Food Hygiene, Vol. 12, No. 45, Spring 2022

**"Research article"** **DOI: 10.30495/JFH.2022.1960661.1358**

# Antibacterial and antioxidant activity of Thymus essential oil (*Thymus vulgaris*) and aqueous extract of cinnamon (*Cinnamomum verum*) and their nanoemulsions

**Khalili Aghdam, A.H.[1], Zomorodi, Sh.[2*], Roufegarinejad, L.[3], Khosrowshahi asl, A.[4], Hanifian, S.[5]**

1. Ph.D. student, Department Food of Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4. Professor, Department of Food Science and Technology, Meraj Salmas Institute of Higher Education, Salmas, Iran
5. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

[*]Corresponding author: s.zomorodi@areeo.ac.ir
(Received: 2022/6/9 Accepted: 2022/8/17)

## Abstract

As natural antioxidants and antimicrobials, essential oils (EOs) have been increasingly used to control foodborne pathogens. However, the application of EO in the food industry is limited due to low water solubility, intensive flavor, and high volatility. Therefore, to enhance water dispersion and prevent EO from degradation, nanoemulsions may be an alternative. In this study, two types of thyme essential oil (TEO) nanoemulsions, with distilled water (NEO) and with cinnamon aqueous extract (NEOC), were prepared. The physical, antimicrobial and antioxidant properties of TEO extracts and nanoemulsions were determined. The results showed that the mean particle size and PDI index of NEOC and NEO were 728.2 and 162.4 nm and 0.19 and 0.30, respectively. Polyphenolic compounds of aqueous extract of cinnamon, TEO, NEO and NEOC were in the range of 33.4 to 10.9 mg gallic acid equivalent/g. The antioxidant activity (DPPH) was in the range of 16.3 to 66.4%. Phenolic compounds and DPPH, TEO and NEOC were the highest. Also, the antimicrobial effects of NEO and NEOC against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium were significantly higher than TEO and cinnamon aqueous extract. The lowest values of MIC and MBC were first related to NEOC and then to NEO, which indicates the greater sensitivity of the studied microorganisms to nanoemulsions. According to the results, the highest antimicrobial and antioxidant activity was related to NEOC nanoemulsion. Therefore, it can be used in food products to prevent food poisoning and to treat diseases caused by *S. aureus* and *S.* Typhimurium.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Cinnamon aqueous extract, Thyme essential oil, Nanoemulsion

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2022.1960661. 1358

# فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن (*Thymus vulgaris*) و عصاره آبی دارچین (*Cinnamomum verum*) و نانوامولسیون‌های حاصل از آن‌ها

**امیرحسین خلیلی اقدم[۱]، شهین زمردی[۲*]، لیلا روفه‌گری نژاد[۳]، اصغر خسروشاهی اصل[٤]، شهرام حنیفیان[٥]**

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲. دانشیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران
۳. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
٤. استاد صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی، غیر دولتی معراج علم سلماس، سلماس، ایران
۵. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: s.zomorodi@areeo.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱٤۰۱/۳/۱۹ پذیرش نهایی: ۱٤۰۱/۵/۲٦)

## چکیده

امروزه اسانس‌ها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی طبیعی، به‌طور فزاینده‌ای برای کنترل پاتوژن‌های غذایی و افزایش ایمنی مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته است. با این حال، کاربرد اسانس‌ها در صنایع غذایی به‌دلیل حلالیت کم در آب، طعم شدید و فراریت بالا محدود است. بنابراین، برای افزایش پراکندگی آب و جلوگیری از تخریب اسانس‌ها، می‌توان از نانوامولسیون‌ها استفاده کرد. در این مطالعه، دو نوع نانوامولسیون اسانس آویشن (TEO)، یکی با آب مقطر (NEO) و دیگری با عصاره آبی دارچین (NEOC) تهیه شد و خواص فیزیکی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس، عصاره و نانوامولسیون‌ها تعیین گردید. نتایج نشان داد که میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون‌های NEOC و NEO به‌ترتیب ۷۲۸/۲ و ۱٦۲/٤ نانومتر و شاخص PDI به‌ترتیب در ۰/۱۹ و ۰/۳۰ بود. ترکیبات پلی‌فنلی عصاره آبی دارچین، TEO، NEO و NEOC در محدوده ۳۳/٤ تا ۱۰٤/۹ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک بر گرم و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) در محدوده ۱٦/۳ تا ٦٦/٤ درصد تعیین شد. ترکیبات فنلی و DPPH، TEO و NEOC بیشترین مقدار بود. اثرات ضدمیکروبی، NEO و NEOC در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی‌موریوم*، به‌طور معنی‌داری بالاتر از TEO و عصاره آبی دارچین بود. کمترین مقدار MIC و MBC ابتدا مربوط به NEOC و سپس مربوط به NEO بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به نانوامولسیون‌ها است. بر اساس نتایج حاصله بیشترین فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مربوط به نانوامولسیون NEOC بود. لذا می‌توان از آن در محصولات غذایی برای جلوگیری از مسمومیت غذایی و برای درمان بیماری‌های ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا تیفی‌موریوم* استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس آویشن، نانوامولسیون، عصاره آبی دارچین

**مقدمه**

افـزودن ترکیبـات آنتـی‌اکسـیدانی و ضـدمیکروبی سنتزی همیشه وسیله‌ای موثر برای نگهداری مواد غذایی بوده است. اما نگرانی‌های ایمنی مرتبط با نقش آن‌هـا در ایجاد بیماری‌هـای مـزمن، اسـتفاده از آن‌هـا را در مـواد غـذایی محـدود کـرده اسـت. جـایگزین مناسـب بـرای ترکیبـات ضـدمیکروبی و آنتی‌اکسـیدان‌های سـنتزی، ترکیبات طبیعی هستند که ایمن‌تر و مقـرون بـه‌صـرفه‌تر بوده و به‌طور همزمان قادر به نگهـداری مـواد غـذایی و کـاهش بیماری‌هـای متابولیـک هسـتند (Iqbal *et al.*, 2012).

