

بررسی نانوساختارهای لیپیدی حاوی اولئوروپئین با استفاده از آزمون دینامیکی نور (DLS) و گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC)

منصوره سلیمانی فرد^۱، علیرضا صادقی ماهونک^{۲*}، محمد قربانی^۲، اصغر سپهوند^۳،
خسرو عزیزی^۴

۱- دانش آموخته دکتری علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان.

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان.

۳- دانشیار مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی لرستان، خرم آباد

۴- دانشیار دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی خرم آباد- دانشگاه لرستان، خرم آباد

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۶/۱۴)

چکیده

پلی‌فنل‌ها از جمله ترکیبات حساس به شرایط محیطی می‌باشند با این وجود دارای ویژگی نوتراسوتیکال می‌باشند، از این رو طراحی سیستم‌های رسانش هدفمند با رهایش کنترل شده در کنار حفظ این ترکیبات از طریق سیستم‌های ریزپوشانی، یکی از راهکارهای مناسب جهت به حداقل رساندن این معایب می‌باشد. در این پژوهش، گلیسرول مونو استئارات، روغن سویا و اسید لینولئیک به عنوان دیواره نانوذره، لسیترین به عنوان امولسیفایر و پودر عصاره برگ زیتون (واريته اسپانیایی و خرم‌آبادی) به عنوان هسته نانوحامل انتخاب شد. در این روش نانوحامل‌ها از طریق تکنیک روش انتشار امولسیون تغییر یافته (diffusion-emulsification) تهیه و آماده شدند و ویژگی‌های اندازه ذرات، پتانسیل زتا و اندیس پراکندگی ذرات و ویژگی‌های حرارتی ارزیابی شدند. نتایج حاصل از بهینه‌سازی استخراج نشان داد عصاره حاصل از مخلوط اتانول و آب (۷۰:۳۰)، بالاترین میزان پلی‌فنل (اولئوروپئین) را دارا بود. نتایج حاصل از پراکندگی نور ذرات نشان داد که فرمول ۰/۰۵ گرم پودر عصاره، کمترین میانگین و میزان پراکندگی اندازه ذرات را داشت. همچنین نتایج حاصل از زتاسایزر نشان داد که فرمول بهینه حاصل دارای پتانسیل زتا بامقدار ۴۳/۳- میلی‌ولت می‌باشد که نمایانگر پایداری فیزیکی نانوذره حاصل می‌باشد. در بررسی ارزیابی حرارتی تیمارها مشخص شد اولئوروپئین در ترکیب با مواد لیپیدی موجود در نانوحامل، خواص حرارتی نانوحامل را تغییر داده است.

کلید واژگان: نانوساختار لیپیدی، اولئوروپئین، آزمون پراکندگی دینامیکی نور، گرماسنجی روبشی تفاضلی.

۱- مقدمه

زیتون با نام علمی *Olea europaea* حدود ۳۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح مورد استفاده قرار می‌گرفته است. این گیاه خاص نواحی گرم و نیمه گرم می‌باشد و موطن اصلی آن را جنوب ترکیه و سوریه می‌دانند و از این مناطق به سایر نواحی که دارای شرایط مدیترانه‌ای می‌باشند، منتقل شده است [۱]. این گیاه علاوه بر خواص تغذیه‌ای دارای خواص دارویی (کاهش خطر حملات قلبی ضد میکربی و ضد ویروسی [۲، ۳] می‌باشد (نوتراسوتیکال) که این ویژگی برجسته به دلیل حضور مقادیر زیادی از پلی‌فنل‌های متفاوت می‌باشد که از جمله این پلی‌فنل‌ها می‌توان به اولئوروپئین اشاره نمود. اولئوروپئین فراوان‌ترین نوع ترکیبات فنلی موجود در برگ و میوه زیتون است و عامل مزه تلخ خاص میوه زیتون می‌باشد [۱، ۴]. ترکیبات نوتراسوتیکال (Nutraceutical) یا مواد غذا-دارو از ترکیب دو واژه تغذیه (Nutrition) و داروسازی (Pharmaceutics) تشکیل شده‌اند و به طور کلی به اجزایی از ماده غذایی گفته می‌شود که علاوه بر داشتن خواص تغذیه‌ای پایه، دارای فعالیت بیولوژیکی ارزشمند و سلامتی بخش هستند و باعث پیشگیری و یا درمان بیماری‌ها می‌شوند. مهم‌ترین آنها عبارتند از: ویتامین‌ها، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، استرول‌ها و اسیدهای چرب ضروری [۵]. از طرفی بسیاری از این ترکیبات غذا-دارو را نمی‌توان به علت حلالیت پایین، حساسیت به تخریب در برابر عوامل نامساعد محیطی (حرارت، نور، یون‌های فلزی) در طول فرآوری، نگهداری و هضم، اثر حسی نامطلوب (تندی و یا تلخی) و زیست دسترسی پایین، به صورت مستقیم به مواد غذایی و نوشیدنی که عمدتاً فاز پیوسته آنها آبی یا آبدوست است، افزود [۶]. امروزه انکپسولاسیون یک تکنولوژی جدید، جهت حفاظت اجزای بیواکتیو مواد غذایی حساس به شرایط نامساعد محیطی، حذف نا هم سازی، پایدار سازی، کاهش اندازه ذرات یا پوشش عطر و طعم نامطلوب مواد غذایی به کار می‌رود [۷]. با توجه به این که ترکیبات لیپیدی زیست فعال

از حلالیت بسیار پایین و در نتیجه زیست دسترسی ناچیزی در سیستم‌های آبی برخوردارند، لذا نانوحامل‌های روغن در آب جهت ریزپوشانی، و به حداقل رساندن این مشکلات استفاده می‌شود، به همین منظور حامل‌های لیپیدی نانو ساختار از مهم‌ترین سیستم‌های انکپسولاسیون (ریزپوشانی لیپیدی) به شمار می‌روند [۸]. سالمینان و همکاران (۲۰۱۶) تاثیر خواص فیزیکوشیمیایی ترکیبات و لیپیدهای عملگر ریزپوشانی شده از جمله ویتامین A، β -کاروتن و ω ۳ روغن ماهی؛ را در آرایش ساختاری نانوحامل‌های لیپیدی مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق رابطه بین ساختار بلوری و ثبات شیمیایی لیپیدهای زیست فعال ریزپوشانی شده، همراه با ترکیب امولسیفایر مختلف غنی از ساپونین، مواد غذایی ترکیب شده با لستین با نقطه ذوب بالا و نقطه ذوب پایین مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون مشخص شد مهم‌ترین عوامل مؤثر بر آرایش ساختاری و ثبات شیمیایی لیپیدهای عملگر در دیسپرسیون‌های لیپیدی، انحلال آنها در فاز آبی و دمای تبلور آنها در رابطه با چربی حامل بود [۹]. در پژوهش دیگر، کالو و همکاران (۲۰۱۰) از روش خشک کردن پاششی جهت انکپسولاسیون روغن زیتون بکر و تاثیر این روش بر کیفیت مواد دیواره و کیفیت روغن استفاده شد. تاثیر انکپسولاسیون بر اساس عملکرد فرآیند و نسبت بین روغن آزاد و ریز پوشانی شده (کارایی انکپسولاسیون) تعیین شد. بالاترین بازدهی ریز پوشانی زمانی حاصل شد که ژلاتین، صمغ عربی و مالت و دکستروزین سدیم کازئینات و مالتو دکستروزین به عنوان عوامل ریزپوشانی کننده مورد استفاده قرار گرفتند و نسبت دیواره جامد به روغن، به ترتیب، ۱ به ۴؛ و ۱ به ۲ بود. در این شرایط، ۵۳ درصد از روغن، محصور شده بود. تاثیر کیفیت روغن زیتون در فرآیند انکپسوله کردن در دوره‌های تغییر منحنی یا مقطع عرضی^۲ اسیدهای چرب مشخص، نیز پس از فرآیند ریز پوشانی مورد بررسی قرار گرفت [۱۰]. هاشمی‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های فیزیکی حامل‌های

