

## بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و ویژگی‌های فیزیکی حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی عصاره آویشن شیرازی

صحرا هاشمی‌زاده<sup>۱</sup>، بابک قنبرزاده<sup>۲\*</sup>، حامد همیشه‌کار<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز

۲. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه سراسری، تبریز

۳- دانشیار، گروه نانوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

(تاریخ دریافت: 95/7/27، تاریخ پذیرش: 95/10/15)

### چکیده

عصاره آویشن شیرازی دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشد و می‌تواند به‌عنوان افزودنی‌ها در مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد. چنین کاربردی نیازمند استفاده از حامل‌های مناسب نظیر حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) می‌باشد. هدف از این مطالعه، درون‌پوشانی عصاره در داخل NLC و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی آن می‌باشد. در این پژوهش خاصیت آنتی اکسیدانی و ویژگی‌های فیزیکی با استفاده از روش‌های (FTIR)، اسپکتروسکوپی فروسرخ (FTIR)، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) و تعیین اندازه میانگین ذرات، اندیس پلی دیسپرسیته، کارایی کپسولاسیون، مورد بررسی قرار گرفت. اسپکتروسکوپی فروسرخ به‌منظور مطالعه امکان تشکیل کمپلکس‌های چربی زیست فعال و آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی به‌منظور تایید اندازه ذرات در مقیاس نانو انجام گردید. عصاره با استفاده از روش هموزنی‌زاسیون داغ در داخل نانوحامل‌های لیپیدی نانوساختار با اندازه 122 نانومتر و اندیس پلی دیسپرسیته مناسب درون‌پوشانی گردید. کارایی درون‌پوشانی حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی در حدود 71 درصد به‌دست آمد. در این مطالعه از روش DPPH به‌منظور بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی استفاده گردید. در روز اول، فعالیت آنتی اکسیدانی نانوحامل‌های حاوی عصاره آویشن شیرازی در مقایسه با عصاره آزاد در غلظت‌های برابر بیش‌تر بوده ولی به مرور با نگهداری در دمای محیط به مدت 16 روز این خاصیت در نانوحامل‌های حاوی عصاره کم‌تر از عصاره آزاد گردیده است. این مورد می‌تواند به‌دلیل رهایش عصاره از داخل حامل با گذشت زمان و اثر سینرژیستی اکسیداسیونی ترکیبات حامل با عصاره آزاد شده باشد. در کل می‌توان نتیجه گرفت که حامل‌های لیپیدی نانوساختار حامل‌های مناسبی برای انکپسولاسیون عصاره آویشن شیرازی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: عصاره آویشن شیرازی، NLC، خواص آنتی اکسیدانی.

\* نویسنده مسئول: babakg1359@yahoo.com

## 1- مقدمه

بی‌تردید غذا یکی از مهم‌ترین نیازهای انسان به‌شمار آمده و تأمین غذای سالم با سلامت جامعه در ارتباط است. با توجه به افزایش بیماری‌های ناشی از مصرف مواد غذایی، که منجر به مشکلات اجتماعی و اقتصادی بسیار می‌گردد، لزوم تلاشی دائم برای تولید مواد غذایی ایمن‌تر بیش از پیش روشن می‌شود. یکی از روش‌های ایمنی مواد غذایی استفاده از نگاه‌دارنده‌های شیمیایی ساخت بشر در غذا است. با این وجود امروزه بر کاهش استفاده از این روش‌ها تأکید می‌شود، زیرا از یک رو مصرف‌کنندگان مواد غذایی خواستار غذاهای طبیعی با ماندگاری طولانی، همراه با کم‌ترین تغییر در ساختار آن می‌باشند و از سوی دیگر خاصیت سرطان‌زایی و سمی بودن برخی از نگاه‌دارنده‌های شیمیایی نیز برای انسان به اثبات رسیده است. از این رو فشار بر روی صنایع غذایی برای جایگزینی سریع نگاه‌دارنده‌های شیمیایی و استفاده از نگاه‌دارنده‌های طبیعی یکی از رویکردهای جدید در جهت ارتقاء سلامت غذاها و به دنبال آن افزایش سطح سلامت عمومی جوامع می‌باشد. از جمله ترکیبات طبیعی که می‌توانند به‌عنوان نگاه‌دارنده در مواد غذایی به‌کار روند اسانس‌های روغنی و عصاره هستند [1]. عصاره و اسانس‌های روغنی به‌دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد اکسایشی و ضد سرطانی می‌باشند. اسانس‌های روغنی شامل ترکیبات فنلی، ترپنی، الکل‌های آلیفاتیک، آلدئید، کتون، اسیدها و ایزوفلاونوئید است. این ترکیبات به‌خصوص مواد فنلی، عامل اصلی خصوصیات ضد میکروبی و ضد اکسایشی اسانس‌ها هستند. گیاه *Zataria multiflora* Boiss با نام علمی یکی از گیاهان تیره نعناعیان است. آویشن محتوی 0/8 تا 6/2 درصد اسانس است که قسمت عمده آن را فنل‌ها (20 تا 80 درصد)، هیدروکربن‌های مونوترپنی مثل p-cymene و  $\gamma$ -terpinen و الکل‌ها تشکیل می‌دهد که گاهی هر کدام از این ترکیبات تا 80 درصد ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند. به‌طور کلی تیمول جزء اصلی فنلی در آویشن است و کارواکرول نیز جزء فرعی می‌باشد. متأسفانه بیش‌تر ترکیبات طبیعی از نظر بیولوژیکی ناپایدار هستند و دارای اتصالات ضعیفی به مکان‌های هدف می‌باشند. یکی از روش‌های افزایش پایداری

