بررسی ویژگی‌های ضداکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره اناریجه (*Froriepia subpinnata*) درون‌پوشانی شده با مالتودکسترین-کنسانتره آب‌پنیر

راحله عالی‌پور[a]، عبدالله علیزاده کارسالاری[b*]، داریوش خادمی شورمستی[c]

[a] *دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران*
[b] *استادیار گروه شیمی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران*
[c] *استادیار گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۹/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۲/۲۳

چکیده

مقدمه: طی سالیان اخیر بکارگیری درون‌پوشانی جهت حفظ و افزایش اثرات ترکیبات زیست فعال عصاره‌های گیاهی با نتایج امیدوارکننده‌ای همراه بوده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی درون‌پوشانی عصاره هیدروالکلی اناریجه با مالتودکسترین – کنسانتره آب‌پنیر بر ویژگی‌های ضداکسیدانی و ضدباکتریایی آن انجام شد.

مواد و روش‌ها: عصاره هیدروالکلی اناریجه با روش التراسوند استخراج و جهت درون‌پوشانی عصاره از مالتودکسترین – کنسانتره پروتئینی آب پنیر به عنوان حامل استفاده شد. فعالیت ضداکسیدانی و ضدباکتریایی غلظت‌های ppm ۱۰۰۰ و ۵۰۰ عصاره آزاد و درون‌پوشانی شده با یکدیگر مقایسه شد.

یافته‌ها: میانگین قطر ذرات درون‌پوشانی شده عصاره برابر ۱۶۹/۸۹ نانومتر و بازده درون‌پوشانی ۶۵/۲۵ درصد بود. در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره درون‌پوشانی شده فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH (۹۱/۲۵ درصد) و مقدار عددی بتاکاروتن (۹۲/۲۴ درصد) به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$). ضمن اینکه قطر هاله عدم رشد در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره درون‌پوشانی‌شده علیه باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* (به ترتیب ۲۶/۰۲ و ۲۲/۰۳ میلی‌متر) و گرم منفی *اشریشیا کلی* و *سالمونلا انترکا* (به ترتیب ۲۰/۴۹ و ۱۹/۳۸ میلی‌متر) نیز بیشتر از سایر تیمارها بود ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد درون‌پوشانی عصاره اناریجه با مالتودکسترین – کنسانتره آب‌پنیر به‌طور معنی‌داری خاصیت ضداکسیدانی و ضدباکتریایی آن را افزایش داد. لذا می‌توان از غلظت ppm ۱۰۰۰عصاره اناریجه درون‌پوشانی شده به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان و آنتی‌بیوتیک سنتزی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *اناریجه (Froriepia subpinnata)، ترکیبات زیست‌فعال، درون‌پوشانی، ضداکسیدان، هاله عدم رشد باکتری.*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: alizadeh3502@gmail.com

مقدمه

امروزه تقاضای جامعه جهت استفاده از محصولات غذایی حاوی ترکیبات زیست‌فعال با افزایش روزافزونی مواجه است. با این حال، به دلیل پایداری پایین اغلب ترکیبات زیست‌فعال در برابر شرایط نامطلوب محیطی، کارایی خود را از دست می‌دهند. لذا حفظ و افزایش پایداری این ترکیبات حساس و در ادامه رهایش کنترل شده آنها طی نگهداری و کاربرد اجتناب‌ناپذیر است. جهت دستیابی به این هدف، یکی از مؤثرترین روش‌ها، استفاده از فنآوری درون‌پوشانی است (Shaygannia *et al*., 2021). فنآوری درون‌پوشانی که کاربردهای مختلفی در صنایع غذایی و دارویی دارد، فرآیندی است که طی آن مواد فعال و حساس به وسیله حامل‌ها یا مواد دیواره پوشانده می‌شوند. استفاده از این مواد دیواره می‌تواند پایداری ترکیبات را در برابر شرایط نامطلوب محیطی بهبود بخشد (Timilsena *et al*., 2020). مواد مختلفی از جمله کربوهیدرات‌ها (مالتودکسترین، کربوکسی‌متیل سلولز، آلژینات)، پروتئین‌ها (کنسانتره آب‌پنیر، کازئین، ژلاتین) و لیپیدها (لیپوزوم‌ها) به تنهایی یا به طور ترکیبی به‌عنوان مواد دیواره جهت تولید ریزپوشینه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند و نوع مواد دیواره مورد استفاده می‌تواند بر کارایی درون‌پوشانی و رهایش ترکیبات فعال مؤثر باشد (Labuschagne., 2018). درون‌پوشانی با کربوکسی‌متیل سلولز با افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره چای ترش موجب تأخیر در فساد اکسیداتیو ناگت مرغ شد (Bahrami and Khademi Shurmasti, 2020). Hosseini و همکاران (۲۰۲۲) ضمن تولید نانولیپوزوم‌ها و نانوپوشینه‌های عصاره دانه چیا با غلظت‌های مختلف عصاره و صمغ دانه ریحان گزارش کردند که خواص فیزیکوشیمیایی ریزپوشینه‌ها تحت تأثیر غلظت مواد هسته و دیواره قرار دارد. همچنین Shahkol و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند افزایش غلظت مواد دیواره و نسبت پروتئین (کازئینات سدیم) به پلی‌ساکارید (مالتودکسترین و نشاسته اصلاح شده) موجب بهبود حفظ ترکیبات فرار و فعالیت ضداکسیدانی اسانس درون‌پوشانی شده آویشن باغی گردید. نتایج پژوهش دیگری نشان داد که کارآیی ایزوله پروتئین آب‌پنیر در درون‌پوشانی عصاره کاکوتی بیشتر از پلی‌ساکاریدها بود (Hosseinnia *et al*., 2020).

