آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۵، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۶

تهیه نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و مقایسه سمیت تماسی آن با اسانس خالص روی لارو شب پره آرد *Ephestia kuehniella*

لنا امام جمعه[۱]، سهراب ایمانی[۲،۶]✉، خلیل طالبی[۳]، سعید محرمی پور[۴] و کامبیز لاریجانی[۵]

۱، ۲ و ۵- به ترتیب دانش آموخته دکتری گروه حشره شناسی، استادیار گروه حشره شناسی و استادیار گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛ ۳- استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران؛ ۴- دانشیار گروه حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران؛ ۶- گروه انگل‌شناسی و سم‌شناسی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، سمنان، ایران
(تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۵؛ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۶)

چکیده

در دهه‌های اخیر، یکی از مهم‌ترین روش‌های جایگزینی آفت‌کش‌های مصنوعی، استفاده از فرمولاسیون جدید و ایجاد تغییراتی است که می‌تواند روی اسانس‌ها اعمال شود تا کیفیت و میزان تاثیر آنها افزایش یابد. در این تحقیق پس از ساخت فرمولاسیون نانوامولسیون، سمیت تماسی اسانس گیاه آویشن شیرازی *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) قبل و بعد از نانوکپسوله شدن، روی جمعیت پرورش یافته و همگن شده شب پره آرد *Ephestia kuehniella* Zeller. (Lepidoptera: Pyralidae) تحت شرایط دمایی ۱±۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و در تاریکی بررسی شد. نانوکپسوله کردن اسانس به کمک صمغ انگوم و مالتودکسترین انجام شد و با استفاده از هموژنیزاسیون با اسانس امولسیفیه شد. اندازه و شکل کپسول‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی TEM مشخص شد. بر اساس آزمایشات تعیین دز کشنده، مقادیر LC50 سمیت تماسی برای اسانس آویشن شیرازی *Zataria multiflora* فرموله نشده و نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی روی لارو ۱۴-۷ روزه شب پره آرد *Ephestia kuehniella* پس از ۷۲ ساعت، به ترتیب ۰/۶۱ و ۰/۱۵ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع محاسبه شد. سمیت تماسی نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی نسبت به اسانس خالص آویشن شیرازی ۴/۳۲ برابر بیشتر می‌باشد.آزمایشات در چهار تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس، قدرت رهایش تدریجی و افزایش دوام اسانس‌ها را داراست و اسانس نانو کپسوله شده با رهایش کنترل شده ترکیبات موثره اثرات سمیت تماسی طولانی مدت را بر جای می‌گذارد.

واژه‌های کلیدی: آویشن شیرازی، سمیت تماسی، شب پره آرد، نانوامولسیون، TEM.

Preparation of nanoemulsion formulation of essential oil of *Zataria multiflora* and comparison of contact toxicity with pure essential oil on *Ephestia kuehniella*

L. EMAMJOMEH[1], S. IMANI✉[2,6], KH. TALEBI[3], S. MOHARRAMIPOUR[4] and K. LARIJANI[5]

1, 2 and 5- PhD. graduated, Assistant Professor of Department of Entomology, Assistant Professor of Department of Chemistry; Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran; 3- Professor, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran; 4- Associate Professor, Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran; 6- Department of Toxicology and Parasitology, Faculty of Medicine, University of Medical Science, Semnan, Iran

Abstract

In recent decades, providing new formulations of botanical insecticide as a replacement for synthetic pesticides is taken in to consideration. Essential oils have been used as pesticides in last decades, but essential oils have many restrictions on their use such as voltality, rapid oxidation and chemical instability in the prescence of light, moisture and high temperature. In order to increase the efficiency of essential oils, the use of formulations with controlled release of the oil encapsulated in micro- and nano-scales would be the best option.In this research ,after making a new nanoemulsion formulations of essential oil of *Zataria multiflora*, contact toxicity of the essential oil before and after nanoemulsion was evaluated on reared *Ephestia kuehniella* at 27±1°C and 65±5% RH under dark conditions.Nanoemulsion essential oil was carried out by the method of gum - maltodextrin using homogenization and morphology and size were determined by TEM .In contact toxicity test, the LC50 values of pure and nanoemulsion essential oil of *Zataria.multiflora* on larvae after 72hours ,were 0.61 and 0.15 µl/cm² respectively. Therefore the toxicity of nanoemulsion essential oil of *Zataria.multiflora* was 4.32 folds higher than the pure essential oil. Findings led to a conclusion that encapsulated thechnology of essential oils can enhance their control release and persistence under controlled condition.

