

سنتز، مشخصه‌یابی و بررسی خواص نانوامولسیون برپایه اسانس گیاهی زیره

مژگان حیدری*، مژگان باقری

پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده نانوفناوری و مواد پیشرفته، کرج، ایران.

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۷/۲/۲۳، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۷/۴/۲، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۷/۴/۱۳

چکیده هدف از اجرای این کار، سنتز و بررسی آفت‌کش گیاهی نانوامولسیون شده به منظور افزایش کارایی و کاهش مصرف سموم شیمیایی می‌باشد. در این تحقیق از اسانس گیاهی زیره که سازگار با محیط‌زیست است و باعث آلودگی محیط‌زیست و محصولات کشاورزی نمی‌شود، به جای آفت‌کش طبیعی استفاده شد. برای تهیه نانوامولسیون‌ها، اثر چندین پارامتر از جمله میزان درصد ماده سورفکتانت، زمان سونیکاسیون و غلظت اسانس مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی پایداری نانوامولسیون‌ها، آزمایشات متفاوتی مانند شفافیت نوری، اندازه‌گیری گرانیوی، pH و هدایت الکتریکی بر روی نمونه‌ها انجام شد. هم‌چنین اندازه و مورفولوژی نمونه‌ها به وسیله آنالیز پراکندگی نور دینامیکی و میکروسکوپ الکترونی عبوری بررسی شد. نتایج حاصله نشان داد که نانوامولسیون‌های سنتز شده در غلظت‌های یک تا پنج درصد دارای پایداری مناسبی بوده (بررسی در مدت ۱۴ ماه) و متوسط اندازه نانوامولسیون‌های سنتز شده ۱۵ نانومتر می‌باشد. آزمون‌های آفت‌کشی بر روی نمونه‌های نانوامولسیون سنتز شده برپایه اسانس گیاهی زیره، سمیت تماسی علیه شته جالیز ($LC_{50} = 3461.91 \text{ ppm}$) را نشان داد که این سمیت با افزایش غلظت، افزایش معنی‌داری را بیان می‌نمود.

کلمات کلیدی: آفت‌کش گیاهی، اسانس زیره، نانوامولسیون، سورفکتانت، اولتراسونیک.

Synthesis, Characterization and Investigation of Properties of Nanoemulsion Persian Cumin Essential Oil

Mojgan Heydari*, Mozhgan Bagheri

Materials and Energy Research Center, Department of Nanotechnology and Advanced Materials, Karaj, Iran.

Abstract The aim of this research is to synthesize and study on a nanoemulsion bio-organic pesticide for higher efficiency and reducing chemical pesticide use. In this research, *Persian Cumin* essential oil were used, which can be applied as bio-organic pesticide and they are biocompatible, harmless to human beings and also animals; do not cause environmental pollution and agricultural products. Then various parameters of surfactant concentration, essential oil percentage, and sonication time were studied in order to prepare nanoemulsion systems. In order to study on physical stability of different nanoemulsion formulations, optical clarity, viscosity, pH and conductivity were measured. The size and morphology of nanoemulsion formulations were then analyzed by dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). The results showed that the nanoemulsions in concentration ranges of 1 to 5 % were stable (study during 14 months) and the mean droplets size of synthesized nanoemulsions was about 15 nm. Pesticide experiments showed that contact toxicity LC_{50} of synthesized nanoemulsion against *Aphis gossypii* was obtained 3461.91 ppm, which demonstrated a significant increase in pesticide activity with increasing essential oil concentration.

Keywords: Green Pesticide, Persian Cumin, Nanoemulsion, Surfactant, Ultrasonic.

۱- مقدمه

می‌توان به جای مواد ضد میکروبی طبیعی استفاده نمود [۱۶]. در این تحقیق با استفاده از روش ساده و سریع اولتراسونیک یک سیستم نانومولسیون پایدار با محدوده اندازه ذرات کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر تهیه شد. سپس به بررسی نانومولسیون‌های تهیه شده از طریق آنالیزهای مختلف فیزیکی، شیمیایی و مورفولوژیکی پرداخته می‌شود. در پایان نیز آزمون های آفت‌کشی بر علیه شته جالیزی بررسی خواهد شد.

۲- روش تحقیق

مواد اولیه استفاده شده در این تحقیق شامل سورفکتانت غیر یونی توین ۸۰^{۱۸} و اتانول (Ethanol) از کمپانی Merck و اسانس گیاهی زیره از شرکت بهبو قمصر سماوات کاشان فراهم شدند. برای بررسی اجزاء تشکیل دهنده اسانس گیاهی دستگاه طیف‌سنج کروماتوگرافی گازی (Agilent 6890N/5973N GC-MS, USA) و برای سنتز نانومولسیون، دستگاه اولتراسونیک پروب‌دار (Labsonic P, Sartorius Stedim Biotech, Germany) مورد استفاده قرار گرفت.

