ORIGINAL ARTICLE

Enhancing Antibacterial Properties: Thymus daenensis Oil in Nanostructured Delivery Systems Versus Traditional Form

Atrin Ashabani [1],
Mehdi Raissy [2],
Reza Sharafati Chaleshtori [3]

[1] DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[2] Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[3] Associate Professor, Biochemistry and Nutrition Research Center in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

(Received November 5, 2023; Accepted January 28, 2024)

Abstract

Background and purpose: Today, the use of medicinal plants such as *T. daenensis* as a complementary and effective treatment method to control and inhibit the growth of pathogenic microorganisms is increasing all over the world. This study aimed to investigate the antimicrobial effects of *T. daenensis* essential oil (EO) and its nanocapsulated against some pathogenic bacteria isolated from aquatic and food samples.

Materials and methods: In this experimental research, *T. daenensis* was collected in June 2023 in Shahrekord City. The EO of the dried aerial part of the plant was obtained by using a Clevenger device (steam distillation). The components in the EO were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-Mass). *T. daenensis* EO nanocapsules were prepared using Tween 20, Tween 80 as emulsifier, polyethylene glycol as a co-solvent, acidic chitosan solution (1%), and modified starch (5%) as a coating. Transmission electron microscope (TEM) and dynamic light scattering (DLS) were used to confirm their structure. Antimicrobial properties against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from aquatic samples (fish and lobster) and various foods (raw milk, traditional ice cream and mutton, beef, chicken) were investigated by disc diffusion method, determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal (MBC) by microdilution method. Also, the prevention of biofilm formation was investigated.

Results: The main components of the *T. daenensis* EO were thymol (75.31 percent), 8 p-Cymene (4.62 percent), carvacrol (4.2 percent), trans-cayophyllene (3.01 percent), terpenine (2.01 percent) and beta-myrcin (1.21 percent), respectively. TEM and DLS methods confirmed the structure of the *T. daenensis* EO nanocapsules. The size of nanocapsules was between 50 and 90 nm. The MIC amounts for the mentioned bacteria were between 62.5 and 250 µg/ml. The lowest MIC value for *P. mirabilis*, *S. aureus*, and *K. pneumoniae* was reported with a concentration of 62.5 µg/ml of *T. daenensis* EO nanocapsule. Also, the amounts of MBC for the mentioned bacteria were between 125 and 1000 µg/ml. According to the obtained results, the MIC and MBC levels for all mentioned bacteria against *T. daenensis* EO nanocapsule were lower than the EO alone ($P<0.05$). According to the results, with the increase in the concentration of EO, the diameter of the non-growth halo increased, while these results were not the same for *T. daenensis* EO nanocapsule. In all bacteria except *S. aureus*, the diameter of the non-growth halo for different concentrations of EO was greater than that of *T. daenensis* EO nanocapsule. The inhibition percentage of biofilm production was also reported 100% at 125 and 250 µg/ml of *T. daenensis* EO nanocapsule, except for *K. pneumonia*. In all concentrations of *T. daenensis* EO nanocapsule, the percentage of bacteria biofilm reduction was significantly higher than the EO alone ($P<0.05$).

Conclusion: Based on the findings of the study, the *T. daenensis* EO nanocapsule had more antibacterial properties than EO alone. It is suggested that future studies for the toxicology of *T. daenensis* EO nanocapsule on normal and cancerous cells be done iv-vitro. In addition, to apply it in the food industry, experimental studies on food models should also be conducted.

Keywords: nanocapsule, *Thymus daenensis*, pathogenic bacteria, antimicrobial, gas chromatography

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 33 (229): 14-26 (Persian).

Corresponding Author: Mehdi Raissy- Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran (E-mail: mreissy@yahoo.com) and **Reza Sharafati Chaleshtori -** Biochemistry and Nutrition Research Center in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran. (E-mail: sharafati.reza@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۲۹ بهمن سال ۱۴۰۲ (۲۶-۱۴)

افزایش ویژگی‌های ضد باکتریایی اسانس آویشن دنایی در سیستم‌های رهایش نانوساختار در مقایسه با شکل سنتی

آترین آشعبانی[۱]
مهدی رئیسی[۲]
رضا شرافتی چالشتری[۳]

چکیده

سابقه و هدف: امروزه، استفاده از گیاهان دارویی نظیر آویشن دنایی به عنوان یک روش درمانی مکمل و مؤثر جهت کنترل و مهار رشد انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در سراسر جهان در حال افزایش است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی علیه تعدادی از باکتری‌های بیماریزای جدا شده از نمونه‌های آبزیان و مواد غذایی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تجربی، آویشن دنایی در خرداد ماه ۱۴۰۲، در شهرستان شهرکرد جمع آوری شد. اسانس اندام هوایی خشک شده گیاه با استفاده از دستگاه کلونجر (به روش تقطیر با بخار آب) به‌دست آمد. اجزای موجود در اسانس به روش گاز کروماتوگرافی طیف سنج جرمی (GC-Mass) شناسایی شدند. نانوکپسول اسانس آویشن دنایی با استفاده از 20 Tween، 80 Tween به عنوان امولسیفایر، پلی‌اتیلن گلیکول به عنوان حلال کمکی، محلول کیتوزان اسیدی (۱ درصد) و نشاسته اصلاح شده (۵ درصد) به‌عنوان پوشش، تهیه شد. جهت تأیید ساختار نانوکپسول اسانس از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) و پراکندگی نور دینامیکی (DLS) استفاده شد. خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشرشیا کلای*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *پروتئوس میرابیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه‌های آبزیان (ماهی و لابستر) و انواع مواد غذایی (شیر خام، بستنی سنتی و گوشت گوسفند، گاو، مرغ) به روش‌های انتشار دیسک، تعیین حداقل غلظت مهاری(MIC) و کشندگی(MBC) به روش میکرودایلوشن و ممانعت از تشکیل بیوفیلم بررسی شد.

یافته‌ها: براساس آنالیز اجزای اسانس عمده ترکیبات اسانس آویشن دنایی به ترتیب مربوط به تیمول (۷۵/۳۱ درصد)، p-Cymene 8 (۴/۶۲ درصد)، کارواکرول (۴/۲ درصد)، trans-Cayophyllene (۳/۰۱ درصد)، ترپنین (۲/۰۱ درصد) و بتا میرسین (۱/۲۱ درصد) بود. با توجه به نتایج به دست آمده بر اساس روش TEM و DLS ساختار نانوکپسول اسانس آویشن دنایی مورد تایید قرار گرفت. اندازه نانوکپسول ها بین ۵۰ تا ۹۰ نانومتر بود. میزان MIC برای باکتری‌های مذکور بین ۶۲/۵ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. کم‌ترین میزان MIC برای *پروتئوس میرابیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیه* با غلظت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو کپسول اسانس آویشن دنایی گزارش شد. هم‌چنین میزان MBC برای باکتری‌های مذکور بین ۱۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. طبق نتایج به‌دست آمده میزان MIC و MBC برای همه باکتری‌های مذکور نسبت به نانوکپسول اسانس آویشن دنایی کم‌تر از اسانس تنها بود($P<۰/۰۵$). براساس نتایج با افزایش غلظت اسانس، قطر هاله عدم رشد، افزایش نشان داد در حالی که این نتایج برای نانوکپسول اسانس این طور نبود. در تمام باکتری‌ها به جز *استافیلوکوکوس اورئوس*، قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های مختلف اسانس بیش‌تر از نانوکپسول اسانس بود. درصد مهار تولید بیوفیلم نیز در غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو کپسول آویشن به جز *کلبسیلا پنومونیه* ۱۰۰ درصد گزارش شد. در تمامی غلظت‌های نانو کپسول آویشن دنایی، درصد کاهش بیوفیلم باکتری‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به اسانس تنها بیش‌تر بود ($P<۰/۰۵$).

