مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۱ شماره ۳/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۱۵۱ تا ۱۶۴

DOI: 10.22034/FR.2021.40687.1750

بررسی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون حاوی اسانس‌های روغنی زیره‌سبز- لیموترش تولیدشده به روش تشکیل خودبه‌خودی

هما علیزاده سعدآبادی[1]، اکرم پزشکی نجف‌آبادی[2*]، بابک قنبرزاده [2] و شیوا قیاسی‌فر[2]

تاریخ دریافت: ۹۹/۴/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۹/۹/۵

[1] دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[2] به ترتیب استادیار، استاد و مربی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[*]مسئول مکاتبه: Email:akram.pezeshki@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: درون‌پوشانی ترکیبات غذا-داروی آبگریز مانند انواع اسانس‌های روغنی در سیستم‌های نانوحامل موجب بهبود حلالیت و جذب آن‌ها در بدن انسان می‌گردد و می‌تواند روشی موثر در غنی‌سازی مواد غذایی باشد. **روش کار**: در این مطالعه نانوامولسیون حاوی نسبت ۱:۱ اسانس‌های روغنی زیره‌سبز- لیموترش به روش تشکیل خودبه‌خودی با استفاده از سورفاکتانت غیریونی (توویین۸۰) و انواع فاز روغنی حامل؛ میگلیول۸۱۲، روغن کنجد و روغن ذرت ونسبت سورفاکتانت به امولسیون 15% (SER) تولید شد تا با توجه به نتایج اندازه، توزیع اندازه، پتانسل زتا و پایداری به بهترین فاز روغنی حامل در تولید فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس‌های روغنی زیره سبز و لیموترش بتوان دست یافت. **نتایج**: نانوامولسیون حاوی نسبت ۱:۱ اسانس‌های روغنی زیره‌سبز و لیموترش (SER=15%) با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ با کوچکترین اندازه قطرات (۸۴/۹۸ نانومتر)، شاخص پراکنش (۰/۲۳۲) و توزیع اندازه قطرات باریک و تک مد برای بررسی و اندازه‌گیری سایر آزمایشات انتخاب شد. اندازه قطرات نانوامولسیون در طی مدت زمان نگهداری شصت روزه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد پایدار بود. هم‌چنین تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری، اندازه ذرات به‌دست آمده از دستگاه اندازه‌گیری ذرات را تایید کرد. مقدار پتانسیل زتای فرمولاسیون بهینه در طی مدت نگهداری، خیلی جزئی و نزدیک صفر به‌دست آمد و افزایش زمان تأثیر معنی‌داری در تغییر پتانسیل زتای نمونه نشان نداد. نتایج بررسی مهارکنندگی رادیکال آزاد نشان داد نانوامولسیون انتخابی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در مقایسه با اسانس‌های روغنی به حالت آزاد ونمونه امولسیونی بدون اسانس روغنی بود. **نتیجه‌گیری کلی**: نانوامولسیون تولیدی با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ و نسبت ۱:۱ اسانسهای روغنی زیره سبز-لیموترش و SER=15% دارای شفافیت و پایداری فیزیکی بالایی بود و از آن میتوان به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان از پلی‌فنول‌های طبیعی در غنی‌سازی انواع نوشیدنیها و مواد غذایی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اسانس روغنی، زیره، لیمو ترش، میگلیول۸۱۲، توویین ۸۰، نانوامولسیون

مقدمه

برای تولید نانوامولسیون‌ها می‌توان از ترکیبات غیرقطبی مختلف از جمله تری، دی و منو آسیل گلیسرول‌ها، روغن‌های اسانسی و معدنی، واکس‌ها و ویتامینهای محلول در چربی (مانند کارتنوئیدها و فیتواسترول) نام برد. تشکیل، پایداری و خصوصیات نانوامولسیون‌ها اغلب به خصوصیات فیزیکوشیمیایی توده‌ای[1] فاز روغن (قطبیت، حلالیت در آب، کشش‌سطحی، اندیس رفراکتیو، رفتار فازی و پایداری) بستگی دارد. هرچند برخی از روغن‌های خوراکی برای تولید نانوامولسیون با قطرات ریز مناسب هستند، اما این روغن‌ها دارای پایداری اندکی هستند مانند روغن‌های اسانسی که قطبیت نسبتاً بالایی دارا میباشند درحالیکه کشش بین‌سطحی و ویسکوزیتهٔ پایینی دارند که تمام این مشخصات برای تولید نانوامولسیون با روشهای پر انرژی مناسب است؛ اما به محض تولید نانوامولسیون، پدیده‌های ناپایدارکننده رسیدگی استوالد به علت حلالیت بالای این روغن‌ها در آب و ادغام شدن به علت کشش بین‌سطحی پایین روغن رخ می‌دهد (روآ و مکلمنتز ۲۰۱۲). در کاربردهای غذایی معمولاً از تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، زیتون، بذرکتان و روغن ماهی استفاده می‌شود؛ زیرا هم از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه‌اند و هم به فراوانی یافت می‌شوند. میگلیول ۸۱۰ و میگلیول ۸۱۲ تری‌گلیسیریدهای هستند که اجزای تشکیل‌دهنده آن‌ها اسیدهای چرب C_8 و C_{10} است و تنها تفاوت آن‌ها فقط در نسبت C_8/C_{10} است. میگلیول ۸۱۰ دارای محتوای C_{10} بالاتری است، بنابراین ویسکوزیته و نقطه ابری‌شدن پایین‌تر دارد. اسیدهای چرب مورد استفاده برای تهیه میگلیول ۸۱۰ و میگلیول ۸۱۲ مطابق با کد قانون فدرال 21 **CFR، 172.860 § است و به‌طور کلی در دسته امن طبقه‌بندی شدند. میگلیول ۸۱۰ و میگلیول ۸۱۲ دارای بو و طعم خنثی هستند. آن‌ها به‌دلیل انتخاب اولیه با دقت بسیار خالص می‌باشند. میگلیول‌ها دارای پایداری بالایی در برابر اکسیداسیون بوده و در دمای صفر درجه سانتی‌گراد مایع می‌باشند. میگلیول ۸۱۰ و ۸۱۲ در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در حلال‌های هگزان، تولوئن، دی‌اتیل‌اتر، اتیل‌استات، استون، ایزوپروپانول و اتانول ۹۶٪ محلول می‌باشند. هم‌چنین آن‌ها در تمامی نسبت‌های هیدروکربن پارافین و روغن‌های خنثی محلول و در آب و گلیسیرول غیر قابل حل هستند.

