



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی‌های ساختاری نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره جلبک پادینا (*Padina distromatic*) تولید شده به روش حرارتی

خدیجه شیرانی بیدآبادی^۱، شیلا صفاییان^{۲*}، رضوان موسوی ندوشن^۳، ناهید رحیمی فرد^۴

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴- استاد تمام گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی و دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۵

کلمات کلیدی:

نانولیپوزوم،

عصاره جلبک پادینا،

خصوصیات ساختاری،

ضد سرطان،

ضد آلزایمر

ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال در حامل‌های لیپیدی از جمله لیپوزوم‌ها علاوه بر بهبود پایداری در زمان نگهداری با افزایش زیست‌دسترسی پذیری و رهایش کنترل شده موجب ارتقاء کارایی این ترکیبات در شرایط درون‌تنی می‌گردد. جلبک پادینا دارای مقادیر قابل توجهی از پلی‌فنل‌ها با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و مهار آنزیم استیل‌کولین استراز (AChE) است که قابلیت کاربرد به عنوان مکمل ضد سرطان و بهبوددهنده اختلالات نورولوژیک را دارد. از این رو هدف از انجام این پژوهش تولید و بررسی خصوصیات ساختاری نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره جلبک پادینا با استفاده از روش حرارتی بود. بدین منظور آزمون‌های توزیع و اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها، پتانسیل زتا، راندمان درون‌پوشانی عصاره و تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری انجام شد. نتایج نشان داد اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های تولیدی در سطوح متفاوت فسفاتیدیل کولین (لستین) (۲/۵ و ۴/۵ درصد) و عصاره جلبک پادینا (۰/۷ و ۲ درصد) در محدوده ۳۱۸-۶۰ نانومتر بودند. نتایج آزمون شاخص چند پراکندگی و پتانسیل زتا نیز حاکی از یکنواختی ذرات تولیدی همراه با دافعه الکترواستاتیکی بالای میان ذرات بود. همچنین یافته‌های بدست آمده نشان داد قابلیت بارگذاری ذرات نانولیپوزوم (راندمان درون‌پوشانی عصاره) در کمترین سطح ماده دیواره‌ای (۲/۵ درصد) و بیشترین سطح عصاره جلبک پادینا (۲ درصد) ۵۲/۸ درصد بود. ارزیابی خصوصیات مورفولوژیک ساختار نانولیپوزوم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری نیز نشان‌دهنده شکل‌گیری ذراتی یکنواخت با هندسه کروی شکل بود. با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش می‌توان گفت که قابلیت تولید ساختار نانولیپوزومی حاوی عصاره جلبک پادینا با خصوصیات ساختاری مناسب مهیاست که این امر می‌تواند دورنمای کاربرد احتمالی این عصاره با رویکردی درمانی را بهبود ببخشد.

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.107
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.138.9.1

* مسئول مکاتبات:

shilla2462462@yahoo.co.in

۱- مقدمه

پادینا، جلبک دریایی قهوه‌ای متعلق به خانواده *Dictyotaceae* است که به طور گسترده در سراسر آب‌های گرمسیری وجود دارد و معمولاً در امتداد صخره‌های مرجانی قرار دارند. تاکنون حدود ۸۰ گونه از جنس پادینا در دنیا شناسایی شده است. محل زیست این جلبک دریایی در نواحی جزر و مدی عمق ۱۰-۰ متری آب‌های گرم گزارش شده و به دلیل شکل خاص، اندازه و رنگ بخصوص برگ-های آن به راحتی از سایر جلبک‌های دریایی قابل شناسایی است. در سواحل شمالی خلیج فارس ۶ گونه از جنس پادینا شناسایی شده است. این جلبک جزء فراوان‌ترین جلبک‌های سواحل شمالی دریای عمان و خلیج فارس می‌باشد [۱] و [۲]. هلیلا و همکاران (۲۰۱۷)، انصاری و همکاران (۲۰۱۹) و یوسالتر و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند جلبک‌های قهوه‌ای دارای مقادیر قابل توجهی از پلی‌فنل‌ها با خواص آنتی‌کسیدانی، ضد میکروبی و ضد استیل کولین استراز (AChE) (مؤثر در درمان اختلالات نورونیک) هستند. همچنین این جلبک‌ها حاوی اسیدهای چرب ضروری امگا-۳ و ویتامین B₁₂ بوده و منبع غنی از ویتامین‌های A، B₁، B₂، B₆، C، نیاسین و مواد معدنی مثل ید، پتاسیم، منیزیم و کلسیم می‌باشند [۳-۵]. شیرانی بیدآبادی و همکاران (۱۴۰۱) به مطالعه ترکیبات شیمیایی عصاره جلبک *Padinadistromatic* پرداختند. نتایج این محققان نشان داد بیشترین ترکیبات موجود در عصاره این جلبک Butanoic acid, butul ester و n-Hexadecanoic acid بودند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی داشتند [۶]. همچنین شیرانی بیدآبادی و همکاران (۱۴۰۱) طی مطالعه‌ای بیان نمودند عصاره جلبک قهوه‌ای پادینا (استخراج شده با روش اولتراسوند) از محتوای فنول و فلاونوئید بالایی برخوردار بود. این محققان نیز گزارش کردند عصاره جلبک پادینا استخراج شده به روش اولتراسوند و ماسیراسیون دارای

