

حامل‌های لیپیدی نانوساختار به عنوان سیستم‌های رسانش هدفمند جهت غنی سازی نوشیدنی های آبی با ترکیبات فعال زیستی

اکرم پزشکی نجف‌آبادی^{۱*}، مریم محمدی^۲

^۱ استادیار دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تبریز، ایران
^۲ دانشجوی دکتری دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تبریز، ایران

چکیده

یکی از کاربردهای نانوفناوری در فرآوری مواد غذایی، انکپسولاسیون (درون‌پوشانی) ترکیبات فعال و مغذی در پوشش‌های خوراکی با اندازه نانو و افزودن این نانوذرات به مواد خوراکی است. استفاده از نانو حامل‌ها برای ترکیبات غذا- داروی آبتگریز (نوتریسیکال) مانند ویتامین‌ها می‌تواند مزایای متعددی از جمله کنترل رهایش در یک مکان و زمان معین، پایداری محصول درون‌پوشانی شده در برابر نور، حرارت و اکسیژن طی فرایند و نگهداری درون ماتریکس غذایی، افزایش حلالیت ترکیبات آبتگریز در محیط‌های آبی مانند انواع نوشیدنی‌ها و شیر کم‌چرب، دسترسی زیستی بالاتر آنها به دلیل اندازه کوچک و نسبت سطح به حجم بالای قطرات و عدم کاهش شفافیت، به علت کوچک بودن اندازه را داشته باشد حامل‌های کلوئیدی بر پایه لیپید شامل نانو امولسیونها، نانو لیپوزومها، میکرو یا نانو ذرات پلیمری، نانو ذرات لیپیدی جامد، نانوساختارهای لیپیدی و کمپلکس کردن با حامل‌های مولکولی مثل سیکلو دکسترینها و پروتئینها است. یکی از حامل‌های کلوئیدی حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) است. این سیستم‌ها دارای خصوصیات بسیار مشابه با امولسیون‌ها یا نانوامولسیون‌ها هستند. زیرا آنها ترکیبی از چربی جامد و روغن مایع پوشیده شده با امولسیفایر پراکنده درون محیط آبی هستند که موجب گیر افتادن و تجمع بیشتر مولکول‌های دارو و ترکیبات فعال در ساختار لیپیدی می‌شود. در این مطالعه مروری به بررسی ساختار و روش‌های تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار و پژوهش‌های انجام گرفته در زمینه کاربرد آنها در تحویل هدفمند ترکیبات غذایی زیست فعال پرداخته شده است.

واژه های کلیدی: حامل لیپیدی نانوساختار، تحویل هدفمند، ترکیبات زیست فعال، غنی سازی

۱- مقدمه

تولید شد که امولسیون تشکیل شده در دمای اتاق سرد شد. این که لپید فاز داخلی ذرات با اندازه میکرو یا نانو را ایجاد کند به غلظت سورفاکتانت بستگی داشت. محصول به دست آمده نانوپلت لپیدی^۳ نامیده شد و جهت تجویز خوراکی توسعه پیدا کرد. در مورد نانوپلتها غلظت بالای امولسیفایر سبب کاهش اندازه ذره می شود، اما خطر سمیت و عوارض جانبی را نیز به دنبال دارد. حامل هایی شبیه این سیستم ها و با روش سونیکاسیون نیز تهیه شده و به عنوان لیپوسفر معرفی شدند. اولین تلاش ها جهت ساخت نانوذرات لپیدی با ساختار جامد توسط مولر و لوک با روش هوموژنیزاسیون گرم با فشار بالا و توسط گاسکو با روش میکروامولسیون در سال ۱۹۹۱ شروع شد (۲۰).

۳- ساختار شیمیایی نانوحامل های کلونیدی

این سیستم ها دارای خصوصیات بسیار مشابه با امولسیون ها یا نانوامولسیون ها هستند. زیرا آنها از ذرات پوشیده شده با امولسیفایر پراکنده درون محیط آبی تشکیل شده اند. فاز لپیدی آنها به طور بخشی تا کامل جامد شده است و معمولاً ساختار، موقعیت و قرار گرفتن کریستال ها به منظور به دست آوردن کاربردهای ویژه آن کنترل می گردد (۲۵). ساختارهای SLN از لپیدهای جامد زیست فعال و زیست تخریب پذیر که در دمای اتاق و حرارت بدن جامد هستند، به وجود می آیند. ذرات SLN برای انتقال و رهایش ترکیبات زیست فعال غذایی، مواد آرایشی و مواد دارویی لیپوفیلیک استفاده می شوند؛ زیرا که این سیستم ها از مقاومت بالایی در بدن برخوردار هستند (۱۹). در این سیستم کلونیدی، لپید ذوب شده به همراه ماده فعال بیولوژیک (مانند ویتامین های محلول در چربی) در فاز آبی حاوی سورفاکتانت پخش شده و سپس بلوری می شود. این کار موجب می گردد پایداری فیزیکی و شیمیایی به علت کاهش تحرک اجزای قطره (لپید، سورفاکتانت و ماده فعال) افزایش یابد و خواص نوری و رئولوژیکی تغییر نماید. نانوذرات تشکیل یافته توسط لایه ای از سورفاکتانت که می تواند یک نوع یا مخلوطی از چند سورفاکتانت باشد، پایدار می شوند و ذرات به طور کامل یا جزئی کریستالیزه شده و ساختار و شکل کریستال ها در فاز چربی، همگی به منظور دستیابی به ساختاری با جنبه های کاربردی ویژه، کنترل می گردد (۱۷).

نانو حامل ها در زمینه های مختلف صنایع غذایی، داروسازی، مواد آرایشی و بهداشتی کاربرد دارند. کاربردهای غذایی آنها عبارتند از: حصول رنگ یکنواخت در ماده غذایی؛ بازدارندگی در مقابل pH، تغییرات قدرت یونی و درجه حرارت شدید؛

پوشش دادن طعم ها و بوهای نامطلوب؛ جداسازی گونه های واکنش دهنده از یکدیگر؛ علاوه بر این، در عین حالی که نانوانکپسولاسیون قابلیت پخش پذیری و توزیع ترکیبات نامحلول در آب را افزایش می دهد، بایست بر روی خواص حسی، رنگ و طعم محصول تأثیرگذار باشد (۲، ۱۵). حفظ ترکیب درون-پوشانی شده طی فرایند انتقال به ماده غذایی و هم چنین در طی مدت نگهداری، بایستی در بیشترین حد باشد؛ در مقابل میزان رهایش آن در مکان جذب بایستی به صورت بهینه باشد (۱). به منظور مؤثر بودن سیستم های انتقالی (دارو، غذا و ژن)، ترکیبات درون پوشانی کننده بایستی از مواد طبیعی تهیه شوند و از نظر ایمنی و سلامتی قابل قبول، ارزان قیمت و دارای اندازه نانو باشند و از تجزیه نابهنگام آنها جلوگیری شود. سیستم های رهایش باید با دیگر ترکیبات موجود در سیستم، از نظر خواص فیزیکوشیمیایی و کیفی محصول نهایی (ظاهر، بافت، طعم و زمان ماندگاری) سازگار باشند. نکته مهم اینکه در فناوری نانو، تنها کوچک بودن اندازه ذره مد نظر نیست، بلکه تغییر در خصوصیات ذاتی ذره همراه با تغییر در اندازه آن نیز، باید مورد توجه قرار گیرد (۱۲). انتخاب مناسب فرایند، امولسیفایرها و دیگر ترکیبات مورد استفاده، مهم ترین عامل جهت به دست آوردن ذراتی با اندازه و رنگ مطلوب برای هر کاربردی است. البته کنترل دقیق و درست فرایند نیز در طول فرآیند تولید فرمولاسیون ها ضروری است (۳۳).

