

## مقایسه روغن پالم و چربی شیر به عنوان فاز روغنی در انکپسولاسیون کاتچین به روش نانوامولسیون

زیبا جوادزاد<sup>۱</sup>، محمود رضازاد باری<sup>۲\*</sup>، محمد علیزاده خالد آباد<sup>۳</sup>، صابر امیری<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی صبا، ارومیه، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۰۱)

### چکیده

به دلیل استفاده روز افزون روغن پالم در صنعت لبنیات به عنوان افزودنی و همچنین افزایش علاقه مصرف کنندگان به مواد غذایی دارای ارزش آنتی اکسیدانی، از روغن پالم برای به دام انداختن کاتچین چای استفاده گردیده و توان آن در به دام انداختن کاتچین با چربی شیر مقایسه شد. برای این منظور تأثیر نوع فاز روغنی (روغن پالم و چربی شیر)، نسبت‌های متفاوت سورفاکتانت‌های اسپن ۸۰ به لستین (۲-۰/۵) و RPMهای مختلف (۹۰۰-۶۰۰ دور بر دقیقه) جهت انکپسوله نمودن کاتچین به روش خود به خودی بررسی و مقادیر pH، اندیس خامه‌ای شدن، هدایت الکتریکی، بریکس، ضریب شکست، اندازه ذرات و قدرت آنتی اکسیدانی اندازه‌گیری شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش RPM باعث افزایش اندیس خامه‌ای در همه نمونه‌ها، افزایش اندازه ذرات در نانوکپسول‌ها با چربی شیر، افزایش ضریب شکست و فعالیت آنتی اکسیدانی در نانوکپسول‌ها با روغن پالم شد، در حالی که افزایش RPM باعث کاهش اندازه ذرات در نانوکپسول‌ها با روغن پالم گردید. افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین باعث افزایش اندیس خامه‌ای، کاهش pH و هدایت الکتریکی در همه نمونه‌ها شد که این افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین در اندازه ذرات معنی‌دار نبود. بریکس در نانوکپسول‌ها با روغن پالم از نانوکپسول‌ها با چربی شیر بیشتر شد. به طور کلی نانوکپسول روغن پالم حاوی کاتچین تولید شده از روغن پالم در مقایسه با نانوکپسول چربی شیر حاوی کاتچین، دارای ویژگی‌های مناسب‌تری بود.

**کلید واژگان:** کاتچین، نانوامولسیون، روغن پالم، چربی شیر، روش خود به خودی

\* مسئول مکاتبات: m.rezazadehbari@urmia.ac.ir

## ۱- مقدمه

فلاونوئیدها حاصل متابولسیم ثانویه گیاهان می‌باشند که به طور گسترده‌ای در قلمرو گیاهان یافت می‌شوند، این مواد را می‌توان بر اساس ساختار و موقعیت حلقه هتروسیکلیک اکسیژن، به شش گروه فلاوون‌ها، فلاوانون‌ها، ایزوفلاوون‌ها، فلاوونول‌ها، فلاوانول‌ها و آنتوسیانین‌ها تقسیم‌بندی نمود. کاتچین‌ها از گروه فلاونول‌ها می‌باشند که به آن‌ها پروآنتوسیانین یا فلاوان ۳- ال هم گفته می‌شود، در واقع این گروه از فلاونوئیدها عمدتاً شامل کاتچین‌ها می‌باشند. کاتچین‌ها آنتی اکسیدان هستند و دارای اثرات مفیدی در بدن می‌باشند. کاتچین، اپی کاتچین، اپی گالو کاتچین، اپی کاتچین گالات و گالو کاتچین - ۳-گالات شش کاتچین موجود در چای هستند که ویژگی‌های زیستی چای مانند خاصیت ضد اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد جهش‌زایی را مربوط به آن‌ها می‌دانند [۱]. کاتچین‌ها به طور طبیعی در میوه‌جات، سبزیجات و چای وجود دارند و چای سبز، سیاه و اولانگ غنی از کاتچین می‌باشد. منبع اصلی کاتچین مورد استفاده در صنایع غذایی، چای است چرا که به طور گسترده در تمام دنیا در دسترس است و نسبتاً جزء منابع ارزان کاتچین می‌باشد. کاتچین‌ها به واسطه جذب رادیکال‌های آزاد به عنوان آنتی اکسیدان‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شوند. بنابراین می‌توانند در صنایع غذایی با هدف به تأخیر انداختن اکسیداسیون چربی در روغن‌ها و بافت‌های حیوانی عمل کنند و کیفیت مواد غذایی را به عنوان یک جز عملگر بهبود بخشند [۲،۳].

نانوامولسیون‌ها دسته‌ای از امولسیون‌ها هستند که اندازه قطرات آن‌ها بین ۵۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر است و به دلیل پایداری سینتیکی و شفافیت مورد توجه بسیاری از صنایع هستند و هم‌چنین در مقابل رسوب شدن و خامه‌ای شدن پایداری و مقاومت لازم را دارند [۴].

نانوامولسیون‌ها سیستم‌های تحویل بهینه هستند زیرا:

- ۱) می‌توان آن‌ها را با همه مواد تشکیل دهنده طبیعی با ایجاد حداقل تأثیر بر خواص حسی مواد غذایی فرموله کرد.
- ۲) آن‌ها قادر به حفظ ترکیبات زیست فعال مشابه شکل طبیعی-شان هنگامی که در شرایط مختلف ذخیره‌سازی قرار می‌گیرند، هستند.

۳) دسترسی زیستی مواد به محض مصرف، به دلیل اندازه ذرات کوچکتر و افزایش حلالیت افزایش می‌یابد [۵].

