

## Investigating the properties of multilayer emulsion containing encapsulated of grape seed oil

Marzieh Sepidnameh<sup>1</sup>, Ali Fazlara<sup>2\*</sup>, Mahdi Pourmahdi<sup>2</sup>,  
Seyed Mohammad Hashem Hosseini<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ph.D. Student of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

<sup>2</sup> Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, Email: a.fazlara@scu.ac.ir

<sup>3</sup> Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

### Article Info

**Article type:**  
Research Full Paper

**Article history:**

Received: 28-05-2023  
Revised: 25-07-2023  
Accepted: 29-08-2023

**Keywords:**

Grape seed oil  
Multilayer emulsion  
Gelatin  
Chitosan  
Basil seed gum

### ABSTRACT

**Background and objectives:** Grape seed oil is a rich source of omega-9 and omega-6 fatty acids, but the problems related to the production of food enriched with omega-9 and omega-6 fatty acids (the predominant essential fatty acids in grape seed oil) It is accompanied by the spontaneous oxidation of long chain fatty acids, which leads to a shorter shelf life, and due to their hydrophobic and unstable properties, they are difficult to dissolve in water and are easily oxidized, which leads to destruction and emergence the flavor becomes unpleasant. Therefore, it is necessary to develop effective delivery systems that can use grape seed oil in liquid foods more effectively. Recently, the preparation of emulsions using the layer-by-layer (LBL) method has received a lot of attention due to its various advantages, including the complete encapsulation of lipids, preventing the attack of peroxides and controlling the release of bioactive compounds.

**Materials and methods:** To prepare a multilayer emulsion, grape seed oil was added to 1% gelatin solution and homogenized with a homogenizer. For the secondary emulsion, the primary emulsion was mixed with 2% chitosan solution and homogenized with a homogenizer after adjusting the pH. To prepare a three-layer emulsion, basil seed gum solution was added to the double-layer emulsion and homogenized again. Then, the particle size, viscosity, zeta potential, turbidity and refractive index, peroxide and thiobarbituric acid index of the samples were checked during one month of storage at two temperatures of 4 and 25°C.

**Results:** The results showed that the maximum stability of single-layer, double-layer and three-layer emulsions was at pH 5, and the stability increased with the increase in the number of layers of grape seed oil multilayer emulsion. In fact, at this pH, gelatin, chitosan, and basil seed gum have negative, positive, and negative charges, respectively, and strong electrostatic interactions occur between biopolymers, after which LBL emulsions become stable. After the one-month storage period of emulsions, the particle size, viscosity, turbidity, refractive index, peroxide and thiobarbituric acid value

---

---

have increased. Also, during the one-month storage period, by examining the physicochemical parameters (particle size, viscosity, zeta potential, turbidity and refractive index), the stability of emulsions at refrigerator temperature was higher than at ambient temperature.

**Conclusion:** The results show that chitosan and basil seed gum can be used to form coating layers around fat droplets such as food emulsions, which can inhibit lipid oxidation and increase the stability of essential unsaturated fatty acids. Also, after study of the physicochemical and physical stability examination, it was found that the three-layer emulsion was more effective in maintaining these characteristics over time than the other two emulsions.

---

---

**Cite this article:** Sepidnameh, M., Fazlara, A., Pourmahdi, M., Hosseini, S.M.H. 2023. Investigating the properties of multilayer emulsion containing encapsulated of grape seed oil. *Food Processing and Preservation Journal*, 15(2), 83-102.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/FPPJ.2023.21400.1764

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

### بررسی ویژگی‌های امولسیون چند لایه حاوی روغن هسته انگور ریز پوشانی شده

مرضیه سپیدنامه<sup>۱</sup>، علی فضل‌آرا<sup>۲\*</sup>، مهدی پورمهدی بروجنی<sup>۲</sup>، سیدمحمدحاشم حسینی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران  
<sup>۲</sup>گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. رایانامه: a.fazlara@scu.ac.ir  
<sup>۳</sup>گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<b>نوع مقاله:</b> مقاله کامل علمی-پژوهشی	<b>سابقه و هدف:</b> روغن هسته انگور منبع فراوانی از اسیدهای چرب امگا ۹ و امگا ۶ است، اما یکی از معایب فرآوری غذای غنی شده با این اسیدهای چرب (اسیدهای چرب ضروری غالب در روغن هسته انگور) اکسیداسیون خود به خودی اسیدهای چرب زنجیره بلند است که منجر به مدت زمان نگهداری کمتر می‌شود و به دلیل ماهیت آبگریز و خصوصیات ناپایدار آن‌ها، به‌سختی در آب حل شده و به راحتی نیز اکسید می‌شوند، که منجر به تخریب و ایجاد عطر و طعم نامطلوب می‌گردد. بنابراین لازم است سیستم‌های رسانش موثر توسعه پیدا نماید که بتوان روغن هسته انگور را در مواد غذایی مایع به‌طور موثرتری بکار برد. اخیراً تهیه امولسیون‌ها با استفاده از روش لایه‌به‌لایه به دلیل داشتن مزیت‌های مختلف از جمله ریزپوشانی کامل لیپیدها، جلوگیری از ترکیبات اکسیدکننده و کنترل انتشار ترکیبات زیست فعال، مورد توجه زیادی قرار گرفته است.
<b>واژه‌های کلیدی:</b> روغن هسته انگور امولسیون چند لایه ژلاتین کیتوزان صمغ بذریحان	<b>مواد و روش‌ها:</b> برای تهیه امولسیون تک لایه، روغن هسته انگور به محلول ژلاتین ۱ درصد اضافه و با هموژنایزر هموژنیزه شد. برای امولسیون دولایه امولسیون اولیه با محلول کیتوزان ۲ درصد مخلوط و بعد از تنظیم pH با هموژنایزر هموژنیزه شد. برای تهیه امولسیون سه‌لایه، محلول صمغ بذر ریحان به امولسیون دولایه اضافه گردید و مجدداً هموژنیزه شد. سپس اندازه ذره، ویسکوزیته، پتانسیل زتا، کدورت و ضریب شکست، اندیس پراکسید و تیوباریتوریک اسید نمونه‌ها طی مدت نگهداری یک ماهه در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شدند.
	<b>یافته‌ها:</b> نتایج نشان داد که بیشترین پایداری هر سه امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه در pH=۵ بود و با افزایش تعداد لایه‌های امولسیون چندلایه روغن هسته انگور پایداری افزایش پیدا کرد. در واقع در این pH، ژلاتین، کیتوزان و صمغ دانه ریحان به ترتیب دارای بارهای منفی، مثبت و منفی بودند و برهمکنش‌های الکترواستاتیک قوی بین پلیمرهای زیستی رخ داد که پس از آن امولسیون‌های چندلایه پایدار شدند. پس از دوره نگهداری یک ماهه امولسیون‌ها، اندازه ذرات، ویسکوزیته، کدورت، ضریب شکست، اندیس پراکسید و تیوباریتوریک اسید افزایش یافت. همچنین در طول یک ماه دوره نگهداری با بررسی پارامترهای فیزیکوشیمیایی (اندازه ذره،

---

ویسکوزیته، کدورت و ضریب شکست) پایداری امولسیون‌ها در دمای یخچالی بیشتر از دمای محیطی بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد که کیتوزان و صمغ دانه ریحان می‌توانند برای تشکیل لایه‌های پوششی در اطراف قطرات چربی مانند امولسیون‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرند، که می‌تواند اکسیداسیون لیپید را مهار کنند و پایداری اسیدهای چرب غیراشباع ضروری را افزایش دهند. پس از بررسی آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری فیزیکی مشخص شد که امولسیون سه‌لایه نسبت به دو امولسیون دیگر در حفظ این ویژگی‌ها در طول زمان اثربخشی بیشتری داشت.

---

**استناد:** سپیدنامه، م.، فضل‌آرا، ع.، پورمهدی بروجنی، م.، حسینی، س.م.ه. (۱۴۰۲). بررسی ویژگی‌های امولسیون چند لایه حاوی روغن هسته انگور ریز پوشانی شده. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۵ (۲)، ۱۰۲-۸۳.

DOI: 10.22069/FPPJ.2023.21400.1764

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



© نویسندگان.

## مقدمه

یکی از چربی‌های گیاهی که سرشار از اسیدهای چرب ضروری می‌باشد، روغن هسته انگور است. این روغن دارای ۱۵-۱۴ درصد اولئیک اسید (۱:۱۸)، ۷۶-۶۸ درصد اسیدلینولئیک (۲:۱۸)، ۶/۰-۰ درصد آلفالینولئیک اسید (۳:۱۸) و حدود ۱-۱۸ درصد اسیدهای چرب اشباع پالمیتیک اسید (۰:۱۶) و استئاریک اسید (۰:۱۸) می‌باشد. در بین روغن‌های گیاهی، روغن هسته انگور دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد. مشخصات اسیدهای چرب غیراشباع روغن هسته انگور بسیار مهم است، زیرا دارای اسیدهای چرب ضروری برای سلامت انسان است. بنابراین، استفاده از این روغن در رژیم غذایی روزانه یا مصرف مکمل‌های آن برای جلوگیری از ابتلا به بیماری‌های عروقی توصیه می‌شود (۱). روغن هسته انگور یکی از غنی‌ترین منابع ویتامین E خصوصاً در میان روغن‌های خوراکی می‌باشد، میزان ویتامین E روغن هسته انگور ۱۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بوده و نقش بسیار مهمی در جلوگیری از بیماری‌های قلبی دارد، همچنین به طور طبیعی فاقد کلسترول است (۲). روغن هسته انگور در مقایسه با سایر روغن‌ها ویسکوزیته کمتری دارد، مزه چربی آن کمتر احساس می‌شود و علاوه بر اینکه بر طعم اصلی غذا تاثیر نمی‌گذارد، بلکه اندکی طعم کره مانند نیز به آن می‌افزاید، از این رو برای تهیه سالاد و انواع نان مناسب می‌باشد (۳). همچنین این روغن دارای نقطه دود بالایی است که بسیار حائز اهمیت است. به عبارتی این روغن برای سرخ کردن در درجه حرارت‌های بالا بدون سوختن و ایجاد دود استفاده می‌شود (۴). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی روغن هسته انگور که توانایی روغن را در محافظت از DNA، لیپیدهای غشاء و پروتئین‌ها در برابر فعالیت‌های رادیکال آزاد

