

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی

تولید و ارزیابی اکسیداتیو امولسیون روغن سیاهدانه پایدار شده

با نانوزل حاوی اسانس رزماری

نگارنده:

سیده مریم عبداللهی

اساتید راهنما

دکتر احمد رجایی

دکتر میثم طباطبایی

استاد مشاور

دکتر افشین محسنی فر

آبان ۱۳۹۶

شماره: ۲۷۶
تاریخ: ۱۳۹۶/۹/۲۹

باسمه تعالی



مدیریت تحصیلات تکمیلی

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

با نام و یاد خداوند متعال، ارزیابی جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم / آقای سیده مریم عبداللهی با شماره دانشجویی ۹۴۱۱۹۵۴ رشته کشاورزی گرایش علوم و مهندسی صنایع غذایی - علوم مواد غذایی تحت عنوان تولید و ارزیابی اکسیداتیو امولسیون روغن سیاهدانه پایدار شده با نانوزل حاوی اسانس رزماری که در تاریخ ۹۶/۰۸/۲۹ با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه صنعتی شاهرود برگزار گردید به شرح ذیل اعلام می گردد:

<input type="checkbox"/> مردود <input checked="" type="checkbox"/> قبول (با درجه: .. صلی مرتبه)			
<input checked="" type="checkbox"/> عملی <input type="checkbox"/> نظری			
عضو هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اول	احمد رجایی	استادیار	
۲- استاد راهنمای دوم	میثم طباطبایی	استادیار	
۳- استاد مشاور	افشین محسنی فر	استادیار	
۴- نماینده تحصیلات تکمیلی	مسعود حکیمی تبار	استادیار	
۵- استاد ممتحن اول	حمیدرضا صمدلونی	استادیار	
۶- استاد ممتحن دوم	کامبیز جهان بین	استادیار	

نام و نام خانوادگی رئیس دانشکده: محمد رضا عامریان

تاریخ و امضاء و مهر دانشکده:

تبصره: در صورتی که کسی مردود شود حداکثر یکبار دیگر (در مدت مجاز تحصیل) می تواند از پایان نامه خود دفاع نماید (دفاع مجدد نباید زودتر از ۴ ماه برگزار شود).

تقدیم به ستاره‌های آسمان زندگی ام

پدر بزرگوارم اسوه باسکوه تلاش و بزرگواری، پاسخی به زحمات بی دریغش و
بوسه‌های بردستان پرتوانش، آن کوه بردباری که دانشم مدیون هستی اوست

مادر مهربانم که وجودم همه برای اوست، الگویی صبر و ایثار که در تمام مراحل زندگی

یار و مددکارم بوده است، آن نادر وجود که هر چه دارم مدیون گذشت

بزرگواری اوست

هم‌سر عزیزم که فروغ نگاهش و گرمی کلامش سرمایه جاودانگی زندگی من است

تقدیم به تمام کسانی که دوستان دارم

باتقدیر و شکر از:

استاد فریخته جناب آقای دکتر ربیانی که با نکته‌های دلاویز و گفته‌های بلند، صحیفه‌های سخن را علم پرور نمود، همواره راه‌ها و راهکشای من در اتمام و تکمیل این

پایان نامه بوده است.

از اساتید گرامی ام جناب آقای دکتر طباطبائی و دکتر محسنی فر بسیار سپاسگذارم چرا که بدون یاری‌ها و مشاوره‌های بی‌چشم داشت آنها تأمین این پایان نامه بسیار مشکل می‌نمود.

تعهد نامه

اینجانب سیده مریم عبداللهی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه تولید و ارزیابی اکسیداتیو امولسیون روغن سیاهدانه پایدار شده با نانوذله حاوی اسانس رزماری تحت راهنمایی دکتر احمد رجایی و دکتر میثم طباطبایی متعهد می شوم .

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

تاریخ ۹۶/۷/۲۹

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

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

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

چکیده

هدف این پژوهش تولید یک امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب پایدار با استفاده از نانوذله کیتوزان و بررسی پایداری اکسیداتیو آن به همراه اسانس رزماری 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 یکنواخت تری ایجاد شد. در ادامه، اثر pH (۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲)، نسبت اسید استئاریک به کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) و نسبت روغن به نانوذله (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر) بر اندازه قطرات روغن و پایداری امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در سه ساعت و در هفت روز پس از تولید بررسی شد. نتایج نشان داد که امولسیون های دارای pH ۸، نسبت اسید استئاریک به کیتوزان ۷۵ درصد و نسبت روغن به نانوذله ۱۰ بیشترین پایداری و کمترین اندازه قطرات را داشتند. در ادامه پایداری اکسیداتیو امولسیون پیکرینگ بهینه (pH ۸، نسبت اسید استئاریک به کیتوزان ۷۵ درصد و نسبت روغن به نانوذله ۱۰) به همراه اسانس رزماری (۲۰۰ و ۱۰۰۰ ppm) در دو حالت درون پوشانی شده در هسته و پوسته قطرات روغن به مدت ۱۹ روز در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد با استفاده از آزمون های پراکسید و اسید تیوباریتوریک بررسی شد. نتایج پایداری اکسیداتیو نشان داد درون پوشانی اسانس رزماری در پوشش قطرات روغن نسبت به هسته روغن باعث افزایش پایداری اکسیداتیو و فیزیکی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که مکان قرار گیری اسانس رزماری در امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب نقش مؤثری در پایداری فیزیکی و شیمیایی آن دارد.

کلید واژه ها: امولسیون پیکرینگ، نانوذله کیتوزان، روغن سیاهدانه، اسانس رزماری، پایداری اکسیداتیو

لیست مقالات استخراج شده از پایان نامه

۱. بررسی اثر pH بر پایداری و اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب پایدار

شده با نانوذله کیتوزان

۲. ارزیابی اکسیداتیو امولسیون روغن سیاهدانه پایدار شده با نانوذله کیتوزان حاوی اسانس

رزماری

فهرست مطالب

عنوان

صفحه

فصل اول: کلیات	۱
۱-۱- سیاهدانه	۲
۱-۲- درون پوشانی	۳
۱-۳- نانوژل	۵
۱-۳-۱- نانوذرات هیدروژل بر پایه کیتوزان	۷
۱-۳-۲- نانوذرات مبنی بر کیتوزان با اتصالات عرضی کووالانسی	۸
۱-۳-۳- نانوذرات مبنی بر کیتوزان با اتصالات عرضی یونی	۸
۱-۴- امولسیون	۹
۱-۴-۱- طبقه بندی امولسیون ها	۱۰
۱-۴-۱-۱- طبقه بندی امولسیون بر اساس عوامل امولسیون کننده	۱۰
۱-۴-۱-۱-۱- امولسیون های کلاسیک	۱۰
۱-۴-۱-۱-۲- امولسیون های پیکرینگ	۱۱
۱-۴-۲- آماده سازی امولسیون ها	۱۳
۱-۴-۲-۱- عامل امولسیون کننده	۱۴
۱-۴-۲-۱-۱- سورفکتانت ها	۱۶
۱-۴-۲-۱-۲- پلیمرهای زیستی فعال سطحی	۱۷
۱-۴-۲-۱-۳- امولسیفایرهای پیکرینگ	۱۸
۱-۴-۳- پایداری امولسیون	۱۹

- ۱۹ ۱-۳-۴-۱ مکانیسم ناپایداری امولسیون
- ۲۰ ۱-۱-۳-۴-۱ انبوهش
- ۲۱ ۲-۱-۳-۴-۱ انعقاد
- ۲۲ ۳-۱-۳-۴-۱ خامه ای شدن
- ۲۳ ۲-۳-۴-۱ روش های پایداری امولسیون
- ۲۵ ۱-۲-۳-۴-۱ برهمکنش های استریک
- ۲۶ ۵-۱ توانایی کیتوزان به عنوان امولسیفایر
- ۲۹ ۶-۱ اکسیداسیون
- ۳۱ ۷-۱ اسانس رزماری
- ۳۳ فصل دوم: مروری بر پژوهش های پیشین
- ۳۴ ۱-۲ پژوهش های مربوط به روغن سیاهدانه
- ۳۵ ۲-۲ پژوهش های مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی رزماری
- ۳۶ ۳-۲ پژوهش های مربوط به امولسیون پیکرینگ
- ۴۲ ۴-۲ پژوهش های مربوط به نانوزل های کیتوزان و درون پوشانی اسانس در آن ها
- ۴۳ ۵-۲ پژوهش های مربوط به تأثیر امولسیون پیکرینگ بر پایداری اکسیداتیو
- ۴۷ فصل سوم: مواد و روش ها
- ۴۸ ۱-۳ مواد و وسایل مورد استفاده
- ۴۸ ۱-۱-۳ مواد مورد استفاده
- ۴۹ ۲-۱-۳ تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی
- ۵۰ ۲-۳ روش ها
- ۵۰ ۱-۲-۳ آزمون شیمیایی روغن سیاهدانه
- ۵۰ ۱-۱-۲-۳ تعیین اسیدهای چرب روغن سیاهدانه با کروماتوگرافی گازی

۵۱ ۳-۲-۲- آماده سازی نانوژل کیتوزان - اسید استئاریک
۵۱ ۳-۲-۳- آزمون FTIR
۵۲ ۳-۲-۴- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)
۵۳ ۳-۲-۵- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب
۵۳ ۳-۲-۵-۱- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با pHهای مختلف
 ۳-۲-۵-۲- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با نانوژل کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت
۵۴ های مختلف
۵۴ ۳-۲-۵-۳- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه
۵۵ ۳-۲-۶- تعیین پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب
۵۵ ۳-۲-۶-۱- ارزیابی میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب
۵۶ ۳-۲-۶-۲- اندازه گیری میانگین اندازه قطرات
۵۶ ۳-۲-۷- اندازه گیری اکسیداسیون
۵۶ ۳-۲-۷-۱- آماده سازی امولسیون ها برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو
۵۸ ۳-۲-۷-۲- ارزیابی پایداری اکسیداتیو امولسیون های روغن سیاهدانه در آب
۵۸ ۳-۲-۷-۲-۱- اندازه گیری میزان پراکسید
۵۹ ۳-۲-۷-۲-۲- اندازه گیری میزان TBA
۶۰ ۳-۲-۸- تجزیه تحلیل آماری
۶۱ فصل چهارم: نتایج و بحث
۶۲ ۴-۱- پروفایل اسیدهای چرب روغن سیاهدانه
۶۴ ۴-۲- بررسی نانوژل های کیتوزان-اسید استئاریک
۶۴ ۴-۲-۱- نتایج FTIR
۶۸ ۴-۲-۲- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

- ۳-۴- بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ ۷۱
- ۱-۳-۴- اثر نانوژل با درصدهای مختلف اسید استئاریک ۷۱
- ۲-۳-۴- تأثیر pH در تشکیل امولسیون پیکرینگ ۷۸
- ۳-۳-۴- تأثیر مقدار روغن سیاهدانه بر تشکیل و پایداری امولسیون های پیکرینگ ۸۹
- ۴-۴- بررسی اثر اسانس رزماری درون پوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات نانوژل ۹۶
- ۵-۴- اندازه گیری پایداری اکسیداتیو ۹۸
- ۶-۴- نتیجه گیری ۱۰۶
- ۷-۴- پیشنهادات ۱۰۷
- منابع ۱۰۸

فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل (۱-۱): تصویر شماتیکی یک امولسیون کلاسیک روغن در آب (بر پایه سورفکتانت) و یک امولسیون پیکرینگ روغن در آب	۱۱
شکل (۲-۱): تصویر جذب ذرات جامد در سطح مشترک روغن/ آب و تأثیر اندازه زاویه بر روی نوع امولسیون	۱۳
شکل (۳-۱): آماده سازی امولسیون روغن در آب، در حضور روغن، آب و عامل امولسیون کننده	۱۴
شکل (۴-۱): مکانیسم های ناپایداری در امولسیون های روغن در آب	۲۰
شکل (۵-۱): تصویر شماتیکی نشی (A) و ایجاد پل (B) مکانیسم فلوکولیشن در حضور یک پلیمر	۲۱
شکل (۶-۱): تشکیل امولسیون های چند لایه	۲۵
شکل (۷-۱): پتانسیل برهمکنش های الکترواستاتیک کیتوزان در سطح قطرات امولسیون	۲۷
شکل (۸-۱): تشکیل امولسیون پیکرینگ واکنش دهنده به pH با استفاده از کیتوزان	۲۸
شکل (۱-۳): میکروسکوپ الکترونی روبشی	۵۳
شکل (۲-۳): دستگاه اسپکتروفتومتر	۵۸
شکل (۳-۳): دستگاه سانتریفوژ	۵۹
شکل (۱-۴): طیف های FTIR مربوط به الف: کیتوزان، ب: اسید استتاریک ج: نانوزل کیتوزان- اسید استتاریک (۲۵ درصد اسید استتاریک)، د: نانوزل کیتوزان- اسید استتاریک (۵۰ درصد اسید استتاریک) و: نانوزل کیتوزان- اسید استتاریک (۷۵ درصد اسید استتاریک)	۶۶

شکل (۴-۲): تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) الف: نانوژل حاوی ۰ درصد اسید استتاریک ب: نانوژل حاوی ۲۵ درصد اسید استتاریک، ج: نانوژل حاوی ۵۰ درصد اسید استتاریک، د: نانوژل حاوی ۷۵ درصد اسید استتاریک ۷۰

شکل (۴-۳): میانگین اندازه قطرات در غلظت های مختلف نانوژل پس از ۳ ساعت ۷۲

شکل (۴-۴): میانگین اندازه قطرات در غلظت های مختلف نانوژل پس از ۷ روز نگهداری ۷۳

شکل (۴-۵): تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ با کیتوزان-اسید استتاریک (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵) درصد در ۳ ساعت و ۷ روز پس از آماده سازی (غلظت ۰ درصد با عدسی ۴۰ و غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد با عدسی ۱۰۰) ۷۵

شکل (۴-۶): ظاهر نمونه های امولسیون با درصدهای مختلف اسید استتاریک پس از ۳ ساعت ۷۶

شکل (۴-۷): ظاهر نمونه های امولسیون با درصدهای مختلف اسید استتاریک در روز هفتم ۷۷

شکل (۴-۸): میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ در pH های مختلف پس از ۳ ساعت (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر) ۷۹

شکل (۴-۹): میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ در pH های مختلف پس از ۷ روز نگهداری (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر) ۸۰

شکل (۴-۱۰): عکس های میکروسکوپ نوری از pH های مختلف پس از ۳ ساعت و ۷ روز پس از آماده سازی (pH های ۲ و ۵، با عدسی ۴۰ و pH های ۸، ۱۰ و ۱۲ با عدسی ۱۰۰) ۸۲

شکل (۴-۱۱): ظاهر نمونه ها با pH های مختلف پس از ۳ ساعت (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر) ۸۳

شکل (۴-۱۲): ظاهر نمونه ها با pH های مختلف در روز هفتم (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر) ۸۳

شکل (۴-۱۳): امولسیون بر پایه کیتوزان و نقش pH در پایداری آن ۸۷

شکل (۴-۱۴): میانگین اندازه قطرات با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه پس از ۳ ساعت ۹۰

- شکل (۴-۱۵): میانگین اندازه قطرات با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه در روز هفتم ۹۰
- شکل (۴-۱۶): تصاویر میکروسکوپ نوری نمونه ها با مقادیر مختلف روغن ۳ ساعت (سمت چپ) و ۷ روز (سمت راست) پس از نگهداری (عدسی ۱۰۰) ۹۳
- شکل (۴-۱۷): نمونه ها با نانوذل ۷۵ درصد و مقادیر مختلف روغن (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میکرولیتر پس از ۳ ساعت ۹۴
- شکل (۴-۱۸): نمونه ها با نانوذل ۷۵ درصد و مقادیر مختلف روغن (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میکرولیتر در روز هفتم ۹۴
- شکل (۴-۱۹): عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذل کیتوزان-اسید استتاریک با غلظت ۷۵ درصد حاوی اسانس رزماری ۹۷
- شکل (۴-۲۰): شکل ظاهری نمونه ها پس از ۱۹ روز نگهداری ۱۰۲

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۴۸	جدول (۳-۱): مشخصات اسانس رزماری استفاده شده در این تحقیق
۶۲	جدول (۴-۱): نوع و درصد اسیدهای چرب روغن سیاهدانه
۷۷ ..	جدول (۴-۲): درصد خامه ای شدن امولسیون ها با نانوذل با درصدهای مختلف اسید استئاریک
۸۴	جدول (۴-۳) درصد خامه ای شدن امولسیون ها با pHهای مختلف
۹۵	جدول (۴-۴): درصد خامه ای شدن نمونه ها با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه
،۸ ،۴ ،۱	جدول (۴-۵): میانگین و انحراف معیار مقادیر تست پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸
۹۸	۱۲ و ۱۹ نگهداری شده در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد
۱۲ ،۸ ،۴ ،۱	جدول (۴-۶): میانگین و انحراف معیار مقادیر تست TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۲
۱۰۲.....	و ۱۹ نگهداری شده در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد

مقدمه

اکسیداسیون چربی امولسیون ها عمده ترین نگرانی در امولسیون های غذایی و همچنین ایجاد کننده خطر برای مصرف کننده به دلیل از دست دادن خواص غذایی و ایجاد مواد سرطانزا می باشد [Leuratti et al, 1998]. محققان زیادی اکسایش چربی ها و روغن های امولسیون ها را مورد مطالعه قرار داده اند. مکانیسم اکسایش در سامانه های روغنی و امولسیونی متفاوت است. محققان پیشین همواره بر این مسئله اتفاق نظر داشته اند که اکسایش در امولسیون ها پدیده پیچیده ای است و عوامل مؤثر بر آن پیچیده تر و متنوع تر از روغن است. قطرات روغن، بار الکتریکی امولسیون، نوع و اندازه امولسیفایر و رفتار امولسیفایر در فصل مشترک آب و روغن از جمله عوامل مؤثر بر واکنش های اکسایش چربی در امولسیون ها می باشند [McClements and Decker, 2000; chaiyasit et al, 2007]. سطح قطره امولسیون جایی که واکنش های زنجیره اکسیداسیون رایج است، مکان مناسبی برای اکسایش می باشد. هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون، ترکیبات فعال سطحی بوده که تمایل به تجمع در سطح قطرات امولسیون روغن در آب دارند [McClements and Decker, 2000].

لیپیدهای زیست فعال مانند اسیدهای چرب امگا ۶ و ویتامین های محلول در روغن به طور رایج به عنوان تأمین کننده سلامت در نظر گرفته می شوند. اما به دلیل یک سری محدودیت ها از جمله محلولیت کم آبی، عدم پایداری فیزیکی یا شیمیایی، برهمکنش های نامطلوب با دیگر ترکیبات، اکسیداسیون یا حتی تجزیه، کاربردشان در غذا و پزشکی محدود می شود [McClements and Li, 2010]. بنابراین آن ها نیاز به محافظت در طول فرآیند، نگهداری و همچنین در طول عبور از معده و روده قبل از این که آن ها به طور مطلوب در دسترس بدن قرار گیرند، دارند. برای حل این مشکل تکنولوژی درون پوشانی که قابلیت نگهداری و بهبود مواد مغذی چربی دوست را دارد، در صنعت غذا و دارو به کار برده می شود. فرآیند درون پوشانی به معنی قرار دادن مواد حساس به شرایط مختلف

برای حفظ خواص مطلوب آن‌ها درحین نگهداری و یا حذف خواص نامطلوب آن‌ها می‌باشد. فرآیند درون پوشانی به طور بالقوه موجب افزایش پایداری در برابر اکسیداسیون، رهایش کنترل شده و افزایش دسترسی زیستی می‌گردد [Chacko et al, 2012]. نانوحامل‌ها را می‌توان به ۳ دسته لیپیدی، پلیمری و لیپیدی-پلیمری تقسیم بندی نمود. نانوذله‌ها جزء دسته نانوحامل‌های پلیمری محسوب می‌شوند. نانوذله‌ها به شبکه‌ای از زنجیره‌های هیدروفیلیک و هیدروفوبیک در مقیاس نانو اتلاق می‌شود که دارای مقدار قابل توجهی آب هستند. نانوذله‌ها کاربرد بسیاری در زمینه‌های مختلف از جمله مهندسی بافت، بیوتکنولوژی و دارو دارند. مطالعات نشان داده که با درون پوشانی اسانس‌ها در نانوذله‌ها به دلیل آزاد سازی تدریجی، اثرات این ترکیبات افزایش می‌یابد [Huffman, 2003]. اسانس‌ها منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. این ترکیبات قادر به حذف رادیکال آزاد و جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها هستند [Dziki et al, 2014]. گیاه رومارن یا رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* از اعضای خانواده نعناعیان است. این گیاه به صورت درختچه‌ای و همیشه سبز است که بومی مناطق مدیترانه‌ای و با ارزش دارویی و زینتی است.

بسیاری از روش‌های رایج درون پوشانی ترکیبات زیست فعال حساس بر پایه سیستم‌های تحویل، امولسیون می‌باشند. ساخت امولسیون پیکرینگ (امولسیون‌هایی که برای پایداری قطرات روغن به جای امولسیفایر از ذرات جامد استفاده شده است) یک استراتژی امیدوار کننده به منظور افزایش پایداری اکسیدانی امولسیون‌ها از طریق شکل‌گیری ساختار سطحی مبتنی بر ذرات می‌باشد [Binks and Horozov, 2006; Dickinson, 2010]. تمرکز امولسیون پیکرینگ بر پایه استفاده از ذرات نانو با منشأ بیولوژی برای تولید امولسیون غذایی می‌باشد. ذرات نانو تمایل به جذب برگشت ناپذیر در سطح قطرات دارند که این باعث ایجاد یک مانع فیزیکی در مقابل پراکسیدان‌ها می‌شود. از دیگر مزایای امولسیون‌های پیکرینگ می‌توان به مقاومت بالا در برابر انعقاد اشاره کرد [Lomova et al, 2010; McClements and Decker, 2000]

روغن سیاهدانه، به میزان قابل توجهی حاوی اسیدهای چرب یک و چندغیراشباعی است. درصد بالاتر اسید لینولئیک و حضور مقادیر قابل توجهی از اسید اولئیک و اسید لینولنیک، این روغن را نسبت به اکسیداسیون حساس ساخته است. یکی از راه های حفاظت از روغن ها، درون پوشانی آن ها در ماتریکسی است که همانند یک مانع یا مرز عمل می کند. با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این پژوهش تولید یک امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب پایدار با استفاده از نانوذله کیتوزان بود. همچنین اثر درون پوشانی اسانس رزماری در دو حالت درون هسته و پوشش قطرات روغن سیاهدانه بر پایداری اکسیداتیو امولسیون ها ارزیابی شد.

فصل اول : کلیات

۱-۱- سیاهدانه

گیاه سیاهدانه با نام علمی *Nigella arvensis* از خانواده آلاله می باشد که در بسیاری از نقاط دنیا روئیده و یا کشت می شود. این گیاه به طور گسترده در جنوب اروپا، شمال آفریقا و آسیا و در کشورهایمانند هند، ایران و کشورهای عربی یافت می شود. گیاهی خودرو با گل های آبی پررنگ، کمرنگ و سفید و فرم میوه آن کپسولی و شامل تعداد زیادی دانه های مثلثی سفید رنگ می باشد. هنگامی که کپسول میوه ای می رسد، باز می شود و دانه های آن به داخل فضا ریخته به رنگ سیاه در می آیند. سیاهدانه به عنوان دارویی گرم و خشک معرفی گردیده و آثار دارویی آن، ضد نفخ، ضد انگل های روده ای، افزایش دهنده شیر و درمان ناباروری بیان گردیده است. این گیاه به عنوان افزودنی غذا و چاشنی در بیشتر کشورها استفاده می شود [Vahdati-Mashhadian et al, 2005]. سیاهدانه مزه تلخ و ادویه ای دارد و در شیرینیجات، شربت ها و لیکورها استفاده می شود.

از سیاهدانه در تمام دنیا برای پیشگیری و درمان حالاتی مانند آسم، اسهال، سردرد و دندان درد نیز استفاده می شود [Ali and Blunden, 2003]. در ایران مطالعاتی برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده سیاهدانه و بررسی اثر مفید آن بر آسم و نفخ گوارشی در انسان انجام شده که علاوه بر خواص مفید دارویی، بی خطر بودن آن را نیز نشان می دهد. در هر کیلوگرم سیاهدانه، ۲۱۶ گرم پروتئین، ۴۰۶ گرم چربی، ۴۵ گرم خاکستر، ۸۴ گرم فیبر، ۲۴۹ گرم عصاره بدون نیتروژن، ۳۸ گرم رطوبت، ۱۰۵ میلی گرم آهن، ۱۸ میلی گرم مس، ۶۰ میلی گرم روی، ۵۲۷ میلی گرم فسفر، ۱۸۶۰ میلی گرم کلسیم، ۱۵/۴ میلی گرم تیامین، ۵۷ میلی گرم نیاسین، ۵ میلی گرم پیرویدوکسین و ۱۶۰ میکروگرم اسید فولیک وجود دارد. به طور کلی از سیاهدانه (۳۶-۳۸) درصد روغن و (۲/۵-۴/۰) درصد اسانس تهیه می شود [Tadruri and Dameh, 1998]. روغن سیاهدانه متشکل از فسفولیپیدها و اسیدهای چرب می باشد، که فسفولیپیدها شامل، فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول آمین، فسفاتیدیل سرین و فسفاتیدیل نیستین [Ghosheh et al, 1999] و اسیدهای چرب غیراشباع ۸۳ درصد شامل،

اسید لینولئیک ۵۷ درصد، اسید اولئیک ۲۴ درصد [Huffman, 2003] لیگنوسریک، اسید لینولنیک و اسید پالمیتولئیک ۱۸ درصد می باشد [Salem and Hossain, 2000]. اسیدهای چرب اشباع مانند اسید پالمیتیک ۱۳ درصد و اسید استئاریک ۳ درصد از عصاره سیاهدانه گزارش شده است [Nickavar et al, 2003]. نقش اسیدهای لینولئیک و لینولنیک در متابولیسم بدن انسان بسیار مهم بوده و بدن انسان قادر به سنتز آن ها نمی باشد. اسیدهای چرب چندغیراشباعی (PUFA) نقش مهم در پیشگیری از گرفتگی عروق دارند. PUFA همچنین پیش ساز ترکیبات بیوشیمیایی از جمله پروستاگلاندین ها می باشند [Badea et al, 2015].

۱-۲- درون پوشانی^۲

درون پوشانی فرآیند به دام انداختن عوامل فعال در درون مواد حامل بوده و ابزاری مفید برای بهبود تحویل مواد زیست فعال (برای مثال آنتی اکسیدان ها، مواد معدنی، ویتامین ها، فیتواستروئول ها، اسیدهای چرب و لیکوپین) و سلول های زنده (مثل پروبیوتیک ها) در درون غذاها است. همچنین به عنوان یک تکنولوژی برای قرار دادن مواد جامد، مایع و گاز در کپسول های کوچک مطرح است. کپسول هایی که می توانند محتویات خود را به صورت کنترل شده و تحت شرایط خاصی آزاد کنند [Desai and Jin Park, 2005]. این تکنولوژی با حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در طول مدت تولید و نگهداری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب جلوگیری کرده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه ای و متابولیکی آن ها می شود. لذا ترکیبات حساس یا فرار مانند ویتامین ها، ترکیبات مولد طعم و بو، عصاره های گیاهی، اسانس ها و غیره می توانند با استفاده از این روش به شکل پایداری استفاده شوند [Semo et al, 2007]. این روش مواد واکنش پذیر را از سایر اجزای سیستم غذایی جدا و انتشار آن را کنترل می کند [Weiss et al, 2008]. مواد بسته بندی شده می تواند به صورت خالص یا مخلوط باشند که به نام های مختلفی اعم از مواد پوشش داده شده، مواد هسته، پرکننده، فعال یا فاز

¹ Poly-Unsaturated Fatty Acid

² Encapsulating

داخلی نامیده می شوند. از سوی دیگر به مواد محصورکننده، پوشش دهنده، دیواره، کپسول، حامل یا پوسته گفته می شود که شامل گروه وسیعی از پلیمرهای طبیعی و سنتزی از جمله پروتئین ها، کربوهیدرات ها (مالتودکسترین ها، مواد جامد شربت ذرت، نشاسته اصلاح شده، سیکلودکسترین های طبیعی و اصلاح شده، ساکارز، کیتوزان، سلولز و صمغ ها (جلبک دریایی و صمغ های ترشحي)) و لیپیدها (موم ها، استوآسیل گلیسرول ها، لستین ها و لیپوزوم ها) می باشند [Lu et al, 2011]. به کارگیری این مواد از خاستگاه های مختلف گیاهی، دریایی و یا میکروبی به تنهایی یا به صورت ترکیب با هم می توانند برای کپسوله کردن مواد غذایی مناسب باشند. این کپسول های کوچک، ذراتی با اندازه کوچکتر از میکرون تا چند میلیمتر بسته به نوع فناوری ریز پوشانی می باشند [Lu et al, 2011]. صنایع غذایی به طور پیوسته مواد و فرمولاسیون جدید را برای درون پوشانی کارآمد مواد غذایی جهت استعمال آسان تر و ارائه قابلیت های اضافه شده توسعه می دهد. این مواد باید برای کاربردهای غذایی به عنوان مواد GRASS³ مجاز باشند. از مهمترین ویژگی مواد پوششی، خوراکی و ایمن⁴، جزء پلیمرهای طبیعی⁵، زیست تخریب پذیر⁶، ممانعت بین فازهای درونی و بیرونی، اثر محافظتی بالا روی مواد در طول فرآیند و نگهداری و سهولت کار با آن ها می باشد. ذرات تولید شده معمولاً قطری از چند نانومتر تا چند صد میکرومتر دارند. میکرو/نانوانکپسولاسیون با هدف ایجاد مرز به منظور ممانعت از واکنش های شیمیایی نامطلوب و رهاسازی کنترل شده ترکیبات زیست فعال، خصوصاً ویتامین ها تولید شده اند [Katouzian and Jafari, 2016].

انواع گوناگونی از نانوکپسول ها وجود دارند، که معروف ترین آن ها نانوکپسول های امولسیون و نانوکپسول های پلیمری هستند. نانوکپسول های امولسیونی از مولکول های سورفکتانت، مانند فسفولیپیدها که از یک طرف آبدوست و از طرف دیگر آبگریز هستند، تشکیل می شوند. برای ساخت نانوکپسول های پلیمری از پلیمرها استفاده می شود. قطر کپسول در میکرو انکپسولاسیون ۳۰۰-۵

³ Generally Recognized as Safe

⁴ Food grade

⁵ Biopolymer

⁶ Biodegradable

میکرومتر است. اما با توجه به کاهش اندازه ذرات در نانوانکپسولاسیون تا حد نانو، نسبت سطح به حجم افزایش یافته، بنابراین واکنش ها تا چندین برابر سریعتر می شود. به علاوه، خواص نوری و الکتریکی مواد نیز تغییر خواهد کرد [Neethirajan and Jayas, 2011].

۱-۳-نانوژل^۷

نانوژل ها، نانوذرات ژل در اندازه کمتر از صد نانومتر با ساختار شبکه ای سه بعدی از زنجیره های پلیمری و محلول در آب هستند. اخیراً نانوژل ها را از پلیمرهای طبیعی یا سنتزی تهیه می کنند. پلیمرهای طبیعی در سال های اخیر در تهیه نانوژل ها برای کاربردهای مهندسی بافت و داروسازی توجه زیادی را به خود جلب کرده اند [Liu et al, 2008; Nanjawade et al, 2007]. عدم سمیت، دسترسی آسان، قیمت مناسب و همچنین داشتن گروه های عاملی فراوان در ساختار اصلی مانند گروه های هیدروکسی، آمین و اسید کربوکسیلیک آن ها را برای تشکیل اتصالات عرضی و نیز اتصال به لیگاندها یا ماده فعال مناسب کرده است. برخی از پلیمرهای زیستی پر کاربرد در این زمینه کیتوزان، دکسترین و سلولز هستند. نانوژل ها به دلیل کوچک بودن، خلل و فرج زیاد شبکه های ماکرومولکولی، گنجایش و استحکام بالا و قدرت واکنش پذیری به فاکتورهای محیطی می توانند به عنوان حامل استفاده شوند. نانوژل ها به دو نوع نانوهیدروژل^۸ و نانوارگانوژل^۹ تقسیم می شوند. نانوهیدروژل ها ترکیب هیدروژل ها در مقیاس نانو که توانایی جذب مقدار قابل توجهی آب را دارند (با بالاترین درجه تورم در آب) در حالی که نانوارگانوژل ها، نانوژل های آبریز با گرایش برای مواد روغنی می باشند. در حقیقت نانوارگانوژل ها، میسل هایی شبیه نانوذرات هستند که وقتی در تماس با آب قرار می گیرند تجمع هایی را تشکیل می دهند که نواحی آبریز آن ها در مرکز قرار می گیرد. نانوژل ها به طور کلی ظرفیت و پایداری بالایی دارند. درون پوشانی اسانس های روغنی ضد میکروبی درون نانوارگانوژل مزایای دیگری از جمله آزاد سازی پایدار و کنترل شده مقدار معین اسانس های روغنی از حامل ها را

⁷ Nanogel

⁸ Nano-hydrogel

⁹ Nano-organogel

نیز دارد. به عنوان خانواده ای از ذرات نانومقیاس، مطالعات بسیاری در زمینه دارورسانی با نانوذرات هیدروژل که نانوذل نیز خوانده می شوند صورت گرفته است. موادی که دارای ساختار هیدروژل نانوذره ای هستند ویژگی هایی را که هیدروژل ها و نانوذرات هر یک به طور جداگانه دارا می باشند، به طور همزمان نشان می دهند [Chacko et al, 2012; Raemdonck et al, 2009]. در دهه گذشته، رنج وسیعی از نانوذرات پلی ساکاریدی برای درون پوشانی ترکیبات زیستی مورد تحقیق قرار گرفته است. در میان ساختارهای پلی ساکاریدی، کیتوزانی که توسط استیلن زدایی کیتین تولید می شود و ترکیب اصلی سخت پوستان مانند میگو و خرچنگ می باشد به دلیل زیست سازگاری بالا مرتباً مورد استفاده قرار گرفته است. مطالعات گوناگون نشان داده است که نانوذل ها بر پایه کیتوزان می توانند در مهندسی بافت، دارورسانی و به عنوان حامل های ماکرومولکولی مورد استفاده قرار گیرند [Khalili et al, 2015].

نانوذل ها به دلیل داشتن ابعاد نانو به فاکتورهای کوچک محیطی مانند دما و pH به سرعت پاسخ می دهند [Sasaki and Akiyoshi, 2010]. همچنین به دلیل خواص شیمی فیزیکیشان، مانند حجم، مقدار آب، شبکه نفوذ پذیری داخلی، آبدوستی و آبریزی به تحریک کننده های خارجی پاسخ می دهند. به همین دلیل بهترین عملکرد را در درون پوشانی، آزادسازی و تحویل هدفمند داروها، مهندسی بافت و دیگر کاربردهای پزشکی دارند. تحریک کننده ها می توانند فیزیکی یا شیمیایی باشند، تحریک کننده های فیزیکی، شامل تغییرات دمایی، نور و میدان های مغناطیسی و تحریک کننده های شیمیایی شامل pH، تغییرات خواص یونی و عامل های شیمیایی یا زیستی می باشند [Zha et al, 2011]. نانوذل ها ترکیب بندی مناسب، زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری بالایی دارند و همچنین به دلیل کوچک بودن اندازه ذرات، ویژگی انتقال خوب و ظرفیت عالی دارند. تورم پذیری نانوذل ها در محیط آبی با دو عامل ساختار نانوذل و پارامترهای محیطی کنترل می شود. ساختار نانوذل، شامل ساختار شیمیایی پلیمر، مقدار پیوندهای عرضی و چگالی بار در پلی الکترولیت

ها است. پارامترهای محیطی شامل مقدار pH، قدرت یونی و ماهیت شیمیایی یون ها برای پلی الکترولیت ها و دما برای نانوذلهای حساس به دما است [Kabanov and Vinogradov, 2009].

محدود کردن حرکت زنجیره های پلیمر با پیوندهای عرضی باعث کاهش مقدار تورم نانوذله می شود. می توان با تغییر مقدار پیوندهای عرضی، مقدار تورم و در نهایت رهایش دارو را کاملاً کنترل کرد. اگر نانوذله ها از پلی الکترولیت های کاتیونی یا آنیونی تشکیل شده باشند، رفتار تورم آن ها تحت تأثیر pH محیط می باشد. برای مثال در نانوذله های پلی الکترولیت کاتیونی با کاهش pH، مقدار تورم افزایش می یابد. دلیل این مسئله یونی شدن زنجیره های پلیمر و ایجاد دافعه و نهایتاً متورم شدن نانوذله است. همچنین، مقدار قدرت یونی محلول روی مقدار تورم این نانوذله ها اثر گذار است. بدین ترتیب که با افزایش مقدار قدرت یونی، مقدار تورم کاهش می یابد [خوئی و کاوند، ۱۳۹۲]. نانوذله ها به دلیل تغییر آن ها مطابق عملکردشان در صنایع مختلف مانند غذا، پوشش ها، دارویی (رهایش دارو) و مواد آرایشی کاربرد دارند. در حقیقت نانوذله ها را می توان به دو دسته بر اساس ساختار شبکه کننده شان طبقه بندی کرد، شبکه کننده های شیمیایی (کووالانسی) نانوذله ها که به وسیله پیوند کووالانسی شبکه می کنند. شبکه کننده های فیزیکی نانوذله ها که با پیوندهای غیر کووالانسی مانند پیوند هیدروژنی، برهمکنش های الکترواستاتیکی و آگریزی شبکه می کنند [Sasaki and Akiyoshi, 2010].

