

## بررسی تأثیر سورفاکتانت غیر یونی توپین 20 بر نانوکمپلکس‌های پروتئین / پلی ساکاریدی حامل کورکومین

شقایق شیخ زاده<sup>1</sup>، محمد علیزاده<sup>2</sup>، محمود رضازاد<sup>3</sup>

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

2- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران پست الکترونیکی: m.alizadeh@urmia.ac.ir

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

تاریخ پذیرش: 94/10/9

تاریخ دریافت: 94/8/15

### چکیده

**سابقه و هدف:** نانوکمپلکس‌های بیوپلیمری علاوه بر مزایای بی‌شماری که دارند، دارای معایبی از جمله دشواری کنترل دقیق اندازه ذرات و عدم توانایی در جلوگیری از تجمع ذرات می‌باشند. در این تحقیق تأثیر توپین 20 بر برهمکنش الکترواستاتیکی سدیم کازئینات و صمغ عربی حامل ترکیب آنتی‌اکسیدانی کورکومین مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** ابتدا فاز آلی (کورکومین در اتانول) به فاز آبی (سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین 20) اضافه شد. در مرحله بعدی با کاهش pH، نانوذرات تشکیل شدند. به منظور بررسی اثر متغیرهای مستقل بر پاسخ‌ها از طرح Box-Behnken سطح پاسخ استفاده شد. فعالیت آنتی-اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از روش مهارکنندگی 1-1 دی فنیل 2-پیکریل هیدازیل (DPPH) انجام شد.

**یافته‌ها:** توپین 20 تأثیر معنی‌داری بر اندازه و توزیع اندازه ذرات داشت ( $p < 0/0001$ ). همچنین سدیم کازئینات و توپین 20 بر کارایی کپسولاسیون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کورکومین کپسوله شده تأثیر معنی‌داری داشتند ( $p < 0/0001$ ). با استفاده از روش بهینه‌سازی تابع مطلوبیت، شرایط بهینه به صورت 0/28% سدیم کازئینات، 0/69% صمغ عربی، 0/18% توپین 20 و pH 5/02 به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به کارایی کپسولاسیون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای نانوکمپلکس‌های کورکومین و عدم نیاز به تجهیزات با انرژی بالا، این روش به عنوان روشی ساده، سریع و کم انرژی پیشنهاد می‌شود.

**واژگان کلیدی:** کورکومین، نانوکمپلکس پروتئین / پلی ساکارید، سورفاکتانت غیر یونی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

### • مقدمه

دادند که رژیم غنی از ترکیبات پلی فنلی می‌تواند مانع تولید ROS به علت فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی شوند (4). این ترکیبات همچنین به علت ویژگی‌های مطلوب آنتی‌اکسیدانی به منظور افزایش مدت ماندگاری محصولات غذایی که به اشعه UV، دما و اکسیژن حساس می‌باشند بکار می‌روند. استفاده از ترکیبات فنلی در انواع مختلف غذاهای عملگرا به عنوان ماده با ارزش افزوده شده دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حال گسترش می‌باشد (2). کورکومین پلی فنول هیدروفوبی استخراج شده از ریشه زردچوبه (کورکوما لونگا) می‌باشد. کورکومین دارای فعالیت‌های فیزیولوژیکی با ارزش متعددی

یکی از مشکلات عمده صنعت غذا که منجر به کاهش ماندگاری، دلپذیری، ویژگی‌های عملکردی و کیفیت تغذیه‌ای محصولات غذایی می‌شود، اکسیداسیون لیپیدی می‌باشد (1). بدن انسان نیز به علت قرار گرفتن در معرض عواملی مانند نور خورشید، آلودگی، استرس روزانه، رژیم‌های سنگین و نامتعادل و مصرف سیگار، به شدت از استرس اکسیداتیو رنج می‌برد (2). استرس اکسیداتیو منجر به تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (Reactive Oxygen Species) ROS می‌شود که منشأ بروز بسیاری از بیماری‌ها از جمله پیری، سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد (3). مطالعات بسیاری نشان

می‌گیرند (19). سورفاکتانت غیر یونی توپین 20، استر اسیدچرب سوربیتان پلی‌اکسی‌اتیلن می‌باشد که به طور گسترده در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاکنون هیچ مطالعه‌ای در زمینه بررسی تأثیر سورفاکتانت غیر یونی توپین 20 بر برهمکنش الکترواستاتیکی سدیم کازئینات-صمغ عربی در pHهای مختلف با استفاده از این روش به عنوان حامل کورکومین مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین هدف این مطالعه بررسی تأثیر غلظت اجزای محلول (سدیم کازئینات، صمغ عربی، توپین 20) و pH بر اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات، کارایی کپسولاسیون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کورکومین کپسوله شده می‌باشد. همچنین به منظور تعیین شرایط بهینه از روش تابعیت مطلوب سطح پاسخ استفاده شد.

### • مواد و روش‌ها

**مواد:** کازئینات سدیم از شرکت DMV هلند تهیه شد. توپین 20، کورکومین و 1-1 دی‌فنیل 2-پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آمریکا خریداری شد. صمغ عربی، هیدروکلریدریک اسید، اتانول و استون از شرکت شارلو اسپانیا خریداری گردید. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

**تهیه نانو ذرات:** محلول‌های سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین 20 با افزودن تدریجی مقادیر مورد نیاز از آن‌ها به بافر فسفات 5 میلی مولار pH 7، تحت همزن مغناطیسی با سرعت متوسط تهیه شدند. محلول‌ها به مدت یک شبانه‌روز در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به منظور جذب کامل آب نگهداری شدند (20). قبل از استفاده، محلول‌ها به منظور حذف ذرات جامد نامحلول و حباب‌های هوا تحت دور 6000 rpm به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شدند. ابتدا فاز آلی شامل کورکومین در اتانول (0/05 درصد وزنی/وزنی) قطره قطره به فاز آبی (محلول سدیم کازئینات/ صمغ عربی/ توپین 20) که در حال همزدن مداوم بر روی همزن می‌باشد، اضافه گردید. سپس با استفاده از سرنگ انسولین 30g تیترا کردن تا pHهای مورد نظر (4/8، 5، و 5/2) با هیدروکلریک اسید 0/1 و 0/01 نرمال در دمای اتاق انجام گرفت. pH محلول‌ها به طور مداوم توسط pH متر (pH (Eutech instruments, Singapore) 510 اندازه‌گیری شد. محلول مورد نظر به مدت 1 ساعت در دمای محیط و دور همزن 500 rpm همزده شد. سپس اتانول موجود در محلول

می‌باشد، از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی (8 برابر قویتر از ویتامین E)، ضد التهاب، ضد میکروب، ضد قارچ و ضد سرطان بودن می‌باشد (6، 5). اما متأسفانه علی‌رغم این فواید بشمار، استفاده از کورکومین با محدودیت‌هایی از جمله زیست دسترسی پایین، حلالیت آبی پایین و ناپایداری شیمیایی از جمله تخریب سریع در pH قلیایی، تیمار حرارتی، نور، یون-های فلزی، آنزیم، اکسیژن و اسیدآسکوربیک همراه می‌باشد (5). انکپسولاسیون، روشی برای محافظت ترکیبات مغذی از آسیب‌های محیطی، افزایش حلالیت و انتقال در یک مسیر کنترل شده می‌باشد.

