

## بررسی سینتیک تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار

عبدالرسول هجری<sup>۱</sup>، علیرضا خسروی<sup>۲</sup>، کمال الدین قرنجیگ<sup>۳</sup>

۱ دانشجوی دکتری، دانشکده مهندسی پلیمر و رنگ، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۲ دانشیار، دانشکده مهندسی پلیمر و رنگ، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۳ استاد، پژوهشگاه علوم و فناوری رنگ، گروه مواد رنگزای آلی، تهران، ایران



تاریخ دریافت:

۹۷/۱۲/۲۶

تاریخ پذیرش:

۹۸/۰۴/۲۵

چکیده

در این پژوهش، سینتیک تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار به روش اسپکتروفوتومتری بررسی شد و تاثیر غلظت‌های بتاکاروتن، روغن مایع، سطح فعال و دما بر روی پایداری بتاکاروتن مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی بتاکاروتن به روش نفوذ حلالی ساخته و در دمای محیط در تاریکی نگهداری شدند. نتایج نشان داد که سینتیک تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار از واکنش درجه یک پیروی می‌کند. همچنین میزان پایداری بتاکاروتن با افزایش غلظت روغن مایع افزایش محسوسی پیدا کرد. افزایش غلظت بتاکاروتن و سطح فعال از ۱ به ۵ درصد وزنی به ترتیب موجب افزایش ثابت سرعت تخریب از  $0.00473$  و  $0.00737$  به  $0.1280$  و  $0.1093$  بر ساعت شد. افزایش دما از  $5^{\circ}\text{C}$  به  $65^{\circ}\text{C}$  موجب کاهش پایداری بتاکاروتن شد و این در حالی بود که با افزایش دما به بیش از  $65^{\circ}\text{C}$  روند معکوسی مشاهده می‌گردد. لازم به ذکر است که افزودن بتاکاروتن به حامل‌های لیپیدی نانوساختار سبب افزایش اندازه ذرات از ۳۸ به ۱۰۵ نانومتر شد. ضمن اینکه اندازه ذرات اولیه حامل‌های لیپیدی نانوساختار بدون حضور روغن مایع تغییر محسوسی نکرد.

حامل‌های لیپیدی نانوساختار؛ بتاکاروتن؛ تخریب؛ سینتیک؛  
فناوری نانو

واژگان کلیدی

## Kinetic Study of $\beta$ -Carotene Degradation in Nanostructured Lipid Carriers

A. Hejri<sup>1</sup>, A. R. Khosravi<sup>2\*</sup>, K. Gharanjig<sup>3</sup>

1. Ph.D Student, Department of Polymer Engineering and Color Technology, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

2. Associate Professor, Department of Polymer Engineering and Color Technology, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

3. Professor, Department of Organic Colorants, Institute for Color Science and Technology, Tehran, Iran

### Abstract

In this research, degradation of  $\beta$ -carotene in nanostructured lipid carriers was studied employing spectrophotometric method. The effect of  $\beta$ -carotene concentration, liquid lipid concentration, surfactant concentration and temperature on stability of  $\beta$ -carotene was investigated.  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers were prepared using solvent diffusion method and the samples were kept in darkness at room temperature. The results indicated that the degradation of  $\beta$ -carotene in nanostructured lipid carriers follows first order kinetics. The stability of  $\beta$ -carotene increased significantly by increasing the liquid oil concentration. Furthermore, rising the  $\beta$ -carotene and surfactant concentrations from 1 to 5 %w/w resulted in climbing of degradation rate constants from 0.00473 and 0.00737 up to 0.01280 and 0.01093 1/h, respectively.  $\beta$ -carotene retention decreased by Increment of temperature from 5°C to 65°C while further elevating of temperature was led to reverse results. Particle size studies revealed that addition of  $\beta$ -carotene to nanostructured lipid carriers grows particle size from 38nm to 105 nm. Moreover, liquid lipid concentration had no significant effect on initial particle size of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers.

### Keywords

Nanostructured Lipid Carriers;  $\beta$ -carotene; Degradation; Kinetics; Nanotechnology

## ۱- مقدمه

بسیاری از اجزا سازنده غذا طبیعتاً کلوئیدی هستند و در نتیجه تجمع خودبه‌خودی مولکول‌هایی با ابعاد نانو به صورت ذرات در سطح تشکیل می‌شوند. بنابراین موج بعدی نوآوری‌های غذایی نیاز به یک تغییر توجه از خواص ماکروسکوپی به خواص در ابعاد مزو و نانو خواهد داشت [۱]. سیستم‌های حامل کلوئیدی نانو کارایی بالاتری نسبت به میکروکپسول‌ها دارند و در نتیجه امروزه شاهد کاهش شدید در استفاده از میکروکپسول‌ها و افزایش سریع استفاده از حامل‌های کلوئیدی نانو هستیم [۲]. با استفاده از حامل‌های کلوئیدی نانو می‌توان بر مشکلات جذب کم و آرام و ناپایداری ترمودینامیکی غلبه کرد. این سیستم‌ها مونو دیسپرس یا شبه مونو دیسپرس هستند و از لحاظ ترمودینامیکی پایدارند یا پایداری سینتیکی بلند مدت دارند. اندازه ذرات کوچک و یکنواخت آنها رهاسازی سریع مواد کپسوله شده را ممکن می‌سازد [۳].