فعالیت بازدارندگی استیل کولین استراز (AChE) بودند [۷]. این پژوهشگران در تحقیقی دیگر به بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره جلبک‌های قهوه‌ای (پادینا و سارگاسوم) پرداختند. نتایج مطالعات شیرانی بیدآبادی و همکاران (۱۴۰۱) نشان داد عصاره جلبک پادینا در مقایسه با عصاره جلبک سارگاسوم از خاصیت ضد میکروبی بیشتری برخوردار بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره جلبک پادینا ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمد. عصاره جلبک پادینا در ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر باکتری کشی داشت [۸]. با وجود تمام مزایای عصاره‌های گیاهی باید گفت ترکیبات زیست فعال آن‌ها حساس به شرایط محیطی هستند و در دوره نگهداری دستخوش تغییرات و کاهش اثرات سلامت‌زایی می‌شود [۹]. از سوی دیگر ترکیبات مؤثره گیاهان در فراورده‌های غذایی سبب افزایش ویژگی‌های عملگرایی (با کنترل زمان رهایش) و بهبود خصوصیات تغذیه‌ای می‌شوند که اهمیت آن‌ها را دوچندان می‌کند [۱۰]. بنابراین استفاده از روشی که ترکیبات زیست فعال عصاره‌های گیاهی را در مقابل شرایط محیطی محافظت کند و آزاد شدن آن را در زمان مورد نیاز و به صورت کنترل شده محقق نماید، اهمیت به‌سزایی دارد و نقطه عطفی در تولید، تجارت و نیز کاربرد این ترکیبات در صنعت محسوب می‌شود.

ریزپوشانی یکی از فرایندهای نوین در صنایع غذایی است که می‌تواند ترکیبات فراسودمند را محافظت کرده و در زمان مورد نیاز این ترکیبات را به صورت کنترل شده، آزاد نماید [۱۱]. در سالیان اخیر، کاربرد روش ایجاد نانولیپوزوم برای کپسولاسیون ترکیبات زیست فعال و بهبود کارایی و زیست دسترس‌پذیری آن توجهات بسیاری را در حوزه غذا و دارو به خود جلب کرده است [۱۲ و ۱۳]. لیپوزوم به یک

تهیه گردید. جلبک قهوه‌ای پادینا (*Padinadistromatic*) از استان سیستان و بلوچستان (بندر چابهار) جمع آوری شد.

۲-۲- استخراج عصاره از جلبک پادینا

عصاره‌گیری از جلبک قهوه‌ای پادینا (*Padinadistromatic*) مطابق با روش شیرانی و همکاران (۱۴۰۱) صورت گرفت [۷]. در این روش، از امواج غیرمستقیم اولتراسونیک با فرکانس ۷۰ کیلو هرتز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استفاده شد. بدین منظور ۱۰ گرم جلبک به همراه حلال متانول، ان-هگزان و ان-بوتانول در بشر ریخته شد. مخلوط به مدت یک ساعت در حمام اولتراسونیک قرار گرفت. سپس محلول صاف گردید و متانول و حلال‌های دیگر توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان حذف گردید [۱۶].

۲-۳- روش تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره پادینا

لیپوزوم‌های حاوی عصاره جلبک پادینا با استفاده از روش حرارتی مظفیری و همکاران (۲۰۰۵) تولید گردید. ابتدا محلول عصاره جلبک پادینا در ۲ غلظت ۰/۷ و ۲ درصد با آب یون‌زدایی شده، تهیه گردید. سپس فسفاتیدیل کولین در دو سطح ۲/۵ و ۴/۵ درصد به محلول حاوی عصاره‌ها افزوده شد. در انتها گلیسرول در غلظت ۳ درصد به محلول‌های تهیه شده، اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت هم زدن ۱۰۰۰ دور بر دقیقه بر روی هات‌پلیت قرار گرفت. پس از طی زمان اشاره شده نمونه‌های لیپوزومی برای افزایش پایداری به مدت یک ساعت در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و در انتها تا انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۱۷].

۲-۴- اندازه‌گیری توزیع و اندازه ذرات

وزیکول میکروسکوپی شامل دو لایه فسفولیپیدی گفته می‌شود که یک فضای مائی را احاطه نموده است. ضخامت این لیپید دو لایه به طور معمول بین ۶-۳ نانومتر است و لیپوزوم‌های تشکیل شده از آن‌ها می‌توانند قطره‌ای بین ۵۰ نانومتر تا ۵۰ میکرومتر داشته باشند [۱۴]. لیپوزوم‌ها به دلیل خصوصیات آمفی‌پاتیک (دوگانه دوست) عناصر سازنده‌شان، امکان رسانش ترکیبات زیست فعال هیدروفیل و لیپوفیل را فراهم می‌نمایند. ویژگی‌هایی از قبیل سمیت ذاتی پایین، زیست‌تجزیه‌پذیری و فقدان ایمونوژنیسیته، سبب شده است که لیپوزوم‌ها به عنوان یک حامل بسیار مناسب در سیستم‌های رسانش نوین ترکیبات زیست فعال مورد توجه واقع شوند [۱۵]. این ساختارهای ریز و کیسه مانند، شبیه بسته‌ها یا کپسول‌هایی می‌باشند که می‌توان با به دام انداختن داروها در درونشان (انکپسولاسیون) از آن‌ها برای حمل ترکیبات هدف به نقاط مختلف بدن استفاده کرد. در نتیجه، دارو رسانی یکی از کاربردهای مهم لیپوزوم‌ها می‌باشد. از این رو هدف از انجام این پژوهش تولید نانولیپوزوم‌های عصاره جلبک پادینا (سطوح ۰/۷ و ۲ درصد) با دیواره‌ای از جنس فسفاتیدیل کولین (سطوح ۲/۵ و ۴/۵ درصد) بود که به منظور ارزیابی قابلیت تولید ساختار نانولیپوزومی حاوی عصاره جلبک پادینا با خصوصیات ساختاری مناسب، توزیع و اندازه ذرات لیپوزوم، پتانسیل زتای ذرات، راندمان درون‌پوشانی عصاره و تصویر برداری میکروسکوپ الکترونی عبوری از ساختار لیپوزوم‌ها بررسی شدند.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

فسفاتیدیل کولین (لسیتین) از شرکت ACROS ORGANICS بلژیک و گلیسرول از شرکت مرک آلمان

راندمان انکپسولاسیون عصاره بر مبنای رابطه ذیل تعیین گردید [۲۱].

