

ارزیابی خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی نانولیپوزوم حاوی اسانس مریم‌گلی (*Salvia multicaulis*)

ساسان قره‌نقده^۱، حمیدرضا صمدلوئی^{۲*}، محمود صوتی خیابانی^۳، حامد همیشه کار^۴،
رضا رضایی مکرّم^۵

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود
 - ۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود
 - ۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
 - ۴- دانشیار، مرکز تحقیقات دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
 - ۵- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
- (تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۸)

چکیده

امروزه اسانس مریم‌گلی (*Salvia multicaulis*) به دلیل دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی جهت افزودن به سامانه‌های غذایی و زیستی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. استفاده از این اسانس‌ها به صورت آزاد برای نگهداری مواد غذایی عموماً به دلیل محلولیت پایین در آب، فشار بخار بالا و ناپایداری فیزیکی و شیمیایی با دشواری‌هایی همراه است. یکی از روش‌های کاهش این محدودیت‌ها، ریزپوشانی اسانس‌ها در حامل‌های لیپیدی از جمله نانولیپوزوم‌ها است. از اینرو هدف از این پژوهش درون‌پوشانی اسانس مریم‌گلی در نانولیپوزوم‌ها و بررسی خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی این اسانس می‌باشد. در این مطالعه نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس مریم‌گلی، با استفاده از نسبت‌های مشخصی از لستین و کلسترول (۹۰-۰، ۸۰-۱۰، ۷۰-۲۰ میلی‌گرم) به روش هیدراسیون لایه نازک و سونیکاسیون تولید شدند. تعیین اندازه و توزیع ذرات و همچنین پایداری فیزیکی نانولیپوزوم‌ها از لحاظ اندازه در طی زمان با استفاده از پراکندگی نور پویا (DLS) و کارایی درون‌پوشانی به روش اسپکتروفوتومتری مورد بررسی گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازین و برای خاصیت ضد میکروبی روش میکروداپلوشن به کار گرفته شد. نتایج نشان داد که اندازه ذرات و توزیع اندازه ذرات به ترتیب در محدوده ۸۸-۸۲ و ۰/۳۹-۰/۴۲ بود. کارایی درون‌پوشانی اسانس مریم‌گلی در همه فرمولاسیون‌ها بالای ۷۰٪ و نانولیپوزوم‌های حاصل به مدت ۱ ماه پایدار بودند. اسانس مریم‌گلی درون‌پوشانی شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خاصیت ضد میکروبی بیشتری علیه تمامی میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با اسانس آزاد نشان داد. این تحقیق نشان داد که خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس درون‌پوشانی شده در لیپوزوم در مقایسه با حالت آزاد اختلاف معنی داری داشت.

کلید واژگان: اسانس مریم‌گلی، نانولیپوزوم، هیدراسیون لایه نازک، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی

* مسئول مکاتبات: hsamadlouie@yahoo.com

۱- مقدمه

در گیاهان ترکیبات شیمیایی زیادی مانند متابولیت‌های ثانویه وجود دارد که دارای خواص زیست فعالی و بیوشیمیایی بسیاری هستند که این ترکیبات ثانویه در صنایع مختلف دارویی، شیمیایی، آرایشی و بخصوص صنعت غذا کاربرد دارند [۱]. اخیراً این ترکیبات به علت اثرات ضد میکروبی و مهار کننده رادیکال‌های آزاد مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند [۲]. از طرفی در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی به جایگزینی نگهدارنده‌های شیمیایی با نگهدارنده‌های طبیعی در محصولات خود توجه زیادی نموده‌اند و در این زمینه تحقیقات زیادی در مورد اثرات ضدباکتریایی و نگهدارندگی اسانس‌های گیاهی انجام شده است (۳). اسانس‌ها و عصاره‌های حاصل از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات ضد میکروبی، ضدسرطانی، ضدقارچی و آنتی-اکسیدانی از توان بسیار بالایی جهت به کارگیری به عنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی جدید در محافظت غذاهای خام و فرآوری شده برخوردار می‌باشند [۴ و ۵]. بنابراین می‌توان با پیوند دادن گیاهان دارویی و خواص سلامتی بخش آن‌ها با صنعت غذا نه تنها سلامت مصرف کننده را تضمین کرد؛ بلکه با وجود ترکیبات معطر در ترکیبات ثانویه گیاه، باعث بهبود عطر و طعم غذا و رضایتمندی مصرف کننده شد [۶]. جنس مریم‌گلی (*Saga*) یکی از بزرگترین و مهم ترین جنس‌های معطر و دارویی از خانواده نعناع بوده و دارای حدود ۹۰۰ گونه، گسترده در سراسر جهان می‌باشد (۷)، که ۱۷ گونه آن مختص ایران بوده و رویشگاه اصلی آن در ایران می‌باشد [۸]. در بین گونه‌های مختلف مریم‌گلی، *Salvia multicaulis* یکی از گونه‌های بومی ایران می‌باشد که از پراکندگی زیادی در سراسر جهان و به طور خاص در منطقه مدیترانه برخوردار است. وجود ترکیبات شیمیایی مختلف در اسانس آن باعث شده این گیاه در درمان بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار گیرد. [۹]. خاصیت آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس *Salvia multicaulis* طی پژوهش‌های مختلف به اثبات رسیده است. نتایج یک بررسی نشان داد که اسانس این گونه مریم‌گلی به علت وجود ترکیبات ۱/۸ سینئول، آلفا-پنتن و کامفور دارای اثرات ضد میکروبی مثبتی روی باکتری‌های پاتوژن می‌باشد در این مطالعه هم چنین مشاهده

