

تولید و بررسی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و راندمان درون پوشانی نانو امولسیون حاوی اسانس سیر

حامد حسن زاده اوچتیه^۱، محمد علیزاده خالد آباد*^۲ و محمود رضازاد باری^۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۷

^۱ دانشجوی دوره دکتری تخصصی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

*مسئول مکاتبات: Email: m.alizadeh@urmia.ac.ir

چکیده

در این مطالعه، به منظور پوشاندن بوی سیر، فرمولاسیون‌های مختلف نانو امولسیون حاوی اسانس سیر به روش پراورژی (حمام اولتراسوند) تولید و تأثیر درصدهای مختلف اسانس سیر و نوع روغن استفاده شده بر روی اندازه قطرات، کارایی درون پوشانی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کدورت نانو امولسیون بررسی گردید. بر اساس درصد فاز پراکنده اندازه قطرات در فرمولاسیون‌های مختلف نانو امولسیون از ۸۰ تا ۱۰۰ نانومتر متغیر بود. نتایج حاصله از آنالیز کروماتوگرافی گازی نشان داد که نانو امولسیون‌های تولید شده با کارایی نسبتاً بالایی ترکیبات فرار حاصله از اسانس سیر را پوشانده‌اند اما با افزایش درصد فاز پراکنده (اسانس سیر) در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها از ۵ به ۲۵ درصد، کارایی درون پوشانی کاهش یافته و از ۹۲ به ۷۷ درصد رسید. همچنین تأثیر درصدهای مختلف اسانس سیر بر روی اندازه قطرات، کارایی درون پوشانی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کدورت نانو امولسیون‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.05$) و با افزایش درصد اسانس سیر اندازه قطرات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کدورت افزایش اما کارایی انکپسولاسیون کاهش پیدا کرد.

واژگان کلیدی: نانو امولسیون، اسانس سیر، کارایی درون پوشانی، اندازه قطرات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

مقابل رسوب کردن و خامه‌ای شدن پایداری و مقاومت لازم را دارند (زارع و همکاران ۱۳۹۰). روش‌های مختلفی جهت تولید نانو امولسیون‌ها ارائه شده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به روش‌های پراورژی (هموژنایزر، امواج اولتراسوند و میکروفلوئیدیزر) و روش‌های کم انرژی (خود به خودی و تغییر فاز) اشاره کرد (مک کلمنت ۲۰۱۰). در سال‌های اخیر، نانو امولسیون‌ها به دلیل فواید بالقوه‌ای نسبت به

نانو امولسیون امولسیون‌های ریز شده یا زیر میکرون هستند که اندازه ذرات آن‌ها بین ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتر است (گورا و همکاران ۲۰۱۶ و بورگورا ۲۰۱۲). نانو امولسیون‌ها سیستم‌های با پایداری سینتیکی هستند (گورا و همکاران ۲۰۱۶ و زارع و همکاران ۱۳۹۰) که به علت اندازه قطرات ویژه‌ای که دارند با چشم غیرمسلح به صورت شفاف و یا نیمه شفاف دیده می‌شوند و در

بررسی کردند و گزارش کردند که با افزایش دمای نگهداری ۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد محو شدن رنگ به دلیل تجزیه بتا کاروتن افزایش یافته و این پدیده در pH برابر ۳ سریع‌تر از pH در محدوده ۸-۴ بود. همچنین صابری و همکارانش در سال ۲۰۱۳ نانو امولسیون روغن در آب حاوی ویتامین E ساختند. در این مطالعه به بهینه‌سازی برخی از فاکتورهای مؤثر بر اندازه ذرات نانو امولسیون پرداختند نسبت روغن به کل امولسیون را ده درصد وزنی به صورت ثابت نگه داشتند. نسبت سورفاکتانت به امولسیون را از ۲٫۵ تا ۱۰ درصد وزنی متغیر کردند. ترکیب فاز روغنی اثر معنی‌داری روی اندازه ذرات داشته است (نسبت ویتامین E به تری گلیسیرید متوسط زنجیر). کوچک‌ترین اندازه ذرات با ۸ درصد وزنی ویتامین E و ۲ درصد وزنی MCT (تری گلیسیرید متوسط زنجیر) به دست آمده است. نوع سورفاکتانت نیز اثر معنی‌داری بر روی اندازه ذرات داشته است.

سیر با نام علمی *Allium sativum* و نام انگلیسی Garlic، گیاهی علفی و دارای ساقه‌ای به ارتفاع ۲۰-۴۰ سانتی‌متر و گاهی بیشتر است. خانواده سیر در بین گیاهان دارویی مقامی والا دارد و سیر حاوی ویتامین B و C است. خواص طبی سیر از عهد قدیم شناخته شده بوده است که تصاویر و کنده‌کاری مربوط به ۲۷۰۰ سال پیش از میلاد روی دیوارها و اهرام مصر و معابد فراعنه نشانه مقدس بودن و استفاده مطلوب از این گیاه است. در متون متعدد به خواص درمانی سیر اشاره شده است. از جمله بقراط در پنج قرن پیش از میلاد و دیوسکورید در قرن اول میلادی توصیف جامعی از خواص درمانی سیر ارائه نموده‌اند (آیت‌اللهی ۱۳۸۷). با توجه به خواص مفید بی‌شماری که برای سیر در منابع علمی مختلف به اثبات رسیده است (خواص آنتی‌بیوتیکی، ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، کاهنده قند خون و محافظت‌کنندگی از سیستم قلبی-عروقی بخشی از خواص نسبت داده شده به سیر