رابطه ۱-

$$\%EE = (P_i - P_s) / P_i \times 100$$

در این رابطه P_i محتوای فنل کل و P_s نشان‌دهنده محتوای فنل قرار گرفته در سوپرناتانت است.

۲-۸- تصویری برداری میکروسکوپ الکترونی عبوری

مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون لیپوزوم بر روی گرید با پوشش مس به مدت ۲ دقیقه قرار گرفت، سپس با ۲۰ میکرولیتر اوریل استات برای ۱ تا ۲ دقیقه رنگ‌آمیزی شد. پس از خشک شدن در دمای محیط، مورفولوژی نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (امگا، Leo912AB، آلمان) در ولتاژ ۱۰۰ کیلو وات مورد بررسی قرار گرفت [۲۲].

۲-۹- طرح آماری

داده‌های بدست آمده در در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار Mini-Tab17 تجزیه و تحلیل شد. بدین ترتیب میانگین سه تکرار برای تمام آزمون‌ها در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی ($P < 0.05$) انجام و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- توزیع و اندازه ذرات

شکل ۱ نشان‌دهنده تأثیر تغییر نسبت ماده دیواره (فسفوتیدیل کولین) به هسته (عصاره جلبک پادینا) بر اندازه و توزیع ذرات لیپوزوم است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد اندازه و توزیع ذرات تحت تأثیر نسبت میان ماده هسته و فسفولیپید دیواره‌ای قرار داشت. براساس نتایج،

توزیع اندازه و قطر متوسط ذرات با استفاده از دستگاه آنالیز اندازه ذرات (Cordouan Technologies) ساخت کشور فرانسه) و براساس تفرق نور و مطابق با روش پان و همکاران (۲۰۱۸) اندازه‌گیری شد [۱۸].

۲-۵- اندازه‌گیری پتانسیل زتا ذرات

پتانسیل زتای ذرات لیپوزوم‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه Zeta Compact ساخت کشور فرانسه مطابق با روش بوراب و همکاران (۲۰۱۴) اندازه‌گیری گردید [۱۹].

۲-۶- تعیین محتوای فنل کل

محتوای فنل کل با استفاده از روش فولین-سیکوکالتو تعیین گردید. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده با ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد مخلوط و پس از ۲ دقیقه نگهداری در دمای اتاق به آن ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیکوکالتو (رقت ۱-۱ با آب دیونیزه) اضافه گردید. نمونه تولید شده بر روی شیکر جهت اختلاط کامل معرف با محلول قرار گرفت و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق برای تکمیل واکنش قرار داده شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر صورت گرفت. محتوای فنل کل بر مبنای میلی‌گرم اسید گالیک معادل با گرم ماده خشک عصاره (GAE/gdw) گزارش شد [۲۰].

۲-۷- تعیین راندمان درون‌پوشانی عصاره

راندمان درون‌پوشانی نانولیپوزوم‌ها با استفاده از روش فولین-سیکوکالتو تعیین شد. نانولیپوزوم‌ها با استفاده از سانتریفیوژ ساخت شرکت Helmer آلمان مدل 236HK ($g = 36000$ به مدت ۳۰ دقیقه) جدا گردید. سپس محتوای فنل کل در سوپرناتانت (میزان عصاره آزاد) اندازه‌گیری و

دیواره (۲/۵ درصد وزنی/وزنی) و بیشترین سطح عصاره (۲ درصد) مشاهده شد. در این نمونه نسبت ماده دیواره به هسته در سطح نسبی تقریباً برابری قرار داشت. کاهش اندازه ذرات به کمترین سطح حاصله در این پژوهش نشان‌دهنده تأثیرگذاری نسبت دیواره به هسته در تغییر اندازه ذرات است. نتایج مشابهی توسط سواقبی و همکاران (۲۰۱۹) موجود است. این محققان از سامانه نانولیپوزومی برای کپسولاسیون عصاره جلبک سارگاسوم استفاده نمودند. بر مبنای نتایج گزارش شده تغییر نسبت ماده دیواره به هسته موجب تغییر در اندازه ذرات شد و کمترین اندازه ذره در نسبت بهینه میان عصاره و دیواره لیپوزوم شد [۹]. این نتایج بیانگر این موضوع است که در سیستم‌های نانولیپوزومی سطح بهینه‌ای از غلظت ماده دیواره به هسته وجود دارد. این امر احتمالاً مربوط به کاهش در اندازه با افزایش تعداد ذرات در سامانه نانولیپوزومی است [۲۴].

متوسط اندازه ذرات در محدوده ۵۹-۳۱۸ نانومتر بود. بیشترین اندازه ذره (۳۱۸ نانومتر) مربوط به نمونه با بالاترین سطح فسفوتیدیل کولین (لستین) (۴/۵ درصد) و عصاره (۲ درصد) برای تولید لیپوزوم ثبت گردید. با افزایش سطح ماده دیواره به ۴/۵ درصد وزنی/وزنی به همراه بیشترین سطح عصاره مورد بررسی در این پژوهش (۲ درصد وزنی/وزنی) با نسبت نزدیک به ۲ برابر ماده دیواره به هسته، بالاترین اندازه ذره در میان لیپوزوم‌های تولیدی مشاهده شد. در این راستا نتایج مشابهی توسط راملی و همکاران (۲۰۲۱) گزارش گردید. این پژوهشگران عصاره بره موم را در ساختاری نانولیپوزومی کپسوله نمودند. بر مبنای نتایج گزارش شده توسط این محققان با افزایش سطح عصاره، اندازه ذرات لیپوزوم افزایش پیدا کرد [۲۳]. از سوی دیگر براساس نتایج پژوهش حاضر کمترین اندازه ذرات (۵۹ نانومتر) در نمونه حاوی کمترین سطح ماده

