



The effect of oil to water ratio and emulsifier amount on the properties of chia seed oil nanoemulsion

Sara Forouzandeh¹, Mohammad Fazel^{2*}

Received: 2021.03.09

Accepted: 2021.04.23

How to cite this article:

Forouzandeh, S., Fazel, M. (2022). The effect of oil to water ratio and emulsifier amount on the properties of chia seed oil nanoemulsion. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 18 (2), 295-305.

Abstract

Introduction: Nowadays, various methods have been developed to transfer and improve the absorption of lipophilic compounds in food in the form of coating. Colloidal emulsion-based systems are widely used in commercial systems. Chia seed oil is an oil rich in unsaturated fatty acids, especially omega 3 and omega 6, which can be used as the oily phase of nanoemulsions. The aim of this study was to investigate the fatty acid composition of chia seed oil and the effect of oil to water ratio and emulsifier on the properties of nanoemulsions of this oil.

Materials and Methods: Clean chia seeds were purchased as a pack from Zistfa Company and all other chemicals were purchased from Marack, Pars Shimi and Dr. Majelli companies. By using the oil set machine, the seeds were treated by cold pressing method and oil extraction efficiency was calculated. Gas chromatography (GC) was used to identify and measure the fatty acid composition of chia seed oil. In this study, nanoemulsions were produced in three levels of oil to water (20%, 35% and 50%) and in three levels of oil emulsifier (5%, 10% and 15%). To produce nanoemulsions, the aforementioned ratios were first calculated and determined. Then, Weigh the tweens 20 and 80 with chia seed oil and water and mix the emulsifiers with the chia seed oil on the stirrer. Then a mixture of 20 and 80 tweens and oil was added dropwise to the weighed distilled water. The mixture was stirred gently by a magnet. After this step, the mixture is placed in the refrigerator to reduce its temperature. After this time, it was placed in an ice bucket and placed in an ultrasonic homogenizer for 9 minutes at a power of 300 watts to form nanoemulsions. Then, the properties of nanoemulsions including particle size and distribution, coating efficiency and antioxidant properties were evaluated. Vasco model DLS (Dynamic light scattering) was used for the particle size. The particle size of nanoemulsions was determined by this device using dynamic light diffraction method. DPPH method was used to measure the antioxidant activity of oils and nanoemulsions and the antioxidant activity was calculated by using the formula. To evaluate the efficiency of coating of nanoemulsions, the amount of surface oil and total oil was measured and the efficiency was calculated by using the formula. The release rate of nanoemulsions was evaluated for 7 weeks. The tests were performed in three replications. Experimental data were analyzed in a completely randomized design with factorial test and Duncan test was used to compare the mean data. Software (Excel, 2010) was used to draw the graphs

Results and Discussion: According to the results obtained in this study, it can be said that chia seed oil contains a high percentage of unsaturated fatty acids and has a very high level of antioxidant properties (88.43%), which has antioxidant properties in the structure of nanoemulsions. Oil is better preserved in water. Other results showed that with increasing oil content of nanoemulsions, particle size, antioxidant properties and release increased and the coating efficiency decreased. Also, by increasing the ratio of emulsifier to oil in nanoemulsions, the coating efficiency and antioxidant properties increase and the particle size and release decreases. In the results obtained from these tests, the minimum particle size was 14.08 nm and the highest coating efficiency was 96.40%. The antioxidant activity of the samples was evaluated in the range of 5.61% to 21.43%. Also, the average release of samples at the end of 7 weeks of the

1 and 2. MSC Student and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Isfahan branch (Khorasgan), Isfahan, Iran.

(*Corresponding Author Email: mfazeln@yahoo.com)

DOI: [10.22067/IFSTRJ.2021.68787.1019](https://doi.org/10.22067/IFSTRJ.2021.68787.1019)

study reached nearly 18%. During storage, the treatments were quite stable for five months, which could be due to the low particle size and low release of samples. Considering the mentioned advantages, using nanoemulsions of this oil is a suitable option for enriching beverages.

Keywords: Nanoemulsion, Chia seed oil, Emulsifier, Antioxidant activity.

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر نسبت روغن و مقدار امولسیفایر بر خصوصیات نانوامولسیون روغن دانه چیا

سارا فروزنده^۱ - محمد فاضل^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۰۳

چکیده

در این پژوهش راندمان استخراج، ترکیب و میزان اسیدهای چرب موجود در روغن دانه چیا و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین نانوامولسیون‌های این روغن در سه سطح روغن به آب (۲۰٪، ۳۵٪ و ۵۰٪) و در سه سطح امولسیفایر به روغن (۵٪، ۱۰٪ و ۱۵٪) تولید شد. خصوصیات تمامی ۹ تیمار تولید شده شامل اندازه و توزیع ذرات، راندمان درون پوشانی و میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین میزان رهایش نانوامولسیون‌ها به مدت ۷ هفته بررسی شد. در این مطالعه روغن دانه چیا با روش پرس سرد استخراج گردید و راندمان استخراج آن ۲۷/۰۵٪ اندازه گیری شد. برای ارزیابی ترکیب اسیدهای چرب این روغن از دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده گردید. این روغن دارای ۴۷/۰۹٪ لینولنیک اسید بود و میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن به‌طور میانگین (۸۸/۴۳٪) اندازه‌گیری شد. نتایج آزمون‌های انجام شده بر روی نانوامولسیون‌ها نشان داد که با افزایش میزان روغن نانوامولسیون‌ها، اندازه ذرات و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و رهایش افزایش یافته و راندمان درون پوشانی کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش نسبت امولسیفایر به روغن در نانوامولسیون‌ها راندمان درون پوشانی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته و اندازه ذرات و رهایش کم می‌شود. در نتایج به‌دست آمده از این آزمون‌ها کمترین اندازه ذرات ۱۴/۰۸ نانومتر بود و بیشترین راندمان درون پوشانی ۹۶/۴۰٪ به‌دست آمد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در محدوده ۵/۶۱٪ تا ۲۱/۴۳٪ ارزیابی شد. همچنین میانگین رهایش نمونه‌ها در پایان ۷ هفته بررسی به نزدیک ۱۸ درصد رسید. در طی نگهداری تیمارها به مدت پنج ماه، کاملاً پایدار بودند.

