



تهیه نانوذرات اسانس‌های شیرین بیان، سیر و سیاهدانه و بررسی خواص بیولوژیکی و خواص فیزیکی و شیمیایی

مارال زاهدی

گروه مهندسی شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

E-mail: docmaral@yahoo.com

بهناز معمارماهر

گروه مهندسی شیمی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

E-mail: b_maher@iau-ahar.ac.ir

حامد همیشه کار

مرکز تحقیقات کاربردی علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

Email: hamishehkar.hamed@gmail.com

نویده انرجان

گروه مهندسی شیمی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

Email: anarjan@gmail.com

چکیده

اسانس‌های گیاهان بدلیل خاصیت ضد میکروبی به عنوان آنتی‌اکسیدان و ماده نگهدارنده طبیعی و طعم‌دهنده و عطردهنده در صنایع غذایی دارای اهمیت می‌باشند. مشکل اساسی که وجود دارد فراریت بالا و محلولیت بسیار پایین اسانس‌ها است. بنابراین، پراکندگی اسانس‌ها در آب به عنوان املاح نانو، با استفاده از تکنیک‌های ارائه شده در فناوری نانو، می‌تواند یک راه حل کارآمد برای مشکلات ذکر شده باشد. از این رو در این تحقیق، میکروامولسیون‌های اسانس‌های شیرین بیان، سیر و سیاهدانه با موفقیت تهیه شدند. خاصیت فیزیکی و شیمیایی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، فعالیت‌های ضد باکتریایی میکروامولسیون‌های تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج میکروبی و کدورت نشان داد که کاهش اندازه ذرات اسانس‌ها در محدوده‌ی نانوامولسیون با استفاده از سامانه‌های میکروامولسیون می‌تواند ویژگی‌های ضد باکتری و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را افزایش دهد. از آنجا که کدورت میکروامولسیون‌ها شاخص خوبی برای اندازه یا پایداری فیزیکی آن‌هاست. لذا پایداری نیز با کاهش اندازه ذرات، افزایش یافت. بنابراین هدف از این کار تهیه نانوذرات اسانس شیرین بیان، سیر و سیاهدانه و بررسی خاصیت فیزیکی، شیمیایی، فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بود.

کلید واژه: میکروامولسیون، اسانس، شیرین بیان، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

استفاده از گیاه در درمان بیماری‌ها در سال‌های اخیر روند رو به رشدی یافته است. استفاده بی‌رویه از داروهای شیمیایی جهت درمان بیماری‌ها منجر به ظهور ایزوله‌های مقاوم میکروبی شده که هر روزه بر تعداد آن‌ها افزوده می‌شود. گیاهان و ترکیب‌های آن‌ها شامل اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند [۱]. این در حالی است که عوارض جانبی این ترکیب‌ها در مقایسه با داروهای شیمیایی کم‌تر است [۲]. مطالعات قبلی نشان دادند که اغلب اسانس‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان دارای خواص حشره کشی، ضد قارچی، ضد انگل، ضد باکتری، ضد ویروس، آنتی‌اکسیدانی و سیتوتوکسیک می‌باشند. بنابراین اسانس‌های گیاهی در زمینه‌های فارماکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی، کلینیکی شدیداً غربالگری شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

شیرین بیان یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی از لحاظ اقتصادی است که به صورت گسترده مورد پژوهش قرار گرفته است، نام علمی شیرین بیان گلایسریزا است. این گیاه متعلق به تیره اصلی بقولات و تیره فرعی پروانه واران است. گیاهان دارویی گیاهانی هستند که مواد موثره موجود در آن‌ها به صورت مستقیم یا غیر مستقیم اثر درمانی دارد و به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد. در اندام‌های مختلف گیاهان دارویی مواد خاصی ساخته و ذخیره می‌شود که مواد موثره یا مواد فعال نام دارند. این مواد تاثیر فیزیولوژیکی بر پیکر موجود زنده به جا می‌گذارند. مواد فعال مذکور در طی یک سلسله فرآیندهای ویژه و پیچیده شیمیایی به مقدار بسیار کم و معمولاً کم‌تر از وزن خشک گیاه ساخته می‌شوند و کاشت، داشت و برداشت این گیاهان صرفاً به خاطر استفاده از مواد موثره آن‌ها صورت می‌گیرد. شیرین بیان سرشار از ترکیباتی

