Available in: http://jips.ippi.ac.ir

Iranian Journal of Polymer Science and Technology
Vol. 26, No. 5, 413-425
December 2013 - January 2014
ISSN: 1016-3255
Online ISSN: 2008-0883

Gamma Oryzanol Bearing Nanoliposome Produced by Modified Thermal Method: Thermal Property, Encapsulation Efficiency, Oscillatory Rheometry

Zahra Mohammad Hassani[1,2], Babak Ghanbarzadeh[2], Hamed Hamishehkar[*3], Reza Rezayi Mokarram[2], and Mohammadyar Hosseini[4]

1. Biotechnology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Postal Code: 51666-16471, Tabriz, Iran
3. Pharmaceutical Technology Laboratory, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Postal Code: 69391-77111, Ilam, Iran

Received 11 June 2013, accepted 7 August 2013

ABSTRACT

Nanoliposomes are one of the most important polar lipid-based nanocarriers which can be used for encapsulation of both hydrophilic and hydrophobic active compounds. In this research, nanoliposomes based on lecithin-polyethylene glycol-gamma oryzanol were prepared by using a modified thermal method. Only one melting peak in DSC curve of gamma oryzanol bearing liposomes was observed which could be attributed to co-crystallization of both compounds. The addition of gamma oryzanol, caused to reduce the melting point of 5% (w/v) lecithin-based liposome from 207°C to 163.2°C. At high level of lecithin, increasing of liposome particle size (storage at 4°C for two months) was more obvious and particle size increased from 61 and 113 to 283 and 384 nanometers, respectively. The encapsulation efficiency of gamma oryzanol increased from 60% to 84.3% with increasing lecithin content. The encapsulation stability of oryzanol in liposome was determined at different concentrations of lecithin 3, 5, 10, 20% (w/v) and different storage times (1, 7, 30 and 60 days). In all concentrations, the encapsulation stability slightly decreased during 30 days storage. The scanning electron microscopy (SEM) images showed relatively spherical to elliptic particles which indicated to low extent of particles coalescence. The oscillatory rheometry showed that the loss modulus of liposomes were higher than storage modulus and more liquid-like behavior than solid-like behavior. The samples storage at 25°C for one month, showed higher viscoelastic parameters than those having been stored at 4°C which were attributed to higher membrane fluidity at 25°C and their final coalescence.

Keywords:
nanoliposome,
gamma-oryzanol,
DSC,
stability,
oscillatory rheology

(*)To whom correspondence should be addressed.
E-mail: hamishehkar@tbzmed.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

قابل دسترس در نشانی: http://jips.ippi.ac.ir

نانولیپوزوم‌های حامل گاما اوریزانول تولیدشده به روش گرمایی اصلاح‌یافته: خواص گرمایی، بازده کپسولی‌شدن و رئومتری نوسانی

زهرا محمدحسنی[۱و۲]، بابک قنبرزاده[۲]، حامد همیشه‌کار*[۳]، رضا رضایی‌مکرم[۲]، محمدیار حسینی[۴]

۱- تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی

۲- تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، کد پستی ۱۶۴۷۱-۵۱۶۶۶

۳- تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات دارویی، آزمایشگاه فرمولاسیون

۴- ایلام، دانشگاه ایلام، گروه مهندسی صنایع غذایی، کد پستی ۷۷۱۱۱-۶۹۳۹۱

دریافت: ۹۲/۳/۲۱، پذیرش: ۹۲/۵/۱۶

مجله علوم و تکنولوژی پلیمر،
سال بیست و ششم، شماره ۵،
صفحه ۴۲۵-۴۱۳، ۱۳۹۲
ISSN: 1016-3255
Online ISSN: 2008-0883

Archive of SID

چکیده

نانولیپوزوم‌ها، دسته‌ای از نانوحامل‌های بر پایه لیپیدهای قطبی هستند که قابلیت کپسولی‌شدن هم ترکیبات فعال آبدوست و هم ترکیبات چربی‌دوست را دارند. در این پژوهش، نانولیپوزوم‌های بر پایه لسیتین- پلی(اتیلن گلیکول)- گاما اوریزانول، با استفاده از روش گرمایی اصلاح یافته (روش مظفری اصلاح شده) تولید شدند. در آزمون DSC، فقط یک پیک ذوب در منحنی مربوط به لیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول مشاهده شد که می‌تواند نشان‌دهنده هم‌بلورینگی دو ترکیب باشد. با افزودن گاما اوریزانول، دمای ذوب لیپوزوم بر پایه (w/v) ٪۵ لسیتین از ۲۰۷°C به ۱۶۳/۲°C کاهش یافت. در مقادیر بیشتر لسیتین، افزایش در اندازه ذرات پس از دو ماه نگه‌داری در دمای ۴°C مشهودتر بود و اندازه ذرات به ترتیب از ۶۱ و ۱۱۳ nm به ۲۸۳ و ۳۸۴ nm افزایش یافت. با افزایش مقدار لسیتین، بازده کپسولی‌شدن گاما اوریزانول از ٪۶۰ به ٪۸۴/۳ افزایش یافت. پایداری کپسولی‌شدن گاما اوریزانول در لیپوزوم‌ها در مقادیر متفاوت لسیتین ۳، ۵، ۱۰ و (w/v) ٪۲۰ و بازه‌های زمانی ۱، ۷، ۳۰ و ۶۰ روز بررسی شد و در تمام مقادیر طی یک ماه نگه‌داری به مقدار کمی کاهش یافت، ولی تغییر بارزی در درصد پایداری نمونه‌ها پس از ماه اول تا ماه دوم نگه‌داری مشاهده نشد. تصاویر SEM، وجود ذرات تقریباً کروی تا بیضی را مشخص کرد که نشان می‌دهد، به‌هم پیوستگی کمی در ذرات رخ داده است. آزمون رئولوژی نوسانی نشان داد، مدول اتلاف (G″) از مدول ذخیره (G′) نمونه‌ها بیشتر است و رفتار شبه‌مایع بیشتری نسبت به رفتار شبه‌جامد دارند. نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای ۲۵°C به‌مدت ۱ ماه، پارامترهای گرانروکشسانی بیشتری نسبت به دمای ۴°C داشتند که به سیالیت بیشتر غشا در دمای ۲۵°C و به‌هم پیوستگی بیشتر ذرات نسبت داده شد.

واژه‌های کلیدی

نانولیپوزوم،
گاما اوریزانول،
گرماسنجی پویشی تفاضلی،
پایداری،
رئولوژی نوسانی

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
hamishehkar@tbzmed.ac.ir

مقدمه

نانوکپسولی‌کردن روشی است که در آن حامل‌هایی با اندازه کمتر از ۱ μm (اکثراً ۱۰۰ nm) برای دارورسانی، غنی‌سازی مواد غذایی و انتقال ترکیبات غذا – دارو (nutraceutical) و زیست‌فعال (اسیدهای چرب ضروری، ضداکسنده‌ها و کاروتنوئیدها) به بخش‌های هدف، تولید و استفاده می‌شوند [۱]. این روش موجب حفاظت بیشتر مواد حساس، زیست‌دسترس‌پذیری بیشتر آنها، انحلال مواد آبگریز در محیط‌های آبی، کاهش آثار طعم نامطلوب مواد زیست‌فعال و رهایش کنترل شده می‌شود [۲]. جنس نانوکپسول‌ها بسته به موارد استفاده در سامانه‌های غذایی و دارویی متفاوت است و معمولاً به دو گروه پلیمری و لیپیدی دسته‌بندی می‌شوند.

ترکیبات ضداکسنده طبیعی موجود در مواد غذایی مانند ترکیبات فنولی، کاروتنوئیدها و برخی از ویتامین‌ها از جمله ترکیبات غذا – دارو و زیست‌فعال به‌شمار می‌آیند که مطالعه ارتباط بین سلامتی انسان و این ترکیبات، از موضوعات پژوهشی نسبتاً جدید در زمینه‌های علوم دارویی، صنایع غذایی و تغذیه است [۱،۲]. گاما اوریزانول ضداکسنده طبیعی موجود در سبوس و روغن برنج بوده و متشکل از مخلوطی از چند نوع فرولات‌های فیتواسترول‌هاست. این ترکیب فعال افزون بر داشتن خواص سلامت‌بخشی، باعث افزایش پایداری روغن‌های حاوی آن، در برابر اکسایش می‌شود. از طرفی، گاما اوریزانول ترکیبی ناپایدار و تجزیه‌پذیر است. به دلیل ماهیت آبگریزی این ترکیب، انحلال در مواد غذایی و جذب آن در بدن کاهش یافته و کاربرد آن در مواد غذایی محدود شده است [۳].

