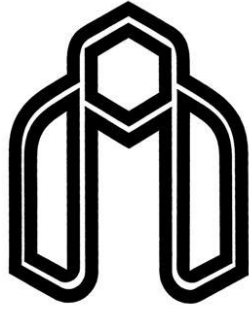


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم مواد غذایی

تاثیر نانوزل کیتوزان حاوی اسانس نعناع فلفلی بر پایداری اکسیداسیون روغن آفتابگردان

در آب

نگارنده: مجید عطاریان

اساتید راهنما

دکتر احمد رجائی - دکتر میثم طباطبائی

اساتید مشاور

دکتر افشین محسنی فر - دکتر حجت اله بداقی

بهمن ماه ۱۳۹۶

تقدیر به پدر ، مادر و همسر گرامی

## تعهد نامه

اینجانب **مجید عطاریان** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته صنایع غذایی / علوم مواد غذایی دانشکده کشاورزی

دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **تاثیر نانوزل کیتوزان حاوی اسانس نعناع فلفلی بر پایداری**

**اکسیداسیون روغن آفتابگردان در آب** تحت راهنمایی دکتر احمد رجایی متعهد می شوم .

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

### تاریخ

### امضای دانشجو

#### مالکیت نتایج و حق نشر

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

## چکیده

هدف این پژوهش تولید یک امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب پایدار با استفاده از نانوذله کیتوزان و بررسی پایداری اکسیداتیو آن به همراه اسانس نعناع فلفلی بود. در مرحله اول با استفاده از نسبت های مختلف اسید استئاریک به کیتوزان نانوذله های کیتوزان به روش خود تجمعی تهیه شدند. نتایج حاصل از عکس های میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که با افزایش نسبت اسید استئاریک به کیتوزان ذرات یکنواختی ایجاد شد. در ادامه، اثر pH (۲، ۵، ۸ و ۱۰)، نسبت اسید استئاریک به کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) و مقدار روغن (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر) بر اندازه قطرات روغن و پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در سه ساعت اول و روز هفتم پس از تولید بررسی شد. نتایج نشان داد که امولسیون های دارای pH ۸، نسبت اسید استئاریک به کیتوزان ۵۰ درصد و مقدار روغن ۲۰۰ میکرولیتر بیشترین پایداری و کمترین اندازه قطرات را داشتند. در ادامه پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ (pH ۸، نسبت اسید استئاریک به کیتوزان ۵۰ درصد و مقدار روغن ۲۰۰ میکرولیتر) به همراه اسانس نعناع فلفلی (۲۰۰ و ۱۰۰۰ ppm) در دو حالت درون پوشانی شده در هسته و پوسته قطرات روغن به همراه یک نمونه امولسیون پایدار شده با تویین ۸۰ به مدت ۲۰ روز در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد با استفاده از آزمون های پراکسید و اسید تیوباربیتوریک بررسی شد. نتایج پایداری اکسیداتیو نشان داد که امولسیون پیکرینگ پایداری بیشتری نسبت به امولسیون پایدار شده با تویین ۸۰ داشت. همچنین درون پوشانی اسانس نعناع فلفلی در پوشش قطرات روغن نسبت به هسته روغن باعث افزایش پایداری اکسیداتیو شد.

**کلمات کلیدی:** امولسیون پیکرینگ، نانوذله کیتوزان، روغن آفتابگردان، اسانس نعناع فلفلی، پایداری

اکسیداتیو

مقالات استخراج شده

بررسی اثر اسانس نعناع فلفلی در پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ روغن

آفتابگردان در آب

تولید امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب با استفاده از نانوذله کیتوزان-

استتاریک اسید

## فهرست مطالب

فصل اول .....	۱
مقدمه.....	۳
۱-۱ تخم آفتابگردان .....	۴
۱-۱-۱ تاریخچه و گیاه شناسی تخم آفتابگردان .....	۴
۱-۲-۱ اهمیت اقتصادی تخم آفتابگردان .....	۴
۱-۱-۳ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی تخم آفتابگردان .....	۴
۱-۱-۴ کاربردهای تخم آفتابگردان .....	۵
۲-۱ روغن آفتابگردان .....	۶
۱-۲-۱ خصوصیات روغن آفتابگردان .....	۶
۳-۱-۳-۱ امولسیون .....	۷
۳-۱-۳-۱-۱ آماده سازی امولسیون .....	۷
۳-۱-۳-۲ ویژگی های عمومی امولسیون ها .....	۸
۳-۱-۳-۲-۱-۱ نوع امولسیون و هدایت الکتریکی .....	۸
۳-۱-۳-۲-۲-۱ ظاهر .....	۹
۳-۱-۳-۲-۳-۱ پایداری امولسیون .....	۹
۳-۱-۳-۳-۱ نیروهای موثر در تشکیل امولسیون ها .....	۹
۳-۱-۳-۳-۱-۱ نیروهای الکترواستاتیکی .....	۹
۳-۱-۳-۳-۱-۲ نیروهای واندروالسی .....	۱۰

- ۱۰ ..... ۳-۳-۳-۱ نیروهای همپوشانی فضایی
- ۱۰ ..... ۴-۳-۱ انواع امولسیون
- ۱۰ ..... ۱-۴-۳-۱ امولسیون معمولی (متداول)
- ۱۱ ..... ۲-۴-۳-۱ امولسیون چندگانه
- ۱۱ ..... ۳-۴-۳-۱ امولسیون پیکرینگ
- ۱۳ ..... ۴-۴-۳-۱ انواع ذرات امولسیون پیکرینگ
- ۱۳ ..... ۱-۴-۴-۳-۱ ذرات معدنی
- ۱۳ ..... ۱-۳-۴-۴-۲ ذرات بر پایه کربوهیدرات
- ۱۴ ..... ۳-۴-۴-۳-۱ ذرات بر پایه پروتئین
- ۱۴ ..... ۴-۴-۴-۳-۱ ذرات بر پایه چربی
- ۱۵ ..... ۵-۳-۱ پایداری امولسیون
- ۱۶ ..... ۱-۵-۳-۱ الخته شدن
- ۱۶ ..... ۲-۵-۳-۱ هم پیوستگی
- ۱۶ ..... ۳-۵-۳-۱ نشینی یا خامه ای شدن
- ۱۷ ..... ۴-۵-۳-۱ رسیدن استوالد
- ۱۷ ..... ۵-۵-۳-۱ برگشت فاز
- ۱۷ ..... ۶-۵-۳-۱ اکسیداسیون چربی
- ۱۹ ..... ۴-۱ نانوفناوری
- ۱۹ ..... ۱-۴-۱ نانو فناوری در صنایع غذایی
- ۲۰ ..... ۱-۴-۱ نانو ذرات
- ۲۰ ..... ۲-۱-۴-۱ نانو انکپسولاسیون
- ۲۱ ..... ۱-۲-۱-۴-۱ مزایای انکپسولاسیون



- ۲۱ ..... ۲-۴-۱ نانوزل
- ۲۲ ..... ۵-۱ کیتوزان
- ۲۳ ..... ۱-۵-۱ کاربردهای مختلف کیتوزان
- ۲۳ ..... ۶-۱ گیاهان دارویی
- ۲۴ ..... ۱-۶-۱ اهمیت گیاهان دارویی
- ۲۴ ..... ۱-۶-۲ کاربرد گیاهان دارویی
- ۲۴ ..... ۱-۷-۱ اسانس
- ۲۵ ..... ۱-۷-۱ خواص کاربردی اسانس ها
- ۲۶ ..... ۱-۷-۲ نعنای فلفلی
- ۲۶ ..... ۱-۷-۲-۱ اسانس نعنای فلفلی
- ۲۷ ..... ۱-۸-۱ اسید استئاریک
- ۲۷ ..... ۱-۸-۱ کاربردهای اسید استئاریک
- ۲۹ ..... فصل دوم
- ۳۰ ..... ۱-۲ پژوهش های مربوط به پایداری امولسیون پیکرینگ
- ۳۴ ..... ۲-۲ پژوهش های مربوط به کیتوزان و نانوزل کیتوزان
- ۳۶ ..... ۲-۳ مروری بر پژوهش های مربوط به اکسیداسیون
- ۴۱ ..... فصل سوم
- ۰۴۲ ..... ۳-۱ مواد و وسایل مورد استفاده
- ۴۲ ..... ۳-۱-۱ مواد مورد استفاده

- ۳-۱-۲ تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی ..... ۴۳
- ۳-۲ روش ها ..... ۴۴
- ۳-۲-۱ آزمون های شیمیایی روغن آفتابگردان ..... ۴۴
- ۳-۲-۱-۱ تعیین اسیدهای چرب روغن آفتابگردان با کروماتوگرافی گازی ..... ۴۴
- ۳-۲-۲ آماده سازی نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک ..... ۴۴
- ۳-۲-۳ آزمون FTIR ..... ۴۵
- ۳-۲-۴ آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی ..... ۴۵
- ۳-۲-۵ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب ..... ۴۶
- ۳-۲-۵-۱ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با pH های مختلف ..... ۴۶
- ۳-۲-۵-۲ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت های مختلف ..... ۴۶
- ۳-۲-۵-۳ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن آفتابگردان ..... ۴۷
- ۳-۲-۶ تعیین پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب ..... ۴۷
- ۳-۲-۶-۱ ارزیابی میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب ..... ۴۸
- ۳-۲-۶-۲ اندازه گیری میانگین اندازه قطرات ..... ۴۸
- ۳-۲-۷ اندازه گیری اکسیداسیون ..... ۴۹
- ۳-۲-۷-۱ آماده سازی امولسیون ها برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو ..... ۴۹
- ۳-۲-۷-۲ ارزیابی پایداری اکسیداتیو امولسیون های روغن آفتابگردان در آب ..... ۵۰
- ۳-۲-۷-۳ اندازه گیری میزان پراکسید ..... ۵۰
- ۳-۲-۷-۴ اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید ..... ۵۱
- ۳-۲-۸ تجزیه تحلیل آماری ..... ۵۱

فصل چهارم.....	۵۳
۱-۴ بررسی نانوذل های کیتوزان- اسید استئاریک .....	۵۴
۱-۱-۴ نتایج FTIR.....	۵۴
۱-۲-۴ آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی.....	۵۷
۲-۴ بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ .....	۶۰
۲-۱-۴ اثر pH بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب ۶۰ ..	۶۰
۲-۲-۴ اثر نانوذل با درصدهای مختلف اسید استئاریک .....	۶۴
۲-۳-۴ اثر غلظت روغن بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب.....	۶۸
۳-۴ پروفایل اسید های چرب روغن آفتابگردان.....	۷۲
۴-۴ بررسی اثر اسانس نعناع فلفلی درون پوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات نانوذل .....	۷۳
۵-۴ بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن آفتابگردان در آب .....	۷۵
۵-۴-۱ میزان تغییرات پراکسید امولسیون پیکرنگ روغن آفتابگردان در آب .....	۷۵
۵-۴-۲ میزان تغییرات تیوباربیتوریک اسید در امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب .	۷۹
نتیجه گیری.....	۸۲
پیشنهادات:.....	۸۳
فصل پنجم	
منابع.....	۸۵

## فهرست شکل ها

- شکل ۱-۱ ترکیبات شیمیایی تخم و مغز آفتابگردان ..... ۵
- شکل ۱-۲ ساختار اسید چرب موجود در روغن آفتاب گردان ..... ۶
- شکل ۱-۳ سطح امولسیون روغن و آب ..... ۱۱
- شکل ۱-۴ سطح درجه امولسیون آب و روغن ..... ۱۲
- شکل ۱-۵ نمونه هایی از عکس میکروسکوپی امولسیون پیکرینگ حاوی ذرات بر پایه غذایی (a-d) ذرات بر پایه کربوهیدرات، d-e ذرات بر پایه پروتئین و f-h ذرات بر پایه چربی) ..... ۱۵
- شکل ۱-۶ تصویر شماتیک از فرایند اکسیداسیون چربی ..... ۱۸
- شکل ۱-۷ ساختار مولکولی کیتوزان ..... ۲۳
- شکل ۱-۸ نعناع فلفلی ..... ۲۶
- شکل ۱-۹ اسید استئاریک ..... ۲۷
- شکل ۴-۱ طیف های FTIR مربوط به الف: کیتوزان، ب: اسید استئاریک ج: نانوزل کیتوزان-اسید استئاریک (۲۵ درصد اسید استئاریک)، د: نانوزل کیتوزان-اسید استئاریک (۵۰ درصد اسید استئاریک) و: نانوزل کیتوزان-اسید استئاریک (۷۵ درصد اسید استئاریک). ..... ۵۶
- شکل ۴-۲ تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) الف: نانوزل حاوی ۰ درصد اسید استئاریک ب: نانوزل حاوی ۲۵ درصد اسید استئاریک، ج: نانوزل حاوی ۵۰ درصد اسید استئاریک، د: نانوزل حاوی ۷۵ درصد اسید استئاریک ..... ۶۱
- شکل ۴-۳ اثر pH های مختلف (۲، ۵، ۸ و ۱۰) بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب ..... ۶۲
- شکل ۴-۴ اثر pH های مختلف بر میانگین اندازه ذرات امولسیون ..... ۶۶
- شکل ۴-۵ اثر استئاریک اسید با غلظت مختلف بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در

آب .....	۶۷
شکل ۴-۶ اثر غلظت استتاریک اسید بر میانگین اندازه ذرات .....	۶۴
شکل ۴-۷ اثر غلظت مختلف روغن (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰) بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب .....	۶۶
شکل ۴-۸ اثر غلظت روغن بر میانگین اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب .....	۷۰
شکل ۴-۹ عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان- اسید استتاریک با غلظت ۵۰ درصد حاوی اسانس نعناع فلفلی .....	۷۴

### فهرست جداول

جدول ۳-۱ ترکیبات عمده موجود در اسانس نعناع فلفلی .....	۴۲
جدول ۴-۱ درصد خامه ای شدن امولسیون ها با pH های مختلف .....	۶۱
جدول ۴-۲ درصد خامه ای شدن امولسیون ها با درصدهای مختلف اسید استتاریک .....	۶۵
جدول ۴-۳ درصد خامه ای شدن امولسیون ها با درصدهای مختلف روغن .....	۶۹
جدول ۴-۴ غلظت و درصد اسیدهای چرب روغن آفتابگردان (غلظت بر حسب میلی گرم بر یک گرم روغن) .....	۷۴
جدول ۴-۵ میانگین و انحراف معیار مقادیر تست پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۰ نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد .....	۷۸
جدول ۴-۶ میانگین و انحراف معیار مقادیر تست TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۰ نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد .....	۸۰

### فهرست معادله

.....	۳، ۱
.....	۴۸









فصل اول

کلیات

امروزه بسیاری از مواد غذایی که ما به صورت روزانه مصرف می کنیم از چندین فاز غیر قابل امتزاج مانند روغن و آب تشکیل شده است. قطرات فاز مایع که در فاز دیگری پراکنده شده، امولسیون نامیده می شود، که می تواند به صورت امولسیون روغن در آب (مثل، شیر، خامه یا سس مایونز) یا به صورت آب در روغن (مثل؛ کره) باشد.

امولسیون ها از نظر سینتیکی پایدار ولی بدون ثبات ترمودینامیکی هستند (Chevalier et al., ۲۰۱۳). مکانیسم های فیزیکی شیمیایی متعددی از جمله خامه ای شدن، انعقاد، لخته شدن، تورم استوالد و اکسیداسیون سبب بی ثباتی امولسیون می شوند (Zhang et al., ۲۰۰۹). پایداری امولسیون ها را می توان از طریق افزودن امولسیفایر بهبود بخشید. امولسیفایر ها ترکیبات فعال سطحی هستند که سبب کاهش کشش سطحی و تثبیت امولسیون می گردند (Homayonfal et al., ۲۰۱۳). به دلیل اثرات سوء امولسیفایر بر سلامت مصرف کننده، امروزه استفاده از امولسیون پیکرینگ رایج شده است. امولسیون پیکرینگ امولسیونی است که از ذرات جامد در اندازه نانومتر برای پایداری امولسیون استفاده می شود (Coupland et al., ۲۰۰۱).

اکسیداسیون روغن ها و چربی ها در امولسیون مهمترین عامل تخریب غذا می باشد. در نتیجه اکسیداسیون روغن ترکیبات فراری تشکیل شده که آستانه بویایی پایینی داشته و میتواند روی ویژگی های حسی روغن ها و محصولات حاوی روغن تاثیر بگذارد (McClements, ۲۰۱۰). در واقع اکسیداسیون موجب تندی، تولید مواد طعم زا نامطلوب، رنگ نامطلوب و به طور کلی تغییر در ویژگی های ارگانولپتیک ماده غذایی می شود. به علاوه منجر به تخریب مواد مغذی مانند ویتامین ها شده و ارزش تغذیه ای محصول غذایی کاهش می یابد، همچنین برخی از ترکیبات حاصل تهدیدی برای سلامت انسان محسوب می شود (Sherwin, ۱۹۷۸).

با توجه به این مطالب، به منظور به حداقل رساندن تخریب اکسیداتیو می توان از آنتی اکسیدان استفاده

کرد. آنتی اکسیدان های رایج در صنایع غذایی، آنتی اکسیدان سنتزی هستند که سمیت و سرطانزا بودن آنها به اثبات رسیده است. امروزه استفاده از آنتی اکسیدان طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Jacobsen et al., ۱۹۹۹). از جمله ترکیبات طبیعی که بعنوان آنتی اکسیدان در مواد غذایی بکار می روند، میتوان به اسانس های گیاهی اشاره کرد. اسانس ها میتوانند اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی داشته باشند. در مورد آثار بیولوژیک اسانسها مطالعات زیادی انجام گرفته است (Sara Burt ۲۰۰۴). در تحقیقات گذشته خاصیت آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریایی و قارچ کشی اسانس نعنای فلفلی گزارش شده است (Bouchra et al., ۲۰۰۳).

یکی از زمینه های کاربرد نانو در صنایع غذایی درون پوشانی کردن ترکیبات حساس به شرایط محیطی و یا ترکیبات فرار از جمله اسانس های گیاهی می باشد. روشهای مختلفی به منظور درون پوشانی کردن وجود دارد که یکی از روشهای جدید استفاده از نانوذله کیتوزان می باشد.

با توجه به مطالب فوق، اهداف این پژوهش در مرحله اول ایجاد اتصال بین کیتوزان و استئاریک اسید به منظور بهبود خاصیت امولسیفایری کیتوزان بود. در مرحله بعد بررسی فاکتورهای مختلف بر پایداری فیزیکی امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب و در پایان نیز اثر نانوذله کیتوزان حاوی اسانس نعنای فلفلی بر پایداری امولسیون روغن آفتابگردان در آب بررسی شد.

## ۱-۱-۱ تخم آفتابگردان

### ۱-۱-۱-۱ تاریخچه و گیاه شناسی تخم آفتابگردان

تخم آفتابگردان<sup>۱</sup> برای اولین بار در آمریکای شمالی کشت شد، و به مرور زمان کشت آن در اروپا و آمریکای جنوبی رواج یافت. در گذشته از تخم آفتابگردان بو داده شده (سرخ شده) آرد تهیه می کردند. در سال ۱۵۶۹ میلادی به وسیله موناردس<sup>۲</sup> آفتاب گردان به اسپانیا آورده شد و سپس در قرن ۱۸ در روسیه کشت آن توسعه یافت، تخم آفتابگردان در آب و هوای معتدل اروپا، چین آمریکا و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی گراد کشت می شود. ارتفاع این گیاه به ۴-۲ متر و گاهی ۵ متر می رسد. هر گل آفتابگردان حاوی حدود ۱۰۰۰-۴۰۰۰ دانه می باشد و وزن ۱۰۰۰ تخم آفتابگردان آن حدود ۵۰-۱۵۰ گرم است (azadmard., ۲۰۰۹).

### ۱-۱-۱-۲ اهمیت اقتصادی تخم آفتابگردان

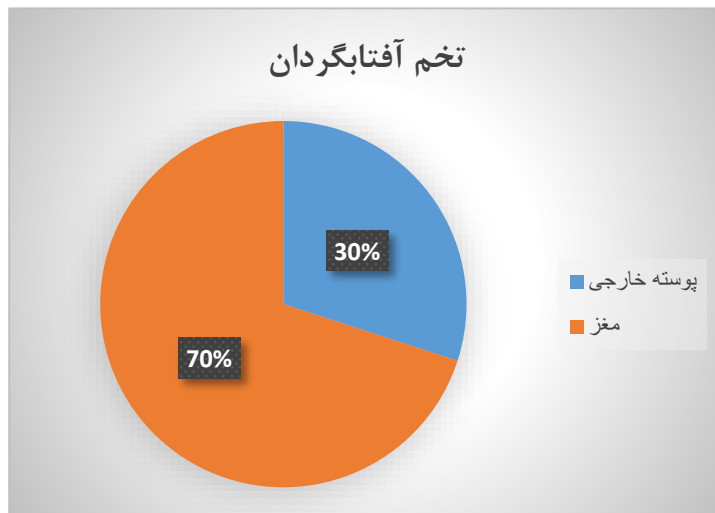
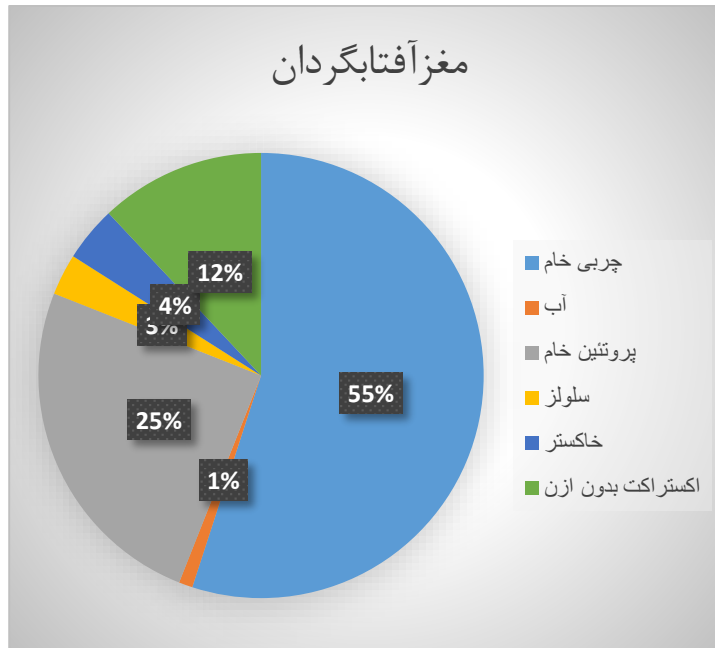
در ۲۰ سال گذشته کشت تخم آفتابگردان در جهان افزایش یافته است زیرا آن سرشار از اسیدهای چرب اشباع نشده است (در حدود ۶۵ درصد اسید لینولئیک) و از ارزش غذایی بالایی برخوردار است. در بازار مشترک اروپا کشت تخم آفتابگردان از سال ۱۹۶۰ الی ۱۹۸۶ میلادی روبه رشد بوده است ولی تولید جهانی آفتابگردان در دنیا متغیر است. در آمریکا در حدود ۷٪ میلیون تن تخم آفتابگردان (در سال ۱۹۸۸) تولید شده است که در سال ۲۰۰۰ میلادی تولید جهانی روغن آفتابگردان بالغ بر ۸ میلیون تن بوده است.

### ۱-۱-۱-۳ خصوصیات فیزیکی و شیمیایی تخم آفتابگردان

مغز تخم آفتاب گردان ۷۰ درصد از کل وزن آن را تشکیل می دهد. مغز آفتابگردان حاوی ۵۵ درصد روغن است که در نمودار (۱-۱) نشان داده شده می شود.

<sup>۱</sup> *Hilanthus annus*

<sup>۲</sup> monards



شکل ۱-۱ ترکیبات شیمیایی تخم و مغز آفتابگردان

#### ۴-۱-۱ کاربردهای تخم آفتابگردان

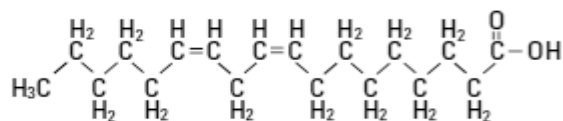
مغز آفتابگردان حاوی ۲۵ درصد پروتئین می باشد که برای خوراک دام بسیار حائز اهمیت است. بدلیل کمبود لیزین در پروتئین آفتابگردان از آن به ندرت در تغذیه ماکیان استفاده می شود اما در حال حاضر سعی می شود واریته هایی کشت شود که میزان پروتئین آنها بیشتر و وزن پوست خارجی آن کمتر باشد. البته پوسته تخم آفتابگردان حاوی بیش از ۸۰ درصد موم است که از آن به عنوان مواد سوختی استفاده می شود. حتی از آرد آفتابگردان در تغذیه انسان و نیز در تولید فراورده های آردی بهره می

گیرند، زیرا هضم این نوع فراورده بسیار آسان می باشد و رنگ مطلوبی نیز به آنها می دهد.

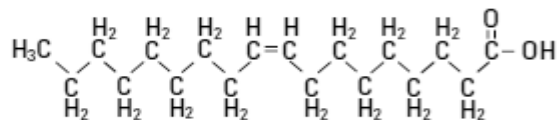
## ۱-۲ روغن آفتابگردان

همانطور که در شکل ۱-۲ دید می شود روغن آفتابگردان حاوی ۸۵ درصد اسیدهای چرب اشباع نشده (اسید لینولئیک و اسید اولئیک) است که ۶۶ درصد آنرا اسید لینولئیک تشکیل می دهد. در بعضی از واریته ها میزان اسید لینولئیک در مغز آفتابگردان تا ۶۹ درصد می رسد. میزان اسید چرب اشباع نشده لینولئیک در روغن آفتابگردان بستگی به آب و هوای و منطقه ای که آفتابگردان کشت می شود، دارد. میزان اسید چرب اشباع نشده روغن آفتابگردان که در شمال فرانسه بدست می آید ۲۰ درصد کمتر از روغن آفتابگردانی است که در جنوب آن کشور کشت می شود. میزان بالای اسید چرب غیر اشباع روغن آفتابگردان باعث شده این روغن در برابر اکسیداسیون ناپایدار باشد (فاطمی ۱۳۸۷).