امولسیون‌های معمول دارند در صنایع غذایی، نوشیدنی‌ها و داروسازی رشد روزافزونی داشته‌اند. نانو امولسیون‌ها توانایی افزایش شدید زنده‌مانی مواد چربی‌دوست به وسیله درون‌پوشانی آن‌ها را دارند و می‌توانند برای افزایش پایداری در مقابل تجمع ذرات و جداسازی جاذبه‌ای طراحی شوند، بنابراین برای افزایش ماندگاری محصولات تجاری بکار می‌روند. قطرات فاز پراکنده نانو امولسیون‌ها خیلی ریز هستند که امواج نوری را به صورت ضعیفی پراکنده می‌کنند بنابراین می‌توانند در محصولات با رنگ روشن فرموله شوند بدون اینکه اثر منفی بر روی شفافیت محصول از جمله آب و نوشیدنی‌های غنی شده داشته باشند (صابری و همکاران ۲۰۱۳). نانو امولسیون‌ها در مقایسه با امولسیون‌های معمولی در غلظت‌های کمتری از ذرات می‌توانند محصولات ویسکوز یا ژل‌مانند را تشکیل دهند بنابراین می‌توانند در تولید محصولاتی با خصوصیات بافتی جدید یا کم‌کالری مورد استفاده قرار بگیرند. اصولاً وجود ساختارهای نانو امولسیونی امکان نانوکپسوله کردن ترکیبات فراسودمند و مواد فعال زیستی را که پایه روغنی دارند فراهم می‌کند و موجب به تعویق افتادن تجزیه شیمیایی این ترکیبات می‌گردد. همچنین، حلالیت مواد لیپیدی مانند کاروتنوئیدها، فیتواسترول‌ها، اسیدهای چرب امگا ۳، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و غیره را افزایش می‌دهد و به تبع آن قابلیت استفاده‌های زیستی آن‌ها را نیز افزایش می‌دهد. غنی‌سازی آب‌های طعم دار، شیر و نوشابه‌ها با ویتامین‌ها، مواد معدنی و دیگر ترکیبات کاربردی از کاربردهای اخیر نانو امولسیون‌ها در فرمولاسیون و تهیه نوشیدنی‌های فراسودمند، به منظور کنترل رهایش ترکیبات فراسودمند است (مک کلمنت ۲۰۱۰).

کیان و همکارانش در سال ۲۰۱۲ به پایداری فیزیکی و شیمیایی نانو امولسیون غنی شده با بتا کاروتن پرداختند و تأثیر دما، pH، قدرت یونی و نوع امولسیفایر را بر روی پایداری شیمیایی و فیزیکی

مواد و روش‌ها

تولید نانو امولسیون

ابتدا اسانس سیر (شرکت زرد بند تهران) به‌عنوان فاز روغنی به نسبت مساوی با توئین ۸۰ (شرکت سیگما الدریچ، آلمان) به‌عنوان سورفاکتانت به‌وسیله همزن مغناطیسی به‌خوبی مخلوط گردید. سپس فاز آبی (آب مقطر) به‌وسیله اسیدسیتریک (۳/۰ درصد) کمی اسیدی شده و مخلوط فاز روغنی و سورفاکتانت بر روی همزن مغناطیسی با سرعت دورانی ۷۰۰ دور در دقیقه به‌آرامی به فاز آبی به‌منظور تهیه پیش مخلوط امولسیونی، اضافه شد. سپس پیش مخلوط امولسیونی تهیه‌شده به‌منظور ریز شدن ذرات و تولید نانو امولسیون به مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسوند (توان ۱۰۰ وات و فرکانس ۴۰ کیلوهرتز) در معرض امواج اولتراسونیک قرار گرفتند (آناچاپوریدا و همکاران ۲۰۱۲). نانو امولسیون‌های تولیدشده در این تحقیق در پنج فرمولاسیون مختلف به‌صورت زیر تهیه شدند: F₁ (۵ درصد اسانس سیر)، F₂ (۱۰ درصد اسانس سیر)، F₃ (۱۰ درصد روغن آفتابگردان)، F₄ (۱۵ درصد اسانس سیر) و F₅ (۲۵ درصد اسانس سیر).

اندازه‌گیری میانگین قطر حجمی قطرات

به‌منظور اندازه‌گیری میانگین قطر حجمی قطرات ابتدا همه نانو امولسیون‌ها به‌منظور جلوگیری از پراکنش متعدد ذرات (Multiple Scattering) با نسبت ۱ به ۵۰ رقیق‌شده و به‌وسیله دستگاه (Malvern DLS Instruments Ltd) اندازه قطرات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با زاویه ۹۰ درجه مشخص گردید.

محاسبه کارایی درون پوشانی

پس از تهیه نانو امولسیون‌ها، مواد فرار حاصله از آن‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies Inc) ساخت کشور آمریکا تزریق شد و در مرحله بعد مجموع مساحت زیر پیک‌های حاصله از مواد فرار ناشی از اسانس سیر اندازه‌گیری شده تا درصد پوشاندن بو

هستند) (بکائیان ۱۳۹۰) استفاده روزانه هر فرد از سیر امری اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد. اما متأسفانه به علت حساسیت برخی افراد به بوی سیر، محدودیت‌هایی در مصرف این محصول منحصربه‌فرد وجود دارد. لذا ارائه هرگونه راه‌حل در این زمینه به‌ویژه در ارتباط با استفاده از این ماده در فرمولاسیون محصولات غذایی، کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. در این رابطه، روز بهانی در سال ۲۰۰۹ به پوشش‌دار کردن نانو ذرات سیر توسط نانو ذرات نشاسته در ماست با استفاده از خشک‌کن پاششی پرداخته است. نتایج ارزیابی حسی نشان داد تشخیص بوی سیر در ماست با استفاده از نانو پودر سیر پوشش‌دار شده میسر نبود.