نشان می‌دهد، برای نمونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. بیل و همکاران (۲۰۰۸) مقدار Trolox که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل (ترولوکس یک آنالوگ ویتامین E است که به عنوان استاندارد استفاده می‌شود) را نشان می‌دهد، برای ۹ روغن مختلف هسته انگور بین ۰/۱۴ تا ۱/۱۶ میلی‌گرم در گرم بدست آوردند (۳). نتایج نشان می‌دهد که سطح آنتی‌اکسیدانی این روغن بسیار بالا است، بنابراین می‌توان آن را به عنوان یک ماده فعال در محصولات غذایی، آرایشی و بهداشتی و غذاها در نظر گرفت (۵). میزان مصرف اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ که روغن هسته انگور منبع فراوانی از آنهاست، در رژیم غذایی کمتر از مقادیر توصیه شده می‌باشد. بنابراین می‌تواند جایگزین مناسبی برای دریافت نیاز روزانه مصرف‌کنندگان باشد، اما به دلیل اکسیداسیون خودبه‌خودی اسیدهای چرب زنجیره بلند، تولید غذای غنی شده با این روغن منجر به رنسدیتی و نهایتاً مدت زمان نگهداری کمتر می‌شود و به دلیل مواد آب‌گریز و خصوصیات ناپایدار آنها، به سختی در آب حل شده و به راحتی نیز اکسید می‌شوند، که منجر به تخریب و بروز عطر و طعم نامطلوب می‌گردد (۶). بنابراین لازم است سیستم‌های رسانش موثر توسعه پیدا نماید که بتوان روغن هسته انگور را در مواد غذایی مایع به طور موثرتری در غذاهای تجاری توزیع کرد و از آنها در برابر استرس اکسیداسیون محافظت کرد.

مطالعات اخیر فناوری‌های مختلف کپسول‌سازی (به عنوان مثال، امولسیون، نانوامولسیون و لیپوزوم‌ها) را ارائه کرده‌اند که حلالیت آب در روغن و ترکیبات فعال زیستی لیپوفیلی را بهبود می‌بخشد. یکی از این روش‌ها تشکیل امولسیون‌های لایه‌به‌لایه<sup>۲</sup> است. در این

<sup>2</sup> Layer-by-layer

<sup>1</sup> Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

نسبت‌های مختلف بیوپلیمرهای کازئین و پروتئین آب پنیر پایدار گردید و مشاهده شد که با افزایش نسبت پروتئین‌های آب پنیر، پایداری امولسیون بیشتر حاصل شد (۱۰). در تحقیقی دیگر بوگر و همکاران (۲۰۱۸) بر روی ریزپوشانی<sup>۳</sup> کردن روغن هسته انگور با استفاده از صمغ عربی و مالتودکسترین با نسبت مساوی از طریق خشکن پاششی کار کردند (۱۱). با توجه به منابع در دسترس و اطلاعات اندکی که در خصوص امولسیون چندلایه روغن هسته انگور وجود دارد، در نتیجه، هدف کلی این مطالعه، تولید و پایدارسازی امولسیون چندلایه روغن هسته انگور و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی (اندازه ذرات، پتانسیل زتا، ویسکوزیته، کدورت، ضریب شکست و پایداری فیزیکی) و پایداری اکسیداتیو آن (اندیس پراکسید و اندیس تیوباریتوریک اسید) تحت تاثیر تعداد لایه‌های این امولسیون می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

روغن هسته انگور (با نام تجاری پیتروکریچلی محصول کشور ایتالیا)، ژلاتین (نوع B بورسا محصول کشور ترکیه)، کیتوزان (وزن مولکولی متوسط با درجه داستیل‌اسیون ۸۵ درصد از کشور آلمان)، بذر ریحان (کشت شده در استان خوزستان) و آب مقطر دو بار تقطیر شده. همچنین برای استخراج صمغ از دانه‌های ریحان از روش رضوی و ناجی طباسی (۲۰۱۷) با اندکی تغییرات استفاده شد (۱۲).

**تهیه امولسیون چندلایه روغن هسته انگور:** امولسیون چندلایه روغن هسته انگور مطابق با روش دینگ و همکاران (۲۰۲۱) با اندکی تغییرات تهیه شد. در ابتدا محلول امولسیفایری ژلاتین (w/v) ۱٪ در آب دیونیزه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت تا گرانول‌های ژلاتین متورم شدند. سپس در دمای آب

روش، امولسیون اولیه با یک امولسیفایر باردار (پروتئین) از طریق هموژنیزاسیون تولید می‌شود و پس از آن توسط پلی‌ساکارید باردار مخالف احاطه می‌شود و یک امولسیون دولایه ایجاد می‌گردد. در واقع تشکیل این دولایه باردار شده از پروتئین و پلی‌ساکارید، یک غشای سطحی ضخیم‌تر بین روغن و آب را تشکیل داده، در نتیجه دافعه الکترواستاتیک بین قطرات را افزایش می‌دهد و امولسیون‌ها را در برابر انعقاد پایدار می‌کند (۷). در حقیقت برهمکنش‌های غیرکوالانسی (به ویژه الکترواستاتیک) بین بیوپلیمرهای با بار مخالف باعث رسوب الکترواستاتیکی از یک بیوپلیمر روی بیوپلیمر دیگر (امولسیفایر) شده و در نتیجه باعث تشکیل امولسیون‌های چندلایه توسط چندین لایه از امولسیون کننده‌ها مانند پلی‌الکترولیت‌ها تثبیت می‌شوند و با استفاده از روش رسوب الکترواستاتیک لایه‌به‌لایه تهیه می‌شوند (۸). این امولسیون‌ها در مقایسه با امولسیون تک لایه، پایداری بالاتری در برابر استرس‌های محیطی (مانند فرایند حرارتی، چرخه انجماد ذوب شدن، اکسیداسیون لیپید و نیروهای با قدرت یونی بالا) دارند. به طور کلی پوشش قطرات روغن با استفاده از روش لایه‌به‌لایه باعث افزایش مقاومت امولسیون‌ها در برابر شرایط فرایند و نگهداری (مانند تغییرات pH، افزودن نمک، حرارت دادن، انجماد و انجماد زدایی) و قابلیت هضم بالاتر در دستگاه گوارش می‌شود (۹). با توجه به منابع در دسترس، اطلاعات کمی در رابطه با توسعه و ارزیابی امولسیون چندلایه روغن هسته انگور مورد استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی موجود است و تنها در مواردی تحقیقاتی بر روی درون‌پوشانی روغن هسته انگور صورت گرفت که در مطالعه‌ی سیلوا و همکاران (۲۰۲۰)، امولسیون روغن هسته انگور با استفاده از امواج اولتراسوند و از طریق برهمکنش

<sup>1</sup> Encapsulation

اندازه‌گیری ذرات: اندازه‌گیری ذرات امولسیون‌ها پس از رقیق‌سازی توسط دستگاه اندازه‌گیری دانه بندی لیزری<sup>۶</sup> ساخت کشور آلمان انجام گرفت.

اندازه‌گیری پتانسیل زتا: بار سطحی امولسیون‌ها توسط دستگاه زتا سایزر<sup>۷</sup> انجام گردید. تمامی آزمایش‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۱۴).

اندازه‌گیری ویسکوزیته: ویسکوزیته امولسیون‌های چندلایه تولیدی، توسط دستگاه ویسکومتر دیجیتال<sup>۸</sup> در گشتاور ۱۲ rpm، اسپیندل ۱ و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (۱۵).

اندازه‌گیری کدورت: برای اندازه‌گیری کدورت نمونه‌های امولسیون چندلایه تولید شده به نسبت (۱:۱۰۰) با آب مقطر در pH=۵ رقیق شدند و توسط اسپکتروفتومتر<sup>۹</sup> در طول موج ۶۰۰nm میزان جذب نور آنها خوانده شد (۱۶).

اندازه‌گیری ضریب شکست: ضریب شکست نمونه‌های تهیه شده با هدف بررسی تاثیر شکل‌گیری امولسیون بر ضریب شکست توسط رفراکتومتر<sup>۱۰</sup> در دمای محیط اندازه‌گیری شد (۱۷).