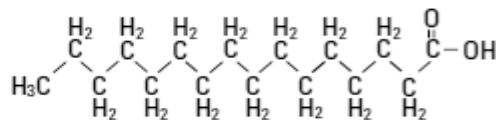
Linoleic acid  
C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>



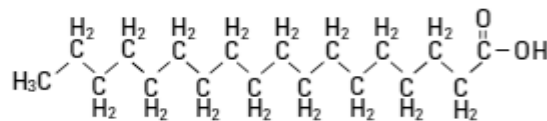
Oleic acid  
C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>



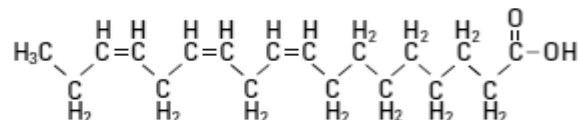
Palmitic acid  
C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>



Stearic acid  
C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>



Linolenic acid  
C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>



شکل ۱-۲ ساختار اسید چرب موجود در روغن آفتابگردان (فاطمی ۱۳۸۷).

## ۱-۲-۱ خصوصیات روغن آفتابگردان

خصوصیات دیگر روغن آفتابگردان عبارتند از: وزن مخصوص ۰/۹۱-۰/۹۰۵، گرم بر سانتیمتر مکعب، ضریب

شکست در ۴۰ درجه سانتیگراد ۱/۴۶۶-۱/۴۶۸، اندیس صابونی ۱۸۹-۱۹۴ و اندیس یدی ۱۴۵-۱۱۰، همچنین روغن آفتابگردان حاوی ۳/۵-۶/۵ درصد اسید پالمیتیک، ۱/۳-۳۰ درصد اسید استئاریک و ۴۰-۲۰ درصد اسید اولئیک می باشد.

### ۱-۳-۱ امولسیون

امولسیون، ترکیبی از دو فاز امتزاج ناپذیر است که یکی از فازها به شکل قطرات کروی در دیگری پراکنده است. امولسیون ها به طور قراردادی به دو دسته تقسیم می شوند:

- امولسیون روغن در آب (O/W): شامل قطرات فاز روغن پراکنده در فاز آبی است (به عنوان مثال شیر)
- امولسیون آب در روغن (W/O): شامل قطرات آب پراکنده در فاز روغنی است (به عنوان مثال کره)

فازی را که به صورت قطرات پراکنده در امولسیون بوده، فاز داخلی یا پراکنده و فاز دیگر که قطرات را احاطه کرده است، فاز پیوسته یا خارجی می گویند (Dickinson, ۲۰۱۰).

### ۱-۳-۱-۱ آماده سازی امولسیون

عملیاتی که در آن دو فاز امتزاج ناپذیر مجزا تبدیل به امولسیون می شوند، موسوم به هموژنیزاسیون یا همگن سازی است. در صنعت از همگن سازها<sup>۳</sup> برای نیل به این منظور استفاده می کنند. اندازه ذرات امولسیون روغن در آب معمولاً توسط فشار هموژنایزر کاهش می یابد. در مرحله همگن سازی، برای تبدیل فصل مشترک مجزای بین دو فاز آب و روغن، به فصل مشترک بین قطرات فاز پراکنده و پیوسته (برای بیشتر کردن سطح تماس بین دو فاز)، نیروی محرکه ای به سیستم اعمال می شود. از این رو،

---

<sup>۳</sup> Homogenizer

امولسیون ها در سطح تراز انرژی بیشتری نسبت به فازهای مجزای اولیه قرار می گیرند. به همین دلیل است که این سیستم ها از دیدگاه ترمودینامیکی ناپایدار هستند (Berton-Carabin et al., ۲۰۱۵).

### ۱-۳-۲ ویژگی های عمومی امولسیون ها

خواص و ویژگی های امولسیون فقط به خواص اجزای اصلی تشکیل دهنده آن وابسته نیست، بلکه براساس فرمولبندی امولسیون شکل میگیرد. به همین دلیل است که ویژگی های امولسیون باید حداقل در سه مرحله تولید، نگهداری و مصرف بررسی شوند. تعدادی از ویژگی های امولسیون ها شامل موارد زیر است:

### ۱-۳-۲-۱ انواع امولسیون و هدایت الکتریکی

یکی از مهمترین ویژگی های امولسیون که باید مورد بررسی قرار گیرد، نوع امولسیون است. با تعیین فاز خارجی امولسیون، نوع امولسیون تعیین می شود که به پارامترهای زیر بستگی دارد:

- گرانروی امولسیون
- ثابت دی الکتریک فاز پیوسته
- وزن مخصوص دو فاز
- نوع امولسیفایر
- pH امولسیون.

با توجه به این که در بسیاری از موارد فاز آبی امولسیون دارای الکترولیت ها است، بنابراین هدایت الکتریکی<sup>۴</sup> نیز دارند و از این خاصیت می توان برای تعیین نوع امولسیون استفاده کرد. به دلیل اینکه هدایت الکتریکی فاز روغن ۱۰۰ یا ۱۰۰۰ برابر کمتر از هدایت الکتریکی فاز آبی است، هدایت الکتریکی فاز روغنی در مقایسه به فاز آبی، صفر در نظر گرفته می شود.

---

<sup>۴</sup> Electrical conductivity



### ۱-۳-۲-۲ ظاهر<sup>۵</sup>

این عامل با اندازه ذرات، اختلاف در ضریب شکست<sup>۶</sup> دو فاز و جامدات، تغییر می کند. اگر دو فاز مشترک دهنده امولسیون دارای ضریب شکست یکسان باشند و یا اینکه قطر قطرات فاز پراکنده بسیار کوچک باشد (به طوری که به دلیل کوچکی بیش از حد قادر به تفریق نور نباشد)، شفافیت امولسیون پایداری بیشتری خواهد داشت.

### ۱-۳-۲-۳ پایداری امولسیون<sup>۷</sup>

به تغییرات خواص امولسیون با گذشت زمان، عنوان پایداری امولسیون به کار برده می شود. البته، انواع سازوکارهای فیزیکی و شیمیایی نیز وجود دارند که موجب تغییر خواص امولسیون می شوند. انواع سازوکارهای فیزیکی که بر پایداری امولسیون اثر میگذارند شامل:

- خامه ای شدن و ته نشینی
- لخته شدن
- به هم پیوستگی
- رسیدن استوالد

### ۱-۳-۳ نیروهای موثر در تشکیل امولسیون ها

#### ۱-۳-۳-۱ نیروهای الکترواستاتیکی

هنگامی که در یک محلول حاوی الکترولیت، ذرات باردار و دارای سطوح مشخص با یکدیگر تماس پیدا کنند، غلظت یون های دارای بار مخالف، بین سطوح ذرات افزایش می یابد. این پدیده موجب به وجود آمدن نیروی دافعه می گردد، که به صورت افزایش در فشار اسمزی ناحیه بین دو سطوح ذکر شده قابل

---

<sup>۵</sup> appearance

<sup>۶</sup> Refractive index

<sup>۷</sup> emulsion stability

مشاهده است. این نیروی تولید شده را معمولا نیروی الکترواستاتیک می نامند.

### ۱-۳-۳-۲ نیروهای واندروالسی

این نیروها، نیروهای ضعیفی هستند که در اثر اتصال های موقت بین مولکول ها و ذرات موجود در امولسیون ایجاد می گردند و به طور کلی به نام نیروهای واندروالس شناخته شده اند. وجود اینگونه نیروهای بین مولکولی از طرفی باعث جاذبه موقت بین مولکول ها گردیده و از طرف دیگر موجب دافعه بین مولکول ها می گردد.

### ۱-۳-۳-۳ نیروهای همپوشانی فضایی<sup>۸</sup>

هنگامی که دو اتم یا مولکول به یکدیگر نزدیک می شوند و ابرهای الکترونی آنها در هم فرو می رود، نیروی دافعه بسیار قوی، بین آنها به وجود می آید. اگر فاصله بین دو مولکول از مجموع شعاع هایشان کمتر باشد، در این صورت این نیرو، به سرعت افزایش پیدا می کند (Torabi et al. ۲۰۰۲).

### ۱-۳-۴ انواع امولسیون

#### ۱-۳-۴-۱ امولسیون معمولی (متداول)

امولسیون روغن در آب که برای افزایش پایداری این نوع امولسیون از امولسیفایر استفاده می شود. از انواع متنوع امولسیفایر می توان برای پایداری امولسیون استفاده کرد. دو نوع امولسیفایر استفاده شده در پایداری امولسیون :

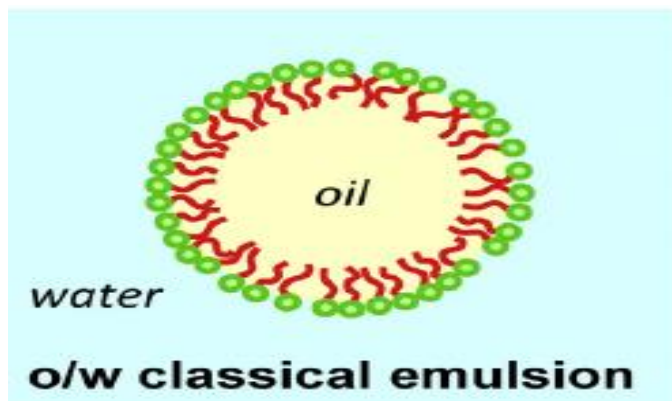
- سورفکتانت با وزن مولکولی پایین
- بیوپلیمر آمفیفیلیک

سورفکتانت با وزن مولکولی پایین دارای یک سر قطبی و دم غیرقطبی (آبگریز) می باشند، سر قطبی به سمت فاز پیوسته و دم غیرقطبی به سمت فاز پراکنده در سطح بین آب و روغن قرار گرفته

---

<sup>۸</sup> steric overlap

و مانع برهمکنش بین دو فاز می گردند. بیوپلیمرها شامل هیدروکلئید و پروتئین ها می باشند، که با ایجاد کشش سطحی پایین و ایجاد دافعه (الکترواستاتیک و فضایی) باعث پایداری امولسیون می شوند (شکل ۳-۱).



شکل ۳-۱ سطح امولسیون روغن و آب (Chevalier et all, ۲۰۱۳)

### ۱-۳-۴-۲ امولسیون چندگانه<sup>۹</sup>

امولسیونی که به صورت روغن در آب در روغن O/W/O و آب در روغن در آب W/O/W می باشد. به این ترتیب امولسیون آب در روغن در آب، امولسیونی است که شامل قطرات آب موجود در قطرات بزرگ روغن بوده که خود در فاز آب پراکنده است.

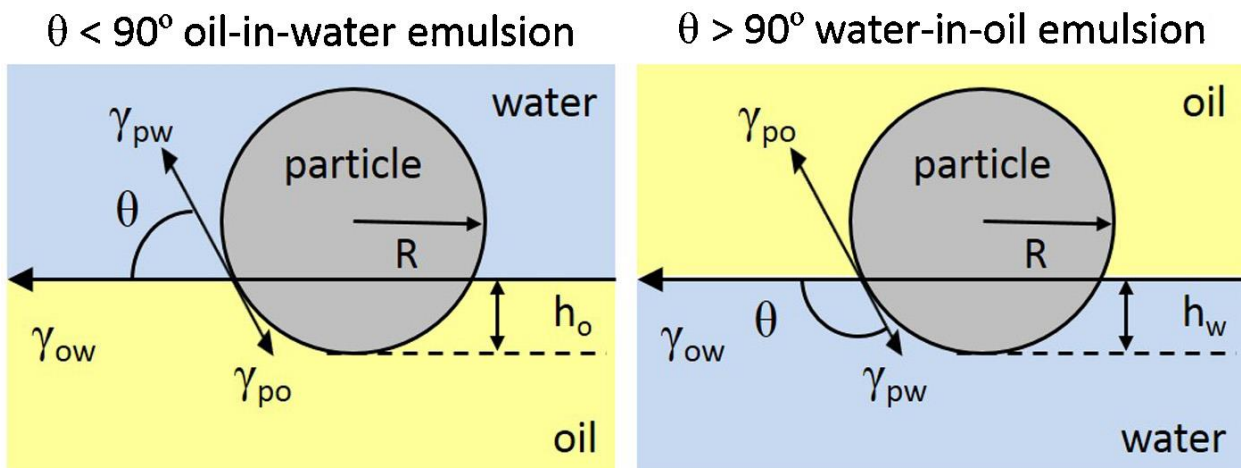
### ۱-۳-۴-۳ امولسیون پیکرینگ<sup>۱۰</sup>

امولسیون پیکرینگ ، امولسیونی است که برای پایداری آن از ذرات در اندازه نانومتر استفاده می شود. ذرات پایدارکننده که برای امولسیون پیکرینگ استفاده می شود شامل سیلیکا، آلومینا، واکس، ذرات رس، کتین، اکسید تیتانیوم و... می باشند. پایداری امولسیون پیکرینگ توسط ذرات مستلزم تر شوندگی ذرات با روغن و آب می باشد ذراتی که توسط روغن خیس می شوند برای امولسیون روغن در آب و

<sup>۹</sup> multiple emulsions

<sup>۱۰</sup> Pickering

ذراتی که توسط آب خیس می شوند، برای امولسیون آب در روغن کاربرد دارند. ترشوندگی ذرات بستگی به زاویه تماس سطح بین آب\_ذره\_روغن در هر دو امولسیون دارد به اینصورت که زاویه تماس امولسیون روغن در آب کمتر از  $90^\circ$  درجه و امولسیون آب در روغن بیشتر از  $90^\circ$  درجه می باشد (شکل ۱-۴).



شکل ۱-۴ سطح درجه امولسیون آب و روغن (Rayner et al., ۲۰۱۴).

امولسیون تثبیت شده با ذرات نسبت به امولسیونی که توسط سورفکتانت تثبیت شده، در برابر ادغام، خامه ای شدن، انبوهش، رسیدن استوالد و همچنین پایداری بالاتری در مقابل اکسیداسیون به دلیل جلوگیری از برهمکنش فازها در سطح بین دو فاز دارند. به اینصورت که ذره در سطح بین آب و روغن قرار گرفته (جذب شده) و با ایجاد مانع فیزیکی از برهمکنش بین قطرات جلوگیری می کند (Rayner et al., ۲۰۱۴).

دلایل استفاده از امولسیون پیکرینگ

۱. پایداری بالا در برابر ناپایداری های امولسیون
۲. غیرسمی بودن و عدم ایجاد مشکل برای سلامت انسان
۳. داشتن اندازه کوچک ذرات در حد نانومتر
۴. اقتصادی بودن ذرات (Berton-Carabin et al., ۲۰۱۵).

### ۱-۳-۴-۴ انواع ذرات امولسیون پیکرینگ

#### ۱-۳-۴-۴-۱ ذرات معدنی

بسیاری از تحقیقات انجام شده در مورد، امولسیون پیکرینگ بر پایه سیلیس بوده است. از دیگر ذرات در اندازه نانومتر می توان به سیلیکات های صفحه ای (به ویژه مونت موریلونیت و لاپونیت)، روی اکسید، تیتانیم دی اکسید، کلسیم کربنات و.. اشاره کرد. این ذرات در ابتدا به طور گسترده به عنوان پایدار کننده در امولسیون های غیر غذایی استفاده می شد. در سال ۲۰۰۷ توسط اسکاندر، سیلیکا به عنوان پایدار کننده در امولسیون غذایی معرفی شد (Claire et al, ۲۰۱۵).

#### ۱-۳-۴-۴-۲ ذرات بر پایه کربوهیدرات

ذرات نشاسته اصلاح شده دسته بزرگی از ذرات، بر پایه غذایی با پتانسیل بالا می باشد که در پایداری امولسیون پیکرینگ روغن در آب مورد استفاده قرار گرفته است. ذرات نشاسته به طور کلی آب دوست می باشند در نتیجه تغییرات شیمیایی، نشاسته آبدوست به نشاسته آبگریز تبدیل شده و از این رو باعث افزایش تمایل جذب در سطح بین روغن و آب می شود. اکتیل سوکسینیک اسید (OSA) در نتیجه اصلاح شیمیایی بر روی نشاسته ایجاد شده که باعث افزایش پایداری امولسیون پیکرینگ میگردد. (Rayner et al. (۲۰۱۲a) دریافتند که ۲-۳ درصد OSA از گرانولهای نشاسته کوپنا منجر به افزایش فعالیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون پیکرینگ شد. روشهای دیگر برای افزایش آبگریزی نشاسته، استفاده از مواد شیمیایی مختلف (مثل، استریفیکاسیون انهیدرید استیک و انهیدرید فتالیک) یا خشک کردن حرارتی ذرات می باشد (Rayner et al., ۲۰۱۲). از دیگر ذرات بر پایه کربوهیدرات استفاده شده در پایداری امولسیون پیکرینگ روغن در آب، میتوان به میکرو کریستال سلولز، نانو کریستال کیتین، پودر کاکائو و کیتوزان پوشش داده شده با آلژینات اشاره کرد.

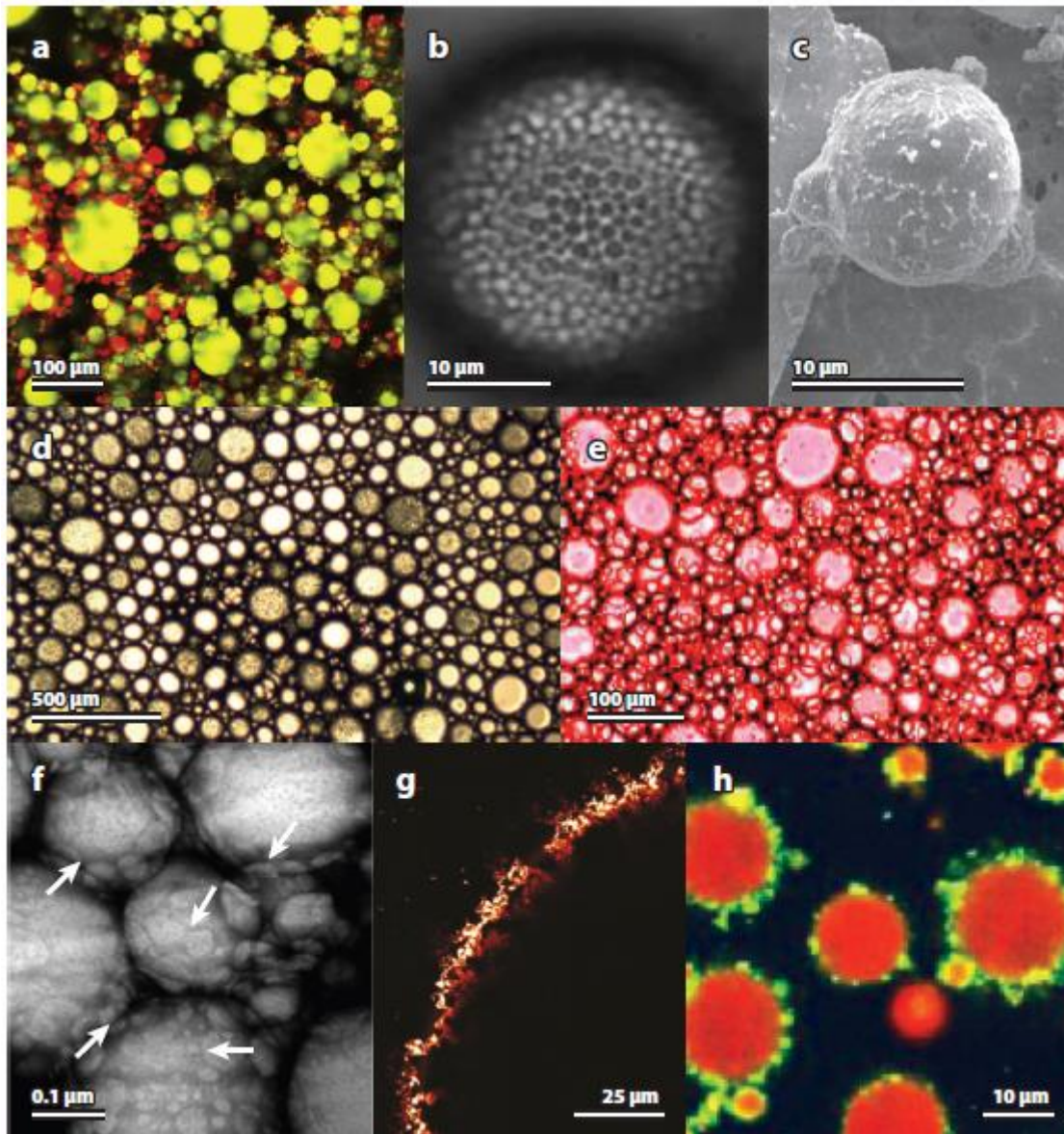
### ۱-۳-۴-۳ ذرات بر پایه پروتئین

انواع مختلف ذرات بر پایه پروتئین به طور موقت آمیز در پایداری امولسیون پیکرینگ روغن در آب به کار برده شده است. ذرات پروتئین ممکن از منابع مختلف (گیاهی و لبنی) بدست آید. پروتئینهای نسبتاً هیدروفوب مانند زئین و پروتئین سویا را می توان با عملیات ترمودینامیکی (امواج فراصوت، تکان دادن و حرارت دادن در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد) در فاز امولسیون پراکنده شوند. گرما دادن محلول پروتئین یک راه کارآمد برای آماده سازی توده از پروتئین محلول در آب است که می تواند به عنوان یک پایدارکننده برای امولسیون پیکرینگ روغن در آب استفاده کرد. به عنوان مثال ذرات لاکتوفرین یک پایدار کننده گی قوی در امولسیون پیکرینگ از خود نشان داند. پروتئینهای لبنی مثل کازئین و آب پنیر یکی از امولسیفایرهای عمده برای پایداری امولسیون پیکرینگ در صنعت غذا می باشند. تعدادی از مطالعات نشان داده که عملیات حرارتی بر روی پروتئین های آب پنیر باعث افزایش اثر امولسیفایری به دلیل افزایش در آبگریزی سطح شد (Liang et al., ۲۰۱۴).

### ۱-۳-۴-۴ ذرات بر پایه چربی

ذرات بر پایه چربی به شکل بلورهای چربی به عنوان پایدارکننده امولسیون پیکرینگ آب در روغن به رسمیت شناخته شده اند. آبگریزی نسبتاً بالای چنین ذرات باعث می شود در موقعیت سطح آب و روغن با زاویه بالاتر از ۹۰ درجه قرار گیرند. مکانیسم عمده پایداری امولسیون پیکرینگ آب در روغن توسط کریستال چربی بسته به درجه کریستالیزاسیون سطح تری گلیسرید فاز پیوسته و سپس جذب در قطرات آب در طول امولسیون کردن می باشد. چندین مطالعه، پتانسیل ذرات ساخته شده از ترکیب چربی دوست که به عنوان پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده می شود را مورد بررسی قرار

دادند (Tan et al., ۲۰۱۴). در شکل ۱-۵ انواع ذرات بر پایه غذایی نمایش داده شده است.



شکل ۱-۵ نمونه هایی از عکس میکروسکوپی امولسیون پیکرینگ حاوی ذرات بر پایه غذایی (a-d) ذرات بر پایه کربوهیدرات، e-d ذرات

بر پایه پروتئین و f-h ذرات بر پایه چربی (Berton-Carabin et al., ۲۰۱۵).

### ۱-۳-۵ پایداری امولسیون

تمام امولسیون ها از لحاظ سینتیکی ناپایدارند. به این مفهوم که با گذشت زمان تمایل دارند تا به حالت تعادلی برسند. منظور از تعادلی، جدایش کامل دو فاز آب و روغن است. پایداری امولسیون، مقدار مقاومت یک امولسیون در برابر تغییرات در خواص آن با گذشت زمان است. فرایندهای فیزیکی و

شیمیایی بسیاری به ناپایداری امولسیون منجر می شوند. فرایندهای فیزیکی و شیمیایی، به ترتیب در اثر تغییر ساختار فضایی و شیمیایی مولکول ها ایجاد می شود. از جمله فرایندهای فیزیکی می توان به بهم پیوستگی، لخته شدن و برگشت فاز اشاره کرد. در حالی که برای فرایندهای شیمیایی می توان به هیدرولیز و اکسایش اشاره کرد که این تغییرات در فرمولبندی مواد غذایی و دارویی بسیار اهمیت دارد (de Folter et al., ۲۰۱۲).

### ۱-۳-۵-الخته شدن

قطرات در امولسیون به دلیل وجود انرژی حرارتی، نیروهای جاذبه ای و نیروهای مکانیکی اعمال شده در سیستم، به طور دائم در حال حرکت هستند. در نتیجه دو یا چند قطره برای تشکیل یک توده به هم نزدیک می شوند و هر قطره ویژگی خودش را به شکل اولیه یک قطره، در توده حفظ می کند.

### ۱-۳-۵-۲ به هم پیوستگی

فرایند به هم پیوستگی، زمانی رخ می دهد که قطرات موجود در امولسیون به هم بسیار نزدیک شوند و توده ای را ایجاد کنند. یعنی قطرات اولیه پس از الحاق به یکدیگر، به یک قطره بزرگتر تبدیل می شوند. در واقع، غشای محافظ ایجاد شده به وسیله امولسیفایر بر روی سطح قطره گسیخته می شود و امکان به هم پیوستگی قطرات را فراهم می کند.

### ۱-۳-۵-۳ ته نشینی یا خامه ای شدن

پدیده ته نشینی و خامه ای شدن در امولسیون در نتیجه دو فرایند است:

- وجود تفاوت در چگالی قطره با مایع احاطه کننده قطره، به این صورت که اگر چگالی قطره از فاز پیوسته کمتر باشد. پدیده خامه ای شدن روی می دهد. همچنین اگر چگالی قطره بیشتر از چگالی فاز پیوسته باشد، پدیده ته نشینی رخ خواهد داد.
- وجود اختلاف چگالی توده حاصل از فرایند لخته شدن و یا به هم پیوستگی با چگالی فاز پیوسته در امولسیون، با پدیده های ته نشینی و یا خامه ای شدن مواجه خواهیم شد. به این صورت که



اگر چگالی فاز پیوسته از چگالی توده کمتر باشد، پدیده ته نشینی و در غیر این صورت، پدیده خامه ای شدن رخ خواهد داد.

### ۱-۳-۵-۴ رسیدن استوالد

فرایند استوالد بیشتر در امولسیون هایی با توزیع اندازه قطرات بسیار متنوع روی می دهد. برخورد بین قطره به ایجاد یک قطره بزرگتر و یک قطره کوچکتر منجر می شود. در نتیجه، قطرات ریز، کوچکتر و به تدریج در فاز پیوسته حل می شوند یا اینکه روی سطح فاز آبی قرار می گیرند.