واژه‌های کلیدی: نانوامولسیون، روغن دانه چیا، امولسیفایر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

مقدمه

چیا با نام علمی *Salvia hispanica*. L گیاهی علفی و یک ساله از جنس مریم گلی و از خانواده نعنائیان^۳ است که یک گیاه سبز گلدار و بومی آمریکای لاتین می‌باشد. گل‌ها دارای رنگ‌های بنفش، آبی یا سفید هستند و دانه‌ها به شکل بیضی شکل با رنگ‌های قهوه‌ای تیره تا سفید مایل به خاکستری می‌باشند. این گیاه با اسامی متداول چیا، چیا مکزیک و مریم گلی اسپانیایی شناخته می‌شود (Anacleto et al., 2016; Akinfenwa et al., 2020). دانه چیا حاوی ۵ درصد رطوبت، بین ۱۵ تا ۲۳ درصد پروتئین، ۲۵ تا ۴۰ درصد روغن، ۳۴ درصد فیبر غذایی، ۴۲ درصد کربوهیدرات کل، محتوای زیاد کلسیم (۳۳۵ - ۸۶۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، فسفر، پتاسیم و منیزیم و مقدار کمتری از سدیم، آهن و روی (۴-۱۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) می‌باشد. علاوه بر این، دانه چیا منبع خوبی از نیاسین، ویتامین A و C می‌باشد (Hadian et al., 2019). امروزه از دانه، آرد، موسیلاژ و روغن چیا به‌طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شود (Iglesias-Puig et al., 2013).

برخی از مهم‌ترین کاربردهای این دانه، استفاده از آن به‌عنوان مکمل تغذیه‌ای و نیز به‌عنوان یک جزء مهم در فرآورده‌های غلات، بیسکوئیت، پاستا، نان، اسنک و ماست و موارد دیگر می‌باشد (Hernandez, 2012). با توجه به این که این گیاه در مناطق خشک رشد می‌کند، به‌عنوان یک محصول جایگزین در صنعت زراعی به شدت توصیه می‌شود. دانه‌های چیا به‌عنوان منبعی از مواد مغذی و مواد افزودنی بیولوژیکی پتانسیل بسیار زیادی دارد و یکی از دانه‌های مورد علاقه علم، تکنولوژی و صنایع غذایی است (Chahardoli and Ahmadi chenarbon, 2017). روغن دانه چیا از طریق روش‌های استخراج از دانه به‌دست می‌آید که منجر به تغییر پارامترهای کیفی روغن می‌شود: خلوص، عملکرد، محتوای اسیدهای چرب، حفظ محتوای آنتی‌اکسیدان و عملکرد روغن. در طول سال‌ها از روش‌های مختلفی برای استخراج روغن از دانه‌ها استفاده شده است، مانند پرس سرد، استخراج با حلال معمولی، استخراج مایعات فوق بحرانی، استخراج به کمک امواج فراصوت و غیره. هر کدام از این روش‌ها

در این رابطه R راندمان استخراج روغن به درصد، Q وزن روغن حاصله به گرم، X وزن دانه‌های اولیه به گرم می‌باشد.

بررسی ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه چیا

برای بررسی ترکیب اسیدهای چرب از استاندارد ملی ایران شماره ۴۰۹۱ استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا ۱۵ قطره روغن دانه چیا، ۷ میلی‌لیتر آن‌هگزان و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این مدت تشکیل دو فاز داد که فاز روپی حاوی اسیدهای چرب بود. برای تعیین نوع اسیدهای چرب و میزان آنها یک میکرولیتر از فاز بالا به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890 مجهز به ستون موئین (BPX 70) با مشخصات طول ۱۲۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و قطر خارجی ۰/۲۵ میلی‌متر و آشکارگر FID و گاز حامل نیتروژن با فشار ۴۲/۱۲ psi استفاده گردید. خروجی دستگاه کروماتوگرافی به صورت یک کروماتوگرام رسم می‌شود که در آن هر پیک نمایانگر یک اسید چرب است و سطح زیر هر پیک مقدار آن اسید چرب را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آنالیز در قابل طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار توسط نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گردید.

تولید نانوامولسیون روغن دانه چیا

برای تهیه نانوامولسیون از روش Saberi و همکاران (۲۰۱۳) با اندکی تغییر استفاده گردید (Saberi et al., 2013). برای نسبت امولسیفایر به روغن از سه نسبت ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد و برای نسبت روغن به آب از نسبت‌های ۲۰، ۳۵ و ۵۰ درصد روغن استفاده شد. امولسیفایرهای استفاده شده برای تولید نانوامولسیون‌ها توئین ۲۰ و توئین ۸۰ بودند. ابتدا نسبت‌های گفته شده محاسبه و تعیین گردید. سپس با استفاده از ترازو دو صفر، توئین ۲۰ و ۸۰ و روغن دانه چیا و آب را توزین کرده و سپس توئین ۲۰ و ۸۰ و روغن دانه چیا به مدت یک دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر روی استیرر و به کمک مگنت مخلوط شدند. پس از آن آب مقطر توزین شده را به همراه مگنت بر روی استیرر که دمای آن ۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود قرار داده و مخلوط توئین ۲۰ و ۸۰ و روغن را به صورت قطره قطره به آب مقطر اضافه گردید. این ترکیب توسط مگنت به آرامی هم‌زده شد. پس از انجام این مرحله ترکیب به مدت ۳۰ دقیقه در یخچال گذاشته شده تا دمای آن کاهش یابد. پس از گذشت این زمان آن را در یک بشر پر از یخ گذاشته و در دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک

روغن با پارامترهای مختلف کیفیت تولید می‌کند: از نظر درصد خلوص و عملکرد، محتوای اسیدهای چرب، حفظ محتوای آنتی‌اکسیدان و سالم بودن روغن این میزان متفاوت می‌باشد. از این رو انتخاب روش به عواملی مانند اولویت‌های کمی و کیفی، ملاحظات زیست محیطی و هزینه فرآیند بستگی دارد (Akinfenwa et al., 2020). در صنعت نوشیدنی از میکرو و نانو امولسیون‌ها به عنوان سیستم‌های انتقال رنگ، عطر و طعم، آنتی‌اکسیدان‌ها و سایر ویتامین‌های محلول در چربی و مواد فعال زیستی در نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود. خاصیت منحصر به فرد میکرو و نانو امولسیون‌ها وضوح نوری است، که باعث می‌شود آنها در نوشیدنی‌های شفاف به عنوان سیستم‌های تحویل کاربرد بیشتری داشته باشند. از نانوامولسیون برای تولید نوشیدنی‌های ابری^۱ نیز استفاده می‌شود. نانوامولسیون‌ها می‌توانند ترکیبات طعم‌دهنده را از شرایط تولید و در تمام مدت ماندگاری نوشیدنی حفظ کنند. تصور می‌شود که نانوامولسیون‌ها می‌توانند عطر و طعم را از دما، اکسیداسیون، واکنش‌های آنزیمی و هیدرولیز حفظ کنند و از نظر ترمودینامیکی در طیف گسترده ای از مقادیر pH ثابت هستند (Nutralease, 2011). از این رو در این پژوهش بر آن هستیم که علاوه بر بررسی روغن دانه چیا، به تولید نانوامولسیون‌های این روغن و بررسی تاثیر نسبت امولسیفایر به روغن و نسبت روغن به آب در نانوامولسیون‌های تولیدی در آزمون‌های اندازه و توزیع ذرات، راندمان درون پوشانی، رهایش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بپردازیم.

مواد و روش‌ها

دانه‌های تمیز چیا با واریته White-black به صورت بسته‌بندی از شرکت زیستفا خریداری گردید و با استفاده از دستگاه Oil set دانه‌ها به روش پرس سرد روغن‌گیری شدند. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ به مدت ۲۰ دقیقه و دور ۶ هزار در دمای ۴ درجه ناخالصی روغن جدا گردید.

راندمان استخراج روغن

برای مشخص کردن راندمان استخراج روغن، ابتدا وزن دانه مصرف شده و وزن روغن حاصل از آن تعیین شد و با استفاده از رابطه زیر میزان آن به دست آمد و از تقسیم آن بر میزان روغن اولیه دانه کارایی فرایند استخراج محاسبه گردید (Abdollahi et al., 2018).

$$R = \frac{Q}{X} \times 100 \quad (1)$$

افزوده شده و به مدت ۱ دقیقه هم‌زده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و سپس فاز آلی شفاف جدا شده و حلال آن در ۷۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر گردیده و سپس روغن باقیمانده وزن شد (Uluata et al., 2015).

راندمان درون پوشانی

برای محاسبه راندمان درون پوشانی دو فاکتور روغن سطحی و روغن کل اندازه‌گیری می‌شود و راندمان بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$Ye(\%) = \frac{O_t - O_f}{O_t} \times 100 \quad (3)$$

در این معادله Ye راندمان درون پوشانی (درصد)، O_t مقدار روغن کل (گرم) و O_f مقدار روغن آزاد می‌باشند. مقدار روغن درون پوشانی شده در نانومولسیون به وسیله محاسبه اختلاف بین مقدار کل روغن اولیه و مقدار روغن درون پوشانی شده باقی مانده در مایع شفاف اندازه‌گیری گردید (Tavakolipour and Mokhtarian, 2016).

اندازه‌گیری رهایش نانومولسیون‌ها

برای اندازه‌گیری میزان رهایش روغن از نانومولسیون‌ها، میزان روغن سطحی نانومولسیون‌ها در یخچال و به مدت دو ماه اندازه‌گیری شد. در طی این مدت نانومولسیون‌ها در یخچال و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از روش Uluata و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییر استفاده شد (Uluata et al., 2015).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفتند. داده‌های آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمون فاکتوریل بررسی و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (2010) استفاده گردید.

نتایج و بحث

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن دانه چیا

میزان روغن به وارسته‌های گیاهی، موقعیت مکان، حاصل‌خیزی خاک، روش آسیاب کردن دانه، کهنه یا تازه بودن دانه‌ها، استخراج روغن و نوع حلال بستگی دارد (Timilsena et al, 2017). با استفاده از فرمول گفته شده در فصل قبل راندمان استخراج محاسبه گردید که به طور میانگین ۲۷/۰۵٪ اندازه‌گیری شد. Ixtaina و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی که انجام دادند، میزان روغن استخراج شده از دانه

به مدت ۹ دقیقه و توان ۳۰۰ وات قرار داده شد تا نانومولسیون تشکیل شدند.

تعیین اندازه و توزیع ذرات نانومولسیون‌ها

از دستگاه DLS (Dynamic light scattering) مدل واسکو استفاده گردید. تعیین اندازه ذرات نانومولسیون‌ها توسط این دستگاه به کمک روش پراش دینامیکی نور انجام شد که در واقع حرکت براونی ذرات را درون سامانه‌های کلوئیدی اندازه‌گیری می‌نماید. این دستگاه برای توزیع اندازه ذرات پارامتر PDI را ارائه می‌دهد (Marsanasco et al., 2011).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانومولسیون روغن دانه چیا

به روش Singleton و همکاران (۱۹۶۵) با اندکی تغییر انجام شد (Singleton et al., 1965). بدین صورت که ۰/۰۰۱ گرم DPPH در ۵۰ سی‌سی اتیل استات حل گردید و ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. سپس ۰/۴ سی‌سی از روغن یا نانومولسیون به ۴ سی‌سی DPPH اضافه شد و در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه ماند. برای شاهد نیز ۰/۴ سی‌سی اتیل استات به ۴ سی‌سی DPPH اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی ماند. سپس جذب نمونه شاهد و نمونه روغن در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$I\% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (2)$$

که در این رابطه I درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_c جذب شاهد و A_s جذب نمونه می‌باشد.

