



مروری بر ریزپوشانی پتیدهای زیست فعال با تاکید بر نانولیپوزوم و کیتوزان

مریم شکوهمند^۱، پرینا مفتخر^{۲*}

۱- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- گروه بهداشت و بیماری های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

*ایمیل نویسنده مسئول: moftakhar.parisa@yahoo.com

چکیده

امروزه با افزایش نیاز به پروتئین های با منشأ آبزیان، روش هیدرولیز آنزیمی یک بیوتکنیک انتخابی برای جداسازی اجزاء مغذی و ترکیبات زیست فعال از مواد اولیه های بوده که غنی از پروتئین هستند و این روش در خصوص تولید پروتئین های هیدرولیز شده از مواد دورریز میتواند با ایجاد ارزش افزوده به عنوان خوراک دام، آبزیان و حتی کود نیز به مصرف برسند. پروتئین های هیدرولیز شده به واسطه خواص کاربردی به عنوان منابع پروتئینی فوق العاده برای حیوانات و انسان به کار می روند. از جمله خواص سودمندی که از هیدرولیزهای شیر، گندم، دانه سویا، تخم مرغ و نیز ماهیان دیده شده است، میتوان به فاکتورهای رشد، تحریک کننده ایمنی، ضد میکروبی، کاهش دهنده فشار خون و ترکیبات ضد سرطان و ضد التهابی اشاره نمود. با این حال، برخی عوامل کاربردهای غذایی و تجاری آنها را محدود می کنند، از جمله تجزیه شیمیایی آسان (مانند pH، آنزیمی)، برهمکنش ماتریکس مواد غذایی، حلالیت کم در آب، رطوبت سنجی، و طعم تلخ بالقوه. با در نظر گرفتن این موضوع، کپسوله کردن پتیدهای فعال زیستی در مواد مختلف می تواند به غلبه بر این چالش ها کمک کند. مطالعات نشان داده اند که کپسوله کردن پتیدهای فعال زیستی باعث افزایش زیست فعالی آنها، افزایش حلالیت و کاهش رطوبت سنجی می شود. سیستم های کلوئیدی متنوعی که برای محصور کردن پتیدهای فعال زیستی استفاده می شوند، پایداری و راندمان کپسوله سازی خوبی را نشان داده اند. این بررسی مروری بر پیشرفت های کنونی در کپسوله سازی پتیدهای فعال زیستی با در نظر گرفتن فناوری، پیشرفت ها و نوآوری ها جدید را ارائه می کند.

کلمات کلیدی: پتیدهای زیست فعال، هیدرولیز آنزیمی، کپسوله کردن، نانولیپوزوم

۱- مقدمه

امروزه، پتیدهای زیست فعال به دلیل طیف گسترده ای از فعالیت های زیستی، توجه بیشتری را از سوی جامعه علمی و صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی به خود جلب کرده اند. پتیدهای زیست فعال توالی های خاصی از اسیدهای آمینه بوده (با طول ۲۰ تا ۲ آمینو اسید) و اغلب در ساختار پروتئین مادری محبوس و غیر فعال هستند. پتیدهای زیست فعال موجودات دریایی پس از استخراج به حالت فعال درآمده و بسته به ساختار و توالی اسیدهای آمینه و موقعیت کربن و نیتروژن طیف گسترده ای از فعالیت های زیستی از جمله ضد میکروبی، ضد اکسایشی، ضدسرطانی بهبود عملکرد سیستم ایمنی، کاهش فشار خون، کاهش کلسترول، ضد انعقاد خون و ضد دیابت را نشان می دهند [۱]. به همین دلیل توجهات به پتیدهای استخراج شده از ماهیان برای مصرف در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی و معطوف شده است بنابراین مدیریت صحیح زائدات برای غلبه بر مشکلات زیست محیطی و برای استفاده کامل از بیومس با اهداف تجاری ضروری است [۲]. علاوه بر این، آنها را می توان به عنوان افزودنی های غذایی به دلیل خواص فنی-عملکردی آنها مانند حلالیت، امولسیون کننده، کف کردن، ظرفیت نگهداری



آب/روغن استفاده کرد. اکثر ترکیبات پروتئینی مانند داروها و غذا داروها به دلیل حساسیت آنها به شرایط اسیدی معده و روده، تخریب شده و ویژگی عملکردی و سلامت بخشی خود را از دست می‌دهند. علاوه بر این در زمان مصرف این ترکیبات به صورت خوراکی، وزن مولکولی بالای آنها مانع از جذب سریعشان در جریان خون می‌شود. تزریق وریدی معمولترین روش برای استفاده از ترکیبات پروتئینی است که معمولاً برای مصرف کننده قابل تحمل نیست؛ همچنین به دلیل نیمه عمر کوتاه بسیاری از این ترکیبات پروتئینی در جریان خون، برای حفظ کارایی آنها باید از دوزهای بالاتر این ترکیبات استفاده کرد که ممکن است عوارض جانبی و اثرات سمی برای بدن انسان ایجاد کند [۳]. سیستمهای رهایش مواد غذایی و دارویی با به کارگیری پلیمرهای سازگار با محیط زیست، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. در این سیستمها رهایش میکرو مولکولها و ماکرومولکولهای آلی کنترل می‌گردد. روشهای کپسوله سازی یک استراتژی امیدوارکننده برای بهبود پایداری، محافظت از عملکردها و کنترل آزادسازی پپتیدهای فعال زیستی با کاربردهای غذایی و غذایی در نظر گرفته می‌شوند [۴]. از دیگر مزایای کپسوله کردن پپتیدها در نانوحامل ها می توان به بهبود خواص حسی با پوشاندن طعم تلخ آنها، افزایش حلالیت آنها و کاهش میزان رطوبت سنجی پپتیدها برای اطمینان از حفظ ذخیره آنها اشاره کرد. پپتیدهای زیست فعال کاندیدهای ایده آلی برای نگهدارنده های طبیعی مواد غذایی هستند تا ماندگاری غذاها را افزایش دهند یا با ترکیب آنها در مواد بسته بندی به شکل فیلم ها و پوشش های خوراکی برای بهبود ایمنی غذا مورد استفاده قرار گیرند [۵].

