



مقایسه پایداری فرم نانولیپوزومی اسانس های پوست بالنگ به دست آمده از روش های مختلف استخراج در طول دوره نگهداری در دمای ۴ و ۱۸- درجه سانتی گراد

فروغ گیلانی^۱، زینب رفتنی امیری^{۲*}، رضا اسماعیل زاده کناری^۲، نادر غفاری خلیق^۳

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۳- دانشیار مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی و کاتالیست، انستیتوی مطالعات پیشرفته، دانشگاه مالایا، کوالالمپور، مالزی

چکیده

اطلاعات مقاله

یکی از روش های مهم برای حفظ پایداری و خصوصیات عملکردی اسانس های گیاهی به عنوان یک منبع مفید ترکیبات زیست فعال در مقابل آسیب های محیطی، درون پوشانی آن ها در سیستم های نانوحامل مانند نانولیپوزوم است. در این مطالعه نانولیپوزوم حاوی اسانس پوست بالنگ بدون استفاده از حلال آلی سمی و با به کار بردن ترکیبات سلامتی بخش مانند روغن کنجد علاوه بر لسیتین برای اولین بار در فرمولاسیون تهیه شدند. میزان پایداری نمونه ها در طول ۳۰ روز نگهداری در دماهای ۴°C و ۱۸°C-، با بررسی مقدار ماندگاری ترکیبات فنولی، تغییرات pH، عملکرد آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی تعیین گردید. نمونه های نانولیپوزومی اسانس های تقطیر با آب و کربن دی اکسید فوق بحرانی پوست بالنگ تهیه شده با غلظت های مختلف لسیتین- روغن دارای مقدار متفاوت pH و درصد ماندگاری فنول بودند و میزان آن ها با افزایش مدت زمان نگهداری در هر دو دمای آزمون کاهش یافت. توانایی مهارکنندگی DPPH و فعالیت ضد میکروبی هر دو نوع اسانس پوست بالنگ بعد از درون پوشانی در نانولیپوزوم بهبود یافت. اما مقدار آن ها در هر دو دمای نگهداری با گذشت زمان کاهش یافت. نانولیپوزوم اسانس سیال فوق بحرانی پوست بالنگ به ترتیب با فرمولاسیون حاوی بالاترین و پایین ترین مقدار لسیتین- روغن در دمای نگهداری ۴°C، بهترین نتیجه را در این مطالعه نشان دادند. بنابراین اسانس پوست بالنگ می تواند با درون پوشانی در سیستم نانولیپوزوم تهیه شده از لسیتین- روغن کنجد به دلیل بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی و پایداری بالاتر آن در مقابل دمای نگهداری، به عنوان افزودنی عملگرایی طبیعی موثر در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱

کلمات کلیدی:

اسانس پوست بالنگ، فرمولاسیون نانولیپوزوم، فعالیت آنتی اکسیدانی، عملکرد ضد میکروبی، دمای نگهداری.

DOI: 10.22034/FSCT.20.142. 182
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.142.12.2

*مسئول مکاتبات:

zramiri@gmail.com,
z.raftani@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

بالنگ با نام علمی *Citrus medica L.*، گونه ای از مرکبات و متعلق به خانواده Rutaceae است که به عنوان یکی از منابع تولید اسانس شناخته شده است. اسانس این میوه، یک روغن شناخته شده با عطر و بوی مطبوع است که از بخش اپی کارپ (لایه خارجی) و پوست آن به دست می آید [۱] و [۲]. در طب سنتی به عنوان داروی گیاهی برای درمان بیماری ها مورد استفاده قرار می گیرد [۳ و ۴]. در مطالعات قبلی انجام گرفته گزارش شد که اسانس پوست بالنگ یک منبع غنی از ترکیبات بیواکتیو مانند فنول است و فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجهی دارد [۱ و ۴ و ۵]. داشتن خصوصیات عملکردی مطلوب و مقدار بالای ترکیبات سلامتی بخش موجب توجه به استفاده از این اسانس در صنایع غذایی و دارویی شده است [۱ و ۶ و ۷]. اما استفاده از این ترکیبات ارزشمند به صورت آزاد، به دلیل حساسیت به شرایط محیطی مانند دما و اکسیژن در طی نگهداری و فرآوری، فراریت بالا، حلالیت کم در آب و برهمکنش با اجزای ماتریس غذایی با محدودیت هایی همراه است [۸ و ۹]. در مطالعه ی رفیعی و همکاران (۲۰۱۷) و دهقان و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد که ترکیبات فنولی موجود در عصاره ها و اسانس های گیاهی به دلیل وجود پیوندهای غیراشباع در ساختار آن ها، نسبت به شرایط محیطی آسیب پذیر هستند و ممکن است در طی فرآوری و نگهداری مواد غذایی در معرض تجزیه شدن قرار گیرند [۱۰ و ۱۱]. از این رو استفاده از روش های مناسب و کارآمد مانند انکپسولاسیون می تواند از تخریب این ترکیبات ارزشمند در مقابل عوامل محیطی محافظت کند، رهایش کنترل شده آن ها را به همراه داشته باشد و بدین ترتیب موجب افزایش خصوصیات عملکردی آن ها مانند فعالیت آنتی اکسیدانی گردد [۱۱]. درون پوشانی ترکیبات طبیعی مانند اسانس های گیاهی در سیستم های

نانوحامل مانند نانولیپوزوم یکی از این روش های موثر است که پایداری و دسترسی زیستی آن ها را بهبود می دهد [۱۲]. لیپوزوم ها، وزیکول های کروی متشکل از دولایه فسفولیپیدی هستند که ساختار آن ها شبیه به غشای سلولی است [۱۳]. علی رغم مزیت های نانولیپوزوم ها، پایداری این سیستم های نانوحامل ممکن است به دلیل تخریب فسفولیپیدها در ساختار غشای آن ها تحت تاثیر تنش های محیطی در طی نگهداری کاهش یابد و به این ترتیب بر عملکرد و پایداری ترکیبات بیواکتیو انکپسوله شده اثر بگذارد. دمای نگهداری یکی از عوامل موثر بر پایداری نانولیپوزوم ها است. این امر می تواند کاربرد نانولیپوزوم ها را در صنایع غذایی و دارویی محدود کند. از این رو بررسی پایداری آن ها در مطالعات مورد توجه محققین قرار گرفته است [۱۴-۱۷]. عواملی مانند ترکیب لیپیدی غشای نانوزیکول و افزودن اجزایی مانند استرول ها در فرمولاسیون آن ها می تواند میزان پایداری نانولیپوزوم و رهایش و عملکرد ماده درون پوشانی شده را در طی نگهداری در دماهای مختلف تحت تاثیر قرار دهد [۱۴ و ۱۵]. اغلب مولکول های لیپیدی در ساختار نانولیپوزوم را لسیتین تشکیل می دهند که حاوی انواع مختلفی از فسفولیپیدها با منشا طبیعی است و به علت دسترسی و ایمنی بالا و داشتن اثرات سلامتی بخش و خصوصیات آنتی اکسیدانی به عنوان ماده ای سودمند برای تولید نانولیپوزوم در صنایع غذایی در نظر گرفته می شود [۱۰ و ۱۸ و ۱۹]. کلسترول، پرکاربردترین استرول مورد استفاده در ترکیب لیپیدی غشا برای افزایش استحکام نانولیپوزوم و کاهش نفوذ پذیری آن بوده است. اما در سال های اخیر استفاده از فیتواسترول ها به دلیل ویژگی های مطلوب تغذیه ای و اثرات مفیدتر برای سلامتی، به عنوان یک ترکیب بالقوه جایگزین برای کلسترول در نظر گرفته شده است [۱۴ و ۱۵ و ۱۸ و ۲۰]. از این رو در این مطالعه از روغن کنجد که یک منبع غنی از فیتواسترول، حاوی سطح بالایی از اسید

با آب به وسیله دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام شد. در روش سیال فوق بحرانی، استخراج اسانس در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و فشار ۱۰۰ بار توسط دستگاه کربن دی اکسید فوق بحرانی (Suprex MPS/225 Multipurpose system) به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت [۵].

