، قسمتی از گروه های آمین آزاد کیتوزان به گروه های کربوکسیل اسید میرستیک در نسبت های مختلف با استفاده از حد واسط EDC متصل شدند. به منظور، تایید باند ایجاد شده بین گروه آمین کیتوزان و کربوکسیل اسید میرستیک از طیف سنج (FT-IR) استفاده

شد. در شکل (۱-۴) طیف های (FT-IR) مربوط به کیتوزان، اسید میرستیک و نانوذلهای کیتوزان-

اسید میرستیک (درصد مولی اسید میرستیک به کیتوزان ۲۵، ۵۰ و ۷۵) نشان داده شده است.





شکل ۴- ۱: طیف های (FT-IR) مربوط به الف: کیتوزان، ب: اسید میرستیک ج: نانوزل های کیتوزان- اسید میرستیک با درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد.

در شکل (۴- ۱- 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 ارتعاشات کششی C-H گروه های CH_2 است. در 2115 و 1634 به ترتیب پیک های مربوط به ارتعاشات کششی گروه های N-H و N-C آمید کیتوزان (گروه های آمین دی استیله نشده) مشاهده می شود. پیک 1413 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C-H موجود در حلقه های قند است. پیک های مشاهده شده در 1157 مربوط به باندهای اتری C-O یا C-O-C کشش نامتقارن) و در 1064 cm^{-1} مربوط به باندهای الکلی C-O یا (C-O-H) ، ساختار معمول در کیتوزان هستند (Chiono et al., 2008; Peng et al., 2010).

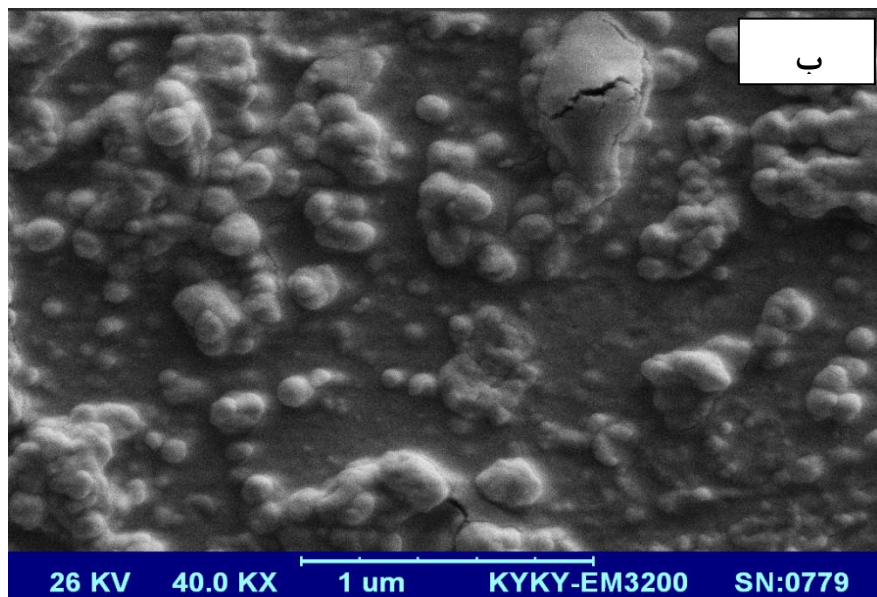
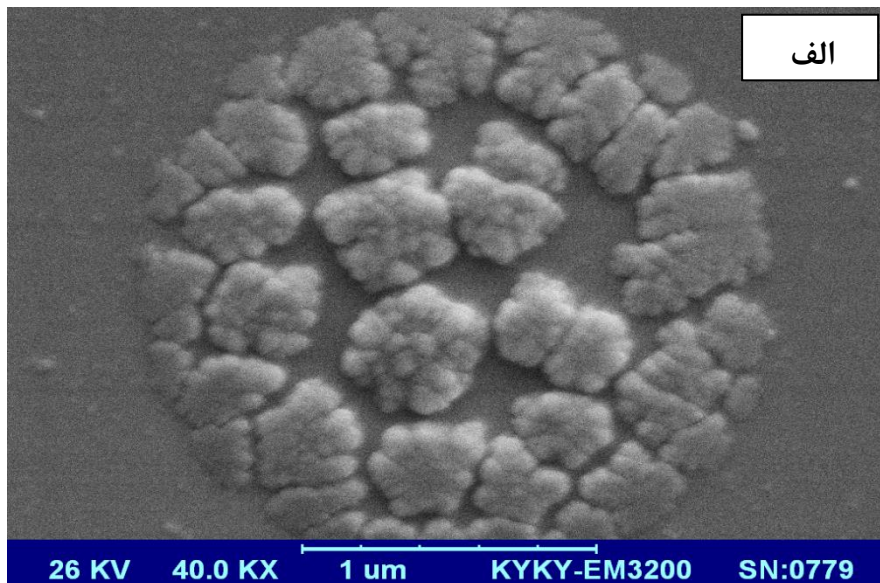
در شکل (۴-۱-ب) طیف مربوط به اسید میرستیک نشان داده شده است. پیک های شناسایی شده در 2917 cm^{-1} و 2849 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C-H گروه های CH_2 ، پیک 1701 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی C=O گروه کربوکسیل اسید چرب، 1470 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات خمشی C-H گروه های CH_2 و گروه CH_3 اسید چرب، 1261 cm^{-1} ارتعاشات کششی C-O گروه کربوکسیل اسید چرب و گروه CH_3 ، 940 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات خمشی OH اسید کربوکسیلیک و پیک های 721 و 686 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات خمشی C-H است (Larkin, 2017).

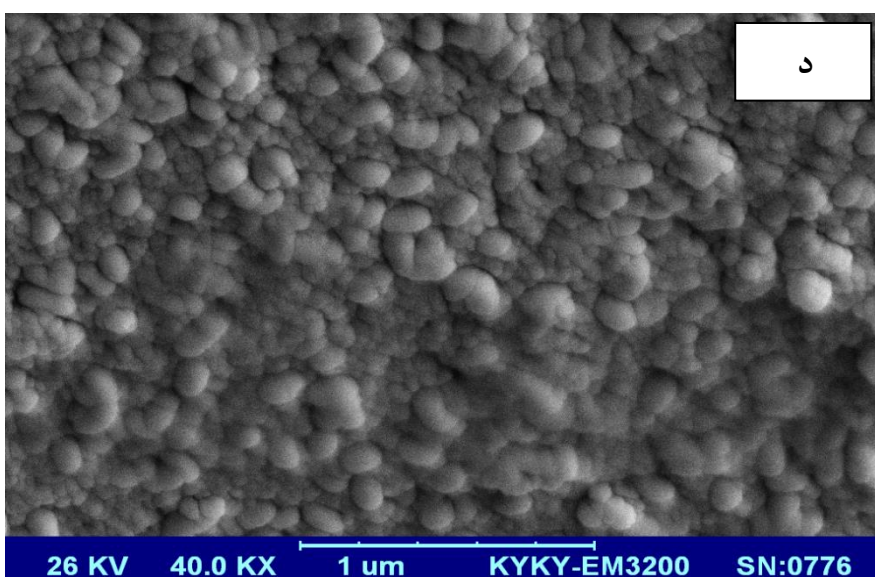
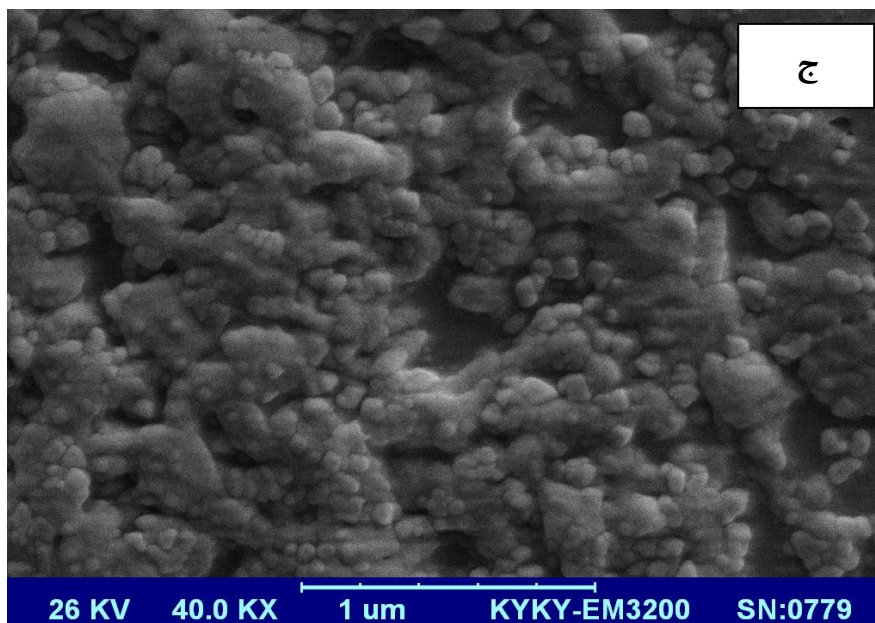
در شکل های (۴-۱-ج) طیف های مربوط به نانوذلهای کیتوزان-اسید میرستیک در درصد های مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشاهده می شود پیک های نواحی 2067 cm^{-1} و 1708 cm^{-1} که به ترتیب مربوط به اتصالات N-C و C=O و پیک های نواحی 1632 cm^{-1} و 1531 cm^{-1} مربوط به اتصالات N-H گروه آمید هستند، با افزایش نسبت اسید میرستیک به کیتوزان از ۲۵ درصد مولی به ۷۵ درصد مولی افزایش داشته است که نشان می دهد اتصالات آمیدی به خوبی شکل گرفته و اسید چرب به کیتوزان با موفقیت متصل شده است. در تمام طیف های مربوط به نانوذلهای 1630 cm^{-1} یک پیک مشاهده می شود، که می تواند به ارتعاشات گروه های آمید مربوط به آمین های دی استیله نشده (Rao et al., 2012) و همچنین، پیوندهای آمیدی جدید حاصل از واکنش بین کیتوزان و اسید میرستیک مربوط باشد. همچنین، در طیف های مربوط به نانوذلهای 1530 cm^{-1} مشاهده می شود، که مربوط به ارتعاشات NH گروه آمید نوع دوم است (Wang et al., 2003). شدت این پیک در طیف های مربوط به نانوذلهای نسبت به طیف کیتوزان خیلی بیشتر شده است، این می تواند در اثر واکنش بین کیتوزان و اسید میرستیک باشد که باعث شده گروه های NH آمید نوع دوم نسبت به کیتوزان افزایش پیدا کند. همچنین، شدت پیک نسبت به یک استاندارد درونی پس از ایجاد پیوند به طور معنی داری کاهش پیدا کرده است، این می تواند در اثر ایجاد پیوند بین کیتوزان و اسید میرستیک باشد (Peng et al., 2010). همچنین، در ناحیه 1384 cm^{-1} در طیف مربوط به تمام نانوذلهای یک پیک قوی مشاهده می

شود، این پیک در طیف کیتوزان (1381 cm^{-1}) یک پیک ضعیف می باشد، این افزایش شدت می تواند در اثر ترکیب کیتوزان با اسید میرستیک ایجاد شده باشد. این افزایش شدت نشان می دهد، مجموعه ارتعاشات خمشی گروه های عاملی C-H ، CH_2 و C-OH خانواده هیدروکربنی (قند) دچار تغییراتی شده اند و از بین این گروه های عاملی هر کدام که تحت شرایط پیوند یا اتفاقاتی نظیر پلیمریزاسیون و یا خارج شدن از فرایند پلیمریزاسیون قرار گرفته باشند باعث، ایجاد این پیک قوی و تیز شده است. علاوه براین، با مقایسه طیف های نانوزل با یکدیگر می توان مشاهده کرد که در مقایسه با یک استاندارد درونی، با افزایش نسبت اسید میرستیک به کیتوزان شدت پیک در ناحیه 1631 cm^{-1} که مربوط به ارتعاشات کششی گروه C=O آمید است افزایش یافته است، که این می تواند ناشی از افزایش گروه های اسید کربوکسیلیک بر روی کیتوزان باشد.

۴-۲-۲- بررسی ساختار نانوزل ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی

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





شکل ۴-۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک با درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک الف: ۰ درصد، ب: ۲۵ درصد، ج: ۵۰ درصد و د: ۷۵ درصد.

شاه و همکاران (۲۰۱۶) در آماده سازی و بهینه سازی امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذرات کیتوزان-تری پلی فسفات برای انکپسولاسیون کورکومین 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، این موجب شد که خوشه هایی بزرگتر از ذرات در محلول ایجاد شود (Shah et al., 2016).

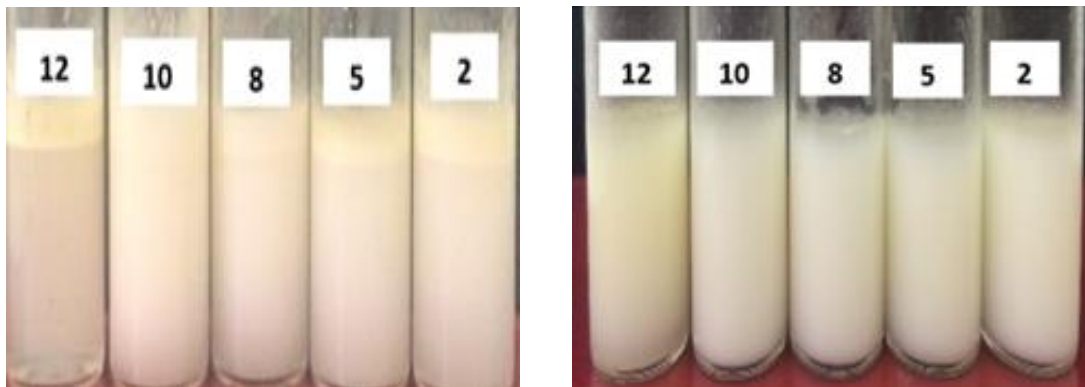
۴-۳- بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ

۴-۳-۱- بررسی تاثیر pH بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان

پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان با استفاده از نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک در pH های مختلف ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ در روز اول (۳ ساعت بعد از آماده سازی) و بعد از ۷ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. در شکل ۴-۳ تصاویر ظاهری امولسیون پیکرینگ در ۵ تیمار مختلف pH در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی نشان داده شده است.