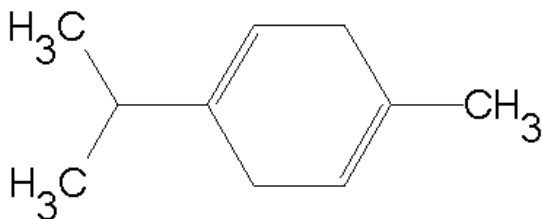
در آزمایشات بعدی به بررسی فرمولاسیون‌های نانومولسیون سنتز شده از طریق اندازه‌گیری ویسکوزیته (Brookfield Viscometer, model RV-DV III Ultra, USA)، هدایت الکتریکی (Conductometer Metrohm, USA ۷۱۲) و pH (pH meter, Mettler Toledo, Switzerland) پرداخته شد. برای مطالعه اندازه ذرات و مورفولوژی نانومولسیون‌های سنتز شده از روش پراکندگی نور دینامیکی (Zetasizer Nano, ZS, Model 3000HAs, Malvern, UK) و میکروسکوپ الکترونی عبوری (Zeiss, EM10C, 80 KV, Germany) استفاده شد. آماده‌سازی نمونه با استفاده از روش رنگ‌آمیزی انجام گرفت. در این روش از رنگ اسید فسفوتانگستیک^{۱۹} که می‌تواند برای مطالعه نانومولسیون‌ها به کار رود، استفاده شد. به این طریق که ابتدا محلول نانومولسیون را روی توری مسی^{۲۰} ریخته و با یک پوشش پلاستیکی از جنس کربن پوشش داده شده با رزین‌های ترموپلاستیک پلی وینیل^{۲۱}

اولین بار در سال ۱۹۸۹ استفاده از اسانس‌های گیاهی برای مقابله با حشرات توسط کورتیس^۱ و همکاران مطرح گردید [۱]. اسانس‌های گیاهی ترکیبات فرار پیچیده‌ای هستند که از گیاهان استخراج می‌شوند. این ترکیبات فرآیند سوخت و ساز موجوداتی را که این مواد برای آنها سمی است، مسدود می‌کنند. این مواد به صورت صد درصد طبیعی بوده و آلودگی برای محیط زیست ایجاد نمی‌کنند. از آنجایی که مواد مصنوعی مشکلات فراوان محیط زیستی را پدید آورده‌اند، امروزه استفاده از مواد ارگانیک پیشنهاد می‌شود [۲-۶]. فرادین^۲ و همکاران نشان داده‌اند که کارایی بعضی از اسانس‌های گیاهی طبیعی حتی در بعضی موارد بهتر از مواد مصنوعی می‌باشد. اما مشکل عمده آنها فراریت بالا و متعاقب آن ناپایداری آنها می‌باشد [۷]. به منظور مقابله با این مشکل، یکی از بهترین راه حل‌ها استفاده از فرمولاسیون نانومولسیون است که در واقع با استفاده از فناوری نانو، پایداری و کارایی ترکیب مورد نظر را به نحو چشم‌گیری افزایش می‌دهد.

اولین بار در سال ۲۰۰۰ میلادی یک ترکیب نانومولسیونی دارویی روغن در آب توسط بیکر^۳ تهیه شد. این فرمولاسیون به منظور غیرفعال کردن باکتری مقاوم دارای اسپور سنتز شد و اندازه ذرات پراکنده نانومولسیون مقدار ۵۰۰ تا ۵۰۰۰ نانومتر (۰/۵ تا پنج میکرون) به دست آمد [۸]. سپس محققان دیگر نیز از نانومولسیون‌های متفاوت دیگر به منظور کاربردهای به‌طور عمده دارویی و غذایی استفاده کردند [۹-۱۳]. تنها در چند سال اخیر، دانشمندان به استفاده از روش نانومولسیون در صنعت کشاورزی روی آورده‌اند [۱۴-۱۵]. بعضی از دانشمندان نیز روی روش‌های تهیه نانومولسیون تحقیقات فراوانی انجام دادند که نقص عمده این سیستم‌ها، انجام آزمایشات وقت‌گیر بوده است و محدوده اندازه نانوذرات به‌طور عمده بزرگتر از ۱۰۰ نانومتر بوده است [۱۱]. محققان بر این عقیده‌اند که اسانس‌ها یا همان عصاره‌های معطر گیاهی قابلیت بالایی برای استفاده به عنوان آفت‌کش و جایگزینی با مواد شیمیایی دارند [۲]. امروزه از عصاره‌های بعضی از گیاهان

¹⁸ Tween 80¹⁹ Phosphotungstic Acid = PTA²⁰ Copper Grid²¹ formvar carbon-coated¹ Curtis² Fradin³ Baker

طیف‌سنجی جرمی نشان داد که جزء اصلی اسانس زیره از خانواده ترپینین می‌باشد که ترکیباتی آب‌گریز^۱ و فرار بوده و به به عنوان ماده مؤثر آفت‌کش‌ها استفاده می‌شود (شکل ۱). هر چند که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی به شدت تحت شرایط محیط می‌باشد اما در هر صورت نقش عمده در بیان صفات فیزیولوژیکی گیاه بیشتر تحت تاثیر ژنوتیپ گیاه می‌باشد [۱۷]. در این مطالعه میزان قابل توجه ترکیب‌های ترپینین در اسانس مورد آزمایش نشان‌دهنده کیفیت مطلوب آن بود.



