

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

گروه باغبانی و صنایع غذایی

ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانو حامل‌های لیپیدی (NLC) حاوی روغن کبد ماهی و توکوفرول

دانشجو: سید یاسر شه پرست

اساتید راهنما:

دکتر احمد رجائی - دکتر احمد یاری خسروشاهی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم و مواد غذایی

بهمن ۱۳۹۴

ب



---

بعد از مدت های مودن راه های فراوان که با حضور شسیرین اساتید عزیزم بار اهنایی ها و دغدغه های فراوان شان که خستگی های این راه را به

امید و روشنائی تبدیل کردند

اکنون با احترام فراوان به خاطر تلاش همدین عزیزان برای موفقیت من این پایان نامه را به پدر و مادر عزیزم و اساتید گرانقدرم

تقدیم می کنم. امیدوارم قادر به درک زیبایی های وجودشان باشم نمی توانم معنایی بالاتر از تقدیر و تشکر بر زبانم جاری سازم و

سپاس خود را در وصف استادان خویش آشکار نمایم که هر چه گویم و سزایم کم گفته ام.

از اساتید راهنمای ارجمندم جناب آقایان دکتر احمد رجائی و دکتر احمدیاری خسرو شاهی بی نهایت سپاسگزارم که بنده را در این

مدت تحمل کردند و در زمان مشکلات موجب اعتماد به نفس و دلگرمی من بودند و از پیچ لگی فروگذار نکردند.

از جناب آقای دکتر جهان مین که وقت ارزشمند خود را صرف خواندن پایان نامه اینجانب و داوری آن نمودند قدر دانی و تشکر

می نمایم.

در نهایت از کلیه اساتید گروه صنایع غذایی که در محضرشان کسب علم نموده ام نهایت تشکر و احترام را دارم.

## تعهد نامه

اینجانب سید یاسر شه پرست دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانو حامل‌های لیپیدی (NLC) حاوی روغن کبد ماهی و توکوفرول تحت راهنمایی آقای دکتر احمد رجائی متعهد می‌شوم.

- 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 می‌باشد 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 می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است. تاریخ امضای دانشجو

### مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد. 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 نمی‌باشد.

<p>نام خانوادگی: شه پرست</p> <p>نام دانشجو: یاسر</p>
<p>عنوان پایان نامه: ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانو حامل‌های لیپیدی (NLC) حاوی روغن کبد ماهی و توکوفرول</p>
<p>استاد راهنمای اول: دکتر احمد رجائی</p> <p>استاد راهنمای دوم: دکتر احمد یاری خسروشاهی</p>
<p>مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد      رشته: علوم و صنایع غذایی      گرایش: مواد غذایی</p> <p>دانشگاه: دانشگاه شاهرود      دانشکده: دانشکده کشاورزی      تاریخ فارغ التحصیلی: ۹۴/۱۰/۷</p> <p>تعداد صفحه: ۱۲۸</p>
<p><b>کلید واژه ها:</b> پایداری اکسیداتیو، نانو حامل‌های لیپیدی (NLC)، روغن کبد ماهی، توکوفرول</p> <p><b>چکیده:</b></p> <p>اسیدهای چرب <math>\omega</math>-3 (امگا ۳) که برای سلامتی بسیار مفید شناخته شده اند بسیار حساس به اکسیداسیون هستند که سبب تشکیل هیدروپراکسیدهای سمی، بوی بد و کوتاهی دوره نگهداری می شوند. در ضمن، تشکیل رادیکالهای آزاد فعال (واکنش پذیر) در طول فرایند اکسایش افزایش ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی را به دنبال دارد. درون پوشانی اسیدهای چرب <math>\omega</math>-3 (امگا ۳) با روش حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC)، یک روش قابل توجه برای بهبود پایداری اکسیداتیو در طول دوره نگهداری و در نتیجه بهبود ویژگی رهاش کنترل شده‌ی آن در هنگام تجزیه می‌باشد. روش دیگر استفاده از آنتی اکسیدان‌ها برای پایداری اکسیداتیو می باشد. ویتامین E مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان طبیعی بدن</p>

بوده و سیستم ایمنی بدن را تقویت کرده و از بیماری‌های عروق کرونری قلب جلوگیری می‌نماید. در این پژوهش NLC های حامل اسیدهای چرب  $\omega$ -3 و  $\omega$ -3 همراه با آلفا توکوفرول با استفاده از دو روش فراصوت و هموژنیزاسیون گرم تولید و فرمولاسیون بهینه با هدف رسیدن اندازه ذرات به حدود ۱۰۰ نانومتر با تغییر نوع فازهای لیپیدی و روغنی (جامد و مایع) و نوع و غلظت سورفکتانت مشخص گردید. آزمون های تعیین اندازه ذرات (DLS)، کارایی درون پوشانی و پایداری درون پوشانی نانو حامل ها جهت تعیین خواص کاربردی نمونه ها انجام گرفت. فرمولاسیون بهینه با کمترین اندازه ذرات (nm) ۱۰۱ با توزیع اندازه ۰/۱۷) بود. نتایج نشان داد که نوع و غلظت لیپید جامد و سورفکتانت، زمان و قدرت فراصوت مورد استفاده اثر قابل توجهی در اندازه ذرات NLC داشت. همچنین پایداری اکسیداتیو اسیدهای چرب  $\omega$ -3 در ۳ حالت امولسیون، درون پوشانی شده و درون پوشانی شده همراه با آلفا توکوفرول (100ppm) با اندازه گیری عدد پراکسید (PV) و تست تیوباریتوریک اسید (TBA) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که  $\omega$ -3 درون پوشانی شده همراه با آلفا توکوفرول از پایداری اکسیداتیو بیشتری نسبت به نوع درون پوشانی شده و امولسیون شده برخوردار است.

---

---

## فهرست مطالب

فصل اول:

کلیات.....	
۱-۱ اسیدهای چرب $\omega$ -3.....	۷
۱-۱-۱ منابع اسیدهای چرب $\omega$ -3 در مقایسه با $\omega$ -6 .....	۸
۲-۱-۱ غنی سازی مواد غذایی با $\omega$ -3.....	۸
۳-۱-۱ جلوگیری از اکسیداسیون $\omega$ -3 .....	۹
۲-۱ آنتی اکسیدان ها .....	۱۰
۱-۲-۱ آنتی اکسیدان های سنتزی .....	۱۱
۲-۲-۱ پلی فنل ها (آنتی اکسیدان های طبیعی) .....	۱۱
۱-۲-۲-۱ ویتامین E (آلفا توکوفرول) .....	۱۲
۳-۱ کاربرد فناوری نانو در صنایع غذایی.....	۱۳
۱-۳-۱ درون پوشانی (انکپسولاسیون) ترکیبات و مزایای آن .....	۱۴
۱-۱-۳-۱ سیستم های نانوحامل .....	۱۶
۱-۱-۱-۳-۱ سیستم های حامل لیپیدی .....	۱۷
۱-۱-۱-۱-۳-۱ نانوامولسیون .....	۱۷
۱-۱-۱-۱-۱-۳-۱ انواع روش های تهیه نانوامولسیون .....	۲۳
۲-۱-۱-۱-۱-۳-۱ اجزای تشکیل دهنده امولسیون ها .....	۲۸
۳-۱-۱-۱-۱-۳-۱ نقش برهم کنش های کلوئیدی مکانیسم های ناپایداری قطره ها در	



۳۱	..... امولسیون ها
۳۲	..... ۲-۱-۱-۱-۳-۱ نانو حامل های لیپیدی (NLC و SLN)
۳۳	..... ۲-۲-۱-۱-۱-۳-۱ مزایا و ویژگی های نانوذرات لیپیدی
۳۴	..... ۳-۲-۱-۱-۱-۳-۱ روش های تولید ساختارهای نانوذرات لیپیدی
۳۸	..... ۴-۲-۱-۱-۱-۳-۱ مدل های بارگیری دارو در داخل نانوحامل های لیپیدی
۴۰	..... ۳-۱-۱-۱-۳-۱ حامل های لیپیدی نانوساختار (NLC)
۴۱	..... ۱-۳-۱-۱-۱-۳-۱ اجزاء تشکیل دهنده حامل های لیپیدی نانوساختار (NLC)
۴۹	..... فصل دوم- مروری بر منابع
۶۷	..... فصل سوم- مواد و روش ها
۶۸	..... ۱-۳ مواد مورد استفاده
۶۹	..... ۲-۳ روش ها
۶۹	..... ۱-۲-۳ تولید حامل های لیپیدی نانوساختار حاوی 3- $\omega$ با روش فراصوت
	..... ۲-۲-۳ تولید حامل های لیپیدی نانوساختار حاوی 3- $\omega$ با روش هموژنیزاسیون
۷۰	..... گرم
۷۲	..... ۳-۳ آزمایش های عمومی
۷۲	..... ۱-۳-۳ اندازه و توزیع اندازه ذرات (DLS)
۷۳	..... ۲-۳-۳ پتانسیل زتا
	..... ۳-۳-۳ مورفولوژی سیستم های حامل کلئیدی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی
۷۴	..... عبوری (TEM)
۷۴	..... ۴-۳-۳ تعیین کارایی درون پوشانی NLC

---

۷۵	۵-۳-۳ بررسی پایداری فیزیکی محلول NLC
۷۵	۴-۳ اندازه گیری میزان اکسیداتیو
۷۵	۱-۴-۳ اندازه گیری عدد پراکسید
۷۶	۲-۴-۳ تست تیوباربتوریک اسید (TBA)
۷۷	۷-۳ آنالیزهای آماری
۷۹	<b>فصل چهارم - نتایج و بحث</b>
۸۰	۱-۴ حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی $\omega$ -3
	۱-۱-۴ روش هموژنیزاسیون داغ با نیروی برشی بالا و روش فرا صوت در تولید حامل
۸۲	های لیپیدی نانوساختار
۸۴	۲-۴ اندازه و توزیع اندازه ذرات
۸۵	۱-۲-۴ تأثیر روش تولید مورد استفاده بر اندازه و توزیع ذرات
۸۶	۲-۲-۴ تأثیر نوع لیپید مورد استفاده بر اندازه و توزیع ذرات
۹۰	۳-۲-۴ تأثیر نسبت لیپید جامد به روغن مایع بر اندازه ذرات
۹۲	۴-۲-۴ تأثیر غلظت سورفکتانت فاز آبی بر اندازه و توزیع ذرات
۹۵	۲-۴ پتانسیل زتا
۹۷	۳-۴ مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری
۹۸	۲-۴ کارایی درون پوشانی حامل لیپیدی نانوساختار
۱۰۰	۳-۴ پایداری اندازه ذرات نانوحامل لیپیدی

---

۱۰۱	۷-۴ اندازه گیری میزان اکسیداتیو .....
۱۰۱	۱-۷-۴ اندازه گیری عدد پراکسید (PV) .....
۱۰۳	۲-۷-۴ تست تیوباریتوریک اسید (TBA) .....
۱۰۷	نتایج .....
۱۰۸	پیشنهادات .....
۱۰۹	منابع .....

### فهرست جداول

۱۸	جدول ۱-۱: تفاوت ها و شباهت های انواع امولسیون ها .....
۴۳	جدول ۲-۱: اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون NLC .....
۶۸	جدول ۳-۱: خصوصیات روغن کبد ماهی مورد استفاده .....
۵۰	جدول ۴-۱: فرمولاسیون های مختلف حامل های لیپیدی نانوساختار حاوی روغن کبد ماهی در ۵۰ میلی لیتر آب .....
۸۰	جدول ۴-۲: میانگین و توزیع اندازه ذرات حامل های لیپیدی نانو ساختار روغن کبد ماهی بعد از ۷۵ روز .....
۱۰۰	روز .....

## فهرست شکل ها

- شکل ۱-۱: ساختار توکوفرول و توکوترینول ها..... ۱۳
- شکل ۲-۱: انواع سیستم‌های حامل بر پایه لیپیدی..... ۱۷
- شکل ۳-۱: امولسیون (O/W) چپ و امولسیون (W/O) راست..... ۱۹
- شکل ۴-۱: انواع روش‌های پرانرژی شامل هموژنیزاسیون فشار بالا- سونیکاتور و میکروفلوئیدایزر..... ۲۴
- شکل ۵-۱: طرح شماتیک مکانیسم تولید خودبه‌خودی امولسیون..... ۲۶
- شکل ۶-۱: طرح شماتیکی گذر فازها برای تولید امولسیون روغن در آب با فاز پراکنده ریز..... ۲۷
- شکل ۷-۱: مکانیزم‌های فیزیکوشیمیایی ناپایداری نانوامولسیون، تفکیک گرانشی، انبوهش، ادغام شدن، رسیدگی استوالد و معکوس شدن فاز..... ۳۲
- شکل ۸-۱: هموژناسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH)..... ۳۸
- شکل ۹-۱: موقعیت‌های مختلف قرارگرفتن ترکیب فعال زیستی در ساختار نانوحامل لیپیدی..... ۳۸
- شکل ۱۰-۱: مقایسه نظم و کریستال‌های لیپیدی در دو ساختار SLN و NLC..... ۴۱
- شکل ۱۱-۱: مراحل تولید NLC با استفاده از روش هموژنیزاسیون گرم..... ۴۸
- شکل ۱-۳: تهیه NLC‌های حاوی روغن کبد ماهی با روش پروب فراصوت با قدرت بالا..... ۷۰
- شکل ۲-۳: تهیه NLC‌های حاوی روغن کبد ماهی به روش هموژنیزاسیون گرم با نیروی برشی بالا..... ۷۱
- شکل ۳-۳: دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات مدل Wing Sald 2101 برای اندازه‌گیری قطر متوسط ذرات..... ۷۳
- شکل ۴-۳: دستگاه زتا سایزر مدل Nano-ZS برای اندازه‌گیری میزان بار سطحی ذرات..... ۷۳

- 
- شکل ۳-۵: دستگاه اسپکتوفتومتر نور مرئی مدل Ultrospec 2000 ساخت انگلیس..... ۷۴
- شکل ۴-۱: روش فراصوت میله ای و اندازه ذرات حاصل از آن در تولید حامل های لیپیدی  
نانوساختار..... ۸۴
- شکل ۴-۲: روش فراصوت و عدم پراکنش یکنواخت..... ۸۶
- شکل ۴-۳: روش هموژنیزاسیون داغ و پراکنش..... ۸۶
- شکل ۴-۴: انواع کریستال ها و پلی مورفیسم لیپیدها در مرحله تشکیل و نگهداری..... ۸۹
- شکل ۴-۵: نمونه سمت چپ (نیم شفاف) دارای دو برابر سورفکتانت نسبت به نمونه سمت راست  
(شفاف) می باشد..... ۹۲
- شکل ۴-۶: تأثیر نسبت غلظت سورفکتانت (پلاکسامر) فاز آبی بر فاز چربی بر اندازه و توزیع ذرات با  
روش فراصوت..... ۹۳
- شکل ۴-۷: ساختار شیمیایی سورفکتانت غیر یونی (پولاکسامر ۴۰۷)..... ۹۵
- شکل ۴-۸: پتانسیل زتا اندازه گیری شده از فرمولاسیون بهینه شده..... ۹۶
- شکل ۴-۹: مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری..... ۹۸
- شکل ۴-۱۰: میزان پراکسید نمونه ها در مدت ۴۰ روز نگهداری در دمای محیط..... ۱۰۲
- شکل ۴-۱۱: اندازه گیری TBA نمونه ها در مدت ۴۰ روز..... ۱۰۳



---

## فصل اول



تقاضای مصرف کنندگان در زمینه‌ی تولید مواد غذایی در دهه‌های گذشته به طور قابل ملاحظه‌ای تغییر کرده است. مصرف کنندگان بیشتر به غذاهایی علاقه دارند که به طور مستقیم به سلامتی آنها کمک کنند. امروزه، نقش غذاها علاوه بر رفع گرسنگی و تأمین مواد مغذی ضروری، پیشگیری از بیماری‌های وابسته به تغذیه، بهبود وضعیت سلامت و شادابی فیزیکی و ذهنی مصرف کننده نیز هست. در این خصوص، غذاهای فراسودمند نقش مهمی ایفا می‌کنند. در اروپا و آمریکا، غذاهای فراسودمند حاوی امگا<sup>۱۳</sup> فرآورده‌های غذایی هستند که تولید آنها به سرعت در حال افزایش است. اسیدهای چرب  $\omega$ -3 گروهی از اسیدهای چرب ضروری هستند که اولین پیوند دوگانه آنها در موقعیت ۳ از انتهای متیل قرار دارد. اثرات سلامت‌بخش اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 به ویژه بلند زنجیرهای ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA)<sup>۲</sup> و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)<sup>۳</sup> به اثبات رسیده است (فریتاس و همکاران، ۲۰۱۵). این اسیدها نمی‌توانند به وسیله بدن انسان سنتز شوند و باید توسط رژیم غذایی و مکمل‌های دارویی به دست آیند. اسیدهای چرب خانواده  $\omega$ -3 نقش مهمی در جلوگیری از بروز بیماری‌های قلبی-عروقی، کاهش سطح کلسترول خون و واکنش‌های التهابی در انسان دارند. همچنین تحقیقات مختلف بیانگر نقش اسیدهای چرب  $\omega$ -3 در ممانعت از رشد سرطان پروستات و سینه، کاهش زمان تأخیر پاسخ ایمنی، کاهش روماتیسم سرخرگ‌ها و خطر مرگ ناشی از بیماری عروق کرونر قلب می‌باشند (شیخ شعاعی و همکاران، ۲۰۱۳). افزودن روغن ماهی (منبع غنی  $\omega$ -3) به غذا سبب کاهش پذیرش حسی محصول می‌شود. از طرفی اسیدهای چرب  $\omega$ -3 بسیار حساس به اکسیداسیون هستند که سبب تشکیل هیدروپراکسیدهای سمی، بوی بد و کوتاهی دوره نگهداری می‌شود. درون پوشانی<sup>۴</sup> اسیدهای

---

<sup>۱</sup>  $\omega$ -3

<sup>۲</sup> Eicosapentaenoic acid

<sup>۳</sup> Docosahexaenoic acid

<sup>۴</sup> Encapsulation



---

---

چرب  $\omega$ -3 با پلیمرهای غذایی، یک روش قابل توجه برای بهبود پایداری اکسیداتیو در طول دوره نگهداری و در نتیجه بهبود ویژگی رهایش کنترل شده‌ی آن در هنگام تجزیه می‌باشد. اسیدهای چرب  $\omega$ -3 می‌توانند برای غنی‌سازی مواد غذایی کم چرب یا تولید مواد غذایی فراسودمند و مکمل‌های دارویی مورد استفاده قرار گیرند (کولانوسکی و همکاران، ۲۰۰۷).

اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 اصولاً بدون مزه هستند، ولی در اثر اکسایش، محصولات غنی شده طعم نامطبوعی پیدا می‌کنند. آستانه‌ی طعمی برای این ترکیبات فرار، بسیار پایین است و در غلظت‌های بسیار پایین (در حد ppb) قابل تشخیص هستند (گالاهر و همکاران، ۲۰۰۵). در ضمن، تشکیل رادیکال‌های آزاد فعال (واکنش پذیر) در طول فرایند اکسایش افزایش ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی را به دنبال دارد (نی السن و همکاران، ۲۰۰۷). از جمله مهم‌ترین فرآورده‌های اکسیداسیون خودبخودی لیپیدها، هیدروپرواکسیدها می‌باشند که خودشان فاقد طعم و بو هستند ولی فرآورده‌های حاصل از تجزیه آنها نظیر آلدهیدها و کتون‌ها می‌توانند تاثیر زیادی روی طعم و بوی ماده غذایی داشته باشند. به منظور تاخیر انداختن و یا مهار اکسیداسیون از آنتی‌اکسیدان‌ها استفاده می‌گردد؛ با اضافه کردن آنها کیفیت ماده غذایی حفظ شده و طول عمر نگهداری آن نیز افزایش پیدا می‌نماید. آنتی‌اکسیدان‌ها دارای منشاء طبیعی و یا سنتزی هستند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در بعضی از کشورها دارای محدودیت می‌باشد که دلیل آن اثرات نامطلوب آنها روی سلامتی افراد می‌باشد. از جمله فواید آنتی-اکسیدان‌های طبیعی و استفاده از آنها بجای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی می‌توان به اثرات مفید آنها روی سلامتی افراد اشاره نمود (برنئو و همکاران، ۲۰۰۹).

ویتامین E مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان طبیعی بدن بوده و سیستم ایمنی بدن را تقویت کرده و از بیماری‌های عروق کرونری قلب جلوگیری می‌نماید. این ویتامین چندین ایزومر دارد که شامل  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$ ،  $\delta$ -توکوفرول

---

و توکوتری انولها می‌باشند و فعالیت زیستی و دسترسی زیستی<sup>۱</sup> هرکدام متفاوت بوده و در بین توکوفرولها،  $\alpha$ -توکوفرول بیشترین فعالیت زیستی را داراست. ویتامین E در شکل  $\alpha$ -توکوفرول، از اسیدهای چرب چند غیراشباعی در غشاها و لیپوپروتئین‌های کم دانسیته (LDL)<sup>۲</sup> محافظت می‌کند، چسبندگی پلاکت‌ها در خون را کاهش می‌دهد، تکثیر سلولی ماهیچه‌های صاف را مهار می‌کند و همچنین از فعالیت پروتئین کیناز C جلوگیری می‌نماید. اما، منابع غذایی این ویتامین کافی نیست و از طرف دیگر، حلالیت کم  $\alpha$ -توکوفرول در آب و حساسیت به اکسیداسیون و دماهای بالا، مشکل اصلی استفاده از آن در غنی‌سازی و فرمولاسیون مواد غذایی است و منجر به ناپایداری آن می‌شود، به همین دلیل از فرم استات آن در صنعت داروسازی، غذا و مکمل‌های غذایی استفاده می‌شود. زیرا پایداری شکل استات آن بیشتر از حالت آزاد است (کلیدری و همکاران، ۲۰۱۳). این ویتامین می‌تواند به عنوان آنتی‌اکسیدان باعث پایداری سایر ترکیبات ضروری مانند ویتامین A، هورمون‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای چرب ضروری (3- $\omega$ ) گردد. توانایی توکوفرول در جذب رادیکال‌های آزاد اسید چرب و خواص سلامت بخش این ترکیب بسیار بالاست که منجر شده نظر محققان زیادی به این ماده در جهت کاهش اکسیداسیون معطوف گردد (محمدی و همکاران، ۲۰۱۴).

راهکار مناسب دیگر برای غلبه بر اکسیداسیون 3- $\omega$  درون‌پوشانی آن است. درون‌پوشانی به معنی قرار دادن مواد مختلف درون پوششی برای حفظ خواص مطلوب آن‌ها در حین نگهداری و یا حذف خواص نامطلوب آن‌ها می‌باشد. فرآیند درون‌پوشانی بطور بالقوه موجب افزایش پایداری در برابر اکسیداسیون، رهایش کنترل شده و افزایش دسترسی زیستی می‌گردد (ویس و همکاران، ۲۰۰۹). درون‌پوشانی در صنایع غذایی و دارویی، می‌تواند مزایای بالقوه زیر را داشته باشد:

---

<sup>۱</sup> Bioavailability

<sup>۲</sup> Low-density lipoprotein

---

(a) افزایش پایداری مواد درون پوشانی شده توسط حفاظت آنها از تغییرات محیطی، آنزیمی و شیمیایی (اکسیداسیون)

(b) بازدارندگی در مقابل pH، تغییرات قدرت یونی و درجه حرارت شدید

(c) پوشش دادن طعم ها یا بوهای نامطلوب (سالمین وهمکاران، ۲۰۱۴).

از روش‌های جدید درون پوشانی می‌توان به نانو ذرات زیست سازگار اشاره نمود که می‌توان از آن‌ها به عنوان نانو حامل در پوشش دهی ترکیبات غذا- دارو (نوتریسیتیکال‌ها)<sup>۱</sup> و غیره استفاده کرد. در حال حاضر گروهی از پژوهشگران در حال بررسی کاربرد نانوتکنولوژی برای درون پوشانی کردن مواد غذایی مغذی و دارویی می‌باشند، تا بدین وسیله آن‌ها را به راحتی در دسترس همگان قرار داده و زمان ماندگاری آن‌ها را افزایش دهند (ویس و همکاران، ۲۰۰۹). امروزه با تهیه نانو ذرات دارو، می‌توان به ویژگی‌های بی‌نظیری دست یافت که این امر منجر به افزایش عملکرد و تنوع در اشکال دارویی آن خواهد شد. فرمولاسیون دقیق این ذرات منجر به پایداری بیشتر آنها شده و می‌تواند سرعت در انحلال و رسیدن به سطوح بیولوژیک را افزایش داده که نتیجه آن سرعت بخشی به اثر درمانی و بهبود قابلیت زیستی آن‌ها خواهد بود. نشان داده شده است که توسعه داروهای جدید نیز به تنهایی در درمان دارویی مؤثر نیست. حلالیت کم برخی از داروها در آب و کم بودن قابلیت زیستی مولکول‌های دارویی جدید یکی از مشکلات اساسی آن‌ها می‌باشد بدین منظور نیاز به توسعه سیستم‌های دارورسانی که به این مشکلات فائق آید ضروری به نظر می‌رسد. این سیستم‌های حامل باید غیر سمی بوده، ظرفیت پذیرش مقدار کافی دارو را داشته، و علاوه بر این امکان هدفمند کردن و کنترل آزادسازی دارو در آن‌ها وجود داشته باشد، نانودیسیپرسیون‌ها<sup>۲</sup> روش امیدوارکننده‌ای برای غلبه بر مشکلات مربوط به حلالیت پایین و

---

<sup>۱</sup> Nutraceuticals

<sup>۲</sup> Nanodispersions

---

دسترسی زیستی این ترکیبات هستند و از آنها برای طراحی و تولید سیستم‌های حامل استفاده می‌شود. در سالهای اخیر، از نانوامولسیون‌ها برای پایداری و تحویل داروهای کم محلول در آب استفاده می‌شود، اما اخیراً فرمولاسیون نانوامولسیون‌های حاوی مواد زیست فعال و غذا-داروهای شدیداً لیپوفیل در تولید نوشابه‌ها، غذاهای مایع و ژل‌ها نیز مورد هدف‌های پژوهشی قرار گرفته است (سالمین و همکاران ۲۰۱۳).

مهمترین نانو حامل‌های لیپیدی عبارتند از: لیپوزوم، نانوامولسیون، میکروامولسیون، نانو ذرات لیپیدی جامد<sup>۱</sup> (SLN) و حامل‌های لیپیدی نانو ساختار<sup>۲</sup> (NLC). در بعضی شرایط، سیستم انتقال NLC از حامل‌های لیپیدی دیگر موثرتر می‌باشد و مزایای آن‌ها را در برمی‌گیرد و تا حدی عیوب آن‌ها را نیز برطرف می‌نماید. NLC به عنوان یک حامل جدید در بدو ورود به صنعت غذا می‌باشد و برخلاف نانو حامل‌های لیپیدی دیگر، در منابع اطلاعات کمی در مورد آن وجود دارد.

#### اهداف تحقیق

با جمع بندی مطالب ذکر شده در بالا هدف از این تحقیق انکپسوله کردن 3- $\omega$  به همراه آلفا توکوفرول به منظور افزایش پایداری اکسیداتیو می‌باشد.

---

<sup>۱</sup> Solid Lipid Nanoparticle

<sup>۲</sup> Nanostructured Lipid Carriers

## ۱-۱ اسیدهای چرب $\omega$ -3

گروهی از اسیدهای چرب هستند که اولین پیوند دوگانه آنها در موقعیت ۳ از انتهای متیل قرار دارد. اثرات سلامتی بخش اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 به ویژه بلندزنجیرهای ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) به اثبات رسیده است (فریتاس و همکاران، ۲۰۱۵). پژوهش‌های گوناگون، اثرات سودمند مصرف اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 را در رشد و نمو سلسله اعصاب و بینایی و جلوگیری از بیماری‌های قلبی، فشارخون بالا، سرطان، دیابت، تورم ممانه، تنگی نفس، ورم مفاصل، افسردگی، جنون جوانی و اختلال حواس نشان داده اند (گلاهر و همکاران، ۲۰۰۵). منبع اصلی اسیدهای چرب چند غیراشباعی در رژیم غذایی انسان، روغن ماهی و فراورده‌های دریایی است و از آنجایی که شکاف بزرگی بین مصرف واقعی ماهی روغنی و دریافت اسیدهای چرب  $\omega$ -3 نسبت به مقدار توصیه شده از سوی کمیته‌های تخصصی وجود دارد، متخصصان تغذیه اغلب پیشنهاد می‌کنند که باید مصرف اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 افزایش یابد (کولانوسکی و همکاران، ۲۰۰۶). انجمن بین‌المللی مطالعه‌ی اسیدهای چرب و چربی‌ها ISSFAL<sup>۱</sup> پیشنهاد کرده است که هر فرد بالغ باید روزانه ۰/۶۵ گرم DHA به علاوه‌ی EPA (به صورت حداقل ۰/۲۲ گرم هر روز به ازای هر کدام) دریافت کند (کولانوسکی و همکاران، ۲۰۰۷). اگرچه در سالهای اخیر، افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان از اثرات سلامت بخش روغن ماهی و ماهی به افزایش مصرف کپسول‌های روغن ماهی به شکل مکمل‌های غذایی و دارویی منجر شده است، ولی به نظر می‌رسد که یک راه مطمئن برای افزایش دریافت EPA و DHA افزودن این نوع اسیدهای چرب به محصولات غذایی باشد (نی‌السن و همکاران، ۲۰۰۷).

---

<sup>۱</sup> International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids

### ۱-۱-۱ منابع اسیدهای چرب $\omega$ -3 در مقایسه با $\omega$ -6

اسیدهای چرب ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دوکوهگزانوئیک اسید (DHA) در دسته چربی های  $\omega$ -3 قرار دارند. منابع اصلی اسیدهای چرب امگا-۶ روغن های گیاهی از قبیل روغن ذرت، روغن زیتون و روغن آفتابگردان هستند که حاوی نسبت بالایی از اسیدلینولئیک هستند. اسیدهای چرب  $\omega$ -3 در روغن دانه کتان، روغن گردو، پلانکتون های دریایی، ماهی های اقیانوسی، وال، خوک، جلبک های دریایی و سویا وجود دارند. جزء اصلی اسیدهای چرب  $\omega$ -3 در روغن کتان و روغن گردو، اسیدلینولئیک است، در حالی که در ماهی های چرب و روغن های ماهی EPA و DHA می باشند. مفیدترین و فعال ترین اسیدهای چرب، همین دو اسید چرب آخری هستند. همچنین طی بررسی های انجام شده در ایران، ماهی سفید دریای خزر و ماهی شوریده خلیج فارس به ترتیب دارای بیشترین مقدار از اسیدهای چرب  $\omega$ -3 هستند. اسید آلفالینولئیک در بدن می تواند به EPA و DHA تبدیل شود؛ اما تبدیل آن در بعضی از موارد خصوصاً در افراد مسن کاملاً غیرمفید است ( خاکساری حداد، ۱۳۸۳).

### ۱-۱-۲ غنی سازی مواد غذایی با $\omega$ -3

مناسب ترین غذاها برای افزودن اسیدهای چرب چند غیراشباعی غذاهایی هستند که مصرف گسترده ای دارند و فقط مدت زمان کوتاهی در دمای پایین در بسته بندی های بدون نفوذپذیری به هوا و نور نگهداری می شوند. فرآورده های لبنی مثال خوبی برای این نوع غذاها هستند (کولانوسکی و همکاران، ۲۰۰۷). چالش مهم افزودن اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 به امولسیون های لبنی، استعداد زیاد این نوع اسیدهای چرب به اکسایش و تند شدن است، زیرا در اثر این واکنش ها کیفیت، مدت ماندگاری امولسیون و ارزش تغذیه ای آنها کاهش می یابد و طعم نامطبوعی هم تولید می شود (نی السن و همکاران، ۲۰۰۹). اسیدهای چرب چند غیراشباعی  $\omega$ -3 اصولاً بدون مزه هستند، ولی در اثر اکسایش، محصولات غنی شده طعم نامطبوعی پیدا می کنند. آستانه ی طعمی برای این ترکیبات فرآر، بسیار پایین است و در غلظت های

بسیار پایین (در حد ppb) قابل تشخیص هستند (گالاهر و همکاران، ۲۰۰۵). در ضمن، تشکیل رادیکالهای آزاد فعال (واکنش پذیر) در طول فرایند اکسایش، افزایش ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی را به دنبال دارد (نی السن و همکاران، ۲۰۰۷).

### ۳-۱-۱ جلوگیری از اکسیداسیون ω-3

از دهه ی ۱۹۷۰ مطالعات متعددی در زمینه ی اثرات سودمند مشتقات اسیدهای چرب ω-3 در پیشگیری از بیماری ها به ویژه بیماری قلبی عروقی صورت گرفته و محققان را در جهت ارائه ی فرمولاسیون ها و مکمل های رژیمی این ترکیبات با استفاده از روش های مختلف مانند درون پوشانی کردن ترغیب کرده است. بررسی های متعدد انجام شده در جوامع مختلف نشان می دهد که مصرف روزانه ۱ گرم روغن ماهی (حاوی ۸۴۰ میلیگرم EPA + DHA) میزان مرگ ناگهانی بیماران مبتلا به بیماری عروق قلبی را به طور چشمگیری کاهش می دهد؛ بنابراین، مصرف این مکمل را همراه با داروهای ضد انعقادی توصیه کرده اند. سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) به دلیل وجود ترکیباتی مانند بی فنیل های پلی کلرینه (PCBs)<sup>۱</sup> جیوه و سایر آلاینده ها در ماهی، دریافت این اسیدهای چرب را صرفاً از طریق مصرف ماهی توصیه نمی کند و به دلیل اثربخشی مصرف مکمل های حاوی EPA و DHA در پیشگیری از بیماری قلبی عروقی در افراد دارای تری گلیسرید بالا را به عنوان یک مکمل دارویی اسیدهای چرب ω-3 تأیید کرده است؛ ماهیت غیراشباعی DHA و EPA عامل حساسیت این اسیدهای چرب به اکسیداسیون در شرایط محیطی است. هیدروپراکسیدها محصولات حاصل از اکسیداسیون اولیه EPA و DHA هستند که به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون مانند ترکیبات آلدئیدی فرار تجزیه می شوند. با استفاده از آنتی اکسیدان ها یا درون پوشانی

<sup>۱</sup> Polychlorinated biphenyls

---

این اسیدهای چرب می توان سدی برای جلوگیری از واکنش این ترکیبات با عوامل کاهنده ایجاد کرد. در طراحی کپسول باید مکان هایی را برای شناختن سلول هدف و پایداری در برابر تغییرات pH دستگاه گوارش را با افزودن ترکیبات شیمیایی یا سایر گروه های محافظت کننده فراهم کرد (هادیان و همکاران، ۲۰۱۳).

## ۱-۲- آنتی اکسیدان ها

آنتی اکسیدان ها را جزء افزودنی های غذایی طبقه بندی می کنند و آنها را به این صورت تعریف می کنند موادی که به منظور نگهداری غذا مورد استفاده قرار می گیرند و موجب تاخیر در فساد، رانسیدیتی، بی رنگ شدن ناشی از اکسیداسیون می شوند. آنتی اکسیدان ها ممکن است از اجزای سازنده طبیعی غذاها باشند یا ممکن است به طور عمدی به فرآورده های غذایی اضافه شوند یا در طی فرآوری تشکیل شوند. هدف از کاربرد و استفاده از آنتی اکسیدان ها در روغن ها و چربی ها تاخیر در شروع اکسیداسیون یا کاهش سرعت واکنش های اکسیدکننده می باشد (آزادمرد دمیرچی ۱۳۸۹).

### ۱-۲-۱ آنتی اکسیدان های سنتزی

بعضی از آنتی اکسیدان های سنتزی مثل بوتیلن هیدروکسی آنیزول<sup>۱</sup> و بوتیلن هیدروکسی تئولن<sup>۲</sup> باعث تحریک آسیب های سلولی بوسیله ی ردوکس ها<sup>۳</sup> می شوند سمیت این ترکیبات شامل: سمیت سلول های جگر، سمیت سلول های نفرون، اثرات سرطانزایی است. در مورد امنیت و تاییدیه و مقادیر مصرفی و کاربرد آنتی اکسیدان ها سنتزی تردید وجود دارد. در سال های اخیر تمایل زیادی برای جایگزینی آنتی اکسیدان های

---

<sup>۱</sup> Butylated hydroxy anisolel

<sup>۲</sup> Butylated hydroxyl toluen

<sup>۳</sup> Redox



سنتزی با آنتی اکسیدان‌های طبیعی وجود دارد مثل: آنتی اکسیدان‌های برگ زیتون، میریستین<sup>۱</sup>، کاتچین<sup>۲</sup>، اسید کافئیک<sup>۳</sup>. مشاهده شده بیشتر آنتی اکسیدان‌های طبیعی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و پایداری دمایی بیشتری از آنتی اکسیدان‌های سنتزی در روغن‌های خوراکی مختلف هستند (آلکوه و همکاران ۲۰۰۸).

