تهیه روغن اسانسی نعناء (Mentha Sativa) و کپسوله‌کردن آن با استفاده از پلیمرهای سدیم آلژینات، نشاسته و مالتودکسترین

غلامرضا نجفی*، هما احمدی، محبوبه السادات شریف

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۰)

چکیده

در این پژوهش اسانس نعناء گونه Mentha Sativa تهیه و میکرو یا نانوکپسول‌های محتوی اسانس نعناء با دو روش هم‌رسوبی (Coacervation) و خشک کردن انجمادی(Freeze Drying) با استفاده از پلیمرهای مختلفی مثل سدیم آلژینات، نشاسته و مالتو دکسترین تهیه شدند. کپسول‌های تهیه شده برای ارزیابی مورد مطالعه و آزمایش قرار گرفتند. ارزیابی اندازه کپسول‌ها که با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام شد، نشان داد که هم نانو و هم میکروکپسول تشکیل شده است. به نظر می‌رسد، کپسول‌های حاصل از روش هم‌رسوبی در ابعاد میکرو و کپسول‌های تشکیل شده به روش فریزدرایر هم در اندازه‌های میکرو و هم نانو تشکیل شده‌اند.نوع پلیمر مورد استفاده، غلظت پلیمر و سرعت هم زدن از جمله عواملی هستند که بر روی نوع کپسول و چگونگی رهایش اسانس نعناء تاثیر می‌گذارند.

تعیین میزان کل اسانس بارگیری شده بیانگر این مطلب است که بیشترین بارگیری اسانس در روش هم‌رسوبی با نشاسته ۲٪ و سدیم آلژینات۲٪ انجام شده است(به میزان ۸۰٪). همچنین در روش فریز درایر بیشترین مقدار بارگیری اسانس توسط نشاسته ۲٪ اتفاق افتاده است(به میزان ۷۰٪). ارزیابی میزان رهایش اسانس نشان می‌دهد که کپسول‌های تهیه شده از نشاسته کمترین مقدار رهایش و بیشترین نگهداری اسانس تا یک هفته را دارند(۳۸/۸۹ درصد اسانس در کپسول‌ها باقی مانده است.). همچنین کپسول‌های سدیم آلژینات یک درصد از دو درصد آن رهایش کمتری دارند. هر سه پلیمر پس از دو هفته تقریبا تمام اسانس را آزاد می‌کنند.

کلیدواژگان

اسانس نعناء، انکپسوله کردن، پلیمر، فریز درایر، هم‌رسوبی.

* نویسنده مسئول، رایانامه: q_najafi@yahoo.com

مقدمه

اسانس‌ها ترکیبات پیچیده فراری می‌باشند که توسط فعالیت‌های متابولیکی ثانویه در گیاهان معطر تولید می‌شوند[۱]. عمده اسانس‌ها از ترکیبات ترپنی از جمله مونو، دی و سزکوئی‌ترپن‌ها تشکیل شده‌اند. این ترکیبات به تنهایی طیف گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی، آنتی باکتریال و حتی ضدتوموری را شامل می‌شوند. علاوه بر خواص بیولوژیکی، اسانس‌ها به دلیل دارا بودن عطر و طعم‌های مشخص نیز به طور وسیعی در صنایع آرایشی و بهداشتی، دارویی، غذایی و حتی منسوجات معطر به‌کار می‌روند[۸-۲].

این مواد عموماً در دمای معمولی حالت مایع داشته و فقط معدودی از آنها به حالت جامدند. اسانس‌ها به‌طورکلی بی‌رنگ هستند، به‌ویژه هنگامی که تازه تهیه شده باشند، ولی رنگ آنها به دلیل اکسایش و رزینی شدن، تیره می‌گردد. چون از نظرکلی در مجاورت هوا و در دمای معمولی فرّار هستند، از این جهت اصطلاح روغن‌های فرار، روغن‌های اتری، و یا به شکل متداول‌تر، روغن‌های اسانسی و یا اختصاراً اسانس، برای آنها به کار رفته است[۹]. اسانس‌ها بسته به نوع تیره‌های گیاهی ممکن است در اندام‌های ترشحی مانند کرک‌های غده‌ای، سلول‌های پارانشیم، لوله‌های اسانسی بنام و در کانال‌های لیروژن وجود داشته باشند[۱۰]. وجود اسانس‌ها تنها در حدود ۲۰۰۰ گونه از ۲۵۰۰۰۰ گونه گیاه گل داری که تا کنون شناخته شده گزارش گردیده است. در گیاهان تیره کاج اسانس‌ها ممکن است در تمام سلول‌ها وجود داشته باشند. در گل سرخ اسانس‌ها به میزان قابل ملاحظه‌ای فقط در گلبرگ‌ها وجود دارند. در صورتی که بافت‌های ترشحی اسانس در اندام‌های مختلف گیاهان پراکنده باشند، در این صورت اسانس‌های حاصله از نظر کیفیت و کمیت و همچنین اجزاء و عناصر تشکیل‌دهنده از اندامی به اندام دیگر تفاوت دارند. مثلاً تولیدکنندگان عطر و ادکلن می‌دانند که اسانس‌های حاصله از گل‌های نارنج تلخ، در مقایسه با اسانس استخراج شده از پوست و میوه این گیاه از کیفیت و ارزش بیشتری برخوردار می‌باشند[۱۱].

