

صلى الله عليه وسلم



دانشکده مهندسی کشاورزی

رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی گرایش صنایع غذایی

پایان نامه کارشناسی ارشد

تولید و ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی (NLC)

حاوی روغن رویان گندم

نگارنده: مژگان میرطالبی

استاد راهنما

دکتر احمد رجایی

استاد مشاور

دکتر منوچهر بهمنی

شهریور ۱۳۹۵

دانشگاه شاهرود

دانشکده کشاورزی
گروه: باغبانی و صنایع غذایی

پایان نامه کارشناسی ارشد خانم مرگن میرطالبی به شماره دانشجویی: ۹۳۱۷۱۳۴

تحت عنوان: تولید و ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانو حامل های لیپیدی (NLC) حاوی روغن رویان گندم

مورد ارزیابی و با درجه

در تاریخ ۹۵/۶/۱۵ توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد
عالی _____ مورد پذیرش قرار گرفت.

امضاء	اساتید مشاور	امضاء	اساتید راهنما
	نام و نام خانوادگی: دکتر منوچهر بهمنی		نام و نام خانوادگی: دکتر احمد رجایی

امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء	اساتید داور
	نام و نام خانوادگی: دکتر شیده موجرلو		نام و نام خانوادگی: دکتر کامبیز جهان بین
			نام و نام خانوادگی: دکتر حمیدرضا صمدلویی

تقدیم اثر

اگر مردم را رسم چنان است که تقدیم تلاش ایشان به بزرگان، ادای دینی باشد به
آنان، شایسته است مره تحصیل پیشکش متواضعانه ای باشد به نخستین معلمان زندگیم

پدر و مادرم

تشکر و قدردانی

پس از سپاس و شنای بی حد بر آستان صفات بی همتای احدیت که در کمال رافت و در نهایت عطف و رخصت اتمام این پایان نامه را به محارزده عطا فرموده است؛

از استاد با کمالات و شایسته؛ جناب آقای دکتر احمد رجایی که در کمال سع صدر، با حسن خلق و فروتنی، از پیچ لکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمات راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛

از استاد فرزانه و دلسوز، جناب آقای دکتر منوچهر بهمنی، که زحمات مشاوره این رساله را متقبل شدند؛

از استاد گرانمایه جناب آقای دکتر احمد یاری خسرو شاهی، که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید؛

و از استادان فرهیخته؛ جناب آقای دکتر حمید رضا صد لونی و جناب آقای دکتر کا بنیر جهان بین که زحمات داور و این رساله را بر عهده داشتند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از جناب آقای مهندس امیر رجبی و سرکار خانم مهندس مژگان هادیان که با کمک های بیدریشان در تمامی مراحل کار یاری رسان من بودند، سپاسگذارم.

بدین وسیله از مدیر عامل محترم کارخانه آرد اتحاد کرج جناب آقای مهندس معارزاده، کلیه کارکنان بخش کنترل کیفیت و تحقیق و توسعه شرکت صنعتی به شهر بخصوص جناب آقای مهندس شعاعی، جناب آقای مهندس اکبریان، سرکار خانم مهندس صباغیان و سرکار خانم مهندس کلاتیریان، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

پروردگار احسن عاقبت، سلامت و سعادت را برای آنان مقدر نما.

تعهد نامه

اینجانب **مژگان میرطالبی** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشکده مهندسی کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه تولید و ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی (NLC) حاوی روغن رویان گندم تحت راهنمایی دکتر احمد رجایی متعهد می شوم.

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

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار

چکیده

روغن رویان گندم دارای بالاترین محتوای توکوفرول در میان روغنهای گیاهی و بالاترین میزان اسید چرب غیراشباع با ارزش تغذیه ای بالا است، اما وجود اسیدهای چرب غیر اشباع موجب کاهش پایداری اکسیداتیو روغن رویان گندم شده است. هدف از این پژوهش تولید نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم به منظور افزایش پایداری اکسیداتیو آن بود. نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین فرمول از نظر اندازه ذرات برای تهیه نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم استفاده از امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ و فاز لیپید جامد پرسیرول بود. نسبت امولسیفایر پلاکسامر به فاز لیپیدی ۱ به ۱ باعث تولید ذراتی با اندازه ۵۲/۷ نانومتر شد. پتانسیل زتای ذرات به دلیل غیر قطبی بودن امولسیفایر پلاکسامر مورد استفاده نزدیک به صفر بود. پایداری ذرات در طی ۱۵ روز نگهداری در دمای محیط بسیار خوب بود. بررسی رفتار دمایی فرمول با نسبت امولسیفایر پلاکسامر به فاز روغنی ۱ به ۱ نشان داد که اختلاط بین امولسیفایر، فاز جامد و فاز مایع به خوبی انجام شده و باعث ایجاد یک ساختار جدید شده است. نتایج حاصل از بررسی اکسیداسیون نانوحامل های لیپیدی در طی ۳۵ روز نگهداری نشان داد که تغییرات اکسیداسیون نانوحامل های لیپیدی نسبت به امولسیون کمتر بود. بهترین فرمول از نظر پایداری اکسیداتیو فرمولاسیون حاوی امولسیفایر پلاکسامر به فاز روغنی ۲ به ۱ بود. همچنین میزان پراکسید نانوحامل های لیپیدی تهیه شده با امولسیفایر پلاکسامر در pH های اسیدی نسبت به pH قلیایی اندکی کمتر بود. به همین دلیل توصیه می شود که این نانوحامل ها در فرمولاسیون های اسیدی مورد استفاده قرار گیرند.

کلید واژه‌ها: نانوحامل های لیپیدی، روغن رویان گندم، پایداری اکسیداتیو

لیست مقالات استخراج شده از پایان نامه

۱. تولید نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم به روش فراصوت
۲. بررسی پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم

فصل اول: کلیات

۱-۱	گندم	۲
۱-۱-۱	رویان گندم	۲
۱-۱-۱-۱	روغن رویان گندم	۳
۲-۱	غذاهای عملگرا	۷
۳-۱	درون پوشانی ترکیبات زیست فعال و مزایای آن	۸
۴-۱	نانوفناوری	۹
۱-۴-۱	نانوفناوری و نانوحامل ها در صنایع غذایی	۱۳
۱-۴-۱-۱	میکروامولسیون	۱۵
۲-۴-۱-۱	نانوامولسیون	۱۶
۳-۴-۱-۱	نانولیپوزوم	۱۶
۴-۴-۱-۱	نانوحامل های لیپید جامد (SLN)	۱۸
۵-۴-۱-۱	نانوحامل های لیپیدی (NLC)	۱۹
۱-۵-۴-۱-۱	اجزای تشکیل دهنده NLC	۲۰
۱-۱-۵-۴-۱-۱	لیپیدها	۲۲
۱-۱-۱-۵-۴-۱-۱	لیپیدهای مایع	۲۳
۲-۱-۱-۵-۴-۱-۱	لیپیدهای جامد	۲۵
۲-۱-۵-۴-۱-۱	امولسیفایرها	۲۶
۲-۵-۴-۱-۱	تولید NLC	۳۰
۱-۲-۵-۴-۱-۱	روش هموژنیزاسیون داغ	۳۰
۲-۲-۵-۴-۱-۱	روش هموژنیزاسیون سرد	۳۱
۳-۲-۵-۴-۱-۱	تبخیر-امولسیفیکاسیون حلال	۳۲

۳۳.....	۳-۵-۱-۴-۱ ساختار NLC
---------	----------------------

فصل دوم: مروری بر پژوهش های پیشین

۳۶.....	۱-۲ پژوهش های مربوط به روغن رویان گندم
.....	۲-۲ پژوهشهای مربوط به تولید و ارزیابی پایداری اکسیداتیو حامل های لیپیدی نانو ساختار
۳۶.....	(SLN و NLC)

فصل سوم: مواد و روشها

۴۸.....	۱-۳ مواد و تجهیزات
۴۸.....	۱-۱-۳ مواد اولیه
۴۸.....	۲-۱-۳ مواد شیمیایی مورد استفاده در زمان تحقیق
۴۹.....	۳-۱-۳ تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی
۵۰.....	۲-۳ روش ها
۵۰.....	۱-۲-۳ استخراج روغن رویان گندم
۵۰.....	۲-۲-۳ آزمون های شیمیایی روغن رویان گندم
۵۱.....	۳-۲-۳ تولید نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم به روش هموژنیزاسیون داغ
۵۲.....	۴-۲-۳ تولید نانوحامل های لیپیدی با pH های متفاوت
۵۳.....	۵-۲-۳ اندازه و توزیع اندازه ذرات
۵۴.....	۶-۲-۳ پتانسیل زتا
۵۴.....	۷-۲-۳ تعیین پایداری نانوحامل های لیپیدی
۵۴.....	۸-۲-۳ کالریمتری روبشی تفاضلی (DSC)
۵۵.....	۹-۲-۳ ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی

۳-۲-۱۰ تجزیه و تحلیل داده ها	۵۵
------------------------------------	----

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱ تجزیه شیمیایی روغن رویان گندم	۵۸
۴-۲ ارزیابی رفتار دمایی روغن رویان گندم	۵۹
۴-۳ تعیین پروفایل اسید چرب رویان گندم	۶۰
۴-۴ ترکیب توکوفرول روغن رویان گندم	۶۱
۴-۵ بررسی پایداری اکسیداتیو روغن رویان گندم	۶۲
۴-۶ تولید نانوحامل های لیپیدی (NLC) حاوی روغن رویان گندم	۶۴
۴-۷ ارزیابی پایداری NLC	۷۱
۴-۸ بررسی رفتار دمایی نانوحامل های لیپیدی	۷۳
۴-۹ اثر فرمولاسیون و pH بر پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی	۷۶
نتیجه گیری کلی	۸۶
پیشنهادهات	۸۷
منابع و مأخذ	۸۸
پیوست	۹۷

- شکل ۱-۱ ساختمان دانه گندم ۳
- شکل ۲-۱ ساختار توکوفرول و توکوترینول ها ۵
- شکل ۳-۱ ساختار اسیدهای چرب عمده موجود در روغن رویان گندم ۶
- شکل ۴-۱ نانوفرمولاسیون های غذا-داروهای چربی دوست ۱۲
- شکل ۵-۱ نمودار پیشرفت تاریخی سیستم های حامل کلئیدی ۱۴
- شکل ۶-۱ تفاوت انواع دیسپرسیون های کلئیدی ۱۵
- شکل ۷-۱ ساختار وزیکول های یونی لاملار بزرگ (LUV_S)، وزیکول های یونی لاملار کوچک (SUV_S)، وزیکول های مولتی وزیکولار (MVV_S) و وزیکول های مولتی لاملار (MLV_S) ۱۸
- شکل ۸-۱ مدل های ساختاری الحاق ترکیبات زیست فعال به SLN ۱۹
- شکل ۹-۱ ساختمان شیمیایی PRECIROL ATO 5 ۲۶
- شکل ۱۰-۱ ساختمان شیمیایی سورفکتانت غیر یونی پلاکسامر ۴۰۷ ۲۹
- شکل ۱۱-۱ ساختمان شیمیایی SDS ۲۹
- شکل ۱۲-۱ فرایند تولید نانوذرات لیپیدی به روش سرد (خاکستری کمرنگ) و داغ (خاکستری تیره) ... هموژناسیون فشار بالا ۳۲
- شکل ۱۳-۱ SLN(A) در مقایسه با NLC (B) نوع ناقص، (C) نوع نامنظم، (D) نوع چندریختی ۳۴
- شکل ۱-۳ فرایند تولید نانوحامل های لیپیدی به روش هموژنیزاسیون داغ ۵۲
- شکل ۲-۳ تصاویر دستگاه های مورد استفاده در تحقیق ۵۶
- شکل ۱-۴ منحنی های رفتار دمایی روغن رویان گندم ۵۹
- شکل ۲-۴ منحنی اکسیداتیو روغن رویان گندم، آفتابگردان و سویا ۶۳
- شکل ۳-۴ نمودار میانگین و توزیع اندازه ذرات فرمولاسیون ۱۷ پس از یک روز تولید ۷۱
- شکل ۴-۴ نمودار میانگین و توزیع اندازه ذرات فرمولاسیون ۱۷ پس از ۱۵ روز از تولید ۷۲
- شکل ۵-۴ نمونه های A,B,C,D در روز اول تولید ۷۳

- شکل ۴-۶ منحنی رفتار ذوب نمونه های حاوی نانوحامل های لیپیدی و نمونه امولسیون ۷۴
- شکل ۴-۷ منحنی رفتار کریستالیزاسیون نمونه های حاوی نانوحامل های لیپیدی و نمونه امولسیون ۷۴
- شکل ۴-۸ اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول A در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۷۷
- شکل ۴-۹ اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول B در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۷۸
- شکل ۴-۱۰ نمونه B در pH های مختلف پس از گذشت سه ماه (از چپ به راست به ترتیب: pH ۳، ۵ و ۸) ۷۹
- شکل ۴-۱۱ اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول C در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۸۰
- شکل ۴-۱۲ اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول D در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۸۱
- شکل ۴-۱۳ پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۳ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۸۲
- شکل ۴-۱۴ پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۵ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۸۳
- شکل ۴-۱۵ پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۸ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C
..... ۸۴

جدول ۱-۱	اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون نانوحامل های لیپیدی	۲۱
جدول ۱-۴	پارامترهای شیمیایی روغن رویان گندم	۵۹
جدول ۲-۴	ترکیب و درصد اسیدهای چرب روغن رویان گندم	۶۱
جدول ۳-۴	ترکیب و مقدار توکوفرول های روغن رویان گندم	۶۲
جدول ۴-۴	فرمولاسیون های مختلف تولید نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم	
.....	(مقادیر بر حسب گرم)	۶۵
جدول ۵-۴	اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتای فرمولاسیون های با اندازه ذرات	
زیر ۱ میکرومتر		۶۹

پیوست ۱	کروماتوگرام اسیدهای چرب روغن رویان گندم به روش کروماتوگرافی گازی ۹۸
پیوست ۲	درصد مواد تشکیل دهنده فرمولاسیون های مختلف ۹۸
پیوست ۳	پتانسیل زتای فرمول ۱۶ ۹۹
پیوست ۴	اندازه ذرات فرمول ۱۶ ۹۹
پیوست ۵	اندازه ذرات فرمول ۱۸ ۱۰۰
پیوست ۶	پتانسیل زتای فرمول ۱۸ ۱۰۰
پیوست ۷	کروماتوگرام توکوفرول روغن رویان گندم به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ۱۰۱

مقدمه

غذاهای کاربردی یا عملگرا، شامل طیف وسیعی از ترکیبات غذا مثل ویتامین ها، مواد معدنی، ترکیبات گیاهی، مواد شیمیایی گیاهی (از جمله پلی فنل ها و کاروتنوئیدها) و پروبیوتیک ها هستند که موجب پیشگیری از بیماریها و بهبود سلامت میشوند. غذاهای کاربردی چربی دوست به دلیل مزایای سلامتی متعدد از جمله ارزش تغذیه ای بالا، خواص آنتی اکسیدانی و ضد عفونت، ترمیم زخم و ضد سرطان بودن، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند (Shin et al., 2015). ترکیبات زیست فعال شامل طعم ها، عطرها، رنگها، مواد نگهدارنده و غذا-داروها در صورت افزوده شدن به غذاها و نوشیدنیها، قادر به بهبود ارزش تغذیه ای و زمان ماندگاری آنها هستند. هر چند این ترکیبات چربی دوست به دلیل حلالیت کم در آب، دسترسی زیستی پایین، حساسیت بالا در برابر عوامل مخرب زیستی از جمله اکسیداسیون، عدم ترکیب با دیگر ترکیبات آب دوست مهم و یا داشتن طعم نامطلوب دارای محدودیت مصرف در سیستم غذا هستند (Ezhilarasi et al., 2013). بنابراین تکنولوژی های متعددی جهت بهبود حلالیت آبی، حمایت در برابر تخریب و اکسیداسیون و افزایش توانایی زیستی دهانی گسترش یافته اند که یکی از کاربردی ترین تکنولوژیهای حال حاضر درون پوشانی است (Fathi et al., 2013).

در میان استراتژی های گوناگون به منظور درون پوشانی ترکیبات زیست فعال، سیستم های نانوحامل بطور عام در سراسر دنیا به دلیل تحویل موثر غذا-داروهای چربی دوست توسعه یافته است. نانوذرات با داشتن اندازه ذرات کمتر از ۵۰۰ نانومتر، جهت استعمال در صنایع غذایی ارجح میباشند. نانوذرات با داشتن اندازه های بسیار کوچک، مانع عبور نور نشده (قابل توجه در ظاهر غذا و نوشیدنی)، سرعت ترسیب پائین داشته و در مقایسه با ذرات بزرگتر، توانایی زیستی بالاتری دارند (McClements et al., 2009). از دیگر مزایای نانوذرات، بهبود حلالیت آبی، افزایش زمان ماندگاری در دستگاه گوارش، توانایی فیزیکوشیمیایی بهتر در دستگاه

گوارش، افزایش جذب روده ای، رها سازی کنترل شده در دستگاه گوارش، تحویل بین و داخل سلولی می باشد (Oehlke et al., 2014).

زمانیکه نانوحامل ها به سیستم غذا یا سیستم تحویل دهانی افزوده میشوند، باید پایداری فرمولاسیون غذایی، غیرسمی و زیست تخریب پذیر بودن آنها و قابلیت کاربرد آن در سیستم های فرایند غذاهای گوناگون را مورد توجه قرار داد (McClements et al., 2009). از میان نانوحامل های کلوئیدی، نانوحامل های لیپیدی (NLC)¹ بدلیل راندمان بالای درون پوشانی، پایداری فیزیکوشیمیایی خوب و آزاد سازی کنترل شده مواد اولیه فعال، از امید بخش ترین سیستم های تحویل است (Muller et al., 2007).

رویان گندم، منبع بی نظیری از مواد مغذی در مقادیر بالاست. روغن رویان گندم، به میزان قابل توجهی حاوی اسیدهای چرب یک و چند غیر اشباعی است. درصد بالاتر لینولئیک اسید و حضور مقادیر قابل توجهی از اولئیک اسید و لینولئیک اسید، این روغن را نسبت به اکسیداسیون حساس ساخته است (Megahad and Kinawy, 2002). یکی از راه های حفاظت از روغن های حامل، درون پوشانی آنها در ماتریکسی است که همانند یک مانع یا مرز عمل میکند. هدف از درون پوشانی روغن ها، رها سازی کنترل شده و پوشش رنگ و عطر نامطلوب، افزایش پایداری در زمان نگهداری، تبخیر و ناسازگاری با مواد واکنش کننده، سهولت در حمل و ذخیره سازی ذرات خشک در مقایسه با روغن های منجمد است (Ozdemir and Kemerli, 2016). با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این تحقیق درون پوشانی روغن رویان گندم بوسیله نانوحامل های لیپیدی و اثر این درون پوشانی بر پایداری اکسیداتیو آن می باشد.

¹ Nanostructured Lipid Carrier

فصل اول

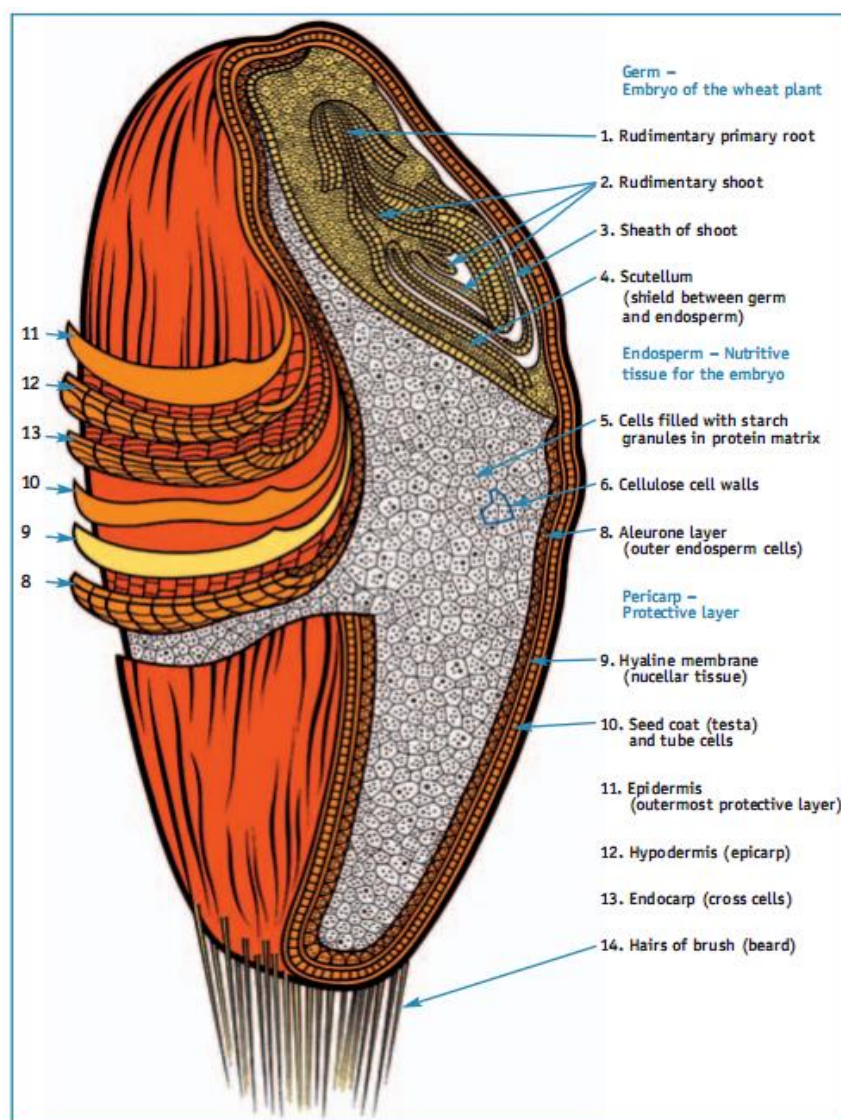
کلیات

۱-۱ گندم

گندم، یکی از مهمترین محصولات جهان با بیشترین میزان تولید نسبت به هر محصول دیگری است که از دلایل آن میتوان به سازگاری بالای آن با شرایط محیطی و دیگری، دارا بودن ویژگی های بی نظیری که منجر به تولید محصولات غذایی متفاوت میشود، اشاره کرد. گندم نانوايي با نام علمی *Triticum vulgare* بوده و قسمتهای اصلی آن شامل پوسته، رویان و اندوسپورم میباشد. در طول فرایند آسیاب کردن، اندوسپورم به همراه رویان از گندم جدا میشوند (Zarroug et al., 2015). در شکل (۱-۱) ساختمان دانه گندم نشان داده شده است.

۱-۱-۱ رویان گندم

رویان گندم، محصول جانبی کارخانجات آسیاب گندم است. اگرچه محصول جانبی کوچکی است اما به دلیل خواص تغذیه ای و دارویی ارزش بالایی دارد. متأسفانه بیشترین مصرف آن در جهان بعنوان مکمل رژیم غذایی در فرمولاسیون غذای حیوانات می باشد (Gelmez et al., 2009). در حالیکه رویان گندم می تواند بعنوان یک مکمل تغذیه ای بالقوه در آماده سازی غذاهایی مثل نان، کوکی، مافین و محصولات مربوط به گوشت مورد استفاده قرار گیرد (Brandolini and Ahidalgo., 2012). رویان در حدود ۲-۳٪ وزن دانه گندم را تشکیل میدهد و به صورت خالص از دانه گندم در طول فرایند آسیاب جدا میشود. رویان گندم در حدود ۵۲٪ کربوهیدرات، ۲۳٪ پروتئین، ۱۱٪ آب، ۱۰٪ روغن و ۴٪ خاکستر دارد. با این حال، رویان گندم به دلیل وجود آنزیم های هیدرولیتیک و اسیدهای چرب غیر اشباع بالا، مستعد فساد اکسیداتیو و افزایش میزان اسیدیته است. به دلیل افزایش فساد و خواص پخت نامطلوب، در طول فرایند آسیاب از اندوسپورم جدا شده و در اصل به منظور تغذیه دام و سپس تولید روغن مورد استفاده قرار میگیرد (Megahed, 2011).



شکل (۱-۱): ساختمان دانه گندم (برگهوف^۲، ۱۹۹۸)

۱-۱-۱-۱ روغن رویان گندم

روغن رویان گندم به دو روش استخراج با حلال با بازدهی ۹۰٪ و پرس مکانیکی با بازدهی حدود ۵۰٪ از رویان جدا میشود. روغن رویان خام معمولاً تیره رنگ بوده و با توجه به شرایط اکسیداتیو، ممکن است عطر و طعم قوی داشته باشد (Brandolini and Hidalgo, 2012). روغن رویان گندم به دلیل میزان اسیدهای

² Berghoff W.

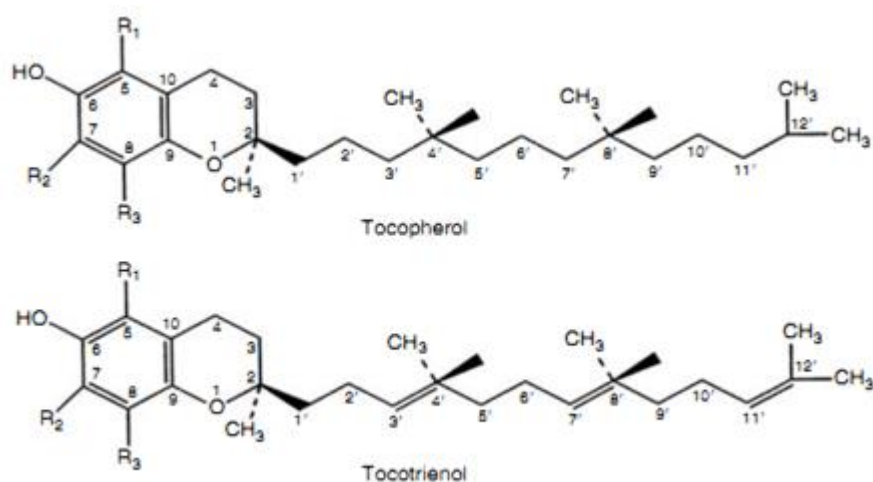
چرب آزاد بالا که از ۲۵-۵٪ بسته به شرایط آسیاب، انبارداری رویان و روش استخراج روغن متفاوت است، نیاز به تصفیه دارد (Panfili et al., 2003). روغن رویان گندم در محصولاتی مانند برخی غذاها، عوامل کنترل کننده بیولوژیکی حشرات، فرمولاسیون های داروئی و آرایشی استفاده میشود و اثرات کاهش کلسترول خون و کبد در جانوران و تاخیر در پیری را نشان داده است. رویان گندم حاوی ترکیبات زیست فعال مهمی از جمله آنتی اکسیدانها و استرولها است. آنتی اکسیدان های رویان گندم شامل توکوفرول ها، توکوترینونول ها، فنولیک ها و کاروتنوئیدها است. فرولیک اسید و وانیلیک اسید به شکل آزاد و گلیکوفلاوون ها، فنولیک هائی هستند که در روغن رویان گندم گزارش شده اند. بیشترین کاروتنوئیدهای روغن رویان گندم لوتئین، زئاگزانتین و β -کاروتن است (Gelmez et al., 2009).

روغن رویان گندم از غنی ترین منابع طبیعی α -توکوفرول (نوعی از توکوفرول با بیشترین خواص ویتامین E) است. توکوفرول ها و توکوترینونول ها، مجموعاً با عنوان توکول ها معرفی شده اند و به اختصار ویتامین E نامیده میشوند. این ترکیبات یک گروه از آنتی اکسیدان های محلول در چربی با یک حلقه کرومانول و یک زنجیره جانبی هیدروفوبیک (فیتیل در قالب توکوفرول ها و ایزوپرنیل در قالب توکوترینول ها) هستند. توکوفرول ها ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$ توکوفرول) و توکوترینول های مشابه آن با تعداد و محل های متفاوت قرارگیری متیل در قسمت فنولیک حلقه کرومانول متفاوت هستند. بخشهای ساختاری توکول ها سرنوشت متابولیکی و بیولوژیکی آنها را مدیریت میکند (Gelmez et al., 2009).

ویتامین E، از مهمترین پایدار کننده های غشاء سلول در برابر تخریب پراکسیداز اسیدهای چرب غیراشباع است. این ویژگی ویتامین E، سلامت سلولها خصوصاً سلول های آزاد با طول عمر کوتاه مثل گلبول های قرمز و پلاکت های خون را حفظ میکند. همچنین، فعل و انفعالات اکسیدانی LDL^۳ را متوقف میکند و در نتیجه از رسوب آنها در دیواره شریان ها جلوگیری کرده و مانع گرفتگی عروق میشود. در ضمن، مصرف

^۳ Low-Density Lipoprotein

ویتامین A را افزایش داده و به شکل پیش ساز هورمون های جنسی عمل میکند (Megahad and Kinawy, 2002).

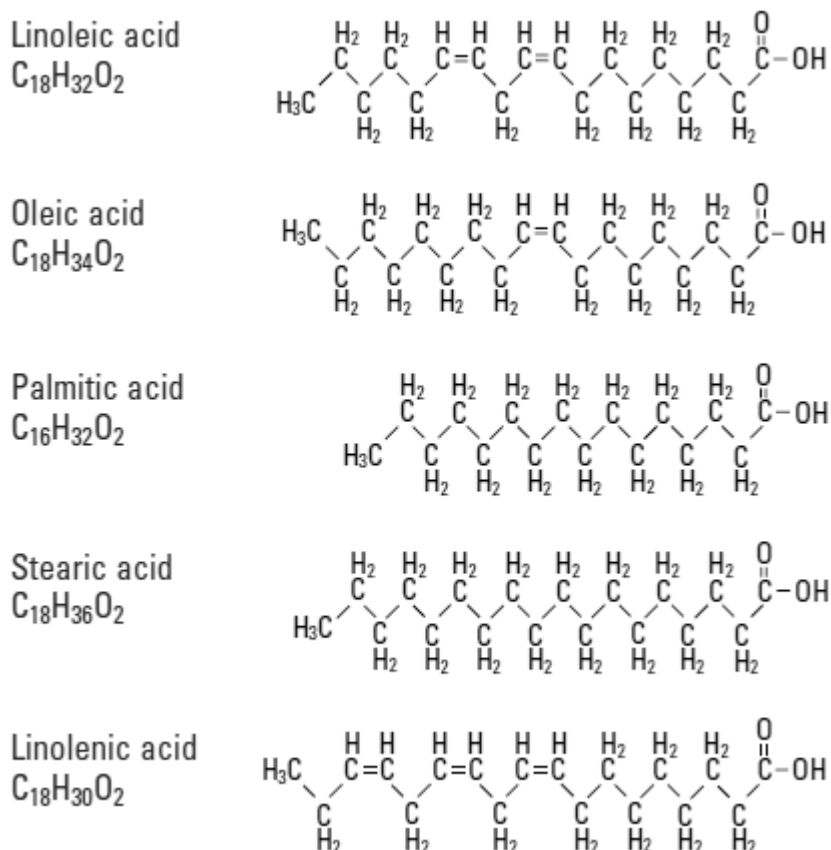


شکل (۱-۲): ساختار توکوفرول و توکوترینول ها.

علاوه بر توکوفرول ها، روغن رویان گندم حاوی اسیدهای چرب یک و چند غیر اشباعی در مقادیر قابل توجه است. لینولئیک اسید (۱۸:۲) اسید چرب اصلی آن است. روغن رویان گندم دارای ۶۰-۴۵٪ لینولئیک اسید (ω-6)، ۳۰-۱۲٪ اولئیک اسید (ω-9)، ۱۱٪ لینولنیک اسید (ω-3)، ۱۷-۱۴٪ پالمیتیک اسید و ۳-۲٪/۵٪ استئاریک اسید است. نقش لینولئیک و لینولنیک اسید در متابولیسم بدن انسان بسیار مهم بوده و بدن انسان قادر به سنتز آنها نمی باشد. اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA)^۴ نقش مهمی در پیشگیری از گرفتگی عروق دارند. PUFA همچنین پیش ساز ترکیبات بیوشیمیایی از جمله پروستاگلندین ها میباشند. در شکل (۱-۳) ساختار اسیدهای چربی که به میزان قابل توجهی در روغن رویان گندم وجود دارند نشان داده شده است (Megahad and Kinawy, 2002).

⁴ Poly-Unsaturated Fatty Acid

علاوه بر ترکیبات بالا، روغن رویان گندم حاوی برخی دیگر از ترکیبات طبیعی است که نقش ارزشمند آنها در سیستم ایمنی، سلامت گویچه های خون و بازسازی سلول ها اثبات شده است. تنها ۱۰۰ گرم از این روغن حاوی حدود ۴۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان طبیعی و قوی بوده و یک منبع فوق العاده از ویتامینهای گروه B (B۱، B۲، B۳، B۶)، A و K میباشد (Niu et al., 2013).



شکل (۱-۳): ساختار اسیدهای چرب عمده موجود در روغن رویان گندم

درصد بالای لینولئیک اسید و حضور مقادیر قابل قبولی از اولئیک اسید و لینولنیک اسید، روغن را نسبت به اکسیداسیون حساس ساخته است (Megahed, 2011).