اندازه‌گیری راندمان درون پوشانی نانومولسیون‌ها

اندازه‌گیری روغن سطحی

از روش Uluata و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییر استفاده گردید. بدین صورت که ۱ گرم از نمونه نانومولسیون با ۱۰ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر مخلوط شده و به مدت ۲ دقیقه توسط همزن مغناطیسی هم‌زده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. سپس فاز آلی شفاف جدا شده و حلال آن در ۷۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر گردید. پس از آن روغن باقیمانده وزن شد (Uluata et al., 2015).

اندازه‌گیری روغن کل

۰/۵ گرم از نمونه‌های امولسیون با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای محیط مخلوط شده و به مدت ۲ دقیقه توسط همزن مغناطیسی هم‌زده شد. ۲۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول الکل و n-هگزان به نسبت ۳:۱ به آن

نتایج نشان داد که محل رشد بذر بر روی محتوای پروتئینی و روغنی آن تأثیر دارد. بدینصورت که با افزایش ارتفاع و کاهش دما محتوای پروتئینی و میزان اشباعیت روغن کاهش می‌یابد (Ayerza and Coates, 2011). در میان عوامل محیطی دما مهمترین عامل در کیفیت روغن محسوب می‌شود که تا حدود زیادی می‌تواند در تعیین نوع اسیدهای چرب روغن موثر باشد (Velasco & Fernandez, 2002). ترکیب اسیدهای چرب روغن چیا آزمایش شده با نتایج سایر محققان تا حدودی مشابه بوده و اثبات کننده این موضوع است که روغن دانه چیا حاوی درصد بالایی اسیدهای چرب چندغیراشباع می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود در روغن آزمایش شده کمی درصد استئاریک اسید بالاتر از سایر نتایج بوده که دلیل آن می‌تواند همان عوامل گفته شده باشد.

چیا را به دو روش پرس و سوکسله بررسی کردند و مقدار آن را برحسب نوع روش استخراج بین ۳۳/۶-۲۰/۳ درصد گزارش کردند (Ixtaina et al., 2011). راندمان استخراج روغن با حلال بیشتر از روش پرس بود. بنابراین همان‌طور که گفته شد با توجه به تفاوت‌ها، میزان راندمان استخراج روغن در محدوده می‌باشد. مقادیر اسیدهای چرب روغن دانه چیا با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی به‌دست آمد. نتایج این تحقیق به همراه نتایج سایر پژوهشگران در جدول ۱ آمده است. منشأ دانه چیا، شرایط جغرافیایی، نوع خاک و رنگ همه پارامترهای مهمی هستند که بر مشخصات اسیدهای چرب روغن دانه چیا تأثیر می‌گذارند (Kaya, 2019). در تحقیقی Ayerza و Coates (۲۰۱۱) دانه‌های چیا را در سه ناحیه با شرایط آب و هوایی (دما، ارتفاع، نوع آبیاری و میزان بارش سالانه) متفاوت را مورد بررسی قرار دادند.

جدول ۱- مقایسه ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه چیا

Table 1- Comparison of fatty acid composition of chia seed oil

Ixtaina et al., (2011)	Matinez et al., (2012)	Bushway et al., (1981)	Imani et al., (2020)	Results this research نتایج این تحقیق	chemical formula فرمول شیمیایی	Fatty acid اسید چرب
6.6	7.3	27.4	6.87	14.77	C 16:0	Palmitic acid پالمیتیک اسید
3.1	2.8	12.3	2.29	4.84	C 18:0	Stearic acid استئاریک اسید
5.4	7.4	21.2	4.88	11.79	C 18:1	Oleic acid اولئیک اسید
20.3	22	12.8	18.80	15.14	C 18:2	Linoleic acid لینولئیک اسید
64.4	60.5	15.4	66.32	47.09	C 18:3	Linolenic acid لینولئیک اسید
0.1	-	10.9	0.84	6.37	--	Other fatty acids اسیدهای چرب
9.7	10.1	39.7	9.9	23.50		Total saturated fatty acids مجموع اسیدهای چرب اشباع
5.4	7.4	21.2	6.39	13.02		Total monounsaturated fatty acids مجموع اسیدهای چرب تک غیراشباع
84.8	82.5	28.2	82.97	63.48		Total polyunsaturated fatty acids مجموع اسیدهای چرب چند غیر اشباع

پایداری کلئیدی بیشتر، کدورت کمتر محلول‌ها به علت شکست نور کمتر اشاره کرد. بر روی تمام تیمارها اندازه و توزیع ذرات آزمایش و مورد بررسی قرار گرفت. اندازه ذرات نمونه‌ها از حدود ۱۴/۸ نانومتر تا ۱۲۳/۷ نانومتر بودند (جدول ۳). با افزایش SOR اندازه ذرات کاهش و با افزایش میزان روغن اندازه ذرات افزایش یافت. علت این موضوع را می‌توان به وجود سورفکتانت‌های کوچک مولکول توئین مرتبط دانست. سورفکتانت‌های کوچک مولکولی مانند توئین به دلیل توانایی بسیار بالاتر آنها در جذب سریع به سطح قطرات و کشش سطحی

خصوصیات فیزیکی شیمیایی نانوامولسیون‌های روغن دانه چیا اندازه و توزیع ذرات نانوامولسیون‌ها

کنترل و اندازه گیری اندازه ذرات بسیار مهم است، زیرا این ویژگی در مشخصات نانوامولسیون‌ها مانند ظاهر، پایداری، خصوصیات نوری، رئولوژی، مشخصات انتشار و دسترسی زیستی نقش مهمی دارد (Assadpour et al., 2016; Jafari et al., 2008). از مزایای پایین بودن اندازه ذرات می‌توان به سطح بالاتر و دسترسی زیستی بیشتر،

قطرات افزایش می‌یابد و توزیع قطرات به صورت دوگانه و چندگانه می‌شود. عدم مشاهده چنین پدیده‌ای در این تیمارها بیانگر استفاده از بازده مناسبی از SOR برای آنها می‌باشد. Venkadesaperuma و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که با افزایش مقدار روغن در نانوامولسیون ویتامین ای-استات، میانگین قطر ذرات بیشتر گردید (Venkadesaperuma et al., 2016). Ribeiro و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که افزایش میزان روغن و مدت زمان فراصوت باعث افزایش میانگین اندازه ذرات گردید (Ribeiro et al., 2015). نتیجه به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج سایر محققان مطابقت داشت.