1. Nanostructured lipid carriers
2. Profile

۲-۲- روش‌های انجام آزمون‌ها

جهت استخراج برگ زیتون با روش گرم و سرد از حلال‌های اتانول و آب انجام شد. بهترین روش به این شرح بود که با نسبت حلال به پودر عصاره برگ زیتون به نسبت ۱:۱۰ (به ترتیب از چپ به راست، برگ زیتون آسیاب شده و اتانول و آب به نسبت ۷۰ به ۳۰) به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از صاف نمودن عصاره حاصل با فیلتر ۰٫۴۵ میکرون، عصاره صاف شده در پلیت در سایه خشک و در یخچال نگهداری شد.

۲-۲-۱- بهینه‌سازی روش تهیه‌ی نانو حامل‌های لیپیدی

به روش همگن‌سازی در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد و تعیین غلظت و نسبت مواد در نانو حامل

لیپیدی

به منظور تعیین مقادیر اولیه فرمولاسیون‌های نانوحامل لیپیدی از Design Expert 8 و روش One-at-time (با تغییر دادن مقادیر اولئوروپئین و ثابت نگه داشتن مقادیر دیگر) استفاده شد. در این مورد محتوای فاز لیپیدی، ۱ درصد در نظر گرفته شد، که از این مقدار ۸۵ درصد فاز چربی (گلیسرول مونواستئارات) و ۱۵ درصد فاز روغن (اسید لینولئیک، روغن سویا)، و مقادیر لیستین ۰/۰۷۵ درصد (وزنی/ وزنی)، مقادیر آب ۱۲۰ سی‌سیدر نظر گرفته شد، ولی مقدار پودر عصاره برگ زیتون (اولئوروپئین) متغیر بوده و مقادیر ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵ گرم (وزنی/وزنی) در نظر گرفته شد. در این روش مخلوط لیپیدی در دمای ۵ تا ۱۰ درجه بالاتر از نقطه ذوب لیپید جامد (۶۰-۷۰) حرارت داده می‌شود. ابتدا پودر عصاره یا اولئوروپین در آب حل یا پراکنده، سپس محلول آبی حاوی عصاره یا اولئوروپین به فاز لیپیدی مذاب (چربی ذوب شده و روغن به همراه امولسیفایر لیستین) که تحت همزدن یا نیروی برشی زیاد (۲۰۰۰-۵۰۰۰ دور در دقیقه) می‌باشد به مدت ۱٫۵-۱ ساعت به صورت قطره قطره با فاصله زمانی ۱-۲ ثانیه با سمپلر افزوده می‌شود. اندازه ذرات در امولسیون نهایی ابتدا ۱۵

لیپیدی نانوساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی گزارش نمودند در روز اول فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی نانو حامل‌های حاوی عصاره آویشن شیرازی در مقایسه با عصاره آزاد در غلظت‌های برابر بیش‌تر بوده ولی به مرور با نگهداری در دمای محیط به مدت ۱۶ روز این خاصیت در نانوحامل‌های حاوی عصاره کم‌تر از عصاره آزاد بود. همچنین با بررسی کارایی ریز پوشانی نانو حامل مشخص شد این ذرات حاوی ۷۱ درصد آویشن با اندازه ذره‌ای ۱۲۲ نانومتر می‌باشند [۱۱]. با توجه به بررسی پژوهش‌های انجام شده در این زمینه و آنچه که در قبل ذکر شد، به نظر می‌رسد تا کنون هیچ کار تحقیقاتی بر پایه نانو ساختارهای لیپیدی (NLC) اولئوروپئین گزارش نشده است، لذا این پژوهش بر اهمیت تغییرات میزان ماده هسته‌ای بر پایداری نانوذرات، روش تهیه نانو حامل‌ها، بررسی رفتار گرمایی و ساختار شیمیایی نانو ساختارهای لیپیدی فوکوس کرده است تا بتوان فرمولی تهیه کرد که پایداری بالایی داشته و کاربرد مناسب دارویی و غذایی مناسبی داشته باشد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد

جهت تهیه پودر برگ زیتون پس از جمع‌آوری برگ‌های زیتون واریته خرم‌آبادی، این برگ‌ها با آب شهری شستشو و در سایه و دمای اتاق خشک شدند. سپس برگ‌های خشک شده با استفاده از آسیاب به شکل پودر تهیه و در یخچال نگهداری گردید. مواد شیمیایی از جمله اولئوروپئین، لیستین، گلیسرول مونواستئارات، اسید کلریدریک، کلروفرم، استونیتریل، نمک فسفات دی هیدروژن پتاسیم، و متانول ساخت شرکت Sigma Aldrich، از شرکت پخش مواد شیمیایی نگین طب خرم آباد و روغن سویای بکر از سوپر مارکت بازار محلی گرگان خریداری شد.

سانتی گراد، ۱۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰۰ rpm در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد) سانتریفوژ صورت گرفت. پس از عمل جداسازی در سانتریفوژ، رسوب که حاوی نانوذره حامل عصاره بود جداسازی شده و در توسط روش خشک کن تصعیدی (دمای ۸۰- درجه سانتی گراد در فشار ۰/۰۰۱ میلی بار به مدت ۲۴ ساعت) خشک شد و پودر نانو حامل های لیپیدی حاصل شد (جدول ۱). غلظت و نسبت مواد در نانو حامل لیپیدی بر طبق جدول ۱ تعیین شد.

