مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی تیمول و رسوراترول ریزپوشانی شده با نانوذرات کامپوزیتی زئین- کازئینات

فاطمه ساداتی خادر[۱]، الهام مهدیان[۱*]، اسماعیل عطای صالحی[۱]، رضا کاراژیان[۲]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۲-گروه بیوتکنولوژی صنعتی میکروارگانیسم ها، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاد دانشگاهی مشهد.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۰۵

کلمات کلیدی:

تیمول،

رسوراترول،

نانوانکپسولاسیون،

ضد میکروبی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1

* مسئول مکاتبات:

emahdian2000@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه درون‌پوشانی تیمول و رسوراترول تهیه شده با نانوذرات کامپوزیتی زئین- کازئینات و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن‌ها بود. بدین منظور برای تهیه نانوذرات کامپوزیتی زئین- کازئینات از روش دیسپرسیون مایع - مایع استفاده گردید. در این مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف تیمول و رسوراترول (صفر تا ۱۰۰ درصد) و نسبت‌های مختلف هسته به دیواره (۱ : ۱۰ و ۱: ۲۰) بر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی یون آهن و فعالیت ضدمیکروبی بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در محیط کشت و شیر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت ۱ به ۱۰ هسته به دیواره، دارای بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی یون آهن بود و مشخص گردید که افزایش غلظت دیواره به‌جز نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول منجر به افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی یون آهن گردید. باکتری‌های لیستریا موجود در محیط کشت TSB حساس‌ترین باکتری به نمونه‌های تهیه‌شده بود و قوی‌ترین نانوذرات تهیه شده که کمترین MIC و MBC را داشت به نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۱۰ اختصاص داشت و اغلب، باکتری‌های موجود در شیر نسبت به محیط کشت به این نانوذرات مقاوم‌تر بودند. در نهایت می‌توان گفت که نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۱۰ می‌تواند به‌عنوان ترکیبی با قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مناسب انتخاب گردد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

۱- مقدمه

اثرات جانبی نامطلوب آنتی باکتریال ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی از یک طرف و استقبال مصرف کنندگان از مواد طبیعی از جانب دیگر، تمایل به استفاده ازآنتی باکتریال ها و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را افزایش داده است [۱]. تیمول یک ترکیب فنولی مونوترپنی بوده و منبع طبیعی اصلی آن گیاه آویشن است. این ماده دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب، ضدعفونی‌کننده، ضدباکتریایی و ضدقارچی است که اثرات ضد میکروبی آن در برابر پاتوژن‌های مواد غذایی به اثبات رسیده است [۲ و ۳]. تیمول بسیار شبیه به کارواکرول بوده و تفاوت آن‌ها در داشتن گروه هیدروکسیل در جایگاه‌های مختلف در حلقه فنولی است و هر دو موجب افزایش نفوذپذیری غشاء سلول می‌گردند [٤]. این ترکیب قادر است غشاء خارجی باکتری‌ها را از بین برده و موجب خارج شدن لیپوپلی ساکارید (LPS) و افزایش نفوذپذیری سیتوپلاسمی به آدنوزین تری فسفات (ATP) شود [۵]. رسوراترول (۳، ٤ و ۵ تری‌هیدروکسی استیلن) متعلق به گروه بزرگی از پلی‌فنول‌ها می‌باشد که در گیاهان یافت می‌شود. غنی‌ترین منبع طبیعی رسوراترول که در طب مردم شرقی استفاده می‌شده است، عصاره ریشه گیاه پلی‌گونوم کوپسیداتوم و همچنین مقدار قابل توجهی از رسوراترول در بین گیاهان دیگری مانند بادام‌زمینی، انگور قرمز و چای چینی یافت شده است که علاوه‌بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای خواص ضد سرطانی و کاهش دهنده قند و چربی خون دارد [٦، ۷ و ۸]. استفاده از مواد ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی به‌صورت مستقیم در سیستم‌های غذایی با محدودیت‌هایی هم‌چون کاهش فعالیت آن‌ها، تغییر خواص ارگانولپتیکی ماده غذایی، حلالیت و پایداری ضعیف ترکیبات زیست فعال، اثر ماتریکس غذایی بر فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مواجه است، لذا به‌منظور استفاده از این ترکیبات زیست فعال در مواد غذایی می‌توان از چندین سامانه انتقال استفاده کرد [۹]. امروزه استفاده از تکنولوژی درون‌پوشانی (انکپسولاسیون) به‌عنوان یک سامانه انتقال به‌منظور ایجاد بازدارنده‌های بین مواد زیست فعال و محیط برای جلوگیری از تغییر طعم و آروما و یا پوشش‌دهی طعم و بوهای ناخوشایند و درنتیجه افزایش ماندگاری، زیست دسترس‌پذیری و رهایش کنترل‌شده این ترکیبات زیست فعال، مورد توجه قرار گرفته است [۱۰]. رایج‌ترین روش رهایش کنترل شده در صنعت غذا، میکرو یا نانو انکپسولاسیون یا ریزپوشانی نام دارد که ماده ریز پوشانی شده را فاز هسته، فعال یا درونی می‌نامند [۱۱ و ۱۲]. ریزپوشانی در مقیاس نانو روشی است که موجب حفاظت بیشتر مواد حساس، زیست فراهمی بیشتر آن‌ها، انحلال مواد آب‌گریز در محیط‌های آبی، حفاظت اثرات طعمی و رنگی مواد زیست فعال و رهایش کنترل شده این مواد می‌شود [۱۳ و ۱٤]. با کاهش اندازه ذرات از میکرو به مقیاس نانو و در نتیجه افزایش نسبت سطح به حجم، ویژگی‌های مختلف مواد از جمله قابلیت دسترسی زیستی، حلالیت در آب، پایداری کلوئیدی و شفافیت محلول‌های حاوی نانوذره افزایش می‌یابد [۱۵، ۱٦ و ۱۷]. از پروتئین‌ها به‌علت ارزش غذایی بالا، فراوانی، زیست دسترس‌پذیری و تطبیق‌پذیری و خصوصیات عملکردی مناسب، می‌توان در سامانه‌های انتقال و درون‌پوشانی مواد زیست فعال بهره برد. زئین که یکی از پروتئین‌های اصلی ذرت است، پتانسیل خوبی برای استفاده در صنایع غذایی، دارویی و پلاستیک‌های زیست تخریب پذیر دارد [۱۸]. به‌دلیل حضور اسیدهای آمینه غیرقطبی، زئین یکی از آب‌گریزترین پروتئین‌ها می‌باشد که در صنایع غذایی به عنوان یک ماده پوشش دهنده در شکلات، برنج، خشکبار و آجیل مورد استفاده قرار گرفته است[۱۹]. زئین فیلم‌ها یا پوشش‌هایی سخت، براق، ضدخش و ضد روغن ایجاد می‌کند که به حملات میکروبی مقاوم هستند [۲۰]. بنابراین یک پوشش زئینی می‌تواند به صورت عایقی کارآمد نسبت به اکسیژن و رطوبت عمل کند [۲۱]. کازئین یکی از پروتئین‌های اصلی شیر گاو است که ۸۰ درصد از کل پروتئین شیر را تشکیل می‌دهد. کازئین‌ها به‌طور طبیعی به شکل میسل‌های کروی با نانوذرات بین ۵۰ تا ۲۰۰ نانومتر می‌باشند [۲۲]. کازئین‌ها می‌توانند به‌صورت نانوذرات با پایداری حرارتی عالی، به‌کار روند به این ترتیب دارای پتانسیل عظیمی هستند که به‌عنوان یک حامل طبیعی برای مواد غذایی زیست فعال یا مواد آب‌گریز و حساس به شرایط

