

## اسانس نانوکپسوله پونه: تولید و بررسی برخی خصوصیات فیزیکی شیمیایی آن

مریم ملک محمدی<sup>۱\*</sup>، معین جعفری پوردراگاهی<sup>۲</sup> و امیرعباس رفتی<sup>۳</sup>

۱. استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

۳. استاد، گروه شیمی فیزیک، دانشکده شیمی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۷)

### چکیده

استفاده از اسانس های گیاهی در برنامه های مدیریتی آفات به عنوان جایگزین یا مکمل حشره کش های شیمیایی، ایمن و نویدبخش به نظر می رسد. چنین امکانی منوط به رفع نواقصی همچون ناپایداری شیمیایی، تخریب پذیری و حلالیت کم اسانس های گیاهی در آب است. استفاده از نانوفرمولاسیون ها با امکان رهایش کنترل شده یک راه کار مؤثر در جهت رفع نواقص فوق به شمار می آید. پژوهش پیش رو با هدف شناسایی ترکیبات مؤثر اسانس آزاد پونه *Mentha longifolia* و نانوفرمولاسیون آن با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی، تهیه نانو سیلیکای حاوی اسانس پونه به روش سل- ژل و بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی آن در جهت امکان سنجی کاربرد در برنامه های مدیریت تلفیقی آفات انجام شده است. نتایج نشان دهنده بیشترین فراوانی کتون ها (پیریتون ۳۲٪ و پولگون ۱۷/۴۴٪) و منوترین های اکسیژن دار (۲۴/۰۱٪) در بین اجزاء سازنده اسانس بود. بهترین ترکیب اجزاء و شرایط انجام واکنش نیز از نظر اندازه ذرات نانوفرمولاسیون تهیه شده و کارایی کپسوله شدن عبارت بود از ترا اتیل ارتو سیلیکات (TEOS) (۰/۵ میلی- لیتر)، ستیل تری متیل آمونیوم برماید (CTAB) (۰/۰۸ گرم)، اسانس (۱ میلی لیتر)، اتانول (۱۳ میلی لیتر)، آمونیاک (۲۵٪) (۰/۵ میلی لیتر)، استفاده از همزن التراسونیک به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و در نهایت سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه (۱۵۰۰۰ rpm). از ویژگی های نانوسیلیکای حاوی اسانس پونه، تهیه شده با استفاده از روش سل- ژل، قطر متوسط ذرات ۶۶-۸۰ نانومتر، پتانسیل زتای -۳۷، شاخص پراکندگی ۰/۲ و راندمان ریزپوشانی ۷۹/۶۴ درصد بوده است.

واژه های کلیدی: اسانس، پونه، ریزپوشانی، سل-ژل.

## *Mentha longifolia* nanoencapsulated essential oil: Its synthesis and physico-chemical properties

Maryam Malekmohammadi<sup>1\*</sup>, Moein Jaafaripoorderagahi<sup>2</sup>, AmirAbbas Rafati<sup>3</sup>

1. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu- Ali Sina University, Hamedan, Iran

2. MSc Graduated, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu- Ali Sina University, Hamedan, Iran

3. Professor, Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, Bu- Ali Sina University, Hamedan, Iran

(Received: August 16, 2021 - Accepted: December 8, 2021)

### Abstract

Essential oils application in integrated pest management as alternative or complementary to chemical insecticides appears quite safe and promising. However, the chemical instability, volatility and poor water solubility remain the main disadvantages of essential oils and must be resolved before being incorporated into pest management systems. Incorporation of essential oils into a controlled-release nanoformulation is an efficient approach to overcome these limitations. So the present study aimed to analyze chemical constituents of *Mentha longifolia* free and nanoencapsulated essential oils by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and describe a practical approach to synthesize nano hollow silica spheres by sol-gel method as a *Mentha longifolia* essential oil carrier. GC-MS analysis resulted in the detection of the 43 components, piperitenone (32%), piperitenone oxide (24.01%) and pulegone (17.44%) were the three most representative constituents. The success of *M. longifolia* essential oil encapsulated was characterized based on some parameters including particle size, zeta potential, polydispersity index (PDI) and encapsulation efficiency (EE). The optimised reaction mixture consisting of TEOS (0.5 ml), CTAB (0.08 g), essential oil (1 ml), ethanol (13 ml), 25% ammonia (0.5 ml), 2 hours of ultrasonication at room temperature and emulsification at 15000 rpm for 5 min, resulted in particle size between 66 to 80 nm, a polydispersity index of 0.2, zeta potential of -37 mV and an EE of 79.64%.

\* Corresponding author E-mail: m.malekmohammadi@basu.ac.ir

**Keywords:** Essential oil, mint, Encapsulation, Sol- Gel

جنس پلیمر محصور شده است. کپسوله کردن ترکیبات آلی آروماتیک و معطر در نانوذرات سیلیکای متخلخل، به عنوان جانشین مناسبی برای روش‌های مرسوم کپسوله کردن با استفاده از پلیمرهای پوششی شناخته می‌شود (Pagliaro, 2009). استفاده از روش سل-ژل جهت ساخت مواد سیلیکایی حاوی اسانس و دیگر ترکیبات حساس مشابه، انتخاب مناسبی برای جایگزینی روش‌های ریزپوشانی مرسوم است، این روش در دمای اتاق قابل انجام بوده و با کمک آن می‌توان از تجزیه ترکیبات حساسی همانند اسانس‌ها جلوگیری نمود. تاریخ استفاده از این روش، به سال ۱۹۸۷ میلادی بر می‌گردد. به کارگیری روش سل-ژل در فرمولاسیون عطرها و چاشنی‌ها، علاوه بر مزایای آشکار اقتصادی و فنی، از نگاه سلامت انسان‌ها و محیط زیست نیز نویدبخش و در خور توجه بوده است (Ciriminna & Pagliaro, 2013). از اسانس گونه‌های گیاهی خانواده Lamiaceae، به صورت گسترده در تهیه طعم‌دهنده‌ها، تولید دارو و ترکیبات آفت‌کش استفاده می‌شود (Ansari et al., 2000; Bahadori et al., 2018; Javed et al., 2020). از این رو استفاده از این ترکیبات در برنامه‌های مدیریت آفات به عنوان جایگزین یا مکمل حشره‌کش‌های شیمیایی متداول، ایمن و نویدبخش به نظر می‌رسد (Ikawati et al., 2020; Isman, 2020; Menossi et al., 2021). هدف نهایی بررسی‌های آزمایشگاهی، کاربرد عملی و تجاری نانوفرمولاسیون اسانس‌های گیاهی است، ضرورتی که رسیدن به آن بدون توجه به ارتباط فعالیت زیستی نانوفرمولاسیون‌ها با خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی تأثیرگذار بر قدرت کنترلی و بازدارندگی نانوذرات، علیه گونه‌های آفت امکان‌پذیر نخواهد بود. بر این اساس، هدف پژوهش پیش‌رو (۱) شناسایی ترکیبات مؤثر اسانس آزاد پونه (*M. EO*) *Mentha longifolia* L. (Lamiaceae) و نانوفرمولاسیون آن با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی، (۲) ساخت نانو سیلیکای حاوی اسانس پونه به روش سل-ژل و (۳) بررسی خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی نانو ساختار تولیدی با هدف امکان‌سنجی کاربرد آن در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات بوده است.

## مقدمه

استفاده از ترکیبات حشره‌کش جهت کنترل گونه‌های آفت در عین سادگی، کارایی و مقرون به صرفه بودن، مشکلاتی از قبیل مقاومت به حشره‌کش‌های مصرفی، اختلال در کنترل بیولوژیکی آفات، آلودگی‌های زیست-محیطی، تأثیر سوء بر سلامت انسان و دیگر گونه‌های غیر هدف را به دنبال دارد (Thompson et al., 2020). آفت-کش‌های زیستی بر پایه اسانس‌های گیاهی از منظر سم-شناسی محیطی، ترکیباتی امن به شمار رفته و باقی-مانده‌ای در محیط به جا نمی‌گذارند. این گروه از ترکیبات گیاهی با دارا بودن سازوکار تأثیر جدید بر گونه‌های هدف، به عنوان جایگزین بی‌ضرر یا مکمل آفت‌کش‌های مرسوم، در مدیریت تلفیقی آفات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Menossi et al., 2021). بررسی‌ها، سمیت تماسی و تنفسی (Kasrati et al., 2015; Quan et al., 2018)، اشتهابری (Ebadollahi, 2013)، دورکنندگی (Chang et al., 2017) و بازدارندگی از رشد (Sangha et al., 2017) اسانس‌های گیاهی را تایید نموده است. با این وجود، استفاده از اسانس‌های گیاهی در امر کنترل آفات به دلیل تبخیرپذیری بالا، اکسیداسیون سریع، تجزیه در حضور هوا و حلالیت کم در آب، تاکنون محدود بوده است. در سال‌های اخیر، استفاده از نانوفرمولاسیون آفت‌کش‌های گیاهی به دلیل اثر بخشی و پایداری بیشتر نانو سامانه‌ها و نیز ایمنی برای انسان و محیط زیست، بسیار مورد توجه بوده است. در تهیه نانوآفت‌کش‌ها از نانوذراتی استفاده می‌شود که حداقل یکی از ابعاد آنها به اندازه ۱۰۰-۱ نانومتر باشد (Kah & Hofmann, 2014). در توضیح مزایای نانوفرمولاسیون‌ها به مواردی همچون سمیت کمتر زیست‌محیطی در نتیجه حذف حلال‌های آلی، پایداری و دوام، استفاده آسان، رهایش هوشمند، نسبت سطح به حجم بزرگتر، حلالیت بالاتر، فعالیت سیستمیک و پویایی بیشتر می‌توان اشاره نمود (Ikawati et al., 2020; Isman, 2020; Menossi et al., 2021). نانوکپسول‌ها، سامانه‌های نانوزیکولی با ساختاری همانند یک هسته مرکزی پوشش‌دار هستند، هسته‌های پوشش‌داری که در آنها ماده فعال جامد یا مایع درون مخزنی با دیواره‌هایی از

## مواد و روش‌ها

### تهیه اسانس

جمع‌آوری گیاه پونه *M. longifolia* L. از مناطق اطراف شهرستان همدان (34° 48' N, 48° 30' E) و در طول مرحله گل‌دهی گیاه (مرداد ۱۳۹۸) انجام شد. در هر نوبت اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم برگ خشک با مقدار کافی آب مقطر مخلوط گردید. اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب<sup>۱</sup> انجام شد. اسانس حاصله به میکروتیوب‌های پلاستیکی با پوشش آلومینیومی و به حجم ۲ میلی‌لیتر منتقل و تا زمان مصرف، در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید (Aouadi et al., 2020).