دقیقه در حمام اولتراسونیک (دمای ۴۰ درجه سانتی گراد) و سپس ۱۵ دقیقه به وسیله اولتراسونیک پروب دار (در ۵ سیکل سه دقیقه ای با فاصله زمانی ۱ دقیقه با فرکانس ۱ هرتز و نیرویی با بزرگی ۵۰) کاهش یافت. پس از مراحل مذکور جهت سانتریفوژ نمودن، به هر لوله فالكون (حاوی ۳۵ میلی- لیتر سوسپانسیون) ۱ سی سی اسید کلریدریک ۱ مولار جهت کمک به ترسیب نانو ذرات افزوده شده سپس طی دو مرحله (به ترتیب، ۳۰ دقیقه در دور ۷۰۰۰ rpm دمای ۲۵ درجه

Table 1 Optimization of the amount and type of compounds in the nanostructured lipid carrier

Formulation Code	Water (ml)	glycerol monoesterates (gr)	soybean oil (gr)	linoleic acid (gr)	Lecithin (gr)	powdered olive leaf extract (gr)	Oleuropein ** (mgr)
1	120	0.7	0.15	0.15	0.3	0.05	11.0685
2	120	0.7	0.15	0.15	0.3	0.1	22.137
3	120	0.7	0.15	0.15	0.3	0.2	44.274
4	120	0.7	0.15	0.15	0.3	0.4	88.548
5	120	0.7	0.15	0.15	0.3	0.5	110.685

**In this table, the amount of oleuropein (mg) is equivalent to the amount of powder of the olive leaf extract (gram) used in each formula

۲-۲-۳- بازدهی ریزپوشانی^۴

ابتدا ۱۰ میلی گرم نانوحامل حاوی پودر عصاره برگ زیتون در ۱۰ میلی لیتر حلال استونیتریل حل گردید، پس از فیلتر شدن با فیلتر ۰،۴۵ میکرون، محلول های صاف شده جهت جداسازی ماده موثره (اولئوروپئین یا پودر عصاره برگ زیتون) از نانوحامل های لیپیدی در حمام اولتراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد سونیکه شد. محلول حاصل با استونیتریل بیشتر (۱۰ میلی لیتر) رقیق شده و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-Vis) در طول موج ۲۵۴ نانومتر (لاندا مکس اولئوروپئین) آنالیز گردید. بعد از محاسبه مقدار اولئوروپئین، مقدار کارایی ریزپوشانی (EE) از طریق رابطه ۲-۳ محاسبه گردید [۱۳].

۲-۲-۲- تعیین اندازه ذرات، شاخص بس پاشیدگی و پتانسیل زتا

به منظور مطالعه اندازه ذرات کلیه نمونه ها و شاخص بس پاشیدگی نمونه بهینه از دستگاه سنجش اندازه ذرات^۳ استفاده گردید. اندازه ذرات و شاخص بس پاشیدگی بعد از ۲۴ ساعت به وسیله طیف سنجی همبستگی فوتونی با دستگاه آنالیز کننده اندازه ذرات در زاویه ۹۰ درجه و دمای محیط اندازه گیری شدند. همچنین بار الکتریکی نانوذرات نیز به وسیله این دستگاه تعیین شد [۱۲]. تست اخیر برای نمونه بهینه انجام گرفت.

$$EE^* = \frac{(mg^{**}) \times 100}{\text{مقدار اولئوروپتین کپسوله شده}}$$

$$(mg) \text{ مقدار اولئوروپتین اولیه}$$

$EE^* =$ کارایی ریزپوشانی

$mg^{**} =$ میلی گرم

۲-۲-۴- ارزیابی حرارتی

قبل از ارزیابی حرارتی با دستگاه گرماسنج روبشی تفاضلی (DSC)، فرمول‌های تازه نانوحامل‌ها، منجمد (۱۸- درجه سانتی‌گراد) و با دستگاه خشک‌کن تصعیدی به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. ارزیابی حرارتی فاز لیپیدی، ترکیب خالصی زیست فعال و حامل لیپیدی حاوی ترکیب زیست فعال با قرار دادن ۱۰ میلی‌گرم نمونه در ظرف آلومینیومی استاندارد و حرارت‌دهی ۱۰ درجه در دقیقه انجام شد. در این دستگاه ظرف خالی به عنوان رفرنس استفاده شد.

۲-۲-۵- آنالیز آماری

به منظور تعیین مقادیر اولیه فرمولاسیون‌های نانوحامل لیپیدی از Design Expert 8 و روش One-at-time استفاده شد. سپس جهت تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار برای ۵ تیمار) از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (نرم افزار SPSS مدل ۱۶) در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- آنالیز اندازه ذرات

اندازه‌گیری اندازه ذرات یکی از مهم‌ترین تکنیک‌های مشخصه‌ای جهت تعیین و تأیید تولید نانوذرات می‌باشد. دستگاه DLS اندازه ذرات مواد نانو ساختار لیپیدی و قطر هیدرودینامیکی و همچنین اندیس پراکندگی ذرات (PDI) که نمایانگر میزان توزیع و پراکندگی اندازه ذرات را نشان می‌دهد، را اندازه‌گیری می‌کند [۱۴، ۱۵]. در جدول ۲، میانگین قطر ذرات، PDI، پهنا و میزان گسستگی و قطع شدن منحنی را نمایش می‌دهد. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود

فرمول با کد ۱ به طور معقول دارای کمترین میانگین قطر ذرات می‌باشد و PDI این فرمول با توجه به میانگین قطر ذرات سایر فرمول‌ها در محدوده مناسبی قرار دارد و به طور طبیعی به دلیل تفاوت کمتر در اندازه ذرات، یکنواختی بیشتر و سطوحی نرم‌تر را دارا می‌باشد. همچنین تا پتانسیل که می‌تواند از نظر قطبیت یا مثبت یا منفی باشد، به شیمی ذرات بستگی دارد. این فاکتور در واقع پتانسیل الکتریکی ایجاد شده توسط حضور بار در سطح ذرات می‌باشد. پتانسیل زتا شاخصی از میزان دفع بار بین ذرات با بار مشابه در فرمولاسیون می‌باشد. نیروی دافعه مذکور از تجمع ذرات طی نگهداری ممانعت می‌کند و در واقع پایداری ذرات را نشان می‌دهد. بنابراین پتانسیل زتا یک دلالت بر پایداری فیزیکی احتمالی فرمولاسیون دارد. همانطور که در جدول ۳ قابل مشاهده است میزان پتانسیل زتا ۴۳/۳- میلی‌ولت می‌باشد که میزان دفع ذرات و پایداری نانوذرات را در شرایط نگهداری نشان می‌دهد. اسرینیواس و پرتی (۲۰۱۷) در بررسی و تولید نانوذرات لیپیدی حاوی هیدروکلرید جمسیتابین گزارش کردند که زمان و نوع دستگاه در اندازه ذرات و پتانسیل زتا موثر می‌باشد. در این پژوهش اندازه ذرات حاصل از اولتراسونیک نسبت به ذرات حاصل از هموژنایزر کوچک‌تر بودند و هر چقدر مدت زمان سونیکه کردن بیشتر باشد اندازه ذرات کمتر خواهد بود که با نتایج حاصل در پژوهش حاضر، مطابقت و همخوانی داشت [۱۶]. میناردس و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی آنالیز حرارتی نانوذرات پرازی کوانتل پلی لاکتید-کو-گلایکولید^۵ گزارش کردند که هر چقدر اندازه ذرات ریزتر باشد میزان کارایی ریزپوشانی بیشتر خواهد بود [۱۷].

