

بهینه سازی شرایط عملیاتی تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تحت شرایط آب مادون بحرانی با روش پاسخ سطح و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی آن

امید احمدی*

*استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۱

چکیده

اسانس زیره سیاه با دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی کارآمد و خواص ضدباکتریایی قوی، به عنوان یک منبع طبیعی با پتانسیل بالای کاربرد در صنایع غذایی معرفی می شود. بهینه سازی شرایط عملیاتی تولید نانوامولسیون این اسانس تحت شرایط آب مادون بحرانی با روش پاسخ سطح، با توزیع یکنواخت، پایداری بالا و افزایش دسترسی زیستی ترکیبات فعال است. در تحقیق حاضر فرمولاسیون سه ماده فاز روغنی (اسانس زیره سیاه)، فاز آبی (آب مقطر) و امولسیفایر (توئین ۸۰) به ترتیب با مقادیر حجمی ۶۲/۰، ۲۱/۶۳ و ۲/۷۵ میلی لیتر مخلوط گردیده و جهت بهینه سازی شرایط عملیاتی (دما و زمان) تولید نانوامولسیون با استفاده از روش آب مادون بحرانی طراحی آزمایش با روش پاسخ سطح در بازه دمایی ۱۹۰-۱۱۰ درجه سانتی گراد با مدت زمان حرارت دهی در آون در بازه ۱۲۰-۶۰ دقیقه انجام گرفت. پس از بهینه سازی انجام گرفته نتایج نشان داد که دمای ۱۶۱ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۹۷ دقیقه مناسب ترین حالت جهت تولید نانوامولسیون بوده که در این حالت کمترین میانگین اندازه ذرات (۱۴۱ نانومتر) و کمترین شاخص پراکندگی ۰/۱۸۳ بدست آمد. خواص نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تولیدشده در شرایط بهینه مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج حاصل از خاصیت آنتی اکسیدانی ۵۳/۶۳٪ و خاصیت ضد باکتریایی (قطر هاله ایجاد شده جهت جلوگیری از رشد باکتری) در مقابل دو باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس / اورئوس و گرم منفی / اشرشیا کولی به ترتیب ۱/۸ و ۱/۶ سانتی متر بدست آمد، در نهایت نتایج حاصل از پایداری محصول تولید شده توسط آنالیز پتانسیل زتا مقدار ۲۵/۸۷- میلی ولت را نشان داد که نشان دهنده پایداری بالایی از محصول تولید شده می باشد.

واژه های کلیدی: آب مادون بحرانی، اسانس زیره سیاه، آنتی اکسیدانی، ضدباکتریایی، نانوامولسیون

مقدمه

افزایش پایداری اکوسیستم های غذایی و کاهش مصرف مواد خام و انرژی، از جمله مزایای کلیدی این حوزه محسوب می شود (Sati et al., 2025).

در این چارچوب، نانوامولسیون ها به عنوان یکی از اشکال بحرانی و کارآمد امولسیون های فشرده شده در مقیاس نانومتر، جایگاه ویژه ای پیدا کرده اند. نانوامولسیون مخلوطی است پایدار از سه جزء اصلی: فاز مایع روغنی یا اسانس، فاز آبی و یک فاز سطحی یا امولسیون کننده که با اندازه گیری های نانومتری ذرات و ساختار میکرو- یا

نانوفناوری به عنوان یکی از مهم ترین محورهای پیشرفته دانش های طبیعی و مهندسی در دهه های اخیر، با ایجاد ساختارها و سیستم های در مقیاسی نانومتری، توانسته است تغییرات چشمگیری در حوزه های داروسازی، خوراکی، بالینی، محیط زیست و صنایع انرژی پدید آورد اهمیت نانوفناوری در اقتصاد دانش بنیان و توسعه پایدار امروزه به شکل غیرقابل انکاری روشن است. استفاده از فناوری های نانو در طراحی سیستم های تحویل دارو، حفاظت از مواد فرار،

برابر اکسایش و حرارت کمک می‌کند. همچنین، نانوامولسیون‌ها با قابلیت تنظیم نسبت فاز روغنی/آبی و با کمک امولسیون‌کننده‌های مناسب، امکان بهبود جذب اسانس زیره را در سیستم‌های دارویی یا غذایی فراهم می‌آورند (Alqarni et al., 2023).

روش‌های تولید نانوامولسیون به دو دسته کلی روش‌های با انرژی بالا و روش‌های با انرژی پایین تقسیم شده که روش‌های با انرژی بالا شامل همزدن شدید با همزن‌های مغناطیسی یا همزن‌های پرفشار است که این دسته از روش‌ها معمولاً به دلیل سرعت بالا، قابلیت کنترل دقیق اندازه ذرات و توانایی تولید نانوامولسیونی با ترکیبات متنوع برای کاربردهای صنعتی پرفشار هستند، اما به دلیل مصرف انرژی بالا و نیاز به تجهیزات تخصصی ممکن است هزینه‌های اولیه بالایی داشته باشند و به پایداری گرمایی ترکیبات حساس منجر شوند (Kaur et al., 2024).

از سوی دیگر، روش‌های با انرژی پایین به روش‌های کنترل‌پذیر و کارآمدتر با مصرف انرژی کمتر و منابع ساده‌تر اشاره می‌کنند. این دسته شامل روش‌هایی مانند استخراج نسبتاً آرام با استفاده از امولسیون‌کننده‌های زیستی، روش‌های وابسته به استفاده از ترکیبات فعال سطحی با انرژی کم (مثلاً امولسیون در حالت کلئیدی یا امولسیون با استفاده از مزایا کیفی) و روش‌های آب مادون بحرانی^۱ است (Zhang et al., 2024). آب مادون بحرانی به عنوان یک بستر کارآمد برای تولید نانوامولسیون‌ها با مصرف پائین انرژی و کاهش مصرف اضافه‌مواد به کار می‌رود. این روش از طریق افزایش فشار و تغییر دمای آب، خواص حلالیت و ویسکوزیته را تغییر داده و امکان تشکیل امولسیون‌های پایدار با استفاده از منابع طبیعی و امولسیون‌کننده‌های سازگار با زیست را فراهم می‌کند. روش آب مادون بحرانی یکی از منابع پایداری زیست‌سوختی و دارویی است. این روش با استفاده از فاز آبی به عنوان عامل حلال، و با تغییرات دقیق در فشار و دما،

نانوساختار، قابلیت‌های کاربری گسترده‌ای را با کارایی بالا فراهم می‌کنند (Haro-González et al., 2025). این ساختارهای نانوامولسیون به دلیل کاهش اندازه ذرات و افزایش سطح تماس، توانایی بهبود حلالیت و پایداری اسانس‌های فرار و کم‌دوام را در محیط‌های آبی پیدا کرده‌اند، که به نوبه خود جریانی نوین در زمینه‌های بهداشت، تغذیه و صنعت آرایشی-بهداشتی می‌آورد (Pillai et al., 2024). در این راستا، نانوامولسیون‌ها به دلیل سهولت دسترسی به ترکیبات فعال در قالبی پایدار، کنترل‌شده و کارآمد از نظر زیستی، به عنوان یک استراتژی کلیدی برای بهبود قابلیت انتشار اسانس‌ها و سایر ترکیبات فرار مطرح می‌شوند (Xiong et al., 2025). اسانس زیره سیاه (*Carum Carvi*) با ترکیبات عمدتاً فعال مانند تری‌ترپن‌ها، تیموکینون‌ها، تیمول‌ها، و سایر ترکیبات فرار و همچنین حضور مواد آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در بهبود سلامتی، خواص ضدباکتریایی، ضدالتهابی و تقویت سیستم ایمنی ایفا می‌کند. با این وجود، امکان ناپایداری ترکیبات فرار، فشارهای اکسیداتی، و مشکلات ناشی از سمیت‌های ناخواسته در برخی فرمت‌ها می‌تواند محدودیت‌هایی را ایجاد کند (Vojvodić et al., 2025). به همین دلیل، تبدیل اسانس زیره به نانوامولسیون برای بهبود پایداری، کنترل انتشار و افزایش دسترسی زیستی به مواد مؤثر از اهمیت بالایی برخوردار است. اسانس زیره سیاه چنانچه به شکل نانوامولسیون آماده‌سازی شود، پتانسیل‌های جدیدی را در حوزه‌های داروسازی، بهداشت غذایی و صنایع آرایشی-بهداشتی عرضه می‌کند. در مقایسه با فرم‌های معمولی اسانس زیره، نانوامولسیون‌ها با افزایش حلالیت در فاز آبی، بهبود پایداری اکسیداسیون، کاهش سمیت اکسیدی و افزایش نفوذپذیری زیستی، قابلیت بهبود کارایی و کاربرپسندی محصولات حاوی این ترکیب را فراهم می‌آورند. این ویژگی‌ها به افزایش کارایی درمانی و بهبود پایداری در

¹ Subcritical Water

مواد و روش‌ها

مواد

ماده اولیه و اصلی مورد استفاده در تحقیق حاضر گیاه زیره سیاه بوده که از بازارهای محلی شهرستان کرمان سفارش داده شد و خریداری گردید. از امولسیفایر تویین ۸۰ به عنوان ماده‌ای جهت ایجاد پلی بین فاز آبی و روغنی که منجر به پایداری امولسیون می‌گردد استفاده شد که از شرکت مرک خریداری گردید. از آب مقطر تهیه شده از شرکت مروارید جهت اسانس‌گیری به عنوان حلال و همچنین فاز پایه آبی در فرمولاسیون نهایی نانوامولسیون اسانس زیره سیاه استفاده شد. جهت بررسی خاصیت ضدباکتریایی نانوامولسیون تولید شده در شرایط بهینه دمایی و زمانی، از دو گونه باکتریایی گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) و گرم منفی /شرشیا کولای (PTCC 1270) که از بانک میکروبی ایران خریداری شد استفاده گردید. محیط کشت PCA جهت بررسی خاصیت ضدباکتریایی از شرکت Oxoid (انگلستان) تهیه گردید، در نهایت جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی محصول بهینه از ماده ۲و۲ دی فنیل-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH^2) استفاده گردید که از شرکت مرک خریداری شد.

