Research Article
Nova Biologica Reperta 11 (1):33-47 (2023)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI:

مقاله پژوهشی
یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۱۱، شماره ۱، صفحات ۳۳ الی ۴۷ (۱۴۰۳)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

نانوامولسیفیکاسیون اسانس *Syzygium aromaticum* تهیه، بهینه سازی و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آن در برابر برخی از باکتری های دستگاه گوارش

بهاره عسگری[۱]، علی محمدی [۱و۲] و بهاره عطاران [۱و۲]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران.؛ [۲] مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی و بیوتکنولوژی میکروبی (CAMB)، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: علی محمدی، A.Mohammadi@alzahra.ac.ir

چکیده. هدف از کار حاضر تولید نانوامولسیون پایدار حاوی اسانس میخک (PCLO) و ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی آن بود. تأثیر تکنیک آماده‌سازی، نوع سورفکتانت و نسبت سورفکتانت به روغن برای بهینه‌سازی فرمول تهیه نانوامولسیون روغن در آب ارزیابی شد. شاخص پراکندگی (PDI) و توزیع اندازه متوسط نانوامولسیون‌های فرمولاسیون بهینه با استفاده از ابزار پراکندگی نور پویا (DLS) اندازه‌گیری شد. فرمول بهینه تهیه شده با روش تولید کم انرژی حاوی ۴٪ w/w PCLO و ۱۲٪ w/w سورفکتانت مخلوط (SDS + Tween 80)، نانوامولسیون شفاف و پایداری به مدت ۹۰ روز کرد که میانگین قطر ذرات آن زیر ۱۵۰ نانومتر بود. فعالیت ضدباکتریایی PCLO خالص (PCLO) و نانوامولسیون‌های آن (NCLO) با روش‌های انتشار جامد، چاهک آگار و براث در ۳ باکتری شاخص عفونت‌های گوارشی اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و غلظت باکتریواستاتیک (MBC) و همچنین زمان کشتن دینامیک در باکتری‌های مورد آزمون تعیین شدند. فعالیت ضدباکتریایی قوی PCLO و NCLO در محدوده غلظت ۱۰۰۰ الی ۲۰۰۰ ppm آشکار شد. مطالعه سینتیک کشتن نشان داد که در طول ۱۵ دقیقه اول قرار گرفتن در معرض NCLO در غلظت MIC، کاهش سریع و گسترده‌ای در مقدار میکروارگانیسم‌های زنده وجود دارد. داده‌های ارائه شده با در نظر گرفتن عملکرد بهینه مواد ضدمیکروبی در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و شیمیایی می‌تواند در طراحی منطقی سیستم‌های تحویل مبتنی بر نانوامولسیون اسانس کمک کند.

واژه‌های کلیدی. نانوامولسیون؛ فعالیت ضدباکتریایی؛ *Syzygium aromaticum*; نانوکپسوله‌سازی

Nanoemulsification of *Syzygium aromaticum* essential oil; Preparation, optimization, and study of its antibacterial activity against some gastrointestinal poisoning bacteria

Bahare Asgari [1], Ali Mohammadi [1,2], Bahare Attaran [1,2]
1 Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran, 2 Research Center for Applied Microbiology and Microbial Biotechnology (CAMB), Alzahra University, Tehran, Iran.
*Corresponding author: Ali Mohammadi, A.Mohammadi@alzahra.ac.ir

