

کپسوله کردن آلئسین در نانوذرات پلیمری زیست تخریب پذیر و بررسی ویژگی های نانوکپسول ها

مهین فکور یزدان آباد^{۱*}، قدیر رجب زاده^۲ و سعید تقوایی گنجعلی^۳

۱- دانشجوی دکترای شیمی کاربردی، دانشکده شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار شیمی آلی، گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

۳- استاد شیمی آلی، دانشکده شیمی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

دریافت: بهمن ۱۳۹۳، بازنگری: اردیبهشت ۱۳۹۴، پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۴

چکیده: در این مطالعه آلئسین در نانوذرات پلیمری زیست تخریب پذیر، به روش بیش ژل شدن یونوتروپیک کپسوله شد. میانگین اندازه نانوکپسول ها و بازده کپسولی آن ها با توجه به عامل های فرایند ساخت از جمله غلظت زیست پلیمر کیتوسان، غلظت زیست پلیمر آلئیناتو pH محلول کمپلکس پلی الکترولیت، مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه ها نشان داد که افزایش غلظت کیتوسان و آلئینات و همچنین کاهش pH، سبب افزایش اندازه ذرات و کاهش میزان بازده کپسولی می شود. گستره مناسب برای غلظت کیتوسان ۰/۷۵ تا ۱/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و برای غلظت آلئینات ۲/۶ تا ۳ میلی گرم بر میلی لیتر بود و pH مناسب برای به دست آمدن اندازه ذرات کوچک تر با بازده کپسولی بیشتر بین ۴/۷ تا ۵/۷ بود. سپس نانوکپسول های به دست آمده به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) شناسایی شدند.

واژه های کلیدی: آلئسین، پلیمر زیست تخریب پذیر، کیتوسان، سدیم آلئینات، کپسوله شدن

مقدمه

به دلیل داشتن نیم عمر زیستی کوتاه و ایجاد نوسانات قابل توجه در پلاسما و متابولیسم عبور اول بسیار سریع آن، فراهمی زیستی کمی دارد [۸ تا ۱۵]. هم چنین بو و طعم نامطبوع آلئسین باعث عدم تمایل به استفاده از آن می شود. این موارد عوامل محدود کننده استفاده از آلئسین در صنایع غذایی و دارویی هستند. در نتیجه برای اصلاح آلئسین باید شرایط ویژه ای به کار گرفته شود. برای این منظور می توان از روش کپسوله کردن استفاده کرد.

کپسوله کردن فرایندی است که در آن اجزای جامد، مایع و گاز درون کپسول های کوچک گنجانده می شوند و می توان محتویاتشان را با سرعت کنترل شده و تحت شرایط خاص آزاد کرد

آلئسین ماده اصلی به دست آمده از گیاه سیر است که دارای ویژگی های زیستی متفاوت از جمله ویژگی های ضد انگل، ضد فشارخون، ضد التهاب و ضد سرطان است [۱ و ۲]. آلئسین دارای طیف گسترده ای از فعالیت های ضد باکتری های گرم مثبت و منفی مانند اشرشیاکلی، سالمونلا، استافیلوکوک، استرپتوکوک، باسیلوس، کلستریدیوم، سل و عفونت های هلیکوباکتریلوری است [۳ تا ۷]. آلئسین موجود در گیاه سیر می تواند به عنوان یک مکمل غذایی و جهت پیشگیری از بسیاری از بیماری ها مورد استفاده قرار گیرد. اما آلئسین یک ترکیب فرار، ناپایدار و واکنش پذیر بوده و به آسانی می تواند باعث تحریکات موکوس معده انسان شود و نیز

همدان در ایران تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه خلوص بالا از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب یون‌زدایی شده استفاده شد.

دستگاه‌ها

از دستگاه HPLC مدل (Waters, USA- pump 600) controller; 2487 Dual I absorbance detector; 717 plus (autosampler) و ستون (Shimadzu C18 - 250 x 4.6 mm) استفاده شد.

اندازه ذرات به کمک دستگاه پراش دینامیکی نور مدل Nano-zs ساخت شرکت مالورن انگلستان اندازه‌گیری شد.

