تهیه و بررسی خصوصیات نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی با روش هموژناسیون با فشار کششی بالا و امواج فراصوت

محبوبه ناصری[۱]، حسین آروئی[۲]، شیوا گل محمدزاده[۳]*، محمودرضا جعفری[۴]، حسین نعمتی[۵]

۱-دانش‌آموخته دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد،ایران
۲-دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، مشهد، ایران
۳-دانشیار، گروه نانوفناوری دارویی و مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران
۴-استاد گروه فارماسیوتیکس و مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران
۵-استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز ، ایران
* آدرس مکاتبه: مشهد، بلوار وکیل‌آباد، پردیس دانشگاه، دانشکده داروسازی، گروه فارماسیوتیکس، صندوق‌پستی: ۱۳۶۵ - ۹۱۷۷۵
تلفن: ۶۵ – ۸۸۲۳۲۵۵ (۰۵۱۱)، نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)
پست الکترونیک: Golmohamadzadehsh@mums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۳ **تاریخ تصویب:** ۹۵/۲/۲۰

چکیده

مقدمه: یکی از روش‌های نوین جهت مرتفع کردن مشکلات کاربرد اسانس (مانند ناپایداری، تبخیر و تجزیه در مقابل شرایط محیطی) در صنایع غذایی، داروسازی و کشاورزی استفاده از سیستم حامل نانوذارت لیپیدی جامد **(Solid Lipid Nanoparticles)** می‌باشد.

هدف: تهیه و بررسی خصوصیات نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی.

روش بررسی: نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی با استفاده از روش هموژناسیون با فشار کششی بالا و امواج فراصوت تهیه شد. اجزای سازنده نانوذرات لیپیدی جامد شامل اسید استئاریک، اسانس آویشن شیرازی در فاز چربی و پولوکسامر ۱۸۸ در فاز آبی بود. میانگین اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا توسط دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذره‌ای، درصد انکپسولاسیون اسانس توسط روش گاز کروماتوگرافی و آنالیز حرارتی با استفاده از دستگاه **Diffrential Scanning Calorimetry (DSC)** اندازه‌گیری شد. همچنین از میکروسکوپ الکترونی عبوری برای تصویربرداری از نانوذرات لیپیدی جامد استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد اندازه نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس در حدود ۴۸۶ نانومتر، شاخص پراکندگی ۰/۲۹۶، پتانسیل زتا ۲۷/۲- میلی‌ولت بود. نتایج میکروسکوپ الکترونی نشان داد اندازه ذره‌ای کمتر از ۳۰۰ نانومتر و شکل ذرات کروی بود. آنالیز حرارتی مواد توسط **DSC**، وجود ذرات جامد در **SLN** ساخته شده را اثبات کرد. همچنین درصد انکپسولاسیون اسانس درون نانوذرات لیپیدی جامد ۹۵/۲ درصد محاسبه شد. مطالعات پایداری اندازه ذرات و زتا در مدت چهار ماه نشان داد نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس از پایداری نسبتاً خوبی برخوردار بوده‌اند.

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد نانو ذرات لیپیدی جامد متشکل از اسید استئاریک حامل مناسبی برای اسانس آویشن شیرازی است.

گل‌واژگان: نانو ذرات لیپیدی جامد، آویشن شیرازی، آنالیز حرارتی، اسید استئاریک، اندازه ذره‌ای، میکروسکوپ الکترونی

www.SID.ir

مقدمه

اسانس‌های گیاهی گستره‌ی وسیعی از متابولیت‌های ثانویه را شامل می‌شوند که در بیشتر حالات دارای خاصیت ضدمیکروبی (Antimicrobial)، آللوپاتیکی و آنتی‌اکسیدانتی (Antioxidant) و زیست تنظیمی هستند. از نظر شیمیایی اسانس‌ها، ترکیبات پیچیده‌ای هستند که انواع مختلف مواد شیمیایی شامل هیدروکربن‌ها، الکل‌ها، کتون‌ها، آلدئیدها و غیره... در ترکیب آنها وجود دارد [۱] تحقیقات نشان داده است که اسانس‌های گیاهی مزیت‌های چندی را در برابر آفت‌کش‌ها و قارچ‌کش‌های صنعتی شده دارند. آنها ترکیبات مؤثر جدیدی دارند که قارچ‌ها قادر به غیر فعال کردن آنها نیستند، عدم وجود عوارض جانبی منفی ترکیبات، تجزیه سریع و بر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا مؤثرند [۲].