در اوایل دهه ۱۹۹۰، مزایای ذرات جامد، امولسیون‌ها و لیپوزوم‌ها، با تولید «نانو ذرات لیپید جامد» با هم ادغام شد. نانو ذرات لیپید جامد به زبان ساده در واقع امولسیون است که در آن به جای لیپید مایع (روغن) از لیپید جامد استفاده شده است. مزایای نانو ذرات لیپید جامد شامل امکان رهاسازی کنترل شده و هدفمند دارو، افزایش پایداری دارو، عدم استفاده از حلال‌های آلی، عدم سمیت زیستی حامل و قابلیت تولید و استریلیزه کردن به صورت انبوه باعث توجه سریع محققان به این سیستم‌های حامل نوین شد [۴]. اما، با وجود مزایای بسیاری که نانو ذرات لیپید جامد دارند و کارایی منحصر به فرد آنها، این سیستم‌ها دارای نقاط ضعف اساسی مانند ظرفیت انتقال کم برای برخی از داروها، دفع دارو و میزان بالای آب دیسپرسیون بودند [۵]. نتیجه، تولید و توسعه حامل‌های لیپیدی نانو ساختار، به عنوان نسل جدید حامل‌های لیپیدی بود. برای تولید حامل‌های لیپیدی نانو ساختار، از لیپیدهایی که مولکول‌هایشان از نظر فضایی تفاوت زیادی دارند استفاده می‌شود. برای مثال از مخلوط لیپیدهای جامد و مایع استفاده می‌شود. حاصل، ماتریسی از ذرات لیپید است که نقطه ذوب آن نسبت به لیپید جامد اولیه کاهش یافته در حالی که همچنان در دمای بدن جامد است. پس هدف اصلی، ایجاد یک نانو ساختار ویژه در ماتریس لیپید است تا بتواند مقادیر بیشتری از ماده مورد نظر مثلاً دارو را در خود قرار دهد و حمل کند و همچنین طی انبارداری از دفع این ماده جلوگیری شود [۴].

بتاکاروتن یکی از اعضای خانواده کاروتنوئیدها با ۱۱ باند دوگانه مزدوج و رنگ نارنجی می‌باشد [۶]. بتاکاروتن دو نقش اساسی در بدن انسان دارد یکی به عنوان منبع اصلی ویتامین آ و دیگری حفاظت بدن در برابر رادیکال‌های آزاد [۷]. این ویژگی‌ها باعث توجه و استفاده از بتاکاروتن به عنوان یک ترکیب وظیفه دار در صنایع غذایی شده است [۸]. هرچند، به خاطر باندهای دوگانه مزدوج زیادی که در ساختار بتاکاروتن وجود دارد این ترکیب به شدت نسبت به حرارت، نور و اکسیژن (هوا)

حساس است و این عوامل موجب تخریب و ایزومریزاسیون بتاکاروتن می‌شوند [۹]. افزون بر این، بتاکاروتن نامحلول در آب است، بنابراین استفاده از بتاکاروتن در محصولات غذایی با مشکلات زیادی همراه است [۶].

کاربرد نانوتکنولوژی به عنوان روشی برای کپسوله کردن و حمل ترکیبات وظیفه‌دار و زیست فعال از جمله مصارف نانوتکنولوژی در صنایع غذایی می‌باشد که امروزه در سطح محدود مورد استفاده قرار می‌گیرد و توانایی بالقوه‌ای برای تجاری شدن در آینده نزدیک دارد. اجزای وظیفه‌دار کمتر به تنهایی و به صورت خالص مصرف می‌شوند. در عوض، اغلب توسط نوعی سیستم حامل مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۰]. بتاکاروتن به عنوان یک ترکیب وظیفه‌دار با توجه به خواص فیزیکی و شیمیایی آن اغلب به همراه یک حامل در محصولات غذایی استفاده می‌شود [۱۱]. حامل‌های لیپیدی نانو ساختار به عنوان یک سیستم حامل کلوئیدی نانو پتانسیل بالایی برای کاربرد به عنوان حامل بتاکاروتن دارند [۱۲]. پزشکی و همکاران [۱۳] یک سیستم پایدار از حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی بتاکاروتن ساختند که می‌تواند در مواد غذایی وظیفه‌دار استفاده شود. آنها همچنین نشان دادند که هیچ برهمکنش شیمیایی بین بتاکاروتن و ماتریس حامل لیپیدی نانو ساختار وجود ندارد. در پژوهش صورت گرفته توسط هجری و همکاران [۱۴] از حامل‌های لیپیدی نانو ساختار به عنوان سیستم حامل برای بتاکاروتن استفاده شده است و تاثیر آنتی اکسیدان‌های خوراکی بر پایداری شیمیایی بتاکاروتن در این حامل‌ها بررسی شده است. نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که استفاده از ترکیب ویتامین ای و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) باعث افزایش محسوس پایداری بتاکاروتن می‌شود در حالی که حضور ویتامین سی پایداری بتاکاروتن را به شدت کاهش می‌دهد.

