

## بررسی ویژگی‌های دینامیکی و فیزیکوشیمیایی نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس

منصوره سلیمانی فرد<sup>۱\*</sup>، جواد فیضی<sup>۲</sup>

۱-استادیار صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان

۲-استادیار، گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷

### چکیده

پروپولیس سرشار از ترکیبات بیواکتیو از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی است، از این رو محافظت از این ترکیبات حساس با روش‌هایی با کارایی بالا مانند ریزپوشانی ضروری است. هدف از این پژوهش، استخراج عصاره پروپولیس، تهیه نانو ذرات حاوی عصاره و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن است. در این پژوهش، عصاره پروپولیس با حلال‌های اتانول- آب (۳۰:۷۰ حجمی/حجمی) استخراج و نانو ذرات پروتئینی حاوی آن تهیه شد. ویژگی‌های دینامیکی نور، کارایی ریزپوشانی، تشخیص ساختار کریستالی و آمورف و واکنش‌های موجود بین هسته و مواد دیواره‌ای در نانو ذرات اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل نتایج از روش آنالیز واریانس، با استفاده از نرم‌افزار SPSS، و برای تحلیل نمودارهای FT-IR از نرم‌افزار IRpal 2 استفاده شد. نتایج به‌دست‌آمده از آزمون دینامیکی و کارایی ریزپوشانی نشان داد که با افزایش مقدار هسته و مواد دیواره‌ای کارایی ریزپوشانی، اندازه ذرات و درصد پراکندگی افزایش می‌یابد. در فرمولاسیون با مقادیر یکسان پروتئین، با افزایش غلظت عصاره پروپولیس، مقدار بار منفی پتانسیل زتا نیز افزایش یافت. نتایج حاصل از رنگ‌سنجی نشان داد که تیمارهای P6 و P8 به ترتیب بالاترین شاخص  $L^*$  و  $a^*$  را داشتند. نمودارهای حاصل از آزمون FT-IR نشان داد که تغییرات بسیار جزئی به صورت جابه‌جایی پیک یا تغییر متقارن در نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس نسبت به نانو ذرات شاهد صورت گرفته است. این پژوهش نشان داد در تهیه نانو ذرات، هر چه مقدار ماده هسته‌ای بیشتر باشد اندازه نانو ذرات حاصل بزرگ‌تر خواهد شد و شدت کریستالی و کارایی ریزپوشانی بیشتری نیز حاصل می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** ریزپوشانی، عصاره پروپولیس، نانو ذرات، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

### مقدمه

واکس، ۱۰ درصد مواد آروماتیک و ضروری، ۵ درصد گرده و ۵ درصد ترکیبات ارگانیک و غیر ارگانیک است (Burdock, 1998; Gardana *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2019; Šturm *et al.*, 2014). بیش از ۵۰ درصد بخش رزین را ترکیبات فنولیک تشکیل داده است که خود به‌طور اصلی متشکل از فلاوونوئیدها، مشتقات اسیدهای فنولیک و ترپن‌هاست (Gardana *et al.*, 2014; Heleno *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2007). بره موم همچنین دارای ویژگی‌های بیولوژیکی از جمله

امروزه تمایل به کاربرد مواد و افزودنی‌های طبیعی فراسودمند در تکنولوژی‌های دارویی و غذایی افزایش یافته است. از جمله این مواد می‌توان به پروپولیس یا بره‌موم اشاره کرد. پروپولیس ماده‌ای رزینی است که زنبور عسل از قسمت‌های مختلف منابع گیاهی متفاوت جمع‌آوری و با موم زنبور مخلوط می‌کند (Šturm *et al.*, 2011; Pellati *et al.*, 2019). پروپولیس انواع مختلفی دارد که گسترده‌ترین نوع آن به‌طور معمول دارای ۵۰ درصد رزین، ۳۰ درصد

ویژگی‌های ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی و غیره است که به ترکیبات مذکور نسبت داده می‌شود (Banskota *et al.*, 2001; Burdock, 1998; Huang *et al.*, 2007; Sforcin, 2014). برخی محققان گزارش کردند که مهم‌ترین ترکیبات موجود در عصاره پروپولیس عبارت‌اند از اسید کلروژنیک، کامپفرول، کافئیک اسید، لوتئین، پی-کوماریک اسید، کامپفرید، و آرتپیلین (Santana Andrade *et al.*, 2019). این فعالیت ضد میکروبی عصاره پروپولیس به ترکیبات فنولیک به همراه برخی از ترکیبات مانند آنزیم‌ها، ترپنوئیدها و اسیدهای غیر معطر نسبت داده می‌شود (Mato *et al.*, 2003). با بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی پروپولیس خام توسط دستگاه طیف‌سنجی فرورسرخ مشخص شد پروپولیس خام دارای میانگین پلی‌فنول ۲۲۸/۴۸ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم، مقدار کل فلاوونوئیدها ۵۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۱۶۸۹/۲۱ میکرو مول ترولکس بر گرم، دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل ۳۴/۳۷ درصد مهارکنندگی، شاخص L, a, b به ترتیب ۶۶/۵۷، ۲/۱۵ و ۹/۳۲؛ تتراسیکلین و بتا لاکتام (۳/۵۶ میلی‌متر مهارکنندگی، سولفامید ۲/۱۱ میلی‌متر مهارکنندگی، آمینوگلیکوزید و ماکرولید ۱/۹۸ میلی‌متر مهارکنندگی و  $\beta$ -لاکتام و ماکرولید ۲/۷۲ میلی‌متر مهارکنندگی است (Revilla *et al.*, 2017). پروپولیس کاربرد متعددی در زمینه زیست-دارو/دارویی، و مطالعاتی در زمینه پتانسیل کاربرد در مواد غذایی و بسته‌بندی مواد غذایی برای کنترل تجزیه مواد ضد میکروبی و اکسیداسیون ترکیبات پلی فنولی دارد (Guo *et al.*, 2011; Pastor *et al.*, 2011; Tosi *et al.*, 2007). با توجه به ویژگی‌های متعدد این ترکیب در کل دنیا، پروپولیس تقریباً کاربردهای نامحدودی دارد (Burdock, 1998; Sforcin, 2007). برخی پژوهشگران با تولید میکرو ذراتی از جنس پروتئین‌های نخود و عصاره پروپولیس گزارش کردند میکرو ذرات آمورف حاصل دارای

فعالیت ضد میکروبی در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به عصاره پروپولیس دارد و افزودن مقدار پروتئین نخود و عصاره بره موم تأثیری با ساختار میکرو ذرات حاصل ندارد (Jansen-Alves *et al.*, 2019). با بررسی میکرو ذرات حاوی عصاره قرمز، قهوه‌ای و سبز پروپولیس مشخص شد که این ذرات کروی با اندازه ۱-۱۸ میکرومتر دارای سطوح صاف، انحلال‌پذیری بالا و هیگروسکوپیک است و با وجود کاهش مقادیر ترکیبات فنولیک و فلاوونوئیدی نسبت به فرم آزاد آن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نشان می‌دهند (Santana Andrade *et al.*, 2019). با این همه، کاربرد پروپولیس در مواد غذایی، به دلیل انحلال‌ناپذیر بودن در آب و نیز به دلیل عطر و طعم تلخ و قوی، وجود ترکیبات رنگی، ناپایداری زیاد در شرایط محیطی با دمای بالا، حضور اکسیژن و دیگر شرایط فرآوری مواد غذایی چالش برانگیز است (Nedovic *et al.*, 2011). از این رو طراحی سیستم‌های رسانش هدفمند با رهایش کنترل‌شده در کنار حفظ این ترکیبات سودمند از طریق ریزپوشانی در ماتریکس‌های مختلف، یکی از راهکارهای مناسب به‌منظور به حداقل رساندن این معایب و حفظ و بهبود ویژگی‌های مطلوب آنهاست. در این پژوهش، طراحی و تولید نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس با دیواره پروتئینی و کربوهیدرات، ویژگی‌های دینامیکی (اندازه ذرات، پراکندگی اندازه ذرات، پتانسیل زتا)، کارایی ریزپوشانی، ساختار شیمیایی (تراکنش‌های شیمیایی هسته و مواد دیواره‌ای) و پراش پرتو ایکس (ساختار آمورف/ کریستالی) آن‌ها بررسی شد.

