مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال پانزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، صفحات ۸۲-۷۱

بررسی ویژگی فیزیکی، شیمیایی و آنتی اکسیدانی نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده دانه کینوآ

یوسف صادقیان امین[۱]، علیرضا صادقی‌ماهونک[۲]، محمد قربانی[۳]، مهران اعلمی[۳]، حمید جوشقانی[۴]

۱- دانشجوی دکترای علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،گرگان، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
پست الکترونیکی:sadeghiaz@gau.ac.ir

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۴- دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی گلستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۴

چکیده

سابقه و هدف: ریزپوشانی، فرآیند قرار دادن ترکیبات در کپسول‌های کوچک می‌باشد تا محتویات خود را در سرعت کنترل شده و تحت شرایط خاص رها سازند. اخیرا، تمایل به افزودن ترکیبات عملگرا به مواد غذایی رو به افزایش است. این ترکیبات به شرایط محیطی، فرآیند و یا شرایط گوارش حساس هستند. ریزپوشانی یک انتخاب مناسب جهت حفاظت از این ترکیبات در برابر شرایط مذکور می‌باشد. نانولیپوزوم‌ها به‌علت استفاده از ترکیبات و اجزای خوراکی در فرمولاسیون خود، یکی از رایج‌ترین سیستم‌های رسانش برای ریزپوشانی، حفاظت و رهایش ترکیبات زیست فعال هستند. هدف این تحقیق بررسی ویژگی نانو لیپوزوم‌های بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده کینوآ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ویژگی نانو لیپوزوم‌های بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده کینوآ (با و بدون پوشش دهی با کیتوزان) از نظر اندازه ذرات، شاخص بس پاشیدگی، پتانسیل زتا و فعالیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH و مهار ABTS) و بازده ریز پوشانی پس از نگهداری در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت. عملیات هیدرولیز توسط آنزیم‌های پانکراتین و آلکالاز صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اندازه ذرات در نمونه کنترل با حدود ۲۲ نانومتر به ۴۰ نانومتر در نمونه بدون پوشش کیتوزان و ۷۰ نانومتر در نمونه با پوشش کیتوزان افزایش یافت. همچنین شاخص بس پاشیدگی درنمونه شماره دو (نمونه حاوی پوشش کیتوزان) نسبت به نمونه کنترل بهبود یافته و از توزیع یکنواختی برخودار شد. پتانسیل زتا از9MV-در نمونه کنترل به 4MV-و26MV در نمونه بدون پوشش دهی با کیتوزان و نمونه حاوی پوشش کیتوزان تغییر نمود. بازده ریز پوشانی پس از شش هفته نگهداری در دمای یخچال برای نمونه شماره یک (نمونه بدون پوشش دهی با کیتوزان) ۴۰ درصد و برای نمونه شماره دو (نمونه حاوی پوشش کیتوزان) ۶۵ درصد بدست آمد.

نتیجه‌گیری: ریزپوشانی پروتئین هیدرولیز شده دانه کینوآ و پوشش دهی آن با کیتوزان موجب بهبود ویژگی نانو لیپوزوم‌ها از نظر اندازه ذرات، شاخص بس پاشیدگی، پتانسیل زتا و بدنبال آن بهبود پایداری ذرات با کاهش نرخ رهایش در دوره نگهداری و حفظ درصد بیشتری از ترکیبات در ساختار نانو لیپوزم می‌شود.

واژگان کلیدی: نانو لیپوزوم، ریزپوشانی، پروتئین هیدرولیز شده، دانه کینوآ

• مقدمه

پپتیدهای زیست فعال اجزای پروتئینی خاصی هستند که در ساختار پروتئین اصلی غیرفعال هستند و به روش‌های هیدرولیز آنزیمی، تخمیر میکروبی و سنتز شیمیایی تولید می‌شوند (۱)، دارای ۲۰-۲ اسیدآمینه هستند و وزن مولکولی آنها کمتر از ۶۰۰۰ دالتون می‌باشد (۲). این پپتیدها ویژگی-های سلامتی‌بخشی متفاوتی (تقویت کنندگی سیستم ایمنی بدن، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، کاهندگی کلسترول و فعالیت ضد فشار خون) دارند که تحت تأثیر ترکیب و توالی آمینواسیدی آنهاست (۴، ۳).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

طی یک دهه گذشته، با توجه به تحقیقات متعدد، تمایل به توسعه سیستم‌های رسانش کلوئیدی بوجود آمده است. دلیل اصلی طراحی و توسعه سیستم‌های رسانش کلوئیدی غلبه بر مشکلاتی است که در راه استفاده از ترکیبات زیست فعال مثل حلالیت کم، حساسیت به تخریب شیمیایی، داشتن طعم نامطلوب یا قابلیت دسترسی بیولوژیکی کم می‌باشد. انواع مختلفی از سیستم‌های رسانش کلوئیدی تاکنون مورد استفاده قرار گرفته است که ازآن جمله میکروامولسیون‌ها، نانو امولسیون‌ها، نانو ذرات چربی جامد و لیپوزوم‌ها را می‌توان نام برد (۷-۵).

علاقه زیادی به استفاده از لیپوزوم‌ها به عنوان سیستم‌های تحویل وجود دارد، زیرا آن‌ها می‌توانند از اجزای طبیعی مانند فسفولیپید ساخته شوند. با این حال، اغلب دستیابی به بارگذاری بالا و حفظ عوامل فعال در داخل لیپوزوم‌ها مشکل است و ساختار آن‌ها اغلب بسیار شکننده است. بنابراین ایجاد سیستم‌های تحویل که پایدار بوده و شرایط سخت تولید تجاری محصول را تحمل نماید مشکل می‌باشد (۹، ۸).

نانولیپوزوم به منظور بهبود پایداری، خواص عملکردی، جذب سلولی و رهایش کنترل شده ترکیبات زیست فعال مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰). لیپوزوم ها می‌توانند هر دو اجزای هیدروفیلی و هیدروفوب را در یک گویچه منفرد حمل کنند و می‌توانند به راحتی از ترکیبات خوراکی تولید شوند (۱۱). این باعث می‌شود که لیپوزوم‌ها بتوانند هر دو نوع آمینو اسیدهای قطبی و غیر قطبی موجود در هیدرولیز شده‌های پروتئین را کپسوله نمایند. انواع مختلفی از ترکیبات زیست فعال آب-دوست شامل مولکول‌های کوچک و یون‌ها (مانند نمک‌ها، قندها و پپتیدها)، پلیمرهای زیستی (مانند پروتئین و پلی-ساکاریدها) و ذرات (مانند قطرات چربی، نانوذرات و پروبیوتیک‌ها)، می‌توانند در فاز آبی داخلی لیپوزوم‌ها گنجانده شوند. به‌طورمثال، انواع مولکول‌های زیست فعال آب‌گریز (مانند ویتامین A، D، E، کاروتنوئیدها و کوآنزیم کیو ۱۰ [1] Coenzyme Q10) و آب‌دوست (مانند ویتامین ث، آهن و کلسیم) در سیستم‌های رسانس برپایه لیپوزوم، ریزپوشانی شده‌اند (۱۳، ۱۲). ریزپوشانی آنزیم‌ها در لیپوزوم‌ها می‌تواند موجب کاهش از دست رفتن فعالیت آنزیم در شرایط شبیه-سازی شده معده شود (۱۴). همچنین، لیپوزوم‌ها می‌توانند موجب بهبود پایداری انواع ترکیبات فنولی ریزپوشانی شده شوند (۱۵).