با استفاده از فناوری میکروکپسولی‌شدن و به‌کارگیری سامانه‌های رهایش یا حامل‌های بر پایه لیپید، می‌توان انحلال و مدت زمان ماندگاری گاما اوریزانول را در مواد غذایی و زیست‌دسترس‌پذیری آن را در بدن افزایش داد و در برابر شرایط نامطلوب محیط حفاظت کرد. نانوکپسول‌های لیپیدی در میان اکثر روش‌های میکروکپسولی‌شدن، رشد و گسترش بیشتری داشته‌اند. برخی از آنها، قابلیت حمل موادی با ماهیت‌های چربی‌دوستی و آبدوستی را به‌طور هم‌زمان دارند. ویژگی منحصر به‌فرد دیگر این ترکیبات حمل هدفمند محتویات آنها به جایگاه‌های خاص است [۱،۴]. لیپوزوم (Liposome)) واژه‌ای یونانی است. لیپو به معنی چربی و واژه زوما به ساختار آن اشاره دارد. لیپوزوم‌ها، ذرات کروی تشکیل شده از لیپیدهای قطبی‌اند (اکثراً فسفولیپیدها) که به محض واکنش با آب به‌طور سازمان یافته و به شکل غشاهای دولایه‌ای تجمع می‌یابند و با اعمال نیروی برشی به شکل کیسه‌های کروی (وزیکول) درمی‌آیند [۵].

سامانه‌های لیپوزومی همانند سایر سامانه‌های کلوئیدی ناپایدارند و به مرور زمان توده‌هایی را تشکیل می‌دهند. در نتیجه، اندازه ذرات و مقدار رهایش مواد میکروکپسولی شده افزایش می‌یابد. استفاده از کلسترول و فیتواسترول‌ها، بالقوه باعث افزایش نظم چیدمانی فسفولیپیدها و سفتی غشا می‌شود و از توده‌ای‌شدن و افزایش سرعت رهایش مواد فعال جلوگیری می‌کند. از طرفی، افزایش کلسترول خون آثار مضری بر سلامت بدن انسان دارد. بنابراین، استفاده از فیتواسترول‌ها به جای کلسترول در تولید لیپوزوم‌ها، می‌تواند بسیار مفید باشد [۶].

Viriyaroj و همکاران، لیپوزوم‌های بر پایه فسفاتیدیل کولین، کلسترول و مواد سطح‌فعال حاوی گاما اوریزانول (مقادیر ۳، ۵ و ۱۰٪) را به روش فراصوت‌دهی تهیه کرده و خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت ضداکسندگی آنها را ارزیابی کردند.

لیپوزوم‌های تولید شده از نوع وزیکول‌های تک‌لایه‌ای کوچک (small unilamellar vesicles, SUV) بودند و استفاده از مواد سطح‌فعال و گاما اوریزانول در ساختار آنها، موجب کاهش اندازه ذرات شد. فرمول‌بندی‌های حاوی کلسترول – مواد سطح‌فعال، اندازه ذراتی کمتر از ۱۰۰nm داشتند. لیپوزوم‌ها، بازده میکروکپسولی‌شدن بسیاری را در محدوده ۱۰۵–۷۵٪ نشان دادند و فعالیت ضداکسندگی گاما اوریزانول میکروکپسولی شده، نسبت به شکل آزاد، به مقدار چشمگیری تحت تأثیر قرار نگرفت [۷].

به دلایل متعددی مانند استفاده از شوینده‌ها و حلال‌های آلی، استفاده از تجهیزات پیچیده مانند تبخیرکننده‌ها (برای تبخیر حلال) و دستگاه فراصوت و بازده کم میکروکپسولی‌شدن در روش‌های تولید رایج (مانند روش‌های آب‌دارکردن لایه نازک، فراصوت‌دهی، اکستروژن و همگن‌سازی در فشار زیاد)، تولید و کاربرد لیپوزوم‌ها را در صنایع غذایی محدود کرده است. اما، در چند سال اخیر روش گرمایی (روش مظفری) برای تولید لیپوزوم‌ها ارائه شده که اکثر معایب روش‌های پیشین را ندارد [۱،۲،۴]. بر اساس مطالعات کتابخانه‌ای، هیچ پژوهشی تاکنون درباره تولید لیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول، به روش گرمایی انجام نشده است. در این پژوهش، برای اولین بار، نانولیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول به روش اصلاح شده گرمایی و با استفاده از کمک‌حلال پلی‌اتیلن گلیکول به جای حلال‌های سمی، تولید شدند و سپس خواص کاربردی آنها بررسی شد.

تجربی

مواد

فسفاتیدیل کولین (لسیتین) از شرکت Acros Organics بلژیک و گاما

www.SID.ir
Archive of SID

اوریزانول از شرکت Tsuno Rice Chemicals ژاپن خریداری شدند. پلی(اتیلن گلیکول) ۴۰۰ (PEG400) از شرکت Merck آلمان تهیه شد.

دستگاه‌ها

در این پژوهش، دستگاه مخلوط‌کن مدل RER شرکت IKA کشور آلمان، خشک‌کن انجمادی مدل Christ a 1-4 ساخت آلمان، دستگاه تعیین اندازه ذرات مدل SALD 2101 ساخت ژاپن، گرماسنج پویشی تفاضلی (DSC) مدل Netzsch DSC 200 F3، ساخت آلمان، طیف‌نورسنج فرابنفش - مرئی (UV-Vis) مدل Ultrospec 2000 ساخت انگلستان، رئومتر Physica Anton Paar مدل MCR 301 ساخت اتریش و میکروسکوپ الکترونی پویشی مدل VP1430 ساخت شرکت LEo کشور آلمان - انگلستان به‌کار گفته شد.

روش‌ها

تهیه لیپوزوم‌ها

ابتدا مقادیر مختلف لسیتین با ترازوی حساس وزن شده و به آنها ۲ mL آب مقطر اضافه شد. لسیتین آب‌دارشده به محلول گاما اوریزانول (۲۰ mg در ۵ mL پلی(اتیلن گلیکول)) افزوده شد و به بشر ۲۵۰ mL مقاوم به گرمای حاوی سه مانع (برای ایجاد جریان متلاطم) منتقل شد. سپس، ۵ mL حلال پلی(اتیلن گلیکول) افزوده شده و در نهایت با آب مقطر به حجم ۵۰ mL رسانده شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۱ h با سرعت ۱۰۰۰ rpm در دمای ۷۰°C، بیش از T_C لسیتین (T_C = ۶۰°C)، همزده شد. برای پایداری، محلول لیپوزومی به‌دست آمده به‌مدت ۱۵ min در دمای محیط قرار گرفت و پس از آن در دمای ۴°C نگه‌داری شد [۱،۲،۴]. نمونه‌های لیپوزومی با مقادیر مختلف لسیتین ۳، ۵ ، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v) (مقدار میلی‌گرم لسیتین نسبت به حجم کل سامانه) تهیه شدند. برای خشک‌کردن نمونه‌ها، ابتدا سامانه‌های لیپوزومی تهیه شده برای حذف حلال پلی(اتیلن گلیکول) به کیسه‌های دیالیز منتقل شدند. سپس، با نیتروژن مایع منجمد شده و با استفاده از دستگاه خشک‌کن انجمادی در دمای ۵°C- و فشار ۰/۱ mbar خشک شدند.

گرماسنجی پویشی تفاضلی

خواص گرمایی به کمک گرماسنجی پویشی تفاضلی (DSC) بررسی شد. نمونه‌های خشک شده با وزن تقریبی ۰/۵۳ mg با سرعت ۲۰°C/min در محدوده دمای ۳۰۰°C-۳۰ پویش شدند.

اندازه ذرات

قطر متوسط ذرات به‌وسیله دستگاه تعیین اندازه ذرات بر اساس روش پراکندگی نور لیزر اندازه‌گیری شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی در مقادیر مختلف لسیتین ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v) و بازه‌های زمانی ۷، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز، به کمک معادله (۱) معین شد. تمام نمونه‌ها در سه تکرار اندازه‌گیری شدند:

$$\overline{D}[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \qquad (۱)$$

در این معادله، n_i تعداد ذرات و d_i قطر میانگین ذرات است.

تعیین بازده میکروکپسولی‌شدن

برای بررسی بازده میکروکپسولی‌شدن گاما اوریزانول از طیف‌نورسنج فرابنفش- مرئی استفاده شد. ابتدا گاما اوریزانول آزاد موجود در سامانه لیپوزومی با استفاده از دستگاه مرکزگریز با سرعت ۵۰۰ rpm جداسازی شد. سپس، ۱ mL از محلول میانی برداشته و ۵ mL کلروفرم به آن اضافه شد. در نهایت، جذب آن به کمک طیف‌نورسنج در طول موج ۳۱۹ nm خوانده شد.

برای اندازه‌گیری مقدار گاما اوریزانول آزاد شده ابتدا منحنی استاندارد جذب - غلظت گاما اوریزانول (در محلول کلروفرم) رسم شد. با قراردادن شدت جذب خوانده شده در منحنی استاندارد جذب - غلظت گاما اوریزانول، غلظت گاما اوریزانول کپسولی شده محاسبه شد. درصد بازده کپسولی‌شدن در مقادیر مختلف لسیتین ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v) و بازه‌های زمانی ۷، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز، به کمک معادله (۲) محاسبه شد:

$$EE = \frac{C_M}{C_L} \times 100 \qquad (۲)$$

در این معادله، EE بازده میکروکپسولی‌شدن، C_M مقدار گاما اوریزانول اندازه‌گیری شده در لیپوزوم و C_L مقدار اولیه اضافه شده آن است.