شکل ظاهری و اندازه کپسول‌ها با میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) مدل (MIRA\TESCAN) مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

آماده‌سازی عصاره آبی سیر

برای تهیه عصاره آبی حاوی آلپسین، حبه‌های سیر تازه تهیه و پوست کنده شد و در داخل آون با دمای 50 ± 5 درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس سیر خشک شده با آسیاب پودر شد. ۱۲۰ میلی‌لیتر آبیون زدایی شده به ۱۶ گرم پودر سیر افزوده شد و مخلوط به‌دست آمده با حمام فراصوت در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه یکنواخت گشت و آن را به مدت یک شبانه روز، در داخل یک ظرف در بسته در محیط تاریک قرار داده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی به‌دست آمده از سانتریفیوژ استرلیزه شد و مقدار آلپسین موجود در آن به کمک دستگاه HPLC، طبق روش فارماکوپه اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی نانوذرات آلزینات/کیتوسان برپایه هیدروژل

برای تهیه نانو ذرات آلزینات/کیتوسان به روش پیش ژل شدن یونوتروپیک ابتدا محلول آبی آلزینات سدیم تهیه شد و سپس

[۱۶ و ۱۷]. نانو کپسوله کردن آلپسین باعث بهبود توزیع زیستی و افزایش قابلیت فراهمی زیستی آن می‌گردد [۱۸]. با کپسوله کردن آلپسین با زیست‌پلیمرها، می‌توان مزه و بوی آلپسین را حفظ کرد و در نتیجه مدت زمان ماندگاری محصول را افزایش داد. زیست‌پلیمرهای مورد استفاده در این مطالعه کیتوسان و آلزینات می‌باشند. کیتوسان یک پلی آمینو ساکارید کاتیونی است که به دلیل داشتن ویژگی‌های سودمند زیستی مانند زیست سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، عدم سمیت و عدم تحریک سامانه ایمنی در سامانه دارورسانی آهسته رهاش مورد توجه قرار گرفته است و می‌تواند برای آماده‌سازی محصولات کمپلکس پلی الکترولیت با پلی آنیون‌های طبیعی مانند آلزینات به کار رود [۱۹]. آلزینات‌ها نیز همانند کیتوسان از پلیمرهای طبیعی جزء گروه پلی ساکاریدها هستند. آلزینات‌ها ویژگی‌های امولسیفایری و پایدارکنندگی دارند و می‌توان در کپسوله کردن مواد غذایی و دارویی از آن‌ها استفاده کرد [۲۰ و ۲۱].

هدف ما در این مطالعه نانو کپسوله کردن آلپسین برای حفظ بو و طعم و افزایش پایداری و مدت زمان ماندگاری و نیز افزایش قابلیت فراهمی زیستی و توزیع زیستی آن در بدن است. بدین منظور آلپسین (عصاره آبی استخراج شده از پودر سیر)، در سامانه کیتوسان/ آلزینات به روش پیش ژل شدن یونوتروپیک کپسوله شد. پس از ساخت ریزکپسوله‌ها به بررسی ویژگی‌های آن‌ها پرداخته شد و نانو کپسول‌ها به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) شناسایی شدند و اندازه ذرات با استفاده از روش پراکندگی نور دینامیکی (DLS) به‌دست آمد. جهت اندازه‌گیری میزان آلپسین در نمونه‌ها از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد.

بخش تجربی

مواد شیمیایی

کیتوسان با گرانونی پایین از شرکت سیگما آلدریج و کلسیم کلرید دوآبه از شرکت مرک آلمان و سدیم آلزینات از شرکت لوباکم هندوستان خریداری شدند. حبه‌های سیر تازه از شهرستان

آماده‌سازی نانوذرات آلژینات/کیتوسان برپایه هیدروژل انجام شد.