با خواص درمانی می‌باشد که از این ترکیبات می‌توان ترکیبات فنولیک مانند فلاوانون‌ها^۴ یا فلاوانونول‌ها^۵ کلکون‌ها^۶، ایزوفلاوان‌ها^۷ و ایزوفلاوانون‌ها^۸ را نام برد که از میان آن‌ها فلاوانون‌ها و کلکون‌ها از انواع اصلی هستند. گلیسیریزین^۹ یکی از اجزای اصلی ریشه شیرین بیان است که از لحاظ بیولوژیکی و پزشکی ترکیبی فعال است. هم‌اکنون عصاره‌های شیرین بیان و گلیسیریزین کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی، داروسازی و دخانیات دارند. از عصاره شیرین بیان یا اسانس شیرین بیان برای درمان فشار خون، سرفه، برونشیت، آسم، زخم، التهاب و صرع استفاده شده است. همچنین می‌تواند به عنوان ماده شیرین کننده به منظور پوشش دادن طعم‌های نامطبوع سایر مواد غذایی و خواص تقویت کننده ارگانولپتیک در انواع مواد غذایی، نوشیدنی‌ها و ترکیبات آرایشی مورد استفاده قرار گیرد [۳]. با این وجود، مانند سایر اسانس‌ها، فراربت بالا و محلولیت بسیار پایین اسانس شیرین بیان مشکل اصلی آن می‌باشد. علاوه بر آن این اسانس به راحتی می‌تواند با قرار گرفتن در معرض مستقیم گرما، رطوبت، نور یا اکسیژن تجزیه شود. تخریب شیمیایی یا آنزیمی ترکیبات اسانس‌ها به علت اکسیداسیون، ایزومریزاسیون، حلقوی شدن و یا واکنش‌های هیدروژن زدایی، به شدت تحت تأثیر عوامل فرایندی، ذخیره سازی مواد گیاهی، فرایند تقطیر و جا به جایی متعاقب آن‌هاست. به علاوه برخی از اسانس‌های کهنه که پتانسیل ایجاد حساسیت‌های پوستی را دارند، می‌توانند منجر به واکنش حساسیت شدید در حد آگزمای تماسی آلرژیک گردند [۱].

سیر سرشار از فولیک اسید، ویتامین C، کلسیم، آهن، منیزیم، پتاسیم و مقدار کمی روی و ویتامین‌های B_۱، B_۲ و B_۳ است. سیر یک آنتی‌بیوتیک طبیعی، ضد قارچ و ضد ویروس قوی است. در میان فرآورده‌های مختلف سیر، اسانس سیر دارای عملکرد ضد میکروبی قوی تری است به طوری که

⁴ Flavanones

⁵ Flavanonols

⁶ Chalcones

⁷ Isoflavones

⁸ Isoflavanones

⁹ Glycyrrhizine

¹ Glycyrrhiza glabra

² Leguminosae

³ Fabaceae

در واقع، نانوذرات یک ابزار بسیار جذاب بوده و قادر به حل مشکلات عمده اسانس‌ها، با استفاده از افزایش پایداری شیمیایی در حضور هوا، نور، رطوبت و درجه حرارت بالا و عواملی که می‌تواند به تبخیر سریع و به تخریب اجزای فعال منجر شود، هستند؛ به علاوه رهايش کنترل شده، رفع فراريت، بهبود حلاليت آبی مواد آب‌گریز از تغییراتی است که استفاده از نانوحامل‌ها برای اسانس‌ها ایجاد می‌کنند که سبب کاهش عوارض جانبی، افزایش فراهمی زیستی و تضمین اثر بخشی می‌شود. میکرومولسیون‌ها قادرند به روش‌های مختلف کم انرژی یا پر انرژی تولید شوند. این سیستم‌ها حاوی ذراتی می‌باشند که شعاع ذرات آن از مابین ۲ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشد.

با توجه به اینکه شعاع ذرات کوچک‌تر از طول موج نور مرئی می‌باشد، این سیستم‌ها از لحاظ نوری شفاف (گاه‌ها به طور ضعیف کدر) می‌باشند. میکرومولسیون‌ها از لحاظ ترمودینامیکی پایدار می‌باشند که این مزیت این سیستم‌ها نسبت به نانومولسیون‌ها می‌باشد [۷].