میکروسکوپ الکترونی پویشی

ریزساختار نمونه نانولیپوزومی، به کمک میکروسکوپ الکترونی پویشی مطالعه شد. ابتدا، مقداری از نمونه‌های حاوی گاما اوریزانول و بدون آن، با لایه بسیار نازکی از طلا و پالادیم پوشش داده شدند. سپس، برای برداشت تصویر در دستگاه SEM با ولتاژ ۱۵ kV (پرتوهای الکترونی ورودی به نمونه حاوی الکترون‌هایی با انرژی ۱۵ kV بودند) قرار گرفتند.

رئومتری نوسانی

اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی نوسانی نمونه‌ها (نگه‌داری شده

Archive of SID

به‌مدت یک روز و یک ماه در دماهای ۴ و ۲۵°C)، در دمای ۲۵°C با استفاده از رئومتر مجهز به استوانه‌های هم‌مرکز انجام شد. پیش از انجام آزمون نوسانی سامانه مدل، محدوده ناحیه خطی گرانروکشسان معین شد. بدین منظور، تغییرات مدول ذخیره و مدول اتلاف با افزایش کرنش در بسامد ثابت ۱ Hz اندازه‌گیری شد. محدوده خطی در تنش کمتر از ۵ Ps قرار داشت.

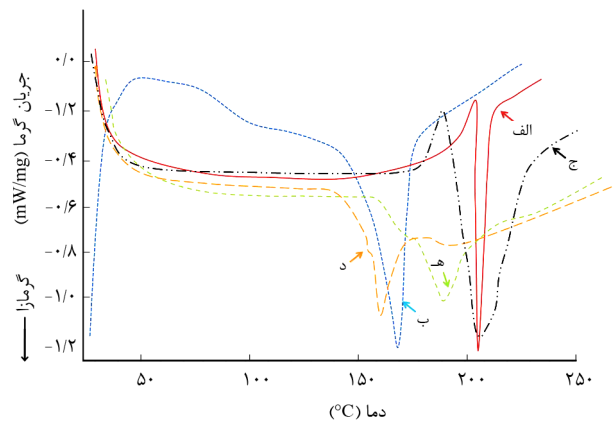
تحلیل آماری

همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم‌افزار آماری SPSS (version 16.0 for Windows, SPSS Inc) در سطح احتمال ٪۵ (P < ۰/۰۵) و آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

گرماسنجی پویشی تفاضلی

آزمون گرماسنجی پویشی تفاضلی (DSC) برای بررسی ورود و اتصال گاما اوریزانول در ساختار لیپوزوم و حالت توزیع آن (بلوری، بی‌شکل و پخش شده به شکل مولکولی) استفاده شد. شکل ۱، منحنی DSC در چرخه گرمایشی برای لسیتین خالص، گاما اوریزانول خالص و پودرهای خشک شده نانولیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول و بدون آن را در دو مقدار مختلف ۵ و ٪۱۰ (w/v) لسیتین نشان می‌دهد. پیک ذوب مربوط به لسیتین در دمای ۲۰۸°C مشاهده می‌شود که ساختار بلوری آن را نشان می‌دهد (شکل ۱- الف). دمای ذوب



شکل ۱- منحنی‌های DSC: (الف) لسیتین، (ب) گاما اوریزانول، (ج) نانولیپوزوم، نانولیپوزوم حاوی گاما اوریزانول لسیتین (د) ٪۵ و (هـ) ٪۱۰.

لیپوزوم بدون گاما اوریزانول و لسیتین تقریباً یکسان بوده و حدود ۲۰۷ °C است (شکل ۱- ج). ولی پهنای پیک مربوط به لیپوزوم بیشتر از پهنای پیک لسیتین است. این موضوع نشان‌دهنده بلورینگی نواحی وسیع‌تری از لیپوزوم یا متنوع‌بودن نوع و اندازه بلورها در لیپوزوم‌ها و چندتوزیعی بودن ذرات نسبت به لسیتین خالص است.

با توجه به شکل ۱- ب، پیک گرماگیر مربوط به گاما اوریزانول در دمای ۱۷۰°C نمایان شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، این پیک در منحنی گرمایشی مربوط به لیپوزوم حاوی گاما اوریزانول (شکل ۱- ج و ۱- د) حذف شده است. مشاهده فقط یک پیک ذوب در منحنی لیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول می‌تواند نمایانگر هم‌بلوری‌شدن دو ترکیب و سازگاری خوب آنها با هم باشد. گاما اوریزانول ترکیبی چربی‌دوست است و می‌تواند به ناحیه آبگریز غشای لیپوزومی متصل شود. به‌طور کلی وجود پیک ذوب بین دمای ذوب لسیتین و گاما اوریزانول می‌تواند نشان‌دهنده ایجاد بلورهای تشکیل یافته از ترکیب دو ماده باشد. همچنین ممکن است، گاما اوریزانول به حالت بی‌شکل در داخل لیپوزوم بلوری میکروکپسولی شده باشد و اثر کاهشی بر دمای ذوب بلورهای لیپوزوم داشته باشد.

همان‌طور که در شکل ۱ و جدول ۱ مشاهده می‌شود، دمای ذوب لیپوزوم با اضافه‌کردن گاما اوریزانول از ۲۰۷°C به ۱۶۳/۲°C در لیپوزوم حاوی (w/v) ٪۵ لسیتین کاهش یافته است. همچنین دیده می‌شود، با افزایش نسبت گاما اوریزانول به لیپید (کاهش درصد لسیتین)، دمای ذوب بیشتر کاهش یافته است. رقیق‌شدن فاز لسیتین، کاهش نظم شبکه بلوری، تغییر چیدمان فسفولیپیدها و تغییر در سیالیت ساختار غشایی، می‌تواند دلایل کاهش دمای ذوب لیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول در مقایسه با لسیتین خالص یا لیپوزوم خالی باشد، یعنی وجود مولکول‌های نفوذ یافته گاما اوریزانول در شبکه بلوری لیپید باعث اثر کاهشی در دمای ذوب لسیتین شده است. این اثر، زمانی که نسبت گاما اوریزانول به لسیتین بیشتر است، مشهودتر است [۸].

جدول ۱- دمای ذوب و آنتالپی ذوب ترکیبات سازنده نانولیپوزوم‌ها و نانولیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول و بدون آن.

نمونه	دمای ذوب (°C)	آنتالپی ذوب (J/g)
گاما اوریزانول	۱۶۹/۸	-۲۸/۷
لسیتین	۲۰۸	-۱۳/۸۴
نانولیپوزوم	۲۰۷	-۴۹/۳
نانولیپوزوم-گاما اوریزانول (٪۵)	۱۶۳/۲	-۴/۹۳۴
نانولیپوزوم-گاما اوریزانول (٪۱۰)	۱۹۰/۹	-۳/۰۴۱

Archive of SID

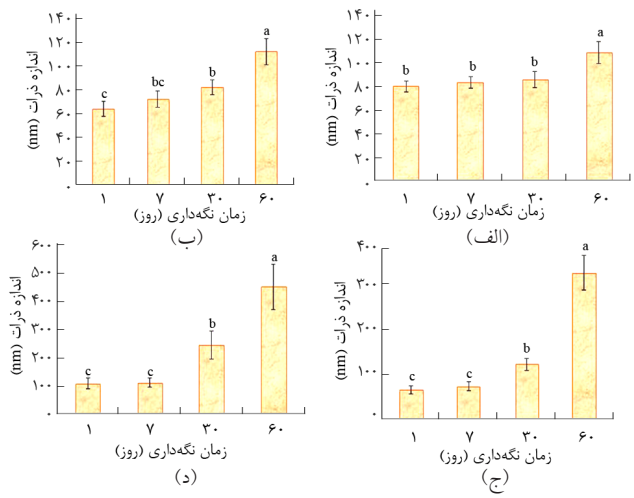
www.SID.ir

بنابراین، در مقدار ثابت گاما اوریزانول، افزایش مقدار لسیتین باعث ازدیاد دمای ذوب لیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول می‌شود.

در پژوهش انجام شده توسط Xia و همکاران [۹]، پرولیپوزوم‌های حاوی لوتئین تهیه شد و رفتار بلوری لوتئین، فسفاتیدیل کولین هیدروژن‌دار شده (HPC)، پرولیپوزوم‌ها و مخلوط فیزیکی آنها ارزیابی شد. آنها بیان کردند که درجه بلورینگی لوتئین و فسفاتیدیل کولین هیدروژن‌دار شده در ساختار پرولیپوزوم بسیار کاهش یافته است و پیک لوتئین کاملاً حذف شده است. بنابراین، لوتئین کاملاً در ساختار HPC پخش شده است.