شکل ۱. ساختمان شیمیایی گاما- ترپینین [۱۸].

۲-۳ سنتز نانوامولسیون

سنتز نانوامولسیون‌ها با استفاده از دستگاه تولید امواج مافوق صوت پروب‌دار انجام گرفت. بدین منظور اسانس گیاهی زیره (فاز روغن) در ترکیب درصدهای وزنی متفاوت در ماده سورفکتانت غیریونی توپین ۸۰ و حلال آب و اتانول هم‌زده می‌شوند. در مرحله بعدی محلول امولسیون با استفاده از دستگاه اولتراسونیک^۲ پروب‌دار در فرکانس ۲۴ کیلوهرتز در مدت زمان‌های گوناگون هم‌وزنیزه می‌شود. امولسیون حاصله، یک امولسیون روغن در آب می‌باشد.

نتایج نشان داد که شفافیت نمونه‌ها پس از ۱۵ دقیقه قرار گرفتن تحت امواج اولتراسونیک کامل می‌شود اما از آنجایی که تفاوتی بین شفافیت نمونه‌ها در زمان‌های بالاتر مشاهده نشد، زمان ۱۵ دقیقه به عنوان زمان بهینه انتخاب گردید. مولکول سورفکتانت با کاهش دادن انرژی آزاد و کاهش کشش سطحی در فصل مشترک روغن- آب به فرآیند تشکیل امولسیون کمک می‌کند [۱۹]. در واقع در غلظت‌های پایین اسانس، به علت کم بودن فاز روغنی، مولکول سورفکتانت دور هر قطره امولسیون را بیشتر احاطه کرده که متعاقب آن پایداری نمونه بیشتر می‌شود. اما در نمونه‌های دیگر حاوی

پوشانده می‌شود. سپس رنگ اسیدفسفوتانگستیک که محلول نمکی یک فلز سنگین (مانند تنگستن) است به آن اضافه می‌شود. محلول نمکی فلز با مواد ترکیب نمی‌شود، اما هاله‌ای را اطراف آن بر روی توری تشکیل می‌دهد. نمونه به صورت یک تصویر منفی در هنگامی که با کمک TEM مورد مطالعه قرار می‌گیرد نمایان می‌شود. در پایان به بررسی آزمون‌های آفت کشی فرمولاسیون نانوامولسیون‌های سنتز شده با استفاده از شته جالیزی به عنوان حشره مدل آفت گیاه خیار، رقم سلطان پرداخته می‌شود.

۳- نتایج و بحث

۱-۳ شناسایی ترکیبات موجود در اسانس

جدول ۱. ترکیب شیمیایی اسانس زیره با استفاده از کروماتوگرافی گازی طیف‌سنجی جرمی.

نام ترکیب (Major Compounds)	زمان بازداری (RT) (min)	درصد سطح زیر منحنی (Area Percent)	درصد فراوانی (Abundance)
γ -Terpinene	۹,۵۴	۲۲,۷۵	٪۲۳,۷۷
Cumin Aldehyde	۱۳,۱۲	۱۷,۹۹	٪۱۸,۷۹
Cumene	۸,۷۶	۱۱,۲۳	٪۱۱,۷۳
di-tert-butylphenol-4,2	۱۳,۹۹	۱۰,۵۴	٪۱۱,۰۱
β -Pinene	۷,۶۹	۹,۴۲	٪۹,۸۴
Benzeneacetic acid, α -hydroxy, 2-methoxyethyl ester	۱۴,۰۴	۸,۹۱	٪۹,۳۱
Benzenemethanol, α -propyl	۱۳,۸۴	۵,۲۵	٪۵,۴۵
γ -Curcumene	۱۶,۹۹	۱,۹۳	٪۲,۰۲
p-Mentha-1,5-diene	۸,۲۵	۱,۸۹	٪۱,۹۸
Limonen	۸,۸۱	۱,۳۱	٪۱,۳۷
Myrcene	۷,۹۵	۰,۹۸	٪۱,۰۳
L-Caryophyllene	۱۶,۱۱	۰,۶۹	٪۰,۷۲
α -Pinene	۶,۶۸	۰,۵۷	٪۰,۵۹
Carotol	۱۸,۸۵	۰,۴۸	٪۰,۵۱
β -Farnesene	۱۶,۵۹	۰,۳۳	٪۰,۳۵
3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde	۱۲,۱۱	۰,۳۲	٪۰,۳۴
Palmitinic acid	۲۳,۵۵	۰,۳۱	٪۰,۳۳
Linalool	۱۰,۲۵	۰,۲۹	٪۰,۳۱
3-Nitrophthalic acid	۳۰,۳۲	۰,۲۸	٪۰,۲۹
β -Caryophyllene	۱۸,۶۶	۰,۲۵	٪۰,۲۶