۲- نانوحامل های لپیدی (SLN, NLC)^۱

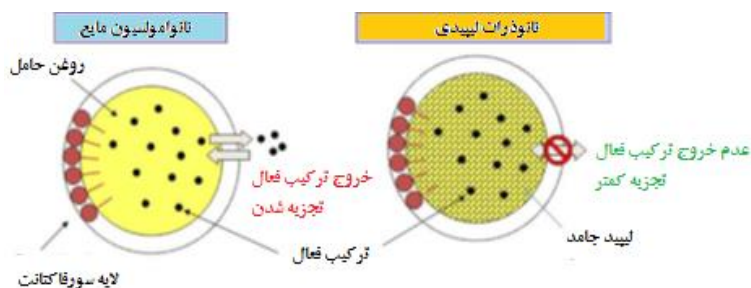
نانوذرات لپیدی با ساختار جامد به دو دسته اصلی نانو کریستال لپیدی (SLN) و حامل های لپیدی نانو ساختار (NLC) تقسیم می شوند (۵). اولین ذرات با اندازه میکرومتر که با استفاده از مواد لپیدی تهیه شد از طریق دیسپرس کردن فاز لپیدی ذوب شده در داخل محلول گرم سورفاکتانت همراه با هم زدن با سرعت بالا

^۱ -Solid Lipid Nanoparticle

^۲ - Nano Lipid Carrier

مواد فعال، سرعت آهسته‌تر تجزیه ترکیب فعال در مدت زمان- های طولانی؛ امکان الحاق ترکیبات حساس به درون ساختار نانوذرات و محافظت از آنها در برابر رطوبت، نور، تجزیه شیمیایی و محافظت بالاتر در برابر عوامل اکسید کننده به علت نفوذ کمتر اکسیژن و فلزات و در نتیجه پایداری شیمیایی بالاتر؛ امکان تولید و استریلیزاسیون آن‌ها در مقیاس‌های بزرگ صنعتی (۶، ۷).

مشکل اصلی امولسیون‌ها و لیپوزوم‌ها عدم محافظت داروهای است که از لحاظ شیمیایی ناپایدار هستند. علاوه بر این رهایش ترکیبات فعال در امولسیون‌ها یکباره و در مورد لیپوزوم‌ها نسبتاً سریع است. ولی با توجه به وجود لیپید جامد در ساختار حامل- های لیپیدی نانوساختار، خروج ترکیب فعال به آهستگی انجام می‌شود (شکل ۱).



شکل ۱- دو ساختار نانوامولسیون مایع (چپ) و نانوکریستال چربی (راست) حاوی ترکیب لیپیدی فعال که بوسیله یک لایه سورفاکتانت پایدار شده است.

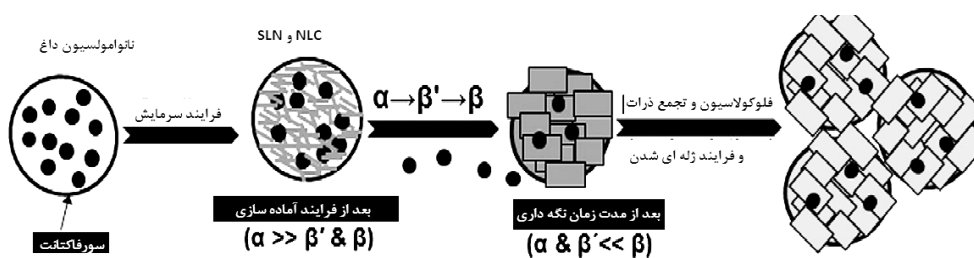
ناپایداری سیستم و خروج ترکیب زیست فعال نقش داشته باشد (۵). علاوه بر این کریستال‌های β به علت ساختار کامل تر و فشرده- تر موجب رانش ماده فعال از درون خود می‌شوند. پس از تولید طی فرایند سرمایش نانوامولسیون، قطرات امولسیون حداقل تا بخشی به اشکال پرانرژی کریستال‌های α و β' کریستالیزه می- شوند. در طول مدت زمان ماندگاری این ساختارها از مرتبه انرژی بالا به اشکال کریستالی پایدار β با انرژی کمتر و نظم بیشتر تغییر پیدا می‌کنند (شکل ۲) و در طول پلی مورفیسم کریستال‌ها، رهایش ترکیب در ساختارهای حامل لیپیدی نانوساختار دیده می- شود (۲۸).

۴- مزایا و ویژگی‌های نانوذرات لیپیدی

نانوذرات لیپیدی دارای امتیازات و برتری‌هایی هستند که دیگر حامل‌های کلوئیدی ندارند و با توجه به خواصی که دارند، بسیاری از کمبودها و نواقص سیستم‌های میکروکپسول و اخیراً نیز سیستم‌های نانو حامل کلوئیدی را ندارند. در مقایسه با نانوامولسیون و نانولیپوزوم‌ها، نانوحامل‌های لیپیدی از مزایای منحصر به فرد و ویژه‌ای برخوردار هستند که عبارتند از:

بازده و کارایی بالا در انکپسولاسیون؛ پایداری بالاتر در برابر تفکیک گرانشی به علت بالاتر بودن چگالی ذرات؛ توانایی پوشش دهی ترکیبات لیپوفیلیک به آسانی؛ عدم استفاده از حلال- های آلی در تهیه آن‌ها و سمیت جزئی آن‌ها؛ وجود غلظت‌های بالا از ترکیبات عملگر در هر ذره بدون جدایی فاز و ناپایدار شدن ذرات؛ انتشار مولکولی آهسته‌تر و در نتیجه رهایش کندتر

با وجود مزایای فوق الذکر، تنها عیب SLN در مقایسه با نانوامولسیون‌ها و میکروآمولسیون‌ها، کدرتر بودن آنهاست؛ چون به علت اندیس شکست بالاتر، نور را بیشتر پخش می‌کنند. خواص منحصر به فرد SLN‌ها در نتیجه تأثیر مستقیم کاهش اندازه ذرات است که منجر به افزایش انحناى سطح و هم‌چنین افزایش تعداد مولکول‌های هر ذره که به طور فعال با مولکول‌های موجود در بین سطح (یعنی ترکیبات فعال بین سطحی) واکنش می‌دهند، می‌شود. پس از تهیه نانوحامل‌های لیپیدی، ابتدا فوراً ساختارهای کریستال‌های لیپیدی با انرژی‌های بالا یعنی α و β' تشکیل می‌شود، اما با گذشت زمان لیپید به ساختارهای صفحه‌ای شکل با انرژی کمتر یعنی β تبدیل می‌شود، که می‌تواند در



شکل ۲- انواع کریستال ها و پلی مورفیسم لیپیدها در مرحله تشکیل و نگه داری (۲۸).

