



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

فرمولاسیون فیتونیوزوم عصاره برگ انگور (*Vitis vinifera*) و ارزیابی اثر آن در ماست همزده غنی شده بر کاهش اشتها و

کاهش وزن در موش های تحت رژیم طبیعی

ناهید علیدوستی شهرکی^{۱*}، محمد قربانی^۲، علیرضا صادقی ماهونک^۳، هدی شهیری^۴

۱- دانشجوی دکتری شیمی مواد غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دکتری شیمی مواد غذایی دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دکتری شیمی مواد غذایی استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۴- استادیار دکتری شیمی مواد غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

اطلاعات مقاله

شناسایی ترکیبات مؤثر و پتانسیل ضدچاقی عصاره فیتونیوزومی برگ انگور (جنس *Vitis*) از طریق کاهش اشتها به طور کامل مطالعه نشده است. افزایش وزن به عنوان عامل خطر بسیاری از بیماری های مزمن شناخته می شود که مصرف مکمل های گیاهی یکی از راهکارهای مدیریت آن است. با این حال، محدودیت هایی نظیر جذب پایین، ناپایداری و اکسیداسیون ترکیبات فعال، کاربرد این عصاره ها را با چالش مواجه کرده است. استفاده از نانوحامل هایی مانند نیوزوم می تواند این محدودیت ها را کاهش دهد. در این مطالعه، فیتونیوزوم عصاره برگ انگور (VLE) تهیه و اثر آن بر کاهش اشتها ارزیابی شد. عصاره گیاهی از پودر خشک شده برگ انگور رقم عسگری به روش استخراج سبز تهیه شد و فیتونیوزوم آن به روش هیدراسیون لایه نازک تولید گردید. ویژگی های نانوحامل با دستگاه های DLS، پتانسیل زتا و FTIR مورد تحلیل قرار گرفت. محتوای پلی فنولی عصاره به روش فولین-سیوکالتی و در طول موج 750 نانومتر اندازه گیری شد. در نهایت، اثر ماست حاوی فیتونیوزوم بر اشتها و وزن 20 موش آزمایشگاهی در چهار گروه (شاهد، ماست ساده، ماست حاوی عصاره بدون پوشش و ماست غنی شده با نانوحامل حاوی 10 تا 25 درصد عصاره) طی شش هفته بررسی شد. فرمولاسیون بهینه فیتونیوزوم دارای میانگین اندازه ذرات 193.5 نانومتر، کارایی درون پوشانی حدود 80 درصد، شاخص پراکندگی 0.37 و پتانسیل زتای -10.16 میلی ولت بود. نتایج نشان داد مصرف ماست حاوی فیتونیوزوم منجر به کاهش معنی دار مصرف غذا و وزن بدن در موش ها شد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۸

تاریخ داوری: ۱۴۰۴/۰۷/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۶

کلمات کلیدی:

فیتونیوزوم،

عصاره برگ انگور،

نانوحامل لیپیدی،

ماست غنی شده،

کاهش اشتها و وزن

DOI: 10.48311/fsct.2026.84094.0

* مسئول مکاتبات:

alidousti.343634@gmail.com

۱- مقدمه

برگ انگور از دیرباز در رژیم مدیترانه‌ای و در ایران عمده‌تاً در تهیه دلمه و به صورت دمنوش مصرف می شده است. این برگ‌ها سرشار از ترکیبات پلی فنولی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها بوده و منبعی غنی از ویتامین‌ها، مواد معدنی، فیبر و ترکیبات فنولی محسوب می شوند. اگرچه دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد درد است، اما اثرات آن در کاهش وزن کمتر مورد توجه قرار گرفته است [1]. چاقی به عنوان یک بیماری مزمن، ناشی از انباشت غیرطبیعی چربی و افزایش وزن است و در دنیای امروز به دلیل بی تحرکی و سبک زندگی نامناسب، تهدیدی جدی برای سلامت جهانی محسوب می شود. عوامل متعددی از جمله ژنتیک، رژیم غذایی پرکالری و عوامل محیطی در ایجاد آن نقش دارند. در ایران، تقریباً 50 درصد افراد 15 تا 65 سال دچار اضافه وزن یا چاقی هستند که شیوع آن در زنان بیشتر است [1].

راهکارهای متعددی از جمله داروها، جراحی و تغییر سبک زندگی برای کنترل چاقی وجود دارند، اما بسیاری از داروهای شیمیایی عوارض جانبی قابل توجه، وابستگی و بازگشت وزن پس از قطع دارو دارند [2 و 3]. این محدودیت‌ها، گرایش به مکمل‌های گیاهی طبیعی را افزایش داده است، هرچند کیفیت و ایمنی بسیاری از این محصولات به خوبی ارزیابی نشده است. گیاهانی مانند اتریفیل صغیر (ترکیبی از سه داروی گیاهی)، دارچین، سویا، گل سرخ و زیره سیاه در مطالعات مختلف اثر کاهش دهنده وزن را نشان داده‌اند که از طریق مکانیسم‌هایی مانند کاهش اشتها، افزایش متابولیسم چربی، کاهش جذب چربی و اثرات هیپولیپیدمیک عمل می کنند. با این حال، کاربرد عصاره‌های گیاهی در صنایع غذایی به دلیل عدم پایداری، حساسیت به نور، دما، اکسیژن و pH، کاهش دسترسی زیستی و بدطعمی، با چالش مواجه است [4]. نانوفناوری با توسعه نانوحامل‌های لیپیدی مانند نیوزوم، راهکاری برای بهبود پایداری و جذب ترکیبات زیست فعال ارائه می دهد. نیوزوم‌ها ساختارهای

کروی آمفیفیلک با اندازه 10 نانومتر تا 10 میکرومتر هستند که پس از هیدراتاسیون، قادر به انکپسوله کردن ترکیبات هیدروفیل و لیپوفیل می باشند [5]. فیتونیوزوم‌ها نوعی نانوحامل لیپیدی هستند که با اتصال کووالانسی عصاره گیاهی به فسفولیپیدها، پایداری، جذب و نفوذ سلولی ترکیبات فنولی را بهبود می بخشد [6 و 7]. این سیستم‌ها همچنین می توانند طعم نامطبوع عصاره‌ها را پوشش دهند و از تخریب آن‌ها در طول فرآوری محافظت کنند. در این مطالعه، عصاره برگ انگور به روش سبز استخراج شد، فیتونیوزوم حامل آن با استفاده از اسپن 60، توین 80 و فیتواسترول به روش هیدراتاسیون لایه نازک تهیه گردید، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن بررسی شد و سپس فیتونیوزوم در ماست هم زده تثبیت و اثر آن بر کاهش اشتها و افزایش وزن در موش‌های سالم ارزیابی گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۱- استخراج و آماده سازی عصاره

برگ‌های سبز و سالم انگور (*Vitis vinifera* L.) رقم عسگری در خردادماه 1402 از تاکستان‌های منطقه گهرو، استان چهارمحال و بختیاری جمع آوری شدند. پس از شست و شوی دقیق با آب مقطر، برگ‌ها در سایه و در شرایط تهویه مناسب خشک شدند و سپس با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی به پودر یکنواخت تبدیل شدند. پودر حاصل از طریق الک ۶۰ مش (معادل ۲۵۰ میکرومتر) الک شد و تا زمان استفاده در ظرف سربسته، در دمای ۴ درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری شد.