پایداری اکسیداتیو روغنهای گیاهی خوراکی در کیفیت حسی و تغذیه ای آنها مهم است. از هم پاشیدن هیدروپراکسیدها و تبدیل محصولات اولیه اکسیداسیون به محصولات ثانویه با عملکردهای آلدیدی و

کتونی، اثر منفی بر طعم آنها دارد. خو شبخانه، نتایج فساد به اندازه کافی تهاجمی است تا مانع مصرف این روغن ها در غذا شوند. روغن های مستعد به اکسیداسیون مثل روغن بذر کتان، مصرف آنها را بعنوان روغن تغذیه ای محدود کرده است. بنابراین، ناپایداری روغن های گیاهی موجب محدودیت مصرف آنها در محصولات دیگر مانند محصولات آرایشی و مراقبتی پوست شده است (Kamal-Eldin, 2006).

۲-۱ غذاهای عملگرا^۵

واژه نوتریسیتیکال^۶ (مواد غذا - دارو) در سال ۱۹۸۹ از ترکیب دو واژه «تغذیه» و «داروسازی» به وجود آمد. به طور کلی به غذا یا بخشی از ماده غذایی گفته می شود که دارای خصوصیات فیزیولوژیک و فعالیت بیولوژیکی ارزشمند هستند و علاوه برداشتن خواص تغذیه ای پایه، دارای مزیت های پزشکی و سلامتی بوده و باعث پیشگیری و یا درمان بیماری ها می شوند. این مواد از ترکیباتی هستند که بدن علی رغم نیاز شدید، قادر به ساخت آنها نمی باشد. هم چنین کمبود آنها در بدن، سبب ایجاد بیماری هایی از جمله ناتوانی های یادگیری، عقب ماندگی ذهنی، نابینایی و مرگ زودرس می گردد. قابل ذکر است که کاهش چربی رژیم غذایی به منظور ایجاد یک رژیم غذایی سالم، سبب کمبود مواد مغذی محلول در چربی از جمله ویتامین های محلول در چربی، آنتی اکسیدان ها، اسیدهای چرب چند غیراشباعی می شود (Considine et al., 2007). بنابراین، به منظور برآورده کردن نیاز بدن به ترکیبات ضروری و رفع مشکلات حاصل از آن، می توان مواد غذایی کم چرب و بدون چربی را با ریزمغذی های ضروری و ارزشمند، غنی سازی کرد. غنی سازی عبارت است از افزودن یک یا چند ریزمغذی ضروری به مواد غذایی، در سطوحی بالاتر از مقداری که به طور طبیعی در غذا وجود دارد یا اصلاً در آن وجود ندارد (Gonnet et al., 2010).

⁵ Functional Foods

⁶ Nutricritical

غذاهای عملگرا شامل گروهی از ترکیبات غذایی از جمله ویتامین ها، مواد معدنی، مواد شیمیایی گیاهی (مثل پلی فنل ها و کاروتنوئیدها) و پروبیوتیک ها بوده که با پیشگیری از بیماریها و ارتقاء سلامت در ارتباط هستند. از طرف دیگر، اکثر ترکیبات غذا-دارو را به دلیل حلالیت پایین، حساسیت تخریب در طول فرایند، ماندگاری، هضم، توانایی زیستی پایین و اغلب ترکیبی از این دلایل، ممانعت از دستیابی و کاهش راندمان این ترکیبات در پیشگیری از بیماریها نمیتوان به شکل خالص به غذاها و نوشیدنیها افزود (Livney, 2015). بنابراین به منظور حذف این معایب، سیستم های درون پوشانی بوجود آمدند. با استفاده از روش های جدید درون پوشانی، حلالیت، پایداری در مقابل اکسیداسیون و ایزومریزاسیون، همچنین قابلیت زیستی ویتامین های محلول در چربی و کاروتنوئیدها بخصوص β -کاروتن، به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد (Hejri et al., 2013).

۱-۳ درون پوشانی ترکیبات زیست فعال و مزایای آن

درون پوشانی^۷ فرایند به دام انداختن عوامل فعال در درون مواد حامل بوده و ابزاری مفید جهت بهبود تحویل مواد زیست فعال (برای مثال آنتی اکسیدان ها، مواد معدنی، ویتامین ها، فیتواستروئول ها، لوتئین، اسیدهای چرب، لیکوپن) و سلول های زنده (مثل پروبیوتیک ها) درون غذاها است. درون پوشانی را می توان به عنوان تکنولوژی قراردهی مواد مایع، جامد و گازی شکل درون کپسول های کوچک تعریف نمود که در ادامه، این کپسول ها محتویات درون خود را در مقادیر کنترل شده در طی بازه های زمانی طولانی مدت، و تحت شرایط ویژه، در مناطق هدف رها می کنند (Desai et al., 2005). این تکنیک، مواد واکنش پذیر را از سایر اجزای سیستم غذایی جدا و انتشار آن ها را کنترل می کند (Weiss et al., 2008). مواد مورد استفاده در طراحی پوسته حمایت کننده از کپسول ها باید خوراکی و زیست تخریب پذیر بوده و قادر به ایجاد مانع میان فاز درونی و محیط اطراف خود باشند. از میان تمامی مواد، پلی ساکاریدها، پروتئین ها و لیپیدها گسترده ترین

⁷ Encapsulating

دامنه مصرف در درون پوشانی با کاربرد غذایی را دارند که با گذشت زمان باعث حفظ خصوصیات طبیعی و ذاتی محصول می‌شوند (Nedovic et al., 2011).

ذرات درون پوشانی شده معمولا قطری از چند نانومتر تا چند صد میکرومتر دارند. میکرو/نانوانکپسولاسیون با هدف ایجاد مرز به منظور ممانعت از واکنشهای شیمیایی نامطلوب و رهاسازی کنترل شده ترکیبات زیست فعال خصوصا ویتامین ها تولید شده اند (Katouzian and Jafari, 2016). قطر کپسول در میکروانکپسولاسیون ۳۰۰-۵ میکرومتر است. اما با توجه به کاهش اندازه ذرات در نانوانکپسولاسیون تا حد نانو، نسبت سطح به حجم افزایش یافته، بنابراین واکنشها تا چندین برابر سریعتر میشود. بعلاوه، خواص نوری و الکتریکی مواد نیز تغییر خواهد کرد (Neethirajan & Jayas, 2011).

۴-۱ نانوفناوری

نانوفناوری عموما بعنوان "درک کنترل ماده در ابعاد نانو، تقریبا ۱۰۰-۱ نانومتر، جایی که پدیده ها، کاربردهای جدید پیدا میکنند" تعریف میشود. یک نانوماده، یک نهاد جداگانه است که در یک یا چند بعد دارای ابعاد ۱۰۰ نانومتر یا کمتر میباشد. خواص فیزیکوشیمیایی (از جمله رنگ، حلالیت، ویسکوزیته، ضریب انتشار، قدرت مواد و سمیت) و خواص بیولوژیکی ساختارها و سیستم ها در ابعاد نانو، در مقایسه با همتایان ماکرو اندازه، مربوط به بر هم کنش تک اتمها و مولکولها بوده که منجر به حصول کاربردهای جدید و بی همتا میشود (Tamjidi et al., 2013).

افزایش دانش و تکنولوژی های پیشرفته منجر به ابداع سیستم های تحویل مواد غذا-دارو نانو ساختار شده است (مثل نانوحامل های لیپیدی، نانولیپوزوم، نانوفیبرها، نانوحامل های پلی ساکارید-سورفکتانت ترکیبی). بسیاری از این محصولات جدید موجب بهبود در حلالیت، حفاظت در طول فرایند، ماندگاری و هضم بوده و قادر به رهاسازی برنامه ریزی شده و بهبود در توانایی زیستی مواد غذا-دارو هستند (Livney, 2015).

استفاده از نانوحامل‌ها برای ترکیبات غذا- داروی آبریز مانند ویتامین‌ها می‌تواند مزایای متعددی از جمله کنترل رهایش در یک مکان و زمان معین، پایداری محصول درون پوشانی شده در برابر نور، حرارت و اکسیژن طی فرایند و نگهداری درون ماتریکس غذایی، افزایش حلالیت ترکیبات آبریز در محیط‌های آبی مانند انواع نوشیدنی‌ها و شیر کم‌چرب، دسترسی زیستی بالاتر آنها به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای قطرات و عدم کاهش شفافیت به علت کوچک بودن اندازه را داشته باشد (Shimoni, 2009). از این تکنیک در زمینه‌های مختلف صنایع غذایی، داروسازی، مواد آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود. کاربردهای غذایی عبارتند از:

۱- حصول رنگ یکنواخت در ماده غذایی؛

۲- بازدارندگی در مقابل pH، تغییرات قدرت یونی و درجه حرارت شدید؛

۳- پوشش دادن طعم‌ها یا بوهای نامطلوب؛

۴- جداسازی گونه‌های واکنش‌دهنده از یکدیگر.

علاوه بر این، درعین‌حالی که نانوانکپسولاسیون قابلیت پخش‌پذیری و توزیع ترکیبات نامحلول در آب را افزایش می‌دهد، نباید بر روی خواص حسی، رنگ و طعم محصول تأثیرگذار باشد. حفظ ترکیب درون پوشانی شده طی فرایند انتقال به ماده غذایی و همچنین در طی مدت نگهداری، باید در بالاترین حد باشد؛ در مقابل میزان رهایش آن در مکان جذب باید بهینه باشد (De Vos et al., 2010). به منظور مؤثر بودن سیستم‌های انتقالی (دارو، غذا و ژن)، ترکیبات درون پوشانی‌کننده بایستی از مواد طبیعی تهیه شوند، از نظر ایمنی و سلامتی (GRAS)^۸، قابل قبول، ارزان قیمت، دارای اندازه نانو بوده و از تجزیه ناپهنگام آنها جلوگیری شود. سیستم‌های رهایش باید با دیگر ترکیبات موجود در سیستم، از نظر خواص فیزیکوشیمیایی و کیفی محصول

^۸ Generally Recognized as Safe

نهایی (ظاهر، بافت، طعم و زمان ماندگاری) سازگار باشند. نکته مهم اینکه در فناوری نانو، تنها کوچک بودن اندازه ذره مورد نظر نیست، بلکه تغییر در خصوصیات ذاتی ذره همراه با تغییر در اندازه آن نیز باید مورد توجه قرار گیرد (Liu et al., 2007).

انتخاب مناسب فرایند، امولسیفایرها و دیگر ترکیبات مورد استفاده، مهم‌ترین عامل جهت به‌دست آوردن ذراتی با اندازه و رنگ مطلوب برای هر نوع کاربری است. البته کنترل دقیق و درست فرایند نیز در حین تولید فرمولاسیون‌ها ضروری است (Tamjidi et al., 2013).

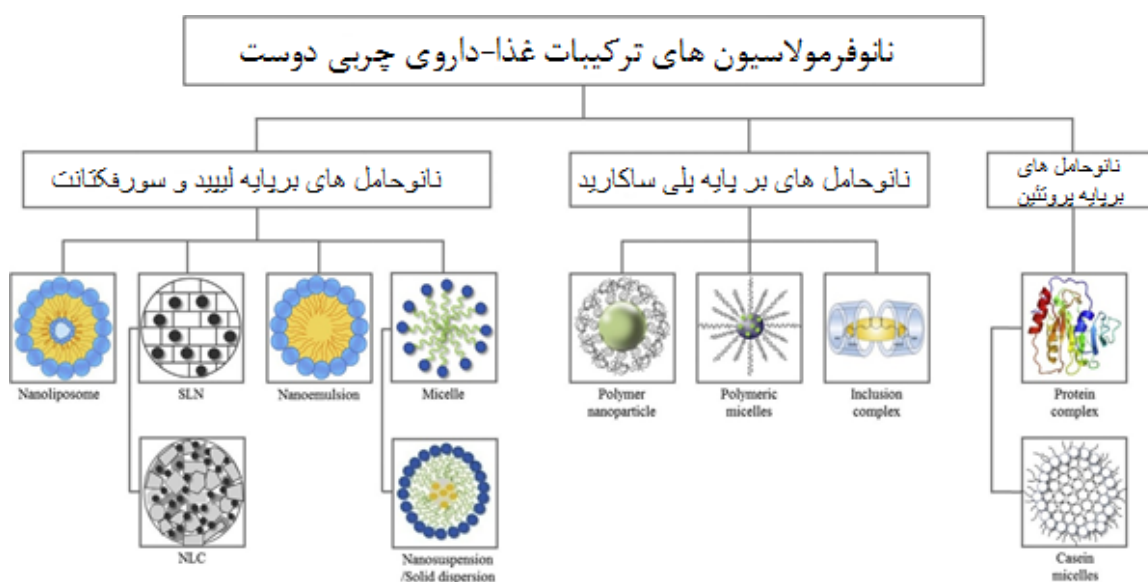
نانوفرمولاسیون‌ها براساس جنس دیواره به سه گروه تقسیم می‌شوند: نانوحامل‌های بر پایه لیپید و سورفکتانت، نانوحامل‌های بر پایه پلی ساکارید و نانوحامل‌های بر پایه پروتئین (Oehlke et al., 2014). نانوحامل‌های بر پایه لیپید و سورفکتانت شامل نانولیپوزوم‌ها، نانوامولسیون‌ها، نانوذرات لیپید جامد (SLN)⁹، نانوحامل‌های لیپیدی (NLC)، میسل، سیستم تحویل دارو امولسیونه خودبخودی و نوسوسپانسیون‌ها است. نانوحامل‌های بر پایه پلی ساکارید شامل نانوذرات پلیمر و میسل‌های پلیمری است. نانوحامل‌های بر پایه پروتئین نیز شامل میسل‌های کازئین و پروتئین‌های پیچیده گوناگون مثل آلبومین، ژلاتین، پروتئین آب پنیر، پروتئین سویا، پروتئین شیر و ذرت است. از آنجائیکه هر کدام از این سیستم‌ها، مزایای خاصی مثل راندمان درون پوشانی، پایداری ذرات، حلالیت آبی، جذب دهانی و دسترسی زیستی دارند، درک ویژگیهای ترکیبات هسته و نانوفرمولاسیون‌ها برای طراحی بهترین سیستم تحویل غذا-داروهای چربی دوست ضروری است (Livney, 2015).

غذاهای عملگرای چربی دوست به دلیل مزایای سلامتی متعدد از جمله ارزش تغذیه‌ای بالا، خواص آنتی اکسیدانی، ضد عفونت، التیام جراحات و ضد سرطان بودن بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. هرچند، به دلیل حلالیت بسیار پایین آنها در آب، دسترسی زیستی دهانی کم، حساسیت بالا در برابر حرارت و اکسیداسیون،

⁹ Solid Lipid Nanoparticle

تخریب در طول فرایند و نگهداری و داشتن اجزاء غیر قابل امتزاج با دیگر ترکیبات هیدروفیل مهم، موجب محدودیت کاربرد ترکیبات چربی دوست در سیستم غذا شده است. بنابراین برخی تکنولوژی ها جهت بهبود حلالیت آبی، حفاظت در برابر تخریب و اکسیداسیون و افزایش دسترسی زیستی دهانی توسعه یافته است (Shin et al., 2015).

در میان استراتژی های گوناگون به منظور تحویل موثر مواد غذا-داروی چربی دوست، محبوبیت سیستم های نانو حامل در سراسر جهان رو به گسترش است. این ترکیبات به دلیل اندازه کوچک، موجب بهبود حلالیت آبی، افزایش زمان ماندگاری در لوله گوارش، پایداری فیزیکی و شیمیایی بهتر در دستگاه گوارش، افزایش نفوذ روده ای، رها سازی کنترل شده در لوله گوارش، تحویل داخل و بین سلولی میشوند (Oehlke et al., 2014). زمانیکه نانوحامل ها به سیستم غذا یا سیستم تحویل دهانی اضافه میشوند، باید به مواردی مثل پایداری در فرمولاسیون غذا، غیرسمیت، زیست تخریب پذیر بودن و قابلیت کاربرد در سیستم فرایند غذاهای گوناگون آنها مورد توجه قرار گیرد (McClements et al., 2010). در شکل (۱-۴) انواع نانوفرمولاسیون غذا-داروهای چربی دوست نشان داده شده است.



شکل (۱-۴): نانوفرمولاسیون های غذا-داروهای چربی دوست (پارهان و همکاران، ۲۰۱۳)

۱-۴-۱ نانوفناوری و نانوحامل ها در صنایع غذایی

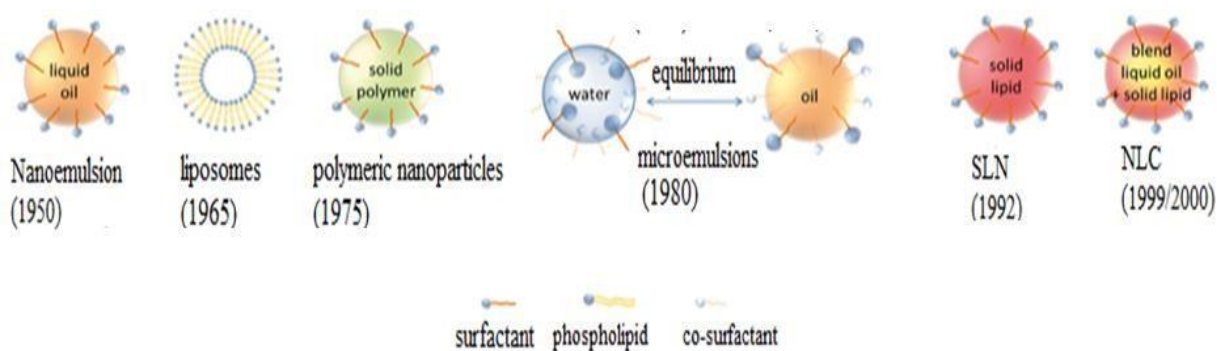
مطالعه غذاهای نانوساختار و کاربرد نانوفناوری در جنبه های گوناگون علم غذا و فناوری در شروع هزاره سوم سرعت گرفته است و در حال حاضر، در حوزه تحقیقات مشروع مربوط به علم غذا قرار دارد. مزایای بالقوه کاربرد نانوتکنولوژی در غذا شامل بسیاری از جنبه ها از جمله مواد بسته بندی، سیستم تحویل موثر مواد مغذی، فرمولاسیون با توانایی زیستی بهبود یافته و ابزار جدید در بیولوژی سلولی-مولکولی میباشد (Shimoni, 2009).

یکی از کاربردهای فناوری نانو در فرآوری مواد غذایی، پوشش دهی ترکیبات فعال و مغذی با پوشش های خوراکی با اندازه نانو و میکرو و افزودن این ذرات به مواد خوراکی است. انواع نانو در مقایسه با سیستم تحویل ماکرو، دارای مزایای چندی است. نانو حامل ها به ظاهر تک پخشی هستند، از نظر ترمودینامیکی پایدار بوده یا پایداری کینتیک بلند مدت را نشان میدهند (Weiss et al., 2008). این سیستم ها سطح بیشتری داشته و بالقوه موجب بهبود حلالیت و دسترسی زیستی مواد زیست فعال میشوند. در نهایت سیستم های تحویل نانو، رها سازی کنترل شده را ارتقا داده و موجب بهبود در به هدف رساندن اجزای غذایی کپسوله شده میشوند (Mozafari et al., 2006). باید به این نکته اشاره کرد که در مقالات، محدوده تقریباً بزرگتر از ۶۰۰ نانومتر نیز برای نانوحامل ها گزارش شده است. سیستم های حاوی ذرات ۶۰۰ نانومتر در دستگاه گوارش انسان دارای اثرات مشابه با ذرات ۱۰۰-۱ نانومتر است (Fathi et al., 2012).

سیستم های نانوحامل دارای جنبه های با ارزش در نانوتکنولوژی غذا-داروها، مواد آرایشی و صنایع غذایی هستند. این سیستم ها عموماً به دو گروه سیستم های پلیمر و سیستم های بر پایه چربی تقسیم میشوند. به دلیل سمیت پلیمرها و کمبود روشهای تولید مطلوب در مقیاس بزرگ، مقبولیت پایین پلیمرهای زیستی مطلوب و نیاز به استفاده از حلال های آلی، میزان محصولات عرضه شده نسبت به گذشته محدود شده است (Weiss et al., 2008). بعلاوه، اکثر ترکیبات زیست فعال (مثل اسیدهای چرب، کاروتنوئیدها،

توکوفرول ها، فلاونوئیدها، پلی فنل ها، ویتامین های محلول در چربی و غذا-داروها)، طعم ها و مواد نگهدارنده دارای طبیعت آگریز هستند. به منظور کپسوله کردن ترکیبات چربی دوست، اغلب نیاز به دیسپرسیون های کلوئیدی مطلوب در محیط آبی (مثل نوع روغن در آب) است. همچنین حضور لیپیدهای قابل هضم، جذب ترکیبات زیست فعال را در روده کوچک تسهیل میکند زیرا این لیپیدها موجب افزایش میزان میسل های مخلوط در دسترس شده که این امر موجب انحلال و انتقال ترکیبات آگریز بیشتر میگردد. بنابراین توجه زیادی بر روی نانوحامل های بر پریایه لیپید متمرکز شده است که شامل نانوامولسیون، میکروامولسیون، لیپوزوم، نانوحامل های لیپید جامد (SLN) و نانوحامل های لیپیدی نانوساختار (NLC) میباشد. بنظر میرسد که NLC در شرایط خاصی نسبت به دیگر نانوحامل های لیپیدی دارای مزیت است (McClements and Xiao, 2012).

پیشرفت تاریخی سیستم های حامل کلوئیدی در شکل (۵-۱) نشان داده شده است. این نانوذرات لیپیدی، دارای اندازه های ۴۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر، کروی شکل و متشکل از فاز لیپید جامد و سورفکتانت میباشند. پراکنده، چربی جامد و سورفکتانت بعنوان امولسیفایر مورد استفاده قرار گرفته است (Naseri et al., 2015).



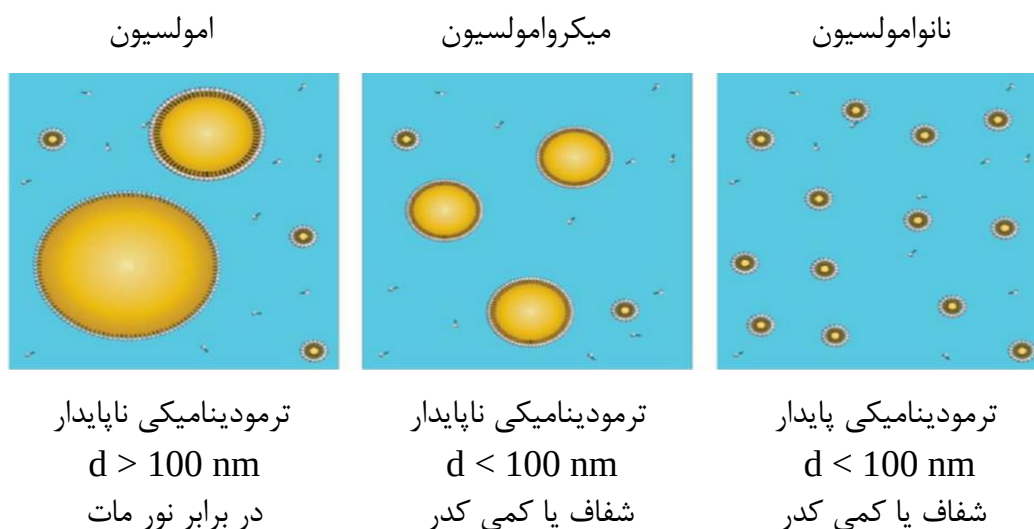
شکل (۵-۱): نمودار پیشرفت تاریخی سیستم های حامل کلوئیدی^{۱۰} (ون ژو و همکاران، ۲۰۱۰)

¹⁰ Naseri et al., 2015.

پیش از بررسی NLC، نگاهی اجمالی به میکروامولسیون و برخی از نانوحامل های لیپیدی و بیان معایب آنها در مقایسه با NLC مفید خواهد بود.

۱-۴-۱ میکروامولسیون

میکروامولسیون ها، بعنوان میسل های بادکرده شناخته شده اند و بطور نمونه دارای قطرات با شعاع بین ۲ تا ۱۰۰ نانومتر است. معمولا در ساخت نانوامولسیون ها و میکروامولسیون ها نیاز به مواد اولیه مشابه است: یک فاز روغن، یک فاز آبی، یک عامل فعال سطحی و احتمالا یک سورفکتانت کمکی. میکروامولسیون ها، طبیعت پیچیده ای داشته و نیاز به روغن های خاص، سورفکتانت های سنتتیک، غلظت بالای سورفکتانت و فرایند تولید گران قیمت دارند، بعلاوه، با تغییر شرایط محیطی (مثل ترکیب و دما) تمایل به تجزیه شدن دارند. بالاخره، وارد کردن مولکول های چربی دوست بزرگ داخل ساختار ذرات بطوری که انحنای بهینه سورفکتانت تک لایه حفظ شود، اغلب مشکل است. این مشکلات، استفاده از میکروامولسیون ها را بعنوان سیستم تحویل در بسیاری از غذاها محدود کرده است (Pirokowski and McClements, 2013). در شکل (۶-۱) انواع دیسپرسیون های کلوییدی که به ویژه در صنعت نوشیدنیها قابل استفاده اند و تفاوت آنها نشان داده شده است.



شکل (۶-۱): تفاوت انواع دیسپرسیون های کلوییدی (مک کلمنتس و پیروکسکی، ۲۰۱۳)

۱-۴-۲ نانوامولسیون

نانوامولسیون، امولسیون با قطرات بسیار کوچک با میانگین شعاع حدود ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر است. قطرات بطور نمونه با یک لایه شامل مخلوط سورفکتانت و سورفکتانت کمکی پایدار میشود. نانوامولسیون ها همانند میکروامولسیون ها نسبت به نور شفاف و یا کمی کدر هستند. هم نانو و هم میکروامولسیون ها نسبت به امولسیون های مر سوم (برای مثال امولسیون با شعاع میانگین بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر)، پایداری بهتری در برابر جدایی جاذبه ای و تجمع دارند. هرچند برخلاف میکروامولسیون ها، نانوامولسیون ها (و همچنین لیپوزوم ها) از نظر ترمودینامیکی ناپایدارند، اما دارای پایداری کینتیکی بلند مدت هستند. این مورد، امتیاز اصلی یک نانوامولسیون بر یک میکروامولسیون است. نانوامولسیون غیرسمی بوده، دارای محتوای بالای فاز لیپید است و قابلیت تولید به میزان بالا را دارد (Fathi et al., 2012). هرچند، هنوز دستخوش ناپایداری از جمله رسیدگی استوالد، لخته شدن، نفوذپذیری غشاء و رها سازی دارو، ژله ای شدن و تجمع ذرات در طول ذخیره سازی هستند. علاوه بر این، نانوامولسیون ها در شرایط اسیدی ناپایدار بوده و رها سازی کنترل شده دارو از نانوامولسیون ها به دلیل اندازه کوچک و نوع لیپید حامل بسیار غیرمحتمل است (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۳ نانولیپوزوم

نانولیپوزوم ها مدل های سنتی از فرمول های بر پایه لیپید هستند که در سال ۱۹۶۵ ابداع شدند و در دهه های اخیر بطور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته اند. نانولیپوزوم یک گویچه کروی با گودال آبدار داخلی است که توسط غشاء لیپیدی تک لایه کپسوله شده است. لیپوزوم از دو کلمه یونانی "lipid" به معنای چربی و "soma" به معنای بدن تشکیل شده است. نانولیپوزوم بعنوان حامل مواد دارویی دارای مزایای منحصر به فردی مثل حفاظت از دارو در برابر تخریب آنزیمی، سمیت پائین، قابلیت انعطاف، همسازی زیستی و کاملاً زیست تخریب پذیر بودن است. البته بسیاری از این کاربردها به موجب برخی اشکالات

مثل طول عمر کوتاه، پایداری ضعیف، بازدهی درون پوشانی پایین، برداشت سریع بوسیله فعل و انفعالات سلول یا جذب و انتقال غشائی محدود شده است (Naseri et al., 2015).

در صنایع غذایی، امکان استفاده از نانولیپوزوم‌ها در تحویل هدفمند مواد با حلالیت‌های مختلف، ترکیبات عمل‌گرا و افزودنی‌های مواد غذایی مثل روغن‌های اسانسی و ادویه‌ها، ترکیبات مغذی مثل پپتیدها، ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری، عوامل رنگبر و رنگدانه‌ها، عوامل آنتی‌اکسیدان، ضد میکروب و نگهدارنده‌ها، عوامل با بویی نامطلوب مانند امگا۳ و بهبود قابلیت دسترسی زیستی آنها میسر می‌گردد (Mozafari et al., 2006). اما کاربردهای غذایی نانولیپوزوم‌ها نیز به دلیل قیمت نسبتاً بالای لستین خالص، بازده درون پوشانی نسبتاً پایین و نیاز به تجهیزات نسبتاً پیچیده در تولید لیپوزوم، پایدار ماندن در مدت زمان کوتاه، مشکلات کنترل اندازه و زیکول‌ها و اختلالات در تولید با حجم بالا، محدود شده است. کنترل اندازه لیپوزوم‌ها و تعیین ویژگی مواد دیواره‌ای و بهبود آن‌ها از جمله مهم‌ترین پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر است (Sharma et al., 1997).

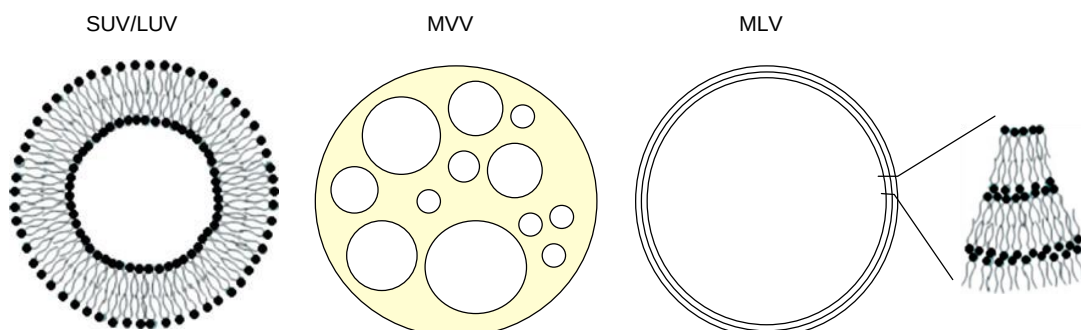
مکانیزم تشکیل لیپوزوم‌ها اساساً بر پایهٔ تعامل متقابل هیدروفیلیک — هیدروفوبیک بین فسفولیپیدها و مولکول‌های آب است. بسته به شدت تنش اعمال شده، لیپوزوم‌ها ممکن است به صورت تک لایه و زیکول‌های یونی لاملار (ULVs)^{۱۱}، لیپوزوم‌های با غشاهای دو لایه‌ای متعدد که در یک ساختار هم مرکز مانند ساختار پیاز انباشته شده‌اند، و زیکول‌های مولتی لاملار (MLVs)^{۱۲} و در نهایت چند زیکول که در کنار هم قرار می‌گیرند و باهم زیکول بزرگتری را تشکیل می‌دهند و زیکول‌های مولتی و زیکولار (MVVs)^{۱۳} می‌باشند (شکل ۱-۷). لیپوزوم‌ها میتوانند جهت تحویل و رها سازی هم مواد محلول در آب

¹¹ Unilamellar

¹² Multilamellar

¹³ Multivesicular

و هم محلول در چربی مورد استفاده قرار گیرند (Shimoni, 2009).



شکل (۱-۷): ساختار وزیکول‌های یونی لاملار بزرگ (LUV_S)، وزیکول‌های یونی لاملار کوچک (SUV_S)، وزیکول‌های مولتی

وزیکولار (MVV_S) و وزیکول‌های مولتی لاملار (MLV_S) (شیمونی، ۲۰۰۹)

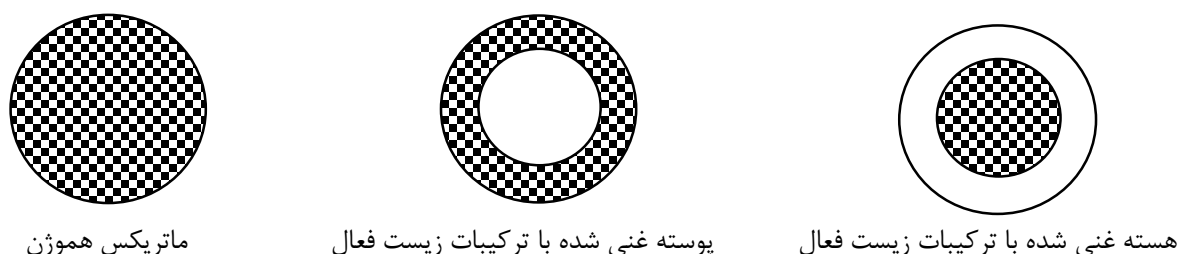
۴-۱-۴-۱ نانوحامل‌های لیپید جامد (SLN)

در ابتدای دهه ۱۹۹۰، SLN معرفی شد. SLN حاوی قطرات لیپید است که کاملاً کریستالی شده و دارای ساختار کریستالی با نظم بالا با ترکیبات زیست فعالی است که قسمتی از ماتریکس لیپید هستند. به منظور تجمع مزایای ذرات پلیمری، لیپوزوم‌ها و امولسیون‌ها و پرهیز از برخی معایب آنها طراحی شد. SLN از یک لیپید جامد و یا ترکیبی از لیپیدهای جامد تشکیل شده است. حرکت ترکیبات زیست فعال می‌تواند با کنترل وضعیت فیزیکی ماتریکس لیپید SLN کنترل شود. مواد زیست فعال دارای سرعت انتشار بسیار کمی هستند، بنابراین با SLN می‌توان به رهاسازی تاخیری دست یافت. در مجموع، مزایای پیشنهاد شده SLN شامل:

- امکان رهاسازی کنترل شده و هدف دار دارو
- بازده بالای درون پوشانی
- پرهیز از حلال‌های آلی
- امکان استفاده برای داروهای چربی دوست و آب دوست

- امکان تولید در مقیاس بالا و استریلیزاسیون
- عدم سمیت زیستی حامل ها
- افزایش پایداری دارو
- پایداری فیزیکی بالا و قابلیت پذیرش عالی

SLN دارای نقص هایی از جمله ظرفیت بارگذاری پایین و دفع دارو(رها سازی قطاری) پس از انتقال چندریختی(مثلاً کریستال α ← کریستال β ← کریستال β) در طول نگهداری است. این معایب، استفاده از SLN را بعنوان سیستم تحویل در برخی از کاربردهای غذایی نامناسب ساخته است. با توجه به روش تولید SLN سه مدل متفاوت در اتصال ترکیبات زیست فعال به آن گزارش شده است (Tamjidi et al., 2013) که در شکل (۸-۱) به نمایش درآمده است.