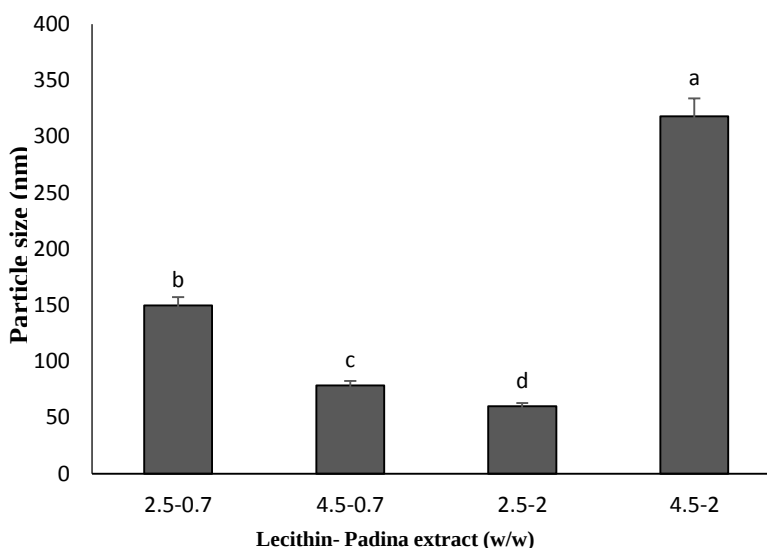


Fig 1- particle size of liposomes as different concentration of lecithin and Padina extract. Different letters represent significant difference from one another ($p < 0.05$).

محدوده PDI ۰/۱۵-۰/۳۵ بود که وابسته به نسبت میان جزء هسته به دیواره متغیر است. مقادیر بدست آمده برای شاخص چند پراکندگی نشان‌دهنده توزیع یکنواخت ذرات تشکیل شده است.

پارامتر چند پراکندگی جزء پارامترهای با اهمیت در ارزیابی خصوصیات ساختاری نانولیپوزوم است [۲۵]. همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود شاخص چند پراکندگی به عنوان معیاری از یکنواختی توزیع اندازه ذرات در

Table 1- polydispersity index of liposomes as different concentration of lecithin and padina extract

Lecithin (%)	Padina extract (%)	Polydispersity index (PDI)
2.5	0.7	0.34±0.017 ^a
4.5	0.7	0.35±0.021 ^a
2.5	2.0	0.31±0.032 ^a
4.5	2.0	0.15±0.016 ^b

Different letters show significant differences, respectively (p<0.05)

۳-۲- پتانسیل زتا

پارامتر پتانسیل زتا شاخصی از ارزیابی ساختار در شرایط برون و درون تنی است [۹]. اندازه پتانسیل زتا نیز به عنوان پارامتری جهت پیش‌بینی پایداری و ماندگاری ذرات نانولیپوزوم به کار گرفته می‌شود. بار سطحی بالا نشان‌دهنده دافعه بالا میان ذرات و در نتیجه عدم تمایل به تشکیل توده و تخریب ساختاری است. این پارامتر به عنوان تابعی از از بار سطحی و زیکول‌های لیپیدی، لایه‌های جذب شده سطحی و ماهیت و ساختار محیطی که نانولیپوزوم‌ها در آن پراکنده شده است، می‌باشد. علاوه بر اهمیت این پارامتر در پایداری ساختاری، در شرایط درون‌تنی و رسانش ترکیبات زیست فعال به نقطه هدف، بار سطحی نانولیپوزوم‌ها، زمان سیرکولاسیون ذرات در خون را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد [۲۶].

شکل ۲ نشان‌دهنده اندازه پتانسیل زتا ذرات نانولیپوزوم حاوی عصاره جلبک پادینا تحت تأثیر تغییر نسبت دیواره به هسته است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد این پارامتر برای ذرات نانولیپوزوم تولیدی بنا به تغییر نسبت هسته به دیواره مابین ۳۳/۸ - تا ۴۰/۳۵- میلی‌ولت متغیر است. پتانسیل زتای کمتر از ۱۰- میلی‌ولت و به صورت ایده‌آل‌تر کمتر از ۳۰- میلی‌ولت، با ایجاد دافعه بالایی میان ذرات کلونیدی حاضر در سیستم موجب ایجاد پایداری مطلوب در سوسپانسیون‌های حاوی نانوذرات می‌شود [۲۷]. از این