استخراج عصاره پلی فنولی برگ انگور به روش سبز و با ترکیبی از ماسراسیون، اولتراسونیکاسیون و تیمار مایکروویو انجام شد، مطابق با روش جکپا و همکاران (2018) با اندکی اصلاح [8] انجام شد. به این منظور، 10 گرم از پودر گیاهی با حلال ترکیبی از آب دیونیزه و پلی اتیلن گلیکول-400 (PEG-400) در نسبت حجمی 7:3 و با نسبت جامد به مایع 1:10 (گرم/میلی لیتر) مخلوط شد. محلول در ظروف شیشه‌ای سربسته قرار داده شد و قبل از شروع فرآیند، با گاز

عصاره حاصل ابتدا از کاغذ صافی Whatman No. 1 عبور داده شد و سپس به مدت 20 دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت 8000 دور در دقیقه (rpm) و دمای 4 درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد تا ذرات جامد باقی مانده جدا شوند. نهایتاً، مایع شفاف حاصل از طریق کاغذ واتمن صاف شد و سوپرناتانت به دستگاه خشک کن انجمادی (Freeze dryer) منتقل شد تا به صورت پودر خشک منجمد (lyophilized extract) درآید. پودر عصاره در شرایط تاریک و در دمای 4 درجه سانتیگراد تا زمان استفاده نگهداری شد.



Figure 1. Extraction of grape leaf polyphenolic extract

فیلی شامل توین 80 (Polysorbate 80)، اسپن 60 (Sorbitan monostearate) و فیتواسترویل (گاما اوریزانول) با نسبت های بهینه شده بر اساس محدوده HLB مناسب برای تشکیل سیستم های وزیکولی (6 تا 10) در 10 میلی لیتر اتانول خالص حل شدند. محلول حاصل به یک بالن ته گرد 250 میلی لیتری منتقل شد و با استفاده از دستگاه تبخیر چرخشی (Rotary Evaporator) در دمای 60 درجه سانتیگراد و تحت خلأ، حلال آلی به آهستگی حذف شد تا لایه نازک یکنواختی از لیپیدها بر روی دیواره داخلی بالن تشکیل شود.

سپس، 10 میلی لیتر آب دیونیزه حاوی غلظت های مشخصی از عصاره خشک شده برگ انگور (بر اساس طرح بهینه سازی) به بالن اضافه شد. بالن به دستگاه چرخشی با دمای کنترل شده 65 درجه سانتیگراد منتقل شد و به مدت 60 دقیقه تحت چرخش ملایم (100 دور در دقیقه) قرار گرفت تا لایه لیپیدی به طور کامل هیدراته شود. این فرآیند منجر به تشکیل وزیکول های چندلایه (MLV - Multilamellar Vesicles) با اندازه میکرومتری شد.

جهت کاهش اندازه ذرات و تولید نانوسوسپانسیون یکنواخت، نمونه به دستگاه هموژنایزر منتقل و تحت شرایط

آرگون به منظور حذف اکسیژن و جلوگیری از اکسیداسیون ترکیبات فنولی، هواگیری شد. مخلوط به مدت 72 ساعت تحت هم زنی مغناطیسی با سرعت 130 دور در دقیقه و در دمای محیط قرار گرفت. پس از این مرحله، نمونه به مدت 25 دقیقه در حمام اولتراسونیک با فرکانس 40 kHz و توان 120 وات) در دمای 4 درجه سانتیگراد قرار گرفت. پس از سرد شدن به دمای محیط، تیمار مایکروویو (2 دقیقه، 180 وات) اعمال شد. این فرآیند یکبار دیگر تکرار گردید تا بازده استخراج به حداکثر برسد.

2- تعیین محتوای کل ترکیبات فنولی عصاره گیاهی

میزان کل ترکیبات فنولی (TPC) عصاره برگ انگور (Vitis vinifera L.) با استفاده از روش استاندارد فولین-سیوکالتی (Folin-Ciocalteu) و به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد [10]. به این منظور، 100 میکرولیتر از محلول عصاره (با غلظت مشخص) با 500 میکرولیتر معرف فولین-سیوکالتی رقیق شده به نسبت 1:1 با آب مقطر مخلوط شد. پس از 5 دقیقه، 400 میکرولیتر از محلول کربنات سدیم (Na_2CO_3 , 20% w/v) اضافه گردید و مخلوط نهایی به طور کامل هم زده شد. نمونه ها به مدت 60 دقیقه در تاریکی و دمای اتاق (25 درجه سانتیگراد) قرار داده شدند تا واکنش کامل انجام شود. سپس، جذب نوری محلول در طول موج 760 نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر (مدل Ultrospec 2000) اندازه گیری شد.

۳- تهیه و سنتز فیتونیوزوم

تولید فیتونیوزوم حاوی عصاره برگ انگور بر اساس روش پاندو و همکاران با اندکی اصلاح انجام شد [9]. هدف از درون پوشانی، بهبود پایداری ترکیبات فنولی، کاهش طعم و بوی نامطلوب عصاره و افزایش دسترسی زیستی آن در فرمولاسیون های غذایی بود. در این روش، لیپیدهای آمفی

متانول یا اتانول) و اندازه‌گیری ترکیبات آزادشده به روش فولین-سیوکالتی محاسبه گردید.

در نهایت، درصد کارایی درون‌پوشانی با استفاده از رابطه 1 محاسبه شد:

$$EE\% = ((C_{total} - C_{free}) / C_{total}) \times 100 \quad \text{رابطه 1}$$

که در آن C_{total} مجموع غلظت ترکیبات فنولی در سوسپانسیون فیتونیوزومی و C_{free} نیز غلظت محتوای فنولی آزاد است.

2-4- اندازه‌گیری پتانسیل زتا، توزیع اندازه ذرات فیتونیوزوم و طیف سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

پتانسیل زتا (Zeta Potential) نمونه‌های نیوزوم به تنهایی و فیتونیوزوم حاوی عصاره برگ انگور (VLE) در غلظت‌های 10، 15، 20 و 25 درصد وزنی به‌منظور ارزیابی پایداری الکتروشمیایی و تمایل به کوآگولاسیون سیستم نانوذرات، با روش پراکندگی نور الکتروفرتیک (Electrophoretic Light Scattering, ELS) اندازه‌گیری شد. آزمون‌ها با استفاده از دستگاه Zetasizer Nano ZS ساخت شرکت Malvern Panalytical، انگلستان انجام گرفت. به‌منظور شناسایی و تأیید برهم‌کنش‌های مولکولی بین نانو حامل فیتونیوزوم و عصاره، طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز (FTIR) برای تیمار منتخب سوسپانسیون فیتونیوزوم صورت گرفت. نمونه‌های مورد بررسی شامل فیتونیوزوم خالص، عصاره خام و کمپلکس فیتونیوزوم-عصاره بودند که هر کدام با پودر KBr در نسبت وزنی 1:100 همگن‌سازی شده و به صورت قرص‌های فشرده تهیه گردیدند. طیف‌های فروسرخ در بازه‌ی فرکانسی $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ ثبت و تحلیل شدند. مقایسه طیف‌های به‌دست آمده به‌منظور شناسایی تغییرات جابجایی باندهای جذبی و ظهور یا کاهش باندهای خاص انجام شد که نشانگر برهم‌کنش‌های شیمیایی یا فیزیکی میان اجزای نانو حامل و عصاره می‌باشد. در این آزمایش، کمپلکس فیتونیوزوم حاوی ۲۰ درصد وزنی عصاره مورد استفاده قرار گرفت.

15000 دور در دقیقه به مدت 15 دقیقه هموژنیزه شد. این مرحله باعث تشکیل نانوذرات فیتونیوزومی با ساختار چندلایه و اندازه نانومتری شد.

سوسپانسیون نهایی فیتونیوزوم در شیشه‌های تیره و در دمای 4 درجه سانتیگراد و در تاریکی نگهداری شد تا از تخریب ناشی از نور و حرارت جلوگیری شود. نمونه‌های مورد نیاز برای آنالیزهای فیزیکوشیمیایی (اندازه ذرات، پتانسیل زتا، کارایی درون‌پوشانی و غیره) بلافاصله پس از تولید تهیه شدند.