اندازه‌گیری پایداری فیزیکی: جهت بررسی پایداری فیزیکی امولسیون چندلایه تولید شده، شاخص خامه‌ای شدن<sup>۱۱</sup> اندازه‌گیری شد. شاخص خامه‌ای شدن (CI) میزان سرم و خامه جدا شده از امولسیون و به عبارتی میزان انعقاد و تجمع ذرات در امولسیون‌ها بر اثر ناپایداری بعد از ۷ روز نگهداری در دمای محیط را مشخص می‌کند که از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (۱۸).

$$CI \% = 100 \times (HS/HT) \quad \text{رابطه ۱}$$

HS: ارتفاع فاز جداسازی شده

۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی<sup>۴</sup> با سرعت (rpm) ۱۰۰ حل گردید. محلول آبی کیتوزان (w/v) ۲٪ در محلول (v/v) ۱٪ اسید استیک تهیه و سپس با همزن مغناطیسی با سرعت (rpm) ۳۰۰ به مدت ۱ ساعت همزده شد. محلول آبی صمغ بذر ریحان (w/v) ۰/۶٪ در آب دیونیزه به مدت ۱ ساعت با همزن مغناطیسی با سرعت (rpm) ۱۰۰ حل شد. برای تهیه امولسیون تک‌لایه، نسبت (۱:۱) محلول ژلاتین به روغن هسته انگور اضافه شد و با هموژنایزر<sup>۵</sup> مدل SR30 به مدت ۲ دقیقه با سرعت (rpm) ۱۱۵۰۰ هموژنیزه شد. برای امولسیون دولایه، امولسیون تک‌لایه با نسبت ۵ به ۱ با محلول کیتوزان ۲٪ مخلوط گردید و بعد از تنظیم در pH=۵ با هموژنایزر به مدت ۶۰ ثانیه با سرعت (rpm) ۸۰۰۰ هموژنیزه شد. در نهایت برای تهیه امولسیون سه‌لایه، محلول صمغ بذر ریحان ۰/۶٪ به امولسیون دولایه با نسبت (۱:۴) اضافه گردید و بعد از تنظیم در pH=۵ مجدد با هموژنایزر به مدت ۶۰ ثانیه با سرعت (rpm) ۸۰۰۰ هموژنیزه شد (۱۳).

پایدارسازی امولسیون چندلایه روغن هسته انگور: به منظور پایدار کردن امولسیون چندلایه، هر سه امولسیون تک لایه (ژلاتین)، دولایه (ژلاتین-کیتوزان) و سه‌لایه (ژلاتین-کیتوزان-صمغ بذر ریحان) در pHهای مختلف (۸-۴) تهیه شدند و با توجه به نوع بار امولسیون‌ها در این pHهای مورد بررسی و نیروهای الکترواستاتیکی ایجاد شده بین بیوپلیمرها در امولسیون‌ها، پایداری آنها پس از ۴۸ ساعت بررسی شد. در نهایت پایداری هر سه امولسیون بعد از یک ماه دوره نگهداری مورد مطالعه قرار گرفت.

<sup>9</sup> Spectrophotometer UV-Vis ( SPECORD, Analytik Jena, Germany)

<sup>10</sup> Refractometer Abbe (Xylem, Taiwan)

<sup>11</sup> Creaming Index (CI)

<sup>1</sup> Hot Plate, PIT300 (Pole ideal pars Co, Iran)

<sup>2</sup> Homogenizer, SR30(mtop-korea, Seoul, Korea)

<sup>6</sup> Particle Size Analyzer (PSA) (NanoTec22; Germany)

<sup>7</sup> Zeta sizer, Series ZS (SZ-100, Malvern, England)

<sup>8</sup> Viscometer NDJ-8S (Shanghai Modern, China)

HT: ارتفاع کل امولسیون

بررسی تاثیر دمای دوره نگهداری بر پایداری امولسیون‌های چندلایه: نمونه‌ها از نظر پایداری در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد از لحاظ بصری، کدورت، اندیس ضریب شکست، ویسکوزیته و اندازه ذره طی دوره یک ماهه، هر ۷ روز یکبار به مدت ۴ هفته با یکدیگر مقایسه شدند. همچنین میزان دو فاز شدن از طریق سانترفیوژ نمونه‌ها در دو دما طی یک هفته نگهداری بررسی شد (۱۹).

**اندازه‌گیری پایداری اکسیداتیو:** به‌منظور تعیین فساد اولیه امولسیون‌های چندلایه روغن هسته انگور، اندیس پراکسید آنها طبق روش شی (۲۰۱۹) ارزیابی شد. بدین منظور، یک میلی‌لیتر امولسیون به ۵ میلی‌لیتر حلال ایزواکتان-۲ پروپانول با نسبت ایزواکتان (۳) به ۲-پروپانول (۱) (حجمی/حجمی) اضافه و پس از هم‌زدن به مدت ۳ دقیقه با دور ۵۰۰۰ rpm سانترفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از مایع بالایی سانترفیوژ شده با ۲۰ میکرولیتر آمونیوم تیوسیانات (۳/۹۴ M) و ۲۰ میکرولیتر محلول فروس ترکیب شد. سپس ۵ میلی‌لیتر حلال متانول-۱ بوتانول با نسبت متانول (۲) به ۱ بوتانول (۱) اضافه گردید و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب آن در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. محلول فروس شامل یک میلی‌لیتر  $0.132M$  باریم کلرید به‌همراه  $0.144M$   $FesO_4$  می‌باشد. غلظت هیدروپراکسید با استفاده از منحنی استاندارد کومن هیدروپراکسید اندازه‌گیری شد (۲۰). به‌منظور فساد ثانویه امولسیون‌های چندلایه روغن هسته انگور، اندیس تیوباریوتیک اسید آنها طبق روش سپیدنامه و همکاران (۲۰۱۸) بررسی شد. ۷۵ گرم تری‌کلرواستیک اسید با ۱/۸۶ گرم تیوباریوتیک اسید با ۸/۸ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۱۲ مولار و ۴۱۴ گرم آب مقطر مخلوط گردید، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محلول با ۳ میلی‌لیتر بوتیل هیدروکسی تولوئن در

اتانول ۲٪ مخلوط شد و ۲ میلی‌لیتر از این محلول با ۲ میلی‌لیتر امولسیون ترکیب شد و در حمام آب جوش برای زمان ۱۵ دقیقه قرار گرفت و سپس برای ۱۰ دقیقه سرد گردید. بعد از آن توسط سانترفیوژ با سرعت  $1000g$  در زمان ۱۰ دقیقه مایع رویی جدا گردید و جذب آن در طول موج  $532\text{ nm}$  گزارش گردید. میزان غلظت تیوباریوتیک اسید توسط  $3,3,1,1$  ترا اتوکسی پروپان (مالون‌دی‌آلدهید) در دو تکرار تعیین گردید (۲۱).

### تجزیه و تحلیل آماری

بررسی توصیفی و تحلیلی داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گردید. برای تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری و آزمون تکمیلی LSD استفاده شد.  $\alpha = 0.05$  مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید. تمام آزمایشات در ۳ تکرار و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند. ترسیم نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ انجام گرفت.

### نتایج و بحث

**نتایج مربوط به پایداری امولسیون‌ها در طول مدت نگهداری:** خصوصیات رئولوژیکی پروتئین و پلی‌ساکاریدها در شرایط جمعی وابسته به رفتارهای رئولوژیکی منحصر به فرد در هر کدام از بیوپلیمرهاست. هنگامی که واکنش بین پروتئین و پلی‌ساکارید از نوع الکترواستاتیک باشد، نسبت پلی‌ساکارید به پروتئین، pH و قدرت یونی از عوامل مهم رفتارهای رئولوژیکی کمپلکس‌ها و کوآسرواها هستند (۲۲). اثرات مختلف pH (۴ تا ۸) بر روی پایداری امولسیون‌های تک‌لایه (ژلاتین)، دولایه (ژلاتین-کتوزان) و سه‌لایه (ژلاتین-کتوزان-صمغ بذریحان) بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین پایداری برای هر سه امولسیون در  $pH=5$  بود که علت



دولایه و سه لایه بعد از یک ماه دوره نگهداری است. در امولسیون تک‌لایه خامه‌ای شدن کمی پس از ۳۰ روز دوره نگهداری مشاهده شد. نتایج مشابهی در خصوص پایداری امولسیون چندلایه از طریق برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین بیوپلیمرهای دارای بار مخالف گزارش شد (۲۳ و ۲۴).

این پایداری را می‌توان به نوع بار ژلاتین، کیتوان و صمغ دانه ریحان در این pH نسبت داد که نیروهای الکترواستاتیکی خوبی بین بیوپلیمرها ایجاد کردند و باعث پایداری امولسیون‌ها شدند. شکل ۱، پایداری ظاهری امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه تهیه شده در pH=۵ بعد از یک ماه دوره نگهداری را نشان می‌دهد، که دلالت بر پایداری فیزیکی امولسیون‌های



شکل ۱- پایداری ظاهری امولسیون‌های تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه در روز آغازین و پایانی در طی دوره نگهداری

Figure 1. Changes in stability of multilayer emulsions after 30 days of storage time

تعداد لایه‌ها و اضافه کردن بیوپلیمرها به ماتریکس امولسیون، اندازه ذره قطرات امولسیون بر اثر برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین بیوپلیمرها افزایش یافت که با نتایج حاصل در این پژوهش مطابقت داشت (۲۵). در هر دو دما روند تغییرات اندازه ذره طی مدت نگهداری در هر سه امولسیون تفاوت معنی‌داری داشت ( $p < 0/001$ ). اندازه ذرات هر سه امولسیون در هر دو دما طی مدت نگهداری روند افزایشی داشت که این افزایش در دمای محیطی بیشتر از دمای یخچالی بود. دلیل این افزایش احتمالاً ناشی از جدا شدن پلی‌ساکارید از فاز پیوسته و قرارگرفتن در فاز بالک باشد که باعث افزایش ویسکوزیته و به‌دنبال آن افزایش اندازه ذره شد (۲۶).