اسانس‌های روغنی (EOs*) نشان دهنده گروهی از ترکیبات معطر فرار است که توسط گونه های گیاهی مختلف تولید می شوند. این مولکول ها به عنوان عوامل طعم دهنده برای تهیه محصولات غذایی و محصولات آرایشی استفاده می‌شود. زیره سبز گیاهی یکساله و از خانواده چتریان جزو گیاهان معطر محسوب می‌شود و دارای خواص دارویی بسیار همچون خاصیت ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطان، درمان‌کننده نفخ و مقوی معده است (رادمان و همکاران ۲۰۱۲). زیره سبز دارای دو الی پنج درصد اسانس روغنی است. از مهمترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس روغنی زیره سبز می‌توان به آلفا و بتاپینن کومیک الکل، آلفا و بتا فلاندرن، پاراسیمول، کارواکرول، اوژنول، آلفاترپینئول و میرسن اشاره کرد. از مواد فعال در روغن زیره سبز که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند می‌توان پی‌سیمین، گاماترپنین (۱۲/۹۴٪)، کومین‌آلدهید (۲۹/۰۲٪) را نام برد (رستمی و همکاران ۲۰۱۸ ؛ رادمان و همکاران ۲۰۱۲). اسانس روغنی زیره سبز در مقایسه با عصاره یا پودر آن خاصیت ضدمیکروبی بیشتری داشته و همچنین منطقه نیز اثر مهم‌تر و بیشتری از ژنوتیپ در ترکیب اسانس زیره دارد (دونگ و همکاران ۲۰۱۹).

لیموترش با نام علمی *Citrus Limon (L). Burm* میوه درخت لیمو و جزو مرکبات بوده و بعد از پرتقال و ماندارین بیشترین گونه مرکبات زیر کشت می‌باشد. (جویز لورنته و همکاران ۲۰۱۴). میوه لیموترش منبع غنی از ویتامینC، اسیدسیتریک، فلاونوئیدها و موادمعدنی

* Essential Oils

مثل پتاسیم است. اسانس روغنی میوه لیموترش معمولا از پوست لیموترش و از طریق پرس سرد به دست می‌اید و از مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده آن می‌توان به لیمونن، فنچول، گاماترپینن، بتاپی نن اشاره کرد از اسانس روغنی لیموترش عموما به عنوان عطر و طعم-دهنده در نوشیدنی‌ها، غذاها، لوازم آرایشی و بهداشتی و تولیدات شوینده‌های خانگی مورد استفاده قرار می‌گیرد (دونگ و همکاران ۲۰۱۹؛ رادبه و همکاران ۲۰۲۰).

امروزه تمایل به سمت استفاده از محصولات کم‌چرب کشیده شده است و در نتیجه بدن با یک سری مشکلات تغذیه ای و کمبود مواد مغذی، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین ها روبرواست (دووست و همکاران ۲۰۱۰) حل شوندگی پایین اسانس‌های روغنی در محیط های آبی و انواع نوشیدنی ها و ناپایداری آن ها مشکلی در غنی سازی مواد غذایی با این گروه ترکیبات است. استفاده از نانوتکنولوژی راهکاری مفید در غنی سازی مواد غذایی است و می توان با استفاده از فناوری نانو قابلیت پخش پذیری و پایداری آنها را با وارد کردن آن در نانو حامل های کلوئیدی بهبود بخشید و درون پوشانی آن ها می تواند روشی مؤثر در بهبود کارایی بیولوژیکی‌شان باشد (میشرا و همکاران ۲۰۱۰). یکی از متداول‌ترین نانوحامل های بر پایه لیپیدی در صنایع غذایی، نانوامولسیون است که سیستم هایی شفاف با اندازه قطرات در محدودهٔ ۲۰-۲۰۰ نانومتر هستند و با توجه به دارابودن قطره های کوچکتر از اندازهٔ طول موج نور، نسبت به امولسیون های متدوال، شفاف تر بوده و نسبت به پدیده های تفکیک گرانشی و تجمع یافتن قطرات مقاومت بیشتری دارند (فتحی و همکاران ۲۰۱۲). جهت تشکیل و افزایش سطح بین فاز روغن و فاز آبی نیاز به ورود انرژی به سیستم نانوامولسیون است (فتحی و همکاران ۲۰۱۲؛ ر.آ و مکلمنتز ۲۰۱۲؛ جعفری و همکاران ۲۰۰۸). این انرژی می‌تواند توسط ابزارهای مکانیکی (روش پرانرژی) یا انرژی پتانسیل اجزای تشکیل دهندهٔ آن (روش کم انرژی) تأمین شود. تولید خودبه خودی امولسیون یکی از روش های کم انرژی در تولید انواع نانوامولسیون است که در نتیجهٔ تیتراسیون فاز روغنی حاوی سورفاکتانت هیدروفیل در فاز آبی رخ می دهد (پزشکی و همکاران ۱۳۹٤). در سالهای اخیر تحقیقات بسیاری روی استفاده از نانوامولسیون ها در مصارف غذایی و استفاده از آنها به عنوان سیستم های حامل ترکیبات زیست فعال و نوتریسیتیکال* جهت غنی سازی محصولات انجام شده است. از آن جمله می‌توان به تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات (پزشکی و همکاران ۲۰۱٤) حاوی کنژوگه لینولئیک اسید (حسن فامیان و پزشکی۱۳۹٦)، نانوامولسیون‌های حاوی ویتامین E استات به روش خودبه‌خودی (صابری و همکاران ۲۰۱۳)، نانوامولسیون‌های غنی‌شده با ویتامین D و بررسی اثر ترکیبات سیستم بر اندازه قطرات و پایداری نانوامولسیون (گونت و همکاران ۲۰۱۰) و بررسی نانوامولسیون غنی شده با اسیدچرب امگا۳ به روش کم‌انرژی و با استفاده از سورفاکتانت توبین ۸۰ (گولتا و همکاران ۲۰۱٤)، تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E توسط روش خود به خودی (نیک‌نیا و همکاران ۱۳۹۲)، تولید نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (حسنی و همکاران ۲۰۱۵) اشاره کرد .

