

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ¹

Екатерина В. Лисовая, Вячеслав В. Лисовой,
Елена П. Викторова

*Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»,
Тополиная аллея, д. 2, Краснодар, 350072, Российская Федерация*

Аннотация. В настоящее время инкапсуляция пищевых ингредиентов с помощью липосомальных систем, образованных природными фосфолипидами, представляет наибольший интерес для пищевой промышленности. Одним из преимуществ инкапсуляции с помощью липосомальных систем является амфифильность образующих их фосфолипидов, что позволяет инкапсулировать как гидрофильные, так и гидрофобные ингредиенты, в то время как большинство других инкапсулирующих агентов могут инкапсулировать только гидрофильные ингредиенты. В статье проведен обзор существующих методов получения липосомальных систем. Показано, что наиболее распространенный классический метод получения липосом, а именно метод гидратации тонкой пленки, не позволяет получить однородные по форме и размеру липосомальные дисперсии. Кроме того, указанный метод требует применения большого расхода органических растворителей. Рассмотрены физические методы, позволяющие получить однородные по форме и размеру дисперсии липосом, а именно ультразвуковая обработка, экструзия под давлением и микрофлюидизация. Приведены достоинства и недостатки указанных методов. Рассмотрены альтернативные методы получения липосомальных систем без применения токсичных органических растворителей и детергентов. Следует отметить, что исследования в области разработки методов получения липосомальных систем, которые можно было бы реализовать в промышленном масштабе для интенсивного внедрения указанных систем в технологии продуктов питания, в настоящее время приобретают все большую актуальность.

Ключевые слова: фосфолипиды, липосомальные системы, методы получения, инкапсуляция, технологии продуктов питания

Для цитирования: Лисовая Е.В., Лисовой В.В., Викторова Е.П. Методы получения липосомальных систем для применения в пищевой промышленности // Новые технологии. 2020. Т. 16, № 5. С. 28–33. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2020-16-5-28-33>

METHODS FOR OBTAINING LIPOSOMAL SYSTEMS TO BE APPLIED IN THE FOOD INDUSTRY

¹ Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Администрации Краснодарского края по научному проекту №19-416-233024 p_мол_a.

Ekaterina V. Lisovaya, Vyacheslav V. Lisovoy,
Elena P. Victorova

Krasnodar Research Institute for Storage and Processing of Agricultural Products – a branch of the FSBSI «The North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking», 2 Topolinaya Alley, Krasnodar, 350072, the Russian Federation

Annotation. Currently encapsulation of food ingredients using liposomal systems formed by natural phospholipids is of greatest interest for food industry. One of the advantages of encapsulation using liposomal systems is the amphiphilicity of the phospholipids that form them, which allows both hydrophilic and hydrophobic ingredients to be encapsulated, while most other encapsulating agents can only encapsulate hydrophilic ingredients. The article reviews the existing methods for obtaining liposomal systems. It has been shown that the most common classical method for obtaining liposomes, namely, the method of a thin film hydration does not allow obtaining liposomal dispersions that are uniform in shape and size. Moreover, this method requires a large consumption of organic solvents. Physical methods have been considered that make it possible to obtain uniform in shape and size liposome dispersions, in particular, ultrasonic treatment, extrusion under pressure, and microfluidization. The advantages and disadvantages of these methods have been presented. Alternative methods of obtaining liposomal systems without the use of toxic organic solvents and detergents have been considered. It should be noted that development of methods for producing liposomal systems that could be implemented on an industrial scale for the intensive introduction of these systems in food technology is now becoming increasingly important.

Keywords: phospholipids, liposomal systems, production methods, encapsulation, food technology

For citation: Lisovaya E.V., Lisovoy V.V., Victorova E.P. Methods for obtaining liposomal systems to be used in the food industry // *New Technologies*. 2020. Vol. 16, No 5. P. 28–33. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2020-16-5-28-33>

Одной из перспективных технологий введения ингредиентов в пищевые системы для повышения их биодоступности и стабильности является технология инкапсуляции.

Следует отметить, что именно инкапсуляция пищевых ингредиентов с помощью липосомальных систем, образованных природными фосфолипидами, представляет наибольший интерес для пищевой промышленности, т.к. природные фосфолипиды нетоксичны и биodeградируемы [1].

Еще одним преимуществом инкапсуляции с помощью липосомальных систем является амфифильность образующих их фосфолипидов, что позволяет инкапсулировать как гидрофильные, так и гидрофобные ингредиенты, в то время как большинство других инкапсулирующих агентов могут инкапсулировать только гидрофильные ингредиенты [1, 2].

