



Semnan University



Research Article

Investigation of antifungal and antioxidant activity of nanoemulsions prepared from essential oil of the Gandevash

Fereshteh Rezazadeh^a, Roya moghimi^{a,*}, Mahtab Ashrafi-khozanic^b

^a Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

^b Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran.Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 17/Dec/2025

Revised: 25/Apr/2026

Accepted: 16/May/2026

Keywords:

Gandevash,
Persian gum,
nanoemulsion,
Malassezia fungus.

ABSTRACT

Dandruff is one of the most common skin problems and the role of *Malassezia furfur* in its occurrence is well known. In this study, *Artemisia annua* (Gandevash) essential oil was prepared in the form of three nanoemulsion formulations and their stability was evaluated under different environmental conditions including centrifugation, heat, cold, pH and ionic strength. Then, the antifungal activity against *M. furfur* was investigated. Also, the antioxidant activity of the nanoemulsions was compared with the essential oil. Stability evaluation of the three nanoemulsion formulations of *Artemisia annua* essential oil showed that nanoemulsion number 1 and 2 had the lowest absorption and turbidity in ionic, thermal, pH change and centrifugation stability tests and was more stable than the nanoemulsion number 3. Nano 3 also showed the highest instability in all tests. The antioxidant test results showed that nanoemulsion 3 with IC₅₀ equal to 1.2636±0.0001 mg/ml had greater antioxidant power than the essential oil with IC₅₀ equal to 9.0589±0.0001 mg/ml. On the other hand, only nanoemulsion 2 was able to inhibit the growth of *M. furfur* and its MIC was significantly lower than that of the pure essential oil; which confirms the role of emulsion nanoparticles in improving the release and effectiveness of active compounds. Overall, this study shows that the optimized nanoemulsion of gandevash essential oil can be a natural and effective option for controlling fungal agents associated with dandruff and has significant potential for the development of herbal therapeutic formulations.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2026.40049.2418>

© 2026 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Assistant Professor of Phytochemistry. E-mail address: r.moghimi@umz.ac.ir

How to cite this article: Rezazadeh, F., moghimi, R. & Ashrafi-khozanic, M. (2026). Investigation of antifungal and antioxidant activity of nanoemulsions prepared from essential oil of the Gandevash. *Applied Chemistry Today*, 21(78), 111-138. (in Persian)

بررسی فعالیت ضد قارچی و آنتی اکسیدانی نانوامولسیون‌های تهیه شده از اسانس گیاه گندواش

فرشته رضازاده^۱، رویا مقیمی^{۱*}، مهتاب اشرفی خوزانی^۲

^۱ گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

^۲ گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۹/۲۶	<p>شوره سر یکی از شایع‌ترین مشکلات پوستی بوده و نقش قارچ <i>Malassezia furfur</i> در بروز آن به خوبی شناخته شده است. در این پژوهش، اسانس گیاه گندواش (<i>Artemisia annua</i>) در قالب سه فرمولاسیون نانوامولسیون تهیه و پایداری آن‌ها تحت شرایط مختلف محیطی شامل سانتی‌گراد، گرما، سرما، pH و قدرت یونی ارزیابی شد. سپس فعالیت ضد قارچی بر علیه قارچ <i>M. furfur</i> بررسی شد. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی نانوامولسیون‌ها با اسانس مقایسه شد. ارزیابی پایداری سه فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس گندواش نشان داد که نانوامولسیون شماره ۱ و ۲ در آزمون‌های پایداری یونی، حرارتی، تغییر pH و سانتی‌گراد کمترین میزان جذب و کدورت را داشت و نسبت به نانوامولسیون شماره ۳ پایدارتر بودند. نانو نیز بیشترین ناپایداری را در تمام آزمون‌ها نشان داد. نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی نشان داد نانوامولسیون ۳ با IC_{50} برابر با $1/2636 \pm 0/001$ میلی گرم بر میلی لیتر قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اسانس با IC_{50} برابر با $9/0589 \pm 0/001$ میلی گرم بر میلی لیتر داشت. از طرفی تنها نانوامولسیون ۲ توانست رشد <i>M. furfur</i> را مهار کند و MIC آن به طور قابل توجهی کمتر از اسانس خالص بود؛ امری که نقش نانوذرات امولسیون در بهبود رهائش و اثربخشی ترکیبات فعال را تأیید می‌کند. در مجموع، این مطالعه نشان می‌دهد که نانوامولسیون بهینه شده اسانس گندواش می‌تواند یک گزینه طبیعی و مؤثر برای کنترل عوامل قارچی مرتبط با شوره سر باشد و ظرفیت قابل توجهی برای توسعه فرمولاسیون‌های درمانی گیاهی دارد.</p>
بازنگری مقاله: ۱۴۰۵/۰۲/۰۵	
پذیرش مقاله: ۱۴۰۵/۰۲/۲۶	
<p>کلمات کلیدی: گیاه گندواش، صمغ فارسی، نانوامولسیون، قارچ جنس مالاسزیا.</p>	

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2026.40049.2418>

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

۱- مقدمه

شوره سر وضعیتی است که بسیاری از افراد را ناراحت و دچار عدم اعتماد به نفس می‌کند. شوره سر گروهی از کورنئوسیت‌ها هستند که از لایه شاخی پوست در پوست سر جدا شده و سپس با سلول‌های پاراکراتوز انباشته شده‌اند. این بیماری می‌تواند توسط عوامل میکروبی و غیرمیکروبی ایجاد شود. علل غیرمیکروبی شوره سر شامل قرار گرفتن بیش از حد در معرض آفتاب، سوزش پوست سر ناشی از شامپو زدن بیش از حد، شانه زدن بیش از حد، قرار گرفتن در معرض گرد و غبار، آلودگی و استفاده از محصولات آرایشی خاص است [۱]. با این حال، علت واقعی شوره سر در واقع گونه‌های قارچی از جنس *Malassezia* است که روی پوست سر به طور طبیعی زندگی می‌کنند و از چربی‌های پوست تغذیه می‌کنند [۲]. انواع مواد ضدشوره به طور گسترده‌ای

در آماده سازی‌های مختلف ضد شوره استفاده می‌شود. مولکول‌های مختلفی از نظر مصنوعی مشتق شده و به طور طبیعی وجود دارد. برخی از این‌ها مانند اسید سالیسیلیک، کلیمبازول، پیریتیون روی و غیره هستند [۳]. علاوه بر این، طیف گسترده‌ای از مواد گیاهی مانند روغن رزماری و روغن کرفس وجود دارد که دارای فعالیت ضد شوره‌ای دارند [۴]. در حال حاضر، مطالعات زیادی در مورد مواد طبیعی برای جایگزینی مواد مصنوعی مانند ضد شوره انجام شده است. یکی از مواد طبیعی شناخته شده برای کمک به درمان شوره سر اسانس‌ها هستند. اسانس یک مایع هیدروفوبیک است که حاوی مقادیر زیادی مواد شیمیایی معطر فرار از گیاهان است. اسانس طبیعی در حال حاضر می‌تواند جایگزین بالقوه‌ای با ترکیبات شیمیایی مورد استفاده باشد [۵]. زیرا ترکیبات موجود در اسانس دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی مانند اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی می‌باشد [۶]. یکی از گیاهان با اسانس دارای فعالیت بیولوژیکی، گیاهی از جنس *Artemisia* (Asteraceae) شامل گونه‌های زیادی است که به صورت وحشی در جنوب اروپا و آسیا رشد می‌کند. این جنس دارای گونه‌هایی است که بسیاری از آن‌ها دارای اسانس و بوی قوی با اثرات ضد میکروبی قابل توجه هستند. به طور خاص، *Artemisia annua* L.، نام فارسی گندواش یک گونه بومی چین است که در حال حاضر در بسیاری از کشورهای دیگر اهلی شده است و به عنوان منبع منحصر به فرد سزکوئیت‌ترین اندوپروکسید لاکتون آرتیمیزینین شناخته شده است. این گیاه که حاوی اسانس به ویژه غنی از مونوترین است در درمان مالاریا مقاوم به کلروکین مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسانس این گیاه تحت مطالعات متعددی در ارتباط با فعالیت‌های ضد باکتری و ضد قارچی قرار گرفته است [۷]. نقطه ضعف اسانس‌ها، ناپایداری آن‌هاست که باعث می‌شود فرآورده به سرعت بوی تند بگیرد و حتی بوی خود را از دست بدهد، واکنش‌پذیری آسان، فراریت و تمایل به تخریب دارد [۸]. علاوه بر این، اسانس‌ها بسیار ناپایدار هستند و در معرض عوامل خارجی مانند اکسیداسیون، تبخیر، گرما و نور به راحتی تجزیه می‌شوند [۹]. این مشکلات ناپایداری ممکن است منجر به کاهش یا از دست دادن اثربخشی شود [۱۰]. علاوه بر این، اسانس‌ها خواص فیزیوشیمیایی ضعیفی دارند، مانند عدم انحلال‌پذیری در آب (به دلیل ترکیبات لیپوفیلیک بودن اسانس‌ها)، فراریت بالا و نیمه عمر سریع که جابجایی و استفاده از اسانس‌ها را دشوار می‌کند [۱۱]. در این راستا، فناوری نانوکپسولاسیون یکی از بزرگترین چالش‌ها، اما در عین حال نویدبخش، برای انتقال اسانس‌ها است. به لطف اندازه زیر سلولی آن‌ها، نانوحامل‌ها قادر به افزایش فعالیت زیستی اسانس‌ها هستند، زیرا امکان نفوذ عمیق‌تر به بافت و جذب سلولی آسان‌تر را فراهم می‌کنند. علاوه بر این، آن‌ها امکان کنترل و تعدیل آزادسازی مواد فعال در محل هدف را فراهم می‌کنند [۱۲]. در نهایت، رویکرد نانوکپسولاسیون می‌تواند با فعال کردن قابلیت پخش‌پذیری اسانس‌ها در آب، کاهش فراریت آن‌ها و محافظت از آن‌ها در برابر برهمکنش با محیط، خواص فیزیوشیمیایی و پایداری آن‌ها را بهبود بخشد [۱۳]. در این سناریو، فناوری نانو استراتژی‌های فرمولاسیون مختلفی را توسعه داد که می‌توان آن‌ها را بر اساس حالت فیزیکی یا ترکیب آن‌ها طبقه‌بندی کرد. به طور خاص، آن‌ها رویکردهای مختلفی مانند تهیه نانوذرات پلیمری، فلزی، اکسید فلزی و حامل‌های لیپیدی، از جمله لیپوزوم‌ها و نانوذرات لیپیدی جامد، میکرو و

نانوامولسیون‌ها را ارائه دادند. در میان آن‌ها، نانوامولسیون‌ها ساده‌ترین فرموله کردن و کار با آن هستند و می‌توان آن را با هزینه کم تهیه کرد [۱۴]. نانوامولسیون‌ها یکی از اشکال دارویی هستند که برای رساندن ماده‌ی مؤثر به محل هدف استفاده می‌شوند. این ماده از روغن، آب و سورفکتانت تشکیل شده است. اندازه‌ی قطرات نانوامولسیون‌ها در محدوده‌ی نانو و از ۱۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر متغیر است [۱۵]. بنابراین حرکت براونی قطرات کوچک برای غلبه بر خواص گرانشی کم آن‌ها کافی است و منجر به پایداری فیزیکی خوب می‌شود. نانوامولسیون‌ها را می‌توان به طور کلی به انواع آب در روغن و روغن در آب طبقه‌بندی کرد. اخیراً، نانوامولسیون‌های روغن در آب به دلیل سهولت شستشو، سازگاری با آب، ایمنی و کاربرد گسترده در سیستم‌های دارورسانی، در تولید داروسازی نسبت به نانوامولسیون‌های آب در روغن محبوبیت بیشتری پیدا کرده‌اند [۱۶،۱۷]. چندین تکنیک برای تولید نانوامولسیون‌ها، از جمله روش‌های مختلف کم انرژی و پرنرژی، به کار گرفته شده‌اند. امولسیون‌سازی اولتراسونیک یک روش پرنرژی است که به سرعت و به طور مؤثر قادر به تهیه نانوامولسیون‌هایی با قطر قطرات کوچک و توزیع اندازه باریک است [۱۸]. بیوپلیمرهای طبیعی کاربردهای مختلفی در صنایع غذایی و دارویی دارند [۱۹،۲۰]. صمغ فارسی که با نام صمغ زرد یا انگم نیز شناخته می‌شود، یک صمغ بیوپلیمر طبیعی است که به عنوان رقیبی برای صمغ عربی که به طور گسترده شناخته شده است. تقریباً ۳۰٪ (وزنی/وزنی) صمغ فارسی محلول در آب است که به آن اجازه می‌دهد به راحتی در آب سرد حل شود. در مقابل، بخش نامحلول، که تقریباً ۷۰٪ (وزنی/وزنی) را تشکیل می‌دهد، می‌تواند در معرض آب گرم تا حدی حل شود [۲۱]. صمغ فارسی یک ترشح طبیعی است که از درختچه‌ها یا درختان بادام کوهی یا وحشی با نام علمی *Amygdalus scoparia Spach* (بومی مناطق آسیای مرکزی، ایران-تورانی و زاگرس)، گرفته می‌شود. در بازار تجاری، صمغ فارسی در رنگ‌های متنوعی از جمله سفید، زرد روشن، زرد تیره، قهوه‌ای روشن، قهوه‌ای تیره، کهربایی و قرمز و همچنین در اشکال و اندازه‌های مختلف عرضه می‌شود [۲۲]. صمغ فارسی، به دلیل وجود یک بخش پروتئینی که به صورت کووالانسی به اسکلت آن متصل شده است، حاوی هر دو گروه آلدوست و آگلیز است. در نتیجه، می‌تواند در سطح مشترک روغن/آب جذب شده و امولسیون را پایدار کند. همچنین با افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته، پایداری را بهبود می‌بخشد [۲۳] و به طور قابل توجهی بر پایداری، و اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها تأثیر می‌گذارد [۲۴] کاربرد صمغ فارسی به عنوان کمک سورفکتانت در فرمولاسیون‌ها در پژوهش قبلی توسط گروه ما در دانشگاه مازندران مورد مطالعه قرار گرفته است. در مطالعه قبلی تأثیر پارامترهای مختلف، مانند زمان سونیکاسیون، غلظت اسانس، سورفکتانت و کمک سورفکتانت، و دامنه سونیکاسیون پروب، ارزیابی شد. پایداری و فعالیت ضد باکتریایی فرمولاسیون‌های مختلف نیز بررسی شد [۲۵]. بنابراین، در پژوهش فعلی، با توجه به اهمیت بررسی پایداری نانوامولسیون‌ها تحت شرایط استرس محیطی متفاوت، تأثیر این عوامل مانند سانتریفیوژ، گذر زمان، گرما، سرما، محلول‌های یونی، اسیدی و بازی بر پایداری سه فرمولاسیون بهینه نانوامولسیون‌های حاصل از اسانس گندواش پرداخته شده است. همچنین با توجه به اهمیت بار سطحی در پایداری فرمولاسیون‌ها، میزان بار سطحی نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت

فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد قارچی نانوامولسیون‌های گندواش ارزیابی شد. در نتیجه می‌توان گفت پژوهش حاضر از نظر بررسی عوامل مختلف در پایداری نانوامولسیون‌های اسانس گندواش در حضور کمک سورفکتانت صمغ فارسی دارای نوآوری است. همچنین تا کنون فعالیت ضد مالاسزیای نانوامولسیون‌های اسانس گندواش پایدار شده با تویین- صمغ فارسی گزارش نشده است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- گیاه و مواد شیمیایی مورد استفاده

بخش هوایی گیاه گندواش شامل گل و برگ‌ها از باغات و مناطق جاده ای در منطقه جاده نظامی قائمشهر، مازندران، ایران جمع آوری گردید. سپس برای تأیید طبقه‌بندی به آزمایشگاه هرباریوم دانشگاه مازندران ارسال شد. دکتر ناصر جعفری نمونه را شناسایی کردند و شماره گواهی مربوطه HUMZ-8701 ثبت شد. مالاسزیای فور فور (*Malassezia furfur*) از شوره سر انسان جداسازی و قبلاً با روش سکانس تعیین هویت شد. *کاندیدا/ پسیلوزی* استاندارد با کد (ATCC 22019) خریداری گردید. تمامی مواد شیمیایی به کار رفته در این پژوهش (به جز اسید کلریدریک) دارای خلوص بالای ۹۹ درصد بودند. لیست مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

جدول ۱. لیست مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش (درصد خلوص تمام مواد بالای ۹۹ درصد است. تنها اسید کلریدریک دارای خلوص ۳۷٪ می باشد)

CAS NO	شرکت سازنده	نام ماده شیمیایی (انگلیسی)	نام ماده شیمیایی (فارسی)
۹۰۰۵-۶۵-۶	مرک آلمان	Tween80	تویین ۸۰
۷۶۴۷-۱۴-۵	مرک آلمان	NaCl	سدیم کلرید
۱۳۱۰-۷۳-۲	مرک آلمان	NaOH	سدیم هیدروکسید
۷۶۴۷-۰۱-۰	مرک آلمان	HCL	اسید کلریدریک
۶۷-۶۸-۵	مرک آلمان	DMSO	دی متیل سولفوکسید
۱۸۹۸-۶۶-۴	مولکولای انگلیس	DPPH	۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل
-	فروشنده آنلاین در اصفهان، ایران (گیاهینه)	Persian gum	صمغ فارسی
۱۳۹۷-۸۹-۳	بريستول	Amphotericin B	آمفوتریسین ب
۸۶۳۸۶-۷۳-۴	فایزر	Fluconazole	فلوکونازول
۸۴۶۲۵-۶۱-۶	جانسون	Itraconazole	ایتراکونازول
۱۶۲۸۰۸-۶۲-۰	هارلم	Casprofungin	کسپوفانژین

۲-۲- استخراج اسانس گیاه

بخش هوایی گیاه از منطقه جاده نظامی قائمشهر در فصل پاییز جمع آوری و در دمای محیط و سایه خشک گردید. اسانس برگ‌ها و قسمت‌های هوایی گیاه گندواش (تصویر ۱ الف) از طریق تقطیر با آب استخراج شد. برای این فرآیند، ۷۰ گرم از گیاه

پودر شده (تصویر ۱ ب) به مدت ۳ الی ۴ ساعت در دستگاه کلونجر (تصویر ۱ ج) قرار داده شد. دمای فرآیند در دمای ۱۵۰ درجه سانتیگراد حفظ شد. اسانس‌ها (تصویر ۱ د) جمع‌آوری گردید و با استفاده از سولفات سدیم خشک شدند. در نهایت، نمونه‌ها در محیط خشک و تاریک در یخچال نگهداری شدند.



(ب) گیاه خشک و پودر شده



(الف) برگ گیاه گندواش



(د) اسانس گیاه گندواش



(ج) مرحله اسانس گیری با کلونجر

شکل ۱: مراحل استخراج اسانس گیاه گندواش

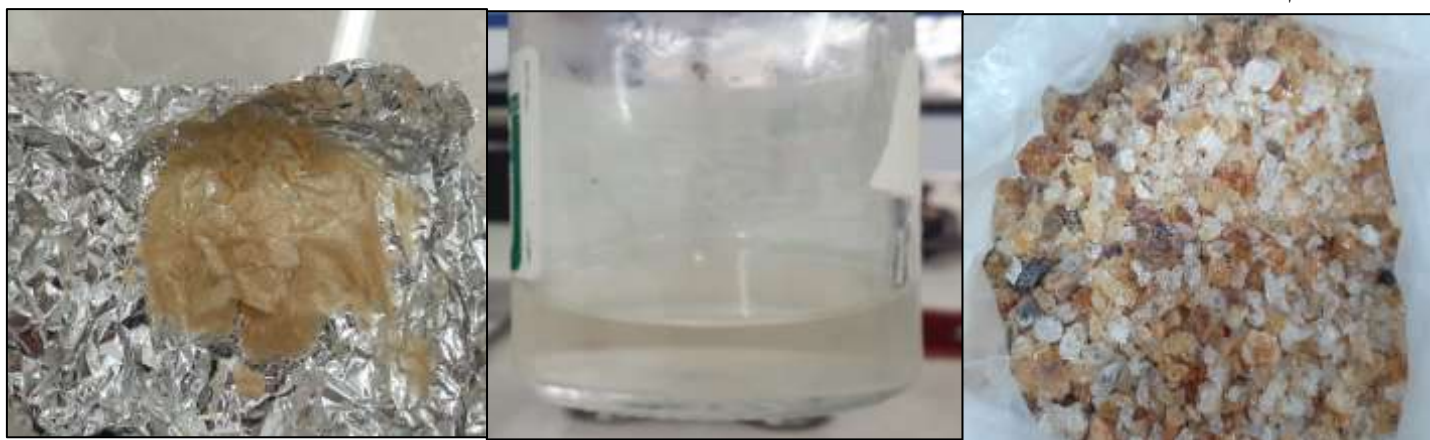
۲-۳- آنالیز GC-MS اسانس

اسانس گیاه گندواش با بهره‌گیری از روش‌های کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای (GC-FID) و کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز کیفی ترکیبات با استفاده از دستگاه GC-MS مجهز به ستون مویرگی سیلیس ذوب شده BPX5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد.

۲-۴- آماده سازی و خالص سازی محلول صمغ فارسی

صمغ خام فارسی تراوش طبیعی از درخت (*Amygdalus scoparia Spach*) ابتدا به صورت دستی از ناخالصی‌های خارجی قابل مشاهده شامل قطعات پوست درخت، خاک، شن و ذرات درشت (شکل ۲-الف) پاک‌سازی شد. این مرحله اولیه برای حذف بخش‌های درشت نامحلول ضروری است تا از انسداد در مراحل بعدی جلوگیری شود. سپس صمغ خشک‌شده آسیاب گردید تا به پودر ریز و همگن (اندازه ذرات معمولاً کمتر از ۰/۵-۱ میلی‌متر) تبدیل شود. این عمل سطح تماس را افزایش داده و فرآیند

هیدراتاسیون و حل‌شوندگی پلی‌ساکاریدها را تسهیل می‌کند. برای تهیه محلول استوک ۳٪ (w/v) ۳۰ گرم پودر صمغ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داغ (۸۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد) پراکنده و با همزن مغناطیسی (سرعت متوسط) هم زده شد تا پراکندگی اولیه رخ دهد. محلول سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. این مرحله هیدراتاسیون کامل پلی‌ساکاریدهای اصلی (عمدتاً آرابینوگالاکتان) را تضمین می‌کند و ویسکوزیته را به‌طور طبیعی افزایش می‌دهد؛ همچنین به آزادسازی و پخش بهتر بخش‌های محلول کمک می‌کند. پس از هیدراتاسیون، محلول به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. این مرحله کلیدی حذف بخش‌های نامحلول است که شامل بقایای گیاهی، تانن‌های متصل، پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا، مواد معدنی اضافی و ذرات معلق می‌شود (شکل ۲-ب). سانتریفیوژاسیون روش رایج و مؤثری برای جداسازی فاز محلول از فاز نامحلول در صمغ‌های ترش‌مانند صمغ فارسی است. مشابه روش‌های گزارش‌شده در مطالعات مرتبط با صمغ‌های جنس پرونوس، فاز رویی شفاف جمع‌آوری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا از رشد میکروبی و تغییرات جلوگیری شود. برای تعیین غلظت دقیق نهایی و ارزیابی کارایی خالص‌سازی، رسوب خشک‌شده (پس از خشک کردن در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت (شکل ۲-ج) وزن شد و از وزن اولیه پودر صمغ کسر گردید. این محاسبه درصد بخش محلول را نشان می‌دهد که در صمغ فارسی معمولاً ۷۰٪-۹۰٪ گزارش شده است (بسته به منبع و کیفیت صمغ خام) [۲۶].



ج: رسوب خشک ناخالص

ب: محلول صمغ فارسی خالص
شکل ۲: آماده سازی و خالص سازی محلول صمغ فارسی

الف: صمغ فارسی ناخالص

۲-۵- تهیه نانوامولسیون‌ها

با توجه به اینکه پارامترهای مختلفی مثل درصد اسانس با غلظت اسانس (۵-۱٪) غلظت صمغ فارسی (۱-۰٪) غلظت توپین ۸۰ (۱۰-۱٪) قدرت دستگاه (۲۰۰ وات) و زمان (۱۵ دقیقه) در مطالعه قبلی بهینه شده بودند [25]. در این پژوهش نیز از سه فرمولاسیون بهینه ای که در جدول ۲ آمده استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا آب و توپین ۸۰ با هم مخلوط می‌شوند سپس صمغ فارسی به آن اضافه گردید تا مخلوط یکنواخت تهیه شده. این مخلوط که فاز آبی نامیده می‌شود به اسانس که فاز روغنی

است اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه تحت امواج فراصوت دستگاه اولتراسونیک پروب (Top Sonic model TS-400, Iran) با قدرت ۲۰۰ وات مخلوط گردید. دما در طی فرآیند تهیه نانوامولسیون به کمک ظرف حاوی حمام یخ به خوبی کنترل می‌شد.

جدول ۲. مشخصات فرمولاسیون های بهینه حاصل از اسانس گندواش

شماره نانوامولسیون	درصد اسانس (وزنی/حجمی)	درصد توپین ۸۰ (وزنی/حجمی)	درصد صمغ فارسی (وزنی/حجمی)
شماره ۱	۱	۱	۰/۱
شماره ۲	۲	۴	-
شماره ۳	۵	۱۰	۱

۲-۶-۲ ویژگی های نانوامولسیون ها

۲-۶-۲-۱ اندازه گیری بار سطحی

برای ارزیابی بار سطحی نانوامولسیون ها از دستگاه DLS-Zeta Analyzer مدل Microtrac Wave2 (آمریکا) استفاده گردید.

۲-۶-۲-۲ آزمایش پایداری نانوامولسیون ها

به منظور اینکه تأثیر مجموعه ای از تنش های محیطی مؤثر بر پایداری نانوامولسیون ارزیابی گردد، مجموعه تست هایی در این زمینه استفاده شد. به طور کلی یکی از عوامل مهم در ارزیابی پایداری بررسی تغییرات ظاهری فرمولاسیون هاست. به گونه ای که نمونه های پایدار در گذر زمان و یا در اثر انواع عوامل تنش محیطی دچار تغییرات ظاهری نمی شوند و مکانیسم های ناپایداری نانوامولسیون ها نظیر لخته شدن، کرمی شدن و یا دوفاز شدن در آن ها مشهود نیست. از طرفی زمانی که نمونه ها پایدار باشند میزان جذب نور در طول موج ۵۰۰ نانومتر، به عنوان شاخصی برای بررسی شفافیت نمونه نیز دچار تغییر نمی گردد. در نتیجه برای ارزیابی پایداری در این مطالعه هم پایداری بصری نمونه ها و هم میزان تغییرات جذب در اثر عوامل استرس محیطی بررسی شد.

۲-۶-۲-۳ پایداری ظاهری در گذر زمان

نمونه های نانوامولسیون به مدت ۳۰ روز در دمای محیط قرار گرفت و میزان کدورت ظاهری در گذر زمان بررسی شد.