Abstract. The aim of the present work was to make a stable nanoemulsion containing clove (Syzygium aromaticum) essential oil (PCLO) and evaluate its antimicrobial activity. The effect of the preparation technique, the type of surfactant, and the ratio of surfactant to oil was evaluated to optimize the preparation formula of oil-in-water nanoemulsion. The dispersity index (PDI) and average size distribution of nanoemulsions of the optimized formulation were measured using dynamic light scattering (DLS). The optimized formula prepared by low energy production method, containing 4% w/w PCLO and 12% w/w mixed surfactant (SDS + Tween 80), produced a clear and stable nanoemulsion for 90 days with an average particle diameter below 150 nm. The antibacterial activity of pure PCLO and its nanoemulsions (NCLO) was investigated by disk diffusion, agar well, and broth methods in three indicator bacteria of gastrointestinal infections, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, and Salmonella typhimurium. Minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration (MBC) as well as dynamic killing time, were determined in the tested bacteria. Strong antibacterial activity of PCLO and NCLO was revealed in the concentration range of 1000-2000 ppm. The killing kinetics study showed that during the first 15 minutes of exposure to NCLO at the MIC concentration, there was a rapid and extensive reduction in the number of viable microorganisms. The presented data, considering the optimal performance of antimicrobial substances in food, cosmetics, and chemical industries, can help in the rational design of nanoemulsion-based essential oil delivery systems.

Key words: Nanoemulsion; Antibacterial activity; Syzygium aromaticum; Nano encapsulation

Revised 08.02.2024/ Accepted 07.06.2024/ Published18.06.2024

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹/ اصلاح: ۱۴۰۲/۱۰/۱۹/ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۸/ انتشار: ۱۴۰۳/۰۳/۲۹

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

مقدمه

امروزه توجه زیادی به مصرف مواد طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی (EOs[1]) شده است که دارای خواص ضد میکروبی در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و غیره هستند و توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) نیز مورد تایید واقع شده‌اند (Mohammadi et al., 2016). بر این اساس، مطالعات بسیاری اثرات ضد میکروبی EOs و ترکیبات فرار آنها را در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داده‌اند (Shahabi et al., 2017).

در این زمینه، اسانس های حاصل از گیاه میخک (PCLO) با نام *Syzygium aromaticum* که متعلق به خانواده Myrtaceae است، بسیار مورد توجه محققین واقع شده است. PCLO دارای خاصیت آنتی اکسیدان و ضد میکروبی علیه باکتری ها و قارچ های مختلف پاتوژن است که همین امر منجر به استفاده آن در صنایع مختلف غذایی و دارویی شده است (Cortés-Rojas et al., 2014). میخک یکی از منابع گیاهی دارای ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای هیدروکسی بنزوئیک، اسیدهای هیدروکسی سینمیک و هیدروکسی فنیل پروپنس است. اوژنول اصلی ترین ترکیب فعال زیستی میخک است که برای آن خواص دارویی متفاوتی همچون قابلیت آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد سرطان و همچنین ضد دیابت گزارش شده است. این ماده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان یک ماده کاملاً ایمن (GRAS) معرفی شده است (Pandey et al., 2024). با این حال، مانند سایر EO ها، استفاده از آن در سیستم های غذایی و محصولات تجاری اغلب به دلیل فراریت بالا و حلالیت کم در آب محدود است (Mazarei and Rafati, 2019). ضمن اینکه ترکیبات زیست فعال آن می تواند به راحتی تحت تأثیر عوامل محیطی مانند pH، گرما، رطوبت، نور، فشار و اکسیژن تخریب شود (Mohammadi et al., 2020). در این مورد، کپسوله‌سازی EOs در سیستم‌های تحویل کلوئیدی با طراحی خوب مانند نانوامولسیون‌ها می‌تواند یک رویکرد کارآمد و عملی برای غلبه بر این مشکل باشد. همچنین، این سیستم‌های تحویل ممکن است پایداری، زیست فعالی و ویژگی‌های ضد میکروبی EOs را در محیط‌های مختلف بهبود بخشند (Chuesiang et al., 2019a; Mazarei and Rafati, 2019).