در یک بررسی ریزپوشانی پپتیدهای حاصل از کلاژن نوعی ماهی دریایی (bream scales) با استفاده از فسفاتیدیل کولین نسبتا خالص انجام و بهترین غلظت برای فسفاتیدیل کولین و پپتید برای دستیابی به بالاترین بازده ریزپوشانی به‌ترتیب ۳/۱ درصد و ۱ mg/ml بود. بازده ریزپوشانی و پتانسیل زتا برای نمونه‌ها حدود ۷۴/۶٪ و ۴۰/۸ mV- به‌دست آمد. اندازه لیپوزوم‌ها از ۶۶ تا ۲۱۴ نانومتر با میانگین قطر ۹۰ نانومتر و شاخص بس‌پاشیدگی ۰/۲۵ تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای ریزپوشانی شده پس از ۸ روز نگهداری در دمای $^{\circ}C$ ۴ حفظ شد (۱۶). نتایج یک مطالعه نشان داد که بعد از ۵۰ روز نگهداری دردمای اتاق بیش از ۵۰ درصد اسید اسکوربیک در لیپوزم‌ها باقی ماند، در حالی که ۵۰درصد اسید اسکوربیک ریز پوشانی نشده در ۱۲ روز نگهداری از بین رفت (۱۷).یک بررسی نشان داد که نانو لیپوزم پپتیدهای بادام زمینی سبب پایداری ذرات به عوامل محیطی شده و از تجمع و تشکیل لخته (توده) پپتیدی ممانعت به عمل می‌آورد (۱۸). پوشش دهی سطح لیپوزوم با کیتوزان می تواند پایداری آن را افزایش دهد (۲۲-۱۹). Zhou و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که با افزودن کیتوزان اندازه ذرات افزایش می‌یابد و بازده ریز پوشانی رابطه مستقیم با غلظت کیتوزان داشته و بهبود می یابد. نرخ رهایش در حضورکیتوزان افزایش یافته و میزان آن با افزایش غلظت کیتوزان افزایش می‌یابد (۲۳). همچنین درغلظت مناسب کیتوزان اندازه ذرات افزایش و پتانسیل زتا از مقدار منفی به مقدار مثبت افزایش می‌یابد (۲۱، ۲۴). Ramezanzade و همکاران (۲۰۱۷) اثر ریزپوشانی پپتیدهای زیست فعال حاصل از هیدرولیز آنزیمی پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (Rainbow trout) را در ساختار لیپوزوم پوشش‌دهی شده با پلیمرهای زیستی بررسی کردند. در این تحقیق، میانگین اندازه ذرات نانووزیکول‌های لیپوزومی بارگیری شده با پپتیدهای آنتی‌اکسیدان بین ۲۳۴- ۱۶۳ نانومتر متغیر بود. همچنین، شاخص بس‌پاشیدگی (PDI) نانوحامل‌های کم‌تر از ۰/۵ بود. علاوه بر این، پتانسیل زتا از ۳/۹ mV+ در لیپوزوم‌های پوشش‌دهی نشده به ۴۵/۵ mV+ در نمونه‌های پوشش‌دهی شده تغییر کرد. طیف‌سنجی FTIR حاکی از واکنش‌های الکترواستاتیک و پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های سر فسفولیپیدی و گروه‌های آمین کیتوزان بود. بازده ریزپوشانی در نانولیپوزوم‌های حاوی پپتید آنتی‌اکسیدان (غلظت ۲ mg/ml) پوشش‌دهی شده با (W/V) ۰/۴% کیتوزان در بالاترین مقدار ۸۰/۲% نسبت به سایر تیمارها بدست آمد. لیپوزوم‌های پوشش‌دهی شده پایداری بیشتری به رهایش ترکیبات پپتیدی در شرایط آزمایشگاهی از خود نشان دادند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

شده با کیتوزان با حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از قابلیت بالایی برای غنی‌سازی و استفاده در تولید انواع محصولات غذایی و دارویی برخوردارند (۲۱). گزارش شده است که بارگیری هیدرولیز شده‌های پروتئین ژلاتین پوست ماهی به شکل نانو لیپوزم با و بدون پوشش تأثیری بر فعالیت مهار رادیکال آزادDPPH و ABTS ندارد (۲۵) دریک مطالعه گزارش گردید که کورکومین لیپوزوم شده پایداری بیشتر و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH بالاتری از کورکورمین غیرلیپوزمی دارد (۲۶).

هدف از این مطالعه ارزیابی ویژگی‌های نانو لیپوزم‌های حاوی هیدرولیز شده‌های پروتئین دانه کینوآ، تأثیر پوشش دهی با کیتوزان بر این ویژگی ها وتعیین پایداری پس از نگهداری در دمای۴°C می باشد.

• مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده: اتانول، سود، اسیدکلریدریک، پتاسیم کلراید، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، اسید فسفریک (مرک، آلمان) در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین، فسفولیپید (آلکیل - ال- آلفا- فسفاتیدیل کولین) به‌دست آمده از لستین گاوی به صورت پودر لیوفیلیزه با درجهٔ خلوص بیشتر از ۹۹٪ با نام تجاری Lipoid (سیگما، آلمان) تهیه شد. تری‌کلرواستیک اسید (TCA)، کوماسی بلو (G250)، DPPH، ABTS، پتاسیم پرسولفات، ترولوکس، پتاسیم فری‌سیانید، فریک کلراید، آلفا-داکسی ریبوز، سولفات آهن، EDTA، پراکسید هیدروژن، دی‌کلرید آهن، فروزین، سولفات مس، پیریدین، پیروکاتکول ویولت، تیوباربیتوریک اسید (TBA)، سدیم دودسیل سولفات (SDS) از شرکت سیگما خریداری شدند.

روش‌ها

هیدرولیز پروتئین استخراج شده ازدانه کینوآ: برای فرآیند هیدرولیز آنزیمی، پروتئین استخراج شده دانه کینوآ را در غلظت ۵ درصد وزنی – حجمی در بافر فسفات ۰/۲ M (pH=۷/۴) حل نموده و امکان هیدراته شدن کامل آن در حین هم‌زدن مداوم به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط مهیا شد. سپس آنزیم پانکراتین و آلکالاز به‌طور مجزا در نسبت آنزیم به سوبسترا ۲/۵ درصد وزنی - وزنی به سوسپانسیون پروتئین افزوده شد. دمای واکنش برای پانکراتین C °۴۰و برای آلکالازC °۵۰ و در مقدار pHهای به‌ترتیب ۷/۴ و ۸ در مقدار بهینه فعالیت هر آنزیم ثابت نگه‌داشته شدند. زمان واکنش در شرایط هم‌زدن مداوم با دور ۲۰۰rpm، ۲۵۰دقیقه در نظر گرفته شد. برای غیرفعال کردن فعالیت آنزیم، محیط واکنش در حمام آبC °۹۰ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس محلول تا دمای محیط خنک گردید و در دور ۵۰۰۰rpm به مدت۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سوپرناتانت جدا، به روش انجمادی خشک شد و تا زمان استفاده در دمایC °۲۰- نگهداری گردید (۲۷).

تعیین درجه هیدرولیز: سوسپانسیون پروتئین هیدرولیز شده و اسید تری کلرواستیک ۱۰ درصد در نسبت حجمی ۱:۱ مخلوط و به مدت min ۱۵ در دمای C° ۴ انکوبه شد. سپس، مخلوط در rpm۱۰۰۰۰ و به مدت min ۱۰ سانتریفوژ شد. مقدار پروتئین موجود در سوپرناتانت با روش بردفورد (۱۹۷۶) تعیین گردید. در نهایت، درجه هیدرولیز بر حسب مقدار پروتئین موجود در سوپرناتانت حاوی TCA به پروتئین موجود در سوسپانسیون (پس از رقیق‌سازی با آب مقطر به حجم مساوی) و بر حسب درصد محاسبه شد.