اثر زمان نگه‌داری بر اندازه ذرات در مقادیر مختلف لسیتین

قطر متوسط ذرات نانولیپوزومی در مقادیر متفاوت ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v) لسیتین و بازه‌های زمانی ۱، ۷، ۳۰ و ۶۰ روز در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به این شکل، در مقادیر کم لسیتین (۳٪) در مدت زمان کمتر از ۳۰ روز، افزایش چندانی در اندازه ذرات مشاهده نشد. در تمام مقادیر لسیتین، افزایش معنی‌داری در اندازه نمونه‌ها پس از دو ماه نگه‌داری در دمای ۴°C مشاهده شد ($P<0.05$). در مقادیر زیاد لسیتین ۱۰ و ۲۰٪ (w/v)، با اینکه تغییر بیشتری در اندازه ذرات با گذشت زمان نگه‌داری مشاهده شد به ترتیب از ۶۱ و ۱۱۳ nm به ۲۸۳ و ۳۸۴ nm افزایش یافت، ولی با وجود این، اندازه ذرات لیپوزوم، نزدیک به نانومتر باقی ماندند. ناپایداری لیپوزوم‌ها را می‌توان به برخورد (collision) (به دلیل حرکات تصادفی و براونی) و حتی ادغام غشاهای دو یا چند لیپوزوم نسبت داد [۱۰]. این فرایند



شکل ۲- اثر زمان نگه‌داری (۱، ۷، ۳۰ و ۶۰ روز) بر اندازه ذرات در مقادیر مختلف لسیتین: (الف) ۳٪، (ب) ۵٪، (ج) ۱۰٪ و (د) ۲۰٪ (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ در آزمون دانکن است).

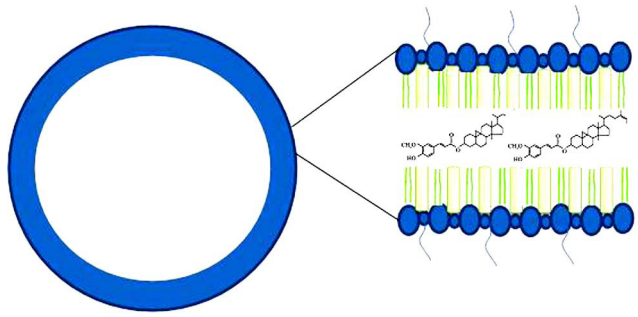
از نظر ترمودینامیکی به دلیل تمایل سامانه به کاهش انرژی انحنای نامطلوب غشا در ساختار دولایه‌ای لیپوزوم‌های کروی، انجام می‌شود [۱۱]. احتمالاً در مقادیر بیشتر لیپید ۱۰ و ۲۰٪ (w/v)، ذرات بیشتری تشکیل شده و نسبت به مقادیر کمتر، احتمال این برخوردها با گذشت زمان بیشتر شده و اندازه ذرات بیشتر افزایش می‌یابد. در مقادیر کمتر لیپید لسیتین ۳ و ۵٪ (w/v)، به دلیل کاهش برخوردها اندازه ذرات با افزایش زمان نگه‌داری، کمتر تغییر کرده است، به ترتیب از ۷۶ و ۶۰ nm به ۱۱۷ و ۱۱۰ nm افزایش یافت. برای غلبه بر ناپایداری سامانه لیپوزومی، در اکثر روش‌های تولید، کلسترول استفاده می‌شود. کلسترول با قرارگرفتن در ساختارهای دولایه‌ای لیپیدهای تشکیل‌دهنده لیپوزوم‌ها، باعث استحکام و کاهش نقص و بی‌نظمی در چیدمان این نوع ساختارها می‌شود [۱۲].

کلسترول نوعی استرول حیوانی به‌شمار می‌آید و با رژیم غذایی روزانه وارد بدن شده و مقادیری نیز در بدن ساخته می‌شود. وجود کلسترول در رژیم غذایی افرادی که از بیماری هایپرکلسترولامیا رنج می‌برند، مضر است. در این پژوهش بدون استفاده از کلسترول، با استفاده از پلی(اتیلن گلیکول) و گاما اوریزانول (به عنوان فیتواسترول)، احتمال توده‌ای‌شدن و ناپایداری سامانه‌های حاوی نانولیپوزومی کاهش یافت. پلی(اتیلن گلیکول)، هم به عنوان حلال و هم مواد سطح‌فعال غیریونی پلیمری عمل کرده و در سطح لیپوزوم‌ها ممانعت فضایی ایجاد می‌کند. قرارگرفتن آن در سطح بیرونی غشای نانولیپوزوم‌ها موجب می‌شود که به عنوان مانعی فضای عمل کرده و از تماس مستقیم ساختارهای دولایه‌ای بین لیپوزوم‌ها جلوگیری کند (شکل ۳).

کاهش اندازه ذرات، راه حل دیگری برای کاهش رسوب ذرات و ایجاد ناپایداری‌ها در سامانه‌های کلوئیدی است که به کاهش سرعت تفکیک گرانشی مطابق قانون استوک مربوط است. از طرف دیگر، وقتی که ماده فعال آبگریز با ساختار مناسب، مانند گاما اوریزانول، در تماس با غشای لیپوزوم ها قرار می‌گیرند، سفتی غشای آنها در مقایسه با لیپوزوم‌های خالی افزایش می‌یابد. احتمالاً افزایش سفتی غشا منجر به عدم ادغام غشای ذرات لیپوزومی هنگام برخورد ذرات می‌شود و در نتیجه پایداری سامانه نانولیپوزومی افزایش می‌یابد (شکل ۳). نزدیکی چگالی ذرات با محیط فاز پیوسته یا افزایش گرانروی فاز پیوسته نیز در رفع مشکلات مربوط به ته‌نشینی ذرات مؤثرند.

Xia و همکاران [۱۳]، نتایج مشابهی را گزارش کرده و بیان کردند که در نانولیپوزوم‌های حاوی کوآنزیم Q10، چیدمان مولکول‌های لیپیدی منظم‌تر و ساختار دیواره فشرده‌تر بوده و لخته‌شدن و تجمع ذرات نسبت به لیپوزوم بدون کوآنزیم، کمتر است. پژوهشگران، پایداری لیپوزوم‌ها و نانولیپوزوم‌های حاوی امگا سه (تولید شده به

Archive of SID

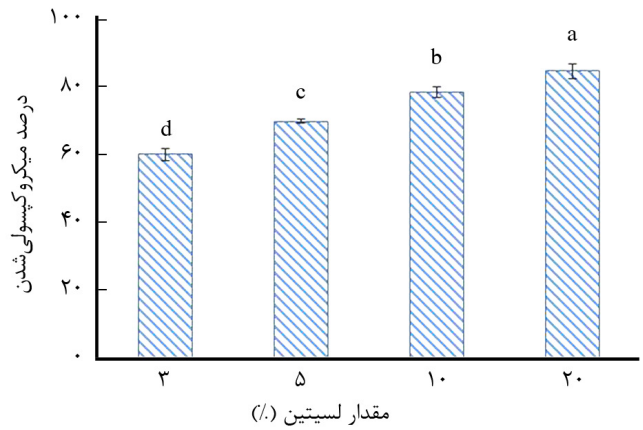


شکل ۳- ساختار لیپوزوم و قرارگیری گاما اوریزانول و پلی(اتیلن گلیکول) در غشای دولایه‌ای آن.

روش مظفری طی زمان نگه‌داری ۳۰۰-۷ روز در دمای ۴°C) را بررسی و گزارش کردند که تغییر ناچیزی در اندازه ذرات لیپوزومی و درصد میکروکپسولی‌شدن امگا سه در زمان نگه‌داری دیده شد [۱۴].

تعیین بازده میکروکپسولی‌شدن

نتایج مربوط به اثر مقادیر مختلف لسیتین ۳، ۵، ۱۰ و (w/v) ٪۲۰ بر درصد میکروکپسولی‌شدن گاما اوریزانول در شکل ۴ نشان داده شده است. نتایج آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها را در سطح ٪۵ نشان می‌دهد (p =۰/۰۰۰). با افزایش مقدار لسیتین (یا کاهش نسبت گاما اوریزانول به لسیتین)، بازده میکروکپسولی‌شدن گاما اوریزانول در نانولیپوزوم‌ها از ٪۶۰ تا ٪۸۴/۳ افزایش یافت. افزایش مقدار فسفولیپید، منجر به تولید تعداد لیپوزوم بیشتر و نیز ازدیاد حجم داخلی لیپوزوم و تمرکز بیشتر ترکیب فعال روی سطح لیپید و در نتیجه بازده بیشتر میکروکپسولی‌شدن می‌شود [۱۵].



شکل ۴- اثر تغییر مقدار لسیتین بر بازده میکروکپسولی‌شدن (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ٪۵ در آزمون دانکن است).

فسفولیپیدها به عنوان مواد زیستی غیرسمی تلقی می‌شوند، اما این نکته شایان توجه است که افزایش مقدار لیپید به‌کار برده شده در حامل‌های لیپوزومی، کارایی بدن را در هضم آن کاهش می‌دهد. بنابراین توصیه می‌شود، مقدار بارگذاری نسبت به لیپید تا حد امکان زیاد باشد، در نتیجه نمونه‌هایی با مقادیر کمتر لیپید و بازده میکروکپسولی‌شدن مناسب (مقادیر ۳ و ٪۵ لسیتین) به عنوان نمونه بهینه درنظر گرفته شدند.

