نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۷ شماره ۴/ سال ۱۳۹۶/ صفحات ۱۳۵ تا ۱۴۵

تولید نانوامولسیون حاوی لینولئیک اسیدکونژوگه(CLA) به روش تشکیل خود به خودی و غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با آن

فروغ حسن فامیان[۱] و اکرم پزشکی نجف‌آبادی[۲*]

تاریخ دریافت : ۹۶/۳/۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۱

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد ، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ممقان، دانشگاه آزاد اسلامی، ممقان ، ایران

[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

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

چکیده

درون‌پوشانی ترکیبات آبگریز در انواع سامانه های نانوحامل، روشی مؤثر در غنی‌سازی محصولات کم‌چرب و رهایش هدفمند کنترل‌شده آن‌ها (در مقدار و در مکان معین) است. در این پژوهش به تولید نانوامولسیون حاوی اسید لینولئیک کونژوگه (CLA) با استفاده از روش کم انرژی بر پایه تشکیل خودبه‌خودی امولسیون و در ادامه غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه پرداخته شده است. در تولید نانوامولسیون از نسبت سورفاکتانت (توین ۸۰) به امولسیون (SER) برابر با ۱۵٪ با نسبت سورفاکتانت به فاز روغن (SOR) برابر با ۱۵۰% استفاده شد و اندازه قطرات ۷۷ نانومتر با توزیع پراکندگی ۰/۷۸ بود. تصاویر به‌دست‌آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری، تأییدی بر اندازه ذرات به‌دست‌آمده از دستگاه اندازه‌گیری ذرات بود و اندازه قطرات نانوامولسیون در طی مدت‌زمان نگه‌داری (۹۰ روزه) در مقیاس نانو بود. مقدار پتانسیل زتای نمونه‌ها در طی مدت نگه‌داری خیلی جزئی و نزدیک صفر به‌دست آمد و افزایش زمان تأثیر معنی‌داری در تغییر پتانسیل زتای نمونه‌ها نشان نداد. با درون‌پوشانی CLA در سیستم نانو امولسیون محافظت این ترکیب در برابر اکسیداسیون بیشتر و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون (مالون آلدهیدها) کمتر بود. استفاده از نانوامولسیون بر روی پایداری و حفظ CLA در برابر فرایند حرارتی (پاستوریزاسیون) اثرگذار بود و CLA (۳/۱٪ اسیدهای چرب شیر) اضافه‌شده به شیر کم‌چرب طی مدت نگه‌داری حفظ شد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان از سیستم نانوامولسیون در محافظت بیشتر CLA در برابر اکسیداسیون و حرارت‌دهی جهت غنی‌سازی محصولات کم‌چرب با این ترکیب استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اسیدلینولئیک کونژوگه، نانوامولسیون، شیر کم‌چرب، پاستوریزاسیون

مقدمه

اسید لینولئیک کونژوگه (CLA) به‌عنوان یک اسید چرب ضروری، به گروهی از ایزومرهای اسید لینولئیک (۱۸:۲) اطلاق می‌شود که هر یک از ایزومرهای آن عملکردهای فیزیولوژیکی همچون خواص ضد سرطانی، ضدچاقی، و ضد فشار دارند (ویتنی رولفز، ۲۰۰۷؛ مکدونالد، ۲۰۰۳) . درگذشته CLA در روغن‌های خوراکی دیده می‌شد. اما با توجه به اینکه اخیراً محورهای تحقیقاتی بر روی تغییر

