

## آماده سازی و ارزیابی ویژگی های امولسیون های تهیه شده بر پایه روغن گردو به روش سطح پاسخ

مینا همایونفال<sup>1</sup>، فرامرز خدائیان<sup>2</sup>، سید محمد موسوی<sup>3</sup>، سید محمد حسینی پنجگی<sup>4</sup>

- 1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- 2- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران  
پست الکترونیکی: khodaiyan@ut.ac.ir
- 3- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
- 4- کارشناس علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 92/4/2

تاریخ پذیرش: 92/6/25

### چکیده

**سابقه و هدف:** روغن گردو به دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب غیر اشباع امگا 3 و ترکیبات آنتی اکسیدانی، دارای خواص تغذیه ای فراسودمند شامل بهبود سیستم گوارشی، کاهش کلسترول خون و نهایتاً کاهش بیماری های قلبی و عروقی است. در پژوهش حاضر امکان تولید نانوامولسیون بر پایه روغن گردو و تأثیر عوامل مختلف بر پایداری آن بررسی می شود.

**مواد و روش ها:** روغن گردو همراه با توئین 80 و اسپن 80 (به عنوان امولسیفایر) در تهیه نانوامولسیون استفاده شد. به منظور همگن سازی ذرات امولسیون از امواج فراصوت استفاده و تأثیر زمان همگن سازی، غلظت روغن و غلظت امولسیفایر بر قطر ذرات، پایداری و نرخ کاهش کدورت امولسیون بررسی شد.

**یافته ها:** اثر زمان همگن سازی، غلظت روغن و غلظت امولسیفایر بر ویژگی های امولسیون به وسیله نمودارهای سطح پاسخ ارزیابی و برای هر پاسخ مدل چند جمله ای درجه دو بدست آمد. نمونه های تولیدی دارای اندازه ذرات بین 300-450 نانومتر، پایداری 96/6-100% و نرخ کاهش کدورت 0/0016-0/0021 بودند.

**نتیجه گیری:** در این مطالعه مشخص شد می توان از روغن گردو امولسیون هایی در محدوده نانو تولید کرد و ارزیابی امولسیون ها توسط تست خامه ای، شدن بیانگر پایداری فیزیکی مناسب نمونه ها در طول دوره نگهداری (84 روز) است.

**واژگان کلیدی:** امولسیون، پایداری، روغن گردو، روش سطح پاسخ، کدورت

### • مقدمه

و یا بهبود فعالیت های حیاتی می شوند، به نوعی فراسودمند محسوب می شوند. از جمله این ترکیبات می توان به گردو و روغن آن اشاره کرد. امروزه این ترکیب غذایی، به عنوان محصولی قابل توجه از نظر اقتصادی و تغذیه ای مطرح است. گردو دارای مقادیر قابل توجهی (25-70%) روغن است که منبع غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-3، ترکیبات آنتی اکسیدانی و ویتامینی بوده و می تواند به عنوان ترکیبی سلامتی بخش در صنعت غذا مورد توجه قرار گیرد (1، 2).

افزایش سطح آگهی های تغذیه ای در جوامع مختلف، تمایل افراد به مصرف غذاهایی که سبب ارتقای سلامتی و کاهش خطر ابتلا به بیماری ها می گردد را افزایش داده است. در واقع امروزه مصرف غذا علاوه بر رفع نیازهای تغذیه ای، باید سبب تحریک و بهبود عملکردهای فیزیولوژیکی مختلف در بدن شده و در کاهش ابتلا به بیماری ها مؤثر واقع گردد. در این زمینه غذاهای فراسودمند نقش مهمی را ایفا می کنند. در واقع تمام مواد غذایی که سبب حفظ و نگهداری

تولید امولسیون بر پایه پرتقال با استفاده از صمغ عربی و زانتان، توسط میرحسینی و همکاران مورد مطالعه قرار گرفته است. آن‌ها تأثیر ترکیبات تشکیل دهنده امولسیون (روغن، امولسیفایر و پایدار کننده) را بر ویژگی‌های امولسیون‌های تولیدی مورد بررسی قرار دادند (10) اندازه بزرگ ذرات امولسیون تهیه شده مشکل عمده در پایداری امولسیون تولید شده توسط آن‌ها به شمار می‌آید. هدف این مطالعه تولید امولسیونی با اندازه ی کوچک ذرات و پایداری بالا در طی زمان نگهداری توسط روش سطح است.

روش سطح پاسخ (RSM Response Surface Methodology) مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که از آن در مدل‌سازی و بهینه کردن متغیرهای مورد بررسی در حضور فعل و انفعالات پیچیده استفاده می‌گردد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی شرایط آماده سازی شامل زمان همگن سازی توسط امواج فراصوت (5-15 دقیقه)، غلظت روغن گردو (4-10%w/w) و نسبت غلظت اسپن 80 به تویین 80 (0/55-0/8) براندازه ذرات، پایداری و نرخ کاهش کدورت امولسیون‌های روغن گردو در آب با استفاده از روش RSM است.