### ۲-۲-۱ پلی فنل‌ها (آنتی اکسیدان‌های طبیعی)

آنتی اکسیدان‌های پلی فنل از منابع طبیعی‌اند و موجب بهبود سلامتی می‌شوند. بیومولکول‌ها در میوه‌ها و سبزی‌ها توجه زیادی در مورد بهبود بیماری‌ها بخود جلب کرده‌اند. پلی فنل‌ها گروهی از متابولیت‌های ثانویه هستند و شامل یک حلقه‌ی آروماتیک که بوسیله‌ی یک یا چند گروه هیدروکسیل جانشین سازی شده‌اند (فرازانو، ۲۰۰۹). ترکیبات فنلی بوسیله‌ی مکانیسم‌های مختلف: خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و شلاته کردن فلزات خاصیت آنتی اکسیدانی خود را اعمال می‌کنند (سیلوا ۲۰۰۰ و آموراتی ۲۰۰۶). بسیاری از ترکیبات فنلی خاصیت آنتی اکسیدانی دارند و خواص دارویی آنها بر اساس خواص آنتی اکسیدانی آنها است (آمس، ۱۹۹۵). پلی فنل‌ها دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی‌اند و رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند. فعالیت آنتی اکسیدانی آنها تنها به خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن محدود نمی‌شود (موسکاق ۲۰۰۵). اثر سینرژیستی بین آنتی اکسیدان‌های مختلف اثر آنتی اکسیدانی آنها را افزایش می‌دهد.

### ۱-۲-۲-۱ ویتامین E (آلفا توکوفرول)

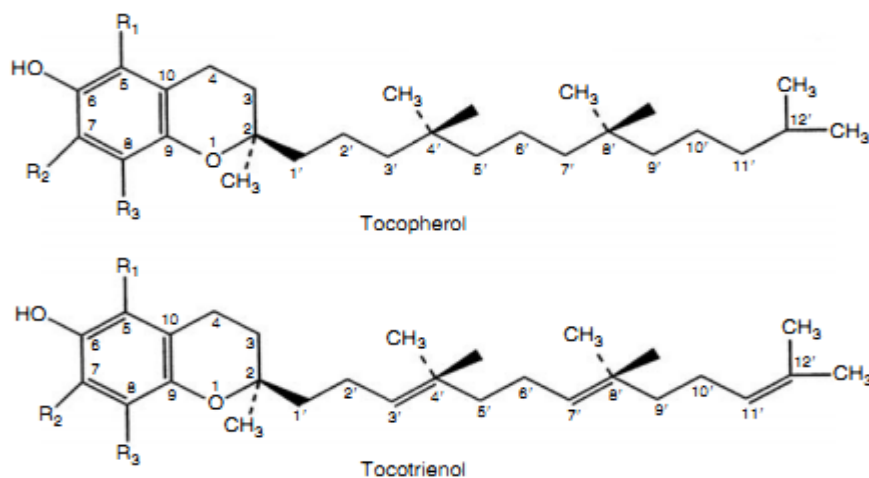
ویتامین E ترکیبی محلول در چربی و مهم‌ترین آنتی اکسیدان طبیعی بدن بوده و سیستم ایمنی بدن را تقویت کرده و از بیماری‌های عروق کرونری قلب جلوگیری می‌نماید. شکل ۱-۱ ساختار توکوفرول و

<sup>۱</sup> Myricetin

<sup>۲</sup> Catechin

<sup>۳</sup> Caffeic acid

توکوتری انول ها را نشان می دهد که فعالیت زیستی و دسترسی زیستی هر کدام متفاوت بوده و در بین توکوفرولها،  $\alpha$ - توکوفرول بیشترین فعالیت زیستی را داراست (گونت ۲۰۱۰ و سومچو ۲۰۰۹). اما، منابع غذایی این ویتامین کافی نیست و از طرف دیگر، حلالیت کم  $\alpha$ -توکوفرول در آب و حساسیت به اکسیداسیون و دماهای بالا، مشکل اصلی استفاده از آن در غنی سازی و فرمولاسیون مواد غذایی است و منجر به دسترسی زیستی ناکافی می شود، به همین دلیل از فرم استات آن در صنعت داروسازی، غذا و مکمل های غذایی استفاده می شود. زیرا پایداری شکل استات آن بیشتر از حالت آزاد است (وسترجرن و کالیکستاد ۲۰۱۰). خاصیت آنتی اکسیدانی آلفا توکوفرول در میزان کوچکتر مساوی 100 ppm در کتب مرجع گزارش شده است و در بالاتر از این میزان خاصیت پرو اکسیدانی دارد (اکوه و همکاران ۲۰۰۸).



Tocopherol or Tocotrienol	R1	R2	R3
$\alpha$ -5,7,8-Trimethyl	CH3	CH3	CH3
$\beta$ -5,8-Dimethyl	CH3	H	CH3
$\gamma$ -7,8-Dimethyl	H	CH3	CH3
$\delta$ -8-Methyl	H	H	CH3

Structures of tocopherols and tocotrienols.

شکل ۱-۱: ساختار توکوفرول و توکوترینول ها.

### ۳-۱ کاربرد فناوری نانو در صنایع غذایی

نانوفناوری، به کاربرد و استفاده از مواد و ذرات با ابعاد کمتر از ۱۰۰ nm گفته می‌شود که در این مقیاس، خصوصیات فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی مواد، تفاوت اساسی با ذرات در مقیاس‌های بزرگ‌تر دارد. فناوری نانو، کاربردهای فراوانی در صنعت غذا، دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد که از جمله کاربردهای آن در صنایع غذایی می‌توان به استفاده در مواد بسته‌بندی، کشاورزی و فرآیندهای تولید غذا اشاره نمود. با استفاده از فناوری نانو امکان اعمال تغییر در مواد غذایی و اضافه کردن افزودنی‌های مورد نظر در اندازه‌های بسیار ریز و دستکاری محتویات فیزیکی مواد غذایی وجود دارد و در نتیجه کیفیت مواد غذایی و هضم و جذب غذا در بدن بهبود یافته و محصولات جدید با طعم‌ها و رنگ‌های مختلف حاصل می‌شود. ترکیبات غیرقابل حل در آب یا روغن در مقیاس نانو به راحتی حل می‌شوند، حتی این امکان وجود دارد موادی که عموماً پس از مصرف در معده آزاد می‌شوند، به صورت آزاد نشده به طرف روده هدایت شوند و از آنجا مستقیماً جذب شده و وارد گردش خون شوند (جوزف و موریسون، ۲۰۰۶؛ سوزر و کوکینی، ۲۰۰۹).

#### ۱-۳-۱ درون پوشانی (انکپسولاسیون) ترکیبات و مزایای آن

درون پوشانی فرایندی است که باعث حفظ خصوصیات طبیعی و ذاتی محصول در طی مدت زمان می‌شود. یکی از کاربردهای فناوری نانو در فرآوری مواد غذایی، پوشش‌دهی ترکیبات فعال و مغذی با پوشش‌های خوراکی با اندازه نانو و افزودن این ذرات به مواد خوراکی است. نانوانکپسولاسیون را می‌توان به عنوان تکنولوژی قراردعی مواد مایع، جامد و گازی شکل درون کپسول‌های کوچک تعریف نمود که در ادامه این کپسول‌ها محتویات درون خود را در مقادیر کنترل‌شده در طی بازه‌های زمانی طولانی مدت، در مناطق هدف رها می‌کنند (چمپایگنه و فوستیر، ۲۰۰۷). این تکنیک مواد واکنش‌پذیر را از سایر اجزای سیستم غذایی جداسازی و انتشار آن‌ها را کنترل می‌کند (بدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ ویس و همکاران، ۲۰۰۸). با

---

استفاده از روش‌های جدید انکپسولاسیون (درون‌پوشانی)، حلالیت، پایداری در مقابل اکسیداسیون و ایزومریزاسیون و هم‌چنین قابلیت زیستی ویتامین‌های محلول در چربی و کاروتنوئیدها بخصوص بتا کاروتن، به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد (اکس، ۲۰۰۱؛ مکلمنتز، ۲۰۰۹).

استفاده از نانو حامل‌ها برای ترکیبات غذا- داروی آگریز (نوتریسیتیکال)<sup>۱</sup> مانند ویتامین‌ها می‌تواند مزایای متعددی از جمله کنترل رهایش در یک مکان و زمان معین (گویین، ۲۰۰۴)، پایداری محصول درون‌پوشانی شده در برابر نور، حرارت و اکسیژن طی فرایند و نگهداری درون ماتریکس غذایی، افزایش حلالیت ترکیبات آگریز در محیط‌های آبی مانند انواع نوشیدنی‌ها و شیر کم‌چرب، دسترسی زیستی بالاتر آنها به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای قطرات و عدم کاهش شفافیت، به علت کوچک بودن اندازه را داشته باشد (شیمونی، ۲۰۰۹). از این تکنیک در زمینه‌های مختلف صنایع غذایی، داروسازی، مواد آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. کاربردهای غذایی عبارتند از:

۱- حصول رنگ یکنواخت در ماده غذایی؛

۲- بازدارندگی در مقابل pH، تغییرات قدرت یونی و درجه حرارت شدید؛

۳- پوشش دادن طعم‌ها یا بوهای نامطلوب؛

۴- جداسازی گونه‌های واکنش‌دهنده از یکدیگر؛

علاوه بر این، درعین‌حالی که نانوانکپسولاسیون قابلیت پخش‌پذیری و توزیع ترکیبات نامحلول در آب را افزایش می‌دهد، نبایست بر روی خواص حسی، رنگ و طعم محصول تأثیرگذار باشد (چمپایگنه و فوستیر، ۲۰۰۷؛ لاودی و سینگ، ۲۰۰۸؛ دووست و همکاران، ۲۰۱۰). حفظ ترکیب درون‌پوشانی شده طی فرایند انتقال به ماده غذایی و هم‌چنین در طی مدت نگهداری، بایستی در بیشترین حد باشد؛ در مقابل میزان

---

<sup>۱</sup> Nutricritical

رهایش آن در مکان جذب بایستی به صورت بهینه باشد (سئوانت و همکاران، ۲۰۱۲). به منظور مؤثر بودن سیستم‌های انتقالی (دارو، غذا و ژن)، ترکیبات درون‌پوشانی‌کننده بایستی از مواد طبیعی تهیه شوند و از نظر ایمنی و سلامتی (GRAS)<sup>۱</sup> قابل قبول، ارزان قیمت باشند و از تجزیه نابهنگام آنها جلوگیری شود. سیستم‌های رهایش باید با دیگر ترکیبات موجود در سیستم، از نظر خواص فیزیکوشیمیایی و کیفی محصول نهایی (ظاهر، بافت، طعم و زمان ماندگاری) سازگار باشند. نکته مهم اینکه در فناوری نانو، تنها کوچک بودن اندازه ذره مد نظر نیست، بلکه تغییر در خصوصیات ذاتی ذره همراه با تغییر در اندازه آن نیز، باید مورد توجه قرار گیرد (لیو و همکاران، ۲۰۰۷).

انتخاب مناسب فرایند، امولسیفایرها و دیگر ترکیبات مورد استفاده، مهم‌ترین عامل جهت به‌دست آوردن ذراتی با اندازه و رنگ مطلوب برای هر کاربردی است. البته کنترل دقیق و درست فرایند نیز در طول فرآیند تولید فرمولاسیون‌ها ضروری است (یوردوگول و همکاران، ۲۰۰۴؛ تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).

### ۱-۳-۱ سیستم‌های نانوحامل

یکی از رایج‌ترین زمینه‌های کاربرد نانوذرات در صنایع غذایی و دارویی، استفاده از آن‌ها به عنوان حامل-هایی برای مواد غذا-دارو و مواد زیست فعال است (گونت و همکاران، ۲۰۱۰). روش تهیه نانوحامل کلوئیدی با توجه به عواملی از قبیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی مواد حامل، ماهیت محیط اطراف نانوحامل‌ها، غلظت موثر مواد به دام افتاده و سمیت آنها، فرایندهای اضافی در طول عملکرد یا تحویل مواد توسط نانوحامل‌ها (گمزه‌نژ و فرناندز-رومرو، ۲۰۰۶)، اندازه بهینه، پلی‌دیسپرسیته (چند پخشی بودن) و ماندگاری ذرات برای کاربردهای مورد نظر و امکان تولید نانوحامل سالم، کارا و موثر در مقیاس‌های بزرگ، انتخاب می‌شود

<sup>۱</sup> Generally Recognized as Safe

---

(مظفری و همکاران، ۲۰۰۸).

سیستم‌های نانو حامل را به دو دسته بیوپلیمری (پروتئینی و پلی‌ساکاریدی) و حامل‌های بر پایه لیپید طبقه‌بندی می‌نمایند. آنها عموماً متشکل از یک دیواره یا غشاء فیزیکیوشیمیایی محافظ و یک هسته فعال هستند و از روی عملکرد غشای سلولی در طبیعت الگوبرداری می‌شوند. از این سیستم‌ها برای پوشاندن و درون‌پوشانی ترکیبات مختلفی در صنایع غذایی از جمله ترکیبات ویتامینی، مواد غذا-دارو، ترکیبات آنتی-اکسیدانی، مواد ضد میکروبی، مواد طعمی و هم‌چنین میکروب‌های مفید استفاده می‌شود. لایه بیرونی این کپسول‌ها بسته به اینکه مواد داخل کپسول در آب یا در روغن حل شوند، طراحی می‌شود (بدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ فتحی و همکاران، ۲۰۱۲). نانوحامل‌های بر پایه لیپیدی شامل نانوامولسیون‌ها، امولسیون‌های چندگانه<sup>۱</sup>، نانولیپوزوم، نانوذرات لیپیدی و ذرات هیدروژل پرشده<sup>۲</sup> (شکل ۱-۲) و نانوحامل‌های بر پایه پلیمری شامل بیوپلیمرهایی از جمله پروتئین و پلی‌ساکارید و هم‌چنین کمپلکس حاصل از مخلوط این دو نوع بیوپلیمر هستند. اگرچه نانوحامل‌های کربوهیدراتی و پروتئینی فواید بسیاری از جمله ممانعت از بروز سرطان، بهبود سلامتی روده و کاهش کلسترول خون دارند (جونز و مکلمنتز، ۲۰۱۱)، اما امکان صنعتی شدن کامل آنها به علت به کارگیری فرآیندهای پیچیده گرمایی یا شیمیایی مختلف که به طور کامل قابل کنترل نیستند، وجود ندارد. ولی نانوحامل‌های لیپیدی، دارای امکان تولید در مقیاس صنعتی، کارایی درون-پوشانی بالا و سمیت کمتری هستند ( فتحی و همکاران، ۲۰۱۲؛ مکلمنتز و لی، ۲۰۱۰).

---

<sup>۱</sup> Multilayer Emulsion

<sup>۲</sup> Filled Hydrogel Particles



شکل ۱-۲: انواع سیستم‌های حامل بر پایه لیپیدی (مکلمنتر و لی، ۲۰۱۰).

### ۱-۱-۳-۱ سیستم‌های حامل لیپیدی

#### ۱-۱-۳-۱-۱ نانوامولسیون

امولسیون‌ها تعلیق‌های کلوئیدی با حداقل دو مایع غیرقابل امتزاج هستند که دارای سامانه نامتعادلی هستند و به طور خودبه‌خودی تشکیل نمی‌شوند. ساختمان امولسیون‌ها از قطرات پراکنده یک مایع (فاز معلق یا فاز داخلی) در یک مایع دیگر (فاز پیوسته یا فاز خارجی) تشکیل شده است. امولسیون‌ها را از روی اندازه قطرات امولسیون، به میکرو، مینی یا نانو و ماکرو تقسیم می‌کنند. امولسیون‌هایی که قطر ذرات آنها در مقیاس nm و بر اساس نظر اکثر نویسندگان، حداکثر ۵۰۰ nm باشد، نانوامولسیون خوانده می‌شوند (گوتی یرز و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۱-۱: تفاوت‌ها و شباهت‌های انواع امولسیون‌ها (جعفری و همکاران، ۲۰۰۷).

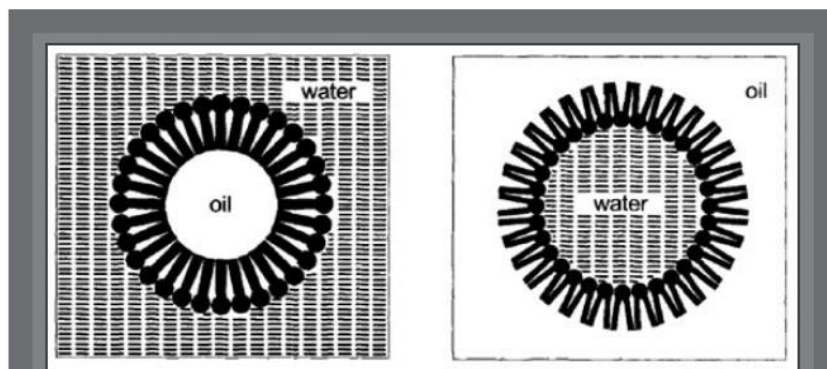
ویژگی‌ها	ماکروامولسیون	میکروامولسیون	نانوامولسیون
ظاهری	وابسته به فرمولاسیون	شفاف	شفاف یا نیمه‌شفاف
روش‌های تولید	همگن‌سازی معمولی	امولسیون‌سازی با انرژی پایین	امولسیون‌سازی با انرژی بالا
بار عوامل فعال سطحی	نسبتاً کم	نسبتاً زیاد (بین ۱۰-۲۰ درصد)	متوسط (کمتر از ۱۰ درصد)
اندازه قطر	۰/۵ - ۱۰۰ میکرومتر	۱۰-۱۰۰ نانومتر	۲۰-۲۰۰ نانومتر
پایداری ترمودینامیکی	ناپایدار	پایدار	ناپایدار (پایدار از لحاظ سینتیکی)

در ضمن، اغلب ویژگی‌های امولسیون‌ها مانند پایداری، رئولوژی، ظاهر، رنگ و بافت آن‌ها به اندازه قطرات امولسیون و توزیع اندازه قطرات بستگی دارد. به همین دلیل، کنترل، پیش‌بینی، اندازه‌گیری و گزارش اندازه قطرات در امولسیون‌های تهیه شده برای کاربردهای مختلف بسیار مهم و ضروری است (مک‌کلمنتز، ۱۹۹۹). اصولاً نانوامولسیون‌ها، به واسطه اندازه ویژه، ظاهری شفاف یا نیمه‌شفاف دارند و به لحاظ توزیع اندازه قطرات از پایداری سینتیکی بالا، گرانی کم، و پایداری بالا در برابر پدیده‌های ترسیب، خامه‌ای شدن، به هم پیوستن و لخته شدن برخوردارند و به همین دلایل امروزه برای کاربردهای صنعتی فراوانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. لازم به توضیح است که تکنیک‌های مختلفی برای تولید نانوامولسیون‌ها وجود دارد که هر یک از آنها باعث تولید نانوامولسیون‌هایی با ویژگی‌های متفاوت می‌شود و هر یک دارای مزایا و معایبی است (جعفری و همکاران، ۲۰۰۷؛ سولانز و همکاران، ۲۰۰۵).

امولسیون در مواد غذایی امولسیون‌ها معمولاً شامل دو فاز روغن و آب هستند. اگر آب فاز پیوسته و روغن فاز پراکنده را تشکیل دهد، امولسیون از نوع روغن در آب (O/W) است و اگر آب فاز پراکنده و روغن فاز پیوسته را تشکیل دهد، امولسیون از نوع آب در روغن (W/O) است (شکل ۱-۳). این سامانه‌ها پایداری



کمی دارند و پایداری آن‌ها را می‌توان توسط عوامل فعال سطحی و مواد دیگر افزایش داد.



شکل ۱-۳: امولسیون (O/W) چپ و امولسیون (W/O) راست (مولت و همکاران، ۲۰۰۴).

همان گونه که گفته شد، برای پایداری امولسیون جسم سوم یا ترکیبی از چندین ماده لازم است که این ترکیبات عوامل فعال سطحی، امولسیفایر یا ماده امولسیون کننده نامیده می‌شوند. امولسیفایرها ترکیبات فعال سطحی هستند که توانایی کاهش کشش بین سطحی میان هوا - مایع و مایع - مایع را دارند و موجب افزایش پایداری امولسیون‌ها می‌شوند (مولت و همکاران ۲۰۰۴). اولین مرحله در تشکیل یک امولسیون پایدار پخش و پراکنده شدن یک فاز در فاز دیگر است. عامل مهم در تثبیت امولسیون تشکیل شده ایجاد یک لایه تک مولکولی در حد فاصل بین سطوح روغن و آب به وسیله امولسیفایر است. معمولاً در فرایند تشکیل امولسیون با روش‌های مکانیکی (برای مثال، استفاده از همزن یا همگن ساز) تعداد قطرات افزایش می‌یابد و در نتیجه سطح قطرات بیش از چندین هزار برابر افزایش می‌یابد و برای شکل‌گیری قطرات ریز با سطح بیشتر باید مقادیر قابل توجهی انرژی صرف شود. بنابراین، در چنین مواردی افزودن امولسیفایرها به امولسیون تشکیل شده کشش سطحی را کاهش می‌دهد و موجب کاهش مقدار انرژی مکانیکی مورد نیاز جهت تشکیل امولسیون می‌گردد. مرحله اول در تشکیل امولسیون تخریب و متلاشی کردن قطرات درشت است. سپس، باید مقادیر کافی از امولسیفایر مناسب در حد فاصل بین فاز آب و روغن جذب گردد تا از تراکم و یکی شدن قطرات پراکنده شده جلوگیری گردد. اندازه قطرات موجود در امولسیون تشکیل

---

شده نیز به روش تهیه، مقدار و نوع امولسیفایر افزوده شده و درجه حرارت امولسیون بستگی دارد (تادروس، ۲۰۰۹). اساساً تشکیل و تثبیت امولسیون ها از طریق به کارگیری امولسیفایرها ممکن است. این مواد از نظر ساختمان شیمیایی و قدرت یونی به دو دسته قطبی و غیرقطبی تقسیم می شوند که نوع قطبی خود به دو دسته یونی و غیر یونی طبقه بندی می شود و نوع یونی به سه گروه آنیونی، کاتیونی و آمفوتری تقسیم می شود. امولسیفایرهای قطبی بیشتر به فاز آبی متصل می شوند و موجب تثبیت امولسیون های روغن در آب می گردند، در حالی که امولسیفایرهای غیرقطبی بیشتر به سمت فاز روغن گرایش دارند و امولسیون های آب در روغن را تثبیت می کنند. تعیین نوع عملکرد امولسیفایرها از طریق مشخص کردن عدد HLB<sup>۱</sup> یا تعادل عوامل هیدروفیل-لیپوفیل موجود در مولکول امولسیفایر انجام می گیرد. در ضمن، اکثر عوامل امولسیون کننده دارای ساختمانی آمفی فیل هستند، یعنی هم حاوی گروه های قطبی و هم حاوی گروه های غیرقطبی اند؛ گروههای قطبی آبدوست یا هیدروفیل هستند و به طرف آب کشیده می شوند، در حالی که گروه های غیرقطبی آبگریز یا هیدروفوب هستند و به طرف روغن جذب می گردند. هنگامی که مقادیر کمی از عوامل امولسیون کننده به دو مایع غیرقابل امتزاج افزوده شود، این عوامل در حد فاصل بین دو فاز قرار می گیرند و سطح قطرات فاز پراکنده را با ایجاد یک لایه نازک به دور آن پوشش داده و به این ترتیب فشارهای بینابینی را کاهش می دهند و از به هم چسبیدن و یکی شدن قطرات جلوگیری می کنند. در نتیجه، موجب پایداری امولسیون می گردند. امولسیفایرهای استفاده شده در مواد غذایی به طور کلی شامل پروتئین های دارای منشأ طبیعی، استرول ها، فسفاتیدها و بسیاری از ترکیبات مصنوعی هستند. یک امولسیفایر مناسب علاوه بر دارا بودن قدرت امولسیفایری خوب، باید غیرسمی، نسبتاً بدون بو و فاقد طعم و رنگ باشد و تحت تمامی شرایطی که مواد غذایی ممکن است در معرض آنها قرار گیرند پایدار باشد و استفاده از آن از

---

<sup>۱</sup> Hydrophilic-lipophilic balance

نظر قانونی نیز مجاز باشد (تادروس، ۲۰۰۹؛ هنری و همکاران، ۲۰۱۰). نانوامولسیون‌ها دسته‌ای از امولسیون‌ها هستند که در آن‌ها اندازه قطرات فاز پراکنده در محدوده  $20\text{ nm}$  تا  $200\text{ nm}$  قرار دارد. یک نانو امولسیون مطلوب از توزیع اندازه محدود، پایداری سنتیکی و شفافیت بالا برخوردار است. نانو امولسیون‌ها نسبت به ماکروامولسیون‌ها (امولسیون‌های متداول) دارای مزایای زیر هستند:

۱- شفافیت بالاتر: قطر قطرات نانوامولسیون‌ها ( $d$ ) کوچک‌تر از طول موج نور ( $l$ ) است ( $d < l$ )، به همین دلیل نور را به میزان اندکی پراکنده می‌کنند و در نتیجه شفاف هستند، به این ترتیب می‌توان ترکیبات غذا-دارو آگریز، از جمله ویتامین‌های محلول در چربی را به محصولات غذایی شفاف و نوشیدنی‌ها وارد کرد و این مهم‌ترین برتری و مزیت نانوامولسیون‌ها بر امولسیون‌های متداول است (گوتیر و همکاران، ۲۰۰۸).

۲- دسترسی زیستی بالاتر: مطالعات نشان می‌دهند در صورتی که مواد غیر قطبی به صورت نانوامولسیون درون پوشانی شوند، دسترسی زیستی آن‌ها نسبت به امولسیون‌های متداول افزایش خواهد یافت. چون نسبت سطح به حجم بالاتر است.

۳- پایداری بالاتر در برابر تفکیک گرانشی: نانوامولسیون‌ها نسبت به امولسیون‌های متداول، در مقابل پدیده تفکیک گرانشی پایداری بالاتری دارند. چون اندازه قطرات در آن‌ها کوچک بوده و در نتیجه اثر حرکت براونی بر نیروی گرانشی غلبه می‌کند. هم‌چنین با کاهش ابعاد ذرات، محدوده نیروهای جاذبه کاهش می‌یابد و در زیر  $300\text{ nm}$ ، تفکیک گرانشی به شدت کاهش می‌یابد. بایستی پس از تهیه نانوامولسیون، از پدیده‌های ناپایدار کننده (انبوهش<sup>۱</sup>، هم‌آمیزی<sup>۲</sup> و رسیدگی استوالد<sup>۳</sup>) ممانعت کرد تا اندازه قطرات نانوامولسیون به

<sup>۱</sup> Flocculation

<sup>۲</sup> Coalescence

<sup>۳</sup> Ostwald ripening

---

هنگام نگهداری افزایش نیابد، در غیر این صورت این نوع امولسیون‌ها نیز کدر خواهند شد (تادروس و همکاران، ۲۰۰۴؛ مکلمنتز و لی، ۲۰۱۰).

کاهش اندازه قطرات، علاوه بر افزایش شفافیت، دسترسی زیستی و پایداری بیشتر در برابر تفکیک گرانشی، باعث تغییر ویژگی‌های زیر در امولسیون‌ها می‌شود:

- افزایش سطح قطرات ممکن است موجب کاهش پایداری شیمیایی شود؛
- افزایش انحناء موجب افزایش فشار لاپلاس داخل قطره‌ها و در نتیجه افزایش حلالیت روغن در آب و انتقال جرم بیشتر و در نتیجه رسیدگی استوالد بیشتر می‌گردد. بنابراین باید از روغن‌هایی با حلالیت پایین در این سیستم‌ها استفاده شود؛
- افزایش سطح قطره‌ها موجب افزایش ویسکوزیته امولسیون می‌گردد و پایداری در برابر تفکیک گرانشی و انبوهش را افزایش می‌دهد؛
- کاهش اندازه قطرات موجب افزایش برخورد‌ها بین قطرات می‌شود که موجب افزایش امکان انبوهش و هم‌آمیختگی جزئی می‌گردد (نتیجه نهایی به غلبه یکی از دو عامل فراوانی برخورد و ویسکوزیته بستگی دارد).

نانوامولسیون‌ها اگرچه از لحاظ سینتیکی پایدار هستند ولی غیرتعادلی بوده و نمی‌توانند خودبه‌خود تشکیل شوند و تشکیل آنها مستلزم ورود انرژی به سیستم است که این انرژی می‌تواند توسط ابزارهای مکانیکی (روش پراورزی) یا انرژی پتانسیل اجزای تشکیل‌دهنده آن (روش کم انرژی) تأمین شود. جهت تشکیل و افزایش سطح بین فاز روغن و فاز آبی نیاز به ورود انرژی به سیستم نانوامولسیون است و در نتیجه این سیستم‌ها از لحاظ ترمودینامیکی ناپایدار هستند و تمایل دارند در طول زمان، در اثر پدیده‌های فیزیکوشیمیایی مختلف، به فازهای تشکیل‌دهنده خود تفکیک شوند (مکلمنتز و رآ، ۲۰۱۱؛ جعفری و همکاران، ۲۰۰۸؛ مکلمنتز و لی، ۲۰۱۰).

### ۱-۳-۱-۱-۱-۱-۱ انواع روش‌های تهیه نانوامولسیون

روش‌های تهیه نانوامولسیون‌ها را به صورت زیر می‌توان خلاصه کرد:

**الف) روش پارانرژی:** در روش پارانرژی از تجهیزات مکانیکی قادر به تولید نیروی گسیختگی شدید، برای شکستن فازهای آب و روغن و تشکیل قطرات روغن استفاده می‌شود. این سیستم‌ها کنترل بیشتری روی توزیع اندازه و ترکیب نانوامولسیون‌های حاصله دارند. تشکیل نانوامولسیون‌ها با استفاده از روش‌های پارانرژی، توسط ترکیبات انتخاب شده (سورفکتانت‌ها و ترکیبات عملگرا) و توسط مقدار انرژی اعمال شده کنترل می‌شود (سیلوا و همکاران، ۲۰۱۲). این روش‌ها به سه گروه اصلی روش هموژنیزاسیون فشار بالا، فراصوت و روش تجهیزات با سرعت بالا تقسیم‌بندی می‌شوند. در هموژنیزاسیون فشار بالا مانند میکروفلوئیدایزرها<sup>۱</sup>، فشار برشی خیلی بالا باعث تشکیل قطرات امولسیون ریز (روآ و مکلمنتز، ۲۰۱۲؛ سیلوا و همکاران ۲۰۱۲) و در روش فراصوت، شوک شدید موج‌ها در اطراف مایع و تشکیل جت‌های مایع در سرعت بالا، باعث تشکیل قطرات ریز امولسیون می‌گردد (شکل ۱-۴). از تجهیزات با سرعت بالا می‌توان ابزارهای روتور یا استاتور<sup>۲</sup> (از قبیل اولتراتوراکس<sup>۳</sup>) را نام برد که در مقایسه با سایر روش‌های پارانرژی، دیسپرسیون خوبی را از نظر اندازه ذرات فراهم نمی‌کنند و انرژی فراهم شده تقریباً به صورت گرما به هدر می‌رود (سیلوا و همکاران، ۲۰۱۲). انتخاب تجهیزات و شرایط مورد استفاده در روش پارانرژی به خصوصیات ماده‌ای که هموژنیزه می‌شود و نیز خصوصیات امولسیون نهایی بستگی دارد. در روش استفاده از هموژنیزاسیون فشار بالا مانند میکروفلوئیدایزرها عوامل موثر در اندازه قطرات عبارتند از:

➤ تعداد دفعات هموژنیزاسیون و فشار هموژنایزر (مکلمنتز، ۲۰۰۵).

<sup>۱</sup> Microfluidizer

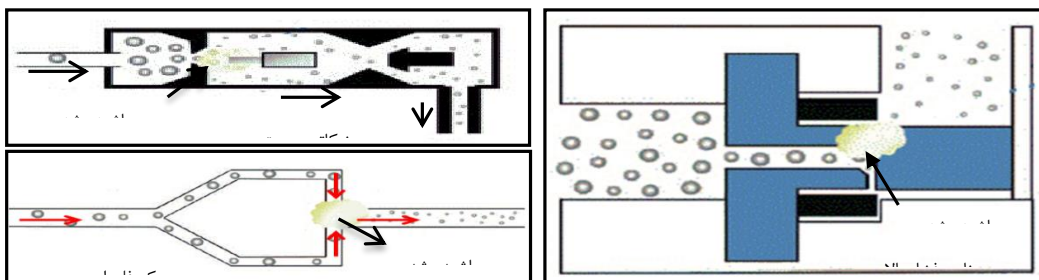
<sup>۲</sup> Rotor/Stator

<sup>۳</sup> Ultra-Turrax

➤ نسبت ویسکوزیته فاز پراکنده به فاز پیوسته (تادروس و همکاران، ۲۰۰۴).

➤ مقدار امولسیفایر (مناسب) در محیط (جعفری و همکاران، ۲۰۰۸).

به طور کلی اندازه قطرات تولیدی در این روش‌ها، متأثر از دو پدیده هم‌زمان پاره شدن قطرات و ادغام شدن آنها است. از مزایای روش هموژنیزاسیون فشار بالا می‌توان به غیر سمی بودن، بالا بودن میزان فاز لیپیدی و هم چنین امکان تولید در مقیاس وسیع اشاره کرد. اما به علت اندازه کوچک و حالت مایع بودن نانو حامل، کنترل رهایش ترکیبات ریزمغذی داروها از نانوامولسیون‌ها، مشکل است (فتحی و همکاران، ۲۰۱۲).



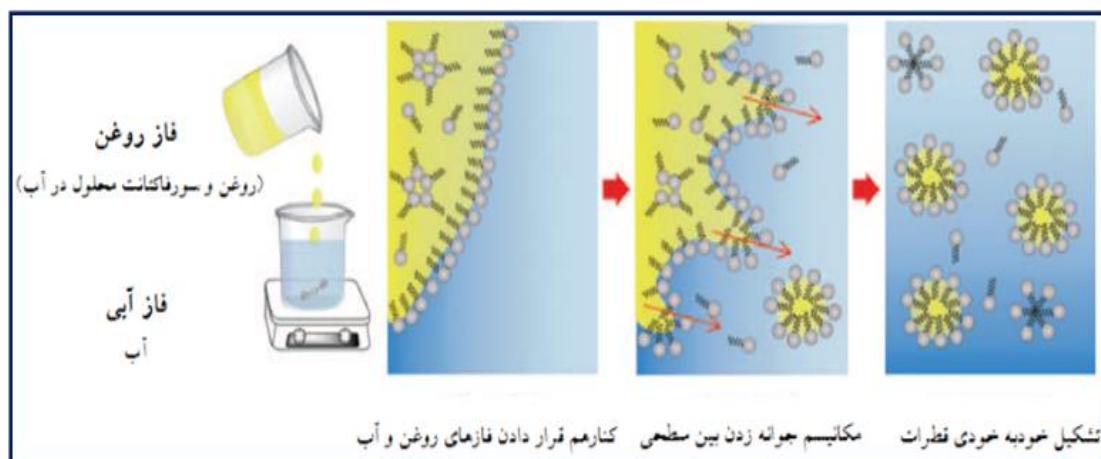
شکل ۱-۴: انواع روش‌های پراثرژی شامل هموژنیزاسیون فشار بالا- سونیکاتور و میکروفلوئیدایزر.

ب) **روش کم‌انرژی:** روش‌های کم‌انرژی به طور عمده به کنترل پدیده بین سطحی در مرز بین فازهای آب- روغن تکیه دارند و به شدت به ماهیت هر مولکول فعال سطحی حاضر مثل حلالیت و ساختار مولکولی آنها وابسته است (مکلمنتر و روا، ۲۰۱۱). در این روش‌ها از خصوصیات فیزیکوشیمیایی سیستم برای تولید امولسیون استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که روش‌های کم‌انرژی اغلب در تولید ذرات ریز از روش‌های پراثرژی کارآمدتر هستند و محدودیت این روش‌ها شامل استفاده از مقادیر بالای سورفکتانت و انتخاب دقیق نوع سورفکتانت و نوع فاز روغن است. به طوری که باید از غلظت‌های نسبتاً بالا از امولسیفایرهای سنتزی استفاده شود و هم‌چنین نمی‌توان از پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها به عنوان امولسیفایر برای تولید آنها استفاده نمود. این امر استفاده از این روش‌ها را در بسیاری از مصارف غذایی محدود می‌کند (مکلمنتر و روا،

---

۲۰۱۱؛ سیلوا و همکاران، ۲۰۱۲).

امولسیفایرهای مورد استفاده در این تکنیک، سورفکتانت‌های ریز مولکول بوده که قادر به پایدار کردن هر دو نوع امولسیون آب در روغن (حداقل در کوتاه مدت) و امولسیون روغن در آب (در بلند مدت) هستند. یکی از انواع روش‌های کم‌انرژی تولید خودبه‌خودی امولسیون یا روش جوانه‌زنی سورفکتانت در فاز آبی است که در نتیجه تیتراسیون یک فاز آلی حاوی محلول هموژنیزه روغن، سورفکتانت هیدروفیل و حلال قابل امتزاج با آب در فاز آبی صورت می‌گیرد. امولسیفیکاسیون خودبه‌خودی توسط مکانیزم‌های مختلف مثل انتشار مواد موجود در محلول بین دو فاز، آشفته‌گی بین سطحی، گرادیان کشش سطحی و مکانیزم پراکندگی انجام می‌گیرد که احتمالاً تحت تأثیر ترکیبات سیستم و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آنها مثل ویژگی‌های فیزیکی فاز روغنی و سورفکتانت است (بوچمال و همکاران، ۲۰۰۴؛ سیلوا و همکاران، ۲۰۱۲). هر کدام از فازها حاوی اجزایی هستند که با فاز دیگر غیر قابل امتزاجند؛ یکی از فازها حاوی روغن و دیگری حاوی آب است؛ زمانی که دو فاز در مجاورت هم قرار می‌گیرند، سورفکتانت که در هر دو فاز قابل امتزاج است، به تدریج از فازی که در آن حضور داشت به فاز دیگر مهاجرت می‌کند. با مهاجرت این ترکیب، مساحت بین سطحی افزایش می‌یابد، آشفته‌گی بین سطحی ایجاد می‌شود و در نهایت امولسیون تشکیل می‌شود (شکل ۱-۵). می‌توان با تغییر دادن شرایط هم‌زدن و نوع فازهایی که برای تولید امولسیون از آنها استفاده شده بود، اندازه قطرات را کنترل نمود (مکلمنتز و روآ، ۲۰۱۱).