استنتاج: طبق نتایج به‌دست آمده ساختار نانوکپسول اسانس آویشن دنایی نسبت به اسانس آن، دارای خواص ضد باکتریایی بیش‌تری بود. پیشنهاد می‌شود که مطالعه‌های آینده جهت سم‌شناسی نانوکپسول تهیه شده در سطح سلول‌های سالم و سرطانی در شرایط آزمایشگاهی صورت گیرد. به علاوه جهت کاربردی نمودن آن در صنعت غذا، مطالعه‌های تجربی در مدل‌های غذایی نیز انجام گیرد.

واژه های کلیدی: نانوکپسول، آویشن دنایی، باکتری بیماری زا، ضد میکروبی، گاز کروماتوگرافی

مولف مسئول: مهدی رئیسی– شهرکرد: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد E-mail: mreissy@yahoo.com
و رضا شرافتی چالشتری–کاشان: دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک E-mail:sharafati.reza@gmail.com
۱. دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲. استاد، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳. دانشیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۸/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۸/۲۸ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۱۱/۸

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

مقدمه

تهیه برخی از مواد موثره فعال که در صنایع دارویی اهمیت بسیاری دارند، به‌طور مصنوعی امکان‌پذیر نیست و تنها به‌صورت طبیعی از گیاهان موردنظر قابل استخراج‌اند. مواد دارویی مصنوعی (شیمیایی) البته به‌طور سریع اثر می‌بخشند و دارای یک تأثیر مشخص نیز می‌باشد ولی اکثر آن‌ها عوارض جانبی نامطلوبی روی بدن انسان برجا می‌گذارند. در حالی که مواد دارویی حاصل از گیاهان با آن‌که به تدریج تأثیر می‌بخشند ولی اثرات مفید جانبی داشته و فواید زیادی از نظر دوام سلامت بدن دارند. امروزه استفاده از مواد موثره گیاهان در صنایع غذایی، داروسازی و پژوهش‌های علمی مختلف، رشد روزافزون دارد(۳-۱). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بخش مهمی از ساختار دفاعی سلول جهت مقابله با آثار زیان‌بار رادیکال‌های آزاد بر روی ماکرومولکول‌های سلولی نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA را تشکیل می‌دهند. چون رادیکال‌های آزاد و سایر فرم‌های فعال اکسیژن تحت تأثیر مواد محرک شیمیایی خارجی و یا فرآیندهای متابولیکی درونی بدن انسان تولید می‌شوند، لذا استفاده از مواد غذایی حاوی ترکیبات آنتی اکسیدان و نیز مکمل‌های آنتی‌اکسیداتیو در کاهش صدمات اکسیداتیو بر روی بدن انسان مؤثر خواهد بود(۳).

خانواده نعناعیان (Lamiaceae) یکی از بزرگ ترین خانواده‌های گیاهی، تیره مهمی از گیاهان گروه نهان دانگان (بزرگ‌ترین گروه گیاهان آوندی) از رده دو لپه‌ای‌ها و از زیر رده پیوسته گلبرگ‌ها، که دارای پراکنش جهانی می‌باشد. جنس آویشن دارای ۲۱۵ گونه و از مهم‌ترین جنس‌ها در این خانواده است(۵،۴). آویشن دنایی با نام علمی *Thymus daenensi*، گیاهی است علفی و چندساله، ساقه های متعدد و پر پشت که برگ‌های متقابل، کوچک، بیضوی یا تخم مرغی شکل دارد، گل‌هایی به رنگ سفید مایل به ارغوانی یا بنفش و مجتمع در کنار برگ‌ها دارد. این گیاه در مناطقی از استان‌های کهگیلویه و بویراحمد (کوه دنا)، فارس، چهارمحال و بختیاری، همدان، ایلام، مرکزی، در استان کردستان در شهرستان‌های بیجار، کامیاران و دیواندره در شیب‌های شمال و شمال غربی رویش دارد. مواد مؤثره آویشن از سرشاخه‌های گل دار و برگ‌های خشک شده گیاه به دست می‌آید، که در صنایع مختلف مانند داروسازی و صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۷،۶). از این گیاه به صورت سنتی با هدف های درمانی مانند ضد نفخ، کمک به هضم غذا، ضد اسپاسم، درمان سرماخوردگی استفاده می‌کنند. اثر ضد قارچی، ضد انگلی و ضد باکتریایی این گیاه به اثبات رسیده است(۹،۸). در یک مطالعه کارآزمایی بالینی اثر شربت آویشن دنایی همراه با عناب سبب کاهش فشار خون شد(۱۰). به‌علاوه استفاده از ژل حاوی ۵ درصد آویشن دنایی سبب بهبود علائم بیماران با استئوآرتریت زانو شده بود(۱۱). مطالعات قبلی حاکی از وجود انواع ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها در اسانس آویشن دنایی است که با توجه به مناطق مختلف تفاوت‌هایی را نشان داده‌اند. بیش‌ترین ترکیبات شناسایی شده شامل تیمول، پارا-سیمن، ژرانیول، متیل کارواکرول و غیره بوده‌اند(۱۳،۱۲).

نانوکپسول‌ها، ساختارهایی با اندازه‌هایی بین ۱۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر می‌باشند که دارای یک پوسته، دیواره و یک فضای خالی داخل آن جهت قرار گرفتن و حمل مواد مورد نظر می‌باشند. به مواد مورد نظر که درون این فضا ذخیره می‌شوند نیز هسته، فاز درونی، محموله یا ماده پوشاننده می‌گویند. نانوکپسول‌ها با الهام از فسفولیپیدها ساخته شده اند. فسفولیپیدها با یک سر آبدوست و یک سر آب گریز وقتی در یک محیط آبی قرار می‌گیرند، تشکیل کپسول هایی را می‌دهند که سر آبدوست آن در بیرون و سر آبگریز مولکول در درون آن قرار می‌گیرند. نانو کپسول‌ها با توجه به محموله خاصی که در داخل آن‌ها قرار می گیرد سنتز می‌شوند. بنابراین خواص آن‌ها نیز در واقع با نحوه سنتز، ماهیت، کاربرد و محموله آن تعیین می‌شود ولی دارای خواص عمومی مشترکی نیز هستند. امروزه تاثیر نانوکپسول‌ها در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

علوم پزشکی و دامپزشکی مورد توجه محققین قرار گرفته است(۱۵،۱۴). در مطالعه مروری تیاگ و همکاران (۲۰۲۰)، استفاده از ساختارهای نانویی به جهت بهبود زیست دسترسی انواع مواد موثره اسانس‌ها، عصاره‌ها و داروها را گزارش دادند. این نوع ساختارها سبب افزایش رهایش ترکیبات نامحلول در آب، کاهش اثرات جانبی داروها و کاهش تخریب ترکیبات موثره در سطح خارج سلولی و داخل سلولی می‌شوند(۱۶). در بررسی رضایی و همکاران(۲۰۲۱)، با ادغام اسانس آویشن در نانو اسفنج‌های بتا سیکلودکسترین، پایداری حرارتی اسانس آویشن را به طور قابل توجهی افزایش دادند و باعث افزایش فعالیت ضد باکتریایی آن شدند(۱۷).