Key words: Nanoemulsion, *Ephestia kuehniella*, TEM, *Zataria multiflora*.

✉ **Corresponding author: Imanisohr@gmail.com**

مقدمه

شب پره آرد یکی از آفات انباری است که به بسیاری از غلات همچون گندم (دانه، سبوس و آرد)، ذرت، برنج، سورگوم، یولاف و جو حمله می‌کند. این آفت همچنین به میوه‌های هسته‌دار، خرما، میوه‌ها، گل‌ها، برگ‌ها و ریشه‌های خشک شده، بیسکویت، شکلات، ماکارونی، رشته فرنگی و غذای انسان و حیوان حمله می‌کند. شب پره آرد یک آفت همه جا گیر بوده و در سراسر دنیا پراکنده است. این آفت یک گونه انسان دوست می‌باشد و به زندگی در نزدیکی انسان سازش پیدا کرده است (Bagheri Zenouz., 1386). از آنجاییکه استفاده از سموم شیمیایی و گازی متداول مانند متیل بروماید و فسفین در انبارها ضمن افزایش روز افزون مقاومت آفات انباری به این سموم (Lee *et al*., 2001)، باعث مشکلات باقیمانده مسموم در مواد غذایی، محیط زیست می‌گردد (Haque *et al*., 2000). بنابراین نیاز به ترکیب‌های جدیدتر و ایمن‌تر برای محیط زیست و انسان ضروری به نظر می‌رسد (Champ and Dyte, 1997).

استفاده مکرر از سموم شیمیایی طی دهه‌های متوالی باعث کاهش کارایی دشمنان طبیعی، اثر روی موجودات غیرهدف، آلودگی محیط زیست، در خطر قرار گرفتن سلامت انسان و بروز مقاومت در آفات شده است (Lee *et al*., 2004).

دانشمندان امروزه فعالیت‌های خود را برای یافتن منابع جدیدی از حشره‌کش‌ها متمرکز نموده‌اند که علاوه بر سازگاری با محیط زیست، دارای اثرات کنترلی مؤثری باشند. گیاهان به ویژه اسانس آن‌ها به علت دارا بودن خواص حشره کشی و همچنین توانمندی برخی از آنها در بازدارندگی تغذیه، خاصیت دورکنندگی و تغییر مسیر رشد طبیعی آفات توانسته‌اند به عنوان منابع جدید کنترل کننده آفات مورد توجه قرار گیرند (Papachristos and Stamopoulos, 2002; Keita *et al*., 2000; Duke, 1990). تا کنون حدود ۲۰۰۰ گونه گیاهی یافت شده که خاصیت حشره کشی از خود نشان داده‌اند (Odeyemi *et al*., 2008) اسانس‌ها به سادگی استخراج می‌شوند با محیط سازگارند و سریع تجزیه و کاتابولیزه می‌شوند و در خاک و آب دوام ندارند.

علیرغم موارد ذکر شده خاصیت فرار بودن، حلالیت پایین در آب، اکسیداسیون سریع، بی‌ثباتی شیمیایی اسانس‌های گیاهی در حضور نور، هوا، رطوبت و دمای بالا از معایب اسانس‌ها می‌باشد (Pillmoor *et al*., 1993). این معایب اسانس‌ها قبل از اینکه به عنوان جزیی از سیستم کنترل آفت مورد استفاده قرار گیرند باید برطرف شود. یکی از مهم‌ترین راه حل‌های این معایب ارائه فرمولاسیون جدید و ایجاد تغییراتی است که بتواند با اعمال بر روی اسانس‌ها، کیفیت و میزان تاثیر آنها را افزایش دهد. انتخاب فرمولاسیون بستگی به فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی و خواص بیولوژیکی اسانس، نحوه اثر، چگونگی کاربرد ونوع محصول دارد. این روش ضمن امکان رهاسازی کنترل شده و مناسب سبب حفاظت آنها در محیط می‌شود و بیشترین تاثیر در محدوده زمانی مورد نظر و کمترین خسارت زیست محیطی را دارد (Lai *et al*., 2006). بنابراین در این پژوهش ضمن ساخت فرمولاسیون نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی، سمیت تماسی آن با اسانس طبیعی آویشن شیرازی روی شب پره آرد مورد بررسی قرار می‌گیرد.

روش بررسی

جمع آوری و نگهداری گیاهان مورد مطالعه: سرشاخه گلدار آویشن شیرازی (Lamiaceae) *Zataria multiflora* در زمان گلدهی کامل از شهر اقلید در استان فارس جمع آوری گردید و در شرایط سایه و تهویه مناسب خشک شد. گیاهان خشک شده در دمای ٤- درجه سلسیوس فریزر نگهداری شدند.