و دسترسی زیستی درون‌پوشانی در داخل حامل‌های لیپیدی می‌باشد [2].

درون‌پوشانی، تکنولوژی به دام اندازی عناصر فعال در داخل کپسول‌هایی است که محتویات خود را در سرعت‌های کنترل شده و تحت شرایط ویژه آزاد می‌کنند. نانوحامل‌ها در مقایسه با حامل‌هایی با سایز میکرون، ناحیه سطحی بیش‌تری را فراهم می‌کنند و باعث افزایش حلالیت، افزایش قابلیت دسترسی زیستی، رهاسازی کنترل شده و هدف‌گیری دقیق اجزای فعال به مکان‌های مورد نظر و کاهش مقدار ماده مورد نیاز جهت اثر گذاری مورد انتظار نسبت به حالت آزاد می‌شوند [3].

حامل‌های لیپیدی نانوساختار یک سیستم حامل جدید است که از نانومولسیون‌های روغن در آب ساخته شده است و نوع بهبود یافته نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN) بوده و متشکل از فاز لیپیدی جامد (چربی)، فاز لیپیدی مایع (روغن)، عامل فعال سطحی و آب می‌باشد که در آن پوشش لیپیدی جامد، لیپید مایع را در بر می‌گیرد. NLC نسبت به SLN دارای مزیت‌هایی از جمله ظرفیت بیش‌تر بارگذاری، کنترل بهتر رهایش مواد بیواکتیو، افزایش رهایش عطر و طعم در فست فودها و غذاهای آماده طی حرارت دهی، اقتصادی بودن و امکان اضافه شدن به ماده غذایی قبل از عمل پاستوریزاسیون می‌باشد. با توجه به مزیت‌های بالا NLC به‌دلیل برطرف کردن معایب سایر نانوحامل‌های لیپیدی سیستم رهایش مناسب‌تری برای استفاده در رهایش مواد بیواکتیو محلول در آب می‌باشد [4].

سالمینن و همکاران، سه فرمولسیون حامل‌های لیپیدی نانوساختار (NLC) حاوی تری‌استئارین و روغن ماهی امگا 3، نانوذرات لیپیدی جامد (SLN) تری‌استئارین و امولسیون چربی در آب حاوی روغن ماهی امگا 3 را با دو سورفاکتانت لستین با نقطه ذوب بالا و پایین بررسی کردند. نتایج نشان داد که حضور روغن ماهی منجر به کاهش دمای کریستالیزاسیون، دمای ذوب و آنتالپی ذوب تری‌استئارین شده است. وجود سورفاکتانت لستین با نقطه ذوب بالا در NLC‌ها منجر به کاهش اکسیداسیون اسید چرب امگا به میزان 3 تا 90٪ نسبت به فرمول حاوی لستین با ذوب پایین شده است [5].

اوکاناگی و ریانجاناپاتی، حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی لیکوپین را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه با افزایش

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد

عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی از شرکت داروسازی اسانس دارو گرگان تهیه گردید. لیپیدهای جامد شامل کامپریتول 888-ATO یا گلیسرید دی بهینات (Gattefosse، فرانسه) و میگلیول 812 (تری‌کاپریک/تری‌کاپروئیک اسید) و سورفاکتانت غیریونی پلوکسامر 407 (Sigma-Aldrich، آلمان) و 2-2 دی‌فنیل-1-پیکریل-هیدرازیل (DPPH) (شرکت Sigma) و کلروفورم، متانول، پتاسیم کلرید، سدیم کلرید، دی‌سدیم هیدروژن فسفات، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات (شرکت Merck آلمان) و آب مقطر استریل و یخ است.

