تولید و ارزیابی ویژگی‌های نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیبات عصاره چای سبز

سعید نقوی[۱]، صدیف آزادمرد دمیرچی[۲]، سید هادی پیغمبردوست[۳*]، محمود صوتی خیابانی[۴]

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- استاد شیمی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٤- دانشیار میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۹٤/۰۵/۰٤ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰٦/۰۵)

چکیده

عصاره چای سبز به‌دلیل ویژگی‌های ضدمیکروبی، ضداکسایشی و پری‌بیوتیکی در صنایع غذایی و دارویی مورد توجه است. ریزپوشانی لیپوزوم‌ها روش مؤثری برای حفظ ترکیبات سودمند و افزایش دسترسی زیستی آنها در فراوری و نگهداری محصولات غذایی است. هدف این پژوهش تولید (با روش تزریق اتانول) و بررسی خواص نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیبات عصاره چای سبز بود. توزیع اندازه ذرات و قطر متوسط نانوذرات لیپوزومی عصاره چای سبز با روش پراکندگی نور لیزر تعیین شد. پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌ها اندازه‌گیری و کارایی ریزپوشانی برای بررسی محصورسازی عصاره سبز چای درون لیپوزوم با اندازه‌گیری ترکیبات فنولی بررسی شد. با افزودن عصاره برگ چای سبز در نانولیپوزوم‌ها و با افزایش بیشتر در غلظت عصاره، اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها از ٦۷/۷ نانومتر برای غلظت پایین (۱۰۰ میلی گرم ترکیب فنولی) به ۳۷۰ نانومتر در غلظت بالا (٤۰۰ میلی گرم ترکیب فنولی) افزایش پیدا کرد. با گذشت زمان، اندازه لیپوزوم‌های بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر در طی نگهداری به میزان زیادی افزایش یافت. تمامی فرمولاسیون‌های لیپوزومی دارای بار منفی بودند و پتانسیل زتا برای کلیه غلظت ها بین ۲۰- تا ۲۵- میلی ولت بود که نشان داد سیستم از بار منفی قابل توجهی برخوردار بود و سامانه لیپوزومی به‌دلیل وجود دافعه الکترواستاتیکی پایدار بود. کارایی ریزپوشانی پلی‌فنول‌های عصاره چای سبز در نانولیپوزوم‌های تهیه شده به روش تزریق اتانول، با افزایش غلظت عصاره به‌طور معنی‌داری ($p<0.05$) کاهش یافت. نتایج اندازه‌گیری کارایی ریزپوشانی نشان داد که کارایی از ٦۵ تا ۹۵ درصد متغیر بود. در کل، تولید نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره چای سبز به روش تزریق اتانول با خواص مطلوب صورت گرفت.

کلید واژگان: چای سبز، ریزپوشانی، نانولیپوزوم، ترکیبات فنولی

*مسئول مکاتبات: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه تقاضای مصرف کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی منجر به افزایش رو به رشد استفاده از این مواد در صنایع غذایی به عنوان عوامل ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان و نگهدارنده شده است [۱]. چای سبز یکی از مطلوب‌ترین ترکیب‌های طبیعی است که از شاخه‌های جوان گیاه چای *Camellia sinensis* که متعلق به خانواده *Theaceae* است به‌دست می‌آید [۲]. چای سبز حاوی مقدار بالایی از ترکیبات فنولی است. کاتچین‌ها پلی‌فنول‌های عمده چای سبز هستند و در بین آن‌ها اپی گالو کاتچین-۳-گالات[1] اصلی‌ترین و فعال‌ترین ترکیب از نظر بیولوژیکی است [۳]. به تازگی، چای سبز به دلیل برخی اثرات مفید از جمله خاصیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و پربیوتیک در صنایع غذایی و دارویی بسیار مورد توجه واقع شده است [۱].