در یک بررسی، Alexander و همکاران [۱۲] اثر افزایش مقدار فسفولیپید سویا را بر بازده میکروکپسولی‌شدن نانولیپوزوم‌های برپایه فسفاتیدیل کولین سویا - فیتواسترول حاوی اسید آسکوربیک بررسی کردند. آنها گزارش کردند، افزایش مقدار فسفولیپید سویا از ۱۰۰ به ۱۵۰ و سپس ۲۵۰ mg/mL موجب افزایش درصد میکروکپسولی‌شدن آسکوربیک اسید به ترتیب ۱۵/۸، ۲۱/۵ و ٪۳۲/۷ شد.

گاما اوریزانول به دلیل ماهیت چربی‌دوستی در ناحیه آبگریز غشای لیپوزوم‌ها قرار می‌گیرد. قرارگرفتن ترکیبات فعال در غشای ساختار دولایه‌ای لیپوزوم‌ها، منجر به افزایش سفتی غشا و پایداری بیشتر لیپوزوم‌ها و در نتیجه افزایش درصد میکروکپسولی‌شدن می‌شود. راستی و همکاران [۱۴]، درصد بازده میکروکپسولی‌شدن ماده فعال امگا سه را در لیپوزوم‌های تهیه شده به روش گرمایی ٪۷۳/۱۲ گزارش کردند. همچنین، طی پژوهش Xia و همکاران [۱۳]، کوآنزیم Q10 میکروکپسولی شده در وزیکول‌های نانولیپوزومی، به مقدار کمی نشت کرد و مقدار زیادی از آن طی نگه‌داری حفظ شد، زیرا نوع چیدمان ماده فعال در ساختار غشایی لیپوزوم، منجر به نظم بیشتر و کاهش سیالیت غشای لیپوزومی می‌شد.

ترکیبات چربی‌دوست در دیواره لیپیدی لیپوزوم‌ها قرار می‌گیرند و برخلاف ترکیبات آبدوست قرار گرفته در حجم داخلی وزیکول‌ها، از تجزیه هیدرولیتیکی در امان هستند. قابلیت حفظ ترکیبات آبگریز نسبت به آبدوست، هنگامی که لیپوزوم‌ها در محیط آبی یا زیستی قرار می‌گیرند، بیشتر است. دلیل آن، ضریب توزیع زیاد لیپید - آب ترکیبات آبدوست است و به علت کم‌بودن سرعت پدیده انتشار، ماده فعال چربی‌دوست از ساختار لیپوزوم نشت پیدا نمی‌کند. بنابراین، سه مزیت اصلی میکروکپسولی‌شدن ترکیبات چربی‌دوست نسبت به ترکیبات آبدوست به‌وسیله لیپوزوم‌ها را می‌توان سرعت رهایش کمتر و بازده میکروکپسولی‌شدن و پایداری شیمیایی بیشتر درنظر گرفت.

اثر زمان نگه‌داری بر بازده میکروکپسولی‌شدن با مقادیر مختلف لسیتین

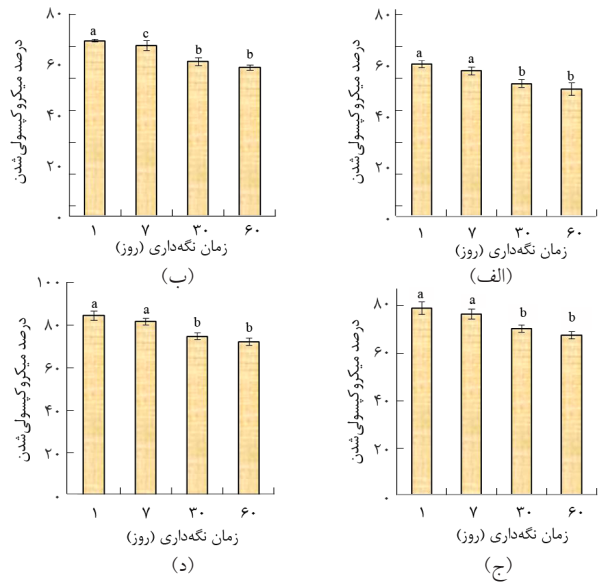
مقدار گاما اوریزانول میکروکپسولی شده در لیپوزوم‌ها در مقادیر متفاوت لسیتین ۳، ۵، ۱۰ و (w/v) ٪۲۰ و بازه‌های زمانی ۱، ۷، ۳۰ و ۶۰ روز در

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۵ نشان داده شده است. در تمام مقادیر درصد میکروکپسولی‌شدن به ترتیب طی یک ماه نگه‌داری به مقدار کمی کاهش یافت ($P < ۰/۰۵$) و به ترتیب از ۶۰/۳، ۶۹/۶، ۷۹ و ٪۸۴/۳ به ۵۲/۶، ۶۱/۳، ۷۰/۳ و ٪۷۴/۶ رسید. ولی تغییر بارزی در بازده میکروکپسولی‌شدن نمونه‌ها پس از ماه اول تا ماه دوم نگه‌داری مشاهده نشد (به ترتیب ۵۰/۳، ۵۹، ۶۷/۶ و ٪۷۲). در کل می‌توان نتیجه گرفت، تمام نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای ۴°C با گذشت زمان طولانی پایدار ماندند.

لیپوزوم‌ها از نظر ترمودینامیکی ناپایدارند. از طرف دیگر، بارهای الکتریکی سطح لیپیدهای قطبی بسیار کوچک هستند و نمی‌توانند از برخورد ذرات جلوگیری کنند. طی زمان نگه‌داری، وزیکول‌ها تمایل دارند با هم ترکیب شده، لخته و توده تشکیل دهند و رسوب کنند و در نتیجه مواد کپسولی شده از وزیکول‌ها نشت می‌کنند. پایداری نانولیپوزوم‌ها از یک طرف به نیروی دافعه ذرات (نیروی بازدارنده برخورد) و از طرف دیگر به مقدار سیالیت غشای لیپیدی مربوط است، چون سفتی غشا در جلوگیری از به‌هم پیوستگی (coalescence) ذرات مؤثر است. قرارگیری ترکیبات فعال لیپیدی در غشای لیپوزوم‌ها باعث ایجاد تعادل در سیالیت غشا شده و چیدمان مولکول‌های لیپیدی در نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیب فعال نسبت به انواع بدون آن، منظم‌تر و ساختار متراکم‌تر می‌شود. در نتیجه، از تشکیل لخته و توده‌ای‌شدن ذرات جلوگیری می‌کند و مانع انتشار ترکیبات فعال به محیط، طی نگه‌داری می‌شود. به دلیل تفاوت ناچیز در چگالی



شکل ۵- اثر زمان نگه‌داری ۱، ۷، ۳۰ و ۶۰ روز بر درصد میکروکپسولی‌شدن در مقادیر مختلف لسیتین: (الف) ٪۳، (ب) ٪۵، (ج) ٪۱۰ و (د) ٪۲۰ (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ٪۵ در آزمون دانکن است).

نانولیپوزوم‌ها و فاز پیوسته (به علت نزدیکی چگالی فسفولیپیدها و آب)، آنها ته‌نشین یا شناور نمی‌شوند و حرکت‌های براونی، لیپوزوم‌ها را به شکل معلق نگه می‌دارد. اگر فرایندهای ته‌نشینی و شناورشدن ذرات نانولیپوزومی در زمان نگه‌داری سامانه لیپوزومی رخ دهد، نمایانگر آن است که ذرات به شکل توده درآمده‌اند. مقدار و سرعت نشت ماده فعال هسته‌ای به فرمول‌بندی لیپید و ترکیب فعال بستگی دارد.

اگر ماده فعال تمایل زیادی به خروج از ساختار غشایی لیپوزومی داشته باشد، اصلاح غشای ساختار دولایه‌ای و سفت‌شدن آن منجر به حفظ آنها در لیپوزوم‌ها می‌شود [۱۶]. افزودن گاما اوریزانول و قرارگرفتن آن در ساختار دولایه‌ای لیپوزوم‌ها، از تبادل‌های غشایی جلوگیری می‌کند. همچنین، باعث کاهش نفوذپذیری غشا نسبت به حلال‌های آبدوست شده و در نتیجه باعث افزایش پایداری لیپوزوم‌ها می‌شود [۷].

در حالت بلورمایع (بیش از دمای انتقال فاز فسفولیپید)، گاما اوریزانول با محدودکردن تحرک زنجیر آسیل فسفولیپیدی، باعث افزایش سفتی غشای لیپوزومی می‌شود، ولی در حالت ژل (کمتر از دمای تبدیل فاز فسفولیپید)، افزایش تحرک این زنجیرها، منجر به کاهش دمای انتقال فاز فسفولیپید می‌شود. در حالت ژل، وجود گاما اوریزانول در ساختار غشا منجر به تضعیف نیروهای واندروالسی بین زنجیرهای هیدروکربنی اسیدهای چرب می‌شود و از بلورینگی لیپوزوم‌ها جلوگیری می‌کند. در حالت بلورمایع، نواحی سفت و صاف زنجیرها با بخش‌های آروماتیک گاما اوریزانول برهم‌کنش می‌دهد و زنجیرهای هیدروکربنی نزدیک به گروه سرقطبی فسفولیپید را به‌طور جزئی ثابت نگه می‌دارد، در حالی که سایر بخش‌های زنجیر هیدروکربنی به‌طور نسبی آزادند.