دارچـین ادویـه‌ای اسـت کـه بـه‌عنوان عطـر و طعم‌دهنده مواد غـذایی از زمـان باسـتان در بسـیاری از کشورها استفاده می‌شده است. در دسترس بودن دارچین در طول سال موجب محبوبیـت بیشـتر آن شـده اسـت. اخیـراً گـزارش شـده اسـت کـه دارچـین دارای آنتی‌اکسیدان‌های قـوی اسـت کـه بـا آنتی‌اکسـیدان‌های سنتزی قابل مقایسه می‌باشـد (Chan *et al.*, 2014). امـا استفاده از دارچین به‌دلیل بوی و طعم تند آن و هم‌چنین اسانس‌ها و اولئورزین‌های استخراج‌شـده بـا حلال‌هـای آلی از دارچـین بـرای اسـتفاده مسـتقیم در محصـولات غذایی مطلوب نیست. بـه‌علـاوه، ممکـن اسـت عصـاره دارچین استخراج شده با حلال‌های آلی، دارای باقی‌مانده حلال باشد که استفاده آن در مقیـاس عمـده را در مـواد غذایی محدود می‌کند. برای غلبه بـر آن، اسـتخراج آبـی عصاره دارچین تحت مجموعه‌ای از شرایط بهینـه انجـام می‌شـود. گـزارش شـده اسـت کـه آب در مقایسـه بـا حلال‌های آلی قابلیت اسـتخراج کمتـری را از ترکیبـات طعم‌دار تند دارچین دارد. به همـین دلیـل عصـاره آبـی دارچین در تهیه مـواد غـذایی مقبولیـت بیشـتری بـرای مصرف‌کننده دارد. به‌علاوه استخراج عصاره آبی ارزان‌تر، غیرسمی و سازگار با محیط زیست است (Chan *et al.*, 2014). فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسـیدانی اسـانس‌ها به‌طور گسترده در دهه‌های گذشـته مـورد بررسـی قـرار گرفتـه اسـت (Moghimi *et al.*, 2016). در ایـن بـین اسانس آویشن به‌طور فزاینـده‌ای بـه‌عنوان یـک ترکیـب آنتی‌اکسـیدانی مهـم و ترکیـب طبیعـی ضـدمیکروبی در غذاها در سراسر جهان مورد توجه اسـت. گیـاه آویشـن حاوی ترکیبات فنلی از جمله تیمول و کارواکرول است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی اسـت و می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی طبیعی در غذا یـا صـنایع دارویی به‌کار رود (Burt, 2004).

نانوامولسـیون‌ها بـه‌عنوان واسـطه‌ای بـین امولسیون‌های کلاسیک و میکروامولسـیون‌ها معمولـاً در محـدوده ۲۰ تـا ۵۰۰ نـانومتر هسـتند. انـدازه کوچـک نانوامولسیون می‌تواند موجب افزایش نفوذ یا جـذب آن توسـط سـلول‌ها شـود. نانوامولسـیون روغـن در آب و نانوامولسـیون آب در روغـن از انـواع اصـلی نانوامولسیون‌ها هستند. اجزای امولسـیون روغـن در آب شامل ترکیبات زیست‌فعال چربی‌دوست در فاز روغن و یک محیط آبی در حضـور امولسـیفایر ماننـد تـوئین ۸۰ است. هموژنایزر فشار بالا یکـی از روش‌هـای پرانـرژی برای تشکیل نانوامولسیون‌ها است (Feizi Langaroudi and Motakef Kazem, 2019). در ایـن خصـوص می‌توان از اسانس آویشـن و عصـاره دارچـین بـه‌عنوان مـواد آنتی‌اکسـیدانی و ضـدمیکروبی طبیعـی بـه‌ترتیب بـه‌عنوان فـاز روغـن و بخـش محلـول در آب در

سیستم‌های امولسیونی استفاده کرد تا اثربخشی و مهار رشد باکتری آن‌ها افزایش یابد.

در تحقیقی فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن و نانوامولسیون آن بر میکروب‌های بیماری‌زای غذایی نشان داده شد که تبدیل اسانس آویشن به نانوامولسیون موجب افزایش فعالیت ضدباکتریایی اسانس گردید. هم‌چنین می‌توان از نانوامولسیون اسانس آویشن به‌عنوان یک عامل ضدمیکروبی در ماهی‌های فرآوری شده یا بسته‌بندی شده استفاده نمود (Ozogul *et al.*, 2020). در تحقیقی دیگری روی اثر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون‌های تهیه شده با اسانس و عصاره قهوه سبز، نشان دادند که نانوامولسیون‌های تهیه شده با روش امولسیون‌سازی خود به‌خودی، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حدود ۹۰ تا ۱۰۰ درصد و بازدارندگی ۸۵ تا ۱۰۰ درصد علیه *استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بود (Buzanello *et al.*, 2020). هدف از مطالعه حاضر، تشکیل نانوامولسیون اسانس آویشن در حضور عصاره آبی دارچین و بررسی تأثیر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**- تهیه عصاره آبی دارچین**

پوست خشک دارچین (*Cinnamomum verum*) از بازار سنتی ارومیه و اسانس آویشن از شرکت گره‌بان (کرمانشاه، ایران) تهیه شد. برای تهیه عصاره، ابتدا پوست دارچین آسیاب و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد. سپس پودر دارچین به نسبت ۱ به ۱۰ با آب داغ مخلوط شد و مدت نیم ساعت در بن‌ماری (Memmert, Germany) در ۹۰ درجه سلسیوس در حال هم‌زدن قرار گرفت و مخلوط با تنزیب صاف شد (Parvazi *et al.*, 2016).

**- تهیه نانوامولسیون**

برای تهیه نانوامولسیون‌ها مقدار ۱۰ درصد اسانس آویشن (TEO) و ۵ درصد توئین ۸۰ (Tween 80, HLB = 15) مخلوط شد. مخلوط حاصل به‌تدریج و در حال هم‌زدن در دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به ۸۵ درصد آب مقطر و یا ۸۵ درصد عصاره آبی دارچین اضافه گردید. امولسیون‌های حاصل توسط یک پروب هموژنایزر اولتراسونیک (UP200Ht, 200W, 26kHz, Teltow, Germany) به‌مدت ۵ دقیقه تحت تأثیر فراصوت قرار گرفت. توان و فرکانس هموژنایزر اولتراسونیک به‌ترتیب ۲۰۰ وات و ۲۰ کیلوهرتز بود. مبدل اولتراسونیک از یک مبدل پیزوالکتریک با یک پروب آلیاژ تیتانیوم با قطر ۱۵میلی‌متر و ارتفاع ۶۰ میلی‌متر تشکیل شده بود. اختلاف دما بین امولسیون اولیه تا نانوامولسیون نهایی کمتر از ۱۰ درجه سلسیوس بود (El-Sayed and El-Sayed, 2021). دو نوع نانوامولسیون: ۱- مخلوط اسانس آویشن و آب مقطر (NEO)؛ ۲- مخلوط اسانس آویشن و عصاره آبی دارچین (NEOC)تهیه شد.

**- خواص فیزیکی نانوامولسیون‌ها**

اندازه ذرات امولسیون با استفاده از پراکندگی نور پویا (Dynamic Light Scattering, DLS) و شاخص چندپراکندگی (PolyDispersity Index: PDI) با دستگاه زتاسایزر (Malvern Instruments,

(Worcestershire, UK) تعیین شد (El-Sayed and El-Sayed, 2021).

