

## مقایسه‌ی فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون اسانس گیاه چویر (*Ferulago angulata*) جمع‌آوری شده از مناطق غربی ایران

فرنوش فخاری<sup>۱</sup>، سیاوش مکتبی<sup>۲\*</sup>، علی فضل‌آرا<sup>۳</sup>، ندا باورصاد<sup>۴</sup> و مهدی پورمهدی‌بروجنی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانش‌آموخته دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات نانو فن‌آوری، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱/۲۴

پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۱۸

### چکیده

مواد نگهدارنده طبیعی امروزه به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند. در این مطالعه اسانس گیاه چویر با استفاده از روش اولتراسونیک در فشار بالا به نانوامولسیون قابل پخش در آب (قطر ذرات ۴۲ نانومتر) تبدیل گردید. آنالیز ترکیبات اسانس نشان داد که هیدروکربن‌های مونوترپنی و مونوترپن‌های اکسیژنه بیشترین ترکیبات اسانس را تشکیل می‌دهند. فعالیت ضد میکروبی اسانس و نانوامولسیون با اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) و همچنین به روش انتشار دیسک در آگار بر روی ۴ باکتری و دو قارچ مهم بیماری‌زای مواد غذایی بررسی شد. علاوه بر این فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش رادیکال آزاد DPPH و کاتیون زدایی رادیکال ABTS<sup>+</sup> اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که فعالیت ضد میکروبی اسانس زمانی که به نانوامولسیون تبدیل می‌شود، به دلیل دسترسی آسان‌تر نانوامولسیون به سلول باکتری افزایش می‌یابد. به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به نانوامولسیون گیاه نشان دادند. لیستریا مونوسیتوژنز حساس‌ترین باکتری در برابر فعالیت ضدباکتریایی اسانس و نانوامولسیون بود. علاوه بر این اسانس و نانوامولسیون دارای اثرات قابل توجهی بر روی مهار رشد اسپیریلیوس نایجر و کاندیدا لیبیکنز بودند. بررسی مقادیر DPPH و ABTS<sup>+</sup> اسانس و نانوامولسیون نشان داد که گرچه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون به وضوح از گروه استاندارد (BHT) پایین‌تر است اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون در هر دو روش بیشتر از اسانس گیاه است. نتایج این مطالعه نشان داد که با تبدیل اسانس به نانوامولسیون اسانس گیاه چویر می‌توان خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش داد.

**کلمات کلیدی:** اسانس چویر، آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی، نانوامولسیون

\* نویسنده مسئول: سیاوش مکتبی، دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

E-mail: s.maktabi@scu.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

## مقدمه

حلالیت کم در آب، پایداری شیمیایی ضعیف و طبیعت فرار آن‌ها باعث چالش‌های زیادی در فن‌آوری مرتبط با کاربرد اسانس‌های روغنی در مواد غذایی می‌گردد (Shavisi et al, 2017). به همین منظور، محصور کردن اسانس‌های روغنی در نانوذرات به عنوان یک رویکرد کاربردی برای بهبود در استفاده، پایداری و کارایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. در بین سیستم‌های ساخت نانوذرات، نانوامولسیون‌ها به دلیل سهولت در تهیه و ویژگی‌های عملکردی مطلوب، به ویژه برای استفاده در محصولات غذایی، بهداشتی و آرایشی مناسب هستند. کوچک بودن اندازه‌ی ذرات ممکن است ارتباط بین ترکیبات فعال با غشاهای بیولوژیکی و همچنین انتقال آن‌ها از طریق غشا را افزایش دهد (Biasi-Garbin et al, 2015). اثرات ضد میکروبی نانوامولسیون‌ها به دلیل اندازه‌ی کوچک ذرات و افزایش سطح تماس ممکن است بهبود یابد. گزارش شده است که خاصیت ضد میکروبی نانوامولسیون با روش‌های شکل‌گیری آن ارتباط مستقیم دارد (Shahabi et al, 2017). تا کنون چندین روش برای تولید نانوامولسیون استفاده شده است که از جمله آن می‌توان به روش‌های مختلف تهیه با استفاده از انرژی بالا و انرژی پایین اشاره کرد. اولتراسونیک روشی با انرژی بالا است که با سرعت و کارآمدی فوق‌العاده قادر به تهیه‌ی نانوامولسیون با قطر ذرات کوچک و توزیع یکنواخت است (McClements, 2012).

کشور ایران از نظر پوشش و تنوع گیاهی دارای منابع بی‌ظیری است. گیاه چویر با نام علمی *Ferulago angulata* متعلق به خانواده‌ی چتریان (*Apiaceae*) بوده و دارای ۳۵ گونه در دنیا است که حدود هفت گونه از آن در ایران مشاهده شده است. چویر گیاهی با گل‌های کوچک و میوه‌های زرد رنگ است و در چندین منطقه به ویژه غرب ایران، ترکیه و عراق به صورت خودرو رشد می‌کند. چویر به طور سنتی به عنوان ماده‌ی آرام‌بخش، مقوی، هضم

نگهدارنده‌های طبیعی امروزه به عنوان یک رویکرد جدید و بی‌خطر برای مهار رشد پاتوژن‌های ناشی از مواد غذایی و باکتری‌های عامل فساد در نظر گرفته شده‌اند. امروزه بسیاری از مصرف‌کنندگان مواد غذایی نگران عوارض جانبی احتمالی استفاده از نگهدارنده‌های ضد میکروبی شیمیایی در مواد غذایی هستند و ترجیح می‌دهند از غذاهایی که با استفاده از روش‌های طبیعی‌تر برای جلوگیری و کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بهره‌می‌برند، استفاده کنند.

گیاهان دارویی از زمان‌های بسیار قدیم در پزشکی، تهیه مواد معطر آرایشی، کنترل میکروارگانیسم‌های فسادزا و بیماری‌زا در مواد غذایی و همچنین بهبود طعم غذاها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی مانند اسانس‌های روغنی، ترکیبات آروماتیک و ترکیبات فرار نیز کاربردهای گسترده‌ای در طب سنتی، طعم‌دهنده‌ها و نگهدارنده‌های مواد غذایی دارند. اسانس‌های روغنی گیاهان مختلف و ترکیبات شیمیایی آن‌ها از زمان‌های بسیار قدیم شناخته شده‌اند. این مواد اثرات ضد باکتری، ضد قارچ، ضد ویروس و ضد انگل از خود نشان داده‌اند. اثرات بیولوژیکی گیاهان دارویی و اسانس‌های روغنی یا عصاره آن‌ها بیشتر به واسطه‌ی ترکیبات شیمیایی به ویژه ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها است (Shahbazi et al, 2016; Kelen et al, 2008). ترکیب شیمیایی اسانس گیاهان مختلف ممکن است تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی مانند شرایط جغرافیایی، تغییرات آب و هوایی و فصلی و مرحله‌ی رشد گیاه متغیر باشد (Ruiz-Navajas et al, 2012).

علی‌رغم خصوصیات بیولوژیک اسانس‌ها، استفاده از آن‌ها در مواد غذایی مشکلاتی را به همراه دارد. به طور مثال استفاده از غلظت‌های بالای آن‌ها در ماده غذایی به منظور بهره‌گیری از اثرات ضد میکروبی، سبب ایجاد اثرات ارگانولپتیکی ناخوشایند در مواد غذایی می‌شود. علاوه بر این مشکلات دیگری از جمله خاصیت آب‌گریزی و

به منظور به‌کارگیری در افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی است.

### مواد و روش کار

گیاه تازه چویر از کوهپایه‌های استان کرمانشاه و در مرحله گل‌دهی کامل جمع‌آوری گردید. گیاه جمع‌آوری شده پس از شناسایی و تأیید توسط دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، پس از شستشو با آب مقطر به مدت یک هفته در مکان تاریک و در دمای اتاق ( $25^{\circ}\text{C}$ ) خشک گردید (Singh et al, 2008).