نانوامولسیون‌های روغن در آب (O/W) سیستم‌های کلوئیدی هستند که حاوی قطرات روغنی پوشش‌داده‌شده با امولسیفایر به عنوان فاز داخلی هستند که در یک فاز آبی پیوسته به‌عنوان فاز خارجی پراکنده می‌شوند (McClements and Jafari, 2018). آنها یکی از انواع امولسیون ها با اندازه قطرات زیر ۲۰۰ نانومتر هستند که به عنوان یکی از بهترین و امیدوارکننده‌ترین سیستم‌های انتقال کلوئیدی در کپسوله کردن EOs شناخته می شوند. نانوامولسیون ها، اجزای مهم بسیاری از محصولات تجاری مانند مکمل ها، لوازم آرایشی، غذاها، مواد شیمیایی کشاورزی، داروها و محصولات مراقبت شخصی هستند (Chuesiang et al., 2018).

روش های تهیه نانوامولسیون به دو دسته کم انرژی و پرانرژی تقسیم می شوند که هر کدام مزایا و معایب خاص خود را دارند. در این میان، روش‌های تولید کم انرژی قادر به تولید قطرات کوچک‌تری نسبت به روش‌های پرانرژی هستند (Shahabi et al., 2017). به دلیل اندازه کوچک قطرات، نانوامولسیون‌ها شفاف یا شفاف به نظر می‌رسند و نسبت به ماکروامولسیون‌ها در پارامترهایی همچون خامه‌ای-شدن[2]، لخته‌سازی، ته‌نشین شدن[3] و ادغام استوالد ثابت‌تر و پایدارتر هستند (Lu et al., 2018). این ویژگی می‌تواند پایداری فیزیکی، ظاهری و فعالیت زیستی EOs را در محصولات غذایی و نوشیدنی در مقایسه با قطرات بزرگ‌تر در امولسیون‌های معمولی بهبود بخشد، و آنها را به عنوان یک کاندید عالی در صنایع غذایی و دارویی به عنوان عواملی برای تحویل دارو و ترکیبات زیست فعال تبدیل کند

[1] Essential oil

[2] Creaming

[3] Sedimentation

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

(Chuesiang et al., 2019b). از نظر مواد ضد میکروبی، سیستم‌های تحویل نانوامولسیون با ترکیبات گنجانده شده در آن به طور قابل توجهی فعالیت ضد میکروبی خود را در مقایسه با سیستم‌های غیر کپسوله افزایش می‌دهند. چنین ساختارهایی می‌توانند غلظت ترکیبات زیست فعال را در مناطقی که میکروارگانیسم‌ها به طور ایده‌آل وجود دارند، افزایش دهند (Lu et al., 2018).

نتایج برخی از مطالعات بر روی فعالیت ضدمیکروبی نانوامولسیون‌های تولید شده با روش‌های مختلف نشان می دهد که خواص ضدمیکروبی نانوامولسیون‌ها ارتباط مستقیمی با روش‌های تهیه آنها دارد (Agarwal et al., 2017; Chuesiang et al., 2019b; Moghimi et al., 2018). بنابراین این مطالعه با اهداف زیر انجام شد: (۱) بررسی شرایط بهینه برای تهیه نانوامولسیون PCLO (NCLO) با استفاده از امولسیون سازی خود به خود به عنوان یک روش کم انرژی با کمک سورفکتانت های مختلف و (۲) بررسی خواص و فعالیت ضد میکروبی NCLO بهینه شده و مقایسه آن با PCLO خالص (PCLO) در برابر پاتوژن‌های گوارشی.

مواد و روش‌ها:

مواد

اسانس میخک (۹۸٪) مورد استفاده در این مطالعه از شرکت طبیب دارو (ایران) تهیه شده است. پارامترهای کیفی آن مانند ظاهر، رنگ، بو، حلالیت، خلوص و خواص شیمیایی از جمله بریکس، pH و اسیدیته در برگه فنی همراه ترکیب داده شده است. ترکیبات شیمیایی PCLO عبارتند از اوژنول (۸۶/۳۶ درصد)، β-Caryophyllene (۷/۶۶ درصد)، Eugenyle Acetate (۱/۲۴ درصد)، و دیگر ترکیبات جزئی.