### ۱-۳-۵-۵ برگشت فاز

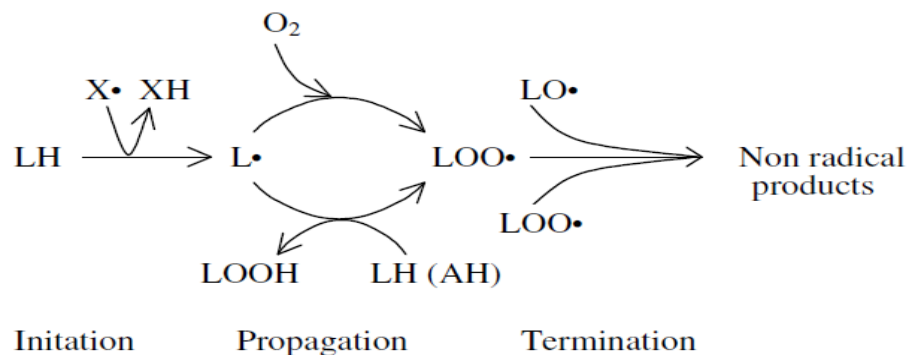
برگشت فاز، فرایندی است که در امولسیون روغن در آب به آب در روغن تبدیل می شود. برگشت فاز می تواند به دلایل مختلفی ایجاد شود:

- تغییر در شکل هندسی مولکول فعال کننده سطحی
- متبلور شدن چربی در امولسیون (ترابی زاده، ۱۳۸۱).

### ۱-۳-۵-۱۶ اکسیداسیون چربی

اکسیداسیون چربی ها از مهمترین دلایل عمده در فساد مواد غذایی می باشد. اکسیداسیون چربی های غیر اشباع باعث ایجاد تغییر رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه ای می گردد. در غذاها این واکنش می تواند منجر به فساد و از دست رفتن ارزش تغذیه ای (از طریق نابودی ویتامین های ای، دی، ای بی و اسیدهای چرب ضروری) و ایجاد ترکیبات سمی و محصولات رنگی گردد. در امولسیون روغن در آب، قطرات روغن در فاز آب پراکنده شده و به وسیله امولسیفایر و سورفکتانت در امولسیون تثبیت شده اند. فاکتورهایی تاثیر گذار بر روی اکسیداسیون چربی امولسیون شامل، ساختار مولکولی قطرات چربی، دما، فعالیت آبی، اکسیژن، آنتی اکسیدان و پراکسیدان (فلزات واسطه) در سیستم می باشد. همانطور که در شکل ۶-۱ دیده شده است مکانیسم عمده که باعث ایجاد اکسیداسیون چربی در امولسیون می شود برهمکنش بین هیدروپراکسید چربی موجود در سطح قطره و فلزات واسطه (موجود در فاز آبی)، که باعث شکستن

هیدروپراکسید چربی به رادیکال های فعال آزاد، مانند رادیکال های الکوسیل و پروکسیل می شود، می باشد. یکی از روشها برای افزایش پایداری اکسیداسیون چربی در امولسیون جلوگیری از برهمکنش بین آهن و هیدروپراکسید است. عواملی موثری که میتواند بر توانایی آهن تاثیرگذار باشد موقعیت فیزیکی پروکسیدان در فاز پیوسته و خصوصیات سطح بین قطرات (مثل، بار، ضخامت و ...) می باشد (Atarés, et al, ۲۰۱۲).



شکل ۱-۶ تصویر شماتیک از فرایند اکسیداسیون چربی (McClements et al, ۲۰۱۵)

آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که باعث تاخیر یا کاهش اکسیداسیون می شوند. اثر آنتی اکسیدان ها با مهار تشکیل رادیکال آزاد در مرحله آغازین یا قطع زنجیره رادیکال آزاد در مرحله انتشار می باشد (Kargar et al, ۲۰۱۱). آنتی اکسیدان ها ممکن است به صورت یک عامل درونی در داخل غذا وجود داشته باشند یا آنکه برای جلوگیری از افت کیفیت ترکیبات لیپیدی غذاها به آنها اضافه شوند. افزودن آنتی اکسیدان سنتزی مانند BHA, BHT, TBHQ می تواند اکسیداسیون چربی را در مواد غذایی کنترل کند. اما استفاده از این آنتی اکسیدان های سنتزی به دلیل خطراتی که در سلامتی انسان دارند و به دلیل سمیت احتمالی آنها محدود شده است. ترکیبات فنولی که به طور معمول در منابع خوراکی و غیرخوراکی یافت می شوند، دارای اثرات بیولوژیکی چند گانه ای مانند فعالیت آنتی اکسیدانی هستند. عصاره میوه ها، علف ها، سبزیجات و غلات و سایر مواد گیاهی که غنی از ترکیبات فنولی هستند، در صنعت مواد غذایی بسیار قابل توجه شده اند، به این دلیل که قادرند تغییرات اکسیداتیو چربی ها را آهسته کرده بنابراین کیفیت و ارزش تغذیه ای مواد غذایی را بهبود بخشند. بنابراین اهمیت جایگزین

کردن مواد طبیعی بدست آمده از دانه های روغنی، ادویه جات و سایر مواد گیاهی به جای آنتی اکسیدان های سنتزی بسیار افزایش یافته است. تحقیقات و مطالعه های انجام شده نشان می دهند عصاره های بدست آمده از منابع طبیعی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی می باشند (Ahmed et al, ۱۹۹۹).

#### ۱-۴-۱ نانوفناوری

نانوفناوری عموماً بعنوان درک کنترل ماده در ابعاد نانو، تقریباً ۱۰۰-۱ نانومتر، جایی که پدیده ها، کاربردهای جدید پیدا میکنند تعریف میشود. یک نانو ماده، یک نهاد جداگانه است که در یک یا چند بعد دارای ابعاد ۱۰۰ نانومتر یا کمتر میباشد. خواص فیزیکوشیمیایی (از جمله رنگ، حلالیت، ویسکوزیته، ضریب انتشار، قدرت مواد و سمیت) و خواص بیولوژیکی ساختارها و سیستم ها در ابعاد نانو، در مقایسه با همتایان ماکرو اندازه، مربوط به بر همکنش تک اتمها و مولکولها بوده که منجر به حصول کاربردهای جدید و بی همتا می شود. به این دلیل آنها در انواع زمینه ها از قبیل الکترونیک، کامپیوتر و منسوجات و صنعت داروسازی بسیار قابل توجه هستند. کاربرد نانوتکنولوژی در صنعت غذا بعلاوه ساختار پیچیده و حساسیت آن، نسبت به سایر زمینه ها به آهستگی توسعه یافته است. برخی از کاربردهای آن در صنعت غذا، بهبود جذب و قابلیت دسترسی به مواد مغذی و مکملها در بدن، تولید طعم های جدید یا بهبود طعم و بافت غذا، بهبود مواد بسته بندی غذا و توسعه نانوسنسورهای است که میتوانند اطلاعاتی در مورد تازگی یا فساد محصولات در هنگام نقل و انتقال بدهند. بر طبق این پارامترها، کاربرد نانوتکنولوژی در صنعت غذا بر پایه فرآیند شیمیایی بین مواد موجود در غذا، مواد بسته بندی غذا و نانو مواد بعنوان مسئول واکنشهای شیمیایی است (Livney, ۲۰۱۵).

#### ۱-۴-۱-۱ نانو فناوری در صنایع غذایی

مطالعه غذاهای نانساختار و کاربرد نانوفناوری در جنبه های گوناگون علم غذا و فناوری در شروع هزاره سوم سرعت گرفته است و در حال حاضر، در حوزه تحقیقات مشروع مربوط به علم غذا قرار دارد. مزایای

بالقوه کاربرد نانوتکنولوژی در غذا شامل بسیاری از جنبه ها از جمله مواد بسته بندی، سیستم تحویل موثر مواد مغذی، فرمولاسیون با توانایی زیستی بهبود یافته و ابزار جدید در بیولوژی سلولی-مولکولی می باشد.

یکی از کاربردهای فناوری نانو در فرآوری مواد غذایی، پوشش دهی ترکیبات فعال و مغذی با پوشش های خوراکی با اندازه نانو و میکرو و افزودن این ذرات به مواد خوراکی است. انواع نانو در مقایسه با سیستم تحویل ماکرو، دارای مزایای چندی است.

#### ۱-۴-۱-۱ نانوذرات

ذرات بیوپلیمری در مقیاس نانو توجه زیادی را در توسعه فرمولاسیون جدید برای سیستم کنترل رهایش و افزایش پایداری اسانس های روغنی بخود جلب کرده اند. نانو ذرات پلیمری به دو گروه طبقه بندی میشوند: نانوکپسول و نانواسفر

نانوکپسول دارای دیواره پلیمری است که روغن در مرکز آن قرار می گیرد، در حالیکه در نانواسفر روغن میتواند با دیواره پلیمری یا ماتریکس کونژوگه شود (Yanget al., ۲۰۱۴).

#### ۱-۴-۱-۲ نانو انکپسولاسیون

نانوانکپسولاسیون بعنوان یک تکنولوژی که پتانسیل زیادی برای حل مسائل دارد هدفمند شده است. نانو انکپسولاسیون یکی از شاخه های نانوتکنولوژی است، که اخیراً از طرف محققین خصوصاً، در زمینه داروسازی و بیوتکنولوژی بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

از چنین مطالعاتی برای استفاده کلینیکی در زمینه های تشخیص، تحویل دارو، وسایل پزشکی و تصویر برداری استفاده شده است (Mitra et al., ۲۰۰۳). نانوکپسولاسیون شامل استفاده از نانو حامل ها برای درونپوشانی کردن مواد یا مولکولهای حساس است، که باعث حفاظت آنها از فاکتورهای محیطی نظیر pH، اکسیژن، نور و ... میشود. همچنین مولکولهای فرار با این روش پایدار مانده و باعث حفاظت آنها از تغییرات اکسیداتیو، نوری و فراریت میشود (Jain., ۲۰۰۳).

#### ۱-۴-۱-۲ مزایای انکپسولاسیون

مزایای انکپسولاسیون شامل موارد زیر است:

۱- کاهش واکنش پذیری مواد هسته به محیط (نور، گرما و آب)

۲- کاهش تخریب یا تغییر مواد هسته

۳- افزایش فرآیند جابجایی آسان تر

۴- کنترل رهایش مواد فعال

۵- پوشاندن طعم مواد هسته (Raemdonck et al., ۲۰۰۹).

#### ۱-۴-۲ نانوژل

نانوژل ها اغلب بعنوان ذرات هیدروژلی در اندازه نانو بوده، که توسط پیوندهای شیمیایی یا فیزیکی آبدوست یا شبکه پلیمری آمفی فیلیک تعریف میشوند، و بصورت ژل های کلونیدی در محیط آبی هستند. نانوژل ها ساختار مشابه با هیدروژل هایی نظیر ژل های جاذب آب و انعطاف پذیر شبیه بافت طبیعی دارند. گزارش شده که نانوژل ها دارای ظرفیت بارگیری بالا، مقاومت بالا و پاسخ به شرایط محیطی نظیر محیط یونی قوی، pH و حرارت هستند (Massoud et al., ۲۰۰۹). بعلاوه نانوژل ها خواص قابل توجهی دارند که میتوانند به تحریکات محیطی برای رها کردن سیستم تحویل پاسخ دهند. دو روش برای ساخت نانوژل ها :

۱- تولید خودبخودی

۲- پیوندهای شیمیایی

مکانیسم تولید خودبخودی به دودسته تقسیم میشود :

- سیستم تک ترکیبی که از پلی ساکارید و یا مشتقات آن تشکیل شده است، و شامل واکنشهای هیدروفوبیک یا باندهای هیدروژنی است.
- سیستم چند ترکیبی که حداقل یک مولکول دیگر در آن شرکت میکند و شامل باندهای هیدروژنی بین پلی ساکارید و دیگر مولکول هاست. در هر دو مورد نیروهای واندروالسی در فرآیند

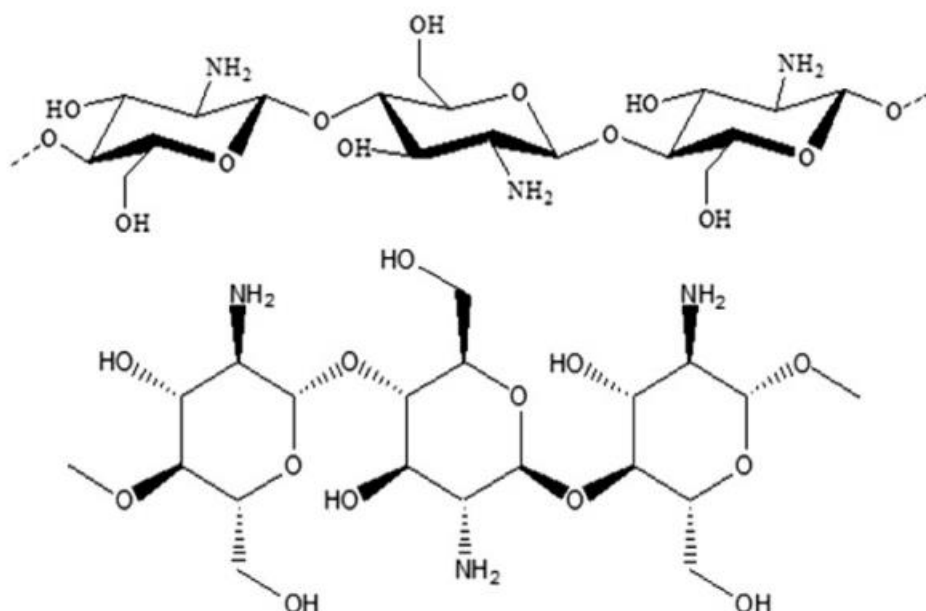
شرکت می کنند ولی نقش مهمی ندارند. نانوزل ها بعنوان یکی از موثرترین نانوحامل ها شناخته شده اند. در سال ۲۰۰۰ میلادی لغت نانوزل توسط اتحادیه بین المللی شیمی محض و کاربردی (IUPAC) تعریف شد. در مقایسه با سایر نانوحامل های پلیمری، نانوزل ها میتوانند مقدار زیادی آب و مواد زیستی را با شبکه ۳ بعدی پلیمری خود نگه دارند. نانوزل ساخته شده از کیتوزان بعلت توانایی در درونپوشانی کردن انواع مختلفی از داروها، مولکول های ریز، پپتیدها، پروتئین ها و ... ، تنظیم سرعت رهایش، افزایش کارایی و بهبود عملکرد انتخابی در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته است (Niu et al., ۲۰۱۴).

## ۵-۱ کیتوزان

کیتوزان، پلی مر بتا (۱و۴) ان-استیل دی گلوکزآمین است که از استیل زدایی کتین استخراج شده از سخت پوستان، حشرات و قارچ ها تولید می شود (Sánchez-González et al., ۲۰۱۱). کیتین همانند سلولز از دسته پلی ساکاریدهایی است که به صورت طبیعی نقش ساختمانی بر عهده دارد و فرمول شیمیایی آن بسیار شبیه سلولز است. کیتین ساختاری کریستالی، سخت و سفید رنگ دارد که به وفور در پوسته سخت پوستان، حشرات و میسلیوم قارچ ها یافت می شود. کیتوزان یکی از مهم ترین مشتقات کتین است که در نتیجه واکنش حذف گروه استیل از کتین به دست می آید. معمولا کیتوزان به کیتینی که بیش از ۵۰ درصد گروه های استیل آن حذف شده گفته می شود. کیتوزان بر خلاف ترکیبات پلیمری مصنوعی ضمن سازگاری با بافت های زنده، غیر سمی بوده و در طبیعت قابل تجزیه می باشد. لازم به ذکر است که ساختار آن در شکل ۱-۷ آمده است. استفاده از کیتوزان به عنوان یک ماده افزودنی در ژاپن و کره به ترتیب از سالهای ۱۹۸۳ و ۱۹۹۵ مجاز اعلام شده است و امروزه در ژاپن در غذاها یی مثل سس سویا، کلم چینی و ساردین ها به کار می رود. اثر کیتوزان در ثبات اکسیداتیو گوشت توسط ایزومی کوتو (۱۹۹۴) مشاهده شده که با افزودن ۱٪ از آن منجر به کاهش ۷۰٪ در ۲- تیوباربتوریک اسید بعد از ۳ روز نگهداری گوشت در طول فرایند حرارتی، آزاد می شود (Nasr et al., ۲۰۰۹).

## ۱-۵-۱ کاربردهای مختلف کیتوزان

- کاهش پاتوژن های غذایی
- قادر به تشکیل فیلم نیمه نفوذپذیر
- به عنوان حامل دارویی و هورمونی
- به عنوان نگهدارنده در صنایع غذایی
- افزایش ماندگاری مواد غذایی



شکل ۱-۷ ساختار مولکولی کیتوزان (Yang et al., ۲۰۱۴).

## ۱-۶ گیاهان دارویی

در گیاهان ترکیبات شیمیایی زیادی مانند متابولیت‌های ثانویه وجود دارد، که دارای خواص زیست‌فعال و بیوشیمیایی بسیاری هستند. این ترکیبات ثانویه در صنایع مختلف دارویی، شیمیایی، آرایشی و بخصوص صنعت غذا کاربرد دارند. بنابراین می‌توان با پیوند دادن گیاهان دارویی و خواص سلامتی بخش آنها با صنعت غذا، نه تنها سلامت مصرف‌کننده را تضمین کرد، بلکه با وجود ترکیبات معطر در ترکیبات ثانویه گیاه، باعث بهبود عطر و طعم غذا و رضایت‌مندی مصرف‌کننده شد (Nasr et al.,

### ۱-۶-۱ اهمیت گیاهان دارویی

در حال حاضر موضوع تولید و مصرف گیاهان دارویی در کشورهای صنعتی و توسعه یافته در حال احیاء است. محاسبه دقیق مقدار مصرف سالیانه گیاهان دارویی در جهان مشکل است، زیرا از گیاهان دارویی به اشکال ناشناخته متفاوتی استفاده می شود و اطلاعات جامعی نیز در این مورد وجود ندارد.

### ۱-۶-۲ کاربرد گیاهان دارویی

۱- از مواد مؤثره به صورت مستقیم یا غیر مستقیم برای اثرات درمانی استفاده میشود.  
۲- از مواد مؤثره فعال موجود در این دسته از گیاهان در صنایع نوشابه سازی، کنسرو سازی و... به منظور بهبود در طعم، رنگ و مزه آنها استفاده میشود.

مسئله دارویی بودن گیاهان همیشه امری در حال تغییر است. به طوری که گیاهی که تا دیروز به عنوان گیاه غیر دارویی شناخته می شده، ممکن است فردا به عنوان یک گیاه مهم و ارزشمند معرفی گردد و به عکس، گیاهی که تا امروز به عنوان گیاه دارویی در بین عوام شهرت داشته و مورد استفاده قرار می گرفته ممکن است در بررسی های علمی روز، یک گیاه فاقد ارزش دارویی شناخته شود. تا کنون تنها خصوصیات دارویی حدود سی هزار گونه از ششصد هزار گونه گیاهی جهان شناخته شده است.

### ۱-۷ اسانس

گیاهان قادر به ساختن دو نوع از روغنها هستند: روغن های تثبیت شده و روغنهای اسانسی. روغنهای تثبیت شده شامل استرهای گلیسرول و اسید چرب ( تری گلیسرید یا تری گلیسرول ) بوده، در حالیکه روغنهای اسانسی مخلوطی از ترکیبات فرار و ارگانیک مشتق شده از یک منبع گیاهی است که در عطر و طعم آن گیاه دخالت دارند. روغنهای اسانسی باید از یک گونه گیاهی تقطیر شوند و هیچ یک از مواد آن نباید در طول تقطیر حذف شده و یا موادی به آن افزوده شود. اگرچه بیشتر ترکیبات دست نخورده باقی می مانند، ولی مقدار بسیار کمی دستخوش تغییرات شیمیایی میشوند. روغنهای اسانسی از



قسمتهای مختلف گیاه بدست می آید نظیر: گل (رز)، برگ (نعناع)، میوه (لیمو)، دانه (رازیانه)، ریشه (خس خس)، ریزوم (زنجبیل)، چوب (سدار)، پوست (دارچین) و جوانهگل (میخک). اسانسها معمولاً در دمای محیط مایع و اغلب آنها بی رنگ هستند. تعداد کمی از آنها رنگهای تیره دارند، مانند کامومایل که آبی رنگ میباشد (Burt et al., ۲۰۰۸).

روش‌های مختلفی برای تهیه اسانس‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. متداول ترین روش تولید اسانس در صنعت، روش تقطیر است. اسانس گیری بوسیله دی اکسید کربن مایع تحت درجه حرارت پایین و فشار بالا بازده بیشتری دارد اما بسیار پرهزینه است.

## ۲-۷-۱ خواص کاربردی اسانس ها

اسانس ها و ترکیبات آنها خواص کاربردی زیادی دارند و تاثیر خوبی در برابر ارگانیزم ها ( قارچ ها ، باکتریها و ویروسها ) دارند. اثرات سینرژیستی ترکیبات اسانس زمینه امید بخشی است که میتواند منجر به بهینه سازی خاصیت زیستی آن شود. اسانس ها مخلوطی از ترکیبات پیچیده هستند که نسبت به ترکیبات خالص فعالیت شیمیایی بالاتری دارند و این بعلت اثر ترکیبات کم مقدار آنهاست (Bassolé et al., ۲۰۱۲). اسانس های روغنی چربی دوست هستند به این ترتیب میتوانند براحتی وارد سلول شده، غشای آن را تخریب کرده و یا آن را نفوذپذیر کنند. مهمترین علامت نفوذپذیری غشاء، خروج یونها و کاهش پتانسیل، تخریب پمپ پروتون و کاهش ATP است (Bakkali et al., ۲۰۰۸).

## ۱-۷-۲ نعناع فلفلی

نعناع فلفلی با نام علمی<sup>۱۱</sup> و نام رایج<sup>۱۲</sup> از تیره نعناعیان و متعلق به خانواده<sup>۱۳</sup>، گونه ای هیبریدی است. نعناع فلفلی گیاهی است چند ساله، با ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی متر، دارای ساقه چهارگوش که معمولاً ارغوانی رنگ و صاف است. برگ ها کوتاه، تخم مرغی کشیده و دانه دار هستند. گلها صورتی رنگ پریده

<sup>۱۱</sup> Mentha piperita

<sup>۱۲</sup> Peppermint

<sup>۱۳</sup> Lamiaceae

که در فصل تابستان ظاهر می شوند. تولید جهانی اسانس نعناع فلفلی حدود ۸۰۰۰ تن در سال است. نعناع فلفلی محتوی ۱,۲ تا ۱,۵ درصد روغن های فرار است که ۳۰ تا ۷۰ درصد آن را منتول و استرهای منتول و بیش از ۴۰ ترکیب دیگر تشکیل می دهد، در شکل (۱-۸) گیاه نعناع فلفلی نشان داده شده است.



شکل ۱-۸ نعناع فلفلی

#### ۱-۲-۷-۱ اسانس نعناع فلفلی

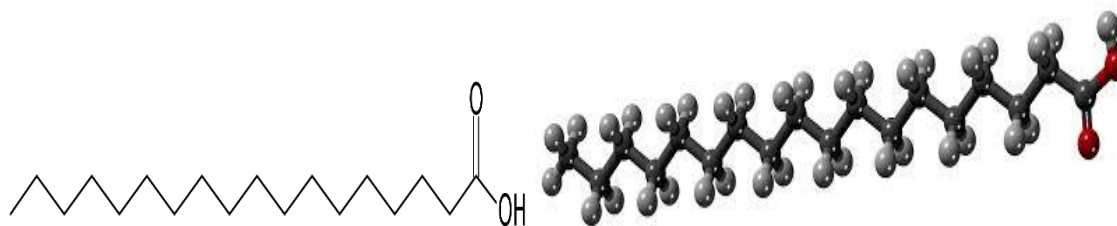
در بین اسانسهای روغنی، اسانس نعناع فلفلی بطور گسترده ای برای نگهداری مواد غذایی در صنعت غذا مورد استفاده قرار میگیرد. اسانس گیاه جهت مصارف دارویی از قسمت های هوایی گیاه در آغاز مراحل گل دهی و با روش تقطیر با بخار آب به دست می آید و به گونه ای استاندارد می شود که حاوی ۴۴ درصد منتول، ۱۵ تا ۳۰ درصد منتون و ۵ درصد استر به علاوه انواع ترپنوئیدها باشد. سایر ترکیباتی که در اسانس نعناع فلفلی یافت می شوند، شامل فلاونوئیدها (۱۲ درصد)، پلی فنل های پلیمریزه شده (۱۹ درصد)، کاروتن، توکوفرول، بتایین و کولین می باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریایی و قارچ کشی ترکیبات نعناع فلفلی در تحقیقات گذشته گزارش شده است (alandi et al., ۲۰۱۰).

#### ۸-۱ اسید استئاریک

اسید استئاریک (۱۸:۰) یک اسید چرب اشباع شده با نام رسمی اسید اکتا دکانوئیک<sup>۱۴</sup> در طبقه بندی آیوپاک<sup>۱۵</sup> می باشد. این ترکیب مومی شکل و جامد بوده و فرمول شیمیایی آن  $C_{18}H_{36}O_2$  می باشد. این ترکیب در بسیاری از چربی ها و روغن های حیوانی و نباتی یافت می شود، اما در مجموع در چربی های حیوانی بیشتر از چربی های گیاهی موجود است.

### ۱-۱-۱ کاربرد های اسید استئاریک

اسید استئاریک به عنوان یک عنصر در ساخت شمع، پلاستیک، مکمل های غذایی، پاستیل های روغنی و مواد آرایشی، و همینطور برای نرم کردن لاستیک، بسیار مفید و سودمند است. همچنین از اسید استئاریک جهت سخت کردن صابون ها، و به خصوص صابونهایی که با روغن نباتی ساخته می شوند نیز، استفاده می شود. ساختار اسید استئاریک در شکل (۱-۹) نشان داده شده است (Zock et al, ۱۹۹۲).



