Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 49, No 1, Spring & Summer 2018 (111-120)
DOI: 10.22059/ijpps.2018.238165.1006795

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۷ (ص ۱۲۰-۱۱۱)

تأثیر حشره‌کشی فرمولاسیون میکروکپسول اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر شپشهٔ آرد *Tribolium confusum*

سید محمد احسائی[۱]، خلیل طالبی جهرمی[۲*]، قاسم عموعابدینی[۳] و ماریا خوزه کوسر[٤]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استاد، گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. دانشیار، دانشکدهٔ مهندسی شیمی، پردیس دانشکده‌های فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران و مرکز پژوهشی فناوری‌های نوین در مهندسی علوم زیستی دانشگاه تهران، گروه مهندسی شیمی، دانشکدهٔ فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
٤. استاد، گروه تکنولوژی فشار بالا، گروه مهندسی شیمی و فناوری زیستی، دانشگاه وایادولید، وایادولید، اسپانیا
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/٤/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱۱/۱٦)

چکیده

شپشهٔ آرد یکی از آفات مهم محصولات انباری در سراسر جهان است. در پژوهش حاضر، ابتدا اسانس اندام‌های هوایی گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) میکروکپسوله‌شده و پس از بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، سمّیت تدخینی آن روی حشرات بالغ شپشهٔ آرد *Tribolium confusum* ارزیابی شد. کلیه زیست‌سنجی‌ها در دمای ۳±۲۷ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و تاریکی انجام شد. تأثیر حشره‌کشی اسانس خالص و اسانس میکروکپسوله‌شدهٔ رزماری در غلظت‌های ۱۱۵/۸٤، ۱٤۲/۲٤، ۱٦۳/۲۸، ۱۸۷/۵۲ و ۲۰۳/٤٤ میکرولیتر اسانس بر لیتر هوا در مدت ۲٤ و ۷۲ ساعت تیمار بررسی شد. نتایج نشان داد، سمّیت تدخینی اسانس میکروکپسول به‌طور معنی‌داری کمتر از اسانس خالص است. نرخ مرگ‌ومیر اسانس خالص در غلظت ۲۰۳/٤٤ میکرولیتر اسانس بر لیتر هوا ۲٤ ساعت پس از تیمار به ۷٦/٦ درصد رسید و ۷۲ ساعت پس از تیمار به ۸٦/٦ درصد افزایش یافت. درحالی‌که اسانس میکروکپسول در همین غلظت در ۲٤ و ۷۲ ساعت تیمار به ترتیب موجب مرگ ٤٤/۹ و ٤۸/۳ درصد از حشرات تیمارشده بود. نتایج این پژوهش نشان داد، روش میکروکپسوله کردن می‌تواند راهبردی مناسب به‌منظور دستیابی به فرمولاسیونی (ترکیب‌بندی) با خاصیت رهایش کنترل (مهار)شده برای اسانس رزماری به‌عنوان حشره‌کشی گیاهی باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، میکروکپسول.

Insecticidal effect of microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on the *confused flour beetle, Tribolium confusum*

Seyed Mohammad Ahsaei[1], Khalil Talebi Jahromi[2*], Ghassem Amoabediny[3] and María José Cocero[4]
1, 2. Ph. D. Candidate and Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Associate Professor, School of Chemical Engineering, College of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran and Department of Biomedical Engineering, Research Center for New Technologies in Life Science Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Professor, High Pressure Processes Group, Department of Chemical Engineering and Environmental Technology, University of Valladolid, Valladolid, Spain
(Received: Jul. 20, 2017 - Accepted: Feb. 5, 2018)

ABSTRACT

The confused flour beetle is an important stored product pest in the worldwide. At first, the essential oil of the aerial parts of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) was microencapsulated and then its physicochemical properties and fumigant toxicity were investigated on *Tribolium confusum*, in this study. Insecticidal bioassays were conducted at 27±3°C temperature and 70±5% relative humidity in the dark. Insecticidal effect of the non-formulated and microcapsules of rosemary essential oil was investigated at 115.84, 142.24, 163.28, 187.52 and 203.44 µl/L air after 24 and 72 h exposure time. Our results demonstrated that the fumigant toxicity of microencapsulated essential oil was significantly lower than the non-formulated essential oil. The mortality rate of non-formulated essential oil at the concentration of 203.44 µl/L air reached 76.6 % after 24 h exposure time and increased to 86.6 % after 72 h exposure time. While the mortality rate of microencapsulated essential oil at the same concentration reached 44.9% and 48.3% after 24 and 72 h exposure time, respectively. Our results revealed that the microencapsulation procedure could be a suitable strategy to obtain a controlled release formulation of *R. officinalis* essential oil as a botanical insecticide.

Keywords: Essential oil, microcapsule, rosemary (*Rosmarinus officinalis*).

* Corresponding author E-mail: khtalebi@ut.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