اناریجه با نام علمی *Froriepia subpinnata* دارای ۱۵۰ گونه در اوراسیا و افریقا، بیش از ۱۶ گونه در اروپا و ۲۲ گونه در ایران می‌باشد. جنس *Pimpinella affinis* یک گیاه معطر دوساله با ارتفاع ۲۰ تا ۱۱۰ سانتی‌متر از خانواده چتریان با گل‌های سفید و میوه بیضی‌شکل است. این گونه به‌صورت وحشی در مرکز، غرب و شمال ایران و بیش‌تر در مناطق کوهستانی با آب و هوای سرد رشد می‌کند (Mozaffarian, 2012). بر اساس نتایج تحقیقی ترکیبات پارا سیمن-۸-ال (۵۱/۱۳ درصد)، آلفا ترپینولن (۷/۶۹ درصد) و لیمونن (۶/۸۳ درصد) بیشترین مقدار را در اسانس اناریجه به خود اختصاص دادند (Mehrabanjoubani *et al*., 2021). Salmanian و همکاران (۲۰۱۸) حضور اسید کلرژنیک به عنوان اسید فنولی غالب در گیاه اناریجه را گزارش کردند. ضمن اینکه نشان دادند عصاره اناریجه در تمام ارزیابی‌ها از فعالیت ضداکسیدانی قابل ملاحظه‌ای برخوردار بود. ترکیب شیمیایی عصاره هگزانی قسمت‌های هوایی اناریجه با تجزیه و تحلیل GC/MS مورد ارزیابی قرار گرفت و ۲۱ ترکیب (۸۰/۶۰ درصد) از کل، از جمله فیتواسترول‌ها و هیدروکربن‌ها، شناسایی شدند. همچنین مقدار قابل توجهی از فلاونوئیدها در عصاره متانولی این گیاه با روش رنگ سنجی برآورد شد. با تجزیه و تحلیل HPLC دو فلاونوئید روتین و کاتچین در عصاره متانولی آن شناسایی شدند (Bahrami *et al*., 2021). اثر ضدباکتریایی اناریجه نیز مورد بررسی قرار گرفت؛ اثربخشی عصاره متانولی اناریجه در برابر دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* تأیید شد (Bahrami *et al*., 2021). Rahmati - Joneidabad و Alizadeh Behbahani (۲۰۲۱) در بررسی اثر ضد قارچی اسانس اناریجه بر دو سویه *آسپرژیلوس نایجر* (کپک سیاه) و *بوتریتیس سینه‌را* (کپک خاکستری) عامل فساد میوه انگور گزارش کردند که اسانس اناریجه به خوبی توانست از رشد سویه‌های قارچی عامل فساد سیاه و خاکستری انگور در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کند. Farhadi و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که استفاده از عصاره اناریجه موجب افزایش ماندگاری گوشت ماهی طی دوره نگهداری شد.

با توجه به محدودیت تحقیقات مرتبط با ویژگی‌های زیستی عصاره درون‌پوشانی شده اناریجه، این تحقیق با

هدف مقایسه کارایی ویژگی‌های ضداکسیداسیونی و ضدباکتریایی این عصاره در دو غلظت ppm ۱۰۰۰ و ۵۰۰ به صورت آزاد و درون‌پوشانی شده با مالتودکسترین- کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل محیط کشت‌های براث و مولر هیلتون آگار، بتاکاروتن، اتانول، معرف فولین – سیو کالچو، اسیدگالیک بافرفسفات و مالتو دکسترین از نمایندگی شرکت مرک (آلمان) خریداری شد. دیسک تتراسایکلین (TC_{30}) از شرکت پادتن طب (ایران) خریداری شد. گیاه اناریجه بعد از جمع‌آوری از رویشگاه‌های طبیعی این گیاه در استان مازندران توسط بخش گیاه‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری مورد تأیید قرار گرفت. پس از جمع‌آوری و جداسازی ناخالصی‌ها گیاه کامل در آون با دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه خشک و با آسیاب خانگی (مولینکس، فرانسه) بصورت کاملاً پودری درآمد پودر یکنواخت از الکی با اندازه حفرات ۵۰۰ میکرومتر (مش ۳۵) عبور داده شد و تا زمان آزمایش در کیسه‌های محافظ نسبت به هوا و رطوبت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد (Saremi et al., 2017). سایر مواد شیمیایی با درجه آزمایشگاهی از نمایندگی شرکت مرک (آلمان) خریداری شد.

- استخراج عصاره با اولتراسوند

ابتدا پودر اناریجه با نسبت ۱ به ۵ با حلال اتانول ۹۶ درصد – آب (۵۰:۵۰) مخلوط شد. سپس در حمام اولتراسوند (مدل Grant XB6، انگلستان) به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۳۵ درجه سلسیوس و فرکانس ۳۵ کیلو هرتز قرار گرفت. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و با سرعت۳۰۰۰ واحد گرانش به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. در ادامه حلال با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (TAM- ایران) با حداکثر دمای ۵۰ درجه سلسیوس جداسازی گردید. عصاره حاصله تا زمان انجام آزمایش در فریزر با دمای ۱۸ – درجه سلسیوس نگهداری شد (Saremi *et al*., 2017).

- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از روش طیف سنجی با معرف فولین – سیو کالچو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بر اساس میلی‌اکی‌والان اسید گالیک بر گرم عصاره گزارش شد (Salmanian *et al*., 2018). ۰/۵ میلی‌لیتر از هر عصاره ۰/۱ درصد (محلول ۰/۱ گرم از عصاره با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال) با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف سیو کالچو رقیق شده با آب با نسبت (۱۰:۱) ترکیب و با ۲ میلی‌لیتر از کربنات سدیم ۷/۵ درصد مخلوط شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده و جذب آنها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Biophotometer- آمریکا) قرائت شد.

