

## تولید نانولیپوزوم اسانس بیدمشک (*Salix aegyptiaca* L) به روش Ethanol Injection

### وارزیابی خصوصیات فیزیکی آن

فاطمه امینی<sup>۱</sup>، حمدالله مشتاقی<sup>۲\*</sup>، مریم عباس والی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

<sup>۲\*</sup> استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

<sup>۳</sup> دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی و کنترل کیفی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۱۸

### چکیده

*Salix aegyptiaca* گیاهی گل‌دار است که با نام بیدمشک شناخته می‌شود. این گیاه از دیرباز در برای بهبود کم خونی و سرگیجه، همچنین یک تقویت کننده قلب و عروق مورد استفاده قرار می‌گیرد و در صنعت غذا به عنوان یک افزودنی معطر در تهیه آب نبات‌های محلی استفاده می‌شود. کپسولاسیون مواد در نانولیپوزوم‌ها می‌تواند به عنوان یک سیستم محافظتی از ترکیبات طبیعی در طی فرآوری و نگهداری آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه علاوه بر تهیه نانولیپوزوم‌های اسانس بیدمشک به روش تزریق اتانول، بررسی خصوصیات فیزیکی نانولیپوزوم اسانس بیدمشک نیز انجام گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده که شامل اندازه ذرات در محدوده ۸۱ نانومتر، پتانسیل زتا در محدوده ۴۷- میلی‌ولت و بازدهی محصورسازی ۹۹/۲ درصد بود می‌توان این چنین بیان کرد که هر چه اندازه ذرات نانو درون‌پوشانی کوچکتر باشد، احتمال فراهمی زیستی آن‌ها بیشتر است. با توجه به مطالعات انجام شده و نتیجه‌ی پژوهش حاضر می‌توان بیان کرد که، هر چه بار سطحی نانولیپوزوم‌ها از صفر دورتر باشد، نیروی دافعه بیشتر بوده و پایداری نانوذرات بالاتر است، در نتیجه تجمع و آگلوتینه شدن ذرات کاهش پیدا می‌کند. در پتانسیل زتای منفی، مواد مؤثره، بهتر درون ساختمان کپسولاسیون حفظ می‌شود در نتیجه استفاده از این روش در طی فرآیندهای مختلف پیشنهاد می‌گردد.

**واژه های کلیدی:** نانولیپوزوم، اسانس بیدمشک، *Salix aegyptiaca* L، تزریق اتانول.

### مقدمه

تأثیرات منفی بر پایداری فیزیکی و شیمیایی غذا و از سویی از بین رفتن فعالیت زیستی<sup>۱</sup> ترکیبات موجود در اسانس می‌باشد (Sawale et al., 2017). افزایش تقاضا برای ترکیبات آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی و یا ترکیبات پری‌بیوتیکی طبیعی، همراه با آگاهی مصرف کنندگان از مضرات ترکیبات شیمیایی، باعث شکل‌گیری گرایش جدیدی به نام مصرف‌گرایی سبز در صنایع غذایی شده است که مبنای توسعه رویکردهای جایگزین برای نگهداری مواد غذایی است (Imran et al., 2012).

*Salix aegyptiaca* L گیاهی گل‌دار است که با نام

بیدمشک آشنا می‌شود. بیدمشک یک درختچه‌ی

امروزه، ترکیبات طبیعی به دلیل داشتن خواص مفید و نداشتن عوارض جانبی مواد شیمیایی مشابه، مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته و کاربرد آن‌ها در صنایع غذایی به عنوان مواد ضد میکروب و نگهدارنده روبه افزایش است. اما با این وجود چالش‌هایی در زمینه استفاده مستقیم از اسانس‌های دارای ترکیبات شیمیایی فعال مانند ترکیبات فنولیک در سیستم‌های غذایی پیچیده وجود دارد که شامل

<sup>2</sup> Musk willow

<sup>1</sup> biological activity

برگریز از خانواده *سالیانسه*<sup>۱</sup> واز راسته *مالفیجیالس*<sup>۲</sup> است. گونه های بیدمشک احتمالا از خاورمیانه خصوصا مصر، ترکیه، ایران، عراق، ارمنستان، ترکمنستان و افغانستان سرچشمه می گیرند (Karimi et al., 2011; Asgarpanah, 2012). اسانس و عرق گل آذین نر گیاه در طب سنتی ایران به عنوان تقویت کننده قلب، درمان کم خونی و سرگیجه و همچنین افزودنی معطر در نوشیدنی ها استفاده می شود (Akin et al., 2007)، (Sonboli et al., 2010)، (Sagari et al., 2012)، (Asgarpanah, 2012)، (Sagari et al., 2017) از جوشانده برگ یا پوست آن نیز برای دردهای روماتیسمی و به عنوان ماده ضد عفونی کننده و داروی ضد کرم (کرم روده) استفاده می شود. علاوه بر این، از بیدمشک به عنوان ملین، آرامبخش، تب بر، ضد فشارخون، خواب آور، مسکن و محافظ معده و بادشکن و تقویت قوای جنسی استفاده می گردد. خواص ضد التهابی و ضد درد عصاره های خانواده سالیکس ممکن است به مواد شیمیایی آن از جمله سالیسین<sup>۳</sup>، میریستین<sup>۴</sup>، کامفرول<sup>۵</sup>، کوئرستین<sup>۶</sup>، روتین<sup>۷</sup>، لوتئولین<sup>۸</sup> و کاتچین<sup>۹</sup> مربوط باشد (Zandi et al., 2023)، (Asgarpanah, 2012)، (Zandi et al., 2022)، (Sagari & Farahmandfar, 2011)، (Karimi et al., 2011). چندین ترکیب شیمیایی مانند فلاونوئیدها و مواد فرار از قسمت های مختلف گیاه بیدمشک شناسایی شده است. گل های نر بیدمشک غنی از اجزای فرار مانند *p*-متوکسی بنزن، اوژنول، کارون و ژرانیول هستند (Enayat, 2009 & Banerjee, 2012)، (Asgarpanah, 2012)، (Karimi et al., 2011).