#### • مواد و روش‌ها

**مواد:** روغن گردو از شرکت زیت کرمان خریداری شد. تویین 80 از شرکت مرک آلمان و اسپن 80 از جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران تهیه و آب مقطر مورد استفاده در این بررسی با استفاده از روش اسمز معکوس فراهم شد.

**تجهیزات:** ترازوی دیجیتال (Mettler PE 160، سوئیس)، همزن (RW 20 DZM – IKA WERK، آلمان)، همزن با دور بالا (Ultra Turrax, T25 basic – IKA WERK، آلمان)، همزنایزر فراصوت (UP2000S, Hielscher Ultrasonic GmbH، آلمان) دستگاه آنالیز قطر ذرات (Mastersizer 2000S – Malvern، انگلیس) و اسپکتروفتومتر جذب نوری (DR/4000 U – HACH، امریکا).

**روش تهیه امولسیون روغن گردو در آب:** به منظور تهیه امولسیون‌های مورد نظر فاز آبی و روغنی هر کدام به صورت جداگانه تهیه شدند: به منظور تهیه فاز آبی، تویین 80 (امولسیفایر فاز آبی) به آب بدون یون در دمای محیط اضافه شد. محلول حاصل توسط همزن به مدت 10 دقیقه هم زده شد. فاز روغنی نیز با افزودن اسپن 80 به روغن گردو آماده شد. امولسیون اولیه (پیش امولسیون) با افزودن فاز روغنی به صورت قطره قطره به فاز آبی (که توسط همزن در حال

بنابراین تولید محصولات غذایی از جمله نوشیدنی‌ها بر پایه خواص تغذیه‌ای بسیار سودمند گردو و روغن محتوی آن می‌تواند ضمن تولید محصولی جدید، سلامت مصرف کننده را نیز تامین سازد. نقطه چالش برانگیز در تولید نوشیدنی بر پایه لیپیدهای فراسودمند، حلالیت اندک آن‌ها در آب است که منجر به کاهش دسترس پذیری زیستی آن‌ها می‌شود. در این راستا باید تهیه ساختار امولسیونی این ماده مد نظر قرار گیرد.

نوشیدنی‌های امولسیونی، اشکال ویژه ای از امولسیون روغن در آب هستند که به صورت کنسانتره آماده و پس از رقیق سازی به عنوان محصول نهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند و لازم است در دوره نگهداری از پایداری بالایی برخوردار باشند (3).

امولسیون‌ها از نظر سینتیکی پایدار ولی بدون ثبات ترمودینامیکی هستند (4). مکانیسم‌های فیزیکوشیمیایی متعددی از جمله خامه‌ای شدن، انعقاد، لخته شدن و تورم استوالت سبب بی ثباتی امولسیون می‌شوند (5). پایداری امولسیون‌ها را می‌توان از طریق افزودن امولسیفایر بهبود بخشید. امولسیفایرها ترکیبات فعال سطحی هستند که سبب افزایش پایداری امولسیون‌ها می‌گردند. افزودن امولسیفایر به مخلوط آب و روغن سبب کاهش کشش سطحی و تثبیت امولسیون می‌گردد. ترکیبات گوناگونی به عنوان امولسیفایر شناخته شده‌اند. پروتئین‌ها، دسته‌ای از امولسیفایرها هستند که قادرند امولسیون‌هایی با ذرات کوچک ایجاد کنند اما اندازه ذرات امولسیون در طول زمان افزایش یافته و سبب ناپایداری امولسیون می‌گردد. متوسط قطر ذرات امولسیون‌های پایدار شده توسط پلی‌ساکاریدها، بالا است اما این ذرات دارای مقاومت بالا در برابر استرس‌های محیطی و افزایش اندازه ذرات هستند (6). بنابراین با کاربرد گروه‌های امولسیفایری مذکور قادر نیستیم امولسیون‌هایی با قطر ذرات کوچک و پایداری بالا در طول زمان تولید کنیم. پلی سوربات‌ها و استرهای سوربیتان گروهی از ترکیبات فعال سطحی غیر یونی مورد استفاده در صنایع غذایی و دارویی هستند (7). این ترکیبات قادرند امولسیون‌هایی با اندازه ذرات کوچک و پایداری بالا در هنگام نگهداری تولید کنند (8، 9). این امولسیفایرها با توجه به در دسترس بودن، ایمنی و هزینه قابل قبول، به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند.