تهیه اسانس: جهت تهیه اسانس از گیاه آویشن شیرازی، سرشاخه گلدار آویشن شیرازی با کمک خرد کن برقی به صورت پودر درآمدند و هر بار ۵۰ گرم از برگ‌های پودر شده همراه با ٦۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با کمک دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای مدل Clevenger در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس

اسانس گیری شد. زمان اسانس‌گیری ٤ ساعت بود. اسانس جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم آب‌گیری شده و تا زمان استفاده در ظروف پلاستیکی به حجم ۲ میلی‌لیتر با روپوش آلومینیومی در یخچال در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تهیه فرمولاسیون جدید از اسانس های گیاهی:

آماده سازی صمغ: ابتدا صمغ انگوم که از درخت‌های بادام کوهی واقع در شیراز جمع آوری شده بود توسط الک بوجاری و تمیز شد. صمغ‌های با اندازه‌های بزرگ‌تر دارای ناخالصی‌های کمتری می‌باشند. بنابراین سعی شد تا صمغ‌های با اندازه بزرگ مورد استفاده قرار گیرد. ناخالصی‌های چسبیده به صمغ از جمله تکه‌های پوسته درخت و سنگ توسط اسکالپل جدا گردیده و آسیاب کردن صمغ توسط آسیاب آزمایشگاهی (M-20,IKA-WERKE,Germany) صورت گرفت.

خالص سازی صمغ با الکل: ۵۰ گرم از نمونه آسیاب شده در کارتوش قرار داده شد و به مدت ۱۲ ساعت در دستگاه سوکسله با محلول اتانل – آب ٩٦:٤ حجمی حرارت داده شد. پس از گذراندن ۱۲ ساعت محتویات کارتوش در دمای ٤٠ $^{\circ}$C به مدت ۱۲ ساعت خشک شد

استخراج و تغلیظ و خشک کردن صمغ: بعد از خشک شدن،۲۰ گرم پودر صمغ دریک لیتر آب مقطر حل شده و بر روی اجاق با دمای ٦٠–٥٠ درجه سلسیوس نگهداری شد و در حین گرم شدن نیز بهم زده شد. محلول تهیه شده با استفاده از قیف بوخنر، پمپ خلاء (DV-42-250, EMERSON) و کاغذ صافی واتمن صاف گردید. بخش صاف شده به دستگاه تبخیر کننده دوار (Heidolph WB, LABOROTA 4001,Germany) منتقل گردیده و تا حجم۲۰ میلی‌لیتر تغلیظ شد. سپس محلول تغلیظ شده در آون تحت خلاء (GALLENKAMP,U.K) در دمای ٦٠°C خشک شد و در نهایت توسط آسیاب آزمایشگاهی آسیاب گردید.

تهیه امولسیون اولیه: فاز آبی امولسیون، محلول مالتودکسترین و صمغ انگوم است در حالی که فاز روغنی اسانس می‌باشد. فاز پیوسته امولسیون یک روز قبل از امولسیون شدن، با استفاده از آب مقطر و همزدن دور بالا (RW20 DZM,GANKE & KUNNE) به دست آمد. درجه حرارت آب در موقع حل شدن و هم زدن روی ٦٠$^{\circ}$C تنظیم شد. غلظت کل مواد جامد حل شده (مالتودکسترین و صمغ) ٤٠٪ است در نهایت جهت کامل شدن هیدراسیون به مدت یک شب نگهداری شدند (Jafari *et al*., 2013).

پس از هیدراته شدن، امولسیون اولیه با اضافه کردن اسانس و سپس به ترتیب با استفاده از همزن دور بالا در سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه و هموژنایزر در سرعت ٢٤٠٠٠ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه و ٦٠٠٠٠ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه به دست آمد.

بررسی مورفولوژی سطح نانوامولسیون با میکروسکوپ الکترونی: به منظور بررسی شکل و مورفولوژی دیواره نانوامولسیون از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری (Transmission Electron Microscope)،Philips(model CM120)، ساخت کشور هلند با ولتاژ دستگاه ۱۲۰ کیلوولت استفاده شد.

بررسی توزیع اندازه ذرات: آزمایش اندازه‌گیری اندازه ذرات توسط دستگاه مسترسایزر ۲۰۰۰ مالورن (Master Sizer 2000, Malvern Instruments) انجام شد. اندازه گیری در این دستگاه بر اساس تفرق اشعه ایکس انجام می‌شود.