درون پوشانی فرآیندی است که در آن ماده زیست فعال (جامد، مایع یا گاز) در داخل ماده دیگر (ماده دیواری) محصور می شود تا از آن در برابر شرایط نامساعد محیطی محافظت شود؛ در نتیجه ماندگاری و انتشار کنترل شده ماده زیست فعال در ریزپوشش افزایش می یابد (Hernandez et al., 2020)، (Zandi et al., 2017)، (Bastos et al., 2020). این روش جدید (درون پوشانی) از طریق بهبود پایداری اکسیداتیو عناصر بر چنین چالش هایی غلبه می کند. بنابراین ثبات غذا را در طول پردازش و ذخیره سازی حفظ می نماید (Mozafari et al., 2007)، (Noori et al., 2017). در واقع کپسوله شدن از مواد فعال زیستی در مقابل هضم در دستگاه گوارش محافظت کرده میزان جذب گوارشی را افزایش داده که در نهایت باعث افزایش فراهمی زیستی و فعالیت زیستی آنها می شود (Takahashi et al., 2009)، (Wu et al., 2015). این روش شامل دستکاری اتم ها و مولکول ها بوده که منجر به ایجاد ساختارهایی در اندازه نانو شده (اغلب ۱۰۰

<sup>1</sup> Salicaceae

<sup>2</sup> Malpighiales

<sup>3</sup> Salicin

<sup>4</sup> Myricetin

<sup>5</sup> Kaempferol

<sup>6</sup> Quercetin

<sup>7</sup> Rutin

<sup>8</sup> Luteolin

<sup>9</sup> Catechin

که دارای یک یا چند غشای لیپیدی دولایه هستند و در مرکز آن‌ها هسته مایعی قرار دارد و می‌تواند مواد فعال را در فضای درونی خود حبس کند (Gortzi et al., 2007). از ویژگی‌های نانولیپوزوم‌ها می‌توان به سازگاری زیستی سازه‌های ریزکیسه‌های مختلف و شارژ سطحی اشاره کرد (Donsi et al., 2011)، (Zhang et al., 2016). کپسوله نمودن در مقیاس نانو در ساختار وزیکول لیپید، مقاومت بیشتری در مقابله با عدم پایداری ایجاد نموده و همچنین می‌تواند اثر بخشی و پایداری مواد کپسوله را افزایش دهد (Lu et al., 2014). نتایج مطالعاتی که در زمینه ی تولید لیپوزوم و استفاده از آن در صنعت غذا انجام گرفته است نشان داد که کپسولاسیون توسط لیپوزوم‌ها از مواد فعال زیستی در مقابل هضم در دستگاه گوارش محافظت کرده و میزان جذب گوارشی را افزایش می‌دهد، که در نهایت باعث افزایش فراهمی زیستی آن‌ها می‌گردد (Noori et al., 2017) (Fattahian et al., 2021)، لذا بر آن شدیم تا با توجه به خواص مفید بیدمشک و خصوصیات ارگانولپتیکی مثبت آن به مطالعه‌ی خواص نانولیپوزوم‌های تهیه شده‌ی اسانس بیدمشک و اثربخشی آن با رهایش کمتر در مدت زمان بیشتر بردازیم تا بتوان از آن در صنعت غذا استفاده کرد.

### مواد و روش‌ها

#### - مواد گیاهی و شیمیایی

اسانس بیدمشک مورد استفاده تولید شرکت البریشت آلمان می‌باشد که از طریق شرکت نیکوشیمی در ایران تهیه شد. کلسترول مورد استفاده از شرکت (sigma aldrich) و فسفولیپید مورد استفاده از شرکت (تیتراکم) تهیه گردید. اتانول از شرکت نصر تهیه شد.