در مطالعه دیگری بررسی اثر نانوکپسول زئین حاوی اسانس آویشن دنایی جهت افزایش زمان ماندگاری نان مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن شکل نانوکپسول اسانس بیش‌ترین اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت را نسبت به گرم منفی داشت و هم‌چنین از تکثیر کپک و مخمر در نان جلوگیری نمود(۱۸). بنابراین با توجه به این‌که اسانس‌ها می‌توانند دچار اکسایش شوند و در محیط‌های آبی غیر محلول هستند. جهت افزایش پایداری، پوشاندن بوی تند آن‌ها، کاهش فراریت و اکسایش و هم‌چنین تبدیل از شکل مایع به پودرآن‌ها را به‌شکل میکروکپسوله تبدیل می‌کنند(۱۸،۱۵). نشاسته و کیتوزان پلی ساکاریدهای با خواص غیر سمی، با قابلیت زیست تخریب‌پذیری و مناسب برای ایجاد ساختار فیلم هستند. به همین دلیل در سال‌های اخیر از این ترکیبات برای تهیه بیوکامپوزیت‌های سبز استفاده می‌شود(۱۹).

افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها علیه عفونت‌های باکتریایی، احتمال افزایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی و هم‌چنین دیدگاه مصرف‌کنندگان در استفاده از ترکیبات طبیعی، سبب شده مطالعات وسیعی برای تولید داروهای ضد میکروبی جدید با اثر بخشی بیش‌تر صورت گیرد. به‌علاوه با توجه به اثرات سوء نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی فرآوری شده، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی بی‌خطر از جمله اسانس‌ها و ساختارهای نوین نانویی غیر سمی امری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات موجود در اسانس آویشن دنایی، آثار ضد میکروبی اسانس و شکل نانوکپسوله شده آن علیه *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیاکلای*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه* بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس و شناسایی اجزا

در این مطالعه تجربی، آویشن دنایی در خرداد ماه ۱۴۰۲در شهرستان شهرکرد جمع‌آوری و به محل آزمایشگاه تغذیه و محصولات اورگانیک دانشگاه آزاد شهرکرد منتقل شدند. گیاهان جمع‌آوری شده توسط مرکز تحقیقات فرآوری گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تایید شدند. جهت اسانس گیری به روش تقطیر با دستگاه کلونجر، ۱۵۰ گرم پودر خشک (اندام هوایی) از اندام به دستگاه منتقل و به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد. جهت شناسایی ترکیبات موجود در اسانس از دستگاه گاز کروماتوگرافی Agilent 6890 مجهز به طیف نگار جرمی با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 استفاده شد. برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نمونه توسط هگزان-N رقیق شده و به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC/MS تزریق شد، برنامه دمایی ستون به این صورت تنظیم گردید، دمای ابتدای آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، شیب حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی گراد بود. محدوده اسکن مس‌ها از ۴۰ تا ۵۰۰ تنظیم گردید. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن‌ها با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت(۱۵).

تهیه نانو کپسول اسانس

جهت تهیه نانوکپسول اسانس آویشن دنایی، ۸۰۰ میکرولیتر Tween 20 با ۸۰۰ میکرولیتر Tween 80 به عنوان امولسیفایر و ۴۰۰ میکرولیتر پلی‌اتیلن گلیکول به عنوان حلال کمکی مخلوط شدند(۱۹). سپس برای دستیابی به نانوامولسیون پایدار، نسبت امولسیفایر به اسانس از ۰/۱ به ۲ تغییر کرد تا نهایتا، پایدارترین امولسیون با نسبت ۰/۶، در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به دست آمد. سنتز تمامی نانوامولسیون‌ها با استفاده از یک مولد امواج اولتراسونیک به مدت ۳۰ دقیقه (اولتراسونیک مدل UP400S شرکت هشلر آلمان با توان ۴۰۰ وات و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز) انجام شد. پس از آن ۱ گرم کیتوزان توسط اسید استیک به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به آن ۲۰ میلی‌لیتر نشاسته اصلاح شده (۵ درصد) اضافه گردید. سپس نانو امولسیون آماده شده قبلی قطره قطره به این محلول اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه توسط مولد امواج اولتراسونیک در دمای اتاق قرار داده شد تا نانوکپسول‌ها تشکیل شوند. به منظور تأیید ساختار ذرات نانوکپسول از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (ZEIS 912 AB-100 KV) و پراکندگی نور دینامیکی (DLS) (Zetasizer Nano ZS, model ZEN3500) استفاده شد(۱۸).

تعیین اثر ضد میکروبی

جهت تعیین فعالیت ضدمیکروبی اسانس و نانوکپسول آویشن دنایی از روش‌های دیسک دیفیوژن و میکرودایلوشن استفاده شد(۲۰،۱۷). باکتری‌های گرم مثبت شامل، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* و باکتری‌های گرم منفی شامل، *اشرشیا کلای*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه* جدا شده از نمونه‌های آبزیان (ماهی و لابستر) و انواع مواد غذایی (شیر خام، بستنی سنتی و گوشت گوسفند، گاو، مرغ) موجود در بانک میکروبی آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد تهیه شدند، می‌باشد. سپس هر باکتری جهت تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلند به محیط کشت نوترینت براث منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سوسپانسیون باکتری‌های تهیه شده با غلظت نیم مک فارلند ($۱/۵\times ۱۰^{۸}$CFU/mL) در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (جذب نوری بین ۰/۰۸-۰/۱۳)، با روش شمارش باکتری‌ها در محیط کشت نیز تأیید شدند. به منظور بررسی اثر ضد میکروبی با روش انتشار دیسک، ابتدا نانوکپسول آویشن دنایی و اسانس آن در دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) با غلظت ۵ درصد با غلظت‌های ۶۲/۱۵ تا ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه و سپس در زیر هود لامینار، ۲۰ میکرولیتر از هر غلظت به دیسک‌های بلانک اضافه گردید. از سوسپانسیون نیم مک فارلند باکتری نیز یک سوآپ برداشته و در محیط کشت مولر هیتون آگار (مرک، آلمان) به‌صورت چمنی کشت داده شد و سپس دیسک‌ها بر روی محیط کشت قرار گرفتند. محیط کشت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری و سپس قطر هاله عدم رشد باکتری برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. در روش میکرودایلوشن نیز، در هر چاهک پلیت الایزا ابتدا ۹۵ میکرولیتر محیط مولر هینتون براث (مرک، آلمان) و سپس ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم مک فارلند اضافه شد. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۳۱/۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