Fatouros و Antimisiaris [۱۷]، لیپوزوم‌های چندلایه‌ای تهیه شده از فسفولیپید کولین حاوی داروهای پریدنیسولون، دیازپام و گریسئوفولوین را تهیه کردند. آنها دریافتند، وجود ترکیبات آبگریز در ساختار دولایه‌ای لیپید، اثر مثبت بیشتری بر پایداری وزیکول‌ها دارد. آنها بیان کردند که وجود هر سه ترکیب فعال در غشای لیپوزومی اثر بسزایی بر حفظ ماده فعال میکروکپسولی شده در وزیکول‌ها دارد. افزون بر افزایش سفتی غشا به‌وسیله گاما اوریزانول، دلیل دیگر پایداری سامانه این است که فسفاتیدیل کولین و پلی(اتیلن گلیکول) ۴۰۰ از راه بخش‌های آبدوست، در ارتباط با هم هستند و با پیوندهای هیدروژنی به‌هم متصل می‌شوند.

در مطالعه‌ای Hua و Liu [۱۸]، با استفاده از Span 80، آب و PEG400 لیپوزوم را تولید کردند. آنها نتیجه گرفتند، با ازدیاد مقدار PEG400 برهم‌کنش بین Span 80 و PEG400 افزایش یافته و سفتی غشای لیپوزوم‌ها نیز افزایش می‌یابد. زنجیرهای پلی(اتیلن گلیکول) در ناحیه

Archive of SID

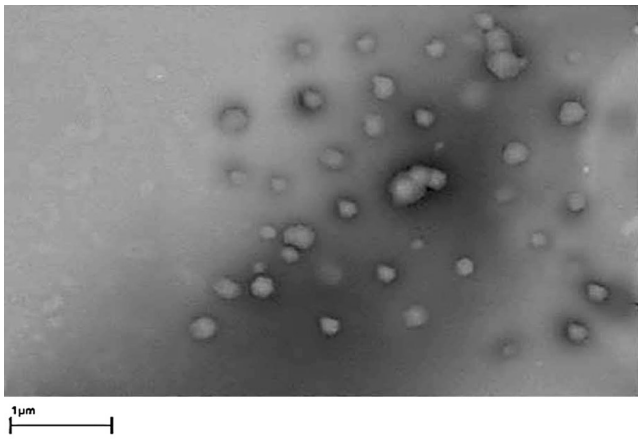
بیرونی و داخلی غشای لیپوزوم‌ها قرار می‌گیرند و ساختار دولایه‌ای غشا را منظم کرده و از نشت مواد میکروکپسولی شده جلوگیری می‌کنند. بخشی از پلی(اتیلن گلیکول)، مارپیچ مانند شده و در سطح لیپوزوم‌ها جذب می‌شود و به عنوان عامل پایدارکننده و ایجادکننده دافعه فضایی عمل می‌کند. البته افزودن در غلظت‌های بیشتر ممکن است، خاصیت آبدوستی غشا را افزایش و سفتی آن را کاهش دهد و باعث تخریب ساختار منظم لیپوزوم‌ها شود [۱۸].

میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM)

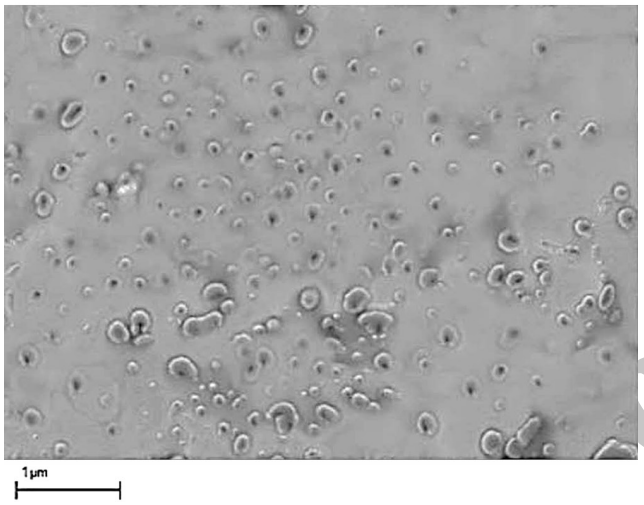
برای ارزیابی شکل نانولیپوزوم‌های تشکیل شده و اثر زمان نگه‌داری بر اندازه و توزیع اندازه ذرات، از نمونه بهینه (w/v ٪۳ لسیتین) استفاده شد. تصاویر مربوط، وجود ذرات تقریباً کروی تا بیضی را نشان داد (شکل ۶).

تصویر مربوط به نمونه الف، اثر وجود PEG400 را در فرمول‌بندی نانولیپوزوم‌ها نشان می‌دهد. احتمالاً با قرارگرفتن PEG400 در بخش آبگریز غشای لیپوزوم‌ها انعطاف‌پذیری افزایش می‌یابد. همچنین، می‌توان اثر افزودن گاما اوریزانول را در تصویر ۶-ب مشاهده کرد که ساختار گاما اوریزانول به عنوان ترکیب فعال آبگریز به‌خوبی در تماس با زنجیر فسفولیپید قرار گرفته و با میکروکپسولی‌شدن آن، سفتی غشای لیپوزومی افزایش یافته و ذرات، حالت کروی بیشتری به خود می‌گیرند. همان‌طور که در بخش پایداری گفته شد، گاما اوریزانول با تغییر در ساختار دیواره وزیکول‌ها، باعث کاهش سرعت نشت خود از وزیکول‌ها می‌شود. در تصویرهای ۶ - ب و ۶ - ج اثر زمان نگه‌داری بر توزیع اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول به ترتیب پس از ۷ و ۶۰ روز نگه‌داری در دمای ۴°C را می‌توان مشاهده کرد. اندازه ذرات پس از ۶۰ روز نگه‌داری، هنوز در حد نانومتر است.

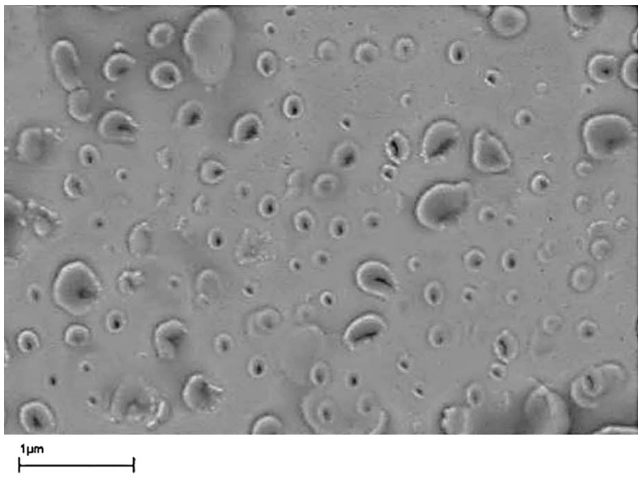
Seetapan و همکاران [۱۹]، تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی پویشی نانوذرات لیپیدی جامد حاوی گاما اوریزانول را بررسی کردند. آنها مشاهده کردند، پراکنه‌های نگه‌داری شده در دماهای ۴ و ۲۵°C به‌مدت ۶۰ روز، شکل کروی مشابهی داشتند. در مقابل، تصاویر به‌خوبی نشان داد که نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای ۴۰°C دارای ساختاری میله‌ای‌مانند هستند، که دلیل آن را به‌هم پیوستگی ذرات کروی در دماهای بیشتر نگه‌داری و ناپایداری سامانه بیان کردند. در پژوهشی [۲۰]، تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی پویشی لیپوزوم‌ها پیش و پس از افزودن پپتید (به عنوان ترکیب فعال آبدوست) مقایسه شده و تغییر در ساختار لیپوزوم مطالعه شد. در این بررسی گزارش شد، عدم چیدمان مناسب پپتیدها



(الف)



(ب)



(ج)

شکل ۶- تصاویر میکروسکوپ الکترونی پویشی: (الف) نانولیپوزوم و نانولیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول پس از (ب) ۷روز و (ج) ۶۰ روز.