سامانه‌های آهسته رهش یا رهش کنترل شده، سامانه‌هایی هستند که به گونه ای خاص طراحی شده اند که ماده موثره خود را اعم از دارو، اسانس، مواد معطر، سموم ویا افزدنی‌های غذایی را به صورت تدریجی و طی مدت معینی رها می‌سازند. مفهوم رهایش کنترل شده بعلت کاربردهای این تکنولوژی در زمینه‌های گوناگون شامل پزشکی، داروسازی، بیوتکنولوژی و کشاورزی توجه بسیار زیادی را در بیش از ۳ دهه گذشته نسبت به خود معطوف داشته است. اولین سامانه‌های آهسته رهش برای انتقال دارو، قرص‌های پوشش داری بود که به روزگار باستان یونانی رومی در هزار سال پیش بر می‌گردد. زکریای رازی در سال ۹۲۳-۸۵۰ هجری قمری، پوشش‌های لعابی قرصها که از دانه‌های گیاه پسیلیوم استخراج می‌شد را پیشنهاد نمود. بعد از آن ابوعلی سینا در ۱۰۳۷-۹۸۰ هجری قمری، قرص‌های با پوشش طلا ونقره را مطرح کرد. بیشتر طبقه مرفه و ثروتمند اروپایی از این قرص‌ها با پوشش طلا و نقره استفاده می‌نمودند. از اواسط قرن بیستم عصر جدیدی در این زمینه آغاز شد و از آن زمان تحقیقات وسیعی در زمینه به تاخیر انداختن، طولانی نمودن، آهسته نمودن و در نهایت کنترل رهایش مواد فعال و موثره انجام شده است. صدها گزارش و مقاله و هزارها Patent برروی موضوعات مختلف آزاد سازی کنترل شده و اخیراً میکروانکپسولاسیون ثبت شده است . علم وتکنولوژی جدید آزاد سازی کنترل شده در حدود ۳۵ سال است که قدمت دارد[۱۶-۱۲].

طراحی‌های مختلف و متفاوتی جهت این منظور صورت پذیرفته است که مشهورترین آنها عبارتند از:

۱. کپسولی ازجنس ماده پلیمری که با یک ماده فعال پر شده است و رهایش از طریق نفوذ از درون دیواره کپسول صورت می‌گیرد که تحت عنوان وسایل مخزنی معروف می‌باشند. این سامانه‌ها می‌توانند به روش‌های مختلفی از قبیل قالب گیری تزریقی، پوشش دهی افشانه ای و انکپسولاسیون تهیه شوند.
۲. پراکندگی همگن یا غیرهمگن محلول ماده فعال در یک شبکه پلیمری، که رهایش به وسیله نفوذ از درون و یا از طریق سایش پلیمر صورت می‌پذیرد که این وسایل را تحت عنوان ماتریسی یا زمینه ای می‌شناسند. این سامانه‌ها می‌توانند به روش‌های مختلفی از قبیل قالب گیری با حلال یا بدون حلال، اکستروژن و پخت مخلوط دارو –پلیمر تهیه شوند.
۳. قرار گرفتن لایه‌های از ماده فعال و پلیمر در کنار هم به صورت مجموعه چند لایه ای که رهایش به وسیله نفوذ یا سایش و یا هر دو کنترل کنندهاست.
۴. شبکه پلیمری قابل تورم، با ماده فعالی که در داخل پلیمر پراکنده و یا حل شده است و در این گونه وسایل رهایش به صورت یک نتیجه حاصل از تورم پلیمر در سیال محیط و نفوذ ماده فعال از درون این پلیمر صورت می‌گیرد.
۵. میکروکپسوله کردن یک ماده فعال در یک محلول ویسکوز که رهایش از طریق نفوذ یا رقیق کردن محیط کنترل می‌شود.
۶. اتصال شیمیایی ماده فعال به یک قطعه پلیمری که رهایش به وسیله شکست اتصال در محیط هدف انجام می‌شود.
۷. ایجاد یک ساختمان ماکرومولکولی از یک ماده فعال بوسیله اتصالات یونی یا پیوند هم ظرفیتی، که رهایش ماده فعال از طریق شکست این اتصال از طریق هیدرولیز، اثر ترمودینامیکی محیط یا تجزیه آنزیمی یا میکروبی صورت می‌پذیرد.

دسته بندی که بیان گردید از نقطه نظر طراحی‌های فیزیکی بود که یک برداشت کلی از وسایل طراحی شده می‌باشد و هیچ توضیح دقیقی مربوط به مکانیسم‌های آزاد سازی بر آنها حاکم نشده است[۱۲]و[۱۶].

بطور کلی سامانه‌های رهایش کنترل شده از نقطه نظر مکانیسم کنترل نفوذ به صورت ذیل تقسیم بندی می‌شوند: ۱. نفوذ ۲. سایش یا واکنش شیمیایی ۳.متورم شدن ۴. فشار اسمزی ۵. سامانه‌های عکس‌العملی و ۶. پمپ‌ها.

کپسوله کردن یک روش فناوری جدیدی برای بسته بندی مواد جامد، مایع یا گازی در کپسول‌های بسیار کوچک شناور در آب است که محتویات آنها می‌توانند به روش‌های خاص تحت شرایطی کنترل شود. کپسوله کردن شامل مشارکت اجزا مواد خوراکی، آنزیم‌ها، سلول‌ها یا دیگر موارد در پوششی کوچک است. کاربرد این روش به خاطر اینکه مواد در پوشش قرار داده شده از رطوبت، گرما یا دیگر شرایط حفاظت می‌شوند، افزایش یافته است.