محیطی استفاده شود[۲۳]. ژانگ و همکاران(۲۰۱٤) از کیتوزان به‌منظور تهیه دیواره نانو ذرات تیمول-زئین-کازئینات استفاده نمودند و نتایج این مطالعه نشان داد که کیتوزان باعث ایجاد سطح خشن و خوشه‌ای روی نانو ذرات شد. با این حال، هم کازئینات سدیم و هم کیتوزان باعث افزایش کارایی درون‌پوشانی (بیشتر از ۸۰ درصد) تیمول گردید. علاوه‌بر این، نانو ذرات حاوی تیمول با پوسته کازئینات-کیتوزان زئین-سدیم روی باکتری‌های گرم مثبت، *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با فرم آزاد تیمول، برای مدت طولانی موثرتر بودند [۲٤]. لی و همکاران (۲۰۱۳) که از کازئینات سدیم در تهیه نانو ذرات تیمول-زئین- کازئنات سدیم، استفاده کرده بودند، نشان دادند که با افزایش نسبت تیمول به زئین از ۰/۱ به ۰/٤، اندازه ذرات نمونه‌های تولیدی افزایش یافت و بعد از ۸ ماه ذخیره‌سازی، تیمول در نانوذرات پایدار بود و این نانو ذرات تولید شده دارای فعالیت ضد میکروبی بر علیه *اشریشیاکلی*، سالمونلا و فعالیت آنتی اکسیدانی بودند که میزان این فعالیت‌ها به میزان تیمول در نانوذرات تهیه شده بستگی داشت [۲۵]. لو و همکاران (۲۰۲۱) از ایزوله پروتئین سویا برای درون‌پوشانی ترکیب تیمول-دیاتومیت به منظور افزایش عمر نگهداری زغال اخته پرداختند، نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که استفاده از این پوشش‌های پروتئینی منجر به افزایش مدت نگهداری زغال اخته گردید [۲٦]. در مطالعات برخی از محققین در سال ۲۰۲۲، فعالیت ضد میکروبی اسانس پونه کوهی و رسوراترول پوشش داده شده با کازئینات سدیم و پلی‌ساکاریدها اثبات شده بود [۲۷]. هدف از این مطالعه تولید نانوذرات زئین پایدار شده با کازئینات حامل دو نوع ماده زیست فعال (رسوراترول و تیمول) و همچنین بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی این نانوذرات بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

در این مطالعه تیمول، رسوراترول به‌ترتیب با خلوص بیش از ۹۵ و ۹۷ درصد از شرکت گل اکسیر پارس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد، محیط کشت‌های میکروبی (TSB و TSA) (مرک، آلمان)، و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش از شرکت‌های معتبر (سیگما آلدریچ، آمریکا) خریداری شدند و باکتری‌های لیوفیلیزه *اشریشیا کلی* (O 157:H7) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (TTAC ۱۹۱۱۸) نیز از کلکسیون میکروبی دانشگاه شهید بهشتی تهیه گردیدند.

۲-۲- تهیه نانوذرات کامپوزیت زئین – کازئینات حامل تیمول -رسوراترول

برای تهیه نانوذرات کامپوزیتی زئین- کازئینات از روش دیسپرسیون مایع - مایع با اندکی تغییرات استفاده شد [۲۳ و ۲۸]. در این روش ۲ گرم زئین در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آبی اتانولی(۸۰ درصد حجمی /حجمی) حل شد تا غلظت mg/ml ۲۰ از آن حاصل گردید. سپس برای تهیه محلول تیمول و رسوراترول به‌ترتیب از الکل اتانول ۸۰ و ۹٦ درصد استفاده شد تا غلظت ۰/۰۰۵ گرم در میلی‌لیتر از این ترکیبات حاصل گردد سپس هر کدام از این ترکیبات به صورت جداگانه و یک‌بار به صورت توام (مطابق جدول ۱) به محلول زئینی با نسبت‌های مختلف هسته به پوشش (۱ : ۱۰ و ۱: ۲۰) افزوده شد. هم‌زدن به آرامی در طول ۱۲ ساعت با همزن مغناطیسی (MS-11C، تایوان) صورت گرفت، سپس محلول استوک (حاصل از امتزاج دو محلول) به آب دیونیزه (حاوی mg/ml ۲ سدیم کازئینات) به نسبت ۱۰:۱ و به صورت قطره قطره، تحت هم‌زدن مداوم با همزن با سرعت rpm ۷۵۰ به مدت ۳۰ دقیقه افزوده شد سپس با استفاده از اولتراتوراکس (T10، آلمان) با سرعت rpm ۱۹۰۰۰ هم‌زدن تکمیل گردید. در این مطالعه pH محلول ضدحلال روی ٦/۵ تنظیم شده بود. سپس با استفاده از خشک‌کن چرخشی تحت خلا (Buchi، سویس) در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، اتانول تبخیر و برای جداسازی ذرات احتمالی از آگلومره شدن نانوذرات از سانتریفوژ (Thermo، ژاپن) با دور rpm۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد و در نهایت مایع رویی با روش انجمادی (Christ، آلمان) خشک گردید و پودر نانوذرات حاصله بسته‌بندی و جهت آزمون‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

