**مجله علوم و صنایع غذایی ایران**

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

# بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره هیدروالکلی اندام های هوایی گیاه هوفاریقون بر ماندگاری پنیر سفید

**سپیده تبریزی[۱]، الهام مهدیان[۲*]، علی محمدی ثانی[۳]، محبوبه سرابی جماب[٤]، فاطمه عروجعلیان[٥]**

۱- دانشجوی دکتری و دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

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

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

٤- گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، پژوهشکده فناوری‌های پیشرفته مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

٥- استادیار گروه فناوری های نوین دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، مشهد، ایران.

**اطلاعات مقاله**

**تاریخ های مقاله :**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۱۰/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰٤/۳۰

**کلمات کلیدی:**

هوفاریقون،

نانوکپسول،

فعالیت ضدمیکروبی،

پنیر سفید.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5

* مسئول مکاتبات:

emahdian2000@yahoo.com

**چکیده**

**تبدیل ترکیبات زیست‌فعال به مقیاس نانو، به دلیل کاهش اندازه و افزایش سطح، اثرگذاری آن‌ها را افزایش خواهد داد؛ استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی در مقیاس نانوذرات، می‌تواند غلظت مصرفی را کاهش دهد. گیاه هوفاریقون با داشتن متابولیت‌های ثانویه از خاصیت ضدمیکروبی برخوردار می‌باشد. در تحقیق حاضر، ضمن بررسی امکان تولید نانوکپسول حاوی عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون، اثر ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر ماندگاری پنیر سفید بررسی گردید. جهت تهیه نانوعصاره، از روش تولید امولسیون نانوکپسول‌های آلژینات‌کلسیم حاوی عصاره استفاده گردید. نسبت عصاره (با غلظت۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به آلژینات سدیم، ۱ به ٤ بود. تولید نانوکپسول حاوی عصاره با افزودن نانوذرات کلریدکلسیم به نانوامولسیون آلژینات حاوی عصاره به نسبت ۱ به ٦ به مدت ٤ ساعت صورت گرفت. جهت تهیه پنیر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* جداگانه به میزان $10^3$ CFU/ml به شیر تلقیح سپس افزودن کلریدکلسیم، آنزیم رنت؛ عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره به شیر انجام گرفت سپس قدرت ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره، ویژگی‌های میکروبی نمونه‌های پنیر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج تعیین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی اندازه ذرات، پتانسیل زتا، کارایی ریزپوشانی و بررسی میکروسکوپی ، تولید نانوذرات با کارایی ریزپوشانی مناسب را تأیید نمود. نتایج آزمون‌های میکروبی نمونه‌های پنیر نشان داد، نمونه حاوی نانوعصاره قادر به کاهش حدود یک سیکل لگاریتمی از میکروارگانیسم تلقیح شده بوده و در زمان ماندگاری مقادیر باکتری گرم‌مثبت، گرم‌منفی و مخمر سیر نزولی داشت؛ نمونه حاوی عصاره و نمونه شاهد، میزان میکروارگانیسم‌ها بیش از ۳ سیکل لگاریتمی بوده و در زمان ماندگاری سیر صعودی داشتند، در مقایسه با نمونه شاهد، نمونه حاوی عصاره به‌طور معنی‌داری دارای مقادیر کمتری از میکروارگانیسم‌ها بود. استفاده از نانوعصاره اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون، به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی، باعث تولید محصول غذایی سالم‌تر با زمان ماندگاری بیشتر می‌شود.**



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]

[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

## ۱- مقدمه

علی‌رغم پیشرفت‌های مدرن در بخش بهداشت و تکنیک‌های تولید غذا، سلامت غذا اهمیت فزاینده‌ای در سلامت عمومی ایفا می‌کند [۱]. سلامت و ایمنی مواد غذایی نگرانی اساسی تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان و سازمان‌های کنترل کننده بوده است؛ به‌ویژه عفونت‌های ناشی از مواد غذایی روند رو به افزایشی را نشان می‌دهد [۲]. گزارشات متعددی در مورد آلودگی مواد غذایی از قبیل شیر، پنیر، بستنی و فراورده‌های مختلف لبنی وجود دارد که نشان‌دهنده نقش اساسی شیر خام در شیوع آلودگی می‌باشد[۳].

از سویی دیگر، هرچند استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی در محصولات غذایی، البته در محدوده مجاز آن‌ها، توسط سازمان‌های نظارتی مسئول مجاز شناخته شده است؛ امروزه به‌دلیل شناسایی آثار سوء نگهدارنده‌های سنتزی و مباحث مطرح شده در خصوص عوارض جانبی آن‌ها، تقاضای مصرف‌کنندگان در مورد محصولات غذایی فاقد نگهدارنده‌های سنتزی افزایش یافته است. از این‌رو؛ انتخاب جایگزین مناسب و طبیعی برای این نگهدارنده‌ها احساس می‌شود[۵و۴]. استفاده از عصاره و اسانس گیاهان، به عنوان راهکاری مناسب در راستای کنترل میکروارگانیسم‌های بیماریزا و مولد فساد و به تبع آن افزایش ماندگاری مواد غذایی مطرح می‌باشد. تاکنون اثرات ضدمیکروبی برخی از ترکیبات گیاهی مطالعه و تأیید گردیده است.

*Hypericum Perforatum* که در ایران به هوفاریقون معروف است گیاه بومی غرب اروپا، آسیا و شمال آفریقا می‌باشد. اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون حاوی آلکالوئید، فلاونوئید و تانن‌ها می‌باشد [۶]. اثر ضدمیکروبی وضد افسردگی عصاره گیاه هوفاریقون بدلیل وجود ترکیبات هایپریسین، سودوهایپریسین و هایپرفورین می‌باشد که با تخلیص مواد موثر این گیاه، می‌توان در درمان عفونت‌ها و افسردگی‌ها استفاده کرد [۸و۷].

امروزه تکنولوژی نانو در تولید غذاداروها و غذاهای عملگرا به منظور بهبود عملکرد ترکیبات زیست‌فعال کاربرد گسترده‌ای یافته است؛ چرا که علاوه بر حفاظت بیشتر از آن‌ها، به دلیل کاهش اندازه و افزایش سطح، اثرگذاری این‌گونه ترکیبات افزایش خواهد یافت[۴]؛ به طور مثال در تحقیقی نانوکپسول‌های آلژیناتی حاوی عصاره پوست انار تهیه گردید و پس از بررسی خصوصیات نانوذرات تولیدی، اثرات ضدمیکروبی آن بر روی چند میکروارگانیسم مولد فساد در مواد غذایی بررسی گردید. نتایج نشان داد که نانوکپسول‌های حاوی عصاره پوست انار اثر ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با عصاره داشتند [۹]. همچنین در تحقیقی دیگر، ضمن بررسی امکان تولید نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک، اثر ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر نمونه‌های کالباس بررسی گردید. براساس نتایج بدست آمده، محققان خاطر نشان کردند که می‌توان از عصاره برگ گیاه نوروزک، به ویژه در ابعاد نانو و در مقادیر مناسب، به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی، جهت دستیابی به محصولی سالم‌تر و با مدت زمان ماندگاری بیشتر استفاده نمود [۱۰]. علاوه بر آن از تکنیک کپسولاسیون جهت به دام اندازی ترکیبات فعال عصاره رزماری استفاده گردید. براساس نتایج بدست آمده، نانوکپسول‌های متشکل از عصاره رزماری سبب افزایش خواص ضد میکروبی شده و فساد میکروبی فیله گوشت گاو را کاهش دادند [۱۱].