### شناسایی ترکیبات سازنده اسانس پونه

جهت شناسایی ترکیبات از یک دستگاه<sup>۲</sup> کروماتوگراف متصل به اسپکترومتر طیفی و مجهز به ستون موئین (اچ پی ۵ به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر<sup>۳</sup>) استفاده شد. قبل از تزریق، آبگیری و رقیق‌سازی نمونه‌ها به ترتیب با سولفات سدیم و حلال هگزان صورت گرفت. شناسایی اجزاء تشکیل دهنده اسانس از طریق مقایسه شاخص‌های بازداری<sup>۴</sup> با شاخص‌های بازداری ترکیبات شناخته شده و نیز مقایسه طیف‌های جرمی خروجی دستگاه با طیف‌های موجود در پایگاه داده طیف‌سنجی جرمی<sup>۵</sup> انجام شد. در برنامه‌ریزی حرارتی، دمای اولیه-ی ستون به مدت ۴ دقیقه در ۶۰ درجه سلسیوس نگه داشته شد، سپس به مدت ۲ دقیقه تا دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس با سرعت ۳ درجه در هر دقیقه افزایش یافت. در مرحله پایانی، درجه حرارت به مدت ۵ دقیقه تا دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس و با سرعت ۴ درجه در دقیقه بالا رفت. دمای اتافک تزریق ۲۶۰ درجه سلسیوس، حجم تزریق ۱ میکرولیتر و سرعت جریان گاز هلیوم ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه در نظر گرفته شد.

## ساخت نانوذره

جهت ساخت نانوذرات حاوی اسانس پونه به روش سل-ژل، ابتدا مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر تترا اتیل ارتو سیلیکات<sup>۶</sup> (TEOS) و ۰/۰۸ گرم ستیل تری متیل آمونیوم برماید<sup>۷</sup> (CTAB)، درون بشر حاوی ۲۷ میلی-لیتر آب دوبار تقطیر و ۱۳ میلی‌لیتر اتانول ریخته شد. یک میلی‌لیتر اسانس و پس از ۵ دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر آمونیاک ۲۵٪ نیز به بشر اضافه شد. همزدن محلول حاصل به کمک دستگاه آلتراسونیک به مدت ۲ ساعت و در دمای اتاق انجام گرفت (Najafi et al., 2012). بهترین ترکیب اجزاء و شرایط انجام واکنش از نظر اندازه ذرات نانوفرمولاسیون تهیه شده و کارایی کپسوله شدن عبارت بود از TEOS (۰/۵ میلی‌لیتر)، CTAB (۰/۰۸ گرم)، اسانس (۱ میلی‌لیتر)، اتانول (۱۳ میلی‌لیتر)، آمونیاک ۲۵٪ (۰/۵ میلی‌لیتر)، استفاده از همزن آلتراسونیک به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و در نهایت سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه (۱۵۰۰۰ rpm) جهت جداسازی رسوب زرد رنگ ایجاد شده. در پایان رسوب بدست آمده با آب مقطر شستشو و توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک گردید.

## خصوصیات نانوذرات

جهت بررسی خصوصیات فیزیکی نانوذرات، اندازه ذرات، شاخص پراکندگی (PDI)<sup>۸</sup> و پتانسیل زتا<sup>۹</sup> اندازه‌گیری شد، برای این منظور، سوسپانسیونی از نانوذرات در آب مقطر تهیه گردید. خوانش قطر متوسط هیدرودینامیکی<sup>۱۰</sup> و شاخص پراکندگی توسط دستگاه تفرق نور دینامیکی<sup>۱۱</sup> براساس تکنیک طیف‌سنجی همبستگی فوتون و پس از رقیق‌سازی نمونه‌ها با آب فوق خالص<sup>۱۲</sup> به نسبت ۱:۵۰ (حجم به حجم) انجام گرفت (Oliveira et al., 2017). از دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی فیلیپس مدل XL-30،

6. Tetraethyl orthosilicate (TEOS)

7. Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB)

8. Polydispersity Index (PDI)

9. Zeta pontencial

10. Mean hydrodynamic diameter (Z-averages size)

11. Dynamic Light Scattering (DLS) [Zeta sizer nanoinstrument ZEN 3690 model (Malvern, UK)]

12. Ultrapure Water

1. Hydrodistillation

2. GC-MS, Agilent 7890N/7975C, USA

3. HP-5, 30 m × 0.25 mm, 0.25 mm film thickness

4. Retention indices (Kovats indices)

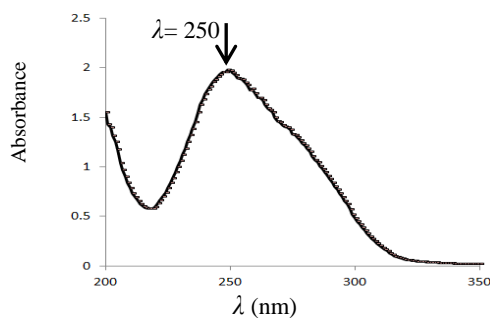
5. MS databases (NBS75 K.L MS DATA)

### راندمان ریزبوشانی

محاسبه مقدار اسانس کپسوله شده (محتوای اسانس نانوذرات) به روش (Natrajan *et al.*, 2015) با قدری تغییرات انجام گرفت. ابتدا سوسپانسیون حاوی نانوذرات اسانس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵ درجه سلسیوس با سرعت ۸۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد، پس از حذف محلول روشین و افزودن یک میلی لیتر اتانول به درون لوله‌های واکنش، مجدداً سانتریفیوژ با شرایط قبل به مدت ۱۰ دقیقه تکرار گردید. در ادامه میزان جذب قسمت روشین در طول موج ۲۵۰ نانومتر ( $\lambda_{max} = 250$  nm)، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مرئی فرابنفش تعیین و به این ترتیب غلظت مورد نظر اسانس، براساس منحنی استاندارد بدست آمد (شکل ۱). آزمایش ۵ بار تکرار شد. کارایی کپسوله شدن اسانس در نانوذرات براساس فرمول زیر بدست آمد:

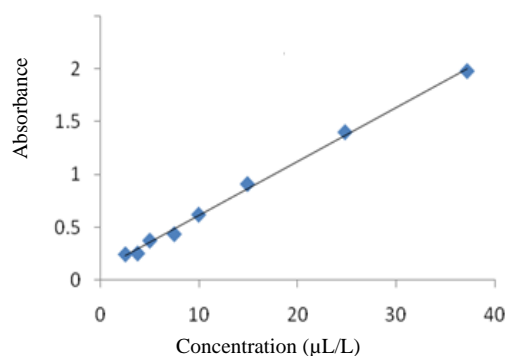
$$100 \times \left[ \frac{\text{مقدار کل اسانس}}{\text{اسانس آزاد} - \text{مقدار کل اسانس}} \right] = \text{درصد کارایی کپسوله شدن}$$

در آب و جلوگیری از اجتماع توده‌های اسانس در آب را در پی خواهد داشت (Kaparathi & Chari, 1959).



نیز جهت ریخت‌شناسی و تعیین اندازه نانوذرات تولید شده، استفاده شد. در ادامه، تغییرات اندازه نانوذرات در بازه زمانی ۶ ماهه (شرایط دمایی  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 50$  درصد)، با تهیه سوسپانسیونی از ۲ گرم نانوذره (۴۸ ساعت پس از تولید) در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر بررسی شد. به سوسپانسیون تهیه شده ۳۰ دقیقه زمان استراحت داده شد. در پایان ۳۰ دقیقه زمان استراحت، سوسپانسیون از کاغذ صافی<sup>۱۳</sup> عبور داده شد. اندازه نانوذرات اسانس در دوره‌های زمانی ۸ و ۱۶ و ۲۴ هفته خوانده شد. اندازه‌گیری‌ها در چهار تکرار و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰٪، صورت گرفت (Weridin Gonzales *et al.*, 2014). تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version: 22 انجام شد.  $P < 0.05$  به عنوان اختلاف معنی‌دار تلقی گردید.

افزودن اتانول در این مرحله، افزایش حلالیت اسانس در محیط آبی، یکدستی بیشتر مخلوط اسانس



شکل ۱. طیف جذب ماوراء بنفش محلول آبی اسانس پونه (M. EO) جهت تعیین طول موج حداکثر جذب ( $\lambda_{max}$ ) (چپ) به همراه منحنی استاندارد اسانس در طول موج ۲۵۰ نانومتر (راست).

Figure 1. Ultra violet (UV) absorbance spectrum for water solution of M. EO to detect maximum absorption wavelength ( $\lambda_{max}$ ) (left); M. EO standard curve at  $\lambda_{max} = 250$  nm (right) (mean  $\pm$  S.E; n=5).

ترین اجزاء تشکیل دهنده اسانس به ترتیب عبارت بودند از پیپریتون (۳۲٪)، پیپریتون اکسید (۲۴/۰۱٪) و پولگون (۱۷/۴۴٪) (شکل ۲). غلظت دیگر

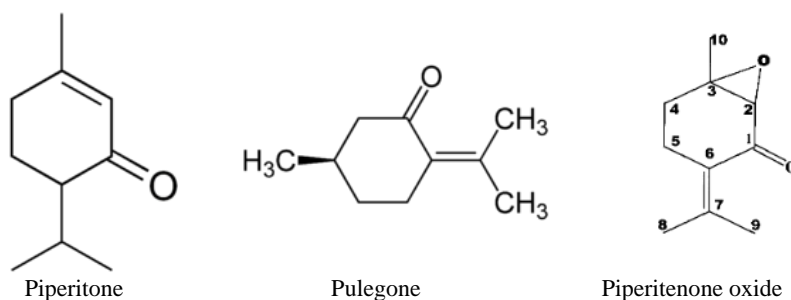
### نتایج

#### شناسایی ترکیبات مؤثر اسانس پونه

نتایج آنالیز GC-MS (جدول ۱) نشان داد که اسانس *M. longifolia* از ۴۳ جزء مختلف تشکیل شده است. اصلی-

یک دوره‌ی انبارداری ۷ ماهه، نشان دهنده غیبت برخی از اجزاء سازنده اسانس از جدول نتایج بود، این عدم ردیابی در مورد اجزایی مشاهده شد که در مقایسه با دیگر اجزاء سازنده‌ی اسانس از غلظت‌های کمتری برخوردار بودند (جدول ۱).