روش‌ها

فرآیند اسانس‌گیری از زیره سیاه

بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش‌های مرتبط از دستگاه کلونجر مشابه پژوهش احمدی و جعفری زاده مالمیری در سال های ۲۰۲۰ و ۲۰۲۱ به صورت زیر انجام گرفت (Ahmadi & Jafarizadeh-Malmiri, 2020a, 2020b; Ahmadi & Jafarizadeh-Malmiri, 2021). زیره سیاه خریداری شده در مرحله اول با هاون چینی و در مرحله نهایی با استفاده از خردکن برقی به قطعات ریزتر تبدیل

امکان حذف یا کاهش استفاده از حلال‌های آلی را فراهم نموده و بهبود پایداری و بی‌خطر بودن فرایند را به دنبال دارد. در زمینه تولید نانوامولسیون‌های حاوی اسانس، آب مادون بحرانی می‌تواند به عنوان یک بستر مناسب برای استخراج، اختلاط و کاهش اندازه ذرات عمل نماید و در نهایت موجب افزایش حلالیت اسانس در فاز آبی و پایداری امولسیون گردد (Beigzadeh & Ahmadi, 2025; Ghavidel et al., 2021; Shin et al., 2023).

بهینه‌سازی شرایط عملیاتی تولید نانوامولسیون تحت شرایط آب مادون بحرانی با رویکرد پاسخ سطح، به عنوان رویکردی سیستماتیک برای به دست آوردن بیشترین بازده با هزینه کمتر و پایداری بالا، قابل توجه است. رویکرد پاسخ سطح^۱ به محققان امکان می‌دهد تا با استفاده از طراحی‌های آماری مناسب، اثرات متقابل بین پارامترهای کلیدی فرآیند مانند دما، فشار، زمان، نسبت فازها و نرخ همزدن را به طور دقیق مدل‌سازی نمایند و نقشه‌های میانبری برای بهینه‌سازی فرایند ارائه دهند (Mahmud et al., 2024). در تحقیق حاضر، با تمرکز بر اسانس زیره سیاه، سعی بر این است شرایط عملیاتی شامل دما و زمان فرآیند تولید نانوامولسیون با روش آب مادون بحرانی بهینه سازی گردیده و نانوامولسیونی با خواص و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مناسب تولید گردد. در نهایت با مقایسه محصول تولید شده با اسانس زیره معمولی نشان داده شود که نانوامولسیون‌ها احتمالاً دارای پایداری بهتری در برابر نور، حرارت و اکسیژن داشته و قابلیت استفاده در فرمولاسیون‌های گوناگون را داشته باشد. از سوی دیگر، چالش‌های مربوط به پایداری سطحی، هزینه‌های تولید و فرآیندهای بهینه‌سازی در مقیاس صنعتی از جمله ملاحظات است که در پژوهش‌های آینده باید به طور جدی مورد توجه قرار گیرند.

² 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

¹ Response Surface Methodology

را ارتقاء دهند (Ahmadi, 2025; Memarzadeh et al., 2025). در تهیه و تولید نانوامولسیون با استفاده از روش آب مادون بحرانی متغیرهایی مانند دمای گرم‌کن و مدت‌زمان اعمال‌شده دمای اعمال شده از مهم‌ترین موارد می‌باشد. در پژوهش حاضر بهینه‌سازی و طراحی آزمایش جهت بهینه‌سازی میانگین اندازه ذرات پایین و شاخص پراکندگی مناسب (پایین) با شرایط زیر انجام گرفت، همچنین فرمولاسیون بهینه انجام گرفته توسط طراحی آزمایش با روش طرح مخلوط در پژوهش پیشین انجام گرفته و مقادیر حجمی اسانس زیره سیاه، امولسیفایر توئین ۸۰ و آب مقطر به طور ثابت در نظر گرفته شد که در بخش بعد توضیح داده شده است.

جهت تعیین خصوصیات نهایی نانوامولسیون تولیدشده بررسی اثر زمان (۶۰ الی ۱۲۰ دقیقه) و دمای حرارت دهی توسط آون (۱۱۰ الی ۱۹۰ درجه سانتیگراد) بر روی میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی آن موردبررسی و تحلیل قرار گرفتند. برای دو متغیر (زمان و دما) تعداد آزمایش‌ها جهت بهینه‌سازی با این روش ۱۳ آزمایش بود که نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده‌شده ۵ بار تکرار شد و برای طراحی آزمایش از سیستم غیرکد استفاده شد. مزیت ۵ بار تکرار آزمایش نقطه مرکزی، جهت تکرارپذیر بودن و دست‌یافتن به نتیجه قطعی در آزمایش می‌باشد. برای طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ از روش طرح مرکب

مرکزی^۱ (CCD) استفاده شد که در این روش ضرایب به‌صورت یک رابطه ریاضی نوشته‌شده و پاسخ پیش‌بینی خواهد شد. رابطه کلی که در آن Y پاسخ یا متغیر وابسته (میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی) به‌صورت رابطه (۱) می‌باشد و مقادیر X مربوط به متغیرهای مستقل (X_1 : دمای حرارت دهی و X_2 : زمان فرآیند) می‌باشد.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad (1)$$

گشته و در نهایت به‌صورت پودر درآمد، مقدار ۱۰۰ گرم از پودر بدست آمده به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر هرکدام به‌طور مجزا به بخش‌های مختلف دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای کلونجر انتقال یافته و فرایند استخراج با روش تقطیر با آب و بخار در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۱۲۰ دقیقه انجام گرفت. پس از اتمام فرآیند اسانس گیری حجم تقریبی اسانس استخراج شده ۳/۵ میلی‌لیتر بود. با توجه به نیاز پژوهش حاضر به مقدار حداقل ۸/۱ میلی‌لیتر از اسانس، این فرایند دو بار دیگر تکرار شد تا در مجموع تقریباً ۱۰ میلی‌لیتر اسانس روغنی زیره سیاه به‌دست آمد. این مقدار می‌تواند بسته به شدت خشک‌سازی، کیفیت ماده خام و شرایط دقیق فرایند تغییر کند. پس از پایان استخراج، برای جلوگیری از تخریب اسانس، محصول در ظرف تاریک با درب محکم و در دمای نگهداری معمولی یخچال (حدود ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و تا زمان انجام آزمایش‌های آتی نگهداری می‌شود.

طراحی آزمایش و آنالیز آماری داده‌ها جهت تولید

نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه

هدف اصلی این پژوهش بررسی آثار اصلی و تعامل بین متغیرهای منتخب به منظور بهینه‌سازی شرایط تولید نانوامولسیون روغنی زیره سیاه است. بر این اساس، از طرح آماری سطح پاسخ به عنوان ابزار اصلی طراحی آزمایش‌ها استفاده شده است. این رویکرد، مجموعه‌ای از روش‌های آماری را در بر می‌گیرد که بهینه‌سازی فرایندهایی را ممکن می‌سازد که پاسخ موردنظر تحت تأثیر چند متغیر قرار می‌گیرد. با بهره‌گیری از طرح سطح پاسخ، تعداد آزمایش‌ها کاهش می‌یابد و تمام ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و تعاملات بین فاکتورها قابل برآورد می‌گردند. پژوهشگران متعددی نیز از این تکنیک برای بهینه‌سازی مقادیر و کاهش تعداد آزمون‌ها بهره برده‌اند تا کارایی و کارایی اقتصادی پروژه

¹ Central Composite Design

سپس این محفظه به داخل اتوکلاو هیدروترمال استیل انتقال داده شد که تحت بازه های مختلفی از دما و زمان فرآیند حرارت دهی قرار گیرد. در فرایند تولید نانوامولسیون به روش آب مادون بحرانی، پارامترهای عملیاتی متعددی شامل دمای اعمال شده درون آون و دمای مخلوط آماده شده، همچنین مدت زمان اجرای فرایند از اهمیت بالایی برخوردارند. بهینه سازی این پارامترها می تواند به تشکیل نانوامولسیون با قطر ذرات کنترل شده و پایداری بهتری منجر شود. برای بررسی اثرات زمانی و دمایی، محفظه مذکور در شرایط مختلف زمانی و دمایی بیان شده در بخش طراحی آزمایش قرار گرفته و نتایج به طور سیستماتیک در بخش های بعدی گزارش شده اند.

آنالیز و بررسی خواص

برای تعیین شاخص های کلیدی اندازه ذرات، شامل میانگین اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا، از روش پویایی پراکندگی نور (DLS) استفاده شد. این روش غیر مخرب و فیزیکی است و با به کارگیری دستگاه Malvern ساخت انگلستان، امکان اندازه گیری دقیق خصوصیات نانوامولسیون را فراهم می کند. به منظور بررسی ویژگی های نانوامولسیونی تولید شده در نقطه فرمولاسیون بهینه، از ارزیابی های مختلفی شامل خواص ضدباکتریایی با روش چاهک، و خواص آنتی اکسیدانی با روش DPPH استفاده گردید. این ارزیابی ها با رویکردهای مشابهی که در پژوهش های احمدی در سال ۲۰۲۴ و میرزاخانی و همکاران در سال ۲۰۲۴ گزارش شده است (Ahmadi, 2024; Mirzakhani et al., 2024)، انجام شد تا پایداری و کارایی نانوامولسیون تولید شده ارزیابی گردد. بررسی دقیق این شاخص ها به درک بهتر انتشار ترکیبات فعال در فاز آبی و قدرت کارایی ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی تایید کننده نانوامولسیون کمک می کند.