شکل ۱-۹ اسید استئاریک

<sup>۱۴</sup> octadecanoic  
<sup>۱۵</sup> IUPAC



## فصل دوم

مروری بر

پژوهش‌های

پیشین

## ۲-۱ پژوهش های مربوط به پایداری امولسیون پیکرینگ

- کدخدایی و همکاران (۱۳۹۰)، به بررسی برخی از عوامل موثر (Tween ۸۰، pH) و یون کلسیم) بر ویژگی های امولسیون لیمونین در آب تثبیت شده با کازئینات پرداختند، نتایج نشان داد که امولسیون تثبیت شده با ۱۰٪ کازئینات سدیم از قطرات کوچکتر با عدد اسپان های کمتر و توزیع اندازه ذرات باریکتر نسبت به غلظت های پایین تر برخوردار بود.
- یوسفی و همکاران (۱۳۹۱)، تاثیر میزان صمغ فارسی، روغن، پروتئین و pH بر پایداری امولسیون تهیه شده با فراصوت مورد تحقیق قرار دادند. نتایج نشان داد در امولسیون فاقد پروتئین، فاز محلول صمغ فارسی توانایی کاهش کشش سطحی را نداشت و فقط در غلظت های بیش از ۰٫۵ درصد، احتمالاً از طریق افزایش گرانروی، به پایداری امولسیون کمک کرد.
- کریمی و همکاران (۱۳۹۱)، به تحقیق در مورد کاربرد هیدروکلوئیدها در پایدار سازی سیستم های امولسیونی پرداختند که هدف این مطالعه، بررسی عوامل ناپایداری و سازوکارهای پایدارسازی این سیستم ها بود. نتایج نشان داد حضور گروه های عاملی کمکی (متیل و استر) در ساختار برخی پلی ساکاریدها خاصیت فعال سطحی بودن به آنها می دهد و باعث افزایش پایداری می شود.
- حسینی و همکاران (۱۳۹۲)، به بررسی اثر صمغ دانه بالنگو شیرازی و پرتئین آب پنیر بر پایداری امولسیون روغن در آب پرداختند. ویژگی های امولسیون نظیر قطر متوسط ذرات، پتانسیل زتا، کشش سطحی و کشش بین سطحی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت صمغ از صفر به ۰٫۱۵ درصد، باعث کاهش دراندازه ذرات شد.
- همایونفال و همکاران (۱۳۹۲)، آماده سازی و ارزیابی ویژگی های امولسیون های تهیه شده

بر پایه روغن گردو به روش سطح پاسخ را انجام دادند. نتایج نشان داد با افزایش روغن گردو اندازه ذرات امولسیون افزایش یافت در نتیجه باعث ناپایداری امولسیون شد.

➤ صادقیان و همکاران (۱۳۹۲)، اثر کونژوگه پروتئین آب پنیر-نشاسته بر شاخص های کیفی امولسیون روغن در آب را مورد تحقیق قرار دادند. نتایج نشان داد که منحنی توزیع اندازه قطرات برای همه نمونه ها تک قله ای و تقریبا نرمال بود و در نسبت وزنی ۱:۱ به صورت کاملا باریک و با کمترین پهنا دیده شد.

➤ رایبر و همکاران (۲۰۱۱)، از نشاسته کوینا برای پایداری امولسیون استفاده کردند. در این تحقیق، از نشاسته به اندازه ۱ تا ۳ میکرومتر که با اکتینیل سوکسینیک انهیدرید اصلاح شده بود برای تولید امولسیون پیکرینگ استفاده شد. نتایج عدم خامه ای شدن و پایداری بالاتر به مدت یک هفته را نشان داد.

➤ ماریا و همکاران (۲۰۱۱)، درباره امولسیون روغن در آب پایدار شده توسط ذرات نانوکریستال کیتین تحقیق کردند. در این تحقیق، نانو کریستال کیتین توسط هیدرولیز اسیدی تولید و امولسیون با استفاده از هموژنایزر آماده شد. نانو کریستال کیتین استفاده شده در امولسیون در برابر ادغام پایدار و باعث افزایش پایداری امولسیون شد.

➤ انا و همکاران (۲۰۱۱)، در تحقیقی از ذرات نشاسته برای پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده کردند. در این تحقیق از گرانول های نشاسته با اندازه ۲-۱ میکرومتر و در غلظت های مختلف بکار بردند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت، اندازه ذرات کاهش یافت و باعث افزایش پایداری امولسیون پیکرینگ روغن در آب شد.

➤ در تحقیقی انیدا و همکاران (۲۰۱۱)، از گرانول نشاسته اصلاح شده به عنوان پایدارکننده برای امولسیون روغن در آب استفاده کردند. نتایج افزایش در جلوگیری از ادغام و کاهش در اندازه ذرات به مدت ۳ ماه را نشان داد.

➤ یانگ تان و همکاران (۲۰۱۲)، تحقیق کردند که از ذرات نانوکره بر پایه نشاسته می توان به

عنوان پایدارکننده در امولسیون پیکرینگ بهره جست. نشاسته توسط انهیدریداستیک اصلاح شد و در اندازه نانو تولید شد. نتایج توسط میکروسکوپ الکترونی، جذب نانوکره نشاسته را در سطح بین روغن و آب نشان داد.

- کاپرون و همکاران (۲۰۱۲)، نانو کریستال سلولز را به عنوان پایدارکننده امولسیون پیکرینگ معرفی کردند. میکروسکوپ SEM نانو بودن ذرات را تایید کرد. نتایج عدم فلوکه شدن وقتی که از نانوکریستال سلولز استفاده شده بود را نشان داد.
- لو و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی اثر pH بر توانایی فلاونوئید برای افزایش پایداری امولسیون پیکرینگ پرداختند. نتایج در pH ۸ تا ۲ مقایسه شد و نتایج افزایش اثر فلاونوئید بر پایداری امولسیون در pH بالاتر را نشان داد.
- یانگ و همکاران (۲۰۱۴)، به تحقیق درباره امولسیون تری گلیسرید در آب توسط نانوذرات بر پایه نشاسته پرداختند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت نانوذرات نشاسته میزان خامه ای شدن و بهم پیوستگی ذرات کاهش یافت.
- ماتیو و همکاران (۲۰۱۴)، امولسیون پیکرینگ تثبیت شده توسط ذرات میکروژل آب پنیر را مورد بررسی قرار دادند. نتایج عدم فلوکه شدن و ادغام برای امولسیون را نشان داد.
- رایتر و همکاران (۲۰۱۴)، در تحقیقی از ذرات توده زیستی برای تشکیل امولسیون پیکرینگ بر پایه غذایی استفاده جستند. در این تحقیق از گرانول نشاسته کوینا و گرانول زرده تخم مرغ برای ایجاد امولسیون پیکرینگ استفاده شد.
- لیانگ و همکاران (۲۰۱۴)، امولسیون پیکرینگ بر پایه پروتئین ایزوله شده در pH ۳ تولید کردند و به بررسی خصوصیات و پایداری امولسیون پرداختند. افزایش غلظت پروتئین ایزوله شده از ۰٫۲۵ به ۳ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر کاهش اندازه ذرات، عدم کریمینگ و افزایش پایداری به مدت ۲۰ روز را نشان داد.
- چیانگ و همکاران (۲۰۱۵)، به بررسی اثر مخلوط سدیم کازئینات، توپین ۲۰ و بتا-



سیکلودکسترین بر روی نانوامولسیون پیکرینگ روغن در آب دانه کناف پرداختند. نتایج نشان داد که بهترین مخلوط برای تشکیل نانوامولسیون با میانگین اندازه ذرات ۱۵۵,۵۳ نانومتر و پتانسیل زتا ۴۶,۶۷-، ۵۷,۹-، سدیم کازئینات، ۲۷,۶٪، توپین ۲۰ و ۱۴,۵٪ بتا-سیکلودکسترین بود.

➤ سانگ و همکاران (۲۰۱۵)، در مورد آماده سازی و بررسی، امولسیون پیکرینگ پایدار شده توسط ذرات نشاسته آگریز تحقیق کردند. در این تحقیق امولسیون روغن سویا در آب با نشاسته اصلاح شده تولید شد و مهمترین فاکتورهای تاثیر گذار بر پایداری امولسیون بررسی شد در غلظت ۴ درصد (وزنی-وزنی)، میزان روغن ۵۰ درصد و pH ۶-۷ افزایش پایداری نشان داد.

➤ جی و همکاران (۲۰۱۵)، میکروساختار و رفتار رئولوژی امولسیون پیکرینگ حاوی نانوذرات کافیرین را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد با افزایش فاز آبی، کاهش در اندازه ذرات و افزایش مدل ذخیره برای پاسخ ویسکوالاستیک داشت.

➤ کلیر و همکاران (۲۰۱۵)، در یک مطالعه مروری، درباره امولسیون پیکرینگ بر پایه غذایی و غیر غذایی مورد تحقیق قرار دادند و عملکرد امولسیون پیکرینگ را بر صنعت غذا بررسی کردند. در این پژوهش از ذرات مختلف (معدنی، کربوهیدرات، پروتئین و چربی) بر پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده کردند.

➤ فینگ و همکاران (۲۰۱۶)، به تحقیق در مورد اصلاح سطح، ذرات کلونیدی زین با سدیم کازئینات بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن در آب پرداختند. نتایج نشان داد که، اختلاط ۰,۱ تا ۰,۲ سدیم کازئینات به طور قابل توجهی باعث افزایش ترشوندگی شد. در نسبت ۱۰:۴، سدیم کازئینات به طور کامل جذب سطح شد و افزایش پایداری امولسیون را در بر داشت.

➤ شاه و همکاران (۲۰۱۶)، در مورد آماده سازی و بهینه سازی امولسیون پایدار شده با نانوذرات

کیتوزان-تری پلی فسفات برای انکپسوله کردن کورکومین تحقیق کردند و اثر عوامل مختلف pH، مدت زمان ذخیره سازی و نمک را بررسی کردند.

➤ لکلرک و همکاران (۲۰۱۶)، امولسیون پیکرینگ بر پایه سیکلودکسترین تولید کرد و با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی خصوصیات امولسیون پیکرینگ بررسی شد. نتایج افزایش پایداری در برابر ادغام با تشکیل فیلم سطح بین روغن و آب نشان داد.

## ۲-۲ پژوهش های مربوط به کیتوزان و نانوذله کیتوزان

➤ یوکسان و همکاران (۲۰۱۰)، اسکوربیل پالمیتات را در نانوذرات کیتوزان انکپسوله کردند و با فرایند آیونیک امولسیون روغن در آب را تولید کردند. نتایج مربوط به انکپسوله کردن پالمیتات با دستگاه FT-IR تایید شد. کیتوزان لود شده با پالمیتات به قطر ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتر با میکروسکوپ الکترونی مشخص شد.

➤ توماس و همکاران (۲۰۱۰)، اصلاح پایداری امولسیون روغن در آب حاوی آب پنیر با افزایش مخلوط کیتوزان و صمغ عربی را بررسی کردند. کاهش اختلاط صمغ عربی و کیتوزان در امولسیون باعث افزایش فلوکه شدن و برگشت فاز در امولسیون شد.

➤ ماریانا و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی و توسعه امولسیون تولید شده با کیتوزان-روغن زیتون پرداختند. با بررسی زاویه تماس و تصاویر میکروسکوپی پایداری امولسیون آماده شده با کیتوزان - روغن زیتون را تایید کردند.

➤ ضیاعی و همکاران (۲۰۱۳)، اسید مریستیک حاوی نانوذله لود شده با اسانس کومینوم تولید کرده و اثر آن را بر بیماریزایی طاعون بررسی کردند. نتایج نشان داد با درون پوشانی کردن اسانس در نانوذله حاوی اسید مریستیک بیماری طاعون کاهش یافت.

➤ نوریا و همکاران (۲۰۱۳)، به بررسی اثر غلظت کیتوزان به ویژگی های پایداری، میکروساختار و رئولوژی امولسیون روغن در آب تشکیل شده با روغن آفتابگردان و پروتئین سیب زمینی

پرداختند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کیتوزان پایداری امولسیون در برابر انبوهش و خامه ای شدن افزایش شد.

➤ فانگ فانگ و همکاران (۲۰۱۴)، به بررسی تشکیل کیتوزان پوشش داده شده با ذرات آلژینات به عنوان امولسیفایر برای تولید و پایداری امولسیون پیکرینگ پرداختند. در این کار با پوشش دادن کیتوزان از آگریزی آن کاستند و منجر به افزایش پایداری امولسیون پیکرینگ شدند.

➤ هینداپور و همکاران (۲۰۱۴)، نانوذله هیبریدی کیتوزان - گلیکولپید را برای کپسوله کردن فوگوگزانتین بکار بردند و به این نتیجه رسیدند که پایداری و دسترسی زیستی فوگوگزانتین درونپوشانی شده نسبت به زمانی که بدون نانوذله فوگوگزانتین آزاد، افزایش قابل توجهی نشان داده است .

➤ نات راجان و همکاران (۲۰۱۴)، کیتوزان را به همراه نانو آلژینات و اسانس زردچوبه و علف لیمو استفاده کردند. بدلیل ناپایداری، و فرار بودن و نامحلول بودن در آب ، زمانی که اندازه ذرات آن به زیر ۳۰۰ نانومتر رسید، پایداری افزایش قابل توجهی نشان داد .

➤ بیگی و همکاران (۲۰۱۴)، با انکپسوله کردن اسانس نعناع فلفلی در نانوذله کیتوزان حاوی اسید سینامیک خاصیت ضد قارچی آن را بررسی کردند. نتایج نشان داد درون پوشانی اسانس نعناع فلفلی در نانوذله باعث افزایش خاصیت ضد قارچی در برابر اسپیرژیلوس فلاووس و بهبود عملکرد آن شد.

➤ خلیلی (۲۰۱۵)، اسانس آویشن در نانوذله کیتوزان- اسید بنزوئیک درون پوشانی کردند و سپس خاصیت ضد قارچی آن را در برابر اسپیرژیلوس فلاووس بررسی کردند.

➤ زاوه و همکاران (۲۰۱۵)، اسانس کومینوم را در نانوذله کیتوزان حاوی اسید کافئیک انکپسوله کردند. نتایج حاکی از افزایش فعالیت آنتی میکروبی این ترکیب بود. نتایج نشان داد خاصیت آنتی میکروبی با افزایش غلظت درونپوشانی اسانس بالاتر از ۷۰۰ میلی گرم در لیتر افزایش یافت.

## ۲-۳ مروری بر پژوهش های مربوط به اکسیداسیون

- جعفریان و همکاران (۱۳۹۰)، تاثیر ادویه های رزماری، آویشن و نعناع را بر پایداری اکسیداتیو روغن زیتون بررسی کردند. نتایج نشان داد که پایداری اکسیداتیو تیمار روغن زیتون بکر حاوی رزماری و نعناع افزایش یافت.
- کمالی روستا و همکاران (۱۳۹۰)، استخراج عصاره دارچین و بررسی تاثیر آن بر پایداری روغن آفتابگردان را مورد پژوهش قرار دادند. نتایج خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره را نشان داد که با افزایش غلظت عصاره اثر آنتی اکسیدانی آن بیشتر شد.
- شاهین و همکاران (۱۳۹۲)، به بررسی اثرات آنتی اکسیدانی توکوفرول در مقایسه با TBHQ بر روند اکسیداسیون روغن مایونز طی مدت زمان ماندگاری پرداختند. نتایج نشان داد میزان تشکیل پراکسید در روغن مایونز حاوی آنتی اکسیدانی توکوفرول در مقایسه با آنتی اکسیدانی مصنوعی کمتر بود.
- سلطان تویه و همکاران (۱۳۹۲)، ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پوست سیب زمینی در به تاخیر اندازی اکسیداسیون روغن آفتابگردان طی شرایط حرارتی را بررسی کردند. نتایج نشان داد عصاره سیب زمینی باعث کاهش اکسیداسیون و کاهش در میزان پراکسید در روغن آفتابگردان شد.
- احمد و همکاران (۱۹۹۹)، به بررسی اثر عصاره گیاهی بر پایداری اکسیداتیو روغن و امولسیون آفتابگردان پرداختند. در این تحقیق از ۶ عصاره گیاهی برای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی در برابر اکسیداسیون روغن و امولسیون بهره جستند.
- یونگ و همکاران (۲۰۰۲)، به بررسی توانایی میسل سورفکتانت بر تغییر موقعیت فیزیکی و برهمکنش آهن در امولسیون روغن در آب پرداختند. نتایج نشان داد که غلظت آهن در فاز پیوسته با افزایش سورفکتانت میسل افزایش یافت.
- وین و همکاران (۲۰۰۳)، در تحقیقی اثر وی پروتئین بر پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن

- سالمون در آب را بررسی کردند. نتایج نشان داد که امولسیون پایدار شده با وی پروتئین باعث کاهش هیدروپراکسید در pH نزدیک نقطه ایزوالکتریک شد.
- وایلایلوک و همکاران (۲۰۰۵)، ارتباط بین خواص فیزیکی، آنتی اکسیدانها و توانایی در جلوگیری از اکسیداسیون روغن و امولسیون روغن در آب را بررسی کردند. در این تحقیق از آنتی اکسیدان های دارای گروه متیل (توکوفرول) و هیدروکسیل (BHT) در امولسیون روغن در آب و روغن استفاده کردند. این تحقیق اثر آنتی اکسیدانی بالاتر گروه متیل را تایید کرد.
- سرا و همکاران (۲۰۰۶)، اکسیداسیون لیپیدی در امولسیون روغن در آب پایداره شده با سدیم کازئینات باند شده با ترانس گلوتامین را انجام دادند. امولسیون روغن در آب حاوی کازئین باند شده با ترانس گلوتامات در pH ۷ تولید کردند. بررسی ها نشان داد که افزایش پروتئین در سطح بین ذرات افزایش اکسیداسیون را در پی داشت.
- هیرومی و همکاران (۲۰۰۷)، امولسیون روغن در آب تولید کردند و توانایی فعالیت سطحی آنتی اکسیدان برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی امولسیون روغن در آب را مورد سنجش قرار دادند.
- وراهو و همکاران (۲۰۰۹)، مکانیسم پراکسیدانی اسید چرب آزاد در توسعه دادن امولسیون روغن سویا در آب را مورد مطالعه قرار دادند. در این تحقیق توانایی اولئیک اسید در توسعه اکسیداسیون لیپید امولسیون روغن در آب با کاهش در pH کاهش یافت.
- مارلی و همکاران (۲۰۰۹)، امولسیون روغن در آب حاوی بتا-لاکتاگلوبولین و پکتین را تولید کردند و پایداری فیزیکی و اکسیدانی آن را مورد پژوهش قرار دادند. نتایج نشان داد امولسیون با ترکیب بتا-لاکتاگلوبولین پایداری اکسیداسیون بالاتری نسبت به امولسیون حاوی پکتین تنها داشت..
- نجفی و همکاران (۲۰۱۰)، نقش پروتئین فاز پیوسته بر پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن ماهی در آب را مورد پژوهش قرار داد. نتایج پایداری بالا در برابر اکسیداسیون نشان داد.

- نورتون و همکاران (۲۰۱۱)، درباره اثر میکروساختار سطح بر پایداری اکسیداسیونی امولسیون روغن در آب پژوهش کردند. در این تحقیق از پایدارکننده‌ها، سدیم کازئینات، توپین ۲۰ و ذرات سیلیکا برای پایداری اکسیدانی امولسیون استفاده شد. برای بررسی پایداری اکسیداسیون امولسیون، آزمایش محصولات اولیه (پراکسید) و محصولات ثانویه (انیزیدین) انجام شد. نتایج نشان داد وجود سدیم کازئینات در فاز پیوسته باعث کاهش اکسیداسیون با چلاته کردن فلزات شد.
- لورنا و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی ساختار و پایداری اکسیداسیون امولسیون روغن در آب با اثر فرایند روتین و هموژنایزر پرداختند. برای بررسی پایداری امولسیون، نمونه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. اثر فاز روغن، حضور فلاونوئید و فرایند هموژنایزر بر پایداری اکسیداسیون بررسی کردند. نتایج نشان داد که فشار بالای هموژنایزر باعث کاهش در اندازه ذرات، ساختار و افزایش پایداری اکسیداسیونی شد. وجود پروتئین در امولسیون بر خلاف فاز روغن باعث بهبود در افزایش پایداری امولسیون روغن در آب در برابر اکسیداسیون شد.
- کارگر و همکاران (۲۰۱۲)، به بررسی پتانسیل بالقوه امولسیون پیکرینگ (ذرات بر پایه غذایی) برای افزایش پایداری اکسیداسیون امولسیون روغن در آب پرداختند. در این تحقیق از ذرات میکروکریستال سلولز و نشاسته اصلاح شده استفاده کردند. در این تحقیق از ذرات در غلظت های ۰,۱ تا ۲,۵ درصد استفاده شد که باعث افزایش پایداری فیزیکی و اکسیداسیونی امولسیون روغن در آب شد. اثر ذرات میکروکریستال سلولز بیشتر از نشاسته اصلاح شده بود.
- زومی و همکاران (۲۰۱۴)، پایداری اکسیداسیون چربی امولسیون پایدارشده با پروتئین سویا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که وجود پروتئین ایزوله سویه در سطح بین آب و روغن باعث کاهش اندازه ذرات روغن و بهبود در پایداری اکسیداسیون چربی امولسیون شد.
- وانگ و همکاران (۲۰۱۵)، به بررسی و تولید آنتی اکسیدانی امولسیون پیکرینگ پایدار شده با ذرات کمپلکس زین/کیتوزان پرداختند. در این تحقیق ذرات باعث کاهش سطح

هیدروپراکسید و مالون آلدهید در امولسیون بعد از مدت زمان نگهداری شد. همچنین خاصیت

آنتی اکسیدانی ذرات وقتی به کمپلکس اضافه شد افزایش یافت.

➤ ربکا و همکاران (۲۰۱۵)، به بررسی پایداری فیزیکی و اکسیداسیونی، امولسیون روغن ماهی

در آب تولید شده با روش امولسیون خودبه خودی پرداختند. در این تحقیق از روش انرژی

پایین برای تولید امولسیون استفاده کردند. اثر اندازه ذرات و غلظت سورفکتانت در پایداری

فیزیکی و اکسیدانی بررسی شد. افزایش پایداری فیزیکی و شیمیایی امولسیون روغن ماهی

در آب را نشان داد.





فصل سوم

مواد و

روشها

### ۳-۱ مواد و وسایل مورد استفاده

#### ۳-۱-۱ مواد مورد استفاده

روغن آفتابگردان بدون آنتی اکسیدان ( از شرکت سه گل، نیشابور) - اتانول، اسید استیک ۹۹/۷٪ و سدیم هیدروکسید ( از شرکت مرک<sup>۱۶</sup>، آلمان) - توئین ۸۰، کلرفرم، اسید کلریدریک ۳۷٪، اسید تری کلرواستیک ۹۹٪ و آمونیوم تیوسیانات ( از شرکت سامچون<sup>۱۷</sup>، کره) - کیتوزان، اسید استئاریک، استئاریک، TBA<sup>۱۸</sup> و کلرید آهن ( تهیه شده از شرکت سیگما<sup>۱۹</sup>، آلمان) - ۱-تیل-۳-دی متیل آمینو پروپیل کربو دی ایمید (EDC) ( از شرکت فلوکا<sup>۲۰</sup>، آمریکا) - متانول ( از شرکت اطلس شیمی، ایران) - اسانس نعنای فلفلی از شرکت باریج اسانس<sup>۲۱</sup> تهیه شد که عمده ترکیبات آن در جدول (۳-۱) آورده شده است.

جدول ۳-۱ ترکیبات عمده موجود در اسانس نعنای فلفلی

نام ترکیب	مقدار (درصد)
Mentone	۱۹
Neomenthol	۸/۸
Menthol	۴۱
Menthyl acetate	۶/۷
Cineole-۱،۸	۵/۹

<sup>۱۶</sup> Merk

<sup>۱۷</sup> Samchun

<sup>۱۸</sup> Thiobarbituric Acide

<sup>۱۹</sup> Sigma

<sup>۲۰</sup> Fluka

<sup>۲۱</sup> Barije essens

### ۳-۱-۲ تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

برای انجام آزمایشات مربوطه، لوازم و تجهیزات زیر مورد استفاده قرار گرفت.

همزن (با سرعت ۵۵۰۰ دور بر دقیقه)

ترازوی حساس HR-۲۰۰ با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (A&D، ژاپن)

دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی (مدل UV۲۱۵۰، انگلستان)

pH متر (Mettler Toledo، سوئیس)

حمام التراسوند (Elma، آلمان)

میکروسکوپ نوری (GX Microscopes، استرالیا)

سانتریفوژ (Eppendorf AG، آلمان)

هیتر (مدل ۷ IKA\* C-MAG HS، آلمان)

آون (Memmert، آلمان)

آب مقطر گیر (GFL، آلمان)

دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل شرکت Huawei

سمپلر در اندازه های مختلف ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر (Alton، چین)

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (KYKY-EM۳۲۰۰، چین)

کروماتوگرافی گازی (GC) (مدل ۴۶۰۰ Unicam، انگلستان)

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) (مدل ۴۳۰ Jascow، ژاپن)

## ۱-۲-۳ آزمون های شیمیایی روغن آفتابگردان

## ۱-۱-۲-۳ تعیین اسیدهای چرب روغن آفتابگردان با کروماتوگرافی گازی

در این پژوهش جهت بررسی پروفیل اسیدهای چرب و میزان اسیدهای چرب موجود در روغن آفتابگردان از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل ۴۶۰۰ Unicam ساخت کشور انگلستان) مجهز به آشکارکننده نوع FID و ستون نوع Capillary, BPX۷۰ استفاده شد. درجه حرارت آشکار کننده ۳۰۰ درجه سانتیگراد، گاز حامل هلیوم و درجه حرارت آون در ابتدا ۱۶۰ درجه سانتیگراد و در انتها ۲۰۰ درجه سانتیگراد بود. اجزای روغن توسط مقایسه زمان بازداری شان با نمونه های شاهد شناسایی شدند. متیلاسیون اسیدهای چرب با توجه به استاندارد ۱۹۹۸ AOCS، روش ۲-۶۶ انجام گرفت.

## ۲-۲-۳ آماده سازی نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک

تهیه نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک به روش فراصوت و اتصال اسید استئاریک به کیتوزان با تشکیل پیوندهای آمیدی با یک واکنش دهنده (۱-اتیل-۳-(۳-دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید (EDC<sup>۲۲</sup>) با روش ارائه شده توسط چن<sup>۲۳</sup> و همکاران (۲۰۰۳)، انجام شد. در ابتدا، ۰/۵ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک آبی (۱٪ حجمی/حجمی) حل شد. پس از افزودن ۸۵ میلی لیتر متانول، محلول حاصل تحت امواج فراصوت قرار داده شد. سپس ۶۶۸ میکرولیتر EDC با ۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۳۷۵ میلی گرم اسید استئاریک (مقدار ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد کیتوزان استفاده شده) مخلوط شد. سپس هر دو محلول به مدت ۵ ساعت مخلوط و بهم زده شدند. بعد از آن pH با استفاده از سدیم هیدروکسید (۱ مولار) برای آماده سازی نانوذله روی ۸/۵-۹ تنظیم شد. سپس مخلوط برای بهبود یافتن نانوذله آماده شده، سانتریفیوژ شد. نانوذله به دست آمده برای حذف مواد واکنش نداده توسط اتانول و آب مقطر شسته شد. محلول شفاف نانوذله در نهایت توسط فیلتر واتمن با مش ۰/۲ میکرومتر

<sup>۲۲</sup> Ethylene dichloride<sup>۲۳</sup> Chen

فیلتر شد.

