نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۵، آذر- دی ۱۳۹۵، ص. ۶۱۹-۶۰۹

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 5, Dec- Jan 2017, p. 609-619

بررسی ویژگی‌های کلوئیدی نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن تولید شده به روش حرارتی

بابک قنبرزاده[1*]، صحرا بشیری[2]، حامد همیشه‌کار[3]، جلال دهقان‌نیا[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۰۲

چکیده

ریزپوشانی مواد غذا- دارو در حامل‌های لیپیدی، از جمله لیپوزوم‌ها، منجر به افزایش قابلیت زیست فراهمی مواد فعال، رهایش کنترل شده و دقیق آن‌ها، حفظ پایداری آن‌ها در برابر شرایط مختلف محیطی و حلالیت مواد فعال آبگریز در محیط آبی می‌شود. از جمله ترکیبات مغذی آبگریز با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و پرویتامینی مفید، بتاکاروتن می‌باشد که خاصیت آب‌گریزی این ماده و نیز حساسیت بالا در شرایط مختلف محیطی کاربرد آن را برای غنی‌سازی مواد غذایی محدود کرده است. هدف از انجام این پژوهش تولید و بررسی نانولیپوزوم‌های حامل بتاکاروتن به روش گرمایی اصلاح یافته (مظفری اصلاح شده) و بررسی ویژگی‌های مهم کاربردی آن بود. اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های حامل بتاکاروتن در غلظت‌های مختلف لستین، کوچک‌تر از ۵۰۰ نانومتر به‌دست آمد و برای غلظت‌های بهینه لستین، ۸۴-۶۴ نانومتر تعیین شد. استفاده از فیتواسترول (گاماوریزانول)، جهت حفظ پایداری غشای سیستم‌های لیپوزومی، موجب کاهش اندازه ذرات در غلظت‌های مختلف لستین گردید بطور مثال در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم لستین اندازه ذرات از ۸۸ نانومتر به ۶۴ نانومتر کاهش یافت. همچنین گاماوریزانولِ مورد استفاده در لیپوزوم، روی کارایی ریزپوشانیِ بتاکاروتن موثر نبود و در هر دو سیستم کارایی حدود ۸۹ درصد محاسبه شد. پایداری لیپوزوم های بدون گاما اوریزانول و حاوی آن، بر اساس پتانسیل زتا که معیاری برای دافعه الکترواستاتیک و پایداری است، مناسب بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: نانولیپوزوم، بتاکاروتن، ویژگی‌های کلوئیدی

مقدمه

ریزپوشانی[5] در مقیاس نانو روشی است که موجب حفاظت بیشتر مواد حساس، زیست‌فراهمی بیشتر آن‌ها، انحلال مواد آبگریز در محیط‌های آبی، حفاظت اثرات طعمی و رنگی مواد زیست‌فعال و رهایش کنترل شده این مواد می‌شود (Keller, 2001; Mozafari *et al*, 2008). با کاهش اندازه ذرات از میکرو به مقیاس نانو و در نتیجه افزایش نسبت سطح به حجم، ویژگی‌های مختلف مواد از جمله قابلیت دسترسی زیستی، حلالیت در آب، پایداری کلوئیدی و شفافیت محلول‌های حاوی نانوذره افزایش می‌یابد و به این دلایل، سیستم‌های نانو ریز پوشانی نسبت به سیستم‌های میکروریزپوشانی[6] مفیدترند (Horn & Rieger, 2001; Yurdugul *et al*, 2004; Weiss *et al*, 2006; Fathi *et al*, 2011). نانوحامل‌های[7] مورد استفاده در فرآوری مواد غذایی را می‌توان به دو دسته نانوکپسول‌های بیوپلیمری و نانوکپسول‌های لیپیدی تقسیم کرد. نانوحامل‌ها بر پایه لیپیدی شامل نانوامولسیون‌ها[8]، نانولیپوزوم‌ها و نانوذرات لیپیدی جامد[9] می‌باشند (Fathi *et al*, 2011). لیپوزوم‌ها یکی از حامل‌های لیپیدی هستند که توسط لیپیدهای قطبی تولید می‌شوند. این دسته نانو حامل‌ها، دارای ساختار غشای دو لایه‌ای (با گروه‌های سر قطبی در سطح داخلی و گروه‌های دم لیپوفیلیک به طرف مرکز غشاء) بوده و بنابراین می‌توانند هم ترکیبات آب‌دوست و هم آب‌گریز را در محیط آبی و لیپیدی خود جای دهند (Keller, 2001).

از روش‌های تولید نانولیپوزوم‌ها، روش حرارتی اصلاح یافته را می‌توان نام برد که این روش نسبت به روش‌های دیگر دارای مزیت-

۱و ۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.
۳- دانشیار، گروه داروسازی، مرکز تحقیقات داروسازی تبریز، دانشگاه تبریز.
(* - نویسنده مسئول: Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

5 Encapsulation

6 Micro encapsulation
7 Nano carrier
8 Nano Emulsion
9 Solid Lipid Nano particle

هایی از جمله، عدم استفاده از حلال‌های سمی، عدم نیاز به تجهیزات مختلف (تبخیرکننده، فراصوت، همگن‌سازی در فشار بالا و اکستروژن) و تولید سریع لیپوزوم‌ها با درصد ریز پوشانی بالا می‌باشد (Mozafari, 2005; Mozafari, 2010; Rasti *et al*, 2012). در سال‌های اخیر، به‌منظور توسعه غذاهای فراسودمند، تولید غذاهای مغذی یا بهبود ماندگاری مواد غذایی، تلاش‌های تحقیقات گسترده‌ای برای درون‌پوشانی ترکیبات زیست فعال غذایی مختلف توسط لیپوزوم‌ها انجام گردیده است (Sagalowics *et al*, 2010) که می‌توان برای مثال به ریزپوشانی ترکیبات آبگریزی از جمله کوآنزیم ۱۰ و آلفا توکوفرول (Zhang *et al.*, 2009)، کاروتنوئیدها (Nacke *et al*, 2011)، ویتامین C، D، استئاریک اسید و استئارات کلسیم (Marsanasco *et al*, 2011)، اسیدهای چرب امگا ۳ (Rasti *et al*, 2012)، آستاگزانتین (Anarjan *et al.*, 2012)، اسید چرب اولئیک (Tan *et al.*, 2012)، عصاره‌یی هسته انگور (Gibis *et al.*, 2013) و ویتامین D_3 (محمدی و همکاران، ۱۳۹۲) اشاره کرد.