با وجود مزایای ذکر شده، استفاده از اسانس گیاهان دارویی محدودیت‌هایی مانند ناپایداری، تبخیر و تجزیه در مقابل شرایط محیطی و شیمیایی (نور، اکسیژن، رطوبت، pH) دارد [۳]. اسانس گیاهان دارویی دارای اجزای ناپایداری هستند که می‌توانند در اثر برخی شرایط فیزیکی و شیمیایی مانند اکسیژن (اکسیدشدن عامل الکل‌ها و آلدهیدها)، نور (باعث انتقال دادن منوترپن‌ها، هیدروکربن‌ها و سنوکوئیوترپن‌های غیر اشباع می‌شود)، آب (هیدرولیز استرها و اترها) و pH خارج می‌شوند [۳]. در همین ارتباط یکی از روش‌های مرتفع کردن مشکلات ناشی از فراریت و ناپایداری اسانس‌ها، کپسوله کردن اسانس در اندازه نانو (Nanoencapsulation) است [۴]. یکی از حامل‌های مناسب برای کپسوله کردن اسانس‌ها استفاده از نانوذرات لیپیدی جامد (Solid Lipid Nanoparticle (SLN)) می‌باشد. نانوذرات لیپیدی جامد (SLN) سیستم‌های حامل کلوئیدی‌اند که مشابه نانوامولسیون‌ها می‌باشند ولی در نوع لیپید تفاوت عمده‌ای دارند به طوری که در نانو امولسیون از لیپید مایع اما در نانوذرات لیپیدی جامد از لیپیدهای جامد مانند تری گلیسرید، اسید چرب (اسید استئاریک- اسید پالمیتیک)، استروئید (کلسترول) و موم (ستیل پالمیتیک) استفاده می‌کنند [۵]. نانوذرات لیپیدی جامد در سال ۱۹۹۱ جایگزین دیگر حامل‌های کلوئیدی رایج مانند امولسیون، لیپوزوم و میکروپلیمرها شدند. اندازه آنها بین ۵۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر است. نانوذرات لیپیدی جامد قادرند پایداری و حلالیت اسانس را در آب افزایش دهند [۶]. نانو ذرات لیپیدی جامد به دلیل اندازه کوچکتر از سلول، ممکن است منجر به افزایش مکانیزم جذب غیرفعال سلولی شده و در نتیجه باعث کاهش مقاومت انتقال شده و فعالیت ضد میکروبی را افزایش دهند. از طرف دیگر نانوذرات لیپیدی جامد اسانس را در مقابل عوامل محیطی مانند اکسیژن، نور، رطوبت و اسیدیته محافظت می‌کنند و همچنین حامل‌های به اندازه نانو سطح بیشتری را ایجاد کرده و به راحتی حلالیت و دسترسی زیستی اسانس را افزایش داده و آزادسازی کنترل شده اسانس را بهبود می‌دهد [۳].

شی (Shi) و همکاران [۶] نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس کندر (*Boswellia thurifera* L.) و مرمکی (*Commiphora myrrha* L.) را با روش هموژناسیون با فشار کششی بالا تهیه کردند. در این روش از کامپریتول ۸۸۸ به عنوان لیپید جامد و سورفاکتانت لیستین سویا و توئین ۱۸۰ استفاده شد. میانگین اندازه ذرات ۱۱۳ نانومتر و پتانسیل زتا ۱۶/۸- میلی‌ولت و درصد کارایی انکپسوله (Encapsulation Efficiency) ۸۰/۶ درصد بود. مقیمی‌پور و همکاران [۷] در پژوهشی نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی به روش هموژناسیون داغ تهیه کردند. ترکیبات نانوذرات لیپیدی جامد شامل پلی اتیلن‌گلیکول، ستیل الکل و سدیم دودسیل سولفات بود. میزان درصد کپسولاسیون ۲۸ درصد و میانگین اندازه ذرات ۶۲۵ نانومتر بود.

با توجه به مزایای استفاده اسانس‌ها در صنایع غذایی، داروسازی و کشاورزی و در نظر گرفتن مشکلات ناشی از کاربرد آنها در این صنایع در این آزمایش انکپسوله کردن اسانس آویشن شیرازی با استفاده از سیستم حامل نانوذارت لیپیدی جامد متشکل از اسید استئاریک و تعیین خصوصیات آن در دستور کار قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها

اسانس آویشن شیرازی از شرکت داروسازی باریج اسانس

www.SID.ir

تهیه شد. سپس ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی شناسایی شد.