- درون‌پوشانی عصاره

جهت درون‌پوشانی عصاره اناریجه از مالتودکسترین – کنسانتره پروتئینی آب پنیر به عنوان حامل استفاده شد. نانو درون‌پوشانی با استفاده از روش Sharifi و همکاران (۲۰۱۵) انجام گرفت. به طور خلاصه مخلوط مالتودکسترین – آب پنیر (۵۰:۵۰ درصد) تغلیظ شده در محلول کلروفرم: متانول (۱:۳ وزنی/وزنی) انحلال یافت. سپس محلول حاصله به منظور حذف حلال‌ها در تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (TAM- ایران) قرار داده شد تا یک فیلم نازک بر روی دیوار تشکیل شود. عصاره اناریجه نیز در محلول دی کلرو متان : متانول (۱:۲ وزنی/وزنی) حل شد. مخلوط حاصل با مخلوط مالتودکسترین – آب پنیر تغلیظ شده با نسبت ۱:۴ (مالتودکسترین – آب پنیر تغلیظ شده: عصاره) ترکیب گردید و حلال‌های موجود تحت جو نیتروژن تبخیر شد. فیلم تولید شده در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات (۱۰ میلی‌مول/ لیتر، pH= 7.4) حل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس توسط دستگاه هموژنایزر در فشار ۲۰۰ بار هموژنیزه شد. سوسپانسیون بدست آمده به مدت ۲ ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد. سپس با سرعت ۶۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. در نهایت عصاره گیاه اناریجه درون‌پوشانی شده با استفاده از خشک‌کن انجمادی (دمای ۸۴- درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت) خشک شد.

- ارزیابی فعالیت ضداکسیدانی

توانایی دادن الکترون یا اتم‌های هیدروژن عصاره آزاد و درون‌پوشانی شده بر اساس بی‌رنگ شدن محلول متانولی، بنفش رنگ ۲،۲-دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) به عنوان معرف، تعیین شد Williams *et al.*, (1995). برای محاسبه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آزاد ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اناریجه (۰/۵، ۱، ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، با ۳/۹ میلی‌لیتر محلول DPPH (محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار) مخلوط نموده. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در مکان تاریک نگهداری گردید و سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره درون‌پوشانی شده، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول عصاره استخراج شده از ریز پوشینه برداشته و باقی مراحل همانند مراحل توضیح داده شده در مورد عصاره آزاد صورت گرفت. درصد مهار رادیکال DPPH طبق رابطه (۱) محاسبه شد:

رابطه (۱) $\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$

- آزمون بی‌رنگ شدن بتا کاروتن- لینولئیک اسید

برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن- لینولئیک اسید تهیه شد. ۵ میلی‌گرم از بتاکاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد. ۶۰۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده به مخلوط ۴۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ۴۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ اضافه شد. سپس با روش تبخیر در خلاء کلروفرم جدا گردید و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه به آن اضافه و به شدت هم زده شد. ۵ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل و ۲۰۰ میکرولیتر از هر عصاره (غلظت ppm ۱۰۰۰) به لوله آزمایش اضافه شد. تمامی این مراحل در مورد BHA (غلظت ppm ۱۰۰۰) به عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد و شاهد (محلول بتاکاروتن تهیه شده به اضافه حلال‌های مربوطه) انجام شد. جذب نوری نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر در ۴۷۰ نانومتر در زمان صفر و همچنین بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق قرائت شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر اساس رابطه (۲) به عنوان درصد بازداری بیان شد (*et al.*, 2009 Bougatef).

رابطه (۲) $\text{درصد بازدارندگی} = \frac{As(24)-As(0)}{Ac\,(24)-Ac(0)} \times ۱۰۰$

As (24) و As(0) به ترتیب جذب نمونه بعد از ۲۴ ساعت و جذب نمونه در زمان شروع، Ac(24) و Ac(0) به ترتیب جذب نمونه شاهد بعد از ۲۴ ساعت و نمونه شاهد در زمان شروع.

- اندازه‌گیری قطر پوشینه

اندازه‌گیری قطر پوشینه‌ها، با استفاده از دستگاه پارتیکل سایز آنالایزر (Shimadzu مدل SALD - ژاپن) و بر اساس روش تفرق نور لیزر محاسبه گردید. درنهایت، متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی بر اساس رابطه (۳) محاسبه شد. کلیه نمونه‌ها در سه تکرار اندازه‌گیری شدند(Joye *et al.*, 2015).

رابطه (۳) $D_{4,3} = \frac{(\sum nidi^4)}{(\sum nidi^3)}$

n_i: تعداد ذرات، d_i: قطر ذرات، $D_{4,3}$: میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل)

- اندازه‌گیری راندمان ریزپوشانی

جهت اندازه‌گیری راندمان ریزپوشانی عصاره به طور خلاصه ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم ریز پوشینه به ۲ میلی‌لیتر محلول استخراجی شامل متانول- اسید استیک - آب (به‌ترتیب به نسبت ۴۲-۸-۵۰ حجمی/حجمی/حجمی) اضافه شد و به مدت یک دقیقه همزده شد و در ادامه تحت اولتراسوند (Chroma tech - تایوان) به مدت ۲۰ دقیقه در دو مرحله با شدت ۱۰۰ درصد و فرکانس ۲۰ کیلو هرتز قرار گرفت. بعد از این مرحله سانتریفوژکردن در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰دقیقه انجام شد. مقدار ترکیبات فنولی کل در محلول رویی با استفاده از روش فولین سیوکالچو تعیین شد. برای محاسبه مقدار اولیه ترکیبات فنولی، در ابتدا به صورت تئوری مقدارعصاره‌ای که در ۲۰۰ میلی‌گرم ریزپوشینه را انتظار داشته محاسبه و سپس مقدار ترکیبات فنولی آن محاسبه و بدست آمد. درصد کارایی ریزپوشینه از رابطه (۴) محاسبه شد (Robert *et al.*, 2015).

رابطه (۴) $\text{کارایی درون‌پوشانی (درصد)} = \frac{(W_1-W_2)}{W_2} \times ۱۰۰$

W_1: مقدارعصاره در مایع فوقانی از نانو پوشینه، W_2: مقدار عصاره افزوده شده برای آماده سازی همان مقدار نانو پوشینه (میلی‌گرم گالیک اسید)

- فعال‌سازی باکتری‌های مورد بررسی

باکتری‌های *Escherichia coli* ATCC 25922، *Salmonella typhimurium* ATCC 14028، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Bacillus cereus* PTCC 1154 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. ویال لیوفیلیزه حاوی باکتری‌های مذکور طبق دستورالعمل، تحت شرایط استریل از محل مورد نظر باز و از آن کشت مادر و سپس کشت ذخیره تهیه شد. کشت ذخیره در فریزر ۲۰ – درجه سلسیوس قرار داده شد و در مراحل بعدی از آن استفاده شد (Grisi and Lira, 2005).