Известно, что процесс образования липосом является самопроизвольным и

происходит при диспергировании фосфолипидов в воде [3].

Однако липосомы, образованные фосфолипидами, могут иметь различную структуру и размер, что обусловлено особенностями химического состава фосфолипидов, особенностями инкапсулируемых ингредиентов, а также методом их получения.

Классические методы получения липосомальных систем, описание которых наиболее часто встречается в научно-технической литературе, а именно метод гидратации тонкой пленки, метод испарения с обращением фаз, метод дегидратации-регидратации, метод впрыска растворителя (этанола) и метод детергентного диализа предусматривают применение органического растворителя для растворения смеси липидов [2–6].

Так, метод испарения с обращением фаз заключается в ведении водного раствора гидрофильных инкапсулируемых

ингредиентов в раствор липидов. Затем проводят удаление органического растворителя при пониженном давлении, в результате чего образуются крупные однослойные и олиголамеллярные липосомы [7].

Метод дегидратации-регидратации предусматривает получение липосомальной системы методом гидратации тонкой пленки и ее высушивание (лиофилизацию) с последующей регидратацией в водном растворе. Данный метод позволяет получать многослойные липосомы с высокой инкапсулирующей способностью [3].

Метод впрыска растворителя заключается в растворении фосфолипидов в органическом растворителе, как правило в этаноле, и в введении полученного раствора в водную фазу путем инъекции с последующим удалением растворителя [6].

Липосомальные системы могут образовываться и при солюбилизации липидов с детергентом. Детергент затем удаляется с помощью диализа, при этом образуются однослойные липосомы размером до 200 нм [6, 7].

Наиболее распространенным из классических методов получения липосом является метод гидратации тонкой пленки, предусматривающий растворение фосфолипидов и липофильных ингредиентов в органическом растворителе, как правило в хлороформе, а затем его выпаривание при пониженном давлении до получения тонкой липидной пленки. При добавлении к образовавшейся тонкой липидной пленке водной фазы с растворенными в ней гидрофильными ингредиентами при интенсивном механическом воздействии происходит образование липосомальной дисперсии.

Следует отметить, что указанный метод способствует формированию многослойных липосом, неоднородных по форме и размеру, с достаточно широким интервалом распределения частиц [5, 6].

Для получения более однородной по форме и размеру липосомальной дисперсии, а также получения однослойных

липосом, наиболее предпочтительных для применения в технологиях продуктов питания [8], необходимо осуществить дополнительное воздействие на липосомальные системы физическими методами.

Наиболее распространенными из указанных методов являются обработка ультразвуком, экструзия под давлением и микрофлюидизация [9].

Ультразвуковая обработка липосомальной системы позволяет снизить размер липосом, а также изменить их структуру, т.е. получить однослойные липосомы, однородные по форме и размеру.

Микрофлюидизация основана на принципе разделения потока липосомальной дисперсии на две струи, которые прокачиваются под высоким давлением через микроканалы и сталкиваются друг с другом на высокой скорости внутри камеры микрофлюидизатора [9].

В работе [10] оценивалась эффективность обработки ультразвуком по сравнению с микрофлюидизацией для получения наноэмульсий. При этом размер частиц дисперсной фазы являлся основным критерием оценки. В результате проведенных исследований показано, что оба метода способствуют образованию наноэмульсий с размером частиц 150–700 нм, при этом эмульсия, полученная с помощью микрофлюидизации, характеризовалась более узким диапазоном распределения частиц по размерам. Следует отметить, что размер частиц дисперсной фазы уменьшался с увеличением времени и продолжительности обработки и не зависел от метода.

Однако несмотря на то, что методом микрофлюидизации можно получать липосомальные системы без применения токсичных органических растворителей, в работах [11,12] отмечаются его существенные недостатки, а именно возможность повреждения структуры инкапсулируемого ингредиента, т.к. уменьшение липосом происходит за счет взаимодействия кавитации, наряду со сдвигом и ударом, а также загрязнение аппарата микрофлюидизатора, что затрудняет

возможность применения данного метода в промышленном масштабе.

Следует отметить, что ультразвуковая обработка при получении липосомальных систем не подходит для инкапсулирования термочувствительных ингредиентов, а также может способствовать окислению ненасыщенных связей в цепях остатков жирных кислот фосфолипидов [12].