۱-۳-۱- نانوذرات هیدروژل بر پایه کیتوزان

کیتوزان فرم استیل زدایی شده کیتین (پلی ساکارید موجود در پوسته سخت پوستان) می باشد. کیتوزان در آب محلول و دارای بار مثبت است و این ویژگی از نقطه نظر تکنیکی اهمیت بسیاری دارد چرا که بسپار را قادر می سازد تا با بسپارهای دارای بار منفی، درشت مولکول ها و حتی با برخی پلی آنیون ها در محیط آبی برهمکنش داشته باشد. از این برهمکنش ها و حالت های گذار محلول-ژل ایجاد شده برای اهداف نانوکپسوله کردن استفاده می شود. از سوی دیگر کیتوزان امکان چسبیدن به

سطوح مخاطی درون بدن را دارد و این سبب می گردد تا در دارو رسانی مخاطی مورد توجه قرار گیرد. علاوه بر این خصوصیات، زیست سازگاری و سمیت کم کیتوزان باعث شده است تا از آن برای انتقال ترکیبات درشت مولکول نظیر پپتیدها، پروتئین ها، آنتی ژن ها، الیگونوکلئوتیدها و ژن ها بهره برداری شود [Schmitt et al, 2010].

۱-۳-۲- نانوذرات مبتنی بر کیتوزان با اتصالات عرضی کووالانسی

نخستین کارها روی نانوساختارهای مبتنی بر کیتوزان، مربوط به ایجاد اتصالات عرضی شیمیایی بین زنجیره های بسپار است. بر این اساس نانوکره های کیتوزان که حامل داروی ضد سرطان ۵-فلورو اوراسیل^{۱۰} بودند سنتز شدند. برای تهیه این نانوکره ها از گلو تار آلدهید^{۱۱} به عنوان عامل ایجاد کننده اتصالات عرضی بین گروه های آمینو در کیتوزان استفاده شد. از آنجا که مشتقات ۵-فلورو اوراسیل خود دارای گروه آمین انتهایی هستند، افزودن گلو تار آلدهید سبب اتصال دارو به بسپار و عدم تحرک دارو به جای کپسوله شدن آن می گردد [Hamidi et al, 2008].

۱-۳-۳- نانوذرات مبتنی بر کیتوزان با اتصالات عرضی یونی

همان طور که اشاره شد از ماهیت کاتیونی کیتوزان به خوبی برای توسعه سامانه های دارورسان بهره برداری شده است. علاوه بر تشکیل کمپلکس با بسپارهای دارای بار منفی، یک ویژگی جالب کیتوزان، توانایی آن در ایجاد ژل در تماس با برخی پلی آنیون ها است. این فرآیند که انعقاد یونوتروپیک^{۱۲} نامیده می شود به دلیل تشکیل اتصالات عرضی بین زنجیره های بسپار و درون آن ها روی می دهد. از نانوذرات کیتوزان که از انعقاد یونوتروپیک کیتوزان با تری پلی فسفات به وجود آمده اند برای کپسوله کردن دارو استفاده می شود [Ichikawa and Fukumori, 2007].

¹⁰ Fluorouracil

¹¹ Glutaraldehyde

¹² ionotropic gelation

۱-۴-امولسیون

امولسیون مخلوط دو یا چند مایع غیرقابل امتزاج می باشد. به عبارت دیگر تجمع مایع با مایع را در صورتی که دو مایع در هم حل نمی شوند و به حالت تعلیق درآیند، امولسیون گویند. که اغلب آب و روغن می باشند. که یکی از مایع ها به صورت قطراتی که معمولاً قطر آن ها بیشتر از 0.1 میکرون است در مایع دیگر پراکنده می باشد. این قبیل سیستم ها دارای حداقل پایداری هستند که دلیل آن وجود نیروی کشش سطحی میان اجزای تشکیل دهنده این دو مایع است [فاطمی، ۱۳۷۸]. امولسیون ها از دو فاز که شامل فاز پراکنده^{۱۳} و فاز پیوسته^{۱۴} تشکیل می شوند. مرز بین دو فاز، مرز میانی^{۱۵} نامیده می شود. فرآیند امولسیون سازی، پراکندگی دو مایع غیرقابل امتزاج در حضور امولسیفایر می باشد که مولکول های آمفیفیلیک^{۱۶} از طریق جذب شدن در سطح مشترک آب و روغن کشش سطحی را کاهش می دهند [Wong et al, 2015]. امولسیون ها تمایل به ظاهری ابری و کدر دارند. زیرا نوری که از میان امولسیون می گذرد مقدار زیادی از آن توسط فاز میانی پخش می گردد. خصوصیات ظاهری و رنگ یک امولسیون بستگی به اندازه و تعداد قطرات فاز پراکنده و اختلاف ضریب شکست نور دو فاز دارد. مثلاً هنگامی که اندازه قطرات بیشتر از یک میکرون باشد محیط شیری رنگ است ولی وقتی اندازه به کمتر از 0.05 میکرون کاهش یابد محیط شفاف می گردد. بدیهی است تفاوت میان ضریب شکست نور دو فاز همراه با کاهش شفافیت می باشد [فاطمی، ۱۳۷۸]. زمانی که ذرات فاز پراکنده به اندازه کافی کوچک باشد و در واقع وقتی اندازه قطرات فاز پراکنده نزدیک به طول موج نور تابیده شده باشند امولسیون ها کاملاً شفاف و براق به نظر می رسند. تشکیل امولسیون که فقط شامل آب و روغن باشد امکان پذیر است. اما به دلیل این که امولسیون ها از نظر ترمودینامیکی ناپایدار

¹³ Dispersed phase

¹⁴ Continuous phase

¹⁵ Internal phase

¹⁶ Amphiphilic

هستند، فاز روغنی معمولاً سریعتر از فاز آبی جدا می شود. قطرات در اثر برخورد با قطرات مجاورشان با هم ادغام شده و سرانجام باعث جداسازی کامل فاز می شود.

همه امولسیون ها غذایی از نظر ترمودینامیکی ناپایدار هستند و سرانجام تفکیک می شوند، بنابراین امولسیون ها به خودی خود تشکیل نمی شوند و پس از تشکیل نیز تمایل به ناپایداری دارند. در بیشتر مواقع امولسیون ها تمایل دارند به حالت پایدار فازهایی که آن ها را تشکیل می دهند برگردند، به گونه ای که در یک امولسیون ناپایدار حتی با تکان شدید و مداوم دو فاز سریع از هم جدا می شوند. جهت تشکیل امولسیون ها انرژی از طریق حرارت دادن، همزدن و هموژنایزر تأمین می شود. همچنین جهت پایداری یک امولسیون استفاده از امولسیفایر مانند سورفکتانت یا ماده فعال در سطح لازم می باشد [فاطمی، ۱۳۷۸].

۱-۴-۱- طبقه بندی امولسیون ها

۱-۴-۱-۱- طبقه بندی امولسیون ها بر اساس عامل امولسیون کننده

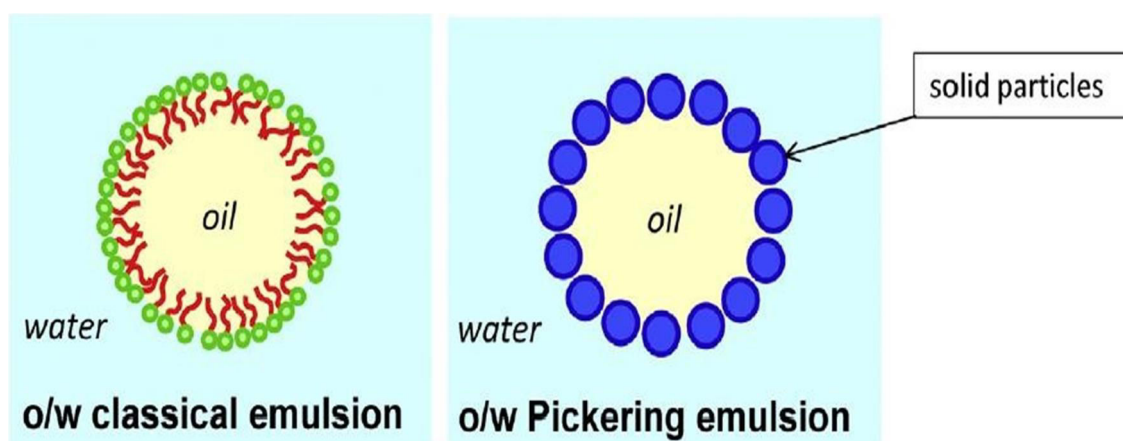
بر اساس عامل امولسیون کننده، امولسیون ها به دو دسته امولسیون های کلاسیک و پیکرینگ تقسیم می شوند.

۱-۴-۱-۱-۱- امولسیون های کلاسیک

امولسیون های کلاسیک با عوامل فعال سطحی مانند سورفکتانت ها (مولکول های آمفیفیلک کوچک که دارای هر دو گروه آبدوست و آبگریز می باشند) و پلیمرهای آمفیفیلک (برای مثال، پروتئین ها و پلی ساکاریدها از منابع طبیعی و پلیمرهای فعال سطحی سنتزی) پایدار می شوند [Tadros, 2004; Sakai, 2008].

۱-۴-۱-۱-۲-امولسیون های پیکرینگ

در امولسیون های پیکرینگ ذرات جامد در سطح مشترک آب و روغن جذب شده و قطرات امولسیون را پایدار می کند [Chevalier and Bolzinger, 2013]، که در شکل (۱-۱) نشان داده شده است. در مقایسه با امولسیون های کلاسیک، ویژگی شاخص امولسیون های پیکرینگ، پایداری بالای آن ها در برابر انعقاد می باشد [Aveyard et al, 2003]. در ضمن امولسیون های پیکرینگ ساختار اولیه امولسیون های کلاسیک را حفظ می کنند و به هر نوع امولسیون های روغن در آب و آب در روغن و یا امولسیون های چندگانه تقسیم می شوند. بنابراین امولسیون های پیکرینگ در بسیاری از موارد می توانند جایگزین امولسیون های کلاسیک باشند [Binks, 2002]. برخلاف سورفکتانت ها، آمفیفیلیک بودن شرط لازم برای جذب ذرات جامد در سطح مشترک آب و روغن نیست، بنابراین مکانیسم جذب ذرات جامد با سورفکتانت ها تفاوت زیادی دارد. معمولاً، جذب ذرات جامد در سطح مشترک روغن/ آب مستلزم تری جزئی سطح ذرات جامد با آب و روغن می باشد. نتیجتاً مقدار زاویه تتا سطح مشترک روغن/ آب با ذرات جامد فاکتور بسیار مهمی در تعیین نوع امولسیون و پایداری آن می باشد، که در شکل (۲-۱) نشان داده شد.



شکل (۱-۱): تصویر شماتیکی یک امولسیون کلاسیک روغن در آب (بر پایه ی سورفکتانت) و یک امولسیون پیکرینگ

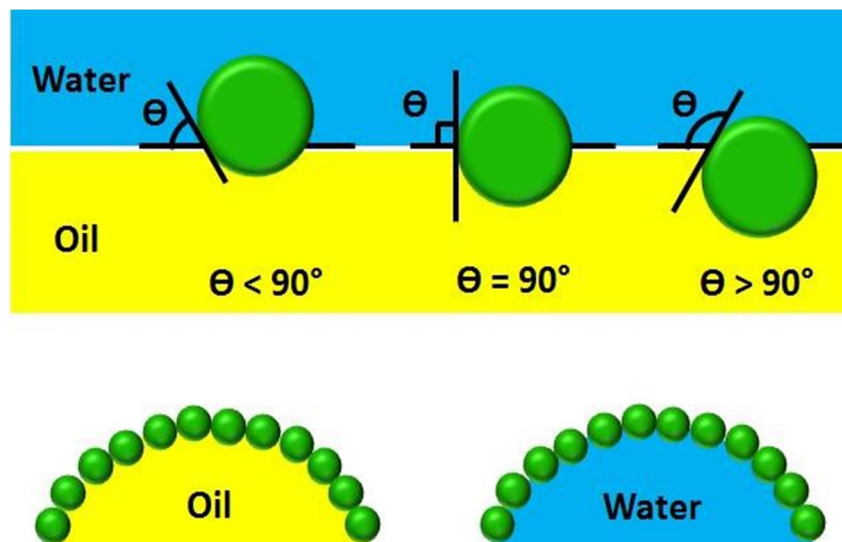
روغن در آب [Chevalier and Bolzinger, 2013]

پایداری بهینه امولسیون ها در تتا ۹۰ درجه واقع شده است در حالی که امولسیون های روغن در آب در تتا اندکی کمتر از ۹۰ درجه و امولسیون های آب در روغن در تتا اندکی بالاتر از ۹۰ درجه شکل می گیرند. با این حال اگر ذرات به طور کامل با آب یا روغن تر شوند امولسیون پایداری به دست خواهد آمد

[Chevalier and Bolzinger, 2013; Schrade et al, 2013]. برای پایدار کردن قطرات روغن، قطر ذرات جامد باید کوچکتر از قطرات امولسیون باشند، به طور مثال ذرات جامد با اندازه نانو قادر هستند قطرات امولسیون به کوچکی میکرومتر را پایدار کنند. با توجه به این که اندازه ذرات جامد به اندازه کافی کوچک است، بنابراین تأثیر گرانش را می توان نادیده گرفت. انرژی E لازم در برداشتن ذره جامد با شعاع r از سطح مشترک آب و روغن از رابطه زیر به دست می آید.

$$\Delta E = \pi r^2 \gamma_{OW} (1 - |\cos \theta_{OW}|)^2 \quad \text{فرمول (۱-۱):}$$

، γ_{OW} تنش بین سطحی روغن و آب و θ ، زاویه اتصال می باشد [Binks and Lumsdon, 2000].

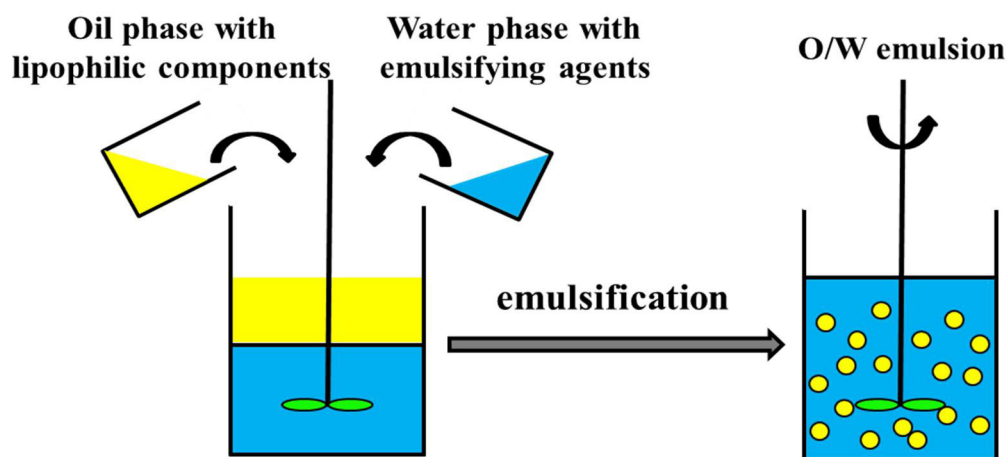


شکل (۱-۲): تصویر جذب ذرات جامد در سطح مشترک روغن/آب و تأثیر اندازه زاویه بر روی نوع امولسیون

از آنجایی که سد انرژی برای برداشتن ذرات جامد از سطح مشترک آب و روغن معمولاً چندین برابر بزرگتر از انرژی حرارتی است، جذب ذرات جامد ممکن است غیرقابل بازگشت باشد [Binks, 2002]. این مورد برای سورفکتانت ها که جذب و دفع آن ها در بازه زمانی نسبتاً سریع اتفاق می افتد، متفاوت است. یکی از تفاوت های سورفکتانت ها، جذب و دفعشان در یک بازه زمانی نسبی می باشد. علاوه بر این اندازه قطرات امولسیون های پیکرینگ با افزایش غلظت ذرات یا کاهش اندازه ذرات کاهش می یابد و همچنین تحت تأثیر شرایط فرآیند مانند زمان امولسیون سازی و سطوح انرژی قرار می گیرد [Tsabet and Fradette, 2015]. پایداری بالای امولسیون های پیکرینگ ترکیب شده با ساختار بدون سورفکتانتیشان آن ها را در همه زمینه ها پرکاربرد می سازد، به ویژه در صنایع غذایی و داروسازی وقتی که ذرات زیست سازگار یا بر پایه غذایی به عنوان امولسیفایرهای پیکرینگ به کار برده شوند.

۱-۴-۲- آماده سازی امولسیون ها

در شکل (۱-۳) آماده سازی امولسیون ها نشان داده شده است. به طور کلی آماده سازی سیستم های امولسیون مستلزم فاز پیوسته، فاز پراکنده و عامل امولسیون کننده و انرژی ورودی (هموژنیزاسیون) می باشد. در موارد خاص درون پوشانی ترکیبات چربی دوست، آن ها ابتدا باید در فاز روغنی قبل از عمل هموژنیزاسیون، پراکنده شوند که در شکل (۱-۳) نشان داده شده است. انتخاب عامل امولسیون کننده و تکنیک هموژنیزاسیون یک موضوع اساسی در فرآیند آماده سازی امولسیون می باشد، که نه تنها بر نوع امولسیون و پایداری آن تأثیر می گذارد، بلکه در کاربرد نهایی آن نیز اثر گذار است. در این قسمت عامل امولسیون کننده که برای تولید امولسیون ها به کار می رود مورد بحث قرار می گیرد.



شکل (۱-۳): آماده سازی امولسیون روغن در آب، در حضور روغن، آب و عامل امولسیون کننده

۱-۴-۲-۱- عامل امولسیون کننده

عوامل امولسیون کننده که برای آماده سازی امولسیون به کار می روند شامل سورفکتانت ها، پلیمرهای آمفیفیلیک و نیز ذرات جامد همان طور که در بالا ذکر شد، می باشد. باید در نظر گرفته شود که عوامل غلیظ کننده که برای پایداری امولسیون ها استفاده می شود متفاوت از عوامل امولسیون کننده می باشد. غلیظ کننده ها به طور نمونه از طریق افزایش ویسکوزیته در فاز پیوسته امولسیون ها و محدود کردن تحرک قطرات پایداری امولسیون را گسترش می دهند. اما به تنهایی قادر به تشکیل امولسیون نمی باشند و نیاز به همکاری عوامل امولسیون کننده دارند [Piorowski and McClements, 2014]. پایدار کننده ها همانند امولسیفایرها دسته بندی می شوند، اما امولسیفایرها مولکول های فعال سطحی هستند که در سطح قطراتی که در زمان هموژنیزاسیون به وجود می آیند جذب می شوند. امولسیفایرها به عنوان کاهش دهنده کشش سطحی بین روغن و آب یا هوا و آب شناخته می شود که باعث افزایش پایداری امولسیون می گردند. این ویژگی و توانایی ناشی از ساختمان خاص امولسیون کننده بوده که از دو قسمت متفاوت و مشخص تشکیل شده است. یکی از این قسمت ها دارای خصوصیت قطبی و آبدوست و قسمت دیگر دارای خاصیت غیرقطبی یا آبگریز می باشد. به این ترتیب یک امولسیون کننده با جذب شدن توسط دو مایع غیرقابل امتزاج

سبب نزدیکی و پیوستن آن ها به یکدیگر می شود [فاطمی، ۱۳۷۸]. امولسیفایرها با ایجاد یک غشای محافظتی از بهم پیوستگی قطرات جلوگیری می کنند. موارد مختلفی باید در رابطه با امولسیفایرها مورد ارزیابی قرار گیرد. از جمله غلظت آن ها که باید به اندازه ای کافی باشد، که همه قطرات را پوشش دهد و همچنین پایداری سینتیکی به گونه ای باشد که از انعقاد قطرات جلوگیری کند و فشار سطحی به اندازه کافی کم باشد که شکستن قطرات را تسهیل کند. وظایف اصلی عوامل امولسیون کننده شامل:

۱. کاهش تنش سطحی بین روغن / آب و کاهش انرژی مورد نیاز برای از هم پاشیدن ذرات

درشت و تسهیل شکل قطرات کوچک

۲. ممانعت از انعقاد و تفکیک قطرات در دو فاز غیرقابل امتزاج با ایجاد یک لایه محافظتی بر

سطح قطرات، بر اساس برهمکنش های استریک^{۱۷} یا الکترواستاتیک^{۱۸}

۳. عملکردهای دیگر مانند برهمکنش با ترکیب زیست فعال، تشکیل فیلم و کنترل انتقال

رطوبت و اکسیژن

۴. به سرعت در سطح قطرات در زمان هموژنیزاسیون جذب شود [McClements et al, 2007;

McClements, 2010]

اکثر امولسیون کننده ها زمانی که در غلظتی کمتر از ۰/۲ درصد مورد استفاده قرار می گیرند، کشش

سطحی را از ۵۰ دین / سانتیمتر به ۱۰ دین / سانتیمتر کاهش می دهند. اندازه نسبی دو قسمت ذکر

شده در امولسیون کننده ها، به میزان زیادی تعیین کننده نحوه عمل این مواد می باشد. برای پی

بردن به نحوه عمل و انتخاب یک امولسیون کننده، باید به شاخص و یا ویژگی موسوم به HLB^{۱۹} آن

توجه نمود. HLB موازنه بین قسمت آبدوستی و قسمت چربی دوستی مولکول یک امولسیفایر است.

البته اگرچه HLB یک امولسیون کننده، نوع امولسیون تشکیل شده را مشخص می کند اما نمایانگر

¹⁷ Steric

¹⁸ Electrostatic

¹⁹ Hydrophile- Lipophile- Balance

کارایی امولسیون کننده مربوطه نمی باشد. مقادیر HLB حداقل از نظر تئوری بین ۰ تا ۲۰ متغیر می باشد. در دو انتهای این مقیاس خاصیت امولسیون کنندگی کم است. در مقادیر نسبتاً بالای HLB، امولسیون تشکیل شده از نوع امولسیون روغن در آب و در مقادیر نسبتاً پایین آن امولسیون از نوع آب در روغن می باشد [فاطمی، ۱۳۷۸]. امولسیون کننده ها به دو صورت یونی و غیر یونی هستند که خود گروه یونی شامل سه نوع کاتیونی، آنیونی و آمفوتری می باشد. انواع کاتیونی و آنیونی به ترتیب در محیط های اسیدی و بازی فعال هستند. نوع آمفوتری در pH بالاتر یا پایین تر از نقطه ایزوالکتریک خود، خواص خود را ظاهر می سازد. عیب اصلی امولسیون کننده های یونی این است که این ها می توانند با یون های مختلف (یون های هیدروژن، یون های دو یا سه ظرفیتی غیر آلی) وارد واکنش شده و تشکیل کمپلکس داده که قدرت امولسیون کنندگی یا حلالیت (در هر دو فاز) را کاهش می دهد. بر عکس، انواع غیر یونی معمولاً محلول در یکی از فازها هستند و با یون های فوق الذکر وارد واکنش نمی شوند. از این نظر این دسته از امولسیون کننده ها به میزان وسیعی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می گیرند [فاطمی، ۱۳۷۸].

۱-۴-۲-۱-۱-سورفکتانت ها

سورفکتانت ها، مولکول های کوچک فعال سطحی، دارای یک دم آبگریز و سر آبدوست هستند. سورفکتانت ها به علت وزن مولکولی کم در سطح مشترک بسیار پرتحرک هستند. جذب سریع سورفکتانت ها در سطح مشترک آب و روغن در طول امولسیون سازی به خوبی تنش سطحی را کاهش می دهد و امولسیونی با قطرات کوچک تر را به وجود می آورد [Binks, 2002] که در شکل (۱-۱) سمت چپ نشان داده شده است. تنوع دم در تعداد، طول و درجه اشباعیت است، در حالی که سر در ابعاد فیزیکی و بار الکتریکی تنوع دارد. سورفکتانت ها بر اساس نوع گروه قطبی در سر به آنیونی، کاتیونی و غیر یونی تقسیم می شوند. سورفکتانت های آنیونی حلالیت خوبی در آب دارند و به طور کلی در ساختن امولسیون های روغن در آب استفاده می شوند. در حالی که سورفکتانت های

غیریونی برای ساختن هر نوع امولسیون به کار می روند. سورفکتانت ها ترکیبات رایجی هستند که در بسیاری از صنایع از جمله صنایع غذایی، دارویی و آرایشی کاربرد دارند. اگرچه حضور برخی سورفکتانت های سنتزی اثرات مضر از جمله تحریک بافتی و رفتار همولتیک را ایجاد می کنند و در برخی موارد ته نشینی سورفکتانت های صنعتی و خانگی در طبیعت و سیستم های آب رسانی برای اکوسیستم مضر هستند و باعث افزایش آلاینده های زیست محیطی می شوند [Kralova and Sjöblom, 2009].

۱-۴-۲-۱- پلیمرهای زیستی فعال سطحی

در کاربردهای غذایی و دارویی عوامل امولسیون کننده ای که به کار برده می شوند باید از نظر سلامت پذیرفته شده باشند. برای درون پوشانی ترکیبات چربی دوست، بهتر است موادی که برای دیواره انتخاب می شوند از دسته مواد طبیعی یا افزودنی های غذایی که ویژگی فعالیت سطحی خوبی دارند باشند. بایوپلیمرهای طبیعی به طور مثال پروتئین ها، پلی ساکاریدها و کمپلکس پروتئین-پلی ساکارید برای تحویل ترکیبات فعال در غذاها به کار برده می شوند [Binks and Clint, 2002; McClements, 2012]. در مقایسه بین سورفکتانت های سنتزی و پلیمرها، عوامل امولسیون کننده از نوع پلیمرهای طبیعی، زیست سازگار، زیست تخریب پذیر و همچنین سمیت کمی دارند، بنابراین مورد توجه زیادی قرار گرفته اند. پلی ساکاریدهایی مانند کاراگینان و زانتان پایدارکننده هستند، زیرا به طور مستقل برای تشکیل یک امولسیون به کار برده نمی شوند از طرف دیگر پروتئین ها به طور عمده از طریق خصوصیات فیلم های بین سطحیشان عمل می کنند و در بسیاری موارد هم نقش پایدارکننده و هم نقش امولسیون کننده دارند. وقتی پروتئین ها در سطح مشترک روغن و آب جذب می شوند، نواحی آبگریز ساختار آن ها به هم می چسبند یا به صورت جزئی در فاز روغن حل می شوند. پروتئین ها تا اندازه ای در سطوح پایین تر استفاده می شوند اما توانایی آن ها در برابر انبوهش قطرات تحت تأثیر pH، قدرت یونی و دما قرار می گیرد. امولسیون های پایدار شده با پلی ساکاریدها

در شرایط محیطی نسبت به امولسیون هایی که با پروتئین ها پایدار می شوند، پایداری بهتری دارند. به علت این که مکانیسم پایداری استریک نسبت به پایداری الکترواستاتیک برتر است و معمولاً باید در سطوح بالاتری استفاده شوند [McClements, 1999]. مخلوط امولسیفایرها اغلب باعث پایداری بهتر امولسیون، نسبت به زمانی که از یک امولسیفایر در غلظت مشابه استفاده شود، می شوند و به دنبال آن، در فرآیند امولسیون سازی اگر تنش سطحی با ترکیب سورفکتانت ها کاهش یابد، بسیار آسان می شود. اما پس از تشکیل امولسیون قدرت مکانیکی لایه بین سطحی نسبت به تنش سطحی تعیین کننده پایداری در برابر کوالسنس می باشد. در سیستم هایی با مخلوط امولسیفایرها استحکام فیلمی مضاعف، از تراکم مولکولی بهتر در لایه، تشکیل فاز میانی کریستالی مایع در سطح قطره یا تشکیل کمپلکس مولکولی بین ترکیبات امولسیفایر در سطح مشترک به وجود می آید [فاطمی، ۱۳۷۸].

۱-۴-۲-۱-۳-امولسیفایرهای پیکرینگ

در مورد امولسیون های پیکرینگ بسیاری از ذراتی که در مطالعات اولیه استفاده شدند از نوع سنتزی یا غیرآلی (به طور مثال ذرات سیلیکا) بودند، که عموماً کاربرد محدودی در صنعت غذا و دارو دارند [Dickinson, 2010; Zhu et al, 2015]. اخیراً توسعه امولسیفایرهای پیکرینگ با منبع زیستی توجه رو به رشدی داشته است. با این وجود امولسیفایرهای پیکرینگ باید دارای خاصیت تری متوسط و در فازهای آبی و روغنی نامحلول باشند [Melle et al, 2005; Binks and Clint, 2002]. در دهه های گذشته، تنها مواد زیست سازگار اندکی شامل ذرات نانوکریستال کیتین [Tzoumaki et al, 2011]، گرانول های نشاسته [Yusoff and Murray, 2011] ذرات سلولزی [Kalashnikova et al, 2011] و زئین نامحلول در آب [de folter et al, 2012] به عنوان امولسیفایرهای پیکرینگ مؤثر به کار برده شدند.

۱-۴-۳- پایداری امولسیون

۱-۴-۳-۱- مکانیسم ناپایداری امولسیون

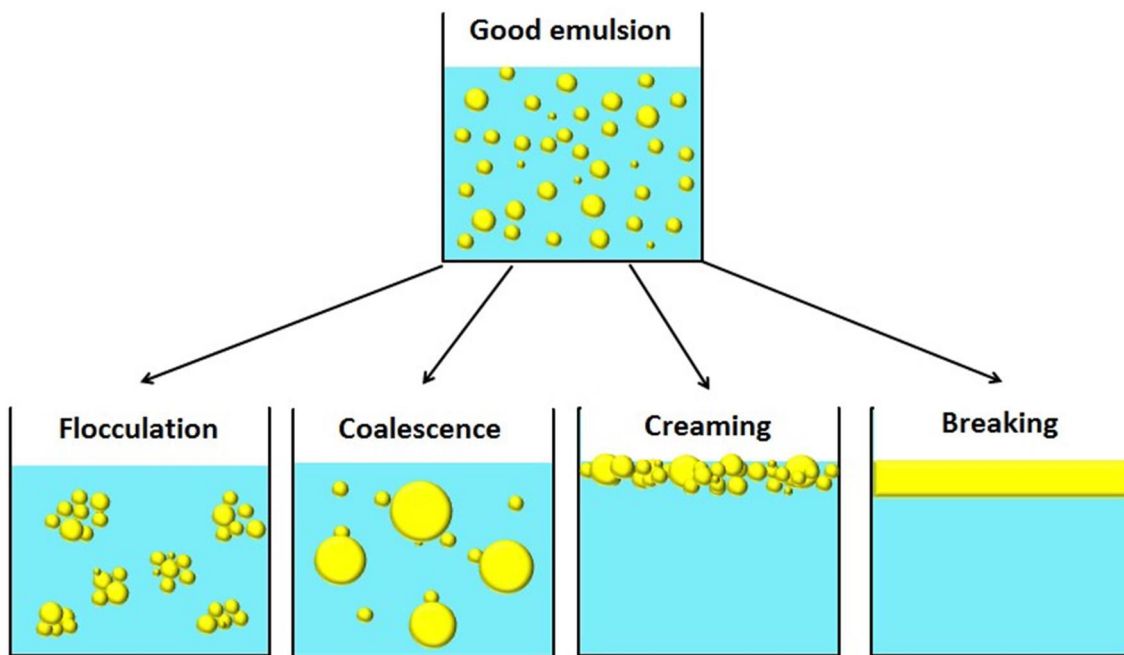
بیشترین قسمت چالش انگیز استفاده از امولسیون ها، پایداری ترمودینامیکی آن هاست. امولسیون ها زمانی که دستخوش تنش های محیطی مانند گرم کردن، منجمد کردن، تغییرات pH و قدرت یونی قرار می گیرند منجر به عدم پایداری فیزیکی آن ها می شود [Dickinson, 2009; McClements et al, 2007]. پس از عمل هموژنیزاسیون، لایه بین سطحی بین فاز پیوسته و پراکنده به طور معنی داری افزایش می یابد و انرژی آزاد بین سطحی نیز به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد. با توجه به مفهوم ترمودینامیکی، امولسیون ها گرایش به جدا شدن در دو فاز و به حداقل رساندن ناحیه بین سطحی و نزدیک شدن به حالت انرژی کم دارند. به طور کلی امولسیون ها به چهار طریق مختلف که شامل انبوهش^{۲۰}، انعقاد^{۲۱}، خامه ای شدن^{۲۲} و جداسازی فازها^{۲۳} که در شکل (۱-۴) نشان داده شده است، ناپایدار می شوند. انبوهش و انعقاد اصلی ترین مکانیسم های ناپایداری می باشند.

²⁰ Flocculation

²¹ Coalescence

²² Creaming

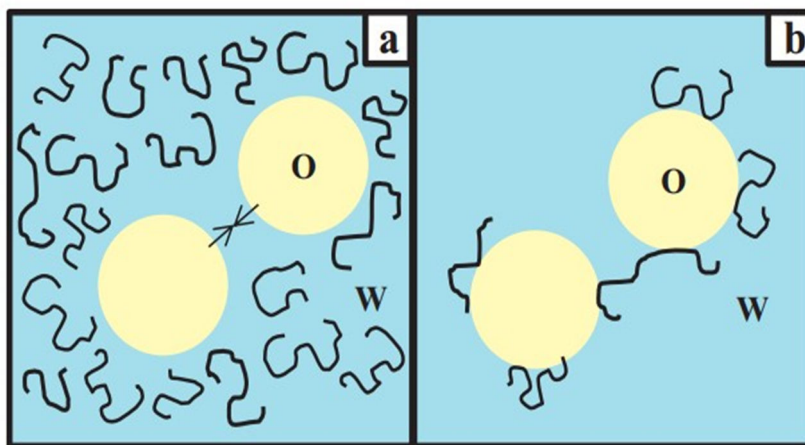
²³ Breaking



شکل (۴-۱): مکانیسم های ناپایداری در امولسیون های روغن در آب

۱-۳-۴-۱-انبوهش

انبوهش زمانی رخ می دهد که دافعه کافی برای دور نگه داشتن قطرات از همدیگر وجود نداشته است و بنابراین جاذبه واندروالسی بر سیستم غلبه می کند. این ممکن است حتی با مکانیسم نشستی یا ایجاد پل رخ دهد. همان طور که در شکل (۵-۱) در حضور یک پلیمر نشان داده شد [Bouyer et al, 2012].



شکل (۵-۱): تصویر شماتیکی نشستی (a) و ایجاد پل (b) مکانیسم انبوهش در حضور یک پلیمر [Bouyer et al, 2012]

توده های شکل گرفته اولین مرحله انعقاد و خامه ای شدن می باشد. در انبوهش ذرات به هم چسبیده و تفاوتی در ماهیت ذرات ایجاد نمی شود. در برخی موارد انبوهش برگشت پذیر بوده و با تکان دادن ساده یا استفاده از بهمن های مغناطیسی شکسته می شود. در حالی که در موارد دیگر غیرقابل برگشت بوده و قطرات تمایل به بهم آمیختن پیدا می کنند سپس توزیع اندازه قطرات به سمت مقادیر بزرگتر تغییر می کند. انبوهش توسط توده ذرات کوچک مانند خوشه انگور به وجود می آید، اما در یک ذره جدید ادغام نمی شوند. در انبوهش کاهش سطح وجود ندارد.

۱-۴-۳-۱-۲-انعقاد

انعقاد زمانی که دو یا چند قطره امولسیون به هم نزدیک می شوند و یک قطره بزرگتر را تشکیل می دهند، رخ می دهد و این فرآیند برگشت ناپذیر می باشد. به عبارت دیگر انعقاد معمولاً زمانی که قطرات در یک بازه زمانی گسترده تر در یک لایه خامه ای یا در حالت فلوکولیت شده دیگر به هم نزدیک شوند رخ می دهد. انعقاد یا به صورت جزئی یا کامل اتفاق می افتد. در حالت جزئی بخشی از چربی ها در سطح به کریستال تبدیل شده و این کریستال ها در هم ادغام می شوند اما قطره بزرگتر را تشکیل نمی دهند. در حالت کامل ممکن است معکوس شدن فاز رخ دهد. مهمترین ویژگی انعقاد کاهش سطح می باشد. انعقاد گسترده است و باعث تشکیل یک فاز ماکرو می شود. وقتی به پایداری ترمودینامیکی می رسیم که همه قطرات در یک امولسیون درون یک ناحیه همگن روغن یا محلول آبی به هم آمیخته شوند. لایه دفاعی امولسیفایر اطراف قطرات در یک امولسیون غذایی به طور معمول مانع انعقاد می شود. کلوئیدی که در برابر انعقاد پایدار باشد، به پایدار سینتیکی رسیده نامیده می شود. حالت فیزیکی فاز روغنی به خصوص درجه انجماد بر طبیعت فرآیند انعقاد در امولسیون روغن در آب تأثیر می گذارد. زمانی که فاز پراکنده کاملاً مایع است، قطرات انعقاد نشده با هم درون گلبول های کروی شکل بزرگتر ادغام می شوند و در نهایت روغن آزاد در سطح دیده می شود [McClements, 2010].

