

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی

بررسی پایداری فیزیکی و شیمیایی سس مایونز غنی شده با روغن ماهی پوشش داده شده

با نانوذرات کیتوزان به همراه اسانس میخک

نگارنده:

راضیه السادات حسینی

استاد راهنما:

دکتر احمد رجایی نجف آبادی

تیر ۱۳۹۸

با تقدیر و تشکر از:

استاد فرهیخته جناب آقای دکتر رجایی که با نکته های دلاویز و گفته های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمود و همواره راهنما و راهگشای من در تکمیل و اتمام این پایان نامه بوده است.

تعهد نامه

اینجانب راضیه السادات حسینی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه بررسی پایداری فیزیکی و شیمیایی سس مایونز غنی شده با روغن ماهی پوشش داده شده با نانوذرات کیتوزان به همراه اسانس میخک تحت راهنمایی دکتر احمد رجایی نجف آبادی متعهد می شوم.

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

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود .

استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

چکیده

هدف از این پژوهش تولید سس مایونز غنی شده با روغن ماهی درون پوشانی شده بوسیله نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک به همراه اسانس میخک و در ادامه بررسی خواص اکسیداتیو و رئولوژی سس مایونز تولید شده، بود. در مرحله اول اسید استتاریک به زنجیره های کیتوزان برای بهبود خواص امولسیون کنندگی آن اضافه شد. نتایج حاصل از طیف FT-IR تشکیل پیوند بین کیتوزان و اسید استتاریک را تأیید کرد. همچنین، نتایج عکس های میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که تشکیل نانو ذرات با افزودن اسید استتاریک به کیتوزان بهبود یافت. در ادامه اثر غلظت کیتوزان و نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک (۱ و ۲ درصد) و همچنین میزان روغن ماهی (۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد) بر پایداری امولسیون پیکرینگ روغن ماهی به مدت یک هفته نگهداری در دمای محیط با بررسی ضریب خامه ای شدن و همچنین اندازه قطرات روغن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت ۲ درصد پایدار کننده اثر بهتری نسبت به غلظت ۱ درصد در پایداری امولسیون داشت. همچنین با افزایش میزان روغن اندازه قطرات روغن بیشتر شد و امولسیونهای با درصد بالاتر روغن نسبتاً پایدارتر بودند. علاوه بر این نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک نقش پایدار کنندگی بهتری نسبت به کیتوزان داشت. پایدارترین امولسیون روغن ماهی با استفاده از ۲ درصد نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک و ۶۰ درصد روغن ماهی حاصل شد. در ادامه بهترین امولسیون پیکرینگ به همراه اسانس میخک در فرمولاسیون سس مایونز استفاده شد و میزان پایداری اکسیداتیو با آزمونهای پراکسید و TBA در طی زمان بررسی شد. نتایج نشان داد که استفاده از روغن ماهی به صورت درون پوشانی شده باعث افزایش پایداری اکسیداتیو سس مایونز نسبت به حالت درون پوشانی نشده گردید. اما استفاده از ۱۰۰۰ پی پی ام اسانس میخک در سس مایونز اثر قابل توجهی بر پایداری اکسیداتیو نداشت. نتایج حاصل از آزمونهای رئولوژی فرمولاسیون های مختلف سس مایونز نشان داد که استفاده از نانوذله باعث افزایش خاصیت الاستیک سس مایونز شد. این اثر زمانی که نانوذله در ترکیب با اسانس میخک استفاده شد، افزایش یافت.

کلمات کلیدی: روغن ماهی؛ نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک؛ سس مایونز؛ امولسیون پیکرینگ؛

پایداری اکسیداتیو؛ خواص رئولوژی؛ اسانس میخک

فصل اول : کلیات	۱
مقدمه.....	۲
۲-۱- روغن ماهی	۵
۳-۱- درون پوشانی	۵
۴-۱- نانوژل	۷
۱-۳-۱- نانوذرات هیدروژل بر پایه کیتوزان.....	۱۰
۲-۳-۱- نانوذرات مبنی بر کیتوزان با اتصالات عرضی کووالانسی.....	۱۰
۳-۳-۱- نانوذرات مبنی بر کیتوزان با اتصالات عرضی یونی.....	۱۱
۴-۱- امولسیون.....	۱۱
۱-۴-۱- طبقه بندی امولسیون ها	۱۲
۱-۱-۴-۱- امولسیون های کلاسیک.....	۱۲
۲-۱-۴-۱- امولسیون های پیکرینگ.....	۱۲
۲-۴-۱- پایداری امولسیون.....	۱۵
۱-۲-۴-۱- مکانیسم ناپایداری امولسیون.....	۱۵
۱-۱-۲-۴-۱- فلوکولیشن.....	۱۶
۲-۱-۲-۴-۱- کوالسنس.....	۱۷
۳-۱-۲-۴-۱- خامه ای شدن.....	۱۷
۲-۲-۴-۱- روش های پایداری امولسیون.....	۱۸

- ۱-۲-۲-۴-۱- تعاملات کلوئیدی ۱۹
- ۱-۲-۲-۴-۱- نیروی استریک ۱۹
- ۱-۲-۲-۴-۱- نیروی هیدراتاسیون ۱۹
- ۵-۱- توانایی کیتوزان به عنوان امولسیفایر ۲۰
- ۶-۱- سس مایونز ۲۳
- ۷-۱- اکسیداسیون ۲۴
- ۸-۱- اسانس میخک ۲۵
- فصل دوم : مروری بر پژوهش های پیشین ۲۷
- ۱-۲- پژوهش های مربوط به روغن ماهی ۲۸
- ۲-۲- پژوهش های مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی میخک ۲۸
- ۳-۲- پژوهش های مربوط به امولسیون پیکرینگ ۲۹
- ۴-۲- پژوهش های مربوط به نانوذلهای کیتوزان و درون پوشانی اسانس در آن ها ۳۶
- ۵-۲- پژوهش های مربوط به تأثیر امولسیون پیکرینگ بر پایداری اکسیداتیو ۳۶
- فصل سوم : مواد و روش ها ۳۹
- ۱-۳- مواد و وسایل مورد استفاده ۴۰
- ۱-۱-۳- مواد مورد استفاده ۴۰
- ۲-۱-۳- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی ۴۱
- ۲-۳- روش ها ۴۲
- ۱-۲-۳- آماده سازی نانوذلهای کیتوزان - اسید استئاریک ۴۲
- ۲-۲-۳- آزمون FT-IR ۴۳

- ۳-۲-۳- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ۴۳
- ۳-۲-۴- تعیین اسیدهای چرب روغن ماهی با کروماتوگرافی گازی..... ۴۴
- ۳-۲-۵- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ روغن ماهی در آب ۴۴
- ۳-۲-۵-۱- آماده سازی امولسیون پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن..... ۴۴
- ۳-۲-۵-۲- ارزیابی میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن..... ۴۵
- ۳-۲-۵-۳- اندازه گیری میانگین اندازه قطرات ۴۶
- ۳-۲-۶- آزمون میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال (CLSM)..... ۴۷
- ۳-۲-۷- تهیه سس مایونز..... ۴۸
- ۳-۲-۷-۱- ارزیابی پایداری اکسیداتیو امولسیون های روغن ماهی در آب..... ۴۸
- ۳-۲-۷-۱-۱- اندازه گیری میزان پراکسید ۴۸
- ۳-۲-۷-۱-۲- اندازه گیری میزان TBA ۴۹
- ۳-۲-۸- ارزیابی رئولوژی..... ۴۹
- ۳-۲-۹- تجزیه تحلیل آماری ۵۰
- فصل چهارم : نتایج و بحث..... ۵۱
- ۴-۱- پروفایل اسیدهای چرب روغن ماهی ۵۲
- ۴-۲- بررسی ساختار نانوذله های کیتوزان - اسید استئاریک ۵۳
- ۴-۲-۱- نتایج FT-IR ۵۳
- ۴-۲-۲- آزمون میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) ۵۵
- ۴-۳- بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ ۵۸
- ۴-۴- بررسی اثر اسانس میخک درون پوشانی شده بر شکل و اندازه ذرات نانوذله ۶۶
- ۴-۵- ارزیابی میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال (CLSM) ۶۷
- ۴-۶- اندازه گیری پایداری اکسیداتیو ۶۹

۷۳ ۷-۴- اندازه گیری رئولوژیکی

۷۸ ۸-۴- نتیجه گیری

۷۹ ۹-۴- پیشنهادات

۸۰ منابع

فهرست اشکال

- شکل ۱-۱: طبقه بندی نانوژل ها بر اساس ساختارشان [Sharma et al., 2014] ۸
- شکل ۱-۲: تصویر شماتیک یک امولسیون معمولی و امولسیون پیکرینگ [Chevalier and Bolzinger, 2013] ۱۳
- شکل ۱-۳: تصویر جذب ذرات جامد در سطح مشترک روغن / آب و تأثیر اندازه زاویه بر روی نوع امولسیون ۱۴
- شکل ۱-۴: مکانیسم های ناپایداری در امولسیون های روغن در آب ۱۵
- شکل ۱-۵: تصویر شماتیکی نشستی (a) و ایجاد پل (b) مکانیسم فلوکولیشن در حضور یک پلیمر [Bouyer et al., 2012] ۱۶
- شکل ۱-۶: تشکیل امولسیون های چند لایه [McClements and Li, 2010] ۲۰
- شکل ۱-۷: پتانسیل برهمکنش های الکترواستاتیک کیتوزان در سطح قطرات امولسیون [Klinkesorn, 2013] ۲۱
- شکل ۱-۸: تشکیل امولسیون پیکرینگ واکنش دهنده به pH با استفاده از کیتوزان [Liu et al., 2012] ۲۳
- شکل ۱-۳: دستگاه رئومتر ۵۰
- شکل ۱-۴: طیف های FT-IR مربوط به الف: کیتوزان، ب: اسید استئاریک، ج: نانوژل کیتوزان - اسید استئاریک ۵۴
- شکل ۲-۴: تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی کیتوزان (الف)، نانوژل کیتوزان - اسید استئاریک (ب) ۵۶

شکل ۳-۴: تصاویر نمونه های امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک (۱ و ۲ درصد) و کیتوزان (۱ و ۲ درصد) در مقادیر مختلف ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی ۵۸

شکل ۴-۴-الف: تصاویر میکروویکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن ماهی در مقادیر مختلف پس از ۳ ساعت آماده سازی ۶۲

شکل ۴-۴-ب: تصاویر میکروویکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن ماهی در مقادیر مختلف پس از ۷ روز آماده سازی ۶۳

شکل ۴-۵: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده در مقادیر مختلف روغن ماهی و غلظت (۱٪ و ۲٪) بعد از ۳ روز (الف)..... ۶۴

شکل ۴-۵: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده در مقادیر مختلف روغن ماهی و غلظت (۱٪ و ۲٪) بعد از ۷ روز (ب) آماده سازی ۶۵

شکل ۴-۶: عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک حاوی اسانس میخک ۶۷

شکل ۴-۷: عکس های میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک الف: فاز روغنی رنگ شده با Nile red ب: نانوذله رنگ شده با FITC ج: ترکیب عکس الف و ب ۶۸

شکل ۴-۸: ویسکوزیته ظاهری در مقابل سرعت برشی نمونه های مختلف ۷۴

شکل ۴-۹: ضریب ذخیره و ضریب اتلاف نمونه های الف: سس (شاهد)، ب: سس + نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک، ج: سس + نانوذله و اسانس میخک ۷۶

شکل ۴-۱۰: اثر نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک و اسانس میخک بر ضریب ذخیره (الف) و ضریب اتلاف

(ب) ۷۷

فهرست جداول

- جدول ۱-۳: ترکیبات مهم اسانس میخک ۴۰
- جدول ۳-۲: فرمولاسیون سس مایونز ۴۱
- جدول ۱-۴: نوع و درصد اسیدهای چرب روغن ماهی ۵۲
- جدول ۴-۲: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در مقادیر مختلف روغن در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معناداری در سطح $p < 0.05$ است ۶۰
- جدول ۳-۴: میانگین و انحراف معیار مقادیر تست پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸ و ۱۲ نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد ۷۰
- جدول ۴-۴: میانگین و انحراف معیار مقادیر تست TBA تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸ و ۱۲ نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد ۷۲

فصل اول:

کلیات

مقدمه

با افزایش آگاهی و شیوع بیماری های مزمن نظیر فشار خون بالا، سرطان، افسردگی، بیماری قلبی و آلزایمر مصرف جهانی مکمل های غذایی و محصولات حاوی روغن ماهی به سرعت افزایش یافته است [Aronson et al., 2001]. روغن ماهی، منبع اصلی امگا ۳ که جزء اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA^۱) است، می باشد [Kolanowski and Berger, 1999]. تفاوت های میان اسید های چرب امگا ۳ و ۶ به دلیل متفاوت بودن موقعیت پیوند دو گانه است و نقش ضروری را برای متابولیسم بدن و تولید ایکوزانوئید ها ایفا می کنند [Moghadasian, 2008]. اکثر مزایای روغن ماهی ها می توانند به دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA^۲) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA^۳)، نسبت داده شوند. [Moghadasian, 2008] از جمله بیماری هایی که اسید های چرب امگا ۳ در بهبود آنها نقش دارند شامل بیماری های قلبی - عروقی، سرطان سینه و پروستات، میگرن و انواع سردرد ها، استرس، نارواری، بیماری های گوارشی، اختلالات بینایی، سکت، دیابت، اختلالات روده ای - معده ای می باشد [Gao and Oomah, 1998]. اسید های چرب امگا ۳ به دلیل کاربرد های درمانی و تغذیه ای زیادی که دارند در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته اند اما حساسیت بالای آنها به اکسیداسیون استفاده آنها را در مواد غذایی را دچار مشکل کرده است. روشهای مختلفی برای محافظت از این ترکیبات از جمله استفاده از آنتی اکسیدان و درون پوشانی وجود دارد [Faraji and Decker, 2004]. در سالهای اخیر آگاهی مصرف کنندگان از اثرات سمی آنتی اکسیدان های مصنوعی باعث استقبال مصرف کنندگان از مواد افزودنی طبیعی شده است [Faraji and Decker, 2004]. اسانس ها منابع خوبی از آنتی اکسیدان ها هستند که دارای پتانسیل بالایی به دلیل حذف رادیکال آزاد و جلوگیری از پرواکسیدان های چربی ها در حفظ سلامت بشر دارند همچنین این ترکیبات دارای خاصیت ضدسرطانی می باشند [Nickavar and Mojab, 2003]. اسانس گیاه میخک هندی با نام علمی *daphne odora* از

¹ PUFA: Polyunsaturated fatty acid

² DHA: Docosahexaenoic acid

³ EPA: Eicosapentaenoic acid

جمله قویترین آنتی اکسیدان های طبیعی می باشد. ترکیب شیمیایی موجود در اسانس میخک شامل اوژنول، اربوفیلین ، الکل بنزیلیک ، بنزوات دو متیل ، فورفول و اتیلن می باشد [Cai and Wu, 1996]

امولسیون های روغن در آب به عنوان وسیله ای برای ارائه طعم دهنده های لیپوفیلی، آنتی اکسیدان ها، چربی های عملکردی و سایر ترکیبات زیست فعال به طور گسترده در زمینه ی غذا، تغذیه و دارو مورد استفاده قرار می گیرند [Shinoda and Saito, 1969]. انواع مختلف امولسیفایر ها می توانند برای تثبیت سینتیکی امولسیونهای غذا استفاده شوند، اما سورفاکتانت های معمولی اثرات نامطلوب بر ایمنی غذا دارند. در سالهای اخیر، علاقه به استفاده از ذرات یا نانو ذرات سازگار با مواد غذایی برای تثبیت امولسیونهای مواد غذایی افزایش یافته است ([Gallarate et al., 2009]). امولسیونهای تثبیت شده با مواد جامد، که معمولا به عنوان امولسیون پیکرینگ شناخته می شوند، از ذرات جامد با آگریزی استفاده می کنند که در میان دو مایع غیر قابل امتزاج جذب می شوند تا مانع در برابر جمع شدن قطرات امولسیون شوند [Ramos and Albertengo, 2003]. امولسیون کننده های پیکرینگ اثر ثبات دراز مدت و توزیع باریک از اندازه قطرات را ارائه می دهند [Ramos and Albertengo, 2003] تثبیت کننده های ذره ای که به طور گسترده برای امولسیون های پیکرینگ استفاده می شوند عبارتند از: سیلیس، آلومینا ، موم ، ذرات رس و اکسید تیتانیوم [Ramos and Albertengo, 2003]. اکثر ذرات نام برده آبدوست اند، به همین علت این ذرات نمی توانند نقش پایدار کنندگی خوبی را در امولسیون ایفا کنند. در این حالت باید اصلاح سطح در آنها انجام پذیرد، به طوری که هر دو خاصیت آبدوستی و آگریزی را داشته باشند [Aveyard and Clint, 2003].

با این حال اعمال مستقیم این امولسیفایرها به مواد غذایی به دلیل قوانین ایمنی مواد غذایی و غیر قابل تجزیه بودن بیولوژیکی یا غیر سازگاری امولسیفایر بسیار محدود است [Aveyard and Clint, 2003]. برخی از نانو ذرات پلی ساکارید یا ذراتی مانند کیتین ، سلولز ، چربی ، پروتئین و فلاونوئیدها به عنوان امولسیفایر جامد در امولسیون های پیکرینگ o/w استفاده شده است [Zeng et al., 2017]. در دسترس

بودن این ذرات و سهولت نسبی آنها در تولید همراه با قابلیت تجزیه زیستی و ویژگی های غیر سمی آنها، استفاده از این تثیت کننده ها را برای جایگزینی امولسیفایرهای معمولی تشویق می کند [Zeng]. [et al., 2017] مطالعات در مورد نانو ذرات که به عنوان تثبیت کننده های امولسیون مورد استفاده قرار می گیرند، هنوز کمیاب هستند، هرچند که به وضوح نشان دهنده یک زمینه تحقیق در حال رشد است. بنابراین تهیه نانوذرات موثر با استفاده از مواد غذایی در مقیاس تجاری همچنان یک چالش مهم در حوزه ی امولسیون مواد غذایی است.

محققان زیادی اکسایش چربیها و روغنهای امولسیونهای مواد غذایی 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 امولسیونها پدیده پیچیده ای است و عوامل موثر بر آن پیچیده تر و متنوع تر هستند: قطرات روغن، بار الکتریکی امولسیون، نوع و اندازه امولسیفایر، رفتار امولسیفایر در فصل مشترک آب و روغن از جمله عوامل موثر بر واکنشهای اکسایش چربی در امولسیونها می باشند [Frankel, 1980].

اگرچه ویژگیهای مناسب امولسیون پیکرینگ در سالهای گذشته در مطالعات مختلفی گزارش شده است اما پژوهش های اندکی در زمینه استفاده از این نوع امولسیون در صنعت غذا وجود دارد. یکی از سامانه های غذایی دارای درصد بالای روغن، سس مایونز است. در واقع مایونز فرآورده ی غذایی است که به صورت امولسیون روغن در آب و دارای بو و مزه ملایم و pH تقریبا ۴ می باشد [Yamauchi and Mikuni, 1999]. در سالهای اخیر در تحقیقات مختلفی از سس مایونز به عنوان یک منبع اسیدهای چرب امگا ۳ که عمدتا روغن ماهی بوده است به همراه ترکیبات آنتی اکسیدانی مختلف استفاده شده است.

با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این تحقیق استفاده از روش امولسیون پیکرینگ برای پوشش روغن ماهی با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک و در ادامه استفاده از آن در سس مایونز و بررسی خصوصیات سس مایونز می باشد.

۱-۱- روغن ماهی

اهمیت اسیدهای چرب اشباع نشده $n-6$ ^۴ و $n-3$ ^۵ به عنوان ترکیبات ضروری در رژیم های غذایی انسان و نقش روغن ماهی به عنوان منبع شناخته شده است [Sargent and Henderson, 1995]. اسیدهای چرب امگا ۳ خانواده ای از اسیدهای چرب اشباع نشده هستند که اولین پیوند دوگانه آنها بین سومین و چهارمین کربن از سمت متیل انتهایی در زنجیره اسید چرب قرار گرفته است [Wang and Ouyang, 2014]. به دلیل حضور در غشاء سلول برای تنظیم فعالیت های بدن انسان ضروری هستند ولی در بدن ساخته نمی شوند، لذا نیاز است که آنها را از غذا تأمین نمود [Goodhart and Shils, 1980].

امگا ۳ از سه اسید چرب تشکیل شده است که عبارتند از: آلفا لینولینیک اسید (ALA)، دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA) و ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA). آلفا لینولینیک اسید در گردو، دانه های چیا، برخی از انواع لوبیا و روغن کتان و زیتون یافت می شود. دو اسید چرب دیگر در روغن ماهی وجود دارد [Larsen and Boeckner, 2005].

۱-۲- درون پوشانی

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، فیتواسترول ها، لوتئن، اسیدهای چرب و لیکوپن و سلول های زنده مثل پروبیوتیک ها در درون غذاها است [De vos et al., 2010]. 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

امگا ۶: $n-6$ ^۴

امگا ۳: $n-3$ ^۵

ای 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 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 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 GRASS مجاز باشند. از مهمترین ویژگی مواد پوششی، خوراکی و ایمن، جزء پلیمرهای طبیعی، زیست تخریب پذیر، 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 ۵-۳۰۰

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

نانوژل ها، هیدروژل های سه بعدی از زنجیره های پلیمری در مقیاس نانو می باشند و جزء دسته ی نانوحامل های پلیمری دسته بندی می شوند. اخیراً نانوژل ها را از پلیمرهای طبیعی یا سنتزی تهیه می کنند. پلیمرهای طبیعی به علت 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 پرکاربرد 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 اغلب به صورت ذرات کروی هستند اما با پیشرفت های اخیر می توان نانوژل هایی با اشکال مختلف تولید کرد [Rolland et al., 2005].

انواع مختلفی از نانوژل ها مانند: نانوژل های ساده، نانوژل های تو خالی حساس به pH یا دما، نانوژل های هسته - پوسته، نانوژل های مویی، نانوژل های چند عاملی و چند لایه ای که بر اساس ساختارشان طبقه بندی می شوند وجود دارند (شکل ۱-۱).

ردیف	نوع نانوژل	شکل شماتیکی
۱	ساده	
۲	توخالی	
۳	هسته- پوسته	
۴	مویی	
۵	چند لایه‌ای	
۶	عامل دار شده	

شکل ۱-۱: طبقه بندی نانوژل ها بر اساس ساختارشان [Sharma et al., 2014]

نانوژل ها به لحاظ خاصیت آب دوستی به دو نوع نانوهیدروژل و نانوآرگانوژل (نانوژل های میسلی) 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 حالی که نانوآرگانوژل ها، نانوژل های آبگریز با گرایش برای مواد روغنی می باشند. در حقیقت نانوآرگانوژل ها، میسل هایی شبیه نانوذرات هستند که وقتی در تماس با آب قرار می گیرند تجمع هایی را تشکیل می دهند که نواحی آبگریز آن ها در مرکز قرار می گیرد [Khalili et al., 2015]. درون پوشانی اسانس های روغنی ضد میکروبی درون نانوآرگانوژل مزایای دیگری از جمله آزاد سازی پایدار و کنترل شده مقدار معین اسانس های روغنی از حامل ها را نیز دارد.

نانوژل ها به دلیل ساختار شیمیایی تنظیم پذیر، ساختار فیزیکی سه بعدی، خواص مکانیکی مناسب، میزان جذب بالای آب و زیست سازگاری در داروسازی، زیست فن اوری و زیست پزشکی کاربرد گسترده ای دارند [Hamidi et al., 2008]. به دلیل خصوصیات هم چون رفتار تحریک پذیر، نرمی و تورم پذیری برای حصول یک پاسخ قابل کنترل در ناحیه هدف مشارکت فعالانه دارند [Kabanov and Vinogradov, 2009; Stuart et al., 2010]. همچنین، ترکیب نانوژل برای انتقال پروتئین، ژن و آنزیم ها به مناطق مورد نظر استفاده می شود [Ayame et al., 2008; Oh et al., 2009]. علاوه بر مزایای بسیار، نانوژل ها دارای محدودیت هایی در راندمان بارگیری مواد و تنظیم رهایش مواد نیز می باشند. همچنین، حضور سورفاکتانت و مونومرها در فرمولاسیون نانوژل ممکن است اثر سوء داشته باشد [Sharma et al., 2016].