بنابراین هدف از این مطالعه تهیه اسانس‌های شیرین بیان، سیر و سیاهدانه به عنوان فاز روغن با بالاترین فعالیت‌های ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، کوچک‌ترین اندازه ذره، توزیع اندازه ذرات و کدورت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- مواد

اسانس شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*, Iran) و اسانس سیاهدانه (*Nigella sativa* L, Iran) به مقدار لازم از شرکت ناجیان تهیه گردیدند. اسانس سیر (*Garlic*, Iran) از طرف شرکت ماگنولیا اهدا گردید.

۲،۲-دیفنیل-۱-پیکریلیدرازیل^۱

(DPPH) (Merck, Germany)، سورفاکتانت‌های غیر یونی توین ۸۰^{۱۱} و گلیسرول از (Merck, Germany) خریداری

نسبت به پودر سیر و سیر تازه به ترتیب ۲۰۰ و ۹۰۰ برابر اثرات ضد میکروبی قوی‌تری دارد. اجزای اصلی اسانس سیر، پلی سولفیدهای آلایل هستند، مانند دی آلفل سولفید، دیال دی سولفید، آلایل متیل تری سولفید، دی آلایل تری سولفید، آلایل متیل دی سولفید و... [۵].

سیاهدانه از دیرباز تا امروزه به شکل‌های گوناگون از جمله «عصاره، روغن، دانه و...» به عنوان نوعی داروی گیاهی برای کمک به درمان برخی بیماری‌ها در طب سنتی کاربرد داشته و دارد.

به دلیل فواید سیاهدانه گاهی از آن برای درمان برخی بیماری‌ها از جمله آسم، برونشیت و التهاب و همچنین خواص سیاهدانه باعث شده تا مدت‌ها به عنوان ادویه و نگهدارنده مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین به عنوان ضد میکروب، آنتی‌اکسیدان، ضد سرطان، ضد التهاب، ضد دیابت، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، ضد درد، اسپاسمولیتیک، برونکودیلاتور، محافظت‌کننده کبد، محافظ کلیه، محافظ دستگاه گوارش و غیره استفاده شده است. ترکیب اصلی اسانس سیاهدانه، تیموکینون است [۶].

امولسیون‌ها از دو مایع امتزاج‌ناپذیر تشکیل شده‌اند که یکی در دیگری پخش شده است. فازی را که در دیگری پخش می‌شود فاز درونی، یا پراکنده می‌نامند و فاز بعدی که فضای اصلی را تشکیل می‌دهد، فاز بیرونی یا فاز پیوسته می‌گویند. این دو فاز امتزاج‌ناپذیر را معمولاً آب و روغن تشکیل می‌دهد.

اگر فاز پراکنده را روغن تشکیل دهد، امولسیون را روغن در آب (O/W) و اگر فاز پیوسته را روغن تشکیل دهد، به آن امولسیون آب در روغن (W/O) می‌گویند. بسیاری از خواص امولسیون‌ها مانند پایداری، خواص رفتار جریان آن‌ها بستگی به دو فاکتور اصلی اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات امولسیون دارد [۷].

¹ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical

0

¹ Tween 80

1

شدند. آب مقطر (Dr.Mojallali,Iran) توسط شرکت دکتر مجللی تأمین شد.

- روش‌ها

- آماده سازی میکرومولسیون‌ها

میکرومولسیون‌های اسانس با استفاده از تکنیک کم انرژی خودبخودی تهیه شد. توئین ۸۰ (۱۵٪) ابتدا با گلیسرول (۶٪) مخلوط و به مدت ۵ دقیقه با سرعت چرخش ۵۰۰ دور در دقیقه به صورت مغناطیسی (صفحه IKA، RCT دیجیتال،

آلمان) هم‌زده شد. سپس اسانس‌ها (مطابق جدول ۱ و غلظت کلی ۱٪ وزنی بر وزنی) به مخلوط توئین ۸۰ و گلیسرول اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه هم‌زده شدند. این مخلوط به صورت قطره قطره به حجم معینی از آب مقطر (۷۸٪) اضافه شد، که در حمام آب در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داشت، در زیر هم‌زن مغناطیسی قرار گرفت تا ظاهر شفاف همگن داشته باشد. این مخلوط پس از ۱ روز در دمای اتاق از سیستم نیمه شفاف به سیستم کاملاً شفاف تبدیل شد.