شکل ۱-۵: طرح شماتیک مکانیسم تولید خودبه خودی امولسیون (صابری و همکاران، ۲۰۱۳).

همچنین در روش‌های کم انرژی، نانوامولسیون می‌تواند در نتیجه انتقال فاز<sup>۱</sup> یا کاتاستروفیک<sup>۲</sup> در طی فرایند امولسیفیکاسیون که در دمای ثابت با تغییر در ترکیب یا در ترکیب ثابت با تغییر در دما انجام می‌گیرد، تولید شود. معکوس شدن فاز در امولسیون‌ها، فرآیندی است که در آن امولسیون روغن در آب به امولسیون آب در روغن تبدیل می‌شود و برعکس. معکوس شدن فاز در امولسیون‌های غذایی به دو نوع ناشی از سورفکتانت و ناشی از کریستالیزاسیون چربی تقسیم می‌شود که یکی از انواع روش‌های کم انرژی در تولید نانوامولسیون‌ها، روش معکوس شدن فاز ناشی از سورفکتانت است. لین-ای<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود، اساس معکوس شدن ناشی از سورفکتانت را تغییر در حلالیت ماده فعال سطحی در اثر تغییر دما معرفی نمودند. ماده فعال سطحی در دماهای پایین آبدوست بوده و باعث تقویت تشکیل نانو امولسیون O/W می‌شود، در دماهای بالاتر به خاطر آبریزی زنجیره‌های آن، لیپوفیل می‌شود. با تغییر ماهیت صورت گرفته، قطرات فاز پراکنده موجود در امولسیون اولیه از حالت کروی خارج و تمایل به دربرگرفتن آب در بین خود و تشکیل

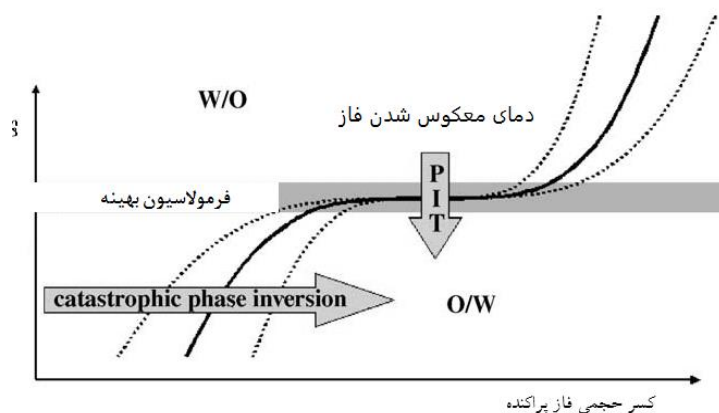
<sup>۱</sup> Transitional

<sup>۲</sup> Catastrophic

<sup>۳</sup> Lin-Ee



امولسیون را خواهند داشت. در نقطه تغییر فاز، انحناى خود به خودى ماده فعال سطحى صفر بوده و کشش  $w/o$  سطحى حداقل باعث تشکیل دیسپرسیون ذرات روغن می شود. این نوع معکوس شدن فاز در امولسیون-هایی که با سورفکتانت های ریز مولکول پایدار شده اند، اتفاق می افتد و ممکن است از نوع انتقالی و یا کاتاستروفیک باشد (شکل ۱-۶). در این جریان شکل هندسی مولکول سورفکتانت، به دلیل تغییر شرایط محلول یا محیطی مانند دما، قدرت یونی، عدد HLB، تغییر می کند و سبب معکوس شدن فاز می شود.



شکل ۱-۶: طرح شماتیکی گذر فازها برای تولید امولسیون روغن در آب با فاز پراکنده ریز (لین-ای و همکاران، ۲۰۰۸).

امولسیون های حاصل در نقطه تغییر فاز یا تغییر HLB ناپایدارند و به طور سینتیکی با خنک کردن سریع یا حرارت دادن سریع پایدار می شوند. در این حالت اندازه ذرات ریز و توزیع آنها به هم نزدیک است. در صورتی که حرارت دادن و یا خنک کردن سریع نباشد، آمیختگی ذرات رخ داده و اندازه ذرات امولسیون افزایش می یابد. روشی که با استفاده از آن می توان کمترین اندازه ذرات را تولید نمود شامل حرارت دادن تا  $15^{\circ}\text{C}$  بالاتر از دمای تغییر فاز و سپس خنک کردن کند تا نقطه تغییر فاز و سپس خنک کردن سریع تا دمای  $25^{\circ}\text{C}$  است. هدف از مرحله خنک کردن کند، انحلال کامل فاز روغنی در میکروامولسیون پیوسته در دمای تغییر فاز است که برای تولید نانوامولسیون ها مورد نیاز است (لین-ای و همکاران، ۲۰۰۸).

## ۱. فاز روغنی حامل

در نانوامولسیون‌ها می‌توان از ترکیبات غیرقطبی مختلف از جمله تری، دی و مونو آسیل گلیسرول‌ها، روغن‌های اسانسی و معدنی، واکس‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی (مانند کارتنوئیدها و فیتواسترول) به عنوان فاز روغنی استفاده کرد. تشکیل، پایداری و خصوصیات نانوامولسیون‌ها اغلب به خصوصیات فیزیکوشیمیایی توده‌ای<sup>۱</sup> فاز روغن (قطبیت، حلالیت در آب، کشش سطحی، اندیس رفرکتیو، رفتار فازی و پایداری) بستگی دارد. اگرچه تعدادی از روغن‌های خوراکی برای تولید نانوامولسیون با قطرات ریز مناسب هستند، ولی این روغن‌ها از پایداری اندکی برخوردارند. برای مثال روغن‌های اسانسی قطبیت نسبتاً بالا، کشش بین سطحی و ویسکوزیته پایینی دارند که تمام این مشخصات برای تولید نانوامولسیون با روش‌های با انرژی بالا مناسب است؛ ولی به محض تولید نانوامولسیون، پدیده‌های ناپایدار کننده رسیدگی استوالد به علت حلالیت بالای این روغن‌ها در آب و ادغام شدن به علت کشش بین سطحی پایین روغن رخ می‌دهد و امولسیون ناپایدار می‌شود (مکلمنتز و روا، ۲۰۱۱). در کاربردهای غذایی معمولاً از تری آسیل گلیسرول‌ها مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، زیتون، بذرتان و روغن ماهی استفاده می‌شود؛ زیرا هم از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌اند و هم به فراوانی یافت می‌شوند. اکثر این روغن‌ها عمدتاً از تری آسیل گلیسرول‌های بلند زنجیر (LCT)<sup>۲</sup> تشکیل شده‌اند. سایر تری آسیل گلیسرول‌ها با زنجیر متوسط (MCT)<sup>۳</sup> و کوتاه زنجیر (SCT)<sup>۴</sup> نیز در صنایع غذایی استفاده می‌شوند که البته به علت ویسکوزیته بالا، قطبیت بسیار پایین و کشش بین

<sup>۱</sup> Bulk physicochemical properties

<sup>۲</sup> Long--chain triacylglycerols

<sup>۳</sup> Medium--chain triacylglycerols

<sup>۴</sup> Small--chain triacylglycerols

سطحی پایین، تولید نانوامولسیون‌ها با آن‌ها دشوار است؛ با این وجود نانوامولسیون‌های تولیدشده با روغن-های LCT و MCT، از پایداری فیزیکی بسیار بالایی برخوردار هستند. هم‌چنین می‌توان در ترکیب فاز روغنی از ترکیبات تنظیم‌کننده وزن مانند روغن نباتی برومینه شده<sup>۱</sup> و ساکارزاستات ایزوبوتیرات استفاده نمود تا اختلاف دانسیته روغن با فاز آبی کاهش و در نتیجه نیروی محرکه تفکیک گرانشی ( $\Delta\rho$ )، کاهش یافته و پدیده‌های خامه‌ای شدن<sup>۲</sup> یا ته‌نشین شدن<sup>۳</sup> به تأخیر افتند (لیم و همکاران، ۲۰۱۱). در امولسیون‌ها یا نانوامولسیون‌ها اندازه و غلظت قطرات روغن، خصوصیات پوشش بین‌سطحی اطراف فاز روغن (از جمله بار سطحی، ضخامت، نفوذپذیری و تحریک‌پذیری به محیط اطراف)، متفاوت است که این امر خود منجر به وجود آمدن گستره وسیعی از سیستم‌های انتقال با خصوصیات کاربردی مختلف می‌گردد (مکلمنتز، ۲۰۰۵).

## ۲. فاز آبی

فاز آبی مورد استفاده در تولید نانوامولسیون‌ها، عمدتاً آب است که می‌تواند حاوی ترکیبات قطبی، شامل هم‌حلال‌ها (مانند الکل‌ها و پلی‌ال‌ها)، اصلاح‌کننده‌های بافت شامل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها (جهت تغلیظ فاز آبی و افزایش پایداری سیستم) (مکلمنتز و روا، ۲۰۱۱)، مواد معدنی، اسیدها و بازها باشد. نوع و غلظت این ترکیبات، تعیین‌کننده خصوصیات فاز آبی اعم از قطبیت، کشش سطحی، اندیس رفرکتیو، رئولوژی، دانسیته، رفتار فازی، pH و قدرت یونی است که تمام این خواص، تشکیل، پایداری و خصوصیات امولسیون تولیدی را تحت تاثیر قرار خواهند داد. به این ترتیب با کنترل ترکیب فاز آبی، می‌توان تشکیل امولسیون را بهینه نمود و در عین حال پایداری آن را بهبود بخشید.

<sup>۱</sup> Brominated vegetable oil (BVO)

<sup>۲</sup> Creaming

<sup>۳</sup> Sedimentation

### ۳. امولسیفایرها

امولسیفایرها، ترکیبات فعال سطحی واقع شده در لایه بین سطحی روغن-آب هستند که شکستن قطرات را آسان کرده و از انبوهش یا ادغام آنها ممانعت می‌کنند. رایج‌ترین امولسیفایرها در صنعت غذا سورفکتانت‌های ریز مولکول، بیوپلی‌مرهای آمفی‌فیلیک (انعطاف پذیر و کروی) و ذرات جامد هستند. ساده-ترین روش برای طبقه‌بندی امولسیفایرها بر اساس خصوصیات الکتریکی‌شان به سه گروه یونی، غیر یونی و دویونی است. اکثر سورفکتانت‌های یونی مورد استفاده در صنایع غذایی، دارای بار منفی هستند مانند سیترم<sup>۱</sup> داتم<sup>۲</sup> و سدیم دودسیل سولفات<sup>۳</sup>. یک سورفکتانت با بار مثبت وجود دارد؛ لوریک آرژینات<sup>۴</sup>، که برای اهداف خاص در صنایع غذایی از آن استفاده می‌شود. در مواردی که غلظت بالای سورفکتانت یونی مورد نیاز باشد، کاربرد آن‌ها دارای محدودیت خواهد بود، زیرا سبب حساسیت می‌شوند. سورفکتانت‌های غیر یونی دارای سمیت کمتری هستند، به میزان کمتری سبب حساسیت شده و در استرهای قندها (سوربیتان مونوآلئات، ساکارز مونوپالمیتات)، اترهای پلی‌اکسی اتیلن، استرهای اتوکسیله سوربیتان (توین‌ها و اسپان‌ها) وجود دارند. سورفکتانت‌های دویونی نیز دارای دو یا بیش از دو گروه؛ با قابلیت تولید یون با بار مخالف هستند. به همین دلیل بسته به pH محلول دارای بار مثبت، منفی و یا خنثی خواهند بود. رایج‌ترین سورفکتانت‌های دو یونی، فسفولیپیدها مانند لستین هستند که از نظر مصرف در کاربردهای غذایی ایمن و مجاز شناخته شده‌اند. (مکلمنتز و ایکیسا، ۲۰۱۲؛ تادروس و همکاران، ۲۰۰۴).

---

<sup>۱</sup> CITREM

<sup>۲</sup> DATEM

<sup>۳</sup> SDS

<sup>۴</sup> Lauric arginate

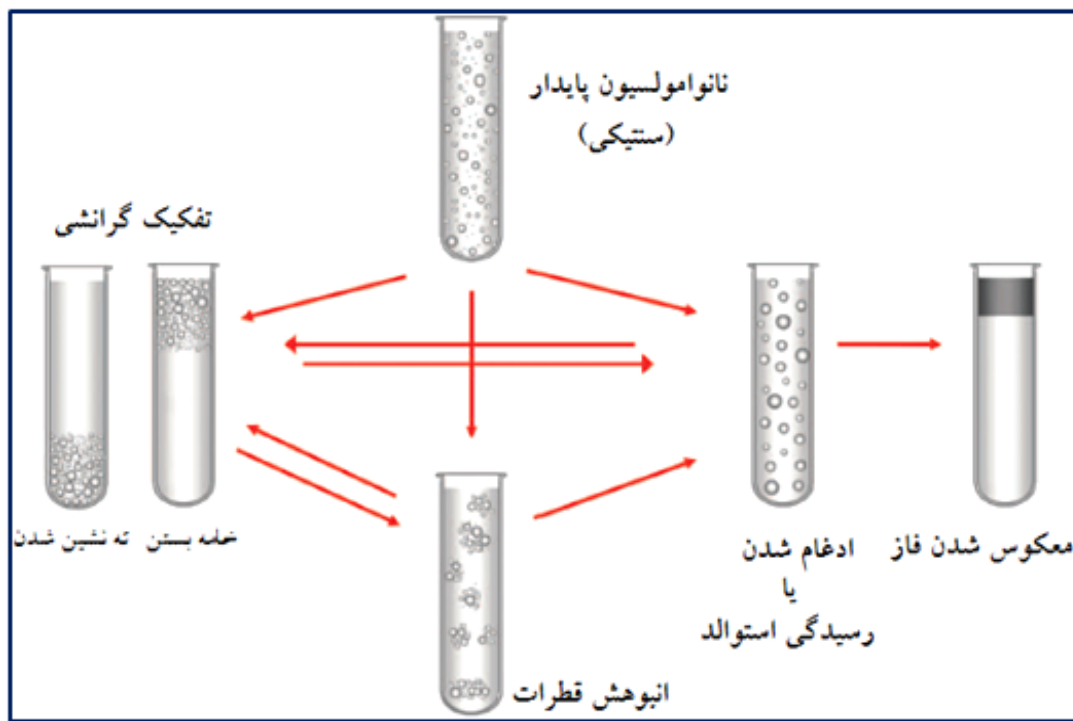
#### ۴. هم‌سورفکتانت‌ها

مولکول‌های دوگانه‌دوست فعال سطحی هستند که اغلب دارای زنجیره کربن و گروه هیدروفیل هستند و به دلیل کوچک بودن اندازه گروه قطبی‌شان، نمی‌توانند به تنهایی امولسیون را به خوبی پایدار کنند، ولی بنا به دلایل فیزیکوشیمیایی مختلف از جمله مایع ساختن لایه بین سطحی، بهبود نسبت ویسکوزیته فاز پراکنده به پیوسته، ایجاد فاصله بین گروه‌های سر سورفکتانت‌های یونی، کاهش نیروی الکتریکی مابین آن‌ها و در نهایت ایجاد انحنا مطلوب در لایه بین سطحی، می‌توانند تشکیل امولسیون را تسهیل کنند (نیک‌نیا و همکاران، ۱۳۹۲).

#### ۱-۳-۱-۱-۱-۱-۳ نقش برهم‌کنش‌های کلئیدی در مکانیسم‌های ناپایداری قطره‌ها در امولسیون-

##### ها

برهم‌کنش‌های بین قطره‌ای در امولسیون‌ها و نانوامولسیون‌ها به نوع قطره‌های فاز پراکنده و هم‌چنین ماهیت فاز پیوسته بستگی دارند. اینکه ذرات فاز پراکنده به صورت توده درآمده باشد و یا جدا از هم باقی بمانند، به ایجاد برهم‌کنش‌های کلئیدی بستگی دارد. هم‌چنین، این برهم‌کنش‌ها تعیین‌کننده ویژگی‌های توده‌های تشکیل‌شده (نظیر اندازه، شکل، تخلخل و برگشت‌پذیری آن‌ها) نیز هستند. نانوامولسیون‌ها همانند امولسیون‌های متداول، سیستم‌های نیمه پایداری هستند و در طول زمان در اثر فرآیندهای فیزیکوشیمیایی مختلف اعم از تفکیک گرانشی، انبوهش، ادغام و رسیدگی استوالد دچار شکست می‌شوند (شکل ۱-۷). در مقایسه با امولسیون‌های متداول، نانوامولسیون‌ها نسبت به پدیده‌های تفکیک گرانشی و انبوهش قطرات از پایداری بیشتری برخوردار هستند. ولی به علت کوچک بودن اندازه ذراتشان، به شدت مستعد رسیدگی استوالد هستند (روا و مکلمنتز، ۲۰۱۲). در این قسمت تأثیر اندازه ذرات و نقش برهم‌کنش‌های کلئیدی بر پایداری فیزیکی نانوامولسیون‌ها بررسی می‌شود.



شکل ۱-۷: مکانیزم‌های فیزیکوشیمیایی ناپایداری نانوامولسیون، تفکیک گرانشی، انبوهش، ادغام شدن، رسیدگی استوالد و معکوس شدن فاز (روا و مکلمنتز، ۲۰۱۲).

### ۱-۳-۱-۱-۱-۲ نانو حامل‌های لیپیدی (SLN و NLC)

امروزه نانو ذرات لیپیدی جامد و حامل‌های لیپیدی نانوساختار به عنوان سیستم‌های حامل برای کاربردهای زیادی مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. SLN‌ها از چربی‌های خالص جامد تشکیل شده‌اند، در حالی که NLC‌ها از ماتریکس جامدی تشکیل شده‌اند که ذرات نانو چربی مایع را در خود جای داده‌اند. این سیستم‌ها در مقایسه با سایر سیستم‌های کلوئیدی مزیت‌های بیشتری را شامل می‌شود. از جمله می‌توان به کنترل آزاد سازی دارو و افزایش در پایداری شیمیایی داروهای وارد شده به آنها اشاره نمود. علاوه بر این حامل‌های ایمنی بوده که می‌توانند به راحتی در مقیاس بالا تولید شوند. در ادامه، مروری بر مواد رایج در تولید، روش تولید، ویژگی‌ها و پایداری فیزیکی این سیستم‌ها صورت خواهد گرفت (کلیدری و همکاران، ۲۰۱۳).

اولین ذرات با اندازه میکرومتر که با استفاده از مواد لیپیدی تهیه شد از طریق دیسپرس کردن فاز لیپیدی

ذوب شده در داخل محلول گرم سورفکتانت با هم‌زدن با سرعت بالا صورت گرفت که امولسیون تشکیل شده در دمای اتاق سرد شد. این که لیپید فاز داخلی ذرات با اندازه میکرو یا نانو را ایجاد کند به غلظت سورفکتانت بستگی داشت. محصول به دست آمده نانوپلت لیپیدی<sup>۱</sup> نامیده شد و جهت تجویز خوراکی توسعه پیدا کرد. در مورد نانوپلت‌ها غلظت بالای امولسیفایر سبب کاهش اندازه ذره می‌شود، اما خطر سمیت و عوارض جانبی را نیز به دنبال دارد. حامل‌هایی شبیه این سیستم‌ها و با روش فراصوت نیز تهیه شده و به عنوان لیپوسفر معرفی شدند. اولین تلاش‌ها جهت ساخت نانوذرات لیپیدی با ساختار جامد توسط مولر و لوک با روش هم‌وژنیزاسیون گرم با فشار بالا و توسط گاسکو با روش میکروامولسیون در سال ۱۹۹۱ شروع شد (مولر و همکاران، ۲۰۰۲).

### ۱-۳-۱-۱-۱-۲ مزایا و ویژگی‌های نانوذرات لیپیدی

نانوذرات لیپیدی دارای امتیازات و برتری‌هایی هستند که دیگر حامل‌های کلوئیدی ندارند و با توجه به خواصی که دارند، بسیاری از کمبودها و نواقص سیستم‌های میکروکپسول و اخیراً نیز سیستم‌های نانو حامل کلوئیدی را ندارند. در مقایسه با نانوامولسیون و نانولیپوزوم‌ها، نانوحامل‌های لیپیدی از مزایای منحصر به فرد و ویژه‌ای برخوردار هستند که عبارتند از:

۱- بازده و کارایی بالا در انکپسولاسیون؛

۲- پایداری بالاتر در برابر تفکیک گرانشی به علت بالاتر بودن چگالی ذرات؛

۳- توانایی پوشش‌دهی ترکیبات لیپوفیلیک به آسانی

۴- عدم استفاده از حلال‌های آلی در تهیه آن‌ها و سمیت جزئی آن‌ها؛

<sup>۱</sup> Lipid Nanopellets

- 
- ۵- وجود غلظت‌های بالا از ترکیبات عملگرا در هر ذره بدون جدایی فاز و ناپایدار شدن ذرات؛
- ۶- انتشار مولکولی آهسته‌تر و در نتیجه رهایش کندتر مواد فعال، سرعت آهسته‌تر تجزیه ترکیب فعال در مدت زمان‌های طولانی؛
- ۷- امکان الحاق ترکیبات حساس به درون ساختار نانوذرات و محافظت از آنها در برابر رطوبت، نور، تجزیه شیمیایی و محافظت بالاتر در برابر عوامل اکسید کننده به علت نفوذ کمتر اکسیژن و فلزات و در نتیجه پایداری شیمیایی بالاتر؛
- ۸- امکان تولید و استریلیزاسیون آنها در مقیاس‌های بزرگ صنعتی (گونت و همکاران، ۲۰۱۰؛ فتحی و همکاران، ۲۰۱۲).
- مشکل اصلی امولسیون‌ها و لیپوزوم‌ها عدم حفاظت داروهایی است که از لحاظ شیمیایی ناپایدار هستند. علاوه بر این رهایش ترکیبات فعال در امولسیون‌ها یکباره و در مورد لیپوزوم‌ها نسبتاً سریع است (داس و چودهری، ۲۰۱۱؛ مولر و همکاران، ۲۰۰۲؛ سائوپ و همکاران، ۲۰۰۵).
- با وجود مزایای فوق الذکر، تنها عیب SLN در مقایسه با نانوامولسیون‌ها و میکروامولسیون‌ها، کدرتر بودن آنهاست؛ چون به علت اندیس شکست بالاتر، نور را بیشتر پخش می‌کنند. خواص منحصر به فرد SLN‌ها در نتیجه تأثیر مستقیم کاهش اندازه ذرات است که منجر به افزایش انحنای سطح و هم‌چنین افزایش تعداد مولکول‌های هر ذره که به طور فعال با مولکول‌های موجود در بین سطح (یعنی ترکیبات فعال بین‌سطحی) واکنش می‌دهند، می‌شود. پس از تهیه SLN، ابتدا فوراً ساختارهای کریستال‌های لیپیدی با انرژی‌های بالا یعنی  $\alpha$  و  $\beta'$  تشکیل می‌شود، اما با گذشت زمان لیپید به ساختارهایی با انرژی کمتر یعنی  $\beta$  تبدیل می‌شود (داس و چودهری، ۲۰۱۱؛ مولر و همکاران، ۲۰۰۲).

### ۱-۳-۱-۱-۱-۱-۲-۳ روش‌های تولید ساختارهای نانوذرات لیپیدی

سه روش اصلی برای تهیه نانوذرات لیپیدی وجود دارد که عبارتند از:



۱- روش هموژنیزاسیون گرم با فشار بالا (Hot-HPH)<sup>۱</sup>

۲- روش میکروامولسیون

۳- هموژنیزاسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH)<sup>۲</sup>

علاوه بر سه روش ذکر شده، سایر روش‌ها مانند امولسیفیکاسیون - تبخیر حلال، امولسیفیکاسیون- پخش حلال، تزریق یا جابه‌جایی حلال، روش معکوس شدن فاز نیز وجود دارد (هیو و همکاران، ۲۰۰۲). انتخاب نوع روش تولیدی مناسب، تا حد زیادی به انتخاب نوع سورفکتانت و ترکیبات لیپیدی بستگی دارد. با حرارت‌دهی اجزاء هسته لیپیدی در بالاتر از نقطه ذوب آنها و در ادامه استفاده از یک روش تولید امولسیون یا میکروامولسیون، به طور مثال استفاده از فرایند هموژنیزاسیون یا مخلوط نمودن فاز چربی ذوب شده با یک محلول آبی سرد، در حضور سورفکتانت‌ها (لستین، پلی سوربات ۲۰ و ۶۰ و پلوکسامر ۴۰۷)، ذرات دومرتبه کریستالیزه شده و تولید ساختارهای نانوحامل لیپیدی می‌نمایند (ساگالوویزه و لزر، ۲۰۱۰، ویس و همکاران، ۲۰۰۸).

الف) روش هموژنیزاسیون گرم با فشار بالا (Hot-HPH)

این روش متداول‌ترین روش برای تولید و آماده‌سازی SLN و NLC است. این روش از مزایای بسیاری مانند راحت بودن، صنعتی کردن آن، عدم استفاده از حلال‌های آلی و مدت زمان تولید کم در مقایسه با دیگر روش‌ها برخوردار است (پاردیک و همکاران، ۲۰۰۹). در این روش ساختارهای نانوحامل را می‌توان از طریق ذوب نمودن چربی‌ها، سپس حل نمودن یک جزء لیپوفیلیک در چربی ذوب شده و در ادامه اعمال فرایند هموژنیزاسیون فشار بالا بر روی فاز چربی ذوب شده در حضور عوامل فعال سطحی در  $5-10^{\circ}\text{C}$  بالاتر

<sup>۱</sup> Hot High Pressure Homogenization

<sup>۲</sup> Cold- High Pressure Homogenization

---

از دمای ذوب چربی، به دست آورد. در سال‌های اخیر نشان داده شده است استفاده از HPH جهت ساخت ذرات زیر میکرون از لیپیدهای جامد بسیار موثرتر از استفاده از نیروهای برشی بالا و فراصوت است. برای به دست آوردن توزیع اندازه ذره‌ای باریک که پایداری فیزیکی دیسپرسیون مایع را افزایش دهد، توزیع یکنواختی از تمرکز نیرو لازم است. در غیر این صورت ذرات در موقعیت‌های مختلف پراکنش مایع تجمع می‌یابند. در این حالت نیروهای پخش‌شوندگی مختلفی ایجاد می‌شود و بنابراین درجه خرد شدن ذرات در داخل نمونه متغیر خواهد بود. درجه دیسپرسیون در داخل پراکندگی مایع به دو عامل تمرکز نیرو و حجم پراکندگی بستگی دارد. توزیع غیر یکنواخت نیرو در استفاده از فراصوت اتفاق می‌افتد. مزیت اصلی HPH توزیع یکنواخت نیرو است که منجر به تولید ذرات کوچکی با فاصله یکنواخت می‌شود. یکی دیگر از مزیت‌های این روش تولید نانوذرات در رنج‌های بزرگ است که یکی از مشکلات اصلی دیگر روش‌های تولید به حساب می‌رود. هموژنیزاسیون می‌تواند در دمای بالا یا در دمای پایین انجام گیرد. هر دو تکنیک جهت تولید غلظت‌های لیپید بالای ۴۰٪ مفید هستند و عموماً توزیع اندازه ذره‌ای باریکی را حاصل می‌کنند. شاخص پلی دیسپرسیوی (PDI)<sup>۱</sup> هم معمولاً زیر ۰/۲ به دست می‌آید (پاردیک و همکاران، ۲۰۰۹). تهیه نانوذرات لیپیدی با روش HPH به طور خلاصه شامل مراحل زیر است:

محتوای ماده فعال و لیپید ذوب شده در محلول گرم سورفکتانت با هم‌زدن با سرعت بالا در همان دما یا به وسیله فراصوت دیسپرس می‌شوند. در این حالت شکستن قطرات بزرگ به قطرات کوچک اتفاق می‌افتد. پیش امولسیون ایجاد شده با قطرات درشت، تحت هموژنیزاسیون فشار بالا قرار می‌گیرد. نانوامولسیون به دست آمده سرد شده و فاز لیپیدی جامد می‌گردد و در نهایت سوسپانسیون آبی نانوذرات لیپیدی تشکیل می‌شود. این روش می‌تواند برای بارگیری داروهای لیپوفیل و نامحلول به کار رود. حتی این روش در ارتباط

---

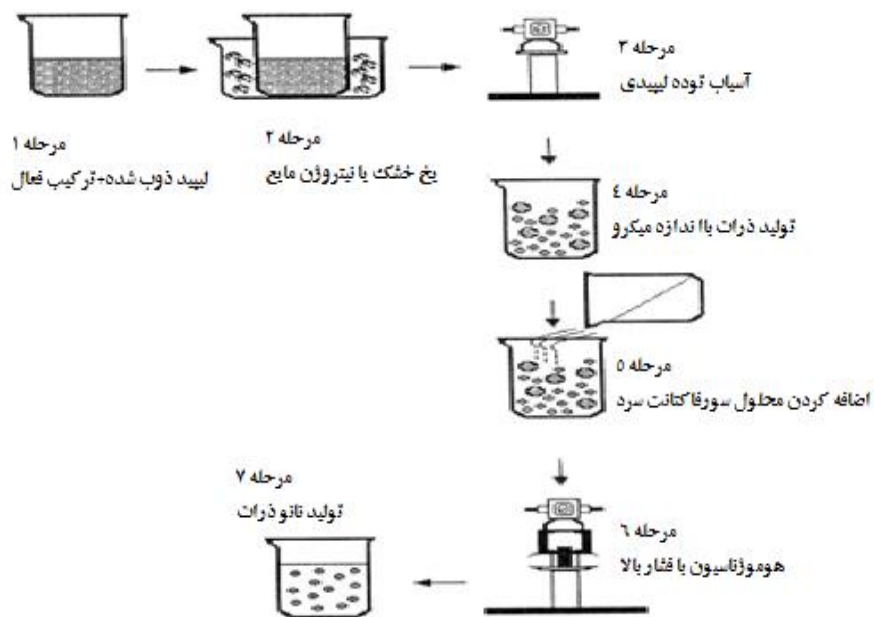
<sup>۱</sup> Polydispersibility Index

با مواد حساس به دما از قبیل رتینول هم می‌تواند استفاده شود، چون زمان در معرض قرار گرفتن مواد در برابر دما نسبتاً کوتاه است. برای داروهای هیدروفیل این فرآیند زیاد مفید به نظر نمی‌رسد زیرا در طول هموزن کردن، ترکیب زیست فعال به داخل فاز آبی نفوذ می‌کند که نتیجه آن درصد بسیار پایین درون-پوشانی است (مولر و همکاران، ۲۰۰۰). باید توجه داشت که این تکنیک در دمای بالای نقطه ذوب لیپید انجام می‌گیرد. نتیجه دمای بالا کاهش اندازه ذره‌ای است و این به علت کاهش ویسکوزیته فاز داخلی است. البته دمای بالا ممکن است سرعت تجزیه شدن ترکیب فعال و حامل را افزایش دهد که این یکی از معایب این روش است. در واقع خود هموژنیزاسیون با فشار بالا هم سبب افزایش دمای نمونه می‌شود. محصول اولیه هموژنیزاسیون گرم، یک نانو امولسیون است و این به علت مایع بودن لیپید است. ذرات جامد با سرد کردن نمونه در دمای اتاق و یا در دماهای پایین تشکیل می‌شوند. به علت اندازه ذره‌ای کوچک ذرات و حضور امولسیفایرها، کریستالیزاسیون لیپید اتفاق می‌افتد (ویس و همکاران، ۲۰۰۸؛ تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).

#### ب) هموژنیزاسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH)

در روش هموژنیزاسیون سرد، ابتدا ترکیب فعال در فاز لیپیدی ذوب شده حل می‌شود و در ادامه گویچه‌های چربی حاوی مواد مغذی و دارویی، در اندازه‌های ۱۰۰-۵۰ میلی‌متر تشکیل شده و در ادامه این گویچه‌ها در محلول آبی حاوی سورفکتانت در دمای پایین‌تر از نقطه ذوب چربی (تقریباً ۲۰°C-۱۰) پایین‌تر از نقطه ذوب) تحت فرایند هموژنیزاسیون قرار می‌گیرند (شکل ۱-۸).

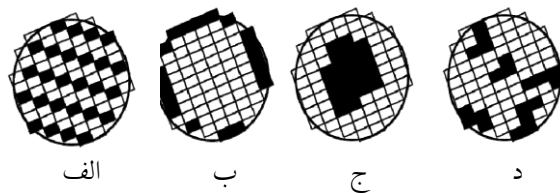
اندازه ذرات حامل تولیدی به روش هموژنیزاسیون سرد با استفاده از نیتروژن مایع، نسبت به دو روش هموژنیزاسیون داغ و میکروامولسیون داغ بزرگ‌تر بوده و بنابراین سرعت حل شدن آنها در طول جویدن و هضم متفاوت از آن دو است. از این روش برای ترکیبات زیستی حساس به دما استفاده می‌شود (ویس و همکاران، ۲۰۰۸).



شکل ۸-۱: هموژناسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH).

### ۱-۳-۱-۱-۱-۲-۴ مدل‌های بارگیری دارو در داخل نانوحامل‌های لیپیدی

ویس و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیق خود بر روی کاربرد نانوحامل‌های لیپیدی در صنایع غذایی بیان کردند ترکیب فعال زیستی در موقعیت‌های مختلف نانوکریستال می‌تواند جای گیرد. می‌تواند در ساختار لیپید حامل و همراه با آن تشکیل کریستال دهد (شکل ۹-۱ الف)، یا اینکه فاز ترکیب فعال، جدا از لیپید کریستالی شده و به سمت سطح رفته و در آنجا جای گیرد (شکل ۹-۱ ب)، و یا می‌تواند در مرکز هسته لیپید باقی بماند (شکل ۹-۱ ج) و یا در ماتریکس کریستال لیپید پخش گردد (شکل ۹-۱ د).



شکل ۹-۱: موقعیت‌های مختلف قرار گرفتن ترکیب فعال زیستی در ساختار نانوحامل لیپیدی.

این اختلاف در موقعیت قرارگیری ترکیب فعال عمدتاً به ترکیب اجزای خود فرمولاسیون از قبیل طبیعت شیمیایی اجزای فرمولاسیون، لیپید، سورفکتانت‌ها و هم‌چنین روش ساخت برمی‌گردد. در مدل ماتریکس لیپیدی همگن، ترکیب فعال به صورت مولکولی دیسپرس می‌شود یا در دسته‌های آمورف در آنجا حضور دارد و این توصیفی برای نانوحامل‌های لیپیدی حاصل از هموژنیزاسیون سرد، و یا هنگامی که مقدار زیادی از ترکیب فعال لیپوفیل با روش هموژنیزاسیون داغ داخل نانوذرات جامد لیپیدی می‌شود، است. موقع به‌کار بردن روش هموژنیزاسیون سرد، توده لیپید ماده فعال حل شده را به صورت پراکندگی مولکولی در برمی‌گیرد. شکستن مکانیکی لیپید جامد و ریزش آن و دربرگرفتن ترکیب فعال توسط لیپید، منجر به تشکیل نانوذرات با ساختار ماتریکس همگن می‌شود. همین اتفاق موقعی که قطرات روغن تهیه شده با هموژنیزاسیون داغ، سرد و کریستالیزه شده و عدم جدایی فاز بین ترکیب فعال و لیپید اتفاق می‌افتد، نیز صورت می‌گیرد. ماتریکس همگن ترکیب فعال بارگیری شده می‌تواند رهایش طولانی مدتی از ساختار نانوحامل لیپیدی را به‌همراه داشته باشد.