### 2-2- تجهیزات و لوازم آزمایشگاهی

برای انجام آزمایش‌های مربوطه از هموژنایزر مدل Heidolph، ساخت آلمان و سانتریفیوژ مدل Universal 320، ساخت آلمان و دستگاه پتانسیل زتا مدل Nano-ZS، ساخت شرکت Malvern، کشور انگلستان و دستگاه پروب سونیکاتور مدل Material & Sonics vibracell، ساخت کشور انگلستان و دستگاه اسپکتروفتومتر نوری مرئی مدل Ultrospec 2000، ساخت کشور انگلستان و دستگاه اسپکتروسکوپی فرو سرخ FTIR<sup>2</sup> مدل Tensor 27, Bruker و دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM<sup>3</sup>) مدل EM3200 ساخت شرکت KYKY استفاده شد و همچنین لوازم آزمایشگاهی مورد استفاده شامل بشر، ارلن، پیپت و دماسنج بود.

### 2-3- تولید NLC

در این پژوهش از فرمولاسیون بهینه با نسبت یک به یک لیپید جامد (کامپریتول) به سورفاکتانت غیریونی (پلوکسامر 407) با توجه به تحقیقات صورت گرفته توسط پزشکی و همکاران استفاده شده است. برای تولید NLC از روش هموژنیزاسیون داغ با نیروی برشی بالا استفاده شد. در ابتدا 100  $\mu$ l عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی در داخل فاز آبی حاوی 25 سی‌سی آب مقطر و 500 میلی‌گرم سورفاکتانت

مقدار لیکوپن، اندازه ذرات و میزان جفت شدن ذرات به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و تأثیری بر روی خصوصیات سطحی نداشته و همچنین بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای NLC با مقدار 50 میلی‌گرم لیکوپن به‌دست آمده است [6]. فتحی و همکاران، تولید نانوذرات لیپیدی جامد و حامل‌های لیپیدی نانو ساختاری هسپرتین را بررسی کردند. اکثر نمونه‌ها دارای توزیع اندازه ذرات باریک و اندیس پلی‌دیسپرسیته کم‌تر از 0/5 بودند. فرمولاسیون‌های NLC اندازه ذرات کوچک‌تری نسبت به فرمولاسیون‌های SLN نشان داده و همچنین ذرات NLC دارای پتانسیل زتا و کارایی انکپسولاسیون بیش‌تر از SLN بوده است [3].

خطیبی و همکاران نیز انکپسولاسیون اسانس آویشن شیرازی در نانولیپوزوم را با سه روش اواپراسیون لایه نازک، سونیکاسیون و تزریق اتانول انجام دادند و تأثیر اسانس بر روی اندازه میانگین لیپوزوم، پتانسیل زتا و کارایی انکپسولاسیون را بررسی نمودند. نانولیپوزوم‌های تولیدی با روش سونیکاسیون دارای کم‌ترین اندازه میانگین و کم‌ترین کارایی انکپسولاسیون در مقایسه با دو روش دیگر و در روش اواپراسیون لایه نازک نیز بیش‌تر از روش تزریق اتانول می‌باشد. میزان نشت اسانس از لیپوزوم طی زمان نگهداری بسیار کم بوده است [7].

با توجه به تحقیقات انجام شده و در نظر گرفتن خواص نظیر سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری و عدم حضور ترکیبات سمی در ساختار NLC‌ها این مواد حامل‌های مناسبی برای تحویل هدفمند ترکیبات زیست‌فعال به‌شمار می‌روند. از این رو در این پژوهش سعی بر آن است که ویژگی‌های فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی آویشن شیرازی مورد مطالعه قرار گیرد. بدین منظور ابتدا حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی تهیه شده و سپس به‌منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکی، تعیین اندازه ذرات، توزیع اندازه ذرات، کارایی کپسولاسیون و عکس‌برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی صورت گرفت. پس از تأیید درون‌پوشانی عصاره در داخل نانوحامل از طریق اسپکتروسکوپی فرو سرخ خاصیت آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن در این مقاله گزارش شده است.

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl  
2. Fourier Transform Infrared Spectra  
3. Scanning Electron Microscopy

جذب حاصل در  $\lambda$  منحنی کالیبراسیون غلظت عصاره آزاد به‌دست آمد و کارایی درون‌پوشانی با استفاده از معادله (1) محاسبه شد [6].

(1)

$$100 \times \frac{\text{مقدار عصار آزاد- مقدار کل عصاره افزوده شده}}{\text{مقدار کل عصاره افزوده شده}} = \text{انکسپولاسیون کارایی}$$

## 2-6- بررسی مورفولوژی نانوذرات با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

در تأیید اندازه ذرات در مقیاس نانو (کوچک‌تر از 100 نانومتر)، سوسپانسیون نمونه توسط دستگاه خشک کن پاششی به‌صورت پودری خشک شد و سپس با استفاده از دستگاه الکترونی روبشی (SEM) تصویر برداری شد [9].