محتوای چربی و تغییر ترکیبات باارزش تغذیه‌ای متمرکز شده است و تغذیه مردم به سمت محصولات کم‌کالری و کم‌چرب بیشتر شده و در این خصوص علاقه به مصرف محصولات لبنی کم‌چرب و شیر کم‌چرب کشانده شده است، بدن با یک سری مشکلات تغذیه‌ای و کمبود مواد مغذی، اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌ها روبرو است (دووست و همکاران، ۲۰۱۰). حل شوندگی بسیار پایین اسیدهای چرب ضروری ازجمله CLA در محیط‌های آبی و انواع نوشیدنی‌ها و ناپایداری آن‌ها در حضور عوامل اکسیدکننده، فلزات سنگین و ترکیبات تولیدکنندهٔ رادیکال آزاد و هم‌چنین نور مشکلی در غنی‌سازی مواد غذایی با این گروه ترکیبات است. استفاده از نانوتکنولوژی راهکاری مفید در غنی‌سازی مواد غذایی است و می‌توان با استفاده از فناوری نانو قابلیت پخش‌پذیری و پایداری آن‌ها را با واردکردن آن در نانوحامل‌های کلوئیدی بهبود بخشید و درون‌پوشانی آن‌ها می‌تواند روشی مؤثر در بهبود کارایی بیولوژیکی‌شان باشد (میشرا، ۲۰۱۰). یکی از متداول‌ترین نانوحامل‌های بر پایه لیپیدی در صنایع غذایی، نانوامولسیون است که سیستم‌هایی شفاف با اندازه قطرات در محدودهٔ ۲۰-۲۰۰ نانومتر هستند و با توجه به دارا بودن قطرات کوچک‌تر از اندازهٔ طول‌موج نور، نسبت به امولسیون‌های متداول، شفاف‌تر و نسبت به پدیده‌های تفکیک گرانشی و تجمع یافتن قطرات مقاومت بیشتری دارند (فتحی و همکاران، ۲۰۱۲). جهت افزایش سطح بین فاز روغن و فاز آبی نیاز به ورود انرژی به نانوامولسیون است (فتحی و همکاران، ۲۰۱۲؛ روآ و مکلمنتز، ۲۰۱۲). این انرژی می‌تواند توسط ابزارهای مکانیکی (روش پرانرژی) یا انرژی پتانسیل اجزای تشکیل‌دهنده آن (روش کم انرژی) تأمین شود. تولید خودبه‌خودی امولسیون یکی از روش‌های کم انرژی در تولید انواع نانوامولسیون است که درنتیجه تیتراسیون فاز روغنی حاوی سورفاکتانت هیدروفیل در فاز آبی رخ می‌دهد (پزشکی و همکاران، ۱۳۹٤). در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی استفاده از نانوامولسیون‌ها و نانوحامل‌ها در مصارف غذایی و استفاده از آن‌ها به‌عنوان سیستم‌های حامل ترکیبات زیست فعال و نوتریسیتیکال جهت غنی‌سازی محصولات کم‌چرب انجام شده است. از این تحقیقات می‌توان به تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین E توسط روش خود به خودی و سورفاکتانتهای مختلف (نیک نیا و همکاران، ۱۳۹۲)، تولید نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (حسنی، ۱۳۹٤)، تولید حامل لیپیدی نانوساختار حاوی CLA (فریدآقایی و همکاران، ۱۳۹٤)، تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات و در ادامه غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه و استریلیزه با آن (پزشکی و همکاران، ۱۳۹٤), تولید نوشیدنی فراسودمند حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA) توسط نیکبخت نصرانی و همکاران (۲۰۱٦) درونپوشانی رزوراتول (ترکیب فنولی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی) در نانوامولسیون بر پایهٔ روغن بادام‌زمینی و انواع سورفاکتانتهای طبیعی و سنتزی مختلف (لستین سویا، استرهای قندی و گلیسریل منواولئات (دیویدوپاردو و مکلمنتز، ۲۰۱٤) اشاره کرد .

با توجه به اینکه در سال‌های اخیر، کاربرد نانو ذرات جهت محافظت و انتقال ترکیبات غذا- دارو (نوتریسیتیکال) آبگریز بیشتر موردتوجه واقع شده است، در این پژوهش به غنی‌سازی شیر کم‌چرب با نانوامولسیون حاوی CLA پرداخته‌شده است تا با استفاده از سیستم نانوامولسیون، ضمن محافظت این ترکیب در برابر شرایط محیطی و اکسیداسیون، بتوان با غنی‌سازی محصولات لبنی کم‌چرب کمبودهای تغذیه‌ای این محصولات به کونژوگه لینولئیک اسید چرب را جبران نمود.

مواد و روش‌ها

آب دوبار تقطیر، اسید لینولئیک کونژوگه با خلوص نزدیک ۸۰٪ مخلوطی از ایزومرهای ۹-سیس ۱۱ -ترانس و ۱۰ -ترانس ۱۲،سیس، محصول شرکت داروسازی

زهراوی تهران.شیر پاستوریزه کم‌چرب (کمتر از ۰/٦ درصد چربی) (شرکت سهامی پگاه تبریز- ایران). سورفاکتانت غیر یونی پلی اکسی اتیلن سوربیتان منو اولئات (توین ۸۰) (سیگما، آلمان).کلیه مواد شیمیایی جهت انجام آزمایشات ساخت شرکت مرک آلمان با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند.

تهیهٔ نانوامولسیون به روش خودبه‌خودی (جوانه‌زنی)

سیستم نانوامولسیون حاوی CLA با استفاده از روش کم انرژی تشکیل خودبه‌خودی امولسیون روغن در آب با اضافه کردن قطره قطره فاز روغنی CLA به همراه سورفاکتانت هیدروفیل غیریونی (توین ۸۰) بر روی آب دیونیزه، تولید گردید (پزشکی و همکاران، ۱۳۹٤). در حین تشکیل، امولسیون به‌طور مداوم توسط همزن مغناطیسی با سرعت بهینه rpm ۵۰۰ در دمای آزمایشگاه (°۲۵C) هم زده شد. پس از اتمام ریختن فاز روغنی، به سیستم به مدت ٤۰ دقیقه فرصت داده شد در سرعتrpm ۵۰۰ هم زده شود تا به تعادل برسد. با توجه به تأثیر دما در اندازهٔ ذرات نانوامولسیون، از همزن مغناطیسی مجهز به سنسور تنظیم دما (Hiedolph)، آلمان استفاده گردید که دمای محلول را در طی مدت‌زمان تشکیل امولسیون ثابت نگه می‌داشت .

تعیین اندازهٔ ذرات

قطر معادل و شاخص اسپن نانوامولسیون‌های تولیدشده از روی توزیع اندازهٔ ذرات در دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات (SHIMADZ مدل SALD 2101 ساخت ژاپن) تعیین گردید. این دستگاه بر اساس پراکنش نور لیزر عمل می‌کند. اندازه‌گیری اندازه ذرات پس از گذشت ۲٤ ساعت از تولید و نگه‌داری نمونه در دمای محیط (°۲۵C) انجام شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد (همیشه‌کار و همکاران، ۲۰۰۹).

میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا DeBroukere mean:

$$\overline{D}[٤,٣] = \frac{\sum n_i d_i^{٤}}{\sum n_i d_i^{٣}}$$ معادله (۱)

ni: تعداد ذرات، di: قطر میانگین ذرات

توزیع اندازهٔ ذرات نیز با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$\text{Span} = \frac{D(٩٠\%) - D(١٠\%)}{D(٥٠\%)}$$ معادله (۲)

D(90%): قطری که حجم ذرات کوچکتراز آن، ۹۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

D(50%): قطری که حجم ذرات کوچکتراز آن، ۵۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (قطر میانه).

D(10%): قطری که حجم ذرات کوچکتراز آن، ۱۰٪ حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

میزان کدورت

اندازه‌گیری کدورت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نوری – مرئی در طول‌موج ٦۰۰ nm انجام شد. قبل از اندازه‌گیری کدورت، نمونه‌ها تا غلظت‌های روغن ۰/۱۵، ۰/۱۰، ۰/۰۷، ۰/۰۳ درصد با استفاده از بافر فسفات (pH=۷) رقیق شدند (صابری و همکاران، ۲۰۱۳).

بررسی پایداری نانوامولسیون

پایداری بلندمدت نانوامولسیون تولیدشده با اندازه‌گیری تغییرات در قطره‌های آن و همچنین ظاهر در طی نگهداری در دمای آزمایشگاه به مدت ۳ماه بررسی شد (گونت و همکاران، ۲۰۱۰).

پتانسیل زتا

برای مشخص شدن نحوهٔ عمل نیروهای دافعهٔ الکتروستاتیک بین قطرات نانوامولسیون و میزان پایداری سیستم حاصل، از نتایج تحرک الکتروفورتیک و پتانسیل زتای با استفاده از دستگاه زتا سایزر (Nano- ZS) در طی ۹۰ روز نگهداری 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 pH =۷/٤ و در

دمای ۲۵°c و توان ۱٤۹ وات انجام شد (فاتاروس و انتیمیساریس، ۲۰۰۲).

مورفولوژی نانوامولسیون با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

نمونهٔ نانوامولسیون تولیدی با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (Leo 906 مدلZeiss 100 KV، ساخت آلمان) تصویربرداری شد (کلنگ و همکاران، ۲۰۱۲).

بررسی پایداری اکسیداتیو اسید لینولئیک کونژوگه

پایداری اکسیداتیو نمونه نانوامولسیون حاوی اسید لینولئیک کونژوگه در طی روزهای ۳۰، ٤٥ و ٦۰ ام با استفاده از آزمایش تیوباربیوتیک اسید (TBA) اندازه‌گیری شد. ۱ میلی‌لیتر از نمونه نانوامولسیون حامل کونژوگه لینولئیک اسید با ۲ میلی‌لیتر از محلول واکنشگر (TBA 15 گرم تری‌کلرو استیک اسید, ۰/۳٤ گرم واکنشگر TBA، ۱/۷٦ میلی‌لیتر از هیدروکلریک اسید ۱۲ مولار و ۸/۲۸ میلی‌لیتر آب) مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه داخل آب جوش قرار گرفت و سپس با جریان آب سرد به مدت ٥ دقیقه سرد شده و در ٤۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفورژ شد، جذب در طول‌موج ٥۳۲ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه منحنی کالیبراسیون بعد از تهیه رقت‌های ۱–، ۱، ۳ و ۳– تترا اتوکسی پروپان (مالون دی آلدهید) به نسبت ۱:۱ با محلول TBA مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه داخل حمام آب جوش حرارت داده و سپس تحت جریان آب سرد به مدت ٥ دقیقه خنک کرده و در ٥۳۲ نانومتر قرائت شد . (تنگ و همکاران، ۲۰۱۰).

تهیهٔ نمونه‌های شیر غنی‌سازی شده و بررسی پایداری اسید لینولئیک کونژوگه در شیر پاستوریزه طی نگهداری در دمای یخچال

با توجه به اینکه ، هر سیستم نانوامولسیون (۱۰ سی‌سی) حاوی1 g اسید لینولئیک کونژوگه است و با توجه به مقدار غنی‌سازی CLA =۲/٥ µg/ml به شیرکم چرب، بنابراین :

•به ازای ۱۰۰ سی‌سی شیر کم‌چرب، ۲۲٥۰ µl از فرمولاسیون نانوامولسیون؛

• به ازای ۱۰۰ سی‌سی شیر کم‌چرب، ۲٥۰ µl از کونژوگه لینولئیک مزدوج خالص (نمونه کنترل)

اضافه گردید و در ادامه تحت فرایند پاستوریزاسیون (٦٥°c به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری) قرار گرفتند. از نمونه‌های شیر پاستوریزه روزهای ۱،۷ و ۱٤ روز پس از پاستوریزه شدن، نمونه‌برداری جهت استخراج اسید چرب از شیر و تعیین میزان پایداری آن صورت گرفت. هم‌چنین از نمونه شیرخام و فرایند شده بدون اضافه کردن هیچ سیستمی، جهت تعیین مقدار اولیه اسیدچرب مزدوج پیک گرفته شد. در جدول ۱ مشخصات اولیه شیر خام مورد استفاده نشان داده شده است.