استخراج اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر و طبق روش‌های استاندارد انجام شد. بدین منظور ۱۰۰ گرم از گیاه پودر شده به دستگاه کلونجر انتقال داده شد و بعد از طی شدن زمانی حدود ۳ ساعت اسانس به دست آمده با استفاده از سدیم سولفات (مرک، آلمان) آبگیری و پس از عبور از فیلتر ۰/۲۲ میکرومتر در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

آنالیز اسانس گیاه چویر توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (Thermo Quest 2000, UK) با ستون موئینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS انجام گرفت. دستگاه با دمای  $50^{\circ}\text{C}$  فعالیت خود را آغاز نموده و تا  $120^{\circ}\text{C}$  افزایش یافت. پس از ۳ دقیقه توقف در این دما سرانجام به دمای  $256^{\circ}\text{C}$  درجه رسید و ۶ دقیقه در این دما باقی ماند. تزریق در دمای  $250^{\circ}\text{C}$  انجام گرفت. خلوص گاز هلیوم ۹۹/۹۹ درصد سرعت جریان ثابت ۱/۲ میلی‌متر در دقیقه و به نسبت ۱:۲۰ بود. آنالیز شیمیایی اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی همراه با طیف سنجی جرمی (Thermo Quest Finningan, UK) انجام گرفت. شرایط دمایی و ستون موئینه دستگاه طیف سنج جرمی همانند کروماتوگرافی گازی بود. عملیات آنالیز در ۷۰ ولت انجام گرفت. درصد ترکیبات اسانس از سطح زیر پیک محاسبه گردید (Shahbazi et al, 2015).

کننده، درمان عفونت‌های پوستی و ضد انگل استفاده می‌شود (Azarban et al, 2014). اسانس روغنی فرار گیاه چویر مدت‌هاست که به عنوان طعم‌دهنده و نگهدارنده در روغن‌های خوراکی سنتی، پنیر و گوشت کاربرد دارد (Darderafshi et al, 2014). بسیاری از گونه‌های چویر به عنوان منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی مانند مونوترپن‌ها و سزکویی ترپن‌ها به شمار می‌روند (Shahbazi, 2016).

Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۶) با مطالعه بر روی اسانس گیاه چویر و اندازه‌گیری ویژگی‌های شیمیایی، ضد باکتری و آنتی‌اکسیدانی دریافتند که این گیاه دارای خواص بالای آنتی‌اکسیدانی است. در مطالعه‌ای که توسط Shahbazi و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام گرفت، اعلام گردید که اسانس گیاه چویر می‌تواند منبع غنی از مواد ضد میکروبی علیه باکتری‌های عامل فساد غذایی باشد. در مطالعه‌ی دیگری Azarban و همکاران در سال ۲۰۱۴ اسانس گیاه چویر را به عنوان عامل ضد میکروبی مؤثر بر علیه میکروارگانسیم‌های بیماری‌زای غذایی، عنوان کردند. همچنین Taran و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند که اسانس گیاه چویر دارای بیشترین میزان خواص ضدباکتریایی علیه استافیلوکوکوس ارئوس ( $15\text{g/ml}$ ) است، اما هیچ گونه فعالیت قابل توجهی علیه باکتری‌های شیگلا بوئیدی، سودوموناس آئروژنوزا، اشریشیا کولای و انتروکوکوس فکالیس ندارد.

باکتری‌های غذازاد همچون استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، سروتیپ‌های مختلف سالمونلا، اشریشیا کولای، یرسینیا انتروکولیتییکا و کلستریدیوم‌ها مشکلات فراوانی در بهداشت عمومی ایجاد می‌کنند. (Azizkhani et al, 2013). علاوه بر این حضور برخی کپک‌ها در مواد غذایی می‌تواند زیان‌های اقتصادی چشمگیری ایجاد کند. با توجه به این که تا کنون مطالعه‌ای بر روی نانوامولسیون گیاه چویر و مقایسه آن با اسانس گیاه انجام نشده است، هدف این مطالعه تهیه اسانس و نانوامولسیون اسانس گیاه چویر روئیده شده در مناطق غربی ایران و مقایسه فعالیت ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها

موج ۶۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری دوز تلقیح ( $10^6$  CFU/mL) با استفاده از شمارش تعداد باکتری‌ها کشت شده بر روی محیط BHI آگار انجام گرفت. اندازه‌گیری مقادیر MIC و MBC با روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع انجام شد. در این روش از پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای با چاهک‌های U شکل استفاده شد. غلظت‌های متفاوتی از اسانس و نانوامولسیون اسانس (۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با محیط مایع BHI حاوی ۵ درصد دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان امولسیفایر و ۰/۰۵ درصد آگار-آگار (Merck, Germany) به عنوان پایدارکننده، ترکیب شد. برای هر چاهک مقدار  $180 \mu\text{l}$  محیط کشت مایع BHI حاوی غلظت‌های متفاوتی از اسانس یا نانوامولسیون اسانس و  $20 \mu\text{l}$  از باکتری‌های مورد مطالعه ( $10^6$  CFU/mL) اضافه - گردید. کنترل مثبت این آزمون شامل محیط BHI حاوی دی‌متیل سولفوکساید و باکتری بدون اسانس یا نانوامولسیون اسانس و کنترل منفی شامل محیط BHI حاوی دی‌متیل سولفوکساید و اسانس یا نانوامولسیون اسانس بود. پس از افزودن غلظت‌های مورد نظر از ترکیب ضد میکروبی و باکتری مورد مطالعه، پلیت‌های میکروتیتر به مدت ۳۰ ثانیه با دور  $300 \text{rpm}$  برای مخلوط شدن در شیکر قرار داده شدند. بعد از طی شدن زمان ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای  $37^\circ\text{C}$  به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی، چاهک‌ها از نظر وجود کدورت توسط دستگاه میکروپلیت ریدر (بیوتک، آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفتند. در مرحله بعد به منظور ارزیابی مقدار MBC به میزان  $20 \mu\text{l}$  از هر چاهک بدون هیچ رشد قابل مشاهده‌ای در محیط BHI آگار کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  انکوبه و هر گونه رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت (Azizkhani et al, 2013).

به منظور ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی به روش انتشار دیسک در آگار، مقادیر مناسبی از سوسپانسیون

برای آماده‌سازی نانوامولسیون از سورفاکتانت غیر یونی توئین ۸۰ (HLB: 15) (۳۰ درصد وزن اسانس)، آب مقطر و اسانس چوب (۴ درصد وزنی/وزنی) استفاده گردید. سورفاکتانت به همراه اسانس به طور دائم و مرتب به آب مقطر اضافه شده و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه هم زده شد. سپس محلول امولسیون به دست آمده به دستگاه سونیکاتور  $20 \text{KHz}$  (OPTIMA, XL100K, ) (GERMANY) انتقال داده شد. از قدرت ۲۰۰w و پیروالکترونیک کریستال با قطر پراب ۱۵ میلی‌متر استفاده شد. پراب دستگاه در عمق ۲۵ میلی‌متری محلول وارد گردیده و به مدت ۵ دقیقه فرایند ساخت نانو امولسیون انجام شد (Noori et al, 2018).

اندازه‌گیری سایز ذرات و پتانسیل زتا توسط روش تفریق نور دینامیکی (DLS) با به کارگیری دستگاه Zetasizer Nano-ZS (Malvern instruments, Worcestershire, UK) اندازه‌گیری گردید. به منظور جلوگیری از اثرات پراکنندگی متعدد، نمونه‌ها توسط آب مقطر دوبار تقطیر قبل از انجام آزمایش ۱۰ بار رقیق شدند. تمامی آزمایشات در دمای  $25^\circ\text{C}$  انجام شد (Hosseinnia et al, 2017).

در این مطالعه فعالیت ضد میکروبی اسانس و نانوامولسیون اسانس گیاه چوب بر علیه باکتری‌ها و قارچ‌های مهم در مواد غذایی شامل لیستریا منوسیتوژنز (ATCC 19118) سالمونلا تیفی موریوم (ATCC 14028)، استافیلوکوکوس ارتوس (ATCC 6538)، اشیریشیا کولای O157:H7 (ATCC 1053)، آسپیریلوس نایجر (ATCC 1015) و کاندیدا آلبیکنز (ATCC 3153) انجام شد. قبل از انجام آزمایش‌های ضد میکروبی، تمامی باکتری‌ها به طور متوالی دو بار در محیط آبگوشت BHI<sup>۱</sup> پراش (Merck, Germany) کشت داده شده و در انکوباتور در دمای  $37^\circ\text{C}$  به مدت ۱۸ ساعت قرار داده شدند. تراکم کشت‌های باکتریایی مورد نیاز برای انجام آزمایش‌های ضدباکتریایی با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول

#### 1- Brain heart infusion broth

کنترل مثبت استفاده شد. علاوه بر این اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون اسانس توسط روش کاتیون‌زدایی رادیکال  $ABTS^+$  نیز مورد بررسی قرار گرفت. برای تهیه‌ی کاتیون  $ABTS^+$  از واکنش محلول ذخیره ۷ میلی‌مولار  $ABTS^+$  و ۲/۴۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات استفاده شد. محلول به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت قبل از مصرف تهیه شده و در محل تاریک در دمای اتاق نگهداری گردید. محلول نهایی توسط متانول رقیق شد تا حدی که جذب آن در طول موج ۷۳۴ به میزان  $0.7 \pm 0.2$  نانومتر برسد. مقدار مناسبی از نمونه به محلول رقیق شده  $ABTS^+$  اضافه شده و جذب آن در طول موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری گردید. از آنتی-اکسیدان سنتزی BHT به عنوان استاندارد استفاده گردید (Srinivasan et al, 2007).