در رابطه (۱)، ضریب β_0 ضریب ثابت، ضرایب β_1 و β_2 اثرات خطی (درجه اول)، β_{11} و β_{22} اثرات مربعی (درجه دوم) و در انتها β_{12} اثرات متقابل یا برهمکنش دما و زمان انتخاب شده می باشد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها از روش آنالیز واریانس^۱ (ANOVA) و از روش آماری t-test جهت مقایسه داده ها استفاده گردید. در این مدل $P < 0.05$ به عنوان مقادیر آماری معنی دار در نظر گرفته می شود و جملاتی که دارای $P > 0.05$ باشند به عنوان نتایج بی معنی و غیر اثرگذار تلقی شدند. مقدار $P < 0.05$ بدین معناست که مدل ارائه شده و استخراج شده با احتمال ۹۵٪ پذیرفته می شود. مقدار R^2 نیز معیار خوبی برای ارزیابی مناسب بودن یک مدل می باشد که هرچه مقدار این عدد به یک نزدیک تر باشد دلالت بر دقیق بودن مدل در پیش بینی رفتار متغیرهای مستقل بر روی متغیر وابسته دارد. نتایج حاصل از هر کدام از آزمایش ها، تحلیل و همچنین اثر پارامترها و متغیرهای انتخاب شده که شامل دما و زمان فرآیند تولید نانوامولسیون زیره سیاه با روش آب مادون بحرانی می باشد، بر روی دو متغیر وابسته یا پاسخ که شامل میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی می باشد در بخش بحث و نتایج گزارش شده است.

تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه

جهت فرمولاسیون سه ماده فاز آبی، فاز روغنی و امولسیفایر، مقادیر ۰/۶۲ میلی لیتر اسانس، و ۲/۷۵ میلی لیتر امولسیفایر توپین ۸۰ و ۲۱/۶۳ میلی لیتر آب مقطر طبق طراحی آزمایش طرح مخلوط که به عنوان پیش آزمایش انجام شد، انتخاب گردید که مجموعاً ۲۵ میلی لیتر را در بر گرفت. اسانس زیره سیاه و امولسیفایر توپین ۸۰ با هم مخلوط شده و سپس قطره قطره آب مقطر به مخلوط آن ها اضافه گردید. پس از آماده سازی مخلوط حاصل، مجموعاً به داخل محفظه تفلونی و مقاوم به خوردگی انتقال داده شده و

¹ Analysis of Variance

بحث و نتایج

مدل پاسخ سطح

برای بهینه‌سازی شرایط تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه و بررسی خصوصیات آن در نقطه بهینه، نتایج طراحی آزمایش و پاسخ‌های هر کدام از متغیرها ارائه می‌شود. با انجام فرایند بهینه‌سازی و دستیابی به شرایط عملیاتی مطلوب از نظر دما و زمان، ویژگی‌های مختلف محصول همچون خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی نیز ارزیابی شد تا کارایی نانوامولسیون در کاربردهای هدف به طور جامع مشخص گردد. با کاربرد رویکرد سطح پاسخ، امکان پیش‌بینی اثرات متقابل پارامترهای کلیدی و بهبود مستمر فرایند به وجود می‌آید تا طراحی صنعتی با کم‌ترین مصرف انرژی و هزینه انجام شود.

جدول ۱- طراحی آزمایش انجام گرفته و نتایج مربوط به هر کدام از متغیرهای مستقل به همراه نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل
Table 1 - Experimental design and results for each of the independent variables along with the results predicted by the mod

متغیرهای وابسته Dependent variables				متغیرهای مستقل Independent variable		ردیف
شاخص پراکندگی PDI		میانگین اندازه ذرات (نانومتر) Average particle size (nm)		زمان فرآیند (دقیقه) Process time (min)	دمای حرارت دهی آون (درجه سانتی‌گراد) Oven heating temperature (°C)	
آزمایشگاهی Experimental	مدل Model	آزمایشگاهی Experimental	مدل Model			
۱۵۰	۹۰	۱۵۳	۱۵۳/۱	۰/۱۸۴	۰/۱۸۵	۱
۱۵۰	۶۰	۱۶۵	۱۶۲/۷	۰/۲۱۱	۰/۱۹۱	۲
۱۲۲	۶۹	۱۸۲	۱۸۳/۶	۰/۴۱۲	۰/۴۲۱	۳
۱۱۰	۹۰	۲۰۴	۲۰۲/۵	۰/۶۴۱	۰/۶۴۵	۴
۱۲۲	۱۱۱	۱۸۷	۱۸۸/۸	۰/۵۱۴	۰/۴۹۹	۵
۱۵۰	۹۰	۱۵۳	۱۵۳/۱	۰/۱۸۶	۰/۱۸۵	۶
۱۵۰	۹۰	۱۵۲	۱۵۳/۱	۰/۱۸۸	۰/۱۸۵	۷
۱۵۰	۹۰	۱۵۳	۱۵۳/۱	۰/۱۸۱	۰/۱۸۵	۸
۱۹۰	۹۰	۱۵۶	۱۵۲/۷	۰/۳۸۴	۰/۳۷۳	۹
۱۷۸	۶۹	۱۵۵	۱۵۷/۹	۰/۲۴۹	۰/۲۶۸	۱۰
۱۷۸	۱۱۱	۱۴۱	۱۴۴/۰	۰/۲۷۱	۰/۲۶۶	۱۱
۱۵۰	۱۲۰	۱۵۹	۱۵۶/۵	۰/۲۳۱	۰/۲۴۵	۱۲
۱۵۰	۹۰	۱۵۴	۱۵۳/۱	۰/۱۸۷	۰/۱۸۵	۱۳

جهت اعتبارسنجی متغیرهای مستقل در نظر گرفته‌شده مورد استفاده در طراحی آزمایش و میزان اهمیت و تاثیرگذاری آنها از اصطلاح p-value استفاده شد که مطابق با توضیحات ارائه‌شده در بخش طراحی آزمایش، این مقدار

۰/۰۵ در نظر گرفته شده است، که نتایج نشان داده شده در جدول (۲) نشان می‌دهد، برای هر دو متغیر مستقل در نظر گرفته شده (دما و زمان فرآیند تولید نانوامولسیون) این عبارت برای متغیر وابسته میانگین اندازه ذرات به ترتیب برای دما و زمان ۰/۰۰۰ و ۰/۰۴۵ و برای متغیر وابسته شاخص پراکندگی ۰/۰۰۰ و ۰/۰۰۷ بدست آمد. اعداد بدست آمده بدین معنی است که متغیرهای مستقل در نظر گرفته به درستی انتخاب شده و اثرگذاری هر دو عامل تعیین گردیده این جمع بندی را نشان می‌دهد. با بررسی اثرات درجه دوم نتایج نشان می‌دهد که اثرگذاری دما و زمان فرآیند حرارت

دهی، در هر دو پارامتر وابسته میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی مؤثر بوده و کمتر از ۰/۰۵ می باشد. در نهایت با بررسی اثرات متقابل دو متغیر مستقل در پاسخ میانگین اندازه ذرات، نتایج نشان می‌دهد مقدار p-value معنی دار بوده و برابر ۰/۰۰۹ است. همچنین این اثر در شاخص پراکندگی هم مشاهده گردیده و مقدار p-value کمتر از ۰/۰۵ بوده (۰/۰۲۸) و معنی دار است، و زمان و دما به طور هم زمان اثر متقابلی بر هر دو متغیر وابسته میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی دارند.

جدول ۲- مقادیر p-value مربوط به نانوامولسیون اسانس زیره سیاه تولید شده (اثرات خطی، درجه دوم و برهم کنش)
Table 2- p-values related to the produced black cumin essential oil nanoemulsion (linear, quadratic and interaction effects)

شاخص پراکندگی	میانگین اندازه ذرات	متغیرهای مستقل	اثرها
PDI	Average particle size (nm)	Independent variables	Effects
Y ₂	Y ₁		
p-value			
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	دما (X ₁)	اثرات درجه اول (خطی)
۰/۰۰۷	۰/۰۴۵	زمان (X ₂)	First-order (linear) effects
۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	X ₁ ²	اثرات درجه دوم
۰/۰۱۹	۰/۰۱۴	X ₂ ²	Second-order effects
۰/۰۲۸	۰/۰۰۹	X ₁ X ₂	اثرات متقابل (برهم کنش)
۰/۰۷۰۵	۰/۸۷۹	-	Interaction effects Lack of fit

یکی از اهداف اصلی بهینه سازی در تحقیق حاضر، استخراج رابطه کلی میان پاسخ های در نظر گرفته شده (متغیرهای وابسته) و متغیرهای مستقل تعیین شده است. این ارتباط را می توان از طریق (رابطه ۱) نشان داد و با استفاده از ضرایب معادله کلی درجه دوم که در جدول (۳) ارائه شده اند، در بازه ی مشخص شده برای متغیرهای مستقل قابل استناد است. ضمن اینکه این مدل امکان پیش بینی پاسخ ها در سایر نقاط دامنه را می دهد و امکان بررسی تأثیرات هم افزایی بین فاکتورها را فراهم می کند. با استفاده از این چارچوب، می توان نقاط بهینه را با دقت بیشتری شناسایی کرد و فرآیند را به سمت کارایی و پایداری بیشتری هدایت نمود. همچنین، انجام صحت سنجی های تجربی برای

ارزیابی اعتبار روابط مدل از اهمیت بالایی برخوردار است تا اعتماد به نتایج به دست آمده افزایش یابد. پس از بدست آمدن ضرایب بدست آمده β (ضرایب ثابت، درجه اول، دوم و اثرات متقابل) و قرار دادن آن ها در رابطه (۱)، به راحتی می توان ارتباط بین متغیرهای مستقل و پاسخ های در نظر گرفته شده را ایجاد کرد و از طریق معادلات بدست آمده به پیش بینی خروجی و اعداد مربوط به متغیر وابسته دست یافت، اما اطمینان از نتایج بدست آمده وابسته به عبارت R^2 داشته که هرچه قدر این عبارت نزدیک به ۱ و یا به بیانی دیگر نزدیک به ۱۰۰٪ باشد، نتیجه حاصل شده اطمینان بیشتری خواهد داشت. عبارت مربوط به R^2 نیز در جدول ۳ گزارش شده است که برای هر دو مدل بدست آمده

میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی، این عبارت عدد است که نشان می‌دهد مدل‌های بدست آمده پیش‌بینی مناسبی بوده و به ترتیب ۹۸/۶۵٪ و ۹۹/۴۵٪ بدست آمده مناسبی از متغیر پاسخ در نظر گرفته شده دارند.