پژوهشگران مختلفی اثبات کرده‌اند که عصاره چای سبز محرک رشد باکتری‌های مفید هستند [٤]. نقش پروبیوتیک عصاره چای سبز به وجود ترکیبات مغذی ضروری و عناصر کمیاب آن نسبت داده شده است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی چای سبز به دلیل محتوای پلی‌فنولی آن است که از طریق اهدای اتم هیدروژن، قطع واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون و پذیرش رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را مهار می‌نماید [۱].

یکی از مشکلات اساسی که به طور عمده کاربرد ترکیبات طبیعی را در صنایع غذایی و دارویی محدود می‌کند، کارایی پایین ناشی از حساسیت به شرایط محیطی و کاهش پایداری در طی فرایند و نگهداری و دسترسی زیستی پایین آن‌ها است [۵]. بنابراین پژوهش برای روشی جدید به‌منظور حفاظت انتخابی ترکیبات طبیعی در طی فرایند و نگهداری مهم است. بدین منظور روش‌های مختلفی از ریزپوشانی از جمله نانولیپوزوم‌ها پیشنهاد شده است [۱و۵-٦]. ریزپوشانی توسط نانولیپوزوم‌ها، که وزیکول‌های میکروسکوپی حاصل از تجمع خودبخودی مولکول‌های چربی و یا فسفولیپید در محیط آب هستند، می‌تواند به عنوان سیستم حامل برای حفاظت ترکیبات فعال یا حساس مورد استفاده قرار گیرد [۷-۸]. تولید نانولیپوزوم از روش‌های جدیدی است که برای درون‌پوشانی مواد زیست فعال مانند ترکیبات فنولی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد، تلخی آنها را پوشش دهد و هر دو طیف ترکیبات فنولی آبدوست (در هسته داخلی) و آبگریز (در بین دو لایه لیپیدی) را حمل و به‌تدریج در مواد غذایی آزاد سازد. از سوی دیگر کپسوله کردن ترکیبات زیست فعال در شکل لیپوزومی می‌تواند با افزایش جذب و ماندگاری آنها در سیستم هاضمه به توسعه غذاهای فراسودمند کمک می‌کند [۹].

با توجه به اهمیت تغذیه‌ای و تکنولوژیکی ترکیبات مؤثر موجود در چای سبز و طعم تلخ و همچنین احتمال اکسیداسیون و نابودی ترکیبات، هدف از این پژوهش، بررسی امکان تولید نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره چای سبز در غلظت‌های مختلف با روش تزریق اتانول و بررسی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و کارایی ریزپوشانی آن بود. نانولیپوزوم‌های تولیدی در محصولات و فراورده‌های غذایی مختلف می‌تواند استفاده شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

فسفاتیدیل کولین (با خلوص بیشتر از ۹۹٪) از شرکت *Lipoid* (آلمان)، کلسترول، اتانول و سایر مواد شیمیایی از شرکت مواد شیمیایی مرک (آلمان) تهیه شدند. چای سبز نیز از مزارع شمال ایران تهیه شد.

۲-۲- تهیه عصاره چای سبز

برگ‌های خشک چای سبز به منظور کاهش اندازه ذرات و یکنواختی بیشتر در میکسر خرد شدند و طبق روش مولان و همکاران [۱۰] استخراج عصاره آبی انجام شد. برای این‌کار چای سبز خرد شده با آب مقطر (نسبت ۱ به ۱۰) در دمای ۸۰°C مخلوط شده و روی بن ماری با دمای ۸۰°C به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از این مدت عصاره حاصل در دمای محیط خنک و صاف شد. عصاره آبی تهیه شده بلافاصله در آزمایش‌ها استفاده شد و در صورت توقفی در کار تا زمان استفاده در یخچال با دمای ٤ °C نگهداری شد.

۲-۳- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی چای سبز

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از معرف فولین سیو کالتیو مطابق روش کاپانسی و همکاران [۱۱] انجام شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد.

