سنتز نانوفیتوزوم عصاره موسیر و اثر آن بر باکتری *اشریشیاکلی*

حسن الجزائری [a]، آسا ابراهیمی [*b]

[a] کارشناس ارشد گروه بیوتکنولوژی و به نژادی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استادیار گروه بیوتکنولوژی و به نژادی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۰۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۱/۲۹
https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1401.20.1.3.7 DOI: 10.30495/jftn.2022.66229.11194

چکیده

مقدمه: تحقیقات سالهای اخیر نشان می‌دهد که ترکیبات فیتوشیمیایی بعنوان ترکیبات آنتی اکسیدان و ضد میکروبی در مواد غذایی حائز اهمیت هستند و بکار گیری فرمولاسیون‌های مبتنی بر نانو حامل‌ها در رهایش کنترل شده و حفاظت از این ترکیبات راهکاری موثر برای حفظ این خواص محسوب می‌شود. در این پژوهش موسیر ایرانی به نام علمی Allium stipitatum Regel بدلیل داشتن مواد فیتوشیمیایی منحصر به فرد این گیاه استفاده شده است. هدف از این تحقیق تهیه و مشخصه یابی ساختاری نانوفیتوزوم سنتز شده حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی موسیر و اثرات ضد میکروبی آن در مقایسه با عصاره موسیر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: عصاره آبی الکلی موسیر از گیاه خشک شده بدست آمد. با روش هیدروکسیون لایه نازک ساختار نانوفیتوزوم آن تهیه شد. ساختار نانوفیتوزوم سنتز شده توسط میکروسکوپ SEM و زتاسایزر (DLS) بررسی شد. در نهایت سنجش خواص ضد میکروبی بر روی باکتری‌های اشریشیا کلی، مورد بررسی قرار گرفت. سنجش ضد باکتری با کمک آزمون‌های MIC و MBC برای نمونه عصاره موسیر و نانوفیتوزوم غلظت‌های متوالی از نمونه انجام گرفت.

یافته‌ها: بررسی‌های ساختار نانوفیتوزوم حاکی از شکل کروی و اندازه ۵-۱۰ نانومتر نانوفیتوزوم‌ها بود. پراکندگی نانوفیتوزوم در محیط کلوئیدی به شکل مناسب و شاخص PDI برابر با معادل ۰/۵۸۶ دیده شد. نتیجه آزمون‌های میکروبی نشان داد که اثر نانوفیتوزوم بر روی باکتری‌ها قدرت آنتی میکروبیال نانوفیتوزوم به شکل معنی‌داری نسبت به عصاره موسیر بر روی نمونه‌های اشریشیا کُلی بیشتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: این تحقیق اثر نانوفیتوزوم بدست آمده عصاره موسیر بعنوان یک نانوبیوساختار آنتی میکروبیال را به اثبات می‌رساند.

واژه‌های کلیدی: *اشریشیا کُلی، عصاره، موسیر، نانوفیتوزوم*

[*] نویسنده مسئول مکاتبات email: dr.asaebrahimi@gmail.com

مقدمه

A. stipitatum (مترادف: A. hirtifolium) یا موسیر ایرانی از خانواده Amaryllidaceae با نام بومی «Mooseer» یکی از Alliums خوراکی مهم ایران است. Allium بزرگ‌ترین و مهم‌ترین جنس نماینده خانواده Amaryllidaceae است. Allium یک جنس بسیار متغیر و از نظر طبقه بندی دشوار است. از شمال غرب تا جنوب ایران و به صورت گیاهی وحشی در رشته کوه‌های زاگرس در ارتفاعات استان‌های مختلف با آب و هوای بسیار سرد تا سرد می روید. این یکی از اعضای ارزشمند Allium است که از آن معمولاً به عنوان یک درمان سنتی استفاده می‌شود موسیر با نام علمی *Allium hirtifolium* Boiss متعلق به جنس آلیوم *Allium* و از خانواده بزرگ لالهسانان است که این خانواده گونه‌های مهم دیگری مثل سیر، پیازها و تره فرنگی را شامل می‌شود. این گیاه بومی ایران است و به صورت وحشی در مراتع کوهستان‌های ایران می‌روید. موسیر دارای ترکیبات مهم سولفوری شامل آلیسین (دیآلیل تیوسولفانات)، ساپونین، ساپوجنین، آجوین، دیآلیل دیسولفید، دیآلیل تریسولفید و اسآلیل سستین است. همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌های C،E ، B، A مواد معدنی (سلنیوم، آهن، مس، فسفر، کلسیم، سدیم، منیزیم، روی و منگنز)، پروتئین، فیبر و فلاونوئیدها (کوئرستین و کائمفرول) از ترکیبات غیرسولفوری موسیر هستند. آزمایش‌ها نشان می‌دهند که این گیاه دارویی مهم اثرات ضد باکتریایی تقویت کنندگی سیستم ایمنی و آنتی اکسیدانی دارد. همچنین از اسانس موسیر ایرانی به عنوان عامل طعم دهنده، ضد میکروبی، ضدقارچی و آنتی اکسیدانی به طور گسترده در صنعت غذا استفاده می‌شود (Faraji *et al*., 2018). گیاه موسیر به علت داشتن ترکیبات فنولیک و آرگانوسولفور و همچنین آلیسین، خواص آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارد که باعث کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار اکسیداسیون لیپیدها میشود (Ezadi *et al*., 2019) ایران مرکز اصلی تنوع Allium در آسیای جنوب غربی و مرکزی می‌باشد. ساپونین‌ها، ساپوژنین‌ها، ترکیبات سولفوریک (تیوسولفینات‌ها) و فلاونوئیدها از جمله کورستین و کامفرول در گونه‌های مختلف جنس Allium یافت می‌شوند. تحقیقات نشان داده است که هم پیاز و هم گل موسیر حاوی تراکم بالایی از فلاونول‌های گلیکوزیدی هستند. ترکیبات دی سولفید و تری سولفید از مهم ترین ترکیبات موجود در گونه Allium هستند (Sheida *et al*., 2016). نانوکپسولاسیون قادر است حلالیت و پایداری ترکیبات زیست فعال را در فاز آبی غذاها و نوشیدنی‌ها در طول دوره نگهداری بهبود بخشد. و همچنین نانوکپسولاسیون می‌تواند به پوشاندن عطر بی‌طعم و قوی کمک کند که ممکن است بر خواص حسی محصولات تأثیر منفی بگذارد (Saifullah *et al*., 2019). فیتوزوم یکی از جدیدترین vesicular system مبتنی بر لیپید است که در فرمولاسیون مواد غذایی مبتنی بر گیاه شناسی و داروها استفاده می‌شود (Ghanbarzadeh *et al*., 2016; (Babazadeh *et al*., 2018). فرمولاسیون فیتوزوم برای کپسوله کردن ترکیبات زیست فعال عصاره‌های گیاهی باعث افزایش قابل توجه فراهمی زیستی آنها، بهبود جذب آنها در دستگاه گوارش، بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی ترکیبات زیست فعال می‌شود و می تواند از ترکیبات غذایی مانند مواد غذایی مانند گذشته در فرآیندهای غذایی محافظت کند (Maryam *et al*., 2019). عقیم سازی (pH، پردازش حرارتی) و ذخیره سازی افزایش پایداری فیتوزوم معمولاً به دلیل ایجاد پیوندهای هیدروژنی پایدار بین مولکول‌های فسفاتیدیل کولین و مواد مغذی است که منجر به تولید کمپلکس محلول در آب و چربی می‌شود (Ghanbarzadeh *et al*., 2016). فیتوزوم اخیراً برای چند ترکیب گیاهی مانند فلاونوئیدها در ترکیبات گیاهی مانند سیلیمارین (Maryana *et al*., 2016)، کورکومین، سینیگرین، روتین و کورستین در مطالعات بالینی و دارویی استفاده شده است. با این حال، کاربرد فیتوزوم به عنوان یک سیستم تحویل درجه غذایی جدید کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. بوی قوی، نامحلول بودن در غذاهای آبی، حساسیت به گرما، شرایط قلیایی و تخریب توسط عوامل محیطی در طول پردازش مواد غذایی و ذخیره سازی از معایب اصلی تایید کننده نیاز به استفاده از روش‌های جدید مانند کپسوله کردن فیتوزوم است. فیتوزوم‌ها، مجموعه ای از مواد زیست فعال طبیعی و فسفولیپیدها، عمدتاً فسفاتیدیل کولین، جذب عصاره‌های گیاهی یا مواد فعال جدا شده را در صورت استفاده موضعی یا خوراکی افزایش می‌دهند. کپسوله‌سازی فرآیندی است که یک ماده را درون ماده دیگر به دام می‌اندازد و در نتیجه