تعیین مقدار کمی آلیسین

مقدار کمی آلیسین موجود در نمونه‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با روش ذکر شده در فارماکوپه بریتانیا اندازه‌گیری شد [۲۳]. برای اندازه‌گیری آلیسین با دستگاه HPLC از استاندارد داخلی بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات استفاده شد. فاز متحرک عبارت بود از ترکیب ۶۵ درصد متانول و ۳۵ درصد محلول فرمیک اسید بدون آب (v/v)٪۱ با جریان ۱٫۵ میلی‌متر بر دقیقه که ثبت در طول موج ۲۵۴ نانومتر انجام شد. استاندارد داخلی نیز از حل کردن ۲۰ میلی‌گرم بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول-آب ۵۰ به ۵۰ به دست آمد. برای تعیین مقدار آلیسین در هر نمونه، ۵ میلی‌لیتر از هر نمونه به ۰٫۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد داخلی در یک بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری افزوده شد و با فاز متحرک تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر رقیق شد. محلول به‌دست آمده هم زده شد و به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و صاف شد و در نهایت ۵۰ میکرو لیتر از محلول آماده شده جهت تزریق به دستگاه استفاده شد. مقدار آلیسین موجود در هر نمونه از رابطه (۱) محاسبه شد.

$$(1) \quad (\mu\text{g/ml}) = (S_a/S_b) \times C_s \times (V_2/V_1) \times 8,65$$

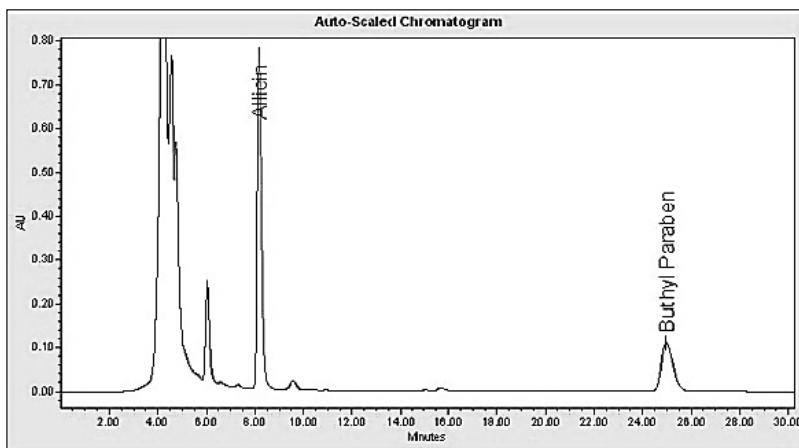
در این رابطه، S_a مربوط به سطح زیر منحنی مربوط به آلیسین، S_b مربوط به سطح زیر منحنی مربوط به بوتیل پاراهیدروکسی بنزوات،

pH محلول با کلریدریک اسید به مقدار ۵ تا ۵٫۳ رسید و محلول کیتوسان با استیک اسید ۱٪ نیز تهیه شد و pH آن با سود ۰٫۱ نرمال به مقدار ۵٫۴ تا ۵٫۷ رسید. محلول آبی حاوی آلیسین از پودر سیر طبق روش توضیح داده شده پس از دو مرحله سانتریفیوژ، تهیه شد. نانوذرات طبق روشی که Rajaonarivony برای آماده‌سازی نانو ذرات پلی آل لیزین-آلژینات به کار برده بود [۲۲]، تهیه شدند.

کلسیم کلرید آبی با غلظت مشخص بسته به غلظت محلول آبی سدیم آلژینات، قطره قطره به ۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی سدیم آلژینات افزوده شد، در حالی که محلول با دور ۱۲۰۰ دور بر دقیقه بر روی همزن همزده می‌شد و پس از نیم ساعت پیش ژل کلسیم آلژینات به‌دست آمده شد. پس از افزودن ۴ میلی‌لیتر محلول آبی کیتوسان به پیش ژل کلسیم آلژینات، pH محلول تنظیم شد و به مدت یک ساعت همزده شد تا این که یک سوسپانسیون شیری رنگ به‌دست آمده، سپس سوسپانسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در حالت تعادل باقی ماند تا نانوکپسول‌های با اندازه یکنواخت به‌دست آمد.