کاروتنوئیدها از جمله مواد مغذی آبگریز و آنتی‌اکسیدانی در مواد غذایی هستند (Chen *et al.*, 2007) و بتاکاروتن مهمترین کاروتنوئید موجود در مواد غذایی است که پیش‌ساز ویتامین A (رتینوئیدها) بوده و نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند. دارا بودن ساختار غیراشباع و در نتیجه حساسیت آن به عوامل محیطی و همچنین آبگریز بودن آن، مشکلات اصلی غنی‌سازی مواد غذایی با بتا کاروتن است (Hwang *et al.*, 2010). حلالیت این ترکیب آبگریز با ریزپوشانی در لیپوزوم، به‌طور بالقوه می‌تواند افزایش یابد (Ishida *et al.*, 2005) و همچنین سیستم‌های لیپوزومی ثبات شیمیایی آن‌ها را می‌توانند افزایش دهند (Yin *et al.*, Ribeiro *et al.*, 2005; 2009).

در ساختار لیپوزوم‌ها از استرول‌ها برای افزایش پایداری غشا می‌توان استفاده کرد که در بیشتر موارد از کلسترول استفاده می‌شود (Mozafari, 2005). با توجه به مشکلات تغذیه‌ای ناشی از کلسترول بالا و ویژگی‌های مفید تغذیه‌ای فیتواسترول‌ها، استفاده از فیتواسترول‌ها برای پایدار کردن و اصلاح فیزیکی غشای خارجی لیپوزوم‌ها مفیدتر است (Hwang *et al.*, 2010). گاماواریزانول مخلوطی از فیتواسترول‌های حاصل از روغن برنج است که دارای خواص زیست‌فعال مفید بوده و به‌طور بالقوه می‌تواند برای پایداری و بهبود خواص لیپوزوم ها به‌کار رود (Chan *et al.*, 2004).

هدف از انجام این پژوهش بررسی و مقایسه خواص مهم کلوئیدی و فیزیکوشیمیایی در دو سیستم لیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن همراه فیتواسترول (گاماواریزانول) و بدون فیتواسترول می‌باشد که به روش حرارتی اصلاح یافته (مظفری اصلاح یافته) بدون نیاز به حلال آلی و نیروی برشی بالا، تولید شدند.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

فسفاتیدیل کولین از شرکت ACROS ORGANICS بلژیک و بتاکاروتن از شرکت SIGMA-ALDORICH امریکا تهیه شدند. پلی اتیلن گلیکول[1] از شرکت مواد شیمیایی مرک آلمان و نیز گاماواریزانول از شرکت Tsuno Rice Chemicals ژاپن خریداری شدند.

تهیه محلول بتاکاروتن

در این تحقیق، حلالیت بتاکاروتن در حلال‌های مختلفی بررسی شد. در این راستا، ۴ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر پروپیلن گلیکول، ۱۷ میلی‌لیتر پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ نامحلول بوده ولی در ۱۴ میلی‌لیتر پلی اتیلن گلیکول۴۰۰ در۶۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۴۰۰rpm حل گردید و محلول شفاف نارنجی رنگ بدست آمد.

روش تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن

ابتدا غلظت‌های مختلف لستین (۲۰،۴۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰میلی‌گرم) هیدراته شده بوسیله ۲ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر که در فاز آبی تشکیل میسل می‌دهند، به محلول ۴ میلی‌گرم بتاکاروتن که قبلا در ۱۴ میلی‌لیتر پلی اتیلن گلیکول حل شده بود، افزوده شد. مخلوط حاوی محلول بتاکاروتن و لستین به بشر۳۰۰ میلی‌لیتر مقاوم به حرارت حاوی بافل (ایجاد جریان توربلانت)، منتقل و ۱۴ میلی‌لیتر حلال پلی اتیلن گلیکول دیگر نیز به آن اضافه شد. مخلوط مورد نظر با۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد و با دستگاه مخلوطکن مدل RER شرکت IKA کشور آلمان با دور ۱۴۰۰rpmبه مدت ۱ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد همزده شد. به‌منظور پایداری محلول لیپوزومی بدست آمده، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Mozafari *et al*., 2011, Mozafari *et al*., 2008, Mozafari *et al*., 2006).

روش تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن و فیتواسترول (گاماواریزانول)

غلظت‌های مختلف لستین (۲۰،۴۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌گرم) هیدراته شده در ۲ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به محلول بتاکاروتن (۴ میلی‌گرم در ۱۴ میلی‌لیتر پلی اتیلن گلیکول)، افزوده و به بشر ۳۰۰ میلی‌لیتر مقاوم به حرارت حاوی بافل (ایجاد جریان توربلانت)، منتقل و ۱۴ میلی‌لیتر حلال پلی‌اتیلن گلیکول دیگر نیز به آن اضافه شد. مخلوط حاصل زیر همزدن با دور ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس، محلول گاماویزانول (با نسبت ۱ به ۱۴

1 Poly Ethylene Glycol

گاماواویزانول به لستین وزنی/ وزنی) حل شده در ۵ میلی‌لیتر پلی-اتیلن‌گلیکول، به مخلوط لیپوزومی افزوده با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسانده شد. در نهایت توسط سیستم حاصله به مدت ۱ ساعت با دور ۱۴۰۰rpm در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد همزده شد. به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری اندازه و توزیع اندازه ذرات

این ویژگی با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات مدل Wing Sald 2101 ساخت آلمان اندازه‌گیری شد. اساس کار دستگاه شکست نور لیزر در اثر برخورد با ذره‌ها می‌باشد که مستقیماً به اندازه ذره وابسته است. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی[1] تعیین شد (معادله ۱).

میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا DeBroukere mean:

$$D_{4,3} = \sum n_i d^4 / \sum n_i d^3 \qquad (۱)$$

n_i: تعداد ذرات

d_i: قطر میانگین ذرات

توزیع اندازه ذرات با استفاده از معادله زیر محاسبه شد :

$$Span = ((D90\% - D10\%) / D50\%) \qquad (۲)$$

D(90%): قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۹۰درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

D(50%): قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۵۰ درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد (قطر میانه).

D(10%): قطری که حجم ذرات کوچک‌تر از آن، ۱۰درصد حجم کل ذرات موجود در سیستم را تشکیل می‌دهد.

میزان اسپن کمتر، نشان‌دهنده توزیع در اندازه ذرات باریک‌تر می‌باشد.

اندازه‌گیری راندمان درون‌پوشانی

برای تعیین غلظت بتاکاروتن کپسوله شده از اسپکتروفتومتری UV استفاده شد و حداکثر جذب در طول‌موج ۴۵۴ نانومتر اندازه‌گیری شد (Rauscher *et al*., 1998). برای این منظور ۱۰ میلی‌گرم بتاکاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلرفرم حل شد و غلظت‌های مختلفی از آن تهیه شد (۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ ماکروگرم/ میلی‌لیتر). سپس جذب هر کدام از آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش- مرئی در طول موج ۴۵۲ نانومتر خوانده شد و منحنی استاندارد رسم گردید.