اجزاء تشکیل دهنده اسانس در مجموع ۲۵/۷۸٪ برآورد گردید. به رغم تغییرات افزایشی و کاهش‌ی اجزاء تشکیل دهنده اسانس در طول دوره‌ی انبارداری، در بین اجزاء سازنده پرتوتایپ نانوفرمولاسیون اسانس نیز پیپریتون، پیپریتون اکسید و پولگون به ترتیب بیشترین غلظت را دارا بودند. نتایج آنالیز GC-MS نانوفرمولاسیون‌ها پس از



شکل ۲. ساختمان مولکولی سه جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس *Mentha longifolia*.

Figure 2. Molecular structure of the three major compounds found in the *Mentha longifolia* essential oil.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی فرمولاسیون آزاد و نانوکپسول اسانس پونه در دوره انبارداری ۷ ماهه.

Table 1. Chemical composition of *Mentha longifolia* free and nanoencapsulated essential oil during the storage time (7 month).

NO	Compound	RT	Concentration (%)				
			Pre- formulation	Storage (days)			
				30	90	150	210
1	alpha.-Pinene	6.41	0.85	0.10	0.10	-	-
2	Camphene	6.91	0.14	0.14	0.16	0.14	-
3	Sabinene	7.82	2.49	3.20	3.30	3.10	3.70
4	β-pinene	7.92	1.03	1.06	1.05	-	-
5	β-myrcene	8.49	0.77	0.60	-	-	-
6	Octanol	8.67	0.46	0.40	-	-	-
7	α-terpinene	9.48	0.11	0.16	-	-	-
8	Limonene	10.01	0.15	0.10	-	-	-
9	Cineole	10.09	0.52	0.40	-	-	-
10	β-OCIMENE Y	10.42	0.36	0.40	0.30	-	-
11	γ-Terpinene	11.27	0.17	-	-	-	-
12	trans-Sabinene hydrate	11.62	0.11	-	-	-	-
13	α-Terpinolene	12.56	0.12	0.11	0.14	0.23	0.11
14	isopentyl 2-methylbutanoate	13.15	0.25	-	-	-	-
15	trans-pinocarveol	14.78	0.09	-	-	-	-
16	L-menthal one	15.51	2.40	2.17	1.16	-	-
17	p-Menthan-3-one	15.94	0.21	1.10	-	-	-
18	BORNEOL L	16.04	0.43	0.45	0.28	0.31	-
19	CIS-ISOPULEGONE	16.5	0.19	0.12	-	-	-
20	p-Menth-1-en-4-ol	16.58	0.13	-	-	-	-
21	PARA-CYMEN-8-OL	17.06	0.11	-	-	-	-
22	ALPHA. TERPINEOL	17.23	0.16	0.15	-	-	-
23	myrtenal	17.37	0.11	0.11	0.13	-	-
24	1-Ethyl-4-isopropylbenzene	18.75	1.02	1.02	0.80	0.80	-
25	p-Menth-4(8)-en-3-one	19.85	17.44	18.5	18.81	17.70	22.40
26	CIS PIPERITONE OXIDE	20.57	2.67	2.54	1.13	0.50	-
27	3-C12H22	20.88	0.16	0.10	-	-	-
28	2-Cyclohexen-1-one, 3,5-dimethyl-	21.28	0.35	0.21	-	-	-
29	iso-bornyl acetate	21.98	0.27	-	-	-	-
30	Sabinyol acetate	22.36	0.34	-	-	-	-
31	2-Hydroxypiperitone	22.63	0.14	-	-	-	-
32	Geraniol formate	22.84	0.09	-	-	-	-
33	Thymol	23.23	0.19	0.13	-	-	-
34	Piperitenone	24.80	32.00	34.50	32.70	32.60	34.10
35	PIPERITENONE OXIDE	25.91	24.01	26.70	27.70	25.40	29.60
36	.BETA. BOURBONENE	26.28	0.12	-	-	-	-

ادامه جدول ۱.

37	4,6-DIETHYL-2-METHOXYPYRIMIDINE	26.91	1.02	1.13	-	-	-
38	TRANS(.BETA.)-CARYOPHYLLENE	27.60	3.43	1.45	1.21	1.70	-
39	alpha.-Humulene	28.79	0.48	-	-	-	-
40	trans-.beta.-Farnesene	29.01	0.44	-	-	-	-
41	GERMACRENE-D	29.80	2.75	1.10	0.57	-	-
42	bicyclogermacrene	30.30	0.57	0.34	-	-	-
43	Caryophyllene oxide	33.08	0.38	0.89	0.23	-	-

### خصوصیات نانوذرات

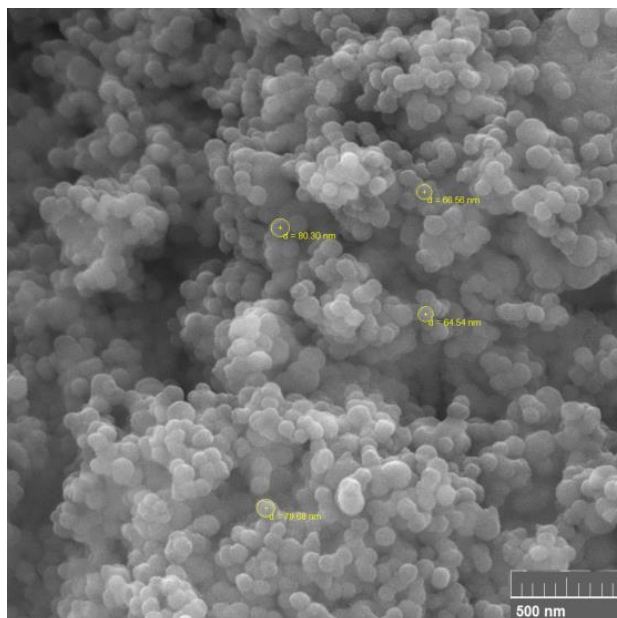
در تحقیق حاضر نانوسیلیکای حاوی اسانس پونه به روش سل-ژل ساخته شد و خواص فیزیکوشیمیایی آن با هدف امکان‌سنجی استفاده بعدی در برنامه‌های مدیریتی آفات مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر (۸۰-۶۶ نانومتر)، شاخص پراکندگی ۰/۲۵۸، پتانسیل زتای ۳۷- و راندمان ریزپوشانی ۷۹/۶۴٪ از خصوصیات نانوذرات ساخته شده در بررسی حاضر بوده است (جدول ۲). بررسی ریخت‌شناسی و اندازه نانوذرات اسانس، با استفاده از

دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی، ضمن اثبات قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر ذرات، وجود اشکال کروی، نبود هر گونه ترک در الکترومیکروگراف‌های نانوکپسول‌ها و شکل‌گیری لایه‌ای یکپارچه در دیواره نانوکپسول‌ها را نیز تایید نمود (شکل ۳). به رغم تغییر اندازه نانوذرات اسانس در دوره‌های زمانی ۸ و ۱۶ و ۲۴ هفته پس از آماده‌سازی فرمولاسیون، متوسط قطر نانوذرات در بازه زمانی مورد بررسی، تغییر معنی‌داری نشان نداد (شکل ۴).

جدول ۲. اندازه، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و راندمان ریزپوشانی نانوذرات اسانس پونه.

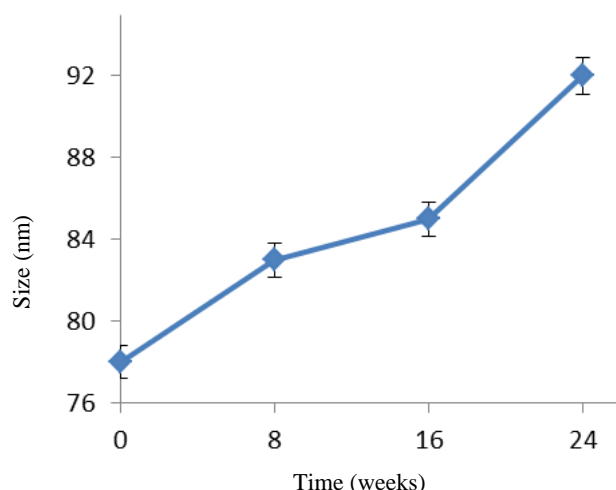
Table 2. Size, polydispersity index (PDI), zeta potential and encapsulation efficiency of the *Mentha longifolia* essential oil nanoparticles.

Nanoparticle	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)	Encapsulation efficiency (%)
<i>M.longifolia</i> NP	75±21	0.258±0.04	- 37.00±6.33	79.64±6



شکل ۳. تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوکپسول حاوی اسانس پونه (بزرگ‌نمایی ۵۰۰ نانومتر).

Figure 3. SEM images of nanocapsules containing *Mentha longifolia* essential oil (scale bar: 500 nm).



شکل ۴. تغییرات اندازه نانوذرات اسانس در بازه‌های زمانی ۸، ۱۶ و ۲۴ هفته انبارداری.

Figure 4. Essential oil nano particles size during 8, 16 and 24 weeks of storage.

اکسیژن به مراتب بیشتر است، البته بسته به نوع گروه‌های شیمیایی شرکت کننده در ساختار ترپنویید و اشباع یا غیر اشباع بودن پیوندها، شدت و ماهیت اثرات بیولوژیکی متفاوت خواهد بود (Pavela, 2008). ارتباط ترکیبات کتونی با قدرت حشره‌کشی اسانس-های گیاهی و استفاده گیاه از ترکیبات کتونی به عنوان دور کننده و نوعی سازوکار دفاعی در مقابل حمله حشرات گیاهخوار به اثبات رسیده است (Ayil-Gutierrez et al., 2015; Chaaban et al., 2019). بررسی‌ها سمیت حاد، اثرات دورکنندگی و ضدتغذیه-ای منوترین‌ها روی گونه‌های آفت انباری را تأیید نموده است، از این رو منوترین‌ها به عنوان یکی از گزینه‌های پیش‌روی مبارزه با آفات، به ویژه آفات انباری در آینده شناخته می‌شوند (Ikawati et al., 2020; Yari et al., 2000). همسو با بررسی حاضر، پیپریتون اکسید، به عنوان جزء اصلی اسانس گونه-های *M. longifolia* (Ghoulami, 2001; Shah et al., 1999) *M. spicata* (Tripathi et al., 2004) *M. villosa* (Amzouar et al., 2016) *suaveolens* (Sousa et al., 2009) و *M. rotundifolia* (Aouadi et al., 2020) نیز گزارش شده است. سمیت تنفسی پیپریتون اکسید روی آفات انباری (Khanuja et al., 2001) و اثرات تخم‌کشی، لاروکشی، بازدارندگی از