نتایج مطالعات گسترده در زمینه انکپسولاسیون بر اساس برهمکنش الکترواستاتیکی پروتئین و پلی‌ساکارید (12-7)، حاکی از این است که کمپلکس‌های پروتئین/ پلی‌ساکاریدی از سیستم‌های بیوپلیمری انفرادی مفیدتر هستند. در مقایسه با سیستم پروتئینی تنها، این کمپلکس‌ها ویژگی‌های عملکردی بهبود یافته بسیاری نظیر حلالیت، امولسیفیکاسیون و پایداری خوب در مقابل تغییرات pH، قدرت یونی بالا و دمای افزایش یافته را دارا می‌باشند (13). همچنین ره‌ایش مواد فعال از کمپلکس‌های پروتئین- پلی‌ساکاریدی نسبت به پروتئین تنها به علت دیواره محکم در طول زمان کمتر اتفاق می‌افتد و در نتیجه مواد فعال بهتر حفظ می‌شوند (15، 14). اما این سیستم‌ها نیز دارای موانع و مشکلاتی از جمله دشوار بودن کنترل دقیق اندازه و توزیع اندازه ذرات و همچنین عدم توانایی در جلوگیری از تجمع ذرات می‌باشند (16). بعلاوه، این سیستم‌ها پایداری محدودی در محلول‌های آبی مختلف را نشان می‌دهند (16). اگرچه برهمکنش‌های بین پروتئین و پلی‌ساکارید به خوبی توسط محققان زیادی مورد بررسی قرار گرفته است، اما تأثیر سورفاکتانت بر این برهمکنش‌ها به خوبی مطالعه نشده است. Li و همکاران در سال 2013 تأثیر سورفاکتانت غیر یونی توپین 20 بر ویژگی‌های کمپلکس‌های الکترواستاتیک شامل قطرات روغنی باردار و بیوپلیمرهای باردار (بتالاکتوگلوبولین- آلژینات و کیتوزان) را مورد بررسی قرار دادند (17). xu و همکاران در سال 1998 گزارش کردند که بتالاکتوگلوبولین و آلفالاکتوآلبومین رفتار متفاوتی در حضور توپین 20 دارند (18). در صنایع غذایی، سورفاکتانت-های غیر یونی از جمله سری توپین به علت غیرسمی بودن نسبت به سورفاکتانت‌های یونی بیشتر مورد استفاده قرار

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: به 0/5 میلی‌لیتر از هر نمونه (نمونه‌های مد نظر در طرح مطالعه) میزان 1 میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (0/1 میلی‌مولار) اضافه شد. سپس به مدت 1 دقیقه توسط ورتکس به شدت همزده شد. بعد از آنکوبه کردن به مدت 30 دقیقه در دمای محیط، محلول نهایی در 6000 rpm به مدت 30 دقیقه سانتریفوژ شد و کاهش جذب در طول موج 517 نانومتر به عنوان درصد مهار رادیکال اندازه‌گیری شد (23). برای اندازه‌گیری جذب نمونه کنترل 0/5 میلی‌لیتر اتانول به 1 میلی‌لیتر محلول DPPH اضافه شد.

$$\text{درصد مهار} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \times 100$$

$$\text{معادله 4} \quad A_C \text{ و } A_S \text{ به ترتیب بیانگر جذب نمونه و جذب کنترل می‌باشند.} \\ \text{درصد مهارکنندگی} = \left(1 - \frac{A_S}{A_C}\right) \times 100$$

طرح آزمایش و آنالیز آماری: در این مطالعه اثر 4 متغیر

مستقل در 3 سطح شامل غلظت سدیم کازئینات (0/1، 0/2 و 0/3% وزنی/وزنی)، صمغ عربی (0/5، 0/75 و 1% وزنی/وزنی) و توپین 20 (0، 0/1 و 0/2% وزنی/وزنی) و pH (5/2 و 5، 4/8) با به کارگیری طرح آماری Box-Behnken، بر پاسخ‌های اندازه‌گیری شده شامل اندازه و توزیع ذرات، کارایی کپسولاسیون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از طرح 30 تیمار در نظر گرفته شد. همچنین برای برآورد عدم تطابق و تکرارپذیری 3 نقطه‌ی مرکزی در طرح گنجانده شد. با کاربرد آنالیز رگرسیون، شاخص‌های اندازه‌گیری شده در قالب یک چندجمله‌ای درجه دوم طبق معادله 5 مدل‌سازی شدند.

معادله 5

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j$$

که  $Y_i$  پاسخ پیش‌بینی شده و  $\beta_0$  ضریب ثابت،  $\beta_i$  اثرات خطی،  $\beta_{ii}$  اثر مربعات و  $\beta_{ij}$  اثرات متقابل هستند و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل کدبندی شده هستند. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودار از نرم‌افزار Version 9.2, SAS Institute. Inc. استفاده شد. در نهایت با استفاده از روش بهینه‌سازی تابع مطلوبیت، یک نقطه بهینه برای متغیرهای مستقل که منجر به

با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور تحت خلأ (R-200, BÜCHI, Switzerland) تیخیر شد.

تعیین اندازه و توزیع اندازه ذرات: اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات و میانگین قطر حجمی ذرات با استفاده از دستگاه آنالیزکننده تفرق نوری لیزری مدل (Shimadzu, SALD 2101) ساخت ژاپن انجام شد. اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی ذرات گزارش شد. حجم معادل (میانگین قطر حجمی) ذرات با استفاده از معادله 1 محاسبه شد:

$$\text{معادله 1} \quad D[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

در این معادله،  $n_i$  تعداد ذرات با قطر  $d_i$  می‌باشد.

توزیع اندازه ذرات با استفاده از عدد اسپن که پهنای منحنی توزیع اندازه ذرات و شاخص یکنواختی قطر ذرات است محاسبه شد (7، 8، 21):

$$\text{معادله 2} \quad \text{Span} = \frac{D(90\%) - D(10\%)}{D(50\%)}$$

در این معادله  $D(50\%)$ ،  $D(10\%)$  و  $D(90\%)$  به ترتیب نمایانگر قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، 10%، 50% و 90% حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد، می‌باشند.