جدول ۳- ضرایب چندجمله‌ای درجه دوم همراه با ضرایب برازشی برای هر متغیر وابسته در تولید نانوامولسیون اسانس زیره سیاه
Table 3 - Quadratic polynomial coefficients along with fitting coefficients for each dependent variable in the production of black cumin essential oil nanoemulsion

شاخص پراکندگی PDI	میانگین اندازه ذرات Average particle size (nm)	ضرایب
Y ₂	Y ₁	
۲۸/۷۰	۱۲۷/۴۶	ثابت (β) Constant
-۱۸/۸۵	-۱۸/۵۶	اثرات درجه اول خطی (β _۱ و β _۲) Linear first-order effects
۳/۷۳	-۲/۳۰	درجه دوم (β _{۱۱} و β _{۲۲}) Second-order
۳۹/۶۷	۱۲/۱۰	اثرات متقابل (برهمکنش) (β _{۱۲}) Interaction effects
۳/۰۳	۳/۲۵	
-۲/۷۷	-۳/۵۴	
۹۹٪/۴۵	۹۸٪/۶۵	R-square

تولید و کاهش تغییرات در پاسخ‌های بیولوژیکی منجر شود. اثر زمان و دما بر حرارت‌دهی بر روی میانگین اندازه ذرات در شکل ۱ ارائه شده است و نشان می‌دهد که چگونه پارامترهای فرایند می‌توانند به شکل قابل کنترل بزرگی اندازه ذرات را تغییر دهند.

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، در دمای

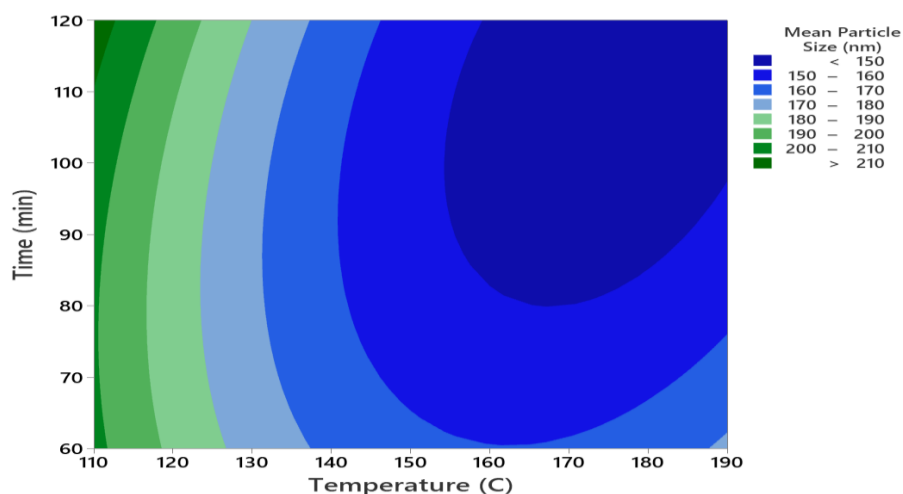
ثابت و پایین حرارت دهی، با افزایش زمان فرآیند تاثیر ناچیزی در میانگین اندازه ذرات مشاهده شده و به عبارتی تقریباً میانگین اندازه ذرات ثابت و در همان حد بالا و اندازه قطرات بزرگ باقی مانده اند، اما در دمای ثابت و بالای حرارت دهی، با افزایش زمان فرآیند میانگین اندازه ذرات روندی کاهش پیدا کرده و قطرات ریزتری تشکیل می‌شود. در دمای پایین و ثابت حرارت‌دهی، فرآیند تشکیل و پویایی نانوامولسیون‌ها به دلیل کمبود انرژی حرارتی محدودتر بوده و سطح انرژی فعال‌سازی برای فرایندهای کلیدی مانند تشکیل امولسیون و پایداری آن کاهش می‌یابد و به علت وجود نیروی‌های کشش سطحی بالا و کاهش حرکت مولکولی، نرخ رشد قطرات تشکیل شده اولیه به سمت هم‌پیوستن یا تجمع ذرات با اندازه متوسط سوق می‌یابد.

تأثیر پارامترهای موثر

پس از بدست آمدن نقاط و بازه‌های تأثیرگذار و یافتن ضریب تأثیر هر کدام به صورت جداگانه، نمودارهای خروجی مختلف که شامل متغیرهای تعیین شده در طراحی آزمایش به صورت جداگانه رسم گردیده و در ادامه به توضیحات آن‌ها پرداخته شد.

اثرات دما و زمان بر روی میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس زیره سیاه تولیدشده

میانگین اندازه ذرات در نانوامولسیون‌ها یکی از ویژگی‌های کلیدی است که تأثیر قابل توجهی بر خواص فیزیکی و شیمیایی این سیستم‌ها می‌گذارد. اندازه‌های کوچک‌تر ذرات در نانوامولسیون‌ها مطلوب‌اند زیرا نسبت سطح به حجم را افزایش می‌دهند؛ این امر به بهبود پایداری، افزایش قابلیت جذب و توزیع بهتر مواد فعال در فازهای بیولوژیکی می‌انجامد. نتیجه این ویژگی‌ها، ارتقای کارایی داروها و سایر ترکیبات فعال در کاربردهای متنوعی مانند دارورسانی، صنایع غذایی و آرایشی-بهداشتی است. به‌طور کلی، کنترل دقیق اندازه ذرات می‌تواند به بهبود ثبات فرایند



شکل ۱- نمودار سطح پاسخ برای میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس زیره سیاه با دما و زمان فرآیند تولید تحت شرایط آب مادون بحرانی

Figure 1- Response surface plot for the average particle size of black cumin essential oil nanoemulsion with temperature and time of production process under subcritical water conditions

تشکیل نانوذرات با اندازه واقعی تر و توزیع ذرات همگن تر منجر می شود.

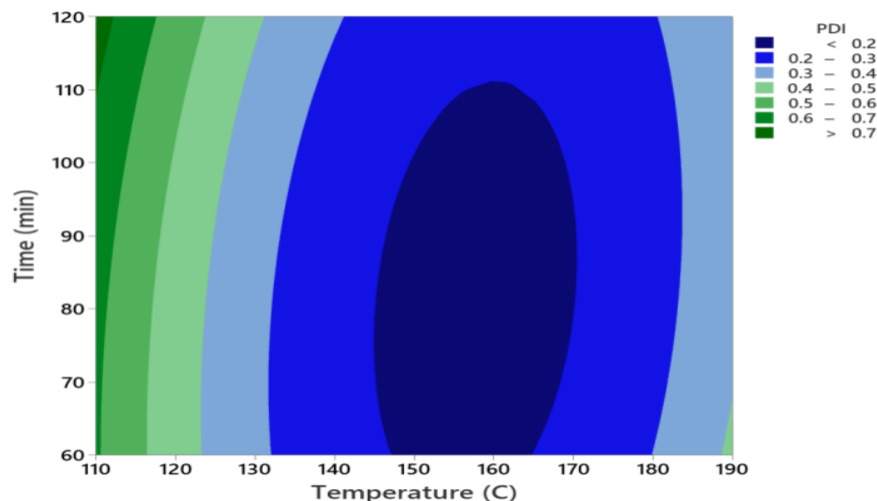
در مقابل در زمان های ثابت و پایین فرآیند، با افزایش دمای حرارت دهی، میانگین اندازه ذرات تا حدی کاهش پیدا کرده و سپس ثابت باقی ماندند، اما افزایش دما در زمان های ثابت و بالای فرآیند، روند به مراتب بهتری داشته و میانگین اندازه ذرات به طور پیوسته با افزایش دما کاهش محسوسی داشت. در زمان های کوتاه و کم زمان/ثابت، با افزایش دما انرژی جنبشی مولکولی افزایش می یابد اما کاهش مؤثری در اندازه ذرات مشاهده نمی شود زیرا فرآیندهای کلیدی لازم برای تفکیک و پخش ذرات هنوز به دامنه حرکتی کافی نرسیده اند. در این مقطع، افزایش دما موجب بهبود کارایی شکاف فاز، کاهش کشش سطحی نسبی و افزایش نرخ انتشار برخی ترکیبات فعال می شود، اما رقابت میان نانوقطره سازی و هم جوشی ذرات جدید نسبتاً محدود است و اندازه نانوقطره ها به طور نسبتاً ثابتی باقی می ماند یا تنها کاهش کوچکی تجربه می کند. به این ترتیب، افزایش دما در زمان های کوتاه می تواند به تشدید پخش سطحی و همگن سازی محدود بیانجامد اما اثر محسوس و گسترده ای بر کاهش قابل توجه اندازه ذرات ندارد.