یکی از مشکلاتی که امروزه در صنعت غذا مطرح می‌شود استفاده روزافزون از نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی است که استفاده از چنین موادی ارتباط مستقیمی با شیوع روزافزون بیماری‌های خطرناکی مثل سرطان دارد. از این نظر، یافتن هر دریچه‌ای جهت حذف مواد نگهدارنده شیمیایی یا حداقل کاهش دز مصرفی آن‌ها در مواد غذایی با حفظ کیفیت آن، از اهمیت قابل‌توجهی برخوردار است. اسانس سیر، با توجه به خواصی که از آن‌ها در تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است می‌تواند به‌عنوان نگهدارنده‌های کاملاً طبیعی و جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی حداقل در بعضی از مواد غذایی مطرح شوند. از طرف دیگر با افزودن اسانس سیر به مواد غذایی می‌تواند آن‌ها را به‌عنوان غذاهای فراسودمند معرفی کرد که در این صورت جایگاه مهمی در سبد غذایی مردم در آینده خواهد داشت. هدف از انجام این پژوهش فرموله کردن اسانس سیر در نانو امولسیون با فرمولاسیون‌های مختلف، امکان‌سنجی پوشاندن بوی ناشی از ترکیبات سیر از طریق امولسیفیه کردن و بررسی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نظیر کارایی درون پوشانی، اندازه ذرات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و پایداری آن‌ها است.

$$\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد} \\ \text{درصد مهار کنندگی رادیکال} = \frac{\text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

اندازه‌گیری کدورت و پایداری

جهت بررسی کدورت نانو امولسیون‌های تهیه‌شده و مقایسه آن‌ها با ماکرو امولسیون از دستگاه کدورت سنج مدل (HACH 2100 AN Turbidimeter) استفاده شد (زیانی و همکاران ۲۰۱۲). همچنین جهت مقایسه پایداری و کدورت نانو امولسیون و ماکرو امولسیون در داخل لوله آزمایش بلافاصله بعد از تولید و سه ماه بعد از تولید، از نمونه‌ها عکس گرفته شد که با وارونه کردن لوله‌های آزمایش رسوب کردن ذرات بر روی لوله واضح بود.

آنالیز آماری

در این مطالعه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شدند. آنالیز واریانس داده‌ها (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام شد و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح ۵ درصد) برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۱ و STATGRAPHIC جهت رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج و بحث

اندازه قطرات فاز پراکنده

در این مطالعه جهت تولید نانو امولسیون از فرمولاسیون‌های مختلف با نسبت‌های متفاوت فاز پراکنده متفاوت (SER) استفاده شد که نتایج حاصله نشان داد اندازه قطرات در محدوده ۸۰ تا ۱۰۰ نانومتر متفاوت بود (جدول ۱). اگرچه در نسبت‌های پایین فاز پراکنده به کل امولسیون، این فاکتور تأثیر معنی‌داری بر روی اندازه قطرات نداشته اما در نسبت‌های بالاتر فاز پراکنده به کل امولسیون افزایش در اندازه قطرات

توسط لایه روغنی در نانو امولسیون مشخص شود. در دستگاه کروماتوگرافی گازی، نمونه از فضای بالای نمونه برداشته‌شده و به داخل دستگاه تزریق شد. دمای اتاقک تزریق برابر ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، دمای آغازین آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و با گرادیان دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد رسید و دستگاه به مدت دو دقیقه در این دما باقی‌مانده و زمان کل هر آزمایش ۱۲ دقیقه بود. شناساگر از نوع یونیزاسیون شعله‌ای با دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. در نهایت با مقایسه مجموع مساحت سطح زیر پیک‌های حاصل از نانو امولسیون و مساحت سطح زیر پیک‌های حاصل از اسانس سیر بدون درون‌پوشانی در غلظت یکسان اسانس و شرایط کاملاً یکسان، کارایی درون‌پوشانی و پوشاندن بو طبق معادله شماره ۱ مشخص شد.

$$\text{مجموع مساحت سطح زیر پیک‌های حاصل از نانو امولسیون} \\ \text{مجموع مساحت سطح زیر پیک‌های حاصل از اسانس سیر بدون درون‌پوشانی} \\ \times 100 - 1 = \text{کارایی درون‌پوشانی}$$

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانو امولسیون تهیه‌شده و همچنین اسانس سیر هرکدام به صورت جداگانه به روش DPPH^۱ اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۲ میلی‌لیتر از نانو امولسیون تهیه‌شده به ۴ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۶۰ میکرو مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده‌شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده گردید. همچنین یک نمونه حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر متانول به همراه ۴ میلی‌لیتر DPPH به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته‌شده و با استفاده از معادله شماره ۲ فعالیت گیرندگی رادیکال محاسبه گردید (رجایی و همکاران ۱۳۹۰).

مشاهده شده که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بود ($p < 0/05$) (جدول ۱). به دلیل اینکه نسبت فاز پراکنده به سورفاکتانت ثابت و به میزان ۱:۱ بوده است درصد فاز پراکنده در نسبت‌های پایین تأثیر معنی‌داری بر روی اندازه قطرات نداشته است چون در واقع در همه نانو امولسیون‌های تشکیل شده به ازای هر مولکول غیر قطبی از اسانس سیر یک مولکول از سورفاکتانت وجود داشته و مولکول‌های سورفاکتانت به خوبی قادر به محاصره مولکول‌های غیر قطبی اسانس سیر شده و اندازه قطرات به میزان کافی ریز شده و نانو امولسیون‌های پایدار تشکیل شده است. از طرف دیگر امواج اولتراسونیک اعمال شده بر روی امولسیون‌ها که تأثیر بیشتری بر روی اندازه ذرات دارند باعث شده است که نسبت فاز پراکنده به کل امولسیون در نسبت‌های پایین تأثیر چشمگیری نداشته باشد.