در صنعت غذا تقریبا این تکنیک جدید می‌باشد و مورد مصرف زیادی هم پیدا کرده است. محافظت و نگهداری مواد مغذی و عناصر مفید غذاها و تحویل این مواد در ارگان‌های موردنظر در بدن عاملی است که این روش را در صنایع غذایی پرطرفدار نموده است. این روش برای کپسوله کردن روغن ماهی به منظور افزایش جذب روغن‌های با اسید چرب چند غیر اشباعی استفاده می‌شود و همچنین برای کپسوله کردن باکتری‌های پرویابوتیک در غذاهای لبنی یخ زده استفاده می‌شود. میکروکپسوله کردن از واکنش‌های شیمیایی نامطلوب عناصر مفید غذاها با سایر ترکیبات جلوگیری می‌کند و نیز توانایی کنترل رهاسازی این عناصر را در زمان‌های معین دارا می‌باشد [۱۷]. این تکنیک شامل انتقال جرم و حرکت در مسیری بین هسته (عناصر مغذی) و پوسته (کپسول یا پوشش) می‌باشد. مواد به دام انداخته شده معمولا مایع هستند اما شاید جامد یا گاز هم باشند. این روش باعث کاهش

واکنش ماده هسته با محیط بیرون (نور، اکسیژن و آب) می‌شود.

فرایندهای اصلی ساخت کپسول‌ها شکل عمومی یکسانی دارند: از یک امولسیون روغن در آب یا آب در روغن برای خلق به ترتیب نانوکپسول‌های روغنی و آبی استفاده می‌شود. زمینه کاربرد کپسول‌ها به نوع امولسیون مورد استفاده بستگی دارد. مثلا تزریق وریدی مستلزم استفاده از نانوکپسول‌های آبی است، بنابراین برای ساخت کپسول‌های مذکور بایستی از امولسیون آب در روغن استفاده شود. با این حال، طبیعت مواد کپسوله شده- یعنی آب دوست یا آب گریز بودن آنها- نیز نوع نانوکپسول مورد نیاز را دیکته می‌کند. که ممکن است با کاربرد موردنظر تطابق نداشته باشد. روکش دهی کپسول‌ها با لایه‌های دیگر ممکن است این مغایرت را رفع نماید. برای روکش دهی می‌توان از پروتئین‌ها، پلیمرها و دیگر مواد طبیعی و مصنوعی سود جست و آنها را برحسب خواص گوناگونی به غیر از آب دوستی یا آب گریزی، نظیر چسبندگی، مقاومت در برابر محیط‌های مختلف و غیره انتخاب کرد.

علاوه بر این، می‌توان از کپسول‌های موقتی (یا الگوها) به عنوان شالوده لایه‌های دیگر استفاده کرده و سپس آنها را از بین برد. شرایط ساخت نانوکپسول‌ها بحرانی و حاد نیست و به همین علت از منظر زیست‌شناسی، دارای جذابیت خاصی برای رسانش مواد زیستی حساس می‌باشند.

با توجه به اینکه موادی که به عنوان هسته و در واقع ماده مؤثره انتخاب می‌گردند، بسیار گسترده و متنوع می‌باشند، در این قسمت توجه بیشتر به کاربرد اسانس‌ها و مواد معطر در صنایع مختلف می‌باشند.

میکروکپسولاسیون یکی از زمینه‌های مورد توجه در سیستم‌های کنترل انتقال دارو می‌باشد. میکروکپسوله کردن دارو به «پوشاندن طعم‌های ناخوشایند، رهش طولانی، بهبود پایداری مخلوط‌های دارویی ناسازگار و مقاومت در برابر اکسیداسیون، کاهش فراریت و تبدیل داروی مایع به شکل پودر» کمک می‌کنند.

استفاده از اسانس‌ها علاوه بر خواص دارویی بی‌نظرشان به علت رایحه در صنایع دارویی نیز استفاده می‌شود و کارخانجات تولید کننده سعی بر آن دارند که محصولات تولیدی خود اعم از شربت (به ویژه در حوزهٔ کودکان) از طریق ایجاد عطر و بو بیارایند تا مورد پسند بیماران واقع گردد. از جمله موارد استفاده این تکنیک در صنایع داروسازی به منظور رهش آهسته و پیوستهٔ نفوذ دارو و کنترل تنظیم شده مکان رهایش دارو در بدن می‌باشند[۱۷].

بخش تجربی

مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

مواد شیمیایی وحلال‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل اتانول، سدیم آلژینات، مالتودکسترین و نشاسته از شرکت‌های مرک و سیگما تهیه شدند. همچنین دستگاه‌ها و تجهیزات به کار گرفته شده در این پژوهش شامل فریزدرایر، کلونجر، هموژنایزر فراصوت، سانتریفیوژ و روتاری می‌باشد.

اسانس‌گیری از گیاه نعناء

۲۰۰g گیاه نعناء که در سایه و در شرایط مناسب خشک شده بود، در بالن ۱۰۰mL ریخته وتا نیمه، از آب مقطر پر شد. دستگاه کلونجر روی آن قرار گرفت و هیتر روشن شد. پس از اینکه حدود ۲ ساعت عمل تقطیر انجام گرفت، از هر ۲۰۰ گرم گیاه نعناء حدود ۰/۵ میلی‌لیتر اسانس، تهیه و جداسازی شد. به منظور تعیین اجزای اسانس و تعیین ترکیب درصد آنها، اسانس بدست آمده با دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی GC-MS آنالیز شد.