۲- استفاده نوظهور از فناوریهای کپسوله سازی در پپتیدهای فعال زیستی

پپتیدهای زیست فعال باید بر برخی چالش ها غلبه کنند، مانند حفظ یکپارچگی ساختاری خود در سطح فیزیولوژیکی یا درون غذاها، قبل از اینکه عملکردهای زیستی خود را به نمایش بگذارند. اولین چالشی که باید به آن پرداخت، فراهمی زیستی کم پپتیدهای فعال زیستی به دلیل حساسیت آنها به تخریب دستگاه گوارش است. برخی از مطالعات گزارش کردند که پپتیدهای کوچک، عمدتاً دی و تری پپتیدها، از غشای روده عبور می کنند و در غلظت های نانومولار یا حتی پیکومولار به گردش خون سیستمیک می رسند. در معرض آنزیم های غشای مرزی برس معده، پانکراس و روده کوچک و در معرض شرایط اسیدی معده که ممکن است فعالیت زیستی آنها را مختل کند. از سوی دیگر، گزارش شده است که پپتیدهای زیست فعال می توانند با اجزای غذا تعامل داشته باشند، چه زمانی که به طور طبیعی در یک غذا ایجاد شوند (مانند شیر تخمیر شده) یا زمانی که از منابع پروتئینی (مانند هیدرولیزهای پروتئینی) تولید شوند [۶]. غذاها می توانند حامل پپتیدهای فعال باشند وقتی به عنوان یک ماده در مرحله تولید اضافه شوند. کربوهیدرات ها، ترکیبات فنلی و فلزاتی که منجر به تشکیل کمپلکس ها (مانند پپتید-لیپید، پپتید-فنول، پپتید-فلز) یا محصولات مشتق شده از پپتید (مثلاً محصولات واکنش میلارد) می شوند [۷].

علاوه بر این، از دیدگاه تجاری، عواملی که بر کاربرد پپتیدهای زیست فعال در غذاها یا فرآورده های دارویی تأثیر می گذارند، حلالیت کم در آب، رطوبت سنجی و طعم تلخ بالقوه است. از آنجایی که پپتیدها مستعد آلودگی میکروبی هستند و همچنین می توانند در اثر اکسیداسیون تجزیه شوند. علاوه بر مطالعات مکانیکی، پپتیدهای فعال زیستی عمدتاً سنتز می شوند و به صورت پودر لیوفیلیزه تحویل می شوند [۸]. معمولاً مطالعات *in vivo* و *in vitro* به غلظت پپتید کنترل شده و دقیق نیاز دارند. از این رو، انحلال پپتید یک گام حیاتی برای یک سنجش موفق است. بنابراین، انحلال نادرست پپتید می تواند خطاهای تجربی ایجاد کند یا منجر به شکست آزمایشی شود. از این نظر، حلالیت پپتیدهای فعال زیستی به طول و تعداد اسیدهای آمینه آگریز موجود در توالی آنها بستگی دارد [۹]. پپتیدهایی با اسیدهای آمینه آگریز بیشتر ($\leq 5\%$) عموماً تا حدی در محلول های آبی محلول هستند [۱۰]. به همین ترتیب، وجود اسیدهای آمینه آگریز در توالی طعم تلخی به این پپتیدها می دهد. تولید پپتیدهای فعال زیستی از پروتئین هیدرولیز. این نتیجه اسیدها و قلیاهایی است که برای خنثی کردن محصولات هیدرولیز استفاده می شود. تلخی یا طعم بدی که پپتیدهای فعال زیستی می توانند به غذاها یا فرآورده های غذایی بیافزایند، مقبولیت حسی آنها را محدود می کند. که پایداری در حین ذخیره سازی را تحت تأثیر قرار می دهند، تخریب شیمیایی و میکروبی را تسریع می کنند [۸]. در فعل و انفعالات می توانند فعال شوند آنها را تغییر داده یا بر آنها اجازه دهند و دسترسی به زیستی پپتیدهای فعال زیستی را



کاهش دهند. با توجه به موارد فوق، کپسوله سازی پتیدهای زیست فعال در سیستم های انتقال کلونیدی یا نانوساختار مختلف برای غلبه بر این چالش ها طراحی می شود تا پتیدهای زیست فعال خود را به عنوان نشان دهنده مناسب و موفقیت در محصولات تجاری برای کاربرانشان گنجانده شوند. در این زمینه، پتیدهای زیست فعال با مواد غذایی مختلف با استفاده از تکنیک های مختلف کپسوله شده اند.