دینامیکی بسیار پایین‌تر آنها نسبت به سورفکتانت‌های بزرگ مولکول و بیوپلیمرها بیشترین توانایی را برای شکل‌دهی امولسیون، با اندازه قطرات کوچک‌تر دارند (Wooster et al., 2008). افزایش غلظت سورفکتانت باعث نفوذ بیشتر مولکول‌های سورفکتانت از فاز آلی به فاز آبی و تثبیت سورفکتانت‌ها در حد فاصل بین دو فاز می‌شود. به این ترتیب قطرات ریزتر روغن در مرز دو فاز تشکیل می‌شوند (Rao and McClements., 2011). این در حالی است که افزایش بیش از حد مقدار سورفکتانت با تشکیل فاز کریستال مایع و افزایش ویسکوزیته، مانع اختلاط مناسب دو فاز می‌شود. به این ترتیب اندازه

جدول ۲- تیمارها و کدهای مربوط به آنها

Table 2- Treatments and related codes

Code	SOR(%)	Oil(%)	Treatment
کد		روغن (%)	تیمار
O20S5	5	20	1
O20S10	10	20	2
O20S15	15	20	3
O35S5	5	35	4
O35S10	10	35	5
O35S15	15	35	6
O50S5	5	50	7
O50S10	10	50	8
O50S15	15	50	9

جدول ۳- اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها

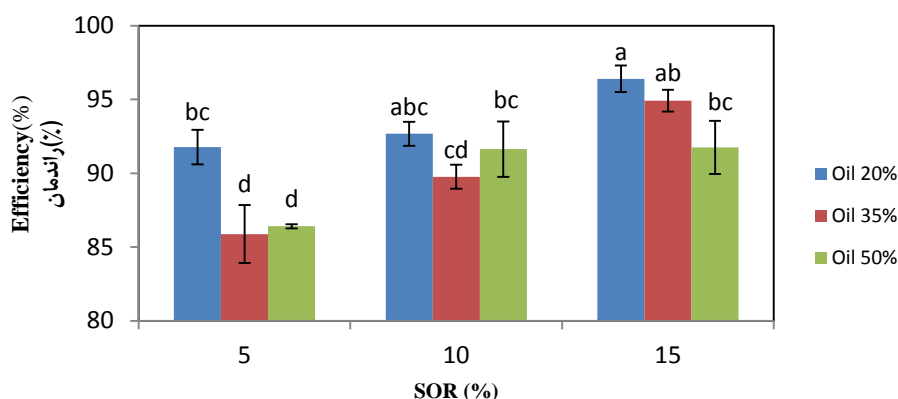
Table 3- Particle size of nanoemulsions

(O50S15)	(O50S10)	(O50S5)	(O35S15)	(O35S10)	(O35S5)	(O20S15)	(O20S10)	(O20S)
تیمار ۹	تیمار ۸	تیمار ۷	تیمار ۶	تیمار ۵	تیمار ۴	تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱
19.46	25.68	123.7	17.74	14.08	98.17	21.35	37.18	74.39
9.35	6.14	4.99	9.03	6.6	5.82	6.25	7.95	9.12
Particle size (nm)								
اندازه ذرات (نانومتر)								
Standard deviation (%)								
انحراف معیار (%)								

(al., 2020). در پژوهشی Frascareli و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند ذرات کوچکتر در امولسیون بیشتر توزیع شده و سبب افزایش راندمان انکپسولاسیون می‌گردد (Frascareli et al., 2012). در تحقیق دیگری Rachmadi و همکاران (۲۰۱۵) که به درون پوشانی کورکومین و سیلیمارین با تهیه نانوامولسیون به روش اولتراسونیک پرداختند گزارش کردند که با افزایش فاز روغنی در تهیه نانوامولسیون‌ها کارایی درون پوشانی کاهش می‌یابد (Rachmadi et al., 2015). در این پژوهش با افزایش میزان روغن اندازه ذرات بیشتر و راندمان درون پوشانی کاهش یافت و همچنین با افزایش SOR اندازه ذرات کمتر و راندمان درون پوشانی افزایش یافت که با نتایج سایر محققان همخوانی دارد.

راندمان درون پوشانی

در این تحقیق درصد راندمان درون پوشانی تیمارها مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد راندمان درون پوشانی نمونه‌ها بالای ۸۵٪ بود (شکل ۱). در آزمایش انجام شده بر روی تیمارها، تاثیر درصد روغن و SOR در سطح ۹۹٪ معنی‌دار است. با افزایش درصد روغن راندمان کاهش یافته و با افزایش SOR راندمان افزایش یافته است. افزایش غلظت سورفکتانت در نانوامولسیون‌ها در اکثر موارد سبب افزایش میزان جذب سورفکتانت به سطح امولسیون گردیده و در نتیجه باعث کاهش بیشتر کشش سطحی شده و در نهایت باعث کاهش اندازه ذرات و افزایش راندمان درون پوشانی می‌گردد. به این دلیل که افزایش غلظت سورفکتانت سطح ذرات را به خوبی پوشانده، از تجمع، هم‌آمیختگی و نشسته‌های چرب به فاز پیوسته جلوگیری می‌کند (Faraji et