Table 1 Treatments and Abbreviation used in the study

Number	Abbreviation signs	Thymol (%)	Resveratrol (%)
1	100T0R10	100	0
2	75T25R10	75	25
3	50T50R10	50	50
4	25T75R10	25	75
5	0T100R10	0	100
6	100T0R20	100	0
7	75T25R20	75	25
8	50T50R20	50	50
9	25T75R20	25	75
10	0T100R20	0	100

۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت به دام‌اندازی (توانایی مهار) رادیکال آزاد DPPH

۲ و ۲- دی‌فنیل ۱- پیکریل هیدرازین (DPPH)، رادیکالی چربی دوست است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدآن‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و مقدار آن کاهش می‌یابد. در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷ – ۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد. کاهش مولکول‌های DPPH با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس نسبت مستقیم دارد. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن به رادیکال‌های DPPH آن‌ها را از رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌کنند. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی‌مانده است. در این روش ٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نمونه تهیه شده در مقداری از اتانول ۷۰ درصد حل گردید و به آن محلول متانولی ۰/۱ میلی‌مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در مکان تاریک در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلیس) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید و از رابطه ۱، درصد به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH به‌دست آمد [۲۹].

رابطه ۱)

$$\text{درصد فعالیت دام اندازی رادیکال های آزاد DPPH} = \frac{AS-AC}{AC} \times 100$$

در رابطه ۱، AS جذب نوری نمونه و AC جذب نوری شاهد بود.

۲-٤- قدرت احیا کنندگی آهن (RP[1])

در این روش، قدرت احیاکنندگی هر یک از نمونه‌ها بر اساس احیا شدن پتاسیم فریک سیانید و تغییر طیف رنگی از زرد به سبز یا آبی، مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام آزمایش ۰/۰۰۳گرم نمونه با ۰/۲۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم با pH برابر با ٦/٦ و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم فریک سیانید ۱ درصد مخلوط شدند و به مدت ۵۰ دقیقه در حمام آب گرم ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس ۰/۲۵ میلی‌لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید (۱۰درصد) به لوله‌ها اضافه شد و در دمای معمولی با دور ۱۳۵۰gبه مدت ۵۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از آن ۰/۲۵ میلی‌لیتر از مایع رویی لوله‌ها با ۰/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۰۲ میلی‌لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد مخلوط شده و در طول موج ۷۰۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر، میزان جذب آن خوانده شد. افزایش میزان جذب نوری نشانه افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه می‌باشد [۳۰].

۲-۵- تعیین فعالیت ضدمیکروبی بر باکتری های *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در محیط کشت و شیر

برای تعیین حداقل غلظت بازداری[2] و حداقل غلظت باکتری‌کشی[3] در محیط کشت TSB[4] از آزمون رقیق سازی میکروبراث [۳۱] استفاده شد. در این روش غلظت مشخصی از

1 Reducing power
2 Minimum inhibitory concentration
3 Minimum bactericidal concentration
4 Tryptic Soy Broth

نانوذرات حامل تیمول-رسوراترول در اتانول تهیه گردید و سپس با استفاده از محیط کشت TSB به رقت مشخص رسید و از محلول استوک تهیه شده، غلظت‌های متفاوتی (۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از محلول ضد باکتریایی تهیه شد و سپس محلول و محیط کشت حاوی 10^8 cfu/ml *اشرشیاکلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* به لوله‌های مخصوصی به حجم ۲۴۰ میکرولیتر افزوده شد و جذب آن با روش اسپکتروفتومتری در زمان صفر و ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون (۳۲ درجه سانتی‌گراد برای *لیستریا مونوسیتوژنز* و ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای *اشریشیا کلی*) در طول موج ۶۳۰ نانومتر تعیین گردید. لوله‌های تلقیح شده با جذب کمتر از ۰/۰۵ بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون به‌عنوان کمترین غلظت از ماده ضدباکتریایی برای بازدارندگی به‌حساب می‌آیند. برای تعیین حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) از لوله‌هایی که خاصیت بازدارندگی نشان داده‌اند استفاده شد، حجم مشخصی وارد محیط کشت TSA [1] گردید و طی ۲۴ ساعت انکوباسیون در محیط کشت دمای مذکور، اگر هیچ رشدی رخ ندهد، به‌عنوان حداقل غلظت تیمول و یا رسوراترول برای باکتری‌کشی تعیین شد. برای تعیین قابلیت ضد میکروبی نمونه‌های تهیه شده در شیر از شیر با چربی ۲ درصد و روش (چن و همکاران، ۲۰۱۵) استفاده شد، بدین منظور ۴/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ها با ۵/۵ میلی‌لیتر شیر مخلوط و با ورتکس در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد و 10^8 cfu/ml از باکتری‌های *اشرشیاکلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز* در آن کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد با پیتون ۰/۱ رقیق شدند سپس با استفاده از روش انتشار در آگار، آن‌ها به محیط کشت TSA افزوده شدند و با از بین رفتن باکتری‌ها در اطراف و تشکیل هاله عدم رشد، وجود خاصیت ضدمیکروبی این مواد در شیر تعیین گردید.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی ساده با سه تکرار انجام شد و نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵ درصد انجام گردید.