سنتز نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی

تهیه نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس به روش هموژناسیون با فشار کششی بالا و امواج فراصوت (high tensile pressure homogenization and ultrasound) انجام شد. برای تهیه نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی به این روش به دو فاز لیپیدی و آبی نیاز است. فاز چربی فرمولاسیون اسید استئاریک (ساخت شرکت Sigma Aldrich آلمان) بود که پس از دستیابی به فرمولاسیون نهایی اسانس نیز وارد همین فاز شد، زیرا اسانس‌ها محلول در چربی می‌باشند. فاز آبی شامل توئین ۸۰ (Toween 80) (ساخت شرکت Croda-international PLC انگلیس) یا پولوکسامر ۱۸۸ (Poloxamer 188) (ساخت شرکت Uniqema بلژیک) به همراه آب بود. بعد از توزین مواد مورد نیاز فرمولاسیون (لیپید، آب و امولسیفایر) با درصدهای مشخص (جدول شماره ۱)، فاز لیپیدی و آبی هرکدام به طور جداگانه در دو فالکون مجزا داخل بن‌ماری قرارداده شد، بن ماری روی دمای $80^{\circ}C$ تنظیم شده و دو فالکون حاوی دو فاز داخل آن قرار داده شده تا فاز چربی ذوب شده و دو فاز هم‌دما شوند. یک بشر محتوی آب مقطر نیز در بن‌ماری قرار داده شد تا بعداً به عنوان حمام آب گرم از آن استفاده شود. در این مرحله ابتدا اسانس به فاز چربی اضافه شده و پس از یک دقیقه دو فاز را از بن‌ماری خارج کرده و فاز آبی به سرعت و به طور ناگهانی به فاز چربی اضافه شد. اگر فاز چربی در این فاصله اندکی سرد شود دوباره به حالت جامد در می‌آید. لذا مرحله مخلوط کردن دو فاز باید در بن‌ماری انجام شود. بشر حاوی مخلوط را داخل بشر حمام آب گرم گذاشته تا دمای آن پایین نیاید. در این مرحله امولسیون سفید رنگی تشکیل شد (در هر بار حجمی برابر ۲۰ سی سی نمونه تهیه شد) و سپس با هموژنایزر (مدل DIAX900، ساخت شرکت Heidolph آلمان) به مدت ۶ دقیقه یکنواخت شد. بعد از هموژناسیون، ترکیب به دستگاه پروب سونیکتور (prob sonicator) (مدل Sonipreb 130، ساخت MSE انگلستان) (۳ سیکل و هر سیکل ۳۰ ثانیه) منتقل شد. سپس مخلوط در دمای محیط قرار داده شد تا کاملاً سرد شده و با محیط هم‌دما شود تا نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی تشکیل شود [۸].

تعیین اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا

برای بررسی اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا از دستگاه آنالیز اندازه ذرات (مدل 30HS, Nanoseries، ساخت شرکت Malvern انگلستان) استفاده شد. پتانسیل زتا در پایداری سیستم‌های ذره ای اهمیت دارد. این پتانسیل میزان دامنه بین ذرات مجاور با بار مشابه را تعیین می‌کند. اگر پتانسیل زتا از حد خاصی پایین‌تر باشد نیروهای جاذبه بر دافعه غلبه کرده و ذرات با هم تجمع می‌یابند.

جدول شماره ۱- اجزای فرمولاسیون جهت سنتز نانوذرات لیپیدی جامد به روش امواج فراصوت

فاز	اجزای فرمولاسیون	مقادیر (وزنی- حجمی) (درصد)
فاز چربی	اسید استئاریک + اسانس آویشن شیرازی	۳
	پولوکسامر ۱۸۸	۱/۵
فاز آبی	آب	تا ۱۰۰

www.SID.ir

بررسی مورفولوژی نانوذرات لیپیدی جامد به وسیله میکروسکوپ الکترونی عبوری

برای عکسبرداری و بررسی مورفولوژی نانوذرات لیپیدی جامد از میکروسکوپ الکترونی عبوری (واقع در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد) استفاده شد.

تعیین نقطه ذوب اجزا و بررسی شبکه لیپیدی نانوذرات بوسیله آنالیز حرارتی (Differential Scanning Calorimetry)

به منظور اثبات وجود ذرات جامد در SLN ساخته شده DSC انجام شد. برای انجام این آزمایش از دستگاه Diffrential Scanning Calorimetry (DSC) (مدل 822e، ساخت شرکت METTLER TOLEDO سوئیس) مجهز به نرم‌افزار stare استفاده شد.

تعیین کارایی انکپسولاسیون نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی به روش کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography (GC))

به منظور تعیین میزان اسانس موجود در نانو ذرات لیپیدی جامد با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی (مدل GC-17.A، ساخت شرکت SHIMADZU ژاپن) استفاده شد [۹]. از آنجایی که بیشترین میزان ترکیب موجود درون اسانس آویشن شیرازی تیمول است بود تیمول خالص به عنوان استاندارد در نظر گرفته شد. برای تعیین درصد انکپسولاسیون مقدار ۵۰۰µl از نمونه SLN های دارای اسانس آویشن شیرازی را برداشته و به قسمت بالایی فالکون فیلتردار ۵۰cc اضافه کرده و با دور ۱۰۰۰۰ rpm و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۵۰ µl از نمونه SLN خالص شده را در یک میکروتیوب ریخته و به آن محلول متانول: کلروفرم با نسبت (۲:۱) (ساخت شرکت Merck آلمان) اضافه شد. محلول حاصل را به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تزریق و پیک مربوط به آن ارزیابی شد. با توجه به معادله حاصل از نمودار استاندارد، مقدار اسانس در نمونه محاسبه شد. جهت محاسبه درصد انکپسولاسیون، معادله شماره ۱ مورد استفاده قرار گرفت:

$$\text{درصد انکپسولاسیون} = \frac{\text{مقدار تیمول بعد از خالص سازی}}{\text{مقدار تیمول قبل از خالص سازی}} \times 100$$

تجزیه آماری

آنالیز آماری با نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. شکل‌ها نیز با نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

ترکیبات موجود در اسانس

با بررسی طیف‌های GC و (GC/MS) و محاسبه اندیس‌های بازداری و مقایسه طیف‌های جرمی ترکیب‌ها با ترکیب‌های استاندارد، ۲۱ ترکیب مختلف در اسانس آویشن شیرازی شناسایی شد که ترکیب‌های عمده آن به ترتیب تیمول (۳۵/۳۱ درصد)؛ کارواکرول (۳۳/۹ درصد)؛ پارا- سیمین (۹/۸۹ درصد)؛ گاما ترپینن (۵/۸۸ درصد) و آلفاپینن (۴/۲۲ درصد) بودند.