۲-۳- تهیه نانولیپوزوم های حامل اسانس های پوست بالنگ

نانولیپوزوم های هر دو نوع اسانس پوست بالنگ بر اساس روش حرارتی و بدون استفاده از حلال آلی تولید شدند. ابتدا غلظت های مختلف از لسیتین- روغن کنجد (۶۰:۴۰، ۵۰:۵۰ و ۴۰:۶۰ درصد وزنی- وزنی) تهیه شدند و سپس به منظور حل شدن این ترکیبات، از یک هات پلیت مگنت دار در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۶۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. در مرحله بعد ۰/۴ گرم اسانس پوست بالنگ قطره قطره به ترکیب لسیتین- روغن در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد با دور ۱۰۰۰ rpm روی هات پلیت اضافه شد. سپس این مخلوط با اضافه شدن فاز آبی حاوی ۱/۱ گرم گلیسرول، هیدراته گردید و به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه روی هات پلیت هم زده شد تا ترکیب کاملاً صاف و یکنواختی به دست آمد. در مرحله بعد نمونه با استفاده از همگن ساز اولتراتوراکس در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به ترتیب در دو مرحله، ابتدا با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه (۵ دقیقه روشن و ۵ دقیقه خاموش) و سپس با سرعت ۱۸۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه (۱ دقیقه روشن و ۱ دقیقه خاموش) هموژن شد. سپس دیسپرسیون لیپوزومی با استفاده از دستگاه مولد فراصوت نوع پروپ (مدل-KS-250F، ساخت کشور چین) با شدت ۸۰٪ و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، به مدت ۷ دقیقه

های چرب غیراشباع لینولئیک اسید و دارای مواد آنتی اکسیدانی سزامولین و توکوفرول است به عنوان یک جزء لیپیدی همراه با لسیتین در تهیه نانولیپوزوم ها مورد استفاده قرار گرفت [۲۱ و ۲۲]. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی پایداری خصوصیات عملکردی اسانس های تقطیر با آب و سیال فوق بحرانی پوست بالنگ بارگذاری شده در سیستم نانولیپوزوم تهیه شده با ترکیب لسیتین- روغن کنجد در طی نگهداری در دمای ۴ و ۱۸- درجه سانتی گراد است. مطالعه حاضر، اولین گزارش در مورد مقایسه خصوصیات عملکردی اسانس نمونه گیاهی حاصل از روش های مختلف استخراج در فرم نانولیپوزومی با فرمولاسیون مذکور در شرایط نگهداری یخچال و فریزر است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد اولیه

لسیتین مایع سویا با درجه خوراکی از شرکت آمیتکس (هند)، روغن کنجد از شرکت لادن (ایران)، گلیسرول، کیسه دیالیز با وزن مولکولی ۱۲-۱۴ کیلو دالتون، DPPH، فری سیانید پتاسیم، بافر فسفات سدیم و فریک کلراید از شرکت سیگما آلد ریچ (آمریکا) خریداری شدند. معرف فولین سیوکالتیو، تری کلرو استیک اسید و محیط کشت مولر هیتون آگار ساخت شرکت مرک (آلمان) مورد استفاده قرار گرفت. سویه های باکتریایی شامل استافیلوکوکوس اورئوس ATCC25923، اشرشیاکلی ATCC25922 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC27883 از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند.

۲-۲- استخراج اسانس پوست بالنگ با استفاده از روش های مختلف تقطیر با آب و سیال فوق بحرانی

میوه بالنگ از بازار محلی شهرستان آمل به صورت تازه تهیه گردید و پوست آن بعد از جداسازی برای تهیه اسانس، خشک و پودر شد. سپس استخراج اسانس با روش تقطیر

جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به دست آمد. در ادامه بعد از محاسبه مقدار فنول به دام افتاده، درصد ماندگاری فنول طبق فرمول زیر تعیین شد [۱۸ و ۲۷ و ۲۸].

درصد ماندگاری فنول

$$= \frac{\text{مقدار فنول به دام افتاده در نمونه در زمان } t}{\text{مقدار اولیه فنول به دام افتاده در نمونه}} \times 100$$

۲-۶-۲- اندازه گیری pH

در این آزمون، pH نمونه ها توسط دستگاه pH متر پس از کالیبره کردن دستگاه با بافرهای استاندارد ۴ و ۷ اندازه گیری شد [۱۸].

۲-۶-۳- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH

در این روش ۰/۵ میلی لیتر از نمونه های آزاد و بارگذاری شده اسانس پوست بالنگ با ۲/۵ میلی لیتر محلول ۶۰ میکرومولار DPPH در متانول ترکیب شد. سپس این مخلوط به مدت ۱ ساعت در مکان تاریک نگهداری گردید و جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نهایت درصد مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید [۲۶ و ۵].

درصد مهار کنندگی رادیکال های آزاد DPPH

$$= \frac{\text{جذب نمونه - جذب DPPH}}{\text{جذب DPPH}} \times 100$$

۲-۶-۴- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی

در این آزمون ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی ($10^8 \times 1/5$) روی محیط کشت مولر هیتون آگار ریخته شد و با استفاده از یک سوآب استریل در تمام نقاط آن پخش گردید. سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه روی

(۱ ثانیه روشن و ۱ ثانیه خاموش) تحت سونیکاسیون قرار گرفت [۱۸ و ۲۳ و ۲۴].

۲-۴- تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانولیپوزوم ها

برای ارزیابی اندازه ذرات و پتانسیل زتا، ابتدا نمونه های نانولیپوزوم با نسبت ۱:۱۰۰ با آب مقطر رقیق شدند و سپس اندازه گیری با استفاده از دستگاه زتا سائزر (شرکت Malvern، انگلستان) در دمای ۲۵ °C به کمک روش تفرق نور پویا انجام گرفت [۱۸].

۲-۵- نگهداری نمونه های نانولیپوزوم در دمای یخچال (۴°C) و فریزر (-۱۸°C)

۲ میلی لیتر از هر نمونه به داخل میکروتیوب منتقل و به مدت ۳۰ روز در دو دمای یخچال (۴°C) و فریزر (-۱۸°C) بدون استفاده از محافظ سرمایی نگهداری شدند. نمونه ها برای انجام آزمون های پایداری که در ادامه به تفصیل شرح داده شد هر ۱۵ روز یک بار مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات نمونه های نگهداری شده در دمای فریزر بعد از انجماد زدایی آن ها در دمای محیط و ورتکس کردن انجام گرفت [۲۶ و ۲۵].