یکی از وظایف سیستم حامل حفظ و نگهداری از ترکیب وظیفه‌دار تا رسیدن به بدن مصرف‌کننده می‌باشد [۱۵]. در این راستا، بررسی پایداری ترکیب زیست فعال در حامل‌های لیپیدی نانو ساختار یکی از موارد مورد توجه در پژوهش‌های مرتبط می‌باشد. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی تاثیر چند عامل فرایندی بر روی سینتیک تخریب و پایداری بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانو ساختار می‌باشد. بدین منظور، حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی بتاکاروتن به روش نفوذ حلالی ساخته و در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شدند. از مزایای روش نفوذ حلالی باید به ساده بودن فرآیند تولید و شرایط حرارتی ملایم با توجه به حساسیت بالای بتاکاروتن به حرارت اشاره کرد [۱۶]. تاثیر پارامترهای غلظت بتاکاروتن، غلظت سطح فعال، غلظت روغن مایع و دمای فاز آبی بر روی پایداری بتاکاروتن بررسی شد. همچنین، سینتیک واکنش تخریب بتاکاروتن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل باعث درک بهتری از روند و عوامل موثر بر تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانو ساختار می‌شود و در نتیجه امکان بهبود فرمولاسیون این سیستم‌های حامل را به منظور کاربرد بتاکاروتن در

صنایع غذایی فراهم می‌نماید.

## ۲- تجربی

### ۱-۲- مواد

اسید پالمیتیک، پلی‌اکسی‌اتیلن (۲۰) سوربیتان مونوولات (توین ۸۰) و استون از شرکت مرک (Merck) آلمان تهیه شدند. روغن ذرت از شرکت صنعتی بهشهر ایران خریداری شد. بتاکاروتن مورد استفاده در این پژوهش به فرم دیسپرسیون ۳۰٪ بتاکاروتن در روغن آفتابگردان است که از شرکت بی‌آس اف (BASF) آلمان تهیه شد. آب دی‌یونیزه شده توسط دستگاه دایرکت کیو (Direct-Q) شرکت میلیپور (Millipore) فرانسه فراهم شد. تمامی مواد مورد استفاده در این پژوهش مورد تایید برای استفاده در مواد غذایی بودند.

### ۲-۲- روش ساخت حامل‌های لیپیدی نانوساختار

با توجه به حساسیت بتاکاروتن در برابر تخریب، حامل‌های لیپیدی نانوساختار به روش نفوذ حلالی ساخته شدند [۱۶]. ابتدا ۴ g/l از فاز روغنی شامل اسید پالمیتیک، روغن ذرت و بتاکاروتن در مقادیر مختلف در اتانول با دمای ۶۵-۷۰ °C حل شدند. در یک ظرف دیگر فاز آبی شامل آب دی‌یونیزه با مقادیر مختلف توین ۸۰ تهیه شد. سپس محلول آلی داغ به نسبت ۱۰:۱۰ حجمی به فاز آبی در حال همزدن با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه توسط یک همزن مکانیکی در دماهای مختلف اضافه شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه دیگر همزدن ادامه یافت. در انتها، دیسپرسیون حاصل تا دمای محیط به منظور تشکیل نانوذرات جامد خنک گردید. برای بررسی پایداری بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار، نمونه‌های ساخته شده در دمای ۲۵±۲ °C در تاریکی نگهداری شدند. با تغییر هر پارامتر در ساخت نمونه‌ها، مقادیر پارامترهای متغیر غلظت بتاکاروتن، غلظت روغن مایع، غلظت سطح فعال و دما به ترتیب برابر ۳ درصد وزنی، ۲۰ درصد وزنی، ۳ درصد وزنی و ۴۵ °C فرض شدند.

### ۳-۲- تاثیر پارامترهای مختلف بر پایداری بتاکاروتن

تاثیر پارامترهای غلظت بتاکاروتن، غلظت روغن مایع، غلظت سطح فعال و دما بر روی پایداری بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا، با هدف ساخت حامل‌های لیپیدی نانوساختار پایدار، ابتدا چندین نمونه اولیه با مقادیر مختلف پارامترهای مذکور ساخته و پایداری فیزیکی نمونه‌ها در طول زمان نگهداری ارزیابی شد. سپس، با استفاده از این نتایج اولیه و مراجع مرتبط محدوده پارامترهای مورد بررسی تعیین گردید [۱۶-۱۸]. در نتیجه، تاثیر پارامترهای غلظت بتاکاروتن، غلظت روغن مایع، غلظت سطح فعال و دما به ترتیب در مقادیر ۱-۵، ۰-۴۰، ۱-۵ درصد وزنی و ۸۵-۵ °C ارزیابی شد. میزان پایداری بتاکاروتن در طول زمان ۹ روز نگهداری به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد [۱۹-۲۱].

بدین منظور، مقدار معینی از دیسپرسیون حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی بتاکاروتن به طور کامل در استون (به نسبت حجمی ۱:۱) حل شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ماکزیمم جذب ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس غلظت بتاکاروتن در نمونه‌ها از روی منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. با توجه به این که میزان جذب ترکیبات دیگر موجود در حامل لیپیدی نانوساختار در طول موج ۴۵۰ نانومتر ناچیز بود، بنابراین کل جذب نمونه‌ها در این طول موج مرتبط با بتاکاروتن در نظر گرفته شد.