بارگذاری دارو و ترکیبات مورد نظر در سه روش : ۱- افزایش مستقیم ۲- دیالیز ۳- غوطه وری صورت می گیرد. در روش افزایش مستقیم مواد مورد نظر در فاز آبی امولسیون، در ترکیب با مونومرها قبل از تهیه ی نانوژل حل می شوند. در روش دیالیز، بارگیری از طریق قرار دادن کیسه ی دیالیز حاوی ذرات پلیمر در محلول دارو یا ماده مورد نظر در آب انجام می شود و سپس از طریق شست و شو مواد اضافه و رها شده، باید حذف گردد. در روش آخر نانوژل را به مدت 24 ساعت در محلول فوق اشباع از ماده قرار داده تا بارگیری صورت گیرد [Sahiner et al., 2007].

نانوژل ها را می توان در دو دسته براساس ساختار شبکه کننده شان طبقه بندی کرد: شبکه کننده های شیمیایی که نانوژل ها به وسیله ی پیوند کوالانسی شبکه تشکیل می دهند و شبکه کننده های فیزیکی نانوژل ها که با پیوندهای غیر کوالانسی مانند پیوند هیدروژنی، برهم کنش های الکترواستاتیکی و آگریزی شبکه تشکیل می دهند [Sasaki, Akiyoshi, 2010].

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].

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 بسیار 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 نانو کپسوله 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، الیگونوکلوئوتیدها 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 بودند سنتز شدند. برای تهیه این نانوکره ها از گلو تار آلدهید 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 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]

۱-۴- امولسیون

امولسیون مخلوط دو یا چند مایع غیرقابل امتزاج، که یکی از مایع ها به صورت قطراتی که معمولاً قطر آن ها بیشتر از ۰/۱ 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 اغلب آب و روغن است [فاطمی، ۱۳۷۸]. امولسیون ها از دو فاز که شامل فاز پراکنده و فاز پیوسته تشکیل می شوند. مرز بین دو فاز، مرز میانی نامیده می شود. فرآیند امولسیون سازی، پراکندگی دو مایع غیرقابل امتزاج در حضور امولسیفایر می باشد که مولکول های آمفیفیلیک 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. برای مثال، هنگامی که اندازه قطرات بیشتر از یک میکرون باشد محیط شیری رنگ است ولی وقتی اندازه به کمتر از ۰/۵ میکرون کاهش می یابد محیط شفاف می گردد. 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.

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.

۱-۴-۱- طبقه بندی امولسیون ها

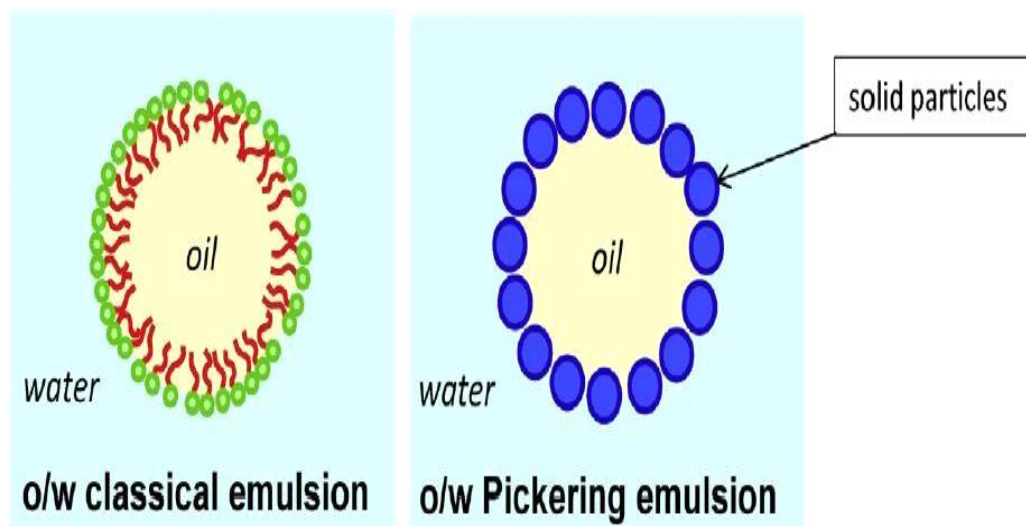
بر اساس عامل امولسیون کننده، امولسیون ها به دو دسته امولسیون های کلاسیک و پیکرینگ تقسیم می شوند.

۱-۱-۴-۱- امولسیون های کلاسیک

امولسیون های کلاسیک با عوامل فعال سطحی مانند سورفکتانت ها (مولکول های آمفیپاتیک کوچک که دارای هر دو گروه آبدوست و آبگریز می باشند برای مثال پروتئین ها) پایدار می شوند [Tadros, 2004; Sakai, 2008].

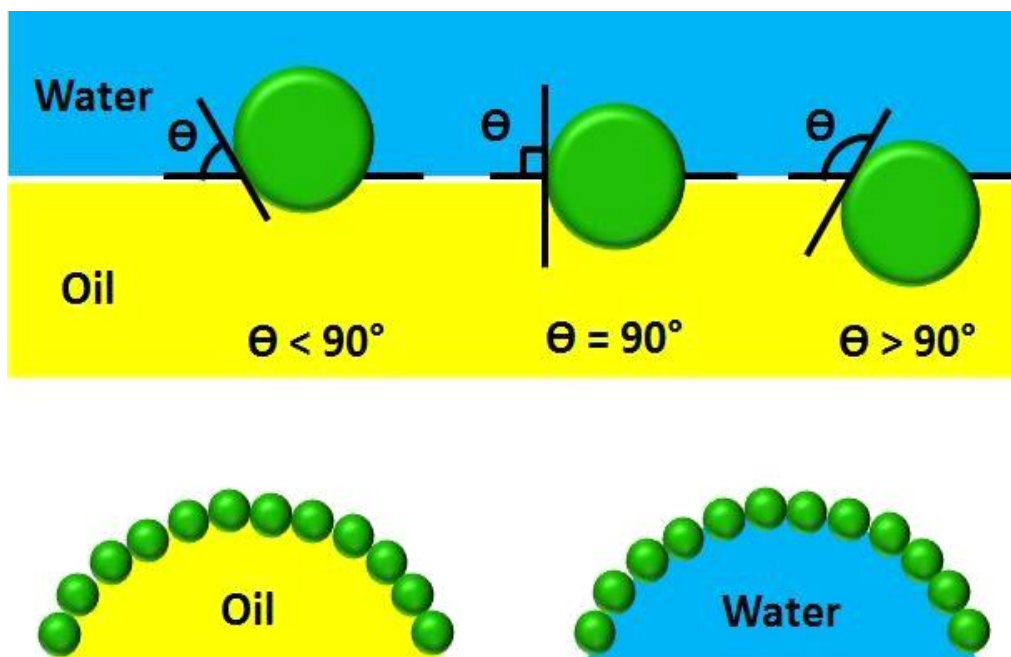
۱-۲-۴-۱- امولسیون های پیکرینگ

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 (۱-۲) نشان داده شده است. 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 (آب/روغن/آب و روغن/آب/روغن) تقسیم می شوند.



شکل ۱-۲: تصویر شماتیک یک امولسیون معمولی و امولسیون پیکرینگ [Chevalier and Bolzinger, 2013]

برخلاف امولسیون های ساده، قابلیت ترشوندگی (توانایی یک مایع در برقراری تماس با سطح جامد) این ذرات در سطح مشترک آب - روغن، پایداری و نوع امولسیون پیکرینگ را مشخص می کند [Wei et al., 2012]. این مشخصه به وسیله خصوصیات آب دوستی و آب گریزی سطح ذرات تعیین می شود [Han yan et al., 2015]. تحقیقات نشان داده که ذرات با ترشوندگی متوسط ($\Theta=90$) خصوصیات بهینه ای برای پایداری امولسیون دارد. اگر زاویه تماس ($\Theta>90$) امولسیون آب در روغن و اگر زاویه تماس ($\Theta<90$) امولسیون روغن در آب است. ذرات با آب دوستی و آبگریزی بالا توانایی پایدار کردن هیچ گونه امولسیونی را ندارند [Zhang et al., 2017].



شکل ۱-۳: تصویر جذب ذرات جامد در سطح مشترک روغن / آب و تأثیر اندازه زاویه بر روی نوع امولسیون

ذرات جامد که به عنوان پایدار کننده امولسیون پیکرینگ استفاده می شوند، باید دارای ویژگی هایی:

الف- ذرات باید در هر دو فاز پیوسته و پراکنده تر شوند ب- ذرات باید تر شوندگی مناسب داشته باشند تا راندمان جذب سطح مشترک کافی به دست آورند ج- اندازه ذره باید به طور قابل توجهی

کوچکتر از اندازه قطره امولسیون مورد نظر باشد [Xiao et al., 2016].

ذرات کلوئیدی با منشاء غذایی به عنوان پایدار کننده امولسیون پیکرینگ کاربرد بالقوه ای در

فرمولاسیون غذایی و دارویی به منظور دستیابی به رهایش کنترل شده و افزایش پایداری در برابر

اکسیداسیون ترکیبات زیست فعال دارند [Liu and tang, 2016]. این ذرات به طور عمده به سه دسته

اصلی تقسیم می شوند:

الف: پلی ساکاریدی مانند سلولز، کیتین، نانو کریستال های نشاسته

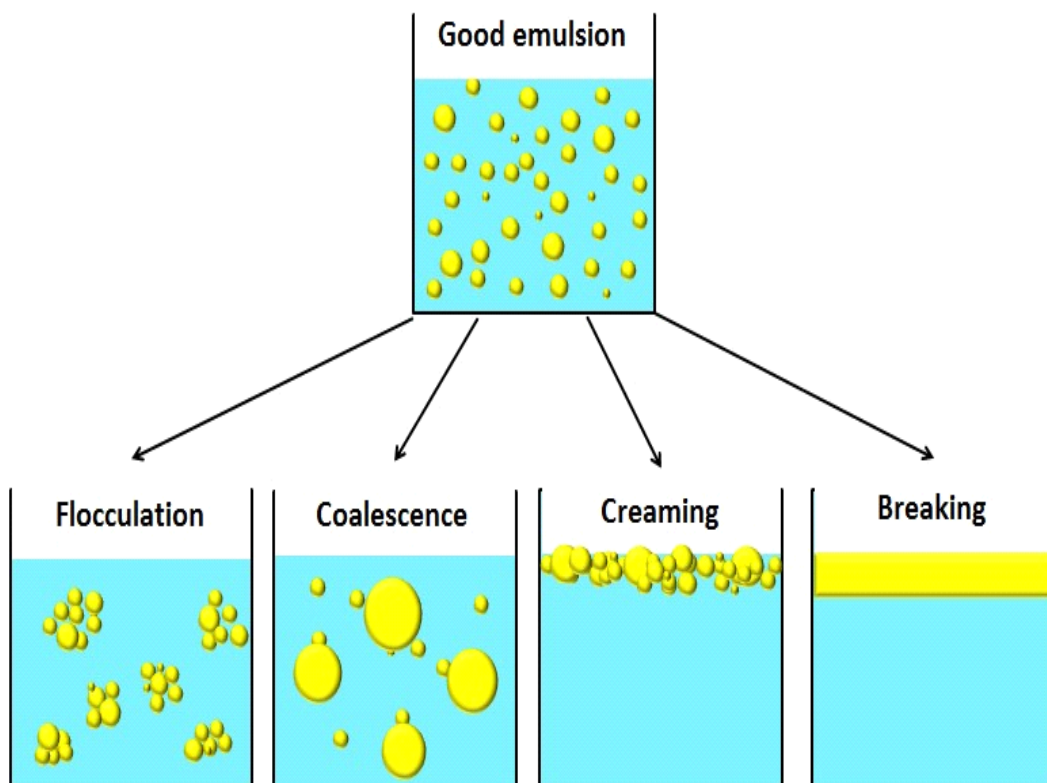
ب: نانوکره مانند زئین، نانو ذرات پروتئین سویا، آب پنیر و نخود فرنگی

ج: انواع دیگر مانند فلاونوئید ها و ذرات لیپیدی جامد

۱-۴-۲- پایداری امولسیون

۱-۴-۲-۱- مکانیسم ناپایداری امولسیون

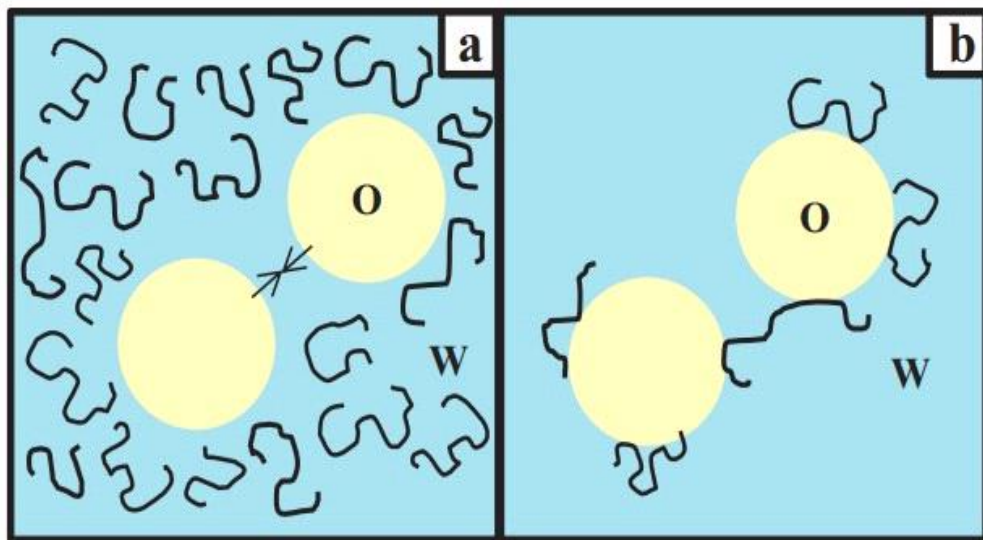
بیشترین قسمت چالش انگیز استفاده از امولسیون ها، پایداری ترمودینامیکی آن هاست. امولسیون ها زمانی که دستخوش تنش های محیطی مانند گرم کردن، منجمد کردن، تغییرات pH و قدرت یونی قرار می گیرند منجر به عدم پایداری فیزیکی آن ها می شود [Dickinson, 2009; McClements et al., 2007]. با توجه به مفهوم ترمودینامیکی، امولسیون 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 فلوکولیشن، کوالسنس، خامه ای شدن و جداسازی فازها که در شکل (۱-۴) نشان داده شده است، ناپایدار می شوند. فلوکولیشن و کوالسنس، اصلی ترین مکانیسم های ناپایداری می باشند.



شکل ۱-۴: مکانیسم های ناپایداری در امولسیون های روغن در آب [Lissant, 1983]

۱-۴-۲-۱-۱-۱-فلوکولیشن

فلوکولیشن 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 (۱-۵) در حضور یک پلیمر نشان داده شد [Bouyer et al., 2012].



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

در فلوکولیشن ذرات به هم چسبیده و تفاوتی در ماهیت ذرات ایجاد نمی شود. در برخی موارد فلوکولیشن برگشت پذیر بوده و با تکان دادن ساده یا استفاده از بهمزن های مغناطیسی شکسته می شود. در حالی که می تواند غیرقابل برگشت باشد و قطرات تمایل به بهم آمیختن پیدا کنند سپس توزیع اندازه قطرات به سمت مقادیر بزرگتر تغییر کند. فلوکولیشن توسط توده ذرات کوچک مانند خوشه انگور به وجود می آید، اما در یک ذره جدید ادغام نمی شوند. در تجمع کاهش وجود ندارد.

۱-۴-۲-۱-۲- کوالسنس

کوالسنس 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 کوالسنس معمولاً زمانی که قطرات در یک بازه زمانی گسترده تر در یک لایه خامه ای یا در حالت فولوکولیت شده دیگر به هم نزدیک شوند رخ می دهد. کوالسنس 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 کوالسنس کاهش سطح می باشد. 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 کوالسنس می شود [McClements, 2010].

۱-۴-۲-۱-۳- خامه ای شدن

بارزترین ویژگی ناپایداری کلوئیدی ته نشینی ذرات، قطرات یا تجمع تحت نیروی ثقل را رسوب یا خامه ای شدن می نامند و بستگی به حرکت فاز پراکنده به سمت بالا یا پایین دارد. 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 یک راهنمای کاربردی برای بررسی رفتار خامه ای شدن با عدم حضور فلوکولیشن می باشد. این قانون سه روش برای جلوگیری از خامه ای شدن را بیان می کند که عبارتند از: کاهش میانگین اندازه قطرات، کاهش اختلاف دانسیته فازهای مختلف یا افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته. روغن های خوراکی مایع، معمولاً دانسیته کمتری نسبت به آب مایع دارند و بنابراین خامه ای شدن در امولسیون های روغن در آب رایج تر است. 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 [McClements, 2010].

۱-۴-۲-۲- 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، با به کارگیری امولسیون کننده که یک سر محلول در آب و سر دیگر محلول در روغن می باشد می تواند باعث پایداری امولسیون شود. در چنین حالتی امولسیون کننده ی به کار گرفته شده می تواند کشش بین سطحی روغن و آب را تا ۲۰۰ مرتبه کاهش دهد. هیدروکلوئیدها 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 هیدروکلوئیدهایی 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. برخی پروتئین ها و مشخصاً ژلاتین نیز می توانند سبب پایداری امولسیون های غذایی شوند [فاطمی، ۱۳۷۸]. در پایداری 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) 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 با ایجاد پایداری الکترواستاتیک و استریک مانع از فلوکولیشن و کوالسنس می شوند. در برخی موارد پلی ساکاریدهای تغلیظ کننده و ژل های پلیمر زیستی تحرک قطرات امولسیون و حرکت قطرات را به وسیله افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته کاهش می دهند. ذرات کوچک مانند امولسیفایرهای پیکرینگ با جذب محکم در سطح قطرات و ایجاد دیواره فیزیکی محافظتی از پدیده کوالسنس همان طور که گفته شد جلوگیری می کنند. این

باید مورد توجه قرار گیرد 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].

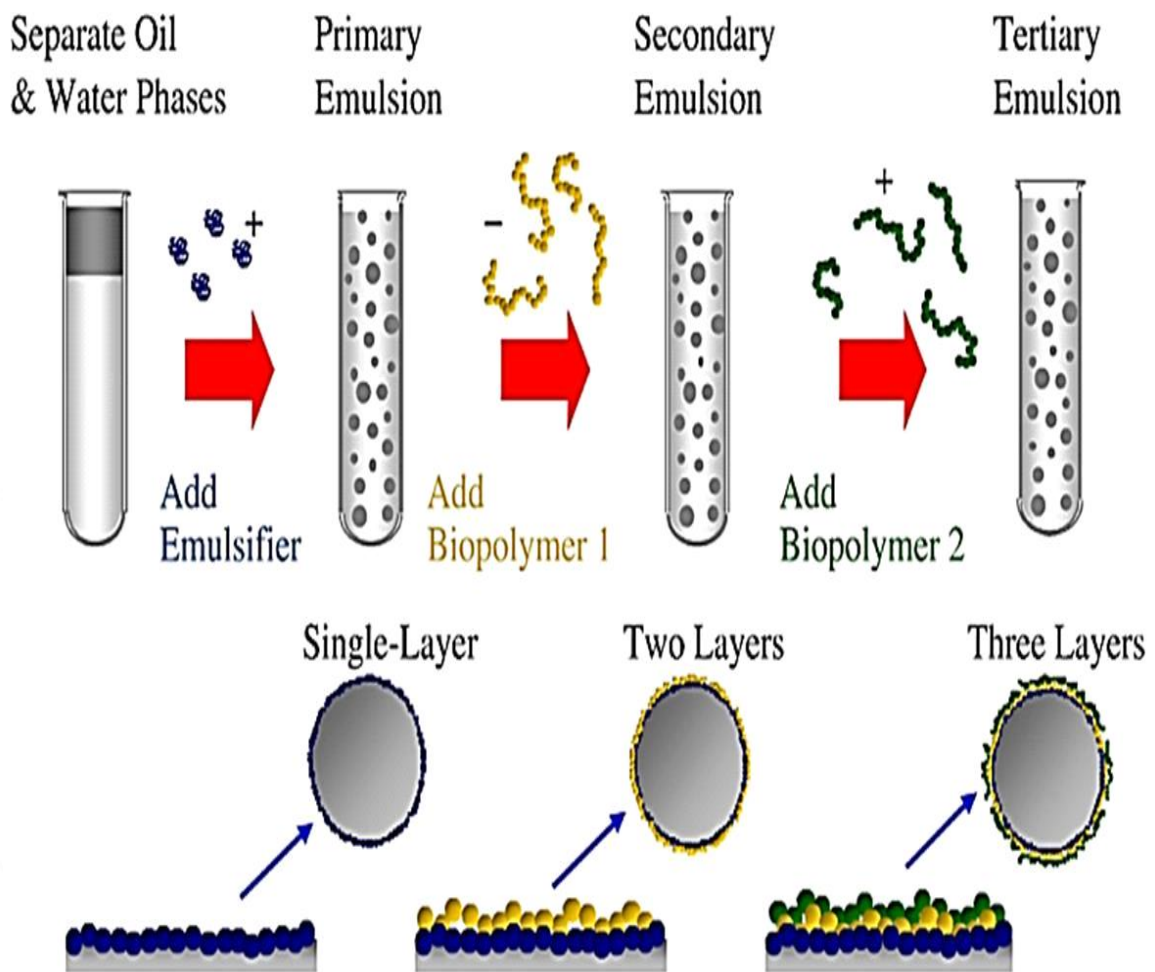
۱-۴-۲-۱- تعاملات کلوئیدی

۱-۴-۲-۱- نیروی استریک

برهم کنش دو قطره امولسیون وقتی خیلی به هم نزدیک می شوند و دافعه غالب و مانع ادغام شدن ذرات در هم می شود