۱-۴-۳-۱-۳-خامه ای شدن

بارزترین ویژگی ناپایداری کلونیدی ته نشینی ذرات، قطرات یا تجمع تحت نیروی ثقل را رسوب^{۲۴} یا خامه ای شدن می نامند و بستگی به حرکت فاز پراکنده به سمت بالا یا پایین دارد. خامه ای شدن حرکت قطرات روغنی تحت نیروی جاذبه یا نیروی گریز از مرکز برای تشکیل یک لایه غلیظ در بالای نمونه امولسیون روغن در آب با عدم تغییر در توزیع اندازه قطرات می باشد. خامه ای شدن برگشت پذیر است، با توجه به این موضوع که با مخلوط کردن خوب شکل اصلی قطرات دوباره ایجاد خواهد شد. قانون استوکس^{۲۵} یک راهنمای کاربردی برای بررسی رفتار خامه ای شدن با عدم حضور انبوهش می باشد. این قانون سه روش برای جلوگیری از خامه ای شدن را بیان می کند که عبارتند از: کاهش میانگین اندازه قطرات، کاهش دانسیته فازهای مختلف یا افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته. انبوهش باعث افزایش اندازه مؤثر قطرات درون امولسیون و در نتیجه باعث افزایش خامه ای شدن می شود. در حالی که کاهش دانسیته بین ذرات و سیال احاطه کننده آن ها، خامه ای شدن را به تأخیر می اندازد. تأثیر کلی انبوهش بر روی سرعت خامه ای شدن با ضریب ناپایداری خامه ای شدن توصیف می شود. روغن های خوراکی مایع، معمولاً دانسیته کمتری نسبت به آب مایع دارند، بنابراین خامه ای شدن در امولسیون های روغن در آب و ته نشینی در امولسیون های آب در روغن رایج تر است. بنابراین قطرات در یک امولسیون روغن در آب تمایل به خامه ای شدن در حالی که در یک امولسیون آب در روغن تمایل به ته نشینی دارند. اما این موضوع در امولسیون های حاوی لیپیدهای کریستالی صدق نمی کند زیرا دانسیته روغن ها وقتی کریستالیزاسیون رخ می دهد افزایش می یابد [McClements, 2010]. در رابطه با عمرماندگاری امولسیون، انعقاد ناپایداری بیشتری نسبت به خامه ای شدن دارد.

²⁴ sedimentation

²⁵ Stokes law

۱-۴-۳-۲-روش های پایداری امولسیون

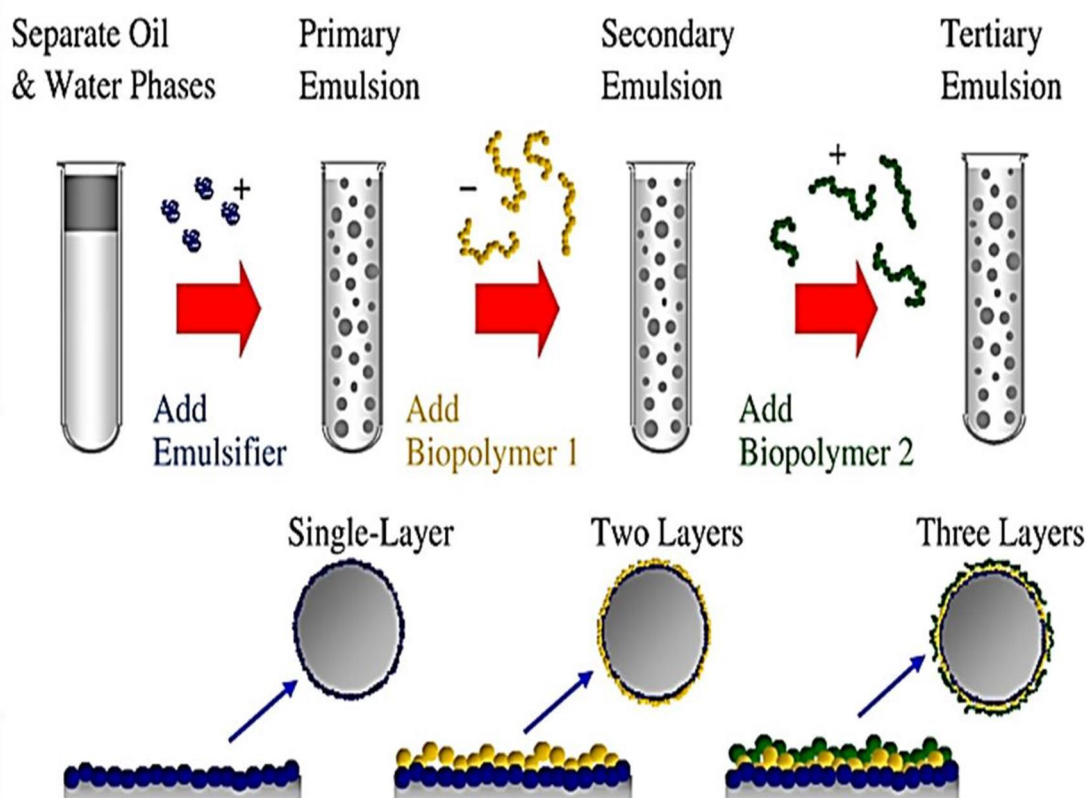
امولسیون کننده ها مهمترین عاملی هستند که می توانند ثبات و عدم گسیختگی را در امولسیون ها تأمین نمایند. در مورد امولسیون های آب و روغن، اغلب به کارگیری دو امولسیون کننده که یکی محلول در آب و دیگری محلول در روغن می باشد مؤثرتر از استفاده از تنها یک امولسیون کننده است. در چنین حالتی مخلوط امولسیون کننده های به کار گرفته شده می تواند کشش بین سطحی روغن و آب را تا ۲۰۰ مرتبه کاهش دهد. هیدروکلئیدها موادی هستند که می توانند در حفظ پایداری سیستم های امولسیونی نقش بسیار مؤثری ایفا نموده و برای این منظور در حد زیادی در سیستم های غذایی مربوطه مورد استفاده قرار می گیرند. اما به طور کلی هیدروکلئیدهایی که برای پایداری امولسیون ها به کار گرفته می شوند، عمدتاً مواد پلی ساکاریدی هستند که در آب حل شده و تشکیل محلول های ویسکوز یا ژل را می دهند. افزایش در ویسکوزیته و اثرات متقابل پیچیده با گلبول های امولسیون روغن در آب، تشکیل شبکه سه بعدی را می دهد که سیستم امولسیون را پایدار و از فرو ریختن آن جلوگیری می کند. تنها کریستال های ریز سلولز^{۲۶} و پودرهای سلولزی مربوطه قادرند که امولسیون های آب در روغن را پایدار کنند. برخی پروتئین ها و مشخصاً ژلاتین نیز می توانند سبب پایداری امولسیون های غذایی شوند [فاطمی، ۱۳۷۸]. عواملی که بر پایداری امولسیون ها اثر می گذارند از طریق قانون استوکس به هم مرتبط هستند. در پایداری سینتیکی امولسیون ها، روش های مناسبی باید صورت گیرد، مانند پایداری استریک، پایداری الکترواستاتیک، افزودن ذرات کوچک، سورفکتانت ها یا عوامل غلیظ کننده [Paunov et al, 2007; Schmidts et al, 2010]. استفاده از سورفکتانت های مونومری مانند سدیم دودسیل سولفات (SDS)^{۲۷} برای کاهش تنش بین سطحی روغن و آب، باعث افزایش پایداری امولسیون می شود. اگرچه این مواد به طور بلقوه برای محیط زیست مضر هستند. برخی پلیمرهای زیستی (مانند پروتئین ها و پلی ساکاریدها) با ایجاد

²⁶ Microcrystalline cellulose

²⁷ Sodium dodecyl sulphate

پایداری الکترواستاتیک و استریک مانع از انبوهش و انعقاد می شوند. در برخی موارد پلی ساکاریدهای تغلیظ کننده و ژل های پلیمر زیستی تحرک قطرات امولسیون و برخورد قطرات را به وسیله افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته کاهش می دهد.

ذرات کوچک مانند امولسیفایرهای پیکرینگ با جذب محکم در سطح قطرات و ایجاد دیواره فیزیکی محافظتی از پدیده انعقاد همان طور که گفته شد جلوگیری کنند. این باید مورد توجه قرار بگیرد که راندمان پایداری امولسیون توسط یک پلیمر زیستی توسط فاکتورهای مختلفی از جمله نوع پلیمر و غلظت آن، pH محلول، قدرت یونی و غیره تعیین می شود و این موضوع کلیدی است که وقتی از پلیمر زیستی برای پایداری امولسیون استفاده می شود، این پارامترها کنترل شوند. پایداری امولسیون همچنین با طراحی یک ساختار بین سطحی چند لایه ای بهبود می یابد [Babak et al, 2007]. [Taherian et al, 2011] امولسیون چند لایه یک نمونه از پایداری پلیمری و الکترواستاتیکی است. در شکل (۱-۶) آماده سازی یک امولسیون چند لایه نشان داده شده است. در مقایسه با امولسیون های متداول، جذب لایه به لایه به هم پیوسته پلی ساکاریدهایی با بار مخالف در سطح قطرات امولسیون اولیه باعث بهبود پایداری فیزیکی امولسیون ها می شود [McClements et al, 2007].



شکل (۱-۶): تشکیل امولسیون های چند لایه [McClements and Li, 2010]

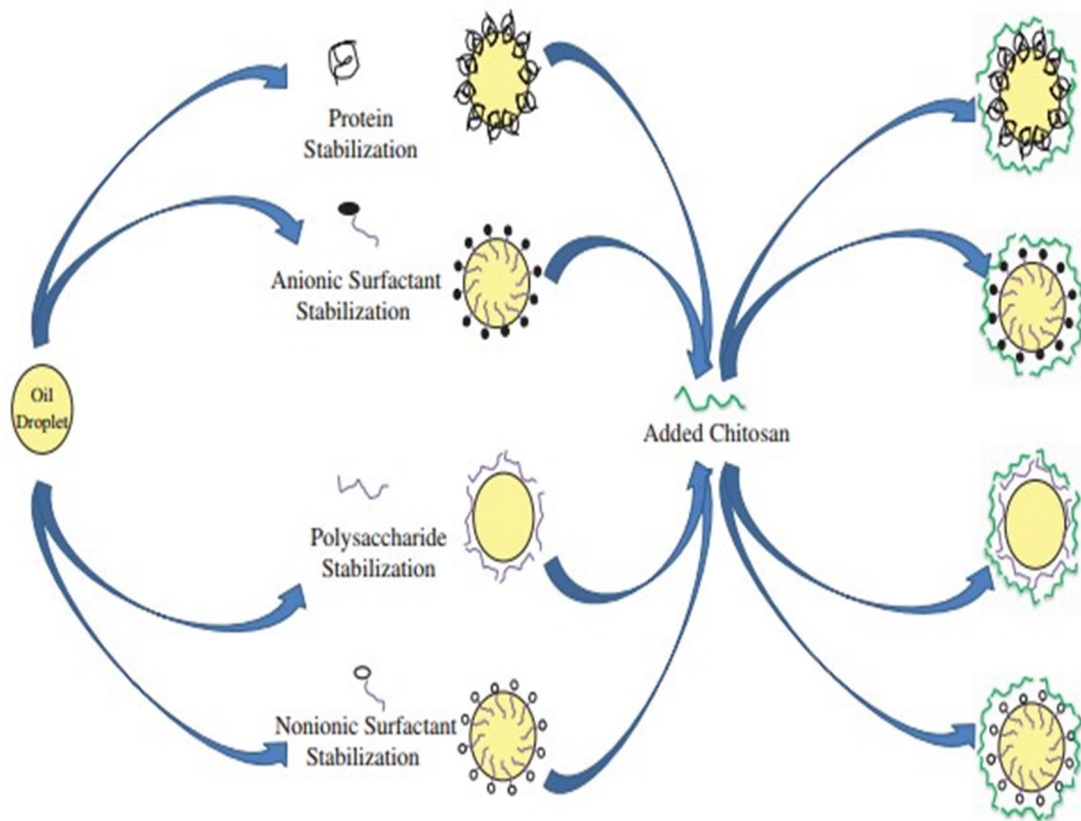
۱-۲-۳-۴-۱- برهمکنش های استریک

برهمکنش های استریک یکی از مکانیسم های رایج و مهم در پایداری امولسیون های غذایی است. برخلاف برهمکنش های الکترواستاتیک، آن ها در هر مولکول امولسیفایری رخ می دهند. برخی امولسیون های غذایی توسط پایداری استریک پایدار می شوند در حالی که برخی دیگر توسط ترکیب پایداری استریک و الکترواستاتیک پایدار می شوند. قطرات در بسیاری از امولسیون های غذایی با لایه ی نازکی از مولکول های امولسیفایر مانند سورفکتانت ها، فسفولیپیدها، پروتئین ها یا پلی ساکاریدها پوشیده می شوند. وقتی دو قطره با یکدیگر تماس پیدا می کنند، سپس لایه های امولسیفایریشان شروع به برهمکنش با یکدیگر می کنند. برهمکنش های استریک نتیجه به هم آمیختن و یا به هم فشردگی لایه های بین سطحی می باشد. در جداسازی قطرات به هم چسبیده، برهمکنش های استریک به طور قوی همدیگر را دفع می کنند و بنابراین از تجمع قطرات امولسیون جلوگیری می

کنند. با این توصیف قدرت کلی و محدوده برهمکنش های استریک به طور شگرفی به ساختار لایه های بین سطحی (به طور مثال: ضخامت، پوشش، رئولوژی و برهمکنش های مولکولی) بستگی دارد و در نتیجه به نوع امولسیفایر وابسته است. یک فهم صحیح از رابطه بین خواص غشاهای بین سطحی شکل گرفته توسط امولسیفایرها و توانایی امولسیفایرها در پایداری قطرات امولسیون در برابر تجمع برای دانشمندان صنعت غذایی بسیار مهم است، چون این درک صحیح آن ها را قادر می سازد که امولسیفایرهای مناسبی را با عملکرد بهینه برای هر کاربردی انتخاب کنند [McClements, 2015].

۱-۵- توانایی کیتوزان به عنوان امولسیفایر

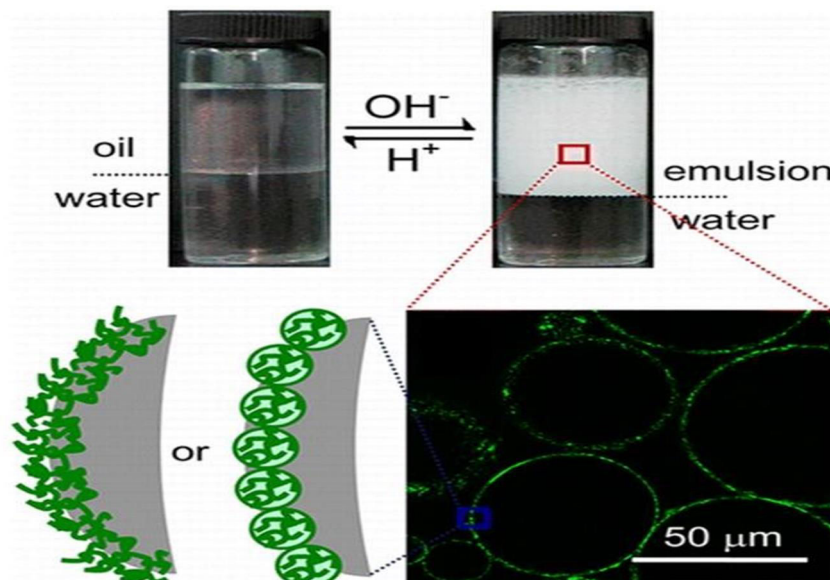
کیتوزان در پایداری امولسیون ها به کار برده می شود زیرا باعث افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته می شود. به عبارت دیگر پراکندگی قطرات و سرعت خامه ای شدن را کاهش می دهد [Agulló et al, 2003]. علاوه بر این ساختار پلی الکترولیت کیتوزان باعث ایجاد برهمکنش الکترواستاتیکی آن با پلیمرهای فعال سطحی با بار مخالف یا سورفکتانت هایی که قبلاً در سطح قطرات روغن جذب شده می شود و باعث ایجاد یک لایه بین سطحی محافظتی توسط پایداری الکترواستاتیک و استریک می شود. همان طور که در شکل (۱-۷) مشخص است.



شکل (۱-۷): پتانسیل برهمکنش های الکترواستاتیک کیتوزان در سطح قطرات امولسیون [Klinkesorn, 2013]

در مقایسه با امولسیون هایی که شامل قطرات آنیونی هستند یا آن هایی که با لایه های نازک تر پوشیده شده اند، امولسیون هایی که شامل قطرات کیتوزان کاتیونی با لایه های بین سطحی ضخیم هستند پایداری بهتری در برابر اکسیداسیون لیپیدها [Mei et al, 1998; Silvestre et al, 2000] و انبوهش قطرات فراهم می کنند [Fäldt et al, 1993; Kulmyrzaev et al, 2000]. با این وجود توانایی کیتوزان به عنوان یک امولسیفایر موضوع قابل بحثی می باشد. پژوهش های اندکی ویژگی های امولسیون کنندگی کیتوزان را به تنهایی و بدون اصلاح هیدروفوبیک یا بدون ترکیب آن با دیگر عوامل فعال سطحی شرح می دهند. در برخی پژوهش ها، کیتوزان برای فعالیت سطحی ضعیف در سطح مشترک آب و روغن معرفی می شود و افزایش غلظت کیتوزان باعث کاهش اندکی در تنش سطحی در مقایسه با مولکول های آمفیپاتیک سنتی می شود [Li and Xia, 2011; Klinkesorn, 2013]. با مراجعه به ساختار مولکولی، فعالیت سطحی کم کیتوزان قابل فهم خواهد بود. کیتوزان

گروه های آبدوست (گروه های آمین) زیادی دارد، اما محدودیت گروه های آبگریز (گروه های آمین استیل) و همچنین توزیع تصادفی گروه های غیرقطبی تراکم آن ها را در سطح مشترک آب و روغن به علت بازدارندگی استریک بیشتر کاهش می دهد [Rodriguez et al, 2002]. در نمونه های دیگر کیتوزان می تواند امولسیون روغن در آب را شکل دهد. اختلاف در ویژگی امولسیون کنندگی کیتوزان ممکن است به علت تفاوت در ساختار روغن و نوع کیتوزان استفاده شده در مطالعات مختلف باشد. اخیراً پژوهش هایی در رابطه با تشکیل امولسیون پیکرینگ بر پایه کیتوزان مورد بررسی قرار گرفته است [Liu et al, 2012; Liu et al, 2014]. کیتوزان در pH بالاتر از pka خودش، به علت انبوهش زنجیره های کیتوزان با پروتون زدایی گروه های آمین به صورت نامحلول می باشد و وقتی کیتوزان های تجمع یافته برای آماده سازی امولسیون روغن در آب استفاده شود، آن ها می توانند به عنوان امولسیفایر پیکرینگ عمل کنند و در سطح قطرات روغن جذب شوند و باعث ایجاد یک مانع فیزیکی در برابر انعقاد و خامه ای شدن شوند. در شکل (۸-۱) تشکیل امولسیون پیکرینگ بر پایه کیتوزان با واکنش پذیری به تغییرات pH نشان داده شده است.



شکل (۸-۱): تشکیل امولسیون پیکرینگ واکنش دهنده به pH با استفاده از کیتوزان [Liu et al, 2012]

مزیت ذرات کیتوزان تجمع یافته به عنوان یک امولسیفایر پیکرینگ جدید زیست سازگاری، منشأ زیستی، نسبتاً ارزان و خوردنی بودن آن است. بنابراین می توانند به عنوان جایگزینی برای ترکیبات سنتزی یا ذرات غیرارگانیک در امولسیون های پیکرینگ پایدار رده غذایی باشد [Wie et al, 2012; Ho et al, 2016].

۱-۶-اکسیداسیون

لیپیدهای غیراشباع گروه وسیعی از مولکول هایی که دارای یک یا چند باند دوگانه بین اتم های کربن خود هستند، می باشند. لیپیدهای غیراشباع شامل اسیدهای چرب و مشتقات آن ها (تری، دی، مونوگلسیریدها و فسفولیپیدها)، همچنین ترکیبات دیگر مانند اسفنگولیپیدها، لیپیدهای استرول و ساکارولیپیدها هستند. اسیدهای چرب چندغیراشباعی از نظر فیزیولوژیکی به علت توانایشان در پیشگیری و درمان بیماری ها اهمیت زیادی دارند [Pardini, 2006] و به دلیل اثرات مفید آن ها در بسیاری از محصولات برای مصرف به کار می روند [Kolanowski and Laufenberg, 2006]. لیپیدها با غیراشباعیت بالا، نسبت به اکسیداسیون حساس می باشند. اکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع در حقیقت اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع در ساختار آن ها می باشد و به طریق فتواکسیداسیون، اتواکسیداسیون و اکسیداسیون آنزیمی رخ می دهد، که اتواکسیداسیون مهمترین فرآیند در بین آن ها می باشد. برهمکنش اکسیژن با لیپیدهای غیراشباع یک واکنش مهم می باشد زیرا کاربرد لیپیدهای غیراشباع را در غذاهای عملگرا^{۲۸} محدود می کند. حساسیت لیپیدها به اکسیداسیون یک نگرانی بزرگ اقتصادی در تولید مواد غذایی حاوی لیپیدها می باشد. زیرا اکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع تأثیرات منفی بر کیفیت غذا مانند مزه، ظاهر، بافت و عمرماندگاری و همچنین باعث ایجاد طعم زننده و ترکیبات سمی با تشکیل محصولات واکنشگر ثانویه در غذاها بعد از پختن و فرآیند قرار گرفتن می شوند.

²⁸ Functional food

در امولسیون های روغن در آب، قطرات لیپید در فاز مایع پراکنده هستند و به وسیله امولسیفایرها یا سورفکتانت ها پایدار می شوند. عواملی از جمله ساختار مولکولی لیپیدها، درجه حرارت، محتوای اکسیژن، نور، آنزیم ها، فعالیت آبی و حضور اکسیدان ها و پراکسیدان ها بر سرعت اکسیداسیون لیپیدها در امولسیون های غذایی تأثیرگذار هستند. اکسیداسیون لیپیدها باعث کاهش کیفیت طعم به علت تجزیه هیدروپراکسیدها (به طور مثال طعم رنسیدی)، تغییر رنگ و بافت، کاهش مشتری پسندی، کاهش کیفیت مواد مغذی به علت رادیکال های آزاد، خطر سلامتی (به طور مثال ترکیبات توکسین) و افزایش اثر عقب ماندگی ذهنی می شود. اکسیداسیون لیپیدها در حین نگهداری و فرآوری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه ای و هضمی غذاها می شود، بلکه محصولات اکسید شده ای مانند رادیکال های آزاد تولید می کند [فاطمی، ۱۳۷۸]. رادیکال های آزاد تولید شده در سامانه های غذایی باعث اکسیداسیون خود به خودی و تولید ترکیبات شیمیایی نامطلوب و در نتیجه باعث تندی و بد طعمی ماده غذایی می شوند. همچنین رادیکال های آزاد در سامانه های بیولوژیکی و زیستی باعث بروز بسیاری از بیماری ها خصوصاً سرطان می شوند [Espín et al, 2000]. زمانی که باندهای دوگانه افزایش می یابد، تعداد و واکنش پذیری رادیکال ها افزایش می یابد. وقتی باندهای دوگانه چربی های غیراشباع اکسید می شوند، پراکسیدها تشکیل می شوند. درجه اکسیداسیون که در چربی ها و روغن ها رخ می دهد به اصطلاح در میزان پراکسید^{۲۹} (PV) سنجیده می شود. بررسی فرآیند اکسیداسیون چربی ها از نظر تشکیل پراکسید معمولاً دو مرحله مشخص را نشان می دهد. در مرحله اول پراکسید تشکیل شده ناچیز است. مدت این مرحله که دوره اکسیداسیون کند گفته می شود بر حسب نوع چربی و وجود عواملی که بر اکسیداسیون مؤثرند متغیر می باشد و حتی ممکن است به صفر برسد. به دنبال این مرحله افزایش سریع پراکسید مشاهده می شود [فاطمی، ۱۳۷۸].

محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدها بسیار ناپایدار هستند و به سهولت به ترکیبات ثانویه مختلفی تجزیه می شوند. روش های اندازه گیری بر اساس برخی محصولات ثانویه اکسیداسیون به عنوان روش

²⁹ Proxide Value

های مؤثر برای انعکاس مقدار واقعی اکسیداسیون می باشند. روش ۲- اسید تیوباربیتوریک^{۳۰} (TBA) یکی از روش های قدیمی برای ارزیابی مقدار اکسیداسیون لیپید در غذاها و دیگر سیستم های بیولوژیکی می باشد. فساد ناشی از روغن های سرشار از اسید لینولئیک سریع تر از سایر روغن ها احساس می شود، زیرا ترکیبات فرار بیشتری تولید می کند [فاطمی، ۱۳۷۸].

۱-۷- اسانس رزماری

اسانس ها یا روغن های فرار دسته ای از مواد تشکیل دهنده پر ارزش در گیاهان هستند که از آن ها در معطر ساختن فرآورده های غذایی و دارویی، آرایشی و بهداشتی، تهیه ادویجات و صنایع عطر سازی استفاده به عمل می آید. یکی از گیاهان دارویی با ارزش که از اسانس آن استفاده های فراوانی می گردد، گیاه رومارن یا رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* می باشد. رزماری یا اکلیل کوهی، گیاهی از اعضای خانواده نعنائیان است. این گیاه به صورت درختچه ای، همیشه سبز، پایا، معطر، بوته ای شکل و به ارتفاع ۱۰/۵ متر است که بومی مناطق مدیترانه ای و با ارزش دارویی و زینتی می باشد. با توجه به خواص زیاد گیاه رزماری از جمله مسکن درد مفاصل و ماهیچه ها، تحریک گردش خون، درمان آسم، سمیت کبدی و ریزش مو استفاده از این گیاه در سال های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی قوی، اسیدهای ضروری و مواد مغذی جز گیاهان ارزشمند است [Özcan and Arslan, 2011]. تحقیقات متعدد اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس رزماری را ثابت کرده است [Bozin et al, 2007]. اسانس این گیاه حاوی کامفر^{۳۱}، لیمونن^{۳۲}، بورنئول^{۳۳}، سینئول^{۳۴}، لینالول^{۳۵}، بورنیل استات^{۳۶} و ربینول^{۳۷} می باشد و از

³⁰ Thiobarbituric Acide

³¹ Campher

³² Limonen

³³ Borneol

³⁴ Cineole

³⁵ Linalool

³⁶ Bornyl acetate

³⁷ Robinol

ترکیبات فنلی آن می توان به اسید کافئیک^{۳۸}، اسید کلروژنیک^{۳۹} و اسید نئوکلروژنیک^{۴۰} اشاره کرد. از فلاونوئیدهای این گیاه می توان جنکوانین^{۴۱} و لوتئولین^{۴۲} را نام برد. از تری ترپنوئیدهای اسانس آن می توان اسید اولئانولیک^{۴۳} و اسید ارسولیک^{۴۴} را نام برد و از دی ترپن های آن می توان به کارنوسول^{۴۵} اشاره کرد. از جمله ویژگی های آنتی اکسیدان های طبیعی می توان به مؤثر بودن در غلظت پایین، حل پذیری در چربی ها، دسترسی آسان، غیرقابل جذب توسط بدن می باشد و حتی گاهی خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها با آنتی اکسیدان های سنتزی چون BHT^{۴۶} و BHA^{۴۷} برابری می کند یا بیشتر است [O'Grady et al, 2006].

³⁸ Caffeic acide

³⁹ Chlorogenic acid

⁴⁰ Neo chlorogenic acid

⁴¹ Genkwanin

⁴² Luteolin

⁴³ Oleanolic acid

⁴⁴ Ursolic acid

⁴⁵ Carnosol

⁴⁶ Butylated Hydroxyl Toluene

⁴⁷ Butylated Hydroxyl Anysole

فصل دوم: ضروری برپوش‌های

پوشین

۲-۱- پژوهش های مربوط به روغن سیاهدانه

مجاب و همکاران در سال ۱۳۸۲، در پژوهشی ترکیب شیمیایی اسانس و روغن استخراج شده از دانه های گیاه سیاهدانه را تعیین کردند. اسیدهای چرب مهم روغن، اسیدهای لینولئیک (۵۵/۶ درصد)، اولئیک (۲۳/۴ درصد) و پالمیتیک (۱۲/۵ درصد) بودند. اجزای عمده اسانس سیاهدانه نیز عبارت بودند از: ترانس-آنتول^{۴۸} (۳۸/۳ درصد)، پارا-سیمن^{۴۹} (۱۴/۸ درصد)، لیمونن (۴/۳ درصد) و کارون^{۵۰} (۴ درصد) [مجاب و همکاران، ۱۳۸۲].

علی^{۵۱} و همکاران در سال ۲۰۱۲، در پژوهشی ویژگی روغن و ترکیبات مغذی سیاهدانه را بررسی کردند. تعیین ساختار روغن به وسیله GLC^{۵۲} صورت گرفت. نتایج نشان داد که این دانه روغنی حاوی درجه بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع که شامل اسید لینولئیک (۵۲/۶ درصد) و اسید اولئیک (۲۳/۵ درصد) و اسید چرب اشباع اصلی آن اسید پالمیتیک (۱۶ درصد) بود [Ali et al, 2012].

کاسکوس^{۵۳} در سال ۲۰۱۱، در پژوهشی ترکیب اسید چرب، پایداری و ویژگی های تغذیه ای روغن سیاهدانه در عراق را که به روش استخراج با حلال از دانه سیاهدانه به دست آمده بود را مورد بررسی قرار دادند. ترکیبات شیمیایی روغن استخراج شده با حلال به وسیله GC/MS^{۵۴} به دست آمد. ۲۶ اسید چرب (۹۵ درصد) در این روغن مشخص شد که اسیدهای چرب اصلی روغن شامل، اسید لینولئیک (۴۲/۷۶ درصد)، اسید اولئیک (۱۶/۵۹ درصد) و اسید پالمیتیک (۸/۵۱ درصد) بود [Kaskoos, 2011].

⁴⁸ Trans- Anethole

⁴⁹ P-Cymene

⁵⁰ Carvone

⁵¹ Ali

⁵² Gas liquid chromatography

⁵³ Kaskoos

⁵⁴ GC Mass

۲-۲- پژوهش های مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی رزماری

قنادی و همکاران در سال ۱۳۸۱، به شناسایی ترکیبات اسانس رزماری پرداختند. ترکیبات اصلی اسانس رزماری، تری سیکلن، سینئول (۸و۱)، کامفر و بورنیل استات شناسایی گردید [قنادی و همکاران، ۱۳۸۱].

دولسا^{۵۵} و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی به آنالیز اسانس رزماری میکروکپسوله شده با تکنیک اکستروژن^{۵۶} و استفاده از آلزینات به عنوان دیواره و کلسیم دی کلرید به عنوان اتصال دهنده پرداختند. نتایج نشان داد که اسانس روغنی رزماری خواص ضدآفتی دارد و میکروکپسوله کردن باعث محافظت آن در برابر تجزیه، تبخیر و آزادسازی کنترل شده آن شد [Dolça et al, 2015].

گاد و ساید^{۵۷} در سال ۲۰۱۵، به بررسی خواص آنتی اکسیدانی رزماری و کاربردهای بالقوه آن به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در محصولات لبنی پرداختند. نتایج نشان داد که رزماری به عنوان عامل آنتی اکسیدان و ضدفساد می تواند از اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کند و با سرطان مبارزه کرده و درد را تسکین دهد. [Gad and Sayd, 2015].

توراسان^{۵۸} و همکاران در سال ۲۰۱۵، به درون پوشانی اسانس رزماری در اندازه میکرون و بررسی فرمولاسیون بهینه با توجه به ویژگی های فیزیکوشیمیایی و پایداری میکروکپسوله ها پرداختند [Turasan et al, 2015].

جینین^{۵۹} و همکاران در سال ۲۰۰۸، در پژوهشی ترکیب، فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره رزماری به دست آمده با روش کربن دی اکسید فوق بحرانی را مورد بررسی قرار دادند. ترکیبات

⁵⁵ Dolca

⁵⁶ Extrusion

⁵⁷ Gad and Sayd

⁵⁸ Turasan

⁵⁹ Genena

شیمیایی آن با GC-MS مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچی آن را تأیید کرد [Genena et al, 2008].

۲-۳- پژوهش های مربوط به امولسیون پیکرینگ

در پژوهشی که توسط گائو^{۶۰} و همکاران در سال ۲۰۱۷ صورت گرفت، امولسیون پیکرینگ پایدار شده با رشته های پروتئینی را تهیه و اثر pH و غلظت رشته های پروتئینی را بر روی پایداری آن بررسی کردند. نتایج نشان داد که بتا لاکتوگلوبولین ها^{۶۱} (β -lg) قادر هستند که امولسیون های روغن در آب را پایدار کنند. همچنین امولسیون های تشکیل شده پایداری فیزیکی عالی داشتند. در غلظت های مناسب فیبرها (۲۰-۵) میلی گرم/ میلی لیتر و pH های دورتر از نقطه ایزوالکتریک بتالاکتوگلوبولین، هیچگونه انعقادی در طول ۲۶ روز در دمای محیط نشان داده نشد. اما در pH های نزدیک نقطه ایزوالکتریک یا غلظت بیش از حد رشته ها (۲۵ میلی گرم/ میلی لیتر)، تمایل رشته ها به انبوهش باعث تشکیل امولسیونی با قطرات بزرگ می شود [Gao et al, 2017].

در سال ۲۰۱۶، چئونگ^{۶۲} و همکاران در پژوهشی پایداری نانوامولسیون پیکرینگ روغن دانه کنف در آب را که با مخلوط سدیم کازئینات، توئین ۲۰ و بتا سیکلودکسترین پایدار شده بود، مورد بررسی قرار دادند. همچنین در این تحقیق اثر بر همکنش سدیم کازئینات و توئین ۲۰ روی نانوامولسیون مطالعه شد. نتایج نشان داد که اثر سینرژیک میان آن ها به پایداری نانوامولسیون پیکرینگ کمک می کند [Cheong et al, 2016].

در پژوهشی که توسط فنگ و لی^{۶۳} که در سال ۲۰۱۶ انجام گرفت، مشخص شد که به کارگیری سدیم کازئینات برای بهبود سطح ذرات کلوئیدی زئین منجر به پایداری امولسیون روغن در آب می شود. نانوذرات کلوئیدی زئین در سطح مشترک آب و روغن جذب شدند و امولسیون پیکرینگ را

⁶⁰ Gao

⁶¹ β -lactoglobulin

⁶² Cheong

⁶³ Feng and Lee

شکل دادند. اما این امولسیون پیکرینگ به علت قابلیت رطوبت پذیری ضعیف ناپایدار بود. تصاویر میکروسکوپی نشان داد که پیوستگی سدیم کازئینات پوشش سطحی امولسیون پیکرینگ را بهبود بخشید. نانوکمپلکس زئین/ سدیم کازئینات به امولسیون های پیکرینگ استحکام بخشید و همچنین پایداری سانتیفریژی بیشتری را نسبت به امولسیون های زئین ساده در اغلب pH ها و مقاومت های یونی نشان دادند [Feng and Lee, 2016].

در پژوهشی که توسط شاه^{۶۴} و همکاران در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت، آماده سازی و بهینه سازی امولسیون پیکرینگ پایدار شده توسط نانوذرات کیتوزان_تری پلی فسفات برای درون پوشانی کورکومین^{۶۵} (ماده مؤثر زردچوبه) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بعد از بهینه سازی، امولسیون پیکرینگ با پایداری طولانی تر، مقاومت بیشتر در برابر pH و توزیع یکنواخت تر ذرات ایجاد شده است. همچنین مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی کورکومین درون پوشانی شده در امولسیون پیکرینگ با کورکومین آزاد نشان داد که درون پوشانی فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش داده است [Shah et al, 2016].

موانگی^{۶۶} و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر فاکتورهای محیطی مانند (قدرت یونی، دما و pH) را بر روی پایداری فیزیکی امولسیون های پایدار شده با ذرات کیتوزان مورد بررسی قرار دادند. امولسیون ها با به کارگیری هموژنایزر با سرعت بالا آماده شدند و پایداری آن ها در برابر انعقاد، خامه ای شدن و انبوهش اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت کیتوزان از ۰/۱ تا ۰/۳ (w/v%) باعث افزایش پایداری در برابر خامه ای شدن و انعقاد شد. همین نتیجه با افزودن نمک سدیم کلرید از ۱۰۰ به ۵۰۰ میلی مولار به دست آمد. امولسیون ها بالاترین پایداری را در pH = ۷ و بالاتر نشان دادند و کاهش pH، افزایش در انعقاد قطرات را نشان داد. همچنین امولسیون ها در دمای کمتر از ۵۰ درجه

⁶⁴ Shah

⁶⁵ Curcumin

⁶⁶ Mwangi

سانتیگراد پایدار بودند و افزایش دما باعث افزایش در انعقاد و خامه ای شدن قطرات شد [Mwangi et al, 2016].