تهیه پلیمر، انکپسوله کردن اسانس و ارزیابی آن

محلول آبی ۳۰٪ مالتودکسترین

۱. تهیه محلول آبی مالتودکسترین ۳۰٪

۳۰g پلیمر مالتودکسترین توزین و در ۷۰mL آب دیونیزه حل شد. برای انحلال کامل دمای مخلوط به ۴۰°C رسید و حدود یک ساعت همزده شد تا محلول شفاف و یکنواخت حاصل گردد. پس از آن برای تکمیل هیدرولیز، محلول یک شبانه روز در دمای محیط هم زده شد.

۲. افزودن اسانس به محلول پلیمر

محلول پلیمر حاصل از مرحلهٔ قبل توسط دستگاه هموژنایزر یکنواخت شده و به تدریج ۱mL اسانس نعناء تهیه شده در مراحل قبل به آن اضافه شد.عمل یکنواخت کردن (هموژناسیون) به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۵۰۰rpm انجام گرفت.

۳. نکپسوله کردن اسانس به روش هم‌رسوبی

برای تهیهٔ رسوب از محلول آبی پلیمر هموژنیزه، از اتانول به عنوان ضد حلال استفاده شد. ۱۰۰mL اتانول در یک ارلن ۲۵۰mL ریخته شد و با استفاده از همزن مغناطیسی با حداکثر توان همزده شد. محلول آبی پلیمر محتوی اسانس که در مرحلهٔ قبل یکنواخت شده بود، در قیف دکانتور قرار گرفت و قطره قطره طی ۳۰ دقیقه به اتانول اضافه و رسوب‌های ریز پلیمر تشکیل گردید. پس از کامل شدن رسوب گیری، رسوب حاصل صاف و جهت ارزیابی خواص در یخچال نگهداری شد.

۴. اندازه گیری مقدار کل اسانس بارگیری شده

رسوب تهیه شده در مرحلهٔ قبل در دستگاه کلونجر قرار گرفت و حدود ۳ ساعت تقطیر انجام شد تا فرصت کافی برای خروج اسانس از کپسول‌های پلیمری در نظر گرفته شود. در پایان حدود ۰/۵mL اسانس به دست آمد.

تمام مراحل فوق برای محلول آبی مالتودکسترین ۲۰٪ تکرار شد. همچنین تمام مراحل برای محلول آبی نشاسته ۱٪ تکرار شد، با این تفاوت که به جای روش همرسوبی از روش فریزدرایر برای رسوب‌گیری استفاده گردید.

۵. اندازه گیری میزان ماندگاری اسانس

جهت ارزیابی میزان ماندگاری اسانس مقدار ۱mL اسانس که با ۱g نشاسته کپسوله شده بود به طور کامل خشک و توزین شد. سپس برای ارزیابی میزان نگه داری اسانس در دمای محیط در دسیکاتور قرار گرفت و در فواصل زمانی۲، ۷و ۱۴ روز مجددا توزین و نتایج به عنوان میزان نگه داری اسانس در نظر گرفته شد که در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- ارزیابی میزان ماندگاری اسانس پس از دو هفته

	وزن اولیه	پس از ۲ روز	پس از ۷ روز	پس از ۱۴ روز
وزن پلیمر و اسانس	۰/۵۷۸	۰/۴۵۰	۰/۳۴۷	۰/۲۰۷
وزن اسانس	۰/۳۷۸	۰/۲۵۰	۰/۱۴۷	۰/۰۰۷

محلول آبی نشاسته۲٪

۱. تهیه محلول آبی نشاسته۲٪

۲g نشاسته توزین شده و در ۹۸ml آب دیونیزه حل شد. برای انحلال کامل دمای مخلوط به ۸۰°C رسید و حدود یک ساعت هم زده شد. برای تکمیل هیدرولیز، محلول یک شبانه روز در دمای محیط هم زده شد.

۲. محلول پلیمر حاصل از مرحلهٔ قبل

این محلول توسط دستگاه هموژنایزر یکنواخت شده و به تدریج ۱mL اسانس نعناء تهیه شده در مراحل قبل به آن اضافه شد.عمل یکنواخت کردن (هموژناسیون) به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۵۰۰rpm انجام گرفت.

۳. انکپسوله کردن اسانس به روش هم رسوبی

برای تهیهٔ رسوب از محلول آبی پلیمر هموژنیزه، از اتانول به عنوان ضد حلال استفاده شد. ۱۰۰ml اتانول در یک ارلن ۲۵۰mL ریخته شد و با استفاده از همزن مغناطیسی با حداکثر توان هم زده شد. محلول آبی پلیمر محتوی اسانس که در مرحلهٔ قبل یکنواخت شده بود، در قیف دکانتور قرار گرفت و قطره قطره طی ۳۰ دقیقه به اتانول اضافه شد و رسوب‌های ریز پلیمر تشکیل گردید. پس از تکمیل شدن رسوب گیری، رسوب حاصل صاف و جهت ارزیابی خواص در یخچال نگه داری شد.