بارگیری پروتئین هیدرولیزشده دانه کینوآ در نانولیپوزوم‌ها: لیپوزوم با استفاده از روش هیدراسیون لایه نازک و بر اساس روش تشریح شده توسط Liu و همکاران (۲۸) با اندکی تغییرات تولید گردید. فرآیند تولید لیپوزوم شامل انحلال لیستین سویا و کلسترول به نسبت ۹ به ۱ در ۱۰ml اتانول مطلق بود. فرآیند تبخیر و تشکیل فیلم نازک در انتهای بالن ته‌گرد با استفاده از اواپراتور چرخان با دور rpm ۶۰ در دمایC° ۶۰ انجام گرفت. بالن مدور برای اطمینان از حذف کامل حلال، به‌مدت ۱۲ تا ۱۸ ساعت در دسیکاتور و در دمای محیط نگهداری شد. سپس فیلم لیپیدی خشک شده با بافرفسفات نمکی (pH 7.4) به‌مدت1min با استفاده از ورتکس مجددا هیدراته گردید. سپس mg/ml ۱۰ پروتئین هیدرولیزشده دانه کینوآ با درجه هیدرولیز ۲۰/۲۱ درصد به محلول حاصل افزوده و با استفاده از روتاری در دمایC° ۶۰ به‌مدت2min هم‌زده و به‌مدت min ۲ در دمای محیط هم‌زده و خنک شد. فرآیند هم‌زدن در ۳ مرتبه تکرار گردید. نهایتا محلول حاصل برای ۱۰ مرحله و در هر مرحله به‌مدت min ۱ به‌صورت متناوب تحت پروب فراصوت (توان ۷۰٪ و سیکل ۰/۵) قرار گرفت. برای جلوگیری از افزایش دما، فرآیند فراصوت در شرایط نگهداری نانولیپوزوم در آب سرد انجام گرفت. درنهایت نانولیپوزوم تولید شده با غلظت لیپید (لیستین و کلسترول) mg/ml ۱۰ تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال نگهداری شد.

پوشش‌دهی نانولیپوزوم‌ها با کیتوزان: برای تعیین مناسب ترین غلظت کیتوزان با آزمون و خطای اولیه غلظت‌های مختلف از کیتوزان (۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ درصد w/v) مورد بررسی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

قرار گرفت.در غلظت ۰/۱ و ۰/۴ کیتوزان ناپایداری سیستم و عدم یکنواختی ذرات و پتانسیل زتا ملاحظه گردید. نتایج مشابهی در تحقیق Liu و همکاران (۲۹) گزارش شده است. از این جهت در این تحقیق، نسبت ۰/۲ درصد کیتوزان که موجب تولید سیستم شفاف و پایدار شد برای انجام آزمون‌های بعدی انتخاب گردید. کیتوزان در غلظت ۰/۲ %(w/v) در محلول اسیداستیک% ۱ گلاسیال به‌مدت ۲۴ ساعت حل و همزده شد. سپس حجم یکسانی از این محلول کیتوزان به آرامی و به‌صورت قطره قطره به محلول نانولیپوزوم ضمن هم-زدن افزوده شد. نمونه پس از پوشش‌دهی به یخچال منتقل شد. در پایان آماده سازی سه نمونه مختلف شامل نمونه نانو لیپوزوم فاقد پروتئین هیدرولیز شده، نمونه نانو لیپوزم بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده کینوا و نمونه نانولیپوزوم بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده کینوآ و حاوی پوشش کیتوزان بدست آمد.

تعیین اندازه ذرات، شاخص‌بس‌پاشیدگی و پتانسیل زتا: برای این منظور، هریک از نمونه‌ها نخست با استفاده از بافر فسفات نمکی (PBS) به نسبت ۱:۱۰ رقیق شدند. اندازه ذرات (به‌صورت Z- میانگین (Z-average) و شاخص بس‌پاشیدگی آن‌ها با طیف سنجی همبستگی فوتونی به‌وسیله دستگاه زتا سایزر (نانوسایزر ۳۰۰۰، شرکت Malvern، انگلستان در زاویه ۹۰° و دمای۲۵ °C در داخل سل مخصوص دستگاه با عرض ۰/۰۱ متر اندازه‌گیری شد. همچنین بار الکتریکی نانولیپوزوم‌ها (به‌صورت پتانسیل زتا)، هدایت الکتریکی ویژه و جنبش الکتروفورزی با استفاده از همین دستگاه اندازه‌گیری شد.

بازده ریزپوشانی: بازده ریزپوشانی پپتیدهای حاصل از هیدرولیز آنزیمی پروتئین کینوآ با استفاده از روش Liu و همکاران (۲۹) با مقداری اصلاحات انجام گرفت. بدین شکل که برای تعیین مقدار پپتیدهای ریزپوشانی نشده در ساختار لیپوزوم (پروتئین‌های آزاد)، مقدار ۱ml از نانولیپوزوم تهیه شده با روش سانتریفوژ با استفاده از فیلتر آمیکون (با وزن مولکولی عبوری ۱۰ کیلودالتون) منتقل و به مدت ۱۰min در دور ۳۵۰۰ rpm سانتریفوژ شد. محلول عبور کرده از فیلتر برای تعیین میزان پروتئین‌های بارگیری نشده یا آزاد به روش بردفورد (۱۹۷۶) مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت بازده و کارایی درون‌پوشانی هیدرولیزشده‌ها با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\text{کارایی درون‌پوشانی} = \frac{\text{مقدار پروتئین کل} - \text{مقدار پروتئین بارگیری نشده}}{\text{مقدار پروتئین کل}} \times ۱۰۰$$

اثر نگهداری در دمای یخچال بر پایداری و بازده ریزپوشانی ترکیبات بارگیری شده: برای تعیین اثر نگهداری در دمای یخچال (۴ °C)، از هر نمونه مقدار ۲ml به میکروتیوب منتقل؛ سپس به مدت ۶ هفته در شرایط فوق نگهداری شد. سپس مقدار تغییر در اندازه ذرات و بازده ریزپوشانی مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۹).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: با هدف ارزیابی فعالیت آنتی-اکسیدانی نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های کینوآ در طول فرآیند تولید، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی نانوحامل‌ها مورد بررسی قرار گرفت. قبل از انجام هر یک از آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی، هر یک از نمونه‌های نانولیپوزومی به‌مدت ۵min جهت رهایش کامل ترکیبات درون پوشانی شده در حمام آب ۱۰۰ °Cدرجه قرا گرفت (۱۶).

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH: درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از روشWu و همکاران (۳۰) با کمی اصلاحات تعیین گردید. ابتدا نمونه ها در آب مقطر (با غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) حل شدند. سپس، ۱/۵ml از هر نمونه با ۱/۵ml از محلول اتانولی DPPH (۰/۱۵mM) مخلوط و به‌مدت ۲۰ ثانیه عمل ورتکس انجام شد. سپس، مخلوط حاصل در ۲۵۰۰rpm به‌مدت ۱۰min سانتریفوژ و به‌مدت ۲۰min در تاریکی نگهداری شد. جذب محلول رویی در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$I\ (\%) = [A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}] \times 100$$

در اینجا A_{blank} جذب کنترل (حجم یکسانی از آب مقطر به جای محلول نمونه با محلول DPPH مخلوط می‌شود) A_{sample} جذب نمونه می‌باشند.

فعالیت مهار رادیکال ABTS: فعالیت مهار رادیکال ABTS نمونه‌ها با استفاده از روش تشریح شده توسط You و همکاران (۳۱) با کمی اصلاحات تعیین گردید. محلول رادیکال $ABTS^+$ با ترکیب نسبت حجمی یکسانی از ABTS در غلظت ۷ و۲/۴۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات تهیه گردید. مخلوط در تاریکی و در دمای محیط به‌مدت ۱۶-۱۲ ساعت قبل از مصرف قرار داده شد. در این مدت، اکسیداسیون و تولید رادیکال $ABTS^+$ به وسیله پتاسیم پرسولفات انجام گرفتد. قبل از آزمون، محلول $ABTS^+$ با استفاده از (۰/۲M،PH۷/۴) PBS تا جذب ۰/۰۲ ± ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر رقیق شد. سپس ۴۰ میکرو لیتر از هر نمونه (با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۴ml محلول رقیق شده $ABTS^+$ افزوده شد. مخلوط برای ۳۰ ثانیه به‌شدت هم‌زده شد و به‌مدت ۶ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. جذب

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

محلول نهایی در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با واکنش ۴۰ میکرو لیترترولوکس (میکرومولار ۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰، ۵۰) با ۴ml محلول رقیق شده $ABTS^{+}$ تهیه شد. درصد مهار رادیکال $ABTS^{+}$ نمونه‌ها بر اساس معادله زیر محاسبه گردید. همچنین، فعالیت مهار رادیکال $ABTS^{+}$ بر اساس منحنی استاندارد ترولوکس، به‌صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس (میلی‌مولار TEAC,) بیان گردید.