جزئیات نتایج حاصل از آنالیز اسانس زیره به دست آمده از کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی در جدول شماره ۱ ارائه شده است. نتایج حاصله از آنالیز کروماتوگرافی گازی-

¹ hydrophobe
² ultrasonic

در تهیه نانوامولسیونها از سورفکتانت غیریونی استفاده شده است، فاکتور pH تأثیر چندانی روی فرمولاسیونهای نانوامولسیون نداشت که نشان می‌دهد قدرت یونی بی‌اثر بوده است. هدایت الکتریکی محلول‌های نانوامولسیون نیز با افزایش غلظت اسانس افزایش می‌یابد که به دلیل افزایش بارهای الکتروستاتیک و جذب بیشتر بار الکتریکی از راه جذب یون‌های موجود در محیط اطراف می‌باشد به طوری که در نمونه‌ها با غلظت کمتر اسانس، تراکم بارهای الکتریکی کمتر بوده و از هدایت الکتریکی کمتری برخوردار خواهند بود.

با توجه به اینکه هدایت الکتریکی بالا منجر به تخریب امولسیون می‌شود، غلظت‌های کمتر مطلوب است. به طور کلی همه نمونه‌ها دارای پایداری بالایی می‌باشند که این امر نشان می‌دهد که فاز آبی به عنوان فاز پیوسته می‌باشد، بدین معنی که نانوامولسیون‌های تشکیل شده از نوع روغن در آب (O/W) است.

جدول ۲. پارامترهای فیزیکوشیمیایی نمونه‌های نانوامولسیون اسانس زیره.

ویسکوزیته (C.P.)**	هدایت الکتریکی ($\mu\text{S}/\text{cm}$)*	pH	نانوامولسیون (v/v%)
۱۴/۰۰±۰/۰۰۱	۴۷/۸۰±۰/۰۰۲	۵,۹۴±۰/۰۱	٪۱
۱۴/۶۰±۰/۰۰۲	۸۱/۴۰±۰/۰۰۱	۵,۰۱±۰/۰۲	٪۲
۱۶/۴۰±۰/۰۰۲	۹۹/۱۱±۰/۰۰۳	۵,۳۰±۰/۰۱	٪۳
۱۶/۸۰±۰/۰۰۴	۱۴۵/۸۰±۰/۰۰۳	۵,۰۴±۰/۰۳	٪۴
۲۵/۷۰±۰/۰۰۷	۱۵۴/۸۰±۰/۰۰۵	۵,۳۴±۰/۰۴	٪۵

* $\mu\text{S}/\text{cm}$ = Micro-Siemens Per Centimeter

** C.P. = Centipoise

۳-۴ اندازه‌گیری اندازه ذرات نانوامولسیون

برای مطالعه اندازه ذرات نانوامولسیون‌های سنتز شده از روش پراکندگی نور دینامیکی استفاده شد. تغییر اندازه ذرات نانوامولسیون در درصدهای حجمی متفاوت اسانس زیره از یک تا پنج درصد چشم‌گیر نمی‌باشد، به طوری که متوسط اندازه آنها در محدوده باریک بین ۱۳ تا ۲۰ نانومتر می‌باشد که با افزایش غلظت اسانس اندازه ذرات افزایش می‌یابد (جدول ۳).

برای نمونه پروفیل اندازه ذرات برای نانوامولسیون‌های زیره ۳٪، ۱۴/۵۲ نانومتر در شکل ۳ آورده شده است. همان‌طور که در این شکل دیده می‌شود، توزیع اندازه ذرات به طور نسبی باریک و برای نانوامولسیون زیره در محدوده ۱۵ نانومتر می‌باشد.

غلظت بالاتر اسانس، نمونه‌ها قبل از انجام فرآیند سونیکاسیون دارای رنگ شیری می‌باشند، اما بعد از اعمال امواج اولتراسونیک، شفافیت نمونه افزایش می‌یابد. در واقع، در غلظت‌های یک تا سه درصد نمونه‌ها قبل از انجام فرآیند سونیکاسیون شفاف بودند، ولی نمونه‌های حاوی چهار و پنج درصد اسانس‌ها شیری رنگ بودند که با انجام فرآیند سونیکاسیون شفافیت کامل پیدا کردند. شکل ۲ شفافیت نمونه‌ای از نانوامولسیون سنتز شده حاوی ۵٪ اسانس زیره قبل و بعد از فرآیند سونیکاسیون به مدت ۱۵ دقیقه را نشان می‌دهد. این نتایج بیان می‌کند سنتز نانوامولسیون‌ها با استفاده از امواج اولتراسونیک که امواج با انرژی بالا را تولید می‌کند، کامل و اندازه ذرات کوچک می‌شود. بدین ترتیب امولسیون‌ها از حالت میکروامولسیون به نانوامولسیون تغییر وضعیت می‌دهند.



شکل ۲. نانوامولسیون سنتز شده حاوی ۵٪ اسانس زیره قبل (چپ) و بعد (راست) از فرآیند سونیکاسیون.