محصولات انباری در زمان نگهداری در انبار متحمل خسارت‌های کمی و کیفی ناشی از آلودگی به گروه‌های متنوعی از آفات انباری می‌شوند. شپشهٔ آرد *Tribolium confusum Jacquelin du Val* (Col.:Tenebrionidae) از مهم‌ترین آفات آرد و مواد نشاسته‌ای به شمار می‌رود، ولی از آرد، بلغور، سبوس و دانه‌های بادام‌زمینی، کرچک، کنجد، کتان، کاکائو، بذرهای مختلف و میوه‌های خشک نیز تغذیه می‌کند (Bagheri Zenooz, 2011). در حال حاضر از حشره‌کش‌های فسفرهٔ آلی، پایروتروئیدها به همراه پاپرونایل بوتوکساید (به‌عنوان سینرژیست) و فومیگانت‌ها (آفت‌کش‌های تدخینی) از جمله فسفین برای کنترل آفات انباری استفاده می‌شود (Kljajic & Peric, 2006; Islam *et al.*, 2010). استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی رایج برای کنترل (مهار) آفات انباری با توجه به تأثیر سوء این ترکیبات بر سلامت انسان و دام، خالی از اشکال نیست. اسانس‌های گیاهی از جمله آفت‌کش‌های طبیعی هستند که برخی از آن‌ها اثر حشره‌کشی مطلوبی دارند و افزون بر منشأ طبیعی، سمّیت کم روی پستانداران، دسترسی محلی، تخریب‌پذیری سریع و بازگشت به محیط باعث افزایش تمایل استفاده از آن‌ها به‌عنوان حشره‌کش شده است (Moretti *et al.*, 2002). با این حال عیب‌هایی از جمله حلالیت کم در آب، تأثیر کُند و فشار بخار بالا باعث پایداری کم آن‌ها شده و کاربرد اسانس‌های گیاهی را محدود کرده است (Moretti *et al.*, 2002). در طی دهه‌های اخیر کپسوله کردن ترکیبات به شکل جامد، فرآیندی است که بسیار مورد توجه قرار گرفته و کپسوله کردن اسانس‌های گیاهی به‌منظور کاربرد در مدیریت آفات اهمیت ویژه‌ای دارد. هدف اصلی از میکروکپسوله کردن به‌صورت ذرات جامد، به دام انداختن اسانس‌های گیاهی فرّار و ناپایدار درون حامل‌های جامد است و موجب کاهش تبخیر، کاربرد آسان‌تر و رهایش کنترل‌شدهٔ فرمولاسیون (ترکیب‌بندی) در دورهٔ انبارداری می‌شود. اسپری درایینگ[1] یا خشک‌کردن با اسپری، روشی نسبتاً ساده و از لحاظ اقتصادی برای تهیهٔ میکروکپسول اسانس‌های گیاهی فرّار مقرون به‌صرفه است (Yoshii *et al.*, 2001; Soottitantawat *et al.*, 2005a; Soottitantawat *et al.*, 2005b). محققان با استفاده از روش میکرو و نانوکپسوله کردن اسانس‌های گیاهی، اقدام به سنجش میزان تأثیر این فرمولاسیون‌ها نسبت به فرم فرموله نشده به‌منظور کنترل بهتر و طولانی‌تر آفات انباری نموده‌اند. Lopez *et al.* (2014)، تأثیر حشره‌کشی اسانس گیاهی میکروکپسول *Schinus molle* بر حشرهٔ *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) به‌عنوان آفتی بهداشتی را بررسی کردند. در این بررسی صمغ عربی و مالتودکسترین به‌عنوان حامل با نسبت‌های متفاوت برای ساخت میکروکپسول اسانس یادشده استفاده شد. نتایج آنان نشان داد، رهایش اسانس موجود در میکروکپسول‌ها آهسته‌تر از اسانس خالص بوده و این روش را به‌عنوان روشی مناسب برای تهیهٔ فرمولاسیون آهسته‌رها معرفی کردند. درحالی‌که زیست‌سنجی‌های انجام‌شده توسط Ziaee *et al.* (2014a) نشان داد، اسانس نانوکپسوله‌شدهٔ زنیان نسبت به اسانس خالص سمّیت تدخینی بیشتری برای دو آفت شپشهٔ گندم و شپشهٔ آرد در کوتاه‌مدت دارد. در پژوهش یادشده، اسانس گیاهی زنیان (۲ و ۶ درصد) درون فاز (حالت) ژل میریستیک اسید و کیتوزان بارگذاری شد. تاکنون هیچ‌گونه بررسی روی تأثیر حشره‌کشی فرمولاسیون‌های میکروکپسول جامد انجام نشده است. بنابراین در این تحقیق، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و تأثیر حشره‌کشی اسانس خالص رزماری و اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) میکروکپسوله‌شده به روش تدخینی روی حشرات بالغ شپشهٔ آرد *Tribolium confusum* بررسی و مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

جمعیتی از شپشهٔ آرد که در آزمایشگاه سم‌شناسی دانشگاه تهران موجود بود، جداسازی شد و درون جعبه‌های پلاستیکی به ابعاد ۴۵×۳۰ سانتی‌متری که حاوی آرد گندم همراه با مخمر نان (به نسبت ۱۰:۱) بودند، درون انکوباتور (اتاقک رشد) پرورش داده شدند. جعبه‌ها در دمای ۳±۲۷ درجهٔ سلسیوس، رطوبت

1. Spray drying

Archive of SID

www.SID.ir

نسبی ۵±۷۰ درصد و تاریکی قرار داده شدند. آرد گندم مورد تغذیهٔ ماهانه یک‌بار تعویض شد تا شرایط برای تداوم زادوولد حشرات فراهم شود.

اسانس گیاهی و مادهٔ پلیمری

اسانس رزماری با استفاده از اندام‌های هوایی گیاه و به روش تقطیر به مدت ۳ ساعت توسط دستگاه کلونجر (اسانس‌گیر) به‌دست آمد. آبگیری اسانس گردآوری‌شده با کمک سولفات سدیم انجام شد. اسانس حاصل در ظروف شیشه‌ای تیره‌رنگ دردار با پوشش آلومینیومی درون یخچال در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. نشاستهٔ به‌کاررفته در آزمایش‌ها از شرکت اینگردیون (Hamburg, Germany) خریداری شد.

آماده‌سازی امولسیون

امولسیون (دروایهٔ) روغن در آب توسط فرآیندی دو مرحله‌ای با روش Varona (2011) با اندکی تغییر تهیه شد. ابتدا با انحلال نشاسته در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر (Milli-Q, Millipore) در دمای ۵۰ درجهٔ سلسیوس با کمک دستگاه همزن مغناطیسی (IKA,staufen, Germany)، مرحلهٔ اول امولسیون تهیه شد. در مرحلهٔ بعد، اسانس (۴ میلی‌لیتر) به‌آرامی به محلول تهیه‌شده در شرایط هم زدن مداوم اضافه شد. نسبت جرمی نشاسته به اسانس کاربردی سه‌به‌یک بود. امولسیون تهیه‌شده در مرحلهٔ بعد به دستگاه Rotor-Stator (IKA tabor pilot) تزریق و در طی ۴ دقیقه امولسیون‌سازی انجام شد. این دستگاه توسط اتیلن گلیکول خنک شده و باعث می‌شود تا گرمای تولیدی دستگاه از بین رود (Varona, 2011).