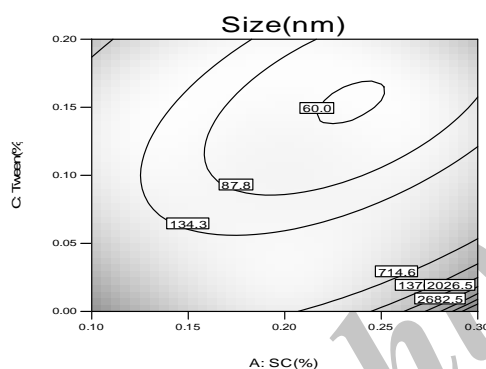
بررسی رسوب: به منظور بررسی رسوب، محلول‌ها در لوله‌های شیشه‌ای به مدت یک شب در دمای محیط نگهداری شدند، و بر اساس مشاهده چشمی میزان رسوب نمونه‌ها بررسی شد.

اندازه‌گیری کارایی کپسولاسیون: ابتدا نمونه‌ها به منظور جداسازی کپسول‌ها، تحت دور 13000 rpm به مدت 30 دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس به منظور حذف کامل ذرات جدا نشده توسط سانتریفوژ، نمونه‌ها با استفاده از فیلتر سرسنگی 0/22 میکرومتری صاف شدند. 40 میکرولیتر از هر نمونه برداشته و با استفاده از استون تا 2 میلی‌لیتر رقیق شدند. سپس جذب توسط اسپکتروفتومتر مرئی-ماورابنفش در طول موج 420 نانومتر خوانده شد. کارایی کپسولاسیون با استفاده از معادله 3 (22) محاسبه شد.

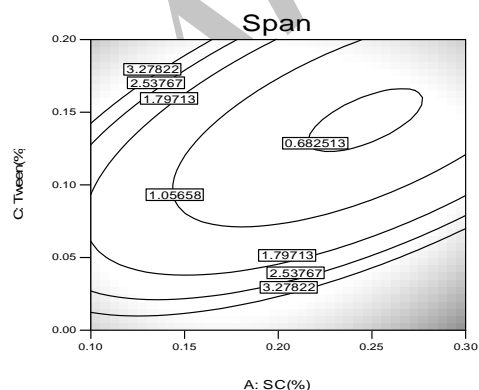
معادله 3

$$\text{کارایی کپسولاسیون} = \frac{\text{کپسول آزاد} - \text{کپسول کل}}{\text{کپسول کل}} \times 100$$

سیستم دارای ذرات ناهمگون بیشتری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر سدیم کازئینات می‌باشد. در نمودار شکل 1 (ب) مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت توپین 20 از 0 تا 0/1%، مقدار اسپن به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. شکل 2 تفاوت اندازه و توزیع اندازه ذرات 2 نمونه با شرایط و غلظت یکسان اجزا که تنها تفاوت در غلظت توپین 20 می‌باشد، را نشان می‌دهند. همچنین آنالیز حاصل از داده‌ها نشان داد که اثر متقابل سدیم کازئینات - صمغ عربی بر اندازه ذرات معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/01$ ). با در نظر گرفتن مقادیر ثابت سدیم کازئینات، صمغ عربی با غلظت‌های مختلف، دارای آثار متفاوتی بر اندازه ذرات کمپلکس بود. به طوری که افزایش غلظت صمغ عربی در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات (0/3%)، اندازه ذرات را کاهش داد و در مقادیر کم سدیم کازئینات (0/1%) موجب افزایش اندازه ذرات شد.



شکل 1. الف، کانتورپلات اثر متقابل سدیم کازئینات و توپین 20 بر اندازه ذرات (میانگین قطر حجمی) (در غلظت ثابت صمغ عربی 0/75% و pH 5 و دمای محیط)



شکل 1. ب، کانتورپلات اثر متقابل سدیم کازئینات و توپین 20 بر توزیع اندازه ذرات (در غلظت ثابت صمغ عربی 0/75% و pH 5 و دمای محیط)

کمینه‌شدن اندازه و توزیع اندازه ذرات و بیشینه‌شدن کارایی کپسولاسیون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود، به دست آمد.

### • یافته‌ها

**اندازه ذرات:** با بکارگیری طرح آماری سطح پاسخ، معادلات زیر که نشان دهنده ارتباط تجربی میان متغیرهای آزمایش با اندازه ذرات (معادله 6) و توزیع اندازه ذرات (معادله 7) به صورت کد گذاری شده است، به دست آمد. مقدار P محاسبه شده برای هر دو مدل کمتر از 0/0001 بود، که نشان دهنده معنی‌دار بودن مدل‌ها می‌باشد.

#### معادله 6

$$\ln(\text{Size}) = 4.321201 + (-0.02591 * A) + (0.573219 * B) + (-0.91407 * C) + (0.062837 * D) + (-0.71892 * A * B) + (-1.23434 * A * C) + (-0.34614 * A * D) + (1.002526 * A^2) + (0.668389 * B^2) + (1.246984 * C^2) + (0.486127 * D^2)$$

$$R^2 = 0/98$$

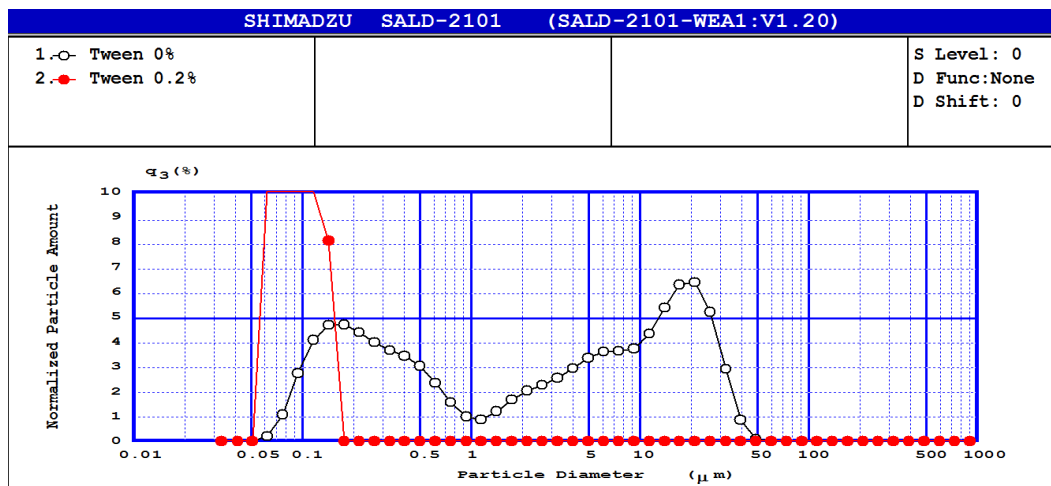
#### معادله 7

$$\ln(\text{span}) = -0.24553 + (-0.10039 * A) + (-0.70009 * C) + (0.215419 * D) + (-1.3848 * A * C) + (-0.49647 * A * D) + (0.768875 * A^2) + (1.510915 * C^2)$$

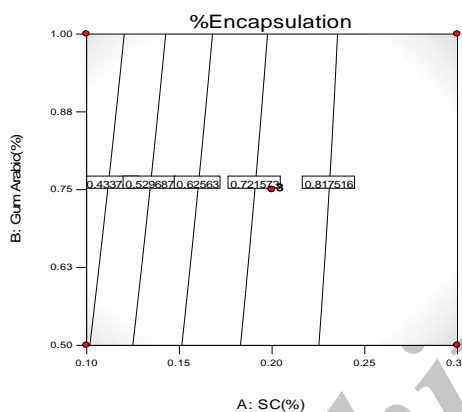
$$R^2 = 0/93$$

A (غلظت سدیم کازئینات)، B (غلظت صمغ عربی)، C (غلظت توپین 20) و D (pH) می‌باشد.