با توجه به توضیحات فوق، در تحقیق حاضر برای نخستین بار ضمن تولید نانوکپسول حاوی عصاره اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون اثرات ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر ماندگاری پنیر سفید مورد ارزیابی قرار گرفته است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- آماده‌سازی نمونه ها

به منظور آماده‌سازی نمونه، اندام‌های هوایی گیاه از مزرعه تهیه و به مدت یک هفته در مکانی دور از نور خورشید با دمای حدود ۲۴ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک و سپس کاملاً پودر گردید [۱۲].

### ۲-۲- تهیه عصاره اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون

پودر گیاه خشک‌شده با نسبت ۳۰ به ۷۰ توسط حلال آب/ اتانول خیسانده شد. پس از ۴۸ ساعت، پس از عبور عصاره از صافی پارچه‌ای، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ ×g سانتریفیوژ

شد[۱۴و۱۳]. سپس برای تبخیر حلال در داخل اواپراتور دوار در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن، با قراردادن عصاره در آون تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، کاملاً خشک گردید. عصاره خشک شده تا زمان انجام آزمایشات در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

## ۲-۳- تولید نانوکپسول‌های حاوی عصاره

### ۲-۳-۱- تهیه نانوذرات کلرید کلسیم

به منظور تولید ژل آلژینات کلسیم حاوی عصاره به روش امولسیون آب در روغن، ضروری است ابتدا ذرات کلرید کلسیم که برای تشکیل ژل مورد استفاده قرار می‌گیرد به ابعاد نانو تبدیل گردد؛ لذا به‌منظور تولید نانوذرات کلرید کلسیم، محلول ۰/۰۱ مولار کلرید کلسیم در اتانول تهیه و ۳۰ درصد آن به روغن مایع آفتابگردان حاوی ٦ درصد وزنی/وزنی سورفاکتانت توئین ۸۰ اضافه گردید. مخلوط حاصله به مدت ۱۲۰ ثانیه با ۳۰ سیکل و توان ۷۰ وات صوت دهی شد و سپس به منظور تبخیر اتانول، به مدت ٢٤ ساعت به آون تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی-گراد منتقل شد. بعد از تبخیر کامل اتانول، در دمای محیط و با استفاده از دستگاه پراش دینامیکی نور، اندازه ذرات کلرید کلسیم بررسی و پس از تأیید اندازه ذرات در ابعاد نانو، برای تشکیل ژل استفاده گردید [١٦و١٥].

### ۲-۳-۲- تهیه نانوذرات آلژینات کلسیم حاوی عصاره

تهیه نانوکپسول‌های عصاره، با استفاده از روش امولسیون آب در روغن و پوشش‌دهی عصاره با ژل آلژینات انجام شد. بدین منظور ابتدا با حل نمودن آلژینات‌سدیم در آب یون‌زدایی شده، محلول ۲ درصد وزنی/حجمی از آن تهیه گردید. سپس با ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از عصاره مخلوط شد. براساس بررسی منابع انجام شده، نسبت عصاره به آلژینات‌سدیم، ۱ به ٤ انتخاب شد. با استفاده از همزن مغناطیسی با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه ، فاز آبی، قطره‌قطره به فاز روغنی حاوی ٦ درصد وزنی/وزنی سورفاکتانت توئین ۸۰، اضافه شد. نسبت فاز آبی به روغنی ۱۰ به ۹۰ بود. پس از تشکیل امولسیون، به منظور تولید نانوامولسیون آلژینات سدیم حاوی عصاره هوفاریقون از هموژنایزر اولتراتوراکس با سرعت ۱۵۰۰۰ ×g استفاده شد [۱۸و۱۷].

به منظور تشکیل ژل آلژینات‌کلسیم در ابعاد نانو، نانوذرات کلرید کلسیم تهیه شده در مرحله قبل، قطره قطره به نانوامولسیون آلژینات سدیم افزوده شد و به مدت ٤ ساعت روی همزن مغناطیسی با سرعت کم قرار گرفت. لازم به ذکر است نسبت نانوامولسیون به نانو ذرات کلرید کلسیم ۱ به ٦ انتخاب گردید. در انتها جهت جداسازی نانوکپسول‌های آلژینات کلسیم حاوی عصاره، از سانتریفیوژ با سرعت ٤۰۰۰×g به مدت ۵ دقیقه استفاده شد. حذف کامل روغن از نانوکپسول‌های تهیه شده نیز به کمک شستشو با استون صورت گرفت [۱۷-۱۵].

## ۲-٤- تعیین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی اندازه ذرات وپتانسیل زتا

به‌منظور تعیین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل‌زتا، با استفاده از دستگاه پراش دینامیکی نور (در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) میانگین قطر حجمی کپسول‌ها و نیز بار الکتریکی سطحی ذرات مورد بررسی قرار گرفت [۱۵].

## ۲-۵- کارایی درون‌پوشانی

میزان ترکیبات فنلی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره به عنوان معیاری در محاسبه کارایی درون‌پوشانی مورد استفاده قرار گرفت. محتوای فنلی تام عصاره قبل از افزودن به امولسیون (A) و میزان آن در سوپرناتانت حاصل از جداسازی نانوکپسول‌های آلژیناتی حاوی عصاره (B)، اندازه‌گیری شد. کارایی درون‌پوشانی مطابق رابطه ۱ محاسبه و به صورت درصد بیان گردید [۱۸].

رابطه {۱} $\text{کارایی درون‌پوشانی} = (A\text{-}B / A) \times 100$

لازم به ذکر است محتوای فنل کل بر اساس از روش سینگلتون و با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو و رسم منحنی استاندارد اسیدگالیک محاسبه و براساس میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره بیان شد [۱۹].

## ۲-٦- بررسی ریخت‌شناسی نانوکپسول حاوی عصاره

به منظور بررسی ریخت‌شناسی نانوکپسول‌های حاوی عصاره از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده گردید. ابتدا نمونه آماده-سازی و با لایه نازکی از طلا پوشانده شد و سپس به اتاقک نمونه تحت خلاء منتقل و خشک گردید. سپس تصاویر به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی به‌دست آمد [۱۵].