۱-۴-۲-۱- نیروی هیدراتاسیون

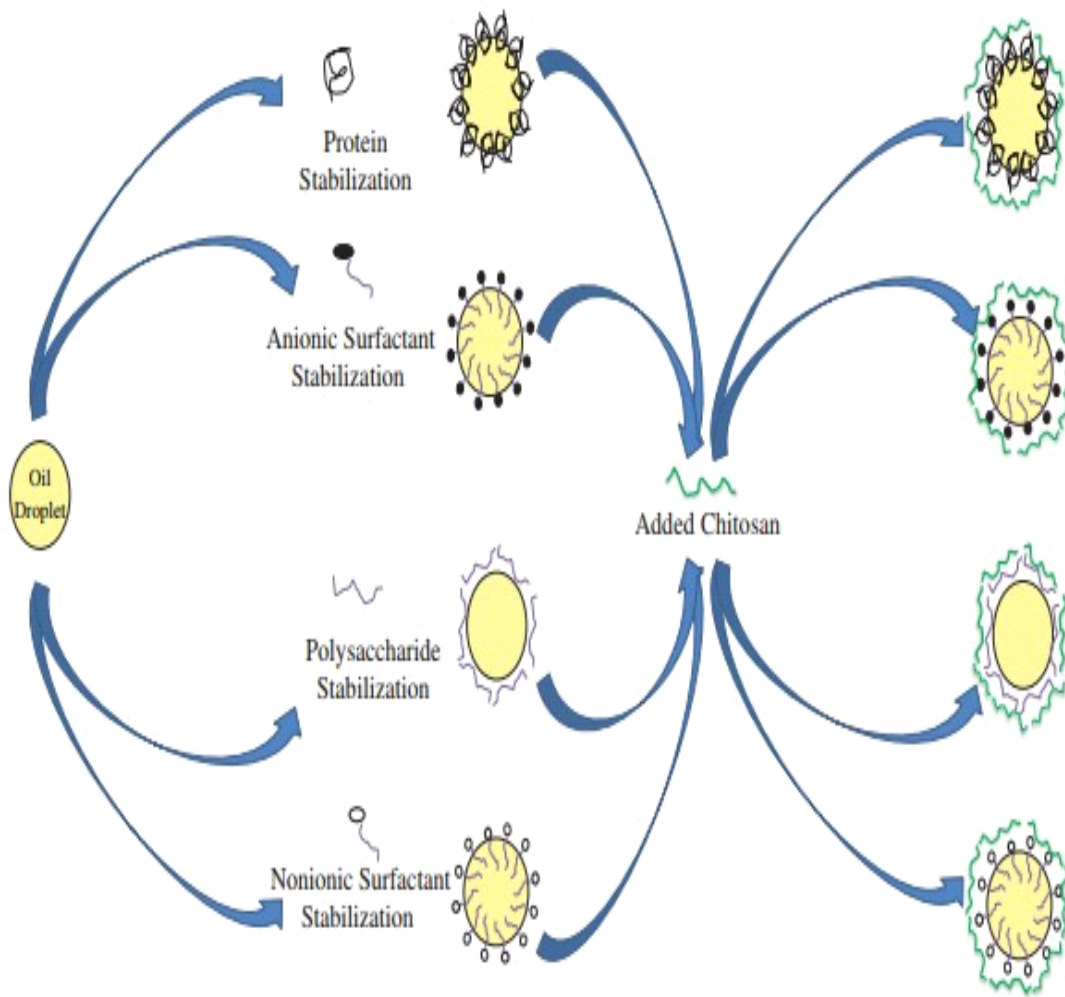
نیرو ناشی از مولکول های آبی است که در اطراف مولکول های قطبی یا یون ها ایجاد می شود و با نزدیک شدن دو قطره به هم، بین گروه های قطبی و مولکول های آب دافعه حاکم می شود و تفاوت این نیرو با نیروی هیدروفوبیکی در این است که هیدروفوبیسیتته نیرو تحت اثر جمع شدن مولکول آب اطراف ذرات غیر قطبی می باشد



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

۱-۵- توانایی کیتوزان به عنوان امولسیفایر

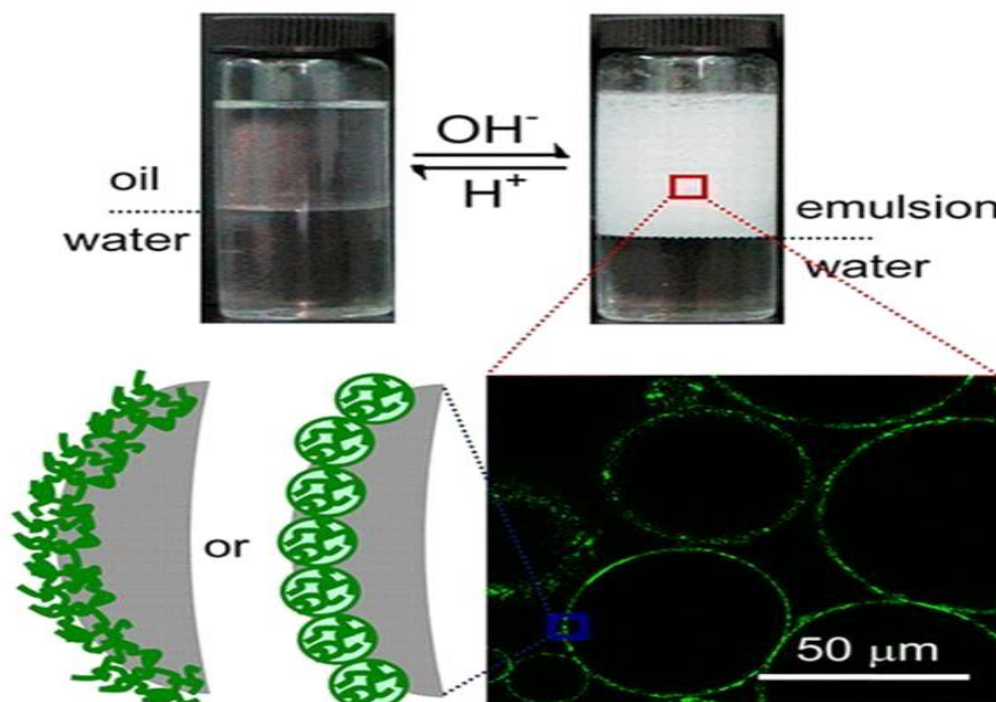
کیتوزان در پایداری امولسیون ها به کار برده می شود زیرا باعث افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته می شود. به عبارت دیگر سرعت خامه ای شدن را کاهش می دهد [Agulló et al., 2003]. علاوه بر این ساختار پلی الکترولیت کیتوزان باعث ایجاد برهمکنش الکترواستاتیکی آن با پلیمرهای فعال سطحی با بار مخالف یا سورفکتانت هایی که قبلاً 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 ذرات 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 هیدروفوبیکی 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 آمفیفیلک 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 کوالسنس و خامه ای شدن شوند. در شکل (۱-۸) تشکیل امولسیون پیکرینگ بر پایه کیتوزان با واکنش پذیری به تغییرات pH نشان داده شده است.



شکل ۱-۸: 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 [Wei et al., 2012].

[Ho et al., 2016]

۱-۶- سس مایونز

سس مایونز یک امولسیون روغن در آب است که از امولسیون شدن روغن های گیاهی خوراکی در یک فاز آبی شامل سرکه حاصل می شود. همچنین ممکن است دارای ترکیبات اختیاری نظیر نمک، شکر و یا افزودنی های غذایی نظیر ترکیبات اسیدی کننده، پایدار کننده و نگه دارنده باشد [Depree and Savage, 2001]. مایونز از نظر رئولوژیکی سیالی غیرنیوتنی، شبه پلاستیک، دارای تنش تسلیم و رفتار

تیکسوتروپیک و نیز دارای ویژگی های ویسکو الاستیک می باشد [Dolz et al., 2007].

۱-۷- اکسیداسیون

لیپیدهای غیراشباع گروه وسیعی از مولکول‌هایی که دارای یک یا چند باند دوگانه بین اتم‌های کربن خود هستند، می‌باشند. لیپیدهای غیراشباع شامل اسیدهای چرب و مشتقات آنها (تری، دی، مونوگلسیریدها و فسفولیپیدها)، همچنین ترکیبات دیگر مانند اسفنگولیپیدها، لیپیدهای استرول و ساکارولیپیدها هستند. اسیدهای چرب غیراشباع بر اساس ساختار شیمیایی به انواع امگا 3، امگا 6 و امگا 9 تقسیم می‌شوند. اسیدهای چرب چندغیراشباعی از نظر فیزیولوژیکی به علت تواناییشان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها اهمیت زیادی دارند [Pardini, 2006] و به دلیل اثرات مفید آن‌ها در بسیاری از محصولات برای مصرف به کار می‌روند [Kolanowski and Laufenberg, 2006]. لیپیدها با غیراشباعیت بالا، نسبت به اکسیداسیون حساس می‌باشند. اکسیداسیون به طریق فتواکسیداسیون، اتواکسیداسیون و اکسیداسیون آنزیمی رخ می‌دهد، که اتواکسیداسیون مهمترین فرآیند در بین آن‌ها می‌باشد. برهمکنش اکسیژن با لیپیدهای غیراشباع یک واکنش مهم می‌باشد زیرا کاربرد لیپیدهای غیراشباع را در غذاهای عملگرا محدود می‌کند. حساسیت لیپیدها به اکسیداسیون یک نگرانی بزرگ اقتصادی در تولید مواد غذایی حاوی لیپیدها می‌باشد. 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 واکنش گر ثانویه در غذا بعد از پخت و فرآیند می‌شوند.

در امولسیون‌های روغن در آب، قطرات لیپید در فاز مایع پراکنده هستند و به وسیله امولسیفایرها یا سورفکتانت‌ها پایدار می‌شوند. عواملی از جمله ساختار مولکولی لیپیدها، درجه حرارت، محتوای اکسیژن، نور، آنزیم‌ها، فعالیت آبی و حضور اکسیدان‌ها و پراکسیدان‌ها بر سرعت اکسیداسیون لیپیدها در امولسیون‌های 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 رادیکال‌های 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 غذاها می شود، بلکه محصولات اکسید شده ای مانند رادیکال های آزاد تولید می کند [فاطمی، 1378]. 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]. وقتی باندهای دوگانه چربی های غیراشباع اکسید می شوند، ضمن واکنش اکسیژن با اسید چرب رادیکال ایجاد می شود که منتهی به تشکیل محصولاتی همچون پراکسیدها می شوند. درجه اکسیداسیون که در چربی ها و روغن ها رخ می دهد به اصطلاح در میزان پراکسید (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. به دنبال این مرحله افزایش سریع پراکسید مشاهده می شود [فاطمی، 1378].

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 های مؤثر برای انعکاس مقدار واقعی اکسیداسیون می باشند. اسید تیوباریتوریک (TBA) یکی از روش های قدیمی برای ارزیابی مقدار اکسیداسیون لیپید در غذاها و دیگر سیستم های بیولوژیکی می باشد [فاطمی، 1378].

۱-۸- اسانس میخک هندی

میخک هندی یک گونه گیاه گلدار در خانواده Thymelaeaceae است که در چین رایج شده و سپس به ژاپن و کره گسترش یافته است. اسانس گیاه میخک هندی با نام علمی *daphne odora* از جمله قوی

ترین آنتی اکسیدان های طبیعی است. ترکیب شیمیایی موجود در اسانس میخک شامل: اوژنول، اربوفیلین، الکل بنزیلیک، بنزوات دومتیل، فورفول و اتیلن می باشد [Lee and Shibamoto, 2001]. اسانس میخک برای درمان اختلالات آلرژیک و بیماری تنگی نفس استفاده شده است. علاوه بر این، میخک به طور گسترده برای درمان بیماری های سیستم گوارشی و به عنوان عوامل ضد میکروبی در مقابل عفونت قارچی و باکتریایی و دندان درد استفاده می شود [Gulcin et al., 2004]. اسانس میخک در برابر نور، گرما و اکسیژن حساسیت نشان داده و مدت ماندگاری کوتاهی در شرایط نگهداری نامناسب دارد. تحقیقات نشان داده است که درجه حرارت بالای سرخ کردن، کاهش قابل توجهی را در فعالیت آنتی اکسیدانی و دیگر خصوصیات فیزیوشیمیایی اسانس میخک اعمال می کند [Chatterjee and Bhattacharjee, 2013].

فصل دوم :

مروری بر پژوهش‌های

پیش

۱-۲- پژوهش های مربوط به روغن ماهی

- ❖ گیورجیو و همکاران به مطالعه سیستماتیک از کپسوله کردن روغن ماهی را به میکروپارس های سویا توسط امولسیون و خشک شدن اسپری پس از آن به منظور حفاظت از آن در برابر اتوکسیداسیون لیپید و تسهیل اداره آن برای ترکیب مواد غذایی سالم گزارش می دهد. به طور خاص، اثر فرمولاسیون و امولسیون بر ویژگی های فیزیکیوشیمیایی امولسیون های حاصل و کپسوله ها ارزیابی و مشاهده شد که روغن ماهی را پوشش می دهد و بوی مشخص و بافت چرب آن را به میکروکپسول های نوع ماتریکس پوشش می دهد [Giorgio et al., 2019].
- ❖ یانگ و همکاران در طی کپسوله کردن روغن ماهی به میکرو و نانوذرات چربی جامد توخالی با استفاده از دی اکسید کربن به فرآیند نوآورانه در زمینه سهولت بسته بندی و افزایش پایداری اکسیداتیو دست یافتند [Yang and Ciftci, 2017].
- ❖ گورا و همکاران اثر امولسیون های مبتنی بر روغن ماهی را در درمان بیماری های کبدی کودکان مبتلا به سندرم کوتاه مدت روده که با شیر مادر تغذیه می شوند را بررسی کردند و آن را بی خطر به لحاظ ایمنی و موثر در درمان اظهار داشتند [Gura and Sang Lee, 2008].

۲-۲- پژوهش های مربوط به خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس میخک

- ❖ اثرات آنتی اکسیدانی اسانس میخک روی شکم خوک در طی ذخیره سازی مورد بررسی قرار گرفت. با افزایش غلظت اسانس، استحکام کششی، رطوبت و حلالیت آب کاهش یافت، در حالی که طول عمر، نفوذ پذیری بخار آب و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت [Kang and Song, 2019].
- ❖ رجایی و همکاران طی پژوهشی پوشش توسط کپسوله کردن اسانس میخک با نانوذله کیتوزان - مریستیک اسید را در گوشت گاو مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که پوشش بر پایه

اسانس میخک که توسط نانوذله کیتوزان - مریستیک اسید انکپسوله شده، به طور موثر، طول عمر گوشت گاو و فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش می دهد و همچنین فعالیت ضد باکتری پوششها، در مقابله با سالمونلا در گوشت گاو تحت ذخیره سازی در یخچال موثر است [Hadian and Rajaei, 2017].

❖ میتل و همکاران فعالیت ضد میکروبی اسانس میخک را در سوسیس مرغ برای کنترل *Listeria mono cytogenes* بررسی کردند. بررسی ها نشان داد که اضافه کردن روغن گل میخک به سوسیس ممکن است یک راهبرد موثر برای کنترل *L. monocytogenes* باشد. [Mytle et al., 2006].

۲-۳- پژوهش های مربوط به امولسیون پیکرینگ

❖ سونگ و همکاران برای افزایش میزان کربوکسیل روی سطح نانوبلورهای سلولز (CNC) یک استراتژی چند منظوره ساده استفاده شد. اثرات پیوند مختلف اسید اسکوربیک یا اسید سیتریک بر روی مورفولوژی، ریزساختار، پایداری حرارتی، قابلیت جذب رنگ (آبی متیلن) و ظرفیت انعقاد انجماد (تعلیق کائولن مدل) از CNC های کاربردی مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این، CNC-g-AA-g-CA دارای اثرات پایدار خوبی بر روی امولسیون های Pickering در روغن سویا / آب است و حجم امولسیون Pickering آن می تواند تا ۳۰ روز یا بیشتر باقی بماند [Song et al., 2019].

❖ در پژوهشی که توسط گائو 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 بررسی کردند. نتایج نشان داد که بتا لاکتوگلوبولین ها قادر هستند که امولسیون های روغن در آب را پایدار کنند. همچنین امولسیون های تشکیل شده پایداری فیزیکی عالی داشتند. در pH های دورتر از نقطه ایزوالکتریک بتالاکتوگلوبولین، هیچگونه کوالسنسی در طول ۲۶ روز در

دمای محیط نشان داده نشد. اما در pH های نزدیک نقطه ایزوالکتریک یا غلظت بیش از حد رشته ها، تمایل رشته ها به انبوهش باعث تشکیل امولسیون با قطرات بزرگ شد [Gao et al., 2017].

❖ چئونگ 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 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 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 سانتیفرژی 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 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 (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 و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر فاکتورهای محیطی مانند (قدرت یونی، دما و pH) را بر روی پایداری فیزیکی امولسیون های پایدارشده با ذرات کیتوزان مورد بررسی قرار دادند. امولسیون ها با به کارگیری هموژنایزر با سرعت بالا آماده شدند و پایداری آن ها در برابر کوالسنس، خامه ای شدن و فلوکولیشن اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت کیتوزان از ۰/۱ تا ۰/۳ درصد (w/v) باعث افزایش پایداری در برابر خامه ای شدن و کوالسنس شد. همین نتیجه با افزودن نمک سدیم کلرید از ۱۰۰ به ۵۰۰ میلی مولار به دست آمد. امولسیون ها بالاترین پایداری را در pH=7 و بالاتر نشان دادند و کاهش pH، افزایش در کوالسنس قطرات را نشان داد. همچنین امولسیون ها در دمای کمتر از ۵۰ درجه سانتیگراد پایدار بودند و افزایش دما باعث افزایش در کوالسنس و خامه ای شدن قطرات شد [Mwangi et al., 2016].

❖ لکلرچ و ناردلو-راتاج 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 کوالسنس 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 و همکاران در سال ۲۰۱۶، امولسیون های پیکرینگ پایدار شده با کمپلکس ذرات زئین / کیتوزان را به عنوان یک امولسیفایر پیکرینگ مؤثر نشان دادند. زیرا امولسیون های پیکرینگ تشکیل شده دارای مقاومت بالا در برابر کوالسنس در طول مدت ۹ ماه نگهداری بودند. امولسیون ها 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].

❖ در پژوهشی که توسط جائو 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 و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت، امولسیون پیکرینگ روغن در آب پایدار شده با کمپلکس پلی استایرن (PS) و کیتوزان (CS) را تهیه کردند. نتایج نشان داد که حضور هر دو ذرات PS و CS باعث تشکیل یک امولسیون پایدار شده است. برعکس 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) و میکروسکوپ فلورسنس مشاهده شد. علاوه بر این مکانیسم توانایی امولسیون کنندگی کمپلکس با تعیین خاصیت تری ذرات PS بهبود یافته با CS و همچنین فلوکولیشن 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 فرادتر 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 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 و همکاران در پژوهشی امولسیون های پیکرینگ روغن سویا در آب را با استفاده از سوکسینیک انهدرید (OSA) 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، کسر روغن دانه سویا و pH سیستم امولسیون بود. غلظت های نمک و ساکارز اثر آشکاری بر روی میزان خامه ای شدن امولسیون ها نداشتند، در حالی که اندازه قطرات با افزایش غلظت نمک تغییر کرد [Song et al., 2015].

❖ در پژوهشی که توسط لیانگ و تانگ در سال ۲۰۱۴ صورت گرفت، از ایزوله پروتئین سویا به عنوان پایدارکننده امولسیون پیکرینگ روغن در آب استفاده کردند و برای تشکیل امولسیون کسر روغنی را افزایش دادند که باعث کاهش قابل توجهی در اندازه ذرات امولسیون شد. در حالی که پایداری خامه ای شدن آن ها به طور پیش رونده افزایش یافت. خصوصاً در غلظت بالاتر از هیچگونه خامه ای شدن در طول ۲۰ روز نگهداری رخ نداد. نتایج حاصل از CLS 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].

❖ کوروکجی و همکاران در سال ۲۰۱۳، توانایی ترکیب غذایی سدیم استروئیل لاکتی لیت (SSL) که باعث پایداری امولسیون های روغن در آب در برابر کوالسنس 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 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 PLGA پوشیده از نانوذرات کلوئیدی کیتوزان ارائه شد. امولسیون های روغن در آب پایدار با به کارگیری نانوذرات کلوئیدی کیتوزان به عنوان یک امولسیفایر ویژه و محلول دی کلرومتان 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 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].

❖ در سال 2010، فرلیکوفسکا 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].

❖ شولز 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].

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

❖ نانوبلورهای سلولز (CNCS) فیلم های ضد قارچ مبتنی بر کیتوزان تقویت شده توسط کپسول سازی اسانس روغنی تهیه شد. ترکیب نانوبلورهای سلولز (CNCS) با ماتریس کیتوزان نقش مهمی در تثبیت خواص فیزیکی و شیمیایی نانو کامپوزیت داشت. علاوه بر این، ترکیب فیلم های کیتوزان زیست فعال با دوز ۷۵۰ گرم اشعه یونیزاسیون، خواص ضد قارچ و مکانیکی بیشتری نسبت به درمان با فیلم زیست فعال داشت [Hossain et al., 2019].

❖ در سال ۲۰۱۵، ژاوه و همکاران اسانس روغنی زیره سبز را در نانوذله کیتوزان - اسید کافئیک به منظور افزایش فعالیت ضد میکروبی در برابر *آسپرژیلوس فلاووس* درون پوشانی و بهبود خاصیت ضد میکروبی را مشاهده کردند [Zhavah et al., 2015].

❖ در سال ۲۰۱۴، خلیلی و همکاران در طی پژوهشی اسانس آویشن را در نانوذله کیتوزان - اسید بنزوئیک به منظور افزایش خواص ضد قارچی در برابر *آسپرژیلوس فلاووس* درون پوشانی و بهبود خواص ضد قارچی را مشاهده کردند [Khalili et al., 2014].

❖ ضیایی و همکاران در سال ۲۰۱۴، اسانس روغنی زیره سبز را در نانوذله 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، در حالی که تحت همان شرایط اسانس درون پوشانی شده فقط ۱۵ درصد فعالیت آفت کشی خود را از دست داد [Ziaee et al., 2014].

❖ بیکی و همکاران در سال ۲۰۱۴، اسانس روغنی نعنای فلفلی را در نانوزل 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* 2100 و 500 ppm بود [Beyki et al., 2014].

۲-۵- پژوهش هایی مربوط به تأثیر امولسیون پیکرینگ بر پایداری اکسیداتیو

❖ عطاریان و همکاران در سال ۲۰۱۹، تأثیر امولسیون پیکرینگ روغن آفتاب گردان در آب پایدار شده با نانوزل کیتوزان - اسید استئاریک در مقایسه با امولسیون روغن آفتاب گردان در آب تثبیت شده با tween 80 را بر روی پایداری اکسیداتیو مورد بررسی قرار دادند. یافته ها نشان داد که امولسیون روغن در آب پایدار شده با کیتوزان - اسید استئاریک پایداری بیشتری نسبت به امولسیون روغن در آب تثبیت شده با tween 80 داشت [atarian et al., 2019].

❖ معرفتی و همکاران در سال ۲۰۱۷، پایداری و درون پوشانی کورکومین در امولسیون پیکرینگ پایدار شده با گرانول های 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 و همکاران در سال ۲۰۱۶، تأثیر فرمولاسیون بر روی پایداری اکسیداتیو امولسیون های آب در روغن و نیز اکسیداسیون این امولسیون ها و همچنین تأثیر یون های اکسید کننده در فاز آبی بر روی اکسیداسیون لیپید امولسیون های آب در روغن را بررسی کردند. نتایج نشان داد که چنگالی کردن آهن باعث کاهش سرعت اکسیداسیون شد [Dridi et al., 2016].

❖ اسکوردو و همکاران در سال ۲۰۱۵، در پژوهشی تحت عنوان آماده سازی نانوامولسیون های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع کپسوله شده با کیتوزان پرداختند و تفاوت در غلظت کیتوزان و زمان های هموژنیزاسیون به کار بردند. نتایج نشان داد که نانوکپسول ها یک شکل کروی ارایه می کنند. به کارگیری غلظت کم 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 وانگ 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) 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].

❖ کارگر 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٪) پایدار شده با ذرات میکروکریستال های سلولز (MCC) و نشاسته اصلاح شده (MS) 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 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 $\text{pH}=7$ ، اکسیداسیون لیپیدها را کاهش داد. همچنین امولسیون های پایدار شده با ذرات سیلیکا در $\text{pH}=2$ بهتر از امولسیون های پایدار شده با سورفکتانت ها از اکسیداسیون جلوگیری کردند [Kargar 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].

فصل سوم:

مواد و روش ها

۳-۱- مواد و وسایل مورد استفاده

۳-۱-۱- مواد مورد استفاده

روغن ماهی کیلکا از شرکت پارس کیلکا امیرآباد بابلسر و اتانول، اسید استیک ۱٪ و سدیم هیدروکسید از شرکت مرک، آلمان خریداری شد. توئین ۸۰، کلروفورم، اسید کلریدریک ۳۷٪، اسید تری کلرواستیک ۹۹٪ و آمونیوم تیوسیانات از شرکت سامچون^۶ کره تهیه شد. کیتوزان، اسید استتاریک، TBA، فلورسین ایزو تیوسیونات (FITC)، Nile red و کلرید آهن و ۱- اتیل - ۱ - (۳- دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید هیدرو کلرید (EDC) از شرکت سیگما، آلمان تهیه شد. متانول از شرکت اطلس شیمی، ایران و اسانس میخک از شرکت باریج اسانس تهیه شد که ترکیبات مهم آن در جدول (۱-۳) آورده شده است و همچنین مواد لازم برای تهیه سس مایونز از فروشگاه رفاه شاهرود خریداری و در جدول (۲-۳) آورده شده است.