رو نتایج حاصله در این پژوهش گواه بر پایداری سامانه‌های نانولیپوزومی تشکیل شده است. بیشترین مقدار پتانسیل زتا (۴۰/۳۵- میلی‌ولت) برای نانولیپوزوم حاوی ۴/۵ درصد ماده دیواره‌ای و ۰/۷ درصد عصاره جلبک پادینا و کمترین مقدار (۳۳/۸- میلی‌ولت) برای لیپوزوم حاوی ۴/۵ درصد ماده دیواره‌ای و ۲ درصد عصاره حاصل گردید. تغییر اندازه پتانسیل زتا تحت تأثیر سطح عصاره و ماده دیواره‌ای می‌تواند مبین ایجاد برهم‌کنش میان ترکیب دیواره‌ای با اجزاء فنولیک حاضر در عصاره جلبک پادینا باشد [۲۸]. برهم‌کنش میان ترکیبات فنولیک و فسفولیپید دیواره‌ای تعیین‌کننده اندازه پتانسیل زتای نانولیپوزوم‌هاست. ترکیبات فنولیک حاضر در محیط کپسولاسیون علاوه بر قرارگیری در ساختار درونی لیپوزوم‌های شکل گرفته بر روی سطح ساختار نیز جذب می‌شود. از این رو قسمتی از ترکیبات فنولیک عصاره جلبک قابلیت اتصال با گروه‌های منفی فسفولیپیدی قرار گرفته در سطح غشای نانولیپوزوم را داراست [۲۹]. همچنین ترکیبات با بار مثبت نسبی حاضر در عصاره با احاطه سطح ذرات نانولیپوزوم موجب افزایش بار وزیکول‌های شکل گرفته می‌شود [۲۵]. پنیا و همکاران (۲۰۱۷) روند مشابهی از تغییرات در اندازه پتانسیل زتا از ۲۴/۳- تا ۱۶/۲- میلی‌ولت را در نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره سیر مشاهده کردند [۳۰]. همچنین نتایج پژوهش حاضر در زمینه تغییرات پتانسیل زتای ذرات با نتایج گزارش شده توسط ماچادو و همکاران (۲۰۱۹) مشابهت داشت. این پژوهشگران در مطالعه تغییرات بار سطحی نانولیپوزوم‌های تولیدی شاهد تغییر پتانسیل زتا ذرات به سمت مقادیر مثبت با قرارگیری عصاره در ساختار نانولیپوزومی بودند [۲۹]. یافته‌های مشابهی نیز در ارتباط با نانولیپوزوم‌های حاوی عصاره جلبک سارگاسوم توسط سواقبی و همکاران (۲۰۱۹) منتشر شده است [۹].

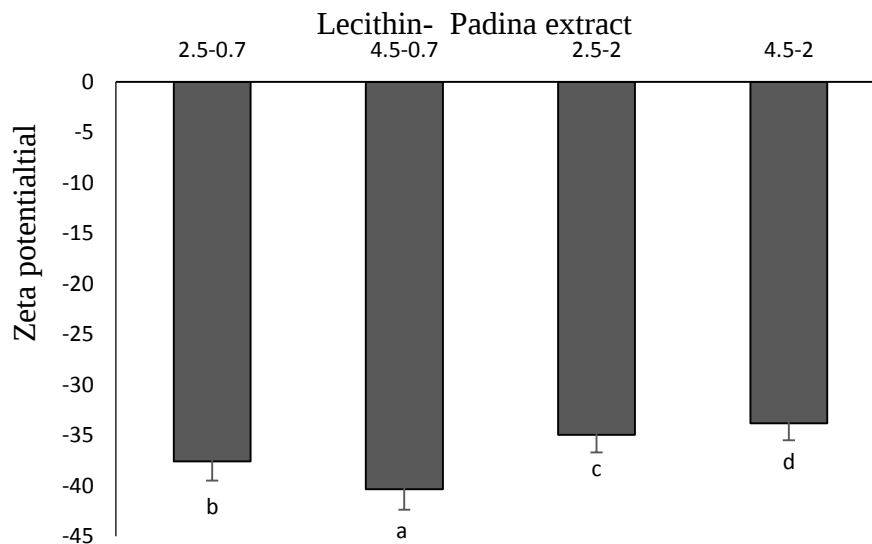


Fig 2- Zeta potential of liposomes as different concentration of lecithin and Padina extract. Different letters represent significant difference from one another ($p < 0.05$).

درون ساختار و زیگول‌های لیپیدی به دام می‌افتد [۳۱]. روندی مشابه از تغییرات راندمان درون‌پوشانی با تغییر در سطح عصاره و ماده دیواره‌ای در پژوهش صورت گرفته توسط سواقبی و همکاران (۲۰۱۹) در زمینه درون‌پوشانی عصاره جلبک سارگاسوم در ساختار نانولیپوزوم تولیدی به روش حرارتی گزارش گردیده است [۹]. پاناسات و همکاران (۲۰۱۶) نتایج مشابهی از درون‌پوشانی عصاره جلبک اسپرولینا در ساختار لیپوزومی در سطح ۵۵ درصد گزارش نمودند [۳۲]. همچنین راندمان درون‌پوشانی ۴۷/۵ درصدی عصاره سیر در ساختار لیپوزومی توسط پنیا و همکاران (۲۰۱۷) گزارش گردید که مطابق با نتیجه حاصل شده در این پژوهش می‌باشد [۳۰].

۳-۳- راندمان درون‌پوشانی

شکل ۳ نشان‌دهنده تغییرات بازده درون‌پوشانی عصاره جلبک پادینا در ساختار نانولیپوزومی است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره در یک سطح ثابت از لستین راندمان درون‌پوشانی افزایش یافت. از سوی دیگر افزایش سطح لستین بازده درون‌پوشانی را در هر دو سطح ثابت عصاره کاهش داد. بر مبنای نتایج حاصله بالاترین سطح درون‌پوشانی ($52/8 \pm 0/3$ درصد) عصاره جلبک پادینا در غلظت ۲ درصد عصاره و ۲/۵ درصدی از لستین حاصل گردید. افزایش سطح لستین با تأثیرگذاری بر محیط درون‌پوشانی و کاهش سیالیت باعث کاهش تحرکات آزاد ترکیبات فنولیک در سیستم می‌گردد. از این رو راندمان درون‌پوشانی کاهش و سطح کمتری از ترکیبات فنولیک