## بحث

### شناسایی ترکیبات مؤثر اسانس پونه

در سطح جهان کموتایپ‌های مختلفی برای اسانس گونه‌های گیاهی وجود دارد. تأثیر متابولیسم گیاهی، موقعیت جغرافیایی، دما، طول روز، عناصر غذایی، مرحله رشدی، پلی‌پلوئیدی، جریان هوا، بارندگی، دوره برداشت، روش تقطیر و زمان اسانس‌گیری بر ترکیب شیمیایی اجزاء سازنده اسانس گونه‌های گیاهی اثبات شده است (Rajendran & Sriranjini, 2008; Boukhebt et al., 2011; Niksic et al., 2014). اسانس آزاد *M. longifolia* ۴۳ ترکیب مختلف شناسایی شد که ۹۹/۲۳ درصد از کل ترکیبات سازنده اسانس را در بر می‌گیرد. بیشترین فراوانی در بین اجزاء سازنده اسانس آزاد به ترتیب به کتون‌ها (پیپریتون ۳۲٪ و پولگون ۱۷/۴۴٪) و منوترین‌های اکسیژن‌دار (۲۴/۰۱) تعلق داشت. ترکیب اجزاء تشکیل دهنده اسانس‌ها، ترکیبی غنی از منوترین‌ها، سسکوئی‌ترین‌ها و متابولیت‌های ثانویه با فعالیت شناخته شده حشره-کشی است، بازدارندگی و تاخیر در رشد، کاهش ظرفیت تولیدمثلی، از بین بردگی اشتها و سمیت مستقیم این ترکیبات تأیید شده است (Ikawati et al., 2020; Lucia & Guzman, 2021; Menossi et al., 2021; Politi et al., 2017). اثرات بیولوژیکی ترپنوییدهای اکسیژن‌دار در مقایسه با انواع فاقد

درخصوص ارزیابی سمیت اسانس آزاد و نانوفرموله‌ی *L. sidoides* و جزء اصلی سازنده آن (تیمول) علیه جمعیت‌های برزیلی *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)، ضمن تایید حضور تیمول (۶۸/۴۵٪)، پی-سیمن (۱۰/۶۶٪) و ای-کاریوفیلین<sup>۱۶</sup> (۷/۲۸٪)، به عنوان سه جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس آزاد و پروتوتایپ‌های نانویی آن، افزایش غلظت تیمول در نانوفرمولاسیون اسانس در طول یک دوره انبارداری ۷ ماهه را نیز گزارش نمود. در تحقیقی با هدف ارزیابی خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی نانوکپسول‌های اسانس *L. sidoides*، ضمن معرفی تیمول، پی-سیمن و بتاکاریوفیلین<sup>۱۷</sup> به عنوان اصلی-ترین اجزاء سازنده اسانس برگی گونه فوق، تغییر محتوای تیمول نانوکپسول‌ها در سه دمای نگهداری ۵، ۲۵ و ۴۰ درجه سلسیوس در یک بازه زمانی ۶۰ روزه نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. یافته‌ها کاهش محتوای تیمول نانوکپسول‌های نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سلسیوس در نتیجه فرایند تبخیر را تایید نمود (Pinto et al., 2016). گزارش‌ها در خصوص تغییر ترکیب شیمیایی پروتوتایپ نانوفرمولاسیون اسانس-های گیاهی در دوره‌های انبارداری متفاوت است، در یک بررسی (Flores et al., 2011)، پایداری نانوکپسول‌های اسانس *Melaleuca alternifolia* پوشش داده شده با پلی‌کاپرولاکتون<sup>۱۸</sup> در مدت ۶۰ روز نگهداری در دمای اتاق، بدون هر گونه کاهش در اجزاء فرار به اثبات رسید. در پژوهشی دیگر (Dias et al., 2014) در خصوص پایداری محتوای نانوامولسیون‌های اسانس *Copaifera* sp (Fabaceae) در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس و در یک دوره زمانی ۹۰ روزه، کاهش بتا-کاریوفیلین در نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تایید شد.

### خصوصیات نانوذرات

ماندگاری اسانس‌های گیاهی در فرمولاسیون‌های نانویی همانند نانوکپسول‌ها، مستلزم رسیدن به بهترین

تولیدمثل، بازدارندگی از رشد و دورکنندگی آن روی پشه ناقل مالاریا *Anopheles stephensi* به اثبات رسیده است (Tripathi et al., 2004).

*Lippie sidoides* Cham (Verbenaceae) گیاهی دارویی از مناطق شمال شرقی برزیل است، پیپریتون به عنوان جزء اصلی اسانس این گونه گیاهی نیز شناخته می‌شود (Oliveira et al., 2017). حضور پولگون، سومین ترکیب اصلی اسانس *M. longifolia* در پژوهش حاضر، به عنوان ماده مؤثره مهم اسانس دیگر گونه‌های جنس *Mentha* (Riahi et al., 2013) تایید شده است. براساس نتایج آنالیز GC-MS، بین مراحل قبل و بعد از فرمولاسیون از نظر فراوانی ترکیبات اصلی سازنده اسانس تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. تغییر محتوای اسانس در طول مدت انبارداری، در مورد اجزاء غیراصلی اسانس مشاهده شد. به رغم چنین تغییری، ماهیت شیمیایی اجزاء اصلی تشکیل دهنده اسانس در فرمولاسیون نانو در مدت انبارداری (شرایط دمایی  $1 \pm 25$  C درجه سلسیوس، رطوبت  $5 \pm 50$  درصد) اختلاف معنی‌داری نشان نداد، نتیجه آنکه هیچ نوع واکنش اکسیداسیون یا هیدرولیزی در مورد اجزاء اصلی اسانس، در بازه زمانی مورد بررسی اتفاق نیفتاده است. تغییر ترکیب شیمیایی پروتوتایپ نانوفرمولاسیون اسانس‌ها در طول دوره انبارداری، می‌تواند ناشی از واکنش‌های بین اجزاء سازنده اسانس در طی مراحل ساخت و انبارداری نانوفرمولاسیون‌ها باشد. در همین ارتباط، می‌توان به همسویی معکوس افزایش غلظت تیمول<sup>۱۳</sup> در نانوفرمولاسیون اسانس *L. sidoides* با کاهش غلظت پیش‌سازهای آن (گاما-ترپینین<sup>۱۴</sup> و پی-سیمن<sup>۱۵</sup>) اشاره نمود. بیوسنتز تیمول از پیش‌سازهای آن، مستلزم آروماتیزه شدن گاما-ترپینین در پی-سیمن و هیدروکسیله شدن بعدی آن در حضور آنزیم‌های مؤثر در فرایند بیوسنتز این ترکیب فنلی است (Costa et al., 2014; Marchese et al., 2016). نتایج یک تحقیق (Oliveira et al., 2017)

16. E-caryophyllene

17.  $\beta$ -caryophyllene

18. Polycaprolactone (PCL)

13. Thymol

14.  $\gamma$ -terpinene

15. p-cymene



مقدار اسانس بارگذاری شده در نانوکپسول‌ها و در نتیجه افزایش راندمان ریزپوشانی را به دنبال دارد. بسته به نوع و ترکیب مواد دیواره‌ای، نسبت مواد هسته‌ای به مواد دیواره‌ای، پایداری و خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوذره تولیدی، راندمان ریزپوشانی از ۰ تا ۹۵٪ می‌تواند متغیر باشد (Baik *et al.*, 2004; Klinkesorn *et al.*, 2006). با افزایش راندمان ریزپوشانی، ماندگاری اسانس در نانوکپسول‌ها و مدت زمان رهایش نیز افزایش می‌یابد. به رغم افزایش اندک قطر نانوذرات با افزایش غلظت اسانس در محیط واکنش، تأثیرپذیری معنادار قطر نانوذرات تولیدی از میزان اسانس موجود در محیط واکنش به اثبات نرسیده است (Pinto *et al.*, 2016). قطر متوسط ذرات ۶۶-۸۰ نانومتر، پتانسیل زتای -۳۷، شاخص پراکندگی ۰/۲ و راندمان ریزپوشانی ۷۹/۶۴ درصد، از ویژگی‌های نانوسیلیکای حاوی اسانس پونه، تهیه شده با استفاده از روش سل-ژل در بررسی حاضر بوده است (جدول ۲). به رغم تغییر اندازه نانوذرات اسانس در دوره‌های زمانی ۸، ۱۶، و ۲۴ هفته پس از آماده‌سازی فرمولاسیون، متوسط قطر نانوذرات در بازه زمانی مورد بررسی، تغییر معنی‌داری نشان نداد. وجود تغییرات قابل ملاحظه در اندازه نانوذرات می‌تواند معیاری از تمایل نانوکپسول‌ها به ته‌نشینی و تجمع در طول زمان باشد. یافته‌های حاصل از یک مطالعه (Werdirin *et al.*, 2015) در خصوص بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و سمیت باقی‌مانده نانوذرات پلی‌اتیلن گلاکولیک اسانس ژرانیوم (*Geranium sp.*) و برگاموت (*Citrus reticulata*) علیه سوسری آلمانی (*Blatella germanica* (L.)) (Dictyoptera: Blatellidae)، افزایش اندازه نانوذرات از بیش از ۲۳۵ به بیش از ۴۵۰ نانومتر، کاهش ۵۰ درصدی محتوای نانوذرات و عدم تغییر معنادار اجزاء اصلی سازنده اسانس در دوره انبارداری یک ساله را تایید نمود. دلیل چنین افزایشی در اندازه نانوذرات و شاخص PDI، فرایند توده‌ای شدن ذرات در مدت یک سال انبارداری عنوان شد. در همین ارتباط در تحقیقی مشابه (Sharma *et al.*, 2017) در خصوص کارایی