#### - تهیه نانولیپوزوم حاوی اسانس بیدمشک

برای تولید نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس بیدمشک از روش تزریق اتانول<sup>۲</sup> استفاده شد. ابتدا ۱۰ میلی‌گرم بر میلی-لیتر فسفولیپید، ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کلسترول و مقادیر

نانومتر یا کمتر) که باعث حفظ خواص آن نیز می‌شود (Noori et al., 2017). ترکیبات نانوکپسوله به دلیل اندازه کمتر از سلولشان، فعالیت زیستی بالاتری دارند همچنین از این فناوری به منظور پوشاندن طعم و بوی نامطلوب نیز استفاده می‌شود (Gortzi et al., 2007) (Noori et al., 2017). یکی از روش‌های کپسوله نمودن نانوساختارهایی تحت عنوان نانو لیپوزوم‌ها است.

نانولیپوزوم‌ها، ذرات کروی متشکل از چربی‌های قطبی (فسفاتیدیل کولین یا فسفاتیدیل اتانول آمین) یا ترکیبی چربی‌های قطبی با کلسترول یا ارگسترول می‌باشند که به فراوانی در طبیعت یافت می‌شوند. در حلال‌های قطبی مانند آب عموماً تمایل دارند که به فرم غشاهای دو لایه‌ای دربیایند. اندازه این ذرات کروی شکل بستگی به روش ساخت آن‌ها داشته و می‌تواند از چند ده نانومتر تا چند ده میکرومتر متفاوت باشد. ساختار لیپوزوم‌ها از مولکول‌هایی آمفیفیلیک<sup>۱</sup> تشکیل شده است که دارای یک سر آب‌دوست و یک سر آب‌گریز می‌باشند. جهت تولید لیپوزوم روش‌های مختلفی شناخته شده است که از آن جمله می‌توان به هیدراتاسیون لایه نازک، خشک‌کن پاششی و تزریق حلال اشاره نمود. یکی از مزایای روش تزریق اتانول در مقایسه با روش هیدراتاسیون لایه نازک این است که در این روش امکان تولید در مقیاس صنعتی و حجم زیاد نیز فراهم می‌گردد. اما این امکان در روش هیدراتاسیون لایه نازک وجود ندارد. به‌طور خلاصه در این روش مقادیر مشخصی از فسفاتیدیل کولین و کلسترول به همراه اسانس در اتانول حل می‌گردد. محلول به وجود آمده با استفاده از پمپ سرنگ در میزان مشخصی از محلول سالیین بافر فسفات بر روی صفحه داغ با همزن مغناطیسی (هات پلنت) تزریق می‌گردد. به‌محض تماس محلول اتانولی با محلول سالیین بافر فسفات لیپوزوم‌ها تشکیل می‌شوند (Fattahian et al., 2021). لیپوزوم‌ها در واقع ریزکیسه‌های کوچک و توخالی می‌باشند

<sup>2</sup> Ethanol Injection

<sup>1</sup> amphiphilic

$$EE = \frac{(W_T - W_F)}{W_T} \times 100$$

- مورفولوژی نانولیپوزوم های تشکیل شده برای مشاهده نانولیپوزوم های تشکیل شده و تصویربرداری از میکروسکوپ الکترونی (Leo 1430 VP) ساخت شرکت زیس آلمان استفاده شد.

### نتایج و بحث

در مطالعه حاضر، خواص فیزیکی مانند اندازه ذرات، پتانسیل زتا و میزان محصورسازی ارزیابی شد (جدول شماره ۱ و ۲). تصویر مربوط به نانولیپوزوم های تشکیل شده نیز با میکروسکوپ الکترونی تهیه گردید (شکل ۱). طبق نتایج حاصل از روش DLS، وزیکول ها پراکندگی قابل قبولی داشتند. در مطالعه ای که توسط زندگی و همکاران در سال ۱۴۰۰ صورت گرفت و اسانس بیدمشک را با آلزینات سدیم و پروتئین آب پنیر درون پوشانی کردند اندازه ذرات ۱۰/۶۵ میکرومتر به دست آمد (Zandi et al., 2022)، در حالی که در مطالعه ای حاضر اندازه ذرات به دست آمده با روش تزریق اتانول ۸۱ نانومتر بود (جدول شماره ۱). همچنین در مطالعاتی که پلی فنول های زیره سبز را با روش های مختلفی مانند هموژنیزه کردن با فشار بالا، روش فیلم نازک و ترکیب تزریق اتانول و فشار بالا نانوکپسوله کرده اند میانگین اندازه ذرات به دست آمده به ترتیب کمتر از ۱۰۰، ۱۶۰/۴ و ۶۶/۸ نانومتر بود (Gulseren., 2013 & Corredig)، (Zou et al., 2014)، (Lu et al., 2011). در مطالعه ای دیگری که توسط نوری و همکاران در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت اندازه ذرات نانولیپوزوم تولیدی عصاره چای سبز ۴۴/۷ نانومتر اندازه گیری شد. ذرات نانو در مطالعه ای فوق به روش فیلم نازک و روش مافوق صوت تهیه گردید (Noori et al., 2017). تحقیق دیگری نیز در سال ۲۰۲۱ توسط فتاحیان و همکاران روی نانولیپوزوم اسانس زیره سبز به روش تزریق اتانول انجام گرفت که در آن نیز اندازه ذرات نانو ۱۳۴ نانومتر بود (Alexander et al., 2012). احتمالاً تفاوتی که در اندازه

مورد نظر از غلظت اسانس بیدمشک در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل گردید و توسط همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس محلول به داخل ۲۰ میلی لیتر فاز آبی که روی همزن مغناطیسی با دور بر دقیقه ۴۰۰ rpm قرار داشت، توسط سرنگ تزریق شد. پس از تشکیل لیپوزوم ها، محلول به مدت ۱۵ دقیقه دیگر بر روی همزن هم زده شد و در نهایت با استفاده از تبخیرکننده دوار تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد، فاز آبی و اتانول جدا گردید. سوسپانسیون حاوی اسانس نانولیپوزومی در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد و به مدت ۲ هفته نگهداری شد (Sebbaly et al., 2015).

### - تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتا

ذرات نانولیپوزوم توسط دستگاه (laser light scattering (HORIBA SZ-100, Japan) اندازه گیری شد. پتانسیل زتا نیز با دستگاه اندازه گیری زتا (HORIBA SZ-100, Japan) تعیین شد. آزمایشات با دو تکرار برای هر نمونه انجام شد.

### - کارایی انکپسولاسیون ( Encapsulation ) EE % (Efficiency

درصد کل ترکیبات محصور شده در لیپوزوم، تعیین کننده اثر بخشی کپسوله شدن می باشد که فاکتوری مهم در توصیف لیپوزوم می باشد. میزان محصورسازی اسانس بیدمشک در نانولیپوزوم ها با روش سانتریفیوژاسیون تعیین شد. بدین منظور ۰/۳ میلی لیتر از سوسپانسیون به دقت وزن شده و به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. ترکیب اصلی در اسانس که متوکسی بنزن بود با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۲۵۵ نانومتر اندازه گیری شد. از نمونه حلال نیز به عنوان شاهد برای جلوگیری از خطای جذب در دستگاه استفاده شد. سپس درصد کپسولاسیون با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Moafari, 2005 & Mortazavi). در این رابطه  $W_T$  وزن کل اسانس مورد استفاده در ساختار نانولیپوزوم و  $W_F$  میزان اسانس روغنی آزاد موجود در سوپرناتانت می باشد.

۴۷- (2023). در مطالعه‌ی حاضر پتانسیل زتا حدود ۴۷- میلی‌ولت به‌دست آمد (جدول و شکل شماره ۲). تفاوت در پتانسیل زتا به نوع فسفولیپید و کلسترول به‌کار رفته در تولید نانولیپوزوم بستگی دارد، چون این دو ماده از ترکیبات اصلی نانولیپوزوم‌ها هستند. مقادیر پتانسیل زتا می‌تواند مستقیماً بر روی ماندگاری نانولیپوزوم‌ها تأثیر گذارد. ترکیبات نانولیپوزومی با وجود تمایل داشتن برای اتصال به همدیگر، هرچه پتانسیل زتای بالاتری داشته باشند، به‌دلیل نیروی دافعه بیشتری که دارند، پایداری بهتری از خود نشان می‌دهند (Fan *et al.*, 2008). (Fattahian *et al.*, 2022). (Heurtault *et al.*, 2003). آن‌ها نشان دادند که فاکتورهای مختلفی مانند استفاده از مقادیر مناسب کلسترول و لیپید باعث افزایش میزان محصورسازی و نیز پایداری نانو ذره‌ها می‌شود. پتانسیل زتا همچنین به دما و قدرت یونی محیط وابسته است. نشان داده شده است که سر قطبی لیپید به قدرت یونی و دمای محیط حساس است. در قدرت یونی پایین، گروه‌های فسفاتیدیل در قسمت بیرونی سر قطبی لیپید قرار می‌گیرند و بار سیستم منفی می‌شود. در دمای ثابت با افزایش قدرت یونی، گروه کولین به قسمت بیرونی سطح دولایه نزدیک می‌شود، در حالی که گروه فسفاتیدیل در پشت سطح پنهان می‌شود (Fattahian *et al.*, 2022).

میزان محصورسازی یکی از فاکتورهای تعیین کننده در استفاده نانولیپوزوم‌ها در صنعت می‌باشد و عواملی مانند مواد دیواره، ساختمان کپسول و واکنش بین دیواره و درون هسته تأثیرگذار می‌باشند. فاکتورهای دیگری مانند اندازه ذرات تشکیل دهنده‌ی ریزپوشش، اندازه ریزپوشش و نوع و ماهیت ماده درون پوشانی شده بر راندمان درون پوشانی موثر می‌باشند (Hernandez *et al.*, 2020).