تمامی آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی و حداقل سه تکرار انجام گردید. داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آنالیز واریانس یک طرفه جهت انجام تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد. سطح معنی‌داری مورد استفاده  $P < 0.05$  بود.

## نتایج

### نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس

نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس روغنی گیاه چویر در Table 1 نشان داده شده است. از بین ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس، ۳۷ ترکیب مختلف که ۹۷/۹۳ درصد ترکیبات اسانس بود شامل هیدروکربن‌های مونوترپن (۷۱/۸۳ درصد)، مونوترپن‌های اکسیژنه (۱۸/۵ درصد)، هیدروکربن‌های سزکوئی‌ترین (۶/۹ درصد) و سزکوئی‌ترین‌های اکسیژنه (۰/۷ درصد) شناسایی گردید. مشخص گردید که ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس شامل الفا-پینن (۲۶/۲۷ درصد)، زتا-بتا-اسیمن (۲۰/۶ درصد)، برنیل-استات (۷/۰۷ درصد)، جرماکون D (۵/۶ درصد)، میرسن (۴/۷ درصد)، گاما-ترینین (۴/۶۱ درصد) و سیمن (۴/۰۶ درصد) می‌باشند.

باکتری یا قارچ مورد مطالعه ( $10^8$  CFU/ml) بر روی محیط BHI آگار برای باکتری‌ها و محیط پیتون دکستروز آگار (مرک، آلمان) برای قارچ‌ها به روش کشت سطحی و با استفاده از سواب استریل کشت داده شده و در ادامه دیسک-های استریل کاغذی واتمن حاوی  $1 \mu\text{g}$  اسانس و نانوامولسیون اسانس بر روی محیط کشت مربوطه قرار گرفت. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  برای باکتری‌ها و به مدت ۴۸ ساعت با دمای  $25^\circ\text{C}$  برای قارچ‌ها انکوبه شدند. از آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، آموکسی-سیلین، تریمتوپریم، اکسی‌تتراسایکلین و آمفوتریسین B به عنوان کنترل مثبت و دی‌متیل‌سولفوکساید به عنوان کنترل منفی استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری میزان ممانعت کنندگی اسانس و نانوامولسیون اسانس علیه میکروارگانیسم‌ها، قطر هاله عدم رشد تشکیل شده اندازه‌گیری گردید (Shahbazi et al, 2015).

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون اسانس گیاه چویر از دو روش استفاده شد. جهت اندازه‌گیری به وسیله‌ی روش مهار رادیکال آزاد (DPPH)، ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های متفاوت اسانس و نانوامولسیون اسانس (۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۵ml از محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد DPPH اضافه شده و در مکانی تاریک در دمای  $25^\circ\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. آزمایش‌ها با غلظت‌های متفاوتی از BHT (۱۲/۵، ۲/۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) نیز انجام شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Shahbazi et al, 2016). درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$I (\%) = 100 \times (A \text{ blank} - A \text{ sample}) / A \text{ blank}$$

سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون اسانس به صورت مقدار غلظت مهار ۵۰ درصد ( $IC_{50}$ ) به وسیله‌ی آنالیز همبستگی خطی حاصل از مقادیر I برای غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد. از BHT به عنوان

**Table 1. Chemical composition of the essential oil from *Ferulago angulata* identified by GC-MS**

No	Component	%	Retention time (minutes)	Retention index (RI)	Retention index (AdamsRI)
1	$\alpha$ -Thujene	0.24	4.28	935	924
2	$\alpha$ -Pinene	26.27	4.48	946	932
3	Camphene	2.7	2.7	961	946
4	Verbenene	0.58	0.58	965	961
5	Sabinene	0.77	0.77	983	969
6	$\beta$ -Pinene	1.4	1.4	989	974
7	Myrcene	4.7	4.7	1002	988
8	Phellandrene	0.5	0.5	1014	1002
9	$\delta$ -2-Carene	0.3	0.3	1019	1008
10	$\alpha$ -Terpinene	0.07	0.07	1025	1014
11	Cymene	4.06	4.06	1040	1022
12	Limonene	2.74	2.74	1044	1027
13	$\beta$ -Phellanderen	0.16	0.16	1050	1029
14	(Z)- $\beta$ -Ocimene	20.6	20.6	1055	1032
15	(E)- $\beta$ -Ocimene	2.13	2.13	1056	1044
16	$\gamma$ -Terpinene	4.61	4.61	1075	1054
17	$\alpha$ -Terpinolene	2.28	2.28	1101	1086
18	Linalool	0.4	0.4	1110	1095
19	allo-Ocimene	1.99	1.99	1139	1128
20	cis-Verbenol	0.5	0.5	1151	1130
21	trans-Verbeno	2.36	2.36	1159	1140
22	$\alpha$ -Terpineol	0.3	0.3	1203	1186
23	trans-Carveol	0.4	0.4	1231	1215
24	Nerol	0.1	0.1	1239	1227
25	Bornyl acetate	7.07	7.07	1301	1284
26	Thymol	2.3	2.3	1307	1289
27	Carvacrol	0.8	0.8	1314	1298
28	$\alpha$ -Cubebene	0.2	0.2	1358	1345
29	Eugenol	0.1	0.1	1366	1356
30	$\alpha$ -Copaene	0.2	0.2	1385	1374
31	$\beta$ -Bourbonene	0.1	0.1	1395	1384
32	$\beta$ -Cubebene	0.2	0.2	1398	1387
33	Methyl eugenol	0.5	0.5	1314	1403
34	Germacrene D	5.6	5.6	1508	1500
35	$\delta$ -Cadinene	0.2	0.2	1525	1513
36	Spathulenol	0.4	0.4	1595	1577
37	Neryl isovalerat	0.1	0.1	1597	1585
Monoterpenes hydrocarbons		71.83%			
Oxygenated monoterpenes		18.5%			
Sesquiterpenes hydrocarbons		6.9%			
Oxygenated sesquiterpenes		0.7%			
Total		97.93%			

### خصوصیات نانوامولسیون

شاخص در این آزمون  $0.32 \pm 0.214$  ثبت شد. علاوه بر این مقدار پتانسیل زتا  $1 \pm 4.63$  میلی‌ولت برای نانوامولسیون اسانس ثبت شد.

متوسط اندازه‌ی قطر ذرات نانوامولسیون و پتانسیل زتا اسانس در Figure 1 نشان داده شده است. بر اساس نتایج اندازه‌ی ذرات  $1.5 \pm 42.7$  نانومتر گزارش گردید. در این مطالعه شاخص PDI نیز اندازه‌گیری شد. مقدار این

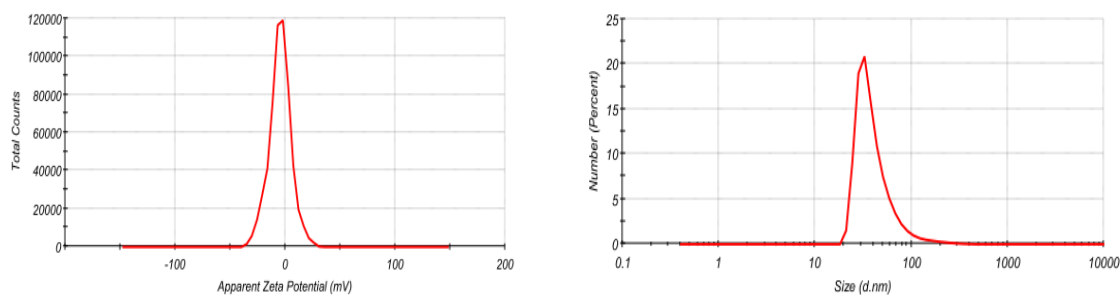


Figure 1. Nano-emulsion particle size and zeta potential

میکروارگانسیم‌های مورد بررسی هستند. اما به نظر می‌رسد که باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به نانوامولسیون در مقایسه با اسانس دارند. اگر چه این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $P > 0.05$ ). در بین باکتری‌های مورد مطالعه لیستریا مونوسیتوژنز دارای بیشترین حساسیت در برابر نانوامولسیون و اسانس بود.

### تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

فعالیت ضدباکتریایی اسانس و نانوامولسیون اسانس گیاه چویر در برابر برخی از عوامل بیماری‌زا در Table 2 قابل مشاهده است. نتایج حاصل از روش رقت‌سازی در محیط کشت مایع نشان داد که امولسیون و نانوامولسیون هر دو دارای اثرات ضد میکروبی خوبی در برابر همه‌ی

Table 2: MIC and MBC (mg/ml) of essential oil and Nano-emulsion of *Ferulago angulata* against some bacteria

Microorganism	E.O		Nano-emulsion	
	MBC	MIC	MBC	MIC
<i>S. aureus</i>	45±5.0 <sup>a</sup>	45±5.0 <sup>a</sup>	40±5.0 <sup>a</sup>	40±0.0 <sup>a</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	45±5.0 <sup>a</sup>	35±0.0 <sup>a</sup>	40±5.0 <sup>a</sup>	30±0.0 <sup>a</sup>
<i>E. coli O157:H7</i>	50±0.0 <sup>a</sup>	40±0.0 <sup>a</sup>	50±0.0 <sup>a</sup>	40±0.0 <sup>a</sup>
<i>S. Typhimurium</i>	50±0.0 <sup>a</sup>	40±0.0 <sup>a</sup>	50±0.0 <sup>a</sup>	40±0.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Mean in the same row with no common superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ )

### ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی

مورد مطالعه در Table 3 ارائه گردیده است. در بین باکتری‌های مورد مطالعه باز هم باکتری لیستریا

فعالیت ضد میکروبی اسانس و نانوامولسیون توسط روش انتشار دیسک در آگار بر علیه میکروارگانسیم‌های

آلیکنز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اسانس و نانوامولسیون اثرات قابل توجهی بر روی مهار دو قارچ مذکور دارا هستند. با توجه به جدول Table 3 مشاهده می‌گردد که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه اسانس و نانوامولسیون وجود دارد و نانوامولسیون اثرات مهاری قابل توجهی را نشان می‌دهد ( $P < 0.05$ ).

مونوسایتوژنز دارای بیشترین حساسیت در برابر نانوامولسیون و اسانس بود. نتایج این ارزیابی بار دیگر نشان داد که، باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی از حساسیت بیشتری در برابر نانوامولسیون و اسانس برخوردار هستند ( $P < 0.05$ ). همچنین در این مطالعه خاصیت ضد قارچی اسانس و نانوامولسیون آن بر روی *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا*

**Table 3. Antimicrobial effects of essential oil and nano-emulsion of *Ferulago angulata* and some antibiotics using disk diffusion method**

Microorganism	Diameter of inhibition zone (mm)						
	Amphotericin B	Oxytetracycline	Trimethoprim	Gentamycin	Ampicillin	E.O	Nano-emulsion
<i>S. aureus</i>	7± 0.57 <sup>a</sup>	6.33± 0.33 <sup>b</sup>	5± 0.57 <sup>c</sup>	7.33± 0.57 <sup>abd</sup>	-	-	-
<i>L. monocytogenes</i>	12.33± 0.88 <sup>a</sup>	9.66± 0.33 <sup>b</sup>	12.66± 0.33 <sup>c</sup>	10± 0.33 <sup>d</sup>	-	-	-
<i>E. coli</i> <i>O157:H7</i>	6± 0.57 <sup>a</sup>	5.33± 0.33 <sup>b</sup>	-	-	11.66± 0.33 <sup>c</sup>	7.33± 0.33 <sup>d</sup>	-
<i>S.</i> <i>typhimurium</i>	6.33± 0.33 <sup>a</sup>	5.33± 0.33 <sup>b</sup>	-	-	12± 0.57 <sup>c</sup>	7.66± 0.33 <sup>d</sup>	-
<i>A. niger</i>	5± 0.57 <sup>a</sup>	3± 0.57 <sup>b</sup>	-	-	-	-	4± 0.33 <sup>b</sup>
<i>C. albicans</i>	6± 0.57 <sup>a</sup>	3.33± 0.33 <sup>b</sup>	-	-	-	-	4.33± 0.33 <sup>bc</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Mean in the same row with no common superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ )

### فعالیت آنتی‌اکسیدانی

همان‌طور که در Figure 2 نشان داده شده است، در آزمون DPPH برای اسانس، نانوامولسیون و BHT میانگین  $IC_{50}$  به ترتیب  $3 \pm 6694 / 05 \mu\text{g/mL}$ ،  $108 / 1 \pm 25 / 13 \mu\text{g/mL}$  و  $5575 / 1 \pm 3 / 07 \mu\text{g/mL}$  است، در حالی که در روش ABTS این میانگین برای اسانس  $2311 / 1 \pm 6 / 45 \mu\text{g/mL}$  و نانوامولسیون  $2 \pm 3668 / 26 \mu\text{g/mL}$  و BHT  $119 / 0 \pm 64 / 69 \mu\text{g/mL}$  می‌باشد.

در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون با استفاده از دو روش DPPH و  $ABTS^+$  مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از هر دو روش در Figure 2 آورده شده است. چنانچه که مشاهده می‌گردد اگر چه در هر دو روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون به وضوح از گروه استاندارد (BHT) کمتر است ( $P < 0.05$ ) اما در کل فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون بیشتر از اسانس گیاه است و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ).



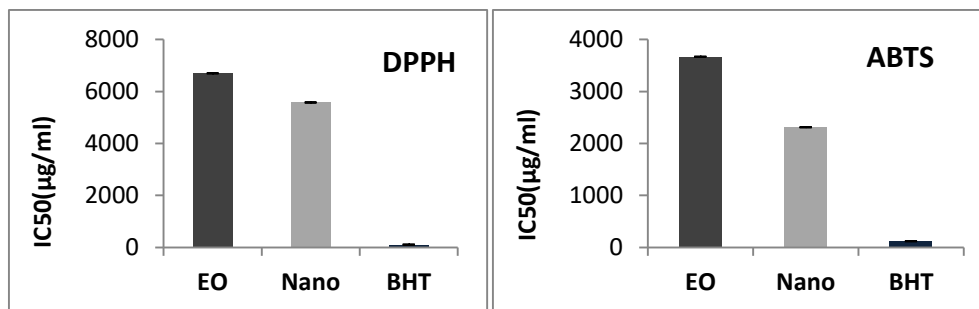


Figure 2. Antioxidant capacity of essential oil and Nano-emulsion of *Ferulago angulata* using DPPH and ABTS<sup>+</sup> methods

## بحث

به گروه مونوترپن‌ها تعلق دارد. با طبقه‌بندی ترکیبات شناسایی شده در این مطالعه، مشخص گردید که بیشترین درصد ترکیبات مربوط به دسته هیدروکربن‌های مونوترپنی (۷۱/۸۳ درصد) و مونوترپن‌های اکسیژنه (۱۸/۵ درصد) بوده و سایر ترکیبات از لحاظ درصدی در مقادیر کمتری وجود دارند. مقایسه میزان ترکیبات چوپر استفاده شده در مطالعه‌ی حاضر با مطالعات مشابه نشان داد که صرفاً مقدار بالای آلفا-پینن به دست آمده در این مطالعه با مطالعات دیگر مطابقت نسبی دارد در حالی که در مقدار سایر ترکیبات اختلافاتی مشاهده می‌گردد (Shahbazi et al, 2017; Shahbazi et al, 2016; Darderafshi et al, 2014; Akhlaghi et al, 2012).

Shahbazi و همکاران در سال ۲۰۱۶ با اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتری دو گونه چوپر یعنی *F. angulate* و *F. bernardii* عنوان کردند که دو عامل الفنا-پینن و زتا-بتا-اسیمن مهمترین ترکیبات و از مهمترین عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی این دو گونه گیاهی در ایران هستند که نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز تطابق کاملی با مطالعه آنان دارد. در حالی که Akhlaghi و همکاران در سال ۲۰۱۲ در مطالعه‌ی خود که بر روی ترکیبات شیمیایی قسمت‌های هوایی گیاه چوپر جمع‌آوری شده از مناطق شمال شرقی ایران بود، گزارش دادند که الفنا-پینن (۱۰/۵ درصد)، لیمونن (۹/۶ درصد)، بتا-میرسن (۵/۵ درصد) و الفنا-فنجیل استات (۴/۲ درصد) از جمله ترکیبات اساسی گیاه هستند. همچنین در این مطالعه عنوان شد که اسانس

در دنیا مطالعات مختلفی در مورد ترکیبات شیمیایی و خواص ضد میکروبی اسانس گیاهان متعلق به خانواده چتریان (*Apiaceae*) انجام گرفته است (Basile et al, 2009; Sepahvand et al, 2014). اما یک گونه خاص از این خانواده که در ایران، عراق و ترکیه رشد می‌کند به نام چوپر عموماً مورد توجه محققین ایرانی بوده است.