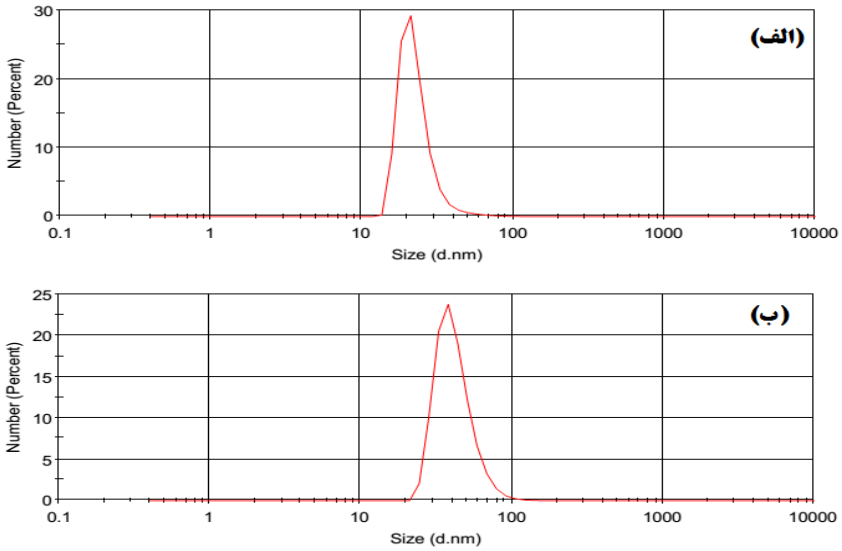
$$AA\ (\%) = [A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}] \times 100$$

در اینجا، A_{blank} (جذب نمونه کنترل فاقد ترکیب فعال) و A_{sample} (جذب نمونه کازئین هیدرولیز شده) هستند.

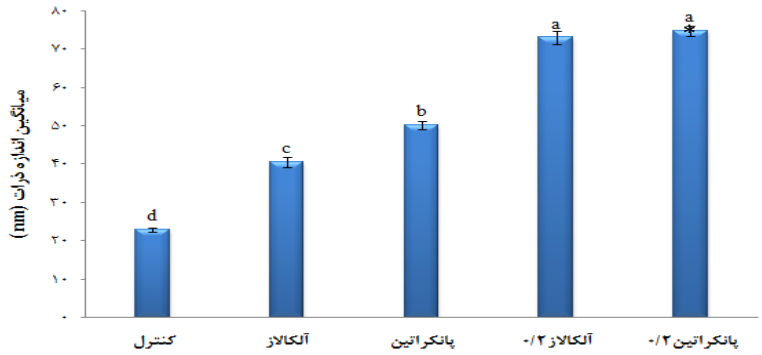
تجزیه و تحلیل آماری: در این پژوهش، ویژگی نانو لیپوزوم بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده کینوآ و نانولیپوزوم بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده کینوآ حاوی پوشش کیتوزان با کاربرد آنالیز واریانس یک طرفه و استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد ارزیابی قرار گرفت تا فاکتورهای مؤثر از لحاظ آماری شناسایی شوند.کلیه آزمون‌ها در ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن اثر متغیرها در ($p<۰/۰۵$) انجام گردید.

• یافته‌ها

اندازه ذرات: با توجه به شکل ۱ و ۲ میانگین اندازه ذرات نانولیپوزوم خالی، بارگیری شده با پروتئین هیدرولیزشده دانه کینوآ با آنزیم آلکالاز و پانکراتین و همچنین نانوذرات پوشش‌دهی شده با کیتوزان را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از افزایش اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها از حدود ۲۲ نانومتر به‌ترتیب به ۴۰ و ۵۰ نانومتر پس از بارگیری با هیدرولیزشده‌های آلکالاز و پانکراتین بودند.



شکل ۱. نمودار DLS تغییر در اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های کینوآ (الف) قبل از پوشش‌دهی و (ب) پس از پوشش‌دهی با کیتوزان



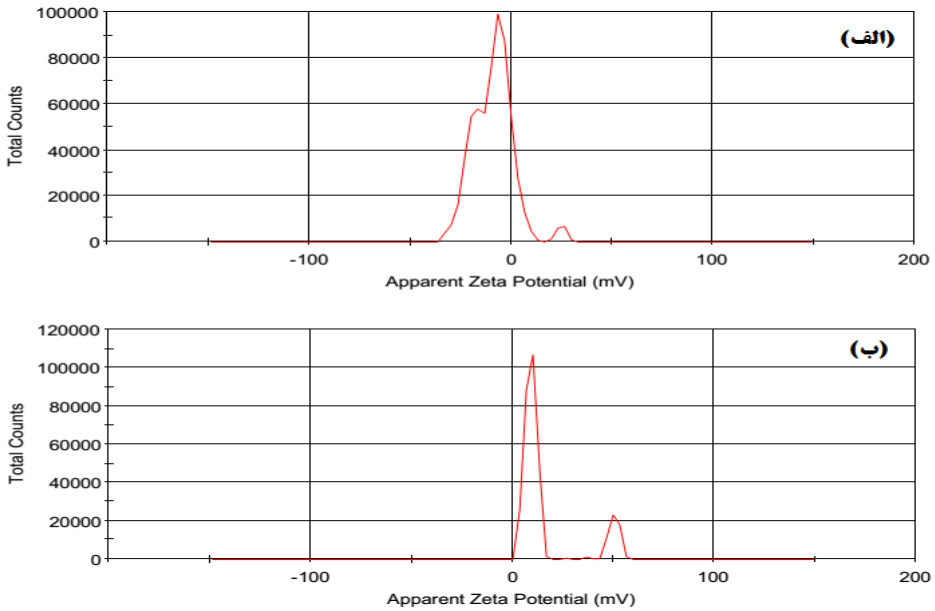
شکل ۲. میانگین اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی شده با کیتوزان ۰/۲ درصد و بدون پوشش بارگیری شده با پروتئین هیدرولیزشده‌ای کینوآ

*میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشند.

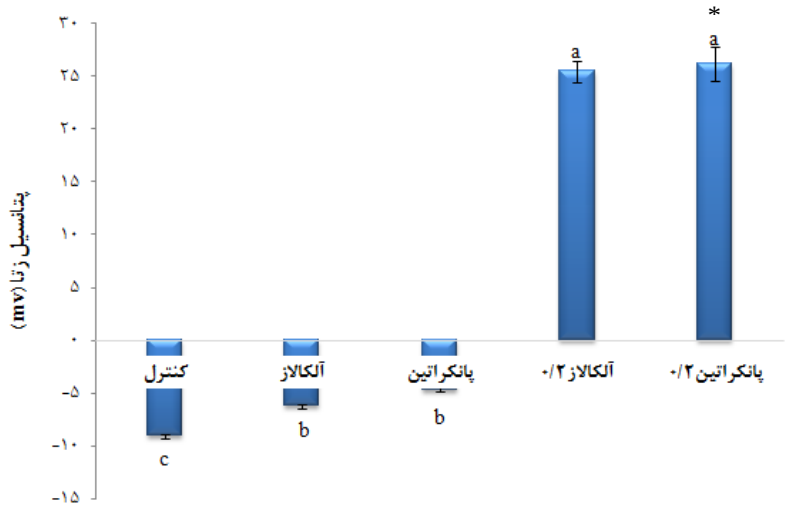
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

شاخص بس‌پاشیدگی: مقدار این شاخص در نانوذرات بین ۰/۴۲-۰/۲۵ متغیر بود و پس از پوشش‌دهی نانوذرات به مقدار اندکی بر این شاخص افزوده شد. مقادیر بس‌پاشیدگی نانوذرات در این مطالعه حاکی از تولید سیستم یکنواخت و توزیع اندازه ذرات همگن بود.