مدل جای‌گیری ترکیب فعال در لایه و پوسته اطراف ساختار، یک بخش غنی شده با جزء فعال است که هسته لیپیدی را دربر می‌گیرد. این مدل زمانی حاصل می‌شود که در طول سردشدن، فرآیند جدایی فاز در هنگام ساخت SLN با روش HOT-HPH اتفاق افتد. در آغاز تشکیل ذرات، لیپید ته‌نشین شده و هسته لیپیدی تقریباً فاقد ترکیب فعال است. در همان زمان غلظت جزء فعال در مایع لیپیدی کریستالیزه نشده افزایش می‌یابد و در نهایت مولکول‌ها در پوسته بیرونی ذرات جای گرفته و ذرات در همان شکل کریستالیزه می‌شوند. این مدل برای ترکیباتی که رهایش سریع از ساختار نانوحامل را دارند، می‌تواند مفید واقع شود. (ویس و همکاران، ۲۰۰۸). مدل جای‌گیری ترکیب فعال در مرکز ساختار با مکانیسمی عکس مکانیسم مدل‌های قبلی عمل می‌کند. در این مورد ترکیب فعال ابتدا ته‌نشین می‌شود و لایه‌ای از لیپید به دور این هسته تشکیل می‌شود که مشخصاً مقدار ترکیب فعال کمتری دارد. در این مدل، رهایش کنترل شده است

---

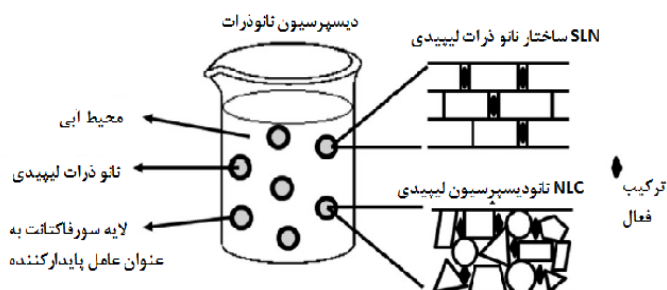
و از قانون دیفوزیون فیک پیروی می‌کند. این مدل موقعی تشکیل می‌شود که غلظت دارو در لیپید ذوب شده به حالت اشباع برسد. هم‌چنین گزارشاتی مبنی بر اتصال ترکیبات فعال به لایهٔ خارجی نانو ذرات جامد لیپیدی که از تثبیت کننده‌های فسفولیپیدی و استریک ساخته شده‌اند، وجود دارد. توزیع ترکیب فعال به خصوصیات فیزیکوشیمیایی SLN و هم‌چنین اجزای آن بستگی دارد. به هر حال بیشترین اثر را ضریب توزیع مولکول‌های ترکیب فعال دارا است (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).

لاودی و سینگ (۲۰۰۸) در تهیه SLN حامل ویتامین A بیان داشتند روش تهیه، نوع سورفکتانت جهت تثبیت امولسیون، نوع لیپید، همگی روی ساختار درونی و غشاء، اندازه و شکل SLN‌ها تأثیرگذار هستند که این شرایط موقعیت‌های مختلفی را برای جای‌گیری ویتامین A درون ساختار SLN ایجاد می‌کند. در برخی ساختارها ترکیب فعال درون ماتریکس لیپید، یا در پوستهٔ بیرونی و یا در هستهٔ مرکزی قرار گرفته و بنابراین رهایش‌های متفاوتی از ویتامین A را در سیستم هدف موجب می‌گردد.

### ۱-۳-۱-۱-۱-۳-۱ حامل‌های لیپیدی نانو ساختار (NLC)

به‌طور کل مولکول‌های ترکیبات غذا-دارو و دارویی میان زنجیره‌های اسید چرب یا در مناطق بی‌نظم ساختار کریستالی SLN قرار می‌گیرند. اما با تبدیل وضعیت لیپید به شکل کم‌انرژی، ساختار کریستالی کامل با فضاهای خالی بسیار ریز برای جای‌گیری مولکول‌های ترکیبات زیست‌فعال به‌وجود می‌آید. بنابراین خروج مولکول‌های درون‌پوشانی شده در طول نگهداری به‌خصوص وقتی که ساختار SLN متشکل از چربی خیلی خالص باشد، رخ می‌دهد و در نهایت منجر به کاهش ظرفیت بارگیری ترکیب فعال در ساختار SLN می‌شود. هم‌چنین میزان مادهٔ درون‌پوشانی شده و پروفایل رها سازی SLN‌ها در طی مدت زمان نگهداری دست‌خوش تغییر می‌شود (داس و چودھری، ۲۰۱۱؛ مولر و همکاران، ۲۰۰۲؛ یانگ و همکاران، ۲۰۱۴). با توجه به ایرادات ذکر شده در ارتباط با ساختارهای SLN، سیستم‌های نانو حامل جدید و بهبود یافته‌تری در راستای کاهش معایب SLN‌ها توسعه یافته است که می‌توان از آنها به حامل‌های لیپیدی نانو ساختار (NLC)

اشاره کرد. ساختار NLC دارای مخلوط متفاوتی از چربی SLN، یعنی ترکیبی از چربی جامد و روغن مایع است که غیر قابل امتزاج با یکدیگر بوده و ترکیب این دو بسیاری از جنبه‌های کاربردی دارویی- غذایی را برای این گونه ساختارها فراهم می‌سازد و موجب گیر افتادن و تجمع بیشتر مولکول‌های دارو و ترکیبات فعال در ساختار لیپیدی نسبت به SLN می‌شود (شکل ۱-۱۰).



شکل ۱-۱۰: مقایسه نظم و کریستال‌های لیپیدی در دو ساختار SLN و NLC (وبر و همکاران، ۲۰۱۳).

از جمله مزایای کاربرد این نوع ساختار، کنترل و رهاسازی عوامل فعال و ویتامین‌ها و افزایش میزان نفوذپذیری دیواره معده به عوامل دارویی و غذایی است (وبر و همکاران، ۲۰۱۳). علی‌رغم حضور روغن مایع، ساختار NLC در دمای اتاق و حرارت بدن جامد هستند (چن و همکاران، ۲۰۱۰). به علت ساختار کریستالی ناکامل NLC انتظار می‌رود ظرفیت بارگیری افزایش و رهاسازی ترکیبات درون‌پوشانی شده طی مدت زمان نگهداری کاهش یابد و می‌توان با تعویض ترکیبات شبکه لیپیدی، پروفایل رهاسازی ترکیبات فعال را به آسانی منظم کرد (وبر و همکاران، ۲۰۱۳؛ تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).

### ۱-۳-۱-۱-۱-۳-۱ اجزاء تشکیل دهنده حامل‌های لیپیدی نانو ساختار (NLC)

NLC نانوذرات حاصله از نانوامولسیون روغن در آب است و همانند نانو و میکروامولسیون‌ها، مهم‌ترین اجزاء تشکیل دهنده آن، لیپید، عوامل فعال سطحی و آب است. مهم‌ترین، متداول‌ترین لیپیدها، روغن‌های مایع و سورفاکتانت‌های مورد استفاده در تولید NLC در جدول ۱-۲ نشان داده شده است. در NLC قسمت اعظم روغن مورد استفاده در امولسیون، با لیپید جامد جایگزین می‌شود که منجر به تولید ماتریکس ذره‌ای

---

جامد، به عنوان بستری برای حمل ترکیبات فعال می‌شود (جنینگ و همکاران، ۲۰۰۰). به منظور بدست آوردن ساختار ماتریکسی نانوذرات، معمولاً لیپید جامد به نسبت ۷۰:۳۰ (و یا نسبت‌های دیگر) با روغن مایع مخلوط می‌شود. هر چقدر میزان ماده جامد NLC بیشتر باشد، ظرفیت بارگیری ترکیب فعال در ساختار آن نیز افزایش می‌یابد که از لحاظ بعد اقتصادی و همچنین تأثیر بر ماده غذایی، مزیت محسوب می‌شود. مخلوط لیپید در ساختار NLC، تأثیر مهمی بر پایداری شیمیایی مواد زیست فعال حساس می‌گذارد. از انواع چربی‌های مونو، دی و تری‌گلسیرید، اسیدهای چرب و واکس‌ها در تولید NLC استفاده می‌شود. از نکاتی که در ارتباط با انتخاب مخلوط لیپیدی بایستی در نظر گرفته شود، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱- حلالیت ترکیب فعال در ماتریکس لیپیدی: یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی که در تعیین ظرفیت بارگیری دارو و ترکیب فعال در فاز لیپیدی تأثیرگذار است، حلالیت آن در فاز لیپیدی است (لیو و همکاران، ۲۰۱۲).

۲- امتزاج پذیر نبودن مولکول‌های روغن مایع و لیپید جامد: این امر موجب می‌شود مولکول‌های روغن مایع در شبکه ماتریکس کریستالی لیپید جامد شرکت نکنند و کریستال‌های لیپید نیز در فاز روغن مایع حل نشوند. همچنین لیپیدهای جامد و روغن‌های مایع در غلظت‌های مشخص و مورد نیاز در تشکیل NLC بایستی حل شوند تا جدایی فاز و ناپایداری در دمای پایین‌تر از نقطه ذوب لیپید رخ ندهد. به این معنا که روغن مایع به صورت مناطق پراکنده و نامنظم در ماتریکس یکنواخت چربی جای بگیرد.

۳- پایداری فاز لیپیدی در برابر تجزیه شیمیایی از جمله اکسیداسیون و لیپولیز.

۴- زیست‌تخریب‌پذیری و قابلیت تولید ذرات در مقیاس نانو. وقتی که ویسکوزیته فاز روغن یا کشش بین سطحی پایین باشد، نسبت به حالتی که از روغن ویسکوزتر استفاده شود، تولید ذرات نانو آسان‌تر و سریع‌تر می‌شود (والسترا، ۲۰۰۳).

۵- سمیت‌زا نبودن فاز لیپیدی در حین تولید NLC.



جدول ۱-۲: اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون NLC (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).

### انواع مختلف اجزاء تشکیل دهنده ساختار NLC

روغن مایع	روغن سویا، تری گلسیریدهای متوسط زنجیر (MCT) / کاپریک اسید، کاپریلیک اسید، اسید اولئیک، آلفاتوکفرول / ویتامین E، روغن ذرت، اسکوالن.
لیپید جامد	اسید استئاریک، صمغ کارنوبا، گلسیریل تری استئارات / تری استئارین، ستیل پالمیتات، گلسیریل مونوکاپرات، گلسیریل پالمیتواستئارات، گلسیریل بهینات، پروپیلن گلیکول مونواستئارت.
سورفکتانت / امولسیفایر	تویین ۸۰، لستین، پلوکسامر ۱۸۸، میورول K۴۰-۱۸، پلی گلسیریل ۳-متیل گلوکز دی استئارات، سدیم دو دسیل سولفات (SDS)، سدیم دواکسی کولات (SDC)، تویین ۲۰.

#### ۱. فاز روغن مایع

تری گلسیریدهای متوسط زنجیر (MCT) و اسید اولئیک متداول ترین روغن های مورد استفاده در تولید NLC هستند (جدول ۱-۲). قابلیت هضم MCT نسبت به تری گلسیریدهای بلند زنجیر مانند روغن ذرت سریع تر بوده و در برابر اکسیداسیون پایداری بالاتری دارند (هیپالگونکار و همکاران، ۲۰۱۰). این ترکیبات بدون بو بوده، ولی اگر تحت هیدرولیز قرار گیرند، اسیدهای چرب آزاد شده به طور معنی داری بر آرومای NLC تأثیر می گذارد. MCT از لحاظ مصرف در مواد غذایی ایمن شناخته شده و می توان آن را مستقیماً به مواد غذایی از جمله نوشیدنی ها به عنوان حامل، حلال، عامل رهاکننده ترکیب فعال و امولسیفایر، اضافه کرد. اسید اولئیک (۹-سیس اکتادکانوئیک اسید C18:1)، در بسیاری از روغن های طبیعی وجود دارد. بدون

---

بو بوده و از طریق هیدرولیز لیپیدهای حیوانی و گیاهی (به طور مثال زیتون) حاصل می‌شود. دارای ویسکوزیتهٔ پایین (تقریباً ۲۵ mpa.s - در دمای ۲۵°C) بوده و در دمای ۴°C جامد می‌شود. از این ترکیب به عنوان امولسیفایر در صنایع غذایی و دارویی نیز استفاده می‌شود (روو و همکاران، ۲۰۰۹). اسیدهای چرب آزاد نسبت به تری‌گلسیریدها از فعالیت سطحی بیشتری برخوردار بوده و بنابراین اکثراً در سطح روغن-آب تجمع پیدا می‌کنند. این امر حساسیت آنها را به اکسیداسیون افزایش می‌دهد. رادیکال‌های آزاد تولید شده از اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد، می‌تواند به ترکیب زیست فعال و حساس درون‌پوشانی شده در ساختار NLC آسیب وارد کنند. از روغن‌های خوراکی طبیعی مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، ویتامین E و اسکوالن نیز می‌توان به‌عنوان روغن مایع در تولید NLC استفاده کرد (گرامدورف و همکاران، ۲۰۰۸). اسکوالن یک تری‌ترین بوده که در گیاهان، حیوانات و بدن انسان یافت می‌شود. این ترکیب به اکسیداسیون حساس است.

## ۲. فاز لیپید جامد

متداول‌ترین لیپیدهای جامد مورد استفاده در تهیهٔ NLC، گلسیریل بهینات، گلسیریل پالمیتواستئارات، گلسیریل مونواستئارات/ مونواستئارین، ستیل پالمیتات و استئاریک اسید است (جدول ۱-۲). بسیاری از این لیپیدها علاوه بر نقش و عملکرد حامل بودن، دارای فعالیت سطحی نیز هستند. اسیدهای چرب اشباع نسبت به انواع غیر اشباع، خیلی آهسته‌تر تحت اکسیداسیون قرار می‌گیرند. گلسیریل بهینات شامل دی-گلسیریدهای اسید بهینیک (C:22) به همراه مقداری از مونو و تری‌آسیل گلسیرول‌ها است. نانوذرات تولید شده با استفاده از این نوع چربی، به دلیل وجود ساختار کریستالی نامنظم، دارای کارایی درون‌پوشانی و پایداری بالا هستند (کاسترو و همکاران، ۲۰۰۷). گلسیریل پالمیتواستئارات، مخلوطی از دی و تری‌آسیل گلسیرول‌های اسید پالمیتیک و اسید استئاریک است. این چربی‌ها از رهائش مطلوب و کنترل شده از ترکیب فعال در طی مدت زمان برخوردار هستند. گلسیریل مونواستئارات نیز مخلوطی از مونو و دی‌آسیل

گلسیرول‌ها است و حداقل دارای ۴۰٪ مونواستئاروئیل گلسیرول است. ستیل استر و الکل‌ها (مانند ستیل پالمیتات) نیز دسته دیگری از لیپیدهای جامد بوده که مجاز به استفاده در مواد غذایی نیستند. از صمغ‌های طبیعی مانند کارنوبا و موم زنبور عسل که مجاز به استفاده در مواد غذایی هستند، نیز می‌توان به عنوان لیپید جامد استفاده نمود. از اسیدهای چرب اشباع و تری‌گلسیریدهای آن‌ها مانند اسید استئاریک، میریستیک و هم‌چنین گلیکول مونواستئارات به عنوان لیپید جامد نیز استفاده شده است.

### ۳. سورفکتانت‌ها و امولسیفایرها

در گذشته تمام فرمولاسیون‌های NLC به جای استفاده از بیوپلیمرها، با استفاده از سورفکتانت‌ها و یا به‌ندرت با استفاده از ترکیبی از سورفکتانت‌ها و بیوپلیمرها پایدار می‌شدند (لیو و همکاران، ۲۰۱۲؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۱۳). زیرا که سورفکتانت‌ها قادر به تشکیل خودبه‌خودی امولسیون با استفاده از روش‌های کم‌انرژی بوده و هم‌چنین می‌توانند در تولید امولسیون به روش‌های پرانرژی (مانند هموژنیزاسیون فشار قوی)، در سطح قطره جذب و کشش سطحی را کاهش دهند (مکلمنتز و روآ، ۲۰۱۱). علاوه بر این، خواص عملکردی بسیاری از بیوپلیمرها، به‌طور معنی‌داری در طول تولید NLC تغییر می‌کند. با این وجود استفاده از بیوپلیمرها در پایدارسازی NLC‌ها، در مطالعات بعدی بایستی بررسی شود. معمولاً به جای استفاده از یک نوع سورفکتانت، از مخلوطی از سورفکتانت‌های محلول در آب و محلول در روغن استفاده می‌شود، زیرا باعث بهبود خواص کاربردی آن‌ها و پایداری فیزیکی بهتر نانوحامل می‌شود. تویین ۸۰ به عنوان سورفکتانت هیدروفیل غیر یونی در تولید انواع نانوامولسیون‌ها و هم‌چنین نانوساختارهای لیپیدی استفاده می‌شود. تویین ۸۰ استر اولئات سوربیتول است و فرم بدون آب آن با تقریباً ۲۰ مول اتیلن اکساید (به ازای هر مول از سوربیتول و سوربیتول انهدروز) پلیمریزه می‌شود. این ترکیب را می‌توان مستقیماً به مواد غذایی افزود و میزان مجاز دریافتی روزانه آن روزانه ۰-۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن است (کیو و همکاران، ۲۰۱۳). می‌توان گفت وقتی که تنها از سورفکتانت‌های غیر یونی برای پایدارسازی سیستم NLC استفاده

---

شود، دافعه فضایی (استریک) مهم‌ترین عامل پایداری ذرات NLC است. ذراتی که به‌وسیله دافعه فضایی پایدار شده‌اند، کاملاً به غلظت الکترولیت و pH غیرحساس بوده و همچنین از پایداری خوبی در برابر فریز شدن و دیفراست برخوردار هستند. با این حال تجمع و فولوکاسیون ضعیفی در این نوع سیستم‌ها ممکن است اتفاق افتد که به راحتی برگشت‌پذیرند. در این نوع سیستم‌ها، مقادیر زیادی از امولسیفایر برای پوشش سطح قطرات در مقایسه با هنگامی که ذرات با دافعه الکترواستاتیکی حفظ می‌شوند، نیاز است. از دیگر امولسیفایرها و عوامل فعال سطحی، به لستین می‌توان اشاره کرد که می‌توان آن را از منابع مختلف از جمله سویا، تخم‌مرغ و شلغم روغنی، بدست آورد. این ترکیب از لحاظ مصرف در صنایع غذایی مجاز و ایمن بوده و در صنایع غذایی و دارویی به‌وفور استفاده می‌شود. لستین‌های طبیعی مخلوطی از فسفولیپیدها و چربی‌های مختلف از جمله فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل اینوزیتول هستند. لستین‌ها مولکول‌هایی هیدروفوب با HLB حدوداً ۸ هستند، بنابراین به‌تنهایی مناسب برای پایداری سازی سیستم NLC نمی‌باشند و به‌طور گسترده در ترکیب با دیگر سورفکتانت‌ها به‌کار می‌روند. برای تولید لستین با خاصیت هیدروفیلی بالاتر، بایستی یکی از دو اسید چرب لستین را به طریق شیمیایی یا آنزیمی از ساختار آن جدا کرد تا لستین با خاصیت هیدروفیلی بالاتر به نام لیزولستین حاصل شود که این ترکیب قادر به پایداری سازی دیسپرسیون‌های روغن در آب است. لستین‌ها سورفکتانت‌های دویونی هستند و بسته به pH و غلظت الکترولیت در محیط آنها دارای بار منفی، خنثی و مثبت هستند. لستین‌ها به‌خصوص لستین سویا، محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع زیادی هستند که این امر آنها را به اکسیداسیون حساس‌تر می‌کند (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).

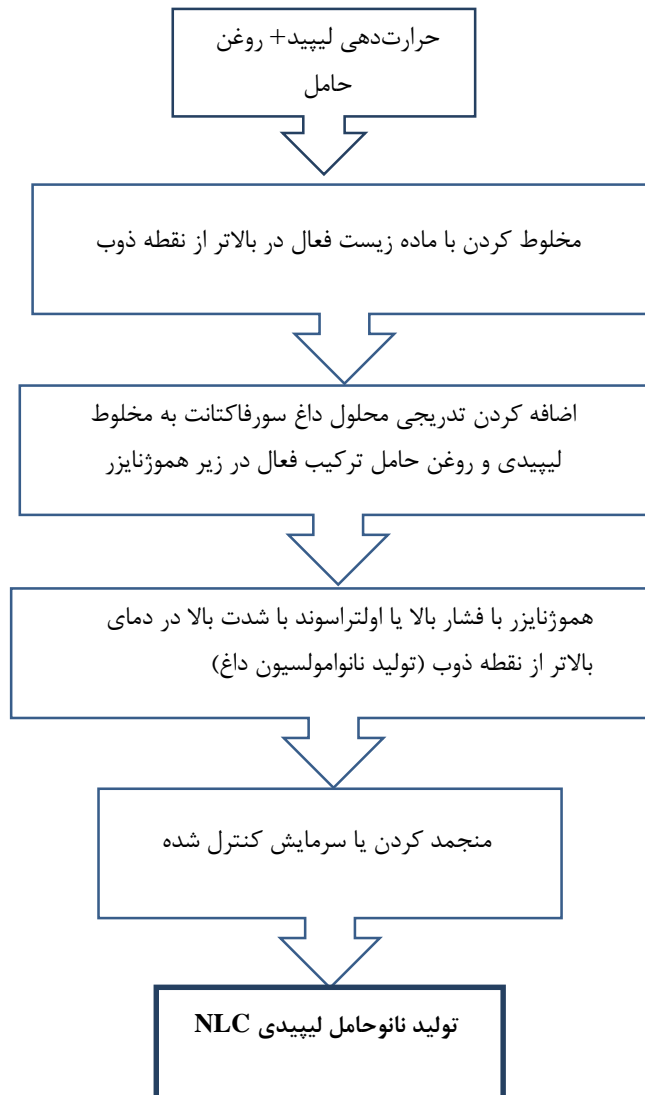
پلوکسامر ۱۸۸ یکی دیگر از انواع سورفکتانت‌های غیریونی با HLB نزدیک به ۲۹ است (روو و همکاران، ۲۰۰۹). دارای خاصیت سمیت‌زایی پایین بوده و قادر به کنترل رهایش ترکیب فعال از ساختار نانوحامل و تحویل آنها به سیستم‌های هدف است. این ترکیبات در دماهای بالا پایدار هستند. از این ترکیبات در

داروسازی، صنعت و تولید مواد آرایشی استفاده می‌شود. سدیم دودسیل سولفات (SDS)، پلی اکسی اتیلن سوربیتان مونولورات (پلی سوربات ۲۰ / ۲۰ تویین ۲۰) و سدیم داکسی کولات (SDC) از دیگر ترکیبات سورفکتانت در سیستم‌های NLC هستند. سدیم دو دسیل سولفات یک سورفکتانت هیدروفیل غیریونی با HLB برابر ۴۰ است که استفاده از آن نیز به‌طور مستقیم در مواد غذایی مجاز شناخته شده است. تویین ۲۰ نیز یک سورفکتانت هیدروفیل غیریونی با HLB برابر ۱۶/۷ است که استفاده از آن در مواد غذایی مجاز شناخته شده است. ژلوسیرس<sup>۱</sup>، اجزاء لیپیدی با عملکردهای چندگانه هستند که از مونو، دی و تری آسیل گلیسرول‌ها و هم‌چنین مونو و دی استرهای اسید چرب پلی اتیلن گلیگول تشکیل شده‌اند. این ترکیبات دارای خواص ویژه بوده و می‌توان از آنها به عنوان سورفکتانت و هم-سورفکتانت و هم‌چنین ماتریکس لیپیدی در سیستم‌های تحویل و رهایش دارو استفاده کرد (شیمی و همکاران، ۲۰۰۹). این ترکیبات دارای خواص امولسیفایری و حلال بودن هستند. استفاده از آنها در ساختار نانوحامل‌های لیپیدی، منجر به افزایش پایداری و بارگیری ترکیب فعال لیپوفیل می‌شود (تی‌سای و همکاران، ۲۰۱۲).

از دیگر ترکیبات موجود در ساختار نانوحامل، می‌توان به نگه‌دارنده‌ها (مانند آنتی‌اکسیدان‌ها، عوامل ضد میکروبی)، هم-سورفکتانت‌ها، هم‌حلال‌ها (مانند گلیسرول) اشاره کرد. مراحل تولید NLC همانند تولید SLN می‌باشد با این تفاوت که در ساختار آن روغن مایع به همراه لیپید جامد به کار رفته است. تولید NLC با استفاده از روش هموژنیزاسیون گرم، به‌طور خلاصه در شکل ۱-۱۱ نشان داده شده است.

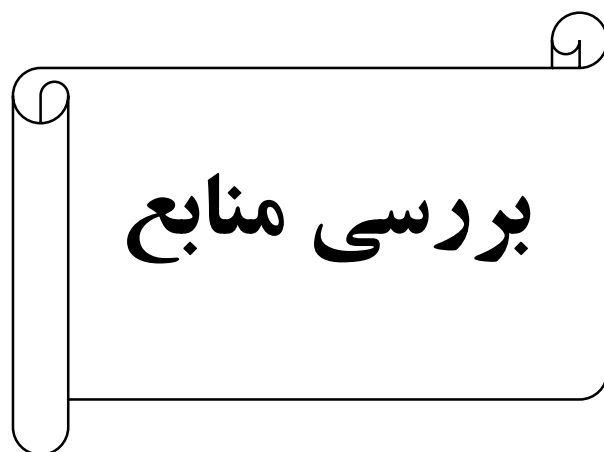
---

<sup>۱</sup> Gelucires



شکل ۱-۱۱: مراحل تولید NLC با استفاده از روش هموژنیزاسیون گرم (ویس و همکاران، ۲۰۰۸).

## فصل دوم



---

## ۱-۲ مروری بر پژوهش های مربوط به اکسیداتیو

✓ ترونگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۶) بر روی تأثیر ساختار کریستالی بر اکسیداسیون روغن ماهی در استئارین تحقیق کردند. در این تحقیق تأثیر اختلاط جزئی از استئارین داخل روغن ماهی روی رفتار کریستالی و پایداری اکسیداسیون روغن ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

✓ در تحقیقی اثر غلظت آنتی اکسیدان توکوفرول در دو نوع محلول در آب و چربی به میزان ۲۰-۲۸۰ ppm بر نمونه های مایونز حاوی روغن ماهی بررسی شد و معلوم گردید که توکوفرول محلول در آب در تمامی غلظت ها خاصیت پرواکسیدانی دارد در حالی که اثر آنتی اکسیدانی توکوفرول محلول در چربی وابسته به غلظت به کار گرفته شده می باشد (جکوبسن<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۱).

✓ در تحقیق دیگر اثر آنتی اکسیدانی آلفاتوکوفرول در سیستم امولسیون روغن در آب بررسی شد. نتایج نشان داد که آلفاتوکوفرول به دلیل ویژگی چربی دوستی اثر آنتی اکسیدانی در امولسیون دارد برای هر آنتی اکسیدان یک غلظت بحرانی در ماتریکس مواد غذایی برای ایجاد حداکثر فعالیت وجود دارد و بالای غلظت بحرانی اثر پراکسیدانی دارد. در این مطالعه غلظت موثر در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید در امولسیون های بر پایه روغن در ۱۰۰ ppm بود که با اندازه گیری عدد آنیزیدین و عدد پروکسید این نتیجه معلوم شد (کیم<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۱۲).

✓ هرن<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۹) اثر گاماتوکوفرول را روی محصولی انرژی زا حاوی مقادیر بالایی روغن ماهی طی ده هفته نگهداری در دمای محیط بررسی نمودند. نتایج نشان داد گاماتوکوفرول افزوده شده به روغن ماهی در غلظت هایی بالاتر از ۴۴۰ میکروگرم در گرم بطور مؤثری قادر است از اکسیداسیون روغن طی نگهداری ممانعت به عمل آورد و بهترین خاصیت آنتی اکسیدانی در غلظت

---

<sup>۱</sup> Truong

<sup>۲</sup> Jacobsen

<sup>۳</sup> Kim

<sup>۴</sup> Horn



---

۶۶۰ میکروگرم در گرم روغن مشاهده شد.

✓ جیاسینگ<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۳) رفتار آنتی‌اکسیدانی و پراکسیدانی اسید اسکوربیک، توکوفرول و عصاره‌های گیاهی حاوی گروه‌های فنلی را بر روی امولسیون‌های روغن در آب غنی از ۳-۵ بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که اسید اسکوربیک به عنوان عامل فعال اکسیدانی در امولسیون‌های آبی غنی از ۳-۵ عمل کرده در حالیکه آلفا توکوفرول و عصاره‌های گیاهی حاوی گروه‌های فنلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی در مقابل اکسیداسیون ۳-۵ از خود نشان می‌دهند.

✓ در پژوهشی اثرات آنتی‌اکسیدانی توکوفرول در مقایسه با TBHQ بر روند اکسیداسیون روغن مایونز طی مدت زمان ماندگاری بررسی شد که نتایج تحقیق نشان داد که آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول به طور مؤثری قادر است اکسیداسیون را در فاز روغنی مایونز کنترل نماید. نتایج حاصل از بررسی عدد پراکسید نشان داد، تشکیل هیدروپراکسیدهای حاصل از اکسیداسیون در تیمار حاوی توکوفرول روند بسیار کندی یافته است. به علاوه بررسی ترکیبات ثانویه ناشی از اکسیداسیون (اندیس آنیزیدین و مقدار هگزانال) و عدم تفاوت معنی‌دار در نتایج آزمایشات بررسی اکسیداسیون بین دو نمونه TBHQ و توکوفرول مؤید این مطلب است که آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ باشد. بررسی مقدار اسیدیته در هر دو نمونه نیز نشان داد، استفاده از توکوفرول منجر می‌شود، فساد هیدرولیتیکی مشابه کاربرد TBHQ در مایونز کنترل شود و هرگز عدد اسیدی در طی شش ماه از محدوده استاندارد خارج نگردد. همچنین ارزیابی‌های حسی نیز نشان داد توکوفرول تداخلات طعمی با سایر ترکیبات امولسیون مایونز ندارد و در واقع بدون نگرانی از اثرات منفی بر روی ویژگی‌های حسی، به راحتی در مایونز قابل کاربرد است (متحدزاده و همکاران، ۲۰۱۴).

---

<sup>۱</sup> Jayasinghe

## ۲-۲ مروری بر پژوهش های مربوط به روش های تولید نانو حامل ها

### ○ ۱-۲-۲ استفاده از روش هموزنایزر فشار بالا

- ✓ میترا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵) بر روی افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی لیپیدها بر مبنای نانو سیستم تحقیق کردند. در این مطالعه روغن های معمولی برای تولید NLC با غلظت بالای روغن ماهی جایگزین شدند. NLCها با روش همزنیزاسیون تولید شدند و اندازه ذرات بین ۲۰۰ nm تا ۲۵۰ nm با اندازه گیری با دستگاه TEM مشخص شدند. پتانسیل زتا بین ۲۹- تا ۳۹- میلی ولت گزارش شد.
- ✓ یوان<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۸) در تحقیق خود بر روی تولید نانوامولسیون بتاکاروتن با استفاده از هموزنیزاسیون فشار قوی و روغن با زنجیره متوسط و انواع توپین های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ به عنوان سورفکتانت، گزارش نمودند بهترین شرایط تولید عبارتند از: فشار هموزنیزاسیون ۱۲۹ مگا پاسکال، دمای هموزنایزر ۴۷°C و غلظت بتاکاروتن ۰/۸۲٪. تحت این شرایط نانوامولسیونی شفاف با اندازه قطرات ۱۴۸-۱۳۲ nm حاصل گردید.
- ✓ گونت<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۰) بیان داشتند از بین روش های تولید نانوامولسیون، روش هموزنیزاسیون فشار قوی و روش فاز معکوس منجر به تولید کوچک ترین و پایدارترین قطرات در محدوده ۸۰ nm می شوند.
- ✓ یانگ<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۳) نانوامولسیون های حاوی میگلیول<sup>۵</sup> را با استفاده از سورفکتانت سنتزی توپین ۸۰ و سورفکتانت طبیعی Q-Natural تولید کردند. نتایج نشان داد سورفکتانت طبیعی نیز با

<sup>۱</sup> Mitrea

<sup>۲</sup> Yuan

<sup>۳</sup> Gonnet

<sup>۴</sup> Yang

<sup>۵</sup> Miglyol

---

استفاده از این روش قادر است نانوامولسیون‌های حاوی قطرات ریزی با قطر کمتر از ۲۰۰ nm تولید کند.

✓ مکلمنتز و رأو<sup>۱</sup> (۲۰۱۱) میزان و مقدار حلالیت روغن لیموی امولسیونه شده در مخلوط محلول سورفکتانت‌های غیریونی شامل پروپیلن گلیکول: ساکارز مونوپالمیتات: تویین ۸۰ را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند با افزایش غلظت سورفکتانت ساکارز مونوپالمیتات در مقایسه با تویین ۸۰، میزان درون‌پوشانی روغن لیمو افزایش یافت.

✓ ماو<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۹) در تولید نانوامولسیون حاوی بتا- کاروتن با استفاده از روش هموژنیزاسیون فشار قوی، از روغن با زنجیره متوسط به عنوان فاز روغن استفاده نمودند. سورفکتانت‌های مورد استفاده در این پژوهش، تویین ۲۰، دکاگلیسرول مونو اولئات، ایزوله پروتئین آب پنیر و نشاسته اصلاح شده بودند. اندازه قطرات تولیدی ۱۷۸-۱۱۵ nm بود.

✓ بسپینار<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از پلی سوربات و لسیتین تخم مرغ (با درجه خلوص پایین) و به‌کارگیری روش هموژنیزاسیون فشار قوی نانوامولسیون تولید کردند. نتایج آنها نشان داد بیشترین پایداری شیمیایی نانوامولسیون در فشارهای پایین هموژنایزر و با افزایش تعداد سیکل‌های هموژنیزاسیون و بکارگیری دماهای بالاتر (فشار ۳۰۰ بار، ۱۰ سیکل هموژن کردن و دمای ۵۰°C)، حاصل می‌گردد. دلیل این پایداری به علت عدم مهاجرت ترکیب فعال از درون فاز روغنی به سطح سورفکتانت موجود بر روی قطره است.

✓ جعفری<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای بازده دو روش سونیکاسیون و میکروفلودایزر در تولید نانوامولسیون از روغن ماهی را مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش کردند هر دو روش می‌تواند ذراتی

---

<sup>۱</sup> McClements and Rao

<sup>۲</sup> Mao

<sup>۳</sup> Baspinar

<sup>۴</sup> Jafari

---

با محدوده قطر ۷۰۰-۱۵۰ nm تولید کند؛ اما با استفاده از میکروفلودایزر، نانوامولسیون‌های با توزیع اندازه ذرات محدود حاصل گردید. هم‌چنین نتایج نشان داد که در روش استفاده از میکروفلودایزر، میزان امگا-۳ درون پوشانی نشده کمتری در سطح ذرات نسبت به روش فراصوت وجود دارد.

✓ جعفری و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهش خود از D-لیمونن به عنوان فاز روغن استفاده کردند. ایزوله پروتئین آب پنیر و نوع هیدرولیز شده آن، نشاسته اصلاح شده و سدیم کازئینات ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده بودند. قطر قطرات تولیدی ۶۰۰-۱۵۰ nm بود.

✓ هاتاناکا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهش خود، از آلفا-توکوفرول به عنوان ترکیب فعال و MCT<sup>۲</sup> به عنوان فاز روغن استفاده کردند. گلیسرول، دکاگلیسرول مونوآلئات و لستین سویا به عنوان سورفکتانت مورد استفاده قرار گرفتند. قطر قطرات تولیدی ۶۰ nm بود.

✓ بوچمال<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۴) در تولید نانوامولسیون آلفا-توکوفرول از تری گلیسیرید با زنجیره متوسط به عنوان فاز روغن استفاده کردند. ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده در پژوهش آنها، اسپان ۸۰ و ۸۵، تویین ۲۰ و ۸۰، استون، اتانول و اتیل استات بود. قطراتی با قطر متوسط ۶۰۰-۱۰۰ nm بدست آمد.

✓ تئو<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهش خود از روغن استر پالم به عنوان فاز روغن و از ویتامین E به عنوان ترکیب فعال استفاده کردند. ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده تویین ۸۰ و پلورونیک F68 بودند. قطر قطرات تولیدی ۹۴ nm بود.

---

<sup>۱</sup> Hatanaka

<sup>۲</sup> Medium chain triglyceride

<sup>۳</sup> Bouchemal

<sup>۴</sup> Teo

---

## ۲-۲-۲ استفاده از روش فراصوت

✓ ژو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۵) بر روی افزایش میزان جذب سلولی روغن ماهی در حالت نانو ساختار تحقیق کردند. در این مطالعه NLC حاوی  $\omega$ -3 با روش فراصوت داغ تولید شد که اندازه ذرات ۸۴ nm و پتانسیل زتا بین ۱۷- تا ۳۶- میلی ولت گزارش شد. کارایی درون پوشانی ۸۷/۵ درصد بود.

✓ مکلمنتز و لی<sup>۲</sup> (۲۰۱۰) در مقایسه روش فراصوت با همزدن مکانیکی برای دستیابی به اندازه کوچکتر ذرات، به این نتیجه رسیدند که در روش فراصوت میزان مصرف انرژی و ماده فعال سطحی کاهش یافته و امولسیون‌های حاصل پایداری بیشتری دارند. اندازه ذرات تولید شده از طریق برهم کنش متقابل بین شکستن ذرات و آمیختگی آنها کنترل می‌گردد.

✓ تاکه‌گامی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۸) از روغن سویا به عنوان فاز روغن استفاده کردند. ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده در این پژوهش، فسفاتیدیل کولین، سدیم پالمیتات، پالمیتات ساکارز بودند. قطر قطرات تولیدی ۵۸ nm گزارش شد.

✓ جنا<sup>۴</sup> و داس (۲۰۰۶) تأثیر نوع و غلظت امولسیفایر و مدت زمان استفاده از امواج فراصوت را بر توزیع ذرات امولسیون شیر نارگیل، مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد هر سیستم امولسیون به غلظت بهینه‌ای از امولسیفایر نیاز دارد و افزایش بیش از اندازه آن باعث رشد اندازه قطرات و کاهش پایداری امولسیون می‌شود.