آزمایش ریخته و به طرز مناسبی دربندی شد تا از هرگونه تبخیر جلوگیری شود. در روزهای صفر و 84 ام (طول دوره آزمون)، ارتفاع لایه جدا شده در بالای لوله (HC) اندازه‌گیری و شاخص پایداری امولسیون بر حسب ارتفاع اولیه امولسیون (HE) و ارتفاع لایه خامه‌ای شده به صورت زیر محاسبه شد:

(12):  
رابطه 2

$$ESI=100 \times \frac{H_E-H_C}{H_E}$$

**تجزیه و تحلیل آماری:** طرح آزمایش استفاده شده برای آماده سازی امولسیون، یک طرح مختلط مرکزی CCD (Central Composite Design) با استفاده از سه فاکتور و هر فاکتور دارای پنج سطح ( $\alpha=1.68$ ) بود. فاکتورها شامل زمان همگن‌سازی، غلظت روغن و نسبت غلظت اسپن 80 به توپین 80 (که به عنوان  $K_0$  بیان می‌شود) بودند که سطوح هر کدام از آنها در جدول 1 مشخص شده است. یک مدل چند جمله‌ای درجه دوم (رابطه ی 3) به داده‌های تجربی تطبیق داده شد:

رابطه 3

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j$$

در این رابطه  $Y$  پاسخ (میانگین خطای مطلق) و  $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}$  و  $\beta_{ij}$  ضرایب رگرسیونی به ترتیب برای عرض از مبدا و ضرایب خطی، درجه دوم و اثر متقابل بوده و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل هستند. تحلیل سطح پاسخ و ترسیم نمودارها با استفاده از مینی تب نسخه ی 15/1/1/0 (شرکت مینی تب، ایالات متحده امریکا) انجام شد.

همگن شدن بود) تهیه شد. پس از افزودن کامل فاز روغنی، فرایند همگن سازی توسط همزن به مدت 15 دقیقه ادامه پیدا کرد. در مرحله بعد، همگن سازی توسط همزن با دور بالا با سرعت 6500 دور بر دقیقه به مدت 10 دقیقه انجام شد. به منظور شکسته شدن هر چه بیشتر قطرات روغن، پیش امولسیون تهیه شده به وسیله همگن ساز فراصوت مجهز به پروب تیتانیوم با قطر 7 میلی متر، فرکانس 50 کیلوهرتز و توان 100% همگن گردید. به این ترتیب امولسیون نهایی حاصل شد.

اندازه گیری میانگین قطر ذرات امولسیون: اندازه ذرات امولسیون با استفاده از دستگاه Mastersizer 2000 S اندازه‌گیری و به صورت ( $d_{32}$ ) گزارش شد:  
رابطه 1

$$d_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2}$$

در این رابطه  $n_i$  تعداد قطرات با قطر  $d_i$  می باشد (10).

اندازه گیری نرخ کاهش کدورت: نمونه‌ها در ابتدا با نسبت 25/0% (وزنی - وزنی) در محلول قندی 10% رقیق شده و در بطری‌های 300 سی‌سی به صورت ثابت و بدون کوچکترین تحرک انتقال می‌یابند. روزانه مقداری نمونه با فاصله 4 سانتی‌متر از انتهای بطری برداشته و جذب آن در طول موج 500 نانومتر به وسیله اسپکتروفوتومتر UV-VIS بررسی شد. جذب بالاتر نمونه‌ها بیانگر کدورت و پایداری بیشتر آن‌ها می‌باشد. جذب نمونه‌ها تا زمانی قرائت می‌شود که جذب به 10% جذب اولیه برسد. سپس نمودار جذب نسبت به زمان ترسیم شده و شیب خط حاصل به عنوان نرخ کاهش کدورت در نظر گرفته شده و با پایداری نمونه‌ها رابطه عکس دارد. در این آزمون محلول قندی 10% به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته می‌شود (11).

**اندازه‌گیری پایداری امولسیون (ESI):** در این آزمون، پس از تهیه امولسیون، 15 میلی لیتر از نمونه به داخل لوله

جدول 1. متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها

کد و سطح مربوط					نماد ریاضی	متغیرهای مستقل
+1/68	-1	0	1	+1/68		
1/5910	5	10	15	18/4090	$X_1$	زمان هموزنی‌سازی
1/9546	4	7	10	12/0454	$X_2$	غلظت روغن گردو
0/4467	0/5	0/675	0/8	0/8852	$X_3$	$K_0$

## • یافته‌ها

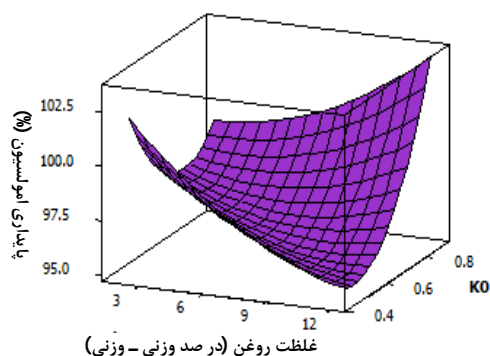
کاهش کدورت و پایداری امولسیون به ترتیب 0/9833، 0/9319 و 0/9591 بود. برای مدل مناسب برازش شده، مقادیر  $R^2$  باید بزرگتر از 0/8 باشد. هنگامی که این پارامتر نزدیک به واحد است، تغییرات در داده‌های بدست آمده به خوبی می‌توانند توسط مدل‌های رگرسیونی توضیح داده شوند. در این مطالعه، مدل‌های تجربی درصد بالایی (0/9319) از تغییرات متغیرهای وابسته را توصیف کردند. علاوه بر این، کیفیت تناسب مدل‌ها به وسیله تست عدم تطابق مورد بررسی قرار گرفت ( $p > 0/05$ ). این آزمون دقت مدل را در پیش بینی متغیرها تعیین می‌کند. نتایج به دست آمده از مشاهدات تجربی با مقادیر پیش بینی شده از معادلات رگرسیون مقایسه شدند. در مجموع، نتایج نشان می‌دهد مدل مورد استفاده می‌تواند جهت تخمین شرایط بهینه برای آماده سازی نوشیدنی امولسیونی بر پایه روغن گردو مورد استفاده قرار گیرند.