### ۳-۲-۳ آزمون FTIR

طیف سنجی مادون قرمز یکی از پرکاربردترین روش‌ها در شناسایی کیفی مولکول‌های مختلف، تعیین ساختار مولکولی گونه مختلف (مخصوصاً گونه‌های آلی) و شناسایی گروه‌های عاملی موجود در ساختار یک گونه می‌باشد. در این پژوهش برای تأیید تشکیل ساختار نانوذله‌ها، طیف سنجی مادون قرمز در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و در رنج  $500$  تا  $4000$   $\text{cm}^{-1}$  انجام داده شد (Khalili et al., ۲۰۱۵). به این منظور مقداری از نانوذله‌های کیتوزان-اسید استتاریک خشک شده به همراه اسید استتاریک و کیتوزان با پودر خالص KBr مخلوط شدند و سپس از آن‌ها قرص‌های فشرده تهیه گردید. طیف نمونه‌های مورد نظر با دستگاه اسپکتروسکوپی مادون قرمز مدل (مدل ۴۳۰ Jascow ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری و بررسی شد.

### ۳-۲-۴ آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۲۴</sup>

از میکروسکوپ الکترونی روبشی معمولاً برای مطالعه مورفولوژی ساختار نانوذرات استفاده می‌شود. اساس کار آن بر مبنای بمباران نمونه به وسیله الکترون و بازگشت و تبدیل آن به سیگنال است. نمونه‌ها را با روکشی از طلا می‌پوشانند تا سطح رسانایی داشته باشد و تصویر مناسبی از مورفولوژی سطح به دست آید. در این پژوهش جهت بررسی و مطالعه مورفولوژی نانوذله‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد (Feng et al, ۲۰۱۶). به این صورت که ابتدا ۱ سی سی از نانوذله‌های کیتوزان-اسید استتاریک به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت گذاشته شدند و سپس به آن ۹۹ سی سی آب مقطر اضافه شد. پس از آن چند قطره از محلول‌ها بر روی لام ریخته شدند و در دمای محیط خشک و در انتها نمونه‌ها با طلا پوشش داده شدند، سپس از دستگاه SEM (مدل KYKY-EM۳۲۰۰ ساخت کشور چین)، برای عکس برداری از نمونه‌ها استفاده شد.

---

<sup>۲۴</sup> SEM

### ۳-۲-۵ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب

برای تهیه امولسیون های پیکرینگ از روش موانگی و همکاران با کمی تغییرات استفاده شد (Mwangi et al, ۲۰۱۶). به طور کلی برای تهیه امولسیون های پیکرینگ از فاز روغنی (روغن آفتابگردان)، فاز آبی (آب مقطر) و نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک به عنوان پایدار کننده استفاده شد. همچنین اثر سه فاکتور pH، نسبت کیتوزان به استئاریک اسید و مقادیر روغن بر روی پایداری امولسیون های پیکرینگ پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

### ۳-۲-۵-۱ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با pH های مختلف

برای بررسی اثر pH های مختلف (۲، ۵، ۸ و ۱۰) بر روی پایداری امولسیون های پیکرینگ و همچنین تعیین pH مناسب برای تولید امولسیون پیکرینگ با بیشترین پایداری، ابتدا به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک (با غلظت ۵۰ درصد اسید استئاریک به کیتوزان)، ۲۰۰ میکرولیتر روغن افزوده شد و به مدت یک دقیقه با همزن با سرعت ۵۵۰۰ دور بر دقیقه، به طور مداوم همزده شد. سپس pH های مختلف با سود یک نرمال تنظیم شد و به مدت یک دقیقه دیگر همزده شدند در ادامه مقدار ۸۰۰ میکرولیتر آب به هر یک از نمونه ها افزوده شد و به مدت یک دقیقه دیگر نیز همزده شدند. سپس در حمام التراسوند (Elma ساخت کشور آلمان) در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. بعد از آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با میکروسکوپ نوری (مدل GX Microscopes ساخت کشور استرالیا) و دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل پس از ۳ ساعت و پس از ۷ روز نگهداری در دمای محیط عکس گرفته شد.

### ۳-۲-۵-۲ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک با نسبت

#### های مختلف

در این پژوهش از نانوذله با نسبت های مختلف اسید استئاریک به کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) برای بررسی تأثیر غلظت های مختلف اسید استئاریک به کیتوزان روی پایداری امولسیون پیکرینگ

استفاده شد. پس از تعیین pH مناسب، ابتدا مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از نانوزل ها با غلظت های مختلف به ۲۰۰ میکرولیتر روغن آفتابگردان اضافه و سپس به مدت یک دقیقه با همزن، همزده شدند و پس از تنظیم pH به دست آمده در بخش قبلی نمونه ها به مدت یک دقیقه دیگر همزده شدند. سپس مقدار ۸۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن ها افزوده و یک دقیقه نیز همزده شدند و به مدت ۵ دقیقه در حمام التراسوند (Elma ساخت کشور آلمان) با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. بعد از آماده سازی امولسیون های پیکرینگ از آن ها با میکروسکوپ نوری (مدل GX Microscopes ساخت کشور استرالیا) و دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل پس از ۳ ساعت و پس از ۷ روز نگهداری در دمای محیط عکس گرفته شد.

### ۳-۲-۵-۳ آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن آفتابگردان

پس از تعیین pH و نانوزل با نسبت اسید استئاریک به کیتوزان مناسب، برای بررسی اثر روغن در تولید امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب، از مقادیر مختلف روغن آفتابگردان (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر) استفاده شد. برای تهیه امولسیون های پیکرینگ ابتدا به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوزل کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت مناسب به دست آمده در مرحله قبلی، مقادیر مختلف روغن آفتابگردان افزوده شد و به مدت یک دقیقه همزده شدند. سپس pH مناسب تنظیم شد و به مدت یک دقیقه دیگر همزده شدند. سپس ۸۰۰ میکرولیتر آب به هر نمونه افزوده و به مدت یک دقیقه دیگر نیز همزده شدند و به مدت ۵ دقیقه در حمام التراسوند (مدل Elma ساخت کشور آلمان) با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از آماده سازی امولسیون های پیکرینگ از آن ها با میکروسکوپ نوری (مدل GX Microscopes ساخت کشور استرالیا) و دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل پس از ۳ ساعت و پس از ۷ روز نگهداری در دمای محیط عکس گرفته شد.

### ۳-۲-۶ تعیین پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب

پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب تولید شده با اندازه گیری تغییرات در اندازه

قطرات آن ها و همچنین ظاهر آن ها در طی نگهداری در دمای محیط پس از ۷ روز نگهداری بررسی شد.

### ۳-۲-۶-۱ ارزیابی میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب

خامه ای شدن یکی از رایج ترین مکانسیم های فیزیکی است که باعث ناپایداری امولسیون های غذایی می شود. خامه ای شدن شکلی از جداسازی گرانشی می باشد که حرکت قطرات به سمت بالا که به علت دانسیته کمتر روغن از مایع احاطه کننده آن می باشد را توصیف می کند (McClements, ۱۹۹۹). میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ آماده شده مطابق روش چئونگ و همکاران مورد ارزیابی قرار گرفت (Cheong et al, ۲۰۱۶). به این صورت که ۲ میلی لیتر از هر امولسیون به درون لوله های آزمایش انتقال داده شد و درب آن ها بسته شد تا از تبخیر آن ها جلوگیری شود، سپس به مدت ۷ روز در دمای اتاق نگهداری شدند. شاخص خامه ای شدن با اندازه گیری ارتفاع کلی امولسیون ( $H_t$ ) و ارتفاع لایه خامه ای ( $H_c$ ) با خط کش صورت گرفت. اندازه گیری میزان خامه ای شدن با شاخص خامه ای شدن (CI)<sup>۲۵</sup> مشخص شد.

$$CI\% = \frac{H_c}{H_t} \times 100$$

فرمول (۳-۱): ۱

### ۳-۲-۶-۲ اندازه گیری میانگین اندازه قطرات

ساختار امولسیون های پیکرینگ پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری با استفاده از میکروسکوپ نوری به روش جانو و همکاران مورد بررسی قرار گرفت (Xiao et al, ۲۰۱۶). به این صورت که یک قطره از نمونه امولسیون با سمپلر برداشته و به آرامی بر روی لام شیشه ای ریخته شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری (مدل GX Microscopes ساخت کشور استرالیا) و دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل شرکت Huawei عکس گرفته شد. در ادامه از نرم افزار فتوشاب CS۶ و Image J برای تخمین میانگین اندازه قطرات استفاده شد (Xiao et al, ۲۰۱۶).

---

<sup>۲۵</sup> Creaming index



### ۳-۲-۷ اندازه گیری اکسیداسیون

#### ۳-۲-۷-۱ آماده سازی امولسیون ها برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو

برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو شش نمونه به روش زیر تهیه شدند و به مدت ۲۰ روز در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد در آون (مدل Memmert ساخت کشور آلمان) قرار داده شدند و روند اکسیداسیون آن ها در بازه های زمانی ۴-۶ روز یک بار مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱- **امولسیون پیکرینگ**: برای تهیه این نمونه، شرایط مناسب از نظر pH، میزان روغن و نسبت اسید استئاریک به کیتوزان حاصل از قسمت های قبلی استفاده شد. مابقی شرایط تهیه امولسیون مشابه بخش (۳-۲-۵-۱) بود.

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

۳- **امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی در روغن**: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون ۱ بود با این تفاوت که درون روغن آفتابگردان قبل از استفاده ۲۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی اضافه شد.

۴- **امولسیون پیکرینگ حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی در روغن**: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون ۱ بود با این تفاوت که درون روغن آفتابگردان قبل از استفاده ۱۰۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی اضافه شد.

۵- **امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی در نانوذله**: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون ۱ بود با این تفاوت که درون نانوذله مورد استفاده قبل از استفاده ۲۰۰ ppm اسانس نعناع فلفلی (معادل مقدار اسانسی که در روغن نمونه ۳ استفاده شده بود) با استفاده

از روش هادیان و همکاران (۲۰۱۷) درون پوشانی شد.

۶- امولسیون پیکرینگ حاوی  $1000 \text{ ppm}$  اسانس نعناع فلفلی در نانوژل: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون ۱ بود با این تفاوت که درون نانوژل مورد استفاده قبل از استفاده  $1000 \text{ ppm}$  اسانس نعناع فلفلی (معادل مقدار اسانسی که در روغن نمونه ۴ استفاده شده بود) با استفاده از روش هادیان و همکاران (۲۰۱۷) درون پوشانی شد.

### ۳-۲-۷-۲-۳ ارزیابی پایداری اکسیداتیو امولسیون های روغن آفتابگردان در آب

#### ۳-۲-۷-۲-۳-۱ اندازه گیری میزان پراکسید

عدد پراکسید میزان هیدروپراکسیدهای تولید شده ناشی از واکنش های اکسیداسیون را نشان می دهد. محصولات اولیه اکسیداسیون موجود در امولسیون های روغن آفتابگردان در آب مطابق روش سالمین و همکاران (۲۰۱۳) تعیین شد. برای اندازه گیری عدد پراکسید پس از آماده سازی محلول کلرید آهن II و محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم،  $9/8$  میلی لیتر کلرفرم/متانول ( $3V/V$ ) به  $10$  میکرولیتر نمونه اضافه و  $2-4$  ثانیه مخلوط شد، در ادامه  $50$  میکرولیتر از محلول  $30$  درصد تیوسیانات آمونیوم ( $W/V$ ) اضافه و به مدت  $2-4$  ثانیه مخلوط شد، سپس  $50$  میکرولیتر از محلول کلرید آهن II به نمونه افزوده شد. بعد از  $20$  دقیقه جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر نور مرئی (مدل UV2150 ساخت کشور انگلستان)، در طول موج  $500$  نانومتر خوانده شد. محلول شاهد کلرفرم/متانول ( $3V/V$ ) بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های  $0/5$  تا  $3$  از کیومن هیدروپروکسید تهیه و توسط اسپکتروفتومتر در طول موج  $500$  نانومتر خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید. عدد پراکسید (PV) به صورت میکرومول پراکسید در کیلوگرم روغن بیان شد.

### ۳-۲-۷-۲-۲ اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید<sup>۲۶</sup>

اندیس تیوباربیتوریک اسید، میلی گرم دی آلدئید موجود در روغن را نشان می دهد. مالون آلدئید در اثر اکسیداسیون اسیدهای چرب تولید می شود. محصولات ثانویه اکسیداسیون موجود در امولسیون های روغن آفتابگردان مطابق روش تونگ و همکاران تعیین شدند (Tong et al, ۲۰۰۰). پس از آماده سازی محلول TBA، یک میلی لیتر از هر یک از امولسیون های مورد نظر را به ۲ میلی لیتر محلول TBA اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در آب در حال جوشیدن قرار داده شدند، سپس به مدت ۱۰ دقیقه آن را در دمای محیط خنک کرده و در ادامه در سانتریفوژ (مدل Eppendorf AG - ساخت کشور آلمان) در ۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند، سپس جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر نور مرئی مدل (UV۲۱۵۰، ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. محلول شاهد حاوی تمام موارد ذکر شده به جز نمونه امولسیون بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های مختلفی از ۱، ۳، ۱، ۳- تتراهیدروکسی پروپان تهیه شد و توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده و در برنامه اکسل منحنی استاندارد رسم شد. عدد TBA به صورت میکرومول TBA در کیلوگرم روغن بیان شد.

#### ۱-۱-۲ تجزیه تحلیل آماری

تمام آزمون ها، برای هر تیمار ۳ تکرار صورت پذیرفت، نوع آزمایش طرح کاملاً تصادفی بود و داده ها با استفاده از نرم افزارهای EXCEL و SPSS۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در نهایت مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح ۰.۰۵٪ انجام شد. میانگین و انحراف معیار و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار مایکروسافت اکسل انجام شد.

---

<sup>۲۶</sup> TBA



فصل چہارم

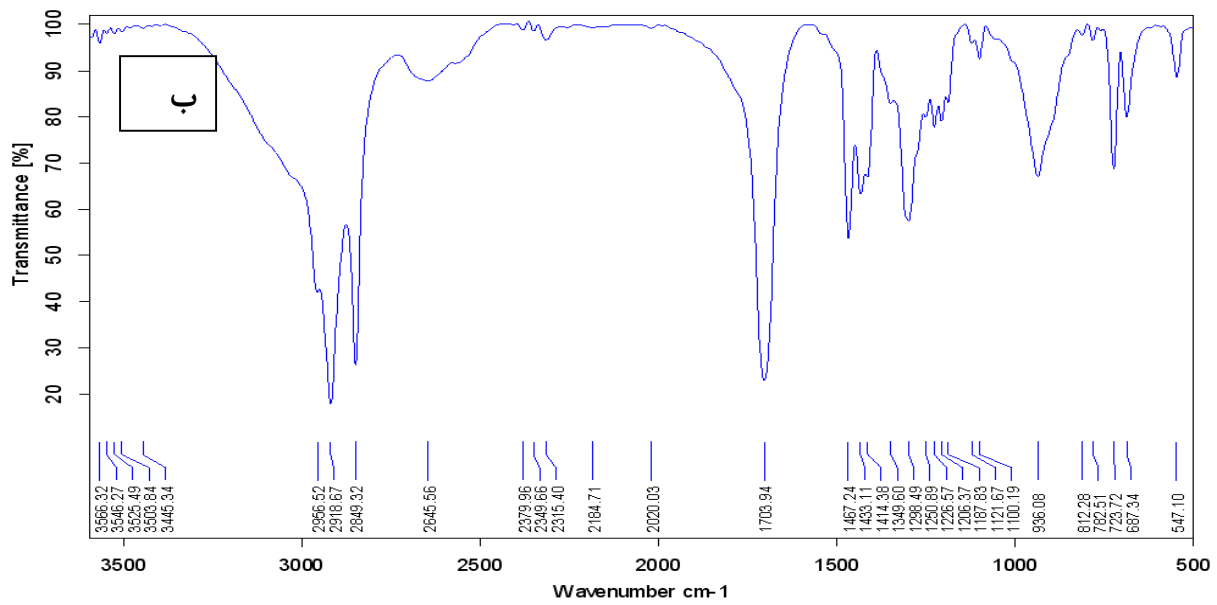
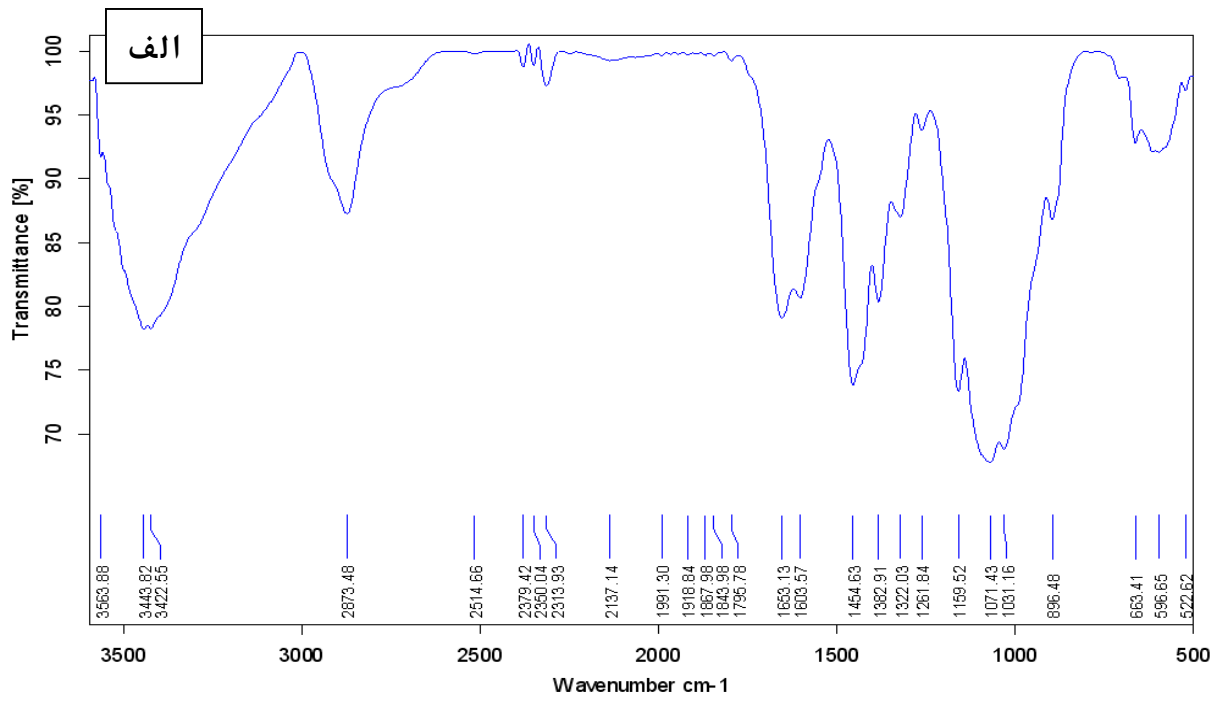
نتایج و

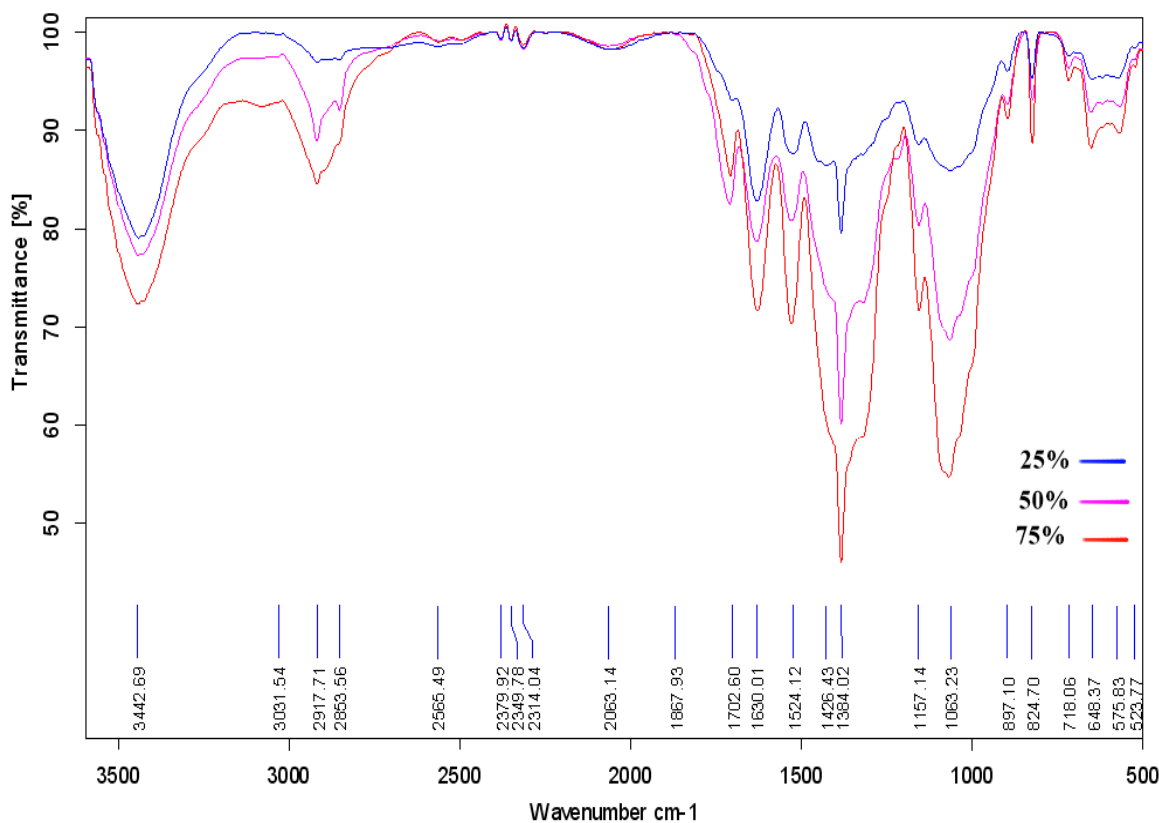
بحث

## ۱-۴ بررسی نانوژل های کیتوزان- اسید استئاریک

### ۱-۱-۴ نتایج FTIR

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





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

در شکل (۴-۱-الف) طیف کیتوزان جذب در ناحیه  $3500-3400 \text{ cm}^{-1}$  را نشان می دهد که این مربوط به گروه هیدروکسیل کیتوزان می باشد. در  $2873 \text{ cm}^{-1}$  پیک مربوط به ارتعاش کششی گروههای  $\text{CH}_2$  است. در  $2137$  و  $1653 \text{ cm}^{-1}$  به ترتیب پیک ها مربوط به ارتعاشات کششی گروههای  $\text{N-H}$  و  $\text{N-C}$  آمید کیتوزان (گروههای آمین دی استیله نشده) مشاهده می شود. پیک در  $1454 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات  $\text{C-H}$  موجود در حلقه های قند است (Chiono et al., ۲۰۱۰).

در شکل (۴-۱-ب) طیف مربوط به استتاریک اسید نشان داده شده است. پیکهای شناسایی شده در  $2918$  و  $2849 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی  $\text{C-H}$  گروههای  $\text{CH}_2$ ، پیک  $1704 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی  $\text{C=O}$  گروه کربوکسیل اسید چرب،  $1467 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش خمشی  $\text{C-H}$



گروه‌های  $\text{CH}_2$  و گروه  $\text{CH}_3$  اسید چرب،  $1261 \text{ cm}^{-1}$  ارتعاش کششی  $\text{C-O}$  گروه کربوکسیل اسید چرب،  $936 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش خمشی  $\text{O-H}$  اسید کربوکسیلیک و پیک  $687 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش خمشی  $\text{C-H}$  است (Larkin, 2011).

در شکل (4-1-ج) طیف‌های مربوط به نانوذلهای کیتوزان-استئاریک اسید در نسبت‌های مختلف نشان داده شده است. با توجه به شکل (4-1-ج) پیک‌های مشاهده شده در نواحی  $2063$ ،  $1702$ ،  $1630$  و  $1524$  به ترتیب مربوط به پیوندهای  $\text{N-C}$ ،  $\text{C=O}$  و  $\text{N-H}$  گروه آمید و گروه کربوکسیل اسید چرب هستند. با توجه به شکل (4-1-ج) مشاهده می‌شود که با افزایش نسبت استئاریک اسید به کیتوزان از  $25$  به  $75$  درصد، شدت این پیک‌ها نیز افزایش پیدا کرده است. این نتایج نشان می‌دهد که اتصالات آمیدی بین کیتوزان و استئاریک به خوبی شکل گرفته است.

