



ساخت نانوفیتوزوم اسانس رزماریو بررسی خصوصیات ضد میکروبی آن علیه باکتریهای پاتوژن با منشاء غذایی

سیده عاطفه بستانی اول^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

محمد محسن زاده^{۲*}

۲*- استاد، بهداشت و ایمنی مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

استفاده از ترکیبات طبیعی برای جلوگیری از رشد یا از بین بردن میکروب ها در مواد غذایی مانند اسانس های گیاهی روش مناسبی است. کپسوله کردن، ترکیبات زیست فعال را در برابر شرایط محیطی محافظت می کند. در این تحقیق اثر ضد باکتریایی نانوفیتوزوم اسانس رزماری (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر) علیه باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلاتایفیموریوم*، *سودوموناسائروژینوزا* و *شرشیاکلی* به روش دیسک دیفیوژن انجام گردید. نتایج نشان داد که نانوفیتوزوم اسانس رزماری اثر ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری های مورد مطالعه دارد. اثر ضد میکروبی نانوفیتوزوم بر روی باکتری های گرم منفی به دلیل ساختار دیواره سلولی آن ها که از یک غشای دو لایه تشکیل شده، بیشتر بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که می توان از نانوفیتوزوم اسانس رزماری به عنوان ترکیب ضد باکتریایی طبیعی در صنایع غذایی بسته بندی مواد غذایی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: نانوفیتوزوم، اسانس، رزماری، اثر ضد میکروبی، پاتوژن، غذا، بسته بندی

مقدمه

در سال های اخیر تمایل مردم به مصرف ترکیبات غذایی طبیعی بیشتر شده است زیرا این ترکیبات سالم تر بوده و نسبت به افزودنی های مصنوعی خطر کمتری دارد. (Chen et al., 2014) از زمان های دور گیاهان دارویی به عنوان طعم دهنده در مواد غذایی استفاده می شده است و تاثیرات آن ها بر سلامت انسان هنوز در حال بررسی است. (Garzoli et al., 2021) در دهه های اخیر، تقاضا برای استفاده از اسانس گیاهان دارویی، به ویژه اسانس رزماری به عنوان یک نگهدارنده طبیعی مواد غذایی افزایش یافته است. اسانس بدست آمده از گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) دارای خواص بیولوژیکی مانند آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد میکروبی است. (Hernández et al., 2016) اسانس حاوی ترکیباتی اصلی مانند ۱،۸-سینئول، α -پینن، ووربنون، کافور و بورنئول است، اما این ترکیبات تشکیل دهنده اسانس می توانند بسیار متفاوت باشند. (Satyal et al., 1988) از مشکلات اسانس ها حساس بودن و تخریب سریع در برابر نور، دما، اکسیژن و هوا می باشد. کپسوله کردن، ترکیبات زیست فعال را در برابر شرایط محیطی محافظت می کند و می تواند پایداری و حلالیت ترکیبات زیست فعال را در مواد غذایی بهبود بخشد (خوشمنظر، مریم و همکاران ۱۳۹۹؛ نظری، مریم و همکاران ۱۳۹۷) نانوفیتوزوم یک تکنولوژی نوین و پیشرفته است که در سال های اخیر استفاده از آن ها موجب افزایش پایداری و عمر مفید محصولات و بهبود فراهمی زیستی عصاره های گیاهی می شود. نانوفیتوزوم ها محصولاتی هستند که از برهمکنش های شیمیایی بین فسفولیپیدها و عصاره های گیاهی به دست می آیند که در نتیجه وزیکول های کروی شکلی را تشکیل می دهند که ماده را در خود محصور می کنند. (Nandayasa et al., 2020; Rasaie et al., 2014; Saputra et al., 2020) این مطالعه با هدف ساخت و بررسی اثر ضد باکتریایی نانوفیتوزوم اسانس رزماری علیه تعدادی از باکتری های بیماری زای با منشأ غذایی انجام گردید.

روش تحقیق

اسانس رزماری به صورت آماده از شرکت جوهره طم مشهد خریداری شد.