۲-۶-۲-۴ پایداری در اثر سانتریفیوژ

ابتدا جذب نمونه نانوامولسیون در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانش شد سپس نمونه را با سرعت ۲۰۰۰ rpm و ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید و دوباره جذب آن اندازه گیری شد. سپس تغییرات جذب قبل و بعد از سانتریفیوژ مورد بررسی قرار گرفت. طول موج ۵۰۰ نانومتر برای اندازه گیری تغییرات جذب (کدورت) نانوامولسیون قبل و بعد از اعمال تنش های فیزیکی مانند تغییرات دمایی و سانتریفیوژ انتخاب شد، زیرا این طول موج حداکثر حساسیت را نسبت به تغییرات اندازه قطرات در محدوده نانومتری رایج نانوامولسیون ها (معمولاً ۲۰-۵۰۰ نانومتر) فراهم می کند. بر اساس اصول پراکندگی نور، شدت پراکندگی و در

نتیجه کدورت، هنگامی به حداکثر می‌رسد که اندازه قطرات نزدیک به طول موج نور باشد. برای نانوامولسیون‌ها با اندازه متوسط قطرات حدود ۱۰۰-۳۰۰ نانومتر، حداکثر حساسیت به تغییرات اندازه مانند افزایش ناشی از کوالسنس پس از تنش‌های حرارتی یا مکانیکی در محدوده ۴۰۰-۶۰۰ نانومتر مشاهده می‌شود، و ۵۰۰ نانومتر به عنوان نقطه‌ای نزدیک به پیک حساسیت عمل می‌کند. علاوه بر این، در این طول موج تداخل جذب نوری توسط اجزای رنگی یا مواد فعال فرمولاسیون (مانند اسانس‌ها یا ترکیبات لیپوفیلیک) به حداقل می‌رسد، بنابراین تغییرات اندازه‌گیری شده عمدتاً ناشی از پراکندگی نور و نشان‌دهنده تغییرات واقعی پایداری فیزیکی هستند [۲۷].

۲-۶-۵- پایداری در اثر تنش گرما و سرما

ابتدا جذب نمونه نانوامولسیون در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانش شد سپس نمونه‌ها نانوامولسیون در آب ۱۰۰ درجه در حال جوش و دمای منفی ۲۰ فریزر به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدد جذب آنها در ۵۰۰ نانومتر خوانش شد.

۲-۶-۶- پایداری در اثر تغییر قدرت یونی

ابتدا جذب نمونه نانوامولسیون در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانش شد سپس به نمونه‌ها محلول ۰/۱، ۰/۵ و ۱ مولار سدیم کلرید اضافه گردید و مجدد جذب آن در ۵۰۰ نانومتر خوانش شد.

۲-۶-۷- پایداری در اثر تغییرات pH

ابتدا pH هر سه فرمولاسیون اندازه‌گیری (pH هر نمونه در محدوده ۴/۵-۴ بوده) و جذب نمونه نانوامولسیون در طول موج ۵۰۰ نانومتر خوانش شد سپس با استفاده از محلول ۰/۱ مولار سدیم هیدروکسید pH را به ۱۰/۵ و با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۱ مولار pH را به ۲/۵ رسانده و مجدد جذب آن در ۵۰۰ نانومتر خوانش شد.

۲-۷- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از آزمون مهار رادیکال DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) و بر اساس روش توصیف شده توسط جدید و همکاران (۲۰۱۷) با اندکی اصلاحات ارزیابی شد [28]. تهیه محلول DPPH: ۵ میلی گرم پودر DPPH را در ۵۰ میلی لیتر متانول ۹۶٪ مخلوط شد سپس محلول در ظرف تیره در یخچال نگهداری گردید. نحوه سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه گندواش: در این روش ابتدا محلول استوک که حاوی ۱۰ میلی گرم اسانس را در ۱ میلی لیتر DMSO است را تهیه نموده سپس رقت‌های ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ... تا ۱۱ رقت این کار را ادامه می‌دهیم. سپس از هر رقت به اندازه ۵۰ میکرولیتر با ۳ بار تکرار در چاهک پلیت ۹۶ چاهکی ریخته و به اندازه ۱۵۰ میکرولیتر محلول DPPH به آن اضافه و پلیت را به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور شیکر دار قرار داده. بعد از این زمان، دوباره پلیت به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط می‌ماند تا واکنش صورت گیرد و سپس جذب نمونه را در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانش می‌کنیم. برای نمونه بلانک، به جای

محلول DPPH از ۱۵۰ میکرولیتر متانول و برای نمونه کنترل فقط ۲۰۰ میکرولیتر DPPH استفاده میکنیم و ادامه روند آزمایش مثل قبل می باشد.

۸-۲- نحوه سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی نانومولسیون

در این روش ابتدا محلول استوک که حاوی ۱ میلی لیتر محلول نانومولسیون است را تهیه نموده سپس رقیق سازی انجام می دهیم. سپس از هر رقت به اندازه ۵۰ میکرولیتر با ۳ بار تکرار در چاهک پلیت ۹۶ چاهکی ریخته و به اندازه ۱۵۰ میکرولیتر محلول DPPH به آن اضافه و پلیت را به مدت ۵ دقیقه در انکوباتور شیکر دار قرار داده شد. بعد از این زمان، دوباره پلیت به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط ماند تا واکنش صورت گیرد و سپس جذب نمونه را در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانش می کنیم. برای نمونه بلانک، به جای محلول DPPH از ۱۵۰ میکرولیتر متانول و برای نمونه کنترل فقط ۲۰۰ میکرولیتر DPPH استفاده شد و ادامه روند آزمایش مثل قبل انجام و درصد مهار طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{درصد مهار کنندگی} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل}}{\text{جذب کنترل}} \times 100$$

۹-۲- بررسی خاصیت ضد قارچی بر علیه *Malassezia fur*

به منظور بررسی اثر ضد قارچی نانومولسیونها و اسانس از روش Rojas FD و همکاران [۲۹] استفاده شد. در این روش همزمان با فرمولاسیونهای ذکر شده از ضد قارچهای روتین شامل آمفوتریسین ب (AMB, Bristol-Myers Squibb Co., Princeton, NJ, USA)، فلوکونازول (FCZ, Pfizer, Groton, CT, USA)، ایتراکونازول (ICZ, Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse, Belgium) و کسپوفانژین (CFG, MSD BV Haarlem) استفاده گردید. از مالاسزیا فور (*Malassezia furfur*) که قبلاً به روش سکانس تعیین هویت شده بود و کاندیدا پاراپسیلوزی (*Candida parapsilosis*) (ATCC 22019) به عنوان استاندارد و محیط کشت Dixon agar برای رشد قارچ بکار گرفته شد. بعد از تهیه میکرو پلیت ۹۶ خانه به مدت ۵-۱ روز در انکوباتور ۳۲-۳۰ درجه انکوبه گردید. استاندارد کاندیدا پاراپسیلوزیس بعد از ۲۴ ساعت خوانده و رشد مخمرهای مالاسزیا بطور روزانه چک گردید. جهت تعیین میزان حساسیت مخمرها نسبت به داروها، برای داروهای آزول، ۵ فلوروسیتوزین چاهکی مثبت در نظر گرفته می شود که داروی مورد نظر توانسته باشد $\geq 50\%$ رشد مخمر را مهار کند. برای داروی آمفوتریسین ب و اکینوکاندین چاهکی مثبت در نظر گرفته شد که 100% عدم رشد داشته باشد. برای تعیین حساسیت نانومولسیونها و اسانس مورد بررسی در این پژوهش چاهکی مثبت در نظر گرفته شد که 100% عدم رشد داشته باشد.

۱۰-۲- آنالیز آماری

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد و داده‌ها به شکل میانگین و انحراف معیار ارائه گردیدند. برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد و برای هر داده سطح معنی‌داری تعیین گردید. جزییات مربوط به نتایج آنالیز واریانس یک طرفه در فایل پیوست موجود است.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- آنالیز GC-MS:

طبق نتایج مطالعه پیشین بر روی اسانس گیاه گندواش، β ترکیبات فعال اسانس شامل بتا- سلینن (۷/۲۷٪)، ژرماکرن D (۸/۵۵٪)، کاریوفیلین (۶/۱۷٪)، (+)-۲- بورانون (۱۱/۰۲٪)، آرتمزیا کتون (۱۰/۷۷٪) و ۸،۱- سینئول (۸/۸۰٪)، آلفا- پینن (۹/۰۲) بودند (جدول ۳) [۲۵]. تجزیه و تحلیل GC-MS اسانس گیاه گندواش نیجریه‌ای در مراحل مختلف رشد نشان داد که ترکیبات شیمیایی زیست فعال اصلی شناسایی شده در روغن‌های فرار در مراحل مختلف رشد، کامفور (۵/۶۷-۱۶/۸۴٪) و کتون آرتمیسیا (۶۲/۶۷-۱/۷٪) بودند [۳۰]. نتایج ما با نتایج تحقیقات قبلی در مورد ترکیبات فعال اسانس گیاه گندواش، همسو است. اگرچه، عوامل فیزیولوژیکی و محیطی، مانند عناصر اقلیمی، توپوگرافی، هیدرولوژیکی و خاکی، می‌توانند بر ترکیب شیمیایی و درصد متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تأثیر بگذارند [۳۱].

جدول ۳. درصد ترکیبات اصلی اسانس گیاه گندواش در آنالیز GC-MS

ردیف	شاخص بازداری (RI)	نام ترکیب	درصد (%)	زمان بازداری (RT) دقیقه
۱	۹۳۴/۰۸	آلفا- پینن	۹/۰۲	۴/۹۱
۲	۹۴۶/۵۲	کامفن	۲/۵۱	۵/۲۰
۳	۹۷۲/۳۵	آلفا-سایینن	۱/۲۲	۵/۶۶
۴	۹۷۷/۰۹	بتا-پینن	۱/۳۵	۵/۷۶
۵	۱۰۱۶/۱۰	آلفا ترپینن	۰/۴۱	۶/۵۹
۶	۱۰۲۳/۵۳	آ- سیمن	۰/۴۶	۶/۷۷
۷	۱۰۳۱/۷۰	۱،۸ سینئول	۸/۸۰	۶/۹۷
۸	۱۰۵۹/۹۶	آرتمیسیا کتون	۱۰/۷۷	۷/۶۵
۹	۱۰۶۶/۴۳	سیس-سایینن هیدرات	۰/۶۶	۷/۸۱
۱۰	۱۰۸۱/۰۴	آرتمیسیا الکل	۱/۲۰	۸/۱۶
۱۱	۱۰۹۸/۰۵	ترانس- سایینن هیدرات	۰/۶۲	۸/۵۷
۱۲	۱۱۲۶/۴۷	آلفا- کامفولنال	۰/۷۵	۹/۲۹
۱۳	۱۱۴۲/۱۲	ای-پینوکاروتول	۴/۶۵	۹/۶۹
۱۴	۱۱۴۸/۶۷	(+)-۲- بورانون	۱۱/۰۲	۹/۸۶
۱۵	۱۱۶۵/۶۵	پینوکارون	۴/۱۴	۱۰/۲۹
۱۶	۱۱۶۸/۱۶	ایندوبورنئول	۲/۲۱	۱۰/۳۵
۱۷	۱۱۷۹/۴۹	ال-۴ ترپینن اول	۱/۶۶	۱۰/۶۴
۱۸	۱۱۹۲/۳۹	آلفا- ترپینئول	۰/۶۱	۱۰/۹۷
۱۹	۱۱۹۹/۱۸	میرتنول	۰/۸۴	۱۱/۱۴
۲۰	۱۳۰۱/۲۴	ان-بوتیل بنزن	۰/۹۸	۱۳/۸۵

۱۵/۸۴	۱/۵۸	آلفا-کوپائن	۱۳۷۸/۴۹	۲۱
۱۶/۰۷	۰/۳۲	بنزیل ۲-متیل بوتیرات	۱۳۷۸/۲۱	۲۲
۱۶/۱۹	۰/۴۳	بتا-کوبین	۱۳۹۲/۱۳	۲۳
۱۶/۹۸	۶/۱۷	کاریوفیلین	۱۴۲۳/۶۱	۲۴
۱۷/۷۹	۱/۲۴	سیس-بتا فارنسن	۱۴۵۶/۱۰	۲۵
۱۸/۳۳	۱/۷۱	دی متیل اکتا هیدرونیفتالین	۱۴۷۷/۶۷	۲۶
۱۸/۵۱	۸/۵۵	ژرماکرن D	۱۴۸۴/۸۵	۲۷
۱۸/۶۵	۷/۲۷	بتا-سلینین	۱۴۹۰/۶۴	۲۷
۱۸/۸۵	۰/۵۷	بیسیکلوژرماکرن	۱۴۹۸/۷۵	۲۹
۲۰/۶۶	۰/۷۶	بتا-المن	۱۵۷۵/۶۸	۳۰
۲۰/۷۹	۰/۴۷	اسپاتولنول	۱۵۸۱/۳۷	۳۱
۲۰/۸۷	۱/۴۵	-تری متیل ۲-سایکولوپنتن-۱-۱	۱۵۸۴/۸۳	۳۲
	۹۶/۸۰			جمع کل