در چنین شرایطی، گرچه مدت زمان بیشتر می تواند برخی از پدیده های تولید نانوامولسیون را تقویت کند، اما از آنجا که انرژی لازم برای برهم کنش های مفید و همراستا در جهت تشکیل نانوامولسیون و کاهش فعالیت سطحی امکان پذیر نیست، کاهش محسوس یا افزایشی معناداری در اندازه ذرات مشاهده نمی شود. نتیجه این است که اندازه ذرات به طور نسبتاً ثابت باقی می ماند و قطرات با اندازه های درشت تر و بزرگ تر از حالت ایده آل پدید می آیند. اما در دمای بالاتر در همان سطح حرارت دهی، انرژی اضافی به سیستم تزریق می شود که باعث افزایش حرکت حرارتی مولکول ها و کاهش تصلب ساختاری مخلوط می گردد. این انرژی اضافی علاوه بر تسهیل فرایندهای انتشار و پخش ذرات، باعث تقویت نیروهای درگیر در نانوامولسیون و کاهش اندازه متوسط ذرات می شود. افزایش دما می تواند سیالات را رقیق تر کند و موانع رسوب نانوقطرات به علت جنب و جوش و فعالیت بالای آنها افزایش یافته و در نتیجه تجمع را کاهش دهد، در نتیجه ذرات بار دیگر پدیده هم جوشی کاهش پیدا نموده و به اندازه های کوچکتر و پایداری بیشتر دست یافت. با افزایش زمان در این شرایط، فرایندهای شکستن ذرات بزرگ و بازسازی تشکیل ذرات نانوامولسیونی شدت می یابد و امکان ایجاد ناپیوستگی های ساختاری را کاهش می دهد، که به

اثرات دما و زمان بر روی شاخص پراکندگی نانوامولسیون اسانس زیره سیاه تولیدشده

شاخص پراکندگی یا PDI یکی از شاخص‌های کلیدی در ارزیابی توزیع اندازه ذرات در نانوامولسیون‌هاست. هرچه PDI پایین‌تر باشد، توزیع اندازه ذرات همگن‌تر و یکنواخت‌تر است که معمولاً به پایداری برتر نانوامولسیون منجر می‌شود. مقدارهای بسیار پایین (معمولاً کمتر از ۰/۱ یا ۰/۲) نشان‌دهنده توزیع بسیار مطلوب است، در حالی که مقادیر بالاتر معمولاً نشان‌دهنده وجود گستره وسیعی از اندازه ذرات و پایداری کمتری در سیستم است. در نتیجه، هرچه PDI به سمت ۰ نزدیک‌تر باشد، نشانه بهتری از یکنواختی اندازه ذرات و کارایی بالقوه بهتر فرایند است. در بخش حاضر اثر متغیرهای مستقل زمان و دمای حرارت دهی با شرایط آب مادون بحرانی بر روی شاخص پراکندگی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تولیدشده در شکل ۲ نشان داده شده است.

در زمان‌های طولانی‌تر و بالای فرآیند، انرژی اضافی ناشی از دمای بالاتر به سیستم اجازه می‌دهد تا فرایندهای هم‌سویی بین ذرات و پخش‌کنندگی بیشتر انجام شود. این شرایط به کاهش پویا اندازه ذرات می‌انجامد، زیرا انتشار مایعات و انرژی جنبشی بالا موجب شکستن ذرات بزرگتر، تخریب پوسته‌های سطحی و تشکیل قطرات ریزتر می‌شود. در طی زمان‌های طولانی، نیروهای کششی سطحی، نیروهای بین‌امولسیفایر و اسانس و فرایندهای همگن‌سازی به شکل هدفمندتری عمل می‌کنند و با فراهم کردن انرژی کافی، اندازه ذرات به طور پیوسته کاهش می‌یابد. علاوه بر این، تغییرات دما می‌تواند باعث بهبود پایداری پیوسته نانوامولسیون و کاهش تجمع ذرات در فاز داخلی یا خارجی شود، که نتیجه آن کاهش اندازه متوسط ذرات در نهایت است.



شکل ۲- نمودار سطح پاسخ برای شاخص پراکندگی نانوامولسیون اسانس زیره سیاه با دما و زمان فرایند تولید تحت شرایط آب مادون بحرانی

Figure 2- Response surface diagram for the dispersion index of black cumin essential oil nanoemulsion with temperature and time of the production process under subcritical water conditions

با توجه به نتایج بدست آمده در شکل ۲، در زمان‌های ثابت و پایین، با افزایش دمای حرارت دهی شاخص پراکندگی کاهش پیدا کرده و نانوقطرات یکنواخت‌تری با اندازه تقریباً یکسانی تولید شده است، اما در دماهای حدی (خیلی بالاتر) روند افزایشی پیدا کرده و نانوقطرات با اندازه

عبارتی در دماهای ثابت و بالا، افزایش زمان فرآیند حرارت دهی، شاخص پراکندگی کاملاً ثابت و بدون تغییر باقی میماند. در دماهای پایین و ثابت، افزایش زمان فرایند به عنوان عاملی که به کندی پیش می‌رود، می‌تواند به تشدید فرآیندهای همگن‌سازی ناقص و رقابت بین مکانیسم‌های نانوقطره سازی و تجمع منجر شود. انرژی حرارتی پایین قادر نیست به اندازه کافی محرک شکافت فاز، انتشار مولکولی و تفکیک ذرات باشد؛ از این رو افزایش زمان فرصت بیشتری به برهم‌کنش‌های سطحی نامتعادل، تشکیل نانوقطرات کوچک و تجمع ناحیه‌ای می‌دهد که در نهایت منجر به توزیع اندازه‌ای غیرهمگن و افزایش PDI می‌شود. به عبارت دیگر، در این بازه دمایی، فرآیندها محدود می‌مانند و زمان طولانی‌تر نمی‌تواند بهبود معناداری در همگن‌سازی ایجاد کند، بلکه احتمال تشکیل ذرات با اندازه‌های متفاوت را افزایش می‌دهد.

در مقابل این پدیده، در دماهای بالاتر و ثابت، انرژی اضافی باعث افزایش حرکت مولکولی، کاهش کشش سطحی و تسهیل فرایندهای همگن‌سازی نسبتاً یکنواخت می‌شود. اما در این شرایط نیز در طول زمان‌های طولانی احتمال فعال شدن مکانیسم‌های پایداری نامناسب یا هم‌جوشی‌های ناخواسته وجود دارد که می‌تواند منجر به ایجاد ذرات با اندازه‌های متفاوت گردد. با این حال، نتایج نشان می‌دهد که در بازه‌های دمایی بالا، تغییرات زمانی اثر چشمگیری بر روی PDI ندارد یا نسبتاً ناچیز است؛ زیرا انرژی بالاتر غالباً به سرعت‌های انتشار و پخش سریع‌تر منجر می‌شود که نتیجه آن حفظ همگن‌سازی نسبتاً پایدار است، هرچند که در برخی شرایط و مدت‌زمان‌های طولانی‌تر پدیدار شدن بی‌ثباتی‌های سطحی نیز ممکن است دیده شود.

بهینه‌سازی پارامترهای انتخاب‌شده جهت تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه

پس از طراحی آزمایش و انجام بررسی‌های آماری و تحلیل‌های مربوط به اثرات متغیرهای مستقل شامل دما و

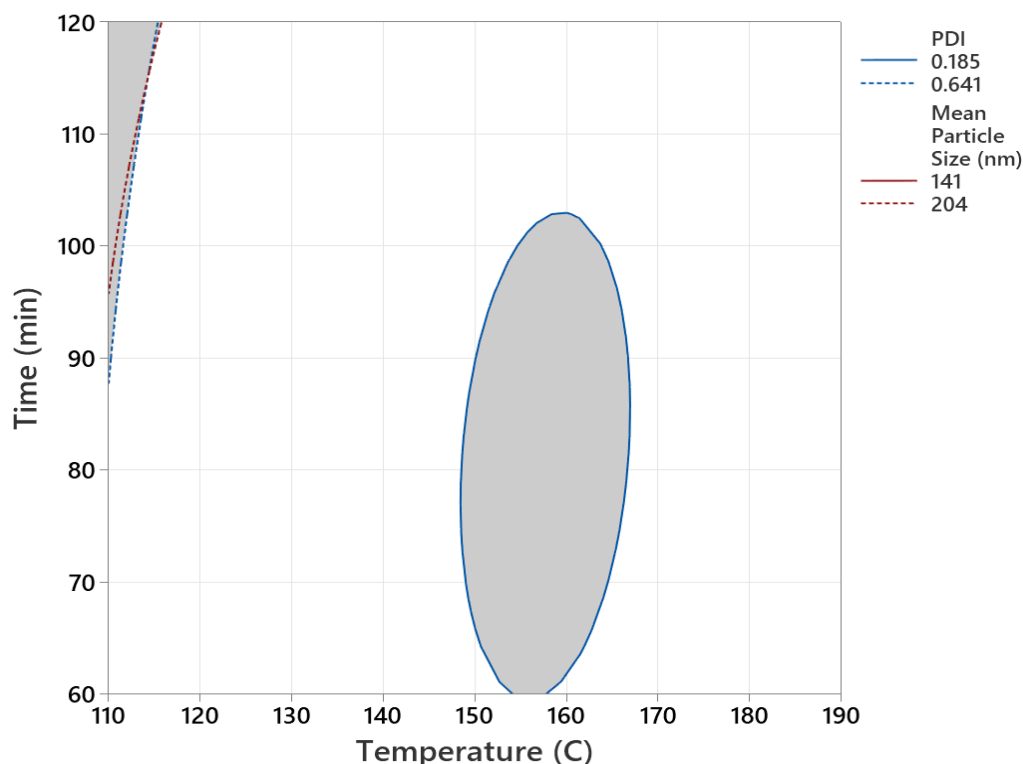
نانوقطرات یکنواختی خود را از دست می‌دهند اما باز هم از دماهای پایین‌تر مناسب‌تر می‌باشد. در زمان‌های پایین و ثابت، افزایش تدریجی دما منجر به افزایش انرژی جنبش مولکولی و بهبود حرکت نانوقطرات گردیده که این شرایط باعث تسهیل تقسیم ذرات و پخش‌کننده‌ها بر سطح‌های فازهای مختلف می‌شود و در نتیجه همگن‌سازی اندازه ذرات افزایش می‌یابد و PDI کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر، در دماهای نسبتاً مناسب به دلیل جنب و جوش و فعالیت بهینه نانوقطرات، انرژی انتقالی بین فازهای مختلف مناسب بوده و تمایل ذرات به کلوخه و تجمع کاهش می‌یابد تا زمانی که منجر به توزیع اندازه نسبتاً یکنواخت نانوقطرات می‌گردد. با ادامه افزایش دما در بازه‌های نسبتاً محدود، جنب و جوش و انرژی حرکت نانوقطرات و برخورد آنها با یکدیگر افزایش یافته و امکان رخ دادن پدیده‌های نامطلوب افزایش می‌یابد که در نتیجه منجر به تشکیل نانوقطرات با اندازه‌های مختلف شده و شاخص PDI افزایش می‌یابد. در دماهای خیلی بالا، به علت تزریق انرژی اضافی به سیستم ممکن است موجب فعال شدن مکانیسم‌های ناسازگار مانند پدیده‌های هم‌جوشی و تجمع ذرات و تشکیل فازهای مغشوش شود. این عوامل می‌تواند موجب ایجاد قطرات با اندازه‌های مختلف و در نتیجه افزایش PDI شود. در زمان‌های بالاتر، تماس مکرر بین ذرات و برخورد آنها با یکدیگر و افزایش انرژی جنبشی می‌تواند منجر به تخریب لایه‌های مایسل‌ای اطراف نانوقطرات گردیده که دوباره به کاهش همگن‌سازی و افزایش پراکندگی اندازه نانوقطرات منجر می‌شود. با این حال، در بازه‌های دمایی پایین تا متوسط، کنترل بهتری بر روی فرایند وجود دارد و همواره به نظر می‌رسد که بهینه‌سازی در این بازه‌ها منجر به پایداری و همگن‌سازی بهتری خواهد شد.