و با قرائت جذب در این غلظت‌ها، منحنی استاندارد رسم شد. نمونه‌ها به صورت بی‌تحرک روی میز قرار داده شدند به‌طوری که بتاکاروتن کپسوله نشده (آزاد) به علت اختلاف دانسیته با آب ($0/961\ g.cm^{-3}$) به سطح بیاید. سپس به کمک پیپت از قسمت‌های درونی محلول (حاوی لیپوزوم) به میزان ۱ میلی‌لیتر برداشته شد سپس نمونه را برای تخریب لیپوزوم‌ها و آزاد شدن کاروتن کپسوله شده در کلروفرم حل گردید (با نسبت ۱:۱۰و به مدت ۱۰ دقیقه روی همزن شیکر) و سپس مقادیر بتاکاروتن کپسوله شده توسط اسپکتروفتومتر و به کمک منحنی استاندارد تعیین شد. سپس درصد کارایی درون‌پوشانی بتاکاروتن‌های کپسوله شده، توسط معادله ۲ محاسبه شد (Viriyaroj *et al*., 2009). البته قبل از این اندازه‌گیری، ۱۰ میلی-گرم گاماواویزانول توزین و با حلال کلرفرم به حجم ۱cc رسانده شد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر ماورای بنفش- مرئی شدت جذب آن در طول موج‌های ۴۰۰-۱۰۰ نانومتر و ۸۰۰-۴۰۰ نانومتر تعیین شد و طول موج با شدت جذب حداکثر تعیین شد. مشاهده شد که بتاکاروتن در طول موج ۴۰۰-۱۰۰ نانومتر جذب ندارد و این باعث می‌شود که در منحنی جذب نمونه‌های دارای گاما اوریزانول بین گاماواویزانول و بتاکاروتن تداخلی ایجاد نشود زیرا جذب گاما اوریزانول و لستین در ناحیه ۴۰۰-۱۰۰ می باشد (محمدحسنی و همکاران، ۱۳۹۳).

(۳) ۱۰۰× (میزان اولیه بتاکاروتن افزوده شده به لیپوزوم)/ (میزان بتاکاروتن اندازه‌گیری شده در لیپوزوم) = کارایی درون پوشانی

اندازه‌گیری کدورت

با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر نور مرئی مدل Ultrospec 2000 در طول موج ۶۰۰ nm اندازه‌گیری شد (Lee & MaClements, 2010).

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

پتانسیل زتا معیاری برای دافعه الکترواستاتیک بین ذرات است. از دستگاه پتانسیل زتا مدل Nano-ZS ساخت شرکت Malvern کشور انگلستان در این تحقیق استفاده شد و مقادیر پتانسیل زتا بر حسب میلی‌ولت گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

همه‌ی آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم افزار آماری SPSS for Windows (Version 16.0, SPSS Inc) در سطح احتمال ۹۵٪ ($P< ۰/۰۵$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام

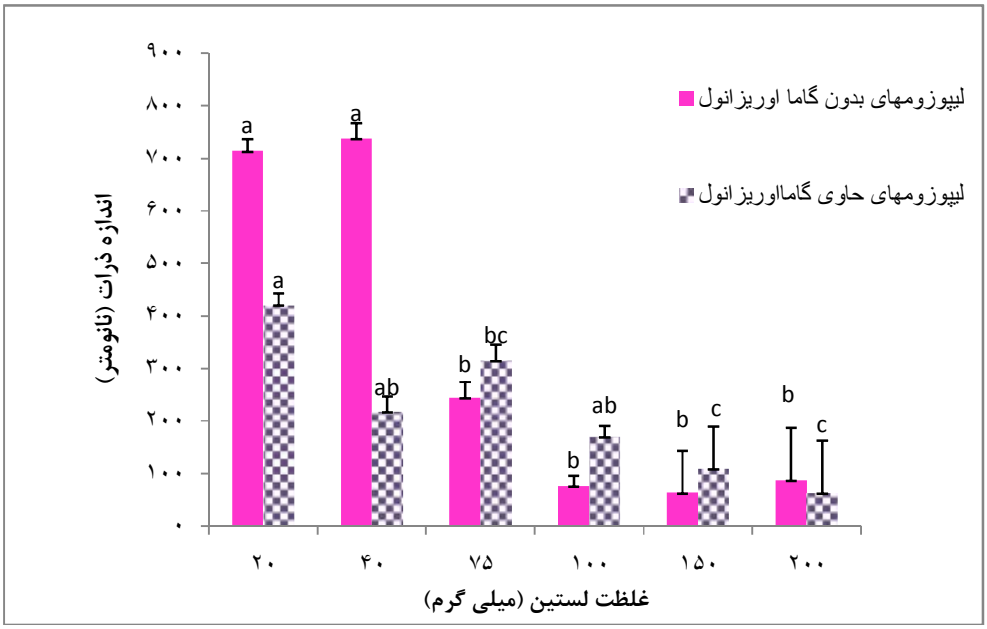
1 Volume mean diameter

گرفت.

بحث و نتایج

اندازه‌گیری اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات

در ساخت لیپوزوم‌ها از غلظت‌های مختلف لستین (۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰، ۷۵، ۴۰،۲۰ میلی‌گرم) با مقدار ثابت بتاکاروتن (۴ میلی‌گرم) و گاماوریزانول برای غلظت‌های مختلف لستین با نسبت ۱ به ۱۴ (وزنی/ وزنی) به ترتیب ۱/۴، ۲/۸۵، ۵/۳۵، ۷، ۱۰/۷۰ و ۱۴/۳ میلی-گرم استفاده شد. اثر غلظت لستین بر اندازه ذرات لیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن در نمونه‌های حاوی و بدون گاماوریزانول در شکل ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج، بین اندازه نمونه‌های حاوی غلظت‌های لستین مختلف تفاوت معنی‌داری در آزمون دانکن در سطح ۵٪ وجود دارد ($P< ۰/۰۵$). کوچکترین اندازه ذرات در نمونه‌های بدون گاماوریزانول در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم لستین و بیشترین آن در غلظت ۲۰ میلی‌گرم لستین مشاهده گردید. نتایج نشان داد که برای سیستم لیپوزومی حامل بتاکاروتن مقادیر بهینه‌ای از غلظت فسفولیپید وجود دارد که کمترین اندازه ذرات لیپوزومی را به‌دست می‌دهد و بیشتر یا کمتر از آن اندازه ذرات را افزایش می‌دهد.