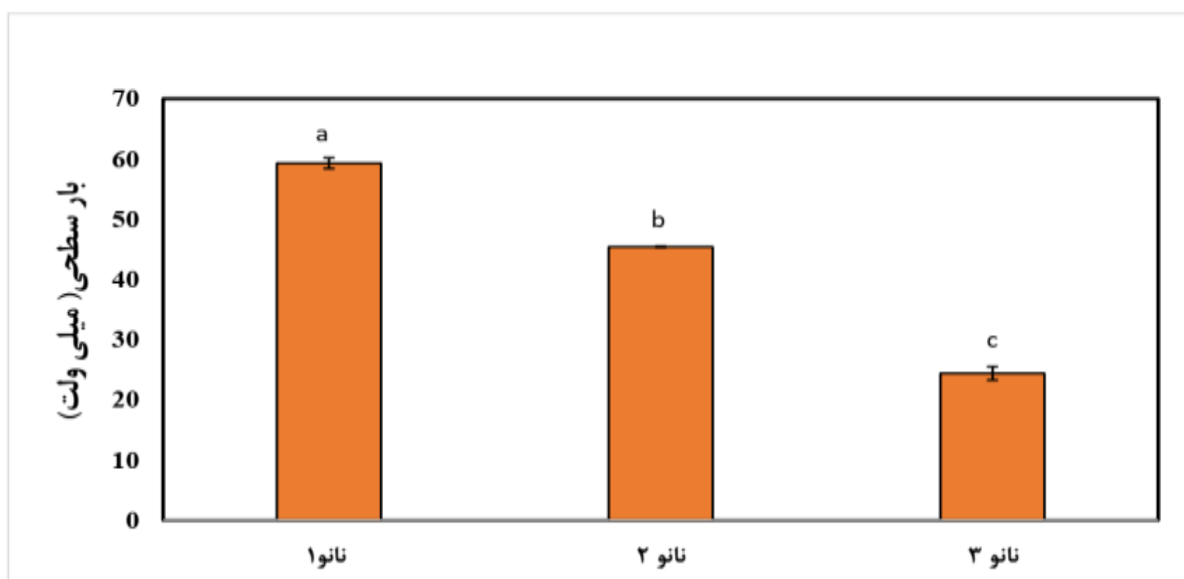
۳-۲- ویژگی های نانومولسیون ها

طبق نتایج بدست آمده، اندازه نانومولسیون شماره ۱ تا ۳ به ترتیب ۱۴۸/۸۷، ۱۲۵/۶۱۵ و ۹۰/۵۹۵ نانومتر بود [۲۵]. حال در این مطالعه به منظور بررسی بهتر میزان پایداری، پارامترهای بار سطحی، پایداری ظاهری در گذر زمان، پایداری در اثر سانتریفیوژ، پایداری در اثر تنش گرما و سرما، پایداری در اثر تغییرات pH، پایداری در اثر تغییر قدرت یونی بررسی گردید.

۳-۲-۱- اندازه گیری بار سطحی

اندازه گیری بار سطحی یا پتانسیل زتا یکی از شاخص های اساسی در ارزیابی پایداری نانومولسیون ها به شمار می رود. برخورداری سیستم از بار سطحی زیاد (چه با قطبیت مثبت و چه منفی) موجب ایجاد دافعه الکترواستاتیکی میان قطرات نانومولسیون شده و از تجمع، چسبندگی و ادغام آن ها جلوگیری می کند؛ موضوعی که نقش بسیار مهمی در افزایش پایداری فیزیکی فرمولاسیون دارد. معمولاً نانومولسیون هایی با پتانسیل زتا بیش از ± 30 میلی ولت به عنوان سیستم های پایدار در نظر گرفته می شوند، زیرا این میزان از بار سطحی، نیروی دافعه کافی برای جلوگیری از کلوخه شدن قطرات را فراهم می سازد [۳۲]. نتایج حاصل از نمودار شکل ۳ نشان می دهد که سه فرمولاسیون مورد بررسی از نظر مقدار بار سطحی تفاوت معناداری داشته اند ($p < 0.05$). در این میان، فرمولاسیون نانو ۱ بیشترین مقدار پتانسیل زتا ($+59/3 \pm 0/88$) میلی ولت را نشان داده است که بیانگر پایداری الکترواستاتیکی قوی تر و کاهش احتمال تجمع و رشد قطرات در این سیستم است. مقدار پتانسیل زتا در نانو ۲ ($+45/4 \pm 0/1$) میلی ولت کمتر از نانو ۱ و بیشتر از نانو ۳ ($+24/4 \pm 1/11$) میلی ولت گزارش شده و نشان دهنده سطحی متوسط از پایداری فیزیکی است؛ به طوری که اگرچه احتمال تجمع ذرات در این فرمولاسیون نسبت به نانو ۱ بیشتر است، اما همچنان در محدوده قابل قبول قرار دارد. در مقابل، نانو ۳ دارای کمترین میزان بار سطحی بوده که این مقدار پایین نشان دهنده پایداری ضعیف تر آن است. در چنین شرایطی کاهش نیروهای دافعه الکترواستاتیکی می تواند منجر به افزایش احتمال کلوخه شدن، رشد قطرات و در نهایت بروز ناپایداری فیزیکی شود. از طرفی می توان گفت زیاد بودن پتانسیل زتای نانو ۱ از نانو ۲ به علت وجود کمک

سورفاکتانت صمغ فارسی است که می‌تواند روی سطح قطرات چربی به خوبی بنشیند و گروه باردارش در تماس با فاز آبی قرار بگیرد و در نتیجه پتانسیل زتای آن افزایش یابد و اما علت اینکه پتانسیل زتای نانوذره ۳ با وجود غلظت صمغ فارسی بیشتر، کمتر از نانوذره ۱ و نانوذره ۲ است این می‌باشد که غلظت تویین ۸۰ آن زیاد می‌باشد و اثر صمغ فارسی را کم می‌کند و خوب نمی‌تواند بر روی سطح روغن قرار بگیرد. بر اساس مطالعه‌ای که جعفری و همکاران در سال ۲۰۲۱ انجام دادند، نانومولسیون اسانس گیاه گندواش با استفاده از سورفاکتانت تویین ۸۰ و اسپن ۸۰ به روش فراصوت تهیه و اندازه قطرات و پتانسیل زتای آن اندازه‌گیری شد. در این پژوهش، اندازه متوسط قطرات ۵۰ نانومتر و پتانسیل زتا برابر با ۳۰- میلی‌ولت گزارش گردید. یافته‌ها نشان داد که پتانسیل زتای منفی با مقدار بیش از ۳۰- میلی‌ولت شاخصی از پایداری بالای نانومولسیون است؛ زیرا بار سطحی زیاد موجب دافعه الکترواستاتیکی کافی و جلوگیری از تجمع قطرات می‌شود. علاوه بر این، پایداری و فعالیت ضدقارچی نانومولسیون نسبت به اسانس آزاد به طور قابل توجهی افزایش یافت [۳۳]. در یک پژوهش دیگر گزارش شده است که افزایش غلظت صمغ عربی موجب منفی‌تر شدن پتانسیل زتا و در نتیجه ارتقای پایداری نانومولسیون می‌شود. به‌طور مشخص، در نانوکپسول‌های α - توکوفرول مشاهده شد که با افزایش مقدار صمغ عربی، پتانسیل زتا از -13.5 mV به -47.8 mV کاهش یافت و این تغییر بیانگر تقویت دافعه الکترواستاتیکی میان ذرات و جلوگیری از ناپایداری بود. صمغ عربی به‌عنوان یک امولسیفایر/سورفاکتانت طبیعی با ایجاد بار منفی در سطح قطرات امولسیون، از نزدیک شدن و تجمع آن‌ها جلوگیری کرده و از طریق سازوکارهای دافعه الکترواستاتیکی و احتمالاً پایداری فضایی، به افزایش پایداری سامانه‌های روغن در آب کمک می‌کند [۳۴]. در این پژوهش، علت مثبت شدن بار سطحی نانومولسیون‌ها را می‌توان به خاطر pH زیر ۵ نانومولسیون‌ها دانست که این پدیده با رفتار بار سطحی نانومولسیون‌ها در محیط اسیدی مطابقت دارد. در pH پایین، گروه‌های عاملی پروتئین‌ها یا پلیمرهای کاتیونی (مانند ژلاتین یا کیتوزان) پروتون‌دار شده و بار مثبت به سطح نانوذرات می‌دهند. این موضوع در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است؛ برای مثال، در پژوهشی که نانومولسیون روغن دارچین با نانوکریستال سلولز با ژلاتین تهیه شد، در pH ۳/۵ و ۵، بار سطحی نانومولسیون‌ها مثبت (۴ تا ۱۲ میلی‌ولت) بود که به دلیل پروتون‌دار شدن ژلاتین در محیط اسیدی رخ داد [۳۵] برخلاف مطالعه جعفری که بیشتر بر فعالیت ضد قارچی تمرکز داشته و پایداری نانومولسیون را تنها به‌طور کلی گزارش کرده است، در پژوهش حاضر پایداری الکترواستاتیکی سه فرمولاسیون مختلف به‌صورت مقایسه‌ای و با تحلیل آماری دقیق مورد بررسی قرار گرفت. این موضوع امکان ارزیابی عمیق‌تر نقش بار سطحی در پایداری فیزیکی نانومولسیون‌ها را فراهم کرده و یک وجه تمایز مهم پژوهش حاضر نسبت به مطالعات پیشین محسوب می‌شود.

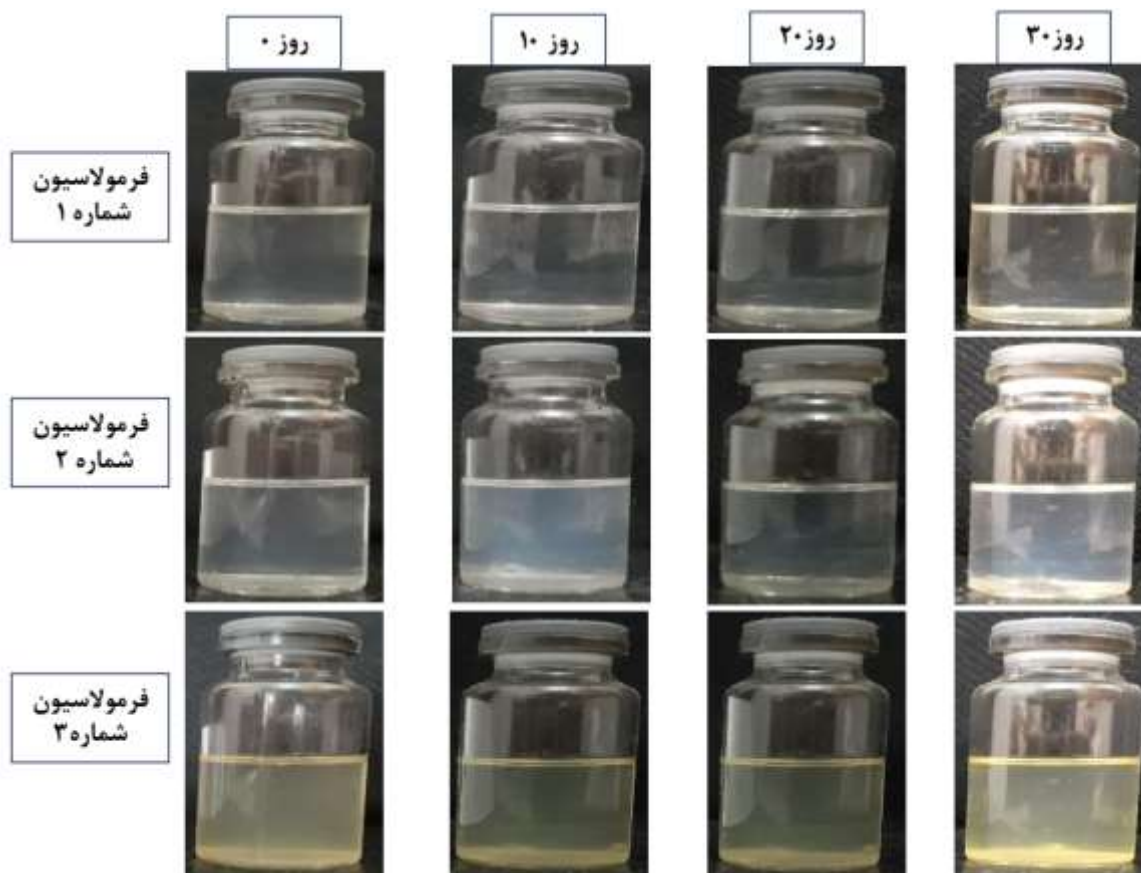


شکل ۳. ارزیابی بار سطحی نانومولسیون ها
ستون با نماد های متفاوت دارای اختلاف معنادار از لحاظ آماری با ($p < 0.05$) می باشند

۳-۲-۲- پایداری ظاهری در گذر زمان

در این پژوهش، میزان شفافیت، کدورت و هرگونه ناپایداری ظاهری نانومولسیون ها در بازه های زمانی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز پس از تولید مورد ارزیابی قرار گرفت. مطابق نتایج ارائه شده در شکل ۴، در هیچ یک از نمونه ها کدورت، تغییر شفافیت یا بروز ناپایداری هایی نظیر دو فاز شدن مشاهده نشد. این ثبات ظاهری را می توان به انتخاب صحیح سورفکتانت و غلظت مناسب آن نسبت داد که موجب حفظ انسجام ساختار نانومولسیون و جلوگیری از بروز ناپایداری فیزیکی در گذر زمان شده است. در مطالعه ای که اوسانو و همکاران در سال ۲۰۱۷ انجام دادند، نانومولسیون های مختلفی از اساس گیاه گندواش با استفاده از مقادیر متفاوت سورفکتانت تهیه شد. پایداری ظاهری و اندازه ذرات این نانومولسیون ها پس از رقیق سازی های متعدد (تا ۱۰۰-۲۰۰ برابر) و در طی زمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فرمولاسیون هایی با اندازه ذره کوچک تر (حدود ۴/۵ نانومتر) و پایداری ظاهری بیشتر، پس از رقیق سازی نیز شفافیت و ثبات بالاتری نشان می دهند. همچنین مشخص شد که پایداری ظاهری و میزان شفافیت، از مهم ترین شاخص ها برای انتخاب فرمولاسیون بهینه محسوب می شوند و نانومولسیون هایی که پایداری طولانی تری در برابر زمان و رقیق سازی دارند، معمولاً عملکرد زیستی مطلوب تری نیز ارائه می کنند [۳۶]. در یک مطالعه ای اخیر، به کارگیری صمغ عربی در ترکیب با توین ۸۰ به عنوان یک سامانه امولسیفایر نشان داد که این فرمولاسیون می تواند به طور مؤثری اندازه قطرات نانومولسیون را کاهش دهد (تا حدود ۱۰۶ نانومتر)، کشش سطحی را پایین آورد و در نتیجه پایداری و کیفیت ظاهری سامانه را بهبود بخشد. داده های میکروسکوپی نیز آشکار کردند که حضور هم زمان این دو امولسیفایر موجب تشکیل یک لایه ضخیم، یکنواخت و محافظ روی سطح قطرات روغن می شود که نقش مهمی در جلوگیری از تجمع قطرات و وقوع جداسازی فاز ایفا می کند [۳۷]. در مطالعه ای دیگر گزارش شد که صمغ عربی به عنوان یک امولسیفایر طبیعی، با

تشکیل لایه‌ای متراکم و با چگالی بالا بر سطح قطرات، از هم‌جوشی و تخریب آن‌ها جلوگیری کرده و در نتیجه، ثبات ظاهری نانوامولسیون را در طی دوره‌ی نگهداری حفظ می‌کند [۳۸].