۲-۶-۲- ارزیابی پایداری نانولیپوزوم ها در طی مدت نگهداری

۲-۶-۱- تعیین درصد ماندگاری فنول

مقدار فنول به دام افتاده به صورت یک اختلاف بین میزان کل فنول اسانس اضافه شده به سیستم نانولیپوزوم و مقدار فنول اسانس آزاد تعیین شد. برای اندازه گیری مقدار فنول آزاد، ابتدا اسانس آزاد (اسانس درون پوشانی نشده) با استفاده از فیلتر آمیکون (وزن مولکولی، ۱۰۰ KDa) و سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه از نانوزیکول جداسازی گردید. سپس مقدار فنول آزاد با استفاده از روش رنگ سنجی فولین سیوکالتیو و قرائت

منفی گروه های سر قطبی (مانند فسفات) در دو لایه لسیترین است [۳۰]. بنابراین در مطالعه ی ما، افزایش پتانسیل زتا با افزایش مقدار لسیترین در فرمولاسیون نیز ممکن است به همین علت باشد. تفاوت اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانولیپوزوم های حاوی اسانس سیال فوق بحرانی پوست بالنگ در مقایسه با نمونه های تقطیر با آب می تواند به دلیل تفاوت در مقدار ترکیبات فنولی موجود در دو نوع اسانس باشد [۵]. در مطالعه ی رفیعی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شد که مقدار ترکیبات فنولی، اندازه ذرات نانولیپوزوم را تحت تاثیر قرار داد که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۱۰]. این محققان بیان کردند که احتمالاً بر هم کنش بین ترکیبات فنولی با زنجیره های آسیل دو لایه لیپیدی لیپوزوم موجب کاهش اندازه لیپوزوم شده است. در مطالعه رضایی ارمی و همکاران (۲۰۱۹) و ثواقبی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شد که غلظت ترکیبات فنولی و بر هم کنش آن ها با غشای لیپیدی لیپوزوم می تواند موجب تغییر مقدار پتانسیل زتا شود [۳۱ و ۳۲]. در تحقیقات قبلی انجام گرفته بیان شد که وجود گروه کربوکسیل با بار منفی در ساختار ترکیبات فنولی می تواند بر روی مقدار پتانسیل زتا تاثیر بگذارد [۱۰ و ۳۱]. علاوه بر این، گروه هیدروکسیل ترکیبات فنولی می تواند با تشکیل پیوند هیدروژنی با گروه کولین (با بار مثبت) در ساختار غشای لیپیدی، موجب کشیده شدن گروه کولین به قسمت های داخلی غشا و افزایش گروه های فسفات (با بار منفی) در سطح غشا شود [۱۰ و ۳۱].

دیسک های کاغذی بلانک استریل (قطر ۶/۴ میلی متر) ریخته و دیسک ها با فاصله ی مناسب از یکدیگر روی محیط کشت حاوی باکتری قرار گرفتند. پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد، قطر هاله عدم رشد با استفاده از خط کش اندازه گیری و میانگین مربوطه گزارش شد [۵ و ۲۹].

۲-۷ تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 و توسط طرح کاملاً تصادفی و جدول آنالیز واریانس (ANOVA) انجام گرفت. آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین ها در سطح ۵ درصد استفاده شد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 12.0 انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانولیپوزوم ها

مقدار اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانولیپوزوم های تهیه شده با غلظت های مختلف لسیترین- روغن کنجد حاوی اسانس های تقطیر با آب و سیال فوق بحرانی پوست بالنگ در شکل ۱ (به ترتیب A و B) نشان داده شده است. نتایج اندازه ذرات و پتانسیل زتا نمونه ها به ترتیب در محدوده بین ۲۵۲ تا ۳۱۱ نانومتر و ۴۲/۵- تا ۵۵/۹- میلی ولت بود. پایین ترین میزان اندازه ذرات و بیشترین مقدار پتانسیل زتا برای نانولیپوزوم اسانس سیال فوق بحرانی با فرمولاسیون حاوی بالاترین مقدار لسیترین و پایین ترین میزان روغن به دست آمد. مقدار اندازه ذرات نانولیپوزوم ها با افزایش غلظت لسیترین، کاهش یافت که با نتیجه گرجیان و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد. این محققان علت آن را به کاهش مقاومت غشای نانولیپوزوم به نیروی برشی و شکسته شدن ذرات تحت اثر سونیکاسیون با افزایش غلظت لسیترین نسبت دادند [۱۸]. در مطالعه خطیب و همکاران (۲۰۱۹) گزارش شد که مقدار منفی پتانسیل زتا نانولیپوزوم ها به دلیل بار

بود. مناسب تر بودن دمای 4°C برای نگهداری نمونه ها و محافظت بیشتر ترکیبات فنولیک ممکن است به دلیل پایداری بیشتر نانولیپوزوم ها در اثر تخریب کمتر اجزای غشای دو لایه و عدم تجمع ذرات نانولیپوزوم در این دما نسبت به شرایط فریزر باشد [۳۳]. کاهش محتوای ترکیبات فنولی نمونه های انکپسوله شده در طول ۳۰ روز نگهداری در دماهای مورد آزمون با نتایج به دست آمده از مطالعه ی بارتو و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت دارد [۳۴]. نمونه نانولیپوزوم حاوی اسانس سیال فوق بحرانی با فرمولاسیون دارای بیشترین مقدار لسیتین و پایین ترین میزان روغن، بهترین نتیجه را نشان داد و بین نمونه های مورد آزمون، اختلاف آماری معنادار وجود داشت. بدین ترتیب فرمولاسیون مذکور، یک ترکیب ایده آل برای ماده دیواره نانولیپوزوم بود که در پایداری آن و حفظ بیشتر ترکیبات فنولیک نقش موثرتری داشت.