جدول ۱-٪ غلظت مواد در تولید میکرومولسیون‌ها

روش	توئین ۸۰ (وزنی-وزنی)	گلیسرول (وزنی-وزنی)	آب (حجمی-حجمی)	اسانس شیرین بیان (وزنی-وزنی)	اسانس سیر (وزنی-وزنی)	اسانس سیاهدانه (وزنی-وزنی)
نمونه اول	۱/۵	۰/۶	۷/۶	۰/۳	۰	۰
نمونه دوم	۱/۵	۰/۶	۷/۶	۰	۰/۳	۰
نمونه سوم	۱/۵	۰/۶	۷/۶	۰	۰	۰/۳

- تعیین اندازه قطرات میکرومولسیون‌ها

برای اندازه‌گیری اندازه‌ی ذرات و توزیع آن‌ها از دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذرات (Microtrac, Japan) استفاده شد. این دستگاه بر اساس پراکنش نور پویا کار می‌کند. اندازه‌گیری‌ها بر روی نمونه‌ها یک شب پس از نگهداری آن‌ها انجام شد.

- بررسی پایداری امولسیون‌های تهیه شده

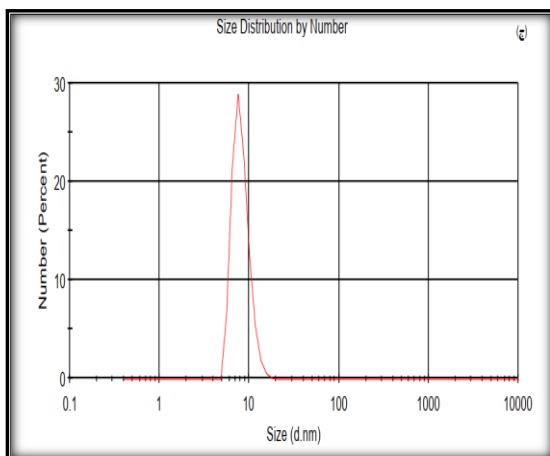
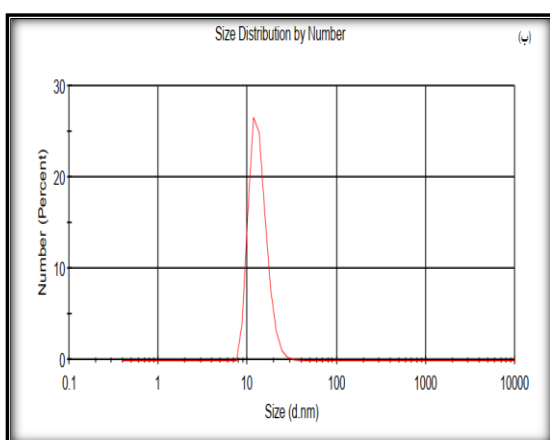
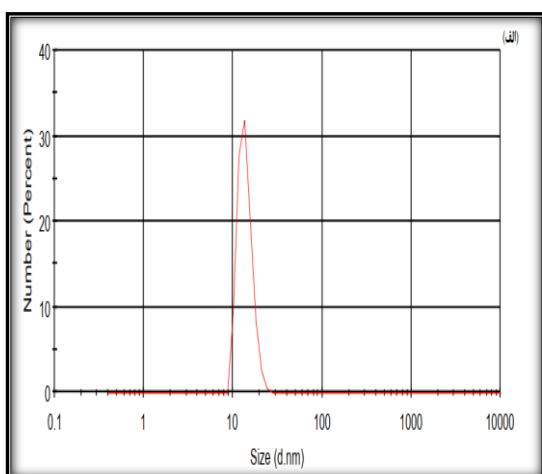
میزان جذب تمامی نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر که بیانگر کدورت آن‌هاست، با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-visible به مدت دو هفته اندازه گرفته شد (PIT320, Iran). قبل از اندازه‌گیری نمونه‌ها از غلظت صفر (آب مقطر به عنوان شاهد) تا ۰/۱٪ با آب مقطر رقیق شدند.

- بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با در آزمایشگاه مورد استفاده قرار گرفت. باکتری ذکر شده در محیط کشت آگار نوترینت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در مدت زمان ۲۴ ساعت کشت داده شد. همه نمونه‌های تهیه شده در شرایط یکسان توسط سالین استریل حدود 10^5 cfu^{۱۲} آنالیز فعالیت میکروبی اسانس‌ها و میکرومولسیون‌های تشکیل شده استفاده گردید.