1 Tryptic Soy Agar

۳- نتایج و بحث

۳-۱- توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

تجزیه وتحلیل داده‌های حاصل نشان داد که نوع فرمولاسیون مورد استفاده بر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH تأثیر کاملاً معنی‌دار داشت ($p<0/01$). جدول ۲، نشان داد که نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت ۱ به ۱۰ هسته، دارای بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بود و بعد از آن نمونه حاوی ۲۵ درصد تیمول و ۷۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۲۰ قرار داشت. یافته‌ها حاکی از آن بود که افزایش دیواره به‌جز نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول منجر به افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH گردید. نتایج همچنین نشان داد که زمانی که از نسبت ۱ به ۲۰ هسته به دیواره در فرمولاسیون نمونه‌ها استفاده شده بود با افزایش رسوراترول در فرمولاسیون نمونه‌ها تا ۷۵ درصد توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت. DPPH، یکی از قدیمی‌ترین روش‌های سنجش غیرمستقیم خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که بر اساس واکنش رادیکال آزاد پایدار DPPHبا ترکیبات دهنده‌ی هیدروژن مانند فنول‌ها استوار می‌باشد. توانایی عصاره‌ها برای دادن اتم هیدروژن به رادیکال DPPH جفت نشده، از طریق کاهش رادیکال DPPH به شکل کاهش‌یافته‌ی DPPH-H تعیین می‌شود. محلول بنفش رنگ DPPH در واکنش با مهارکننده‌های رادیکالی به ارغوانی کم‌رنگ یا زرد تغییر رنگ می‌دهد. هر چه قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات بالاتر باشد شدت تغییر رنگ بیشتر است [۳۲].

بر اساس مطالعه ولاچوگیانی و همکاران (۲۰۱۵) میزان متوسط DPPH در نمونه‌های رسوراترول نسبت به بسیاری از ترکیبات فنولی بالاتر بود [۳۳]. همچنین مطالعاتی در خصوص اثر سینرژیستی خاصیت آنتی‌اکسیدانی رسوراترول و سایر ترکیبات ازجمله کورکومین [۳۴]، کوئرسیتین [۳۵] و کاتکین و کافئیک اسید [۳۶] انجام شده است. نتایج این مطالعه نیز تائید کننده اثر هم‌افزایی رسوراترول و تیمول بود. با این‌حال میزان DPPH به‌دست‌آمده در این مطالعه از سایر ترکیبات سینرژیستی مطالعه شده، بالاتر بود که نشان‌دهنده اختلاط بسیار خوب این دو ترکیب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه، می‌توان نتیجه گرفت که برهمکنش متقابل تیمول با رسوراترول منجر به اثر هم‌افزایی یا آنتاگونیستی با توجه به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی مخلوط ترکیبات فنولی را نمی‌توان از داده‌های به‌دست‌آمده برای ترکیبات مجزا به‌دلیل برهمکنش‌های غیرقابل‌پیش‌بینی آن‌ها تعیین کرد. علاوه بر این، فعالیت مخلوط تیمول و رسوراترول به مکانیسم‌های واکنشی نیز بستگی دارد که در سنجش مورد استفاده رخ می‌دهد، بنابراین برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رویکرد چند روشی ضروری است. به‌منظور درک بهتر مکانیسم‌های دخیل در این فعل‌وانفعالات به مطالعات دقیق‌تری که شامل تعداد بیشتری از ترکیبات فنولی و نسبت‌های مختلف آن‌ها در مخلوط‌ها است، لازم می‌باشد [۳۶].

Table 2 The effect of the type of formulation on the DPPH

Treatment	DPPH (%)
100T0R10	20.33 ± 0.33^{g}
75T25R10	58.77 ± 1.50^{a}
50T50R10	20.67 ± 0.20^{g}
25T75R10	38.17 ± 0.30^{d}
0T100R10	13.67 ± 0.51^{i}
100T0R20	32.67 ± 0.10^{f}
75T25R20	34.47 ± 0.30^{e}
50T50R20	40.00 ± 0.20^{c}
25T75R20	54.67 ± 0.50^{b}
0T100R20	17.83 ± 0.10^{h}

Table data represent the average of three test ± standard deviations. The different letters in the columns indicate a significant difference between the data with a 95% probability.

۳-۲- قدرت احیاکنندگی یون آهن

یافته‌ها نشان داد که همانند توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت ۱ به ۱۰ هسته، دارای بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی یون آهن بود و بعد ازآن نمونه حاوی ۲۵ درصد تیمول و ۷۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۲۰ قرار داشت. نتایج همچنین نشان داد که افزایش دیواره به‌جز نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول منجر به افزایش قدرت احیاکنندگی یون آهن گردید. نتایج همچنین نشان داد، زمانی که از نسبت ۱ به ۲۰ هسته به دیواره در فرمولاسیون نمونه‌ها استفاده شده بود با افزایش رسوراترول در فرمولاسیون نمونه‌ها تا ۷۵ درصد قدرت احیاکنندگی یون آهن افزایش یافت (جدول ۳). در روش قدرت احیاکنندگی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن سنجیده می‌شود، در حقیقت خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات هیدروفیل را نشان می‌دهد. این نتایج داده‌های حاصل از آزمون DPPH را تا حدود زیادی تائید می‌کند. با این تفاوت که روش قدرت احیاکنندگی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی همه نمونه‌ها را در غلظت‌های مختلف با وضوح بیشتری نشان داد. ازآنجایی‌که این روش معمولاً برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات هیدروفیل به کار می‌رود و نیز به دلیل ماهیت هیدروفیلی ترکیبات عمده موجود، احتمالاً صحت این روش برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بیشتر قابل‌قبول است [۳۷]. نتایج محققان دیگر نیز گواه این مطلب است که تیمول و رسوراترول هرکدام خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند و در ترکیب با سایر ترکیبات فنولی اثرات هم‌افزایی قوی‌ای نشان می‌دهند [۳۸ و ۳۹]. نتایج نشان داد ترکیبات موجود در تیمول و رسوراترول دهنده‌ی خوب الکترون یا هیدروژن هستند و می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی را پایان دهند؛ بنابراین می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی-اکسیدآن‌های سنتزی در رژیم غذایی در نظر گرفته شوند. این نتایج با نتایج برنجی و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد. این محققان نانوحامل‌های لیپیدی بارگذاری شده با رسوراترول را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در فرمولاسیون سس مایونز استفاده کردند و ماندگاری بالاتری گزارش دادند [۴۰]. علاوه‌بر این رسوراترول و تیمول با کمترین مقدار IC_{50} بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به ترتیب در مطالعه سیرگار و همکاران (۲۰۱۸) و پرز-روسز و همکاران (۲۰۱۶) را داشتند [۴۱ و ۴۲]. با افزایش غلظت این ترکیبات به دلیل افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود، قدرت احیاکنندگی آن بیشتر می‌شود. درنتیجه، عصاره قادر خواهد بود با اهداء الکترون یا اتم‌های هیدروژن، واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال آزاد را شکسته و اکسایش چربی را به تأخیر بی‌اندازد. آنتی‌اکسیدآن‌هایی با قدرت احیاکنندگی بالاتر، از توانایی بیشتری در پایان دادن به واکنش‌های مخرب زنجیره‌ای رادیکالی برخوردارند. در بین این دو ترکیب رسوراترول ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری محسوب می‌شوند. افزایش تعداد