۴. اندازه گیری مقدار کل اسانس بارگیری شده

رسوب تهیه شده در مرحلهٔ قبل در دستگاه کلونجر قرار گرفت و حدود ۳ ساعت تقطیر انجام شد تا فرصت کافی برای خروج اسانس از کپسول‌های پلیمری در نظر گرفته شود. در پایان حدود ۰/۸mL اسانس به دست آمد.

محلول آبی سدیم آلژینات٪۲

۱. تهیه محلول آبی سدیم آلژینات ۲٪

۲g پلیمر سدیم آلژینات توزین شده و در ۹۸ml آب دیونیزه حل شد. برای انحلال کامل دمای مخلوط را به $60^{o}C$ رسید و حدود یک ساعت هم زده شد. تا محلول شفاف و یکنواخت حاصل شد. برای تکمیل هیدرولیز، محلول یک شبانه روز در دمای محیط هم زده شد.

۲. افزودن اسانس به محلول پلیمر

در این مرحله ۲۰ میلی لیتر از محلول تهیه شده، از قسمت قبل برداشته و با دستگاه هموژنایزر یکنواخت شد. به تدریج ۰/۵ میلی لیتر اسانس تهیه شده در مرحله قبل به این ۲۰mL اضافه شد. عمل یکنواخت کردن (هموژناسیون) به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۵۰۰rpm انجام گرفت.

۳. انکپسوله کردن اسانس به روش فریزدرایر

برای تهیه پودر از محلول آبی پلیمر هموژن شده، محلول به دمای $-70^{o}C$ فریزر برای مدت یک شبانه روز انتقال یافت و بعد در دستگاه فریزدرایر قرار گرفت. این عمل حدود ۲۴ ساعت به طول انجامید. پودر تهیه شده در این قسمت برای SEM فرستاده شد.

۴. اندازه گیری مقدار کل اسانس بارگیری شده

پودر تهیه شده در مرحلهٔ قبل در دستگاه کلونجر قرار گرفت و حدود ۲ ساعت به همراه ۵۰ میلی لیتر آب تقطیر انجام شد. در پایان حدود ۰/۳ میلی لیتر اسانس جدا شد.

۵. اندازه گیری میزان ماندگاری اسانس

جهت ارزیابی میزان ماندگاری اسانس مقدار ۰/۶۸۵ گرم از اسانس کپسوله شده بود به طور کامل خشک و توزین شد. سپس برای ارزیابی میزان نگه داری اسانس در دمای محیط در دسیکاتور قرار گرفت و در فواصل زمانی۲، ۷و ۱۴ روز مجددا توزین و نتایج به عنوان میزان نگه داری اسانس در نظر گرفته شد که در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- ارزیابی میزان ماندگاری اسانس پس از دو هفته

	وزن اولیه	پس از ۲ روز	پس از ۷ روز	پس از ۱۴ روز
وزن پلیمر و اسانس	۰/۶۸۵	۰/۵۴۵	۰/۴۱۸	۰/۴۰۳
وزن اسانس	۰/۲۸۵	۰/۱۴۵	۰/۰۱۸	۰/۰۰۳

برای بررسی انکپسوله کردن از طریق روش هم رسوبی یک بار دیگر آزمایش سدیم آلژینات انجام شد.

محلول آبی سدیم آلژینات٪۲

۱. مرحله ۱با۱gr

در این مرحله پلیمر سدیم آلژینات و ۹۹ml آب دیونیزه تکرار شد.

۲. افزودن اسانس به محلول پلیمر

در این مرحله محلول پلیمر حاصل از مرحلهٔ قبل توسط دستگاه هموژنایزر یکنواخت شده و به تدریج ۱mL اسانس نعناء تهیه شده در مراحل قبل به آن اضافه شد.عمل یکنواخت کردن به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۵۰۰rpm انجام گرفت.

۳. انکپسوله کردن اسانس به روش هم رسوبی

برای تهیهٔ رسوب از محلول آبی پلیمر هموژنیزه شده، از اتانول به عنوان ضد حلال استفاده شد. ۱۰۰ میلی لیتر اتانول در یک ارلن ۲۵۰mL ریخته شد و با استفاده از همزن مغناطیسی با حداکثر توان هم زده شد. محلول آبی پلیمر محتوی اسانس که در مرحلهٔ قبل یکنواخت شده بود، در قیف دکانتور قرار گرفت و قطره قطره طی ۳۰ دقیقه به اتانول اضافه و رسوب‌های پنبه‌ای شکل تشکیل گردید. پس از تکمیل رسوب گیری، رسوب حاصل صاف کرده و در دسیکاتور قرار گرفت تا کاملا خشک شد.

۴. اندازه گیری مقدار ماندگاری اسانس

مقدار رسوب خشک شده در فواصل زمانی ۲، ۷ و ۱۴ روز توزین و نتایج میزان نگه داری اسانس در نظر گرفته شد که در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳- ارزیابی میزان ماندگاری اسانس پس از دو هفته

	وزن اولیه	پس از ۲ روز	پس از ۷ روز	پس از ۱۴ روز
وزن پلیمر و اسانس	۱/۹۳۵	۱/۵۴۵	۱/۳۱۸	۱/۰۰۳
وزن اسانس	۰/۹۳۵	۰/۵۴۵	۰/۳۱۸	۰/۰۰۳

بحث و نتیجه‌گیری

ارزیابی ترکیب اجزای اسانس با استفاده از دستگاه GC-MS

جهت تعیین اجزای اسانس از دستگاه GC/MS، استفاده شد که بر اساس زمان‌های بازداری و با بررسی و مطالعه کروماتوگرام و طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی دارای طیف سنج جرمی، ترکیبات موجود در اسانس نعناء بدست آمد. با مطالعه این داده‌ها و بررسی درصد ترکیبات حاصل از عصاره نعناء می‌توان گفت که به ترتیب بیشترین درصد را ۲-سیکلوهگزن-۱-اون(۷۷/۳۹٪)، ۱و۸-سینئول(۶/۱۹٪) و سیکلوهگزانون(۴/۲۵٪) دارند.