آماده‌سازی اسانس میکروکپسول‌شدهٔ جامد با استفاده از روش خشک‌کردن با اسپری

پس از تهیهٔ امولسیون، نمونه‌ها به دستگاه اسپری درایر وارد شدند. دمای ورودی دستگاه ۱۴۰ درجهٔ سلسیوس و دمای خروجی ۸۵ درجهٔ سلسیوس بود. پودر حاصل را به ظرفی سربسته و پوشیده شده با کاغذ آلومینیومی وارد نموده تا نمونه از تأثیر نور و اکسیژن محافظت شود و در دمای ۵ درجهٔ سلسیوس به‌منظور جلوگیری از تأثیر دما نگهداری شد (Varona, 2011).

تعیین ویژگی‌های میکروذرات تشکیل‌شده

ارزیابی پراکنش اندازهٔ ذرات فرمولاسیون

پراکنش اندازهٔ قطره‌های امولسیون و ذرات فرمولاسیون جامد تهیه‌شده از اسانس رزماری توسط روش لیزر دیفراکشن با استفاده از دستگاه Mastersizer 2000 (Malvern) تعیین شد. اندازهٔ نمونهٔ امولسیون درون آب و اندازهٔ ذرات جامد با استفاده از جریان هوایی ۰/۲ مگاپاسکال برآورد شد. اندازه‌گیری‌ها با سه تکرار انجام شد. برای اندازه‌گیری قطر ذرات برای کاربردهای مختلف انواع قطر میانگین تعریف شده است. قطر متوسط ذرات بر اساس سطح به حجم (شاخص $d_{3,2}$) و توزیع اندازهٔ ذرات و پهنای آن (شاخص Span) محاسبه شد. میانگین اندازهٔ قطره‌های امولسیون و ذرات جامد با استفاده از قطر میانگین ساتر $d_{3,2}$ (میکرومتر) و با استفاده از رابطهٔ (۱) محاسبه شد (Mc Clements, 2005).

$$D32 = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2 \qquad (۱)$$

که n_i تعداد ذرات با قطر d_i است. اسپان نیز با استفاده از رابطهٔ (۲) محاسبه شد (Karimi & Mohammadifar, 2014).

$$Span = \frac{[d(0.9) - d(0.1)]}{D(0.5)} \qquad (۲)$$

d(0.1)، d(0.5) و d(0.9) بیانگر قطری هستند که حجم ذرات کوچک‌تر از آن‌ها، به‌ترتیب ۱۰درصد، ۵۰درصد و ۹۰درصد حجم کل ذرات موجود در فرمولاسیون را تشکیل می‌دهد. اندازهٔ ذرات امولسیون، ۱۵ و ۴۰ روز پس از ساخت به‌منظور ارزیابی پایداری امولسیون تعیین شد. اندازهٔ ذرات جامد نیز پس از تهیه برآورد شد.

بررسی مورفولوژی میکروکپسول‌ها

شکل ظاهری و اندازهٔ میکروکپسول‌های جامد حاوی اسانس رزماری توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل (KYKY-EM3200, Beijing, China) بررسی شد. از سطح نمونه‌ها پس از پوشش‌دهی با طلا، با استفاده از ولتاژ شتاب‌دهندهٔ ۲۶ کیلوولت تصویربرداری شد.

Archive of SID

www.SID.ir

تعیین اسانس کپسوله‌شده و بازدهی خشک‌سازی (Drying yield)

به‌منظور تعیین تأثیر فرآیند کپسوله کردن دو نوع بررسی انجام گرفت: ۱- بازدهی خشک‌سازی ۲- مقدار اسانس کپسوله‌شده. بازدهٔ خشک‌سازی فرمولاسیون میکروکپسول جامد پس از تهیه توسط روش خشک کردن با اسپری بر اساس رابطهٔ (۳) به دست آمد (Turasan *et al.*, 2015):

$$\text{بازده خشک‌سازی} = \frac{\text{جرم ذرات جامد (گرم)}}{\text{جرم اسانس مصرفی (گرم)} + \text{جرم نشاسته مصرفی (گرم)}} \times 100 \quad (۳)$$

$$\frac{\text{جرم اسانس مصرفی (گرم)} + \text{جرم نشاسته مصرفی (گرم)} \times \text{حجم امولسیون کاربردی (میلی‌لیتر)}}{\text{جرم اسانس مصرفی (گرم)} + \text{جرم نشاسته مصرفی (گرم)} + \text{جرم آب (گرم)}}$$

مقدار اسانس موجود در امولسیون و میکروکپسول‌های جامد با استفاده از تقطیر ۵ میلی‌لیتر امولسیون و ۵ گرم میکروکپسول درون حباب ۵۰۰ میلی‌لیتری برای مدت ۳ ساعت توسط دستگاه اسانس‌گیر (کلونجر) در سه تکرار محاسبه شد (Turasan *et al.*, 2015). حجم اسانس گردآوری‌شده در عامل چگالی ۰/۹۰۸ گرم بر میلی‌لیتر به‌منظور محاسبه وزن اسانس به‌دست‌آمده ضرب شد. مقدار اسانس کپسوله‌شده در فرمولاسیون جامد و امولسیون به ترتیب بر اساس رابطهٔ (۴) و رابطهٔ (۵) محاسبه شدند:

$$\text{میزان اسانس در فرمولاسیون جامد} = \frac{\text{جرم اسانس موجود در فرمولاسیون جامد (گرم) به ازای هر گرم ذرات جامد}}{\text{جرم اسانس موجود در امولسیون (گرم) به ازای هر گرم ذرات جامد}} \times 100 \quad (۴)$$

$$\text{میزان اسانس در امولسیون تهیه‌شده} = \frac{\text{جرم اسانس موجود در امولسیون (گرم) به ازای هر گرم ذرات جامد}}{\text{جرم تئوریک اسانس (گرم) به ازای هر گرم ذرات جامد}} \times 100 \quad (۵)$$

ارزیابی پایداری امولسیون

به‌منظور تعیین میزان پایداری امولسیون، ۸ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه‌شده به لوله‌های پلی‌استیرن دربسته (قطر داخلی: ۱۵ میلی‌متر، ارتفاع: ۱۰۰ میلی‌متر) منتقل و در دمای ۳±۲۷ درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. پس از تهیهٔ امولسیون، پایداری آن با استفاده از دستگاه توربیسکن کلاسیک تعیین شد. همچنین پس از گذشت ۲۱ و ۵۰ روز از زمان تهیهٔ امولسیون، پایداری به‌صورت چشمی بررسی و محاسبه شد. حجم اسانس رونشین، V_t، از ارتفاع لایهٔ رونشین و چگالی اسانس به دست آمد (V_0 حجم کل اسانس به‌کاررفته در امولسیون) (رابطهٔ ۶) (Varona, 2011).