1. Epi-galocatechin-3-galat

۲-٤- تهیه نانولیپوزوم‌ها

لیپوزوم‌ها با استفاده از روش تزریق اتانول تهیه شدند. بدین منظور فسفاتیدیل کولین درغلظت ۱۵*μmol/ml*، کلسترول (با نسبت مولی ٤: ۱ فسفاتیدیل کولین: کلسترول) در اتانول حل شدند. سپس ۱۰ml محلول اتانولی به آرامی داخل ۷۰ml آب مقطر حاوی مقدار معینی عصاره چای سبز (در غلظت‌های مختلف از ۱۰۰ میلی‌گرم ترکیبات فنلی تا ٤۰۰ میلی‌گرم مطابق جدول ۱) تحت فرایند هموژنیزاسیون با سرعت ۲۰۰۰۰rpm تزریق شد. سوسپانسیون لیپوزومی تهیه شده برای آنالیز بعدی در دمای ٤°C نگهداری شد [۱۲].

Table 1 Formulation of different nanoliposomes

Treatments	GTE content in nanoliposomes (cm^3)
F1	5
F2	10
F3	15
F4	20

Each cm^3 of GTE contained 20 mg phenolic compound

۲-۵- اندازه ذرات و پتانسیل زتا

اندازه ذرات و پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه پراکنش نور دینامیک (DLS) (مدل Nanotrac Wave شرکت Microtrac ، آلمان) اندازه گیری شد [۱۳].

۲-٦- کارایی ریزپوشانی

برای تعیین کارایی ریزپوشانی، ابتدا ترکیبات فنولی کپسوله نشده در سوسپانسیون لیپوزومی با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰rpm (با شتاب ۸۰۰۰ g) به مدت ۱۵ دقیقه از بخش کپسوله شده جداسازی شد. سپس به فاز کپسوله مقداری متانول اضافه شد تا غشاء لیپوزومی حل شده و ترکیبات فنولی کپسوله آزاد گردند. در نهایت میزان جذب در هر دو بخش با استفاده از اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش-مرئی در طول موج ۷۲۵nm تعیین گردید. برای تعیین غلظت فنول کل، منحنی استاندارد جذب-غلظت گالیک اسید رسم شد و با استفاده از قرار دادن شدت جذب خوانده شده در منحنی استاندارد غلظت فنول کل هر بخش محاسبه گردید. سپس کارایی ریزپوشانی با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد [۱٤].

$$\text{کارایی کپسولاسیون ریزپوشانی (\%)} = \frac{C_{\text{کل}} - C_{\text{آزاد}}}{C_{\text{کل}}} \times 100 \quad \text{رابطه (3-1)}$$

در این فرمول $C_{\text{کل}}$ غلظت فنول کل در سوسپانسیون لیپوزومی و $C_{\text{آزاد}}$ غلظت فنول کل در بخش غیرکپسوله است.

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام گرفتند و آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش توکی صورت‌گرفت و سطح احتمال خطای (p <۰/۰۵) در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ ۲۰۱۰ صورت‌گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه ذرات

اندازه ذرات از فاکتورهای مهم در ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال است، به این علت که می‌تواند پایداری سیستم و همچنین مقدار رهایش ترکیبات زیست فعال را تحت تأثیر قرار دهد. نتایج مربوط به قطر متوسط اندازه ذرات و تأثیر مقادیر مختلف عصاره بر روی این پارامتر در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به جدول مزبور، بیش‌ترین و کم‌ترین اندازه ذرات به ترتیب ۳۷۰ (نانولیپوزوم حاوی ٤۰۰ میلی گرم ترکیبات فنولی عصاره چای سبز) و ٦۷/۷ نانومتر (نانولیپوزوم حاوی ۱۰۰ میلی گرم ترکیبات فنولی عصاره چای سبز) مشاهده شد. با افزودن عصاره برگ چای سبز در نانولیپوزوم‌ها، و با افزایش بیشتر در غلظت عصاره، اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها افزایش پیدا کرد (شکل ۱). افزایش قطر لیپوزوم‌های حاوی عصاره نشانگر این است که ترکیبات فنولی فقط در داخل لیپوزوم کپسوله نمی‌شوند، بلکه ممکن است بخشی از آن‌ها در غشای دولایه‌ای به دام بیافتند و یا جذب سطح لیپوزوم‌ها شوند [۱۲]. میانگین اندازه نانولیپوزوم‌های فاقد عصاره و نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره دانه انگور که توسط گیبیس و همکاران [۱۵] به روش هموژنیزاسیون با فشار بالا تولید شدند، به ترتیب ۳٤ و ۱۰۷/٦ نانومتر بودند، که فرمولاسیون بهینه نانولیپوزوم‌ها، شامل ۱٪ لستین سویا و ۰/۱٪ عصاره دانه انگور بود. گولسرن و همکاران [۱٦] پلی‌فنول‌های چای را با استفاده از هموژنایزر با فشار بالا توسط نانولیپوزوم انکپسوله نمودند، اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها که در ساختار آن‌ها از فسفولیپیدهای غشای گلبول‌های چربی شیر استفاده شده بود بیشتر از ۱۰۰ نانومتر بود.