آماده‌سازی نانوذرات آلیسین بارگذاری شده در کیتوسان و آلژینات

به منظور بارگذاری آلیسین در داخل نانوذرات آلژینات و کیتوسان، ۲ میلی‌لیتر از محلول حاوی آلیسین با غلظت مشخص به محلول کلسیم کلرید آبی افزوده شد و بقیه موارد همانند



شکل ۱ کروماتوگرام آلیسین و استاندارد داخلی در محلول نمونه

Cs مربوط به غلظت بوتیل پارابن در محلول استاندارد ($10 \mu\text{g/ml}$) V_1 حجم مربوط به هر نمونه مورد آزمون (۵ میلی لیتر)، V_2 حجم محلول نهایی پس از افزودن محلول استاندارد و فاز متحرک (۱۰ میلی لیتر) است. کروماتوگرام HPLC مربوط به آلیسین و استاندارد داخلی (IS) در شکل ۱ آورده شده است.

تعیین اندازه ذرات

سوسپانسیون نانو ذرات بدون رقیق سازی جهت اندازه گیری سایز ذرات استفاده شد و نتایج بر اساس قطر حجم میانگین کپسول ها گزارش شد. تمامی اندازه گیری ها در دمای اتاق و سه بار تکرار صورت پذیرفت.

تعیین میزان بازده کپسولی

میزان بازده کپسولی نانوذرات به وسیله جداسازی آلیسین بارگذاری شده در کپسول های آلژینات/کیتوسان، از محیط آبی شامل آلیسین آزاد توسط سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. آلیسین بارگذاری شده در داخل کپسول ها از تفاوت بین مقدار کلی آلیسین استفاده شده برای آماده سازی و مقدار آلیسین آزاد که در محلول رویی وجود دارد محاسبه شد. اندازه گیری میزان آلیسین آزاد در محلول رویی به روش HPLC انجام شد. بازده کپسولی

طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times (\text{آلیسین کلی}) / (\text{آلیسین کلی} - \text{آلیسین آزاد}) = \text{بازده کپسولی}$$

ریخت شناسی نانو کپسول ها

بدین منظور یک قطره از سوسپانسیون حاوی نانو کپسول ها بر روی فویل آلومینیم ریخته شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خشک شد و پس از این که نمونه با طلا پوشش داده شد، تصاویر به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی به دست آمد.

نتیجه ها و بحث

نتیجه ها

آنالیز اندازه ذرات

اندازه و نحوه پراکنش ذرات متفاوت با استفاده از دستگاه تجزیه اندازه ذرات محاسبه شد و نتیجه های مربوط در جدول ۱ نشان داده شده است.

اندازه گیری بازده کپسولی

بازده کپسولی نانو کپسول های تهیه شده با توجه به عامل های فرایند ساخت از جمله غلظت زیست پلیمر کیتوسان، غلظت زیست پلیمر آلژینات و pH محلول کمپلکس پلی الکترولیت، مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه های مربوط به آن در جدول شماره ۱ آورده شده است.

جدول ۱ نتیجه های به دست آمده از تجزیه اندازه ذرات و میزان بازده کپسولی

بازده کپسولی (%)	اندازه ذرات (نانومتر)	pH محلول	غلظت آلژینات (میلی گرم/میلی لیتر)	غلظت کیتوزان (میلی گرم/میلی لیتر)	تعداد آزمایش ها
۷۰٫۴۸±۲٫۴۷	۱۶۲±۱۷	۵٫۷	۲٫۶	۰٫۷۵	۱
۶۸٫۵۷±۲٫۸۵	۱۸۵±۲۲	۴٫۷	۲٫۶	۰٫۷۵	۲
۶۳٫۴۳±۳٫۸۵	۲۲۲±۱۸	۳٫۷	۲٫۶	۰٫۷۵	۳
۷۱٫۲۸±۲٫۷۹	۲۴۴±۲۳	۵٫۷	۳	۱٫۵	۴
۶۶٫۰۶±۲٫۸۵	۳۰۹±۲۳	۴٫۷	۳	۱٫۵	۵
۵۹٫۲۴±۲٫۰۷	۴۱۶±۲۴	۳٫۷	۳	۱٫۵	۶
۶۷٫۷۷±۳٫۷۱	۶۲۴±۲۵	۵٫۷	۳٫۴	۲٫۵	۷
۶۴٫۲۴±۳٫۱۶	۶۸۸±۳۱	۴٫۷	۳٫۴	۲٫۵	۸
۵۶٫۰۲±۳٫۲۰	۸۸۵±۲۹	۳٫۷	۳٫۴	۲٫۵	۹