مقادیر سایر ترکیبات موجود نیز بدین شکل می‌باشدکه در جدول ۴ همراه با زمان‌های بازداری نشان داده شده است.

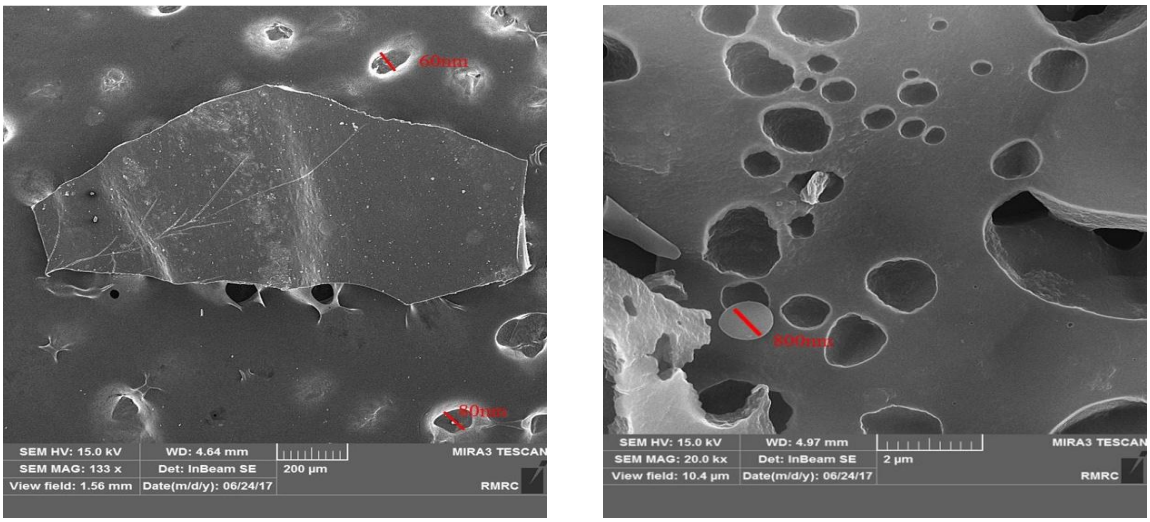
جدول ٤- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، میزان آن و شاخص بازداری

شماره (ترتیب خروج)	نام ترکیب	مقدار (درصد)	زمان بازداری (دقیقه)
۱	Alpha-Pinene	۰/۳۴	۶/۸۳
۲	Camphene	۰/۱۶	۷/۲۸
۳	Sabinene	۰/۲۱	۸/۰۰
۴	beta-Pinene	۰/۴۹	۸/۱۳
۵	beta-Myrcene	۰/۱۰	۸/۵۱
۶	1,8-Cineole	۶/۱۹	۱۰/۰۶
۷	Borneol	۱/۰۶	۱۵/۵۶
۸	3-Cyclohexen-1-ol	۰/۶۱	۱۵/۸۹
۹	Cyclohexanone	۴/۲۵	۱۶/۸۷
۱۰	Dihydrocarvone	۱/۵۳	۱۷/۱۰
۱۱	Pulegone	۱/۸۰	۱۸/۵۷
۱۲	2-Cyclohexen-1-one	۷۷/۳۹	۱۹/۸۹
۱۳	Dihydrocarvyl acetate	۰/۵۱	۲۲/۲۹
۱۴	2-Cyclohexen-1-one	۲/۰۴	۲۳/۱۵
۱۵	p-Mentha-6,8-dien-2-ol	۱/۱۸	۲۳/۷۷
۱۶	beta-Bourbonene	۰/۱۱	۲۴/۵۲
۱۷	trans-Caryophyllene	۰/۷۵	۲۵/۹۶
۱۸	alpha-Humulene	۰/۲۱	۲۷/۳۱
۱۹	Caryophyllene oxide	۰/۷۲	۳۵/۵۱
۲۰	Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene	۰/۳۴	۳۴/۷۳

ارزیابی ابعاد میکروسکوپی کپسول‌های تشکیل شده

برای تعیین اندازه کپسول‌های تشکیل شده، به

عنوان نمونه از کپسول‌های تشکیل‌شده سدیم‌آلژینات با دو روش همرسوبی و فریز درایر استفاده شد. نتایج حاصل، بیانگر تشکیل کپسول، هم با ابعاد نانو و هم با ابعاد میکرو می‌باشد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM) میکروکپسول‌های سدیم آلژینات در شکل ۱ آورده شده است.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی(SEM) کپسول‌های سدیم آلژینات حاوی اسانس

ارزیابی میزان اسانس بارگیری شده

ارزیابی میزان اسانس بارگیری‌شده در روش همرسوبی

برای تعیین مقدار کل اسانس بارگیری شده، از سه پلیمرمالتودکسترین، نشاسته و سدیم آلژینات با درصدهای مناسب (مطابق جدول ۵) استفاده شد. نتایج بیانگر این مطلب است که درصد بیشترین میزان اسانس مربوط به نشاسته ۲٪ وسدیم آلژینات ۲٪ است.