۳- روش ها و وسایل اصلی مورد استفاده برای کپسوله کردن پتیدهای فعال زیستی

متداول ترین روش های مورد استفاده برای کپسوله سازی پتیدهای فعال زیستی شامل لیپوزوم، خشک کردن با اسپری، امولسیون مضاعف، خشک کردن انجمادی، امولسیفیکاسیون-ژلاسیون و ژل سازی یونی است. در بین این روش ها، لیپوزوم ها به دلیل ویژگی های آمفی پاتیک، زیست سازگاری، غیر ایمنی زا و غیر سمی بودن گزینه مناسبی برای کپسوله کردن پتیدها هستند. [۱۱]. لیپوزوم ها توسط دولایه های فسفولیپیدی ساخته می شوند که وقتی در یک محیط آبی قرار می گیرند جمع می شوند و وزیکول های کروی شکلی را تشکیل می دهند که شامل یک سری محفظه های آبی است که در آن پتیدها محصور شده اند. از سوی دیگر، از مزایای استفاده از روش های خشک کردن به صورت اسپری می توان به مقرون به صرفه بودن، کوتاه بودن زمان فرآیند و کاهش وزن و حجم محصول است. با این وجود، خشک کردن با اسپری می تواند منجر به افزایش دما در طول اتمیزه کردن شود و مقداری از پتیدها را دنا توره کند و باعث تجمع آنها شود، به همین دلیل است که باید از حامل هایی مانند مالتودکسترین (MD) برای محافظت از ترکیبات حساس به حرارت استفاده شود. خشک کردن به روش انجمادی، بر پایه آبگیری از طریق تصعید نمونه منجمد است که روش مناسبی برای ترکیبات حساس به حرارت مانند پتیدهامی باشد [۱۲]. علاوه بر این، ژل سازی یونی بر اساس توانایی پلی الکترولیت ها برای اتصال عرضی در حضور یون های متقابل است که روشی کم هزینه است و به تجهیزات تخصصی، دمای بالا یا استفاده از حلال های آلی نیاز ندارد [۱۳]. روش امولسیون-ژل سازی شامل فرآیندی است که ابتدا امولسیون قطرات روغن در محلول پروتئین آبی (O/W) یا قطرات پروتئین آبی در فاز روغن (W/O) تثبیت می شود و سپس پروتئین را در اثر گرمایش، اتصال عرضی شیمیایی یا آنزیمی به صورت ژل تولید می کنند [۱۴]. در مورد مواد مورد استفاده برای کپسوله کردن پتیدهای فعال زیستی، رایج ترین مواد مورد استفاده در کپسوله کردن پتیدها شامل پلی ساکاریدها و لیپیدها که کمتر استفاده می شوند و پروتئین ها می باشد. پلی ساکاریدها به دلیل دارا بودن قیمت پایین، ویسکوزیته کم و زیست تخریب پذیر بودن توسط سازمان غذا و دارو مورد تایید قرار گرفته اند. به همین دلیل این ویژگی ها آنها را مواد مناسبی برای روش کپسوله کردن به شمار می آورد. به عنوان مثال، به دلیل در دسترس بودن گروه های عاملی در ساختار شیمیایی کیتوزان آن را قادر می سازد تا به راحتی با سایر ترکیبات فعال واکنش دهد. از سوی دیگر، مشاهده شده است که ساختار پتیدهای زیست فعال با برخی از گروه های عاملی پلی ساکاریدی برهمکنش نشان می دهند. در مورد مواد مورد استفاده برای کپسوله کردن پتیدهای فعال زیستی، رایج ترین مواد مورد استفاده در روش های فوق شامل پلی ساکاریدها (مانند MD، کیتوزان و صمغ عربی)، لیپیدها (مانند فسفاتیدیل کولین، فسفولیپیدها) و به میزان کمتری است. میزان، پروتئین ها (به عنوان مثال، ایزوله پروتئین آب پنیر) می باشد. به طور کلی پلی ساکاریدها به عنوان یک ترکیب ایمن که توسط سازمان غذا و دارو (FDA) تایید شده اند شناخته می شوند و از ویژگی های آنها می توان به هزینه کم، ویسکوزیته کم نسبت به مواد جامد بالا قابل تجزیه بودن اشاره کرد [۱۵]. بنابراین، این ویژگی ها آنها را مواد مناسبی برای روش های کپسوله کردن می کند. به عنوان مثال، استفاده فعال از کیتوزان به دلیل در دسترس بودن گروه های عاملی در ساختار شیمیایی کیتوزان است که آن را قادر می سازد به راحتی با سایر ترکیبات فعال واکنش نشان دهد. از سوی دیگر، مشاهده شده است که ساختار پتیدهای زیست فعال با برخی از گروه های عاملی مواد پلی ساکاریدی برهمکنش نشان می دهد. برعکس، لیپیدها به دلیل شباهت با غشای سلولی، برای تحویل ترکیبات فعال زیستی مناسب هستند. با این حال، برخی مسائل مانند پایداری ضعیف آنها در غذاهای فرآوری شده حرارتی و حساسیت آنها به اکسیداسیون استفاده از آنها را محدود می کند. از این نظر، فسفاتیدیل کولین حاوی یک گروه کولین با بار مثبت و گروه های فسفات و کربونیل با بار منفی است که تعامل با پروتئین ها و پتیدهای فعال زیستی را تسهیل