## مواد و روش

### مواد اولیه

مواد اولیه و شیمیایی از جمله مالتودکسترین، کازئینات سدیم، اتانول، بافر فسفات، ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل، توئین ۸۰، هیدروکسید سدیم (ساخت شرکت

شده در جدول ۱ در آب مقطر در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و هوموژنیزه (۴۰۰ دور در دقیقه، ۳۰ دقیقه، ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و فراصوت (۳۰ دقیقه، ۲۵ درجه سانتی‌گراد) شدند (درصدهای حجمی ۲، ۴ و ۶ درصد وزنی/حجمی). سپس مالتودکسترین بر اساس مقادیر مشخص شده (به صورت یکسان و ۵۰ درصد وزن پروتئین دیواره) بعد از تهیه محلول (۱۰ درصد وزنی/وزنی) و هوموژنیزه شدن، به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. پودر عصاره پروپولیس به نسبت‌های مشخص به شکل محلول تهیه شد (جدول ۱). پس از مخلوط کردن ترکیبات تحت هوموژنیزاسیون، امولسیون حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در حمام فراصوت، تیمار شدند. برای تهیه محلول نانو، امولسیون‌های حاصل با پروپ فراصوت در یک سیکل یک دقیقه‌ای تیمار شدند. به‌طور کلی، نسبت مقدار ماده هسته به پروتئین ۱:۵، ۱:۱۰، و ۱:۲۰ بود و مالتودکسترین به عنوان کمک خشک‌کن به کار گرفته شد، به گونه‌ای که در نهایت ۸ فرمول نانوذره حاوی عصاره پروپولیس و ۲ نانو ذره شاهد حاصل شد. محلول‌های به‌دست آمده با خشک‌کن تصعیدی خشک شدند (جدول ۱).

مرک، آلمان) و دیگر مواد لازم از شرکت‌های تأمین‌کننده داخلی در شهر خرم‌آباد خریداری شد.

### روش تهیه عصاره بره موم

بره موم در آسیاب گلوله‌ای آسیاب شد و ۱۰ گرم هوموژنیزه شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول به‌منظور به دست آوردن عصاره با غلظت ۰/۱ گرم بر میلی‌لیتر در یک انکوباتور مجهز به همزن در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت همزده شد. برای ۱۵ دقیقه در دمای اتاق فراصوت شد. سپس با استفاده از یک کاغذ صافی واتمن فیلتر شد. محلول فوقانی طی ۳ روز متوالی در یخچال نگهداری و در فاصله ۲۴ ساعت یک بار برای حذف واکس سانتریفیوژ شد (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه). عصاره فیلترشده نهایی با خشک‌کن تصعیدی خشک شد (Soleimanifard *et al.*, 2021).

### تعیین غلظت و نسبت مواد و روش تهیه فرمول‌های نانو ذرات

در این بخش، از روش سلیمانی فرد و همکاران (Soleimanifard *et al.*, 2020; Soleimanifard *et al.*, 2019) و آکوستا (Acosta, 2008) با اصلاحاتی فرمول‌ها تهیه شدند. ابتدا محلول‌های پروتئینی با مقادیر مشخص

جدول ۱- ترکیب فرمولاسیون نانو ذرات حاوی عصاره آنتی‌اکسیدانی بره موم

Table 1- Formulation composition of nanoparticles containing propolis antioxidant extract

مواد دیواره‌ای در نانو ذرات (%)		مواد بیواکتیو به عنوان هسته (گرم)		تیمارها
Wall materials in nanoparticles (%)		Bioactive compound as core (gr)		Treatment
مالتو دکسترین (%)	سدیم کازئینات (%)	عصاره آنتی‌اکسیدانی بره موم (گرم)	Propolis extract (gr)	
Maltodextrin (%)	Caseinate sodium (%)			
50	50	0.1		P1
50	50	0.2		P2
50	50	0.4		P3
50	50	0.8		P4
50	50	0		Control 1
25	75	0.1		P6
25	75	0.2		P7
25	75	0.4		P8
25	75	0.8		P9
25	75	0		Control 2

## آزمون پراکندگی دینامیکی نور

به منظور مطالعه اندازه ذرات نمونه‌ها، از دستگاه پارتیکل سایزر (زتا سایزر) استفاده شد. اندازه ذرات نمونه‌های تهیه شده بعد از یک شبانه روز نگهداری در دمای محیط، با دستگاه آنالیز کننده تفرق نوری لیزری تعیین گردید. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد. با استفاده از این دستگاه پراکندگی اندازه ذرات (PDI) نیز اندازه‌گیری شد.

## شاخص بس پاشیدگی و پتانسیل زتا

به منظور مطالعه پتانسیل زتای نمونه‌ها، از دستگاه اندازه‌گیری ذرات (زتا سایزر) استفاده شد. فرمول نانو ذرات در بافر فسفات رقیق شد به طوری که غلظت فاز نانوذره به یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر رسید. پتانسیل زتا و شاخص بس پاشیدگی با دستگاه آنالیز کننده اندازه ذرات در زاویه ۹۰ درجه و دمای محیط اندازه‌گیری شد. بار الکتریکی نانو ذرات نیز با این دستگاه تعیین می‌شود (Sze et al., 2003).