**- تعیین ترکیبات فنلی**

مقدار ترکیبات فنلی نمونه‌ها با روش کالریمتری فولین سیوکالتیو(Folin-Ciocalteu) تعیین شد. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین فنول ۱۰ درصد اضافه گردید و ۱۰ دقیقه در تاریکی در دمای محیط قرار گرفت. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر کربنات‌سدیم ۲۰ درصد به آن اضافه و کاملاً مخلوط شد و ۳۰ دقیقه در دمای ٤٠ درجه سلسیوس قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در طول موج ٧٦٥ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Pharmacia, England) قرائت شد. از اسیدگالیک برای تهیه منحنی کالیبراسیون (خطی بین ٦٠ ppm تا ٢٠٠٠) استفاده شد (Chan *et al.*, 2014). معادله کالیبراسیون برای اسیدگالیک $Y=.0015X+0.006$ و $R^2= 0.995$ بود. مقدار ترکیبات فنلی کل به‌عنوان میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم بیان شد.

**- تعیین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH**

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به‌روش به دام‌اندازی رادیکال‌های ۲، ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH (٦٠ میکرومول در لیتر در اتانول) به ۲ میلی‌لیتر از عصاره اضافه و ۱ دقیقه مخلوط گردید. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و تاریکی، جذب آن در ۵۳۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Pharmacia, England) قرائت شد. محلولی از DPPH بدون افزودن نمونه به‌عنوان کنترل مثبت تهیه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از فرمول زیر تعیین شد که در آن Ac جذب کنترل، As جذب نمونه است (Buzanello *et al.*, 2020).

$$\text{فعالیت آنتی اکسیدانی (٪)} = (\text{Ac - As/Ac}) \times 100$$

**- تعیین مهار رشد باکتری**

*استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923 و *سالمونلا تیفی‌موریوم* ATCC 14028 از کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. برای تعیین مهار رشد باکتری از روش انتشار دیسک استفاده شد. ابتدا مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ۲۰ ساعته باکتری که حاوی $۱\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر در سطح محیط تریپتیک‌سوی آگار (Tryptic Soy Agar: TSA) کشت داده شد و سپس در شرایط استریل، یک دیسک گرد از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ استریل به‌قطر ٦ میلی‌متر به‌آرامی روی سطح محیط آگار قرار داده شد. سپس نمونه‌ها توسط پیپت استریل به دیسک‌ها منتقل شدند و به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷±۱ درجه سلسیوس قرار داده شد. جهت تعیین بازدارندگی نمونه‌های مورد مطالعه روی باکتری‌های شاخص، قطر هاله بازدارندگی با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری گردید (Bučková *et al.*, 2018).

**- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibition Concentration, MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)**

MIC و MBC تیمارها با استفاده از روش میکرورقیق‌سازی در چاهک‌های میکروپلیت ٩٦ خانه تعیین شد. غلظت‌های مختلفی از نمونه‌ها در چاهک‌های مورد مطالعه اضافه شد و در انتها به چاهک‌ها سوسپانسیون باکتری با غلظت $۱۰^{۸}$ cfu/ml

اضافه و کاملا یکنواخت شد. برای اطمینان از صحت انجام آزمون از چاهک‌های کنترل مثبت (محیط کشت و آب مقطر) و کنترل منفی (محیط کشت و باکتری) نیز استفاده شد. پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ٢٤ ساعت انکوبه شدند و سپس مورد بررسی قرار گرفتند. آخرین رقتی که مانع رشد باکتری‌ها گردید به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر یک از گودهایی که باکتری در آن رشد نکرده بود در مولر-هینتون آگار کشت داده شد. کم‌ترین رقتی از نمونه‌ها که رشد ظاهری در آن مشاهده نشد، به‌عنوان MBC در نظر گرفته شد (Bučková *et al*., 2018).

**- تجزیه و تحلیل آماری**

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه ( ANOVA one way analysis of variance)، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد و با نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. تمام تیمارها در ۳ تکرار تهیه شد. مقادیر متوسط با خطاهای استاندارد گزارش شد.

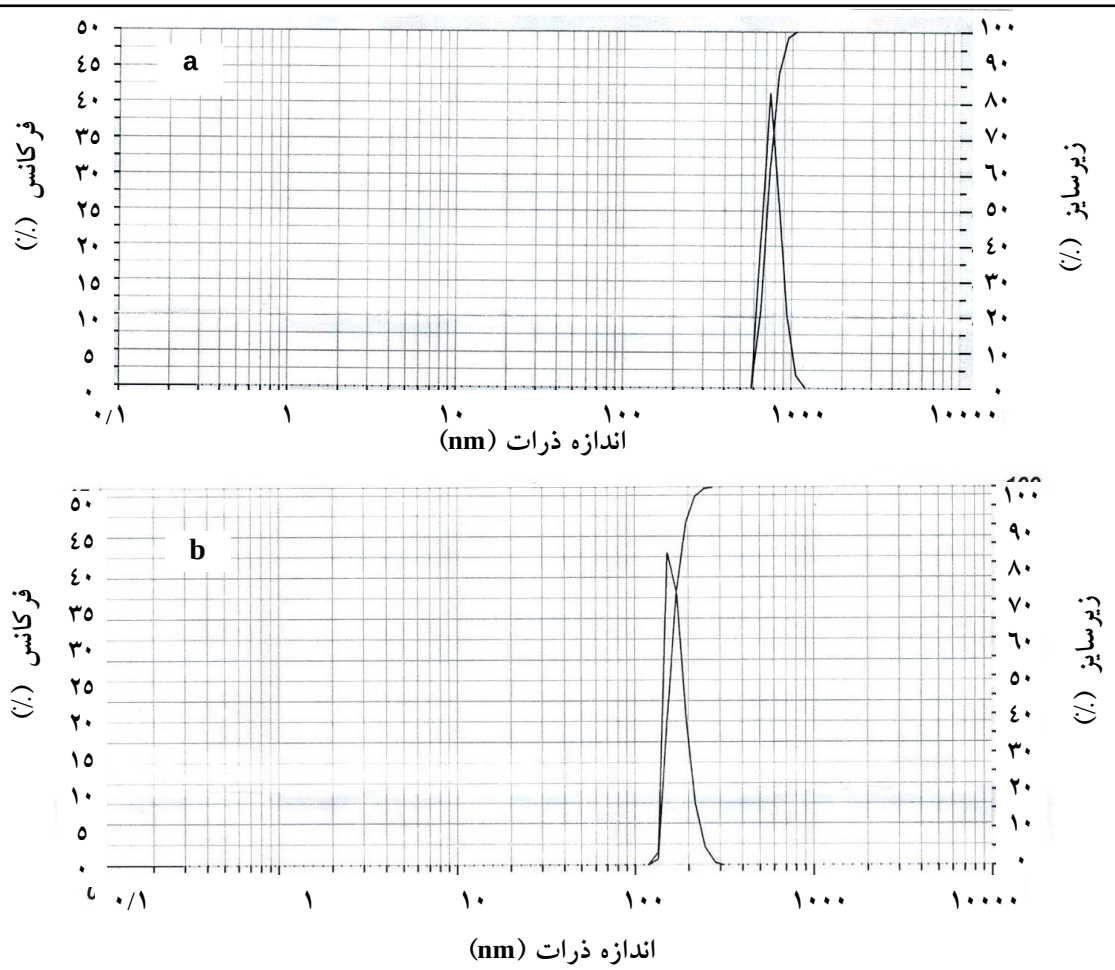
## یافته‌ها

**- اندازه ذرات و شاخص پراگندگی (PDI)**

میانگین اندازه ذرات نانومولسیون‌ها با روش DLS ارزیابی شد. توزیع اندازه ذرات در شکل (۱) آورده شده است. میانگین اندازه ذرات نانومولسیون حاصل (NEO و NEOC) به‌ترتیب ۷۲۸/۲ و ١٦٢/٤ نانومتر و PDIبه‌ترتیب در ۰/۱۹ و ۰/۳۰ بود.