با توجه به اینکه در سال های اخیر، کاربرد نانو ذرات جهت محافظت و انتقال ترکیبات غذا- دارو (نوتریسیتیکال) آبگریز بیشتر مورد توجه واقع شده است، در این پژوهش به بررسی نوع فاز روغنی حامل در تولید فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون حاوی اسانس‌های روغنی زیره و لیموترش با اندازه قطرات در مقیاس نانو و پایدار در طی مدت زمان نگه‌داری پرداخته شده است و در ادامه پایداری آن در شرایط pH مختلف بررسی می‌شود.

*-Nutricitical

مواد و روش ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل آب دیونیزه، میگلیول ۸۱۲ (داروسازی زهراوی، تبریز)، روغن کنجد و روغن ذرت (سیگما، آلمان)، سورفاکتانت غیر یونی پلی اکسی اتیلن سوربیتان منواولئات (توبین ۸۰) (سیگما، آلمان) اسانس‌های روغنی زیره سبز و لیموترش (طبیب دارو، کاشان) وکلیه مواد شیمیایی جهت انجام آزمایشات ساخت شرکت مرک آلمان با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند.

تهیهٔ نانوامولسیون به روش خودبه خودی(جوانه زنی)

سیستم نانوامولسیون حاوی نسبت ۱:۱ اسانس‌های روغنی زیره سبز–لیموترش در فاز روغنی حامل به روش کم‌انرژی تشکیل خودبه‌خودی امولسیون روغن در آب با اضافه کردن قطره قطره فاز روغنی اسانس‌های روغنی زیره-سبز و لیموترش وبه همراه سورفاکتانت هیدروفیل غیریونی (توبین ۸۰) و نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER*) **برابر** ۱۵٪ بر روی آب دیونیزه، تولید گردید (پزشکی و همکاران ۱۳۹٤). علت استفاده از توبین ۸۰ به دلیل نقش مهم سورفاکتانت در تولید نانوامولسیون به روش خودبه‌خودی، نیاز به مصرف غلظت بالایی از سورفاکتانت است از طرفی غلظت بالای سورفاکتانت یونی دارای محدودیت می‌باشد، زیرا سبب حساسیت می-شوند. ولی سورفاکتانت‌های غیریونی دارای سمیت کم-تری هستند و به میزان کم‌تری سبب حساسیت شده و در استرهای قندها (سوربیتان مونواولئات، ساکارز-مونوپالمیتات)، اترهای‌پلی‌اکسی‌اتیلن، استرهای‌اتوکسیلهٔ سوربیتان (توبین‌ها و اسپان‌ها) وجود دارند.

برای تهیه نانوامولسیون، ابتدا مقادیر وزنی مناسب از فاز روغنی و سورفاکتانت غیریونی توبین ۸۰ (نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER)٪۱۵ با یکدیگر مخلوط و سپس مخلوط حاصل را به آرامی و به صورت قطره قطره به داخل فاز آبی به همراه همزدن توسط همزن مغناطیس (rpm۵۰۰ در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) ریخته شد. بعد از اتمام فاز روغنی، به سیستم با دور rpm ۵۰۰ و به مدت ۳۰ دقیقه زمان داده شد تا به تعادل برسد. با توجه به تأثیر دما در اندازهٔ ذرات نانوامولسیون، از همزن مغناطیسی مجهز به سنسور تنظیم دما (فن آزماگستر، ایران) استفاده گردید که دمای محلول را در طی مدت زمان تشکیل امولسیون ثابت نگه می‌داشت .

تعیین اندازهٔ ذرات

اندازه‌گیری میانگین قطرحجمی قطرات و شاخص پراکنش

برای تعیین اندازه قطرات و شاخص چندپخشی، نمونه‌ها با نسبت ۱ به ۵۰ با آب دوبار تقطیر رقیق شدند سپس به وسیله دستگاه DLS† که براساس پراکنش نورلیزر کار می‌کند، میانگین اندازه قطرات بر مبنای قطر حجمی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با زاویه ۹۰ درجه اندازه-گیری شد (مرندی و همکاران ۱۳۹۷).

مورفولوژی

برای تعیین مورفولوژی قطرات و تایید اندازه نانومتری آن‌ها با دستگاه اندازه‌گیری قطرات و از تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM‡)(ZEISS 912 AB-100 KV) استفاده شد. جهت انجام آزمایش از نمونه نانوامولسیونی که ۵۰ تا ۱۰۰ برابر با آب دوبار تقطیر رقیق شده بود، استفاده شد (الیف‌اکباس و همکاران ۲۰۱۸).

بررسی پایداری فیزیکی

پایداری بلندمدت فرمولاسیون بهینه نانوحامل تولید شده با اندازه‌گیری تغییرات در اندازه قطر حجمی قطرات نمونه های آزمایشی در مدت زمان نگهداری (دو ماه) و در روزهای یک، پانزده، سی و شصت نگهداری شده در

* - surfactant to emulsion

† -Dynamic light scattering

‡- Transmission Electron Microscopy

دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد (چاندا و همکاران ۲۰۱۱).

پتانسیل زتا

برای تعیین پتانسیل زتا که از ویژگی‌های مهم سیستم-های کلوئیدی می‌باشند با تهیه رقت با استفاده از دستگاه DLS اندازه‌گیری شد. اندازه گیری پتانسیل زتا در ۷/٤=pH و در دمای ۲۵ °C و توان ۱٤۹ وات انجام شد (فاتاروس و آنتیمیساریز ۲۰۰۲).

میزان کدورت

اندازه‌گیری کدورت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نوری-مرئی (مدل Phillerscientific)در طول موج ۶۰۰ نانومتر انجام شد. برای انجام از غلظت‌های مختلفی از سورفاکتانت غیریونی توویین ۸۰ استفاده و سپس میزان کدورت نمونه نانوامولسیون بهینه بر حسب غلظت‌های متفاوت توویین ۸۰ بررسی شد (صابری و همکاران ۲۰۱۳).

خواص آنتی‌اکسیدانی

برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس‌های روغنی لیموترش و زیره سبز ابتدا نسبت یک به یک از هر نمونه با متانول ۸۰٪ آماده‌سازی شد و سپس به مدت یک ساعت همزده شد و بعد از سانترفیوژ با دورrpm ٤۰۰۰ و ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در حالت سکون، ۲۰۰ میکروگرم از فاز متانولی استحصالی را با محلول DPPH ترکیب و بعد از نگهداری در دمای اتاق و تاریکی، میزان جذب آن در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. نمونه کنترل محلول DPPH بود. برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون ابتدا نمونه آزمایشی با کلروفرم مخلوط شده و سپس نسبت ۱:۱ از فاز کلروفرم استحصالی با متانول ۸۰٪ تهیه شده و مابقی مراحل بر روی فاز متانولی به‌دست آمده انجام شد. نمونه کنترل نانوامولسیون بدون اسانس‌های روغنی بود (دونگ و همکاران ۲۰۱۹؛ طالبی و همکاران ۲۰۲۱).