روش‌های تولید نانوامولسیون‌ها را می‌توان به دو دسته کم انرژی و پر انرژی تقسیم کرد. در روش‌های پر انرژی از تجهیزات مکانیکی مانند میکروفولویزرها و هموژنایزهای فشار بالا برای تولید نانوامولسیون‌ها استفاده می‌شود، در حالی‌که روش‌های کم انرژی به شدت وابسته به کنترل پدیده‌های بین سطحی و برگشت فاز هستند. مهم‌ترین روش‌های کم انرژی شامل روش خود به خودی، معکوس شدن فاز با تغییر دما، معکوس شدن فاز با تغییر ترکیب و روش استفاده از نقطه برگشت امولسیون هستند [۶، ۷]. در پژوهشی محققان تأثیر آنتی اکسیدانی کوئرستین و کاتچین انکپسوله شده در داخل نانوذرات پلی‌مری (PLGA) را بررسی کردند. نتایج بدست آمده از این مطالعه به طراحی و ساخت نانو ذرات پلیمری به عنوان سیستم تحویل دهانی برای انکپسولاسیون، حفاظت و کنترل رهاسازی فلاونوئیدها برای جلوگیری از تنش ناشی از اکسیداسیون در بدن انسان یا مواد غذایی کمک خواهد کرد [۸]. در پژوهشی دیگر کاتچین را از چای سبز بدون کافئین استخراج کردند و برای تولید نانوامولسیون با استفاده از روغن پالم و روغن آفتابگردان بر پایه سیستم حامل چربی آن را انکپسوله کردند که حداکثر بازده در ۹۰ درجه سانتیگراد و زمان ۸۰ دقیقه مشاهده شد. نتایج نشان داد که امولسیفیه کردن عصاره چای سبز در روغن‌های پالم و آفتابگردان بیشترین پایداری را در سورفاکتانت توئین ۸۰ و در روغن آفتابگردان داشت. این مطالعه بهترین فرمولاسیون پایدار را ارائه می‌دهد که در زمینه نوتراسویتکال‌ها (مواد غذا- دارو) مفید می‌باشد [۹]. کایلاکو و همکاران (۲۰۱۳) فرمولاسیون کاتچین انکپسوله شده با کیتوزان به عنوان ماده انکپسوله کننده را جهت تعیین بازده بهترین محلول مورد بررسی قرار دادند. نانوذرات کاتچین با بهترین اندازه یعنی ۱۳۷/۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. بر اساس مقدار کاتچین آنالیز شده، کاتچین انکپسوله شده حاوی ۱۶/۸٪ کاتچین و ppm ۲۲۳/۷۵ فعالیت آنتی اکسیدانی بود. کاتچین انکپسوله شده دارای توپوگرافی سطحی ذرات، ساختار ذرات داخلی و پایداری امولسیون خوبی بود [۱۰]. در اکثر پژوهش‌هایی که اخیراً برای

اضافه شد. پس از اتمام ریختن فاز روغنی، اجازه داده شد تا سیستم به منظور رسیدن به حالت تعادل به مدت ۶ ساعت در RPM های مختلف در دمای محیط هم‌زده شود [۹، ۱۲، ۱۳].

### ۲-۲-۲- اندازه‌گیری pH

یک روز بعد از تولید pH با pH سنج دیجیتال (Metrohm 827 pH lab، سوئیس) که با بافرهایی با pH ۴ و ۷ کالیبره شده بود در دمای محیط مورد اندازه‌گیری قرار گرفت [۹].

### ۲-۲-۳- اندیس خامه‌ای شدن

ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه تازه تولید شده را به یک لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری درب‌دار منتقل نموده و سپس درب آن بسته شد. در ادامه نمونه امولسیون به دو لایه، یک لایه روایی (خامه) و لایه پایینی (سرم) تقسیم گردید. اندیس خامه‌ای شدن با استفاده از فرمول زیر تعیین می‌شود:

$$CI = \left( (V_t - V_s) / V_t \right) \times 100$$

که در اینجا:  $V_s$  حجم کل نمونه و  $V_t$  حجم سرم می‌باشد. مقدار اندیس خامه‌ای شدن هرچه به صد نزدیک‌تر باشد نشان دهنده بالا بودن پایداری و ثبات امولسیون می‌باشد. اندیس خامه‌ای شدن یک ارزیابی غیر مستقیم درباره میزان تجمع قطرات ارائه می‌دهد [۹].

### ۲-۲-۴- اندازه‌گیری هدایت الکتریکی

همه نمونه‌ها ۲۴ ساعت بعد از تولید با هدایت سنج الکتریکی دیجیتال (Mod 8306، ایتالیا) در دمای محیط اندازه‌گیری شد [۹].

### ۲-۲-۵- اندازه‌گیری بریکس و اندیس ضریب شکست

کل مواد جامد محلول و ضریب شکست نمونه‌ها بعد از ۲۴ ساعت از تولید نمونه‌ها با دستگاه رفرکتومتر رومی (JENUS، ژاپن) که با آب مقطر کالیبره شده بود در دمای محیط اندازه‌گیری و گزارش شد [۱۴، ۹].

### ۲-۲-۶- اندازه‌گیری قطر قطرات و پراکنش آن‌ها

برای اندازه‌گیری اندازه ذرات و توزیع آن‌ها در دمای محیط از دستگاه اندازه‌گیری ذرات (2101-Shimadzu, SALD)، ژاپن) استفاده شد. نمونه‌ها در سل دستگاه تا خط نشانه ریخته

تولید نانوامولسیون، در هر دو نوع روش کم انرژی و پر انرژی صورت گرفته است، از حلال‌های صنعتی برای تولید و نیز کوچکتر نمودن قطر قطرات، استفاده شده است که این مسأله، کاربرد آن‌ها را در صنعت غذا محدود می‌کند. در تولید نانوامولسیون با روش‌های کم انرژی، از غلظت‌های بالای سورفاکتانت استفاده می‌شود به علاوه اکثر سورفاکتانت‌های مورد استفاده کاربرد خوراکی ندارند [۱۱]. با توجه به استفاده روز افزون روغن پالم در صنعت لبنیات به عنوان افزودنی، از این رو هدف اولیه پژوهش حاضر مقایسه نانوکپسول‌های تولیدی به روش امولسیون با استفاده از روغن پالم و چربی شیر جهت به دام اندازی کاتچین می‌باشد. هم‌چنین هدف ثانویه این پژوهش بررسی اثر شرایط تولید مانند RPM بر روی فرایند امولسیفیکاسیون و نیز نسبت امولسیفایر اولیه به امولسیفایر ثانویه بر ویژگی‌های نانوکپسول‌های تولیدی به روش امولسیون است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

کاتچین و لستین تخم مرغ از شرکت سیگما آلد ریچ آمریکا، روغن پالم از شرکت سانس لب آمریکا، اسپن ۸۰ از شرکت دانه جانگ کره جنوبی، پودر DPPH و متانول از شرکت مرک آلمان و چربی شیر گاو (ساری یاغ) به صورت محلی تهیه گردید.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- روش تولید نانوامولسیون

ابتدا از کاتچین، محلول کاتچین ۵۰۰ppm در آب مقطر تهیه شد. همه فرمولاسیون‌ها حاوی ۱/۰٪ محلول کاتچین ۵۰۰ppm، ۱/۵٪ لستین تخم مرغ و اسپن ۸۰ (اسپن ۸۰ به عنوان سورفاکتانت اصلی و لستین به عنوان سورفاکتانت ثانویه استفاده شد) با نسبت‌های مختلف (1/1، 0/5/1، 1/0/5)، ۹٪ فاز روغنی شامل چربی شیر یا روغن پالم و ۸۹/۴٪ آب بودند. محلول کاتچین به فاز آبی اضافه شد و سپس اسپن ۸۰، قطره قطره همراه با هم زدن به فاز آبی اضافه گردید. فاز روغنی (چربی شیر یا روغن پالم) و لستین در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد با هم مخلوط شدند و بر روی هات پلیت مگنت دار، قطره قطره به فاز آبی

رنگ DPPH در ابتدا بنفش است و پس از اضافه شدن نمونه به آن بر اساس میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی از صورتی کم رنگ تا زرد تغییر می‌کند [۱۶].