$$\%\ V = \frac{V_t}{V_0} \times 100 \quad (۶)$$

ارزیابی رهایش اسانس میکروکپسول در شرایط آزمایشگاهی

مقدار ۲ گرم از فرمولاسیون جامد حاوی اسانس رزماری درون پتری دیش ۹ سانتی‌متری در دمای ۳± ۲۷ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و تاریکی، برای ۱۵ و ۳۰ روز قرار داده شد. پس از گذشت زمان مورد نظر، میزان اسانس باقی‌مانده در فرمولاسیون جامد با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر به‌مدت ۳ ساعت اندازه‌گیری شد. درنهایت با مقایسه با مقدار اولیهٔ اسانس موجود در میکروکپسول‌ها، میزان اسانس رهایش یافته به دست آمد.

اندازه‌گیری رطوبت نسبی و فعالیت آبی میکروکپسول‌ها

اندازه‌گیری فعالیت آبی و رطوبت نسبی ذرات جامد در سه تکرار با استفاده از دستگاه روترونیک (Rotronic probe type HC2-AW-(USB)) پس از کالیبره کردن انجام شد. نیاز رطوبتی (فعالیت آبی) عامل مهمی در ماندگاری و دوام میکروکپسول‌ها است.

سمّیت تدخینی

ظروف پلاستیکی دردار و شفاف به حجم ۱۲۵ میلی‌لیتر به‌عنوان واحدهای آزمایش انتخاب شدند. برای هر واحد آزمایشی، ۱۵ عدد حشرهٔ بالغ هم‌سن شپشهٔ آرد درون هر ظرف قرار گرفت. در قسمت درونی روی در ظرف‌ها یک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ به قطر ۲/۵ سانتی‌متر قرار داده شده و توسط

Archive of SID

www.SID.ir

پنج غلظت ۱۱۵/۸۴، ۱۴۲/۲۴، ۱۶۳/۲۸، ۱۸۷/۵۲و ۲۰۳/۴۴ میکرولیتر اسانس بر لیتر هوا از اسانس خالص آغشته شدند و پس از واردکردن حشرات به ظرف‌های آزمایش، با استفاده از توری از تماس مستقیم اسانس با بدن حشره جلوگیری شد (Nenaah, 2014). در قسمت درونی ظرف‌های تیمارشده با اسانس میکروکپسوله‌شده، یک توری با مش ریز حاوی فرمولاسیون جامد برای هر واحد آزمایشی (حاوی غلظتی برابر با اسانس خالص با رعایت میزان اسانس کپسوله‌شده) برای نداشتن تماس مستقیم فرمولاسیون با بدن حشره قرار داده شد. پس از قرار دادن فرمولاسیون، به‌سرعت درب ظرف حاوی حشره بسته شد، به‌طوری‌که هیچ‌گونه انتقال هوا بین محیط و ظرف صورت نگیرد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شد. واحدهای آزمایشی بدون اسانس خالص و ذرات اسانس میکروکپسوله‌شده به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. پس از گذشت ۲۴ و ۷۲ ساعت تیمار، نرخ مرگ‌ومیر محاسبه شد. همهٔ آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی ثابت، در دمای ۳± ۲۷ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد درون تاریکی انجام شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

اطلاعات به‌دست‌آمده به‌صورت خطای معیار± میانگین (Mean±Standard Error) گزارش شدند. داده‌های مرگ‌ومیر در کنترل با استفاده از فرمول ابوت، هنگامی‌که بیش از ۵ درصد بود، تصحیح شد (Abbott, 1925). معنی‌داری تفاوت بین میانگین تیمارها با استفاده از آزمون تجزیهٔ واریانس (ANOVA) در P<۰/۰۵ با استفاده از آزمون توکی از طریق نرم‌افزار SPSS v.16.0 تعیین شد.

نتایج و بحث

تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی امولسیون و میکروکپسول‌های جامد

نتایج به‌دست‌آمده از سنجش اندازهٔ قطرات امولسیون و ذرات فرمولاسیون جامد در جدول ۱ آورده شده است. اندازهٔ قطرات امولسیون بر اساس میزان شاخص $d_{3,2}$، ۱۵ و ۴۰ روز پس از تهیه به ترتیب برابر با ۰/۶۷۴، ۰/۸۸۴ و ۱/۰۲۱ میکرومتر بود. نتایج نشان‌دهندهٔ وجود قطراتی کمتر از ۱ میکرون در امولسیون بوده و اندازهٔ قطرات پس از گذشت ۴۰ روز نیز در حد میکرون بوده که بیانگر پایداری امولسیون تهیه‌شده است. همچنین اندازهٔ ذرات جامد بر اساس میزان شاخص $d_{3,2}$ پس از تهیه توسط دستگاه خشک‌کن با اسپری برابر با ۷/۷۲۳ میکرومتر بود.

نحوهٔ پراکنش اندازهٔ قطرات موجود در امولسیون و ذرات جامد در شکل ۱ ارائه شده است. این نتایج بیانگر این است، اندازهٔ قطرات موجود در امولسیون و ذرات جامد دامنهٔ پراکندگی کمی داشته و فرمولاسیونی یکنواخت از نظر اندازهٔ ذرات با استفاده از ۲درصد اسانس و مقدار مشخص از مادهٔ پلیمری (بسپاری) نشاسته تهیه‌شده است. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مورفولوژی (ریخت ظاهری) میکروکپسول‌ها را نشان می‌دهد (شکل ۲). شکل ظاهری اغلب میکروکپسول‌ها به‌صورت کروی با سطح صاف بود و نشان‌دهندهٔ اندازهٔ ذرات در محدودهٔ میکرون است.

بازدهٔ خشک‌سازی، اسانس موجود در امولسیون و ذرات جامد، رطوبت نسبی و فعالیت آبی میکروکپسول‌های حاوی اسانس رزماری در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج به‌دست‌آمده از میزان اسانس موجود در امولسیون بیانگر مقداری مطلوب (۸۶/۴ درصد) بوده ولی میزان اسانس کپسوله‌شده در ذرات جامد کمتر (۱۶/۱ درصد) بود. مقدار رطوبت نسبی کم فرمولاسیون جامد، عاملی مهم در پایداری درازمدت آن در محیط است.