دستگاه اسپکتروفتومتر محلول DPPH (۰/۱ mm) با حل کردن ۳/۹ میلی‌گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. محلول برای تکمیل واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. ۲ میلی‌لیتر از نمونه با ۲ میلی‌لیتر از محلول DPPH مخلوط شد. این محلول به شدت تکان داده شده و در تاریکی

۱ واحد تشکیل کلنی



شکل ۱: توزیع اندازه ذرات میکرومولسیون‌های اسانس سیاهدانه (الف) - اسانس سیر (ب) - اسانس شیرین بیان (ج).

انکوبه شد. ۳۰ دقیقه بعد جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

بررسی خاصیت میکروبی

- روش انتشار دیسک (diffusion-disk)

باکتری گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس در آنالیز میکروبی در این آنالیزها از دی متیل سولفو کسید^۳ به مقدار ۵ میلی-لیتر برای کنترل منفی و از کلرامفنیل^۴ به مقدار ۲ میلی-گرم برای کنترل مثبت جهت تعیین حساسیت مورد استفاده قرار گرفت. این پلیت‌ها همراه با محیط کشت و نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور قرار گرفتند و فعالیت ضد باکتری آن‌ها با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت.

- طرح آماری

آنالیز آماری آزمایشات امولسیون‌ها در این تحقیق به وسیله آنالیز آماری One-Way ANOVA با استفاده از نرم افزار Minitab inc, PA, USA به دست آمد. همه آزمایشات و اندازه‌گیری‌ها با سه بار تکرار انجام شدند.

نتایج

- خصوصیات میکرومولسیون اسانس

متوسط اندازه ذرات تمام میکرومولسیون‌های اسانس به دست آمده کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر بود (شکل ۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که روش میکرومولسیون یک تکنیک کارآمد برای کاهش اندازه اسانس در محدوده نانو در مقیاس مطلوب است.

اندازه ذرات میکرومولسیون شیرین بیان از میکرومولسیون‌های سیاهدانه یا سیر کوچک‌تر است.

بنابراین می‌توان کوچک‌ترین میکرومولسیون را با استفاده از اسانس شیرین بیان به صورت مجزا به عنوان فاز آلی تولید کرد.

^۱ Dimethylsulphoxide (DMSO)

^۱ Chloramphenicol

حاضر هیچ ارتباطی بین اندازه و کدورت نمونه‌ها مشاهده نشده است. این مشاهدات می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فعال سطحی مربوط به اسانس و ایجاد احتمال کف در طول دوره آماده سازی نمونه باشد [۸].

شفافیت میکروامولسیون‌ها شاخص خوبی برای اندازه یا پایداری فیزیکی آن‌هاست، کدورت میکروامولسیون اسانس بین ۰/۲۳۴ و ۰/۶۲۹ تغییر یافته است (جدول ۲). علیرغم تحقیقات قبلی، که بین میانگین اندازه ذرات و کدورت میکروامولسیون‌ها رابطه وجود دارد، در مطالعه

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی و بیولوژیکی میکروامولسیون‌های اسانس تهیه شده

نمونه	اندازه ذره (نانومتر)	توزیع اندازه ذرات	کدورت	آنتی اکسیدان (%)
نمونه ۱ (اسانس شیرین بیان)	۱۲/۲±۶۳/۳۱۳ ^a	۰/۰±۳۳۶/۰۲۷۳ ^a	۰/۳۰۰±۰/۰۱۵۶ ^a	۶۴/۵۴±۰/۷۴ ^a
نمونه ۲ (اسانس سیر)	۴۴/۴±۹۲/۲۰۱ ^b	۰/۰±۷۹۴/۰۳۴۹ ^b	۰/۲۳۴±۰/۱۱۹ ^b	۶۱/۹۰±۱/۳۷ ^a
نمونه ۳ (اسانس سیاهدانه)	۹۵/۶±۶۹/۱۹۲ ^c	۰±۱/۰۴۹ ^c	۰/۶۲۹±۰/۰۳۷۱ ^c	۶۱/۴۵±۱/۸۹ ^a

استافیلوکوک اورئوس و اش‌ریشیاکلی به صورت ماکرو و میکروامولسیون در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که کاهش اندازه ذرات اسانس‌ها و همچنین ترکیب آن‌ها در فرمولاسیون می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها را، در برابر باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی، به میزان قابل توجهی افزایش دهند. نتایج نشان داد که کاهش اندازه ذرات اسانس‌ها و همچنین ترکیب آن‌ها در فرمولاسیون می‌تواند فعالیت‌های ضد باکتریایی آن‌ها را، در برابر باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی، به میزان قابل توجهی افزایش دهند.