بررسی اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا نانوذرات لیپیدی حاوی اسانس آویشن شیرازی

میانگین اندازه ذره و توزیع آن اغلب یکی از مهم‌ترین پارامترهای مرتبط با کیفیت است که سایر خواص ماکروسکوپی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نتایج اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتای فرمولاسیون تولید شده در جدول شماره ۲ آمده است (شکل شماره ۱).

بررسی مورفولوژی نانوذرات لیپیدی جامد بوسیله میکروسکوپ الکترونی

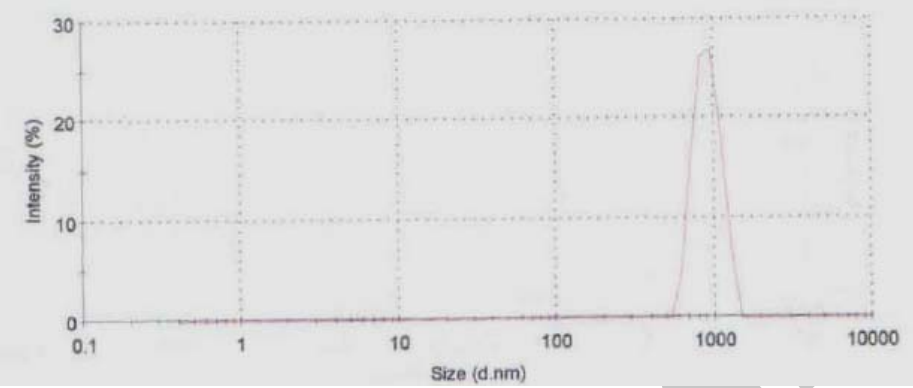
نتایج حاصل از عکس‌های میکروسکوپ الکترونی نشان داد اندازه ذره‌ای ذرات کمتر از ۳۰۰ nm بوده و شکل ذرات تقریباً کروی است (شکل شماره ۲) کروی بودن نانو ذرات لیپیدی جامد باعث می‌شود که این ذرات بیشترین توانایی را جهت آزادسازی کنترل شده و محافظت از اسانس احتباس یافته داشته باشند زیرا شکل کروی دارای طولانی‌ترین مسیر جهت حرکت اسانس محبوس در نانو ذره و همچنین کمترین

www.SID.ir

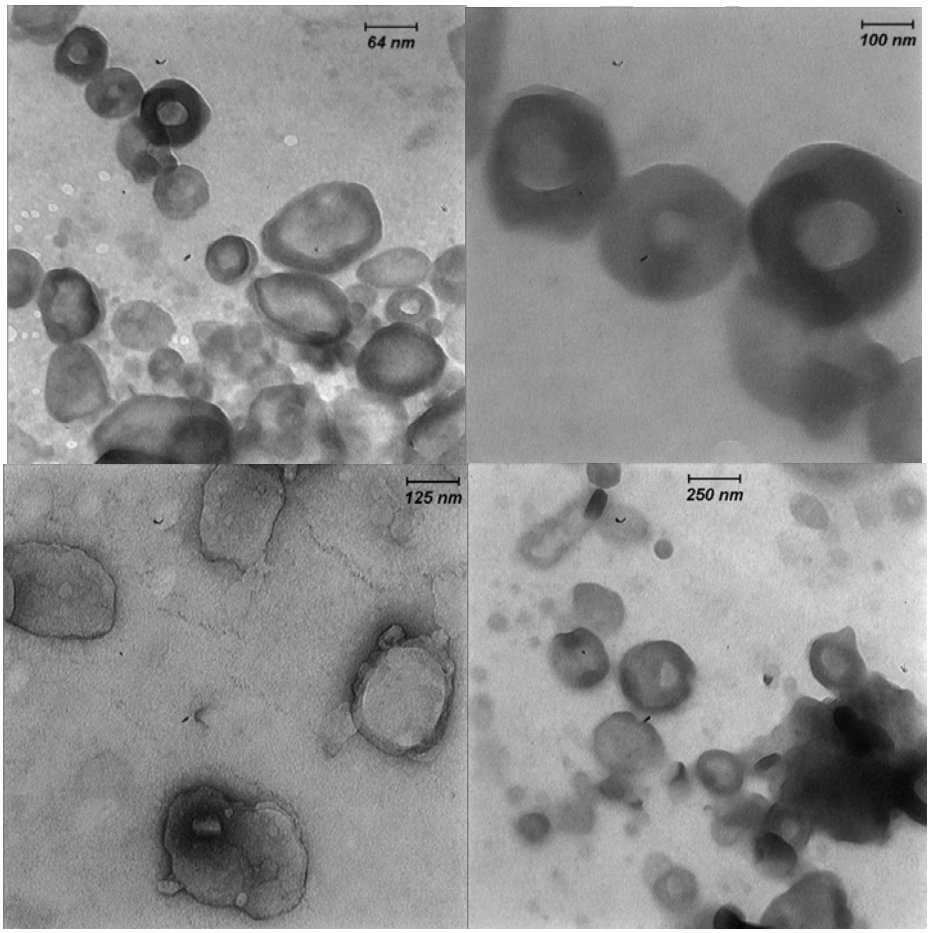
سطح تماس با محیط آبی فاز پراکنده، نسبت به سایر اشکال نانوذرات می‌باشد [۱۰].