۳-۳ بررسی پارامترهای فیزیکوشیمیایی نانوامولسیون

در آزمایشات بعدی پارامترهای فیزیکوشیمیایی نمونه‌های نانوامولسیون نظیر ویسکوزیته، هدایت الکتریکی و pH مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۲). نتایج حاصله نشان داد که محلول‌های نانوامولسیون از ویسکوزیته پایینی برخوردارند که این خود یکی از ویژگی‌های نانوامولسیون‌ها می‌باشد. همچنین ویسکوزیته نانوامولسیون‌ها با افزایش غلظت اسانس افزایش می‌یابد. با افزایش غلظت فاز روغنی، مولکول‌های آب در پیوندهای عرضی مولکول‌های سورفکتانت محبوس شده، منجر به افزایش ویسکوزیته نانوامولسیون‌ها می‌شود. ویسکوزیته روغن نقش مهمی را در شکستن قطرات روغن بازی می‌کند؛ هرچه ویسکوزیته روغن بیشتر باشد، مدت زمان طولانی‌تری برای شکستن قطرات روغن سپری می‌شود [۲۰]. از آنجایی که

شکل ۴ تصویر TEM نمونه نانوامولسیون ۳٪ زیره را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل نشان داده شده است، نانوذرات دارای مورفولوژی کروی بوده و اندازه ذرات از تطابق خوبی با آنالیز پراکندگی نور دینامیکی برخوردار هستند.

۳-۶ بررسی پایداری نانوامولسیون

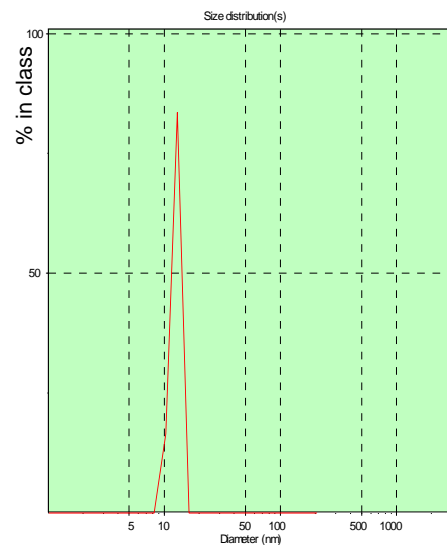
پایداری نمونه‌ها نسبت به پدیده‌های ناپایدارکننده‌ی امولسیون (تفکیک گرانشی^۱، انبوهش یا لخته شدن^۲، ادغام^۳ و رسیدگی استوالد^۴)، برای مدت زمان طولانی (۱۴ ماه) بررسی شد. به همین منظور شفافیت نمونه‌ها با اندازه‌گیری عبور نور از نمونه‌های سنتز شده نانوامولسیون بعد از ۱۴ ماه به‌وسیله دستگاه UV-Vis بررسی شد و با نمونه‌های اولیه مقایسه گردید. مشاهدات نشان داد که میزان شفافیت (عبور نور) نمونه‌ها بعد از گذشت ۱۴ ماه تغییری نکرده است که نشان دهنده پایداری بالای نانوامولسیون‌ها می‌باشد. کوچک بودن اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها موجب پایداری آن‌ها در برابر پدیده‌های تشکیل رسوب یا خامه‌ای شدن می‌شود، زیرا حرکت براونی و به تبع آن نرخ انتشار بیشتر از سرعت پدیده‌های تشکیل رسوب یا خامه‌ای شدن بر اثر نیروی وزن قطرات است.

۳-۷ آزمون زیست‌سنجی نانوامولسیون زیره

برای پرورش شته جالیز، گیاه خیار رقم سلطان، در گلخانه کشت شد (شکل ۵). برای آزمون زیست‌سنجی از شته‌های هم‌سن یک روزه استفاده شد. تعداد ۲۰ عدد حشره بالغ در هر تکرار به مدت ۲۴ ساعت در آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند. کلیه آزمایشات در سه تکرار صورت پذیرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار، میزان مرگ و میر محاسبه شد. مرگ و میر شاهد با استفاده از روش ابوت اصلاح گردید و برای محاسبه مقادیر LC₅₀ (غلظت کشنده ۵۰ درصد از جمعیت حشره که در مطالعات زیست‌سنجی به عنوان معیار سنجش سمیت ترکیبات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد)، داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار Poloplus 2.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [۲۱]. مقایسه میانگین‌های مرگ و میر بین غلظت‌های مختلف، با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1

جدول ۳. اندازه ذرات فرمولاسیون‌های بهینه نانوامولسیون زیره از ۱٪ تا ۵٪ در زمان سونیکاسیون ۱۵ دقیقه.