جدول۱ –مشخصات اولیه شیر خام مورداستفاده

فاکتور	مقدار
pH	٦/٦
اسیدیته	۱٥ درجه دورنیک
چربی	۰/٦ درصد
پروتئین	۲/۹٥ درصد
ماده خشک کل (TS)	۹/۸ درصد
ماده خشک بدون چربی (SNF)	۹/۲ درصد

اندازه‌گیری پروفایل اسیدهای چرب در شیر و میزان کونژوگه لینولئیک اسید

شناسایی و تعیین مقدار اسیدهای چرب موجود در چربی‌های استخراج‌شده با سیستم GC مجهز به آشکارسازیونی شعله و ستون مویین به طول ۱۰۰متر و قطرداخلی ۰/۲٥ میلی‌لیتر انجام شد. اسپلیت دستگاه ۱به ۱۰۰تنظیم گردید دمای محل تزریق و آشکارساز به ترتیب بر روی ۲۷۰و۳۰۰درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و دمای ستون به‌صورت زمان‌بندی‌شده برنامه‌ریزی گردیده بود. درنهایت با اعمال دما و زمان کافی، وقت داده شد تا زمان کافی برای خروج همه اسیدهای چرب از ستون وجود داشته باشد و پروفایل اسید چرب

به‌راحتی گرفته شود .گاز نیتروژن با خلوص ۹۹/۸٪ و با جریان دو میلی‌لیتر بر دقیقه به‌عنوان گازحامل استفاده گردید .

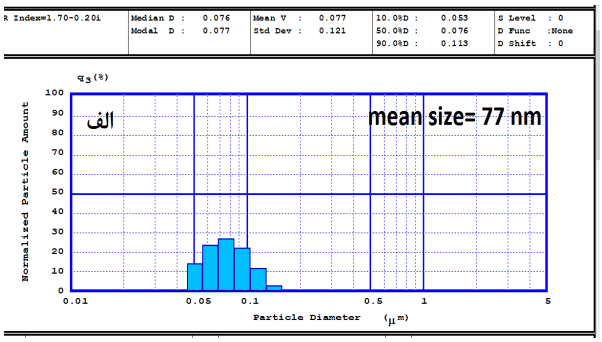
آنالیز آماری

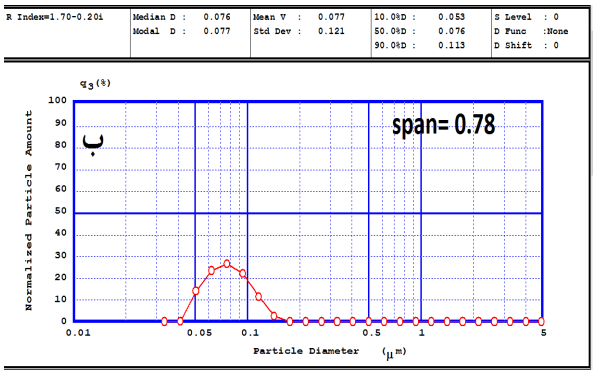
آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی براساس طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام پذیرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن در سطح ۵٪ استفاده شد. محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ۱۹ انجام شده و نمودارها توسط نرم‌افزار Excell 2013 رسم شد.

نتایج و بحث

اندازه و توزیع اندازه قطرات نانوامولسیون حاوی کونژوگه لینولئیک اسید

فرمولاسیون تولیدی نانوامولسیون بر پایه نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER) برابر با ۱۵٪ و نسبت سورفاکتانت به فاز روغنی ٪۱۵۰=SOR، با استفاده از سورفاکتانت غیریونی توین ۸۰ و روغن مایع CLA به‌عنوان فاز روغنی مایع، دارای اندازه قطرات ۷۷ نانومتر یا توزیع پراکندگی ۰/۷۸ یک روز پس از تولید بود که نشان‌دهنده اندازه ذرات در مقیاس نانو با توزیع مناسب و یکنواختی پراکندگی ذرات است (شکل ۱).





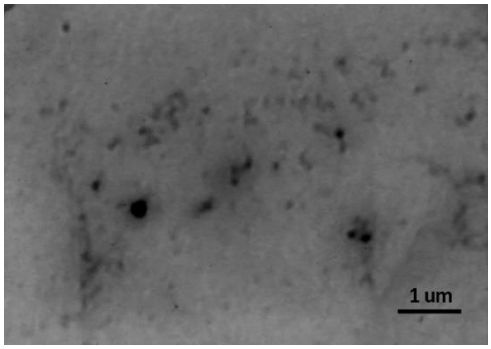
شکل ۱- الف: اندازه‌ی ذرات و (ب: توزیع اندازه ذرات یک روز پس از تولید فرمولاسیون بر پایه نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER) برابر با ۱۵٪ و نسبت سورفاکتانت به فاز روغنی SOR=150%، با استفاده از سورفاکتانت غیریونی توین ۸۰ و روغن مایع CLA به‌عنوان فاز روغنی مایع