### ۲-۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش یک فاکتور اسمی (نوع فاز روغنی) و دو فاکتور عددی RPM و نسبت اسپن به لستین، هر کدام در سه سطح، با به کارگیری طرح آماری سطح پاسخ مورد ارزیابی قرار گرفت. در این طرح ۲۰ نمونه همراه با ۴ نقطه مرکزی در طرح جهت برآورد عدم تطابق و تکرارپذیری در نظر گرفته شد. پس از انجام آزمایشات و گردآوری اطلاعات برای آزمون معنی‌داری فاکتورها و اثرات متقابل آن‌ها از روش تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) و توزیع فیشر استفاده و سطح معنی‌داری  $\alpha = 0.05$  در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از نرم افزار SAS نسخه 9.3 استفاده گردید.

### ۳- یافته‌ها

پس از انجام آزمون‌ها و ثبت داده‌ها، داده‌ها مورد آنالیز واریانس و رگرسیون قرار گرفتند. سطح معنی‌دار  $P < 0.05$  برای قضاوت در مورد مؤثر بودن یا نبودن فاکتورها و مدل‌ها در نظر گرفته شد. در بیان نتایج: A: Span80/ Lecithin, B: RPM و C: نوع چربی می‌باشد.

### ۳-۱- PH

با کاربرد مدل زیر می‌توان به رابطه بین عدد اسپان و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$pH = 5.48 - 0.16 \times A - 0.28 \times C$$

$$R^2 = 0.5625$$

نتایج آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشان می‌دهد که تاثیر نسبت اسپن ۸۰ به لستین و نوع چربی استفاده شده در تولید نانوامولسیون در میزان pH در سطح معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بوده و RPM در سطح معنی‌داری ( $p > 0.05$ ) نبوده است. ضریب تبیین ۰/۵۶ نشان دهنده قدرت پایین مدل است، به طوری که ۵۶٪ تغییرات را با متغیرهای موجود پوشش داده و در حدود ۴۴٪ را نمی‌تواند پوشش دهد. با توجه به شکل ۱- A که تاثیر نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM را در چربی شیر نشان می‌دهد در مقدار ثابت

شدند و جهت سیرکولاسیون نمونه در سل، پمپ آن روشن گردید و اندازه ذرات تولید شده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج با نرم افزار WingSALD-2101 استخراج گردید. در نهایت قطر قطرات براساس قطر حجمی متوسط توسط دستگاه محاسبه و گزارش شد. محاسبه عدد اسپان یکی از روش‌های رایج برای بیان پهنای توزیع اندازه ذرات و شاخص یکنواختی قطر قطرات می‌باشد. پایین بودن این شاخص نشان دهنده توزیع یکنواخت و بالا بودن آن بیانگر عدم یکنواختی در توزیع اندازه ذرات است [۱۵]. برای محاسبه اندیس پراکنش قطرات از رابطه زیر استفاده می‌شود:

$$Span = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)}$$

در این رابطه

D(90%) قطری که حجم قطرات کوچکتر از آن، ۹۰٪ حجم کل قطرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد  
D(10%) قطری که حجم قطرات کوچکتر از آن، ۱۰٪ حجم کل قطرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد  
D(50%) قطری که حجم قطرات کوچکتر از آن، ۵۰٪ حجم کل قطرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد  
می‌باشد [۱۳].

### ۲-۲-۷- تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH در متانول استفاده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار به لوله آزمایش ریخته شده و روی آن ۱۰۰ میکرولیتر نمونه اضافه گردید و پس از ورتکس نمودن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه و در تاریکی نگهداری شدند. در نهایت میزان جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Unico, UV-2100، آمریکا) در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در هر محلول با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$A_1 = \frac{(A - A_0)}{A_0} \times 100$$

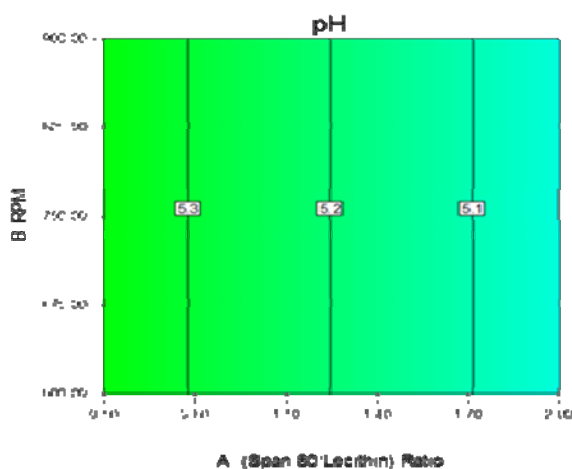
A<sub>1</sub>: درصد مهار اکسیداسیون

A<sub>0</sub>: جذب محلول حاوی مهار کننده ی اکسیداسیون

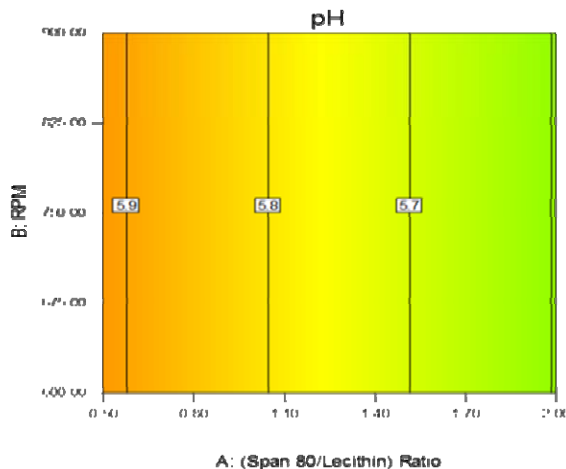
A: جذب محلول کنترل که در آن هیچ ترکیب مورد آزمایش وجود ندارد

RPM با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین، pH کاهش می‌یابد، با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین، افزایش RPM تأثیری بر مقدار pH نداشت.