نانوکپسول اسانس آویشن دنایی و اسانس به هر چاهک اضافه گردید. چاهک‌های حاوی محیط مولر هینتون براث و سوسپانسیون باکتریایی به عنوان کنترل مثبت و محیط مولر هینتون براث بدون حضور باکتری به عنوان کنترل منفی بودند. سپس میکروپلیت به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه نگهداری شد. آخرین رقت چاهکی که در آن کدورتی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهاری (MIC) در نظر گرفته شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از غلظت MIC و رقت‌های بعدی در محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. غلظتی که در آن هیچ‌گونه رشدی از باکتری مشاهده نشد به‌عنوان MBC انتخاب گردید.

بررسی تشکیل بیوفیلم

برای بررسی میزان تشکیل بیوفیلم، در هر چاهک پلیت الایزا ۱۷۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون براث و سپس از سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند باکتری ۲۰ میکرولیتر به آن‌ها اضافه شد(۱۸). در ادامه ۱۰ میکرولیتر از غلظت‌های نیم برابر MIC، MIC و ۲ برابر MIC نانوکپسول اسانس و اسانس آویشن دنایی به چاهک‌ها اضافه گردید. چاهک حاوی ۲۰۰ میکرولیتر از محیط کشت بدون باکتری و با حضور باکتری به ترتیب به‌عنوان کنترل منفی و مثبت در نظر گرفته شد. میکروپلیت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از ۲۴ ساعت محلول رویی دور ریخته شد و در ادامه هر چاهک ۳ بار با ۳۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات سالین(PBS) شستشو داده شد. باکتری‌های چسبیده شده با ۲۵۰ میکرولیتر از اتانول ۹۶ درصد به مدت ۱۵ دقیقه فیکس شدند. هر چاهک ۵ دقیقه با ۲۰۰ میکرولیتر از کریستال ویوله ۰/۲ درصد رنگ شد و در نهایت پلیت مورد نظر شسته و خشک گردید. پس از آن ۲۰۰ میکرولیتر از گلاسیال استیک اسید ۳۳ درصد به هر چاهک اضافه و جذب نوری آن‌ها در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد.

$$\text{درصد کاهش بیوفیلم} = [\frac{(c-b)-(t-b)}{(c-b)}] \times 100$$

b: جذب نوری برای کنترل مثبت،

c: جذب نوری برای کنترل منفی،

t: جذب نوری برای نمونه های تیمار شده

روش آنالیز آماری

نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴ جهت محاسبه میانگین و انحراف‌معیار نتایج به‌دست آمده حاصل از ۳ تکرار آزمون‌های میکروبی استفاده شد. مقایسه میانگین‌های بین تیمارها با روش آماری ANOVA و آزمون دانکن در $P<۰/۰۵$ انجام شد.

یافته‌ها

نتایج به‌دست آمده در جدول شماره ۱ بیانگر آن است که آویشن دنایی دارای انواع ترکیبات و اجزاء موثره است. به ترتیب بیش‌ترین میزان مربوط به تیمول (۷۵/۳۱ درصد)، p-Cymene 8 (۴/۶۲ درصد)، کارواکرول (۴/۱۲ درصد)، trans-Cayophyllene (۳/۰۱ درصد)، ترپنین (۲/۰۱ درصد) و بتا میرسین (۱/۲۱ درصد) بود.

نتایج این تحقیق، توزیع مناسب و یکنواخت از پراکندگی قطرات اسانس در پوشش کیتوزان و نشاسته را نشان می‌دهد. همان‌طورکه در تصویر شماره ۱-الف مشاهده می‌شود ساختار کروی و به صورت پخش در کل سوسپانسیون قابل مشاهده می‌باشد. در شکل شماره ۱-ب بر اساس روش DLS نیز اندازه نانوکپسول ها بین ۵۰ تا ۹۰ نانومتر است.

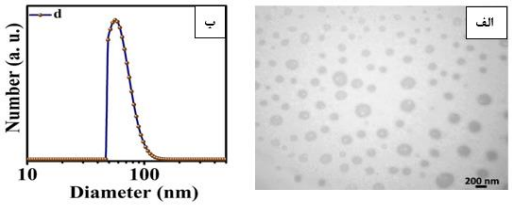
میزان MIC برای باکتری‌های مذکور بین ۶۲/۵ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. کم‌ترین میزان MIC برای *پروتئوس میرابیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیه* با غلظت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو کپسول اسانس آویشن دنایی گزارش شد. هم‌چنین میزان MBC برای باکتری‌های مذکور بین ۱۲۵ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. کم‌ترین میزان MBC برای

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

لیستریا مونوسیتوژنز، *اشرشیا کلای*، *باسیلوس سرئوس* و *سالمونلا تایفی موریوم* با غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو کپسول آویشن گزارش گردید (جدول شماره۲). طبق نتایج به‌دست آمده میزان MIC و MBC برای همه باکتری‌های مذکور نسبت به نانوکپسول اسانس آویشن دنایی کم‌تر از اسانس تنها بود (P<۰/۰۵).

براساس نتایج با افزایش غلظت اسانس، قطر هاله عدم رشد، افزایش نشان داد در حالی که این نتایج برای نانوکپسول اسانس این طور نبود. در تمام باکتری‌ها به جز *استافیلوکوکوس اورئوس*، قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های مختلف اسانس بیش‌تر از نانوکپسول اسانس بود(P<۰/۰۵). دلیل این امر می‌تواند رهایش طولانی مدت مواد محصور شده به واسطه ساختار نانوکپسول باشد. طبق نتایج، *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمامی غلظت‌های اسانس و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی، هاله عدم رشدی نشان نداد. حساس‌ترین باکتری، *اشرشیاکلای* با بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد (۲±۴۰ میلی‌متر) نسبت به اسانس با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود(P<۰/۰۵). مقاوم‌ترین باکتری‌ها در برابر نانوکپسول آویشن دنایی، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند(جدول شماره۳). *پروتئوس میرابیلیس* به‌طور معنا داری نسبت به سایر باکتری‌ها در غلظت‌های ۶۲/۵ و ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نانوکپسول اسانس آویشن دنایی هاله عدم رشد نشان داد (P<۰/۰۵).

مقاوم‌ترین باکتری برای مهار تولید بیوفیلم به اسانس و نانو کپسول آویشن دنایی باکتری *کلبسیلا پنومونیه* بود(P<۰/۰۵). درصد مهار تولید بیوفیلم برای تمام باکتری‌ها به جز *کلبسیلا پنومونیه* در غلظت‌های ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نانو کپسول آویشن دنایی، ۱۰۰ درصد گزارش شد(جدول شماره ۴). در تمامی غلظت‌های نانو کپسول آویشن دنایی، درصد کاهش بیوفیلم باکتری‌ها به‌طور معناداری نسبت به اسانس تنها بیش‌تر بود (P<۰/۰۵).