Table 2 Particle size of liposomes containing different concentrations of green tea extract

Formulations	Particle size (nm)	
	Day 1	Day 7
F1	67.7 ± 5.3 ^{Ad}	68.1 ± 3.8 ^{Ad}
F2	100.1 ± 7.2 ^{Ac}	99.2 ± 8.2 ^{Ac}
F3	190.4 ± 11.4 ^{Bb}	253 ± 10.9 ^{Ab}
F4	370 ± 15.3 ^{Ba}	489 ± 18.5 ^{Aa}

Data are mean of triplicates. Small and capital different letters show significant ($p<0.05$) differences between means for formulations and days, respectively. Formulations F1-F4 are described in Table 1.

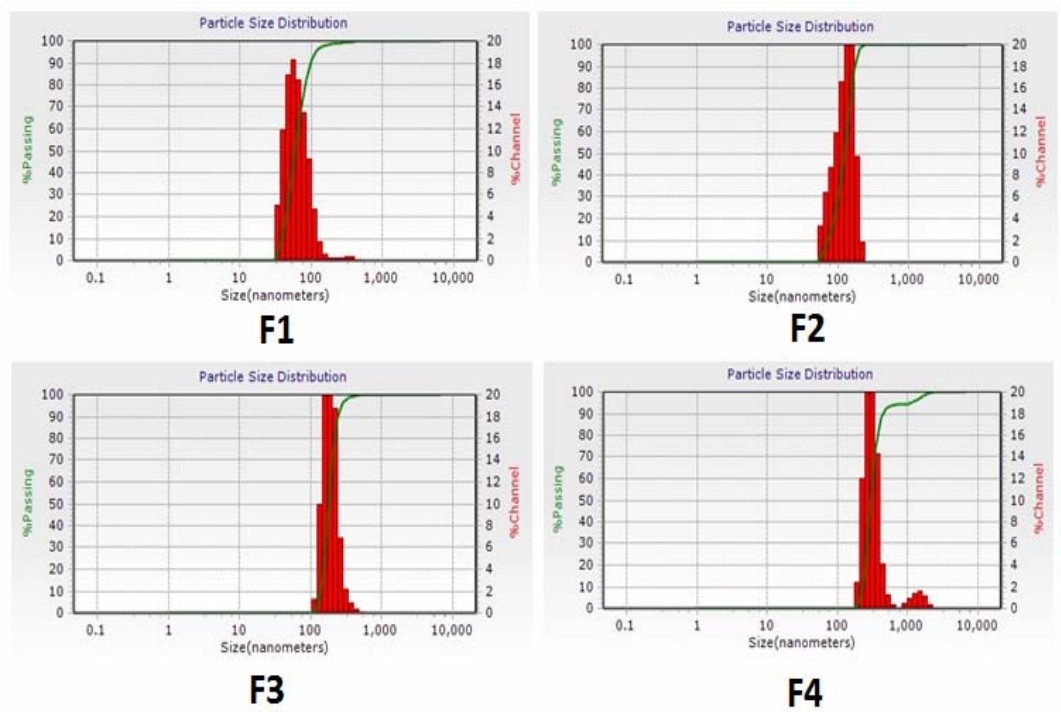

Fig 1 Average volumes of nanoliposomes particles containing different concentrations of GTE in Day 1. F1 to F4 treatments are described in Table 1.