جدول ۵- نتایج انکپسوله‌کردن اسانس با پلیمرهای مختلف به روش هم‌رسوبی

شماره آزمایش	نام پلیمر	درصد وزنی محلول پلیمر	دما(°C)	مقدار اسانس تزریق‌شده (mL)	مقدار کل اسانس بارگیری‌شده (mL)	درصد کل اسانس بارگیری‌شده
۱	مالتو دکسترین	۲۰	۵۰	۱	۰/۲	۲۰
۲	مالتو دکسترین	۳۰	۵۰	۱	۰/۶	۶۰
۳	نشاسته	۱	۸۰	۱	۰/۴	۴۰
۴	نشاسته	۲	۸۰	۱	۰/۸	۸۰
۵	سدیم آلژینات	۱	۶۰	۱	۰/۳	۳۰
۶	سدیم آلژینات	۲	۶۰	۱	۰/۸	۸۰

ارزیابی میزان اسانس بارگیری شده در روش فریز درایر

برای تعیین مقدار کل اسانس بارگیری شده، از سه پلیمرمالتودکسترین، نشاسته و سدیم آلژینات با درصدهای مناسب (مطابق جدول ۶) استفاده شد. نتایج بیانگر این مطلب است که درصد بیشترین میزان اسانس مربوط به نشاسته ی ۲٪ وسدیم آلژینات ۲٪ است.

جدول ۶- نتایج انکپسوله‌کردن اسانس با پلیمرهای مختلف با فریز درایر

شماره آزمایش	نام پلیمر	درصد وزنی محلول پلیمر	دما(°C)	مقدار اسانس تزریق‌شده (mL)	مقدار کل اسانس بارگیری‌شده (mL)	درصد کل اسانس بارگیری‌شده
۱	مالتو دکسترین	۲۰	۵۰	۱	۰/۲	۲۰
۲	مالتو دکسترین	۳۰	۵۰	۱	۰/۴	۴۰
۳	نشاسته	۱	۸۰	۱	۰/۴	۴۰
۴	نشاسته	۲	۸۰	۱	۰/۷	۷۰
۵	سدیم آلژینات	۱	۶۰	۱	۰/۳	۳۰
۶	سدیم آلژینات	۲	۶۰	۱	۰/۶	۶۰

ارزیابی رهایش اسانس در مدت زمان دو هفته

همان‌طور که در فصل دوم اشاره شد، برای ارزیابی میزان رهایش اسانس در طول زمان، به عنوان نمونه کپسول‌های تهیه شده با نشاسته یک درصد (با روش فریز درایر)، سدیم آلژینات یک درصد (با روش هم‌رسوبی) و سدیم آلژینات دو درصد(با روش فریز درایر) پس از خشک شدن در معرض رهایش معمولی قرار گرفتند. نتایج حاصل از رهایش که در جدول ۷ آمده است، نشان می‌دهد که کپسول‌های تهیه شده از نشاسته کمترین مقدار رهایش و بیشترین نگهداری اسانس تا یک هفته را دارند (۳۸/۸۹ درصد اسانس در کپسول‌ها باقی مانده است.). کپسول‌های سدیم آلژینات یک درصد از دو درصد آن رهایش کمتری دارد. هر سه پلیمر پس از دو هفته تقریبا تمام اسانس را آزاد می‌کنند.

جدول ۷- میزان رهایش اسانس در شرایط جو پس از ۲، ۷ و ۱۴ روز

ردیف	نوع و درصد پلیمر	روش تهیه کپسول از محلول	مقدار اسانس بارگیری‌شده (mL)	درصد رهایش پس از ۲ روز	درصد رهایش پس از ۷ روز	درصد رهایش پس از ۱۴ روز
۱	نشاسته ۱٪	فریز درایر	۰/۳۷۸	۳۳/۸۶	۶۱/۱۱	۹۸/۱۵
۲	سدیم آلژینات ۱٪	هم‌رسوبی	۰/۲۸۵	۴۱/۷۱	۶۵/۹۸	۹۹/۶۷
۳	سدیم آلژینات ۲٪	فریز درایر	۰/۹۳۵	۴۹/۱۲	۹۳/۶۸	۹۸/۹۴

نتیجه‌گیری

در این تحقیق با استفاده از پلیمرهای نشاسته، سدیم آلژینات و مالتودکسترین محلول‌های مناسب آبی تهیه شد و سعی شد پس از همگن شدن محلول با استفاده از هموژنایزر فراصوت و افزایش اسانس نعناء، کپسول‌های پلیمری با روش‌های هم‌رسوبی و فریز درایر تهیه گردد. این در حالی است که در بیشتر پژوهش‌های قبلی غالبا فقط از یک نوع پلیمر یا فقط از طریق یک روش کپسول‌ها تهیه شده‌اند[۱۸و۱۹].