**- ترکیبات فنلی و فعالیت مهاری رادیکال‌های آزاد DPPH**

خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره دارچین، اسانس آویشن و نانومولسیون‌ها با استفاده از تعیین ترکیبات فنلی و روش DPPH اندازه‌گیری شد (جدول ۱).




شکل (۱)- توزیع اندازه ذرات نانو امولسیون‌ها. a) NEOC و b NEO

جدول (۱)- خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی دارچین، اسانس آویشن و نانوامولسیون‌ها

| تیمارها | ترکیبات فنلی (mgGAE/g) | DPPH (٪) |
|---|---|---|
| اسانس آویشن | ۱۰٤/۹ ± ۷/۵[a] | ٦٦/٤ ± ۱/۷[a] |
| NEO | ۳۳/٤ ± ۱/۳[c] | ۱٦/۳ ± ۰/۸[c] |
| NEOC | ۹۸/٦ ± ۲/٦[a] | ٦۳/۸ ± ۱/۲[a] |
| عصاره آبی دارچین | ٦۳/۳ ± ۱/۱[b] | ۵۵/٤ ± ۲/۵[b] |

NEO و NEOC به‌ترتیب نانوامولسیون‌های مخلوط اسانس آویشن و آب مقطر و عصاره آبی دارچین؛ a, b, c: اعداد حداقل با یک حرف مشابه به‌ترتیب در هر ستون از لحاظ آماری معنادار نیستند.

- فعالیت ضدباکتریایی و **MIC و MBC**

فعالیت ضدباکتریایی و MIC **و** MBC نمونه‌ها در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا* تیفی‌موریوم به‌عنوان مدل باکتریایی گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت ضدباکتریایی، MIC و

MBC عصاره آبی دارچین و EO، NEO و NEOC در جدول (۲) خلاصه شده است.

جدول (۲)- خاصیت ضد باکتریایی (هاله ممانعت از رشد)، MIC و MBC عصاره آبی دارچین، EO، NEO و NEOC

| تیمارها | *سالمونلا* تیفی‌موریوم | *استافیلوکوکوس اورئوس* | *سالمونلا* تیفی‌موریوم | | *استافیلوکوکوس اورئوس* | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | قطر هاله مهاری (mm) | قطر هاله مهاری (mm) | MIC (mg/ml) | MBC (mg/ml) | MIC (mg/ml) | MBC (mg/ml) |
| اسانس آویشن | ۲۱/۲ ۰±/۲$^{c}$ | ۲۰/٤ ۰±/٤$^{c}$ | ۷/۸۱ ± ۱/٥٤$^{b}$ | ۱۰/۲۱ ± ۲/۲۳$^{b}$ | ۱٤/۲٥ ± ۲/۰٥$^{b}$ | > ۳۰ |
| NEO | ۲٦/۷ ۰±/٤$^{b}$ | ۲٤/۹ ۰±/۳$^{b}$ | ٤/۱۳ ± ۰/۷٥$^{c}$ | ۸/۲٥ ± ۱/٥۷$^{b}$ | ۹/٤٥ ± ۱/۳٥$^{c}$ | ۲۰ |
| NEOC | ۲۹/٤ ۰±/٤$^{a}$ | ۲٦/٤ ۰±/٥$^{a}$ | ۲/٤۳ ± ۰/۳٥$^{d}$ | ٤/۸٥ ± ۰/۸٥$^{c}$ | ٥/۲٥ ± ۰/۹٥$^{d}$ | ۱۰ |
| عصاره آبی دارچین | ۱۷/۷ ۰±/٥$^{d}$ | ۱٦/٤ ۰±/٤$^{d}$ | ۱٦/۲۳ ± ۱/۰٥$^{a}$ | ۲٥ | ۱۹/٥٥ ± ۰/۳٥$^{a}$ | > ۳۰ |

NEO و NEOC نانوامولسیون‌های تهیه شده از مخلوط اسانس آویشن و به‌ترتیب آب مقطر و عصاره آبی دارچین؛ a, b, c, d: اعداد حداقل با یک حرف مشابه به‌ترتیب در هر ستون از لحاظ آماری معنادار نیستند.

## بحث و نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون حاصل از مخلوط اسانس آویشن و عصاره دارچین و نانوامولسیون اسانس آویشن به‌ترتیب ۷۲۸/۲ و ۱٦۲/٤ نانومتر و شاخص PDI به‌ترتیب در ۰/۱۹ و ۰/۳۰ بود. با توجه به اینکه نانوامولسیون‌ها به دسته‌ای از امولسیون‌ها با اندازه قطرات یکنواخت و بسیار کوچک (معمولاً در محدوده ۲۰-۵۰۰ نانومتر) تعریف می‌شوند(Solanz *et al.*, 2003). بنابراین فرمول‌های تهیه شده دارای اندازه نانو هستند. لازم به‌ذکر است اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها عامل مهمی و مؤثر بر خواص فیزیکی و حسی نهایی مانند ظاهر، ساختار، ثبات و طعم محصول است. هم‌چنین اندازه ذرات نشان‌دهنده پایداری فیزیکی سیستم‌ها است.