زمانی که دو فاز در مجاورت هم قرار می‌گیرند، ترکیبی که در هر دو فاز قابل امتزاج است، به‌تدریج از فازی که در آن حضور داشت به فاز دیگر مهاجرت می‌کند. با مهاجرت این ترکیب، مساحت بین سطحی افزایش می‌یابد، آشفتگی بین سطحی ایجاد می‌شود و درنهایت امولسیون تشکیل می‌شود. می‌توان با تغییر دادن شرایط هم زدن و نوع فازهایی که برای تولید امولسیون از آن‌ها استفاده شده بود، اندازهٔ قطرات را کنترل نمود (روآ و مکلمنتز، ۲۰۱۰؛ آنتون و همکاران، ۲۰۰۹). پیشنهاد کردند که تشکیل قطرات روغن درنتیجهٔ حرکت مولکول‌های سوفاکتانت از فاز آلی به داخل فاز آبی بعدازاینکه فازها در تماس باهم قرار گرفتند صورت می‌گیرد. اندازهٔ قطرات نانوامولسیون تولیدی به فاکتورهایی از قبیل غلظت امولسیفایر در محیط و نیز میزان جذب آن‌ها در لایهٔ بین سطحی بستگی دارد. هرچقدر غلظت امولسیفایر بیشتر و کارایی جذب آن بالاتر، اندازه قطرات تولیدی ریزتر خواهد بود ولی بااین‌حال حد آستانه‌ای برای آن وجود دارد (مکلمنتز، ۲۰۰۵). پزشکی و همکاران (۱۳۹٤) در تولید نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات حسنی (۱۳۹٤) در تولید نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن نشان دادند فاکتورهای مربوط به فرمولاسیون شامل نوع و غلظت سورفاکتانت و نوع حامل روغنی در تولید نانو

امولسیون نقش بسیار مهمی را دارا هستند. به‌طوری‌که از بین سورفاکتانت‌های غیریونی و انواع فاز روغنی، با استفاده از توین ۸۰ و میگلیول ۸۱۲ به‌عنوان سورفاکتانت و روغن حامل، قطراتی با کوچک‌ترین اندازه تولید شد .

مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری(TEM)

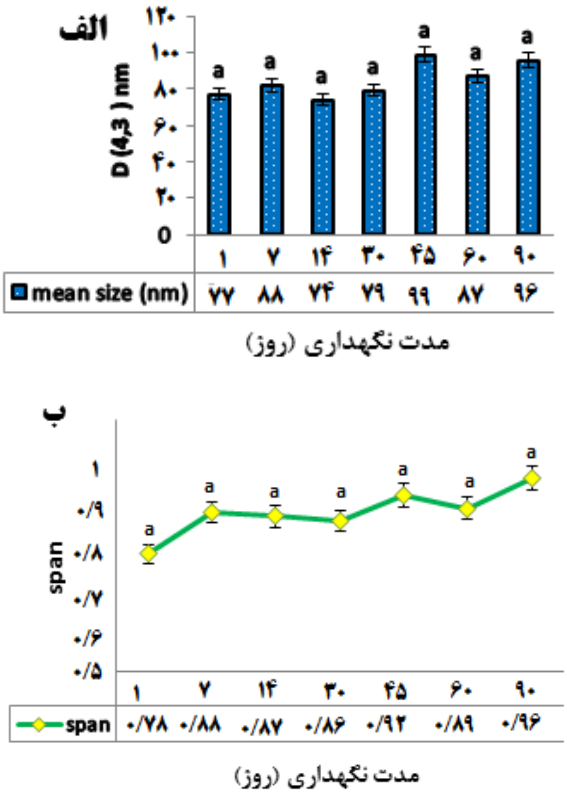
تصویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی عبوری، وجود ذرات تقریباً کروی با اندازه نانومتری را نشان داد که تأییدی بر نتایج به‌دست‌آمده از دستگاه اندازه‌گیری اندازه و توزیع ذرات بود (شکل ۲).



شکل ۲-تصویر میکروسکوپی الکترونی عبوری (TEM) از سیستم نانوامولسیون حاوی CLA

پایداری اندازه ذرات فرمولاسیون نانوامولسیون

همان‌طور که در شکل ۳ مشخص است همواره اندازه ذرات در مقیاس نانو با توزیع یکنواخت و تک مد است و افزایش اندازه در طی مدت‌زمان رخ نداد. در کل در ارتباط با پایداری نانوامولسیون می‌توان گفت برهم‌کنش‌های کلوئیدی تعیین می‌کنند که قطرات در امولسیون‌ها توده تشکیل دهند یا جدا از هم باقی بمانند. نانوامولسیون‌ها همانند امولسیون‌های متداول، سیستم‌های نیمه پایداری هستند و در طول زمان در اثر فرآیندهای فیزیک و شیمیایی مختلف اعم از تفکیک گرانشی، انبوهش، ادغام و رسیدگی استوالد دچار شکست می‌شوند (صابری و همکاران، ۲۰۱۳). مشابه نتیجه به‌دست‌آمده، فرمولاسیون‌های بهینه نانوامولسیون حاوی ویتامین A پالمیتات تولیدشده توسط پزشکی و همکاران (۱۳۹٤)، نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن تولیدشده توسط حسنی (۱۳۹٤)، نانوامولسیون حاوی ویتامین E استات تولیدشده توسط نیک نیا و همکاران (۱۳۹۲) در طی ماندگاری به مدت ۳ ماه از پایداری بالا برخوردار بود.