تصویر شماره ۱: ساختار نانوکپسول اسانس آویشن دنایی در کپسول کیتوزان و نانونشاسته. الف) روش TEM (شکل کروی ذرات) و ب) DLS (اندازه ذرات)

جدول شماره ۱: اجزاء اسانس گیاه آویشن دنایی، شناسایی شده به روش GC/MS

ردیف	ترکیبات	شاخص بازدارندگی (RI)	درصد
۱	α-Thujene	۹۲۶	۰/۰۸
۲	α-Pinene	۹۳۴	۰/۵۴
۳	Camphene	۹۴۹	۰/۱۵
۴	β-Pinene	۹۷۸	۰/۰۸
۵	β-Myrcene	۹۹۰	۱/۲۱
۶	α-Phellandrene	۱۰۰۶	۰/۱۷
۷	α-Terpinene	۱۰۱۷	۰/۹۱
۸	8 p-Cymene	۱۰۲۶	۴/۶۲
۹	D-Limonene 1029	۱۰۲۹	۰/۱۱
۱۰	1,8-Cineole	۱۰۳۲	۱/۱۰
۱۱	γ-Terpinene	۱۰۵۹	۲/۰۱
۱۲	cis-Sabinene hydrate	۱۰۶۸	۰/۱۳
۱۳	α-Terpinolene	۱۰۹۰	۰/۱۲
۱۴	Linalool	۱۱۰۱	۰/۴۲
۱۵	Borneo	۱۱۷۱	۰/۰۲
۱۶	4-Terpineol	۱۱۸۲	۰/۶۸
۱۷	α-Terpineol	۱۲۰۳	۰/۰۲
۱۸	Carvacrol methyl ether	۱۲۴۹	۴/۱۲
۱۹	Thymol	۱۳۰۹	۷۵/۳۱
۲۰	Carvacrol	۱۳۱۲	۰/۹۴
۲۱	trans-Caryophyllene	۱۴۲۷	۳/۰۱
۲۲	Aromandendrene	۱۴۴۴	۰/۸۸
۲۳	α-Humulene	۱۴۵۸	۰/۱۰
۲۴	Ledene	۱۴۹۸	۰/۷
۲۵	β-Bisabolene	۱۵۰۹	۰/۱۲
۲۶	(E)-α-Bisabolene	۱۵۴۴	۰/۵۱
۲۷	Spathuleno	۱۵۸۴	۰/۰۲
۲۸	Caryophyllene oxide	۱۵۹۰	۰/۹۴
۲۹	α-Cadinol	۱۶۶۱	۰/۴
۳۰	Bis(2-ethylhexyl) phthalat	۱۶۹۶	۰/۴۵
	Total		۹۹/۸۷

جدول شماره ۲: میزان MIC و MBC برحسب میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی

باکتری	MIC (µg/mL)		MBC (µg/mL)	
	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول
لیستریا مونوسیتوژنز	۲۵۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}	۵۰۰ ^{B}	۲۵۰ ^{A}
اشرشیا کلای	۲۵۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}	۵۰۰ ^{B}	۲۵۰ ^{A}
باسیلوس سرئوس	۲۵۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}	۱۰۰۰ ^{B}	۲۵۰ ^{A}
سالمونلا تایفی موریوم	۲۵۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}	۵۰۰ ^{B}	۲۵۰ ^{A}
پروتئوس میرابیلیس	۱۲۵ ^{B}	۶۲/۵ ^{A}	۲۵۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲۵ ^{B}	۶۲/۵ ^{A}	۵۰۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}
کلبسیلا پنومونیه	۱۲۵ ^{B}	۶۲/۵ ^{A}	۵۰۰ ^{B}	۱۲۵ ^{A}

حروف نامتشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ برای هر باکتری نسبت به اسانس و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی در آزمون MIC و MBC می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

جدول شماره ۳: قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) باکتری‌های گرم مثبت و منفی نسبت به غلظت‌های مختلف (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اسانس و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی

باکتری ها	تیمارها									
	۱۵/۶۲(mg/mL)		۳۱/۲۵(mg/mL)		۶۲/۵(mg/mL)		۱۲۵(mg/mL)		۲۵۰ (mg/mL)	
	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول
باسیلوس سرئوس	^{Aa}۱۵±۲	R	^{Aa}۱۷±۲	R	^{Ab}۲۶±۲	R	^{Ac}۳۰±۲	R	^{Ad}۳۵±۲	^{Af}۱۱±۱
لیستریا مونوسیتوژنز	^{Ba}۱۲±۱	R	^{Ab}۱۹±۲	R	^{Bb}۱۷±۱	R	^{Ac}۳۰±۱	R	^{Ac}۳۲±۳	R
اشرشیا کلای	^{Ba}۱۲±۲	R	^{Bb}۱۵±۱	R	^{Cc}۲۲±۲	R	^{Bd}۳۵±۱	R	^{Bf}۴۰±۲	^{Aa}۱۰±۱
سالمونلا تایفی موریوم	^{Aa}۱۶±۱	R	^{Cb}۲۴±۲	R	^{Ab}۲۵±۱	R	^{Cb}۲۷±۲	R	^{Ac}۳۱±۲	R
کلبسیلا پنومونیه	^{Ba}۱۱±۲	R	^{Ba}۱۴±۲	R	^{Cb}۲۰±۲	R	^{Cc}۲۷±۲	R	^{Ac}۳۰±۲	^{Aa}۱۰±۱
پروتئوس میرابیلیس	^{Ca}۱۸±۲	R	^{Aa}۲۲±۲	R	^{Ab}۲۶±۱	R	^{Ac}۲±۱۰	^{Ad}۲۹±۱	^{Af}۳۲±۱	^{Ba}۲±۱۵
استافیلوکوکوس اورئوس	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

حروف نامتشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار بین باکتری ها در سطح معناداری ۰/۰۵> می باشد.
حروف نامتشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنادار بین تیمار ها در سطح معنی داری ۰/۰۵> می باشد.