معادله۱

درصد مهار رادیکال آزاد =(کنترل جذب-نمونه جذب)/ (کنترل جذب)×۱۰۰

آنالیز آماری

تمامی آزمایشات در سه تکرار و براساس طرح کاملا تصادفی انجام شد. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده ازنرم‌افزار آماری (Inc SPSS 16 Windows,) در سطح احتمال ۵ درصد(p<0.05) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد و نمودارها توسط نرم افزار Excell 2016 رسم شد.

نتایج و بحث

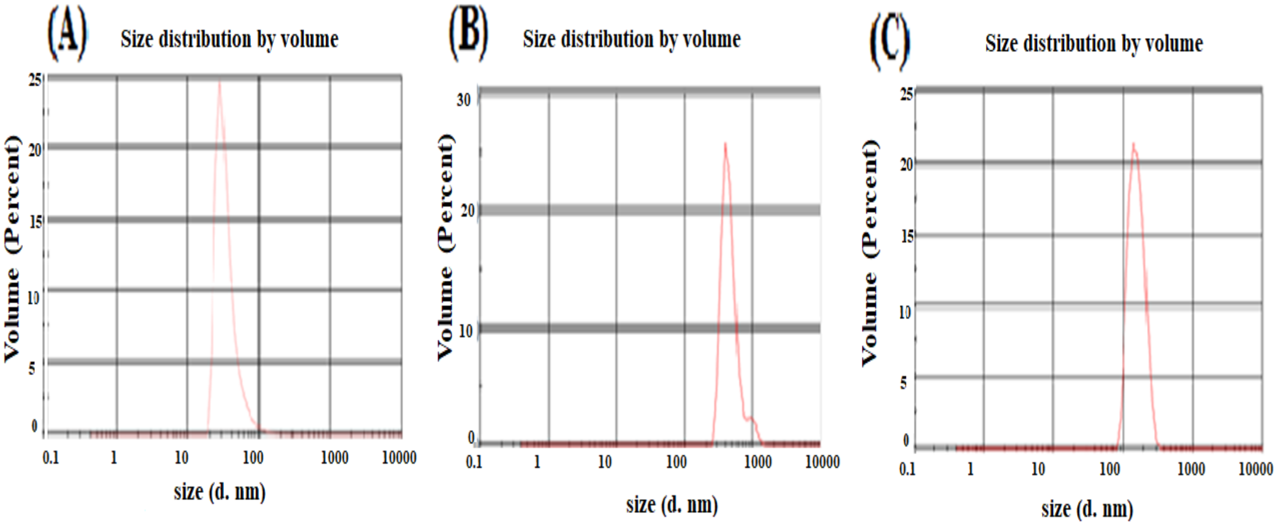
اندازه و توزیع اندازه قطرات نانوامولسیون حاوی اسانس روغنی

نتایج مربوط به اندازه و توزیع اندازه قطرات در یک روز پس از تولید نمونه‌های آزمایشی نشان داد که اندازه قطرات تولیدی در تمامی تیمارهای آزمایشی، دارای اندازه قطر قطرات نانومتری با توزیع یکنواخت بود (Table 1). نمونه حاوی نسبت ۱:۱ زیره‌سبز به لیموترش با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ دارای میانگین قطر حجمی ۸٤/۹۸ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۲۳۲ با توزیع مناسب و یکنواخت از پراکندگی قطرات بود و به عنوان فرمولاسیون بهینه از نظر اندازه قطرات در مقیاس نانو انتخاب شد تا در طی زمان نگهداری شصت روزه، پایداری اندازه قطرات این نمونه بررسی شود (شکل ۱).

جدول ۱- اندازه و توزیع اندازه قطرات آزمایشی در روز اول نگه‌داری پس از تولید

Table 1- Size and distribution of sample droplets on the first day of storage after production

sample	Particle scattering index	Particle size (nanometer)
Nanomulsion with Migliol 812 carrier oil	0.232	84.98
Nanoemulsion with corn oil	0.468	241.35
Nanoemulsion with sesame oil	0.282	150.66



شکل ۱- اندازه وقطرات فرمولاسیون نانوامولسیون بر پایه نسبت ۱۵٪ سورفاکتانت به امولسیون با استفاده از توویین ۸۰ (سورفاکتانت غیریونی) و فازهای روغنی مختلف (A: میگلیول ۸۱۲، B:روغن ذرت و C: روغن کنجد)

Figure 1- particle size one day after production of NE formulation based on ratio of surfactant to emulsion of 15% using Tween 80 (non-ionic surfactant) and oil phase which (A is Migliol 812, B is corn oil and C is sesame oil)

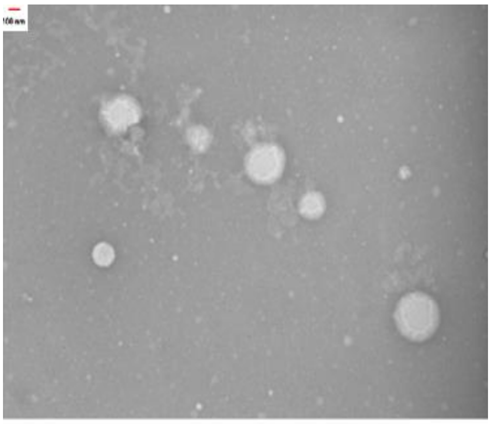
نانوامولسیون‌های تولید شده با روغن‌های حامل کنجد و ذرت دارای اندازه قطرات و شاخص پراکنش بزرگتری نسبت به نمونه‌های تولیدی با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ بودند و خامه‌ای شدن در سطح آن‌ها با سرعت بیشتر اتفاق افتاد. در توضیح علت آن می‌توان گفت که روغن میگلیول ۸۱۲ دارای ویسکوزیته پایین ۰/۰۲۷ پاسکال بر ثانیه در مقایسه با روغن کنجد و ذرت که به ترتیب داری ویسکوزیته‌های ۰/۰۳۸ و ۰/۰٥٦ پاسکال بر ثانیه است، می‌باشد و به همین علت سرعت ریزش قطرات فاز روغنی به داخل فاز آبی و در نتیجه تولید نانوامولسیون به روش خودبه‌خودی با آن بیشتر بود.