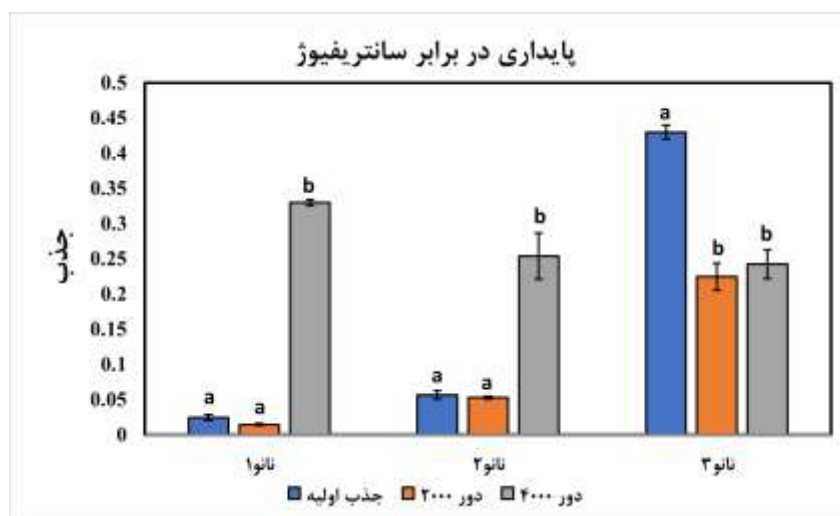


شکل ۴. پایداری ظاهری در گذر زمان

۳-۲-۳- پایداری در اثر سانتریفیوژ

در این پژوهش، تغییرات جذب UV نانوامولسیون‌ها پس از اعمال سانتریفیوژ در سرعت‌های rpm ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ نسبت به مقدار جذب اولیه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۵، نانوامولسیون شماره ۱ در سرعت rpm ۴۰۰۰ افزایش معناداری در میزان جذب UV ($0/329 \pm 0/004$) نسبت به مقدار اولیه ($0/024 \pm 0/004$) نشان داد ($p < 0/05$)، در حالی که در سرعت rpm ۲۰۰۰ کاهش جذب ($0/014 \pm 0/001$) نسبت به جذب اولیه ($0/024 \pm 0/004$) معنادار نبود. با این حال، مقدار جذب در دور ۲۰۰۰ ($0/014 \pm 0/001$) همچنان به‌طور معناداری کمتر از دور ۴۰۰۰ ($0/329 \pm 0/004$) بود ($p < 0/05$). در نانوامولسیون شماره ۲، جذب در دور ۴۰۰۰ ($0/253 \pm 0/032$) افزایش معناداری نسبت به دور ۲۰۰۰ ($0/052 \pm 0/002$) و مقدار اولیه ($0/056 \pm 0/006$) داشت ($p < 0/05$). در سرعت rpm ۲۰۰۰ اگرچه کاهش اندکی ($0/052 \pm 0/002$) نسبت به مقدار اولیه ($0/056 \pm 0/006$) مشاهده شد، اما این کاهش از نظر آماری معنادار نبود. در نانوامولسیون شماره ۳، میزان جذب UV پس از سانتریفیوژ در هر دو سرعت، کاهش معناداری ($0/224 \pm 0/019$) و ($0/242 \pm 0/020$) نسبت به حالت اولیه ($0/429 \pm 0/009$)

نشان داد ($p < 0.05$). در دور ۲۰۰۰ کاهش جذب (0.224 ± 0.019) نسبت به دور ۴۰۰۰ (0.242 ± 0.020) مشاهده شد که که معنادار نبود. همچنین نانو ۱ و ۲ پایداری بیشتری نسبت به نانو ۳ در دور ۲۰۰۰ از خود نشان داد. می توان گفت کمک سورفاکتانت در نانو ۱ سبب پایداری فرمولاسیون شده و در نانو ۲ سورفاکتانت توپین ۸۰ لایه ضخیم اطراف قطرات ریز ایجاد کرد و سبب پایداری اش نسبت به نیروی گریز از مرکز سانتریفیوژ شد. مقایسه سه فرمولاسیون بیانگر آن است که تغییرات جذب در سرعت ۴۰۰۰ rpm به طور کلی بیشتر از سرعت ۲۰۰۰ rpm بوده است. کاهش جذب پس از سانتریفیوژ معمولاً به جداسازی ذرات ناپایدار، کاهش غلظت ذرات در فاز فوقانی و در نهایت بروز ناپایداری و ته نشینی مربوط می شود [۳۹]. شواهد پژوهشی نیز نشان می دهند که سانتریفیوژ می تواند موجب جداسازی فازها و تغییر در ویژگی های جذب نانومواد شود. به عنوان مثال، در مطالعه ای بر روی نانوالماس ها، طیف جذب نمونه های سانتریفیوژ شده و اولتراسانتریفیوژ شده تفاوت قابل توجهی با نمونه اولیه داشت و فازهایی با جذب بالا جدا شدند؛ این فرآیند تغییرات محسوسی در طیف جذب و اندازه ذرات ایجاد کرد [۴۰]. همچنین، در بررسی نانوساختارهای پلاسمونیک و نانولوله های کربنی، تغییرات قابل توجهی در موقعیت و شدت قله های جذب پس از سانتریفیوژ گزارش شده است که این پدیده به جداسازی ذرات با ابعاد و ترکیب متفاوت نسبت داده می شود و مستقیماً بر رفتار نوری و میزان جذب نمونه تأثیر می گذارد [۴۱].

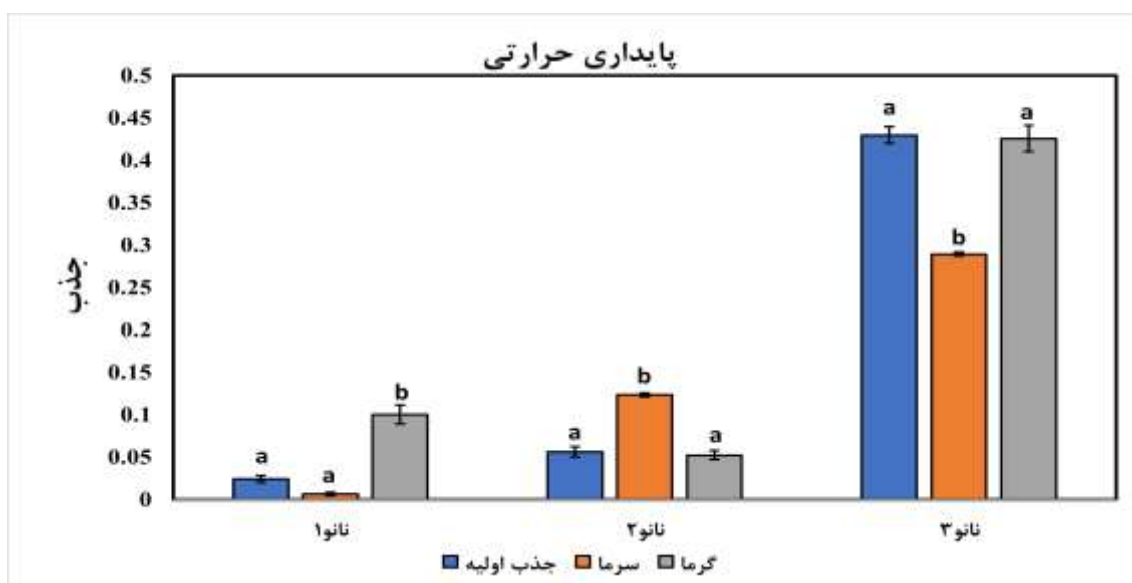


شکل ۵. بررسی پایداری نانومولسیون ها پس از سانتریفیوژ
ستون با نماد های متفاوت دارای اختلاف معنادار از لحاظ آماری با ($p < 0.05$) می باشند

۳-۲-۴- پایداری در اثر تنش گرما و سرما

پایداری نانومولسیون ها در اثر تغییر دما در شکل ۶ نمایش داده شده است. در نانومولسیون شماره ۱، نمونه قرار گرفته در معرض گرما افزایش معناداری (0.11 ± 0.01) در میزان جذب نسبت به مقدار اولیه (0.24 ± 0.04) و همچنین نمونه سرد شده (0.06 ± 0.02) نشان داد ($p < 0.05$). در مقابل، نمونه قرار گرفته در معرض سرما کاهش جذب (0.06 ± 0.02) نسبت به جذب اولیه (0.24 ± 0.04) ثبت کرد که معنادار نبود. در نانومولسیون شماره ۲، قرارگیری نمونه در معرض گرما کاهش جذب

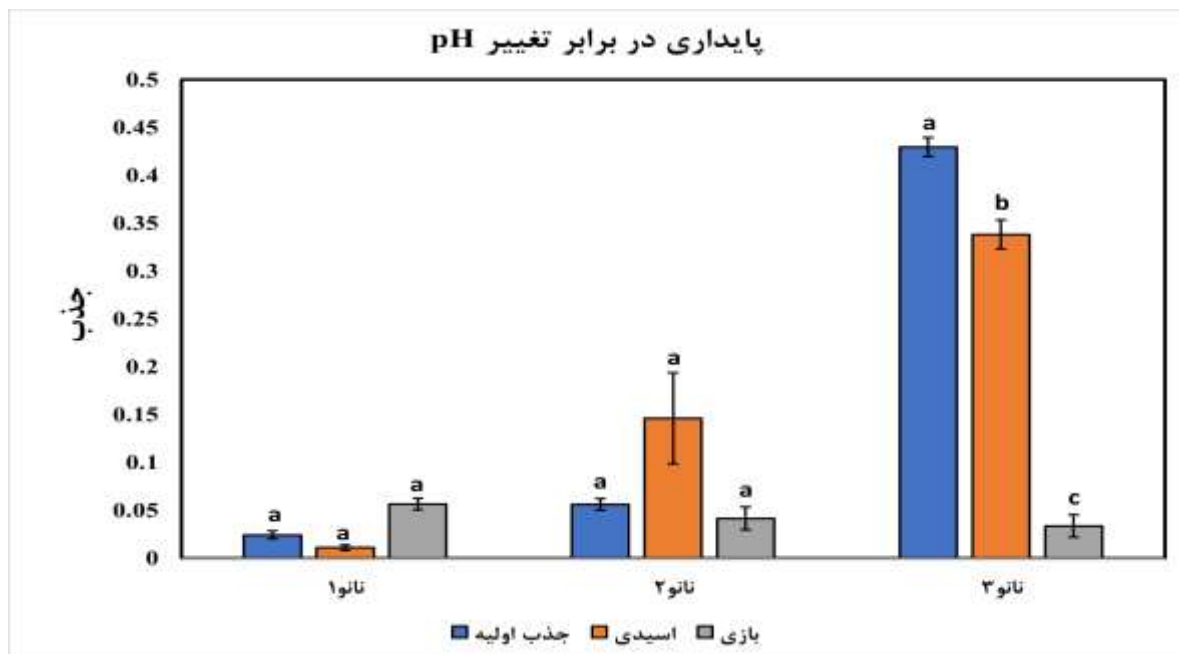
($0/052 \pm 0/005$) نسبت به حالت اولیه ($0/056 \pm 0/006$) ایجاد کرد اما این تغییر معنادار نبود؛ اما نمونه سرد شده افزایش معناداری ($0/123 \pm 0/002$) در جذب نسبت به هر دو حالت اولیه ($0/056 \pm 0/006$) و گرم شده ($0/052 \pm 0/005$) نشان داد ($p < 0/05$). در نانوامولسیون شماره ۳، جذب نمونه پس از قرارگیری در معرض گرما ($0/425 \pm 0/015$) مشابه حالت اولیه ($0/429 \pm 0/009$) بوده و فاقد تغییرات معنادار بود. با این حال، قرارگیری در معرض سرما موجب کاهش معنادار جذب ($0/289 \pm 0/002$) نسبت به مقدار اولیه ($0/429 \pm 0/009$) و حالت گرم شده ($0/425 \pm 0/015$) گردید ($p < 0/05$). براساس این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که نانوامولسیون‌های شماره ۱ در برابر سرما از خود مقاومت نشان داد و نانو ۲ و ۳ در برابر گرما پایداری بیشتری از خود نشان داده‌اند علت این پایداری به علت زیاد بودن غلظت توپین ۸۰ و ایجاد ذرات یکنواخت است. مطالعات پیشین نیز نشان می‌دهد که چرخه‌های حرارتی (گرمایش و سرمایش) می‌توانند بر ساختار، پایداری، خواص نوری و رفتار جذب نانوامولسیون‌ها تأثیرگذار باشند. برای مثال، در پژوهشی مبتنی بر فناوری میکروفلوئیدیک و طیف‌سنجی تراهرتز مشخص شد که در امولسیون‌های تغییر فاز (نظیر پارافین)، کاهش دما موجب کاهش انرژی آزاد مولکولی و افزایش نظم ساختار داخلی می‌شود؛ موضوعی که به افزایش شدت عبور و تغییر در ضریب جذب در ناحیه تراهرتز منجر می‌گردد [۴۲]. در مطالعه‌ای دیگر بر روی نانوامولسیون‌های هیبریدی پارافین-گرافن اکسید گزارش شد که چرخه‌های انجماد و ذوب تأثیر قابل توجهی بر پایداری، خواص نوری و رفتار حرارتی این سامانه‌ها ندارند و جداسازی فازی یا افزایش اندازه قطرات مشاهده نمی‌شود [۴۳]. بررسی‌های انجام‌شده با استفاده از طیف‌سنجی NMR نیز نشان داده‌اند که در امولسیون‌های تغییر فاز، تکرار چرخه‌های حرارتی می‌تواند موجب کاهش تحرک مولکولی گروه‌های سر سورفکتانت شود و این امر احتمال کاهش پایداری فازی را افزایش می‌دهد [۴۴].