شد که اسانس فوق دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بوده به طوری که اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس این گیاه از آنتی-اکسیدان‌های سنتزی مثل کورکومین، آسکوربیک اسید و BHT بیشتر است [۱۰]. اما استفاده از اسانس‌ها در مواد غذایی به علت پایداری و حلالیت پایین و طعم نامطلوب آن‌ها با محدودیت‌هایی همراه است. بنابراین تلاش‌های برای یافتن روش‌های جدیدی که باعث کاهش مقدار اسانس مصرفی لازم به گونه‌ای که هم خواص بیولوژیکی (ضدمیکروبی، ضد قارچی، آنتی‌اکسیدانی) آن‌ها حفظ شود، هم طعم و مزه غذا مطلوب باشد صورت گرفته است از جمله این روش‌ها درون پوشانی (انکپسوله کردن) اسانس‌های روغنی و ترکیبات آن‌ها می‌باشد [۱۱]. درون پوشانی، تکنولوژی به دام انداختن مواد جامد، مایع یا گازی در کپسول-هایی که محتویات خود را در سرعت‌های کنترل شده و تحت شرایط ویژه آزاد می‌کنند، می‌باشد [۱۲]. لیپوزوم‌ها یکی از مهمترین حامل‌های لیپیدی هستند که می‌توانند برای درون پوشانی ترکیبات نوتریسیوتیکال (غذا-دارو) مورد استفاده قرار گیرند. لیپوزوم‌ها ذرات کروی با یک یا چند غشای دولایه هستند که از تجمع مولکول‌های چربی یا فسفولیپیدی و با صرف انرژی در محیط آبی تشکیل می‌شوند. از جمله مزیت‌های لیپوزوم‌ها نسبت به دیگر روش‌های ریزپوشانی پایداری انتقال لیپوزوم‌ها به مواد محلول در آب در کار با محیط‌های با فعالیت آبی بالاست [۱۳].

گورتزی و همکاران (۲۰۰۸)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی گیاه مورد (*Myrtus communis*) قبل و بعد از درون پوشانی در لیپوزوم را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعات بالا بودن فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره کپسوله شده در لیپوزوم را نسبت به عصاره آزاد نشان داد (۱۴). لیویوس و همکاران (۲۰۰۹)، نیز اجزای اصلی روغن‌های اسانسی بدست آمده از *Oaiganum dictamnus* را شناسایی و آن‌ها را داخل لیپوزوم‌های با پایه فسفاتیدیل کولین درون-پوشانی کردند و مشاهده کردند که فعالیت ضد میکروبی و آنتی-اکسیدانی این ترکیبات بعد از درون پوشانی نسبت به ترکیبات خالص افزایش یافت [۱۵].

با توجه به اهمیت اسانس‌ها در تولید مواد غذایی با ایمنی بالا و گسترش محصولات مفید جدید در صنایع غذایی هدف از این پژوهش، تولید نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس مریم‌گلی (*Salvia*

کردن لیپوزوم‌های چند لایه‌ای و تبدیل آن‌ها به لیپوزوم‌های تک لایه نمونه‌ها توسط هموژنایزر (شرکت Heidolph، کشور آلمان) با دور ۲۰۰۰۰ rpm و در دمای بالاتر از انتقال فاز لیپوزومی به مدت ۱۰ دقیقه هموژنایزر شدند. در نهایت با استفاده از دستگاه سونیکاتور پروب‌دار (Materials & Sonics، vibracell، کشور انگلستان) ریز کردن لیپوزوم‌ها در مدت ۵ دقیقه، طی ۵ چرخه‌ی ۱ دقیقه‌ای با فاصله ۱ دقیقه استراحت انجام شد. به این صورت لیپوزوم‌های تک‌لایه‌ای در مقیاس نانومتریک تولید شدند [۱۸].

تعیین اندازه و توزیع اندازه ذرات

اندازه‌گیری اندازه قطرات و توزیع اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها توسط پراکنندگی نور پویا^۴ (مدل Nanophox Sympatec GmbH، ساخت آلمان) در دمای ۲۵ °C تعیین شد. نمونه‌ها با آب دی‌یونیزه شده رقیق شدند تا تعداد ذرات محدوده‌ای مشخص (بین ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ kCPS) داشته باشند [۱۹].

تعیین کارایی درون پوشانی

برای تعیین کارایی درون پوشانی ابتدا منحنی کالیبراسیون توسط غلظت‌های مختلف اسانس مریم گلی رسم شد. برای اندازه‌گیری کارایی درون پوشانی مقدار ۰/۵ ml از نانولیپوزوم با ۳/۵ ml اتانول ۵۰٪ رقیق شد. این نمونه‌ها درون فیلتر آمیکون ریخته شد و سپس در سانتی‌یفوژ با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و جذب نمونه فیلتر شده در طول موج ۲۶۰ nm خوانده شد و در نهایت کارایی درون پوشانی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۲۰]:

$$100 \times \frac{\text{مقدار اسانس آزاد} - \text{مقدار کل اسانس اضافه شده}}{\text{مقدار کل اسانس اضافه شده}} = \text{کارایی درون پوشانی}$$

بررسی پایداری درون پوشانی

پایداری بلند مدت نانولیپوزوم‌های تولید شده با اندازه‌گیری تغییرات در اندازه ذرات و همچنین ظاهر آن‌ها در طی نگهداری در دمای آزمایشگاه (تقریباً ۲۵ °C) به مدت ۳۰ روز بررسی شد. بدین منظور اندازه ذرات نانولیپوزوم‌های تولید شده در روزهای اول، پانزدهم و سی‌ام با استفاده از دستگاه DLS اندازه‌گیری شد.

multicaulis) با روش هیدراسیون لایه نازک-سونیکاسیون و بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

مواد

فسفولیپید (ال-آلفا- لسیتین گرانولار با درجه خلوص ۹۹٪ (شرکت Across، آمریکا)، کلسترول با درجه خلوص ۹۵٪ (شرکت Merck، آلمان)، ۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل-هیدرازیل (DPPH) (شرکت Sigma، آمریکا)، کلروفرم، متانول، محیط کشت‌های نوترینت آگار، مولر هیتون آگار و نوترینت برات (شرکت Merck، آلمان) تهیه شدند. باکتری‌های مورد مطالعه شامل باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*^۱ (ATCC 25923) و گرم منفی *اشرشیا کولی*^۲ (ATCC 25922) و نمونه فارچی کاندیدا آلیکنس^۳ از مرکز کلسیون میکروبی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه تبریز تهیه شدند. گیاه مریم گلی نیز از مناطق آذربایجان غربی (شهرستان نقده) چیده شد.