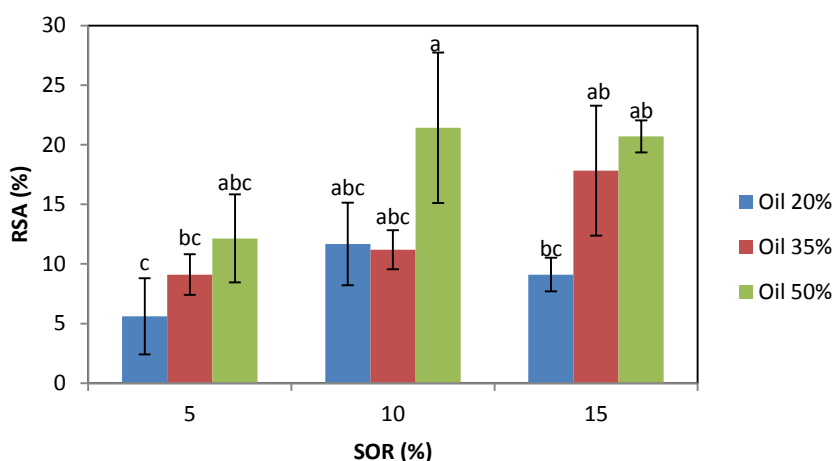


شکل ۱- تاثیر اثر متقابل روغن و SOR بر راندمان درون پوشانی نانوامولسیون‌ها
 Fig. 1. Effect of oil and SOR interaction on the coating efficiency of nanoemulsions.

حالت رنگ بنفش محیط به رنگ زرد تبدیل می‌گردد. از روی اندازه‌گیری کاهش شدت جذب به‌وسیله طیف‌سنجی می‌توان به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن پی برد (Chen et al., 2015). در شکل ۲ تاثیر متقابل روغن و SOR بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون‌ها مشاهده می‌شود.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون‌ها

استفاده از رادیکال DPPH جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به یکی از پرکاربردترین روش‌های سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی تبدیل شده است. اساس این روش این است که رادیکال DPPH به‌عنوان پذیرنده الکترون از یک مولکول آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند در نتیجه آن از DPPH رادیکالی به DPPH غیررادیکالی تبدیل می‌شود. در این



شکل ۲- تاثیر متقابل روغن و SOR بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون‌ها
 Fig. 2. Interaction of oil and SOR on the antioxidant activity of nanoemulsions

در آب نسبت به روغن به تنهایی نشان می‌دهند. از آنجا که آنتی‌اکسیدان‌های موجود در روغن چیا خاصیت غیرقطبی دارند، می‌توانند به روغن متصل شوند و به‌طور موثرتری در آنجا بمانند. می‌توان نتیجه گرفت که سیستم‌های امولسیون‌های ترکیبات فعال را که به‌طور معمول بسیار حساس به اکسیداسیون هستند، حفظ می‌کنند

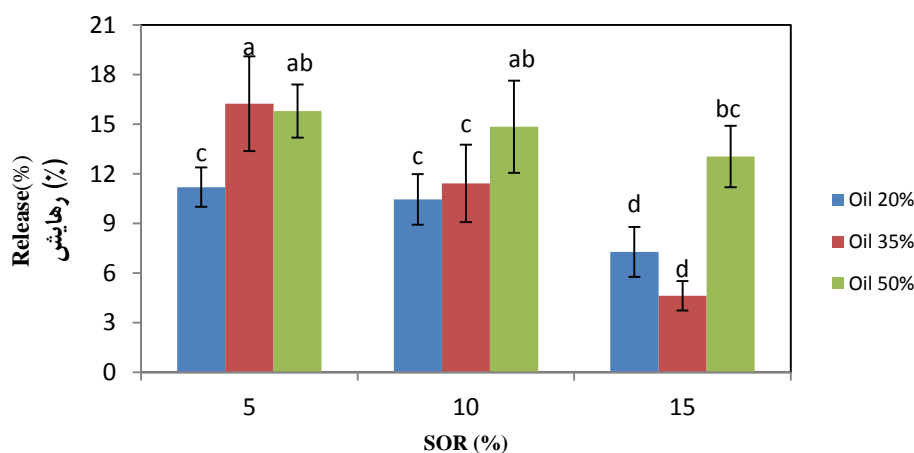
با بررسی آنالیز انجام شده بر نانوامولسیون‌ها مشاهده شد که با افزایش میزان روغن و SOR میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی افزایش می‌یابد. دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت روغن با فرضیه "پارادوکس قطبیت آنتی‌اکسیدان" مرتبط است. در روغن چیا، بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ساختار غیرقطبی دارند. ثابت شده است که این ترکیبات عملکرد بهتری را در سیستم‌های امولسیون‌های روغن

امولسیفایر برای تشکیل دست کم یک تک لایه روی قطرات فاز پراکنده است (Wilkinson et al., 1994). حداقل غلظت لازم سورفکتانت برای تشکیل امولسیون، غلظت بحرانی میسلی شدن (CMC) نامیده می‌شود. در غلظت‌های بالاتر از CMC سورفکتانت‌ها هم به صورت آزاد در محلول وجود دارند و هم به صورت خودبه‌خودی تشکیل میسلی می‌دهند. این مسئله یک تعامل دوگانه است زیرا از یک سو هر جا که خطر شکسته شدن لایه سورفکتانت دور قطرات روغن باشد، سورفکتانت‌های آزاد به‌صورت امولسیون کننده‌های یدکی استفاده شده و به ترمیم فصل مشترک کمک می‌کنند و همینطور وجود میسل‌ها و سورفکتانت‌های آزاد باعث افزایش گرانیوی فاز پیوسته و در نتیجه پایداری بیشتر امولسیون می‌شود (Gharenaghadeh et al., 2017). پایداری بیشتر نانوامولسیون در واقع به معنای کاهش رهاش میزان روغن موجود در ساختار نانوامولسیون از آن می‌باشد. بنابراین بدین دلیل با افزایش SOR رهاش کاهش یافته و قابل توجه می‌باشد. هرچه غلظت فاز پراکنده بیشتر شود، کسر حجمی افزایش یافته و اختلاف دانسیته میان فازهای پراکنده و پیوسته بیشتر شده و مطابق قانون استوکس، سرعت دو فاز شدن افزایش می‌یابد (Faraji et al., 2020). افزایش مقدار فاز روغنی باعث افزایش میانگین اندازه ذرات می‌گردد و مطابق قانون استوکس افزایش در قطر ذرات، صعود ذرات بر سطح نمونه‌ها را تسریع نموده و به همین دلیل با افزایش میزان روغن رهاش افزایش می‌یابد.