ذراتی با قطر چند نانومتر تا چند میلی‌متر تولید می‌کند. اجزای محصور شده ممکن است مواد پایه، عامل فعال، پر، فاز داخلی یا فاز محموله نامیده شوند. فیتوزوم‌ها و لیپوزوم‌ها نمونه هایی از این سیستم‌های کپسوله کننده هستند که در کاربردهای غذایی و فارماکوکینتیکی مناسب هستند. فیتوزوم یک فناوری است که با ترکیب عصاره‌های گیاهی استاندارد شده یا ترکیبات گیاهی محلول در آب در فسفولیپیدها برای تشکیل کمپلکس‌هایی که توانایی افزایش فعالیت زیستی و اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره را دارند، توسعه یافته است. (Gaikwad *et al*., 2021). بر این اساس، هدف از این تحقیق، تهیه نانوفیتوزوم حاوی عصاره موسیر برای نمونه غذا برای غلبه بر مشکلات عمده و بهبود خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می باشد.

مواد و روش‌ها

گیاه موسیر خشک شده از موسسه تحقیقات گیاهان دارویی تهیه و ناخالصی آن تا حد امکان جدا گردید. سپس در آزمایشگاه با آسیاب برقی به صورت پودر درآمد. از ۳۰۰ گرم پودر موسیر خشک با یک حجم 1000 میلی لیتری متانول 96 درصد به روش سوکسله به مدت ۴ ساعت عصاره گیری شد و در مرحله بعد حلال عصاره به دست آمده توسط دستگاه روتاری به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد خارج و بعد در آون تا حد خشک شدن تغلیظ گردید.

- **تهیه نانوفیتوزوم**

برای تولید نانوفیتوزوم از روش هیدراسیون فیلم لایه نازک استفاده شد (Maryam *et al*., 2019). برای این منظور حدود ۶۰ میلی گرم از پودر عصاره گیاه موسیر و ۱۲۰ میلی‌گرم فسفاتیدیل کولین در ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول۹۶ درصد حل شد و به اواپراتور دوار تحت خلا در یک فلاسک ته گرد به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد وارد شده تا تمام حلال آلی از بین برود و تشکیل یک لایه نازک اطراف فلاسک بدهد. پس از آن ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد، و با دست بصورت چرخشی تکان داده شد و سپس از دستگاه هموژنایزر با سرعت ۲۰،۰۰۰ دور در دقیقه برای ۲۰ دقیقه استفاده شد (شکل ۱). برای بررسی فیتوزوم‌های ساخته شده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) , DLS استفاده گردید.

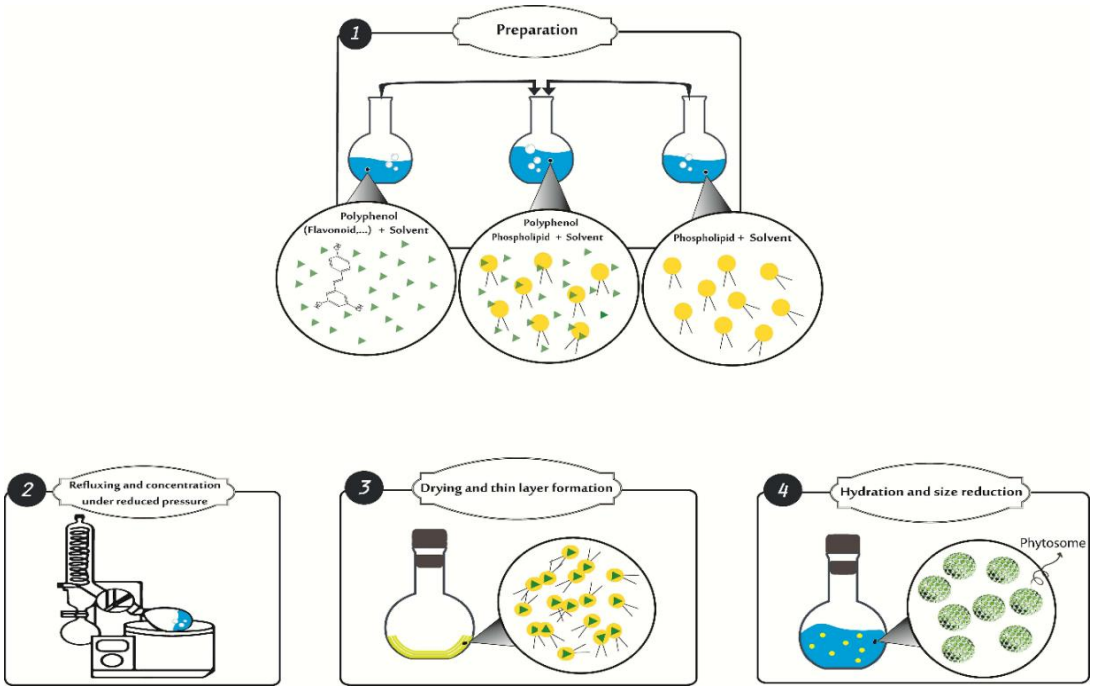


Figure 1- Thin-film hydration as the most common method for phytosome preparation. Steps 1 to 4 are the procedures of phytosome preparation. (Barani *et al*., 2021) .

شکل ۱ – هیدراتاسیون لایه نازک به عنوان رایج ترین روش برای تهیه فیتوزوم. مراحل ۱ تا ٤ مراحل آماده سازی فیتوزوم است (Barani *et al*., 2021).

- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

SEM یک فتومیکروگراف از فیتوزوم را با بزرگنمایی مناسب پس از پوشش با طلا ارائه می‌دهد. مطالعات مورفولوژی سطح اغلب برای شناسایی رفتار به دام انداختن، خواص سطح و وجود یا عدم وجود ناخالصی روی سطح مهم است. به‌طور کلی، سطح فیتوزوم‌ها هیچ ذرات کریستالی یا ناخالصی روی سطح نشان نمی‌دهد. SEM بینش‌های مهمی در مورد خواص حالت جامد و مورفولوژی سطح مجتمع ارائه کرده است. SEM نشان داده است که ترکیبات فعال را می توان در حالت بسیار کریستالی مشاهده کرد (Mazumder *et al*., 2016) .آماده سازی نمونه با آب مقطر صورت گرفته و روی لامل تا خشک شدن کامل قرار داده شد. سپس نمونه مورد نظر با طلا پوشش پلاتین دهی شده و سپس تصویربرداری از نمونه با میکروسکوپ الکترونی روبشی صورت گرفت.

- اندازه ذرات، توزیع اندازه و پتانسیل زتا

اندازه ذرات، توزیع اندازه و پتانسیل زتا پارامترهایی هستند که می‌توانند با پراکندگی نور دینامیکی (DLS) و طیف‌سنجی همبستگی فوتون (PCS) تجزیه و تحلیل شوند (Afshin *et al*., 2018). تکنیک DLS اندازه ذرات را بر اساس اندازه‌گیری‌های حرکت براونی ارائه می‌کند. همچنین توزیع ذرات را با اندازه گیری شاخص پراکندگی پلی (PDI) نشان می دهد. پتانسیل زتا پارامتر دیگری است که می تواند در تعیین پایداری فیتوزوم‌ها بسیار مهم باشد که بر حرکت براونی نیز تأثیر دارد. DLS در تعیین پتانسیل زتا فیتوزوم‌ها به منظور ارزیابی رفتارهای فیزیکی آنها مفید است. تکنیک PCS برای بررسی اندازه‌های فیتوزوم و تایید ساختار vesicular فرمول‌های نهایی فیتوزوم استفاده می‌شود. مطالعه PCS بیشتر نشان می‌دهد که فرآیند هیدراتاسیون در فیتوزوم‌ها اغلب ساختارهایی مانند لیپوزوم‌های تک لایه ایجاد می‌کند (Babak *et al*., 2016).

اندازه ذرات و پتانسیل زتا خواص مهم مرتبط با پایداری و تکرارپذیری کمپلکس‌ها هستند. از نقطه نظر نظری، پتانسیل زتا پتانسیل الکتریکی لایه دوگانه سطحی (DL) در موقعیت صفحه لغزنده نسبت به نقطه سیال توده دور از سطح مشترک است. به عبارت دیگر، تفاوت پتانسیل بین محیط پراکندگی و لایه ثابت سیال متصل به ذره پراکنده، پتانسیل زتا است (Lowry *et al*., 2016). اندازه و توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتای نمونه در دستگاه اندازه گیری کننده اندازه ذراتNano – ZS ساخت شرکت (Malvern انگلستان) در دمای 25درجه اندازه گیری شد. متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی تعیین شد. تمام نتایج مربوط به میانگین سه بار تکرار نمونه‌ها می‌باشد.

- فعالیت ضد باکتریایی نانوفیتوزوم‌ها و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه موسیر

حداقل غلظت مهاری MIC نانو فیتوزوم‌های SE با استفاده از روش رقت میکروبروت در پلیت ۹۶ چاهکی تعیین گردید. برای بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف نانو فیتوزوم‌های بارگذاری شده با SE، تعلیق‌های باکتریایی به معادل کدورت ۰/۵ مک فارلند تنظیم و سپس با محیط رقیق می شوند تا چگالی سلولی بهینه شده (حدود ۱ × ۱۰۸ واحد تشکیل دهنده کلنی (CFU) /میلی لیتر) حاصل شود. غلظت سریال نانو فیتوزوم‌های (60 SE میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۳۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۷/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، ۳/۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و ۱،۸۷ میلی‌گرم در میلی لیتر) در محیط آبگوشت مواد مغذی تهیه شد و سپس ۲۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون‌های تلقیح آماده شده به هر یک اضافه شد. لوله‌های میکروتیتر به مدت ۱ دقیقه تکان داده می شوند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباتور می شوند و در پایان رشد باکتریایی به روش بصری ارزیابی خواهد شد.

ارگانیسم‌های میکروبی مورد استفاده برای سنجش ضد باکتری اشریشیا کُلی، جهت سنجش قابلیت مهار کنندگی میکروبی آزمونMIC وMBC برای نمونه عصاره موسیر و نانوفیتوزوم در غلظت‌های متوالی از نمونه تهیه شد. سپس یک سی سی از سوسپانسیون غلیظ باکتری به هر کدام از رقت‌ها اضافه گردید و ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام و سپس از تمامی رقت‌ها کشت خطی تهیه شد. عدم رشد نشانMBC نمونه است.

- آزمون Mann-Whitney U جهت سنجش قابلیت آنتی‌میکروبی روی نمونه‌ها

این آزمون یک روش ناپارامتری است که در آن یک متغییر هدف داریم و می خواهیم بدانیم آیا بین دو گروه جداگانه که در اینجا نانو فیتوزوم و عصاره هستند تفاوت می باشند یا خیر و متغییر وابسته باید از دو گروه مستقل تشکیل شده باشد که در اینجا باکتری اشریشیا کُلی مورد نظر می باشد.

- تجزیه و تحلیل آماری

همه تیمارهای آزمایشی در سه تکرار انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری با استفاده از SPSS نسخه ۲۴/۰ و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

یافته‌ها

- تحلیل تصاویر SEM

تصاویر میکروگراف SEM و نانو فیتوزوم‌های سنتز شده مورفولوژی کروی و انسجام این نانوساختارها را نشان می‌دهد. تصاویر بدست آمده از میکروسکوپ SEM با بزرگ نمایی‌های ۵-۱۰ نانومتر در غالب تصاویر (شکل ۲) نشان داده شده‌اند. مطابق با تصویر (شکل ۲) مورفولوژی اغلب ذرات کروی می‌باشد.