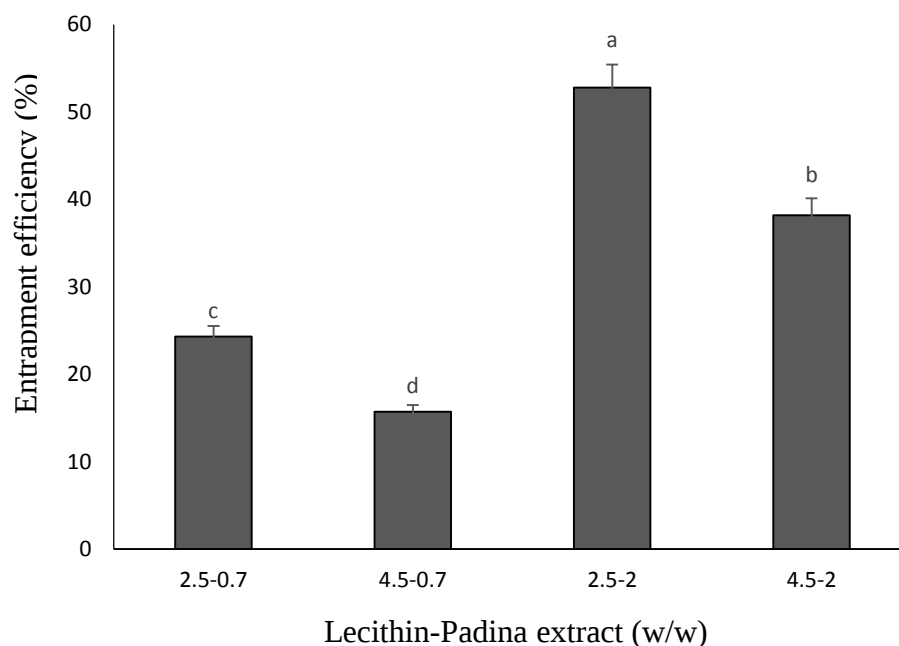


Fig 3- Entrapment efficiency of liposomes as different concentration of lecithin and Padina extract. Different letters represent significant difference from one another ($p < 0.05$).

همانند نسبت فسفولیپید دیواره‌ای به ماده فعال بارگذاری شده، روش تولید نانولیپوزوم، دما و زمان تولید بر اندازه و مورفولوژی ساختاری ذرات تشکیل‌شده مؤثر است [۳۳]. تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری کمترین اندازه ذرات مربوط به نمونه با سطح ۲/۵ درصد از ماده دیواره‌ای و ۲ درصدی عصاره جلبک پادینا است. نتایج بدست آمده از این پژوهش دارای مشابهت با تصاویر منتشر شده توسط سواقبی و همکاران (۲۰۱۹) است. نتایج این محققان نشان‌دهنده تشکیل نمونه بهینه نانولیپوزوم در کمترین سطح ترکیب دیواره‌ای همراه با بالاترین سطح از ترکیب فنولیک عصاره جلبک سارگاسوم بود [۹].

۳-۴- میکروسکوپ الکترونی عبوری

خصوصیات ساختاری نانولیپوزوم‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی گردید. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود نانولیپوزوم‌های تشکیل‌شده دارای مورفولوژی ساختاری کروی شکل هستند. اندازه ذرات و همچنین توزیع پراکندگی آن‌ها دارای مطابقت با نتایج حاصل از روش پراکنش نور لیزر است. مورفولوژی کروی شکل، اندازه ذرات یکسان و همچنین کاهش اندازه ذرات در مقیاس نانومتری علاوه بر بهبود رسانش ماده بارگذاری شده موجب پایداری سوسپانسیون نانولیپوزومی در دوره نگهداری می‌شود. به صورت کلی عوامل متعددی

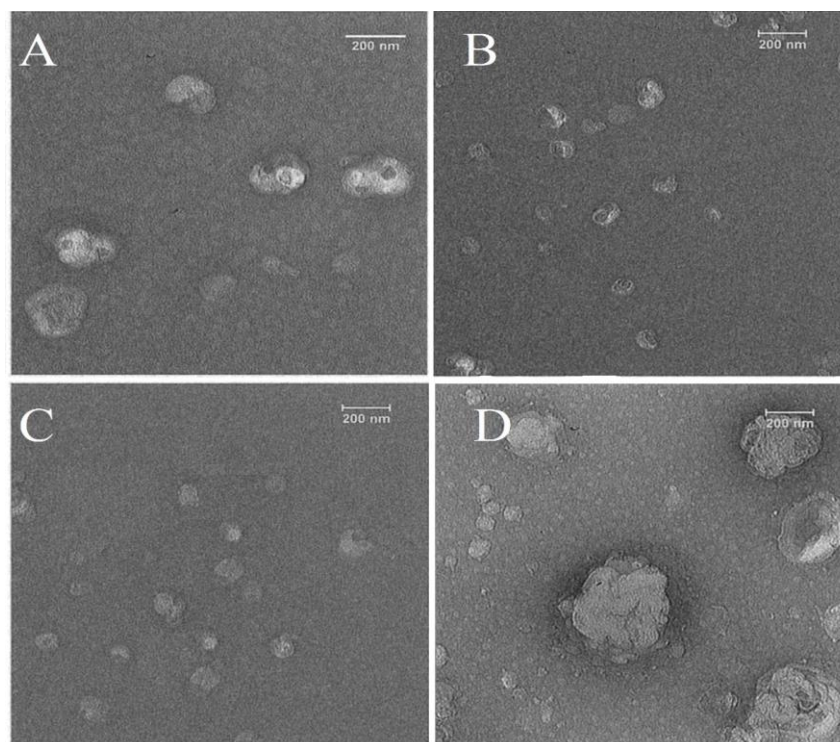


Fig 4- TEM images of liposomes as different concentration of lecithin and padina extract in 10000x magnitude. A) 2.5-0.7% lecithin-Padina extract (w/w), B) 4.5-0.7% lecithin-Padina extract (w/w), C) 25-2.0% lecithin- Padina extract (w/w), D) 4.5-2% lecithin-Padina extract (w/w).