به طور مثال Azarbanani و همکاران در سال ۲۰۱۴ اسانس گیاه چوپر را به عنوان عامل ضد میکروبی مؤثر بر علیه میکروارگانیزم‌های بیماری‌زای غذایی، عنوان کردند (Azarbanani et al, 2014). بررسی دیگری نیز بر روی این گیاه به عنوان نگهدارنده مواد غذایی و به منظور افزایش ماندگاری پنیر صورت گرفته است (Darderafshi et al, 2014).

یکی از موارد مشترک در این گونه بررسی‌ها، تعیین ترکیبات مؤثره اسانس است. اسانس‌ها می‌توانند دارای ۶۰ ترکیب مختلف باشند. ترکیبات اصلی اسانس می‌توانند تا ۸۵ درصد وزن اسانس را تشکیل دهند و ترکیبات فرعی تنها به صورت ناچیز موجود می‌باشند. فاکتورهای مختلفی می‌توانند بر روی نوع و میزان این ترکیبات مؤثر باشند. در مطالعه‌ی حاضر از بین ۳۷ ترکیب فعال اسانس چوپر شناسایی شده، الفنا-پینن، زتا-بتا-اسیمن، برنیل-استات، جرماکرن D، گاما-ترپینن، میرسن، سیمن، لیمونن و تیمول دارای درصد بالایی بوده و بقیه ترکیبات در حد ناچیز شناسایی شدند. عمده مواد فرار ثبت شده در اسانس چوپر،

است. به طور مثال Noori و همکاران نانومولسیون زنجبیل را با استفاده از توئین ۸۰ تهیه کرده و میانگین اندازه‌ی ذرات را ۵۷/۴ نانومتر گزارش کردند (Noori et al, 2018). نتایج تقریباً مشابهی توسط Ghosh و همکاران گزارش شده است که در مطالعه آنان نانومولسیون اسانس ریحان توسط توئین ۸۰ و آب مقطر و با استفاده از روش اولتراسونیک تهیه شده بود (Ghosh et al, 2013). این در حالی است که Severino و همکاران اندازه‌ی نانومولسیون کارواکرول و اسانس نارنج، نارنگی و لیمو را که با استفاده از توئین ۲۰ تهیه شده بود با میانگین اندازه‌ی ذرات بین ۱۳۳/۴-۱۷۶/۴ نانومتر گزارش دادند (Severino et al, 2015) که با مطالعه‌ی حاضر همخوانی ندارد. در خصوص اختلاف نتایج می‌توان به نقش توئین ۸۰ اشاره کرد. عنوان شده است که توئین ۸۰ به دلیل ایجاد تعادل زیاد هیدروفیلیک-لیپوفیلیک (HLB<sup>۲</sup> -15) نسبت به سایر پلی سوربات‌ها برای امولسیون روغن در آب مناسب‌تر است (Ghosh et al, 2013). برخی دیگر از محققان نانومولسیون‌ها را با ترکیب اسانس‌های روغنی در محلول‌های بیوپلیمر مانند آلژینات سدیم و کیتوزان قبل از فرایند اولتراسونیک تولید می‌کنند (Artiga-Artigas et al, 2017). همه‌ی این محققان اندازه‌ی ذرات را بسیار بزرگتر (۱۶۹-۴۹۰ نانومتر) از آنچه در مطالعه‌ی حاضر به دست آمده است را گزارش کردند. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که در به دست آوردن سایز ذرات کوچکتر، توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت مناسب در مقایسه با بیوپلیمرها عمل می‌کند. به نظر می‌رسد که در نتیجه استفاده از بیوپلیمرها، یک لایه متراکم و ضخیم بر روی قطرات اسانس تشکیل و سبب افزایش قطر ذرات به دست آمده می‌شود (Qian and McClement, 2011). شاخص PDI در مطالعه‌ی حاضر ۰/۳۲±۰/۲۱۴ ثبت شد. پیک باریک PDI در نانومولسیون از مزایای استفاده از روش اولتراسونیک است که سبب پخش یکنواخت ذرات

به دست آمده از بخش‌های هوایی گیاه شامل مونوترپن‌ها (۷۵/۱ درصد)، سزکوئی ترین‌ها (۱۱/۶ درصد) و ترین‌های غیر هیدروکربنه (۶/۲ درصد) می‌باشد. در مطالعه‌ی دیگری Taran و همکاران در سال ۲۰۱۱ خواص ضد میکروبی و ترکیبات شیمیایی گیاه چویر جمع‌آوری شده از کوه شاهو واقع در استان کرمانشاه در غرب ایران را مورد بررسی قرار داده و عنوان کردند که سیس-اسیمن (۲۷/۹ درصد)، الفاپینن (۲۵/۷ درصد)، برنیل-استات (۳/۹ درصد)، الفا-ترپینن (۰/۱ درصد)، جرماکرن D (۲۲/۳ درصد) و ترانس-اسیمن (۳/۳ درصد) از ترکیبات اصلی گیاه هستند. در مطالعات دیگری در این زمینه، گزارش گردیده است که دو ترکیب الفا-ترپینن و سیس-اسیمن اجزای اصلی اسانس چویر هستند. از دیگر ترکیبات فرار گزارش شده در اسانس گیاه چویر به سدرول، سیترونلول، المن و دکانال نیز اشاره شده که در ترکیبات شیمیایی اسانس مطالعه‌ی حاضر وجود نداشتند و یا مقدار آنها زیر حد تشخیصی بوده است اما به ترکیبات لینلول و تیمول که در مطالعه‌ی حاضر شناسایی شده‌اند اشاره‌ای نشده است (Sefidkon and Omidbigi, 2004; Rustaiyan et al, 2002).

تغییر و تفاوت در مورد ترکیبات مؤثر در اسانس گیاه را می‌توان به اختلاف در روش استخراج اسانس، شرایط جغرافیایی منطقه، تغییرات اقلیمی و فصلی و مرحله رشد گیاه، نسبت داد (Shahbazi et al, 2017; Sepahvand et al, 2014; Ruiz-Navajas et al, 2012). این تنوع و گوناگونی در ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها می‌تواند بر فعالیت بیولوژیکی آن‌ها از جمله فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی-اکسیدانی آن‌ها تأثیر بگذارد.

سایز ذرات نانومولسیون و پتانسیل زتا نیز از دیگر موارد مورد بررسی است. اندازه‌ی قطر ذرات نانومولسیون در مطالعه‌ی حاضر اندازه‌گیری و ۴۲/۷±۱/۵ نانومتر گزارش گردید. این نتیجه با مطالعات سایر محققین نیز قابل مقایسه

## 2. Hydrophilic-lipophilic balance

غیرفعال شدن و یا مرگ باکتری گردند. مکانیسم عملکرد اسانس وابسته به برهم زدن و بی‌ثبات ساختن ساختار لایه‌های غشای فسفولیپیدی، اختلال در غشای سلولی، اثر متقابل با آنزیم‌های غشایی و پروتئین‌ها به عنوان ناقل پروتون و کاهش PH در عرض غشا است (Dussault et al, 2014). به طور مثال نانوامولسیون می‌تواند یون‌هایی را آزاد کند که با گروه تیول پروتئین‌های موجود در سطح سلول باکتری واکنش دهد. در نتیجه این عمل، پروتئین‌ها غیرفعال شده و نفوذپذیری غشاء سلولی کاهش یافته و در نهایت باعث مرگ باکتری می‌شود. نانوذرات می‌توانند با برهمکنش الکتروستاتیک که بین بار مثبت نانو ذره و غشاء سلول که دارای بار منفی است، به آن متصل شده و سبب تخریب غشاء شود. از طرف دیگر انباشتگی نانو ذرات در سیتوپلاسم سلول و روی غشاء خارجی آن می‌تواند از دیگر سازوکارهای دخیل در جلوگیری از رشد و ادامه حیات باکتری باشد.