لکلرچ و ناردلو-راتاج^{۶۷} در سال ۲۰۱۶، به بررسی امولسیون پیکرینگ بر پایه سیکلودکسترین زیست سازگار به جای سورفکتانت کلاسیک یا نانوذرات سمی پرداختند. مخلوط آب، روغن و سیکلودکسترین باعث تشکیل امولسیون های پیکرینگ شدند. ویژگی امولسیون توسط جزئیات دیاگرام فاز سه گانه و میکروسکوپ های نوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کمپلکس روغن / سیکلودکسترین ته نشین و در سطح مشترک آب و روغن برای تشکیل یک فیلم متراکم جذب شدند. از دیاگرام های سه گانه نتیجه گیری شد که یک ناحیه وسیع امولسیون به دست می آید که در این ناحیه ویژگی های امولسیون های پیکرینگ بسته به ویژگی های آب، روغن و سیکلودکسترین تنظیم می شود. به طور کلی این امولسیون های پیکرینگ به علت تشکیل فیلم متراکم در سطح مشترک آب و روغن در برابر انعقاد پایدار بودند. رفتار رئولوژیکی نشان داد که این امولسیون ها برای مصارف موضعی سازگار هستند و این نوع امولسیون ها (زیست سازگار، پایدار و بدون سورفکتانت) برای تحویل مشتقات موضعی به کار برده می شوند [Leclercq and Nardello-Rataj, 2016].

وانگ^{۶۸} و همکاران در سال ۲۰۱۶، امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با ذرات باردار کمپلکس زئین / کیتوزان را تولید کردند. $ZCCP_s$ ^{۶۹} خودشان را به عنوان یک امولسیفایر پیکرینگ مؤثر نشان دادند. زیرا امولسیون های پیکرینگ تشکیل شده دارای مقاومت بالا در برابر انعقاد در طول مدت ۹ ماه نگهداری بودند. $ZCCP_s$ به طور برگشت ناپذیری در سطح مشترک در طول امولسیون سازی جذب شدند و شبکه هیبریدی که در آن ذرات زئین درون شبکه کیتوزان احاطه شده را تشکیل دادند [Wang et al, 2016].

⁶⁷ Leclercq and Nardello-Rataj

⁶⁸ Wang

⁶⁹ Zein/Chitosan Complex Particles

در پژوهشی که توسط جائو^{۷۰} و همکاران در سال ۲۰۱۶ انجام گردید رفتار رئولوژیکی و میکروساختاری امولسیون های پیکرینگ پایدار شده توسط نانوذرات کافیرین (پروتئین پرولامینی سورگوم) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق این ترکیب را به عنوان یک پایدارکننده طبیعی برای امولسیون پیکرینگ معرفی کرد [Xiao et al, 2016].

در پژوهشی که توسط ژانگ^{۷۱} و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت، امولسیون پیکرینگ روغن در آب پایدار شده با کمپلکس پلی استایرن (PS)^{۷۲} و کیتوزان (CS)^{۷۳} را تهیه کردند. نتایج نشان داد که حضور هر دو ذرات PS و CS باعث تشکیل یک امولسیون پایدار شده است. بلعکس ذرات PS و CS به تنهایی باعث تشکیل امولسیون پایدار نمی شوند. جذب ذرات PS و CS بر روی سطح قطرات روغن با به کارگیری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^{۷۴} و میکروسکوپ فلورسنس^{۷۵} مشاهده شد. علاوه بر این مکانیسم توانایی امولسیون کنندگی کمپلکس با تعیین خاصیت تری^{۷۶} ذرات PS بهبود یافته با CS و همچنین انبوهش ذرات PS مورد مطالعه قرار گرفت. به طور کلی در غلظت های پایین CS، امولسیون با ذرات PS فلوکوله شد و در غلظت های بالای آن، توسط CS های آزاد پایدار گردید [Zhang et al, 2015].

تسابت و فرادت^{۷۷} در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی اثر ویژگی های روغن، ذرات و آب بر روی تولید امولسیون پیکرینگ را بررسی کردند. در این پژوهش دانه های شیشه ای به عنوان پایدار کننده استفاده و اندازه آن ها، غلظت، خاصیت تری، ویسکوزیته روغن و ویژگی های فاز آبی (pH و نمک) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که افزودن انواع یون ها به فاز آبی پایداری را بهبود بخشیدند و باعث تولید قطرات بزرگ تر شدند. همچنین پایداری با کاهش ویسکوزیته روغن، افزایش

⁷⁰ Xiao

⁷¹ Zhang

⁷² Polystyrene

⁷³ Chitosan

⁷⁴ Scanning electronic microscope

⁷⁵ Fluorescence microscopy

⁷⁶ Wettability

⁷⁷ Tsabet and Fradette

روغن و نیروی جاذبه که بر روی برخورد و جذب اولیه تأثیر می گذارد، بهبود پیدا کرد [Tsabet and Fradette, 2015].

در سال ۲۰۱۵، سونگ^{۷۸} و همکاران در پژوهشی امولسیون های پیکرینگ روغن سویا در آب را با استفاده از سوکسینیک انهیدرید (OSA)^{۷۹} آماده کردند. از نشاسته برنج به عنوان پایدار کننده استفاده شد و فاکتورهای مؤثر بر روی پایداری امولسیون و نیز رفتار رئولوژیکی امولسیون ها با به کارگیری رئومتر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پارامترهای مناسب برای آماده سازی امولسیون های پیکرینگ روغن در آب پایدار شده با ذرات نشاسته برنج شامل غلظت ذرات نشاسته ۴ wt%، کسر روغن دانه سویا ۵۰ vol% و pH سیستم امولسیون ۶-۷ بود. غلظت های نمک و ساکارز اثر آشکاری بر روی میزان خامه ای شدن امولسیون ها از ۲۰۰-۰ میلی مول / لیتر نداشتند، در حالی که اندازه قطرات با افزایش غلظت نمک تغییر کرد [Song et al, 2015].

در پژوهشی که توسط لیانگ و تانگ^{۸۰} در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت، از ایزوله پروتئین سویا به عنوان پایدارکننده امولسیون پیکرینگ روغن در آب در pH = ۳ استفاده کردند و برای تشکیل امولسیون در کسر روغنی ۰/۲، غلظت را از ۲/۵ به ۳ گرم / ۱۰۰ میلی لیتر افزایش دادند که باعث کاهش قابل توجهی در اندازه ذرات امولسیون شد. در حالی که پایداری خامه ای شدن آن ها به طور پیشرونده افزایش یافت. خصوصاً در غلظت بالاتر از ۲ گرم / ۱۰۰ میلی لیتر هیچگونه خامه ای شدن در طول ۲۰ روز نگهداری رخ نداد. نتایج حاصل از CLS^{۸۱} نشان داد که افزایش غلظت باعث افزایش قابل توجهی در اندازه قطرات شد و در غلظت های بالاتر شبکه ای از قطرات فلوکوله شده شکل گرفت و تشکیل شبکه ای از قطرات فلوکوله شده بستگی به افزایش مقدار جذب پروتئین ها در سطح مشترک داشت [Liang and Tang, 2014].

⁷⁸ Song

⁷⁹ Succinic anhydride

⁸⁰ Liang and Tang

⁸¹ Confocal laser scanning

کوروکجی^{۸۲} و همکاران در سال ۲۰۱۳، توانایی ترکیب غذایی سدیم استروئیل لاکتی لیت (SSL)^{۸۳} که باعث پایداری امولسیون های روغن در آب در برابر انعقاد می شود را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که پایداری امولسیون در غلظت پایین SSL به دست می آید [Kurukji et al, 2013].

در پژوهشی که توسط وی^{۸۴} و همکاران در سال ۲۰۱۲ صورت گرفت، از نانوذرات کیتوزان به عنوان یک امولسیفایر ویژه برای آماده سازی امولسیون های پیکرینگ استفاده کردند. همچنین در این تحقیق یک روش ساده و جدید برای ساختن میکروکپسوله های زیست سازگار^{۸۵} PLGA پوشیده از نانوذرات کلونیدی کیتوزان ارائه شد. امولسیون های روغن در آب پایدار با به کارگیری نانوذرات کلونیدی کیتوزان به عنوان یک امولسیفایر ویژه و محلول دی کلرومتان^{۸۶} و PLGA به عنوان یک فاز روغنی تهیه شدند. این امولسیون پایدار ویژگی واکنش دهندگی کیتوزان به pH را ارائه داد. اتصال غیرعرضی نانوذرات کیتوزان پوشش دهنده میکروکپسول های PLGA با تبخیر CH_2Cl_2 از امولسیون و اتصال عرضی نانوذرات کیتوزان پوشش دهنده میکروکپسول ها با ایجاد اتصال عرضی با گلوآرالدهید تشکیل شدند و میکروکپسول های کیتوزان با اتصال عرضی در محلول اسیدی پایدار شدند [Wei et al, 2012].

لیو^{۸۷} و همکاران در سال ۲۰۱۲، سیستم امولسیون برگشت پذیر و تغییر یافته با pH بر پایه کیتوزان بدون اصلاح هیدروفوبیکی را بررسی کردند و گزارش کردند که کیتوزان بدون اصلاح هیدروفوبیکی به تنهایی امولسیفایر خوبی نیست و در pH بالاتر از ۶، کیتوزان در آب نامحلول بود و این کیتوزان تجمع یافته در سطح مشترک روغن و آب جذب و امولسیون را پایدار کرد، که امولسیون پیکرینگ نامیده می شود [Liu et al, 2012].

⁸² Kurukji

⁸³ Sodium Stearoyllactylate

⁸⁴ Wei

⁸⁵ Poly(lactic-co-glycolic acid)

⁸⁶ Dichloromethane

⁸⁷ Liu

در سال ۲۰۱۰، فرلیکوفسکا^{۸۸} و همکاران تأثیر مقدار ذرات جامد در ویژگی های امولسیون پیکرینگ روغن در آب را مطالعه کردند. در این پژوهش کنترل اندازه قطرات و پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن در آب پایدار شده با ذرات سیلیکا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در نسبت کم سیلیکا به روغن امولسیون هایی با پایداری کم و در غلظت بالای سیلیکا امولسیون هایی با اندازه قطرات ثابت تشکیل شدند [Frelichowska et al, 2010].

شولزت^{۸۹} و همکاران در سال ۱۹۹۸، گزارش کردند که کیتوزان توانایی تشکیل یک امولسیون چندگانه w/o/w در اسید استیک آبی را دارد [Schulz et al, 1998].

۲-۴- پژوهش های مربوط به نانوذلهای کیتوزان و درون پوشانی اسانس در آن ها

در سال ۲۰۱۵، ژاوه^{۹۰} و همکاران اسانس روغنی زیره سبز را در نانوذلهای کیتوزان-اسید کافئیک به منظور افزایش فعالیت ضد میکروبی در برابر اسپرژیلوس فلاووس درون پوشانی کردند [Zhavah et al, 2015].

در سال ۲۰۱۴، خلیلی^{۹۱} و همکاران در طی پژوهشی اسانس آویشن را در نانوذلهای کیتوزان-اسید بنزوئیک به منظور افزایش خواص ضد قارچی در برابر اسپرژیلوس فلاووس^{۹۲} درون پوشانی کردند. [Khalili et al, 2014].

ضیایی^{۹۳} و همکاران در سال ۲۰۱۴، اسانس روغنی زیره سبز را در نانوذلهای کیتوزان-اسید میریستیک برای مدیریت مؤثر محصولات انبار شده در برابر آفت ها درون پوشانی کردند. نتایج نشان داد که اسانس زیره سبز آزاد فعالیت آفت کشی خود را پس از ۱۲ روز کاملاً از دست داد در حالی که تحت

⁸⁸ Frelichowska

⁸⁹ Schulz

⁹⁰ Zhavah

⁹¹ Khalili

⁹² Aspergillus Flavus

⁹³ Ziaee

همان شرایط اسانس درون پوشانی شده فقط ۱۵ درصد فعالیت آفت کشی خود را از دست داد [Ziaee et al, 2014].

بیکی^{۹۴} و همکاران در سال ۲۰۱۴، اسانس روغنی نعنای فلفلی را در نانوذله کیتوزان-اسید سینامیک به منظور افزایش فعالیت میکروبی در برابر آسپرژیلوس فلاووس درون پوشانی کردند. نتایج نشان داد میزان غلظت اسانس آزاد و درون پوشانی شده در برابر آسپرژیلوس فلاووس ۲۱۰۰ و ۵۰۰ ppm بود [Beyki et al, 2014].

۲-۵- پژوهش‌هایی مربوط به تأثیر امولسیون پیکرینگ بر پایداری اکسیداتیو

معرفتی^{۹۵} و همکاران در سال ۲۰۱۷، پایداری و درون پوشانی کورکومین در امولسیون پیکرینگ پایدار شده با گرانول‌های نشاسته را بررسی کردند و همچنین رفتار دما و غیردمایی بر روی اکسیداسیون لیپیدها در امولسیون پیکرینگ در طول مدت انبارداری را مورد مطالعه قرار دادند [Marefati et al, 2017].

دریدی^{۹۶} و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر فرمولاسیون بر روی پایداری اکسیداتیو امولسیون‌های آب در روغن و نیز اکسیداسیون این امولسیون‌ها و همچنین تأثیر یون‌های اکسیدکننده در فاز آبی بر روی اکسیداسیون لیپید امولسیون‌های آب در روغن را بررسی کردند. نتایج نشان داد که چنگالی کردن آهن باعث کاهش سرعت اکسیداسیون شد [Dridi et al, 2016].

اسکوردو^{۹۷} و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی تحت عنوان آماده‌سازی نانوامولسیون‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع کپسوله شده با کیتوزان، به آماده‌سازی نانوکپسول‌ها با روش امولسیون پرداختند. ۴ امولسیون با تفاوت در ترکیبات غلظت کیتوزان و زمان‌های هموژنیزاسیون به کار برده شدند. نتایج نشان داد که نانوکپسول‌ها یک شکل کروی ارایه می‌کنند. به کارگیری غلظت کم مواد

⁹⁴ Beyki

⁹⁵ Marefati

⁹⁶ Dridi

⁹⁷ Esquerdo

دیواره و زمان بالای هموژنیزاسیون نانوکپسول هایی با کوچکترین اندازه و کمترین شاخص پلی دیسپرسیون فراهم می کند. مقادیر پراکسید نشان داد که میکروساختار قادر به محافظت اسیدهای چرب غیراشباع از اکسیداسیون اولیه هستند [Esquerdo et al, 2015].

در تحقیقی که توسط وانگ⁹⁸ و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت، کورکومین را در نانوذرات زئین-کیتوزان به منظور پایداری فیزیکی و اکسیداسیونی امولسیون روغن در آب درون پوشانی کردند و اثر آنتی اکسیدانی امولسیون پیکرینگ پایدار شده با کمپلکس ذرات زئین-کیتوزان (ZCP)⁹⁹ را بررسی کردند. نتایج ارزیابی پایداری اکسیداتیو نشان داد که این نانوذرات باعث افزایش پایداری اکسیداتیو امولسیون شده اند. همچنین وارد کردن کورکومین در امولسیون پیکرینگ پایداری اکسیداتیو امولسیون را بهتر بهبود بخشید [Wang et al, 2015].

کارگر¹⁰⁰ و همکاران در سال ۲۰۱۲، توانایی امولسیون پیکرینگ به منظور افزایش ثبات اکسیداسیونی امولسیون روغن در آب را مورد بررسی قرار دادند. به این صورت که امولسیون های روغن آفتابگردان در آب (۲۰ درصد) پایدار شده با ذرات (میکروکریستال های سلولز MCC¹⁰¹ و نشاسته اصلاح شده MS¹⁰²) تحت شرایط مختلف فرآیند تهیه شدند و خواص فیزیکوشیمیایی آن ها نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ذرات MS و MCC به طور مؤثری به علت شکل گیری یک لایه ضخیم اطراف قطرات روغن به مدت ۴۰ روز باعث پایداری امولسیون ها شدند. همچنین افزایش غلظت ذرات از ۰/۱ تا ۲/۵ درصد باعث کاهش اندازه قطرات، افزایش پایداری فیزیکی امولسیون ها و کاهش اکسیداسیون لیپیدها شدند [Kargar et al, 2012].

کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۱، در پژوهشی تأثیر میکروساختارهای بین سطحی بر روی پایداری اکسیداتیو امولسیون های روغن در آب را بررسی کردند. بدین منظور پایداری اکسیداتیو امولسیون

⁹⁸Wang

⁹⁹ Zein/ chitosan particle

¹⁰⁰ Kargar

¹⁰¹ Microcrystalline cellulose

¹⁰² Modified starch

های پایدار شده با سدیم کازئینات، توئین ۲۰ و ذرات سیلیکا را با اندازه گیری محصولات اولیه و ثانویه مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که کاهش کسر روغنی از ۳۰ درصد به ۵ درصد، اکسیداسیون لیپیدها را به علت افزایش مقدار پراکسیدان های آهن به ازای هر گرم روغن، افزایش داد. سدیم کازئینات به علت خاصیت چنگالی کننده فلزات در $pH = 7$ ، اکسیداسیون لیپیدها را کاهش داد. همچنین امولسیون های پایدار شده با ذرات سیلیکا در $pH = 2$ بهتر از امولسیون های پایدار شده با سورفکتانت ها از اکسیداسیون جلوگیری کردند [Kargar et al, 2011].

سون^{۱۰۳} و همکاران در سال ۲۰۱۱، اتواکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع در امولسیون های غذایی در آب را مورد بررسی قرار دادند. در این پژوهش اتواکسیداسیون لیپیدهای غیراشباع در امولسیون روغن در آب و همچنین مکانیسم های دیگر اکسیداسیون، بیشترین فاکتورهای تأثیرگذار بر روی اکسیداسیون، مشکلات و استراتژی های مؤثر برای کنترل اکسیداسیون لیپیدها در امولسیون های غذایی مورد بحث قرار گرفت [Sun et al, 2011].

کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۱، نوع امولسیفایر، کسر حجمی فاز روغنی بر پایداری اکسیداسیون را مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که امولسیون های پایدار شده با سدیم کازئینات در مقایسه با امولسیون های پایدار شده با توئین ۲۰ به دلیل توانایی سدیم کازئینات در باند کردن آهن، پایداری اکسیداتیو بیشتری داشتند. همچنین پایداری اکسیداسیون لیپیدها در امولسیون پیکرینگ (ذرات سیلیکا) در مقایسه با توئین ۲۰، به علت ایجاد یک مانع فیزیکی بین پراکسیدان ها در فاز پیوسته و هیدروپراکسیدها در سطح مشترک قطرات بیشتر بود [Kargar et al, 2011].

نیکوسکا^{۱۰۴} در سال ۲۰۱۰، در پژوهشی پایداری اکسیداتیو روغن گردو و امولسیون های روغن گردو در آب پایدار شده با ایزوله پروتئین سویا (SI)^{۱۰۵} و ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI)^{۱۰۶} را مورد بررسی

¹⁰³ Sun

¹⁰⁴ Nikovska

¹⁰⁵ Soy protein isolate

¹⁰⁶ Whey protein isolate

قرار دادند. نتایج نشان داد که امولسیون ها نسبت به روغن گردو، پایداری بیشتری داشتند. همچنین امولسیون های پایدار شده با ایزوله پروتئین آب پنیر به علت توانایی پروتئین آب پنیر در غیرفعال کردن رادیکال های پروکسی پایداری اکسیداتیو بیشتری نسبت به امولسیون های پایدار شده با ایزوله پروتئین سویا داشتند [Nikovska, 2010].

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱-مواد و وسایل مورد استفاده

۳-۱-۱-مواد مورد استفاده

روغن سیاهدانه (تهیه شده از شرکت روغن گیری حامد، مشهد به روش پرس سرد) - اتانول، اسید استیک ۹۹/۷ درصد و هیدروکسید سدیم (تهیه شده از شرکت مرک^{۱۰۷}، آلمان) - توئین ۸۰، کلرفرم، اسید کلریدریک ۳۷ درصد، اسید تری کلرواستیک ۹۹ درصد و آمونیوم تیوسیانات (تهیه شده از شرکت سامچون^{۱۰۸}، کره) - کیتوزان، اسید استتاریک، TBA^{۱۰۹} و کلرید آهن (تهیه شده از شرکت سیگما^{۱۱۰}، آلمان) - ۱-اتیل-۳-دی متیل آمینو پروپیل کربو دی ایمید (EDC) (تهیه شده از شرکت فلوکا^{۱۱۱}، آمریکا) - متانول (تهیه شده از شرکت اطلس شیمی، ایران) - آب مقطر - اسانس رزماری (تهیه شده از شرکت باریج اسانس^{۱۱۲}) که مشخصات آن در جدول (۳-۱) آورده شده است.

¹⁰⁷ Merk

¹⁰⁸ Samchun

¹⁰⁹ Thiobarbituric Acide

¹¹⁰ Sigma

¹¹¹ Fluka

¹¹² Barije essens

جدول (۳-۱): مشخصات اسانس رزماری استفاده شده در این تحقیق

ردیف	آزمایشات	مقدار قابل قبول	نتایج
۱	رنگ	بی رنگ متمایل به زرد کم رنگ	زرد
۲	شفافیت	روشن	روشن
۳	بو	مخصوص رزماری	مخصوص رزماری
۴	وزن مخصوص (گرم/میلی لیتر)	۰/۸۹۵-۰/۹۲۰	۰/۸۹۶
۵	ضریب شکست	۱/۴۶۴-۱/۴۷۳	۱/۴۶۶۹
۶	چرخش نوری	۸ - +۵-	۸/۶۴
	آلفا پینن (%)	۱۸-۲۶	۲۳/۶۷
	بتا پینن (%)	۲-۶	۱/۱۴
۷	ترکیبات	۲-۴/۵	۶/۵۰
	پی سیمن (%)	۱-۲/۲	۱/۴۷
	لیمونن (%)	۲/۵-۵	۴/۲۸
	سینول (%)	۱۶-۲۵	۱۱/۰۴
	کامفور (%)	۱۳-۲۱	۷/۶۸

۳-۱-۲- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

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

همزن مغناطیسی (دست ساز، با سرعت ۵۵۰۰ دور بر دقیقه)

ترازوی حساس HR-200 با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (A&D، ژاپن)

دستگاه اسپکتروفتومتر نورمرئی (مدل UV2150، انگلستان)

pH متر (Mettler Toledo، سوئیس)

حمام التراسوند (Elma، آلمان)

میکروسکوپ نوری (GX Microscopes، استرلیا)

سانتریفوژ (Eppendorf AG، آلمان)

هیتر (مدل IKA* C-MAG HS 7، آلمان)

آون (Memmert، آلمان)

آب مقطر گیر (GFL، آلمان)

دوربین دیجیتال ۷ مگاپیکسل شرکت Apple

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

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) (KYKY-EM3200، چین)

کروماتوگرافی گازی (GC) (مدل Unicam 4600، انگلستان)

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR) (مدل Jascow 430، ژاپن)

۳-۲- روش ها

۳-۲-۱- آزمون های شیمیایی روغن سیاهدانه

۳-۲-۱-۱- تعیین اسیدهای چرب روغن سیاهدانه با کروماتوگرافی گازی

در این پژوهش جهت بررسی پروفیل اسیدهای چرب و میزان اسیدهای چرب موجود در روغن سیاهدانه از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Unicam 4600 ساخت کشور انگلستان) مجهز به آشکارکننده نوع FID و ستون نوع Capillary, BPX70 استفاده شد. درجه حرارت آشکارکننده 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.

۳-۲-۲- 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 (^{۱۱۳}EDC)) با روش ارائه شده توسط چن^{۱۱۴} و همکاران (۲۰۰۳)، انجام شد [Chen et al, 2003]. در ابتدا، ۰/۵ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک آبی (۱ درصد حجمی / حجمی) حل شد. پس از افزودن ۸۵ میلی لیتر 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 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 هیدروکسید سدیم (۱ مولار) برای آماده سازی نانوذله بر 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 فیلتر شد.

۳-۲-۳- آزمون FTIR

طیف سنجی مادون قرمز یکی از پرکاربردترین روش ها در شناسایی کیفی مولکول های مختلف، تعیین ساختار مولکولی گونه مختلف (مخصوصاً گونه های آلی) و شناسایی گروه های عاملی موجود در ساختار یک گونه می باشد. در این پژوهش برای تأیید تشکیل ساختار نانوذله ها، طیف سنجی مادون قرمز در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و در رنج cm^{-1} (۵۰۰ تا ۴۰۰۰) انجام داده شد [Khalili et al,

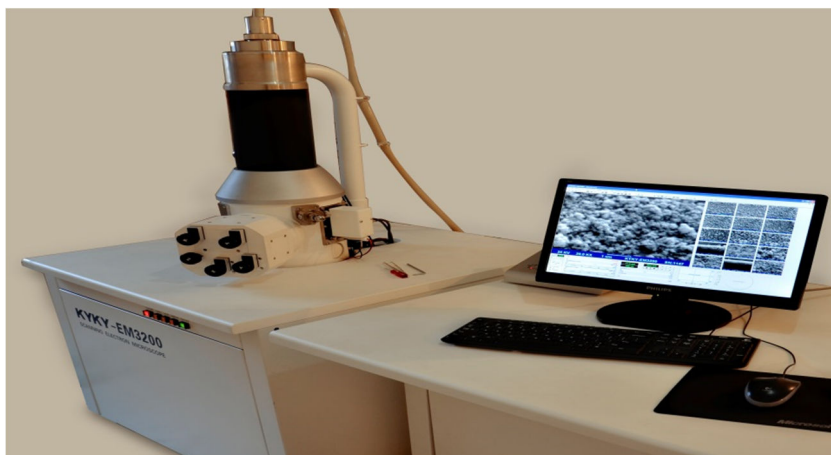
¹¹³ Ethylene dichloride

¹¹⁴ Chen

[2015]. به این منظور مقداری از نانوذلهای کیتوزان-اسید استئاریک خشک شده به همراه اسید استئاریک 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 Jascow 430 ساخت کشور ژاپن) اندازه گیری و بررسی شد.

۳-۲-۴-آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

از میکروسکوپ الکترونی روبشی معمولاً برای مطالعه مورفولوژی ساختار نانوذرات استفاده می شود. اساس کار آن بر مبنای بمباران نمونه به وسیله الکترون و بازگشت و تبدیل آن به سیگنال است. نمونه ها را با روکشی از طلا می پوشانند تا سطح رسانایی داشته باشد و تصویر مناسبی از مورفولوژی سطح به دست آید. در این پژوهش به جهت بررسی و مطالعه مورفولوژی نانوذلهای میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد [Feng and Lee, 2016]. به این صورت که ابتدا ۱ سی سی از نانوذلهای کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت های (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت گذاشته شدند و سپس به آنها 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 نمونه ها با طلا پوشش داده شدند، سپس از دستگاه SEM (مدل KYKY-EM3200 ساخت کشور چین) که در شکل (۳-۱) نمایش داده شده است، برای عکس برداری از نمونه ها استفاده شد.



شکل (۳-۱): میکروسکوپ الکترونی روبشی

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

برای تهیه امولسیون های پیکرینگ از روش موانگی و همکاران با کمی تغییرات استفاده شد [Mwangi et al, 2016]. به طور کلی برای تهیه امولسیون های پیکرینگ از فاز روغنی (روغن سیاهدانه)، فاز آبی (آب مقطر) و نانوذله کیتوزان-اسید استتاریک به عنوان پایدار کننده استفاده شد. همچنین برای تهیه امولسیون پیکرینگ اثر سه فاکتور pH، غلظت نانوذله کیتوزان-اسید استتاریک 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 pHهای مختلف

برای بررسی اثر pHهای (۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲) 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 استتاریک (با غلظت ۷۵ درصد اسید استتاریک به کیتوزان)، ۱۰۰ میکرولیتر روغن افزوده شد و به مدت یک دقیقه با همزن با سرعت ۵۵۰۰ دور بر دقیقه، به طور مداوم همزده شد. سپس pHهای 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 استرلیا) 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 نانوذل کیتوزان- اسید استتاریک با غلظت های مختلف

در این پژوهش از نانوذل با نسبت های مختلف اسید استتاریک به کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) برای بررسی تأثیر غلظت های مختلف اسید استتاریک به کیتوزان بر روی پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده شد. پس از تعیین pH مناسب، ابتدا مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از نانوذل ها با غلظت های مختلف (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) به ۱۰۰ میکرولیتر روغن سیاهدانه 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 استرلیا) 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 سیاهدانه

پس از تعیین pH و غلظت نانوذل مناسب، برای بررسی اثر روغن در تولید امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب، از مقادیر مختلف روغن سیاهدانه (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میکرولیتر استفاده شد.

برای تهیه امولسیون های پیکرینگ ابتدا به ۱۰۰۰ میکرولیتر نانوژل کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت مناسب به دست آمده در مرحله قبلی، مقادیر مختلف روغن سیاهدانه 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 سیاهدانه در آب

پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن سیاهدانه 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

سیاهدانه 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, 1999]. میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ آماده شده مطابق روش چئونگ و همکاران (۲۰۱۶) مورد ارزیابی قرار گرفت [Cheong et al, 2016]. 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)^{۱۱۵} مشخص شد.

$$CI\% = \frac{H_c}{H_t} \times 100 \quad \text{فرمول (۱-۳):}$$

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 جائو و همکاران مورد بررسی قرار گرفت [Xiao et al, 2016]. 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 Apple عکس گرفته شد. در ادامه از نرم افزار فتوشاب CS6 و Image J برای تخمین میانگین اندازه قطرات استفاده شد [Xiao et al, 2016].

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 ۱۹ روز در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در آون (مدل Memmert ساخت کشور آلمان) قرار داده شدند و روند اکسیداسیون آن ها در بازه های زمانی ۴-۶ روز یک بار مورد ارزیابی قرار گرفت.

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

¹¹⁵ Creaming index

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

۳- نمونه حاوی ۲۰۰ ppm اسانس رزماری در روغن: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون پیکرینگ بهینه بود با این تفاوت که درون روغن سیاهدانه قبل از استفاده ۲۰۰ ppm اسانس رزماری اضافه شد.

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

۵- نمونه حاوی ۲۰۰ ppm اسانس رزماری در نانوذله: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون پیکرینگ بهینه بود با این تفاوت که درون نانوذله مورد استفاده قبل از استفاده ۲۰۰ ppm اسانس رزماری (معادل مقدار اسانسی که در روغن نمونه ۳ استفاده شده بود) با استفاده از روش هادیان و همکاران (۱۳۹۵) درون پوشانی شد [هادیان و همکاران، ۱۳۹۵].

۶- نمونه حاوی ۱۰۰۰ ppm اسانس رزماری در نانوذله: برای تهیه این نمونه تمام شرایط مشابه تهیه امولسیون پیکرینگ بهینه بود با این تفاوت که درون نانوذله مورد استفاده قبل از استفاده ۱۰۰۰ ppm اسانس رزماری (معادل مقدار اسانسی که در روغن نمونه ۴ استفاده شده بود) با استفاده از روش هادیان و همکاران (۱۳۹۵) درون پوشانی شد [هادیان و همکاران، ۱۳۹۵].

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

۳-۲-۷-۲-۳-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 سیاهدانه در آب مطابق روش سالمین و همکاران (۲۰۱۳) تعیین شد [Salminen et al, 2013]. برای اندازه گیری عدد پراکسید پس از آماده سازی محلول کلرید آهن II و محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم، ۹/۸ میلی لیتر کلر فرم/متانول (۷:۳۷/۷) به ۱۰ میکرولیتر نمونه اضافه و ۲-۴ ثانیه مخلوط شد، در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول ۳۰ درصد تیوسیانات آمونیوم (W/V) اضافه و به مدت ۲-۴ ثانیه مخلوط شد، سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آهن II به نمونه افزوده شد. بعد از ۲۰ دقیقه جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر نور مرئی (مدل UV2150 ساخت کشور انگلستان) که در شکل (۲-۳) نشان داده شد، در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. محلول شاهد کلر فرم/متانول (۷:۳۷/۷) بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های ۰/۵ تا ۳ ppm از کیومن تهیه و توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید. عدد پراکسید (PV) به صورت میکرومول پراکسید در کیلوگرم روغن بیان شد



شکل (۲-۳): دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی

۳-۲-۷-۲-۲-اندازه گیری میزان TBA

اندیس تیوباربیتوریک اسید، میلی گرم دی آلدئید موجود در روغن را نشان می دهد. مالون آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب تولید می شود. محصولات ثانویه اکسیداسیون موجود در امولسیون های روغن سیاهدانه مطابق روش تونگ و همکاران تعیین شدند [Tong et al, 2000]. 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 ۲۰۰۰ rpm (مدل Eppendorf AG - ساخت کشور آلمان) که در شکل (۳-۳) نشان داده شد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند، سپس جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفتومتر نور مرئی مدل (UV2150، ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. محلول شاهد محلول حاوی تمام موارد ذکر شده به جز نمونه امولسیون بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های مختلفی از ۱، ۳، ۱، ۳- تراهایدروکسی پروپان تهیه شد و توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده و در برنامه اکسل رسم شد. عدد TBA به صورت میکرومول TBA در کیلوگرم روغن بیان شد.



شکل (۳-۳): دستگاه سانتریفوژ

۳-۲-۸- تجزیه تحلیل آماری

تمام آزمون‌ها، برای هر تیمار ۳ تکرار صورت پذیرفت، نوع آزمایش طرح کاملاً تصادفی بود و داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای EXCEL و SPSS23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در نهایت مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد. میانگین و انحراف معیار و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار مایکروسافت اکسل انجام شد.

فصل چہارم: بحث و نتائج

۱-۴- پروفایل اسیدهای چرب روغن سیاهدانه

نتایج حاصل از آزمون کروماتوگرافی گازی در جدول (۱-۴) نشان داده شده است.

جدول (۱-۴): نوع و درصد اسیدهای چرب روغن سیاهدانه

درصد	ترکیب
۰/۲۵۹	C14:0
۱۳/۵۸۲	C16:0
۰/۵۰۳	C16:1
۲/۷۳۸	C18:0
۲۴/۴۰۰	C18:1(n-6)
۵۶/۱۶۹	C18:2(n-6) ω6
۰/۱۷۹	C18:3(n-3) ω3
۱۶/۵۸	اسیدهای چرب اشباع
۲۴/۹۰۳	اسیدهای چرب تک غیراشباعی
۵۶/۳۵	اسیدهای چرب چندغیراشباعی
۰/۰۰۳	نسبت ۳-ω به ۶-ω

همان طور که مشخص است روغن سیاهدانه دارای اسیدهای چرب اشباع (اسید میریستیک، اسید پالمیتیک و اسید استئاریک) و اسیدهای چرب غیراشباع (اسید اولئیک، اسید لینولئیک، اسید لینولنیک و اسید پالمیتولئیک) می باشد، که بیشترین میزان مربوط به اسیدهای چرب غیراشباع و در بین آن ها اسید لینولئیک با ۵۶/۱۶ درصد بیشترین میزان و اسید لینولنیک با ۰/۱۷۹ درصد کمترین میزان را دارا می باشد. در بین اسیدهای چرب اشباع بیشترین میزان مربوط به اسید پالمیتیک (۱۳/۵۸۲ درصد) و کمترین میزان مربوط به اسید میریستیک (۰/۲۵۹ درصد) می باشد. به طور کلی اسید لینولئیک (۵۶/۱۶۹ درصد)، اسید اولئیک (۲۴/۴ درصد) و اسید پالمیتیک (۱۳/۵۸۲ درصد) اجزای عمده روغن سیاهدانه می باشند. همچنین میزان اسیدهای چرب چندغیراشباعی (۵۶/۳۵ درصد) نسبت به تک غیراشباعی (۲۴/۹۰۳ درصد) در این روغن بیشتر است. با توجه به میزان بالای اسیدهای چرب غیراشباع روغن سیاهدانه می توان گفت که این روغن نسبت به اکسیداسیون حساس می باشد.

در سال ۲۰۱۷، روشمی^{۱۱۶} و همکاران در پژوهشی بیان کردند که روغن سیاهدانه به دلیل محتوای اسیدهای چرب امگا ۶ و امگا ۹ فراوان به ترتیب شامل (۷۰-۵۴) درصد اسید لینولئیک و (۲۴-۱۵) درصد اسید اولئیک جز روغن های مهم خوراکی مطرح شد [Rushmi et al, 2017].

گالی مهتصیب^{۱۱۷} و همکاران در سال ۲۰۰۶، در پژوهشی نشان دادند که روغن سیاهدانه دارای ۸۵ درصد اسیدهای چرب غیراشباع می باشد [Gali-Muhtasib et al, 2006].

علی و همکاران در سال ۲۰۱۲، در پژوهشی ساختار روغن سیاهدانه را با GLC تعیین کردند و بیان کردند که این روغن حاوی میزان بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع شامل اسید لینولئیک (۵۲/۶ درصد) و اسید اولئیک (۲۳/۵ درصد) است. همچنین اسید چرب اشباع اصلی آن را اسید پالمیتیک (۱۶ درصد) گزارش کردند [Ali et al, 2012].

کاسکوس در سال ۲۰۱۱، در پژوهشی ترکیب اسید چرب روغن سیاهدانه که به روش استخراج با حلال از دانه سیاهدانه به دست آمده بود را مورد بررسی قرار دادند. ترکیبات شیمیایی روغن استخراج شده با حلال به وسیله GC/MS به دست آمد. اسیدهای چرب اصلی روغن شامل، اسید لینولئیک (۴۲/۷۶ درصد)، اسید اولئیک (۱۶/۵۹ درصد) و اسید پالمیتیک (۸/۵۱ درصد) بود [Kaskoos, 2011].