### ۴-۲- تعیین سینتیک تخریب بتاکاروتن

سینتیک تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی این ماده با بررسی انطباق مدل‌های درجه صفر، یک و دو بر داده‌های تخریب بتاکاروتن صورت گرفت و بهترین مدل سینتیکی منطبق مشخص گردید. سپس، بر اساس شیب خط مدل‌های رگرسیونی منطبق، ثابت سرعت تخریب بتاکاروتن تعیین شد.

### ۵-۲- بررسی اندازه ذرات

روش تفرق نور پویا (DLS) برای تعیین توزیع اندازه ذرات نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. توزیع اندازه ذرات نمونه‌ها یک روز پس از ساخت توسط دستگاه کوردوان وسکو (Cordouan Vasco™) فرانسه در دمای ۲۵ °C اندازه‌گیری شد و شعاع هیدرودینامیکی متوسط (Z-average) و شاخص پراکندگی (PDI) حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی بتاکاروتن تعیین گردید. نمونه‌ها در صورت نیاز برای جلوگیری از پدیده پراکنش چندگانه توسط آب مقطر رقیق شدند.

### ۶-۲- بررسی آماری

تمام آزمون‌ها سه مرتبه تکرار و میانگین نتایج گزارش شدند. همچنین، انحراف معیار داده‌ها محاسبه و در جداول و شکل‌ها نشان داده شدند.

## ۳- نتایج و بحث

### ۱-۳- سینتیک تخریب

میزان غلظت بتاکاروتن در نمونه‌های ساخته شده با فرمولاسیون‌ها و شرایط ساخت متفاوت در طول زمان نگهداری به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد. مدل‌های درجه صفر (معادله ۱)، یک (معادله ۲) و دو (معادله ۳) به منظور انطباق بر داده‌های تجربی بررسی شدند.

$$\frac{C}{C_0} = 1 - k_d t \quad (1)$$

$$\ln \frac{C}{C_0} = -k_d t \quad (2)$$

$$\frac{C_0}{C} = 1 + k_d t \quad (3)$$

یک است. این بدین معناست که غلظت بتاکاروتن بر سرعت تخریب آن موثر است. این درجه واکنش برای تخریب بتاکاروتن در حامل‌های نانو گزارش شده است [۲۲].

### ۳-۲- تاثیر غلظت بتاکاروتن

شکل ۱ تاثیر غلظت بتاکاروتن را بر روی پایداری این ماده رنگزا در حامل‌های لیپیدی نانوساختار در طول مدت نگهداری نشان می‌دهد. همان گونه که در شکل پیداست، با افزایش مقدار بتاکاروتن موجود در

که در آن  $C_0$  غلظت بتاکاروتن،  $C_t$  غلظت اولیه بتاکاروتن،  $t$  زمان و  $k_0$  ثابت سرعت واکنش تخریب است.

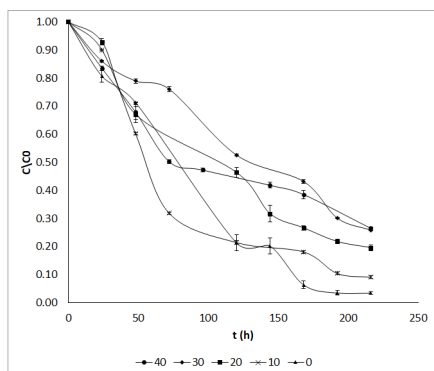
با مقایسه مدل‌های مختلف (داده گزارش نشده است)، مدلی که بیشترین انطباق را با داده‌های تجربی داشت انتخاب و درجه واکنش معین شد [۱۹]. مقادیر درجه واکنش،  $R^2$  و ثابت سرعت واکنش در جدول ۱ آورده شده است. همانطور که در جدول مشخص است تمامی نمونه‌ها همخوانی بالایی با مدل درجه یک داشتند که نشان می‌دهد که تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار از نوع درجه

جدول ۱: تاثیر پارامترهای غلظت بتاکاروتن، غلظت روغن مایع، غلظت سطح فعال و دما بر روی درجه واکنش و ثابت سرعت تخریب بتاکاروتن.