---

<sup>۱</sup> Zhu

<sup>۲</sup> McClements and Li

<sup>۳</sup> Takegami

<sup>۴</sup> Jena

---

✓ کنتیش<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از روغن خوراکی و توئین ۴۰ (به عنوان امولسیفایر) نانو-امولسیون‌های به روش اولتراسونیکاسیون تولید کردند. نتایج نشان داد که در ارتباط با نیروی ورودی، یک سطح بهینه وجود دارد که بالاتر از کشش و جاذبه هم‌آمیزی قطرات و ایجاد حباب است (تأثیر مخرب بر روی بازده هم‌آمیزی قطرات و کیفیت تولید نانوامولسیون دارد). با افزایش مدت زمان سونیکاسیون اندازه قطرات تا رسیدن به یک سطح کاهش پیدا می‌کند؛ ولی استفاده از سونیکاسیون بیش از ۵ دقیقه نامطلوب است. نانوامولسیون‌های تولید شده قابل مقایسه با امولسیون‌های تهیه شده با استفاده از میکروفلوئیدایزر ۱۰۰ مگا پاسکال بودند.

✓ ولف - پرز<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهش خود از سه نوع روغن زیتون، کنجد و سویا در تولید نانوامولسیون استفاده کردند. سورفکتانت مورد استفاده پلورونیک F68 بود و قطر قطرات کمتر از ۵۰۰ nm بود. آنها مشاهده کردند با افزودن میزان بالایی از سورفکتانت به ترکیب، بی‌ثباتی برگشت‌پذیری به وجود می‌آید.

✓ امانی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۰) برای تولید نانوامولسیون، از MCT به عنوان فاز روغن و از توئین ۸۰ و اتانول به عنوان ترکیبات فعال سطحی استفاده کردند. قطر قطرات تولیدی ۶۰-۲۰ nm بود.

✓ تئو و همکاران (۲۰۱۰) در پژوهش خود از روغن استر پالم به عنوان فاز روغن و از ویتامین E به عنوان ترکیب فعال استفاده کردند. ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده توئین ۸۰ و پلورونیک F68 بودند. قطر قطرات تولیدی ۹۴ nm بود.

---

<sup>۱</sup> Kentish

<sup>۲</sup> Wulff-Pérez

<sup>۳</sup> Amani

---

✓ راستی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۲) از ترکیب روش‌های هیدراسیون لایه نازک و فراصوت برای تولید نانولیپوزوم‌های حاوی اسیدهای چرب چند غیر اشباع ω-3 استفاده کردند. اندازه ذرات در همه فرمولاسیون‌ها کمتر از ۲۰۰ nm با توزیع اندازه ذرات باریک و تک مد بود.

### ۳-۲-۲ روش تغییر دادن ترکیب فازها

✓ اوسترتاگ<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر ترکیب سیستم و شرایط آماده‌سازی را روی تولید نانوامولسیون‌های خوراکی بررسی کردند. اندازه ذرات تولید شده (قطرات ریز کوچکتر از ۱۶۰ nm) با استفاده از روش EPI<sup>۳</sup> به نوع روغن، نوع سورفکتانت و غلظت سورفکتانت و هم‌چنین مکان اولیه سورفکتانت بستگی داشت ولی این روش در مقایسه با روش‌های پرانرژی به میزان سورفکتانت بیشتری نیاز دارد.

✓ مورئیرا<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیقی که بر روی تولید نانوامولسیون در سیستم آب-روغن کانولا-سورفکتانت غیر یونی (اسپان ۸۰ و سورفوم<sup>۵</sup> R-۴۰۰) با روش EIP انجام دادند، به این نتیجه رسیدند قطر قطرات وابسته به نوع سورفکتانت است و امولسیون‌های تولیدی دارای قطراتی با اندازه ۱۰۰ nm هستند، به علاوه پتانسیل زتای قطرات حاصله بالا بوده و نانوامولسیون پایداری خوبی را در دماهای مختلف، دارا هستند. برخلاف تحقیقات قبلی که تشکیل ساختارهای کریستالی مایع (مزوفاز) را برای تولید امولسیون با این روش لازم می‌دانستند، در این پژوهش، تشکیل این ساختارها توسط میکروسکوپ نوری پلاریزه مشاهده نشد. این محققان اعلام داشتند که احتمالاً تشکیل این ساختارها برای تولید امولسیون با قطرات ریز، فاکتور ثانوی است.

---

<sup>۱</sup> Rasti

<sup>۲</sup> Ostertag

<sup>۳</sup> Emulsion Phase Inversion

<sup>۴</sup> Moreira

<sup>۵</sup> Surfom (R400)

---

✓ فرناندز<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهش خود از پارافین به عنوان فاز روغنی و از سورفکتانت‌های غیر یونی و الکل‌های چرب به عنوان ترکیب فعال سطحی استفاده کردند. نتایج نشان داد که نسبت بالاتری از مقدار بحرانی سورفکتانت به روغن لازم است و با استفاده از روش EPI استاندارد، ذرات روغن با قطر کمتر از ۱ میکرومتر تولید می‌شود.

### ۲-۳ پژوهش‌های مربوط به حامل‌های لیپیدی نانو ساختار (NLC)

✓ دن<sup>۲</sup> (۲۰۱۶) با استفاده از شبیه سازی مونت کارلو بر روی تأثیر محدوده جامد ذرات نانو ساختار بر سرعت آزاد سازی ترکیبات از NLC تحقیق کردند. نتایج نشان داد که شکل هندسی محدوده جامد و اندازه و اجزاء آن بر سرعت آزاد سازی مواد درون پوشانی شده موثر هستند.

✓ سالمین<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۶) بر روی تأثیر فیزیکی شیمیایی درون پوشانی لیپیدهای عملگرا مانند ویتامین A، بتا کاروتن و روغن  $\omega$ -3 بر ساختار کریستالی و پایداری شیمیایی آن در نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN) تحقیق کردند. همچنین تأثیر فاکتورهای مختلف را بر روی ساختار کریستالی و پایداری شیمیایی مواد زیست فعال بررسی کردند.

✓ سالمین و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی پتانسیل ساپونین استخراجی از گیاه *Quillaja saponaria* برای جایگزینی نمک‌های زرده در فرمولاسیون سورفکتانت برای افزایش پایداری فیزیکی و اکسیداتیو NLC‌های حامل  $\omega$ -3 تحقیق کردند. نتایج نشان داد که کپسوله کردن  $\omega$ -3 به روش NLC از تشکیل هیدروپرواکسیدهای لیپیدی، پروپانال و هگزانال را به ترتیب ۷۲٪، ۵۳٪ و ۵۷٪ در مقایسه با روغن ماهی امولسیون در آب (بدون پوشش) کاهش می‌دهد. تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره *Quillaja* بر روی پایداری فیزیکی و اکسیداتیو NLC حامل  $\omega$ -3 ارزیابی شد.

---

<sup>۱</sup> Fernandez

<sup>۲</sup> Dan

<sup>۳</sup> Salminen



---

✓ سالمینن و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی تولید نانو ذراتی با پوسته جامد و هسته‌ای از اسیدهای چرب مایع ۳-۵ تحقیق کردند. در این تحقیق از دو نوع لستین با دمای ذوب بالا و پائین استفاده شد که در نتیجه آن پایداری اکسیداتیو و پایداری فیزیکی ۳-۵ با سورفکتانت لستین با دمای بالا ۹۰٪ بیشتر از لستین با دمای پایین بود.

✓ فتحی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۴) برای غنی سازی غذاها بر روی SLN و NLC های حامل هیسپرین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی تحقیق کردند که در مقایسه SLN و NLC حامل باهم به این نتیجه رسیدند که در نمونه‌های NLC اندازه ذرات کوچکتر و بازده کپسوله شدن ذرات بالاتر است. آنالیزهای پایداری، مقدار نشت معنی داری در طول ۶۰ روز از خود نشان ندادند. نتایج هیچگونه برهمکنش شیمیایی بین لیپیدها و هیسپرین نشان نداد.

✓ نی<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۴) بر روی غنی سازی غذاها با NLC های حاوی کوئرستین (QT-NLC)<sup>۳</sup> و شرایط تولید و آماده سازی و ویژگی‌های آن‌ها مطالعه کردند که با روش هموژنیزاسیون با فشار بالا تولید شد و میانگین اندازه ذرات، پتانسیل زتا (پایداری کلئیدی) و میانگین به دام افتادن کوئرستین توسط QT-NLC به ترتیب تقریباً ۱۲۹ nm ، ۲۶- میلی ولت و ۹۳/۵٪ بدست آمد و در شرایط دمایی محیط پایداری فیزیکی خوبی دارا بود.

✓ مورالس<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۵) بر روی نانو ذرات لیپیدی برای انتقال رتینول (پیش ساز ویتامین A) و مشتقات آن به سلول‌های هدف تحقیق کردند. در این تحقیق رتینول توسط SLNs، NLCs، NEs<sup>۵</sup> و NCs<sup>۶</sup> بارگیری شد. نانو ذرات حاوی رتینول در درمان پیری پوست، آکنه و... می‌تواند مورد

---

<sup>۱</sup> Fathi

<sup>۲</sup> Ni

<sup>۳</sup> Quercetin

<sup>۴</sup> Morales

<sup>۵</sup> Nanoemulsions

<sup>۶</sup> Nanocapsules

---

استفاده قرار گیرد.

- ✓ هادیان<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۳) بر روی تهیه و ارزیابی ویژگی‌های نانو لیپوزوم‌های حاوی EPA و DHA تحقیق نمودند. نانوحامل‌های لیپوزومی می‌توانند علاوه بر افزایش پایداری اسیدهای چرب غیراشباعی  $\omega$ -3 موجب زیست دسترسی بیشتر آن‌ها شوند. این پژوهش با هدف تهیه‌ی نانولیپوزوم-های حاوی EPA و DHA به روش‌های اکستروژن و فراصوت میله‌ای و ارزیابی ویژگی‌های آن‌ها انجام شد. بارگذاری بهینه‌ی EPA و DHA در لیپوزوم علاوه بر این که به ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی این ترکیبات بستگی دارد، بلکه ترکیب غشای دولایه و روش ساخت آن از عوامل مؤثر و مهم هستند.
- ✓ تمجدی<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۳) بر روی NLC‌ها به عنوان یک سیستم انتقال بالقوه برای کاربردهای غذایی مطالعه کردند، اهداف این مطالعه معرفی NLC به عنوان یک حامل برای کاربردهای غذایی و بیان مزیت‌های آن نسبت به حامل‌های لیپیدی دیگر است، همچنین نحوی انتخاب اجزای آن و رایج‌ترین اجزا و روش‌های تولید آن ارائه شده است و در ادامه در سال ۲۰۱۴ بر روی طراحی و ویژگی‌های NLC‌های حاوی استاگزانتین تحقیق نمودند.
- ✓ اوکونوگی<sup>۳</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۴ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی لیکوپن در فرمولاسیون NLC برای کاربردهای موضعی را مورد بررسی قرار دادند. اندازه و توزیع ذرات و پتانسیل زتا در NLC‌های حامل لیکوپن نگهداری شده در دماهای مختلف برای ۱۲۰ روز تغییری نکرد و پایداری کلئیدی عالی را نشان داد. نتایج نشان دادند که NLC‌ها سیستم‌های جذابی برای انتقال پوستی (موضعی) لیکوپن هستند.
- ✓ ژنگ<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر عوامل پلیمری-سورفکتانت را روی تشکیل و پایداری NLC‌های

---

<sup>۱</sup> Hadian

<sup>۲</sup> Tamjidi

<sup>۳</sup> Okonogi

<sup>۴</sup> Zheng

---

حامل آلفا لیپوئیک اسید (ALA-NLC) را از طریق تفرق نور متحرک، آنالیز رئولوژیکی، زاویه شکست اشعه X و روش HPLC مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اندازه ذرات، خصوصیات ویسکوالاستیک و پایداری نمونه‌های ALA-NLC به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر عوامل سورفکتانت قرار می‌گیرند.

✓ کواسیس<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۱) اثر سورفکتانت پلی‌هیدروکسی را روی اندازه، پایداری فیزیکی و ساختار ماتریکس ذرات در فرمول بندی NLC و SLN بررسی کردند. در این روش حامل‌ها با روش هموژنیزاسیون داغ تولید شدند.

✓ نیک‌نیا<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۱۳) بر روی تهیه و ارزیابی نانو امولسیون‌های خوراکی ویتامین E با روش خود به خودی تحقیق کردند که فرمولاسیون بهینه در غلظت ۱۶٪ SOR با کمترین مصرف سورفکتانت تولید شد. پس از تعیین غلظت سورفکتانت بهینه برای تولید، تغییر دادن درصد وزنی فاز پیوسته و دما تأثیری بر تولید نداشت. نانو امولسیون بهینه نسبت به رقیق سازی مقاوم بود. به این ترتیب آن را می‌توان تا رسیدن به حداکثر مقدار مجاز دریافت روزانه بدن رقیق نمود و نوشیدنی‌های خوراکی شفاف را بدون اینکه تغییری در خصوصیات ظاهری آنها ایجاد شود رقیق سازی نمود.

✓ هجری<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۳) بر روی NLC‌های حامل بتا کاروتن تهیه شده به روش انتشار حلالی تحقیق کردند و تاثیر پارامترهای مختلف مثل غلظت روغن مایع در فاز روغنی، غلظت فاز روغنی، غلظت سطح فعال و دمای فاز آبی بر روی اندازه ذرات و پایداری بتا کاروتن از روش طراحی آزمایش سطح پاسخ (RSM) بررسی شد.

✓ اوبیدات<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۰) بر روی نگهداری NLC‌ها تحقیق کردند و تاثیر نگهدارنده‌ها را با استفاده

---

<sup>۱</sup> Kovacevic

<sup>۲</sup> Niknia

<sup>۳</sup> Hejri

<sup>۴</sup> Obeidat

---

از ترکیب ۱۱ نگهدارنده مختلف بر روی پایداری فیزیکی NLC حامل آنزیم Q10 را بررسی کردند. در این تحقیق NLC با روش هموژنیزاسیون داغ با فشار بالا تولید شد.

✓ کلیدری<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۴) بر روی کاربرد و خصوصیات SLN ها و NLC ها به عنوان سیستم‌های حامل دارو کار کردند و نتایج نشان دهنده این بود که این سیستم‌ها در مقایسه با سایر سیستم‌های کلوئیدی مزیت‌های بیشتری را شامل می‌شوند. از جمله می‌توان به کنترل آزاد سازی دارو و افزایش در پایداری شیمیایی داروهای وارد شده به آنها اشاره نمود. علاوه بر این حامل‌های ایمنی بوده که می‌توانند به راحتی در مقیاس بالا تولید شوند.

✓ مولر<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۲) گزارش نمودند ساختارهای SLN در انکپسولاسیون رتینوئیک اسید، به عنوان یک مانع فیزیکی میان رتینوئیدها و کاتالیزهای اکسیداسیون عمل می‌کند و همچنین خاصیت پراکنش نور توسط آنها موجب کاهش نفوذ نور به رتینوئیک اسید محصور شده در ساختار SLN می‌شود. در استفاده از یک مقدار ثابت سورفکتانت و سایر اجزاء، پایداری اسید رتینوئیک با کاهش اندازه ذره و افزایش سطح در تماس، بهبود می‌یابد.

✓ هنتس چل<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۸) به تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار بتاکاروتن (درون‌پوشانی شده در روغن حامل آلفا توکوفرول) با استفاده از روش هموژنیزاسیون داغ پرداخت. نانوحامل‌های تولیدی در اندازه‌های ۸۵ nm به مدت ۲۰ روز در دمای اتاق پایدار بودند.

✓ جی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۶) در ارتباط با الحاق رتینول به سیستم‌های نانوذره SLN، بیان کردند پارامترهایی از قبیل روش تهیه نانوحامل، نوع سورفکتانت مورد استفاده جهت تثبیت نمودن

---

<sup>۱</sup> Kelidari

<sup>۲</sup> Muller

<sup>۳</sup> Hentschel

<sup>۴</sup> Jee

---

امولسیون و نوع چربی بکار برده شده، بایستی مورد توجه قرار گیرند. به طور مثال با اضافه نمودن مقادیر و ترکیب مناسبی از آنتی‌اکسیدان‌ها به فرمولاسیون نانوکریستال‌های چربی (SLN) بر پایه روغن پالم، میزان رتینول درون‌پوشانی شده از ۷۴٪ به ۱۰۰٪ افزایش می‌یابد.

✓ در مطالعه‌ای که توسط جنینگ و گوها<sup>۱</sup> (۲۰۰۱) روی تهیه SLN حاوی رتینوئیدهای مختلف با استفاده از گلسیریل بهینات صورت پذیرفت؛ نشان داده شد که پس از ۱۶۰ روز نگهداری در دمای ۴°C، ۶۰٪ رتینول فعال باقی می‌ماند. پایداری و ظرفیت بارگیری رتینول در SLN های تهیه شده از گلسیریل بهینات، با اضافه نمودن ۱۰-۵٪ تری گلسیرید حاوی اسیدهای چرب با زنجیره متوسط و نقطه ذوب پائین، بهبود یافت. هم‌چنین گزارش نمودند پایداری رتینوئیدهای مختلف در SLN ها به ترتیب قطبیت آنها است. به این گونه که هر اندازه قطبیت مولکول کمتر باشد، پایداری آن بیشتر است.

پایداری SLN های حاوی رتینوئیدها: رتینیل پالمیتات < رتینول < اسید رتینوئیک

✓ لیو و وو<sup>۲</sup> (۲۰۱۰) نیز در پژوهش خود بر روی بهینه‌سازی فرمولاسیون NLC حاوی لوتئین بر پایه پیرسرول (لیپید جامد)، روغن مایع میورول (پالمیتیک اسید مونوگلسیرید) و پلورونیک به عنوان سورفکتانت گزارش نمودند با استفاده از پیرسرول ATO5 به عنوان لیپید جامد، ذرات لیپیدی نانو ساختار تولید می‌شود.

✓ چن<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه و بررسی خصوصیات نانو دیسپرسیون لیپیدی به عنوان حامل ترکیبات و داروهای کم محلول در آب، با استفاده از لیپیدها و سورفکتانت‌های زیست‌تخریب‌پذیر

---

<sup>۱</sup> Jennings and Gohla

<sup>۲</sup> Liu and Wu

<sup>۳</sup> Chen

---

(اسید استئاریک ، گلیسیرین مونو استئارات، اسید اولئیک و میگلیول ۸۱۲ و سورفکتانت کروموفور-EL) و با به‌کارگیری روش هموژنیزاسیون فشار قوی نانوذراتی با اندازه ۱۲۰ و ۲۵۰ nm با کارایی درون‌پوشانی ۶۰/۵-۵۵٪ و پتانسیل زتای ۴۳- میلی‌ولت حاصل کردند.

✓ لاکاتوسو<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۱۴) با استفاده از روغن‌های گیاهی کدوخلوایی و آمارانت (گل تاج خروس) به تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار با متوسط اندازه ۱۶۰-۱۰۰ nm در درون‌پوشانی ترکیبات ضد آفتاب پرداختند.

✓ ژنگ و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر اثر توأم سورفکتانت- پلیمر را بر روی تشکیل و پایداری آلفا-لیپوئیک اسید بارگیری شده در NLC، بررسی کردند. اندازه ذرات، خصوصیات ویسکوالاستیک و پایداری نانوحامل‌های لیپیدی حاصله، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر عوامل امولسیفایری پلیمر - سورفکتانت بود.

✓ گارسیا- فونتر<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۳) بیان داشتند پایداری SLN ها در برابر تجمع، متأثر از قدرت یونی فاز پیوسته و چگالی بار در سطح چربی- آب است. بالا بودن پتانسیل زتا به پایداری آنها کمک می‌کند، در کنار این، عوامل غیر الکترواستاتیکی مانند پایدارکنندگی استریک نیز از تأثیر مهمی برخوردار است.

✓ مکلمنتر<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۷) سه نوع ساختار کریستالی را حین سرد کردن و تشکیل کریستال‌های چربی در تولید SLN برشمردند. کریستال‌های ناقص با نواقص بسیار، کریستال‌های آمورف و بی‌شکل و قطرات چربی مایع در ماتریکس لیپید جامد شده.

✓ هلگاسون<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۸) در ارتباط با تأثیر سرعت‌های مختلف سرد کردن بر روی تشکیل

---

<sup>۱</sup> Lacatusu

<sup>۲</sup> Garcia-Fuentes

<sup>۳</sup> McClements

<sup>۴</sup> Helgason

---

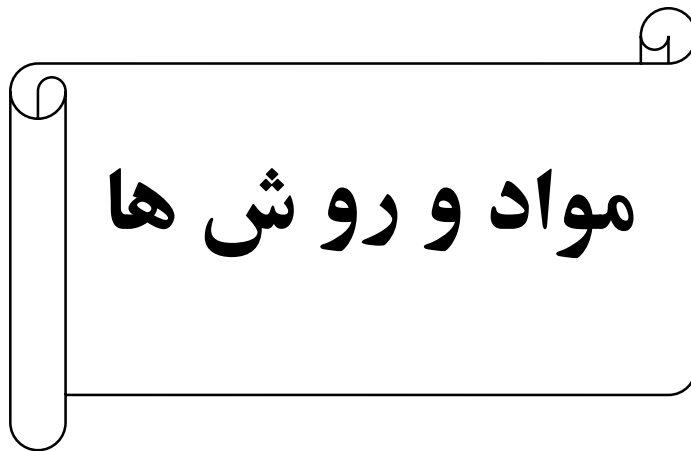
انواع مختلف کریستال‌های SLN تری پالمیتین تثبیت شده با توئین ۲۰ (قطر متوسط ۱۲۰ nm)، گزارش نمودند با افزایش سرعت سرد کردن از دقیقه  $0/2^{\circ}\text{C}$  به ۲۰، غلظت کریستال‌های آلفا افزایش می‌یابد، در حالی که غلظت کریستال‌های بتا تغییری پیدا نمی‌کند.

✓ در مطالعه ای که توسط لاکاتوسو و همکاران (۲۰۱۴) برای بررسی اثر استفاده از روغن ماهی غنی با اسیدهای چرب  $\omega$ -3 در پایداری نانو ذرات لیپیدی حاوی لوتئین انجام گرفت. از گلیسرول استئارات، موم کارنوبا و روغن ماهی به عنوان فاز لیپیدی و پلوکسامر ۴۰۷ به عنوان سورفکتانت استفاده شد. روش مورد استفاده هموژنیزاسیون با برش بالا بود. اندازه ذرات کمتر از ۲۰۰ نانومتر و کارایی انکپسولاسیون ۸۸٪ برای نمونه تولیدی با فاکتورهای بهینه بود.





## فصل سوم



### ۱-۳ مواد مورد استفاده

➤ مواد مورد استفاده در تولید حامل لیپیدی نانو ساختار (NLC)

- روغن کبد ماهی (ω-3) (HO307-9) (داروسازی زهراوی، ایران).

جدول ۱-۳: خصوصیات روغن کبد ماهی مورد استفاده.

پارامترها	مقدار
درصد اسیدهای چرب آزاد	۰/۱۲
درصد رطوبت	۰/۰۱
ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) (میلی گرم بر گرم)	۱۷۱
دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) (میلی گرم بر گرم)	۱۱۴
مقدار کل اسیدهای چرب ω-3 (میلی گرم بر گرم)	۳۵۴
عدد پراکسید (میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم)	۱/۳
عدد آنیزیدین	۱۳/۹
جذب در ۲۳۳ نانومتر	۰/۲۲

- ویتامین E (آلفا توکوفرول) (Sigma-Aldrich, آلمان).

- ترکیبات فعال سطحی شامل سورفکتانت‌های غیر یونی:

- پلی اکسی اتیلن (۲۰) سوربیتان مونو اولئات - توپین ۸۰ (Merck - آلمان).
- پلی اکسی اتیلن (۲۰) سوربیتان تری اولئات - توپین ۸۵ (Sigma-Aldrich, آلمان).
- سورفکتانت غیر یونی پلوکسامر ۴۰۷ (Sigma-Aldrich, آلمان).

انواع لیپیدهای جامد:

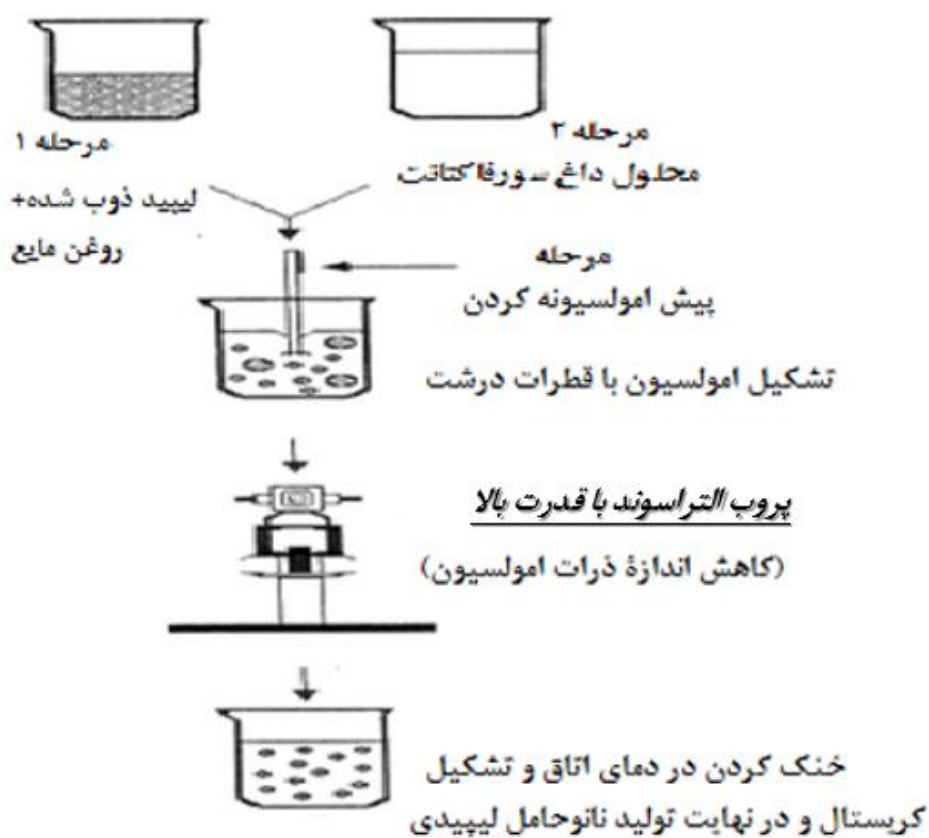
- تری استتارین یا استتاریک اسید (Gattefosse، فرانسه).
  - پیرسرول ATO-5 یا گلیسریل پالمیتو استتارات (Gattefosse، فرانسه).
  - کامپریتول ATO-888 یا گلیسریل دی بهینات (Gattefosse، فرانسه).
- مواد مورد استفاده در اندازه گیری عدد پراکسید (PV) و تست TBA برای تعیین پایداری اکسیداتیو: کلرفرم، متانول، آمونیوم تیوسیانات، کیومن هیدروپراکسید، کلرید آهن، اسید کلریدریک، تیوباربیتوریک اسید (TBA)، تری کلرواستیک اسید (TCA)، مالون دی آلدهید (1,1,3,3-tetramethoxypropane) از شرکت مرک آلمان.

## ۲-۳ روش ها

### ۱-۲-۳ تولید حامل های لیپیدی نانوساختار حاوی $\omega$ -3 و توکوفرول با روش فراصوت

ابتدا فاز روغنی و سورفکتانت در مقادیر وزنی مشخص شده در حمام آبی تا ۵ درجه سانتی گراد بالاتر از نقطه ذوب چربی (دمای ۸۰ درجه سلسیوس) حرارت داده شدند. سپس روغن کبد ماهی به آرامی بر روی فاز روغنی ذوب شده افزوده شد، در ادامه محلول سورفکتانت فاز آبی با دمای ۸۰°C، به صورت قطره قطره به داخل فاز روغنی حاوی روغن کبد ماهی تحت دمای ۸۰°C اضافه گردید و به مدت ۴ دقیقه جهت تولید پیش امولسیون ورتکس گردید. در این مرحله ابتدا امولسیون روغن در آب متشکل از قطرات درشت لیپید جامد و روغن مایع حاوی روغن روغن کبد ماهی تولید و در ادامه در زیر دستگاه فراصوت با قدرت ۴۰۰ وات ساخت ایران به مدت ۱۰ دقیقه به قطرات ریز (در مقیاس نانو) تبدیل شد. به علت استفاده از دمای بالا در تهیه فرمولاسیون، لیپید جامد به صورت امولسیون قطرات لیپیدی محصور شده با لایه سورفکتانت در محیط آبی تولید شده و سپس با خنک شدن سیستم در دمای اتاق، نانوقطره های حاوی لیپید جامد و روغن مایع به شکل کریستال های نامنظم لیپیدی متبلور گشته و NLC تولید شد (شکل ۱-۳).

با توجه به قرارگیری لایه سورفکتانت در اطراف هر یک از نانوقطرات لیپیدی و ایجاد ممانعت فضایی بین دو قطره، پس از خنک شدن و تشکیل کریستال، حامل‌های لیپیدی نانو ساختار پایدار به صورت دیسپرس شده در محیط آبی تولید شد. در این تحقیق به منظور یافتن فرمولاسیونی مناسب با اندازه ذرات در مقیاس nm، از انواع فاز لیپیدی و روغنی مختلف با نسبت‌های ۷۰ به ۳۰ و غلظت‌های مختلف سورفکتانت فاز آبی برای ساخت NLC حاوی روغن کبد ماهی استفاده شد.

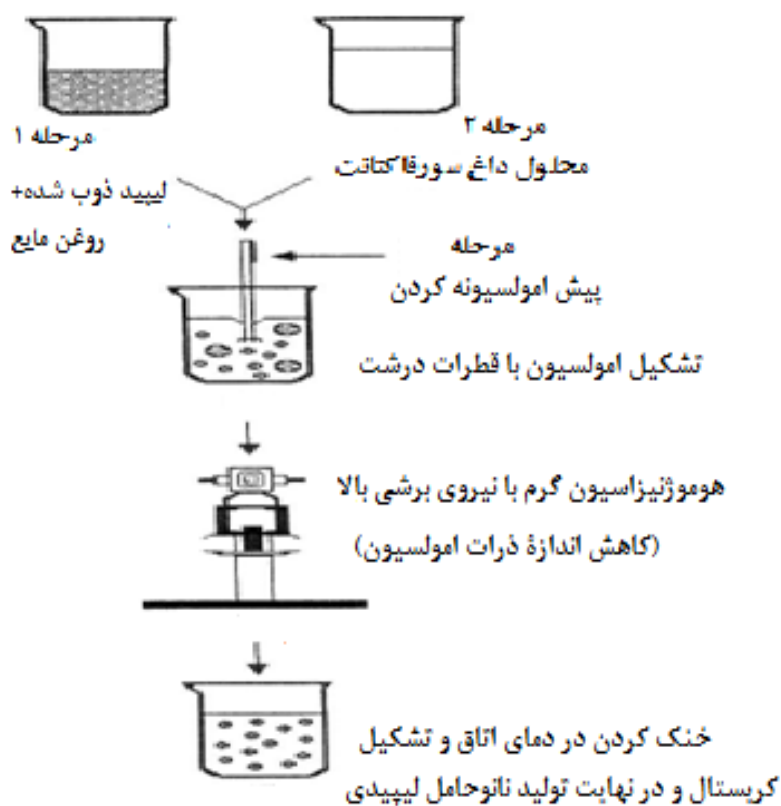


شکل ۱-۳: تهیه NLC های حاوی روغن کبد ماهی با روش پروب اولتراسوند با قدرت بالا.

۳-۲-۲ تولید حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی روغن کبد ماهی با روش هموژنیزاسیون

گرم.

ابتدا فاز روغنی و سورفکتانت در مقادیر وزنی مشخص شده در حمام آبی تا ۵ درجه سانتی گراد بالاتر از نقطه ذوب چربی (دمای  $80^{\circ}\text{C}$ ) حرارت داده شدند. سپس روغن روغن کبد ماهی به آرامی بر روی فاز روغنی ذوب شده افزوده شد، در ادامه محلول سورفکتانت فاز آبی با دمای  $80^{\circ}\text{C}$ ، به صورت قطره قطره به داخل فاز روغنی حاوی روغن کبد ماهی تحت دمای  $80^{\circ}\text{C}$  و در زیر هموژنیزاتور با نیروی برشی قوی (Hiedolph، ساخت آلمان) اضافه گردید. در این مرحله ابتدا امولسیون روغن در آب متشکل از قطرات درشت لیپید جامد و روغن مایع حاوی روغن کبد ماهی تولید و در ادامه در زیر هموژنیزاتور با سرعت زیاد ( $20000\text{rpm}$ ) به قطرات ریز (در مقیاس نانو) تبدیل شد (شکل ۳-۲).



شکل ۳-۲: تهیه NLCهای حاوی روغن کبد ماهی به روش هموژنیزاسیون گرم با نیروی برشی بالا.

### ۳-۳: آزمایش های عمومی

#### ۳-۳-۱ اندازه و توزیع اندازه ذرات

توزیع اندازه ذرات و قطر متوسط آنها توسط دستگاه سنجش اندازه ذرات (با محدوده اندازه ذرات nm ۵۰ تا ۵۰ میکرومتر) (SHIMADZO مدل SALD 2101 ساخت ژاپن، مدل Wing Sald) بر اساس روش پراش استاتیک پرتو لیزر اندازه گیری شدند. سل حاوی آب دو بار تقطیر شده به عنوان مرجع قرار گرفت و پیک های مربوط به آب، در اندازه گیری حذف شد. در مرحله بعد، آب دو بار تقطیر با استفاده از سرنگ، از محفظه سل تخلیه شد و محلول مورد نظر برای آنالیز در آن قرار گرفت (شکل ۳-۳). باید توجه کرد در این مرحله درب دستگاه حتماً باید بسته شود تا نور لیزر به نمونه تابانده شود. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد و کلیه نمونه ها در سه تکرار اندازه گیری شدند.

میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا DeBroukere mean توسط معادله زیر محاسبه شد:

$$\bar{D}_{[r, r]} = \frac{\sum n_i d_i^r}{\sum n_i d_i^r} \quad \text{معادله (۱-۳)}$$

توزیع اندازه ذرات با محاسبه شاخص پراکنش ذرات (span) توسط معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Span} = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)} \quad \text{معادله (۲-۳)}$$

(90%) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۹۰٪ حجم کل ذرات سیستم را تشکیل می دهد.

(50%) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۵۰٪ حجم کل ذرات را تشکیل می دهد (قطر میانه).

(10%) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۱۰٪ حجم کل ذرات سیستم را تشکیل می دهد.

میزان اسپن کمتر، نشان دهنده توزیع در اندازه ذرات باریکتر است. کلیه اندازه گیری ها پس از گذشت ۲۴ ساعت از تولید نمونه و نگهداری آن در دمای اتاق انجام شد (همیشه کار و همکاران، ۲۰۰۹).



شکل ۳-۳: دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات مدل Wing Sald 2101 برای اندازه‌گیری قطر متوسط ذرات.

### ۳-۳-۲ پتانسیل زتا

برای تعیین پتانسیل زتای ساختارهای لیپیدی نانوحامل حاوی روغن کبد ماهی، از دستگاه زتا سایزر (Nano-ZS ساخت شرکت Malvern کشور انگلستان) استفاده شد (شکل ۳-۴). برای این منظور، هریک از نمونه‌ها نخست با استفاده از آب مقطر ۵۰ برابر رقیق شدند. سپس نمونه‌ها توسط سرنگی داخل لوله موئین منتقل و لوله موئین در محل مخصوص در داخل دستگاه قرار گرفت. اندازه‌گیری پتانسیل زتا در  $\text{pH} = 7.4$  و در دمای  $25^\circ\text{C}$  و توان ۱۴۹ وات انجام شد (فاتوروس و آنتیمیسیاریس، ۲۰۰۲).



شکل ۳-۴: دستگاه زتا سایزر مدل Nano-ZS برای اندازه‌گیری میزان بار سطحی ذرات.

### ۳-۳-۳ بررسی مورفولوژی ذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

به منظور بررسی مورفولوژی نانوحامل‌های کلئیدی و تأیید اندازه و پایداری آنها طی مدت زمان نگهداری در مقیاس نانو (کوچک‌تر از ۱۰۰ nm)، در ابتدا نمونهٔ بهینه در فریزر ۸۰C- منجمد شد و سپس در دستگاه لیوفیلیزاتور تحت خلأ به شکل پودر جامد خشک درآمد و با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (Leo 906 مدل Zeiss 100 KV، ساخت آلمان) تصویربرداری شد (کلنگ و همکاران، ۲۰۱۲).

### ۴-۳-۳ تعیین کارایی درون‌پوشانی NLC

برای تعیین کارایی درون‌پوشانی ابتدا منحنی کالیبراسیون توسط غلظت‌های مختلف روغن کبد ماهی رسم شد به همین منظور ابتدا غلظت مناسبی از روغن کبد ماهی با اتانول مطلق و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Ultraspec 2000، ساخت انگلیس) اسکن شد (شکل ۳-۵) و طول موج ماکزیمم جهت انجام مراحل بعدی اندازه‌گیری شد.

در مرحله بعد با استفاده از اتانول مطلق غلظت‌های مختلفی از روغن کبد ماهی تهیه شد. جذب‌ها در طول موج ۲۱۲nm (طول موج ماکزیمم) خوانده شد و منحنی کالیبراسیون با نرم‌افزار Excel 2013 رسم شد.



شکل ۳-۵: دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی مدل Ultraspec 2000 ساخت انگلیس.