4- بررسی ویژگی های فیتونیوزوم

1-4- تعیین کارایی درون‌پوشانی

کارایی درون‌پوشانی (EE%) عصاره برگ انگور در فیتونیوزوم‌ها با روش جداسازی عصاره آزاد از عصاره کپسوله‌شده و بر اساس روش محمدی و همکاران (2016) تعیین شد [9]. به این منظور، ابتدا طیف‌سنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش-مرئی (UV-Vis) در محدوده طول موج 200 تا 400 نانومتر انجام شد تا نقطه جذب حداکثر (λ_{max}) عصاره پلی‌فنولی تعیین گردد.

سپس، یک منحنی استاندارد غلظت-جذب در طول موج 280 نانومتر با رقیق‌سازی سریالی عصاره برگ انگور تهیه شد. برای جداسازی عصاره آزاد از عصاره درون‌پوشانی‌شده، 2 میلی‌لیتر از سوسپانسیون فیتونیوزومی با آب مقطر رقیق شد و به یک محفظه فیلتر سانتریفیوژی آمیکون منتقل گردید. نمونه به مدت 20 دقیقه در دمای 4°C و با سرعت 4000 g× در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد. در این شرایط، عصاره آزاد (غیرکپسوله) به دلیل کوچک‌بودن اندازه مولکولی از غشای فیلتر عبور کرده و در مایع تحتانی جمع‌آوری می‌شود، در حالی که فیتونیوزوم‌ها و عصاره درون‌پوشانی‌شده در بالای فیلتر باقی می‌مانند. غلظت ترکیبات فنولی در مایع عبوری مربوط به عصاره آزاد، (C_{free}) با استفاده از منحنی استاندارد و جذب در 280 نانومتر تعیین شد. غلظت کل عصاره در نمونه اولیه (C_{total}) نیز از طریق تخریب کامل فیتونیوزوم‌ها با حلال آلی (مانند

4-3- ارزیابی رهایش عصاره از فیتونیوزوم در شرایط شبیه‌سازی شده

جهت ارزیابی کنترل آزادسازی و پایداری نانوساختار فیتونیوزوم، آزمون رهایش عصاره هیدروالکلی برگ انگور در شرایط *in vitro* انجام شد. نمونه حاوی 20٪ وزنی عصاره به‌عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد. به این منظور، 150 میکرولیتر از سوسپانسیون فیتونیوزومی در 1 میلی‌لیتر محیط بافری با $\text{pH} = 3.5$ (شبیه‌سازی محیط معده (Simulated Gastric Fluid, SGF) با $\text{pH} 1.2$ شامل محلول $\text{HCl } 0.1 \text{ N}$ و آنزیم پپسین (3.2 و $\text{pH} = 7$ (شبیه‌سازی محیط روده (Simulated Intestinal Fluid, SIF) شامل بافر فسفات و آنزیم پانکراس قرار داده شد تا تأثیر شرایط اسیدی و خشی بر رهایش عصاره بررسی گردد. آزمون‌ها در دمای 37 درجه سانتیگراد و تحت هم‌زنی مداوم با سرعت 100 دور در دقیقه در دستگاه شیکر انجام شد. در بازه‌های زمانی 0، 0.5، 1، 2، 4، 8، 12 و 24 ساعت، از محیط خارج از کیسه دیالیز به میزان 2 میلی‌لیتر نمونه‌گیری شد و بلافاصله با 2 میلی‌لیتر محیط تازه جایگزین گردید. نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در هر pH و در دمای اتاق تحت شرایط استاتیک نگهداری شدند. سپس عصاره آزاد شده از فیتونیوزوم با استفاده از فیلتر سانتریفیوژی آمیکون (cutoff 10 k Da) و سانتریفیوژ در $4000 \times \text{g}$ به مدت 15 دقیقه جداسازی شد. مایع عبوری (filtrate) حاوی عصاره رهاشده جمع‌آوری شد، در حالی که فیتونیوزوم‌های کامل در بالای فیلتر (retentate) باقی ماندند. برای تعیین مقدار عصاره باقی‌مانده در نانوحامل، retentate با کلروفرم حل شد و عصاره آزاد شد. غلظت عصاره در هر فاز با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 228 نانومتر اندازه‌گیری شد. این فرآیند در چهار زمان (روز اول، هفتم، پانزدهم و بیست‌ویکم) تکرار شد تا روند رهایش طولانی‌مدت ارزیابی گردد.

5- فرمولاسیون و تهیه ماست غنی‌شده با فیتونیوزوم عصاره برگ انگور

ماست هم‌زده با محتوای چربی 2.5٪ (w/w) از شرکت فرآورده‌های لبنی شیمبار تهیه شد. به منظور بررسی قابلیت کاربرد فیتونیوزوم عصاره برگ انگور در یک ماتریس غذایی، نمونه‌های ماست غنی‌شده با نانوحامل‌های حاوی 10، 15، 20 و 25 درصد وزنی عصاره پلی‌فنولی تهیه شدند. به این منظور، 15 گرم از هر فرمولاسیون فیتونیوزومی به‌طور جداگانه به 100 گرم ماست اضافه شد (معادل 15٪ w/w فیتونیوزوم در ماتریس ماست). به‌عنوان گروه مقایسه، نمونه‌ای حاوی 1.5٪ عصاره خام بدون درون‌پوشانی نیز تهیه شد. نمونه ماست بدون افزودنی (بدون عصاره و فیتونیوزوم) به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد.

5-1- ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی ماست هم‌زده حاوی فیتونیوزوم عصاره برگ انگور

برای ارزیابی پایداری و کیفیت فرمولاسیون ماست غنی‌شده با فیتونیوزوم عصاره برگ انگور در چهار غلظت مختلف در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد عصاره)، آزمون‌های فیزیکوشیمیایی در چهار نقطه زمانی (روزهای 0، 7، 15 و 21) و طی دوره نگهداری در دمای ± 4 درجه سانتیگراد انجام شد. pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال اندازه‌گیری و اسیدیته کل هم به صورت درصد اسید لاکتیک (w/v) با روش تیتراسیون حجمی و با استفاده از محلول سود سوزآور 0.1 نرمال و شناساگر فنول‌فتالئین تعیین گردید. ویژگی‌های رنگی نمونه‌ها با دستگاه رنگ‌سنج (Colorimeter) در سیستم CIE-Lab و بر اساس پارامترهای L^* (روشنایی)، a^* (جهت قرمز-سبزی) و b^* (جهت زردی-آبی) ارزیابی شد. اندازه‌گیری‌ها در سه نقطه مختلف از هر نمونه و تحت نور استاندارد D65 انجام شد. سینرسیس (جداشدگی آب) نیز به‌عنوان شاخصی از پایداری کلوئیدی ماست تعیین شد. پس از تولید، نمونه‌ها در ظروف استاندارد ریخته شدند و به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. آب جدا شده در سطح نمونه با دقت با پیپت جمع‌آوری و وزن شد. درصد سینرسیس با نسبت وزن آب جدا شده به وزن کل نمونه ضرب در 100 محاسبه گردید. پایداری امولسیون نمونه‌ها

فیتونیوزوم 20٪ حاوی عصاره برگ انگور؛ پس از یک هفته دوره سازگاری در شرایط کنترل شده، (دمای 22 درجه سانتیگراد، رطوبت $3 \pm 5\%$ ، چرخه نوری 12:12 ساعت (حیوانات به مدت 6 هفته تحت تغذیه روزانه با ماست مربوط به گروه خود قرار گرفتند. خوراک دهی به صورت دو بار در روز و در ساعات مشخص انجام شد، در حالی که دسترسی به آب آشامیدنی و غذای پایه به صورت آزاد و 24 ساعته فراهم بود.