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

## ۲-۷- بررسی اثر میکروبی عصاره و نانو کپسول حاوی عصاره روی پنیر

### ۲-۷-۱- آماده‌سازی میکروارگانیسم‌ها

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این پژوهش، شامل سویه‌های میکروبی گرم منفی *اشریشیا کلی*[1] (ATCC 1399)، گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*[2] (ATCC 1431)، مخمر *کاندیدا آلبیکنس*[3] (ATCC 10231) و کپک آسپرژیلوس پارازیتیکوس[4] (ATCC 1709) از بانک میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. بدلیل اینکه عصاره و نانوعصاره هیدروالکلی گیاه هوفاریقون نتوانست در آزمایشات تعیین هاله عدم رشد و MIC/MBC[5] مانع از رشد کپک گردد لذا استفاده از کپک در ادامه آزمایشات صرف‌نظر گردید و از سه گروه گرم مثبت، گرم منفی و مخمر در آزمایش استفاده شد. براساس غلظت میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در آزمایشات MIC/MBC و براساس نتایج حاصله از آزمون‌های مذکور، به منظور آلوده‌سازی نمونه‌ها به میکروارگانیسم‌های پاتوژن، $10^3$ CFU/mL از هر میکروارگانیسم به شیر مصرفی جهت تولید پنیر اضافه گردید. ابتدا به منظور فعال‌سازی میکروارگانیسم‌های نگهداری شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، از محیط‌کشت TSB[6] استفاده گردید؛ بدین صورت که هر یک از میکروارگانیسم‌های مذکور به‌طور جداگانه در محیط TBS کشت داده شده و به مدت ۲۰ ساعت در دمای مناسب رشد هر یک از میکروارگانیسم‌ها گرم‌خانه‌گذاری شدند. مرحله فعال‌سازی به منظور دستیابی به میکروارگانیسم‌های فعال، دو بار به طور متوالی تکرار شد [۲۰].

پس از آن از سوسپانسیون‌های میکروبی تازه، توسط اسپکتروفتومتر درطول موج ۶۰۰ nm، ابتدا کدورتی معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند (در حدود $10^8$ CFU/mL تهیه) و سپس با رقت‌سازی به $10^3$ CFU/mL رسانده شد. لازم به ذکر است به منظور تأیید نهایی میزان میکروارگانیسم‌های تلقیحی، از کشت رقت‌های تهیه شده از میکروارگانیسم‌ها به کمک روش شمارش پلیت استاندارد در محیط TBS نیز استفاده گردید [۲۲و۲۱].

### ۲-۷-۲- تهیه پنیر

به منظور اطمینان از عدم آلودگی شیر به میکروارگانیسم‌ها، ابتدا پاستوریزاسیون شیر در دمای ۲±۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه انجام شد. قبل از شروع انجام مراحل مختلف پنیرسازی دمای شیر به ۳۵ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. سپس $10^3$ CFU/mL از هر میکروارگانیسم به‌طور مجزا به نمونه‌های شیر اضافه گردید. پس از آن مقدار ۰/۰۲ درصد وزنی/حجمی از کلرید کلسیم که در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حل شده بود، به‌طور یکنواخت به شیر اضافه شد و در همین زمان عصاره و یا نانوعصاره گیاه هوفاریقون به‌صورت جداگانه با غلظت ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه گردید. نهایتاً آنزیم رنت (تهیه شده از شرکت *IIEC*[7]) به مقدار ۰/۰۰۱ درصد وزنی/حجمی پس از حل نمودن آن در آب مقطر استریل به شیر افزوده شده تا عمل انعقاد و تشکیل دلمه پنیر انجام شود. در نهایت نمونه‌های پنیر تولیدی تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شدند. لازم به ذکر است نمونه فاقد عصاره یا نانوکپسول حاوی عصاره، به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

به منظور بررسی اثرضدمیکروبی عصاره و نانوعصاره بر میکروارگانیسم‌های تلقیح شده، در روز تولید و تا یک هفته پس از آن، برای کشت در هر بار نمونه‌برداری، ۱۰ گرم از هر نمونه پنیر تولیدی برداشته و توزین گردید و به وسیله هاون و بوته چینی استریل خرد و داخل ارلن مایر حاوی ۹۰ سی‌سی سیترات سدیم استریل مخلوط شد. و پس از اختلاط کامل رقت های سریالی از آن تهیه گردید. در مرحله بعد یک سی‌سی از هر رقت ساخته شده به پلیت حاوی محیط SMA[8] مذاب انتقال داده شد و با حرکت دورانی، نمونه با محیط کشت به‌طور کامل مخلوط گردید؛ در نهایت نمونه‌های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری و ۲۵ درجه

1. Escherichia Coli
2. *Staphylococcus* aurous
3. Candida Albicans
4. Aspergillus Parasiticus
5. Minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum bactericidal concentration (MBC)
6. Tryptic Soy Broth
7. Iran Industrial Enzymes *Company*
8. Standard Methods Agar

سانتی‌گراد برای مخمر قرار گرفت و پس از آن کلنی‌های تشکیل‌شده توسط دستگاه کلنی‌کانتر شمارش شد [۲۴-۲۳].

### ۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از آزمایشات با استفاده از نرم افزار SPSS 18 و بر اساس روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان انجام شد. آزمون‌ها در سه تکرار انجام شده و نتایج به دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## ۳- نتایج

### ۳-۱- بررسی خصوصیات نانوکپسول آلژینات کلسیم حاوی عصاره

جدول۱ ویژگی‌های نانوکپسول آلژینات کلسیم حاوی عصاره را بعد از جداسازی از سیستم امولسیون نشان می‌دهد که بر اساس نتایج بدست آمده کارایی ریزپوشانی و شاخص پراکندگی ذرات بدست آمده در تحقیق حاضر مناسب می‌باشد. همچنین در شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونیکی روبشی نمونه نانوکپسول محتوی عصاره اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون تهیه شده را با بزرگنمایی ۵۰× مشاهده می‌شود که شکل نانوکپسول‌های حاصل، مشابه نتایج گزارش شده توسط سایر محققیق کروی است.