برای اندازه‌گیری کارایی درون‌پوشانی مقدار ۰/۵ میلی لیتر از نانوحامل با ۳/۵ میلی لیتر اتانول ۵۰٪



رقیق شد. این نمونه‌ها درون فیلتر آمیکون ریخته شد و سپس در سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و جذب نمونه فیلتر شده در ۲۱۲ nm خوانده شد و در نهایت کارایی انکپسولاسیون با فرمول حاصل از منحنی کالیبراسیون روغن کبد ماهی محاسبه شد.

کارایی درون‌پوشانی به شرح زیر محاسبه شد:

۱. جذب خوانده شده به جای  $\gamma$  در فرمول زیر حاصل از کالیبراسیون قرار داده شد؛

$$Y = -0.39x + 3.3 \quad \text{معادله (۳-۳)}$$

۲. غلظت حاصله ضرب در فاکتور رقت (۸ برابر رقیق شده بود) شد؛

۳. عدد حاصله ضرب در حجم نانوحامل تولیدی شد؛

۴. وزن به دست آمده تقسیم بر مقدار کل روغن کبد ماهی به کار رفته شد که در اینجا درصد روغن

کبد ماهی آزاد به دست آمد؛

۵. از فرمول زیر مقدار کارایی درون‌پوشانی محاسبه شد.

$$\text{معادله ۳-۴:} \quad \text{کارایی درون پوشانی} = \frac{\text{مقدار } \omega - 3 \text{ آزاد} - \text{مقدار کل } \omega - 3 \text{ اضافه شده}}{\text{مقدار کل } \omega - 3 \text{ اضافه شده}} * 100$$

### ۳-۳-۶ بررسی پایداری فیزیکی محلول NLC

پایداری فیزیکی NLC های حاوی روغن کبد ماهی در شرایط در بسته و به مدت ۷۵ روز در تاریکی نگه داشته شد. سپس اندازه میانگین ذرات NLC در فاصله های زمانی مشخص ۱ روز پس از تولید و ۷۵ روز ذخیره سازی در دمای ۲۵ °C توسط دستگاه آنالیز اندازه ذرات تعیین گردید (فتحی و همکاران، ۲۰۱۳)

### ۳-۳-۴ اندازه گیری میزان اکسیداتیو

#### ۳-۳-۱ اندازه گیری عدد پراکسید

---

۲ میلی لیتر کلروفرم/متانول (2:1 v/v) به ۱ میلی لیتر از نمونه افزوده شد و به مدت ۳ ثانیه جهت دو فاز شدن نمونه ورتکس گردید. ۲۰ میکرولیتر از فاز زیرین با ۲/۳۵ میلی لیتر از کلروفرم/متانول (2:1 v/v) مخلوط گردید و در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول ۰.۳٪ آمونیوم تیوسیانات (w/v) و ۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آهن ۲۰ میلی مولار در ۳/۵٪ اسید کلریدریک (w/v) به نمونه افزوده شد. بعد از ۲۰ دقیقه جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ nm خوانده شد (تاکونگ ونگ تراکول و بنجاکول ۲۰۱۳).

محلول شاهد نیز با همین روش تولید شد فقط بجای کلرید آهن، آب مقطر استریل اضافه شد. عدد پراکسید (PV) به عنوان mg کیومن هیدروپراکساید در لیتر امولسیون بیان شد.

برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های ۲-۵ ppm از کیومن تهیه و توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۰۰ nm خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید.

### ۳-۴-۲ تست تیوباربتوریک اسید (TBA)

۰/۵ میلی لیتر از نمونه با ۲/۵ میلی لیتر محلول (شامل ۰/۳۷۵٪ تیوباربتوریک اسید (w/v) ، ۰/۱۵٪ تری کلرواستیک اسید (w/v) و ۰/۲۵ مولار اسید کلریدریک) مخلوط شد. محلول حاصل با آب ۹۵-۱۰۰°C به مدت ۱۰ دقیقه به منظور رسیدن به رنگ صورتی گرم شد. بعد از خنک شدن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵°C با دور ۳۶۰۰ سانتریفیوژ گردید و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ nm جذب خوانده شد (تاکونگ ونگ تراکول و بنجاکول ۲۰۱۳). برای تهیه منحنی استاندارد، غلظت های ۱-۶ ppm از 1,1,3,3-tetramethoxypropane (مالون دی آلدهید) تهیه و توسط اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۲ nm خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید.

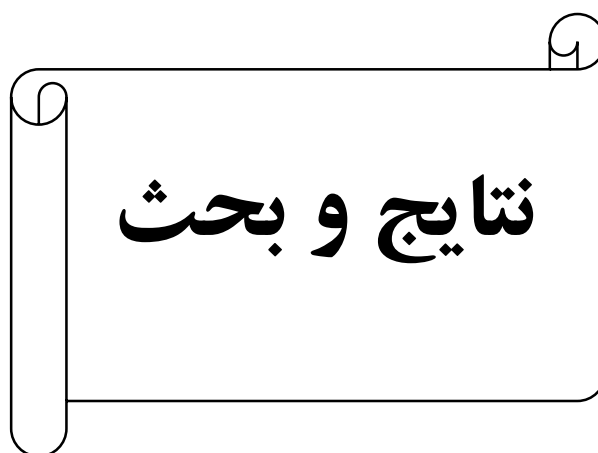
### ۳-۵ آنالیزهای آماری

آزمون‌های شیمیایی بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن در سطح ۵٪ استفاده شد. نرم افزار آماری ۱۶ SPSS در تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.



---

## فصل چهارم



## ۴ نتایج و بحث

در این فصل به گزارش نتایج حاصل از بهینه‌سازی فرمولاسیون نانوحامل‌های حاوی روغن کبد ماهی و هر یک از آنالیزهای مربوطه به منظور تعیین خواص ذرات تشکیل شده، پایداری و راندمان درون‌پوشانی، روش‌های اندازه‌گیری پایداری اکسیداتیو NLC حاوی روغن کبد ماهی نسبت به NLC حاوی روغن کبد ماهی به همراه توکوفرول و امولسیون روغن کبد ماهی در طی مدت زمان ۴۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ °C پرداخته شده است. نتایج در بخش‌های جداگانه ارائه و مورد بحث قرار می‌گیرد.

### ۱-۴ حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی روغن کبد ماهی

در این مطالعه سعی شده است با استفاده از دو روش هموزنی‌اسیون گرم با نیروی برشی بالا و فراصوت میله ای و تغییر شرایط مختلف، فرمولاسیون بهینه حامل لیپیدی نانوساختار حاوی روغن کبد ماهی به همراه توکوفرول را تهیه کرده تا نانوحامل حاصله، اندازه ذره‌ای در حدود ۱۰۰ nm، داشته باشد (جدول ۴-۱). فاکتورهای آزمایش شده شامل اندازه‌گیری اندازه ذرات با تغییر نوع فاز لیپیدی و نسبت لیپید جامد و روغن مایع به مقدار سورفکتانت و در ادامه اندازه‌گیری پایداری ذرات در طی نگهداری در دمای محیط، کارایی درون‌پوشانی و همچنین بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و پتانسل زتا است.

جدول ۴-۱: فرمولاسیون‌های مختلف حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی روغن کبد ماهی در ۵۰ میلی لیتر آب.

سایز nm	مشاهدات	روش تولید	سورفکتانت	فاز روغنی	فاز چربی
	حالت شیری و عدم خروج کامل حلال	تبخیر حلال	تویین ۸۰	روغن سویا+ رزماری	استئاریک اسید

	حالت شیری و ایجاد کریستال بعد از ۲ روز	پروپ فراصوت	تویین ۸۰	روغن سویا	استتاریک اسید
	حالت شیری و ایجاد کریستال بعد از ۲ روز	پروپ فراصوت	تویین ۸۰+ لستین	میگلیول ۸۱۲	استتاریک اسید
	حالت شیری، ایجاد کریستال بعد از ۲ روز	هموژنیزاسیون گرم با نیروی برشی بالا	تویین ۸۰+ لستین	اکتیل اکتانت	استتاریک اسید
	سفت شد	پروپ فراصوت	تویین ۸۰+ لستین	اکتیل اکتانت	ستیل پالمیتات
	دوفازی شدن بعد از ۲ روز	پروپ فراصوت	۱ میلی لیتر تویین ۸۰	۰/۳ گرم میگلیول ۸۱۲	۰/۷ گرم پیرسرول
	ایجاد رسوب و دوفازی شدن	پروپ فراصوت	۱ میلی لیتر تویین ۸۰+ لستین	۰/۳ گرم میگلیول ۸۱۲	۰/۷ گرم پیرسرول
	دوفازی شدن بعد از ۲ روز	پروپ فراصوت	۱ میلی لیتر تویین ۸۰	۰/۳ گرم اکتیل اکتانت	۰/۷ گرم پیرسرول
۶۳۹	رنگ نیم شفاف	فراصوت با قدرت ۱۰۰ وات	۲ گرم پلاکسامر ۴۰۷	۰/۳ گرم روغن کبد ماهی	۰/۷ گرم پیرسرول

۲۰۲	رنگ نیم شفاف	فراصوت با قدرت ۴۰۰ وات	۲ گرم پلاکسامر ۴۰۷	۰/۳ گرم روغن کبد ماهی	۰/۷ گرم پیرسرول
۱۱۹	رنگ شفاف	فراصوت با قدرت ۴۰۰ وات	۱ گرم پلاکسامر ۴۰۷	۰/۳ گرم روغن کبد ماهی	۰/۷ گرم پیرسرول
۱۰۱	رنگ شفاف	هموژنیزاسیون گرم با نیروی برشی بالا	۱ گرم پلاکسامر ۴۰۷	۰/۳ گرم روغن کبد ماهی	۰/۷ گرم پیرسرول

#### ۴-۱-۱ روش هموژنیزاسیون داغ با نیروی برشی بالا و روش فراصوت در تولید حامل های

##### لیپیدی نانوساختار

روش هموژنیزاسیون یکی از روش های پرانرژی در تولید حامل های لیپیدی نانوساختار است. از مزایای آن می توان به غیر سمی بودن، بالا بودن میزان فاز لیپیدی و همچنین امکان تولید در مقیاس وسیع اشاره کرد. گونت و همکاران (۲۰۱۰) بیان داشتند با استفاده از روش هموژنیزاسیون گرم فشار قوی، می توان قطرات کوچک و پایدار در محدوده nm تولید کرد. با این حال در تولید نانومولسیون ها کنترل رهايش ترکیبات ریز مغذی داروها، به علت اندازه کوچک و مایع بودن نانو حامل مشکل است (فتحی و همکاران، ۲۰۱۲).

در ساختارهای حامل لیپیدی نانوساختار (NLC)، در دمای بالا امتزاج پذیری و مخلوط شدن کامل میان لیپید جامد ذوب شده و روغن حامل صورت می گیرد. فرایند هموژنیزاسیون انرژی لازم برای پخش کردن بهتر مخلوط لیپیدی و در ادامه تولید ذرات کوچک (در مقیاس nm) را فراهم می سازد. با افزایش دما اندازه ذره به علت کاهش ویسکوزیته فاز داخلی کاهش می یابد و در واقع خود هموژنیزاسیون هم سبب افزایش

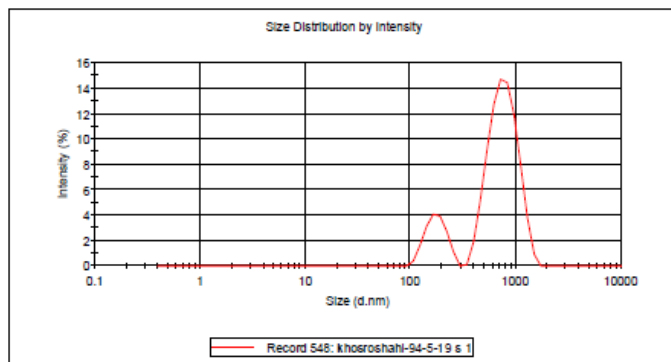


---

دمای نمونه می‌شود (لیو و وو، ۲۰۱۰). افزایش دما بیش از حد، ممکن است سبب افزایش سرعت تجزیه حامل و ترکیب فعال و در نتیجه تجمع ذرات و توزیع اندازه ذره‌ای پهن شود. کاهش دمای فاز آبی هم در طول اضافه کردن به فاز لیپیدی باعث افزایش ویسکوزیته فاز داخلی پیش امولسیون ایجاد شده و افزایش اندازه ذره‌ای می‌شود. نتایج بسپینار و همکاران (۲۰۱۰) نیز در تولید نانوامولسیون با به کارگیری روش هموژنیزاسیون فشار قوی نشان داد بیشترین پایداری شیمیایی نانوامولسیون در فشارهای پایین هموژنایزر و با افزایش تعداد سیکل‌های هموژنیزاسیون و به کارگیری دماهای بالاتر (فشار ۳۰۰ بار، ۱۰ سیکل هموژن کردن و دمای ۵۰°C)، حاصل می‌گردد. دلیل این پایداری به علت عدم مهاجرت ترکیب فعال از درون فاز روغنی به سطح سورفاکتانت موجود بر روی سطح قطره بود. افزایش فشار و افزایش تعداد سیکل‌ها به علت به هم چسپیدن ذرات که آن هم نتیجه انرژی جنبشی بالای ذرات است، سبب افزایش اندازه ذره‌ای می‌شود. در روش فراصوت، چربی ذوب شده با فاز آبی حاوی سورفاکتانت، تحت فراصوت پراکنده می‌شود. سپس امولسیون در دمای اتاق سرد می‌شود. پایین بودن کیفیت پراکنده شدن و پهن بودن توزیع ذره‌ای عیب این روش‌ها می‌باشد. کیفیت پراکنش این نانوذرات لیپیدی که به وسیله این روش‌ها تولید می‌شود اغلب تحت تأثیر حضور میکروذرات قرار می‌گیرد که منجر به ناپایداری فیزیکی طی زمان نگهداری می‌گردد. در این روش، در قدرت‌های پایین (۱۰۰ وات) با افزایش زمان فرآیند نیز اندازه قطرات به زیر ۵۰۰ nm نرسیده و دارای رنگ شیری بوده و نیاز به فراصوت با قدرت بالا می‌باشد (شکل ۴-۱).

## Results

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
<b>Z-Average (d.nm):</b> 639.4	Peak 1: 780.4	82.9	232.7
<b>Pdl:</b> 0.563	Peak 2: 175.6	17.1	37.61
<b>Intercept:</b> 0.906	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
<b>Result quality</b> Good			



شکل ۴-۱: روش فراصوت میله ای و اندازه ذرات حاصل از آن در تولید حامل های لیپیدی نانو ساختار. تهیه نمونه سمت چپ با قدرت ۱۰۰ وات و نمونه سمت راست با قدرت ۴۰۰ وات.

همچنین در این روش، غلظت چربی پایین (کمتر از ۱ درصد) و غلظت سورفکتانت به طور نسبی بالا می باشد. آلودگی فلزی مشکل دیگری است که در استفاده از فراصوت به وجود می آید (کلیدری و همکاران ۲۰۱۳).

## ۴-۲ اندازه و توزیع اندازه ذرات

اندازه ذرات و توزیع آنها، نقش مهمی در ویژگی های فیزیکی سیستم های کلوئیدی مانند پایداری، دسترسی و فعالیت زیستی، خواص ظاهری و ارگانولپتیکی محلول های حاوی آن دارد. کاهش اندازه ذرات موجب افزایش نسبت سطح به حجم ذرات شده و هرچه مقدار این ذرات کوچک تر باشد، این خواص مطلوب تر خواهند بودند، بنابراین سیستم های حاوی ذرات در مقیاس نانو، دارای ویژگی های متفاوتی نسبت به سیستم ها در مقیاس میکرو، خواهند بود. چربی های جامدی که در تولید NLC ها به کار می روند عبارتند از: تری پالمیتین، گلیسریل بیهنات (کامپیریتول)، گلیسریل دی استئارات (پیرسرول) و ستیل پالمیتات. جهت تهیه ماتریکس ذرات، چربی های جامد به نسبت های ۷۰ به ۳۰ تا ۱/۹۹ به ۱/۰ با چربی های مایع

---

اختلاط می یابند (کلیدری و همکاران ۲۰۱۳). بنابراین به منظور یافتن فرمولاسیونی مناسب با اندازه ذرات در مقیاس ۱۰۰ nm، از انواع فاز لیپیدی مختلف با نسبت‌های ثابت ۷۰ به ۳۰ فاز جامد به فاز مایع بدلیل افزایش بارگیری ماده فعال (روغن کبد ماهی) توسط حامل (فاز جامد) استفاده شد. همچنین نسبت‌های مختلف سورفکتانت فاز آبی (۲ به ۱ و ۱ به ۱) نسبت به فاز چربی برای ساخت حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی روغن کبد ماهی با یکدیگر مقایسه شد. در جدول (۴-۱) فرمولاسیون‌های مختلف همراه با مشاهدات تا رسیدن به فرمول بهینه حامل‌های لیپیدی نانوساختار با اندازه تقریبی ۱۰۰ nm نشان داده شده است.

اندازه ذرات کوچک‌تر منجر به وجود آمدن سطح تماس بیشتر و در نتیجه کارایی زیستی، شفافیت و حلالیت بالاتر می‌شود. وقتی ترکیبات، روش و پارامترهای فرایند (زمان، دما، فشار، نوع تجهیزات و ...) به منظور بهینه کردن شرایط تولید تغییر می‌کنند، اندازه ذرات نیز تغییر می‌کند. از فاکتورهای موثر بر متوسط اندازه ذرات می‌توان به ماهیت نانوحامل، ماهیت ماده زیست فعال، فرایند فرمولاسیون، روش تولید و نسبت حامل به ماده فعال و شرایط محیطی مانند دما اشاره کرد (داس و همکاران، ۲۰۱۲؛ لاکاتوسا و همکاران، ۲۰۱۲).

#### ۴-۲-۱ تأثیر روش تولید مورد استفاده بر اندازه و توزیع ذرات

شکل‌های ۴-۲ و ۴-۳ تأثیر دو روش تولید با فراصوت و هموژنیزاسیون داغ را بر روی اندازه و توزیع اندازه ذره ای نشان می‌دهند که توسط دستگاه آنالیز اندازه ذرات بدست آمده است. اندازه ذرات در روش هموژنیزاسیون داغ در حدود ۱۰۰ nm و در روش فراصوت با قدرت بالا (۴۰۰ وات) بزرگتر بوده و در حدود ۱۱۹ nm می‌باشد. هر چه اسپن کمتر باشد نشان دهنده توزیع اندازه ذرات باریک‌تر و سیستم کلوئیدی همگن‌تر خواهد بود. توزیع اندازه ذرات برای نمونه‌ها در شکل ۴-۳ تولید شده با روش هموژنیزاسیون داغ در حدود ۰/۱۷ و در شکل ۴-۲ تولید شده با روش فراصوت در حدود ۰/۴ می‌باشد. نمونه‌هایی با توزیع اندازه باریک یعنی PDI کمتر از ۰/۴ در برابر پدیده ناپایداری از نوع رسیدگی استوالد مقاوم‌تر هستند

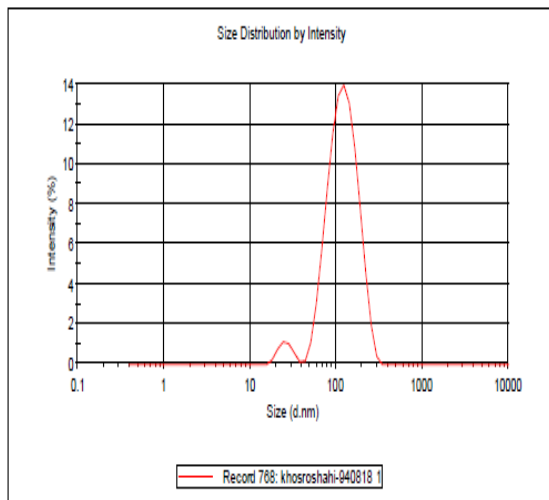
(مانکونی و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به مطالب گفته شده می توان نتیجه گرفت که روش تولید هموژنیزاسیون داغ دارای ذراتی کوچکتر با توزیع ذره ای بهتر و در نتیجه پایدارتر نسبت به روش فراصوت می باشد.

نیر و همکاران (۲۰۱۱) از روش هموژنیزاسیون داغ به همراه فراصوت برای تولید نانو ذرات در سیستم های تحویل دارو استفاده کردند. نتایج آن ها نشان داد که فراصوت کردن نانو ذرات باعث کاهش اندازه ذرات آن ها می شود با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات مختلف، می توان نتیجه گرفت که فراصوت می تواند سبب تغییر در اندازه ذرات شود که این تغییرات به قدرت و مدت زمان اعمال فراصوت وابسته است.

#### Results

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 101.9	Peak 1: 126.9	96.1	47.43
Pdl: 0.179	Peak 2: 26.05	3.9	4.746
Intercept: 0.952	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality Refer to quality report

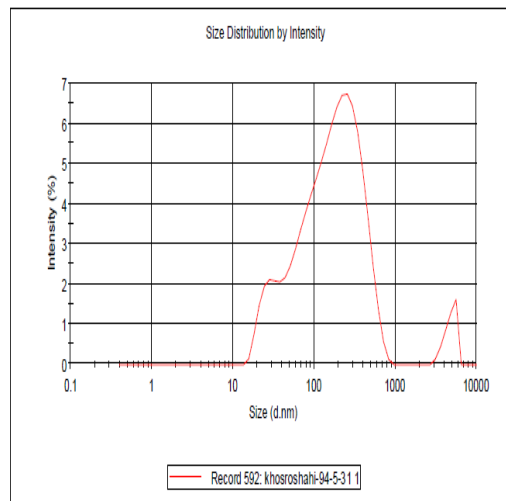


شکل ۳-۴: روش هموژنیزاسیون داغ و پراکنش.

#### Results

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 119.4	Peak 1: 215.5	85.3	143.5
Pdl: 0.523	Peak 2: 28.35	10.4	6.421
Intercept: 0.941	Peak 3: 4774	4.3	736.6

Result quality Refer to quality report



شکل ۲-۴: روش فراصوت و عدم پراکنش یکنواخت.

## ۲-۲-۴ تأثیر نوع لیپید مورد استفاده بر اندازه و توزیع ذرات

انتخاب مناسب ماتریکس لیپیدی و نوع سورفکتانت، فاکتور کلیدی مهم در تهیه نانوحامل های مناسب

---

و پایدار است. از انواع مختلف لیپیدهای جامد شامل لیپیدهای طبیعی، نیمه سنتتیک و سنتتیک با ساختارهای مختلف می‌توان به عنوان ماتریکس لیپیدی در تهیه انواع نانوحامل‌های لیپیدی (NLC) استفاده کرد (ویس و همکاران، ۲۰۰۸). نقش اصلی لیپید جامد در تولید نانوذرات لیپیدی به روش هموزنی‌اسیون گرم، در درجه اول، تولید نانوذرات لیپیدی که از نظر فیزیکی پایدار هستند، است (وو و همکاران، ۲۰۱۱؛ کاواسویک و همکاران، ۲۰۱۱). در این تحقیق به منظور یافتن فرمولاسیونی مناسب با اندازه ذرات در مقیاس nm، از لیپیدهای جامد (استئاریک اسید، ستیل پالمیتات، پیرسرول AT05) و فازهای روغنی (روغن سویا، میگلیول 812 و اکتیل اکتانیت و خود روغن کبد ماهی) استفاده شد (جدول ۴-۱). ستیل پالمیتات یک لیپید جامد هموزن است که از طریق استریفیکاسیون کاتالیز شده الکل چرب (ستیل الکل) و اسیدهای چرب (اسید پالمیتیک) حاصل می‌شود (سائوپ و همکاران، ۲۰۰۵). لیپیدهای هموزن (مانند اسیدهای چرب میریستیک، استئاریک، پالمیتیک و ستیل پالمیتات) یا تری‌گلسیریدهای حاوی اسیدهای چرب یکسان معمولاً مستعد تشکیل کریستال‌های کامل به فرم  $\beta$  و صفحه‌ای شکل هستند. این ویژگی می‌تواند منجر به ایجاد اندازه بزرگتر ذرات و رانش ماده فعال از ساختار نانوحامل شود و در نتیجه تجمع کریستال‌ها و ناپایدار شدن سیستم در حین فرایند سرمایش رخ دهد، همچنین این نوع کریستال‌ها به اکسیداسیون مستعدتر هستند. در این تحقیق با استفاده از ستیل پالمیتات و استئاریک اسید به عنوان لیپید جامد در هر دو فاز روغنی میگلیول ۸۱۲ و اکتیل اکتانیت، به علت تشکیل کریستال‌های منظم و فشرده بتا بلافاصله پس از خنک شدن (تا دمای اتاق) و کریستالیزاسیون، شاهد به هم پیوستن ذرات بلوری و ژله‌ای شدن در فرمولاسیون بودیم که منجر به ایجاد بافتی ویسکوز و سفت در همه سیستم شد. در ادامه پس از یک ساعت، کل فرمولاسیون در نمونه ستیل پالمیتات سفت و یکپارچه شد که نشانگر تجمع ذرات بود و در نمونه‌های اسید استئاریک با تغییر در کلیه شرایط بعد از دو روز تشکیل کریستال صورت گرفت، بنابراین در ادامه مراحل آزمایش کنار گذاشته شدند و بقیه مراحل با لیپید پیرسرول انجام شد. استفاده از پیرسرول AT05

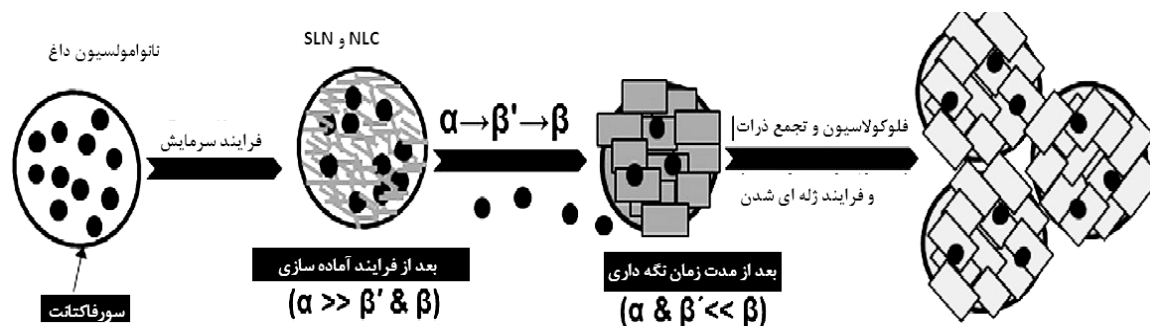
---

به عنوان لیپید جامد منجر به تولید اندازه ذرات کوچک‌تر با توزیع یکنواخت و باریک شد. (شکل ۴-۳). افزایش غلظت لیپید به دلیل بیشتر شدن برهم‌کنش بین ذرات، موجب افزایش ویسکوزیته و جامد شدن سیستم می‌شود. ترکیب لیپید مورد استفاده، نوع کریستال بوجود آمده را مشخص می‌کند و در نتیجه می‌تواند بر پایداری نانوحامل تولیدی و خصوصیات رهایش ماده فعال به دام افتاده در ساختار آن موثر باشد. از میان لیپیدهای مورد استفاده، پیرسرول ATO5 به عنوان لیپید مناسب شناخته شد که به صورت مخلوطی از تری استئارین و تری پالمیتین و دی استئارین است. این ترکیب با لیئوفیلیسیته بالا در ساختار ماتریکس لیپیدی خود دارای فضاهای خالی زیادی است و می‌تواند ترکیب فعال را در خود جای دهد. مهم‌ترین مشکل در ارتباط با فرایند تولید نانوحامل‌ها، کنترل نمودن مسأله چند شکلی (پلی مورفیسم)<sup>۱</sup> در چربی‌هاست. ساختار  $\alpha$  در سیستم‌های انتقال بهترین حالت بلوری است، زیرا که این شکل از کریستال چربی تقریباً نامنظم و بی‌شکل بوده، در حالی که ساختارهای  $\beta$  از نظم بیشتری در ساختار خود برخوردار هستند و منجر به رهاسازی مواد محصور شده به سمت محیط خارج می‌شوند. بنابراین استفاده از کریستال‌های  $\alpha$ ، جهت انتقال و حمل ترکیبات آگریز در محصولات مایع و نوشیدنی‌ها مناسب‌تر گزارش شده است (ساگالویزه و لزر، ۲۰۱۰) و استفاده از لیپیدهای ناهمگون مانند پیرسرول با توجه به اینکه دارای کریستال‌های  $\alpha$  بیشتری در ساختار خود هستند، مطلوب‌تر بوده و تشکیل ذرات کروی شکل بیشتری از نانوحامل را سبب می‌شوند (ویس و همکاران، ۲۰۰۸). با افزایش انحنای سطحی، توانایی مولکول‌های چربی در ایجاد و تشکیل یک کریستال کامل و منظم محدود می‌شود و در نتیجه تقریباً ذرات کوچک‌تر دارای غلظت‌های بیشتری از کریستال‌های  $\alpha$  و  $\beta'$  هستند، در حالی که ذرات لیپیدی بزرگ‌تر تمایل بیشتری به تشکیل کریستال‌های  $\beta$  دارند. کریستال‌های کوچک لیپیدی نسبت به اندازه‌های بزرگ‌تر، خودشان را بهتر با لایه سطحی می‌توانند

---

<sup>۱</sup> - Polymorphism

منطبق کرده و تعداد مولکول‌های هر ذره که به طور فعال با مولکول‌های موجود در بین سطح (یعنی سورفکتانت‌ها) واکنش می‌دهند، افزایش یافته و در نتیجه سورفکتانت‌ها از بلورینگی مجدد و تبدیل کریستال‌های  $\alpha$  و  $\beta'$  به  $\beta$  جلوگیری می‌کنند. با افزایش اندازه ذرات که می‌تواند در نتیجه هم‌آمیختگی جزئی یا تجمع ذرات باشد، لیپید رفتاری شبیه به رفتار توده لیپید پیدا می‌کند و در دماهای بالاتر کریستالیزه می‌شود و در نتیجه تشکیل کریستال‌های صفحه‌ای شکل  $\beta$  محتمل‌تر می‌گردد (ویس و همکاران، ۲۰۰۸). علاوه بر این کریستال‌های  $\beta$  به علت ساختار کامل‌تر و فشرده‌تر موجب رانش ماده فعال از درون خود می‌شوند. پس از تولید طی فرایند سرمایش نانوامولسیون، قطرات امولسیون حداقل تا بخشی به اشکال پرنرژی کریستال‌های  $\alpha$  و  $\beta'$  کریستالیزه می‌شوند. در طول مدت زمان ماندگاری این ساختارها از مرتبه انرژی بالا به اشکال کریستالی پایدار  $\beta$  با انرژی کمتر و نظم بیشتر تغییر پیدا می‌کنند (شکل ۴-۴) و در طول پلی‌مورفیسم کریستال‌ها، رهایش ترکیب در ساختارهای حامل لیپیدی نانوساختار دیده می‌شود (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳). علاوه بر این کریستال‌های صفحه‌ای شکل  $\beta$  تمایل بیشتر به کشیده شدن و در نهایت تشکیل ژل را دارند و انتقالات پلیمری از لیپیدها در طول زمان اتفاق می‌افتد. در مقیاس نانو، با توجه به اینکه دمای جامد شدن چربی‌ها در مقایسه با توده لیپید کاهش پیدا می‌کند، بنابراین رفتار کریستالی لیپیدها متفاوت و کمتر است (مولر و همکاران، ۲۰۰۲).



شکل ۴-۴: انواع کریستال‌ها و پلی‌مورفیسم لیپیدها در مرحله تشکیل و نگه‌داری (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).  
از جمله تحقیقات متعددی که به بررسی تأثیر نوع فاز لیپیدی مورد استفاده بر اندازه، توزیع اندازه ذرات

---

و خصوصیات نانوحامل‌های لیپیدی انجام شده است، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

لیو و همکاران (۲۰۰۷) استفاده از انواع لیپیدهای جامد شامل کامپریتول، پیرسرول و گلسیرین مونواسترات را جهت تهیه SLN‌های حاوی ایزوتریتونوئین بررسی کردند. SLN‌های تولید شده با پیرسرول، در مقایسه با سایر لیپیدها دارای کوچک‌ترین اندازه ذرات با توزیع یکنواخت و پایداری فیزیکی بالا بود. لیو و وو (۲۰۱۰) در پژوهش خود بر روی بهینه‌سازی فرمولاسیون NLC حاوی لوتئین گزارش نمودند از بین لیپیدهای جامد مورد استفاده (اسید استئاریک، اسید میریستیک، پالمیتیک و پیرسرول ATO5) تنها پیرسرول قادر به تولید نانو ذرات لیپیدی پایدار گردید. استفاده از سایر لیپیدها، منجر به تولید سیستم دو فازه پس از ۲۴ ساعت نگهداری گردید. لاکاتوسا و همکاران (۲۰۱۲) نیز با استفاده از دو روغن طبیعی روغن هسته انگور و اسکوالن به تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی بتاکاروتن پرداختند. آنان گزارش کردند با استفاده از هر دو نوع روغن، اندازه ذرات در حد nm (به ترتیب ۸۵ و ۸۹ nm برای روغن هسته انگور و اسکوالن) با توزیع اندازه ذرات یکنواخت (کمتر از ۰/۱۹) بدست آمد که سیستم تولیدی با استفاده از روغن هسته انگور، اندازه ذرات کوچک‌تری داشت. سان و همکاران (۲۰۱۴) در تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی کوئرستین با استفاده از لیپیدهای قابل تجزیه (گلسیریل تری‌دکونوات، گلسیریل تری پالمیتات، ویتامین E استات و لستین سویا)، اندازه ذرات ۳۲ nm با پایداری شیمیایی و فیزیکی مطلوب و رهایش کنترل شده از کوئرستین در طول مدت زمان به‌دست آوردند. استفاده از ویتامین E استات به جای بخشی از ساختار تری‌گلسیریدی، علاوه بر دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی، موجب بهبود ساختار NLC شد.

#### ۴-۲-۳ تأثیر نسبت لیپید جامد به روغن مایع بر اندازه ذرات

در ارتباط با نقش روغن مایع در سیستم NLC تحقیقات متعدد انجام شده است. هیو و همکاران (۲۰۰۵) به تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار با استفاده از نسبت‌های مختلف اسید استئاریک (لیپید جامد) و اسید



---

اولئیک به عنوان روغن مایع پرداختند. نتایج آنها نشان داد اندازه ذرات و مورفولوژی آنها تحت تأثیر غلظت روغن مایع در سیستم است. با افزایش غلظت اسید اولئیک تا ۳۰٪ وزنی لیپید جامد، ذرات کروی شکل با سطح صاف و اندازه کوچک‌تر حاصل می‌شود. هم‌چنین گزارش کردند کارایی درون‌پوشانی سیستم نانوحامل با افزایش غلظت اسید اولئیک بیشتر می‌شود. اضافه کردن اسید اولئیک منجر به تشکیل ساختار کریستالی با نظم کمتر و افزایش بارگیری ترکیب فعال می‌شد و با کنترل محتوی اسید اولئیک می‌توان سرعت آزاد شدن دارو از ساختار نانوحامل را کنترل نمود. نگی و همکاران (۲۰۱۴) بهینه‌سازی نسبت روغن مایع (گلسیریل مونو استئارات) به لیپید جامد (کامپیترول) را نیز به علت حلالیت بیشتر ترکیب فعال در روغن مایع در بیشترین حد ممکن انتخاب کردند. آنها استفاده از نسبت ۳۰:۷۰ از لیپید جامد به روغن مایع را مناسب گزارش کردند که در این نسبت نقطه ذوب مناسبی از کریستال‌ها بدست آمد.

یانگ و همکاران (۲۰۱۴) نیز تأثیر انواع روغن‌های مایع (تری اولئین، پنتادکان، اسید اولئیک، روغن زیتون و روغن پالم) را در ساختار حامل‌های لیپیدی نانوساختار (با استفاده از لیپید جامد تری استئارین و سورفکتانت غیر یونی توپین ۶۰) مورد مطالعه قرار دادند. آنها گزارش کردند پایداری NLC تا حد زیادی به نوع و میزان روغن حامل بستگی دارد. با افزایش غلظت روغن مایع تری‌اولئین، کریستالیزاسیون و نقطه ذوب NLC کاهش می‌یابد. ذرات کروی شکل بیشتری تولید و پایداری سوسپانسیون افزایش می‌یابد. روغن مایع محبوس در داخل ماتریکس کریستالی، سرعت انتقالات پلی‌مورفیسم را تسریع، اما تغییر شکل به کریستال‌هایی با اندازه درشت‌تر را به تأخیر می‌اندازد و نواحی آبریز سطحی کمتری از لیپیدها که بایستی توسط سورفکتانت پوشانده شوند، به‌وجود می‌آید. بنابراین میزان سورفکتانت کمتری جهت پایداری NLC نیاز است. در این پژوهش در تمامی فرمولاسیون‌ها با توجه به مطالب عنوان شده نسبت ۷۰ به ۳۰ ثابت بود.