فرمولاسیون برای ترکیب مواد دیواره‌ای و بهبود رهایش کنترل شده مواد هسته‌ای در مدت انبارداری است. در ساخت نانوکپسول‌ها، مواد مایع همانند اسانس‌های گیاهی پس از کپسوله شدن در مواد دیواره‌ای، به پودری خشک تبدیل می‌شوند. غشاء برآمده از مواد دیواره‌ای، دارای نفوذپذیری نسبی (نیمه تراوا) بوده و از کارایی مشخصی در جهت جلوگیری از رهایش و اکسیده شدن مواد موثره برخوردار است. این در حالی است که تعیین نرخ آزادسازی مواد موثره از نانوکپسول‌ها در رسیدن به پایداری قابل اطمینان، در مراحل کاربرد و انبارداری اسانس‌های گیاهی، یک ضرورت است (Hosseini *et al.*, 2013). اثرگذاری خصوصیات فیزیکوشیمیایی نانوفرمولاسیون اسانس‌های گیاهی، بر کیفیت رهاسازی مواد موثره و در نتیجه کارایی زیستی آنها تایید شده است. نوع، شکل، تخلخل، ابعاد اجزاء سازنده نانوکپسول، ضخامت مواد دیواره، راندمان ریزپوشانی، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و مقدار اسانس بارگذاری شده از مهمترین خصوصیات ساختاری هستند که همزمان از بیشترین اثرگذاری بر کیفیت رهاسازی‌ها نیز برخوردار هستند (Nuruzzaman, *et al.*, 2016; Ahsaei *et al.*, 2020; Lucia & Guzman, 2021). جذب سلولی، سمیت، خاصیت بیولوژیکی، نحوه رفتار و در دسترسی زیستی نانوذرات در سامانه‌های نانویی به اندازه آنها بستگی دارد (Mendes *et al.*, 2014). در خصوص تأثیر اندازه و شکل نانوذرات بر سمیت آنها، اطلاعات اندکی در دسترس است، حال آنکه، جهت طراحی و معرفی حشره‌کش‌های جدید درک این ارتباط یک ضرورت است. مشخص شده است که نانوذرات سیمی/مفتولی نقره در مقایسه با اشکال کروی شکل از سمیت سلولی بیشتری بر سلول‌های اپیتلیال آلوئولی<sup>۱۹</sup> برخوردار هستند (Stoehr *et al.*, 2011). تغییر شکل و اندازه نانوذرات سیلیکا می‌تواند پاسخ‌های سلولی متفاوت در موجودات هدف را در پی داشته و بر مهاجرت سلولی به سطح، در سامانه‌های بیولوژیکی نیز تأثیرگذار باشد (Huang *et al.*, 2010). افزایش قطر ذرات، افزایش

تا ۵۰- میلی‌ولت) برای سوسپانسیون‌های پایدار قرار دارد (Honary & Zahir, 2013). در این محدوده از پتانسیل زتا، نیروهای دافعه الکتروستاتیکی بر تمایل طبیعی ذرات فرمولاسیون به تجمع یا ته‌نشینی فائق می‌آیند. نتایج این پژوهش، ضمن تأیید قرارگیری اندازه متوسط ذرات نانوفرمولاسیون اسانس پونه در مقیاس نانویی (۱۰۰-۰ نانومتر)، پایداری و یکنواختی مطلوب نانوفرمولاسیون تولیدی به روش سل-ژل را نیز به اثبات می‌رساند. شاخص پراکندگی به عنوان معیاری از توزیع قطر ذرات در سوسپانسیون‌ها در نظر گرفته می‌شود. ضمن آنکه اثرگذاری اندازه ذرات و چگونگی توزیع آن بر پایداری، رهاسازی مواد موثره و راندمان ریزپوشانی تأیید شده است (Ahsaei *et al.*, 2020; Lucia & Guzman, 2021). ثابت شده است که شاخص‌های پراکندگی کوچک، توزیع یکنواخت‌تر اندازه و در نتیجه یکدستی مطلوب قطر نانوذرات را به همراه دارند (Hasani *et al.*, 2015). شاخص پایین پراکندگی (۰/۲) نیز یکنواختی اندازه ذرات و نبود حالت تجمع در نانوذرات را تأیید نمود. شاخص پراکندگی معرف میزان تفرق اندازه ذرات از مقدار میانگین است، معیار قطعی یکدستی مجموعه ذرات در فرمولاسیون‌های تولیدی، تأیید شاخص‌های پراکندگی کمتر از ۰/۳ عنوان شده است (Dias *et al.*, 2014; Flores *et al.*, 2011; Werdin González *et al.*, 2015).

در مطالعه‌ی حاضر از CTAB، به عنوان یکی از پرکاربردترین سورفکتانت‌های کاتیونی به میزان ۰/۰۸ گرم، در تهیه نانوذرات حاوی اسانس استفاده شد. پس از فرایند هموژنیزاسیون و در طول مدت ذخیره‌سازی، سورفکتانت‌ها با ایجاد پایداری شیمیایی و فیزیکی در سامانه، از تجمع نانوکپسول‌ها جلوگیری می‌کنند، از این رو در تهیه نانوذرات، سورفکتانت‌ها عنصری کلیدی به شمار می‌روند. افزایش غلظت سورفکتانت، کاهش کشش بین‌سطحی و در نتیجه کاهش قطر متوسط نانوذرات را به دنبال دارد. با رسیدن به غلظت بحرانی تشکیل میسل، کشش بین سطحی نسبتاً ثابت مانده و اندازه قطر ذرات دیگر تغییر نمی‌کند

کازئینات سدیم بر پایداری نانوامولسیون اسانس میخک ضمن مثبت گزارش شدن نقش کازئینات در افزایش پایداری نانوذرات تولیدی، متوسط قطر ذرات، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و راندمان ریزپوشانی به ترتیب ۱۷۲/۱ نانومتر، ۰/۱۵۲، ۳۷- میلی‌ولت و ۸۸٪ بدست آمد. در ارزیابی پایداری نانوامولسیون نسبت به رسوب‌گذاری و تجمع ذرات در یک دوره-انبارداری در دمای محیط (۲۵ °C)، تغییر مشهود در پایداری نانوامولسیون و رسوب‌گذاری پس از بیست روز انبارداری تأیید شد. وجود قطرات کوچک روغن با دیواره‌ای متراکم و ضخیم، دلیل شروع رسوب‌گذاری نانوفرمولاسیون تولیدی در روز بیستم انبارداری عنوان شد. افزایش قطر ذرات همسو با افزایش زمان انبارداری از ۱۷۲/۱ به ۴۱۵/۳ نانومتر در روز بیستم انبارداری (دمای ۲۵ °C) یافته دیگر این مطالعه بوده است (Sharma *et al.*, 2017). افزایش سمیت تماسی نانوذرات اسانس و افزایش قابل ملاحظه سمیت تماسی باقی‌مانده نانوذرات تولیدی در نتیجه رهایش تدریجی و پایدار ترین‌های فعال سازنده اسانس، دو یافته دیگر این پژوهش بوده است. پتانسیل زتا، معیاری از بزرگی نیروی الکترواستاتیک (نیروی جاذبه یا دافعه بار الکتریکی ذرات) در فرمولاسیون‌ها بوده و اجزاء سازنده اسانس‌های گیاهی نظیر اسیدهای آزاد در کنار نوع سورفکتانت مورد استفاده در تهیه فرمولاسیون، عوامل مهمی هستند که می‌توانند پتانسیل زتا را به سمت مقادیر منفی سوق دهند (Dias *et al.*, 2014). با مثبت شدن پتانسیل زتا و در نزدیکی نقطه ایزوالکتریک، ایجاد حالت تجمع در ذرات فرمولاسیون به دلیل نیروی جاذبه بین ذرات با بار مخالف که به طور یکنواخت در سوسپانسیون پراکنده هستند، محتمل به نظر می‌رسد. ارتباط قوی این شاخص با پدیده‌هایی همچون پراکندگی، لختگی و تجمع نانوذرات به اثبات رسیده است. در ارزیابی پایداری دیسپرسیون‌ها، امولسیون‌ها و سوسپانسیون‌ها، پتانسیل زتا پارامتری کلیدی است. پتانسیل زتای سوسپانسیون نانوذرات در بررسی حاضر، به شدت منفی بوده (۳۷- میلی‌ولت) و در نزدیکی محدوده‌ی پتانسیل زتای مورد انتظار (۴۱-

شناخته می‌شود (Pagliaro, 2009). در مقایسه با ترکیبات پلیمری، ساختار نانوذرات ساخته شده با استفاده از روش سل-ژل در اثر تغییر دما و یا اسیدیته پایدار بوده و متورم نمی‌گردد. بی‌اثری نسبی یا واکنش‌پذیری شیمیایی ضعیف مواد ماتریسی با ماده فعال کپسوله شده، شفافیت، محافظت ماده فعال در برابر عواملی همچون دما و اکسیداسیون و مقاومت مکانیکی بالا از دیگر مزیت‌های روش سل-ژل به شمار می‌روند. ذرات سیلیکای بی‌شکل حاصل از این روش، غیر سمی و زیست سازگار بوده و از مقاومت بالایی در برابر حمله عوامل میکروبی برخوردار هستند. از سیلیکاهای حاصل از این روش می‌توان برای کپسوله کردن مایعات بر پایه آب و مایعات بر پایه روغن استفاده نمود. با استفاده از این روش می‌توان رهایش ماده فعال محصور شده را به صورت مؤثر کنترل نمود (Pagliaro, 2009). در یک بررسی (Liu *et al.*, 2006) از نانوسیلیکای متخلخل توخالی جهت رهایش کنترل شده و موفق یک آفت‌کش قابل حل در آب به نام والیدامیسین با ظرفیت بارگذاری بالا (wt.%) (۳۶) استفاده شد. در بررسی‌های تکمیلی الگوی رهایش والیدامیسین از نانوذرات سیلیکایی، الگوی چند مرحله‌ای تشخیص داده شد. به عقیده نویسندگان مقاله، دلیل احتمالی چنین الگویی نقاط جذب و بارگذاری متفاوت والیدامیسین روی نانوذرات سیلیکایی بوده است. استفاده از الگوهای رهایش چند مرحله‌ای در کشاورزی به ویژه برای ترکیبات آفت‌کش که کنترل موفق جمعیت‌های آفت مستلزم رهاسازی فوری و پایدار ماده مؤثره در بازه‌های زمانی مشخصی است، یک ضرورت است، در رسیدن به این ضرورت کمک گرفتن از حامل‌های نانوسیلیکایی متخلخل گزینه‌ای ایده‌آل خواهد بود (Liu *et al.*, 2006). ساختار تو خالی، سطح مخصوص بالا، ابعاد منافذ قابل تنظیم و پایداری گرمایی و مکانیکی از شاخص‌های نانوسیلیکای متخلخل توخالی است. در تحقیقی مشابه (Wen *et al.*, 2005) بارگذاری نانوسیلیکای متخلخل با آفت‌کش روغنی اورمکتین به روش ساده غوطه‌وری انجام شد. نتایج این مطالعه نانوسیلیکای متخلخل را

(Surasmo *et al.*, 2010). علاوه بر سمیت ذاتی ماده مؤثره، نوع سورفکتانت نیز در بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون و افزایش خواص بیولوژیکی ماده مؤثره تأثیرگذار است. در اکثر بررسی‌های قبلی در تهیه نانوفرمولاسیون اسانس‌های گیاهی از انواع دیگر سورفکتانت‌ها همچون Procetyl® (Oliveira *et al.*, 2017)، توین<sup>۲۰</sup> (Montefuscoli *et al.*, 2014)، پلی‌اتیلن‌گلیکول (polyethylene glycol) (Werdir Gonzalez *et al.*, 2014) و یا عوامل کپسوله کننده‌ای<sup>۲۱</sup> نظیر  $\beta$ -cyclodextrin (Galvao *et al.*, 2015)، poly- $\beta$ -hydroxybutyrate و poly- $\epsilon$ -caprolactone (Carvalho *et al.*, 2015) استفاده شده است.