**Table 1** Properties of *Calcium Alginate* Nanocapsules containing *Hypricum Perforatum* extract
*mean ±Standard deviation (n=3)

| Samples | Particle size (nM) | Particle size dispersion Index | Zeta potential (EV) | Efficiency of encapsulation (%) |
|---|---|---|---|---|
| Nano Capsule of Hypericum Perforatum | 500 | 0.21 | -38.3 | 85 |

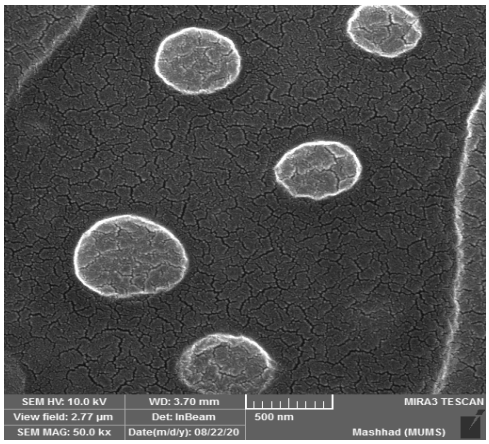


**Fig 1** Scanning *Electron Microscope* image of *Hypricum Perforatum* nano extract

نانو کپسوله‌شدن ترکیبات زیست‌فعال از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها محافظت کرده و انتشار این مواد حساس را کنترل می‌نماید[۲۵]. از ترکیبات مختلفی به عنوان دیواره در تولید نانوکپسول می‌توان استفاده نمود که یکی از متداول‌ترین آن‌ها آلژینات کلسیم می‌باشد که در بخش نخست تحقیق حاضر، جهت تولید نانوکپسول از عصاره بدست آمده از اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون از پلیمر مذکور استفاده گردید. آلژینات به دلیل غیرسمی بودن، در دسترس بودن، هزینه کم و ژل‌شدن آسان، یک بیوپلیمر همه‌کاره بوده که معمولاً برای کپسولاسیون ترکیبات مختلف استفاده می‌شود. نتایج کپسوله‌کردن عصاره‌های مختلف گیاهی در آلژینات کلسیم مورد بررسی قرار گرفته که نشان‌دهنده کارایی مناسب این روش است [۲۷و۲۶].

مهمترین علت ایجاد ذرات آلژینات‌کلسیم تمایل گروه‌های عاملی به‌ویژه گروه‌های کربوکسیل زنجیره‌های پلیمر آلژینات‌سدیم جهت ایجاد پیوند با یون کلسیم و تکمیل ساختار کمپلکس با این یون می‌باشد. بدلیل ماهیت الکتروستاتیکی و پیوند یونی قوی، ذرات آلژینات‌کلسیم تشکیل شده همواره به عنوان ذراتی با چسبندگی زیاد به یکدیگر شناخته می‌شوند [۲۸].

از سویی دیگر، بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطح ذرات پتانسیل‌زتا می‌باشد؛ زیرا میزان تجمع بار در لایه غیرمتحرک و شدت جذب یون‌های مخالف روی سطح ذره را نشان می‌دهد. بالا بودن پتانسیل زتای ذرات موجب بالا رفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و در نتیجه افزایش پایداری فیزیکی



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

سیستم می‌شود [۳۰و۲۹].

در تحقیقی دیگر از آلژینات کلسیم برای زیرپوشانی عصاره گیاهی *Phyllanthus amours* استفاده شد. اندازه ذرات در نانوکپسول‌های نهایی ۲۱۳ نانومتر و کارایی ریزپوشانی ۸۹ درصد بدست آمد [۳۱].

گروهی از محققان نانوکپسول‌هایی را جهت حفظ اسانس‌های روغنی زردچوبه و لیمو توسط پلیمرهای آلژینات و کیتوزان تولید نمودند. نتایج آنها نشان داد که استفاده از ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی-لیتر آلژینات به همراه ۰/٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کیتوزان سبب تولید نانوکپسول‌هایی با اندازه ذرات ۲٥٦ و ۲۲٦ نانومتر به ترتیب برای دو اسانس زردچوبه و لیمو می‌شود. پتانسیل زتا در هر دو مورد در حدود ۳٥ میلی‌ولت بدست آمد که نشان‌دهنده پایداری مناسب نانوکپسول‌های تولیدی حاوی اسانس‌های روغنی بود. همچنین کارایی کپسولاسیون دو اسانس زردچوبه و لیمو به ترتیب ۷۱/۱ و ۸٦/۹ درصد بدست آمد. نتایج SEM نیز کپسول‌هایی کروی شکل با متوسط اندازه ذرات کمتر از ۳۰۰ نانومتر را نشان داد [۳۲].

همچنین برخی دیگر از محققان از نانوذرات پلیمری زیست تخریب پذیر به روش پیش ژل‌شدن یونوتروپیک جهت کپسوله نمودن آلیسین استفاده کردند. میانگین اندازه نانو کپسول‌ها با توجه به غلظت زیست‌پلیمر کیتوزان و آلژینات و PH محلول کمپلکس پلی‌الکترولیت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت کیتوزان و آلژینات و همچنین کاهش PH سبب افزایش اندازه ذرات و کاهش میزان بازده کپسولاسیون گردید. گستره مناسب برای غلظت کیتوزان ۰/۷٥ تا ۱/٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، برای غلظت آلژینات ۲/٦ تا ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و PH مناسب بین ٥/۷-٤/۷ تعیین شد و نانوکپسول‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل‌میدانی (*FE-SEM*) بررسی شدند که مشخص گردید دارای ساختار کروی و یکنواخت هستند [۳۳].

در مقایسه با نتایج پژوهش سایر محققین، اندازه نانوذرات حاصل در تحقیق حاضر بیشتر بود؛ هرچند در محدوده نانو می‌باشد. علت این امر را می‌توان به بزرگتر بودن اندازه نانو ذرات کلرید کلسیم تهیه شده، نسبت عصاره به آلژینات استفاده شده، تفاوت در قدرت دستگاه اولتراسوند و هموژنایزر به منظور کوچک کردن اندازه ذرات و یا نحوه افزودن نانو ذرات کلرید کلسیم به نانو ذرات آلژینات سدیم حاوی عصاره جهت تشکیل ژل نسبت داد.

## ۳-۲- بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر نمونه‌های پنیر تلقیح شده با میکروارگانیسم‌ها

در بخش دوم تحقیق حاضر به بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاه اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون بر میزان رشد میکروارگانیسم‌های تلقیح شده به پنیر پرداخته شد. نتایج حاصل در جدول شماره ۲ از آنالیز واریانس و مقایسه نمونه حاوی عصاره، نانوعصاره و نمونه شاهد در خصوص شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که در کلیه روزها، میزان *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه پنیر حاوی نانوکپسول عصاره در مقایسه با نمونه حاوی عصاره کمتر از یک سیکل لگاریتمی بود؛ به‌عبارتی دیگر با توجه به تزریق $10^3$ CFU/mL از باکتری مذکور به نمونه‌ها، نانوکپسول حاوی عصاره توانست در طی مدت زمان یک هفته بررسی، میزان باکتری را در حدود یک سیکل لگاریتمی کاهش دهد. همچنین نتایج حاکی از آن است که هرچند در هر دو نمونه حاوی عصاره و شاهد، شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* بیش از ۳ Log CFU/mL بدست آمد؛ میزان باکتری در نمونه حاوی عصاره به طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود ($P<0.05$). بررسی شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره در طی زمان نشان داد که با افزایش زمان ماندگاری میزان باکتری افزایش یافت به‌طوری که در روز هفتم نمونه‌برداری، این میزان در خصوص نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره هوفاریقون به‌ترتیب به ٤/۰۳ Log CFU/mL و ۳/۸٥ رسید؛ این در حالی است که در نمونه پنیر دارای نانوکپسول حاوی عصاره، میزان باکتری مذکور روندی کاهش داشت به‌طوری که بیشترین میزان آن در روزهای نخست و کمترین میزان در روزهای پایانی نمونه‌برداری بدست آمد. این نتیجه را می‌توان به رهایش تدریجی ترکیبات ضدمیکروبی از نانو عصاره در طی مدت ماندگاری نسبت داد.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