جدول ۱-۳: ترکیبات مهم اسانس میخک

نوع ترکیب	درصد
-----------	------

⁶ SAMCHUN

۶۳/۴	اوژنول
۱۶	کاریوفیلین
۱۳/۱	اوژنیل استات
۸	هومولین

جدول ۳-۲: فرمولاسیون سس مایونز

درصد	مواد
۲۵	روغن آفتاب گردان
۳۷	آب
۱۰	تخم مرغ
۸	سرکه
۱/۷	نمک
۰/۴	شکر
۲/۸	نشاسته
۱۶	روغن ماهی

۳-۱-۲- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

- همزن مغناطیسی دست ساز، با سرعت ۵۵۰۰ دور بر دقیقه
- ترازوی حساس HR-200 با دقت ۰/۰۰۱ گرم (A&D، ژاپن)
- دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی (مدل UV2150 شرکت جنوی، 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)
- 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 (FT-IR) (مدل Jascow 430، ژاپن)

۳-۲- روش ها

۳-۲-۱- 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 - ۱ - (۳- دی متیل آمینو پروپیل) کربو دی ایمید هیدرو کلرید (EDC)) با روش ارائه شده توسط چن و همکاران (2003)، انجام شد [Chen et al., 2003]. در ابتدا، ۰/۵ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک آبی ۱٪ حجمی / حجمی حل شد. پس از افزودن ۸۵ میلی لیتر متانول، محلول حاصل تحت امواج فراصوت قرار داده شد. سپس ۱۰۰ میلی گرم EDC با ۲۵۰ میلی گرم اسید استئاریک به همراه ۵ میلی لیتر متانول مخلوط شد و سپس قطره قطره به محلول کیتوزان اضافه شد. سپس محلول به مدت ۲۴ ساعت مخلوط و هم زده شد. بعد از آن pH محلول با استفاده از سدیم هیدروکسید ۱ مولار به منظور رسوب نانوذله روی ۸/۵-۹ تنظیم شد. سپس

محلول به منظور رسوب نانوذله ها در سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. در پایان رسوب نانوذله به دست آمده برای حذف مواد واکنش نداده توسط اتانول و آب مقطر سه مرتبه شسته شد.

۳-۲-۲- FT-IR آزمون

طیف سنجی مادون قرمز یکی از پرکاربردترین روش ها در شناسایی کیفی مولکول های مختلف، تعیین ساختار مولکولی گونه ها به خصوص گونه های آلی و شناسایی گروه های عاملی موجود در ساختار می باشد. در این پژوهش برای تأیید تشکیل ساختار نانوذله ها، طیف سنجی مادون قرمز در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و در رنج ۵۰۰ تا 3600 cm^{-1} انجام داده شد [Khalili et al., 2015]. به این منظور مقداری از نانوذله های کیتوزان - اسید استئاریک خشک شده به همراه اسید استئاریک و کیتوزان با پودر خالص KBr مخلوط شدند و سپس از آن ها قرص های فشرده تهیه گردید. طیف نمونه های مورد نظر با دستگاه اسپکتروسکوپی مادون قرمز (مدل Jascow 430 ساخت کشور ژاپن) اندازه گیری و بررسی شد.

۳-۲-۳- 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 نانوذل ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد [Feng and Lee, 2016]. به این صورت که ابتدا 1 سی سی از نانوذل های کیتوزان-اسید استئاریک به مدت ۵ دقیقه در حمام فراصوت گذاشته شدند و سپس به آن ۹۹ سی سی آب مقطر اضافه شد. پس از آن چند قطره از محلول ها 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- EM 3200 ساخت کشور چین) برای عکس برداری از نمونه ها استفاده شد.

۳-۲-۴- تعیین اسیدهای چرب روغن ماهی با کروماتوگرافی گازی

در این پژوهش جهت بررسی پروفایل اسیدهای چرب و میزان اسیدهای چرب موجود در روغن ماهی از دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Unicam 4600 ساخت کشور انگلستان) مجهز به آشکارکننده نوع FID و ستون نوع Capillary, BPX70 استفاده شد. طول حدود ۱۰ تا ۱۰۰ سانتی متر و قطر داخلی ۰/۲۵ تا ۰/۳۲ سانتی متر استفاده شد. درجه حرارت آشکار کننده ۳۰۰ درجه سانتیگراد، گاز حامل هلیوم، که به آن فاز متحرک نیز می گویند. فاز ساکن یک جسم جامد جاذب یا لایه نازکی از یک مایع غیر فرار است که به دیواره داخلی ستون یا به صورت پوششی روی سطح گلوله های شیشه ای یا فلزی قرار داده شده است. درجه حرارت آن در ابتدا ۱۶۰ درجه سانتیگراد و در انتها ۲۰۰ درجه سانتیگراد بود. فشار ابتدای ستون ۲psi و میزان جریان عبوری از ستون ۴ میلی متر مکعب بر دقیقه بود. اجزای روغن توسط زمان بازداری شان شناسایی شدند.

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

برای تهیه امولسیون های پیکرینگ از روش موانگی و همکاران با کمی تغییرات استفاده شد [Mwangi et al., 2016]. همچنین تأثیر امولسیون های پیکرینگ کیتوزان-اسید استئاریک و مقادیر روغن بر روی پایداری امولسیون های پیکرینگ پس از ۷ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۲-۵-۱- آماده سازی امولسیون های پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن ماهی و نانوذله

برای بررسی اثر روغن در تولید امولسیون پیکرینگ روغن ماهی در آب، از مقادیر مختلف روغن ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی استفاده شد. درصدهای مختلف روغن در محلولهای ۱ و ۲ درصد کیتوزان و نانوذله کیتوزان-اسید استئاریک تهیه شد. پس از آماده سازی، نمونه ها به درون ظروف شیشه ای درب دار منتقل شد و سپس به مدت یک هفته در دمای محیط نگهداری شد. تست قطره برای بررسی شکل گیری پدیده فاز معکوس در امولسیون صورت گرفت و به صورت پراکنش قطره در آب انجام پذیرفت [Ji et al., 2016].

۳-۲-۵-۲- ارزیابی میزان خامه ای شدن امولسیون های پیکرینگ روغن ماهی 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 ونگ و همکاران مورد ارزیابی قرار گرفت [Wang et al., 2015]. به این صورت که 2 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 سرم (H_s) با خط کش صورت گرفت. اندازه گیری میزان خامه ای شدن با شاخص خامه ای شدن (CI%) مشخص شد.

$$CI(\%) = (H_s / H_t) \times 100$$

معادله (۳-۱) :

۳-۲-۵-۳- اندازه گیری میانگین اندازه قطرات

ساختار امولسیون های پیکرینگ پس از 3 ساعت و ۷ روز نگهداری با استفاده از میکروسکوپ نوری به روش جانو 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 ۲ مگاپیکسل عکس گرفته شد. در ادامه از نرم افزار Image J برای تخمین میانگین اندازه قطرات استفاده شد [Xiao et al., 2016].

۳-۲-۶- آزمون میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال (CLSM)

میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال (هیدلبرگ، ساخت کشور آلمان) برای نمایش بهتر ساختار فضایی قطرات امولسیون پیکرینگ استفاده شد. قبل از آماده سازی امولسیون، نانوذله کیتوزان-اسید استتاریک با FITC واکنش داده شد. ابتدا محلول FITC از اضافه کردن یک میلی گرم FITC به یک میلی لیتر متانول به دست آمد. در ادامه محلول FITC به نسبت ۱:۱ با محلول نانوذله کیتوزان-اسید استتاریک ۱ درصد وزنی مخلوط و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس محلول با استفاده از NaOH ۰/۵ مولار رسوب داده شد و با استفاده از سانتریفوژ (3-16K سیگما، آلمان) با ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد، تفکیک فاز صورت گرفت. FITC واکنش داده نشده حذف شد و رسوبات دوباره در اسید استیک ۲٪ حل شد و پس از ۱۰ دقیقه آنکوباسیون، عمل رسوب دهی دوباره انجام شد. این روش، یعنی انحلال و رسوب دهی، سه بار

انجام شد. سپس کیتوزان - اسید استئاریک با متانول ۷۰٪ حجمی / حجمی شسته شد. سپس برای حذف کامل FITC غیر مرتبط، محلول نانوژل در کیسه دیالیز قرار داده شد و در ادامه کیسه دیالیز در آب دیونیزه قرار داده شد. آب ظرف حاوی کیسه دیالیز به مدت یک هفته به صورت روزانه تعویض شد. در نهایت، کیتوزان - اسید استئاریک به وسیله خشک کن انجمادی (آلفا، ساخت کشور آلمان) خشک شد. در ادامه امولسیون روغن ماهی با استفاده از نانوژل کیتوزان - اسید استئاریک تهیه شد. قبل از تهیه امولسیون به روغن ماهی محلول Nile red اضافه شد. در ادامه یک قطره از امولسیون رنگ آمیزی شده روی لام قرار داده شد و با استفاده از میکروسکوپ کونفوکال از آن عکس تهیه شد. برای تهیه عکس فلورسنت لیزر آرگون با ۵۳۲ نانومتر برای Nile red و ۴۸۸ نانومتر برای FITC استفاده شد.

۳-۲-۷- تهیه سس مایونز

برای بررسی بهتر اثر نانوژل بر پایداری اکسیداسیون روغن ماهی و همچنین کاربردی کردن آن، از سس مایونز به عنوان محیط بررسی استفاده شد. برای انتخاب نسبت مواد مناسب برای تهیه سس مایونز با استفاده از آزمایشات مقدماتی و از نظر ظاهری یک فرمولاسیون مناسب انتخاب شد.

برای تهیه سس مایونز، ابتدا تخم مرغ هم زده و سپس مواد پودری (نمک، شکر، نشاسته و نانوژل کیتوزان-اسید استئاریک) با آن مخلوط گردید. آب و روغن به آرامی و ضمن هم زدن اضافه شد. سرکه به تدریج افزوده و مخلوط کردن تا رسیدن به بافت مناسب ادامه یافت، سپس مواد حاصل در یخچال نگهداری شد.

برای ارزیابی پایداری اکسیداتیو چهار نمونه به روش زیر تهیه شدند و به مدت ۱۲ روز در دمای محیط قرار داده شدند و میزان اکسیداسیون در بازه های زمانی مختلف بررسی شد.

۱- **سس مایونز حاوی روغن ماهی:** برای تهیه این نمونه، ۱۶ درصد از روغن تشکیل دهنده سس مایونز از روغن ماهی استفاده شد.

۲- **سس مایونز حاوی روغن ماهی و اسانس میخک:** شرایط تهیه نمونه شبیه نمونه ۱ بود با این تفاوت که درون روغن ماهی قبل از استفاده ۱۰۰۰ ppm اسانس میخک اضافه شد.

۳- **سس مایونز حاوی روغن ماهی درونپوشانی شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک:** شرایط تهیه نمونه شبیه نمونه ۱ بود با این تفاوت که روغن ماهی قبل از استفاده توسط نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک در بهترین نسبت های به دست آمده از آزمایشهای قبلی درون پوشانی شد.

۴- **سس مایونز حاوی روغن ماهی و اسانس میخک درونپوشانی شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک:** شرایط تهیه نمونه شبیه نمونه ۳ بود با این تفاوت که درون روغن ماهی قبل از استفاده ۱۰۰۰ ppm اسانس میخک اضافه شد.

۳-۲-۷-۱- ارزیابی پایداری اکسیداتیو

۳-۲-۷-۱- اندازه گیری میزان پراکسید

عدد پراکسید میزان هیدروپراکسیدهای تولید شده ناشی از واکنش های اکسیداسیون را نشان می دهد. محصولات اولیه اکسیداسیون موجود در امولسیون های روغن ماهی در آب مطابق روش سالمین و همکاران (2013) 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 (۳:۷ حجمی / حجمی) به ۱۰ میکرولیتر نمونه اضافه شد 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

میکرولیترا 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) در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانده شد. محلول شاهد کلر فرم / متانول (۳:۷ حجمی / حجمی) بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های ppm ۵ تا ۳ میکرولیترا / لیتر 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 [waraho et al, 2011].

۲-۲-۷-۱-۲- اندازه گیری میزان TBA

تغییرات در محصولات ثانویه اکسیداسیون امولسیون پیکرینگ، از طریق اندازه گیری مقدار TBARS^۷ مطابق با روش توصیف شده توسط مکدونالد و هالتین تعیین شد [McDonald and Hultin, 1987]. برای آزمایش ۲ میلی لیتر محلول TBA (۱۵ گرم تری کلرو استیک اسید + ۰/۳۷۵ گرم TBA + ۱/۷۶ میلی گرم اسید هیدروکلریدریک ۱۲ نرمال + ۸۲/۹ میلی لیتر آب مقطر) به ۱ میلی لیتر نمونه (۱۰۰ میکرولیتر نمونه امولسیون پیکرینگ + ۹۰۰ میکرولیتر آب) اضافه شد. سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب سرد قرار گرفتند. در نهایت، مخلوط نمونه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه با سانتریفوژ (مدل Eppendorf R5810، آلمان) سانتریفوژ شد. اندازه گیری جذب در ۵۳۲ نانومتر انجام شد. محلول شاهد، محلول حاوی تمام مواد ذکر شده به جز نمونه امولسیون بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های مختلفی از ۱، ۳، ۱، ۱- تتراهیدروکسی پروپان تهیه شد و توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید. عدد TBARS به صورت میکرومول مالون آلدئید در کیلوگرم روغن بیان شد [Venkateshwarlu G, 2014].

^۷ TBARS: ThibarBituric Acid Reactive Substances

۳-۲-۸- اندازه گیری رئولوژیکی

برای ارزیابی ویژگی های جریان سس مایونز از رئومتر (Modular Compact Rheometer، اتریش) استفاده شد (شکل ۳-۱). اندازه گیری رفتار جریان سس در حالت میزان کنترل با یک سیستم سیلندر متحدالمرکز انجام شد. نرخ برشی به طور خطی از ۱ به 100 s^{-1} به صورت خطی افزایش یافت. رفتار ویسکوالاستیک: خواص ویسکوالاستیک سس ها با رئومتر مخروط و صفحه اندازه گیری شد. زمان استراحت ۶۰۰ ثانیه برای تمام آزمایشهای رئولوژیک انتخاب شد. منطقه ویسکوالاستیک خطی با انجام یک جابجایی استرس (0/01 تا 10 Pa) در فرکانس ۱ هرتز تعیین شد. آزمون های دینامیکی در ناحیه خطی ویسکوالاستیک انجام گرفت و مدول های ذخیره (G') و افت (G'') در برابر فرکانس رسم شد. آزمون روبش فرکانس در فرکانس ۰/۰۱ تا ۶۲۵ (رادیان / ثانیه) در ناحیه کرنش خطی و دمای ۲۰ درجه سانتی گراد انجام پذیرفت.



شکل ۳-۱: دستگاه رئومتر

۳-۲-۹- تجزیه تحلیل آماری

تمام آزمایشات در ۳ تکرار صورت پذیرفت. میانگین و انحراف استاندارد (SD) با استفاده از نرم افزار میکروسافت اکسل محاسبه شد. آنالیز واریانس یک طرفه و همچنین، آزمون چند دامنه دانکن برای مقایسه اختلاف ها در سطح ۵ درصد با نرم افزار SPSS 25 محاسبه گردید.

فصل چهارم:

نتایج و بحث

۴-۱- پروفایل اسیدهای چرب روغن ماهی

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

جدول ۴-۱: نوع و درصد اسیدهای چرب روغن ماهی

درصد	ترکیب
۵/۶۵	C14:0
۱۹/۹۸	C16:0
۷/۹۸	C16:1
۰/۷۴	C17:0
۰/۳۹	C17:1
۴/۰۷	C18:0

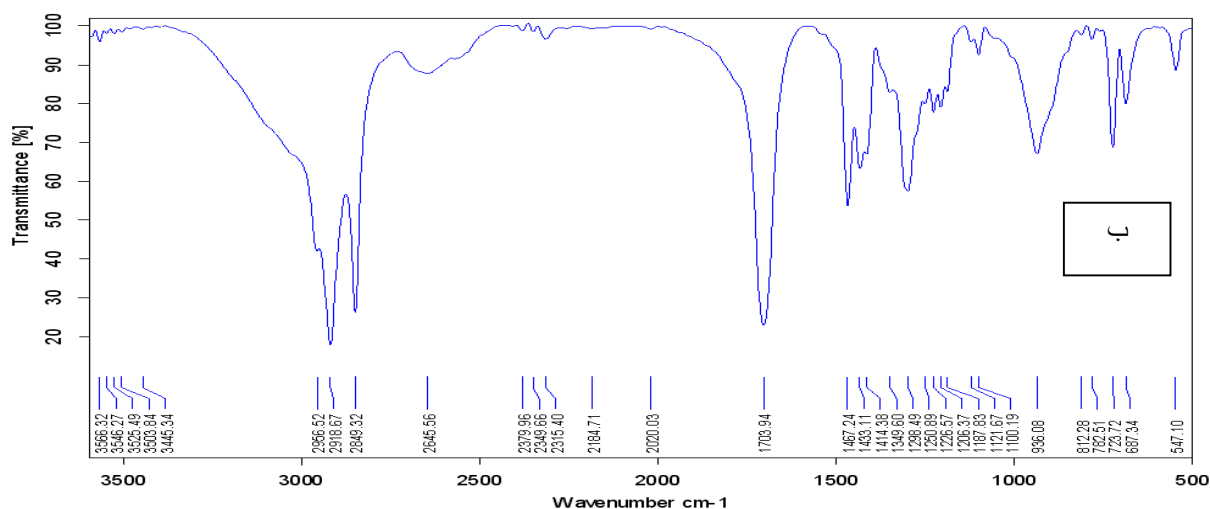
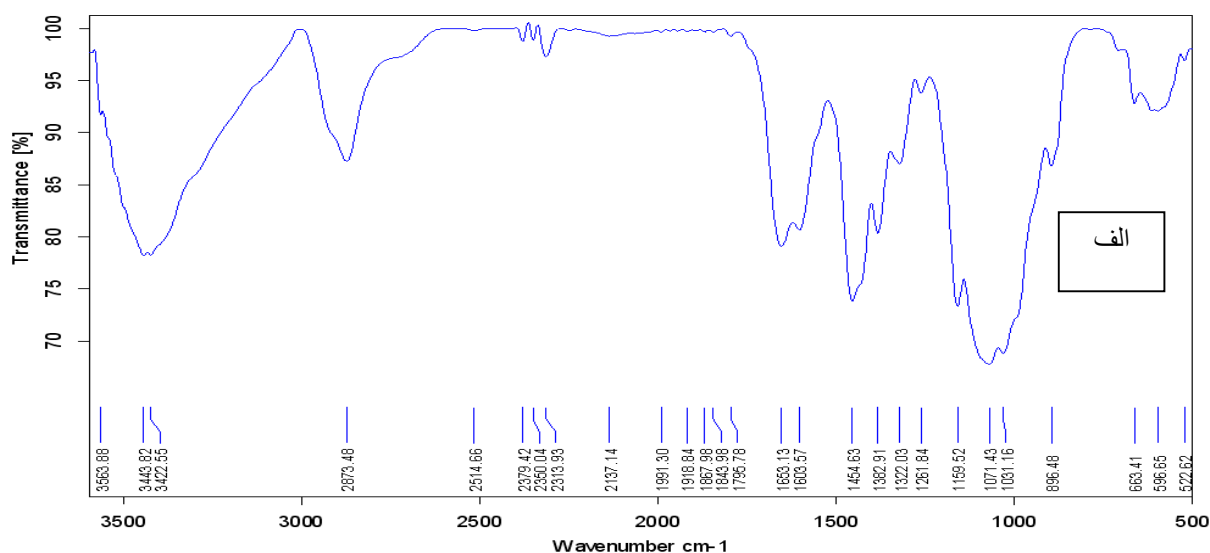
۳۴/۰۸	C18:1(n-9)C
۲/۱۳	C18:2(n-6)C
۱/۵۵	C18:3 n3
۰/۱۴	C20:0
۱/۹۴	C20:1
۰/۱۴	C20:3 n3
۰/۴۱	C20:4 n6 ARA
۰/۱۷	C22:0
۰/۱۳	C22:1
۶/۴۹	C20:5 n3 EPA
۰/۵۲	C22:4 n6 DTA
۰/۲۴	C24:0
۰/۴۶	C22:5 n6
۰/۳۲	C22:5 n3 DPA
۱۴/۳۷	C22:6 n3 DHA
۳۴	مجموع اسید چرب امگا ۹
۳/۵	مجموع اسید چرب امگا ۶
۲۲/۱۸	مجموع اسید چرب امگا ۳
۴۲/۵۲	اسیدهای چرب تک غیراشباعی
۲۶/۳۹	اسیدهای چرب چندغیراشباعی
۳۰/۹۹	اسیدهای چرب اشباع

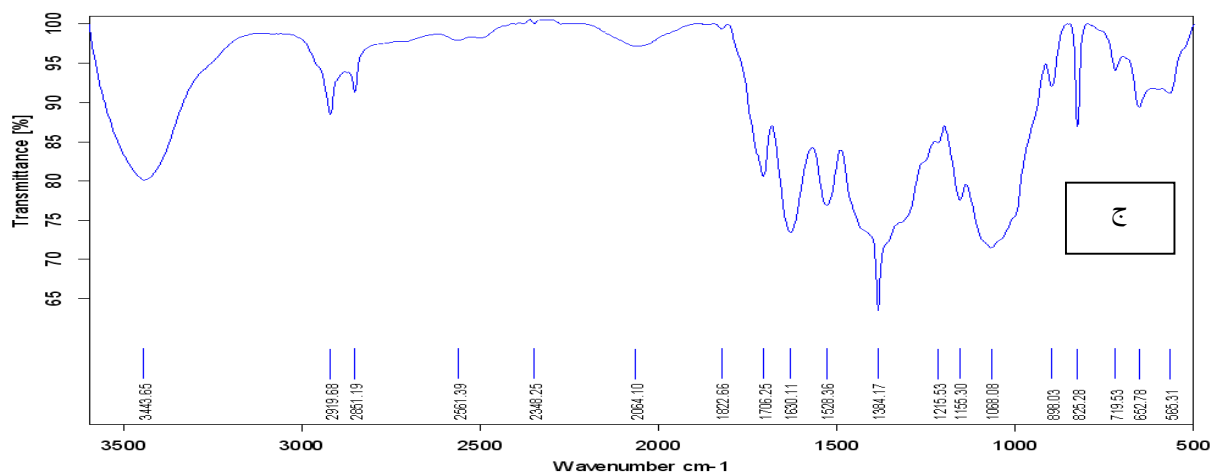
همانطور که مشخص است روغن ماهی دارای اسیدهای چرب غیر اشباع (اسید اولئیک، دوکوزا هگزا انوئیک اسید (DHA)، ایکوزا پنتانوئیک اسید (EPA)، آلفا لینولنیک اسید (ALA)، اسید پالمیتولئیک، اسید آراشیدونیک، لینولئیک اسید، گوندوئیک اسید، اوزباند اسید، ایکوزا تری انوئیک اسید، دوکوزا پنتا انوئیک اسید (DPA)، دی همو گاما لینولنیک، اروسیک اسید، دوکوزا تترا انوئیک اسید) و اسیدهای چرب اشباع (پالمیتیک اسید، میرستیک اسید، اسید استئاریک، مارگاریک اسید، بهنیک اسید، لیگنوسریک اسید، آراشیدیک اسید) می باشد. بیشترین میزان مربوط به اسیدهای غیر اشباع و در بین آنها اسید اولئیک ۳۴ درصد بیشترین میزان و اسید اروسیک با ۰/۱۳ درصد کمترین میزان را دارا می باشد. در بین اسیدهای چرب اشباع بیشترین میزان را اسید پالمیتیک با ۱۹/۹۸ درصد و کمترین میزان را اسید آراشیدیک با ۰/۱۴ درصد دارا می باشد. به طور کلی اسید اولئیک (۰/۳۴) و اسید پالمیتیک (۰/۱۹/۹۸) اجزای عمده روغن ماهی می باشند. فاضل و همکاران در سال ۲۰۰۸ در پژوهشی بیشترین میزان اسید چرب روغن ماهی کیلکا را مربوط به EPA (۵/۲۱) و DHA (۵/۷۳) درصد دانستند [Fazel et al., 2008]

۲-۴- بررسی ساختار نانوزل 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 آمین آزاد کیتوزان به گروه های کربوکسیل اسید استتاریک با استفاده از حد واسط EDC متصل شدند. به منظور تأیید باند ایجاد شده بین گروه آمین کیتوزان و کربوکسیل اسید استتاریک طیف های حاصل از دستگاه طیف سنج FT-IR استفاده شد. در شکل (۴-۱) طیف های FT-IR مربوط به کیتوزان، اسید استتاریک و نانوذله های کیتوزان - اسید استتاریک نشان داده شده است.