شکل (۸-۱): مدل های ساختاری الحاق ترکیبات زیست فعال به SLN (فتحی و همکاران، ۲۰۱۲)

۵-۱-۴-۱ نانوحامل های لیپیدی (NLC)

فرایند بلورینگی کامل یا بلورینگی مجدد چربی، حلالیت دارو را کاهش میدهد و منجر به بیرون ریزی دارو از نانوذرات لیپید میشود، خصوصاً زمانی که غلظت دارو در فرمولاسیون بسیار بالاست. اکثر داروها حلالیت بالاتری در لیپید مایع نسبت به لیپید جامد دارند. NLC همان SLN اصلاح شده است زیرا در فاز لیپیدی، هم دارای لیپیدهای جامد(چربی) و هم لیپید مایع(روغن) در دمای اطاق است (Muller et al., 2002). NLC یا همان SLN بارگذاری شده با روغن، دارای قطرات لیپید است که تا قسمتی کریستالی شده اند و

ساختار کریستالی با نظم کمتر یا ساختار جامد بی شکل دارند که جهت غلبه بر محدودیت های SLN توسط مولر^{۱۴} و همکاران در پایان دهه ۱۹۹۰ توسعه داده شد.

هدف از فرمولاسیون NLC، تولید ذراتی است که روغن داخل لیپید جامد جایگذاری شود؛ اینکار موجب بالا رفتن ظرفیت بارگذاری و رها سازی کنترل شده دارو میشود. در این حالت دارو در روغن حل شده و همزمان توسط لیپید جامد کپسوله میشود (Varshosaz et al., 2010). مخلوط لیپید در NLC، انتقال چند ریختی آهسته تر و ضریب بلورینگی کمتر دارد. علاوه بر وجود روغن در هسته NLC، ممکن است بهبود این ویژگیها به دلیل شکل کروی ذرات باشد. بنابراین NLC ممکن است بازده درون پوشانی، بارگذاری دارو و پایداری فیزیکی را افزایش دهد. به نظر میرسد که NLC انتخاب بالارزشی جهت بهبود پایداری شیمیایی، دسترسی زیستی و رها سازی کنترل شده ترکیبات عملگرایی چربی دوست در غذا باشد. NLC دارو را در ماتریکس ذرات جامد بی حرکت کرده و از ترکیبات زیست فعال در برابر تخریب محافظت میکند. ماتریکس لیپید به عنوان مانع فیزیکی، ترکیبات فعال حساس کپسوله شده را از عوامل مخرب در فاز آبی محافظت می نماید. NLC بعنوان یک سیستم تحویل جدید در مرحله ورود به حوزه غذا است (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۱-۵ اجزای تشکیل دهنده NLC

NLC، یک سیستم تحویل نانو ذرات استخراج شده از نانو امولسیون های O/W است. همانند نانو و میکرو امولسیون، اجزای اصلی NLC لیپید، عوامل فعال سطحی و آب است. مهمترین لیپیدها و سورفکتانت های مورد استفاده در تهیه نانو حامل های لیپیدی بارگذاری شده با ترکیبات فعال در جدول (۱-۱) نشان داده شده است. در NLC قسمت اعظم روغن مورد استفاده در امولسیون، با لیپید جامد جایگزین می شود که منجر به تولید ماتریکس ذره ای جامد، به عنوان بستری برای حمل ترکیبات فعال می شود (Hu et al.,

¹⁴ Muller

(2006). هر چقدر میزان ماده جامد NLC بیشتر باشد، ظرفیت بارگیری ترکیب فعال در ساختار آن نیز افزایش می‌یابد که از بعد اقتصادی و همچنین تأثیر بر ماده غذایی، مزیت محسوب می‌شود. به منظور تحویل مقادیر مشابه دارو در مقایسه با SLN، NLC کمتری مورد نیاز است. بعلاوه برای تولید نانوذرات پودری، حذف آب از NLC مقرون بصرفه تر است (Tamjidi et al., 2013).

جدول (۱-۱): اجزاء تشکیل‌دهنده فرمولاسیون نانوحامل های لیپیدی (شاه و همکاران^{۱۵}، ۲۰۱۵).

<i>Fatty acids</i>	<i>Waxes</i>
Dodecanoic acid	Cetyl palmitate
Myristic acid	Carnauba wax
Palmitic acid	Beeswax
Stearic acid	<i>Liquid lipids</i>
<i>Monoglycerides</i>	Soya bean oil
Glyceryl monostearate	Oleic acid
Glyceryl hydroxystearate	Medium chain triglycerides (MCT)/caprylic- and
Glyceryl behenate	capric triglycerides
<i>Diglycerides</i>	α -tocopherol/Vitamin E
Glyceryl palmitostearate	Squalene
Glyceryl dibehenate	Hydroxyoctacosanylhydroxystearate
	Isopropyl myristate
<i>Triglycerides</i>	<i>Cationic lipids</i>
Caprylate triglyceride	Stearylamine (SA)
Caprate triglyceride	Benzalkonium chloride (alkyl dimethyl benzyl ammonium
Glyceryl tristearate/Tristearin	chloride, BA)
Glyceryl trilaurate/Trilaurin	Cetrimide (tetradecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)
Glyceryl trimyristate/Trimyristin	Cetyl pyridinium chloride (hexadecyl pyridinium
Glyceryl tripalmitate/Tripalmitin	chloride, CPC)
Glyceryl tribehenate/Tribehenin	Dimethyl dioctadecyl ammonium bromide (DDAB)
	N-[1-(2,3-dioleoyloxy)propyl]-N,N,N-trimethyl ammonium
	chloride (DOTAP)

¹⁵ Shah et al.

Surfactants	
<i>Ionic surfactants</i>	<i>Non-ionic surfactants</i>
Sodium cholate	Tween 20
Sodium glycocholate	Tween 80
Sodium taurocholate	Span 20
Sodium taurodeoxycholate	Span 80
Sodium oleate	Span 85
Sodium dodecyl sulphate	Tyloxapol
<i>Amphoteric surfactants</i>	Poloxamer 188
Egg phosphatidylcholine (Lipoid E PC S)	Poloxamer 407
Soy phosphatidylcholine (Lipoid S 100, Lipoid S PC)	Poloxamine 908
Hydrogenated egg phosphatidylcholine (Lipoid E PC-3)	Brij78
Hydrogenated soy phosphatidylcholine (Lipoid S PC-3,	Tego care 450
Phospholipon 80 H, Phospholipon 90 H)	Solutol HS15
Egg phospholipid (Lipoid E 80, Lipoid E 80 S)	<i>Co-surfactants</i>
Soy phospholipid (Lipoid S 75)	Butanol
	Butyric acid

۱-۴-۱-۵-۱ لیپیدها

انتخاب ترکیب لیپید مناسب برای موفقیت در تولید NLC با خواص فیزیکی و شیمیایی مطلوب بسیار سخت است. گزارش شده است که ترکیب لیپید اثر ویژه ای بر پایداری شیمیایی مواد زیست فعال حساس دارد (Muller et al., 2002). مواردی که در انتخاب ترکیب لیپید مناسب باید مورد توجه قرار گیرند عبارتند از:

۱. **حلالیت ترکیبات فعال در ماتریکس لیپید ضروری است.** یکی از مهمترین فاکتورهای نشان دهنده ظرفیت بارگذاری دارو در فاز لیپید، حلالیت دارو در لیپید مایع است. حلالیت دارو در لیپیدهای مایع مختلف، سورفکتانت و سورفکتانت های کمکی، پایدارکننده ها یا ترکیبی از آنها را میتوان با افزودن مقداری دارو به آنها، همزدن و/یا سونیکاسیون مخلوط در زمان مشخص تا رسیدن به تعادل انجام داد. سپس با استفاده از سانتریفوژ و/یا فیلتر (مثلا با فیلتر غشایی ۰/۲ یا ۰/۴۵ میکرومتر) داروهای حل نشده را جدا کرد و در نهایت با استفاده از اسپکترومتری UV-Vis یا کروماتوگرافی میزان داروهای حل نشده را تعیین نمود.

۲. فاز لیپید باید در برابر تخریب شیمیایی از جمله اکسیداسیون و لیپولیز پایدار باشند.

۳. لیپیدها باید زیست تخریب پذیر بوده و قادر به تولید ذرات در اندازه نانو باشند. معمولاً

تولید امولسیون های O/W بسیار کوچک زمانیکه فاز لیپید ویسکوزیته و/ یا کشش بین سطحی پایین دارد آسان تر از زمانی است که ویسکوزیته و/ یا کشش بین سطحی بالا دارد.

۴. لیپیدها باید پروفایل سم شناسانه قابل قبولی داشته و در طول تولید NLC منجر به

تولید هیچگونه باقیمانده سمی نشود.

معمولاً، لیپیدهای مصرفی در تهیه NLC مونو، دی و تری آسیل گلیسرول ها، اسیدهای چرب و موم ها هستند (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۱-۵-۱-۱ لیپیدهای مایع

تری گلسیریدهای متوسط زنجیر (MCT)^{۱۶} و اولئیک اسید متداول ترین روغن های مورد استفاده در تولید NLC هستند. MCT جزء لیپیدهای اشباع شده منحصر به فردی هستند که در اصل از کاپریلیک (C8:0;50-80%) و کاپریک (C10:0;20-50%) اسید با میزان کمی کاپروئیک (C6: < 2%)، لوریک (C12:0; < 3%) و میرستیک (C14:0; < 1%) اسید تشکیل شده اند. MCT پایه غذایی داشته و عموماً به روش اصلاح (هیدرولیز/ استریفیکاسیون) و جزء به جزء نمودن روغن های طبیعی مثل روغن نارگیل و هسته پالم تولید میشود. قابلیت هضم MCT نسبت به تری گلسیریدهای بلند زنجیر مانند روغن ذرت سریع تر بوده و در برابر اکسیداسیون پایداری بالاتری دارند. این ترکیبات بدون بو بوده، ولی اگر تحت هیدرولیز قرار گیرند، اسیدهای چرب آزاد شده به طور معنی داری بر آرومای NLC تأثیر می گذارد. MCT از لحاظ مصرف در مواد غذایی ایمن شناخته شده و می توان آن را مستقیماً به مواد غذایی از جمله

¹⁶ Medium Chain Triglyceride

نوشیدنی‌ها به عنوان حامل، حلال، عامل رهاکننده ترکیب فعال و امولسیفایر، اضافه کرد. MCT با داشتن خواص فیزیکوشیمیایی و مولکولی متفاوت بصورت تجاری در دسترس است. اولئیک اسید (۹-سیس اکتادکانوئیک اسید C18:1)، در بسیاری از روغن های طبیعی وجود دارد. بدون بو بوده و از طریق هیدرولیز لیپیدهای حیوانی و گیاهی (به طور مثال زیتون) حاصل می‌شود. دارای ویسکوزیته پایین (تقریباً ۲۶mpa.s- در دمای ۲۵ °C) بوده و در دمای ۴ °C جامد می‌شود. از این ترکیب به عنوان امولسیفایر در صنایع غذایی و دارویی نیز استفاده می‌شود. اولئیک اسید تا حدی حساس به اکسیداسیون است. سرعت اکسیداسیون برای استئاریک اسید، اولئیک اسید و لینولئیک اسید به ترتیب ۱، ۱۰۰ و ۱۲۰۰ می‌باشد. اسیدهای چرب آزاد نسبت به تری‌گلیسیریدها از فعالیت سطحی بیشتری برخوردار بوده و بنابراین اکثراً در سطح روغن-آب تجمع پیدا می‌کنند. این امر حساسیت آنها را به اکسیداسیون افزایش می‌دهد. از طرف دیگر، اسیدهای چرب آزاد نسبت به اکسیداسیون از تری‌گلیسیریدها حساس ترند. رادیکال‌های آزاد تولید شده از اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد، می‌تواند به ترکیب زیست فعال و حساس درون پوشانی شده در ساختار NLC آسیب وارد کنند. اسیدهای چرب تولید شده از چربیها و روغن های استخراج شده از منابع خوراکی (مثل کاپریک، کاپریلیک، لوریک، میرستیک، اولئیک، پالمیتیک و استئاریک) در فهرست افزودنی های مجاز خوراکی (FDA)^{۱۷} به منظور افزودنی مستقیم غذا قرار دارند.

روغن های خوراکی طبیعی مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، ویتامین E و اسکوالن را می‌توان به‌عنوان روغن مایع در تولید NLC مورد استفاده قرار داد (Gramdorf et al., 2008). برخی از لیپید های مایع دارای آنتی اکسیدان های طبیعی (مثل γ-توکوفرول در روغن ذرت) بوده و از داروها در برابر تخریب اکسیداسیون محافظت میکنند. علاوه بر این، انتخاب ارزانتری نسبت به MCT و اولئیک اسید برای کارخانجات غذایی هستند. هرچند، این روغن ها دارای فعالیت سطحی موثر نبوده، درجه غیر اشباعیت و ویسکوزیته بالا داشته

¹⁷ Food and Drug Administration

و ممکن است قدرت حلالیت پایین برای برخی از ترکیبات زیست فعال داشته باشند. بنابراین، استفاده از آنها در تهیه NLC ممکن است منجر به ناپایداری اکسیداتیو (مثلا برای روغن سویا)، آسیب قطرات ازهم گسیخته در زمان کاهش اندازه و بازده پایین درون پوشانی گردد.

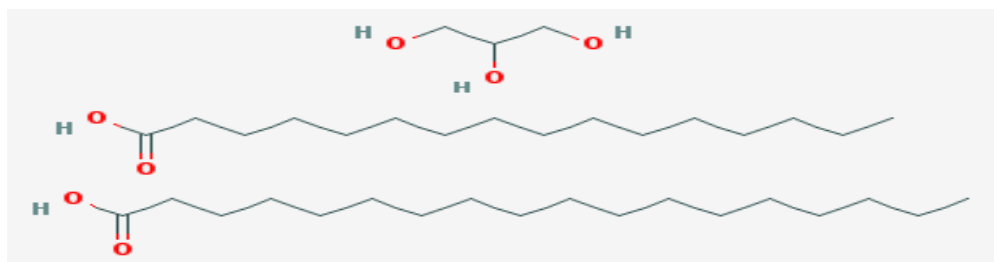
ویتامین E و اسکوالن از دیگر ترکیبات طبیعی هستند که در فرمولاسیون NLC بعنوان لیپید مایع مورد استفاده قرار گرفته اند. اسکوالن یک تری ترپن بوده که در گیاهان، حیوانات و بدن انسان یافت می شود. این ترکیبات به اکسیداسیون حساس هستند (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۱-۵-۱-۲ لیپیدهای جامد

متداول ترین لیپیدهای جامد مورد استفاده در تهیه NLC، گلسیریل بهینات، گلسیریل پالمیتواستئارات (Precirol ATO 5)، گلسیریل منواستئارات/ منواستئارین، ستیل پالمیتات و استئاریک اسید است (جدول ۱-۱). بسیاری از این لیپیدها علاوه بر نقش و عملکرد حامل بودن، دارای فعالیت سطحی نیز هستند. اسیدهای چرب اشباع نسبت به انواع غیر اشباع، خیلی آهسته تر تحت تاثیر اکسیداسیون قرار می گیرند (Tamjidi et al., 2013).

گلسیریل بهینات شامل دی گلسیریدهای اسید بهینیک (C:22) به همراه مقداری از منو و تری آسیل گلسیرولها است که در فرمولاسیون آرایشی، غذاها و داروهای خوراکی مورد استفاده قرار میگیرند و بعنوان افزودنی غذا مورد تایید اروپا است. نانوذرات تولید شده با استفاده از این نوع چربی، به دلیل وجود ساختار کریستالی نامنظم، دارای کارایی درون پوشانی و پایداری بالا هستند (Chawla and Saraf, 2011).

گلسیریل پالمیتواستئارات (پرسیرول)، مخلوطی از دی و تری آسیل گلسیرولهای پالمیتیک اسید و استئاریک اسید بوده و دارای فرمول شیمیایی $C_{37}H_{76}O_7$ (شکل ۱-۹) است. این چربیها دارای رهایش مطلوب و کنترل شده از ترکیب فعال در طی زمان هستند (Vivek et al., 2007).



شکل (۹-۱): ساختمان شیمیایی Precirol ATO 5

گلسیریل منواستئارات نیز مخلوطی از منو و دی‌آسیل گلسیرول‌ها است و حداقل دارای ۴۰٪ منواستئاروئیل گلسیرول است. این چربی غیر سمی بوده و فاقد ترکیبات حساسیت‌زا است، لذا بطور گسترده در فرمولاسیون آرایشی، دارویی و غذاها بعنوان امولسیفایر، پایدارکننده، نرم‌کننده و پلاستیسایزر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rowe et al., 2009).

ستیل استر و الکل‌ها (مانند ستیل پالمیتات) نیز دسته دیگری از لیپیدهای جامد بوده که مجاز به استفاده در مواد غذایی نیستند. از صمغ‌های طبیعی مانند کارنوبا و موم زنبور عسل که مجاز به استفاده در مواد غذایی هستند، نیز می‌توان به عنوان لیپید جامد در تهیه NLC مورد استفاده قرار داد.

استئاریک اسید، اسید چرب اشباع زنجیره بلند است که ترکیب اولیه لیپیدها در منابع گیاهی و جانوری است. لیپید طبیعی آن دارای سمیت کمتر و همسازی زیستی بهتری نسبت به انواع سنتتیک آن است. نقطه ذوب آن $69/6^{\circ}\text{C}$ بوده که بالاتر از دمای بدن است. با بافتهای بدن همسازی زیستی داشته و در برابر مایعات فیزیولوژیک خنثی است. استئاریک اسید در اروپا به عنوان افزودنی غذا مورد تایید است. از اسیدهای چرب اشباع و تری‌گلسیریدهای آن‌ها مانند میریستیک و هم‌چنین گلیکول منواستئارات به عنوان لیپید جامد نیز استفاده شده است (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۱-۵-۲ امولسیفایرها

در صنعت غذا، انواع اصلی امولسیفایرها، سورفکتانت‌های کوچک مولکول، فسفولیپیدها، پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها هستند. مزیت پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها طبیعی بودن آنها است بنابراین در تولید نانوحامل

های لیپیدی بسیار مورد توجه اند. در گذشته تمام فرمولاسیون‌های NLC به جای استفاده از بیوپلیمرها، با استفاده از سورفکتانت‌ها و یا به‌ندرت با استفاده از ترکیبی از سورفکتانت‌ها و بیوپلیمرها پایدار می‌شدند (Zheng et al., 2013). زیرا که سورفکتانت‌ها قادر به تشکیل خودبه‌خودی امولسیون با استفاده از روش‌های کم‌انرژی بوده و همچنین می‌توانند در تولید امولسیون به روش‌های پرانرژی (مانند هموژنیزاسیون فشار قوی)، در سطح قطره جذب و کشتش سطحی را کاهش دهند (McClements and Rao., 2011). علاوه بر این، خواص عملکردی بسیاری از بیوپلیمرها، به‌طور معنی‌داری در طول تولید NLC تغییر می‌کند. با این وجود استفاده از بیوپلیمرها در پایدار سازی NLC‌ها، باید در مطالعات بعدی بررسی شود (Tamjidi et al., 2013).

معمولاً به جای استفاده از یک نوع سورفکتانت، از مخلوطی از سورفکتانت‌های محلول در آب و محلول در روغن استفاده می‌شود، زیرا باعث بهبود خواص کاربردی آن‌ها و پایداری فیزیکی بهتر نانوحامل می‌شود (Hasenhuettl, 2008). پرمصرف‌ترین سورفکتانت برای تولید NLC در مقالات، پلی‌اکسی اتیلن سوربیتان مونولات (با نام تجاری پلی سوربات، توئین ۸۰)، لستین و پلاکسامر ۱۸۸ است (Tamjidi et al., 2013).

توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت هیدروفیل غیریونی در تولید انواع نانوامولسیون‌ها و همچنین نانوساختارهای لیپیدی استفاده می‌شود. توئین ۸۰ استر اولئات سوربیتول است و فرم بدون آب آن با تقریباً ۲۰ مول اتیلن اکساید (به ازای هر مول از سوربیتول و سوربیتول انهدروز) پلیمریزه می‌شود (Qiu et al., 2013). توئین ۸۰ سورفکتانت سنتتیک غیریونی و محلول در آب با HLB^{۱۸} حدود ۱۵ است، بنابراین جهت پایداری NLC مناسب است. این ترکیب را می‌توان مستقیماً به مواد غذایی افزود و میزان مجاز دریافتی روزانه آن ۰-۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن است. می‌توان گفت وقتی که تنها از سورفکتانت‌های غیر یونی برای

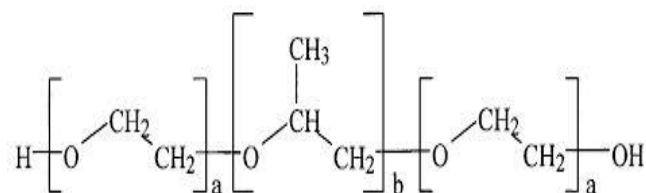
¹⁸ Hidrophobic lipophilic Balance

پایدارسازی سیستم NLC استفاده شود، دافعه فضایی مهم‌ترین عامل پایداری ذرات NLC است. ذراتی که به وسیله دافعه فضایی پایدار شده‌اند، کاملاً به غلظت الکترولیت و pH غیرحساس بوده و همچنین از پایداری خوبی در برابر انجماد و انجمادزدایی برخوردار هستند. با این حال ممکن است کمی تجمع و انعقاد در این نوع سیستم اتفاق افتد که به راحتی برگشت پذیر است. در این نوع سیستم‌ها، مقدار زیادی امولسیفایر برای پوشش سطح قطرات در مقایسه با هنگامی که ذرات با دافعه الکترواستاتیکی حفظ می‌شوند، نیاز است (Hunter, 1987).

از دیگر امولسیفایرها و عوامل فعال سطحی، می‌توان به لستین اشاره کرد که از منابع مختلف از جمله سویا، تخم مرغ و شلغم روغنی، بدست می‌آید. این ترکیب از لحاظ مصرف در صنایع غذایی مجاز و ایمن بوده و در صنایع غذایی و دارویی به وفور استفاده می‌شود. لستین‌های طبیعی مخلوطی از فسفولیپیدها و چربی‌های مختلف از جمله فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل اینوزیتول هستند. لستین‌ها مولکول‌هایی هیدروفوب با HLB حدوداً ۸ هستند، بنابراین به تنهایی برای پایدارسازی سیستم NLC مناسب نمی‌باشند لذا به طور گسترده در ترکیب با دیگر سورفکتانت‌ها به کار می‌روند. برای تولید لستین با خاصیت هیدروفیلی بالاتر، بایستی یکی از دو اسید چرب لستین را به طریق شیمیایی یا آنزیمی از ساختار آن جدا کرد تا لستین با خاصیت هیدروفیلی بالاتر به نام لیزولستین حاصل شود که این ترکیب قادر به پایدارسازی دیسپرسیون‌های روغن در آب است. لستین‌ها سورفکتانت‌های یونی هستند و بسته به pH و غلظت الکترولیت در محیط آنها دارای بار منفی، خنثی و مثبت هستند. لستین‌ها به خصوص لستین سویا، محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع زیادی هستند که این امر آنها را به اکسیداسیون حساس‌تر می‌کند (Tamjidi et al., 2013).

پلاکسامر ۱۸۸ از انواع سورفکتانت‌های غیریونی با HLB نزدیک به ۲۹ است. دارای خاصیت سمیت‌زایی پایین بوده و قادر به کنترل رهایش ترکیب فعال از ساختار نانو حامل و تحویل آنها به سیستم‌های هدف

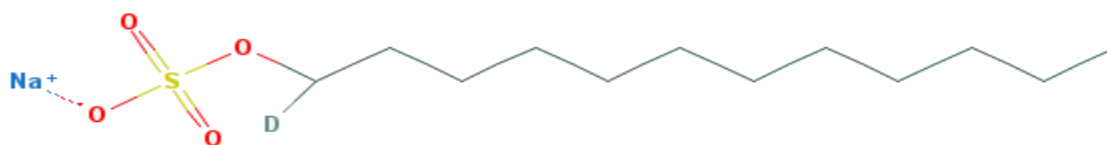
است. این ترکیبات در دماهای بالا پایدار هستند. از این ترکیبات در داروسازی، صنعت و تولید مواد آرایشی استفاده می شود (Rowe et al., 2009). پلاکسامر ۴۰۷، سورفکتانت غیریونی حاصل از پلیمرهای اتیلن اکسید و پروپیلن اکسید (شکل ۱-۱۰) بوده و با $HLB=18-23$ ، در دمای اطاق مایع است (Warren et al., 2011).



شکل (۱-۱۰): ساختار شیمیایی سورفکتانت غیریونی (پلاکسامر ۴۰۷) ($a=101$ و $b=56$ به ترتیب نشان‌دهنده

کوپلیمرهای پلی‌اتیلن اکساید (PEO) و پروپیلن اکساید (PPO) است).

سدیم دودسیل سولفات (SDS)، پلی اکسی اتیلن سوربیتان منولورات (پلی سوربات ۲۰ / تویین ۲۰) و سدیم داکسی کولات (SDC) از دیگر ترکیبات سورفکتانت در سیستم‌های NLC هستند. سدیم دودسیل سولفات یک سورفکتانت هیدروفیل غیریونی با $pH=9/1$ ، جامد سفید یا کرمی رنگ، بدون بوبا فرمول شیمیایی $C_{12}H_{25}NaO_4S$ (شکل ۱-۱۱) که دارای نقطه ذوب $20.4-20.7^{\circ}C$ و $HLB=40$ است و استفاده مستقیم آن در مواد غذایی مجاز شناخته شده است (Tamjidi et al., 2013).



شکل (۱-۱۱): ساختمان شیمیایی SDS

تویین ۲۰ نیز یک سورفکتانت هیدروفیل غیریونی با HLB برابر $16/7$ است که استفاده از آن در مواد غذایی مجاز شناخته شده است. مونوگلیسریدهای هیدروژنه شده روغن پالم (مایورول 18-04K) از امولسیفایرهای مارگارین و بستنی هستند و میتوانند بعنوان پایدارکننده در تولید NLC مورد استفاده قرار

گیرند. از دیگر ترکیبات موجود در ساختار نانوحامل، می توان به نگهدارنده ها (مانند آنتی اکسیدان ها، عوامل ضد میکروبی)، سورفکتانت ها و حلال های کمکی (مانند گلیسرول) اشاره کرد (Martini and Herrera, 2008).

۱-۴-۱-۵-۲ تولید NLC

تکنیک های تولید NLC مشابه SLN است. در مقالات روش های بسیار متفاوتی جهت تولید نانوذرات لیپیدی خصوصاً SLN شرح داده شده است که میتوان به موارد ذیل اشاره کرد:

- هموژنیزاسیون داغ/ سرد
- تکنیک میکروامولسیون
- تبخیر - امولسیفیکاسیون حلال
- انتشار حلال - امولسیفیکاسیون
- تزریق حلال (یا جانشین سازی حلال)
- تکنیک وارونگی فاز
- روش امولسیون متعدد
- تکنیک کانتور غشاء
- امولسیفیکاسیون - سونیکاسیون

پرباربردترین روش در تهیه NLC و SLN، هموژنیزاسیون داغ است. از جمله مزایای این روش در مقایسه با دیگر روشها، فقدان حلال های آلی و زمان کوتاه تولید است (Pardeike et al., 2009). از آنجائیکه روش هموژنیزاسیون سرد، داغ، و تبخیر-امولسیفیکاسیون حلال قابلیت تولید NLC های مناسب غذایی را دارند، در ادامه شرح داده میشوند (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۱-۵-۲ روش هموژنیزاسیون داغ

در این روش ابتدا ماده زیست فعال در مخلوط لیپید ذوب شده (با دمای $5-10^{\circ}\text{C}$ بالاتر از بالاترین نقطه ذوب لیپید) حل و یا دیسپرس میشود. سپس، روغن ذوب شده در محلول آبی امولسیفایر در همان دما با همزن سرعت بالا دیسپرس میشود. جهت افزایش همگنی امولسیون داغ بدست آمده، میتوان در همان دما دستگاه های هموژنایزر فشار بالا، پروب/جت/حمام اولتراسونیک قدرت بالا یا میکروفلویدازر را مورد استفاده قرار داد. متعاقباً با سرد کردن نانوامولسیون در آب سرد یا مبادله کننده گرما، قطرات لیپید کریستالی و نانوذرات معلق NLC تولید میشوند. معمولاً هموژنایزر فشار بالا، ذرات کوچکتر با ضریب پخش پذیری کمتر از 0.2 تولید میکند (Severino et al., 2011).

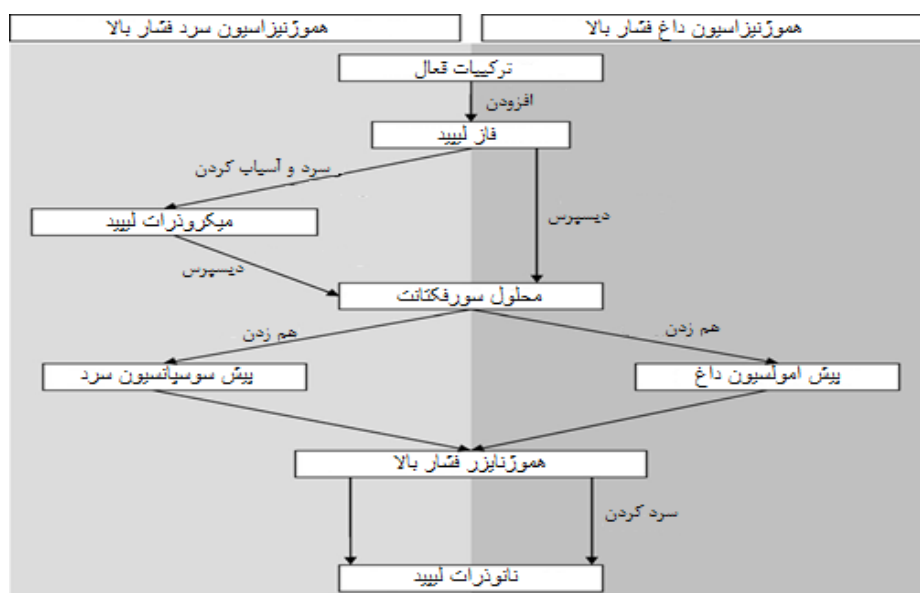
معایب روش هموژنیزاسیون داغ عبارتند از:

- دمای بالا موجب تخریب ترکیبات فعال ناپایدار میشود.
- اکثر سورفکتانت ها دارای نقطه کدورت پایینی هستند. بنابراین دمای بالا میتواند با کاهش خاصیت امولسیون کنندگی، موجب ناپایداری NLC شود.
- در طول هموژنیزاسیون، داروهای آبدوست با فاز آبی جدا شده و موجب کاهش راندمان به دام انداختن میشوند (Uner, 2016). از طرف دیگر حرارت میتواند موجب افزایش حلالیت ترکیبات چربی دوست در فاز آبی و متعاقباً بلورینگی در زمان سرد کردن شود. ماتریکس جامد لیپید اجازه بازگشت ترکیبات زیست فعال درون خود را نمی دهد (Tamjidi et al., 2013).

۱-۴-۱-۵-۲ روش هموژنیزاسیون سرد

هموژنیزاسیون سرد، آسیاب فشار بالای سوسپانسیون است. در این روش، پس از انحلال/ دیسپرس ترکیبات زیست فعال در مخلوط لیپید ذوب شده، توده لیپید سریعاً سرد میشود (برای مثال توسط نیتروژن مایع). سپس، جهت تشکیل میکروذرات، ماتریکس لیپید بعنوان مثال با یک آسیاب گلوله ای آسیاب میشود. در

طول فرایند آسیاب نباید دما از کمترین دمای ذوب لیپید بالاتر رود. سپس میکروذرات در محلول امولسیفایر سرد دیسپرس شده و برای تولید نانوذرات لیپید هموژنیزه میشوند. عموماً، در مقایسه با دیگر روشها، در این روش اندازه ذرات بزرگتر و توزیع اندازه وسیع تر است (Mehnert and mader, 2001). هموژنیزاسیون سرد تخریب حرارتی ترکیبات زیست فعال در ماتریکس لیپید را کاهش میدهد. در ضمن، بدام انداختن دارو بهبود یافته و سرعت بالای سرد کردن، موجب توزیع یکنواخت دارو درون ماتریکس لیپید میشود. بالاخره، فرایند بلورینگی قابل کنترل بوده و سرد کردن سریع میتواند منجر به تشکیل ساختار کریستالی مطلوب شود (Weiss et al., 2008). دو فرایند هموژنیزاسیون سرد و داغ بطور خلاصه در شکل (۱-۱۲) نشان داده شده است.