استخراج اسانس مریم گلی

به منظور تهیه اسانس مریم گلی ابتدا گیاه مذکور خرد شده و اسانس‌گیری از آن با روش تقطیر با بخار آب به وسیله‌ی دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت صورت گرفت. آب‌گیری از اسانس به وسیله‌ی افزودن اندکی سدیم سولفات انجام شد [۱۶].

تهیه نانولیپوزوم از اسانس مریم گلی

جهت تهیه لیپوزوم‌ها از نسبت‌های مختلف لسیتین-کلسترول (۷۰-۲۰، ۸۰-۲۰ و ۹۰-۱۰ میلی‌گرم) استفاده گردید. لیپوزوم‌های چند لایه‌ای بر اساس روش آب پوشانی لایه نازک تهیه شدند (۱۷)، به این منظور ابتدا نسبت‌های مختلف لسیتین و کلسترول با توزین دقیق و افزودن حلال‌های کلروفرم و متانول (با نسبت ۲ به ۱) کاملاً حل شدند. لایه نازک با تبخیر حلال در دستگاه روتاری (شرکت Heidolph، کشور آلمان) با سرعت ۱۴۰ rpm و دمای ۵۰ °C تشکیل یافت و سپس با افزودن اسانس و ۱۰ ml آب مقطر عمل هیدراسیون انجام شد. در انتها نیز به منظور ریز

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Escherichia coli*
3. *Candida albicans*

4. Dynamic light scattering (DLS)

تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی

اثر آنتی اکسیدانی با استفاده از روش اندازه گیری کاهش ظرفیت رادیکالی⁵ به کمک ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه های فنیل در ساختار آن، به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی-اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می دهد. در این تست از DPPH به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار استفاده گردید. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس قبل و بعد از کپسولاسیون ارزیابی شد. ابتدا محلول ۰/۰۰۸٪ DPPH با متانول تهیه شد. رقت های مختلف نانولیپوزوم و اسانس هم با متانول تهیه شد. و جذب نوری نمونه ها پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق، در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. درصد احیاکنندگی رادیکال های آزاد DPPH توسط رابطه زیر محاسبه شد:

$$100 \times \frac{\text{جذب نمونه ها} - \text{جذب نمونه کنترل}}{\text{جذب نمونه کنترل}} = \text{بازدارندگی درصد}$$

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس قبل و بعد از درون پوشانی به (غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰٪ IC₅₀ صورت مقدار بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می شود) اندازه گیری شد. این RSC مقدار، به وسیله آنالیز همبستگی خطی حاصل از مقادیر برای غلظت های مختلف نمونه، تعیین شد (۲۱).

تعیین خاصیت ضد میکروبی

سنجش حداقل غلظت بازدارندگی^۶ و حداقل غلظت کشندگی^۷ با روش میکرو دایلوشن

برای تعیین این غلظت از روش رقت سازی در پلیت ۹۶ خانه استفاده شد. بدین منظور محلول استوک اولیه از ماده ی مورد بررسی (نانولیپوزوم و اسانس) با غلظت ۱۰۰۰۰ μg/ml با استفاده از محیط کشت نوترینت برات تهیه شد. سری رقتی از نمونه های نانولیپوزوم و اسانس در نوترینت برات تهیه شد (۱۰۰۰۰ μg/ml-۱۹/۵۳) با حجم ۱۰۰ μl.

5. radical scavenging capacity
6. MIC
7. MBC

سوسپانسیونی از کشت تازه (۲۰-۱۸ ساعته) باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرسیا کلی و نمونه قارچی کاندیدا آلبیکنس در سرم فیزیولوژی تهیه و کدورت آن ها با لوله ی نیم مک فارلند تنظیم شد. این سوسپانسیون ها به نسبت ۱:۱۰۰ با نوترینت برات رقیق شدند و سپس ۱۰۰ μl از آن ها به هر چاهک اضافه گردید. به این ترتیب در هر چاهک ۱ × ۱۰^۶ CFU/ml -۰/۵ باکتری مورد سنجش وجود داشت. با اضافه شدن سوسپانسیون باکتری، غلظت نهایی ماده ی مورد بررسی در هر چاهک نصف می شد. پس از گرمخانه گذاری، چاهک ها از لحاظ داشتن کدورت بررسی شده و اولین چاهک بدون کدورت به عنوان کمترین غلظت مهار کننده ی رشد، تعیین و بر اساس μg/ml ثبت شد. سپس از هر یک غلظت های پایین تر از MIC، میزان ۵ میکرو لیتر برداشته و در پلیت های حاوی محیط کشت، کشت سطحی کرده و مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷°C قرار داده شد. سپس رشد و عدم رشد باکتری ها بررسی شد، اولین غلظتی که در آن عدم رشد مشاهده گردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد [۲۲].