5. Gemcitabine hydrochloride
6. Poly-lactide-co-glycolide

Table 3 Important physical properties in determining the optimal formulation

Formulation Code	Average particle diameter (nano)	Diameter of dominant particles (nano)	PDI	Intercept	Width (nano)	Intensity (%)
1	121.9±20.53	88.72±17.42	0.153±0.04	0.922±0.016	17.53±0.44	100±24.50
2	912.0±21.6*	111.5±18.52	0.202±0.07	0.919±0.13	32.36±2.47	100±14
3	382.6±42.18	115.3±12.34	0.428±0.07	0.848±0.017	16.08±1.44d	100±24.51
4	3.416±0.008	0.00	0.638±0.05	1.77±0.046	0.00	0.00
5	400.4±60.46	134.1±15.12	0.435±0.08	0.915±0.21	23.95±0.53	85.8±15.36

*(Means ± SD of three replications)

Table 3 Determination of zeta potential and disintegration index of optimum nanocomposite formula

formula code Features	Zeta's potential (mv)	zeta deviation(mV)	conductivity (mS/cm)	Viscosity (cp)	Area (%)	width (mV)
1	-43.3±1.26*	8.34±0.16	0.0647±0.0026	0.8872±0.0031	100±0.00	8.34±0.56

*(Means ± SD of three replications)

۲-۳- کارایی ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی به پتانسیل مواد دیواره‌ای در حفظ یا به دام انداختن مواد هسته‌ای درون ریزکپسول‌ها اشاره دارد. راندمان ریزپوشانی همچنین مرتبط با عمر ماندگاری ماده محصور شده درون دیواره می‌باشد. نتایج داده‌های راندمان نشان داد که راندمان ریزپوشانی وابسته به ترکیب و مقدار مواد دیواره‌ای، امولسیفایر، مقدار ماده‌ی هسته‌ای و اندازه ذرات نانو دارد. هر چقدر اندازه ذرات ریزتر، و مقدار ماده هسته‌ای کم‌تر، و اختلاط مواد کندتر باشد، راندمان ریزپوشانی بیشتر می‌شود. بر اساس نتایج حاصل مشخص شد فرمول با کد ۱ (پودر عصاره: ۰/۰۵ گرم) بالاترین میزان ریزپوشانی (۸۲ درصد) و فرمول با کد ۵ (پودر عصاره: ۰/۰۵ گرم) کمترین مقدار (۱/۸۴ درصد) ریزپوشانی را دارا بودند. سایر فرمول‌های ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۷۰/۵۴، ۱۸/۲۷ و ۱۶/۳۶ درصد بود. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش مقدار هسته و کاهش نسبت دیواره به هسته، میزان محصور شدن ماده‌ی هسته‌ای (اولئوروپتین) کاهش یافته است. در این راستا به بررسی چند پژوهش پرداخته شده است. وی و همکاران (۲۰۱۶)، در یک پژوهش، تولید و رهایش نانوذرات لیپیدی حاوی دینسان ۱۱۴ را در روده مورد بررسی

قرار داده و گزارش نمودند هر چقدر مقدار مواد شرکت کننده در تهیه فرمول بیشتر باشد راندمان ریزپوشانی کاهش و هر چقدر هموژنیزاسیون مواد بهتر و آرام‌تر انجام گیرد راندمان ریزپوشانی بیشتر می‌شود که با نتایج این پژوهش همخوانی و مطابقت داشت [۱۸].

اسرینیواس و پرتی (۲۰۱۷) در بررسی و تولید نانوذرات لیپیدی حاوی هیدروکلرید جمسیتابین^۷ به این نتیجه رسیدند که افزایش مقدار لیپید تأثیری در میزان کارایی ریزپوشانی دارو در ماتریکس نانوذرات ندارد [۱۶]. شیلی و همکاران (۲۰۱۴) پس از بهینه‌سازی تولید نانوحامل‌های لیپیدی کوئرستین، کارایی ریزپوشانی را اندازه‌گیری نموده و مقدار $93/5 \pm 0/35$ درصد را گزارش نمودند، که با توجه به این شاخص نانوحامل‌های کوئرستین ثبات فیزیکی مناسبی در شرایط دمایی محیط داشتند [۱۹]. فتحی و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی نانو ذرات لیپیدی جامد و حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی هسپرتین گزارش کردند که کارایی ریزپوشانی نانوحامل‌های تولید شده در محدوده ۳۹/۹۰ تا ۶۳/۰۸ درصد می‌باشد [۲۰].

7. Gemcitabine hydrochloride

۳-۳-ارزیابی حرارتی روبشی

در شکل ۱ طیف‌های DSC نمونه‌های نانوحامل بهینه و مواد تشکیل دهنده آن نشان داده شده است، که در اشکال مربوطه نقاط مینیمم و ماکسیمم منحنی با خطوط مشخص شده‌اند. با توجه به شکل ۱-ا مربوط به اولئوروپین، مشاهده می‌شود که فقط یک نقطه مینیمم در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده است. این نقطه به صورت پیک منفی مشاهده شده که حاکی از گرماگیر بودن فرآیند می‌باشد. اما چون احتمال دارد مربوط به نقطه شیشه‌ای ماده نیز باشد فلذا بین این دو نمی‌توان تمایزی قائل شد. بنابراین احتمال داده می‌شود که این نمونه دارای پایداری گرمایی بالایی بوده و این نقطه مربوط به دمای شیشه‌ای آن ماده می‌باشد؛ و برای این که تبدیل و تغییر فازی آن را مشاهده کرد باید دمایی بیشتر از ۴۰۰ درجه به آن اعمال گردد. در شکل ۱-ب مربوط به نمونه عصاره مشاهده می‌شود که یک پیک در دمای حدود ۱۵۰ درجه به صورت یک مینیمم ضعیف مشاهده می‌شود که به احتمال زیاد مربوط به دمای شیشه‌ای آن و یا انجام فرآیند ذوب-تبخیر نمونه است. بنابراین این نمونه پایدار گرمایی بوده و تغییر فازی در آن مشاهده