برای ارزیابی اثر تغییرات غذایی بر رفتار تغذیه‌ای، میزان غذای مصرفی در بازه‌های 30، 60، 120 و 240 دقیقه پس از خوراندن ماست ثبت شد. علاوه بر این، وزن بدن حیوانات به صورت هفتگی با دقت 0.1 گرم اندازه‌گیری و ثبت گردید. تمامی پروتکل‌های آزمایشی مطابق با دستورالعمل‌های اخلاقی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان (IR.GOUMS.REC.1404.110) انجام شد.

نیز با استفاده از آزمون سانتیفریوژ ($3000 \times g$) به مدت 10 دقیقه ارزیابی شد و هرگونه جداسازی فاز (لایه یا رسوب) ثبت گردید. علاوه بر این، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ماست با روش مهار رادیکال DPPH اندازه‌گیری شد تا حفظ ترکیبات فنولی فعال در طول دوره نگهداری بررسی شود. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار مستقل ($n = 3$) انجام شدند و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند.

6- طراحی مطالعه حیوانی، خوراک‌دهی و ارزیابی پارامترهای تغذیه‌ای

در این مطالعه، 20 موش نر نژاد ویستار با وزن اولیه 230-250 گرم به صورت تصادفی به چهار گروه پنج‌تایی تقسیم شدند: (1) گروه شاهد، فقط غذا و آب بدون ماست، (2) گروه کنترل، ماست ساده (2.5٪ چربی)، (3) گروه عصاره آزاد، ماست حاوی 1.5٪ عصاره خام برگ انگور (بدون درون‌پوشانی)، (4) گروه فیتونیوزوم، ماست غنی‌شده با

Table 1. Experimental groups and treatments

Group	The number of Rats	Description of treatment received
Control Group	5	Stirred yogurt without any additives
First treatment	5	Stirred yogurt + Unencapsulated Vitis vinifera L. leaves, (VLE)
Second treatment	5	Stirred Yogurt + Phytosomal VLE20%
Negative Control	5	only food and water without yogurt

میزان ترکیبات تام فنولی به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از واکنشگر سیوکالته و اسیدگالیک به عنوان استاندارد تعیین شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت عصاره برگ مو از 10 تا 25 درصد، میزان ترکیبات فنولی کل به طور معنی‌داری افزایش یافته است. این افزایش به طور مستقیم با بهبود توانایی عصاره در مهار رادیکال آزاد DPPH همراه بود به طوری که درصد مهار با افزایش غلظت روندی صعودی نشان داد. این یافته که همخوانی کاملی با اصول شیمیایی دارد، تایید می‌کند که گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی، نقش کلیدی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی ایفا می‌کنند. نتایج حاضر با گزارش سایر

7-آنالیز آماری

تمامی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS مورد تحلیل قرار گرفتند. نتایج به صورت (میانگین $\pm$ انحراف معیار) بیان شدند. برای مقایسه میانگین بین چند گروه، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. سطح معنی‌داری در تمامی آزمون‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳- بحث و نتایج

3-1- میزان ترکیبات تام فنولی در VLE و فیتونیوزوم‌ها

۲۵٪ گزارش شد که بیانگر حداکثر کارایی فرایند بارگذاری در این سطح است. نتایج آزمون مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) نیز همسو با مقادیر فنول کل بود؛ به‌طوری‌که نمونه‌های بارگذاری‌شده در مقایسه با نیوزوم فاقد عصاره توان آنتی‌اکسیدانی بالاتری نشان دادند. روند افزایشی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالاتر عصاره (به‌ویژه ۲۰ و ۲۵٪) بارزتر بوده و بیشترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد در سطح ۲۵٪ عصاره مشاهده گردید. تحقیقات پژوهشگران موید آن است که ترکیبات فنولی موجود در عصاره برگ مو، از جمله فلاونوئیدها و تانن‌ها، نقش کلیدی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و پیشگیری از پراکسیداسیون لیپیدی ایفا می‌کنند [23 و 24]. همچنین محصورسازی این ترکیبات در ساختار نیوزوم، آزادسازی کنترل‌شده و هدفمند آن‌ها را نیز امکان‌پذیر می‌سازد.

پژوهشگران نیز همسو است. در پژوهش Gambuti و همکاران، عصاره برگ و ساقه انگور با غلظت‌های بالاتر فنولی، مقادیر کمتری از IC_{50} در آزمون DPPH نشان دادند که بیانگر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر است [21]. افزون بر این، مرور جامع Kang و همکاران بر ترکیبات زیست‌فعال برگ انگور، حضور کوئرستین، اسید کلروژنیک و سایر فنول‌ها را به عنوان عوامل کلیدی در مهار اکسیداسیون لیپیدی تأیید کرده است [22].

همانطور که در شکل 2 و 3 مشاهده می‌گردد، بارگیری نیوزوم‌ها با عصاره برگ مو موجب افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) میزان ترکیبات فنولی در مقایسه با گروه شاهد (نیوزوم خالی) گردید. روند صعودی از غلظت ۱۰ تا ۲۵٪ نشان داد که میزان ترکیبات فنولی متناسب با درصد عصاره به‌صورت تدریجی افزایش یافته است. بیشترین مقدار فنول کل در تیمار

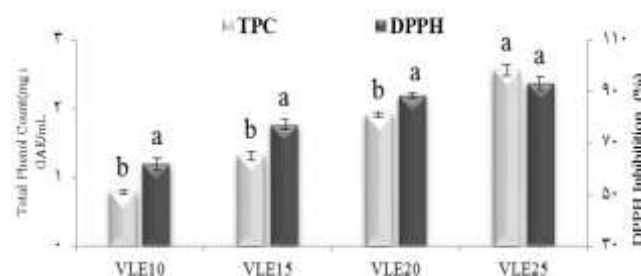


Figure2. Phenolic content and antioxidant activity of VLE. Different letters denote significant differences ($p < 0.05$).

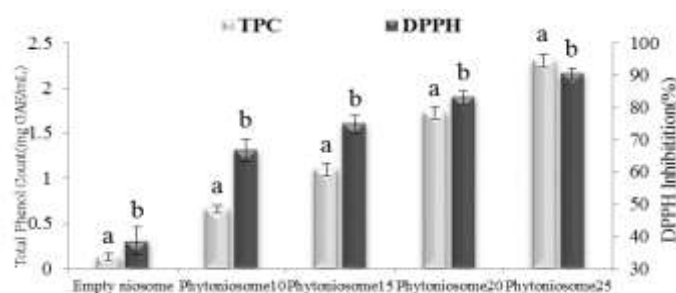


Figure3. Amount of phenolic compounds and percentage of free radical inhibition of nanocarriers and phyto-niosomes at different concentrations. Same letters indicate no significant difference at the confidence level of 5%.

یافته است که نشان می‌دهد با بالا رفتن میزان عصاره به دلیل افزایش بار محتوایی در نیوزوم، ذرات بزرگتر شوند. در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، افزایش اندازه ذرات نسبت به دمای اولیه کمتر است و موید آن است که دمای پایین‌تر موجب پایداری بیشتر فیتونیوزوم‌ها می‌شود. در دمای 30 درجه سانتیگراد بزرگترین اندازه ذرات در فیتونیوزوم با غلظت 25 درصد عصاره مشاهده می‌شود که افزایش اندازه و ناپایداری ذرات

2-3- درصد کارایی درون پوشانی و میانگین اندازه ذرات در VLE و فیتونیوزوم‌ها

همانطور که در شکل 4 و 5 مشاهده می‌گردد، اندازه ذرات در دمای اولیه نگهداری از حدود 120 نانومتر به 190 نانومتر در فیتونیوزوم با غلظت 25 درصد عصاره افزایش

افزایش دما باعث افزایش تحرک مولکولی و کاهش پایداری غشای فیتونیوزومها شده و منجر به ادغام یا تجمع ذرات و بزرگتر شدن اندازه آنها می‌شود، در دمای 30°C ، اندازه ذرات با افزایش درصد عصاره افزایش بیشتری نشان می‌دهد. تغییر اندازه ذره با تغییر دما از 4°C به 30°C در فیتونیوزوم 15 و 20 کمتر از سایر غلظت‌هاست.