بررسی ریخت نانو کپسول‌ها

است، اندازه ذرات به غلظت پلیمر کیتوسان و آلژینات بستگی دارد و اندازه ذره کمتر مربوط به غلظت کمتر کیتوسان و آلژینات و اندازه ذره بیشتر مربوط به غلظت بیشتر کیتوسان و آلژینات است و در شرایط یکسان با افزایش غلظت زیست پلیمرها، اندازه ذرات افزایش می‌یابد. این نتیجه‌ها تایید می‌کند که نانو ذرات کوچک‌تر هنگامی که دسترسی به گروه‌های عاملی هر دو پلیمر برای برهم‌کنش، به نسبت استوکیومتری است، به دست می‌آیند.

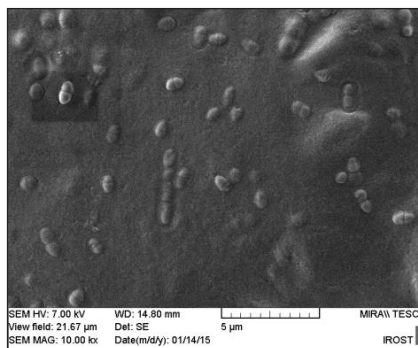
بررسی اثر pH محیط بر اندازه ذرات

برای تهیه ریز کپسوله‌ها، گستره pH محیط از ۷٫۳ تا ۷٫۵ مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه‌های به دست آمده از تغییرات pH موید گزارش دیگر پژوهشگران بوده است و نتیجه‌ها نشان داد که در pH برابر با ۵٫۷ کمترین اندازه ذرات به دست می‌آید و با کاهش pH از ۵٫۷ به ۳٫۷ اندازه ذرات افزایش می‌یابد. پیش از این، Douglas و Tabrizian [۲۵] اثر pH بر روی تشکیل نانو ذرات کیتوسان و آلژینات را مطالعه کرده بودند. آن‌ها گزارش کردند که محلول آلژینات با pH برابر با ۵٫۳ هنگامی که با کیتوسان با pH برابر با ۵٫۵ ترکیب می‌شود، ذرات ریزتری به دست می‌آید، زیرا استفاده از محلول آلژینات با گستره pH بین ۵ تا ۵٫۳ اجازه می‌دهد تا برهم‌کنش قوی تری بین کیتوسان و آلژینات انجام و در نتیجه ذرات ریزتری تشکیل شود. افزون بر این Sarmiento و Dumitru [۲۶] پیش از این، بیان کرده‌اند که در گستره pH بین ۵٫۱ تا ۵٫۷ گروه‌های آمین کیتوسان پروتونه و گروه‌های کروکسیل آلژینات یونیزه می‌شوند که این امر منجر به ایجاد یک برهم‌کنش مطلوب و تشکیل کمپلکس پلی الکترولیت می‌شود.

بررسی اثر pH و غلظت بیو پلیمرهای کیتوسان و آلژینات بر بازده کپسولی

نتیجه آزمایش‌های ما نشان داد که در pH ثابت ۵٫۷، بیشترین میزان بازده کپسولی (۷۱٪) مربوط به غلظت ۱٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کیتوسان و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلژینات است و

تصویر FE-SEM نانو کپسول تهیه شده به روش پیش ژل یونوتروپیک در شکل ۲ آورده شده است. مشاهده‌های به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی نشان داد که کپسول‌های تشکیل شده همگی کروی شکل و دارای سطح یکنواخت هستند.