RPM با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین، pH کاهش می‌یابد. با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین، افزایش RPM تأثیری بر مقدار pH نداشت. در شکل B-۱ که تأثیر نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM را در روغن پالم نشان می‌دهد در مقدار ثابت



(A)

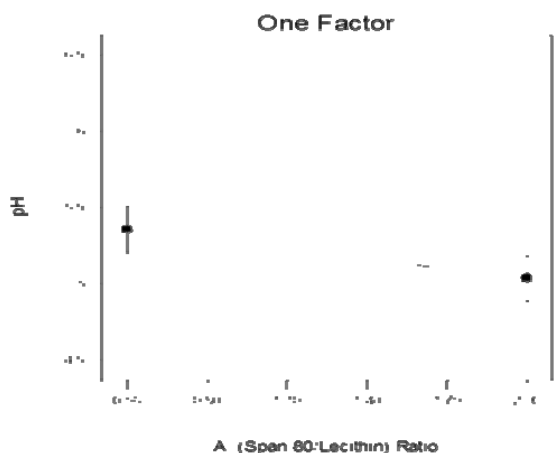


(B)

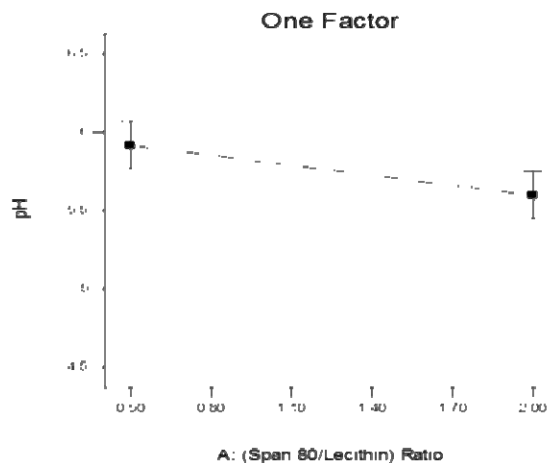
Fig1 Effect of Span80 to lecithin ratio and RPM on pH (A: Milk fat, B: Palm oil)

[۱۷]. مرحمتی‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی اثر افزودن عصاره چای سبز بر ماست و شیر در طی ۲۱ روز مشاهده کردند که pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت، هم‌چنین مشاهده کردند که هرچه غلظت عصاره چای سبز افزایش یابد اسیدیته هم افزایش می‌یابد [۱۸]. لجگو و همکاران در سال ۲۰۱۱ به این نتیجه رسیدند که pH ماست‌های دارای چای سبز نسبت به ماست‌های فاقد آن کاهش پیدا می‌کند [۱۹].

شکل A-۲ و B-۲ که تأثیر نسبت اسپن ۸۰ به لستین بر pH را در نانوامولسیون‌های چربی شیر و روغن پالم نشان می‌دهد با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین، pH به طور جزئی کاهش می‌یابد. مقدار pH در روغن پالم از چربی شیر بیشتر است. احتمالاً علت کاهش pH را می‌توان به علت وجود اسیدهای فرار دانست. در محیط اسیدی ( $pH < 4$ ) کاتچین پایداری استثنایی از خود نشان می‌دهد و در محیط بازی ( $pH > 8$ ) ناپایدار می‌باشد



(A)



(B)

Fig2 Effect of span80 to lecithin ratio on pH (A: Milk fat, B: Palm oil)

دهد که با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM، اندیس خامه‌ای شدن افزایش می‌یابد. دلیل این امر می‌تواند تاثیر افزایش RPM بر کاهش اندازه قطرات باشد. در واقع هرچه قطر اندازه قطرات در امولسیون بزرگ‌تر باشد، بیشتر به هم برخورد کرده و به سمت دو فاز شدن حرکت می‌کنند. از طرفی نیروی گرانش می‌تواند نقش بیشتری در جدا شدن فازها از یکدیگر ایفا کند و در صورتی که فاز گسسته سبک‌تر از فاز پیوسته باشد، به صورت لایه خامه روی سطح امولسیون تجمع می‌یابد و اگر سنگین‌تر باشد، در امولسیون ته‌نشین می‌شود. پیامد هر یک از حالات فوق، کاهش پراکندگی قطرات فاز گسسته در فاز پیوسته و تشکیل لایه‌های خامه‌ای می‌باشد [۲۰]. لذا هرچه قدر بتوانیم اندازه قطرات را کوچک‌تر کنیم، می‌توانیم پایداری در امولسیون را افزایش دهیم و این امر در نتایج بدست آمده نیز مشهود است.

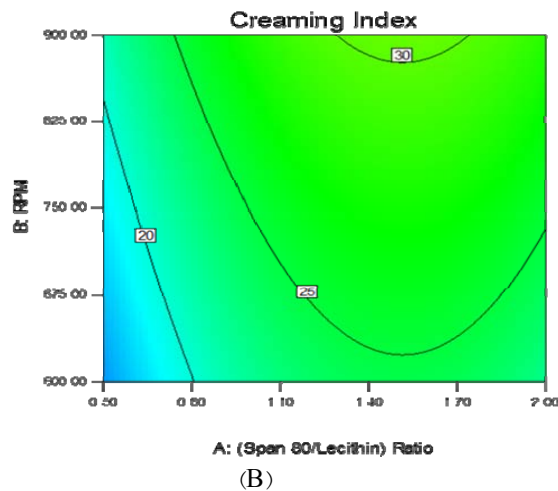
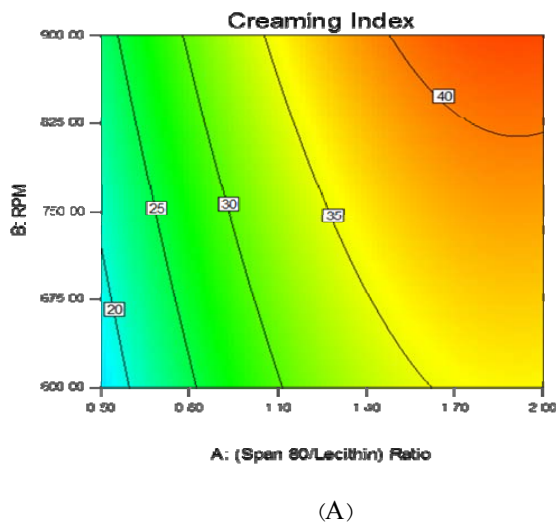


Fig3 Effect of span 80 to lecithin on creaming Index (A: Milk fat, B: Palm oil)

اسپن ۸۰ به لستین و نوع چربی (AC) و اثر  $A^2$  بر هدایت الکتریکی است. شکل ۴-A و B که تاثیر نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM را بر هدایت الکتریکی در چربی شیر و روغن پالم نشان می‌دهد در مقدار ثابت RPM، با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین، هدایت الکتریکی کاهش می‌یابد. افزایش RPM تأثیری بر هدایت الکتریکی نداشته است. معمولاً نوع امولسیون را می‌توان از روی فاز پیوسته آن تعیین کرد. از آنجایی که هدایت الکتریکی آب

### ۳-۲- اندیس خامه‌ای شدن

با کاربرد مدل زیر می‌توان به رابطه اندیس خامه‌ای شدن و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$\text{Creaming Index} = 30.81 + 6.32 \times A + 2.97 \times B + 3.94 \times C + 2.71 \times AC - 5.12 \times A^2$$

$$R^2 = 0.8165$$

نتایج آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشان دهنده معنی‌دار بودن نسبت اسپن ۸۰ به لستین، نوع چربی، RPM، اثر متقابل نسبت اسپن ۸۰ به لستین و نوع چربی (AC) و اثر  $A^2$  در سطح  $P < 0.05$  بر اندیس خامه‌ای شدن است. با توجه به شکل ۳-A که تأثیر متقابل نسبت اسپن ۸۰ به لستین را در چربی شیر نشان می‌دهد، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM، اندیس خامه‌ای شدن افزایش می‌یابد. شکل ۳-B نیز تأثیر متقابل نسبت اسپن ۸۰ به لستین را در روغن پالم نشان می‌-