را به دنبال دارد. غلظت‌های 10 تا 20 درصد در شرایط مختلف نگهداری، پایداری بهتری را نشان داده‌اند. نیوزوم فاقد عصاره به دلیل نداشتن ماده فعال غشای ناپایداری دارد و فیتونیوزوم با غلظت 25٪ در دمای بالا بیشترین افزایش سایز را دارد. همچنین فیتونیوزوم با غلظت 25٪ به دلیل اشباع لایه لیپیدی با ماده فعال و افزایش فشار اسمزی داخل نانوذره و تعامل ترکیبات فیتوشیمیایی که باعث تغییر ساختار می‌شود در دمای بالا ناپایدارتر است، در دمای اولیه در همه غلظت‌ها تغییر اندازه ذرات نسبتاً محدود است.

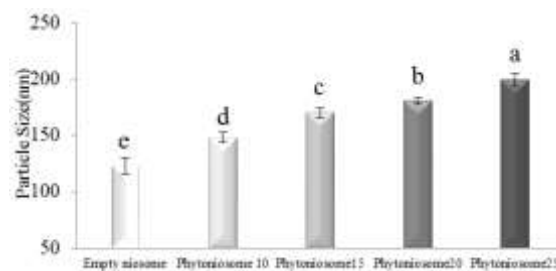


Figure 4. Average Particle Size (nm). Same letters indicate no significant difference at the confidence level of 5%.

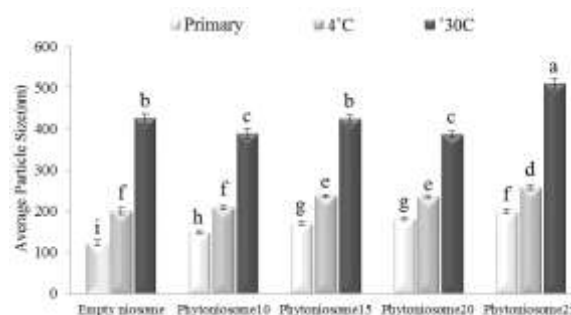


Figure 5. Average particle size (nm) at different storage temperatures. Same letters indicate no significant difference at the confidence level of 5%.

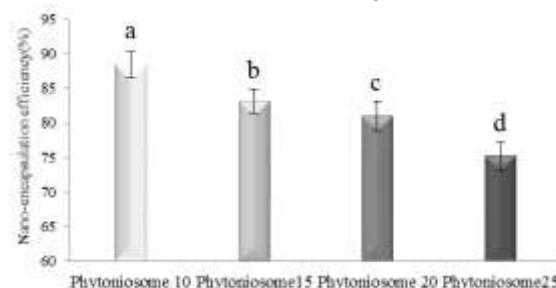


Figure 6. Nano-Encapsulation efficiency (%) of phytoniosomes at different concentrations, Same letters indicate no significant difference at the confidence level of 5%.

قابل توجهی منفی‌تر شد که این روند در شکل 7 نشان داده شده است و می‌تواند بیانگر جذب یا آرایش مولکول‌های دارای گروه‌های یونیزه‌شونده (مانند گروه‌های کربوکسیل یا فسفات) در سطح ذرات باشد که بار منفی سطح را افزایش می‌دهد. از لحاظ عملکردی، افزایش بار منفی می‌تواند بهبود

3-3- ارتباط درصد ماده فعال با تغییرات بار زتا و پایداری

فیزیکی فیتونیوزومها

در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش درصد ماده‌ی فعال در فرمولاسیون فیتونیوزومها (از 10 تا 25٪) مقدار ζ به‌طور

هیدروژنی و برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی) بین عصاره و ماتریس نانوذره دارد، که می‌تواند تأییدکننده فرآیند بارگذاری باشد، تمامی پیکهای موجود در عصاره و نیوزوم، در فیتونیوزوم نیز با شدت متفاوت دیده می‌شوند. برخی پیک‌های موجود در عصاره، در نمودار فیتونیوزوم محو شده‌اند که نشان‌دهنده به دام افتادن و پوشانده شدن ذرات عصاره توسط ماتریکس نیوزوم است.

پایداری فیزیکی کوتاه‌مدت را تسهیل کند و احتمال اتصال غیرخاص به غشاهای سلولی (که معمولاً منفی‌اند) را کاهش دهد. پتانسیل زتای منفی بالاتر به دلیل دافعه الکترواستاتیکی بین ذرات به طور معمول به پایداری کلونیدی بیشتر سیستم منجر می‌شود. مقایسه طیف‌ها در شکل ۸ نشان می‌دهد که در نانوذرات بارگذاری شده، جابه‌جایی پیک‌ها و تغییر شدت آن‌ها نسبت به نمونه‌های خالی و عصاره رخ داده است. این تغییرات دلالت بر وجود برهم‌کنش‌های شیمیایی (مانند پیوند

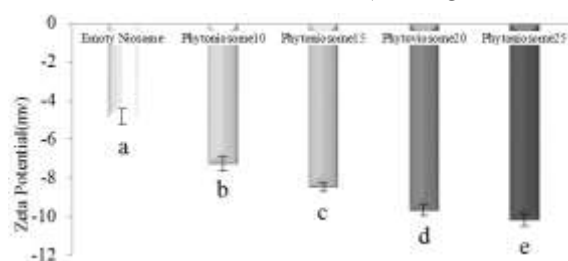


Figure7. Comparison of Zeta Potential of Empty Niosome and Phytoniosomes with Different Concentration. Different letters denote significant difference at the confidence level of 5%.

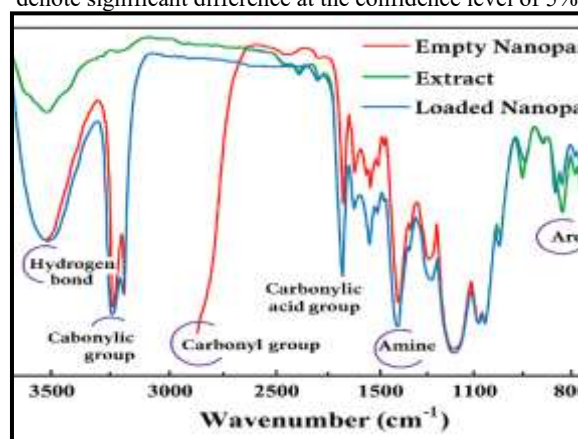


Figure8. Fourier-transform infrared spectroscopy

نشان‌دهنده محافظت نسبی ترکیب فعال در محیط اسیدی معده است. در محیط شبیه ساز روده (SIF)، روند آزادسازی سریع‌تر و گسترده‌تر بود؛ به طوری که در ۱ ساعت اول حدود $25.8 \pm 2.2\%$ از عصاره آزاد گردید. این مقدار تا ساعت ۸ به $63.9 \pm 3.3\%$ افزایش یافت و پس از ۲۴ ساعت به $79.6 \pm 2.9\%$ رسید که بیانگر آزادسازی مؤثر و کامل‌تر در شرایط قلیایی و آنزیمی روده می‌باشد.