می کند [۱۶]. برای مثال، لی و همکاران از فسفولیپیدهای غشای گلبول های چربی موجود در شیر برای کپسوله کردن پپتیدهای فعال زیستی مشتق شده از ماهی قزل آلا استفاده کردند که در مقایسه با لسیتین سویا و لیپیدهای زرده تخم مرغ پایداری عمده ای در طیف وسیعی از شرایط pH نشان دادند [۱۷]. با این وجود، فسفولیپیدها به راحتی در طول پردازش و ذخیره سازی قابل اکسید شدن هستند، بنابراین استفاده از کیتوزان به عنوان ماده همپوشانی برای جلوگیری از این موضوع استفاده شده است. همانطور که در بالا ذکر شد، برخی از پروتئین ها به میزان کمتری به عنوان مواد کپسوله کننده برای پپتیدهای زیست فعال استفاده می شوند. علاوه بر این، شباهت شیمیایی بین آنها می تواند برهمکنش آنها را افزایش دهد و پایداری ساختاری در آنها ایجاد کند. به عنوان مثال، پروتئین آب پنیر در کپسوله کردن ریبوفلاوین استفاده شد زیرا آبگریز بودن آنها را افزایش می دهد. در رابطه با پپتیدهای زیست فعال، میکروکپسول های پروتئین آلژینات-عصاره پنیر حاوی پپتیدهای مشتق شده از کلاژن هستند که نشان می دهد پپتیدهای فعال زیستی در مایع معده دست نخورده باقی می ماند، اما در مایع روده تجزیه می شوند [۱۸]. نوع روش کپسوله کردن مواد دارای مزایا و معایبی است که باید بر اساس کاربرد مورد نظر برای پپتید زیست فعال در نظر گرفته شود. به طور کلی، انتخاب ماده مورد استفاده برای کپسوله کردن پپتیدهای فعال زیستی بر اساس ویژگی هایی مانند تجزیه پذیری زیستی، غیرسمی بودن، هزینه کم است و ترجیحاً باید خوراکی باشد.

۳-۱- فعالیت های زیستی پپتیدهای فعال زیستی کپسوله شده

یکی از مهمترین اهداف کپسوله کردن پپتیدها حفظ زیست فعالی آنها پس از فرآیند کپسوله سازی و در حین ذخیره سازی است [۱۶]. Mosquera و همکاران گزارش کردند که پپتیدهای زیست فعال کلاژن ماهی مرکب جامبو^۱ کپسوله شده در نانولیپوزوم های فسفاتیدیل کولین، ۱۰۰ درصد از زیست فعالی خود را پس از نانوکپسوله سازی حفظ کردند [۱۹]. نصری و همکاران پپتیدهای ماهی گوبی را با فعالیت آنتی اکسیدانی در میکروذرات کیتوزان انکپسوله کردند. نویسندگان دریافتند که پپتیدها به طور قابل توجهی ظرفیت آنتی اکسیدانی میکروذرات را بهبود می بخشد (حدود ۵۷-۹۲٪).

مطابق با مرجع شماره ۲۰ میکروکپسول های حاوی پپتیدهای مشتق شده از کازئین تولید کردند که ۹۳ درصد از فعالیت آنتی اکسیدانی خود را پس از کپسوله سازی حفظ کردند. به طور مشابه، سرابندی و جعفری دریافتند که پپتیدهای کپسوله شده در نانولیپوزوم های حاوی فسفاتیدیل کولین-کلاسترول و کیتوزان پس از کپسوله کردن، زیست فعالی خود را (حدود ۹۲ درصد) حفظ کردند. در مطالعات دیگر، رمضان زاده و همکاران دریافتند که نانولیپوزوم های به کار برده شده در پپتیدهای آنتی اکسیدانی مشتق شده از پوست ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پس از کپسوله کردن، فعالیت زیستی خود را (حدود ۱۰۰٪) حفظ کردند. Ma و همکاران گزارش کردند که پپتیدهای مشتق شده از عصاره پنیر فعالیت ایمنی خود را در شرایط آزمایشگاهی پس از کپسوله کردن با اسپری یا خشک کردن انجمادی با کنسانتره پروتئین عصاره پنیر و آلژینات سدیم حفظ کردند [۲۱]. وانگ و ژانگ گزارش دادند که پپتیدهای کپسوله شده با کمپلکس نانوذرات کواکسروپاسیون و ژل سازی یونوتروپیک، فعالیت های بازدارنده ای در برابر رده سلولی سرطان کبد انسان (HepG2) نشان دادند [۲۲]. علاوه بر این، نانوذرات در برابر تخریب آنزیمی معده پس از کپسوله سازی مقاوم بودند و به طور بالقوه می توانند به آرامی در روده آزاد شوند. در همین حال، Ilhan-Ayisigi و همکاران دریافتند که پپتیدهای پوسته برنج کپسوله شده با نانوذرات کیتوزان دارای فعالیت ضد سرطانی نسبت به رده های سلولی سرطان ریه انسان (A546) و پستان (MCF7) هستند [۲۳]. همچنین، نویسندگان گزارش کردند که مکانیسم ضد سرطانی پپتیدها با تحریک آپوپتوز در رده های سلولی مرتبط است. تا به امروز، مطالعات اندکی بر روی فعالیت های زیستی *in vivo* و اثرات مفید پپتیدهای زیست فعال کپسوله شده صورت گرفته است. احتمال می رود این پپتیدها از میکروکپسول های پوشیده شده با فورسلاران در طول فرآیند هضم گوارشی حیوانات آزمایش شده آزاد نشوند. در نهایت، پایداری زیست فعالی یا بهبود پپتیدهای کپسوله شده را می توان با دلایل متعددی توضیح داد. به عنوان مثال، در روش

^۱ -*Dosidicus gigas*



خشک کردن به روش اسپری، انکپسوله کردن با سرعت بالا و زمان بسیار کوتاه (چند ثانیه) صورت می‌گیرد و به دلیل اثر خنک‌کنندگی با تبخیر، تنش حرارتی کمی ایجاد می‌شود که این فرایند امکان حفظ و پایداری زیست فعالی را در طول زمان فراهم می‌کند. در مقابل، گزارش شده است که برخی از پپتیدهای جدید با فعالیت زیستی می‌توانند از حامل‌های ماتریکسی در طی هضم دستگاه گوارش تولید شوند [۱۷].