(Kiralan et al., 2014). نتایج این پژوهش با نتایج Kaya (۲۰۱۹) مطابقت دارد.

میزان رهاش

رهاش در واقع تعیین‌کننده این مسئله است که ماده فعال در چه زمانی و به چه میزانی آزاد می‌شود. رهاش پایین در نتیجه درون پوشانی بالا به‌دست می‌آید. در این پژوهش نشان‌دهنده درون پوشانی مناسب ماده روغن است. طبق آنالیز به‌دست آمده از اندازه‌گیری میزان رهاش نانوامولسیون‌ها مشاهده گردید با گذشت زمان نگهداری، میزان رهاش روغن نمونه‌ها افزایش می‌یابد به‌طوری که در ابتدای پژوهش به‌طور میانگین حدود ۹ درصد بوده و در انتهای پژوهش به حدود ۱۸ درصد به‌طور میانگین می‌رسد (شکل ۳). نمونه‌ها از پایداری بسیار زیادی برخوردار بودند که می‌توان دلیل آن را راندمان درون پوشانی بالا و اندازه ذرات پایین عنوان کرد. به‌طور کلی آنالیز داده‌ها برای این آزمایش نشان می‌دهد که میزان رهاش روغن با افزایش میزان روغن افزایش یافته و با افزایش SOR میزان رهاش کم شده است. نانوامولسیون‌های O/W قطرات پراکنده روغن در آب هستند که ماهیت آنها ناپایدار است و در واقع انرژی آزاد گیبس طی تشکیل نانوامولسیون مثبت است. سورفکتانت‌ها با کاهش کشش بین سطحی در فصل مشترک آب و روغن، باعث کاهش این انرژی شده و کمک به تشکیل نانوامولسیون‌ها می‌کنند (Ghosh et al., 2009). بی‌تردید واضح‌ترین شرط برای پایداری نانوامولسیون‌ها، کافی بودن مقدار



شکل ۳- تاثیر اثر متقابل روغن و SOR بر رهاش نانوامولسیون‌ها
Fig. 3. Effect of oil and SOR interaction on the release of nanoemulsions

و از میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار زیادی (۸۸/۴۳٪) برخوردار است که این میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی در ساختار نانوامولسیون‌های روغن در آب بهتر حفظ می‌گردد. نتایج دیگر این پژوهش نشان‌دهنده این است که میزان روغن و SOR بر ویژگی‌های نانوامولسیون از جمله

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان گفت که روغن دانه چیا حاوی درصد بالایی اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد

اولتراسونیک می‌توان با میزان SOR پایین، نانوامولسیون‌های با اندازه ذرات کمتر از ۱۵۰ نانومتر، با راندمان درون پوشانی بالا و رهایش کم در طی زمان و پایداری زیاد تولید کرد. با توجه به محاسن گفته شده، استفاده از نانوامولسیون‌های این روغن گزینه مناسبی برای غنی‌سازی نوشیدنی‌های غیرشفاف می‌باشد.

اندازه ذرات بسیار مهم بوده به این ترتیب که با افزایش میزان روغن رابطه مستقیم و با SOR رابطه عکس دارد و در آزمون راندمان درون پوشانی، افزایش میزان روغن منجر به کاهش و افزایش SOR باعث افزایش راندمان می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز با افزایش میزان روغن و SOR رابطه مستقیم دارد و نمونه‌های تولیدی از پایداری زیادی برخوردار بودند. این پژوهش نشان داد که با استفاده از هموژنایزر

منابع

1. Abdollahi, A., ShafafiZenoian, M., Saeedi Asl, M., Armin, M., Big Babaei, A. (2018). 'Investigation of the effect of microwave pretreatment on physicochemical properties of sesame seed oil', *Innovation in Food Science and Technology*, 10 (2), pp. 13-21.
2. Akinfenwa, A. O., Cheikhyoussef, A., Cheikhyoussef, N. Hussein, A. A., (2020). Cold pressed chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil. In *Cold Pressed Oils* (pp. 181- 190). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818188-1.00015-3>
3. Anacleto, S., Ruiz, G., Rana, J., Gordillo, G., West, H., Sharma, M., et al. (2016). Chia crop (*Salvia hispanica* L.): Its history and importance as a source of polyunsaturated fatty acids omega-3 around the world: A review. *Journal of Crop Research and Fertilizers*, 1(104), 1-9
4. Assadpour, E., Maghsoudlou, Y., Jafari, S. M., Ghorbani, M., Aalami, M., (2016). Optimization of folic acid nano-emulsification and encapsulation by maltodextrin-whey protein double emulsions. *Int. J. Biol. Macromol.* 86, 197-207.
5. Ayerza, R., & Coates, W. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*, (34), 1366- 1371. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.007>
6. Bushway, A., Belyea, P. R., & Bushway, R. J. (1981). Chia Seed as a Source of oil, polysaccharide, and protein. *Journal of Food Science*, (46), 1349- 1350. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb04171.x>
7. Chahardoli, M., Ahmadichenarbon, H. (2017). Evaluation of nutritional value of chia seeds (*Hispanica Salvia* L). First International Conference on Applied Research in Agricultural Sciences, Natural Resources and Environment, <https://civilica.com/doc/674104>
8. Chen, H., Guan, Y., Zhong, Q. (2015). Microemulsions based on a sunflower lecithin-Tween 20 blend have high capacity for dissolving peppermint oil and stabilizing coenzyme Q10. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63(3), 983-989. <https://doi.org/10.1021/jf504146t>
9. Faraji, N., Alizadeh, M., Almasi, H., Pirsar, S., Faraji, S. (2020). Optimization of Iranian *mentha longifolia* of nanoemulsion containing omega-3 fatty acids by spontaneous emulsification, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(1), 143-172.
10. Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and bioproducts processing*, 90(3), 413- 424. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.002>
11. Gharenaghadeh, s., Samadlouie, H. R., Sowtim., Hamisekarh., Rezaei Mokaram, R., (2017). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of Salvia essential oil nanoliposome (*Salvia multicaulis*), *Food Science and Technology*, 14(1), 271-282. magiran.com/p1665862
12. Ghosh, A., Mandal, A. K., Sarkar, S., Panda, S. Das, N. (2009). Nanoencapsulation of quercetin enhances its dietary efficacy in combating arsenic-induced oxidative damage in liver and brain of rats. *Life Sciences*, 84: 75- 80. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2008.11.001>
13. Hadian, J., Kohzadi, B., Asadi, M., ShafieZargar, A. R., Ghorbanpour, M. (2019). Evaluation of growth, yield characteristics and oil components of two Chia (*Salvia hispanica* L.) varieties in different planting dates, *Journal of Medicinal Plants*, 18(70), 59- 72. DOI: [10.29252/jmp.2.70.59](https://doi.org/10.29252/jmp.2.70.59)
14. Hernandez, L. M. (2012). Mucilage from chia seeds (*Salvia hispanica*): Microstructure, physico-chemical characterization and applications in food industry (Doctoral dissertation, Pontificia Universidad Catolica De Chile).
15. Iglesias-Puig, E. and Haros, M., (2013). Evaluation of performance of dough and bread incorporating chia (*Salvia hispanica* L.). *European Food Research and Technology*, vol. 237, 2013, pp.1- 10. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2067-x>
16. Imani Motlagh, Y., Gharachorloo, M. (2020). Chemical evaluation of oil extracted from chia Seed (*Salvia hispanica* L.), *Journal of Food Technology & Nutrition*, 18(1), 27-36.