شده در حضور عوامل فعال سطحی در 10°C – 5°C بالاتر از دمای ذوب چربی، به دست آورد. در سال های اخیر نشان داده شده است استفاده از HPH جهت ساخت ذرات زیر میکرون از لیپیدهای جامد بسیار موثرتر از استفاده از نیروهای برشی بالا و اولتراسوند است. برای به دست آوردن توزیع اندازه ذره ای باریک که پایداری فیزیکی دیسپرسیون مایع را افزایش دهد، توزیع یکنواختی از تمرکز نیرو لازم است. در غیر این صورت ذرات در موقعیت های مختلف پراکنش مایع تجمع می یابند. در این حالت نیروهای پخش شونده گوناگونی مختلفی ایجاد می شود و بنابراین درجه خرد شدن ذرات در داخل نمونه متغیر خواهد بود. درجه دیسپرسیون در داخل پراکنندگی مایع به دو عامل تمرکز نیرو و حجم پراکنندگی بستگی دارد. توزیع غیر یکنواخت نیرو در استفاده از اولتراسوند اتفاق می افتد. مزیت اصلی HPH توزیع یکنواخت نیرو است که منجر به تولید ذرات کوچکی با فاصله یکنواخت می شود. یکی دیگر از مزیت های این روش تولید نانوذرات در رنج های بزرگ است که یکی از مشکلات اصلی دیگر روش های تولید به حساب می رود. هوموژنیزاسیون می تواند در دمای بالا یا در دمای پایین انجام شود. هر دو تکنیک جهت تولید غلظت های لیپید بالای ۴۰٪ مفید هستند و عموماً توزیع اندازه ذره ای باریکی را حاصل می کنند. شاخص پلی دیسپرسیوی (PI) هم معمولاً زیر ۰/۲ به دست می آید. تهیه نانوذرات لیپیدی با روش HOT HPH به طور خلاصه شامل مراحل زیر است (شکل ۳).

محتوای ماده فعال و لیپید ذوب شده در محلول گرم سورفاکتانت با هم زدن با سرعت بالا (در همان دما) یا به وسیله فرایند سونیکاسیون دیسپرس می شوند. در این حالت شکستن قطرات بزرگ به قطرات کوچک اتفاق می افتد. پیش امولسیون ایجاد شده با قطرات درشت، تحت هوموژنیزاسیون فشار بالا قرار می گیرد. نانونامولسیون به دست آمده در دمای محیط سرد شده و فاز

۵- روش های تولید ساختارهای نانوذرات لیپیدی

سه روش اصلی برای تهیه نانوذرات لیپیدی وجود دارد که عبارتند از:

۱- روش هوموژنیزاسیون گرم با فشار بالا (Hot-HPH^1)

۲- روش میکروامولسیون

۳- هوموژنیزاسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH)

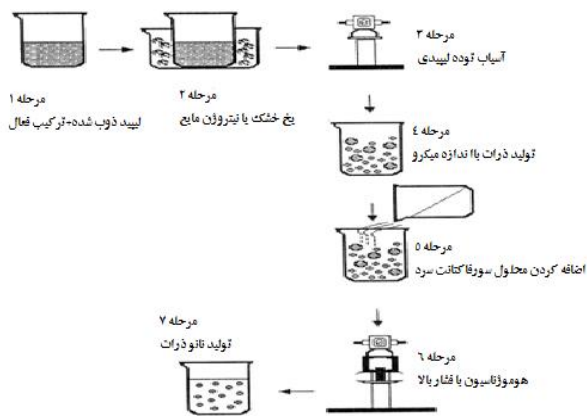
علاوه بر سه روش ذکر شده، سایر روش ها مانند امولسیفیکاسیون - تبخیر حلال، امولسیفیکاسیون- پخش حلال، تزریق یا جابه جایی حلال، روش معکوس شدن فاز نیز وجود دارد (۱۰). انتخاب نوع روش تولیدی مناسب، تا حد زیادی به انتخاب نوع سورفاکتانت و ترکیبات لیپیدی بستگی دارد. با حرارت دهی اجزاء هسته لیپیدی در بالاتر از نقطه ذوب آنها و در ادامه استفاده از یک روش تولید امولسیون یا میکروامولسیون، به طور مثال استفاده از فرایند هوموژنیزاسیون یا مخلوط نمودن فاز چربی ذوب شده با یک محلول آبی سرد، در حضور سورفاکتانت ها (لیستین، پلی اکسی اتیلن منولورات (توین ۲۰)، منواسترات (توین ۶۰)، منوالئات (توین ۸۰) و پلوکسامر ۴۰۷)، ذرات دومرتبه کریستالیزه شده و تولید ساختارهای نانوحامل لیپیدی می نمایند (۲۴).

الف- روش هوموژنیزاسیون گرم با فشار بالا (Hot-HPH)

این روش متداول ترین روش برای تولید و آماده سازی SLN و نانوحامل های لیپیدی (NLC) است. این روش از مزایای بسیاری مانند راحت بودن، صنعتی بودن آن، عدم استفاده از حلال های آلی و مدت زمان تولید کم در مقایسه با دیگر روش ها برخوردار است (۲۸). در این روش ساختارهای نانوحامل را می توان از طریق ذوب نمودن چربی ها، سپس حل نمودن یک ترکیب زیست فعال یا غذا- دارو آبنگیز در چربی ذوب شده و در ادامه اعمال فرایند هوموژنیزاسیون فشار بالا بر روی فاز چربی ذوب

¹ - Hot High Pressure Homogenization

در ادامه این گویچه‌ها در محلول آبی حاوی سورفاکتانت در دمای پایین‌تر از نقطه ذوب چربی (تقریباً ۲۰°C-۱۰) پایین‌تر از نقطه ذوب) تحت فرایند هوموژنیزاسیون قرار می‌گیرند (شکل ۴). اندازه نانو ذرات حامل تولیدی به روش هوموژنیزاسیون سرد با استفاده از نیتروژن مایع، نسبت به دو روش هوموژنیزاسیون داغ و میکروامولسیون داغ بزرگ‌تر بوده و بنابراین سرعت حل شدن آنها در طول جویدن و هضم متفاوت از آن دو است. از این روش برای ترکیبات زیستی حساس به دما استفاده می‌شود.

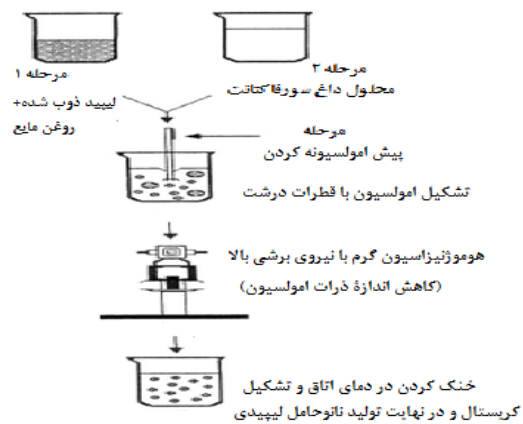


شکل ۴- هوموژنیزاسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH).