جدول شماره ۲- اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی نانوذرات حاوی اسانس آویشن شیرازی

فرمولاسیون	Z-Potential (mv)	PDI	Z-average (nm)
Stearic Acid+ Poloxamer 188+ Water	-۲۷/۲ ±۰/۳	۰/۲۹۶±۰/۰۵	۴۸۶± ۹



شکل شماره ۱- توزیع اندازه نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی بر اساس شاخص شدت



شکل شماره ۲- عکس‌های میکروسکوپ الکترونی TEM از نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی

www.SID.ir

تعیین نقطه ذوب اجزا و بررسی شبکه لیپیدی نانوذرات لیپیدی جامد بوسیله آنالیز حرارتی

برای سنجش کامل فرمولاسیون ساخته شده، علاوه بر بررسی اندازه ذره ای، مطالعات آنالیز حرارتی نیز لازم است. این تست برای بررسی خصوصیات کریستال یا ذوب نانوذرات لیپیدی حاوی اسانس آویشن شیرازی ضروری می‌باشد. از مزایای SLN این است که می‌توان پایداری و کریستاله بودن این فرمولاسیون را در حامل با استفاده از دستگاه DSC نیز به راحتی اندازه گرفت.

آنالیز حرارتی مواد توسط DSC انجام شد. نمودارهای تست DSC درخصوص اسانس آویشن شیرازی یک پیک کوچک در حدود ۸۲ $^{\circ}C$ مشاهده شد که احتمالاً به دلیل تخریب اکسیداتیو اسانس در این ناحیه است (شکل شماره ۳). در نتایج DSC مربوط به لیپید اسید استئاریک پیک در حدود ۷۰$^{\circ}C$ را نشان داد (شکل شماره ۴).

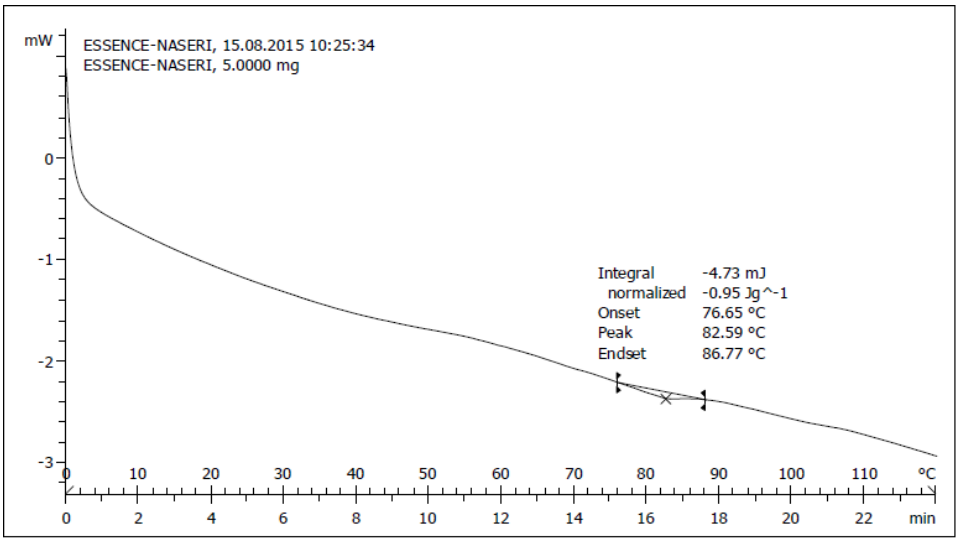
تعیین درصد انکپسولاسیون اسانس (Encapsulasion) در نانوذرات لیپیدی جامد به روش GC

درصد انکپسولاسیون اسانس درون نانوذرات لیپیدی جامد ۹۵/۲ درصد محاسبه شد. به دلیل ماهیت لیپیدی اسانس، خاصیت لیپوفیلی بالا و حلالیت بالای آن، انتظار می‌رود ذرات اسانس در فاز لیپیدی نانو ذرات به خوبی تجمع پیدا کرده و درصد انکپسولاسیون بالاتری را ایجاد نماید.