ماتئوس و ازکن در سال ۲۰۱۱، درصد اسیدهای چرب روغن سیاهدانه را به صورت اسید لینولئیک (۴۰/۳ تا ۵۸/۹) درصد، اسید اولئیک (۱۸/۷ تا ۲۸/۱) درصد، اسید پالمیتیک (۱۰/۱ تا ۱۲/۵) درصد و اسید استئاریک (۲/۶ تا ۳/۱) درصد گزارش کردند [Matthaus and Ozkan, 2011].

با توجه به نتایج تحقیقات گذشته می توان بیان کرد که پروفایل اسیدهای چرب روغن سیاهدانه به دست آمده در تحقیق حاضر با نتایج تحقیقات گذشته مطابقت دارد.

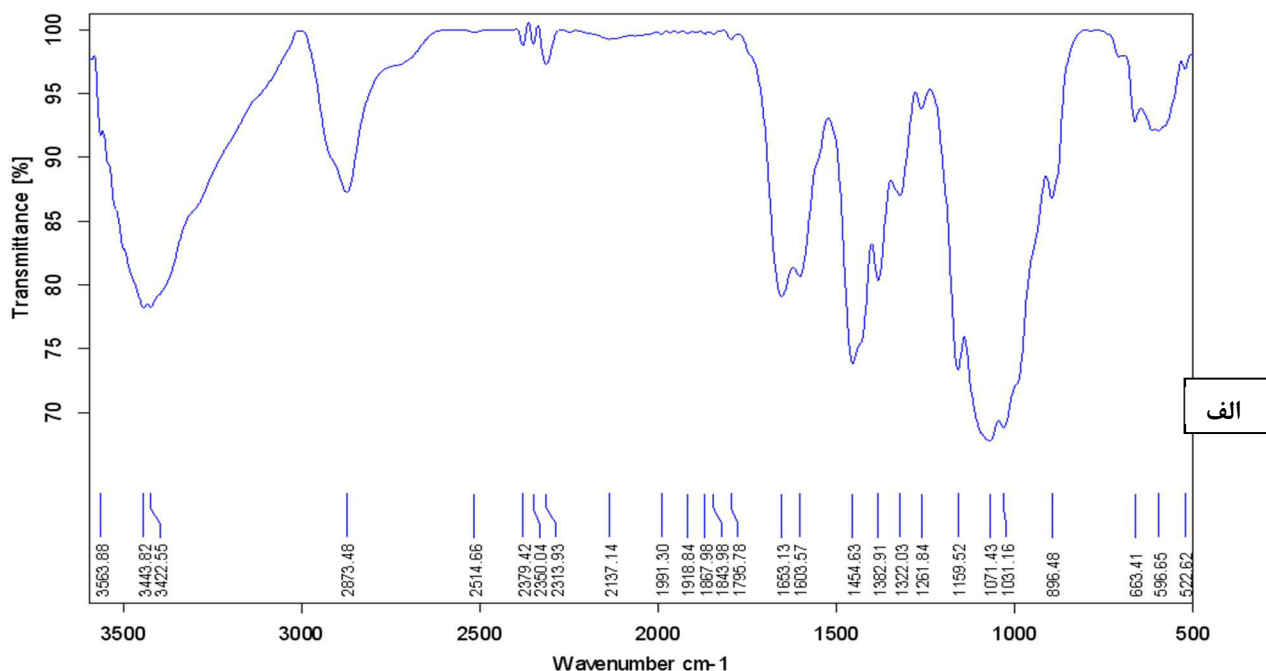
¹¹⁶ Rushmi

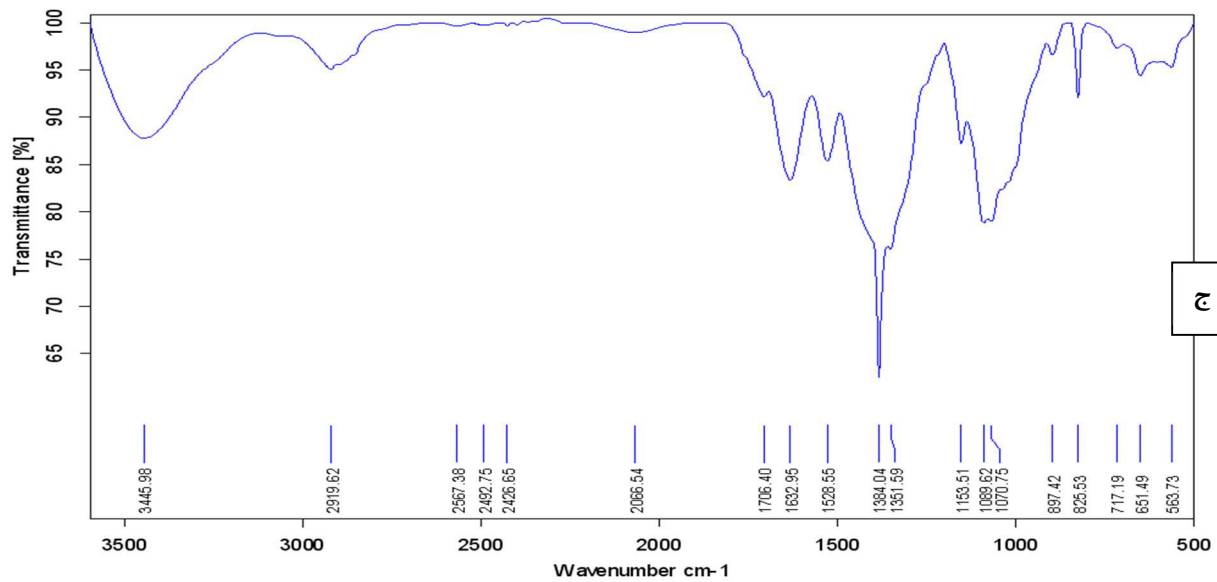
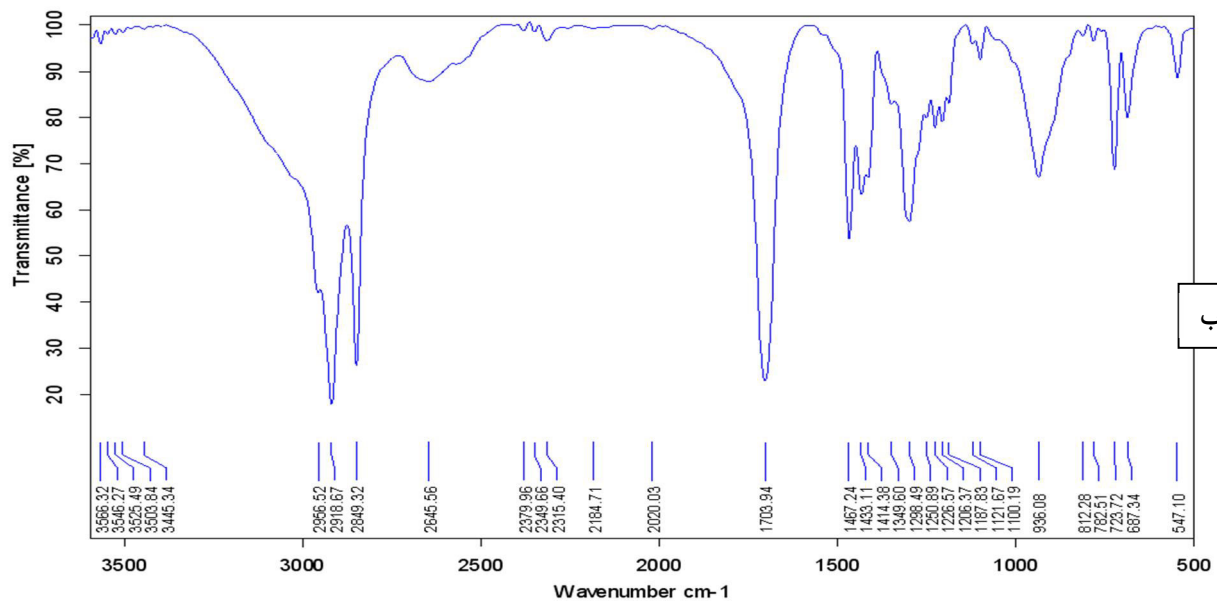
¹¹⁷ Gali-Muhtasib

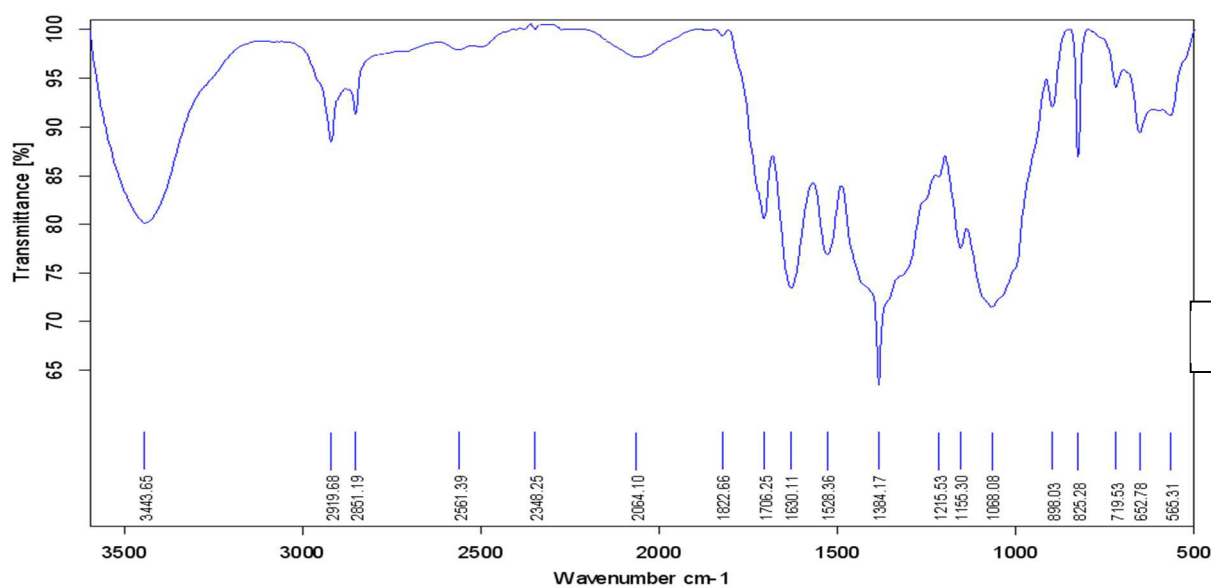
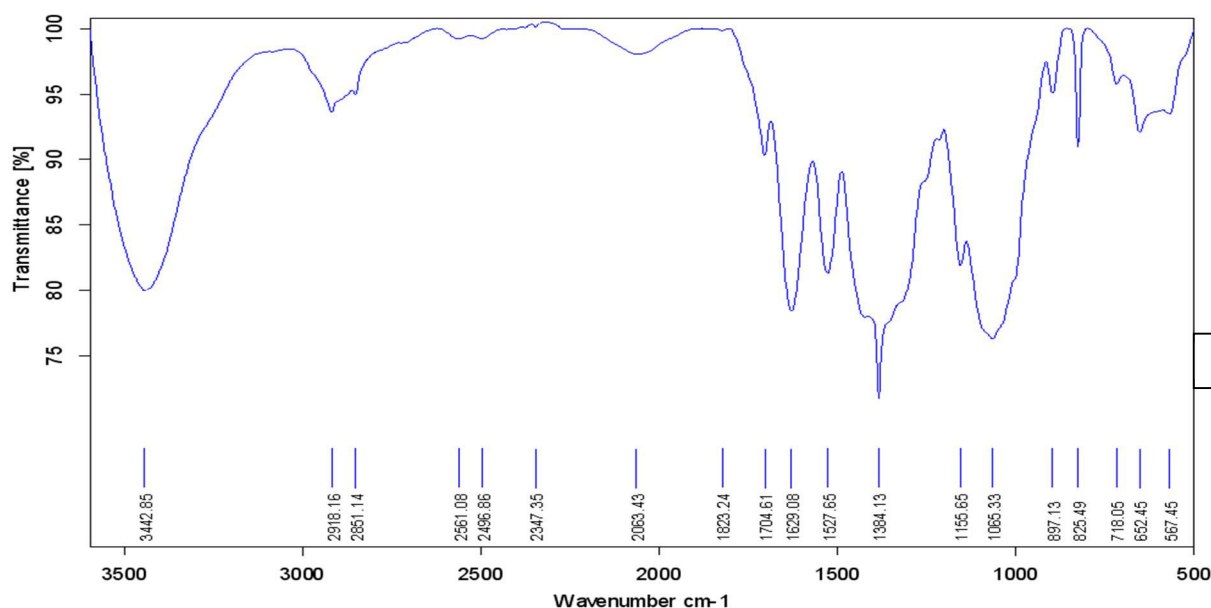
۲-۴- بررسی نانوذله های کیتوزان- اسید استئاریک

۴-۲-۱- نتایج FT-IR

در مرحله اول این تحقیق نانوذله 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 باند ایجاد شده بین گروه آمین کیتوزان و کربوکسیل اسید استئاریک طیف های حاصل از دستگاه FT-IR استفاده شد. در شکل (۴-۱) طیف های FT-IR مربوط به کیتوزان، اسید استئاریک و نانوذله 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: اسید استتاریک ج: نانوزل کیتوزان-اسید استتاریک (۲۵ درصد اسید استتاریک)، د: نانوزل کیتوزان-اسید استتاریک (۵۰ درصد اسید استتاریک) و: نانوزل کیتوزان-اسید استتاریک (۷۵ درصد اسید استتاریک).

در شکل (۴-۱-الف) طیف کیتوزان جذب در ناحیه $3400-3500\text{ cm}^{-1}$ را نشان می دهد که این مربوط به گروه هیدروکسیل کیتوزان می باشد. در 1603 cm^{-1} پیک مربوط به ارتعاشات خمشی پیوندهای آمید و آمین مشاهده می شود. در 2873 cm^{-1} پیک مربوط به ارتعاش کششی C-H گروه

های CH_2 است. در 1653 cm^{-1} پیک مربوط به ارتعاشات کششی گروه $\text{C}=\text{O}$ آمید مربوط به گروه های آمین دی استیله نشده، مشاهده می شود. باندهای مشاهده شده در 1159 cm^{-1} (مربوط به $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ کشش نامتقارن یا باندهای اتری $\text{C}-\text{O}$) و در 1071 cm^{-1} (ارتعاش کششی $\text{C}-\text{O}$) ساختار معمول در کیتوزان هستند [Peng et al, 2010; Chiono et al, 2008].

در شکل (۴-۱-ب) طیف مربوط به اسید استتاریک نشان داده شده است. پیک های شناسایی شده در 2918 cm^{-1} و 2849 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی $\text{C}-\text{H}$ گروه های CH_2 ، 1704 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی $\text{C}=\text{O}$ گروه کربوکسیل اسید چرب، 1467 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی $\text{C}-\text{H}$ گروه های CH_2 و گروه CH_3 اسید چرب، 1261 cm^{-1} ارتعاش کششی $\text{C}-\text{O}$ ، 936 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی $\text{O}-\text{H}$ اسید کربوکسیلیک و پیک 687 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی $\text{C}-\text{H}$ است [Larkin, 2011].

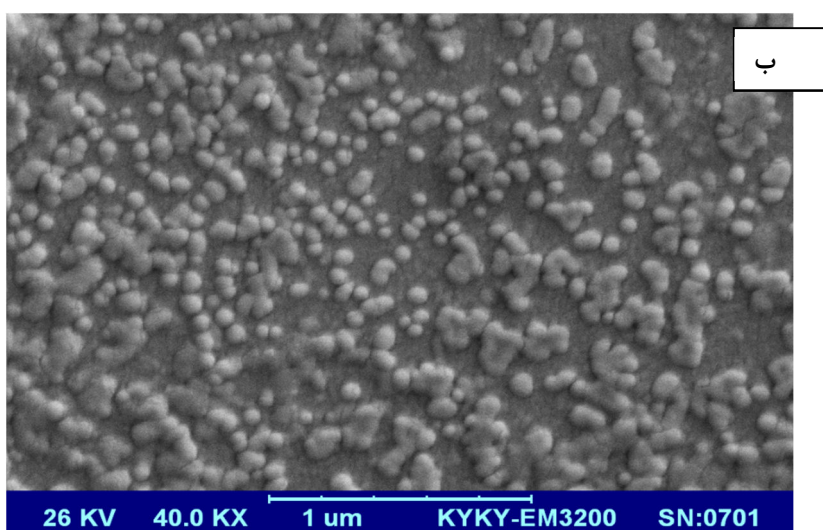
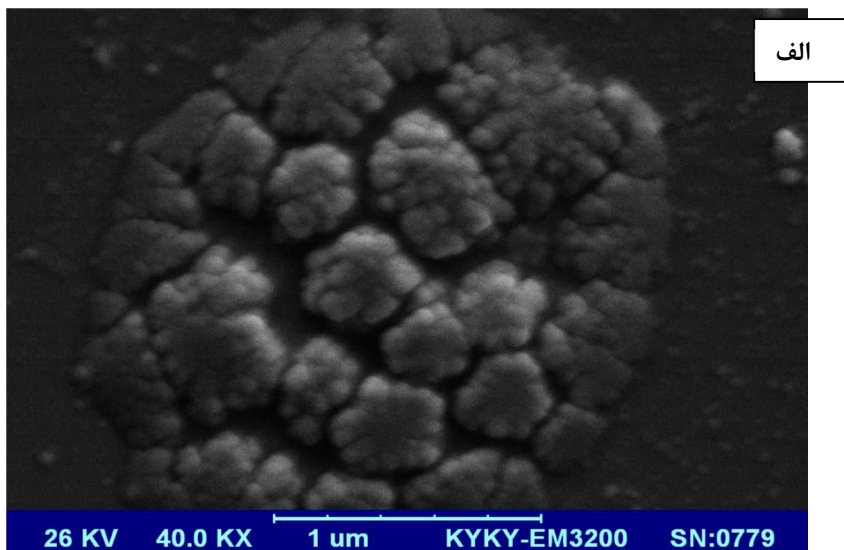
در شکل های (۴-۱-ج، د، و) طیف های مربوط به نانوزل های کیتوزان-اسید استتاریک در نسبت های مختلف نشان داده شده است. در تمام طیف های مربوط به نانوزل در ناحیه 1630 cm^{-1} یک پیک مشاهده می شود که می تواند به ارتعاشات گروه های آمید مربوط به آمین های دی استیله نشده [Rao et al, 2012] و همچنین پیوندهای آمیدی جدید حاصل از واکنش بین کیتوزان و اسید استتاریک مربوط باشد. همچنین در طیف های مربوط به نانوزل یک پیک در ناحیه 1530 cm^{-1} مشاهده می شود که مربوط به ارتعاش NH گروه آمید نوع دوم است [Wang et al, 2003]. که این می تواند در اثر واکنش بین کیتوزان و اسید استتاریک باشد. همچنین در ناحیه 1384 cm^{-1} در طیف مربوط به تمام نانوزل ها یک پیک قوی مشاهده می شود که این پیک در طیف کیتوزان (1383) یک پیک ضعیف می باشد که این افزایش شدت می تواند در اثر ترکیب کیتوزان با اسید استتاریک ایجاد شده باشد. این افزایش شدت نشان می دهد که مجموعه ارتعاشات خمشی گروه های $\text{C}-\text{H}$ و CH_2 و $\text{C}-\text{OH}$ خانواده هیدروکربنی (قند) دچار تغییراتی شده اند که احتمالاً باعث ایجاد این پیک قوی و تیز شده است. علاوه بر این با مقایسه طیف های نانوزل با یکدیگر می توان مشاهده کرد که در

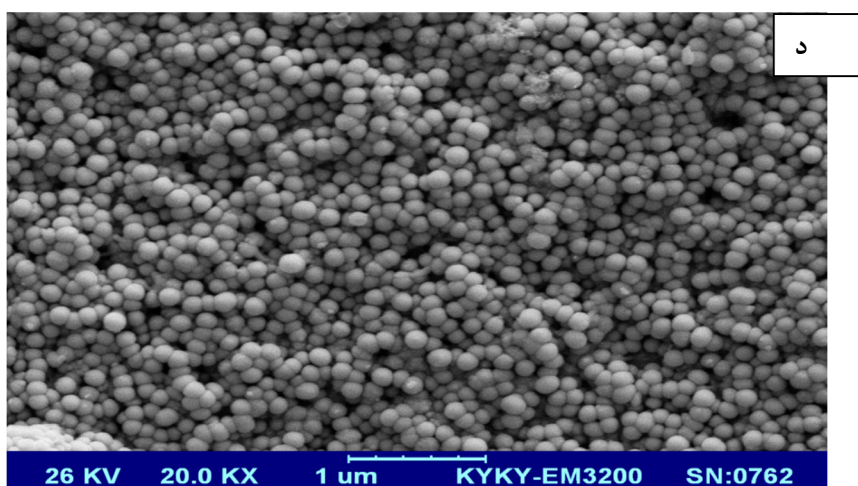
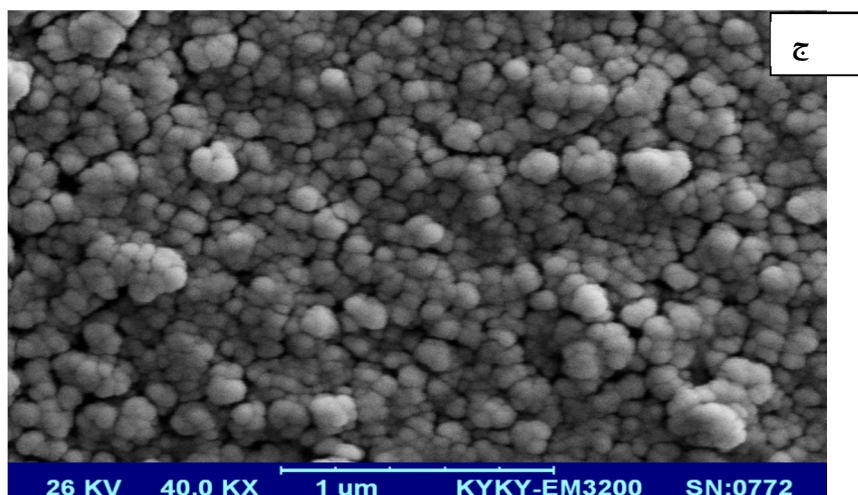
مقایسه با یک استاندارد درونی، با افزایش نسبت اسید استتاریک به کیتوزان از ۲۵ به ۵۰ درصد شدت پیک در ناحیه 1631 cm^{-1} که مربوط به ارتعاشات کششی گروه $\text{C}=\text{O}$ آمید است افزایش یافته است که این می تواند ناشی از افزایش گروه های اسید کربوکسیلیک بر روی کیتوزان باشد. اما با افزایش نسبت اسید استتاریک به کیتوزان از ۵۰ به ۷۵ درصد تغییر محسوسی در شدت پیک 1631 cm^{-1} مشاهده نشد که این نشان می دهد که نسبت اسید استتاریک به کیتوزان بیشتر از ۵۰ درصد در افزایش پیوند آمیدی مؤثر نبوده است. در تمام نمونه های نانوذله یک پیک در ناحیه 1706 cm^{-1} مشاهده شد که با افزایش نسبت اسید استتاریک به کیتوزان شدت این پیک نیز افزایش یافته است. این پیک در طیف مربوط به اسید استتاریک نیز مشاهده می شود که مربوط به ارتعاش کششی $\text{C}=\text{O}$ گروه اسید کربوکسیلیک است. بنابراین این طور می توان استنباط کرد که مقداری از اتصال اسید استتاریک به کیتوزان از طریق برهمکنش های الکترواستاتیک بین گروه های اسید کربوکسیلیک و گروه های آمین کیتوزان می باشد که با افزایش نسبت اسید استتاریک به کیتوزان سهم این نوع اتصال بیشتر شده است.

۴-۲-۲-آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

در شکل (۲-۴) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به نانوذله های کیتوزان (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد اسید استتاریک) نشان داده شده است. با توجه به تصاویر می توان بیان کرد که در غلظت ۰ درصد اسید استتاریک، یعنی در حالی که کیتوزان بدون اصلاح برای تهیه نانوذرات استفاده شد، می توان مشاهده کرد که نانوذرات به خوبی نتوانسته شکل بگیرد اما با اضافه شدن اسید استتاریک به زنجیره های کیتوزان تشکیل ذرات بهتر شده است. با توجه به شکل (۲-۴) می توان بیان کرد که با افزایش درصد اسید استتاریک به کیتوزان شکل نانوذرات یکنواخت تر و کروی تر شده است. در تمامی غلظت ها ذرات در حد ۱۰۰ نانومتر مشاهده می شود. همچنین با توجه به شکل (۲-۴) می توان گفت که با افزایش درصد اسید استتاریک اگرچه ذرات یکنواخت تر شده اند. تشکیل بهتر نانوذرات در درصدهای بالاتر اسید استتاریک را می توان به افزایش خاصیت آبگریزی زنجیره های کیتوزان مربوط

دانست که این افزایش خاصیت آبگریزی احتمالاً توانسته به تجمع بهتر رشته های کیتوزان و تشکیل نانوذرات کمک کند.





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. عکس ها ساختارهای کروی نانوذرات با اندازه ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر را نشان دادند [Khalili et al, 2015].

ژاوه و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی مورفولوژی نانوذله کیتوزان-اسید کافئیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی آنالیز کردند. این آنالیز بخش های کروی و یک شکل ترکیب نانوذله را

مشخص کرد. همچنین تصاویر میکروسکوپی به طور واضح نشان دادند که نانوذرات به خوبی شکل گرفته اند [Zhavah et al, 2015].

بیکی و همکاران در سال ۲۰۱۴، به بررسی مورفولوژی نانوذل کیتوزان-اسید سینامیک با میکروسکوپ الکترونی روبشی پرداختند. تصاویر حاصل نشان دادند که نانوذل ها با ساختار کروی و یکنواختی تشکیل شدند و اندازه ذرات نانوذل های اندازه گیری شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود [Beyki et al, 2014].

مصباح نمیمی^{۱۱۸} و همکاران در سال ۲۰۱۵، مورفولوژی ساختار نانوذل کیتوزان-اسید میریستیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار دادند. عکس های حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی تشکیل ذرات نانوذل کروی شکل با قطر کمتر از ۵۰ نانومتر را تأیید کردند [Mesbah Namini et al, 2015].

ناظم^{۱۱۹} و همکاران در سال ۲۰۱۶، اندازه ذرات دیسپرسیون نانوذل کیتوزان-اسید میریستیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی به دست آوردند و نشان دادند که اندازه ذرات مونودیسپرسیون نانوذل که در محلول آبی پخش شده بودند، شکل کروی داشتند [Nazem et al, 2016].

۳-۴- بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ

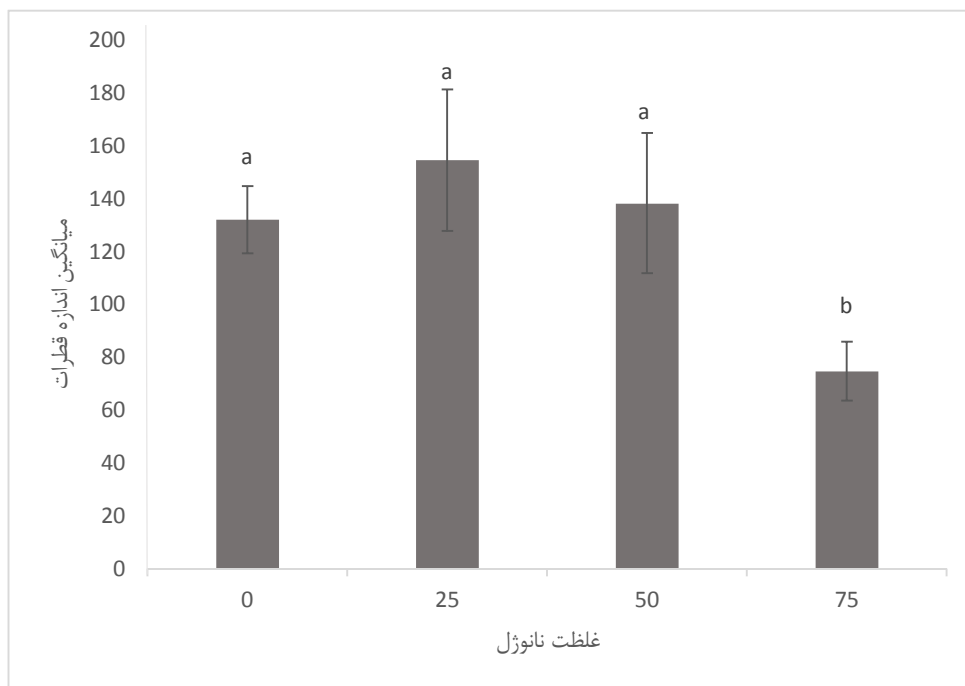
۳-۴-۱- اثر نانوذل با درصدهای مختلف اسید استتاریک

در این پژوهش از نانوذل 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 بر 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 شکل (۳-۴) و (۴-۴) مشخص است، با افزایش

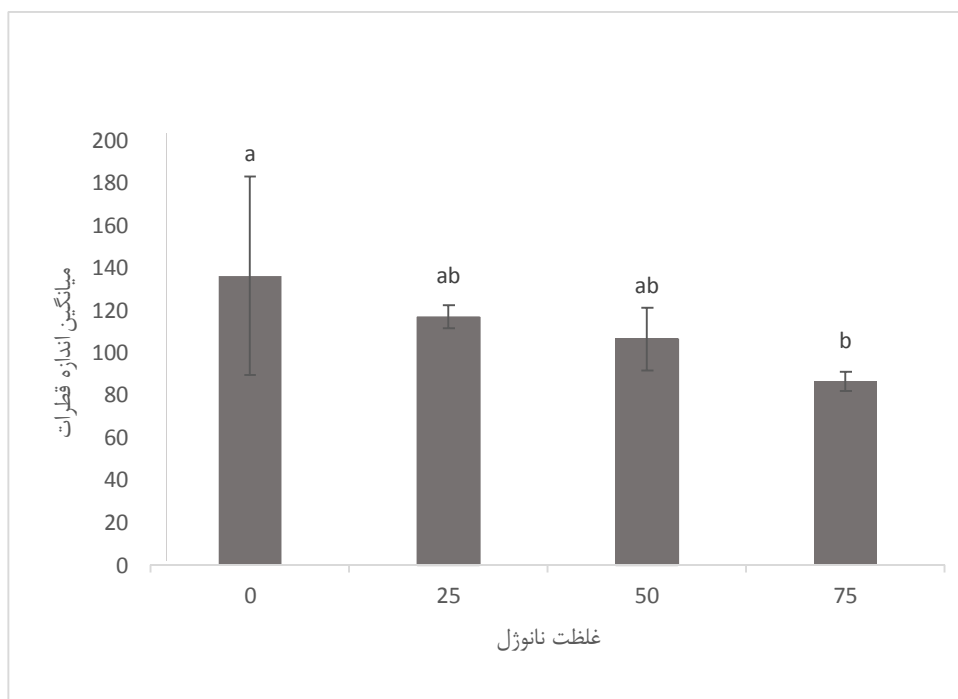
¹¹⁸ Mesbah Namini

¹¹⁹ Nazem

نسبت اسید استتاریک به کیتوزان، میانگین اندازه قطرات پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری در دمای اتاق به طور معنی داری کاهش یافته است. پس از ۳ ساعت نگهداری، قطرات امولسیون در غلظت ۷۵ درصد کمترین اندازه و در غلظت ۲۵ درصد بیشترین اندازه را نشان دادند. البته اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین غلظت های (۰، ۲۵ و ۵۰ درصد) اسید استتاریک مشاهده نشد.



شکل (۳-۴): میانگین اندازه قطرات در غلظت های مختلف نانوذل پس از ۳ ساعت



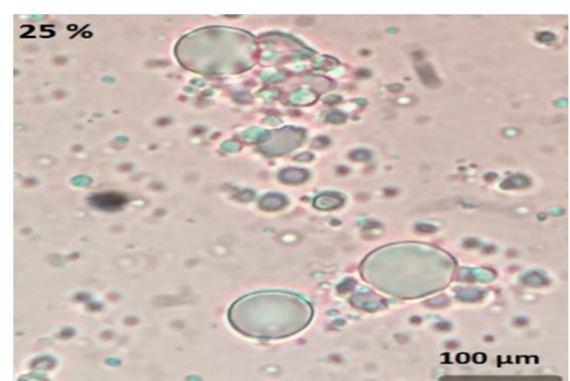
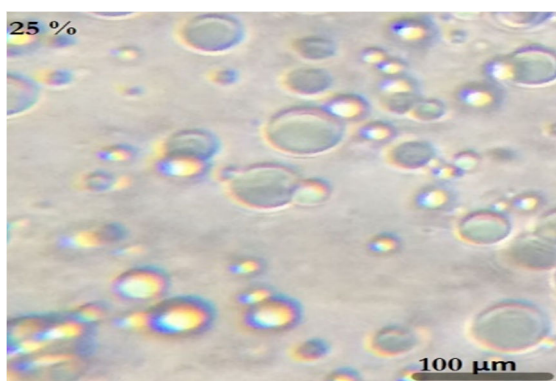
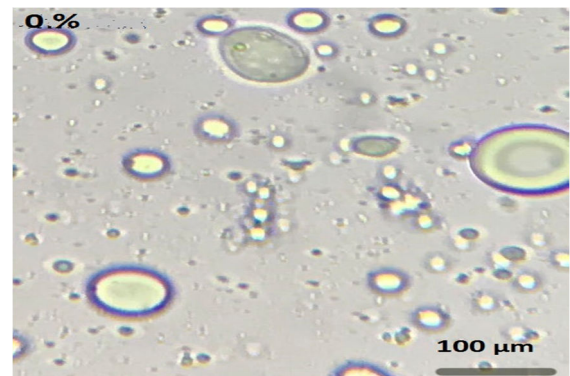
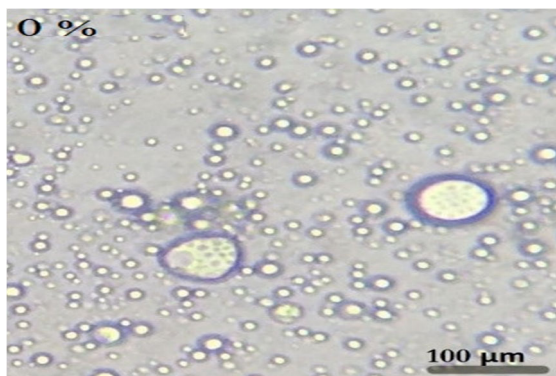
شکل (۴-۴): میانگین اندازه قطرات در غلظت های مختلف نانوزل پس از ۷ روز نگهداری

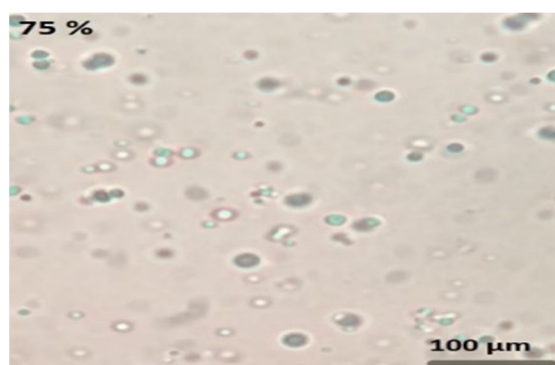
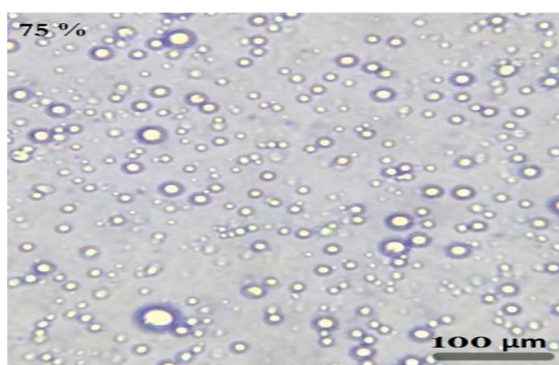
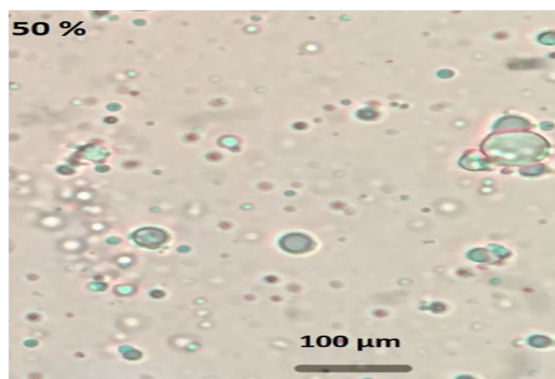
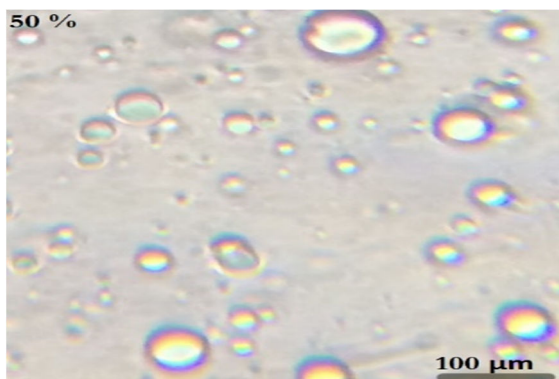
همچنین میانگین اندازه قطرات در روز هفتم نشان داد که امولسیون تهیه شده با کیتوزان اصلاح نشده (فاقد اسید استئاریک) بیشترین میانگین اندازه قطرات و امولسیون تهیه شده با کیتوزان اصلاح شده (حاوی ۷۵ درصد اسید استئاریک) کمترین میانگین اندازه قطرات را داشتند که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین داده ها در سطح ۵ درصد وجود داشت. احتمالاً کاهش در میانگین اندازه قطرات با افزایش نسبت اسید استئاریک به کیتوزان از (۲۵ تا ۷۵) درصد را می توان به افزایش نسبت اسید استئاریک در ساختار کیتوزان و در نتیجه افزایش گروه های غیرقطبی نسبت داد [Khalili et al, 2015]. این افزایش گروه های غیرقطبی باعث کاهش دافعه الکترواستاتیک، فروپاشی و انبوهش زنجیره های پلیمر در سطح مشترک آب و روغن می شود [Mwangi et al, 2016]. همچنین برهمکنش های استریک احتمالاً به علت فشردن شدن لایه ی بین سطحی با افزایش نسبت اسید استئاریک به کیتوزان باعث ایجاد لایه الاستیسیته بین قطرات امولسیون شده و در نتیجه پایداری بیشتری ایجاد می کند [McClements, 2015]. همچنین تصاویر میکروسکوپ نوری پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری امولسیون ها در شکل (۴-۵) نشان داده شده است. بزرگنمایی تصاویر برای نانوزل

کیتوزان-اسید استتاریک (۲۵، ۵۰ و ۷۵) درصد با عدسی ۱۰۰ و کیتوزان اصلاح نشده (۰ درصد اسید استتاریک) با عدسی ۴۰ می باشد. همان طور که مشخص است پس از ۳ ساعت در امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید استتاریک ۲۵ و ۵۰ درصد امولسیونی با قطرات بزرگتر و در امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید استتاریک ۷۵ درصد امولسیونی با قطرات کوچکتر ایجاد شده است. در روز هفتم نیز در امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید استتاریک ۰ درصد قطرات بزرگتر و در امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان- اسید استتاریک ۷۵ درصد امولسیونی با قطرات کوچکتر ایجاد شده است.