۲-۳ پایداری پپتیدهای فعال زیستی کپسوله شده

پایداری یک ترکیب کپسوله شده توسط عوامل مختلف مربوط به پایداری فیزیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی آنها از جمله رطوبت، فعالیت آبی، رطوبت سنجی، اندازه، شاخص پراکندگی چندگانه پتانسیل زتا تعیین می‌شود [۱۱]. به طور کلی، پودرهای با رطوبت و فعالیت آبی کم پایدار در نظر گرفته می‌شود زیرا دسترسی محدودی به آب آزاد برای واکنش‌های بیوشیمیایی و فعالیت میکروبی وجود دارد. پایداری سیستم کلئیدی توسط شاخص چند پراکندگی و پتانسیل زتا تعیین می‌شود، که شاخص چند پراکندگی نشانگر وسعت توزیع اندازه ذرات است و شامل مقادیری از ۰ تا ۱ می‌باشد. در مقابل، پتانسیل زتا درجه دافعه بین نانوذرات باردار را نشان می‌دهد که شامل مقادیری از ۱۰۰+ تا ۱۰۰- میلی‌ولت می‌باشد. بنابراین، مقادیر پایین شاخص چند پراکندگی نشان‌دهنده همگنی در توزیع اندازه ذرات است، در حالی که مقادیر بیشتر از ۳۰+ میلی‌ولت یا کمتر از ۳۰- میلی‌ولت از تجمع ذرات جلوگیری می‌کند در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که پایداری پپتیدهای فعال زیستی کپسوله شده پس از ذخیره‌سازی آنها در طول زمان به وجود می‌آید [۱۶].

به عنوان مثال، اکبرباغلو و همکاران گزارش کردند که رطوبت یک پودر پپتید فعال زیستی مشتق شده از هیدرولیز بذر کتان به عنوان مثال، اکبرباغلو و همکاران گزارش کردند که رطوبت یک پودر پپتید فعال زیستی مشتق شده از هیدرولیز بذر کتان (۳۹/۲٪) پس از کپسوله کردن با MD به طور قابل توجهی (۱۷/۴٪) کاهش یافت [۱۶]. همچنین این محققان دریافتند که پپتیدهای کپسوله شده به ترتیب دارای رطوبت و فعالیت آب ۲/۵۲٪ و ۲۸٪ هستند. به طور مشابه، سرابندی و همکاران و سرابندی و جعفری نشان دادند که رطوبت سنجی پپتیدهای پودر کازئین بعد از کپسوله شدن با MD کاهش یافته است. میانگین رطوبت و فعالیت آب در پپتیدهای کپسوله شده به ترتیب ۳/۱ و ۲۶٪ نشان دادند (۲۴). Ma و همکاران گزارش کردند که پپتیدهای مشتق شده از عصاره پنیر کپسوله شده با مخلوطی از کنسانتره پروتئین عصاره پنیر و آلزینات سدیم به طور قابل توجهی رطوبت خود را پس از خشک کردن از طریق اسپری یا خشک کردن انجمادی کاهش دادند [۲۱]. کاهش رطوبت سنجی پودرهای پپتیدهای فعال زیستی را می‌توان به اثر بر روی مواد دیواره با افزایش دمای کل تشکیل آن با رطوبت کم در اطراف پپتیدها نسبت داد. علاوه بر این، در مطالعات ذکر شده در بالا، میزان رطوبت کم و فعالیت آبی پودرهای پپتیدهای زیست فعال، بعد از فرایند کپسوله‌سازی پایداری میکروبیولوژیکی بالقوه آنها را نشان می‌دهد. از سوی دیگر، لی و همکاران نانولیپوزوم‌هایی از کیتوزان و فسفولیپیدهای مشتق از غشای گلبولهای چربی موجود در شیر با اندازه ذرات حدود ۲۰۰ نانومتر تولید کردند و پس از گذشت ۴ هفته ذخیره‌سازی، تغییر اندازه قابل توجهی نشان ندادند، امالیپوزوم‌ها در طول زمان پایداری فیزیکی داشتند. همچنین این نمونه‌ها دارای شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا به ترتیب ۳۳-/۴۵٪ و ۱۱-/۶۵ میلی‌ولت بودند [۷].

سرابندی و جعفری مشاهده کردند که پپتیدهای کپسوله شده با نانولیپوزوم‌های حاوی فسفاتیدیل کولین-کلسترول و کیتوزان، دارای میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا را به ترتیب ۱۳۲،۵۶ نانومتر، ۰،۳۷۱ و ۲۹/۶۷ میلی‌ولت می‌باشند [۸].

نصری و همکاران گزارش کردند که نانوذرات کیتوزان به کار برده شده در پپتیدهای ماهی گوپی دارای پتانسیل زتای ۳۵،۴ تا ۵۰ میلی‌ولت و قطری حدود ۳،۷۸ تا ۴،۸۱ میکرومتر هستند (۲۵). رمضان زاده و همکاران پپتیدهای ژلاتینی پوست را با نانولیپوزوم‌ها درست کردند که شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا به ترتیب ۰/۴۳ و ۳۷/۹ میلی‌ولت گزارش شد [۲۶]. تا به امروز، تنها چند گزارش از فعالیت پپتیدهای انکپسوله شده پس از زمان ذخیره‌سازی ذکر شده است. با این حال، می‌توان دریافت کرد که حفظ زیست‌فعالی مربوط به ماده ماتریکس مورد استفاده برای کپسوله کردن و نوع پپتید فعال زیستی انکپسوله شده است.