لیپیدی کریستالیزه می‌گردد و در نهایت سوسپانسیون آبی نانوذرات لیپیدی تشکیل می‌شود. این روش می‌تواند برای بارگیری داروهای لیپوفیل و نامحلول به کار رود. حتی این روش در ارتباط با مواد حساس به دما از قبیل رتینول هم می‌تواند استفاده شود، چون زمان در معرض قرار گرفتن مواد در برابر حرارت نسبتاً کوتاه است. برای داروهای هیدروفیل این پروسه زیاد مفید به نظر نمی‌رسد زیرا در طول هموژن کردن، ترکیب زیست فعال به داخل فاز آبی نفوذ می‌کند که نتیجه آن درصد بسیار پایین درون‌پوشانی است. باید توجه داشت که این تکنیک در دمای بالاتر از نقطه ذوب لیپید انجام می‌گیرد. نتیجه دمای بالا کاهش اندازه ذره‌ای است و این به علت کاهش ویسکوزیته فاز داخلی است. البته دمای بالا ممکن است سرعت تجزیه شدن ترکیب فعال و حامل را افزایش دهد که این یکی از معایب این روش است. در واقع خود هوموژنیزاسیون با فشار بالا هم سبب افزایش دمای نمونه می‌شود. محصول اولیه هوموژنیزاسیون گرم، یک نانو امولسیون است و این به علت مایع بودن لیپید در دمای بالا است. ذرات جامد لیپید دیسپرس شده در محیط آبی، با سرد کردن نمونه در دمای اتاق و یا در دماهای پایین تشکیل می‌شوند.

۶- مدل‌های بارگیری دارو در داخل نانوحامل‌های لیپیدی

ترکیب فعال زیستی در موقعیت‌های مختلف نانو کریستال می‌تواند جای گیرد. می‌تواند در ساختار لیپید حامل و همراه با آن تشکیل کریستال دهد (شکل ۵-الف)، یا اینکه فاز ترکیب فعال، جدا از لیپید کریستالی شده و به سمت سطح رفته و در آنجا جای گیرد (شکل ۵-ب)، و یا می‌تواند در مرکز هسته لیپید باقی بماند (شکل ۵-ج) و یا در ماتریکس کریستال لیپید پخش گردد (شکل ۵-د). این اختلاف در موقعیت قرارگیری ترکیب فعال عمدتاً به ترکیب اجزای خود فرمولاسیون از قبیل طبیعت شیمیایی اجزای فرمولاسیون، لیپید، سورفاکتانت‌ها و هم‌چنین روش ساخت برمی‌گردد. در مدل ماتریکس لیپیدی همگن، ترکیب فعال به صورت مولکولی دیسپرس می‌شود، یا هنگامی که مقدار زیادی از ترکیب فعال لیپوفیل با روش هوموژنیزاسیون داغ داخل نانوذرات جامد لیپیدی می‌شود، است. موقع به کار بردن روش



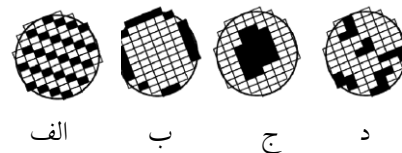
شکل ۳- تهیه NLC های حاوی ویتامین A پالمیتات به روش

هوموژنیزاسیون گرم با نیروی برشی بالا (۱).

به‌علت اندازه ذره‌ای کوچک ذرات و حضور امولسیفایرها، کریستالیزاسیون لیپید اتفاق می‌افتد (۱۸ ، ۱).

ب) هوموژنیزاسیون سرد با فشار بالا (Cold- HPH)

در روش هوموژنیزاسیون سرد، ابتدا ترکیب فعال در فاز لیپیدی ذوب شده حل می‌شود و در ادامه گویچه‌های چربی حاوی مواد مغذی و دارویی، در اندازه‌های ۱۰۰-۵۰ میکرومتر تشکیل شده و



می توان به موارد زیر اشاره کرد: لاودی و سینگ (۲۰۰۸) در تهیه SLN حامل ویتامین A بیان داشتند روش تهیه، نوع سورفاکتانت جهت تثبیت امولسیون، نوع لیپید، همگی روی ساختار درونی و غشاء، اندازه و شکل SLNها تأثیرگذار هستند که این شرایط موقعیت های مختلفی را برای جای گیری ویتامین A درون ساختار SLN ایجاد می کند. در برخی ساختارها ترکیب فعال درون ماتریکس لیپید، یا در پوسته بیرونی و یا در هسته مرکزی قرار گرفته و بنابراین رهایش های متفاوتی از ویتامین A را در سیستم هدف موجب می گردد.

۷- حامل های لیپیدی نانوساختار (NLC)

به طور کل مولکول های ترکیبات غذا-دارو و دارویی میان زنجیره های اسید چرب یا در مناطق بی نظم ساختار کریستالی SLN قرار می گیرند. اما با تبدیل وضعیت لیپید به شکل کم-انرژی، ساختار کریستالی کامل با فضاهای خالی بسیار ریز برای جای گیری مولکول های ترکیبات زیست فعال به وجود می آید. بنابراین خروج مولکول های درون پوشانی شده در طول نگهداری به خصوص وقتی که ساختار SLN متشکل از چربی خیلی خالص باشد، رخ می دهد و در نهایت منجر به کاهش ظرفیت بارگیری ترکیب فعال در ساختار SLN می شود. هم چنین میزان ماده درون پوشانی شده و پروفایل رهاسازی SLNها در طی مدت زمان نگهداری دست خوش تغییر می شود (۵، ۳۲). با توجه به ایرادات ذکر شده در ارتباط با ساختارهای SLN، سیستم های نانوحامل جدید و بهبود یافته تری در راستای کاهش معایب SLNها توسعه یافته است که می توان از آنها به عنوان حامل های لیپیدی نانو ساختار (NLC) یاد کرد. ساختار NLC دارای مخلوط متفاوتی از چربی در مقایسه با SLN، ترکیبی از چربی جامد و روغن مایع است که لیپید و روغن غیر قابل امتزاج با یکدیگر بوده و ترکیب این دو بسیاری از جنبه های کاربردی دارویی- غذایی را برای این گونه ساختارها فراهم می سازد و موجب گیر افتادن و تجمع بیشتر مولکول های دارو و ترکیبات فعال در ساختار لیپیدی نسبت به SLNها می شود (شکل ۶).

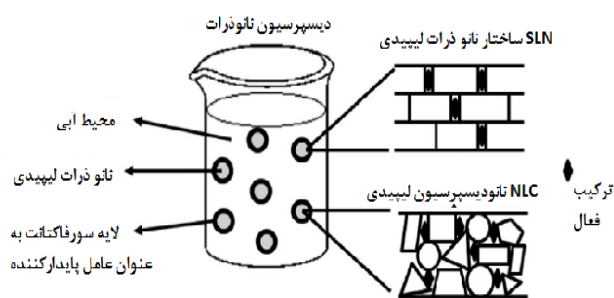
شکل ۵- موقعیت های مختلف قرار گرفتن ترکیب فعال زیستی در ساختار نانوحامل لیپیدی.