پتانسیل زتا یک عامل مهم برای تعیین بار سطحی ذرات پراکنده شده در یک امولسیون می‌باشد و مقدار

اندازه ذرات و پتانسیل زتا: میانگین اندازه ذرات امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه در طی یک ماه مدت نگهداری در دو دمای محیط ( $25^{\circ}\text{C}$ ) و یخچالی ( $4^{\circ}\text{C}$ ) بررسی شد. براساس نتایج بدست آمده زمان، نوع امولسیون، دما و اثر متقابل امولسیون و دما بر روی اندازه ذرات تاثیر دارد ( $p < 0/001$ ). مطابق جدول ۱ و ۲، میانگین اندازه ذرات در امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه در دمای محیطی به ترتیب ۹/۲، ۹/۳۶ و ۱۱/۷۴ میکرومتر بود که نشان دهنده افزایش اندازه ذره با افزایش تعداد لایه‌ها بود و این افزایش ناشی از افزودن بیوپلیمرها به امولسیون‌ها و ایجاد برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین آنها می‌باشد. در مطالعه اکسیو و همکاران (۲۰۱۶)، در بررسی امولسیون‌های لوتین پایداری شده با پروتئین ایزوله آب پنیر، صمغ بذر کتان و کیتوزان نشان داد که با افزایش

آن مربوط به ساختار دولایه الکتریکی تشکیل شده اطراف قطرات است. افزایش ضخامت دولایه الکتریکی باعث افزایش مقدار پتانسیل زتا، بار دافعه و پایداری مکانیکی امولسیون می‌شود (۲۷). در این پژوهش مقدار این پارامتر برای امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب  $13/06\text{ mv}$ ،  $25/6\text{ mv}$  و  $30/8\text{ mv}$  گزارش شد که می‌توان نتیجه گرفت که بالاتر بودن بار سطحی امولسیون سه‌لایه نسبت به امولسیون دولایه و تک‌لایه دلیلی بر پایداری بیشتر امولسیون سه‌لایه است. در حقیقت با توجه به ژلاتین نوع B استفاده شده در این پژوهش که دارای نقطه ایزوالکتریک  $4/3$  بود و در  $\text{pH}=5$  که بالای نقطه ایزوالکتریک ژلاتین است، امولسیون تک‌لایه دارای بار سطحی منفی می‌باشد. در امولسیون دولایه با افزودن کیتوزان و ایجاد برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین کیتوزان دارای بار مثبت و ژلاتین دارای بار منفی و قرار گرفتن کیتوزان بر روی ژلاتین در روی سطح امولسیون دولایه، پتانسیل زتا امولسیون دارای بار مثبت شد. همچنین با افزودن صمغ بذر ریحان دارای بار منفی به امولسیون دولایه، امولسیون سه‌لایه با بار سطحی منفی گردید. مطالعات متعددی در زمینه ایجاد امولسیون چندلایه از طریق برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین بیوپلیمرهای با بار مخالف شد. یکی از این مطالعات لیو و همکاران (۲۰۱۹) بود که آستازانتین را با روش امولسیون لایه‌به‌لایه درون پوشانی کردند، به طوری که لایه‌ها به ترتیب ساپونین (بارمنفی)، کیتوزان (بار مثبت) و پکتین (بارمنفی) بود (۲۸).

**ویسکوزیته:** ویسکوزیته تابع دو عامل اندازه ذرات و غلظت ذرات می‌باشد و برآیند این دو عامل کاهش و افزایش ویسکوزیته نهایی را تعیین می‌کند. ویسکوزیته امولسیون در صورتی که قطرات منعقد شوند یا یک عامل ضخیم‌کننده به فاز آبی اضافه شود، به صورت محسوس افزایش می‌یابد (۲۹). میانگین ویسکوزیته

امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه در طی یک ماه مدت نگهداری در دو دمای محیط ( $25^{\circ}\text{C}$ ) و یخچالی ( $4^{\circ}\text{C}$ ) بررسی شد. براساس نتایج بدست آمده مطابق جدول ۱ و ۲، دوره نگهداری، دما، اثر متقابل دوره نگهداری و دما بر روی ویسکوزیته تاثیر دارد ( $p < 0/001$ ). به طور کلی میانگین ویسکوزیته در دمای یخچال در طول یک ماه دوره نگهداری مربوط به امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب  $489/87$ ،  $528/82$  و  $506/99$  میلی‌پاسکال در ثانیه و میانگین ویسکوزیته در دمای محیط در طول یک ماه دوره نگهداری مربوط به امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب  $448/09$ ،  $531/22$  و  $481/57$  میلی‌پاسکال در ثانیه بود. همچنین بدون توجه به دما میانگین ویسکوزیته در امولسیون تک‌لایه  $468/98$  میلی‌پاسکال در ثانیه، در امولسیون دولایه  $530/02$  میلی‌پاسکال در ثانیه و در امولسیون سه‌لایه  $494/28$  میلی‌پاسکال در ثانیه بود که اختلاف معنی‌داری داشتند ( $p < 0/001$ ). نتایج نشان دهنده‌ی افزایش ویسکوزیته در طی دوره نگهداری در هر سه امولسیون بود که این افزایش در دمای یخچالی بیشتر از دمای محیطی بود. در حقیقت می‌توان گفت با افزایش مدت زمان نگهداری امولسیون‌ها، دافعه الکترواستاتیکی بین بیوپلیمرهای دارای بار مخالف در ناحیه سطحی امولسیون‌ها کمتر شده و باعث نزدیک شدن قطرات امولسیون‌ها به یکدیگر گردید که به دنبال آن اندازه ذرات بزرگتر و توده‌ای شدن ذرات بیشتر رخ داد و در نتیجه ویسکوزیته افزایش یافت (۳۰). همچنین لازم به ذکر است ویسکوزیته امولسیون دولایه از دو امولسیون دیگر و امولسیون سه‌لایه از امولسیون تک‌لایه بیشتر بود که ناشی از ایجاد ویسکوزیته بالای کیتوزان نسبت به ژلاتین و صمغ بذر ریحان است. نتیجه‌ی مشابهی در خصوص توانایی بالای کیتوزان در افزایش ویسکوزیته توسط الکس آندرا و همکاران (۲۰۱۶)

بررسی ویژگی‌های امولسیون چند لایه حاوی روغن... / مرضیه سپیدنامه و همکاران

گزارش شد (۳۱). همچنین همان‌طور که در پژوهش انجام شده توسط سلیمی و همکاران (۲۰۱۸) مشخص شد، افزایش مقدار مواد جامد موجب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته می‌شود که خود رابطه مستقیمی

با ویسکوزیته کلی امولسیون دارد، در نتیجه با افزایش مواد جامد در محیط، ویسکوزیته کل محیط امولسیون افزایش می‌یابد (۳۲).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی امولسیون‌های چندلایه روغن هسته انگور در طی دوره نگهداری در دمای ۲۵°C

Table 1. Physicochemical properties of multilayer emulsions grape seed oil during storage at 25°C

Storage time(day) دوره نگهداری(روز)	Emulsions امولسیون ها	Particle size(μm) اندازه ذره(میکرومتر)	Viscosity(mpa.s) ویسکوزیته (میلی پاسکال در ثانیه)	Turbidity کدورت	Refractive Index ضریب شکست
0	Primary Emulsion(25°C) امولسیون تک‌لایه	2.04±0.011 <sup>Ec</sup>	332.13±0.581 <sup>Dc</sup>	0.955±0.001 <sup>Ea</sup>	1.643±0.000 <sup>Dc</sup>
	Secndray Emulsion(25°C) امولسیون دولایه	2.29±0.011 <sup>Eb</sup>	525.63±0.218 <sup>Da</sup>	0.905±0.001 <sup>Eb</sup>	1.645±0.001 <sup>Cb</sup>
	Tertiary Emulsion(25°C) امولسیون سه‌لایه	8.89±0.011 <sup>Ea</sup>	426.46±0.32 <sup>Db</sup>	0.678±0.001 <sup>Ec</sup>	1.647±0.000 <sup>Da</sup>
7	Primary Emulsion(25°C) امولسیون تک‌لایه	5.72±0.011 <sup>Dc</sup>	431.66±0.881 <sup>Cc</sup>	0.993±0.000 <sup>Da</sup>	1.648±0.000 <sup>Cc</sup>
	Secndray Emulsion(25°C) امولسیون دولایه	9.52±0.011 <sup>Db</sup>	526.4±0.240 <sup>Ca</sup>	0.982±0.000 <sup>Db</sup>	1.650±0.000 <sup>Bb</sup>
	Tertiary Emulsion(25°C) امولسیون سه‌لایه	9.64±0.011 <sup>Da</sup>	472.66±7.2 <sup>Cb</sup>	0.685±0.000 <sup>Dc</sup>	1.652±0.000 <sup>Ca</sup>
14	Primary emulsion(25°C) امولسیون تک‌لایه	9.47±0.011 <sup>Cc</sup>	457.76±0.392 <sup>Cb</sup>	1.21±0.001 <sup>Ca</sup>	1.651±0.001 <sup>Bb</sup>
	Secndray Emulsion(25°C) امولسیون دولایه	10.87±0.011 <sup>Cb</sup>	526.73±0.26 <sup>Ba</sup>	0.987±0.000 <sup>Cb</sup>	1.651±0.000 <sup>Bb</sup>
	Tertiary Emulsion(25°C) امولسیون سه‌لایه	11.57±0.011 <sup>Ca</sup>	491.1±0.49 <sup>Cb</sup>	0.693±0.001 <sup>Cc</sup>	1.653±0.000 <sup>Ca</sup>
21	Primary emulsion(25°C) امولسیون تک‌لایه	9.56±0.000 <sup>Bc</sup>	492.56±1.27 <sup>Bb</sup>	1.51±0.001 <sup>Ba</sup>	1.655±0.001 <sup>Aa</sup>
	Secndray Emulsion(25°C) امولسیون دولایه	12.29±0.006 <sup>Bb</sup>	534.96±1.76 <sup>Ba</sup>	0.992±0.001 <sup>Bb</sup>	1.656±0.000 <sup>Aa</sup>
	Tertiary Emulsion(25°C) امولسیون سه‌لایه	15.98±0.11 <sup>Ba</sup>	506.36±1.41 <sup>Bb</sup>	0.817±0.001 <sup>Bc</sup>	1.657±0.000 <sup>Ba</sup>
28	Primary Emulsion(25°C) امولسیون تک‌لایه	12.06±0.011 <sup>Ac</sup>	526.33±0.88 <sup>Ab</sup>	1.59±0.001 <sup>Aa</sup>	1.658±0.000 <sup>Aa</sup>
	Secndray Emulsion(25°C) امولسیون دولایه	13.17±0.11 <sup>Ab</sup>	542.3±0.85 <sup>Aa</sup>	1.442±0.000 <sup>Ab</sup>	1.658±0.001 <sup>Aa</sup>
	Tertiary Emulsion(25°C) امولسیون سه‌لایه	20.09±0.103 <sup>Aa</sup>	511.26±0.89 <sup>Ac</sup>	0.996±0.001 <sup>Ac</sup>	1.662±0.001 <sup>Aa</sup>

حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت در طول دوره نگهداری و حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت در بین امولسیون‌هاست.