اندازه ذرات نانوامولسیون (نانومتر)	نانوامولسیون (v/v%)
۱۳,۹۸	۱٪
۱۴,۱۱	۲٪
۱۴,۵۲	۳٪
۱۵,۲۵	۴٪
۱۸,۷۰	۵٪

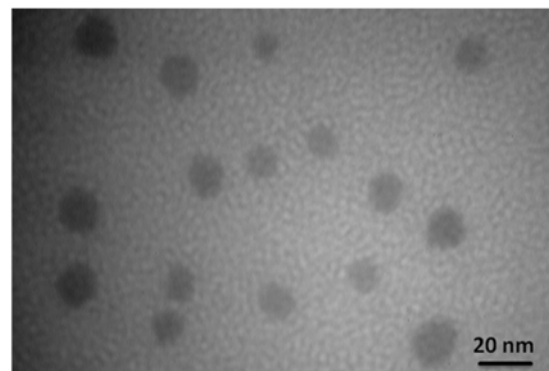


شکل ۳. پروفیل اندازه ذرات نانوامولسیون زیره ۳٪ (۱۴,۵۲ نانومتر) با استفاده از روش پراکندگی نور دینامیکی.

۳-۵ مشاهده نانوذرات نانوامولسیون اسانس زیره با استفاده

از روش میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)

مشاهده نانوذرات نانوامولسیون با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی عبوری به عنوان ابزاری قدرتمند در مشخص نمودن ساختار، مورفولوژی مواد با قدرت تفکیک و بزرگنمایی بالا انجام گرفت.



شکل ۴. مشاهده نانوذرات نانوامولسیون ۳٪ زیره با استفاده از TEM.

¹ Creaming

² Flocculation

³ Coalescence

⁴ Ostwald Ripening

مختلف ساخته شده از نانوفرمولاسیون زیره تفاوت معنی داری مشاهده شده است (درجه آزادی = ۴ و میزان آزادی = ۱۷۸,۳۳۴ و میزان $P = ۰۰۰/۰$)، به این معنی که افزایش غلظت‌های مورد استفاده از نانوفرموله زیره در آزمایشات سمیت تماسی، باعث افزایش معنی دار مرگ و میر شته جالیز شده است.

برای مقدار LC_{50} و متغیرهای وابسته به مرگ و میر محاسبه شده برای نانوفرمولاسیون زیره یک و سه درصد نشان داد، در حالی که بین نانوفرموله‌های یک و سه درصد اختلاف معنی داری مشاهده نشده است (درجه آزادی = ۱ و میزان آزادی = ۴,۱۶۷ و میزان $P = ۰,۰۵۴$)، به این معنی که نانوفرموله‌های سنتز شده در دو حالت غلظت‌های یک و سه درصد، به احتمال ۹۵ درصد (براساس آزمون توکی) مرگ و میر مشابه (با اختلاف غیرمعنی دار) با یکدیگر خواهند داشت و یکی خواهند بود. بالاتر بودن میزان آزادی محاسبه شده برای غلظت‌ها در درجه آزادی چهار نشان داد که اختلاف بین مرگ و میر شته جالیز در غلظت‌های مختلف از ترکیب نانوفرموله معنی دار است. مقدار LC_{50} و متغیرهای وابسته به معادله خط غلظت مرگ و میر محاسبه شده برای نانوفرمولاسیون زیره یک و سه درصد در جدول شماره ۴ آورده شده است.

جدول ۴. مقادیر LC_{50} و LC_{90} محاسبه شده برای نانوفرمولاسیون زیره یک و سه درصد.

غلظت	LC_{50} (ppm)	LC_{90} (ppm)	Slope±S.E.	χ^2 (df)	LC_{50} ratio
یک درصد	۳۴۶۱,۹۱	۳۸۱۴,۵۸	۴۱,۸۹۰±۵,۵۸۹	(۱۳)	۱,۰۰۷
سه درصد	۳۴۳۷,۰۲	۳۶۶۶,۹۷	۴۵,۵۶۵±۵,۷۹۲	۲,۸۹۵	(۰,۹۹۵-۱,۰۱۹)
				(۱۳)	۵,۰۷

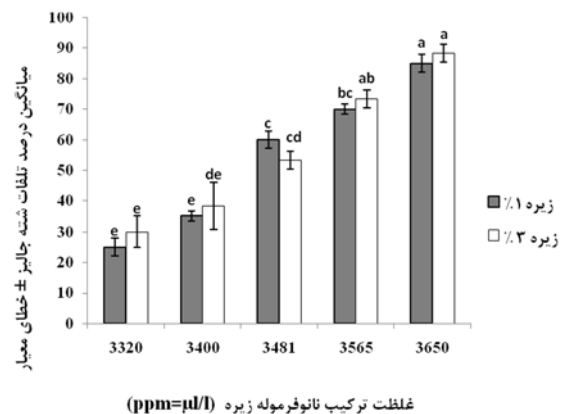
مقایسه شیب دو خط برای ترکیبات یک و سه درصد زیره نشان می‌دهد که مرگ و میر ناشی از ترکیب سه درصد در مقایسه با ترکیب یک درصد اندکی بیشتر وابسته به غلظت بوده است. به این معنی که با افزایش غلظت مشابه در هر دو ترکیب، مرگ و میر ناشی از ترکیب سه درصد اندکی با سرعت بیشتر رشد خواهد کرد و اختلاف معنی داری بین غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد جمعیت دو ترکیب یک و سه درصد نانوفرمولاسیون زیره وجود ندارد. با توجه به پایین تر بودن مقدار χ^2 در درجه آزادی ۱۳ در آزمایش فوق نسبت به مقدار آن در جدول χ^2 می‌توان دقت آزمایش فوق را تایید کرد.