در این مطالعه میزان محصورسازی اسانس بیدمشک نانولیپوزومی تولید شده ۹۹/۲ درصد بوده که بالاتر از بازده ۸۷/۳۱ درصدی گزارش شده توسط زندگی و همکاران

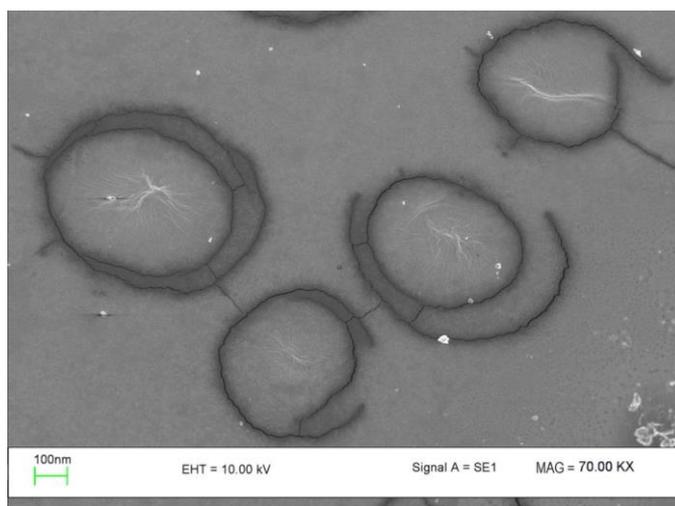
قطر ذرات نانوی تولیدی به روش‌های متفاوت وجود دارد به میزان نیروی کمکی به‌کار رفته بستگی دارد که در صورت استفاده از نیروی بیشتر، ذرات کوچک‌تری حاصل می‌گردد. همچنین استفاده از اتانول می‌تواند باعث تغییر بار سیستم شده و درجه پایداری استری را تغییر دهد که منجر به تغییر در سایز ذرات می‌گردد (Noori *et al.*, 2017). (Heurtault *et al.*, 2003). همچنین طبق گزارشات به‌دست آمده و نتایج حاصل از تحقیقات مختلف می‌توان گفت که نوع کلسترول، روش‌های مختلف تهیه لیپوزوم، نوع فسفولیپیدها، ویسکوزیته مواد و کاربرد پارامترهای اولتراسوند (دامنه و زمان) نیز بر اندازه ذرات نانو تأثیر دارد (Alexander *et al.*, 2012). (Noori *et al.*, 2017).

پتانسیل زتا یک عامل کلیدی در توصیف رفتار سیستم‌های کلوئیدی، اندازه‌گیری بار الکتریکی سطح ذرات و ارزیابی پایداری نانولیپوزوم‌ها است (Dasilva *et al.*, 2012). بار سطحی و پایداری نانوذرات توسط پتانسیل زتا سنجیده می‌شود که یک پارامتر مهم در انعکاس خصوصیات فیزیکی و پایداری بیولوژیکی نانو ذرات تولید شده در سوسپانسیون می‌باشد (Fattahian *et al.*, 2022). مقادیر منفی پتانسیل زتا عمدتاً به حضور گروه‌های انتهایی روی لیپیدها نسبت داده شده است، که با مقادیر گزارش شده از مطالعات دیگر مطابقت خوبی دارند (Dasilva *et al.*, 2012). در مطالعه‌ای که توسط فتحیان در سال ۲۰۲۲ انجام گرفت پتانسیل زتای بدست آمده برای نانولیپوزوم اسانس زیره سبز ۴/۶۰ میلی‌ولت و با بارمنفی به‌دست آمد (Fattahian *et al.*, 2022). در مطالعه‌ی دیگر انجام شده بر روی لیپوزوم‌های حاوی ترکیبات فنولی، پتانسیل زتای ۶/۱۶- میلی‌ولت برای نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیبات پلی فنولی عصاره چای سبز گزارش شده است (Lu *et al.*, 2011). و در تحقیقی که زندگی و همکاران روی ذرات نانوی اسانس بیدمشک انجام دادند پتانسیل زتا منفی و ۴۲/۲۵ و ۳۸/۱۱ میلی‌ولت به‌دست آمد (Zandi *et al.*,

لیپوزوم‌های حاوی کورکامین تهیه شده از میکروفلوئیدایزر گزارش کردند (Takahashi *et al.*, 2009). همچنین میزان محصورسازی، ۷۸/۵ درصد نانولیپوزوم‌های حاوی پلی فنول‌های چای سبز تهیه شده با روش تزریق اتانول- میکروفلوئیدزاسیون فشار بالا به دست آمد. برخی از محققان گزارش دادند که اسانس‌ها به سبب دارا بودن ترکیبات آبدوست که توانایی عمل به عنوان عوامل فعال سطحی دارند، در مقایسه با روغن‌های گیاهی و معدنی، پایداری و کارایی درون پوشانی بیشتری دارند. از سوی دیگر معمولاً اسانس‌ها در غلظت‌های کم به سبب خواص، ارزش و قیمت درون پوشانی می‌شوند و در نتیجه ریزپوشش‌ها حاوی ماده کمتری در مرکز آن هستند و مواد دیواره فراوانی در دسترس می‌باشد (Prata 2015 & Grosso). گزارش شده است که غلظت اسانس بین ۳ تا ۱۰ درصد سبب افزایش راندمان درون پوشانی می‌گردد و غلظت‌های خارج از این محدوده نیز سبب کاهش این متغیر می‌گردد (Tamjidi *et al.*, 2013).