PDI نشان‌دهنده همگنی اندازه قطرات در نانوامولسیون‌ها است. مقدار پراکندگی بالاتر نشان‌دهنده یک‌نواختی کمتر اندازه قطرات نانوامولسیون است. نانوامولسیون‌هایی با مقدار شاخص PDI بالاتر از ۰/۷ برای تجزیه و تحلیل DLS مناسب نیست (Hughes *et al.*, 2015). PDI بزرگ‌تر از ۰/۷ نشان‌دهنده همگنی کمتر امولسیون با توزیع گسترده اندازه قطرات است. در حالی که PDI کوچک‌تر از ۰/۳ نشان‌دهنده تک پراکندگی (monodispersed) ذرات بوده که حالت امولسیون پایدارتری را نشان می‌دهد (Kang and Song, 2018). در مطالعه حاضر، نانوامولسیون‌ها دارای PDI کمتر از ۰/۳ بود که نشان‌دهنده پایداری کلی و همگنی خوب و توزیع یکنواخت اندازه ذرات نانوامولسیون است (El-Sayed and El-Sayed, 2021). اندازه کوچکتر ذرات و مقادیر PDI نانوامولسیون‌های تهیه شده از اسانس آویشن نشان می‌دهد که هر دو نانوامولسیون‌ها می‌تواند به‌طور موثری پدیده‌های نامطلوب از جمله کرمی شدن، بهم چسبیدن و رسیدن استوالد در نانوامولسیون‌ها را محدود کنند. به فرایند درشت شدن ذرات فازی در رسیدن استوالد، قطرات کوچکتر به قطرات بزرگتر متصل شده و شروع به بزرگ شدن می‌نمایند و در نهایت موجب بی‌ثباتی نانوامولسیون‌ها می‌شوند (Ahmadi and Jafarizadeh-Malmiri, 2021). در سایر تحقیقات نیز اندازه‌های

ذرات نانومولسیون‌های مخلوط روغن و عصاره آبی قهوه سبز بین ۱۸۲/۲ تا ۷۰۷/۱ نانومتر (Buzanello *et al.*, 2020) و میانگین قطر نانومولسیون اسانس آویشن حدود ۵۲ نانومتر (El-Sayed and El-Sayed, 2021) گزارش شده است. اختلاف در اندازه ذرات نانومولسیون در تحقیقات مختلف را می‌توان به نوع ترکیبات سیستم، شامل انواع اسانس، نسبت سورفاکتانت و روش فراصوت و غیره نسبت داد (Modarres-Gheisari *et al.*, 2019). تشکیل دیسپرسیون‌های مایع/مایع با اندازه‌های کوچک از نکته نظر بنیادی و کاربردی مورد توجه است. اندازه ذرات نانومولسیون‌ها به‌همراه پایداری ترمودینامیکی بالاتر، نانومولسیون‌ها را به‌عنوان یک ماده فعال مطلوب برای استفاده در نگهداری مواد غذایی، تبدیل کرده است (Solanz *et al.*, 2003).

در مطالعه‌ای اندازه ذرات نانومولسیون‌های تهیه شده با پلی‌فنل‌های چای و ایزوله پروتئین سویا در محدوده ۳٤۰ تا ۸۰۰ نانومتر و PDI در محدوده ۰/۲۹ تا ۰/٥٤ گزارش شده است (Tian *et al.*, 2019). هم‌چنین میانگین قطر ذرات نانومولسیون اسانس زنجبیل ۱٥۱/٤ نانومتر و شاخص پراکندگی را ۰/۲۷ تعیین شده است (Mostafa, 2018). نانومولسیون‌های اسانس آویشن با اندازه قطرات در محدوده ۲٥۰ تا ٤۰۰ نانومتر، با استفاده از ۰/٦ درصد امولسیفایر حاوی اوالبومین و صمغ عربی و ٥ درصد روغن آفتابگردان تجاری به‌عنوان حلال، تهیه شد (Niu *et al.*, 2016). همین‌طور نانومولسیون‌های اسانس آویشن تهیه شده با استفاده از توئین۸۰ و لسیتین و با استفاده از ٥ درصد روغن ذرت، از طریق هموژنایزر فشار بالا، منجر به تشکیل نانومولسیون‌هایی با میانگین اندازه قطرات به‌ترتیب ۱۲ و ۱۰٥ نانومتر شده است (Xue and Zhong, 2014).

پلی‌فنل‌ها دسته‌ای از ترکیبات هستند که به‌عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گیاهان دارویی هستند. این ترکیبات می‌توانند آسیب اکسیداتیو لیپیدها یا سایر مولکول‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را به تاخیر اندازند یا از آن جلوگیری کنند. این ترکیبات دارای خواص چند منظوره بوده و می‌توانند به‌عنوان اکسیژن فعال (ROS) و جاذب‌های اکسیژن منفرد، عوامل کاهنده و اهداکنندگان اتم هیدروژن عمل کنند. از سوی دیگر، فنل‌های حاوی گروه‌های کاتکول و گالویل نیز می‌توانند با کمپلکس شدن با فلزات واسطه، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان ثانویه عمل کنند و از شروع رادیکال‌های آزاد کاتالیز شده توسط فلز و تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری کنند (Tohidi *et al.*, 2017).

رادیکال DPPH نیز در یک سیستم با آنتی‌اکسیدآن‌ها اسکونج (Scavenged) می‌شود. آنتی‌اکسیدان از طریق دادن یک هیدروژن به رادیکال آزاد فرم پایدار DPPH-H را تشکیل می‌دهد و این روش به‌طور گسترده‌ای برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اولیه (Primary antioxidant activity) به‌کار می‌رود (Muppalla *et al.*, 2012).

در مطالعه حاضر، ترکیبات پلی‌فنلی عصاره آبی دارچین، TEO، NEO و NEOC در محدوده ۳۳/٤ تا ۱۰٤/۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم متغییر بود. ترکیبات فنلی TEO و NEOC بیشترین مقدار و NEO کمترین مقدار بود. دلیل این اختلاف مربوط به ترکیبات تشکیل دهنده ناتومولسیون‌ها است. فاز آبی NEOC

عصاره آبی دارچین اما فاز آبی در NEO آب مقطر بود. در سایر تحقیقات مقدار ترکیبات فنلی عصاره دارچین در حدود ۵۵/۶۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم گزارش شده است (Jamshidi *et al.*, 2013). از طرفی مقدار ترکیبات عصاره آبی و اتانولی دارچین به‌ترتیب ۱۵۳/۵ و ۲۰۵/۵ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم تعیین شده است (Gulcin *et al.*, 2019) که بیشتر از مقادیر تعیین شده در تحقیق حاضر بود. ترکیبات فنلی عصاره آبی دارچین به‌ترتیب فراوانی شامل اسید p – هیدروکسی بنزوئیک (۳۲۱/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره)، اسید p –کوماریک (۲۹۱/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره)، پیروگالول (۱٤۲/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره)، وانیلین (۱۰۱/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره) و فرولیک اسید (۸۸/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره) گزارش شده است (Gulcin *et al.*, 2019).

مقدار ترکیبات فنلی اسانس آویشن نیز ۱۷۷/۳ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم گزارش شده است (Aljabeili *et al.*, 2018). از طرفی ترکیبات فنلی اسانس آویشن ۱٤ گونه مختلف در محدوده ۳۱/۳۸ تا ۷۰/۵٦ میلی‌گرم بر گرم گزارش شده است (Tohidi *et al.*, 2017). نتایج حاصل از تحقیق حاضر بالاتر از نتایج گزارش شده در این تحقیقات است. مقدار ترکیبات پلی‌فنلی استخراج شده به پارامترهایی از جمله دمای استخراج، زمان، pH و قطبیت حلال بستگی دارد (Dai *et al.*, 2010). گزارش شده است که ترکیبات پلی‌فنلی موجود در عصاره دارچین مسئول خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره است ((Momtaz *et al.*, 2018). هم‌چنین خواص بالقوه دارچین برای سلامتی عمدتاً از مواد فعال زیستی مانند پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدآن‌ها مشتق شده است (Vidanagamage *et al.*, 2016). تجزیه و تحلیل دارویی اسانس دارچین نشان داد که سینامالدئید، سینامیک اسید، سینامات، پروسیانیدین‌ها، اوژنول و کاتچین‌ها ترکیبات اصلی دارچین هستند (Gulcin *et al.*, 2019).