با بررسی اثر افزایش زمان فرآیند، در حرارت دهی پایین و ثابت، افزایش زمان فرآیند به عنوان عاملی منفی در شاخص پراکندگی عمل نموده و PDI روندی افزایشی داشته که منجر به تولید نانوقطراتی با اندازه‌های غیریکسان می‌گردد، این روند در دماهای بالا مشاهده نمی‌شود، به

زمان تولید نانوامولسیون بر متغیرهای وابسته، یعنی میانگین اندازه ذرات و شاخص پراکندگی، فرآیند بهینه‌سازی در دو بُعد گرافیکی و عددی انجام شد. نتایج این بهینه‌سازی به تفصیل در شکل‌های ۳ و ۴ ارائه گردیده است.

در شکل ۳ محدوده بهینه جهت تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه با کمترین میانگین اندازه ذرات و پایین‌ترین شاخص پراکندگی (یکنواختی بیشتر نانوقطرات) نشان داده شده است. همان‌طور که در خطوط راهنما نیز مشخص گردیده است، خطوط نقطه‌چین برای بالاترین میانگین اندازه ذرات و خطوط پیوسته بهترین خاصیت بشمار رفته که برای شاخص پراکندگی هم به همین‌طور است، بدین معنی که خطوط نقطه‌چین بدترین حالت از شاخص پراکندگی به معنی غیریکنواختی و غیرهم‌اندازه بودن نانوقطرات تشکیل شده و خطوط پیوسته برای بهترین حالت

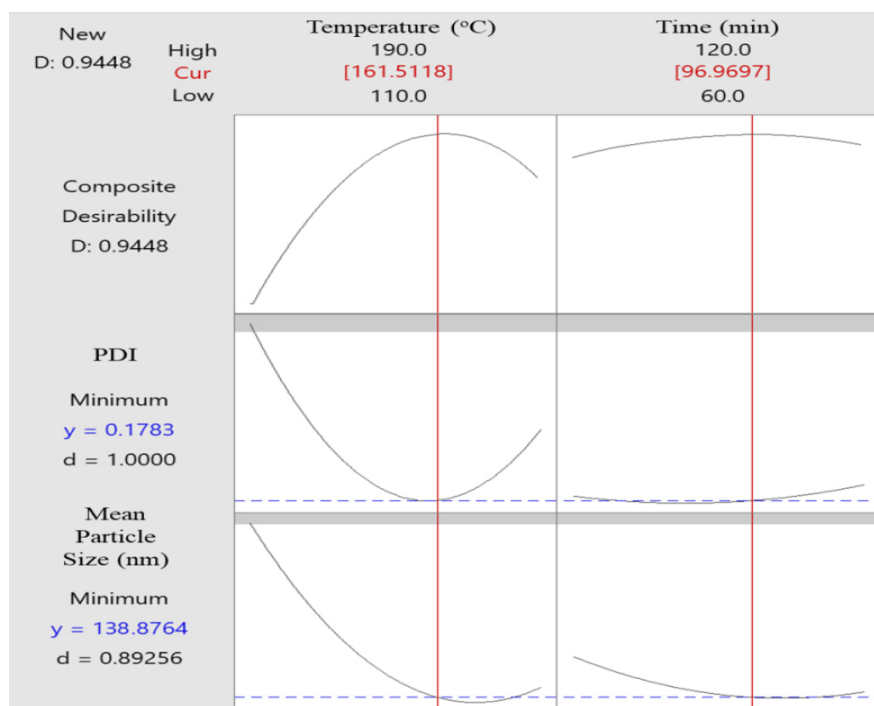
در نظر گرفته شده است. از تلاقی بهترین خطوط و شرایط عملیاتی جهت تولید نانوامولسیون می‌توان کمترین میانگین اندازه ذرات و کمترین شاخص پراکندگی را انتظار داشت. با توجه به اینکه دامنه مشخص شده در شکل ۳ گستره وسیعی از پارامترها را دربر می‌گیرد، لازم است بهینه‌سازی به‌طور دقیق‌تر و با دقت بالاتر انجام شود تا به نقطه‌ای منتهی گردد که در آن، خواص و ویژگی‌های نهایی بهینه‌ترین وضعیت را نشان دهند. به این منظور، بهره‌گیری از روش‌های بهینه‌سازی عددی ضروری است؛ چراکه این رویکرد امکان استخراج مقادارهای بهینه دقیق را فراهم می‌کند و نتایج را با دقت بیشتری از مسیرهای گرافیکی نشان می‌دهد. شکل ۴ گزارش‌دهنده نتیجه این بهینه‌سازی عددی است و نقطه بهینه را با مقداردهی دقیق پارامترها نشان می‌دهد.



شکل ۳- بهینه‌سازی گرافیکی تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه بر اساس طراحی آزمایش به روش پاسخ سطح

Figure 3- Graphical optimization of black cumin essential oil nanoemulsion production based on response surface methodology experimental design

بهینه سازی شرایط عملیاتی تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تحت شرایط آب مادون بحرانی...



شکل ۴- مقادیر بهینه (بهینه‌سازی عددی) تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه بر اساس طراحی آزمایش به روش پاسخ سطح
Figure 4- Optimal values (numerical optimization) for the production of black cumin essential oil nanoemulsion based on the response surface methodology experimental design

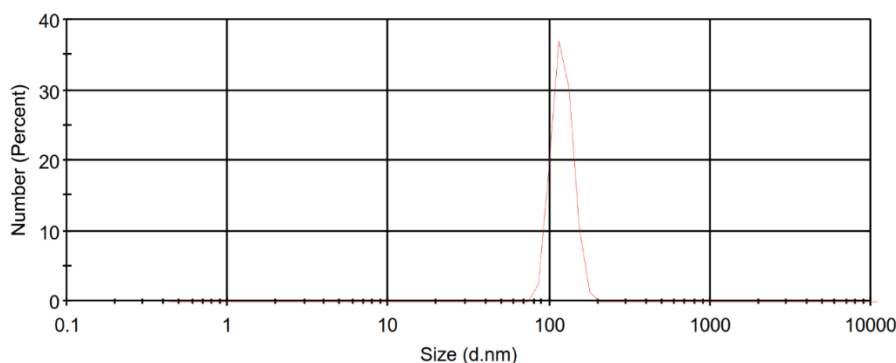
اندازه ذرات و شاخص پراکندگی آن مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفت. پس از انجام آزمایشات مربوط به صحت سنجی طراحی آزمایش، نتایج حاکی از آن بود که محصول تولید شده در نقطه بهینه دارای میانگین اندازه ذرات ۱۴۱ نانومتر با شاخص پراکندگی ۰/۱۸۳ می باشد، که در مقایسه با نتایج پیش‌بینی‌شده (۱۳۹ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۱۷۸) اختلاف معناداری بین داده‌های مدل پیش‌بینی با نتایج آزمایشگاهی وجود نداشت و مدل‌های بدست آمده تأیید شده و به‌درستی توانسته‌اند اثرات متغیرهای عملیاتی را بر روی متغیرهای وابسته در محدوده موردنظر مشخص نمایند. در شکل ۵ نتیجه آنالیز میانگین اندازه ذرات به‌صورت توزیع اندازه ذرات در نقطه بهینه گزارش شده است. لازم به ذکر است در نقطه بهینه شرایط عملیاتی تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه، پتانسیل زتا نیز مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۶) که مقدار عددی ۲۵/۸۷- میلی ولت بدست آمد. پتانسیل زتا شاخصی کلیدی برای پایداری نانوامولسیون‌ها بوده که هر چه مقدار آن بیشتر باشد (به

همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، نقطه بهینه بدست آمده از طراحی آزمایش مذکور مربوط به دمای حرارت دهی ۱۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان تقریباً ۹۶ دقیقه می‌باشد که در این حالت اگر نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه با روش آب مادون بحرانی تولید گردد، منجر به خواصی برابر با میانگین اندازه ذرات تقریبی ۱۳۹ نانومتر و شاخص پراکندگی ۰/۱۷۸ خواهد شد که بایستی این نتایج راستی آزمایی شده و صحت سنجی شوند، در بخش بعد این موارد به تفصیل گزارش شده است.