جدول ۱. میانگین (± خطای معیار) اندازهٔ قطرات امولسیون و ذرات جامد در شرایط متفاوت آزمایشگاهی

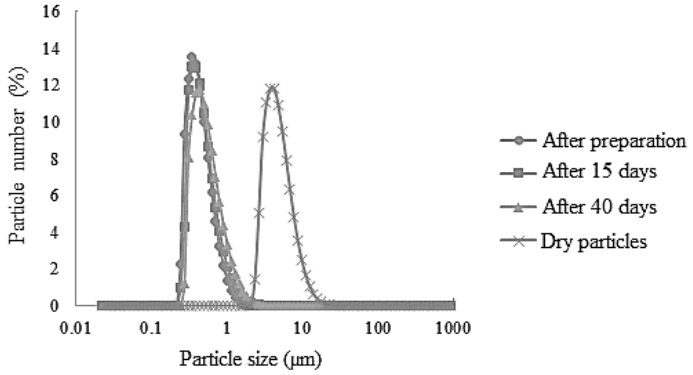
Table 1. The mean (± SE) of droplet and particle size under different experimental conditions

	d (0.1) (µm)	d (0.5) (µm)	d (0.9) (µm)	D [3,2] (µm)	Span (µm)
Emulsion	0.274±0.017	0.394±0.029	0.688±0.045	0.674±0.033	1.051±0.003
15 days after emulsion preparation	0.290±0.003	0.421±0.004	0.788±0.007	0.884±0.003	1.184±0.004
40 days after emulsion preparation	0.316±0.012	0.482±0.036	0.932±0.068	1.021±0.032	1.273±0.024
Dry particle	2.822±0.172	4.297±0.313	7.834±0.534	7.723±0.433	1.166±0.000

Mean values and standard errors were obtained from three measurements. میانگین و خطای معیار ارائه‌شدهٔ حاصل سه بار اندازه‌گیری است.

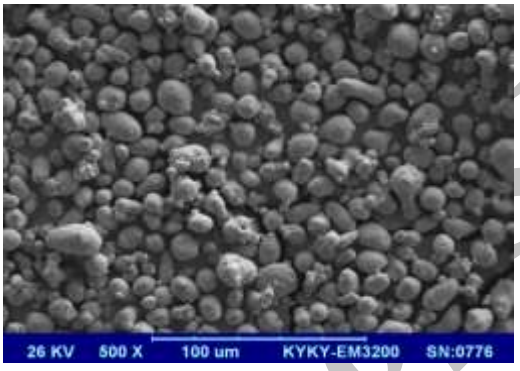
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. پراکنش اندازهٔ قطرات امولسیون و ذرات جامد در شرایط متفاوت آزمایشگاهی

Figure 1. The dispersion of droplet and particle size under different experimental conditions



شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از میکروکپسول‌های حاوی اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*)

Figure 2. SEM photomicrograph of microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil

جدول ۲. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (میانگین ± خطای معیار) امولسیون و میکروکپسول جامد اسانس رزماری

Table 2. Physicochemical characteristics (Mean ± SE) of emulsion and spray-dried microencapsulated rosemary essential oil

Type of preparation	Drying yield (%)	Encapsulation efficiency (%)	Encapsulation efficiency (%)	Water activity (a_w)	Relative humidity (%)
Emulsion	N/A	86.4±1.33	N/A	N/A	N/A
Dry particles	72.4±2.78	N/A	16.1±1.44	0.226±0.006	22.7±0.65

N/A: not applicable.

N/A: غیرقابل اجرا.

Mean values and standard errors were obtained from three measurements.

میانگین و خطای معیار ارائه‌شدهٔ در نتیجهٔ سه بار اندازه‌گیری است.

سنجش پایداری امولسیون پس از تهیه با استفاده از دستگاه توربیسکن کلاسیک بررسی شد. امولسیون تهیه‌شده بر اساس نتایج حاصل از دستگاه توربیسکن بدون رسوب بوده و خامه‌ای و کلوخه نمی‌شود که بیانگر وجود یک امولسیون پایدار بود. همچنین بعد از گذشت ۲۱ و ۵۰ روز از تهیهٔ امولسیون، میزان رونشین تشکیل‌شده (ناپایداری) به ترتیب ۰/۶۰±۳/۰۲۳ و ۰/۶۰±۴/۲۳۶ درصد برآورد شد.

میزان رهایش اسانس از فرمولاسیون جامد در شرایط دمایی ۳±۲۷ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد، پس از گذشت ۱۵ و ۳۰ روز به ترتیب برابر با ۳/۸۹±۳۹/۱ و ۲/۱۴±۸۲/۴ درصد از اسانس موجود در فرمولاسیون بود که بیانگر رهایش تدریجی اسانس رزماری است.

در روش‌های مختلف کپسوله کردن، معمولاً از ترکیباتی استفاده می‌شود که گروه‌های آب‌دوست و یا آب‌گریز را در خود جای داده و شبکه‌ای از ترکیبات شامل نشاسته، صمغ‌ها، ژلاتین‌ها و پلیمرها را ایجاد نموده که انتخاب آن‌ها به مواد موجود در هستهٔ کپسول و ویژگی‌های مورد نیاز میکروکپسول‌ها بستگی دارد. توانایی مالتودکسترین‌ها و نشاسته‌های تغییر شکل یافته به‌منظور جلوگیری از رهایش

Archive of SID

www.SID.ir

ترکیبات فرّار طی فرآیند خشک‌کردن، آن‌ها را به ترکیباتی رایج به‌منظور کپسوله کردن مواد به‌جای صمغ عربی در امولسیون‌های اسپری درای شده تبدیل کرده است (Baranauskiene *et al*., 2007). همچنین پلی‌ساکاریدهای تغییر شکل یافته آب‌گریز مانند ترکیبات نشاسته به‌تنهایی برای کپسوله کردن نیمی از روغن‌های خوراکی در فرآیند خشک کردن با اسپری استفاده می‌شوند (Baranauskiene *et al*., 2007).