پرورش شب پره آرد: تخم‌های شب‌پره آرد *Ephestia kuehniella* از پژوهشکده کشاورزی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد و سپس در شرایط آزمایشگاهی بر روی آرد گندم همراه با مخمر (۱:۱۰) تکثیر شدند. حشرات در شرایط دمای ۱±۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ٥±٦٥ درصد و تاریکی در دستگاه ژرمیناتور مدل (KBWF550 Liter) پرورش داده شدند.

زیست‌سنجی: برای بررسیLC50 تماسی روی حشرات، از روش کاربردی پاشیدن محلول اسانس روی سطح ظرف مورد استفاده قرار گرفت. سمیت تماسی حشره کشی اسانس گیاه آویشن شیرازی و نانوامولسیون اسانس روی لارو ١٤–٧

روزه شب پره آرد با روش کاربرد روی سطح ظرف به مساحت ۹/٦۱ سانتی‌متر مربع با غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت‌های مختلف به حجم ۱۰۰ میکرولیتر با اسپری روی کف پتری با سطح مدور به قطر ۳/۵ سانتی‌متر پاشیده شد و پس از خشک شدن و رهاسازی حشرات (لاروها ١٤-۷ روزه شب پره آرد) درب ظرف با پارچه پوشانده شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت از زمان سم دهی هر ٢٤ ساعت یک بار تعداد حشرات مرده در ظروف تیمار و شاهد شمارش گردیدند. به منظور تعیین LC50 تماسی روی حشرات مورد نظر، ابتدا طی آزمایشات مقدماتی غلظت‌های موثر نانوامولسیون اسانس و اسانس فرموله نشده برای مرگ و میر ۲۰ تا ۸۰ درصد حشرات تیمار شده به دست آمد و سپس غلظت‌های مختلف نانوامولسیون و اسانس با استفاده از فواصل لگاریتمی در محدوده مورد نظر تهیه گردید و آزمایش اصلی انجام شد (Sahaf and Moharramipour, 2008)

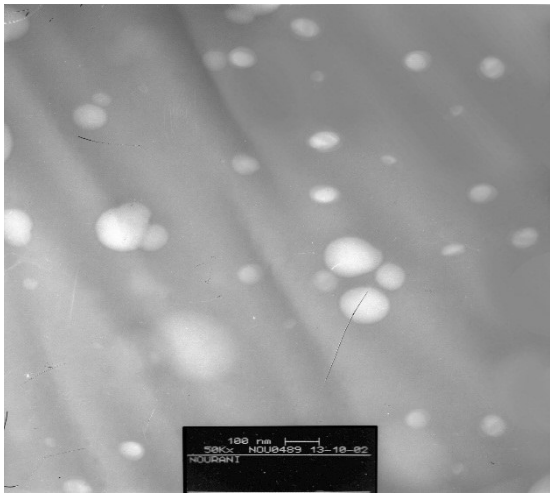
غلظت‌های ٤، ٤/۷، ۵/۵، ٦/٤۵ و ۸ میکرولیتر اسانس آویشن شیرازی و برای نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی غلظت‌های ۰/۵، ۰/۸۱، ۱۳/۱، ۲/۱۳، ۳/۵ میکرولیتر بر روی پتری‌هایی به قطر ۳/۵ سانتی‌متر پاشیده شدند.

پس از گذشت ۷۲ ساعت از زمان سم دهی تعداد حشرات مرده در ظروف تیمار و شاهد شمارش و درصد مرگ و میر محاسبه گردید.

جهت اطمینان از درست بودن ارزیابی حشرات فوق در ظرف تمیز نگهداری شدند و ۷۲ ساعت بعد اقدام به تعیین مرده و زنده بودن آنها شد. با توجه به اینکه در تعداد افراد مرده و زنده در ارزیابی اول با ارزیابی دوم اختلافی مشاهده نشد. بنابراین افراد مرده و زنده بلافاصله پس از پایان تیمار برگشت ناپذیربوده و در ٢٤ ساعت بعد تغییری نمی کند، لذا در تمام ارزیابی‌ها تعیین افراد مرده و زنده۷۲ ساعت پس از پایان در معرض قرارگیری اسانس انجام شد. تعداد حشرات رها شده در هر تکرار ۱۰ عدد بود .و آزمایش در ٤ تکرار انجام شد مقدار LC50 تماسی با استفاده از نرم افزار (SPSS 19) محاسبه شد.