هوموژنیزاسیون سرد، توده لیپید ماده فعال حل شده را به صورت پراکندگی مولکولی در برمی گیرد. شکستن مکانیکی لیپید جامد و ریز شدن آن و دربرگرفتن ترکیب فعال توسط لیپید، منجر به تشکیل نانو ذرات با ساختار ماتریکس همگن می شود. همین اتفاق موقعی که قطرات روغن تهیه شده با هوموژنیزاسیون داغ، سرد و کریستالیزه شده و عدم جدایی فاز بین ترکیب فعال و لیپید اتفاق می افتد، نیز صورت می گیرد. ماتریکس همگن ترکیب فعال بارگیری شده می تواند رهایش طولانی مدتی از ساختار نانوحامل لیپیدی را به همراه داشته باشد. مدل جای گیری ترکیب فعال در لایه و پوسته اطراف ساختار، یک بخش غنی شده با جزء فعال است که هسته لیپیدی را دربر می گیرد. این مدل زمانی حاصل می شود که در طول سرد شدن، فرآیند جدایی فاز در هنگام ساخت SLN با روش HOT-HPH اتفاق افتد. در آغاز تشکیل ذرات، لیپید ته نشین شده و هسته لیپیدی تقریباً فاقد ترکیب فعال است. در همان زمان غلظت جزء فعال در مایع لیپیدی کریستالیزه نشده افزایش می یابد و در نهایت مولکول ها در پوسته بیرونی ذرات جای گرفته و ذرات در همان شکل کریستالیزه می شوند. این مدل برای ترکیباتی که رهایش سریع از ساختار نانوحامل را دارند، می تواند مفید واقع شود. (۲۷). مدل جای گیری ترکیب فعال در مرکز ساختار با مکانیسمی عکس مکانیسم مدل های قبلی عمل می کند. در این مورد ترکیب فعال ابتدا ته نشین می شود و لایه ای از لیپید به دور این هسته تشکیل می شود که مشخصاً مقدار ترکیب فعال کمتری دارد. در این مدل، رهایش کنترل شده است و از قانون دیفوزیون فیک پیروی می کند. این مدل موقعی تشکیل می شود که غلظت دارو در لیپید ذوب شده به حالت اشباع برسد. هم چنین گزارشاتی مبنی بر اتصال ترکیبات فعال به لایه خارجی نانو ذرات جامد لیپیدی که از سورفاکتانت ها تثبیت کننده های فسفولیپیدی و حجیم ساخته شده اند، وجود دارد. توزیع ترکیب فعال به خصوصیات فیزیکوشیمیایی SLN و هم چنین اجزای آن بستگی دارد (۲۸). از جمله تحقیقات انجام شده در ارتباط با SLN

هسته انگور و اسکوالن (۱۱) و تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی کوئرستین (۲۷) اشاره کرد.

۸- اجزاء تشکیل دهنده حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC)

NLC نانوذرات حاصله از نانومولسیون روغن در آب است و همانند نانو و میکرومولسیون‌ها، مهم‌ترین اجزاء تشکیل دهنده آن، لیپید، عوامل فعال سطحی و آب است. در جدول ۱ انواع ترکیبات لیپیدی و روغن مایع به همراه سورفاکتانت آورده شده است (جدول ۱) در NLC قسمت اعظم روغن مورد استفاده در امولسیون، با لیپید جامد جایگزین می‌شود که منجر به تولید ماتریکس ذره‌ای جامد، به عنوان بستری برای حمل ترکیبات فعال می‌شود. به منظور بدست آوردن ساختار ماتریکسی نانوذرات، معمولاً لیپید جامد به نسبت ۷۰:۳۰ (و یا نسبت‌های دیگر) با روغن مایع مخلوط می‌شود. هر چقدر میزان لیپید جامد NLC بیشتر باشد، ظرفیت بارگیری ترکیب فعال در ساختار آن نیز افزایش می‌یابد که از لحاظ بعد اقتصادی و همچنین تأثیر بر ماده غذایی، مزیت محسوب می‌شود. مخلوط لیپید در ساختار NLC، تأثیر مهمی بر پایداری شیمیایی مواد زیست فعال حساس می‌گذارد. از انواع چربی‌های منو، دی و تری گلسیرید، اسیدهای چرب و واکس‌ها در تولید NLC استفاده می‌شود. اجزاء تشکیل‌دهنده فرمولاسیون NLC (تمجیدی و همکاران، ۲۰۱۳).



شکل ۶- مقایسه نظم و کریستال‌های لیپیدی در دو ساختار SLN و NLC (۳۱).

از جمله مزایای کاربرد این نوع ساختار، کنترل و رهاسازی عوامل فعال و ویتامین‌ها و افزایش میزان نفوذپذیری دیواره معده به عوامل دارویی و غذایی است (۳۱ و ۲۱). علی‌رغم حضور روغن مایع، ساختار NLC در دمای اتاق و حرارت بدن به صورت ذرات جامد پراکنده در فاز آبی هستند به علت ساختار کریستالی ناکامل لیپید در NLC انتظار می‌رود فضا برای جایگیری ترکیب فعال در مخلوط لیپید و روغن و در نتیجه ظرفیت بارگیری افزایش و رهاسازی ترکیبات درون‌پوشانی شده طی مدت زمان نگهداری کاهش یابد و می‌توان با تعویض ترکیبات شبکه لیپیدی، پروفایل توانه ترکیبات فعال را به آسانی منظم کرد (۴). تحقیقات زیادی در ارتباط با استفاده از NLC در صنایع غذایی انجام شده است. از آن جمله می‌توان به تولید نانوحامل لیپیدی حاوی ویتامین A پالمیتات (۲۱)، بهینه‌سازی فرمولاسیون NLC حاوی لوئتین (۱۴)، تولید حامل‌های لیپیدی نانوساختار بتاکاروتن با استفاده از روغن

جدول ۱- اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون NLC (۲۸).

انواع مختلف اجزاء تشکیل دهنده ساختار NLC	
روغن سویا، تری‌گلسیریدهای متوسط زنجیر (MCT) / کاپریک کاپریلیک اسید، اسید اولئیک، آلفاتوکفرول / ویتامین E، روغن ذرت، اسکوالن.	روغن مایع
اسید استئاریک، صمغ کارنوبا، گلسیریل تری‌استئارات / تری‌استئارین، ستیل پالمیتات، گلسیریل منوکاپرات، گلسیریل پالمیتواستئارات، گلسیریل بهینات، پروپیلن گلیکول منواستئارت.	لیپید جامد
تویین ۸۰، لستین، پلوکسامر ۱۸۸، میورول ۰۴K-۱۸، پلی‌گلسیریل ۳-متیل گلوکز دی‌استئارات، سدیم دو‌سدیل سولفات (SDS)، سدیم دواکسی کولات (SDC)، تویین ۲۰.	سورفاکتانت / امولسیفایر

جامد می‌شود. از این ترکیب به عنوان امولسیفایر در صنایع غذایی و دارویی نیز استفاده می‌شود (۲۳). اسیدهای چرب آزاد نسبت به تری‌گلسیریدها از فعالیت سطحی بیشتری برخوردار بوده و بنابراین اکثراً در سطح روغن-آب تجمع پیدا می‌کنند. این امر حساسیت آنها را به اکسیداسیون افزایش می‌دهد. رادیکال‌های آزاد تولید شده از اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد، می‌تواند به ترکیب زیست فعال و حساس درون‌پوشانی شده در ساختار NLC آسیب وارد کنند. از روغن‌های خوراکی طبیعی مانند روغن ذرت، سویا، آفتابگردان، ویتامین E و اسکوالن نیز می‌توان به‌عنوان روغن مایع در تولید NLC استفاده کرد (۸). اسکوالن یک تری‌ترین بوده که در گیاهان، حیوانات و بدن انسان یافت می‌شود. این ترکیب به اکسیداسیون حساس است.