- [1] Amini, F. (2020). Heavy Metal Concentrations in *Padina gymnospora* and *Padina tetrastrum* (Dictyotaceae, Ochrophyta) and Sediments of Bushehr Coastline (Bushehr Province, Iran). *Journal of Phycological Research*, 4(1): 497-507.
- [2] Rohani-Ghadikolaie, K., Abdulalian, E. and Ng, W.K. (2012). Evaluation of the proximate, fatty acid and mineral composition of representative green, brown and red seaweeds from the Persian Gulf of Iran as potential food and feed resources. *Journal of food science and technology*, 49(6): 774-780.
- [3] Hlila, M. B., Kaouther, M., Hichem Ben Jannet, Mahjoub Aouni, Maha Mastouri, and Boulbaba, S. (2017). Antimicrobial Activity of Tunisian *Euphorbia Paralias* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(7):629-32.
- [4] Ansari, A. A., Ghanem, S. M. and Naeem, M. (2019). Brown Alga *Padina*: A review. *International Journal of Botany Studies*, 4(1), pp.01-03.
- [5] Usoltseva, R.V., Anastuyuk, S.D., Ishina, I. A., Isakov, V. V., Zvyagintseva, T. N., Tinh, P. D., Zadorozhny, P. A.,

۴- نتیجه گیری

درون پوشانی با استفاده از روش حرارتی در ساختار نانولیپوزومی جهت بهبود ماندگاری و همچنین افزایش زیست دسترس پذیری عصاره جلبک پادینا صورت پذیرفت. براساس نتایج حاصله تغییر در سطح ماده دیواره‌ای و ترکیب بارگذاری شده بر اندازه و توزیع ذرات، بار سطحی و همچنین راندمان بارگذاری تأثیرگذار است. بر این مبنا بهترین ساختار نانولیپوزومی شکل گرفته در کمترین سطح ماده دیواره‌ای (۲/۵ درصد) و بیشترین غلظت عصاره جلب پادینا (۲ درصد) مشاهده شد. نتایج بدست آمده از این پژوهش می‌تواند به عنوان رویکردی در تهیه و تولید مکمل‌های غذایی- دارویی از عصاره جلبک پادینا مورد استفاده قرار گیرد.

۵- منابع

- review of delivery systems and characterization techniques. *International journal of cosmetic science*, 42(1), pp.16-28.
- [13] Pamunuwa, G. K. and Karunaratne, D. (2022). Liposomal Delivery of Plant Bioactives Enhances Potency in Food Systems: A Review. *Journal of Food Quality*, DOI:10.1155/2022/5272592.
- [14] Karimi, N., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Keyvani, F., Pezeshki, A. and Gholian, M. M. (2015). Phytosome and liposome: the beneficial encapsulation systems in drug delivery and food application. *Applied Food Biotechnology*, 2(3): 17-27.
- [15] Hassanzadeh-Kiabi, F. and Negahdari, B. (2018). Antinociceptive synergistic interaction between *Achillea millefolium* and *Origanum vulgare* L. extract encapsulated in liposome in rat. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(5), pp.994-1000.
- [16] Pezeshkpour, V., Khosravani, S. A., Ghaedi, M., Dashtian, K., Zare, F., Sharifi, A., Jannesar, R. and Zoladl, M., (2018). Ultrasound assisted extraction of phenolic acids from broccoli vegetable and using sonochemistry for preparation of MOF-5 nanocubes: Comparative study based on micro-dilution broth and plate count method for synergism antibacterial effect. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, pp.1031-1038.
- [17] Mozafari, M.R. (2005). Liposomes: an overview of manufacturing techniques. *Cellular and molecular biology letters*, 10(4), p.711.
- [18] Pan, L., Wang, H. and Gu, K. (2018). Nanoliposomes as vehicles for astaxanthin: Characterization, in vitro release evaluation and structure. *Molecules*, 23(11), p.2822.
- [19] Bouarab, L., Maherani, B., Kheirrolomoom, A., Hasan, M., Aliakbarian, B., Linder, M. and Arab-Tehrany, E. (2014). Influence of lecithin-lipid composition on physico-chemical properties of nanoliposomes loaded with a hydrophobic molecule. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 115, pp.197-204.
- [20] Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F. and Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), pp.771-776.
- Dmitrenok, P. S. and Ermakova, S. P. (2018). Structural characteristics and anticancer activity in vitro of fucoidan from brown alga *Padina boryana*. *Carbohydrate Polymers*, 184, pp.260-268.
- [6] Shirani Bidabadi, Kh, Safaeian, Mousavi Nodoshan, R. Rahimifard, N. (2021). Identification of bioactive compounds in the extracts of brown algae *Sargassum (Sargassum angustifolium)* and *Padina (Padina distromatic)* and evaluation of antimicrobial, antioxidant and enzymatic properties. *Iranian Food Science and Technology Association (IFSTA)*, 18(4): DOI:10.22067/ifstrj.2110.1104. (In Persian).
- [7] Shirani Bidabadi, Kh, Safaeian, Mousavi Nodoshan, R. Rahimifard, N. (2021). Evaluation and comparison of phytochemical compounds and antioxidant properties of *Padinadistromatic* and *Sargassumangustifolium* Ultrasound extracts. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 123(19): 81-91. (In Persian).
- [8] Shirani Bidabadi, Kh, Safaeian, Mousavi Nodoshan, R. Rahimifard, N. (2021). Evaluation of different extraction methods (maceration and ultrasound) on antioxidant, anti-Alzheimer's and antimicrobial properties of *Padina distromatic* extract. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 122(19): 199-209. (In Persian).
- [9] Savaghebi, D., Ghaderi-Ghahfarokhi, M. and Barzegar, M. (2021). Encapsulation of sargassum boveanum algae extract in nano-liposomes: Application in functional mayonnaise production. *Food and Bioprocess Technology*, 14(7), pp.1311-1325.
- [10] Farzaneh, V. and Carvalho, I. S. (2015). A review of the health benefit potentials of herbal plant infusions and their mechanism of actions. *Industrial Crops and Products*, 65, pp.247-258.
- [11] Vinceković, M., Viskić, M., Jurić, S., Giacometti, J., Kovačević, D. B., Putnik, P., Donsi, F., Barba, F. J. and Jambrak, A. R. (2017). Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. *Trends in Food Science & Technology*, 69, pp.1-12.
- [12] Yang, S., Liu, L., Han, J. and Tang, Y. (2020). Encapsulating plant ingredients for dermocosmetic application: An updated