#### 2-1-4 آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>27</sup>

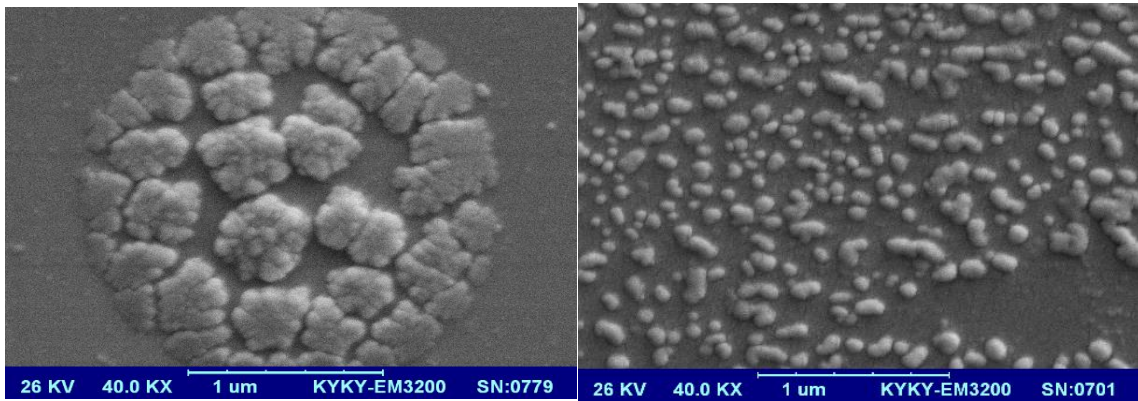
در شکل (4-2) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به نانوذلهای کیتوزان ( $0$ ،  $25$ ،  $50$  و  $75$  درصد اسید استئاریک) نشان داده شده است. با توجه به تصاویر می‌توان مشاهده کرد که در غلظت  $0$  درصد اسید استئاریک، یعنی در حالتی که کیتوزان بدون اصلاح برای تهیه نانوذرات استفاده شد، نانوذرات به خوبی نتوانسته شکل بگیرد اما با اضافه شدن اسید استئاریک به زنجیرهای کیتوزان تشکیل ذرات بهتر شده است. با توجه به شکل (4-2) می‌توان بیان کرد که با افزایش درصد اسید استئاریک به کیتوزان شکل نانوذرات یکنواختر و کروی‌تر شده است. در تمامی غلظت‌ها ذرات در حد زیر  $1000$  نانومتر مشاهده می‌شود. همچنین با توجه به شکل (4-2) می‌توان گفت که با افزایش درصد اسید استئاریک اگرچه ذرات یکنواختر شده اند اما اندازه ذرات نیز افزایش پیدا کرده است. تشکیل بهتر نانوذرات در درصد‌های بالاتر اسید استئاریک را می‌توان به افزایش خاصیت آگریزی زنجیره‌های کیتوزان مربوط دانست که این افزایش خاصیت آگریزی احتمالاً توانسته به تجمع بهتر رشته‌های

<sup>27</sup> SEM

کیتوزان و تشکیل نانوذرات کمک کند.

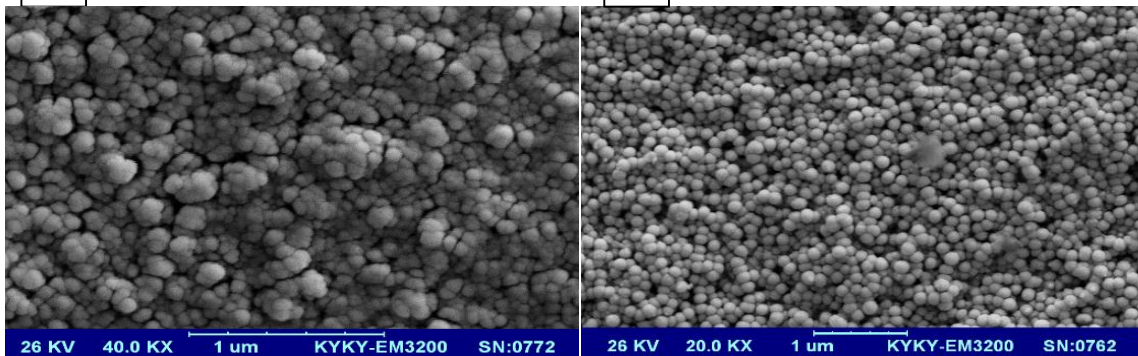
الف

ب



ج

د



شکل ۴-۲ تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) الف: نانوذله حاوی ۰ درصد اسید استتاریک ب: نانوذله حاوی ۲۵ درصد اسید استتاریک، ج: نانوذله حاوی ۵۰ درصد اسید استتاریک، د: نانوذله حاوی ۷۵ درصد اسید استتاریک

خلیلی و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی از میکروسکوپ الکترونی روبشی برای بررسی مورفولوژی نانوذله کیتوزان-اسید بنزوئیک استفاده کردند. عکس‌ها ساختارهای کروی نانوذرات با اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر را نشان دادند (Khalili et al., ۲۰۱۵).

ژاوه و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی مورفولوژی نانوذله کیتوزان-اسید کافئیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی آنالیز کردند. این آنالیز بخش‌های کروی و یک شکل ترکیب نانوذله را مشخص کرد. همچنین تصاویر میکروسکوپی به طور واضح نشان دادند که نانوذرات به خوبی شکل گرفته‌اند (Zhavah et al., ۲۰۱۵).

بیکی و همکاران در سال ۲۰۱۴، به بررسی مورفولوژی نانوذله کیتوزان-اسید سینامیک با میکروسکوپ الکترونی روبشی پرداختند. تصاویر حاصل نشان دادند که نانوذله‌ها با ساختار کروی و یکنواختی تشکیل شدند و اندازه ذرات نانوذله‌های اندازه‌گیری شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود (Beyki et al., ۲۰۱۴).

مصباح‌نمینی<sup>۲۸</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۵، مورفولوژی ساختار نانوذله کیتوزان-اسید میریستیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار دادند. عکس‌های حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی تشکیل ذرات نانوذله کروی شکل با قطر کمتر از ۵۰ نانومتر را تأیید کردند (Mesbah Namini et al., ۲۰۱۵).

ناظم<sup>۲۹</sup> و همکاران در سال ۲۰۱۶، اندازه ذرات دیسپرسیون نانوذله کیتوزان-اسید میریستیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی به دست آوردند و نشان دادند که اندازه ذرات مونودیسپرسیون نانوذله که در محلول آبی پخش شده بودند، شکل کروی داشتند (Nazem et al., ۲۰۱۶).

شاه و همکاران (۲۰۱۵)، از کیتوزان نانو ذراتی با اندازه زیر ۲۰۰ نانومتر با استفاده از پلی فسفات برای

---

<sup>۲۸</sup> Mesbah Namini

<sup>۲۹</sup> Nazem

درونیوشانی کردن کورکومین ساختند. این تحقیق نشان داد که با افزایش نسبت کیتوزان به پلی فسفات ذرات در اندازه کوچکتر تشکیل شد.

## ۲-۴ بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ

### ۱-۲-۴ اثر pH بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب

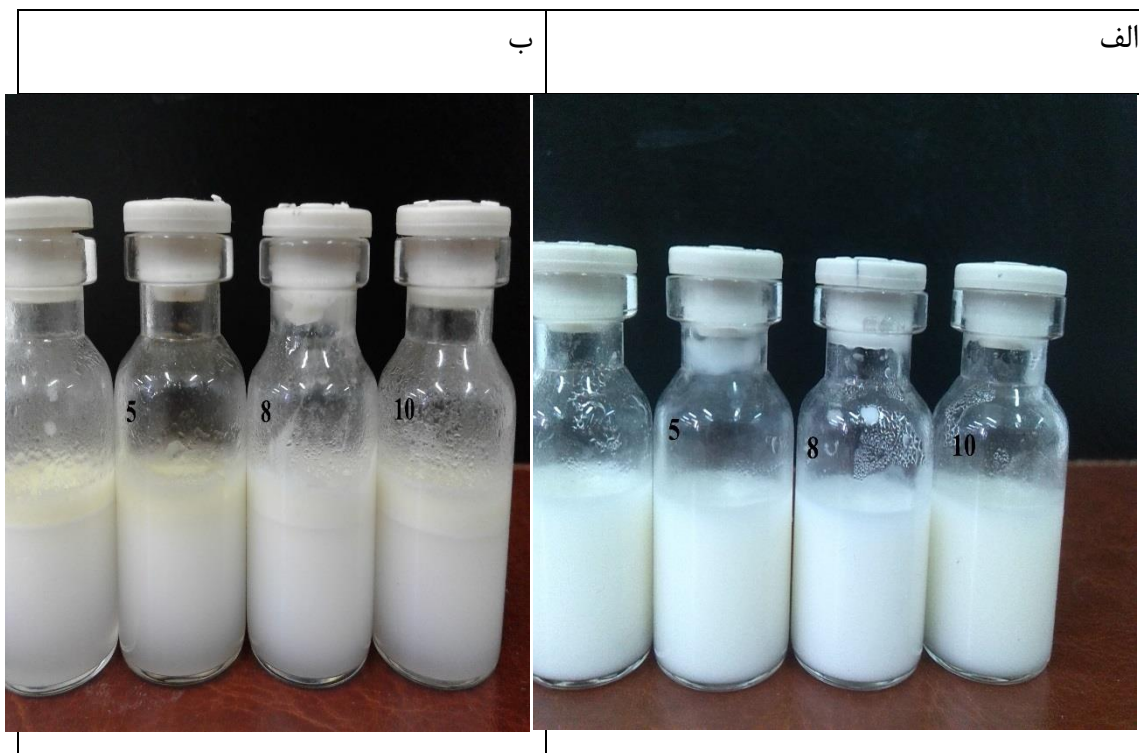
مقدار pH ، یکی از مهمترین عوامل در فرایند تولید مواد غذایی است، که به طور قابل توجهی پایداری امولسیون های پیکرینگ را تحت تاثیر قرار می دهد. در این تحقیق برای بدست آوردن pH مناسب برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب (با میزان ۲۰۰ میکرولیتر روغن و نانوزل استئاریک اسید به کیتوزان ۵۰ درصد) از pH ۲ تا ۱۰ استفاده شد.

در جدول (۱-۴) و شکل (۳-۴) به ترتیب میزان خامه ای شدن و شکل ظاهری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب حاوی نانوزل کیتوزان-استئاریک اسید در pH های مختلف نشان داده شده است. در شکل (۳-۴) تصاویر ظاهری امولسیون پیکرینگ در ۴ تیمار مختلف pH در ۳ ساعت اول (الف) و روز هفتم (ب) نشان داده شده است. در ۳ ساعت اول (الف) امولسیون پیکرینگ در ۴ تیمار از لحاظ ظاهری پایدار بوده و تفاوتی در آنها مشاهده نشد. در روز هفتم (۳-۴-ب) خامه ای شدن و دو فاز شدن در همه ی نمونه ها مشاهده شد. نکته قابل توجه در مورد نمونه های pH ۲ و ۵ بود که لایه خامه ای رنگ زرد تری نسبت به نمونه های pH ۱۰ و ۸ داشت که این نشان می دهد در pH های پایین علاوه بر جداسازی فاز روغنی، ذرات نانوزل کمتری نیز اطراف قطرات روغن را پوشش داده است و نانوزل نتوانسته در pH پایین به خوبی به عنوان پوشش دهنده قطرات عمل کند. همانطور که در جدول (۴-۱) مشخص است، شاخص خامه ای شدن در ۳ ساعت اول صفر بود. در روز هفتم اگرچه خامه ای شدن در تمام نمونه ها مشاهده شد اما اختلاف معنی داری بین آنها در سطح ۵ درصد مشاهده نشد.

جدول ۴-۱ درصد خامه ای شدن امولسیون ها با pH های مختلف

نمونه	پس از ۳ ساعت	پس از ۷ روز
pH=۲	•	۱۴,۳ ± ۱,۷ <sup>a</sup>
pH=۵	•	۱۴ ± ۱,۷ <sup>a</sup>
pH=۸	•	۱۷,۳ ± ۲,۳ <sup>a</sup>
pH=۱۰	•	۱۷,۳ ± ۲,۳ <sup>a</sup>

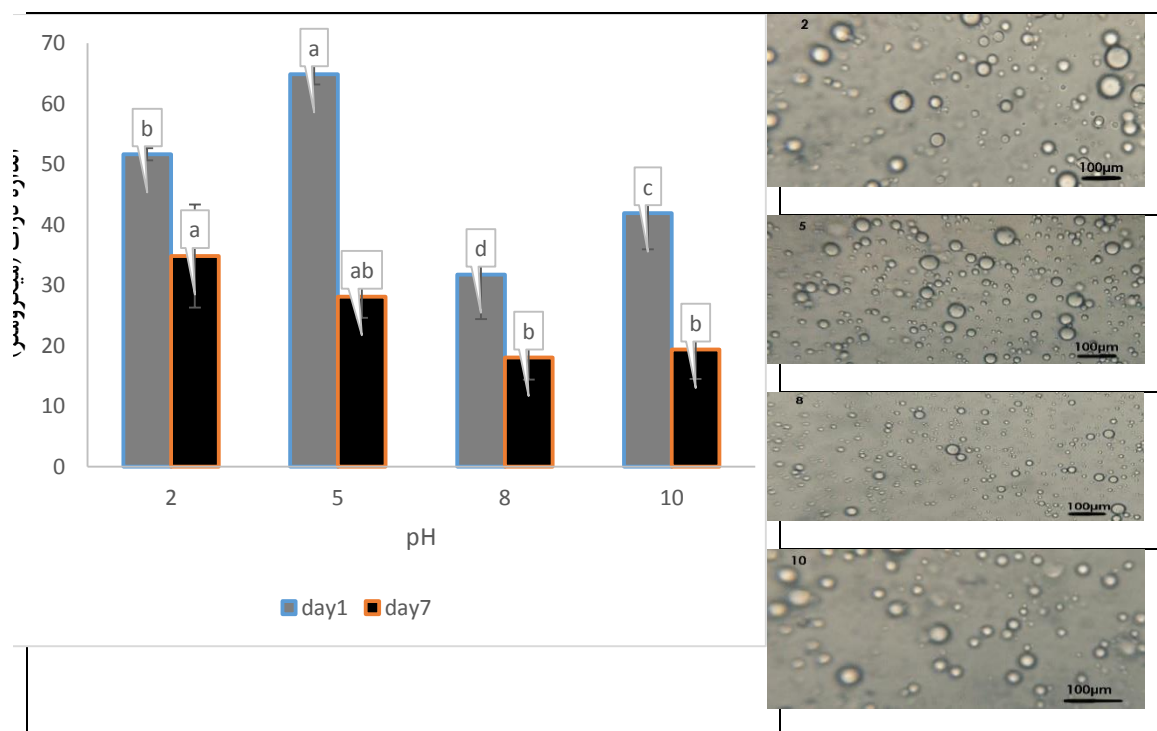
حروف کوچک لاتین (a-c) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در سطح  $P < 0/05$  است.



شکل ۳-۴ اثر pH های مختلف (۲، ۵، ۸ و ۱۰) بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در

آب

تصاویر میکروسکوپی نوری (روز هفتم) و همچنین میانگین اندازه ذرات امولسیون تثبیت شده با ذرات نانوزل کیتوزان اصلاح شده با استئاریک اسید در pH مختلف (۲، ۵، ۸ و ۱۰) و مقدار ثابت روغن ۲۰۰ میکرولیتر در شکل (۴-۴) نشان داده شده است.



شکل ۴-۴ اثر pH های مختلف بر میانگین اندازه ذرات امولسیون در روز اول و روز هفتم (تصاویر میکروسکوپ نوری در روز هفتم).

نتایج نشان داد با افزایش pH، میانگین اندازه ذرات در ۳ ساعت اول و روز هفتم به صورت معنی دار در سطح ۵ درصد کاهش یافت. با افزایش pH از ۲ به ۱۰ اندازه ذرات از ۵۱/۶ به ۴۱/۹ میکرومتر در روز اول کاهش یافت. کمترین اندازه ذرات در pH ۸ (۳۱/۷ میکرومتر) مشاهده شد. در روز هفتم نیز

همین روند مشاهده شد. در روز هفتم اگرچه کوچکترین اندازه ذرات مربوط به pH ۸ بود اما اختلاف معنی داری با pH ۱۰ در سطح ۵ درصد مشاهده نشد. علت ناپایدار بودن امولسیون پیکرینگ در pH پایین را می توان به باردار بودن ذرات در این pH تفسیر کرد در واقع ذرات کیتوزان در pH پایین به دلیل افزایش نیروی دافعه الکترواستاتیک به صورت محلول هستند (kargar et al., ۲۰۱۱). اما کیتوزان در pH بالاتر از pka خودش (۶/۵)، به علت انبوهش زنجیره های کیتوزان با پروتون زدایی گروه های آمین به صورت نامحلول می باشد و می تواند برای پایدار سازی امولسیون روغن در آب استفاده شوند، و بنابراین این ذرات می توانند به عنوان امولسیفایر پیکرینگ عمل کنند و در سطح قطرات روغن جذب شوند و باعث ایجاد یک مانع فیزیکی در برابر ادغام و خامه ای شدن شوند. مزیت ذرات کیتوزان تجمع یافته به عنوان یک امولسیفایر پیکرینگ، زیست سازگاری، منبع زیستی، نسبتاً ارزان و خوردنی بودن آن ها است. بنابراین می توانند به عنوان جایگزینی برای ترکیبات سنتزی یا ذرات غیر ارگانیک در امولسیون های پیکرینگ پایدار غذایی باشند (Ho et al., ۲۰۱۶).

از تحقیقات دیگر، می توان به تحقیق یاگنوما و همکاران (۲۰۱۰) اشاره کرد، که به بررسی پایداری امولسیون پیکرینگ حاوی نشاسته اصلاح شده و میکروسولوز در pH مختلف پرداختند. نتایج نشان داد امولسیون در pH بالاتر از ۴ پایدارتر از pH ۲ بود. سانگ و همکاران (۲۰۱۵)، نتیجه گرفتند که امولسیون حاوی نشاسته اصلاح شده در pH ۸ کمترین اندازه ذرات را نسبت به pH ۹ و ۲ داشت. شاه و همکاران (۲۰۱۶)، مشاهده کردند که امولسیون پیکرینگ روغن در آب در pH ۲ تا ۴، اندازه ذرات کوچکتری نسبت به pH ۵ تا ۷ داشت. یانگ تانگ و همکاران (۲۰۱۲)، نتیجه گرفتند که امولسیون دارای نانوذرات کروی نشاسته اصلاح شده و انهیدرید فتالیک و استیک در pH ۷ پایدار بود و اندازه ذرات کوچک داشت. کاهش در pH باعث پروتونه شدن گروه کربوکسیل در نتیجه باعث ایجاد دفع ذرات از سطح بین روغن و آب شد. فینگ و همکاران (۲۰۱۶)، در تحقیقی که از ذرات زین و سدیم کازینات در امولسیون استفاده کردند، مشاهده کردند که امولسیون به دلیل انعقاد ایزوالکتریک زین و سدیم کازینات دارای اندازه ذرات کوچکتر و پایدارتر در pH ۳ و ۹ نسبت به pH ۵ و ۷ بود.

موانگی و همکاران سال ۲۰۱۶، در پژوهشی تأثیر pH های مختلف فاز پیوسته (۲ تا ۸) را روی پایداری امولسیون پیکرینگ پایدار شده با کیتوزان و میانگین اندازه قطرات پس از ۷ روز بررسی کردند. نتایج نشان داد که بالاترین پایداری امولسیون ها در برابر ادغام و خامه ای شدن قطرات، در  $pH=8$  بود. این مشاهدات می تواند به کاهش دافعه الکترواستاتیک ارتباط داشته باشد که باعث فروپاشی یا انبوهش زنجیره های پلیمر در سطح مشترک آب و روغن و تقویت فیلم بین سطحی می شود. کاهش در نیروی دافعه به احتمال زیاد باعث رسوب ذرات کیتوزان جذب نشده روی قطرات و در نتیجه تقویت فیلم بین سطحی می شود و تشکیل شبکه ای سه بعدی از ذرات انبوهش یافته که قطرات را محصور کرده، حرکت قطرات به سمت بالا را به تأخیر می اندازد. افزایش تدریجی در قطر متوسط قطرات (میانگین اندازه قطرات) همراه با یک افزایش در اندیس خامه ای شدن در ۲ و  $pH=5$  بود که این مشاهدات می تواند به پروتون زایی گروه های آمین روی واحدهای دی گلوکز که باعث دافعه الکترواستاتیک بیشتری بین زنجیره های پلیمر می شود، مربوط باشد. در این حالت فیلم بین سطحی نازک به علت انحلال ذرات ایجاد می شود. در نتیجه گسستگی غشاء باعث کوالسنس، بالا آمدن روغن و دی امولسیفیکیشن احتمالی در  $pH=2$  می شود (Mwangi et al., ۲۰۱۶).

با توجه به نتایج حاصل از این بخش  $pH$  ۸ به عنوان  $pH$  مناسب برای مراحل بعدی انتخاب شد.

#### ۲-۲-۴ اثر نانوژل با درصدهای مختلف اسید استتاریک

در این پژوهش از نانوژل با غلظت های مختلف اسید استتاریک به کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) استفاده شد و تأثیر غلظت های مختلف اسید استتاریک به کیتوزان روی میانگین اندازه قطرات، پایداری در برابر خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری در دمای محیط مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در جدول (۴-۲) و شکل (۴-۵) مشخص است، با افزایش نسبت اسید استتاریک به کیتوزان، شاخص خامه ای شدن پس از ۷ روز نگهداری در دمای اتاق به طور معنی داری در سطح ۵ درصد کاهش یافته است. در واقع با افزایش غلظت اسید استتاریک شاخص پایداری افزایش

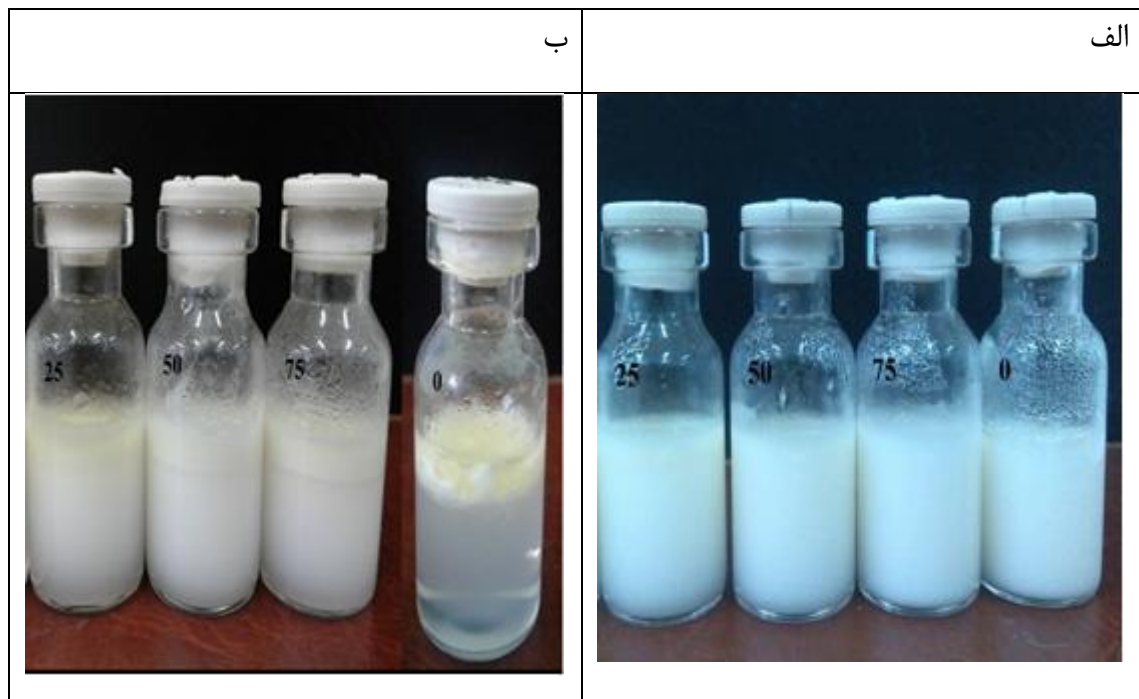


یافت در نتیجه امولسیون از نظر بهم آمیختن و ادغام ذرات پایدارتر شد. شکل (۴-۵) نشان می دهد که در در فقدان اسید استتاریک جداسازی به طور کامل صورت گرفته است. این نتیجه احتمالاً به این دلیل است که با افزایش غلظت استتاریک اسید خاصیت آگریزی نانوزل افزایش پیدا کرده است و این باعث شده که روغن بهتر توسط نانوزل پوشش داده شود. در واقع ناپایدار بودن امولسیون در غلظت پایین را می توان به حرکت آزادانه قطرات روغن در سیستم نسبت داد. به علاوه، جذب ذرات نانوزل در سطح قطرات امولسیون افزایش یافت که باعث به حداقل رسیدن تفاوت چگالی بین قطرات فاز پیوسته و فاز متراکم شد (Ying Tan et al., ۲۰۱۲).

۱-۰ درصد خامه ای شدن امولسیون ها با درصدهای مختلف اسید استتاریک

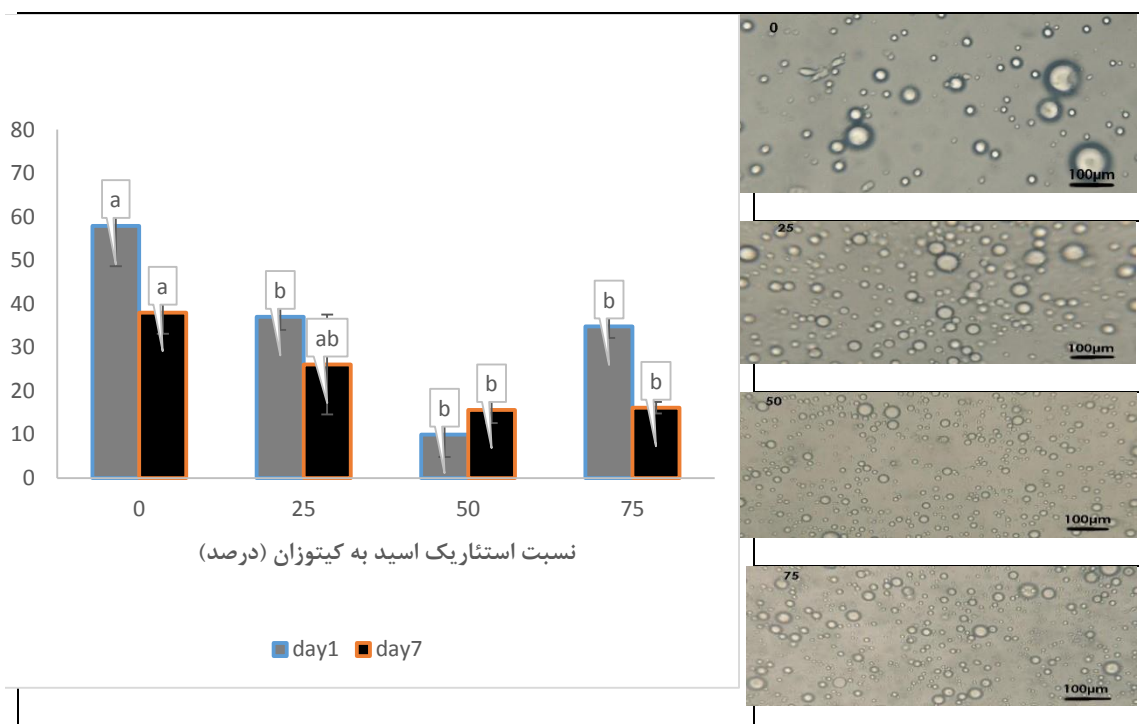
نسبت اسید استتاریک به کیتوزان (%)	پس از ۳ ساعت	پس از ۷ روز
۰٪	۰	۲۵/۱±۱/۷ <sup>a</sup>
۲۵٪	۰	۱۶/۸±۱/۷ <sup>b</sup>
۵۰٪	۰	۱۴/۴±۱/۵ <sup>b</sup>
۷۵٪	۰	۱۵/۶±۰ <sup>b</sup>

حروف کوچک لاتین (a-c) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در سطح  $P < 0.05$  است



شکل ۴-۱۵ اثر استتاریک اسید با غلظت مختلف بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب

تصاویر میکروسکوپی نوری و همچنین میانگین اندازه ذرات امولسیون تثبیت شده با ذرات نانوذله کیتوزان اصلاح شده استتاریک اسید با غلظت های مختلف و مقدار ثابت روغن ۲۰۰ میکرولیتر در شکل (۴-۶) نشان داده شده است.