Archive of SID

www.SID.ir

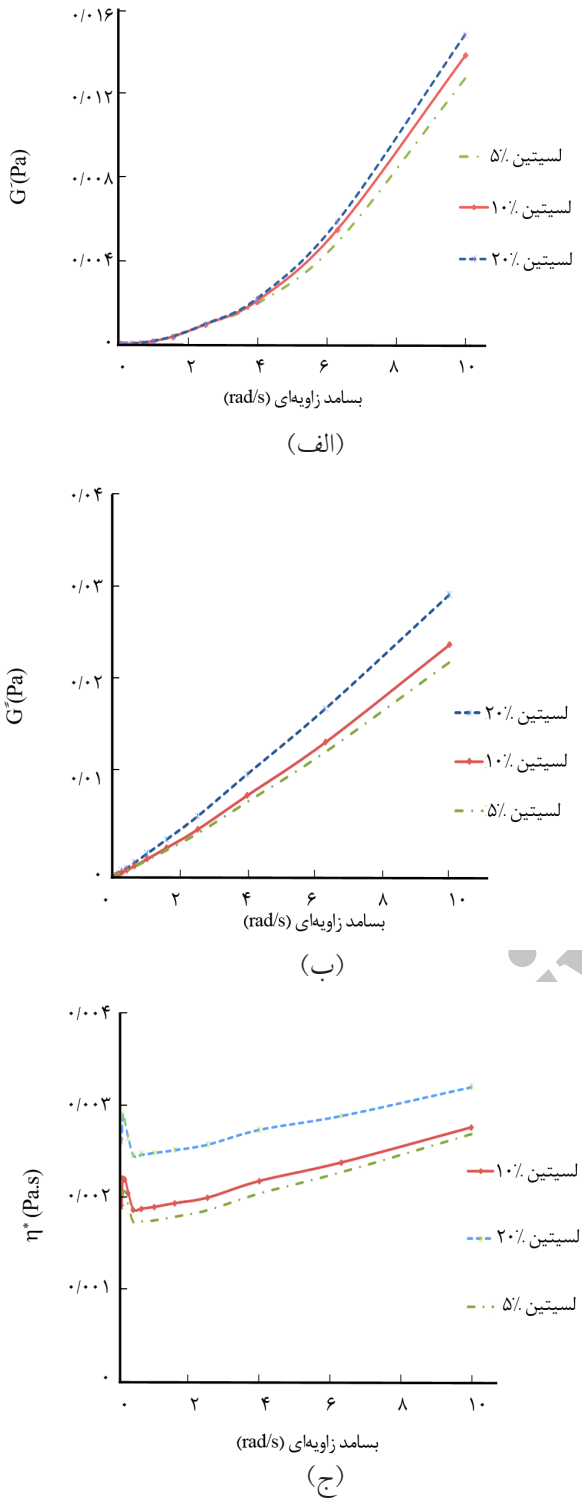
در وزیکول‌ها (به دلیل ساختار پپتید) و ایجاد ناپایداری در ساختار دولایه‌ای، منجر به افزایش سرعت رهایش آنها می‌شود.

خواص رئولوژیکی نوسانی

خواص رئولوژیکی سامانه‌های کلوئیدی حاوی نانوحامل، هم از دیدگاه حسی و هم از جنبه بررسی پایداری آنها حائز اهمیت است. به همین دلیل، آزمون پویش بسامد در دامنه نوسان تنش ثابت ۵ Pa (محدوده گرانروکشسانی خطی) و در محدوده بسامد ۱۲-۰ Hz انجام شد و تغییرات مدول ذخیره (G')، مدول اتلاف (G″) و گرانروی مختلط (η^*) پراکنه آبی نانولیپوزومی، در این محدوده بسامد ارزیابی شد.

در شکل ۷، اثر مقادیر مختلف لسیتین ۵، ۱۰ و ۲۰٪ (w/v)، بر مدول‌های گرانروکشسانی سامانه حاوی نانولیپوزوم‌ها نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در آزمون پویش بسامد نمونه‌ها، با افزایش مقدار لسیتین در هر بسامد، مدول‌های گرانروکشسانی مدول ذخیره (G') و مدول اتلاف (G″) افزایش می‌یابند و در مقدار ۲۰٪ لسیتین، هم خواص کشسانی و هم خواص گرانرو افزایش می‌یابد. مدول ذخیره مربوط به تراکم و چگالی ساختار نانوذرات تشکیل شده است و این ساختار تشکیل شده در مقادیر بیشتر لیپید، قوی‌تر است. همچنین در مقادیر بیشتر لیپید، ذرات با یکدیگر به شکل ساختار شبکه‌ای سه‌بعدی اتصال یافته و در کل سامانه گسترش می‌یابند. افزایش مقدار لیپید به‌کاربرده شده در سامانه، موجب افزایش برهم‌کنش بین ذرات لیپیدی و تشکیل ساختارهای سفت‌تر می‌شود. پس می‌توان احتمال داد، افزایش قدرت شبکه پراکنش نانوذرات لیپیدی در کسر حجمی بیشتر لیپید، به دلیل افزایش برهم‌کنش بین ذرات است. در شکل ۷ مشاهده می‌شود، گرانروی کمپلکس نمونه‌های آزمایشی با افزایش بسامد، افزایش می‌یابد. گرانروی مختلط معیاری از سفتی کلی جسم را نشان می‌دهد. با توجه به نمودارهای شکل ۸، در سامانه‌های لیپوزومی با مقادیر ۵ و ۲۰٪ لسیتین، مدول اتلاف از مدول ذخیره، بیشتر است. این موضوع نشان می‌دهد، سامانه نانولیپوزومی، رفتار شبه‌مایع بیشتری نسبت به رفتار شبه‌جامد دارد. این رفتار رئولوژیکی، به رفتار محلول‌های رقیق شباهت دارد که در آنها مقادیر مدول اتلاف از مدول ذخیره بیشتر بوده و توابع کشسان وابسته به بسامد هستند و با افزایش بسامد، مقادیر آنها افزایش می‌یابد.

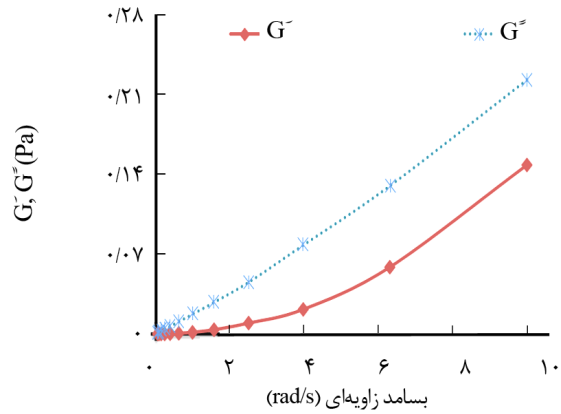
در شکل ۹، اثر زمان و دماهای نگه‌داری (۴ و ۲۵°C) بر مدول ذخیره، مدول اتلاف و گرانروی مختلط نمونه‌های با مقدار ۲۰٪ (w/v) لسیتین بررسی شده است. نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای ۲۵°C به‌مدت ۱ ماه، مدول اتلاف، مدول ذخیره و گرانروی مختلط بیشتری نسبت به نمونه نگه‌داری شده در دمای ۴°C داشتند. این نتایج اثر دمای



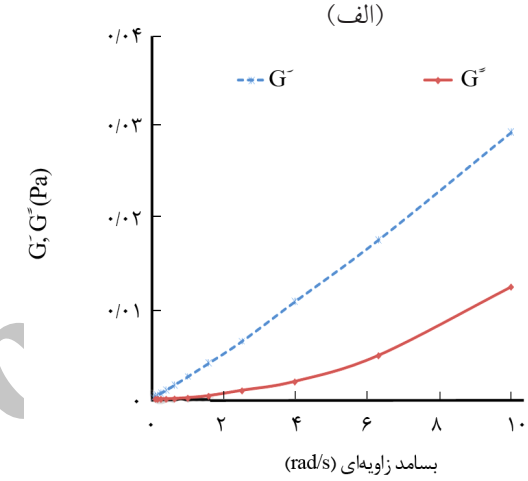
شکل ۷- اثر مقادیر مختلف لسیتین بر: (الف) مدول ذخیره، (ب) مدول اتلاف و (ج) گرانروی مختلط در تنش برشی ثابت ۵ Pa.

نگه‌داری را بر خواص فیزیکی پراکنه‌های کلوئیدی به‌خوبی نشان می‌دهد. احتمالاً به دلیل سیالیت بیشتر غشا در دمای ۲۵°C، ذرات

Archive of SID



(الف)



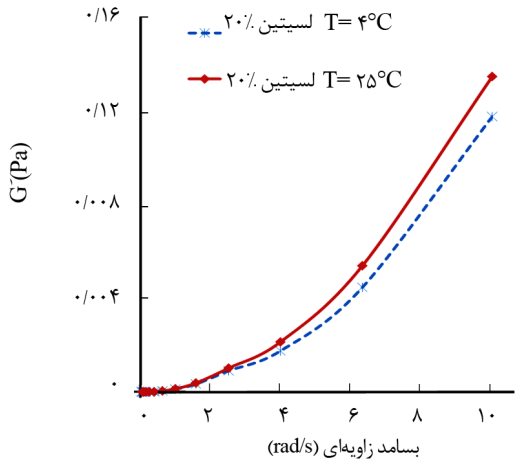
(ب)

شکل۸- مدول‌های ذخیره و اتلاف نانولیپوزوم‌ها در مقادیر: (الف) ٪۵ و (ب) ٪۲۰ لسیتین در تنش برشی ثابت ۵ Pa.