شکل ۳- پایداری الف: اندازه و ب: توزیع اندازه ذرات در فرمولاسیون بر پایه نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER)برابر با ۱۵٪ و نسبت سورفاکتانت به فاز روغنی SOR=۱۵۰٪، با استفاده از سورفاکتانت غیریونی توین ۸۰ و روغن مایع CLA به‌عنوان فاز روغنی مایع طی بازه‌های زمانی (۱، ۷، ۱۴، ۳۰، ۴۵،۶۰ و ۹۰ روز پس از تولید)

پتانسیل زتا

با توجه به غیر یونی بودن سورفاکتانت غیریونی توین ۸۰ و همچنین سایر ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ سیستم (کونژوگه لینولئیک اسید) مقدار پتانسیل نمونه‌ها در طی مدت نگهداری خیلی جزئی و نزدیک صفر به دست آمد و

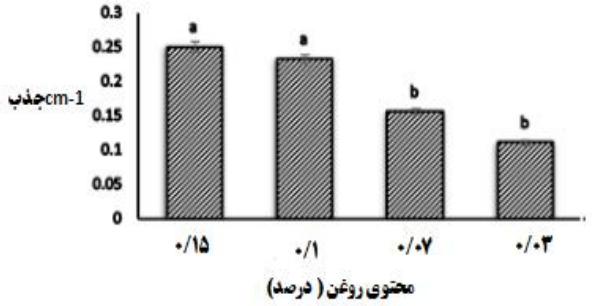
افزایش زمان تأثیر معنی‌داری در افزایش و یا کاهش پتانسیل زتای نمونه‌های مختلف نشان نداد (جدول ۲).

جدول۲ - پتانسیل زتای نانوامولسیون حاوی CLA در طی مدت نگهداری

مدت‌زمان نگهداری (روز)	پتانسیل زتا (میلی ولت)
۱	۳۴۷/۳۴۷۰۵±۰/۰[a]
۱۵	۲۸۲/۲۸۲۰۸±۰/۰[a]
۳۰	۳۲/۳۲۰۴۲±۰/۰[a]
۶۰	۳۱۲/۳۱۲۰۹±۰/۰[a]
۹۰	۲۹۸/۲۹۸۰۵±۰/۰[a]

اندازه‌گیری میزان کدورت

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در استفاده از نانوحامل‌های کلوئیدی برای غنی‌سازی انواع مواد غذایی و بخصوص نوشیدنی‌های شفاف، بررسی میزان کدورت نانوحامل است. کدورت توسط مقادیر نور پخش‌شده توسط ذرات موجود در محیط سوسپانسیون تعیین می‌شود و به ماهیت، تعداد، اندازه کلوئیدی ذرات موجود در فاز مایع و تفاوت در ضریب انعکاس ذرات و محیط سوسپانسیون و توزیع اندازه ذرات بستگی دارد (حسنی،۱۳۹٤). نتایج نشان داد ارتباط خطی میان جذب و محتوای روغن برای نمونهٔ مطالعه شده وجود دارد. سیستم نانوحامل کلوئیدی دارای کدورت نبوده ولی با افزایش میزان درصد روغن در فرمولاسیون نانوامولسیون، میزان کدورت نمونه بیشتر شد (شکل ٤). کدورت نانوامولسیون درصورتی‌که قطر متوسط قطرات آن کمتر از ۸۰ نانومتر و توزیع اندازه قطرات در آن باریک باشد، ازلحاظ نوری شفاف و مناسب برای استفاده در نوشیدنی‌های شفاف خواهد بود. درنتیجه، با توجه به افزایش کدورت نسبت به محتوای روغن، می‌توان حداکثر مقدار روغنی را که می‌توان به یک محصول نوشیدنی افزود، قبل از اینکه به این کدورت بحرانی برسد، محاسبه نمود. صابری و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعهٔ خود بر روی نانوامولسیون‌های حاوی ۸۰ درصد ویتامین E و ۲۰ درصد میگلیول تولیدشده با استفاده از روش خودبه‌خودی، نشان دادند با افزایش قطر قطرات میزان کدورت نیز بیشتر می‌شود. لی و مکلمنتز (۲۰۱۱) نیز بیان کردند کدورت نانوامولسیون‌ها با افزایش غلظت روغن افزایش می‌یابد. نیکبخت نصرانی و همکاران (۲۰۱٦) نیز در مطالعه خود به تولید نوشیدنی فراسودمند حاوی اسید لینولئیک مزدوج (CLA) پرداختند گزارش کردند صمغ عربی و زانتان اثر مثبتی بر کدورت و پایداری حرارتی امولسیون‌های حاوی ۵-۱۰٪ w/w صمغ عربی، ۵/۳٪-۵/٦٪ w/w CLA و ۱٪-۳ w/w زانتان داشت. درصد بالاتر روغن میانگین قطر حجمی و کدورت را افزایش داد درحالی‌که باعث کاهش پایداری حرارتی گشت.