- روش چاهک‌گذاری در آگار جهت تعیین فعالیت ضدمیکروبی عصاره

فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره آبی آزاد و ریزپوشانی شده اناریجه با استفاده از روش چاهک‌گذاری در آگار تعیین شد (Grisi and Lira., 2005). باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *اشرشیا کلی* در محیط آبگوشت BHI به‌مدت ۲۴ ساعت قبل از آزمون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. در ادامه کشت سطحی با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مایع محتوی تقریباً 10^7 – 10^8 cfu/ml از باکتری‌های مذکور در محیط کشت جامد BHI انجام شد. در مرحله بعد در هر پلیت سه چاهک با قطر ۶ میلی‌متر توسط سر پیپت پاستور استریل ایجاد شد و درون هرچاهک بیست میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آزاد و درون‌پوشانی شده ریخته شد. سپس پلیت‌ها در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. قطر هاله‌ها با کمک کولیس با دقت ۰/۰۲ ± میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. قطر هاله تشکیل شده (میلی‌متر) به عنوان شاخص فعالیت ضدمیکروبی در نظر گرفته شد. برای اطمینان از رشد یکنواخت باکتری بر روی سطح پلیت، یک پلیت کشت داده شده فاقد عصاره، در نظر گرفته شد. همچنین از یک پلیت فاقد باکتری نیز برای اطمینان از عدم آلودگی محیط های کشت استفاده شد.

- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره

باکتری‌های مورد مطالعه با غلظت تقریبی حاوی 10^8 cfu به میزان ۰/۲ میلی‌لیتر به هر یک از لوله‌های آزمایش افزوده شد. در مرحله بعد محلول‌های عصاره با استفاده از توئین ۸۰ (مرک، آلمان) و آب مقطر به نحوی تهیه شد که با ریختن مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از هر کدام از محلول‌ها درون لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت BHI، MRS و SS آگار باکتری‌های مورد آزمایش ساخته شد. سپس لوله‌های آزمایش در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری‌های گرمخانه گذاری و پس از ۲۴ ساعت پایین‌ترین غلظتی که در آن هیچ کدورتی مشاهده نگردید به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در نظر گرفته شد. پس از تعیین MIC جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) در شرایط کاملا استریل از محتویات ارلن‌هایی که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری هنوز شفاف بودند و کدورتی در آنها مشاهده نشد به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر در پتری‌دیش‌های حاوی محیط‌کشت مناسب هر گونه باکتری کشت سطحی داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای مناسب رشد و عدم رشد باکتری‌ها بررسی و اولین غلظتی که در آن رشد مشاهده نگردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Shahnazi *et al*., 2007).

- بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره

قبل از شروع و انجام آزمون بر روی عصاره جهت تسهیل روش و بدست آوردن محدوده ضد باکتریایی عصاره، کشت اولیه انجام شد. در این مطالعه از دیسک استاندارد تتراسایکلین به عنوان شاهد مثبت استفاده شد. برای بررسی انتشار دیسک ابتدا از کشت ۲۴ ساعته سوسپانسیون باکتری‌ها که در هر میلی‌لیتر حاوی 5×10^8 cfu بود استاندارد محلول ۰/۵ مک فارلند تهیه شد. جهت تهیه دیسک‌های مورد آزمایش، هر دیسک با ۱۵ میکرولیتر از عصاره با غلظت‌های مختلف اشباع گردید. در این آزمایشات از محیط‌کشت مولر – هیلتون آگار حاوی سوسپانسیون میکروبی استفاده شد. بعد از ریختن محیط حاوی میکروب

بر روی لایه زیرین و خشک کردن محیط در انکوباتور، دیسک‌های تهیه شده در فاصله مناسب از یکدیگر کاشته شد. محیط‌های کشت باکتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. در ادامه قطر هاله‌های عدم رشد توسط کولیس اندازه‌گیری شد (باقری و همکاران، ۲۰۱۶). جهت قضاوت در مورد قطر عدم رشد و میزان تأثیر عصاره از استاندارد قدرت تأثیر عصاره استفاده شد (FaikAhmet *et al*., 2008).

- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. به منظور مقایسه میانگین‌های به دست آمده از بازده و مقادیر فنولی کل در دو دمای مختلف از آزمون t-student استفاده شد. همچنین به منظور بررسی اثر غلظت بر فعالیت ضداکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره اناریجه از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها (سه تکرار) در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شد از آزمون دانکن استفاده شد (P<۰/۰۵).

یافته‌ها

مقدار ترکیبات فنولی عصاره اناریجه در مطالعه حاضر برابر با ۲/۶۸±۱۸۵/۹۶ میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم ماده خشک عصاره به دست آمد. میانگین اندازه ذرات عصاره درون‌پوشانی برابر ۳/۴۳±۱۶۹/۸۹ نانومتر و بازده درون‌پوشانی ۰/۹۷±۶۵/۲۵ درصد بود.

نتایج در جدول ۱ بیانگر آن است که عصاره هیدروالکلی اناریجه بر روی مهار رادیکال‌های DPPH مؤثر بود. در عین حال با افزایش غلظت عصاره میزان مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH نیز افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین عصاره‌های درون‌پوشانی شده در غلظت‌های برابر در مقایسه با نمونه‌های درون‌پوشانی نشده طور معنی‌داری فعالیت ضداکسیدانی بالاتری داشتند (P<۰/۰۵). ضمن اینکه بالاترین فعالیت ضداکسیدانی در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره درون‌پوشانی شده دیده شد (P<۰/۰۵) که اختلاف آماری معنی‌داری با ضداکسیدان سنتزی BHA نداشت.