در این مطالعه متغیرهای اصلی مؤثر در فرآیند تهیهٔ امولسیون بهینه از قبیل میزان کاربردی فاز پراکنده (اسانس گیاهی)، نسبت مادهٔ فعال سطحی (سورفاکتانت) به اسانس و مدت همگن‌سازی بر اساس نتایج بررسی‌های (Varona, 2011) استفاده شدند. جدول ۱ و شکل ۱ نشان می‌دهند که مقادیر متغیرهای اصلی مورد استفاده در تهیهٔ امولسیون مناسب بوده و اندازهٔ ذرات تشکیل‌شده در امولسیون کمتر از ۱ میکرون و پراکنش آن‌ها یکنواخت است. Varona (2011) در نتایج بررسی‌های خود نشان داد، هر چه غلظت مادهٔ فعال سطحی افزایش یابد، اندازهٔ قطرات امولسیون تشکیل‌شده نیز به نحو چشم‌گیری کاهش می‌یابد. همچنین مدت‌زمان همگن‌سازی از مهم‌ترین عاملها در اندازهٔ قطرات به‌دست‌آمده در امولسیون است. با افزایش میزان انرژی وارد شده، میانگین اندازهٔ قطرات به‌دست‌آمده کاهش می‌یابد (Varona, 2011). با توجه به نتایج ناشی از برآورد پایداری امولسیون در طولانی‌مدت، می‌توان این‌گونه استنباط نمود که قطر کوچک ذرات به‌دست‌آمده می‌تواند بیانگر پایداری امولسیون تهیه‌شده باشد. مقدار اسانس کپسوله‌شده برای امولسیون قابل ملاحظه بوده و بیانگر شرایط بهینه در تهیهٔ امولسیون است، ولی این مقدار در فرمولاسیون جامد کمتر بود. نیاز رطوبتی (فعالیت آبی) نسبتاً کم فرمولاسیون جامد ساخته‌شده، عامل مهمی در ماندگاری میکروکپسول‌ها است. این نتایج با نتایج Baranauskiene *et al.* (2007) و Turasan *et al.* (2015) همخوانی دارد. نتایج حاصل از سنجش رهایش میکروکپسول‌های حاوی اسانس رزماری نشان داد، رهایش اسانس از فرمولاسیون جامد تدریجی بوده و دوام آن در شرایط دمایی و رطوبتی مشابه با شرایط رشدی آفت شپشهٔ آرد مناسب است و بر طبق نتایج سمّیت تدخینی، با میکروکپسوله کردن اسانس گیاهی درون حامل جامد، ماندگاری آن نسبت به اسانس خالص افزایش می‌یابد. این فرآیند موجب کاهش تبخیر، کاربرد آسان‌تر و رهایش کنترل‌شدهٔ فرمولاسیون در دورهٔ انبارداری می‌شود.

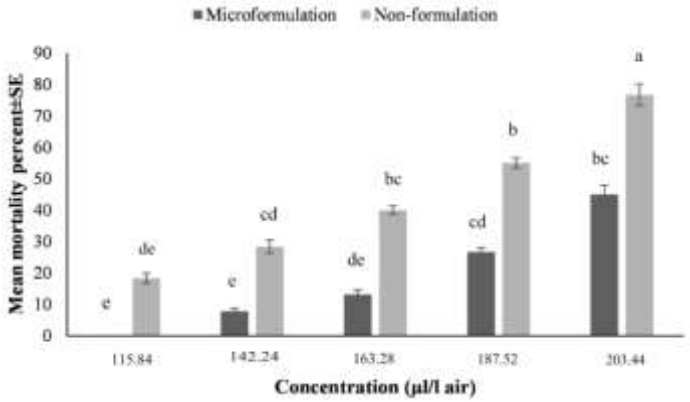
سمّیت تدخینی

درصد تلفات شپشهٔ آرد در معرض اسانس رزماری خالص و میکروکپسوله‌شده در شکل‌های ۳ و ۴ نشان داده شده است. در همهٔ غلظت‌ها و زمان‌ها، میزان مرگ‌ومیر حشرات بالغ شپشهٔ آرد که در معرض اسانس خالص قرار گرفتند نسبت به اسانس میکروکپسوله‌شده بیشتر بود. این مشاهده می‌تواند بیانگر رهایش کنترل‌شدهٔ اسانس در فرمولاسیون جامد باشد. با افزایش غلظت و زمان در معرض بودن، میانگین مرگ‌ومیر آفت افزایش یافت. ۲۴ ساعت پس از تیمار برای سمّیت تدخینی، بیشترین میزان مرگ‌ومیر برای شپشهٔ آرد در غلظت ۲۰۳/۴۴ میکرولیتر اسانس بر لیتر هوا از اسانس خالص و میکروکپسوله‌شده اتفاق افتاده است، غلظتی که به ترتیب موجب مرگ ۷۶/۶ و ۴۴/۹ درصد از حشرات مورد آزمون شد ($P<۰/۰۵$ و $F_{9,39}=$ ۳۷/۸۷۴) (شکل ۳). همچنین ۷۲ ساعت پس از تیمار، بیشترین میزان مرگ‌ومیر برای شپشهٔ آرد در همان غلظت از اسانس خالص و میکروکپسوله‌شده رخ داده و به ترتیب موجب مرگ ۸۶/۶ و ۴۸/۳ درصد از حشرات شد ($P<۰/۰۵$ و $F_{9,39}=$ ۳۵/۰۰) (شکل ۴).

اسانس‌های گیاهی طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی (زیستی) شامل حشره‌کشی، لاروکشی و دورکنندگی دارند (Conti *et al*., 2010). سمّیت تدخینی چندین اسانس گیاهی از خانوادهٔ Lamiaceae روی آفات مختلف بررسی شده است. اسانس رزماری فعالیت حشره‌کشی روی شپشهٔ قرمز آرد و شپشهٔ برنج از خود نشان داد (Shaaya *et al*., 1997; Lee *et al*., 2002). در پژوهشی میزان سمّیت و دورکنندگی اسانس‌های گیاهی درمنه، رزماری و پونه بر شپشهٔ آرد بررسی شد (Saeidi & Moharramipour, 2013).