## تعیین کل ترکیبات فنولیک و بازدهی ریزپوشانی

برای تعیین ترکیبات فنولی کل از روش سینگلتن و همکاران (Singleton et al., 1999) با اصلاحات جزئی استفاده شد. پس از مخلوط کردن ۵۰ میلی‌گرم نانوذره با ۱۰ میلی‌لیتر از اتانول، نمونه‌ها با سرعت ۴۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. یک میلی‌لیتر از سوپرناتانت جمع‌آوری و جدا شد و پس از آن ۹ میلی‌لیتر باقیمانده به مدت ۱۵ دقیقه با فراصوت تیمار شد و در هوموژنایزر به مدت یک دقیقه در سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه همگن شد. سپس نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب همزده شد، تا حدی که نانو ذرات تخریب شده و ترکیبات مورد نظر از نانوذره رهایش یافتند. برای تعیین ترکیبات فنولیک در عصاره پروپولیس، روش فولین-سیوکالتیو به کار گرفته شد. برای این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ها (عصاره پروپولیس به نسبت ۱:۵۰ حجمی-حجمی رقیق شده، در غلظت ۰/۴ میلی‌گرم

میلی‌لیتر) به ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو ۰/۲ مولار اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (۷/۵ درصد) افزوده شد. جذب بعد از ۲ ساعت در طول موج ۷۲۵ نانومتر با اسپکتروفوتومتر خوانده شد. تعیین مقدار فنولیک عصاره پروپولیس با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید در محدوده غلظتی ۳۰ تا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم نمونه بر اساس ماده خشک بیان شد و آنالیز در سه تکرار ادامه یافت. کارایی انکپسولاسیون با استفاده از روش سلیمانی‌فرد و همکاران (Soleimanifard et al., 2019) بر طبق معادله ۱ تعیین و نتایج به عنوان درصد ترکیبات فنولی انکپسوله شده بیان شد.

$$EE (\%) = \frac{(TPC) - (TPCS)}{TPC} \times 100 \quad \text{معادله ۱}$$

در این معادله، TPC نمایانگر کل ترکیبات فنولی نانو ذرات، داخل یا بیرون، و TPCS نمایانگر کل ترکیبات فنولی در سطح یعنی خارج از نانو ذرات است.

## آزمون رنگ سنجی

به منظور بررسی اثر پروپولیس و روش انکپسولاسیون بر رنگ نانو ذرات، شاخص‌های رنگ ( $a^*$ ,  $b^*$ ,  $L^*$ ) با استفاده از رنگ سنج HunterLab ColorFlex EZ 45/0- (LAV, USA) ارزیابی شدند.

## بررسی ساختار شیمیایی

گروه‌های عاملی مواد اولیه و نانو ذرات با استفاده از طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (مدل East Network, CT 06855, USA) جهت بررسی میزان واکنش‌های بین مواد اولیه انجام شد. طیف‌های اسپکتروسکوپی از مواد خالص و مخلوط فیزیکی نانو ذرات بررسی گردیدند. قرص‌های متشکل از ۳۰۰ میلی‌گرم برمید پتاسیم و ۲ میلی‌گرم نمونه برای آزمایش طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ تهیه شد و پس از آن طیف مورد نظر به دست آمد (Li et al., 2014).

## تجزیه و تحلیل اطلاعات

کاهش اندازه ذرات و کاهش شاخص پراکندگی در حداکثر ممکن در نظر گرفته شد. تحقیقاتی چند در زمینه انکسپوله کردن پروپولیس با دیواره‌های متفاوت و تأثیر آنها بر اندازه ذرات و شاخص پراکندگی موجود است. برای مثال، نوری و همکاران (Nori *et al.*, 2011) اندازه میکرو ذرات پروتئین سویا-پکتین حاوی عصاره پروپولیس را ۹۰-۱۰ میکرومتر گزارش کردند. ماچرونی و همکاران (Mascheroni *et al.*, 2014) با تولید ذرات کیتوزان-پروپولیس نشان دادند اندازه ذرات ۷۰۰-۵۰۰ و ۱۶۵۰ میکرومتر است. سانتانا آندراد و همکاران (Santana *et al.*, 2018) اندازه ذرات میکروکپسول‌های حاوی انواع پروپولیس برزیلی را ۱۸-۱ میکرومتر گزارش کردند. کچپول و همکاران (Catchpole *et al.*, 2018) با تهیه کمپلکس‌های سیکلودکسترین- پروپولیس گزارش کردند اندازه فرمولاسیون‌ها از ۱۷۰ تا ۷۰۰ نانومتر متغیر است. سیبرت و همکاران (Seibert *et al.*, 2019) با تولید نانومولسیون‌های پروپولیس و بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی به عنوان نگهدارنده طبیعی گزارش دادند اندازه ذرات ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتر و شاخص پراکندگی ((PDI کمتر از ۰/۳ است..

پتانسیل زتا عاملی اساسی برای تعیین ویژگی پایداری سیستم‌های کلوئیدی است و ناشی از نیروهای دافعه مشابه (مثبت یا منفی) بین اجزای تشکیل دهنده ذرات در سیستم کلوئیدی است که منجر به جلوگیری از تجمع ذرات در سیستم می‌شود (Soleimanifard *et al.*, 2019). نتایج پتانسیل زتا کمپلکس‌های بهینه حاوی عصاره پروپولیس (فرمولاسیون‌های شماره ۱، ۳، ۶، ۷) بین مقادیر ۱/۱- میلی‌ولت تا ۱۸/۶- میلی‌ولت بود (شکل ۱). این مقادیر منفی نمایانگر پایداری سوسپانسیون حاوی نانو ذرات کازئینات-پروپولیس است که تمایل به تجمع در حداقل زمان نگهداری ندارند. ما دریافتیم که در فرمولاسیون با مقادیر یکسان پروتئین، با افزایش غلظت عصاره پروپولیس، مقدار بار منفی نیز افزایش یافته است.

پس از جمع آوری داده‌ها و وارد کردن آنها در نرم‌افزار آماری Design expert. و محاسبه شاخص‌های مرکزی و پراکندگی مناسب، به منظور تحلیل داده‌ها از سطح پاسخ (طرح تصادفی) و در صورت معنی‌دار بودن نتایج، برای مقایسات زوجی از آزمون‌های تعقیبی مناسب استفاده شد. تمامی آزمون‌ها، به جز آزمون (FT-IR)، در سه تکرار اجرا شدند. نتایج آزمون ساختار شیمیایی (FT-IR) تیمارها با استفاده از نرم‌افزار IRpal 2. بررسی و تحلیل شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Sigma plot 12.5 مدل ۲۰۱۶ استفاده شد.