### ۳-۳- هدایت الکتریکی

با کاربرد مدل زیر می‌توان به رابطه بین هدایت الکتریکی و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$\text{Conductivity} = 234.37 - 59.15 \times A + 3.93 \times B + 5.88 \times C + 21.81 \times AC + 14.11 \times A^2$$

$$R^2 = 0.9874$$

نتایج آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشان دهنده معنی‌دار بودن نسبت اسپن ۸۰ به لستین، نوع فاز روغنی، RPM، اثر متقابل نسبت

رو کاهش هدایت الکتریکی به معنای تشکیل امولسیون روغن در آب بوده و عدم تغییر هدایت الکتریکی نشان دهنده ایجاد امولسیون آب در روغن است [۲۱].

بوژه به واسطه انحلال انواع مختلف الکترولیت‌ها در آن ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از روغن است، از این شاخص برای تعیین فاز پیوسته امولسیون استفاده می‌شود. غالباً هدایت الکتریکی فاز روغنی در مقایسه با فاز آبی صفر در نظر گرفته می‌شود. از این

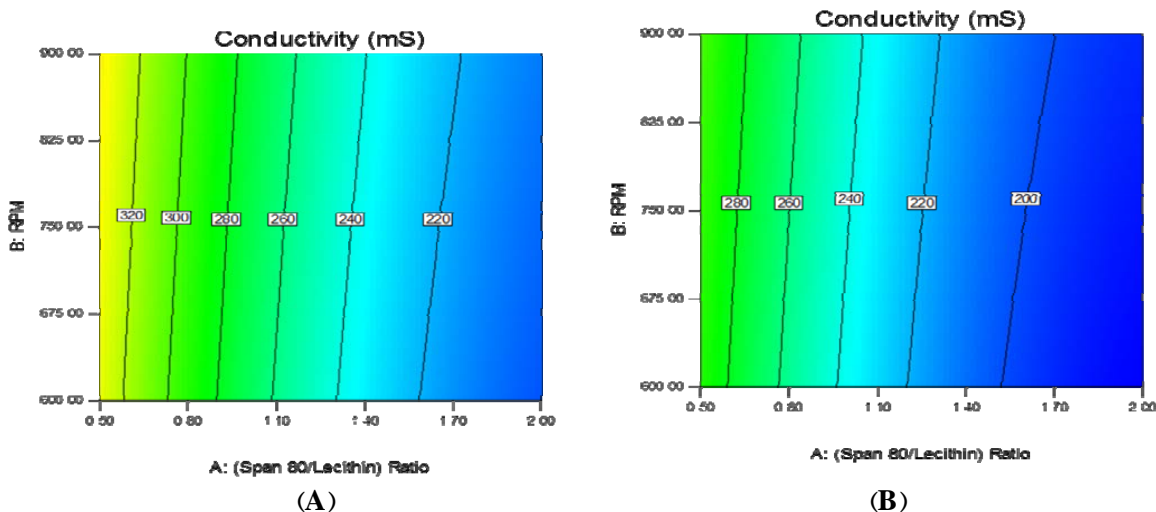


Fig4 Effect of Span80 to Lecithin ratio on electrical conductivity (A: Milk fat, B: Palm oil)

### ۳-۴- بریکس و ضریب شکست

با کاربرد مدل زیر می‌توان به رابطه بین بریکس و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$\text{Brix} = 1.57 - 0.92 \times C$$

$$R^2 = 0.8349$$

جدول آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشان دهنده معنی‌دار بودن فاکتور نوع روغن بر بریکس است و نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM در سطح معنی‌داری ( $p > 0.05$ ) نبوده است. شکل ۵ که تأثیر نوع فاز روغنی بر بریکس را نشان می‌دهد با تغییر نوع فاز روغنی بریکس تغییر می‌کند که میانگین بریکس در نانوکپسول‌ها با روغن پالم  $2/5^\circ\text{B}$  و در نانوکپسول‌ها با چربی شیر  $0/75^\circ\text{B}$  می‌باشد. با کاهش اندازه ذرات ویسکوزیته افزایش می‌یابد، هم-چنین بریکس به ویسکوزیته و غلظت وابسته است. اندازه ذرات در نانوامولسیون روغن پالم نسبت به نانوامولسیون چربی شیر کوچکتر می‌باشد در نتیجه ویسکوزیته و بریکس افزایش می‌یابد [۲۲].

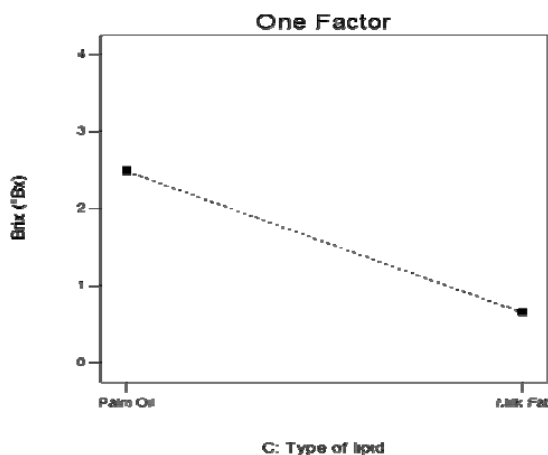


Fig 5 Effect of lipids type on Brix

با کاربرد مدل زیر می‌توان به رابطه بین ضریب شکست و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$\text{Refractive Index} = 1.34 - 1.31 \times 10^{-3} C$$