بررسی پایداری فرمولاسیون‌ها

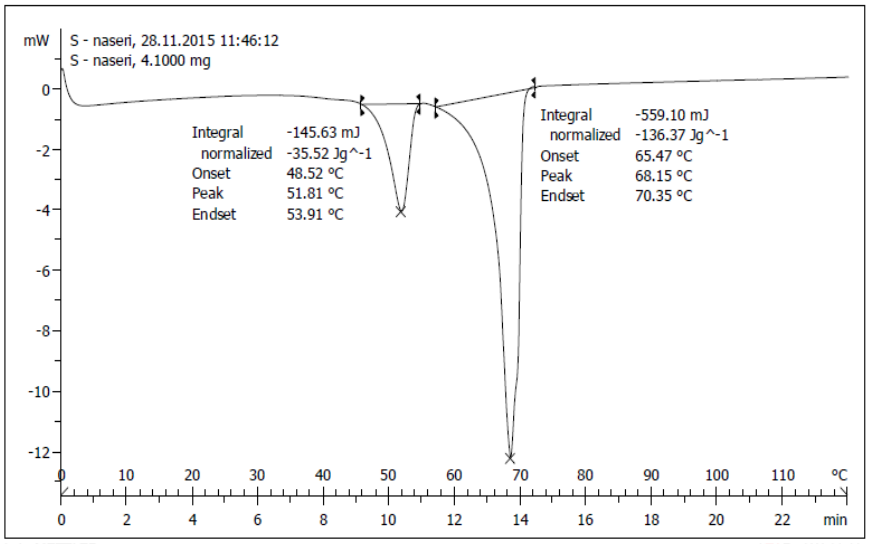
پایداری میانگین اندازه ذرات، زتا مربوط به فرمولاسیون نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی در طی چهار ماه اندازه‌گیری شد (شکل‌های شماره ۵ و ۶). وایزینگ (Wissing) و همکاران [۱۱] پایداری نانوذرات لیپیدی ساخته شده از پرسیرول را از نظر اندازه ذره‌ای و شاخص پراکندگی مورد بررسی قرار دادند که مشخص شد نانوذرات لیپیدی جامد تا سه سال پایدار بوده‌اند. مطالعات پایداری اندازه ذرات و زتا در این پژوهش نیز مؤید این مطلب بود که نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس از پایداری نسبتاً خوبی برخوردار بوده‌اند.

فرمولاسیون تهیه شده پتانسیل زتای منفی داشت و به علت دارا بودن گروه‌های متعدد OH در ساختمان خود باعث ایجاد شارژ منفی در سطح نانوذرات لیپیدی جامد می‌شود. وجود بار منفی بالا یک مزیت است، چون پتانسیل زتای بالاتر پایداری فیزیکی بهتری دارد و از تجمع ذرات حین نگهداری جلوگیری می‌کند.

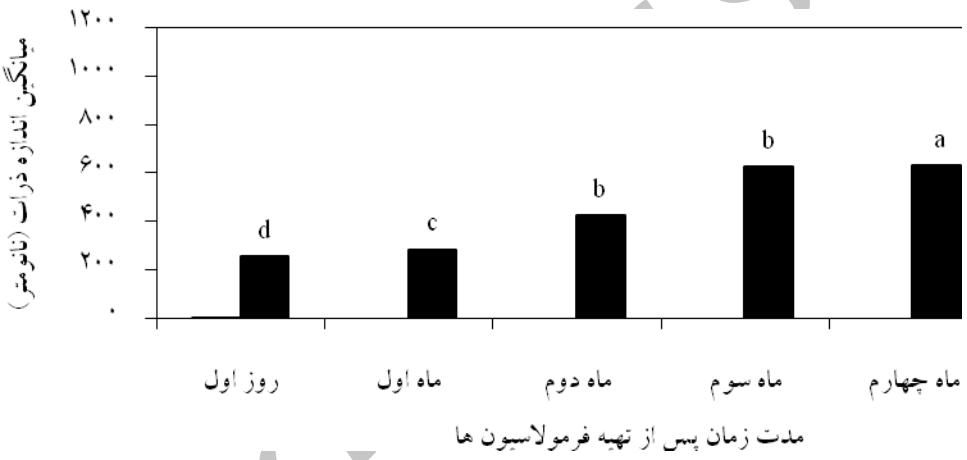


شکل شماره ۳- آنالیز حرارتی مربوط به اسانس آویشن شیرازی

www.SID.ir



شکل شماره ۴- آنالیز حرارتی مربوط به نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی



شکل شماره ۵- پایداری میانگین اندازه ذرات (نانومتر) نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی در مدت چهار ماه پس از تهیه