شکل ۴-۱: طیف های FT-IR مربوط به الف: کیتوزان، ب: اسید استتاریک، ج: نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک

در شکل (۴-۱-الف) طیف کیتوزان جذب در ناحیه $3500-3400 \text{ cm}^{-1}$ را نشان می دهد که این مربوط به گروه هیدروکسیل کیتوزان می باشد. در 2873 cm^{-1} پیک مربوط به ارتعاش کششی گروههای CH_2 است. در 2137 و 1653 cm^{-1} به ترتیب پیک ها مربوط به ارتعاشات کششی گروههای N-H و N-C آمید کیتوزان (گروههای آمین دی استیله نشده) مشاهده می شود. پیک در 1454 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات C-H موجود در حلقه های قند است [Chiono et al., 2010].

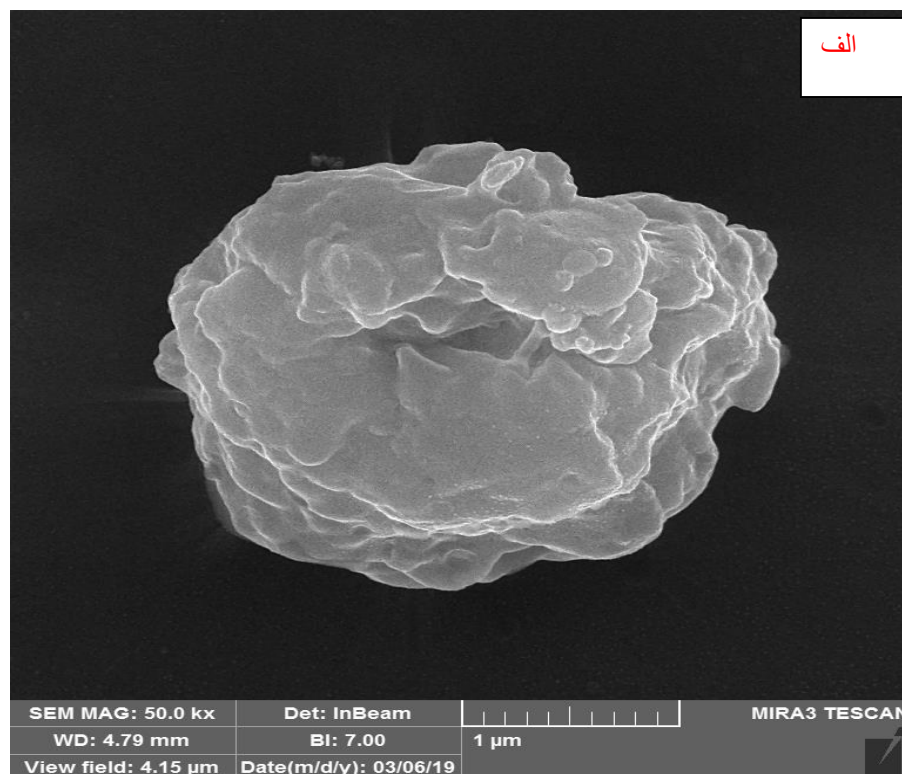
در شکل (۴-۱-ب) طیف مربوط به اسید استتاریک نشان داده شده است. پیکهای شناسایی شده در 2918 و 2849 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C-H گروههای CH_2 ، پیک 1704 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C=O گروه کربوکسیل اسید چرب، 1467 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی C-H گروههای CH_2 و گروه CH_3 اسید چرب، بین 1250 و 1298 cm^{-1} ارتعاش کششی C-O گروه کربوکسیل، 936 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی O-H اسید کربوکسیلیک، و پیک 687 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی C-H است [Larkin, 2011].

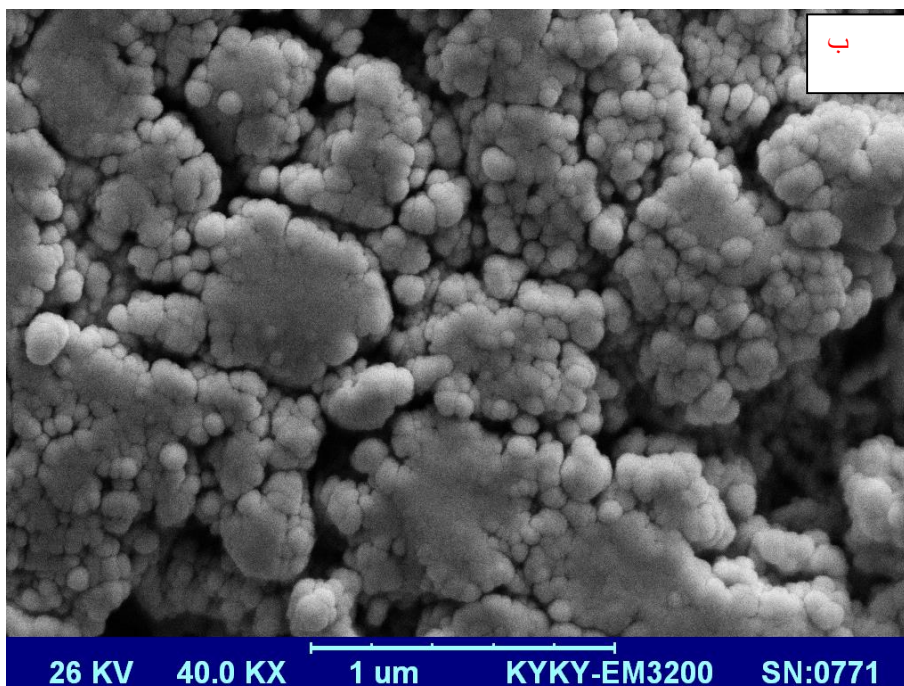
در شکل (۴-۱-ج) طیف مربوط به نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک نشان داده شده است. با توجه به شکل پیک های مشاهده شده در نواحی 2064 ، 1706 ، 1630 و 1527 cm^{-1} به ترتیب مربوط به پیوندهای

C=O، N-H و N-C گروه آمید هستند. این نتایج نشان می دهد که اتصالات آمیدی بین کیتوزان و اسید استئاریک به خوبی شکل گرفته است.

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

در شکل (۲-۴) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به کیتوزان و نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک نشان داده شده است. با توجه به تصاویر می توان بیان کرد که اضافه شدن اسید استئاریک به زنجیر های کیتوزان باعث تشکیل ذرات شده است. همچنین می توان بیان کرد که با افزودن اسید استئاریک به کیتوزان ذرات نسبتاً یکنواخت و کروی در حد ۱۰۰ نانومتر ایجاد شده است. تشکیل نانوذرات با افزودن اسید استئاریک را می توان به افزایش خاصیت آگریزی زنجیره های کیتوزان مربوط دانست که این افزایش خاصیت آگریزی احتمالاً توانسته به تجمع بهتر رشته های کیتوزان و تشکیل نانوذرات کمک کند [atarian,2019].





شکل ۲-۴: تصاویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی کیتوزان (الف)، نانوذله کیتوزان - اسید استناریک (ب) 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].

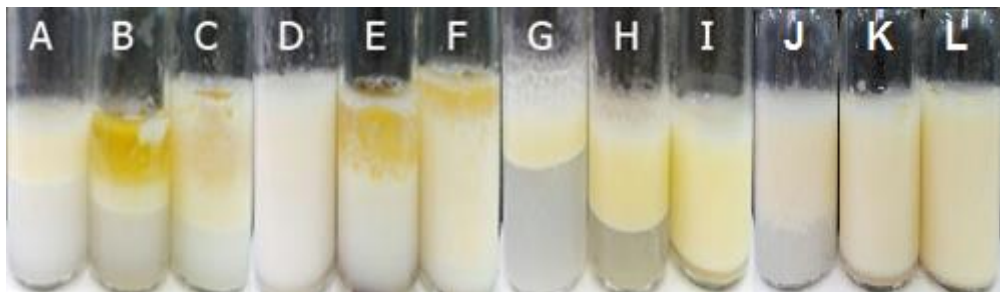
بیکی و همکاران در سال ۲۰۱۴، به بررسی مورفولوژی نانوذله کیتوزان - اسید سینامیک با میکروسکوپ الکترونی روبشی پرداختند. تصاویر حاصل نشان دادند که نانوذله ها با ساختار کروی و یکنواختی تشکیل شدند و اندازه ذرات نانوذله های اندازه گیری شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود [Beyki et al, 2014].

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

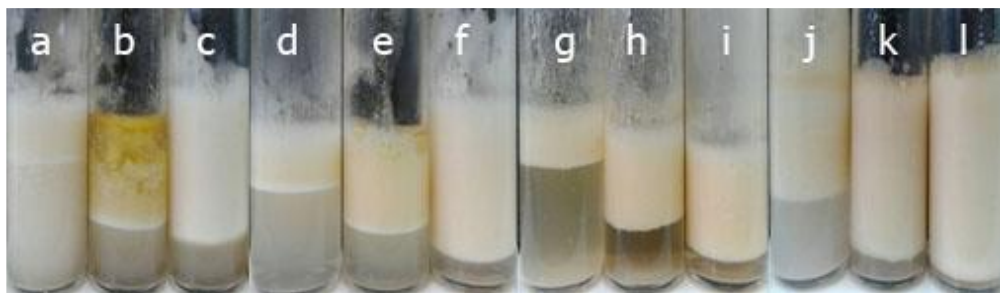
ناظم و همکاران در سال ۲۰۱۶، اندازه ذرات دیسپرسیون نانوذله کیتوزان - اسید میریستیک را با میکروسکوپ الکترونی روبشی به دست آوردند و نشان دادند که اندازه ذرات مونودیسپرسیون نانوذله که در محلول آبی پخش شده بودند، شکل کروی داشتند [Nazem et al, 2016].

۴-۳- بررسی پایداری امولسیون های پیکرینگ

پایداری امولسیون پیکرینگ روغن ماهی پایدار شده با کیتوزان و نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک در مقادیر مختلف ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی و در دو غلظت ۱ و ۲ درصد کیتوزان و نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک مورد بررسی قرار گرفت. وضعیت ظاهری شیشه های حاوی نمونه در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در شکل (۳-۴) نشان داده شده است.



(الف)



(ب)

شکل ۴-۳: تصاویر نمونه های امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک (۱ و ۲ درصد) و کیتوزان (۱ و ۲ درصد) در مقادیر مختلف ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی در ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی (A,B,C): امولسیون پایدار شده با کیتوزان (۱ درصد وزنی) به ترتیب در مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. D,E,F: امولسیون کیتوزان (۲ درصد وزنی) در مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. G,H,I: امولسیون نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک (۱ درصد وزنی) مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. J,K,L: امولسیون نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک (۲ درصد وزنی) مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی).

با توجه به شکل (۴-۳ الف)، پس از ۳ ساعت نگهداری نمونه ها در دمای محیط می توان مشاهده کرد که به طور ظاهری نمونه هایی که با کیتوزان و نانوذله در غلظت بالاتر (۲ درصد) تهیه شده بودند نسبت به نمونه های با کیتوزان و نانوذله با درصد پایین تر، پایدار تر بودند. نکته قابل توجه پس از ۳ ساعت نگهداری این بود که در نمونه های پایدار شده با کیتوزان، جدا شدن روغن به ویژه در مورد نمونه هایی که درصد بالاتری روغن داشتند مشاهده شد که این نشان می دهد کیتوزان توانایی خوبی در پوشش دادن قطرات روغن نداشته است. با مقایسه کلی نمونه ها می توان مشاهده کرد که نمونه های پایدار شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک نسبت به نمونه های پایدار شده با کیتوزان پایداری ظاهری بیشتری داشته اند. با توجه به شکل (۴-۳ ب) پس از ۷ روز نگهداری در دمای محیط در مورد تمام نمونه ها به جز نمونه پایدار شده با ۲ درصد نانوذله و ۶۰ درصد روغن (L) دو فاز شدن مشاهده شد. برای بررسی اینکه آیا در این نمونه پدیده فاز معکوس صورت گرفته است یا خیر تست قطره لحاظ شد. نتایج آزمون قطره نشان داد که امولسیون مورد نظر، امولسیون روغن در آب بود و پدیده فاز معکوس

صورت نگرفته است. ضریب خامه ای شدن برای بررسی دقیق تر پایداری نمونه ها محاسبه شد. نتایج این محاسبات برای نمونه های امولسیون پیکرینگ مختلف پس از ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی در جدول (۲-۴) آورده شده است.

جدول ۲-۴: ضریب پایداری امولسیون های پیکرینگ در مقادیر مختلف روغن در ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی. حروف لاتین نشان دهنده سطح معناداری در سطح $p < 0.05$ است.

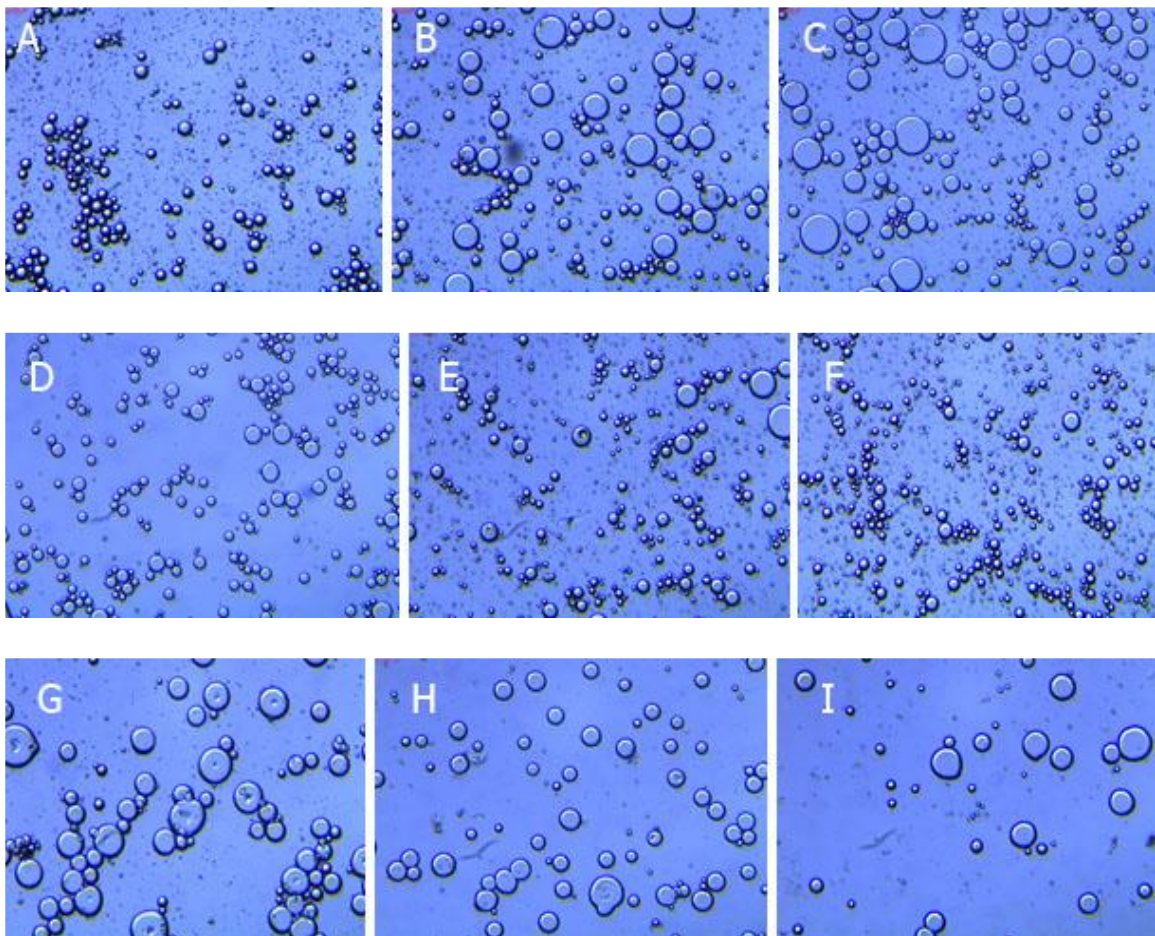
ضریب خامه ای شدن (درصد)		نمونه
۷ روز	۳ ساعت	
۶۵/۳±۰/۶ ^a	۵۵/۷±۱/۵ ^b	کیتوزان(۱)/۲۰٪روغن
۳۷±۱/۷ ^c	۴۴/۱±۱/۰ ^c	کیتوزان(۱)/۴۰٪روغن
۲۴±۱/۷ ^e	۲۶±۱ ^e	کیتوزان(۱)/۶۰٪روغن
۵۹/۷±۱/۵ ^b	۰±۰ ^g	کیتوزان(۲)/۲۰٪روغن
۳۴/۱±۱/۰ ^d	۰±۰ ^g	کیتوزان(۲)/۴۰٪روغن
۱۰/۱±۱/۳ ^g	۰±۰ ^g	کیتوزان(۲)/۶۰٪روغن
۶۴±۲/۶ ^a	۶۴±۶/۹ ^a	نانوژل(۱)/۲۰٪روغن
۳۵/۱±۰/۴ ^{cd}	۳۶±۲/۶ ^d	نانوژل(۱)/۴۰٪روغن
۱۲/۷±۲/۳ ^f	۷/۸±۱/۰ ^f	نانوژل(۱)/۶۰٪روغن
۳۷/۴±۱/۰ ^c	۲۸±۱/۷ ^e	نانوژل(۲)/۲۰٪روغن
۱۰/۴±۰/۸ ^{fg}	۳/۵±۰/۵ ^g	نانوژل(۲)/۴۰٪روغن
۰±۰ ^h	۰±۰ ^g	نانوژل(۲)/۶۰٪روغن

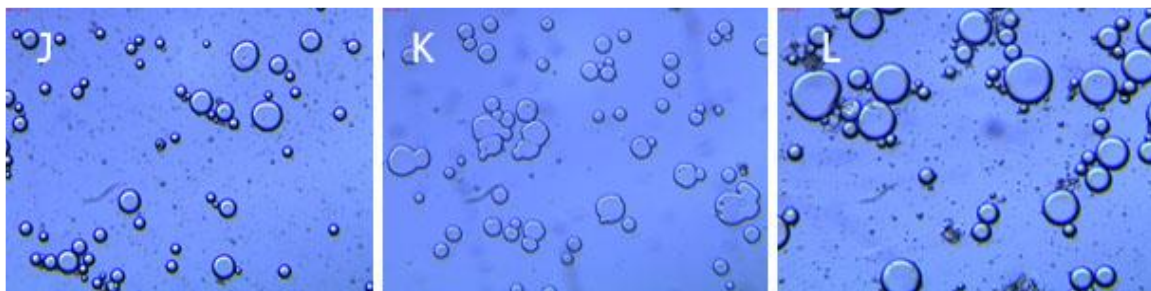
نتایج جدول (۴-۲) نشان می دهد که در روز اول نمونه های پایدار شده با ۲ درصد کیتوزان و همچنین نمونه پایدار شده با ۲ درصد نانوزل و ۶۰ درصد روغن پایدارترین نمونه ها بودند که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین آنها وجود نداشت. البته لازم به ذکر است که همانطور که قبلاً ذکر شد به طور ظاهری در مورد نمونه های پایدار شده با کیتوزان در ۴۰ و ۶۰ درصد روغن جدا شدن فاز روغن مشاهده شد. بنابراین اگرچه اعداد ضریب خامه ای در روز اول نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین آنها وجود ندارد اما با توجه به ظاهر نمونه ها می توان نتیجه گیری کرد که نمونه های پایدار شده با ۲ درصد کیتوزان و ۴۰ و ۶۰ درصد روغن پایداری خوبی نداشتند. با توجه به جدول (۴-۲) در روز ۷ می توان مشاهده کرد که بیشترین میزان خامه های شدن مربوط به نمونه های حاوی ۱ درصد کیتوزان و نانوزل به همراه ۲۰ درصد روغن بود که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر نداشتند. میزان ناپایداری این نمونه ها را می توان به میزان کمتر پایدار کننده و همچنین بیشتر بودن نسبت آب به روغن مربوط دانست. در روز ۷ عدم میزان خامه ای شدن مربوط به نمونه امولسیون حاوی ۲ درصد نانوزل و ۶۰ درصد روغن بود که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با بقیه نمونه ها داشت. نتایج خامه ای شدن نشان داد که به طور کلی نانوزل کیتوزان- اسید استئاریک توانایی بهتری نسبت به کیتوزان در پایداری سازی امولسونها داشته است. لازم به ذکر است که 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]. السابی^۸ 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

⁸ Elsabee

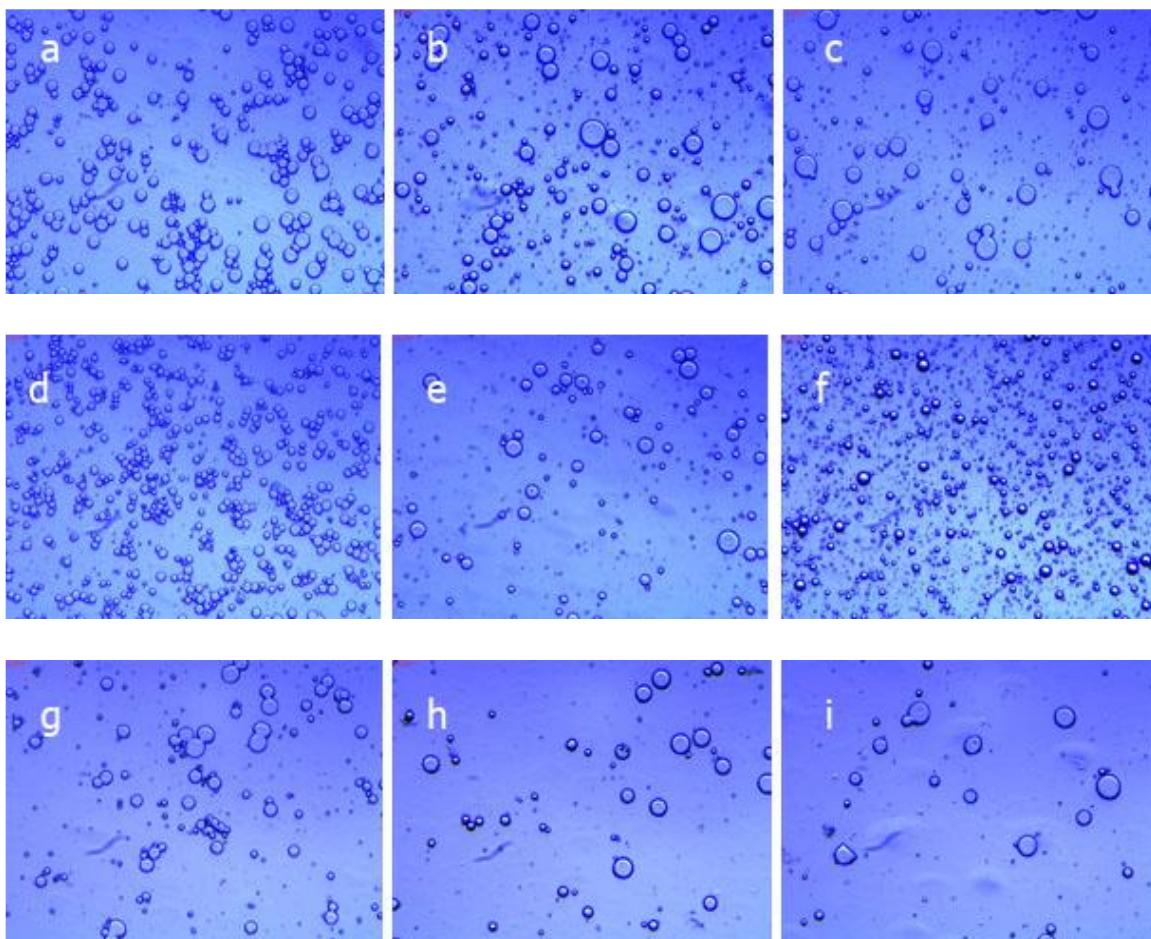
ترکیباتی که دارای گروه های هیدروفوبیکی هستند و می توانند با گروه های واکنش پذیر (NH_2 یا OH) کیتوزان برهمکنش ایجاد کنند، اصلاح کرد [Elsabee et al, 2009]. ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵، از کمپلکس کیتوزان و پلی استایرن برای پایداری امولسیون های پیکرینگ استفاده کردند. آن ها یافتند که جذب کمپلکس کیتوزان و پلی 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].