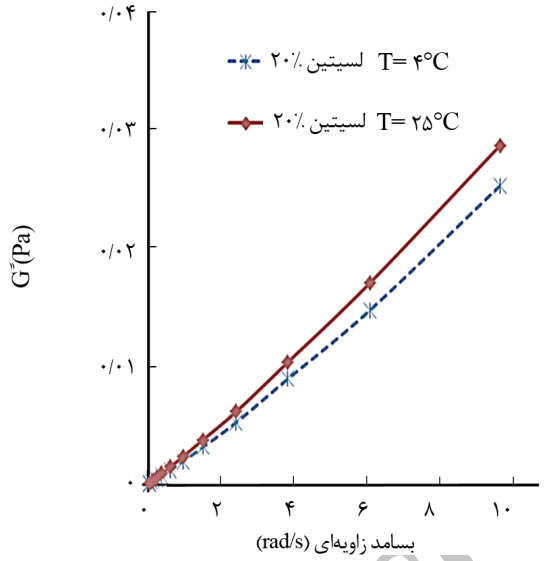
به‌هم پیوسته شده‌اند و اندازه آنها افزایش یافته است. سامانه‌های حاوی ذرات لخته شده و به‌هم پیوسته، مدول‌های اتلاف و ذخیره بیشتری نسبت به سامانه‌های حاوی ذرات لخته نشده در کسر حجمی یکسان دارند.

با توجه به شکل ۸ نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای ۴°C پس از ۱ ماه مدول‌های اتلاف و ذخیره و گرانروی مختلط تقریباً یکسانی با نمونه‌های تازه تهیه شده داشتند و می‌توان نتیجه گرفت، ذرات تجمع پیدا نکرده‌اند و تغییری در اندازه آنها ایجاد نشده و سامانه از پایداری خوبی برخوردار است.

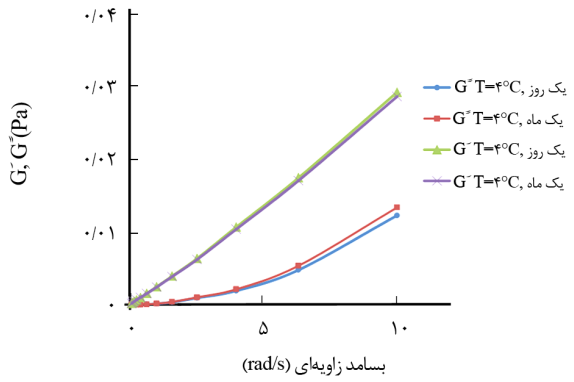
در پژوهشی مشابه، Seetapan و همکاران [۱۹]، خواص رئولوژیکی نانوذرات لیپیدی جامد را در مقادیر ۵ و ٪۲۰(w/v) لیپید مقایسه کردند. نتایج حاصل نشان داد، با افزایش مقدار لیپید، تنش تسلیم و مدول ذخیره تعادلی و زمان آسایش افزایش می‌یابد که به افزایش برخوردها و تماس‌های بین ذرات و نیز برهم‌کنش‌های تقویت‌کننده



(الف)



(ب)



(ج)

شکل۹- (الف) مدول ذخیره، (ب) مدول اتلاف برای نمونه‌های نگه‌داری شده در دماهای ۴ و ۲۵°C به مدت سی روز و (ج) مقایسه مدول‌های نمونه‌ها در روز اول و سی‌ام نگه‌داری در دمای ۴°C.

www.SID.ir

خواص کشسانی نسبت داده شدند.

نتیجه‌گیری

سامانه لیپوزومی نسبتاً پایداری با استفاده از روش گرمایی اصلاح شده تولید شد. نتایج این پژوهش نشان داد، لسیتین و گاما اوریزانول در لیپوزوم سازگاری خوبی با هم دارند و میکروکپسولی‌شدن گاما اوریزانول، افزون بر حفاظت بیشتر آن، اندازه ذرات کوچک‌تر و سامانه لیپوزومی با پایداری بیشتری به‌دست داد. همچنین، استفاده از پلی(اتیلن گلیکول) ۴۰۰ موجب افزایش پایداری سامانه، احتمالاً به دلیل افزایش نیروهای دافعه فضایی و تغییر ساختار غشا، شد. دمای ۴°C بهترین دما برای نگه‌داری سامانه لیپوزومی در این پژوهش بود.

مراجع

1. Mozafari M.R., Flanagan J., Matia-Merino L., Awati A., Omri A., Suntres Z., and Singh H., Recent Trends in Lipid-based Nanoencapsulation of Antioxidants and Their Role in Foods, *J. Sci. Food Agr.,* **86**, 2038-2045, 2006.
2. Mozafari M.R., Khosravi-Darani K., Borazan G.G., Cui J., Pardakhty A., and Yurdugul S., Encapsulation of Food Ingredients Using Nanoliposome Technology, *Int. J. Food Prop.,* **11**, 833-844, 2011.
3. Suh M.H., Yoo S.H., and Lee H.G., Antioxidative Activity and Structural Stability of Microencapsulated γ-Oryzanol in Heat-Treated Lards, *Food Chem.,* **6**, 1065-1070, 2007.
4. Mozafari M.R., Johnson C., Hotziantoniou S., and Demetzos C., Nanoliposomes and Their Applications in Food Nanotechnology, *J. Liposome Res.*, **18**, 309-327, 2008.
5. Rahimpour R. and Hamishehkar H., Liposomes in Cosmeceutics, *Expert Opin. Drug Deliv.,* **9**, 443-455, 2012.
6. Alexander M., Lopez A.A., Fang Y., and Corredig M., Incorporation of Phytosterols in Soy Phospholipids Nanoliposomes: Encapsulation Efficiency and Stability, *Food Sci. Technol.,* **47**, 427-436, 2012.
7. Viriyaroj A., Ngawhirunpat T., Sukma M., Akkaramongkolporn P., Ruktanonchai U., and Opanasopit P., Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Gamma-Oryzanol-Loaded Liposome Formulations for Topical Use, *Pharm. Develop. Technol*., **6**, 665-671, 2009.
8. Freitas C. and Muller R.H., Effect of Light and Temperature on Zeta Potential and Physical Stability in Solid Lipid Nanoparticle (SLN) Dispersions, *Int. J. Pharm.,* **168**, 221-229, 1998.
9. Xia F., Hu D., Jin H., Zhao Y., and Liang J., Preparation of Lutein Proliposomes by Supercritical Anti-Solvent Technique, *Food Hydrocolloids*, **26**, 456-463, 2012.
10. Taylor T.M., Gaysinksy S., Davidson P.M., Bruce B.D., and Weiss J., Characterization of Antimicrobial Bearing Liposomes by Zeta-Potential, Vesicle Size and Encapsulation Efficiency, *Food Biophys.,* **2**, 1-9, 2007.
11. McClements D.J., *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques,* CRC, 53-93, 2005.
12. Alexander M., Lopez A.A., Fang Y., and Corredig M., Incorporation of Phytosterols in Soy Phospholipids Nanoliposomes: Encapsulation Efficiency and Stability, *Food Sci. Technol.,* **47**, 427-436, 2012.
13. Xia S., Xu S., and Zhang X., Optimization in the Preparation of Coenzyme Q10 Nanoliposomes, *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 6358-6366, 2006.
14. Rasti B., Jinap S., Mozafari M.R., and Yazid A.M., Comparative Study of the Oxidative and Physical Stability of Liposomal and Nanoliposomal Polyunsaturated Fatty Acids Prepared with Conventional and Mozafari Methods, *Food Chem.*, **135**, 2761-2770, 2012.
15. Hwang S.Y., Kim H.K., Choo J., Seong G.H., Hien T.B.D., and Lee E.K., Effects of Operating Parameters on the Efficiency of Liposomal Encapsulation of Enzymes, *Colloid. Surface. B,* **94**, 296-303, 2012.
16. Brandl M., Lipsomes as Drug Carriers: A Technological Approach, *Biotech. Annu. Rev.*, **7**, 59-85, 2001.
17. Fatouros D.G. and Antimisiaris S.G., Effect of Amphiphilic Drugs on the Stability and Zeta-Potential of their Liposome Formulations: A Study with Prednisolone, Diazepam, and Griseofulvin, *J. Colloid. Interf. Sci.*, **251**, 271-277, 2002.

Archive of SID

18. Hua W. and Liu T., Preparation and Properties of Highly Stable Innocuous Niosome in Span 80/PEG 400/H_2O System, *Colloid. Surface.,* **302**, 377-382, 2007.
19. Seetapan N., Bejrapha P., Srinuanchai W., and Ruktanonchai R.U., Rheological and Morphological Characterizations on Physical Stability of Gamma-Oryzanol-Loaded Solid Lipid Nanoparticles (SLNs), *Micron,* **41**, 51–58, 2010.
20. Taylor T.M., Davidson P.M., Bruce B., and Weiss J., Liposomal Nanocapsules in Food Science and Agriculture, *Crit Rev. Food Sci. Nutr.*, **45**, 587-605, 2010.

Archive of SID

www.SID.ir