گروه‌های هیدروکسیل با قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد [۴۳].

Table 3 The effect of the type of formulation on the Ferric Reducing Antioxidant Power

Treatment	FRAP (mMol fe/100g)
100T0R10	0.107 ± 0.003^{h}
75T25R10	0.323 ± 0002^{a}
50T50R10	0.140 ± 0.002^{g}
25T75R10	0.217 ± 0.001^{d}
0T100R10	0.050 ± 0.001^{j}
100T0R20	0.176 ± 0.001^{f}
75T25R20	0.192 ± 0.002^{e}
50T50R20	0.257 ± 0.002^{c}
25T75R20	0.298 ± 0.003^{b}
0T100R20	0.087 ± 0.001^{i}

Table data represent the average of three test ± standard deviations. The different letters in the columns indicate a significant difference between the data with a 95% probability.

۳-۳- تأثیر پارامترهای موردمطالعه بر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

یافته‌های حاصل از حداقل غلظت بازدارندگی نمونه‌های تهیه‌شده در جدول ٤، نمایش داده شده است. همان‌طور که مشخص است بیشترین MIC در تمامی محیط‌های مورد مطالعه (محیط کشت و شیر) مربوط به نمونه 0T100R10 بود و از طرفی مشخص گردید که باکتری‌های لیستریا موجود در محیط کشت TSB حساس‌ترین باکتری به نمونه‌های تهیه‌شده بودند و قوی‌ترین نمونه که کمترین MIC را داشت به نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۱۰ اختصاص داشت و در اکثر نمونه‌ها، باکتری‌های موجود در شیر نسبت به محیط کشت نسبت به این نانوذرات مقاوم‌تر بودند.

حداقل غلظت بازدارندگی که تحت عنوان تست MIC شناخته می‌شود، کمترین غلظت یک آنتی باکتری می‌باشد که رشد قابل مشاهده یک میکروارگانیسم را بعد از یک شبانه‌روز انکوباسیون، مهار می‌کند. بعد از جداسازی کشت خالص، MICها را می‌توان روی محیط‌های کشت جامد یا آگار و یا محیط‌های کشت مایع رقیق‌شده، تشخیص داد [٤٤]. فعالیت ضدمیکروبی رسوراترول تحت تأثیر حضور و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه‌ی آروماتیکی می‌باشد. گروه‌های هیدروکسیل موجود می‌توانند به‌وسیله‌ی پیوند هیدروژنی به جایگاه فعال آنزیم‌هایی که در متابولیسم سلول باکتریایی نقش دارد متصل شوند و در فعالیت آنزیم‌ها و درنهایت متابولیسم سلول اختلال ایجاد کنند. اجزای فنولی استخراج‌شده از ریشه‌ی پلی گونومکاسپیداتوم توانایی مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت همچون *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* را دارند [٤٥]. مکانیسم اثر تیمول به این صورت است که قادر است که غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی را متلاشی کرده و سبب خارج شدن لیپو پلی ساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی شوند. تیمول علاوه بر ممانعت از رشد سلول‌های رویشی باکتری‌ها، همچنین قادر به ممانعت از تولید توکسین توسط باکتری نیز می‌باشد. در مطالعه آریولی و همکاران در سال ۲۰۱۹ مشخص شد که تیمول قادر است از تولید توکسین ایجادکننده *لیستریا مونوستوژنز* ممانعت نماید. دو نظریه در این خصوص مطرح است یکی اینکه به علت تداخل تیمول با تولید ATPممکن است ATP کافی برای خارج کردن توکسین از سلول که یک‌روند فعال و وابسته به انرژی می‌باشد مهیا نباشد و دیگر این‌که با پایین آمدن میزان رشد اختصاصی احتمالاً سلول تمام انرژی خود را صرف زنده ماندن خود می‌کند [٤٦].