مقادیر عددی بتا کاروتن در تیمارهای مختلف در جدول ۱ آمده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت عصاره، مقادیر عددی بتا کاروتن افزایش یافت (P<۰/۰۵). همچنین فعالیت ضداکسیدانی عصاره‌های درون‌پوشانی شده به طور معنی‌داری بالاتر از انواع آزاد بود (P<۰/۰۵). ضمن اینکه عصاره درون‌پوشانی شده در غلظت ppm ۱۰۰۰ به‌طور معنی‌داری بالاترین خاصیت ضداکسیدانی را نشان داد که بیش از ضداکسیدان سنتری BHA بود.

یکی از روش‌های ارزیابی ویژگی‌های ضدباکتریایی، بررسی قطر هاله عدم رشد باکتری‌هاست. نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد عصاره اناریجه علیه باکتری‌های بیماری‌زا (*اشریشیا کلی* و *سالمونلا انتریکا* (گرم منفی)، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* (گرم مثبت)) در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد با افزایش غلظت و نیز درون‌پوشانی عصاره میزان فعالیت ضدباکتریایی افزایش یافت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین فعالیت ضدمیکروبی بر روی هم باکتری‌های گرم مثبت و هم باکتری‌های گرم منفی در غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره درون‌پوشانی شده دیده شد (P<۰/۰۵). در ارتباط با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره به شکل آزاد و درون‌پوشانی شده فعالیت ضدمیکروبی بالاتری نسبت به تتراسایکلین داشتند. در ارتباط با باکتری‌های گرم منفی عصاره درون‌پوشانی شده در غلظت ppm ۱۰۰۰ فعالیت ضدمیکروبی بالاتری نسبت به تتراسایکلین داشت.

جدول ۱- تأثیر درون‌پوشانی بر فعالیت ضداکسیدانی عصاره اناریجه

Table 1- Effect of encapsulation on antioxidant activity of *Froriepia subpinnata* extract

Treatments	DPPH free radical scavenging (%)	β-Carotene/linoleic acid (% inhibition rate)
Extract 500 ppm	60.64±0.56^{d}	55.18±1.18^{e}
Extract 1000 ppm	84.88±0.83^{b}	81.78±1.95^{c}
Encap. Extract 500 ppm	69.51±0.30^{c}	70.93±1.31^{d}
Encap. Extract 1000 ppm	91.25±1.15^{a}	92.24±1.09^{a}
BHA	90.04±0.44^{a}	89.01±0.39^{b}

Encap. Extract: Encapsulated Extract, BHA: Butylated hydroxyanisol

Different letters in columns indicate the statistically significant differences between treatments (p<0.05)

نتایج مربوط به تأثیر درون‌پوشانی بر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره اناریجه علیه باکتری‌های بیماری‌زا به‌ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ آمده است. با توجه به نتایج، بیشترین و کمترین مقادیر MIC و MBC به‌ترتیب علیه باکتری‌های گرم منفی *سالمونلا انتریکا* و گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد (P<۰/۰۵). داده‌ها نشان داد درون‌پوشانی به‌طور معنی‌داری فعالیت ضدمیکروبی عصاره اناریجه را بهبود بخشید (P<۰/۰۵).

بحث

در بررسی مقدار ترکیبات فنولی، Saremi و همکاران (۲۰۱۷) نیز مشابه با نتایج این آزمایش، مقدار ترکیبات فنولی در عصاره اناریجه مستخرج به روش اولتراسوند را ۱۸۳/۶۶ میلی‌گرم اسید گالیک / گرم ماده خشک گزارش نمودند. در عین حال Esmaeli و همکاران (۲۰۱۷) ترکیبات فنولی در اناریجه عصاره‌گیری شده به روش حلال را ۳۸/۶۷ میلی‌گرم اسید گالیک / گرم ماده خشک گزارش نمودند که حدود ۲۰ درصد مقدار این ترکیبات در تحقیق حاضر است. نتایج نشان داد استفاده از روش اولتراسوند با توجه به اثرات کاویتاسیون ناشی از امواج اولتراسوند می‌تواند بازده استخراج ترکیبات فنولی را افزایش دهد. همچنین تخریب مکانیکی دیواره سلولی منجر به نفوذ بیشتر حلال در بافت‌های گیاهی می‌شود که به خروج هر چه بیشتر ترکیبات فنولی عصاره از بافت‌های گیاه کمک می‌کند (Hussain *et al*., 2008). بسیاری از پژوهشگران بر این باورند که استخراج به روش اولتراسوند به‌دلیل تسریع در زمان عصاره‌گیری، بازده استخراج را افزایش می‌دهد و فعالیت ضداکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره‌های استخراج شده به روش حلال دارد (Khan *et al*., 2010).

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره اناریجه علیه باکتری‌های بیماری‌زا (میلی‌متر)

Table 2- Average diameter of zone of inhibition of bacterial (mm) against extract of *Froriepia subpinnata*

Treatments	G(+) bacteria		G(-) bacteria	
	Staphylococcus aureus	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Salmonella enterica*
Ext.500 ppm	16.92±0.32^{d}	14.10±0.10^{d}	11.83±0.20^{e}	11.88±0.34^{e}
Ext. 1000 ppm	20.69±0.79^{b}	19.06±0.78^{b}	18.08±0.45^{c}	16.32±0.30^{c}
Encap. Ext. 500 ppm	18.56±0.40^{c}	16.21±0.26^{c}	14.74±0.65^{d}	13.79±0.22^{d}
Encap. Ext. 1000 ppm	26.02±0.52^{a}	22.03±0.43^{a}	20.49±0.51^{a}	19.28±0.28^{a}
T.Cycline	18.11±0.19^{c}	17.27±0.34^{b}	19.45±0.96^{b}	18.13±0.48^{b}

Encap. Ext.: Encapsulated Extract, T.Cycline: Tetracycline
Different letters in columns indicate the statistically significant differences between treatments (p<0.05)

جدول ۳- میانگین مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) علیه باکتری‌های بیماری‌زا (ppm)

Table 3 – Means of MIC against pathogens (ppm)

Treatments	G(+) bacteria		G(-) bacteria	
	Staphylococcus aureus	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Salmonella enterica*
Ext. 1000 ppm	291.70^{a}	308.30^{a}	416.75^{a}	458.30^{a}
Encap. Ext. 1000 ppm	241.20^{b}	250.00^{b}	366.60^{b}	391.70^{b}