جدول شماره ۴: درصد کاهش بیوفیلم باکتری های گرم مثبت و منفی تحت تاثیر غلظت‌های نیم برابرMIC، MIC و۲ برابرMIC اسانس و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی

باکتری ها	تیمارها					
	۶۲/۵(mg/mL)		۱۲۵(mg/mL)		۲۵۰ (mg/mL)	
	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول	اسانس	نانوکپسول
لیستریا مونوسیتوژنز	^{A}۹۵±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Aa}۹۰±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Aa}۹۵±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰
اشرشیا کلای	^{Ba}۲۵±۵	^{Ba}۳۰/۱۶±۳	^{Ab}۸۶±۶	^{Ac}۱۰۰±۰/۰	^{Ab}۹۲±۶	^{Ac}۱۰۰±۰/۰
باسیلوس سرئوس	۰	۰	^{Aa}۸۵±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Aa}۹۱±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰
سالمونلا تایفی موریوم	^{Ca}۷۰±۵	^{Ca}۷۶±۳	^{Bb}۸۲±۳	^{Ac}۱۰۰±۰/۰	^{Bb}۸۷±۳	^{Ac}۱۰۰±۰/۰
پروتئوس میرابیلیس	^{Da}۸۳±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Aa}۸۴±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Ac}۹۴±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰
استافیلوکوکوس اورئوس	^{Da}۸۰±۵	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Aa}۸۰±۴	^{Ab}۱۰۰±۰/۰	^{Ac}۹۶±۴	^{Ab}۱۰۰±۰/۰
کلبسیلا پنومونیه	^{Ea}۱۴±۵	^{Da}۱۱/۱±۲	^{Ca}۱۵±۴	^{Ba}۱۲/۴±۴	^{Cb}۳۸±۴	^{Bb}۴۱±۳

حروف نامتشابه در هر ستون نشاندهنده اختلاف معنی‌دار بین باکتری ها در سطح معناداری ۰/۰۵> p می باشد.
حروف نامتشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵> می باشد

بحث

گیاهان دارویی از جمله منابع طبیعی هستند که به اثر ضدمیکروبی آن‌ها در بسیاری از پژوهش‌های گذشته اشاره شده است. این ترکیب‌ها با مکانیسم‌های متفاوتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها بر میکروارگانیسم‌ها موثرند که این امر سبب افزایش دامنه ی فعالیت بیولوژیکی آن‌ها نیز می‌شود(۲۲،۲۱). ویژگی ضد میکروبی گیاهان بر اثر سنتز متابولیت های ثانویه مانند اسانس‌ها است. اسانس‌ها ترکیبات معطر و فرار هستند که در گیاه نقش حفاظتی دارند(۲۴،۲۳). این ترکیبات اغلب بر دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها اثر کرده و با داشتن ماهیت آبگریز و روغنی خود باعث تغییر در نفوذپذیری غشاء می‌شوند. در پی این امر خروج یون‌ها تغییرات فشار اسمزی سلول و در نهایت مرگ میکروارگانیسم رخ می‌دهد(۲۶،۲۵).

مومیوند و همکاران در سال ۲۰۲۳ در مطالعه ای با بررسی فیتوشیمیایی، ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس دو گونه از گیاه دارویی آویشن شامل آویشن دنایی و آویشن قره‌باغی در غرب ایران گزارش نمودند که نتایج نشان داد لینالول (۱/۸۳ درصد) و تیمول (۹/۷۳ درصد) به ترتیب مهم‌ترین ترکیبات آویشن قره‌باغی و آویشن دنایی را تشکیل دادند(۲۵). در مطالعه‌ای دیگر موسوی‌نژاد و همکاران در سال ۲۰۲۱ با بررسی اجزاء گیاه آویشن دنایی گزارش نمودند که بیش‌ترین ترکیبات موجود در آویشن دنایی به ترتیب تیمول (۳۹/۴ درصد) و کارواکرول (۳۶/۲۷ درصد) بودند(۲۷). در مطالعه حاضر بیش‌ترین ترکیب آویشن دنایی تیمول (۷۵/۳۱ درصد) و پی سیمن (۴/۶۲ درصد) گزارش گردید که نشان‌دهنده هم راستایی مطالعات با هم می‌باشد.

نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که ترکیبات و اجزاء گیاه آویشن دنایی در مناطق مختلف جغرافیایی تفاوت‌هایی دارند. از این رو جهت توجیه این موضوع باید عنوان نمود که محتوای اسانس گیاهان دارویی و فعالیت زیستی آن‌ها براساس روش‌های مختلف کشت، خاستگاه، مرحله رویشی و فصل رویش تغییر می‌کند(۲۷،۱۳،۷،۴). نانو کپسوله کردن ترکیبات زیست

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

فعال از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن‌ها محافظت کرده و انتشار این مواد حساس را کنترل می‌نماید. از ترکیبات مختلفی به‌عنوان دیواره در تولید نانوکپسول می‌توان استفاده می‌کنند که از متداولترین آن‌ها می‌توان به کیتوزان و نشاسته اشاره نمود. تایید نانوکپسول اسانس از لحاظ توزیع مناسب و یکنواختی پراکندگی قطرات در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر اندازه نانوکپسول‌ها بین ۵۰ تا ۹۰ نانومتر بود که با مطالعه حسنی و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت نداشت. آن‌ها نشان دادند که اندازه ذرات در نانوکپسول‌ها با نسبت‌های متفاوت در ترکیبات دیواره (کیتوزان و نشاسته اصلاح شده)، بین ۳/۳۳۹ تا ۳/۵۵۳ نانومتر متغیر بود. تحقیقات نشان داده ترکیبات مختلف دیواره و تکنیک ریزپوشانی، فاکتورهای مؤثر بر اندازه ذرات و مورفولوژی کپسول‌ها است(۲۶). از محدویت‌های مطالعه حاضر، عدم محاسبه راندمان ریزپوشانی نانوکپسول اسانس تهیه شده و هم‌چنین تعیین پایداری آن با مشخص نمودن اختلاف پتانسیل بین لایه یونی غیرمتحرک و لایه متحرک در اتمسفر یونی اطراف ذرات باردار (پتانسیل زتا) بود. با این حال در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که بیش‌ترین راندمان ریز پوشانی با ۸۵/۴۳ درصد برای نانو کپسول تهیه شده از کیتوزان و نشاسته با نسبت ۱/۵ به ۸/۵ درصد حاوی اسانس لیمو ترش بود. تفاوت در نوع دیواره و هسته (به علت تفاوت موجود بین مواد پلیمری تشکیل‌دهنده دیواره)، انواع روش‌های خشک کردن و ویژگی‌های امولسیون از جمله عوامل تاثیر گذار بر میزان راندمان ریزپوشانی می‌باشند(۲۶).

در مطالعه پاراندا و همکاران (۲۰۲۱)، اثر ضد میکروبی نانو فیلم کیتوزان و نشاسته حاوی اسانس علف لیمو را علیه *اشریشیاکلی*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و *آسپرژیلوس نایجر* بررسی کردند. میزان MIC برای میکروارگانیسم‌ها مقادیری بین ۰/۳۹ تا ۱/۵۶ میکرولیتر در میلی‌لیتر گزارش شد. هم‌چنین آن‌ها نشان دادند استفاده این پوشش می‌تواند به‌طور معنا داری سبب کاهش بار میکروبی فلفل قرمز در مقایسه با فلفل بدون پوشش در طی زمان نگهداری ۱۶ روز شود(۱۹). نتایج مطالعه حاضر همسو با این تحقیق، اثرات ضد میکروبی بیش‌تر و معنادار ساختار نانو کپسول اسانس را در مقایسه با اسانس تنها نشان می دهد.