نشده است. در شکل ۱-ج مربوط به نمونه شاهد نانو حامل، دو پیک در نقاط ۵۰ و ۳۹۰ درجه سانتی‌گراد منحنی‌هایی ظاهر شده‌اند. اولین پیک در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده که به صورت مثبت ظاهر شده است و حاکی از فرآیند تبدیل فازی گرمازا (گرماده) به علت فرآیند بلوری شده ماده دارد. دومین نقطه تبدیل فازی این ماده در دمای حدود ۳۹۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده است که نشان دهنده این است که نمونه در این دما تغییر فاز دوم به علت انجام فرآیند ذوب-تبخیر داشته و این فرآیند گرماگیر است. در شکل ۱-د مربوط به نمونه گلیسرول مونو استئارات مشاهده می‌شود که پیک‌هایی در دماهای ۸۰، ۲۲۰، ۲۶۰ و ۲۸۰ سانتی‌گراد به صورت مینیمم و ماکسیمم ظاهر شده‌اند. اولین پیک مثبت بوده که مربوط به انجام فرآیند تغییر فازی گرمازا ناشی از فرآیند بلوری شدن ماده می‌باشد، پیک‌های منفی موجود در دمای ۲۲۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به فرآیندهای تغییر فازی گرماگیر بوده ناشی از فرآیند ذوب-تبخیر بوده و پیک مثبت موجود در ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به فرآیند تغییر فازی گرمازا ناشی از تبلور یا بلوری شدن مجدد نمونه مورد آنالیز می‌باشد.