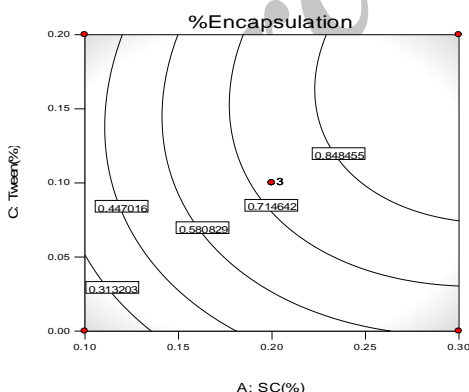
آنالیز حاصل از داده‌ها نشان داد که اثر متقابل سدیم کازئینات - توپین 20 بر اندازه ذرات بسیار معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0/0001$ ). در حضور توپین 20، اندازه ذرات کوچک ولی در غیاب توپین 20، در همه غلظت‌های مورد بررسی سدیم کازئینات، افزایش قابل توجهی در اندازه ذرات مشاهده شد (شکل 1 الف)). نکته جالب توجه این که اگرچه توپین 20 منجر به کاهش قابل توجهی در اندازه ذرات شد، اما در غلظت‌های پایین سدیم کازئینات، افزایش بیشتر غلظت توپین 20 از 0/1% به 0/2%، نه تنها باعث کاهش بیشتر اندازه ذرات نشد، بلکه حتی منجر به افزایش اندازه ذرات و در نتیجه ناپایداری سیستم شد. توپین 20 در غلظت‌های بالای سدیم کازئینات نقش مهمتری را در کاهش اندازه ذرات و پایداری سیستم ایفا کرد. بطوری که در نمونه‌های حاوی غلظت بالای سدیم کازئینات (0/3%) در غیاب توپین 20، ذرات بعد از تهیه و حتی در حین مراحل تهیه نیز سریعاً دچار رسوب شدند. مطابق با شکل 1 (ب)، مشاهده می‌شود که هر دو متغیر سدیم کازئینات و توپین 20، شاخص اسپن را تحت تأثیر قرار دادند ( $p < 0/0001$ ). مقدار اسپن با افزایش غلظت سدیم کازئینات، افزایش یافت. به عبارتی در غلظت‌های بالاتر سدیم کازئینات،



شکل 2. توزیع اندازه ذرات در نمونه‌های یکسان از نظر غلظت سدیم کازئینات، صمغ عربی و pH در حضور و عدم حضور توپین 20.



شکل 3. (الف) اثر متقابل غلظت سدیم کازئینات - صمغ عربی بر کارایی کپسولاسیون (در غلظت ثابت توپین 20 0/1% و 5 pH)



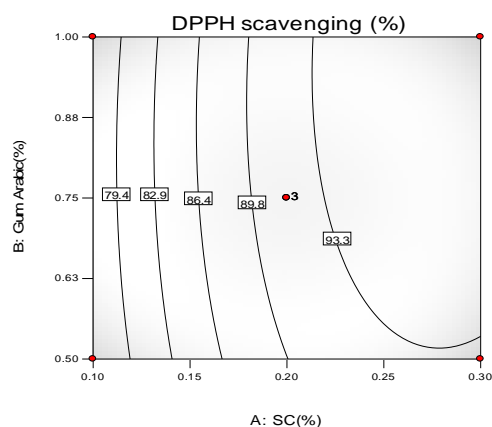
شکل 3. (ب) اثر متقابل غلظت سدیم کازئینات - توپین 20 بر کارایی کپسولاسیون (در غلظت ثابت صمغ عربی 0/75% و 5 pH)

**کارایی کپسولاسیون:** نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که فاکتورهای مورد بررسی، اثر معنی‌دار بر کارایی کپسولاسیون دارند. معادله 8 بعد از آنالیز داده‌ها برای کارایی کپسولاسیون به دست آمد.

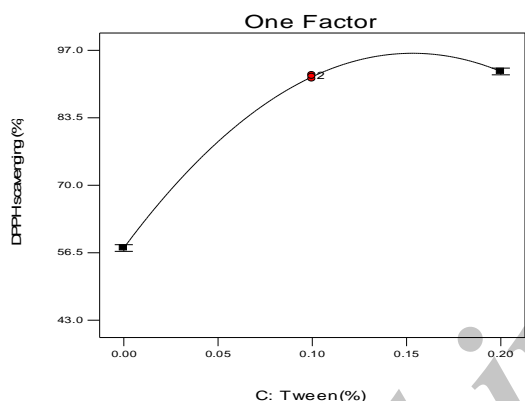
معادله 8

$$\begin{aligned} \% \text{Encapsulation} = & 0.746735 + (0.261604 * A) + (-0.01796 * B) + \\ & (0.137592 * C) + (0.026225 * A * B) + (0.053775 * A * B) \\ & + (0.053775 * A * C) + (-0.10315 * A^2) + (-0.11878 * C^2) \\ R^2 = & 0/98 \end{aligned}$$

در شکل 3 (الف) اثر متقابل سدیم کازئینات - صمغ عربی بر کارایی کپسولاسیون کور کومین مشاهده می‌شود ( $p < 0/0001$ ). با افزایش غلظت سدیم کازئینات، کارایی کپسولاسیون به میزان قابل توجهی افزایش یافت. بطوریکه در مقادیر ثابت صمغ عربی 0/75%، با افزایش غلظت سدیم کازئینات از 0/1 به 0/3%، کارایی کپسولاسیون از 27/76% به 75/65%، افزایش یافت. همان‌طور که در شکل 3 (ب) مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت توپین 20 از 0 به 0/1%، کارایی کپسولاسیون به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. بطوریکه در مقادیر ثابت سدیم کازئینات (0/2%)، صمغ عربی (0/5%) و pH (5) کارایی کپسولاسیون در عدم حضور توپین 20، از 49/76% به 78/32% در حضور 0/2% توپین 20 افزایش یافت.