انتخاب مناسب سورفاکتانت و فاز روغنی حامل از مهم‌ترین فاکتورها در تولید نانوامولسیون با اندازه قطرات در مقیاس نانو با توزیع باریک و تک مد است (پلیچ نیاتو و همکاران ۲۰۱۸). استفاده از توویین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت غیریونی و میگلیول ۸۱۲ به عنوان فاز روغن حامل باعث تولید کوچک‌ترین اندازه قطرات شد. توویین ۸۰ با نام علمی پلی‌اکسی‌اتیلن‌سوربیتان‌مونواولئات یک سورفاکتانت ریزمولکول غیریونی است. روغن میگلیول ۸۱۲ یک روغن زنجیر متوسط است که از بخش‌های تقطیر شده روغن نارگیل که شامل اسیدهای چرب شش، هشت و ده کربنه تشکیل شده است، می‌باشد (مکلمنتز و روآ، ۲۰۱۱؛ صابری و همکاران ۲۰۱۳). روغن‌های حامل متوسط زنجیر استفاده شده در تولید نانوامولسیون‌ها باعث ایجاد پایداری فیزیکی بسیار بالایی می‌شوند (لیم و همکاران ۲۰۱۱؛ پزشکی و همکاران ۱۳۹٤). طبق پژوهشی که توسط مکلمنتز و یانگ (۲۰۱۳) برای بررسی عوامل موثر بر اندازه ذرات نانوامولسیون‌های تولیدی حاوی ویتامین انجام شد، نشان داده شد نوع امولسیفایر و همچنین نوع فاز روغنی مورد استفاده بر روی اندازه

قطرات موثر است، همچنین به علت ویسکوز بودن بالای ویتامین امکان تولید قطرات کوچک در حد نانومتر وجود ندارد، اما تنها استفاده از ۲۰٪ روغن میگلیول۸۱۲ همراه با ویتامین باعث تشکیل قطرات کوچک نانومتری و نیز همچنین باعث کاهش کشش بین سطحی شد که این عمل خود به افزایش تحرک بین سطحی کمک کرده و در نتیجه احتمال تشکیل قطرات کوچک‌تر و ریزتر بیشتر می‌شود. پزشکی و همکاران (۱۳۹٦) در تولید نانوامولسیون حاوی مخلوط ویتامین A و D3 و حسنی و همکاران (۲۰۱۵) در تولید نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن نشان دادند فاکتورهای مربوط به فرمولاسیون شامل نوع و غلظت سورفاکتانت و نوع حامل روغنی در تولید نانو امولسیون نقش بسیار مهمی را دارا هستند. به‌طوری‌که از بین سورفاکتانت های غیریونی و انواع فاز روغنی، استفاده از تویین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت و میگلیول ۸۱۲ به عنوان روغن حامل، منجر به تولید قطراتی با کوچک ترین اندازه شد.

مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری(TEM)

تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری، قطراتی کروی شکل که هیچ یک از عوامل ناپایداری مانند انبوهش، تجمع و جدایی فاز در سیستم نانوامولسیون تولیدی با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ رخ نداده است را نشان داد که تاییدی بر نتایج حاصل از دستگاه اندازه گیری قطرات است (شکل ۲). در پژوهشی که توسط پزشکی و همکاران (۱۳۹٤) بر روی نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات به روش خودبه‌خودی انجام شد تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری، نتایج حاصل از دستگاه DLS را تایید کرد.



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون

Figure 2- Image of transverse electron microscopy (TEM) of optimal nanomulsion

پایداری نانوامولسیون در طی مدت زمان نگهداری

پایداری نانوامولسیون‌های تولیدی را برهم‌کنش‌های کلوئیدی تعیین می‌کند (پلیچ نیاتو و همکاران ۲۰۱۸). هر چقدر دو پارامتر اندازه قطرات و توزیع اندازه قطرات در طول یک دوره زمانی طولانی و معین شده ثابت باقی بماند، سیستم پایدارتر است (جیانگیی و همکاران ۲۰۱٦). نتایج اندازه‌گیری تغییرات اندازه قطرات، شاخص چند پخشی و همچنین مشاهده و بررسی ظاهر نمونه نانوامولسیون از نظر دوفازه شدن در طی مدت زمان نگهداری شصت روزه حاکی از پایداری آن و عدم انجام مکانیسم‌های ناپایداری در آن‌ها بود (جدول ۲).

جدول ۲- مقادیر اندازه، توزیع اندازه و پتانسیل زتای فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون در طی مدت ۶۰ روز نگه‌داری

Table2- Sustainability of optimal nanoemulsions droplet sizes over a 60-day shelf life

Day	Multiplicity Index	Particle size (nanometer)	Zeta potential (mv)
1	0.232	84.98	-5.30
15	0.234	88	-5.28
30	0.235	91.53	-5.12
60	0.230	99.14	-4.96

پتانسیل زتا

سطح قطرات دارای بار الکتریکی است که این می¬تواند ناشی از ماهیت ذاتی خود قطرات و یا به خاطر جذب لایه سورفاکتانت یونی باشد. از نتایج به‌دست آمده برای پتانسیل زتا، می¬توان نحوه عملکرد نیروهای دافعه الکترواستاتیک بین قطرات نانوامولسیون و میزان پایداری سیستم نانوامولسیونی را در طول زمان نگهداری بررسی کرد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتانسیل زتا نانوامولسیون بهینه در روز اول پس از تولید عدد، ۵/۳۰- بود که با توجه به ماهیت غیریونی بودن سورفاکتانت مورد استفاده در تحقیق قابل توجیه است و میزان اندک آن، احتمالا به دلیل ماهیت خود قطره و محتویات آن می‌باشد. در طی مدت زمان نگهداری، پتانسیل زتا نانوامولسیون ثابت ماند و افزایش اندکی نشان داد که تاییدی بر پایداری فیزیکی خوب قطرات نانوامولسیون بهینه تولید شده است (جدول ۳).