شکل (۱-۱۲): فرایند تولید نانوذرات لیپیدی به روش سرد (خاکستری کم رنگ) و داغ (خاکستری تیره) هموژنیزاسیون فشار

بالا (پردیک و همکاران، ۲۰۰۹)

۱-۴-۵-۳- تبخیر- امولسیفیکاسیون حلال

در این روش، لیپیدها و ترکیبات زیست فعال در آب- حلال آلی امتزاج ناپذیر با نقطه جوش پایین (مثل متیلن کلراید، سیکلو هگزان) حل میشوند. محلول در محلول امولسیفایر آبی امولسیونه میشود. پس از تبخیر حلال تحت فشار پایین، حلال آلی از لیپیدها و ترکیبات زیست فعال جدا شده و نانوذرات تشکیل

میشوند. مزیت این روش، به حداقل رساندن آسیب حرارتی نمونه بوده که آنرا مناسب ترکیبات حساس به حرارت میکند. ذرات با توجه به میزان لیپید، نوع امولسیفایر و شرایط تولید، توزیع محدود و اندازه کوچک (تقریباً ۱۰۰-۳۰۰ nm) دارند. از طرف دیگر، معایب این روش شامل: باقیماندن حلال و غلظت پایین NLC نهایی، میزان بالای امولسیفایر مصرفی جهت پایداری محصول نهایی است (Wissing et al., 2004). حلال باقیمانده میتواند موجب مسمومیت شده که با استفاده از حلال های GRAS مثل اتیل استات تا حدی برطرف خواهد شد. غلظت پایین NLC نهایی، به دلیل حلالیت محدود لیپیدها در حلال های آلی است. (Tamjidi et al. 2013)

۱-۴-۱-۵-۳ ساختار NLC

با توجه به ترکیب بسیار متفاوت مولکول های لیپید مایع و جامد در تولید NLC، ماتریکس نهایی ذرات لیپید در مقایسه با لیپید جامد اصلی، کاهش نقطه ذوب را نشان میدهد، اما ماتریکس هنوز در دمای بدن جامد است. سه نوع ساختار برای NLC پیشنهاد شده است که دستیابی به هر کدام از این ساختارها به فرمولاسیون ساخت و پارامترهای تولید بستگی دارد. در شکل (۱-۱۳) سه نوع ساختار متفاوت NLC در مقایسه با SLN نشان داده شده است که عبارتند از: ساختار ناقص^{۱۹}، ساختار نامنظم^{۲۰} و ساختار چندگانه^{۲۱} ساختار ناقص NLC با اختلاط لیپیدهای متفاوت فضایی بدست می آید. فاصله میان زنجیره های اسید چرب گلیسریدها و نقص عمومی کریستال که لازمه جایگذاری خوب دارو است، با استفاده از گلیسریدهای حاوی اسیدهای چرب بسیار متفاوت (مثلاً طول زنجیره کربن و ترکیب اسیدهای اشباع و غیراشباع) میتواند افزایش یابد (Muller et al., 2002). از مشکلات بالقوه SLN تشکیل کریستال کامل است که با تراکم "دیوار آجری" قابل تشبیه است. بارگیری داروها در SLN به دلیل تشکیل کریستال لیپید، محدود است.

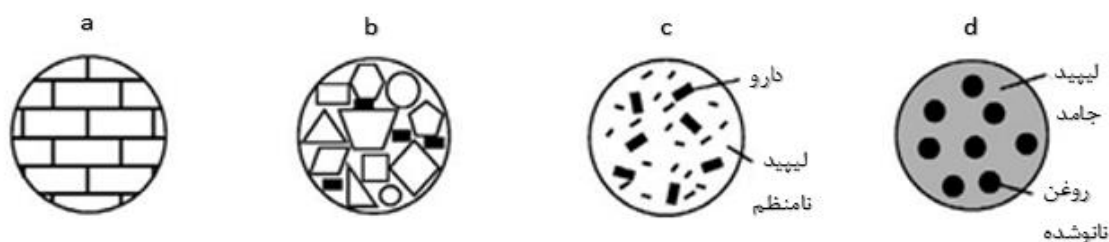
¹⁹ The imperfect type

²⁰ The amorphous type

²¹ The multiple type

خروج دارو به دلیل فرآیند رو به پیشرفت بلورینگی به سمت کریستال کامل رخ میدهد. بنابراین، با پرهیز از بلورینگی میتوان از این مانع عبور کرد که این امر در NLC نوع دوم روی میدهد. ساختار نامنظم NLC، ماتریکس لیپید جامد است اما کریستالی نبوده و با ترکیب لیپید جامد خاص مثل هیدروکسی اکتاکوزانیل هیدروکسی استئارات با ایزوپروپیل میرستات بدست آمد (Jenning et al., 2000).

ساختار سوم NLC، با امولسیون O/W/O قابل قیاس است. این نوع، یک لیپید مایع در جامد در آب دیسپرس است. ماتریکس لیپید جامد دارای روغن نانوشده بسیار کوچک است. نوع سوم NLC برای تعدادی از داروها که حلالیت بالاتری در روغن نسبت به لیپید جامد دارند بکار میرود. ساختار چندگانه NLC، از ترکیب لیپید جامد با مقادیر بالاتر لیپید مایع تولید میشود. در غلظت پایین روغن، مولکول های روغن داخل ماتریکس لیپید جامد پخش میشود اما روغن نانوشده تشکیل نمیشود. با افزایش غلظت روغن، حلالیت مولکول های روغن در لیپید جامد افزایش میابد و جدا شدن فاز اتفاق میافتد و روغن نانوشده تشکیل میشود. این امر در روش هموژنیزاسیون داغ و در طول فرآیند سرد شدن اتفاق میافتد. در دمای بالا، اختلاط کامل بین لیپید جامد ذوب شده و روغن صورت میگیرد. در طول فرایند سرد شدن، حلالیت روغن در لیپید جامد افزایش میابد و روغن به شکل قطرات ریز معلق به ماتریکس لیپید جامد ملحق میشود. در طول فرایند سرد شدن به موجب شکاف حل پذیری، جدایی فاز رخ میدهد. در ذرات با فرم جامد، لیپید مایع تنها باید در ماتریکس لیپید جامد با درجات کمتر حل شود. نانو ذرات تنها زمانی دیده میشوند که لیپید مایع مصرفی در غلظتی بالاتر از مافوق حلالیت آن در لیپید جامد در دمای اطاق باشد (Muller et al., 2002).



شکل (۱-۱۳): SLN (a) در مقایسه با NLC (b) ناقص، (c) نامنظم، (d) چندریختی (راتکه و همکاران، ۲۰۰۱)

فصل دوم

مروری بر پژوهش های پیشین

۱-۲ پژوهش های مربوط به روغن رویان گندم

✓ زاروگ و همکاران^{۲۲} (۲۰۱۵)، به مقایسه ساختار شیمیایی روغن رویان گندم در گندم دوروم و گندم تریتیکوم آستئوم (گندم نانویی) پرداختند.

✓ نیو و همکاران^{۲۳} (۲۰۱۳) ترکیبات فرار، اسیدهای چرب، رفتار دمایی و ساختار روغن رویان گندم را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج وجود ۴۴ نوع ماده فرار که غالباً الکل ها، استرها، آلکن ها و آلدئیدها بودند را نشان داد. روغن غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع (۸۳/۴۵٪) به ویژه لینولئیک اسید (۶۴/۸۲٪) بوده که ۷۵/۴۹٪ آن در موقعیت sn-۲ قرار دارند. رفتار دمایی روغن نیز با کالریمتری روبشی تفاضلی مورد بررسی قرار گرفت.

✓ براندولینی و هیدالگو^{۲۴} (۲۰۱۲) نیز به بررسی خواص شیمیایی رویان گندم و روغن آن پرداختند.

✓ مگاهاد و کیناوی^{۲۵} (۲۰۰۲) با مطالعه بر روی روغن رویان گندم استخراج شده با حلال هگزان، اثر میزان حلال و دمای استخراج بر بازده استخراج، اسیدهای چرب آزاد و پراکسیداز را بررسی نمودند.

۲-۲ پژوهش های مربوط به تولید و ارزیابی پایداری اکسیداتیو حامل های لیپیدی

نانوساختار (SLN و NLC)

✓ سالمینن و همکاران^{۲۶} (۲۰۱۶) بر روی تأثیر فیزیکی شیمیایی درون پوشانی لیپیدهای عملگرا مانند ویتامین A، β -کاروتن و روغن ω -3 بر ساختار کریستالی و پایداری شیمیایی آن در نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN) تحقیق کردند. همچنین تأثیر فاکتورهای مختلف را بر روی ساختار کریستالی و پایداری شیمیایی

²² Zarroug et al.

²³ Niu et al.

²⁴ Brandolini and Hidalgo

²⁵ Megahad and Kinawy

²⁶ Salminen et al.

مواد زیست فعال بررسی کردند.

✓ کراسودومسکا و همکاران^{۲۷} (۲۰۱۶) جهت حفاظت از روغن PUFA موجود روغن حاصل از پرس سرد دانه توت سیاه، تمشک و آلو، اقدام به تولید نانو حامل لیپیدی نمودند. طبق نتایج بدست آمده بهترین ترکیب با بالاترین پایداری شامل ۴٪ امولسیفایر غیر یونی، ۸۸٪ آب و ۶٪ لیپید با نسبت ۲:۶، روغن: موم بود. آزمون های پایداری اکسیداتیو نشان داد که NLC یک روش موثر در حفاظت از روغن های PUFA است.

✓ دن^{۲۸} (۲۰۱۶) با استفاده از شبیه سازی مونت کارلو بر روی تأثیر محدوده جامد ذرات نانو ساختار بر سرعت آزاد سازی ترکیبات از NLC تحقیق کردند. نتایج نشان داد که شکل هندسی محدوده جامد و اندازه و اجزاء آن بر سرعت آزاد سازی مواد درون پوشانی شده موثر هستند.

✓ کونگ و همکاران^{۲۹} (۲۰۱۶) اقدام به تولید نانوحامل های لیپیدی حاوی بتامتازون با استفاده از پرسیرول ATO5 و اولئیک اسید به روش امولسیون سازی گداز نمودند.

✓ اسپوزیتو و همکاران^{۳۰} (۲۰۱۶) اقدام به بهینه سازی روش کپسوله کردن داروهای گرانیقیمت کانابینوئیدز در حامل های لیپیدی نانو ساختار شده به روش ذوب و فراصوت نمودند. در این تحقیق شکل، توزیع اندازه و بازدهی درون پوشانی مورد بررسی قرار گرفت.

✓ پامودی و همکاران^{۳۱} (۲۰۱۶) موفق به فرمولاسیون NLC حاوی ۷/۲٪ ستیل پالمیتات، ۴/۸٪ اولئیک اسید، ۱۰٪ توئین ۸۰، ۱۰٪ گلیسرین و ۲٪ رتینیل پالمیتات شدند. محصول نهایی دارای رنگ زرد

²⁷ Krasodomska et al.

²⁸ Dan

²⁹ Kong et al.

³⁰ Esposito et al.

³¹ Pamudji et al.

کمرنگ، اندازه ذرات $258 \pm 15/85$ nm و توزیع اندازه ذرات $0/31 \pm 0/09$ بود. پایداری NLC در مقایسه با امولسیون بسیار بهتر بود بطوریکه تنها ۱۵٪ از رتینیل پالمیتات موجود در NLC در برابر ۵۰٪ آن در امولسیون در مدت یکسان تخریب شد.

✓ مورالس و همکاران^{۳۲} (۲۰۱۵) بر روی نانو ذرات لیپیدی برای انتقال رتینول (پیش ساز ویتامین A) و مشتقات آن به سلول های هدف تحقیق کردند. در این تحقیق رتینول توسط SLNs، NLCs، و ^{۳۲}NEs و ^{۳۴}NCs بارگیری شد.

✓ اوکونوجی و همکاران^{۳۵} در سال ۲۰۱۵ ویژگی های فیزیکی شیمیایی لیکوپن در فرمولاسیون NLC شامل موم پرتقال و روغن سبوس برنج که با روش هموژنیزاسیون فشار بالا انجام گرفت، برای کاربردهای موضعی را مورد بررسی قرار دادند. اندازه و توزیع ذرات و پتانسیل زتا در NLC های حامل لیکوپن نگهداری شده در دماهای مختلف برای ۱۲۰ روز تغییری نکرد و پایداری کلوئیدی عالی را نشان داد. نتایج نشان دادند که NLC ها سیستم های جذابی برای انتقال پوستی (موضعی) لیکوپن هستند.

✓ بادا و همکاران^{۳۶} (۲۰۱۵) اثر فاکتورهای محافظتی فرابنفش در فرمولاسیون های کرم بر پایه NLC با استفاده از ۶ روغن گیاهی (روغن هسته انار، رویان گندم، کنجد، عصاره ریشه هویج در روغن آفتابگردان، سبوس برنج، دانه تمشک) ارزیابی کردند. بالاترین راندمان بدام انداختن فاکتورهای محافظتی (۷۰٪) متعلق به ترکیب روغن های هسته انار و رویان گندم بود.

³² Morales et al.

³³ Nanoemulsions

³⁴ Nanocapsules

³⁵ Okonogi et al.

³⁶ Badea et al.

✓ ژو و همکاران^{۳۷} (۲۰۱۵) اقدام به تولید NLC با مقادیر بالای روغن Krill (سخت پوستان بسیار کوچک و میگو) نمودند. محصول تولیدی دارای شکل کروی با اندازه کوچک (کمتر از ۱۵۰ nm) بود که به دلیل ساختمان کریستالی کمتر، راندمان بارگیری بیش از ۹۶٪ با اثرات حفاظتی در برابر فتواکسیداسیون نور فرابنفش داشت.

✓ شین و همکاران^{۳۸} (۲۰۱۵) به بررسی مزایا و معایب نانوفرمولاسیون های مختلف مثل بهبود حلالیت و دسترسی زیستی ترکیبات زیست فعال پرداختند.

✓ ژو و همکاران^{۳۹} (۲۰۱۵) بر روی افزایش میزان جذب سلولی روغن ماهی در حالت نانو ساختار تحقیق کردند. در این مطالعه، NLC حاوی ω -3 با روش فرا صوت داغ تولید شد که اندازه ذرات ۸۴ nm و پتانسیل زتا بین ۱۷- تا ۳۶- میلی ولت گزارش شد. کارایی درون پوشانی ۸۷/۵٪ بود.

✓ کامل و مصطفی^{۴۰} (۲۰۱۵) به بررسی خواص پوستی نانوذرات فوتوپروتکتیو حاوی آنتی اکسیدان روتین در مقایسه با آنتی اکسیدان های استاندارد پرداختند. این تحقیق، مطلوبیت سیستم کلوئیدی لیپیدی آرایشی-داروئی حاوی روتین در تولید ضدآفتاب را اثبات نمود.

✓ میترا و همکاران^{۴۱} (۲۰۱۵) بر روی افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی لیپیدها بر مبنای نانو سیستم تحقیق کردند. در این مطالعه روغن های معمولی برای تولید NLC با غلظت بالای روغن ماهی جایگزین شدند. NLC ها با روش هموژنیزاسیون تولید شدند و اندازه ذرات بین ۲۰۰ تا ۲۵۰ nm تعیین شدند.

³⁷ Zhu J. et al.

³⁸ Shin et al.

³⁹ Zhu Q.Y. et al.

⁴⁰ Kamel and Mostafa

⁴¹ Mitrea et al.

✓ نی و همکاران^{۴۲} (۲۰۱۵) بر روی غنی سازی غذاها با NLC های حاوی کوئرستین، شرایط تولید، آماده سازی و ویژگی های آنها مطالعه کردند. میانگین اندازه ذرات، پتانسیل زتا (پایداری کلئیدی) و میانگین به دام افتادن کوئرستین توسط NLC به ترتیب تقریباً ۱۲۹ nm، ۲۶- میلی ولت و ۹۳/۵٪ بدست آمد.

✓ چن و همکاران^{۴۳} (۲۰۱۴) در مطالعه و بررسی خصوصیات نانو دیسپرسیون لیپیدی به عنوان حامل ترکیبات و داروهای کم محلول در آب، با استفاده از لیپیدها و سورفکتانت های زیست تخریب پذیر (استئاریک اسید، گلیسرین منو استئارات، اسید اولئیک و میگلیول ۸۱۲ و سورفکتانت کروموفور EL) و با به کارگیری روش هموژنیزاسیون فشار قوی نانوذراتی با اندازه ۱۲۰ و ۲۵۰ نانومتر با کارایی درون پوشانی ۶۰/۵-۵۵٪ و پتانسیل زتای ۴۳- میلی ولت حاصل کردند.

✓ لاکاتوسا و همکاران^{۴۴} (۲۰۱۴) با استفاده از روغن های گیاهی کدو حلوایی و آمارانت (گل تاج خروس) به تولید حامل های لیپیدی نانوساختار با متوسط اندازه ۱۶۰-۱۰۰ نانومتر در درون پوشانی ترکیبات ضد آفتاب پرداختند.

✓ سالمین و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی پتانسیل ساپونین استخراجی از گیاه *Quillaja* *saponaria* برای جایگزینی نمک های زرده در فرمولاسیون سورفکتانت برای افزایش پایداری فیزیکی و اکسیداتیو NLC های حامل ω -3 تحقیق کردند. نتایج نشان داد که کپسوله کردن ω -3 به روش NLC از تشکیل هیدروپرواکسیدهای لیپیدی، پروپانال و هگزانال را به ترتیب ۷۲٪، ۵۳٪ و ۵۷٪ در مقایسه با روغن ماهی امولسیون در آب (بدون پوشش) کاهش می دهد. همچنین تاثیر غلظت های مختلف عصاره *Quillaja*

⁴² Ni et al.

⁴³ Chen Y. et al.

⁴⁴ Lacatusu et al.

بر روی پایداری فیزیکی و اکسیداتیو NLC حامل ω -3 ارزیابی شد.

✓ فتحی و همکاران (۲۰۱۳) برای غنی سازی غذاها بر روی SLN و NLC های حامل هسپرتین به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی تحقیق کردند. در نمونه های NLC اندازه ذرات کوچکتر و بازده کپسوله شدن ذرات بالاتر است. آنالیزهای پایداری، مقدار نشت معنی داری در طول ۶۰ روز از خود نشان ندادند.

✓ سالمین و همکاران (۲۰۱۳) بر روی تولید نانو ذراتی با پوسته جامد و هسته ای از اسیدهای چرب مایع ω -3 تحقیق کردند. در این تحقیق از دو نوع لیستین با دمای ذوب بالا و پائین استفاده شد که در نتیجه آن پایداری اکسیداتیو و پایداری فیزیکی ω -3 با سورفکتانت لیستین با دمای بالا ۹۰٪ بیشتر از لیستین با دمای پایین بود.

✓ کلیدری و همکاران (۲۰۱۳) بر روی کاربرد و خصوصیات SLN ها و NLC ها به عنوان سیستم های حامل دارو تحقیق کردند.

✓ تمجیدی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی NLC ها به عنوان یک سیستم انتقال بالقوه برای کاربردهای غذایی مطالعه کردند، اهداف این مطالعه معرفی NLC به عنوان یک حامل برای کاربردهای غذایی و بیان مزیت های آن نسبت به حامل های لیپیدی دیگر بود.

✓ ژنگ و همکاران^{۴۵} (۲۰۱۳) تاثیر عوامل پلیمری-سورفکتانت را روی تشکیل و پایداری NLC های حامل آلفا لیپوئیک اسید مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اندازه ذرات، خصوصیات ویسکوالاستیک و پایداری نمونه ها به طور قابل ملاحظه ای تحت تاثیر عوامل سورفکتانت قرار داشت.

✓ یانگ و همکاران^{۴۶} (۲۰۱۳) نانوامولسیون های حاوی میگلیول^{۴۷} را با استفاده از سورفکتانت سنتزی

⁴⁵ Zheng et al.

⁴⁶ Yang et al.

⁴⁷ Miglyol

توین ۸۰ و سورفکتانت طبیعی Q-Natural تولید کردند. نتایج نشان داد سورفکتانت طبیعی نیز با استفاده از این روش قادر است نانوامولسیون های حاوی قطرات ریزی با قطر کمتر از ۲۰۰ nm تولید کند.

✓ چن یو و همکاران^{۴۸} (۲۰۱۲) پتانسیل حامل های نانو لیپیدی بارگذاری شده با کوئرستین بعنوان سیستم حمل موضعی را مورد بررسی قرار دادند. NLC به روش جامدسازی-تبخیر امولسیون در دمای پایین تولید شد. اندازه ذرات بدست آمده ۲۱۵/۲ nm بود.

✓ مک کلمنتس و راثو^{۴۹} (۲۰۱۱) میزان و مقدار حلالیت روغن لیموی امولسیونه شده در مخلوط محلول سورفکتانت های غیریونی شامل پروپیلن گلیکول: ساکارز مونوپالمیتات: توین ۸۰ را مورد بررسی قرار دادند. با افزایش غلظت سورفکتانت ساکارز مونوپالمیتات در مقایسه با توین ۸۰، میزان درون پوشانی روغن لیمو افزایش یافت.

✓ گونت و همکاران^{۵۰} (۲۰۱۰) بیان داشتند از بین روش های تولید نانوامولسیون، روش هموژنیزاسیون فشار قوی و روش فاز معکوس منجر به تولید کوچک ترین و پایدارترین قطرات در محدوده nm می شوند.

✓ لیو و وو^{۵۱} (۲۰۱۰) در پژوهش خود بر روی بهینه سازی فرمولاسیون NLC حاوی لوتئین بر پایه پیرسیرول (لیپید جامد)، روغن مایع مایورول (پالمیتیک اسید منوگلسیرید) و پلورونیک به عنوان سورفکتانت گزارش نمودند که با استفاده از پیرسیرول ATO5 به عنوان لیپید جامد، ذرات لیپیدی نانوساختار تولید می شود.

⁴⁸ Chen-yu et al.

⁴⁹ McClements and Rao

⁵⁰ Gonnet et al.

⁵¹ Liu and Wu

- ✓ هاتاناکا و همکاران^{۵۲} (۲۰۱۰) در پژوهش خود، از α -توکوفرول به عنوان ترکیب فعال و MCT به عنوان فاز روغن استفاده کردند. گلیسرول، دکاگلیسرول مونوآلثات و لستین سویا به عنوان سورفکتانت مورد استفاده قرار گرفتند. قطر قطرات تولیدی ۶۰ nm بود.
- ✓ اوبیدات و همکاران^{۵۳} (۲۰۱۰) بر روی نگهداری NLC ها تحقیق کردند و تاثیر نگهدارنده ها را با استفاده از ترکیب ۱۱ نگهدارنده مختلف بر روی پایداری فیزیکی NLC حامل آنزیم Q10 بررسی کردند. در این تحقیق NLC با روش هموژنیزاسیون داغ با فشار بالا تولید شد.
- ✓ تئو و همکاران^{۵۴} (۲۰۱۰) در پژوهش خود از روغن استر پالم به عنوان فاز روغن و از ویتامین E به عنوان ترکیب فعال استفاده کردند. ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده توین ۸۰ و پلورونیک F68 بودند. قطر قطرات تولیدی ۹۴ nm بود.
- ✓ مک کلمنتس و لی^{۵۵} (۲۰۱۰) در مقایسه روش فراصوت با همزدن مکانیکی برای دستیابی به اندازه کوچکتر ذرات، به این نتیجه رسیدند که در روش فراصوت میزان مصرف انرژی و ماده فعال سطحی کاهش یافته و امولسیون های حاصل پایداری بیشتری دارند.
- ✓ پاردئیک و همکاران^{۵۶} (۲۰۰۹) مطالعاتی بر روی کاربرد پوستی SLN و NLC در مقایسه با لیپوزوم و امولسیون انجام دادند. نتایج، جنبه های کاربردی دارویی و آرایشی SLN و NLC بعنوان "نانو سلامت" را اثبات کرد.

⁵² Hatanaka et al.

⁵³ Obeidat et al.

⁵⁴ Teo et al.

⁵⁵ McClements and Li

⁵⁶ Pardeike et al.

✓ مائو و همکاران^{۵۷} (۲۰۰۹) در تولید نانوامولسیون حاوی β -کاروتن با استفاده از روش هموژنیزاسیون فشار قوی، از روغن با زنجیره متوسط به عنوان فاز روغن استفاده نمودند. سورفکتانت های مورد استفاده در این پژوهش، توپین ۲۰، دکاگلیسرول مونو اولئات، ایزوله پروتئین آب پنیر و نشاسته اصلاح شده بودند. اندازه قطرات تولیدی ۱۷۸-۱۱۵ nm بود.

✓ هرن و همکاران^{۵۸} (۲۰۰۹) اثر گاما-توکوفرول را روی محصولی انرژی زا حاوی مقادیر بالایی روغن ماهی طی ده هفته نگهداری در دمای محیط بررسی نمودند. نتایج نشان داد γ -توکوفرول افزوده شده به روغن ماهی در غلظت هایی بالاتر از ۴۴۰ میکروگرم در گرم بطور مؤثری قادر است از اکسیداسیون روغن طی نگهداری ممانعت به عمل آورد و بهترین خاصیت آنتی اکسیدانی در غلظت ۶۶۰ میکروگرم در گرم روغن مشاهده شد.

✓ هنتزچل و همکاران^{۵۹} (۲۰۰۸) به تولید حامل های لیپیدی نانوساختار β -کاروتن (درون پوشانی شده در روغن حامل α -توکوفرول) با استفاده از روش هموژناسیون داغ پرداخت. نانوحامل های تولیدی در اندازه های ۸۵ nm به مدت ۲۰ روز در دمای اتاق پایدار بودند.

✓ هان و همکاران^{۶۰} (۲۰۰۸) مطالعه ای بر روی اثرات سورفکتانت های مختلف مثل SDC (یونی)، توپین ۸۰ و پلاکسامر ۱۸۸ (غیریونی)، لستین، میگلیول ۸۱۲ و مونواستئارین در دستیابی به سیستم تحویل دارو با پایداری مطلوب انجام دادند.

⁵⁷ Mao et al.

⁵⁸ Horn et al.

⁵⁹ Hentschel et al.

⁶⁰ Han et al.

✓ فانگ و همکاران^{۶۱} (۲۰۰۸) اقدام به تولید SLN با هسته جامد پرسیرول ATO 5 برای تحویل دارو نمودند. برای مقایسه، NLC حاوی پرسیرول و اسکوالن (لیپید مایع) تولید شد. اندازه ذرات به ترتیب ۳۰۰ و ۲۰۰ نانومتر بود.

✓ جعفری و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهش خود از D-لیمون به عنوان فاز روغن استفاده کردند. ایزوله پروتئین آب پنیر و نوع هیدرولیز شده آن، نشاسته اصلاح شده و سدیم کازئینات ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده بودند. قطر قطرات تولیدی nm ۶۰۰-۱۵۰ بود.

✓ تاکه‌گامی و همکاران^{۶۲} (۲۰۰۸) از روغن سویا به عنوان فاز روغن استفاده کردند. ترکیبات فعال سطحی مورد استفاده در این پژوهش، فسفاتیدیل کولین، سدیم پالمیتات، پالمیتات ساکارز بودند. قطر قطرات تولیدی nm ۵۸ گزارش شد.

✓ یوان و همکاران^{۶۳} (۲۰۰۸) بر روی تولید نانوامولسیون β -کاروتن با استفاده از هموژنیزاسیون فشار قوی و روغن با زنجیره متوسط و انواع تویین‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ به عنوان سورفکتانت تحقیق کردند. بهترین شرایط تولید عبارت بود از: فشار هموژنیزاسیون ۱۲۹ مگا پاسکال، دمای هموژنایزر 47°C و غلظت β -کاروتن ۰/۸۲٪. تحت این شرایط نانوامولسیونی شفاف با اندازه قطرات nm ۱۴۸-۱۳۲ حاصل گردید.

✓ مک کلمنتس و همکاران (۲۰۰۷) سه نوع ساختار کریستالی را حین سرد کردن و تشکیل کریستال‌های چربی در تولید SLN برشمردند که عبارتند از: کریستال‌های ناقص با نواقص بسیار، کریستال‌های آمورف و بی‌شکل و قطرات چربی مایع در ماتریکس لیپید جامد شده.

⁶¹ Fang et al.

⁶² Takegami et al.

⁶³ Yuan et al.

✓ مولرو همکاران^{۶۴} (۲۰۰۷) مطالعاتی بر روی سودمندی لوازم آرایشی حاوی نانوذرات لیپیدی انجام دادند که نشان از بهبود پایداری شیمیایی، توانایی تشکیل فیلم و بارگذاری کنترل شده داشت.

✓ جنا و داس^{۶۵} (۲۰۰۶) تأثیر نوع و غلظت امولسیفایر و مدت زمان استفاده از امواج فراصوت را بر توزیع ذرات امولسیون شیر نارگیل، مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد هر سیستم امولسیون به غلظت بهینه‌ای از امولسیفایر نیاز دارد و افزایش بیش از اندازه آن باعث رشد اندازه قطرات و کاهش پایداری امولسیون می‌شود.

⁶⁴ Muller et al.

⁶⁵ Jena and Das

مواد و روشها

در این فصل، مواد به کار رفته، روش‌های تولید و بهینه‌سازی فرمولاسیون نانوحامل‌های لیپیدی، روش‌های انجام آنالیزهای مربوطه به منظور تعیین ویژگی‌های روغن رویان گندم و نانوحامل‌های لیپیدی تولید شده با آن، پایداری اکسیداتیو و ماندگاری نانوحامل‌های لیپیدی طی مدت زمان نگهداری شرح داده شده است.

۱-۳ مواد و تجهیزات

۱-۱-۳ مواد اولیه

رویان گندم مورد استفاده، گندم نانوایی با وارسته تریتیکاله ولگار و اهدایی کارخانه آرد اتحاد کرج بود.

۲-۱-۳ مواد شیمیایی مورد استفاده در زمان تحقیق

✓ حلال n-هگزان جهت استخراج روغن رویان گندم (Scharlau، اسپانیا).

✓ مواد مصرفی جهت تولید نانوحامل‌های لیپیدی (NLC):

• روغن رویان گندم استخراج شده با هگزان نرمال

• لیپیدهای جامد شامل:

▪ پالم استئارین (Merck، آلمان)

▪ Myverol (Merck، آلمان)

▪ پالمیتیک اسید (Merck، آلمان)

▪ پرسیرول ATO-5 یا گلیسریل پالمیتو استئارات (Gattefosse، فرانسه)

• ترکیبات فعال سطحی شامل:

▪ پلی‌اکسی‌اتیلن (۲۰) سوربیتان مونوآلئات - تویین ۸۰ (Merck، آلمان)

▪ پلی‌اکسی‌اتیلن (۲۰) سوربیتان مونولوئرات - تویین ۲۰ (Scharlua، اسپانیا)

▪ سورفکتانت غیریونی پلاکسامر ۴۰۷ (Sigma-Aldrich، آلمان)

▪ لستین (Lusenor، هند)

- پلی وینیل الکل (Merck، آلمان)
- لیزولستین (Lusenor، هند)
- حلال اتانول (Merck، آلمان).
- آب دوبار تقطیر (دیونیزه) و آب مقطر
- ✓ مواد مصرفی جهت آزمون های شیمیایی روغن:
- هیدروکسید پتاسیم، فنل فتالئین، استیک اسید، کلروفرم، تیو سولفات، ایزواکتان، آنیزیدین، یدید اشباع، چسب نشاسته، متانول، استات مرکوری، تیو سولفات سدیم، یدید پتاسیم (همگی متعلق به شرکت Merck، آلمان)
- ✓ مواد مصرفی جهت آزمون پایداری اکسیداتیو نانو حامل های لیپیدی:
- کلرفرم، متانول، آمونیوم تیوسیانات، کلرید باریوم دهیدرات، سولفات آهن (II)، کلریدریک اسید، کیومن هیدروپراکسید (همگی متعلق به شرکت Merck، آلمان)

۳-۱-۳ تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

- برای انجام آزمایشات مربوطه، لوازم و تجهیزات زیرمورد استفاده قرار گرفت:
- ❖ همزن مغناطیسی (Jenway، انگلستان).
 - ❖ دستگاه کالریمتر روبشی تفاضلی^{۶۶} (DSC) (Mettler Toledo، سوئیس).
 - ❖ دستگاه روتاری و کیوم (Heidolph، آلمان).
 - ❖ ترازوی حساس مدل HR-200 با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (A&D، آلمان).
 - ❖ کروماتوگرافی گازی^{۶۷} (GC) (Agilent Technologies، امریکا)

⁶⁶ Differential Scanning Calorimetry

⁶⁷ Gas Chromatography

- ❖ دستگاه اسپکتوفوتومتر نور مرئی مدل 2000 Ultrospec (Scintec, انگلستان).
- ❖ دستگاه پمپ خلاء (Clifton, انگلستان).
- ❖ دستگاه اندازه گیری ذرات با روش پراکندگی دینامیک نور لیزر^{۶۸} (DLS) مدل Wing Sald 2101 (Shimadzo, ژاپن).
- ❖ دستگاه اندازه گیری پتانسیل زتا^{۶۹} مدل Nano-ZS (Malvern, انگلستان).
- ❖ دستگاه پروب سونیکاتور (Sonic & Materials vibracell, انگلستان).
- ❖ pH متر (Mettler Toledo, سوئیس)
- ❖ رنسیمت^{۷۰} (Metrohm, سوئیس)
- ❖ حمام اولتراسوند (Emla, آلمان)
- ❖ کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^{۷۱} (HPLC) مدل 10A VP (Shimadzo, ژاپن)
- ❖ آون (Mettler, آلمان)

در شکل (۲-۳) تصاویر مهمترین دستگاه های مورد استفاده در تحقیق نشان داده شده است.