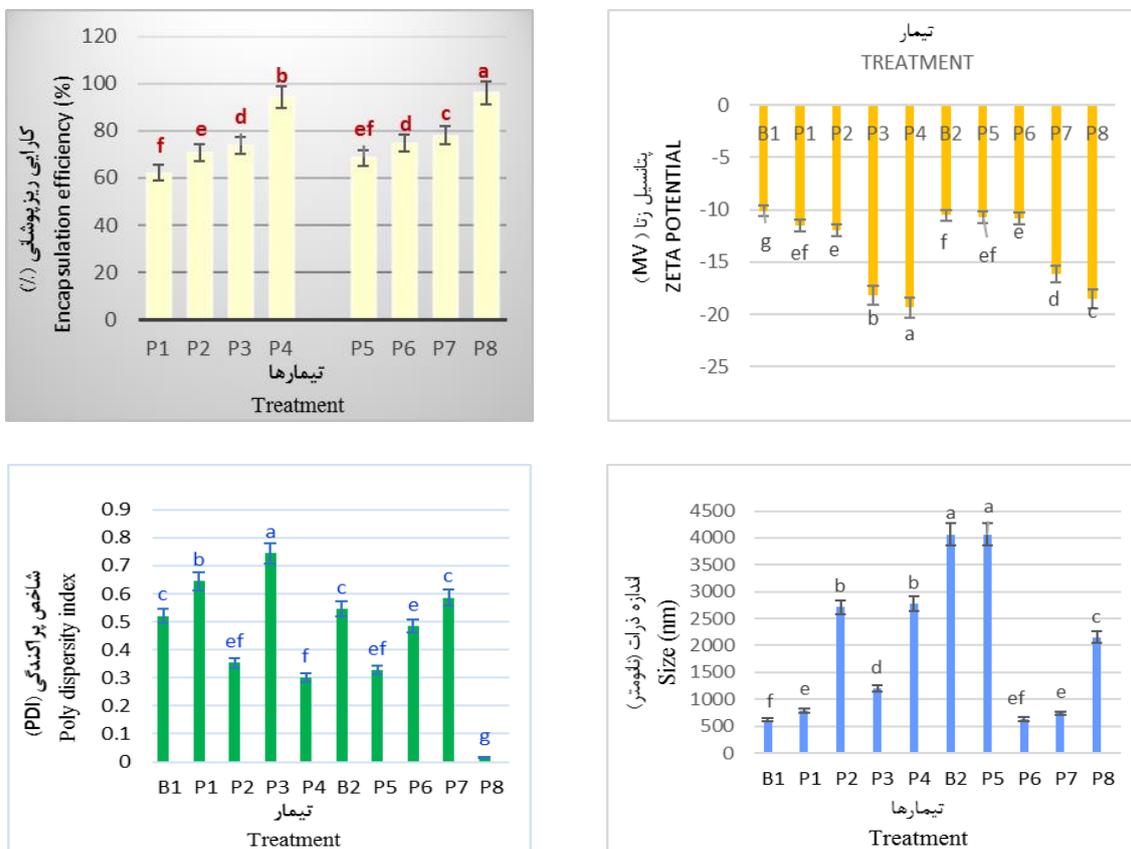
## نتایج و بحث

### آزمون دینامیکی ذرات

اندازه ذرات و توزیع آنها نقش مهمی در پایداری زیست-دسترسی، انحلال‌پذیری و رهایش ماده هسته‌ای (انکسولانت) دارد. اطلاعات اندازه ذرات و شاخص پراکندگی نانو ذرات حاوی عصاره بره موم در شکل ۱ خلاصه شده است. آنالیز نانو ذرات در شکل ۱ نشان داد که میانگین اندازه ذرات بین  $611/2 \pm 4/41$  تا  $4064 \pm 31/43$  است، ولی بیشتر ذرات ۵۰۰ و ۳۸۰۰ نانومتر بودند. تعدادی از فرمولاسیون‌های حاضر اندازه ذره‌ای بالاتر از ۱ میکرومتر داشتند که می‌تواند به دلیل تجمع ذرات یا افزایش مقادیر/تعداد مولکول‌های بزرگ‌تر کازئینات سدیم و کاهش زمان هموزنی‌زاسیون به منظور جلوگیری از واسرشت شدن (دنا‌توراسیون) پروتئین کازئینات سدیم باشد. نتایج این تحقیق نشان داد در فرمولاسیون‌ها با مقادیر یکسان پروتئین، با افزایش مقدار عصاره پروپولیس، اندازه ذرات افزایش می‌یابد. شاخص پراکندگی اندازه ذرات در فرمولاسیون‌های حاوی پروپولیس از ۰/۱۶ تا ۰/۷۴۴ متغیر بود. با توجه به محدودیت تغییرات pH، زمان هموزنی‌زاسیون و فراصوت به منظور جلوگیری از واسرشت شدن (دنا‌توراسیون) پروتئین موجود در فرمولاسیون،

منفی میکرو ذرات حاوی نانوذره بیشتر شده است. مقادیر پتانسیل زتای میکرو ذرات حاوی نانو ذرات با عصاره پروپولیس بین  $24/7 \pm 2/2$  میلی‌ولت به  $20/6 \pm 3/8$  میلی‌ولت بود. کاظمی و همکاران (Kazemi *et al.*, 2018) با تولید و آنالیز نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس-هموگلوبین، پتانسیل زتا را  $20.57$  میلی‌ولت گزارش داده‌اند.

به‌طور مثال، در فرمول با مقدار یک گرم پروتئین کازئینات سدیم، با افزایش غلظت از ۰/۱ به ۰/۴ گرم پودر عصاره پروپولیس، مقدار بار منفی از  $12/3$  میلی‌ولت به  $18/6$  میلی‌ولت کاهش یافته است. نتایج مشابهی را الباز و همکاران (Elbaz *et al.*, 2016) با بررسی میکرو ذرات حاوی نانو ذرات عصاره پروپولیس گزارش کردند به گونه‌ای که میکرو ذرات حاوی نانو ذرات بدون عصاره دارای بار مثبت بوده است و با بارگذاری عصاره پروپولیس، مقادیر بار



شکل ۱- مقادیر اندازه ذرات، شاخص پراکندگی ذرات، پتانسیل زتا و کارایی انکپسولاسیون در نانوکمپلکس‌های پروپولیس  
 Fig. 1- Particle size values, particle dispersion index, zeta potential and encapsulation efficiency in propolis nanocomplexes

توضیحات: تیمارهای P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 & P8 به ترتیب تیمار ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ حاوی پروپولیس است.  
 \*\*Treatments P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 & P8 contain propolis, respectively, treatment 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8)

### طیف سنج انتقال فوریه فروسرخ

ترکیبات فنولیک، گروه CO موجود در استرها، اترها و پلی‌ال‌ها و گروه C-C موجود در حلقه آروماتیک و حضور پیک در محدوده طیف‌های  $2855-2910 \text{ cm}^{-1}$  را به ارتعاش‌های کششی مربوط به CH موجود در گروه‌های  $\text{CH}_2$  و  $\text{CH}_3$  نسبت دادند. در مقایسه نانو ذرات حاوی پروپولیس، تشابه زیادی بین فرمولاسیون‌ها با کدهای ۱ و ۳ مشاهده شد به طوری که تفاوت آنها مربوط به حضور دو پیک در محدوده‌های  $2847/67 \text{ cm}^{-1}$  و  $530/76 \text{ cm}^{-1}$  در فرمولاسیون با کد ۳ بود. طول موج  $2847/67 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی پیوند ساده کربن-هیدروژن در گروه متیلن و ارتعاش‌های مربوط به گروه هیدروکسیل O-H-دیمری شده به شکل گروه‌های کربوکسیلی - COO-H و  $530/76 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی C-Br در ساختار آلکیل هالید و یا دی سولفیدی S-S است.

با توجه به طیف‌های نانو ذرات شاهد کد ۱، نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس (با کد ۱ و ۳) و عصاره پروپولیس، تشابه زیادی بین نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس (۱ و ۳) با عصاره پروپولیس مشاهده شد، به ویژه پیک‌های  $12850/31 \text{ cm}^{-1}$ ،  $1514/10 \text{ cm}^{-1}$  و  $1449/10 \text{ cm}^{-1}$  در نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس با کد ۳ و عصاره پروپولیس. پیک‌های مشاهده شده در  $2850/31 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی پیوند ساده کربن-هیدروژن در گروه متیلن و ارتعاش‌های مربوط به گروه هیدروکسیل O-H-دیمری شده به شکل گروه‌های کربوکسیلی COO-H  $\text{cm}^{-1}$ ،  $1514/10$  مربوط به اکسید نیتریک/نیتروزو (N=O)، ارتعاش‌های کششی نامتقارن گروه نیترو (N-O) موجود در ساختار است و می‌تواند مربوط به گروه آمین موجود در ساختار آمیدها (RCONHR) باشد. پیک موجود در  $1449/10 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به سولفوکسید (S=O) یا استر سولفات و ارتعاش‌های کششی ساده کربن-کربن (C-C) در حلقه‌های آروماتیک است. نتایج مشابهی در تحقیقات (Keskin et al., 2019) گزارش شده است.