ارزیابی پتانسیل زتا: نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌دهنده اثر بارگیری پروتئین هیدرولیزشده دانه کینوآ و همچنین پوشش‌دهی نانوذرات با استفاده از کیتوزان بر پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌ها بود. مقدار پتانسیل زتای نانولیپوزوم بدون بارگیری پروتئین هیدرولیز شده کینوآ دارای مقادیر منفی بود. مقدار این شاخص در نانولیپوزوم‌های خالی پس از بارگیری با هیدرولیزشده‌های پانکراتین و آلکالاز از ۹- mV به حدود ۴- mV به سمت مقادیر مثبت تغییر یافت.همچنین در این تحقیق، مقدار پتانسیل زتای نانوذرات پس از پوشش‌دهی با کیتوزان به سمت مقادیر مثبت تغییر پیدا کرد. به‌طوری که پتانسیل زتای نانوذرات بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های هر دو آنزیم پس از پوشش‌دهی با کیتوزان از ۴- mV به ۲۶ mV افزایش یافت.



شکل ۳. نمودار DLS تغییر در پتانسل زتای نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با پروتئین هیدرولیزشده‌ای دانه کینوآ (الف) قبل از پوشش‌دهی و (ب) پس از پوشش‌دهی با کیتوزان

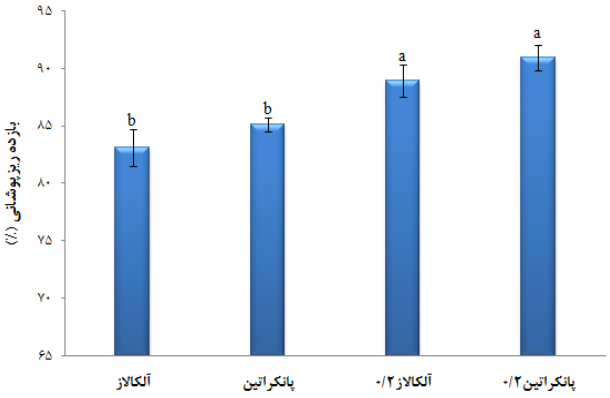


شکل ۴. پتانسل زتای نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی شده با کیتوزان ۰/۲ درصد و بدون پوشش بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های کینوآ

*میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح $p<0/05$ می‌باشند.

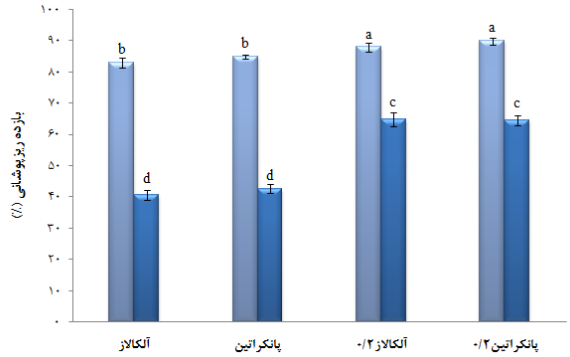
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

بازده ریزپوشانی: در این تحقیق، اثر نوع پپتیدهای بارگیری شده درون نانولیپوزوم‌ها و پوشش‌دهی نانوذرات بر بازده ریزپوشانی ارزیابی شد. نتایج نشان دادند که مقدار این شاخص بین ۹۰-۸۳٪ متغیر بود. بدین شکل که تفاوتی در بازده ریزپوشانی بین نوع هیدرولیزشده‌ها وجود نداشت اما پوشش-دهی نانوذرات با کیتوزان با ممانعت از خروج ترکیبات از غشای لیپوزومی در مراحل اولیه نگهداری منجر به افزایش این مقدار شد.



شکل ۵. بازده ریزپوشانی نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی با کیتوزان ۰/۲ درصد و فاقد پوشش بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های کینوآ

*میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشند.



شکل ۶. تغییر بازده ریزپوشانی نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی با کیتوزان ۰/۲ درصد و فاقد پوشش بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های کینوآ پس از ۶ هفته نگهداری در دمای یخچال

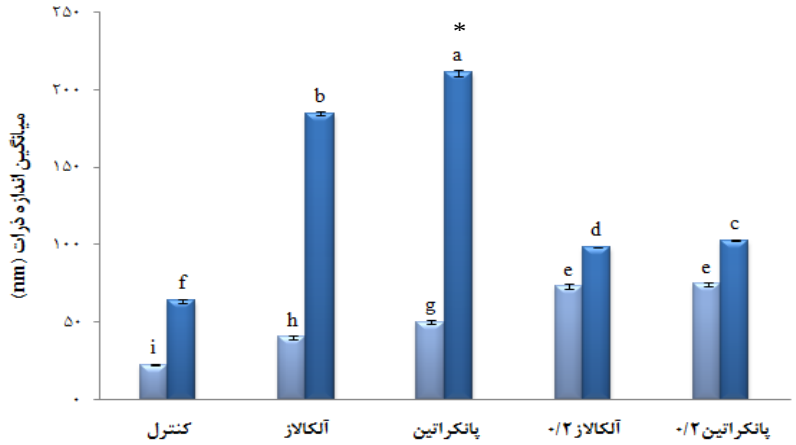
*میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح $p<۰/۰۵$ می‌باشند.

اثر نگهداری در دمای یخچال بر حفظ بازده ریزپوشانی ترکیبات بارگیری شده: در این تحقیق، اثر نگهداری نانولیپوزوم‌ها بر رهایش ترکیبات بارگیری شده پس از ۶ هفته نگهداری در دمای یخچال بررسی شد. همچنین، تأثیر فرآیند پوشش‌دهی نانوذرات با کیتوزان بر تغییر در رهایش ترکیبات و بازده ریزپوشانی ارزیابی گردید. نتایج حاکی از این بودند که بیش از ۵۰٪ ترکیبات بارگیری شده (بازده اولیه ریزپوشانی) پس از ۶ هفته نگهداری از ساختار نانولیپوزوم‌ها خارج شدند. در حالی‌که پوشش‌دهی نانوذرات به شکل قابل ملاحظه‌ای موجب کاهش نرخ رهایش ترکیبات بارگیری شده و حفظ درصد بیشتری از ترکیبات در ساختار نانولیپوزوم‌ها گردید. به-طور مثال، پوشش‌دهی نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با پپتیدهای حاصل از آلکالاز موجب حفظ حدود ۶۵٪ از بازده اولیه ریزپوشانی پس از نگهداری شد. درحالی‌که این مقدار برای ذرات فاقد پوشش به حدود ۴۰٪ رسید.

اثر نگهداری در دمای یخچال بر اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها: نتایج تحقیق حاضر نشان از تغییر قابل ملاحظه در مقدار این شاخص پس از ۶ هفته نگهداری بود. در بین نمونه‌های تولید شده، کم‌ترین تغییر در اندازه ذرات و بیشترین پایداری مربوط به نمونه نانولیپوزوم بارگیری نشده با ماده فعال بود. این نتایج نشان دهنده اثر ماده فعال و واکنش تخریبی آن در سیستم است که منجر به ناپایداری ساختار لیپوزومی و تغییرات گسترده در اندازه ذرات می‌شود. میانگین اندازه ذرات در نانولیپوزوم‌های فاقد پوشش بارگیری شده پس از ۶ هفته نگهداری به حدود ۴ تا ۵ برابر اندازه اولیه افزایش یافت. اما پوشش‌دهی نانوذرات به شکل قابل توجهی موجب بهبود پایداری سیستم در طول زمان نگهداری شد. به‌طور مثال، میانگین اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با هیدرولیزشده پانکراتین و پوشش‌دهی شده با کیتوزان از ۷۴ نانومتر به ۱۰۲ نانومتر پس از ۶ هفته تغییر کرد. این در حالی بود که اندازه ذرات در نانولیپوزوم‌های فاقد پوشش بارگیری شده با هیدرولیزشده پانکراتین از ۵۰ نانومتر به حدود ۲۱۱ نانومتر پس از نگهداری افزایش یافت.