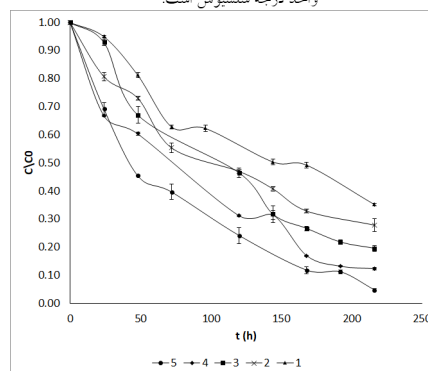
پارامتر	مقدار	درجه واکنش	$R^2$	ثابت سرعت (1/h)
غلظت بتاکاروتن <sup>a</sup>	۱	۱	۰/۹۶۸۸±۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۴۷۲±۵/۷۷E-۰۵
	۲	۱	۰/۹۸۱۱±۰/۰۱۱۷	۰/۰۰۵۹۳±۳/۰۵E-۰۴
	۳	۱	۰/۹۸۵۰±۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۷۹۷±۱/۵۲E-۰۴
	۴	۱	۰/۹۷۰۳±۰/۰۰۵۳	۰/۰۰۹۶۲±۵/۷۷E-۰۵
	۵	۱	۰/۹۶۷۲±۰/۰۱۷۹	۰/۰۱۲۸۰±۱/۴۷E-۰۳
غلظت روغن مایع <sup>a</sup>	۰	۱	۰/۹۵۰۰±۰/۰۰۸۵	۰/۰۱۶۸۷±۹/۲۴E-۰۴
	۱۰	۱	۰/۹۶۴۷±۰/۰۰۰۵	۰/۰۱۱۲۳±۲/۵۲E-۰۴
	۲۰	۱	۰/۹۸۵۰±۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۷۹۷±۱/۵۲E-۰۴
	۳۰	۱	۰/۹۷۰۵±۰/۰۰۲۷	۰/۰۰۶۱۷±۵/۷۷E-۰۵
	۴۰	۱	۰/۹۴۶۷±۰/۰۰۴۶	۰/۰۰۵۶۷±۶/۰۰E-۰۵
غلظت سطح فعال <sup>a</sup>	۱	۱	۰/۹۸۳۲±۰/۰۰۱۸	۰/۰۰۷۳۷±۵/۷۷E-۰۵
	۲	۱	۰/۹۹۳۱±۰/۰۰۲۰	۰/۰۰۷۸۳±۵/۷۷E-۰۵
	۳	۱	۰/۹۸۵۰±۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۷۹۷±۱/۵۲E-۰۴
	۴	۱	۰/۹۸۹۹±۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۹۵۳±۳/۰۵E-۰۴
	۵	۱	۰/۹۵۵۴±۰/۰۰۱۹	۰/۰۱۰۹۳±۱/۵۲E-۰۴
دما <sup>b</sup>	۵	۱	۰/۹۸۲۵±۰/۰۰۲۳	۰/۰۰۵۹۰±۱/۰۰E-۰۴
	۲۵	۱	۰/۹۸۴۹±۰/۰۰۳۲	۰/۰۰۶۸۳±۱/۵۲E-۰۴
	۴۵	۱	۰/۹۸۵۰±۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۷۹۷±۱/۵۲E-۰۴
	۶۵	۱	۰/۹۶۰۶±۰/۰۰۲۳	۰/۰۱۵۱۰±۶/۰۸E-۰۴
	۸۵	۱	۰/۹۳۲۹±۰/۰۰۴۹	۰/۰۱۱۱۷±۱/۵۲E-۰۴

<sup>a</sup> واحد درصد وزنی است.

<sup>b</sup> واحد درجه سلسیوس است.



شکل ۲: تاثیر غلظت روغن مایع ۰ (▲)، ۱۰ (×)، ۲۰ (■)، ۳۰ (◆) و ۴۰ (●) درصد وزنی بر تخریب بتاکاروتن



شکل ۳: تاثیر غلظت اولیه بتاکاروتن ۱ (▲)، ۲ (×)، ۳ (■)، ۴ (◆) و ۵ (●) درصد وزنی بر تخریب آن.

زمان نگهداری جلوگیری می‌شود و در نتیجه بتاکاروتن در داخل ذرات محافظت می‌شود. افزون بر این، با توجه به حلالیت بهتر بتاکاروتن در روغن مایع، افزایش غلظت آن می‌تواند منجر به بارگذاری بیشتر آن در نانوذرات شود. در غلظت‌های بالای روغن مایع که بسیار بیش از حد انحلال آن در چربی جامد در دمای محیط است، روغن مایع به فرم نانوقطراتی در داخل نانوذرات چربی جامد تبدیل می‌شود. حلالیت ترکیب زیست فعال در این نانوقطرات روغن مایع بیشتر است که موجب بارگذاری بیشتر آنها می‌شود و در عین حال چربی جامد از نشت این ترکیبات جلوگیری می‌کند [۲۳]. این می‌تواند دلیل دیگری بر تخریب کمتر بتاکاروتن در غلظت‌های بالای روغن مایع باشد.

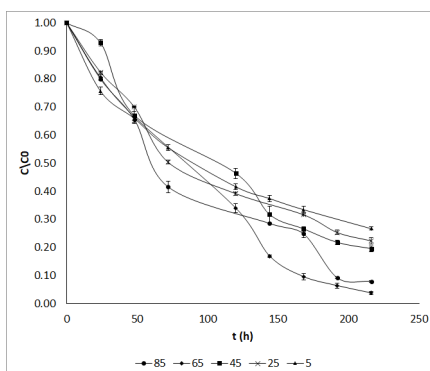
### ۳-۴- تاثیر غلظت سطح فعال

افزایش غلظت سطح فعال باعث افزایش تخریب بتاکاروتن می‌گردد (شکل ۳). با توجه به حضور پراکسیدها در سطح فعال توپین ۸۰، با افزایش مقدار سطح فعال میزان حضور این پراکسیدها در محیط افزایش می‌یابد. این پراکسیدها می‌توانند در شرایط مختلف تجزیه شده و رادیکال‌های آزاد ایجاد کنند. رادیکال‌های آزاد باعث اکسید شدن بتاکاروتن موجود در نانوذرات در زمان نگهداری شوند [۱۹، ۲۵]. از طرفی، غلظت‌های بالای سطح فعال با کاهش کشش سطحی امکان افزایش سطح را برای فاز ناپیوسته ایجاد می‌کند و در نتیجه حامل‌های لیپیدی نانو ساختاری با اندازه ذرات کوچکتر تشکیل می‌شوند [۱۸]. تشکیل حامل‌های لیپیدی نانو ساختار با اندازه ذرات ریزتر با افزایش سطح همراه است. افزایش سطح باعث افزایش نفوذ رادیکال‌های آزاد و دیگر عوامل اکسنده محیطی به داخل نانوذرات و در نتیجه افزایش تخریب بتاکاروتن می‌شود.