**Table 2** Investigation of *Staphylococcus aureus* count (Log CFU/mL) in *Cheese* samples

| Maintenance Time | Control Sample | Samples containing Hydroalcoholic Nano extract of Hypericum Perforatum | Samples containing Hydroalcoholic extract of Hypericum Perforatum |
|---|---|---|---|
| After production | 3.58±0.07 *Ad** | 2.53± 0.04 Ba | 3.55± 0.02 Af |
| Day 1 | 3.66± 0.06 Acd | 2.49± 0.07 Ca | 3.44± 0.03 Be |
| Day 2 | 3.76± 0.04 Abc | 2.46± 0.06 Cab | 3.56± 0.04 Bd |
| Day 3 | 3.79± 0.07 Abc | 2.39± 0.03 Cb | 3.68± 0.03 Bc |
| Day 4 | 3.83± 0.05 Ab | 2.36± 0.04 Cbc | 3.73± 0.04 Bbc |
| Day 5 | 3.87± 0.08 Aab | 2.32± 0.03 Ccd | 3.77± 0.02 Babc |
| Day 6 | 3.97± 0.06 Aa | 2.26± 0.05 Cd | 3.81± 0.04 Bab |
| Day 7 | 4.03± 0.09 Aa | 2.23± 0.08 Cd | 3.85± 0.06 Ba |

*mean ± Standard deviation (n=3)

**Different capital letters in each row indicate the significant difference ($p< 0.05$).
Different small letters in each column indicate the significant difference ($p< 0.05$).

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، در روز تولید نمونه‌های پنیر، میزان *اشریشیا کلی* در نمونه حاوی نانوعصاره به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره بدست آمد ($P<0.05$)؛ در صورتی که در روز اول تولید بین میزان *اشریشیا کلی* در نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P\geq0.05$). در روزهای اول تا سوم نگهداری پنیر، هرچند میزان *اشریشیا کلی* در دو نمونه اخیر بیش از Log CFU/mL ۳ محاسبه گردید، میزان باکتری در نمونه شاهد به لحاظ آماری در سطح اطمینان ۵ درصد، بیش از نمونه حاوی عصاره بود؛ این در حالی است که پس از آن تا پایان زمان ماندگاری ۷ روزه، مجدداً اختلاف معنی‌داری در شمارش *اشریشیا کلی* میان نمونه شاهد و نمونه پنیر حاوی عصاره مشاهده نگردید ($P\geq0.05$). نمونه پنیر دارای نانوکپسول‌های حاوی عصاره؛ در کلیه روزهای مورد آزمون، حاوی مقادیر کمتری از *اشریشیا کلی* در مقایسه با دو نمونه شاهد و حاوی عصاره هوفاریقون بود ($P<0.05$). در طی مدت زمان ماندگاری ۷ روزه، روند شمارش *اشریشیا کلی* در نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره صعودی بود؛ به‌طوری که بیشترین میزان در روز هفتم بدست آمد. ذکر این نکته ضروری است که در خصوص نمونه پنیر حاوی عصاره هوفاریقون، میزان *اشریشیا کلی* در مقایسه با روز تولید، قدری کاهش یافت که البته به لحاظ آماری با روز تولید اختلاف معنی‌داری نداشت ($P\geq0.05$). در خصوص نمونه حاوی نانوعصاره هوفاریقون روندی نزولی مشاهده گردید؛ به طوری که بیشترین و کمترین میزان *اشریشیا کلی* با مقادیر Log CFU/mL ۲/۵۹ و ۲/۳۶ به ترتیب به روزهای تولید و هفتم تعلق داشت ($P<0.05$).

**Table 3** Investigation of *Escherichia Coli* count (Log CFU/mL) in *Cheese* samples

| Maintenance Time | Control Sample | Samples containing Hydroalcoholic Nano extract of Hypericum Perforatum | Samples containing Hydroalcoholic extract of Hypericum Perforatum |
|---|---|---|---|
| After production | 3.62±0.04 *Ae** | 2.59± 0.06 Ba | 3.59± 0.03 Ad |
| Day 1 | 3.72± 0.07 Ade | 5.54± 0.09 Cab | 3.49± 0.07 Bd |
| Day 2 | 3.79± 0.06 Acd | 2.50± 0.05 Cab | 3.63± 0.06 Bc |
| Day 3 | 3.83± 0.03 Ac | 2.49± 0.05 Cab | 3.70± 0.04 Bc |
| Day 4 | 3.85± 0.03 Ac | 2.46± 0.06 Bbc | 3.79± 0.03 Ab |
| Day 5 | 3.88± 0.07 Abc | 2.43± 0.08 Bbc | 3.83± 0.05 Ab |
| Day 6 | 3.99± 0.06 Aab | 2.39± 0.06 Bbc | 3.86± 0.07 Ab |
| Day 7 | 4.08± 0.06 Aa | 2.36± 0.04 Bc | 3.98± 0.04 Aa |

*mean ± Standard deviation (n=3)

**Different capital letters in each row indicate the significant difference ($p< 0.05$).
Different small letters in each column indicate the significant difference ($p< 0.05$).

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]

[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

نتایج آماری بررسی اثر عصاره و نانوعصاره هوفاریقون بر میزان *کاندیدا آلبیکنس* در نمونه‌های پنیر در جدول ٤ قابل مشاهده است. همان‌طور که در نتایج نشان داده شده است، بجز در روز تولید، که میان شمارش مخمر در نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($P\geq0.05$)، در سایر روزهای نگهداری، میزان *کاندیدا آلبیکنس* به‌طور معنی‌داری در نمونه حاوی نانوعصاره کمتر از نمونه حاوی عصاره؛ و شمارش این مخمر در نمونه حاوی عصاره از نمونه شاهد کمتر بدست آمد ($P<0.05$). شمارش *کاندیدا آلبیکنس* در نمونه شاهد و نمونه دارای نانوکپسول حاوی عصاره هوفاریقون در طی مدت زمان ماندگاری ۷ روزه، از روندی مشابه با شمارش دو باکتری گرم‌مثبت و گرم‌منفی مورد بررسی در این تحقیق پیروی نمود؛ به‌طوری که در مورد نمونه شاهد روندی صعودی و در خصوص نمونه پنیر حاوی نانوعصاره روندی نزولی مشاهده گردید؛ این در حالی است که میزان *کاندیدا آلبیکنس* در نمونه حاوی عصاره هوفاریقون روندی یکسان در طی زمان نداشت؛ به‌طوری که در روز اول ماندگاری در مقایسه با روز تولید میزان کمتری شمارش گردید ($P<0.05$). پس از آن تا روز ششم نگهداری، شمارش *کاندیدا آلبیکنس* سیر صعودی داشت ولی در روز هفتم این مقدار قدری کاهش یافت که البته به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین روز هفتم و روزهای پنجم و ششم نگهداری در شمارش مخمر *کاندیدا آلبیکنس* مشاهده نگردید ($P\geq0.05$).