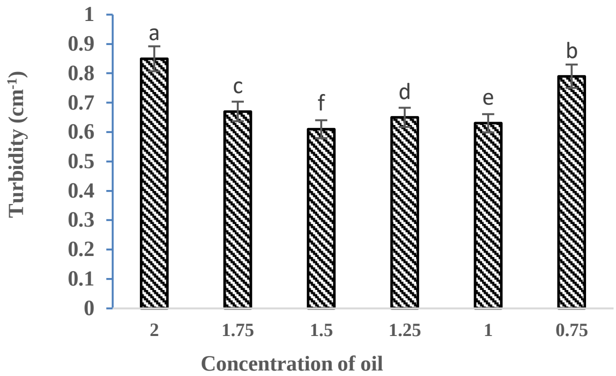
اندازه گیری میزان کدورت

یکی از مهم ترین فاکتورهای موثر در استفاده از نانوحامل های کلوئیدی برای غنی سازی انواع مواد غذایی و بخصوص نوشیدنی های شفاف، بررسی میزان کدورت نانوحامل است. برای تعیین کدورت، از مقادیر نور پخش شده توسط ذرات موجود در محیط سوسپانسیونی استفاده شد. میزان کدورت به عوامل مختلفی همچون اندازه ذرات موجود در فاز مایع، توزیع اندازه ذرات، تعداد ماهیت ذرات، تفاوت ضریب انعکاس قطرات و محیط سوسپانسیونی بستگی دارد (رستمی و همکاران ۲۰۱۸). برای شفاف در نظر گرفتن یک امولسیون باید کدورت نانوامولسیون کمتر از $۰/۰۵cm^{-۱}$ باشد بنابراین اگر قطر قطرات زیر ۸۰ نانومتر و همچنین دارای اندیس پراکنش کمتر از یک باشد، کدورت نانوامولسیون کمتر از $۰/۰۵cm^{-۱}$ خواهد بود که در نتیجه نمونه نانوامولسیونی شفاف و مناسب برای استفاده در نوشیدنی‌های شفاف خواهد بود (نیک‌نیا و همکاران ۱۳۹۲).

با توجه به نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها مشخص شد با افزایش فاز پراکنده نسبت به کل نانوامولسیون، میزان کدورت نمونه¬های آزمایشی افزایش پیدا می‌کند زیرا که اندازه قطرات فاز پراکنده افزایش یافته و در نتیجه کدورت نانوامولسیون از طریق ایجاد تغییر در تفرق نور به وسیله اسپکتروفتومتر افزایش می‌یابد (گونت و همکاران ۲۰۱۰).

کدورت نانوامولسیون‌های تولیدی با تغییر غلظت فازروغنی اندازه‌گیری و بررسی شد. نتایج نشان‌دهنده این بود که با افزایش و کاهش غلظت فازروغنی از یک حد معین به بعد دچار افزایش کدورت می‌شود که این نتایج با نتایج پژوهش پزشکی و همکاران (۱۳۹٤) هم‌خوانی دارد. همچنین این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش انجام شده توسط روآ و مکلمنتز (۲۰۱۱) که به تاثیر رابطه اندازه قطر قطرات نانوامولسیون‌ها و عدد جذب به‌دست آمده از اسپکتروفتومتر را برای نسبت‌های مختلف روغن لیمو استفاده شده در تولید نانوامولسیون همخوانی دارد. کدورت، نشان داد با افزایش رقت، میزان کدورت نمونه نانوامولسیونی با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ کمتر می شود (شکل ۳). در نتیجه، با توجه به افزایش کدورت نسبت به محتوای روغن، می توان حداکثر مقدار روغنی را که می توان به یک محصول نوشیدنی افزود، قبل از اینکه به این کدورت بحرانی برسد، محاسبه نمود. صابری و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعهٔ خود بر روی

نانوامولسیون‌های حاوی ۸۰ درصد ویتامین E و ۲۰ درصد میگلیول تولید شده با استفاده از روش خودبه خودی، نشان دادند با افزایش قطر قطرات میزان کدورت نیز بیشتر می شود. لی و مکلمنتز (۲۰۱۱) نیز بیان کردند کدورت نانوامولسیون ها با افزایش غلظت روغن افزایش می‌یابد.

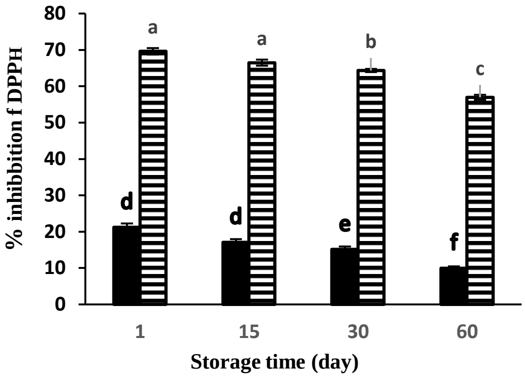


شکل ۳- بررسی کدورت ظاهری فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون در غلظت‌های متفاوت از روغن

Figure 3–Investigating the optimal turbidity of optimal nanemulsion formulation at different concentrations of oil

اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش احیا رادیکال آزاد DPPH به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها در غیاب سایر رادیکال-های آزاد در محیط می‌باشد که این عمل باعث ایجاد رنگی در محیط شده که شدت آن با دستگاه اسپکتروفتومتری قابل اندازه گیری است (پریویس و همکاران ۲۰۱۳). رادیکال DPPH یک رادیکال پایدار می‌باشد اساس این روش به این صورت است که رادیکال DPPH به عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول اهداکننده مانند آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و در نتیجه رنگ محیط از بنفش به رنگ زرد تبدیل می‌شود بنابراین شدت جذب در ۵۱۵ نانومتر کاهش یافته و از روی اندازه‌گیری کاهش شدت جذب به وسیله اسپکتروفتومتری می‌توان به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن پی‌برد (دونگ و همکاران ۲۰۱۹). زیره سبز و لیموترش با توجه به دارابودن ترکیبات فنولی زیست‌فعال در ساختار خود ، به عنوان منابع غنی و قوی آنتی‌اکسیدان در خاموشکردن رادیکال‌های آزادبه حساب می‌آیند (جدول ۳). ولی از طرفی این ترکیبات مستعد تخریب و آسیب‌پذیری در شرایط فراوری و نگه‌داری در محیط هستند. نانوامولسیون حاوی نسبت ۱:۱ اسانس-های روغنی زیره‌سبز و لیموترش (SER=15%) با کمترین اندازه قطرات، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی در مقایسه با اسانس‌های روغنی به حالت آزاد ونمونه امولسیونی بدون اسانس روغنی (کنترل) بود (شکل ٤). با استفاده ازسیستم نانوامولسیون با اندازه قطرات کوچک و با توجه به حضور لایه سورفاکتانت در اطراف قطرات آن، می‌توان ترکیبات فنولی را، ضمن محافظت از خواص کاربردی و حلالیت بیشتر در محیطهای آبی درون پوشانی کرد و امکان غنی‌سازی انواع مواد غذایی با آنها را تعریف کرد.