می‌باشد. همچنین این میزان بالاتر از بازده ۷۸/۵ درصدی گزارش شده توسط (زو و همکاران، ۲۰۱۴) می‌باشد (Zou *et al.*, 2014)، (Zandi *et al.*, 2022). طبق تحقیقات انجام شده نوع، فراریت و غلظت اسانس مورد استفاده در تعیین راندمان نهایی درون پوشانی مهم می‌باشد (Zandi *et al.*, 2014).

فن و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که فاکتورهای مختلفی مانند استفاده از مقادیر مناسب کلسترول و لیپید باعث افزایش میزان محصورسازی و نیز پایداری نانو ذره‌ها می‌شود (Fan *et al.*, 2008). همچنین در مطالعه فنگ و همکاران (۲۰۰۶) بیان شد که ترکیبات فنلی چای سبز با بازده بیشتری در لیپوزوم‌های دارای سطح منفی محصور می‌گردند، زیرا در این حالت تراوایی غشا نانولیپوزوم‌ها نسبت به حالتی که بار سطحی نانولیپوزوم‌ها مثبت یا خنثی باشد، حداقل است (Fang *et al.*, 2006). در مطالعه‌ی دیگر انجام گرفته در رابطه با انکپسولاسیون عصاره‌های پلی فنولی در سیستم- های لیپوزومی، میزان محصورسازی، ۶۸ درصد را برای



شکل ۱: تصویر تهیه شده ی میکروسکوپ الکترونی از نانولیپوزوم اسانس بیدمشک

Figure1: SEM micrograph of musk willow essential oil nanoliposome

جدول ۱: نتایج اندازه ذرات نانولیپوزوم ها

Table 1: Calculation result of Particle Size

	Peak No.	P. Area Ratio	Mean	S .D.	Mod	Result
تکرار اول First Rep.	1	1.00	81.7 nm	27.5 nm	69.1 nm	
	2	---	--- nm	--- nm	--- nm	
	3	---	--- nm	--- nm	--- nm	
	Total	1.00	81.7 nm	27.5 nm	69.1 nm	81.7 ± 27.5
تکرار دوم Second Rep.	1	1.00	81.3 nm	29.1 nm	68.6 nm	
	2	---	--- nm	--- nm	--- nm	
	3	---	--- nm	--- nm	--- nm	
	Total	1.00	81.3 nm	29.1 nm	68.6 nm	81.3 ± 29.1

جدول ۲: نتایج پتانسیل زتا

Table 2: Calculation Results of Zeta Potential

	Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility	Result
تکرار اول First Rep.	1	-47.8 mV	-0.000369 cm <sup>2</sup> /Vs	-47.8 mV
	2	--- mV	--- cm <sup>2</sup> /Vs	
	3	--- mV	--- cm <sup>2</sup> /Vs	
تکرار دوم Second Rep.	1	-46.2 mV	-0.000357 cm <sup>2</sup> /Vs	-46.2 mV
	2	--- mV	--- cm <sup>2</sup> /Vs	
	3	--- mV	--- cm <sup>2</sup> /Vs	

## نتیجه گیری

منفی، مواد مؤثره، بهتر درون ساختمان کپسولاسیون حفظ می‌شود. به دلیل داشتن بازده محصورسازی بالا که در این مطالعه ۹۹/۲ درصد به دست آمد، می‌توان اظهار داشت که یکی از بهترین روش‌ها جهت تهیه نانولیپوزوم‌های حاوی ترکیبات فنولی روش تزریق اتانول می‌باشد، چرا که تراوایی غشا نانولیپوزوم‌ها در این حالت به حداقل می‌رسد. با توجه به نتایج بالامی‌توان نانوکپسولاسیون اسانس بیدمشک را به عنوان یک روش موثر و جدید جهت افزایش پایداری ترکیبات طبیعی در طی فرآیندهای مختلف پیشنهاد کرد.

با توجه به اینکه در مطالعه حاضر، متوسط اندازه ذرات ۸۱ نانومتر و پتانسیل زتا ۴۷- به دست آمد، در مقایسه با سایر پژوهش‌های مشابه انجام شده، می‌توان این چنین بیان کرد که هر چه اندازه ذرات نانو درون پوشانی کوچکتر باشد، احتمال فراهمی زیستی آن‌ها بیشتر است. همچنین، هر چه بار سطحی نانولیپوزوم‌ها از صفر دورتر باشد، نیروی دافعه بیشتر بوده و پایداری نانوذرات بالاتر است، در نتیجه تجمع و آگلوتینه شدن ذرات کاهش پیدا می‌کند. در پتانسیل زتای

## تعارض منافع

نویسندگان در خصوص مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافع تجاری در این راستا وجود ندارد و نویسندگان در قبال ارائه اثر خود وجهی دریافت ننموده‌اند.

## منابع:

- Akın, M., Akın, M., & Kırmacı, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food chemistry*, 104(1), 93-99.
- Alexander, M., Lopez, A. A., Fang, Y., & Corredig, M. (2012). Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: Encapsulation efficiency and stability. *Lwt*, 47(2), 427-436.