Different large letters indicate the difference in the storage time and Different small letters indicate the difference in the emulsions (P<0.001)

کدورت: میانگین کدورت امولسیون تک لایه، دولایه و سه لایه در طی یک ماه مدت نگهداری در دو دمای محیط (۲۵°C) و یخچالی (۴°C) بررسی شد (جدول‌های ۱ و ۲). براساس نتایج بدست آمده زمان، دما، اثر متقابل

امولسیون دولایه به واسطه کیتوزان نسبت به دو امولسیون دیگر و اندازه ذره بیشتر امولسیون دولایه نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده توسط محققین پیشین مطابقت دارد (۲۸ و ۳۵).

**ضریب شکست:** ضریب شکست نسبت سرعت نور در خلاء به سرعت نور در محیط است. در مواد روغنی، این مقدار تحت تأثیر ترکیب قرار می‌گیرد، به طوری که هر چه زنجیره‌های اسیدچرب طولانی‌تر و غیراشباعیت بیشتر باشد، چگالی روغن بیشتر می‌شود و در نتیجه، دشواری حرکت نور بیشتر می‌شود (۳۶). با توجه به جدول ۱ و ۲، در بررسی ضریب شکست امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه در طول دوره نگهداری یک ماه در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که مقایسه ضریب شکست بین دو دمای یخچال و محیط به تفکیک نوع امولسیون و دوره نگهداری تفاوتی بین این دو دما وجود نداشت. به طور کلی میانگین ضریب شکست در دمای یخچال مربوط به امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب ۱/۶۵۲، ۱/۶۵۳ و ۱/۶۵۵ بود که امولسیون سه‌لایه با امولسیون دولایه و تک‌لایه اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). همچنین میانگین ضریب شکست در دمای محیطی مربوط به امولسیون امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب ۱/۶۵۱، ۱/۶۵۲ و ۱/۶۵۴ بود که امولسیون سه‌لایه با امولسیون دولایه و تک‌لایه اختلاف معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۰۱). نتایج حاصل از بررسی هر سه امولسیون با یکدیگر بدین صورت بود که با افزایش تعداد لایه‌ها ضریب شکست بیشتر شد که دلیل آن ناشی از این است که با افزایش غلظت بیوپلیمرها، تعداد ذرات در محیط افزایش می‌یابد و هنگامی که نور وارد محیط می‌شود، در برخورد با هر ذره شکسته می‌شود و در نتیجه شکست نور بیشتر می‌شود (۳۷).

دما و امولسیون و اثر متقابل زمان و امولسیون بر روی کدورت تأثیر معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱). به طور کلی میانگین کدورت در دمای یخچال مربوط به امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب ۱/۳۸، ۱/۳۸ و ۱/۰۵ و میانگین کدورت در دمای محیط مربوط به امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب ۱/۲۵، ۱/۰۶ و ۰/۷۷ بود که تفاوت معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۰۱). در حالی که تنها در دمای یخچال بین میانگین امولسیون تک‌لایه و دولایه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کدورت امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه با یکدیگر اختلاف تفاوت معنی‌داری داشتند (p<۰/۰۰۱) که بیشترین کدورت در روز اول مربوط به امولسیون تک‌لایه و کمترین کدورت مربوط به امولسیون سه‌لایه بود، در صورتی که در طی دوره نگهداری امولسیون تک‌لایه نسبت به دو امولسیون دیگر افزایش کدورت بیشتری داشت. که می‌توان گفت هر چه مقدار پروتئین در سیستم امولسیونی بیشتر می‌شود، کدورت هم بیشتر می‌شود. زمانی که نسبت پلی‌ساکارید ب پروتئین افزایش یابد، پلی‌ساکارید با میزانی که پروتئین وجود دارد برهمکنش انجام داده و پلی‌ساکاریدهای اضافی موجود از طریق گروه‌های عاملی آزاد خودشان باعث باردار شدن کمپلکس می‌شوند و از طریق ایجاد دافعه الکترواستاتیک قوی از انبوهش جلوگیری می‌کند و باعث کاهش کدورت و شفافیت امولسیون می‌شوند (۳۳). همچنین می‌توان افزایش قابل توجه کدورت امولسیون‌ها به ویژه امولسیون تک‌لایه در طول دوره نگهداری در نتیجه افزایش تعداد و اندازه ذرات اشاره کرد که هر چه اندازه ذرات بیشتر شود، پراکندگی نور توسط قطرات بیشتر می‌شود. پخش نور توسط قطرات امولسیون، بیانگر میزان کدورت امولسیون است (۳۴). همچنین بیشترین میزان کدورت با گذشت زمان در طی دوره نگهداری در دمای یخچالی مربوط به امولسیون دولایه شد که علت این را می‌توان ویسکوزیته بالای

جدول ۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی امولسیون‌های چندلایه روغن هسته انگور در طی دوره نگهداری در دمای ۴ °C

Table 2. Physicochemical properties of multilayer emulsions grape seed oil during storage at 4°C

Storage time(day) دوره نگهداری(روز)	Emulsions امولسیون‌ها	Particle size(μm) اندازه ذره(میکرومتر)	Viscosity(mpa.s) ویسکوزیته (میلی پاسکال در ثانیه)	Turbidity کدورت	Refractive Index ضریب شکست
0	Primary Emulsion(4°C) امولسیون تک‌لایه	2.04±0.011 <sup>Ec</sup>	332.13±0.581 <sup>Dc</sup>	0.955±0.001 <sup>Ea</sup>	1.643±0.000 <sup>Cc</sup>
	Secondray Emulsion(4°C) امولسیون دو لایه	2.29±0.011 <sup>Eb</sup>	525.63±0.218 <sup>Da</sup>	0.905±0.001 <sup>Eb</sup>	1.645±0.001 <sup>Bb</sup>
	Tertiary Emulsion(4°C) امولسیون سه‌لایه	8.89±0.011 <sup>Ea</sup>	426.46±0.32 <sup>Db</sup>	0.678±0.001 <sup>Ec</sup>	1.647±0.000 <sup>Ca</sup>
7	Primary Emulsion(4°C) امولسیون تک‌لایه	9.22±0.011 <sup>Da</sup>	523.4±0.305 <sup>Cc</sup>	0.998±0.000 <sup>Da</sup>	1.647±0.000 <sup>Bb</sup>
	Secondray Emulsion(4°C) امولسیون دو لایه	8.61±0.011 <sup>Db</sup>	526.06±0.66 <sup>Ca</sup>	0.968±0.000 <sup>Db</sup>	1.646±0.000 <sup>Bb</sup>
	Tertiary Emulsion(4°C) امولسیون سه‌لایه	8.58±0.000 <sup>Dc</sup>	525.3±0.15 <sup>Cb</sup>	0.869±0.001 <sup>Dc</sup>	1.651±0.000 <sup>Ba</sup>
14	Primary Emulsion(4°C) امولسیون تک‌لایه	11.56±0.011 <sup>Ca</sup>	524.6±0.717 <sup>Cb</sup>	1.381±0.002 <sup>Cb</sup>	1.653±0.001 <sup>Ac</sup>
	Secondray Emulsion(4°C) امولسیون دو لایه	10.70±0.011 <sup>Cb</sup>	528.53±0.29 <sup>Ba</sup>	1.42±0.000 <sup>Aca</sup>	1.656±0.001 <sup>Ab</sup>
	Tertiary Emulsion(4°C) امولسیون سه‌لایه	9.47±0.013 <sup>Cc</sup>	525.86±0.08 <sup>Cb</sup>	1.116±0.003 <sup>Cc</sup>	1.658±0.000 <sup>Aa</sup>
21	Primary Emulsion(4°C) امولسیون تک‌لایه	12±0.017 <sup>Ba</sup>	527.9±0.54 <sup>Bb</sup>	1.739±0.000 <sup>Bb</sup>	1.657±0.003 <sup>Aa</sup>
	Secondray Emulsion(4°C) امولسیون دو لایه	11.66±0.011 <sup>Bb</sup>	530.2±0.25 <sup>Ba</sup>	1.763±0.001 <sup>Ba</sup>	1.657±0.000 <sup>Aa</sup>
	Tertiary Emulsion(4°C) امولسیون سه‌لایه	11.6±0.012 <sup>Bc</sup>	527.13±0.13 <sup>Bb</sup>	1.276±0.001 <sup>Bc</sup>	1.658±0.000 <sup>Aa</sup>
28	Primary Emulsion(4°C) امولسیون تک‌لایه	18.34±0.011 <sup>Aa</sup>	541.2±0.75 <sup>Aa</sup>	1.81±0.001 <sup>Ab</sup>	1.657±0.000 <sup>Ac</sup>
	Secondray Emulsion(4°C) امولسیون دو لایه	12.17±0.011 <sup>Ac</sup>	533.66±0.88 <sup>Ab</sup>	1.83±0.001 <sup>Aa</sup>	1.658±0.000 <sup>Ab</sup>
	Tertiary Emulsion(4°C) امولسیون سه‌لایه	12.63±0.012 <sup>Ab</sup>	530.1±0.44 <sup>Ac</sup>	1.304±0.000 <sup>Ac</sup>	1.662±0.001 <sup>Aa</sup>

حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت در طول دوره نگهداری و حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت در بین امولسیون‌هاست.