نانوامولسیون‌های حاصل از روش هموژناسیون با شدت و فشار بالا به دلیل ایجاد ذرات با اندازه کمتر خواص ضد میکروبی بالاتری را در مقایسه با اسانس خالص از خود نشان می‌دهند (Topuz et al, 2016). Moghimi و همکاران در سال ۲۰۱۶ گزارش کردند که نانوامولسیون اسانس آویشن (*Thymus daenensis*) در حدود ۱۰ برابر بیشتر از اسانس خالص آن فعالیت ضد باکتریایی نشان می‌دهد. این نتایج تحت تأثیر عواملی مانند نوع و ویژگی‌های فیزیکی اسانس، روش آماده‌سازی و نوع میکروارگانیسم مورد آزمایش می‌باشد. Shahabi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در مقایسه با اسانس روغنی گیاه خاصیت ضد میکروبی بیشتری به ویژه بر علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز نسبت به سالمونلا تیفی موریوم دارد. آن‌ها همچنین عنوان کردند که خاصیت ضد میکروبی نانوامولسیون وابسته به نوع باکتری، غلظت نانوامولسیون و مدت زمان مواجهه با باکتری است. Moghimi و همکاران در سال ۲۰۱۹ فعالیت ضد باکتریایی اسانس آویشن در هر

در نانوامولسیون می‌گردد. Tang و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش دادند که دامنه و فرکانس اولتراسونیک سبب کاهش PDI نانوامولسیون آسپرین در روش امولسیفیکاسیون اولتراسونیک می‌شود. همان طور که در Figure 1 مقدار پتانسیل-ζ نانوامولسیون نشان داده شده است، مقدار این شاخص  $4/63 \pm 1$  میلی‌ولت برای نانوامولسیون اسانس ثبت شد. پتانسیل-ζ بار سطحی مابین سطح قطرات را به وسیله‌ی اندازه‌گیری بار سورفاکتانت‌های جذب شده در اطراف آن‌ها را تعیین می‌کند که می‌تواند آنیونی، کاتیونی و یا غیر یونی باشد. نانوامولسیون تهیه شده در این مطالعه حاوی سورفاکتانت غیر یونی بود. بنابراین انتظار می‌رفت که دارای بار الکتریکی نزدیک به صفر باشد. با این حال یک پتانسیل منفی برای آن ثبت شد. هنگامی که امولسیون‌ها در معرض فشارهای مکانیکی شدید مانند اولتراسونیک قرار می‌گیرند، ممکن است باعث آزاد شدن گروه‌های آزاد هیدروکسیل و کربوکسیل از ترکیبات شیمیایی اسانس شوند که به سمت سطح قطرات حرکت می‌کنند و برای اتصال به آب در دسترس هستند (Chen et al, 2013). این گروه‌های الکلی و کربوکسیلیک اسید آزاد شده، در افزایش بار منفی سطح مابین قطرات بعد از فرایند اولتراسونیک مؤثر هستند. خنثی نبودن پتانسیل زتا به پایداری فرآورده کمک می‌کند (وجود بارهای همنام بر روی قطره‌های نانوامولسیون باعث ایجاد دافعه نسبی و جلوگیری از به هم چسبیدن و ادغام آن‌ها می‌شود).

مقایسه‌ی فعالیت ضد باکتریایی اسانس و نانوامولسیون نشان داد که نانوامولسیون فعالیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به اسانس دارد که این امر نشان می‌دهد با تبدیل اسانس به ذرات در مقیاس نانو می‌توان فعالیت ضد باکتریایی آن بهبود بخشید. احتمالاً این امر به این دلیل است اسانس به دلیل حلالیت کمی که در آب دارد به راحتی نمی‌تواند با غشا سلول در ارتباط باشد در حالی که ذرات کوچک نانوامولسیون راحت‌تر می‌توانند خود را به سطح غشا سلول‌ها برسانند (Moghimi et al, 2016). به طور کلی نانوامولسیون‌ها از راه‌های مختلفی می‌توانند سبب

می‌تواند به دلیل استفاده از گونه‌های مختلف باکتریایی، شرایط آزمایش و یا حجم اسانس اضافه شده بر روی دیسک‌های کاغذی و قطر لایه آگار باشد (Elizaquível et al, 2013). اسانس گیاه چویر در مقایسه با سایر اسانس‌ها و عصاره‌هایی مانند نعنا، سیر، آویشن و میخک، فعالیت ضد باکتریایی کمتری در برابر میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش دارد. علت این امر را می‌توان استفاده از گونه‌های مختلف باکتری، شرایط محیط آزمایش و درصد ترکیبات ضد میکروبی در اسانس نسبت داد (Rivas et al, 2010; Burt et al, 2005).

همان‌طور که در Table 3 مشاهده می‌شود اسانس و نانوامولسیون دارای اثرات قابل توجهی بر روی مهار رشد *آسپریژیلوس نایجر* و *کاندیدا البیکنز* هستند. این مطالعه نشان داد که نانوامولسیون اثرات مهاری مطلوب‌تری نسبت به اسانس در مهار این دو قارچ بیماری‌زا دارد. اثرات مهاری اسانس و نانوامولسیون بر علیه *آسپریژیلوس نایجر* و *کاندیدا البیکنز* ممکن است به دلیل وجود مونوترپن‌های اکسیژنه در اسانس و نانوامولسیون آن باشد. همان‌طور که قبلاً ذکر شد، یکی از ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس چویر تیمول است. تیمول یکی از مهمترین ترکیبات مونوترپنی اکسیژنه با خاصیت ضدباکتریایی و ضد قارچی و جلوگیری کننده از رشد و تولید مایکوتوکسین‌هاست (Tiwari et al, 2009). یافته‌های ما در مورد فعالیت‌های ضد قارچی گیاه چویر مطابق با مطالعات قبلی است که درجات مختلفی از اثرات مهار رشد اسانس و عصاره‌ها را در برابر چندین قارچ فیتوپاتوزن بیان کرده است (Shahbazi et al, 2017; Cakir et al, 2005). در یک مطالعه Samani و همکاران در سال ۲۰۱۹ عنوان کردند که نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۵ µl/mL و نانوامولسیون اسانس زنیان با غلظت ۲۵µl/mL دارای اثرات مهاری بیشتری نسبت به اسانس خالص هر دو گیاه بر علیه قارچ مقاوم به حرارت بایسوکلامیس می‌باشند. همچنین در این مطالعه گزارش شد که نانوامولسیون‌ها سبب کاهش معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) در جمعیت قارچی تلقیحی در نمونه مورد آزمایش (آب سیب)

دو شکل خالص و نانو امولسیون در برابر *اشریشیا کولای* مورد ارزیابی قرار داده و عنوان کردند که فعالیت ضد باکتریایی اسانس زمانی که به نانوامولسیون تبدیل می‌شود به دلیل دسترسی سریع‌تر اسانس به سلول باکتری افزایش می‌یابد. Bhargava و همکاران در سال ۲۰۱۵ عنوان کردند که استفاده از نانو امولسیون پونه کوهی نسبت به اسانس خالص یک رویکرد کنترل‌کننده میکروبی مؤثر است. در این مطالعه نشان داده شد که نانوامولسیون پونه کوهی اثرات ضد باکتریایی مؤثری بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مواد غذایی از جمله *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی* موریوم و *اشریشیا کولای* دارد. Almadiy و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که نانوامولسیون اسانس گیاه بومادران در مقایسه با اسانس خالص خواص ضد باکتریایی بیشتری به ویژه بر روی مهار باکتری‌های گرم مثبت دارد. در این مطالعه عنوان شد که *استافیلوکوکوس ارئوس* حساس‌ترین باکتری به اسانس و نانوامولسیون بومادران می‌باشد. خاصیت ضدباکتری اسانس گیاه چویر را می‌توان به وجود مونوترپن‌های هیدروکربنه، مونوترپن‌های اکسیژنه و سزکوئی‌ترین‌ها نسبت داد (Azarban et al, 2014; Darderafshi et al, 2014). در مطالعه‌ی حاضر نیز مقادیر زیادی از مونوترپن‌ها در اسانس یافت شد. مقایسه‌ی نتایج به دست آمده با سایر مطالعات مشابه نیز نشان می‌دهد که نتایج این مطالعه با آن‌ها همخوانی نسبی دارد. به طور مثال در مطالعه‌ای که توسط Shahbazi و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام گرفت، عنوان گردید که باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت حساسیت کمتری نسبت به اسانس چویر دارند و تحلیل کردند که این حساسیت کمتر به اسانس چویر به دلیل وجود ساختار آب‌گریز لیپولی ساکارید باکتری‌های گرم منفی است که به ویژه به مولکول‌های اسانس غیر قابل نفوذ می‌باشند. آن‌ها همچنین بیان کردند که اسانس گیاه چویر گونه *Ferulago angulata* می‌تواند منبع غنی از مواد ضد میکروبی علیه باکتری‌های عامل فساد غذایی باشد. البته باید توجه داشت که تفاوت در میزان خواص ضد میکروبی اسانس در مطالعات مختلف

ذرات و مقابله بهتر با رادیکال‌های آزاد دانست (Luximun-) (Ramma et al, 2002).