همچنین بر اساس نتایج به دست آمده، نوع روغن مورد استفاده در تهیه نانو امولسیون‌ها در نسبت فاز پراکنده ثابت تأثیر معنی‌داری بر روی اندازه قطرات نداشته است. در تهیه فرمولاسیون (۲) و (۳) تمامی

شرایط یکسان بوده و تنها تفاوت آن‌ها نوع روغن مورد استفاده است که مشخص گردید جایگزینی اسانس سیر با روغن آفتابگردان باعث افزایش در اندازه قطرات گردید که نتایج این تحقیق با نتایج زیانی و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد که در آن تحقیق به درون پوشانی مواد چربی دوست فراسودمند مثل ویتامین E، ویتامین D و روغن لیمو در داخل سورفاکتانت بر اساس سیستم‌های تحویل کلئیدی پرداختند و گزارش کردند نوع روغن و نوع سورفاکتانت و نسبت سورفاکتانت به روغن (SOR) تأثیر چشمگیری را بر روی طبیعت دیسپرسیون‌های کلئیدی تشکیل شده داشته‌اند. همچنین صابری و همکارانش در سال ۲۰۱۳ به تولید نانو امولسیون روغن در آب حاوی ویتامین E و بهینه‌سازی برخی از فاکتورهای مؤثر بر اندازه قطرات نانو امولسیون (با نسبت روغن به امولسیون ثابت ۱۰ درصد و نسبت‌های متغیر SER از ۲/۵ تا ۱۰ درصد وزنی) پرداختند نتایج نشان داد ترکیب فاز روغنی اثر معنی‌داری روی اندازه قطرات داشته است.

جدول ۱- اندازه قطرات فاز پراکنده به همراه شاخص پلی دیسپرسیوی آنها برای نانو امولسیون با فرمولاسیون‌های مختلف

نوع نانو امولسیون	اندازه قطرات فاز پراکنده (نانومتر)	شاخص پلی دیسپرسیوی
نانو امولسیون حاوی ۵ درصد اسانس سیر	a ۸۰/۲±۱/۴	a ۰/۰±۲۵/۰۸
نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد اسانس سیر	b ۸۱/۱±۷/۴	۰/۰±۲۸/۰۹
نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد روغن آفتابگردان	b ۱±۸۰/۵	۰/۰±۴۳/۱
نانو امولسیون حاوی ۱۵ درصد اسانس سیر	b ۷۹/۲±۳	۰/۰±۵۴/۱
نانو امولسیون حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر	c ۹۲/۲±۳/۵	۰/۰±۳۸/۰۸

وجود حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

کارایی درون پوشانی

نتایج حاصله از آنالیز واریانس و مقایسه بین میانگین تیمارها نشان داد نسبت فاز پراکنده به کل نانو امولسیون (SER) به طور معنی‌داری بر روی کارایی درون پوشانی نانو امولسیون‌ها و پوشاندن مواد فرار

حاصله از اسانس سیر اثرگذار بوده است (جدول ۲). چنانچه در جدول ۲ مشاهده می‌شود اگرچه بین کارایی پوشاندن بوی حاصله از اسانس سیر برای نانو امولسیون‌های ۱۰ و ۱۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما به طور کلی بین نسبت‌های پایین و بالای

امولسیون به روش اولتراسونیک پرداختند گزارش کردند که با افزایش فاز روغنی در تهیه نانو امولسیون‌ها کارایی درون‌پوشانی کاهش می‌یابد به طوری که افزایش مقدار این دو ماده در فاز روغنی از ۵ به ۳۵ میلی‌گرم در هر گرم روغن، میزان کارایی درون‌پوشانی از ۹۹ درصد به حدود ۷۵ درصد برای کورکومین و حدود ۸۰ درصد برای سیلیمارین کاهش پیدا می‌کند.

جدول ۲- کارایی درون‌پوشانی حاصله برای نانو امولسیون‌های تولیدشده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی برحسب درصد

کارایی درون‌پوشانی (درصد)	نوع نانو امولسیون
۹۱/۱±۶۳/۱۵ ^a	نانو امولسیون حاوی ۵ درصد اسانس سیر
۸۶/۱±۳۳/۲۵ ^b	نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد اسانس سیر
۸۴/۰±۹۶/۴۷ ^b	نانو امولسیون حاوی ۱۵ درصد اسانس سیر
۷۷/۰±۴۶/۶۵ ^c	نانو امولسیون حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر

وجود حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج آزمایش‌ها نشان داد با افزایش درصد اسانس سیر در فرمولاسیون‌های متفاوت نانو امولسیون خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد و تأثیر نسبت فاز پراکنده به کل نانو امولسیون بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$) (شکل ۱). چنانچه در شکل ۱ مشاهده می‌شود نانو امولسیون‌های تولیدشده به وسیله اسانس سیر و روغن آفتابگردان در نسبت یکسان دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی تقریباً یکسانی هستند و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد که چنین حالتی از یک طرف می‌تواند به این دلیل باشد که روغن آفتابگردان تصفیه نشده نیز دارای ترکیبات طبیعی آنتی‌اکسیدان بوده و از