طیف FT-IR نانو ذرات حاوی عصاره بره موم و شاهد در شکل ۲ نشان داده شده است. در طیف عصاره بره موم دو پیک تیز و مشهود در عدد موجی  $2850/31 \text{ cm}^{-1}$  و  $2918/92 \text{ cm}^{-1}$  وجود دارد که پیک‌های مشاهده شده در  $2850/31 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی پیوند ساده کربن-هیدروژن (C-H) در گروه متیلن ( $\text{CH}_2$ ) موجود در ساختارند و این پیک می‌تواند ناشی از ارتعاش‌های مربوط به گروه هیدروکسیل O-H-دیمری شده به شکل گروه‌های کربوکسیلی COO-H- موجود در ساختار نسبت داده شود. نتایج به دست آمده با نتایج تحقیقات وو و همکاران (Wu, et al 2008) و راسو و همکاران (Rassu et al., 2015) همخوانی دارد. حضور استرها (S-OR)، گروه C-H موجود در ترکیبات آروماتیک (در موقعیت مونو، اورتو و متا) منجر به حضور پیک در  $700-800 \text{ cm}^{-1}$  و گاهی  $700-900 \text{ cm}^{-1}$  می‌شود (۷۶۶/۵۷).

کسکین و همکاران (Keskin et al., 2019) و د اولیویرا و همکاران (De Oliveira Mori, et al. 2014) طیف‌های جذبی در محدوده  $1700-1000 \text{ cm}^{-1}$  را در نتیجه ارتعاش‌های کششی C=C موجود در حلقه آروماتیک گزارش کردند. الباز و همکاران (Elbaz et al., 2016) با بررسی طیف عصاره بره موم پیک موجود در  $3430$  را به ارتعاش‌های کششی گروه هیدروکسیل نسبت دادند. زانکنلا و همکاران (Zancanela et al., 2017) گزارش کردند که پیک‌هایی در  $1257 \text{ cm}^{-1}$  عدد موجی،  $1457$  و  $1640 \text{ cm}^{-1}$  در طیف عصاره بره موم یافت می‌شود که مشخصاً ترکیبات فلاونوئیدی و حلقه‌های آروماتیک از جمله ترکیبات مرتبط با طیف‌های جذبی مذکور هستند.

سیرپاتراوان و ویچایاکیتی (Siripatravan, and Vitchayakitti, 2016) محدوده  $1800-1000$  را به حضور

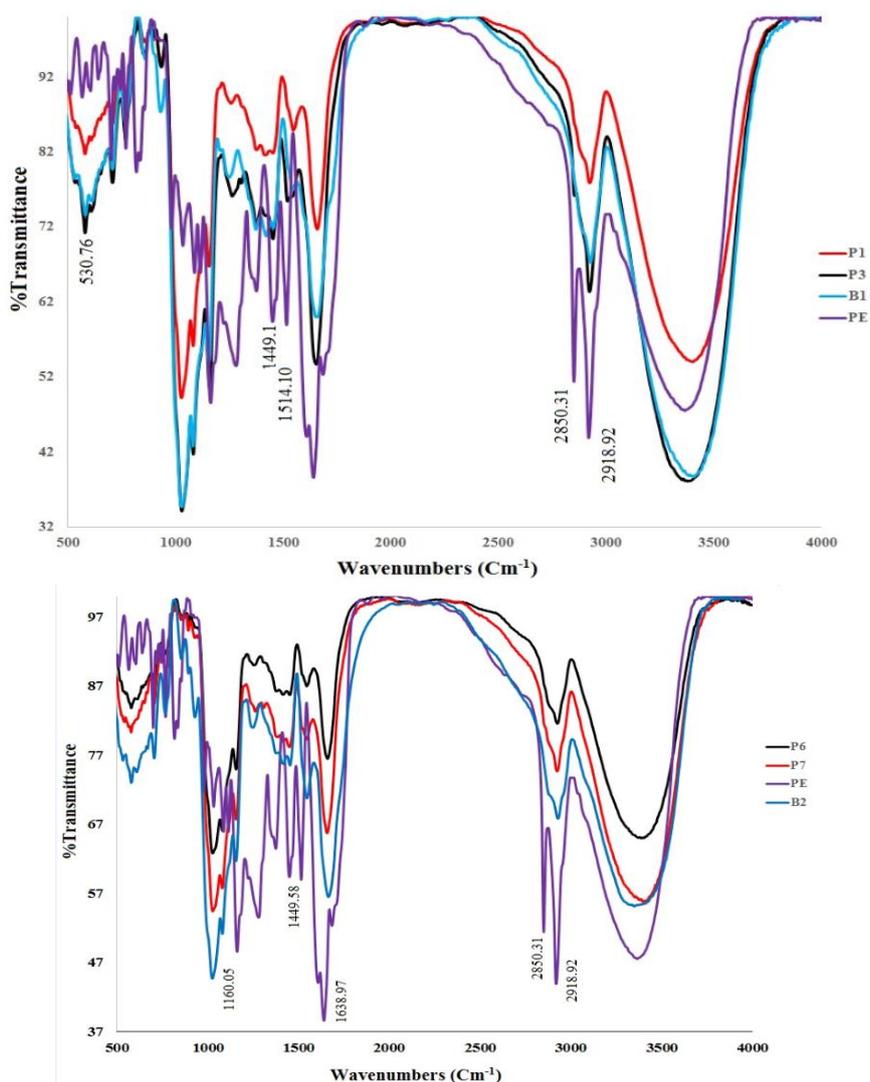
مختص به ارتعاش‌های کششی CH در هیدروکربن‌های اشباع/ آلکیل‌های زنجیره بلند یا مربوط به گروه هیدروکسیل OH دیمری شده به شکل گروه‌های کربوکسیلی RCOO-H، در محدوده  $1370-1380 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه‌های CH<sub>3</sub> و CH<sub>2</sub> در ساختار هیدروکربن‌های اشباع، در محدوده  $1300-1200 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به کشش ارتعاشی C-O در ساختار اترها Ar-O- (R)، استرها و کربوکسیلیک اسیدها، گروه آمین اکسید (NO) در ترکیبات آروماتیک، P=O در فسفونات‌ها و فسفورامیدها یا SI-CH<sub>3</sub> در ترکیبات مختلف، در محدوده  $1150-1070 \text{ cm}^{-1}$  طیفی مربوط به ارتعاش‌های کششی C-O در اترها (R-O-R)، در محدوده  $900-1100 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به گروه P-OR در استرها و کشش C-O در استرها و کربوکسیلیک اسیدها و ترکیبات موجود در محدوده‌های طیفی مشابه است (Kyriakoudi & Tsimidou, 2018).