- [28] Esmaeilzadeh Kenari, R. and Razavi, R. (2022). Phenolic profile and antioxidant activity of free/bound phenolic compounds of sesame and properties of encapsulated nanoparticles in different wall materials. *Food Science & Nutrition*, 10(2), pp.525-535.
- [29] Machado R. A., Pinheiro, A. C., Vicente, A. A., Souza-Soares, L. A. and Cerqueira, A. (2019). Liposomes loaded with phenolic extracts of *Spirulina* LEB-18: Physicochemical characterization and behavior under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 656-667.
- [30] Pinilla, C. M. B., Noreña, C. P. Z. and Brandelli, A. (2017). Development and characterization of phosphatidylcholine nanovesicles, containing garlic extract, with antilisterial activity in milk. *Food Chemistry*, 220, pp.470-476.
- [31] Rafiee, Z., Barzegar, M., Sahari, M. A. and Maherani, B. (2017). Nanoliposomal carriers for improvement the bioavailability of high-valued phenolic compounds of pistachio green hull extract. *Food chemistry*, 220, pp.115-122.
- [32] Pagnussatt, F. A., de Lima, V. R., Dora, C. L., Costa, J. A. V., Putaux, J. L. and Badiale-Furlong, E. (2016). Assessment of the encapsulation effect of phenolic compounds from *Spirulina* sp. LEB-18 on their antifusarium activities. *Food chemistry*, 211, pp.616-623.
- [33] Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E. and Benoit, J. P. (2003). Physicochemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24(23), pp.4283-4300.
- [21] Madrigal-Carballo, S., Lim, S., Rodriguez, G., Vila, A.O., Krueger, C.G., Gunasekaran, S. and Reed, J.D. (2010). Biopolymer coating of soybean lecithin liposomes via layer-by-layer self-assembly as novel delivery system for ellagic acid. *Journal of Functional Foods*, 2(2), pp.99-106.
- [22] Ruozzi, B., Belletti, D., Tombesi, A., Tosi, G., Bondioli, L., Forni, F. and Vandelli, M. A. (2011). AFM, ESEM, TEM, and CLSM in liposomal characterization: a comparative study. *International journal of nanomedicine*, 6, p.557.
- [23] Ramli, N. A., Ali, N., Hamzah, S. and Yatim, N. I. (2021). Physicochemical characteristics of liposome encapsulation of stingless bees' propolis. *Heliyon*, 7(4), p.e06649.
- [24] Alexander, M. Lopez, A. A., Fang, Y. and Corredig, M. (2012). Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability. *Lwt*, 47(2), pp.427-436.
- [25] Sarabandi, K., Jafari, S.M., Mohammadi, M., Akbarbaglu, Z., Pezeshki, A. and Heshmati, M. K. (2019). Production of reconstitutable nanoliposomes loaded with flaxseed protein hydrolysates: Stability and characterization. *Food Hydrocolloids*, 96, pp.442-450.
- [26] Mozafari, M., Johnson, C., Hatziantoniou, S. and Demetzos, C. (2008). Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of liposome research*, 18(4), pp.309-327.
- [27] Smith, M. C., Crist, R. M., Clogston, J. D. and McNeil, S. E. (2017). Zeta potential: a case study of cationic, anionic, and neutral liposomes. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 409(24), pp.5779-5787.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the structural properties of nanoliposomes containing *Padina distromatic* algae extract fabricated by heating methodShirani Bidabadi, Kh. ¹, Safaeian, Sh. ^{2*}, Mousavi Nadushan, R. ³, Rahimifard, N. ⁴

1, 2, 3 and 4- PhD Student, Associate Professor, Associate Professor and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Biological Science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4- Professor, Faculty of Paramedicine, Iran University of Medical Science, Tehran, Iran.

ABSTRACT

ARTICLE INFO

Microencapsulation of bioactive compounds in lipid carriers, such as liposomes, in addition to improving stability during storage by increasing bioavailability and controlled release, increases the efficiency of these compounds in vivo. The studies conducted on *Padina* algae show the existence of a high level of phenolic and antimicrobial compounds. Also, this alga has a significant amount of polyphenols with antioxidant and anti-AChE (acetylcholinesterase) properties, which can be used as a supplement to improve neurological disorders. Therefore, the purpose of this research was to produce and investigate the structural properties of nanoliposomes containing *Padina* algae extract using the heating method. The particle size of nanoliposomes produced at varying levels of lecithin and loaded extract was obtained in the range between 318 and 60 nm. The resulting values for the polydispersity index and zeta potential indicate the uniformity of the produced particles along with the high electrostatic repulsion between the particles. The ability to load liposome particles at the lowest level of wall substance and the highest concentration level of the extract reached $52.8 \pm 0.3\%$ in this research. Evaluation of the morphological characteristics of the structure using a transmission electron microscope shows the formation of uniform particles with a spherical geometry. The results of this research show the ability to produce a liposome structure containing *Padina* algae extract with suitable structural properties. These results can improve the prospect of possible use of this extract with a therapeutic approach.

Article History:

Received: 2022/10/13

Accepted: 2022/12/26

Keywords:

Nanoliposome,

Padina algae extract,

Structural properties,

Anti-cancer,

Anti- alzheimer.

DOI: 10.22034/FSCT.20.138.107

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.138.9.1

*Corresponding Author E-Mail:
shilla2462462@yahoo.co.in