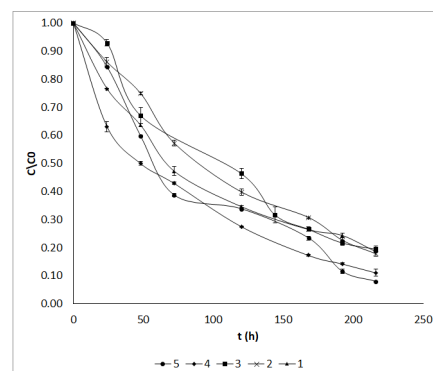
سیستم حامل میزان تخریب آن افزایش می‌یابد. با وجود بهبود ظرفیت بارگذاری در حامل‌های لیپیدی نانو ساختار نسبت به نانوذرات لیپید جامد، میزان ظرفیت بارگذاری در حامل‌های لیپیدی نانو ساختار محدود و وابسته به عوامل مختلف از جمله نوع و ترکیب درصد چربی‌های تشکیل دهنده نانوذرات، حلالیت ماده زیست فعال در فاز چربی و ساختار کریستالی است. بنابراین، با افزایش غلظت بتاکاروتن میزان بارگذاری بتاکاروتن در داخل نانوذرات کاهش و مقدار بتاکاروتن آزاد و یا بتاکاروتن سطحی افزایش می‌یابد. بتاکاروتن آزاد می‌تواند به فرم کریستالی و یا محلول توسط سطح فعال باشد. در نتیجه، بتاکاروتن در معرض عوامل اکسنده محیطی قرار می‌گیرد و به سرعت تخریب می‌شود [۴، ۲۳]. افزایش شدید ثابت سرعت تخریب بتاکاروتن با افزایش غلظت آن می‌تواند مؤید محدودیت در بارگذاری بتاکاروتن و افزایش شدید میزان بتاکاروتن آزاد و سطحی در غلظت‌های بالای این ماده باشد.

### ۳-۳- تاثیر غلظت روغن مایع

تفاوت حامل‌های لیپیدی نانو ساختار با نانوذرات لیپید جامد در کاربرد روغن مایع به همراه چربی جامد در ساخت نانوذرات است. ترکیب دو چربی با ویژگی‌های کاملاً متفاوت علاوه بر افزایش بارگذاری مانع از دفع دارو از نانوذرات در طول زمان نگهداری می‌شود [۲۴]. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت روغن مایع در نانوذرات میزان تخریب بتاکاروتن کاهش می‌یابد. بر اساس مطالعه هجری و همکاران [۱۶] افزایش غلظت روغن مایع با ایجاد تاخیر و یا جلوگیری از پدیده کریستالیزه شدن دوباره مانع از تشکیل کریستال‌های کامل  $\beta$  می‌شود. بنابراین، از دفع بتاکاروتن از نانوذرات لیپیدی در طول



شکل ۴: تاثیر دمای ۵ (▲)، ۲۵ (×)، ۴۵ (■)، ۶۵ (◆) و ۸۵ (●) درجه سلسیوس بر تخریب بتاکاروتن.



شکل ۵: تاثیر غلظت سطح فعال ۱ (▲)، ۲ (×)، ۳ (■)، ۴ (◆) و ۵ (●) درصد وزنی بر تخریب بتاکاروتن

جدول ۲: اندازه ذرات حامل‌های لیپیدی نانو ساختار بدون بتاکاروتن، حاوی بتاکاروتن و بدون روغن مایع

نمونه	غلظت بتاکاروتن (% وزنی)	غلظت روغن مایع (% وزنی)	غلظت سطح فعال (% وزنی)	دما (°C)	اندازه ذرات (nm)	شاخص پراکندگی
NLC بدون بتاکاروتن	۰	۲۰	۳	۴۵	۳۸±۹	۰/۲۱۱±۰/۰۳۴
NLC حاوی بتاکاروتن	۳	۲۰	۳	۴۵	۱۰۵±۱۳	۰/۳۶۷±۰/۰۶۵
SLN حاوی بتاکاروتن	۳	۰	۳	۴۵	۱۱۷±۱۵	۰/۴۱۴±۰/۰۵۹