شکل شماره ۶ – پایداری میانگین پتانسیل زتای (- میلی ولت) نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی در مدت چهار ماه پس از تهیه

www.SID.ir

بحث

از مزایای نانوذرات لیپیدی جامد می توان به آزادسازی آهسته ماده مؤثره، خاصیت مسدودکنندگی و خاصیت فیلم فورمینگ است [۱۲]. در ضمن مزیت این حامل‌ها نسبت به لیپوزوم‌ها این است که علاوه بر داشتن مزایای لیپوزوم‌ها، ماده مؤثره قرارگرفته در داخل خود را نیز از تخریب محافظت می‌کنند [۱۳]. فرمولاسیون این نوع حامل‌ها از نانو امولسیون‌ها مشتق شده، با این تفاوت که در نانو ذرات لیپیدی جامد، فاز پراکنده که در واقع همان لیپید است، در دمای اتاق و بدن به صورت جامد می‌باشد [۱۴]. در فرمولاسیون نهایی ۳ درصد لیپید اسید استئاریک و ۱/۵ درصد پولوکسامر استفاده شد که در این فرمولاسیون اندازه ذرات ۴۸۶ نانومتر بود اما زمانی که از ۵ درصد اسیداستئاریک و ۲/۵ درصد توئین ۸۰ استفاده شد اندازه ذرات به ۸۰۰ نانومتر رسید و در فرمولاسیون دیگری که ۵ درصد اسیداستئاریک و ۲/۵ درصد پلوکسامر + توئین ۸۰ داشت اندازه ذرات به ۹۰۰ نانومتر رسید که اندازه ذره‌ای مناسب نبود به همین دلیل در این فرمولاسیون از ۳ درصد لیپید اسید استئاریک و ۱/۵ درصد پولوکسامر استفاده شد. اندازه ذره‌ای نانوذرات لیپیدی به وسیله پارامترهای مختلفی مانند ترکیب فرمولاسیون، روش‌های تولید و شرایط محیط (مانند زمان، حرارت، فشار، تعداد سیکل، تجهیزات) تحت تأثیر قرار می‌گیرد. برای تهیه نانو ذرات لیپیدی جامد میزان ۵ تا ۴۰ درصد لیپید و میزان ۲/۵ تا ۵ درصد امولسیفایر مناسب جهت پایداری فرمولاسیون استفاده می‌شود [۱۵]. در این پژوهش، با توجه به ماهیت لیپوفیلی اسانس آویشن شیرازی و از طرفی جامد شدن نانوذرات لیپیدی جامد و افزایش اندازه ذرات آنها بعد از افزودن اسانس، در نهایت برای تهیه نانو ذرات لیپیدی حاوی اسانس میزان ۳ درصد لیپید و میزان ۱/۵ درصد امولسیفایر به کاربرده شد [۱۵].

اندازه ذرات نانو ذرات لیپیدی جامد با دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذره‌ای مورد بررسی قرار گرفت و عکس گرفته شده با میکروسکوپ الکترونی نیز اندازه خیلی ریز این ذرات را تأیید کرد. تفاوت موجود بین نتایج حاصل از دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذره‌ای و میکروسکوپ الکترونی در مورد فرمولاسیون اسید استئاریک شاید به این علت است که اسید استئاریک به دلیل ساختار خاصی که دارد اندکی نور را افتراق داده، بنابراین ممکن است در حین اندازه‌گیری اندکی تفاوت ایجاد نماید [۱۶].

درصد انکپسولاسیون اسانس درون نانوذرات لیپیدی جامد حدود ۹۵ درصد محاسبه شد. به دلیل ماهیت لیپیدی اسانس، خاصیت لیپوفیلی بالا و حلالیت بالای آن ذرات اسانس در فاز لیپیدی نانو ذرات به خوبی تجمع پیدا کرده و درصد انکپسولاسیون بالایی را ایجاد کرد. در همین ارتباط مقیم پور و همکاران [۷] نیز با تهیه با استفاده از نانوذرات لیپیدی جامد اسانس آویشن شیرازی را فرموله کردند، اما در مطالعه آنها اندازه ذره‌ای بزرگتر (۶۵۰ نانومتر) و درصد انکپسولاسیون کمتر (حداکثر ۳۸/۶۶ درصد) از مطالعه حاضر بود. اما در آزمایش حاضر با استفاده از لیپیدهای متفاوت و روش تهیه مناسب، اندازه ذره‌ای ریزتر (۴۸۶ نانومتر) و درصد انکپسولاسیون ۹۵ درصد بود.

برای بررسی ساختمان کریستالی لیپید فرمولاسیون نانوذرات لیپیدی جامد مطالعات آنالیز حرارتی (DSC) انجام شد [۱۷]. در نتایج DSC مربوط به لیپید اسید استئاریک پیک در حدود $72^{\circ}C$ را نشان داد که با توجه به نقطه ذوب اسید استئاریک ۷۰ درجه مطلوب بوده و مطابق با استاندارد است. در هنگام تبدیل به نانو ذرات لیپید جامد اندکی پیک به سمت چپ متمایل شده است که دلیل آن نانو ذره شدن لیپید و نیز احاطه شدن آن توسط یک لایه سورفاکتانت است که در نتیجه، ماهیت لیپید تغییر کرده و اندکی تغییر در نمودار DSC آن دیده می شود. همچنین تغییراتی در پلی‌مورفیسم شکل کریستالی ایجاد شده که احتمالاً در زمان ریکریستالیزه شدن نظم کریستالی لیپید به هم خورده و کریستالی با نظم کمتر حاصل شده است [۱۲].