با توجه به پیک‌های مشخص شده در طیف عصاره پروپولیس، نانو ذرات شاهد و نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس، مشخص شد در بعضی پیک‌های مشخص شده، تغییرات بسیار جزئی به صورت جابه‌جایی پیک یا تغییر متقارن در نانوحامل‌های حاوی عصاره بره موم صورت گرفته است. با این همه، در محدوده طیفی مشخص شده در عصاره پروپولیس قرار داشتند. با توجه به نتایج طیفی مشخص شده و حضور برخی پیک‌های عصاره پروپولیس در نانوحامل‌های حاوی عصاره پروپولیس مشخص می‌شود عصاره پروپولیس در نانوحامل‌ها انکپسوله یا ریزپوشانی شده است و احتمال می‌رود تراکنش شیمیایی چشمگیری بین عصاره پروپولیس و دیواره صورت نگرفته است که این خود می‌تواند ویژگی مثبتی برای رهایش عصاره پروپولیس در مواد غذایی یا دارویی به شمار رود.

با توجه به نتایج نشان داده شده در شکل ۱ در مقایسه نانوحامل‌های حاوی پروپولیس، تشابه زیادی بین فرمولاسیون‌ها با کد ۶ و ۷ مشاهده شد. در مقایسه نانو ذرات حاوی پروپولیس با کد ۶ و ۷، عصاره پروپولیس و نانو ذرات بدون عصاره مشخص شد تشابه زیادی بین نانو ذرات حاوی عصاره (به ویژه کد ۷) با عصاره پروپولیس وجود دارد به گونه‌ای که دو پیک  $1449/10/58 \text{ cm}^{-1}$  و  $1160/05/68 \text{ cm}^{-1}$  به‌طور یکسان و دقیق در طیف عصاره پروپولیس و نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس با کد ۷ مشاهده شد. محدوده طیفی  $1400-1500 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی کربن-کربن موجود در حلقه آروماتیک یا استر سولفات (S=O) مربوط به ترکیبات مختلف و محدوده  $1350-1100 \text{ cm}^{-1}$  احتمالاً مسئول کشش ارتعاشی C-O در استرها (RCOOR) و کربوکسیلیک اسیدها (RCOO-H)، ارتعاش‌های کششی C-O در فنول‌ها، کشش C-N در آمین‌ها (RNH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>NH)، در فسفات‌ها و اکسید فسفین، P-H در فسفین‌ها، ارتعاش‌های کششی C-F و C-H در ساختار آلکیل‌ها، S=O در سولفون‌ها است.

جانسن آلوس و همکاران (Jansen-Alves *et al.*, 2019) با بررسی میکرو ذرات پروتئین نخود-بره موم گزارش کردند محدوده طیفی  $1400-1000 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاشی C-O-C مربوط می‌شود. راسو و همکاران (Rassu *et al.*, 2015) حضور پیک در محدوده  $1600-1100 \text{ cm}^{-1}$  را به حضور فلاوونوئیدها و لیپیدها (دیواره نانو ذرات) نسبت دادند.

کایریاکودی و تسیمیدو (Kyriakoudi and Tsimidou, 2018) گزارش کردند بعضی جذب‌های مشخص در  $1153 \text{ cm}^{-1}$  و  $1080 \text{ cm}^{-1}$  به ارتعاش‌های کششی پیک C-O نسبت داده می‌شود. این پیک‌ها در محدوده  $3000-2990 \text{ cm}^{-1}$



شکل ۲- طیف‌های FT-IR نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس و نانو ذرات شاهد

Fig. 2- FT-IR spectra of nanoparticles containing propolis extract and control nanoparticles

با افزایش مقادیر عصاره پروپولیس شاخص روشنایی ( $L^*$ ) کاهش یافت. با افزایش نسبت کازئینات سدیم در فرمولاسیون دیواره نانو ذرات (تیمارهای ۵، ۶، ۷، ۸) نسبت به فرمولاسیون‌ها با مقادیر یکسان کازئینات سدیم و مالتودکسترین (تیمارهای ۱، ۲، ۳، ۴)، مقدار شاخص  $L^*$  افزایش یافت؛ احتمال می‌رود با افزایش کازئینات سدیم یا به عبارتی افزایش نسبت دیواره (کازئینات سدیم) به هسته (عصاره پروپولیس)، درصد

### رنگ سنجی و شاخص‌های رنگی

رنگ یکی از شاخص‌های مهم برای توصیف کیفی و ظاهری مواد غذایی است. شکل ۳ مقادیر شاخص‌های رنگی نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس یا بدون آن، با غلظت‌های متفاوت دیواره و عصاره را نشان می‌دهد. به‌طور کلی در مقادیر ثابت کازئینات سدیم و مالتودکسترین (به عنوان مواد تشکیل دهنده دیواره)،

افزایش می‌یابد. در مقایسه تیمارها با هم مشخص شد با افزایش مقدار پروتئین، مقدار شاخص  $b^*$  نیز افزایش می‌یابد (افزایش شدت رنگ زرد) به طوری که تیمار ۸ بالاترین مقدار زردی یا شاخص  $b^*$  را داشت. کومار و بازاریا (Kumar & Bazaria, 2018) (۲۰۱۵) و دازا و همکاران (Daniel Daza *et al.*, 2017) به ترتیب با بررسی تأثیر پروتئین آب پنیر و صمغ گوار بر رنگ پودر کنسانتره عصاره چغندر و آبمیوه کاگایتا نتایج مشابهی را گزارش داده‌اند.