روش آماری

آزمون های فیزیکی و شیمیایی بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. برای تحلیل داده ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین های دانکن در سطح ۵٪ استفاده شد. نرم افزار آماری SPSS ۱۶ در تحلیل داده ها مورد استفاده قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

اندازه و توزیع اندازه ذرات

در این مطالعه به منظور یافتن فرمولاسیون بهینه جهت بررسی خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی نانولیپوزوم حاوی اسانس مریم گلی از غلظت های مختلف لستین-کلاسترول (۹۰-۰، ۸۰-۱۰، ۷۰-۲۰ میلی گرم) استفاده شد. نتایج مربوط به متوسط قطر حجمی و توزیع اندازه ذرات در غلظت های مختلف لستین به ترتیب در محدوده ۸۲-۸۸ و ۰/۳۹-۰/۴۲ نانومتر قرار دارند (جدول ۱). همچنین اثر غلظت های مختلف لستین-کلاسترول بر

توزیع اندازه ذرات معنی‌دار نبود اما تیمارهای مختلف از لحاظ اندازه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0/05$).

جدول ۱ تاثیر غلظت‌های مختلف لسیتین-کستروول بر اندازه و توزیع ذرات نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس مریم‌گلی (حروف مشابه

نشان دهنده عدم وجود اختلاف در سطح ۰/۰۵٪ در آزمون دانکن است)

تیمار	غلظت لسیتین-کستروول (میلی‌گرم)	میانگین قطر حجمی (نانومتر)	توزیع اندازه ذرات
۱	۰-۹۰	$82/87 \pm 1/53^a$	$0/42 \pm 0/020^a$
۲	۱۰-۸۰	$85/74 \pm 1/27^b$	$0/39 \pm 0/015^a$
۳	۲۰-۷۰	$88/82 \pm 0/30^c$	$0/40 \pm 0/005^a$

باشد، که سبب پایداری بیشتر در برابر پدیده ناپایداری از نوع رسیدگی اسوالد می‌شود.

کارایی درون‌پوشانی

درصد درون‌پوشانی با توجه به منحنی استاندارد اسانس مریم‌گلی (شکل ۱) محاسبه شد. نتایج مربوط به میزان درون‌پوشانی فرمولاسیون‌های مختلف در شکل ۲ آورده شده است که در محدوده ۷۳-۸۵٪ قرار دارند. طبق نتایج اثر غلظت‌های مختلف لسیتین-کستروول بر کارایی درون‌پوشانی نمونه‌های لیپوزومی معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

بیشترین میزان کارایی درون‌پوشانی مربوط به تیمار فاقد کستروول و حاوی ۹۰mg لسیتین بود که مقدار آن $85/03 \pm 0/75$ درصد بدست آمد. افزایش غلظت کستروول به دلیل فشرده کردن ساختمان لیپوزوم باعث کاهش کارایی درون‌پوشانی شد به طوری که تیمار حاوی ۷۰mg لسیتین و ۲۰mg کستروول دارای کمترین میزان درون‌پوشانی بود که مقدار آن به ۷۳٪ رسید. نتایج این پژوهش با نتایج وینکسون و همکاران مطابقت داشت مطابق داشت به طوری که افزودن کستروول باعث کاهش کارایی درون‌پوشانی با فشرده کردن ساختار لیپوزوم‌ها می‌شود [۲۸]. لاریدی و همکاران نیز مشاهده کردند که طبیعت زنجیره‌های فسفولیپید از اهمیت بسیاری در دستیابی به کارایی بالای درون‌پوشانی نایسین Z برخوردار است. در این مطالعه همچنین مشاهده شد افزایش غلظت کستروول تا ۲۰٪ وزنی-وزنی در لیپوزوم‌ها منجر به کاهش کارایی درون‌پوشانی نایسین Z گردید [۲۹].

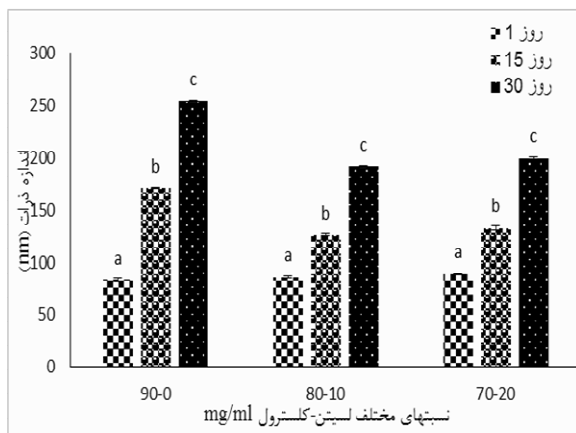
گزارش‌های مختلف و متضادی در مورد اثر کستروول بر اندازه لیپوزوم‌ها ارائه شده‌اند. ویرایوج و همکاران (۲۰۰۹)، در مطالعه‌ای که به منظور بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی نانولیپوزوم‌های حاوی گاما اوریزانول انجام دادند، مشاهده کردند افزودن کستروول به لسیتین سبب کاهش اندازه ذرات از ۷۲ به ۶۳ نانومتر شد [۲۳]. در این تحقیق افزودن کستروول سبب تغییر مشخصی در اندازه ویزیکول‌ها شد که می‌تواند به این دلیل باشد که قرارگیری کستروول در ساختار لیپوزومی باعث افزایش تراکم مولکول‌های فسفولیپید و سفتی ساختار لیپوزومی و در نتیجه افزایش اندازه ذرات شده است [۲۴]. در تطابق با پژوهش جاری، مالهیروس و همکاران (۲۰۰۸)، با درون‌پوشانی کردن نایسین و ماده‌ی شبه باکتریوسین بنام p34 در لیپوزوم مشاهده کردند که افزودن کستروول تاثیری بر توزیع اندازه ذرات نداشت اما باعث افزایش قطر ویزیکول‌ها گردید [۲۵]. فریسکن و همکاران (۲۰۰۸)، نیز از روش اکستروژن برای تولید ویزیکول‌های لیپوزومی متشکله از دی‌پالمیتوئیل فسفاتیدیل-کولین استفاده کرده و گزارش کردند که افزودن کستروول منجر به افزایش اندازه ذرات شد ولی تغییری در توزیع اندازه ذرات ایجاد نکرد [۲۶].