نگهداری نانولیپوزوم‌های تولیدی به‌مدت یک هفته نشان داد که اندازه ذرات اولیه لیپوزومی در افزایش اندازه آنها مؤثر بود، به‌صورتی که لیپوزوم‌های با اندازه بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر در طی نگهداری با افزایش اندازه قابل توجهی مواجه شدند (جدول ۲). احتمالاً این موضوع می‌تواند ناشی از بارهای منفی موجود در ترکیبات فنولی نیز باشد که موجب دفع ذرات نانولیپوزومی و در نتیجه باز شدن لایه ها و افزایش اندازه نانولیپوزوم‌ها می‌شود [۱۲].

۳-۲- پتانسیل زتا

پتانسیل زتا تابعی از بار سطحی وزیکول‌های لیپیدی، هر لایه جذب شده در لایه بین سطحی و ماهیت و ترکیب محیطی که لیپوزوم در آن به صورت تعلیق درآمده است، می‌باشد [۱۷]. همچنین پتانسیل زتا شاخصی برای مقدار برهم‌کنش دافعه بین ذرات کلوئیدی است و برای ارزیابی پایداری سوسپانسیون‌های وزیکولی استفاده می‌شود. در ذرات با پتانسیل زتای پایین، تنها نیروی دافعه اندکی وجود دارد و ذرات در نهایت به هم پیوسته و موجب ناپایداری سیستم خواهند شد. عموما اگر پتانسیل زتای کل سیستم کلوئیدی بالاتر از ±۳۰mV باشد ذرات از نظر نیروهای دافعه الکترواستاتیکی پایدار خواهد بود [۵]. نتایج مربوط به پتانسیل زتا برای نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیبات پلی‌فنولی و نیز فاقد این ترکیبات در جدول ۳ نشان داده شده است که در تمامی فرمولاسیون‌های لیپوزومی دارای بار منفی بودند.

Table 3 Zeta potential for nanoliposome with different concentrations of GTE

Formulation	Zeta potential (mV)
F1	-23 ± -0.5 [b]
F2	-25 ± -0.8 [a]
F3	-25 ± -0.7 [a]
F4	-20 ± -0.5 [c]

Data are mean of triplicates. Different letters show significant ($p<0.05$) differences between means. Formulations F1-F4 are described in Table 1.

بررسی‌ها نشان داده است که ترکیبات فنولی نه‌تنها می‌توانند در داخل لیپوزوم‌ها قرار بگیرند، بلکه می‌توانند به سطح غشای لیپوزومی نیز جذب یا ملحق شوند [۱۵]. گیبیس و همکاران [۱۵] همچنین گزارش نمودند که بیش از ۸۰ درصد ترکیبات پلی‌فنولی عصاره دانه انگور به سطح غشای لیپوزومی متصل شده‌اند. لذا به نظر می‌رسد کاهش بار منفی سیستم با افزایش بیشتر غلظت عصاره می‌تواند ناشی از پوشش هرچه بیشتر سطح لیپوزوم‌ها و در نتیجه کاهش بار سطحی باشد.

۳-۳- کارایی ریزپوشانی

نتایج مربوط به تأثیر نسبت‌های مختلف فسفاتیدیل کولین به عصاره بر کارایی ریزپوشانی عصاره چای سبز در جدول ٤ نشان داده شده است. میزان ریزپوشانی پلی‌فنول‌های عصاره چای سبز در نانولیپوزوم‌های تهیه شده به روش تزریق اتانول با افزایش غلظت عصاره کارایی ریزپوشانی به مقدار قابل توجهی کاهش یافت. ایسایلوویچ و همکاران [۱۸] کارایی ریزپوشانی ۹۰٪ را در مقابل کارایی ۵۰٪ برای نانولیپوزوم‌های حاوی رسوراتول تهیه شده به ترتیب با روش روزن رانی و استفاده از امواج فراصوت گزارش کردند. ناکایاما و همکاران [۱۹] نشان دادند که ترکیبات فنولی در غلظت‌های بالا ممکن است موجب گسستن غشای لیپوزومی و نشت و خروج ترکیبات فنولی از لیپوزوم‌ها شوند.