Different large letters indicate the difference in the storage time and Different small letters indicate the difference in the emulsions (P<0.001)

مربوط به افزایش میزان حضور پلی ساکاریدها در ماتریکس امولسیون‌ها با افزایش تعداد لایه‌ها بوده باشد. در حقیقت اثرات پلی ساکارید بر روی پایداری امولسیون به طور عمده ناشی از اثرات آنها بر روی سایز ذرات و ویسکوزیته امولسیون می‌باشد. در حقیقت آنها از برخورد قطرات روغن از طریق افزایش ویسکوزیته فاز آبی جلوگیری می‌کنند (۳۹). میزان خامه‌ای شدن بیشتر امولسیون تک‌لایه نسبت به دو امولسیون دیگر را می‌توان به حرکت آزادانه قطرات روغن در سیستم نسبت داد، به گونه‌ای که با افزایش تعداد لایه‌ها بر اثر افزودن پلی ساکارید کیتوزان در امولسیون دولایه و افزودن پلی ساکاریدهای کیتوزان و صمغ بذر ریحان در امولسیون سه لایه، حرکت آزادانه قطرات روغن در سیستم کمتر شده و ویسکوزیته ایجاد شده در فاز آبی برای جلوگیری از برخورد قطرات روغن کافی بود و مانع تجمع قطرات در اثر برخورد با یکدیگر شدند. همچنین خرمی و همکاران (۲۰۲۱) بر روی اثر صمغ دانه ریحان بر پایداری امولسیون‌های تثبیت شده با کازئینات سدیم کار کردند. آنها گزارش کردند که با افزایش گرانیروی در اثر افزایش غلظت صمغ و نیز گسترش فضای آبی پیوسته اطراف قطرات فاز پراکنده و تثبیت آنها در شبکه ژل مانند و در نتیجه ایجاد ممانعت فضایی، سرعت خامه‌ای شدن کاهش و در نتیجه پایداری امولسیون افزایش می‌یابد (۴۰).

پایداری فیزیکی: مکانیسم ناپایداری با توده‌ای شدن<sup>۱۲</sup> یا انعقاد<sup>۱۳</sup>، خامه‌ای شدن<sup>۱۴</sup> یا رسوب<sup>۱۵</sup>، رسیدن اوستوالد<sup>۱۶</sup> و ادغام<sup>۱۷</sup> می‌باشد، که مکانیسم اصلی توده‌ای شدن یا انعقاد است. امولسیون‌ها می‌تواند خامه‌ای شود یا رسوب کنند، که گلبول‌ها بسته به دانسیته هر دو تا فاز مایع به سمت پایین یا به سمت بالا می‌روند. غلظت‌های بالاتر پلی ساکارید میزان خامه‌ای شدن به دلیل افزایش ویسکوزیته فاز آبی کاهش می‌یابد (۳۸). براساس نتایج بدست آمده در شکل ۲، می‌توان نتیجه گرفت که در شاخص خامه‌ای شدن دما و اثر متقابل دما و امولسیون تاثیر ندارد اما نوع امولسیون‌ها تاثیر دارد ( $p < 0/001$ ). به‌طور کلی میانگین شاخص خامه‌ای شدن مربوط به امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب ۵۴/۵، ۴۶ و ۳۶ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. همچنین میانگین شاخص خامه‌ای شدن در دمای یخچال و محیط به ترتیب ۴۵/۷۸٪ و ۴۵/۲۲ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در دمای محیط و یخچال بین میزان شاخص خامه‌ای شدن امولسیون تک‌لایه با دولایه و سه‌لایه، همچنین میزان شاخص خامه‌ای شدن امولسیون دولایه با سه‌لایه تفاوت معنی‌داری برقرار بود ( $p < 0/001$ ). در حقیقت با توجه به نتایج با افزایش تعداد لایه‌های امولسیون‌ها میزان خامه‌ای شدن کاهش یافت که علت آن می‌تواند

<sup>15</sup> Sedimentation

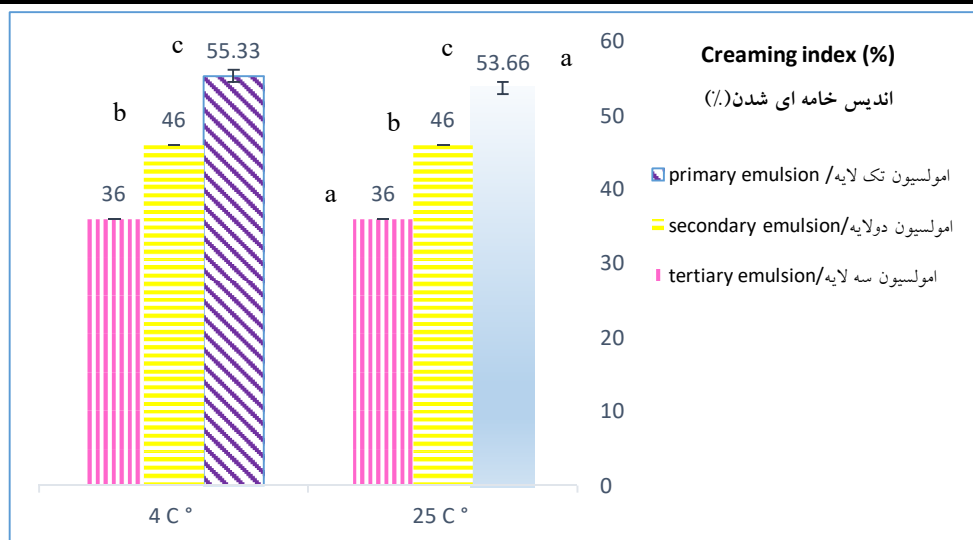
<sup>16</sup> Ostwaldripening

<sup>17</sup> Coalescence

<sup>12</sup> Flocculation

<sup>13</sup> Coagulation

<sup>14</sup> Creaming



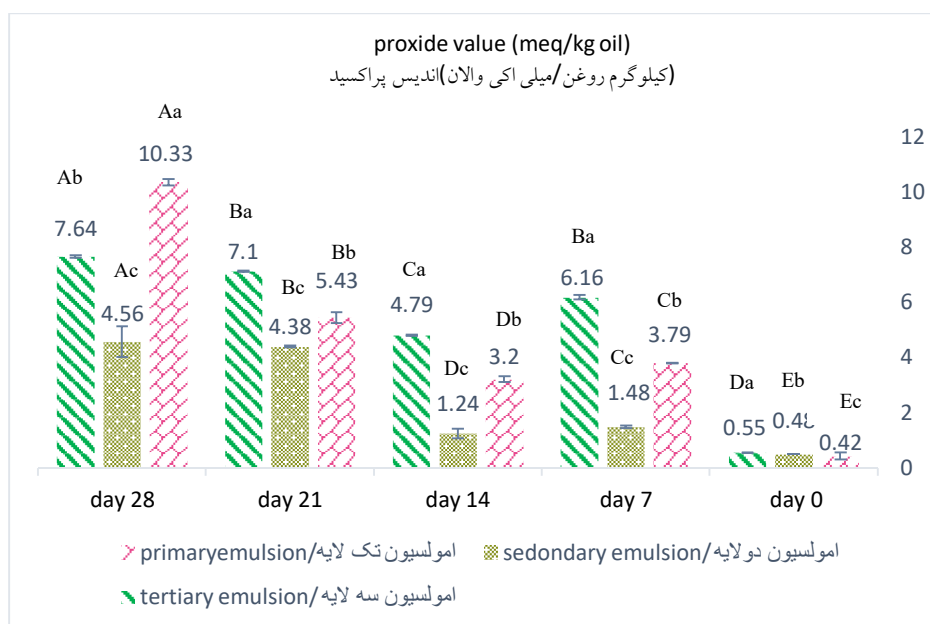
شکل ۲- تغییرات خامه‌ای شدن (%) امولسیون‌های چندلایه بعد از ۷ روز دوره نگهداری در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد  
Figure 2. Changes in creaming index (%) of multilayer emulsions after 7 days of storage at 4°C and 25°C