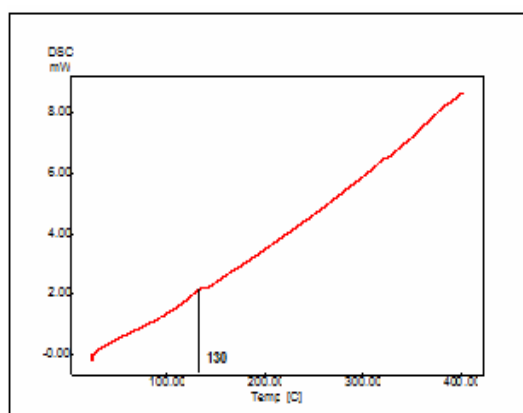


Fig 1 a DSC spectrum of Oleuropein

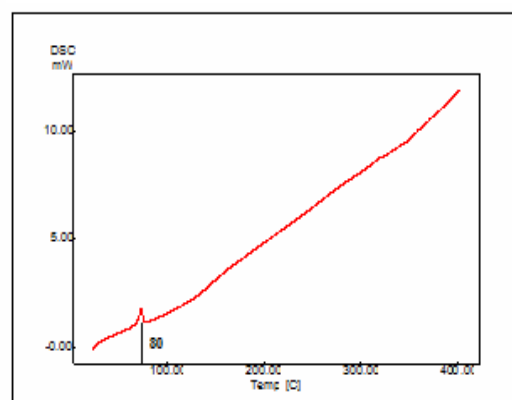


Fig 1 h The DSC spectrum of optimal sample

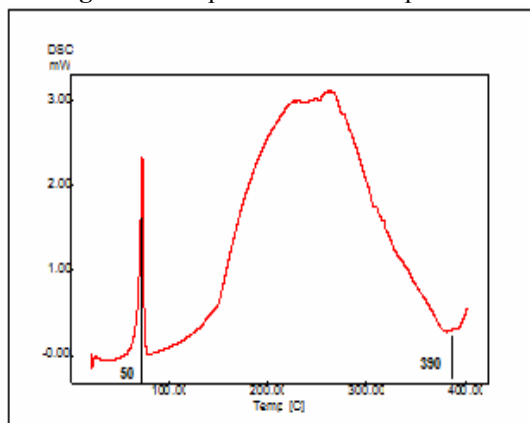


Fig 1 e DSC spectrum of soybean oil

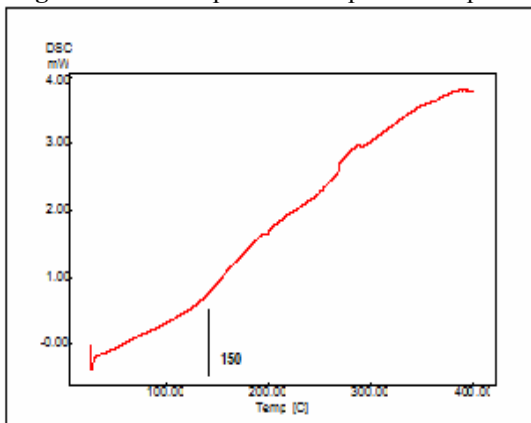


Fig 1 b DSC Spectrum of extracted powder Sample

Fig 1 DSC spectrum of optimum and controlled nano-carriers

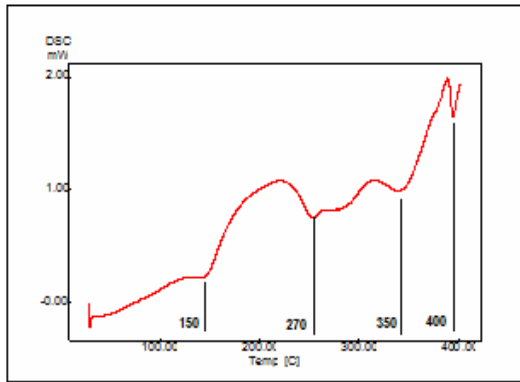


Fig 1d DSC Spectrum glycerol monostearates

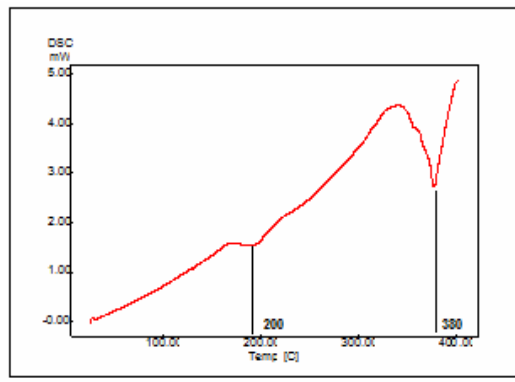


Fig 1g DSC Spectrum lecithin

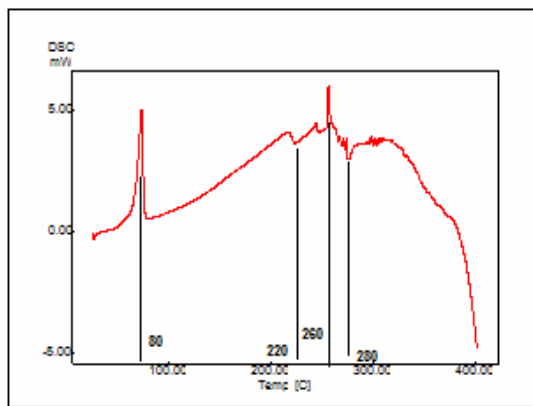


Fig 1 f DSC spectrum of linoleic acid

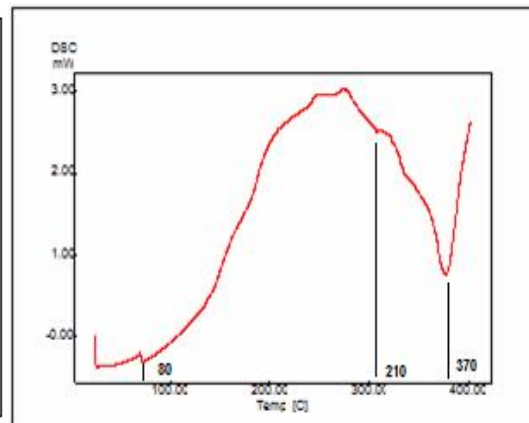


Fig 1C DSC spectrum of control sample

Continue figure 1- DSC spectrum of optimum and controlled nano-carriers

دمای ۴۰۰ درجه چون منفی است پس فرآیند تغییر فاز گرماگیر است. باتوجه به شکل ۱- g نمونه لستین مشاهده می- شود که پیک‌هایی در نواحی دمایی ۸۰، ۲۱۰ و ۳۷۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده‌اند. واضح است که پیک منفی موجود در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به دمای شیشه‌ای نمونه بوده، پیک ضعیف منفی موجود در ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به اولین تغییر فاز گرماگیر به علت ذوب-تبخیر شده نمونه می‌باشد، که میزان این تبدیل کم می‌باشد و پیک مثبت موجود در ۳۷۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به فرآیند گرمای تبدیل فازی به علت بلوری شدن مجدد ماده می‌باشد. با توجه به شکل ۱- h نمونه بهینه نانو حامل مشاهده می‌شود که فقط یک نقطه ماکسیمم در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد با شدت ضعیف ظاهر شده است. این نقطه به صورت پیک مثبت مشاهده شده که حاکی از گرماگیر زا بودن فرآیند می‌باشد. لذا فرآیند بلوری شدن این نمونه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاده است. با اعمال دمای بیشتر تا محدوده ۴۰۰ درجه هیچگونه تغییری در رفتار گرمایی ماده مشاهده نشده است که حاکی از

باتوجه به شکل ۱- e مشاهده می‌شود که دو نقطه مینیمم برای نمونه روغن سویا ظاهر شده است. اولین پیک در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده است مربوط به دمای شیشه‌ای روغن سویا بوده و دومین نقطه موجود در ۳۸۰ درجه سانتی-گراد مربوط به فرآیند گرماگیر (به علت فرآیند ذوب-تبخیر) مربوط به این نمونه می‌باشد. لذا فرآیند تبدیل و تغییر فازی این نمونه گرماگیر بود. در شکل ۱- f مربوط به اسید لینولئیک، پیک‌های ظاهر شده در دماهای حدودی ۱۵۰، ۲۷۰، ۳۵۰ و ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده‌اند. پیک موجود در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به دمای شیشه‌ای اسید لینولئیک بوده در آن تغییر فاز صورت نگرفته فقط است. در دماهای ۲۷۰ و ۳۵۰ سانتی‌گراد و پیک منفی ظاهر شده‌اند که مربوط به تغییرات گرماگیر جزئی در نمونه اسید لینولئیک بوده و یعنی این که تغییر فاز برای این نمونه در دمای ۲۷۰ درجه سانتی-گراد شروع شده ولی مقدار آن ناچیز است. این تغییر فاز کم کم صورت گرفته تا اینکه در دمای ۴۰۰ تغییر عمده‌ای در تبدیل فاز نمونه صورت می‌گیرد. چون این پیک ظاهر شده در

پایداری نسبتاً بالای نمونه می‌باشد. جهت تحلیل نتایج DSC به بررسی پژوهش‌های دیگران و تشابه و تفاوت نتایج پرداخته شده است که به آن پرداخته می‌شود. دمای ذوب لیستین ۲۳۹ درجه سانتی‌گراد، گلیسرول مونواستراتات ۷۰- درجه سانتی-گراد ۶۵، روغن سویا ۱۶- درجه سانتی‌گراد، اسیدلینوئیک ۵- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. رودرا و همکاران (۲۰۱۰)، در پژوهشی دمای لیستین را ۲۰۴ درجه سانتی‌گراد و محمدحسینی و همکاران (۲۰۱۳) دمای لیستین را ۲۰۸ درجه سانتی‌گراد گزارش نمودند [۲۱، ۲۲]. احتمالاً این تفاوت در دمای ذوب لیستین به تفاوت در اسیدهای چرب استری شده در ساختار آنها بر می‌گردد. همانطور که در منحنی‌های مربوط به مواد اولیه و نانوحامل شاهد و بهینه ملاحظه می‌شود پیک‌های مثبت و منفی متعددی ظاهر شده است که مجموع این ترکیبات در نانوحامل شاهد و نانوحامل بهینه دارای منحنی خاص خود می‌باشند به طوری که پیک‌های ظاهر شده در منحنی مواد اولیه دستخوش تغییراتی شده است. در نمونه نانوحامل شاهد ظهور نقطه ذوب در دمای ۳۹۰ درجه سانتی‌گراد نشان‌دهنده‌ی افزایش پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل و گروه‌های استری موجود در لیستین، اسید لینوئیک و روغن سویا و پیوندهای آبریز و واندروالسی بین بخش‌های غیرقطبی در حالت کلونیدی می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود در نمونه بهینه دمای ذوب به ۸۰ درجه سانتی‌گراد تغییر یافته است. همچنین در این نمونه پیک‌های مربوط به بلوری شدن (اگزوترمیک) و ذوب شدن (اندوترمیک) ناپدید شده و یک پیک در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد ظاهر شده که پهنای پیک یا آنالپی ذوب آن نیز نسبت به بقیه کم‌تر یا کاهش یافته است. این کاهش نشان‌دهنده کریستالی بودن نواحی یا تنوع در نوع و اندازه‌ی کریستال‌های تشکیل شده می‌باشد. حذف پیک‌های مثبت و منفی و ظهور یک پیک در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نشان‌دهنده هم بلوری شدن ترکیبات و سازگاری بسیار خوب این مواد با هم می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود پیک اولئوروپئین در نانو حامل بهینه مشاهده نشد و همچنین پیک منفی مربوط به دمای ذوب در نمونه شاهد نانو حامل به پیک منفی بسیار بسیار ضعیفی در نانو حامل بهینه تبدیل شده که تغییر چشمگیری نداشت؛ همچنین پیک گرمازا از دمای ۵۰ درجه به ۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. بر اساس اطلاعات حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که اولئوروپئین با مواد لیپیدی