## 2-7- اسپکتروسکوپی فروسرخ (FTIR)

برای تعیین ترکیبات آلی و گروه‌های عاملی آن‌ها از این روش استفاده می‌شود. کاربرد این دستگاه به‌صورت کیفی می‌باشد به‌طوری که با تعیین شدت جذب از روی پیک‌ها می‌توان ترکیبات و برهمکنش‌های آن‌ها را به‌دست آورد. برای این آزمون نمونه‌ها (عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی، نانوحامل‌های حاوی عصاره و نانوحامل خالی) توسط دستگاه FTIR در محدوده موج  $500-4000 \text{ cm}^{-1}$  اندازه‌گیری و پیک‌های لازم به‌دست آمد.

## 2-8- بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی

تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از محلول بنفش DPPH<sup>1</sup>

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

(پلوکسامر 407) به‌خوبی مخلوط گردید. سپس 500 میلی‌گرم لیپید جامد کامپریتول و 50 میلی‌گرم روغن مایع میگیلیول با هم مخلوط و در داخل حمام آبی تا بالاتر از نقطه ذوب چربی حرارت داده شد. سپس فاز آبی به‌صورت تدریجی و هم‌دما و در زیر هم‌ژنایزر با دور 20000 rpm به فاز لیپیدی افزوده و سپس به مدت 15 دقیقه هم‌ژن گردید. سپس از دستگاه سونیکاتور با فرکانس 60 هرتز به مدت 10 دقیقه، طی 10 چرخه 1 دقیقه‌ای با فاصله 1 دقیقه استراحت برای کاهش اندازه ذرات استفاده شد. در انتها سیستم در دمای یخچال به مدت 24 ساعت خنک شده و کریستال‌های لیپیدی متبلور شده و ذرات NLC تولید گردید [8].

## 2-4- تعیین اندازه ذرات

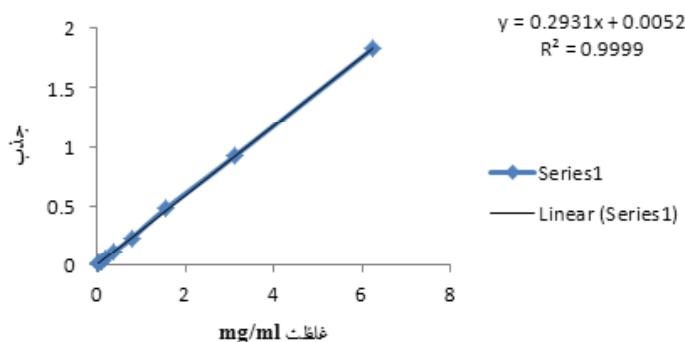
اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی در دستگاه DLS<sup>1</sup> و با استفاده از پراش نور دینامیکی اندازه‌گیری شد.

## 2-5- محاسبه کارایی کپسولاسیون

ابتدا غلظت مناسبی از عصاره آویشن شیرازی با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری اسکن و طول موج ماکزیمم عصاره برای انجام مراحل بعدی اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد، جذب از غلظت‌های مختلف عصاره در طول موج 260 نانومتر به‌صورت منحنی کالیبراسیون مطابق با شکل (1) رسم شد.

عصاره آزاد با استفاده از فیلتر آمیکول پس از سانتریفوژ با دور 4000 rpm به مدت 5 دقیقه جداسازی شد. جذب نمونه فیلتر شده در طول موج 260 nm خوانده شد. با قرار دادن

1. Dynamic Light Scattering



شکل (1) نمودار کالیبراسیون عصاره آویشن شیرازی

هموژنیزاسیون برش بالا به‌وسیله لیپید جامد کامپریبتول، روغن مایع میگلایول و سورفاکتانت پلوکسامر، اندازه ذرات در محدوده 90-140 nm و توزیع اندازه ذرات باریک را نشان داده است [11]. در تحقیق انجام یافته بر روی لوتئین نیز میانگین اندازه سوسپانسیون NLC حاوی لوتئین 167-390 nm به‌دست آمد [12].

کارایی درون‌پوشانی مطابق با جدول (1) برای NLC حاوی آویشن شیرازی در حدود 71/1٪ به‌دست آمد. کارایی به‌دست آمده در این پژوهش را می‌توان به ماهیت آبدوستی عصاره آویشن شیرازی نسبت داد. با توجه به تمایل آبدوستی عصاره، تمایل آن به نفوذ و برهمکنش با قسمت چربی دوست حامل (کامپریبتول و میگلایول) کم بوده و این مورد منجر به کاهش کارایی انکپسولاسیون شده است. کپسولاسیون ویتامین A-پالمیتات درون حامل‌های لیپیدی نانو ساختار توسط کانگ و همکاران بررسی شده است. نتایج آن‌ها نشان داد، دیسپرسیون‌های ویتامین A-پالمیتات محصور شده در NLC تحت شرایط بهینه منجر به افزایش کارایی انکپسوله کردن تا 99/8٪ گردیده است [9]. در تحقیق دیگری با استفاده از پروپیلن گلیکول مونو و دی استنارات، پروپیلن گلیکول مونو و دی پالمیتات و روغن آفتابگردان و توکوفرول و توپین 80 به‌عنوان سورفاکتانت، حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی  $\beta$ -کاروتن تولید گردید. نتایج حاصل از تحقیق کارایی انکپسوله کردن 98 درصد را نشان داد [13].