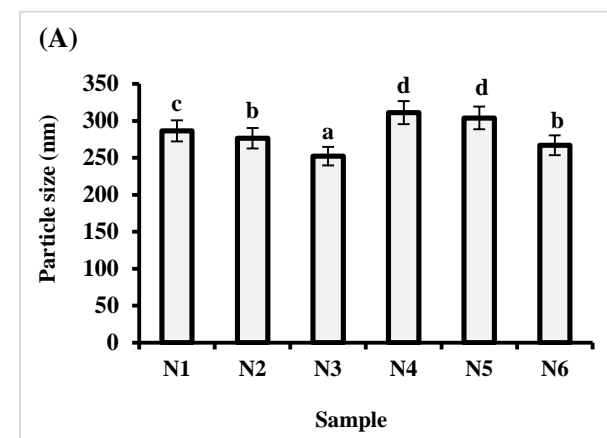
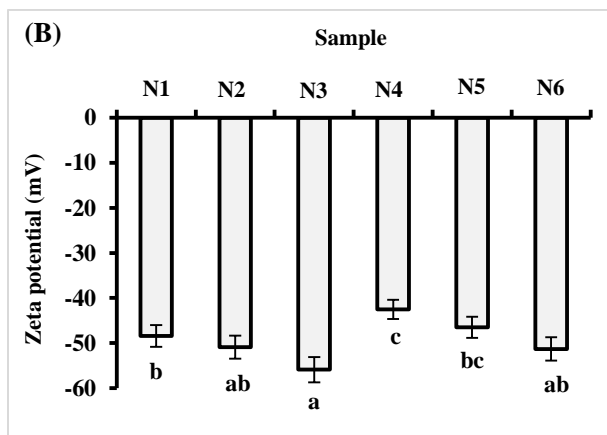
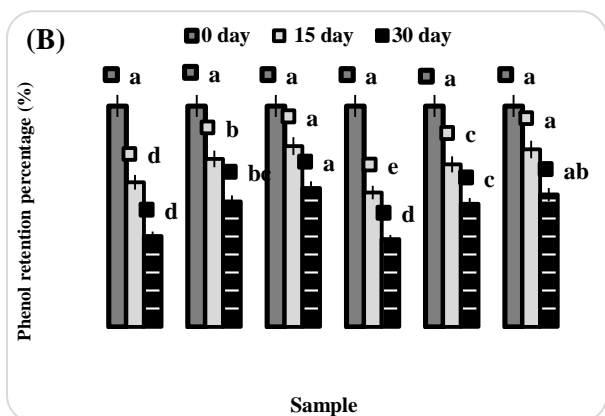
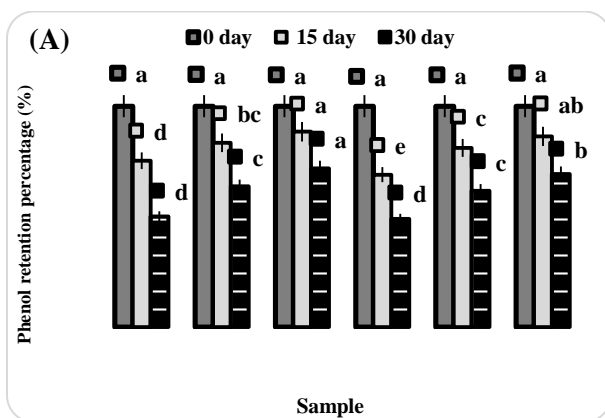


Figure 1. Particle size (A) and zeta potential (B) of nanoliposome samples containing essential oils of supercritical fluid (N1, N2 and N3) and hydrodistillation (N4, N5 and N6) of citron peel. Nanoliposomes formulation (W/W %): N1 and N4 (lecithin 40: oil 60), N2 and N5 (lecithin 50: oil 50) and N3 and N6 (lecithin 60: oil 40). Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

۳-۲- درصد ماندگاری فنول

درصد ماندگاری فنول در نمونه های نانولیپوزوم حاوی اسانس تقطیر با آب و اسانس سیال فوق بحرانی پوست بالنگ در طی نگهداری در دماهای ۴ و -18°C درجه سانتی گراد در شکل ۲ (به ترتیب A و B) نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده، درصد ماندگاری فنول در همه نمونه ها با گذشت زمان در هر دو دما کاهش یافت و مقدار این کاهش، در طی نگهداری نمونه ها در دمای فریزر، بیشتر

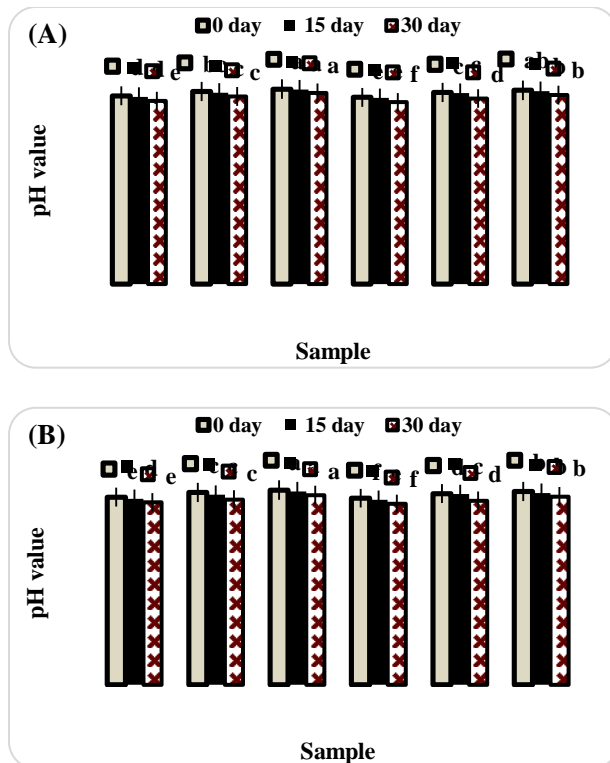


Figure 3. pH value of nanoliposome samples containing essential oils of supercritical fluid (N1, N2 and N3) and hydrodistillation (N4, N5 and N6) of citron peel during storage at 4 °C (A) and -18 °C (B). Nanoliposomes formulation (W/W %): N1 and N4 (lecithin 40: oil 60), N2 and N5 (lecithin 50: oil 50) and N3 and N6 (lecithin 60: oil 40). Different letters between test samples on the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$).

۳-۴- توانایی مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس های تقطیر با آب و سیال فوق بحرانی پوست بالنگ در فرم آزاد و درون پوشانی شده در سیستم نانولیپوزوم در طی مدت نگهداری در دماهای ۴ و ۱۸- درجه سانتی گراد در شکل ۴ (به ترتیب A و B) نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده، توانایی مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نمونه ها با گذشت زمان در هر دو دما کاهش یافت و مقدار این کاهش، برای نمونه های نگهداری شده در دمای فریزر، بیشتر بود. فعالیت آنتی اکسیدانی پایین تر نمونه ها در دمای ۱۸- نسبت به ۴ °C در طول نگهداری می تواند به کاهش بیشتر در ماندگاری و

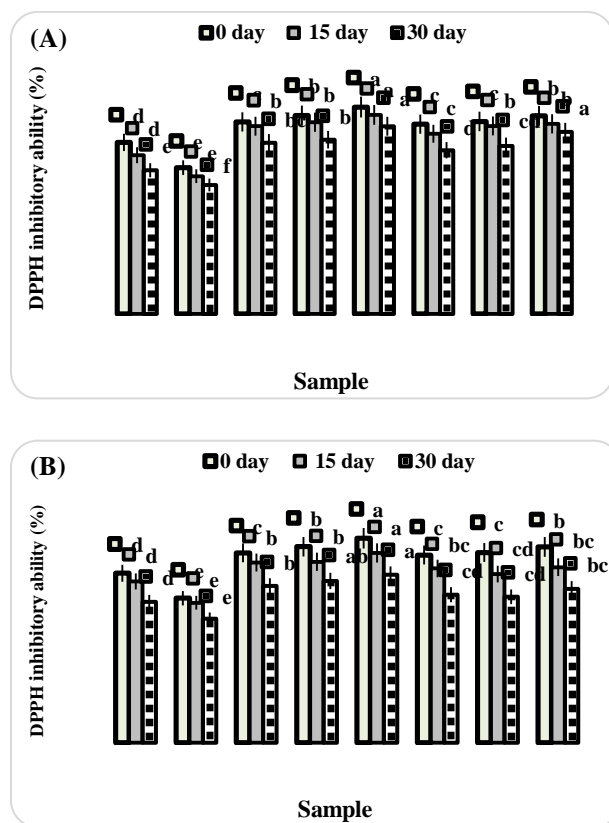
Figure 2. Comparison of the phenol retention percentage in nanoliposome samples containing essential oils of supercritical fluid (N1, N2 and N3) and hydrodistillation (N4, N5 and N6) of citron peel during storage at 4 °C (A) and -18 °C (B).