موجود در نانو حامل برهمکنش‌های هیدروژنی و آبریز داشته و خواص حرارتی نانوحامل را تغییر داده است. در یک پژوهش که توسط رودرا و همکاران (۲۰۱۰) بر روی نانوذرات حاوی دوکسوروبیسین اتصال یافته به فسفاتیدیل اتانول آمین صورت گرفت، مشاهده شد که پیک آندوترمیک فسفاتیدیل کولین سویا از دمای ۲۰۴ درجه سانتی‌گراد شروع شده و پیک آندوترمیک ماده فعال در دمای ۱۹۷ درجه سانتی‌گراد قرار دارد. آنها نتیجه گرفتند که حضور پیک‌های مجزای اجزاء در منحنی گرمایشی نانوذرات حاوی ماده فعال به دلیل عدم وجود برهم کنش‌های شیمیایی بین آنها می‌باشد [۲۲]. وستسن و همکاران (۱۹۹۳) و خردمندیا و همکاران (۲۰۱۰) نیز طی تحقیقات خود بر نانوذرات لیپیدی و نانوذرات لیپیدی حاوی کتوپروفن نتایج مشابهی را گزارش کردند. آنها بیان کردند حذف پیک ذوب ترکیب فعال به دلیل آن است که در حامل به صورت غیرکریستالی انکپسوله شده است [۲۳، ۲۴]. این نتیجه در تحقیقات پویل و سینگ (۲۰۱۱) نیز مشاهده شد. حذف پیک تاکرولیموس در منحنی گرمایشی مربوط به نانوحامل لیپیدی حاوی تاکرولیموس نشان داد که این ماده فعال به طور کامل در ماتریس لیپیدی حل شده است و پیک آندوترمیک و دمای ذوب را نسبت به توده مواد لیپیدی کاهش داده است. آنها گزارش کردند که دلیل این نتایج کاهش اندازه ذرات و تشکیل آرایش جدیدی با نظم کم‌تر توسط لیپیدها است. همچنین قابلیت امتزاج‌پذیری لیپیدها با ساختارهای مختلف با طول زنجیره‌های مختلف در نانو حامل‌های لیپیدی، مولکول‌های حل شده را در شبکه بلورین لیپید تثبیت می‌کند و از قرارگیری مجدد مولکول‌های حل شده به فرم قطرات چربی دوست کوچک انفرادی جلوگیری می‌کند [۲۵]. در پژوهشی دیگر گوآن و همکاران (۲۰۱۱)، حذف پیک مربوط به ماده دارویی نمیدین در گرمانگاشت نانوذرات حاوی این ماده توجیح کردند که یا غلظت نمیدین بارگذاری شده در نانو ذرات خیلی کم بوده که بتوان آن را تعیین کرد و یا این که نمیدین با فسفولیپید واکنش داده و تشکیل فرم کمپلکس داده است [۲۶]. در پژوهشی دیگر محمدحسینی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که با افزودن گامااوریزانول به ترکیب نانوذرات تولید شده به روش گرمایی، نقطه ذوب کاهش یافت و پیک مربوط به گامااوریزانول در منحنی گرمایشی مربوط به نانوذرات حاوی گامااوریزانول حذف شده بود. آنها این گونه نتیجه گرفتند که

effect of phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 50: 6521-26.

- [3] Owen, R.W., Giacosa, A., Hull, W.E., Haubner, R., Spiegelhalter, B., and Bartsch, H. 2000. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Europe Journal Cancer*, 36: 1235-47.
- [4] Rajakumar, K. 2003. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics*, 112: 132-35.
- [5] Soler-Rivas, C., Espin, J.C., and Wichers, H.J. 2000. Oleuropein and related compounds. *Journal Science Food Agriculture*, 80: 1013-23.
- [6] Walker, R., Decker, E. A., and McClements, D. J. 2015. Development of food-grade nanoemulsions and emulsions for delivery of omega-3 fatty acid: opportunities and obstacles in food industry. *Food & Function*, 6: 41-54.
- [7] Wandrey, C., Bartkowiak, A., and Harding, S.E. 2009. Materials for Encapsulation In: Zuidam N.J., Nedovic V.A. Encapsulation Technologies for Food Active Ingredients and Food Processing. *Springer: Dordrecht, The Netherlands*, 31-100.
- [8] Shah, P.R., Eldridge, D., Palombo, E., and Harding, L. 2014. Optimisation and Stability Assessment of Solid Lipid Nanoparticles using Particle Size and Zeta. *Journal of Physical Science*, 25: 59-75.
- [9] Salminen, H., Gömmel, Ch., Leuenberger, B., and Weiss, J. 2016. Influence of encapsulated functional lipids on crystal structure and chemical stability in solid lipid nanoparticles: Towards bioactive-based design of delivery systems. *Food Chemistry*, 190: 928-937.
- [10] Calvo, P., Herna'ndez, T., Lozano, M., and Gonza'lez-Go'mez, D. 2010. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying Influence of wall material and olive quality. *Journal of Lipid Science Technology*, 112: 852-858.
- [11] Hashemizadeh, P., Qanbarzadeh, B., and Hamishekar, H. 2016. The effect of antioxidant and physical properties of nano-structural lipid carriers of Shirazi extract. *Quarterly Journal of New Food Technology*, 4 (14): 149-141.
- [12] Sze S, Erickson D, Ren L, and Li D. 2003. Zeta-potential measurement using the Smoluchowski equation and the slope of the current-time relationship in electroosmotic

مشاهده تنها یک پیک ذوب در منحنی نانوذرات حاوی گامااوریزانول می‌تواند نشان دهنده هم بلوری شدن و سازگاری خوب آنهاست [۲۱].

۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل نشان داد هر چقدر میزان افزودن ماده هسته‌ای به فاز روغن و لیپیدی آهسته‌تر و کندتر باشد، اندازه ذرات تشکیل شده کوچک‌تر می‌شود. همچنین هر چقدر مقدار ماده هسته‌ای کمتر و اندازه ذرات نیز کوچک‌تر باشند، نانو ذرات حاصل پایداری فیزیکی بالاتری خواهند داشت. همچنین نتایج حاصل از پراکندگی نور ذرات نانو نشان داد که فرمول بهینه دارای کمترین میانگین اندازه ذرات می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از زتا سایزر نشان داد که فرمول بهینه حاصل (۰/۰۵ پودر عصاره) دارای پتانسیل زتا با مقدار ۴۳/۳- میلی‌ولت می‌باشد که نمایانگر پایداری فیزیکی نانو ذره حاصل می‌باشد. در بررسی نتایج ریزپوشانی و آزمون پراکندگی نور ذرات مشخص شد هر چقدر میزان ماده هسته‌ای و اندازه ذرات افزایش یابد مقدار ریزپوشانی کاهش می‌یابد. در بررسی ارزیابی حرارتی تیمارها مشخص شد اولئوروپئین با مواد لیپیدی موجود در نانو حامل بر همکنش‌های هیدروژنی و آبگریز داشته و خواص حرارتی نانوحامل را تغییر داده است.