در مطالعه منصوری و همکاران در سال ۲۰۲۱، نشان دادند نانوامولسیون اسانس آویشن دنایی و توئین ۸۰ با نسبت یک به یک و مدت زمان سونیکیشن ۱۵ دقیقه بهترین اثرات ضدباکتریایی را علیه *سالمونلا تایفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیا کلی* داشت(۹). در مطالعه دیگری اثر اسانس آویشن دنایی تهیه شده با منشا گیاهی ارومیه علیه ۱۵ باکتری گرم منفی و مثبت بررسی شد. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که بیش‌ترین اثر اسانس علیه باسیلوس سرئوس بود (میزان MIC برابر ۰/۹۳ میکروگرم در میلی‌لیتر وMBC برابر۱/۸۷ میکروگرم در میلی‌لیتر)(۲۸). در مطالعه حاضر کم‌ترین میزان MIC برای اسانس نانو کپسول آویشن دنایی علیه باکتری‌های *پروتئوس میرابیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیه* با غلظت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کم‌ترین میزان MIC در اسانس آویشن دنایی در باکتری *پروتئوس میرابیلیس* با غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد.

در مطالعه الاهیان و همکاران در سال ۲۰۲۱، اثرات تغییرات اقلیمی بر روی خواص بیولوژیکی اسانس آویشن دنایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه آن‌ها حاکی از مقادیر متفاوتی (۰/۱۴ تا ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از خواص باکتریوسیدی علیه باکتری‌های *سالمونلا تایفی موریوم* (ATCC:13311)، *اشریشیا کلی* (ATCC:8739)، *انتروکوکوس فکالیس* (ATCC:29212)، *باسیلوس سوبتیلیس* (ATCC:12711) و *استافیلوکوکوس ارئوس* (ATCC:29923) بود(۲۹). تفاوت‌هایی که بین مطالعه حاضر و بررسی قبلی وجود داشت نوع باکتری‌های مورد استفاده (جدا شده از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

نمونه‌های غذایی و آبزیان) و همچنین منشا گیاهی اسانس است. در مطالعه حاضر مقاوم ترین باکتری در برابر اسانس آویشن دنایی، *استافیلوکوکوس اورئوس* و حساس‌ترین باکتری، *اشرشیا کلای* بود. هم‌چنین مقاوم‌ترین باکتری در برابر نانوکپسول آویشن دنایی، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تایفی موریوم* و *پروتئوس میرابیلیس* و حساس ترین باکتری، *استافیلوکوکوس اورئوس* بود.

در بررسی حیدری و همکاران(۲۰۲۰)، اثر اسانس خالص و نانوکپسول اسانس آویشن دنایی علیه شته مومی کلم (به عنوان یک آفت گیاهی) مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها گزارش دادند که استفاده از نانوکپسول اسانس در مدیریت تلفیقی شته مومی کلم می‌تواند موثر باشد(۳۰). با توجه به این‌که مطالعاتی در زمینه نانو کپسول اسانس آویشن دنایی تاکنون موجود نبود از سایر گونه‌های جنس آویشن مطالعاتی مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۲، فعالیت‌های بیولوژیکی نانوکپسول اسانس‌های *T. capitatus* و *T. algeriensis* نشان داده شد. نانوذرات زئین همراه با اسانس‌ها در مالتو دکسترین پایدار شدند و اندازه ذرات به‌دست آمده ۷۴/۷ نانومتر بود. اثر ضد میکروبی (قطر هاله عدم رشد) علیه باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس ارئوس*، *اشریشیاکلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *سالمونلا تایفی موریوم* برای نانوکپسول اسانس‌ها ۱۲ تا ۳۳ میلی‌متر و برای شکل غیر کپسوله ۱۲ تا ۲۸ میلی‌متر بود(۳۱). در مطالعه حاضر اسانس آویشن دنایی، توسط توئین ۸۰ نانوامولسیون شد و سپس توسط نشاسته اصلاح شده و کیتوزان پایدار شدند. اندازه نانو ذرات کپسوله مقادیری بین ۵۰ تا ۹۰ نانومتر داشتند. هم‌چنین اثر ضد باکتریایی (قطر هاله عدم رشد) برای اسانس خالص بیش‌تر از نانوکپسول اسانس بود. دلیل این امر در نوع ساختار نانو کسپول و هم‌چنین رهایش آهسته مواد ضد میکروبی از آن می‌تواند باشد(۳۱). لازم به ذکر است که اسانس‌ها با دارا بودن مولکول‌های فعال زیستی طبیعی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی، جدید نگهدارنده مواد غذایی و مؤثر برای درمان بیماری‌های عفونی استفاده می شوند. اسانس‌ها توسط سازمان غذا و داروی آمریکا و آژانس حفاظت از محیط زیست به عنوان مواد ایمن شناخته می‌شوند و دارای اثرات بیولوژیکی متنوعی هستند(۳۲-۳۰). با این وجود، حلالیت پایین و نوسانات بالای اسانس‌ها دو مانع اصلی برای استفاده از این ترکیبات در زمینه‌های مختلف است. روش‌های کپسوله و یا نانوامولسیونه کردن آن‌ها به جهت افزایش حلالیت‌پذیری، پایداری در محیط و اثربخشی فزاینده مورد استفاده می‌باشد(۱۵،۱۴). چنان‌چه که در مطالعه حاضر نیز مشخص شد نانوکپسول آویشن دنایی اثر قابل قبولی بر جلوگیری از رشد باکتری‌های مورد مطالعه داشت.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ساختار نانو کپسول آویشن دنایی دارای اثرات ضد باکتریایی بیش‌تر و معناداری نسبت به اسانس تنها علیه باکتری‌های *لیستریا مونوسیتوژنز*، *اشرشیا کلای*، *باسیلوس سرئوس*، *سالمونلا تایفی موریوم*، *پروتئوس میرابیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلبسیلا پنومونیه* داشت. با این وجود پیشنهاد می‌گردد مطالعه‌های آینده جهت سم‌شناسی نانوکپسول تهیه شده در سطح سلول‌های سالم و سرطانی در شرایط آزمایشگاهی صورت گیرد. به‌علاوه جهت کاربردی نمودن آن در صنعت غذا، مطالعه‌های تجربی در مدل‌های غذایی نیز انجام گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی خانم آترین آشعبانی با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1402.071 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بود. از همکاری اعضای محترم مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، نیز تقدیر و تشکر می‌شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