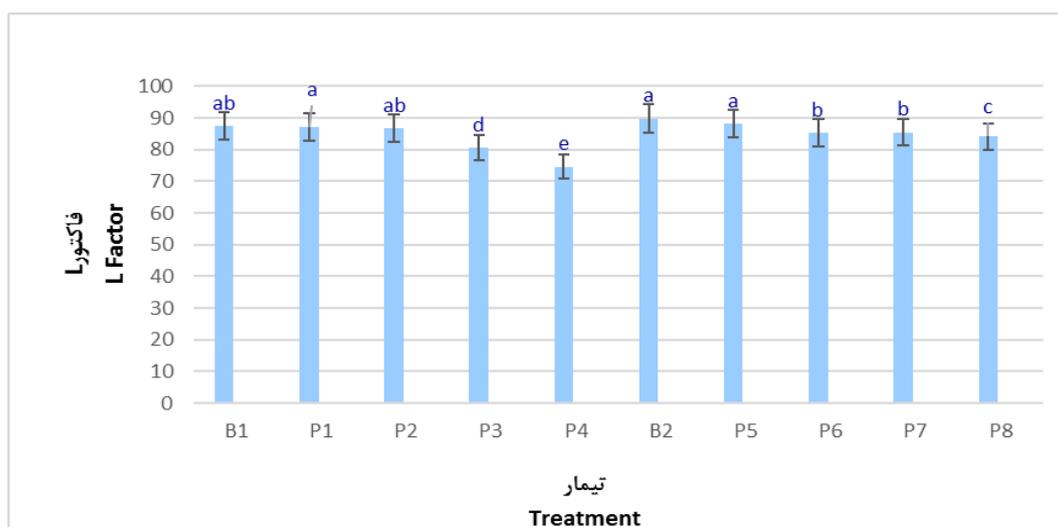
### نتیجه‌گیری

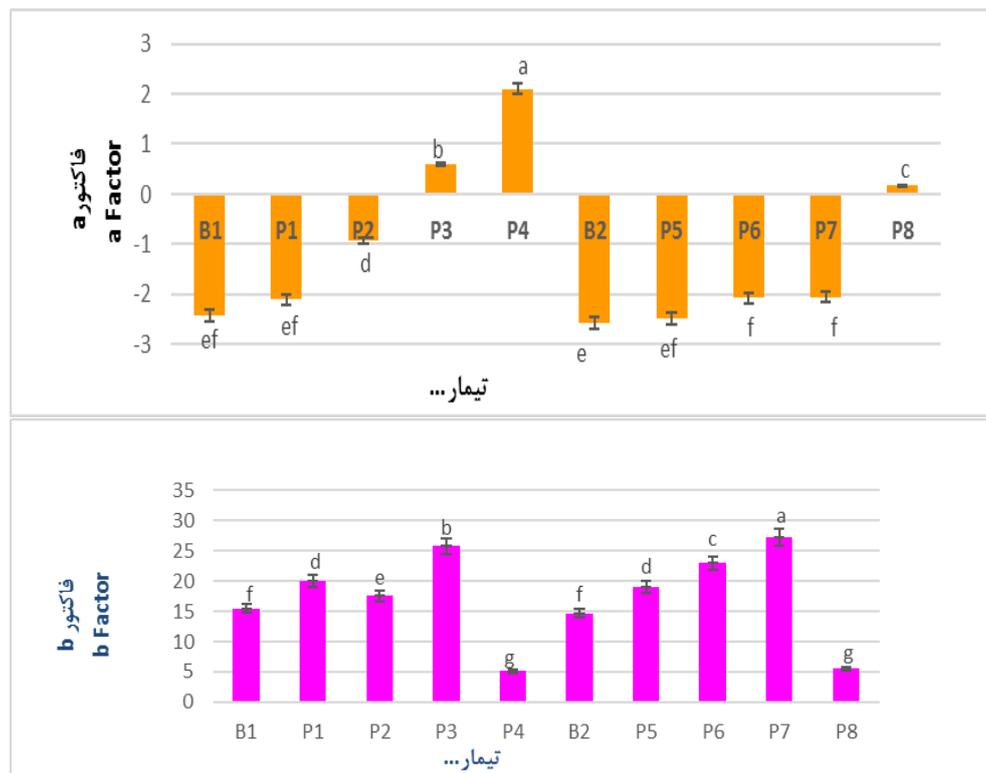
در این پژوهش، طراحی و تولید نانو ذرات حاوی عصاره پروپولیس، و ویژگی‌های پراکندگی دینامیکی نور ذرات، کارایی ریزپوشانی، ویژگی‌های شیمیایی و رنگ‌سنجی نانو ذرات بررسی شد. نتایج دینامیکی و کارایی ریزپوشانی نشان داد نانو ذرات ریزتر با شاخص پراکندگی کمتر و اندازه ذرات کوچک‌تر به‌طور نسبی بالاترین کارایی ریزپوشانی را دارند. نتایج اسپکتروسکوپی فروسرخ و رنگ‌سنجی نیز نشان داد که عصاره پروپولیس به خوبی در داخل نانو ذرات قرار گرفته است.

پوشش و حفاظت بیشتری از عصاره پروپولیس در این فرمولاسیون‌ها صورت می‌گیرد، نتایج حاصل از درصد کارایی انکپسولاسیون تأییدی است بر نتایج رنگ‌سنجی به طوری که درصد کارایی انکپسولاسیون در تیمارها با نسبت کازئینات سدیم بیشتر بالاتر بود. در مقایسه کلیه تیمارها با هم (به‌جز نمونه‌های شاهد)، تیمار ۴ و تیمار ۶ به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار  $L^*$  هستند.

در مقایسه نمونه‌های شاهد با تیمارها مشخص شد با افزودن عصاره پروپولیس و افزایش مقدار پروتئین، مقدار شاخص  $a^*$  کاهش می‌یابد، یا به عبارتی رنگ تیمارها به سبز گرایش پیدا می‌کند. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش نسبت کازئینات سدیم به عصاره پروپولیس در تیمارهای ۵، ۶، ۷، ۸ و پوشش‌دهی و محبوس کردن بهتر و بیشتر عصاره پروپولیس نسبت به تیمارهای ۱، ۲، ۳، ۴؛ مقدار  $a^*$  به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد. این نتایج با نتایج روشنایی و کارایی ریزپوشانی همخوانی دارد.

در مقایسه نمونه‌های شاهد و تیمارها مشخص شد مقدار شاخص  $b^*$  با افزایش غلظت عصاره پروپولیس





شکل ۳- تأثیر پروپولیس بر ویژگی‌های رنگی نانو ذرات (شاخص L, a, b)  
 Fig. 3- Effect of propolis on the color characteristics of nanoparticles (factor L, a, b)

### تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌کنند که در ارتباط با انتشار مقاله ارائه شده به‌طور کامل از اخلاق نشر، ازجمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد و نویسندگان در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده‌اند.

### منابع مالی

هزینه انجام آزمون‌های این تحقیق از کمک هزینه پژوهشی نویسندگان تأمین شده است.

### منابع

- Acosta, E. (2008). *Testing the effectiveness of nutrient delivery systems*. Woodhead Publishing Ltd Banskota, A. H., Tezuka, Y., & Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res*, 15(7): 561-571.
- Bazaria, B., and Kumar, P. (2015). Effect of whey protein concentrate as drying aid and drying parameters on physicochemical and functional properties of spray dried beetroot juice concentrate. *Food Bioscience*, 14: 21-27.
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4): 347-363.
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., and Suddes, A. (2018). Anti-gastrointestinal cancer activity of cyclodextrin-encapsulated propolis. *Journal of Functional Foods*, 41: 1-8.

- Daniel Daza, L., Fujita, A., Granato, D., Silvia Fávoro-Trindade, C., and Inés Genovese, M. (2017). Functional properties of encapsulated Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extract. *Food Bioscience*, 18: 15-21.
- De Oliveira Mori, C. L., Dos Passos, N. A., Oliveira, J. E., Mattoso, L. H. C., Mori, F. A., Carvalho, A. G., De Souza Fonseca, A., and Tonoli, G. H. D. (2014). Electrospinning of zein/tannin bio-nanofibers. *Industrial Crops and Products*. 52: 298–304.
- Elbaz, N. M., Khalil, I. A., Abd-Rabou, A. A., and El-Sherbiny, I. M. (2016). Chitosan-based nano-in-microparticle carriers for enhanced oral delivery and anticancer activity of propolis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92: 254-269.
- Gardana, C., Scaglianti, M., Pietta, P., and Simonetti, P. (2007). Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(3): 390-399.
- Guo, X., Chen, B., Luo, L., Zhang, X., Dai, X., and Gong, S. (2011). Chemical compositions and antioxidant activities of water extracts of Chinese propolis. *J Agric Food Chem*, 59(23): 12610-12616.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., and Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173: 501-513.
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., and Hu, F. L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19(12): 19610-19632.
- Jansen-Alves, C., Maia, D. S. V., Krumreich, F. D., Crizel-Cardoso, M. M., Fioravante, J. B., da Silva, W. P., and Zambiasi, R. C. (2019). Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. *Food Hydrocolloids*, 87: 703-711.
- Kazemi, F., Divsalar, A., and Saboury, A. A. (2018). Structural analysis of the interaction between free, glycosylated and fructated hemoglobin with propolis nanoparticles: A spectroscopic study. *Int J Biol Macromol*, 109: 1329-1337.
- Keskin, M., Keskin, Ş., and Kolaylı, S. (2019). Preparation of alcohol free propolis-alginate microcapsules, characterization and release property. *LWT*, 108: 89-96.
- Kyriakoudi, A., and Tsimidou, M. Z. (2018). Properties of encapsulated saffron extracts in maltodextrin using the Büchi B-90 nano spray-dryer. *Food Chemistry*, 266: 458-465.
- Li, W., Peng, H., Ning, F., Yao, L., Luo, M., Zhao, Q., and Xiong, H. (2014). Amphiphilic chitosan derivative-based core–shell micelles: Synthesis, characterisation and properties for sustained release of Vitamin D3. *Food Chemistry*, 152: 307-315.
- Mascheroni, E., Figoli, A., Musatti, A., Limbo, S., Drioli, E., Suevo, R., and Rollini, M. (2014). An alternative encapsulation approach for production of active chitosan–propolis beads. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(5): 1401-1407.
- Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J., and Sancho, M. T. (2003). Significance of nonaromatic organic acids in honey. *J Food Prot*, 66(12): 2371-2376.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., and Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1: 1806-1815.
- Nori, M. P., Favaro-Trindade, C. S., Matias de Alencar, S., Thomazini, M., de Camargo Balieiro, J. C., and Contreras Castillo, C. J. (2011). Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2): 429-435.
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Marcilla, A., Chiralt, A., Cháfer, M., and González-Martínez, C. (2011). Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1): 64-70.
- Pellati, F., Orlandini, G., Pinetti, D., and Benvenuti, S. (2011). HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(5): 934-948.