شکل ۲ تصویر FE-SEM نانو کپسول آلیسین

بحث

بررسی اثر غلظت زیست پلیمرهای کیتوسان و آلژینات بر اندازه ذرات غلظت نهایی زیست پلیمرها برای مطالعه نانو کپسول‌های کیتوسان و آلژینات، پس از انجام چندین پیش آزمون انتخاب شد. جهت تهیه ریز کپسوله‌ها غلظت کیتوسان بین ۰٫۷۵ تا ۲٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و غلظت آلژینات بین ۲٫۶ تا ۳٫۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر انتخاب شد و غلظت کلسیم کلرید با توجه به این اصل که تعداد واحدهای پلیمر سدیم آلژینات باید با تعداد واحدهای عامل پیوند عرضی کلسیم کلرید به یک نسبت باشد انتخاب شد. کپسول‌ها با غلظت‌های متفاوت از کیتوسان و آلژینات تهیه شدند و اندازه آن‌ها به کمک دستگاه DLS اندازه‌گیری شد. نتیجه‌های به دست آمده، اندازه ذرات بین ۱۶۲ تا ۸۸۵ نانومتر با شاخص پراکندگی بین (۰٫۲۲ تا ۰٫۴۲۸) را نشان داد که کوچک‌ترین اندازه ذرات مربوط به غلظت ۰٫۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کیتوسان و ۲٫۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلژینات و بزرگ‌ترین اندازه ذرات مربوط به غلظت ۲٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کیتوسان و ۳٫۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلژینات بود. نتیجه‌ها نشان داد که، همان‌طور که پیش از این هم توسط Calvo و همکارانش [۲۴] گزارش شده

و میزان بازده کپسولی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت کیتوسان و آلژینات سبب افزایش اندازه ذرات و کاهش میزان بازده کپسولی و کاهش pH نیز منجر به افزایش اندازه ذرات و کاهش بازده کپسولی می‌شود. گستره مناسب برای غلظت کیتوسان ۰٫۷۵ تا ۱٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای غلظت آلژینات ۲٫۶ تا ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و pH مناسب برای به‌دست آمدن اندازه ذرات کوچک‌تر با بازده کپسولی بیشتر، گستره pH بین ۴٫۷ تا ۵٫۷ بود.

سیاسگزاری

بدین وسیله از گروه نانوفناوری مواد غذایی پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد برای فراهم کردن تمامی امکانات آزمایشگاهی و نیز از شرکت داروسازی امین در اصفهان، برای ارایه امکانات دستگاه HPLC تشکر و قدردانی می‌شود.

کمترین میزان بازده کپسولی مربوط به بیشترین غلظت کیتوسان و آلژینات است. با توجه به جدول نتیجه‌های مشاهده می‌شود که کمترین بازده کپسولی (۵۶٪) مربوط به pH برابر با ۳٫۷ و غلظت ۲٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کیتوسان و ۳٫۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلژینات است و دلیل این امر این است که PKa سدیم آلژینات ۳٫۲۸ است. در مقادیرهای pH نزدیک به این مقدار، بخش قابل توجهی از سدیم آلژینات شروع می‌کند به رسوب کردن و در نتیجه آلژینات کمتری برای تشکیل نانو ذرات در دسترس خواهد بود [۲۵].

نتیجه گیری

در این مطالعه نانو کپسول‌های آلژینات/کیتوسان حاوی آلبین به روش پیش ژل شدن یونوتروپیک تهیه شدند و اثر سه متغیر غلظت کیتوسان، غلظت آلژینات و pH محیط بر روی اندازه ذرات

مراجع

- [1] Cho, S.J.; Rhee, D.K.; Pyo, S.; J. Nutrition, 22, 1177–1184, 2006.
- [2] Arzanlou, M.; Bohlooli, S.; J. Food Chemistry, 120, 179–183, 2010.
- [3] Ankri, S.; Mirelman, D.; J. Microbes and Infection, 16, 356–362, 1999.
- [4] Bakri, L.M.; Douglas, C.W.I.; J. Archives of Oral Biology, 50, 645–651, 2005.
- [5] Bendahou, M.; Muselli, A.; Grignon, D.M.; J. Food Chemistry, 106, 132–139, 2008.
- [6] Miron, T.; Rabinkov, A.; Mirelman, D.; Wilchek, M.; Weiner, L.; J. Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes, 1463, 20–30, 2000.
- [7] Miron, T.; Wilchek, M.; Sharp, A.; Nakagawa, Y.; Naoi, M.; Nozawa, Y.; J. The Journal of Nutritional Biochemistry, 19, 524–535, 2008.
- [8] Sticher, O.; J. Deutsche Apotheker-Zeitung, 403–413, 1991.
- [9] Ilić, D.P.; Nikolić, V.D.; Nikolić, Lj.B.; Stanković, M.Z.; Stanojević, Lj.P.; J. Hemijska industrija, 6 (2), 85-93, 2010.
- [10] Shadkchan, Y.; Shemesh, E.; Mirelman, D.; Miron, T.; Rabinkov, A.; Wilchek, M.; Osherov, N.; J. Antimicrob. Chemother, 53, 832–836, 2004.
- [11] Cai, Y.; Wang, R.; Pei, F.; J. Antibiotics, 60, 335–338, 2007.
- [12] Curtis, H.; Noll, U.; Stormann, J.; Slusarenko, A.J.; J. Physiological and Molecular Plant Pathology, 65, 79–89, 2004.
- [13] Harris, J.C.; Cottrell, S.; Plummer, S.; Lloyd, D.; J. Applied Microbiological and Biotechnology, 57, 282–286, 2001.
- [14] Baghalian, K.; Ziai, S.A.Z.; Naghavi, M.R.; Naghdi Badi, H.; Khalighi, A.; J. Scientia