تهیه باکتری های مورد نیاز

در این مطالعه از دو سویه باکتریایی گرم مثبت / استافیلوکوکوس / اورئوس، لایستریا مونوسیتوژنز و سه گونه باکتریایی گرم منفی / سالمونلا تایفی موریوم، اشرشیا کلی $O_{157}H_7$ ، سودوموناس آئروژینوزا استفاده گردید. از سویه های باکتری در محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شد.

تهیه محلول نانوفیتوزوم اسانس رزماری

برای این منظور از روش هیدراتاسیون لایه نازک استفاده شد. مقدار ۶۰ میلی گرم فسفاتیدیل و اسانس رزماری با غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی گرم در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶٪ حل شد و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد و ۲۴ ساعت در ۴°C نگهداری شد. محلول به یک فلاسک ته گرد منتقل و توسط دستگاه اواپراتور چرخشی تحت خلاء (۴۵°C) حلال جدا شد. سپس یک لایه نازک تشکیل شد و مقدار ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد و برای کاهش اندازه ذرات از دستگاه اولتراسوند پروب استفاده شد. (خوشمنظر و همکاران ۱۳۹۹)

بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوفیتوزوم اسانس رزماری

برای بررسی اثر ضد میکروبی از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. در ابتدا غلظتی معادل نیم مک فارلند از باکتری ها تهیه شد و تا غلظت 10^6 cfu/ml رقیق شدند. با استفاده از سوآپ استریل به روش چمنی روی سطح محیط آگار مولر هینتون کشت داده شد. دیسک های کاغذی حاوی نانوفیتوزوم با غلظت های مختلف اسانس (۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی گرم) با فاصله های معین از یکدیگر بر روی محیط کشت قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد. جهت اطمینان برای هر سویه از باکتری ها آزمایش ۳ بار تکرار شد. (گچکار و همکاران ۱۳۷۹-رفعت حقیقی و همکاران ۱۳۹۱)

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (version 16, SPSS, Inc. Chicago, IL, USA) با استفاده از تحلیل واریانس یک طرفه با مقایسه چندگانه بین تیمارها و به دنبال آن آزمون دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد صورت گرفت. تمام آزمون ها در سه تکرار انجام شد.

یافته ها

در این مطالعه خاصیت ضد باکتریایی نانوفیتوزوم اسانس رزماری در غلظت های مختلف بررسی شد. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت اسانس در نانوفیتوزوم قطر هاله عدم رشد افزایش و فعالیت ضد باکتریایی آن افزایش می یابد (جدول ۱). بیشترین اثر ضد باکتریایی و بیشترین هاله عدم رشد در نانوفیتوزوم با غلظت ۳۰ میلی گرم در میلی لیتر اسانس و کمترین هاله عدم رشد در غلظت ۱۰ میلی گرم مشاهده گردید.

جدول ۱- اثر ضد باکتریایی نانوفیتوزوم اسانس رزماری بر روی باکتری های هدف به روش انتشار در آگار (mm)

Nanophytosome (mg/ml)	Zone of inhibition (mm)				
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>E. coli</i> O157:H7
10	9	7	8	8	9
20	11	8	10	9	11
30	13	9	12	10	12

بحث و نتیجه گیری

فعالیت ضد باکتریایی نانوفیتوزوم اسانس رزماری با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر ضد باکتریایی نانوفیتوزوم اسانس بر روی باکتری های گرم منفی (سالمونلا تایفی موریوم، اشرشیاکلی O157H7، سودوموناس آئروژینوزا) بیشتر از باکتری های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسایتوزنز) است که ممکن است به ساختار دیواره سلولی باکتری های گرم منفی و گرم مثبت نسبت داده شود. ساختار دیواره سلولی باکتری های گرم منفی از یک غشای دو لایه تشکیل شده است در حالی که ساختار دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت از یک لایه پپتیدوگلیکان ضخیم تشکیل شده است. فیتوزوم ها تمایل بیشتری به ترکیب شدن با ساختار دو لایه دارند. (نظری، مریم و همکاران ۱۳۹۷) فیتوزوم ها تمایل بیشتری به ترکیب شدن با ساختار دو لایه دارند.