با توجه به اینکه در نمودار DSC مربوط به فرمولاسیون در محدوده ۸۲ درجه (شکل شماره ۴) پیکی وجود ندارد می‌توان این احتمال را مطرح کرد که اسانس به طور کامل در شبکه لیپیدی نانوذرات، محبوس شده و احتمالاً از تخریب تا حدی مصون مانده است. عدم وجود پیک اسانس در نمودار DSC و

www.SID.ir

احتباس بیش از ۹۵ درصدی اسانس در نانوذرات لیپیدی جامد، مؤید یکدیگرند.

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، نانو ذرات لیپیدی جامد متشکل از لیپید اسید استئاریک حامل مناسبی برای اسانس آویشن شیرازی است. از طرفی با توجه به کاربرد اثرات ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی [۱۸] و کاربرد آن در صنایع داروسازی، صنایع غذایی و کشاورزی، فرموله کردن این اسانس با فنانوری نانو می‌تواند باعث سهولت کاربرد و افزایش کارایی آن شود. با این حال درخصوص تهیه نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسانس آویشن شیرازی مطالعات تکمیلی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Plotto A, Roberts RG and Roberts DD. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Horticulture* 2003; 628: 737 - 45.

2. Akhondzadeh Basti A, Gandomi H, Noori N, Khanjari A. Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss) Oils. Essential Oils in Food Preservation, *Flavor and Safety* Elsevier. 2016; 83: 731 - 6.

3. Donsi F, Annunziata M, Sessa M and Ferrari G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Food Science and Technol*. 2011; 44:1908 - 14.

4. Namazi N. Preparation, characterization and evaluation of antimicrobial effect of solid lipid nanoparticles (SLN) containing essential oil of clove plants (*Eugenia caryophyllata*). PhrmD Thesis, School of Pharmacy Nanotechnology Research Center, Mashhad University of Medical Science. 2015.

5. Ekambaram P, Abdul Hasan Sathali A and Priyanka K. Solid Lipid Nanoparticles: A Review. *Scientific Reviews & Chemical Communications J*. 2011; 2 (1):80 - 102.

6. Shi F, Zhao J, Liu Y, Wang Z, Zhang Y and Feng, N. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with frankincense and myrrh oil. *International Journal of Nanomedicine* 2012; 7: 2033 - 43.

7. Moghimipour E, Ramezani Z, and Handali S. 2013. Solid Lipid Nanoparticles as a Delivery System for *Zataria multiflora* Essential Oil: Formulation and Characterization. *Current Drug Delivery* 2013; 10: 151 - 7.

8. Golmohammadzadeh Sh, Mokhtari M and Jaafari MR. Preparation, characterization and evaluation of moisturizing and UV protecting effects of topical solid lipid nanoparticles. *Brazilian Journal* of *Pharmaceutical Sciences* 2012; 48 (4): 683 - 90.

9. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiol*. 2004; 94: 223 - 53.

10. Bunjes H. Characterization of Solid Lipid Nano- and Microparticles. In: Lipospheres in drug targets and delivery. Edited by Nastruzzi C, Florida. 2005, pp: 41 - 66.

11. Wissing SA, Kayser O, Muller R H. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2004; 56 (9): 1257 - 72.

12. Wissing SA and Muller RH. The influence of the crystallinity of lipid57- nanoparticles on their occlusive properties. *International Journal Pharmaceutical* 2002; 242: 377 - 9.

13. Teeranachaideekul V, Souto EB, Junyaprasert VB and Muller R H. Cetylpalmitate-based NLC for topical delivery of Coenzyme Q10: Development, physicochemical characterization and in-vitro releasestudies. European Journal of *Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2007; 67: 141 - 8.

14. Domb AJ. Lipospheres for controlled delivery of substances. In: Microencapsulation: Methods

Archive of SID
www.SID.ir

and Industrial Applications. Ed. Benita, S. 2th ed, 158, CRC Press. USA. 1993, pp: 188 - 836.

15. Pizzol CD, Filippin-Monteiro FB, Restrepo JAS, Pittella F, Silva AH, Souza PA, Campos AM and Creczynski-Pasa TB. Influence of surfactant and lipid type on the physicochemical properties *and* biocompatibility of solid lipid nanoparticles. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2014; 11: 8581 - 96.

16. Gualbert J, Shahgaldian P and Coleman A.W. Interactions of amphiphilic calyx arene-based solid lipid nanoparticles with bovine serum albumin. *International Journal of Pharmaceutics* 2003; 257: 69 - 73.

17. Schäfer-Korting M and Mehnert W. Delivery of Lipophilic Compounds with LipidNanoparticles-Applications in Dermatics and for Transdermal Therapy. In: Lipospheres in drug targets and delivery: approaches, methods, and applications. Ed. Nastruzzi, C., 1st ed. CRC Press. London, 2005, pp: 128 - 39.

18. Nasseri M, Arouiee H, Golmohammadzadeh S, Jaafari MR and Neamati H. 2015. Antifungal Effects of *Zataria multiflora* Essential Oil on the Inhibitory Growth of some Postharvest Pathogenic Fungi. *Notulae Scientia Biologicae* 2015; 7 (4): 412 - 16.

Archive of SID

www.SID.ir