فاز پراکنده اختلاف بیشتری وجود دارد و در واقع با افزایش نسبت فاز پراکنده به کل نانو امولسیون، کارایی درون‌پوشانی روند نزولی پیدا کرده است که این حالت نشان‌دهنده این است که با افزایش درصد اسانس سیر به‌ویژه در نانو امولسیون حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر، مولکول‌های سورفاکتانت توانایی کامل برای به دام اندازی مولکول‌های فرار اسانس سیر را نداشته‌اند (جدول ۲). با استناد به تحقیقات پیشین در زمینه آنالیز ترکیبات سیر که ترکیب اصلی با بیشترین غلظت (حدود ۲۵ درصد) از کل ترکیبات فرار سیر را به آلیسین (آلیل تری سولفید) نسبت داده‌اند (شان و همکاران ۲۰۱۳)، می‌توان گفت این ترکیب شاخص که در زمان نگهداری حدود ۱۰ دقیقه پیک نشان داده است مربوط به آلیسین (شاخص‌ترین ترکیبات مؤثره سیر) است (تاجی و همکاران ۱۳۸۹). با مقایسه کروماتوگرام‌های حاصله از تزریق سرفضای نانو امولسیون‌ها و مخلوط آب مقطر و اسانس سیر (امولسیون نشده) می‌توان مشاهده کرد که آن دسته از ترکیبات فراری که درصد کمتری از ترکیبات فرار کل سیر را تشکیل می‌دهند (در زمان‌های نگهداری ۳ تا ۵ دقیقه پیک نشان داده‌اند) به‌طور کامل پوشانده شده‌اند اما ترکیبی که دارای بیشترین درصد در بین ترکیبات فرار سیر است به نسبت کمتری پوشانده شده است و در واقع می‌توان گفت که اختلاف در میزان درون‌پوشانی نانو امولسیون‌های تهیه‌شده با فرمولاسیون‌های مختلف بیشتر به پوشاندن ترکیب شاخص سیر (آلیسین) آن‌ها مربوط می‌شود.

نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات مظلوم و همکاران (۲۰۱۴) که گزارش کردند مقدار اسانس روغنی زغال‌اخته در نانو امولسیون‌های تولیدشده به‌طور چشمگیری روی کارایی درون‌پوشانی مؤثر بوده است و با افزایش میزان اسانس روغنی کارایی درون‌پوشانی روند نزولی پیدا کرده است، همخوانی کامل دارد. همچنین در تحقیق رچمادی و همکاران (۲۰۱۵) که به درون‌پوشانی کورکومین و سیلیمارین با تهیه نانو

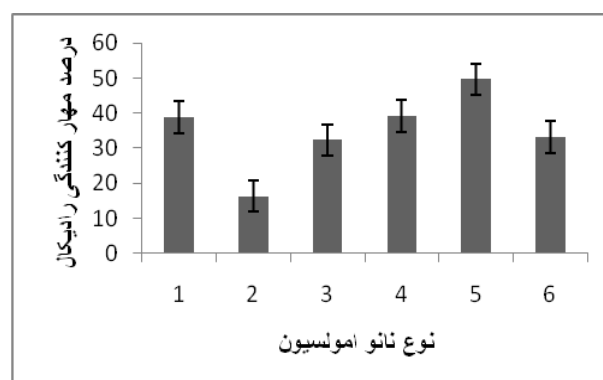
ذرات بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر بوده دارای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند و بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی با قابلیت پراکندگی ذرات لیکوپن مرتبط است که این موضوع نشان‌دهنده اثر اندازه قطرات بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی است.

نتایج حاصله نشان داده است که نانو امولسیون‌های حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اسانس خالص سیر بوده است (شکل ۱). اگرچه این نتایج با تحقیقات ساری و همکاران (۲۰۱۳) که گزارش کردند خاصیت آنتی‌اکسیدانی روغن پالم، روغن زیتون و روغن کره بعد از تهیه نانو امولسیون و درون‌پوشانی کاهش پیدا کرده است، همخوانی ندارد اما از طرف دیگر نتیجه تحقیق قره نقه و همکاران (۱۳۹۴) که به تهیه نانو امولسیون از اسانس گیاه مریم‌گلی پرداختند با نتایج حاصله از تحقیق حاضر مطابقت داشته و آنان نیز گزارش کردند که اسانس خالص مریم‌گلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به نانو امولسیون‌های تولیدشده از همان اسانس داشته است. در واقع نتایج حاصله احتمالاً می‌تواند به این دلیل باشد که بعد از تهیه نانو امولسیون، اعمال امواج اولتراسونیک و نانو شدن ذرات خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرده است و همچنین حلالیت کمتر اسانس خالص سیر نسبت به نانو امولسیون‌ها در متانول و محلول DPPH ممکن است دلیل کمتر شدن خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس خالص سیر به این روش باشد.

بررسی کدورت و مقایسه پایداری نانو امولسیون‌ها

با آنالیز واریانس داده‌های به‌دست‌آمده مشخص گردید فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها با درصدهای مختلفی از اسانس سیر به‌طور معنی‌داری بر روی کدورت نانو امولسیون‌ها اثر گذاشته است ($P < 0/05$) (شکل ۲). چنانچه در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش درصد فاز پراکنده نسبت به کل نانو امولسیون از ۵ درصد به ۲۵ درصد، میزان کدورت نانو امولسیون‌ها نیز افزایش

طرفی نیز می‌تواند دلالت بر این موضوع داشته باشد که نانو امولسیون‌ها زمانی که دارای اندازه ذرات زیر ۲۰۰ نانومتر هستند حتی بدون حضور اسانس‌های گیاهی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. تحقیقات زورزی و همکاران (۲۰۱۵) با نتایج حاصله در این زمینه مطابقت دارد که به تهیه نانو امولسیون از عصاره نوعی گیاه (*Achyrocline satureioides*) حاوی کوئرستین پرداختند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن را با نانو امولسیون‌های تهیه‌شده با آب و بدون کوئرستین مقایسه کردند و گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود نداشته است درحالی‌که فرمولاسیون‌های مختلف نانو امولسیون‌ها بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی کوئرستین اثرگذار بوده است.