#### ۴-۲-۴ تأثیر غلظت سورفکتانت فاز آبی بر اندازه و توزیع ذرات

میزان سورفکتانت تأثیر بسزایی بر پایداری شیمیایی نانوحامل تولید شده دارد، هرچقدر توزیع اندازه ذرات تک‌پخش و باریک‌تر باشد سیستم کلوئیدی همگن‌تر خواهد بود. با افزایش غلظت سورفکتانت اندازه ذره روندی کاهشی نشان داد. کاهش در اندازه ذرات به علت پایدار شدن قطرات کوچک لیپید (نانومولسیون) در غلظت‌های بالا و کافی سورفکتانت است. غلظت بالای سورفکتانت منجر به کاهش کشش سطحی و پایدارسازی سطوح جدید بوجود آمده و تولید ذرات کوچکتر می‌شود (نسبت ۱ به ۱ سورفکتانت به فاز چربی). البته در آزمایشات غلظت بسیار بالای سورفکتانت (نسبت ۲ به ۱) هم باعث کاهش کارایی هموژنیزاسیون (غلیظ تر شدن سیستم، عدم پخش و توزیع یکنواخت نیرو به خوبی و در نتیجه تولید کمتر ذرات (در مقیاس نانو) با توزیع یکنواخت) و افزایش اندازه ذرات گردید. با افزایش نسبت سورفکتانت به دو برابر، افزایش در اندازه ذرات و شفافیت کمتر محلول مشاهده شد (شکل ۴-۵ و شکل ۴-۶).

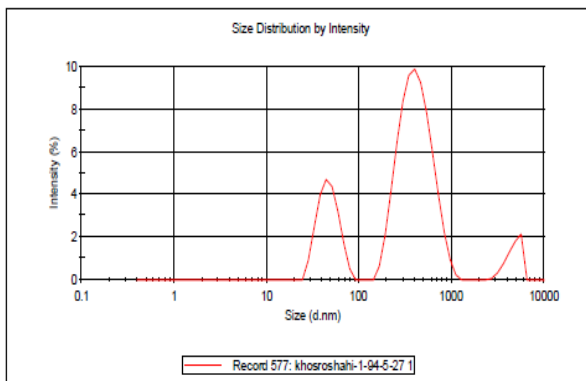


شکل ۴-۵: نمونه سمت چپ (نیم شفاف) دارای دو برابر سورفکتانت نسبت به نمونه سمت راست (شفاف) می باشد.

### Results

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 202.2	Peak 1: 428.1	71.7	171.8
Pdl: 0.575	Peak 2: 47.11	21.9	11.73
Intercept: 0.777	Peak 3: 4687	6.4	799.0

Result quality Refer to quality report

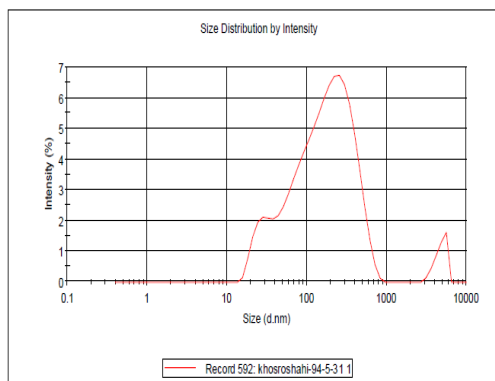


نسبت ۲ به ۱

### Results

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 119.4	Peak 1: 215.5	85.3	143.5
Pdl: 0.523	Peak 2: 28.35	10.4	6.421
Intercept: 0.941	Peak 3: 4774	4.3	736.6

Result quality Refer to quality report



نسبت ۱ به ۱

شکل ۴-۶: تأثیر نسبت غلظت سورفکتانت (پلاکسامر) فاز آبی بر فاز چربی بر اندازه و توزیع ذرات با روش فراصوت. اولین نقش سورفکتانت پایدار کردن نانوذرات در یک حالت کلئیدی و ممانعت از بزرگتر شدن اندازه ذره‌ای در طول نگه‌داری است. در امولسیون‌های متداول، نوع امولسیفایر مورد استفاده بر اندازه نهایی ذره و پایداری دیسپرسیون (با فراهم نمودن نیروهای دفعی به میزان کافی که از تجمع و درهم‌آمیختگی ذرات جلوگیری می‌کند)، موثر است. در نانوحامل‌های لیپیدی، سورفکتانت مورد استفاده، علاوه بر این، نقش و تأثیر مهم‌تری بر کنترل فرایند کریستالیزاسیون دارد (توراتا و همکاران، ۲۰۰۳). می‌توان از انواع مختلف امولسیفایرها و ترکیبات فعال سطحی (بر اساس بار و وزن مولکولی) جهت پایدار کردن پراکندگی لیپید در سیستم‌های حامل لیپیدی نانوساختار استفاده کرد. اهمیت نوع و غلظت سورفکتانت در تولید قطره‌های کوچک نانوامولسیون و تنظیم فرایند کریستالیزاسیون است که موجب تولید کریستال‌های  $\alpha$  و  $\beta'$  بیشتری می‌شود. با توجه به اندازه کوچک ذرات حاصله، تعداد مولکول‌های لیپیدی که با گروه هیدروفوب سورفکتانت جهت تعدیل و تنظیم فرایند کریستالیزاسیون وارد واکنش می‌شوند، به اندازه کافی موجود است. از طرف دیگر امکان اتصال ماده فعال به سورفکتانت بیشتر می‌شود. هم‌چنین با اتصال و انطباق بهتر سورفکتانت به

---

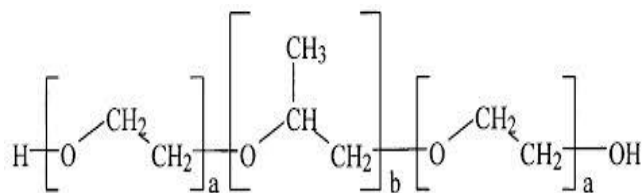
لیپید، از تجمع و بلورینگی مجدد جلوگیری شده و پایداری سینتیکی بلورها بیشتر می‌شود (بنچ و همکاران، ۲۰۰۲؛ هیو و همکاران، ۲۰۰۶). امولسیفایرهای مناسب، کشش بین‌سطحی را کاهش داده و در طول فرایند هموزناسیون، پراکنده‌سازی قطرات را تسهیل می‌کنند (لیو و وو، ۲۰۱۰).

استفاده از توئین ۸۰ در فرمولاسیون در اکثر موارد باعث ناپایداری و ایجاد رسوب گردید (جدول ۴-۱). تشکیل ژل یا دو فازی شدن و رسوب در فرمولاسیون NLC می‌تواند در اثر ایجاد شبکه و اتصال میان ذرات لیپیدی به علت ناکافی بودن میزان سورفکتانت باشد. به‌طور مثال ساختارهای کریستالی  $\alpha$  که از نظر ترمودینامیکی نامطلوب هستند، به فرم  $\beta$  تغییر می‌کنند. این انتقال همراه با تغییرات مورفولوژیکی است؛ یعنی کریستال‌های  $\beta$  می‌توانند تحت رشد مستقیم و تشکیل ساختارهای سوزنی‌شکل واقع شوند و منجر به افزایش سطوح در تماس شوند. اگر این سطوح جدید بوجود آمده با مولکول‌های سورفکتانت پایدار نشوند و ادغام دو ذره سریع‌تر از سرعت جذب مولکول‌های سورفکتانت جهت پوشش‌دهی سطوح و نواحی ابگریز جدید باشد (گووش و همکاران، ۲۰۱۱)، برهم‌کنش‌های آبگریز می‌تواند منجر به تجمع و ناپایدار شدن حامل‌های لیپیدی نانوساختار شوند و تجمع ذرات گسترده‌تر می‌گردد (ویس و همکاران، ۲۰۰۸).

معمولاً مخلوطی از سورفکتانت‌های غیر یونی برای تنظیم و تعدیل کریستالیزاسیون و سورفکتانت‌های یونی برای فراهم نمودن نیروهای دفعی، لازم است تا دو هدف پایداری ذره و تعدیل کریستالیزاسیون توأماً صورت پذیرند (کاواسویک و همکاران، ۲۰۱۱).

استفاده از پلاکسامر ۴۰۷ بجای توئین ۸۰ در ادامه بهینه سازی فرمول باعث تولید نانو حامل‌های پایدارتر و شفاف‌تر گردید، پلوکسامر ۴۰۷ (سورفکتانت پلیمری غیریونی هیدروفیل) یک پایدارکننده فضایی (استریک) است که می‌تواند دافعه فضایی مناسب را میان نانوذرات ایجاد کند. در ساختار پلوکسامر، کوپلیمرهای پلی‌اتیلن اکساید (PEO) و پروپیلن اکساید (PPO) بلوکه شده‌اند (شکل ۴-۷). زنجیره‌های هیدروفوبیک PPO در سطح ذره جذب شده و زنجیره هیدروفیل PEO از سطح ذره لیپیدی به سمت محیط

آبی کشیده می‌شود و یک لایه پایدارکننده بوجود می‌آورد (گووش و همکاران، ۲۰۱۱). با تغییر شکل ذرات حین کریستالیزاسیون و در نتیجه تجمع آنها از سمت نواحی غیر قطبی، سطوح آبگریز جدید بوجود می‌آید که جهت پوشش‌دهی این سطوح نیاز به مقادیر زیاد سورفکتانت است (کیوان و همکاران، ۲۰۱۳). بنابراین در صورت استفاده از غلظت‌های پایین سورفکتانت، در طول مدت نگهداری اندازه ذرات افزایش و پس از دو ماه، ژل تشکیل می‌شود. بلوگوی و همکاران (۲۰۱۳) در تحقیقی بر روی فاکتورهای موثر در تولید NLC با استفاده از روش هموژناسیون داغ، از غلظت (w/v) ۱۰٪ پیرسرول ATO5 و (w/v) ۱٪ میگلیول ۸۱۲ به عنوان فاز لیپیدی و غلظت (w/v) ۲٪ توین ۸۰ و ۱٪ پلوکسامر ۱۸۸ به عنوان سورفکتانت فاز آبی استفاده کردند و اندازه ذرات ۱۵۰ nm با توزیع اندازه ۰/۲ و پتانسیل زتا ۲۰- میلی‌ولت تولید کردند. با جایگزینی ستیل تری متیل آمونیوم بروماید (CTAB) با پلوکسامر ۱۸۸، اندازه ذرات به ۱۸۰ nm افزایش یافت. لاکاتوسا و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند NLC‌های تولید شده بر پایه روغن هسته انگور و هم‌چنین اسکوالن به کمک توین ۲۰ کوچک‌تر از NLC‌های تولید شده با توین ۸۰ هستند. هم‌چنین سورفکتانت در بهبود پایداری سینتیکی ساختار کریستالی حاصله، حتی اگر از پایداری ترمودینامیکی کمتری نسبت به دیگر فرم پلیمری برخوردار باشد، موثر بوده و از کریستالیزاسیون مجدد در طول نگهداری جلوگیری می‌کند (بنچ و همکاران، ۲۰۰۲).



شکل ۴-۷: ساختار شیمیایی سورفکتانت غیر یونی (پولاکسامر ۴۰۷) (a و b به ترتیب نشان‌دهنده کopolymerهای

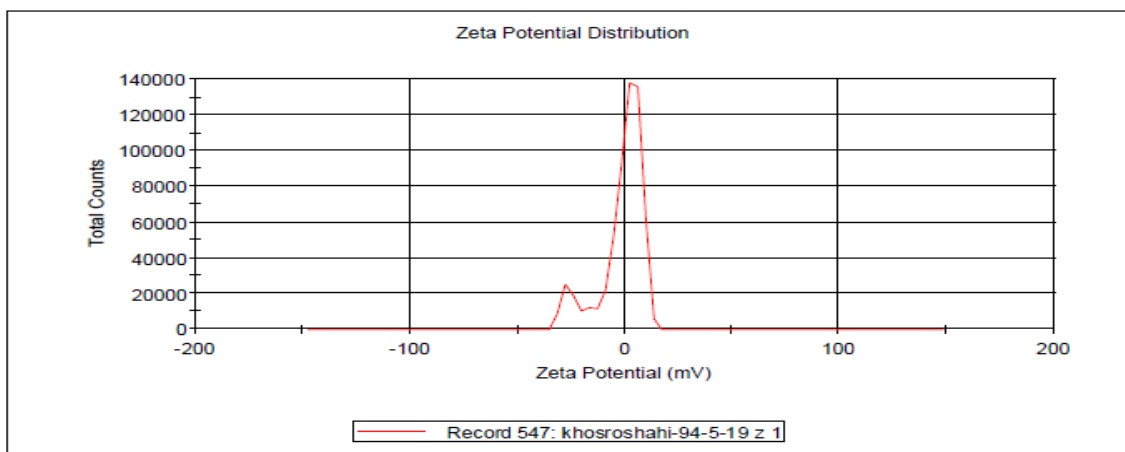
پلی‌اتیلن اکساید (PEO) و پروپیلن اکساید (PPO) است) (گووش و همکاران، ۲۰۱۱).

### ۳-۴ پتانسیل زتا

در این پژوهش برای مشخص شدن نحوه عمل نیروهای دافعه الکتروستاتیک بین ذرات حامل لیپیدی نانو ساختار و میزان پایداری سیستم حاصل، از نتایج پتانسیل زتای فرمولاسیون بهینه با غلظت ۱ به ۱ سورفکتانت استفاده شد (شکل ۴-۸).

## Results

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
<b>Zeta Potential (mV):</b> -1.13	<b>Peak 1:</b> 2.23	84.1	5.51
<b>Zeta Deviation (mV):</b> 10.3	<b>Peak 2:</b> -25.7	10.3	3.48
<b>Conductivity (mS/cm):</b> 0.0421	<b>Peak 3:</b> -16.1	5.6	3.00
<b>Result quality Good</b>			



شکل ۴-۸: پتانسیل زتا اندازه گیری شده از فرمولاسیون بهینه شده.

همان طور که در شکل مشخص است با توجه به غیر یونی بودن سورفکتانت فاز آبی (پلوکسامر ۴۰۷) و همچنین سایر ترکیبات تشکیل دهنده سیستم، مقدار پتانسیل نمونه خیلی جزئی و نزدیک صفر به دست آمد و افزایش غلظت سورفکتانت تأثیر معنی داری در افزایش و یا کاهش پتانسیل زتای نمونه های مختلف نشان نداد و با توجه به ساختار حجیم و پلیمری بودن پلاکسامر ۴۰۷، می توان پایداری نانوذرات در طول مدت نگهداری را به دافعه فضایی (استریک) ناشی از مولکول های سورفکتانت نسبت داد و در این سیستم دافعه الکتروستاتیک نقش بسزایی را در پایداری ذرات ایفا نکرد. تحقیقات زیادی در مورد پتانسیل زتا و پایداری سیستم های نانوحامل لیپیدی صورت گرفته است.

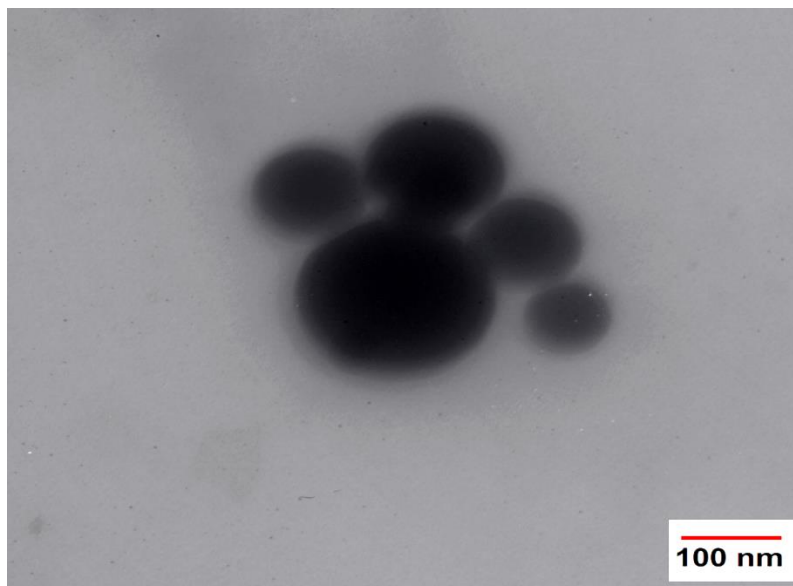
---

پلی‌هیدروکسی سورفکتانت‌ها پایدارکننده‌های غیر یونی ایجادکننده ممانعت فضایی هستند که با توجه به غیر یونی بودن آنها، پتانسیل زتای محلول پایین و تقریباً صفر بدست می‌آید (کاواسویک و همکاران، ۲۰۱۴؛ کاواسویک و همکاران، ۲۰۱۱). در پژوهشی گارسیا-فونتز و همکاران در سال ۲۰۰۳ بیان داشتند پایداری نانوحامل‌های لیپیدی در برابر تجمع، متأثر از قدرت یونی فاز پیوسته و چگالی بار در سطح چربی-آب است. بالا بودن پتانسیل زتا به پایداری آنها کمک می‌کند، در کنار این، عوامل غیر الکترواستاتیکی مانند پایدارکنندگی استریک نیز از تأثیر مهمی برخوردار است. کونگ و همکاران (۲۰۱۱) در تهیه حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی ۲٪ ویتامین A، نانو ذراتی با پتانسیل زتای ۱۸- الی ۲۳- به دست آوردند. آنان گزارش کردند با توجه به غلظت ویتامین A (۱، ۲ و ۳٪) بارگیری شده در ساختار نانوحامل، اندازه ذرات از ۶۰ الی ۳۳۰ nm و پتانسیل زتا از ۱۸- تا ۲۳- متغیر می‌باشد. نتایج پتانسیل زتای مربوط به حامل لیپیدی نانوساختار حاوی بتاکاروتن تولید شده از روغن هسته انگور و اسکوالن و سورفکتانت‌های تویین ۲۰ و ۸۰ نیز بیانگر پایداری فیزیکی عالی در هر دو نوع روغن و سورفکتانت با متوسط پتانسیل زتا کمتر از ۳۰- میلی‌ولت بود (لاکاتوسا و همکاران، ۲۰۱۲). جی و همکاران (۲۰۰۶) نیز در مطالعه خود بر روی پایداری SLN‌های حاوی رتینول گزارش نمودند پتانسیل زتای SLN‌های تهیه شده از فسفاتیدیل کولین تخم‌مرغ و تویین ۸۰ در محدوده ۲۰ mV- الی ۳۰- قرار دارد. مطالعات قبلی نشان داده است حداقل پتانسیل زتای مناسب برای پایداری الکترواستاتیکی، بزرگتر از ۶۰ mV- بوده و در مقادیر بیشتر از ۳۰ mV-، پایداری فیزیکی خوبی از سیستم‌های حامل کلوئیدی حاصل می‌شود (مولر و همکاران، ۲۰۰۰).

#### ۴-۴ مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری

در شکل ۴-۹ مورفولوژی NLC بهینه روغن ماهی و توکوفرول با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری نشان داده شده است. تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی عبوری قطرات کروی شکل و همچنین جدایی فاز، در اندازه نانو را نشان داد که تأییدی بر نتایج بدست آمده از دستگاه اندازه‌گیری ذرات بود. در

واقع تصاویر حاصله از میکروسکوپ الکترونی عبوری، تأییدی بر اندازه قطر هیدرودینامیک قطرات نانوذرات است و تصویری از ساختار کلی نانوسیستم را نشان می دهد.



شکل ۴-۹: مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری.

#### ۴-۵ کارایی درون پوشانی حامل لیپیدی نانوساختار

کارایی درون پوشانی سیستم NLC، یک روز پس از تولید نمونه‌های NLC مختلف بر پایه نسبت ۷۰ به ۳۰ لیپید جامد ( پیرسرول ATO5) به روغن مایع روغن کبد ماهی با غلظت سورفکتانت فاز آبی با نسبت ۱ به ۱ و اندازه‌گیری جذب نمونه فیلتر شده در ۲۱۲ nm و با استفاده از معادله درصد کارایی محاسبه گردید. استفاده از غلظت سورفکتانت با نسبت ۱ به ۱ فاز چربی بیشترین کارایی درون پوشانی (۹۷/۵٪) را حاصل نمود. کارایی درون پوشانی به خصوصیات ماده کپسوله شده (لیپوفیل بودن یا هیدروفیل بودن ماده فعال و تمایل آن به برهمکنش با ساختار نانوحامل)، مواد تشکیل دهنده نانوحامل، هم‌چنین شرایط محیطی (pH، درجه حرارت) بستگی دارد. در ارتباط با الحاق روغن کبد ماهی به سیستم‌های نانوذره لیپیدی، پارامترهایی از قبیل روش تهیه نانوحامل، نوع سورفکتانت مورد استفاده جهت تثبیت نمودن امولسیون و نوع چربی به کار



---

برده شده، بایستی مورد توجه قرار گیرند (لاودی و سینگ، ۲۰۰۸). کارایی درون پوشانی زیاد به دست آمده در این تحقیق را می توان به ماهیت لیپوفیل روغن کبد ماهی و توکوفرول نسبت داد. تا حدودی با افزایش غلظت سورفکتانت، کارایی درون پوشانی نیز افزایش پیدا می کند که می توان این طور توجیه کرد با حضور سورفکتانت به میزان کافی در محیط، سطح کپسول های نانوحامل به خوبی توسط سورفکتانت پوشانده شده، از تجمع و هم آمیختگی جزئی ذرات جلوگیری می شود و در نتیجه طی فرایند کریستالیزاسیون خروج ماده فعال کمتر اتفاق می افتد. علاوه بر این، در غلظت بالای سورفکتانت، تمایل ماده فعال به لایه سورفکتانت نسبت به لیپید حامل بیشتر است که با افزایش یافتن غلظت سورفکتانت، ماده فعال بیشتری به نانوحامل های لیپیدی متصل شده و کارایی درون پوشانی افزایش می یابد. در این راستا لیم و کیم (۲۰۰۲) در مطالعه خود بر روی درون پوشانی رتینوئیک اسید به این نتیجه رسیدند که درون پوشانی رتینوئیک اسید در ساختارهای SLN تهیه شده از لیپید جامد تری کاپرین، در فرمولاسیون های حاوی مقادیر بالای سورفکتانت زیاد است. نتیجه تحقیق آنها نشان داد متصل شدن رتینوئیک اسید به لایه سورفکتانت، بیشتر از الحاق آن به ماتریکس لیپیدی است. داس و همکاران (۲۰۱۲) نیز در مطالعه خود بر روی سیستم های SLN و NLC حاوی داروی کلوتریمازول تهیه شده از کامپریتول ATO888 و هم چنین پیرسرول ATO5 و تویین ۲۰ و تویین ۸۰ به عنوان سورفکتانت فاز آبی، کارایی درون پوشانی بیشتر از ۸۰٪ حاصل نمودند و نشان دادند با افزایش غلظت سورفکتانت، کارایی درون پوشانی سیستم نانوحامل افزایش پیدا می کند. این امر می تواند به علت بارگیری کافی و حفظ ترکیب زیست فعال در ساختار یا بر روی سطح نانوحامل در استفاده از مقادیر بالای سورفکتانت باشد که با نتایج لیم و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت داشت. هم چنین در فرمولاسیون هایی که از مقادیر زیاد لیپید استفاده شده باشد به علت در دسترس بودن لیپید کافی و فراوان برای درون پوشانی ترکیب فعال، کارایی درون پوشانی نیز بالا است (داس و همکاران، ۲۰۱۲).

#### ۴-۶ پایداری اندازه ذرات نانوحامل لیپیدی

نتایج بررسی پایداری بلند مدت نمونه NLC-روغن کبد ماهی بهینه تولید شده با اندازه گیری تغییرات در سایز ذرات آن و هم چنین ظاهر در طی نگه داری در دمای آزمایشگاه تغییرات اندکی را نشان داد که نشان دهنده ی پایداری فیزیکی بسیار بالای حامل های لیپیدی نانو ساختار حاوی روغن کبد ماهی در این مدت زمان می باشد (جدول ۴-۲). همچنین اندیس  $PDI=0.15$  بدست آمد که حاکی از توزیع اندازه ذرات نسبتاً باریک نانو ذرات بود. هرچقدر PDI کمتر باشد، پهنای نمودار توزیع اندازه ذرات کمتر و سیستم همگن تر خواهد بود. میانگین اندازه و توزیع اندازه ذرات پس از یک روز تولید و ذخیره سازی به مدت ۷۵ روز اندازه گیری شدند که در جدول ذیل آمده است.

جدول ۴-۲: میانگین و توزیع اندازه ذرات حامل های لیپیدی نانو ساختار روغن کبد ماهی بعد از ۷۵ روز.

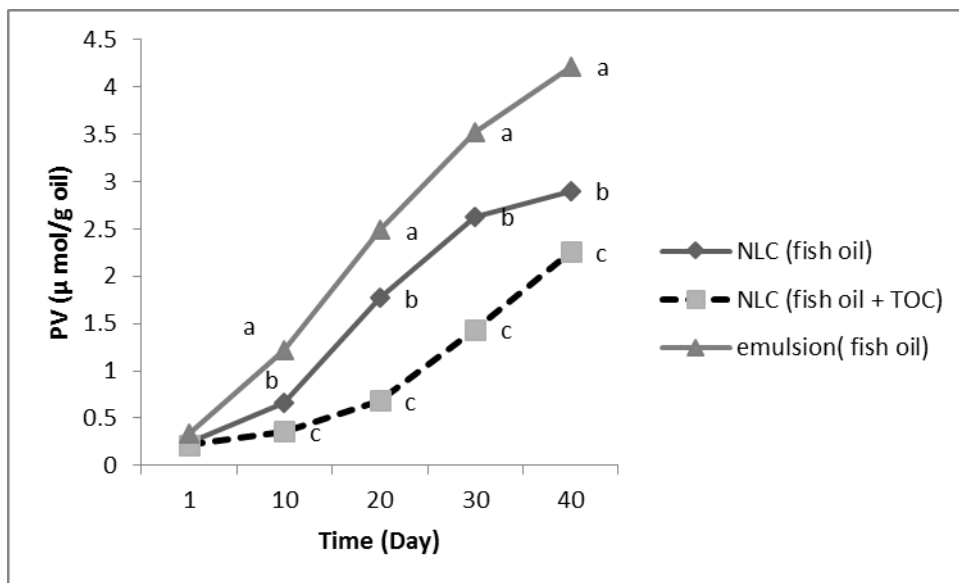
توزیع اندازه ذرات	میانگین اندازه ذرات (nm)	زمان
۰/۱۷	۱۰۱	روز اول
۰/۱۵	۱۰۰	روز ۷۵ ام

کاواسویک و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند سطح فعال مونو و دی گلسیریدها و همچنین مخلوطی از آنها، امولسیفیکاسیون را تسهیل کرده و بنابراین فیلم های محکمی از سورفکتانت در اطراف نانوذرات لیپیدی تشکیل می دهند و باعث بهبود و افزایش پایداری فیزیکی نانوحامل کلئیدی می گردد. سان و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند با افزایش مدت زمان نگه داری در دمای محیط، پتانسیل زتای نمونه ها کاهش می یابد که می تواند منجر به ناپایداری فیزیکی از جمله تجمع ذرات، آگلومریزاسیون و ژله ای شدن آنها شود. پایداری فیزیکی خوب را می توان نتیجه تأثیر ممانعت فضایی سورفکتانت ها دانست.

## ۷-۴ اندازه گیری میزان اکسیداتیو

### ۱-۷-۴ اندازه گیری عدد پراکسید (PV)

عدد پروکسید هیدروپروکسیدهای تولید شده توسط واکنش‌های اکسیداسیون را تخمین می‌زند، در شکل ۴-۱۰ تأثیر درون پوشانی روغن کبد ماهی و نیز افزودن آلفا توکوفرول بر روند تغییرات عدد پروکسید طی ۴۰ روز نشان داده شده است. همچنین در شکل ۴-۱۰ تغییرات عدد پروکسید نمونه کنترل (امولسیون روغن کبد ماهی) نیز نشان داده شده است. در روز اول اختلاف معنی‌دار در عدد پروکسید بین تیمارها دیده نمی‌شود ولی با گذشت زمان شاهد افزایش میزان عدد پراکسید در تمامی تیمارها هستیم. اما این افزایش در نمونه کنترل نسبت به نمونه درون پوشانی شده و نمونه درون پوشانی همراه با توکوفرول (۱۰۰ ppm) بیشتر است. همچنین میزان پراکسید نمونه روغن کبد ماهی درون پوشانی شده به همراه آلفا توکوفرول از نمونه روغن کبد ماهی تنها درون پوشانی شده در روزهای مختلف (به جز روز اول) کمتر بود که این اختلاف در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. این نتایج نشان می‌دهد که مواد لیپوفیل بعد از کپسوله شدن در فاز لیپیدی از اکسیداسیون و تجزیه هیدرولیکی در امان می‌مانند و در نتیجه به علت کم بودن پدیده انتشار، ماده فعال لیپوفیل از ساختار حامل‌های لیپیدی نانساختار نشت پیدا نمی‌کند. همچنین لیپید مورد استفاده در این تحقیق (پیرسرول) مخلوطی از دی و تری گلیسریدها است و در ساختار ماتریکس لیپیدی خود دارای فضاهای خالی زیادی است و می‌تواند ترکیب فعال را در خود جای دهد. این امر نیز می‌تواند دلیلی بر کارایی بالای این سیستم در افزایش پایداری اکسیداتیو ماده فعال باشد. سه مزیت اصلی درون پوشانی ترکیبات آبگریز در مقایسه با ترکیبات آبدوست را می‌توان پایداری شیمیایی بالاتر در برابر هیدرولیز و اکسیداسیون، سرعت رهایش پایین‌تر و کارایی درون پوشانی بالاتر می‌باشد (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳) همچنین می‌توان نتیجه گرفت که علاوه بر درون پوشانی، حضور آلفا توکوفرول علاوه بر بالا بردن ارزش تغذیه‌ای باعث افزایش پایداری اکسیداتیو روغن کبد ماهی می‌گردد.



شکل ۴-۱۰ میزان پراکسید نمونه‌ها در مدت ۴۰ روز نگهداری در دمای محیط

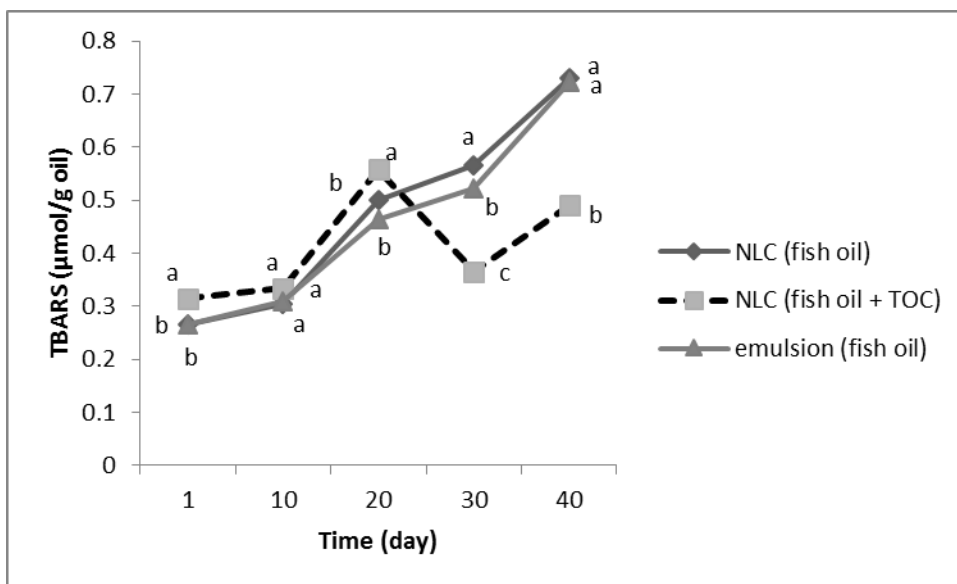
استازیوسکی و همکاران (۲۰۱۴) رفتار بین سطحی و پایداری اکسیداسیونی نانوکمپلکس‌های بتالاکتوگلوبولین حاوی روغن ماهی و پلی فنل‌های چای سبز را مورد بررسی قرار دادند. اکسیداسیون لیپید (روغن‌ها) دلیل اصلی تولید هیدروپراکسیدها و تخریب است. غلظت هیدروپراکسید امولسیون روغن ماهی از ۲۰ به ۲۱۴ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم روغن در امولسیون تثبیت شده با بتالاکتوگلوبولین رسید ولی در امولسیون حاوی نانوکمپلکس در مدت انبارداری از ۴۰ میلی‌اکی‌والان تجاوز نکرد همین نتیجه توسط آلماجانو (۲۰۰۷) زمانی که کاتچین را با آلبومین مخلوط کرد در مورد امولسیون روغن آفتابگردان بدست آمد.

زوو و همکاران (۲۰۱۵) اندیس پراکسید را در مایونز و شیر در طول انبارداری اندازه‌گیری کردند. برای تمامی نمونه‌ها (شیر و مایونز) عدد پراکسید از زمان شروع انباردای افزایش نیافت. بنابراین دریافتند در فاز تاخیر قرار دارند و طول فاز تاخیر در هر آزمایش بین تیمارها متفاوت است؛ در نمونه‌های مایونز، بوتیل کافئات و اکتا دسیل کافئات باعث فاز تاخیر طولانی‌تر (۹روز) شد در صورتی که نمونه‌های بدون آنتی‌اکسیدان دارای فاز تاخیر کوتاهتری بودند (۳روز). بقیه‌ی نمونه‌های مایونز (مایونز و کافئیک، مایونز با

کافئیک یک کربنه، مایونز با کافئیک ۸ کربنه، مایونز با کافئیک ۱۲ کربنه) دارای فاز تاخیر کوتاهتری بودند (۶ روز). نتایج نشان داد یک ترکیب رفتارآنتی اکسیدانی وابسته به مکانیسم فعالیت، قطبیت، غلظت و شرایط محیطی وجود دارد.

#### ۴-۷-۲ تست تیوباریتوریک اسید (TBA)

عوامل واکنشگر تیوباریتوریک اسید (TBARS) برای اندازه گیری غلظت محصولات ثانویه اکسیداسیون مخصوصاً آلدهیدها استفاده می شوند. تست تیوباریتوریک اسید نمونه های امولسیون روغن کبد ماهی، NLC حاوی روغن کبد ماهی و NLC حاوی روغن کبد ماهی و توکوفرول (۱۰۰ ppm) در مدت ۴۰ روز در دمای محیط در زمان های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز اندازه گیری شد (شکل ۴-۷).



شکل ۴-۱۱ اندازه گیری TBA نمونه ها در مدت ۴۰ روز.

با توجه به شکل ۴-۱۱ تا روز دهم افزایش قابل توجهی در میزان ترکیبات ثانویه مشاهده نشد. در روز ۱۰ ام اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد در محصولات ثانویه اکسیداسیون بین تیمارها دیده نشد. ولی پس از آن افزایش قابل توجه بود که این نتیجه نشان می دهد که ترکیبات ثانویه در روزهای ابتدایی اکسیداسیون

---

شاخص مناسبی برای بررسی روند اکسیداسیون نمی باشند چون در مراحل اولیه اکسیداسیون این ترکیبات به مقدار کافی تولید نمی شوند. در روز ۲۰ ام تیمار روغن کبد ماهی به همراه توکوفرول اندکی بیشتر از دو تیمار دیگر بود ولی در روز های ۳۰ ام و ۴۰ ام این روند معکوس شده و کمتر از دو تیمار دیگر بود. در روز های پایانی اختلاف بین تیمار روغن کبد ماهی درون پوشانی شده به همراه توکوفرول از دو تیمار دیگر بیشتر بوده و این اختلاف در سطح ۵ درصد نیز معنی دار بود. با توجه به نتایج شکل ۴- ۱۱ می توان نتیجه گرفت که درون پوشانی روغن کبد ماهی اثر معنی داری در کاهش تولید محصولات ثانویه نداشته است ولی آلفا توکوفرول اثر معنی داری در کاهش محصولات ثانویه داشت است. تقوی و همکاران (۲۰۱۴) اثر آنتی اکسیدان های طبیعی استخراج شده از گیاهان و حیوانات را بر پایداری اکسیداسیونی روغن سویا بررسی کردند. در این مطالعه خاصیت آنتی اکسیدانی پروتئین های جدا شده از ماهی کپور و روده گاو با ترکیبات فنلی استخراج شده از برگ زیتون که بوسیله صمغ عربی و مالتو دکسترین انکپسوله شده بودند در روغن سویا استفاده شدند. مواد استخراجی برگ زیتون کپسوله شده دارای بهترین اثر محافظتی در برابر اکسیداسیون و بیشتر از بوتیلن هیدروکسی آنیزول در غلظت ۱۰۰-۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بودند. در مورد پایداری حرارتی کمترین پایداری حرارتی برای نمونه های عصاره برگ زیتون کپسوله شده با صمغ عربی<sup>۱</sup> و مالتو دکسترین<sup>۲</sup> و حداکثر پایداری حرارتی برای نمونه هایی که حاوی ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم روغن پروتئین روده گاو بودند مشاهده شد. در مورد عدد تیو باربیتوریک اسید پروتئین ماهی در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم دارای اثر محافظتی قوی تری از بوتیلن هیدروکسی توئولن در غلظت ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم در برابر اکسیداسیون داشت. نمونه های حاوی عصاره برگ زیتون کپسوله شده

---

<sup>۱</sup> Maltodextrin

<sup>۲</sup> Arabic gum

---

در طول ۱۶ روز به حداکثر عدد اسید رسیدند. اما نمونه‌های حاوی بوتیلن هیدروکسی توئولن و عصاره زیتون کپسوله نشده طی ۱۲ روز به حداکثر اسید می‌رسند. در تحقیقی اثر غلظت آنتی‌اکسیدان توکوفرول در دو نوع محلول در آب و چربی به میزان ۲۰-۲۸۰ ppm بر نمونه‌های مایونز حاوی روغن ماهی بررسی شد و معلوم گردید که توکوفرول محلول در آب در تمامی غلظت‌ها خاصیت پرواکسیدانی داشت در حالی که اثر آنتی‌اکسیدانی توکوفرول محلول در چربی وابسته به غلظت به کار رفته بود (جکوبسن و همکاران، ۲۰۰۱). در تحقیق دیگر اثر آنتی‌اکسیدانی آلفاتوکوفرول در سیستم امولسیون روغن در آب بررسی شد. نتایج نشان داد که آلفاتوکوفرول به دلیل ویژگی چربی دوستی اثر آنتی‌اکسیدانی در امولسیون دارد. در این مطالعه غلظت موثر در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید در امولسیون‌های بر پایه روغن ۱۰۰ ppm بود (کیم و همکاران، ۲۰۱۲). هرن و همکاران (۲۰۰۹) اثر گاماتوکوفرول را روی محصولی انرژی زا حاوی مقادیر بالایی روغن ماهی طی ده هفته نگهداری در دمای محیط بررسی نمودند. نتایج نشان داد گاماتوکوفرول افزوده شده به روغن ماهی در غلظت‌هایی بالاتر از ۴۴۰ میکروگرم در گرم بطور مؤثری قادر است از اکسیداسیون روغن طی نگهداری ممانعت به عمل آورد و بهترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۶۶۰ میکروگرم در گرم روغن مشاهده شد. جیاسینگ و همکاران (۲۰۱۳) رفتار آنتی‌اکسیدانی و پراکسیدانی اسید اسکوربیک، توکوفرول و عصاره‌های گیاهی حاوی گروه‌های فنلی را بر روی امولسیون‌های روغن در آب غنی از ω-3 بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که اسید اسکوربیک به عنوان عامل پراکسیدان در امولسیون‌های آبی غنی از ω-3 عمل کرده در حالیکه آلفا توکوفرول و عصاره‌های گیاهی حاوی گروه‌های فنلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی در مقابل اکسیداسیون ω-3 از خود نشان می‌دهند. در پژوهشی اثرات آنتی‌اکسیدانی توکوفرول در مقایسه با TBHQ بر روند اکسیداسیون روغن مایونز طی مدت زمان ماندگاری بررسی شد که نتایج تحقیق نشان داد که آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول به طور مؤثری قادر است اکسیداسیون را در فاز روغنی مایونز کنترل نماید. نتایج حاصل از بررسی عدد پراکسید نشان داد، تشکیل هیدروپراکسیدهای حاصل از

---

اکسیداسیون در تیمار حاوی توکوفرول روند بسیار کندی یافته است. به علاوه بررسی ترکیبات ثانویه‌ی ناشی از اکسیداسیون (اندیس آنیزیدین و مقدار هگزانال) و عدم تفاوت معنی‌دار در نتایج آزمایشات بررسی اکسیداسیون بین دو نمونه TBHQ و توکوفرول مؤید این مطلب است که آنتی‌اکسیدان طبیعی توکوفرول می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ باشد (متحدزاده و همکاران، ۲۰۱۴).