**آنالیز آماری:** تجزیه و تحلیل تأثیر پارامترهای مستقل - زمان هموژنیزاسیون ( $X_1$ )، درصد روغن گردو ( $X_2$ ) و  $K_0$  ( $X_3$ ) - بر اندازه ذرات ( $Y_1$ )، نرخ کاهش کدورت ( $Y_2$ ) و پایداری ( $Y_3$ ) امولسیون تهیه شده، توسط RSM مورد استفاده قرار گرفت. از تجزیه و تحلیل واریانس و رگرسیون به منظور بررسی همخوانی مدل‌های پیشنهادی و بررسی آماری معنی‌داری فاکتورهای مدل استفاده شد. مطابق نتایج جدول 2 تمامی متغیرهای پاسخ ( $Y_i$ ) به خوبی با مدل رگرسیونی چند جمله‌ای درجه دو همخوانی داشت. ضرایب رگرسیون مدل‌های تجربی و  $R^2$ ،  $R^2$  تعدیل شده (adjusted- $R^2$ ) و CV مربوطه در جدول 2 نشان داده شده است. بر اساس شاخص p-value معنی‌داری آماری مدل‌ها و معادلات مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر  $p > 0/05$  به عنوان مقادیر بی معنا در نظر گرفته شد. همان‌طور که در جدول 2 نشان داده شده است، نتایج پیش بینی شده مدل‌های سطح پاسخ به طور قابل توجهی با نتایج مشاهده شده هم‌خوانی داشت ( $p > 0/05$ ). در این بررسی  $R^2$  برای بر اندازه ذرات، نرخ

**جدول 2.** آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ درجه دوم برای آزمون‌های اندازه ذرات، نرخ کاهش کدورت و پایداری امولسیون

$Y_3$		$Y_2$		$Y_1$		درجه آزادی	منبع
احتمال P	ضریب	احتمال P	ضریب	احتمال P	ضریب		
0/000**	+96/6614	0/000**	0/015193	0/000**	328/001	9	مدل خطی
0/001	+0/7074	0/000**	-0/004120	0/000**	-35/000	1	$X_1$
0/035	-0/0822	0/007**	0/001937	0/000**	11/030	1	$X_2$
0/000	+1/7172	0/301	-0/000633	0/000**	-11/260	1	$X_3$
درجه دوم							
0/000	+0/8373	0/005	-0/001995	0/032*	22/298	1	$X_1^2$
0/039	+0/3418	0/000**	-0/003144	0/049*	9/924	1	$X_2^2$
0/000**	-1/4705	0/420	-0/000474	0/001**	10/100	1	$X_3^2$
اثر متقابل							
0/008**	-0/6375	0/031*	-0/001900	0/105	5/250	1	$X_1X_2$
0/107	+0/4526	0/152	0/001175	0/000**	19/250	1	$X_1X_3$
0/001**	+1/2247	0/001**	-0/003775	0/016*	-13/250	1	$X_2X_3$
0/355		0/101		0/07		10	خطای باقی مانده
						5	تست عدم تطابق
						5	خطای خالص
						19	کل
	0/9591	0/9319	0/9833				$R^2$
	0/9087	0/8709	0/9682				Adj- $R^2$
	0/48	6/47	1/94				CV

آزمون پایداری امولسیون: نتایج بررسی داده‌های جدول ANOVA نشان می‌دهد، زمان هموژنیزاسیون،  $K_0$ ، توان دو زمان هموژنیزاسیون،  $K_0$ ، اثر متقابل زمان هموژنیزاسیون و غلظت روغن و همچنین غلظت روغن و  $K_0$  دارای اثر معنی‌داری در حدود اطمینان 99% هستند ( $p < 0/01$ ). بخش خطی و توان دو غلظت روغن دارای اثر معنی‌دار در حدود اطمینان بالاتر ( $p < 0/05$ ) و اثر متقابل زمان هموژنیزاسیون و  $K_0$  در حدود اطمینان 95% معنی‌دار نبود ( $p > 0/05$ ).