شکل 4. الف). کانتورپلات نشان‌دهنده تأثیر متقابل سدیم کازئینات- صمغ عربی بر فعالیت مهارکنندگی کورکومین کپسوله شده (در غلظت ثابت توپین 20 %/1 و 5 pH)



شکل 4. ب). نمودار تأثیر غلظت توپین 20 بر فعالیت مهارکنندگی کورکومین کپسوله

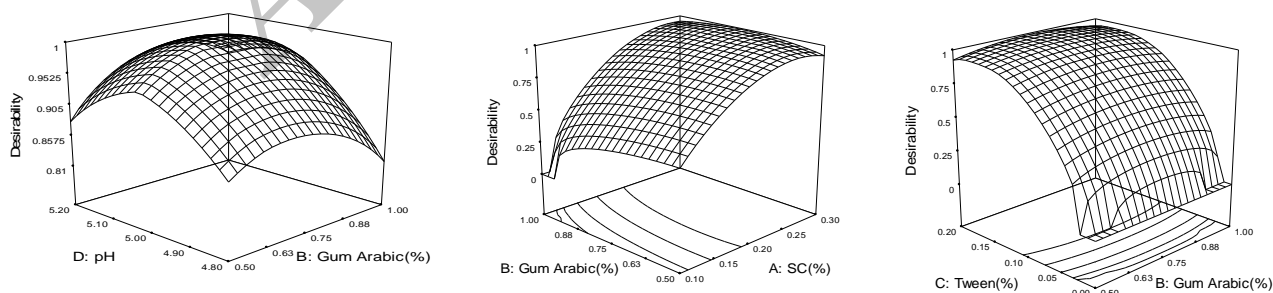
فعالیت آنتی‌اکسیدانی: همان طور که در شکل 4 (الف) مشاهده می‌شود با افزایش غلظت سدیم کازئینات، توانایی مهارکنندگی محلول‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $P < 0/0001$ ). نکته جالب توجه اینکه اگرچه توپین 20 به علت فقدان گروه‌های فعال مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی نظیر تیول، پیوندهای دوگانه یا ساختار پلی‌فنولیک، یک امولسیفایر بدون فعالیت آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (24). اما همزمان با افزایش غلظت توپین 20، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوکپسول‌های کورکومین مشاهده شد ( $P < 0/0001$ ) (شکل 4ب). نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که درصد مهار رادیکال را می‌توان با استفاده از معادله 9 به دست آورد.

معادله 9

$$\% \text{ DPPH Scavenging} = 91.70667 + (9.262437 * A) + (1.122845 * B) + (17.66318 * C) + (0.476792 * D) + (0.8425 * A * B) + (-5.39632 * A^2) + (-0.80033 * B^2) + (-16.6019 * C^2) + (-0.73729 * D^2)$$

$$R^2 = 0.99$$

بهینه سازی: شکل 5 نمودارهای بهینه با استفاده از روش تابع مطلوبیت را نشان می‌دهد. با توجه به نمودارها شرایط بهینه به صورت 0/28% سدیم کازئینات، 0/69% صمغ عربی، 0/18% توپین 20 و 5/02 pH به دست آمد.



شکل 5. نمودارهای مقادیر بهینه با استفاده از روش تابع مطلوبیت: الف) اثر متقابل سدیم کازئینات و صمغ عربی، ب) صمغ عربی و توپین 20، ج) صمغ عربی و pH

## • بحث

مقادیر پایین‌تر از این غلظت فلوکه شدن ناچیز می‌باشد (27). همچنین Anarjan و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند (28). نتایج مشابهی در مورد توپین 60 و سدیم کازئینات نیز گزارش شده است (29). در حالت کلی پایداری و ناپایداری ساختار پروتئین در اثر اتصال با سورفاکتانت به نوع و غلظت مولکول‌های سورفاکتانت، مولکول‌های پروتئین موجود و شرایط محیطی بستگی دارد (30، 17). افزایش پراکندگی اندازه ذرات با افزایش بیشتر غلظت توپین 20 نیز ناشی از عدم تحمل غلظت بالای توپین 20 توسط سدیم کازئینات و در نتیجه ناپایداری سیستم می‌باشد. در غلظت ثابت صمغ عربی با افزایش غلظت سدیم کازئینات از 0/1 به 0/3%، افزایش اندازه ذرات مشاهده شد. زیرا در این حالت تعداد مولکول‌های پلی‌ساکارید موجود در سیستم به منظور پوشاندن کامل سطح مولکول‌های پروتئین ناکافی می‌باشد و بیش از یک مولکول پروتئین به طور همزمان به یک زنجیره پلی‌ساکاریدی متصل می‌شوند (31) و در نتیجه پدیده انبوهش ناشی از تشکیل پل رخ می‌دهد. در غلظت میانه صمغ عربی کوچکترین ذرات مشاهده شد، که می‌تواند در ارتباط با تشکیل کمپلکس ما بین اکثریت مولکول‌های سدیم کازئینات و مولکول‌های صمغ عربی باشد و در نتیجه مولکول‌های سدیم کازئینات در معرض خود تجمعی قرار نمی‌گیرند (20). این نتایج در تطابق با نتایج Cho و همکاران می‌باشد (32). با کاهش pH از 5/2 به 4/8، سایز ذرات کاهش یافت. با کاهش pH، صمغ عربی بیشتری مورد نیاز بود. زیرا همان طور که pH کاهش می‌یابد، قسمت‌های باردار مثبت مولکول‌های سدیم کازئینات افزایش می‌یابد. بنابراین غلظت مورد نیاز صمغ عربی که دارای مولکول‌های با بار منفی می‌باشد، برای واکنش با آنها به منظور تولید ذرات کوچک افزایش می‌یابد. قربانی و همکاران نیز گزارش کردند که اندازه ذرات کمپلکس‌های سدیم کازئینات و صمغ کتیرا به حضور صمغ کتیرا، بویژه در pH 4 بسیار وابسته است (8، 7). این محققین همچنین بیان کردند که در این pH، در حالی که اندازه ذرات صمغ کتیرا در عدم حضور سدیم کازئینات بزرگ بود، حضور سدیم کازئینات منجر به تشکیل نانو ذراتی شد که این ذرات حتی کوچک‌تر از ذرات سدیم کازئینات تنها بودند (8، 7). حاتمی و همکاران نیز گزارش کردند که افزودن صمغ