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف لستین روی اندازه ذرات (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ آزمون دانکن در هر سری می‌باشد).

Alexander و همکاران (۲۰۱۲)، از نانولیپوزوم‌های حاوی فسفاتیدیل کولین و فیتواسترول‌ها برای کپسوله کردن اسید آسکوربیک استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت فسفولیپید سویا (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم)، موجب افزایش جزیی اندازه ذرات نانولیپوزوم (به ترتیب به ۱۰۳، ۱۱۵ و ۱۳۶نانومتر) می-شود. در شکل ۱ اثر غلظت لستین بر اندازه ذرات لیپوزومی در سیستم‌های حاوی گاماوریزانول نیز ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، در این سیستم‌ها نمونه‌های دارای بالاترین غلظت لستین (۲۰۰ میلی‌گرم) دارای کوچکترین اندازه ذره می‌باشند و تقریباً یک روند کاهشی در اندازه ذرات لیپوزوم‌ها با افزایش غلظت لستین مشاهده می‌شود که ممکن است به افزایش تعداد ذرات لیپوزوم تولید شده مربوط باشد. مطابق این شکل نمونه‌های حاوی گاماوریزانول در غلظت‌های پایین (۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم) و بالای لستین (۲۰۰ میلی‌گرم) دارای اندازه ذرات کوچکتری بودند و اندازه ذرات در سیستم‌های بدون گاماوریزانول به ترتیب(۷۱۴، ۲۴۵ و ۸۸) نانومتر بوده که با افزودن گاما-اوریزانول به (۴۲۱، ۳۱۶ و ۶۴) نانومتر تغییر یافت. احتمالاً گاماوریزانول با حضور در غشا، ساختار قرارگیری لیپید و جهت‌گیری زنجیره‌های آسیل در دو لایه‌ی لیپیدی را تغییر می‌دهد، به این صورت که استرول، زنجیره های آسیلی را که به یک سمت کج شده‌اند را بصورت مستقیم و مرتب نگه می‌دارد و فضاهای ایجاد شده بین آن‌ها را پر می‌کند (Nagel *et al.*, 2000; Hwang *et al.*, 2010). Hwang و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند که برای پایین آوردن اثر کلسترول می‌توان از فیتواسترول‌ها استفاده کرد. لیپوزوم‌های حاوی فیتواسترول‌ها در برابر pH، اکسیداسیون و آنزیم‌ها و در انبارمانی

پایدارتر می‌باشند. که به علت شباهت ساختاری گاماوریزانول به‌عنوان یک استرول گیاهی با کلسترول، می‌توان گفت که افزودن آن منجر به افزایش سفتی دیواره وزیکول‌ها و در نتیجه کاهش میزان هم‌آمیختن آن‌ها و کاهش اندازه ذرات می‌شود (Xu & Godber, 2011).در جدول ۱ تاثیر غلظت‌های مختلف لستین روی توزیع اندازه ذرات آمده است. در سیستم‌های حاوی فیتواسترول نتایج مشابهی با سیستم‌های بدون فیتواسترول به‌دست آمد. همچنین در سیستم‌های حاوی بتاکاروتن با فیتواسترول نتایج مشابهی با سیستم‌های حاوی بتاکاروتن بدون فیتواسترول به‌دست آمد (جدول۱). هرچقدر اسپن کمتر باشد، پهنای نمودارتوزیع اندازه ذرات کمتر و سیستم همگن‌تر خواهد بود. توزیع اندازه ذرات برای تمام نمونه‌ها با غلظت‌های متفاوت لسیتین تک مد بود. یعنی در نمونه‌ها یکنواختی محتوا و تکرارپذیری مشاهده می شود، نمونه‌هایی با توزیع اندازه باریک در برابر پدیده ناپایداری از نوع رسیدگی استوالد مقاوم‌تر هستند می‌توان نتیجه گرفت که روش تولید مورد استفاده، مستقل از غلظت‌های متفاوت لسیتین، برای تولید لیپوزوم‌ها در اندازه‌های نانومتری و توزیع اندازه ذرات یکنواخت، مناسب می‌باشد. مشابه این تحقیق، Alexander و همکاران (۲۰۱۲)، اعلام نمودند که لیپوزوم‌های حاوی استرول و بدون استرول، از نظر توزیع اندازه به‌صورت همگن و یکسان می‌باشند. به‌طورکلی عوامل متعددی مانند نسبت فسفولیپید به ماده فعال، روش تولید لیپوزوم، نوع پایدارکننده غشا، دما بر اندازه ذرات موثر هستند (Heurltault *et al*., 2003).

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف لستین درتوزیع اندازه ذرات

غلظت لستین (mg)	اسپن نانولیپوزوم‌های بدون گاماوریزانول	اسپن نانولیپوزوم‌های حاوی گاماوریزاول
۲۰	۰/۸۲±۰/۰۲۳^{a}	۰/۸۰±۰/۰۷۳^{a}
٤۰	۰/۸۱±۰/۰۸۱^{a}	۰/۸۱±۰/۰۲۳^{a}
۷۵	۰/۷۷±۰/۰۳۵^{a}	۰/۷۳±۰/۰۹۸^{a}
۱۰۰	۰/۸۰±۰/۰۵۱^{a}	۰/۷۶±۰/۰۴۳^{a}
۱۵۰	۰/۷۴±۰/۰۵۱^{a}	۰/۷۱±۰/۰۹۷^{a}
۲۰۰	۰/۶۸±۰/۰۸۳^{a}	۰/۷۶±۰/۰۸۶^{a}

اندازه‌گیری پتانسیل زتا

پتانسیل زتا از نظر پایداری الکترواستاتیک ذرات لیپوزومی و همچنین اتصال لیپوزوم به غشای سلول‌های هدف اهمیت دارد. افزایش پتانسل زتا موجب افزایش نیروی دافعه بین ذرات و جلوگیری از بر خورد و انبوهش آنها می‌گردد و از طرف دیگر، با افزایش بار ذرات، امکان برهمکنش با غشای سلول‌های هدف بیشتر شده و تحویل ترکیبات فعال بهتر می‌شود. در این پژوهش، برای مشخص شدن نحوه عمل نیروهای دافعه الکترواستاتیک بین نانولیپوزوم‌های حاوی بتاکاروتن و همچنین میزان پایداری فرمولاسیون حاصل، از نتایج تحرک الکتروفورتیک و پتانسیل زتا استفاده شد.