شکل ۶. بررسی پایداری در اثر تنش گرما و سرمای نانوامولسیون‌ها
ستون با نماد های متفاوت دارای اختلاف معنادار از لحاظ آماری با ($p < 0/05$) می‌باشند

۳-۲-۵- پایداری در اثر تغییرات pH

پایداری نانوامولسیون‌ها در برابر تغییر pH ارزیابی شد و در نتایج در شکل ۷ نمایش داده است. طبق نتایج بدست آمده، در نانوامولسیون شماره ۱، افزودن اسید منجر به کاهش ($0/011 \pm 0/002$) جذب نسبت به مقدار اولیه ($0/024 \pm 0/004$) شد که معنادار نبود، در حالی که افزودن باز موجب افزایش در میزان جذب ($0/056 \pm 0/006$) نسبت به حالت اولیه ($0/024 \pm 0/004$) و همچنین نسبت به محیط اسیدی ($0/011 \pm 0/002$) گردید که معنادار نبود. در نانوامولسیون شماره ۲، افزودن اسید باعث افزایش جذب ($0/146 \pm 0/047$) در مقایسه با مقدار اولیه ($0/056 \pm 0/006$) و نیز در مقایسه با شرایط بازی ($0/041 \pm 0/012$) شد که معنادار نبود. با افزودن باز تغییری معنادار در جذب ($0/041 \pm 0/012$) نسبت به حالت اولیه ($0/056 \pm 0/006$) مشاهده نشد. در نانوامولسیون شماره ۳، اضافه شدن اسید و باز هر دو موجب کاهش معنادار جذب ($0/338 \pm 0/014$) و ($0/333 \pm 0/011$) نسبت به حالت اولیه ($0/429 \pm 0/009$) گردید ($p < 0/05$). علاوه بر آن، میزان جذب نمونه اسیدی ($0/338 \pm 0/014$) به طور معناداری بیشتر از نمونه قرارگرفته در محیط بازی ($0/333 \pm 0/011$) بود ($p < 0/05$). از طرفی در بین سه فرمولاسیون، نانو ۱ به علت وجود سورفاکتانت کمکی و نانو ۲ در برابر تغییرات بازی و اسیدی از خود مقاومت نشان داد که به علت غلظت بالای توپین ۸۰ است که قطرات ریز و یکنواختی ایجاد می کند که در برابر pH بالا مقاوم میشود. به طور کلی، تغییرات pH می تواند نقش مهمی در رفتار نوری و پایداری نانوامولسیون‌ها ایفا کند. تغییر pH ممکن است موجب افزایش یا کاهش بار سطحی ذرات شود و این موضوع می تواند بر میزان تجمع یا پراکندگی آن‌ها اثر بگذارد. در pH های بهینه که ذرات پایداری بیشتری دارند، اندازه قطرات کوچک تر باقی مانده و میزان جذب افزایش می یابد؛ در حالی که در pH های نامناسب، تجمع، ته نشینی و کاهش غلظت ذرات پراکنده رخ داده و در نتیجه جذب کاهش پیدا می کند [۴۵]. در یک مطالعه اخیر، بخش نامحلول صمغ فارسی (IFPG) برای نخستین بار به عنوان عامل پایدارکننده در امولسیون‌های نوع Pickering مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها نشان دادند که اندازه ذرات و پتانسیل زتای IFPG به طور چشمگیری تحت تأثیر تغییرات pH قرار دارند. در pH برابر با ۷، ذرات کوچک تر و امولسیون از پایداری بالاتری برخوردار بود، به طوری که طی دوره‌ی ۸ هفته نگهداری هیچ گونه جداسازی فاز یا تجمع قطرات مشاهده نشد. علاوه بر این، افزایش pH از ۳ به ۷ موجب کاهش اندازه قطرات امولسیون، افزایش ویسکوزیته و بهبود قابل توجه پایداری سامانه گردید [۴۶].

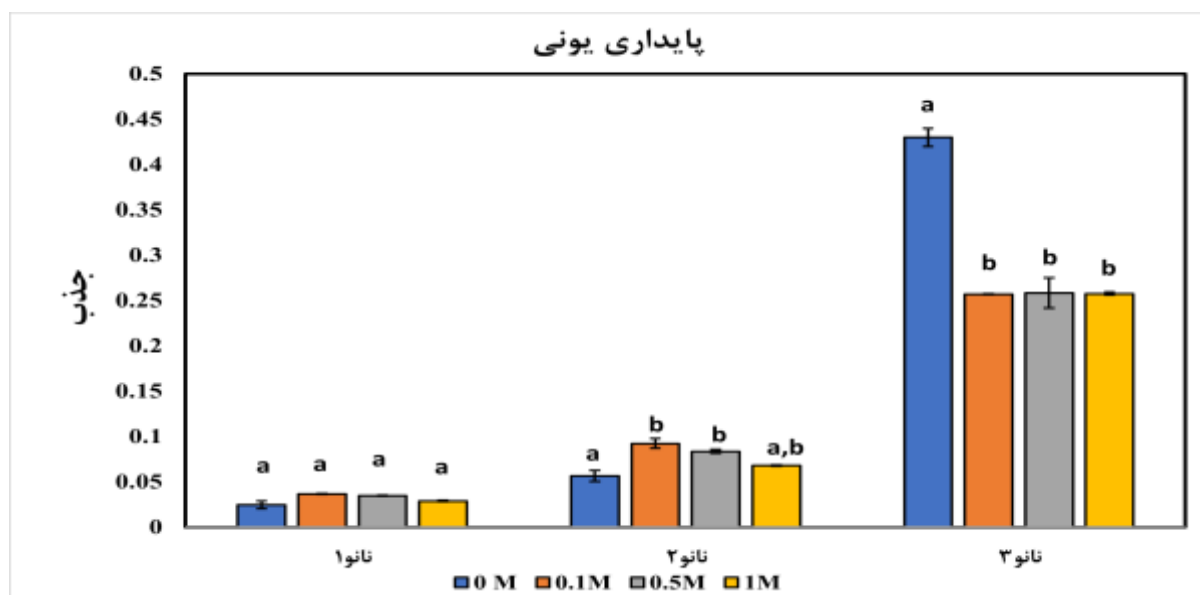


شکل ۷. بررسی پایداری نانومولسیون‌ها در برابر تغییر pH
ستون با نماد های متفاوت دارای اختلاف معنادار از لحاظ آماری با ($p < 0.05$) می‌باشند

۳-۲-۶- پایداری در اثر تغییر قدرت یونی

پایداری نانومولسیون‌ها در برابر تغییر قدرت یونی بررسی گردید و نتایج در شکل ۸ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که، در نانومولسیون شماره ۱، افزودن محلول‌های یونی با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ مولار موجب افزایش جذب (0.036 ± 0.005)، (0.034 ± 0.005) و (0.028 ± 0.005) نسبت به مقدار اولیه (0.024 ± 0.004) گردید که معنادار نبود. با این حال، تغییرات جذب میان این دو غلظت (۰/۱ و ۰/۵ مولار) نسبت به یکدیگر معنادار نبود. همچنین غلظت ۱ مولار کاهش در مقدار جذب (0.028 ± 0.005) نسبت به مقدار ۰/۱ (0.036 ± 0.005) و ۰/۵ مولار (0.034 ± 0.005) نشان داد که معنادار نبود. در نانومولسیون شماره ۲، غلظت یونی ۰/۱ (0.092 ± 0.005) افزایش معنادار نسبت به حالت اولیه (0.056 ± 0.006) و غلظت ۱ مولار (0.067 ± 0.005) نشان داد ($p < 0.05$)، غلظت ۰/۵ (0.083 ± 0.002) افزایش معناداری در مقدار جذب نسبت به مقدار اولیه (0.056 ± 0.006) نشان داد ($p < 0.05$). از طرفی بین غلظت ۰/۱ و ۰/۵ مولار تفاوت معناداری مشاهده نشد. در نانومولسیون شماره ۳، افزودن هر سه غلظت یونی سبب کاهش معنادار جذب (0.0256 ± 0.005)، (0.0258 ± 0.016) و (0.0257 ± 0.011) نسبت به مقدار اولیه (0.0429 ± 0.009) شد ($p < 0.05$). با این وجود، تفاوتی میان مقادیر جذب در سه غلظت ۰/۱، ۰/۵ و ۱ مولار مشاهده نشد و تغییرات میان آن‌ها معنادار نبود. در تأیید این نتایج، یک پژوهش مرتبط نیز اثر تغییرات یونی بر رفتار نوری سامانه‌های امولسیون‌ی را بررسی کرده است. در این مطالعه، نانومولسیون‌های مبتنی بر مایع یونی bmimBF_4 در حضور تولوئن و سورفکتانت TX-100 تهیه و تغییرات آن‌ها به کمک اسپکتروفوتومتر UV-Vis ارزیابی شد. پژوهشگران گزارش کردند که افزودن نمک‌های یونی نظیر $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ، CoCl_2 و CuCl_2 موجب تغییرات قابل توجه در الگوی جذب UV

می‌شود. این پدیده به حل شدن یون‌های فلزی در قطرات نانومولسیون و در نتیجه تغییر در میکروپولاریتی محیط نسبت داده شد. بر اساس یافته‌ها، پیش از تشکیل حوضچه‌های مایع یونی، افزایش غلظت یون‌ها باعث افزایش قطبیت و تغییر محسوس جذب نور فرابنفش می‌گردد؛ اما پس از شکل‌گیری این ساختارها، محیط قطبی نسبتاً پایدار شده و دامنه تغییرات جذب کاهش می‌یابد. این مجموعه نتایج بیانگر آن است که تغییرات یونی می‌توانند به‌طور مستقیم بر رفتار نوری سامانه‌های نانومولسیونی اثرگذار باشند [۴۷]. در مطالعه‌ای که توسط محفوظی و همکاران انجام شده است، بخش نا محلول صمغ فارسی به‌عنوان پایدارکننده‌ی امولسیون‌های پیکرینگ مورد ارزیابی قرار گرفته و اثر pH و نیز غلظت نمک (NaCl) بر رفتار و پایداری این امولسیون‌ها بررسی شده است. یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد که امولسیون‌های تثبیت‌شده با صمغ فارسی در برابر افزایش غلظت نمک تا حد ۱۰۰ میلی‌مولار از پایداری محدودی برخوردار بوده و حضور نمک موجب تضعیف پایداری سامانه می‌شود. بنابراین، برخلاف افزایش پایداری پس از تغییرات یونی، این مقاله کاهش پایداری امولسیون را در شرایط یونی تقویت‌شده گزارش می‌کند [۴۶].