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان گفت اثر عصاره و نانوعصاره هوفاریقون روی رشد باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، باکتری گرم‌منفی *اشریشیا کلی* و مخمر *کاندیدا آلبیکنس* مشابه بود؛ به‌طوری که در مورد هر سه میکروارگانیسم مذکور نانوکپسول حاوی عصاره توانست در حدود یک سیکل لگاریتمی از میزان میکروارگانیسم تلقیح شده بکاهد؛ درحالی که در خصوص عصاره هوفاریقون این اثر مشاهده نگردید. همچنین در مقایسه با نمونه شاهد، نمونه حاوی عصاره هوفاریقون اثر ضدمیکروبی بیشتری نشان داد، اما آنچنان محسوس نبود.

**Table 4** Investigation of *Candida Albicans* count (Log CFU/mL) in *Cheese* samples

| Maintenance Time | Control Sample | Samples containing Hydroalcoholic Nano extract of Hypericum Perforatum | Samples containing Hydroalcoholic extract of Hypericum Perforatum |
|---|---|---|---|
| After production | $3.54\pm0.03^{*Ad**}$ | $2.50\pm 0.07^{Ba}$ | $3.51\pm 0.05^{Ad}$ |
| Day 1 | $3.62\pm 0.04^{Ac}$ | $2.47\pm 0.09^{Ca}$ | $3.32\pm 0.02^{Be}$ |
| Day 2 | $3.75\pm 0.07^{Ab}$ | $2.39\pm 0.06^{Cab}$ | $3.50\pm 0.03^{Bd}$ |
| Day 3 | $3.80\pm 0.03^{Ab}$ | $2.34\pm 0.02^{Cb}$ | $3.65\pm 0.01^{Bc}$ |
| Day 4 | $3.83\pm 0.02^{Ab}$ | $2.27\pm 0.06^{Cbc}$ | $3.69\pm 0.03^{Bbc}$ |
| Day 5 | $3.86\pm 0.05^{Ab}$ | $2.2\pm 0.08^{Cc}$ | $3.72\pm 0.04^{Bab}$ |
| Day 6 | $3.97\pm 0.04^{Aa}$ | $2.1\pm 0.07^{Ccd}$ | $3.78\pm 0.05^{Bab}$ |
| Day 7 | $4.01\pm 0.01^{Aa}$ | $2.04\pm 0.05^{Cd}$ | $3.76\pm 0.02^{Ba}$ |

*mean ± Standard deviation (n=3)

**Different capital letters in each row indicate the significant difference ($p< 0.05$).

Different small letters in each column indicate the significant difference ($p< 0.05$).

هرچند تاکنون تحقیقی در زمینه بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه هوفاریقون در محصولات غذایی انجام نشده است؛ مطالعات پژوهشگران نشان می‌دهد گیاه *Hypericum Perforatum* که به عنوان St. John's worth نیز شناخته می‌شود، یکی از معدود گیاهان دارویی اقتصادی، غیرسمی و پرمصرف در جهان است. ترکیبات مختلفی با فعالیت‌های بیولوژیک اثبات شده از این گونه استخراج شده است که اثرات مختلف ضدمیکروبی، ضداکسایشی، ضدافسردگی و فعالیت ضدالتهابی را دارا می‌باشد [۳۵و۳٤].

گیاه *Hypericum Perforatum* در درمان اگزما، زخم پوستی و سوختگی مؤثر می‌باشد و ضد سرماخوردگی، گلودرد و اشتهاآور است و به عنوان ارتقاءدهنده سیستم ایمنی بدن و ضدسرطان شناخته شده است[۳٦].

در بررسی عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گیاه هوفاریقون نتایج بدست آمده نشان داد که ترکیبات اصلی عصاره شامل ٦

گروه اصلی *نفتودیانترون*[9]، *فلوروگلوسینول*[10]، *فلاونوئیدها*[11]، *بی فلاون‌ها*[12]، *فنیل پروپان‌ها*[13] و *پروآنتوسیانیدین‌ها*[14] بوده؛ علاوه بر این، عصاره حاصل حاوی مقادیر کمی از *تانن*[15]، *گزانتون*[16]، اسانس‌های روغنی و اسیدهای آمینه نیز می‌باشد [۳۸-۳۷].

در تحقیقی دیگر *هایپریسین*[17] و *هایپرفورین*[18] را به عنوان اصلی‌ترین ترکیبات شیمیایی عصاره گیاه هوفاریقون که در غلظت‌های بالا دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند، معرفی نمودند [۴۰و۳۹].

گروهی از محققان بیشترین فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی اندام‌های هوایی *Hypericum Perforatum*، در زمان گلدهی گیاه را در برابر باکتری‌های گرم مثبت *انتروکوکوس فکالیس*[19] و *استافیلوکوکوس اورئوس* و باکتری‌های گرم منفی *سالمونلا تیفی‌موریوم*[20]، *شیگلا دیسانتری*[21]، *اشریشیا کلی*، *یرسینیا اینتروکولیتیکا*[22] و *سودوموناس آئروژنز*[23] به روش تعیین قطر هاله عدم رشد بررسی نمودند. براساس نتایج بدست آمده بیشترین فعالیت ضدباکتریایی در برابر باکتری‌های گرم مثبت با قطر هاله عدم رشد در حدود ۲۶-۲۵ میلی متر حاصل شد؛ درحالی که عصاره گیاه، اثر ضدمیکروبی بسیار کمی بر روی باکتری‌های گرم منفی داشت [۴۱].

در تحقیقی عصاره هیدروالکلی اندام‌های هوایی گیاه *Hypericum Perforatum* استخراج گردید و عصاره حاصله توسط نانوذرات آلژینات‌کلسیم درون‌پوشانی شد و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC[24]) و حداقل غلظت کشندگی (MBC/MFC[25]) عصاره و نانوذرات حاوی عصاره گیاه هوفاریقون روی چهار گروه میکروارگانیسم *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*[26] مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج بدست آمده، میزان MIC و MBC عصاره در برابر *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*،*کاندیدا آلبیکنس* و *آسپژیلوس پارازیتیکوس* به ترتیب۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MIC و MBC نانو کپسول حاوی عصاره در برابر میکروارگانیسم‌های مذکور به ترتیب معادل ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵ و بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. مطابق نتایج حاصل، اثر ضدمیکروبی نانوکپسول حاوی عصاره بیشتر از عصاره با غلظت یکسان بود. بیشترین اثر ضدمیکروبی بر روی مخمر *کاندیدا آلبیکنس* مشاهده شد؛ درحالی که عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره در بالاترین غلظت، خاصیت ضدقارچی در برابر *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* نداشت [۴۲].