نتیجه و بحث

بررسی مورفولوژی سطح میکروکپسول با میکروسکوپ الکترونی عبوری: عکس میکروسکوپ الکترونی عبوری TEM (شکل ۱) ساختار هسته و دیواره در نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی را نشان می‌دهد. سطح خارجی کپسول‌ها کاملاً صاف و یکنواخت می‌باشند و کپسول‌ها به شکل کاملاً کروی و مجزا، که در عکس مشخص هستند.



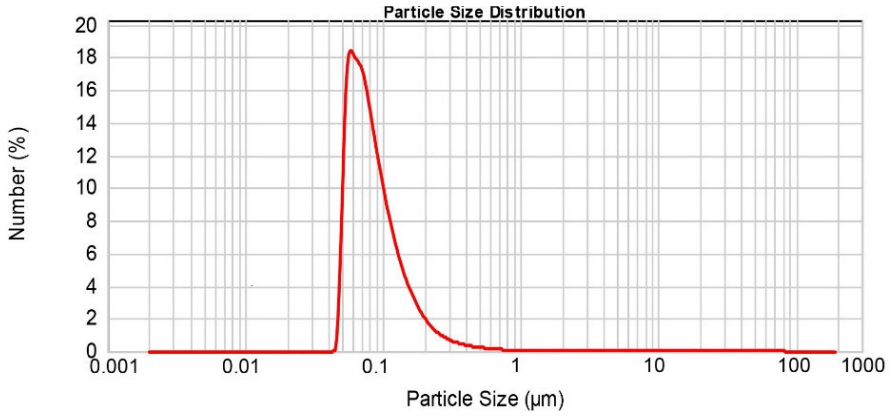
شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری TEMذرات کپسول نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی

Fig. 1. TEM photo of nanoemulsion of essential oil of *Zataria multiflora* particles

اندازه‌گیری ذرات و پراکندگی آن با دستگاه مسترسایزر: بررسی اندازه ذرات صورت گرفته روی نمونه امولسیون ساخته شده (شکل ۲) با دستگاه مستر سایزر نشان داد که ۷۱ درصد اندازه ذرات امولسیون تولید شده زیر ۱۰۰ نانومتر می‌باشند.

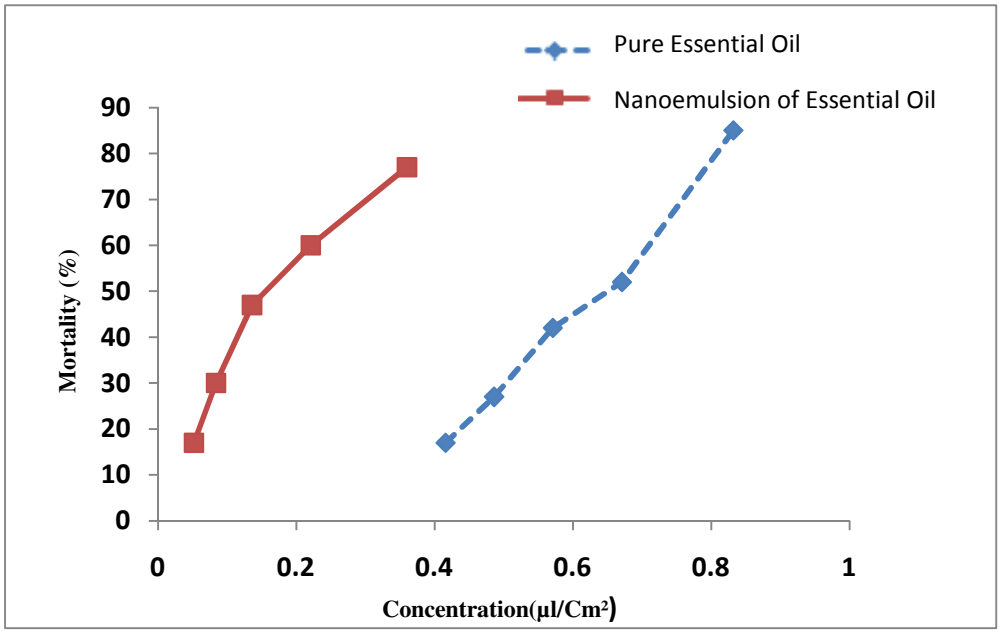
اثر سمیت تماسی نانوامولسیون حاوی اسانس و اسانس فرموله نشده آویشن شیرازی روی لارو ١٤-۷ روزه شب پره آرد: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس،