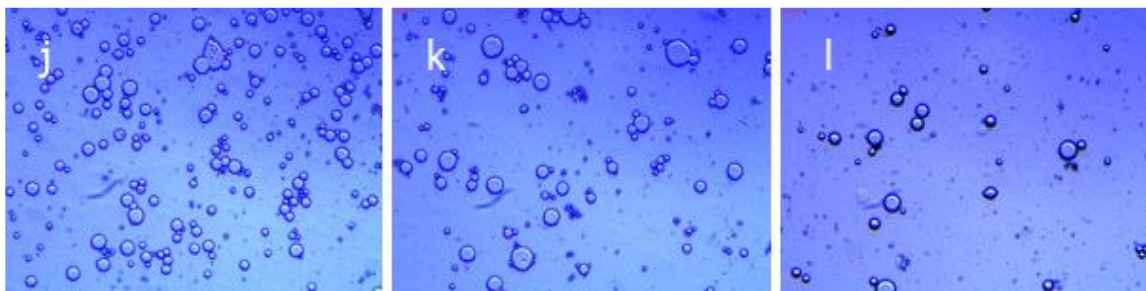
به منظور بررسی اندازه ذرات امولسیون پیکرینگ با مقادیر مختلف روغن ماهی، تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری آن ها پس از ۳ ساعت و ۷ روز بعد از آماده سازی تهیه شد که در شکل (۴-۴) نشان داده شده است.





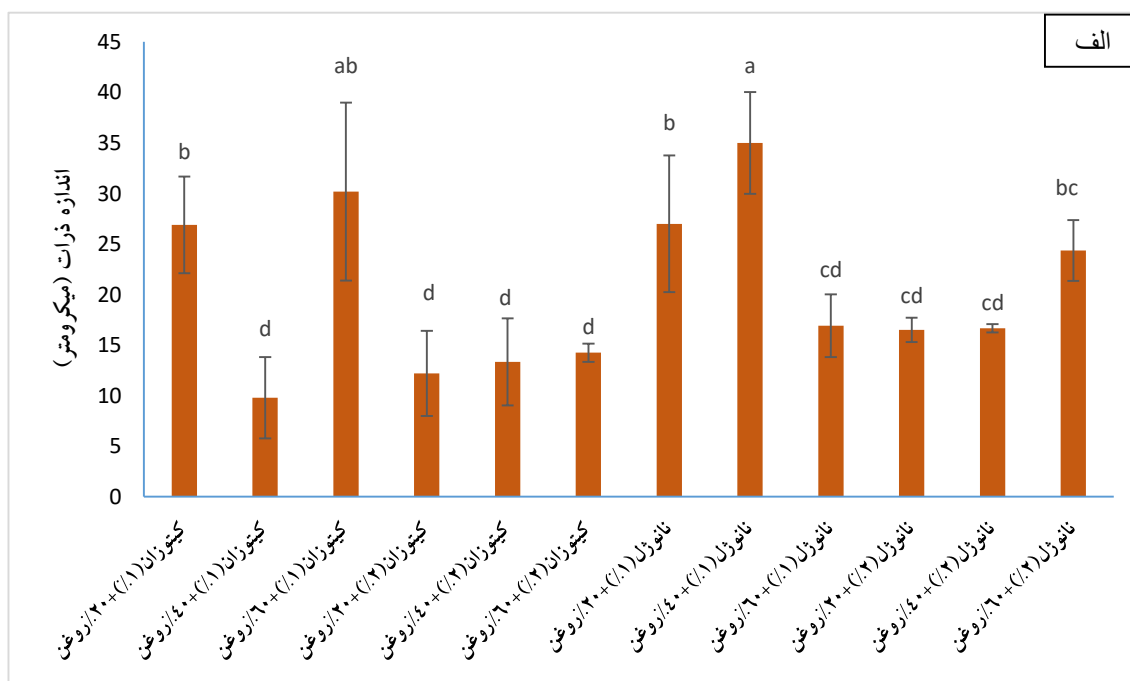
شکل ۴-۴-الف: تصاویر میکروویکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن ماهی در مقادیر مختلف پس از ۳ ساعت آماده سازی (A,B,C): امولسیون پایدار شده با کیتوزان (۱ درصد وزنی) به ترتیب در مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. (D,E,F): امولسیون کیتوزان (۲ درصد وزنی) در مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. (G,H,I): امولسیون نانوزل کیتوزان - اسید استتاریک (۱ درصد وزنی) مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. (J,K,L): امولسیون نانوزل کیتوزان - اسید استتاریک (۲ درصد وزنی) مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی).



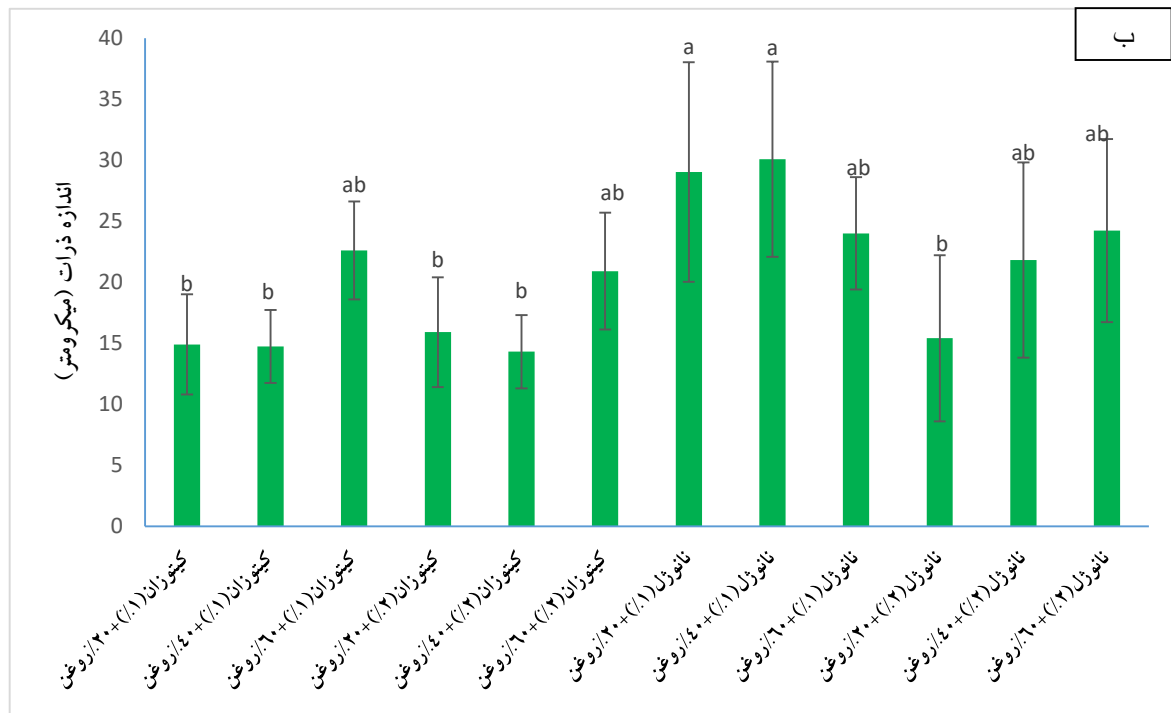


شکل ۴-۴-ب: تصاویر میکروویکوپ نوری امولسیون پیکرینگ روغن ماهی در مقادیر مختلف پس از ۷ روز آماده سازی (A,B,C): امولسیون پایدار شده با کیتوزان (۱ درصد وزنی) به ترتیب در مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. D,E,F: امولسیون کیتوزان (۲ درصد وزنی) در مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. G,H,I: امولسیون نانوزل کیتوزان - اسید استتاریک (۱ درصد وزنی) مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی. J,K,L: امولسیون نانوزل کیتوزان - اسید استتاریک (۲ درصد وزنی) مقادیر ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد روغن ماهی).

برای بررسی دقیق تر تغییرات در اندازه ذرات، از تصاویر میکروسکوپ نوری و نرم افزار image j برای محاسبه عددی اندازه ذرات استفاده شد. نتایج حاصل از اندازه گیری ها برای امولسیون های پیکرینگ پس از ۳ ساعت (الف) و ۷ روز (ب) بعد از آماده سازی در شکل (۴-۵) نشان داده شده است.



شکل ۴-۵-الف: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده در مقادیر مختلف روغن ماهی و غلظت (۱٪ و ۲٪) بعد از ۳ روز آماده سازی



شکل ۴-۵-ب: اندازه ذرات امولسیون های پیکرینگ پایدار شده در مقادیر مختلف روغن ماهی و غلظت (۱٪ و ۲٪) بعد از ۷ روز آماده سازی

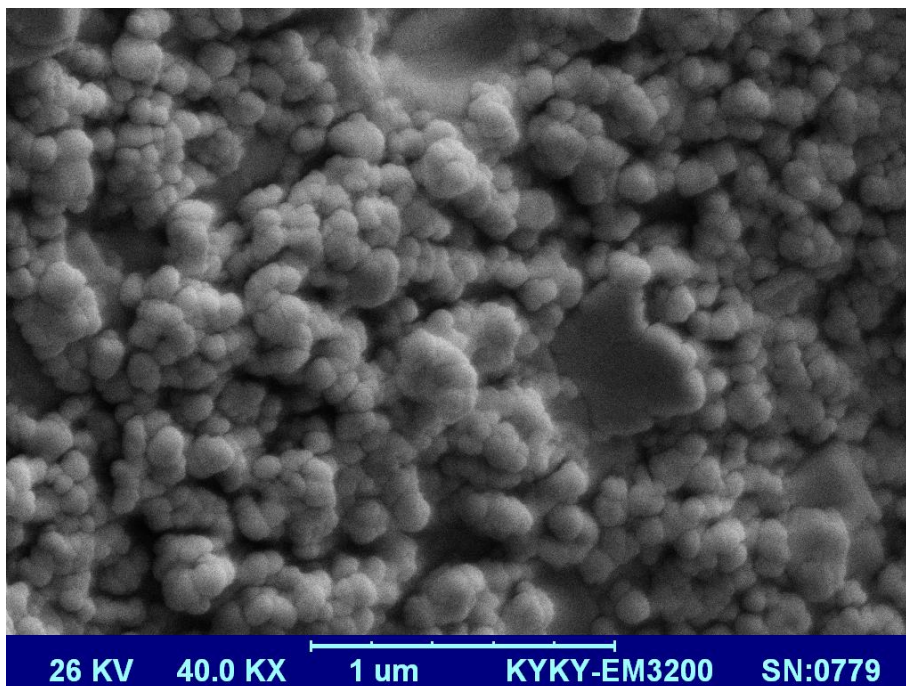
با توجه به شکل (۴-۵ الف) می توان مشاهده کرد که در روز اول اندازه ذرات امولسیونهای مختلف تقریباً با افزایش میزان روغن بیشتر شده است. در روز اول کمترین اندازه ذره مربوط به امولسیون پایدار شده با ۱ درصد کیتوزان و ۴۰ درصد روغن بود. کمتر بودن اندازه ذرات در این امولسیون با توجه به شکل ظاهری این نمونه در روز اول (۳-۴ الف) قابل تفسیر است. با توجه به اینکه شکل ظاهری نمونه

نشان می دهد که مقداری از روغن جدا شده است، بنابراین کل روغن در تشکیل قطرات روغن امولسیون شرکت نکرده است و در نتیجه احتمالاً این باعث تشکیل ذرات کوچکتر شده است. در روز ۷ (شکل ۴-۵) نیز اندازه ذرات روندی تقریباً مشابه روز اول را نشان دادند، یعنی با افزایش میزان روغن اندازه ذرات افزایش یافت. این یافته با نتایج کارهای دیگران در تطابق است. از جمله جائو و همکاران در سال ۲۰۱۶، در پژوهشی گزارش کردند که اندازه قطرات امولسیون با افزایش کسر روغن از ۰/۳ به ۰/۷ در غلظت ثابت نانوذرات کافیرین به عنوان یک پایدار کننده امولسیون افزایش یافت [Xiao et al, 2016]. موانگی و همکاران در سال ۲۰۱۶، در پژوهشی گزارش کردند که میانگین اندازه قطرات امولسیون پیکرینگ به طور معنی داری با افزایش در مقدار کسر روغن، افزایش یافت. این افزایش احتمالاً می تواند به علت غلظت کم ذرات کیتوزان و وقوع پدیده کوآگولاسیون باشد [Mwangi et al., 2016]. شاه و همکاران در سال ۲۰۱۶، در آماده سازی امولسیون پیکرینگ با نانوذرات کیتوزان تری پلی فسفات نشان دادند که اندازه قطرات امولسیون ها به علت کاهش در نسبت نانوذرات به روغن، افزایش یافت [Shah et al., 2016]. 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 افزایش میزان روغن باعث افزایش اندازه قطرات شد [Frelichowska et al., 2010].

همچنین با مقایسه اندازه ذرات در روز اول و پس از ۷ روز (شکل ۴-۵) مشاهده می کنیم که کمترین تغییرات در میانگین اندازه ذرات مربوط به نمونه پایدار شده با ۲ درصد نانوذل و ۶۰ درصد روغن بود (میانگین اندازه ذره در روز اول ۲۴/۲ و در روز هفتم ۲۴/۴ میکرومتر). این تغییرات کم این نمونه را می توان به تغییرات کم ضریب خامه ای شدن مربوط دانست. با توجه به اینکه نمونه پایدار شده با ۲ درصد نانوذل و ۶۰ درصد روغن کمترین ضریب خامه ای شدن و همچنین کمترین تغییرات اندازه ذرات را در طی نگهداری نشان داد، این نمونه به عنوان نمونه مناسب برای مراحل بعدی انتخاب شد.

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

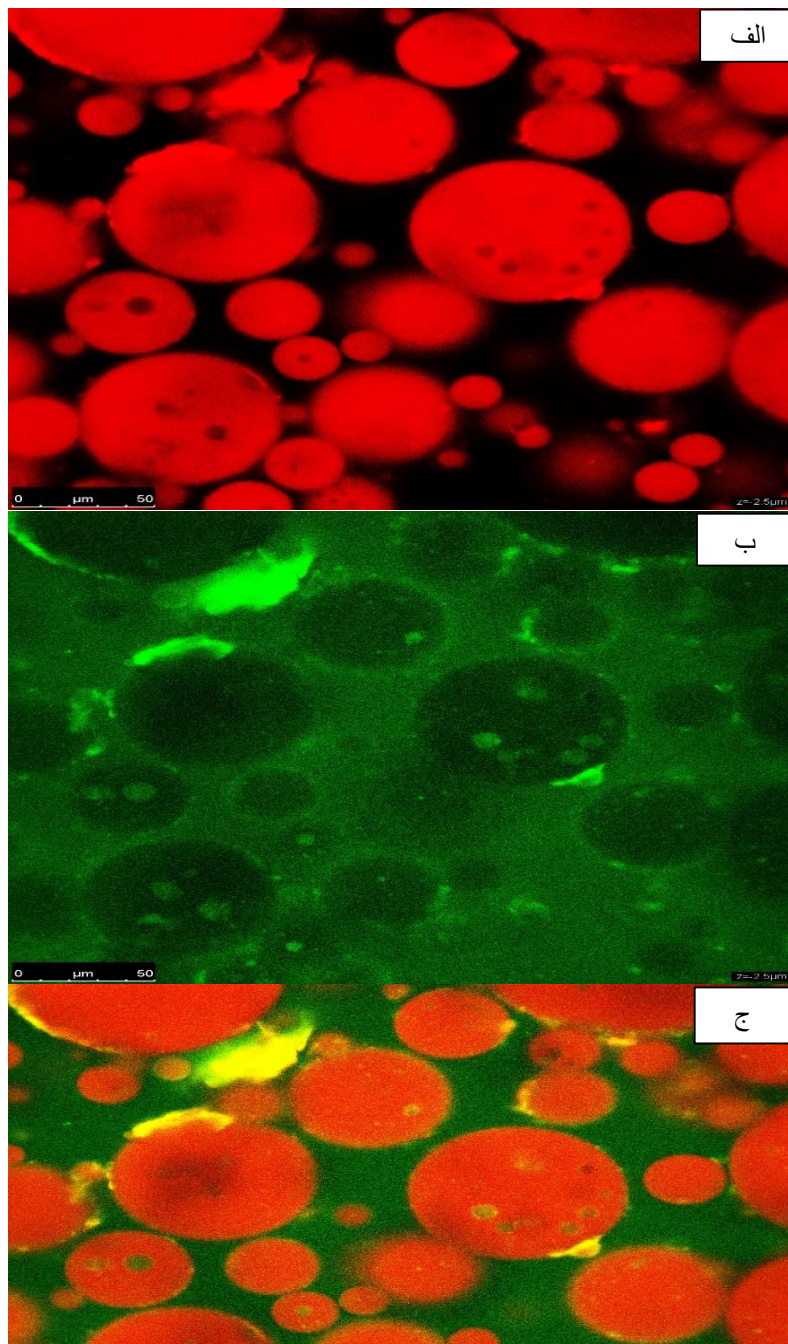
در ادامه آزمایشات اسانس میخک در غلظت ۱۰۰۰ ppm در نانوژل درون پوشانی شد و در مرحله بعد برای بررسی اثر آن در پایداری اکسیداتیو به همراه تیمارهای دیگر استفاده شد. به منظور بررسی این که درون پوشانی اسانس میخک چه اثری روی اندازه و شکل ذرات داشته است، از اسانس میخک درونپوشانی شده در نانوژل کیتوزان-اسید استتاریک عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی تهیه شد که در شکل (۴-۶) عکس مربوطه نشان داده شده است. عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوژل حاوی اسانس میخک در مقایسه با عکس نانوژل بدون اسانس (شکل ۴-۲) نشان می دهد که ذرات در محدوده ۱۰۰ نانومتر هستند همچنین یکنواختی توزیع اندازه ذرات بیشتر شده است. تشکیل بهتر ذرات در حضور اسانس میخک احتمالاً به دلیل آگریز بودن اسانس می باشد که باعث شده قسمتهای آگریز نانوژل بیشتر به سمت مرکز ذرات که اسانس در آن قرار گرفته، جهت گیری کنند و این باعث تشکیل بهتر ذرات شده است.



شکل ۴-۶: عکس میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوژل کیتوزان - اسید استتاریک حاوی اسانس میخک

۴-۵- آزمون میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال (CLSM)

ساختار مورفولوژی امولسیون های پیکرینگ، شامل ویژگیهای بین سطحی (ترکیب و ضخامت) بر روی پایداری فیزیکی و اکسیدانی موثر است. آزمون میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال برای نشان دادن ساختار بین سطحی امولسیون پیکرینگ تهیه شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک استفاده شد که عکس های آن در شکل (۴-۷) نشان داده شده است.



شکل ۴-۷: عکس های میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانوزل کیتوزان - اسید استتاریک الف: فاز روغنی رنگ شده با Nile red ب: نانوزل رنگ شده با FITC ج: ترکیب عکس الف و ب نانوزل های کیتوزان- اسید استتاریک بوسیله FITC و فاز روغن بوسیله Nile red رنگ آمیزی شد. بنابراین در شکل ۴-۷ رنگ قرمز (الف) و سبز (ب) به ترتیب نانوزل و فاز روغنی را نشان می دهد. شکل (۴-۷ ج) عکس های فلورسانس ترکیب شده امولسیون پیکرینگ می باشد. با توجه به شکل (۴-۷) می توان بیان کرد که فاز روغنی در داخل قطرات قرار گرفته است در حالیکه نانوزل های کیتوزان بر روی سطح قطرات یک لایه تشکیل داده است که این لایه می تواند یک ممانعت فضایی در مقابل کووالانس ایجاد کند. علاوه بر این با توجه به شکل (۴-۷) می توان مشاهده کرد که نانوزل های کیتوزان- اسید استتاریک علاوه بر ایجاد لایه در سطح قطرات، یک شبکه در فضای بین قطرات روغن نیز ایجاد کرده اند. بنابراین می توان گفت که در این نوع امولسیون پیکرینگ ممانعت فضایی ایجاد شده به صورت تک لایه و ساده نیست بلکه یک شبکه از ذرات جذب شده در سطح بین روغن و آب می باشد که باعث ممانعت فضایی شده است. یافته های کار حاضر در تطابق با مطالعات قبلی است [Dickinson, 2010; L.-J. Wang et al., 2015; Wongkongkatep et al., 2012].

۴-۶- اندازه گیری پایداری اکسیداتیو

برای بررسی پایداری اکسیداتیو از چهار تیمار مختلف، شامل: الف: سس مایونز حاوی روغن ماهی (نمونه شاهد)، ب: سس مایونز حاوی روغن ماهی و اسانس، ج: سس مایونز حاوی روغن ماهی و اسانس

و نانوزل کیتوزان، د : سس مایونز حاوی روغن ماهی و نانوزل کیتوزان استفاده شد. به دلیل اینکه، پراکسید به عنوان محصول اولیه اکسیداسیون شناخته شده از اندازه گیری آن برای تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون استفاده شد. پراکسیدها همانطور که گفته شد محصولات ابتدایی اکسیداسیون لیپید هستند و نقش مهمی در اتواکسیداسیون لیپیدها ایفا میکنند و در ادامه به کربونیل ها و دیگر ترکیبات ثانویه تجزیه می شوند [Kumari et al, 2014]. نتایج آزمون برای ارزیابی محصولات اولیه اکسیداسیون تولیدی برای چهار تیمار در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 12 روز محاسبه و در جدول زیر نشان داده شده است.

جدول ۳-۴: میانگین و انحراف معیار مقادیر تست پراکسید تیمارهای مختلف در روزهای ۱، ۴، ۸ و ۱۲ نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد.