معرفی حامل مناسب به منظور رهایش کنترل شده و پایدار مواد مؤثره یکی از موضوعات مهم تحقیق در زمینه سامانه‌های رهاساز در سال‌های اخیر بوده است. در دهه گذشته با توسعه سامانه‌های حامل، پژوهش‌های متعددی در خصوص استفاده از مواد زیستی، پلیمرها، مواد سیلیکونی و فلزات در ابعاد میکرو تا نانوذره انجام شده است. استفاده از حامل‌های نانویی افزایش دسترسی زیستی، کاهش سمیت، افزایش زمان رهاسازی و هدف‌گیری دقیق مواد مؤثره را به همراه دارد. متأسفانه عمده بررسی‌های صورت گرفته در خصوص کاربرد سامانه‌های هوشمند دارویی بوده است (Xu *et al.*, 2005) و در زمینه رهایش پایدار و کنترل شده ترکیبات آفت‌کش مطالعات اندکی صورت گرفته است. نانوحشره‌کش‌ها ممکن است از اجزاء غیرآلی (اکسیدهای فلزی) و/یا اجزاء آلی (همانند پلیمرها و اسانس‌های گیاهی) و در شکل‌های متفاوت (نانوذره، میکرو و نانوامولسیون) تشکیل شده باشند (Montefuscoli *et al.*, 2014). در بین فن‌آوری‌های جدید معرفی شده در قرن اخیر جهت کپسوله کردن، کپسوله کردن ترکیبات آلی آروماتیک و معطر در نانوذرات سیلیکای متخلخل به عنوان روش نویدبخش جایگزین کپسوله کردن در پلیمرهای آلی

20. Tween

21. Encapsulating agents

و پلی استرها (پلی کاپرولاکتون، پلی اتیلن گلیکول<sup>۲۳</sup>) استفاده می شود (Badawy et al., 2015; Christofoli et al., 2015; Kashyap et al., 2015; Ragaie & Sabry, 2014; Werdin Gonzalez et al., 2014). در یک مطالعه (Ahsaei et al., 2020) با هدف ارزیابی قدرت حشره کشی نانوکپسول اسانس گونه های *Zataria multiflora* و *Rosmarinus officinalis* پایه ی پلی کاپرولاکتون و کیتوزان علیه *T. confusum*، متوسط اندازه ذرات ۴۰۷-۱۸۱ نانومتر، شاخص پراکندگی ۰/۵۶-۰/۳۱، بار مثبت سطحی ۲۹/۲-۱۱/۶ میلی ولت و راندمان ریزپوشانی ۷۵/۸-۸۴/۴٪ برآورد گردید. تایید کارایی بیشتر فرمولاسیون نانویی هر دو اسانس در مقایسه با فرمولاسیون غیرنانویی علیه حشرات بالغ *T. confusum* در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد، یافته دیگر این بررسی بوده است. دلیل چنین تفاوتی رهایش پایدار مواد موثره نانوذرات در شرایط مشابه در مقایسه با شکل آزاد اسانس عنوان شد. پلی کاپرولاکتون، پلیمری نیمه کریستالی و آبگریز با مصارف دارویی است. تجزیه ی تدریجی و سازگاری زیستی ویژگی های مهمی هستند که استفاده از این پلیمر در فرمولاسیون های نانویی اسانس های گیاهی و سامانه های دارویی با رهایش کنترل شده را عملی ساخته است (Pinto et al., 2016). متوسط قطر ذرات ۱۷۳/۶ نانومتر، شاخص پراکندگی ۰/۲ و کارایی کپسوله شدگی ۷۰/۶٪، ویژگی های سوسپانسیون نانوکپسول های پوششی با پلی کاپرولاکتون، حاوی اسانس برگ *L. sidoides* با استفاده از روش امولسیون-انتشار<sup>۲۴</sup> و کالیفور پی<sup>۲۵</sup> ۱۸۸ به عنوان سورفکتانت بوده است (Pinto et al., 2016). ویژگی-های دیگر سوسپانسیون نانوکپسول های تولیدی اسانس با استفاده از روش امولسیون-انتشار، ماهیت غیرسمی اجزاء سازنده، تخریب پذیری زیستی و پایداری سوسپانسیون تولیدی در دمای ۵ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ روز عنوان شده است. البته نظر به تبخیرپذیری اسانس، افزودن استر اسیدچرب به

به عنوان حاملی ایده آل برای رهایش پایدار و کنترل شده اورمکتین معرفی نمود. منافذ نانویی موجود در کانال های دیواره نانوسیلیکای متخلخل، گیرافتادن مولکول های آفت کش، داخل ذرات نانوسیلیکا را با مشکل مواجه ساخت، به طوری که رسیدن به نقطه اشباع جذبی اورمکتین، پس از گذشت دو هفته، میسر گردید. از طرف دیگر وجود شبکه ای از منافذ باز و توخالی درون ذرات نانوسیلیکای متخلخل، خروج ماده موثره به شکل گاز را تسهیل و سرعت بخشید. در پژوهش حاضر برای اولین بار از روش سل-ژل به منظور ریزپوشانی اسانس گونه ای گیاه با هدف بررسی امکان استفاده از آن در برنامه های مدیریت تلفیقی آفات استفاده شده است. از این رو اطلاعاتی در خصوص استفاده از این روش جهت معرفی فرمولاسیون های جدیدی از اسانس های گیاهی با امکان کاربرد علیه گونه های خسارتزا در دسترس نیست، پژوهش های قبلی نیز همگی بر استفاده از پلیمرها متمرکز بوده اند. جهت حفظ خواص شیمیایی اسانس های گیاهی با زمینه های کاربرد بالقوه ی بیولوژیکی استفاده از پلیمرهای پوششی ترجیحاً پلیمرهای پوششی زیست تخریب در فرمولاسیون این گروه از ترکیبات گیاهی، نوعی ضرورت است (Donsi et al., 2011). قیمت مناسب، حلالیت در آب، زیست تخریب پذیری، سهولت در مراحل ساخت و کارآزمایی، عدم سمیت و زیست سازگاری از مهمترین ویژگی های است که در انتخاب پلیمر جهت ساخت نانوذرات باید مورد توجه قرار گیرد (Krishna et al., 2006). چشم-انداز استفاده از نانوفرمولاسیون اسانس های گیاهی بر پایه ترکیبات پلیمری در جهت رفع موانع عملی استفاده از این گروه از ترکیبات گیاهی در برنامه های مدیریت تلفیقی آفات مثبت و درخور توجه بوده است. پلیمرها موادی با قابلیت های کاربرد متعدد در حوزه های مختلف از جمله پزشکی، داروسازی و کشاورزی هستند. در تهیه وساخت نانوحشره کش ها از انواع مختلف پلی ساکاریدها (کیتوزان<sup>۲۲</sup>، آلژینات و نشاسته )

23. Polyethylene glycol, PEG

24. Emulsion-diffusion method

25. Kolliphor P188®, (KOL, MW 7680-9510 Da)

22. Chitosan

بسیاری از گونه‌های گیاهی یافت می‌شوند. در بررسی خصوصیات نانوذرات کیتوزان حاوی دو ترکیب اوژنول (Woranuch & Yoksan, 2013) و کارواکرول (Keawchaon & Yoksan, 2011)، متوسط اندازه و بازده کپسوله شدن برای نانوذرات کیتوزان حاوی اوژنول ۱۰۰-۸۰ نانومتر و بازده کپسوله شدن ۲۱-۲ درصد و برای نانوذرات کیتوزان حاوی کارواکرول متوسط اندازه ۸۰-۴۰ نانومتر و بازده کپسوله شدن ۳۱-۱۴ درصد گزارش شد. در هر دو بررسی جهت ساخت نانوذرات کیتوزان، از روش ژلاتین یونی استفاده شد. اندازه بزرگتر نانوذرات کیتوزان می‌تواند به دلیل اندازه اولیه بزرگتر ذرات اسانس باشد که به عنوان یک متغیر مهم در تعیین اندازه متوسط نانوذرات، شناخته می‌شود. علاوه بر اندازه اولیه ذرات اسانس، ترکیب مواد ماتریسی/ پوششی و غلظت اولیه آنها نیز در اندازه نهایی نانوذرات تولیدی موثر هستند (Fan et al., 2012). ارتباط کپسوله شدن با اسانس بارگذاری شده توسط Maji et al. (2007) توضیح داده شده است، به عقیده این محققین عامل تعیین کننده و مؤثر در بازده کپسوله شدن، ارتباط پیچیده و مؤثری است که بین میزان اسانس بارگذاری شده، راندمان همزن و نوع پلیمر وجود دارد. دمای مرحله‌ی استخراج اسانس بارگذاری شده از نانوذرات کیتوزان، عاملی است که می‌تواند در کنار عوامل یاد شده در تعیین میزان اسانس بارگذاری شده در نانوذرات مؤثر باشد. در بررسی اخیر اندازه ۶۷۲ نانومتری ذرات در نمونه‌های شاهد کیتوزان در کنار شاخص پراکندگی ۰/۶۴۷، موید وجود تفرق ابعادی قابل ملاحظه در سوسپانسیون بدست آمده بوده است. دلیل احتمالی چنین افزایشی در اندازه ذرات و شاخص پراکندگی، تجمع کواسروتهای کیتوزان- پنتاسدیم تری‌پلی فسفات در محیط واکنش، در نتیجه نبود قطره‌های اسانس در نمونه‌های شاهد در زمان تشکیل نانوذرات عنوان شده است. ماهیت پلیمر مورد استفاده جهت ریزپوشانی، اندازه و بار الکتریکی نانوذرات، از طریق تغییر در فرایند جذب سلولی و توزیع زیستی، خصوصیات کلی نانوذرات از نگاه سم‌شناسی را نیز