ب

الف



شکل ۴-۳: تصاویر نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک در pH های مختلف در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی

همانطور که در تصاویر مشاهده می شود، ۳ ساعت بعد از آماده سازی (الف)، امولسیون پیکرینگ در ۵ تیمار از لحاظ ظاهری پایدار بوده و تفاوتی در آن ها مشاهده نشده است. به عبارت دیگر، دوفاز شدن و تشکیل لایه ی خامه ای در هیچ یک از نمونه ها مشاهده نشد. در حالیکه، بعد از هفت روز

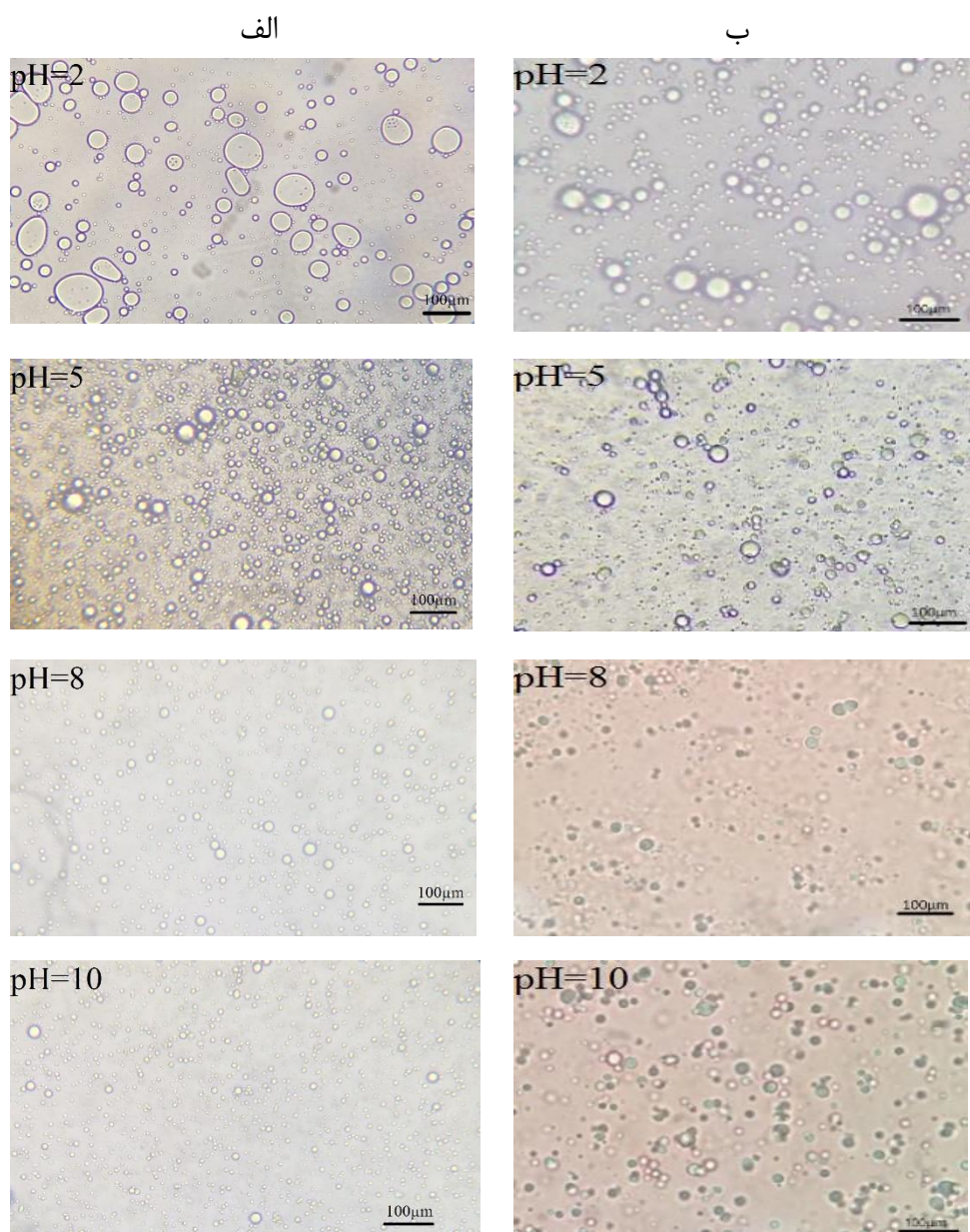
(ب) ، خامه ای شدن و دو فاز شدن در همه ی نمونه ها به غیر از نمونه ها با $pH=8$ و $pH=10$ مشاهده شد که این مقدار در تیمارها با تفاوت اندکی صورت گرفت. به طوری که دو فاز شدن در $pH=12$ بیشتر از سایر نمونه ها بود.

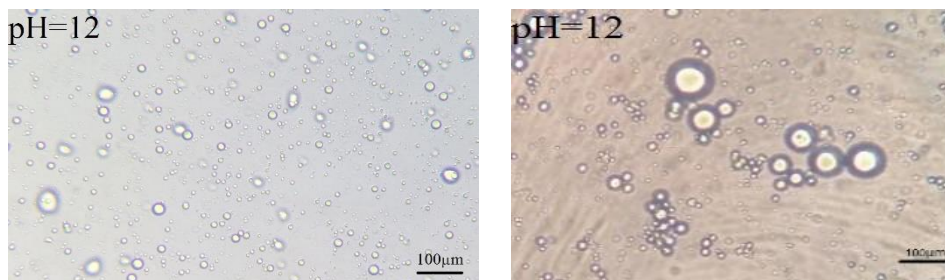
پایداری خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ با استفاده از محاسبه ی ضریب خامه ای شدن بعد از اندازه گیری ارتفاع لایه ی خامه ای و ارتفاع کل امولسیون مورد بررسی قرار گرفت. در جدول ۲-۴ ضریب خامه ای شدن نمونه ها نشان داده شده است. در هیچ کدام از نمونه ها بعد از ۳ ساعت خامه ای شدن رخ نداد. بنابراین، ضریب خامه ای شدن برای آن ها صفر محاسبه شد. در حالیکه، بعد از ۷ روز در تمامی نمونه ها به غیر از نمونه با $pH=8$ و $pH=10$ خامه ای شدن مشاهده شد. همانطور که نتایج نشان می دهد، امولسیون در $pH=12$ با ضریب خامه ای شدن $19/4$ درصد دارای بیشترین و $pH=8$ و $pH=10$ با ۰ درصد دارای کمترین ضریب خامه ای شدن بودند. اعداد بدست آمده بیانگر پایداری امولسیون پیکرینگ می باشد. به عبارت دیگر، امولسیون پیکرینگ روغن دانه کتان در $pH=8$ و $pH=10$ دارای بیشترین پایداری و $pH=12$ دارای کمترین پایداری در برابر خامه ای شدن بودند. این مشاهدات می تواند به قطرات امولسیونی نسبتاً بزرگ که باعث، ایجاد اختلاف دانسیته زیاد بین فاز آبی و قطرات و افزایش تمایل به بالارفتن شده، نسبت داده شود (Mwangi et al., 2016).

جدول ۲-۴: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در pH های ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0/05$ است.

pH نمونه	ضریب خامه ای شدن (درصد)	
	۳ ساعت	۷ روز
۲	۰	$16/7 \pm 1/7^b$
۵	۰	$16/1 \pm 1^b$
۸	۰	0 ± 0^c
۱۰	۰	0 ± 0^c
۱۲	۰	$19/4 \pm 0/9^a$

تصویرهای ظاهری نمونه‌ها و ضریب پایداری، به دلیل نزدیکی زیاد بین نمونه‌ها بیانگر نتیجه دقیق نبود و به همین دلیل، برای بدست آوردن نتیجه دقیق‌تر از تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری و محاسبه‌ی اندازه ذرات استفاده شد. تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری در pH های مختلف ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده‌سازی به ترتیب در قسمت (الف) و (ب) شکل ۴-۴ آورده شده است.

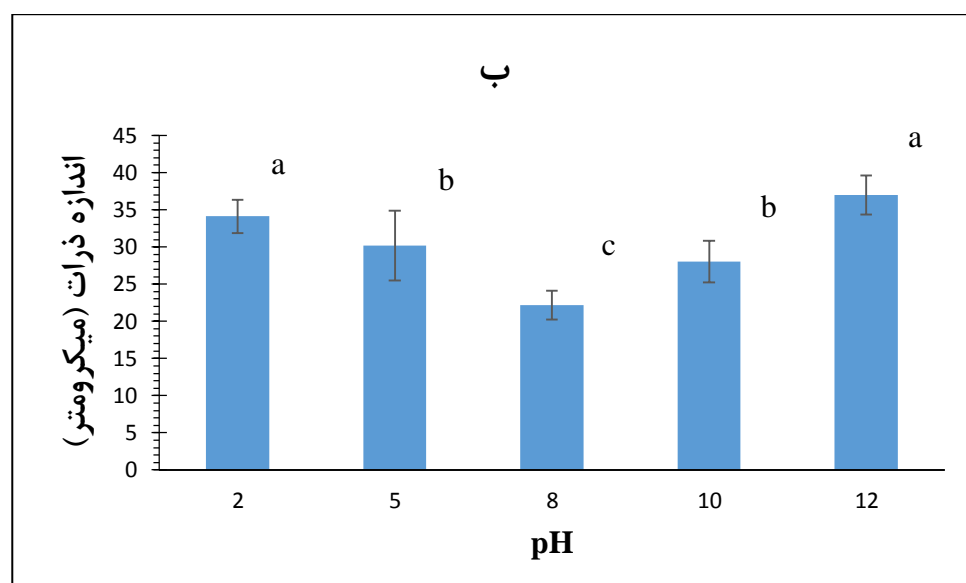
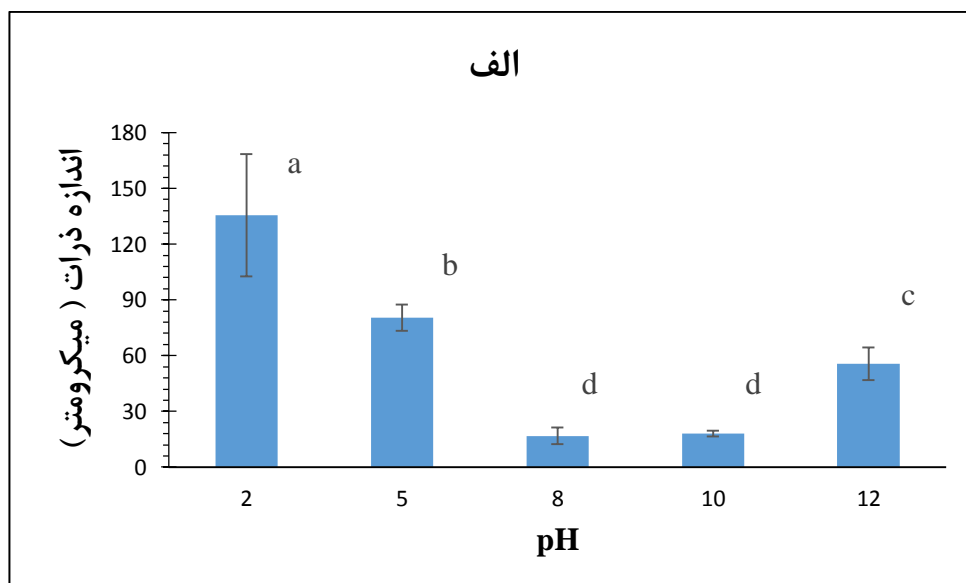




شکل ۴-۴: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در pH های مختلف ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ بعد از ۳ ساعت (۴۰×) (الف) و بعد از ۷ روز (pH های ۸، ۱۰ و ۱۲ با عدسی ۱۰۰×) (ب)

همانطور که در شکل ۴-۴ (الف) نشان داده شده است، ۳ ساعت بعد از آماده سازی، ذرات امولسیون پیکرینگ در pH=۲ اختلاف زیادی نسبت به سایر نمونه ها داشت و دارای بزرگترین ذرات بود. بزرگ شدن ذرات در این pH احتمالاً از انعقاد و فلوکولیشن شدن بین ذرات امولسیون نشأت گرفته است. در صورتی که، در pH=۸ ذرات امولسیون پیکرینگ از سایر نمونه ها کوچکتر بوده و شباهت زیادی بین ذرات pH=۸ و pH=۱۰ دیده می شود. بعد از ۷ روز دومرتبه از نمونه ها تصاویر میکروسکوپی تهیه شد. بعد از ۷ روز (۴-۴ ب)، pH=۱۲ و سپس pH=۲ به ترتیب دارای بزرگترین ذرات بودند و اختلاف کمی میان آن ها دیده شد، همچنین کوچکترین ذرات به pH=۸ تعلق داشت.

با استفاده از تصاویر میکروسکوپی و به کمک نرم افزار image اندازه ی ذرات هر کدام از نمونه ها به صورت عددی محاسبه شد. اندازه ذرات و سطح معنی داری آن ها در سطح $P < 0.05$ در شکل ۴-۵ نشان داده شده است.



شکل ۴-۵: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در pH های مختلف ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ بعد از ۳ ساعت (الف) و بعد از ۷ روز (ب). حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است.

همانطور که مشاهده می شود، ۳ ساعت بعد از آماده سازی (۴-۵ الف)، اندازه ذرات اختلاف زیادی با یکدیگر داشتند و امولسیون پیکرینگ در $pH=2$ با میانگین اندازه ذرات $135/59$ میکرومتر دارای بزرگترین و در $pH=8$ و $pH=10$ به ترتیب با میانگین اندازه ذرات $16/82$ و $18/19$ میکرومتر دارای کوچکترین اندازه ذرات بودند. به عبارت دیگر، در $pH=8$ امولسیون پیکرینگ در وضعیت پایدارتری

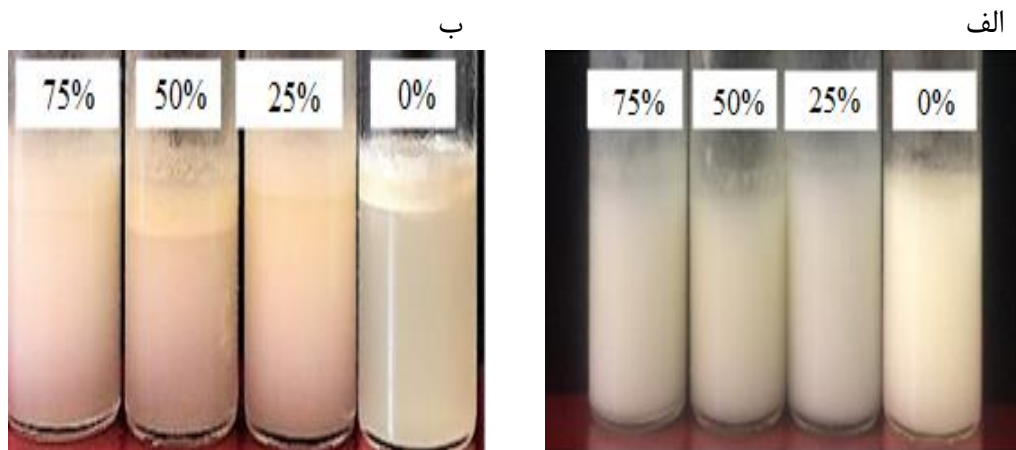
نسبت به سایر تیمارها قرار داشت. بعد از ۷ روز (۴-۵ ب)، اندازه ذرات در pH های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف کمتری در اندازه ذرات تیمارهای مختلف مشاهده شد. نتایج نشان داد، در pH=۱۲ امولسیون پیکرینگ با میانگین اندازه ذرات ۳۶/۹۷ میکرومتر و سپس در pH=۲ با میانگین اندازه ذرات ۳۴/۱۴ میکرومتر بیشترین و در pH=۸ با میانگین اندازه ذرات ۲۲/۱۶ میکرومتر کمترین اندازه ذرات را داشت. این موضوع بیانگر این مطلب است که، امولسیون پیکرینگ مجدداً بعد از ۷ روز در pH=۸ بیشترین پایداری را به خود اختصاص داده است. نتایج این تحقیق نشان داد، نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک در pH های بازی و نزدیک به خنثی عملکرد بهتری را در پایداری امولسیون پیکرینگ روغن دانه کتان از خود نشان داد و در pH های خیلی بازی و خیلی اسیدی امولسیون های پیکرینگ در ناپایداریترین حالت خود قرار داشت. با توجه به اینکه، کیتوزان یک پلی ساکارید کاتیونی است و روی سطح آن بدلیل آمین های پروتونه شده بارهای مثبت قرار دارد، در pH های کمی بازی، بارهای مثبت آن خنثی شده و کیتوزان به حالت رسوب درآمد، 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. هانگ و همکاران (۲۰۱۷) به این نتیجه دست یافتند، امولسیون های پایدار با استفاده از دیسپرسیون آبی هیدروکسی اپتایت در pH های ۷ یا ۱۰ بدست آمدند. در این شرایط، هیچگونه جداسازی فاز به مدت ۲۴ ساعت دیده نشد. زمان پایداری با افزایش pH از ۷ به ۱۰ افزایش یافت. پایدار بودن امولسیون به حلالیت هیدروکسی اپتایت در pH های پایین و فلوکه شدن در pH های بالا ربط داده شد (Zhang et al., 2017). موانگی و همکاران (۲۰۱۶) به این نتیجه دست یافتند، امولسیون پیکرینگ پایدار شده بوسیله کیتوزان در pH=۷ و pH=۸ در پایداریترین حالت خود در برابر انعقاد قطره و خامه ای شدن بودند. این مشاهدات ممکن است به دلیل کاهش دافعه های الکترواستاتیکی که منجر به تجمع شاخه های پلیمری در سطح مشترک روغن-آب و در نتیجه تقویت فیلم بین سطحی شده باشد، نسبت داده شود. متقابلاً، کاهش در نیروی دافعه ممکن است اجازه ی رسوب ذرات کیتوزان جذب نشده در قطرات را بدهد. که

این منجر به، تقویت فیلم بین سطحی می شود. همچنین، این مسئله برای ایجاد تنش برای شکل گیری شبکه ی سه بعدی ذرات تجمع یافته برای به دام انداختن قطرات ضروری بود. کاهش pH باعث افزایش ضریب خامه ای شدن و افزایش اندازه قطرات شد، این نتیجه مربوط به پروتونه شدن گروه های آمین در واحدهای گلوکزآمین و افزایش دافعه الکترواستاتیکی 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، کیتوزان به دلیل داشتن گروه های آمین، نسبت به تغییرات pH حساس است. کیتوزان در pH حدود ۴/۱ حل شده و در pH های پایین تر از ۶ آمین های کیتوزان پروتونه و با افزایش pH (نزدیک ۶/۵، که pK_a است.) آمین های کیتوزان پروتون زدایی شد. به همین دلیل، در $pH=4/1$ به دلیل حلالیت کیتوزان امولسیون شکل نگرفت. ولی، با افزایش pH، کیتوزان نامحلول شده و توانسته 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). هو و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ توسط ذرات کلئیدی گلیادین به این نتیجه دست یافتند، در pH های پایین ($pH=3$) گلیادین نتوانست باعث پایداری امولسیون شود که این موضوع را به بارهای زیاد گلیادین در این pH نسبت دادند. به عبارت دیگر، بارهای زیاد باعث افزایش نیروی دافعه نسبت به نیروهایی که ذرات را در طی امولسیفیکاسیون در سطح مشترک قرار دادند، شدند. بنابراین، امکان جذب ذرات بر سطح مشترک روغن- آب و پایداری امولسیون پیکرینگ وجود نداشت. در این تحقیق، ذرات کلئیدی گلیادین در $pH = 4-9$ باعث پایداری امولسیون پیکرینگ به مدت ۲ ماه شد (Hu et al., 2016). وی و همکاران (۲۰۱۲) در استفاده از کیتوزان به عنوان پایدار کننده در تولید امولسیون پیکرینگ حساس به pH به این موضوع پی بردند، 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 داخل پلیمری و به تبعیت از آن باعث تشکیل نانوذرات ژلی شود (Wei et al., 2012). نان و همکاران (۲۰۱۴) در پایدارسازی امولسیون پیکرینگ توسط ذرات آلژینات با پوشش کیتوزانی به این مطلب دست یافتند، در pH های پایین تر از pK_a مولکول های کیتوزان (۶/۵)، ذرات به دلیل دافعه ی الکترواستاتیکی بین پلیمرهای کیتوزانی در ذرات، متورم شدند. این متورم شدن باعث هیدروفیلیک شدن بیشتر ذرات شد و آن ها نتوانستند در سطح مشترک روغن- آب قرار گیرند بنابراین، باعث ناپایداری امولسیون پیکرینگ شدند. (Nan et al., 2014).