توزیع اندازه ذرات یکی از عوامل مهم در پایداری فیزیکی نانوحامل‌هاست. محدوده ۰/۱ - ۰/۲۵ توزیع اندازه ذرات بسیار باریک را نشان می‌دهد. محدوده اندازه ذرات بالاتر از ۰/۵ نشان دهنده پهن بودن توزیع اندازه ذرات است. توزیع اندازه ذرات در این مطالعه برای هر سه تیمار کمتر از ۰/۵ بود که با نتایج راستی و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت [۲۷]. باریک بودن توزیع اندازه ذرات نشان دهنده همگن بودن سیستم‌های کلوئیدی می‌-

پایداری درون پوشانی

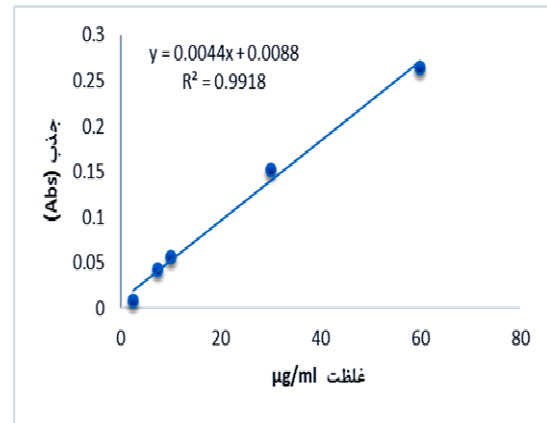
برای سنجش پایداری نانوحامل‌ها از چند روش می‌توان استفاده کرد. از جمله این روش‌ها اندازه گیری اندازه ذرات بعد از گذشت زمان، اندازه گیری پتانسیل زتا، اندازه گیری میزان رهایش نانوحامل در طول زمان و ارزیابی ظاهر نانوحامل از نظر دوفاز شدن یا تخریب ساختار به هر نحو دیگر با گذشت زمان را می‌توان نام برد. در بین این موارد اندازه‌گیری اندازه ذرات رایج‌تر است. در این پژوهش نیز جهت بررسی پایداری فیزیکی نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس مریم گلی از اندازه ذرات در طول زمان استفاده شد.

با توجه به شکل ۳ اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها پس از یک ماه نگهداری پایداری خوبی نشان دادند، به طوریکه این افزایش در اندازه ذرات طبیعی در نظر گرفته می‌شود. همان طوری که ملاحظه می‌شود، اندازه ذرات تمامی فرمولاسیون‌ها در طی زمان اختلاف معنی‌داری نشان داد.

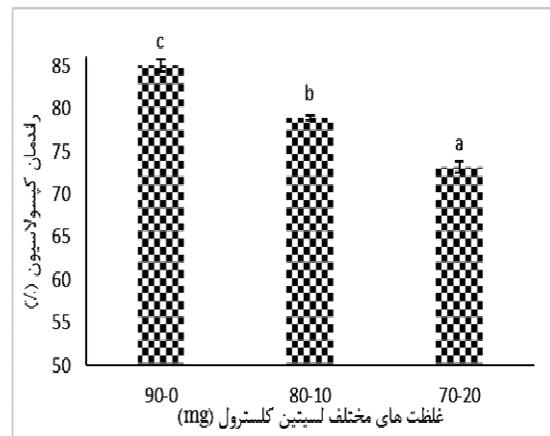


شکل ۳ اندازه ذرات در غلظت‌های مختلف لستین به کلسترول (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ درآزمون دانکن است).

به علت اینکه چگالی لیپیدهای قطبی (ماده اصلی تشکیل دهنده لیپوزوم‌ها) به چگالی آب نزدیک است پدیده تفکیک گرانثی که عامل مهمی در ناپایداری فیزیکی نانوامولسیون‌ها به شمار می‌آیند،

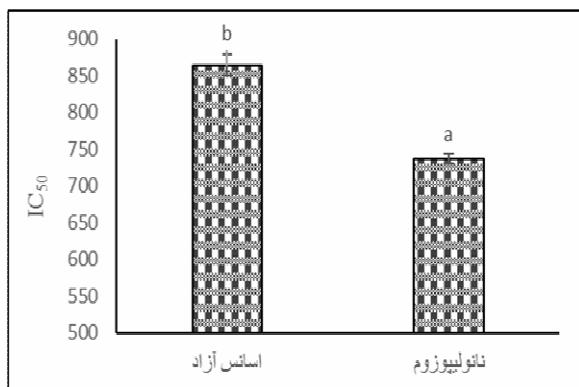


شکل ۱ منحنی استاندارد جهت تعیین غلظت اسانس مریم گلی کپسوله شده



شکل ۲ تأثیر تغییر غلظت لستین-کلسترول بر کارایی درون پوشانی (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد)

با توجه به شکل ۲ کارایی درون پوشانی در همه نمونه‌ها بالاست، که بالا بودن مقدار آن دلایل متعددی می‌تواند داشته باشد و ماهیت چربی دوستی یا آب دوستی ماده زیست فعال از جمله مهمترین این دلایل می‌تواند باشد. به طور کلی ترکیبات آب‌گریز در مقایسه با ترکیبات آب‌دوست کارایی درون پوشانی بالاتر و سرعت رهایش پایین‌تری دارند (۳۰). در این مطالعه نیز با توجه به اینکه اسانس مریم‌گلی به کار رفته ماهیتی آب‌گریز دارد در نتیجه در طی درون پوشانی در میان غشای دولایه‌ای قرار می‌گیرند و در نتیجه به علت کم بودن پدیده انتشار، از ساختار لیپوزوم نشت پیدا نمی‌کند [۳۱].