### 3-2- بررسی مورفولوژی حامل‌های لیپیدی نانو ساختار با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای به‌دست آوردن اطلاعات بیش‌تر در مورد اندازه و شکل ذرات بهینه، تحلیل تصاویر حاصل از SEM صورت گرفت. در شکل (2) تصاویر به‌دست آمده از میکروسکوپ الکترونی روبشی مربوط به حامل‌های لیپیدی نانو ساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی نشان داده شده است. مطابق شکل، نانوحامل‌ها عمدتاً کروی شکل بوده و اندازه آن‌ها زیر 100 نانومتر است.

در متانول در سه زمان مورد سنجش قرار گرفت. ابتدا 5 رقت متوالی 750، 375، 187/5، 93/75 و 43/875  $\mu\text{g/ml}$  عصاره و حامل‌های لیپیدی نانو ساختار با متانول تهیه شده و سپس به اندازه هم حجم نمونه‌های متانولی، محلول متانولی DPPH (0/008٪) به هر یک از نمونه‌ها افزوده شده و محلول DPPH (0/008٪) به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. در انتها جذب نوری نمونه‌ها پس از 30 دقیقه در طول موج 517 نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر خوانده شد و درصد بازدارندگی آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معادله (2) محاسبه شد [10].

$$(2) \quad \text{جذب نمونه حامل دارای عصاره - جذب نمونه شاهد} \times 100 = \frac{\text{درصد بازدارندگی}}{\text{جذب نمونه شاهد}}$$

### 2-9- روش تجزیه و تحلیل آماری

آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در هر یک از سیستم‌های نانوحامل صورت گرفت. برای تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن در سطح 5٪ استفاده شد. نرم افزار آماری SPSS 16 در تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

### 3- نتایج و بحث

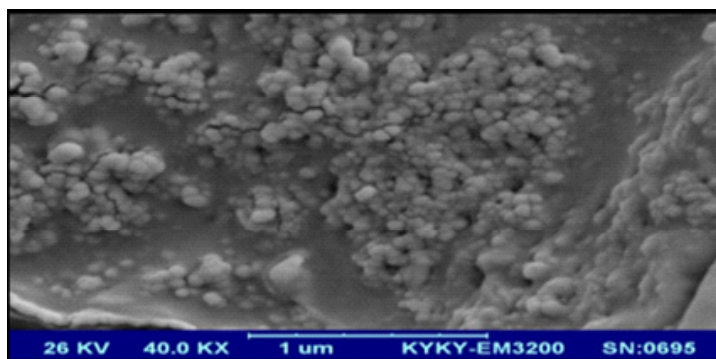
#### 3-1- ویژگی‌های فیزیکی و درون‌پوشانی NLC حاوی عصاره آویشن شیرازی

خصوصیات درون‌پوشانی NLC حاوی عصاره آویشن شیرازی مطابق با جدول (1) می‌باشد. با توجه به جدول (1) برای نمونه بهینه اندازه میانگین ذرات و توزیع اندازه آن‌ها به‌ترتیب حدود 122 نانومتر و 1/143 به‌دست آمده است. اندازه کوچک‌تر ذرات از جنبه‌های مختلف حائز اهمیت است که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به دسترسی و جذب زیستی بالاتر، پایداری کلونیدی بالاتر، محلول‌های شفاف‌تر (کاهش ایجاد کدورت) به‌علت شکست نور کم‌تر، حلالیت بالاتر در محیط آبی مواد غذایی، پخش یکنواخت‌تر در مواد غذایی اشاره کرد [3].

در مطالعات پیشین کپسولاسیون ماده نیاسین با روش

جدول (1) خواص فیزیکی درون‌پوشانی NLC حاوی عصاره آویشن شیرازی

اندازه میانگین	اندیس پلی‌دیسپرسیویتی	کارایی درون‌پوشانی
122/033 ± 1/001 نانومتر	1/143 ± 0/00015	71/1 ± 0/8544%



شکل (2) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) از نانوحامل‌های NLC حاوی عصاره آویشن شیرازی تثبیت شده بر روی طلا

### 3-4- محاسبه خاصیت آنتی‌اکسیدانی

مطابق با نمودار (a) از شکل (4)، در روز اول میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی حامل‌های لیپیدی حاوی رقت‌های متوالی عصاره آویشن شیرازی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از عصاره آزاد است. ترکیبات فنلی عصاره کپسوله شده با توجه به اندازه نانومتری نسبت به عصاره آزاد سریع‌تر در معرض رادیکال‌های آزاد DPPH قرار می‌گیرند. هم‌چنین لیپید جامد و روغن مایع موجود در ساختار NLC دارای اثرات سینرژیستی بوده و می‌توانند با رادیکال‌های آزاد واکنش داده و منجر به محدود شدن دسترسی اکسیژن و پراکسیدان به عصاره کپسوله شده و افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی گردند.