شکل 3. اثر همزمان متغیرهای  $K_0$  و غلظت روغن بر پایداری امولسیون

### • بحث

اندازه ذرات: به طور کلی امولسیون‌ها به وسیله فرایندهای برشی فیزیکی تهیه می‌شوند، اندازه نهایی امولسیون‌های هموژن شده به وسیله تقابل دو فرایند متضاد متلاشی شدن قطرات و به هم پیوستن دوباره قطرات تعیین می‌شود. فرکانس هر دو فرایند به وسیله برش‌های شدیدی که در همگن سازهای با برش بالا از قبیل فراصوت ایجاد می‌شود، تعیین می‌گردد. متلاشی شدن قطرات زمانی اتفاق می‌افتد که نیروی برشی به کار رفته بزرگتر از فشار لاپلاس امولسیون باشد. اگر جزء حجمی روغن و ویسکوزیته فاز پیوسته پایین باشد، شعاع امولسیون توسط رابطه زیر تعیین می‌شود:

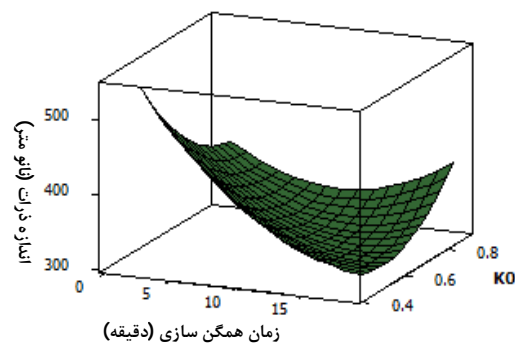
رابطه (4)

$$r \propto \frac{\sigma}{\mu\gamma}$$

در این معادله  $r$ : شعاع قطرات،  $\sigma$ : تنش بین سطحی،  $\mu$ : ویسکوزیته فاز پیوسته و  $\gamma$ : تنش برشی است.

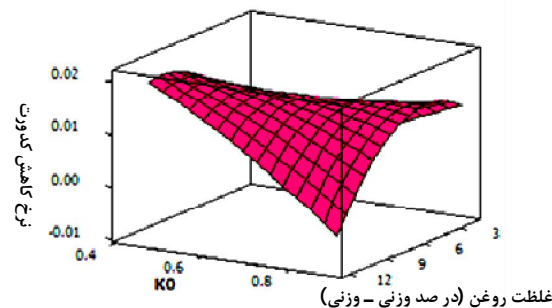
بازده شکستن قطرات در هموژنایزر به وسیله طبیعت و میزان برش تعیین می‌شود. در اکثر هموژنایزرها شکسته شدن قطرات در نتیجه جریان متلاطم رخ می‌دهد. شکسته

آزمون اندازه ذرات امولسیون: همان طور که در جدول 2 و شکل 1 نشان داده شده اثر خطی تمامی متغیرهای فرایند (زمان، غلظت روغن و  $K_0$ )، بر میزان اندازه ذرات امولسیون معنی‌دار بودند. اثر متقابل زمان هموژنیزاسیون توسط اولتراسوند و نیز غلظت روغن و  $K_0$  ( $p < 0/01$ ) و همچنین اثر متقابل زمان هموژنیزاسیون و غلظت روغن در حدود اطمینان 95% معنی‌دار نبود.



شکل 1. اثر همزمان متغیرهای زمان هموژنیزاسیون و  $K_0$  بر اندازه ذرات

آزمون نرخ کاهش کدورت: با ملاحظه مقادیر  $p$  ارائه شده در جدول 2 و شکل 3 می‌توان نتیجه گرفت ضرایب ثابت، بخش خطی زمان هموژنیزاسیون توسط اولتراسوند و غلظت روغن همچنین توان دو زمان هموژنیزاسیون توسط اولتراسوند، غلظت روغن و غلظت روغن و نسبت غلظت امولسیفایرها دارای اثر معنی‌داری در حدود اطمینان 99% هستند ( $p < 0/01$ ) و نیز اثر متقابل زمان هموژنیزاسیون و غلظت روغن در حدود اطمینان بالاتر یعنی 95% معنی‌دار است ( $p < 0/05$ ).



شکل 2. اثر همزمان متغیرهای  $K_0$  و غلظت روغن بر نرخ کاهش کدورت

امولسیفایر در دسترس در امولسیون تولیدی است. بنابراین بر خلاف تولید ذرات بسیار کوچک در طی فرایند هموژنیزاسیون، به دلیل کمبود ماده فعال سطحی، این ذرات سریعاً به یکدیگر چسبیده و منجر به کاهش کارایی فرایند همگن سازی می شود. از سوی دیگر افزایش شدت فرایند هموژنیزاسیون سبب تخریب غشای تشکیل شده توسط امولسیفایر شده و در نهایت سبب به هم پیوستن شدیدتر ذرات و افزایش قطر قطرات می گردد (17، 14).