17. Iranian Institute of Standards and Industrial Research., 2004, Analysis of fatty acid methyl esters by gas chromatography. Iranian National Standard No. 4091
18. Ixtaina, V. Y., Martínez, M. L., Spotorno, V., Mateo, C. M., Maestri, D. M., Diehl, B. W., Nolasco, S. M. and Tomás, M. C., (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24 (2), pp.166- 174. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.08.006>
19. Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y. Bhandari, B., (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food hydrocolloids*, 22 (7), pp.1191- 1202. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.09.006>
20. Kaya, E. C. (2019). Formulation and characterization of chia seed oil nanoemulsions (Doctoral dissertation, Middle East Technical University).
21. Kiralan, S. S., Doğu-Baykut, E., Kittipongpittaya, K., McClements, D. J. and Decker, E. A., (2014). Increased antioxidant efficacy of tocopherols by surfactant solubilization in oil-in-water emulsions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62 (43), pp.10561- 10566.
22. Marsanasco, M., Márquez, A. L., Wagner, J. R., Alonso, S. D. V., Chiamoni, N. S. (2011). Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. *Food research international*, 44(9): 3039- 3046. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.025>
23. Martínez, M. L., Marín, M. A., Faller, C. M. S., Revol, J., Penci, M. C., & Ribotta, P. D. (2012). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: study of processing parameters. *LWT- Food Science and Technology*, 47(1), 78- 82. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.032>
24. McClements, D. J. and Rao, J. (2011). Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51: 285- 330. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.595558>
25. NutraLease (2011). Available from: <http://www.nutralease.com/Nutra/ Templates/ showpage. asp ?DBID= 1&LNGID= 1&TMID= 84&FID= 767>
26. Rachmadi U. W., Permatasari. D, Rahma. A., Rachmawati. H., (2015). Self- nanoemulsion containing combination of curcumin and silymarin: Formulation and characterization. *Research and Development on Nanotechnology in Indonesia* 2(1): 37- 48.
27. Ribeiro, R. C. D. A., Barreto, S. M. A. G., Ostrosky, E. A., Rocha-Filho, P. A. D., Veríssimo, L. M., and Ferrari, M. (2015). Production and characterization of cosmetic nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) mill extract as moisturizing agent. *Molecules*, 20 (2), 2492- 2509. <https://doi.org/10.3390/molecules20022492>
28. Saberi, A. H., Fang, Y. and McClements, D. J., (2013). Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: factors affecting particle size using spontaneous emulsification. *Journal of colloid and interface science*, 391, pp.95- 102. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.08.069>
29. Tavakolipour, H., Mokhtarian M, (2016). Nano-encapsulation of pomegranate seed oil by liquid- liquid dispersion method and oil releasing in gastric simulated conditions, *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 11(2), 75-84. magiran.com/p1559678
30. Timilsena, Y. P., Vongsvivut, J., Adhikaria, R. & Adhikari, B. (2017). Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chemistry*, (228), 394– 402. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.021>
31. Uluata, S., McClements, D. J. Decker, E. A. (2015). Physical stability, autoxidation, and photosensitized oxidation of ω -3 oils in nanoemulsions prepared with natural and synthetic surfactants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(42), 9333- 9340. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03572>
32. Velasco, L. Fernandez- Martinez, J. M. (2002). Breeding oilseed crops for improved oil quality. *Journal of Crop Production*, 5(1-2), 309-344. https://doi.org/10.1300/J144v05n01_13
33. Venkadesaperumal, G., Rucha, S., Sundar, K., and Shetty, P. H. (2016). Anti-quorum sensing activity of spice oil nanoemulsions against food borne pathogens. *LWT- Food Science and Technology*, 66, 225- 231. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.044>
34. Wilkinson, J. B., (1994). *Harry's Cosmeticology*. 7 ed: Longman Scientific and Technical.
35. Wooster, T. J., Golding, M. and Sanguansri, P., (2008). Impact of oil type on nanoemulsion formation and ostwald ripening stability. *Langmuir*, 24(22), pp.12758- 12765. <https://doi.org/10.1021/la801685v>