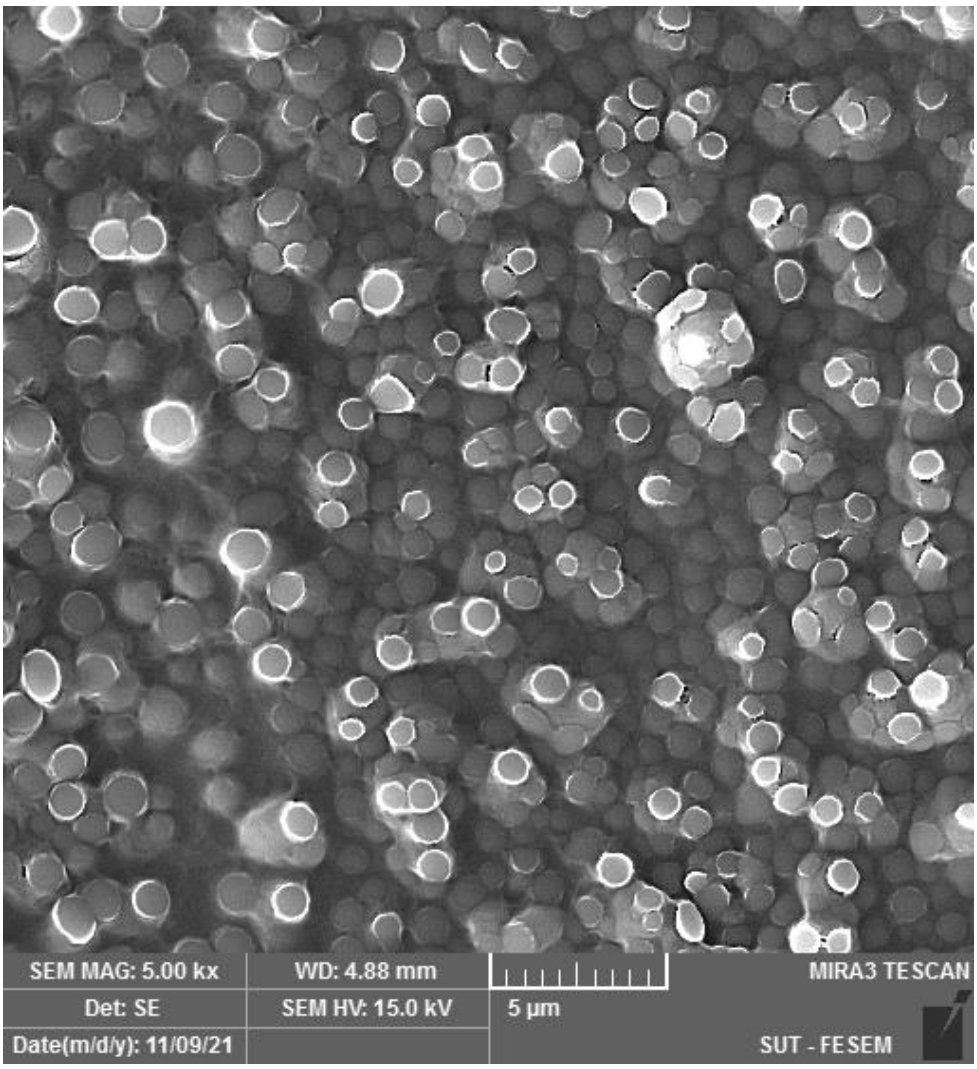


Figure 2- SEM image of nano-phytosomes with different magnifications

شکل ۲- تصاویر SEM نانوفیتوزوم با بزرگنمایی‌های متفاوت

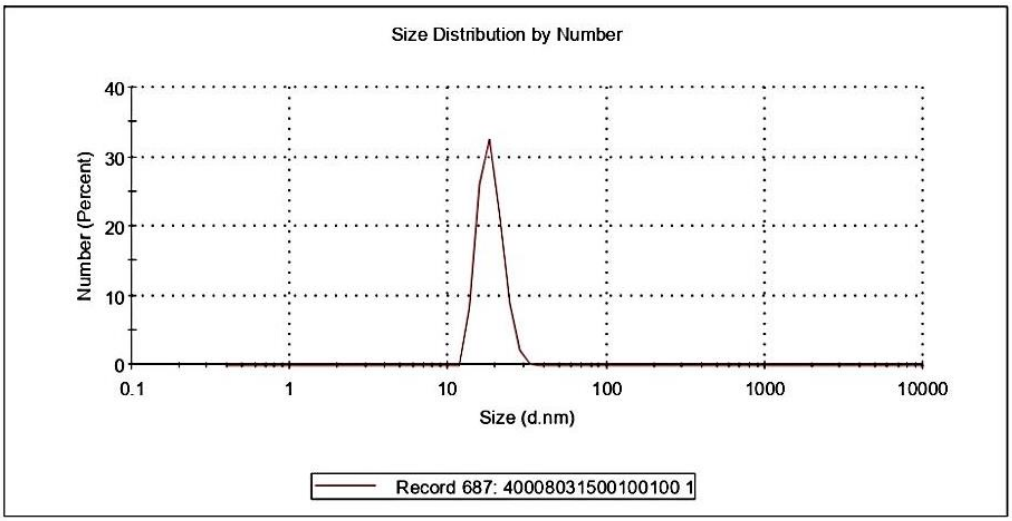
- آنالیز DLS

تحلیل گراف‌های DLS نشان می‌دهد دامنه اندازه نانوفایتوزوم‌ها در محدوده ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر قراردارد (شکل ۳ الف). بیشترین فراوانی مربوط به نانوساختارهای با ابعاد ۱۸ نانو متر می‌باشد . شاخص PDI معادل ۰/۵۸۶ محاسبه شد که مونودیسپرس بودن سیستم را نشان می‌دهد (شکل ۳ ب). از طرف دیگرZ-average معادل ۸۳۴ نانو متر تخمین زده شد .همینطور پتانسیل زتا سیستم معادل ۰,۷۸۶ میلی ولت محاسبه شد که پایداری نسبی نانوفیتوزوم ها نشان می‌دهد (شکل ۳ ب).

- بازدارندگی باکتریایی نانوفیتوزوم موسیر

-آزمون Mann-Whitney U جهت سنجش قابلیت آنتی میکروبی روی نمونه های باکتریایی

این آزمون یک روش ناپارامتری است، زمانی که اندازه نمونه کوچک توزیع داده‌ها زیاد باشد بهتر است از آزمون‌های ناپارامتری مانند این آزمون برای مطابقت بین دو توزیع استفاده شود. به کمک آزمون من ویتنی می‌توانید جدایی یا وابستگی بین دو گروه یا جامعه را مورد بررسی قرار دهید.

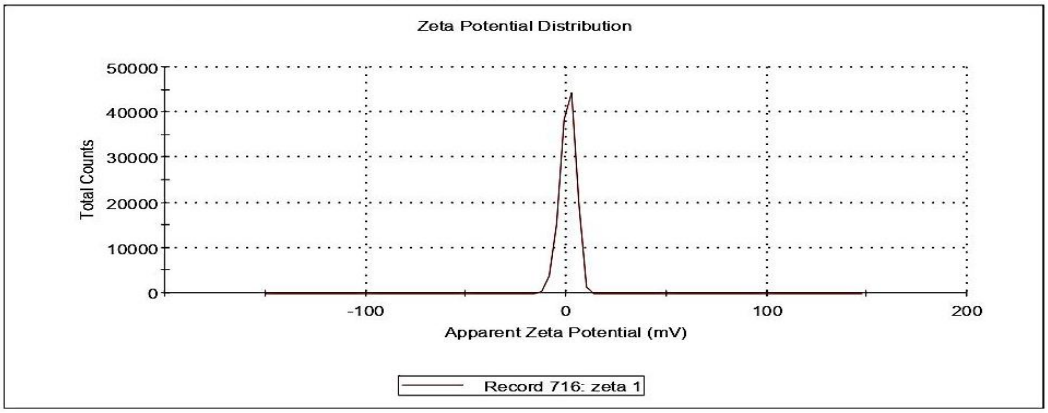


الف)