میزان مرگ و میر نیز افزایش پیدا کرد به طوری که پس از ۷۲ ساعت از اسانس دهی غلظت ٤ و ۸ میکرولیتر از اسانس آویشن شیرازی معادل ۰/٤۱ و ۰/۸۳میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع به ترتیب برابر با ۱۷/۵ و ۸۵ درصد مرگ و میر ایجاد کردند (شکل ۳). همچنین در خصوص پاشش نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی پس از ۷۲ ساعت در مساحت ۹/٦۱ سانتی‌متر مربع، غلظت ۰/۵ و ۳/۵ میکرولیتر ماده موثره اسانس آویشن شیرازی معادل ۰/۰۵ و ۰/۳٦ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع به ترتیب ۱۷ و ۷۷ درصد مرگ و میر ایجاد کردند. مرگ و میر در شاهد وجود نداشت (شکل ۳).



شکل ۲- نمودار توزیع اندازه ذرات امولسیون

Fig. 2. Emulsion size distribution of nanoemulsion of essential oil of *Zataria multiflora*



شکل ۳- مقایسه سمیت تماسی غلظت‌های مختلف نانوامولسیون واسانس فرموله نشده آویشن شیرازی روی لارو شب پره آرد پس از ۷۲ ساعت

Fig. 3. Comparison of contact toxicity of different concentrations of nanoemulsion of essential oil and pure essential oil of *Zataria multiflora* against *Ephestia kuehniella* larvae after 72h

نتایج نشان داد سمیت تماسی LC50 اسانس آویشن شیرازی و نانوامولسیون در سطح یک سانتی‌متر مربع به ترتیب ۰/٦۰۹ و ۰/۱٥٤ میکرولیتر می‌باشد (جدول ۱).

سمیت نسبی (Relative Toxicity) تماسی برآورد شده (بر اساس LC50) نشان می‌دهد که نانوامولسیون حاوی اسانس در مقایسه با اسانس فرموله نشده گیاه آویشن شیرازی برای لارو ٤/۳۲۳ برابر بیشتر می‌باشد (جدول ۲).

به طور کلی اسانس‌های گیاهی دارای سمیت تماسی نسبتاً خوبی بر روی حشرات هستند و تا کنون آزمایش های مختلفی برای اثبات سمیت تماسی اسانس ها در غلظت های مختلف انجام شده است. به علت فراریت سریع اسانس ها و دوام کم آنها و مقرون به صرفه نبودن با توجه به معایب ذکر شده در این پژوهش علاوه بر تهیه نانوامولسیون از اسانس آویشن شیرازی سمیت تماسی آن بر روی لارو شب پره آرد تعیین و با سمیت تماسی اسانس فرموله نشده مقایسه گردید.

جدول ۱- مقدار LC50وLC90 محاسبه شده در بررسی سمیت تماسی اسانس و نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی روی لارو ١٤-٧ روزه شب پره آرد پس از ۷۲ ساعت اسانس دهی

Table 1. Estimated LC50,LC90 of contact toxisity of nanoemulsion of essential oil and pure essential oil of *Zataria multiflora* on larvae of *Ephestia kuehniella* after 72h

Formulation type	N	p-value	χ2(df)	Intercept±SE	Slope±SE	LC50(µL/L air) 95%Confidence limits	LC90(µL/L air) 95%Confidence limits
Pure Essential Oil	240	0.612	1.814(3)	1/33±0/24	6/18±0/97	0/609 (0/568-0/660)	0/982 (0/855-1/256)
Nanoemulsion of Essential Oil	240	0.986	0/144(3)	1/60±0/30	1/97±0/33	0/154 (0/123-0/196)	0/686 (0/443-1/568)

جدول ۲- سمیت تماسی (Relative Toxicity) اسانس خالص در مقایسه با فرمولاسیون اسانس گیاه آویشن شیرازی روی لارو شب پره آرد

Table 2. Comparison of relative contact toxicity of nanoemulsion of essential oil and pure essential oil of *Zataria multiflora* on larvae of *Ephestia kuehniella*

Variable	Relative Toxicity	95%Confidence limits
Growth Stage	LC50 (Pure EO)/LC50 (Nanoemulsion of EO)	Comparison of toxicity
Larvae	4.323	1/545-78/067 *

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین LC50های مقایسه شده در سطح ٥٪

طبق نتایج، با افزایش غلظت اسانس آویشن شیرازی میزان مرگ و میر هم در نانوامولسیون و هم در اسانس فرموله نشده افزایش پیدا کرد. در اسانس گیاه *Z. multiflora* ترکیبات Thymol (۲٦/۳۲ درصد)، Carvacrol (۲٥/٥۱ درصد)، PARA-Cymene (۸/۸٦ درصد) و γ-terpinene (٤/٦۳ درصد) بیشترین حجم اسانس را به خود اختصاص داده‌اند (Emamjomeh *et al*., 2014) بنابراین اثر سمیت تماسی این اسانس را میتوان به ترکیبات فوق نسبت داد.