هسته نانوذره جهت تضمین کارایی مطلوب کپسوله شدن توصیه شده است (Pinto et al., 2016). پلی-اتیلن گلایکول پلیمری محلول در آب است که به عنوان ماده حامل یا پوشاننده در فرایندهای کپسوله کردن اسانس‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در یک بررسی (Yang et al., 2009) کارایی کپسوله شدن اسانس سیر، پوشش داده شده با پلی‌اتیلن گلایکول با استفاده از روش پراکندگی مذاب ۸۰٪ و قطر ذرات کمتر از ۲۴۰ نانومتر برآورد گردید. در حالی که قطر ذرات و کارایی کپسوله‌شدن اسانس پونه *M. piperita* با استفاده از همین روش ۳۳۱-۲۲۶ نانومتر و راندمان کپسوله‌شدن نیز ۸۳-۷۸٪ بوده است (Kumar et al., 2014). در بررسی اثرات لاروکنشی و تماسی نانوذرات پلیمری اسانس ژرانیوم *Geranium maculatum* و برگاموت *Citrus bergamia* روی پشه‌های *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) از پلی‌اتیلن گلایکول و کیتوزان به عنوان ماتریس پلیمری پوشاننده استفاده شد (Weridin González et al., 2017). در بررسی خصوصیات فیزیکی- شیمیایی نانوذرات، اندازه نانوذرات پلیمری بر پایه پلی‌اتیلن گلایکول و کیتوزان به ترتیب کمتر از ۲۵۵ و ۵۳۵ نانومتر و کارایی فرایند کپسوله شدن نیز به ترتیب ۶۸ تا ۷۷ و ۲۲ تا ۳۸ درصد برآورد گردید. نانوذرات ساخته شده بر پایه کیتوزان در مقایسه با نانوذرات ساخته شده با استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول دارای اندازه بزرگتر (۵۳۵-۴۳۹ نانومتر)، شاخص پراکندگی کمتر از ۰/۳۸ و راندمان کپسوله شدن کوچکتر (۳۸-۲۲ درصد) بوده است. براساس نتایج این تحقیق، سمیت حاد و تماسی هر دو اسانس بر حسب نوع ماتریس پلیمری پوششی متغیر بوده است، سمیت حاد و تماسی نانوذرات پلیمری بر پایه کیتوزان در مقایسه با پلی‌اتیلن گلایکول بیشتر گزارش شد. به عقیده این محققین نانوذرات پلیمری حاوی اسانس‌های گیاهی می‌توانند به عنوان ترکیبات لاروکنش دوست‌دار محیط زیست، در امر کنترل پشه‌ها مؤثر باشند. اوژنول و کارواکرول دو ترکیب مهمی هستند که در اسانس

نخواهد بود (Lucia & Guzman, 2021). در پژوهش حاضر برای اولین بار از روش سل-ژل به منظور ریزپوشانی اسانس گونه‌ای گیاه با هدف بررسی امکان استفاده از آن در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات استفاده شده است، پژوهش‌های قبلی همگی بر استفاده از پلیمرها متمرکز بوده‌اند. از ویژگی‌های نانوسیلیکای حاوی اسانس پونه، تهیه شده با استفاده از روش سل-ژل، قطر متوسط ذرات ۸۰-۶۶ نانومتر، پتانسیل زتای ۳۷-، شاخص پراکندگی ۰/۲ و راندمان ریزپوشانی ۷۹/۶۴ درصد بوده است. بر اساس نتایج آنالیز GC-MS، اصلی‌ترین اجزاء تشکیل دهنده اسانس *M. longifolia* به ترتیب عبارت بودند از پیریتنون، پیریتنون اکسید و پولگون. نتایج این بررسی می‌تواند آگاهی‌ها در خصوص معرفی و ساخت نانوحشره‌کش‌های جدیدتر و ایمن‌تر بر پایه اسانس‌های گیاهی در مبارزه با گونه‌های مختلف آفات را ارتقاء بخشد.

### سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی‌سینا، به جهت حمایت مالی بررسی حاضر، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تحت تأثیر قرار می‌دهند (He et al. 2010). در حال حاضر، دانسته‌ها در زمینه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوفرمولاسیون‌ها اندک است، حال آنکه معرفی نانوفرمولاسیون‌های جدید ترکیبات سمیوکیکال، اسانس‌های گیاهی و اجزاء سازنده آنها که در عین اثربخشی مناسب و پایداری محیطی، از دامنه کاربرد گسترده‌ای نیز برخوردار باشند، در گرو افزایش آگاهی‌ها در این خصوص خواهد بود.

### نتیجه‌گیری کلی

پیامدهای منفی استفاده از حشره‌کش‌های مرسوم، تقاضای بازار مصرف برای معرفی و تولید فرمولاسیون‌های جدید، امن و مؤثر، با امکان کاربرد علیه گونه‌های مختلف آفت را بالا برده است. استفاده از فن‌آوری نانو جهت معرفی و ساخت فرمولاسیون‌های جدید حشره‌کش‌های مرسوم و زیستی با امکان رهایش کنترل شده، اتفاقی نوظهور بوده و هنوز در مراحل ابتدایی خود است. هدف غایی بررسی‌های آزمایشگاهی، کاربرد عملی و تجاری نانوفرمولاسیون اسانس‌های گیاهی است، ضرورتی که رسیدن به آن بدون ارزیابی‌های دقیق از ارتباط فعالیت زیستی نانوفرمولاسیون‌ها با خصوصیات فیزیکوشیمیایی تاثیرگذار بر قدرت کنترلی و بازدارندگی نانوذرات علیه گونه‌های آفت، امکان‌پذیر

### REFERENCES

- Ahsaei, S. M., Talebi-Jahromi, Kh. & Amoabediny, G. (2020). Insecticidal activity of polycaprolactone nanoparticles decorated with chitosan containing two essential oils against *Tribolium confusum*. *International Journal of Pest Management*, 66, 1-9.
- Amzouar, S., Boughdad, A., Maatoui, A. & Allam, L. (2016). Comparison of the chemical composition and the insecticidal activity of essential oils of *Mentha suaveolens* Ehrh collected from two different regions of Morocco, against *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 18, 836-845.
- Anjali, C. H., Khan, S. S., Margulis-Goshen, K., Magdassi, S., Mukherjee, A. & Chandrasekaran, N. (2010). Formulation of water-dispersible nanopermethrin for larvicida applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 1932-1936.
- Ansari, M. A., Vasudevan, P., Tandon, M. & Razdan, R. K. (2000). Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology*, 71, 267-271.
- Aouadi, G., Haouel, S., Soltani, A., Ben Abada, M., Boushah, E., Elkahoui, S., Taibi, F., Mediouni Ben Jemaa, J. & Bennadja, S. (2020). Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127, 471-482.
- Ayil-Gutierrez, B. A., Villegas-Mendoza, J. M., Santes-Hernández, Z., Paz-González, A. D., Mireles-Martínez, M., Rosas-García, N. M. & Rivera, G. (2015). *Ruta graveolens* extracts and metabolites against *Spodoptera frugiperda*. *Natural Product Communications*, 10, 1955-1958.

7. Badawy, M. E., Taktak, N. E., Awad, O. M., Elfiki, S. A. & El-Ela, N. E. A. (2015). Larvicidal activity of temephos released from new chitosan/alginate/gelatincapsules against *Culex pipiens*. *International Journal of Mosquito Research*, 2, 45–55.
8. Bahadori, M. B., Zengin, G., Bahadori, S., Dinparast, L. & Movahhedin, N. (2018). Phenolic composition and functional properties of wildmint (*Mentha longifolia* var. *calliantha*). *International Journal of Food Properties*, 21, 198–208.
9. Baik, M. Y., Suhendro, E. L., Nawar, W. W., McClements, D. J., Decker, E. A. & Chinachoti, P. (2004). Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, 355–360.
10. Boukhebt, H., Chaker, A. N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H. & Harzallah, D. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*, 3, 267–275.
11. Carvalho, S. S., Vendramim, J. D., Sa, I. C. G., Silva, M. F. G. F., Ribeiro, L. P. & Forim, M. R. (2015). Efeito inseticida sistémico de nanoformulações base de nim sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotipo B em tomateiro. *Bragantia*, 74, 298–306.
12. Chaaban, S. B., Hamdi, S. H., Mahjoubi, K. & Jemaa, J. M. B. (2019). Composition and insecticidal activity of essential oil from *Ruta graveolens*, *Mentha pulegium* and *Ocimum basilicum* against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 126, 237–246.
13. Chang, Y., Lee, S. H., Na, J. H., Chang, P. S. & Han, J. (2017). Protection of grain products from *Sitophilus oryzae* (L.) contamination by anti-insect pest repellent sachet containing allyl mercaptan microcapsule. *Journal of Food Science*, 82, 2634–2642.
14. Christofoli, M., Costa, E. C. C., Bicalho, K. U., de Cassia Domingues, V., Peixoto, M. F., Alves, C. C. F., Araujo, W. L. & de Melo Casal, C. (2015). Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. *Industrial Crops and Products*, 70, 301–308.
15. Costa, R. G., Faria, L. J. G., Gusmao, S. A. L., Silva, J. K. R., Andrade, E. H. A. & Maia, J. G. S. (2014). Essential oil of Pataqueira (*Conochea Scoparioides* Benth.): from natural occurrence and produced by hydroponics. *Advances in Plants and Agriculture Research*, 1, 1–5.
16. Dias, D. O., Colombo, M., Kelmann, R. G., Kaiser, S., Lucca, L. G., Teixeira, H. F., Limberger, R. P., Veiga-Jr, V. F. & Koester, L. S. (2014). Optimization of Copaiba-oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods. *Industrial Crops and Products*, 59, 154–162.
17. Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M. & Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *Food Science and Technology*, 44, 1908–1914.
18. Ebadollahi, S. (2013). Essential oils isolated from Myrtaceae family as natural insecticides. *Annual Review and Research in Biology*, 3, 148–175.
19. Fan, W., Yan, W., Xu, Z. & Ni, H. (2012). Formation mechanism of monodisperse, lowmolecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and Surfaces B*, 90, 21–27.
20. Flores, F. C., Ribeiro, R. F., Ourique, A. F., Rolim, C. M. B., Silva, C. B., Pohlmann, A. R., Beck, C. R. & Guterres, S. S. (2011). Nanostructured systems containing an essential oil: protection against volatilization. *Química Nova*, 34, 968–972.
21. Galvao, J. G., Silva, V. F., Ferreira, S. G., Franca, F. R. M., Santos, D. A., Freitas, L. S., Alves, P. B., Araújo, A. A. S., Cavalcanti, S. C. H. & Nunes, R. S. (2015).  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes containing *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oil: an alternative to control *Aedes aegypti* larvae. *Thermochimica Acta*, 608, 14–19.
22. Gonzalez, J. O. W., Gutiérrez, M. M., Ferrero, A. A. & Band, B. F. (2014). Essential oils nanoformulations for stored-product pest control- characterization and biological properties. *Chemosphere*, 100, 130–138.
23. Hasani, D. J., Elhami Rad, A. H., Hosseini, M. M. & Shahidi Noghabi, M. (2015). Physicochemical characteristic of microencapsulated fish oil by freeze-drying using different combinations of wall materials. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 12, 45–51.
24. He, C., Hu, Y., Yin, L., Tang, C. & Yin, C. (2010). Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Biomaterials*, 31, 3657–3666.
25. Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate Polymer*, 95, 50–61.
26. Honary, S. & Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems – a review (Part 2). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12, 265–273.