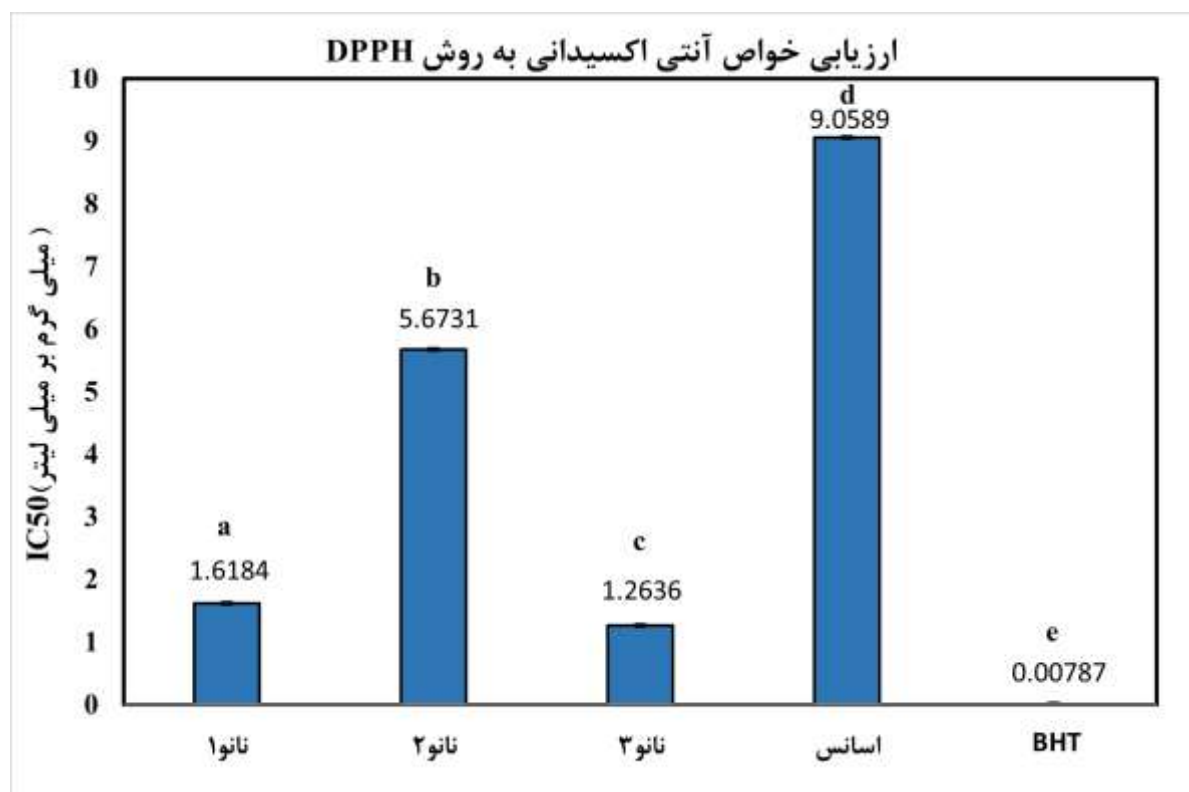


شکل ۸. بررسی پایداری نانومولسیون‌ها در برابر تغییر یونی
ستون با نماد های متفاوت دارای اختلاف معنادار از لحاظ آماری با ($p < 0.05$) می‌باشند

۳-۳- سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نانومولسیون‌ها به‌عنوان حامل‌های نوین برای ترکیبات آنتی‌اکسیدان به دلیل افزایش پایداری مورد توجه قرار گرفته‌اند. شاخص IC50 (غلظتی که ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند) به‌عنوان معیار کمی قدرت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود؛ هرچه مقدار IC50 پایین‌تر باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر است. تعیین IC50 در نانومولسیون‌های آنتی‌اکسیدان نه تنها شاخصی برای مقایسه قدرت مهار رادیکال‌های آزاد است، بلکه می‌تواند اثربخشی فرمولاسیون‌های نانویی را نسبت به فرم‌های معمولی به‌طور کمی نشان دهد [۴۸]. مقایسه مقادیر IC50 (شکل ۹) نشان داد که بین نمونه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌دار آماری

وجود دارد ($p < 0.05$). نانوامولسیون شماره ۲ بیشترین مقدار IC_{50} ($5/6731 \pm 0/0004$) میلی گرم بر میلی لیتر و در نتیجه کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در بین نانوامولسیون‌ها دارا بود، در حالی که نانوامولسیون‌های شماره ۱ با IC_{50} ($1/6184 \pm 0/0004$) میلی گرم بر میلی لیتر و نانو ۳ با IC_{50} ($1/2636 \pm 0/0001$) میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب فعالیت قوی‌تری نشان دادند مقدار IC_{50} اسانس خالص ($9/0589 \pm 0/0001$) میلی گرم بر میلی لیتر به طور معنی‌داری بیشتر از نانوامولسیون‌ها بود همچنین استاندارد BHT ($0/00787 \pm 0/00001$) میلی گرم بر میلی لیتر به طور معنی‌داری کمتر از نانوامولسیون‌ها بود. از طرفی میتوان گفت فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی نانو ۱ و نانو ۳ نسبت به نانو ۲ به علت حضور سورفاکتانت کمکی صمغ فارسی می باشد که توانسته اسانس را به خوبی کپسوله کند و رهائش اسانس کمتر شود. اگرچه نانوامولسیون شماره ۳ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کمترین مقدار IC_{50} را نشان داد، اما نتایج آزمون‌های پایداری فیزیکی بیانگر آن بود که این فرمولاسیون از نظر شاخص‌هایی نظیر پتانسیل زتا و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی، کم‌پایدارترین نمونه محسوب می‌شود. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این فرمولاسیون می‌تواند ناشی از رهائش سریع‌تر ترکیبات فعال در اثر ناپایداری نسبی سیستم باشد که موجب افزایش دسترسی ترکیبات آنتی‌اکسیدان در آزمون DPPH شده است. با این حال، در کاربردهای عملی، پایداری فیزیکی یکی از معیارهای اساسی در انتخاب فرمولاسیون بهینه محسوب می‌شود، زیرا ناپایداری می‌تواند منجر به جداسازی فاز و کاهش کارایی در طول زمان گردد. بنابراین انتخاب فرمولاسیون بهینه بر اساس ایجاد تعادل میان پایداری ساختاری و فعالیت زیستی انجام شد. این نتایج نشان می‌دهد که فرآیند نانوساخت و نوع فرمولاسیون تأثیر قابل توجهی بر حفظ یا کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات دارد. بر اساس پژوهش منتشر شده در مجله آنتی اکسیدان، اسانس لیمو به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی خود مورد توجه قرار گرفته است، اما پایداری زیستی پایین و حلالیت کم آن در آب، کاربرد صنعتی آن را محدود می‌کند. در این مطالعه، اسانس لیمو به صورت نانوامولسیون تهیه شد تا این مشکلات برطرف شود. فرایند تهیه نانوامولسیون با استفاده از روش‌های آماری بهینه‌سازی شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوامولسیون اسانس لیمو با اندازه قطره کوچک و پایداری مناسب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان می‌دهد. به طور خاص، در شرایط بهینه ($HLB=13$)، غلظت سورفاکتانت $0/157$ گرم بر میلی لیتر، زمان فراصوت $23/5$ دقیقه و توان فراصوت $761/65$ وات)، نانوامولسیون تهیه شده دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که نانوامولسیون‌سازی می‌تواند روشی مؤثر برای افزایش پایداری و اثربخشی اسانس‌های گیاهی و کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی و دارویی باشد [۴۹].



شکل ۹. ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی نانومولسیون‌ها و اسانس گندواش ستون با نماد های متفاوت دارای اختلاف معنادار از لحاظ آماری با ($p < 0.05$) می‌باشند

۳-۴- سنجش فعالیت ضد قارچی

MIC به عنوان کمترین غلظت دارو که مانع رشد قابل مشاهده قارچ می‌شود، تعریف می‌گردد. این مقدار اطلاعات ارزشمندی درباره حساسیت یا مقاومت قارچ نسبت به داروی مورد نظر ارائه می‌دهد و می‌تواند در انتخاب درمان مناسب و پایش مقاومت دارویی نقش کلیدی داشته باشد. استانداردسازی این روش توسط مراجع بین‌المللی مانند CLSI و EUCAST انجام شده و به عنوان مرجع طلایی برای تعیین حساسیت ضدقارچی در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی بالینی شناخته می‌شود [۵۰]. بر اساس نتایج حاصل از آزمون سنجش فعالیت ضدقارچی، که در جدول ۳ ارائه شده است، حداقل غلظت مهارکننده رشد قارچ (MIC) با استفاده از روش سری رقت در میکروپلیت تعیین شد. یافته‌ها نشان داد که تنها نانومولسیون حاوی ۲٪ اسانس گندواش (فرمولاسیون شماره ۲) توانست به طور مؤثر رشد قارچ *M. furfur* را مهار کند، در حالی که دو فرمولاسیون دیگر (شماره ۱ با ۱٪ اسانس و شماره ۳ با ۵٪ اسانس) فاقد اثر مهارکنندگی بودند و رشد قارچ در آن‌ها مشاهده شد. این نتایج بیانگر آن است که وجود غلظت بهینه اسانس در ساختار نانومولسیون برای پایداری و رهایش مؤثر ترکیبات فعال ضدقارچی ضروری است. مقدار MIC برای نانومولسیون ۲٪ برابر با ۰/۰۰۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد، در حالی که MIC اسانس خالص گندواش ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. بنابراین، نانوفرمولاسیون ۲٪ نه تنها اثربخشی بالاتری نسبت به اسانس خالص دارد، بلکه با غلظت کمتری از اسانس قادر به مهار رشد قارچ است. این افزایش کارایی می‌تواند به دلیل توزیع بهتر اسانس در محیط آبی،

افزایش سطح تماس با سلول‌های قارچی و بهبود نفوذپذیری ترکیبات فعال در ساختار نانوامولسیون باشد. در مجموع، نانوفرمولاسیون اسانس گندواش با غلظت بهینه می‌تواند به عنوان یک گزینه طبیعی، مؤثر و کم‌دوز برای مهار رشد قارچ‌های مرتبط با شوره سر مانند *مالاسزیا فورفور* مطرح شود. همچنین، عدم اثربخشی نانوامولسیون ۵٪ ممکن است ناشی از ناپایداری سیستم امولسیون یا تداخل فیزیکی بین قطرات اسانس و فاز آبی باشد که نیازمند بررسی‌های بیشتر است. بر اساس پژوهشی با عنوان "بررسی ویژگی‌ها و اثرات ضدقارچی نانوذرات جامد لیپیدی بارگذاری شده با اسانس پوست لیمو ترش (Citrus Aurantifolia) بر سویه‌های جدا شده مالاسزیا"، نانوذرات جامد لیپیدی (SLNs) به عنوان حامل اسانس گیاهی تهیه و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه، اسانس پوست لیمو ترش با استفاده از روش‌های GC/MS و UV-VIS شناسایی شد و سپس در فرمولاسیون‌های مختلف SLN بارگذاری گردید. اندازه ذرات، شاخص پراکندگی (PDI)، پتانسیل زتا و بازده محصورسازی مورد بررسی قرار گرفت و بهترین فرمولاسیون بر اساس این ویژگی‌ها انتخاب شد. آزمون MIC برای مقایسه اثر ضدقارچی SLN حاوی اسانس، اسانس خالص و کلوتریمازول علیه قارچ مالاسزیا انجام شد. نتایج نشان داد که نانوذرات حاوی اسانس با غلظت ۰.۰۸٪ میلی گرم بر میلی لیتر قادر به مهار ۹۰٪ رشد مالاسزیا فورفور بودند و اثربخشی قابل توجهی نسبت به اسانس خالص و داروی مرجع داشتند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از نانوفرمولاسیون اسانس‌های گیاهی می‌تواند رویکردی مؤثر و نوین برای کنترل عفونت‌های قارچی مرتبط با مالاسزیا باشد و به دلیل کاهش عوارض جانبی داروهای شیمیایی، گزینه مناسبی برای توسعه داروهای ضد مالاسزیا محسوب می‌شود [۵۱].

جدول ۴. نتایج فعالیت ضد قارچی به روش سری رقت بر حسب (میلی گرم بر میلی لیتر)

نمونه	M. furfur	Candida parapsilosis
نانوامولسیون شماره ۱	>۲/۵	>۲/۵
نانوامولسیون شماره ۲	۰/۰۰۶	>۵
نانوامولسیون شماره ۳	>۱۲/۵	>۱۲/۵
اسانس	۰/۰۱	>۲۵۶

۴- نتیجه گیری

پژوهش حاضر با هدف تهیه و ارزیابی نانوامولسیون اسانس گیاه گندواش و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، پایداری و عملکرد زیستی آن انجام شد. نتایج GC-MS نشان داد که ترکیبات اصلی اسانس با مطالعات پیشین همخوانی دارد و حضور ترکیبات زیست‌فعال نظیر β -سلین، ژرماکرن D، کاریوفیلین و آرتیمیزیا کتون تأیید گردید. بررسی ویژگی‌های فیزیکی نانوامولسیون‌ها نشان داد که سه فرمولاسیون تهیه شده دارای اندازه قطرات متفاوت بوده و کوچک‌ترین اندازه ذره مربوط به نانوامولسیون شماره ۳ بود. با این حال، تحلیل پایداری الکتروستاتیکی نشان داد که نانوامولسیون شماره ۱ با پتانسیل زتای بالاتر (+۵۹/۳mV) از بیشترین پایداری برخوردار است و کاهش این مقدار در فرمولاسیون‌های شماره ۲ و ۳ با کاهش تدریجی پایداری همراه بود. این یافته‌ها اهمیت بار سطحی به عنوان شاخص اصلی پایداری نانوامولسیون را تقویت می‌کند. ارزیابی پایداری ظاهری در گذر زمان

نشان داد که هر سه فرمولاسیون طی ۳۰ روز هیچ‌گونه ناپایداری فیزیکی نظیر کدورت، رسوب یا دو فاز شدن بروز ندادند و از این نظر فرمولاسیون‌های مناسبی برای کاربردهای صنعتی تلقی می‌شوند. آزمون‌های پایداری در برابر سانتریفیوژ، تنش گرمایی-سرمایی، تغییر pH و قدرت یونی نیز تفاوت‌های معناداری میان فرمولاسیون‌ها آشکار ساخت. نانومولسیون شماره ۳ بیشترین حساسیت را به تنش‌های فیزیکی نشان داد، در حالی که فرمول‌های ۱ و ۲ در برخی شرایط رفتار پایدارتر یا یکنواخت‌تری ارائه کردند. نتایج این آزمون‌ها نشان می‌دهد که پایداری نانومولسیون نه تنها به بار سطحی، بلکه به تعاملات پیچیده میان اندازه قطرات، نوع سورفکتانت و پاسخ سیستم به شرایط محیطی بستگی دارد. در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نانومولسیون‌های حاوی اسانس گندواش عملکرد بهتری نسبت به اسانس خالص نشان دادند و مقادیر IC50 پایین‌تر مؤید بهبود قدرت مهار رادیکال‌های آزاد در اثر نانو ساخت بود. نانومولسیون شماره ۱ و ۳ فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نسبت به نانومولسیون شماره ۲ داشتند. این موضوع نشان می‌دهد که افزایش سطح تماس ترکیبات فعال در ساختار نانویی، نقش مهمی در ارتقای اثرات زیستی اسانس دارد. نتایج آزمون ضدقارچی نیز نشان داد که تنها نانومولسیون شماره ۲ با غلظت ۰.۲٪ اسانس قادر به مهار کامل رشد *مالاسزیا فورفور* بود و مقدار MIC آن (۰/۰۰۶۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) کمتر از اسانس خالص (۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌دست آمد. این یافته بیانگر آن است که فرمولاسیون بهینه‌سازی شده نانویی می‌تواند با دوز کمتر اثربخشی بالاتری ارائه دهد، در حالی که فرمول‌های با غلظت پایین‌تر (۰/۱٪) و بالاتر (۰/۵٪) فاقد اثر مهارکنندگی بودند که احتمالاً به دلیل ناپایداری یا تداخلات فیزیکی در سامانه امولسیون است. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که نانومولسیون‌سازی اسانس گندواش می‌تواند موجب بهبود پایداری، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، و تقویت اثر ضدقارچی آن شود. فرمولاسیون ۰.۲٪ به عنوان ترکیب بهینه با بیشترین کارایی زیستی معرفی می‌شود. یافته‌های این مطالعه می‌تواند مبنایی برای توسعه محصولات دارویی و بهداشتی مبتنی بر نانومولسیون‌های گیاهی، به‌ویژه در درمان اختلالات مرتبط با *مالاسزیا فورفور*، فراهم آورد و زمینه‌ساز تحقیقات تکمیلی در جهت بهینه‌سازی رهایش، پایداری و اثرات فارماکولوژیک این ترکیبات باشد.