انجام گرفت. آزمون معنی دار مورد استفاده در تجزیه و تحلیل آماری، آزمون توکی^۱ در سطح اطمینان آماری ۹۵ درصد (سطح احتمال پنج درصد) می‌باشد.



شکل ۵. شته جالیزی پشت برگ‌های خیار.

شکل ۶ میانگین درصد تلفات بالغین شته جالیز را در اثر نانوفرمولاسیون زیره نشان می‌دهد. همان‌طور که در این نمودار مشخص می‌باشد، افزایش معنی دار در مرگ و میر شته جالیز با افزایش غلظت‌های ترکیب مذکور وجود دارد.



شکل ۶. میانگین درصد تلفات بالغین شته جالیز در اثر غلظت‌های مختلف نانوفرمولاسیون زیره. حروف لاتین مشابه نشان‌دهنده اختلاف غیرمعنی دار و حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین مرگ و میر شته جالیز در سطح اطمینان آماری ۹۵ درصد با آزمون توکی می‌باشند.

میانگین درصد تلفات بالغین شته جالیز در نانوفرمولاسیون زیره نشان داد که افزایش معنی دار در مرگ و میر شته جالیز با افزایش غلظت‌های ترکیب مذکور وجود دارد. افزایش معنی داری در مرگ و میر شته جالیز با افزایش غلظت‌های ترکیب مذکور وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین و تجزیه واریانس نشان داد که بین مرگ و میر ناشی از غلظت‌های

¹ Tokei

۴- نتیجه گیری

جالیز (LC₅₀ = 3461.91 ppm) نشان داد که این سمیت با افزایش غلظت، افزایش معنی داری نشان داد.

در پژوهش حاضر، واکنش کopolyمیریزاسیون تک پاره‌های اسید آکرلیک بر روی SWCNTs در حضور آغازگر رادیکالی آمونیوم پرسولفات و عامل شبکه‌ساز متیلن برپایه آکرلیک امید صورت گرفت. سرعت جذب آب بالای هیدروژل سنتز شده، سیستیک تورم قابل قبولی را تایید می‌کند. هم‌چنین با روش‌های نتایج تصویربرداری و آزمون‌ها ساختار شبکه‌ای هیدروژل تایید و مشخص شد، وجود نیترات آلومینیوم رسانایی هیدروژل نانو کامپوزیت/ نانولوله کربنی را افزایش می‌دهد. میزان جذب آب هیدروژل نانوکامپوزیت در محیط قلیایی ۰/۹۲۱ در هر گرم و میزان رسانایی آن ۱۹/۶۰ S/m می‌باشد که نسبت با هیدروژل نانوکامپوزیت/ نانولوله کربنی بدون تقویت‌کننده رسانایی (S/m) ۱۴/۲۸ افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت.

مراجع

1. Curtis, C., Lines, J., Lu, B., Renz, A., Natural and Synthetic Repellents. In: Curtis, C.F. (Ed.), *Appropriate Technology in Vector Control*. (1989), CRC Press, Florida. Chapter 4.
2. Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., Stashenko, E., Repellent Activity of Essential Oils: A Review, *Bioresource Technology*, 101 (2010) 372-378.
3. Koul, O., Walia, S., Dhaliwa, G.S., Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints, *Biopesticides International*, 4(1) (2008) 63-84.
4. Dayan, F.E., Cantrell, C.L., Duke, S.O., Natural Products in Crop Protection, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(1) (2009) 4022-4034.
5. Sekhon, B.S., Nanotechnology in Agri-food Production: an Overview, *Nanotechnology, Science and Applications*, 7(1) (2014) 31-53.
6. Oliveira, J.L., Campos, E.V.R., Bakshi, M., Abhilash, P.C., Leonardo Fernandes Fraceto. Application of Nanotechnology for the Encapsulation of Botanical Insecticides for Sustainable Agriculture: Prospects and Promises, *Biotechnology Advances*, 32(1) (2014) 1550-1561.
7. Fradin, M.S., Day, J.F., Comparative Efficacy of Insect Repellents against Mosquito Bites, *The New England Journal of Medicine*, 347 (2002) 13-18.
8. Baker Jr., J.R., Wright, D.C., Hayes, M.M., Hamouda, T., Brisker, J., Method for Inactivating Bacteria Including Bacterial Spores, U.S. Patent # 6015832, (2000).
9. Jaiswal, M., Dudhe, R., Sharma, P.K., Nanoemulsion: An Advanced Mode of Drug Delivery System, *3 Biotech*, 5 (2014) 1-5.
10. Rachmawati, H., Budiputra, D.K., Mauludin, R., Curcumin Nanoemulsion for Transdermal Application: Formulation and Evaluation, *Drug Development and*