ب- فاز لیپید جامد

متداول‌ترین لیپیدهای جامد مورد استفاده در تهیه NLC، گلسیریل دی‌بهینات (با نام تجاری کامپریترول)، گلسیریل پالمیتواستارات (با نام تجاری پریسرول)، گلسیریل منواستارات / منواستارین، ستیل پالمیتات و استتاریک اسید است. بسیاری از این لیپیدها علاوه بر نقش و عملکرد حامل بودن، دارای فعالیت سطحی نیز هستند. اسیدهای چرب اشباع نسبت به انواع غیراشباع، خیلی آهسته‌تر تحت اکسیداسیون قرار می‌گیرند. گلسیریل بهینات شامل دی‌گلسیریدهای اسید بهینیک (C:22) به همراه مقداری از منو و تری‌آسیل گلسیرول‌ها است. نانوذرات تولید شده با استفاده از این نوع چربی، به دلیل وجود ساختار کریستالی نامنظم، دارای کارایی درون‌پوشانی و پایداری بالا هستند (۲). گلسیریل پالمیتواستارات، مخلوطی از دی و تری‌آسیل گلسیرول‌های اسید پالمیتیک و اسید استتاریک است. این چربی‌ها از رهايش مطلوب و کنترل شده از ترکیب فعال در طی مدت زمان برخوردار هستند. گلسیریل منواستارات نیز مخلوطی از منو و دی‌آسیل گلسیرول‌ها است و حداقل دارای ۴۰٪ منواستاروئیل گلسیرول است. ستیل استر و ستیل الکل‌ها (مانند ستیل پالمیتات) نیز دسته دیگری از لیپیدهای جامد بوده که مجاز به استفاده در مواد غذایی نیستند. از لیپیدهای طبیعی موجود در کره کاکائو و هم‌چنین صمغ‌های طبیعی مانند کارنوبا و موم زنبور عسل که مجاز به استفاده در مواد غذایی هستند، نیز می‌توان به عنوان لیپید جامد استفاده نمود. از اسیدهای چرب اشباع و تری‌گلسیریدهای آن‌ها مانند اسید استتاریک، اسیدمیرستیک و هم‌چنین گلیکول منواستارات به

از نکاتی که در ارتباط با انتخاب مخلوط لیپیدی بایستی در نظر گرفته شود، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- ۱- حلالیت ترکیب فعال در ماتریکس لیپیدی: یکی از مهم‌ترین فاکتورهایی که در تعیین ظرفیت بارگیری دارو و ترکیب فعال در فاز لیپیدی تأثیرگذار است، حلالیت آن در فاز لیپیدی است (۱۳).
- ۲- امتزاج پذیر نبودن مولکول‌های روغن مایع و لیپید جامد: این امر موجب می‌شود مولکول‌های روغن مایع در شبکه ماتریکس کریستالی لیپید جامد شرکت نکنند و کریستال‌های لیپید نیز در فاز روغن مایع حل نشوند. هم‌چنین لیپیدهای جامد و روغن‌های مایع در غلظت‌های مشخص و مورد نیاز در تشکیل NLC بایستی حل شوند تا جدایی فاز و ناپایداری در دمای پایین‌تر از نقطه ذوب لیپید رخ ندهد. به این معنا که روغن مایع به صورت مناطق پراکنده و نامنظم در ماتریکس یکنواخت چربی جای بگیرد (۲۸).
- ۳- پایداری فاز لیپیدی در برابر تجزیه شیمیایی از جمله اکسیداسیون و لیپولیز.
- ۴- زیست‌تخریب‌پذیری و قابلیت تولید ذرات در مقیاس نانو. وقتی که ویسکوزیته فاز روغن یا کشش بین سطحی پایین باشد، نسبت به حالتی که از روغن ویسکوزتر استفاده شود، تولید ذرات نانو آسان‌تر و سریع‌تر می‌شود (۳۰).
- ۵- سمیت‌زا نبودن فاز لیپیدی در حین تولید NLC.

الف- فاز روغن مایع

تری‌گلسیریدهای متوسط زنجیر (MCT^1) و اسید اولئیک متداول‌ترین روغن‌های مورد استفاده در تولید NLC هستند (جدول ۱). قابلیت هضم MCT نسبت به تری‌گلسیریدهای بلند زنجیر مانند روغن ذرت سریع‌تر بوده و در برابر اکسیداسیون پایداری بالاتری دارند (۹). این ترکیبات بدون بو بوده، ولی اگر تحت هیدرولیز قرار گیرند، اسیدهای چرب آزاد شده به‌طور معنی‌داری بر آرومای NLC تأثیر می‌گذارد. MCT از لحاظ مصرف در مواد غذایی ایمن شناخته شده و می‌توان آن را مستقیماً به مواد غذایی از جمله نوشیدنی‌ها به عنوان حامل، حلال، عامل رهاکننده ترکیب فعال، اضافه کرد. اسید اولئیک (۹-سیس اکتادکانوئیک اسید C18:1)، در بسیاری از روغن‌های طبیعی وجود دارد. بدون بو بوده و از طریق هیدرولیز لیپیدهای حیوانی و گیاهی (به طور مثال زیتون) حاصل می‌شود. دارای ویسکوزیته پایین (تقریباً ۲۵ mpa.s- در دمای ۲۵°C) بوده و در دمای ۴°C

عنوان لیپید جامد نیز استفاده شده است.

ج- سورفاکتانت‌ها و امولسیفایرها

در گذشته تمام فرمولاسیون‌های NLC به جای استفاده از بیوپلیمرها، با استفاده از سورفاکتانت‌ها و یا به ندرت با استفاده از ترکیبی از سورفاکتانت‌ها و بیوپلیمرها پایدار می‌شدند (۳۴). سورفاکتانت‌ها قادر به تشکیل خودبه‌خودی امولسیون با استفاده از روش‌های کم‌انرژی بوده و هم‌چنین می‌توانند در تولید امولسیون به روش‌های پرانرژی (مانند هوموژنیزاسیون فشار قوی)، در سطح قطره جذب و کشش سطحی را کاهش دهند (۱۶). علاوه بر این، در طول تولید NLC خواص عملکردی بسیاری از بیوپلیمرها به‌طور قابل ملاحظه‌ای تغییر می‌کند. با این وجود استفاده از بیوپلیمرها در پایدارسازی NLC، در مطالعات بعدی بایستی بررسی شود. معمولاً به جای استفاده از یک نوع سورفاکتانت، از مخلوط سورفاکتانت‌های محلول در آب و محلول در روغن استفاده می‌شود، زیرا باعث بهبود خواص کاربردی آن‌ها و پایداری فیزیکی بهتر نانوحامل می‌شود. توین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت هیدروفیل غیر یونی در تولید انواع نانوامولسیون‌ها و هم‌چنین نانوساختارهای لیپیدی استفاده می‌شود. توین ۸۰ استر اولئات سوربیتول است و فرم بدون آب آن با تقریباً ۲۰ مول اتیلن اکساید (به ازای هر مول از سوربیتول و سوربیتول انهدروز) پلیمریزه می‌شود. این ترکیب را می‌توان مستقیماً به مواد غذایی افزود. میزان مجاز دریافتی روزانه آن روزانه ۲۵-۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن است (۲۲). می‌توان گفت وقتی که تنها از سورفاکتانت‌های غیر یونی برای پایدارسازی سیستم NLC استفاده شود، دافعه فضایی (استریک) مهم‌ترین عامل پایداری ذرات NLC است. ذراتی که به وسیله دافعه فضایی پایدار شده‌اند، کاملاً به غلظت الکترولیت و pH غیرحساس بوده و هم‌چنین از پایداری خوبی در برابر فریز شدن و دیفراست برخوردار هستند. با این حال تجمع و فولوکاسیون ضعیفی در این نوع سیستم‌ها ممکن است اتفاق افتد که به راحتی برگشت پذیرند. در این نوع سیستم‌ها، مقادیر زیادی از امولسیفایر برای پوشش سطح قطرات در مقایسه با هنگامی که ذرات با دافعه الکترواستاتیکی حفظ می‌شوند، نیاز است. از دیگر امولسیفایرها و عوامل فعال سطحی، به لستین می‌توان اشاره کرد که می‌توان آن را از منابع مختلف از جمله سویا، تخم‌مرغ و شلغم روغنی، بدست آورد. این ترکیب از لحاظ مصرف در صنایع غذایی مجاز و ایمن بوده و در صنایع غذایی و