LC50 تماسی اسانس آویشن شیرازی ۰/۶۰۹ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع به دست آمد که در مقایسه با LC50 تماسی اسانس‌های مرزه و زنجبیل روی لارو ۱۴ روزه شب پره آرد به ترتیب برابر ۰/۲۷و۰/۶۱ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع، می‌توان گفت LC50 تماسی اسانس‌های آویشن شیرازی از LC50 تماسی اسانس مرزه بیشتر و از LC50 تماسی اسانس زنجفیل کمتر است (Mollai *et al*., 2010).

مطالعه اثر نانوامولسیون اسانس: مطالعات مقالات

مختلف نشان می دهد که میکروکپسوله کردن اسانس‌ها در صنایع داروسازی، غذایی و نساجی کاربرد وسیع‌تری یافته است (Donsi *et al*., 2011; Al-Ismail *et al*., 2016; Naderi, 1389)، درحالیکه در حوزه کشاورزی و آفت کش‌ها این توسعه کمتر دیده می‌شود و تعداد کمتر مقالات نیز نشانه آن می‌باشد.

بررسی اثر میکروکپسول اسانس *Rosmarinus officinalis* و *Thymus vulgaris* روی لارو *Plodia interpunctella* نشان داد که بیشترین فعالیت این فرمولاسیون در نتیجه آغشتگی رژیم غذایی به میکروکپسول می‌باشد (Sanna Passino *et al*., 2004).

کاربرد نانوامولسیون اسانس اکالیپتوس در کنترل لارو *Culex quinquefasciatus* نسبت به امولسیون آن موثرتر است (Sugumar *et al*., 2014).

نتایج حاصل از این تحقیق به این اشاره دارد که استفاده از فرمولاسیون‌های کپسول حاوی اسانس و کنترل آزاد سازی مواد باعث می‌شود تا ماده موثره به صورت کنترل شده آزاد گردد. در این تحقیق LC50 تماسی اسانس فرموله نشده و نانوامولسیون اسانس آویشن محاسبه شده روی لارو شب پره آرد به ترتیب برابر با ۰/۶۰۹ µl/Cm² و ۰/۱۵۴ µl/Cm² به دست آمد و LC50 تماسی اسانس فرموله نشده در مقایسه با نانوامولسیون اسانس ۴/۳۲۳ برابر بیشتر می‌باشد و دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ٪۵ است که این امر با توجه به اینکه اسانس در پوششی به صورت کپسول می‌باشد و آزادسازی آن به صورت تدریجی بوده و مقدار ماده فعال آزاد شده بیشتر است و به همین منظور میزان سمیت تماسی آن بیشتر است و این نتایج با بررسی (Jamal, 2012)مطابقت دارد.

در واقع با تکنیک نانوکپسول کردن اسانس، قدرت رهایش سریع ماده موثره آن کم شده و تاثیر کارایی سمیت تماسی آن با گذشت زمان افزایش می‌یابد. همچنین به دلیل پخش یکنواخت تر و قدرت مواجه بیشتر با سطح بدن حشره، قدرت سمیت تماسی اسانس بالا می‌رود. بنابراین نانوامولسیون کردن اسانس ها نقش عمده و بسزایی در کارامدی و موثرتر واقع شدن آنها در کنترل آفات دارد (Negahban *et al*., 2013).

از مزایای این نوع فرمولاسیون نسبت به برخی از فرمولاسیون‌ها این است که در ساخت نانوامولسیون اسانس از مواد کاملاً بیولوژیک و طبیعی استفاده شده و در ساختار آن ماده شیمیایی مصنوعی وجود ندارد. در صورتیکه در فرمولاسیون‌های مشابه ساخته شده از موادی نظیر فرمالدئید اوره استفاده گردیده که برای محیط زیست خطرناک محسوب می‌شود (Negahban *et al*., 2013; Jamal, 2012). بنابراین یکی از نکات مهم برای انتخاب و تایید این فرمولاسیون ایمن بودن آن است که از مواد کاملاً طبیعی بر پایه امولسیون ساخته شده و سازگار با محیط زیست است. همچنین شکل ذرات کاملاً کروی بوده و دیواره کپسول‌ها از همدیگر مجزا می‌باشند و به صورت پیوسته دیده نمی‌شوند که یکی از دیگر برتری‌های آن نسبت به سایر فرمولاسیون‌هایی است که تا کنون ارائه گردیده است (Negahban *et al*., 2013; Jamal, 2012).