۴- تأثیر انکپسوله کردن در حلالیت و خواص پپتیدهای فعال زیستی

بر اساس مطالعات گزارش شده است که فرآیند کپسوله کردن تأثیر قابل توجهی بر حلالیت و خواص پپتیدهای فعال زیستی دارد که این دو پارامتر برای کاربرد تجاری پپتیدهای فعال زیستی بسیار مهم هستند. معمولاً پپتیدهای فعال زیستی در یک سیستم کلوئیدی کپسوله می شوند تا به بخشی از غذا اضافه شوند. حلالیت پپتیدهای فعال زیستی یک عامل کلیدی برای کاربرد آنها در غذاها، به ویژه انواع نوشیدنی ها می باشد. اکبرباغلو و همکاران اثر نسبت های مختلف حامل (MD) به پپتیدهای مشتق شده از بذر کتان (۱:۲، ۱:۱ و ۱:۳) را برای ارزیابی حلالیت پودر های پپتید های کپسوله شده به روش خشک کردن با اسپری ارزیابی کردند که مشخص شد نسبت های بالاتر بیشترین حلالیت را داشتند [۱۶]. از سوی دیگر، سرابندی و همکاران هیچ تفاوتی در حلالیت پودر های پپتید های کپسوله شده بدست آمده از کازئین گزارش نکردند. حلالیت پپتیدهای فعال زیستی کپسوله شده به اندازه ذرات آنها بستگی دارد [۲۴]. معمولاً اگر به صورت نانوذره باشند به دلیل افزایش سطح آنها حلالیت آنها نیز افزایش می یابد [۲۷]. روش های متداول مورد استفاده برای کاهش اندازه ذرات شامل آسیاب کردن، همگن سازی با فشار بالا، دیالیز و تبخیر خلاء و غیره می باشد. مزه تلخی پپتیدهای فعال زیستی به محتوای اسیدهای آمینه آبگریز و مزه های بد نمک آنها به دلیل افزودن اسیدها یا قلیاهایی است که برای خنثی کردن محصول هیدرولیز شده پروتئین ها استفاده می شود. Rao و همکاران گزارش کردند که کپسوله کردن پپتیدهای کازئین به طور قابل توجهی تلخی پپتیدهای آزاد را کاهش می دهد [۲۰]. محققان دریافتند که غلظت بالای مواد مورد استفاده در کپسوله کردن درک مزه تلخی را کاهش می دهد. همچنین نشان دادند که پپتیدهای کپسوله شده با پوشش متفاوت در مقایسه با پپتیدهای آزاد مزه تلخی کمتری دارند. گروهی از دانشمندان مزه تلخی پپتیدهای کازئین کپسوله شده را ارزیابی کردند و نشان دادند که مزه تلخی بیشتری نسبت به پپتید های آزاد دارند. در حالی که پپتیدهای کپسوله شده به روش خشک کردن از طریق اسپری و خشک کردن انجمادی میزان تلخی کمتری داشتند. از بین نظرات ۱۷ نفر شرکت کننده مشخص شد که کمترین غلظت تلخی کمتری دارد. به طور مشابه، یانگ و همکاران گزارش کردند که پپتیدهای موجود در آب پنیر پس از کپسوله شدن با MD یا مخلوط MD/β-سیکلودکسترین با استفاده از خشک کردن به روش اسپری تلخی کمتری داشتند.

بر اساس ارزیابی حسی ۱۵ نفر شرکت کننده پپتیدهای آزاد امتیاز تلخی بیشتری را نسبت به پپتید های کپسوله شده بدست آوردند. توضیحاتی که در بالا داده شد، نشان می دهند که فناوری کپسوله کردن پپتید ها می تواند بر چالش های پیش روی پپتیدهای فعال زیستی که کاربردهای غذایی و تجاری آنها را با بهبود خواص حسی، افزایش حلالیت و کاهش رطوبت سنجی آنها محدود می کند، غلبه کند. از سوی دیگر، برای مشخص شدن اثر کپسوله کردن پپتید های فعال زیستی بر فراهمی زیستی و به کار گیری آنها در ترکیبات غذایی نیاز به تحقیقات بیشتری می باشد. در این زمینه، شکل گیری پپتید های فعال زیستی یک پارامتر حیاتی است تا بتوانند در سراسر سطح روده انسان حرکت کنند و در سرم خون جذب شوند و به مقدار مؤثری به اندام های هدف خود برسند. گزارش های اندکی در مورد دسترسی زیستی پپتیدهای کپسوله شده وجود دارد. به عنوان مثال، سیان و همکاران اثر هضم شبیه سازی شده گوارشی را بر روی خواص بازدارندگی ACE، α-گلوکوزیداز، α-آمیلاز و DPP-IV پپتیدهای Phaseolus lunatus که با خشک کردن به روش اسپری با استفاده از MD و صمغ عربی ریزپوشانی شده بودند، ارزیابی کردند [۲۸]. این پپتیدهای ریزپوشانی شده پس از هضم در دستگاه گوارش در شرایط آزمایشگاهی، زیست فعالی خود را در مقایسه با پپتیدهای غیر کپسوله شده حفظ می کنند که این ویژگی یک شاخص غیرمستقیم برای دسترسی زیستی آنهاست.