## ۴- نتیجه گیری

هدف از تحقیق حاضر استخراج عصاره هیدروالکلی از اندام های هوایی گیاه هوفاریقون و تولید نانو کپسول حاوی عصاره و بررسی اثر ضد میکروبی نانو کپسول حاوی عصاره بر ماندگاری پنیر در مدت زمان نگهداری بود. نتایج بدست آمده در خصوص تولید نانوکپسول حاوی عصاره هوفاریقون و نیز بررسی میکروسکوپی آن، تولید نانوذرات مناسب را تأیید نمود. همچنین نتایج آزمون‌های میکروبی روی نمونه‌های پنیر نشان داد که در مجموع می‌توان گفت اثر عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره هوفاریقون روی رشد باکتری گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، باکتری گرم‌منفی *اشریشیا کلی* و مخمر *کاندیداآلبیکنس* مشابه بوده؛ و در مورد هر سه میکروارگانیسم، در نمونه حاوی نانوکپسول عصاره، در حدود یک سیکل لگاریتمی میزان میکروارگانیسم‌های تلقیح شده کاهش یافت.

با توجه به اینکه تاکنون تحقیقاتی در خصوص اثر ضدمیکروبی عصاره و نانوعصاره گیاه هوفاریقون بر افزایش ماندگاری پنیر سفید و یا سایر محصولات غذایی انجام نشده است، بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق، می‌توان گفت تبدیل عصاره به

9. Naphthodianthrones
10. Phloroglucinols
11. Flavonoids
12 Biflavones
13. Phenylprpanes
14. Proanthocyanidins
15. Tanins
16. Xanthones
17. Hypericin
18. Hyperforin
19. Enterococus faecalis
20. Salmonella typhi
21. Shigella dysenteriae
22. Yersinia enterocolitica
23. Pseudomonas aeroginosa
24. Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
25. Minimum Bactericidal Concentration/ Minimum fungicidal Concentration (MBC/MFC)
26. Aspergillus parasiticus



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

شکل نانوکپسول‌های حاوی آن، اثربخشی این ترکیبات را افزایش داده؛ به ویژه در طی مدت زمان نگهداری با رهایش تدریجی، قادر است در افزایش ماندگاری محصولات غذایی مفید واقع شود.

## ۵- منابع


[1] Khakpour S, Akhlaghdoust M, Naimi S, Mohammad S, Mirlohi J ,Abedian M, et al. 2013.Effect of Biebersteinia Multifida DC. Root Extract on Cholesterol in Mice. Zahedan J Res Med Sci.,15(11):49-51.

[2] Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a Review, International Journal of Food Microbiology, 94(3):223-253.

[3] Akbarmehr J. 2003. Survery on the Contamination of Fresh White Cheese Produced in Sarab and Rural Area with Brucella Spp. J Fac Vel Med Univ Tehran, 58(3):203-206.

[4] Perumalla A, Hettiarachchy NS. 2011. Green tea and grape seed extracts -Potential applications in food safety and quality. Int. Food Res. J., 44: 827-839.

[5] Silvan M, Mingo E, Hidalgo M, Pascual-Teresa S, Carrascosa AV, Martinez-Rodriguez AJ,2013. Antibacterial activity of a grape seed extract and its fractions against Campylobacter spp. Food Control. 29: 25-31.

[6] Naghdi Badi H, Amin G, Makkizadeh M, Ziai S. 2005. St. John's wort (Hypericum perforatum L.): A Review. J. Med. Plants, 4 (16) :1-14.

[7] Mortensen T, Shen S, Shen F, Walsh MK, Sims RC, Miller CD,2012.Investigating the effectiveness of St John's wort herb as an antimicrobial agent against mycobacteria. Phytother Res. 26(9): 1327-1333.

[8] Hübner AT.2003. Treatment with Hypericum perforatum L. does not trigger decreased resistance in Staphylococcus aureus against antibiotics and hyperforin. . Phytomedicine. 10(2-3):206-208.

[9] Rahnemoon, P., Sarabi-Jamab, M., Bostan, A., Mansouri, E. 2021 Nano-encapsulation of pomegranate (Punica granatum L.) peel extract and evaluation of its antimicrobial properties on coated chicken meat. Food Bioscience. 43: 101331.

[10] Sarabi Jamab M, Kaveh M, Modarres M, Bostan A, 2020. Production of Nanocapsules Using Salvia Leriifolia Leaf Extract and Assessing Effects of the Extract and Nanocapsules Containing the Extract on Microbial Properties in Sausages during the Shelf Life. Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology. 15 (2):121-130.

[11] Rashidaie Abandansarie, S.S., Ariaii, P. Charmchian Langerodi, M. 2019. Effect of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meet during refrigerated storage. Food Science and Nutrition, (12):3969-3978.

[12] AOAC. 1990. Official method of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. (No. 934.06).

[13] Aliakbarian B, Fathi A, Perego P, Dehghani F, 2012. Extraction of antioxidant from winery wastes using subcritical water. J Supercrit Fluids. 65:18-24.

[14] Marino C, Rivas-Gonzalo C, Ibanez E, Moreno C, 2006. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction. Analytica Chimica Acta. 563: 44-50.

[15] Yoksan R,2010. Jirawutthiwongchai J, Arpo K. Ionic gelation processes. Colloids Surf. B. 76(1): 292-297.

[16] Bhowmik BB, Sa B, Mukherjee A, 2006. Preparation and in vitro characterization of slow release testosterone Nano capsules in alginates. ACTA Pharmaceutical. 56: 417–429.

[17] Paques JP, Van-Der-Linden E, Van-Rijn CGM, Sagis LMC,2012.Alginate submicron beads prepared through w/o emulsification and gelation with CaCl2 nanoparticles. Food Hydrocoll. 40: 182-188.

[18] Saikia S, Mahnot NK, Mahanta CH, 2015. Optimization of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. Food Chem. 171:144- 152.

[19] Singleton V, Orthofer R, Raventos R, 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymology. 299: 152-178.

[20] Garrity G.M. Bell J.A., Lilburn T.G., 2012. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition. Springer, New York.

[21] Farsam H, Amanlou M, Reza Dehpour A, Jahaniani F, 2000. Anti-inflammatory and




[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]

[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]

[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]

extract of Pyllanthus amarus Scham & Thonn ameliorates ccl4 induced hepatotoxicity in Wistar rats. Indian J. Exp. Biol. 50: 785-794.

[32] Natrajan D, Srinivasan, Sunder K, Ravindran A, 2015. Formilation of essential oil-loaded chitosan-alginate nanocapsoules. J Food Drug Anal. 23:560-568.