شکل ۱ - مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانو

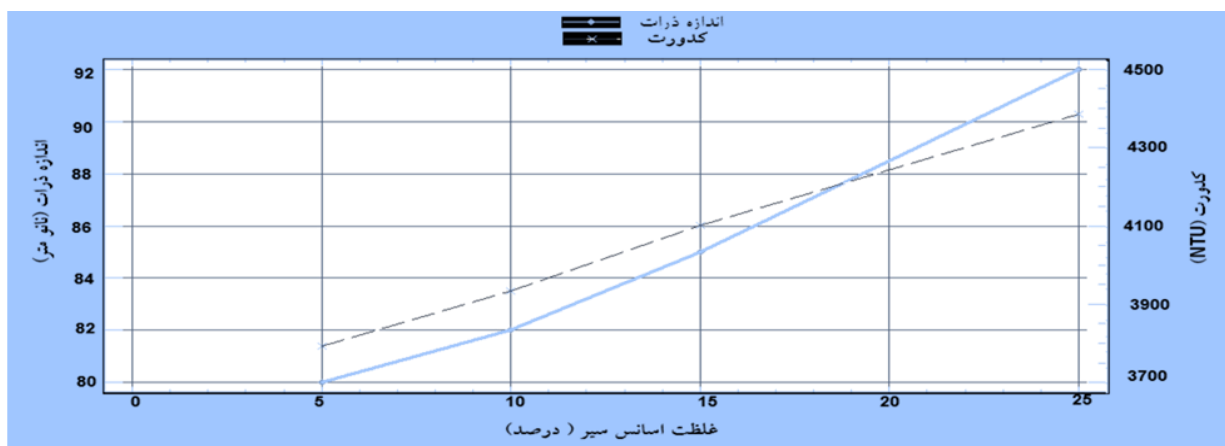
امولسیون‌های تهیه‌شده با اسانس خالص سیر

اسانس خالص سیر (۱)، نانو امولسیون حاوی ۵ درصد اسانس سیر (۲)، نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد اسانس سیر (۳)، نانو امولسیون حاوی ۱۵ درصد اسانس سیر (۴)، نانو امولسیون حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر (۵) و نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد روغن آفتابگردان (۶)

در راستای تأیید این موضوع تحقیقاتی انجام‌گرفته است از جمله وان ان‌ها و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و دسترسی زیستی نانو امولسیون‌های تهیه‌شده بر عصاره گوجه‌فرنگی غنی‌شده با لیکوپن در اندازه ذرات مختلف پرداختند و گزارش کردند که نانو امولسیون‌هایی که دارای اندازه

به بررسی عوامل محیطی مثل دما بر روی پایداری نانو امولسیون‌ها به وسیله اندازه‌گیری کدورتشان پرداختند، گزارش کردند که در کل دوره نگهداری، نانو امولسیون‌های با غلظت بالاتر از فاز روغنی دارای کدورت بیشتری بودند. با مقایسه نتایج مربوط به کدورت و اندازه قطرات در این مطالعه مشخص شد که بین این دو پارامتر رابطه مستقیم و خطی وجود دارد به طوری که با افزایش غلظت فاز روغنی در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها، هم اندازه قطرات و هم میزان کدورت افزایش پیدا می‌کند (شکل ۲). زیانی و همکاران (۲۰۱۲) و رائو و مک کلمنت (۲۰۱۲) نیز چنین رابطه‌ای را بین اندازه قطرات و میزان جذب حاصله از دستگاه اسپکتروفتومتر را برای درصدهای مختلف روغن لیمو فرموله شده در نانو امولسیون گزارش کرده‌اند.

می‌یابد که دلیل این افزایش کدورت را می‌توان به افزایش اندازه قطرات فاز پراکنده نسبت داد چون همان‌طور که قبلاً در بخش اندازه قطرات توضیح داده شد با افزایش درصد فاز پراکنده به کل نانو امولسیون میزان اندازه قطرات افزایش پیدا می‌کند و منطقی به نظر می‌رسد که بزرگتر شدن قطرات باعث ایجاد تغییر در تفرق نور به وسیله دستگاه اسپکترومتر برای نانو امولسیون‌ها شده و بر روی کدورت تأثیر می‌گذارد. نتایج مربوط به کدورت در این مطالعه با نتایج به دست آمده در تحقیق زیانی و همکاران (۲۰۱۲) که به درون‌پوشانی ترکیبات چربی‌دوست فراسودمند مثل ویتامین E، ویتامین D و روغن لیمو پرداختند مطابقت دارد به طوری که گزارش کردند که با افزایش غلظت فاز روغنی، میزان کدورت نیز افزایش پیدا کرده است. همچنین زیانی و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی دیگر که



شکل ۲- ارتباط بین میزان کدورت و اندازه قطرات برای نانو امولسیون‌های تهیه‌شده در درصدهای مختلف فاز پراکنده (اسانس سیر)

شفافیت و پایداری بیشتر نانو امولسیون‌های تولیدشده دارد. همچنین نوع روغن مورد استفاده در تهیه نانو امولسیون‌ها تأثیر معنی‌داری بر روی کدورت آن‌ها داشته است به طوری که نانو امولسیون تهیه‌شده با روغن آفتابگردان دارای کدورت کمتری نسبت به نانو امولسیون‌های تهیه‌شده با اسانس سیر می‌باشند که دلیل آن می‌تواند رنگی بودن اسانس سیر باشد که باعث

چنانچه در جدول ۳ مشاهده می‌شود کدورت مربوط به ماکرو امولسیون به صورت کاملاً معنی‌داری متفاوت از کدورت نانو امولسیون‌های تهیه‌شده است که دلیل این مسئله نیز به اختلاف بسیار زیاد در اندازه قطرات ماکرو امولسیون با نانو امولسیون می‌باشد. اختلاف در اندازه قطرات تأثیر زیادی در پایداری سیستم‌های امولسیونی دارد به طوری که اندازه ریز قطرات باعث

کدورت بیشتر آن‌ها در غلظت یکسان شده است (جدول ۳).