3-4- نتایج آزادسازی عصاره برگ مو از نانوحامل‌های فیتونیوزومی

همانگونه که در شکل ۸ مشاهده می‌گردد، در محیط شبیه سازی شده معده (SGF)، روند آزادسازی عصاره به صورت تدریجی و نسبتاً کند بود به طوری که در ۱ ساعت اولیه فقط حدود $10.3 \pm 1.1\%$ از ترکیب آزاد شد. پس از ۸ ساعت، این مقدار به $28.7 \pm 2.5\%$ رسید و نهایتاً پس از ۲۴ ساعت، میزان آزادسازی به $36.4 \pm 3.0\%$ افزایش یافت که

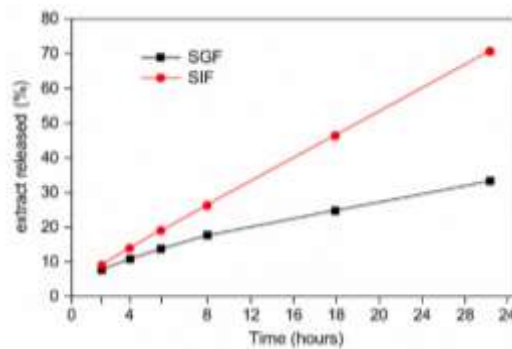


Figure9.The release profile of VLE extract under simulated gastric and intestinal conditions at different time intervals

بارگذاری شده با نانوذرات نیز افزایش TPC و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان دادند اما به دلیل آزادسازی کنترل شده ترکیبات فعال، مقادیر کمتری نسبت به عصاره خالص داشتند [12]. تغییرات جزئی pH و افزایش اسیدیته (TA) با افزودن عصاره و نانوذرات مشاهده شد که می تواند بر ثبات میکروبیولوژیکی و ویژگی های حسی محصول تأثیرگذار باشد [13]. میزان سینرسیس با افزایش عصاره به ویژه در غلظت های بالا افزایش یافت که احتمالاً به اختلال در ساختار ماتریکسی ناشی از تعامل ترکیبات فنولی با پروتئین ها مرتبط است؛ در حالی که نانوذرات باعث کاهش نسبی این اثر شدند [14].

3-5- ارزیابی تاثیر VLE و سامانه فیتونیوزمی بارگذاری شده بر پایداری ساختاری و ویژگی های فیزیکوشیمیایی ماست همزده

نتایج این بخش از مطالعه که در جدول 4 آمده است، نشان داد که افزایش غلظت عصاره گیاهی منجر به افزایش معنادار کل ترکیبات فنولی (TPC) از 0.39 ± 0.19 در نمونه شاهد به 0.98 ± 0.22 در نمونه با 25٪ عصاره شد، که این افزایش با تقویت فعالیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده توسط آزمون DPPH (تا 94٪ مهار رادیکال آزاد) همراه بود، مطابق یافته های مشابه در مطالعات قبلی [11]، نمونه های

Treatment	TPC	DPPH (%)	pH	TA (lactic acid %)	Syneresis (%)	color	smell	taste	texture	Overall
blank	0.39 ± 0.1	46 ± 14.7	3.69 ± 0.16	0.49 ± 0.09	12.75 ± 1.71	5 ± 0.5	4.9 ± 0.24	4.9 ± 0.28	4.9 ± 0.59	4.9 ± 0.3
extract (10%)	0.54 ± 0.1	68 ± 13.3	4.1 ± 0.17	0.59 ± 0.07	15.33 ± 1.73	4.8 ± 0.7	4.6 ± 0.21	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.6	4.9 ± 0.3
extract (15%)	0.71 ± 0.1	75 ± 14.1	4.15 ± 0.16	0.59 ± 0.09	16.53 ± 1.69	4.3 ± 0.7	4.7 ± 0.27	4.5 ± 0.25	4.4 ± 0.57	4.7 ± 0.28
extract (20%)	0.89 ± 0.1	91 ± 14.3	3.97 ± 0.16	0.61 ± 0.07	17.43 ± 1.73	3.6 ± 0.51	4.7 ± 0.24	4.5 ± 0.22	4 ± 0.55	4.3 ± 0.28
Extract (25%)	0.98 ± 0.22	94 ± 13	4.07 ± 0.16	0.73 ± 0.07	15.93 ± 1.75	3.6 ± 0.7	4.1 ± 0.23	4.3 ± 0.25	3.4 ± 0.5	4.1 ± 0.25
nanoparticle loaded (10%)	0.55 ± 0.1	63 ± 13.3	4.09 ± 0.17	0.43 ± 0.08	16.32 ± 1.74	4.8 ± 0.9	4.7 ± 0.21	4.7 ± 0.3	4.5 ± 0.5	4.6 ± 0.27
nanoparticle loaded (15%)	0.69 ± 0.1	70 ± 14	4.25 ± 0.17	0.56 ± 0.08	17.33 ± 1.65	4.5 ± 0.7	4.3 ± 0.27	4.5 ± 0.27	4.5 ± 0.59	4.2 ± 0.3
nanoparticle loaded (20%)	0.78 ± 0.2	79 ± 14.1	4.24 ± 0.15	0.48 ± 0.09	16.11 ± 1.9	4.3 ± 0.73	4.5 ± 0.23	4.2 ± 0.27	4 ± 0.57	4.3 ± 0.3
nanoparticle loaded (25%)	0.86 ± 0.2	82 ± 0.13	4.03 ± 0.16	0.5 ± 0.09	18.91 ± 1.74	4.1 ± 0.53	4.4 ± 0.21	4 ± 0.3	3.2 ± 0.6	3.9 ± 0.28

Table4.Comparison of Physicochemical and Sensory Parameters of Stirred Yogurt Samples under Various Treatments during the 21-day Storage.

این تحقیق در مدل حیوانی انجام شد و موش ها به گروه های مختلف تقسیم شدند و هر گروه ماست حاوی فیتونیوزوم با

6- ارزیابی تاثیر ماست هم زده حاوی نانوحامل در کاهش اشتها

برگ انگور بر تنظیم هورمون‌های گرسنگی مانند گرلین و لپتین است. گروه‌های با غلظت کمتر (10 و 15 درصد) تغییرات کمتری در وزن و اشتها داشتند که نشان‌دهنده وابستگی اثرات به دوز مصرفی است. کاهش اشتها و کاهش وزن مشاهده شده در گروه‌های با دوز بالاتر عصاره، احتمالاً ناشی از فعالیت بیولوژیکی ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی برگ انگور مانند رزوراترول، کاتچین و کوئرستین است. همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره می‌تواند به بهبود متابولیسم گلوکز و چربی کمک کرده و به افزایش سوخت‌وساز کمک کند و در نتیجه در کنترل وزن موثر باشد.

غلظت مشخصی از عصاره را دریافت کرد. مطابق با نتایج وزن‌گیری و سنجش اشتها طی دوره مصرف که در جداول 5 و 6 ارائه شده است، گروه کنترل بیشترین مصرف غذا را نشان می‌دهد، مصرف غذا در گروه دوم و سوم به ترتیب کاهش بیشتری داشته است به طوری که فیتونیوزوم حاوی عصاره برگ انگور باعث کاهش بیشتر اشتها و وزن نسبت به نمونه خالص عصاره شد که بیانگر افزایش جذب و پایداری بیشتر ترکیبات موثره در ساختار فیتونیوزوم است. گروه‌های دریافت‌کننده ماست با فیتونیوزوم‌های 20 و 25 درصد عصاره، کاهش وزن معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند که احتمالاً ناشی از اثرات بیولوژیکی ترکیبات فعال عصاره

Table 5. Mean Food Intake $\pm$ Standard Deviation in Different Experimental Groups

Group	Mean pellete Food Intake by Wistar rats $\pm$ SD (g/day)
Control (Stirred Yogurt).1	18.5 $\pm$ 1.1
Stirred Yogurt + Unencapsulated VLE .2	0.9 $\pm$ 15.5
.3Stirred Yogurt + Phytoniosomal VLE20%	13.3 $\pm$ 0.8

Table 6. Mean Body Weight Loss $\pm$ SD (g/week) in Experimental Groups

Group	Mean Body Weight Loss in Wistar rates $\pm$ SD(g/week)
Control (Stirred Yogurt).1	1.2 $\pm$ 0.4
Stirred Yogurt + Unencapsulated VLE Extract .2	2.8 $\pm$ 0.6
.3Stirred Yogurt + Phytoniosomal VLE20%	1.7 $\pm$ 0.5

فیتونیوزوم‌ها منجر به کاهش اشتها و کاهش وزن معنی‌دار در موش‌های آزمایشگاهی شد که بیانگر پتانسیل بالای این سیستم در بهبود اثرات عصاره‌های گیاهی است.