Nanoliposomes formulation (W/W %): N1 and N4 (lecithin 40: oil 60), N2 and N5 (lecithin 50: oil 50) and N3 and N6 (lecithin 60: oil 40). Different letters between test samples on the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$).

۳-۳- میزان pH

مقدار pH نمونه های نانولیپوزوم حاوی اسانس تقطیر با آب و اسانس سیال فوق بحرانی پوست بالنگ در طی نگهداری در دماهای ۴ و ۱۸- درجه سانتی گراد در شکل ۳ (به ترتیب A و B) نشان داده شده است. نانولیپوزوم های تهیه شده با غلظت های مختلف لسیتین- روغن دارای مقدار pH متفاوت در ناحیه ۶ تا ۷ بودند و با افزایش مقدار لسیتین، pH به طور جزئی بالاتر بود. این نتیجه نشان می دهد که احتمالاً وجود گروه های یونی آمونیم $[-N(CH_3)_3]^+$ و فسفات $[-OP(O)OO]^-$ ، به ویژه گروه فسفات مولکول های فسفولیپید غشا در بر هم کنش با محیط آبی، pH نانولیپوزوم ها را تحت تاثیر قرار داده است. نانولیپوزوم های حاوی اسانس سیال فوق بحرانی در مقایسه با نمونه های تقطیر با آب، دارای تغییرات بسیار جزئی در مقدار pH بودند که عدم تاثیر نوع اسانس به دست آمده از پوست بالنگ با دو روش فوق را بر روی مقدار pH نشان داد. در مطالعه حاضر مقدار pH همه نمونه ها با گذشت زمان در هر دو دما کاهش یافت و مقدار این کاهش برای نمونه های نگهداری شده در دمای فریزر بیشتر بود. این نتایج با مشاهدات حاصل از پژوهش گرجیان و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد [۱۸]. کاهش مقدار pH در طی دوره نگهداری (در هر دو دما) و هم چنین پایین تر بودن آن در دمای فریزر در مقایسه با دمای یخچال ممکن است به دلیل تخریب ساختار فسفولیپید غشا و وجود اسیدهای چرب آزاد بیشتر با گذشت زمان باشد. این نتیجه کاهش پایداری نانولیپوزوم ها را در طی نگهداری نشان می دهد.

آزاد DPPH متفاوت بودند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد [۲۹]. بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی فرم نانولیپوزومی اسانس نسبت به حالت آزاد ممکن است به دلیل اثر سینرژیستی مواد تشکیل دهنده دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی دیواره نانولیپوزوم شامل لسیتین و روغن کنجد با ترکیبات آنتی اکسیدانی اسانس مانند فنول ها باشد [۱۰ و ۱۹ و ۲۱]. روستایی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که لسیتین به دلیل اهدای اتم هیدروژن توسط گروه های آمینو فسفولیپیدها و احیای ترکیبات فنولیک اکسید شده، اثر سینرژیستی با ترکیبات فنولیک دارد [۱۹]. در مطالعه رفیعی و همکاران (۲۰۱۷) بیان شد که فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولیک تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند غلظت، برهمکنش با دو لایه غشا و موقعیت آن ها در لیپوزوم قرار می گیرد [۱۰].



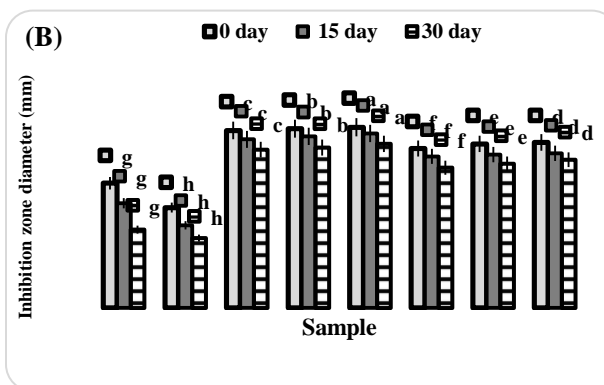
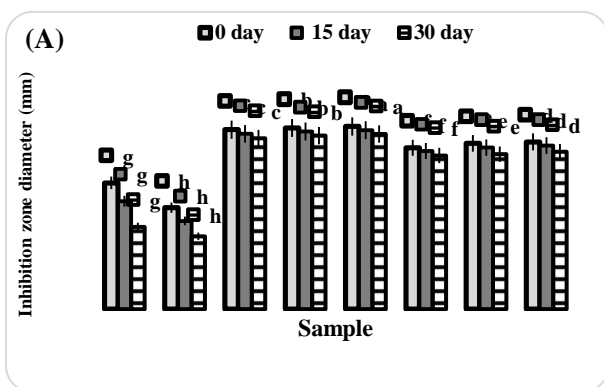
ها در مقابل باکتری گرم مثبت نسبت به گرم منفی مشابه نتایج پژوهش گرجیان و همکاران (۲۰۲۲) است [۲۹]. این محققان علت این نتیجه را، حساسیت بیشتر باکتری های گرم مثبت به ترکیبات فنولی و تفاوت در ساختار سطح سلولی بین دو نوع باکتری بیان کردند. در مطالعه حاضر تاثیر ضد میکروبی همه نمونه ها با گذشت زمان در هر دو دما کاهش یافت و مقدار پایین تر قطر هاله عدم رشد برای نمونه های نگهداری شده در دمای فریزر ثبت شد. بیشترین قطر هاله عدم رشد برای نمونه نانولیپوزوم حاوی اسانس سیال فوق بحرانی با فرمولاسیون دارای بیشترین مقدار لسیتین و پایین ترین میزان روغن به دست آمد و نمونه های مورد آزمون از نظر تاثیر ضد میکروبی دارای اختلاف آماری معنادار بودند. لیولیوس و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که لیپوزوم ها بسته به خصوصیات فیزیکوشیمیایی غشای آن ها (مانند ترکیب تشکیل دهنده غشا) و ترکیب غشای باکتری می توانند از طریق روش های مختلف مانند انتقال بین غشایی و الحاق و اتصال (فیوژن) با سلول باکتری بر همکنش داشته باشند و انتقال سلولی را بهبود دهند و ترکیبات فعال را به داخل سلول باکتری آزاد کنند [۳۸]. نتایج حاصل از بالاتر بودن فعالیت ضد میکروبی فرم نانولیپوزومی نمونه نسبت به حالت آزاد آن ها با مشاهدات به دست آمده از پژوهش خطیب و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد [۳۰]. این محققان، علت آن را به الحاق نانولیپوزوم با غشای خارجی باکتری نسبت دادند. در مطالعه حاضر، فعالیت مهارکنندگی رشد باکتری متفاوت فرم نانولیپوزومی اسانس های سیال فوق بحرانی و تقطیر با آب می تواند به دلیل وجود تفاوت در مقدار ترکیبات دارای خصوصیات ضد میکروبی مانند فنول ها و ترپن ها در دو نوع اسانس باشد [۵]. نتایج متفاوت به دست آمده از عملکرد ضد میکروبی نانولیپوزوم ها با فرمولاسیون های مختلف احتمالاً به این دلیل است که غلظت مختلف اجزای سازنده دیواره، مقادیر متفاوتی از استحکام غشای

(Es) and nanoliposome (N1, N2 and N3) and essential oils of hydrodistillation in free form (Eh) and nanoliposome (N4, N5 and N6). Nanoliposomes formulation (W/W %): N1 and N4 (lecithin 40: oil 60), N2 and N5 (lecithin 50: oil 50) and N3 and N6 (lecithin 60: oil 40). Different letters between test samples on the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$).