Results

		Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): 0.786	Peak 1:	0.786	100.0	3.94
Zeta Deviation (mV): 3.94	Peak 2:	0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.103	Peak 3:	0.00	0.0	0.00

Result quality : See result quality report



ب)

Figure 3- Graphs a) The size of nanophytosomes b) calculations and standard deviation of zeta potential

شکل ۳- گراف های الف) اندازه نانو فیتوزوم ها و ب) محاسبات و انحراف معیار پتانسیل زتا

آزمون Mann-Whitney U معادل ناپارامتری آزمون student t- دو نمونه مستقل است. بااین تفاوت که معیار سنجش در اینجا میانگین دو جامعه نخواهد بود بلکه از رتبه‌ها و مجموع آن‌ها استفاده خواهد شد. از آنجایی که باید توزیع در بین دو گروه مستقل مورد بررسی قرار گیرند، می‌توان داده‌ها را به شکلی در نظر گرفت که یک متغیر وابسته (غلظت) و یک متغیر مستقل (عصاره و نانوفیتوزوم موسیر) که به صورت متغیر طبقه‌ای است، در آزمون نقش داشته باشند. به کمک متغیر مستقل، جامعه به دو گروه تقسیم شده و یکسان بودن توزیع احتمالی برای متغیر وابسته در هر دو گروه مورد سنجش قرار می‌گیرد.

در این مطالعه عصاره موسیر و نانوفیتوزوم عصاره موسیر مورد بررسی قرار میگیرد. غلظت‌های مشابه از این دو گروه در برابر رشد باکتری *E. coli* در پتری و شیر بررسی شد. عصاره موسیر و نانوفیتوزوم موسیر با غلظت‌های (۰-۶۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر) مختلف بر روی روند رشد باکتری *E. coli* بررسی شد.

با توجه به جدول ۱، مشاهده می شود که دو گروه از میانگین‌ها برای رشد باکتری *E. coli* ایجاد شد و مستقل بودن متغییر وابسته برای تکمیل نتایج آزمون Mann-Whitney U تایید شد. تفاوت بین این دو گروه با میانگین‌های متفاوت شرط اصلی آزمون Mann-Whitney U می‌باشد.

جدول ۱- میانگین و مجموع داده‌های غلظت های یکسان از دو نمونه متفاوت از نانو فاتیتوزوم و عصاره سنجش شده در باکتری *E. coli*

Table 1- Mean and total data of the same concentrations from two different samples of nanophatitosomes and extracts assayed in *E. coli* Ranks

	E.coli	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Treatment	Shallot extract	7	10.93	76.50
	Nano phytosome	7	4.07	28.50
	TOTAL	14		

جدول ۲- آمارهای نهایی تست Mann-Whitney U برای باکتری *E. coli*

Table 2- Final statistics of Mann-Whitney U test for E. coli Test Statistics[a]

	رشد باکتری E. coli
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	28.500
Z	-3.090
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.001[b]

a. Grouping Variable: E.coli

b. Not corrected for ties.

طبق جدول ۲ که آماره‌های ازمون Mann-Whitney U را نشان می‌دهد، چنین نتیجه می‌شود که در میزان رشد باکتری E.coli بین عصاره موسیر و نانوفیتوزوم موسیر تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ ٪ وجود دارد (U=.500 و p=0.002<0.05) از طرفی چون شکل توزیع رشد باکتری در دو گروه متفاوت است، با استفاده از میانگین رتبه‌ها چنین مشخص می‌شود که گروه عصاره موسیر با میانگین رتبه ۱۰/۹۳ به‌طور کلی دارای رشد بیشتری از باکتری E.coli نسبت به گروه نانوفیتوزوم موسیر با میانگین رتبه ۴/۰۷ است. یا به عبارتی قدرت آنتی‌میکروبیال نانوفیتوزوم در غلظت پایین‌تر موثرتر و معنی‌دار می‌باشد.

در این جدول دو مقدار برای مقدار معنی‌داری ارائه شده است. معنی‌داری مجانبی (Asymp. Sig.) و معنی‌داری دقیق (Exact Sig.) اگر تعداد نمونه هر دو گروه بزرگ‌تر از ۱۰ باشد، آن گاه می‌توان از حجم نمونه مجانبی استفاده کرد و در غیر این صورت (حجم حداقل یکی از گروه‌ها کوچک‌تر یا مساوی ۱۰ باشد) باید از معنی‌داری دقیق استفاده کرد. در جدول میزان معنی‌داری مجانبی یا (Asymp. Sig.) برابر ۰/۰۰۲ است که از سطح معنی‌داری ۰/۰۵ کوچک‌تر می‌باشد و به مفهوم اختلاف معنی‌دار

عمکلرد آنتی میکروبی نانو فایتوزوم و عصاره موسیر می‌باشد

بحث

فیتوزوم‌ها دسته‌ای از حامل‌های وزیکولی مبتنی بر لیپید هستند که می‌توانند برای کپسوله کردن مواد مغذی گیاهی مانند پلی فنل‌ها استفاده شوند. فلاونوئیدها یکی از انواع اصلی پلی‌فنول‌ها و ترکیبات فعال گیاهی هستند که دارای فواید تغذیه‌ای و درمانی هستند. با این حال، مشکلات متعددی مانند پایداری و حلالیت کم وجود دارد که به افزودن مستقیم پلی فنول‌ها به غذاها و نوشیدنی‌ها مرتبط است. استفاده از فیتوزوم، به عنوان یک سیستم تحویل غذایی جدید، به طور بالقوه می تواند این مشکلات را کاهش دهد. بنابراین، فناوری فیتوزوم را می‌توان در توسعه غذاهای سالم و کاربردی به کار برد. علاوه بر این، فلاونوئیدها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالایی هستند و می‌توان از آنها به عنوان نگهدارنده طبیعی و کنترل کننده انتشار استفاده کرد. در مطالعه ما نانوفیتوزوم موسیر اثرات مهار میکروبی بر روی باکتری‌های اشریشیا کُلی *E. coli*، را نشان داد. در مطالعه (Moghimi *et al*., 2016) نتایج مشابهی در فعالیت ضد باکتریایی نانو امولسیون اسانس آویشن دنسیس (Thymus daenensis essential oil) مشاهده شد، اثر ضد باکتریایی با کاهش اندازه نانوذرات افزایش یافت. در مطالعه دیگری، حامل‌های لیپیدی نانوساختار حاوی اسانس هل به ترتیب بیشترین و کمترین حساسیت را بر روی باکتری *E. coli* نشان دادند (Nahr *et al*., 2018). نتایج ممکن است به ساختار دیواره سلولی و ویژگی‌های باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نسبت داده شود. دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از یک لایه پپتیدوگلیکان ضخیم تشکیل شده است در حالی که یک لایه مانند غشای سلولی دولایه روی سطح باکتری‌های گرم منفی قرار می گیرد. نانوذرات وزیکولی مانند فیتوزوم‌ها تمایل دارند با ساختارهای دولایه مشابه ترکیب شوند (Mbah *et al*., 2018) ، این پتانسیل ممکن است دلیل اثر ضد میکروبی موفق کپسوله‌سازی نانوفیتوزوم‌های اسانس سیر در برابر باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت باشد.