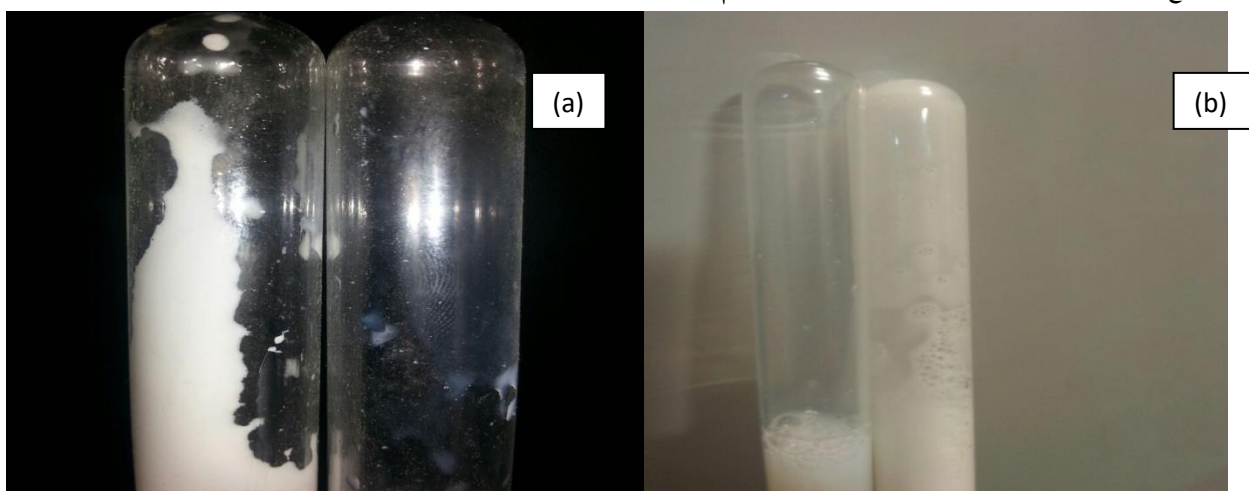
جدول ۳- کدورت به دست آمده برای نانو امولسیون‌های تهیه شده با فرمولاسیون‌های مختلف و ماکرو امولسیون

کدورت (NTU)	نوع نانو امولسیون
۵±۳۷۹۳/۵ ^a	نانو امولسیون حاوی ۵ درصد اسانس سیر
۱۱±۳۹۳۳/۶ ^b	نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد اسانس سیر
۱۴±۴۱۰۲/۲ ^c	نانو امولسیون حاوی ۱۵ درصد اسانس سیر
۱۸±۴۳۸۵/۷ ^d	نانو امولسیون حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر
۵±۲۴۶۶/۸ ^e	نانو امولسیون حاوی ۱۰ درصد روغن آفتابگردان
۲۵±۵۴۵۰/۵ ^f	ماکرو امولسیون با ۱۰ درصد روغن آفتابگردان

وجود حروف غیرمشابه نشانه وجود اختلاف معنی دار است.

رسوبات به جامانده بر روی دیواره لوله حاوی ماکرو امولسیون نشانه ناپایدار بودن سیستم و بزرگ بودن اندازه ذرات است درحالی که بر روی لوله حاوی نانو امولسیون چنین رسوباتی حتی بعد از گذشت سه ماه در دمای محیط نیز وجود ندارد (شکل ۳).

در شکل ۳ میزان پایداری یک نانو امولسیون با یک ماکرو امولسیون در دو زمان مختلف نشان داده شده است به طوری که اختلاف شفافیت آن‌ها هم با رؤیت ظاهری و هم از روی کدورت حاصله معنی دار است ($p < 0/05$). آزمون پایداری نمونه‌ها با وارونه کردن سریع و بلافاصله عکس گرفتن از آن‌ها انجام شده که



شکل ۳- آزمون رسوب شدن برای ماکرو امولسیون در سمت راست و نانو امولسیون در سمت چپ یک هفته بعد از تولید (a)، آزمون رسوب شدن برای ماکرو امولسیون در سمت چپ و نانو امولسیون در سمت راست سه ماه بعد از تولید (b)

سیر کارآمد بوده و باعث پوشاندن قسمت اعظم مواد فرار سیر شد. تهیه نانو امولسیون در فرمولاسیون‌های مختلف با درصدهای متفاوت از اسانس سیر باعث تغییر در کارایی درون پوشانی، اندازه ذرات، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کدورت حاصله گردید. نوع روغن استفاده شده اگرچه بر روی اندازه ذرات و خاصیت

نتیجه‌گیری کلی

نانو امولسیون حاوی اسانس سیر با فرمولاسیون‌های مختلف با استفاده از روش پرانرژی (حمام اولتراسوند) با اندازه قطرات فاز پراکنده کمتر از ۱۰۰ نانومتر تهیه شد و نتایج حاصله از کارایی درون پوشانی نشان داد که تولید نانو امولسیون جهت درون پوشانی اسانس

آنتی‌اکسیدانی بی‌تأثیر بود اما بر روی کدورت نانو امولسیون‌ها اثرگذار بود. نانو امولسیون‌های تولیدشده دارای شفافیت و پایداری خیلی بهتری نسبت به ماکرو امولسیون بودند و در درصد‌های بالای اسانس سیر خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان دادند.