Table 4 The effect of the type of formulation on the MIC (µg/ml)

Treatment	E.Coli in culture media	Listeria in culture media	E.Coli in Milk	Listeria in Milk
100T0R10	300^{bB}	250^{aC}	400^{aA}	300^{aB}
75T25R10	100^{fB}	50^{dC}	200^{dA}	100^{dB}
50T50R10	250^{cB}	250^{aB}	300^{bA}	300^{aA}
25T75R10	200^{dB}	150^{bC}	250^{cA}	200^{bB}
0T100R10	350^{aB}	250^{aD}	400^{aA}	300^{aC}
100T0R20	200^{dB}	150^{bC}	300^{bA}	200^{bB}
75T25R20	200^{dB}	150^{bC}	300^{bA}	200^{bB}
50T50R20	150^{eB}	100^{cC}	300^{bA}	150^{cB}
25T75R20	150^{eB}	100^{cC}	250^{cA}	150^{cB}
0T100R20	300^{bB}	250^{aC}	400^{aA}	300^{aB}

The data are the average of three repetitions and the numbers with different upper and lower case letters respectively in each column and row indicate significance at the 5% level.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

۳-٤- تأثیر پارامترهای موردمطالعه بر حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC)

یافته‌های حاصل از حداقل غلظت باکتری‌کشی نمونه‌های تهیه‌شده در جدول۵، آورده شده است. همان‌طور که مشخص است بیشترین MBC برای *اشرشیاکلی* (محیط کشت و شیر) مربوط به نمونه 0T100R10 بود ولی در مورد لیستریا در محیط کشت مربوط به نمونه‌های 100T0R10، 50T50R10 و 0T100R10 بود و از طرفی مشخص گردید که باکتری‌های لیستریا موجود در محیط کشت حساس‌ترین باکتری به نانوذرات تهیه‌شده بودند و قوی‌ترین نمونه که کمترین MBC را داشت به نمونه حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۱۰ اختصاص داشت و در اکثر نمونه‌ها، باکتری‌های موجود در شیر نسبت به محیط کشت نسبت به این نانوذرات مقاوم‌تر بودند. درحالی‌که MIC کمترین غلظت لازم از ترکیب ضدمیکروبی برای جلوگیری از رشد قابل رویت باکتری می‌باشد، MBC کمترین غلظت از ترکیب ضدمیکروبی می‌باشد که باعث مرگ باکتریایی می‌شود. هرچقدر میزان MIC به MBCنزدیک‌تر باشد، ترکیب موردنظر ما خاصیت آنتی باکتریال بیشتری دارد. همان‌طور که ذکر شد، اثر ضدمیکروبی رسوراترول و تیمول به‌تنهایی در مطالعات مختلف بررسی‌شده‌اند با این حال اثر هم‌افزایی این دو ترکیب به‌صورت نانوذرات تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته بود. نتایج MIC و MBC در محیط کشت و شیر نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی بسیار بالای این دو ترکیب به‌صورت نانوذرات نسبت به بسیاری دیگر از مواد ضدمیکروبی بود و موفقیت‌آمیز بودن این فرمولاسیون را تائید می‌کند. عباس‌زاده و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی که روی اثر ضدباکتریایی تیمول، کارواکرول، اوژنول و منتول بر ٤ باکتری مولد فساد در محصولات کشاورزی و لبنیات انجام دادند، بیان داشتند که تیمول دارای ماهیت آبگریز بوده و بنابراین با لیپیدهای غشاء سیتوپلاسمی وارد تعامل شده و با نشت مواد سلولی از میکروارگانیسم‌ها منجر به از بین بردن آن‌ها می‌گردد [٤٧]. ژو و همکاران (۲۰۱۷) با استفاده از نانومولسیون حاوی تیمول تولید شده با ژلاتین و لسیتین میزان باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیا کلی* را در شیر و آب طالبی کاهش دادند [۳۱].

Table 4 The effect of the type of formulation on the MBC (µg/ml)

Treatment	E.Coli in culture media	Listeria in culture media	E.Coli in Milk	Listeria in Milk
100T0R10	600^{bB}	500^{aC}	700^{bA}	600^{aB}
75T25R10	200^{gB}	100^{fC}	400^{eA}	200^{eB}
50T50R10	500^{cB}	500^{aB}	600^{cA}	500^{bB}
25T75R10	400^{dB}	300^{cC}	500^{dA}	400^{cB}
0T100R10	700^{aB}	500^{aC}	800^{aA}	500^{bC}
100T0R20	300^{eC}	200^{dD}	600^{cA}	400^{cB}
75T25R20	300^{eC}	300^{cC}	600^{cA}	400^{cB}
50T50R20	250^{fC}	150^{eD}	600^{cA}	300^{dB}
25T75R20	250^{fC}	200^{dD}	500^{dA}	300^{dB}
0T100R20	400^{dC}	350^{bD}	700^{bA}	600^{aB}

The data are the average of three repetitions and the numbers with different upper and lower case letters respectively in each column and row indicate significance at the 5% level.

٤- نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر با هدف درون پوشانی تیمول و رسوراترول با نانوذرات کامپوزیتی زئین- کازئینات و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن‌ها صورت پذیرفت. به‌طورکلی نتایج نشان داد که نانوذرات زئین و کازئینات به‌طور موفقیت‌آمیزی توانستند رسوراترول و تیمول را انکپسوله کنند و منجر به تولید نانوذراتی با ویژگی‌های مناسب شوند. همچنین نتایج نشان داد که فرمولاسیون حاوی ۷۵ درصد تیمول و ۲۵ درصد رسوراترول با نسبت هسته به دیواره ۱ به ۱۰ بهترین ویژگی‌ها را از نظر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی دارا بود و اثر سینرژیستی و هم‌افزایی دو ترکیب تیمول و رسوراترول نیز منجر به بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی نانوذرات شد.

۵- منابع

[1] Wasowicz, E., Sowicz, E.W., Gramza, A., Hêoe, M., Jele, H. H., Korczak, J., Maecka, M., Mildner- Szkudlarz, S., Rudzioska, M., Samotyja, U. and Zawirska-Wojtasiak, R. 2004. Oxidation of Lipids in foods. Polish journal of food and nutrition sciences. 13 (54): 87–100.

[2] Marchese, A., Orhan, I.E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S.F., Gortzi, O., Izadi, M. and Nabavi, S.M. 2016. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. Food Chemistry. 402-414.

[3] Miladi, H., Zmantar, T., Chaabouni, Y., Fedhila, K., Bakhrouf, A., Mahdouani, K. and Chaieb, K. 2016. Antibacterial and efflux pump inhibitors of thymol and carvacrol against food borne pathogens. Mic Pathogen. 99: 95-100.

[4] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology. 94: 223– 253.