نسبت به دو امولسیون دیگر جذب کرد (۴۱). همچنین می‌توان گفت ترتیب بیوپلیمرهای استفاده شده به‌عنوان امولسیفایر در تشکیل لایه‌های امولسیون با توجه به خواص و ماهیت آنها نقش به‌سزایی در پایداری اکسیداتیو امولسیون‌ها دارد. به‌عبارتی دیگر پایداری اکسیداتیو بهتر امولسیون دولایه نسبت به دو امولسیون دیگر ناشی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای کیتوزان و قرار گرفتن آن در سطح خارجی امولسیون دولایه است (۴۲). نتایج پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده توسط کلینکیسورن و همکاران (۲۰۰۵) در خصوص روغن ماهی پوشش داده با لیسیتین و کیتوزان مطابقت داشت که مشاهده شد اکسیداسیون لیپیدی در روغن ماهی پوشش داده شده با لیسیتین و کیتوزان کمتر از روغن ماهی پوشش شده با لیسیتین بود (۴۳). در بررسی اندیس تیوباربیتوریک اسید (شکل ۴) که فساد ثانویه امولسیون‌ها طی دوره نگهداری یک ماهه نشان داد که زمان، نوع امولسیون و اثر متقابل زمان و امولسیون تاثیر داشت ( $p < 0.001$ ). به‌طورکلی میانگین این پارامتر در امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه به ترتیب ۴/۴، ۲/۱۸ و ۳/۳۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن بود که تفاوت معنی‌داری با همدیگر داشتند

**پایداری اکسیداتیو:** براساس شکل ۳، نتایج بررسی اندیس پراکسید هر سه نمونه امولسیون‌ها تحت تاثیر تعداد لایه‌ها و طی مدت نگهداری یک ماه بدین صورت حاصل شد که روند تغییرات هر سه امولسیون در مدت نگهداری اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ) و این روند بصورت افزایشی بود. در حقیقت زمان، نوع امولسیون و اثر متقابل زمان و امولسیون تاثیر داشتند ( $p < 0.001$ ). همچنین بیشترین و کمترین میزان اندیس پراکسید در روزاول دوره نگهداری به‌ترتیب مربوط به امولسیون سه‌لایه و امولسیون دولایه بود. در صورتی که تغییرات اندیس پراکسید در طول دوره نگهداری در امولسیون تک‌لایه و سه‌لایه با روند قابل توجه‌ای افزایش یافت و در مقابل این روند افزایشی در امولسیون دولایه جزئی بود. علت این روند می‌تواند مربوط به این بوده باشد که کیتوزان با بار مثبت موجود بر سطح امولسیون دولایه، با  $Fe^{+}$  (یون آهن؟) احتمالی موجود در محیط دافعه الکترواستاتیک ایجاد کرد، از طرفی با افزایش تعداد لایه‌های امولسیون پایداری اکسیداتیو آنها بیشتر می‌شود اما چون امولسیون سه‌لایه با صمغ بذر ریحان با بار منفی پوشش داده شده، میزان  $Fe^{+}$  بیشتری

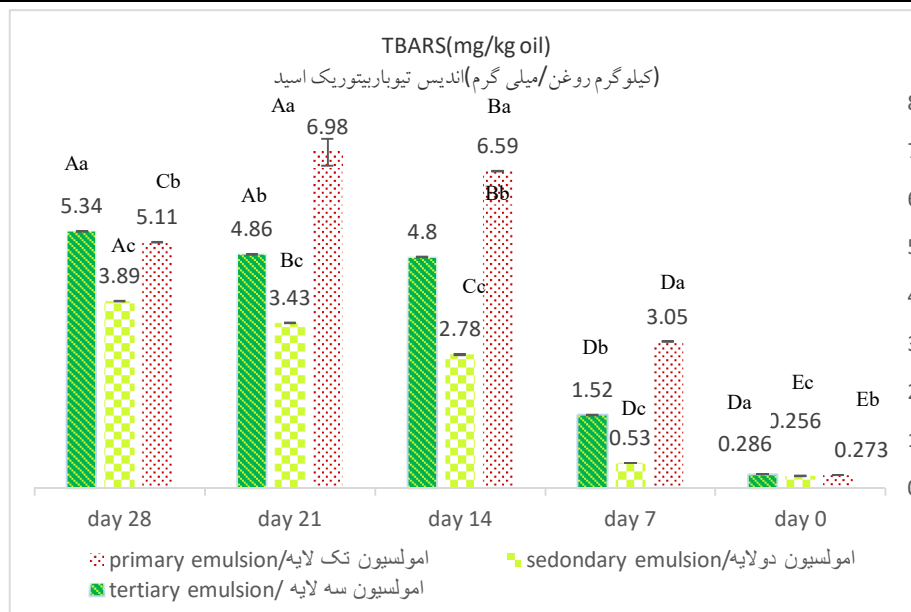
با نتایج حاصل از سان و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد که آنها نشان دادند که پوشش‌های چندلایه کیتوزان-پکتین پایداری لیپید را در برابر تخریب اکسیداسیون به طور موثری افزایش می‌دهد (۴۵). همچنین در مواردی از روزهای نگهداری میزان پراکسید و تیوباریتوریک اسید کاهش یافت که می‌تواند ناشی از تجزیه هیدرواکسیدهای فعال به ترکیبات دیگر باشد. علاوه بر این می‌توان گفت که شاخص تیوباریتوریک اسید نسبت به شاخص پراکسید با سرعت کمتری در طول دوره نگهداری افزایش یافت که می‌تواند ناشی از این باشد که مالون‌دی‌آلدهید از محصولات ثانویه اکسایش بوده و از تجزیه محصولات اولیه از جمله پراکسیدها بدست می‌آید (۴۶).

( $p < 0.001$ ). همچنین روند تغییرات این اندیس در هر سه امولسیون طی دوره نگهداری افزایشی بود. کمترین میزان این اندیس در طول دوره نگهداری متعلق به امولسیون دولایه بود، در مقابل امولسیون تک‌لایه روند افزایشی بیشتری در طول مدت نگهداری داشت. در حقیقت امولسیون سه‌لایه و امولسیون دولایه تغییرات جزئی در طول دوره نگهداری نشان داد که مبین آن است که که پوشش کیتوزان-صمغ بذر ریحان بر روی سطوح قطرات چربی کاملاً فشرده است و این لایه کیتوزان-صمغ دانه ریحان بر روی سطوح قطرات چربی به طور موثری از نفوذ اکسیژن و سایر مواد اکسیدکننده به هسته‌های لیپیدی جلوگیری می‌کند و به‌طور قابل توجهی اکسیداسیون اولیه روغن هسته انگور در امولسیون را کاهش می‌دهد (۴۴). این نتایج



شکل ۳- تغییرات اندیس پراکسید (میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم روغن) امولسیون‌های چندلایه طی دوره نگهداری  
Figure 3. Changes in proxide index (meq/kg oil) of multilayer emulsions at during storage time





شکل ۴- تغییرات اندیس تیوباریتوریک اسید (میلی‌گرم/کیلوگرم روغن) امولسیون‌های چندلایه طی دوره نگهداری

Figure 4. Changes in TBA (mg/kg oil) of multilayer emulsions at during storage time

تئوری اساسی امولسیون‌های چندلایه ارائه دهد. تهیه امولسیون‌های چندلایه روغن هسته انگور می‌تواند کاربردهای بالقوه‌ای برای استفاده در تولید محصولات غذایی مانند نوشیدنی‌ها و محصولات لبنی به عنوان منبع مفیدی از اسیدهای چرب ضروری به خصوص امگا ۶ و ۹ باشد.

### سپاسگزاری

هزینه‌های انجام مطالعه حاضر از طریق پژوهانه سال ۱۴۰۱ دانشگاه شهید چمران اهواز به شماره SCU.VF1401.417 تأمین شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری می‌گردد.

### نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین پایداری هر سه امولسیون تک‌لایه، دولایه و سه‌لایه تحت تاثیر pHهای مختلف (۴،۵،۶،۷،۸) در pH=۵ بود و با افزایش تعداد لایه‌های امولسیون چندلایه روغن هسته انگور، پایداری افزایش پیدا کرد. همچنین در طول یک ماه دوره نگهداری با بررسی پارامترهای فیزیکوشیمیایی (اندازه ذره، ویسکوزیته، پتانسیل زتا، کدورت و ضریب شکست) پایداری امولسیون‌ها در دمای یخچالی بیشتر از دمای محیطی بود. این پژوهش می‌تواند اطلاعات مفیدی برای درک

### References

1. Luque-Rodriguez, J.M., De Castro, M.L., and Perez-Juan, P. 2005. Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta*. 68:1.126-130.
2. Barron, L.J.R., Celaa, M.V., Santa-Maria, G., and Corzo, N. 1988. Determination of the triglyceride composition of grapes by HPLC. *Chromatographia*. 25:609-612.
3. Bail, S., Stuebig, G., Krist, S., Unterweger, H., and Buchbauer, G. 2008. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food chemistry*. 108:3.1122-1132.
4. Hanifi-Vahd, F., Salehifar, M. and Rahman, A. 2022. Application of organogels containing grape seed oil and carnoba in cake production. *Food Processing and Preservation Journal*. 14:3. 79-101. (In Persian).