References

AL-ESMAIL, K., L. EL-DIJANI, H. AL-KHATIB and M. SALEH, 2016. Effect of microencapsulation of vitamin C with gum Arabic, why protein isolate and some blends on its stability. Journal of Scientific and Industrial Research. 75:176-180.

BAGHERI ZENOUZ, E. 1386. Pests of stored products and management to maintain. University of Tehran Press. 450p. In Persian.

CHAMP, B. R. and C. E. DYTE, 1997. FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. FAO Plant Protection Bulletin, 25: 49-67.

DONSI, F. M. ANNUNZIATA, M. SESSA and G. FERRARI, 2011. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. LWT-Food Science and Technology 44: 1908-1914.

DUKE, J. A. 1990. Introduction to food legumes, 1-42. In:

Singh, S. R. Insect Pests of Tropical Food Legumes. John Wiley and Sons, Chinchester. England. 451 pp.

EMAMJOMEH, L., S. IMANI, K. TALEBI, S. MOHARRAMIPOUR and K. LARIJANI, 2014. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). European Journal of Experimental Biology. 4(3): 253-257 .

HAQUE, M. A., H. NAKAKITA, H. IKENAGA and N. SOTA, 2000. Development inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Col: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, 36:281-287.

JAFARI, S. M., P. BEHESHTI and E. ASSADPOUR, 2013. Emulsification properties of a novel hydrocolloid (Angum gum) ford-limonene droplets compared with Arabic gum. International Journal of Biological Macromolecules. 61 : 182– 188.

JAMAL, M. 2012. Insecticidial properties of nano-encapsulated essential oil of *Carum copticum* of *Plutella xyllostella*. M.Sc. Thesis of Entomology. Tarbiat Modarres university. Tehran. Iran. In Persian with English summary.

KEITA, S. M., C. VINCENT, J. P. SCHMIT, S. RAMASWAMY and A. BELANGER, 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) Journal of Stored Products Research,36: 355-364.

LAI, F., S. A. WISSING, R. H. MULLER and A. M. FADDA, 2006. *Artemisia arborescens* L essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. American Association of Pharmaceutical Scientists, 7: 1-9.

LEE, B. H., P. C. ANNIS, F. TUMAALII and W. S. CHOI, 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. Journal of Stored Products Research, 40(5): 553-564.

LEE, S. E., B. H. LEE, W. S. CHOI, B. S. PARK, J. G. KIM, and B. C. CHAMPBELL, 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Pest Management Science, 57: 548-553.

MOLLAI, M., H. IZADI, H. DASHTI, M. AZIZI and H. RAHIM, 2010. Contact toxicity of *Satureja hortensis* and *Zingiber officinale* essential oils on *Ephestia kuehniella*. Iranian Plant Protection Congress. 19: 275.

NADERI, M. 1389. Preparation of Nanocapsules from *Laurus nobilis* extract and evaluation of its anti-tumor effect. M.Sc. Thesis of Organic Chemistry. Islamic Azad university . Abhar. Iran. In Persian with English summary.

NEGAHBAN, M., S. MOHARRAMIPOUR, M. ZAND and S. A. HASHEMI, 2013. Repellent activity of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser on *Plutella xylostella* L. larvae. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 29(4):909-924. In Persian with English summary.

ODEYEMI, O. O., P. MASIKA and A. J. AFOLAYAN, 2008. Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. capensis against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionid. African Entomology, 16(2): 220-225.

PAPACHIRSTOS, D. P. and D. C. STAMOPOULOS, 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 38: 117-128.

PILLMOOR, J. B., K. WRIGHT and A. S. TERRY, 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. Pesticide Science, 39: 131-140

SAHAF, B. Z. and S. MOHARRAMIPOUR, 2008. Fumigant toxicity of *Carum copticum* and Vitex pseudo-negundo

essential oils against eggs, larvae and adults of *callosobruchus maculatus*. Journal of Pest Science. 81: 213-220.

SANNA PASSION, G., M. MORETTI and E. BAZZONI, 2004. Microencapsulated essential oils active against indianmealnmoth. Boletin de sanidad Vegetal plagas. 30: 125-132.

SUGUMAR, S., S. K. CLARKE, M. J. NIRMALA, B. K. TYAGI, A. MUKHERJEE and N. CHANDRASEKARAN, 2014. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex Quinquefasciatus*. Bulletin of Entomological Research. 104: 393–402.