شکل ۴- قدرت به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH فرمولاسیون نانوامولسیون بلانک (شاهد) و نانوامولسیون حاوی روغن اسانسی (نسبت ۱:۱ زیره سبز- لیمو)

Figure 4- DPPH radical scavenging activity of nanoemulsion blank (control) and nanoemulsion containing essential oil (1:1 Cumin-Lemon)

جدول ۳- درصد به دام اندازی رادیکال آزاد اسانس‌های روغنی

Table 3- Percentage of free radical scavenging of essential iols

sample	Percentage of free radical scavenging
Lemon essential oil	50/38±0.4[c]
Cumin essential oil	62/21±0.6[b]
Cumin-Lemon essential oil	68/15±0.3[a]

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی اندازه قطرات، شاخص پراکنش و پتانسیل زتا نانوامولسیونهای تولیدشده با روغنهای حامل مختلف نشان داد که نانوامولسیون تولیدی با فاز روغنی حامل روغن میگلیول ۸۱۲ منجر به تولید کوچکترین اندازه قطرات شد. نتایج حاصل از بررسی پایداری فیزیکی نانوامولسیون تولید شده در طی مدت زمان نگهداری شصت روزه پایداری بالایی را در برابر افزایش میانگین اندازه قطرات، پتانسیل زتا، شاخص پراکنش نشان داد. خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های روغنی لیموترش وزیره سبز در فرمولاسیون نانوامولسیون در مقایسه با فرم آزاد آنها بیشتر حفظ شد. درکل برطبق نتایج حاصل از پژوهش انجام یافته نانوامولسیون تولیدی با روغن حامل میگلیول ۸۱۲ و اسانسهای روغنی زیره سبز- لیموترش و SER=15% دارای شفافیت و پایداری فیزیکی بالایی بود و از آن میتوان به عنوان منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی در غنی‌سازی انواع نوشیدنی‌ها و مواد غذایی استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

پزشکی الف، قنبرزاده هوجقان ب، همیشه‌کار ح، مقدم واحد م، فتح الهی ع، ۱۳۹٤. تهیه نانوامولسیونهای حامل ویتامین آپالمیتات به روش خودبه خودی: بررسی تاثیر سورفاکتانت و فاز روغنی بر اندازه قطرات و پایداری، پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، (٤) ٤، ۲۹۹-۳۱٤.

حسن فامیان ف و پزشکی نجف‌آبادی الف، ۱۳۹٦. تولید نانوامولسیون حاوی لینولئیک اسید کونژوگه (CLA) به روش تشکیل خود به خودی وغنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با آن، نشریه پژوهشهای صنایع غذایی ،(٤)،١٤٥-١٣٥

مرندی الف، محمدی م، فتح الهی ع و پزشـــکی نجفآبادی الف، ۱۳۹۷. تولید نانولیپوزوم حاوی لینولئیک اســـید کونژوگه (CLA) وغنی‌سازی شیر کمچرب پاستوریزه با آن، نشریه پژوهشهای صنایع غذایی، (٤) ١٦٧-١٥٧

Akbas E, Soyler B and Oztop MH, 2018. Formation of capsaicin loaded nanoemulsions with high pressure homogenization and ultrasonication. LWT, 96: 266-273.

Bok SH, Lee SH, Park YB, Bae, KH, Son KH, Jeong TS and Choi MS, 1999. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. The Journal of nutrition, 129 (6): 1182-1185.

Chanda H, Das P, Chakraborty R and Ghosh A, 2011. Development and evaluation of liposomes of fluconazole. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 5 (27): p.1-9.

Davidov-Pardo G and McClements DJ, 2014. Resveratrol encapsulation: designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. Trends in food science & technology 38(2): 88-103.

Dong X, Hu Y, Li Y and Zhou Z, 2019. The maturity degree, phenolic compounds and antioxidant activity of Eureka lemon [Citrus limon (L.) Burm. f.]: A negative correlation between total phenolic content, antioxidant capacity and soluble solid content. Scientia horticulturae, 243: 281-289.

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

Fatouros DG and Antimisiaris SG, 2002. Effect of amphiphilic drugs on the stability and zeta-potential of their liposome formulations: a study with prednisolone, diazepam, and griseofulvin." Journal of colloid and interface science 251(2): 271-277.

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

Gulotta A, Saberi AH, Nicoli MC and McClements DJ, 2014. Nanoemulsion-based delivery systems for polyunsaturated (ω-3) oils: Formation using a spontaneous emulsification method. Journal of agricultural and food chemistry, 62 (7), 1720-1725.

Hasani, F and Pezeshki A, Hamishehkar H, 2015. Effect of surfactant and oil type on size droplets of betacarotene-bearing nanoemulsions. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 4 (9): 146-155.

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

Jiang Y, Fan Y, Zhang Y and Zhao L, 2016.Characterization of catechin-α-lactalbumin conjugates and the improvement in β-carotene retention in an oil-in-water nanoemulsion. Food Chemistry, 205: 73-80.

Keller, BC,2001. Liposomes in nutrition. Trends in food science & technology 12(1): 25-31.

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

Lee S and McClements DJ, 2010. Fabrication of protein-stabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution /evaporation Approach. Food Hydrocolloids, 24: 560-569.

Polychniatou V and Tzia C, 2018. Evaluation of surface-active and antioxidant effect of olive oil endogenous compounds on the stabilization of water-in-olive-oil nanoemulsions. Food Chemistry, 240: 1146-1153.

Radbeh Z, Asefi N, Hamishehkar H, Roufegarinejad L, Pezeshki A, 2020. Novel carriers ensuring enhanced anti-cancer activity of Cornus mas (cornelian cherry) bioactive compounds. Biomedicine & Pharmacotherrapy,125, 109906.

Rao J and McClements DJ, 2011. Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate & lemon oil. Food hydrocolloids, 25 (6): 1413-1423.

Rostami H, Nikoo AM, RajabzadehG, Niknia, N. and SalehiS, 2018. Development of cumin essential oil nanoemulsions and its emulsion filled hydrogels. Food bioscience, 26: 126-132.