همان گونه که قبلاً ذکر شد، اندازه قطرات یک امولسیون توسط برهم کنش بین قطرات شکسته شده و به هم پیوستن دوباره آن ها تعیین می شود (18، 13). شکسته شدن قطرات به وسیله نوع و میزان نیروی برش به کار رفته و مقاومت قطرات به شکسته شدن (فشار لاپلاس) که توسط سورفاکتانت تعیین می شود، کنترل می شود. نرخ به هم پیوستگی قطرات (که به پایداری قطرات مربوط می شود)، به وسیله توانایی سورفاکتانت برای جذب سریع به سطح قطرات تازه شکل گرفته بستگی دارد. که این رخداد به وسیله فعالیت سطحی و غلظت سورفاکتانت تعیین می گردد (14).

در مورد کاهش قطر ذرات تشکیل دهنده امولسیون با افزایش غلظت امولسیفایرهای به کار برده شده می توان این گونه توضیح داد که با افزایش غلظت امولسیفایرها، احتمال پوشش قطرات فاز پراکنده به وسیله امولسیفایرهای مورد استفاده (توئین 80 و Span 80) افزایش می یابد. در نتیجه ذراتی که در زمان هموژن سازی کوچک شده اند، در غلظت های بالاتر امولسیفایرها بهتر پوشش داده می شوند (19، 16). البته باید این نکته را در نظر گرفت که افزودن میزان بالای اسپن 80 سیستم امولسیون را به میزان زیادی هیدروفوب کرده که در نتیجه قادر نخواهد بود امولسیون های روغن در آب را پایدار کند (20).

از سویی دیگر میزان روغن با اندازه ذرات امولسیون ارتباط مستقیم دارد. علت این پدیده را می توان این گونه توضیح داد که احتمالاً در غلظت های بالای روغن، امولسیفایر کافی برای پوشاندن ذرات روغن تازه شکل گرفته وجود ندارد. در نتیجه ذرات جدید شکل گرفته، به یکدیگر پیوسته و ذرات بزرگتری را ایجاد می کنند. از سوی دیگر افزایش غلظت روغن باعث افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده شده و سبب کاهش نرخ برش در طول فرایند هموژنیزاسیون و نهایتاً کاهش کارایی فرایند همگن سازی و ایجاد ذرات بزرگتر می گردد (14، 12).

شدن قطرات در جریان های متلاطم با عمل ویسکوز یا استرس داخلی بر قطرات امولسیون ایجاد می شود. دانسیته نیرو (Pv, W/ml)، متوسط انرژی به کار رفته در هر واحد زمان و واحد حجم، معیار اصلی قدرت آشفتگی است. بزرگترین اندازه قطرات که می تواند در جریان متلاطم خاصی وجود داشته باشد به وسیله رابطه زیر به دست می آید: (14)،

رابطه (5)

$$d_{\max} = CP_v^{-2/5} \sigma^{3/5} \rho_c^{-1/5}$$

در این رابطه C ثابت و  $\rho_c$  دانسیته جرم فاز پیوسته است. قطر متوسط ذرات به دست آمده تابع شدت برش است که از طریق دانسیته نیرو (Pv) بیان می شود اما به زمان باقی ماندن در شدت برش نیز بستگی دارد. Karbstein and Schubert در سال 1995 اعلام کردند این وابستگی بین زمان باقی ماندن و متوسط اندازه به دلیل توزیع نامتوازن دانسیته نیرو در ناحیه فاز پراکنده است (15). برای محاسبه این وابستگی، مفهوم دانسیته انرژی را مطرح کردند که نتیجه دانسیته نیرو و زمان باقی ماندن در نرخ برش است.

رابطه (6)

$$E_v = P_v \tau$$

این پارامتر می تواند به عنوان انرژی ورودی در هر واحد حجم و یا انرژی ورودی مخصوص (Ev (J/mL) توصیف می شود. اندازه متوسط ذرات همچنین می تواند به وسیله رابطه ساده نمایی تعریف شود:

رابطه (7)

$$d_{av} = C.E_v^{-b}$$

روابط بالا به روشنی رابطه معکوس بین زمان فرایند و قطر ذرات را نشان می دهد. از سوی دیگر هر قدر زمان باقی ماندن در فرایند افزایش یابد، ذرات شکسته شده روغن فرصت بیشتری خواهند داشت تا توسط امولسیفایر پوشیده شده و سبب جلوگیری از افزایش قطر ذرات می گردد به دلیل این که عدم کفایت زمان سبب به هم پیوستن مجدد قطرات تازه شکل گرفته شده و در نهایت منجر به شکل گیری ذرات روغن با قطر بیشتر خواهد شد. همان گونه که در شکل 1 نشان داده شده است اگر زمان فرایند از میزان خاصی تجاوز کند، اثر مستقیم بر قطر ذرات امولسیون دارد. این نتایج قبلاً توسط سایر محققین نیز گزارش شده بود (16، 13، 12). بخشی از این اثر به دلیل محدودیت

کرد که در نسبت‌های پایین  $K_0$ ، میزان امولسیفایر به منظوری پوشش دادن سطح تمام قطرات کافی نبوده و همین مسئله سبب شده است در غلظت‌های پایین  $K_0$ ، شاهد ناپایداری بیشتری در امولسیون‌ها باشیم. بنابراین با گذشت زمان، افزایش قطر ذرات سبب تسریع تجمع آن‌ها در لایه‌های بالایی شد اما در نمونه‌ها با سطوح بالای  $K_0$ ، امولسیفایر جذب شده توسط فاز پراکنده سبب افزایش دانسیته و کاهش روند جدایش گرانشی می‌شود (23).