۴-۳-۲- بررسی تاثیر درصد مولی اسید میرستیک به کیتوزان بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان

پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان پایدار شده توسط نانوذل کیتوزان- اسید میرستیک در درصدهای مولی مختلف ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد اسید میرستیک به کیتوزان مورد بررسی قرار گرفت. تصویر ظاهری شیشه های حاوی نمونه های مختلف در شکل ۴-۶ بعد از ۳ ساعت (الف) و بعد از ۷ روز (ب) نشان داده شده است.



شکل ۴-۶: تصاویر نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذل کیتوزان- اسید میرستیک در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی.

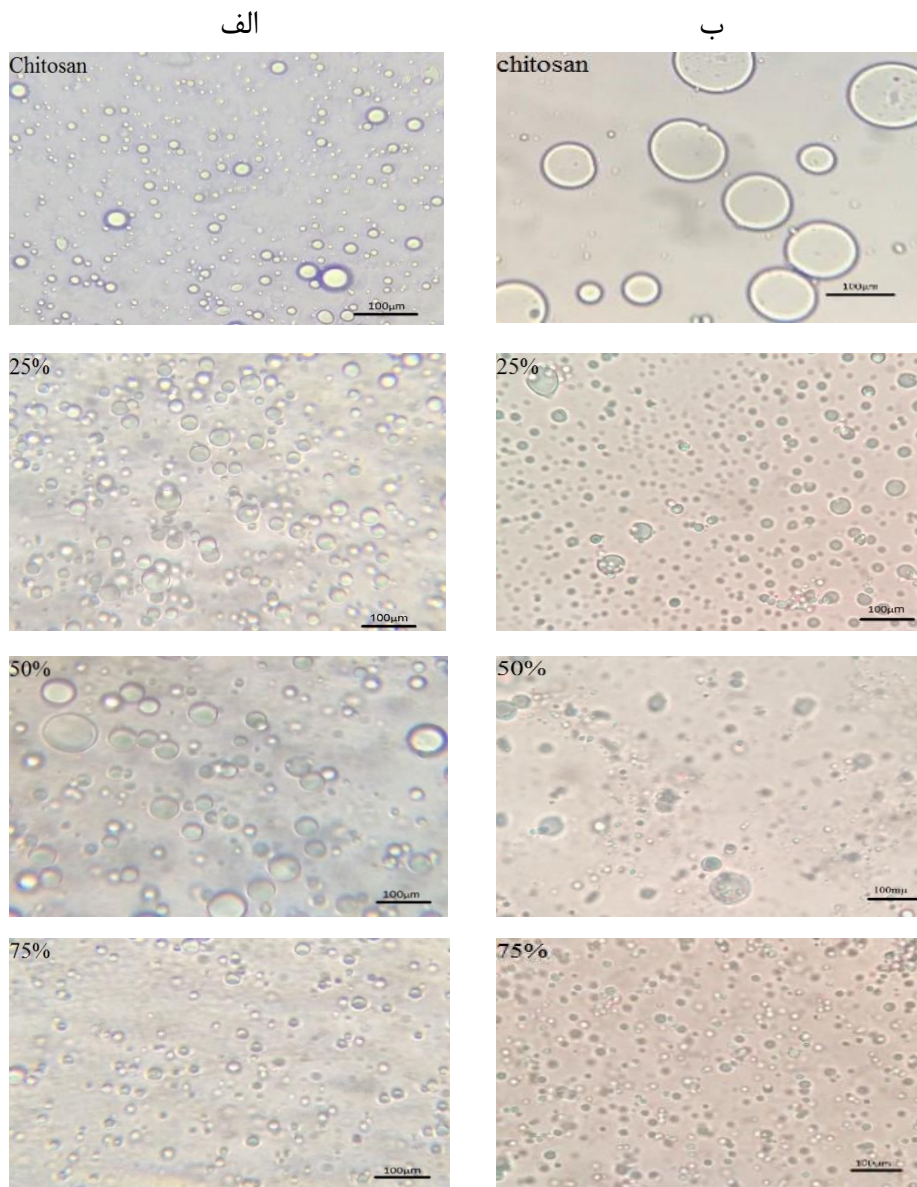
همانطور که در تصویر دیده می شود، بعد از ۳ ساعت تمامی نمونه ها در حالت پایدار قرار داشتند و هیچ گونه دو فاز شدن و خامه ای شدن در آن ها مشاهده نشد، به جز نمونه تهیه شده بوسیله ی کیتوزان اصلاح نشده، که به آرامی تمایل به دوفاز شدن داشت. برخلاف روز اول، بعد از ۷ روز (۴-۶ ب) در تمامی نمونه ها به غیر از نمونه با نانوذل حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک دو فاز شدن و خامه ای شدن با اندکی اختلاف مشاهده شد. بیشترین میزان دوفاز شدن و خامه ای شدن به نمونه با کیتوزان اصلاح نشده تعلق داشت و همانطور که در تصویر مشخص است، فاز سرمی این نمونه شفاف تر بود. میزان خامه ای شدن نمونه ها به صورت عددی محاسبه شد و نتایج محاسبات در جدول ۴-۳ آورده شد.

جدول ۴-۳: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است.

ضریب خامه ای شدن (درصد)	ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان
۷ روز	۳ ساعت
$22/2 \pm 4/8^a$	۰
$13/9 \pm 4/5^b$	۰
$16/5 \pm 1/6^{ab}$	۰
0 ± 0^c	۰

به دلیل اینکه، ۳ ساعت بعد از آماده سازی در هیچ کدام از نمونه ها خامه ای شدن وجود نداشت، ضریب خامه ای شدن برای تمام آن ها صفر در نظر گرفته شد. اما، بعد از ۷ روز مطابق نتایج، نمونه امولسیون پیکرینگ با کیتوزان اصلاح نشده با $22/2$ درصد دارای بالاترین و امولسیون پیکرینگ با نانوذل حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک به دلیل دوفاز نشدن با ضریب خامه ای شدن ۰ درصد دارای پایین ترین ضریب خامه ای شدن بودند. بنابراین، می توان گفت که امولسیون پیکرینگ با ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک پایدارتر بود. برای بررسی دقیق تر، پایداری نمونه های امولسیون

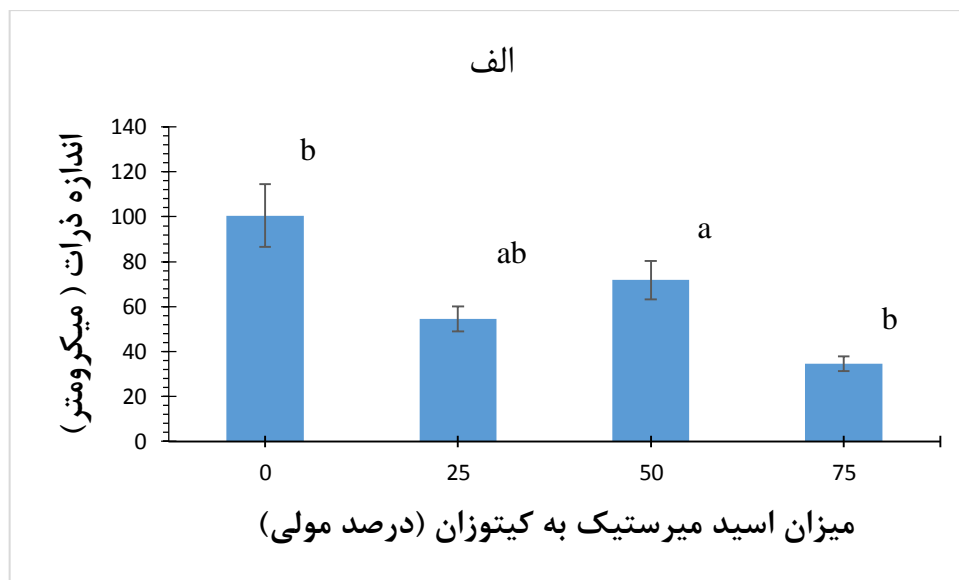
پیکرینگ در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان از نمونه ها بعد از ۳ ساعت و بعد از ۷ روز تصاویر میکروسکوپی تهیه شد. این تصاویر در شکل ۴-۷ آورده شده است.

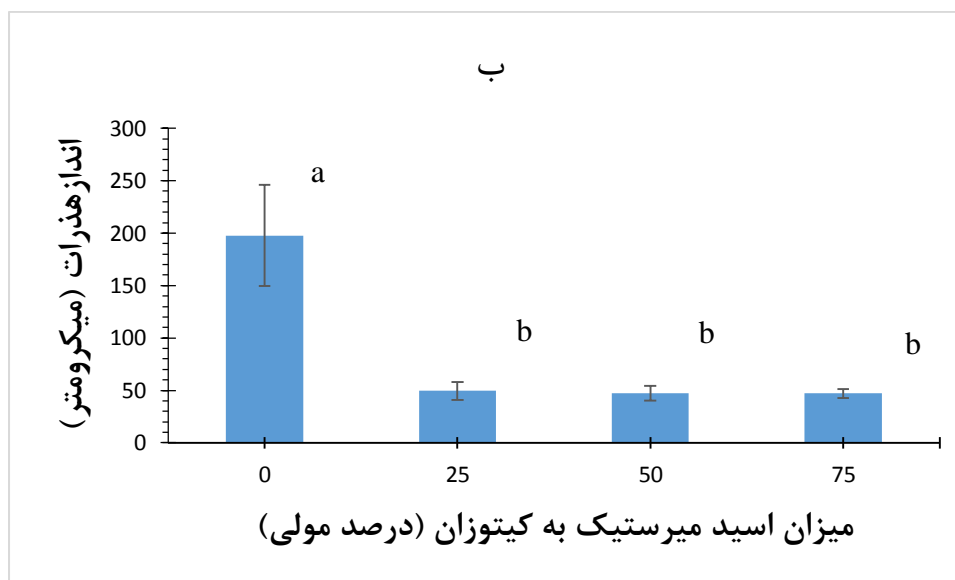


شکل ۴-۷: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان بعد از ۳ ساعت (الف) (کیتوزان با عدسی $\times 40$ و نمونه ها با درصدهای مولی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ با عدسی $\times 100$) و بعد از ۷ روز (ب) (کیتوزان با عدسی $\times 40$ و نمونه ها با درصدهای مولی ۲۵، ۵۰ و ۷۵ با عدسی $\times 100$)

نتایج نشان داد، بعد از ۳ ساعت (۴-۷ الف) امولسیون پیکرینگ با نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک ($100\times$) ریزترین ذرات و امولسیون با نانوذله حاوی ۵۰ درصد مولی اسید میرستیک ($100\times$) درشت ترین ذرات را داشت. همانطور که در تصاویر مشاهده می شود، بعد از ۷ روز (۴-۷ ب) ، بزرگترین ذرات به امولسیون پیکرینگ تهیه شده با کیتوزان اصلاح نشده (۰ درصد مولی اسید میرستیک) ($40\times$) و کوچکترین ذرات به امولسیون پیکرینگ با نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک ($100\times$) تعلق داشت. هر چند، میان تصاویر نمونه ها با نانوذله حاوی درصدهای مولی مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد اسید میرستیک به کیتوزان تفاوت زیادی وجود نداشت.

برای محاسبه ی اندازه ذرات به صورت عددی، از تصاویر میکروسکوپی و نرم افزار image j استفاده شد. اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در شکل ۴-۸ آورده شده است.





شکل ۴-۸: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با درصدهای مولی مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد اسید میرستیک به کیتوزان و کیتوزان اصلاح نشده بعد از ۳ ساعت (الف) و بعد از ۷ روز (ب). حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است.

در ۳ ساعت بعد از آماده سازی (۴-۸ الف)، امولسیون پیکرینگ با نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک با میانگین اندازه ذرات ۳۴/۵۳ میکرومتر دارای کوچکترین ذرات و امولسیون پیکرینگ با کیتوزان اصلاح نشده (۰ درصد مولی) با میانگین اندازه ذرات ۱۰۰/۵۴ میکرومتر دارای بزرگترین اندازه ذرات بودند. بعد از ۷ روز (۴-۸ ب)، امولسیون پیکرینگ تهیه شده با کیتوزان اصلاح نشده (۰ درصد) با میانگین اندازه ذرات ۱۹۷/۷۱ میکرومتر با اختلاف زیادی نسبت به سایر نمونه ها دارای بزرگترین ذرات و امولسیون پیکرینگ با نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک با میانگین اندازه ذرات ۴۶/۹۵ میکرومتر دارای کوچکترین ذرات بود. میان میانگین اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ تهیه شده با درصدهای مولی مختلف ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد اسید میرستیک اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود نداشت. نتایج کلی نشان داد، امولسیون پیکرینگ با نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک، پایداری بیشتر و با کیتوزان اصلاح نشده پایداری کمتری را نسبت به سایرین از خود نشان دادند. به عبارت دیگر، با افزایش درصد مولی اسید

میرستیک در نانوذله پایداري افزایش یافت. نتیجه بدست آمده احتمالاً به بارهای مثبت کیتوزان (آمین های پروتونه شده) و خاصیت هیدروفیلیک آن مربوط شده است. به عبارت دیگر، کیتوزان اصلاح نشده به دلیل داشتن گروه های آمین در ساختار شیمیایی خود دارای ماهیت هیدروفیلیک بیشتری بوده و توانایی کمتری در پایدار کردن امولسیون روغن در آب داشت. با اضافه شدن اسید میرستیک، بارهای مثبت کیتوزان تا حدی خنثی شده و ماهیت آمفی فیلک پیدا کرد. هنگامی که غلظت اسید افزایش یافت، قسمت دوگانه دوست نیز زیاد شده و در نتیجه، ذرات نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک بهتر توانستند در سطح مشترک آب و روغن قرار گیرند. بنابراین، با اضافه شدن اسید میرستیک به کیتوزان پایداري امولسیون پیکرینگ افزایش یافت.