۵- چالش ها و فرصت ها برای ترکیب پپتیدهای فعال زیستی محصور شده در مواد غذایی

پپتیدهای فعال زیستی شرایط مناسبی را برای استفاده از محصولات کشاورزی و سایر منابع طبیعی یا میکروبی فراهم می کنند [۲۹]. با این حال، این پپتیدها محدودیت هایی را برای تولید محصولات غذایی به وجود می آورند. بنابراین، انجام مطالعات بر روی فعل و انفعالات ترکیبات مواد غذایی، حلالیت در آب، رطوبت سنجی و طعم آنها ضروری است. به این منظور، میکرو و



نانو انکپسوله کردن این پتیدها افزایش سازگاری و زیست فعالی آنها را نشان می دهد. همچنین، کپسوله کردن این ترکیبات باعث بهبود حلالیت و خواص آنها می شود. علاوه بر این، ضروری است به منظور استفاده از مطالعاتی بر روی برهمکنش پلیمرهای زیستی بخشی از ترکیبات در میکرو و نانوذرات ها استفاده شود. برخی از استراتژی های جدید در شکل گیری نانوذرات مانند تشکیل امولسیون و خشک کردن به روش اسپری و الکترواسپری باید به منظور بهبود بازدهی کپسوله کردن، فراهمی زیستی و آزادسازی کنترل شده پپتیدهای زیست فعال در مدل *in vitro* و *in vivo* مورد بررسی قرار گرفته است. نکته مهمی که باید به آن توجه شود، کشف روش های جدید برای تولید پتیدهای زیست فعال است. این روش ها می توانند برخی از مشکلات روش های مور استفاده برای کپسوله کردن پپتیدهای فعال زیستی مانند ناپایداری، زیست سازگاری ضعیف با غشای سلولی و بهبود کارایی کپسوله سازی پپتیدها را حل کنند. به عنوان مثال، در مطالعات گزارش شده است که مولکول های پیام رسان پپتیدی (مانند هورمون ها و یا فاکتور های رشد) یا پپتیدهای مصنوعی به طور موفقیت آمیزی در کپسوله کردن نانوذرات لیپیدی جامد مورد استفاده قرار گرفته اند [۳۰].

با این حال این روش قبلا در پتیدهای فعال زیستی مورد استفاده قرار نگرفته است. به طور مشابه، می توان از پرو لیپوزوم ها (ذرات خشک و با جریان آزاد که پس از هیدراتاسیون پراکندگی لیپوزومی را تشکیل می دهند)، ترانسفرزوم ها (وزیکول های تغییر شکل پذیر مانند فسفولیپیدها)، و نیوزوم ها (وزیکول های سورفکتانت غیر یونی با فسفولیپیدهای جایگزین مناسب) برای کپسوله کردن پپتیدهای فعال زیستی استفاده کرد زیرا بر خلاف لیپوزوم ها که مستعد تجمع، ته نشینی و اکسیداسیون هستند این ترکیبات پایدار تر می باشند [۳۱].

علیرغم اینکه روش های فعلی مورد استفاده برای کپسوله کردن پپتیدهای زیست فعال پایداری و بازدهی بهتری برای این پتیدها فراهم کرده اند اما پیشنهاد می شود که برای افزایش کارایی این پارامتر ها (پایداری و بهبود بازدهی کپسوله کردن) روش های جدیدی مورد آزمایش قرار بگیرند. یکی از موارد مهم در کپسوله کردن پتیدهای زیست فعال، تعیین برهمکنش های احتمالی مواد ماتریکسی با پتیدهای فعال زیستی بر روی خواص آنهاست. علاوه بر این، انجام آزمایش هایی برای بررسی اثربخشی پپتیدهای فعال زیستی موجود در مواد غذایی به صورت واقعی یا مدل ضروری است. از طرف دیگر، در صورتی که دسترسی به روش های بیشتری برای کپسوله کردن پپتیدها وجود داشته باشد، نه تنها در صنایع مواد غذایی کاربرد بیشتری دارند بلکه برای تولید مواد دارویی نیز می توان از آنها استفاده کرد.

۶- اظهارات و جهت گیری های آینده

فناوری کپسوله کردن به عنوان یک استراتژی امیدوارکننده به منظور محافظت از یکپارچگی پپتیدهای فعال زیستی مطرح می باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که کپسوله کردن پپتیدهای فعال زیستی می تواند باعث محافظت و افزایش فعالیت زیستی آن ها، بهبود خواص حسی، افزایش حلالیت آن ها و کاهش رطوبت در پودرهای پپتیدی شود. شواهد علمی محدودی در مورد فراهمی زیستی آنها وجود دارد. بنابراین، این تحقیقات فرصتی را برای آزادسازی کنترل شده پپتیدهای فعال زیستی فراهم می کنند. معمولا سیستم های هضم شبیه سازی شده برای توضیح جنبه های مختلف مربوط به متابولیسم و جذب پپتیدهای فعال زیستی استفاده می شود. اما استفاده از روش های جدیدی مانند کشت های سلولی دو بعدی و سلول های زنده با ساختار سه بعدی که از نظر فیزیولوژیکی با این پتیدها ارتباط بیشتری دارند توصیه می شود. با توجه به تولید حجم زیادی از محصولات جانبی کشاورزی و صنایع غذایی در جهان، می توان از این محصولات به عنوان منابع پروتئینی استفاده کرد و تلاش بر این است که پتیدهای فعال زیستی سازگار با محیط زیست و مقرون به صرفه تولید شود. برای این منظور باید مواد جدید با خواص چسبندگی زیستی مناسب مورد مطالعه قرار بگیرند. در نهایت به دلیل فقدان مطالعات *in vivo* بر روی پپتیدهای فعال زیستی محصور شده، مدل های حیوانی به خوبی طراحی شده و مناسب برای ارزیابی اثربخشی آنها باشد.