نمونه	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز دوازدهم
سس (شاهد)	۱۱/۷±۶/۸ ^{aB}	۱۵/۳±۱۲/۹ ^{aB}	۱۶/۶±۱۳/۳ ^{aB}	۱۴۷/۲±۲۱/۴ ^{bbB}
سس + اسانس	۵/۹±۲/۶ ^{aB}	۱۱/۴±۷/۲ ^{aB}	۲۳/۳±۱۶/۲ ^{aB}	۱۲۹/۵±۲۶/۸ ^{bbB}
میخک				
سس + نانوزل	۱۴/۹±۱۳/۳ ^{aA}	۶/۱±۳/۲ ^{aA}	۱/۳±۰/۳ ^{aA}	۲/۳±۰/۵ ^{aA}
سس + نانوزل و اسانس میخک	۱۴/۶±۱۳/۵ ^{aA}	۱۳/۲±۵/۵ ^{aA}	۱/۱±۰/۶ ^{aA}	۸/۹±۱/۸ ^{aA}

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 (۳-۴) می توان مشاهده کرد که در مورد نمونه شاهد روند پراکسید تا روز دوازدهم افزایشی بود. البته لازم به ذکر است که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین میزان پراکسید روز اول، چهارم و هشتم مشاهده نشد. میزان پراکسید نمونه شاهد در روز دوازدهم افزایش قابل توجهی کرد که مقدار پراکسید نمونه شاهد در روز انتهایی اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با روزهای قبل داشت. در مورد نمونه سس مایونز به همراه اسانس میخک روند مشابهی با نمونه شاهد در میزان افزایش

پراکسید مشاهده شد. البته میزان پراکسید نمونه سس مایونز حاوی اسانس میخک اندکی کمتر از نمونه شاهد بود. در مورد میزان پراکسید نمونه های سس مایونز حاوی نانوزل و همچنین نمونه سس مایونز حاوی نانوزل و اسانس میخک تا روز انتهایی میزان افزایش قابل توجهی مشاهده نشد. تغییرات مشاهده شده در میزان پراکسید با توجه به اینکه اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد بین روزهای مختلف هر دو تیمار مشاهده نشد، این اختلاف مشاهده شده در روزهای مختلف می تواند ناشی از خطای آزمایش بوده باشد. همچنین میزان پراکسید نمونه سس مایونز حاوی نانوزل به همراه اسانس میخک در روز انتهایی کمی بیشتر از نمونه سس مایونز حاوی نانوزل بود که البته در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند. این نتایج نشان می دهد که درون پوشانی روغن ماهی و استفاده از آن در سس مایونز به طور معنی داری توانسته است از ایجاد پراکسید جلوگیری کند. کاهش میزان اکسیداسیون نمونه سس مایونز در حضور نانوزل احتمالاً به لایه ضخیم ایجاد شده اطراف قطرات روغن ماهی مربوط می شود که این لایه توانسته از تماس روغن با پراکسیدانها جلوگیری کند. همچنین به دلیل بار مثبت نانوزلها، پوشش ایجاد شده اطراف قطرات روغن ماهی بهتر توانسته است فلزاتی همچون Fe^{+2} که نقش پراکسیدانی دارند را دفع کند. محققین دیگر نیز اثر لایه ضخیم ایجاد شده اطراف قطرات روغن در کاهش اکسیداسیون امولسیونهای پیکرینگ را گزارش کردند. از جمله آن کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۱، تأثیر ذرت سیلیکا و توئین ۲۰ در پایداری اکسیداتیو امولسیون روغن در آب را بررسی کردند. نتایج نشان داد که ذرات سیلیکا نسبت به توئین ۲۰ سرعت اکسیداسیون لیپیدها را به طور مؤثری کاهش دادند. این محققین گزارش کردند که 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 [Kargar a 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]. 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]. همچنین عطاریان و همکاران در سال ۲۰۱۹، از توئین ۸۰ و همچنین نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک برای تهیه امولسیون روغن آفتابگردان در آب استفاده کردند. نتایج نشان داد که امولسیون پایدار شده با نانوذله کیتوزان - اسید استئاریک پایداری اکسیداتیو بیشتری نسبت به امولسیون پایدار شده با توئین ۸۰ داشت. این محققین پایداری بیشتر را به لایه ضخیم ایجاد شده توسط نانوذله کیتوزان اطراف قطرات روغن مربوط دانستند [Atarian et al., 2019].

با توجه به جدول (۳-۴)، در مورد اسانس میخک نتایج نشان داد که این اسانس نتوانسته اثر معنی داری بر کاهش اکسیداسیون داشته باشد و حتی ممکن است اثر پراکسیدانی داشته است. با توجه به اینکه ترکیبات آنتی اکسیدانی در غلظت بالا می توانند خاصیت پراکسیدانی داشته باشند [Hudson, 2012]. همچنین با توجه به قدرت آنتی اکسیدانی بالای اسانس میخک [Rajaei et al., 2017]، احتمالاً غلظت اسانس استفاده شده مناسب نبوده است و غلظت های پایینتری از آن مورد نیاز بوده است. همچنین بررسی میزان محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون نمونه ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در جدول (۴-۴) نشان داده شده است.

جدول ۴-۴: میانگین و انحراف معیار مقادیر تست TBA تیمارهای مختلف در در روزهای ۱، ۴، ۸ و ۱۲ نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد.

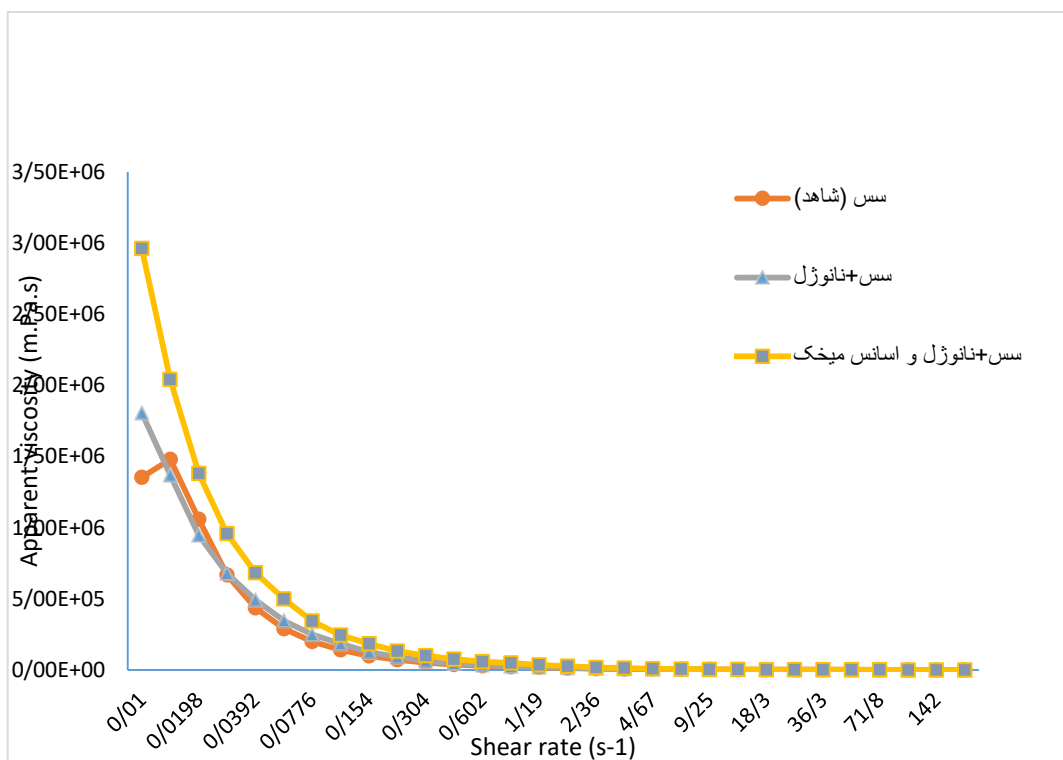
نمونه	روز اول	روز چهارم	روز هشتم	روز دوازدهم
سس (شاهد)	۱۱/۴±۵/۸ ^{aA}	۹/۸±۰/۲ ^{abA}	۱۸/۰±۳/۳ ^{abA}	۲۶/۱±۴/۱ ^{aA}
سس + اسانس میخک	۸/۳±۱/۵ ^{aA}	۸/۹±۱/۰ ^{aA}	۱۵/۳±۴/۷ ^{aA}	۲۰/۷±۶/۲ ^{aA}
سس + نانوزل	۷/۰±۰/۴ ^{aA}	۱۱/۱±۲/۵ ^{abA}	۱۹/۴±۶/۲ ^{abA}	۲۲/۱±۴/۰ ^{bA}
سس + نانوزل و اسانس میخک	۷/۶±۲/۱ ^{aA}	۱۲/۶±۲/۳ ^{bA}	۲۴/۸±۲/۳ ^{bA}	۳۶/۷±۶/۲ ^{bA}

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 (۴-۴) اگرچه در تمام نمونه ها روند افزایشی در میزان شاخص TBA مشابه شاخص پراکسید مشاهده شد. اما با توجه به اینکه اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد در میزان پراکسید در روزهای مختلف مشاهده نشد، بنابراین اختلافات مشاهده شده را می توان به دلیل خطای ناشی از انجام آزمایش مربوط دانست. با مقایسه کلی نتایج پراکسید و TBA می توان مشاهده کرد که نتایج TBA نسبت به پراکسید قابل قبول نیست. این نتیجه چندین دلیل می تواند داشته باشد. دلیل اول احتمالاً به عدم تشکیل یا تشکیل کم ترکیبات ثانویه از جمله مالون دی آلدئید مربوط می باشد. دلیل دوم به عدم مناسب بودن این شاخص در بررسی ترکیبات ثانویه این سیستم غذایی (سس مایونز) مربوط است. بررسیهای قبلی نشان داده که TBA یک شاخص مناسب برای بررسی سطوح کم اکسیداسیون نیست [Kolanowski, Jaworska, and Weißbrodt, 2007]. همچنین لازم به ذکر است که میزان تشکیل مالون دی آلدئید به ترکیب اسیدهای چرب روغن نیز بستگی دارد [McClements and Decker, 2000].

۷-۴- اندازه گیری رئولوژیکی

در شکل (۴-۸) ویسکوزیته ظاهری در مقابل سرعت برشی نمونه های مختلف نشان داده شده است.



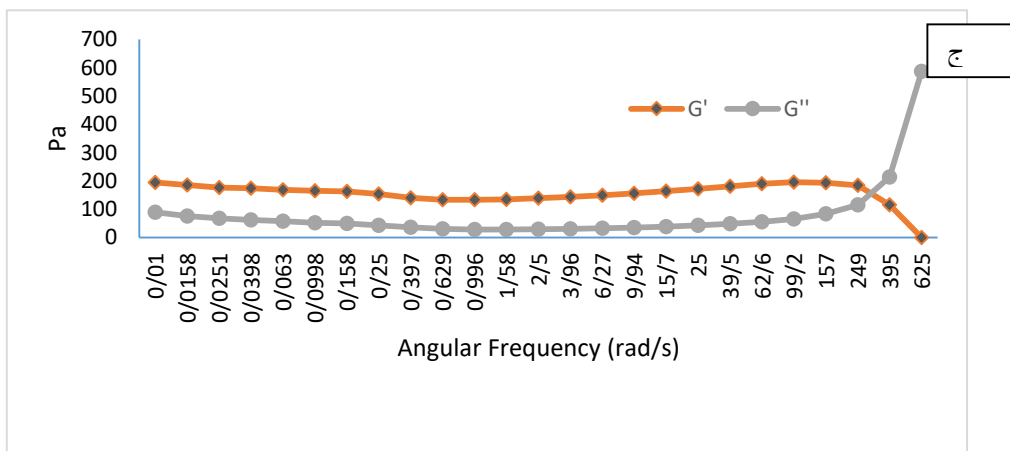
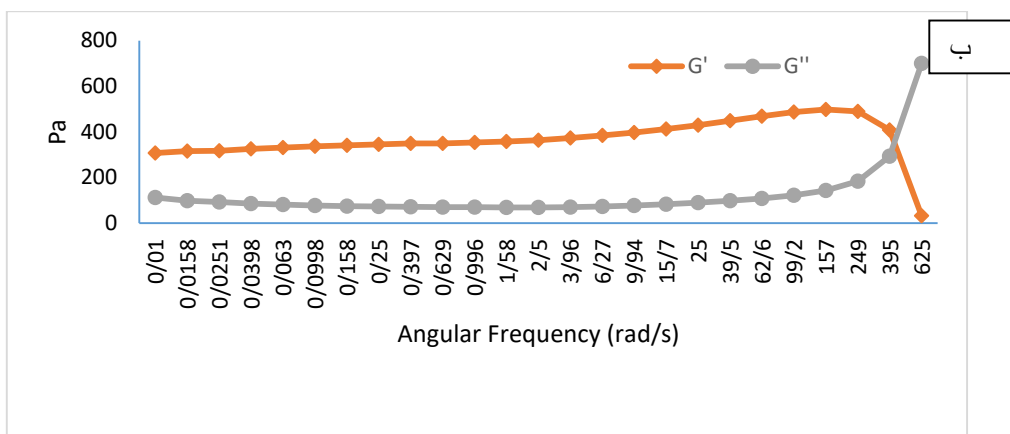
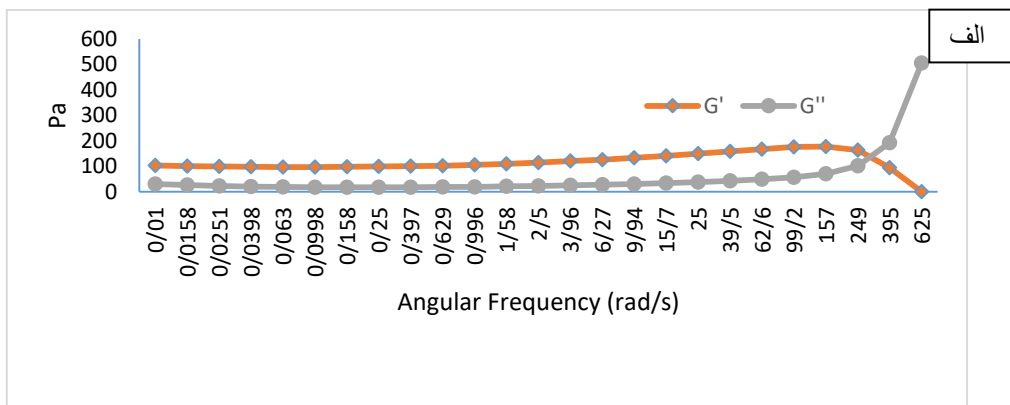
شکل ۴-۸: ویسکوزیته ظاهری در مقابل سرعت برشی نمونه های مختلف

با توجه به شکل (۴-۸) می توان مشاهده کرد که تمام نمونه ها جزء سیالهای غیر نیوتنی و از نوع سودوپلاستیک یا رقیق شونده برشی بودند. همچنین می توان مشاهده کرد که ویسکوزیته نمونه های مختلف به تدریج با افزایش سرعت برشی کاهش پیدا کرده است. این رفتار جریان را اینگونه می توان تفسیر کرد که هنگامی که سرعت برشی به اندازه کافی افزایش یافت تا بر حرکت براونی غلبه کند مقاومت به جریان نیز کاهش و در نتیجه ویسکوزیته کاهش پیدا کرده است [Erçelebi Ibanoglu, 2009]. همچنین ممکن است رفتار رقیق شونده با برش، نتیجه شکست پیوندهای بین اجزای تشکیل دهنده نمونه ها باشد [رضی و همکاران، ۱۳۹۷].

علاوه براین با توجه به شکل (۴-۸) می توان مشاهده کرد که در سرعت های برشی کم ویسکوزیته نمونه های حاوی نانوژل بیشتر از نمونه شاهد بوده است. به ویژه این رفتار در مورد نمونه نانوژل به همراه اسانس میخک مشهود تر بود. این نتیجه نشان می دهد که احتمالاً نانوژل به همراه اسانس میخک

توانسته برهمکنش های غیر کولانسی ساختار ژلی سس مایونز را تقویت کند که این باعث افزایش ویسکوزیته شده است که البته در سرعت های برشی بالا به دلیل از بین رفتن این برهمکنش ها، میزان ویسکوزیته تمام نمونه ها تقریباً مشابه یکدیگر بوده است.

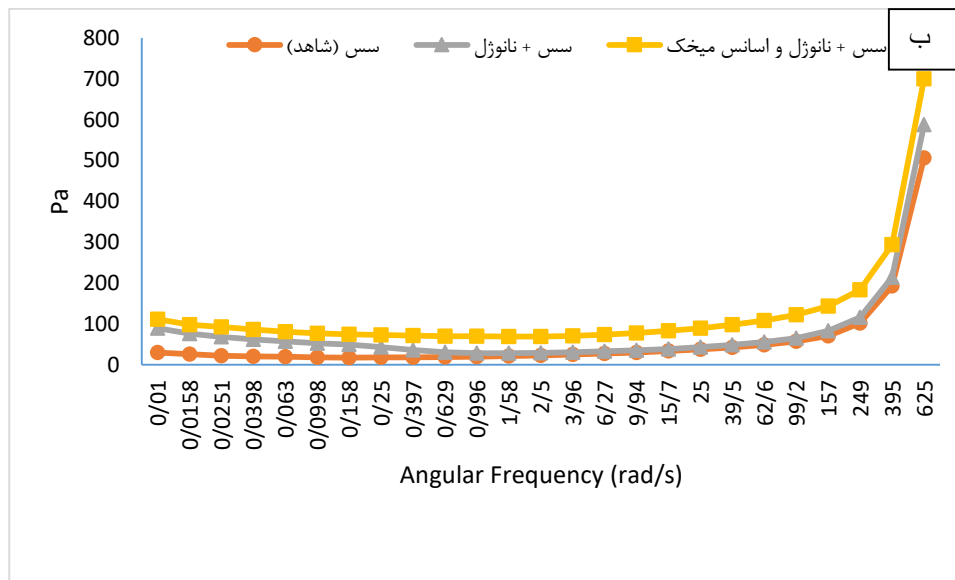
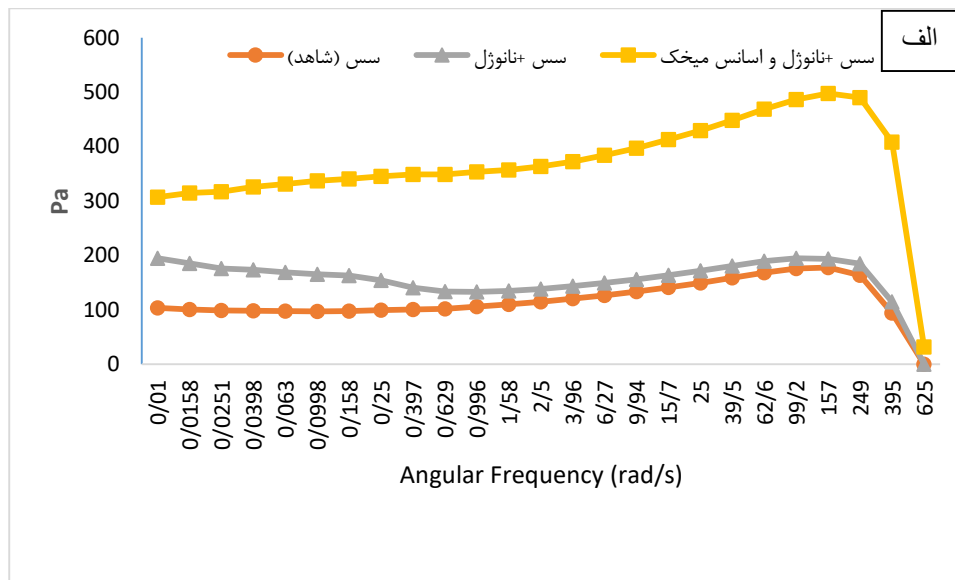
در شکل (۴-۹) ضریب ذخیره (G') و ضریب اتلاف (G'') نمونه های مختلف در فرکانس های مختلف نشان داده شده است. با توجه به نتایج حاصل از شکل (۴-۹) می توان مشاهده کرد که در فرکانس های پایین در تمام نمونه ها ضریب ذخیره بیشتر از ضریب اتلاف بوده است که این نشان می دهد که در مورد تمام نمونه ها رفتار الاستیک بر رفتار ویسکوز غالب بوده است. غالب بودن رفتار الاستیک بر رفتار ویسکوز نشان می دهد که نمونه ها ساختاری ژل گونه داشته اند. اما در فرکانس های بالا رفتار ویسکوز بر رفتار الاستیک غلبه کرده است. این نتیجه نشان می دهد که ساختار ژلی ایجاد شده در نمونه ها در اثر نیروهای بین مولکولی ضعیف بوده است که در فرکانس های بالا این نیروها شکسته شده است و نمونه ها رفتار ویسکوز از خود نشان داده اند. محققین دیگر از جمله یی و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی رفتار رئولوژی امولسیون پیکرینگ پایدار شده با نانو ذرات نشاسته ذرت و همچنین دایی و همکاران (۲۰۱۸) در امولسیون های ژلی پایدار شده با نانوذرات صمغ عربی/ زئین نتایج مشابه با کار حاضر را مشاهده کردند. نکته قابل توجه این است که در مورد نمونه حاوی نانوذل به همراه اسانس میخک غلبه رفتار ویسکوز بر الاستیک در فرکانس بالاتر از ۴۰۰ (رادیان/ ثانیه) مشاهده گردید اما در مورد نمونه شاهد و نمونه حاوی نانوذل کیتوزان-اسید استئاریک این غلبه رفتار در فرکانس بالاتر از ۳۰۰ (رادیان/ ثانیه) بود. این نتیجه نشان می دهد که در نمونه حاوی نانوذل به همراه اسانس میخک ساختار ژلی قویتری ایجاد شده است.



شکل ۴-۹: ضریب ذخیره و ضریب اتلاف نمونه های الف: سس (شاهد)، ب: سس + نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک،

ج: سس + نانوذله و اسانس میخک

در شکل (۴-۱۰) اثر نانوژل به همراه اسانس میخک روی تغییرات ضریب ذخیره و ضریب اتلاف در فرکانس های مختلف نشان داده شده است.



شکل ۴-۱۰: اثر نانوژل کیتوزان- اسید استئاریک و اسانس میخک بر ضریب ذخیره (الف) و ضریب اتلاف (ب)

با توجه به شکل (۴-۱۰) می توان مشاهده کرد که اگرچه نانوژل و اسانس میخک توانسته اند اندکی باعث افزایش ضریب اتلاف شوند اما اثر نانوژل و اسانس میخک بر ضریب ذخیره خیلی مشهود تر بوده

است. شکل (۴-۱۰ الف) نشان می دهد که نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک در فرکانس های پایین توانسته ضریب ذخیره را افزایش دهد اما زمانی که اسانس میخک درونپوشانی شده در نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک به نمونه های سس مایونز اضافه گردید افزایش ضریب ذخیره در تمام فرکانس ها نسبت به نمونه های دیگر مشاهده شد. این نتیجه نشان می دهد که اسانس میخک درون پوشانی شده در نانوذله توانسته برهمکنش های بین مولکولی قوی تری را در سس مایونز ایجاد کند که این به استحکام بیشتر ساختار ژلی سس مایونز منجر شده است.

۸-۴- نتیجه گیری

نتایج طیفهای FT-IR اتصال موفقیت آمیز بین کیتوزان و اسید استتاریک را نشان داد. نتایج حاصل از بررسی ساختار کیتوزان با اسید استتاریک توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که با افزودن اسید استتاریک در ساختار کیتوزان ذرات یکنواخت تری حاصل شد. نتایج حاصل از اثر غلظت کیتوزان و نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک و همچنین درصد روغن بر پایداری امولسیون روغن ماهی نشان داد که غلظت های بالاتر پایدار کننده باعث پایداری بیشتر امولسیون شد. همچنین امولسیونهای با درصد بالاتر روغن نسبت به امولسیونهای با روغن کمتر پایدارتر بودند. علاوه بر این نتایج کلی نشان داد که نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک نقش پایدار کنندگی بهتری نسبت به کیتوزان در پایداری سازی امولسیون روغن ماهی داشته است. نتایج حاصل از میکروسکوپ لیزری کانفوکال نشان داد که نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک علاوه بر ایجاد لایه بر سطح قطرات، با تشکیل شبکه بین قطرات روغن باعث پایداری امولسیون ها می شود. نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که درون پوشانی اسانس میخک در نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک باعث بهبود تشکیل ذرات نانو و همچنین گروهی تر شدن ذرات می شود. نتایج بررسی اکسیداتیو نشان داد که استفاده از روغن ماهی در سس مایونز به صورت درون پوشانی شده در نانوذله کیتوزان - اسید استتاریک می تواند باعث افزایش پایداری اکسیداتیو شود. اما استفاده از اسانس میخک در سس مایونز در غلظت مورد استفاده اثر قابل توجهی بر

پایداری اکسیداتیو نداشت. نتایج حاصل از آزمونهای رئولوژی نشان داد که استفاده از روغن ماهی به صورت درون پوشانی شده در نانوژل باعث افزایش خاصیت الاستیک سس مایونز شد. خاصیت الاستیک سس مایونز وقتی که نانوژل در ترکیب با اسانس میخک در سس مایونز استفاده شد، به میزان قابل توجهی تشدید شد.