Archive of SID

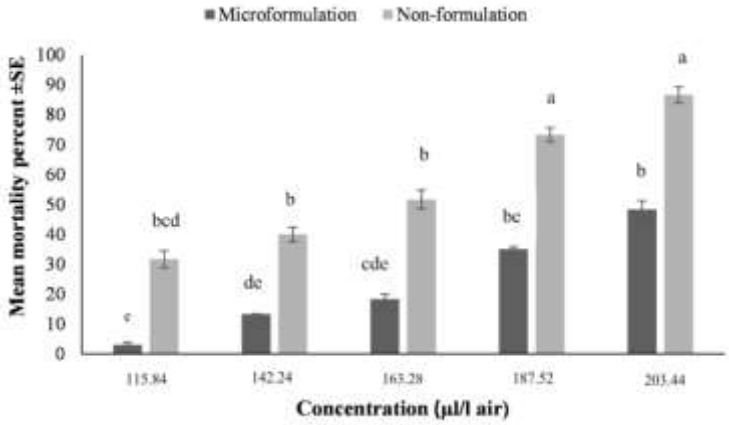
www.SID.ir



شکل ۳. سمّیت تدخینی (میانگین ± خطای معیار) غلظت‌های مختلف اسانس رزماری خالص و میکروکپسوله‌شده ۲۴ ساعت پس از تیمار روی حشرات بالغ شپشهٔ آرد *Tribolium confusum*.

(حرف‌های غیرهمسان نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها هستند (P<0.05, Tukey test)).

Figure 3. Fumigant toxicity (Mean±SE) of different concentrations of the non-formulated and microencapsulated rosemary oil after 24 h exposure on *Tribolium confusum* adults.
(The means followed by different letters are significantly different (Tukey test, P<0.05)).



شکل ۴. سمّیت تدخینی (میانگین ± خطای معیار) غلظت‌های مختلف اسانس رزماری خالص و میکروکپسوله‌شده ۷۲ ساعت پس از تیمار روی حشرات بالغ شپشهٔ آرد *Tribolium confusum*.

(حرف‌های غیرهمسان نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها هستند (P<0.05, Tukey test)).

Figure 3. Fumigant toxicity (Mean±SE) of different concentrations of the non-formulated and microencapsulated rosemary oil after 72 h exposure on *Tribolium confusum* adults.
(The means followed by different letters are significantly different (Tukey test, P<0.05)).

نتایج حاصل از پژوهش‌های متعدد درزمینهٔ تأثیر حشره‌کشی ریزکپسول‌های ساخته‌شده توسط پلیمرها و مواد فعال سطحی در شرایط آزمایشگاهی مختلف، بیانگر وجود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متفاوت است.

Ziaee *et al.* (2014a) در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، نانوژل‌های حاوی اسانس زنیان و نانوژل‌های حاوی اسانس زیره (Ziaee *et al.*, 2014b)، سمّیت تدخینی بیشتری نسبت به اسانس خالص ۴۸ ساعت پس از تیمار روی دو آفت انباری دارند که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد. این اختلاف در نتایج، به‌احتمال به‌دلیل تفاوت در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون‌های تهیه‌شده از جمله نوع پلیمر و مادهٔ فعال سطحی است.

نتایج پژوهش‌های دیگر، بیانگر تأثیر حشره‌کشی متفاوت ریزکپسول‌های ساخته‌شده توسط آنان نسبت به یافته‌های (Ziaee *et al.*, 2014 a,b) است. Lopez *et al.* (2014)، تأثیر حشره‌کشی اسانس میکروکپسول

www.SID.ir

Schinus molle بر حشرهٔ *H. irritans* را بررسی کردند. در این بررسی میکروکپسول‌هایی با خاصیت رهایش کنترل‌شده از اسانس یادشده تهیه و تأثیر حشره‌کشی آن به‌صورت تدریجی گزارش شد. به‌نحوی‌که پس از ۲ و ۴ ساعت تیمار توسط اسانس میکروکپسول به ترتیب موجب مرگ ۳۲ و ۷۳ درصد از حشرات بالغ شد. این در حالی است که پس از ۲ ساعت تیمار با اسانس خالص، ۹۶ درصد مرگ‌ومیر در حشرات تیمار شده مشاهده شد. در آزمایش یادشده، سمّیت تدخینی اسانس میکروکپسوله‌شده کمتر از اسانس خالص بود که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. در پژوهشی دیگر، اثر تدخینی اسانس خالص و اسانس نانوکپسول درمنه *Artemisia sieberi* Besser روی درصد دورکنندگی لارو شب‌پره پشت الماسی *Plutella xylostella* L. ۲۴ ساعت پس از تیمار بررسی شد و غلظت‌های مختلف اسانس خالص و اسانس نانوکپسول اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند. به‌طوری‌که درصد دورکنندگی ناشی از اثر تدخینی اسانس خالص روی لارو آفت پس از شش ساعت تیمار به بیشترین میزان خود رسیده و پس از آن باگذشت زمان از توان دورکنندگی آن کاسته شد. درحالی‌که اسانس نانوکپسول به دلیل رهایش تدریجی اسانس از نانوکپسول پس از ۲۴ ساعت تیمار بیشترین میزان دورکنندگی را از خود نشان داد (Negahban *et al*., 2013). نتایج Negahban *et al*. (2013) نشان داد، اثر تدخینی نانوکپسول در دورکنندگی لارو آفت به‌طور معنی‌داری کمتر از اسانس خالص است و با نتایج این تحقیق همخوانی داشت. همچنین نتایج یافته‌های Negahban *et al*. (2013) و Ziaee *et al*. (2014a,b) نشان داد، به ترتیب خاصیت دورکنندگی و کشندگی در حشرات توسط اسانس خالص و نانوکپسوله‌شده با افزایش غلظت اسانس بیشتر می‌شود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. افزون بر این، نانوذرات پلی‌اتیلن گلیکول حاوی اسانس سیر *Allium sativum* L. پس از ۵ ماه نگهداری در شرایط آزمایشی، موجب مرگ بیش از ۸۰ درصد جمعیت تیمارشده در شپشهٔ قرمز آرد شدند، درصورتی‌که میزان تأثیر اسانس خالص سیر با غلظت مشابه ۱۱ درصد بود (Yang *et al*., 2009). یافته‌های این پژوهش از لحاظ رهایش کنترل‌شدهٔ اسانس میکروکپسوله‌شده با نتایج تحقیقات Lopez *et al*. (2014)، Negahban *et al*. (2013) و Yang *et al*. (2009) همخوانی داشته است. اسانس‌های ریزکپسوله‌شده احتمال دارد با رهایش کنترل‌شدهٔ اسانس گیاهی و نفوذ راحت‌تر، فعالیت آفت‌کشی را بهبود بخشند (González *et al*., 2014).