منابع مورد استفاده

- آیت الهی موسوی الف، مهربان م، یغمایی ب، ۱۳۸۷، مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و متانولی سیر بر قارچ‌های فرصت طلب اسپوروتریکس شنکئی، کریپتوکوکوس نئوفرمنس و کاندیدا آلیکانس، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۷ (۴)، ۲۲۷-۲۳۴.
- بکائیان م، بامری ز، ۱۳۹۰، اثر ضدباکتریایی عصاره آبی سیر در شرایط آزمایشگاهی بر روی انتروکوکهای مقاوم، مجله علوم تحقیقات پزشکی زاهدان.
- تاجی ف، شیرزاد ه، اشرفی ک، پروین ن، خیری س، نامجو ع، عسگری الف، انصاری ر، رفیعیان م، ۱۳۸۹، مقایسه‌ی قدرت آنتی-اکسیدانی عصاره‌های سیر تازه و کهنه، مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان.
- رجایی الف، برزگر م، سحری م، ۱۳۹۰، بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره ی متانولی پوست سبزی پسته، مجله علوم و صنایع غذایی، ۱ (۸).
- روز بهانی ف، ۱۳۸۸، پوشش دار کردن پودر سیر در ابعاد نانو. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی اصفهان.
- زارع ز، دیوسالار ع، نییونی م، ۱۳۹۰، مروری بر نانو امولسیون ها و کاربرد های پزشکی آن، ماهنامه فناوری نانو، ۹ (۱۰).
- قره نرده س، صمدلویی ح، صوتی خیابانی م، همیشه کار ح، رضایی مکر م، ۱۳۹۴، فرمولاسیون نانوامولسیون و نانولیپوزوم اسانس مریم گلی سهندی با هدف بررسی خواص فیزیوشیمیایی و ضد میکروبی آن ها، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی شاهرود.
- Anuchapreeda S, Fukumori , Okonogi S and Ichikawa H, 2012. Preparation of Lipid Nanoemulsions Incorporating Curcumin for Cancer Therapy. *Journal of Nanotechnology* 1155-1166.
- Burguera JL and Burguera M, 2012. Analytical applications of emulsions and microemulsions. *Talanta* 96: 11-20.
- Guerra-Rosas MI, Morales-Castro J, Ochoa-Martínez LA, Salvia-Trujillo L, and Martín-Belloso O, 2016. Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. *Food Hydrocolloids* 52: 438- 446.
- Mazloom A and Farhadyar N, 2014. Producing oil in water Nano-emulsion by ultrasonication for spray drying encapsulation. *Researcher* 6: (4) 32-36.
- McClements DJ, 2010. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *The Royal Society of Chemistry* 7: 2297-2316.
- Qian C, Decker EA, Xiao H and McClements DJ, 2012. Physical and chemical stability of b-carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food Chemistry* 132: 1221-1229
- Rachmadi UW, Permatasari D, Rahma A and Rachmawati H, 2015. Self- Nanoemulsion Containing Combination of Curcumin and Silymarin: Formulation and Characterization. *Research and Development on Nanotechnology in Indonesia* 2(1): 37- 48.
- Rao J and McClements DJ, 2012. Impact of lemon oil composition on formation and stability of model food and beverage emulsions. *Food Chemistry* 134: 749-757.
- Saberi AH, Fang Y, and McClements DJ, 2013. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science* 391: 95-102.

- Sari TP, Mann B, Sharma R, Kumar R and Minaxi V, 2013. Process Optimization for the Production of Nanoencapsulated Curcumin and Analysis for Physicochemical Characteristics and Antioxidant Mechanism. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research* 4 (6): 581-586.
- Shan C, Wang C, Liu J and Wu P, 2013. The analysis of volatile flavor components of Jin Xiang garlic and Tai'an garlic. *Agricultural Sciences* 4(12): 744-748.
- Van TAH, Kima S, Choia Y, Kwaka H, Leeb S, Wenc J, Oeyd I and Koa S, 2015. Antioxidant activity and bioaccessibility of size-different nanoemulsions for lycopene-enriched tomato extract. *Food Chemistry* 178 (1): 115–121.
- Ziani K, Fang Y, and McClements DJ, 2012. Encapsulation of functional lipophilic components in surfactant-based colloidal delivery systems: Vitamin E, vitamin D, and lemon oil. *Food Chemistry* 134: 1106–1112.
- Ziani K, Fang Y, and McClements DJ, 2012. Fabrication and stability of colloidal delivery systems for flavor oils: Effect of composition and storage conditions. *Food Research International* 46: 209–216.
- Zorzi G, Caregnato F, Moreira J, Teixeira H nad Carvalho E, 2016. Antioxidant Effect of Nanoemulsions Containing Extract of *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C.-Asteraceae. *Pharmaceutical Science and Technology*. 17(4): 744-750.

Production and assessment of physicochemical characteristics and encapsulation efficiency of garlic essential oil nanoemulsions

H Hassanzadeh Ochtappeh¹, M Alizadeh Khaledabad^{2*} and M Rezazad Bari²

Received: September 18, 2016

Accepted: June 7, 2017

¹PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

²Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding author: E mail: m.alizadeh@urmia.ac.ir

Abstract

In this research, in order to cover the smell of garlic, various formulations of garlic essential oil nanoemulsions were prepared by high energy method (water bath type ultrasound) and the effects of garlic essential oil percent and oil type on droplet size, encapsulation efficiency, anti-oxidative capacity and turbidity of nanoemulsions were studied. The droplet size of dispersed phase ranged from 80 to 100 nm based on dispersed phase ratio. The obtained results from gas chromatography showed that the prepared nanoemulsions have covered the volatile components of garlic essential oil but encapsulation efficiency was decreased from 92 to 77% by increasing dispersed phase (essential oil of garlic) from 5 to 25%. Also, the effect of garlic essential oil percent was significant on droplet size, encapsulation efficiency, anti-oxidative capacity and turbidity of nanoemulsions. Droplet size, anti-oxidative capacity and turbidity were increased while encapsulation efficiency was decreased by increasing essential oil percent.

Keyword: Nanoemulsion, Garlic essential oil, Encapsulation efficiency, Droplet size, Anti-oxidative capacity