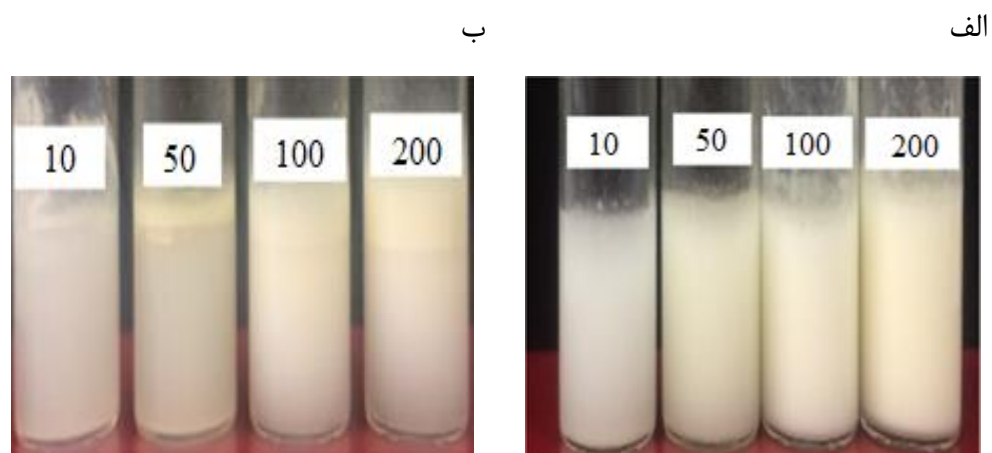
احتمالاً کاهش در میانگین اندازه ذرات با افزایش نسبت اسید میرستیک به کیتوزان از ۲۵ درصد مولی تا ۷۵ درصد مولی، را می توان به افزایش نسبت اسید میرستیک در ساختار کیتوزان و در نتیجه، افزایش گروه های غیرقطبی نسبت داد (Khalili et al., 2015). افزایش گروه های غیرقطبی باعث کاهش دافعه ی الکترواستاتیک و فروپاشی و انبوهش زنجیره های پلیمر در سطح مشترک آب و روغن می شود (Mwangi et al., 2016). همچنین، برهم کنش های استریک احتمالاً به علت فشردگی شدن لایه ی بین سطحی با افزایش نسبت اسید میرستیک باعث ایجاد لایه ی الاستیسیته بین قطرات امولسیون شده و در نتیجه پایداري بیشتری ایجاد می کند (McClements, 2015).

نتایج بدست 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 نمی توانست 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 هیدروکربن بود و خاصیت هیدروفیلی داشت و برای پایدارسازی امولسیون باید اصلاح سطح بر روی کیتوزان صورت می گرفت (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، 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 سایز 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، 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 نشد، با ایجاد شبکه و اتصالاتی در فضای بین قطرات باعث پایداری بیشتر امولسیون شد (Feng and Lee, 2016). همچنین، هانگ و همکاران (۲۰۱۷) پی بردند، افزایش غلظت اسید پلی ال- لاکتیک باعث افزایش برهمکنش آن با نانوذرات هیدروکسی اپتایت شده و این امکان را فراهم کرد که ذرات هیدروکسی اپتایت بیشتر از آن که 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).

۴-۳-۳- بررسی تاثیر میزان روغن بذر کتان بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان

پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک در مقادیر مختلف ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان مورد بررسی قرار گرفت. وضعیت ظاهری شیشه های حاوی نمونه در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در شکل ۴-۹ نشان داده شده است.



شکل ۴-۹: تصاویر نمونه های امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک (۷۵ درصد مولی اسید میرستیک) و $pH=8$ در مقادیر مختلف ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی

با توجه به شکل ۴-۹ (الف)، تمامی نمونه ها در حالت پایدار بودند و تنها در رنگ فاز سرمی آن ها تفاوت ناچیزی وجود داشت. فاز سرمی امولسیون های پیکرینگ با مقادیر ۲۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان نسبت به نمونه های دیگر اندکی زردتر و نمونه با مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن، شیری تر بودند. بعد از ۷ روز (۴-۹ ب)، خامه ای شدن در تمامی نمونه ها به غیر از نمونه با روغن ۱۰۰ میکرولیتر دیده شد. به صورتی که، مقدار خامه ای شدن در نمونه با مقدار روغن ۲۰۰ میکرولیتر از سایر نمونه ها بیشتر و در نمونه با مقدار روغن ۱۰ میکرولیتر کمتر بود. فاز سرمی نمونه ها با مقادیر ۱۰ و ۵۰ میکرولیتر روغن بسیار شفاف و آبکی بود. در حالیکه، فاز سرمی نمونه با مقدار ۲۰۰ میکرولیتر روغن

بذر کتان شیری بود. کم بودن میزان خامه ای شدن و شفافیت فاز سرمی در نمونه ها با میزان روغن ۱۰ و ۵۰ میکرولیتر احتمالاً به دلیل کم بودن بیش از حد روغن بود.

ضریب خامه ای شدن برای بررسی دقیق تر پایداری نمونه ها محاسبه شد. نتایج این محاسبات برای نمونه های امولسیون پیکرینگ در مقادیر مختلف روغن، ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در جدول ۴-۴ آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود، ۳ ساعت بعد از آماده سازی، به دلیل عدم تشکیل حالت خامه ای نمونه ها، ضرایب خامه ای برای تمامی نمونه ها ۰ درصد محاسبه شد. برخلاف روز اول، بعد از ۷ روز ضرایب خامه ای شدن برای تمامی نمونه ها به غیر از نمونه با روغن ۱۰۰ میکرولیتر، به دلیل رخ دادن پدیده ی خامه ای شدن قابل ارزیابی بود و در نمونه های مختلف، درصد های مختلفی بدست آمد. به این صورت که، امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۲۰۰ میکرولیتر با ۲۴/۴ درصد دارای بیشترین و نمونه ها با مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر با ۰ درصد دارای کمترین ضرایب خامه ای شدن بودند. البته لازم به ذکر است، نتایج حاصل از میزان خامه ای شدن نمونه ها برای ارزیابی تاثیر مقدار روغن بر میزان پایداری امولسیون چندان قابل توجیه 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 امولسیون ها دقیق نمی باشد.

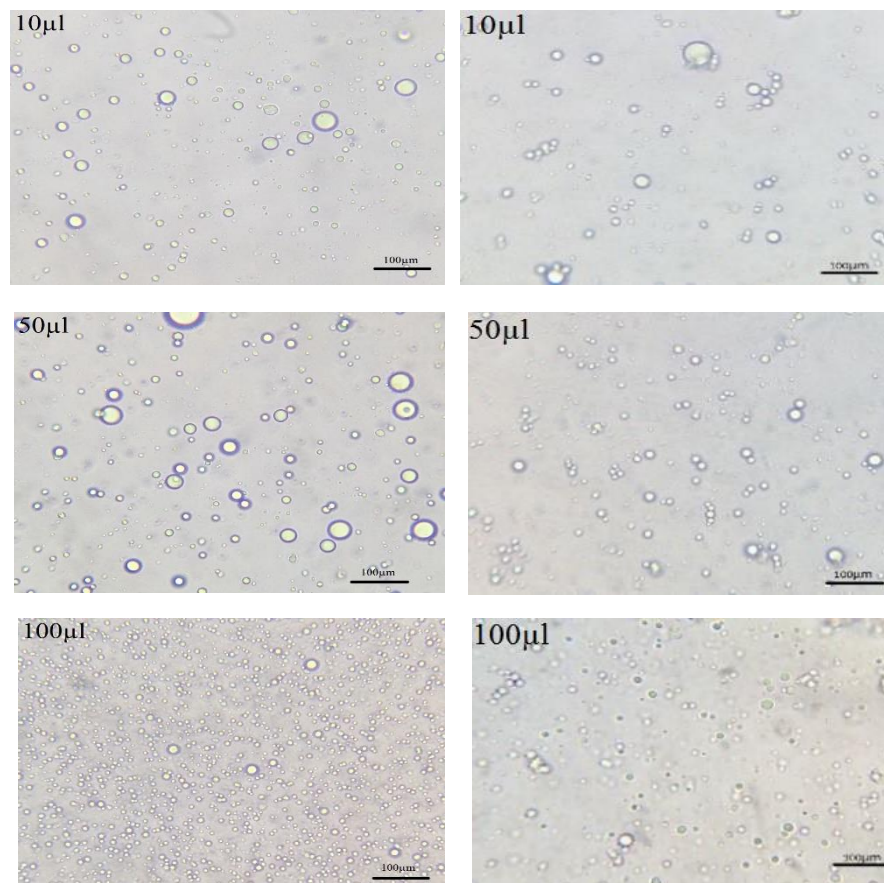
جدول ۴-۴: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در مقادیر مختلف روغن در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است.

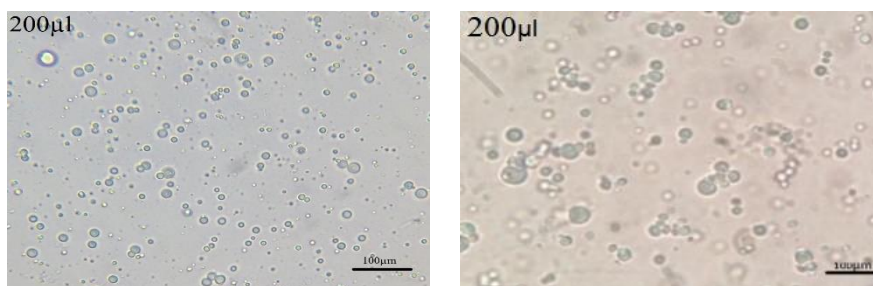
مقدار روغن (میکرولیتر)	ضریب خامه ای شدن (درصد)	
	۳ ساعت	۷ روز
۱۰	۰	$1/9 \pm 0/8^c$
۵۰	۰	$8/9 \pm 0/9^b$
۱۰۰	۰	0 ± 0^d
۲۰۰	۰	$24/4 \pm 2/5^a$

به منظور بررسی اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن بذر کتان، تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری آن ها ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در شکل ۴-۱۰ نشان داده شده است. ۳ ساعت بعد از آماده سازی (۴-۱۰ الف) ، بزرگترین اندازه ذرات به امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۵۰ میکرولیتر و کوچکترین اندازه ذرات به امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر تعلق داشت. همانطور که در تصاویر مشاهده می شود، بعد از ۷ روز (۴-۱۰ ب) ، امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر دارای کوچکترین اندازه ذرات و امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۲۰۰ میکرولیتر دارای بزرگترین اندازه قطرات بود. به دلیل یکسان نبودن بزرگنمایی عدسی، ممکن است تشخیص اندازه قطرات از روی تصاویر میکروسکوپی کاملاً دقیق صورت نگیرد.

الف

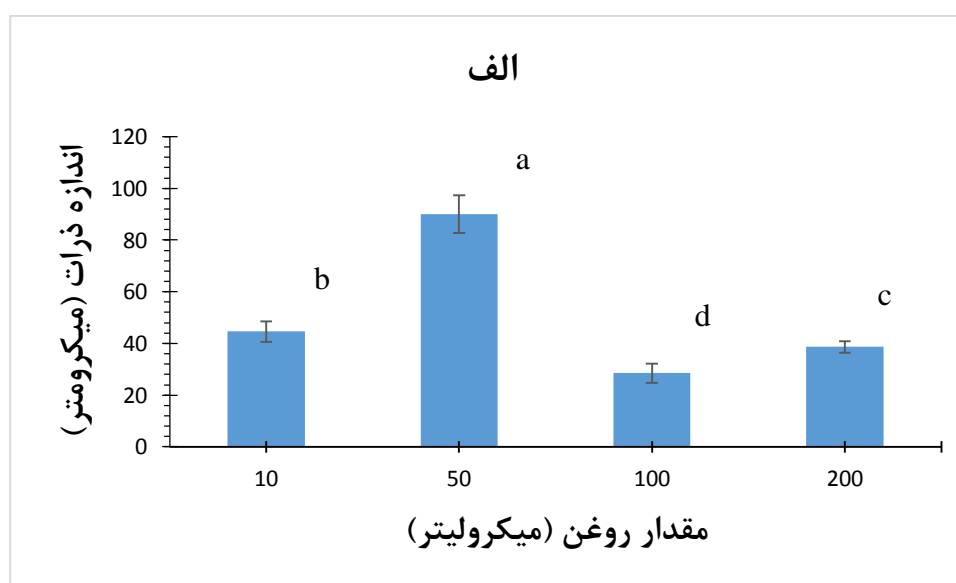
ب

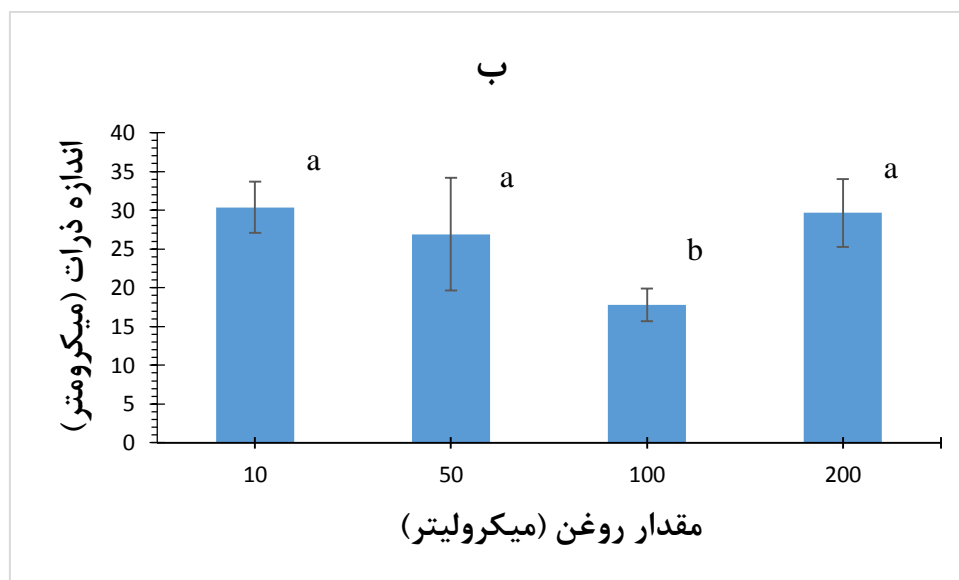




شکل ۴-۱۰: تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ روغن بذر کتان در مقادیر مختلف روغن بذر کتان بعد از ۳ ساعت (الف) (همه ی مقادیر ۱۰، ۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر با عدسی ۴۰× و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر با عدسی ۱۰۰×) و بعد از ۷ روز (ب) (مقادیر ۱۰ و ۵۰ میکرولیتر با عدسی ۴۰× و مقادیر ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر با عدسی ۱۰۰×)

برای بررسی دقیق تر پایداری، از تصاویر میکروسکوپ نوری و نرم افزار image z برای محاسبه عددی اندازه ذرات استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه گیری ها برای امولسیون های پیکرینگ ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در شکل ۴-۱۱ نشان داده شده است.





شکل ۴-۱۱: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده در مقادیر مختلف ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن بذر کتان بعد از ۳ روز (الف) و بعد از ۷ روز (ب). حروف لاتین نشان دهنده سطح معنی داری در سطح $P < 0.05$ است.