در این بررسی از روغن گردو به عنوان ترکیبی فراسودمند جهت تولید امولسیون‌های روغن در آب استفاده شد. از روش سطح پاسخ به منظور ارزیابی تأثیر شرایط مختلف فرایند شامل زمان هموژنیزاسیون توسط اولتراسوند، غلظت روغن و نسبت غلظت اسپن 80 به تویین 80 بر متغیرهای وابسته شامل نرخ کاهش کدورت، اندازه ذرات امولسیون و پایداری امولسیون‌ها استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد این روش برای توصیف اثر پارامترهای مختلف فرایند بر پاسخ‌های در نظر گرفته شده موفق است. همچنین با استفاده از پارامترهای فوق‌قادریم ذراتی در ابعاد نانو (301-460) تولید کنیم که از پایداری فیزیکی مناسبی در دوره نگهداری برخوردار هستند.

#### سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاس خود را از مسئولان محترم شرکت زمزم ایران به جهت تأمین منابع مالی و امکانات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

**نرخ کاهش کدورت:** کاهش کدورت در تمامی نمونه‌ها در طول مدت نگهداری، 84 روز، قابل مشاهده بود. نتایج مطالعات قبلی نیز نشان داد کدورت امولسیون‌ها و نوشیدنی‌های تهیه شده از آن‌ها در طی زمان نگهداری کاهش می‌یابد (15، 13) که این کاهش ناشی از به هم پیوستن ذرات فاز پراکنده و در نتیجه کاهش جذب نوری امولسیون‌ها است.

غلظت‌های بالاتر امولسیفایر سبب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته شده و سرعت حرکت فاز پراکنده به سطوح بالایی را کاهش داده و سبب تأخیر در کاهش کدورت نمونه‌ها می‌گردد. (21).

همان‌طور که پیشتر ذکر گردید، در این مطالعه افزایش غلظت امولسیفایر مورد استفاده موجب کاهش نرخ کاهش کدورت نمونه گردید. افزودن غلظت‌های متفاوت از امولسیفایر به نمونه‌های تهیه شده موجب می‌شود تا لایه‌هایی با ضخامت متفاوت از امولسیفایر در اطراف قطرات روغن شکل بگیرد. در غلظت‌های بالاتر  $K_0$  به علت در دسترس بودن بیشتر امولسیفایر، لایه‌های ضخیم‌تری از آن در اطراف قطرات روغن قرار گرفته است. در نتیجه قطر این قطرات در طول مدت زمان نگهداری کمتر مورد تغییر قرار گرفته و موجب کاهش در میزان نرخ کاهش کدورت شده است (22).

**پایداری امولسیون:** همان‌گونه که قبلاً ذکر شد، زمان هموژنیزاسیون و  $K_0$  اثر مثبت و غلظت روغن تأثیر منفی بر اندازه ذرات امولسیون دارند. بنابراین می‌توان چنین برداشت

#### • References

- Zwarts L, Savage GP, McNeil D L. Fatty acid content of New Zealand grown walnuts (*Juglansregia* L.). *Int J Food Sci Nutr*1999; 50, 189-94.
- Martinez ML, Mattea MA, Maestri DM. Pressing and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil. *J Food Eng* 2009; 88, 399-404.
- Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Ferreira ICFR, Bento A, Estevinho L. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglansregia* L.) cultivars. *Food Chem Toxicol* 2008; 46, 2103-11.
- Zhang Z, Liao L, Moore J, Wu T, Wang Z. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglansregia* L.). *Food Chem* 2008; 113, 160-65.
- Coupland JN, McClements DJ. Droplet size determination in food emulsions: comparison of ultrasonic and light scattering. *J Food Eng* 2001; 50, 1117-20.
- Harnsilawat T, Pongsawatmanit R, McClement DJ. Stabilizing of model beverage cloud emulsions using protein-polysaccharide electrostatic complexes formed at the oil-water interface. *J Agricul Food Chem* 2006; 54, 5540-47.
- Qian C, Decker EA, Xiao H, McClements DJ. Comparison of biopolymer emulsifier performance in formation and stabilization of orange oil-in-water emulsions. *J Am Chem Soc* 2011; 88, 47-55.
- Leong TSH, Wooster TJ, Kentish SE, Ashokkumar M. Minimizing oil droplet size using ultrasonic