جدول ٤- میانگین مقادیر حداقل غلظت کشندگی (MBC) علیه باکتری‌های بیماری‌زا (ppm)

Table 4- Means of MBC against pathogens (ppm)

Treatments	G(+) bacteria		G(-) bacteria	
	Staphylococcus aureus	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Salmonella enterica*
Ext. 1000 ppm	508.30^{a}	508.30^{a}	608.30^{a}	625.00^{a}
Encap. Ext. 1000 ppm	416.70^{b}	425.00^{b}	525.00^{b}	558.30^{b}

Encap. Ext.: Encapsulated Extract
Different letters in columns indicate the statistically significant differences between treatments (p<0.05)

در بررسی قطر ذرات عصاره درون‌پوشانی شده، Miri و همکاران (۱۳۹۵) متوسط اندازه قطرات امولسیون نانواسانس آویشن را که با غلظت‌های مختلف مالتودکسترین- کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر نانودرون‌پوشانی شده بود را بین ۱۲۸/۵۶ تا ۳۲۳/۶۳ نانومتر گزارش کردند. راندمان درون‌پوشانی عصاره انار نیز با استفاده از مالتو دکسترین و ایزوله پروتئینی سویا به ترتیب ۵۲/۹ و ۸۲/۸ درصد گزارش شد (Robert *et al*., 2015).

مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از شناخته شده‌ترین سازو کارهایی است که به واسطه آن ترکیبات ضداکسیدانی می‌توانند اکسایش چربی‌ها را مهار نمایند. در این روش، نتایج بر حسب درصد کاهش در میزان جذب محلول‌های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره بیان می‌گردد (Leong and Shui, 2002). مشابه با نتایج حاصل از این آزمایش، رابطه مستقیم بین غلظت عصاره و مهار رادیکال آزاد DPPH و خاصیت ضداکسیدانی عصاره اناریجه در تحقیقات دیگری نیز گزارش شد (Tharun and Kumar., 2013; Saremi *et al*., 2017, Esmaeili *et al*., 2017; Salmanian *et al*., 2018). همچنین با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن می‌توان به قدرت خاصیت ضداکسیدانی عصاره‌ها پی برد. به این صورت که مواد ناشی از اکسیداسیون اسید لینولنیک با بتاکاروتن بر هم کنش داده سبب تجزیه هیدرو پراکسیدهای تولیدی و سبب کاهش رنگ شده در نتیجه میزان جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر کاهش می‌یابد (Mohdaly و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره اناریجه می‌تواند اکسیداسیون بتاکاروتن را کاهش و رادیکال‌های آزاد را مهار نماید. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره پتانسیل بالایی به‌عنوان ضداکسیدان در سیستم‌های امولسیونی دارد و با افزایش غلظت عصاره این خاصیت افزایش یافت.

بطور کلی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ها و اسانس‌ها بر میکروارگانیسم‌های مختلف به غلظت آنها، ترکیب ماده غذایی و دمای نگهداری ماده غذایی بستگی دارد؛ بطوری که با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضدمیکروبی آن نیز افزایش می‌یابد (Burt, 2004). فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها به ترکیبات فرار موجود در آنها نسبت داده می‌شود. عصاره اناریجه دارای مقادیر بالایی از لیمونن، پری‌گایجرن، جرماکرن و ترانس بتا سیمن می‌باشد (Verdian-rizi, 2008). لیمونن یک کتون است و جزء مونوترپن‌هاست. ترپن‌ها قادرند که به غشاء سلولی صدمه بزنند و در ساختار لیپید دیواره سلولی باکتری‌ها نفوذ کنند که موجب دناتوره‌شدن پروتیین‌ها و از هم‌پاشیدن ساختار سلولی و تراوش سیتوپلاسم در نهایت مرگ سلول می‌شود (Oussalah, 2006). Askari و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند در اسانس‌های دو گونه مختلف اناریجه مربوط به مشهد و رامهرمز که بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد مهمترین ترکیب لیمونن بود و مشخص شد که باکتری‌های گرم مثبت به اثرات ضدمیکروبی اسانس اناریجه حساس‌تر بودند. همچنین فعالیت ضدمیکروبی نانوعصاره به‌طور معنی‌داری بالاتر از عصاره بود. برای ایجاد خاصیت ضدباکتریایی مؤثر باید پیوندهای فیزیکی مؤثری بین سلول‌های باکتریایی و عصاره به منظور برقراری اتصالات یونی برقرار گردد. مطالعات قبلی نشان دادکه نانو ذرات فعالیت ضدباکتریایی بالاتری در برابر باکتری‌های گرم منفی یا گرم مثبت در مقایسه با شکل آزاد عصاره دارند. علت این امر می‌تواند اثر مهاری بهتر نانوذرات با توجه به سطح بزرگتر نانوذرات برای واکنش با دیواره سلولی باکتری توضیح داده شود (Gortzi *et al*., 2006; Bagheri *et al*., 2016; Alipour *et al*., 201).

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) از معیارهایی هستند که جهت اندازه‌گیری فعالیت ضدباکتریایی مورد استفاده قرار میگیرند (Sacchetti, 2005). در تحقیقات متعددی گزارش شده است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات ضدباکتریایی حساس‌ترند و این حساسیت بالا نسبت به باکتری‌های گرم مثبت ناشی از عدم وجود دیواره سلولی لیپویلی‌ساکاریدی می‌باشد که در باکتری‌های گرم منفی ممکن است از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری به عمل آورد (Bozin *et al*., 2007). مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر مواد ضدباکتریایی با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری‌ها که غنی از مولکول‌های لیپوپلی‌ساکارید است و سدی در برابر نفود مولکول‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف محسوب می‌شود و نیز با آنزیم‌های فضای پری‌پلاسمی که قادر به شکستن مولکول‌های وارد شده از خارج هستند نیز در