Seibert و همکاران در سال ۲۰۱۸ گزارشی دادند که تولید نانوامولسیون از اسانس استخراج شده از برگ‌های علف لیمو (*Cymbopogon densiflorus*) توانایی ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی در حدود ۴ برابر بیشتر از اسانس خالص را دارد. مقادیر IC<sub>50</sub> در روش ABTS در نمونه نانوامولسیون ۰/۵۶۷ mg/mL و در نمونه اسانس خالص ۰/۴۳۰ mg/mL و در روش DPPH مقادیر IC<sub>50</sub> برای نانوامولسیون و اسانس خالص به ترتیب ۱۴/۶۸ mg/mL و ۳/۶۹ mg/mL گزارش شده است. برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها از روش‌های متنوعی استفاده شده است. این روش‌ها تحت شرایط مختلف از قبیل نسبت حلالیت آنتی‌اکسیدان بین فازهای آبی و آلی، میزان دما، شدت نور، شرایط اکسیداسیون و ماده اکسید شونده و در روش‌های خاص نقطه‌ی پایان واکنش و مقدار اکسیداسیون، مقادیر متفاوتی را ارائه می‌دهند (Ahmadi et al, 2010). Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۶) با مطالعه بر روی اسانس گیاه چویر (*Ferulago angulata*) جمع‌آوری شده از مناطق غرب ایران و اندازه‌گیری ویژگی‌های شیمیایی، ضدباکتری و آنتی‌اکسیدانی دریافتند که به نسبت خاصیت آنتی-باکتریایی این گیاه دارای خواص بالای آنتی‌اکسیدانی است. آن‌ها یکی از دلایل فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اسانس را به مقدار بالای تیمول به عنوان یک ترکیب فنولی در ترکیبات اسانس عنوان کردند. Khanahmadi و Janfeshani (۲۰۰۶) خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه *Ferulago angulata* جمع‌آوری شده از مناطق غرب ایران را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه مقادیر متفاوتی از اسانس روغنی و عصاره گیاه به روغن گیاهی اضافه گردید. با مقایسه مقادیر به دست آمده از شاخص‌های TBA و PV همچنین مقایسه آن‌ها با نمونه کنترل حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی THBQ، مشخص شد که اسانس و عصاره‌ی گیاه وارد شده به روغن گیاهی خواص بالای آنتی‌اکسیدانی نسبت به گروه کنترل دارا هستند. عصاره با

شد. در مطالعه‌ی دیگری که توسط Miastkowska و همکاران در سال ۲۰۲۰ انجام گرفت، عنوان گردید که نانوامولسیون اسانس‌های دارچین، آویشن، مانوکا و چای سبز دارای خواص ضد قارچی بالایی نسبت به اسانس خالص علیه کپک و مخمرهای مهم مواد غذایی می‌باشند. در بین نانوامولسیون‌های مورد مطالعه، نانوامولسیون مانوکا دارای بیشترین قدرت مهارکنندگی در برابر قارچ‌های مورد آزمایش را نشان داد. این مطالعه همچنین عنوان کرد که نانوامولسیون‌های می‌توانند به عنوان محصولات ضد قارچ ایمن، تجزیه‌پذیر، سازگار با محیط زیست در صنایع دارویی و آرایشی مورد استفاده قرار گیرند. Sahbazi در سال ۲۰۱۹ عنوان کرد که نانوامولسیون اسانس میخک خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی بالایی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مواد غذایی دارد. این مطالعه گزارش می‌کند که خواص ضد قارچی اسانس و نانوامولسیون به دلیل وجود ترپنوئیدهای مختلف چربی دوست در طبیعت که سبب اختلال در غشاء سلولی میکروارگانیسم و در نهایت مرگ سلول و یا مهار جوانه‌زنی و هاگزایی قارچ‌های فسادزای مواد غذایی می‌باشد. مکانیسم‌های مختلف دیگر در مهار فعالیت قارچ‌های فسادزا شامل مهار در سنتز ارگوسترول، مهار آنزیم‌های موجود در سنتز دیواره سلولی، تغییر در مورفولوژی دیواره سلولی، تولید گونه‌های واکنش دهنده اکسیژن و تغییر نفوذپذیری غشای سلولی است.

در این مطالعه بررسی مقادیر DPPH و ABTS<sup>+</sup> اسانس و نانوامولسیون نشان داد که گرچه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و نانوامولسیون به وضوح از گروه استاندارد (BHT) پایین‌تر است اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون در هر دو روش بیشتر از اسانس گیاه است و تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود دارد ( $P < 0/001$ ) به نظر می‌آید ترکیبات فنولی که به صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و قدرت آنتی-اکسیدانی بالایی دارند، در نانوامولسیون قوی‌تر از اسانس عمل می‌کنند علت این امر را می‌توان به کوچک بودن اندازه

قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر اسانس گیاه چویر در این مطالعه نسبت به مطالعات دیگر وجود مقدار مناسب این ترکیبات در اسانس و نانوامولسیون آن باشد. در این مطالعه بیشترین درصد ترکیبات استخراج شده مربوط به دسته هیدروکربن-های مونوترپنی و مونوترپن‌های اکسیژنه است. تغییر و تفاوت در ترکیبات مؤثر در اسانس گیاه به فاکتورهای متفاوتی ارتباط دارد. مقایسه فعالیت ضدباکتریایی اسانس و نانوامولسیون نشان داد که نانوامولسیون فعالیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به اسانس دارد، علاوه بر این فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون نیز بیشتر از اسانس گیاه است. لذا با تبدیل اسانس به نانوامولسیون اسانس گیاه چویر می‌توان خواص آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش داد.

غلظت ۰/۰۵ درصد بالاترین اثر آنتی‌اکسیدانی را نسبت به TBHQ نشان می‌دهد. طبق مطالعه Akhlaghi، مونوترپن‌ها (۷۵/۱ درصد) و سزکوئی ترپن‌ها (۱۱/۹ درصد) ترکیبات اسانس گیاه چویر را تشکیل می‌دهند که این مسئله ممکن است به قدرت بالای آنتی‌اکسیدانی این گیاه مرتبط باشد. به طور کلی، مونوترپن‌های اکسیژنه و مونوترپن‌های هیدروکربنه ترکیبات عمده آنتی‌اکسیدان در گیاهان هستند (Akhlaghi et al, 2012). همچنین عنوان شده است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های روغنی به ترکیبات شیمیایی آن‌ها به ویژه به ترکیبات فنولیک مانند کارواکرول و تیمول ارتباط دارد (Shahbazi et al, 2017). در مطالعه‌ی حاضر نیز تیمول و کارواکرول اگر چه در مقادیر اندک در ترکیبات اسانس مورد آزمایش حضور داشتند اما مقدار آن‌ها در مقایسه با مطالعات مشابه بالاتر بود. لذا به نظر می‌رسد

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه این تحقیق را در قالب پژوهانه پایان‌نامه‌ای فراهم نموده است سپاسگزاری می‌نماید.

## تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

## منابع مالی

منابع مالی این پژوهش در قالب پژوهانه شماره SCU.VF98-534 توسط دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شده است.

## منابع

- Ahmadi, F., Sadeghi, S., Modarresi, M., Abiri, R., & Mikaeli, A. (2010). Chemical composition, in vitro anti-microbial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus* Benth., of Iran. *Food and Chemical Toxicology*, 48(5), 1137-1144.
- Akhlaghi, H. (2012). Volatile Constituents from the aerial parts of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. growing wild northeast Iran. *Analytical Chemistry Letters*, 2(2), 133-138.
- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., & Martín-Belloso, O. (2017). Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsion-based edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber. *Food Control*, 76, 1-12.
- Azarbani, F. A. R. I. D. E. H., Saki, Z. E. I. N. A. B., Zareei, A., & Mohammadi, A. B. D. O. L. N. A. S. S. E. R. (2014). Phenolic contents, antibacterial and antioxidant activities of flower, leaf and stem extracts of *Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(10), 123-125.