۳ ساعت پس از آماده سازی

روز هفتم

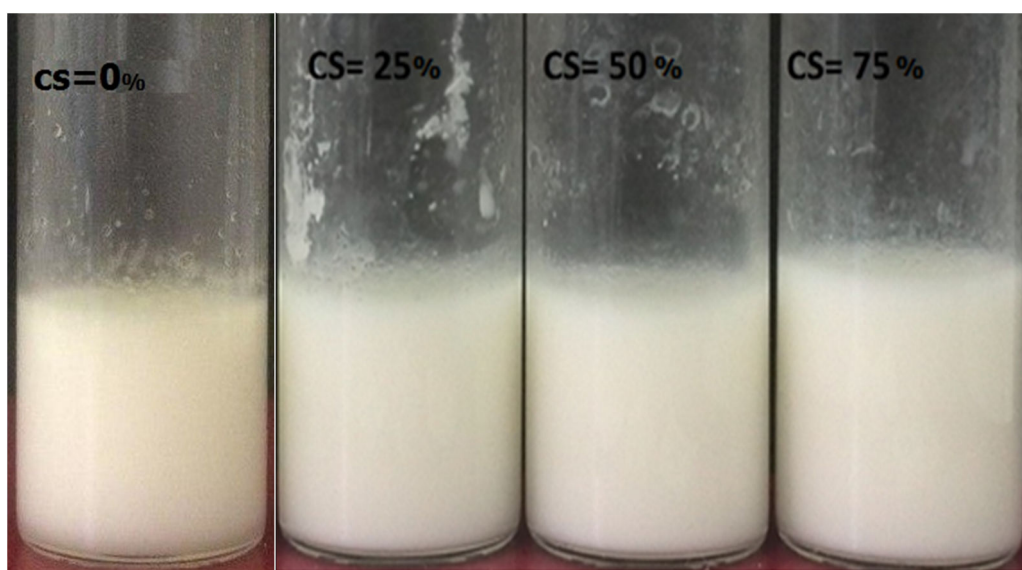




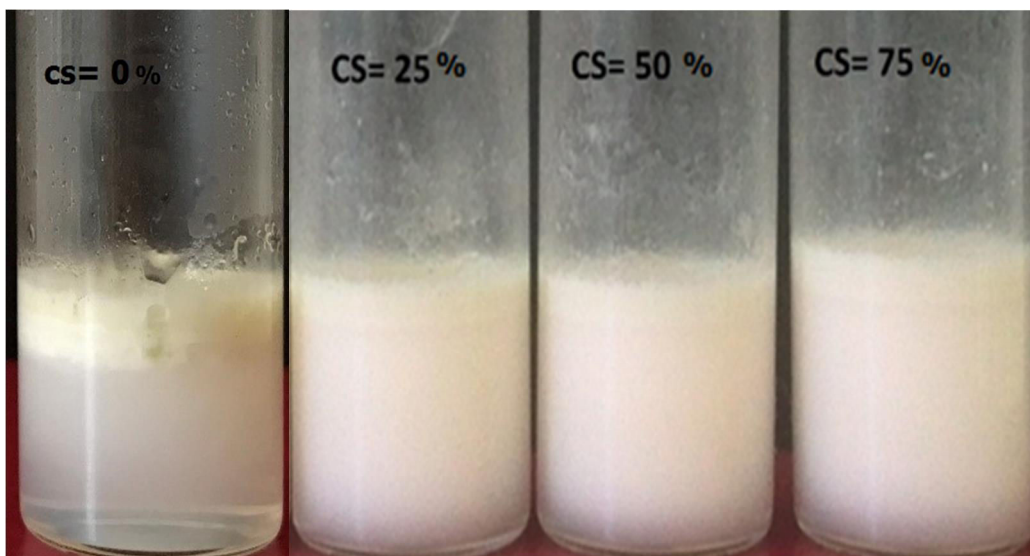
شکل (۴-۵): تصاویر میکروسکوپ نوری امولسیون های پیکرینگ با کیتوزان-اسید استئاریک (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵) درصد در ۳ ساعت و ۷ روز پس از آماده سازی (غلظت ۰ درصد با عدسی ۴۰ و غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد با عدسی ۱۰۰)

در ادامه این تحقیق پایداری امولسیون های پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب پس از ۳ ساعت و ۷ روز پس از نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. همان طور که در شکل (۴-۶) و (۴-۷) مشخص است پس از ۳ ساعت در هیچکدام از نمونه ها خامه ای شدن مشاهده نشد. اما در نمونه حاوی ۰ درصد اسید استئاریک پس از ۷ روز نگهداری لایه خامه ای تشکیل شد. همان طور که در جدول (۴-۲) مشخص است، پس از ۳ ساعت در همه نمونه ها درصد خامه ای شدن صفر بود. در روز هفتم در غلظت ۷۵ درصد نیز خامه ای شدن مشاهده نشد. در غلظت های ۲۵ درصد و ۵۰ درصد این میزان ۱۳/۳۳ درصد بود. همچنین بین نمونه ها در میزان خامه ای شدن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود داشت. همان طور که در شکل ظاهری نمونه ها مشخص است در این سه نمونه (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد)

امولسیون ها دو فاز نشده و کاملاً کدر و شیری رنگ می باشند. در غلظت ۰ درصد اسید استتاریک بیشترین میزان خامه ای شدن (۲۳/۳۳ درصد) مشاهده شد و فاز سرمی شفافی تشکیل شد، که احتمالاً همان طور که در شکل (۴-۴) مشخص است به علت خارج شدن بیشتر قطرات روغن از داخل امولسیون و بزرگتر شدن میانگین اندازه قطرات در روز هفتم می باشد. با افزایش اندازه قطرات امولسیون سرعت بالا آمدن قطرات نیز افزایش می یابد [Mwangi et al, 2016]. به طور کلی میزان خامه ای شدن در امولسیون پیکرینگ پایدار شده با کیتوزان اصلاح نشده (۰ درصد اسید استتاریک) از امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با کیتوزان اصلاح شده با اسید استتاریک در غلظت های مختلف (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد) بیشتر بود.



شکل (۴-۶): ظاهر نمونه های امولسیون با درصدهای مختلف اسید استتاریک پس از ۳ ساعت



شکل (۴-۷): ظاهر نمونه های امولسیون با درصدهای مختلف اسید استتاریک در روز هفتم

جدول (۴-۲): درصد خامه ای شدن امولسیون ها با درصدهای مختلف اسید استتاریک

نمونه	پس از ۳ ساعت	پس از ۷ روز
CS 0%	.	$23/33 \pm 4/7^a$
CS 25%	.	$13/33 \pm .^b$
CS 50%	.	$13/33 \pm .^b$
CS 75%	.	$. \pm .^c$

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

این نتایج نشان داد که کوچکترین اندازه قطرات و بیشترین پایداری در نمونه حاوی نانوذله کیتوزان با ۷۵ درصد اسید استتاریک و کمترین پایداری در نمونه حاوی کیتوزان با ۰ درصد اسید استتاریک بوده است. کیتوزان گروه های آبدوست (گروه های آمین) زیادی دارد، اما محدودیت گروه های آبگریز (گروه های آمین استیل) و همچنین توزیع تصادفی گروه های غیرقطبی، باعث کاهش تراکم آن ها در سطح مشترک آب و روغن می شود [Rodriguez et al, 2002]. امولسیون پیکرینگ پایدار شده با کیتوزان اصلاح نشده که فاقد اسید استتاریک می باشد، اندازه قطرات بزرگتری داشت که این احتمالاً

به علت فعالیت سطحی کم کیتوزان اصلاح نشده می باشد. السابی^{۱۲۰} 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 (NH_3^+) و با گروه های (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 (OH یا NH_2) کیتوزان برهمکنش ایجاد کنند، اصلاح کرد [Elsabee et al, 2009].

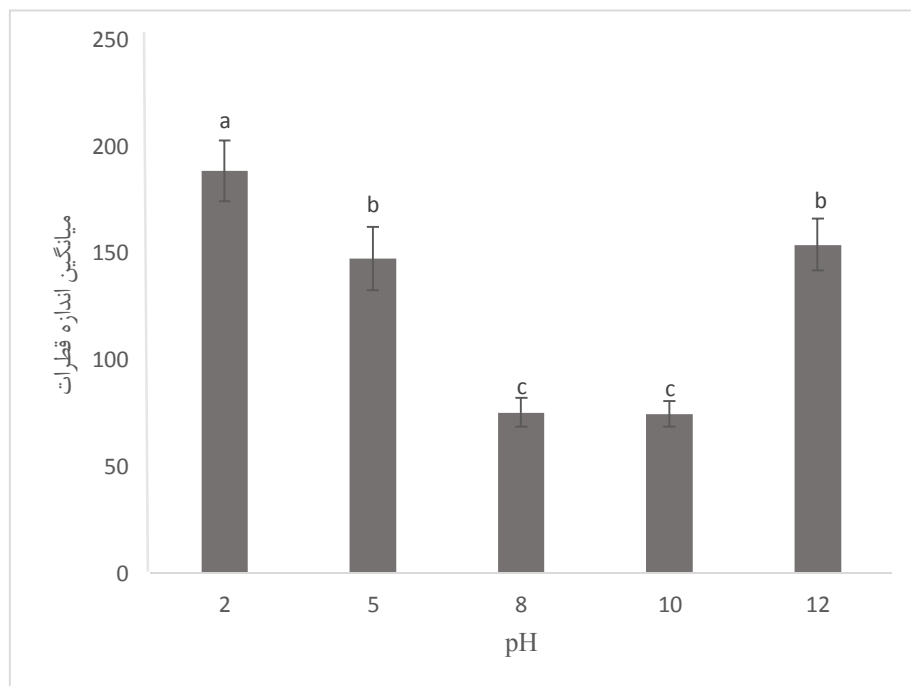
ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵، از کمپلکس کیتوزان و پلی استایرن برای پایداری امولسیون های پیکرینگ استفاده کردند. آن ها یافتند که جذب کمپلکس کیتوزان و پلی استایرن در سطح مشترک بین آب و روغن در مقایسه با جذب ذرات کیتوزان و پلی استایرن در سطح مشترک بهتر بود. که این می تواند به دلیل فلوکوله شدن کمپلکس کیتوزان 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, 2015].

۴-۳-۲- تأثیر pH در تشکیل امولسیون پیکرینگ

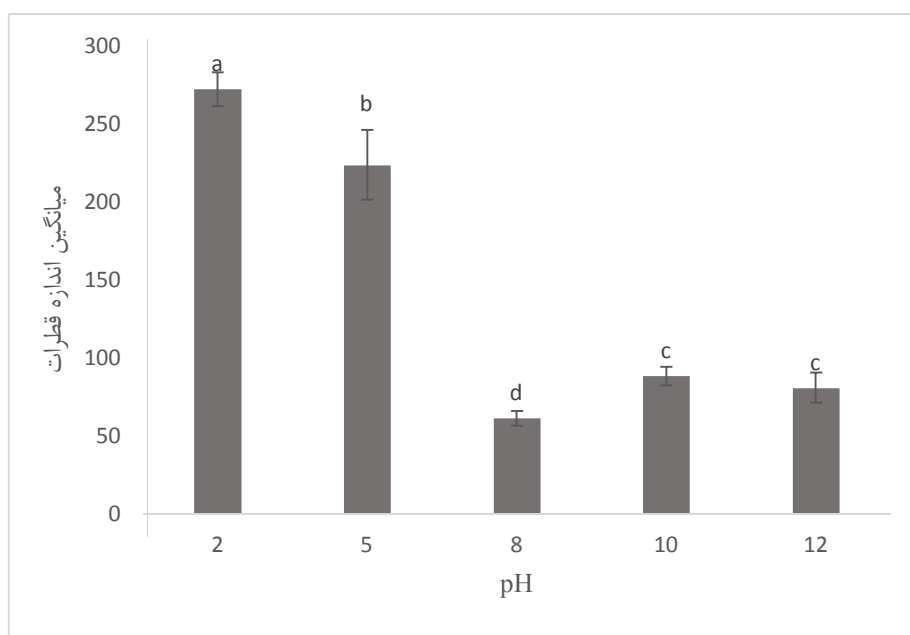
در این بخش pH فاز پیوسته امولسیون از ۲ تا ۱۲ متغیر بود. مقدار اندیس خامه ای شدن و میانگین اندازه قطرات ۳ ساعت پس از آماده سازی و روز هفتم اندازه گیری شد. همان طور که در شکل های (۴-۸) و (۴-۹) مشخص است، می توان نتیجه گرفت که ظرفیت امولسیون کنندگی نانوزل کیتوزان به pH بستگی دارد. میانگین اندازه قطرات به طور معنی داری با افزایش pH از ۲ تا ۸ کاهش یافت. پس از ۳ ساعت میانگین اندازه قطرات در $\text{pH}=2$ دارای بیشترین و در ۸ و $\text{pH}=10$ دارای کمترین میزان بود. همچنین میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ پس از ۷ روز نگهداری در $\text{pH}=8$

¹²⁰ Elsabee

کمترین و در pH=۲ بیشترین میزان بود. نتایج آماری نیز نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین میانگین اندازه قطرات در pHهای مختلف وجود داشت.



شکل (۴-۸): میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ در pHهای مختلف پس از ۳ ساعت (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر)

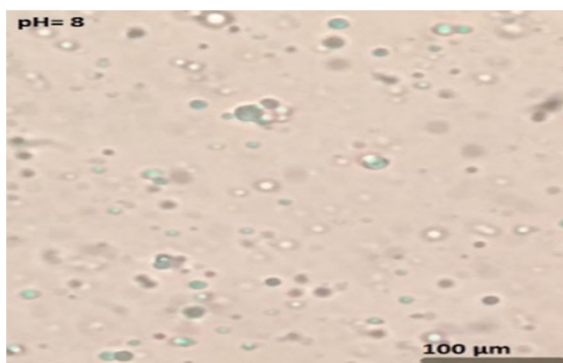
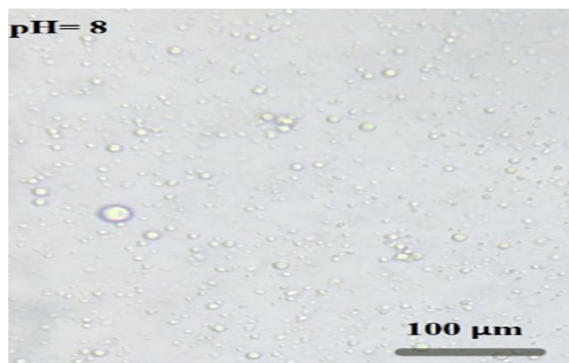
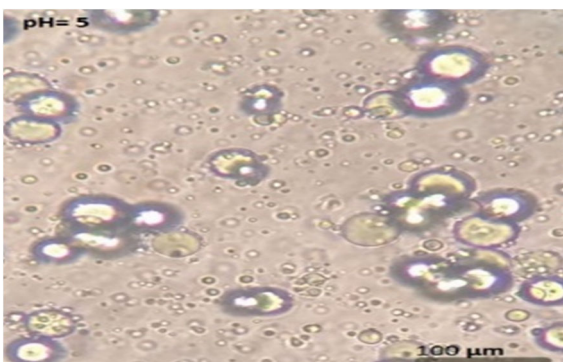
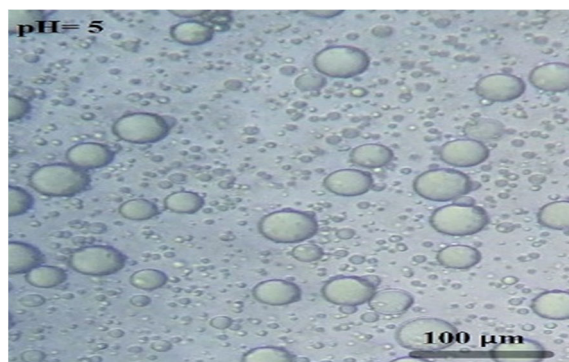
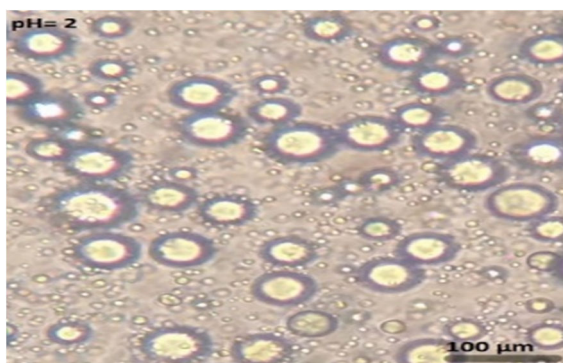
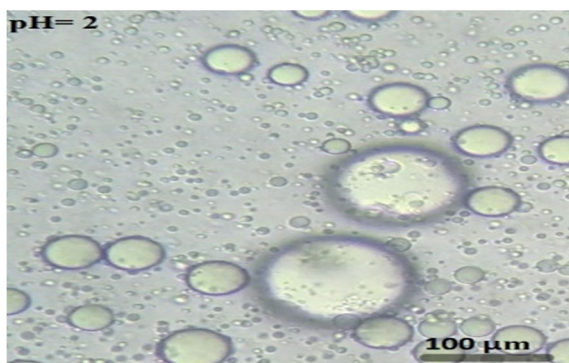


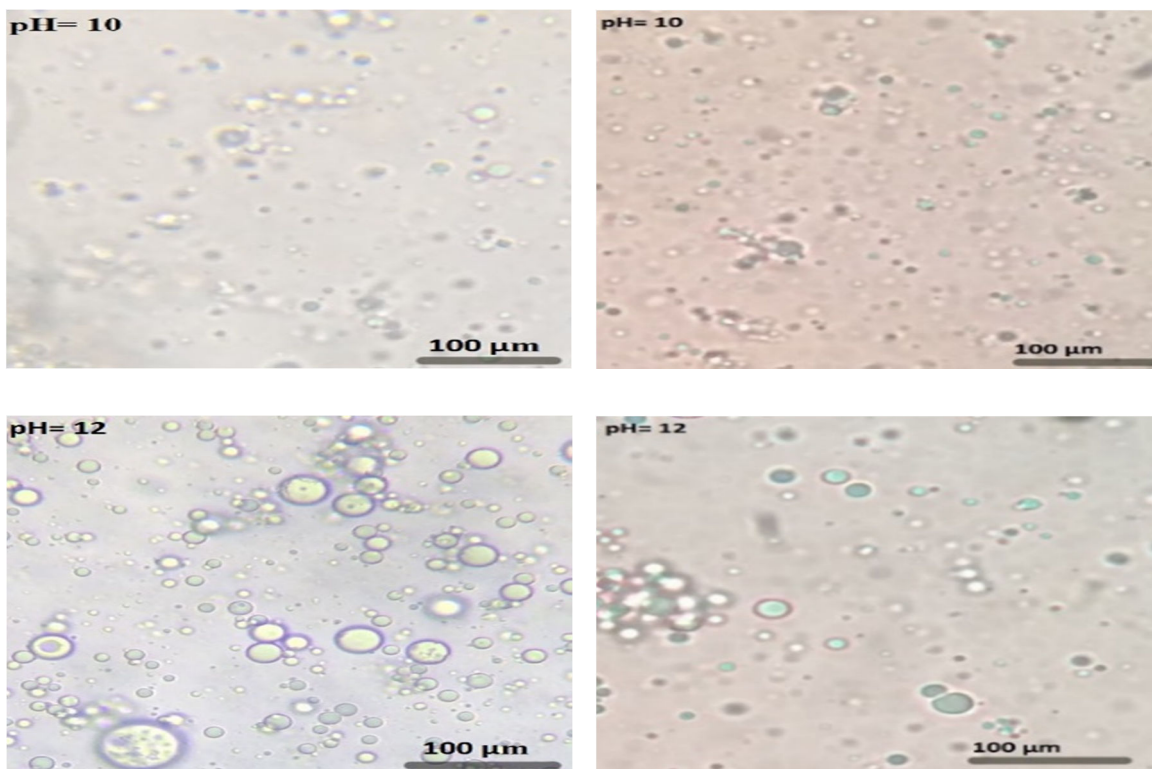
شکل (۴-۹): میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ در pHهای مختلف پس از ۷ روز نگهداری (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر)

تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری در شکل (۴-۱۰) نشان داده شد. بزرگنمایی عکس‌ها در pHهای ۲ و ۵ با عدسی ۴۰ و در pHهای ۸، ۱۰ و ۱۲ با عدسی ۱۰۰ می‌باشد. همان‌طور که مشخص است، پس از ۳ ساعت، در ۲ و ۵ pH قطراتی بزرگتر و در ۸ pH امولسیونی با قطرات کوچکتر تشکیل شده است. در روز هفتم نیز در ۲ و ۵ pH قطرات بزرگتر و در ۸ و ۱۰ pH قطرات کوچکتر تشکیل شدند.

۳ ساعت پس از آماده سازی

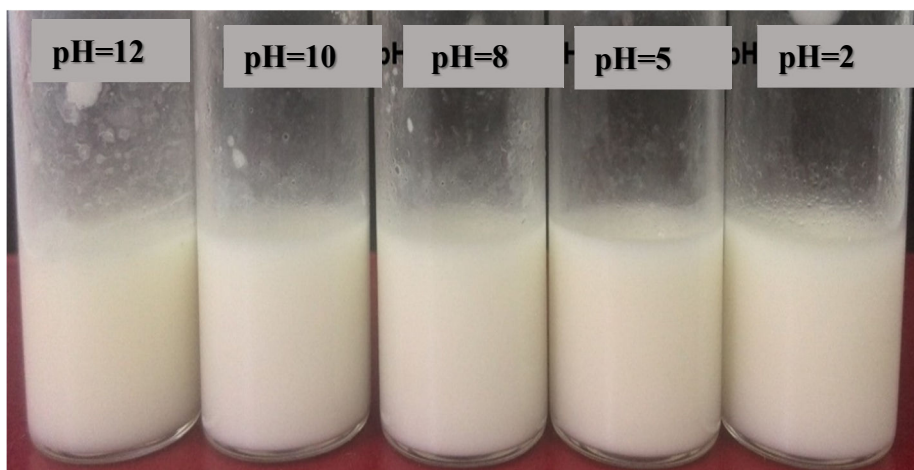
روز هفتم



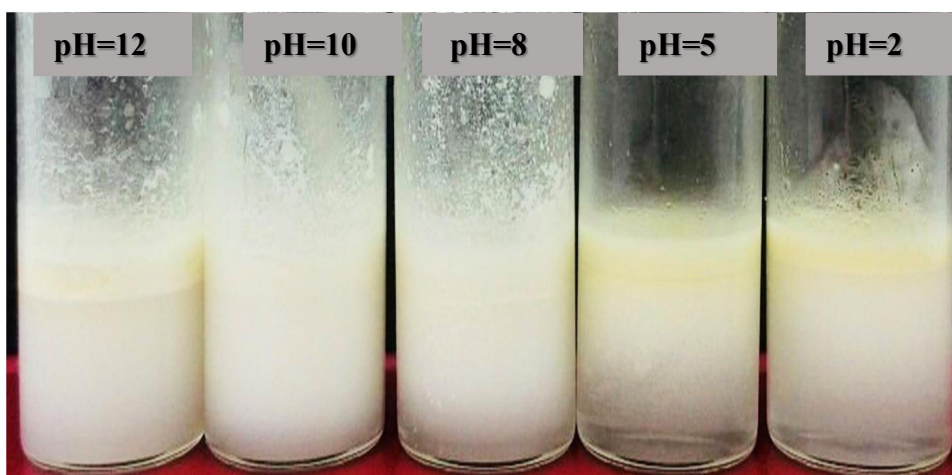


شکل (۴-۱۰): عکس های میکروسکوپ نوری از pH های مختلف پس از ۳ ساعت و ۷ روز پس از آماده سازی (pH های ۲ و ۵، با عدسی ۴۰ و pH های ۸، ۱۰ و ۱۲ با عدسی ۱۰۰)

پایداری خامه ای شدن امولسیون ها بر پایه نانوذله کیتوزان با محاسبه اندیس خامه ای شدن بعد از اندازه گیری ارتفاع لایه خامه ای و ارتفاع کل مورد مطالعه قرار گرفت. شکل ظاهری امولسیون های پیکرینگ روغن در آب با نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک ۷۵ درصد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن سیاهدانه، در pH های مختلف در روز اول و روز هفتم در شکل (۴-۱۱) و (۴-۱۲) نشان داده شد.



شکل (۴-۱۱): ظاهر نمونه ها با pH های مختلف پس از ۳ ساعت (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن)



شکل (۴-۱۲): ظاهر نمونه ها با pH های مختلف در روز هفتم (نانوژل ۷۵ درصد اسید استتاریک و مقدار روغن ۱۰۰ میکرولیتر)

درصد خامه ای شدن امولسیون ها در جدول (۳-۴) نشان داده شده است.

جدول (۳-۴) درصد خامه ای شدن امولسیون ها با pHهای مختلف

پس از ۷ روز	پس از ۳ ساعت	pH نمونه
$27/7 \pm 1/47^a$.	۲
$27/61 \pm 1/35^a$.	۵
$. \pm .^b$.	۸
$. \pm .^b$.	۱۰
$23/33 \pm 4/7^a$.	۱۲

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

پس از ۳ ساعت میزان خامه ای شدن همه نمونه ها صفر بود. اما پس از ۷ روز نگهداری در اکثر امولسیون ها خامه ای شدن رخ داد که در ۸ و ۱۰ pH نیز در این روز خامه ای شدن مشاهده نشد. در $pH=2$ بیشترین درصد خامه ای شدن (۲۷/۷ درصد) وجود داشت. به طور کلی با افزایش pH تا ۱۰، کاهش در اندیس خامه ای شدن مشاهده شد. همچنین بین نمونه ها در میزان خامه ای شدن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود داشت. احتمالاً افزایش درصد خامه ای شدن در $pH=2$ و ۵ به علت تشکیل قطرات بزرگ امولسیون می باشد که باعث ایجاد دانسیته زیاد بین فاز آبی و قطرات شده و بدین ترتیب تمایل آن ها به سمت بالا افزایش یافته است [Mwangi et al, 2016]. به طور کلی امولسیون های پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب در pHهای کمی قلیایی پایداری بیشتری نسبت به محیط های خیلی قلیایی و اسیدی داشتند، این نتیجه به خنثی شدن بارهای مثبت و رسوب کیتوزان در لایه ی بین سطحی در این محدوده pH و حلالیت آن در محیط های قلیایی و اسیدی شدید نسبت داده شد [Liu et al, 2012].

کیتوزان پلیمری است که دارای گروه های آمین و هیدروکسیل آزاد در طول اسکلت خود می باشد و مطابق با این ساختار کیتوزان قابلیت واکنش پذیری به تغییرات pH را دارد. در pH های پایین گروه های آمین کیتوزان پروتون دار و دارای بار مثبت هستند که این باعث می شود کیتوزان در محلول های اسیدی محلول باشد اما در pH های بالا (نزدیک ۶/۵ که pka کیتوزان می باشد) گروه های آمین پروتون زدایی شده و بار پلیمر کاهش پیدا می کند که این موجب نامحلول شدن آن می شود [Elsabee et al, 2009]. اختلاف در ویژگی امولسیون کنندگی کیتوزان در کارهای مختلف ممکن است به علت تفاوت در ساختار روغن و نوع کیتوزان استفاده شده در مطالعات مختلف باشد. تراکم بار بر روی زنجیره های کیتوزان تحت تأثیر درجه دی استیلیشن (DDA)، وزن مولکولی و توزیع گروه های آمین و استیل در اسکلت پلیمر می باشد [Kumar et al, 2004]، که این بر روی ترکیب و نیروهای بین مولکولی مانند برهمکنش های الکترواستاتیک، اثر هیدروفوبیکی و هیدروژن باند شده تأثیر می گذارد [Chenite et al, 2001].

لیو و همکاران در سال ۲۰۱۲، گزارش کردند که امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با ذرات کیتوزان بعد از عمل هموژنیزاسیون تشکیل شدند. اگرچه با افزودن HCl و کاهش مقدار pH فاز آبی در حضور کیتوزان دی امولسیفیکیشن رخ داد. همچنین گزارش کردند که کیتوزان پلیمری است که به علت داشتن گروه های آمین به pH واکنش نشان می دهد. آن ها اثر سه pH (۴/۱، ۶/۵ و ۱۱/۳) در تشکیل امولسیون را بررسی کردند. نتایج نشان داد که کیتوزان در محلول اسید استیک در pH تقریباً ۴/۱ محلول است. در pH پایین (کمتر از ۶) گروه های آمین کیتوزان پروتون دار شده و پراکنش بیش از ۹۵ درصد بود و محلول شفاف ایجاد شد. در pH بالاتر گروه های آمین پروتون زدایی شده و باعث تجمع زنجیره های کیتوزان و در نتیجه تشکیل نانوذرات ژل شد. پراکنش در pH = ۶/۵، ۷۳ درصد بود و محلول حالت کدر داشت. در pH بالاتر از ۹ انبوهش های نامحلول تشکیل شد و پراکنش در pH = ۱۱/۳، ۴۳ درصد بود [Liu et al, 2012].

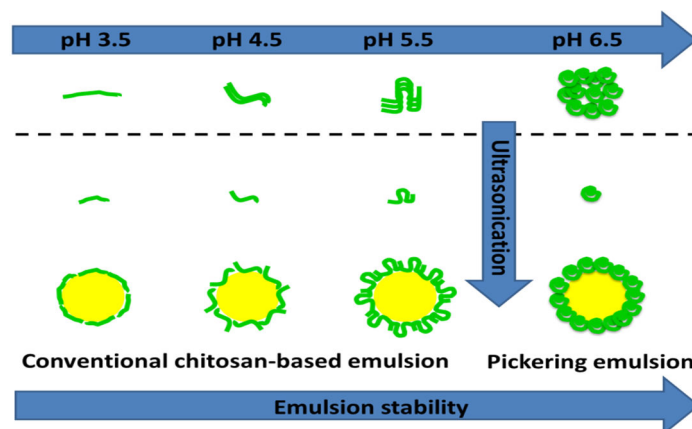
وی¹²¹ و همکاران در سال ۲۰۱۲، از نانوذرات کلوئیدی کیتوزان برای پایداری امولسیون پیکرینگ استفاده کردند، آن‌ها بیان کردند که کیتوزان به علت داشتن گروه‌های آمین به pH واکنش نشان می‌دهد. پراکنش محلول آبی کیتوزان با افزایش pH، کاهش یافت. در pH پایین (کمتر از ۶)، گروه‌های آمین کیتوزان پروتون‌دار شدند و محلول شفاف‌ی ایجاد شد. امولسیون‌های پیکرینگ پایدار شده با نانوذرات کیتوزان در pH حدود ۶/۶ به مدت دو ماه پایدار بودند و در pH حدود ۴ با افزودن HCl دی‌امولسیفیکیشن سریع رخ داد. به طور کلی کیتوزان با بار مثبت در pH‌های قلیایی خنثی شده و می‌تواند سطح قطرات روغن را بهتر بپوشاند [Wei et al, 2012].

وانگ و هوژی¹²² در سال ۲۰۱۶، ظرفیت امولسیون‌کنندگی کیتوزان و اثر pH‌های (۳/۵، ۴/۵، ۵/۵ و ۶/۵) بر روی پایداری امولسیون‌ها بررسی کردند. همان‌طور که در شکل (۴-۱۳) مشخص است، گزارش کردند که در pH=۶/۵ ذرات کیتوزان تجمع یافته نقش امولسیفایر پیکرینگ را داشتند و باعث تشکیل امولسیون پیکرینگ می‌شوند. همچنین بیان کردند که با افزایش pH از ۳/۵ به ۶/۵ میانگین اندازه قطرات امولسیون به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در pH=۳/۵ یک امولسیون چندگانه آب در روغن در آب با ذرات بزرگ (۱۴ میکرومتر) تشکیل شد. افزایش pH از ۴/۵ تا ۵/۵ میانگین اندازه قطرات را از ۵/۲۵ و ۲/۱ میکرومتر به ترتیب به ۲/۲۱ و ۱/۲۸ میکرومتر کاهش داد. در pH=۶/۵ میانگین اندازه قطرات ۱/۷۶ بود، اگرچه قطرات فلوکوله شده مشاهده شد. بنابراین بیشترین پایداری امولسیون بر پایه کیتوزان در pH=۶/۵، به علت پایدار شدن با نانوذرات کیتوزان بود که همچنین باعث پایداری آن در برابر کوالسنس و خامه‌ای شدن شد. همچنین پایداری طولانی مدت امولسیون بر پایه کیتوزان در این pH‌ها را با اندازه‌گیری اندیس خامه‌ای شدن در مدت ۵ ماه نگهداری بررسی کردند و نشان دادند که در امولسیون بدون کیتوزان پس از آماده‌سازی فاز روغنی و فاز آبی از هم جدا شدند. اما در حضور کیتوزان امولسیون پایداری تشکیل شد. همچنین در pH‌های کمتر به طور مثال ۳/۵ و ۴/۵ مقدار اندیس خامه‌ای شدن به طور ناگهانی در طول ۴۰ روز نگهداری

¹²¹ Wei

¹²² Wang and Heuzey

به ترتیب ۷۵ درصد و ۶۷ درصد افزایش یافت. در $\text{pH}=5/5$ در طول ۴۰ روز تغییری نکرد اما بعد از ۳ ماه به طور تصاعدی تا ۶۰ درصد افزایش یافت. در $\text{pH}=6/5$ مقدار آن در طول ۸۰ روز صفر بود و در طول ۵ ماه ۱۱ درصد افزایش یافت. افزایش اندیس خامه ای شدن از $\text{pH} 3/5$ تا $5/5$ به علت تغییر شکل مولکول ها از یک ساختار سخت و باز به یک ساختار فشرده و انعطاف پذیر است. در $\text{pH}=5/5$ نواحی آبگریز به راحتی در فاز روغنی نفوذ کرده، بنابراین نواحی آبدوست در فاز آبی قرار می گیرند و پایداری استریک را ایجاد می کنند. همچنین پایداری بلند مدت امولسیون پیکرینگ در $\text{pH}=6/5$ به علت پایداری ایجاد شده توسط نانوذرات کیتوزان بود [Wang and Heuzey, 2016].



شکل (۴-۱۳): امولسیون بر پایه کیتوزان و نقش pH در پایداری آن [Wang and Heuzey, 2016]

نان^{۱۲۳} و همکاران در سال ۲۰۱۴، در پژوهشی امولسیون های پایدار شده با ذرات آلرژینات پوشیده شده با کیتوزان را تهیه کردند و گزارش کردند که در pH های کمتر از pka کیتوزان ($6/5$) به علت دافعه الکترواستاتیک بین زنجیره های کیتوزان، ذرات متورم شدند. که این تورم باعث هیدروفیلیک شدن ذرات و عدم قرار گیری آن ها در فیلم بین سطحی بین آب و روغن شد و جداسازی فازها در pH های بالاتر از ۹ به علت نامحلول شدن ذرات اتفاق افتاد [Nan et al, 2014].

کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲، تأثیر pH های مختلف (۲ تا ۸) بر روی پایداری امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با MCC و MS را بررسی کردند و نشان دادند در $\text{pH}=2$ امولسیون ناپایدار و

¹²³ Nan

ذرات تجمع یافته تشکیل شدند، زیرا ذرات بدون بار بودند و هیچگونه دافعه الکترواستاتیک که از تجمع قطرات جلوگیری کند وجود نداشت. در pH های بیشتر از ۴ و بخصوص در pH=۸ پایداری امولسیون ها افزایش یافت. زیرا با افزایش pH ذرات دارای بار منفی شده و نیروی دافعه الکترواستاتیک بر روی سطح قطرات افزایش یافت که باعث کاهش انعقاد شد [Kargar et al, 2012].

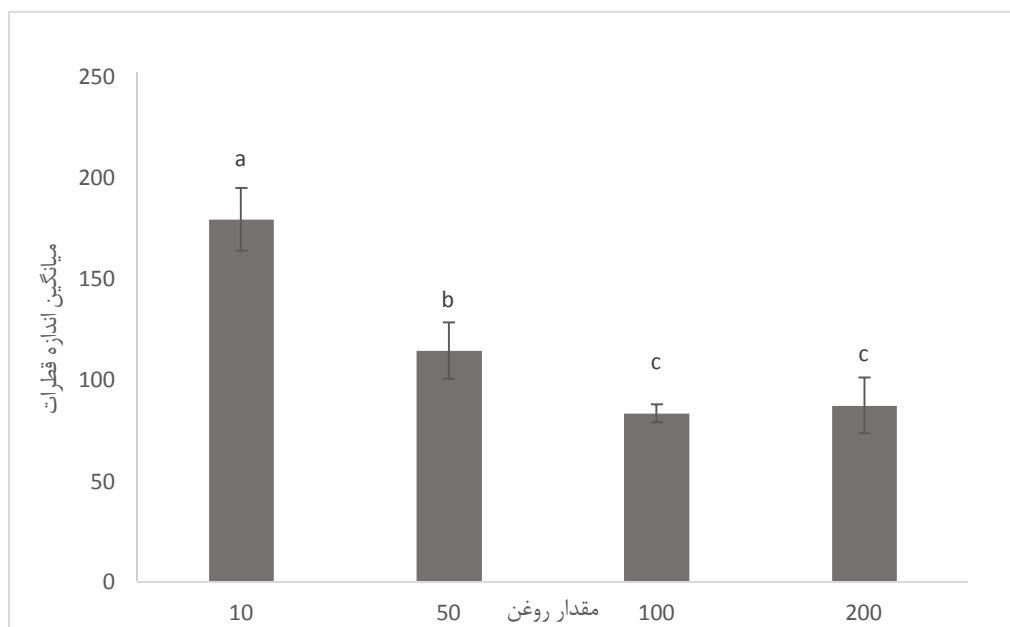
موانگی و همکاران سال ۲۰۱۶، در پژوهشی تأثیر pH های مختلف فاز پیوسته (۲ تا ۸) را بر روی پایداری امولسیون پیکرینگ پایدار شده با کیتوزان و میانگین اندازه قطرات پس از ۷ روز بررسی کردند. نتایج نشان داد که بالاترین پایداری امولسیون ها در برابر انعقاد و خامه ای شدن قطرات، در pH=۸ بود. این مشاهدات می تواند به 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 بر 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=۵ بود که این مشاهدات می تواند به پروتون زایی گروه های آمین بر 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 انعقاد، بالا آمدن روغن و دی امولسیفیکیشن احتمالی در pH=۲ می شود [Mwangi et al, 2016].

نتایج این بخش نشان داد که بیشترین پایداری امولسیون ها بر پایه نانوذله کیتوزان در pH=۸ ایجاد شد. همچنین پایداری خامه ای شدن (به عنوان پایداری طولانی مدت) با افزایش pH از ۲ تا ۱۰ افزایش یافت.

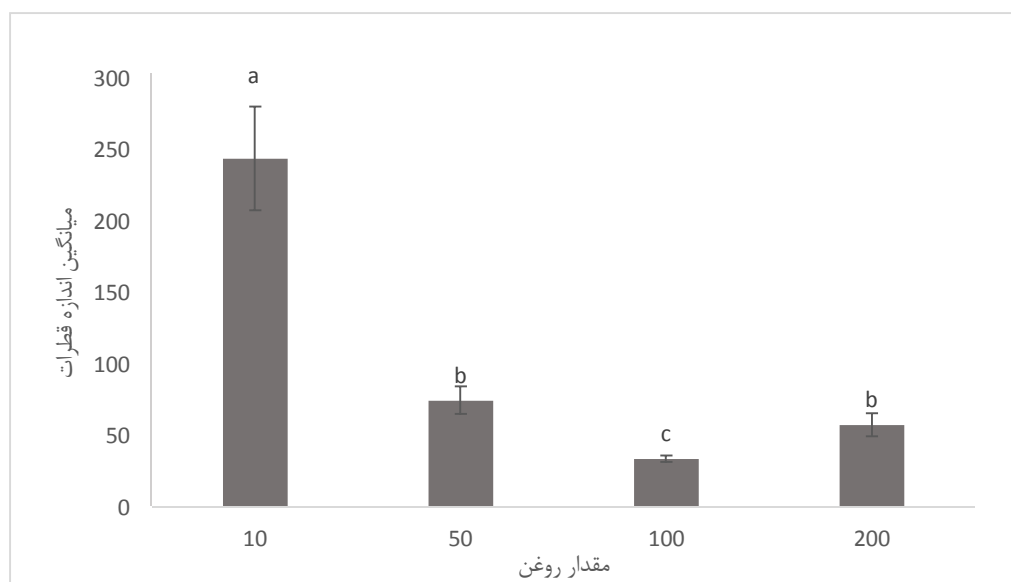
۴-۳-۳- تأثیر مقدار روغن سیاهدانه بر تشکیل و پایداری امولسیون های

پیکرینگ

در این پژوهش از مقادیر (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میکرولیتر روغن سیاهدانه برای تهیه امولسیون های پیکرینگ با نانوذله ۷۵ درصد اسید استئاریک در $pH=8$ استفاده شد و میانگین اندازه قطرات و پایداری خامه ای شدن این امولسیون ها پس از ۳ ساعت و ۷ روز نگهداری در دمای محیط مورد ارزیابی قرار گرفت. همان طور که در شکل (۴-۱۴) و (۴-۱۵) مشخص است، میانگین اندازه قطرات پس از ۳ ساعت در مقدار ۱۰ میکرولیتر روغن بیشترین و در ۱۰۰ میکرولیتر روغن کمترین اندازه را داشته است. در روز هفتم نیز همین روند مشاهده شده است و در مقدار ۱۰ میکرولیتر روغن نسبت به ۳ ساعت میانگین اندازه قطرات افزایش زیادی یافت. همچنین در مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن روز هفتم نسبت به ۳ ساعت میانگین اندازه قطرات کاهش یافت که این کاهش در مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن بیشتر است. همچنین از لحاظ آماری بین داده ها در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد.



شکل (۴-۱۴): میانگین اندازه قطرات با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه پس از ۳ ساعت



شکل (۴-۱۵): میانگین اندازه قطرات با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه در روز هفتم

کمترین میانگین اندازه قطرات در ۱۰۰ میکرولیتر روغن به دست آمد. این نتیجه را می توان به وجود روغن کافی برای این نسبت آب و نانوژل مربوط دانست. همچنین نسبت میزان آب به روغن احتمالاً در میانگین اندازه قطرات تأثیر گذار می باشد. در همه نمونه ها، مقادیر آب (۸۰۰ میکرولیتر) و نانوژل (۱۰۰۰ میکرولیتر) پارامترهای ثابت بودند، اما مقدار روغن تغییر کرد. همچنین نسبت روغن به نانوژل به ترتیب (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰) بود. در مقدار ۱۰ میکرولیتر روغن چون مقدار آب بیشتری نسبت به مقدار

روغن استفاده شده وجود داشت (نسبت ۸۰ به ۱)، احتمالاً باعث جداسازی بیشتر فازها شده است. در مقدار ۵۰ میکرولیتر روغن این نسبت کاهش یافته و به (۱۶ به ۱) رسید و همان طور که در شکل (۴-۱۴) و (۴-۱۵) مشخص است میانگین اندازه قطرات نسبت به مقدار ۱۰ میکرولیتر کاهش یافته و در مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن این نسبت در مقایسه با دو حالت قبل نیز کاهش یافت و به میزان (۸ به ۱) رسید و میانگین اندازه قطرات نیز کاهش بیشتری یافته است. در مقدار ۲۰۰ میکرولیتر روغن، نسبت آب به روغن به میزان (۴ به ۱) رسید که در روز اول تفاوت معنی داری در میانگین اندازه قطرات این امولسیون با مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن وجود نداشت، اما در روز هفتم میانگین اندازه قطرات آن در مقایسه با مقدار ۱۰۰ میکرولیتر بیشتر بود.

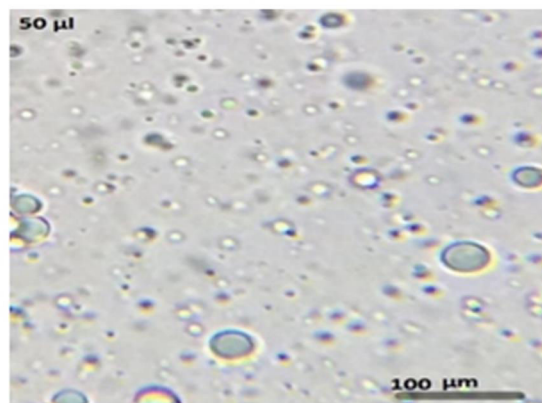
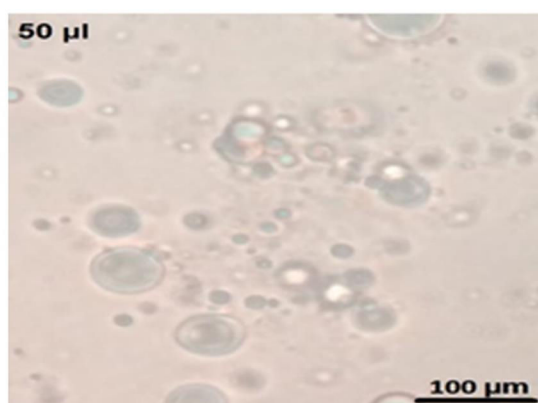
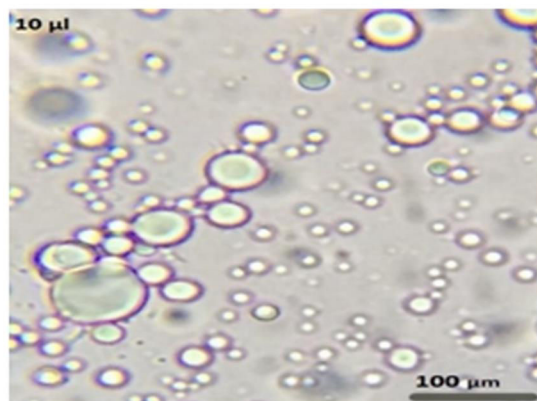
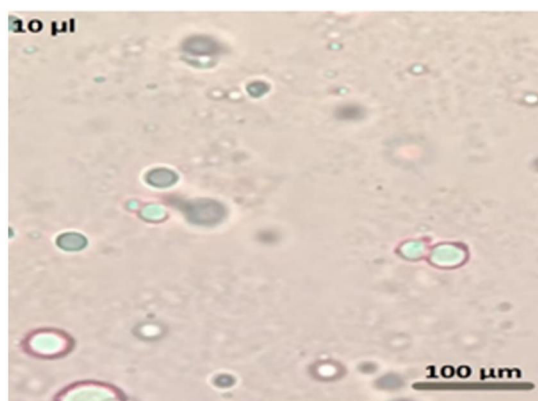
احتمالاً این افزایش به علت کاهش نسبت نانوذله به روغن در نمونه ۲۰۰ میکرولیتر روغن بود. این نسبت در مقدار ۱۰۰ میکرولیتر روغن دو برابر بیشتر از ۲۰۰ میکرولیتر روغن بود. در نتیجه احتمالاً ذرات نانوذله کافی برای پوشش قطرات روغن در نمونه حاوی ۲۰۰ میکرولیتر روغن وجود نداشته است. به طور کلی نسبت روغن به نانوذله در نمونه ها به ترتیب (۱، ۵، ۱۰ و ۲۰) بود. به عبارت دیگر اندازه قطرات امولسیون های روغن در آب در نسبت های خیلی بالا و خیلی کم روغن به نانوذله افزایش یافته بود. این نتیجه را می توان اینطور تفسیر کرد که در نسبت های روغن به نانوذله بیشتر از ۱۰، مقدار نانوذله به طور مؤثری سطح قطرات روغن را پوشش نداد. اگرچه با افزایش نسبت نانوذله به روغن، نه تنها لایه بین سطحی ضخیم اطراف قطرات روغن می تواند افزایش یابد. اما مقدار نانوذله جذب نشده موجود در فاز پیوسته می تواند ویسکوزیته فاز پیوسته را افزایش دهد [Saber et al, 2013]. بنابراین در فرآیند تولید امولسیون، قطرات بزرگ تر به علت ویسکوزیته بزرگتر و حرکت کند قطرات روغن در فاز پیوسته می توانند تشکیل شوند.

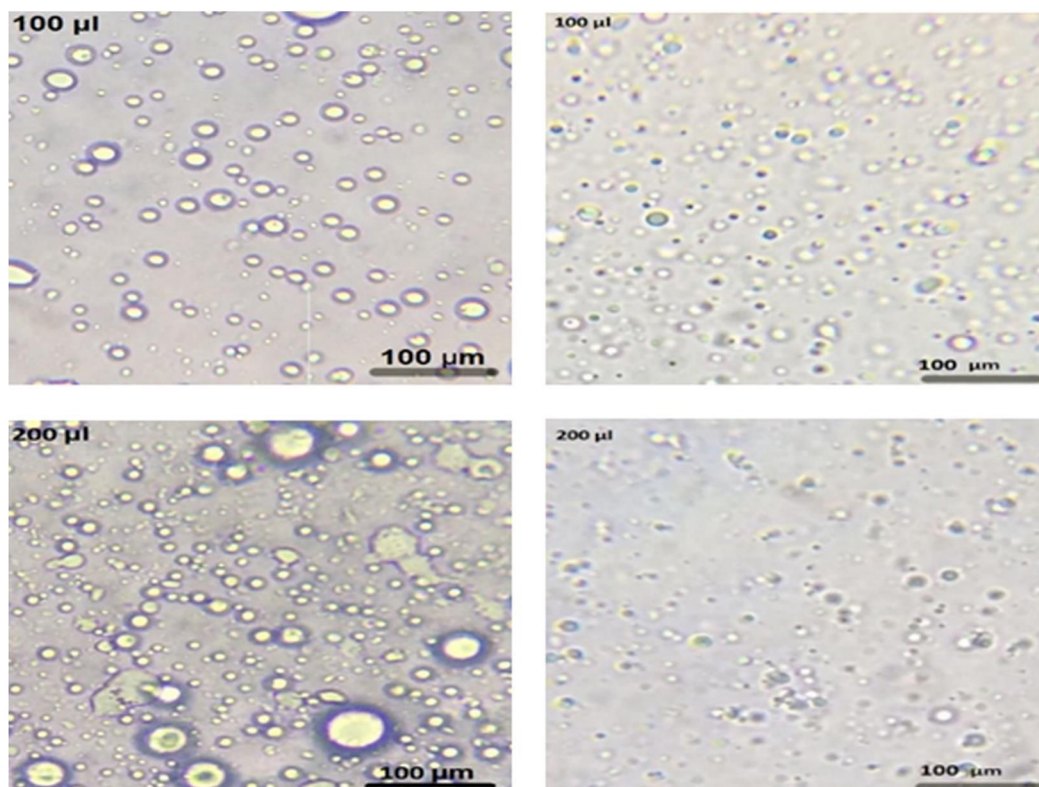
تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری در شکل (۴-۱۶) نشان داده شد. همان طور که مشخص است پس از ۳ ساعت در مقدار ۱۰ میکرولیتر روغن امولسیونی با قطرات کم و اندازه بزرگ تشکیل شد و در

مقدار ۵۰ میکرولیتر روغن، قطرات فلوکوله شده مشاهده شد. در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر روغن، امولسیون با قطرات کوچکتر تشکیل شده است اما در ۲۰۰ میکرولیتر، قطرات فلوکوله شده و برخی قطرات با شکلی زاویه دار تشکیل شدند. در روز هفتم، در مقدار ۱۰ میکرولیتر روغن، قطرات فلوکوله شده و بزرگتر از سایر مقادیر ایجاد شده است. همچنین در مقدار ۱۰۰ میکرولیتر قطرات کوچکتر و یکنواختر تشکیل شده است.

۳ ساعت پس از آماده سازی

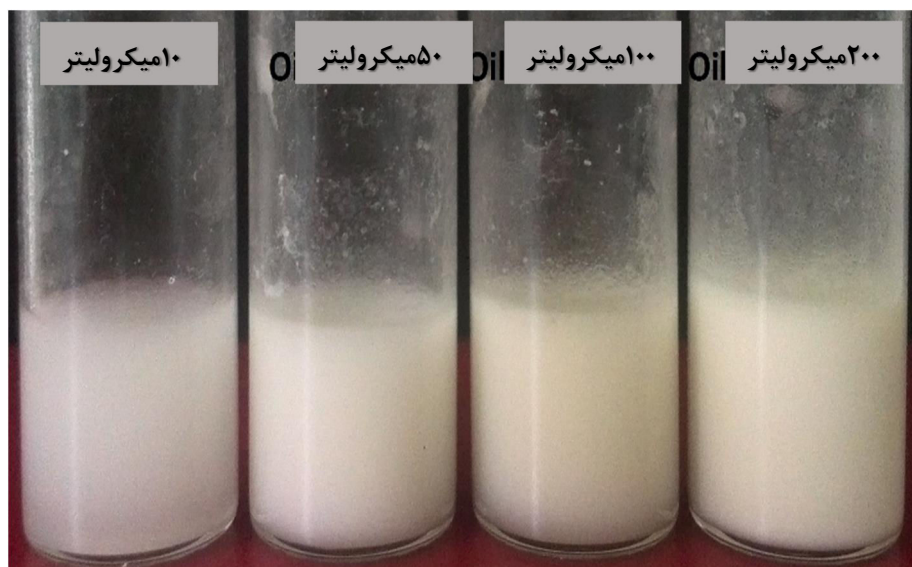
روز هفتم



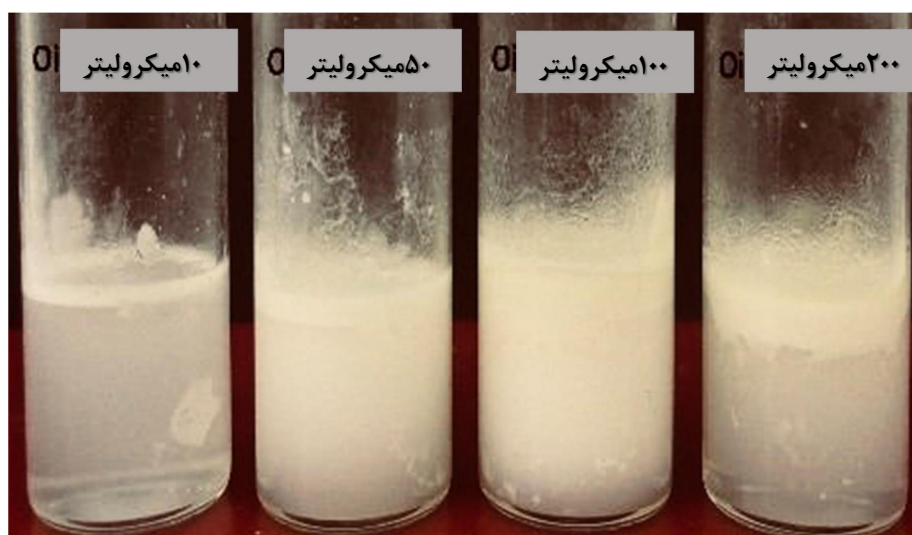


شکل (۴-۱۶): تصاویر میکروسکوپ نوری نمونه‌ها با مقادیر مختلف روغن ۳ ساعت (سمت چپ) و ۷ روز (سمت راست) پس از نگهداری (عدسی ۱۰۰)

پایداری خامه ای شدن امولسیون‌ها بر پایه نانوذله کیتوزان با مشاهده خامه ای شدن و با محاسبه اندیس خامه ای شدن بعد از اندازه گیری ارتفاع لایه خامه ای و ارتفاع کل مورد مطالعه قرار گرفت. همان طور که در شکل (۴-۱۷) مشخص است، پس از ۳ ساعت در مقدار ۱۰ میکرولیتر روغن امولسیونی با کدورت کمتر تشکیل و دیگر امولسیون‌ها ظاهری کاملاً شیری رنگ و کدر داشتند و هیچگونه خامه ای شدن پس از ۳ ساعت در آن‌ها مشاهده نشد. همان طور که در شکل (۴-۱۸) نشان داده شد در روز هفتم در کل امولسیون‌ها خامه ای شدن رخ داد، در مقدار ۱۰ میکرولیتر یک لایه سرم کاملاً شفاف ایجاد شد. همچنین در مقدار ۲۰۰ میکرولیتر هم لایه سرم با کدورت کمتر ایجاد شد.



شکل (۴-۱۷): نمونه ها با نانوذله ۷۵ درصد و مقادیر مختلف روغن (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میکرولیتر پس از ۳ ساعت



شکل (۴-۱۸): نمونه ها با نانوذله ۷۵ درصد و مقادیر مختلف روغن (۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰) میکرولیتر در روز هفتم

میزان درصد خامه ای شدن نمونه ها در روز اول و روز هفتم در جدول (۴-۴) نشان داده شد.

جدول (۴-۴): درصد خامه ای شدن نمونه ها با مقادیر مختلف روغن سیاهدانه

مقدار روغن	پس از ۳ ساعت	پس از ۷ روز
نمونه		
۱۰ میکرولیتر	۰	$7/69 \pm 0^c$
۵۰ میکرولیتر	۰	$16/02 \pm 0/905^b$
۱۰۰ میکرولیتر	۰	0 ± 0^d
۲۰۰ میکرولیتر	۰	$23/33 \pm 4/7^a$

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

همان طور که مشخص است، پس از ۳ ساعت در هیچ یک از امولسیون های پیکرینگ خامه ای شدن مشاهده نشد. در روز هفتم نیز در نمونه دارای ۱۰۰ میکرولیتر روغن خامه ای شدن مشاهده نشد اما این میزان به ترتیب در نمونه های حاوی ۲۰۰ میکرولیتر روغن ۲۳/۳۳ درصد، ۵۰ میکرولیتر روغن ۱۶/۰۲ درصد و ۱۰ میکرولیتر روغن ۷/۶۹ درصد دارای بیشترین میزان بودند. همچنین بین نمونه ها در میزان خامه ای شدن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود داشت.

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 درصد 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. امولسیون هایی که دارای بیش از ۵۰ درصد روغن بودند سریعاً پس از آماده سازی قطرات روغن به هم آمیخته شدند و روغن خالص در بالای امولسیون آزاد شد. همچنین زمانی که مقدار روغن ثابت و حدود ۲۰ درصد بود، در غلظت های کم سیلیکا (۰/۵ درصد) به علت فقدان سیلیکا امولسیون از بین رفت. در

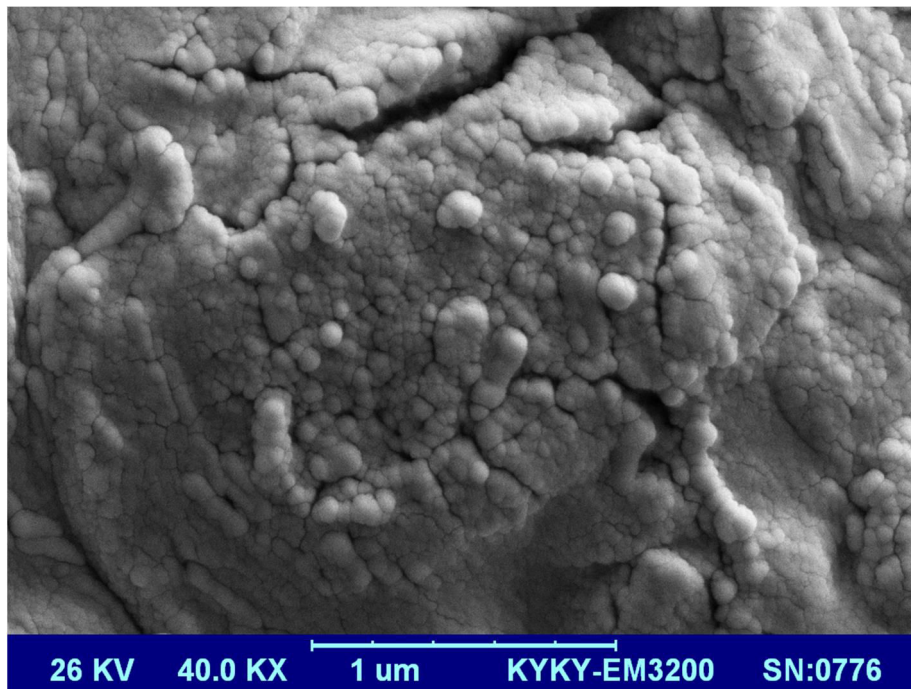
همان وضعیت وقتی که غلظت سیلیکا ثابت بوده اما مقدار روغن افزایش یافت امولسیون از بین رفت [Frelichowska et al, 2010].

بنابراین از این قسمت تحقیق می توان نتیجه گیری کرد که امولسیون پیکرینگ حاوی ۱۰۰ میکرولیتر روغن سیاهدانه (نسبت ۱ به ۱۰ روغن به نانوذله) دارای بالاترین پایداری و امولسیون پیکرینگ حاوی ۲۰۰ میکرولیتر روغن دارای کمترین پایداری در برابر خامه ای شدن بود.

۴-۴- بررسی اثر اسانس رزماری درون پوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات

نانوذله

در آزمایشات قبلی نانوذله با غلظت ۷۵ درصد اسید استئاریک به عنوان بهترین غلظت برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب انتخاب شد. در ادامه آزمایشات اسانس رزماری در دو غلظت ۲۰۰ ppm و ۱۰۰۰ در نانوذله 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 رزماری چه اثری روی اندازه و شکل ذرات داشته است، از نانوذله با بیشترین غلظت اسانس رزماری (۱۰۰۰ ppm) عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شد که در شکل (۴-۱۹) عکس مربوطه نشان داده شده است. عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله حاوی اسانس در مقایسه با عکس نانوذله بدون اسانس (۴-۲-د) نشان می دهد که اگرچه ذرات در محدوده ۱۰۰ نانومتر وجود دارد اما یکنواختی توزیع اندازه ذرات کمتر شده است. همچنین ذرات حالتی به هم پیوسته تر پیدا کرده اند 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 آبریزی ساختار نانوذله است.



شکل (۴-۱۹): عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک با غلظت ۷۵ درصد حاوی اسانس رزماری ضیائی و همکاران در سال ۲۰۱۴، در پژوهشی اثر میزان اسانس روغنی را بر اندازه بارگذاری شده در نانوذله بررسی کردند. به این صورت که میزان ۲ درصد 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, 2014].

۴-۵- اندازه گیری پایداری اکسیداتیو

برای بررسی پایداری اکسیداتیو نمونه ها، همه امولسیون ها در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۹ روز نگهداری شدند. سرعت اکسیداسیون روغن سیاهدانه با اندازه گیری میزان هیدروپراکسید و TBA بررسی شد. همان طور که در جدول (۴-۵) مشخص است، در روز اول در نمونه اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن بیشترین میزان و در نمونه های امولسیون با توئین و اسانس ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله کمترین میزان پراکسید مشاهده شد. در روز چهارم در امولسیون با توئین میزان پراکسید نسبت به روز اول افزایش حدوداً ۸ برابری و معنی داری در سطح ۵ درصد

داشت و بیشترین میزان را نسبت به سایر نمونه های دیگر در این روز داشت و در نمونه اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در نانوژل کمترین میزان پراکسید مشاهده شد. در روز هشتم نیز در نمونه امولسیون با توئین ۸۰ بیشترین میزان پراکسید و در نمونه حاوی اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در نانوژل کمترین میزان پراکسید وجود داشت که اختلاف معنی داری را در سطح ۵ درصد نشان دادند. در روز دوازدهم نمونه های اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در روغن، اسانس ppm ۲۰۰ درون پوشانی شده در روغن و امولسیون با توئین ۸۰ به ترتیب دارای بیشترین میزان پراکسید و اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در نانوژل دارای کمترین میزان پراکسید بود که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین تیمارها مشاهده شد. همچنین روز نوزدهم به ترتیب در نمونه های حاوی اسانس ppm ۲۰۰ درون پوشانی شده در روغن و اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در روغن بیشترین میزان پراکسید و در امولسیون با توئین ۸۰ کمترین میزان پراکسید مشاهده شد. البته بین نمونه های حاوی اسانس ppm ۲۰۰ درون پوشانی شده در روغن و اسانس ppm ۱۰۰۰ درون پوشانی شده در روغن اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد.

جدول (۴-۵): میانگین و انحراف معیار مقادیر تست پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۹ نگهداری شده در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد.

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز دوازدهم	روز نوزدهم
امولسیون پیکرینگ بهینه	۵۵ ± ۷/۰۷ ^{c,AB}	۱۵۵ ± ۷/۰۷ ^{cb,B}	۱۷۵ ± ۷/۰۷ ^{ab,C}	۲۶۰ ± ۱۴/۱۴ ^{ab,CD}	۳۳۰ ± ۲۸/۲۸ ^{a,C}
امولسیون با توئین	۳۱ ± ۱/۴۱ ^{e,B}	۲۲۰ ± ۱۴/۱۴۵ ^{c,A}	۴۲۵ ± ۴۹/۴۹ ^{a,A}	۳۰۵ ± ۷/۰۷ ^{b,BC}	۱۰۱ ± ۱/۴۱ ^{d,D}
اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن	۷۰ ± ۲۸/۲۸ ^{c,A}	۱۴۰ ± ۱۴/۱۴ ^{c,BC}	۳۵۵ ± ۲۱/۲۱ ^{c,B}	۵۵۵ ± ۲۱/۲۱ ^{b,A}	۱۱۲۵ ± ۷/۰۷ ^{a,A}
اسانس ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن	۴۵ ± ۷/۰۷ ^{c,AB}	۱۳۳/۳ ± ۱۵/۲۷ ^{c,BC}	۱۶۰ ± ۱۴/۱۴ ^{c,C}	۳۸۰ ± ۸۴/۸۵ ^{b,B}	۱۱۸۰ ± ۸۴/۸۵ ^{a,A}
اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوژل	۵۵ ± ۷/۰۷ ^{c,AB}	۱۲۰ ± ۱۴/۱۴ ^{bc,C}	۱۲۵ ± ۷/۰۷ ^{b,C}	۲۱۰ ± ۱۴/۱۴ ^{b,D}	۳۵۰ ± ۱۴/۱۴ ^{a,C}
اسانس ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوژل	۳۱ ± ۱/۴۱ ^{d,B}	۱۲۱ ± ۱/۴۱ ^{c,C}	۱۶۱ ± ۱/۴۱ ^{b,C}	۲۵۵ ± ۷/۰۷ ^{b,CD}	۵۰۰ ± ۱۴/۱۴ ^{a,B}

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

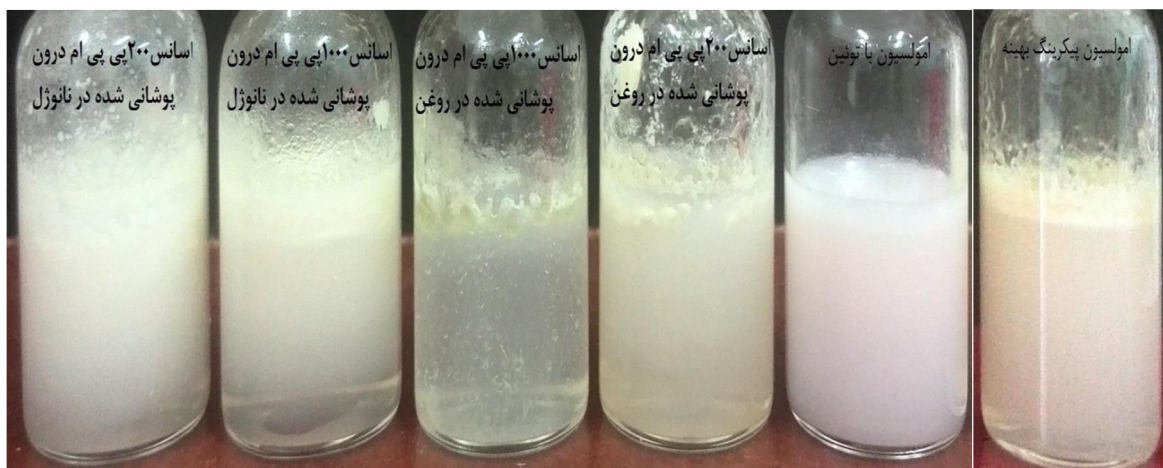
با توجه به جدول (۴-۵)، بین نمونه های حاوی اسانس (۲۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm) درون پوشانی در روغن، نمونه حاوی اسانس ۲۰۰ ppm، تا روز هشتم عدد پراکسید با سرعت بسیار کند افزایش یافت و پس از آن مقدار آن با سرعت نسبتاً زیاد تا روز نوزدهم افزایش یافت که دارای بیشترین میزان در مقایسه با تیمارهای دیگر بود. همچنین در نمونه حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن همانند ۲۰۰ ppm روند مشابهی مشاهده شد، اما سرعت افزایش میزان پراکسید در روغن ۱۰۰۰ ppm اندکی

بیشتر بود و از روز چهارم به بعد میزان پراکسید به سرعت افزایش یافت. همان طور که در شکل (۴-۲۰) مشخص است در این دو نمونه در طول دوره نگهداری دی‌امولسیفیکشن رخ داده است و کل امولسیون به فاز سرمی تبدیل شد که این پدیده در نمونه حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن بیشتر بود، همچنین در این نمونه کوالسنس نیز صورت گرفت و روغن در روز آخر جدا شده بود که بخشی از این افزایش میزان پراکسید در نمونه های حاوی اسانس درون پوشانی شده در روغن در مقایسه با تیمارهای دیگر را می‌توان به از بین رفتن ساختار امولسیون مربوط دانست که در این حالت اثر پوششی ذرات نانوذله که یک عامل مهم در مقابل اکسیداسیون است از بین رفته است. در مورد نمونه های اسانس ۲۰۰ ppm و ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله تا روز دوازدهم روند مشابهی وجود داشت و افزایش بسیار ناچیزی در میزان پراکسید آن‌ها دیده شد و مقادیر پراکسید به هم نزدیک بودند، اما بعد از روز دوازدهم میزان پراکسید در نمونه اسانس ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله افزایش کمی داشت. در مقابل در نمونه حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله افزایش کند پراکسید تا روز انتهایی مشاهده شد. به طور کلی با مقایسه میزان پراکسید در بین تیمارهای مختلف در روزهای متفاوت می‌توان گفت که نمونه حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله بیشترین پایداری اکسیداتیو را داشته است. با مقایسه نتایج پراکسید در نمونه های حاوی اسانس ۱۰۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله می‌توان گفت که غلظت بیشتر نقش مؤثرتری در تأخیر اکسیداسیون داشته است. همان طور که در شکل (۴-۲۰) مشخص است در نمونه های حاوی ۱۰۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm اسانس درون پوشانی شده در نانوذله نسبت به نمونه هایی که اسانس در روغن درون پوشانی شده، جداسازی فازها صورت نگرفته است. این نتیجه نشان می‌دهد که درون پوشانی اسانس رزماری در نانوذله توانسته پایداری فیزیکی امولسیون را نیز افزایش دهد که این نتیجه احتمالاً به افزایش میزان آبگریزی نانوذله به دلیل ماهیت آبگریزی اسانس مربوط می‌باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که با درون پوشانی ترکیبات آبگریز خاصیت امولسیون کنندگی نانوذله بهبود می‌یابد. میزان عدد پراکسید نمونه توئین در ۸ روز اول بیشتر از سایر نمونه ها

بود و بعد از ۸ روز در میزان پراکسید آن روند کاهشی مشاهده شد که این کاهش پراکسید می تواند به دلیل شکسته شدن ترکیبات اولیه اکسیداسیون به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون باشد [Akoh and Min, 2008].