اندازه ذرات: ذرات به علت حرکت براونی به طور مداوم در حال حرکت و برخورد به یکدیگر هستند. نیروهای پایدارکننده ذرات کلئیدی در مقابل تجمع، دافعه الکترواستاتیکی (ناشی از بار سطحی بالای ذرات) و پایداری استری (تشکیل مانع در اطراف ذرات) می‌باشند؛ که از نزدیک شدن ذرات جلوگیری و از این رو مخالف نیروهای جذب کننده و اندروالسی که به عنوان تابعی از نزدیک شدن ذرات به هم‌دیگر عمل می‌کنند، می‌باشند (25). در این مطالعه به علت کافی نبودن دافعه الکترواستاتیکی ناشی از بارهای سطحی ذرات، در غیاب توپین 20 ذرات پس از برخورد بهم پیوسته و در نتیجه منجر به افزایش اندازه ذرات و در نتیجه رسوب ذرات در غیاب توپین 20 شد. در حالی که توپین 20 به عنوان مانع (پایداری استری) از نزدیک شدن ذرات، تجمع و افزایش اندازه ذرات سیستم جلوگیری کرده و نمونه‌های دارای توپین 20 دارای اندازه ذرات کوچک‌تری بودند. کاهش اندازه ذرات در حضور توپین 20 در مطالعات سایر محققان نیز مشاهده می‌شود. Li و همکاران بیان کردند که افزودن سورفاکتانت توپین 20 اثر قابل توجهی بر کاهش اندازه ذرات دارد. به طوری که منجر به کاهش اندازه ذرات از 8 میکرون به 2 میکرون شد (17). این محققین برای بیان اندازه ذرات از دستگاه تفرق نور لیزری استفاده کردند و اندازه ذرات را بر اساس پارامتر d21 گزارش کردند (17). Yin و همکاران به مقایسه ویژگی‌های نانوذرات بتاکاروتن تهیه شده با سدیم کازئینات، توپین 20 و 2 امولسیفایر دیگر با استفاده از روش جایگزینی حلال پرداختند. اندازه نانوذرات از رنج 30 نانومتر تا 206 نانومتر بسته به امولسیفایر مورد استفاده متغیر بود. این محققین اعلام کردند که نانوذرات تهیه شده با سدیم کازئینات دارای بزرگترین اندازه و نانوذراتی که با توپین 20 تهیه شده بودند دارای کوچکترین اندازه بودند (26).

با توجه به این که سدیم کازئینات قادر به تحمل غلظت معینی از توپین 20 می‌باشد، با افزایش بیشتر غلظت توپین 20 در غلظت‌های پایین سدیم کازئینات اندازه ذرات افزایش یافت. این یافته نیز در توافق با مطالعه دیگری می‌باشد که نشان داد که شروع انبوهش ناشی از تهی شدن محلول پروتئین در رنج غلظت معینی از سورفاکتانت رخ می‌دهد، در حالی که در

توپین 20 تا مقدار 78/32% افزایش یافت. افزایش کارایی کپسولاسیون در حضور امولسیفایر در مطالعات سایر محققین نیز مشاهده می‌شود. نتایج پژوهش Boruah و همکاران در سال 2012 نشان داد که کارایی کپسولاسیون کورکومین توسط کیتوزان در حضور توپین 80 از 77/01% به 94/5% افزایش یافت (34). Bergonzi و همکاران (2014) گزارش کردند که میزان حلالیت کورکومین در توپین 20 در مقایسه با سایر روغن‌ها و سورفاکتانت‌ها، بیشتر می‌باشد. زیرا مولکول‌های توپین 20، مولکول‌های آمفی‌فیلیکی هستند که به هر دو گروه قطبی و غیر قطبی کورکومین تمایل دارند (35). Malik و همکاران نیز گزارش کردند که در میان همه سورفاکتانت‌های مورد مطالعه شان، توپین 20 بالاترین کارایی کپسولاسیون را در مورد کورکومین دارد (36). همچنین، افزایش کارایی کپسولاسیون می‌تواند در ارتباط با افزایش پایداری نمونه‌ها ناشی از حضور توپین 20 و جلوگیری از توده شدن ذرات و در نتیجه جلوگیری از هدر رفتن بخشی از کورکومین کپسوله شده به همراه ذرات رسوب کرده باشد.

نمونه حاوی غلظت بالای صمغ عربی و عدم حضور توپین 20، کارایی کپسولاسیون پایینی داشت. زیرا این سیستم دارای ذرات بزرگ‌تر و بسیار ناپایدار بوده و سریعاً حتی در زمان تهیه نانوذرات، دچار رسوب می‌شد و در نتیجه فرصت سدیم کازئینات برای کپسولاسیون کورکومین کاهش می‌یافت. Barbosa و همکاران گزارش کردند که هر چه سیستم دارای پایداری بالاتری باشد، کارایی کپسولاسیون سیستم نیز بیشتر می‌شود (37). نکته قابل توجه اینکه یکی از دلایل بالا بودن کارایی کپسولاسیون در این مطالعه عدم استفاده از هموژنایزر می‌باشد. زیرا مطالعات قبلی نشان دادند که در حین هموژنیزاسیون، رادیکال‌های آزاد تولید شده منجر به از دست رفتن ماده مغذی در نانودیسپرسیون‌های تهیه شده می‌شوند (38).

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** نتایج حاصل از این پژوهش مبنی بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت سدیم کازئینات، در توافق با نتایج سایر پژوهشگران که فعالیت آنتی-اکسیدانی کازئین را گزارش کردند، می‌باشد (39، 24). همچنین Lio و همکاران گزارش کردند که فعالیت آنتی-اکسیدانی کورکومین در حضور پروتئین بتالاکتوگلوبولین

کثیرا در محلول‌های پروتئین شیر که در 25 درجه سانتی‌گراد اسیدی شدند، به طور قابل توجهی ویژگی‌های رئولوژیکی مخلوط ژلی نهایی را بهبود بخشید (12).

**بررسی میزان رسوب:** در نمونه‌های فاقد توپین 20، ذرات به سرعت تشکیل لخته و رسوب دادند، که می‌تواند در ارتباط با سایز بزرگ و پلی‌دیسپرسیوی (چند قله‌ای) بودن ذرات باشد. همچنین عدم حضور امولسیفایر در سیستم که در کل پایداری این سیستم‌ها در مقابل تجمع و توده‌ای شدن بسیار کم می‌باشد. در نمونه‌های با غلظت بالای بیوپلیمرها (نمونه‌هایی که حاوی مقدار 0/3% سدیم کازئینات بودند)، بعد از گذشت 48 ساعت نگهداری در دمای محیط رسوب مشاهده شد. با افزایش غلظت بیوپلیمرها به علت افزایش اتصالات کمپلکس‌ها، بار منفی به شدت کاهش یافته و نمی‌تواند نیروی دافعه قوی بین ذرات کمپلکس برقرار کند، در نتیجه ذرات به شکل توده درآمده و رسوب کردند. اما در نمونه‌هایی که دارای 0/1% توپین بودند رسوبی مشاهده نشد، این نمونه‌ها با توجه به داده‌های اندازه ذرات، سایز کوچکی داشتند. اما نمونه‌هایی که حاوی 0/2% توپین بودند، بعد از گذشت 48 ساعت دچار رسوب شدید شدند. این نمونه‌ها بعد از گذشت 1 هفته به‌طور کامل 2 فاز شدند، که همانطور که در قسمت بررسی اندازه ذرات بیان شد می‌تواند به علت ناپایداری سدیم کازئینات در برابر غلظت بالای توپین 20 باشد.