رها سازی آهسته و پایدار این ترکیبات در طول زمان، به حفظ اثرات طولانی‌مدت در کاهش اشتها و تنظیم متابولیسم کمک می‌کند. مصرف ماست هم زده به عنوان حامل فیتونیوزوم، مزیت‌هایی همچون طعم مناسب، محیط غذایی پذیرفتنی و خوش طعم، جذب بهتر و فراهم آوردن محیطی پایدار برای ذرات نانو در سیستم گوارش دارد. محتوای چربی و پروتئین ماست در تعامل فیزیوشیمیایی با فیتونیوزوم، نرخ

۴- نتیجه گیری

فناوری فیتونیوزوم می‌تواند به عنوان یک سیستم ریزپوشانده لیپیدی موثر جهت افزایش زیست‌دسترسی پذیری و بهبود کارایی عصاره‌های گیاهی در کاربردهای تغذیه‌ای و دارویی مورد استفاده قرار گیرد. این مطالعه نشان داد که فیتونیوزوم‌های تهیه شده از عصاره برگ انگور با غلظت‌های مختلف، به ویژه در غلظت 20 درصد، دارای ویژگی‌های فیزیکی مناسبی شامل اندازه ذرات مطلوب، پایداری سطحی و بازده جذب بالا هستند. مصرف ماست هم زده حاوی این

پژوهش یا محتوای علمی مقاله تأثیرگذار باشد، وجود ندارد. همچنین، هیچ رابطه یا منفعتی که ممکن است به عنوان عامل مؤثر بر قضاوت علمی نویسندگان تلقی شود، گزارش نشده است.

۳. بیانیه تأمین مالی

این پژوهش بدون دریافت کمک هزینه یا حمایت مالی اختصاصی از سوی سازمان های دولتی، مؤسسات تجاری یا سازمان های غیرانتفاعی انجام شده است. هزینه های مرتبط با اجرای پژوهش و تهیه مقاله از منابع در دسترس پژوهشگران تأمین شده و هیچ نهاد یا سازمان تأمین کننده مالی در طراحی مطالعه، جمع آوری و تحلیل داده ها، تفسیر نتایج یا تصمیم گیری در خصوص انتشار مقاله نقشی نداشته است.

۴. مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در مراحل مختلف انجام این پژوهش مشارکت داشته اند. مشارکت ها شامل ایده پردازی و طراحی مطالعه، اجرای آزمایش ها و جمع آوری داده ها، پردازش و تحلیل داده ها، تفسیر نتایج، تهیه پیش نویس اولیه مقاله و بازنگری علمی و ویرایشی نسخه نهایی بوده است. تمامی نویسندگان در بررسی محتوای علمی مقاله مشارکت داشته، نسخه نهایی را مطالعه و تأیید کرده اند و مسئولیت مشترک صحت و یکپارچگی محتوای علمی ارائه شده در مقاله را پذیرفته اند.

۵. بیانیه ملاحظات اخلاقی

تمامی پروتکل های آزمایشی مطابق با دستورالعمل های اخلاقی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گلستان (IR.GOUMS.REC.1404.110) انجام شد.

۶. بیانیه استفاده از هوش مصنوعی

در تهیه و نگارش این مقاله، از ابزارهای هوش مصنوعی مولد صرفاً به منظور کمک در ویرایش زبانی، بهبود ساختار و روان سازی متن استفاده شده است. محتوای علمی، طراحی پژوهش، انجام آزمایش ها، تحلیل و تفسیر نتایج و تصمیم گیری های علمی توسط نویسندگان انجام شده است. نویسندگان مسئولیت کامل صحت، اصالت و یکپارچگی

آزادسازی کنترل شده ترکیبات فعال را تسهیل می نماید. همچنین مصرف هم زمان پروبیوتیک های موجود در ماست ممکن است اثرات سینرژیک در بهبود متابولیسم انرژی و سلامت روده داشته باشد که این موضوع می تواند یکی از عوامل تقویت اثرات مشاهده شده باشد. پژوهش های پیشین نشان داده است که ترکیبات کومارین، استیلین، اسیدهای فنولی، فلاوون ها و فلاونوئیدها در تنظیم متابولیسم و وزن بدن دخیل هستند، ممکن است از طریق مکانیسم های مختلفی عمل کنند، به عنوان مثال در حالی که اسید وانیلیک از طریق فعال سازی مسیر AMPK چاقی را کاهش می دهد [18]. اسید گالیک از آسیب DNA ناشی از HFD محافظت می کند [11 و 12]. علاوه بر این اثر ضد چاقی سیرینجیک اسید با توانایی آن در مهار آدیپوژنز و تقویت لیپولیز در سلول های چربی و از طریق مکانیسم واسطه گری گونه های فعال اکسیژن (ROS) نشان داده شده است [20]. این تحقیق در مدل حیوانی انجام شده و نتایج آن ممکن است در انسان متفاوت باشد. همچنین، مکانیسم های دقیق مولکولی اثرات عصاره برگ انگور در قالب فیتونیوزوم نیازمند بررسی های بیشتر از جمله مطالعات ژنتیکی، بیوشیمیایی و بیوفارماکولوژیکی است. اثرات احتمالی جانبی و ایمنی مصرف بلندمدت این فرمولاسیون نیز باید در مطالعات بالینی انسانی در آینده مدنظر قرار گیرد.

۱. بیانیه دسترسی به داده ها

داده های به دست آمده و مورد استفاده در این پژوهش، شامل نتایج آزمایش های انجام شده و داده های حاصل از تحلیل های پژوهش، در اختیار نویسنده مسئول قرار دارد. داده های مرتبط با این مطالعه، در صورت درخواست منطقی و با رعایت ملاحظات مربوط به استفاده از داده ها، از طریق مکاتبه با نویسنده مسئول در دسترس پژوهشگران و سایر افراد ذی صلاح قرار خواهد گرفت.

۲. بیانیه تضاد منافع

نویسندگان اعلام می دارند که در ارتباط با انجام این پژوهش، تحلیل و تفسیر نتایج و انتشار مقاله حاضر، هیچ گونه تضاد منافع مالی، حرفه ای، شخصی یا سازمانی که بتواند بر روند

محتوای علمی مقاله را بر عهده دارند و تمامی بخش‌های نهایی مقاله توسط نویسندگان بررسی و تأیید شده است.