$$R^2 = 0.8163$$

ضریب تبیین ۰/۵۷ نشان دهنده قدرت پایین مدل است، به طوری که ۵۷٪ تغییرات را با متغیرهای موجود پوشش داده و در حدود ۴۳٪ را نمی‌تواند پوشش دهد. نتایج تأثیر RPM و نسبت اسپن ۸۰ به لستین بر اندازه ذرات در چربی شیر در شکل ۷-A نشان می‌دهد که کمترین مقدار عددی اسپان در RPM ۶۰۰ و بیشترین نسبت اسپن ۸۰ به لستین بدست آمده است. با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین و افزایش RPM تا ۹۰۰، بیشترین مقدار عدد اسپان بدست آمد. با توجه به شکل ۷-B که تأثیر RPM و نسبت اسپن ۸۰ به لستین را بر اندازه ذرات در روغن پالم نشان می‌دهد، حاکی از آن است که با افزایش RPM تا ۶۷۵ و افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین تا ۱/۱ مقدار عدد اسپان در بیشترین مقدار می‌باشد. با افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین و افزایش RPM مقدار عدد ثابت است. میانگین قطر ذرات تا حد زیادی به نوع روغن در فاز آلی بستگی دارد. روغن‌ها و چربی‌ها بخش بزرگی از رژیم‌های غذایی را تشکیل می‌دهند. چربی‌های حیوانی به دلیل داشتن اسیدهای چرب اشباع و کلسترول باعث افزایش احتمال بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شوند و همین امر باعث شده است که استفاده از این نوع چربی‌ها روز به روز کاهش یابد و روغن‌های گیاهی جایگزین آن‌ها گردند [۲۳]. روغن پالم غنی از اسید لوریک می‌باشد و کاتچین سریع در اسید لوریک حل می‌شود [۲۴]. کوچکترین ذرات به ترتیب با استفاده از تری گلیسیریدها با زنجیر متوسط، روغن‌های اسانس‌ی<sup>۲</sup> مثل لیمو و پرتقال و تری گلیسیریدها با زنجیر طولانی تولید می‌شوند [۲۵]. با افزایش RPM، اندازه قطرات نانوامولسیون به طور معنی‌داری کاهش یافت. دلیل این امر را می‌توان این گونه توجیه کرد که افزایش دور چرخشی موجب افزایش دانسیته انرژی و نیروی وارد شده بر سیستم می‌گردد که منجر به شکسته شدن ذرات به اندازه‌های کوچکتر می‌شود [۲۶، ۲۷]. نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات سایر محققین هم‌خوانی داشت.

جدول آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشان دهنده معنی‌دار بودن فاکتور نوع روغن بر ضریب شکست می‌باشد و نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM در سطح معنی‌داری ( $p > 0.05$ ) نمی‌باشد. شکل ۶ اثر متقابل RPM و نوع چربی را بر ضریب شکست نشان می‌دهد با افزایش RPM از ۶۰۰ به ۹۰۰ ضریب شکست در نانوامولسیون روغن پالم افزایش یافته ولی در نانوامولسیون چربی شیر تغییری مشاهده نمی‌شود. رابطه بین ضریب شکست و غلظت یک رابطه خطی است، با افزایش بریکس ضریب شکست نیز افزایش می‌یابد.

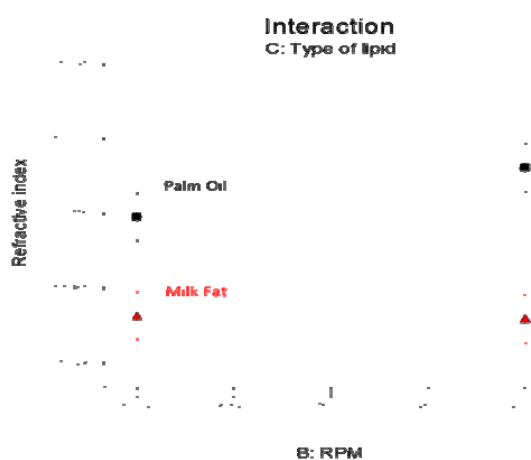


Fig 6 The interaction of RPM and type of lipids on Refractive index

### ۳-۵- تعیین اندازه ذرات

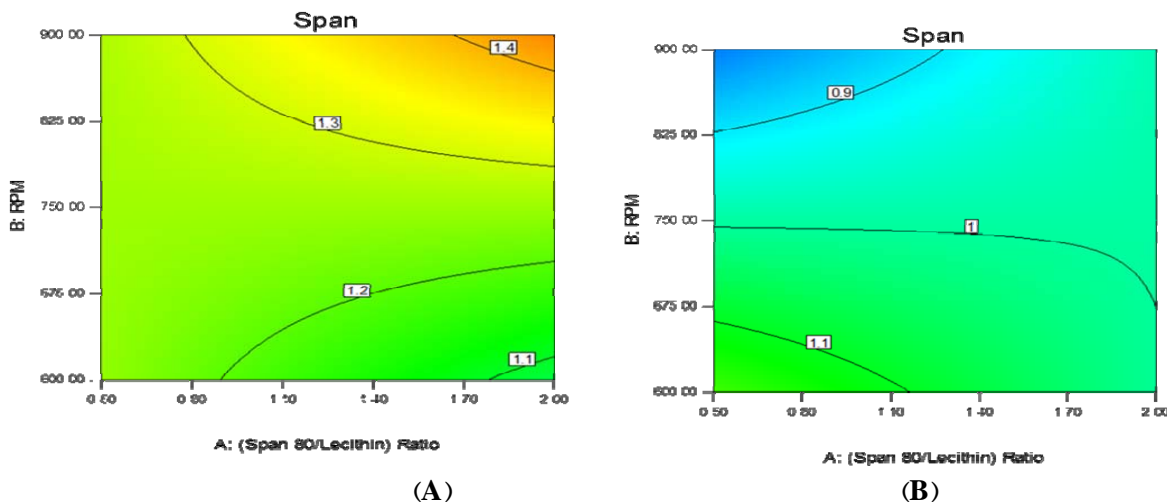
با کاربرد مدل زیر می‌توان به رابطه بین عدد اسپان و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$\text{Span} = 1.13 + 0.13 \times C + 0.084 \times AB + 0.097 \times BC$$

$$R^2 = 0.5784$$

نتایج حاصل از آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشانه معنی‌دار بودن فاکتور نوع روغن، اثر متقابل نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM (AB) و اثر متقابل RPM و نوع چربی (BC) بر اندازه ذرات است و نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM معنی‌دار نمی‌باشد.





**Fig 7** Effect of Span80 to Lecithin ratio and RPM on Span (A: Milk fat, B: Palm oil)

(.۴۴)، توکوفرول (.۲۲) و دلتا-توکوترینول (.۱۲) می باشد که نقش خاموش کننده رادیکال ها را در بدن ایفا می کند و به خاطر خاصیت آنتی اکسیدانی که دارد باعث پایداری روغن پالم می شود [۲۸].