**کارایی کپسولاسیون:** افزایش کارایی کپسولاسیون با افزایش غلظت سدیم کازئینات احتمالاً به علت افزایش مکان‌های اتصال پروتئین می‌باشد که فضای بیشتری برای کورکومین به منظور کپسوله شدن فراهم می‌کند. نتایج مشابهی در زمینه افزایش کارایی کپسولاسیون با افزایش غلظت پروتئین در مطالعه‌ای توسط اشیپگلنم و همکاران گزارش شد (33). از طرفی دیگر افزایش کارایی کپسولاسیون با افزایش غلظت توپین 20 نیز می‌تواند در ارتباط با افزایش حلالیت کورکومین در حضور توپین 20 و در نتیجه دسترسی بیشتر سدیم کازئینات برای اتصال با کورکومین باشد. چرا که در نمونه‌های فاقد توپین 20 مقداری از کورکومین حین تهیه نانو کپسول‌ها دچار رسوب شد. اگر چه کازئینات سدیم و صمغ عربی توانایی محافظت از کورکومین را در برابر تخریب هیدرولیتیکی با بازده تقریباً 49/76% را دارا بودند، اما کارایی کپسولاسیون در حضور



کورکومین باشد. در کل فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیستم به غلظت، ساختار و برهمکنش بین آنتی‌اکسیدان‌های موجود در محلول بستگی دارد (41).

نتایج حاصل از بهینه‌سازی نشان داد که اثر پایدارکنندگی سینرژیستی بسیار خوب بین 3 ترکیب سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین 20 بر انکپسولاسیون کورکومین وجود دارد، که منجر به کاهش اندازه ذرات تا 71/39 نانومتر، کاهش توزیع اندازه ذرات تا 0/665، افزایش کارایی کپسولاسیون تا 95/66% و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی تا 98/55% شد. با توجه به کارایی کپسولاسیون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و عدم نیاز به تجهیزات با انرژی بالا، این روش به عنوان روشی ساده، سریع و کم انرژی پیشنهاد می‌شود. همچنین، توپین 20 منجر به کاهش اندازه ذرات و افزایش یکنواختی ذرات در نتیجه بهبود پایداری کمپلکس‌های پروتئین- پلی‌ساکاریدی شد.

به‌طور قابل توجهی بیشتر از کورکومین تنها می‌باشد و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت پروتئین مشاهده شد (13). در حالت کلی، پروتئین‌های طبیعی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که بستگی به سطح، توالی و ترکیب آمینواسیدهای آن‌ها دارد (40). گروه‌های احیاکننده هیدروژن مانند ایندول، فنیل و ایمیدازول یا سایر آمینواسیدها مانند متیونین، سیستئین و پرولین، مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی پروتئین‌ها می‌باشند (24). همان‌طور که در قسمت کارایی کپسولاسیون ذکر شد، حلالیت کورکومین در حضور توپین 20 به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد که منجر به افزایش توانایی مولکول‌های کورکومین جهت واکنش با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه فعالیت مهارکنندگی بالا می‌شود. با در نظر گرفتن همه این جوانب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوکپسول کورکومین به دست آمده می‌تواند در ارتباط با عملکرد سینرژیستی بین اجزای کمپلکس (سدیم کازئینات، صمغ عربی و توپین 20) و

## • References

1. Reische DW, Lillard DA, Eitenmiller RR. Antioxidants. In C. Akoh, & D. Min (Eds.), Food lipid chemistry, nutrition and biotechnology. New York: Marcel Dekker 2002; 489-502.
2. Dimakou C, Oreopoulou V. Antioxidant activity of carotenoids against the oxidative destabilization of sunflower oil-in-water emulsions, LWT - Food Sci and Technol 2012; 46, 393-400.
3. Rovito HA, Oblong Je. Nicotinamide preferentially protects glycolysis in dermal fibroblasts under oxidative stress conditions. Brit J of Dermatol 2013; 169, 15-24.
4. Yen WJ, Chyau CC, Lee CP, Chu HL, Chang LW, Duh PD. Cytoprotective effect of white tea against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in vitro. Food Chem 2013; 141(4), 4107-4114.
5. Anand P, Kunnumakkara A. B, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. Mol Pharm 2007; 4(6), 807-818.
6. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Lett 2005; 223, 181-90.
7. Ghorbani Gorji S, Ghorbani Gorji E, Mohammadifar M.A. Characterisation of gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*)/sodium caseinate complex coacervation as a function of pH in an aqueous medium. Food Hydrocoll 2012; 1-8.
8. Ghorbani Gorji S, Ghorbani Gorji E, Mohammadifar M.A, Zargaraan A. Complexation of sodium caseinate with gum tragacanth: Effect of various species and rheology of coacervates. Int J of Biol Macromol 2014; 67, 503-511.
9. de Kruif CG, Tuinier R. Polysaccharide protein interactions. Food Hydrocoll 2001; 15(4-6), 555-563.
10. Doublier JL, Garnier C, Renard D, Sanchez C. Protein-polysaccharide interactions. Curr Opin in Colloid In 2000; 5(3-4), 202-214.
11. Harnsilawat T, Pongsawatmanit R, McClements DJ. Stabilization of Model Beverage Cloud Emulsions Using Protein-Polysaccharide Electrostatic Complexes Formed at the Oil-Water Interface. J Agri Food Chem 2006; 54(15), 5540-5547.
12. Hatami M, Nejatian M, Mohammadifar M.A. Effect of co-solute and gelation temperature on milk protein and gum tragacanth interaction in