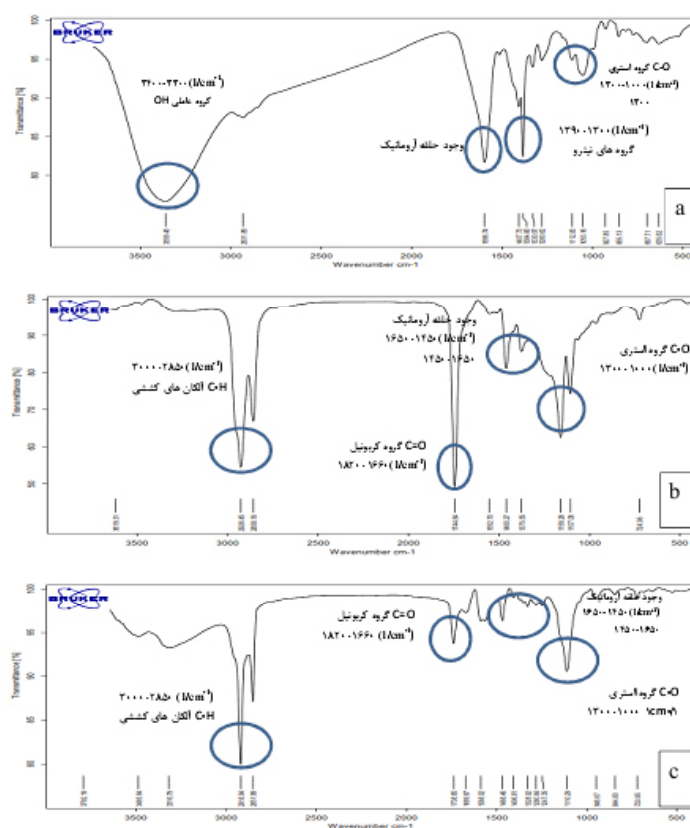
مطابق با نمودارهای (b) و (c) از شکل (4)، اثر زمان بر خاصیت بازدارندگی نانوحامل‌ها معنی‌دار بوده و با گذشت زمان، خاصیت بازدارندگی نانوحامل‌های حاوی عصاره آویشن شیرازی کم‌تر از عصاره آزاد گردیده است. رهایش عصاره از حامل‌های لیپیدی با مرور زمان و شرایط نگهداری می‌توانند منجر به واکنش‌های نامطلوب ترکیبات فنولیک عصاره آزاد شده از حامل‌ها در اثر واکنش با اکسیژن و پراکسیدان‌ها شده و در نهایت منجر به کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی گردند. در مطالعه‌ای که بر روی اثر آنتی‌اکسیدانی حامل‌های لیپیدی حاوی امگا 3 صورت گرفت، نتایج نشان داد به دام اندازی روغن ماهی در داخل حفرات می‌تواند منجر به محدود شدن انتشار پراکسیدان و اکسیژن گردیده و اکسیداسیون امگا 3 را کاهش دهد [5]. هم‌چنین بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی NLC حاوی چای سبز ( $^1\text{GTE}$ ) نشان داد که اثر آنتی‌اکسیدانی NLC حاوی چای سبز بیش‌تر از ماده فعال خالص بوده و این