شکل ۴ نتایج تست آنتی‌اکسیدانی (حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف در سطح ۵٪ در آزمون دانکن است).

نتایج این پژوهش با نتایج نودوست و همکاران مطابقت داشت به طوری مشاهده شد خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز در حالت درون‌پوشانی در لیپوزوم به دلیل پراکندگی بیشتر در محیط نسبت به حالت آزاد بیشتر بود [۳۷]. مایتی و همکاران نیز، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر کمپلکس کورکومین-فسفولیپید نسبت کورکومین آزاد را مشاهده کردند [۳۸]. در نتیجه می‌توان گفت که در پژوهش حاضر فسفولیپید شرکت کننده در ساختمان لیپوزوم تمایل به واکنش با رادیکال‌های آزاد دارد و باعث احیای رادیکال‌های آزاد DPPH شدند در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم‌گلی در حالت کپسوله شده بیشتر از حالت آزاد بود.

خاصیت ضد میکروبی

با توجه به نتایج قابل قبول اسانس مریم‌گلی در از بین بردن باکتری‌های پاتوژن یا عامل فساد مواد غذایی و تمایل به تولید مواد نگهدارنده طبیعی، تلاش برای افزایش اثرات اسانس مریم‌گلی به شیوه‌های گوناگونی دیده می‌شود. بدین منظور در این مطالعه اثر نانولیپوزوم (فرمول بهینه) حاوی اسانس مریم‌گلی بر روی میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در مقایسه با اسانس آزاد از طریق تعیین MIC و MBC ارزیابی گردید که نتایج در جدول ۲ آورده شده است.

در لیپوزوم‌ها کمتر دیده می‌شود. پدیده انبوهش^۸ و هم‌آمیختگی^۹ مکانیسم‌های اصلی ناپایداری در لیپوزوم‌ها محسوب می‌گردند [۳۲]. انبوهش فرآیندی است که به موجب آن دو یا چند قطره گرد هم می‌آیند تا تجمعی را تشکیل دهند که در آن تجمع هر یک از قطرات تمامیت منحصر به فرد خود را حفظ می‌کند. انبوهش از طریق فرآیندهای مختلف که باعث افزایش نیروهای جاذبه یا کاهش نیروهای دافعه می‌شود اتفاق می‌افتد [۳۳]. هم‌آمیختگی نیز فرآیندی است که در آن دو یا چند قطره در اثر تماس با هم ادغام می‌شوند و تشکیل یک قطره را می‌دهند بروز فرآیند انبوهش در لیپوزوم‌ها منجر به تشکیل واحدهای بزرگ‌تر شده که در صورت پیشرفت این فرآیند، لیپوزوم‌ها با هم آمیخته شده و لیپوزوم‌های بزرگتر را ایجاد می‌نمایند [۳۴]. در این پژوهش، به منظور افزایش پایداری سیستم از کلسترول استفاده شد. همانطور که گفته شد کلسترول باعث افزایش دافعه الکترواستاتیکی شده و از انبوهش جلوگیری می‌کند و از طرف دیگر با افزایش سفتی غشا از فرآیند به هم آمیخته شدن (کوالسنس) جلوگیری می‌کند. در تطابق با پژوهش حاضر محمدی و همکاران با کپسوله کردن ویتامین D₃ در نانولیپوزوم مشاهده کردند که نمونه‌های حاوی کلسترول پایداری بیشتری در طول زمان نسبت به نمونه‌های فاقد کلسترول دارند [۳۵].

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

آزمون DPPH یک روش بسیار متداول برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از کارهای علمی است [۳۶]. در این تحقیق نیز به منظور بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس مریم‌گلی در دو حالت درون‌پوشانی شده و آزاد از روش DPPH استفاده شد. به طوری که IC₅₀ اسانس کپسوله شده و آزاد به ترتیب برابر با 7 ± 733 و 15 ± 865 میکرولیتر بر میلی‌گرم بودند که نشان دهنده بالا بودن اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس درون‌پوشانی شده در لیپوزوم در مقایسه با حالت آزاد است (شکل ۴).

8. Flocculation
9. Coalescence

جدول ۲ حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی نانولیپوزوم و اسانس مریم گلی

کاندیدا آلبیکنس		استافیلوکوکوس اورئوس		اشریشاکلی		نام باکتری
MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	ماده
۵۰۰۰	۵۰۰۰	۶۲۵	۶۲۵	۵۰۰۰	۱۲۵۰	اسانس
۱۲۵۰	۱۲۵۰	۳۱۲/۵	۱۵۶/۲۵	۱۲۵۰	۶۲۵	نانولیپوزوم

لیپوزوم سبب ثبات و همچنین اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به حالت اسانس آزاد در برابر بیوفیلم استافیلوکوکوس اورئوس در ظروف شیر می شود [۴۱].

۴- نتیجه گیری

نتایج آزمایشات نشان داد که اسانس مریم گلی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی می باشد که می تواند جایگزین مناسبی برای نگهدارنده های شیمیایی که برای سلامتی انسان مضر هستند محسوب شود. ولی با توجه به اینکه استفاده از اسانس ها در مواد غذایی با محدودیت هایی همراه است می توان از فرم کپسوله آن ها استفاده کرد، که نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس مریم گلی در حالت کپسوله شده در لیپوزوم بیشتر از حالت آزاد است. لذا می توان از کپسوله کردن اسانس های گیاهی در حامل های لیپیدی به خصوص نانولیپوزوم ها از یک طرف محدودیت های موجود برای بکار بردن اسانس در مواد غذایی را از بین برده و از طرف دیگر باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن ها شد.