۲-۳ روش ها

۱-۲-۳ استخراج روغن رویان گندم

استخراج روغن رویان گندم مطابق روش رسمی AOCS^{۷۲} با استفاده از هگزان نرمال (AOCS-1998) انجام شد. روغن رویان گندم با استفاده از دستگاه سوکسله و هگزان نرمال بعنوان حلال طی ۶ ساعت استخراج

⁶⁸Dynamic Light Scattering

⁶⁹ Zeta Sizer

⁷⁰ Rancimat

⁷¹ High Performance Liquid Chromatography

⁷² American Oil Chemists' Society

شد. سپس حلال با استفاده از دستگاه روتاری و تحت خلاء در دمای 40°C از مخلوط روغن-حلال جدا شد. روغن حاصل در شیشه قهوه ای رنگ در فریزر با دمای -18°C تا زمان انجام آزمون نگهداری شد.

۲-۲-۳ آزمون های شیمیایی روغن رویان گندم

- روشهای آزمون های شیمیایی روغن بر اساس استانداردهای AOCS(5) و IUPAC(6)^{۷۳} انجام گرفت. پارامترهای اندازه گیری شده شامل اسیدیته و اسیدهای چرب آزاد مطابق استاندارد IUPAC 2.201، اندیس پراکسید(PV)^{۷۴} مطابق استاندارد AOCS Cd 8-53 و اندیس آنیزیدین(AV)^{۷۵} مطابق استاندارد AOCS Cd 18-90 انجام شد.
- ساختار اسیدهای چرب روغن رویان گندم با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی انجام شد. متیلاسیون اسیدهای چرب با توجه به استاندارد AOCS, 1998 روش Ce 2-66 انجام گرفت.
- محتوای توکوفرول روغن توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC) مطابق با استاندارد AOCS Ce 8-89 اندازه گیری شد.

۳-۲-۳ تولید نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم به روش هموژنیزاسیون داغ

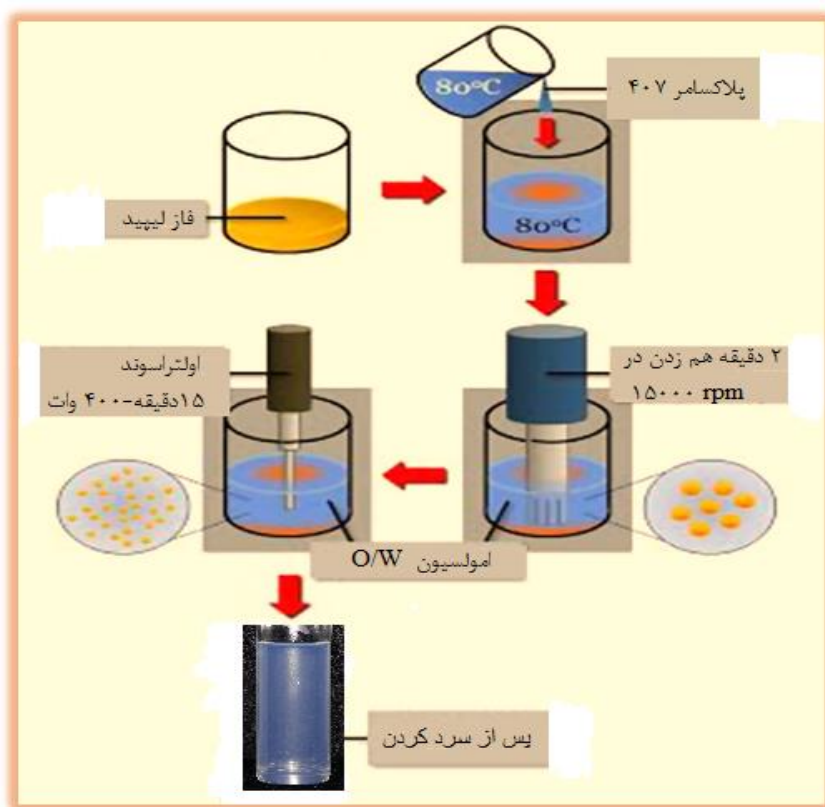
تهیه NLC ها به روش هموژنیزاسیون داغ صورت پذیرفت (Weiss et al., 2008). در شکل (۳-۱) فرایند تولید نشان داده شده است. ابتدا فاز روغنی(شامل لیپید جامد و روغن مایع) در مقادیر وزنی مشخص شده در حمام آبی تا دمای 80°C حرارت داده شدند. سپس محلول سورفکتانت فاز آبی با دمای 80°C ، به صورت قطره قطره به داخل فاز روغنی تحت دمای 80°C در زیر هموژنیزاتور با نیروی برشی قوی(Hiedolph، ساخت آلمان) اضافه گردید. در این مرحله ابتدا قطرات درشت لیپید جامد و روغن مایع تولید و در ادامه

⁷³ International Union of Pure and Applied Chemistry

⁷⁴ Peroxide Value

⁷⁵ Anisidine Value

توسط دستگاه فراصوت با قدرت ۴۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه به قطرات ریز (در مقیاس نانو) تبدیل شد. با توجه به قرارگیری لایه سورفکتانت در اطراف هریک از نانوقطرات لیپیدی و ایجاد ممانعت فضایی بین دو قطره، با خنک شدن سیستم در دمای اتاق، نانوذرات به شکل کریستال‌های نامنظم لیپیدی متبلور گشته و NLC تولید شد. در این تحقیق به منظور یافتن فرمولاسیونی مناسب با اندازه ذرات در مقیاس نانومتری، از انواع فاز لیپیدی و روغنی مختلف با نسبت‌های متفاوت و غلظت‌های مختلف سورفکتانت فاز آبی برای ساخت NLC استفاده شد.



شکل (۳-۱): فرآیند تولید نانوحامل های لیپیدی به روش هموژنیزاسیون داغ (اسپوزیتو و همکاران، ۲۰۱۵)

۳-۲-۴ تولید نانوحامل های لیپیدی با pH های متفاوت

جهت بررسی پایداری NLC بهینه و نمونه امولسیون بعنوان شاهد، از نمونه های تولید شده اصلی به کمک

کلریدریک اسید ۰/۰۱ مولار و هیدروکسید سدیم ۰/۰۱ مولار و دستگاه pH متر نمونه هایی با pH های ۳، ۵ و ۸ تهیه گردید. سپس نمونه های اصلی جهت آزمایشات بعدی در دمای محیط و نمونه های تهیه شده با pH های ۳، ۵ و ۸ در دمای ۲۵°C نگهداری شدند.

۳-۲-۵ اندازه و توزیع اندازه ذرات

توزیع اندازه ذرات و قطر متوسط آن ها توسط دستگاه سنجش اندازه ذرات (با محدوده اندازه ذرات ۵۰ نانومتر تا ۵۰ میکرومتر) براساس روش پراش دینامیک پرتو لیزر^{۷۶} (DLS) اندازه گیری شدند. نمونه ها در ۱۰ mM بافر فسفات (pH = ۷) حل شدند تا مانع اثرات پراش چندگانه شود. سل حاوی آب دو بار تقطیر شده به عنوان مرجع قرار گرفت و پیک های مربوط به آب، در اندازه گیری حذف شد. در مرحله بعد، آب دو بار تقطیر با استفاده از سرنگ، از محفظه سل تخلیه شد و محلول مورد نظر برای آنالیز در آن قرار گرفت. این تکنیک انتشار ذرات متحرک متاثر از حرکت براونی را تعیین کرده و به اندازه ذرات بر پایه معادله استوکس - اینشتین ترجمه میکند. نتایج بصورت میانگین قطر هیدرودینامیک (z-average) و شاخص پراکندگی^{۷۷} (PDI) با دامنه صفر (پراکندگی تکی) تا یک (پراکندگی بسیار زیاد) گزارش میشوند. میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) توسط معادله زیر به دست آمد:

$$\bar{D}[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad \text{معادله (۱)}$$

توزیع اندازه ذرات با محاسبه شاخص پراکنش ذرات (span) به صورت زیر محاسبه شد:

$$Span = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)} \quad \text{معادله (۲)}$$

D (90%): قطری که حجم ذرات کوچک تر از آن، ۹۰٪ حجم کل ذرات سیستم را تشکیل می دهد.

⁷⁶ Dynamic Light Scattering

⁷⁷ Polydispersity Index

(50%) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۵۰٪ حجم کل ذرات را تشکیل می‌دهد (قطر میانه).
 (10%) D: قطری که حجم ذرات کوچکتر از آن، ۱۰٪ حجم کل ذرات سیستم را تشکیل می‌دهد.
 میزان اسپین کمتر، نشان دهنده توزیع در اندازه ذرات باریکتر است. کلیه اندازه‌گیری‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت از تولید نمونه و نگهداری آن در دمای اتاق انجام شد (همیشه کار و همکاران، ۲۰۰۹).

۳-۲-۶ پتانسیل زتا

برای تعیین پتانسیل زتای ساختارهای لیپیدی نانوحامل حاوی روغن رویان گندم، از دستگاه زتا سایزر (Nano-ZS ساخت شرکت Malvern کشور انگلستان) استفاده شد. برای این منظور، هریک از نمونه‌ها نخست با استفاده از آب مقطر ۵۰ برابر رقیق شدند. سپس نمونه‌ها توسط سرنگی داخل لوله موئین منتقل و لوله موئین در محل مخصوص در داخل دستگاه قرار گرفت. اندازه‌گیری پتانسیل زتا در $\text{pH} = 7.4$ و در دمای 25°C و توان ۱۴۹ وات انجام شد (Fatouros and Antimisariis, 2002).

۳-۲-۷ تعیین پایداری نانو حامل های لیپیدی

پایداری نانو حامل های لیپیدی بهینه با اندازه‌گیری تغییرات در سایز قطرها و بررسی ظاهر آنها در طی نگهداری در دمای آزمایشگاه (تقریباً 25°C) به مدت ۱۵ روز ارزیابی شد (Yang et al., 2014).

۳-۲-۸ کالریمتری روبشی تفاضلی (DSC)

جهت بررسی رفتار ذوب و کریستالیزاسیون روغن و نانوحامل های لیپیدی تولید شده از دستگاه DSC استفاده شد. در این آزمون، ۱۶ mg روغن رویان گندم در بشقابک نمونه تحت گاز نیتروژن (10°C/min) با سرعت حرارتی 5°C/min در دامنه دمایی -80°C تا 50°C قرار داده شد. در بررسی نمونه های NLC و امولسیون تهیه شده، ۴-۶ mg از نمونه هایی که در دمای اطاق خشک شده بودند در بشقابک آلومینیومی استاندارد تحت گاز نیتروژن (10°C/min) قرار داده شدند. یک سرعت حرارتی 5°C/min در دامنه -70°C تا 70°C بکار گرفته شد. در هر دو آزمون، از بشقابک خالی بعنوان مرجع استفاده شد (Zhu et al., 2015).

۹-۲-۳ ارزیابی پایداری اکسیداتیو نانو حامل های لیپیدی

عدد پراکسید، میزان هیدروپراکسیدهای تولید شده ناشی از واکنش های اکسیداسیون را نشان میدهد. محصولات اولیه اکسیداسیون موجود در NLC با سه pH ۳، ۵ و ۸ و نمونه امولسیون مطابق با روش شانتا و دکر^{۷۸} (۱۹۹۴) که توسط (Salminen et al., 2013) گزارش شده است، تعیین شد. برای اندازه گیری عدد پراکسید پس از آماده سازی محلول کلرید آهن (II) و محلول ۰.۳٪ تیوسیانات آمونیم، ۹/۸ میلی لیتر کلرفرم/متانول (۷:۳ v/v) به ۱۰ میکرولیتر نمونه افزوده شد و ۲-۴ ثانیه مخلوط شد. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول ۰.۳٪ آمونیوم تیوسیانات (w/v) افزوده و به مدت ۲-۴ ثانیه مخلوط شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول کلرید آهن به نمونه افزوده شد. بعد از ۲۰ دقیقه جذب محلول رنگی با استفاده از اسپکتروفوتومتر نور مرئی مدل در طول موج ۵۰۰nm خوانده شد. محلول شاهد کلرفرم/متانول (۷:۳ v/v) بود. برای تهیه منحنی استاندارد غلظت های ۳-۵ ppm از کیومن تهیه و توسط اسپکتروفوتومتری در طول موج ۵۰۰nm خوانده شد و در برنامه اکسل منحنی استاندارد آن رسم گردید. عدد پراکسید (PV) به صورت میکرومول پراکسید در کیلوگرم روغن بیان شد.

۱۰-۲-۳ تجزیه و تحلیل داده ها

تمام آزمایشات در سه تکرار انجام شد. میانگین و انحراف استاندارد (SD)^{۷۹} با استفاده از نرم افزار میکروسافت اکسل ۲۰۱۰ محاسبه شد. آزمون چند دامنه دانکن برای مقایسه اختلاف در سطح ۵ درصد با نرم افزار SPSS 16.0 انجام شد.

⁷⁸ Shantha and Decker

⁷⁹ Standard Deviation



شکل (۳-۲): تصاویر دستگاه های مورد استفاده در تحقیق - سمت راست از بالا به پایین به ترتیب: دستگاه سوکسله، روتاری تحت خلاء، HPLC، GC، رنسیمت، DLS، زتاسایزر، DSC، اسپکتروفوتومتر، pH متر.

نتایج و بحث

در این فصل، به بررسی نتایج حاصل از آزمون های شیمیایی انجام شده بر روغن رویان گندم، بهینه سازی فرمولاسیون نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم، رفتار ذوب و کریستالیزاسیون، اندازه نانو ذرات، توزیع اندازه نانو ذرات و پایداری اکسیداتیو در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد پرداخته شده است.

۱-۴ تجزیه شیمیایی روغن رویان گندم

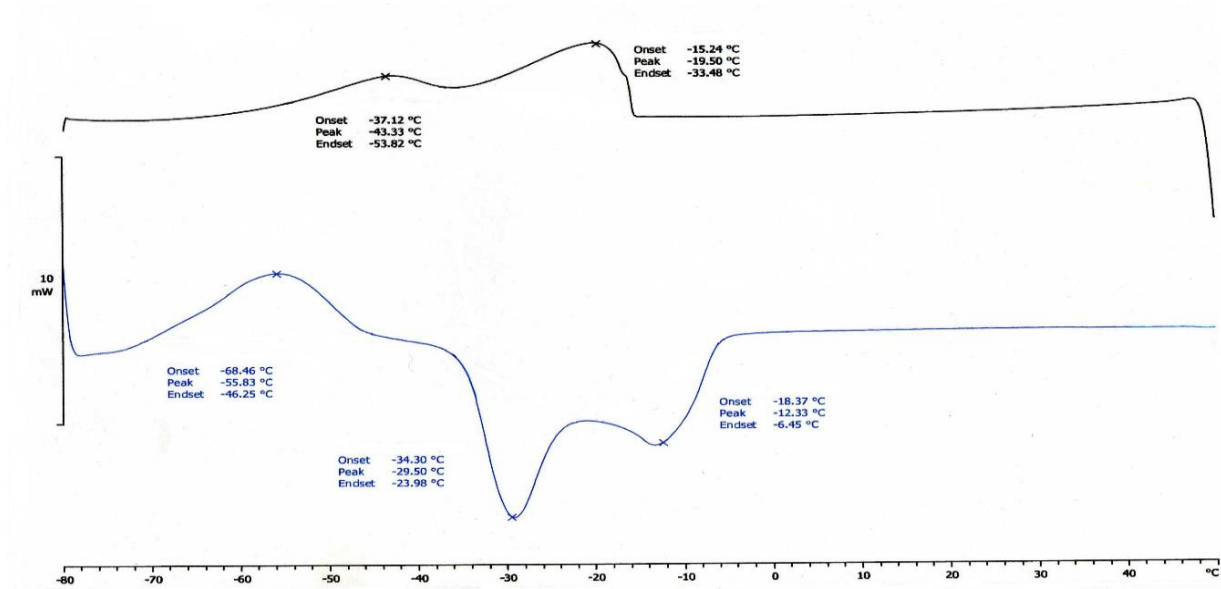
اندیس یدی درجه غیر اشباعیت روغن را نشان می دهد. همانگونه که در جدول (۱-۴) نشان داده شده است، اندیس یدی روغن رویان گندم حدود ۱۲۳ بود که با نتایج تحقیقات قبلی مطابقت داشت (Megahed, 2011). با مقایسه اندیس یدی این روغن با روغن های خوراکی مهم از جمله روغن پالم (۴۴-۵۱)، روغن زیتون (۸۰-۸۸)، روغن پنبه دانه (۱۰۰-۱۱۷)، روغن آفتابگردان (۱۲۵-۱۴۴) و روغن سویا (۱۲۰-۱۳۶) (حامدی، ۱۳۸۷) می توان گفت که روغن رویان گندم جزء روغن های با درجه غیر اشباعیت بالا می باشد. شاخص های کیفی از جمله اسیدیته، عدد پراکسید و اندیس آنیزیدین روغن رویان گندم نیز در جدول (۱-۴) نشان داده شده است. این شاخص ها بیشتر تحت تاثیر شرایط استخراج، هیدرولیز لیپیدها و اکسیداسیون آنزیمی اسید چرب چند غیر اشباعی لینولنیک اسید قرار دارند که منجر به تولید اسیدهای چرب آزاد و محصولات اکسیداسیون میشود. همچنین این شاخص ها تحت تاثیر دما و محتوای رطوبت محصول طی نگهداری نیز هستند (Sjovall et al., 2000). نتایج شاخص های کیفی نشان داد که این روغن با توجه به استاندارد های روغن های دیگر از جمله آفتابگردان (بی نام، ۱۳۸۶) و وضعیت مطلوبی نداشت. البته با توجه به اینکه روغن مورد آزمایش روغن خام بود و هیچ عملیات تصفیه های روی آن انجام نشده بود نتایج منطقی بود. نتایج شاخص های کیفی نشان داد که روغن رویان گندم با توجه به استعداد زیاد در فساد، بهتر است که قبل از مصرف خوراکی عملیات تصفیه روی آن انجام شود تا شاخص های کیفی آن در حد مطلوب برسد.

جدول (۱-۴): پارامترهای شیمیایی روغن رویان گندم

اندیس یدی	اندیس آنیزیدین (mEq/kg oil)	عدد پراکسید (mEq/kg oil)	اسیدیته (mg KOH/g oil)
۱۲۳/۳۲	۶/۶۰۲	۶/۳۶	۵/۳

۲-۴ ارزیابی رفتار دمایی روغن رویان گندم

کالریمتر روبشی تفاضلی، بعنوان یک روش که قادر به شناسایی رفتار حرارتی روغن‌ها است شناخته شده است و بطور گسترده جهت توصیف صفات اختصاصی روغن‌ها از منابع مختلف گیاهی، در تحقیقات روغن و چربیها مورد استفاده قرار گرفته است. این روش، دارای پتانسیل استفاده بعنوان یک روش غیرشیمیایی در تعیین شاخصه های کیفی روغن است (Niu et al., 2013). در شکل (۱-۴) نمودار حرارتی روغن رویان گندم نشان داده شده است.



شکل (۱-۴): منحنی های رفتار دمایی روغن رویان گندم

در این شکل دو نمودار گرمازا (منحنی بالا) که مربوط به رفتار بلورینگی و نمودار گرماگیر (منحنی پایین) که مربوط به رفتار ذوب روغن رویان گندم است دیده میشود. در منحنی گرماگیر که مربوط به رفتار ذوب روغن رویان گندم می شود، دو پیک در دمای $12/33$ - و $29/50$ - سانتیگراد مشاهده شد. در منحنی گرمازا که مربوط به رفتار بلورینگی می باشد، دو پیک در دمای $19/5$ - و $44/33$ - سانتیگراد مشاهده شد. رفتار حرارتی روغن رویان گندم نشان داد که این روغن در دماهای پایین مانند دمای یخچال حالت مایع داشته و عمل بلورینگی در آن اتفاق نمی افتد. این رفتار حرارتی با توجه به عدد یدی بالای این روغن قابل توجیه است. نتایج رفتار حرارتی روغن رویان گندم حاصل در این تحقیق با نتایج نیو و همکاران⁸⁰ (2013) مطابقت دارد.

۳-۴ تعیین پروفایل اسیدهای چرب روغن رویان گندم

در جدول (۲-۴) ترکیب و درصد اسیدهای چرب روغن رویان گندم نشان داده شده است. همچنین در پیوست (۱) کروماتوگرام مربوط به اسیدهای چرب روغن رویان گندم آمده است. یافته ها نشان داد که حدود 82% از اسیدهای چرب روغن رویان گندم غیر اشباع و حدود 18% آن اشباع بود. اصلی ترین اسیدهای چرب آن به ترتیب مربوط به لینولئیک اسید ($56/15\%$)، اولئیک اسید ($17/47\%$)، پالمیتیک اسید (17%) و لینولنیک اسید ($8/35\%$) بود. میزان آراشیدیک و گادولئیک اسید در روغن رویان گندم ناچیز بود. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج تحقیقاتی که در گذشته توسط محققین دیگر بدست آمده، مطابقت داشت (Megahed, 2011).

لینولئیک و لینولنیک اسید، اسیدهای چرب ضروری بوده که بدن قادر به سنتز آنها نمیباشد و نقش مهمی در متابولیسم بدن ایفا میکنند. توجه به این نکته ضروری است که میزان بالای لینولئیک اسید، روغن رویان

⁸⁰ Niu et al.

گندم را در طول فرایند استخراج و تصفیه نسبت به اکسیداسیون و تخریب حساس میسازد (Li, H. et al., 2011).

جدول (۴-۲): ترکیب و درصد اسیدهای چرب روغن رویان گندم

٪ اسیدهای چرب						
اسیدهای چرب اشباع			اسیدهای چرب غیراشباع			
پالمیتیک	استئاریک	آراشیدیک	اولئیک	لینولئیک	لینولنیک	گادولئیک
C _{16:0}	C _{18:0}	C _{20:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:1}
۱۷	۰/۸۹	ناچیز	۱۷/۴۷	۵۶/۱۵	۸/۳۵	ناچیز

۴-۴ ترکیب توکوفرول روغن رویان گندم

پایداری اکسیداتیو روغنهای گیاهی با توجه به ترکیب اسیدهای چرب آنها و آنتی اکسیدانها خصوصاً توکوفرول ها و همچنین دیگر ترکیبات غیر قابل صابونی ارزیابی می شود. اثر اسیدهای چرب بر پایداری اساساً به درجه غیراشباعیت و با درجات پایین تر به محل آن در مولکول تری گلیسیرید بستگی دارد. روغنهای گیاهی دارای توکوفرول ها، توکوترینونول ها خصوصاً α و γ توکوفرول ها، بعنوان آنتی اکسیدان اصلی هستند. رفتار آنتی اکسیدان توکوفرول ها، پدیده پیچیده ای است، زیرا در غلظت های پائین، آنتی اکسیدانهای موثری هستند اما عموماً هنگامیکه غلظت آنها در روغنهای گیاهی افزایش میابد اثر خود را از دست میدهند. از دست دادن اثر توکوفرول ها، گاهی بعنوان "اثر اکسیدانی" نام برده میشود که به افزایش در سطح اکسیداسیون در طول دوره القاء به دلیل افزایش زمان القاء نسبت داده شده است. این پدیده بیشتر برای α -توکوفرول مشاهده شده است اما برای دیگر توکوفرول ها نیز مشهود است. در موافقت با خرد طبیعت، بنظر میرسد که سطوح توکوفرول ها در روغن های گیاهی به سطوح بهینه مورد نیاز برای پایداری این روغن ها نزدیک است (Kamal-Eldin, 2006). بعنوان نمونه میتوان به میزان توکوفرول موجود در برخی از روغن های گیاهی اشاره کرد. طبق نتایج مطالعات شروین (۱۹۷۶)، غلظت توکوفرول ها در روغن سویا

۹۴۰-۱۰۰۰ ppm، پنبه دانه ۸۷۰-۹۵۰ ppm، ذرت ۹۰۰ ppm، گلرنگ ۸۰۰ ppm و آفتابگردان ppm ۷۰۰ می باشد (حامدی، ۱۳۸۷). در جدول (۳-۴) ترکیب و میزان توکوفرول های روغن رویان گندم نشان داده شده است. همچنین در پیوست (۲) کروماتوگرام مربوط به آنالیز توکوفرول های روغن رویان گندم آمده است. نتایج جدول (۳-۴) نشان می دهد که بیشترین مقدار توکوفرول روغن رویان گندم مربوط به α -توکوفرول می باشد. روغن رویان گندم یکی از غنی ترین منابع طبیعی α -توکوفرول با بالاترین فعالیت ویتامین E است (Eisenmenger et al., 2006).

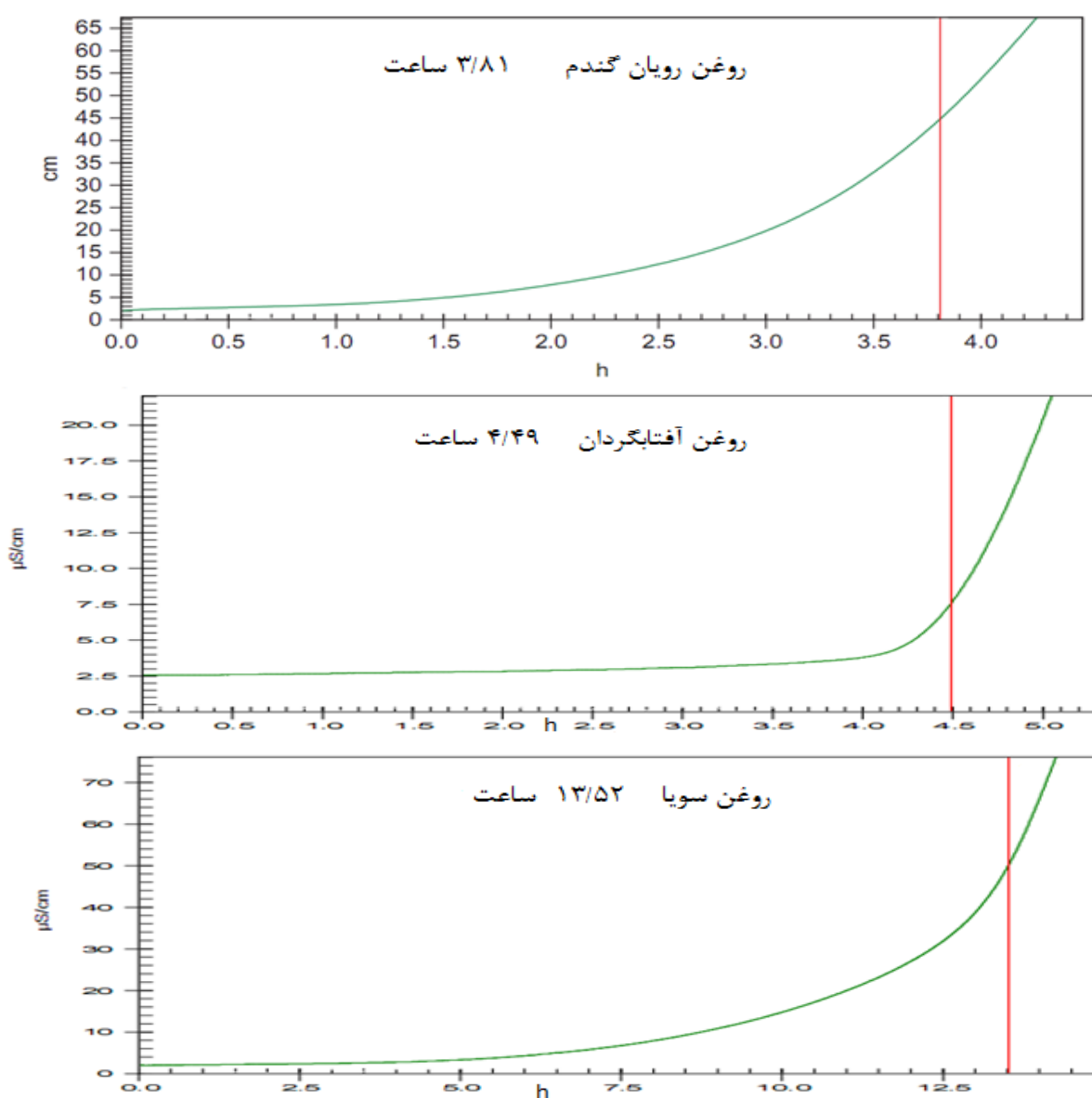
جدول (۳-۴): ترکیب و مقدار توکوفرول های روغن رویان گندم

غلظت (ppm)	نوع توکوفرول
۱۸۶۹/۱۴	α
ناچیز	β
۱۴۴۹/۹۹	γ
ناچیز	δ

۴-۵ بررسی پایداری اکسیداتیو روغن رویان گندم

پایداری اکسیداتیو یکی از مهمترین فاکتورهای کیفیت نگهداری روغن ها است. هدف مهم کنترل کیفیت از نظر مصرف کنندگان، روغنی است که برای مدت طولانی مطلوب نظر مصرف کنندگان باقی بماند (Arain et al., 2009). با توجه به نتایج مراحل قبلی، روغن رویان گندم حاوی میزان بالایی از اسید های چرب غیر اشباع بود که این باعث کاهش پایداری اکسیداتیو روغن می شود. از طرف دیگر نتایج مربوط به میزان توکوفرول نشان داد که این روغن نسبت به روغن های دیگر دارای میزان توکوفرول بالایی است (Hassanein and Abdel-Razek, 2009). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده که توکوفرول یک آنتی اکسیدان قوی می باشد. به منظور اینکه مشخص شود که آیا این سطح از توکوفرول می تواند به روغن رویان گندم پایداری

مناسبی بدهد، پایداری روغن رویان گندم با دو روغن خوراکی مهم دیگر (آفتابگردان و سویا) که همانند روغن رویان گندم دارای اسیدهای چرب غیر اشباع بالایی هستند، مورد مقایسه قرار گرفت. لازم به ذکر است که روغنهای سویا و آفتابگردان نیز به صورت خام و بدون هیچ گونه فرایند تصفیه استفاده شدند. در شکل (۲-۴) منحنیهای پایداری اکسیداتیو روغن رویان گندم، آفتابگردان و سویا حاصل از دستگاه رنسیمت نشان داده شده است.



شکل (۲-۴): منحنی اکسیداتیو روغن رویان گندم، آفتابگردان و سویا

نتایج پایداری اکسیداتیو نشان داد که روغن رویان گندم نسبت به روغن های آفتابگردان و سویا دارای زمان پایداری کمتری بود. زمان پایداری اکسیداتیو روغن رویان گندم در این پژوهش با تحقیق نیو و همکاران⁸¹ (۲۰۱۱) مطابقت دارد. با توجه به این نتایج می توان بیان کرد که روغن رویان گندم یک منبع خوب از اسید های چرب ضروری و همچنین ویتامین E است. اما مصرف این روغن در صنعت غذا با توجه به حساسیت اکسیداسیونی آن مشکل است (Arain et al., 2009). بنظر میرسد که جهت مصرف روغن رویان گندم با زمان ماندگاری بالاتر، آسانترین راه، استفاده از روشهای درون پوشانی روغن رویان گندم باشد (Katouzian and Jafari, 2016).

۴-۶ تولید نانو حامل های لیپیدی (NLC) حاوی روغن رویان گندم

اندازه ذرات کوچک تر منجر به وجود آمدن سطح تماس بیشتر و در نتیجه کارایی زیستی، شفافیت و حلالیت بالاتر می شود. وقتی ترکیبات، روش و پارامترهای فرایند (زمان، دما، فشار، نوع تجهیزات و ...) به منظور بهینه کردن شرایط تولید تغییر می کنند، اندازه ذرات نیز تغییر می کند. از فاکتورهای موثر بر متوسط اندازه ذرات می توان به ماهیت نانوحامل، ماهیت ماده زیست فعال، فرایند فرمولاسیون، روش تولید، نسبت حامل به ماده فعال و شرایط محیطی مانند دما اشاره کرد (Lacatusu et al., 2012). چربیهای جامدی که معمولا در تولید NLC ها به کار میروند عبارتند از: تری پالمیتین، گلیسریل بهینات (کامپریتول)، گلیسریل دی استئارات (پرسیرول) و ستیل پالمیتات. جهت تهیه ماتریکس ذرات، چربیهای جامد به نسبت های ۷۰ به ۳۰ تا ۹۹ به ۱ با چربیهای مایع اختلاط می یابند (Kelidari et al., 2013). در این تحقیق سعی شد با استفاده از روش هموزنیواسیون داغ و تغییر شرایط، فرمولاسیون بهینه به منظور دستیابی به اندازه ذرات زیر ۱۰۰ نانومتر نانوحامل های لیپیدی حاوی رویان گندم تهیه گردد. در این تحقیق به منظور یافتن فرمولاسیونی مناسب با اندازه ذرات در مقیاس نانومتر، از انواع فاز لیپیدی و روغنی مختلف با نسبت های متفاوت و انواع

⁸¹ Niu et al

و غلظت‌های مختلف سورفکتانت فاز آبی برای ساخت NLC حاوی روغن رویان گندم استفاده شد. در جدول

(۴-۴) بخشی از آزمایشات مقدماتی به منظور دستیابی به فرمولاسیون بهینه نشان داده شده است.