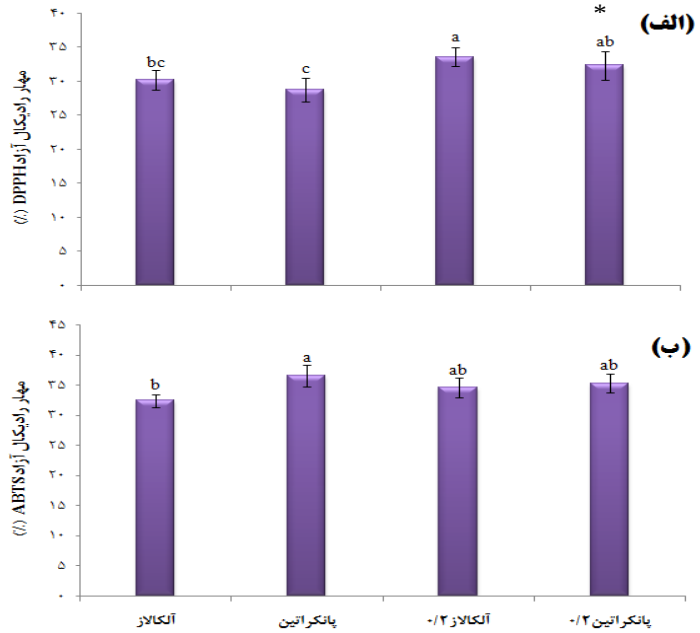
فعالیت آنتی اکسیدانی: در این تحقیق اثر ریزپوشانی و فرآیند پوشش‌دهی با کیتوزان بر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS پروتئین‌های هیدرولیز شده کینوآ بررسی شد. مطابق با شکل ۸ در فعالیت مهار رادیکال DPPH تنها تفاوت معنادار بین نمونه‌های فاقد پوشش و دارای پوشش در پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز مشاهده گردید. بین نمونه‌های فاقد پوشش بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده با آنزیم آلکالاز یا پانکراتین، بین نمونه‌های با پوشش بارگیری شده با پروتئین هیدرولیزشده با آنزیم آلکالاز یا پانکراتین، و بین نمونه‌های فاقد پوشش و با پوشش بارگیری شده با پروتئین هیدرولیز شده پانکراتین تفاوت معناداری مشاهده نشد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]



شکل ۷. تغییر اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی با کیتوزان ۰/۲ درصد و فاقد پوشش بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های کینوآ پس از ۶ هفته نگهداری در دمای یخچال

* میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ می‌باشند.



شکل۸. ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH (الف) و مهار رادیکال آزاد ABTS (ب) در نانولیپوزوم‌های پوشش‌دهی با کیتوزان ۰/۲ درصد و فاقد پوشش بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های مختلف

* میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح p<۰/۰۵ می‌باشند.

• بحث

تفاوت در اندازه نانولیپوزوم‌های بارگیری شده را می‌توان به اثر احتمالی درجه هیدرولیز پپتیدها و تولید پپتیدهای با وزن مولکولی و اندازه کمتر در نمونه‌های حاصل از فعالیت آلکالاز نسبت به پانکراتین نسبت داد. از سوی دیگر، پوشش‌دهی نانولیپوزوم‌ها با کیتوزان نیز موجب افزایش اندازه ذرات شد. Henriksen و همکاران (۳۲) علت این امر را پیوست موفقیت آمیز کیتوزان به سطح لیپوزوم دانستند. به‌طورمثال، اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های آلکالاز از حدود ۴۰ نانومتر به ۷۳ نانومتر پس از پوشش‌دهی افزایش یافت. این یافته به علت ایجاد لایه‌ای از کیتوزان بر غشای خارجی لیپوزوم‌ها و افزایش ضخامت و اندازه‌ها آن‌ها است.

شاخص بس پاشیدگی به‌عنوان شاخص دیگری از یکنواختی سیستم کلوئیدی شناخته می شود.. مقادیر بالای این شاخص نشان دهنده توزیع اندازه ذرات گسترده و حاکی از وجود ذرات و توده‌های درشت و غیریکنواخت در سیستم است (۳۳). ریزپوشانی پپتیدهای حاصل از کلاژن نوعی ماهی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

دریایی (Bream scales) با استفاده از نانوحامل‌های لیپوزومی (با استفاده از فسفاتیدیل کولین نسبتا خالص) انجام گرفت. اندازه ذرات لیپوزوم‌ها از ۶۶ تا ۲۱۴ نانومتر با میانگین قطر ۹۰ نانومتر و شاخص بس‌پاشیدگی ۰/۲۵ (که نشان‌دهنده شاخص بس‌پاشیدگی پائین در لیپوزوم است) تعیین شد (۱۶). Zavareze و همکاران (۳۴) هیدرولیز و تولید پپتیدهای آنتی-اکسیدان حاصل از عضله و محصولات جانبی ماهی کروکر سفید را با آنزیم فلوورزایم انجام دادند. پپتیدهای آنتی-اکسیدان حاصل در فسفاتیدیل کولین به‌عنوان ماده دیواره کپسول در ساختار لیپوزوم، ریزپوشانی شدند. اندازه ذرات در نمونه شاهد (فاقد هیدرولیزشده) و نمونه حاوی هیدرولیزشده عضله و محصولات جانبی آن به ترتیب ۲۰۸، ۲۶۶ و ۲۶۳ نانومتر به‌دست آمد که نشان‌دهنده افزایش اندازه ذرات در نتیجه بارگیری ماده فعال در ساختار لیپوزوم است. همچنین، شاخص بس‌پاشیدگی برای این نانوحامل‌ها به‌ترتیب در محدوده ۰/۲۲۸، ۰/۲۹۸ و ۰/۱۹۷ حاصل شد.

پتانسیل زتا تعیین کننده خصوصیات الکترواستاتیک نانولیپوزوم‌ها است که نمایانگر بار کلی ذره در یک محیط مایع و شاخص مفیدی از بار سطحی ذرات و نیروهای دافعهٔ کلوئیدی میان آن‌ها و پایداری فیزیکی سیستم‌های نانوحامل است. علت تغییر مقادیر پتانسیل زتا را می‌توان به قرارگرفتن بخشی از هیدرولیزشده‌ها در سطح وزیکول‌ها نسبت داد. این نتایج نشان می‌دهند که ترکیب فسفولیپیدی و واکنش بین فسفولیپید و پپتیدهای به‌دام افتاده، تعیین کننده بار سطحی لیپوزوم‌هاست. اگرچه پتانسیل زتا تحت تأثیر دیگر عوامل مانند ترکیب ذرات، محیط پراکنش، pH و قدرت یونی در محلول قرار گیرد (۳۴). همچنین کیتوزان به عنوان یک پلی ساکارید کاتیونی می تواند پتانسیل زتا را در جهت مثبت تغییر دهد. افزایش مقدار پتانسیل زتای ذرات پس از پوشش-دهی از طریق افزایش دافعه بین ذرات منجر به کاهش ناپایداری فیزیکی و همچنین از طریق ایجاد یک لایه و پوشش در اطراف ذرات منجر به کاهش نرخ رهایش و از دست رفتن ترکیبات بارگیری می‌شود (۳۴،۲۵). در تحقیقات دیگری، مقدار پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌های حاوی پپتیدهای حاصل از کلاژن ماهی (۴۰/۸ mV-) و پپتیدهای زیست فعال حاصل از هیدرولیز آنزیمی پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از mV ۳/۹+ در لیپوزوم‌های پوشش‌دهی نشده به mV ۴۵/۵+ در نمونه‌های پوشش‌دهی شده را گزارش شده است (۲۵، ۱۶).