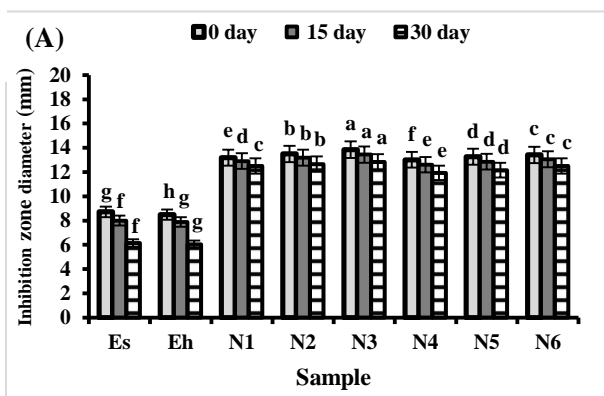
۳-۵- فعالیت ضد میکروبی

فعالیت ضد میکروبی فرم های آزاد و نانولیپوزومی اسانس های تقطیر با آب و سیال فوق بحرانی پوست بالنگ در طی نگهداری در دماهای ۴ و ۱۸- درجه سانتی گراد در شکل ۵ (به ترتیب A و B) نشان داده شده است. مقدار قطر هاله عدم رشد در نمونه های نانولیپوزومی نسبت به اسانس های درون پوشانی نشده در طول نگهداری بالاتر بود و هر دو نوع اسانس در فرم آزاد و نانولیپوزومی، فعالیت ضد میکروبی بیشتری در مقابل باکتری های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) نسبت به باکتری های گرم منفی (اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا) نشان دادند. افزایش فعالیت ضد میکروبی بعد از درون پوشانی اسانس در سیستم نانولیپوزوم، نشان دهنده موثر بودن فرآیند نانو ریز پوشانی اسانس می باشد. تاثیر مهارکنندگی رشد میکروبی بیشتر ترکیبات ضد میکروبی در ابعاد نانو می تواند به دلیل بالاتر بودن نسبت سطح به حجم در آن ها باشد. بنابراین این ترکیبات دارای سطوح بیشتری برای اتصال به میکروارگانیسم ها هستند و با ایجاد حفرات بیشتر در دیواره سلولی باکتری و اختلال در نفوذ پذیری غشا می توانند در مهار رشد میکروبی موثرتر باشند [۳۶]. یافته های ما با نتایج حاصل از مطالعه ی وو و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد. این محققان علت توانایی آنتی باکتریال بالاتر اسانس انکیسوله شده نسبت به فرم آزاد را به حفظ اجزای فرار دارای خصوصیات آنتی باکتریال موجود در اسانس مانند ترپن ها، الکل ها و آلدئیدها در حالت درون پوشانی شده در طول دوره نگهداری نسبت دادند [۳۷]. مشاهدات حاصل از تاثیر ضد میکروبی بیشتر فرم نانولیپوزومی نمونه

(II)

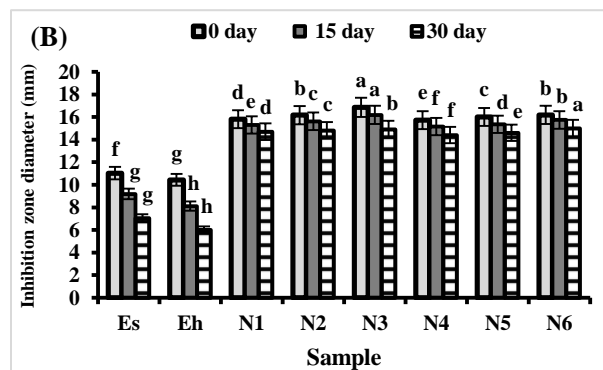
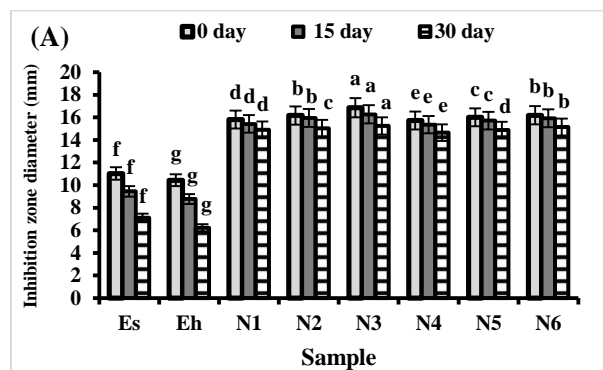


(III)



نانولیپوزوم را فراهم کرده است. در نتیجه ترکیبات ضد میکروبی انکپسوله شده بسته به استحکام غشا در مقابل تخریب دمایی، دارای پایداری مختلفی بودند که با توجه به نتایج این آزمون می توان گفت دمای فریزر تاثیر تخریبی بیشتری نسبت به دمای یخچال بر روی غشای نانولیپوزوم ها و در نتیجه ترکیبات ضد میکروبی داشته است. بدین ترتیب در این مطالعه مقدار متفاوت حفظ ترکیبات ضد میکروبی توسط فرمولاسیون های مختلف نانولیپوزوم در شرایط نگهداری موجب تفاوت فعالیت ضد میکروبی آن ها شد.

(I)



پوست بالنگ تهیه شده با غلظت های مختلف لسیتین- روغن دارای درصد ماندگاری ترکیبات فنولی و میزان pH متفاوت بودند و مقدار آن ها با گذشت زمان در دماهای نگهداری 4°C و -18°C کاهش یافت. فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی نمونه های نانولیپوزومی هر دو نوع اسانس بالاتر از فرم آزاد اسانس ها بود و نمونه های نگهداری شده در دمای یخچال نسبت به دمای فریزر دارای عملکرد بهتری بودند. نانولیپوزوم های حاوی اسانس سیال فوق بحرانی، قدرت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی بیشتری را نسبت به نمونه های اسانس تقطیر با آب نشان دادند و فعالیت ضد میکروبی همه نمونه ها در مقابل باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی بود. هم چنین غلظت اجزای سازنده دیواره نانولیپوزوم ها بر روی عملکرد آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن ها تاثیر داشت و بهترین نتیجه مربوط به فرمولاسیون با بالاترین مقدار لسیتین و پایین ترین میزان روغن بود. بنابراین نتایج این مطالعه نشان داد که نانوزیکول های تهیه شده با استفاده از اجزای دارای خصوصیات مفید تغذیه ای و عملکردی در فرمولاسیون و بدون حضور حلال های آلی سمی موجب تقویت اثر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی و بهبود پایداری اسانس پوست بالنگ درون پوشانی شده است که می تواند کاربرد ایمن و موثر آن را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی فراهم کند.