فیتوزوم‌ها شکل پیشرفته‌ای از عصاره های گیاهی هستند که بهتر از عصاره‌های گیاهی معمولی جذب می‌شوند. در این تحقیق به بررسی مزایا، خصوصیات فیزیکی، خواص شیمیایی و روش تهیه فیتوزوم‌ها می‌پردازد. روش فرمولاسیون فیتوزوم‌ها ساده است و به راحتی می‌توان آن را به مقیاس تجاری ارتقا داد. اگرچه بسیاری از مقالات اثرات ضد باکتریایی و فعالیت ضد باکتریایی نانوفیتوزوم‌ها و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه موسیر را نشان داده اند، اما اخیراً سیستم‌های تحویل مختلفی برای بهبود ویژگی‌های SE و حذف محدودیت‌های آن به کار گرفته شده اند. در این مطالعه با توجه به نتایج ما، نانوفیتوزوم‌های SE می‌توانند به طور موثر خواص فیزیکوشیمیایی مناسبی را به‌ویژه در مواد غذایی اسیدی نشان دهند. سیستم‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایداری را در طول زمان نگهداری نشان دادند. در این تحقیق فعالیت ضد میکروبی علیه *E. coli*، یکی از شایع ترین پاتوژن‌های منتقله از غذا، پتانسیل خود را به عنوان یک نگهدارنده طبیعی غذا نشان داد(Maryam *et al*., 2019).

(Sittisart *et al*., 2017) در مطالعه خود نشان داد که میزان گالیک اسید موجود در عصاره فلفل از عصاره موسیر و سیر بیشتر است. این در حالی است که کورستین فقط در عصاره موسیر دیده شده است. فنولیک‌های گیاهی متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان در برابر پاتوژن‌های قارچی دخیل هستند. از تجزیه و تحلیل پلی‌فنل‌ها در این مطالعه، عصاره‌های فلفل قرمز، موسیر یا سیر حاوی برخی پلی‌فنول‌هایی مانند آپیژنین، اسید گالیک، کورستین، کامفرول، کاتچین یا اسید تانیک بودند. تمام ترکیبات ذکر شده دارای خواص ضد قارچی گیاهی هستند (Wenli *et al*., 2019).

نتایج آماری نشان داد که اسانس سیر بر روی رشد باکتری اشریشیاکلی تأثیر منفی داشته و سبب شد تا تعداد باکتری بطور معنی‌داری کمتر از نمونه کنترل گردد و با افزایش غلظت اسانس، تعداد باکتری *اشرشیاکلی*در مقایسه با نمونه کنترل کاهش بیشتری را نشان داد که در این حالت نیز بیشترین تأثیر مهاری اسانس سیر بر روی رشد باکتری مربوط به تیمار که در طی ۷۲ ساعت زمان آزمایش، بیشترین تأثیر منفی اسانس روی رشد باکتری‌ها

در زمان ۴۸ ســاعت اتفاق افتاد و بعد از این مدت تأثیر منفی اسانس بر روی رشــد اندکی کاهش یافت.

Taheri و همکاران در ۲۰۱۷ در مقایسه اثر اسانس سیر بر روی رشد و تولید توکسین باکتری‌های *اشرشیاکلی* و ویبریوپاراهمولتیکوس چنین نتیجه گرفته می‌شود که اثر مهاری مشابهی روی رشد داشته ولی از نظر مهار توکسین‌زایی روی باکتری *اشرشیاکلی* مؤثرتر می‌باشد. مؤثرتر بودن اسانس سیر بر روی باکتری باکتری *اشرشیاکلی* (Taheri *et al*., 2017). نشان داد که اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر نسبت فاز پراکنده در فرمول نانوامولسیون‌ها قرار گرفت ($p < 0.05$). همانطور که با افزایش نسبت فاز پراکنده در فرمولاسیون نانو امولسیون، اندازه ذرات نیز افزایش یافته است. اگرچه تغییر در اندازه ذرات در نسبت فاز پراکنده کمتر قابل توجه نبود، اما اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها در نسبت فاز پراکنده بالاتر به طور قابل توجهی افزایش یافت که به نظر می‌رسد به دلیل وجود مقدار مساوی اسانس سیر و سورفکتانت در نانوامولسیون باشد. فرمولاسیون و مولکول‌های سورفکتانت قادر به احاطه مواد محصور شده بودند. در مطالعه دیگری فعالیت آنتی اکسیدانی و فراهمی زیستی نانوامولسیون‌های فرموله شده با عصاره گوجه فرنگی غنی شده با لیکوپن را ارزیابی کردند و گزارش کردند که نانوامولسیون‌هایی با اندازه ذرات بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را نشان دادند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای نانو امولسیون‌های لیکوپن با اندازه ذرات مرتبط بود. Ha و همکاران در ۲۰۱۵ در مطالعه دیگری نانوامولسیون‌های حاوی ۲۵ درصد اسانس سیر فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را در مقایسه با اسانس سیر خالص نشان دادند که ممکن است به اندازه نانو امولسیون‌ها (۲۰۰ nm >) نسبت داده شود. (Hasssanzadeh *et al*., 2018) درمطالعه ذکر شده، اندازه هیدرودینامیک لیپوزوم آزاد و کورستین بارگذاری شده با پراکندگی نور پویا (DLS) به ترتیب با PDI 0.6 و ۰/۲ به ترتیب ۱۲/۷ ± ۵۵ و ۷/۴۴ ± ۷۰ نانومتر بود. میانگین ZP لیپوزوم آزاد و کوئرستین بارگذاری شده به ترتیب 52.7 ± 3.8 mv – و – ۴/۱ ± ۴۴/۶ mv بود. (El-Fattah *et al*., 2017) در مطالعه جدیدتری که بر روی توزیع اندازه و زتا برای نمونه‌های *E. coli* با روغن سیر و نانو امولسیون روغن سیر انجام گرفت، نشان داد که میانگین قطر ذرات ۳۶/۳ نانومتر، شاخص پراکندگی ۰/۵۲۷ و میانگین پتانسیل زتا ۲۶/۲۳– میلی ولت بود. (Khidir *et al*., 2019).