Saberi AH, 2013. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. Journal of colloid and interface science, 391: 95-102.

Saberi AH, Fang Y and McClements, DJ, 2013. Effect of glycerol on formation, stability, and properties of vitamin-E enriched nanoemulsions produced using spontaneous emulsification. Journal of colloid and interface science, 411: 105-113.

Silva HD, Cerqueira, MÂ and Vicente AA, 2012. Nanoemulsions for food applications: Development and characterization. Food and Bioprocess Technology, 5 (3): 854-867.

Talebi, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H, Pezeshki A, Ostadrahimi A, 2021. Effects of different stabilizers on colloidal properties and encapsulation efficiency of vitamin D3 loaded nano-niosomes. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 61. 101284.

Journal of Food Researches/vol.31 No.3 2021/pp 151-164
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir
DOI: 10.22034/FR.2021.40687.1750

Study of physico-chemical and antioxidant properties of nanoemulsions containing cumin-lemon essential oils produced by spontaneous formation method

H Alizadeh Sadabadi[1], A Pezeshki[2*], B Ghanbarzadeh[2] and Sh Ghiasifar[2]

Received: July 8, 2020 Accepted: November 25, 2020
[1]PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2]Assistant Professor, Professor and Lecturer, respectively, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: akram.pezeshki@tabrizu.ac.ir

Introduction: Nanoemulsions **(**NE) are among the most important nano carrier systems, which are clear systems with droplet size within the range of 20-200 nm (Pezeshki et al., 2015). The particles smaller than the wavelength of the light are more resistant to the gravitational separation and therefore droplet aggregation compared with conventional emulsions (Fathi et al., 2012). Also, as a promising drug delivery system they have been attracting global attention providing controlled release of active compounds (Ali et al., 2017). They are good delivery systems for lipid-soluble nutraceuticals which can be prepared by simple production methods and natural food ingredients (Hasani et al., 2015; Ozturk et al., 2015) Extensive researches have been done to use NEs for food enrichment and development of the functional foods containing bioactive components (Saberi et al., 2013, Ozturk et al., 2015, Komaiko and McClements, 2014). Formation and expansion of interfacial surface between the oil phase and the aqueous phase, requires energy input to the system and therefore these systems are thermodynamically unstable and due to various physicochemical phenomena over time they tend to separate to their constituent phases (Fathi et al., 2012; Rao & McClements, 2012; Jafari et al., 2008). This required energy could be provided by mechanical energy (high energy methods) or potential energy of its constituent components (low energy methods). Low energy methods are generally dependent to the interfacial phenomena at the boundary layer between oil and water phases and often it is more effective in small particle production compared with high energy methods (Sagalowicz & Leser 2008; Rao & McClements 2012; Piorkowski & McClements 2014). Spontaneous emulsification, one of the low energy methods in the preparation of oil in water NEs, depends on the production of very fine oil particles when an oil/hydrophilic surfactant mixture is added to the water (Pezeshki et al., 2017; Famian & Pezeshki, 2018). It is used as delivery system to encapsulate lipophilic nutraceutical components such as fat soluble vitamins Today, due to the reduction of fat in the diet and the loss of many compounds during various processes, the body is deficient in nutrients. Intrusion of hydrophobic food-drug compounds, such as various essential oils, into a variety of nanosatellite systems improves solubility and uptake into the human body and can be an effective way to enrich low-fat products. In this study, nanoamulsion containing 1: 1 ratio of subcutaneous, green-lemon oil essential oils by spontaneous formation method using spontaneous surfactant, non-hydrogen peroxide (Twin 80) and various oil phase carriers of Migliol 812, sesame oil and corn oil to surfactant ratio 15% emulsion (SER) was produced to achieve the best oil phase in the production of the optimal formulation of this nanomaterial with the smallest particle size.
Material and methods: NE was produced using low energy spontaneous method by addition of the oil phase drops (solution of a hydrophilic nonionic surfactant (Tween 80) to the deionized water

(Pezeshki et al., 2017). The ratio of surfactant to emulsion (SER) and surfactant to oil phase (SOR) was 15% and 150%, respectively. During the formation of the emulsion the mixture is continuously stirred by the magnetic stirrer (500 rpm at 25 °C). By the time when the pouring of the oil phase was completed, the systems were given stirred for 40 minutes to reach equilibrium. With regard to the effect of temperature on the particle size of nanoemulsion, a magnetic stirrer equipped with a temperature sensor (Hiedolph, Germany) was used to maintain temperature during emulsion formation.
The particle size and particle size distribution of system was obtained with use of a particle size analyzer (Malvern, UK) at 25°C. Measurements were performed by laser light scattering. The samples were diluted twenty times before being placed in the device and the average particle size was expressed based on volume diameter (Hasani et al. 2015) .The morphology of the NEs was observed using TEM (KYKY-EM3200 with an accelerating voltage of 26 kV). The drying process of the samples was conducted at room temperature on the carbon-coated grids (Klang et al. 2012). The NE formulation's variations regarding particle size and span value as well as its physical appearance during the sixty-day storage at 25 °C (on days 1, 7, 14, 30, 45 and 60th day) were studied. A turbidity method was applied to specify the optical properties of the colloidal dispersions. First, with use of acidic buffer solution (pH 3.0) samples were diluted to oil concentrations ranging from 0.03 to 0.15 wt. %. The turbidity of selected samples was measured at 600 nm with use of a UV–visible spectrophotometer. The slope of a linear plot of turbidity versus oil phase concentration represents the turbidity increment (Saberi et al. 2013).
Results and discussion: According to the results, the smallest droplet size of nanoamulsion produced with Migliol 812 (84.98 nm) carrier oil, especially dispersion (0.232), was distributed in the size of narrow and single-mode droplets. The temperature of 25℃ was stable. Images of the transmitting electron microscope also confirmed the particle size obtained from the particle measuring device. Transverse electron microscope images also confirmed the particle size obtained from the particle measuring device. The potential value of the optimal formulation zeta was obtained during a very small and near-zero maintenance period, and the increase in time did not show a significant effect on the change in the potential of the sample zeta.
Conclusion: In general, using the Migliol oil phase, it is possible to produce nanomaterials containing all kinds of oily essential oils with the smallest size of droplets and stable, and then use it to enrich foods with a variety of oily essential oils.

Keywords: Essential oil, Cumin, Sour lemon, Migliol, Tween 80, Nanomulsion