دارویی به‌وفور استفاده می‌شود. لستین‌های طبیعی مخلوطی از فسفولیپیدها و چربی‌های مختلف از جمله فسفاتیدیل کولین، فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل اینوزیتول هستند. لستین‌ها مولکول‌هایی هیدروفوب با HLB حدوداً ۸ هستند، بنابراین به‌تنهایی مناسب برای پایدارسازی سیستم NLC نمی‌باشند و به‌طور گسترده در ترکیب با دیگر سورفاکتانت‌ها به کار می‌روند. برای تولید لستین با خاصیت هیدروفیلی بالاتر، بایستی یکی از دو اسید چرب لستین را به طریق شیمیایی یا آنزیمی از ساختار آن جدا کرد تا لستین با خاصیت هیدروفیلی بالاتر به نام لیزولستین حاصل شود که این ترکیب قادر به پایدارسازی دیسپرسیون‌های روغن در آب است. لستین‌ها سورفاکتانت‌های دویونی هستند و بسته به pH و غلظت الکترولیت در محیط آنها دارای بار منفی، خنثی و مثبت هستند. لستین‌ها به‌خصوص لستین سویا، محتوی اسیدهای چرب غیر اشباع زیادی هستند که این امر آنها را به اکسیداسیون حساس‌تر می‌کند (۲۸).

پلوکسامر ۱۸۸ یکی دیگر از انواع سورفاکتانت‌های غیر یونی با HLB نزدیک به ۲۹ است (۲۳). دارای خاصیت سمیت‌زایی پایین بوده و قادر به کنترل رهایش ترکیب فعال از ساختار نانوحامل و تحویل آنها به سیستم‌های هدف است. این ترکیبات در دماهای بالا پایدار هستند. از این ترکیبات در داروسازی، صنعت و تولید مواد آرایشی استفاده می‌شود، ولی افزودن مستقیم آنها به غذا مجاز نیست. سدیم دودسیل سولفات (SDS)، پلی اکسی اتیلن سوربیتان منولورات (پلی سوربات ۲۰/۲۰ توین ۲۰) و سدیم داکسی کولات (SDC) از دیگر ترکیبات سورفاکتانت در سیستم‌های NLC هستند. سدیم دو دسیل سولفات یک سورفاکتانت هیدروفیل غیر یونی با HLB برابر ۴۰ است و توین ۲۰ نیز یک سورفاکتانت هیدروفیل غیر یونی با HLB برابر ۱۶/۷ است که استفاده از آن در مواد غذایی به طور مستقیم مجاز شناخته شده است. ژلوسیرس، ترکیبات لیپیدی با عملکردهای چندگانه هستند که از منو، دی و تری آسیل گلیسرول‌ها و هم‌چنین منو و دی استرهای اسید چرب پلی اتیلن گلیکول تشکیل شده‌اند. این ترکیبات دارای خواص ویژه بوده و می‌توان از آنها به عنوان سورفاکتانت و هم-سورفاکتانت و هم‌چنین ماتریکس لیپیدی در سیستم‌های تحویل و رهایش دارو استفاده کرد (۲۶). این ترکیبات دارای خواص امولسیفایری و حلال بودن هستند. استفاده از آنها در ساختار نانوحامل‌های لیپیدی، منجر به افزایش پایداری

ساختار ماتریکسی نانوذرات، معمولاً لیپید جامد به نسبت ۷۰:۳۰ (و یا نسبت‌های دیگر) با روغن مایع مخلوط می‌شود. تری-گلسیریدهای متوسط زنجیر (MCT) و اسید اولئیک متداول‌ترین روغن‌های مورد استفاده در تولید NLC هستند و متداول‌ترین لیپیدهای جامد مورد استفاده در تهیه NLC، گلسیریل بهینات، گلسیریل پالمیتواستارات، گلسیریل منواستارات / منواستارین، ستیل پالمیتات و استاریک اسید است. طبق مطالعات انجام گرفته، سیستم‌های NLC نسبت به SLNها، لیپوزوم و امولسیون، پایداری و درصد بارگیری بیشتری را به‌خصوص در دمای ۲۵°C نشان دادند و طی مدت زمان نگهداری پروفایل رهاسازی ترکیب فعال در سیستم NLC بدون نوسان بوده است.

۱۰- منابع

۱. پزشکی، ا.، قنبرزاده، ب.، همیشه‌کار، ح.، مقدم، م و محمدی، م. (۱۳۹۳). حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی ویتامین A پالمیتات؛ عوامل موثر بر اندازه ذرات، کارایی درون‌پوشانی و پایداری. فصل نامه علوم و فناوری های نوین در صنایع غذایی، سال دوم، پاییز ۹۳
2. Castro, G.A., Oréface, R.L., Vilela, J.M., Andrade, M.S. and Ferreira, L. A. 2007. Development of a new solid lipid nanoparticle formulation containing retinoic acid for topical treatment of acne. *J. Microencapsulation*, 24(5): 395-407.
3. Champagne, C.P. and Fustier, P. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Curr. Opin. Biotech.*, 18(2): 184-190.
4. Chen, C., Han, D., Cai, C. and Tang, X. 2010. An overview of liposome lyophilization and its future potential. *J. Control. Release*, 142: 299-311.
5. Das, S. and Chaudhury, A. 2011. Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. *AAPS. Pharm. Sci. Tech.*, 12(1):62-76.
6. Fathi, M., Mozafari M.R. and Mohebbi M. 2012. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends Food Sci. Technol.*, 1-15.
7. Gonnet, M., Lethuaut, L. and Boury, F. 2010. New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *J. Control. Release*, 146: 276-290.
8. Gramdorf, S., Hermann, S., Hentschel, A., Schrader, K., Müller, R.H., Kumpugdee-Vollrath, M., et al. 2008. Crystallized miniemulsions: Influence of operating parameters during high-