۵- منابع

- [1] Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Stocker, P., and Gaydou, E. M. 2010. Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products*, 31(2): 203-208.
- [2] Gülçın, İ., Oktay, M., Kireççi, E., and Küfrevioğlu, Ö. İ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of

با توجه به نتایج بدست آمده حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی نانولیپوزوم در مقایسه با اسانس آزاد در همه باکتری ها پایین تر است که می تواند به این دلیل باشد که با توجه به این که در سطح غشای باکتری ها حفراتی وجود دارد که محل ورود و خروج مواد می باشد، هرچه نانوذرات تولیدی کوچکتر باشد راحت تر می توانند به این حفرات وارد شده و ماده زیست فعال خود را آزاد سازند. علاوه بر این، به دلیل اینکه جنس نانولیپوزوم از فسفولیپید بود، سیالیت غشایی بیشتری داشته در نتیجه در این حالت اسانس راحت تر می تواند از غشای باکتریایی به داخل سلول نفوذ کند و سبب تخریب دیواره سلولی شود. نتایج این پژوهش با نتایج گورتزی و همکاران (۲۰۰۷)، مطابقت داشت، بطوریکه اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس مرزنجوش (*Origanum dictamnus*) بعد از درون پوشانی در لیپوزوم خاصیت ضد میکروبی بالاتری از حالت آزاد نشان دادند [۳۹]. لیولیوس و همکاران (۲۰۰۹)، توضیح دادند که استفاده از نانولیپوزوم ها از طریق برهم کنش با سلول های باکتریایی از طریق راه های مختلف از جمله انتقال بین غشایی، آزادی تماس، جذب و فاگوسیتوز، انتقال سلولی و آزادسازی ترکیبات فعال را داخل سلول های باکتری بهبود می بخشند لذا سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی می شوند [۱۵]. در مطالعه ای دیگر جیولن و همکاران (۲۰۱۵)، به منظور افزایش ثبات میکروبی فیلم ژلاتین حاوی اسانس دارچین از نانولیپوزوم اسانس به روش لایه نازک استفاده کردند. نتایج این مطالعه افزایش ثبات ضد میکروبی فیلم حاوی نانولیپوزوم اسانس دارچین به علت کاهش سرعت آزاد شدن اسانس از کپسول را نشان داد [۴۰]. نتایج چوی و همکاران (۲۰۱۶)، نیز نشان داد انکپسولایون اسانس مریم گلی درون

- benzoate. *Food Technology & Nutrition*. 8: 34-41.
- [12] Fang, Z., Bhandari, B. 2010. Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends Food Sci. Tech*, 21(10): 510-23
- [13] Reza Mozafari, M., Johnson, C., Hatziantoniou, S., and Demetzos, C. 2008. Nano liposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of liposome research*, 18(4): 309-327.
- [14] Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., and Tsaknis, J. 2008. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European food research and technology*, 226(3): 583-590.
- [15] 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.
- [16] Tenore, G. C., Ciampaglia, R., Arnold, N. A., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D., and Senatore, F. 2011. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology*, 49(1): 238-243.
- [17] Bangham, A. D., Standish, M. M., and Watkins, J. C. 1965. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of molecular biology*, 13(1): 238-252.
- [18] Xia, S., and Xu, S. 2005. Ferrous sulfate liposomes: preparation, stability and application in fluid milk. *Food research international*, 38(3): 289-296.
- [19] Moghimi, R., Ghaderi, L., Rafati, H., Aliahmadi, A., and McClements, D. J. 2016. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food chemistry*, 194: 410-415.
- [20] Khatibi, S. A., Misaghi, A., Moosavy, M. H., Amoabediny, G., and Basti, A. A. 2014. Effect of Preparation Methods on the Properties of *Zataria multiflora* Boiss. Essential Oil Loaded Nano liposomes: Characterization of Size, Encapsulation Efficiency and Stability. *Pharmaceutical Sciences*, 20: 141-148.
- anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food chemistry*, 83(3): 371-382.
- [3] Basti, A. A., Misaghi, A., and Khaschabi, D. 2007. Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT-Food Science and Technology*, 40(6): 973-981.
- [4] Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., and Anackov, G. 2006. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5): 1822-1828.
- [5] Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., and Przybylski, R. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3): 986-995.
- [6] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3): 223-253.
- [7] Walker, J. B., Sytsma, K. J., Treutlein, J., and Wink, M. 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91(7): 1115-1125.
- [8] Karami, M., Hossini, E., Majd, N. S., Ebrahimzadeh, M. A., and Alemy, S. 2015. *Salvia limbata*: Botanical, Chemical, Pharmacological and Therapeutic Effects. *Journal of Clinical Excellence*, 3(2): 1-14.
- [9] Zargari, A 2004, *Medicinal plants*, Tehran University Publication, Volume 4.
- [10] Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., and Sokmen, A. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food chemistry*, 84(4): 519-525.
- [11] Fadaei, S., Abroumand, A. P., Sharifan, A., and Larijani, K. 2011. Evaluation of antimicrobial activity of *Mentha piperita* L. essential oil and its comparison with sodium