- emulsification. *Ultrasonic Sonochem* 2009; 16, 721-27.
9. Abismail B, Canselier J, Wilhelm A, Delmas H, Gourdon C. Emulsification by ultrasound: drop size distribution and stability. *Ultrasonic Sonochem* 1999; 6, 75-83.
  10. Mirhosseini H, Tan CP, Abdul hamid NS, Yusof S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil on flavor release from diluted orange beverage emulsion. *Food chem.* 2008; 107, 1161-72.
  11. Flourey J, Desrumaux A, Lardie`res J. Effect of high pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Innov Food Sci Emerg Technol* 2007; 1, 127-34.
  12. Chanamai R, McClements DJ. Depletion Flocculation of Beverage Emulsions by Gum Arabic and Modified Starch. *J Food Sci* 2001; 66 (3), 457-63.
  13. Buffo RA, Reineccius GA, Oehlert GW. Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. *Food Hydrocolloid* 2001; 15, 53-66.
  14. Gharibzahedi SMT, Mousavi SM, Hamed M, Ghasemlou M. Response surface modeling for optimization of formulation variables and physical stability of walnut oil-in-water beverage emulsions. *Food Hydrocolloid* 2012; 26, 293-301.
  15. Karbstein S, Schubert H. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol* 1995; 9: 170-175
  16. Unji M, Ueda H, Ogata M, Nakagaki M. Studies on the oil in water emulsions stabilized with gum Arabic by using the turbidity ratio method. *Yakugaku Zasshi* 1994; 112, 906-13.
  17. Kourniatis LR, Spinelli L S, Mansur RE. Formation of orange oil in water nanoemulsions using nonionic surfactant mixture by high pressure homogenizer. *Colloidal journal* 2010; 72 (3), 396-402.
  18. Tan CP, Nakajima M. Effect of polyglycerol esters of fatty acids on physicochemical properties and stability of b-carotene nanodispersions prepared by emulsification/evaporation method. *J Sci Food Agricul* 2005; 85, 121-26.
  19. Harnsilawat T, Pongsawatmanit R, McClements DJ. Stabilization of model beverage cloud emulsions using protein-polysaccharide electrostatic complexes formed at the oil-water interface. *J Agricul Food Chem* 2006; 54, 5540-47.
  20. Kentish S, Wooster TJ, Ashokkumar W, Paul T, McClements DJ. Functional materials in food nanotechnology. *J Food Sci* 2006; 71 (9), 107-16.
  21. Jacome-Gouth O, Aserin A, Garti N. Stability and opacity of orange oil cloudy emulsions based on gum elemi and gum Arabic. *J Food Sci Technol* 1991; 26, 249-57.
  22. Taherian AR, Fustier P, Ramaswamy HS. Effect of added oil and modified starch on rheological properties, droplet size distribution, opacity and stability of beverage cloud emulsions. *J Food Eng* 2006; 77, 687-96.
  23. Hernandez E, and Baker RA. Turbidity of beverages with citrus oil clouding agent. *J Sci* 1991; 56, 1024-30.
  24. Qian C, McClements DJ. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure. *Food Hydrocolloid* 2010; 25(5): 1000-8.

## Preparation and characterization evaluations of walnut oil-based emulsions using response surface methodology

Homayoonfal M<sup>1</sup>, Khodaiyan F<sup>\*2</sup>, Mousavi M<sup>3</sup>, Hosseini Panjaki M<sup>4</sup>

- 1- M.Sc in Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
- 2- \*Corresponding author: Associate prof, Dept. of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: khodaiyan@ut.ac.ir
- 3- prof, Dept. of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
- 4- B.Sc in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

Received 23 Jun, 2013

Accepted 16 Sept, 2013

**Background and Objective:** Walnut oil has a high omega-3 unsaturated fatty acid and antioxidant component content, providing nutritional and functional properties including improvement of the gastrointestinal system, decrease in blood cholesterol level, eventually leading to a decrease in the risk of cardiovascular disease. The present study examined the possibility of the production of emulsion based on walnut oil and the effect of preparation on its stability.

**Materials and Methods:** Walnut oil with tween 80 and span 80 (as emulsifiers) was used in emulsion production. Ultrasonic waves were applied for homogenization and the effect of homogenization time, oil content, and emulsifier concentration on particle size, emulsion stability, and turbidity loss rate was studied.

**Results:** Ultrasonic time had a reverse effect on particle size and turbidity loss rate and a direct effect on emulsion stability. The particle size and turbidity loss rate of prepared emulsions had a direct relation with oil concentration and a negative effect on emulsion stability. Emulsifier concentration had a positive effect on emulsion stability, a negative effect on emulsion stability, and had no significant effect on turbidity loss rate.

**Conclusion:** Walnut oil can be used to produce emulsions with high stability; an evaluation of emulsion stability using creaming tests showed that samples have appropriate stability during storage time.

**Keywords:** Emulsion, Stability, Walnut oil, Response surface methodology, Turbidity