گزارش شده است که تیمول، کارواکرول، p-cymene و γ-terpinene به‌عنوان ترکیبات اصلی گونه آویشن می‌باشند (Kowalski *et al.*, 2009). p – سیمین (۸/٤۱٪)، γ–ترپینن (۳۰/۹۰ ٪) و تیمول (٤۷/۵۹ ٪) از اجزای اصلی اسانس آویشن بوده و سایر اجزا در مجموع کمتر از ۱۳/۰۱ درصد اسانس را تشکیل می‌دهد (Borugă *et al.*, 2014). تیمول به‌مقدار ٤۳/٦۳ ٪، p–سیمین ۲۲/۸٦ ٪، برونیل استات ۸/۷۰ ٪، γ–ترپینن ٦/۵٦ ٪، بکاریوفیلن ۵/٦۵ ٪ و کارواکرول ۳/۱۸ ٪ از اجزای اصلی اسانس آویشن می‌باشد (Ballester-Costa *et al.*, 2013). ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها بسته به محل و فصل رشد، شرایط جغرافیایی، زمان جمع آوری گیاه و تکنیک تقطیر به‌طور قابل توجهی متفاوت است (Marino *et al.*, 2001).

دلیل پایین بودن ترکیبات فنلی در نانوامولسیون اسانس آویشن را می‌توان به رقیق شدن نانوامولسیون‌ها و کم بودن مقدار اسانس موجود در نانو امولسیون‌ها بیان کرد (Ahmadi and Jafarizadeh-Malmiri, 2021). هم‌چنین دلیل اختلاف بالای ترکیبات فنلی دو نوع نانوامولسیون، نیز مربوط به استفاده از عصاره دارچین در فرمول NEOC است. لازم به توضیح است در تهیه نانوامولسیون NEO، از آب به جای عصاره دارچین استفاده شده است.

در تحقیق حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)، عصاره آبی دارچین، TEO، NEO و NEOC از محدوده ۱۶/۳ تا ٦٦/٤ درصد متغییر بود. در این بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی TEO و NEOC بیشترین مقدار و NEO کمترین مقدار بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دارچین در حدود ٥٥/٤ درصد در حالی که نانوامولسیون تهیه شده با عصاره دارچین ٦٣/٨ درصد بود. در سایر تحقیقات نیز نشان داده شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون اسانس آویشن تهیه شده با استفاده از امولسیفایرهای مختلف، کمتر از اسانس آویشن خالص بود. بطوری‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن خالص ۹٥/۱ درصد و نانوامولسیون‌های آن با فرمول‌های مختلف بین ۲۰ تا ٤۰/٦ درصد بود (Ahmadi and Jafarizadeh-Malmiri, 2021). لازم به ذکر است که اختلاف موجود در ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، می‌تواند متاثر از فاکتورهایی همچون موقعیت جغرافیایی، شرایط آب و خاک، مرحله رشد گیاه، زمان برداشت گیاه و به‌طور کلی فاکتور های محیطی و فاکتورهای ژنتیکی گیاه باشد (Jamshidi *et al.*, 2013). با توجه به نتایج حاصل، بین ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه مثبت وجود دارد. ترکیبات فنلی به‌عنوان اجزای فعال بیولوژیکی، واکنش زنجیره‌ای اکسیداسیون چربی‌ها را در مرحله شروع با اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد می‌شکنند. فعالیت بالای ترکیبات فنلی برای از بین بردن رادیکال‌ها را می‌توان به گروه‌های فنلی-هیدروکسیل آن‌ها نسبت داد. بنابراین، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن و عصاره دارچین و نانوامولسیون‌های حاصل مربوط به ترکیب فنلی آن‌ها است (Aljabeili *et al.*, 2018). اخیراً نشان داده شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها تقریباً به ترکیب فنلی آن‌ها مرتبط است و به شدت به ساختار فنلی آن‌ها بستگی دارد. اسیدهای فنلی به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی کارآمد، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، از جمله آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل را از بین می‌برند (Erkan *et al.*, 2008).

اثرات ضدمیکروبی نانوامولسیون‌ها در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم*، پاتوژن‌های منتقله از غذا، به‌طور معنی‌داری بالاتر از اسانس و عصاره بود ($p<0.05$). شاید علت اصلی تأثیر بیشتر خاصیت ضدمیکروبی نانوامولسیون‌ها را بتوان به تعداد بیشتر و اندازه کوچکتر ذرات نسبت داد، زیرا در اثر تبدیل امولسیون‌ها به نانوامولسیون‌ها، در اثر فراصوت، اندازه ذرات کوچک‌تر شده و در نتیجه تعداد ذرات افزایش یافته که منجر به خاصیت ضدمیکروبی بیشتر نانوامولسیون‌ها در مقایسه با امولسیون‌های مربوطه می‌شود. نانوامولسیون‌ها با لیپیدهای دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها ترکیب شده و موجب مرگ سلولی می‌شوند. جاذبه الکترواستاتیکی نیز می‌تواند شانس آن‌ها را برای ترکیب با بارهای روی سطح پاتوژن افزایش دهد. میکروارگانیسم‌ها در صورت ترکیب با نانوامولسیون‌ها، بخشی از محتویات داخلی خود را تخلیه کرده و منجر به لیز شدن سلولی می‌شود (Pathania *et al.*, 2019). نتایج مشابهی نیز در استفاده از اسانس و نانوامولسیون اسانس زنجبیل گزارش شده است (Mostafa, 2018). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که پوشش‌های خوراکی حاوی نانواسانس علف لیمو در

مقایسه با امولسیون‌های معمولی، دارای فعالیت میکروبی بیشتر و سریع‌تری در برابر *اشریشیا کولای* اس (Salvia-Trujillo *et al*., 2015). نانوامولسیون‌های تهیه شده با روغن کنجد حاوی اوژنول در مقایسه با امولسیون‌های آن فعالیت ضدمیکروبی بیشتری علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* دارند (Ghosh *et al*., 2014). هم‌چنین نانوامولسیون‌ها می‌تواند از تبخیر و تجزیه اسانس‌ها در حین آماده‌سازی به‌دلیل قرار گرفتن در معرض مستقیم گرما، فشار و نور جلوگیری کند (Marei *et al*., 2017). توانایی ضدباکتریایی نانوامولسیون‌ها با توجه به اندازه ذرات، فرمولاسیون امولسیون، ترکیب شیمیایی اسانس و عصاره، ویسکوزیته و سویه‌های میکروبی، متفاوت است (Donsì & Ferrari, 2016). هم‌چنین گزارش شده است که نانوامولسیون‌های آویشن از نظر آماری فعالیت ضدباکتریایی بیشتری را علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر بازدارندگی ۲۶/۱ میلی‌متر نسبت به اسانس آویشن با قطر ازدارندگی ۲۵/۰ میلی‌متر نشان دادند (Ozogul *et al*., 2020).