نتیجه‌گیری کلی

با هدف بررسی کارایی و تأثیر حشره‌کشی فرمولاسیون میکروکپسول جامد حاوی اسانس گیاهی، میکروفرمولاسیونی حاوی اسانس رزماری با استفاده از بیوپلیمر (بسپار زیستی) و همچنین مادهٔ فعال سطحی نشاسته تهیه شد. میانگین اندازهٔ ذرات جامد تشکیل‌شده کمتر از ۱۰ میکرومتر و شکل ظاهری اغلب میکروکپسول‌ها به‌صورت کروی با سطح صاف بود. نتایج زیست‌سنجی تدخینی اسانس میکروکپسوله‌شده و اسانس خالص نشان داد، سمّیت تدخینی برای حشرات بالغ شپشهٔ آرد تیمارشده با اسانس میکروکپسوله‌شده به‌طور معنی‌داری کمتر از اسانس خالص است. نتایج پژوهش اخیر بیانگر وجود غلظت کمتر اسانس گیاهی در واحدهای آزمایشی تیمارشده با میکروکپسول نسبت به واحدهای آزمایشی حاوی اسانس خالص در زمان تیمار بوده که این ویژگی می‌تواند به علت رهایش آهسته و کنترل‌شدهٔ اسانس میکروکپسوله‌شده باشد.

REFERENCES

1. Abbott, W. S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
2. Bagheri Zenooz, A. (2011). *Pests of stored products and management to maintain.* (3rd ed.). University of Tehran press.
3. Baranauskiene, R., Bylaite, E., Zukauskaite, J. & Venskutonis, R. P. (2007). Flavor retention of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil spray-dried in modified starches during encapsulation and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3027-3036.

Archive of SID

www.SID.ir

4. Conti, B., Canale, A., Bertoli, A., Gozzini, F. & Pistelli, L. (2010). Essential oil compositionand larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 107, 1455-1461.
5. González, J. O. W., Gutiérrez, M. M., Ferrero, A. A. & Fernández Band, B. (2014). Essential oils nanoformulations for stored-product pest control-Characterization and biological properties. *Chemosphere*, 100, 130-138.
6. Islam, M. S., Hasan, M. M., Lei, C., Mucha-Pelzer, T., Mewis, I. & Ulrichs, C. (2010). Direct and admixture toxicity of diatomaceous earth and monoterpenoids against the storage pests *Callosobruchus maculates* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Pest Science*, 83, 105-112.
7. Karimi, N. & Mohammadifar, M. A. (2014). Role of water soluble and water swellable fractions of gum tragacanth on stability and characteristic of model oil in water emulsion. *Food Hydrocolloids*, 37, 124-133.
8. Kljajic, P. & Peric, I. (2006). Susceptibility to contact insecticides of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) originating from different locations in the former Yugoslavia. *Journal of Stored Product Research*, 42, 149-161.
9. Lee, B. H., Lee, S. E., Annis, P. C., Pratt, S. J., Park, B. & Tumaalii, F. (2002). Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 5(2), 237-240.
10. López, A., Castro, S., Andina, M. J., Ures, X., Munguía, B., Llabot, J. M., Elder, H., Dellacassa, E., Palma, S. & Domínguez, L. (2014). Insecticidal activity of microencapsulated *Schinus molle* essential oil. *Industrial Crops and Products*, 53, 209-216.
11. Moretti, M. D. L., Sanna-Passino, G., Demontis, S. & Bazzoni, F. (2002). Essential oil formulation useful as a new tool for insect pest control. *AAPS PharmSciTech*, 3, 1-11.
12. Mc Clements, D. J. (2005). *Food emulsions: Principles, practices, and techniques*. (2nd ed.). CRC Press.
13. Negahban, M., Moharramipour, S., Zand, M. & Hashemi, S. A. (2013). Repellent activity of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* on *Plutella xylostella* L. larvae. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(4), 909-924. (in Farsi)
14. Nenaah, G. (2014). Chemical composition, insecticidal and repellence activities of essential oils of three *Achillea* species against the Khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Pest Science*, 87, 273-283.
15. Saeidi, M. & Moharramipour, S. (2013). Insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassanica*, *Rosmarinus officinalis* and *Mentha longifolia* essential oils on *Tribolium confusum*. *Journal of Crop Protection*, 2(1), 23-31.
16. Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. & Sukprakarn, C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33, 7-15.
17. Soottitantawat, A., Bigeard, F., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M. & Linko, P. (2005a). Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated D-limonene by spray-drying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 107-114.
18. Soottitantawat, A., Takayama, K., Okamura, K., Muranaka, D., Yoshii, H., Furuta, T., Ohkawara, M. & Linko, P. (2005b). Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 163-170.
19. Turasan, H., Sahin, S. & Sumnu, G. (2015). Encapsulation of rosemary essential oil. *Food Science and Technology*, 64, 112-119.
20. Varona, S. (2011). *Lavandin essential oil biocide formulations: New products and processes.* Ph.D. Thesis. Faculty of Chemical Engineering Valladolid University, Spain.
21. Yang, F. L., Li, X. G., Zhu, F. & Lei, C. L. (2009). Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10156–10162.
22. Yoshii, H., Soottitantawat, A., Liu, X.D., Atarashi, T., Furuta, T., Aishima, S., Ohgawara, M. & Linko, P. (2001). Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum Arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *2*, 55-61.
23. Ziaee, M., Moharramipour, S. & Mohsenifar, A. (2014a). Toxicity of *Carum copticum* essential oil loaded nanogel against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. *Journal of Applied Entomology*, 138, 763-771.
24. Ziaee, M., Moharramipour, S. & Mohsenifar, A. (2014b). MA-chitosan nanogel loaded with *Cuminum cyminum* essential oil for efficient management of two stored product beetle pests. *Journal of Pest Science*, 87(4), 691-699.

Archive of SID

www.SID.ir