[33] Fakoor M, Rajabzadeh Gh, Taghvaei Ganjali S,2015. Encapsulation of allicin into biodegradeable polymeric nanoparticales and characterization of nanocapsules, Journal of applied Research in Chemistry, (1) 51-57.

[34] Maruzzella GC, Sicurella NA, 1960. Antibacterial activity of essential oil vapors, Journal of Pharmaceutical Science. 4(49): 692–694.

[35] Güneş S. and Tıhmınlıoğlu F, 2017. Hypericum perforatum incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. International Journal of Biological Macromolecules, 102:933–43.

[36] Bongiorno P, 2010. Hypericum for Depression. Natural Medicine Journal. 2(12):1-9.

[37] Bruni R, Sacchetti G,2009. Factors affecting polyphenol biosynthesis in wild and field grown St. John's Wort (Hypericum perforatum L. Hypericaceae/Guttiferae). Molecules. 14:682-725.

[38] Nahrstedt, A., Butterweck, V, 1997. Biologically active and other chemical constituents of the herb of Hypericum perforatum L. Pharmacopsychiatry, 30:129–134.

[39] Erdogrul O, Azirak S, Tosyali C, 2004. Antimicrobial activities of Hypericum scabrum extracts, KSU. J. Sci. Eng. 7(2):2-6.

[40] Reichling, J., Weseler, A., Saller, R, 2001. A current review of the antimicrobial activity of Hypericum Perforatum L. Pharmacopsychiatry, 34:S116–S118.

[41] Mazandarani, M., Yassaghi, S., Rezaei, M.B., Mansourian, A.R., Ghaemi, E.O, 2007. Ethnobotany and antibacterial activities of two endemic species of Hypericum in North-East of Iran. Asian Journal of Plant Sciences, 6:354–358.

[42] Tabrizie S, Mahdian E, Mohammadi Sani A,Sarabi-Jamab M,Oroojalian, 2020. Investigation of Antimicrobial properties of the Extract and Nano-extract of Arial organ of Hypericum Perforatum, International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research,10(4):199-203.

analgesic activity of Biebersteinia multifida DC. Root extract. J Ethnopharmacol. 71(3):443-447.

[22] Moosavy MH, Basti AA, Misaghi A, Karim G, Zahraei Salehi T, Mostafavi E, 2009. Effect of Nisin on the rowth of Staphylococcus aureus in Commercial Barley Soup. Pharmac Sci. 15(3):235-240.

[23] Raeisi M, Tajik H, Razavi R, Maham M, Moradi M, Hajimohammadi B, et al, 2012. Essential oil of tarragon (Artemisia dracunculus) antibacterial activity on Staphylococcus aureus and Escherichia coli in culture media and Iranian white cheese. Iran J Microbial. 4(1):30-34.

[24] Hassanien MF, Mahgoub SA, El-Zahar KM, 2014. Soft cheese supplemented with black cumin oil:Impact on food borne pathogens and quality during storage. Saudi J Biol Sci. 21(3):280-288.

[25] Mohammadi A, Jafari SM, Esfanjani AF, Akhavan S, 2016. Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. Food Chemistry. 19: 513-519.

[26] Najafi-Soulari S, Shekarchizadeh H, Kadivar M, 2016. Encapsulation optimization of lemon balm antioxidants in calcium alginate hydrogels. Journal of Biomaterials Science Polymer Edition. 27(16): 1631-1644.

[27] Stojanovic R, Belscak-Cvitanovic A, Manojlovic V, Komes D, Nedovic V, Bugarski B,2012. Encapsulation of thyme (Thymus serpyllum L.) aqueous extract in calcium alginate beads. Journal of the Science of Food and Agriculture. 92(3): 685-696.

[28] Palombo EA, Semple SJ, 2001. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 77(2-3):151-157.

[29] Daemi H, Barikani M, Bremer M, 2012. The effect of calcium and lginate ions on the properties of calcium alginate nanoparticles. JPST. 1:25-32.

[30] Khoshmanzar M, Ghanbarzadeh M, Hamishehkar H, Soti-Khiabani M, Rezaei Makaram R, 2012. Investigating Factors Affecting Particle Size, Zeta Potential and Permanent Rheological Properties in a Colloidal System Containing Sodium Capacaragin-Casetinate Nanoparticles. JRIFST. 4:272-255.

[31] Deepa V, Sridhar R, Goparaju A, Reddy P, Murthy P, 2012. Nanoemulsified ethanolic

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

# Investigation of Antimicrobial Properties of Extract and Nano-extract of Arial Organ of *Hypericum Perforatum*

**Tabrizi, S. [1], Mahdian, E. [2]*, Mohammadi Sani, A. [3], Sarabi-Jamab, M. [4], Oroojalian, F. [5]**

1. PhD Student and MSc Graduate Student, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.
4. Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.
5. Department of Advanced Sciences and Technologies, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnourd, Iran.

**ABSTRACT**

In this study, the extract of *Hypericum Perforatum* aerial organs was prepared by hydro alcoholic solvent and the extract was coated in calcium alginate nanoparticles and the antimicrobial properties of the extract and nanoparticles on four gram-positive, gram-negative yeast and mold groups were investigated and Nanocapsules containing extract were evaluated on the shelf life of white cheese. To prepare Nano-extracts, the emulsion production method of alginate-calcium Nanocapsules containing the extract was used. The production of Nanocapsules containing the extract was done by adding calcium chloride nanoparticles to the alginate Nanoemulsion containing the extract in a ratio of 1 to 6 for 4 hours. To prepare the cheese, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans* yeast are inoculated separately into the milk at a rate of 103 CFU / ml and then added calcium chloride, Rennet enzyme, extract and Nanocapsules containing extract to milk were done and the microbial properties of the cheese samples were evaluated on the day of production and up to seven days after. The results of particle size determination, particle size dispersion index, and potential and efficiency of encapsulation for the production of Nanocapsules containing Hypericum Perforatum extract and its microscopic examination confirmed the production of nanoparticles with appropriate efficiency of encapsulation. Also, the results showed that for all three microorganisms tested, the sample containing Nano-extract was able to reduce about one logarithmic cycle of the inoculated microorganism and during the shelf life of gram-positive, gram-negative and yeast had a downward trend ($P < 0.05$). The results of the present study showed that using plant extracts containing antimicrobial compounds such as extracts of aerial organs of Hypericum Perforatum plant, especially in Nanoparticle and in appropriate quantities, as an alternative to synthetic preservatives, produce a healthy food product and with longer shelf life, it will be possible.

**ARTICLE INFO**

**Article History:**

Received 2022/ 01/ 18
Accepted 2022/ 07/21

**Keywords:**

Hypericum Perforatum,
Nano capsules,
Antimicrobial activity,
White Cheese.

DOI: **10.22034/FSCT.19.128.259**
DOR: **20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5**

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

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-26 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.10.5 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.128.259 ]