### ۳-۵- تاثیر دما

روند تخریب بتاکاروتن در نمونه‌های ساخته شده با دماهای فاز آبی ۵، ۲۵، ۴۵، ۶۵ و ۸۵ °C در شکل ۴ نشان داده شده است. با افزایش دمای فاز آبی میزان تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار افزایش می‌یابد. دلیل این اثر، کاهش اندازه ذرات با افزایش دمای فاز آبی است. افزایش دمای فاز آبی باعث کاهش کشش سطحی و افزایش سرعت حرکت مولکولی می‌گردد. در نتیجه نانوذراتی با اندازه ذرات ریزتر و با سطح ویژه بیشتری ایجاد می‌شوند. این افزایش سطح باعث افزایش سطح نفوذ و در نتیجه افزایش تماس بتاکاروتن با عوامل اکسنده محیطی می‌گردد. افزایش شدید تخریب بتاکاروتن در دمای ۶۵ °C را می‌توان بر اساس کاهش شدید اندازه ذرات به دلیل کاهش ویسکوزیته و عبور از نقطه ذوب اسید پالمیتیک و همچنین کاهش کشش سطحی به دلیل قرار گرفتن در دمای نزدیک نقطه ابری شدن توپین ۸۰ تشریح کرد. افزون بر این، در این دمای بالا احتمال تجزیه پراکسیدهای موجود در سطح فعال و تشکیل رادیکال‌های فعال بیشتر می‌شود [۱۷، ۲۶]. اما، در دمای ۸۵ °C میزان تخریب نسبت به دمای ۶۵ °C کاهش یافته است. فاز آبی ساخته شده در دمای ۸۵ °C کدر بود. این نشان از جدایش فازی سطح فعال به دلیل قرار گرفتن در دمایی بیش از نقطه ابری شدن توپین ۸۰ بود. دماهای بیش از نقطه ابری شدن سطح فعال موجب جدایش فازی، اختلال در عملکرد سطح فعال و افزایش اندازه ذرات می‌گردد [۲۷]. این افزایش در اندازه ذرات می‌تواند باعث افزایش پایداری بتاکاروتن به دلیل کاهش سطح نفوذ شود.

### ۳-۶- اندازه ذرات

اندازه ذرات حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی بتاکاروتن توسط آزمون تفرق نور پویا مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۲ میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی محاسبه شده برای حامل‌های لیپیدی نانوساختار بدون بتاکاروتن، حاوی بتاکاروتن و بدون روغن ذرت- که نانوذرات لیپید جامد (SLN) است- را نشان می‌دهد. با افزودن بتاکاروتن به حامل‌های لیپیدی نانوساختار اندازه ذرات و توزیع آن افزایش یافته است که نشان دهنده قرار گرفتن بتاکاروتن در داخل ماتریس حامل‌های لیپیدی نانوساختار می‌باشد [۲۸]. همچنین، حذف روغن مایع تاثیر محسوسی بر روی اندازه ذرات نداشت. با توجه به این که آزمون اندازه ذرات از نمونه‌ها در زمان حداکثر ۲۴ ساعت پس از ساخت گرفته شده است، تاثیر روغن مایع بر ساختار نانوذرات مشاهده نشده است. با گذشت زمان و بر اثر تبدیلات مرفولوژیک، سطح ذرات افزایش می‌یابد که اگر این سطح جدید توسط سطح فعال پوشش داده نشود، منجر به تجمع ذرات و افزایش اندازه ذرات می‌گردد. در واقع، روغن مایع با جلوگیری از تبدیلات مرفولوژیک و تشکیل کریستال‌های کامل مانع از افزایش سطح و در نتیجه تجمع ذرات می‌شود [۲۹]. هرچند این اثر پس از ۲۴ ساعت که آزمون اندازه ذرات

انجام گرفت، قابل مشاهده نبود. اما، کدر شدن نمونه بدون روغن ذرت پس از دو هفته نگهداری نشان دهنده تاثیر روغن مایع بود.

### ۴- نتیجه گیری

سینتیک تخریب بتاکاروتن در حامل‌های لیپیدی نانوساختار مورد بررسی قرار گرفت. تخریب بتاکاروتن در این حامل‌ها از مدل درجه یک پیروی می‌کرد. هر چهار پارامتر غلظت بتاکاروتن، غلظت روغن مایع، غلظت سطح فعال و دما بر روی میزان تخریب بتاکاروتن تاثیرگذار بودند. با افزایش غلظت بتاکاروتن و سطح فعال میزان پایداری بتاکاروتن کاهش یافت در حالی که افزایش غلظت روغن مایع موجب بهبود پایداری بتاکاروتن شد. همچنین، افزایش دما تا ۶۵ °C باعث تشدید تخریب بتاکاروتن شد ولی با بالا رفتن بیشتر دما کاهش در ثابت سرعت تخریب ماده رنگزا مشاهده شد. افزودن بتاکاروتن به حامل‌های لیپیدی نانوساختار موجب افزایش اندازه ذرات و شاخص پراکندگی شد. همچنین، حذف روغن مایع از حامل‌های لیپیدی نانوساختار و تشکیل نانوذرات لیپید جامد تاثیری بر روی اندازه ذرات اولیه نداشت ولی موجب ناپایداری و تجمع ذرات در طول زمان نگهداری شد. درک صحیح از عوامل و مکانیزم‌های تخریب مواد رنگزا در حامل‌های لیپیدی نانوساختار، این امکان را می‌دهد که حامل‌های لیپیدی نانوساختاری با ویژگی‌های ساختاری و پایداری رنگی بالا به منظور استفاده در صنایع غذایی طراحی کرد و در مواد غذایی بکار برد.