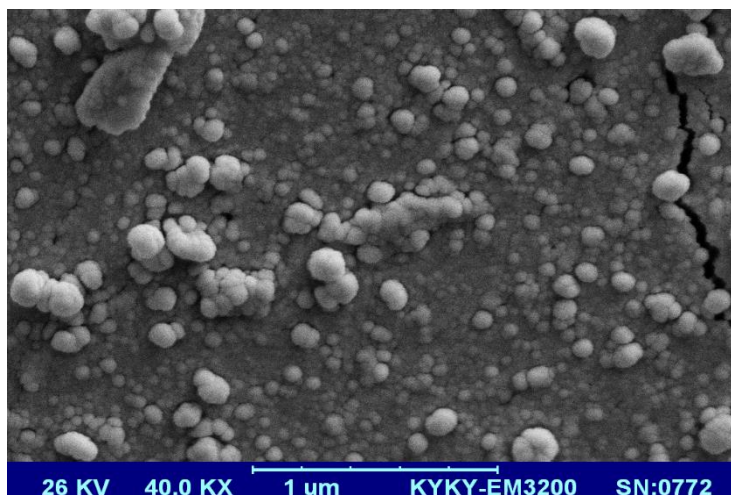
همانطور که در شکل (۴-۱۱ الف) مشاهده می شود، امولسیون پیکرینگ با مقدار روغن ۵۰ میکرولیتر با میانگین اندازه ذرات ۸۹/۹۷ میکرومتر با اختلاف زیادی نسبت به سایر نمونه ها دارای بزرگترین ذرات بود. در حالیکه، امولسیون با مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر با میانگین اندازه ذرات ۲۸/۴۶ میکرومتر دارای کوچکترین ذرات بود. به عبارت دیگر، بیشترین پایداری در ۳ ساعت بعد از آماده سازی، به نمونه با مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر و کمترین پایداری به نمونه با ۵۰ میکرولیتر روغن اختصاص داشت. بعد از ۷ روز (۴-۱۱ ب)، نمونه با مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر با میانگین اندازه ذرات ۱۷/۷۷ میکرومتر کوچکترین و نمونه ها با مقادیر روغن ۱۰ و ۲۰۰ میکرولیتر به ترتیب با میانگین اندازه ذرات ۳۰/۳۴ و ۲۹/۶۵ میکرومتر بزرگترین ذرات امولسیون را داشتند. بنابراین، در روز هفتم نمونه با مقدار ۱۰۰ میکرولیتر دارای بیشترین پایداری و نمونه های ۱۰ و ۲۰۰ میکرولیتر به ترتیب دارای کمترین پایداری بودند. به عبارت دیگر، در مقادیر خیلی بالا و خیلی پایین اندازه ذرات افزایش پیدا کرده بود. بعد از ۷ روز، با افزایش میزان روغن تا میزان ۱۰۰ میکرولیتر میانگین اندازه ذرات کاهش یافت و افزودن روغن بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر باعث افزایش میانگین اندازه ذرات شد. در

مقادیر خیلی پایین روغن، به دلیل زیاد بودن نسبت نانوذله به روغن نه تنها ضخامت لایه ی بین سطحی در اطراف ذرات روغن می تواند افزایش یابد، بلکه میزان نانوذله جذب نشده موجود در فاز پیوسته می تواند ویسکوزیته فاز پیوسته را افزایش دهد (Saberi et al., 2013). بنابراین، در فرایند تولید امولسیون، قطرات بزرگ می تواند بخاطر ویسکوزیته بالاتر و کند شدن سرعت حرکت روغن در فاز پیوسته، ایجاد شود. همچنین، در مقادیر بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر، احتمالاً مقدار نانوذله برای پوشاندن سطح قطرات امولسیون کافی نبود. بنابراین، اندازه قطرات در اثر انعقاد افزایش یافت و باعث ناپایداری امولسیون پیکرینگ شد. نتایج مربوط به مقادیر بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر روغن مشابه نتایج بدست آمده توسط دیگر محققان بود. شاه و همکاران (۲۰۱۶) در بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ توسط نانوذرات کیتوزان- تری پلی فسفات به این نتیجه دست یافتند، 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). زئو 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 میزان 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). اموانگی 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، 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. این اتفاق به دلیل آبدوستی هیدروکسی اپتایت بود که به راحتی توانست امولسیون روغن در آب پایدار در هنگامی که فاز روغنی کم بود، تهیه کند (Zhang et al., 2017).

۴-۴- بررسی اثر اسانس میخک درونپوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات نانوذله

در آزمایشات قبلی، نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک به عنوان بهترین غلظت برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان در آب انتخاب شد. در ادامه آزمایشات، اسانس میخک در دو غلظت ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر در نانوذله حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک درونپوشانی شد و در مرحله بعد برای بررسی اثر آن ها در پایداری اکسیداتیو به همراه تیمارهای دیگر استفاده شد. به منظور بررسی اینکه درونپوشانی اسانس میخک چه اثری روی اندازه ذرات داشته است، از نانوذله با بیشترین غلظت اسانس میخک (۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر) عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شد، که در شکل ۴-۱۲ عکس مربوطه نشان داده شده است. عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله حاوی اسانس در مقایسه با عکس نانوذله بدون اسانس (۴-۲-د) نشان می دهد، اگرچه ذرات در محدوده ۱۰۰ نانومتر وجود داشتند اما، یکنواختی توزیع اندازه ذرات کمتر شد. به عبارت دیگر، درونپوشانی اسانس می تواند همگن بودن اندازه ذرات را تغییر دهد.



شکل ۴-۱۲: عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان-اسید میرستیک با ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک حاوی اسانس میخک

۴-۵- ارزیابی پایداری اکسیداتیو

برای بررسی پایداری اکسیداتیو از شش تیمار مختلف، شامل: امولسیون پیکرینگ روغن بذر کتان با شرایط بهینه بدست آمده از تست پایداری (pH=۸، درصد مولی اسید میرستیک = ۷۵ درصد و میزان روغن ۱۰۰ میکرولیتر) و بدون اسانس، امولسیون روغن بذر کتان با امولسیفایر توئین ۸۰ بدون اسانس، امولسیون پیکرینگ بهینه با ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر اسانس میخک درونپوشانی شده در نانوذله، امولسیون پیکرینگ بهینه با ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر اسانس درونپوشانی شده در نانوذله، امولسیون پیکرینگ بهینه با ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر اسانس درونپوشانی شده در روغن و امولسیون پیکرینگ با ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر اسانس درونپوشانی 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. پراکسیدها همانطور که گفته شد محصولات ابتدایی اکسیداسیون لیپید هستند و نقش مهمی در اتواکسیداسیون لیپیدها ایفا می کنند و در ادامه به کربونیل ها و دیگر ترکیبات ثانویه تجزیه می شوند (Kumari et al., 2014). نتایج آزمون پراکسید برای ارزیابی محصولات اولیه اکسیداسیون تولیدی برای شش تیمار مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۱۵ نگهداری شده در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در جدول ۴-۵ نشان داده شده است.

جدول ۴-۵: میانگین و انحراف معیار مقادیر پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۱۵ نگهداری شده در دمای ۳۵ 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 هشتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
امولسیون پیکرینگ بهینه	۴۹/۳۴±۳/۴۶ ^{d,AB}	۱۸۳/۷۲±۲۵/۲۳ ^{c,C}	۲۸۲/۰۵±۵۵/۹۴ ^{b,CD}	۳۹۳/۳۳±۲۱/۷۸ ^{a,B}	۳۴۹/۹۴±۴۴/۵۴ ^{ab,BC}
امولسیون با توئین	۵۲/۱۳±۱۶/۳۳ ^{d,A}	۳۶۸/۶±۲۲/۹۶ ^{b,A}	۶۷۴/۶۹±۹/۹ ^{a,A}	۳۲۶/۳۸±۲۸/۷۲ ^{c,B}	۲۸۹/۹۸±۵/۲۵ ^{c,C}
اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوژل	۲۳/۷۹±۰ ^{c,C}	۱۳۵/۵۴±۱۶/۰۵ ^{b,D}	۱۹۰/۶±۵۸/۴۹ ^{ab,D}	۱۸۱/۲۷±۴۶/۰۵ ^{ab,C}	۲۵۲/۸۹±۵۹/۸ ^{a,C}
اسانس ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوژل	۱۹/۵۹±۲/۹۷ ^{e,C}	۱۶۲/۱۴±۱۹/۱۱ ^{d,CD}	۲۱۲/۷۶±۱۴/۸۴ ^{c,D}	۳۴۱/۷۷±۲۳/۰۱ ^{b,B}	۷۹۲/۲۷±۳۱/۶۷ ^{a,A}
اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن	۳۲/۵۴±۴/۴۵ ^{e,BC}	۱۹۳/۷±۳۹/۸۵ ^{d,C}	۳۸۱/۰۸±۲۲/۲۷ ^{c,B}	۵۱۴/۴۱±۲۲/۷۶ ^{b,A}	۷۰۳/۰۴±۲۷/۲۲ ^{a,AB}
اسانس ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن	۳۲/۵۴±۵/۴۴ ^{e,BC}	۲۳۹/۱۲±۱۰/۷۱ ^{d,B}	۳۱۶/۶۹±۱۶/۳۳ ^{c,BC}	۴۹۷/۶۱±۴۰/۵۸ ^{b,A}	۱۱۳۳/۸۱±۷/۹۲ ^{a,A}

نتایج حاصل نشان می دهد، مقدار پراکسید برای نمونه امولسیون پیکرینگ بهینه در روز اول ۴۹/۳۴ میکرومول / کیلوگرم روغن بود و تا روز یازدهم افزایش معنی دار و تدریجی داشته و به ۳۹۳/۳۳ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید و در نهایت اندکی کاهش داشت و مقدار پراکسید آن به ۳۴۹/۹۴ میکرومول / کیلوگرم روغن رسید، این کاهش در سطح ۵ درصد معنی دار نبود. 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). مقدار پراکسید نمونه امولسیون با امولسیفایر توئین ۸۰ از روز اول تا روز هشتم با شدت و به طور معنی داری در سطح ۵ درصد افزایش یافت و از ۵۲/۱۳ به ۶۷۴/۶۹ میکرومول/ کیلوگرم روغن رسید و پس از آن کاهش معنی داری یافت و به ۲۸۹/۹۸ میکرومول/ کیلوگرم روغن در روز پانزدهم رسید. به عبارت دیگر، مقدار پراکسید تا روز هشتم در این نمونه افزایش شدیدی داشته و سپس پراکسید شکسته شده و به محصولات ثانویه تبدیل شد. در نمونه امولسیون پیکرینگ با اسانس میخک ۱۰۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در نانوژل، مقدار پراکسید از ۲۳/۷۹ میکرومول/ کیلوگرم روغن در روز اول با افزایش معنی دار و ملایم تری نسبت به دو نمونه قبل به ۱۹۰/۶ میکرومول/ کیلوگرم روغن در روز هشتم رسید. در روز یازدهم، مقدار پراکسید تا ۱۸۱/۲۷ میکرومول/ کیلوگرم روغن کم شد و در نهایت افزایش یافت و به ۲۵۲/۸۹ میکرومول/ کیلوگرم روغن در روز پانزدهم رسید. تغییرات در این نمونه از روز هشتم تا روز پانزدهم در سطح ۵ درصد معنی دار نبود. میزان عدد پراکسید امولسیون پیکرینگ با اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در نانوژل از روز اول تا روز پانزدهم افزایش معنی داری در سطح ۵ درصد داشت و از ۱۹/۵۹ به ۷۹۲/۲۷ میکرومول/ کیلوگرم روغن رسید. بررسی میزان پراکسید تولیدی در نمونه های امولسیون پیکرینگ با اسانس ۱۰۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در روغن نشان داد، در این نمونه ها پراکسید مانند حالت قبل از روز اول تا روز پانزدهم افزایش معنی دار داشت. به صورتی که در اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر/ لیتر این عدد از ۳۲/۵۴ به ۷۰۳/۰۴ میکرومول/ کیلوگرم روغن و برای اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/ لیتر از ۳۲/۵۴ به ۱۱۳۳/۸۱ میکرومول/ کیلوگرم روغن تغییر کرد. در مورد اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/ لیتر این افزایش از روز اول تا روز یازدهم با شیب ملایم و سپس با شیب تندی صورت گرفت. همانطور که نتایج نشان می دهد، امولسیون پیکرینگ بدون اضافه کردن اسانس تا حدودی باعث کاهش سرعت اکسیداسیون شد. این توانایی احتمالا با بار مثبت قطرات امولسیون پوشیده شده با نانوژل کیتوزان- اسید میرستیک ارتباط

داشت. زیرا، در نانوژل حاوی ۷۵ درصد مولی اسید میرستیک که در این نمونه بکار گرفته شد، تمامی آمین های کیتوزان به اسید میرستیک متصل نشده و تعدادی گروه های آمین به صورت آزاد وجود داشت که باعث، مثبت شدن بار نانوژل و ماهیت هیدروفیل آن شد (Khalili et al., 2015). بار قطرات امولسیون در جذب و دفع فلزات شرکت کننده در اکسیداسیون تاثیر دارند (Árnadóttir, 2013). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است، 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، پراکسیدان با بار مثبت را دفع کرده و مانع برهم کنش لیپید- آهن و اکسیداسیون لیپید می شود (Berton-Carabin et al., 2014; Mei, 1998). همچنین، پایداری اکسیداتیو نمونه امولسیون پیکرینگ بدون اسانس در مقایسه با نمونه با امولسیفایر توئین می تواند به دلیل شکل گیری لایه ی بین سطحی بر پایه ذرات با چگالی بیشتر در نمونه امولسیون پیکرینگ نسبت به نمونه با امولسیفایر توئین باشد، که منجر به ایجاد یک مانع فیزیکی در برابر پراکسیدان ها می شود. با وجود اینکه نانوژل کیتوزان- اسید میرستیک تاثیر زیادی در جلوگیری از افزایش شدید عدد پراکسید در این نمونه داشت ولی امولسیون با امولسیفایر توئین در نهایت عدد پراکسید کمتری نسبت به امولسیون پیکرینگ نشان داد (هرچند تا روز هشتم عدد پراکسید این نمونه به شدت افزایش یافت). این نتیجه بیانگر این مطلب است، پراکسیدها در نمونه امولسیون حاوی توئین ۸۰ در روزهای آخر دچار شکستن شده اند. البته توئین ۸۰ نیز می تواند دارای مقداری خاصیت آنتی اکسیدانی باشد. می^{۷۹} (۱۹۹۸) در تحقیقات خود به این مطلب اشاره کرد، امولسیفایرهای حاوی قند، مانند: توئین ممکن است به عنوان بازدارنده های رادیکال آزاد عمل کنند و در نتیجه، موجب به تاخیر انداختن اکسیداسیون لیپید شوند (Mei, 1998). همچنین، نتایج نشان داد اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در نانوژل نسبت به سایر تیمارها تاثیر بسزایی در افزایش پایداری اکسیداسیون داشته و بعد از پانزده روز در این نمونه نسبت به سایر نمونه ها عدد پراکسید افزایش کمتری داشت و

^{۷۹}Mei

روند افزایش بسیار ملایم بود. در حالیکه، نمونه‌ها با اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در نانوزل و اسانس ۲۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در روغن تأثیری در جلوگیری از روند اکسیداسیون نداشتند و بین آن‌ها، نمونه با اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در روغن، اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در نانوزل و اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/لیتر درونپوشانی شده در روغن به ترتیب اثر بیشتری را از خود بروز دادند. با مقایسه میان درونپوشانی اسانس با مقدار یکسان در روغن و نانوزل این نتیجه حاصل شد، درونپوشانی اسانس در نانوزل اثر بهتری در کاهش روند اکسیداسیون روغن دانه کتان داشت. با توجه به اینکه، اکسیداسیون امولسیون‌ها در سطح مشترک فاز روغنی با فاز آبی رخ می‌دهد. به همین دلیل، وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در سطح قطرات روغن امکان بازدارندگی از اکسیداسیون بیشتری نسبت به زمانی که اسانس در داخل روغن استفاده شود، فراهم می‌کند (Wang et al. 2015). در مورد نتایج این تحقیق نیز زمانی که اسانس داخل نانوزل درونپوشانی شده بود به دلیل اینکه این ذرات در سطح روغن قرار داشتند؛ اسانس می‌توانست نسبت به حالتی که اسانس داخل روغن بود از اکسیداسیون جلوگیری کند. ونگ و همکاران (۲۰۱۵) کورکومین (پلی فنول حاصل از زردچوبه) که خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد را در کمپلکس کیتوزان-زئین 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، می‌توان بیان کرد، احتمالاً اسانس درونپوشانی شده در نانوزل با آزادسازی تدریجی تأثیر بیشتری در کاهش سرعت اکسیداسیون داشته است. تحقیقات ثابت کرده، انکپسولاسیون اثر قابل توجهی در مدت ماندگاری اسانس داشته و توانسته از آن در مقابل شرایط محیطی محافظت کند. علاوه بر این، درونپوشانی در نانوزل می‌تواند باعث رهایش کنترل شده اسانس از نانوزل در حین دوره‌ی آزمایش و در نتیجه موجب افزایش اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس شود (Khalili et al., 2015). از جمله تحقیقات

انجام شده در این زمینه می توان به تحقیقاتی که توسط چاترجی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی اسانس میخک درونپوشانی شده و درونپوشانی نشده بر روی خصوصیات اکسیداسیونی روغن سویا صورت گرفت، اشاره کرد. در این تحقیق این نتیجه حاصل شد، درونپوشانی اسانس امکان رهایش کنترل شده آنتی اکسیدان در روغن را فراهم می کند (Chatterjee et al., 2013).

علاوه بر این، با مقایسه میزان اسانس با درونپوشانی های یکسان این نتیجه حاصل شد که، با افزایش میزان اسانس (به استثنای نمونه امولسیون پیکرینگ بدون اسانس) روند اکسیداسیون کاهش بیشتری یافت. این نتایج نشان می دهد، با افزایش زمان نگهداری و اکسیداسیون لیپید، غلظت های بالاتر اسانس درونپوشانی شده، تاثیر بیشتری داشتند، این نتیجه می تواند به عملکرد آنتی اکسیدان های فنولیک نسبت داده شود. با توجه به این موضوع که آنتی اکسیدان های فنولیک مانند اوژنول در اسانس میخک درونپوشانی شده، می توانند از طریق آزادسازی هیدروژن و تحویل آن به گروه های اکسید کننده ی لیپید از جمله رادیکال های پرواکسیل و آکوکسیل، از اکسیداسیون لیپید محافظت کند (Akoh and Min, 2008). بنابراین، با افزایش اکسیداسیون لیپید ترکیبات آنتی اکسیدان بیشتری غیرفعال می شوند.