۵- تقدیر و تشکر

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۲۳۲۸۲ انجام شده است. همچنین از حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشگاه مازندران کمال تشکر را داریم.

۶- فهرست منابع و مآخذ

- [1] Park HK, Ha MH, Park SG, Kim MN, Kim BJ, Kim W. Characterization of the fungal microbiota (mycobiome) in healthy and dandruff-afflicted human scalps. *PLoS One* 2012;7:3-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032847>.
- [2] Rathi S, Murarkar K, Chandak A, Nehru Mahavidyalaya K, Nagpur S. Antimicrobial Activity of Natural Herbal Products Against Dandruff Causing Fungus and Bacteria. *World J Pharm Res*

- 2019;8:1460–7. <https://doi.org/10.20959/wjpr20191-14006>.
- [3] Badiul SM, Siddiqui A. *In Vitro* Evaluation of Herbal Active Enriched Hair Cream for Common Dandruff Treatment and Hair Nourishment. *Asian J Manag Sci Educ* 2020;9:63–72.
- [4] Patil TK, Gadekar SS. To study the antidandruff activity of rosemary oil, basil oil, coleus oil over selenium sulfide. *J Pharm Biosci* 2018;6:36. <https://doi.org/10.31555/jpbs/2018/6/2/36-39>.
- [5] Wulandari D. Potential of Essential Oil as Anti-Dandruff in Scalp Treatment Preparations. *FITOFARMAKA J Ilm Farm* 2022;12:156–68. <https://doi.org/10.33751/jf.v12i2.5600>.
- [6] Dagni A, Hegheş SC, Suharoschi R, Pop OL, Fodor A, Vulturar R, et al. Essential oils from *Dysphania* genus: Traditional uses, chemical composition, toxicology, and health benefits. *Front Pharmacol* 2022;13:1–15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1024274>.
- [7] Santomauro F, Donato R, Pini G, Sacco C, Ascrizzi R, Bilia AR. Liquid and Vapor-Phase Activity of *Artemisia annua* Essential Oil against Pathogenic *Malassezia* spp. *Planta Med* 2018;84:160–7. <https://doi.org/10.1055/s-0043-118912>.
- [8] Turek C, Stintzing FC. Stability of essential oils: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2013;12:40–53. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006>.
- [9] Cimino C, Maurel OM, Musumeci T, Bonaccorso A, Drago F, Souto EMB, et al. Essential oils: Pharmaceutical applications and encapsulation strategies into lipid-based delivery systems. *Pharmaceutics* 2021;13:1–35. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030327>.
- [10] Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot* 2000;19:603–8. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X).
- [11] Pavoni L, Benelli G, Maggi F, Bonacucina G. Green nanoemulsion interventions for biopesticide formulations. Elsevier Inc.; 2019. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815829-6.00005-X>.
- [12] Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC. Essential oils loaded in nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evidence-Based Complement Altern Med* 2014;2014:2088–97. <https://doi.org/10.1155/2014/651593>.
- [13] Perlatti B, Souza Bergo PL de, Fernandes da Silva MF das G, Batista J, Rossi M. Polymeric Nanoparticle-Based Insecticides: A Controlled Release Purpose for Agrochemicals. *Insectic - Dev Safer More Eff Technol* 2013. <https://doi.org/10.5772/53355>.
- [14] Pavoni L, Pavela R, Cespi M, Bonacucina G, Maggi F, Zeni V, et al. Green micro-and nanoemulsions for managing parasites, vectors and pests. *Nanomaterials* 2019;9. <https://doi.org/10.3390/nano9091285>.
- [15] Jaiswal M, Dudhe R, Sharma PK. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech* 2015;5:123–7. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0214-0>.
- [16] Hamouda T, Myc A, Donovan B, Shih AY, Reuter JD, Baker JR. A novel surfactant nanoemulsion with a unique non-irritant topical antimicrobial activity against bacteria, enveloped viruses and fungi. *Microbiol Res* 2001;156:1–7. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00069>.

- [17] Gupta A, Eral HB, Hatton TA, Doyle PS. Nanoemulsions: Formation, properties and applications. *Soft Matter* 2016;12:2826–41. <https://doi.org/10.1039/c5sm02958a>.
- [18] Moghimi R, Ghaderi L, Rafati H, Aliahmadi A, McClements DJ. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food Chem* 2016;194:410–5. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.139>.
- [19] Vakili N, Asefnejad A, Mohammadi M, Rezaei H, Khandan A. Improving physicochemical, mechanical, and biological properties of a porous polyvinyl alcohol/chitosan matrix via modification with magnesium and silicon agents. *Nanomedicine J* 2025;12:507–17. <https://doi.org/10.22038/nmj.2025.79321.1951>.
- [20] Jamnezhad S, Asefnejad A, Motififard M, Yazdekhasti H, Kolooshani A, Saber-Samandari S, et al. Development and investigation of novel alginate-hyaluronic acid bone fillers using freeze drying technique for orthopedic field. *Nanomedicine Res J* 2020;5:306–15. <https://doi.org/10.22034/NMRJ.2020.04.001>.
- [21] Taheri A, Jafari SM. Gum-based nanocarriers for the protection and delivery of food bioactive compounds. *Adv Colloid Interface Sci* 2019;269:277–95. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.04.009>.
- [22] Abbasi S. Challenges towards characterization and applications of a novel hydrocolloid: Persian gum. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 2017;28:37–45. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2017.03.001>.
- [23] Kadkhodae R, Raoufi N. Development of Persian gum-based micro- and nanocarriers for nutraceutical and drug delivery applications. Elsevier Inc.; 2022. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90986-0.00003-0>.
- [24] Hashtjin AM, Abbasi S. Nano-emulsification of orange peel essential oil using sonication and native gums. *Food Hydrocoll* 2015;44:40–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.017>.
- [25] Rezazadeh F, Moghimi R, Moghimi R. *Journal of Applied Polymer Science*. 2025.
- [26] Golkar A, Taghavi SM, Dehnavi FA. The emulsifying properties of Persian gum (*Amygdalus scoparia* Spach) as compared with gum Arabic The emulsifying properties of Persian gum (*Amygdalus scoparia* Spach) as compared with gum Arabic 2018;2912. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1454464>.
- [27] Alade OS, Mahmoud M, Shehri DA Al, Sultan AS. Rapid Determination of Emulsion Stability Using Turbidity Measurement Incorporating Artificial Neural Network (ANN): Experimental Validation Using Video / Optical Microscopy and Kinetic Modeling 2021. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00017>.
- [28] Jadid N, Hidayati D, Hartanti SR, Arraniry BA, Rachman RY, Wikanta W. Antioxidant activities of different solvent extracts of *Piper retrofractum* Vahl. using DPPH assay. *AIP Conf Proc* 2017;1854. <https://doi.org/10.1063/1.4985410>.
- [29] Rojas FD, De Los A. Sosa M, Fernández MS, Cattana ME, Córdoba SB, Giusiano GE. Antifungal susceptibility of *Malassezia furfur*, *Malassezia sympodialis*, and *Malassezia globosa* to azole drugs and

amphotericin B evaluated using a broth microdilution method. *Med Mycol* 2014;52:641–6. <https://doi.org/10.1093/mmy/myu010>.

[30] Okhale SE, Egharevba HO, Imoisi C, Ibrahim JA, Jegede IA. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) analysis of the essential oil from Nigerian *Artemisia annua* L. at different growth stages. *Nat Sci* 2022;20:49–54. <https://doi.org/10.7537/marsnsj201222.07>.

[31] Zhang T, Zheng Y, Fu C, Yang H, Liu X, Qiu F, et al. Chemical Variation and Environmental Influence on Essential Oil of *Cinnamomum camphora*. *Molecules* 2023;28. <https://doi.org/10.3390/molecules28030973>.

[32] Jazani RS, Sipos B, Haspel H. Quality by Design-Driven Zeta Potential Optimisation Study of Liposomes with Charge Imparting Membrane Additives 2022.

[33] Kiasari FJ, Azizkhani M, Tooryan F. Antifungal Activity of Nanoemulsion of Iranian Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Essential Oil 2022;9:49–56. <https://doi.org/10.18502/jfqhc.9.1.9690>.

[34] Moradi S, Anarjan N. Preparation and characterization of α -tocopherol nanocapsules based on gum Arabic-stabilized nanoemulsions. *Food Sci Biotechnol* 2019;28:413–21. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0478-y>.

[35] Razavi MS, Golmohammadi A, Nematollahzadeh A, Fiori F, Rovera C, Farris S. *Journal Pre-proof* 2020.

[36] Osanloo M, Amani A, Sereshti H, Reza M, Esmaeili F. Industrial Crops & Products Preparation and optimization nanoemulsion of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) essential oil as effective herbal larvicide against *Anopheles stephensi*. *Ind Crop Prod* 2017;109:214–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.037>.

[37] Yakoubi S, Kobayashi I, Uemura K, Horchani-Naifer K, Saidani-Tounsi M, Nakajima M, et al. Development of a novel colloidal system enhancing the dispersibility of tocopherol nanoparticles in a nanoscale nutraceutical delivery system. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2023;668. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2023.131348>.

[38] Dammak I, Sobral PJ do A. Curcumin nanoemulsions stabilized with natural plant-based emulsifiers. *Food Biosci* 2021;43. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101335>.

[39] Ahmad I. Optimizing CTAB-capped gold nanorod stability and shape-separation dynamics during centrifugation cycles. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2025;710. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2025.136235>.

[40] Usoltseva LO, Volkov DS, Nedosekin DA, Korobov M V, Proskurnin MA, Zharov VP. Photoacoustics Absorption spectra of nanodiamond aqueous dispersions by optical absorption and optoacoustic spectroscopies 2018;12:55–66.

[41] Ahmad I, Khan SA, Jan R. Dynamics of absorption peaks in plasmonic nanostructures. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2025;709. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2025.136115>.

[42] Jin J, Peng B, Meng Q, Qian S, Su B, Cui H. Using microfluidic technology to measure the terahertz

absorption properties of phase-changing thermoregulated emulsions Using microfluidic technology to measure the terahertz absorption properties of phase-changing thermoregulated emulsions n.d.

[43] Barison S, Cabaleiro D, Rossi S, Kovtun A, Melucci M, Agresti F. Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects Paraffin – graphene oxide hybrid nano emulsions for thermal management systems 2021;627.

[44] Park J, Scheler U, Messinger RJ. Molecular-Level Understanding of Phase Stability in Phase-Change Nanoemulsions for Thermal Energy Storage by NMR Spectroscopy 2024.

[45] Nandy M, Lahiri BB, Yadhukrishna CH, Philip J. Poly acrylic acid stabilized magnetic nanoemulsions for visual defect detection: Effect of pH on detection sensitivity and colloidal stability. J Mol Liq 2021;336. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116332>.

[46] Mahfouzi M, Kadkhodae R, Schroën K, Bostan A. Pickering emulsions stabilized with the insoluble fraction of natural Persian gum. Food Hydrocoll 2025;163. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111042>.

[47] Li N, Gao Y, Zheng L, Zhang J, Yu L, Li X. Studies on the micropolarities of bmimBF₄/TX-100/toluene ionic liquid microemulsions and their behaviors characterized by UV-visible spectroscopy. Langmuir 2007;23:1091–7. <https://doi.org/10.1021/la062480z>.

[48] Đoković JB, Savić SM, Mitrović JR, Nikolic I, Marković BD, Randjelović D V., et al. Curcumin loaded pegylated nanoemulsions designed for maintained antioxidant effects and improved bioavailability: A pilot study on rats. Int J Mol Sci 2021;22:1–27. <https://doi.org/10.3390/ijms22157991>.

[49] Liu T, Gao Z, Zhong W, Fu F, Li G, Guo J, et al. Preparation, Characterization, and Antioxidant Activity of Nanoemulsions Incorporating Lemon Essential Oil. Antioxidants 2022;11:1–13. <https://doi.org/10.3390/antiox11040650>.

[50] Berkow EL, Lockhart SR, Ostrosky-Zeichner L. Antifungal susceptibility testing: Current approaches. Clin Microbiol Rev 2020;33. <https://doi.org/10.1128/CMR.00069-19>.

[51] Ehsanfar P, Teimouri M. Investigating Characterizations and Antifungal Effects of Solid Lipid Nanoparticles (SLNs) Loaded with Essential Oil of Citrus Aurantifolia on Isolated Malassezia Strains. Arch Adv Biosci 2020;11:43–55.