۵- مراجع

- [1] P. Sanguansri, M.A. Augustin, Nanoscale materials development—a food industry perspective. *Trends Food Sci. Technol.* 17(2006), 547-556.
- [2] J. Weiss, E.A. Decker, D. J. McClements, K. Kristbergsson, T. Helgason, T. Awad, Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components. *Food Biophys.* 3(2008), 146–154.
- [3] M.P. Desai, V. Labhsetwar, G.L. Amidon, R.J. Levy, Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size. *Pharm. Res.* 13(1996), 1838-1845.
- [4] R.H. Müller, M. Radtke, S.A. Wissing, Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 54(2002), S131-S155.
- [5] W. Mehnert, K. Mader, Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 47(2001), 165–196.
- [6] C. Socaciu, Food colorants: chemical and functional properties. CRC Press, 2007.
- [7] B.J. Burri, Beta-carotene and human health: a review of current research. *Nutr. Res.* 17(1997), 547-580.
- [8] C. Soukoulis, T. Bohn, A comprehensive overview on the micro-and nano-technological encapsulation advances for enhancing the chemical stability and bioavailability of carotenoids. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 58(2018), 1-36.
- [9] B.H. Chen, T.M. Chen, J.T. Chien, Kinetic Model for Studying the Isomerization of  $\alpha$  - and  $\beta$ -Carotene during Heating and Illumination. *J. Agric. Food Chem.* 42(1994), 2391–2397.
- [10] J. Weiss, P. Takhistov, D.J. McClements, Functional Materials in Food Nanotechnology. *J. Food Sci.* 71(2006), R107-R116.
- [11] C. Qian, E.A. Decker, H. Xiao, D.J. McClements, Physical and chemical stability of  $\beta$ -carotene-enriched nanoemulsions: Influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food Chem.* 132(2012), 1221-1229.
- [12] M. Fathi, M. Mozafari, M. Mohebbi, Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.* 23(2012), 13-27.
- [13] A. Pezeshki, H. Hamishehkar, B. Ghanbarzadeh, I. Fathollahy, F.K. Nahr, M.K. Heshmati, M. Mohammadi, Nanostructured lipid carriers as a favorable delivery system for  $\beta$ -carotene. *Food Biosci.* 27(2019), 11-17.
- [14] A. Hejri, A. Khosravi, K. Gharanjig, M.M. Davarani, Effect of edible antioxidants on chemical stability of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers. *LWT-Food Sci. Technol.* 113 (2019), 108272.
- [15] S. Trombino, R. Cassano, R. Muzzalupo, A. Pingitore, E. Cione, N. Picci, Stearyl ferulate-based solid lipid nanoparticles for the encapsulation and stabilization of  $\beta$ -carotene and  $\alpha$ -tocopherol. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 72(2009), 181-187.
- [16] A. Hejri, A. Khosravi, K. Gharanjig, M. Hejazi, Optimisation of the formulation of  $\beta$ -carotene loaded nanostructured lipid carriers prepared by solvent diffusion method. *Food Chem.* 141(2013), 117-123.
- [17] J. Zhang, Y. Fan, E. Smith, Experimental design for the optimization of lipid nanoparticles. *J. Pharm. Sci.* 98(2009), 1813-1819.
- [18] M.D. Triplett, J.F. Rathman, Optimization of  $\beta$ -carotene loaded solid lipid nanoparticles preparation using a high shear homogenization technique. *J. Nanoparticle Res.* 11(2009), 601-614.
- [19] A. Hejri, K. Gharanjig, A. Khosravi, M. Hejazi, Effect of surfactants on kinetics of  $\beta$ -carotene photodegradation in emulsions. *Chem. Eng. Comm.* 200(2013), 437-447.
- [20] L. Zhang, D.G. Hayes, G. Chen, Q. Zhong, Transparent dispersions of milk-fat-based nanostructured lipid carriers for delivery of  $\beta$ -carotene. *J. Agric. Food Chem.* 61(2013), 9435-9443.
- [21] F. Tamjidi, M. Shahedi, J. Varshosaz, A. Nasirpour, EDTA and  $\alpha$ -tocopherol improve the chemical stability of astaxanthin loaded into nanostructured lipid carriers. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 116(2014), 968-977.
- [22] W. Ge, D. Li, M. Chen, X. Wang, S. Liu, R. Sun, Characterization and antioxidant activity of  $\beta$ -carotene loaded chitosan-graft-poly (lactide) nanomicelles. *Carbohydr. Polym.* 117(2015), 169-176.
- [23] F. Tamjidi, M. Shahedi, J. Varshosaz, A. Nasirpour, Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 19(2013), 29-43.
- [24] V. Jenning, A.F. Thünemann, S.H. Gohla, Characterisation of a novel solid lipid nanoparticle carrier system based on binary mixtures of liquid and solid lipids. *Int. J. Pharm.* 199(2000), 167-177.
- [25] W. Wang, Y.J. Wang, D. Wang, Dual effects of Tween 80 on protein stability. *Int. J. Pharm.* 347(2008), 31-38.
- [26] F.Q. Hu, S.P. Jiang, Y.Z. Du, H. Yuan, Y.Q. Ye, S. Zeng, Preparation and characterization of stearic acid nanostructured lipid carriers by solvent diffusion method in an aqueous system. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 45(2005), 167-173.
- [27] B.A. Kerwin, Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: structure and degradation pathways. *J. Pharm. Sci.* 97(2008), 2924-2935.
- [28] C.-H. Liu, C.-T. Wu, Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids Surf. A.* 353(2010), 149-156.
- [29] T. Helgason, T. Awad, E.A. Decker, K. Kristbergsson, D. J. McClements, J. Weiss, Influence of polymorphic transformations on gelation of tripalmitin solid lipid nanoparticle suspensions. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85(2008), 501-511.