- Asgarpanah, J. (2012). Phytopharmacology and medicinal properties of *Salix aegyptiaca* L. African Journal of Biotechnology, 11(28), 7145-7150.
- Bastos, L. P. H., Vicente, J., dos Santos, C. H. C., de Carvalho, M. G., & Garcia-Rojas, E. E. (2020). Encapsulation of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil with gelatin and sodium alginate by complex coacervation. Food Hydrocolloids, 102, 105605.
- Da Silva Malheiros, P., Sant'Anna, V., de Souza Barbosa, M., Brandelli, A., & de Melo Franco, B. D. G. (2012). Effect of liposome-encapsulated nisin and bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* growth in Minas frescal cheese. International Journal of Food Microbiology, 156(3), 272-277.
- Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. LWT-Food science and technology, 44(9), 1908-1914.
- Elabbadi, A., Jeckelmann, N., Haefliger, O. P., & Ouali, L. (2011). Complexation/encapsulation of green tea polyphenols in mixed calcium carbonate and phosphate micro-particles. Journal of Microencapsulation, 28(1), 1-9.
- Enayat, S., & Banerjee, S. (2009). Comparative antioxidant activity of extracts from leaves, bark and catkins of *Salix aegyptiaca* sp. Food chemistry, 116(1), 23-28.
- Faidi, A., Lassoued, M. A., Becheikh, M. E. H., Touati, M., Stumbé, J.-F., & Farhat, F. (2019). Application of sodium alginate extracted from a Tunisian brown algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. International journal of biological macromolecules, 136, 386-394.
- Fatahian, Arezoo, (2021). The effects of edible chitosan coating containing nano-capsulated *Cuminum cyminum* essential oil on the shelf-life of veal in Modified atmosphere packaging and experimental inoculation by *E.coli*. Ph. D. Thesis. Faculty of Food Hygiene. Shahid Chamran University of Ahvaz. Ahvaz. Iran. (in Persian)
- Fattahian, A., Fazlara, A., Maktabi, S., Pourmahdi, M., & Bavarsad, N. (2022). The effects of chitosan containing nano-capsulated *Cuminum cyminum* essential oil on the shelf-life of veal in modified atmosphere packaging. Journal of Food Measurement and Characterization, 16(1), 920-933.
- Fan, M., Xu, S., Xia, S., & Zhang, X. (2008). Preparation of salidroside nano-liposomes by ethanol injection method and in vitro release study. European food research and technology, 227, 167-174.
- Fang, J. Y., Hwang, T. L., Huang, Y. L., & Fang, C. L. (2006). Enhancement of the transdermal delivery of catechins by liposomes incorporating anionic surfactants and ethanol. International Journal of Pharmaceutics, 310(1-2), 131-138.
- Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., & Tsaknis, J. (2007). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of *Origanum dictamnus* extracts before and after encapsulation in liposomes. Molecules, 12(5), 932-945.
- Gülseren, I. b., & Corredig, M. (2013). Storage stability and physical characteristics of tea-polyphenol-bearing nanoliposomes prepared with milk fat globule membrane phospholipids. Journal of agricultural and food chemistry, 61(13), 3242-3251.
- Hernández-Nava, R., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., & Jiménez-Munguía, M. T. (2020). Encapsulation of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) by complex coacervation between gelatin and chia mucilage and its properties after spray drying. Food Hydrocolloids, 109, 106077.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J.-E., & Benoit, J.-P. (2003). Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. Biomaterials, 24(23), 4283-4300.
- Imran, M., Revol-Junelles, A.-M., René, N., Jamshidian, M., Akhtar, M. J., Arab-Tehrany, E., . . . Desobry, S. (2012). Microstructure and physico-chemical evaluation of nano-emulsion-based antimicrobial peptides embedded in bioactive packaging films. Food Hydrocolloids, 29(2), 407-419.
- Karimi, I., Hayatgheybi, H., Kamalak, A., Pooyanmehr, M., & Marandi, Y. (2011). Chemical composition and effect of an essential oil of *Salix aegyptiaca* L., Salicaceae, (musk willow) in hypercholesterolemic rabbit model. Revista Brasileira de Farmacognosia, 21, 407-414.
- Lu, Q., Li, D.-C., & Jiang, J.-G. (2011). Preparation of a tea polyphenol nanoliposome system and its physicochemical properties. Journal of agricultural and food chemistry, 59(24), 13004-13011.
- Lu, Q., Lu, P.-M., Piao, J.-H., Xu, X.-L., Chen, J., Zhu, L., & Jiang, J.-G. (2014). Preparation and physicochemical characteristics of an allicin nanoliposome and its release behavior. LWT-Food science and technology, 57(2), 686-695.