به دلیل شکسته شدن پراکسید و تولید محصولات ثانویه برای بررسی پایداری اکسیداتیو باید علاوه بر بررسی پراکسید، از آزمون هایی که ترکیبات ثانویه را اندازه می گیرند از جمله، TBA استفاده نمود (Dashti et al., 2015).

نتایج آزمون TBA برای شش تیمار مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۱۵ نگهداری در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد در جدول ۴-۶ نشان داده شده است.

جدول ۴-۶: میانگین و انحراف معیار مقادیر TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۱ و ۱۵ نگهداری در دمای ۳۵ 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 هشتم	روز یازدهم	روز پانزدهم
امولسیون پیکرینگ بهینه	۶۶/۷۶±۱۱/۷۲ ^{b,AB}	۱۵۸/۹۹±۴۴/۳۶ ^{b,BC}	۴۷۵/۸±۳۸/۹ ^{a,A}	۴۳۸/۶۹±۵۵/۶۲ ^{a,AB}	۴۲۴/۹۲±۷۵/۹۱ ^{a,A}
امولسیون با تـوئین	۶۸/۷۴±۹/۹۷ ^{d,AB}	۲۴۴/۲۹±۲۱/۰۲ ^{c,A}	۲۴۵/۴۷±۲۸/۴۲ ^{c,C}	۳۸۳/۹۴±۵۷/۳۹ ^{b,B}	۴۸۴/۸۶±۵۶/۹۸ ^{a,A}
اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوژل	۹۱/۹۹±۱۳/۸۲ ^{b,A}	۹۱/۱۲±۱۴/۴۷ ^{b,D}	۱۳۳/۷۶±۴/۶ ^{a,D}	۱۳۴/۰۸±۱۴/۵۸ ^{a,D}	۱۴۰/۳۵±۱۱/۵۳ ^{a,C}
اسانس ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوژل	۵۱/۴۲±۴/۷۲ ^{c,B}	۱۰۳±۶/۰۸ ^{b,D}	۲۰۲/۳۶±۱۷/۴۴ ^{a,C}	۲۰۱/۵۷±۳/۳۲ ^{a,CD}	۲۳۵/۷۵±۲۷/۵۴ ^{a,B}
اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن	۶۱/۱۹±۱/۴ ^{b,AB}	۱۳۱/۹۴±۲۸/۴۹ ^{b,CD}	۴۶۳/۷۶±۶۲/۹۷ ^{a,A}	۴۶۷/۹۶±۸/۷۳ ^{a,A}	۴۳۵/۰۶±۲۶/۵۹ ^{a,A}
اسانس ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن	۷۷/۰۲±۲۶/۹۳ ^{e,AB}	۱۸۷/۰۲±۲۳/۰۶ ^{d,B}	۳۹۵/۴۸±۲۹/۲۳ ^{b,B}	۲۵۸/۷۲±۹/۲۷ ^{c,C}	۵۱۱/۰۹±۴۱/۸ ^{a,A}

همانطور که مشاهده می شود، نتایج مربوط به محصولات ثانویه تا حدودی نتایج بدست آمده از تست پراکسید را مورد تایید قرار داد. برای نمونه امولسیون پیکرینگ بهینه بدون اسانس مقدار TBA از ۶۶/۷۶ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز اول به ۴۷۵/۸ میلی مول / کیلوگرم روغن در روز هشتم افزایش معنی داری یافت و پس از آن، تا روز پانزدهم به آهستگی کم شد (این کاهش در سطح ۵ درصد معنی دار نبود) و در نهایت به ۴۲۴/۹۲ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید. در مورد نمونه امولسیون با امولسیفایر توئین ۸۰، این مقدار از روز اول تا روز پانزدهم افزایش معنی داری داشت و از ۶۸/۷۴ به ۴۸۴/۸۶ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید. همانطور که در جدول ۴-۶ مشاهده می شود، اختلاف بین روزهای چهارم و هشتم بسیار ناچیز بود و اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد نشان نداد. بنابراین، می توان گفت در این فاصله مقدار TBA تقریباً ثابت بود. در نمونه با اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوزل، مقدار TBA از روز اول تا روز چهارم کاهش کمی داشت به طوری که اختلاف معنی داری در آن مشاهده نشد و از ۹۱/۹۹ به ۹۱/۱۲ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید. سپس، تا روز پانزدهم به آهستگی و به طور معنی داری افزایش یافت و در نهایت به ۱۴۰/۳۵ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید. البته مقادیر روزهای هشتم، یازدهم و پانزدهم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر نداشتند. نمونه با اسانس ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در نانوزل، در روز اول دارای TBA ۵۱/۴۲ میلی مول / کیلوگرم روغن بود که به تدریج این میزان افزایش یافت و در نهایت در روز پانزدهم به ۲۳۵/۷۵ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید. در این نمونه، در روز یازدهم مقدار بسیار ناچیزی کاهش دیده شد به طوری که بین روز هشتم و یازدهم اختلاف معنی داری وجود نداشت. بررسی محصولات ثانویه اکسیداسیون در نمونه با اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن نشان داد، مقدار TBA از روز اول تا روز یازدهم افزایش معنی داری داشت و از ۶۱/۱۹ به ۴۶۷/۹۶ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید و پس از آن در روز پانزدهم با اندکی تغییر به ۴۳۵/۰۶ میلی مول / کیلوگرم روغن تقلیل یافت. مقدار TBA نمونه با اسانس ۲۰۰ میکرولیتر / لیتر درونپوشانی شده در روغن، از روز اول تا روز هشتم با شیب تندی افزایش پیدا کرد و از ۷۷/۰۲ به

۳۹۵/۴۸ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید و پس از کاهش یافتن سریع در روز یازدهم، دومرتبه به شدت افزایش یافت و از ۲۵۸/۷۲ به ۵۱۱/۰۹ میلی مول / کیلوگرم روغن رسید. این اتفاق، احتمالاً ناشی از تبدیل سریع محصولات اولیه به محصولات ثانویه بود. همچنین، تمامی تغییرات در این نمونه به صورت کاملاً معنی دار رخ داد. همانطور که نتایج بدست آمده نشان می دهد، اسانس های درونپوشانی شده در نانوژل با مقادیر ۱۰۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر/ لیتر به ترتیب دارای بیشترین اثر در کاهش سرعت تولید محصولات ثانویه بودند و میزان تغییرات در مدت بررسی، بسیار آهسته در این نمونه ها صورت گرفت. این نتیجه همانند نتایج حاصل از آزمون پراکسید می تواند به تاثیر نانوژل در رهاسازی کنترل شده اسانس میخک در سطح قطرات روغن، جایی که فرایند اکسیداسیون روغن در امولسیون ها رخ می دهد، ربط داده شود. از طرف دیگر، کمترین تاثیر به اسانس ۲۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در روغن و بعد از آن به امولسیون با امولسیفایر توئین تعلق داشت. در نمونه با اسانس ۱۰۰۰ میکرولیتر/ لیتر درونپوشانی شده در روغن و امولسیون پیکرینگ بدون اسانس میزان محصولات ثانویه نهایی اختلاف چندانی نداشتند و روند تغییرات در طی مدت بررسی در این دو نمونه مشابه بود. این نتایج نشان می دهد، درونپوشانی اسانس در روغن تاثیر کمتری در پایداری اکسیداتیو و جلوگیری از تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون روغن بذر کتان نسبت به حالت درونپوشانی اسانس در نانوژل داشت.

نتیجه گیری

نتایج پروفایل اسیدهای چرب نشان داد، روغن بذر کتان دارای درصد بالای اسیدهای چرب آلفا لینولنیک است. نتایج طیف (FT-IR) اتصال موفقیت آمیز بین کیتوزان و اسید میرستیک را نشان داد. طبق نتایج حاصل از بررسی ساختار کیتوزان اصلاح نشده و نانوذله با درصدهای مولی مختلف اسید میرستیک به کیتوزان توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی این نتیجه بدست آمد، کیتوزان اصلاح نشده نتوانست نانوذرات یکنواخت تشکیل دهد و افزودن اسید میرستیک به دلیل ایجاد ماهیت هیدروفوبیک در کیتوزان باعث، ایجاد نانوذرات یکنواخت تر شد. با افزایش درصد مولی اسید میرستیک این روند بهبود بیشتری یافت. نتایج حاصل از بررسی تاثیر فاکتورهای درصد مولی اسید میرستیک به کیتوزان، pH و میزان روغن بر پایداری امولسیون نشان داد، امولسیون پیکرینگ در pH های 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 درصد مولی اسید میرستیک باعث، کاهش اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ و پایداری بیشتر آن شد. احتمالاً با افزایش درصد مولی اسید میرستیک بارهای مثبت بیشتری در کیتوزان خنثی شد و توانایی پایدارسازی نانوذله از طریق افزایش ماهیت آمفی فیلک بهبود یافت. همچنین، مقدار روغن در پایداری امولسیون پیکرینگ تاثیر داشت. به عبارت دیگر، افزایش میزان روغن تا میزان مشخص در امولسیون پیکرینگ باعث افزایش پایداری شد. در حالیکه، افزودن بیش از حد روغن دارای اثر معکوس بود و موجب افزایش اندازه قطرات و ناپایداری امولسیون پیکرینگ گشت. احتمالاً در مقادیر بالای روغن، نانوذله کافی برای پایدارسازی امولسیون پیکرینگ در دسترس نبود. با دستیابی به فرمولاسیون مناسب برای آماده سازی امولسیون پیکرینگ، پایداری اکسیداتیو آن تحت شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، امولسیون پیکرینگ تولید شده توسط نانوذله کیتوزان- اسید میرستیک پایداری اکسیداتیو بیشتری نسبت به امولسیون حاوی توئین ۸۰ داشت. همچنین، تاثیر درونپوشانی اسانس

میخک در روغن و نانوژل بر پایداری اکسیداتیو مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود، امولسیون پیکرینگ با اسانس درونپوشانی شده در نانوژل بیشترین تاثیر را در کاهش اکسیداسیون روغن داشت و درونپوشانی اسانس در روغن تاثیر قابل توجهی در کاهش روند اکسیداسیون نداشت. علاوه بر این، پایداری اکسیداتیو ارتباط مستقیم با میزان اسانس درونپوشانی شده، داشت.

پیشنهادات

۱. خواص دیگر امولسیون پیکرینگ تولید شده در این پژوهش از جمله خواص رئولوژیکی مورد بررسی قرار گیرد.
۲. اثر نانوژل های کیتوزان اصلاح شده با ترکیبات دیگر نیز مورد بررسی و مقایسه با یکدیگر قرار گیرد.
۳. تحقیقات بیشتری با محوریت مقایسه سطح تاثیر، انواع نانوژل ها و اسانس ها بر روغن و دیگر محصولات صورت گیرد.
۴. پژوهش هایی در زمینه تهیه کیتوزان هایی با قدرت های متفاوت امولسیفایری برای امولسیون های مختلف از طریق تغییر در نسبت های کیتوزان بکار رفته، طراحی شود.

منابع

- صمدلویی ح، عزیزی م. ح. و برزگر برویی م، (۱۳۸۶) "اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک هسته انار بر روغن سویا" **علوم کشاورزی و منابع طبیعی**، شماره ۴، دوره ۴: ص ۱۹۳-۲۰۰.
- هادیان، م، ۱۳۹۵، پایان نامه ارشد، تاثیر نانوذله کیتوزان حاوی اسانس رزماری بر کیفیت گوشت گاو، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.
- Abdel-Wahhab M. A. and Aly S. E. (2005) "Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis" **J. of Applied Toxicology**, 25,3, pp 218–223.
- Abreu F. O. M. S., Oliveira E. F., Paula H. C. B. and De Paula R. C. M. (2012) "Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation" **J. of Carbohydrate Polymers**, 89, 4, pp 1277–1282.
- Ahlafi H., Moussout H., Boukhelifi F., Echetna M., Bennani M. N. and Slimane S. M. (2013) "Kinetics of N-Deacetylation of Chitin Extracted from Shrimp Shells Collected from Coastal Area of Morocco" **Mediterranean J. of Chemistry**, 2, 3, pp 503- 513.
- Akiyoshi K., Deguchi S., Tajima H., Nishikawa T. and Sunamoto J. (1997) "Microscopic structure and thermoresponsiveness of a hydrogel nanoparticle by self-assembly of a hydrophobized polysaccharide" **J. of Macromolecules**, 30, 4, pp 857-861.
- Akoh, C. C. and Min, D. B. (2008), "**Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**", CRC press, london.
- Alshafe M. M., Kassem S. S., Abdelkader M. M. and Hanafi E. M. (2015) "Flaxseed as functional food" **Research J. of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, 6, 4, pp 1944- 1951.
- Árnadóttir Þ., (2013), MASTER. thesis, "Nano-laminated Fish Oil Droplets: Influence of Chitosan Charge Density on Emulsion Stability", Department of Food Science.

University of Iceland.

- Ayame H., Morimoto N. and Akiyoshi K. (2008) "Self-assembled cationic nanogels for intracellular protein delivery" **J. of Bioconjugate chemistry**, 19, 4, pp 882-890.
- Bernacchia R., Preti R. and Vinci G. (2014) "Chemical Composition and Health Benefits of Flaxseed" **Austin J. of Nutrition and Food Sciences**, 2, 8, pp 1- 9.
- Berton-Carabin C. C., Ropers M. H. and Genot C. (2014) "Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Involvement of the Interfacial Layer" **J. of Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 13, 5, pp 945- 977.
- Beyki M., Zhavah S., Khalili S.T., Rahmani-Cherati T., Abollahi A., Bayat M., Tabatabaei M. and Mohsenifar A. (2014) "Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*" **J. of Industrial Crops and Products**, 54, pp 310- 319.
- Binks B. P. and Horozov T. S. (2006). "**Colloidal particles at liquid interfaces: an introduction**", Cambridge University Press, Cambridge, P.1.
- Binks B.P., Muijlwijk K., Koman H. and Poortinga A.T. (2017) "Food-grade Pickering stabilisation of foams by in situ hydrophobisation of calcium carbonate particles" **J. of Food Hydrocolloids**, 63, pp 585- 592.
- Björkegren S., Nordstierna L., Törnrona A. and Palmqvist A. (2017) "Hydrophilic and hydrophobic modifications of colloidal silica particles for Pickering emulsions" **J. of Colloid and Interface Science**, 487, pp 250- 257.
- Brühl L., Matthäus B., Fehling E., Wiege B., Lehmann B., Luftmann H., Bergander K., Quiroga K., Scheipers A., Frank O. and Hofmann T. (2007) "Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil" **J. of agricultural and food chemistry**, 55, 19, pp 7864- 7868.
- Burdock G.A. and Carabin I.G. (2007) "Safety assessment of myristic acid as a food ingredient" **J. of food and chemical toxicology**, 45, 4, pp 517- 529.
- Chacko R. T., Ventura J., Zhuang J. and Thayumanavan S. (2012) "Polymer nanogels: A versatile nanoscopic drug delivery platform" **J. of Advanced Drug Delivery Reviews**, 64, 9, pp 836- 851.