- [30] Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J., and Nasirpour, A. 2013. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19: 29-43.
- [31] Mohammadi, M., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Rezayi Mokarram, R., and Mohammadifar, M. A. 2014. Physical properties of vitamin D3-loaded nano liposomes prepared by thin layer hydration-sonication. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(4): 175-188.
- [32] Pezeshky, A., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Moghadam, M., & Babazadeh, A. 2016. Vitamin A palmitate-bearing nanoliposomes: Preparation and characterization. *Food Bioscience*, 13: 49-55.
- [33] Piorkowski, D. T., & McClements, D. J. 2014. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. *Food Hydrocolloids*, 42: 5-41.
- [34] Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J.E. and Benoit, J.P. 2003. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24: 4283-4300.
- [35] Mohammadi, M., Ghanbarzadeh, B., Mokarram, R. R., Hoseini, M. Y., & Hamishehkar, H. 2014. Study of Stability, Zeta-potential, and Steady Rheological Properties of Nanoliposomes Containing Vitamin D3. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*, 36(4): 102-111
- [36] Alam, M. N., Bristi, N. J., and Rafiqzaman, M. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2): 143-152.
- [37] Noudoost, B., Noori, N., Amo Abedini, G., Gandomi, H., Akhondzadeh Basti, A., Jebeli Javan, A., & Ghadami, F. 2015. Encapsulation of Green Tea Extract in Nanoliposomes and Evaluation of its Antibacterial, Antioxidant and Prebiotic Properties. *Journal of medicinal plants*, 3(55): 66-78.
- [38] Maiti, K., Mukherjee, K., Gantait, A., Ahamed, H. N., Saha, B. P. and Mukherjee, P. K. 2005. Enhanced therapeutic benefit of quercetin-phospholipid complex in carbon tetrachloride-induced acute
- [21] Ebrahimabadi, A. H., Mazoochi, A., Kashi, F. J., Djafari-Bidgoli, Z., and Batooli, H. 2010. Essential oil composition and antioxidant and antimicrobial properties of the aerial parts of *Salvia eremophila* Boiss. from Iran. *Food and chemical toxicology*, 48(5): 1371-1376.
- [22] Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M., and Bassami, M. R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food chemistry*, 120(3): 765-770.
- [23] Viriyaroj, A., Ngawhirunpat, T., Sukma, M., Akkaramongkolporn, P., Ruktanonchai, U., and Opanasopit, P. 2009. Physicochemical properties and antioxidant activity of gamma-oryzanol-loaded liposome formulations for topical use. *Pharmaceutical development and technology*, 14(6): 665-671.
- [24] Chong, P. L., and Choate, D. 1989. Calorimetric studies of the effects of cholesterol on the phase transition of C (18): C (10) phosphatidylcholine. *Biophysical journal*, 55: 551-556
- [25] da Silva Malheiros, P., Sant'Anna, V., de Souza Barbosa, M., Brandelli, A., and de Melo Franco, B. D. G. 2012. Effect of liposome-encapsulated nisin and bacteriocin-like substance P34 on *Listeria monocytogenes* growth in Minas frescal cheese. *International journal of food microbiology*, 156(3): 272-277.
- [26] Frisken, B., Asman, C. and Patty, P. 2000. Studies of vesicle extrusion. *Langmuir*, 16: 928-933.
- [27] Rasti, B., Jinap, S., Mozafari, M. R., & 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(4): 2761-2770.
- [28] Wilkinson, M. G., & Kilcawley, K. N. 2005. Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15(6): 817-830.
- [29] Laridi, R., Kheadr, E. E., Benech, R. O., Vuilleumard, J. C., Lacroix, C., and Fliss, I. 2003. Liposome encapsulated nisin Z: optimization, stability and release during milk fermentation. *International dairy journal*, 13(4): 325-336.

- preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nano liposomes. *Food Hydrocolloids*, 43: 427-435
- [41] Cui, H., Zhou, H., and Lin, L. 2016. The specific antibacterial effect of the Salvia oil nano liposomes against *Staphylococcus aureus* biofilms on milk container. *Food Control*, 61: 92-98.
- liver injury in rats: a comparative study. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*, 4: 84- 90.
- [39] Gortzi, O., Lala, S., Chinou, I., & Tsaknis, J. 2007. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of *Origanum dictamnus* extracts before and after encapsulation in liposomes. *Molecules*, 12(5): 932-945.
- [40] Jiulin, W. Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., and Zhang, Q. 2015. The

Evaluation of the antimicrobial and antioxidant properties of *Salvia* essential oil nano liposome (*Salvia multicaulis*)

Gharenaghadeh, S. ¹, Samadlouie, H. R. ^{2*}, Sowti, M. ³, Hamisekar, H. ⁴,
Rezaei Mokaram, R. ⁵

1. Masters student, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, shahrood university
2. Assistant Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, shahrood university of technology
3. Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, tabriz university
4. Associate Professor, drug research center, tabriz medical science university
5. Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, tabriz university

(Received: 94/10/1 Accepted: 95/2/8)

The essential oil of *salvia multicaulis* was considered as nutrient and biological additive due to antioxidant and antimicrobial activities. Low water solubility, high vapor pressure and chemical and physical instability of the free essential oils make these kinds of additive are not appropriate to use as natural preservatives. Using of carriers like nano liposomes is considered as a best way to encapsulation of essential oils and reduction of these problems. So in this research the essential oil of the *salvia* was encapsulated and after that antioxidant and antimicrobial properties of them was compared with free essential oil. Lecithin and cholesterol with different concentration (90-0, 80-10, 70-20) was used for production of nano liposome which has oil of *salvia* in it also for producing of this film, hydration and sonication were used. Dynamic light scattering (DLS) and spectrophotometry methods were applied to determine the particles size and the physical stability of nano liposomes. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and microdilution methods were used for antioxidant and antimicrobial activity respectively. Results showed that Particle size and particle size distribution were in the range of 82-88 and 0.39-0.42, respectively. The efficiency of the encapsulation in all treatments were more than 70% and nano liposomes were stable for 1 month. The essential oil encapsulation had more antioxidant and antimicrobial properties than free essential oil.

Keywords: *Salvia* essential oil, Nano liposome, Thin-film hydration, Antimicrobial, Antioxidant

* Corresponding Author E-Mail Address: hsamadlouie@yahoo.com