و بارگیری ترکیب فعال لیپوفیل می‌شود (۲۹). از دیگر ترکیبات موجود در ساختار نانوحامل، می‌توان به نگه‌دارنده‌ها (مانند آنتی-اکسیدان‌ها، عوامل ضد میکروبی)، هم-سورفاکتانت‌ها، هم‌حلال-ها (مانند گلیسرول) اشاره کرد. در مطالعه‌ای که داس و همکاران (۲۰۱۲) روی مقایسه مزایا و برتری دو سیستم SLN و NLC در اندازه ذرات، میزان بارگیری و رهایش دارو طی مدت زمان، پایداری و سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که هر دو سیستم نانوحامل در دمای ۸-۲۰°C با ظرفیت بالای بارگیری دارو پایدار هستند، درحالی‌که پایداری آنها در دمای ۲۵°C همراه با درصد بارگیری پایین ترکیب دارویی است. با این وجود سیستم‌های NLC نسبت به SLNها پایداری و درصد بارگیری بیشتری را به-خصوص در دمای ۲۵°C نشان دادند. طی مدت زمان نگهداری پروفایل رهاسازی دارو در سیستم SLN متغیر بوده، درحالی‌که این نوسانات در ارتباط با سیستم NLC مشاهده نشد. از جمله محدودیت‌هایی که در ارتباط با سیستم‌های SLN و NLC وجود دارد، این است که به‌کارگیری فشار و دمای بالا در فرایند تولید آنها می‌تواند موجب تخریب ترکیبات فعال شود و هم‌چنین نیاز به استفاده از مقادیر زیاد سورفاکتانت به منظور پایدار کردن سیستم است (۳۱، ۳۲).

۹- نتیجه گیری

با استفاده از فناوری نانو امکان اعمال تغییر در مواد غذایی و اضافه کردن افزودنی‌های مورد نظر در اندازه‌های بسیار ریز و دستکاری محتویات فیزیکی مواد غذایی وجود دارد و در نتیجه کیفیت مواد غذایی و هضم و جذب غذا در بدن بهبود یافته و محصولات جدید با طعم‌ها و رنگ‌های مختلف حاصل می‌شود. یکی از حامل‌های لیپیدی در مقیاس نانو، NLCها هستند که دارای مزایا و برتری‌های زیادی بر دیگر حامل‌های کلوئیدی هستند. روش هوموژنیزاسیون گرم با فشار بالا و هم‌چنین با نیروی برشی بالا متداول‌ترین روش برای تولید و آماده‌سازی نانوحامل‌های لیپیدی (NLC) است. موقعیت قرارگیری ترکیب فعال در حامل‌های لیپیدی نانوساختار متفاوت است و این اختلاف در موقعیت قرارگیری ترکیب فعال عمدتاً به ترکیب اجزای خود فرمولاسیون از قبیل طبیعت شیمیایی اجزای فرمولاسیون، لیپید، سورفاکتانت‌ها و هم‌چنین روش ساخت برمی‌گردد. به منظور بدست آوردن

- Surfactant Concentration on the Formulation Properties. *Adv Pharm Bull*, 4(Supp2).
22. Qiu, S., Liu, Z., Hou, L., Li, Y., Wang, J., Wang, H., et al. 2013. Complement activation associated with polysorbate 80 in beagle dogs. *Inte. Immuno. pharmacol.*, 15(1), 144–149.
23. Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Quinn, M. E. 2009. *Handbook of pharmaceutical excipients* (6th Ed.). London: Pharmaceutical Press.
24. Sagalowicz, L. and Leser, M. 2010. Delivery systems for liquid food products. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 15(1-2), 61–72.
25. Saupe, A., et al. 2005. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) — structural investigations on two different carrier systems. *Biomed Mater Eng.*, 15(5): 393–402.
26. Shimpi, S.L., Mahadik, K.R. and Paradkar, A.R. 2009. Study on mechanism for amorphous drug stabilization using Gelucire 50/13. *Chem. Pharm. Bull.*, 57(9), 937–942.
27. Sun, M., Nie, S., Pan, X., Zhang, R., Fan, Z. and Wang, S. 2014. Quercetin-nanostructured lipid carriers: Characteristics and anti-breast cancer activities in vitro. *Colloid Surf. B.*, 113: 15– 24.
28. Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J. and Nasirpour, A. 2013. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 19: 29-43.
29. Tsai, M.J., Wu, P.C., Huang, Y.B., Chang, J.S., Lin, C.L., Tsai, Y.H., et al. 2012. Baicalein loaded in tocol nanostructured lipid carriers (tocol NLCs) for enhanced stability and brain targeting. *Int. J. Pharm.*, 423(2), 461–470.
30. Walstra, P. (2003). *Physical chemistry of foods*. New York: Marcel Decker.
31. Weber, S., Zimmer, A., and Pardeike, J. 2013. Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for pulmonary application: A review of the state of the art. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 86(1): 7-22.
32. Yang, Y., Corona III A., Schubert, B., Reeder, R., and Henson, M.A. 2014. The effect of oil type on the aggregation stability of nanostructured lipid carriers. *J. Colloid Interface Sci.*, 418: 261–272.
33. Yurdugul, S., and Mozafari, M.R. 2004. Recent advances in micro- and nanoencapsulation of food ingredients. *Cell. Mol. Boil .lett.*, 9: 64–65.
34. Zheng, M., Falkeborg, M., Zheng, Y., Yang, T. and Xu, X. 2013. Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp.*, 430: 76– 84.
- pressure homogenization on size and shape of particles. *Colloid Surface A*, 331(1–2): 108–113.
9. Hippalgaonkar, K., Majumdar, S. and Kansara, V. 2010. Injectable lipid emulsions advancements, opportunities and challenges. *AAPS. Pharm. Sci. Technol.*, 11: 1526-1540.
10. Hu, F.Q., Yuan, H., Zhang, H.H. and Fang, M. 2002. Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. *Int. J. Pharm.*, 239(1–2): 121–128.
11. Lacatusu, I., Badea, N., Ovidiu, O., Bojin, D. and Meghea, A. 2012. Highly antioxidant carotene-lipid nanocarriers: synthesis and antibacterial activity. *J. Nanopart. Res.*, 14:902-918.
12. Liu, J., Hu, W., Chen, H., Ni, Q., Ni, H. and Yang, H. 2007. Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *Int. J. Pharm.*, 328:191-195.
13. Liu, W., Tian, R., Hu, W., Jia, Y., Jiang, H., Zhang, J., et al. 2012. Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system of baicalein. *Fitoterapia*, 83(8): 1532–1539.
14. Liu, C.H. and Wu, C.T. 2010. Optimization of nanostructured lipid carriers for lutein delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 353: 149–156.
15. Loveday, S.M. and Singh, H. 2008. Recent advances in technologies for vitamin A protection in foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 19: 657-668.
16. McClements, D.J. and Rao, J. 2011. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* 51: 285-300.
17. Mishra, B., Patel, B.B., Tiwari, S. and Pharm, M. 2010. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine, Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6: 9–24.
18. Müller, R.H., Mäder, K. and Gohla, S. 2000. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery- a review of the state of the art. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50(1): 161-177.
19. Müller, R.H., Petersen, R.D., Hommoss, A. and Pardeike, J. 2007. Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 59:522-530.
20. Müller, R.H., Radtke, M. and Wissing, S.A. 2002. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. *Int. J. Pharm.*, 242: 121-128.
21. Pezeshki, A., Ghanbarzadeh, B., Mohammadi, M., Fathollahi, I. and Hamishehkar, H. 2014. Encapsulation of Vitamin A Palmitate in Nanostructured Lipid Carrier (NLC)-Effect of