Table 4 Encapsulation efficiency of nanoliposome with different concentrations of GTE

Encapsulation efficiency (%)	Formulation
95 ± 3.4 [a]	F1
93 ± 2.8 [b]	F2
87 ± 3.1 [c]	F3
65 ± 1.5 [d]	F4

Data are mean of triplicates. Different letters show significant ($p<0.05$) differences between means. Formulations F1-F4 are described in Table 1.

٤- نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد که ریزپوشانی نانولیپوزوم می‌تواند روش مؤثری برای حفظ ترکیبات موجود در عصاره چای سبز باشد. همچنین معلوم شد که کارایی این روش در غلظت‌های پایین، بهتر و بیشتر است (جدول ٤). با افزودن عصاره برگ چای سبز در نانولیپوزوم‌ها، و با افزایش بیشتر در غلظت عصاره اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها افزایش پیدا کرد. نگهداری نانولیپوزوم‌های تولیدی به مدت یک هفته نشان داد که اندازه ذرات اولیه لیپوزومی در افزایش اندازه آنها مؤثر بود، به‌صورتی که لیپوزوم‌های با اندازه بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر در طی نگهداری با افزایش اندازه قابل توجهی مواجه شدند. پتانسیل زتا برای کلیه غلظت ها بین ۲۰- تا ۲۵- میلی ولت بود که نشان داد سیستم از بار منفی قبل توجهی برخوردار بود و ذرات از نظر نیروهای دافعه الکترواستاتیکی پایدار بودند. این موضوع موجب دفع ذرات از همدیگر و جلوگیری از تراکم و بهم چسبیدن آنها شد. ترکیبات فنولی دیگری همچون رسوراتول نیز ریزپوشانی شدند. ریزپوشانی پلی‌فنول‌های عصاره چای سبز در نانولیپوزوم‌های تهیه شده به روش تزریق اتانول با افزایش غلظت عصاره کارایی ریزپوشانی به مقدار قابل توجهی کاهش یافت.

٤- منابع

[1] Noudoost, B., Noori, N., Amo Abedini, Gh., Gandomi, H., Akhondzadeh Basti, A., Jebeli Javan, A. and Ghadami, F. 2015. Encapsulation of green tea extract in nanoliposomes and evaluation of its antibacterial, antioxidant and prebiotic properties. *Journal of Medicinal Plants*, 14(55):66-78.

[2] Balentine, D.A., Wiseman, S.A. and Bouwens, L.C. 1997. The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food. Science and Nutrition,* 37(8):693-704.

[3] Yang, T. and Koo. M. 1997. Hypocholesterolemic effects of Chinese tea. *Pharmacological Research*, 35(6): 505 - 512.

[4] Weisburger J.H. 1999. Tea and health: the underlying mechanisms. Experimental Biology and Medicine, 220 (4): 271 - 5.

[5] Lu, Q., Li, D.C. and Jiang, J.G. 2011. Preparation of a tea polyphenol nanoliposome system and its

physicochemical properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(24): 13004-13011.

[6] Elabbadi, A., Jeckelmann, N., Haefliger, O.P. and Ouali, L. 2011. Complexation/encapsulation of green tea polyphenols in mixed calcium carbonate and phosphate micro-particles. Journal of Microencapsulation, 28 (1): 1-9.

[7] Keller, B.C. 2001. Liposomes in nutrition. Trends in Food Science and Technology, 12: 25–31.

[8] Mozafari, M.R., Flanagan, J., Matia,Merino, L., Awati, A., Omri, A., Suntres, Z. E. and Singh, H. 2006. Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86: 2038-2045.