ارتباط می باشد. باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی در ساختار دیواره سلولی ندارند. برخی از آنتی بیوتیک‌ها می‌توانند به آسانی دیواره سلول باکتریایی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب نموده و منجر به خروج سیتوپلاسم آن گردند (Ojagh *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصله بیانگر فعالیت‌های ضداکسیدانی و ضدمیکروبی بالای عصاره گیاه اناریجه به‌عنوان منبع در دسترس و بالقوه از ضداکسیدان‌ها و ضدمیکروب‌های طبیعی می‌باشد. ضمن اینکه مشخص شد استفاده از فرآیند درون‌پوشانی با مالتودکسترین – عصاره آب‌پنیر با محافظت از عصاره، منجر به افزایش توان ضداکسایشی و ضدمیکروبی آن می‌شود. همچنین نتایج نشان داد فعالیت ضداکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره وابسته به غلظت بوده و با آن رابطه مستقیم داشت. به‌طور کلی نتایج نشان داد؛ بکارگیری غلظت ppm ۱۰۰۰ عصاره اناریجه درون‌پوشانی شده با مالتودکسترین – عصاره آب‌پنیر با دارابودن خواص ضداکسیدانی و ضدباکتریایی مطلوب می‌تواند به‌طور مؤثری در صنایع غذایی به عنوان یک نگهدارنده و ضدباکتری طبیعی جایگزین انواع سنتزی و شیمیایی آن شود.

منابع

Alipour Mazandrani, H., Javadian, S.Y. & Bahram, S. (2015). The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. Food science and nutrition, 4(2), 298–304. https://doi.org/10.1002/fsn3.290.

Askari, F., Sefidkon, F., Teimouri, M. & Youser Nanaei, S. (2009). Chemical composion and antimicrobial activity of the essential oil of pimpinella puberula (dc). boiss. Agriculture science Technology, 11, 431-438. [In Persian]

Bagheri. R., Izadi Amoli. R., Tabari Shahndash. N.& Shahosseini. S. R. (2016). Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. *Food science and nutrition*, 4(2), 216–222. [In Persian]

Bahrami Feridoni, S.& Khademi Shurmasti, D. (2020). Effect of the nanoencapsulated sour tea (Hibiscus sabdariffa L.) extract with carboxymethyl cellulose on quality and shelf life of chicken nugget. Food science and nutrition, 8, 3704–3715. doi.org/10.1002/fsn3.1656.

Bahrami, A., Jamzad, M. & Sedaghat, S. (2021). Phytochemicals and Biological Activities of Froriepia subpinnata (Ledeb) Baill. Extracts. Journal of Medicinal plants and By-product, 10(1), 109-115. http://doi.org/10.22092/jmpb.2020.352614.1295.

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y. & Nasri, M. (2009). Antioxidant & free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry, 114, 1198-1205. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.075.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I. & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. J. Agric. Food Chemistry 55, 7879 – 7885. https://doi.org/10.1021/jf0715323.

Burt, S.A. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223–253. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.

Esmaeli, F., Tajik, H., Mehdizadeh, T. & Mayeli, M. (2017). Determination and Comparison of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Pimpinella Affinis Hydroethanolic Extract and Essential Oil. The Journal of Urmia University of Medical Sciences, 28(5), 311-320. [In Persian]

FaikAhmet, A., Sema, H.A., Sengul, A.K., Jiri, G., Katerina. V. & Ulrichova, J. (2008). Phenolic acid contents of kale (Brassica oleraceae L. var. acephala DC) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. Food Chemistry, 107, 19-25. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.003.

Farhadi, N., Meshkini, S.& Tooraj Mehdizadeh, T. (2022). Effect of Edible Chitosan Coating Containing Froriepia

subpinnata Extracton Shelf life of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) Fillet at Refrigerated. Research and Innovation in Food Science and Technology, 11(1), 95-108. [In Persian]

Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I. & Tsaknis, J. (2007). Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of Myrtus communis extract before and after encapsulation in liposomes. European Food Research and Technology, 36, 151-156.

Grisi, T. C. & Lira, K. G. (2005). Action of nisin and high ph on growth of Staphylococcus aureus and Salmonella sp. in pure culture and the meat of land crab (Ucides cordatus). Brazilian Journal of Microbiology, 36, 151-156. https://doi.org/10.1590/S1517-83822005000200010.

Hosseini, F., Motamedzadegan, A., Naghizadeh, Sh. & Rahaiee, S. (2022). Encapsulation of chia (Saliva hispanica L.) seeds extract with nano–liposomes and basil seed gum and investigation of physicochemical characteristics and its release in simulated gastrointestinal conditions. Iranian Journal of Food Science and Technology, 127 (19), 291-303. [In Persian]

Hosseinnia, M., Almasi, H. & Alizadeh Khaled, M. (2020). Evaluation of the properties of microcapsules containing Ziziphora clinopodiodes extract stabilized by gum Arabic, whey protein isolate, guar gum and their combination. Journal of Food Researches, 29 (4), 101-123. [In Persian]

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S.T.H. & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry, 108, 986-995. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010.

Joye, I. J, Davidov-Pardo G. & McClements D. J. (2015). Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 2: Stability and functionality. Food Hydrocolloids, 49, 127-134. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.038.

Khan, M. K., Abeit-Vian, M., Fabiano Tixier, A.S., Dangles, O. & Chemat, F. (2010). Ultrasonicassisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (Citrus sinensis L.) peel. Food Chemistry, 119, 851-858. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.046.

Labuschagne, P. (2018). Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. Food Research International, 107, 227–247. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.026.

Leong, L. P. & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chemistry, 76 (1): 69-75. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00251-5.