۶- منابع

- [1] Vahidi, R., Pourahmad, R., and Mahmoudi, R. (2019). Chemical compounds and antibacterial and antioxidant properties of citron (*Citrus medica* L.) peel essential oil. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 2(1), 71-76.
- [2] Okhli, S., Mirzaei, H., and Hosseini, S.E. (2020). Antioxidant activity of citron peel (*Citrus medica* L.) essential oil and extract on

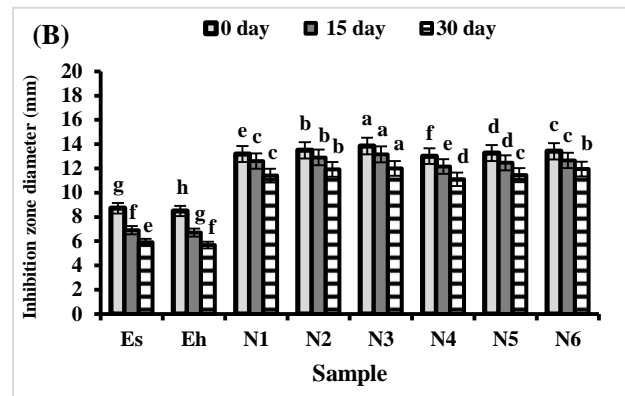


Figure 5. Antimicrobial activity of free and nanoliposome samples of different essential oils of citron peel against *Staphylococcus aureus* (I), *Escherichia coli* (II) and *Pseudomonas aeruginosa* (III) bacteria during storage at 4°C (A) and -18°C (B). Essential oils of supercritical fluid in free form (Es) and nanoliposome (N1, N2 and N3) and essential oils of hydrodistillation in free form (Eh) and nanoliposome (N4, N5 and N6). Nanoliposomes formulation (W/W %): N1 and N4 (lecithin 40: oil 60), N2 and N5 (lecithin 50: oil 50) and N3 and N6 (lecithin 60: oil 40). Different letters between test samples on the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$).

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش، میزان حفظ ترکیبات بیواکتیو، عملکرد آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس های مختلف تقطیر با آب و سیال فوق بحرانی پوست بالنگ پس از بارگذاری در سیستم نانولیپوزوم حاوی اجزای سلامتی بخش لسیتین- روغن کنجد به مدت ۳۰ روز نگهداری در دو محیط یخچال و فریزر بررسی شدند. مقدار اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانولیپوزوم های تولید شده به ترتیب در محدوده ۲۵۲ تا ۳۱۱ نانومتر و $-42/5$ تا $-55/9$ میلی ولت بودند. نتایج نشان داد که نانولیپوزوم های حاوی اسانس های مختلف

stabilization of sunflower oil. *OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 27, 1-7.

- [3] Khalil, W.K.B., El-Bassyouni, G.T., and Booles, H.F. (2016). Nano-encapsulated form of *Citrus medica* for osteoporosis treatment in animal model. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(1), 49-59.

- [4] Wang, F., You, H., Guo, Y., Wei, Y., Xia, P., Yang, Z., Ren, M., Guo, H., Han, R., and Yang, D. (2020). Essential oils from three kinds of fingered citrons and their antibacterial activities. *Industrial Crops & Products*, 147, 1–8.
- [5] Gilani, F., Raftani Amiri, Z., Esmailzadeh Kenari, R., and Ghaffari Khaligh, N. (2023). Investigation of extraction yield, chemical composition, bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial characteristics of citron (*Citrus medica* L.) peel essential oils produced by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1–13.
- [6] Li, Z.H., Cai, M., Liu, Y.S., Sun, P.L., and Luo, S.L. (2019). Antibacterial activity and mechanisms of essential oil from *citrus medica* L. var. *sarcodactylis*. *Molecules*, 24, 1–10.
- [7] Gabriele, B., Fazio, A., Dugo, P., Costa, R., and Mondello, L. (2009). Essential oil composition of *citrus medica* L. cv. Diamante (Diamante citron) determined after using different extraction methods. *Journal of Separation Science*, 32(1), 99–108.
- [8] Hasani, S.H., Ojagh, S.M., Ghorbani, M., and Hasani, M. (2020). Nano-encapsulation of lemon essential oil approach to reducing the oxidation process in fish burger during refrigerated storage. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 10(1), 35–46.
- [9] Faraji, Z., Shakarami, J., Varshosaz, J., and Jafari, S. (2020). Encapsulation of essential oils of *mentha pulegium* and *ferula gummosa* using nanoliposome technology as a safe botanical pesticide. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 7(4), 237–242.
- [10] Rafiee, Z., Barzegar, M., Sahari, M.A., and Maherani, B. (2017). Nanoliposomal carriers for improvement the bioavailability of high – valued phenolic compounds of pistachio green hull extract. *Food Chemistry*, 220, 115–122.
- [11] Dehghan, B., Esmailzadeh Kenari, R., and Raftani Amiri, Z. (2020). Nano-encapsulation of orange peel essential oil in native gums (*Lepidium sativum* and *Lepidium perfoliatum*): Improving oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11), 1–8.
- [12] Zabihi, A., Akhondzadeh Basti, A., Amoabediny, G., Khanjari, A., Tavakkoly Bazzaz, J., Mohammadkhan, F., Hajjar Bargh, A., and Vanaki, E. (2017). Physicochemical characteristics of nanoliposome garlic (*Allium sativum* L.) essential oil and its antibacterial effect on *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 4, 24–28.
- [13] Pan, L., Zhang, S., Gu, K., and Zhang, N. (2018). Preparation of astaxanthin-loaded liposomes: characterization, storage stability and antioxidant activity. *CyTA- Journal of Food*, 16(1), 607–618.
- [14] Tai, K., Liu, F., He, X., Ma, P., Mao, L., Gao, Y., and Yuan, F. (2018). The effect of sterol derivatives on properties of soybean and egg yolk lecithin liposomes: Stability, structure and membrane characteristics. *Food Research International*, 109, 24–34.
- [15] Anderson, M., and Omri, A. (2004). The effect of different lipid components on the in vitro stability and release kinetics of liposome formulations. *Drug Delivery*, 11(1), 33–39.
- [16] Stark, B., Pabst, G., and Prassl, R. (2010). Long-term stability of sterically stabilized liposomes by freezing and freeze-drying: effects of cryoprotectants on structure. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 41, 546–555.
- [17] Yang, E., Yu, H., Choi, S., Park, K.M., Jung, H.S., and Chang, P.S. (2021). Controlled rate slow freezing with lyoprotective agent to retain the integrity of lipid nanovesicles during lyophilization. *Scientific Reports*, 1–12.
- [18] Gorjian, H., Raftani Amiri, Z., Mohammadzadeh Milani, J., and Ghaffari Khaligh, N. (2021). Preparation and characterization of the encapsulated myrtle extract nanoliposome and nanoniosome without using cholesterol and toxic organic solvents: a comparative study. *Food Chemistry*, 1–11.
- [19] Roostaei, M., Barzegar, M., Sahari, M.A., and Rafiee, Z. (2017). The enhancement of pistachio green hull extract functionality via nanoliposomal formulation: studying in soybean oil. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11): 3620–3629.
- [20] Alexander, M., Acero Lopez, A., Fang, Y., and Corredig, M. (2012). Incorporation of phytosterols in soy phospholipids nanoliposomes: encapsulation efficiency and stability. *LWT - Food Science and Technology*, 47(2), 427–436.
- [21] Pathak, N., Rai, A.K., Kumari, R., and Bhat, K.V. (2014). Value addition in sesame: a perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16): 147–155.
- [22] Prasad, N., Sanjay, K.R., Prasad, D.S., Vijay, N., Kothari, R., and Shivananju, N.S. (2012). A review on nutritional and nutraceutical properties of sesame. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 2(2), 1–6.