نتایج به‌دست آمده در جدول۲ ارائه شده است که نشان‌دهنده پایداری بالا سیستم‌های کلوئیدی است. فسفولیپدها با دارا بودن گروه‌های فسفات که در سطح غشا قرار می‌گیرند باعث افزایش پایداری نانولیپوزوم‌های حاصل می‌شوند که به علت یونیزاسیون گروه‌های فسفات در سیستم‌های آبی آن است. عوامل متعددی مانند نوع و مقدار فسفولیپید، نوع و غلظت پایدار کننده و ماده‌ی فعال، قدرت یونی محیط و دما بر پتانسیل زتا موثر هستند (قنبرزاده و همکاران، ۱۳۹۲).

جدول۲- پتانسیل زتا برای فرمولاسیون‌های مختلف نانولیپوزم‌ها در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم لستین

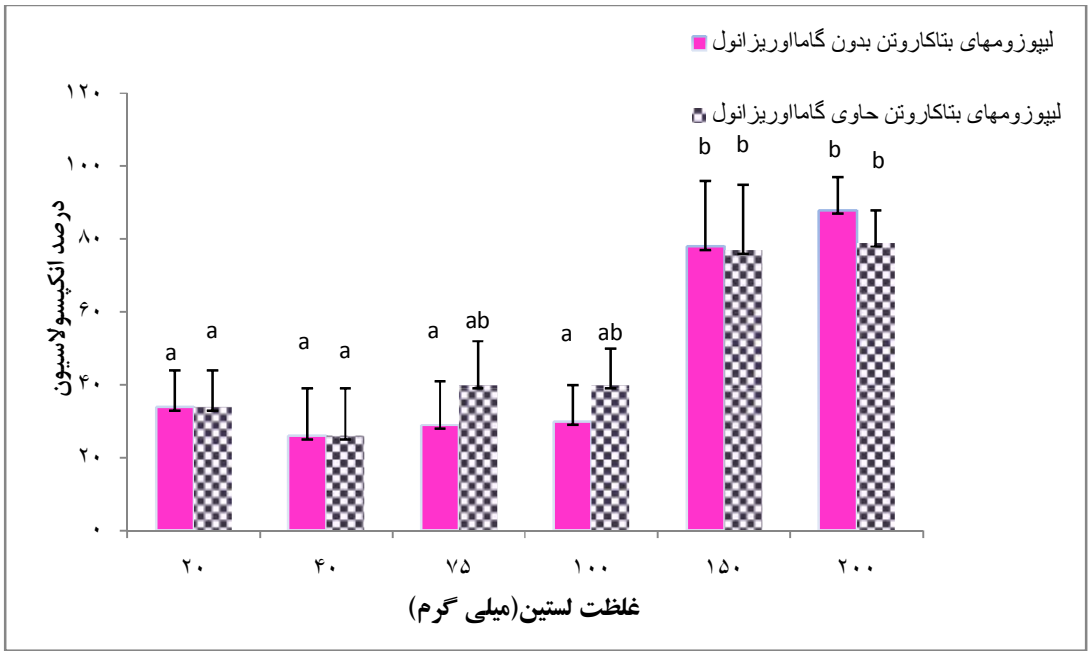
نمونه‌ها	پتانسیل زتا
لستین خالی	-۲۹/۷
لیپوزوم حاوی بتاکاروتن	-۲۹/۰
لیپوزوم بتاکاروتن با نسبت ۲ به ۱۳ (گاما-اوریزانول به لستین)	-۳۵/۹
لیپوزوم بتاکاروتن با نسبت ۱ به ۱۴ (گاما-اوریزانول به لستین)	-۴۲/۸

استفاده از گاما اوریزانول به‌عنوان پایدارکننده غشایی باعث افزایش پتانسیل زتا و در نتیجه پایداری سیستم‌های لیپوزومی گردید. مولکول‌های گاماوریزانول احتمالاً از طریق برقراری پیوند هیدروژنی گروه هیدروکسیل آن با گروه کولین، موجب افزایش گروه‌های فسفات در سطح غشا می‌گردند و به این ترتیب بار منفی غشا در حضور استرول‌ها افزایش می‌یابد (Fatouros & Antimisiaris, 2002).

Sakulkhu و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی پتانسیل زتای نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی گاماوریزانول، گزارش نمودند که افزودن گاماوریزانول منجر به افزایش پتانسیل زتا از ۱۸- به ۲۶- می‌شود. در مورد تأثیر افزودن استرول بر پایداری لیپوزوم‌ها، Liu و همکاران (۲۰۰۸)، اعلام کردند که کلسترول از طریق سفت کردن ساختار غشا و افزایش پتانسیل زتا و دفع الکتروستاتیک بین ذرات باعث پایداری لیپوزوم‌ها می‌شود. همچنین، پلی‌اتیلن‌گلیکول علاوه بر عمل به‌عنوان یک حلال، می‌تواند به‌عنوان یک سورفاکتانت غیریونی پلیمری در سطح غشا عمل کرده و ممانعت فضایی را افزایش داده و با افزایش دافعه استری موجب پایداری اندازه ذرات گردد. بنابراین در سیستم‌های لیپوزومی تهیه شود (Wu *et al.*,2011). در این پژوهش، حل کردن بتاکاروتن در پلی‌اتیلن‌گلیکول می‌تواند باعث افزایش پایداری لیپوزوم‌های حاصل گردد. Liu و همکاران (۲۰۰۸)، لیپوزوم‌های حاوی پلی‌اتیلن‌گلیکول ۲۰۰۰ را از نظر پایداری مورد مطالعه قرار دادند و اعلام نمودند که پایداری لیپوزوم‌ها به دافعه استری (ممانعت فضایی) ایجاد شده توسط زنجیره‌های استری پلی‌اتیلن‌گلیکول می‌توان نسبت دادند.

اندازه‌گیری راندمان درون‌پوشانی

غلظت‌های مختلف لستین تاثیر معنی‌داری بر راندمان درون-پوشانی بتاکاروتن داشت (در سطح ۹۵٪) و راندمان ریز پوشانی ۸۹٪-۲۷٪ برای غلظت‌های مختلف لستین به‌دست آمد (شکل ۲). Rasti و همکاران (۲۰۱۲)، درصد ریزپوشانی ماده فعال امگا سه را در لیپوزوم‌های تهیه شده به روش گرمایی ۷۳/۱۲ ٪ گزارش کردند. درصد ریزپوشانی لیپوزوم‌های حاوی DNA به روش مظفری ۷۰/۳ ٪ بدست آمد (مرتضوی وهمکاران، ۲۰۰۷). همان‌طور که ملاحظه می-شود افزایش غلظت لستین موجب افزایش راندمان در هر دو نمونه-های حاوی و بدون گاما اوریزانول شده است.



شکل۲- تاثیر غلظت لستین بر راندمان درون‌پوشانی بتاکاروتن در لیپوزم‌های حاوی و بدون گاماوریزانول (حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد).