بر اساس نتایج حاصله (شکل ۵) تفاوتی در بازده ریزپوشانی بین نوع هیدرولیزشده‌ها وجود نداشت اما پوشش-دهی نانوذرات با کیتوزان با ممانعت از خروج ترکیبات از غشای لیپوزومی در مراحل اولیه نگهداری منجر به افزایش این مقدار شد. Liu و همکاران (۲۰۱۵) سیستم‌های رسانش خوراکی برپایه لیپوزوم پوشش‌دهی شده با کیتوزان (در غلظت‌های w/v ۰ تا ۰/۶٪) با استفاده از فسفولیپیدهای غشای گلبول چربی شیر (در غلظت‌های w/v ۳، ۵ و ۱۰٪) برای ریزپوشانی پپتیدهای با خاصیت ضددیابت حاصل از هیدرولیز آنزیمی پروتئین ماهی سالمون (در غلظت ثابت mg/ml ۱۰) طراحی کردند.حداکثر بازده ریزپوشانی (۷۱/۳ ٪) و بالاترین پایداری فیزیکی در نمونه‌های حاصل از ۱۰٪ فسفولیپید غشای گلبول چربی شیر و ۰/۴٪ کیتوزان حاصل شد. Zavareze و همکاران (۳۴) ریزپوشانی پپتیدهای آنتی‌اکسیدان حاصل از هیدرولیز عضله و محصولات جانبی ماهی کروکر سفید را انجام دادند. در تحقیق انجام شده توسط آن‌ها بازده ریزپوشانی حدود ۸۰٪ به‌دست آمد. همچنین، مشابه نتایج این تحقیق، بازده ریزپوشانی در نانولیپوزوم‌های حاوی پپتید آنتی-اکسیدان حاصل از هیدرولیز آنزیمی پوست ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (غلظت mg/ml ۲) پوشش‌دهی شده با (W/V)% ۰/۴ کیتوزان در بالاترین مقدار(۸۰/۲٪) نسبت به تیمارهای فاقد پوشش بدست آمد (۲۵).

حفظ بازده ریز پوشانی، پایداری بیشتر و رهایش کمتر نانولیپوزوم‌ها در دمای پایین را می‌توان به نفوذپذیری کم‌تر غشا در دمای پائین، کاهش توده‌ای شدن در نتیجه تحرک مولکولی کمتر (Low molecular mobility) و تاخیر در فرآیند اکسیداتیو اسیدهای چرب غیراشباع در فسفولیپیدها نسبت داد (۳۵). در تحقیق دیگری، اثر نگهداری طولانی‌مدت بر رهایش و بازد ریزپوشانی پروتئین‌های زیست فعال هیدرولیزشده سالمون در لیپوزوم‌های پوشش‌دهی شده با کیتوزان بررسی شد. در طول نگهداری لیپوزوم‌ها به‌مدت ۴ هفته در دمای ۴°C، مقدار از دست رفتن هیدرولیزشده پس از ۴ هفته نگهداری به حدود ۸۷٪ رسید. پوشش‌دهی لیپوزوم با کیتوزان منجر به کاهش و دست رفتن ماده فعال به حدود ۱۱٪ در طول نگهداری شد (۲۹).

اندازهٔ ذرات و توزیع اندازهٔ ذرات (یکنواخت یا غیریکنواخت) سیستم‌های کلوئیدی اهمیت ویژه‌ای در تعیین خصوصیات آن‌ها دارند. ثابت ماندن این دو پارامتر در طول یک دورهٔ زمانی طولانی نشان‌دهندهٔ پایداری آن سیستم است (۳۶). افزایش اندازه ذرات و تشکیل توده‌های بزرگ در نانولیپوزوم‌ها را می‌توان به خنثی شدن بار سطحی، توده‌ای شدن و تشکیل پل بین ذرات مجاور نسبت داد. فرآیند

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

چسبیدن ذرات به یکدیگر در نتیجه واکنش جاذب بین ذراتی با سطوح با بار نسبتا منفی و مثبت رخ می‌دهد (۳۷). در دمای محیط لیپوزوم‌ها به‌دلیل سیالیت بالای غشاء، آگلومریزه می‌شوند و لخته تشکیل می‌دهند که افزایش اندازهٔ ذرات وتوزیع ناهمگونی ذرات را در پی خواهد داشت. Ko و Lee (۳۸)، بر روی پایداری نانولیپوزوم‌های حاوی رتینول تحت شرایط تاریکی، نور فرابنفش و در دماهای ۵۰°C، ۳۷، ۲۵ و ۴ تحقیقاتی انجام دادند. نتایج نشان داد که نانولیپوزوم‌ها در دماهای بالاتر سریع‌تر تجزیه شدند و بیشترین حفاظت نانولیپوزوم حاوی رتینول در دمای ۴°C و تحت شرایط تاریکی به‌دست آمد.

تفاوت معنی‌دار مشاهده شده در فعالیت آنتی‌اکسیدانی موید اثر مثبت پوشش‌دهی نانوذرات با کیتوزان بر حفظ مقدار بیشتری از ترکیبات بارگیری شده درون ساختار وزیکولی نسبت به انواع بدون پوشش تا زمان انجام آزمایش است. تفاوت مقدار این شاخص بین نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در فعالیت اولیه هیدرولیزشده‌های حاصل از آلکالاز و پانکراتین نسبت داد. در فعالیت مهار رادیکال ABTS بین نمونه‌های فاقد پوشش بارگیری شده با هیدرولیز شده‌های آلکالاز و پانکراتین تفاوت معنادار مشاهده شد و در سایر موارد تفاوت معناداری مشاهده نگردید. تفاوت مقدار این شاخص بین نانولیپوزوم‌های بارگیری شده با هیدرولیزشده‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در فعالیت اولیه هیدرولیزشده‌های حاصل از آلکالاز و پانکراتین نسبت داد. مشابه با یافته‌های این تحقیق، Ramezanzade و همکاران (۲۵) گزارش نمودند که تفاوتی بین درصد بازدارندگی هیدرولیز شده آزاد با نمونه‌های بارگیری شده در ساختار نانولیپوزوم‌ها وجود نداشت.

اندازه ذرات، شاخص بس پاشیدگی و پتانسیل زتا حاکی از اثر پوشش‌دهی نانولیپوزوم با کیتوزان بر بهبود پایداری نانولیپوزوم‌های تولیدی بود. همچنین، ارزیابی پایداری نانولیپوزوم‌ها و بازده ریزپوشانی در طول ۶ هفته نگهداری در دمای یخچال حاکی از اثر پوشش‌دهی ذرات بر افزایش پایداری فیزیکی (کاهش تغییر در اندازه ذرات) و کاهش سرعت رهایش ترکیبات بارگیری شده (حفظ بازده ریزپوشانی اولیه) در طول نگهداری بود.

• References

1. Sarmadi BH, Ismail A. Antioxidative peptides from food proteins: a review. Peptides 2010; 31(10):1949-56.
2. 2. Park PJ, Jung WK, Nam KS, Shahidi F, Kim SK. Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. J Amer Oil Che Soc 2001; 78(6):651-6.
3. Sun J, He H, Xie BJ. Novel antioxidant peptides from fermented mushroom Ganoderma lucidum. J Agric Food chem 2004;52(21):6646-52.
4. Jia J, Ma H, Zhao W, Wang Z, Tian W, Luo L, He R. The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE-inhibitory peptides from wheat germ protein. Food Chem 2010; 119(1):336-42.
5. Aditya NP, Espinosa YG, Norton IT. Encapsulation systems for the delivery of hydrophilic nutraceuticals: food application; Biotechnol Adv 2017; 35:450–57.
6. Oh JK, Drumright R, Siegwart DJ, Matyjaszewski K. The development of icrogels/nanogels for drug delivery; applications.Prog Polym Sci 2008; 33:448–77.
7. Fathi M, Martín A, McClements D.J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. Tren Food Sci. & Tech 2014; 39: 18-39.
8. Weilin Liu, Aiqian Ye , Chengmei Liu, Wei Liu , Harjinder Singh. Structure and integrity of liposomes prepared from milk or soybean derived. Food Res Inter 2012; 48 499–506.
9. Filipović G, Skalko-Basnet, and Jalsenjak. Developed chitosan-coated liposomes, which exhibited a greater ability to protect against degradation by digestive enzymes in vitro; j Microencap. 2001;18(1):3-12.
10. Borel T, Sabliov C.M. Nano delivery of Bioactive Components for Food Applications: Types of Delivery Systems, Properties, and Their Effect on ADME Profiles and Toxicity of Nanoparticles. Annul. Rev. Food Sci. Technol 2014; 5:197-213.
11. Mufamadi M.S, Pillay V, Choonara Y.E., Du Toit L.C. A review on Composite liposomal technologies for specialized drug delivery; J Drug Deliv Volume 2011; Article ID 939851, 19 pages.
12. Xia S, Xu S, Zhang X. Optimization in the preparation of coenzyme Q10 nanoliposomes. J Agric Food Chem. 2006; 54: 6358-6366.
13. Tan C, Xia S, Xue J, Xie J, Feng B,Zhang X. Liposomes as vehicles for lutein: preparation, stability,liposomal membrane dynamics, and structure. J Agric Food Chem 2013; 61: 8175-8184.
14. Hsieh Y F, Chen T L, Wang Y T, Chang J H, Chang H M. Properties of liposomes prepared with various lipids. J Food Sci 2002; 67: 2808-2813.
15. Fang Z, Bhandari B. Encapsulation of polyphenols–a review. Tren Food Sci. & Tech 2010; 21: 510-523.
16. Mosquera M, Giménez B, da Silva I.M, Boelter J.F, Montero P, Gómez-Guillén, M.C, Brandelli A. 2014.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

Nanoencapsulation of an active peptidic fraction from sea bream scales collagen. Food Chem 2014; 156: 144-150.