27. Hough-Goldstein, J. A. (1990). Antifeedant effects of common herbs on the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 119, 234–238.
28. Huang, X., Teng, X., Chen, D., Tang, F. & He, J. (2010). The effect of the shape of mesoporous silica nanoparticles on cellular uptake and cell function. *Biomaterials*, 31, 438–448.
29. Ikawati, S., Himawan, T., Abadi, A. L., & Tarno, H. (2020). Toxicity nanoinsecticide based on clove essential oil against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Pesticide Science*, 20, 1-7.
30. Isman, M. B. (2020). Botanical Insecticides in the Twenty-First Century-Fulfilling Their Promise? *Annual Review of Entomology*, 65, 233-249.
31. Javed, B., Nadhman, A. & Mashwani, Z. U. R. (2020). Phytosynthesis of Agnanoparticles from *Mentha longifolia*: their structural evaluation and therapeutic potential against HCT116 colon cancer, Leishmanial and bacterial cells. *Applied Nanoscience*, 10, 3503–3515.
32. Kaparathi, R. & Chari, K. S. (1959). Solubilities of vegetable oils in aqueous ethanol and ethanol-hexane mixtures. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 36, 77–80.
33. Kashyap, P. L., Xiang, X. & Heiden, P. (2015). Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 77, 36–51.
34. Kasrati, A., Aloui Jamali, C., Bekkouche, K., Spooner-Heart, R., Leach, D. & Abbad, A. (2015). Chemical characterization and insecticidal properties of essential oils from different wild population of *Mentha suaveolens* subsp. *timija* (Briq.) Harley from Morocco. *Chemistry and Biodiversity*, 12, 823–831.
35. Keawchaon, L. & Yoksan, R. (2011). Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. *Colloids and Surfaces B*, 84, 163–171
36. Khanuja, S. P. S., Kumar, S., Shasany, A. K., Dhawan, S., Darokar, M. P., Tripathy, A. K., Satapathy, S., Santha Kumar, T. R., Gupta, V. K., Tripathi, A. K., Awasthi, S., Prajapati, V., Naqvi, A. A., Agrawal, K. K., Bahal, J. R., Singh, A. K., Ahmed, A., Bansal, R. P., Krishna, A. & Saikia, D. (2001). Multiutility plant “Ganga” of *Mentha spicata* var. *viridis*. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 23, 113-116.
37. Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E. A. & McClements, D. J. (2006). Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. *Food Reserch International*, 39, 449–457.
38. Krishna. R. S., Shivakumar, H. G., Gowda, D. V. & Banerjee, S. (2006). Nanoparticles: A novel colloidal drug delivery system. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 40, 15–21.
39. Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. & Satya, S. (2014). Preparation and characterization of PEG-Mentha oil nanoparticles for housefly control. *Colloids and Surfaces B*, 116, 707–713.
40. Liu, F., Wen, L. X., Li, Z. Z., Yu, W., Sun, H. Y. & Chen J. F. (2006). Porous hollow silica nanoparticles as controlled delivery system for water-soluble pesticide. *Materials Research Bulletin*, 41, 2268-2275.
41. Lucia, A. & Guzman, E. (2021). Emulsions containing essential oils, their components or volatile semiochemicals as promising tools for insect pest and pathogen management. *Advances in Colloid and Interface Science*, 287, 102330.
42. Maji, T. K., Baruah, I., Dube, S. & Hussain, M. R. (2007). Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresource Technology*, 98, 840–844.
43. Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Lorenzo, A. D., Nabavi, S. F., Gortzi, O., Izadi, M. & Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: a brief review of the literature. *Food Chemistry*, 210, 402–414.
44. Mendes, R. G., Koch, B., Bachmatiuk, A., El-Gendy, A. A., Krupskaya, Y., Springer, A., Klingeler, R., Schmidt, O., Buchner, B., Sanchez, S. & Rummeli, M. H. (2014). Synthesis and toxicity characterization of carbon coated iron oxide nanoparticles with highly defined size distributions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1840, 160–169.
45. Menossi, M., Ollier, R. P., Casalengué, C. A. & Alvarez, V. A. (2021). Essential oil-loaded bi-nanomaterials for sustainable agricultural applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 96, 2109-2122.
46. Montefuscoli, A. R., González, J. O. W., Palma, S. D., Ferrero, A. A. & Band, B. F. (2014). Design and development of aqueous nanoformulations for mosquito control. *Journal of Parasitology Research*, 113, 793–800.



47. Najafi, M., Yousefi, Y. & Rafati, A. A. (2012). Synthesis, characterization and adsorption studies of several heavy metal ions on amino-functionalized silica nano hollow sphere and silica gel, *Separation and Purification Technology*, 85, 193-205.
48. Natrajan, D., Srinivasan, S., Sundar, K. & Ravindran, A. (2015). Formulation of essential oil-loaded chitosan alginate nanocapsules. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23, 560-568.
49. Niksic, H., Kovac-Besovic, E., Duric, K., Korac, N., Omeragic, E. & Muratovic, S. (2014). Seasonal variation in content and chemical composition of essential oils from leaves of *Mentha longifolia* Huds. (Lamiaceae). *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 43, 29-34.
50. Nuruzzaman, Md., Rahman, M. M., Liu, Y. & Naidu, R. (2016). Nanoencapsulation, Nano-Guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 1447-83.
51. Oliveira, A. P., Santana, A. S., Santana, E. D. R., Lima, A. P. S., Faro, R. R. N., Nunes, R. S., Limab, A. D., Blanka, A. F., Araujo, A. P. A., Cristaldo, P. F. & Baccia, L. (2017). Nanoformulation prototype of the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol to population management of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*, 107, 198-205.
52. Pagliaro, M. (2009). *Silica-Based Materials for Advanced Chemical Applications*, RSC Publishing, Cambridge.
53. Pavela, R. (2008). Insecticidal properties of several essential oils on the house fly (*Musca domestica* L.). *Phytotherapy Research*, 22, 274-278.
54. Pinto, N., Rodrigues, T. S., Pereira, R. C., Silva, L. M., Cáceres, C. A., Azeredo, H. M., Muniz, C. R., Brito, E. S. & Canuto, K. (2016). Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Industrial Crops and Products*, 86, 279-288.
55. Politi, F. A., Nascimento, J. D., da Silva, A. A., Moro, I. J., Garcia, M. L., Guido, R. V., Pietro, R. C., Godinho, A. F. & Furlan, M. (2017). Insecticidal activity of an essential oil of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) on common bed bug *Cimex lectularius* L. and molecular docking of major compounds at the catalytic site of ClAChE1. *Parasitology Research*, 116, 415-424.
56. Quan, M., Liu, Q. & Liu, Z. (2018). Identification of insecticidal constituents from the essential oil from the aerial parts *Stachys riederi* var. *japonica*. *Molecules*, 23, 1-12.
57. Ragaee, M. & Sabry, A. K. (2014). Nanotechnology for insect pest control. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3, 528-545.
58. Rajendran, S. & Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44, 126-135.
59. Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Aouadhi, C., Chogran, H., Zaouali, Y., Zoghalmi, N. & Mliki, A. (2013). Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 49, 883-889.
60. Sangha, J. S., Astatkie, T. & Cutler, G. C. (2017). Ovicidal, larvicidal and behavioural effects of some plant essential oils on diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Entomological Society of Canada*, 149, 639-648.
61. Sharma, M., Mann, B., Sharma, R., Bajaj, R., Athira, S., Sarkar, P. & Pothuraju, R. (2017). Sodium caseinate stabilized clove oil nanoemulsion: Physicochemical properties. *Journal of Food Engineering*, 212, 38-46.
62. Sousa, P., Linard, C., Azevedo Batista, D., Oliveira, A. C., Coelho de Souza, A. & Leal Cardoso, J. (2009). Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 42, 655-659.
63. Stoehr, L. C., Gonzalez, E., Stampfl, A., Casals, E., Duschl, A., Puentes, V. & Oostingh, G. J. (2011). Shape matters: effects of silver nanospheres and wires on human alveolar epithelial cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 8, 1-15.
64. Surassmo, S., Min, S. G., Bejrappa, P. & Choi, M. J. (2010). Effects of surfactants on the physical properties of capsaicin oleoresin-loaded nanocapsules formulated through the emulsion-diffusion method. *Food Research International*, 43, 8-17.
65. Thompson, D. A., Lehmler, H. J., Kolpin, D.W., Hladik, M. L., Vargo, J. D., Schilling, K. E., LeFevre, G. H., Peoples, T. L., Poch, M. C., LaDuca, L. E., Cwiertny, D. M. & Field, R. W. (2020). A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 22, 1315-1346.
66. Tripathi, A. K., Prajapati, V., Ahmad, A., Aggarwal, K. K. & Khanuja, S. P. S. (2004). Piperitenone oxide as toxic, repellent, and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Anophelinae). *Journal of Medical Entomology*, 41, 691-698.

67. Wen, L.X., Li, Z. Z., Zou, H. K., Liu, A.Q. & Chen, J. F. (2005). Controlled release of avermectin from porous hollow silica nanoparticles. *Pest Management Science*, 61, 583–590.
68. Werdin Gonzalez, J. O., Gutierrez, M. M., Ferrero, A. A. & Fernandez Band, B. (2014). Essential oils nanoformulations for stored-product pest control - characterization and biological properties. *Chemosphere*, 100, 130–138.
69. Werdin Gonzalez, J. O., Jesser, E. N., Yeguerman, C. A., Ferrero, A. A. & Fernandez Band, B. (2017). Polymer nanoparticles containing essential oils: new options for mosquito control. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 17006–17015.
70. Werdin Gonzalez, J. O., Stefanazzi, N., Murray, A. P., Ferrero, A. A. & Fernández Band, B. (2015). Novel nanopesticides based on essential oils to control the German cockroach. *Journal of Pest Science*, 88, 393–404.
71. Woranuch, S. & Yoksan, R. (2013). Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: I. Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 96, 578–585.
72. Xu, H., Song, T., Bao, X. Q. & Hu, L. L. (2005). Site-directed research of magnetic nanoparticles in magnetic drug targeting. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293, 514–519.
73. Yang, F. L., Li, X. G., Zhu, F. & Lei, C. L. (2009). Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10156–62.
74. Yari, M., Masoudi, S. & Rustaiyan, A. (2000). Essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* (Forssk.) A. Juss. grown wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 69–70.