همچنین در نمونه بهینه روند ثابتی در میزان پراکسید وجود داشت و در طول ۱۹ روز افزایش بسیار ناچیزی در میزان پراکسید آن مشاهده شد و روند آن تقریباً با نمونه اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله مشابه و به هم نزدیک بود. پس از ۱۹ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در نمونه های امولسیون پیکرینگ، نمونه اسانس ۱۰۰۰ ppm درون پوشانی شده در نانوذله کمترین میزان و نمونه اسانس ۲۰۰ ppm درون پوشانی شده در روغن بیشترین میزان پراکسید را نشان دادند. به طور کلی درون پوشانی اسانس رزماری در نانوذله نسبت به درون پوشانی اسانس رزماری در روغن پایداری اکسیداسیون را بهتر بهبود بخشید، که در غلظت ۱۰۰۰ ppm نسبت به ۲۰۰ ppm این پایداری بیشتر بود. لازم به ذکر است که اکسیداسیون امولسیون ها در سطح مشترک فاز روغنی با فاز آبی رخ می دهد [Wang et al, 2015]، به همین دلیل این نتیجه می تواند به وجود آنتی اکسیدان ها (اسانس رزماری) 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-ژئین درون پوشانی نمودند و برای تهیه امولسیون پیکرینگ روغن ذرت در آب استفاده کردند. این محققین دریافتند زمانی که کورکومین درون کمپلکس کیتوزان-ژئین قرار گرفته بود نسبت به زمانی که کورکومین به روغن ذرت اضافه شده بود، توانست میزان اکسیداسیون روغن را بیشتر کاهش دهد [Wang et al, 2015] که این یافته با نتایج این تحقیق مشابه بود. البته با نگاهی دقیقتر به نتایج مربوط به نمونه های حاوی اسانس درون پوشانی شده در نانوذله 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 (امولسیون پیکرینگ

بهینه) اندک است. این نتیجه احتمالاً مربوط به عملکرد ضعیف و خاصیت آنتی اکسیدانی کم اسانس رزماری در این نوع سامانه امولسیون می باشد. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که اسانس رزماری یک آنتی اکسیدان طبیعی خیلی مناسب برای امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه در آب نمی باشد.



شکل (۴-۲۰): شکل ظاهری نمونه ها پس از ۱۹ روز نگهداری

همچنین بررسی میزان محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون امولسیون های روغن سیاهدانه در جدول (۴-۶) نشان داده شد.

جدول (۴-۶): میانگین و انحراف معیار مقادیر تست TBA تیمارهای مختلف در در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۹ نگهداری

شده در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد.

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز دوازدهم	روز نوزدهم
امولسیون پیکرینگ بهینه	$21 \pm 1/41^{b,B}$	$\pm 2/89^{ab,A}$	$\pm 0/49^{ab,A}$	$\pm 3/29^{ab,A}$	$0/94^{a,B}$
	۲۱/۴۱	۲۴/۴۹	۲۲/۵۵	۲۳/۰۹	۲۹/۶۸
امولسیون با توئین	$21 \pm 1/41^{c,B}$	$\pm 0/31^{c,A}$	$\pm 0/75^{c,A}$	$30/39 \pm 1/3^{b,A}$	$39/08 \pm 2/5^{a,B}$
	۲۱/۴۱	۲۱/۵۲	۲۵/۰۲	۳۰/۳۹	۳۹/۰۸
اسانس ppm ۱۰۰۰ درون	$25 \pm 7/07^{b,AB}$	$\pm 0/83^{b,A}$	$\pm 5/77^{b,A}$	$\pm 5/77^{b,A}$	$\pm 1/58^{a,B}$
پوشانی شده در روغن	۲۵	۲۱/۶۰	۲۳/۳۳	۲۶/۶۶	۳۶/۶۹
اسانس ppm ۲۰۰ درون	$\pm 1/84^{b,A}$	$\pm 0/35^{c,A}$	$\pm 0/75^{c,A}$	$\pm 0/06^{c,A}$	$\pm 5/77^{a,A}$
پوشانی شده در روغن	۱/۸۴	۰/۳۵	۰/۷۵	۰/۰۶	۵/۷۷
اسانس ppm ۱۰۰۰ درون	$0/79^{ab,A}$	$\pm 2/73^{b,A}$	$\pm 0/92^{b,A}$	$\pm 0/14^{b,A}$	$37/31 \pm 9/6^{a,B}$
پوشانی شده در نانوژل	۰/۷۹	۲/۷۳	۰/۹۲	۰/۱۴	۳۷/۳۱
اسانس ppm ۲۰۰ درون	$\pm 0/95^{cb,AB}$	$\pm 1/19^{c,A}$	$\pm 5/77^{cb,A}$	$\pm 0/06^{b,A}$	$40/69 \pm 0/5^{a,B}$
پوشانی شده در نانوژل	۰/۹۵	۱/۱۹	۵/۷۷	۰/۰۶	۴۰/۶۹
	۲۵/۹۵	۲۱/۶۹	۲۳/۳۳	۲۹/۱۸	

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 جدول (۴-۶) در تمام نمونه ها روند افزایشی در میزان شاخص TBA مشابه شاخص پراکسید مشاهده شد. اما به طور کلی با مقایسه نتایج جدول (۴-۵) و (۴-۶) می توان بیان داشت که شدت تغییرات شاخص TBA همانند شاخص پراکسید نبوده است. با توجه به جدول (۴-۶) پس از ۱۹ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد در نمونه امولسیون پیکرینگ بهینه کمترین میزان TBA مشاهده شد. در نمونه های حاوی اسانس درون پوشانی شده در نانوژل، افزایش TBA در نمونه حاوی اسانس ppm ۲۰۰ بیشتر از نمونه حاوی اسانس ppm ۱۰۰۰ بود. همچنین در نمونه های حاوی اسانس درون پوشانی شده در روغن نیز افزایش TBA در نمونه حاوی اسانس ppm ۲۰۰ بیشتر از

نمونه حاوی اسانس ppm ۱۰۰۰ بود. به طور کلی اسانس ppm ۱۰۰۰ در کاهش محصولات ثانویه از غلظت ppm ۲۰۰ مؤثرتر بود. در روز نوزدهم بیشترین میزان TBA در اسانس ppm ۲۰۰ درون پوشانی شده در روغن مشاهده شد که با نتایج پراکسید مطابقت داشت. به طور کلی تغییرات TBA نسبت به پراکسید کمتر بود که این تغییرات کمتر دلایل مختلفی می تواند داشته باشد. دلیل اول می تواند به عدم فراهم شدن شرایط تولید محصولات ثانویه در این سامانه مربوط باشد. دلیل دوم نیز احتمالاً به نامناسب بودن این شاخص برای بررسی محصولات ثانویه در سامانه امولسیون روغن سیاهدانه مربوط است. شاخص TBA میزان تشکیل مالون دی آلدئیدها را به عنوان معیاری از میزان تشکیل ترکیبات ثانویه در نظر می گیرد. میزان تشکیل مالون دی آلدئید در روغن ها با ترکیب اسیدهای چرب مختلف متفاوت می باشد. به همین دلیل در تحقیقات بعدی به منظور بررسی فرآیند اکسیداسیون و تشکیل محصولات ثانویه در سامانه امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه بهتر است از روش های دیگری از جمله روش آنیزیدین یا تعیین گازهای فرار استفاده شود.

کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۱، تأثیر امولسیون روغن در آب پایدار شده با ۰/۶ درصد توئین 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. بنابراین ذرات در رده غذایی نسبت به مولکول های کوچک سورفکتانت در تأخیر سرعت اکسیداسیون مؤثرتر بودند [Kargar a et al, 2011].

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, 1998; Silvestre et al, 2000].

کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۱، در پژوهشی تأثیر ذرات سیلیکا و سدیم کازئینات و توئین ۲۰ بر اکسیداسیون لیپیدها را بررسی کرد. نتایج این محققین نشان داد که سدیم کازئینات نسبت به توئین ۲۰ در کاهش اکسیداسیون لیپیدها به علت ایجاد یک لایه بین سطحی ضخیم در اطراف قطرات و داشتن فسفوسریل که باعث مهار رادیکال های آزاد و چنگالی کننده پراکسیدان ها می شود، مؤثرتر بود. توئین ۲۰ سرعت اکسیداسیون را طی ۷ روز افزایش داد که این به دلیل تماس بیشتر بین پراکسیدها و قطرات در سطح مشترک بود. همچنین تأثیر ذرات سیلیکا در pH ۷ و ۲ بر روند اکسیداسیون بررسی شد. در pH ۲ ذرات سیلیکا بدون بار و در pH ۷ داری بار منفی بودند. ذرات سیلیکا بر سرعت اکسیداسیون لیپیدها با دور کردن یون های فلزی از سطح، جدا سازی آهن از هیدروپراکسیدها و کاهش نواحی تماس مؤثر بودند. در مقایسه با توئین ۲۰، ذرات سیلیکا با ایجاد لایه بین سطحی ضخیم اطراف قطرات در کاهش اکسیداسیون لیپیدها مؤثرتر بودند [Kargar b et al, 2011].

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, 2012]. ویژگی های فیزیکی از جمله اندازه ذرات، بار قطرات امولسیون که باعث هرگونه جاذبه یا دافعه انتقال فلزات و ضخامت لایه در ناحیه بین سطحی قطرات امولسیون باعث برخورد متقابل بین لیپیدها و فاز آبی پراکسیدان ها می شود، بر سرعت اکسیداسیون لیپیدها

در امولسیون روغن در آب تأثیر می گذارد. اندازه قطرات امولسیون ها می تواند بر سرعت اکسیداسیون لیپیدها تأثیر بگذارد، زیرا اندازه ذرات کوچکتر در یک سطح بزرگ باعث احتمال بیشتر برای برهمکنش بین پروکسیدان ها در فاز لیپید-آبی ایجاد می کنند [McClements and Decker, 2000].

۴-۶- نتیجه گیری

نتایج پروفایل اسیدهای چرب نشان داد که روغن سیاهدانه دارای درصد بالای اسید لینولئیک بود. نتایج طیف FT-IR اتصال موفقیت آمیز بین کیتوزان و اسید استئاریک را نشان داد. نتایج حاصل از بررسی ساختار کیتوزان با درصدهای مختلف اسید استئاریک توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که با افزایش میزان اسید استئاریک در ساختار کیتوزان ذرات یکنواخت تری حاصل شد. نتایج حاصل از اثر فاکتورهای درصد اسید استئاریک به کیتوزان، pH و میزان روغن بر پایداری امولسیون نشان داد که امولسیون پیکرینگ در pH های کمی قلیایی پایداری بیشتری نسبت به محیط های خیلی قلیایی و اسیدی داشت، این نتیجه به خنثی شدن بارهای مثبت و رسوب کیتوزان در لایه ی بین سطحی در این محدوده pH و حلالیت آن در محیط های قلیایی و اسیدی شدید نسبت داده شد. افزایش درصد اسید استئاریک در ساختار کیتوزان باعث کاهش اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ و پایداری بیشتر آن شد. همچنین مقدار روغن در پایداری امولسیون پیکرینگ تأثیر داشت. به عبارت دیگر، افزایش میزان روغن تا میزان مشخص در امولسیون پیکرینگ باعث افزایش پایداری شد. در حالی که افزودن بیش از حد روغن دارای اثر معکوس بود و موجب افزایش اندازه قطرات و ناپایداری امولسیون پیکرینگ شد. با دستیابی به فرمولاسیون مناسب امولسیون پیکرینگ، پایداری اکسیداتیو آن به همراه اسانس رزماری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که درون پوشانی اسانس رزماری در نانوزل کارایی بیشتری در کاهش اکسیداسیون روغن سیاهدانه نسبت به درون پوشانی اسانس رزماری در روغن سیاهدانه داشته است. علاوه بر این استفاده از اسانس رزماری به همراه نانوزل در

پوشش قطرات روغن سیاهدانه توانست پایداری فیزیکی بیشتری را نسبت به حالتی که اسانس رزماری در داخل روغن بود ایجاد کند. نتایج این تحقیق نشان داد که مکان قرار گیری اسانس رزماری در امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه نقش مؤثری در پایداری فیزیکی و شیمیایی آن دارد.

۴-۷- پیشنهادات

- ۱- فاکتورهای دیگر از جمله (قدرت یونی، نمک، ساکارز، ویسکوزیته روغن و دما) بر روی پایداری امولسیون های پیکرینگ مورد بررسی قرار گیرد.
- ۲- از نانوذرات دیگر برای پایداری امولسیون پیکرینگ روغن سیاهدانه استفاده شود.
- ۳- تأثیر نانوذله کیتوزان بر پایداری امولسیون پیکرینگ با روغن های مختلف مورد ارزیابی قرار گیرد.
- ۴- تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون امولسیون روغن سیاهدانه با تست آنیزیدین یا بررسی گازهای فرار صورت گیرد.

منابع

- [1] خوئی س. کاوند ع، (۱۳۹۲)، "نانوژل پلیمری: ابزار نانوسکوپی مفید در دارورسانی"، فصلنامه علمی-ترویجی، سال سوم، شماره ۲، ص ۲۱-۳۲
- [2] فاطمی ح، (۱۳۷۸)، "شیمی مواد غذایی"، چاپ هفتم، شرکت سهامی انتشار، تهران، ص ۴۹-۵۵
- [3] قنادی ع. سجادی س.ا. المسلمی م. مبارک ا، (۱۳۸۱)، "بررسی فیتوشیمیایی فلاونوئیدها و روغن فرار گیاه رزماری کشت شده در ایران"، مجله علمی پزشکی جندی شاپور، شماره ۳۴، ص ۳۳-۴۰
- [4] مجاب ف. نیک آور ب. جاویدنیا ک. رودگر آملی م.ع، (۱۳۸۲)، "ترکیبات شیمیایی اسانس و روغن سیاه دانه"، فصلنامه گیاهان دارویی، شماره ۶، ص ۲۱-۲۶
- [5] هادیان، م، ۱۳۹۵، پایان نامه ارشد، تأثیر نانوژل کیتوزان حاوی اسانس رزماری بر کیفیت گوشت گاو، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.
- [6] Ali, M. A., Sayeed, M. A., Alam, M. S., Yeasmin, M. S., Khan, A. M., & Muhamad, I. I. (2012). "Characteristics of oils and nutrient contents of *Nigella sativa* Linn. and *Trigonella foenum-graecum* seeds". *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 26(1).
- [7] Aveyard, R., Binks, B. P., & Clint, J. H. (2003). "Emulsions stabilised solely by colloidal particles". *Advances in Colloid and Interface Science*, 100, 503-546.
- [8] Agulló, E., Rodríguez, M. S., Ramos, V., & Albertengo, L. (2003). "Present and future role of chitin and chitosan in food". *Macromolecular Bioscience*, 3(10), 521-530.
- [9] Ali, B. H., & Blunden, G. (2003). "Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*". *Phytotherapy Research*, 17(4), 299-305.
- [10] Akoh, C. C., & Min, D. B. (2008). "Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology". CRC press.
- [11] Badea, G., Lăcătușu, I., Badea, N., Ott, C., & Meghea, A. (2015). "Use of various vegetable oils in designing photoprotective nanostructured formulations for UV protection and antioxidant activity". *Industrial Crops and Products*, 67, 18-24.
- [12] Binks, B. P., & Clint, J. H. (2002). "Solid wettability from surface energy components: relevance to Pickering emulsions". *Langmuir*, 18(4), 1270-1273.
- [13] Beyki, M., Zhavah, 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, 310-319.

- [14] Binks, B. P. (2002). "Particles as surfactants similarities and differences". *Current opinion in colloid & interface science*, 7(1), 21-41.
- [15] Bouyer, E., Mekhloufi, G., Rosilio, V., Grossiord, J. L., & Agnely, F. (2012). "Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field?". *International journal of pharmaceutics*, 436(1), 359-378.
- [16] Babak, V. G., Baros, F., Boulanouar, O., Boury, F., Fromm, M., Kildeeva, N. R., ... & Maincent, P. (2007). "Impact of bulk and surface properties of some biocompatible hydrophobic polymers on the stability of methylene chloride-in-water mini-emulsions used to prepare nanoparticles by emulsification-solvent evaporation". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2), 194-207.
- [17] Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). "Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils". *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(19), 7879-7885.
- [18] Binks, B. P., & Lumsdon, S. O. (2000). "Influence of particle wettability on the type and stability of surfactant-free emulsions". *Langmuir*, 16(23), 8622-8631.
- [19] Binks, B. P., & Horozov, T. S. (Eds.). (2006). *Colloidal particles at liquid interfaces*. Cambridge University Press.
- [20] Cheong, A. M., Tan, K. W., Tan, C. P., & Nyam, K. L. (2016). "Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) seed oil-inwater Pickering nanoemulsions stabilised by mixture of sodium caseinate, Tween 20 and β -cyclodextrin". *Food Hydrocolloids*, 52, 934-941.
- [21] Chevalier, Y., & Bolzinger, M. A. (2013). "Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 23-34.
- [22] Chenite, A., Buschmann, M., Wang, D., Chaput, C., & Kandani, N. (2001). "Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions". *Carbohydrate polymers*, 46(1), 39-47.
- [23] Chacko, R. T., Ventura, J., Zhuang, J., & Thayumanavan, S. (2012). "Polymer nanogels: a versatile nanoscopic drug delivery platform". *Advanced drug delivery reviews*, 64(9), 836-851.
- [24] Chen, X. G., Lee, C. M., & Park, H. J. (2003). "O/W emulsification for the self-aggregation and nanoparticle formation of linoleic acid modified chitosan in the aqueous system". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 3135-3139.
- [25] Chiono, V., Pulieri, E., Vozzi, G., Ciardelli, G., Ahluwalia, A., & Giusti, P. (2008). "Genipin-crosslinked chitosan/gelatin blends for biomedical applications". *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(2), 889-898.

- [26] Chaiyasit, W., Elias, R. J., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2007). "Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(3), 299-317.
- [27] Dridi, W., Essafi, W., Gargouri, M., Leal-Calderon, F., & Cansell, M. (2016). "Influence of formulation on the oxidative stability of water-in-oil emulsions". *Food chemistry*, 202, 205-211.
- [28] Dolçà, C., Ferrándiz, M., Capablanca, L., Franco, E., Mira, E., López, F., & García, D. (2015). "Microencapsulation of Rosemary Essential Oil by Co-Extrusion/Gelling Using Alginate as a Wall Material". *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 5(03), 121.
- [29] de Folter, J. W., van Ruijven, M. W., & Velikov, K. P. (2012). "Oil-in-water Pickering emulsions stabilized by colloidal particles from the water-insoluble protein zein". *Soft Matter*, 8(25), 6807-6815.
- [30] Dickinson, E. (2010). "Food emulsions and foams: stabilization by particles". *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15(1), 40-49.
- [31] Dickinson, E. (2009). "Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers". *Food hydrocolloids*, 23(6), 1473-1482.
- [32] Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). "Recent developments in microencapsulation of food ingredients". *Drying technology*, 23(7), 1361-1394.
- [33] Dziki, D., Różyło, R., Gawlik-Dziki, U., & Świeca, M. (2014). "Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds". *Trends in Food Science & Technology*, 40(1), 48-61.
- [34] Esquerdo, V. M., Dotto, G. L., & Pinto, L. A. A. (2015). "Preparation of nanoemulsions containing unsaturated fatty acid concentrate-chitosan capsules". *Journal of colloid and interface science*, 445, 137-142.
- [35] Espín, J. C., Soler-Rivas, C., & Wichers, H. J. (2000). "Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 648-656.
- [36] 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), 1-16.
- [37] Feng, Y., & Lee, Y. (2016). "Surface modification of zein colloidal particles with sodium caseinate to stabilize oil-in-water pickering emulsion". *Food Hydrocolloids*, 56, 292-302.

- [38] 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), 348-356.
- [39] Fäldt, P., Bergenståhl, B., & Claesson, P. M. (1993). "Stabilization by chitosan of soybean oil emulsions coated with phospholipid and glycocholic acid". *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, 71(2), 187-195.
- [40] Genena, A. K., Hense, H., Smânia Junior, A., & Souza, S. M. D. (2008). "Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide". *Food Science and Technology (Campinas)*, 28(2), 463-469.
- [41] Gad, A. S., & Sayd, A. F. (2015). "Antioxidant properties of rosemary and its potential uses as natural antioxidant in dairy products—A review". *Food and Nutrition Sciences*, 6(01), 179.
- [42] Gao, Z., Zhao, J., Huang, Y., Yao, X., Zhang, K., Fang, Y., ... & Yang, H. (2017). "Edible Pickering emulsion stabilized by protein fibrils. Part 1: Effects of pH and fibrils concentration". *LWT-Food Science and Technology*, 76, 1-8.
- [43] Ghosheh, O. A., Houdi, A. A., & Crooks, P. A. (1999). "High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.)". *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 19(5), 757-762.
- [44] Gali-Muhtasib, H., El-Najjar, N., & Schneider-Stock, R. (2006). "The medicinal potential of black seed (*Nigella sativa*) and its components". *Advances in Phytomedicine*, 2, 133-153.
- [45] 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, 827-837.
- [46] Huffman, M. A. (2003). "Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants". *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(02), 371-381.
- [47] Hamidi, M., Azadi, A., & Rafiei, P. (2008). "Hydrogel nanoparticles in drug delivery". *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1638-1649.
- [48] Ichikawa, H., & Fukumori, Y. (2007). "Design of nanohydrogel-incorporated microcapsules for appropriate controlled-release of peptide drugs". *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 127(5), 813-823.
- [49] 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), 502-508.

- [50] Kargar a, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2011). "Microstructural design to reduce lipid oxidation in oil-in-water emulsions". *Procedia Food Science*, 1, 104-108.
- [51] Kargar b, 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), 527-533.
- [52] Kaskoos, R. A. (2011). "Fatty acid composition of black cumin oil from Iraq". *Res J Med Plant*, 5(1), 85-9.
- [53] 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), 209-215.
- [54] Kurukji, D., Pichot, R., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2013). "Interfacial behaviour of sodium stearylactylate (SSL) as an oil-in-water pickering emulsion stabilizer". *Journal of colloid and interface science*, 409, 88-97.
- [55] Kralova, I., & Sjöblom, J. (2009). "Surfactants used in food industry: a review". *Journal of Dispersion Science and Technology*, 30(9), 1363-1383.
- [56] Kalashnikova, I., Bizot, H., Cathala, B., & Capron, I. (2011). "New Pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals". *Langmuir*, 27(12), 7471-7479.
- [57] Klinkesorn, U. (2013). "The role of chitosan in emulsion formation and stabilization". *Food Reviews International*, 29(4), 371-393.
- [58] Kumar, M. R., Muzzarelli, R., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., & Domb, A. J. (2004). "Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives". *Chemical reviews*, 104(12), 6017-6084.
- [59] Kulmyrzaev, A., Sivestre, M. P., & McClements, D. J. (2000). "Rheology and stability of whey protein stabilized emulsions with high CaCl₂ concentrations". *Food research international*, 33(1), 21-25.
- [60] Kolanowski, W., & Laufenberg, G. (2006). "Enrichment of food products with polyunsaturated fatty acids by fish oil addition". *European Food Research and Technology*, 222(3-4), 472-477.
- [61] Katouzian, I., & Jafari, S. M. (2016). "Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins". *Trends in Food Science & Technology*, 53, 34-48.
- [62] Leclercq, L., & Nardello-Rataj, V. (2016). "Pickering emulsions based on cyclodextrins: a smart solution for antifungal azole derivatives topical delivery". *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82, 126-137.

- [63] Liang, H. N., & Tang, C. H. (2014). "Pea protein exhibits a novel Pickering stabilization for oil-in-water emulsions at pH 3.0". *LWT-Food Science and Technology*, 58(2), 463-469.
- [64] Li, X., & Xia, W. (2011). "Effects of concentration, degree of deacetylation and molecular weight on emulsifying properties of chitosan". *International journal of biological macromolecules*, 48(5), 768-772.
- [65] Liu, H., Wang, C., Zou, S., Wei, Z., & Tong, Z. (2012). "Simple, reversible emulsion system switched by pH on the basis of chitosan without any hydrophobic modification". *Langmuir*, 28(30), 11017-11024.
- [66] Liu, H., Wei, Z., Hu, M., Deng, Y., Tong, Z., & Wang, C. (2014). "Fabrication of degradable polymer microspheres via pH-responsive chitosan-based Pickering emulsion photopolymerization". *RSC Advances*, 4(55), 29344-29351.
- [67] Liu, Z., Jiao, Y., Wang, Y., Zhou, C., & Zhang, Z. (2008). "Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems". *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1650-1662.
- [68] Lu, Q., Li, D. C., & Jiang, J. G. (2011). "Preparation of a tea polyphenol nanoliposome system and its physicochemical properties". *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(24), 13004-13011.
- [69] Leuratti, C., Singh, R., Lagneau, C., Farmer, P. B., Plastaras, J. P., Marnett, L. J., & Shuker, D. E. (1998). "Determination of malondialdehyde-induced DNA damage in human tissues using an immunoslot blot assay". *Carcinogenesis*, 19(11), 1919-1924.
- [70] Lomova, M. V., Sukhorukov, G. B., & Antipina, M. N. (2010). "Antioxidant coating of micronsized droplets for prevention of lipid peroxidation in oil-in-water emulsion". *ACS applied materials & interfaces*, 2(12), 3669-3676.
- [71] Larkin, P. (2011). "Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation". *Elsevier*.
- [72] Matthaus, B., & Ozcan, M. M. (2011). "Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some *Nigella* species seed oil". *Czech J. Food Sci*, 29(2), 145-150.
- [73] Marefati, A., Bertrand, M., Sjö, M., Dejme, P., & Rayner, M. (2017). "Storage and digestion stability of encapsulated curcumin in emulsions based on starch granule Pickering stabilization". *Food Hydrocolloids*, 63, 309-320.
- [74] 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, 543-550.

- [75] McClements, D. J. (2012). "Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities". *Soft matter*, 8(6), 1719-1729.
- [76] McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). "Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components". *Journal of food science*, 72(8), R109-R124.
- [77] McClements, D. J. (1999). "Emulsion rheology". *Food emulsions-Principles, practice and techniques*, 235-266.
- [78] McClements, D. J. (2010). "Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components". *Annual review of food science and technology*, 1, 241-269.
- [79] McClements, D. J., & Li, Y. (2010). "Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components". *Advances in colloid and interface science*, 159(2), 213-228.
- [80] McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). "Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems". *Journal of Food Science*, 65(8), 1270-1282.
- [81] Melle, S., Lask, M., & Fuller, G. G. (2005). "Pickering emulsions with controllable stability". *Langmuir*, 21(6), 2158-2162.
- [82] McClements, D. J. (2015). "*Food emulsions: principles, practices, and techniques*". CRC press.
- [83] Mei, L., Decker, E. A., & McClements, D. J. (1998). "Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5072-5077.
- [84] McClements, D. J. (1999). "Emulsion rheology". *Food emulsions-Principles, practice and techniques*, 235-266.
- [85] 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), 1291-1297.
- [86] Nikovska, K. (2010). "Oxidative stability and rheological properties of oil-in-water emulsions with walnut oil". *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2(3), 172-177.
- [87] Nickavar, B., Mojab, F., Javidnia, K., & Amoli, M. A. R. (2003). "Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran". *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(9-10), 629-631.

- [88] Neethirajan, S., & Jayas, D. S. (2011). "Nanotechnology for the food and bioprocessing industries". *Food and bioprocess technology*, 4(1), 39-47.
- [89] Nanjawade, B. K., Manvi, F. V., & Manjappa, A. S. (2007). "Retracted: In situ-forming hydrogels for sustained ophthalmic drug delivery". *Journal of Controlled Release*, 122(2), 119-134.
- [90] Nazem, H., Mohsenifar, A., & Majdi, S. (2016). "Chitosan-myristate nanogel as an artificial chaperone protects neuroserpin from misfolding". *Advanced biomedical research*, 5.
- [91] 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, 246-252.
- [92] Özcan, M. M., & Arslan, D. (2011). "Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils". *Food Chemistry*, 129(1), 171-174.
- [93] O'Grady, M. N., Maher, M., Troy, D. J., Moloney, A. P., & Kerry, J. P. (2006). "An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef". *Meat science*, 73(1), 132-143.
- [94] Kabanov, A. V., & Vinogradov, S. V. (2009). "Nanogels as pharmaceutical carriers: finite networks of infinite capabilities". *Angewandte Chemie International Edition*, 48(30), 5418-5429.
- [95] Piorkowski, D. T., & McClements, D. J. (2014). "Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications". *Food Hydrocolloids*, 42, 5-41.
- [96] Paunov, V. N., Cayre, O. J., Noble, P. F., Stoyanov, S. D., Velikov, K. P., & Golding, M. (2007). "Emulsions stabilised by food colloid particles: Role of particle adsorption and wettability at the liquid interface". *Journal of colloid and interface science*, 312(2), 381-389.
- [97] Pardini, R. S. (2006). "Nutritional intervention with omega-3 fatty acids enhances tumor response to anti-neoplastic agents". *Chemico-biological interactions*, 162(2), 89-105.
- [98] Peng, H., Xiong, H., Li, J., Xie, M., Liu, Y., Bai, C., & Chen, L. (2010). "Vanillin cross-linked chitosan microspheres for controlled release of resveratrol". *Food Chemistry*, 121(1), 23-28.
- [99] Rodriguez, M. S., Albertengo, L. A., & Agullo, E. (2002). "Emulsification capacity of chitosan". *Carbohydrate polymers*, 48(3), 271-276.

- [100] Raemdonck, K., Demeester, J., & De Smedt, S. (2009). “Advanced nanogel engineering for drug delivery”. *Soft Matter*, 5(4), 707-715.
- [101] Rao, K. K., Reddy, P. R., Lee, Y. I., & Kim, C. (2012). “Synthesis and characterization of chitosan–PEG–Ag nanocomposites for antimicrobial application”. *Carbohydrate polymers*, 87(1), 920-925.
- [102] Rushmi, Z. T., Akter, N., Mow, R. J., Afroz, M., Kazi, M., de Matas, M., ... & Shariare, M. H. (2017). “The impact of formulation attributes and process parameters on black seed oil loaded liposomes and their performance in animal models of analgesia”. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(3), 404-412.
- [103] Schmitt, F., Lagopoulos, L., Käuper, P., Rossi, N., Busso, N., Barge, J., ... & Juillerat-Jeanneret, L. (2010). “Chitosan-based nanogels for selective delivery of photosensitizers to macrophages and improved retention in and therapy of articular joints”. *Journal of Controlled Release*, 144(2), 242-250.
- [104] 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, 256-263.
- [105] Sun, Y. E., Wang, W. D., Chen, H. W., & Li, C. (2011). “Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion”. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(5), 453-466.
- [106] 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, 369-377.
- [107] Schulz, P. C., Rodriguez, M. S., Del Blanco, L. F., Pistonesi, M., & Agullo, E. (1998). “Emulsification properties of chitosan”. *Colloid & Polymer Science*, 276(12), 1159-1165.
- [108] Sakai, T. (2008). “Surfactant-free emulsions”. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 13(4), 228-235.
- [109] Schmidts, T., Dobler, D., Guldan, A. C., Paulus, N., & Runkel, F. (2010). “Multiple W/O/W emulsions—Using the required HLB for emulsifier evaluation”. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 372(1), 48-54.
- [110] Silvestre, M. P. C., Chaiyasit, W., Brannan, R. G., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2000). “Ability of surfactant headgroup size to alter lipid and antioxidant oxidation in oil-in-water emulsions”. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(6), 2057-2061.
- [111] Salem, M. L., & Hossain, M. S. (2000). “Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection”. *International journal of immunopharmacology*, 22(9), 729-740.

- [112] Schrade, A., Landfester, K., & Ziener, U. (2013). "Pickering-type stabilized nanoparticles by heterophase polymerization". *Chemical Society Reviews*, 42(16), 6823-6839.
- [113] Semo, E., Kesselman, E., Danino, D., & Livney, Y. D. (2007). "Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals". *Food Hydrocolloids*, 21(5), 936-942.
- [114] Salminen, H., Helgason, T., Kristinsson, B., Kristbergsson, K., & Weiss, J. (2013). "Formation of solid shell nanoparticles with liquid ω -3 fatty acid core". *Food chemistry*, 141(3), 2934-2943.
- [115] Sasaki, Y., & Akiyoshi, K. (2010). "Nanogel engineering for new nanobiomaterials: from chaperoning engineering to biomedical applications". *The Chemical Record*, 10(6), 366-376.
- [116] Saberi, A. H., Fang, Y., & McClements, D. J. (2013). "Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification". *Journal of colloid and interface science*, 391, 95-102.
- [117] Tadros, T. (2004). "Principles of emulsion stabilization with special reference to polymeric surfactants". *Journal of Cosmetic Science*, 55(4), 406-407.
- [118] Tzoumaki, M. V., Moschakis, T., Kiosseoglou, V., & Biliaderis, C. G. (2011). "Oil-in-water emulsions stabilized by chitin nanocrystal particles". *Food hydrocolloids*, 25(6), 1521-1529.
- [119] Taherian, A. R., Britten, M., Sabik, H., & Fustier, P. (2011). "Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion". *Food Hydrocolloids*, 25(5), 868-878.
- [120] Takruri, H. R., & Dameh, M. A. (1998). "Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa*L)". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3), 404-410.
- [121] 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.
- [122] Tsabet, È., & Fradette, L. (2015). "Effect of the properties of oil, particles, and water on the production of Pickering emulsions". *Chemical Engineering Research and Design*, 97, 9-17.
- [123] Turasan, H., Sahin, S., & Sumnu, G. (2015). "Encapsulation of rosemary essential oil". *LWT-Food Science and Technology*, 64(1), 112-119.
- [124] Vahdati-Mashhadian, N., Rakhshandeh, H., & Omid, A. (2005). "An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice". *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60(7), 544-547.

- [125] Wang, L. J., Yin, S. W., Wu, L. Y., Qi, J. R., Guo, J., & Yang, X. Q. (2016). "Fabrication and characterization of Pickering emulsions and oil gels stabilized by highly charged zein/chitosan complex particles (ZCCPs)". *Food Chemistry*, 213, 462-469.
- [126] Wang, X. H., Li, D. P., Wang, W. J., Feng, Q. L., Cui, F. Z., Xu, Y. X., ... & van der Werf, M. (2003). "Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers". *Biomaterials*, 24(19), 3213-3220.
- [127] Wang, X. Y., & Heuzey, M. C. (2016). "Chitosan-Based Conventional and Pickering Emulsions with Long-Term Stability". *Langmuir*, 32(4), 929-936.
- [128] Weiss, J., Decker, E. A., McClements, D. J., Kristbergsson, K., Helgason, T., & Awad, T. (2008). "Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components". *Food Biophysics*, 3(2), 146-154.
- [129] Wong, S. F., Lim, J. S., & Dol, S. S. (2015). "Crude oil emulsion: a review on formation, classification and stability of water-in-oil emulsions". *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 135, 498-504.
- [130] Wei, Z., Wang, C., Zou, S., Liu, H., & Tong, Z. (2012). "Chitosan nanoparticles as particular emulsifier for preparation of novel pH-responsive Pickering emulsions and PLGA microcapsules". *Polymer*, 53(6), 1229-1235.
- [131] 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), 2514-2524.
- [132] Xiao, J., Wang, X. A., Gonzalez, A. J. P., & Huang, Q. (2016). "Kafirin nanoparticles-stabilized Pickering emulsions: Microstructure and rheological behavior". *Food Hydrocolloids*, 54, 30-39.
- [133] Yusoff, A., & Murray, B. S. (2011). "Modified starch granules as particle-stabilizers of oil-in-water emulsions". *Food Hydrocolloids*, 25(1), 42-55.
- [134] Zhang, S., Zhou, Y., & Yang, C. (2015). "Pickering emulsions stabilized by the complex of polystyrene particles and chitosan". *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 482, 338-344.
- [135] 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, 251-256.
- [136] Ziaee, M., Moharrampour, S., & Mohsenifar, A. (2014). "Toxicity of *Carum copticum* essential oil-loaded nanogel against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*". *Journal of Applied Entomology*, 138(10), 763-771.

- [137] 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), 691-699.
- [138] Zhu, Y., Jiang, J., Liu, K., Cui, Z., & Binks, B. P. (2015). "Switchable Pickering emulsions stabilized by silica nanoparticles hydrophobized in situ with a conventional cationic surfactant". *Langmuir*, 31(11), 3301-3307.
- [139] Zha, L., Banik, B., & Alexis, F. (2011). "Stimulus responsive nanogels for drug delivery". *Soft Matter*, 7(13), 5908-5916.

Abstract:

The aim of this study was to examine black seed oil in water Pickering emulsion stabilized with chitosan (CS)-stearic acid (SA) nanogel, and to investigate oxidative stability by using rosemary essential oil (REO) as a deterrent to the oxidation at the first step, various proportions of SA to CS, CS-SA nanogels were supplied by using the self-assembled method to get a appropriate structure of nanogels. The results of scanning electron microscopy (SEM) images showed that the uniformity of particles was relevant to raise a ratio of SA to CS content. Subsequently, the effect of pH (2, 5, 8, 10 and 12), SA to CS (0, 25, 50 and 75%) and oil to nanogel ratio (1, 5, 10 and 20) on the size of oil droplets and the stability of the emulsions at the 3 hours and the seventh day were investigated. The results showed that the highest stability and minimum droplet size was achieved when sample was run in the flowing condition: pH 8, SA to CS ratio of 75% and oil-to-nanogel ratio of 10. Afterward, the oxidative stability of the pickering emulsion prepared in optimal condition, with using the REO either in shell and core nonogel at 200 and 1000 ppm was evaluated by peroxide and thiobarbituric acid method during 19 days at 45 °C. Much more stability was observed when REO was used in the shell of oil droplets instead of the oil core. The results of this study showed that REO in black seed oil in water pickering emulsion had a critical role in the improving of physical and chemical stability.

Keywords: Pickering emulsion; Chitosan nanogel; Black seed oil; Rosemary essential oil; Oxidative stability.



Faculty of Agriculture
M.Sc. Thesis in Food Industry

Production and oxidative assessment *Nigella sativa* seed oil emulsion stabilized
with nano gel containing *Rosmarinus officinalis* essential oil

By: Seyedeh Maryam Abdollahi

Supervisors:

Dr. Ahamad Rajaie

Dr. Meisam Tabatabaie

Advisor:

Dr. Afshin Mohsenifar

November 2017