۵- سپاسگزاری

پژوهشگران و نویسندگان این پژوهش از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشگاه علوم پزشکی خرم-آباد- مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه- دانشکده داروسازی و دانشگاه لرستان، دانشکده علوم پایه- گروه شیمی به دلیل همکاری‌های لازم جهت انجام تحقیق، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶- منابع

- [1] Amiot, M. J., Fleuriet, A., and Macheix, J.J. 1989. Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation, *Phytochemistry. Journal Agriculture Food Chemistry*, 28: 67-73.
- [2] Manna, C., Angelo, S.D., Migliardi, V., Loffredi, E., Mazzoni, O., Morrica, P., Galletti, P., and Zappia, V. 2002. Protective

- Lipid Carriers for Food Fortification: Preparation, Characterization, and Modeling. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 1464-1475.
- [21] Mohammadhasani, Z., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., RezaieMokaram, R. and Yaerhosseini, M. 2013. Gamma Oryzanol Bearing Nanoliposome Produced by Modified Thermal Method: Thermal Property, Encapsulation Efficiency, Oscillatory Rheometry. *Iranian Journal of Polymer Science and Technology*, 26 (5): 413-425.
- [22] Rudra, A., Deepa, R. M., Ghosh, M. K., Ghosh, S., and Mukherjee, B. 2010. Doxorubicin-loaded phosphatidylethanolamine conjugated nanoliposomes: in vitro characterization and their accumulation in liver, kidneys, and lungs in rats. *international Journal of Nanomedicine*, 5: 811-23.
- [23] Westesen, K., Siekmann, B., and Koch, M. 1993. Investigations on the physical state of lipid nanoparticles by synchrotron radiation X-ray diffraction. *International Journal of Pharmaceutics*, 93: 189-99.
- [24] Kheradmandnia, S., Vashghani-Farahani, E., and Nosrati, M. 2010. The effect of process variables on the properties of ketoprofen loaded solid lipid nanoparticles of beeswax and carnauba wax. *Iran. Chemical Engineering Journal*, 29: 181-87.
- [25] Pople, P. V., and Singh, K. K. 2011. Development and evaluation of colloidal modified nanolipid carrier: Application to topical delivery of tacrolimus. *European Journal of Pharmacology Biopharm*, 79: 82-94.
- [26] Guan, T., Miao, Y., Xu, L., Yang, S. h., Wang, J., and He, H., Tang, X., Cai, C., and Xu, H. 2011. Injectable nimodipine-loaded nanoliposomes: Preparation, lyophilization and characteristics. *International Journal of Pharmaceutics*, 410: 180-87.
- flow. *Journal of Colloid and Interface Science*, 261: 402-410.
- [13] Varshosaz, J., Ghaffari, S., Khoshayand, M. R., Atyabi, F., Azarmi, S., and Kobarfard, F. 2010. Development and optimization of solid lipid nanoparticles of amikacin by central composite design. *Journal of Liposome Research*, 20: 97-104.
- [14] Das, S., Ng, W. K. and Tan, R. B. H. 2012. Are nanostructured lipid carriers (NLCs) better than solid lipid nanoparticles (SLNs): Development, characterizations and comparative evaluations of clotrimazole-loaded SLNs and NLCs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47: 139-151.
- [15] Kaur, I. P., Bhandari, R. S., and Kakkar, V. 2008. Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting. *Journal of Controlled Release*, 127: 97-109.
- [16] Srinivas, P., and Preeti, S. 2017. Formulation and evaluation of gemcitabine hydrochloride loaded solid lipid nanoparticles. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Science*, 5(4): 2017-2023
- [17] Mainardes, R.M., Palmira Daflon Gremião, M., and Evangelista, R.C. 2006. Thermoanalytical study of praziquantel-loaded PLGA nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42: 523-530.
- [18] Wei, L., Yang, Y., Shi, K., Wu, J., Zhao, W., and Mo, J. 2016. Preparation and Characterization of Loperamide-Loaded Dynasan 114 Solid Lipid Nanoparticles for Increased Oral Absorption In the Treatment of Diarrhea. *Frontiers in pharmacology*, 7: 59-75.
- [19] Shilei, N., Sun, R., Zhao, G., and Xia, Q. 2015. Quercetin Loaded Nanostructured Lipid Carrier for Food Fortification: Preparation, Characterization and in vitro Study. *Journal of Food Process Engineering*, 38: 93-106.
- [20] Fathi, M., Varshosaz, J., Mohebbi, M., and Shahidi, F. 2013. Hesperetin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructure

Investigation of Oleuropein Lipid Nanostructures Using Dynamic Light Scattering Test (DLS) and Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Solimanifard, M.¹, Sadeghi Mahoonak, A. R.^{2*}, Heidari, R.³, Ghorbani, M.², Sepahvand, A.³, Azizi, Kh.⁴

1. PhD student of Food Science, Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan
2. Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan
3. Associate Professor, Herbal Medicine Research Centre, *Lorestan University of Medical Sciences (LUMS)*, Khorramabad
4. Associate Professor, Department of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad

(Received: 2017/07/01 Accepted: 2017/09/05)

Polyphenol compounds are sensitive to environmental conditions while show beneficial feature as nutraceutical, hence designing targeted delivery systems with controlled release of this compound through microencapsulation in various matrices, is one of the solutions to minimize these disadvantages. In this study, glycerol mono stearate, soybean oil and linoleic acid nanoparticles as walls, lecithin as emulsifiers and olive leaf extract powder (varieties of Spanish and Khorramabad) was chosen as the core material to prepare nanoparticle. The nanoparticles were prepared using modified method of emulsification diffusion and the particle size, zeta potential and particle dispersion index of them were evaluated. The results showed that the optimal condition for extraction obtained using mixture of ethanol and water (70:30), which yield the highest amount of polyphenols (oleuropein). The results of light scattering showed that the formula contains 0.05 gram extracted powder has the lowest average particle size and particle size distribution. The results of Zeta-sizer showed that the zeta potential of nanoparticles in optimal formula (0.05 grams powder) is -43.3 mV, which represents the physical stability of formula. In evaluating thermal properties of the different treatments it was showed that oleuropein in combination with lipid materials in the nanocomposite has changed the nanocomposite thermal properties.

Key words: Nanostructured lipid carrier, Oleuropein, Dynamic light scattering test, Differential Scanning Calorimetry.

* Corresponding Author E-Mail Address: sadeghiaz@gau.ac.ir