منابع

- خوشمنظر، مریم، محمدی، مریم، همیشکار، حامد، & پیروز یفرد، میرخلیل. نانوفیتوزوم به عنوان یک حامل امیدوار کننده برای بهبود خواص اسانس زیره سبز. (۱۳۹۹)
- نظری، مریم، قنبرزاده، یابک، صمدی، حسین، & زینل، مهدی. نانوفیتوزوم های اسانس سیر به عنوان یک نگهدارنده طبیعی مواد غذایی: کاربرد در ماست به عنوان مدل غذا 100176 Colloid and Interface Science Communications, 30(March), 100176 doi: 10.1016/j.colcom.2019.100176
- گچکار، لطیف، یادگاری، داوود، باقر، محمد، تقیزاده، مسعود، علیپور، شکیب، & رسولی، ایرج. خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی اسانس زیره سبز و گل سرخ. (۱۳۷۹)
- حقیقی، عالی، ر.، برجیان، امیر، رضائیان، عباسعلی، & شیرزادی، محمدحسن. ارزیابی خاصیت ضد میکروبی گیاهان دارویی مورتلخ و سداب ترکه ای بر باکتری شیگلا دیسانتریه. ۷۳-۸۰. (۱۳۹۱)
- Chen, Q., Gan, Z., Zhao, J., Wang, Y., Zhang, S., Li, J., & Ni, Y. (2014). *In vitro* comparison of antioxidant capacity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) oils and their main components. LWT - Food Science and Technology, 55(2), 632–637. doi: 10.1016/j.lwt.2013.09.017
- Garzoli, S., Masci, V. L., Franceschi, S., Tiezzi, A., Giacomello, P., & Ovidi, E. (2021). *Headspace/GC–MS Analysis and Investigation of Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Essential Oils and Hydrolates from Rosmarinus officinalis L. and Lavandula angustifolia* Miller. Foods. 2021 Jul 30;10(8):1768.
- Hernández, M. D., Sotomayor, J. A., Hernández, Á., & Jordán, M. J. (2016). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (Issue 2010). Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00077-8
- Satyral, P., Jones, T. H., Lopez, E. M., Mcfeeters, R. L., Ali, N. A. A., Mansi, I., Al-kaf, A. G., & Setzer, W. N. (1988). *Chemotypic Characterization and Biological Activity of Rosmarinus officinalis*. Foods, 1–15. doi: 10.3390/foods6030020
- Nandayasa, W. W., & Lucida, H. (2023). *Optimization and characterization of quercetin vitamin c nano-phytosome formulation*. International Journal of Applied Pharmaceutics. 15(1), 51–55.
- Rasaie, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadi, M., & Hamishehkar, H. (2014). *Nano Phytosomes of Quercetin : A Promising Formulation for Fortification of Food Products with Antioxidants*. Pharmaceutical sciences, 20(3): 96–101.
- Saputra, Y. E., Dzakwan, M., & Dewi, N. A. (2020). *Evaluation Nano-Phytosome of Myricetin with Thin Layer Film Hydration-Sonication Method*. In 2nd Bakti Tunas Husada-Health Science International Conference (BTH-HSIC 2019) 26, 294–297.



Preparation of nanophytosome of rosemary essential oil and investigation of its antimicrobial properties against foodborne bacterial pathogens

Seyedeh Atefeh Bostani aval

MSc. Student, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Mohammad Mohsenzadeh*

* Professor, Food Safety and Hygiene, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

Using natural compounds to prevent the growth of microorganisms in food, such as plant essential oils, is a suitable method. Encapsulation protects the bioactive compounds against environmental conditions. In this research, the antibacterial effect of nanophytosome of rosemary essential oil (10, 20 and 30 mg/ml) against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* O157:H7 bacteria was performed by disc diffusion method. The results showed that nanophytosome of rosemary essential oil has a good antibacterial effect against the studied bacteria. The antimicrobial effect of nanophytosome on Gram-negative bacteria was greater due to the structure of their cell wall, which consists of a two-layer membrane. The results of this study showed that rosemary essential oil nanophytosome can be used as a natural antibacterial compound in the food industry and food packaging.

Keywords: Nanophytosome, essential oil, rosemary, antimicrobial effect, pathogen, food packaging