- Chang S. J. and Chow C.K. (2007). Consumption of fatty acids, pp 545-561, In:"**Fatty acids in foods and their health implications** ", Chow C. K. CRC press, London.
- Chatterjee D. and 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" **J. of .Food Engineering**, 117, 4, pp 545- 550.
- Chaudhry Q. and Castle L. (2011) "Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries" **J. of .Trends in Food Science & Technology**, 22, 11, pp 595- 603.
- Chen X.G., Lee C.M. and Park H. J. (2003) "O/W emulsification for the self-aggregation and nanoparticle formation of linoleic acid modified chitosan in the aqueous system" **J. of .Agricultural and Food Chemistry**, 51, 10, pp 3135-3139.
- Cheong A. M., Tan K. W., Tan C. P. and Nyam K. L. (2016) "Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil-in-water Pickering nanoemulsions stabilised by mixture of sodium caseinate, Tween 20 and β -cyclodextrin" **J. of .Food Hydrocolloids**, 52, pp 934- 941.
- Cheung R.C.F., Ng T.B., Wong J.H. and Chan, W.Y. (2015) "Chitosan: an update on potential biomedical and pharmaceutical applications" **J. of .Marine drugs**, 13, 8, pp 5156- 5186.
- Chevalier Y. and Bolzinger M. A. (2013) "Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 439, pp 23- 34.
- Chiono V., Pulieri E., Vozzi G., Ciardelli G., Ahluwalia A. and Giusti P. (2008) "Genipin-crosslinked chitosan/gelatin blends for biomedical applications" **J. of .Materials Science: Materials in Medicine**, 19, 2, pp 889- 898.
- Choe E. and Min D. B. (2006) "Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation" **J. of .Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 5, pp 169- 186.
- Cauvin S., Colver P.J. and Bon S.A. (2005) "Pickering stabilized miniemulsion

- polymerization: preparation of clay armored latexes" **J. of .Macromolecules**, 38, 19, pp 7887- 7889.
- Dai X. and Tan C. (2015) "Combination of microRNA therapeutics with small-molecule anticancer drugs: mechanism of action and co-delivery nanocarriers" **J. of .Advanced drug delivery reviews**, 81, pp 184- 197.
- Dziki D., Różyło R., Gawlik-Dziki U. and Świeca M. (2014) "Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds" **J. of .Trends in Food Science and Technology**, 40, 1, pp 48- 61.
- Dashti N. G., Mirlohi M., Dashti M. G., Jafari M. and Esfahani N. B. (2015) "Antioxidant Effect of Thyme Essential Oil on Oxidative Stability of Chicken Nuggets" **ETP International J. of .Food Engineering**, 1, 2, pp 115- 120.
- Daun a J.K., Barthelet a V.J., Chornick a T.L. and Duguid b S. (2003). "**Structure, composition, and variety development of flaxseed. In Flaxseed in Human Nutrition**", Second Edition, AOCS Publishing, USA.
- DeMan J.M. (2007). Chemical and Physical properties of Fatty Acids, pp 17- 47, In:"**Fatty acids in foods and their health implications**", Chow C. K. CRC press, London.
- De Vos P., Faas M. M., Spasojevic M. and Sikkema J. (2010) "Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components" **International Dairy J.**, 20, 4, pp 292- 302.
- Diaz-Salmeron R., Chaab I., Carn F., Djabourov M. and Bouchemal K. (2016) "Pickering emulsions with α -cyclodextrin inclusions: Structure and thermal stability" **J. of .Colloid and Interface Science**, 482, pp 48-57.
- Dickinson E. (2010) "Food emulsions and foams: Stabilization by particles" **J. of .Current Opinion in Colloid and Interface Science**, 15, 1–2, pp 40- 49.
- Cortés-Rojas D.F., Souza C.R. and Oliveira, W.P. (2014) "Encapsulation of eugenol rich clove extract in solid lipid carriers" **J. of .Food Engineering**, 127, pp 34- 42.
- Duffus L. J., Norton J. E., Smith P., Norton I. T. and Spyropoulos F. (2016) "A

comparative study on the capacity of a range of food-grade particles to form stable O/W and W/O Pickering emulsions" **J. of .Colloid and Interface Science**, 473, 9-21.

Elsabee M.Z., Morsi R.E. and Al-Sabagh A.M. (2009) "Surface active properties of chitosan and its derivatives" **J. of .Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 74, 1, pp 1- 16.

Feng J., Wu S., Wang H. and Liu S. (2016) "Improved bioavailability of curcumin in ovalbumin-dextran nanogels prepared by Maillard reaction" **J. of .Functional Foods**, 27, pp 55- 68.

Feng Y. and Lee Y. (2016) "Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilize oil-in-water pickering emulsion" **J. of .Food Hydrocolloids**, 56, pp 292- 302.

Filipponi L. and Sutherland D. (2013), "**Nanotechnologies: Principles, Applications, Implications and Hands-on Activities**" Publications Office of the European Union, Luxembourg, p.406.

Frankel E.N., Huang S.W., Kanner J. and German J.B. (1994) "Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: bulk oils vs emulsions" **J. of .Agricultural and Food Chemistry**, 42, 5, pp 1054- 1059.

Frelichowska J., Bolzinger M. A. and Chevalier Y. (2010) "Effects of solid particle content on properties of o/w Pickering emulsions" **J. of .Colloid and Interface Science**, 351, 2, pp 348- 356.

Fujii S., Cai Y., Weaver J.V. and Armes S.P. (2005) "Syntheses of shell cross-linked micelles using acidic ABC triblock copolymers and their application as pH-responsive particulate emulsifiers" **J. of .the American Chemical Society**, 127, 20, pp 7304- 7305.

Fuma T. and Kawaguchi M. (2015) "Rheological responses of Pickering emulsions prepared using colloidal hydrophilic silica particles in the presence of NaCl" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 465, pp 168- 174.

- Gao Z., Zhao J., Huang Y., Yao X., Zhang K., Fang Y., Nishinari K., Phillips G.O., Jiang F. and Yang H. (2017) "Edible Pickering emulsion stabilized by protein fibrils. Part 1: Effects of pH and fibrils concentration" **J. of .LWT-Food Science and Technology**, 76, pp 1- 8.
- Gestranius M., Stenius P., Kontturi E., Sjöblom J. and Tammelin T. (2017) "Phase behaviour and droplet size of oil-in-water Pickering emulsions stabilised with plant-derived nanocellulosic materials" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 519, pp 60- 70.
- Gouda N., Singh R.K., Meher S.N. and Panda A.K. (2016) "Production and characterization of bio oil and bio char from flax seed residue obtained from supercritical fluid extraction industry" **J. of .the Energy Institute**, 90, 2, pp 265-275.
- Gülçin İ., Şat I. G., Beydemir Ş., Elmastaş M. and Küfrevioğlu Ö. I. (2004) "Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.)" **J. of .Food Chemistry**, 87, 3, pp 393- 400.
- Hall L.M., Booker H., Siloto R.M., Jhala A.J. and Weselake R.J. (2016). Flax (*Linum usitatissimum* L.), pp 157- 194, In:"**Industrial oil crops**", McKeon T., Hayes D., Hildebrand D., Weselake R. AOCS Press, Elsevier Inc.
- Hamid A. A., Aiyelaagbe O. O., Usman L. A., Ameen O. M. and Lawal A. (2010) "Antioxidants : Its medicinal and pharmacological applications" **African J. of .Pure and Applied Chemostry**, 4, 8, pp 142- 151.
- Hamidi M., Azadi A. and Rafiei P. (2008) "Hydrogel nanoparticles in drug delivery" **J. of .Advanced drug delivery reviews**, 60, 15, pp 1638- 1649.
- Hu Y.Q., Yin S.W., Zhu J.H., Qi J.R., Guo J., Wu L.Y., Tang C.H. and Yang X.Q. (2016) "Fabrication and characterization of novel Pickering emulsions and Pickering high internal emulsions stabilized by gliadin colloidal particles" **J. of .Food Hydrocolloids**, 61, pp 300- 310.
- İnanç T. and Maskan, M. (2012) "The Potential Application of Plant Essential Oils/Extracts as Natural Preservatives in Oils during Processing: A Review" **J. of .Food Science and Engineering**, 2, pp 1- 9.

- Jafari S. M., Assadpoor E., He Y. and Bhandari B. (2008) "Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying" **J. of .Drying Technology**, 26, 7, pp 816- 835.
- Jian-zhong W. (2016) "Research Status of Molecular Biology in Flax" **J. of .Northeast Agricultural University (English Edition)**, 23, 1, pp 89- 96.
- Juárez J. A. and Whitby C. P. (2012) "Oil-in-water Pickering emulsion destabilisation at low particle concentrations" **J. of .Colloid and Interface Science**, 368, 1, pp 319- 325.
- Kabanov A.V. and Vinogradov S.V. (2009) "Nanogels as pharmaceutical carriers: finite networks of infinite capabilities" **J. of .Angewandte Chemie International Edition**, 48, 30, pp 5418- 5429.
- Kang L., Gao Z., Huang W., Jin M. and Wang Q. (2015) "Nanocarrier-mediated co-delivery of chemotherapeutic drugs and gene agents for cancer treatment" **J. of .Acta Pharmaceutica Sinica B**, 5, 3, pp 169- 175.
- Kargar M., Fayazmanesh K., Alavi M., Spyropoulos F. and Norton I. T. (2012) "Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions" **J. of .Colloid and Interface Science**, 366, 1, pp 209- 215.
- Kaul N., Kreml R., Austria J.A., Richard M.N., Edel A.L., Dibrov E., Hirono S., Zettler M.E. and Pierce, G.N. (2008) "A comparison of fish oil, flaxseed oil and hempseed oil supplementation on selected parameters of cardiovascular health in healthy volunteers" **J. of .the American College of Nutrition**, 27, 1, pp 51-58.
- Keowmaneechai E. and McClements D.J. (2002) "Influence of EDTA and citrate on physicochemical properties of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions containing CaCl₂" **J. of .Agricultural and Food Chemistry**, 50, 24, pp 7145-7153.
- Khalili S.T., Mohsenifar A., Beyki M., Zhavah S., Rahmani-Cherati T., Abdollahi A., Bayat M. and Tabatabaei M. (2015) "Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*" **J. of .LWT-Food Science and Technology**, 60, 1, pp 502-508.

- Kokal S. (2005) "Crude Oil Emulsions: A State-Of-The-Art Review" **J. of .SPE Production & Facilities**, 20, 1, pp 5- 13.
- Kpogbemabou D., Lecomte-Nana G., Aimable A., Bienia M., Niknam V. and Carrion C. (2014) "Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by phyllosilicates at high solid content" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 463, pp 85- 92.
- Kubow S. (1990) "Toxicity of dietary lipid peroxidation products" **J. of .Trends in Food Science & Technology**, 1, pp 67- 71.
- Kuipers J. (2009), "**Mean-field description of the structure and tension of curved fluid interfaces**", Faculty of Science, Leiden University, p. 93.
- Kumari J.A., Venkateshwarlu G., Choukse M.K. and Anandan R. (2015) "Effect of essential oil and aqueous extract of ginger (*Zingiber Officinale*) on oxidative stability of fish oil-in-water emulsion" **J. of .Food Processing & Technology**, 6, 1, p 1.
- Larkin P. (2017), "**Infrared and Raman spectroscopy:principles and spectral interpretation**", Elsevier, pp 15- 18.
- Lazzari M. and Chiantore O. (1999) "Drying and oxidative degradation of linseed oil" **J. of .Polymer Degradation and Stability**, 65, 2, pp 303- 313.
- Leclercq L. and Nardello-Rataj V. (2016) "Pickering emulsions based on cyclodextrins: A smart solution for antifungal azole derivatives topical delivery" **European J. of .Pharmaceutical Sciences**, 82, pp 126- 137.
- Lee K. G. and Shibamoto T. (2001) "Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]" **J. of .Food Chemistry**, 74, 4, pp 443- 448.
- Liang H. N. and Tang C. he. (2014) "Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil-in-water emulsions at pH 3.0" **J. of .LWT - Food Science and Technology**, 58, 2, pp 463- 469.
- Liu F. and Tang C.H. (2016) "Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. II. Improvement of emulsification and interfacial adsorption by electrostatic screening" **J. of .Food Hydrocolloids**, 60, pp 620- 630.

- Liu F. and Tang C.H. (2016) "Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. III. Fabrication of gel-like emulsions and their potential as sustained-release delivery systems for β -carotene" **J. of Food Hydrocolloids**, 56, pp 434- 444.
- Liu H., Wang C., Zou S., Wei Z. and Tong Z. (2012) "Simple, Reversible Emulsion System Switched by pH on the Basis of Chitosan without Any Hydrophobic Modification" **J. of Langmuir**, 28, 30, pp 11017- 11024.
- Luo Z., Murray B.S., Ross A.L., Povey M.J., Morgan M.R. and Day A.J. (2012) "Effects of pH on the ability of flavonoids to act as Pickering emulsion stabilizers" **J. of Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 92, pp 84- 90.
- Lyu B., Wang H.D., Ma J.Z., Gao D.G. and Jin P. (2016) "Preparation and application of castor oil/nano-TiO₂ composite fatliquoring agent via a Pickering emulsion method" **J. of Cleaner Production**, 126, pp 711- 716.
- Marto J., Gouveia L.F., Gonçalves L., Chiari-Andréo B.G., Isaac V., Pinto P., Oliveira E., Almeida A.J. and Ribeiro H.M. (2016) "Design of novel starch-based Pickering emulsions as platforms for skin photoprotection" **J. of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 162, pp 56- 64.
- McClements D. and Decker E. (2000) "Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems" **J. of Food Science**, 65, 8, pp 1270- 1282.
- McClements D. J. (2007) "Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability" **J. of Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47, 7, pp 61- 649.
- McClements D. J. (2015), "**Food emulsions: principles, practices, and techniques**", Second Edition, CRC press, London, pp 53- 90.
- MCDONALD R.E. and HULTIN H.O. (1987) "Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle" **J. of Food Science**, 52, 1, pp 15- 21.
- Mei L., (1998), PhD. thesis, "Lipid oxidation in emulsions as affected by droplet surface properties and interactions among droplets, antioxidants, and other co-existing

substances", Department of food science.

- Mohammadi A., Hashemi M. and Hosseini S. M. (2015) "Chitosan nanoparticles loaded with *Cinnamomum zeylanicum* essential oil enhance the shelf life of cucumber during cold storage" **J. of .Postharvest Biology and Technology**, 110, pp 203- 213.
- Morimoto N., Qiu X.P., Winnik F.M. and Akiyoshi K., (2008) "Dual stimuli-responsive nanogels by self-assembly of polysaccharides lightly grafted with thiol-terminated poly (N-isopropylacrylamide) chains" **J. of .Macromolecules**, 41 ,16, pp 5985- 5987.
- Morris D.H. (2007). Description and Composition of Flax, pp 9- 21, In: "**Flax: A health and nutrition primer**", Flax Council of Canada.
- Mwangi W.W., Ho K.W., Ooi C.W., Tey B.T. and Chan E.S. (2016) "Facile method for forming ionically cross-linked chitosan microcapsules from Pickering emulsion templates" **J. of .Food Hydrocolloids**, 55, pp 26- 33.
- Mwangi W.W., Ho K.W., Tey B.T. and Chan E.S. (2016) "Effects of environmental factors on the physical stability of pickering-emulsions stabilized by chitosan particles" **J. of .Food Hydrocolloids**, 60, pp 543- 550.
- Nan F., Wu J., Qi F., Liu Y., Ngai T. and Ma G. (2014) "Uniform chitosan-coated alginate particles as emulsifiers for preparation of stable Pickering emulsions with stimulus dependence" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 456, 1, pp 246- 252.
- Nedovic V., Kalusevic A., Manojlovic V., Levic S. and Bugarski B. (2011) "An overview of encapsulation technologies for food applications" **J. of .Procedia Food Science**, 1, pp 1806- 1815.
- Nykter M., Kymäläinen H. R., Gates F. and Sjöberg A. M. (2006) "Quality characteristics of edible linseed oil" **J. of .Agricultural and Food Science**, 15, 4, pp 402- 413.
- O'Reilly R.K., Hawker C.J. and Wooley K.L. (2006) "Cross-linked block copolymer micelles: functional nanostructures of great potential and versatility" **J. of .Chemical Society Reviews**, 35, 11, pp 1068- 1083.

- Oh J.K., Lee D.I. and Park J.M. (2009) "Biopolymer-based microgels/nanogels for drug delivery applications" **J. of .Progress in Polymer Science**, 34, 12, pp 1261-1282.
- Oomah B.D. and Mazza G. (1998) "Fractionation of flaxseed with a batch dehuller" **J. of .Industrial Crops and Products**, 9, 1, pp 19- 27.
- Patnaik S., Sharma A.K., Garg B.S., Gandhi R.P. and Gupta K.C. (2007) "Photoregulation of drug release in azo-dextran nanogels" **International J. of .pharmaceutics**, 342, 1, pp 184- 193.
- Peng H., Xiong H., Li J., Xie M., Liu Y., Bai C. and Chen L. (2010) "Vanillin cross-linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol" **J. of .Food Chemistry**, 121, 1, pp 23- 28.
- Poiana, M.A. (2012) "Enhancing oxidative stability of sunflower oil during convective and microwave heating using grape seed extract" **International J. of .molecular sciences**, 13, 7, pp 9240- 9259.
- Popa V.M., Gruia A., Raba D.N., Dumbrava D., Moldovan C., Bordean D. and Mateescu C. (2012) "Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum Usitatissimum* L.) from Romania" **J. of .Agroalimentary Processes and Technologies**, 18, 2, pp 136- 140.
- Prichapan N., McClements D. J. and Klinkesorn U. (2017) "Influence of rice bran stearin on stability, properties and encapsulation efficiency of polyglycerol polyricinoleate (PGPR)-stabilized water-in-rice bran oil emulsions" **J. of .Food Research International**, 93, pp 26- 32.
- Qian W.Y., Sun D.M., Zhu R.R., Du X.L., Liu H. and Wang S.L. (2012) "pH-sensitive strontium carbonate nanoparticles as new anticancer vehicles for controlled etoposide release" **International J. of .nanomedicine**, 7, p 5781.
- Rao K.K., Reddy P.R., Lee Y.I. and Kim C. (2012) "Synthesis and characterization of chitosan–PEG–Ag nanocomposites for antimicrobial application" **J. of .Carbohydrate polymers**, 87, 1, pp 920- 925.
- Reger M., Sekine T. and Hoffmann H. (2012) "Pickering emulsions stabilized by amphiphile covered clays" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and**

Engineering Aspects, 413, pp 25- 32.