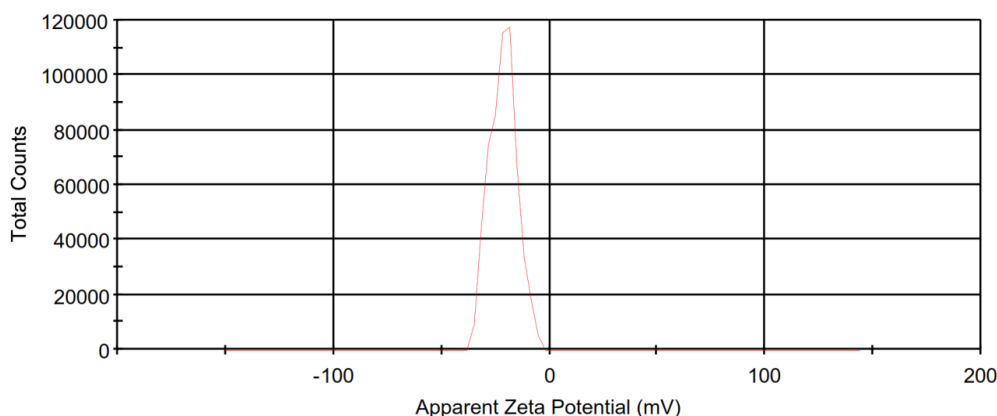
صحت سنجی نتایج حاصل از بهینه سازی شرایط عملیاتی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه
آنالیز میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا

با یافتن نقاط بهینه بدست آمده از بهینه‌سازی عددی، در شرایط بدست آمده از طراحی آزمایش صحت سنجی نتایج بدست آمده باید انجام شود که در بخش حاضر، تولید نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه انجام شده و میانگین

سمت $\pm$ و بدون توجه به علامت آن)، نیروهای واگرایی سطحی و دافعه بین ذرات افزایش می‌یابد که از تجمع ذرات و رسوب در فاز امولسیون جلوگیری می‌کند و بدین ترتیب پایداری فیزیکی سیستم را بهبود می‌بخشد. به عبارت دیگر، مقدار مطمئن و بافاصله از صفر برای شاخصی پیش‌گوینده شده می‌باشد.



شکل ۵- توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تولید شده در شرایط بهینه عملیاتی دما و زمان فرآیند
Figure 5- Particle size distribution of black cumin essential oil nanoemulsion produced under optimal operating conditions of temperature and process time



شکل ۶- پتانسیل زتا نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تولید شده در شرایط بهینه عملیاتی دما و زمان فرآیند
Figure 6- Zeta potential of black cumin essential oil nanoemulsion produced under optimal operating conditions of temperature and process time

بررسی کاربرد نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه

تولید شده در شرایط عملیاتی بهینه
از دیگر خواص کاربردی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تولید شده در شرایط عملیاتی دما و زمان بهینه، کاربرد آن در مهار رشد باکتری‌ها اشاره کرد که در برابر باکتری گرم مثبت /ستافیلوکوکوس/ اورئوس و گرم منفی /شرشیا کلای مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن در جدول ۴ گزارش شده است.

پس از یافتن نقطه بهینه فرمولاسیون فازهای آبی، روغنی و امولسیفایر جهت تولید نانوامولسیون اسانس زیره سیاه، کاربرد ضد میکروبی نانوامولسیون اسانس روغنی سیاه در دو حالت خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی بررسی گردید که در بخش‌های زیر به آن اشاره گردیده است.

جدول (۴) خاصیت ضدباکتریایی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه در شرایط عملیاتی بهینه

(بررسی اثر نانوامولسیون تولید شده بر روی دو گونه باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشرشیا کولی)

Table (4) Antibacterial properties of black cumin oil essential oil nanoemulsion under optimal operating conditions (Investigation of the effect of the produced nanoemulsion on two species of gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* and gram-negative *Escherichia coli*)

هاله ایجاد شده در اطراف چاهک ایجاد شده (میلی متر) Halo created around the created well (mm)			
نام باکتری Bacteria name	سیاه Black cumin essential oil nanoemulsion	اسانس روغنی زیره سیاه Black cumin essential oil	توئین ۸۰ و آب Tween 80 and water
۱ اشرشیا کولی <i>Escherichia coli</i>	۱/۶	۳/۶	۰/۵
۲ استافیلوکوکوس اورئوس <i>Staphylococcus aureus</i>	۱/۸	۳/۹	۰/۵

به طور پیوسته تر در دسترس باکتری باقی بمانند. با وجود رقیق تر بودن مقدار اسانس در نانوامولسیون، توزیع یکنواخت و فراریت کمتر مواد فعال از حامل می تواند منجر به اثر ضدباکتریایی معناداری گردد و در نتیجه کارایی قابل مقایسه یا بیشتری نسبت به اسانس خالص به دست آید. تفاوت اثرگذاری نانوامولسیون تولید شده در شرایط بهینه عملیاتی بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی به تفاوت ساختار غشای سلولی آنان برمی گردد: باکتری های گرم منفی دارای لایه های اضافی و مکانیسم های مقاومت غشایی هستند که نفوذ ترکیبات غیرآزموده را دشوار می کند؛ در نتیجه تاثیر نانوامولسیون ها غالباً در باکتری های گرم مثبت که غشاء ساده تر و نفوذپذیری بالاتری دارند، نمایان تر است.

خاصیت آنتی اکسیدانی

از دیگر خواص کاربردی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه تولید شده در شرایط عملیاتی بهینه میتوان کاربرد آن در مهار آزاد شدن رادیکال های آزاد ها اشاره کرد که با بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه نتایج نشان داد محصول تولیدشده مقدار ۵۳/۶۳٪ در مهار رادیکال های آزاد مؤثر عمل نموده و خاصیت آنتی اکسیدانی قابل قبولی از خود نشان داد.

نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه از نظر آنتی اکسیدانی اهمیت زیادی دارد، زیرا محصولات مبتنی بر

نتایج قطره های ایجاد شده در چاهک ها برای گونه گرم مثبت باکتری /استافیلوکوکوس اورئوس برای نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه، مخلوط توئین و آب و اسانس خالص زیره سیاه به ترتیب برابر با ۱/۸، ۳/۹ و ۰/۵ سانتی متر بوده و این اثر برای برای گونه گرم منفی باکتری /اشرشیا کولی به ترتیب برابر با ۱/۶، ۳/۶ و ۰/۵ سانتی متر می باشد. با مقایسه نتایج بدست آمده نانوامولسیون روغنی زیره سیاه و اسانس خالص آن خاصیت ضدباکتریایی مناسبی داشته و با مقایسه این اثر بر روی دو گونه باکتریایی نتایج نشان داد که این اثر بر روی باکتری های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بوده و در مهار رشد باکتری های گرم مثبت بهتر عمل نموده اند، همچنین مخلوط توئین و آب هیچگونه اثر ضدباکتریایی از خود نشان ندادند.

با توجه به رقیق بودن مقدار اسانس در ساختار نانوامولسیون (۰/۶۲ میلی لیتر در مقایسه با کل محلول ۲۵ میلی لیتر) که تقریباً ۲/۵٪ از کل محیط نانوامولسیون را تشکیل می دهد، اثر ضدباکتریایی نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه نسبت به اسانس خالص آن قوی تری می باشد، این برتری می تواند به دلیل افزایش سطح تماس مولکولی و نفوذ بهتر ترکیبات فعال به غشای باکتریایی در اندازه های نانویی باشد، همچنین پایداری حامل و کنترل انتشار اسانس در محیط آزمایش باعث می شود ترکیبات فعال

بودن محصول می باشد. بهبود کارایی به دلیل تبدیل اسانس به نانوذرات با توزیع یکنواخت در فاز آبی، افزایش سطح تماس فعال با سلول‌های میکروارگانیسم‌ها و پایداری فرمولاسیون بوده که هم تماس طولانی‌تر و هم توزیع مناسب‌تر ترکیبات فعال را تضمین می‌کند. حضور اسانس زیره سیاه در قالب نانوامولسیون نه تنها پایداری و ثبات ترکیبات فعال را افزایش می‌دهد بلکه با بهبود توزیع و تماس سطحی، کارایی ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی را در بسیاری از شرایط بهبود می‌بخشد. برای گام‌های آینده، پیشنهاد می‌شود که به بررسی دقیق‌تر شرایط عملیاتی، حساسیت سوبه‌های مختلف و اثرات هم‌افزایی امولسیفایرها و نانوذرات بر کارایی میکروبی پرداخته شود تا نتایج کاربردی‌تری در زمینه‌های صنعتی، غذایی یا دارویی بدست آید.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان با شماره اعتبار ۰۳/۹/۲۳۶۹۸ و به ویژه از آزمایشگاه تحقیقاتی نانویوتکنولوژی غذایی به دلیل حمایت مالی از این پژوهش و در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان در خصوص انتشار مقاله مربوطه به طور کامل از اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوباره پرهیز نموده‌اند و در این راستا منافع تجاری وجود ندارد.