انتظار بر آن است که تمام اسانس‌های منتخب به دلیل داشتن ترکیبات فعال فنلی و فلاونوئید دارای فعالیت‌های آنتی اکسیدانی در مقیاس‌های ماکرو و نانو باشند. فعالیت‌های مهارکننده رادیکال DPPH از میکروامولسیون از ۶۱/۴۵ تا ۶۴/۵۴٪ متغیر بود. برخلاف نتایج مطالعات قبلی که ارتباط معکوسی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی میکروامولسیون و میانگین اندازه ذرات آن‌ها وجود دارد، در مطالعه فعلی وابستگی قابل توجهی مشاهده نشد. فعالیت ضد باکتریایی میکروامولسیون‌های تولید شده در برابر باکتری گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس (*S. aureus*) و اش‌ریشیاکلی (*E. coli*)، ارزیابی شدند. فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها در برابر

جدول ۳- فعالیت ضدباکتریایی میکروامولسیون‌های اسانس تولید شده.

نمونه‌ها	خاصیت ضد میکروبی علیه استافیلوکوک اورئوس (mm)	خاصیت ضد میکروبی علیه اش‌ریشیاکلی (mm)
اسانس شیرین بیان	۶±۰/۳۰۲ ^a	۵±۰/۱۲۹ ^a
اسانس سیر	۷±۰/۳۸۲ ^a	۶±۰/۶۲۵ ^a
اسانس سیاهدانه	۵±۰/۲۹۴ ^a	۳±۰/۳۰۸ ^b
میکروامولسیون اسانس شیرین بیان	۱۱±۰/۶۰۶ ^b	۹±۰/۹۴۳ ^c
میکروامولسیون اسانس سیر	۱۳±۰/۶۹۱ ^b	۱۰±۰/۴۲۹ ^c
میکروامولسیون اسانس سیاهدانه	۹±۰/۴۲۸ ^c	۷±۰/۳۶۴ ^c

a-c حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنادار بین مقادیر متغیر پاسخ می‌باشد (مقایسه در ستون انجام شده است).

بحث و نتایج

نسبت فاز آلی بر توزیع اندازه ذرات میکرومولسیون‌های تولید شده به طور قابل توجهی تأثیر می‌گذارد. ترکیبات مختلف در هر اسانس مشخص شده است. به طور کلی، اسانس شیرین بیان از ترکیب آنتول، اتر آروماتیک غیر اشباع و گلیسیریزین با ساختار ساپونین تشکیل شده است. اسانس سیر بیش‌تر شامل ترکیبات مختلف آلی سولفید و در نهایت در اسانس سیاهدانه اتر آروماتیک غیر اشباع و کتون آروماتیک اشباع نشده است [۹-۱۰]. بنابراین، با توجه به فعالیت سطحی جزئی اسانس شیرین بیان، این ماده می‌تواند بازده امولسیون‌کنندگی امولسیفایر مورد استفاده را افزایش دهد و بنابراین، کاهش اندازه و تثبیت میکرومولسیون به طور مؤثرتری اتفاق می‌افتد [۱۱].

اسانس سیر نسبت به اسانس شیرین بیان و سیاهدانه قطبیت کم‌تری دارد. بنابراین، به نظر می‌رسد که شکسته شدن ذرات اسانس سیر یا کاهش اندازه آن‌ها به محدوده میکرومولسیون دشوارتر از دو اسانس دیگر باشد [۱۲]. از آنجا که توزیع اندازه ذرات نمونه‌ها با پایداری میکرومولسیون‌های تازه شکسته شده تعیین می‌شود، توزیع اندازه ذرات سیستم‌ها در صورت عدم وجود پدیده‌های ناپایدار کاهش می‌یابد [۱۲]. ویسکوزیته اسانس‌ها در اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات میکرومولسیون‌ها نیز نقش مهمی دارند.

اندازه بزرگ میکرومولسیون‌های اسانس سیاهدانه نیز می‌تواند با ویسکوزیته بالای آن (داده‌های منتشر نشده) در مقایسه با اسانس‌های سیر و شیرین بیان مرتبط باشد [۱۳].