Rekha M.R. and Sharma C.P. (2007) "Pullulan as a promising biomaterial for biomedical applications: a perspective" **J. of .Trends Biomater Artif Organs**, 20, 2, pp 116- 121.

Risch S. (1995) "Encapsulation: overview of uses and techniques" **J. of .ACS Symposium Series**, 7, pp 2- 7.

Rolland J. P., Maynor B. W., Euliss L. E., Exner A. E., Denison G. M., Desimone J. M., and Nanobiomaterials S. (2005) "Direct Fabrication and Harvesting of Direct Fabrication and Harvesting of Monodisperse" **J. of .the American Chemical Society**, 127, 28, pp 10096- 10100.

Rousseau D. (2000) "Fat crystals and emulsion stability - A review" **J. of .Food Research International**, 33, 1, pp 3- 14.

Roy K., Mao H.Q., Huang S.K. and Leong K.W. (1999) "Oral gene delivery with chitosan–DNA nanoparticles generates immunologic protection in a murine model of peanut allergy" **J. of .Nature medicine**, 5, 4, pp 387- 391.

Saberi, A. H., Fang, Y. and McClements, D. J. (2013) "Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification" **J. of .Colloid and Interface Science**, 391, pp 95- 102.

Sabouni R. and Gomaa H. G. (2015) "Effect of hydrodynamics on nanoparticles stability in Pickering emulsions stabilized by metal organic frameworks (MOFs) in reversing shear flow" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 484, pp 416- 423.

Sahiner N., Alb A.M., Graves R., Mandal T., McPherson G.L., Reed W.F. and John V.T. (2007) "Core–shell nanohydrogel structures as tunable delivery systems" **J. of .Polymer**, 48, 3, pp 704- 711.

Salama Z. a. (2007) "Evaluation of Fatty Acids Profile and the Content of Some Secondary Metabolites in Seeds of Different Flax Cultivars (*Linum Usitatissimum* L.)" **J. of .General and Applied Plant Physiology**, 33, 3- 4, pp 187- 202.

Sasaki Y. and Akiyoshi K. (2010) "Nanogel engineering for new nanobiomaterials:

from chaperoning engineering to biomedical applications" **J. of .The Chemical Record**, 10, 6, pp 366- 376.

Sawant K.K. and Dodiya S.S. (2008) "Recent advances and patents on solid lipid nanoparticles" **J. of .Recent patents on drug delivery & formulation**, 2, 2, pp 120-135.

Schmitt V., Destribats M. and Backov R. (2014) "Colloidal particles as liquid dispersion stabilizer: Pickering emulsions and materials thereof" **J. of .Comptes Rendus Physique**, 15, 8, pp 761- 774.

Sebaaly C., Jrajaj A., Fessi, H., Charcosset C. and Greige-Gerges H. (2015) "Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes" **J. of .Food Chemistry**, 178, pp 52- 62.

Shah B.R., Li Y., Jin W., An Y., He L., Li Z., Xu W. and Li B. (2016) "Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation" **J. of .Food Hydrocolloids**, 52, pp 369-377.

Shah B.R., Zhang C., Li Y. and Li B. (2016) "Bioaccessibility and antioxidant activity of curcumin after encapsulated by nano and Pickering emulsion based on chitosan-tripolyphosphate nanoparticles" **J. of .Food Research International**, 89, pp 399-407.

Shahidi F. and Ying Z. (2005). Lipid Oxidation: Measurement Methods, pp 357-385, In: " **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**", Shahidi F. Wiley Online Library.

Shantha N. C. and Decker E. A (1994) "Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids" **J. of .AOAC International**, 77, 2, pp 421- 424.

Sharav O., Shim Y. Y., Okinyo-Owiti D. P., Sammynaiken R. and Reaney M. J. T. (2014) "Effect of cyclolinopeptides on the oxidative stability of flaxseed oil" **J. of .Agricultural and Food Chemistry**, 62, 1, pp 88- 96.

Sharma A., Garg T., Aman A., Panchal K., Sharma R., Kumar S. and Markandeywa T. (2014) "Nanogel—an advanced drug delivery tool: Current and future" **J. of**

- .Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, 44, 1, pp 165- 177.
- Sharma T., Kumar G. S., Chon B. H. and Sangwai J. S. (2015) "Thermal stability of oil-in-water Pickering emulsion in the presence of nanoparticle, surfactant, and polymer" **J. of .Industrial and Engineering Chemistry**, 22, pp 324- 334.
- Shi D., Matsusaki M., Kaneko T. and Akashi M. (2008) "Photo-cross-linking and cleavage induced reversible size change of bio-based nanoparticles" **J. of .Macromolecules**, 41, 21, pp 8167- 8172.
- Shidhaye S., Lotlikar V., Malke S. and Kadam V. (2008) "Nanogel engineered polymeric micelles for drug delivery" **J. of .Current Drug Therapy**, 3, 3, pp 209- 217.
- Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H. and Saimoto H. (1996) "Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin" **International J. of .Biological Macromolecules**, 18, 3, pp 237- 242.
- SHILLING J. (1990) "Final report on the safety assessment of butyl myristate" **J. of .the American College of Toxicology**, 9, 2, pp 247- 258.
- Simopoulos A.P. (2002) "The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids" **J. of .Biomedicine and pharmacotherapy**, 56, 8, pp 365- 379.
- Singh K.K., Mridula D., Rehal J. and Barnwal P. (2011) "Flaxseed: a potential source of food, feed and fiber" **J. of .Critical reviews in food science and nutrition**, 51, 3, pp 210- 222.
- Singh R. and Lillard J.W. (2009) "Nanoparticle-based targeted drug delivery" **J. of .Experimental and molecular pathology**, 86, 3, pp 215- 223.
- Song X., Pei Y., Qiao M., Ma F., Ren H. and Zhao Q. (2015) "Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles" **J. of .Food Hydrocolloids**, 45, pp 256- 263.
- Stuart M.A.C., Huck W.T., Genzer J., Müller M., Ober C., Stamm M., Sukhorukov G.B., Szleifer I., Tsukruk V.V., Urban M. and Winnik F. (2010) "Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials" **J. of .Nature materials**, 9,

2, pp 101- 113.

Sultana F., Arafat M. and Sharmin S. (2013) "An Overview of Nanogel Drug Delivery System" **J. of .Pharmaceutical Science**, 3, pp 95- 105.

Tamjidi F., Shahedi M., Varshosaz J. and Nasirpour A. (2013) "Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules" **J. of .Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 19, pp 29- 43.

Tan Y., Xu K., Liu C., Li Y., Lu C. and Wang P. (2012) "Fabrication of starch-based nanospheres to stabilize pickering emulsion" **J. of .Carbohydrate Polymers**, 88, 4, pp 1358- 1363.

Teh S. S. and Birch J. (2013) "Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils" **J. of .Food Composition and Analysis**, 30, 1, pp 26- 31.

Timgren A., Rayner M., Sjöo M. and Dejmek P. (2011) "Starch particles for food based Pickering emulsions" **J. of .Procedia Food Science**, 1, pp 95–103.

Tripathi V. and Marker S. (2013) "Linseed and linseed oil: Health benefits - a review" **International J. of .Pharmacy and Biological Science**, 3, 3, pp 434- 442.

Tsabet È. and Fradette L. (2015) "Effect of the properties of oil, particles, and water on the production of Pickering emulsions" **J. of .Chemical Engineering Research and Design**, 97, 1, pp 9- 17.

Tsigos I., Martinou A., Kafetzopoulos D. and Bouriotis V. (2000) "Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology" **J. of .Trends in biotechnology**, 18, 7, pp 305- 312.

Van Thienen T.G., Lucas B., Flesch F.M., Van Nostrum C.F., Demeester J. and De Smedt S.C. (2005) "On the synthesis and characterization of biodegradable dextran nanogels with tunable degradation properties" **J. of .Macromolecules**, 38, 20, pp 8503- 8511.

Wandrey C., Bartkowiak A. and Harding S. (2010). Materials for encapsulation, pp 31- 100, In:"**Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing**", Zuidam N. J., and Nedović V. A. Springer, New York.

- Wang L.J., Hu Y.Q., Yin S.W., Yang X.Q., Lai F.R. and Wang S.Q. (2015) "Fabrication and characterization of antioxidant Pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs)" **J. of .agricultural and food chemistry**, 63, 9, pp 2514- 2524.
- Wang X.H., Li D.P., Wang W.J., Feng Q.L., Cui F.Z., Xu Y.X., Song X.H. and van der Werf M. (2003) "Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers" **J. of .Biomaterials**, 24, 19, pp 3213- 3220.
- Waraho T., McClements D. J. and Decker E. A. (2011) "Impact of free fatty acid concentration and structure on lipid oxidation in oil-in-water emulsions" **J. of .Food Chemistry**, 129, 3, pp 854- 859.
- Wardle E. N. (2005) "Cellular oxidative processes in relation to renal disease" **American J. of .Nephrology**, 25, 1, pp 13- 22.
- Wei W., Wang T., Luo J., Zhu Y., Gu Y. and Liu X. (2015) "Pickering emulsions stabilized by self-assembled colloidal particles of amphiphilic branched random poly(styrene-co-acrylic acid)" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 487, pp 58- 65.
- Wei Z., Wang C., Zou S., Liu H. and Tong Z. (2012) "Chitosan nanoparticles as particular emulsifier for preparation of novel pH-responsive Pickering emulsions and PLGA microcapsules" **J. of .Polymer**, 53, 6, pp 1229- 1235.
- Whitby C.P., Anwar H.K. and Hughes J. (2016) "Destabilising Pickering emulsions by drop flocculation and adhesion" **J. of .colloid and interface science**, 465, pp 158- 164.
- Wooley K. and Remsen E. (1998) "Amphiphilic core-shell nanospheres obtained by intramicellar shell crosslinking of polymer micelles with poly (ethylene oxide) linkers" **J. of .Chemical Communications**, 13, pp 1415- 1416.
- Wu J. and Ma G. H. (2016) "Recent Studies of Pickering Emulsions: Particles Make the Difference" **J. of .Small**, 34, pp 4633-4648.
- Xiao J., Li Y. and Huang Q. (2016) "Recent advances on food-grade particles stabilized Pickering emulsions: Fabrication, characterization and research trends" **J. of .Trends**

in Food Science and Technology, 55, pp 48- 60.

Xiao J., Lu X. and Huang Q. (2017) "Double emulsion derived from kafirin nanoparticles stabilized Pickering emulsion: Fabrication, microstructure, stability and in vitro digestion profile" **J. of .Food Hydrocolloids**, 62, pp 230-238.

Xiao J., Wang X., Perez Gonzalez A. J. and Huang Q. (2016) "Kafirin nanoparticles-stabilized Pickering emulsions: Microstructure and rheological behavior" **J. of .Food Hydrocolloids**, 54, pp 30- 39.

Yan H., Chen X., Shi J., Shi Z., Sun W., Lin Q., Wang X. and Dai Z. (2017) "Fabrication and evaluation of chitosan/NaYF₄: Yb³⁺/Tm³⁺ upconversion nanoparticles composite beads based on the gelling of Pickering emulsion droplets" **J. of .Materials Science and Engineering: C**, 71, pp 51- 59.

Yan H., Zhao B., Long Y., Zheng L., Tung C. H. and Song K. (2015) "New pickering emulsions stabilized by silica nanowires" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 482, pp 639- 646.

Yang H., Zhang H., Peng J., Zhang Y., Du G. and Fang Y. (2017) "Smart magnetic ionic liquid-based Pickering emulsions stabilized by amphiphilic Fe₃O₄ nanoparticles: Highly efficient extraction systems for water purification" **J. of .Colloid and Interface Science**, 485, 620, pp 213- 222.

Yuan G., Chen, X. and Li, D. (2016) "Chitosan films and coatings containing essential oils: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food systems" **J. of .Food Research International**, 89, pp 117- 128.

Zahn N. and Kickelbick G. (2014) "Synthesis and aggregation behavior of hybrid amphiphilic titania Janus nanoparticles via surface-functionalization in Pickering emulsions" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 461, 1, pp 142- 150.

Zhang J., Zhou Y., Zhu Z., Ge Z. and Liu S. (2008) "Polyion complex micelles possessing thermoresponsive coronas and their covalent core stabilization via "click" chemistry" **J. of .Macromolecules**, 41, 4, pp 1444-1454.

Zhang M., Wang A.J., Li J.M., Song N., Song Y. and He R. (2017) "Factors influencing

- the stability and type of hydroxyapatite stabilized Pickering emulsion" **J. of .Materials Science and Engineering: C**, 70, pp.396- 404.
- Zhang S., Zhou Y. and Yang C. (2015) "Pickering emulsions stabilized by the complex of polystyrene particles and chitosan" **J. of .Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 482, pp 338- 344.
- Zhaveh S., Mohsenifar A., Beiki M., Khalili S. T., Abdollahi A., Rahmani-Cherati T. and Tabatabaei M. (2015) "Encapsulation of Cuminum cyminum essential oils in chitosan-caffeic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*" **J. of .Industrial Crops and Products**, 69, pp 251- 256.
- Zhou M., Wang T., Hu Q. and Luo Y. (2016) "Low density lipoprotein/pectin complex nanogels as potential oral delivery vehicles for curcumin" **J. of .Food Hydrocolloids**, 57, pp 20- 29.
- Zoppe J. O., Venditti R. A. and Rojas O. J. (2012) "Pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals grafted with thermo-responsive polymer brushes" **J. of .Colloid and Interface Science**, 369, 1, pp 202- 209.

Abstract

The aim of this study was to obtain a stable flaxseed oil Pickering emulsion (PE) using chitosan (CS)- myristic acid (MA) nanogel as well as investigation of the oxidative stability of the encapsulated flaxseed oil. Regarding these purposes, at the first stage of the study, various ration of the MA-to-CS was used to improve emulsifier property of CS. Results of the (FT-IR) spectrum indicated that bonds between CS and MA were made. Also, the results of scanning electron microscopy (SEM) showed that the improvement of the nanogels structure was coincided with increasing in the amount of CS-MA. In the following step, the effect of concentration of CS-MA nanogel, pH and the oil content on the stability of flaxseed oil PE had been investigated during a week. After the storage of the samples at ambient temperature, the stability of the PE was also evaluated by using microscopic images and particle size calculated with image j software. The results showed that the promising stabilities of PE was obtainable when pH 8, 75% myristic acid and the 100 μ l oil content was applied, at this circumstances, a appropriate structure of the nanogel was observed. After optimization of the PE, oxidative stability of the nanogel containing various amounts of CEO (200 and 1000 μ l / liter) as well as PE in oil and nanogel improving with using Tween 80 was examined by Peroxide and TBA tests. All samples were stored at 35°C for 15 days to assess oxidative stability. Results showed that emulsion stabilized by CS-MA nanogel had higher oxidative stability than emulsion used tween 80. Also, the results indicated that encapsulation of the CEO as a natural antioxidant using in nanogel could support more oxidative stability than CEO one. In the end, CEO content in capsulation had positive effect on stability of the accumulated oil.

Keywords: Pickering emulsion; Nanogel; Flaxseed oil; Clove essential oil; Oxidative stability



Faculty of Agriculture Department

MSc thesis in Food Science and Technology

Production of *Linum usitatissimum* seed oil emulsion using
nanogel containing *Dianthus caryophyllus* essential oil and its
oxidation stability study

By: Elnaz Sadat Hosseini

Supervisor:

Dr. Ahmad Rajaei

Dr. Meysam Tabatabaei

Advisor:

Dr. Afshin Mohsenifar

Dr. Kambiz Jahanbin

November 2017