۵-منابع

- [1] Sarvghadi F, Rambod M, Hosseinpanah F, Hedayati M, Tohidi M, Azizi F. 2007. Prevalence of obesity in subjects aged 50 years and over in Tehran. *IranJ Endocrinol Metab*, 9(1), 99-104.
- [2] Westertep-Plantenga MS. 2010. Green tea catechins, caffeine and body-weight regulation. *Physiol Behav*. 100(1): 42-6.
- [3] Jung UJ, Choi MS. 2014. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*, 15(4)6184-223.
- [4] Gunes A, Guler E, Un R N, Demir B, Barlas FB, Yavuz M, Coskunol H and Timur S. 2017. Niosomes of Nerium oleander extracts: In-vitro assessment of bioactive nanovesicular structures. *J. Drug Deliv. Sci. Technol* 37: 158-65.
- [5] Imran, M., Shah, M. R., Ullah, Ullah. Elhissi, M, Nawaz, Ali, I. 2016. Glycoside-based niosomal nanocarrier for enhanced in-vivo performance of Cefixime. *International Journal of Pharmaceutics*, 505, 122–132.
- [6] Pando, D., et al. 2015. "Phytosomes: novel delivery systems for natural compounds." *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 6(3), 1-8.
- [7] Gupta, S., et al. 2020. "Phytosome technology: a potential approach for enhancing bioavailability of phytoconstituents." *Current Drug Delivery*, 17(2), 118-134..
- [8] Jakpa Wizi, Lu Wang, Xiuliang Hou, Yongying Tao. 2018. Ultrasound-microwave assisted extraction of natural colorants from sorghum husk with different solvents. *Industrial Crops & Products*, 120, 203–213.
- [9] Mohammadi, A., Jafari, S.M., Esfanjani, A.F., & Akhavan, S. 2016. Application of nanoencapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food Chemistry*, 190, 513–519.
- [10] Mousavi, S., Shahriari, A., Ahangarpur, A., Jellodar, A. 2011. The effect of ethyl acetate extract of *Colporea* plant on energy intake and obesity parameters in rats fed a sucrose-rich diet; *Razi Journal of Medical Sciences*. 83-82(83)18.
- [11] M. Tanaka, A. Sugama, K. Sumi, K. Shimizu, Y. Kishimoto, K. Kondo and K. Iida, 2020. Gallic acid regulates adipocyte hypertrophy and suppresses inflammatory gene expression induced by the paracrine interaction between adipocytes and macrophages in vitro and in vivo, *Nutr. Res.*, 73, 58–66
- [12] T. Setayesh, A. Nersesyan, M. Misik, R. Noorizadeh, E. Haslinger, T. Javaheri, E. Lang, M. Grusch, W. Huber, A. Haslberger and S. Knasmueller, 2019. Gallic acid, a common dietary phenolic protects against high fat diet induced DNA damage, *Eur. J. Nutr.*, 58, 2315–2326.
- [13] Asgharkhani E, Azarbayjani AF, Irani S, Chiani M, Saffari Z, Norouzian D, et al. 2018. Artemisinin-Loaded Niosome and Pegylated Niosome: Physico-Chemical Characterization and Effects on MCF-7 Cell Proliferation. *J Pharm Investig*; 48: 251-6.
- [14] Lotfizade Dehkordi, S., Shakerian, A., Mohammadi Nafchi, A. 2013. Effect of extract from *Tragopogon graminifolius* DC on properties sensory, shelf life and the viscosity rate yogurt. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)*, 4(1): 49-57. (In Persian)
- [15] Tavakoli, H., Hosseini, O., Jafari, S.M., Katouzian, I., 2018. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of yogurt enriched by olive leaf phenolics within nanoliposomes. *J. Agric. Food Chem.*
- [16] Lawless, H. T.; Heymann, H., 2010. Data relationships and multivariate applications. In *Sensory evaluation of food*; Springer; pp 433–449.
- [17] David, J. 2016. Studies on organoleptic evaluation and cost analysis of fruit yoghurt prepared from different levels of milk and strawberry pulp. *Pharma Innovation*, 5 (1), 96.
- [18] Y. Jung, J. Park, H.-L. Kim, J.-E. Sim, D.-H. Youn, J. Kang, S. Lim, M.-Y. Jeong, W. M. Yang, S.-G. Lee, K. S. Ahn and J.-Y. Um, 2018, Vanillic acid attenuates obesity via activation of the AMPK pathway and thermogenic factors in vivo and in vitro, *FASEB J.*, 32, 1388–1402.
- [19] M. Parandoosh, R. Yousefi, H. Khorsandi, O. Nikpayam, A. Saidpour and H. Babaei,

2020. The effects of grape seed extract (*Vitis vinifera*) supplement on inflammatory markers, neuropeptide Y, anthropometric measures, and appetite in obese or overweight individuals: A randomized clinical trial, *Phytother. Res.*, 34, 379–387.
- [20] P. Dalmagro, A. Camargo and A. L. Bertarello Zeni, 2017. *Morus nigra* and its major phenolic, syringic acid, have antidepressant-like and neuroprotective effects in mice, *Metab. Brain Dis.*, 32, 1963–1973.
- [21] Gambuti, A., Picariello, L., Rinaldi, A., Forino, M., Blaiotta, G., Moine, V., & Moio, L. 2020. New insights into the formation of precipitates of quercetin in Sangiovese wines. *Journal of Food Science and Technology*, 57(7), 2602–2611.
- [22] Kang, E., Hwang, H.-J., & Lee, J.-H. 2023. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) leaves for bioactive compounds. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1290619.
- [23] Wang, S., Rasane, P., Kaur, R., Kaur, H., Garg, R., Kaur, S., Ercisli, S., Choudhary, R., Skrovankova, S., & Mlcek, J. 2023. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) leaves for bioactive compounds. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1290619.
- [24] Hosseini, R., Bhutani, M., Gaur, S., Shams, R., & Dash, K. K. 2025. Valorization of grape by-products: Insights into sustainable industrial applications. *Future Foods*, 12, 100710.



Scientific Research

Formulation of Grape Leaf Extract (*Vitis vinifera*) Phytoniosomes and Evaluation of Their Effects in Enriched Stirred Yogurt on Appetite Suppression and Weight Reduction in Rats on a Normal Diet

Nahid Alidosti Shahraki^{1*}, Mohammad Ghorbani², Mohammad Ghorbani³, Hoda Shahiri⁴

1- PhD student in Food Chemistry, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources*.

2- PhD in Food Chemistry, Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

3- Alireza Sadeghi Mahonak PhD in Food Chemistry, Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

4- PhD in Food Chemistry, Assistant Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2025/09/09

Review: 2025/10/13

Accepted: 2025/10/18

Keywords:

Microencapsulation,

Lactobacillus rhamnosus,

Milk Protein Concentrate,

Viability,

Orange Juice

DOI: 10.48311/fsct.2026.84094.0

*Corresponding Author E-

alidousti.343634@gmail.com

Microencapsulation technology is a novel approach to enhancing bacterial resistance against environmental, chemical, and gastrointestinal stresses. In this study, milk protein concentrate (MPC) was used as a wall material due to its strong biological and protective properties. The aim was to evaluate the effect of this material, combined with transglutaminase enzyme, on the survival of *Lactobacillus rhamnosus* in the acidic environment of orange juice. Four samples were prepared: S1 (plain orange juice), S2 (protein + bacteria), S3 (protein + bacteria + enzyme), and S4 (protein + enzyme). During storage, samples were analysed for bacterial viability, antioxidant activity, pH, titratable acidity, vitamin C, reducing sugar, total phenolic content, color, FTIR spectra, and molecular weight. The results showed that sample S3 exhibited the best performance with a viability of 5.5×10^7 CFU/mL, antioxidant activity of 68.5%, and acidity of 4.4%, along with a pH of 3.6. In contrast, sample S4 showed the lowest viability (3.8×10^7 CFU/mL) and vitamin C content (32.3 mg/L). Sample S2 had the highest total phenolic content (14.7 mg GAE/mL) and the lowest reducing sugar (9.07 mg/mL). During storage, vitamin C, reducing sugars, and phenolics decreased, whereas acidity and antioxidant activity increased. Samples containing bacteria showed higher vitamin C and acidity, while those with the enzyme exhibited higher reducing sugar content. FTIR analysis confirmed the presence of carbonyl, methyl, and amine functional groups. Sample S2 showed decreased molecular weight and increased solubility, indicating effective interactions between bacteria and protein.