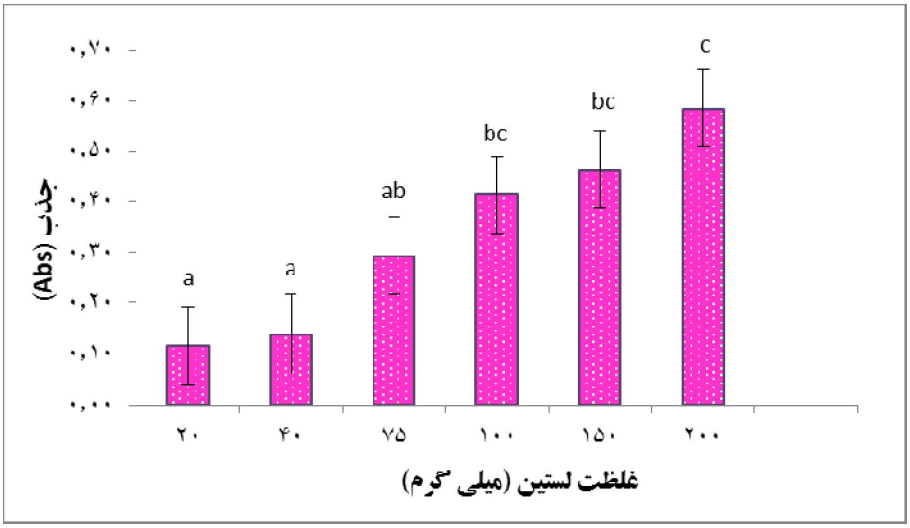
محمدحسنی و همکاران (۱۳۹۳) مشاهده کردند که کارایی درون‌پوشانی گاماوریزانول با افزایش غلظت لستین از ۶۰٪ تا ۸۴/۳ ٪ بالا می‌رود. آن‌ها اینگونه پیشنهاد کردند که افزایش غلظت فسفولیپید منجر به تولید تعداد لیپوزوم بیشتر و همچنین افزایش حجم داخلی لیپوزوم و تمرکز بیشتر ترکیب فعال در لیپوزوم شده و در نتیجه بازده درون‌پوشانی افزایش یافت.

نتایج نشان می‌دهد که حضور گاماوریزانول به‌عنوان یک فیتواسترول اثر ثابت و معنی‌داری بر درصد ریزپوشانی بتاکاروتن نداشته است. مشابه این تحقیق، Alexander و همکاران (۲۰۱۲)، اعلام نمودند که استرول‌ها بر راندمان درون‌پوشانی مواد آبدوست تاثیری نداشته و بین فیتواسترول‌ها و کلسترول در این مورد تفاوتی وجود ندارد. آن‌ها همچنین گزارش نمودند که استفاده از فیتواسترول‌ها

موجب کاهش راندمان درون‌پوشانی مواد فعال چربی دوست می‌گردد که احتمالا ناحیه لیپوفیل (فضای بین دوغشا) توسط این ماده آب گریز محصور می‌گردد. به این دلیل در حضور گاما‌اوریزانول در سیستم‌های نانولیپوزومی بتاکاروتن، درصد درون‌پوشانی کمی کمتر است ولی تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های بدون گاما‌اوریزانول ندارد. با توجه به پژوهش محمدحسنی و همکاران (۱۳۹۳) بیان کردند که به علت ماهیت بیش از حد هیدروفوبیک گاما‌اوریزانول در ساختار دولایه(قسمت آبگریز) لیپوزومی، قرار می‌گیرد و احتمالا بتاکاروتن نیز به علت برخورداری از ماهیت آب‌گریزی بالا، جهت حداکثر کردن فاصله با آب، در این ناحیه قرار می‌گیرد و کارایی درون‌پوشانی اندکی کاسته می‌شود، ولی در پژوهش Ramana و همکاران (۲۰۱۰)، افزایش غلظت لستین منجر به افزایش درصد ریزپوشانی ترکیبات آب‌گریز مانند نوپراپین شد که دلیل آن را چروکیدگی و فاز آبی در غلظت‌های بالای لستین بیان کردند.

اندازه‌گیری کدورت

پخش نور توسط ذرات موجود در محیط کلوئیدی باعث کدورت سیستم می‌شود که به تعداد و اندازه ذرات کلوئیدی موجود در فاز مایع، تفاوت در ضریب انعکاس ذرات، فاز پیوسته و توزیع اندازه ذرات بستگی دارد. با توجه به شکل ۳، با افزایش میزان لستین کدورت بطور معنی‌داری (۱۶٪ تا ۸۰٪) یعنی از طول موج جذب ۰/۱۱۶ تا ۰/۵۸۵ افزایش یافت که به افزایش تعداد وزیکول‌های لیپوزومی و افزایش پیوندهای آبگریز می‌تواند مربوط باشد. Weiss و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند لیپوزوم‌هایی که از یک لایه نازک فسفولیپید تهیه شده‌اند قدرت زیادی در پراکنش نور ندارند اما نانولیپوزوم‌های بالاتر از ۲۰۰ نانومتر کمی کدر بوده و کپسوله‌کردن ماده فعال نیز در کدورت و تغییر در ضریب شکست آن موثر است.



شکل۳- درصد افزایش لستین در کدورت نانولیپوزوم‌های بدون گاما‌اوریزانول

(حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ است)

نتیجه‌گیری

برای افزایش حلالیت و ماندگاری بتاکاروتن در طول زمان نگهداری از سیستم حامل لیپوزومی استفاده شد. همچنین برای بهبود خواص فراسودمند و خواص فیزیکی غشای لیپوزوم‌های حاصل از گاما‌اوریزانول به‌عنوان فیتواسترول استفاده شد. مقادیر غلظت‌های لستین مورد استفاده، بر اندازه ذرات، راندمان درون‌پوشانی، پتانسیل زتا و کدورت سیستم‌ها موثر بودند. کوچکترین اندازه ذرات نانولیپوزوم در مقادیر ۱۰۰ میلی‌گرم لستین در مقدار ثابت بتاکاروتن به‌دست آمد و درصد ریزپوشانی این ماده در غلظت‌های مختلف لستین مورد بررسی قرار گرفت. افزودن گاما اوریزانول نیز بر خواص مختلف فیزیکی اثر چندانی نداشت ولی در پتانسل زتا موثر بود و موجب افزایش آن شد.

منابع

قنبرزاده، ب.، الماسی، ه. و نیک نیا، ن.، ۱۳۹۲، شیمی و فیزیک سیستم‌های کلوئیدی و محلول‌های بیوپلیمری غذایی، موسسه انتشارات علمی دانشگاه صنعتی شریف، ۱۲-۳۳.