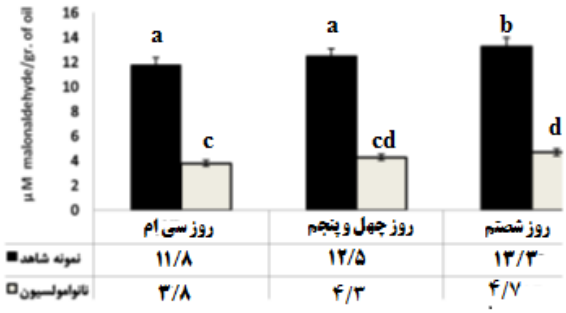


شکل۴- میزان کدورت در فرمولاسیون بر پایه نسبت سورفاکتانت به امولسیون (SER) برابر با ۱۵٪ و نسبت سورفاکتانت به فاز روغنی SOR=٪۱۵۰SOR، با استفاده از سورفاکتانت غیریونی توین ۸۰ و روغن مایع CLA به‌عنوان فاز روغنی مایع حاوی کونژوگه لینولئیک اسید در چهار سطح محتوی روغن/ لیپید

بررسی پایداری اکسیداتیو اسید لینولئیک کونژوگه

با وارد شدن اسید لینولئیک کونژوگه در نانوامولسیون و محافظت این ترکیب در برابر عوامل محیطی، نور و اکسیژن، پایداری اکسیداتیو آن افزایش می‌یابد. همان‌طور که مشخص است ازنظر میزان مالون آلدهید تولیدشده طی نگه‌داری تفاوت معنی‌داری میان نمونه شاهد و نمونه نانوامولسیون وجود دارد (شکل ٥). این امر مطابق با

نتایج فرید آقایی و همکاران (۱۳۹٤) در درون‌پوشانی CLAدر سیستم حامل لیپیدی و نیکبخت نصرانی و همکاران (۲۰۱٦) در تهیه امولسیون حاوی CLA بود.



شکل ۵-نتایج حاصل از آزمون تیوباربیوتیک اسید بر روی نمونه‌های شاهد(امولسیون ساده از ۲۵۰ میکروگرم CLAدر آب دوبار تقطیر) و نانوامولسیون حاوی CLA طی نگه‌داری

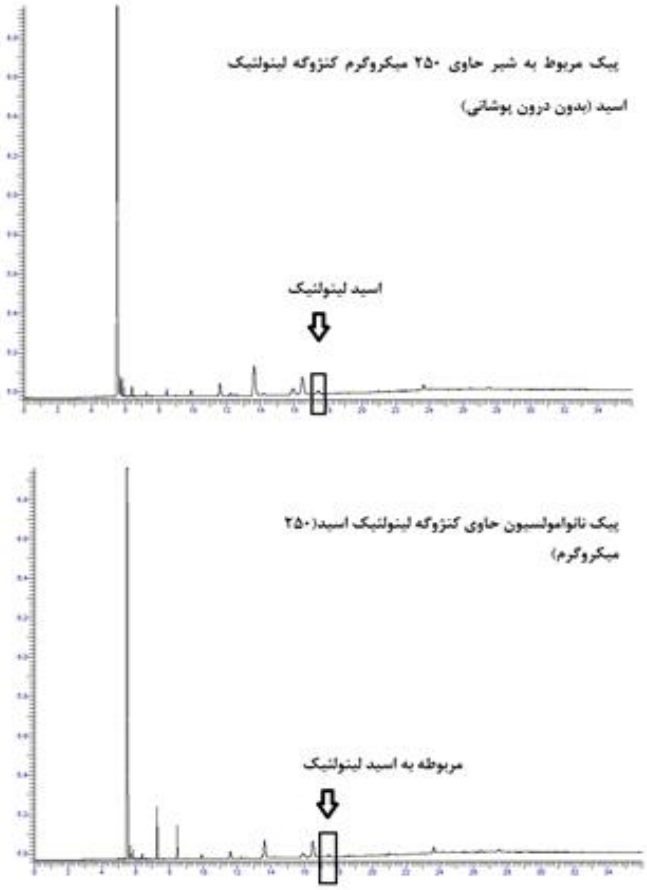
(حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ٥٪ است).

غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با CLA و حفظ آن در طی مدت نگه‌داری

از نمونه‌های شیر پاستوریزه کم‌چرب غنی‌شده با نانوامولسیون حاوی ۲۵۰ میکروگرم CLA و نمونه حاوی ۲۵۰ میکروگرم CLA خالص بدون استفاده از نانوحامل پیک گرفته شد (شکل ٦) نتایج نشان داد با توجه به مساحت پیک (۲٪/۹۸) با احتساب فاکتور تصحیح (۰/۹۱) درصد اسید لینولئیک مزدوج موجود در شیر کم‌چرب غنی‌شده ۳/۱٪ است و استفاده از نانوامولسیون باعث حفظ بهتر CLA در شیر نسبت به نمونه شاهد بدون درون‌پوشانی و بدون استفاده از نانوامولسیون گردید (۳/۱ درصد اسیدهای چرب شیر). پزشکی و همکاران (۱۳۹٤) نیز در تحقیق خود در غنی‌سازی شیر کم‌چرب پاستوریزه با نانوامولسیون حاوی ویتامین آ پالمیتات به نتیجه مشابه دست یافتند.