جدول (۴-۴): فرمولاسیون‌های مختلف تولید نانوحامل‌های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم (مقادیر برحسب گرم)

مشاهدات ظاهری	اندازه ذرات	سدیم دودسیل سولفات	پرسیرول	پلاکسامر ۴۰۷	پلی وینیل الکل	پالمیتیک اسید	مایورول	توئین ۸۰	توئین ۶۰	توئین ۲۰	اتانول	لستین	لیزولستین	پالم استئارین	روغن رویان گندم	آب مقطر
کدر	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	-	۰/۷۵	-	-	۱۰	-	-	۱/۲	۰/۳۱۸	۲۵
کدر	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	-	۰/۷۵	-	-	۱۰	-	-	۱/۰۵	۰/۱۵	۲۵
نیمه شفاف	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	-	۱/۲۵	-	-	۱۰	-	-	۱/۰۵	۰/۱۵	۲۵
کدر	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	-	۰/۱۲۵	-	-	۱۰	-	-	۱/۰۵	۰/۱۵	۲۵
ذرات معلق	شیری رنگ با	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	۱/۵	-	-	-	-	-	۵	۰/۵	۴۳
ذرات معلق	شیری رنگ با	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	۲/۵	-	-	-	-	-	۱/۳۶	۰/۱۳۶	۴۶
ذرات معلق	شیری رنگ با	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	۰/۸۷۵	-	-	۴/۳۵	-	-	۱/۱۸	۰/۱۱۸	۴۳/۵
روغن در سطح وجود ذرات جامد	۱ < میکرومتر	-	-	-	-	-	-	۰/۶۶	-	-	۵	-	-	۰/۵۳	۰/۰۵۹	۲۵

توسط میکروسکوپ نوری قابل مشاهده بود به عنوان نمونه های با اندازه ذرات بیشتر از ۱ میکرومتر در نظر گرفته شدند. اما در مورد نمونه هایی که ذرات زیادی در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده نشد به منظور اندازه گیری اندازه ذرات از روش پراش دینامیک پرتو لیزر استفاده شد.

نتایج جدول (۴-۴) نشان می دهد که فرمول های شماره ۱۶، ۱۷ و ۱۸ توانسته اند اندازه ذرات زیر ۱ میکرومتر را حاصل کنند. در فرمول ۱۶ از فاز لیپید جامد پرسیرول و امولسیفایر یونی سدیم دودسیل سولفات استفاده شد. امولسیفایر سدیم دودسیل سولفات با وجود اینکه توانست اندازه ذرات زیر ۱ میکرومتر را ایجاد کند ولی به دلیل یونی بودن باعث ایجاد کف زیادی در محیط شد. در فرمول های ۱۷ و ۱۸ از فاز لیپید جامد پرسیرول و امولسیفایر غیر یونی پلاکسامر ۴۰۷ استفاده شد. تفاوت بین این دو نمونه در نسبت امولسیفایر به فاز روغنی بود. در فرمول ۱۷ نسبت امولسیفایر به فاز روغنی ۱ به ۱ و در فرمول ۱۸ این نسبت ۲ به ۱ بود. با وجود اینکه اندازه ذرات هر دو نمونه زیر ۱ میکرومتر بود ولی نمونه ۱۷ شفافتر بود. نتایج آزمایشات مقدماتی نشان داد که در بین روغن های جامد مورد استفاده برای تهیه NLC، پرسیرول بهترین نتیجه را حاصل کرد. همانگونه که در جدول (۴-۴) مشاهده می شود در فرمولاسیون های ۱۶، ۱۷ و ۱۸ که بهترین فرمول های به دست آمده بودند، پرسیرول به عنوان فاز جامد استفاده شده است. لیو و وو نیز در پژوهش خود بر روی بهینه سازی فرمولاسیون NLC حاوی لوتئین گزارش نمودند از بین لیپیدهای جامد مورد استفاده (استئاریک اسید، میریستیک اسید، پالمیتیک اسید و پرسیرول ATO5) تنها پرسیرول قادر به تولید نانوذرات لیپیدی پایدار گردید. استفاده از سایر لیپیدها، منجر به تولید سیستم دو فازی پس از ۲۴ ساعت نگهداری گردید (Liu and Wu., 2010).

اولین نقش سورفکتانت پایدار کردن نانوذرات در یک حالت کلئیدی و ممانعت از بزرگتر شدن اندازه ذره ای در طول نگهداری است. در امولسیون های متداول، نوع امولسیفایر مورد استفاده بر اندازه نهایی ذره و پایداری دیسپرسیون (با فراهم نمودن نیروهای دفعی به میزان کافی که از تجمع و درهم آمیختگی ذرات

جلوگیری می‌کند) موثر است. علاوه بر این، در نانوحامل‌های لیپیدی، سورفکتانت مورد استفاده نقش و تأثیر مهم‌تری بر کنترل فرایند کریستالیزاسیون دارد (Trotta et al., 2003). اهمیت نوع و غلظت سورفکتانت، در تولید قطره‌های کوچک نانوامولسیون و تنظیم فرایند کریستالیزاسیون است که موجب تولید کریستال‌های α و β' بیشتری می‌شود. با توجه به اندازه کوچک ذرات حاصله، تعداد مولکول‌های لیپیدی که با گروه هیدروفوب سورفکتانت جهت تعدیل و تنظیم فرایند کریستالیزاسیون وارد واکنش می‌شوند، به اندازه کافی موجود است. از طرف دیگر امکان اتصال ماده فعال به سورفکتانت بیشتر می‌شود. همچنین با اتصال و انطباق بهتر سورفکتانت به لیپید، از تجمع و بلورینگی مجدد جلوگیری شده و پایداری سینتیکی بلورها بیشتر می‌شود (Hu et al., 2006). امولسیفایرهای مناسب، کشش بین سطحی را کاهش داده و در طول فرایند هموژنیزاسیون، پراکنده‌سازی قطرات را تسهیل می‌کنند (Liu and Wu, 2010).

با توجه به نتایج جدول (۴-۴) مشاهده می‌شود که استفاده از توئین در فرمولاسیون‌ها در اکثر موارد موجب ناپایداری و ایجاد رسوب شد. تشکیل ژل یا دو فازی شدن و رسوب در فرمولاسیون NLC می‌تواند در اثر ایجاد شبکه و اتصال میان ذرات لیپیدی به علت ناکافی بودن میزان سورفکتانت باشد. به‌طور مثال، ساختارهای کریستالی α که از نظر ترمودینامیکی نامطلوب هستند، به فرم β تغییر می‌کنند. این انتقال همراه با تغییرات مورفولوژیکی است؛ یعنی کریستال‌های β می‌توانند تحت رشد مستقیم و تشکیل ساختارهای سوزنی‌شکل واقع شوند و منجر به افزایش سطوح در تماس شوند. اگر این سطوح جدید بوجود آمده با مولکول‌های سورفکتانت پایدار نشوند و ادغام دو ذره سریع‌تر از سرعت جذب مولکول‌های سورفکتانت جهت پوشش‌دهی سطوح و نواحی آبریز جدید باشد (Ghosh et al., 2011)، برهم‌کنش‌های آبریز می‌تواند منجر به تجمع و ناپایدار شدن حامل‌های لیپیدی نانوساختار شوند و تجمع ذرات گسترده‌تر می‌گردد (Weiss et al., 2008).

در بین امولسیفایر های آزمایش شده، پلاکسامر ۴۰۷ و سدیم دودسیل سولفات توانستند اندازه ذرات زیر ۱ میکرومتر با پایداری مناسب را تولید نمایند. پلاکسامر ۴۰۷ (سورفاکتانت پلیمری غیریونی هیدروفیل) یک پایدارکننده فضایی با $HLB=18-23$ است که می تواند دافعه فضایی مناسب را میان نانوذرات ایجاد کند. در ساختار پلاکسامر، کوپلیمرهای پلی اتیلن اکساید و پروپیلن اکساید بلوکه شده اند (Warren et al., 2011). زنجیره های هیدروفوبیک پروپیلن اکساید در سطح ذره جذب شده و زنجیره هیدروفیل پلی اتیلن اکساید از سطح ذره لپیدی به سمت محیط آبی کشیده می شود و یک لایه پایدارکننده بوجود می آورد (Ghosh et al., 2011).

سدیم دودسیل سولفات یک سورفاکتانت یونی با $HLB=40$ است که استفاده مستقیم آن در مواد غذایی مجاز شناخته شده است. ویژگی مشترک هر دو امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ و سدیم دودسیل سولفات HLB بالای آنها در مقایسه با امولسیفایر های دیگر می باشد. بنابراین اینگونه می توان بیان کرد که در تولید NLC امولسیفایر های با HLB بالا کارایی بیشتری در پایداری نانوذرات دارند (Tamjidi et al., 2013). در جدول (۴-۵) مشخصات فرمولاسیون های با اندازه ذرات زیر ۱ میکرومتر بدست آمده نشان داده شده است. در پیوست شماره ۳، ۴، ۵ و ۶ نیز پیک های مربوط به اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتای نمونه های A و B نشان داده شده است.

جدول (۴-۵): اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتای فرمولاسیون های با اندازه ذرات زیر ۱ میکرومتر

پتانسیل زتا	توزیع اندازه ذرات	اندازه ذرات (نانومتر)	شماره فرمولاسیون
۲۸/۸	۰/۴۱	۲۵۵/۱	۱۶
-۱/۴۶	۰/۱۸۳	۵۲/۷	۱۷
-۱/۴۶	۰/۲۰۹	۹۹/۰۹	۱۸

با توجه به نتایج جدول (۴-۵) می توان گفت که امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ نسبت به امولسیفایر سدیم دو دسیل سولفات کارآمدتر بوده است و توانسته اندازه ذرات کوچکتری را در شرایط مشابه ایجاد کند. هرچقدر توزیع اندازه ذرات کمتر باشد، پهنای نمودار توزیع اندازه ذرات کمتر و سیستم همگن تر خواهد بود نتایج توزیع اندازه ذرات نیز نشان داد که پلاکسامر ۴۰۷ توانسته ذرات یکنواخت تری را نسبت به امولسیفایر یونی سدیم دو دسیل سولفات ایجاد کند. با مقایسه اندازه ذرات در فرمول های ۱۷ و ۱۸ می توان بیان کرد که افزایش امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ باعث افزایش اندازه ذرات شده است. نتایج پتانسیل زتا در نمونه مربوط به امولسیفایر سدیم دو دسیل سولفات بالا و در حدود ۲۸/۸ بود ولی در نمونه های پایدار شده توسط امولسیفایر پلاکسامر پتانسیل زتا تقریباً نزدیک صفر بود. این نتایج نشان داد که پایداری ذرات در نمونه حاوی سدیم دو دسیل سولفات در اثر دافعه های الکترو استاتیکی، اما در امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ پایداری ذرات در اثر ممانعت های فضایی بوده است.

در تحقیقات فی هان و همکاران^{۸۲} (۲۰۰۸) به منظور بررسی اثر سورفکتانت ها بر اندازه نانوذرات به این نتیجه رسیدند که متوسط اندازه ذرات، زمانیکه سورفکتانت ها به تنهایی استفاده شوند بزرگترند. نتایج حاصل از ارزیابی اثر ترکیب سورفکتانت ها بر تشکیل و خواص NLC، نشان دهنده کارایی پایین امولسیون کنندگی سورفکتانت یونی SDC^{۸۳} در تولید نانوحامل لیپیدی بوده است. اما افزایش بار نانوذرات و در نتیجه بهبود دفع الکترواستاتیک، موجب بهبود پایداری فیزیکی سیستم کلوئیدی شده است. در حالیکه پایداری استری بالاتر امولسیفایر غیریونی خصوصاً پلاکسامر ۱۸۸، نتیجه ممانعت از تجمع نانوذرات در سیستم کلوئیدی بوده است. از طرف دیگر، متوسط اندازه ذرات پس از ترکیب چهار سورفکتانت توئین ۸۰، پلاکسامر ۱۸۸، لستین و SDC به حداقل رسید. پس از نگهداری در دمای ۴۰C، این سیستم در دامنه اندازه

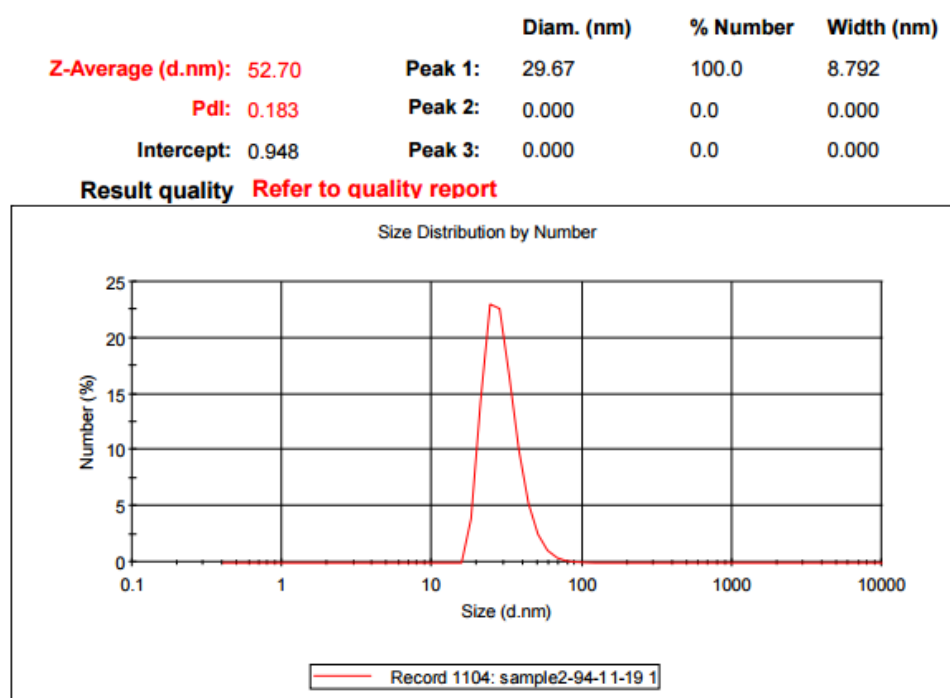
⁸² Fei Han et al.

⁸³ Sodium Deoxycholate

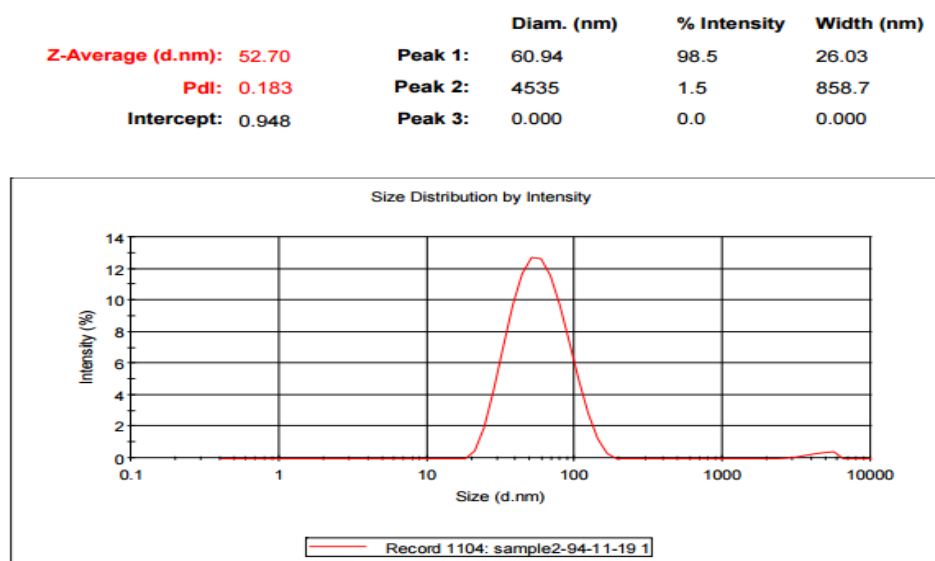
ذرات کلئیدی ($>200\text{ nm}$) باقی ماند. سورفکتانت های متفاوت، راندمان امولسیون کنندگی مختلف داشته که در اندازه ذرات متوسط سیستم پراکنده نقش دارد (Muller et al., 2002). افزودن سورفکتانت غیریونی هم منجر به کاهش اندازه ذرات و هم موجب پایداری استری این امولسیفایرها می شود (Han et al., 2008).

۷-۴ ارزیابی پایداری NLC

به منظور بررسی پایداری اندازه ذرات در طی نگهداری، فرمول ۱۷ که دارای کمترین اندازه ذره بود انتخاب شد و به مدت ۱۵ روز در دمای محیط نگه داری شد و پس از این مدت مجدداً اندازه ذرات آن اندازه گیری شد. در شکل (۳-۴) و (۴-۴) به ترتیب نمودار میانگین و توزیع اندازه ذرات پس از یک و ۱۵ روز از تولید نشان داده شده است.



شکل (۳-۴): نمودار میانگین و توزیع اندازه ذرات فرمولاسیون ۱۷ پس از یک روز از تولید



شکل (۴-۴): نمودار میانگین و توزیع اندازه ذرات فرمولاسیون ۱۷ پس از ۱۵ روز از تولید

نتایج بررسی پایداری نشان داد که میانگین اندازه ذرات (۵۲/۷ nm) و توزیع اندازه ذرات (۰/۱۸۳) نمونه در طی ۱۵ روز نگهداری تغییری نداشته است. اما با نگاه دقیقتر به شکل (۳-۴) و (۴-۴) اندکی تغییر مشاهده می شود. از جمله اینکه قله پیک اندازه ذرات از ۲۹/۶۷ به ۶۰/۹۴ نانومتر رسیده است. همچنین یک پیک با اندازه ذرات ۴۵۳۵ نانومتر نیز در روز پانزدهم مشاهده می شود. البته اندازه پیک دوم خیلی کم و در حد ۱/۵ درصد می باشد. به طور کلی با توجه به اینکه پس از ۱۵ روز نگهداری میانگین اندازه ذرات زیر ۱۰۰ nm است می توان گفت که فرمولاسیون تولید شده از پایداری نسبتاً خوبی برخوردار بوده است. در مطالعات پیشین گزارش شده است که اندازه ذرات کمتر (۱۴۳/۵ nm) و PDI پایین تر (۰/۱۵۳) که نشان دهنده توزیع اندازه ذرات نزدیک است، برای پایداری طولانی مدت نانوسوسپانسیون ها مهم است (Zhu et al., 2015). در تحقیقی که توسط ژو و همکاران^{۸۴} (۲۰۱۵) بر روی NLC حاوی روغن krill انجام شد، اثر دماهای ۴ و ۴۰°C در طول ۷۰ روز نگهداری بر پایداری و اندازه ذرات نانوذرات بررسی شد. نتایج حاکی از تخریب

⁸⁴ Zhu et al.

اکسیداتیو تسریع شده در دمای بالاتر است. در حالیکه در این دماها اندازه ذرات بخوبی حفظ شدند. باداً و همکاران^{۸۵} (۲۰۱۵) بر روی پایداری و اندازه ذرات NLC هایی که در دمای اطاق به مدت ۲ ماه نگهداری شدند مطالعه کردند. نتایج نشان داد که اندازه ذرات از ۱۳۱ nm به ۱۹۰ nm افزایش یافت اما هنوز قطر ذرات در دامنه نانوذرات لیپیدی قرار داشت. همچنین NLC، ذرات تک لایه با توزیع اندازه ذرات کمتر از ۰/۲۵ را نشان داد.

۸-۴ بررسی رفتار دمایی نانو حامل های لیپیدی

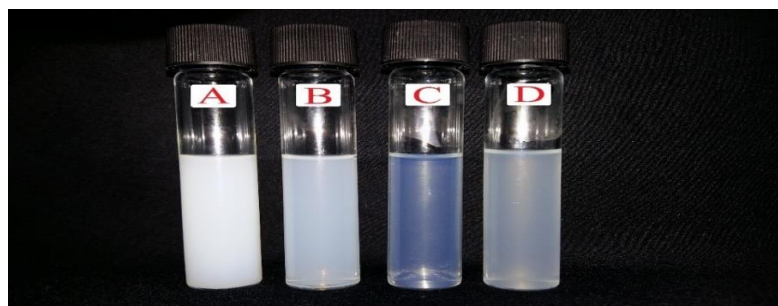
در بخش بررسی رفتار دمایی و همچنین بررسی پایداری اکسیداتیو سه نمونه مربوط به فرمولاسیون های ۱۶، ۱۷ و ۱۸ و همچنین یک نمونه امولسیون برای مقایسه استفاده شد. به منظور ارائه بهتر نتایج برای هر نمونه به صورت زیر یک حرف انگلیسی در نظر گرفته شد:

A: فرمولاسیون شماره ۱۸ (نسبت امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ به فاز لیپیدی ۲ به ۱)

B: فرمولاسیون شماره ۱۶ (نسبت امولسیفایر سدیم دو دسیل سولفات به فاز لیپیدی ۱ به ۱)

C: فرمولاسیون شماره ۱۷ (نسبت امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ به فاز لیپیدی ۱ به ۱)

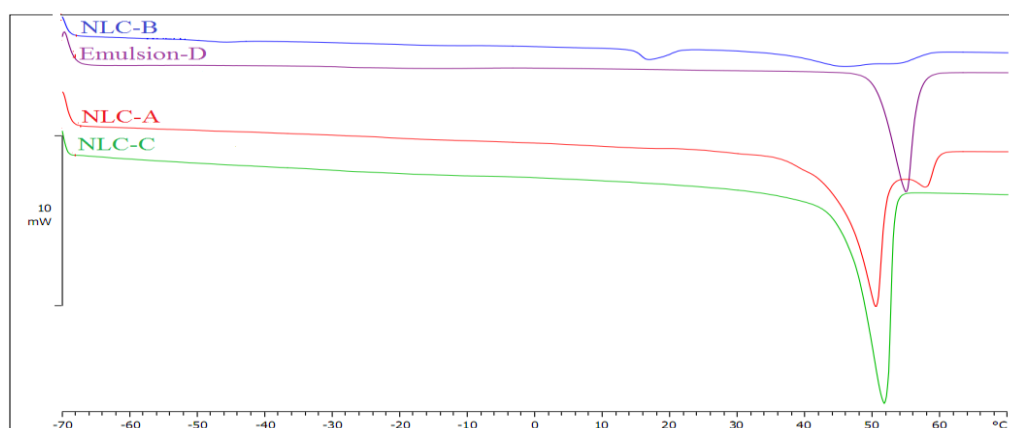
D: امولسیون (در نمونه امولسیون مقدار مواد مشابه نمونه C بود فقط در این فرمول لیپید پرسیرول استفاده نشد. همچنین اندازه ذرات نمونه امولسیون بیشتر از ۱ میکرومتر بود)



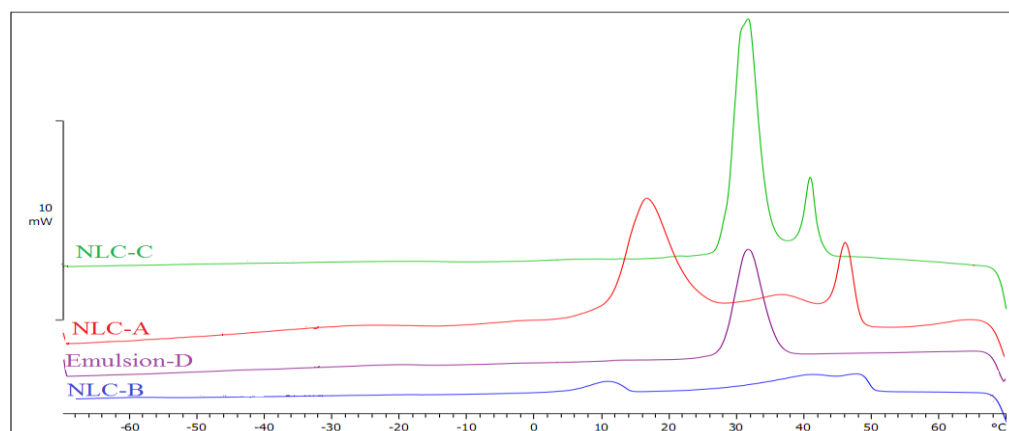
شکل (۴-۵): نمونه های A، B، C و D در روز اول تولید

⁸⁵ Badea et al.

در پیوست ۷ ترکیبات تشکیل دهنده فرمول های مختلف نشان داده شده است. همچنین در شکل (۴-۴) شکل ظاهری چهار نمونه A، B، C و D در روز اول تولید نشان داده شده است. یکی از مهمترین کاربردهای کالریمتری روبشی تفاضلی، مطالعه رفتار ذوب و کریستالیزاسیون لیپیدهاست. افزودن روغن مایع به لیپید جامد، موجب کاهش نقطه ذوب ترکیب میشود. هرچه اختلاف دما بیشتر باشد، بینظمی کریستال های لیپید نیز بیشتر خواهد بود که منجر به راندمان حداکثری درون پوشانی در سیستم NLC خواهد شد (Carbone et al., 2014). هدف از این آزمون ارزیابی تاثیر نوع و غلظت سورفکتانت بر خواص دمایی فرمولاسیون های مختلف بود. در شکل (۴-۶) و (۴-۷) رفتار دمایی نمونه های مختلف نشان داده شده است.



شکل (۴-۶): منحنی رفتار ذوب نمونه های حاوی نانوحامل های لیپیدی و نمونه امولسیون



شکل (۴-۷): منحنی رفتار کریستالیزاسیون نمونه های حاوی نانوحامل های لیپیدی و نمونه امولسیون

با توجه به شکل (۴-۶) رفتار دمایی NLC در غلظت های متفاوت پلاکسامر بطور آشکاری تغییر کرده است. در نمونه A با افزایش دما از 20°C ، یک پیک گرماگیر در 52°C مشاهده شد. نقطه ذوب پرسیرول و پلاکسامر 40.7 به ترتیب 56°C و $53-57^{\circ}\text{C}$ است. فقدان پیک ذوب لیپید مایع و جامد در ساختار نمونه A در نتیجه کریستالیزاسیون دو ترکیب، نشان دهنده همسازی خوب آنها با یکدیگر و تشکیل یک ترکیب جدید با خواص دمایی جدید است. برای نمونه C همانند نمونه A یک پیک گرماگیر بزرگ در 52°C مشاهده شد. بعلاوه، یک پیک گرماگیر کوچک در 58°C دیده میشود که میتوان آن را به پلاکسامر اضافی مورد استفاده در نمونه A نسبت داد. این نتایج نشان میدهد که مصرف امولسیفایر بیشتر پلاکسامر، اثر مثبتی بر رفتار دمایی NLC نداشته است.

در مورد نمونه امولسیون D تنها یک پیک گرماگیر در دمای 56°C مشاهده شد. با توجه به اینکه در این فرمول تنها امولسیفایر پلاکسامر و روغن جوانه گندم استفاده شده بود، بنابراین پیک گرماگیر مشاهده شده مربوط به امولسیفایر پلاکسامر بود (شکل ۴-۶). پیک گرماگیر ظاهر شده در نمونه امولسیون D تقریباً نزدیک پیک دوم نمونه A ظاهر شد که این نشان می دهد پیک گرماگیر دوم در نمونه A به احتمال زیاد مربوط به امولسیفایر پلاکسامر است. در مورد نمونه B یک پیک گرماگیر پهن در دمای حدود 52°C و یک منحنی گرماگیر کوچک در دمای 18°C مشاهده شد (شکل ۴-۶). در نمونه های (A, C, D) امولسیفایر استفاده شده پلاکسامر بود که در این نمونه ها شدت منحنی های گرماگیر مشاهده شده تا حد زیادی مربوط به امولسیفایر استفاده شده در نمونه ها بود. اما در نمونه B امولسیفایر SDS استفاده شده بود. نقطه ذوب امولسیفایر SDS، 206°C است (Tamjidi et al., 2013)، بنابراین این امولسیفایر در تشکیل پیک های گرماگیر مشاهده شده نمونه B نقش موثری نداشته است. پهن بودن پیک گرماگیر نمونه B در دمای 52°C احتمالاً مربوط به کریستالهای مختلف از جمله آلفا و بتا پرسیرول می باشد که این باعث پهن شدن پیک شده است.

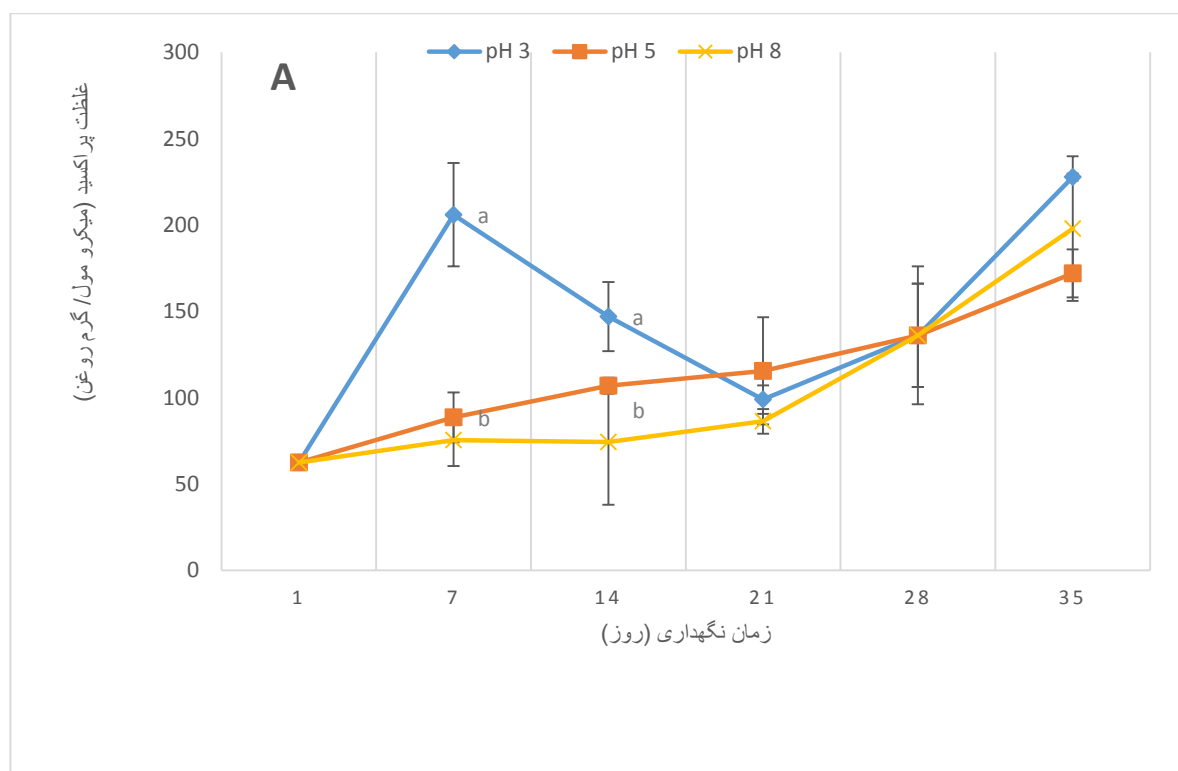
با توجه به شکل (۴-۷) در نمونه های A و C دو پیک گرمازا مشاهده شد که این دو پیک احتمالاً مربوط به کریستالیزاسیون پر سیرول و پلاکسامر می باشد. در نمونه C که مقدار امولسیفایر کمتر بوده اختلاف دمای دو پیک کمتر است اما در نمونه A این اختلاف بیشتر و دو پیک از یکدیگر دورترند. در مورد نمونه امولسیون D تنها یک پیک گرمازا که فقط مربوط به امولسیفایر پلاکسامر است مشاهده شد. در مورد نمونه B دو پیک کوچک مشاهده شد که کوچک بودن پیک را مشابه پیک های گرماگیر می توان به شرکت نکردن امولسیفایر استفاده شده در فرایند کریستالیزاسیون مربوط دانست. پیک مشاهده شده در دمای بالاتر همانند نمونه های A و C احتمالاً مربوط به کریستالیزاسیون پر سیرول و پیک مشاهده شده در دمای پایینتر احتمالاً مربوط به کریستالیزاسیون اسیدهای چرب اشباع روغن جوانه گندم است.

نتایج مطالعات سالمینن و همکاران^{۸۶} (۲۰۱۳) نشان داده است که حضور روغن ماهی دمای ذوب و کریستالیزاسیون و انتالپی ذوب تری استئارین را کاهش میدهد و لستین-ذوب بالای اشباع، کلید کنترل رفتار کریستالیزاسیون است.

⁸⁶ Salminen et al.

۹-۴ اثر فرمولاسیون و pH بر پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی

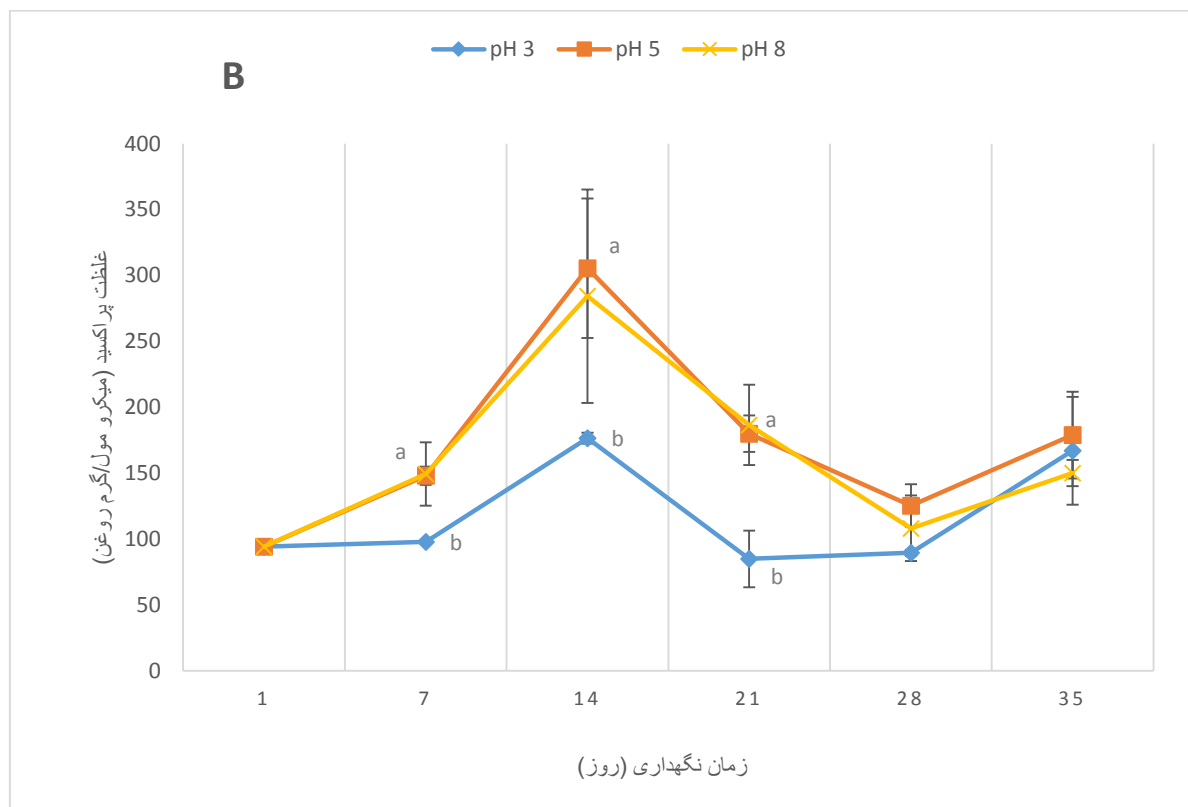
در شکل (۸-۴) اثر pH های مختلف بر پایداری اکسیداتیو فرمول A در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C نشان داده شده است.