[9] Emami, S., Azadmard-Damirchi, S., Peighambardoust, S.H., Valizadeh, H. and Hesari, J., 2016. Liposomes as carrier vehicles for functional compounds in food sector. *Journal of Experimental Nanoscienc*, 11: 1-23.

[10] Molan A.L., De S. and Meagher L. 2008. Antioxidant activity and polyphenol content of green tea flavan-3-ols and oligomeric proanthocyanidins *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60(6): 497-506.

[11] Capannesi C., Palchetti I., Mascini M. and Parenti A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71: 553–562

[12] Zou, L.Q., Liu, W., Liu, W., Liang, R., Li, T., Liu, C., Cao, Y.L., Niu, J. and Liu, Z. 2014. Characterization and bioavailability of tea polyphenol nanoliposome prepared by combining an ethanol injection method with dynamic high-pressure microfluidization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 934-941.

[13] Fatouros, D.G. and 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(2): 271-277.

[14] Sorgi, F.L. and Huang, L. 1996. Large scale production of DC-Chol cationic liposomes microfluidization. *International Journal of Pharmaceutics*, 144(2): 131-139.

[15] Gibis, M., Vogt, E. and Weiss, J. 2012. Encapsulation of polyphenolic grape seed extract in polymer-coated liposomes. *Food and Function*, 3: 246-54.

[16] Gülseren, I. and Corredig, M. 2013. Storage stability and physical characteristics of tea-polyphenol-bearing nanoliposomes prepared with milk fat globule membrane phospholipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(13): 3242-3251.

[17] Gregoriadis, G. (Ed.) 2006. Liposome Technology, Vol. I. Liposome Preparation and Related Techniques. 3rd Ed. CRC Press. USA.

[18] Isailović, B.D., Kostić, I.T., Zvonar, A., Đorđević, V.B., Gašperlin, M., Nedović, V.A. and Bugarski, B.M. 2013. Resveratrol loaded liposomes produced by different techniques. *Innovative Food Science & Emerging* Technologies, 19: 181-189.

[19] Nakayama, T., Hashimoto, T., Kajiya, K. and Kumazawa, S. 2000. Affinity of polyphenols for lipid bilayers. Biofactors, 13(1-4): 147-151.

Evaluating the properties of nanoliposomes containing green tea extract produced by ethanol injection method

Naghavi, S. [1], Azadmard-Damirchi, S. [2], Peighambardoust, S. H. [2*], Sowti Khiabani, M. [3]

1. PhD Student, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
2. Professor of Food Chemistry, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
3. Associate Prof. of Food Microbiology, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz

(Received: 2015/07/26 Accepted: 2017/08/27)

Green tea extract (GTE) has gained more attention in food and pharmaceutical industry for its beneficial effects such as anti-bacterial, antioxidant and prebiotic properties. Encapsulation in liposomes is used as a delivery system to preserve the functional compounds and their bioavailability in food processing and storage. The aim of this study was to produce (with ethanol injection method) and characterize nanoliposomes containing GTE. Particle size distribution and average diameter of GTE nanoliposomes were determined using dynamic light scattering method. Zeta potential and encapsulation efficiency was determined using measurement of the total phenolic compounds of GTE in nanoliposomes. By incorporating more concentration of GTE in nanoliposomes their particle size increased from 67.7 nm for lower concentration (containing 100 mg phenolic compounds) to 370 nm for higher concentration (containing 400 mg phenolic compounds). The average particle size of larger nanoliposomes (>100 nm) was increased upon storage time. Zeta potential data ranged from -20 to -25 mV indicating that the system possessed negative electrostatic charges promoting nanoliposomes stability due to electrostatic repellence. Encapsulation efficiency was significantly ($p<0.05$) reduced by increasing in GTE concentrations in nanoliposomes. Overall, it could be concluded that ethanol injection method could successfully produce GTE nanoliposomes with desired physical properties.

Keywords: Green Tea, Encapsulation, Nanoliposome, Phenolic compounds

* Corresponding Author E-Mail Address: peighambardoust@tabrizu.ac.ir