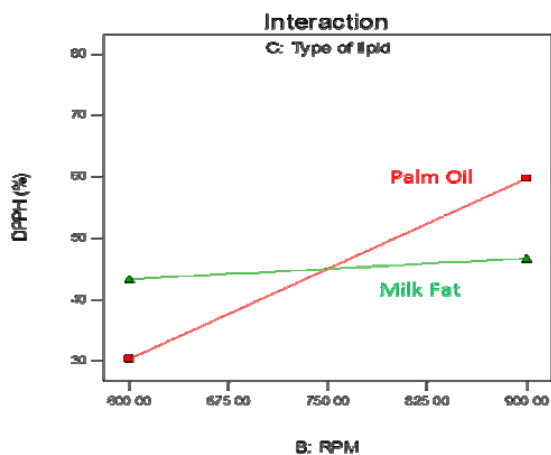
### ۳-۶- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

با کاربرد مدل زیر می توان به رابطه بین فعالیت آنتی اکسیدانی و فاکتورهای مورد مطالعه پی برد.

$$* AB 6.51 * B 8.62 * DPPH = 45.08 + 8.17 BC$$

$$R^2 = 0.7052$$

نتایج حاصل از جدول آنالیز واریانس (شکل ۱۰) نشانه معنی دار بودن RPM، اثر متقابل نسبت اسپن ۸۰ به لستین و RPM (AB) و اثر متقابل RPM و نوع چربی (BC) بر فاکتور فعالیت آنتی اکسیدانی است که نسبت اسپن ۸۰ به لستین و نوع چربی در سطح ۰/۰۵ معنی دار نمی باشد. شکل ۸ که تأثیر متقابل RPM و نوع فاز روغنی را بر قدرت آنتی اکسیدانی نشان می دهد، با افزایش RPM قدرت آنتی اکسیدانی در روغن پالم افزایش می یابد ولی بر روی چربی شیر تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود. روغن پالم خام حاوی ۶۰۰-۱۰۰۰ ppm و روغن پالم تصفیه شده ۳۵۰-۴۵۰ ppm توکوفرول و توکوترینول می باشد. ایزومرهای عمده ویتامین E در روغن پالم، گاما-توکوترینول



**Fig 8** The Interaction of RPM and type of lipids on antioxidant activity

**Fig 10** Analysis of variance table (A: pH, B: Creaming index, C: Electrical conductivity, D: Brix, E: Refractive index, F: Span, G: Antioxidant activity)

A	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	2.27	2	1.14	13.5	0.0002	Significant
	A-(S/L) Ratio	0.41	1	0.41	4.85	0.0389	
	C-Type of lipid	1.86	1	1.86	22.15	0.0001	
	Residual	1.77	21	0.084			
	Lack of Fit	1.53	15	0.1	2.6	0.1229	Not significant
	Pure Error	0.24	6	0.039			
	Cor Total	4.04	23				

R-Squared: 0.56

Adj R-squared: 0.52

B	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	1605.04	5	321.01	15.13	<0.0001	Significant
	A-(S/L) Ratio	587.64	1	587.64	27.7	<0.0001	
	B-RPM	130.03	1	130.03	6.13	0.0241	
	C-Type of lipid	352.3	1	352.3	16.61	0.0008	
	AC	108.39	1	108.39	5.11	0.0372	
	A <sup>2</sup>	345.96	1	345.96	16.31	0.0009	
	Residual	360.61	17	21.21			
	Lack of Fit	259.11	11	23.56	1.39	0.3564	Not significant
	Pure Error	101.5	6	16.92			
	Cor Total	1965.65	22				
R-Squared: 0.82				Adj R-squared: 0.76			

C	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	59381.45	5	11876.29	265.73	<0.0001	Significant
	A-(S/L) Ratio	51510.02	1	51510.02	1152.52	<0.0001	
	B-RPM	227.36	1	227.36	5.09	0.0376	
	C-Type of lipid	4519.94	1	4519.94	101.13	<0.0001	
	AC	508.9	1	508.9	11.39	0.0036	
	A <sup>2</sup>	6267.65	1	6267.65	140.24	<0.0001	
	Residual	7.60E+02	17	4.47E+01			
	Lack of Fit	7.08E+02	11	6.44E+01	7.46	0.0112	Significant
	Pure Error	5.18E+01	6	8.63E+00			
	Cor Total	6.01E+04	22				
R-Squared: 0.99				Adj R-squared: 0.98			

D	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	19.36	1	19.36	106.17	<0.0001	Significant
	C-Type of lipid	19.36	1	19.36	106.17	<0.0001	
	Residual	3.83	21	0.18			
	Lack of Fit	3.24	15	0.22	2.22	0.1659	Not significant
	Pure Error	0.58	6	0.097			
	Cor Total	23.19	22				
R-Squared: 0.83				Adj R-squared: 0.83			

E	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	3.92E-05	1	3.92E-05	100.33	<0.0001	Significant
	C-Type of lipid	3.92E-05	1	3.92E-05	100.33	<0.0001	
	Residual	8.21E-06	21	3.91E-07			
	Lack of Fit	6.98E-06	15	4.65E-07	2.27	0.1595	Not significant
	Pure Error	1.23E-06	6	2.05E-07			
	Cor Total	4.74E-05	22				
R-Squared: 0.83				Adj R-squared: 0.82			

F	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	0.58	3	0.19	8.23	0.0012	Significant
	C-Type of lipid	0.38	1	0.38	15.94	0.0009	
	AB	0.057	1	0.057	2.42	0.1375	
	BC	1.50E-01	1	1.50E-01	6.34		
	Residual	0.43	18	0.024			
	Lack of Fit	0.23	13	0.018	0.46	0.8824	Not significant
	Pure Error	0.19	5	0.039			
	Cor Total	1.01	21				
R-Squared: 0.58				Adj R-squared: 0.51			

G	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	P-value(Prob >F)	
	Model	1235.16	3	411.72	10.37	0.0009	Significant
	B-RPM	649.88	1	649.88	16.36	0.0014	
	AB	495.2	1	495.2	12.47	0.0037	
	BC	448.89	1	448.89	11.3	0.0051	
	Residual	516.28	13	39.71			
	Lack of Fit	457.95	10	45.8	2.36	0.2603	Not significant
	Pure Error	58.32	3	19.44			
	Cor Total	1751.43	16				

R-Squared: 0.71

Adj R-squared: 0.64

agricultural and food chemistry, 61(37), 8906-8913.

- [5] Sessa, M., Casazza, A. A., Perego, P., Tsao, R., Ferrari, G., Donsì, F. 2013. Exploitation of polyphenolic extracts from grape marc as natural antioxidants by encapsulation in lipid-based nanodelivery systems. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2609-2620.
- [6] Mirmajidi, A., Abbasi, S. 1392. Nanoemulsions, introduction, production, application. *journal Nanotechnology magazine*. No. 193, 8, 45-49.
- [7] Anton, N., Vandamme, T. F. 2009. The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*. 377(1), 142-147.
- [8] Pool, H., Quintanar, D., de Dios Figueroa, J., Mano, C. M., Bechara, J. E. H., Godínez, L. A., Mendoza, S. 2012. Antioxidant effects of quercetin and catechin encapsulated into PLGA nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 86.
- [9] Gadkari, P. V., Balaraman, M. 2015. Catechins: sources, extraction and encapsulation: a review. *Food and Bioproducts Processing*. 93, 122-138.
- [10] Kailaku, S. I., Mulyawanti, I., Alamsyah, A. N. 2013. Formulation of nanoencapsulated catechin with chitosan as encapsulation material. *Procedia chemistry*. 9, 235-241.
- [11] Lee, S. J., McClements, D. J. 2010. Fabrication of protein-stabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution/evaporation approach. *Food Hydrocolloids*, 24(6), 560-569
- [12] Bernardi, D. S., Pereira, T. A., Maciel, N. R., Bortoloto, J., Viera, G. S., Oliveira, G. C., Rocha-Filho, P. A. 2011. Formation and

#### ۴- نتیجه گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش RPM باعث افزایش اندیس خامه‌ای در همه نمونه‌ها، افزایش اندازه ذرات در نانوکپسول‌ها با چربی شیر، افزایش ضریب شکست در نانوکپسول‌ها با روغن پالم و همچنین باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نانوکپسول‌ها با روغن پالم شد در حالی که افزایش RPM باعث کاهش اندازه ذرات در نانوکپسول‌ها با روغن پالم گردید. افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین باعث افزایش اندیس خامه‌ای و کاهش pH و هدایت الکتریکی در همه نمونه‌ها شد که این افزایش نسبت اسپن ۸۰ به لستین در اندازه ذرات معنی‌دار نبود. بریکس در نانوکپسول‌ها با روغن پالم از نانوکپسول‌ها با چربی شیر بیشتر شد.