نانوذرات حامل می‌توانند با افزایش سطح تماس مولکولی با رادیکال‌های آزاد و بهبود دسترسی آنتی‌اکسیدان‌ها، کارایی مقاومت به استرس اکسایشی را نسبت به اسانس آزاد برتری دهند. استفاده از اندازه‌های نانویی و پایداری حامل می‌تواند نرخ انتشار و نفوذ مولکول‌های فعال را در محیط‌های زیستی یا غذایی افزایش دهد، در مقایسه با خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس زیره به طور خالص و امولسیفایر توئین ۸۰، به ترتیب ۸۷٪/۸۱ و ۶۱٪/۱۲ بدست آمد که در نگاه اول خاصیت اسانس زیره بیشتر می باشد، اما نانوامولسیون اسانس زیره تقریباً ۲٪/۵ حاوی اسانس زیره بوده و به عبارتی ۴۰ برابر رقیق‌تر از اسانس خالص می باشد، بنابراین نانوامولسیون اسانس زیره خاصیت آنتی اکسیدانی قابل قبولی از خود نشان داده و تحت شرایط دما و فشار آب مادون بحرانی تخریب ساختار در اسانس رخ نداده و همچنان خاصیت بالایی در مقایسه با اسانس خالص از خود نشان داد.

نتیجه گیری

پژوهش حاضر با استفاده از روش سطح پاسخ به بهینه سازی شرایط عملیاتی از جمله دما و زمان فرآیند تولید نانوامولسیون به روش آب مادون بحرانی پرداخته شد، که نتایج نشان داد نانوامولسیون اسانس روغنی زیره سیاه با وجود حضور امولسیفایر و محیط آبی پایدار، کارایی و کاربرد بالایی در زمینه های ضدباکتریایی و آنتی اکسیدانی دارد. این بهبود کارایی با میانگین اندازه نانوقطرات پایین، شاخص پراکندگی مناسب و پتانسیل زتای بالا نشان دهنده پایدار

مراجع

- Ahmadi, O. (2024). Nanoemulsion of cinnamon essential oil: production by subcritical water method and evaluation of its antifungal and antioxidant properties. *Green chemistry and sustainable technologies*, 19(3), 1-12.
- Ahmadi, O. (2025). Optimizing the operating conditions of temperature and time of whey desalination process using cationic resins by response surface method. *Food Engineering Research*, 24(1), 1-14.
- Ahmadi, O., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020a). Effectiveness of soluble oxygen in preparation of thyme oil nanoemulsion-simulation and characterization. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 19(110), 42-53.
- Ahmadi, O., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020b). Mass Transfer Modeling in the Process of Thyme Essential Oil Extraction and Evaluation of Physico-Chemical Properties. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 19(109), 27-36.

- Ahmadi, O., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2021). Simulation of the Preparation of Thyme Essential Oil Nanoemulsion Process Using Sub-critical Water and Evaluation of Its Properties. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 51(4), 705-714.
- Alqarni, M. H., Foudah, A. I., Aodah, A. H., Alkholifi, F. K., Salkini, M. A., & Alam, A. (2023). Caraway Nanoemulsion gel: a potential antibacterial treatment against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Gels*, 9(3), 193.
- Beigzadeh, R., & Ahmadi, O. (2025). Comparison of modeling with fuzzy logic method and mixture design in predicting the formulation of ziziphora essential oil nanoemulsion production. *Innovative Food Technologies*, 12(2), 114-135.
- Esmaili, S., Zinsaz, P., Ahmadi, O., Najian, Y., Vaghari, H., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2022). Screening of four accelerated synthesized techniques in green fabrication of ZnO nanoparticles using Willow leaf extract. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 236(11-12), 1567-1581.
- Ghavidel, F., Javadi, A., Anarjan, N., & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2021). New approach in process intensification based on subcritical water, as green solvent, in propolis oil in water nanoemulsion preparation. *Green Processing Synthesis*, 10(1), 208-218.
- Haro-González, J. N., Martínez-Velázquez, M., Castillo-Herrera, G. A., & Espinosa-Andrews, H. (2025). Clove essential oil nanoemulsions: development, physical characterization, and anticancer activity evaluation. *Journal of Dispersion Science Technology*, 46(5), 842-850.
- Kaur, G., Panigrahi, C., Agarwal, S., Khuntia, A., & Sahoo, M. (2024). Recent trends and advancements in nanoemulsions: Production methods, functional properties, applications in food sector, safety and toxicological effects. *Food Physics*, 1, 100024.
- Mahmud, J., Muranyi, P., Shankar, S., Sarmast, E., Salmieri, S., Lacroix, M. J. C., . . . Aspects, E. (2024). Physiological and antimicrobial properties of a novel nanoemulsion formulation containing mixed surfactant and essential oils: Optimization modeling by response surface methodology. 686, 133405.
- Memarzadeh, E., Jafarizadeh-Malmiri, H., Khoshfetrat, A. B., & Ahmadi, O. (2025). Green lycopene extraction from tomato peels based on enzymatically and ultrasonication pre-treatments, and lyophilization post-treatment: preparation, optimization and characterization. *Journal of Food Measurement Characterization*, 19(10), 7903-7916.
- Mirzakhani, L., Jafarizadeh-Malmiri, H., & Ahmadi, O. (2024). Three accelerated methods based on microwave, hydrothermal and conventional heating in the green synthesis of selenium nanoparticles using garlic aqueous extract: Screening and characterization. *Nano-Structures Nano-Objects*, 38, 101162.
- Pillai, P., Saw, R. K., & Mandal, A. (2024). Formulation and characterization of ionic liquid-based nanoemulsion for enhanced oil recovery applications. *Journal of Molecular Liquids*, 397, 124189.
- Sati, A., Ranade, T. N., Mali, S. N., Ahmad Yasin, H. K., & Pratap, A. (2025). Silver nanoparticles (AgNPs): comprehensive insights into bio/synthesis, key influencing factors, multifaceted applications, and toxicity— a 2024 update. *ACS omega*, 10(8), 7549-7582.
- Shayan, S., Hajihajikolai, D., Ghazale, F., Gharahdaghigharahtappeh, F., Faghih, A., Ahmadi, O., & Behbudi, G. (2024). Optimization of green synthesis formulation of selenium nanoparticles (SeNPs) using Peach tree leaf extract and investigating its properties and stability. *Iranian Journal of Biotechnology*, 22(3), e3786.
- Shin, S.-B., Lee, J.-K., & Ko, M.-J. (2023). Enhanced extraction of bioactive compounds from propolis (*Apis mellifera* L.) using subcritical water. *Scientific Reports*, 13(1), 15038.
- Vojvodić, S., Gladikostić, N., Ikonić, B., Teslić, N., Sknepnek, A., Mirković, M., . . . Putnik, P. (2025). Innovative Extraction of Caraway (*Carum carvi*) Essential Oil: Comparing Hydrodistillation and Microwave-Assisted Techniques for Chemical Profiling, Kinetic Modeling, Enhanced Yield, Antioxidant, and Antimicrobial Properties. *Chemistry biodiversity*, e202500461.
- Xiong, H., Duan, J., Cao, W., Su, Y., Chen, H., Zhao, P., . . . Yu, K. (2025). Nanoemulsion as the pioneer carrier for future green nanopesticides. *Langmuir*, 41(30), 19625-19641.
- Zhang, M., Cao, Q., Yuan, Y., Guo, X., Pan, D., Xie, R., . . . Chu, L. (2024). Functional nanoemulsions: Controllable low-energy nanoemulsification and advanced biomedical application. *Chinese Chemical Letters*, 35(2), 108710.

Original Research

Optimization of operating conditions for the production of *Carum Carvi* essential oil nanoemulsion under subcritical water conditions using the RSM method and investigation of its antioxidant and antibacterial properties

Omid Ahmadi*

*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Email: o.ahmadi@uok.ac.ir

Received: 8 November 2025 Accepted: 10 February 2026

[http://doi: 10.22092/fooder.2026.371342.1436](http://doi:10.22092/fooder.2026.371342.1436)

Extended Abstract

Abstract

Carum Carvi essential oil, possessing effective antioxidant compounds and strong antibacterial properties, is introduced as a natural source with high potential for applications in the food and healthcare industries. Optimizing the operational conditions for producing the nanoemulsion of this essential oil under subcritical water conditions using a response surface methodology provides uniform distribution, improved stability, and enhanced bioavailability of the active constituents. In this study, the oil phase (*Carum Carvi* essential oil), the aqueous phase (distilled water), and the emulsifier (Tween 80) were mixed in volume ratios of 0.62, 21.63, 2.75 mL, respectively, to optimize the operating conditions (temperature and time) for nanoemulsion production via subcritical water method. A design of experiments with a response surface approach was conducted in the temperature range of 110–190 °C and heating times of 60–120 minutes. Following optimization, the results indicated that a temperature of 161 °C and duration of 97 minutes were the most suitable conditions for nanoemulsion production, yielding the smallest average particle size (141 nm) and the lowest polydispersity index of 0.183. The properties of the nanoemulsion produced under the optimal conditions were evaluated: antioxidant activity of 63.53 %, and antibacterial activity (zone diameter indicating inhibition of growth) against both the Gram-positive *Staphylococcus aureus* and the Gram-negative *Escherichia coli*, measured at 1.8 cm and 1.6 cm respectively. Finally, the product stability, assessed by zeta potential analysis, showed –25.87 mV, indicating high stability of the produced product.

Keywords: Subcritical water, *Carum Carvi* Essential oil, Antioxidant, Antibacterial, Nanoemulsion