El-Batal و همکاران در ۲۰۱۸ نمودار توزیع اندازه ذرات نانوکریستال‌ها و فیتوزوم‌های سیلیمارین توسط DLS را تعیین کردند. که در آن میانگین قطر نانوکریستال برابر ۳۱/۵ نانومتر، فیتوزوم برابر ۱۹۶/۷ نانومتر را نشان می داد. مقایسه فعالیت ضد باکتریایی اسانس خالص و امولسیون شده نشان داد که نانوامولسیون بسیار مؤثرتر از اسانس می‌باشد. احتمالاً این به این دلیل است که ذرات کوچک لیپیدی درون نانوامولسیون می‌توانند اسانس را به سطح غشای سلولی برسانند، در حالی که روغن خالص (که حلالیت در آب پایینی دارد) نمی‌تواند به راحتی با غشای سلولی تعامل کند. توانایی نانوامولسیون ضد میکروبی برای برهم زدن مورفولوژی *E. coli* به وضوح توسط میکروسکوپ الکترونی نشان داده شده است. نانوامولسیون‌ها به دلیل توانایی آنها در تسهیل کاربرد ضد میکروبی و افزایش کارایی ضد میکروبی، از سیستم های تحویل روغن‌های ضروری به شمار می‌آیند (Moghimi *et al*., 2015). نتایج میکروسکوپ SEM در تحقیق Shariare و همکاران در ۲۰۲۰ نشان داد که فیتوزوم (کمپلکس فسفولیپید – دارو) در محدوده نانو قرار دارد، و میانگین اندازه ذرات نانوفیتوزوم Epigallocatechin-3-Gallate در محدوده ۱۰۰–۲۵۰ نانومتر است. در تحقیق ذکر شده بارگذاری بالای دارو (تا ۹۰٪) با نرخ افزودن بهینه، دمای هم‌زدن و غلظت فسفولیپید به دست آمد (Shariare *et al*., 2020). نانوامولسیون‌هایی که ترکیبات فعال را در خود محصور می‌کنند، برای تولید فیلم‌های مبتنی بر G-Ch (ژلاتین – کیتوزان) مناسب هستند و خواص فیزیکی و مکانیکی آن‌ها را افزایش می‌دهند و عملکرد ضد باکتریایی آن‌ها را نیزافزایش خواهند داد (Pérez *et al*., 2018).

در تحقیق مشابه با تحقیق ما بر که بر روی سیر یونانی انجام گرفت خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف سیر یونانی به‌ویژه در برابر باکتری‌های Proteus mirabilis و Escherichia coli مقاوم به آنتی‌بیوتیک قابل توجه بود (Petropoulos *et al*., 2017). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نانوفیتوزوم

می‌تواند به عنوان یک حامل مفید برای تقویت ترکیبات دارویی گیاهی برای استفاده در فرمولاسیون محصولات غذایی و دارویی مختلف معرفی شوند.

همگنی نانوامولسیون (Hooresfand *et al*., 2015) فرموله شده با کمک شاخص Polydispersity (PDI) بررسی کردند و نشان دادند که پارامتر اصلی برای ارزیابی پایداری نانوامولسیون است. امولسیون‌هایی با PDI 0.2 یا کمتر از آن، بسیار پایدار در نظر گرفته می‌شوند. این یافته‌های نشان می‌دهد که نانوامولسیون تهیه‌شده با نسبت ۱:۲ روغن به سورفکتانت و ۲۰ دقیقه فراصوت، PDI بهتر ۰/۲۰۴ را ارائه می‌کند. Gokulakannan و همکاران در ۲۰۱۷ اعلام کردند که پتانسیل زتا با مقادیر منفی بالا نشان‌دهنده پایداری بیشتر امولسیون است. به این ترتیب نانوامولسیون تهیه‌شده در (۱:۲) (روغن: سورفکتانت) در کمتر از ۲۰ دقیقه زمان فراصوت باید در مقایسه با سایر فرمول‌ها به دلیل زتا منفی بالا، پایدارترین باشد. ارزش بالقوه، خواص فیزیکوشیمیایی مواد موجود در روغن نیز در فرآیند تهیه نانوامولسیون تغییری نمی‌کند (Gokulakannan *et al*., 2017).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق روش و فرمول ساخت نانوفیتوزوم عصاره موسیر به‌عنوان روش مناسب تاییید شد و ساختارهای صحیح از فیتوزوم را ایجاد کرد. این ساختارها بعلاوه پراکندگی مناسب در محیط کلوئیدی نشان دادند که جهت کنترل میکروبی محیط‌های خوراکی از اهمیت خاصی برخوردار است. آزمون میکروبی بر روی *E.Coli* نشان داد که به طور معنی‌دار فیتوزوم‌های عصاره موسیر از عصاره خالص جهت کنترل رشد باکتری بهتر عمل میکنند.

سپاسگزاری

با سپاس فراوان از جناب آقای دکتر مازیار بحرینی به جهت کمک‌های علمی و تخصصی ایشان در روند نگارش این مقاله.

منابع

Afshin, B., Mahdi, Z. & Hamed, H. (2018). Nano-Phytosome: A Developing Platform for Review. Journal of Drug Delivery & Therapeutics, 11(3), 138-152.

Herbal Anti-Cancer Agents in Cancer Therapy. Curr Drug Targets, 19(2), 170-180.

Babak, G., Afshin, B. & Hamed, H. (2016). Nano-phytosome as a potential food-grade delivery systems. Food Bioscience, 15, 126–135.

Babazadeh, A., Zeinali, M. & Hamishehkar, H. (2018). Nano-Phytosome: a developing platform for herbal anti-cancer agents in cancer therapy, Curr. Drug Targets, 19 (2), 170–180.

Barani, M., Sangiovanni, E., Angarano, M., Rajizadeh, M. A., Mehrabani, M., Piazza, S., Veerabhadrappa, H., Gangadharappa, Pardakhty, A., Mehrbani, M., Dell'Agli M. & Nematollahi, M. H. (2021). Phytosomes as Innovative Delivery Systems for: A Comprehensive Review of Literature. International Journal of Nanomedicine, 16, 6983–7022.

El-Batal, A. I., Elmenshawi, S. F, Ali, A. A. M. & Eldbaiky, E. G. (2018). Preparation and Characterization of SilymarinNanocrystals and Phytosomes with Investigation oftheir Stability using Gamma Irradiation.Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research, 52 (4s) [Suppl 2].

El-Fattah, A. I., Fathy, M. M., Ali, Z. Y., El-Garawany, A. E. R. A. & Mohamed, E. K. (2017). Enhanced therapeutic benefit of quercetin-loaded phytosome nanoparticles in ovariectomized rats. Chemico-Biological Interactions, doi: 10.1016/j.cbi.2017.04.026.

Ezadi, M. R., Salarmoini, M., Afsharmanesh, M., Tavakoli, H. & Bami, M. K. (2019). The effect of hydroalcoholic extract of Allium Hirtifolium and flavophospholipol on performance, meat quality, and immunological responses of broiler chickens. [In Persian]

Faraji, A., Alizadeh, M., Pirsa, S. & Almasi, H. (2018). Optimizing Production of Persian Shallot Essential Oil Emulsion Loaded with Omega 3 Fatty Acids by Nano Polyaniline-Fiber/Gas Chromatography Iranian Journal of Biosystem Engineering, 49(3), 459-476. [In Persian]

Gaikwad, A. R., Ahire, K. D., Gosavi, A. A., Salunkhe, K. S. & Khalkar, A. (2021). Phytosome as a Novel Drug Delivery System for Bioavailability Enhancement of Phytoconstituents and its Applications: A

Ghanbarzadeh, B., Babazadeh, A. & Hamishehkar, H. (2016). Nano-phytosome as a potential food-grade delivery system. Food Bioscience, 15, 126–135.