- Horticulturae, 103, 155–166, 2005.
- [15]Ruddock, P.S.; Liao, M.; J. Phytotherapy Research, 19, 327–336, 2005.
- [16]Moreau, D.L.; Rosenberg, M.; J. Food Sci., 61,39-43, 1996.
- [17]Shahide, F.; Han, X.Q.; Crit. Rev. in Food Sci. Nutr., 1993.
- [18]FLORA, G.; GUPTA, D.; TIWARI, A.; J. Interdiscip Toxicol, 5(2), 47–58, 2012.
- [19]Gupta, K.C.; Kumar, R.; J. Biomaterials, 21, 1115-1119, 2000.
- [20]Takka, S.; Ocak, O.H.; Acartu, F.; European Journal of Pharmaceutical Sciences, 6, 241–246, 1998.
- [21]Silva, C.M.; Ribeiro, A.J.; Figueiredo, I.V.; Gonçalves, A.R.; Veiga, F.; International Journal of Pharmaceutics, 311(1-2), 27, 2006.
- [22]Rajaonarivony, M.; Vauthier, C.; Couarraze, G.; J. Pharm Sci, 82, 912–917, 1993.
- [23]British Pharmacopoeia, Garlic, Stationery Office, London, 49-50, 2000.
- [24]Calvo, P.; Remunan-Lopez, C.; Vila-Jato, J.L.; Alonso, M.J.; J. Appl. Polym. Sci, 63, 125–132, 1997.
- [25]Sarmiento, B.; Ferreira, D.; Veiga, F.; Ribeiro, A.; J. Carbohydrate Polymers, 66, 1-7, 2006.
- [26]Douglas, K.L.; Tabrizian, M.; J. Biomater. Sci. Polym. Ed., 16, 43-56, 2005.

Encapsulation of allicin into biodegradable polymeric nanoparticles and characterization of nanocapsules

M. Fakoor-Yazdan-Abad^{1,*}, Gh. Rajabzadeh² and S. Taghvaei-Ganjali³

1. PhD student in Applied Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate Prof. of Organic Chemistry, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran
3. Prof. of Organic Chemistry, Department of Chemistry, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: February 2015, Revised: May 2015, Accepted: May 2015

Abstract: In this study, allicin was encapsulated into the biodegradable polymers by ionotropic pre-gelation method. The particle size and encapsulation efficiency of the encapsulated allicin were assessed with consideration of three variables including concentration of chitosan, concentration of sodium alginate, and pH of solution. The results showed that with increasing the concentration of chitosan and sodium alginate, the particle size increases and the encapsulation efficiency decreases and also decreasing the pH caused to the increasing of the particle size and decreasing of the encapsulation efficiency. The appropriate range for concentration of chitosan and sodium alginate was between 0.75 to 1.5 and 2.6 to 3 mg/ml, respectively. The pH between 4.7 and 5.7 was acceptable pH at which we had smaller particles and higher encapsulation efficiency. Nanoparticles were characterized using Field emission scanning electron microscopy (FE-SEM).

Keywords: Allicin, Biodegradable polymer, Chitosan, Sodium alginate, Encapsulation