نتیجه‌گیری

فرمولاسیون تولیدی نانوامولسیون حاوی CLA به روش تشکیل خودبه‌خودی، با دارابودن اندازه قطرات در مقیاس نانو و توزیع یکنواخت،در طی مدت‌زمان نگه‌داری از لحاظ اندازه قطرات و مکانیسم‌های پایداری، پایدار بوده و ناپایداری در آن اتفاق نیفتاد. مقدار پتانسیل زتای نمونه‌ها در طی مدت نگهداری خیلی جزئی و نزدیک صفر به دست آمد و نتایج حاصل از پایداری اکسیداتیونشان داد با درون‌پوشانی CLA در سیستم نانو امولسیون، محافظت این ترکیب در برابر اکسیداسیون بیشتر و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون (مالون آلدهیدها) کمتر بود. استفاده از نانوامولسیون بر روی پایداری و حفظ CLAدر برابر فرایند حرارتی (پاستوریزاسیون) اثرگذار است و مقدار ۳/۱٪ در شیر طی مدت نگه‌داری حفظ شد و درنهایت .با توجه به مقدار اندک CLA در شیر کم‌چرب که با حذف و کم کردن چربی از آن صورت می‌پذیرد می‌توان با به‌کارگیری فناوری نانو و استفاده از نانوحامل‌ها ضمن محافظت از آن در برابر شرایط محیطی و اکسیداسیون، کمبود این ترکیبات مغذی را جبران کرد.



شکل۶-نتایج کروماتوگرافی گازی دو نمونه شیر غنی‌شده با نانوامولسیون حاوی کونژوگه لینولئیک اسید (یک روز پس از تولید) و شیر حاوی ۲۵۰ میکروگرم کونژوگه لینولئیک اسید خالص بدون درون‌پوشانی

منابع مورد استفاده

پزشکی ا، قنبرزاده هوجقان ب، همیشه کار ح، مقدم واحد م، فتح الهی ع، ۱۳۹٤. تهیه نانوامولسیون‌های حامل ویتامین پالمیتات به روش خودبه‌خودی. مجله پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، جلد چهارم، صفحه‌های ٦٨تا ٥٧.

پزشکی ا، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، مقدم، م و محمدی م ، ۱۳۹۳. حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی ویتامین A پالمیتات، عوامل مؤثر بر اندازهٔ ذرات، کارایی درون‌پوشانی و پایداری. فصل‌نامه علوم و فناوری‌های نوین در صنایع غذایی، سال دوم.

حسنی ف، ۱۳۹٤. تولید و بهینه‌سازی فرمولاسیون نانوامولسیون حاوی بتاکاروتن (به روش تشکیل خودبه‌خودی) . پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد ممقان.

فرید آقایی س، قنبرزاده ب و همیشه کار ح، ۱۳۹٤. حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی اسید لینولئیک مزدوج ، بهینه‌سازی اندازهٔ ذرات بر اساس روش سطح پاسخ. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۵، شماره ۳، صفحه‌های ٤٤١ تا ٤٥٦.

نیک‌نیا ن، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی، م، ۱۳۹۲. تهیه و ارزیابی نانوامولسیون خوراکی ویتامین E به روش خودبه‌خودی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. جلد هشتم ، شماره ٤ ،صفحه‌های ٦٥ تا ٥١.

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

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

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

Ghanbarzadeh B, Babazadeh A, Hamishekar H, 2016. Nano-phytosome as a potential food-grade delivery system. Food Bioscience 15: 126-135.

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

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

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

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

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

MacDonald H, 2003. Conjugated Linoleic acid and its association with Disease Prevention. Journal of the American College of Nutrition 19(2). 111-117.

McClements D, 2005. Food Emulsions: Principles, Practice and Technology, CRC Press: Boca Raton, Florida

McClements DJ 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): 213-228.

Mishra B, Patel BB, TiwariBS and Pharm M, 2010. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 6(1): 9-24.

Nikbakht Nasrabadi M, Goli SAH and Nasirpour A, 2016. Stability assessment of conjugated linoleic acid (CLA) oil-in-water beverage emulsion formulated with acacia and xanthan gums. Food Chemistry 199: 258-267.

Rao J and McClements DJ, 2010. Stabilization of phase inversion temperature nanoemulsions by surfactant displacement. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58(11): 7059-7066.

Saberi AM, FangY and McClements DJ, 2013. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification. Journal of Colloid and Interface Science 391: 95-102.

Production of conjugated linoleic acid nano emulsion by spontaneous method and enrichment of low-fat pasteurized milk by it

F Hasan Famian [1] and A Pezeshki Najafabadi [2*]

Received: May 27, 2016 Accepted: September 11, 2016

[1]MSc Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Mamaghan Branch, Mamaghan, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding Author: Email:akram.pezeshki@tabrizu.ac.ir

Abstract

The use of nano-carrier for hydrophobic nutraceutical compounds such as essential fatty acids can have multiple benefits.In this research production and evaluate the optimal nano-emulsion containing CLA and adding it to low-fat pasteurized milk to make a product enriched with CLA have been discussed. Nanoemulsions containing CLA were prepared by low energy spontaneous emulsification method using a nonionic surfactants (tween 80), Surfactant Emulsion Ratio (SER= 15%) and use of CLA as oil phase. The results of various testes such as particle size (smaller than 100 nm), emulsion stability over a period of time storage, turbidity and zeta potential were carried out to determine showed good physicochemical properties of nanoemulsions. TBA test also showed CLA nanoemulsion had lower percent of malon aldehyde so higher stability against oxidasion during 60 days storage. Assessment stability of remaining CLA in pasteurized low fat milk fortified with CLA loaded nanoemulsion during sampling days, showed use of nanoemulsion considerably protected CLA during heat treatment (1.3% CLA) added to low-fat milk. According to the results, the nanoemulsion system can be used to protect the CLA against oxidation and heat to enrich the low-fat products with this compound.

Keywords: Nanoemulsion, Conjugated Linoleic Acid (CLA), Low fat milk, Pastorisation