۹-۴- پیشنهادات

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

منابع

- فاطمی ح، (1378)، "شیمی مواد غذایی"، چاپ هفتم، شرکت سهامی انتشار، تهران، ص 49-55
- میرعرب رضی، معتمدزادگان، شهیدی و رشیدی نژاد. (۲۰۱۸). بررسی اثر صمغ دانه ریحان بر ویژگی های رئولوژیکی ژل حاصل از آلبومین سفیده تخم مرغ. *علوم و صنایع غذایی ایران*, ۱۵ (۷۷), ۲۷۸-۲۷۱
- 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.
- Aronson, W. J., Glaspy, J. A., Reddy, S. T., Reese, D., Heber, D., & Bagga, D. (2001). Modulation of omega-3/omega-6 polyunsaturated ratios with dietary fish oils in men with prostate cancer. *Urology*, 58(2), 283-288.
- Atarian, M., Rajaei, A., Tabatabaei, M., Mohsenifar, A., & Bodaghi, H. (2019). Formulation of Pickering sunflower oil-in-water emulsion stabilized by chitosan-stearic acid nanogel and studying its oxidative stability. *Carbohydrate polymers*, 210, 47-55.
- Ayame, H., Morimoto, N., & Akiyoshi, K. (2008). Self-assembled cationic nanogels for intracellular protein delivery. *Bioconjugate chemistry*, 19(4), 882-890.
- 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.
- Blackmore, S., Stafford, P., & Persson, V. (1995). Palynology and systematics of Ranunculiflorae. In *Systematics and Evolution of the Ranunculiflorae* (pp. 71-82). Springer, Vienna.
- 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(1-2), 359-378.
- Cai, L., & Wu, C. D. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of natural products*, 59(10), 987-990.
- Caon, T., Porto, L. C., Granada, A., Tagliari, M. P., Silva, M. A. S., Simões, C. M. O., ... & Soldi, V. (2014). Chitosan-decorated polystyrene-b-poly (acrylic acid) polymersomes as novel carriers for topical delivery of finasteride. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 165-172.

- Chaput, E., Saladin, R., Silvestre, M., & Edgar, A. D. (2000). Fenofibrate and rosiglitazone lower serum triglycerides with opposing effects on body weight. *Biochemical and biophysical research communications*, 271(2), 445-450.
- Chatterjee, D., & Bhattacharjee, P. (2013). Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 545-550.
- Chen, S., Rotaru, A. E., Liu, F., Philips, J., Woodard, T. L., Nevin, K. P., & Lovley, D. R. (2014). Carbon cloth stimulates direct interspecies electron transfer in syntrophic co-cultures. *Bioresource technology*, 173, 82-86.
- Cheong, A. M., & Nyam, K. L. (2016). Improvement of physical stability of kenaf seed oil-in-water nanoemulsions by addition of β -cyclodextrin to primary emulsion containing sodium caseinate and Tween 20. *Journal of Food Engineering*, 183, 24-31.
- Chevalier, Y., & Bolzinger, M. A. (2013). Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 23-34.
- Chiono, Valeria, Piergiorgio Gentile, Francesca Boccafoschi, Irene Carmagnola, Momchil Ninov, Ventsislava Georgieva, George Georgiev, and Gianluca Ciardelli. "Photoactive chitosan switching on bone-like apatite deposition." *Biomacromolecules* 11, no. 2 (2010): 309-315.
- Chuang, I., & Ho, A. (2016). HarvardX and MITx: Four years of open online courses--fall 2012-summer 2016.
- Cui, G., Zhang, F., Zhou, X., Huang, Y., Xuan, X., & Wang, J. (2015). Acylamido-based anion-functionalized ionic liquids for efficient SO₂ capture through multiple-site interactions. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(9), 2264-2270.
- Dai, L., Sun, C., Wei, Y., Mao, L., & Gao, Y. (2018). Characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/gum arabic complex colloidal nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 74, 239-248.
- de Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International dairy journal*, 20(4), 292-302.
- De Vos, R. J., Weir, A., van Schie, H. T., Bierma-Zeinstra, S. M., Verhaar, J. A., Weinans, H., & Tol, J. L. (2010). Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial. *Jama*, 303(2), 144-149.
- Depree, J. A., & Savage, G. P. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 157-163.

Desai, K. G. H., & Jin Park, H. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, 23(7), 1361-1394.

Di Giorgio, L., Salgado, P. R., & Mauri, A. N. (2019). Encapsulation of fish oil in soybean protein particles by emulsification and spray drying. *Food Hydrocolloids*, 87, 891-901.

Dickinson, W. R. (2009). The Gulf of Mexico and the southern margin of Laurentia. *Geology*, 37(5), 479-480.

Dolz, M., Jiménez, J., Hernández, M. J., Delegido, J., & Casanovas, A. (2007). Flow and thixotropy of non-contaminating oil drilling fluids formulated with bentonite and sodium carboxymethyl cellulose. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 57(3-4), 294-302.

Dong, S., & Liu, J. M. (2012). Recent progress of multiferroic perovskite manganites. *Modern Physics Letters B*, 26(09), 1230004.

Dong, S., & Liu, J. M. (2012). Recent progress of multiferroic perovskite manganites. *Modern Physics Letters B*, 26(09), 1230004.

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.

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.

Erçelebi, E. A., & Ibanoglu, E. (2009). Rheological properties of whey protein isolate stabilized emulsions with pectin and guar gum. *European Food Research and Technology*, 229(2), 281-286.

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.

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.

Faltdt, P., Bergenstahl, B., & Carlsson, G. (1993). The surface coverage of fat on food powders analyzed by ESCA (electron spectroscopy for chemical analysis). *Food Structure*, 12(2), 10.

Faltdt, P., Bergenstahl, B., & Carlsson, G. (1993). The surface coverage of fat on food powders analyzed by ESCA (electron spectroscopy for chemical analysis). *Food Structure*, 12(2), 10.

Faraji, H., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2004). Role of continuous phase protein on the oxidative stability of fish oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(14), 4558-4564.

Fazel, M., Sahari, M. A., & Barzegar, M. (2008). Determination of main tea seed oil antioxidants and their effects on common kilka oil. *International Food Research Journal*, 15(1), 209-217.

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.

Frankel, E. N. (1980). Lipid oxidation. *Progress in lipid research*, 19(1-2), 1-22.

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.

Gallarate, M., Trotta, M., Battaglia, L., & Chirio, D. (2009). Preparation of solid lipid nanoparticles from W/O/W emulsions: preliminary studies on insulin encapsulation. *Journal of microencapsulation*, 26(5), 394-402.

Garcia-Rodriguez, L. (2002). Seawater desalination driven by renewable energies: a review. *Desalination*, 143(2), 103-113.

Goodhart, R. S., & Shils, M. E. (1980). Modern nutrition. *Health and Disease*.

Gülçin, I., Küfrevioğlu, Ö. İ., Oktay, M., & Büyükokuroğlu, M. E. (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of ethnopharmacology*, 90(2-3), 205-215.

Gura, K. M., Lee, S., Valim, C., Zhou, J., Kim, S., Modi, B. P., ... & Puder, M. (2008). Safety and efficacy of a fish-oil-based fat emulsion in the treatment of parenteral nutrition-associated liver disease. *Pediatrics*, 121(3), e678-e686.

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

Hamidi, M., Azadi, A., & Rafiei, P. (2008). "Hydrogel nanoparticles in drug delivery". *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1638-1649.

Han, Y., Zhao, M., Dong, L., Feng, J., Wang, Y., Li, D., & Li, X. (2015). MOF-derived porous hollow Co₃O₄ parallelepipeds for building high-performance Li-ion batteries. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(45), 22542-22546.

He, K., Zhang, X., Ren, S., & Sun, J. (2015). Delving deep into rectifiers: Surpassing human-level performance on imagenet classification. In *Proceedings of the IEEE international conference on computer vision* (pp. 1026-1034).

Henderson, R. J., Park, M. T., & Sargent, J. R. (1995). The desaturation and elongation of 14 C-labelled polyunsaturated fatty acids by pike (*Esox lucius* L.) in vivo. *Fish physiology and biochemistry*, 14(3), 223-235.

Hossain, F., Follett, P., Salmieri, S., Vu, K. D., Frascini, C., & Lacroix, M. (2019). Antifungal activities of combined treatments of irradiation and essential oils (EOs) encapsulated chitosan nanocomposite films in in vitro and in situ conditions. *International journal of food microbiology*, 295, 33-40.

Huang, J. C., Babak, T., Corson, T. W., Chua, G., Khan, S., Gallie, B. L., ... & Morris, Q. D. (2007). Using expression profiling data to identify human microRNA targets. *Nature methods*, 4(12), 1045.

Hudson, B.J., (2012). *Food antioxidants*. Springer Science & Business Media.

Hui, J., Zhang, X., Zhang, Z., Wang, S., Tao, L., Wei, Y., & Wang, X. (2012). Fluorinated HAp: Ln³⁺(Ln= Eu or Tb) nanoparticles for cell-imaging. *Nanoscale*, 4(22), 6967-6970.

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.

Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Maguire, P., Zhang, H., & Miao, S. (2016). Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. *Food Hydrocolloids*, 58, 194-203.

Kabanov, A. V., & Vinogradov, S. V. (2009). Nanogels as pharmaceutical carriers: finite networks of infinite capabilities. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(30), 5418-5429.

Kang, J. H., & Song, K. B. (2019). Characterization of Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.) starch films incorporated with clove bud essential oil and their antioxidant effects on pork belly during storage. *LWT*, 111, 711-718.

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.

Kargar, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2011). Microstructural design to reduce lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Procedia Food Science*, 1, 104-108.

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

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.

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.

Kirchhof, P., Benussi, S., Kotecha, D., Ahlsson, A., Atar, D., Casadei, B., ... & Hindricks, G. (2016). 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European journal of cardio-thoracic surgery*, 50(5), e1-e88.

Klinkesorn, U. (2013). The role of chitosan in emulsion formation and stabilization. *Food reviews international*, 29(4), 371-393.

Kolanowski, W., & Berger, S. (1999). Possibilities of fish oil application for food products enrichment with omega-3 PUFA. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(1), 39-49.

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.

Kolanowski, W., Jaworska, D., & Weißbrodt, J. (2007). Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(2), 181-191.

Kulmyrzaev, A., Bryant, C., & McClements, D. J. (2000). Influence of sucrose on the thermal denaturation, gelation, and emulsion stabilization of whey proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1593-1597.

Kumari, R., Kumar, R., Open Source Drug Discovery Consortium, & Lynn, A. (2014). g_mmpbsa □ A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *Journal of chemical information and modeling*, 54(7), 1951-1962.

Kurukji, D., Pichot, R., Spyropoulos, F., & Norton, I. T. (2013). Interfacial behaviour of sodium stearoyllactylate (SSL) as an oil-in-water pickering emulsion stabiliser. *Journal of colloid and interface science*, 409, 88-97.

Larkin, Gregory Luke, and Annette L. Beutrais. "A preliminary naturalistic study of low-dose ketamine for depression and suicide ideation in the emergency department." *International Journal of Neuropsychopharmacology* 14, no. 8 (2011): 1127-1131.

Larsen, J., & Boeckner, L. (2005). NF05-624 Omega-3 Fatty Acids. Historical Materials from University of Nebraska-Lincoln Extension, 1774.

- 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.
- Lee, K. G., & Shibamoto, T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. *Food Chemistry*, 74(4), 443-448.
- Lee, K. G., & Shibamoto, T. (2001). Inhibition of malonaldehyde formation from blood plasma oxidation by aroma extracts and aroma components isolated from clove and eucalyptus. *Food and Chemical Toxicology*, 39(12), 1199-1204.
- 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.
- Liao, Y., Yu, F., Long, L., Wei, B., Lu, L., & Zhang, J. (2011). Low-cost and reliable thin film encapsulation for organic light emitting diodes using magnesium fluoride and zinc sulfide. *Thin Solid Films*, 519(7), 2344-2348.
- Lissant, K. J. (1983). Demulsification; industrial applications.
- Liu, Z., Luo, P., Qiu, S., Wang, X., & Tang, X. (2016). Deepfashion: Powering robust clothes recognition and retrieval with rich annotations. In *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition* (pp. 1096-1104).
- Marefati, A., Bertrand, M., Sjöö, M., Dejmek, P., & Rayner, M. (2017). Storage and digestion stability of encapsulated curcumin in emulsions based on starch granule Pickering stabilization. *Food Hydrocolloids*, 63, 309-320.
- 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.
- 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.
- MCDONALD, R. E., & HULTIN, H. O. (1987). Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *Journal of Food Science*, 52(1), 15-21.
- 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.
- Meng, X., Bai, Y., Gao, J., Li, X., & Chen, H. (2017). Effects of high hydrostatic pressure on the structure and potential allergenicity of the major allergen bovine β -lactoglobulin. *Food chemistry*, 219, 290-296.

- Muratore, F., Barbosa, S. E., & Martini, R. E. (2019). Development of bioactive paper packaging for grain-based food products. *Food Packaging and Shelf Life*, *20*, 100317.
- 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.
- Mytle, N., Anderson, G. L., Doyle, M. P., & Smith, M. A. (2006). Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food control*, *17*(2), 102-107.
- Namini, S. M. 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.
- Nazem-Bokaei, H., Gopalakrishnan, S., Ferry, J. G., Wood, T. K., & Maranas, C. D. (2016). Assessing methanotrophy and carbon fixation for biofuel production by *Methanosarcina acetivorans*. *Microbial cell factories*, *15*(1), 10.
- Neethirajan, S., & Jayas, D. S. (2011). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and bioprocess technology*, *4*(1), 39-47.
- 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.
- Oh, H., Reddy, B. V. V. G., & Irvine, K. D. (2009). Phosphorylation-independent repression of Yorkie in Fat-Hippo signaling. *Developmental biology*, *335*(1), 188-197.
- Pardini, D. A. (2006). The callousness pathway to severe violent delinquency. *Aggressive Behavior: Official Journal of the International Society for Research on Aggression*, *32*(6), 590-598.
- 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.
- Rajaei, A., Hadian, M., Mohsenifar, A., Rahmani-Cherati, T., & Tabatabaei, M. (2017). A coating based on clove essential oils encapsulated by chitosan-myristic acid nanogel efficiently enhanced the shelf-life of beef cutlets. *Food Packaging and Shelf Life*, *14*, 137-145.
- Rodriguez, J., Lai, J. S., & Peng, F. Z. (2002). Multilevel inverters: a survey of topologies, controls, and applications. *IEEE Transactions on industrial electronics*, *49*(4), 724-738.

Rolland, J. P., Maynor, B. W., Euliss, L. E., Exner, A. E., Denison, G. M., & DeSimone, J. M. (2005). Direct fabrication and harvesting of monodisperse, shape-specific nanobiomaterials. *Journal of the American Chemical Society*, *127*(28), 10096-10100.

Şahiner, A., Gürdal, M., & Düden, F. K. (2007). Triple sequences and their statistical convergence.

Sakai, T., Matsunaga, T., Yamamoto, Y., Ito, C., Yoshida, R., Suzuki, S., ... & Chung, U. I. (2008). Design and fabrication of a high-strength hydrogel with ideally homogeneous network structure from tetrahedron-like macromonomers. *Macromolecules*, *41*(14), 5379-5384.

Sasaki, Y., & Akiyoshi, K. (2010). Nanogel engineering for new nanobiomaterials: from chaperoning engineering to biomedical applications. *The Chemical Record*, *10*(6), 366-376.

Schmidt, V. A. (2010). Taking ideas and discourse seriously: explaining change through discursive institutionalism as the fourth 'new institutionalism'. *European political science review*, *2*(1), 1-25.

Schmitt, B. H. (2010). *Customer experience management: A revolutionary approach to connecting with your customers*. John Wiley & Sons.

Schulz, P. C., Rodriguez, M. S., Del Blanco, L. F., Pistonesi, M., & Agullo, E. (1998). Emulsification properties of chitosan. *Colloid and Polymer Science*, *276*(12), 1159-1165.

Semo, E., Kesselman, E., Danino, D., & Livney, Y. D. (2007). Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals. *Food hydrocolloids*, *21*(5-6), 936-942.

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.

Sharma, M. (2016). *Theoretical foundations of health education and health promotion*. Jones & Bartlett Publishers.

Sharma, P. R., & Varma, A. J. (2014). Thermal stability of cellulose and their nanoparticles: effect of incremental increases in carboxyl and aldehyde groups. *Carbohydrate polymers*, *114*, 339-343.

Sharma, P. R., & Varma, A. J. (2014). Thermal stability of cellulose and their nanoparticles: effect of incremental increases in carboxyl and aldehyde groups. *Carbohydrate polymers*, *114*, 339-343.

Shinoda, K., & Saito, H. (1969). The stability of O/W type emulsions as functions of temperature and the HLB of emulsifiers: the emulsification by PIT-method. *Journal of Colloid and Interface Science*, *30*(2), 258-263.

- Sonah, H., O'Donoghue, L., Cober, E., Rajcan, I., & Belzile, F. (2015). Identification of loci governing eight agronomic traits using a GBS-GWAS approach and validation by QTL mapping in soya bean. *Plant biotechnology journal*, 13(2), 211-221.
- Song, J., Li, J., Li, X., Xu, L., Dong, Y., & Zeng, H. (2015). Quantum dot light-emitting diodes based on inorganic perovskite cesium lead halides (CsPbX₃). *Advanced materials*, 27(44), 7162-7167.
- Song, M. L., Yu, H. Y., Chen, L. M., Zhu, J., Wang, Y. Y., Yao, J., ... & Tam, K. C. (2019). Multi-branch strategy to decorate carboxyl groups on cellulose nanocrystals to prepare adsorbent/flocculants and Pickering emulsions. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*.
- Strijbosch, R. A., Lee, S., Arsenault, D. A., Andersson, C., Gura, K. M., Bistrrian, B. R., & Puder, M. (2008). Fish oil prevents essential fatty acid deficiency and enhances growth: clinical and biochemical implications. *Metabolism*, 57(5), 698-707.
- Stuart, M. A. C., Huck, W. T., Genzer, J., Müller, M., Ober, C., Stamm, M., ... & Winnik, F. (2010). Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials. *Nature materials*, 9(2), 101.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., & Solans, C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in colloid and interface science*, 108, 303-318.
- Taherian, A., Li, X., Liu, Y., & Haas, T. A. (2011). Differences in integrin expression and signaling within human breast cancer cells. *BMC cancer*, 11(1), 293.
- Timofte, R., Agustsson, E., Van Gool, L., Yang, M. H., & Zhang, L. (2017). Ntire 2017 challenge on single image super-resolution: Methods and results. In *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition Workshops* (pp. 114-125).
- 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.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- Venkateshwarlu, G., Prasad, A. M. K., & Kumar, K. R. (2014). „Evaluation of Mechanical Properties of Aluminium Alloy AA 6061 (HE-20). *International Journal of Current Engineering and Technology*, 2, 295-7.
- 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.

- 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.
- Wang, X., Ouyang, Y., Liu, J., Zhu, M., Zhao, G., Bao, W., & Hu, F. B. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Bmj*, 349, g4490.
- 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.
- Weiss, W., & Rommel, M. (2008). Process heat collectors. *State of the art within Task*, 33, 1-58.
- Wong, R. J., Aguilar, M., Cheung, R., Perumpail, R. B., Harrison, S. A., Younossi, Z. M., & Ahmed, A. (2015). Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*, 148(3), 547-555.
- Wongkongkatep, P., Manopwisedjaroen, K., Tiposoth, P., Archakunakorn, S., Pongtharangkul, T., Suphantharika, M., ... & Wongkongkatep, J. (2012). Bacteria interface pickering emulsions stabilized by self-assembled bacteria–chitosan network. *Langmuir*, 28(13), 5729-5736.
- Xia, Y., Li, W., Cobley, C. M., Chen, J., Xia, X., Zhang, Q., ... & Brown, P. K. (2011). Gold nanocages: from synthesis to theranostic applications. *Accounts of chemical research*, 44(10), 914-924.
- 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.
- Xiao, T., Li, H., Ouyang, W., & Wang, X. (2016). Learning deep feature representations with domain guided dropout for person re-identification. In *Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition* (pp. 1249-1258).
- Yamauchi, T., & Mikuni, H. (1999). *U.S. Patent No. 5,976,587*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Yan, H., Wu, H., Li, K., Wang, Y., Tao, X., Yang, H., ... & Cheng, R. (2015). Influence of the surface structure of graphene oxide on the adsorption of aromatic organic compounds from water. *ACS applied materials & interfaces*, 7(12), 6690-6697.
- Yang, J., & Ciftci, O. N. (2017). Encapsulation of fish oil into hollow solid lipid micro- and nanoparticles using carbon dioxide. *Food chemistry*, 231, 105-113.

Ye, F., Miao, M., Jiang, B., Campanella, O. H., Jin, Z., & Zhang, T. (2017). Elucidation of stabilizing oil-in-water Pickering emulsion with different modified maize starch-based nanoparticles. *Food chemistry*, 229, 152-158.

Zeng, T., Wu, Z. L., Zhu, J. Y., Yin, S. W., Tang, C. H., Wu, L. Y., & Yang, X. Q. (2017). Development of antioxidant Pickering high internal phase emulsions (HIPes) stabilized by protein/polysaccharide hybrid particles as potential alternative for PHOs. *Food chemistry*, 231, 122-130.

Zhang, J., Terrones, M., Park, C. R., Mukherjee, R., Monthieux, M., Koratkar, N., ... & Chen, Y. (2016). Carbon science in 2016: status, challenges and perspectives. *Carbon*, 98(70), 708-732.

Zhang, M., Helleur, R., & Zhang, Y. (2015). Ion-imprinted chitosan gel beads for selective adsorption of Ag⁺ from aqueous solutions. *Carbohydrate polymers*, 130, 206-212.

Zhang, X. D. (2017). *Matrix analysis and applications*. Cambridge University Press.

Zhao, Z., & Moghadasian, M. H. (2008). Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chemistry*, 109(4), 691-702.

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.

Abstract:

The aim of this study was to produce mayonnaise-rich fish oil which was encapsulated by chitosan (CS) - stearic acid (SA) nanogel along with clove essential oil and further investigation of the oxidative and rheological properties of the produced mayonnaise. In the first step, SA was added to CS chains to improve its emulsifier properties. The results of the FT-IR spectrum confirmed the formation of the bond between CS and SA. Also, the results of scanning electron microscopy (SEM) showed that the formation of nanoparticles was improved by adding SA to CS. The effect of CS and CS-SA nanogel (1 and 2%), as well as fish oil content (20, 40 and 60%) on the stability of the fish oil emulsion during one weeks at the ambient temperature by investigation of both the creaming factor and the size of oil droplets were evaluated. The results showed that 2% stabilizing concentration had a better effect on emulsion stability than 1% concentration. Also, with an increase in oil content, the size of oil droplets increased also the emulsions with higher percentage of oil were relatively stable. In addition, CS-SA nanogel, has a better stabilization role than CS. The most stable fish oil emulsion was obtained using 2% CS-SA nanogel and 60% fish oil. In the following, the best emulsion with clove oil was used to produce formulated mayonnaise and oxidative stability was evaluated by peroxide and TBA tests over time. The results showed that encapsulated fish oil improved the oxidative stability of mayonnaise. While the use of 1000 ppm of clove essential oil in the mayonnaise did not significantly affect on the oxidative stability. The results of the rheological tests of various formulations of mayonnaise showed that the use of nanogel increased the elasticity of mayonnaise. This effect increased when nanogel was used in combination with clove essential oil.

Keywords: Fish oil; CS-SA nanogel; Mayonnaise; Pickering emulsion; Oxidative stability; Rheological properties; Clove essential oil.



Shahrood university of technology

Faculty of agriculture

M.Sc. thesis in Food Industry

Physical and Chemical Sustainability of Fish Oil Enriched Mayonnaise Covered with
Chitosan Nanoparticles with Clove Oil

By: RaziyeH alsadat Hosseini

Supervisor:

Dr. Ahmad Rajaei najaf abadi

June 2019