محمد حسنی، ز.، قنبرزاده، ب.، همیشه کار، ح. و رضایی مکرم، ر.، ۱۳۹۳، تعیین ویژگی های نانولیپوزوم های حامل گاما اوریزانول توسط طیف

سنجی فرو سرخ، اندازه وزیکول، پتانسیل زتا، پایداری فیزیکی و رئولوژی پایا، مجله پژوهش‌های علوم وصنایع غذایی ایران، ۱۰، ۷۵-۶۲.

محمدی، م.، قنبرزاده، ب.، همیشه کار، ح.، رضایی مکرم، ر. و محمدی فر، م.ا.، ۱۳۹۲، ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی نانولیپوزوم‌های حامل ویتامین D_3 تولید شده به روش هیدراسیون لایه نازک-سونیکاسیون، مجله علومو صنایع غذایی ایران، ۴، ۱۸۸-۱۷۵.

Alexander, M., Acero, L. A., Fang, Y. & Corredig, M., 2012, Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability. *Food Science Technology*, 47, 427-436.

Anarjan, N., Tan, C. P., Nehdi, A. I. & Ling, T. C., 2012, Colloidal astaxanthin: Prepration, Charaterisation and bioavailability evalution. *Food chemistry*, 135, 1303-1309.

Chan, Y. H., Chen, B. H., Chiu, C. P. & Lu, Y. F., 2004, The influence of phytosterols on the encapsulation efficiency of cholesterol liposomes. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 985–995.

Chen, X., Chen, R., Guo, Z., Li,C. & Li, P., 2007, The prepration and stability of the inclusion complex of astaxanthin with β-cyclodexterin. *Food Chemistry*, 101(4), 1580-1584.

Fathi, B., Mozafari, M. & Mohebbi, M., 2011, Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Science Technology*, 1-15.

Fatouros, D. G. & Antimisiaris, S. G., 2002, Effect of amphiphilic drugs on the stability and zeta-potential of their liposome formulations: A study with prednisolone, diazepam, and griseofulvin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 251, 271–277.

Gibis, M., Rahn, N. & Weiss, J., 2013, Physical and oxidative stability of uncoated and chitosan-coated liposomes containing grape seed extract. *Pharmaceutics*, 5, 421-433.

Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E., & Benoit, J. P., 2003, Physicochemical stability of colloidal lipid particles, *Biomaterials*, 24, 4283-4300.

Horn, D. & Rieger, J., 2001, Organic nanoparticles in the aqueous phase - theory, experiment, and use. *Angewandte Chemistry Internatinal*, 40(23), 4330-4361.

Hwang, I. S., Tasi, Y. & Chiang, K., 2010, The feasibility of antihypertensive oligopeptides encapsulated in liposomes prepared with phytosterols β-sitosterol or sigmasterol. *Food research international*, 43, 133-19.

Ishida, E. S. & Bartley, G. B., 2005, Carotenoids. Chemistry, Sources and Physiology. Encyclopedia of Human Nutrition, Vol 1, Chapter C, 330-338.

Keller, B. C., 2001, Liposomes in nutrition. *Trends in Food Science Technology*, 12: 25–31.

Lee. S. & McClements D. J., 2010, Fabrication of proteinstabilized nanoemulsions using a combined homogenization and amphiphilic solvent dissolution/evaporation Approach, *Food Hydrocolloid*, 24: 560-9.

Liu, Z., Jiao, Y., Wang, Y., Zhou, C. & Zhang, Z., 2008, Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. Advanced Drug Delivery Review, 60, 1650-1662.

Marsanasco, M., Marquez, A. L., Wagner, J. R., Alonso, S. V. & Chiaramoni, N. S., 2011, Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. Food Research International, 1-35.Mozafari, M. R., 2005, Liposomes: an overview of manufacturing techniques. *Cellular and molecular biology letters*, 10, 711–719.

Mozafari, M. R., 2005, Liposomes: an overview of manufacturing techniques. *Cellular and molecular biology letters*, 10, 711–719.

Mortazavi, S. M., Mohammadabadi, M. S., Khosravi-Darani, K. & Mozafari, M. S., 2007, Preparation of liposomal gene therapy vectors by a scalable method without using volatile solvents or detergents, *Journal of Biotechnology*, 129, 604–613.

Mozafari, M. R., Johnson, Ch., Hotziantoniou, S. & Demetzos, C., 2008, Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of Liposome Reserch*, 18, 309–327.

Mozafari, M. R., 2010, Nanoliposomes: preparation and analysis. Methods in molecular biology, Pp. Springer, 29-50.

Mozafari M.R., Khosravi-Darani K., Borazan G.G., Cui, J., Pardakhty A., & Yurdugul S., 2011, Encapsulation of Food Ingredients Using Nanoliposome Technology, *International Journal of Food Properties*, 11, 833-844.

Nagle, J. F. & Tristram-Nagle, S., 2000, Structure of lipid bilayers. Biochimica et Biophysica Acta, 1469, 159-195.

Nacke, C. & Schrader, J., 2011, Liposome based solubilisation of carotenoid substrates for enzymatic conversion in aqueous media. *Journal of Molecular Catalysis* B: Enzymatic, 71, 133–138.

Ramana, L., Sethuraman, S., Ranga, U. & Krishnan, U. M., 2010, Development of a liposomal nanodelivery system for nevirapine, Journal of Biomedical Science, 17, 1-9.

Rasti, B., Jinap, E., Mozafari, M. R. & Yazid, A. M., 2012, Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and Mozafari methods. *Food Chemistray*, 1-34.

Rauscher, R., Edenharder, R. & Platt, K. L., 1998, In vitro antimutagenic and in vivo anticlastogenic effects of carotenoids and solvent extracts from fruits and vegetables rich in carotenoids. Mutation Research, 413, 129–142.

Ribeiro, H. S., Rico, L. G., Badolato, G. G. & Schubert, H., 2005, Production of O/W emulsions containing astaxanthin by repeated premix membrane emulsification. *Journal of Food Science*, 70, 117-123.

Sagalowics, L. & Leser M., 2010, Delivery systems for liquid food products. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 15, 61–72.

Sakulkhu, U., Jarupaiboon, S., Trithong, A., Prathontep, S., Janyaprasert, V., Puttipipatkhachorn, S. & Ruktanonchai, U., 2007, Production and characterization of rice bran extract encapsulated in solid lipid nanoparticles for dermal delivery. Proceedings of The 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, 2007 Jan. 16-19, Bangkok, Thailand.

Tan, H. W. & Misran, M., 2012, Characterization of fatty acid liposome coated with low-molecular-weight chitosan. Journal of Liposome Research, 22(4), 329–335.