5. Pardo, J.E., Fernandez, E., Rubio, M., Alvarruiz, A., and Alonso, G.L. 2009. Characterization of grape seed oil from different grape varieties (*Vitis vinifera*). *European journal of lipid science and technology*. 111:2.188-193.
6. Wang, J. and, Shahidi, F. 2017. Oxidative stability of marine oils as affected by added wheat germ oil. *International journal of food properties*, 20:3. 3334- 3344.
7. Fioramonti, S.A., Martinez, M.J., Pilosof, A.M., Rubiolo, A.C., and Santiago, L.G. 2015. Multilayer emulsions as a strategy for linseed oil microencapsulation: Effect of pH and alginate concentration. *Food Hydrocolloids*. 43:8-17.
8. Dickinson, E. 2019. Strategies to control and inhibit the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Food hydrocolloids*. 96:209-223.
9. Zhang, T., Ding, M., Wang, X., and Zhong, J. 2020. Droplet and creaming stability of fish oil-loaded gelatin/surfactant-stabilized emulsions depends on both the adsorption ways of emulsifiers and the adjusted pH. *Food Science and Human Wellness*. 9:3.280-288.
10. Silva, M., Zisu, B., and Chandrapala, J. 2020. Interfacial and emulsification properties of sono-emulsified grape seed oil emulsions stabilized with milk proteins. *Food chemistry*. 309:125758.
11. Boger, B.R., Georgetti, S.R., and Kurozawa, L.E. 2018. Microencapsulation of grape seed oil by spray drying. *Food Science and Technology*. 38:263-270.
12. Naji-Tabasi, S., Razavi, S.M.A., and Mehditabar, H. 2017. Fabrication of basil seed gum nanoparticles as a novel oral delivery system of glutathione. *Carbohydrate polymers*. 157:1703-1713.
13. Ding, M., Liu, L., Zhang, T., Tao, N., Wang, X., and Zhong, J. 2021. Effect of interfacial layer number on the storage stability and in vitro digestion of fish oil-loaded multilayer emulsions consisting of gelatin particle and polysaccharides. *Food Chemistry*. 336:127686.
14. Carpenter, J., George, S., and Saharan, V.K. 2018. A comparative study of batch and recirculating flow ultrasonication system for preparation of multilayer olive oil in water emulsion stabilized with whey protein isolate and sodium alginate. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*. 125:139-149.
15. Li, X., Shan, H., Cao, M., and Li, B. 2018. Mussel-inspired modification of PTFE membranes in a miscible THF-Tris buffer mixture for oil-in-water emulsions separation. *Journal of Membrane Science*. 555: 237-249.
16. Nakagawa, K., and Nagao, H. 2012. Microencapsulation of oil droplets using freezing-induced gelatin-acacia complex coacervation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 411:129-139.
17. Kumar Dey, T., Ghosh, S., Ghosh, M., Koley, H., and Dhar, P. 2012. Comparative study of gastrointestinal absorption of EPA & DHA rich fish oil from nano and conventional emulsion formulation in rats. *Food research international*. 49:1.72-79.
18. Chang, Y. and McClements, D.J. 2015. Interfacial deposition of an anionic polysaccharide (fucoidan) on protein-coated lipid droplets: Impact on the stability of fish oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 51:252-260.
19. Cui, Z., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C. and, Hua, Y. 2014. Effects of rutin incorporation on the physical and oxidative stability of soy protein-stabilized emulsions. *Food Hydrocolloids*, 41: 1-9.
20. Shi, Y., Liang, R., Chen, L., Liu, H., Goff, H.D., Ma, J., and Zhong, F. 2019. The antioxidant mechanism of Maillard reaction products in oil-in-water emulsion system. *Food Hydrocolloids*. 87:582-592.
21. Sepeidnameh, M., Hosseini, S.M.H., Niakosari, M., Mesbahi, G.R., Yousefi, G.H., Golmakani, M.T., and Nejadmansouri, M. 2018. Physicochemical properties of fish oil in water multilayer emulsions prepared by a mixture of whey protein isolate and water-soluble fraction of Farsi gum. *International Journal of Biological Macromolecules*. 118:1639-1647.
22. Schmitt, C. and Turgeon, S.L. 2011. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in colloid and interface science*. 167:1-2.63-70.

23. Velez-Eraza, E. M., Consoli, L., and Hubinger, M. D. 2021. Spray drying of mono-and double-layer emulsions of PUFA-rich vegetable oil homogenized by ultrasound. *Drying Technology*. 39:7. 868-881.
24. Feng, L., Gao, Y., Dai, Z., Dan, H., Xiao, F., Yue, Q., and Wang, S. 2021. Preparation of a rice straw-based green separation layer for efficient and persistent oil-in-water emulsion separation. *Journal of Hazardous Materials*. 415: 125594.
25. Xu, D., Aihemaiti, Z., Cao, Y., Teng, C., and Li, X. 2016. Physicochemical stability, microrheological properties and microstructure of lutein emulsions stabilized by multilayer membranes consisting of whey protein isolate, flaxseed gum and chitosan. *Food Chemistry*. 202:156-164.
26. Pal, R. 2011. Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 16: 41-60.
27. Zolfaghari, R., Fakhru'l-Razi, A., Abdullah, L.C., Elnashaie, S.S., and Pendashteh, A. 2016. Demulsification techniques of water-in-oil and oil-in-water emulsions in petroleum industry. *Separation and Purification Technology*. 170:377-407.
28. Liu, C., Tan, Y., Xu, Y., McClements, D. J. and Wang, D. 2019. Formation, characterization, and application of chitosan/pectin-stabilized multilayer emulsions as astaxanthin delivery systems. *International journal of biological macromolecules*. 140: 985-997.
29. Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., and Solans, C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in colloid and interface science*. 108:303-318.
30. Piriyaprasarth, S., Juttulapa, M., and Sriamornsak, P. 2016. Stability of rice bran oil-in-water emulsions stabilized by pectin–zein complexes: Effect of composition and order of mixing. *Food Hydrocolloids*. 61: 589-598.
31. Alexandre, E.M.C., Lourenço, R.V., Bittante, A.M.Q.B., Moraes, I.C.F., and do Amaral Sobral, P.J. 2016. Gelatin-based films reinforced with montmorillonite and activated with nanoemulsion of ginger essential oil for food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*. 10:87-96.
32. Salimi, A., Maghsoudlou, Y., Jafari, S.M., Sadeghi Mahounak, A., Kashaninejad, M., and Ziaifar, A.M. 2018. Optimization of lycopene in arabic gum and maltodextrin emulsions by response surface methodology. *Food Processing and Preservation Journal*. 10:1.117-136. (In Persian).
33. Hosseini, S.M.H., Emam-Djomeh, Z., Razavi, S.H., Moosavi-Movahedi, A.A., Saboury, A.A., Mohammadifar, M.A., Farahnaky, A., Atri, M.S., and Van der Meeren, . 2013. Complex coacervation of  $\beta$ -lactoglobulin- $\kappa$ -Carrageenan aqueous mixtures as affected by polysaccharide sonication. *Food Chemistry*. 141:1.215-222.
34. Shanmugam, A., Chandrapala, J., and Ashokkumar, M. 2012. The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 16:251-258.
35. Kartal, C., Unal, M. K., & Otles, S. 2017. Production and stabilization of a flaxseed oil multi-layer emulsion containing sodium caseinate and pectin. *International Journal of Food Properties*. 20:4.833-844.
36. Locali-Pereira, A.R., Lopes, N.A., Menis-Henrique, M.E.C., Janzanti, N.S., and Nicoletti, V.R. 2020. Modulation of volatile release and antimicrobial properties of pink pepper essential oil by microencapsulation in single-and double-layer structured matrices. *International Journal of Food Microbiology*. 335:108890.
37. Nejadmansouri, M., Hosseini, S. M. H., Niakosari, M., Yousefi, G. H., & Golmakani, M. T. 2016. Physicochemical properties and storage stability of ultrasound-mediated WPI-stabilized fish oil nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*. 61.801-811.
38. Velez, G., Fernandez, M.A., Munoz, J., Williams, P.A., and English, R.J. 2003. Role of hydrocolloids in the creaming of oil in water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:1.265-269.
39. Amid, B.T., Mirhosseini, H., Poorazarang, H., and Mortazavi, S. A. 2013. Implications of partial conjugation of whey protein isolate to durian seed gum through maillard reactions:

- foaming properties, water holding capacity and interfacial activity. *Molecules*.18:15110-15125.
40. Khorrami, M., Hosseini-Parvar, SH., and Motamedzadegan, A. 2021. The influence of basil seed gum concentration on the stability, particle size and rheological properties of oil-in-water emulsion stabilized by sodium caseinate. *Food Processing and Preservation Journal*. 12:2.139-156. (In Persian).
  41. Ribeiro, E. F., Polachini, T. C., Locali-Pereira, A. R., Janzanti, N. S., Quiles, A., Hernando, I., & Nicoletti, V. R. (2023). Storage Stability of Spray-and Freeze-Dried Chitosan-Based Pickering Emulsions Containing Roasted Coffee Oil: Color Evaluation, Lipid Oxidation, and Volatile Compounds. *Processes*. 11:4. 1048.
  42. Wang, C., Sun, C., Lu, W., Gul, K., Mata, A., and Fang, Y. 2020. Emulsion structure design for improving the oxidative stability of polyunsaturated fatty acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 19:6. 2955-2971.
  43. Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., McClements, D.J., and Decker, E.A. 2005. Increasing the oxidative stability of liquid and dried tuna oil-in-water emulsions with electrostatic layer-by-layer deposition technology. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53:11.4561-4566.
  44. Mu, H., Song, Z., Wang, X., Wang, D., Zheng, X., and Li, X. 2022. Microencapsulation of algae oil by complex coacervation of chitosan and modified starch: Characterization and oxidative stability. *International Journal of Biological Macromolecules*. 194: 66-73.
  45. Sun, X., Liu, C., Wang, D., Xu, Y., and Wang, C.Y. 2023. Effects of coating layers chitosan/pectin on lipid stability and in vitro digestion of astaxanthin-loaded multilayer emulsions. *LWT*. 173.114282.
  46. Namadiour, A., Ghorbani, M., Sadeghi Mahoonak, A., Maghsoudloo, Y., and Sadeghi, A. Antioxidative effect of the zizyphus fruit (*Ziziphus spina-christi*) and Date Seed (*Phoenix dactylifera*) var. Mazafati extracts on soybean oil oxidation. *Food Processing and Preservation Journal*. 11:2.157-166. (In Persian).