References

1. Sharafati Chaleshtori F, Sharafati Chaleshtori R. Antimicrobial activity of chitosan incorporated with lemon and oregano essential oils on broiler breast meat during refrigerated storage. Nutrition Food Science 2017; 47(3): 306-317.
2. Samiei S, Pourbabaki R, Khadem M, Alefi M, Sadeghi yarandi M, Shahtaheri SJ. Antioxidant and protective effects of plant extract against deltamethrin-induced oxidative stress in liver and kidney: A review. Razi Journal of Medical Sciences 2020; 27(7): 25-39 (Persian).
3. Sharafati-Chaleshtori R, Mardani G, Rafieian-Kopaei M, Sharafati-Chaleshtori A, Drees F. Residues of oxytetracycline in cultured rainbow trout. Pak J Biol Sci 2013; 16(21): 1419-1422.
4. Bistgani ZE, Sefidkon F. Review on ethnobotany, phytochemical, molecular and pharmacological activity of Thymus daenensis Celak. Biocatal Agric Biotechnol 2019; 22: 101400.
5. Tohidi B, Rahimmalek M, Trindade H. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of Thymus species in Iran. Ind Crops Prod 2019; 134: 89-99.
6. Barmoudeh Z, Ardakani MT, Doustimotlagh AH, Bardania H. Evaluation of the Antioxidant and Anticancer Activities of Hydroalcoholic Extracts of Thymus daenensis Čelak and Stachys pilifera Benth. J Toxicol 2022; 2022: 1924265.
7. Ali-Arab H, Bahadori F, Mirza M, Badi HN, Kalate-Jari S. Variability in essential oil composition and phenolic acid profile of Thymus daenensis Celak. populations from Iran. Ind Crops Prod 2022; 178: 114345.
8. Moghimi R, Ghaderi L, Rafati H, Aliahmadi A, McClements DJ. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. Food chem 2016; 194: 410-415.
9. Mansouri S, Pajohi- Alamoti M, Aghajani N, Bazargani- Gilani B, Nourian A. Stability and antibacterial activity of Thymus daenensis L. essential oil nanoemulsion in mayonnaise. J Sci Food Agr 2021; 101(9): 3880-3888.
10. Hasani, D, Ahanghar, H, Bahrami, M, Ramezani, S, Kamalinejad, M, Faghihzadeh, E. Clinical Trial of Combined Thymus daenensis Celak and Ziziphus Jujube Mill Syrup in Primary Hypertension. Int J Med Rev 2022; 9(4): 406-413.
11. Dehghan M, Asgharian S, Khalesi E, Ahmadi A, Lorigooini Z. Comparative study of the effect of Thymus daenensis gel 5% and diclofenac in patients with knee osteoarthritis. Biomedicine 2019; 9(2): 9.
12. Satyal P, Murray BL, McFeeters RL, Setzer WN. Essential oil characterization of Thymus vulgaris from various geographical locations. Foods 2016; 5(4): 70.
13. Mashkani MR, Larijani K, Mehrafarin A, Badi HN. Changes in the essential oil content and composition of Thymus daenensis Celak. under different drying methods. Ind Crops Prod 2018; 112: 389-395.
14. Saffari I, Motallebi-Moghanjoghi A, Sharafati-Chaleshtori R, Ataee M, Khaledi A. Evaluation of biological properties of Rosa damascene essential oil nanoemulsion in vitro. Feyz 2023; 27(1): 31-40 (Persian).
15. Saffari I, Motallebi-Moghanjoghi A, Sharafati-Chaleshtori R, Ataee M, Khaledi A.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

Nanoemulsification of Rose (Rosa damascena) Essential Oil: Characterization, Anti-Salmonella, In Vitro Cytotoxicity to Cancer Cells, and Advantages in Sheep Meat Application. J Food Qual 2023; 2023: 6665799.

16. Tyagi V, Singh VK, Sharma PK, Singh V. Essential oil-based nanostructures for inflammation and rheumatoid arthritis. J Drug Deliv Sci Technol 2020; 60: 101983.
17. Rezaei A, Khavari S, Sami M. Incorporation of thyme essential oil into the β-cyclodextrin nanosponges: Preparation, characterization and antibacterial activity. J Mol Struct 2021; 1241: 130610.
18. da Rosa CG, de Melo AP, Sganzerla WG, Machado MH, Nunes MR, Maciel MV, et al. Application in situ of zein nanocapsules loaded with Origanum vulgare Linneus and Thymus vulgaris as a preservative in bread. Food Hydrocoll 2020; 99: 105339.
19. Perdana MI, Ruamcharoen J, Panphon S, Leelakriangsak M. Antimicrobial activity and physical properties of starch/chitosan film incorporated with lemongrass essential oil and its application. Lwt 2021; 141: 110934.
20. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 16th CLSI supplement (M100-S16). Wayne, Pa. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006
21. Pouyan S, Kafshdouzan K, Jebelli A. Synergistic Effect of Cinnamomum camphora and Origanum vulgare Essential Oils against bla CTX-M Producing Escherichia coli Isolated from Poultry Colibacillosis. J Med Bacteriol 2021; 10(1,2): 20-29.
22. Marouf M, Batal M, Moledor S, Talhouk SN. Exploring the practice of traditional wild plant collection in Lebanon. Food Cult Soc 2015; 18(3): 355-378.
23. Ghavam M, Bacchetta G, Castangia I, Manca ML. Evaluation of the composition and antimicrobial activities of essential oils from four species of Lamiaceae Martinov native to Iran. Sci Rep 2022; 12(1): 1-2.
24. Chaleshtori RS, Kopaei MR, Salehi E. Bioactivity of Apium petroselinum and Portulaca oleracea essential oils as natural preservatives. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(3): e20128.
25. Mumivand H, Khanizadeh P, Hassaneian Khoshro H. Evaluation of phytochemical, antibacterial and antifungal properties of essential oils of two species of thyme (Thymus daenensis and Thymus fedtschenkoi) from west of Iran. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 2023; 11(1): 1-16 (Persian).
26. Hasani S, Ojagh S, Ghorban M. Encapsulation of Lemon essential oil (Citrus Limon L.) in chitosan-modified starch complex by sonication. Innovative Food Technologies 2018; 6(1): 19-30.
27. Mosavinezhad K, Shakerian A, Sharafati Chaleshtori R, Rahimi E. Antimicrobial and antioxidant effects of Thymus daenensis and Camellia sinensis ethanolic extracts of chicken meat during frozen storage. Journal of Medicinal plants and By-product 2020; 9(Special): 17-27.
28. Alamholo M. Investigation of chemical composition, antibacterial and antioxidant activity of Thymus daenensis and Thymus eriocalyx essential oils against human pathogenic bacteria. JoMMID 2020; 8(4): 148-154.
29. Elahian F, Garshasbi M, Mehri Asiabar Z, Gholamian Dehkordi N, Yazdinezhad A, Mirzaei SA. Ecotypic variations affected the biological effectiveness of Thymus daenensis Celak essential oil. Evid.-based Complement Altern Med 2021; 2021: 6686558.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]

30. Heidary M, Jafari S, Karimzadeh J, Negahban M, Shakarami J. The effects of pure and nanocapsulated formulations of Thymus daenensis Celak.(Lamiaceae) essential oil on life-table parameters of cabbage aphid (Brevicoryne brassicae L.) (Hem.: Aphididae). Plant Pest Research 2020; 10(2): 15-32 (Persian).
31. Jayari A, Donsì F, Ferrari G, Maaroufi A. Nanoencapsulation of thyme essential oils: Formulation, characterization, storage stability, and biological activity. Foods 2022; 11(13): 1858.
32. Sharafati Chaleshtori R, Rafieian Kopaei M, Rokni N, Mortezaei S, Sharafati Chaleshtori A. Antioxidant activity of Zataria Multiflora hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on Staphylococcus aureus. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 21 (1):88-94 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-06]