Viriyaroj, A., Ngawhirunpat, T., Sukma, M., Akkaramongkolporn, P., Ruktanonchai, U. & Opanasopit, P., 2009, Physicochemical properties and antioxidant activity of gamma-oryzanol-loaded liposome formulations for topical use. *Pharmaceutical Development Technology*, 6, 665–671.

Weiss, J., Takhistov, P. & Mcclements, J., 2006, Functional materials in food nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71, 107-116.

Wu, L., Zhang, J. & Watanabe, W., 2011, Physical and chemical stability of drug nanoparticles, Advanced Drug Delivery *Reviews*, 63, 456–469.

Xu, Z. and Godber, J. S., 2001, Antioxidant activities of major components of -oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. *Journal of American Oil Chemistry Sciences*, 78, 465-469.

Yin, L. J., Chu, B. S., Kobayashi, I. & Nakajima, M., 2009, Performance of selected emulsifiers and their combinations in the preparation of β-carotene nano dispersions. *Food Hydrocolloids*, 23, 1617-1622.

Yurdugul, S. & Mozafar, M. R., 2004, Recent advances in micro- and nanoencapsulation of food ingredients. *Cellular and molecular biology letters*, 9, 64–65.

Zhang, J. & Wang, S., 2009, Topical use of Coenzyme Q 10-loaded liposomes coated with trimethyl chitosan: Tolerance, precorneal retention and anti-cataract effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 372, 66–75.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 5, Dec- Jan 2017, p. 609-619

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۵، آذر – دی ۱۳۹۵، ص. ۶۱۹-۶۰۹

The study of the colloidal properties of nano liposomes containing beta-carotene produced by thermal method

B. Ghanbarzadeh[1*], S. Bashiri[2], H. Hamishekar[3], J. Dehghannya[4]

Received: 2014.11.27
Accepted: 2015.06.11

Introduction: The encapsulation of nutraceuticals in lipid based carriers, such as liposomes, can lead to increasing of bio-active ingredients bioavailability and controlled release, maintaining their stability in different environmental conditions and increasing solubility of hydrophobic active ingredients in aqueous conditions. Food grade liposomes are being increasingly used in food industry to delivery hydrophilic and hydrophobic components such as vitamin E and vitamin C, ascorbic asid, nutraceuticals, essential omega 3 fatty medium chain fatty acids-vitamine C, nisine, cartenoides, oleic acids, polyphenols include catechine, synamic acids.

One of the hydrophobic nutrients with antioxidant and beneficial pro-vitamine property is beta-carotene, which its high hydrophobicity and sensitivity in different environmental conditions has limited using of it for foodstuff enrichment. In order to improve the characteristics of the lipid bilayer, cholesterol traditionally has been included in the lipid membrane. It is important in decreasing permeability and strengthening the membrane. People suffering from hyper-cholesterolaemia are encouraged to avoid foods containing cholesterol. Since the plant sterols are natural compounds found in plant cell membranes which help maintain the membrane integrity. Such as Gama oryzanol is combination of different of plant sterols that is used in the formulation of nanoliposomes in this study to improve the stability of bilayers. The principal aim of this study was to prepare beta-caroten encapsulated nano- liposome formulations as a mean to improve its aqueous dispensability and to study the effect of lecithin-phytosterol concentrations on the partical size, encapsulation efficiency (EE), zeta potential, turbibility of beta carotene loaded nano-liposomes to get the optimized formulation.

Materials and methods: Preparing liposomes is being carried out using different methods one of which is a novel technique called is “Mozafari method” (based on heating method). This method is characterized by the absence of organic solvent for the solving of lipids.Non-toxicity of produced liposomes; rapid production and scalability are some of the advantages of Mozafari method over other methods of liposome production. In this study, the liposomal ingredients were added to a preheated (60 ^{0}C, 5 min) water, mixeture of beta-carotene, gamma oryzanol solution and glycerol (final concentration 3% v/v) were added. The mixtures volume increased by adding warm water until 50ml, the mixture was further heated 60 while stirring 1200 rpm for 50-60 min under nitrogen atmosphere.

Results and discussion: Effect of different concentration of lecithin (20, 40, 75, 100, 150, 200 mg) on particle size and zeta potential of nano-liposomes with constant amount of beta carotene (4 mg) and gamma-oryzanol for different concentration of lecithin with ratio 1:14 w/w were evaluated. The Particle size of nano liposomes with different concentration of lecithin was obtained below 500nm andthe optimal concentration of lecithin was 100 mg that particle size was minimum (64-88 nm).The gamma-oryzanol is a natural phytostrol which is as stabilizer for liposome membrance and promoting agent of hardness of vesicles wall however, the particle size of liposomes were reduced especially in low concentration of lecithin. The using phytosterols (gamma oryzanol) for maintaining the stability of liposomal membranesystems caused to reducing of particle size from 88nm to 64nm in 200 mg concentration of lecithin.

The entrapment efficiency increased by increasing concentration of lecithin for nano-liposomes. It is because increasing the lecithin concentration, more vesicles were produced which in turn increased the loading capacity of nano-liposomes. In the liposome structure, the aqueous core and bilayer are the hydrophilic and hydrophobic

1 and 4. Associated Professors of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2- M. Sc. of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3- Associated Professor of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Technology Laboratory, Drug Applied Research Center,Tabriz University of Medical Sciences
(*-Corresponding Author Email: Ghanbarzadeh@tabrizu.ac.ir)

parts, respectively. Therefore, the phospholipid bilayers place for beta carotene, and other hydrophobic substances. The entrapment efficiency in different concentration of lecithin was between 27-98%. The entrapment efficiency of liposomes containing beta carotene that used gamma oryzanol was less than liposomes without gamma oryzanol probably because the position of capsulation of gamma oryzanol and beta carotene is same in the bilayer of liposome that's hydrophobic source of liposomes. But Gamma oryzanol was not effective on encapsulation efficiency of beta-carotene.

The zeta potential, the electric potential in the interface or particle surface charge, is used to predict the stability of colloidal systems. In general, higher zeta potential values, regardless of their positive or negativity, indicate a higher and longer-term stability of the particles. Zeta potential of liposomes, which is a measure for the electrostatic repulsion and stability, was -29 and -35 milivolt for samples with and with not containing gamma oryzanol, respectively.

For turbidity of liposomes, encapsulation of bioactive compounds can change the optical appearance due to the fact that the refractive index at the interface between solvent and internal phase changes and the size of liposomes may be altered. Increasing significantly of turbidity of liposomes (16% -80%), the wave length increase from 0.116 to 0.585 cm^{-1} high concentration of lecithin maybe due to increasing visuals and hydrophobic interactions.

Key word: Nano Liposome, Beta Carotene, Colloidal Properties