- [23] Rasti, B., Jinap, S., Mozafari, M.R., and Yazid, A.M. (2012). Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and mozafari methods. *Food Chemistry*, 135, 2761–2770.
- [24] Ghorbanzade, T., Jafari, S.M., Akhavan, S., and Hadavi, R. (2016). Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yogurt. *Food Chemistry*, 1–25.
- [25] Sarabandi, K., Jafari, S.M., Mohammadi, M., Akbarbaglu, Z., Pezeshki, A., and Khakbaz Heshmati, M. (2019). Production of reconstitutable nanoliposomes loaded with flaxseed protein hydrolysates: Stability and characterization. *Food Hydrocolloids*, 96, 442–450.
- [26] Mazloomi, S.N., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., and Houshmand, G. (2020). Physicochemical properties of chitosan-coated nanoliposome loaded with orange seed protein hydrolysate. *Journal of Food Engineering*, 280, 1-9.
- [27] Sayyari, Z., Rabbani, M., Farahmandfar, R., Esmaeilzadeh Kenari, R., and Mousavi Nadoushan, R. (2021). Investigation of the effect of essential oil along with nanocoatings containing gums in the development of fish fillet storage time. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 3539–3552.
- [28] Rodriguez, E.B., Almeda, R.A., Vidallon, M.L.P., and Reyes, C.T. (2018). Enhanced bioactivity and efficient delivery of quercetin through nanoliposomal encapsulation using rice bran phospholipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1980–1989.
- [29] Gorjian, H., Raftani Amiri, Z., Mohammadzadeh Milani, J., and Ghaffari Khaligh, N. (2022). Influence of Nanovesicle Type, Nanoliposome and Nanoniosome, on Antioxidant and Antimicrobial Activities of Encapsulated Myrtle extract: a comparative study. *Food and Bioprocess Technology*, 15, 144–164.
- [30] Khatib, N., Varidi, M.J., Mohebbi, M., Varidi M., and Hosseini, S.M.H. (2019). Co-encapsulation of lupulon and xanthohumol in lecithin-based nanoliposomes developed by sonication method. *Journal of food processing and preservation*, 43(9), 1–11.
- [31] Rezaei Erami, S., Raftani Amiri, Z., Jafari, S.M. (2019). Nanoliposomal encapsulation of Bitter Gourd (*Momordica charantia*) fruit extract as a rich source of health-promoting bioactive compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 116, 1–7.
- [32] Savaghebi, D., Barzegar M., and Mozafari, M.R. (2019). Manufacturing of nanoliposomal extract from *Sargassum boveanum* algae and investigating its release behavior and antioxidant activity. *Food Science & Nutrition*, 8(1), 299-310.
- [33] Zhao, L., Xiong, H., Peng, H., Wang, Q., Han, D., Bai, C.Q., Liu, Y., Shi, S., and Deng, B. (2011). PEG-coated lyophilized proliposomes: preparation, characterizations and in vitro release evaluation of vitamin E. *European Food Research and Technology*, 232, 647–654.
- [34] Barretto, F.J.D.F.P., Clemente, H.A., Santana, A.L.B.D., and Vasconcelo, M.A.D.S. (2020). Stability of encapsulated and non-encapsulated anthocyanin in yogurt produced with natural dye obtained from *Solanum melongena* L. bark. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 42(3), 1–13.
- [35] Spigno, G., Donsì, F., Amendola, D., Sessa, M., Ferrari, G., and Faveri, D.M.D. (2013). Nanoencapsulation systems to improve solubility and antioxidant efficiency of a grape marc extract into hazelnut paste. *Journal of Food Engineering*, 114(2), 207–214.
- [36] Hallaj-Nezhadi, S., and Hassan, M. (2013). Nanoliposome-based antibacterial drug delivery. *Drug Delivery*, 45(12), 581–589.
- [37] Wu, K., Zhang, T., Chai, X., Duan, X., He, D., Yu, H., Liu, X., and Tao, Z. (2023). Encapsulation efficiency and functional stability of cinnamon essential oil in modified β -cyclodextrins: in vitro and in silico evidence. *Foods*, 45(12), 1–19.
- [38] Liolios, C.C., Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, J., and Chinou, I. (2009). Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 112(1), 77–83.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir



Scientific Research

Comparison of the stability of the nanoliposome form of the citron (*Citrus medica* L.) peel essential oils obtained from different extraction methods during the storage period at 4°C and -18°C

Gilani, F. ¹, Raftani Amiri, Z. ^{2*}, Esmailzade Kenari, R. ², Ghaffari Khaligh, N. ³

- 1- PhD Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- 2- Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- 3- Associate Professor, Nanotechnology and Catalysis Research Centre, Institute for Advanced Studies, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia

ABSTRACT

One of the critical methods to maintain the stability and functional properties of plant essential oils as a useful source of bioactive compounds against environmental damage is their encapsulation in nanocarrier systems such as nanoliposomes. In this study, nanoliposome containing the citron peel essential oils were prepared without the use of toxic organic solvent and by employing health-giving compounds such as sesame oil in addition to lecithin for the first time in the formulation. The stability of the samples during 30 days of storage at temperatures of 4°C and -18°C was determined by investigating the retention amount of phenolic compounds, pH changes, antioxidant and antimicrobial performance. The nanoliposomal samples of essential oils of hydrodistillation and supercritical CO₂ of citron peel prepared with different concentrations of lecithin oil had different quantities of pH and phenol retention percentage, and their amount reduced with increasing storage time at both test temperatures. DPPH inhibitory ability and antimicrobial activity of both citron peel essential oils were improved after encapsulation in nanoliposome. But their amount in both storage temperatures decreased with the advancing of time. The nanoliposome of the supercritical fluid essential oil of citron peel respectively with the formulation containing the highest and lowest amount of lecithin oil at the storage temperature of 4°C showed the best result in this study. Therefore, the citron peel essential oil with encapsulation in the nanoliposome system prepared from lecithin-sesame oil, due to improvement of antioxidant and antimicrobial activity and its higher stability against storage temperature, can be used as an effective natural functional additive in the food industry.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/7/18
Accepted: 2023/8/23

Keywords:

Citron peel essential oil,
Nanoliposome formulation,
Antioxidant activity,
Antimicrobial
performance,
Storage temperature

DOI: 10.22034/FSCT.20.142.182
DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.142.12.2

*Corresponding Author E-Mail:
zramiri@gmail.com,
z.raftani@sanru.ac.ir