شفافیت میکرومولسیون‌ها شاخص خوبی برای اندازه یا پایداری فیزیکی آن‌هاست، بدان معنی که سیستم‌های با کدورت کم‌تر، معمولاً دارای سیستم‌های میکرومولسیون کوچک‌تر و پایدارتر هستند. تحقیقات قبلی نتیجه گرفته‌اند که سیستم‌های پراکنده با شفافیت کم‌تر به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر و همگن‌تر، در برابر پدیده‌های استوالد پایدارتر هستند [۱۴].

غلظت مواد و رهايش ماده فعال از سیستم کپسوله مهم‌ترین عوامل موثر روی ویژگی‌های آنتی-اکسیدانی آن‌ها می‌باشد. از آن جایی که امولسیفایر با کاهش کشش سطحی و میزان انرژی مورد نیاز برای احاطه کردن نانو ذرات و ممانعت کردن از به هم چسبیدن آن‌ها و تبدیل آن‌ها به ذرات با سایز کوچک‌تر، نقش مهمی را در کاهش اندازه‌ی ذرات، رهايش آسان آن‌ها و افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی ایفا می‌کند و کاهش اندازه ذرات در اثر افزایش سرعت اختلاط (افزایش دور همزن) و افزایش حلال زدایی (افزایش دور همزن) می‌تواند موجب کاهش اندازه ذرات و در نتیجه‌ی آن افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی گردد.

همان گونه که در یافته‌های مطالعه‌ای بر روی مقایسه و بررسی تاثیر خاصیت آنتی-اکسیدانی یازده نمونه از اسانس‌های روغنی در صنعت غذایی انجام گرفت، معلوم شد که با افزایش ماندگاری و پایداری ماده‌ی اصلی که همان اسانس‌های روغنی گیاهی می‌باشد، خاصیت آنتی اکسیدانی نانو امولسیون‌ها افزایش پیدا می‌کند [۱۵]. فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی به یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های این روغن‌ها یعنی آب‌گریزی آن‌ها و نیز نفوذپذیر بودن و فرایندهای ناشی از ترکیبات آن‌ها مربوط می‌شود. میکرومولسیون‌ها به دلیل ساختار شیمیایی فاز آلی فعالیت ضد میکروبی دارند.

گزارش شده است که فعالیت ضد باکتریایی اسانس، مربوط به ترکیبات فنلی، الکلی، کتون و اتر آن‌هاست که بیش‌تر در ساختار اسانس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۶].

در حالت کلی تأثیر اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها بر روی باکتری‌های گرم مثبت، قدری بیش‌تر از تأثیر آن‌ها بر روی باکتری‌های گرم منفی است. به عبارت دیگر گرم مثبت‌ها، نسبت به اثر ضد میکروبی اسانس‌ها حساسیت بیش‌تری نشان دادند. دلیل حساسیت بالای باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به علت عدم وجود

سپاسگزاری

بدین وسیله از آزمایشگاه مرکز تحقیقات کاربردی دارویی علوم پزشکی تبریز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند صمیمانه تشکر می‌نمایم.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

منابع

- [1] Shibamoto, K., 2010, et al, Aroma therapy in anti-aging medicine, *Anti-Aging Medicine*, 7(6): p. 55-59.
- [2] Van Vuuren., 2009, et al, The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials, *Letters in applied microbiology*, 48(4): p. 440-446.
- [3] Quirós-Sauceda, A., 2016, et al, Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) oils, in *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, p: 523-530.
- [4] Baj, T. A., 2018, et al, Application of mixture design for optimum antioxidant activity of mixtures of essential oils from *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L. and *Rosmarinus officinalis* L., *Industrial Crops and Products*, 115: p. 52-61.
- [5] Satyal, P., Craft, J.D., Dosoky, N.S., Setzer, W.N., 2017, The chemical compositions of the volatile oils of garlic (*Allium sativum*) and wild garlic (*Allium vineale*). *Foods*, 6(8), p.63.
- [6] Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S.A., Najmi, A.K., Siddique, N.A., Damanhoury, Z.A., Anwar, F., 2013, A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(5):337-352.
- [7] Ranjit, K., Harwansh, a., Rohitas Deshmukh, a., Akhlaquer Rahman^b Md., 2019, Nanoemulsion: Promising nanocarrier system for delivery of herbal bioactives, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 224-233.
- [8] Moradi, S., Anarjan, N., 2019, Preparation and characterization of α -tocopherol nanocapsules based on gum Arabic-stabilized nanoemulsions. *Food science and biotechnology*, 28(2):413-421.
- [9] Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A.S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X., Chemat, F., 2014, Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae family. *Molecules*, 19(12):20034-20053
- [10] Shahat, A.A., Ibrahim, A.Y., Hendawy, S.F., Omer, E.A., Hammouda, F.M., Abdel-Rahman, F.H., Saleh, M.A., 2011, Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. *Molecules*, 16(2):1366-1377.
- [11] Anarjan, N., Tan, C.P., 2013, Developing a three component stabilizer system for producing astaxanthin nanodispersions. *Food Hydrocolloids*, 30(1):437-447.
- [12] Weiss, J., Muschiolik, G., 2007, Factors affecting the droplet size of water-in-oil emulsions (W/O) and the oil globule size in water-in-oil-in-water emulsions (W/O/W). *Journal of Dispersion Science and Technology*, 28(5):703-716.
- [13] Anarjan, N., Jaber, N., Yeganeh-Zare, S., Banafshehchin, E., Rahimirad, A., Jafarizadeh-Malmiri, H., 2014, Optimization of mixing parameters for α -tocopherol nanodispersions prepared using solvent displacement method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91(8):1397-1405.
- [14] Anarjan, N., Tan, C.P., Nehdi, I.A., Ling, T.C., 2012, Colloidal astaxanthin: Preparation, characterisation and bioavailability evaluation. *Food chemistry*, 135(3):1303-1309.
- [15] Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R., 2005, Comparative