شکل (۸-۴): اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول A در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

در مورد نمونه A میزان امولسیفایر پلاکسامر استفاده شده دو برابر فاز روغنی بود. نتایج تغییرات پراکسید pH ۳ در روز هفتم حاکی از یک افزایش ناگهانی بود که اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) با بقیه تیمارها داشت. در روز های پایانی میزان تغییرات پراکسید در pH های مختلف در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند. افزایش پراکسید در pH ۳ احتمالاً مربوط به انحلال پذیری بیشتر فلزاتی همچون آهن است که این فلزات می توانند در سطح ذرات روغن که عمل اکسیداسیون انجام می شود به عنوان پراکسیدان عمل کنند (Mei, 1998).

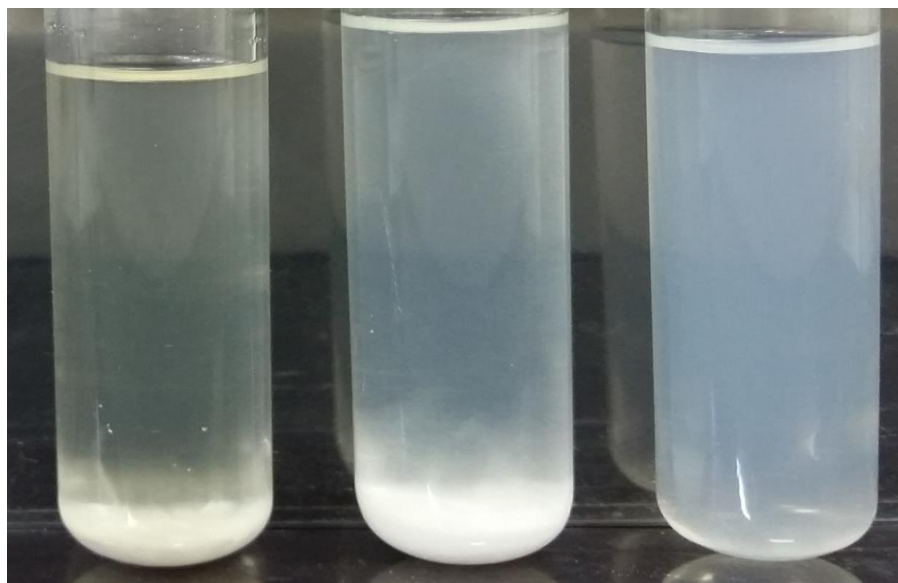
در شکل (۴-۹) اثر pH های مختلف بر پایداری اکسیداتیو فرمول B در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد نشان داده شده است.



شکل (۴-۹): اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول B در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

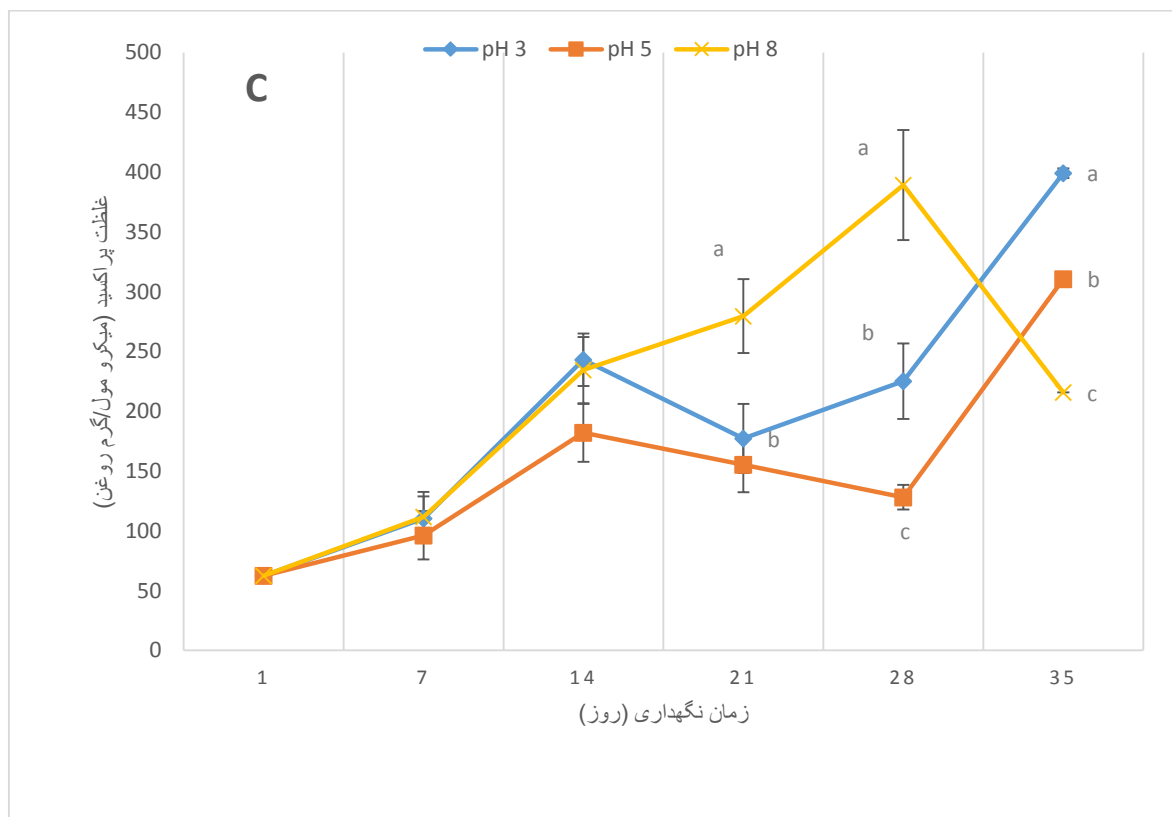
در فرمول B امولسیفایر استفاده شده یک امولسیفایر آنیونی بود. نتایج تغییرات پراکسید در روزهای مختلف نگهداری نشان داد که در همه pH ها در ابتدا روند تغییرات پراکسید افزایشی و سپس کاهش می‌یابد. در روزهای میانی نگهداری میزان تغییرات پراکسید pH ۳ از pH های ۵ و ۸ کمتر بود. روند تغییرات پراکسید pH های ۵ و ۸ در کل دوره نگهداری تقریباً یکسان بود که از نظر آماری ($p < 0.05$) اختلاف معنی داری بین آن‌ها مشاهده نشد. در روز بیست و هشتم و سی و پنجم میزان پراکسید فرمولاسیون B در pH های مختلف اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) با یکدیگر نداشتند. با بررسی کلی تغییرات پراکسید فرمولاسیون SDS در pH های مختلف می‌توان بیان داشت که pH ۳ نسبت به pH ۵ و ۸ تغییرات

پراکسید کمتری را داشته است. میزان کمتر بودن پراکسید در pH اسیدتر احتمالاً مربوط به ماهیت آنیونی امولسیفایر SDS می باشد. با توجه به اینکه یون مثبت فلزاتی همچون آهن و مس در محیط می توانند به عنوان پراکسیدان عمل کنند (Mei, 1998)، امولسیفایر آنیونی SDS می تواند با ایجاد کمپلکس با این یونها تا حدی این یونها را از دسترس واکنش های اکسیداسیون خارج سازند. البته با وجود اینکه ماهیت آنیونی این امولسیفایر به ویژه در pH های اسیدی می تواند تا حدودی از اکسیداسیون جلوگیری کند اما همین ماهیت آنیونی در pH های اسیدی باعث ناپایداری سیستم امولسیون خواهد شد. البته این امولسیفایر به تغییرات pH زیاد حساس نیست با این وجود به دلیل ماهیت آنیونی این امولسیفایر سیستم امولسیون به تدریج ناپایدار خواهد شد. در کار حاضر نیز نتیجه مشابهی مشاهده شد. نمونه های اسیدی (pH ۳ و ۵) بعد از ۳ ماه نگهداری ایجاد رسوب کردند اما نمونه بازی بعد از این مدت هنوز شفاف بود که در شکل (۴-۱۰) دیده میشود.



شکل (۴-۱۰): نمونه B در pH های مختلف پس از گذشت سه ماه (از چپ به راست به ترتیب: pH ۳، ۵، ۸)

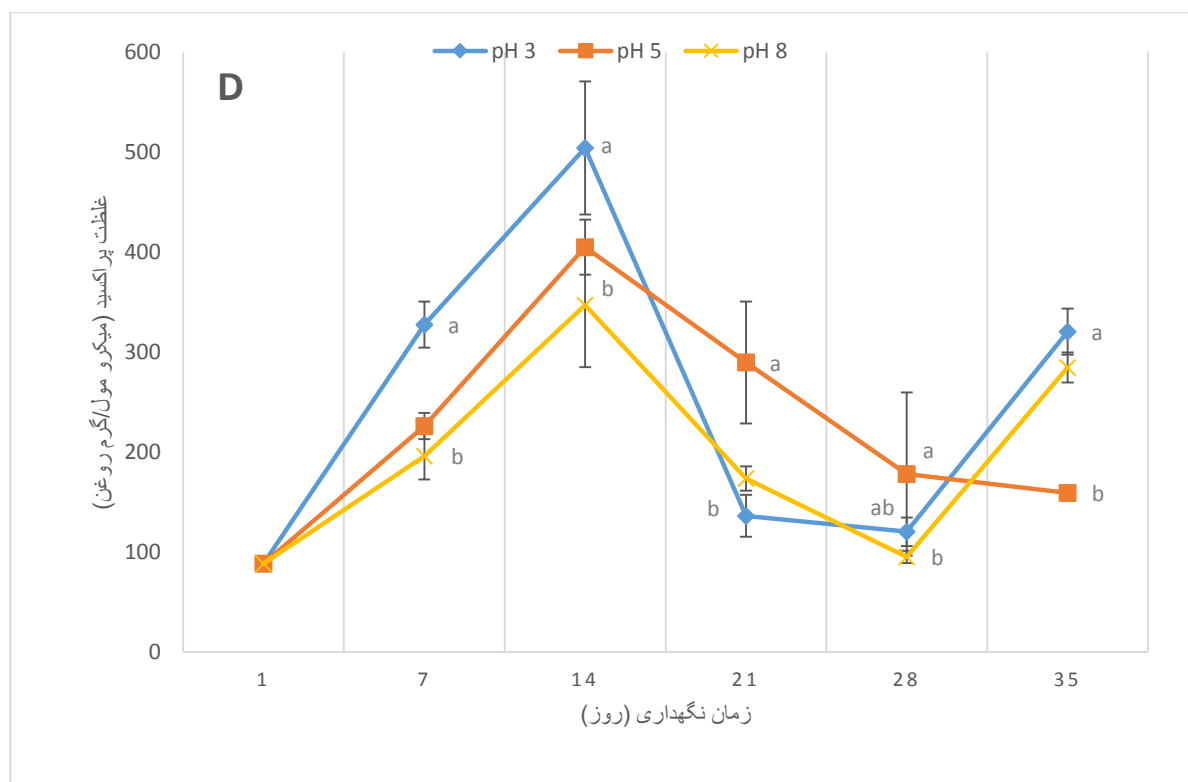
تغییرات پراکسید فرمول C در pH های مختلف در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C در شکل (۴-۱۱) نشان داده شده است.



شکل (۴-۱۱): اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول C در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

در فرمولاسیون C نسبت پلاکسامر به فاز روغنی ۱ به ۱ بود. در فرمولاسیون C اثر pH در روزهای ابتدایی روی تغییرات پراکسید در سطح ۵٪ معنی دار نبود اما در روز پایانی نتایج نشان داد که میزان پراکسید تیمارهای مختلف از لحاظ آماری ($p < 0.05$) معنی دار بود. در روز بیست و یکم و بیست و هشتم pH ۸ و در روز سی و پنجم pH ۳ بیشترین میزان پراکسید را داشت. افزایش پراکسید در pH های اسیدی احتمالاً مربوط به انحلال پذیری بیشتر فلزاتی همچون آهن است که این فلزات می توانند در سطح ذرات روغن که عمل اکسیداسیون انجام می شود به عنوان پراکسیدان عمل کنند (Mei, 1998).

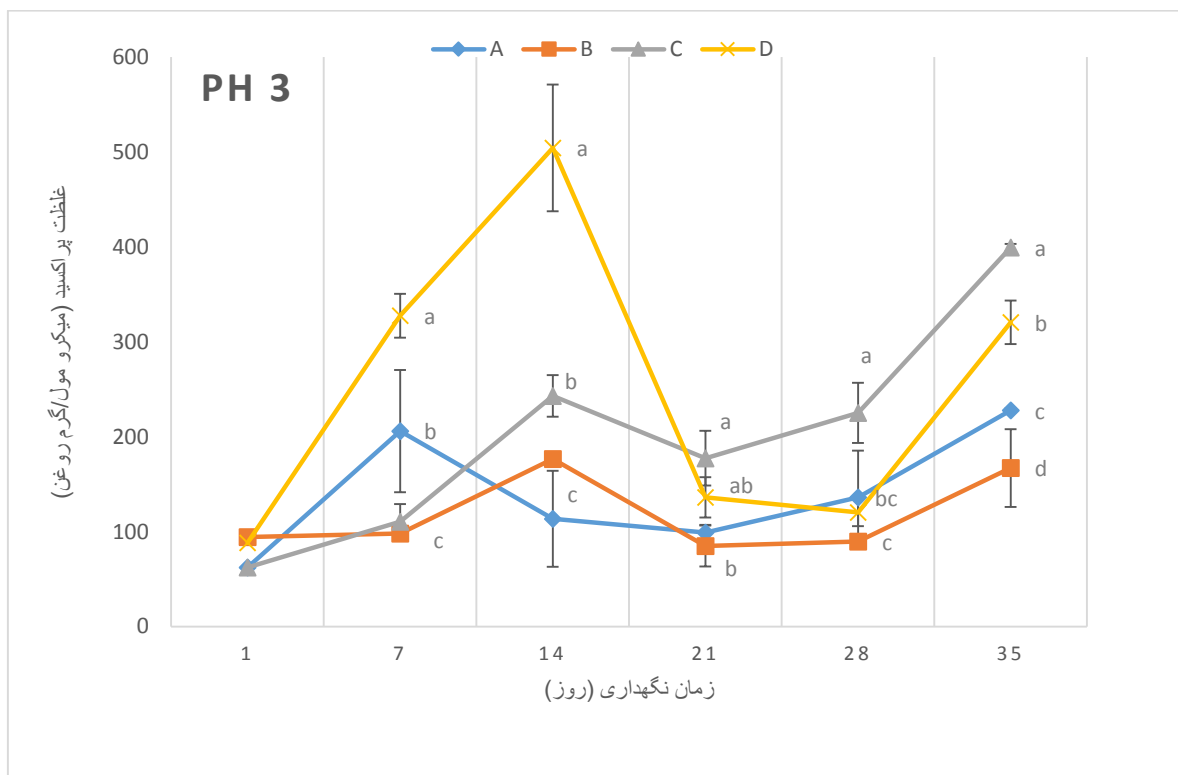
در شکل (۴-۱۲) اثر pH های مختلف بر پایداری اکسیداتیو فرمول D در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد نشان داده شده است.



شکل (۴-۱۲): اثر pH های ۳، ۵ و ۸ بر پایداری اکسیداتیو فرمول D در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

در فرمولاسیون امولسیون D در مورد تمام pH ها ابتدا میزان پراکسید افزایش و سپس کاهش یافت. کاهش میزان پراکسید را می توان به شکسته شدن ترکیبات اولیه اکسیداسیون به ترکیبات ثانویه از جمله آلدئید ها و کتون ها مربوط دانست (حامدی، ۱۳۸۷). در روز پایانی بجز pH ۵، باز هم پراکسید اندکی افزایش نشان داد. روند کلی تغییرات پراکسید نشان داد که در pH های اسیدی میزان اکسیداسیون بیشتر بوده است. افزایش پراکسید در pH های اسیدی احتمالاً مربوط به انحلال پذیری بیشتر پراکسیدانهای نظیر یونهای آهن می باشد (Mei, 1998).

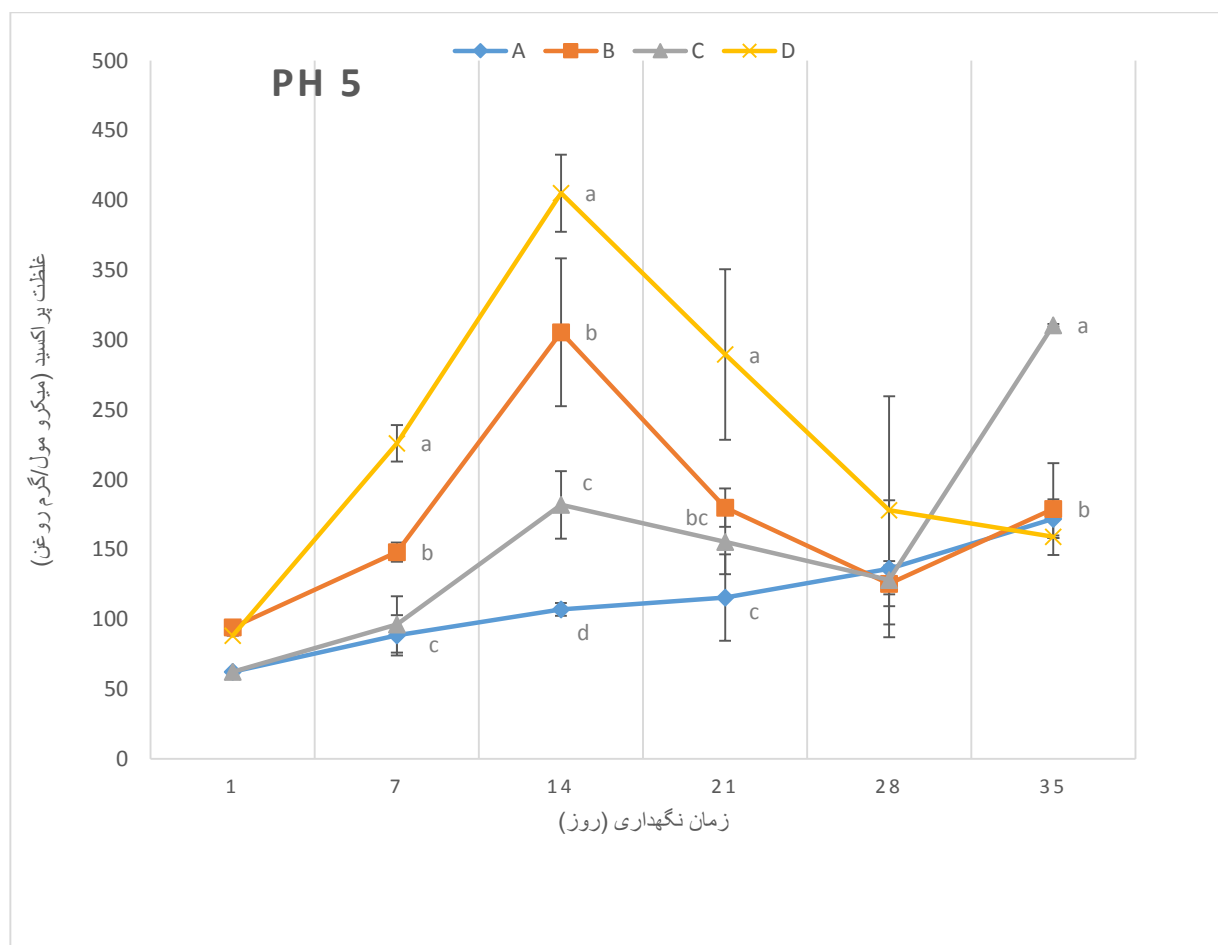
در شکل (۴-۱۳) پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۳ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد نشان داده شده است.



شکل (۴-۱۳): پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۳ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

بیشترین تغییرات پراکسید در pH ۳ مربوط به نمونه D بود. کمترین میزان تغییرات پراکسید نیز در فرمول های A و B مشاهده شد. نمونه امولسیون D در روز چهاردهم بیشترین میزان پراکسید را داشت که اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) با بقیه نمونه ها داشت.

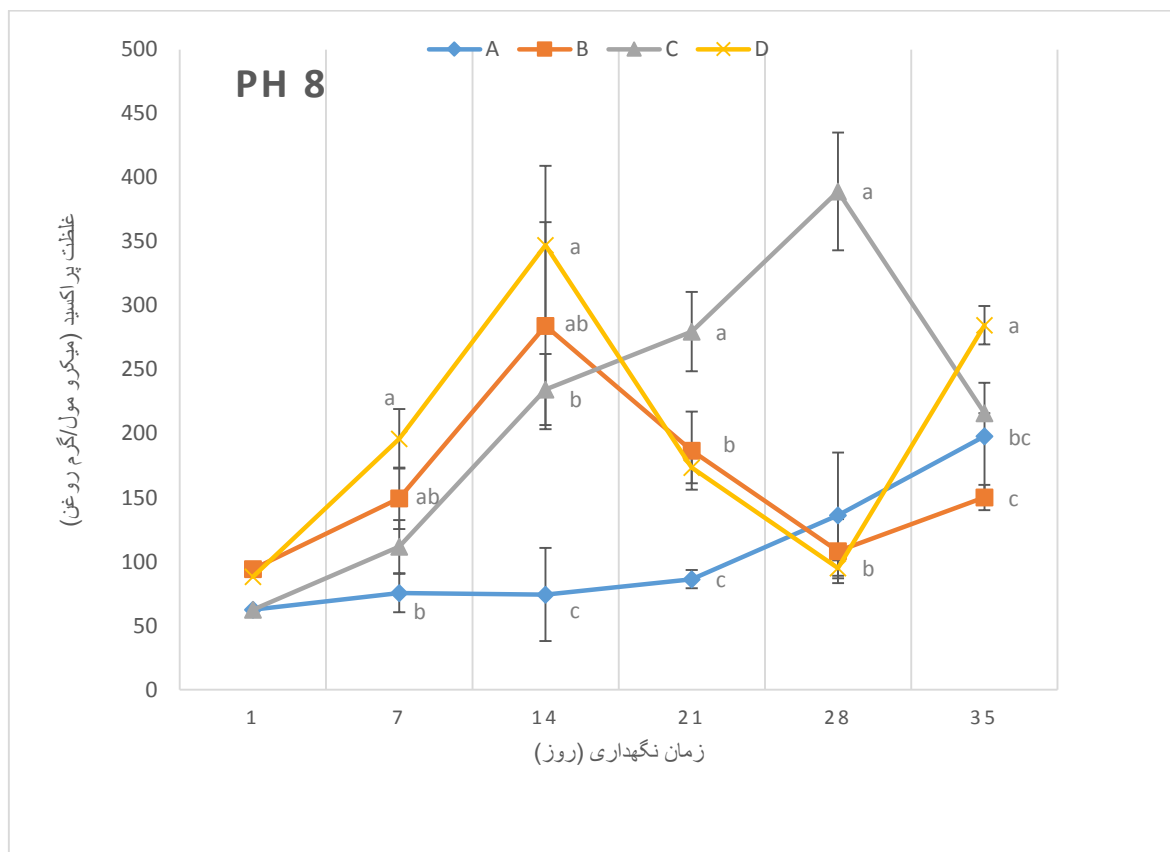
در شکل (۴-۱۴) پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۵ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد نشان داده شده است.



شکل (۴-۱۴): پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۵ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

در pH ۵ همانند pH ۳ بیشترین تغییرات پراکسید در مورد فرمول امولسیون D مشاهده شد. در این pH کمترین تغییرات پراکسید در مورد فرمول A با نسبت پلاکسامر به فاز روغنی ۲ به ۱ مشاهده شد. در این pH نیز نمونه D در روز چهاردهم افزایش پراکسید را نشان داد.

در شکل (۴-۱۵) پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۸ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد نشان داده شده است.



شکل (۴-۱۵): پایداری اکسیداتیو فرمول های مختلف در pH ۸ در طی ۳۵ روز نگهداری در دمای ۴۵°C

در مورد pH ۸ همانند pH ۳ و ۵ کمترین میزان تغییرات پراکسید در مورد فرمول A با نسبت پلاکسامر به فاز روغنی ۲ به ۱ مشاهده شد که اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد با فرمولاسیون های دیگر دارد. در مورد فرمول های دیگر شاهد یک افزایش و سپس کاهش پراکسید بودیم. در این pH، اختلاف پراکسید بین تیمارها، به شدت pH های اسیدی نبود.

به طور کلی با مقایسه نتایج فرمول های مختلف در pH های متفاوت میتوان اینگونه استنباط کرد که فرمول A با امولسیفایر غیر یونی پلاکسامر با نسبت ۲ به ۱، بیشترین پایداری اکسیداتیو را داشت. این نتیجه

احتمالا به دلیل اثر محافظتی بیشتری است که پلاکسامر در سطح ذرات ایجاد کرده است. همچنین نمونه های حاوی نانوحامل نسبت به نمونه امولسیون پایداری اکسیداسیون بیشتری را نشان دادند که این اثر حفاظتی بیشتر، احتمالا به خاطر وجود چربی جامد پرسیرول می باشد که با محصور نمودن روغن رویان گندم در ساختار کریستالی خود باعث کاهش اکسیداسیون این روغن شده است. علاوه بر این امولسیفایر پلاکسامر که یک امولسیفایر غیر یونی می باشد در pH بازی پایداری بیشتری را نشان داد. اما امولسیفایر SDS بر خلاف پلاکسامر در pH های اسیدی پایداری اکسیداتیو بیشتری داشت.

نتایج مربوط به تغییرات پراکسید نشان داد که درون پوشانی روغن رویان گندم در نانوحامل های لیپیدی توانسته اثر محافظتی بیشتری در مقابل اکسیداسیون نسبت به نمونه امولسیونی را ایجاد کند. همچنین لیپید مورد استفاده در این تحقیق (پرسیرول) مخلوطی از دی و تری گلیسریدها بود که در ساختار ماتریکس لیپیدی خود دارای فضاهای خالی زیادی است و می تواند ترکیب فعال را در خود جای دهد. این امر نیز می تواند دلیلی بر کارایی بالای این سیستم در افزایش پایداری اکسیداتیو ماده فعال باشد. سه مزیت اصلی درون پوشانی ترکیبات آگریز در مقایسه با ترکیبات آبدوست، پایداری شیمیایی بالاتر در برابر هیدرولیز و اکسیداسیون، سرعت رهایش پایین تر و کارایی درون پوشانی بالاتر می باشد (Tamjidi et al., 2013).

ون استازسکی و همکاران^{۸۷} (۲۰۱۴) رفتار بین سطحی و پایداری اکسیداسیونی نانوکمپلکس های بتالاکتوگلوبولین حاوی روغن ماهی و پلی فنل های چای سبز را مورد بررسی قرار دادند. غلظت هیدروپراکسید امولسیون روغن ماهی از ۲۰ به ۲۱۴ میلی اکی والان در کیلوگرم روغن در امولسیون تثبیت شده با بتالاکتوگلوبولین رسید ولی در امولسیون حاوی نانوکمپلکس در مدت انبارداری از ۴۰

⁸⁷ Von Staszewski et al.

میلی‌اکی‌والان تجاوز نکرد. سالمین و همکاران (۲۰۱۴) بر روی پتانسیل ساپونین استخراجی از گیاه *Quillaja saponaria* جهت جایگزینی سورفکتانت برای افزایش پایداری فیزیکی و اکسیداتیو NLC های حامل ω -3 تحقیق کردند. نتایج نشان داد که کپسوله کردن ω -3 در NLC، تشکیل هیدروپراکسیدهای لیپیدی، پروپانال و هگزانال را در مقایسه امولسیون روغن ماهی در آب (بدون پوشش) به ترتیب ۷۲٪، ۵۳٪ و ۵۷٪ کاهش داد.

نتیجه گیری کلی:

نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین فرمول از نظر اندازه ذرات برای تهیه نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم استفاده از امولسیفایر پلاکسامر ۴۰۷ و فاز لیپید جامد پرسیرول بود. همچنین بهترین نسبت امولسیفایر به فاز لیپیدی نسبت ۱ به ۱ بود. تحت چنین شرایطی اندازه ذرات نانوحامل های لیپیدی ۵۲/۷ نانومتر به دست آمد. پتانسیل زتای ذرات به دلیل غیر قطبی بودن امولسیفایر مورد استفاده تقریباً ناچیز بود. پایداری ذرات در طی نگهداری نیز بسیار خوب بود و اندازه ذرات تغییر بسیار کمی داشت. بررسی رفتار دمایی فرمول با نسبت امولسیفایر پلاکسامر به فاز روغنی ۱ به ۱ نشان داد که اختلاط بین امولسیفایر، فاز جامد و فاز مایع به خوبی انجام شده و باعث ایجاد یک ساختار واحد شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تغییرات اکسیداسیون نانوحامل های لیپیدی نسبت به امولسیون کمتر بود. بهترین فرمول از نظر پایداری اکسیداتیو، فرمولاسیون حاوی امولسیفایر پلاکسامر به فاز روغنی ۲ به ۱ بود. همچنین میزان پراکسید نانوحامل های لیپیدی تهیه شده با امولسیفایر پلاکسامر در pH های اسیدی نسبت به pH قلیایی اندکی کمتر بود. به همین دلیل توصیه می شود که این نانوحامل ها در صنعت غذا یا دارویی در فرمولاسیون های اسیدی به کار رود. نتایج این تحقیق قابل استفاده در تحقیقات بعدی در زمینه درون پوشانی ترکیبات حساس به شرایط محیطی است. علاوه بر این، با توجه به خواص تغذیه ای ارزشمند روغن رویان گندم، نانوحامل های لیپیدی حاوی روغن رویان گندم به منظور غنی سازی فرمولاسیون نوشابه ها قابل استفاده هستند.

پیشنهادهات:

- ۱- بررسی اثر غلظت های مختلف امولسیفایر و فاز جامد بر پایداری اکسیداتیو نانوحامل های لیپیدی
- ۲- بررسی تغییرات محصولات ثانویه اکسیداسیون نانوحامل های لیپیدی در طی نگهداری در دماهای مختلف
- ۳- استفاده از امولسیفایر و چربی های جامد دیگر در تهیه نانوحامل های لیپیدی و بررسی این ترکیبات بر پایداری اکسیداتیو نانوذرات حاصل
- ۴- استفاده از نانوحامل های تولیدی در سامانه های غذایی و بررسی پایداری این نانوذرات در سامانه های غذایی

منابع و مآخذ

۱. حامدی م.، ۱۳۸۷، شیمی مواد غذایی. جلد اول، چاپ اول، مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
۲. بی نام - موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶. *روغن خام آفتابگردان-ویژگی ها، استاندارد ملی ایران*، شماره ۱۰۰۸۶، چاپ اول.
1. Arain, S., Sherazi, S.T.H., Bhanger, M.I., Talpur, F.N. and Mahesar, S.A., 2009. Oxidative stability assessment of Bauhinia purpurea seed oil in comparison to two conventional vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat methods. *Thermochimica Acta*, 484(1), pp.1-3.
2. Badea, G., Lăcătușu, I., Badea, N., Ott, C. and Meghea, A., 2015. Use of various vegetable oils in designing photoprotective nanostructured formulations for UV protection and antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 67, pp.18-24.
3. Brandolini, A. and Hidalgo, A., 2012. Wheat germ: not only a by-product. *International journal of food sciences and nutrition*, 63(sup1), pp.71-74.
4. Carbone, C., Campisi, A., Musumeci, T., Raciti, G., Bonfanti, R. and Puglisi, G., 2014. FA-loaded lipid drug delivery systems: preparation, characterization and biological studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, pp.12-20.
5. Chawla, V. and Saraf, S.A., 2011. Glyceryl behenate and its suitability for production of aceclofenac solid lipid nanoparticles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(1), pp.119-126.
6. Chen, Y., Yang, X., Zhao, L., Almásy, L., Garamus, V.M., Willumeit, R. and Zou, A., 2014. Preparation and characterization of a nanostructured lipid carrier for a poorly soluble drug. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 455, pp.36-43.
7. Chen-yu, G., Chun-fen, Y., Qi-lu, L., Qi, T., Yan-wei, X., Wei-na, L. and Guang-xi, Z., 2012. Development of a quercetin-loaded nanostructured lipid carrier formulation for topical delivery. *International journal of pharmaceutics*, 430(1), pp.292-298.
8. Considine, T., Patel, H.A., Singh, H. and Creamer, L.K., 2007. Influence of binding conjugated linoleic acid and myristic acid on the heat-and high-pressure-induced unfolding and aggregation of β -lactoglobulin B. *Food chemistry*, 102(4), pp.1270-1280.
9. Dan, N., 2016. Compound release from nanostructured lipid carriers (NLCs). *Journal of Food Engineering*, 171, pp.37-43.
10. de Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M. and Sikkema, J., 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4), pp.292-302.
11. Desai, K.G.H. and Jin Park, H., 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, 23(7), pp.1361-1394.
12. Eisenmenger, M., Dunford, N.T., Eller, F., Taylor, S. and Martinez, J., 2006. Pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of wheat germ oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(10), pp.863-868.
13. Esposito, E., Drechsler, M., Cortesi, R. and Nastruzzi, C., 2016. Encapsulation of cannabinoid drugs in nanostructured lipid carriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 102, pp.87-91.
14. Esposito, E., Ravani, L., Drechsler, M., Mariani, P., Contado, C., Ruokolainen, J., Ratano, P., Campolongo, P., Trezza, V., Nastruzzi, C. and Cortesi, R., 2015. Cannabinoid antagonist in nanostructured lipid carriers (NLCs): design, characterization and in vivo study. *Materials Science and Engineering: C*, 48, pp.328-336.