مراجع

- [1] نیکو، م.، ربیعی، ث.، رضایی، م.، خضری، م. ۱۳۹۵. پپتیدهای ضد اکسایشی استخراج شده از آبزیان: شناسایی، خالص سازی و مکانیسم اثرگذاری. نشریه علمی پژوهشی فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۴، ۱۲۲-۱۲۴
- [2] جلیلی، س.ج.، فرهوش، ر.، کوچکی، ف.، مطلبی، ع. ۱۳۹۷. پایداری میکروکپسول تولید شده از روغن ماهی کیلکا با استفاده از خواص عملکردی هیدرولیز پوست ماهی کپور نقره ای (molitrix Hypophthalmichthys) مجله علمی شیلات ایران ۶۷-۷۸، ۲۷
- [3] K. Pycia, L. Juszczak, D. Gałkowska, M. Witeczak and G. Jaworska, Carbohydr. Polym., 2016, 146, 301–309.
- [4] L. Wright, P. Joyce, T. J. Barnes, R. Lundmark, C. A. S. Bergström, M. Hubert and C. A. Prestidge, J. Pharm. Sci., 2021, 110, 217–227.
- [5] X. Sun, C. Acquah, R. E. Aluko and C. C. Udenigwe, J. Funct. Foods, 2020, 64, 103680
- [6] Tkaczewska, E. Jamróz, E. Piątkowska, B. Borczak, J. Kapusta-Duch and M. Morawska, Nutrients, 2019, 11, 2502
- [7] Li -Chan EC. Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. Current Opinion in Food Science. 2015 Feb 1; 1:28-37
- [8] K. Sarabandi, P. Gharehbeblou and S. M. Jafari, Drying Technol., 2020, 38, 577–595.
- [9] Biotechnology, Peptide solubility guidelines, <https://www.sb-peptide.com/support/solubility/>, 2021
- [10] P. Kumar, J. N. Kizhakkedathu and S. K. Straus, Biomolecules, 2018, 8, 4
- [11] Akbarzadeh, R. Rezaei-Sadabady, S. Davaran, S. W. Joo, N. Zarghami, Y. Hanifehpour, M. Samiei, M. Kouhi and K. Nejati-Koshki, Nanoscale Res. Lett., 2013, 8, 102.
- [12] D. Bhandari, S. Rafiq, Y. Gat, P. Gat, R. Waghmare and V. Kumar, Int. J. Pept. Res. Ther., 2020, 26, 139–150
- [13] L. E. Kurozawa and M. D. Hubinger, Curr. Opin. Food Sci., 2017, 15, 50–55
- [14] R. E. Cian, A. Campos-Soldini, L. Chel-Guerrero, S. R. Drago and D. Betancur-Ancona, Int. J. Food Sci. Technol., 2019, 54, 2002–2009.
- [15] L. Wright, P. Joyce, T. J. Barnes, R. Lundmark, C. A. S. Bergström, M. Hubert and C. A. Prestidge, J. Pharm. Sci., 2021, 110, 217–227
- [16] Z. Akbarbaglu, S. Mahdi Jafari, K. Sarabandi, M. Mohammadi, M. Khakbaz Heshmati and A. Pezeshki, Colloids Surf., B, 2019, 178, 421–429.
- [17] Z. Li, A. T. Paulson and T. A. Gill, J. Funct. Foods, 2015, 19, 733–743
- [18] K. Lajmi, J. G´omez-Estaca, M. Hammami and O. Mart´inezAlvarez, Food Biosci., 2019, 28, 99–108
- [19] M. Mosquera, B. Gim´enez, P. Montero and M. C. G´omezGuill´en, J. Sci. Food Agric., 2016, 96, 769–776
- [20] P. S. Rao, R. K. Bajaj, B. Mann, S. Arora and S. K. Tomar, J. Food Sci. Technol., 2016, 53, 3834–3843.
- [21] J.-J. Ma, X.-Y. Mao, Q. Wang, S. Yang, D. Zhang, S.-W. Chen and Y.-H. Li, LWT–Food Sci. Technol., 2014, 56, 296–302.
- [22] X. Wang and X. Zhang, Biotechnol. Prog., 2013, 29, 681–687
- [23] E. Ilhan-Ayisigi, G. Budak, M. S. Celiktaş, C. Sevimli-Gur and O. Yesil-Celiktaş, J. Ind. Eng. Chem., 2021, 103, 381–391.
- [24] K. Sarabandi, A. Sadeghi Mahoonak, H. Hamishekar, M. Ghorbani and S. M. Jafari, J. Food Eng., 2018, 237, 86–95



همایش ملی فناوری و نوآوری در آبرزی پروری

امنیت غذایی و حفاظت از محیط زیست



National Conference Technology and Innovation in Aquaculture Food Security and Environmental Protection

زمان برگزاری: ۱۷ اردیبهشت ۱۴۰۴

- [25] R. Nasri, M. Hamdi, S. Tourir, S. Li, M. Karra-Cha[^]abouni and M. Nasri, Int. J. Biol. Macromol., 2021, 167, 1445–1451.
- [26] L. Ramezanzade, S. F. Hosseini and M. Nikkhah, Food Chem., 2017, 234, 220–229
- [27] A. Mohan, S. R. C. K. Rajendran, Q. S. He, L. Bazinet and C. C. Udenigwe, RSC Adv., 2015, 5, 79270–79278
- [28] L. Chen, in Designing Functional Foods, ed. D. J. McClements and E. A. Decker, Woodhead Publishing, 2009, pp. 572–600.
- [29] J. E. Aguilar-Toalá, F. G. Hall, U. Urbizo-Reyes and A. M. Liceaga, in Biologically Active Peptides, ed. F. Toldrá and J. Wu, Academic Press, 2021, pp. 427–453
- [30] C. Dumont, A. Beloqui, C. Miolane, S. Bourgeois, V. Pr  at, H. Fessi and V. Jannin, Int. J. Pharm., 2020, 586, 119581
- [31] S. Sharma, K. Jyoti, R. Sinha, A. Katyal, U. K. Jain and J. Madan, Mater. Sci. Eng., C, 2016, 67, 378–385