در ابتدا گیاه نعناء تهیه و در شرایط مناسب خشک گردید. تهیه اسانس نعنا، با دستگاه کلونجر در آزمایشگاه انجام و ترکیب درصد اجزای آن با دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی-GC) (MS تعیین شد. بررسی درصد ترکیبات حاصل از عصاره نعناءنشان می‌دهد که بیشترین درصد را به ترتیب ۲-سیکلوهگزن-۱-اون(۷۷/۳۹٪)، ۱و۸-سینئول(۶/۱۹٪) و سیکلوهگزانون(۴/۲۵٪) دارند. سپس اسانس نعنای تهیه شده با محلول‌های آبی سه پلیمر با درصدهای مختلف مخلوط و همگن سازی

انجام شد. تهیه کپسول از مخلوط پلیمر و اسانس برای هر سه پلیمر با دو روش هم‌رسوبی و فریزدرایر انجام و ارزیابی اندازه کپسول‌ها که با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) انجام شد، نشان داد که هم نانو و هم میکروکپسول تشکیل شده است. به نظر می‌رسد، کپسول‌های حاصل از روش هم‌رسوبی در ابعاد میکرو و کپسول‌های تشکیل شده به روش فریزدرایر هم در اندازه‌های میکرو و هم نانو تشکیل شده‌اند. تعیین میزان کل اسانس بارگیری شده بیانگر این مطلب است که بیشترین بارگیری اسانس در روش هم‌رسوبی با نشاسته ۲٪ و سدیم آلژینات۲٪ انجام شده است (به میزان ۸۰٪). همچنین در روش فریز درایر بیشترین مقدار بارگیری اسانس توسط نشاسته ۲٪ اتفاق افتاده است(به میزان ۷۰٪). ارزیابی میزان رهایش اسانس نشان می‌دهد که کپسول‌های تهیه شده از نشاسته کمترین مقدار رهایش و بیشترین نگهداری اسانس تا یک هفته را دارند (۳۸/۸۹ درصد اسانس در کپسول‌ها باقی مانده است.). همچنین کپسول‌های سدیم آلژینات یک درصد از دو درصد آن رهایش کمتری دارند. هر سه پلیمر پس از دو هفته تقریبا تمام اسانس را آزاد می‌کنند.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم انجام شده است.

منابع و مآخذ

1. Bakkali, F., Averbeck,S.,Averbeck,D.,Idaomar ,M., Biological effects of essential oils , A review, *Food Chem Toxicol.* 2008, 46, 446–75.
2. Chami, N., et al, 2004, Antifungal treatment withcarvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats, *Braz J Infect Dis.* 2008, 8, 217–26.
3. Tian, J., Ban, X., Zeng, H., et al., Chemical composition andantifungal activity of essential oil from Cicuta virosa L, *Int J Food Microbiol.* 2011, 145, 464–70.
4. Boukhris, M., Bouaziz ,M., Feki, I., et al., Hypoglycemic and antioxidant effects of leaf essential oil of Pelargonium graveolens L'He´r., in alloxan induced diabetic rats., *Lipids Health Dis.* 2012, 11, 81.
5. Mahapatra ,SK., Chakraborty ,SP., Das, S., Methanol extract of Ocimum gratissimum protects murine peritoneal macrophages from nicotine toxicity by decreasing free radical generation, lipid and protein damage and enhances antioxidant protection. *Oxid Med Cell Longev*. 2009, 2, 222–30.
6. Esmaeili, A., Biological activities of Eremostachys laevigata Bunge, grown in Iran,Pak, *J Pharm Sci.* 2012, 25, 803–8.
7. Jaganathan ,SK., Mazumdar, A., Mondhe, D., Mandal, M., Apoptotic effect of eugenol in human colon cancer cell lines, *Cell Biol Int.* 2011, 35, 607–15.
8. Cristani, M., DArrigo, M., Mandalari ,G., et al., Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity, *J Agric Food Chem.* 2007, 55, 6300–8.

۹. محمودی، بهارک،آشنایی با اسانس‌های معطرگیاهی (آروماتروپی)، انتشارات نوردانش،۱۳۸۱.

۱۰. صمصام شریعت، عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها، انتشارات مانی، ۱۳۷۱.

۱۱. امید بیگی، رضا، رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی، انتشارات طراحان نشر، جلد اول، چاپ دوم، ۱۳۷۹.

12. Langer, R. S., and Wise, D. L., , *"Medical Application of Controlled release"*, Volume I,II, CRC, Boca Raton, Florida, 1984.
13. Trease, G, E., *Pharmacy in History*, Baillière, Tindall and Cox, London, 1964.
14. Riddle, JM., Quid ,Pro, Quo, *Studies in the History of Drugs*. variorum Great Britain, 1992.
15. Johnson, P., and. Lloyd-Jones, J.G., *Drug Delivery Systems, Fundamentals and Techniques.* VCH,Germany, 1987.
16. Fan, L, T., Singh, S. K., *"Controlled Release, A Quantitative Treatment"*, Springer-Verlag, Berlin Heidenberg, 1989.
17. Ziani, K., Fang, Y., McClements, D. J. *Food Chem*, 2012, 134, No. 2.
18. Baranauskiene, R., Zukauskaite, J., Bylaite, E., and Venskutonis, P. R. *XIVth International Workshop on Bioencapsulation, lausanne*, CH. Oct.6-7, 2006.
19. Koo, S. Y., Cha, K. H., Song, D. G., Chung, D., and Pan, C. H. *International Journal of Food Science and Technology*, 2014, 49, 733–739.