- Liang, J., Li, F., Fang, Y., Yang, W., An, X., Zhao, L., . . . Hu, Q. (2011). Synthesis, characterization and cytotoxicity studies of chitosan-coated tea polyphenols nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 82(2), 297-301.
- Mozafari, M. R. (2007). *Nanomaterials and nanosystems for biomedical applications*: Springer.
- Mozafari, M., & Mortazavi, S. (2005). *Nanoliposomes: From Fundamentals to Recent Developments*, Trafford Pub. Ltd: Oxford, UK.
- Noori, N., Noudoost, B., Gandomi Nasrabadi, H., & Akhondzadeh Basti, A. (2017). Effects of green tea extract nanoencapsulation on the survival of *Lactobacillus Casei* and *Bifidobacterium lactis* in symbiotic ice cream. *Journal of Veterinary Research*, 72(2), 195-205.
- Prata, A. S., & Grosso, C. R. (2015). Influence of the oil phase on the microencapsulation by complex coacervation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92, 1063-1072.
- Sawale, P. D., Patil, G. R., Hussain, S. A., Singh, A. K., & Singh, R. R. B. (2017). Release characteristics of polyphenols from microencapsulated Terminalia arjuna extract: Effects of simulated gastric fluid. *International journal of food properties*, 20(12), 3170-3178.
- Sayyari, Z., & Farahmandfar, R. (2017). Stabilization of sunflower oil with pussy willow (*Salix aegyptiaca*) extract and essential oil. *Food science & nutrition*, 5(2), 266-272.
- Sebaaly, C., Jraij, A., Fessi, H., Charcosset, C., & Greige-Gerges, H. (2015). Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. *Food chemistry*, 178, 52-62.
- Sonboli, A., Mojarrad, M., Ebrahimi, S. N., & Enayat, S. (2010). Free radical scavenging activity and total phenolic content of methanolic extracts from male inflorescence of *Salix aegyptiaca* grown in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 9(3), 293.
- Takahashi, M., Uechi, S., Takara, K., Asikin, Y., & Wada, K. (2009). Evaluation of an oral carrier system in rats: bioavailability and antioxidant properties of liposome-encapsulated curcumin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(19), 9141-9146.
- Tamjidi, F., Nasirpour, A., & Shahedi, M. (2013). Mixture design approach for evaluation of fish oil microencapsulation in gelatin-acacia gum coacervates. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 62(8), 444-449.
- Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., . . . Zhang, Q. (2015). The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocolloids*, 43, 427-435.
- Zandi, M., Mohebbi, M., Varidi, M., & Ramezani, N. (2014). Evaluation of diacetyl encapsulated alginate-whey protein microspheres release kinetics and mechanism at simulated mouth conditions. *Food research international*, 56, 211-217.
- Zandi, M., Dardmeh, N., Pirs, S., & Almasi, H. (2017). Identification of cardamom encapsulated alginate-whey protein concentrates microcapsule release kinetics and mechanism during storage, stew process and oral consumption. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12314.
- Zandi, M., Ganjloo, A., & Bimakr, M. (2022). Encapsulation of musk willow (*Salix aegyptiaca* L.) essential oil with sodium alginate and whey protein: Characterization, controlled release and mathematical modeling. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 19(125), 121-133.
- Zandi, M., Ganjloo, A., & Bimakr, M. (2023). Kinetic modeling and optimization of musk willow (*Salix aegyptiaca* L.) essential oil extraction process of using ultrasound assisted hydrodistillation. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 121(18), 93-106.
- Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., & Quek, S. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59, 282-289.
- Zou, L.-q., Liu, W., Liu, W.-l., Liang, R.-h., Li, T., Liu, C.-m., . . . Liu, Z. (2014). Characterization and bioavailability of tea polyphenol nanoliposome prepared by combining an ethanol injection method with dynamic high-pressure microfluidization. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(4), 934-941.

Research note

## Production of *Salix aegyptiaca* L essential oil nanoliposome by Ethanol Injection method and evaluation of its physical properties

Fatemeh Amini<sup>1</sup>, Hamdollah Moshtaghi<sup>2\*</sup>, Maryam Abbasvali<sup>3</sup>

**\*Corresponding Author:** Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran.

**Email:** [moshtaghi@sku.ac.ir](mailto:moshtaghi@sku.ac.ir)

**Received:** 19 June 2024 **Accepted:** 9 July 2025

**http://doi:** 10.22092/fooder.2025.366125.1395

### Abstract

*Salix aegyptiaca* is a flowering plant known as Musk Willow. For a long time *S. aegyptiaca* has been used in traditional medicines for the relief of anemia and vertigo, as a cardiogenic agent, as well as a fragrance additive in the preparation of local candies in the food industry. Encapsulation of materials in nanoliposomes can be used as a protective system of natural compounds during their processing and storage. In this study, in addition to preparing *Musk willow* essential oil nanoliposomes by Ethanol Injection method, the physical properties of *Musk willow* essential oil nanoliposomes were also investigated. Based on the results obtained, which included particle size in the range of 81 nm, zeta potential in the range of -47 mV and encapsulation efficiency of 99.2%, it can be stated that the smaller the size of the nano-encapsulated particles, the higher the probability of their bioavailability. According to the studies conducted and the results of the present study, it can be stated that the further the surface area of the nanoliposomes is from zero, the greater the repulsive force and the higher the stability of the nanoparticles, as a result of which the aggregation and agglutination of the particles is reduced. At negative zeta potential, safe materials are better retained within the encapsulation structure, therefore this method is recommended during various processes.

**Keywords:** Nanoliposome, Musk willow essential oil, *Salix aegyptiaca* L, Ethanol Injection.