در این بین تأثیر فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن در برابر این باکتری‌ها بیشتر از عصاره دارچین بود ($p< 0.05$). در سایر تحقیقات اثرات ضدمیکروبی اسانس آویشن نیز تأیید شده است (Ballester-Costa *et al*., 2016). گزارش شده است که فیلم‌های مبتنی بر کیتوزان غنی‌شده با ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن نسبت به اسانس میخک فعالیت ضدمیکروبی قوی‌تری در برابر *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا انتریدیس* نشان داد (Hosseini *et al*., 2008). فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن، رزماری و دارچین در برابر *لیستریا منوسیتوژنز* نتایج نشان داد که آویشن موثرتر بوده است (Abdollahzadeh *et al*., 2014). اسانس‌ها قادر به شکستن غشای خارجی باکتری‌های بیماری‌زا بوده و منجر به نشت لیپوپلی ساکاریدها و ایجاد ریزش در غشای سیتوپلاسمی می‌شود (Burt *et al*., 2004). وجود ترکیبات فنلی و آلکالوئیدی زمینه‌ساز خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی گیاهان است (Othman *et al*., 2020).

فعالیت ضدباکتریایی اسانس و نانوامولسیون اسانس زنجبیل با استفاده از توئین ۸۰ علیه *استافیلوکوکوس موتانس*، به‌دلیل ترکیبات فنلی اسانس زنجبیل از جمله جینجرول‌ها و شوگاول‌ها است (Mostafa, 2018). رابطه مستقیم بین فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن و ترکیبات فنلی آن مانند تیمول، p –سیمین، γ–ترپینن، کاریوفیلن و کارواکرول وجود دارد (Hachana *et al*., 2019). ترکیبات فنلی با خواص ضدباکتریایی مانند تیمول و کارواکرول است که بیش از ۴۰ درصد از ترکیبات اسانس آویشن را تشکیل می‌دهند. این ترکیبات غشای سیتوپلاسمی را هدف قرار داده و منجر به افزایش نفوذپذیری و در نتیجه دپلاریزاسیون غشاء شده و ساختار و عملکرد آن را تغییر می‌دهد. هم‌چنین فرآیندهای سنتز پروتئین و RNA را مهار می‌کند (Xu *et al*., 2008).

دارچین در میان عصاره‌های برخی از گیاهان در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* فعالیت قوی و حداکثری را نشان داد (Seeniva San *et al*., 2006). فعالیت ضدباکتریایی دارچین به وجود برخی از ترکیبات فعال نسبت داده شده است. فعالیت ضدباکتریایی دارچین احتمالاً به‌دلیل وجود سینامالدئید (ترکیب فعال دارچین) است. فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها و اسانس‌ها بسته

به ترکیب، نوع، غلظت اسانس، pH و دمای محیط، ترکیب بستر، میکروارگانیسم هدف، شرایط نگهداری و فرایند متفاوت است (Ozogul *et al*., 2015).

کمترین مقدار MIC و MBC ابتدا مربوط به نانواسانس آویشن حاوی عصاره آبی دارچین و سپس مربوط به نانواسانس آویشن می‌باشد که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی به نانوامولسیون‌ها است. هم‌چنین MBC و MIC اسانس آویشن کمتر از عصاره دارچین است. گزارش شده است که آویشن MBC و MIC یکسانی را برای *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* نشان داد و به‌طور موثری از رشد این باکتری‌ها جلوگیری کرد ( Bučková et al., 2018). در بین باکتری‌های پاتوژن منتقله از غذا *سالمونلا پاراتیفی* A، کمترین مقدار MIC وMBC را داشت (به‌ترتیب ۳/۱۳ و ٦/۲۵ میلی‌متر در میلی‌لیتر) که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر به نانوامولسیون‌های حاوی اسانس آویشن است. هم‌چنین MIC نانواسانس آویشن برای *استافیلوکوکوس اورئوس* ٦/۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. نشان داده شد که نانوامولسیون‌های اسانس آویشن اثر باکتری‌کشی قوی‌تری نسبت به اسانس آویشن داشتند (Ozogul et al., 2020).

دارچین و آویشن دارای فعالیت ضدباکتریایی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* هستند. اثرات ضدمیکروبی نانوامولسیون‌های اسانس آویشن در برابر این میکروب‌ها به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از اسانس آویشن بود که نشان می‌دهد تبدیل اسانس آویشن به نانوامولسیون موجب بهبود فعالیت ضدمیکروبی می‌شود. لذا استفاده از آن‌ها به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی برای جلوگیری از مسمومیت غذایی توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم* می‌تواند جایگزین افزودنی‌های شیمیایی شود.

## تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

## منابع


- Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. Food Control, 35: 177–183.
- Ahmadi, O. and Jafarizadeh-Malmiri. H. (2021). Intensification process in thyme essential oil mnanoemulsion preparation based on subcritical water as green solvent and six different emulsifiers. Green Processing and Synthesis, 10: 430–43.
- Aljabeili, H.S., Barakat, H. and Abdel-Rahman, H.A. (2018). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of thyme essential oil (*thymus vulgaris*). Food and Nutrition Sciences, 9: 433-446.
- Ballester-Costa, C., Sendra, E., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. and Viuda-Martos M. (2013). Chemical composition and in vitro antibacterial properties of essential oils of four Thymus species from organic growth. Industrial Crops and Products, 50: 304-311.

Borugă, O., Jianu, C., Mişcă, C., Goleţ, I., Gruia, A.T. and Horhat, F.G. (2014). Thymus vulgaris essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. Journal of Medicine and Life, 7 (3): 56-60.