شکل ۴-۶ اثر غلظت استتاریک اسید به کیتوزان بر میانگین اندازه ذرات در روز اول و هفتم (عکس های میکروسکوپ نوری مربوط به روز هفتم).

نتایج نشان داد با افزایش غلظت استتاریک اسید، میانگین اندازه ذرات در ۳ ساعت اول و روز هفتم به صورت معنی دار در سطح ۵ درصد کاهش یافت. با توجه به شکل (۴-۶) با افزایش غلظت استتاریک اسید از ۰ به ۷۵٪ اندازه ذرات از ۳۸ به ۱۶ میکرومتر در روز هفتم رسید. در روز هفتم میانگین اندازه ذرات در ۵۰ و ۷۵ درصد اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد با یکدیگر نداشتند. امولسیون پیکرینگ پایدار شده با کیتوزان اصلاح نشده که فاقد اسید استتاریک بود، اندازه قطرات بزرگتری داشت

که این احتمالاً به علت فعالیت سطحی کم کیتوزان اصلاح نشده می باشد. السابی<sup>۳۰</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۹، گزارش کردند که کیتوزان بدون هیچگونه اصلاح هیدروفوبیکی امولسیفایر خوبی نیست. این به علت فعالیت سطحی کم کیتوزان می باشد، زیرا کیتوزان قسمت هیدروفوبیکی کمی دارد که این ویژگی با ساختار شیمیایی آن مطابقت می کند. در واقع کیتوزان، یک پلی ساکارید کاتیونی ( $\text{NH}_3^+$ ) و با گروه های ( $\text{OH}$ ) که در طول ساختار هیدروکربنی آن توزیع شده است، می باشد. بنابراین فعالیت سطحی کیتوزان را می توان با استفاده از ترکیباتی که دارای گروه های هیدروفوبیکی هستند و می توانند با گروه های واکنش پذیر ( $\text{NH}_2$  یا  $\text{OH}$ ) کیتوزان برهمکنش ایجاد کنند، اصلاح کرد (Elsabee et al., ۲۰۰۹).

ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵، از کمپلکس کیتوزان و پلی استایرن برای پایداری امولسیون های پیکرینگ استفاده کردند. آن ها یافتند که جذب کمپلکس کیتوزان و پلی استایرن در سطح مشترک بین آب و روغن در مقایسه با جذب ذرات کیتوزان و پلی استایرن در سطح مشترک بهتر بود که این می تواند به دلیل فلوکوله شدن کمپلکس کیتوزان و پلی استایرن باشد. آن ها همچنین گزارش کردند که امولسیون پایدار شده با کیتوزان سریعاً دو فاز شد و بسیار ناپایدار بود (Zhang et al., ۲۰۱۵). با توجه به نتایج این بخش نانوژل با نسبت استئاریک اسید به کیتوزان ۵۰ درصد به عنوان نانوژل مناسب انتخاب شد.

#### ۳-۲-۴ اثر غلظت روغن بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب

اثر مقدار روغن بر پایداری امولسیون روغن آفتابگردان در آب در جدول (۳-۴) و شکل (۴-۷) نشان داده شده است. در این آزمایش امولسیون حاوی نانوژل کیتوزان- استئاریک اسید ۵۰ درصد، pH ۸ و مقدار روغن از ۱۰۰ تا ۴۰۰ ماکرولیترا بود. همان طور که در شکل (۴-۷) مشخص است، پس از ۳ ساعت همه نمونه ها پایدار بودند و هیچگونه خامه ای شدن پس از ۳ ساعت در آن ها مشاهده نشد.

<sup>۳۰</sup> Elsabee

همان طور که در شکل (۴-۷) نشان داده شد در روز هفتم با افزایش میزان روغن، میزان خامه ای شدن نیز افزایش یافت.

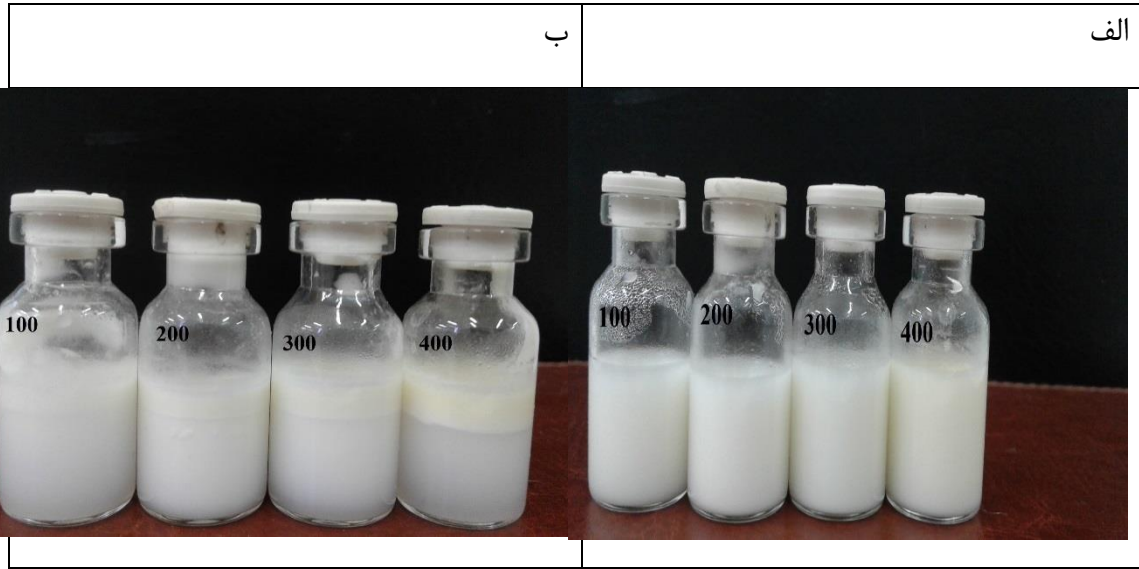
همانطور که در جدول مشخص است، با افزایش مقدار روغن شاخص خامه ای شدن پس از ۷ روز نگهداری در دمای اتاق به طور معنی داری افزایش یافته است. پس از ۷ روز نگهداری، امولسیون در میزان روغن ۱۰۰ و ۲۰۰ کمترین و در میزان روغن ۴۰۰ ماکرولیتتر بیشترین شاخص خامه ای شدن را نشان دادند. همچنین در نمونه حاوی ۴۰۰ ماکرولیتتر روغن پس از ۷ روز نگهداری در دمای اتاق، رنگ امولسیون به رنگ زرد متمایل شد.

جدول ۴-۳ درصد خامه ای شدن امولسیون ها با درصدهای مختلف روغن

میزان روغن (میکرولیتتر)	پس از ۳ ساعت	پس از ۷ روز
۱۰۰	۰	$7/3 \pm 1/9^c$
۲۰۰	۰	$1.0 \pm 0.0^c$
۳۰۰	۰	$21/2 \pm 2/4^b$
۴۰۰	۰	$27/2 \pm 1/3^a$

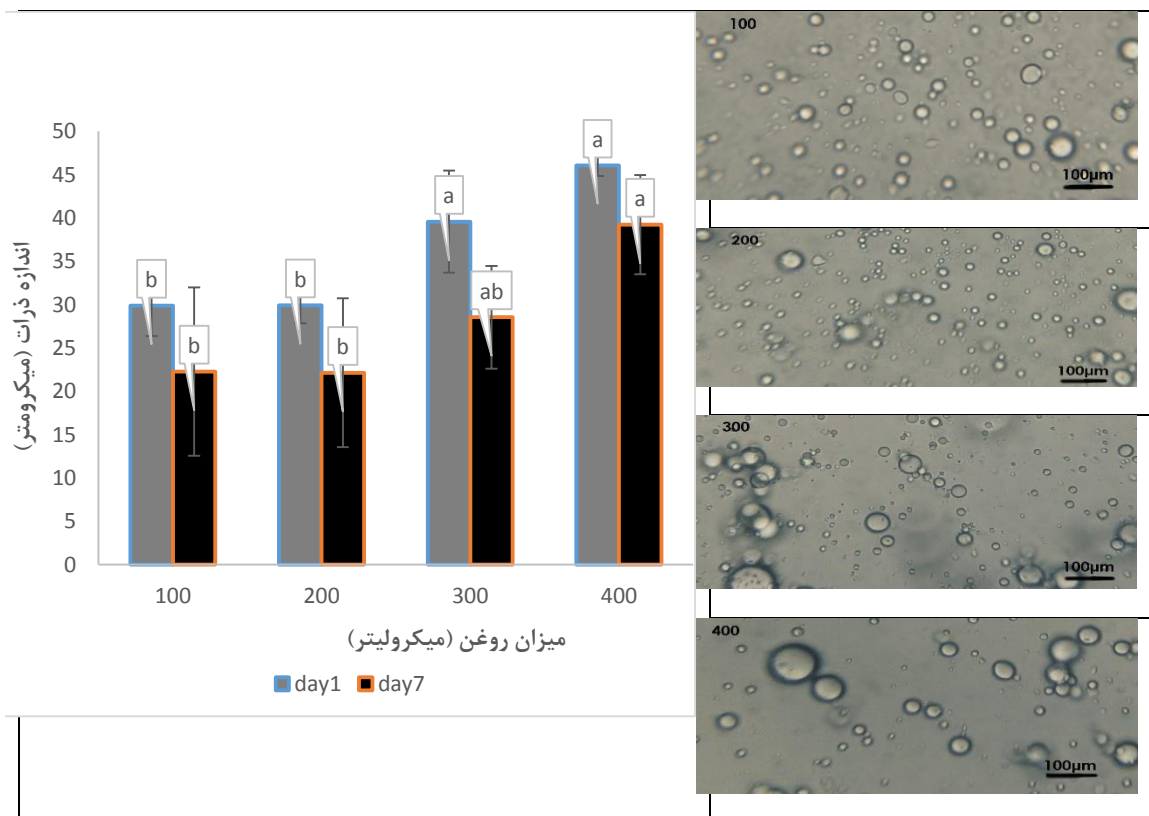
حروف کوچک لاتین (a-c) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در سطح  $P < 0.05$  است.

همان طور که در جدول (۴-۳) مشخص است، پس از ۳ ساعت در هیچ یک از امولسیون های پیکرینگ خامه ای شدن مشاهده نشد. در روز هفتم نیز با افزایش میزان روغن درصد خامه ای شدن افزایش پیدا کرد و از  $7/3$  به  $27/2$  درصد افزایش پیدا کرد. البته بین میزان روغن ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد



شکل ۴-۷ اثر غلظت مختلف روغن (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰) بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب.

در شکل (۴-۸) میانگین اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب در مقدار روغن مختلف (۱۰۰ تا ۴۰۰) نشان داده شده است.



شکل ۴-۸ اثر غلظت روغن بر میانگین اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب (عکس های میکروسکوپ نوری مربوط به روز هفتم).

نتایج نشان داد با افزایش مقدار روغن از ۱۰۰ به ۴۰۰ ماکرولیتتر، اندازه ذرات به طور معنی دار ( $p < 0.05$ ) افزایش یافت. با توجه به شکل (۴-۸) میانگین اندازه ذرات در مقدار ۱۰۰ ماکرولیتتر ۲۹ میکرومتر و در مقدار روغن ۴۰۰ ماکرولیتتر ۴۶ میکرومتر در ۳ ساعت اول (روز اول) بود. در روز هفتم میانگین اندازه ذرات در مقدار ۱۰۰ ماکرولیتتر ۲۳ میکرومتر و در مقدار روغن ۴۰۰ ماکرولیتتر ۳۷ میکرومتر بود که اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان دادند. این نتایج نشان داد که با افزایش مقدار روغن میانگین اندازه ذرات امولسیون روغن در آب افزایش یافت که این باعث ناپایدار شدن امولسیون شد. افزایش قطر قطرات با افزایش مقدار روغن احتمالاً به ناکافی بودن مقدار نانوذله برای پوشش دادن قطرات روغن مربوط باشد.

جائو و همکاران در سال ۲۰۱۶، در پژوهشی گزارش کردند که اندازه قطرات امولسیون با افزایش کسر روغن از ۰/۳ به ۰/۷ در غلظت ثابت نانوذرات کافیرین به عنوان یک پایدار کننده امولسیون، افزایش یافت (Xiao et al., ۲۰۱۶).

موانگی و همکاران در سال ۲۰۱۶، در پژوهشی گزارش کردند که میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ به طور معنی داری با افزایش در مقدار کسر روغن، افزایش یافت. این افزایش احتمالاً می تواند به علت غلظت کم ذرات کیتوزان و وقوع پدیده کوآگولاسیون باشد (Mwangi et al., ۲۰۱۶).

شاه و همکاران در سال ۲۰۱۶، در آماده سازی امولسیون پیکرینگ با نانوذرات کیتوزان تری پلی فسفات نشان دادند که اندازه قطرات امولسیون ها به علت کاهش در نسبت نانوذرات به روغن، افزایش یافت (Shah et al., ۲۰۱۶).

فرلیکوفسکا و همکاران در سال ۲۰۱۰، در پژوهشی به بررسی تأثیر مقدار نسبت آب به روغن بر روی

ویژگی امولسیون های پایدار شده با ذرات سیلیکا پرداختند و نشان دادند که در غلظت ۵۰ درصدی روغن، همه روغن به سمت بالا حرکت کرد و در غلظت های بالای روغن (۶۰ درصد) امولسیون ناپایدار گردید زیرا پوشش ضعیفی بین سطح روغن و آب به وسیله سیلیکا صورت گرفت (Frelichowska et al., ۲۰۱۰).

با بررسی نتایج حاصل از اثر مقدار روغن، مقدار پایه روغن برای امولسیون ۲۰۰ ماکرولیتتر به عنوان مقدار روغن مناسب انتخاب شد.

#### ۳-۴ پروفایل اسید های چرب روغن آفتابگردان

در جدول ۴-۴ پروفایل اسید های چرب حاصل از کروماتوگرافی گازی نشان داده شده است. نتایج حاصل از پروفایل اسید های چرب نشان می دهد که حدود ۵۹ درصد اسید های چرب روغن آفتابگردان را اسید های چرب لینولئیک (امگا۶) تشکیل داده اند. با توجه به جدول ۴-۴ تنها حدود ۱۲ درصد اسید های چرب روغن آفتابگردان از اسید های چرب اشباع تشکیل شده است. علاوه بر این با توجه به میزان بالای اسیدهای چرب غیر اشباع روغن آفتابگردان می توان گفت که این یک روغن حساس به اکسیداسیون می باشد.

جدول ۴-۴ غلظت و درصد اسیدهای چرب روغن آفتابگردان (غلظت بر حسب میلی گرم بر یک گرم



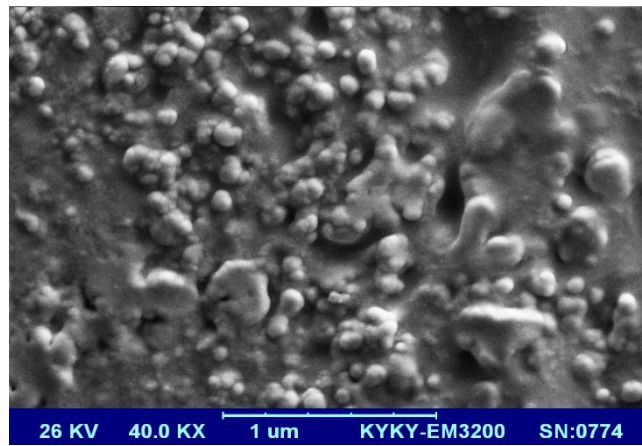
روغن).

اسید چرب	غلظت	درصد
C14:0	۰,۲۱۸	۰,۱۹۹
C16:0	۹,۰۲۹	۸,۲۳۲
C16:۱	۰,۵۱۸	۰,۴۷۲
C17:0	۰,۰۰۰	۰,۰۰۰
C18:0	۴,۷۱۲	۴,۲۹۶
C18:۱(n-۶)c	۲۷,۳۵۶	۲۴,۹۴۱
C18:۲(n-۶)	۶۵,۱۵۹	۵۹,۴۰۸
C18:۳(n-۳)ω۳	۰,۷۶۱	۰,۶۹۴
C20:0	۰,۲۰۹	۰,۱۹۱
C21:0	۰,۴۸۰	۰,۴۳۷
C20:۴(n-۶)ARA	۰,۶۸۴	۰,۶۲۴
C22:0	۰,۳۵۳	۰,۳۲۲
C22:۱	۰,۲۰۲	۰,۱۸۴

#### ۲-۱ بررسی اثر اسانس نعناع فلفلی درون پوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات نانوذل

در آزمایشات قبلی نانوذل با غلظت ۵۰ درصد اسید استئاریک به عنوان غلظت مناسب برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب انتخاب شد. در ادامه آزمایشات اسانس نعناع فلفلی در دو غلظت ppm ۲۰۰ و ۱۰۰۰ در نانوذل درون پوشانی شد و در مرحله بعد برای بررسی اثر آن ها در پایداری اکسیداتیو به همراه تیمارهای دیگر استفاده شد. به منظور بررسی این که درون پوشانی اسانس نعناع فلفلی چه اثری روی اندازه و شکل ذرات داشته است، از نانوذل با بیشترین غلظت اسانس نعناع

فلغلی (۱۰۰۰ ppm) عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شد که در شکل (۴-۹) عکس مربوطه نشان داده شده است. عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله حاوی اسانس در مقایسه با عکس نانوذله بدون اسانس (۴-۲ج) نشان می دهد که اگرچه ذرات در محدوده ۱۰۰۰ نانومتر وجود دارد اما یکنواختی توزیع اندازه ذرات کمتر شده است. همچنین ذرات حالتی به هم پیوسته تر پیدا کرده اند همچنین باعث ایجاد ادغام کلی و جزئی در امولسیون شد که این نشان می دهد که درون پوشانی اسانس می تواند شکل ذرات را تغییر دهد. این تغییر ساختار احتمالاً به دلیل تغییر آبدوستی و آبگریزی ساختار نانوذله است.



شکل ۴-۹ عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت ۵۰ درصد حاوی اسانس نعناع فلغلی

ضیائی و همکاران در سال ۲۰۱۴، در پژوهشی اثر میزان اسانس روغنی را بر اندازه روغن بارگذاری شده در نانوذله بررسی کردند. به این صورت که میزان ۲ و ۶ درصد اسانس روغنی زیره سبز را در نانوذله کیتوزان-اسید میریستیک بارگذاری کرده و بیان کردند که افزایش در میزان نسبت اسانس روغنی بارگذاری شده در نانوذله باعث ایجاد ذراتی با اندازه های ۳۰ تا ۲۵۰ نانومتر می شود. در واقع با افزایش اسانس اندازه ذرات افزایش پیدا کرد (Ziaee et al., ۲۰۱۴).

## ۴-۴ بررسی پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن آفتابگردان در آب

### ۱-۴-۴ میزان تغییرات پراکسید امولسیون روغن آفتابگردان در آب

برای بررسی پایداری اکسیداتیو نمونه ها، همه امولسیون ها در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ روز نگهداری شدند. سرعت اکسیداسیون روغن امولسیون روغن آفتابگردان با اندازه گیری میزان هیدروپراکسید و TBA بررسی شد. همان طور که در جدول (۴-۵) مشخص است، نمونه تویین ۸۰ تا روز پانزدهم روند افزایشی در میزان پراکسید داشته است که در روز پانزدهم بیشترین میزان پراکسید در مورد این نمونه مشاهده شد که اختلاف مشاهده شده در سطح ۵ درصد با دیگر تیمارها معنی دار بود. همانطور که می دانیم میزان عدد پراکسید همواره در حال افزایش نمی باشد بلکه تا مدتی افزایش یافته و بعد از این که به سطح مشخصی رسید شکسته شده و ترکیبات جانبی حاصل می گردد (صمدلویی و همکاران، ۱۳۸۶). با مقایسه روند کلی میزان تشکیل پراکسید در نمونه امولسیون پایدار شده با تویین ۸۰ و نمونه امولسیون پیکرینگ بدون اسانس میتوان مشاهده کرد که به طور کلی میزان تشکیل پراکسید در نمونه امولسیون پیکرینگ کمتر از نمونه امولسیون پایدار شده با تویین ۸۰ بود. این توانایی احتمالاً با بار مثبت قطرات امولسیون پوشیده شده با نانوذله کیتوزان- استتاریک اسید ارتباط داشت، زیرا در غلظت ۵۰٪ نانوذله که در این نمونه به کارگرفته شد تمامی آمین های کیتوزان به استتاریک اسید متصل نشد و تعدادی گروه های آمین به صورت آزاد وجود داشت که باعث مثبت شدن بار نانوذله و ماهیت هیدروفیل آن شد (Khalili et al., ۲۰۱۵). بار قطرات امولسیون در جذب و دفع فلزات شرکت کننده در اکسیداسیون تاثیر دارند (Árnadóttir, ۲۰۱۳). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که اکسیداسیون لیپید هنگامی که قطرات به طور مثبت باردار شدند نسبت به زمانی که دارای بار منفی بودند کمتر بوده است. به دلیل اینکه بار سطحی مثبت یون های فلزی پرواکسیدان بار مثبت را دفع کرده و مانع برهم کنش لیپید- آهن و اکسیداسیون لیپید می شود (Berton-Carabin et al., ۱۹۹۸; Mei, ۲۰۱۴). از تحقیقات دیگر میتوان به تحقیق کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۱ اشاره کرد که تأثیر امولسیون روغن در آب پایدار شده با ۰/۶ درصد تویین ۲۰ و امولسیون پیکرینگ روغن در آب

( ۲۰ درصد) پایدار شده با ذرات سیلیکا را بررسی کردند. در توئین ۲۰، هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در طول ۷ روز از ۲/۱ به ۳۲/۳ میلی مولار افزایش یافتند. ذرات سیلیکا نسبت به توئین ۲۰ سرعت اکسیداسیون لیپیدها را به طور مؤثری کاهش دادند. ذرات سیلیکا از طریق ایجاد یک لایه بین سطحی ضخیم اطراف قطرات و تشکیل یک مانع فیزیکی بین پراکسیدان ها در فاز پیوسته و هیدروپراکسیدها در سطح مشترک قطرات، باعث کاهش اکسیداسیون لیپیدها شدند. نتایج این محققین نشان داد که ذرات در رده غذایی نسبت به مولکول های کوچک سورفکتانت در تأخیر سرعت اکسیداسیون مؤثرتر بودند (Kargar a et al., ۲۰۱۱). در تحقیقات گذشته مشخص شده است که امولسیون هایی که حاوی کیتوزان کاتیونی با لایه های بین سطحی ضخیم هستند، پایداری بهتری در برابر اکسیداسیون لیپیدها فراهم می کنند (Mei et al, ۱۹۹۸; Silvestre et al, ۲۰۰۰). کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲، در پژوهشی نشان دادند که ذرات میکروکریستال سلولز که برای پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده شده بودند باعث کاهش سرعت اکسیداسیون لیپیدها شدند که این به علت توانایی ذرات جامد در جداسازی فیزیکی پراکسیدان ها از هیدروپراکسیدها در فاز پیوسته که در سطح مشترک قطرات قرار گرفته اند، بود. همچنین با افزایش غلظت میکروکریستال سلولز در سیستم، نه تنها لایه بین سطحی ضخیم در اطراف قطرات افزایش یافت، همچنین میزان ذرات میکروکریستال سلولز جذب نشده در فاز پیوسته امولسیون ها نیز افزایش یافت که این باعث تشکیل شبکه میکروکریستال سلولز در فاز پیوسته شد، که این شبکه ها در فاز پیوسته با کاهش حرکت پروکسیدان ها در فاز پیوسته به علت افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته، باعث جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها شدند (Kargar et al., ۲۰۱۲). با توجه به جدول (۴-۵) در روز اول در نمونه امولسیون با اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در نانوزل کمترین میزان پراکسید مشاهده شد. این روند تقریباً تا روز پانزدهم در مورد نمونه امولسیون با اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در نانوزل مشاهده شد. در مورد روز انتهایی کمترین میزان پراکسید در نمونه امولسیون با اسانس ppm ۲۰۰ درون پوشانی شده در نانوزل مشاهده شد. اگرچه اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین تیمارهای مختلف در میزان تشکیل پراکسید در روز انتهایی

مشاهده نشد. به طور کلی با بررسی نتایج پراکسید می توان مشاهده کرد که میزان تولید پراکسید در نمونه های حاوی اسانس درونپوشانی شده در نانوژل نسبت به نمونه های امولسیون حاوی اسانس درونپوشانی شده در روغن تا حدی کمتر بود. لازم به ذکر است که اکسیداسیون امولسیون ها در سطح مشترک فاز روغنی با فاز آبی رخ می دهد (Wang et al., ۲۰۱۵) به همین دلیل این نتیجه می تواند به وجود آنتی اکسیدان ها از جمله اسانس نعناع فلفلی در سطح قطرات روغن مربوط باشد که امکان بازدارندگی از اکسیداسیون بیشتری نسبت به زمانی که اسانس در داخل روغن استفاده شد، فراهم کرده باشد. وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵، کورکومین (پلی فنول حاصل از زردچوبه) که خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارد را در کمپلکس کیتوزان-زئین درون پوشانی نمودند و برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن ذرت در آب استفاده کردند. این محققین دریافتند زمانی که کورکومین درون کمپلکس کیتوزان-زئین قرار گرفته بود نسبت به زمانی که کورکومین به روغن ذرت اضافه شده بود، توانست میزان اکسیداسیون روغن را بیشتر کاهش دهد (Wang et al., ۲۰۱۵) که این یافته با نتایج این تحقیق مشابه بود. البته با نگاهی دقیقتر به نتایج مربوط به نمونه های حاوی اسانس درون پوشانی شده در نانوژل و امولسیون پیکرینگ بهینه مشاهده می شود که اگرچه در برخی از روزها اختلاف در سطح ۵ درصد معنی دار می باشد اما به طور کلی اختلاف بین تیمارهای حاوی اسانس و تیمار بدون اسانس اندک است. این نتیجه احتمالاً مربوط به عملکرد ضعیف و خاصیت آنتی اکسیدانی کم اسانس نعناع فلفلی در این نوع سامانه امولسیونی می باشد. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که اسانس نعناع فلفلی یک آنتی اکسیدان طبیعی خیلی مناسب برای امولسیون پیکرینگ روغن آفتابگردان در آب نمی باشد.