Mehrabanjoubani, P., Ghorbani Nohooji, M., Karimi, E. & Abdolzadeh, A. (20210. The differences between Froriepia subpinnata and Pimpinella anisum L. commonly named as anarijeh based on major components of the essential oil; a marker for resolve ambiguities. Journal of Medicinal Plants. 20(79), 59-71. doi: 10.52547/jmp.20.79.59

Mozaffarian, V. (2012). Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser Press, Tehran, Iran, 726-729. [In Persian]

Mohdaly, A. A. A., Smetanska. I., Ramadan, M. F., Sarhan, M. A. & Mahmoud, A. (2011). Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Ind. Crops Prod*. 34, 952–959. [In Persian]

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. & Hosseini, S. M. H. (2012). Investigation of antibacterial activity cinnamon bark essential oil (Cinnamomum zeylanicum) in vitro antibacterial activityagainst five food spoilage bacteria. Iranian Journal of Food Science and Technology, 9(35), 67-76. [In Persian]

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E coli 0157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control, 18, 414-420. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.009

Rahmati-Joneidabad, M. & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the antifungal effect of Froriepiasubpinnataessential oil on Aspergillus niger (black mold) and Botrytis cinereal (gray mold) grape poisoning agent: A study "in

Sharifi, A., Niakousari, M., Maskooki, A. & Mortazavi, S.A. (2015). Effect of spray drying conditions on the physicochemical properties of barberry (berberis vulgaris) extract powder. International Food Research Journal, 22(9), 2364-2370. [In Persian]

Shaygannia, S., Eshaghi, M. R., Fazel, M. & Hashemiravan, M. (2021). The Effect of Microencapsulation of Phenolic Compounds from Lemon Waste by Persian and Basil Seed Gums on the Chemical and Microbiological Properties of Mayonnaise. Preventive Nutrition and Food Science, 26(1), 82-91. http://doi.org/10.3746/pnf.2021.26.1.82.

Tharun, G. & Kumar-Pindi, P. (2013). Evaluation of antioxidant potential and antimicrobial activity of successive extracts of Pimpinella tirupatiensis. Journal of Pharmacological Research, 7, 817-822. https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.08.025.

Timilsena, Y., Haque, M. & Adhikari, B. (2020) Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. Food and Nutrition Sciences, 11(6), 481-508. doi: 10.4236/fns.2020.116035.

Touré, A., Bo Lu, H., Zhang, X. & Xueming, X. (2011). Microencapsulation of Ginger Oil in 18-DE Maltodextrin/Whey Protein Isolate. Herbs Spices Med Plants; 17(2), 183-195. https://doi.org/10.1080/10496475.2011.583137

Verdian-rizi, M. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of pimpinella affinis ledeb. Essential oil growing in Iran. Research Journal of Biological Sciences, 3(8), 913-915. https://doi.org/10.22377/ijgp.v2i3.17.

Williams, B., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm-Wiss u-Technol, 28, 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

vitro". Iranian Journal of Food Science and Technology, 17 (108) [In Persian].

Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. & Saenz, C. (2015). Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying. International Journal of Food Science and Technology, 45, 1386-1394. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02270.

Sacchetti, G. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, 91, 621-632. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.031.

Salmanian, Sh. Sadeghi Mahoonak, A. R. & Jamson, M. (2018). Determination of amounts, antioxidant properties and identification of main phenolic compound in Enarijeh(Froriepiasubpinnata)extract by RP-HPLC method. Iranian Journal of Food Science and Technology, 15 (81). [In Persian]

Saremi, E., Habibi Najafi, M. B., Haddad Khodaparast, M. H. & Bahraini, M. (2017). Effect of extraction methods on the antioxidant properties of Pimpinella affinis. Iranian Journal of Food Science and Technology, 14 (69). [In Persian]

Shahnazi S., Khalili Sigaroudi F., Ajni Y., Yazdani D., Ahvazi, M. & taghizad, F. (2007). Investigation of chemical composiotion and antimicrobial properties Thymus trautvetteri essential oil. Journal of Medicinal Plants, 23, 80 – 88.

Shahkol, F., Abbasi, H. & Norouzi Mobarakeh, M. (2022). Modeling the Encapsulation of Thymus Essential Oil (Thymusvulgaris) in Sodium Caseinate, Maltodextrin and Modified starchUsing Response Surface (RSM) and Artificial Neural Network (ANN). Iranian Journal of Food Science and Technology, 19 (125), 225-240. [In Persian]

Food Technology & Nutrition / Spring 2024 / Vol. 21 / No. 2

Investigating the Antioxidant and Antibacterial Properties of *Froriepia subpinnata* Extract Encapsulated with Maltodextrin-Whey Concentrate

R. Alipour[a], A. Alizadeh[b*], D. Khademi[c]

[a] MSc Student of the Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

[b] Assistant Professor of the Department of Chemistry, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

[c] Assistant Professor of the Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

Received: 17 December 2023 Accepted: 13 March 2024

Abstract

Introduction: In recent years, the use of encapsulation has been associated with promising results to preserve and increase the biological effects of the active compounds of plant extracts. The present study was conducted to address the antioxidant and antibacterial properties of the maltodextrin-whey concentrate based on encapsulation of *Froriepia subpinnata* hydroalcoholic extract.

Materials and Methods: *Froriepia subpinnata* was extracted by ultrasonic method. Its antioxidant and antibacterial activities were evaluated and compared at 500 and 1000 ppm concentrations.

Results: The particle size of the encapsulated extract and the encapsulation efficiency measured 169.89 nm and 65.25% respectively. The encapsulated extract had significantly higher activity of DPPH free radical inhibition (91.25%) and beta-carotene (92.24%) than other treatments at 1000 ppm ($P<0.05$). In addition, the inhibition zones of Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* (26.02 and 22.03 mm respectively) and Gram-negative bacteria, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* (20.49 and 19.38 mm respectively) in 1000 ppm encapsulated extract were more than others ($P<0.05$).

Conclusion: The results showed that the maltodextrin-whey concentrate, based on encapsulation significantly improved the antioxidant and antibacterial properties of *Froriepia subpinnata* extract. Therefore, it is possible to use 1000 ppm of encapsulated *Froriepia subpinnata* extract as a suitable alternative for synthetic antibiotics and antioxidants.

Keywords: *Antioxidant, Bactrial Inhibition Zone, Bioactive Compounds, Froriepia subpinnata, Encapsulation.*

* Corresponding Author: alizadeh3502@gmail.com

علوم غذایی و تغذیه / بهار ۱۴۰۳ / سال بیست و یکم / شماره ۲