- Bučková, M., Puškárová, A., Kalászová, V., Kisová, Z. and Pangallo, D. (2018). Essential oils against multidrug resistant gram-negative bacteria. Biologia, 73(1): 803-808.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods e a review. International Journal Food Microbiology, 94: 223-253.
- Buzanello, E.B., Pinheiro Machado, G.T. B., Kuhnen, S., Mazzarino, L. and Maraschin, M. (2020). Nanoemulsions containing oil and aqueous extract of green coffee beans with antioxidant and antimicrobial activities. Nano Express, 1: 1-15.
- Chan, K.W., Khong, N.M.H., Iqbal, S., Ee Chang, S., Younas, U. and Babji, A.S. (2014). Cinnamon bark deodorised aqueous extract as potential natural antioxidant in meat emulsion system: a comparative study with synthetic and natural food antioxidants. Journal Food Science Technology, 51: 3269–3276.
- Dai, J. and Mumper, R.J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules. 15: 7313–7352.
- Donsì, F. and Ferrari, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. Journal of Biotechnology, 233: 106–120.
- El-Sayed, S.M. and El-Sayed, H.S. (2021). Antimicrobial nanoemulsion formulation based on thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil for UF labneh preservation. Journal of Materials Research and Technology, 10: 1029-1041.
- Erkan, N., Ayranci, G. and Ayranci, E. (2008) Antioxidant activities of rosemary (*rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, 110: 76-82.
- Feizi Langaroudi, N. and Motakef Kazemi, N. (2019). Preparation and characterization of O/W nanoemulsion with Mint essential oil and Parsley aqueous extract and the presence effect of chitosan. Nanomed Research Journal, 4: 48-55.
- Ghosh, V., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. (2014). Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against, microbial spoilage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 114: 392–397.
- Gulcin, I., Kayaa, R., Gorenc, A.C., Akincioglue, H., Topalf, M., Zeynebe, Z., *et al*. (2019). Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LCMS/MS. International Journal of Food Properties, 22: 1511-1526.
- Hachana, Y., Ghandri, B., Amari, H. and Saidi I. (2019). Use of thyme essential oil as an antibacterial agent in raw milk intended for the production of farm cheese. Indian Journal Dairy Science, 72: 266-272.
- Hosseini, M.H., Razavi, S.H., Mousavi, S.M.A., Yasaghi, S.A.S. and Hasansaraei, A.G. (2008). Improving antibacterial activity of edible films based on chitosan by incorporating thyme and clove essential oils and EDTA. Journal of Applied Sciences, 8: 2895–2900.
- Hughes, J.M., Budd, P.M., Grieve, A., Dutta, P., Tiede, K. and Lewis J. (2015). Highly monodisperse, lanthanide-containing polystyrene nanoparticles as potential standard reference materials for environmental “nano” fate analysis. Journal of Applied Polymer Science, 15: 132:42061.
- Iqbal, S., Younas, U., Chan, K.W., Zia-Ul-Haq, M. and Ismail, M. (2012) Chemical composition of Artemisia annua L. leaves and antioxidant potential of extracts as a function of extraction solvents. Molecules, 17: 6020–6032.
- Jamshidi, M., Barzegar, M. and Sahari, M.A. (2013). Effect of gamma irradiation on the antioxidant and antimicrobial activities of cinnamon powder, Iranian Journal of Nutrition Science & Food Technology, 17: 73-82 [Persian].

- Kang, J.H. and Song, K.B. (2018). Inhibitory effect of plant essential oil nanoemulsions against Listeria monocytogenes, *Escherichia coli* O157:H7, and Salmonella Typhimurium on red mustard leaves. Innovative Food Science Emergency Technology, 45: 447–454.
- Marei, G., Rabea, E. and Badawy, M. (2017). Ultrasonic emulsification and characterizations of bio-based nanoemulsion formulations containing citral with their antimicrobial activity. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F Toxicology & Pest Control. 9(3): 169-182.
- Marino, M., Bersani, C. and Comi, G. (1999) Antimicrobial activity of the essential oils of thymus vulgaris L. measured using a bioimpedometric method. Journal of Food Protection, 62: 1017-1023.
- Modarres-Gheisari, S.M.M., Gavagsaz-Ghoachani, R., Malaki, M., Safarpour, P. and Zandi, M. (2019). Ultrasonic nano-emulsification–a review. Ultrason. Sonochemistry, 52: 88–105.
- 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.
- Mostafa, N. M. (2018). Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale*) leaves essential oil nanoemulsion against the cariogenic *streptococcus mutans*. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 8: 034-041.
- Muppalla, S.R., Sonavale, R., Chawla, S.P., and Sharma, A. (2012). Functional properties of nisin-carbohydrate conjugates formed by radiation induced Maillard reaction. Radiation Physics and Chemistry, 81: 1917–1922.
- Niu, F., Pan. W., Su, Y. and Yang, Y. (2016). Physical and antimicrobial properties of Thyme essential oil emulsions stabilized by oval-bumin and gum Arabic. Food Chemistry. 212: 138–45.
- Othman, Z. S., Maskat, M. Y. and Hassan, N. H. 2020. Optimization of cinnamaldehyde extraction and antioxidant activity of ceylon cinnamon extract. Sains Malaysiana, 49: 995-1002
- Ozogul, Y., Boğaa, E.K., Akyolb, I., Durmusa, M., Ucarc, Y., Regensteind, J.M. *et al*. (2020). Antimicrobial activity of thyme essential oil nanoemulsions on spoilage bacteria of fish and food-borne pathogens. Food Bioscience, 36: 2-6.
- Ozogul, Y., Kuley, E., Ucar, Y. and Ozogul, F. (2015). Antimicrobial impacts of essential oils on food borne-pathogens. Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 7(1): 53–61.
- Parvazi, S., Sadeghi, S., Azadi, M., Mohammadi, M., Arjmand, M., Vahabi, F., *et al.* (2016). The effect of aqueous extract of cinnamon on the metabolome of *plasmodium falciparum* using 1hnmr spectroscopy. Hindawi Publishing Corporation. Journal of Tropical Medicine. 2016: 1- 5.
- Pathania, R., Khan, H., Kaushik, R. and Khan, M.A. (2019). Essential oil nanoemulsions and their antimicrobial and food applications. Current Research in Nutrition and Food Science Journal, 6: 626-643.
- Seeniva San, P., Manickkam, J. and Savarimuthu, I. (2006). In vitro antibacterial activity of some plants essential oils MBC. Complementary and Alternative Medicine, 6: 147.
- Solans, C., Esquena, J., Forgiarini, A.M., Uson, N., Morales, D. and Izquierdo P (2003). Nanoemulsions: formation, properties and applications. Journal Surface Science, 109: 525-554.
- Tian, B., Wang, Y., Wang, T., Mao, L., Lu, Y., Wang, H. and Feng, Z. (2019). Structure and functional properties of antioxidant nanoemulsions prepared with tea polyphenols and soybean protein isolate. Journal of Oleo Science, 68: 689-697.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A. (2017). Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of thymus species collected from different regions of Iran. Food Chemistry, 220: 153–161.
- Vidanagamage, S.A., Pathiraje, P.M.H.D. and Perera, O.D.A.N. (2016). Effects of cinnamon (*cinnamomum verum*) extract on functional properties of butter. Procedia Food Science, 6: 136–142.

- Xu, J., Zhou, F., Ji, B.P., Pei, R.S. and Xu, N. (2008). The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. Letters in Applied Microbiology, 47: 174-179.
- Xue, J. and Zhong, Q. (2014). Thyme essential oil nanoemulsions coemulsified by sodium caseinate and lecithin. Journal Agriculture Food Chemistry, 62: 9900–9907.