[5] Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, L., Smid, E.J., Gorris, L.G.M. and Von Wright, A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria Journal of Agriculitural Food Chemistry. 46: 3590–3595.

[6] Cui, X.P., By, L., Gao, I., Wei, H.Q. and Wang, N. 2008. Effects of grape seed proanthocyanidin extracts on peripheral nerves in streptozocin-induced diabetic rats. Journal of Nutrition Science and Vitaminology. 54(4): 198-206.

[7] Nkuhn Velten, R. and Schermer, W. 1984. Effect of stz - induced hyperglycaemia on androgen - binding protein in rat testis and epididymis. EMBO Journal or Biomedical Ethics Ontology. 26: 300-303.

[8] Winkler, G. and Kempler, P. 2010. Pathomechanism of diabetic neuropathy background of the pathogenesis-oriented therapy. Orvosi Hetilap Research. 151(24): 971-981.

[9] Boziaris, I.S. 2014. Novel food preservation and microbial assessment techniques. CRC Press. 468 p.

[10] Ahmadi, E., Elhamirad, A. H., Mollania, N., Saeidi Asl, M. R. and Pedramnia, A. 2021. Incorporation of white tea extract in nano□liposomes: optimization, characterization, and stability. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1-14.

[11] Calvo, P., Hernandez, T., Lozano, M. and Gomez, D.G. 2010. Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying: Influence of wall material and olive quality. European Journal of Lipid Science and Technology. 112: 852-858.

[12] Horváth, H., Kovács, A.W., Riddick, C. and Présing, M. 2013. Extraction methods for phycocyanin determination in freshwater filamentous cyanobacteria and their application in a shallow lake. European Journal of Phycology. 48: 278-286.

[13] Keller, B.C. 2001. Liposomes in nutrition. Trends in Food Science Technology. 12: 25-31.

[14]Mozafari, M.R., Johnson, C., Hotziantoniou, S. and Demetzos, C. 2008. Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. Journal of Liposome Reserch. 18: 309-327.

[15] Fathi, B., Mozafari, M. and Mohebbi, M. 2011. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. Trends Food Science Technology. 1-15.

[16] Horn, D. and Rieger, J. 2001. Organic nanoparticles in the aqueous phase - theory, experiment, and use. Angewandte Chemistry Internatinal. 40 (23): 4330-4361.

[17] Yurdugul, S., and Mozafar, M. R. 2004. Recent advances in micro- and nanoencapsulation of food ingredients. Cellular and molecular biology letters. 9: 64-65.

[18] Corradini, E.A., Souto de Medeiros, E., Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S. and Mattoso, L.H.C. 2006. Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol. Journal of Applied Polymer Science. 101: 4133–4139.

[19] Torres-Giner, S., Gimenez, E. and Lagaron, J.M. 2008.Characterization of the morphology and thermal properties of zein prolamine

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquideliquid dispersion method. LWT - Food Science and Technology. 48: 283-290.

[30] Huange, B., Jingesheng, H., Xiaoquan, B., Hong, Z., Xincheng, Y. and Youwei, W. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (Nelumbo nucifera) rhizome knot and leaf. Meat science. 87: 46- 53.

[31] Xue, J., Davidson, P.M. and Zhong, Q. 2017. Inhibition of Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytognes growth in milk and cantaloupe juice by thymol nanoemulsions prepared with gelatin and lecithin. Food control. 73: 1499-1506

[32] Zamani, M., Delfani, A.M. and Jabbari, M. 2018.Scavenging performance and antioxidant activity of γ-alumina nanoparticles towards DPPH free radical: Spectroscopic and DFT-D studies. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 201: 288-299.

[33] Vlachogianni, I.O., Fragopoulou, E., Kostakis, I.K. and Antonopoulou, S. 2015. In vitro assessment of antioxidant activity of tyrosol, resveratrol and their acetylated derivatives. Food Chemistry. 177: 165-173.

[34] AlBasher, G., Abdel-Daim, M.M. Almeer, R., Ibrahim, K.A., Hamza, R.Z., Bungau, S. and Aleya, L. 2020. Synergistic antioxidant effects of resveratrol and curcumin against fipronil-triggered oxidative damage in male albino rats. Environmental Science and Pollution Research. 27(6): 6505-6514.

[35] Mikstacka, R., Rimando, A.M. and Ignatowicz, E. 2010. Antioxidant effect of trans-resveratrol, pterostilbene, quercetin and their combinations in human erythrocytes in vitro. Plant Foods for Human Nutrition. 65(1): 57-63.

[36] Skroza, D., Mekinic, I.G., Svilovic, S., Simat, V. and Katalinic. V. 2015. Investigation of the potential synergistic effect of resveratrol with other phenolic compounds: A case of binary phenolic mixtures. Journal of food composition and analysis. 38: 13-18.

[37] Oh, W.Y. and Shahidi, F. 2017. Lipophilization of resveratrol and effects on antioxidant activities. Journal of agricultural and food chemistry. 65(39): 8617-8625.

nanostructures obtained by electrospinning. Food Hydrocolloids. 22: 601–614.

[20] Lawton, J.W. 2002. Zein: A history of processing and use. Cereal Chemistry. 79: 1–18.

[21] Shukla, R. and Cheryan, M. 2001. Zein: the industrial protein from corn. Industrial crops and products. 13: 171-192.

[22] Haratifar, S. and Guri, A. 2017. 5-Nanocapsule formation by caseins A2-Jafari, Seid Mahdi. In: Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries. Academic Press, pp. 140e164.

[23] Forrest, A., Yada, Y. and Rousseau, D. 2005. Interactions of vitamin D3 with bovine β-lactoglobulin A and β-casein. Food Chemistry. 53: 8003-8009.

[24] Zhang, Y.Q., Niu, Y.G., Luo, Y.C., Ge, M., Yang, T., Yu, L.L. and Wang, Q. 2014. Fabrication, characterization and antimicrobial activities of thymolloaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinateechitosan hydrochloride double layers. Food Chemistry. 142: 269-275.