I. Green Tee

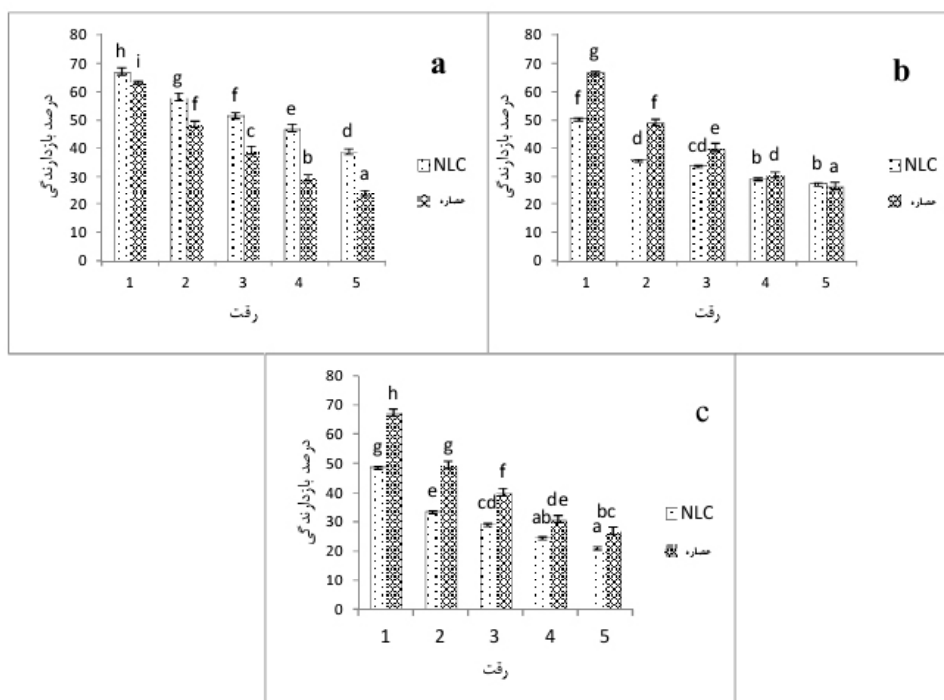
با وجود تجمع ذرات در کنار هم، شکل کروی آن‌ها کاملاً مشخص می‌باشد. برخی از ذرات که به صورت توده‌ای مشاهده می‌شوند، می‌توانند به مرور زمان از هم جدا شده و منجر به کاهش اندازه ذرات گردند [14].

### 3-3- بررسی طیف‌سنج فرورسرخ (FTIR)

در این پژوهش آنالیز طیف سنجی فرورسرخ به‌منظور شناسایی گروه‌های شیمیایی و هم‌چنین برهمکنش‌های احتمالی ایجاد شده بین مواد موجود در فرمولاسیون (NLC) مورد ارزیابی قرار گرفت. پیک‌های حاصل از این آزمون مطابق با شکل (3)، نشان داده شده است. مطابق با نمودار (a) از شکل (3)، پیک‌های مشخصه عصاره آویشن شیرازی عبارتند از  $3359/45\text{ cm}^{-1}$  مشخصه گروه OH، فنل‌ها و الکل‌ها، طول موج  $1596/74\text{ cm}^{-1}$  مشخصه احتمال وجود حلقه‌ی آروماتیک، طول موج  $1384/66\text{ cm}^{-1}$  مشخصه گروه‌های نیترو و طول موج  $1053/15\text{ cm}^{-1}$  مشخصه گروه C-O است. در نمودار (b) از همین شکل نیز پیک‌های NLC خالی عبارتند از:  $1744/184\text{ cm}^{-1}$  مشخصه پیوند C=O، طول موج  $1159/28\text{ cm}^{-1}$  نشان‌دهنده پیوند استری و  $1460\text{ cm}^{-1}$  تعیین کننده گروه آروماتیک دارای گروه آلیفاتیک (CH) است. همان‌طور که در نمودار (c) از شکل (3)، مشاهده می‌شود، انکپسولاسیون عصاره در داخل NLC منجر به ناپدید شدن جذب پهن ترکیبات فنلی و الکل‌ها، گروه‌های نیترو و تغییر جذب مربوط به پیوند C-O عصاره در نمودار NLC حاوی عصاره شده است. این مورد می‌تواند نشان‌دهنده کپسوله کردن عصاره در داخل حامل لیپیدی باشد [15].



شکل (3) تحلیل طیف‌های فروسرخ (FTIR): (a) عصاره آویشن شیرازی، (b) NLC خالی و (c) حاوی عصاره



شکل (4) بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی رقت‌های متوالی NLC حاوی عصاره و عصاره آویشن آزاد در (a) روز اول، (b) روز هشتم و (c) روز شانزدهم نگره‌داری شده در دمای محیط (حروف مشابه نشان دهنده معنی‌دار نبودن در سطح 0/05٪ است)

با فشار بالا برای درون‌پوشانی عصاره آویشن شیرازی مناسب بوده است. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده بیش‌تر بودن اثر آنتی‌اکسیدانی NLC حاوی عصاره آویشن شیرازی نسبت به عصاره آزاد بوده است و این مورد می‌تواند در استفاده مفید از فناوری نانو در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی مواد غذایی حاوی عصاره آویشن موثر باشد. تهیه انواع دیگر نانوحامل‌ها از عصاره آویشن شیرازی مانند فیتوزوم و بررسی محافظت از ترکیبات فنولیک با استفاده از نانوحامل‌های دیگر برای مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود.

#### تشکر و قدردانی

در انتها از مرکز تحقیقات دارویی پشمینه تبریز که در روند انجام آزمایشات نهایت همکاری را داشتند، تشکر می‌نماییم.

به دلیل اثر سینرژیستی لیپیدهای موجود در ساختار نانوحامل بوده است [16]. در مطالعه‌ای دیگر با کاهش مقدار لیکوپن لود شده، مقدار خاصیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت و NLC با مقدار 50 mg لیکوپن لود شده دارای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده است [6].