دیواره سلولی لیپولی ساکاریدی باشد که این دیواره در باکتری‌های گرم منفی می‌تواند از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری به عمل آورد. به دلیل وجود غشاهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی منطقی به نظر می‌رسد که این باکتری‌ها در برابر اثرات ضد باکتریایی اسانس‌ها و ترکیبات آن‌ها حساسیت کم‌تری از خود نشان دهند. غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی، انتشار مواد چربی دوست از میان لایه پوشاننده لیپولی ساکاریدی را محدود می‌کند. در باکتری‌های گرم مثبت، تماس مستقیم ترکیبات هیدروفوبی اسانس‌ها، با این فسفولیپید دو لایه‌ای صورت می‌گیرد. این محل تماس جایی است که این ترکیبات اثر خود را بر جای می‌گذارند. این اثر به صورت افزایش نفوذپذیری یون‌ها و یا با نشستن ترکیبات حیاتی سلول رخ می‌دهد. تعداد مطالعات انجام شده در مورد مکانیسم عملکردی اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها روز به روز در حال گسترش است. با این اوصاف، با توجه به تعداد زیاد مطالعات انجام شده، تفاوت‌های زیادی در مورد عامل ضد میکروبی این اسانس‌ها و ترکیبات آن‌ها مشاهده می‌شود. ضد میکروبی بودن اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها عامل بسیار مهم در تعیین بیماری‌زدایی این ترکیبات در مقابل پاتوژن‌ها در برنامه غذایی می‌تواند باشد و هم چنین در بافت زنده و یا در روند عفونت می‌تواند اختلال ایجاد کند [۱۷].

نتیجه‌گیری

میکروامولسیون‌های اسانس به صورت مجزا و ترکیبی با موفقیت تقریباً از ۱۲ تا ۹۵ نانومتر با استفاده از توین ۸۰ به عنوان سورفکتانت و گلیسرول به عنوان کوسورفکتانت تهیه گردید. خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی تمام میکروامولسیون‌ها در شرایط آزمایشگاهی از طریق کاهش اندازه ذرات آن‌ها در محدوده نانو افزایش یافت. میکروامولسیون‌های تهیه شده در طول ۴۰ روز ذخیره سازی در دمای 1 ± 5 درجه سانتی‌گراد از پایداری فیزیکی مطلوبی برخوردار بودند.

evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91(4):621-632.

[16] Fratini, F., Mancini, S., Turchi, B., Sparagni, D., Al-Gwad, A.A., Najar, B., et al., 2019, Antimicrobial activity of three essential oils (cinnamon, manuka, and winter savory), and their synergic interaction, against *Listeria monocytogenes*. *Flavour and Fragrance Journal*, 34(5):339-348.

[17] Mirhosseini, H., Tan, C.P., Hamid, N.S., Yusof, S., Chern, B.H., 2009, Characterization of the influence of main emulsion components on the physicochemical properties of orange beverage emulsion using response surface methodology. *Food Hydrocolloids*, 23(2):271-280.