- Rassu, G., Cossu, M., Langasco, R., Carta, A., Cavalli, R., Giunchedi, P., and Gavini, E. (2015). Propolis as lipid bioactive nano-carrier for topical nasal drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 136: 908-917.
- Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M., González-Martín, I., Escuredo, O., and Seijo, C. (2017). The potential of near infrared spectroscopy for determining the phenolic, antioxidant, color and bactericide characteristics of raw propolis. *Microchemical Journal*, 134: 211-217.
- Santana Andrade, Â. L., Lima, A. M., Santos, V. R., da Costa e Silva, R. M. F., Barboza, A. P. M., Neves, B. R. A., and Domingues, R. Z. (2019). Glass-ionomer-propolis composites for caries inhibition: flavonoids release, physical-chemical, antibacterial and mechanical properties. *Biomedical Physics & Engineering Express*, 5(2): 027006.
- Seibert, J. B., Bautista-Silva, J. P., Amparo, T. R., Petit, A., Pervier, P., dos Santos Almeida, J. C., and dos Santos, O. D. H. (2019). Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food Chemistry*, 287: 61-67.
- Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1): 1-14.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In Methods in Enzymology* (Vol. 299: pp. 152-178). Academic Press.
- Siripatrawan, U., and Vitchayakitti, V. (2016). Improving functional properties of chitosan films to be used as active food packaging by incorporation with propolis. *Food Hydrocolloids*, 61: 116-124.
- Soleimanifard, M., Feizy, J., and Maestrelli, F. (2021). Nanoencapsulation of propolis extract by sodium caseinate-maltodextrin complexes. *Food and Bioproducts Processing*, 128: 177-185.
- Soleimanifard, M., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., Heidari, R., and Sepahvand, A. (2020). The formulation optimization and properties of novel oleuropein-loaded nanocarriers. *J Food Sci Technol*, 57(1): 327-337.
- Soleimanifard, M., Sadeghi Mahoonak, A., Sepahvand, A., Heydari, R., and Farhadi, S. (2019). Spanish olive leaf extract-loaded nanostructured lipid carriers: Production and physicochemical characterization by Zetasizer, FT-IR, DTA/TGA, FE-SEM and XRD. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(7): e13994.
- Šturm, L., Osojnik Črnivec, I. G., Istenič, K., Ota, A., Megušar, P., Slukan, A., and Poklar Ulrih, N. (2019). Encapsulation of non-dewaxed propolis by freeze-drying and spray-drying using gum Arabic, maltodextrin and inulin as coating materials. *Food and Bioproducts Processing*, 116: 196-211.
- Sze, S., Erickson, D., Ren, L., and Li, D. (2003). Zeta-potential measurement using the Smoluchowski equation and the slope of the current-time relationship in electroosmotic flow. *Journal of Colloid and Interface Science*, 261: 402-410.
- Tosi, E. A., Ré, E., Ortega, M. E., and Cazzoli, A. F. (2007). Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chemistry*, 104(3): 1025-1029.
- Wu, Y. H., Xu, X. W., Huo, Y. Y., Zhou, P., Zhu, X. F., Zhang, H. B., and Wu, M. (2008). *Halomonas caseinilytica* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a saline lake on the Qinghai-Tibet Plateau, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(5): 1259-1262.
- Zancanela, D. C., Herculano, R. D., Funari, C. S., Marcos, C. M., Almeida, A. M. F., and Guastaldi, A. C. (2017). Physical, chemical and antimicrobial implications of the association of propolis with a natural rubber latex membrane. *Materials Letters*, 209: 39-42.
- Zhang, J., Shen, X., Wang, K., Cao, X., Zhang, C., Zheng, H., and Hu, F. (2016). Antioxidant activities and molecular mechanisms of the ethanol extracts of *Baccharis propolis* and *Eucalyptus propolis* in RAW64.7 cells. *Pharmaceutical Biology*, 54(10): 2220-2235.

## Investigation of Dynamic and Physicochemical Properties of Loaded- Propolis Extract Nanoparticles

Mansooreh Soleimanifard\*, Javad Feizy

\* **Corresponding Author:** PhD graduate, Department of Food Chemistry, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

**Email:** mansooresoleimani14@gmail.com

**Received:** 9 March 2023 **Accepted:** 29 October 2023

**http://doi:** 10.22092/FOODER.2024.361745.1362

### Abstract

Propolis is rich in bioactive compounds, including antioxidant and antimicrobial compounds, therefore it is necessary to protect these sensitive compounds by high-performance methods such as encapsulation. The purpose of this research was to produce nanoparticles containing the propolis extract and to investigate its physicochemical characteristics. In this research, propolis was extracted with ethanol-water (70:30) solvents and protein nanoparticles containing it were prepared. Then, the dynamic light scattering characteristics, the encapsulation efficiency, the detection of crystalline and amorphous structure, and the interactions between the core and wall materials in nanoparticles were measured. To analyse the results, analysis of variance method was used, using SPSS software. The results of the dynamic test and encapsulation efficiency showed that with the increase in the amount of core and wall materials, the encapsulation efficiency, particle size and PDI increase. In the formulation with the same amounts of protein, with the increase in the concentration of propolis extract, the amount of negative charge of zeta potential also increased. The results of the XRD device showed that the treatments, 6 and 8, had the highest values of L and a, respectively. The graphs obtained from the FT-IR test showed that there were very minor changes in the form of peak displacement or symmetrical changes in the nanoparticles containing propolis extract compared to the control nanoparticles. This research showed that in the preparation of nanoparticles, the larger the amount of nuclear material, the larger the size of the resulting nanoparticles, the crystal intensity and the encapsulation efficiency.

**Keywords:** Encapsulation, Propolis extract, Nanoparticles, Physicochemical properties