#### 4- نتیجه‌گیری

عصاره آویشن شیرازی یک منبع مفید دارویی، عضو مهم از گروه آنتی‌اکسیدان‌های غذایی می‌باشد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی چنین موادی می‌تواند در جلوگیری از بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان بسیار مفید و سودمند باشد. یکی از موارد استفاده از این آنتی‌اکسیدان‌ها، در مواد غذایی می‌باشد. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که روش هموژنیزاسیون

#### منابع

- lipids on crystal structure and chemical stability in solid lipid nanoparticles: Towards bioactive-based design of delivery systems. *J. Food Chem.*, 190, 928-937.
- [6] Okonogi, S., Riangjanapatee, P. (2015). Physico-chemical characterization of lycopene-loaded nanostructured lipid carrier formulations for topical administration. *J. Int. J. Adv. Pharm. Biol. Sci.*, 478, 726-735.
- [7] Khatibi, S.A., Misagi, A., Moosavy, M.H., Amobediny, G., Akhondzadeh Basti, A. (2015). Effect of preparation methods on the properties of Zataria multiflora Boiss. essential Oil loaded nanoliposomes: characterization of size, encapsulation efficiency and stability. *J. Adv. Pharm. Sci.*, 20, 141-148.
- [8] Pezeshki E.A., Ghanbarzadeh, B., Mohammadi, M., Fathollahi, I., Hamishehkar, H. (2014). Encapsulation of Vitamin A Palmitate in Nanostructured Lipid Carrier (NLC)-Effect of Surfactant Concentration on the Formulation Properties. *J. Adv. Pharm. Bull.*, 4, 563-568.
- [1] AkhondzadehBasti, A., Misaghi, A., Khaschabi, D. (2007). Growth response and modeling of the effects of Zatariamultiflora Boiss. essential oil, pH and temperature on Salmonella Typhimurium and Staphylococcus aureus. *J. LWT.* 40, 973-981.
- [2] شهنیا، م؛ خاکسار، ر. (1391) بررسی اثرات ضد میکروبی و روش‌های تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس‌های گیاهی بر باکتری‌های پاتوژن. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. سال 7، شماره 5. ص 13-20.
- [3] Fathi, M., M.R, Mozafari. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *J. Adv. J. Food Sci. Technol.*, 23, 13-27.
- [4] Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J., Nasirpour, A. (2013). Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *J. Innov. Food Sci. Emerging Technol.*, 19, 29-43.
- [5] Salminen, H., Gommel, Ch., H.Leuenerberger, B., Weiss, J. (2016). Influence of encapsulated functional



- Antioxidant and antimicrobial activities of green tea extract loaded into nanostructured lipid carriers. *J. C. R. Chim.*, 17, 331- 341.
- [9] Kong, R., Xia, Q., Liu, G. (2011). Preparation and Characterization of Vitamin A Palmitate-loaded Nanostructured Lipid Carriers as Delivery Systems for Food products. *J. Adv. Mater. Res.*, 4, 1818-1823.
- [10] Akowuah, G.A., Ismail, Z., Norhayati, I., Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities of polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *J. Food Chem.*, 93, 311-317.
- [11] Khalil, R.M., Abd- Elbary, A., Kassem, M.A., El Ridy, M.S., Abou Samra, M.M., Awad, G.E., Mansy, S.S. (2014). Formulation and Characterization of Nystatinloaded Nanostructured Lipid Carriers for Topical Delivery against Cutaneous Candidiasis. *J. Pharm Res.*, 4, 490-512.
- [12] Lacatusu, I., Niculae, G., Badea, N., Stan, R., Popa, O., Opera, O., Meghea, A. (2014). Design of lipid nanocarriers based on bioactive e vegetable oils with multiple health benefits. *J. Adv. Chem. Eng. Res.*, 4, 311-321.
- [13] Hentschel, A., Gramdorf, S., Muller, R., Kurz, T. (2008).  $\beta$ -Carotene-loaded nanostructured lipid carriers. *J. Adv. Food Sci. Technol.*, 73(2), 1-6.
- [14] Mohammadi, A., Hashemi, M., Hosseini, S.M. (2015). Nanoencapsulation of *Zataria multiflora* essential oil preparation and characterization with enhanced antifungal activity for controlling *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mould disease. *J. Innovative Food Sci. Emerging Technol.*, 28, 73-80.
- [15] Bhalekar, M., Pokharkar, V., Madgulkar, A., Patil, N., Patil, N. (2009). Preparation and Evaluation of Miconazole Nitrate-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Topical Delivery. *AAPS Pharm Sci. Tech.*, 10(1), 289-296. doi: 10.1208/s12249-009-9199-0.
- [16] Manea, A. M., Vasile, B. S. and Meghea, A. (2013).