- Azizkhani, M., Misaghi, A., Basti, A. A., Gandomi, H., & Hosseini, H. (2013). Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and gene expression of enterotoxins A, C and E in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 159-165.
- Basile, A., Sorbo, S., Spadaro, V., Bruno, M., Maggio, A., Faraone, N., & Rosselli, S. (2009). Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae). *Molecules*, 14(3), 939-952.
- Biasi-Garbin, R., Saori Otaguiri, E., Morey, A. T., Fernandes da Silva, M., Belotto Morguette, A. E., Armando Contreras Lancheros, C., ... & Yamada-Ogatta, S. F. (2015). Effect of eugenol against *Streptococcus agalactiae* and synergistic interaction with biologically produced silver nanoparticles. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
- Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H., & Kaya, E. (2005). Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(3), 245-256.
- Chen, J., Gao, D., Yang, L., & Gao, Y. (2013). Effect of microfluidization process on the functional properties of insoluble dietary fiber. *Food Research International*, 54(2), 1821-1827.
- Darderafshi, M. J., Bahrami, G. H., Sadeghi, E., Khanahmadi, M., Mohammadi, M., & Mohammadi, R. (2014). The effect of *Ferulago angulata* essential oil on *Staphylococcus aureus* during the manufacture and preservation of Iranian white cheese. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 8(4), 13-20.
- Dussault, D., Vu, K. D., & Lacroix, M. (2014). In vitro evaluation of antimicrobial activities of various commercial essential oils, oleoresin and pure compounds against food pathogens and application in ham. *Meat Science*, 96(1), 514-520.
- Elizacúvel, P., Azizkhani, M., Sánchez, G., & Aznar, R. (2013). Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil activity against *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* by propidium monoazide quantitative PCR in vegetables. *Food Control*, 34(2), 770-776.
- Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2013). Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 338-344.
- Hosseinnia, M., Khaledabad, M. A., & Almasi, H. (2017). Optimization of *Ziziphora clinopodioides* essential oil microencapsulation by whey protein isolate and pectin: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 958-966.
- Kelen, M., & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99(10), 4096-4104.
- Khanahmadi, M., & Janfeshan, K. (2006). Study on antioxidation property of *Ferulago angulata* plant. *Asian Journal of Plant Sciences*.
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T., Soobrattee, M. A., & Aruoma, O. I. (2002). Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5042-5047.
- McClements, D. J. (2012). Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, 8(6), 1719-1729.
- Moghimi, R., Ghaderi, L., Rafati, H., Aliahmadi, A., & McClements, D. J. (2016). Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food chemistry*, 194, 410-415.
- Miastkowska, M., Michalczyk, A., Figacz, K., & Sikora, E. (2020). Nanoformulations as a modern form of biofungicide. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 18(1), 119-128.
- Noori, S., Zeynali, F., & Almasi, H. (2018). Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control*, 84, 312-320.
- Pirbalouti, A., Izadi, A., Malek Poor, F., & Hamed, B. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Ferulago angulata*. *Pharmaceutical Biology*, 54(11), 2515-2520.
- Qian, C., & McClements, D. J. (2011). Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1000-1008.
- Rivas, L., McDonnell, M. J., Burgess, C. M., O'Brien, M., Navarro-Villa, A., Fanning, S., & Duffy, G. (2010). Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2), 70-78.

- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J. A., & Fernández-López, J. (2012). Chemical characterization and antibacterial activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, two *Thymus* endemic species from southeast of Spain. *Food Control*, 27(2), 294-299.
- Rustaiyan, A., Sedaghat, S., Larijani, K., Khosravi, M., & Masoudi, S. (2002). Composition of the essential oil of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 14(6), 447-448.
- Samani, S., Soleimani-Zad, S., Sheikh-Zeinoddin, M., & Fathi, M. (2019). Evaluation of *Zataria multiflora* Boiss. and *Carum copticum* L. Essential Oil Based Nanoemulsions in Inhibition of *Byssoschlamys fulva* Growth in Apple Juice. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(2), 357-368.
- Shahbazi, Y. (2019). Antioxidant, antibacterial, and antifungal properties of nanoemulsion of clove essential oil. *Nanomedicine Research Journal*, 4(4), 204-208.
- Seibert, J. B., Rodrigues, I. V., Carneiro, S. P., Amparo, T. R., Lanza, J. S., Frézard, F. J. G., ... & Santos, O. D. H. D. (2019). Seasonality study of essential oil from leaves of *Cymbopogon densiflorus* and nanoemulsion development with antioxidant activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 34(1), 5-14.
- Sefidkon, F., & Omidbaigi, R. (2004). Chemical composition of the essential oil of *Ferulago angulata* from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 7(1), 60-63.
- Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Veiskarami, G. H., & Ghasemian-Yadegari, J. (2014). Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, S491-S496.
- Severino, R., Ferrari, G., Vu, K. D., Donsi, F., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2015). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella Typhimurium* on green beans. *Food Control*, 50, 215-222.
- Shahabi, N., Tajik, H., Moradi, M., Forough, M., & Ezati, P. (2017). Physical, antimicrobial and antibiofilm properties of *Zataria multiflora* Boiss essential oil nanoemulsion. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(7), 1645-1652.
- Shahbazi, Y., Karami, N., & Shavisi, N. (2018). Effect of *Ziziphora clinopodioides* essential oil on shelf life and fate of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in refrigerated chicken meatballs. *Journal of Food Safety*, 38(1), e12394.
- Shahbazi, Y., Shavisi, N., Karami, N., & Kakaei, S. (2015). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss essential oil. *Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 6-11.
- Shahbazi, Y., Shavisi, N., Modarresi, M., & Karami, N. (2016). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from the aerial parts of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss and *Ferulago bernardii* Tomk. & M. Pimen from different parts of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(7), 1627-1638.
- Shavisi, N., Khanjari, A., Basti, A. A., Misaghi, A., & Shahbazi, Y. (2017). Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat Science*, 124, 95-104.
- Singh, G., Kapoor, I. P. S., Singh, P., de Heluani, C. S., de Lampasona, M. P., & Catalan, C. A. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3295-3302.
- Srinivasan, R. M. J. N., Chandrasekar, M. J. N., Nanjan, M. J., & Suresh, B. (2007). Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 284-291.
- Tang, S. Y., Manickam, S., Wei, T. K., & Nashiru, B. (2012). Formulation development and optimization of a novel Cremophore EL-based nanoemulsion using ultrasound cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(2), 330-345.
- Taran, M., Ghasempour, H. R., & Shirinpour, E. (2010). Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 3(1), 10-14.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 5987-6000.
- Topuz, O. K., Özvural, E. B., Zhao, Q., Huang, Q., Chikindas, M., & Gölükçü, M. (2016). Physical and antimicrobial properties of anise oil loaded nanoemulsions on the survival of foodborne pathogens. *Food Chemistry*, 203, 117-123.

Received: 13.06.2020

Accepted: 08.07.2020



## Comparison of antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and Nano-emulsion of *Ferulago angulata* (Chavir) collected from the western regions of Iran

Farnoosh Fakhari<sup>1</sup>, Siavash Maktabi<sup>2\*</sup>, Ali Fazlara<sup>3</sup>, Neda Bavarsad<sup>4</sup>  
and Mehdi Pormehdi Brojeni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PhD Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>3</sup> Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy and Nanotechnology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Accepted: 08.07.2020

Received: 13.04.2020

### Abstract

Natural preservatives are widely used in the food industry, today. In this study, the essential oil of Chavir plant (*Ferulago angulate*) was formulated as a water-dispersible nano-emulsion (diameter = 42 nm) using high pressure ultrasonic method. Analysis of essential oil composition showed that monoterpene hydrocarbons and oxygen monoterpenes comprised the main compounds of essential oil. The antimicrobial activity of essential oil and Nano-emulsion oil was evaluated with determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum biocidal concentration (MBC) as well as the disc diffusion agar methods on four pathogenic bacterial strains and two important fungi that cause foodborne illness. In addition, antioxidant activity was measured using DPPH free radical scavenging method and ABTS<sup>+</sup> radical cation. The results showed that the antimicrobial activity of the essential oil increases when it is converted to Nano-emulsion due to easier access of Nano-emulsion to the bacterial cell membrane. In general, gram-positive bacteria displayed more susceptibility to the Nano-emulsion than gram-negative bacteria. *Listeria monocytogenes* was the most susceptible bacteria to the antibacterial activity of essential oils and Nano-emulsion. In addition, essential oils and Nano-emulsion had significant effects on inhibiting the growth of *Aspergillus niger* and *Candida albicans*. Although the antioxidant activities of essential oils and Nano-emulsion were significantly lower than the standard group (BHT), the antioxidant activity of Nano-emulsion was higher than in free essential oils using both methods. The results of this study showed that by converting essential oil to the Nano-emulsion of Chavir essential oil, its antimicrobial and antioxidant properties can be increased.

**Key words:** Antimicrobial activity, Antioxidant, Chavir, *Ferulago angulata*, Nano-emulsion

---

\* **Corresponding Author:** Siavash Maktabi, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran  
E-mail: s.maktabi@scu.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).