خواص منحصربه‌فرد نانومولسیون‌ها باعث شده ساختار نانومولسیونی یکی از امیدبخش‌ترین ساختارها برای بهبود حلالیت و افزایش ارزش زیستی و عملکردی ترکیبات آب‌گریز (هیدروفوب) شود. ایجاد آفت‌کش‌هایی بر مبنای عصاره طبیعی، زمینه‌ساز بسیاری از کاربردهای کشاورزی، محیط زیست و غذا در کنترل آفات و حرکت به سوی کشاورزی ارگانیک می‌باشد. به‌طور خلاصه با توجه به روش‌های اشاره شده در این تحقیق نانومولسیون‌های محتوی اسانس گیاهی زیره در شرایط متفاوت از جمله درصدهای مختلف سورفکتانت توپین ۸۰، غلظت اسانس و زمان سونیکاسیون تهیه شدند و نتایج زیر به دست آمد:

(۱) برای بررسی پایداری نانومولسیون‌های تهیه شده آزمایشات مختلفی نظیر اندازه‌گیری شفافیت نوری، ویسکوزیته، pH و هدایت الکتریکی انجام گرفت. نتایج حاصل نشان داد که نانومولسیون‌های سنتز شده دارای پایداری مناسبی می‌باشند.

(۲) برای مطالعه اندازه ذرات و مورفولوژی نانومولسیون‌های سنتز شده از روش پراکندگی نور دینامیکی و میکروسکوپ الکترونی عبوری استفاده شد. نتایج حاصله نشان داد که نانوذرات دارای مورفولوژی کروی بوده و متوسط اندازه نانوذرات ۱۵ نانومتر می‌باشند.

(۳) پایداری نمونه‌ها نسبت به پدیده‌های ناپایدار کننده‌ی امولسیون (تفکیک گرانشی، انبوهش، ادغام و رسیدگی استوالد)، برای مدت زمان طولانی (۱۴ ماه) بررسی شد که مشاهدات نشان داد که نمونه‌ها دارای پایداری بالایی می‌باشند. کوچک بودن اندازه ذرات نانومولسیون‌ها موجب پایداری آن‌ها در برابر پدیده‌های تشکیل رسوب یا خامه‌ای شدن می‌شود، زیرا حرکت براونی و به‌تبع آن نرخ انتشار بیشتر از سرعت پدیده‌های تشکیل رسوب یا خامه‌ای شدن بر اثر نیروی وزن قطرات است.

آزمون‌های آفت‌کشی بر روی نمونه‌های نانومولسیون سنتز شده برپایه اسانس گیاهی زیره سمیت تماسی را علیه شته

- Industrial Pharmacy*, 41 (2015), 560-566.
11. Solans, C., Solé, I., Nano-emulsions: Formation by Low-energy Methods, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 17 (2012) 246-254.
 12. Ghosh, V., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., Ultrasonic Emulsification of Food-Grade Nanoemulsion Formulation and Evaluation of its Bactericidal Activity, *Ultrasonic Sonochemistry*, 20 (2013) 338-344.
 13. Sanguansri, L., Oliver, C.M., Leal-Calderon, F., Nanoemulsion Technology for Delivery of Nutraceuticals and Functional-Food Ingredients, *Bio-Nanotechnology: A Revolution in Food, Biomedical and Health Sciences*, First Edition, John Wiley & Sons, (2013) 667-696.
 14. Singha, R., Sonib, S.K., Patela, R.P., Kalrab, A., Technology for Improving Essential Oil Yield of *Ocimum Basilicum* L. (Sweet Basil) by Application of Bioinoculant Colonized Seeds under Organic Field Conditions, *Industrial Crops and Products*, 45 (2013) 335-342.
 15. Sugumar, S., Clarke, S.K., Nirmala, M.J., Tyagi, B.K., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., Nanoemulsion of Eucalyptus Oil and its Larvicidal Activity Against *Culex Quinquefasciatus*, *Bulletin of Entomological Research*, 104 (2014) 393-402.
 16. Haider, S.Z., Mohan, M., Sah, S., Seth, R., Comparative Study on Composition and Antimicrobial Activity of *Juniperus Wallichiana* Essential Oils Against Clinical Isolates, *Medicinal Plants*, 5(2) (2013) 90-95.
 17. Grinnan, R., Carter, T.E., Johnson, M.T.J., Effects of Drought, Temperature, Herbivory and Genotype on Plant-insect Interactions in Soybean (*Glycine max*), *Arthropod-Plant Interactions*, 7 (2013) 201-215.
 18. Duck, J.A., Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and Other Economic Plants, 2nd ed. USA, Florida: CRC Press; (2001).
 19. Myers, D., Surfactant Science and Technology, 3rd ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; (2006).
 20. Tadros, T., Emulsion Formation and Stability, 1st ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, (2013).
 21. Abbott, W.S., A Method of Computing the Effectiveness of Insecticide, *Journal of Economic Entomology*, 18 (2) (1925) 265-267