С помощью метода экструзии можно получить однослойные липосомы с заданным размером, который определяется размером пор мембраны и количеством циклов пропускания липосомальной дисперсии через них [13].

В работе [9] описан метод получения липосомальных систем путем нагревания. Метод нагрева (или тепловой метод) предусматривает гидратацию липосомальных компонентов в водной среде с последующим их нагревом в присутствии глицерина до температуры от 40 до 120°C. Такой широкий температурный диапазон процесса обусловлен свойствами липосомальной системы, ее композиционным составом, а также характеристиками инкапсулируемого ингредиента.

Основным преимуществом указанного метода является возможность получения липосомальных систем без применения токсичных органических растворителей и детергентов.

В работе [14] приведена сравнительная оценка фракционно-дисперсного состава липосомальных систем, полученных из фосфолипидов соевого лецитина

методом дегидратации-регидратации и с применением теплового метода.

В результате проведенных исследований показано, что фракционно-дисперсный состав липосомальных систем, полученных указанными методами, имеет существенные различия. Липосомальные системы, полученные тепловым методом, характеризуются большим содержанием частиц крупных размеров (более 20 мкм) – до 90% по сравнению с липосомальной системой, полученной методом дегидратации-регидратации, в которой содержание указанных частиц составляет 30%.

В работе [15] липосомальные системы были получены с помощью сверхкритической CO₂-экстракции, а также методом гидратации тонкой пленки для сравнения. Были изучены характеристики полученных липосом, а именно размер и морфология частиц. Показано, что липосомальные системы, полученные с применением сверхкритической CO₂-экстракции, имели более высокую стабильность при хранении по сравнению с липосомальными системами, полученными методом гидратации тонкой пленки. Однако одним из основных недостатков разработанного метода является низкая эффективность инкапсуляции.

Таким образом, исследования в области разработки методов получения липосомальных систем, которые можно было бы реализовать в промышленном масштабе для интенсивного внедрения указанных систем в технологии продуктов питания, в настоящее время приобретают все большую актуальность.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interests

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Барсуков Л.И. Липосомы // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 10. С. 2–9.
2. Liposomes as carrier vehicles for functional compounds in food sector / Shiva Emami [et al.] // Journal of experimental nanoscience. 2016. Vol. 11, Iss. 9. P. 737–759.
3. Шульга С.М. Липосомы і наносоми: структура, властивості, виробництво // Biotechnologia acta. 2013. Vol. 6, No 5. P. 19–40.
4. Research progress on liposomes: application in food, digestion behavior and absorption mechanism / Weilin Liu [et al.] // Trends in Food Science & Technology. 2020. Vol. 104. P. 177–189.
5. Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology / M.R. Mozafari [et al.] // International journal of food properties. 2008. Vol. 11, Iss. 4. P. 833–844.

6. Preparation, characterization and applications of liposomes: state of the art / A. Laouini [et al.] // *Journal of colloid science and biotechnology*. 2012. Vol. 1, No 2. P. 147–168.
7. Новикова А.А., Кезимана П., Станишевский Я.М. Методы получения липосом, используемых в качестве носителей лекарственных средств (обзор) // *Фармацевтическая технология и нанотехнологии*. 2017. № 2. С. 134–138.
8. Применение липосомальных систем, полученных из растительных лецитинов, в пищевых технологиях / Е.В. Лисовая [и др.] // *Новые технологии*. 2019. Вып. 3 (49). С. 51–60.
9. Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology / M.R. Mozafari [et al.] // *Journal of liposome research*. 2008. Vol. 18. P. 309–327.
10. Jafari S.M., He Y., Bhandari B. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization – a comparison // *International journal of food properties*. 2006. Vol. 9, Iss. 3. P. 475–485.
11. Fragmentation of chitosan by microfluidization process / M. R. Kasaai [et al.] // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2003. Vol. 4, Iss. 4. P. 403–413.
12. Maa Y.-F., Hsu C.C. Performance of sonication and microfluidization for liquid–liquid emulsification // *Pharmaceutical development and technology*. 1999. Vol. 4, No 2, P. 233–240.
13. Evaluation of extrusion technique for nanosizing liposomes / S.G.M. Ong [et al.] // *Pharmaceutics*. 2016. V. 8(4). P. 36.
14. Получение липосом из соевого лецитина / Л.А. Забодалова [и др.] // *Процессы и аппараты пищевых производств*. 2011. № 2. С. 75–81.
15. A nano-delivery system for bioactive ingredients using supercritical carbon dioxide and its release behavior / Wenbei Situ [et al.] // *Food Chemistry*. 2017. Vol. 228. P. 219–225.