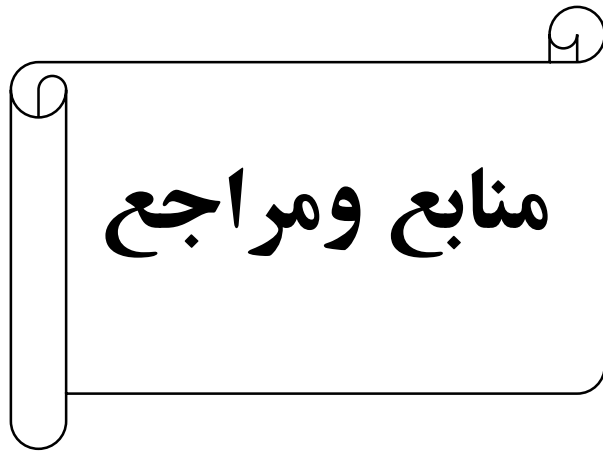
## نتیجه گیری

در این مطالعه حامل های لیپیدی نانو ساختار حاوی روغن کبد ماهی با استفاده از دو روش هموژنیزاسیون با فشار بالا و فراصوت میله ای با قدرت بالا، با موفقیت تولید شدند. استفاده از هموژنیزاسیون با فشار ۲۰ هزار بار و پروب فراصوت با قدرت ۴۰۰ برای کاهش اندازه ذرات ضروری بود. نتایج به دست آمده از NLC حاوی روغن کبد ماهی نشان داد فاکتورهای مربوط به فرمولاسیون شامل نوع و غلظت سورفکتانت و نوع حامل لیپیدی در تولید NLC حاوی روغن کبد ماهی نقش بسیار مهمی را دارا هستند. فرمولاسیون حامل لیپیدی نانوساختار تولید شده به روش هموژنیزاسیون گرم حاوی پلوکسامر ۴۰۷ و نسبت ۷۰ به ۳۰ پیر سرول به عنوان فاز جامد و روغن کبد ماهی به عنوان فاز مایع و با نسبت ۱ به ۱ سورفکتانت به فاز چربی، به عنوان فرمولاسیون بهینه با کمترین اندازه ذرات (۱۰۱ nm با توزیع اندازه ۰/۱۷) بود. توزیع اندازه ذره ای باریک برای NLC- روغن کبد ماهی نشان دهنده همگن بودن دیسپر سیون بود. هم چنین مطالعه پایداری طولانی مدت NLC به مدت ۷۵ روز از طریق تعیین اندازه ذرات صورت گرفت و هیچ تفاوتی در مقایسه با روز اول تولید را نشان نداد که نشان دهنده ثبات فیزیکی بسیار خوب در طی مدت زمان نگهداری می باشد. کارایی درون پوشانی ۹۷/۵ درصد را نشان داد که بیانگر مناسب بودن نانو حامل های لیپیدی برای درون پوشانی 3- $\omega$  بود. هم چنین پایداری اکسیداتیو نانو ذرات حاوی روغن کبد ماهی و روغن کبد ماهی همراه با توکوفرول درمقایسه با امولسیون آن از طریق اندازه گیری عدد پراکسید و تست تیوباربتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از افزایش پایداری اکسیداتیو به ترتیب در نمونه های درون پوشانی روغن کبد ماهی همراه با توکوفرول (۱۰۰ ppm) و درون پوشانی روغن کبد ماهی نسبت به نمونه امولسیونی بود.

---

## پیشنهادها

- ✓ بررسی تأثیر روش تولید بر پایداری نانوحامل‌های کلونیدی تولیدی.
- ✓ استفاده از روغن‌ها و چربی‌های طبیعی خوراکی (مانند کره کاکائو، انواع مونوگلسیریدها و کنژوله لینولئیک اسید) و هم‌چنین سورفکتانت‌های طبیعی و استرول‌های گیاهی از جمله گاما اوریزانول، در فرمولاسیون‌های نانوحامل و مقایسه آن‌ها از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آزمون‌های پایداری با فرمولاسیون‌های حاوی روغن‌ها و لیپیدهای سنتزی، کلسترول و سورفکتانت سنتزی.
- ✓ استفاده از بیوپلیمرهای طبیعی مانند کیتوزان، آلژینات و گوار جهت پوشش‌دهی سطح نانوکپسول‌ها و بررسی تأثیر آنها در بهبود دافعه فضایی و الکترواستاتیک و پایداری نانوذرات.
- ✓ بررسی میزان پایداری 3-0 درون‌پوشانی شده در سایر محصولات به‌خصوص نوشیدنی‌های شفاف و آب‌میوه‌ها.



---

آزادمرد دمیرچی، ص. ۱۳۸۹. شیمی و تجزیه روغن‌ها و چربی‌های خوراکی. انتشارات عمیدی.

خاکساری حداد محمد؛ بهار و تابستان ۱۳۸۳. اسیدهای چرب امگا-۳ و بهبودی زخم در دیابت. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان - جلد ۵، شماره ۳ و ۴.

متحدزاده، محمد مهدی؛ سلیمان محمدی سامانی و بابک قنبرزاده، ۱۳۹۲، تولید و بررسی ویژگی های نانوذرات لیپیدی جامد به عنوان حاملی برای ویتامین E، اولین همایش ملی نانوتکنولوژی مزایا و کاربردها، همدان، انجمن ارزیابان محیط زیست هگمتانه.

Akoh, C. C., and Min, D. B. (2008). Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology. CRC Press.

Amani, A., York, P., Chrystyn, H., and Clark, B. J. (2010). Factors affecting the stability of nanoemulsions—use of artificial neural networks. *Pharmaceutical research*, 27(1), 37-45.

Ax, K., Schubert, H., Briviba, K., Rechkemmer, G., and Tevini, M. (2001, March). Oil-in-water emulsions as carriers of bioavailable carotenoids. In *Proceedings PARTEC* (Vol. 27, No. 29, pp. 1-8).

Baspinar, Y., Keck, C. M., and Borchert, H. H. (2010). Development of a positively charged prednicarbate nanoemulsion. *International journal of pharmaceutics*, 383(1), 201-208.

Bedie, G.K., Turgeon, S.L. and Makhlof, J. (2008). Formation of native whey protein isolate-low methoxyl pectin complexes as a matrix for hydro-soluble food ingredient entrapment in acidic foods. *Food Hydrocolloid*, 22: 836-844.

Beloqui, A., Solinís, M. A., Delgado, A., Evora, C., del Pozo-Rodríguez, A., and Rodríguez-Gascón, A. (2013). Biodistribution of nanostructured lipid carriers (NLCs) after intravenous administration to rats: influence of technological factors. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84(2), 309-314.

Benech, R. O., Kheadr, E. E., Laridi, R., Lacroix, C., and Fliss, I. (2002). Inhibition of *Listeria innocua* in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ

---

production in mixed culture. *Applied and environmental microbiology*, 68(8), 3683-3690.

Borneo, R., Leone, A.E., Aguirre, A., Ribotta, p., and Cantero ,J.J. (2009).Antioxidant capacity of medicinal plants from the province of Cordoba (Argentina) and their in vitro testing in a model food system. *Food Chemistry* 112(3), 664-670.

Bouchemal, K., Briançon, S., Perrier, E., and Fessi, H. (2004). Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *International journal of pharmaceutics*, 280(1), 241-251.

Castro, G. A., Oréface, R. L., Vilela, J. M., Andrade, M. S., and Ferreira, L. A. (2008). Development of a new solid lipid nanoparticle formulation containing retinoic acid for topical treatment of acne. *Journal of microencapsulation*.

Champagne, C. P., and Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current opinion in biotechnology*, 18(2), 184-190.

Chen, C. C., and Wagner, G. (2004). Vitamin E nanoparticle for beverage applications. *Chemical Engineering Research and Design*, 82(11), 1432-1437.

Chen, C., Han, D., Cai, C. and Tang, X. 2010. An overview of liposome lyophilization and its future potential. *J. Control. Release*, 142: 299-311.

Chen, C. C., Tsai, T. H., Huang, Z. R., and Fang, J. Y. (2010). Effects of lipophilic emulsifiers on the oral administration of lovastatin from nanostructured lipid carriers: physicochemical characterization and pharmacokinetics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74(3), 474-482.

Chen, Y., Yang, X., Zhao, L., Almásy, L., Garamus, V. M., Willumeit, R., and Zou, A. (2014). Preparation and characterization of a nanostructured lipid carrier for a poorly soluble drug. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 455,

Considine, T., Patel, H. A., Singh, H., and Creamer, L. K. (2007). Influence of binding conjugated linoleic acid and myristic acid on the heat-and high-pressure-induced unfolding and aggregation of  $\beta$ -lactoglobulin B. *Food chemistry*, 102(4), 1270-1280.

Cordero, Z., Drozan, D., Weikert, C., and Boeing, H. (2010). Vitamin E and risk of cardiovascular diseases: a review of epidemiologic and clinical trial studies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50(5), 420-440.

Dan, N. (2016). Compound release from nanostructured lipid carriers (NLCs). *Journal of Food Engineering*, 171, 37-43.

Das, S., and Chaudhury, A. (2011). Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 12(1), 62-76.

Das, S., Ng, W. K., and Tan, R. B. (2012). Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47(1), 139-151.

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 Journal*, 20(4), 292-302.

Fathi, M., Mozafari, M. R., and Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in food science and technology*, 23(1), 13-27.

Fathi, M., Varshosaz, J., Mohebbi, M., and Shahidi, F. (2013). Hesperetin-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructure lipid carriers for food fortification: preparation, characterization, and modeling. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1464-1475.

Fatouros, D. G., and Antimisiaris, S. G. (2002). Effect of amphiphilic drugs on the

---

stability and zeta-potential of their liposome formulations: a study with prednisolone, diazepam, and griseofulvin. *Journal of colloid and interface science*, 251(2), 271-277.

Fernandez, P., André, V., Rieger, J., and Kühnle, A. (2004). Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 251(1), 53-58.

Freitas, A. C., Pereira, L., Rodrigues, D., Carvalho, A. P., Panteleitchouk, T., Gomes, A. M., and Duarte, A. C. (2015). Marine Functional Foods. In *Hb25\_Springer Handbook of Marine Biotechnology* (pp. 969-994). Springer Berlin Heidelberg.

Gallaher, J. J., Hollender, R., Peterson, D. G., Roberts, R. F., and Coupland, J. N. (2005). Effect of composition and antioxidants on the oxidative stability of fluid milk supplemented with an algae oil emulsion. *International dairy journal*, 15(4), 333-341.

Garcia-Fuentes, M., Torres, D., and Alonso, M. J. (2003). Design of lipid nanoparticles for the oral delivery of hydrophilic macromolecules. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 27(2), 159-168.

Ghosh, I., Bose, S., Vippagunta, R., and Harmon, F. (2011). Nanosuspension for improving the bioavailability of a poorly soluble drug and screening of stabilizing agents to inhibit crystal growth. *International journal of pharmaceutics*, 409(1), 260-268.

Gomez-Hens, A., and Fernandez-Romero, J. M. (2006). Analytical methods for the control of liposomal delivery systems. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(2), 167-178.

Gonnet, M., Lethuaut, L., and Boury, F. (2010). New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *Journal of Controlled Release*, 146(3), 276-290.

Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science and technology*, 15(7), 330-347.

Gramdorf, S., Hermann, S., Hentschel, A., Schrader, K., Müller, R. H., Kumpugdee-

---

Vollrath, M., and Kraume, M. (2008). Crystallized miniemulsions: Influence of operating parameters during high-pressure homogenization on size and shape of particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 331(1), 108-113.

Gutiérrez, J. M., González, C., Maestro, A., Sole, I., Pey, C. M., and Nolla, J. (2008). Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 13(4), 245-251.

Hadian, Z., Sahari, M. A., Moghimi, H. R., and Barzegar, M. (2014). Formulation, Characterization and optimization of liposomes containing eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids; a methodology approach. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 13(2), 393.

Hamishehkar, H., Emami, J., Najafabadi, A. R., Gilani, K., Minaiyan, M., Mahdavi, H., and Nokhodchi, A. (2009). The effect of formulation variables on the characteristics of insulin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres prepared by a single phase oil in oil solvent evaporation method. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 340-349.

Hatanaka, J., Chikamori, H., Sato, H., Uchida, S., Debari, K., Onoue, S., and Yamada, S. (2010). Physicochemical and pharmacological characterization of  $\alpha$ -tocopherol-loaded nano-emulsion system. *International journal of pharmaceutics*, 396(1), 188-193.

Hejri, A., Khosravi, A., Gharanjig, K., and Hejazi, M. (2013). Optimisation of the formulation of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers prepared by solvent diffusion method. *Food chemistry*, 141(1), 117-123.

Helgason, T., Awad, T. S., Kristbergsson, K., McClements, D. J., and Weiss, J. (2008). Influence of polymorphic transformations on gelation of tripalmitin solid lipid nanoparticle suspensions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(6), 501-511.

Henry, J. V., Fryer, P. J., Frith, W. J., and Norton, I. T. (2010). The influence of



---

phospholipids and food proteins on the size and stability of model sub-micron emulsions. *Food Hydrocolloids*, 24(1), 66-71.

Hentschel, A., Gramdorf, S., Müller, R. H., and Kurz, T. (2008).  $\beta$ -Carotene-loaded nanostructured lipid carriers. *Journal of food science*, 73(2), N1-N6.

Hippalgaonkar, K., Majumdar, S., and Kansara, V. (2010). Injectable lipid emulsions—advancements, opportunities and challenges. *AAPS PharmSciTech*, 11(4), 1526-1540.

Horn, A. F., Nielsen, N. S., and Jacobsen, C. (2009). Additions of caffeic acid, ascorbyl palmitate or  $\gamma$ -tocopherol to fish oil-enriched energy bars affect lipid oxidation differently. *Food chemistry*, 112(2), 412-420.

Hu, F. Q., Jiang, S. P., Du, Y. Z., Yuan, H., Ye, Y. Q., and Zeng, S. (2005). Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45(3), 167-173.

Hu, F. Q., Jiang, S. P., Du, Y. Z., Yuan, H., Ye, Y. Q., and Zeng, S. (2006). Preparation and characteristics of monostearin nanostructured lipid carriers. *International journal of pharmaceutics*, 314(1), 83-89.

Hu, F. Q., Yuan, H., Zhang, H. H., and Fang, M. (2002). Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. *International journal of pharmaceutics*, 239(1), 121-128.

Jacobsen, C., Hartvigsen, K., Lund, P., Thomsen, M. K., Skibsted, L. H., Hølmer, G., and Meyer, A. S. (2001). Oxidation in fish oil-enriched mayonnaise: 4. Effect of tocopherol concentration on oxidative deterioration. *European Food Research and Technology*, 212(3), 308-318.

Jafari, S. M., He, Y., and Bhandari, B. (2007). Production of sub-micron emulsions by

---

ultrasound and microfluidization techniques. *Journal of Food Engineering*, 82(4), 478-488.

Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., and Bhandari, B. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food hydrocolloids*, 22(7), 1191-1202.

Jafari, S. M., He, Y., and Bhandari, B. (2007). Optimization of nano-emulsions production by microfluidization. *European Food Research and Technology*, 225(5-6), 733-741.

Jayasinghe, C., Gotoh, N., and Wada, S. (2013). Pro-oxidant/antioxidant behaviours of ascorbic acid, tocopherol, and plant extracts in n-3 highly unsaturated fatty acid rich oil-in-water emulsions. *Food chemistry*, 141(3), 3077-3084.

Jee, J. P., Lim, S. J., Park, J. S., and Kim, C. K. (2006). Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 63(2), 134-139.

Jena, S., and Das, H. (2006). Modeling of particle size distribution of sonicated coconut milk emulsion: effect of emulsifiers and sonication time. *Food research international*, 39(5), 606-611.

Jenning, V., and Gohla, S. H. (2001). Encapsulation of retinoids in solid lipid nanoparticles (SLN). *Journal of microencapsulation*, 18(2), 149-158.

Jones, O. G., and McClements, D. J. (2011). Recent progress in biopolymer nanoparticle and microparticle formation by heat-treating electrostatic protein-polysaccharide complexes. *Advances in colloid and interface science*, 167(1), 49-62.

Joseph, T., and Morrison, M. (2006). *Nanotechnology in Agriculture and Food*. Nanoforum Report. Institute of nanotechnology.

Kelidari, H. R., Akbari, J., and Saeedi, M. (2013). Application and Characterization of

---

Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers as Drug Delivery Systems. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (JMUMS)*, 23(98).

Kentish, S., Wooster, T. J., Ashokkumar, M., Balachandran, S., Mawson, R., and Simons, L. (2008). The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 170-175.

Kim, T. S., Decker, E. A., and Lee, J. (2012). Antioxidant capacities of  $\alpha$ -tocopherol, trolox, ascorbic acid, and ascorbyl palmitate in riboflavin photosensitized oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 133(1), 68-75.

Kirby, C. J. (1993). Controlled delivery of functional food ingredients: opportunities for liposomes in the food industry. *Liposome Technology*, 215-232.

Klang, V., Matsko, N. B., Valenta, C., and Hofer, F. (2012). Electron microscopy of nanoemulsions: An essential tool for characterisation and stability assessment. *Micron*, 43(2), 85-103.

Kolanowski, W., and Weibbrodt, J. (2007). Sensory quality of dairy products fortified with fish oil. *International dairy journal*, 17(10), 1248-1253.

Kong, R., Xia, Q., and Liu, G. Y. (2011). Preparation and characterization of vitamin A palmitate-loaded nanostructured lipid carriers as delivery systems for food products. In *Advanced Materials Research*, 236, 1818-1823.

Kovačević, A. B., Müller, R. H., Savić, S. D., Vuleta, G. M., and Keck, C. M. (2014). Solid lipid nanoparticles (SLN) stabilized with polyhydroxy surfactants: Preparation, characterization and physical stability investigation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 444, 15-25.

Kovacevic, A., Savic, S., Vuleta, G., Müller, R. H., and Keck, C. M. (2011). Polyhydroxy surfactants for the formulation of lipid nanoparticles (SLN and NLC): effects on size,

---

physical stability and particle matrix structure. *International journal of pharmaceutics*, 406(1), 163-172.

Lacatusu, I., Badea, N., Ovidiu, O., Bojin, D., and Meghea, A. (2012). Highly antioxidant carotene-lipid nanocarriers: synthesis and antibacterial activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(6), 1-16.

Lacatusu, I., Niculae, G., Badea, N., Stan, R., Popa, O., Oprea, O., and Meghea, A. (2014). Design of soft lipid nanocarriers based on bioactive vegetable oils with multiple health benefits. *Chemical Engineering Journal*, 246, 311-321.

Lim, S. J., and Kim, C. K. (2002). Formulation parameters determining the physicochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid. *International journal of pharmaceutics*, 243(1), 135-146.

Lim, S. S., Baik, M. Y., Decker, E. A., Henson, L., Popplewell, L. M., McClements, D. J., and Choi, S. J. (2011). Stabilization of orange oil-in-water emulsions: a new role for ester gum as an Ostwald ripening inhibitor. *Food Chemistry*, 128(4), 1023-1028.

Lin, S. E., Duan, X., Liew, J., and Nguyen, D. (2008). Droplet size and stability of nano-emulsion produced by the temperature phase inversion method, *Chemical Engg.*

Liu, C. H., and Wu, C. T. (2010). Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 353(2), 149-156.

Liu, J., Hu, W., Chen, H., Ni, Q., Xu, H., and Yang, X. (2007). Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *International journal of pharmaceutics*, 328(2), 191-195.

Liu, N., and Park, H. J. (2010). Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan-coated nanoliposomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76(1),

---

16-19.

Liu, W., Tian, R., Hu, W., Jia, Y., Jiang, H., Zhang, J., and Zhang, L. (2012). Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system of baicalein. *Fitoterapia*, 83(8), 1532-1539.

Loveday, S. M., and Singh, H. (2008). Recent advances in technologies for vitamin A protection in foods. *Trends in food science and technology*, 19(12), 657-668.

Manconi, M., Mura, S., Sinico, C., Fadda, A. M., Vila, A. O., and Molina, F. (2009). Development and characterization of liposomes containing glycols as carriers for diclofenac. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 342(1), 53-58.

Manconi, M., Valenti, D., Sinico, C., Lai, F., Loy, G., and Fadda, A. M. (2003). Niosomes as carriers for tretinoin: II. Influence of vesicular incorporation on tretinoin photostability. *International journal of pharmaceutics*, 260(2), 261-272.

Mao, L., Xu, D., Yang, J., Yuan, F., Gao, Y., and Zhao, J. (2009). Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of b-carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization. *Food Technology and Biotechnology*, 47(3), 336-342.

McClements, D. J. (1999). Emulsion stability. *Food emulsions: practice and techniques*, 185-220.

McClements, D. J. (2005). *Food Emulsions: Principles, Practice and Technology*.

McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*, 8(6), 1719-1729.

McClements, D. J., and Li, Y. (2010). Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in colloid and interface science*, 159(2), 213-228.

---

McClements, D. J., and Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.

McClements, D. J., and Xiao, H. (2012). Potential biological fate of ingested nanoemulsions: influence of particle characteristics. *Food and function*, 3(3), 202-220.

McClements, D. J., Decker, E. A., and Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8), R109-R124.

Mehnert, W., and Mäder, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced drug delivery reviews*, 47(2), 165-196.

Mishra, B., Patel, B.B., Tiwari, S. and Pharm, M. 2010. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine, Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6: 9–24.

Mitreă, E., Lacatusu, I., Badea, N., Ott, C., Oprea, O., and Meghea, A. (2015). New Approach to Prepare Willow Bark Extract–Lipid Based Nanosystems with Enhanced Antioxidant Activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 15(6), 4080-4089.

Mollet, H., and Grubenmann, A. (2008). *Formulation technology: emulsions, suspensions, solid forms*. John Wiley and Sons.

Morales, J. O., Valdés, K., Morales, J., and Oyarzun-Ampuero, F. (2015). Lipid nanoparticles for the topical delivery of retinoids and derivatives. *Nanomedicine*, 10(2), 253-269.

Moreira de Morais, J., David Henrique dos Santos, O., Delicato, T., Azzini Gonçalves, R., and Alves da Rocha-Filho, P. (2006). Physicochemical Characterization of Canola Oil/Water Nano-emulsions Obtained by Determination of Required HLB Number and Emulsion Phase Inversion Methods. *Journal of dispersion science and technology*, 27(1), 109-115.

---

Mozafari, M. R. (2004). Micro and nano carrier technologies: high quality production within pharmaceutical standards. *Cell Mol Biol Lett*, 9(Suppl 2), 44-45.

Muller, R. H., Mader, K., and Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 50(1), 161-177.

Müller, R. H., Petersen, R. D., Hommoss, A., and Pardeike, J. (2007). Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 522-530.

Müller, R. H., Radtke, M., and Wissing, S. A. (2002). Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *International journal of pharmaceutics*, 242(1), 121-128.

Müller, R. H., Radtke, M., and Wissing, S. A. (2002). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, S131-S155.

Negi, L. M., Jaggi, M., and Talegaonkar, S. (2014). Development of protocol for screening the formulation components and the assessment of common quality problems of nano-structured lipid carriers. *International journal of pharmaceutics*, 461(1), 403-410.

Ni, S., Sun, R., Zhao, G., and Xia, Q. (2014). Quercetin Loaded Nanostructured Lipid Carrier for Food Fortification: Preparation, Characterization and in vitro Study. *Journal of Food Process Engineering*.

Nielsen, N. S., Debnath, D., and Jacobsen, C. (2007). Oxidative stability of fish oil enriched drinking yoghurt. *International Dairy Journal*, 17(12), 1478-1485.

Niknia, N., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Rezayi Mokarram, R., and Mortazaviyan, A. M. (2014). Production and Evaluation of Vitamin E based Nanoemulsion by

---

Spontaneous Method. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8(4), 51-65.

Obeidat, W. M., Schwabe, K., Müller, R. H., and Keck, C. M. (2010). Preservation of nanostructured lipid carriers (NLC). European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 76(1), 56-67.

Okonogi, S., and Riangjanapatee, P. (2015). Physicochemical characterization of lycopene-loaded nanostructured lipid carrier formulations for topical administration. International journal of pharmaceutics, 478(2), 726-735.

Ostertag, F., Weiss, J., and McClements, D. J. (2012). Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. Journal of colloid and interface science, 388(1), 95-102.

Pardeike, J., Hommoss, A., and Müller, R. H. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. International journal of pharmaceutics, 366(1), 170-184.

Pouton, C. W. (2006). Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 29(3), 278-287.

Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., and McClements, D. J. (2013). Impact of lipid nanoparticle physical state on particle aggregation and  $\beta$ -carotene degradation: Potential limitations of solid lipid nanoparticles. Food Research International, 52(1), 342-349.

Qiu, S., Liu, Z., Hou, L., Li, Y., Wang, J., Wang, H., ... and Liu, Z. (2013). Complement activation associated with polysorbate 80 in beagle dogs. International immunopharmacology, 15(1), 144-149.



---

Rasti, B., Jinap, S., Mozafari, M. R., and Yazid, A. M. (2012). Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and Mozafari methods. *Food chemistry*, 135(4), 2761-2770.

Rowe, R. C., Sheskey, P. J., and Quinn, M. E. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. Pharmaceutical press.

Sagalowicz, L., and Leser, M. E. (2010). Delivery systems for liquid food products. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 15(1), 61-72.

Salminen, H., Aulbach, S., Leuenberger, B. H., Tedeschi, C., and Weiss, J. (2014). Influence of surfactant composition on physical and oxidative stability of Quillaja saponin-stabilized lipid particles with encapsulated  $\omega$ -3 fish oil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 46-55.

Salminen, H., Gömmel, C., Leuenberger, B. H., and Weiss, J. (2016). Influence of encapsulated functional lipids on crystal structure and chemical stability in solid lipid nanoparticles: Towards bioactive-based design of delivery systems. *Food chemistry*, 190, 928-937.

Salminen, H., Helgason, T., Kristinsson, B., Kristbergsson, K., and Weiss, J. (2013). Formation of solid shell nanoparticles with liquid  $\omega$ -3 fatty acid core. *Food chemistry*, 141(3), 2934-2943.

Saupe, A., Wissing, S. A., Lenk, A., Schmidt, C., and Müller, R. H. (2005). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC)—structural investigations on two different carrier systems. *Bio-medical materials and engineering*, 15(5), 393-402.

Sauvant, P., Cansell, M., Sassi, A. H., and Atgié, C. (2012). Vitamin A enrichment: Caution with encapsulation strategies used for food applications. *Food Research International*, 46(2), 469-479.

---

Sheikhshoei, F., Abbasi, S., and Sahari, M. (2013). Effects of various factors on the oxidative stability of  $\omega$ -3 fatty acid-enriched Doogh. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 7, 1-10.

Shimoni, E. (2009). Nanotechnology for foods: delivery systems. In *IUFoST World Congress Book: Global Issues in Food Sci. Technol* (pp. 411-424).

Shimpi, S. L., Mahadik, K. R., and Paradkar, A. R. (2009). Study on mechanism for amorphous drug stabilization using Gelucire 50/13. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57(9), 937-942.

Silva, H. D., Cerqueira, M. Â., and Vicente, A. A. (2012). Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 854-867.

Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., and Garcia-Celma, M. J. (2005). Nanoemulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 10(3), 102-110.

Somchue, W., Sermsri, W., Shiowatana, J., and Siripinyanond, A. (2009). Encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol in protein-based delivery particles. *Food Research International*, 42(8), 909-914.

Sozer, N., and Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in biotechnology*, 27(2), 82-89.

Sun, M., Nie, S., Pan, X., Zhang, R., Fan, Z., and Wang, S. (2014). Quercetin-nanostructured lipid carriers: characteristics and anti-breast cancer activities in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 15-24.

Tadros, T. F. (2009). *Emulsion science and technology: a general introduction* (pp. 1-56). Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA.

Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., and Solans, C. (2004). Formation and stability of

---

nano-emulsions. *Advances in colloid and interface science*, 108, 303-318.

Taghvaei, M., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., Nikoo, A. M., Rahmanian, N., Hajitabar, J., and Meshginfar, N. (2014). The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 124-130.

Takegami, S., Kitamura, K., Kawada, H., Matsumoto, Y., Kitade, T., Ishida, H., and Nagata, C. (2008). Preparation and characterization of a new lipid nano-emulsion containing two cosurfactants, sodium palmitate for droplet size reduction and sucrose palmitate for stability enhancement. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(8), 1097-1102.

Takeungwongtrakul, S., and Benjakul, S. (2013). Oxidative stability of shrimp oil-in-water emulsions as affected by antioxidant incorporation. *Int Aquat Res*, 5, 1-12.

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

Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J., and Nasirpour, A. (2014). Design and characterization of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 366-374.

Teo, B. S. X., Basri, M., Zakaria, M. R. S., Salleh, A. B., Rahman, R. N., and Rahman, M. B. (2010). A potential tocopherol acetate loaded palm oil esters-in-water nanoemulsions for nanocosmeceuticals. *J Nanobiotechnology*, 8(4).

Trotta, M., Debernardi, F., and Caputo, O. (2003). Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification–diffusion technique. *International journal of pharmaceutics*, 257(1), 153-160.

Truong, T., Janin, S., Li, B. Z., and Bhandari, B. (2016). Effect of Crystalline Structure

---

on Oxidation of Fish Oil in Stearin: Fish Oil Mixtures. *Food and Bioprocess Technology*, 1-9.

Tsai, M. J., Wu, P. C., Huang, Y. B., Chang, J. S., Lin, C. L., Tsai, Y. H., and Fang, J. Y. (2012). Baicalein loaded in tocol nanostructured lipid carriers (tocol NLCs) for enhanced stability and brain targeting. *International journal of pharmaceutics*, 423(2), 461-470.

Walstra, P. (2003). *Physical chemistry of foods*. New York: Marcel Decker.

Weber, S., Zimmer, A., and Pardeike, J. (2014). Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for pulmonary application: a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 86(1), 7-22.

Weiss, J., S. Gaysinsky, M. Davidson and D. J. McClements (2009). Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In: G. Barbosa-Canovas, A. Mortimer, D. Lineback, W. Spiess, K. Buckle and P. Colonna (Eds.), *Global issues in food science and technology*. Academic Press: San Diego. pp. 425-479.

Weiss, J., Decker, E. A., McClements, D. J., Kristbergsson, K., Helgason, T., and Awad, T. (2008). Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3(2), 146-154.

Westergren, T., and Kalikstad, B. (2010). Dosage and formulation issues: oral vitamin E therapy in children. *European journal of clinical pharmacology*, 66(2), 109-118.

Wu, L., Zhang, J., and Watanabe, W. (2011). Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced drug delivery reviews*, 63(6), 456-469.

Wulff-Pérez, M., Torcello-Gómez, A., Gálvez-Ruíz, M. J., and Martín-Rodríguez, A. (2009). Stability of emulsions for parenteral feeding: Preparation and characterization of o/w nanoemulsions with natural oils and Pluronic f68 as surfactant. *Food Hydrocolloids*, 23(4), 1096-1102.

---

Yang, Y., and McClements, D. J. (2013). Encapsulation of vitamin E in edible emulsions fabricated using a natural surfactant. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 712-720.

Yang, Y., Corona, A., Schubert, B., Reeder, R., and Henson, M. A. (2014). The effect of oil type on the aggregation stability of nanostructured lipid carriers. *Journal of colloid and interface science*, 418, 261-272.

Yang, Y., Leser, M. E., Sher, A. A., and McClements, D. J. (2013). Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale). *Food Hydrocolloids*, 30(2), 589-596.

Yuan, Y., Gao, Y., Mao, L., and Zhao, J. (2008). Optimisation of conditions for the preparation of  $\beta$ -carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food chemistry*, 107(3), 1300-1306.

Yurdugul, S. E. Y. H. U. N., and Mozafari, M. R. (2004). Recent advances in micro-and nanoencapsulation of food ingredients. *Cell Mol Biol Lett*, 9(S2), 64-65.

Zheng, K., Zou, A., Yang, X., Liu, F., Xia, Q., Ye, R., and Mu, B. (2013). The effect of polymer-surfactant emulsifying agent on the formation and stability of  $\alpha$ -lipoic acid loaded nanostructured lipid carriers (NLC). *Food Hydrocolloids*, 32(1), 72-78.

Zheng, M., Falkeborg, M., Zheng, Y., Yang, T., and Xu, X. (2013). Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 430, 76-84.

Zhu, Q. Y., Guissi, F., Yang, R. Y., Wang, Q., Wang, K., Chen, D., ... and Gu, Y. Q. (2015). Preparation of Deep Sea Fish Oil-Based Nanostructured Lipid Carriers with Enhanced Cellular Uptake. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(12), 9539-9547.

Zou, L., and Akoh, C. C. (2015). Oxidative stability of structured lipid-based infant formula emulsion: Effect of antioxidants. *Food chemistry*, 178, 1-9.

---

**Abstract:**

Omega-3 fatty acids ( $\omega$ -3), which is very useful for health are known to be very sensitive to oxidation, which leads to the formation of toxic hydroperoxides, developing off-flavors and short shelf life .In addition, the formation of free radicals (reactive) during the oxidation process increases the risk of cardiovascular disease. One of the most important sources of omega-3 is fish liver oil. Encapsulation of fatty acids  $\omega$ -3 with the Nanostructured Lipid Carriers (NLC) method, is a significant way to improve the oxidative stability during storage. Another method is the use of antioxidants for increasing oxidative stability. Vitamin E is the body's natural antioxidant that strengthens the immune system and prevents coronary heart disease. In this study, NLC containing fish liver oil prepared using two methods of ultrasound and hot homogenization, and optimal formulation to achieve particle size of about 100 nm by changing the type of fat and oil phases (solid and liquid) and the type and concentration of surfactant was determined. The test for determining particle size, the performance and stability of encapsulation were performed to determine the functional properties. The results showed that, solid lipid, surfactant type, concentration, time and ultrasonic power had significant effect on particle size of NLC. Optimal formulation with the lowest particle size (101 nm with 0/17 size distribution), respectively. Also, oxidative stability of fish liver oil based on 3 case of emulsion, NLC and NLC containing alpha-tocopherol (100ppm) by measuring the peroxide value (PV) and Thiobarbituric acid (TBA) test were evaluated. The results showed that fish liver oil in NLC with the alpha-tocopherol, NLC and emulsion had highest oxidative stability, respectively.

**Key words:** Oxidative stability; Nanostructured Lipid Carriers (NLC); Omega-3; Alpha-tocopherol



**Shahrood University of Technology**

**Faculty of Agricultural Science**

**Department of Food Science and Technology**

**Evaluation of oxidative stability Nano lipid carriers (NLC) containing fish liver oil and tocopherol**

**Seyed Yaser Shahparast**

**Supervisor(s): Dr. Ahmad Rajai & Dr. Ahmad Yari Khosroshahi**

**Date:** May 2016