جدول ۴-۵ میانگین و انحراف معیار مقادیر تست پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۰ نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد.

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز پانزدهم	روز بیستم
امولسیون پیکرینگ	۲۴۴,۲±۳,۴ <sup>ab,C</sup>	۲۷۹,۰±۴۳,۹ <sup>c,C</sup>	۴۲۵,۹±۲۴,۶ <sup>b,B</sup>	۶۰۷,۵±۶۱,۰ <sup>b,A</sup>	۷۱۰,۱±۹۸,۳ <sup>a,B</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ ppm اسانس در روغن	۲۴۲,۸±۱۳,۲ <sup>ab,C</sup>	۳۰۶,۱±۱۵,۴ <sup>c,C</sup>	۴۱۹,۴±۱۵,۴ <sup>b,B</sup>	۴۳۸,۱±۶۲,۳ <sup>c,B</sup>	۶۲۶,۱±۴۲,۷ <sup>a,A</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس در روغن	۲۸۲,۰±۵۱,۰ <sup>a,C</sup>	۴۲۴,۱±۳۰,۲ <sup>b,C</sup>	۳۳۶,۴±۳۵,۶ <sup>c,B</sup>	۶۲۸,۴±۴۴,۷ <sup>b,A</sup>	۶۰۰,۵±۶,۹ <sup>a,A</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ ppm اسانس در نانوژل	۲۸۱,۳±۱,۳ <sup>a,B</sup>	۳۰۸,۸±۷۰,۷ <sup>c,B</sup>	۳۲۸,۴±۳۰,۹ <sup>c,B</sup>	۵۷۰,۱±۵۰,۸ <sup>b,A</sup>	۵۸۶,۹±۲۲,۶ <sup>a,A</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس در نانوژل	۲۳۵,۸±۱۰,۴ <sup>b,D</sup>	۲۸۷,۴±۲۲,۴ <sup>c,C</sup>	۳۳۵,۰±۱۶,۳ <sup>c,C</sup>	۵۳۲,۸±۴۹,۴ <sup>bc,B</sup>	۶۶۰,۶±۱۲,۸ <sup>a,A</sup>
امولسیون حاوی توپین	۲۵۹,۶±۶,۲ <sup>ab,D</sup>	۵۸۶,۵±۲۹,۳ <sup>a,C</sup>	۷۸۶,۲±۳۸,۴ <sup>a,B</sup>	۱۵۴۶,۲±۱۰۸,۷ <sup>a,A</sup>	۶۴۷,۶±۱۵۸,۳ <sup>a,BC</sup>

حروف کوچک لاتین (a-e) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ستون در سطح  $P < 0.05$  و حروف بزرگ (A-D) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ردیف در سطح  $P < 0.05$  است.

#### ۴-۴-۲ میزان تغییرات تیوباربیتوریک اسید در امولسیون روغن آفتابگردان در آب

اندیس تیوباربیتوریک اسید برای سنجش فساد ناشی از اکسیداسیون روغن ها به عنوان یک روش کمکی برای سایر روش ها از جمله اندازه گیری اندیس پراکسید به حساب می آید. به دلیل گسترش فساد روغن، محصولات اولیه اکسیداسیون مانند هیدروپراکسید ها به آلدهید ها و کتون ها تجزیه شده و عدد پراکسید کاهش می یابد، بنابراین جهت تشخیص و اندازه گیری محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون مانند آلدهیدها و کتون ها آزمایش تیوباربیتوریک اسید انجام می شود. مالون آلدهید، آلدهیدی است که به طور عمده در اثر تجزیه اسیدهای چرب چند غیراشباعی تشکیل می شود. در اندازه گیری اندیس تیوباربیتوریک اسید، مالون آلدهید با تیوباربیتوریک اسید، واکنش می دهد. بنابراین میزان تیوباربیتوریک طی اکسیداسیون افزایش می یابد. طی اکسیداسیون ممکن است آلدهیدها خود اکسید شده و به اسیدهای کربوکسیلیک تبدیل شوند که در این صورت میزان تیوباربیتوریک اسید کاهش خواهد یافت (آزادمرد و میرچی، ۱۳۸۹).

تغییرات تیوباربیتوریک اسید در نمونه های مختلف در روزهای متفاوت در جدول (۴-۶) نشان داده شده است.

جدول ۴-۶ میانگین و انحراف معیار مقادیر تست TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۵ و ۲۰ نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز پانزدهم	روز بیستم
امولسیون پیکرینگ	۳۸,۴±۰,۴ <sup>a,B</sup>	۷۴,۷±۲۷,۲ <sup>ab,A</sup>	۵۴,۵±۶,۵ <sup>b,AB</sup>	۵۷,۳±۵,۰ <sup>b,AB</sup>	۶۰,۰±۵,۴ <sup>b,AB</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ ppm اسانس در روغن	۳۴,۹±۰,۹ <sup>a,C</sup>	۶۴,۸±۱۳,۷ <sup>ab,A</sup>	۴۷,۵±۵,۵ <sup>b,BC</sup>	۵۵,۷±۷,۱ <sup>b,AB</sup>	۵۵,۴±۶,۵ <sup>b,B</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس در روغن	۳۵,۱±۳,۷ <sup>a,B</sup>	۵۸,۰±۹,۵ <sup>ab,A</sup>	۴۸,۵±۸,۱ <sup>b,A</sup>	۵۲,۲±۷,۴ <sup>b,A</sup>	۵۴,۰±۴,۹ <sup>b,A</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ ppm اسانس در نانوژل	۳۶,۴±۰,۴ <sup>a,B</sup>	۸۹,۲±۲۵,۴ <sup>a,A</sup>	۵۴,۶±۱,۶ <sup>b,B</sup>	۵۸,۶±۳,۳ <sup>b,B</sup>	۵۱,۴±۷,۹ <sup>b,B</sup>
امولسیون پیکرینگ حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس در نانوژل	۳۵,۱±۳,۷ <sup>a,B</sup>	۴۵,۵±۸,۷ <sup>b,AB</sup>	۴۷,۵±۳,۱ <sup>b,A</sup>	۵۱,۷±۱,۱ <sup>b,A</sup>	۵۱,۷±۱۰,۷ <sup>b,A</sup>
امولسیون حاوی توین	۳۶,۴±۰,۴ <sup>a,B</sup>	۵۴,۲±۳,۱ <sup>b,D</sup>	۶۷,۴±۲,۷ <sup>a,C</sup>	۱۶۹,۱±۵,۶ <sup>a,A</sup>	۱۰۳,۶±۳,۸ <sup>a,B</sup>



حروف کوچک لاتین (a-c) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ردیف در سطح  $P < 0.05$  و حروف بزرگ (A,B) نشان دهنده سطح معنی داری بین تیمارها در یک ستون در سطح  $P < 0.05$  است.

با توجه به روند کلی تغییرات تیوباریتوریک اسید مشاهده می شود که میزان تشکیل تیوباریتوریک اسید در نمونه امولسیون پایدار شده با توپین بیشتر از نمونه های دیگر بود و همانند نتایج پراکسید تا روز پانزدهم روندی افزایشی داشته است و سپس کاهش پیدا کرده است. همچنین در مورد نمونه امولسیون پیکرینگ حاوی  $1000 \text{ ppm}$  اسانس درونپوشانی شده در نانوژل مشاهده می شود که نسبت به نمونه های دیگر افزایش کمتری در میزان شاخص تیوباریتوریک اسید داشته است که این نتایج با یافته های آزمون پراکسید هماهنگی دارد.

## نتیجه گیری

اصلاح پلیمر کیتوزان با ایجاد پیوند کووالانسی بین گروه‌های آمین کیتوزان و گروه کربوکسیلیک اسید استتاریک اسید انجام شد. در ادامه با روش خود تجمعی ذرات نانوذله کیتوزان-استتاریک اسید ایجاد شد. نتایج طیف FT-IR اتصال موفقیت آمیز بین کیتوزان و استتاریک اسید را نشان داد. طبق نتایج حاصل از بررسی ساختار کیتوزان اصلاح نشده و درصدهای مختلف نانوذله کیتوزان-استتاریک اسید توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی این نتیجه بدست آمد که کیتوزان اصلاح نشده نتوانست نانوذرات یکنواخت تشکیل دهد و افزودن استتاریک اسید به دلیل ایجاد ماهیت هیدروفوبیک در کیتوزان باعث ایجاد ذرات یکنواخت تر شد. نتایج حاصل از اثر فاکتورهای درصد استتاریک اسید به کیتوزان، pH و میزان روغن بر پایداری امولسیون نشان داد که امولسیون پیکرینگ در pHهای کمی قلیایی پایداری بیشتری از خود نشان داد. افزایش درصد استتاریک اسید به کیتوزان در نانوذله تا مقدار مشخصی باعث کاهش اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ و پایداری بیشتر آن شد. احتمالاً با افزایش مقدار استتاریک اسید بارهای مثبت بیشتری در کیتوزان خنثی شد و توانایی پایدارسازی نانوذله از طریق افزایش ماهیت آمفی فیلیک بهبود یافت. همچنین مقدار روغن در پایداری امولسیون پیکرینگ تاثیر داشت. نتایج نشان داد که افزایش میزان روغن در امولسیون پیکرینگ باعث افزایش اندازه قطرات و ناپایداری امولسیون پیکرینگ گشت. احتمالاً در مقادیر بالای روغن نانوذله کافی برای پایدارسازی امولسیون پیکرینگ در در دسترس نبود. با دستیابی به فرمولاسیون مناسب برای آماده سازی امولسیون پیکرینگ، پایداری اکسیداتیو آن تحت شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که امولسیون های تولید شده توسط نانوذله کیتوزان- استتاریک اسید پایداری اکسیداتیو بیشتری نسبت به امولسیون حاوی توئین ۸۰ داشتند. همچنین تاثیر درونپوشانی اسانس نعناع فلفلی در روغن و نانوذله بر پایداری اکسیداتیو مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که امولسیون پیکرینگ با اسانس درونپوشانی شده در نانوذله تاثیر بیشتری را در کاهش اکسیداسیون روغن داشت.

## پیشنهادات:

۱. استفاده از نانوذله کیتوزان با اسیده‌های چرب مختلف به عنوان پایدار کننده.
۲. استفاده از اسانس‌های دیگر با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی تر برای جلوگیری از اکسیداسیون.
۳. استفاده از نانوذله با اسانس‌های مختلف در سامانه‌های غذایی همچون سس مایونز.



## فصل پنجم

# منابع

آزادمرد د، میرچی، ص. ۱۳۸۹. "شیمی و تجزیه روغن ها و چربی های خوراکی"، انتشارات عمیدی

فاطمی ح، ۱۳۷۸، "شیمی مواد غذایی"، چاپ هفتم، شرکت سهامی انتشار، تهران، ص ۴۹-۵۵

ترابی زاده ه، ۱۳۸۱، "امولسیون های غذایی و امولسیفایرها"، انتشارات آییژ، تهران، ص ۱۵۲

صمصام شریعت ه، ۱۳۷۸، "عصاره گیری و استخراج مواد موثر و گیاهان دارویی و روشهای

شناسایی آنها"، انتشارات مان گیاهان دارویی، پروفیسور هانس فلوک، چاپخانه گلشن تهران - ۱۳۶۸

هادیان م، ۱۳۹۵، پایان نامه ارشد: "تاثیر نانوذله کیتوزان حاوی اسانس رزماری بر روی کیفیت گوشت

گاو"، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود،

صادقیان ع، کدخدایی ر، فرهوش ر، کوچکی ا. و نجف نجفی م، (۱۳۸۹) "بررسی تاثیر کونژوگه پروتئین

آب پنیر - نشاسته بر شاخص های کیفی امولسیون روغن در آب" نشریه پژوهش و نوآوری در علوم

و صنایع غذایی جلد ۲، شماره ۲، صفحات ۱۳۹-۱۵۲

شاهین ر، نایب زاده ک، علیزاده ل. و محمدی ع، (۱۳۹۲) "بررسی اثرات آنتی اکسیدانی توکوفرول در

مقایسه با TBHQ بر روند اکسیداسیون روغن مایونز طی مدت زمان ماندگاری" *مجله علوم تغذیه و*

*صنایع غذایی ایران*، شماره ۴، صفحات ۲۳۶-۲۲۷

Atarés, L., Marshall, L. J., Akhtar, M., & Murray, B. S. (2012) Structure and oxidative stability of oil in water emulsions as affected by rutin and homogenization procedure. *Food Chemistry*, 134(3), PP.1418–1424.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), PP. 446–475.

Berton-Carabin, C. C., & Schroën, K. (2015). Pickering Emulsions for Food Applications: Background, Trends, and Challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6(1), PP. 263–297.

- Beyki, M., Zhaveh, S., Khalili, S. T., Rahmani-Cherati, T., Abollahi, A., Bayat, M., Mohsenifar, A. (2014). Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops and Products*, 54, PP. 310–319.
- Bouchra, C., Achouri, M., Hassani, L. M. I., & Hmamouchi, M. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1), PP.165–169.
- Calero, N., Muoz, J., Cox, P. W., Heuer, A., & Guerrero, A. (2013). Influence of chitosan concentration on the stability, microstructure and rheological properties of O/W emulsions formulated with high-oleic sunflower oil and potato protein. *Food Hydrocolloids*, 30(1), PP. 152–162.
- Capron, I. (2013). Surfactant-free high internal phase emulsions stabilized by cellulose nanocrystals. *Biomacromolecules*, 14(2), PP. 291–296.
- Chaiyasit, W., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2005). The relationship between the physicochemical properties of antioxidants and their ability to inhibit lipid oxidation in bulk oil and oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), PP. 4982–4988.
- Chevalier, Y., & Bolzinger, M. A. (2013). Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, PP. 23–34.
- Coupland, J. N., & Julian McClements, D. (2001). Droplet size determination in food emulsions: Comparison of ultrasonic and light scattering methods. *Journal of Food Engineering*, 50(2), PP. 117–120.
- de Folter, J. W. J., van Ruijven, M. W. M., & Velikov, K. P. (2012). Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water-insoluble protein zein. *Soft Matter*, 8(25), PP. 6807.
- Dickinson, E. (2010). Food emulsions and foams: Stabilization by particles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 15(1–2), PP.40–49.
- Dickinson, E. (2012). Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions. *Trends in Food Science and Technology*, 24(1), PP. 4–12.

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

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

Frelichowska, J., Bolzinger, M. A., & Chevalier, Y. (2010). Effects of solid particle content on properties of o/w Pickering emulsions. *Journal of colloid and interface science*, 351(2),PP 348-356.

Gracia-Valenzuela, M. H., Orozco-Medina, C., & Molina-Maldonado, C. (2012). Efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*) en bacterias patógenas de camarón *Litopenaeus vannamei*. *Hidrobiologica*, 22(3),PP. 201–206.

Hadian, M., Rajaei, A., Mohsenifar, A., & Tabatabaei, M. (2017). Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*. 84, 394-401.

Harmer, S. L. (2000). Orchestrated transcription of key pathways in *Arabidopsis* by the circadian clock. *Science*, 290, PP.2110–2113.

Ho, K. W., Ooi, C. W., Mwangi, W. W., Leong, W. F., Tey, B. T., & Chan, E. S. (2016). “Comparison of self-aggregated chitosan particles prepared with and without ultrasonication pretreatment as Pickering emulsifier. *Food Hydrocolloids*, 52,PP. 827-837.

Hu, M., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2003). Impact of whey protein emulsifiers on the oxidative stability of salmon oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5),PP. 1435–1439.

Jacobsen, C., Meyer, A. S., & Adler-Nissen, J. (1999). Oxidation mechanisms in real food emulsions. Oil-water partition coefficients of selected volatile off-flavor compounds in mayonnaise. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A*, 208(5–6),PP. 317–327.

Kargar, M., Fayazmanesh, K., Alavi, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2012). Investigation into the potential ability of Pickering emulsions



(food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 366(1),PP. 209–215.

Kargar, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2011). The effect of interfacial microstructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 357(2),PP. 527–533.

Kellerby, S. S., Yeun, S. G., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2006). Lipid oxidation in a menhaden oil-in-water emulsion stabilized by sodium caseinate cross-linked with transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26),PP. 10222–10227.

Khalili, S. T., Mohsenifar, A., Beyki, M., Zhavah, S., Rahmani-Cherati, T., Abdollahi, A., Tabatabaei, M. (2015). Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1),PP. 502–508.

Larkin, P. (2011). Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation. *Elsevier*.

Tong, L. M., Sasaki, S., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). “Antioxidant activity of whey in a salmon oil emulsion”. *Journal of Food Science*, 65(8), 1325-1329.

Liang, H. N., & Tang, C. he. (2014). Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil-in-water emulsions at pH 3.0. *LWT - Food Science and Technology*, 58(2),PP. 463–469.

Livney, Y. D. (2015). Nanostructured delivery systems in food: Latest developments and potential future directions. *Current Opinion in Food Science*, 3,PP. 125–135.

Luo, Z., Murray, B. S., Ross, A. L., Povey, M. J. W., Morgan, M. R. A., & Day, A. J. (2012). Effects of pH on the ability of flavonoids to act as Pickering emulsion stabilizers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 92,PP. 84–90.

Ma, X., Sun, P., He, P., Han, P., Wang, J., Qiao, S., & Li, D. (2010). Development of monoclonal antibodies and a competitive ELISA detection method for glycinin, an allergen in soybean. *Food Chemistry*, 121(2),PP. 546–551.

Marku, D., Wahlgren, M., Rayner, M., Sjöö, M., & Tingren, A. (2012). Characterization of starch Pickering emulsions for potential applications in

topical formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 428(1–2),PP. 1–7.

Massoud, M. A., Tarhini, A., & Nasr, J. A. (2009). Decentralized approaches to wastewater treatment and management: Applicability in developing countries. *Journal of Environmental Management*, 90(1),PP. 652–659.

McClements, D. J. (2010). Emulsion Design to Improve the Delivery of Functional Lipophilic Components. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1),PP. 241–269.

Mesbah Namini, S. M., Mohsenifar, A., Karami, R., Rahmani-Cherati, T., Shojaei, T. R., & Tabatabaei, M. (2015). Kinetic properties of arylalkylphosphatase immobilised on chitosan myristic acid nanogel. *Chemical Papers*, 69(10),PP.1291-1297.

Mitra, S. B., Wu, D., & Holmes, B. N. (2003). An application of nanotechnology in advanced dental materials. *Journal of the American Dental Association*, 134(10),PP. 1382–1390.

Moschakis, T., Murray, B. S., & Biliaderis, C. G. (2010). Modifications in stability and structure of whey protein-coated o/w emulsions by interacting chitosan and gum arabic mixed dispersions. *Food Hydrocolloids*, 24(1),PP. 8–17.

Mwangi, W. W., Ho, K. W., Tey, B. T., & Chan, E. S. (2016). “Effects of environmental factors on the physical stability of pickering-emulsions stabilized by chitosan particles. *Food Hydrocolloids*, 60,PP 543-550.

Nan, F., Wu, J., Qi, F., Liu, Y., Ngai, T., & Ma, G. (2014). Uniform chitosan-coated alginate particles as emulsifiers for preparation of stable Pickering emulsions with stimulus dependence. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 456(1),PP. 246–252.

Nasr, H. E., Sayyah, S. M., Essa, D. M., Samaha, S. H., & Rabie, A. M. (2009). Utilization of acrylates emulsion terpolymer with chitosan as a finishing agent for cotton fabrics. *Carbohydrate Polymers*, 76(1),PP. 36–45.

Nazem, H., Mohsenifar, A., & Majdi, S. (2016). Chitosan-myristate nanogel as an artificial chaperone protects neuroserpin from misfolding. *Advanced biomedical research*, 5.

- Niu, Y., Shen, B., Cui, Y., Chen, Y., Wang, J., Wang, L., Sha, J. (2014). Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell*, 156(4),PP. 836–843.
- Pereda, M., Amica, G., & Marcovich, N. E. (2012). Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, 87(2),PP. 1318–1325.
- Raemdonck, K., Demeester, J., & De Smedt, S. (2009). Advanced nanogel engineering for drug delivery. *Soft Matter*, 5(4),PP. 707–715.
- Rayner, M., Marku, D., Eriksson, M., Sj, M., Dejmek, P., & Wahlgren, M. (2014). Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 458(1),PP. 48–62.
- Rayner, M., Timgren, A., Sjö, M., & Dejmek, P. (2012). Quinoa starch granules: A candidate for stabilising food-grade Pickering emulsions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9),PP. 1841–1847.
- Sánchez-González, L., Chiralt, A., González-Martínez, C., & Cháfer, M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 105(2),PP. 246–253.
- Shah, B. R., Li, Y., Jin, W., An, Y., He, L., Li, Z., Li, B. (2016). Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation. *Food Hydrocolloids*, 52,PP. 369–377.
- Sherwin, E. R. (1978). Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55(11),PP. 809–814.
- Song, X., Pei, Y., Qiao, M., Ma, F., Ren, H., & Zhao, Q. (2015). Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles. *Food Hydrocolloids*, 45,PP. 256–263.
- Tan, Y., Xu, K., Liu, C., Li, Y., Lu, C., & Wang, P. (2012). Fabrication of starch-based nanospheres to stabilize pickering emulsion. *Carbohydrate Polymers*, 88(4),PP. 1358–1363.
- Tan, Y., Xu, K., Niu, C., Liu, C., Li, Y., Wang, P., & Binks, B. P. (2014). Triglyceride-water emulsions stabilised by starch-based nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 36,PP. 70–75.

- Timgren, A., Rayner, M., Sjöo, M., & Dejmeck, P. (2011). Starch particles for food based Pickering emulsions. *Procedia Food Science*, 1, PP. 95–103.
- Tzoumaki, M. V., Moschakis, T., Kiosseoglou, V., & Biliaderis, C. G. (2011). Oil-in-water emulsions stabilized by chitin nanocrystal particles. *Food Hydrocolloids*, 25(6), PP. 1521–1529.
- Walker, R. M., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2015). Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size. *Journal of Food Engineering*, 164, PP. 10–20.
- Wang, L. J., Hu, Y. Q., Yin, S. W., Yang, X. Q., Lai, F. R., & Wang, S. Q. (2015). Fabrication and characterization of antioxidant pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(9), PP. 2514–2524.
- Waraho, T., Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M. T., Julian McClements, D., & Decker, E. A. (2009). Prooxidant mechanisms of free fatty acids in stripped soybean oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), PP. 7112–7117.
- Xiao, J., Wang, X., Perez Gonzalez, A. J., & Huang, Q. (2016). Kafirin nanoparticles-stabilized Pickering emulsions: Microstructure and rheological behavior. *Food Hydrocolloids*, 54, PP. 30–39.
- Yoksan, R., Jirawutthiwongchai, J., & Arpo, K. (2010). Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76(1), PP. 292–297.
- Yuji, H., Weiss, J., Villeneuve, P., Giraldo, L. J. L., Figueroa-Espinoza, M. C., & Decker, E. A. (2007). Ability of surface-active antioxidants to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), PP. 11052–11056.
- Yusoff, A., & Murray, B. S. (2011). Modified starch granules as particle-stabilizers of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 25(1), PP. 42–55.
- Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T., & Wang, Z. (2009). Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry*, 113(1), PP. 160–165.
- Zhaveh, S., Mohsenifar, A., Beiki, M., Khalili, S. T., Abdollahi, A., Rahmani-Cherati, T., & Tabatabaei, M. (2015). Encapsulation of Cuminum cyminum essential oils in chitosan-caffeic acid nanogel with enhanced

antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops and Products*, 69,PP. 251–256.

Ziaee, M., Moharramipour, S., & Mohsenifar, A. (2014). MA-chitosan nanogel loaded with *Cuminum cyminum* essential oil for efficient management of two stored product beetle pests. *Journal of Pest Science*, 87(4),PP. 691–699.

Zock, P. L., & Katan, M. B. (1992). Hydrogenation alternatives: effects of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans. *Journal of Lipid Research*, 33(3),PP. 399–410.

**Abstract:**

The aim of this study was to develop a sunflower oil in water Pickering emulsion stabilized with chitosan (CS)-stearic acid (SA) nanogel, and to investigate its oxidative stability along with peppermint essential oil (PEO). In the first step, by using different proportions of SA to CS, CS-SA nanogels were prepared by self-assembled method. The results of scanning electron microscopy (SEM) images showed that by increasing the ratio of SA to CS, the uniformity of particles was increased. Then, the effect of pH (2, 5, 8 and 10), SA to CS (0, 25, 50 and 75%) and oil ratio (100, 200, 300 and 400  $\mu$ l) on the size of oil droplets and the stability of the emulsions after the first and seventh day of production were investigated. The results showed that emulsions with pH 8, SA to CS ratio of 50% and oil ratio of 200  $\mu$ l had the highest stability and minimum droplet size. In the following, the oxidative stability of the Pickering emulsion (pH 8, SA-to-CS ratio of 50% and oil ratio of 200), along with the PEO (200 and 1000 ppm) in both shell and core of encapsulated sunflower oil as well as an emulsion stabilized with tween 80 during 20 days at 40 ° C using peroxide and thiobarbituric acid tests was evaluated. The results of oxidative stability indicated that Pickering emulsion had more oxidative stability than emulsion stabilized by tween 80. Also, the results showed that the application of PEO in the shell of oil droplets caused an increase in oxidative and physical stability compared to the oil core.

**Keywords:** Pickering emulsion; Chitosan nanogel; Sunflower oil; Peppermint essential oil; Oxidative stability.



**Shahrood University of Technology**

**Faculty Of Agriculture**

**M.Sc. Thesis in Food Sciences**

The effect of chitosan nanogel containing *Mentha piperita*  
essential oils on oxidation stability of sunflower oil-in-water  
emulsion

**By: Majid atarian**

Supervisor :

**Dr. Ahmad Rajaii**

**Dr.meysam tabatabayii**

Advisor:

**Dr.Afshin mohsenifar**

**Dr. Hojatollah Bodaghi**

**January 2018**