15. Ezhilarasi, P.N., Karthik, P., Chhanwal, N. and Anandharamakrishnan, C., 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), pp.628-647.
16. Fang, J.Y., Fang, C.L., Liu, C.H. and Su, Y.H., 2008. Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: solid lipid nanoparticles (SLN) versus nanostructured lipid carriers(NLC). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 70(2), pp.633-640.
17. Fathi, M., Mozafari, M.R. and Mohebbi, M., 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in food science & technology*, 23(1), pp.13-27.
18. Fathi, M., Varshosaz, J., Mohebbi, M. and Shahidi, F., 2013. Hesperetin-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructure lipid carriers for food fortification: preparation, characterization, and modeling. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), pp.1464-1475.
19. Fatouros, D.G. and Antimisiaris, S.G., 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), pp.271-277.
20. Gelmez, N., Kincal, N.S. and Yener, M.E., 2009. Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 48(3), pp.217-224.
21. Ghosh, I., Bose, S., Vippagunta, R. and Harmon, F., 2011. Nanosuspension for improving the bioavailability of a poorly soluble drug and screening of stabilizing agents to inhibit crystal growth. *International journal of pharmaceutics*, 409(1), pp.260-268.
22. Gonnet, M., Lethuaut, L. and Boury, F., 2010. New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *Journal of Controlled Release*, 146(3), pp.276-290.
23. Gramdorf, S., Hermann, S., Hentschel, A., Schrader, K., Müller, R.H., Kumpugdee-Vollrath, M., et al. 2008. Crystallized miniemulsions: Influence of operating parameters during high-pressure homogenization on size and shape of particles. *Colloid Surface A*, 331(1–2): 108–113.
24. Hamishehkar, H., Emami J, Rouholamini Najafabadi, A., Gilani K, Minaiyan, M, Mahdavi, H. and Nokhodchi, A. 2009. The effect of formulation variables on the characteristics of insulin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres prepared by a single phase oil in oil solvent evaporation method. *Colloids Surf. B.*, 74: 340–349.
25. Han, F., Li, S., Yin, R., Liu, H. and Xu, L., 2008. Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: nanostructured lipid carriers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315(1), pp.210-216.
26. Hasenhuettl, G.L., 2008. Overview of food emulsifiers. In *Food emulsifiers and their applications* (pp. 1-9). Springer New York.
27. Hassanein, M.M.M. and Abdel-Razek, A.G., 2009. Chromatographic quantitation of some bioactive minor components in oils of wheat germ and grape seeds produced as by-products. *Journal of oleo science*, 58(5), pp.227-233.
28. Hatanaka, J., Chikamori, H., Sato, H., Uchida, S., Debari, K., Onoue, S. and Yamada, S., 2010. Physicochemical and pharmacological characterization of α -tocopherol-loaded nano-emulsion system. *International Journal of Pharmaceutics*, 396(1), pp.188-193.

29. Hejri, A., Khosravi, A., Gharanjig, K. and Hejazi, M., 2013. Optimisation of the formulation of β -carotene loaded nanostructured lipid carriers prepared by solvent diffusion method. *Food chemistry*, 141(1), pp.117-123.
30. Hentschel, A., Gramdorf, S., Müller, R.H. and Kurz, T., 2008. β -Carotene-loaded nanostructured lipid carriers. *Journal of Food Science*, 73(2), pp.N1-N6.
31. Horn, A.F., Nielsen, N.S. and Jacobsen, C., 2009. Additions of caffeic acid, ascorbyl palmitate or γ -tocopherol to fish oil-enriched energy bars affect lipid oxidation differently. *Food Chemistry*, 112(2), pp.412-420.
32. Hu, F.Q., Jiang, S.P., Du, Y.Z., Yuan, H., Ye, Y.Q. and Zeng, S., 2006. Preparation and characteristics of monostearin nanostructured lipid carriers. *International journal of pharmaceutics*, 314(1), pp.83-89.
33. Hunter, R.J., 1987. Foundations of colloid science. Vol. 1. 1987. Hunter, RJ, Foundations of Colloid Science, 1, p.31.
34. Jafari, S.M., Assadpoor, E., He, Y. and Bhandari, B., 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food hydrocolloids*, 22(7), pp.1191-1202.
35. Jamieson, G.S. and Baughman, W.F., 1932. Wheat germ oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 9(6), pp.136-138.
36. Jena, S. and Das, H., 2006. Modeling of particle size distribution of sonicated coconut milk emulsion: effect of emulsifiers and sonication time. *Food research international*, 39(5), pp.606-611.
37. Jennings, V., Thünemann, A.F. and Gohla, S.H., 2000. Characterisation of a novel solid lipid nanoparticle carrier system based on binary mixtures of liquid and solid lipids. *International Journal of Pharmaceutics*, 199(2), pp.167-177.
38. Kamal-Eldin, A., 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(12), pp.1051-1061.
39. Kamel, R. and Mostafa, D.M., 2015. Rutin nanostructured lipid cosmeceutical preparation with sun protective potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 153, pp.59-66.
40. Katouzian, I. and Jafari, S.M., 2016. Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. *Trends in Food Science & Technology*, 53, pp.34-48.
41. Kelidari, H.R., Akbari, J. and Saeedi, M., 2013. Application and Characterization of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers as Drug Delivery Systems. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (JMUMS)*, 23(98).
42. Kong, X., Zhao, Y., Quan, P. and Fang, L., 2016. Development of a topical ointment of betamethasone dipropionate loaded nanostructured lipid carrier. *asian journal of pharmaceutical sciences*, 11(2), pp.248-254.
43. Krasodomska, O., Paolicelli, P., Cesa, S., Casadei, M.A. and Jungnickel, C., 2016. Protection and viability of fruit seeds oils by nanostructured lipid carrier (NLC) nanosuspensions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 479, pp.25-33.
44. Lacatusu, I., Badea, N., Ovidiu, O., Bojin, D. and Meghea, A., 2012. Highly antioxidant carotene-lipid nanocarriers: synthesis and antibacterial activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(6), pp.1-16.
45. Lacatusu, I., Niculae, G., Badea, N., Stan, R., Popa, O., Oprea, O. and Meghea, A., 2014. Design of soft lipid nanocarriers based on bioactive vegetable oils with multiple health

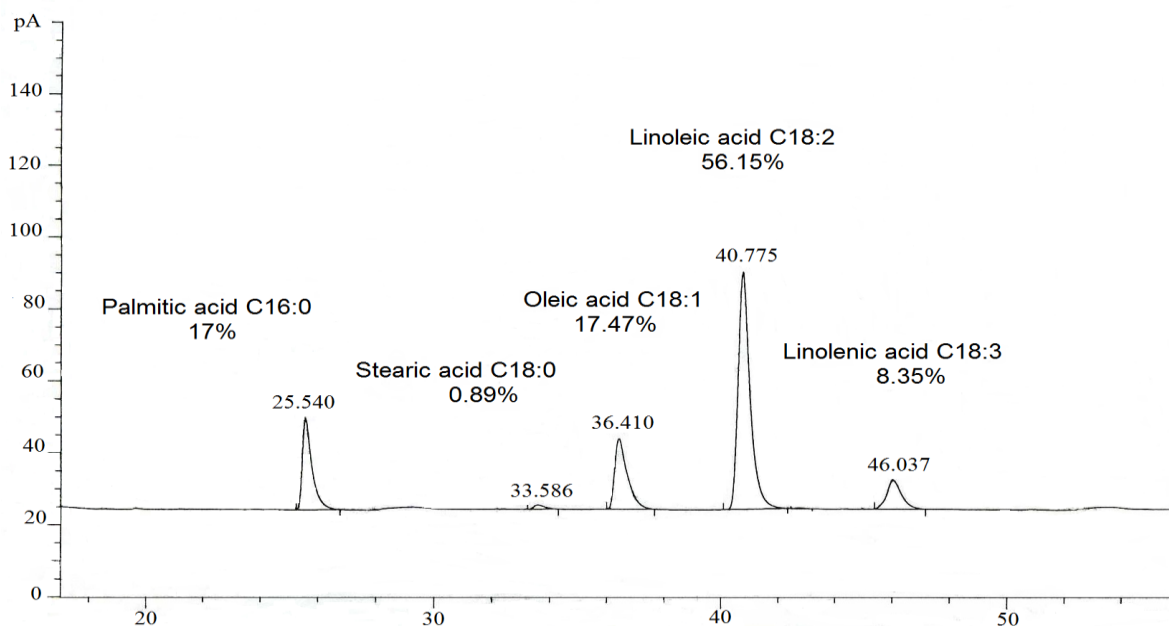
- benefits. *Chemical Engineering Journal*, 246, pp.311-321. Lakshmi, P. and Kumar, G.A., 2010. Nanosuspension technology: A review. *Int J Pharm Sci*, 2(4), pp.35-40.
46. Li, H., Song, C., Zhou, H., Wang, N. and Cao, D., 2011. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of wheat germ oil using response surface methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(6), pp.809-817.
47. Liu, C.H. and Wu, C.T., 2010. Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 353(2), pp.149-156.
48. Liu, J., Hu, W., Chen, H., Ni, Q., Xu, H. and Yang, X., 2007. Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *International journal of pharmaceutics*, 328(2), pp.191-195.
49. Livney, Y.D., 2015. Nanostructured delivery systems in food: latest developments and potential future directions. *Current Opinion in Food Science*, 3, pp.125-135.
50. Mao, L., Xu, D., Yang, J., Yuan, F., Gao, Y. and Zhao, J., 2009. Effects of small and large molecule emulsifiers on the characteristics of b-carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization. *Food Technology and Biotechnology*, 47(3), pp.336-342.
51. Martini, S. and Herrera, M.L., 2008. Physical properties of shortenings with low-trans fatty acids as affected by emulsifiers and storage conditions. *European journal of lipid science and technology*, 110(2), pp.172-182.
52. McClements, D.J. and 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), pp.213-228.
53. McClements, D.J. and Rao, J., 2011. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), pp.285-330.
54. McClements, D.J. and Xiao, H. 2012. Poential biological fate of ingested nano emulsions: influence of particle characteristics. *Food Funct.*, 3: 202-220.
55. McClements, D.J., Decker, E.A. and Weiss, J., 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of food science*, 72(8), pp.R109-R124.
56. McClements, D.J., Decker, E.A., Park, Y. and Weiss, J., 2009. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(6), pp.577-606.
57. Megahad, O.A. and El Kinawy, O.S., 2002. Studies on the extraction of wheat germ oil by commercial hexane. *Grasas y aceites*, 53(4), pp.414-418.
58. Megahed, M.G., 2011. Study on stability of wheat germ oil and lipase activity of wheat germ during periodical storage. *Agric Biol JN Am*, 2(1), pp.163-168.
59. Mehnert, W. and Mäder, K., 2001. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced drug delivery reviews*, 47(2), pp.165-196.
60. Mei, L., 1998. PhD. thesis, "Lipid oxidation in emulsions as affected by droplet surface properties and interactions among droplets, antioxidants, and other co-existing substances", Food Science depart. University of Massachusetts Amherst.
61. Mitrea, E., Lacatusu, I., Badea, N., Ott, C., Oprea, O. and Meghea, A., 2015. New Approach to Prepare Willow Bark Extract–Lipid Based Nanosystems with Enhanced Antioxidant Activity. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(6), pp.4080-4089.
62. Morales, J.O., Valdés, K., Morales, J. and Oyarzun-Ampuero, F., 2015. Lipid nanoparticles for the topical delivery of retinoids and derivatives. *Nanomedicine*, 10(2), pp.253-269.

63. Mozafari, M.R., Flanagan, J., Matia-Merino, L., Awati, A., Omri, A., Suntres, Z.E. and Singh, H., 2006. Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), pp.2038-2045.
64. Müller, R.H., Petersen, R.D., Hommoss, A. and Pardeike, J., 2007. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Advanced drug delivery reviews*, 59(6), pp.522-530.
65. Müller, R.H., Radtke, M. and Wissing, S.A., 2002. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Advanced drug delivery reviews*, 54, pp.S131-S155.
66. Naseri, N., Valizadeh, H. and Zakeri-Milani, P., 2015. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: structure, preparation and application. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(3), p.305.
67. Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarski, B., 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, pp.1806-1815.
68. Neethirajan, S. and Jayas, D.S., 2011. Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and bioprocess technology*, 4(1), pp.39-47.
69. Ni, S., Sun, R., Zhao, G. and Xia, Q., 2015. Quercetin loaded nanostructured lipid carrier for food fortification: preparation, characterization and in vitro study. *Journal of Food Process Engineering*, 38(1), pp.93-106.
70. Niu, L.Y., Jiang, S.T., Pan, L.J. and Pang, M., 2013. Characterization of wheat germ oil in terms of volatile compounds, lipid composition, thermal behavior, and structure. *International Journal of Food Properties*, 16(8), pp.1740-1749.
71. Obeidat, W.M., Schwabe, K., Müller, R.H. and Keck, C.M., 2010. Preservation of nanostructured lipid carriers (NLC). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 76(1), pp.56-67.
72. Oehlke, K., Adamiuk, M., Behnlian, D., Gräf, V., Mayer-Miebach, E., Walz, E. and Greiner, R., 2014. Potential bioavailability enhancement of bioactive compounds using food-grade engineered nanomaterials: a review of the existing evidence. *Food & function*, 5(7), pp.1341-1359.
73. Okonogi, S. and Rianganapatee, P., 2015. Physicochemical characterization of lycopene-loaded nanostructured lipid carrier formulations for topical administration. *International journal of pharmaceutics*, 478(2), pp.726-735.
74. Ozdemir, M. and Kemerli, T., 2016. Innovative applications of micro and nanoencapsulation in food packaging. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*, p.333.
75. Pamudji, J.S., Mauludin, R. and Indriani, N., 2016. DEVELOPMENT OF NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER FORMULATION CONTAINING OF RETINYL PALMITATE. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(2), pp.256-260.
76. Panfili, G., Cinquanta, L., Fratianni, A. and Cubadda, R., 2003. Extraction of wheat germ oil by supercritical CO₂: oil and defatted cake characterization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(2), pp.157-161.
77. Pardeike, J., Hommoss, A. and Müller, R.H., 2009. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International journal of pharmaceutics*, 366(1), pp.170-184.

78. Piorkowski, D.T. and McClements, D.J., 2014. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloids*, 42, pp.5-41.
79. Qiu, S., Liu, Z., Hou, L., Li, Y., Wang, J., Wang, H., Du, W., Wang, W., Qin, Y. and Liu, Z., 2013. Complement activation associated with polysorbate 80 in beagle dogs. *International immunopharmacology*, 15(1), pp.144-149.
80. Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Weller, P.J., Handbook of pharmaceutical excipients. 2009. Hypromellose. Page-438.
81. Salminen, H., Aulbach, S., Leuenberger, B.H., Tedeschi, C. and Weiss, J., 2014. Influence of surfactant composition on physical and oxidative stability of Quillaja saponin-stabilized lipid particles with encapsulated ω -3 fish oil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, pp.46-55.
82. Salminen, H., Gömmel, C., Leuenberger, B.H. and Weiss, J., 2016. Influence of encapsulated functional lipids on crystal structure and chemical stability in solid lipid nanoparticles: Towards bioactive-based design of delivery systems. *Food chemistry*, 190, pp.928-937.
83. Salminen, H., Helgason, T., Kristinsson, B., Kristbergsson, K. and Weiss, J., 2013. Formation of solid shell nanoparticles with liquid ω -3 fatty acid core. *Food chemistry*, 141(3), pp.2934-2943.
84. Severino, P., Pinho, S.C., Souto, E.B. and Santana, M.H., 2011. Polymorphism, crystallinity and hydrophilic-lipophilic balance of stearic acid and stearic acid-capric/caprylic triglyceride matrices for production of stable nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(1), pp.125-130.
85. Shah, R., Eldridge, D., Palombo, E. and Harding, I., 2015. *Lipid nanoparticles: Production, characterization and stability*. Springer.
86. Shantha, N.C. and Decker, E.A., 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), pp.421-424.
87. Sharma, A. and Sharma, U.S., 1997. Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *International journal of pharmaceuticals*, 154(2), pp.123-140.
88. Shimoni, E., Edited, B. and Gustavo, B.C., 2009. Nanotechnology for foods: delivery systems. In *IUFoST World Congress Book: Global Issues in Food Sci. Technol* (pp. 411-424).
89. Shin, G.H., Kim, J.T. and Park, H.J., 2015. Recent developments in nanoformulations of lipophilic functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), pp.144-157.
90. Sjövall, O., Virtalaine, T., Lapveteläinen, A. and Kallio, H., 2000. Development of rancidity in wheat germ analyzed by headspace gas chromatography and sensory analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), pp.3522-3527.
91. Takegami, S., Kitamura, K., Kawada, H., Matsumoto, Y., Kitade, T., Ishida, H. and Nagata, C., 2008. Preparation and characterization of a new lipid nano-emulsion containing two cosurfactants, sodium palmitate for droplet size reduction and sucrose palmitate for stability enhancement. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(8), pp.1097-1102.
92. Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J. and Nasirpour, A., 2013. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, pp.29-43.
93. Teo, B.S.X., Basri, M., Zakaria, M.R.S., Salleh, A.B., Rahman, R.N.Z.R.A. and Rahman, M.B.A., 2010. A potential tocopherol acetate loaded palm oil esters-in-water nanoemulsions for nanocosmeceuticals. *Journal of nanobiotechnology*, 8(1), p.1.

94. Trotta, M., Debernardi, F. and Caputo, O., 2003. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique. *International journal of pharmaceutics*, 257(1), pp.153-160.
95. Üner, M., 2016. Characterization and Imaging of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers. In *Handbook of Nanoparticles* (pp. 117-141). Springer International Publishing.
96. Varshosaz, J., Tabbakhian, M. and Mohammadi, M.Y., 2010. Formulation and optimization of solid lipid nanoparticles of buspirone HCl for enhancement of its oral bioavailability. *Journal of liposome research*, 20(4), pp.286-296.
97. Vivek, K., Reddy, H. and Murthy, R.S., 2007. Investigations of the effect of the lipid matrix on drug entrapment, in vitro release, and physical stability of olanzapine-loaded solid lipid nanoparticles. *AAPS PharmSciTech*, 8(4), pp.16-24.
98. von Staszewski, M., Ruiz-Henestrosa, V.M.P. and Pilosof, A.M., 2014. Green tea polyphenols- β -lactoglobulin nanocomplexes: Interfacial behavior, emulsification and oxidation stability of fish oil. *Food Hydrocolloids*, 35, pp.505-511.
99. Warren, A., Benseler, V., Cogger, V.C., Bertolino, P. and Le Couteur, D.G., 2011. The impact of poloxamer 407 on the ultrastructure of the liver and evidence for clearance by extensive endothelial and Kupffer Cell endocytosis. *Toxicologic pathology*, 39(2), pp.390-397.
100. Weiss, J., Decker, E.A., McClements, D.J., Kristbergsson, K., Helgason, T. and Awad, T., 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*, 3(2), pp.146-154.
101. Wissing, S.A., Kayser, O. and Müller, R.H., 2004. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 56(9), pp.1257-1272.
102. Yang, Y., Corona, A., Schubert, B., Reeder, R. and Henson, M.A., 2014. The effect of oil type on the aggregation stability of nanostructured lipid carriers. *Journal of colloid and interface science*, 418, pp.261-272.
103. Yang, Y., Leser, M.E., Sher, A.A. and McClements, D.J., 2013. Formation and stability of emulsions using a natural small molecule surfactant: Quillaja saponin (Q-Naturale®). *Food Hydrocolloids*, 30(2), pp.589-596.
104. Yuan, Y., Gao, Y., Mao, L. and Zhao, J., 2008. Optimisation of conditions for the preparation of β -carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food Chemistry*, 107(3), pp.1300-1306.
105. Zarroug, Y. and Mejri, J. and Dhawefi, N. and Ali, SBS. and EL Felah, M., 2015. Comparison of chemical composition of two durum wheat (*Triticum durum* L.) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) germ oils, *Ekin J Crop Breed and Gen* 1(1), pp.69-76.
106. Zheng, M., Falkeborg, M., Zheng, Y., Yang, T. and Xu, X., 2013. Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 430, pp.76-84.
107. Zhu, J., Zhuang, P., Luan, L., Sun, Q. and Cao, F., 2015. Preparation and characterization of novel nanocarriers containing krill oil for food application. *Journal of Functional Foods*, 19, pp.902-912.
108. Zhu, Q.Y., Guissi, F., Yang, R.Y., Wang, Q., Wang, K., Chen, D., Han, Z.H., Ma, Y., Zhang, M. and Gu, Y.Q., 2015. Preparation of Deep Sea Fish Oil-Based Nanostructured Lipid Carriers with Enhanced Cellular Uptake. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(12), pp.9539-9547.

پیوست

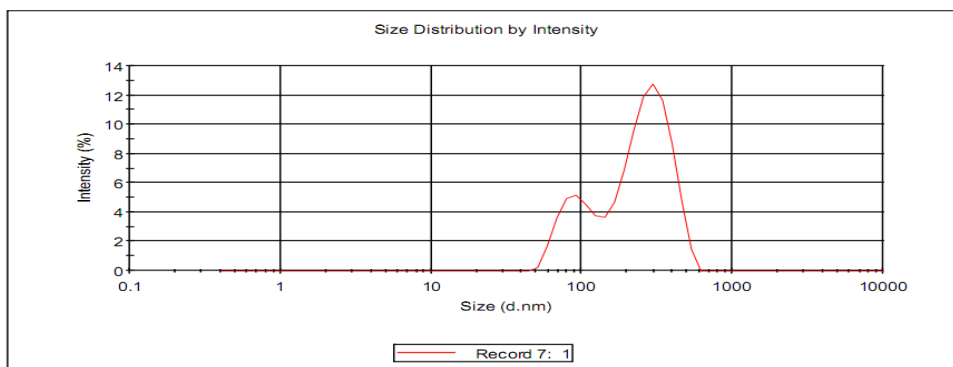


پیوست ۱: کروماتوگرام اسیدهای چرب روغن رویان گندم به روش کروماتوگرافی گازی

مشخصات ظاهری	اندازه ذرات	سدیم دودسیل		روغن			فرمول
		سولفات (SDS)	پرسیرول	پلاکسامر	رویان گندم	آب مقطر	
کدر با حالتی کف مانند	زیر ۱۰۰ نانومتر	۰/۶ g	۰/۲۶ g	-	۰/۱۴g	۹۹ g	NLC(SDS)(B)
شفاف	زیر ۱۰۰ نانومتر	-	۰/۲۶ g	۰/۴g	۰/۱۴g	۹۹/۲ g	NLC(Polox) (C)
شیری رنگ	زیر ۱۰۰ نانومتر	-	۰/۲۶ g	۰/۶g	۰/۱۴g	۹۹ g	NLC(Polox)(A)
کدر	بالای ۱ میکرومتر	-	-	۰/۴g	۰/۱۴g	۹۹/۴۶	Emulsion(D)

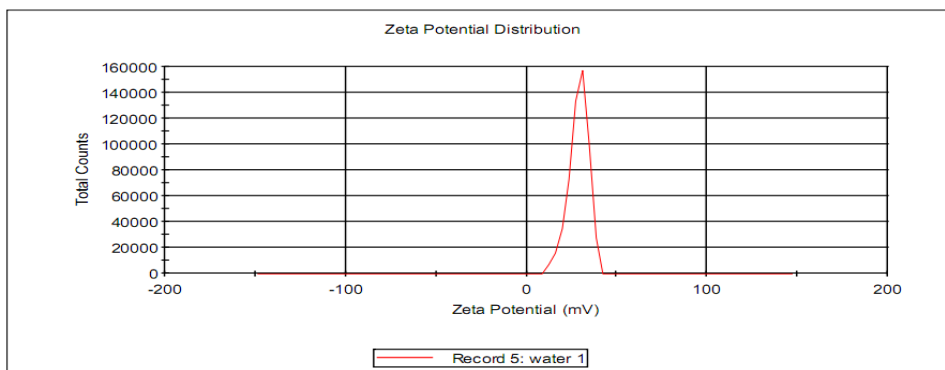
پیوست ۲: درصد مواد تشکیل دهنده فرمولاسیون های مختلف

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 255.1	Peak 1: 288.0	73.3	91.45
PdI: 0.410	Peak 2: 96.94	26.7	25.49
Intercept: 0.943	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality Refer to quality report			



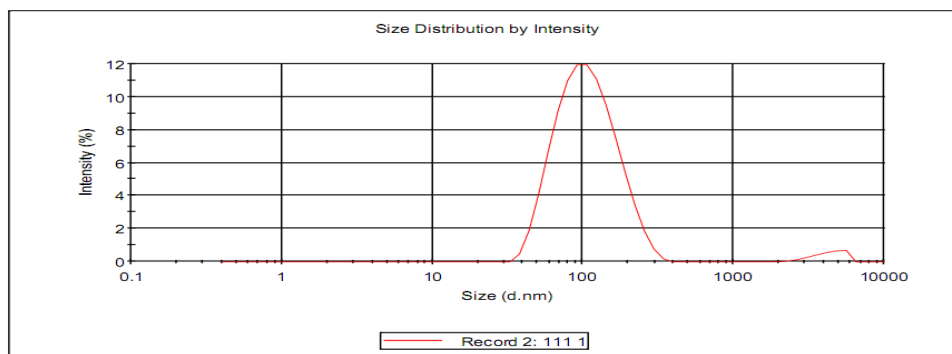
پیوست ۳: پتانسیل زتای فرمول ۱۶

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): 28.8	Peak 1: 28.8	100.0	5.51
Zeta Deviation (mV): 5.51	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.0461	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality Good			



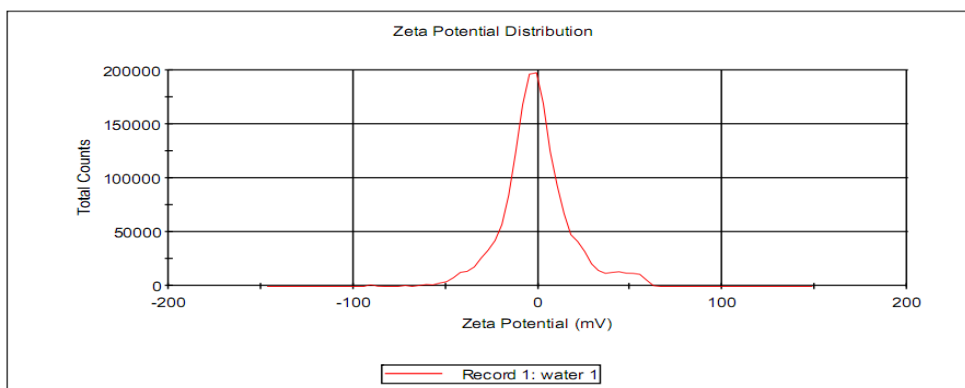
پیوست ۴: اندازه ذرات فرمول ۱۶

	Diam. (nm)	% Intensity	Width (nm)
Z-Average (d.nm): 99.09	Peak 1: 113.9	97.1	51.69
Pdl: 0.209	Peak 2: 4322	2.9	956.2
Intercept: 0.936	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality Good			

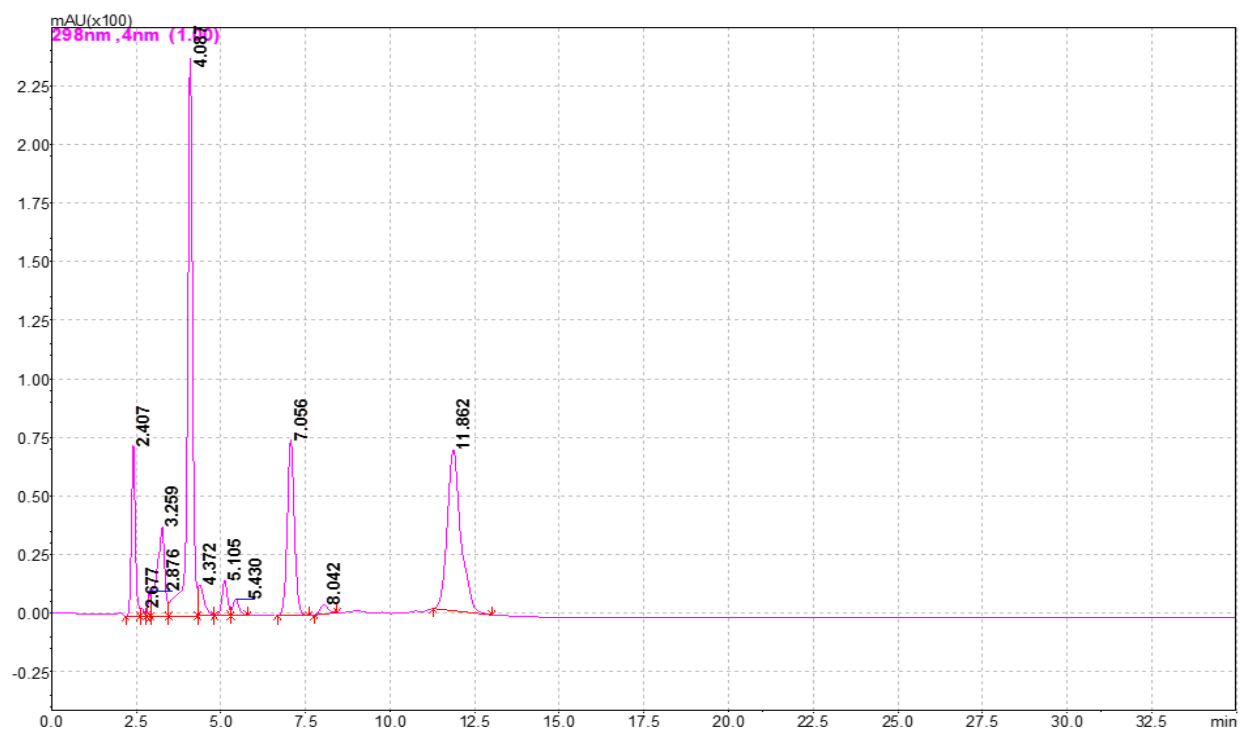


پیوست ۵: اندازه ذرات فرمول ۱۸

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -1.46	Peak 1: -2.60	94.9	15.3
Zeta Deviation (mV): 23.5	Peak 2: 46.7	4.7	7.03
Conductivity (mS/cm): 3.61	Peak 3: -59.7	0.2	2.65
Result quality See result quality report			



پیوست ۶: پتانسیل زتای فرمول ۱۸



پیوست ۷: کروماتوگرام توکوفرول روغن رویان گندم به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

Abstract

Wheat germ oil has the highest tocopherol content among the vegetable oils and the highest levels of polyunsaturated fatty acids of high nutritional value. However, unsaturated fatty acids reduce the oxidative stability of wheat germ oil. The present research aimed to produce nano lipid carriers containing wheat germ oil in order to enhance its oxidative stability. The results showed that the best formula for preparation of nano lipid carrier particles containing wheat germ oil in terms of size is the use of 407 poloxamer emulsifier and precirol solid lipid phase. The 1:1 ratio of poloxamer emulsifier to lipid phase led to the production of particles sized 52.7 nm. Due to non-polarity of the poloxamer emulsifier used in this study, the zeta potential of particles was close to zero. Stability of particles during 15 days of storage at room temperature was very good. Studying the thermal behavior of the formula with the 1:1 ratio of poloxamer emulsifier to lipid phase indicated that the emulsifier, solid phase, and liquid phase were mixed with each other very well and created a new structure. The results obtained from the study of nano lipid carrier's oxidation during 35 days of storage showed that oxidation changes in nano lipid carriers were lower than the changes in the emulsifier. The best formula for oxidative stability was the formulation containing the 2:1 ratio of poloxamer emulsifier to lipid phase. In addition, the amount of peroxide in nano lipid carriers prepared with poloxamer emulsifier at acidic pH was slightly lower than its amount at alkaline pH. Hence, these nano carriers are recommended to be used in acidic formulations.

Keywords: Nano lipid carrier; Wheat germ oil; Oxidative stability



Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

MSc Thesis in Food Science and Technology

**Production and evaluation of oxidative stability Nano Lipid
Carriers (NLC) containing wheat germ oil**

By: Mojgan Mirtalebi

Supervisor:

Dr. Ahmad Rajaei

Advisor:

Dr. Manoochehr Bahmaei

September 2016