REFERENCES:

1. Barsukov L.I. Liposomes // *Soros Educational Journal*. 1998. No 10. P.2-9.
2. Liposomes as carrier vehicles for functional compounds in food sector / Shiva Emami [et al.] // *Journal of experimental nanoscience*. 2016. V. 11, I. 9. P. 737–759.
3. Shulga S.M. Liposomes and nanosomes: structure, properties, production // *Biotechnologia acta*. 2013. V.6, No 5. P. 19-40.
4. Research progress on liposomes: application in food, digestion behavior and absorption mechanism / Weilin Liu [et al.] // *Trends in Food Science & Technology*. 2020. V. 104. P. 177–189.
5. Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology / M.R. Mozafari [et al.] // *International journal of food properties*. 2008. V. 11, I. 4. P. 833–844.
6. Preparation, characterization and applications of liposomes: state of the art / A. Laouini [et al.] // *Journal of colloid science and biotechnology*. 2012. V. 1, No 2. P. 147–168.
7. Novikova A.A., Kezimana P., Stanishevsky Ya.M. Methods for obtaining liposomes used as drug carriers (review) // *Pharmaceutical technology and nanotechnology*. 2017. No 2. P. 134–138.
8. Application of liposomal systems derived from plant lecithins in food technologies / E.V. Lisovaya [et al.] // *New technologies*. 2019. No 3. P. 51–60.
9. Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology / M.R. Mozafari [et al.] // *Journal of liposome research*. 2008. V.18. P. 309–327.
10. Jafari S.M., He Y., Bhandari B. Nano-emulsion production by sonication and microfluidization – a comparison // *International journal of food properties*. 2006. V. 9, I.3. P. 475–485.
11. Fragmentation of chitosan by microfluidization process / M. R. Kasaai [et al.] // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2003. V. 4, I. 4, P. 403–413.
12. Maa Y.-F., Hsu C.C. Performance of sonication and microfluidization for liquid – liquid emulsification // *Pharmaceutical development and technology*. 1999. V. 4, No 2, P. 233–240.
13. Evaluation of extrusion technique for nanosizing liposomes / S.G.M. Ong [et al.] // *Pharmaceutics*. 2016. V. 8 (4). P. 36.
14. Obtaining liposomes from soy lecithin / L.A. Zabodalova [et al.] // *Processes and machines for food production*. 2011. No 2. P. 75–81.

15. A nano-delivery system for bioactive ingredients using supercritical carbon dioxide and its release behavior / Wenbei Situ [et al.] // Food Chemistry. 2017. V. 228. P. 219–225.

Информация об авторах / Information about the authors

Екатерина Валериевна Лисовая, старший научный сотрудник отдела пищевых технологий, контроля качества и стандартизации, Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», кандидат технических наук
e.kabalina@mail.ru
Тел.: 8 (861) 252 18 41

Вячеслав Витальевич Лисовой, старший научный сотрудник отдела хранения и комплексной переработки сельскохозяйственного сырья, Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», кандидат технических наук
slavafish@rambler.ru
Тел.: 8 (918) 261 21 61

Елена Павловна Викторова, главный научный сотрудник отдела пищевых технологий, контроля качества и стандартизации, Краснодарский научно-исследовательский институт хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», доктор технических наук, профессор
kisp@kubannet.ru
Тел.: 8 (918) 078 65 78

Ekaterina Valerievna Lisovaya, a senior researcher of the Department of Food Technologies, Quality Control and Standardization, Krasnodar Research Institute for Storage and Processing of Agricultural Products – a branch of the FSBSI «The North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking», Candidate of Technical Sciences
e.kabalina@mail.ru
Tel.: 8(861)252 18 41

Vyacheslav Vitalievich Lisovoy, a senior researcher of the Department of Storage and Integrated Processing of Agricultural Raw Materials, Krasnodar Research Institute for Storage and Processing of Agricultural Products – a branch of the FSBSI «The North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking», Candidate of Technical Sciences
slavafish@rambler.ru
Tel.: 8 (918) 261 21 61

Elena Pavlovna Victorova, a chief researcher of the Department of Food Technologies, Quality Control and Standardization, Krasnodar Research Institute for Storage and Processing of Agricultural Products – a branch of the FSBSI «The North Caucasus Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking», Doctor of Technical Sciences, a professor
kisp@kubannet.ru
Tel.: 8 (918) 078 65 78