#### ۵- منابع

- [1] Jiang, Y. 2009. Micro-and nano-encapsulation and controlled-release of phenolic compounds and other food ingredients (Doctoral dissertation, Rutgers University-Graduate School-New Brunswick).
- [2] Belgheisi, S., Aminifar, M., Soltani, R. 2013. Novel applications of catechin in food industry. 21st National Congress of food Science and Technology. Iran. Shiraz.
- [3] Nakao, M., Takio, S., Ono, K. 1998. Alkyl peroxy radical-scavenging activity of catechins. *Phytochemistry*, 49(8), 2379-2382.
- [4] Chang, Y., McLandsborough, L., McClements, D. J. 2013. Physicochemical properties and antimicrobial efficacy of carvacrol nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Journal of*

- yoghurt. *GLOBAL VETERINARIA Journal*. 9(252-257).
- [19] Lejko, M., Sady, M., Grega, T., Walczycka, M. 2011. The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. *International Dairy Journal*. 21(568-574).
- [20] Boom, R. M. 2008. Emulsions: Principles and Preparation. *Food material science*. 1th ed. New York: Springer, pp. 305-339
- [21] Nielloud, F. 2000. *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions: Revised and Expanded*. CRC Press.
- [22] Pal, R. 1998. A novel method to correlate emulsion viscosity data, *Colloid Surf, A: Physicochem. Eng. Aspects* 275-286.
- [23] Bachmann, H. P. 2001. Cheese analogues. *International Dairy Journal*, 11, 505-515.
- [24] Todd Jr, P.H., Kalamazoo Holdings, Inc. 1996. Lipid-soluble green tea catechin antioxidant solutions, U.S. Patent 5, 527,552.
- [25] Nakao, M., Takio, S., Ono, K. 1998. Alkyl peroxy radicals scavenging activity of catechins. *Phytochemistry*, 49(8), 2379-2382.
- [26] Gardouh, A. R., Ghorab, M. M., Abdel-Rahman, S. G. S. 2012. Effect of Viscosity, Method of Preparation and Homogenization Speed on Physical Characteristics of Solid Lipid Nanodroplets. *ARNP Journal of Science and Technology*, 2(10), 966-1006.
- [27] Ostertag, F., Weiss, J., McClements, D.J. 2012. Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion, *J. Colloid Interface Sci*, 388 (1), 95-102.
- [28] Sundram, K., Sambanthamurthi, R., Tan, Y.A. 2003. palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific Journal Clin Nutr*, 12, 355-362.
- stability of oil-in-water nano-emulsions containing rice bran oil: in vitro and in vivo assessments. *Journal of Nanobiotechnology*, 9, 44.
- [13] Niknia, N., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Rezayi Mokarram, R., Mortazaviyan, AM. 2014. Production and Evaluation of Vitamin E based Nanoemulsion by Spontaneous Method. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, Vol. 8, No. 4, 51-65.
- [14] Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badie, F., Mohammad hosseini, Z., Ahmadi, SK., Ghanati, K. 2013. Effect of nano-emulsion coating containing chitosan on storability and qualitative characteristics of strawberries after picking. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, Vol. 8, No. 2.
- [15] Alipour, A., Koocheki, A., Kadkhodae, R., Varidi, M. 2015. The effect of Alyssum homolocarpum seed gum-whey protein concentrate on stability of oil-in-water emulsion. *Iranian Journal of food science and technology*, No. 48, Vol. 12.
- [16] Nori, Sh., Mizani, M., Gerami, A., Forghani, M. 1391. Effect of antioxidants extracted from green tea teabags physical properties of black wrapping and shelf life. *Food Technology & Nutrition*, Vol. 10, No. 1, 29-41.
- [17] Zhu, Q. Y., Zhang, A., Tsang, D., Huang, Y., Chen, Z. Y. 1997. Stability of green tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), 4624-4628.
- [18] Marhamatizadeh, M. H., Jafari, F., Rezazadeh, S. 2012. Effects of dill extract (*Anethum graveolens* L.) on growth and survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in probiotic milk and

## A comparison between palm oil and milk fat used as oil phase in the encapsulation of catechine by nano-emulsion method

Javadzad, Z. <sup>1</sup>, Rezazadeh Bari, M. <sup>2\*</sup>, Alizadeh khaledabad, M. <sup>3</sup> Amiri, S. <sup>4</sup>

1. Graduate Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Saba Institute of Higher Education, Urmia, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
4. PhD student of Food Biotechnology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received: 2017/02/03 Accepted:2017/10/23)

Due to the noticeable use of palm oil as an additive in dairy industry, and the increased interest of consumer in the foods with antioxidant value, the palm oil was used in the entrapment of tea catechin, and its efficiency was compared with that of the milk fat. In the current research, the effect of type of oil phase (palm oil and milk fat), different ratios of span 80 surfactant to lecithin (0.5- 2) and varied RPMs (600-900 rpm) were investigated on the encapsulation of catechin by spontaneous emulsification method, upon which pH, creaming index, electrical conductivity, brix, refractive index, particles size and antioxidant activity were measured. The obtained results showed that an increase in PRM caused to a rise in creaming index in all samples, in particles' size in nano capsules with milk fat, and in refractive index and antioxidants activity in nano capsules with palm oil, while the increased PRM resulted in a decrease in particles' size in nano capsules with palm oil. In addition, increasing the ration of span 80 to lecithin led to increased creaming index and reduced pH and electrical conductivity in all samples, whereas it did not bring about a significant change in particles' size. Surprisingly, the Brix of nano capsules with palm oil was more than that of nano-capsules with milk fat. Generally, the palm oil nano capsules containing catechin produced from palm oil had proper features compared to the milk fat nano capsules containing catechin.

**Keywords:** Catechin, Nanoemulsion, Palm oil, Milk fat, Spontaneous emulsification.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: m.rezazadehbari@urmia.ac.ir