Gokulakannan, R., Yuvashree, M., Badrinathan, S., Rajesh, N. G. & Viswanathan, P. (2017). Evaluation of garlic oil in nano-emulsified form: Optimization and its efficacy in highfat diet induced dyslipidemia in Wistar rats, Food and Chemical Toxicology. doi: 10.1016/ j.fct.2017.04.019.

Ha, T.V.A., Kim, S., Choi, Y., Kwak, H. S., Lee, S. J., Wen, J., Ko, S. & Oey, I. (2015). Antioxidant activity and bioaccessibility of size-different nanoemulsions for lycopene-enriched tomato extract. Food Chemistry, 178, 115–121.

Hasssanzadeh, H., Alizadeh, M. & Bari, M. R. (2018). Formulation of garlic oil-in-water nanoemulsion: antimicrobial and physicochemical aspects. IET Nanobiotechnology, 12(5), 647-652.

Hooresfand, Z., Ghanbarzadeh, S. & Hamishehkar, H. (2015). Preparation and Characterization of Rutin-loaded Nanophytosomes. http://journals.tbzmed.ac.ir/PHARM Pharmaceutical Sciences. (Suppl 1), doi: 10.15171/PS.2015.29

Khidir, A. M. H. & Mujtaba, M. D. A. (2019). Antibacterial efficacy of garlic oil nano-emulsion. AIMS Agriculture and Food, 4(1), 194-205. doi: 10.3934/agrfood.2019.1.194

Lowry, G. V., Hill, R. J., Harper, S., Rawle, A. F., Hendren, C. O., Klaessig, F., Nobbmann, U., Sayre, P. & Rumble, J. (2016). Guidance to improve the scientific value of zeta-potential measurements in nanoEHS. Environmental Science: Nano, 3 (5), 953965.

Maryam, N., Babak, G., Hossein, S. K., Mahdi, Z. & Hamed, H. (2019). Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. Colloid and Interface Science Communications 30, 100176.

Maryana, W., Rachmawati, H. & Mudhakir, D. (2016). Formation of phytosome containing silymarin using thin layer-hydration technique aimed for oral delivery, Materialstoday, 3 (3), 855–866.

Mazumder, A., Dwivedi, A., Du Preez, J. L. & Du Plessis, J. (2016). In vitro wound healing and cytotoxic effects of sinigrinphytosome complex. International Journal of Pharmaceutics. 283-293.

Mbah, C. C. & Attama, A. A. (2018). Vesicular carriers as innovative nanodrug delivery formulations, Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery, Elsevier, pp. 519–559.

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.

Moghimi, R., Ghaderi. L., Rafati, H., Aliahmadi, A.V. & McClements, D. J. (2015). SuperiorVantibacterial activity of nanoemulsion of Thymus daenensis essential oil against E. coli. Food Chemistry, 139.

Nahr, F. K., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H. & Kafil, H.S. (2018). Food grade nanostructured lipid carrier for cardamom essential oil: preparation, characterization and antimicrobial activity. Journal of Functional Foods, 40, 1–8.

Pérez-Córdoba, L. J., Norton, I. T., Batchelor, H. K., Gkatzionis, K., Spyropoulos, F. & Sobral, P. J. A. (2017). Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. Food Hydrocolloids, https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.012

Petropoulos, S., Fernandes, A., Barros, L., Ciric, A., Sokovic, M. & Ferreira, I. C. F. (2017). Antimicrobial and antioxidant properties of various Greek garlic genotypes. Food Chemistry, doi: https:// doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.078

Saifullah, M., Shishir, M. R. I., Ferdowsi, R., Rahman, M. R. T. & Vuong, Q. V. (2019). Micro and nano encapsulation, retention and controlled release of flavor and aroma compounds: a critical review. Trends in Food Science and Technology, 86, 230–251.

Shariare, M. H., Afnan, K., Iqbal F., Altamimi, M. A., Ahamad, S. R., Aldughaim M. S., Alanazi, F. K. & Kazi, M. (2020). Development and Optimization of Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Nano Phytosome Using Design of Experiment (DoE) and Their In Vivo Anti-Inflammatory Studies. Molecules, 25, 5453; doi:10.3390/molecules25225453

Sheida, F., Zahra, L. & Nahid, J. (2016). Chemical constituents of Allium stipitatum

regel (persian shallot) essential oil. Der Pharmacia Lettre, 8 (1), 175-180.

Sittisart, P., Yossan, S. & Prasertsan, P. (2017). Antifungal property of chili, shallot and garlic extracts against pathogenic fungi, Phomopsis spp., isolated from infected leaves of para rubber (Hevea brasiliensis Muell. Arg.). Agriculture and Natural Resources, 51, 485-491.

Taheri, M., Misaghi, A., Akhoundzade, A., Modaresi, M.H., Gandomi, H., Khosravi, P., Talebi, F. & Heshmati, A. (2016). Effect of garlic (Allium sativum L.) essential oil on growth of E. coli O157:H7 and shiga toxin 2 production. Journal of Veterinary Research, 71(1), 41-47. [In Persian].

Wenli, S., Shahrajabian, M. H. & Cheng, Qi. (2019). The insight and survey on medicinal properties and nutritive components of Shallot. Journal of Medicinal Plants Research, 13 (10), 452-457.

Synthesis of Nano Phytosomes of Shallot Extract and its Effect on *E. coli* Bacteria

H. Al-jazaeri [a], A. Ebrahimi [b]*

[a] MSc of the Department of Biotechnology and Plant breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Assistant Professor of the Department of Biotechnology and Plant breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 24 February 2022 Accepted: 18 April 2022

Abstract

Introduction: Recent researches have indicated that phytochemicals compounds are important as antioxidants and antimicrobials in food. The use of nano carrier-based formulations in controlled release and protection of these compounds is an effective way to maintain these properties. In this study, Iranian shallot with the scientific name of Allium stipitatum Regel has been used due to the unique phytochemicals of this plant. This study aimed to prepare and characterize the synthesized nano-phytosomes containing shallot phytochemical compounds and their antimicrobial effects in comparison with shallot extract.

Materials and Methods: An aqueous-alcoholic extract of shallot was obtained from dried shallot. The structure of the nano-phytosome was prepared by the thin layer hydroxylation method. The structure of the synthesized nano-phytosomes was examined by SEM microscope and dynamic light scattering DLS. Finally, antimicrobial properties were evaluated on Escherichia coli bacteria. Antibacterial assay was performed using MIC and MBC tests for shallot extract and nano-phytosome samples at successive concentrations of the sample.

Results: Structure study of nano-phytosomes indicated the spherical shape and size between 5-10 nm of nano-phytosomes. Dispersion of nano-phytosomes in the colloidal medium was observed in a suitable form and PDI index equal to 0.586. The results of microbial tests showed that the effect of nano-phytosomes on bacteria was significantly greater than the antimicrobial power of nano phytosomes compared to shallot extract on Escherichia coli samples.

Conclusion: This study can prove the effect of shallot extract nano-phytosome as an antimicrobial nanobiostructure.

Keywords: *Extract, E. coli, Nanophytosome, Shallot*.

* Corresponding Author: dr.asaebrahimi@gmail.com