- acidified gels. *Int J Biol Macromol* 2012; 50, 1109–1115.
13. Liu L, Zhao Q, Liu T, Kong J, Long Z, Zhao M. Sodium caseinate/ carboxymethylcellulose interactions at oil–water interface: Relationship to emulsion stability. *Food Chem* 2012; 132(4), 1822-1829.
  14. Nissim Garti, editor. *Delivery and Controlled Release of Bioactives in Foods and Nutraceuticals*. 2008. Imprint: Woodhead Publishing Series in Food Sci Technol Nutr. 978-1-84569-145-5.
  15. Teng Z, Luo Y, Wang Q. Carboxymethyl chitosan–soy protein complex nanoparticles for the encapsulation and controlled release of vitamin D3. *Food Chem* 2013;14,1524–532.
  16. Joye IJ, McClements DJ. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. *Curr Opin Colloid Int* 2014.
  17. Li Y, McClements DJ. Influence of non-ionic surfactant on electrostatic complexation of protein-coated oil droplets and ionic biopolymers (alginate and chitosan). *Food Hydrocoll* 2013; 33(2), 368-375.
  18. Xu RJ, Vidal-Madjar C, Sébille B. Capillary electrophoretic behavior of milk proteins in the presence of non-ionic surfactants. *J Chromatogr B* 1998; 706(1), 3-11.
  19. Choi KO, Aditya NP, Ko S. Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. *Food Chem* 2014; 147(0), 239-244.
  20. Ye A, Flanagan J, Singh H. Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers* 2006; 82(2), 121-133.
  21. Karimi N, Mohammadifar MA, Nayebzade K. Effect of two types of Iranian gum tragacanth on stability and rheological properties of oil-in-water emulsion. *Iran J Nutr Sci Food Technol* 2013; 3(3), 87-98. [in Persian]
  22. Li Z, Wang Y, Pei Y, Xiong W, Zhang Ch, Xu W, Liu Sh, Li B. Curcumin encapsulated in the complex of lysozyme/carboxymethylcellulose and implications for the antioxidant activity of curcumin. *Food Res Int* 2015; 75, 98–105.
  23. Tapal A, Tiku PK. Complexation of curcumin with soy protein isolate and its implications on solubility and stability of curcumin. *Food Chem* 2012; 130(4), 960-965.
  24. Pan Y, Tikekar RV, Nitin N. Effect of antioxidant properties of lecithin emulsifier on oxidative stability of encapsulated bioactive compounds. *Int J Pharm* 2013; 450(1–2), 129-137.
  25. Patel AR, Heussen PC, Dorst E, Hazekamp J, Velikov KP. Colloidal approach to prepare colour blends from colourants with different solubility profiles. *Food Chem* 2013; 141(2), 1466-1471.
  26. Yin LJ, Chu BS, Kobayashi I, Nakajima M. Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of b-carotene nanodispersions. *Food Hydrocoll* 2009; 23 :1617–1622.
  27. Dickinson E, Ritzoulis C, Povey M. J. Stability of Emulsions Containing Both Sodium Caseinate and Tween 20. *J Colloid Interf Sci* 1999; 212(2), 466-473.
  28. Anarjan N, Tan CP. Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. *Food Hydrocoll* 2013; 30(1), 437-447.
  29. Dalgleish DG, Srinivasan M, Singh H. Surface Properties of Oil-in-Water Emulsion Droplets Containing Casein and Tween 60. *J Agri Food Chem* 1995; 43(9), 2351-2355.
  30. McClements DJ. Protein-stabilized emulsions. *Curr Opin Colloid Int* 2004; 9(5), 305-313.
  31. Dickinson E. Stability and rheological implications of electrostatic milk protein–polysaccharide interactions. *Trends Food Sci Tech* 1998; 9(10), 347-354.
  32. Cho, Y.-H., & McClements, D. J. (2009). Theoretical Stability Maps for Guiding Preparation of Emulsions Stabilized by Protein–Polysaccharide Interfacial Complexes. *Langmuir*, 25(12), 6649-6657.
  33. Shpigelman A, Cohen Y, Livney YD. Thermally-induced  $\beta$ -lactoglobulin–EGCG nanovehicles: Loading, stability, sensory and digestive-release study. *Food Hydrocoll* 2012; 29(1), 57-67.
  34. Boruah B, Saikia PM, Dutta RK. Binding and stabilization of curcumin by mixed chitosan–surfactant systems: A spectroscopic study. *J Photoch Photobio A* 2012; 245(0), 18-27.
  35. Bergonzi MC, Hamdouch R, Mazzacuva F, Isacchi, B, Bilia AR. Optimization, characterization and in vitro evaluation of curcumin microemulsions. *LWT- Food Sci Technol* 2014; 59(1), 148-155.
  36. Malik P, Ameta RK, Singh M. Preparation and characterization of bionanoemulsions for improving and modulating the antioxidant efficacy of natural phenolic antioxidant curcumin. *Chem Biol Interact* 2014; 222c, 77-86.
  37. Barbosa MIMJ, Borsarelli CD, Mercadante AZ. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Res Int* 2005; 38(8–9), 989-994.

38. Tan CP, Nakajima M.  $\beta$ -Carotene nanodispersions: preparation, characterization and stability evaluation. *Food Chem* 2005; 92(4), 661-671.
39. Anarjan N, Tan CP, Nehdi IA, Ling TC. Colloidal astaxanthin: Preparation, characterisation and bioavailability evaluation. *Food Chem* 2012; 135(3), 1303-1309.
40. Li Z, Wang Y, Pei Y, Xiong W, Zhang C, Xu W, Liu S, Li B. Curcumin encapsulated in the complex of lysozyme/carboxymethylcellulose and implications for the antioxidant activity of curcumin. *Food Res Int* 2015; 75(0), 98-105.
41. Li M, Ma Y, Ngadi MO. Binding of curcumin to  $\beta$ -lactoglobulin and its effect on antioxidant characteristics of curcumin. *Food Chem* 2013; 141(2), 1504-1511.

Archive of SID

## Effect of Non-ionic Surfactant Tween 20 on Curcumin-loaded Protein/polysaccharide Nanocomplexes

Sheikhzadeh Sh<sup>1</sup>, Alizadeh M<sup>2\*</sup>, Rezazad M<sup>3</sup>

1. M.Sc Graduated Student in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

2. \*Corresponding author: Associate Prof., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. Email: m.alizadeh@urmia.ac.ir

3. Associate Prof., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

Received 6 Nov, 2015

Accepted 30 Dec, 2016

**Background and Objectives:** In addition to the numerous benefits of biopolymeric nanocomplex, it has drawbacks including difficulty in strict control of particle size and to prevent particle agglomeration. In this study, the influence of Tween 20 on the electrostatic interaction between sodium caseinate and gum Arabic was evaluated.

**Materials and Methods:** Initially, the organic phase (curcumin in ethanol) was introduced to aqueous phase (sodium caseinate, gum Arabic and Tween 20). Then by reducing the pH, the nanoparticles were formed. To evaluate the effects of the independent variables on the responses, the Box-Behnken design was used. The antioxidant activity of samples was evaluated by 1, 1-diphenyl 2-picryl hydrazyl radical inhibition assay.

**Results:** Tween 20 has a significant effect on particle size, and particle size distribution ( $p < 0/0001$ ). Sodium caseinate and Tween 20 have significant effects on the encapsulation efficiency and antioxidant activity of curcumin nanocapsules ( $p < 0/0001$ ). Using desirability function, optimal processing conditions was achieved in the sodium caseinate concentration (0/28%), Arabic gum concentration (0/5469%), Tween 20 concentration (0/18%) and pH (5.02).

**Conclusion:** Due to the high encapsulation efficiency and antioxidant activity of curcumin nanocomplex and no need for high energy equipment such as homogenizer, this method is suggested as a simple, fast and low-energy technique.

**Keywords:** Curcumin, Nonionic surfactant, Protein/polysaccharide nanocomplex, Antioxidant activity