[25] Li, K.K., Yin, S.W., Yin, Y.C., Tang, C.H., Yang, X.Q. and Wen, S.H. 2013. Preparation of water-soluble antimicrobial zein nanoparticles by a modified antisolvent approach and their characterization. Journal of Food engineering. 119(2): 343-352.

[46] Lu, J., Li, T., Ma, L., Li, S., Jiang, W., Qin, W., Li, S., Li, Q., Zhang, Z. and Wu, H. 2021. Optimization of heat-sealing properties for antimicrobial soybean protein isolate film incorporating diatomite/thymol complex and its application on blueberry packaging.Food Packaging and Shelf Life. 29: https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100690.

[27] Ai, Y., Fang, F., Zhang, L. and Liao, H. 2022. Antimicrobial activity of oregano essential oil and resveratrol emulsions co-encapsulated by sodium caseinate with polysaccharide.Food Control. 137. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108925

[28] Xue, J., Zhang, Y., Huang, G., Liu, J., Slavin, M. and Yu, L. L. 2018. Zeincaseinate composite nanoparticles for bioactive delivery using curcumin as a probe compound. Food hydrocolloids, 83: 25-35.

[29] Wu, Y., Luo, Y. and Wang, Q. 2012. Antioxidant and antimicrobial properties of

[38] Wu, W., Kong, X., Zhang, C., Hua, Y., Chen, Y. and Li, X. 2020. Fabrication and characterization of resveratrol-loaded gliadin nanoparticles stabilized by gum Arabic and chitosan hydrochloride. LWT. 129: 109532.

[39] Yildiz, S.,Turan, S., Kiralan, M. and Ramadan, M.F. 2021. Antioxidant properties of thymol, carvacrol, and thymoquinone and its efficiencies on the stabilization of refined and stripped corn oils. Journal of Food Measurement and Characterization. 15(1): 621-632.

[40] Berenji, R.H., Pezeshki, A., Ghanbarzadeh, B., Mohammadi, M., Azar, M.T., Hamishehkar, H., Azar, F.A. and Ghorbani, M. 2021. Resveratrol entrapped food grade lipid nanocarriers as a potential antioxidant in a mayonnaise. Food Bioscience. 41: 101041.

[41] Siregar, T.M., Budianto, E., Cahyana, H. and Wibowo, W. 2018. Synthesis and antioxidant activity of prenylated resveratrol. Rasayan Journal of Chemistry. 11(4): 1765-1770.

[42] Perez-Roses, R., Risco, E., Vila, R., Penalver, P. and Canigueral, S. 2016. Biological and nonbiological antioxidant activity of some essential oils. Journal of agricultural and food chemistry. 64(23): 4716-4724.

[43] Colica, C., Milanović, M., Milić, N., Aiello, V., De Lorenzo, A. and Abenavoli, L. 2018. A systematic review on natural antioxidant properties of resveratrol. Natural product communications. 13(9): 1934578X1801300923.

[44] Ma, D.S., Tan, L.T. H., Chan, K.G., Yap, W.H., Pusparajah, P., Chuah, L.H., Ming, L.C., Khan, T. M., Lee, L.H. and Goh, B.H. 2018. Resveratrol—potential antibacterial agent against foodborne pathogens. Frontiers in Pharmacology. 9: 1-16.

[45] Vestergaard, M. and Ingmer, H. 2019. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. International Journal of Antimicrobial Agents. 53(6): 716-723.

[46] Arioli, S., Montanari, C., Magnani, M., Tabanelli, G., Patrignani, F., Lanciotti, R., Mora, D. and Gardini, F. 2019. Modelling of Listeria monocytogenes Scott A after a mild heat treatment in the presence of thymol and carvacrol: Effects on culturability and viability. Journal of Food Engineering. 240: 73-82.

[47]Abbaszade, S., Sharifzadeh, A. and Bagheri, M. 2019. The study of antimicrobial effect of Thymol, Carvacrol, Eugenol and Menthol on food spoilage bacteria in agricultural crops and dairy products. Journal of Food Science and Technology. 91(16): 283-290. (in Persian).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131]

Investigating the antioxidant and antimicrobial properties of thymol and resveratrol microcoated with zein-caseinate composite nanoparticles

Sadati Khadar, F. [1], Mahdian, E. [1*], Ataye Salehi, E. [1], Karazhian, R. [2]

1. Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
2. Industrial Microbial Biotechnology Department, Institute of Industrial Biotechnology, ACECR, Mashhad, Mashhad, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 07/ 23
Accepted 2022/ 09/ 27

Keywords:

Thymol,
Resveratrol,
Nanoencapsulation,
Antimicrobial.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.131
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.12.1

*Corresponding Author E-Mail:
emahdian2000@yahoo.com

ABSTRACT

The present study aimed to encapsulate thymol and resveratrol prepared with zein-caseinate composite nanoparticles and to investigate their antioxidant and antimicrobial properties. For this purpose, liquid-liquid dispersion method was used to prepare zein-caseinate composite nanoparticles. In this study, the effect of different concentrations ratio of thymol and resveratrol (zero to 100%) and different ratios of core to coating (1:10 and 1:20) on the ability to inhibit DPPH free radicals, the reducing power of iron ions and antimicrobial activity on Escherichia coli and Listeria monocytogenes was investigated in culture media and milk. The results showed that the sample containing 75% thymol and 25% resveratrol with a ratio of 1 to 10 of core to coating had the highest ability to inhibit DPPH free radicals and the reducing power of iron ions, and it was found that the increase in the coating concentration except for the sample containing 75% thymol, led to an increase in the Inhibition power of DPPH free radicals and reducing power of iron ion. Listeria bacteria in the TSB culture medium were the most sensitive bacteria to the prepared samples, and the strongest prepared nanoparticles, which had the lowest MIC and MBC, belonged to the sample containing 75% thymol and 25% resveratrol with a core-to-wall ratio of 1:10, and in most samples, The bacteria in milk were more resistant to these nanoparticles than the culture medium. Finally, it can be said that the sample containing 75% thymol and 25% resveratrol with a core-to-wall ratio of 1 to 10 can be selected as a combination with appropriate antioxidant and antimicrobial power.