17. Kirby C J. 1991. Microencapsulation and controlled delivery of food ingredients. Food Sci Technol Today 1991; 5: 74–78.
18. Kui-Jie Gong, †a, b Ai-Min Shi, †a Hong-Zhi Liu, a Li Liu, a Hui Hu, a Ying Yang, a. Preparation of nanoliposome loaded with peanut peptide fraction: stability and bioavailability. Food Funct 2016,7, 2034-2042.
19. Karewicz A, Bielska D, Loboda A, Gzyl-Malcher B, Bednar J, Jozkowicz A, et al. Curcumin-containing liposomes stabilized by thin layers of chitosan derivatives. Coll & Surf B: Bio Interf 2016; 109 Supplement C: 307-316.
20. Liu W, Liu J, Liu W, Li T, Liu C. Improved physical and in vitro digestion stability of a polyelectrolyte delivery system based on layer-by-layer self-assembly alginate–chitosan-coated nanoliposomes. J Agric Food Chem 2013; 61(17), 4133-4144.
21. Li Z, Paulson AT, Gill TA. Encapsulation of bioactive salmon protein hydrolysates with chitosan-coated liposomes. J Funct Foods 2015; 19: 733-743.
22. Liu W, Liu W, Ye A, Peng S, Wei F, Liu C, et al. Environmental stress stability of microencapsules based on liposomes decorated with chitosan and sodium alginate. Food Chem 2016; 196, 396-404.
23. Zhou F, Xu T, Zhao Y, Song H, Zhang L, Wu X, Lu B. Chitosan-coated liposomes as delivery systems for improving the stability and oral bioavailability of acteoside. Food Hydrocoll 2018; 83, 17-24.
24. Guo J, Ping Q, Jiang G, Huang L, Tong Y.Chitosan-coated liposomes: characterization and interaction with leuprolide. Internat J Pharma 2003; 260, 167-173.
25. Ramezanzade L, Hosseini SF, Nikkhah M. Biopolymer-coated nanoliposomes as carriers of rainbow trout skin-derived antioxidant peptides. Food Chem 2017; 234: 220-229.
26. Chen X, Zou L, Niu J, et al . The Stability, Sustained Release and Cellular Antioxidant activity of Curcumin Nanoliposomes. Molecules 2015; 20,14293-14311
27. Chen L, Chen J, Ren J, Zhao M. Modifications of soy protein isolates using combined extrusion pre-treatment and controlled enzymatic hydrolysis for improved emulsifying properties. Food Hydrocoll 2011; 25(5):887–97.
28. Liu W L, Ye A, Liu CM, Liu W, Singh H. Structure and integrity of liposomes prepared from milk or soybean-derived phospholipids during in vitro digestion. Food Res Internat 2012; 48(2), 499–506.
29. Liu W, Ye A, Liu W, Liu C, Han J, Singh H, Behavior of liposomes loaded with bovine serum albumin during in vitro digestion. Food Chem 2015; 175: 16-24.
30. Wu HC, Chen HM, Shiau CY. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (Scomberaustriasicus). Food Res Internat 2003; 36: 949-957.
31. You L, Zhao M, Cui C, Zhao H, Yang B. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (Misgurnus anguillicaudatus) protein hydrolysates; Innov Food Sci Emer Technol 2009;10: 235-240.
32. Henriksen I, Srnistad G, Karlsen K. Interactions between liposomes and chitosan; Internat J Pharma 1994; 101(3), 227-236.
33. Romero-Pérez A, García-García E, Zavaleta-Mancera A, Ramírez-Bribiesca JE, Revilla-Vázquez A, Hernández-Calva, L M, et al. Designing and evaluation of sodium selenite nanoparticles in vitro to improve selenium absorption in ruminants. Vet Res Commun 2010; 34: 71-79.
34. da Rosa Zavareze E, Telles AC, El Halal SLM, da Rocha M, Colussi R, de Assis LM, et al. Production and characterization of encapsulated antioxidative protein hydrolysates from Whitemouth croaker (Micropogonias furnieri) muscle and byproduct. LWT-Food Sci Technol 2014; 59: 841-848.
35. Gibis M, Zeeb B,Weiss J. Formation, characterization, and stability of encapsulated hibiscus extract in multilayered liposomes. Food Hydrocoll 2014; 38: 28-39.
36. Niu M, Lu Y, Hovgaard L, Wu W. Liposomes containing glycocholate as potential oral insulin delivery systems: preparation, in vitro characterization, and improved protection against enzymatic degradation. Intern J Nanomed 2011; 6: 1155.
37. Mun S, Decker EA, McClements D J. Influence of droplet characteristics on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan layers; Langmuir. ACS J Sur Collo 2005; 21: 6228-6234.
38. Ko S, Lee S. C. Effect of nanoliposomes on the stabilization of incorporated retinol. Afri J Biotech 2010; 9(37), 6158-6161.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]

Investigation of the Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Nanoliposomes Loaded with Quinoa Seed Hydrolyzed Proteins

Sadeghian Amin Y[1], Sadeghi Mahoonak AR[2], Ghorbani M[3], Alami M[3], Joshaghani H[4]*

1-Ph.D. Student, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

*2- *Corresponding author: Associate Professor, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: Sadeghiaz@gau.ac.ir*

3- Associate Professor, Faculty of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4- Associate Professor, School of Para medicine Golestan University of Medical Science, Gorgan, Iran.

Received 7 May, 2019 **Accepted 26 Aug, 2019**

Background and Objectives: Encapsulation is a process; by which, a susceptible compound is surrounded with a membrane or matrix that is able to release its contents at a controlled speed under certain conditions. In recent years, popularity of adding bioactive compounds to food products has increased. These compounds are usually sensitive to environmental, processing and/or gastrointestinal conditions. Therefore, encapsulation is an appropriate option to protect these compounds against harsh conditions. Nanoliposomes are made from edible compounds and therefore are common for encapsulation, protection and controlled release of bioactive compounds in foods. The objective of this study was to investigate properties of nanoliposomes loaded with quinoa seed protein hydrolysates.

Materials & Methods: In this study, nanoliposomes loaded with quinoa seed protein hydrolysates (without and with chitosan coating) were assessed for their particle size, zeta potential and antioxidant activity using DPPH radical scavenging and ABTS radical inhibition activity. Furthermore, effects of six weeks of storage in refrigerator conditions were assessed on the stability and properties of nanoliposomes. Hydrolysis was carried out using alcalase and pancreatin enzymes.

Results: Results showed that particle size increased from nearly 22 nm in control sample to 40 and 70 nm in samples with and without chitosan coating, respectively. Moreover, disintegration index in the sample with chitosan coating (No. 2) was improved, compared to control sample with further uniform distributions. Zeta potential changed from -9 MV in control sample to -4 and 26 MV in samples without and with chitosan coating, respectively. Microencapsulation efficiency over six weeks of storage at refrigerator temperature was 40% in sample No. 1 (sample without chitosan coating) and 65% in sample No. 2 (sample with chitosan coating).

Conclusion: Encapsulation of hydrolyzed quinoa proteins using nanoliposome and its coating with chitosan improve various characteristics of nanoliposomes such as particle size, decomposition index and zeta potential, improving particle stability by decreasing its release rate during storage and causing high storage ability of the active compounds in nanoliposome structures.

Keywords: Nanoliposome, Encapsulation, Hydrolyzed protein, Quinoa seed

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-05]