سدیم دودسیل سولفات (SDS)، توئین ۸۰ و ۲۰ (Tween 20/80) از شرکت Sigma-Aldrich (سنت لوئیس، MO، ایالات متحده آمریکا) خریداری شدند. در تهیه تمامی محلول‌ها و امولسیون‌ها از آب دیونیزه استفاده شد. محیط کشت شامل مولر- هینتون براث (MHB)، نوترینت آگار (NA) و MHA آگار عرضه شده توسط Merck (آلمان) بود. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در مطالعه حاضر دارای عیار تحلیلی بوده و به صورت دریافتی مورد استفاده قرار گرفتند.

تهیه نانوامولسیون

NCLO بر اساس روش Anton & Vandamme در ۲۰۰۹ (Anton and Vandamme, 2009)، با برخی تغییرات جزئی و با مخلوطی از سورفکتانت ها (شامل Tween 20 یا Tween 80 و SDS)، PCLO با نسبت های مختلف حجمی و نسبت های مختلف وزن سورفکتانت به روغن (SOR) و آب دیونیزه تهیه شد. فاز روغن به تدریج به همزن (حدود ۷۰۰ دور در دقیقه) دارای فاز آبی (مخلوط سورفکتانت و آب دیونیزه که قبلاً با ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰۰ دور در دقیقه همگن شده بود) به مدت ۳ ساعت افزوده شد تا یک امولسیون روغن در آب تهیه شود. سپس نانوامولسیون ها با استفاده از دستگاه سونیکاتور پروب (MPI، Dattwil، سوئیس) با فرکانس حدود ۲۰ کیلوهرتز و حداکثر ۳۰ درصد توان خروجی (۲۵۰ وات) به مدت ۱۰ دقیقه ساخته شدند.

خواص نانوامولسیون‌ها

شاخص پراکندگی (PDI) و توزیع اندازه متوسط قطرات نانوامولسیون‌ها پس از رقیق شدن با آب دیونیزه برای جلوگیری از اثرات پراکندگی با استفاده از ابزار پراکندگی نور پویا (DLS) اندازه‌گیری شد (Zetasizer NanoZS, Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK). بار سطحی و مقدار پتانسیل زتا با همان دستگاه اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، پایداری NCLOها با تعیین تغییر در میانگین قطر ذرات و مشاهدات بصری برای نظارت بر جداسازی فاز یا خامه‌ای شدن در روزهای ۱ و ۹۰ در دمای اتاق ارزیابی شد.

ارزیابی فعالیت‌های ضد باکتریایی

سنجش چاهک آگار

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

مطالعه ضدمیکروبی PCLO و NCLO بر روی باکتری های *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhimurium* در ابتدا با روش انتشار آگار انجام شد (Vosoughian et al., 2023). در این روش، ۱۰۰ میکرولیتر از سویه‌های شاخص روی محیط MHA با چگالی 10^5 CFU/mL انکوبه شد. چاهک های آگار به قطر ۱۰ میلی متر بر روی ظروف پتری استریل پیش انکوبه شده (PD) ساخته شد. غلظت های مختلف (۱۲۵ الی ۴۰۰۰ ppm) تیمار تهیه و به مقدار ۳۰ میکرولیتر در هر چاهک قرار داده شد. سپس محیط کشت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه انکوبه شدند. منطقه مهاری مشاهده و اندازه گیری شدند. آزمایش ها پنج بار تکرار شدند.

تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و باکتری‌کش (MBC).

فعالیت ضدباکتریایی (٪)، حداقل غلظت بازدارنده (MIC)[۴] و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC)[۵] با تست میکرو دایلوشن براث (BDT)[۶] توصیه شده توسط مؤسسه استاندارد بالینی و آزمایشگاهی تعیین شد. سری رقت‌های دو برابری از نانوامولسیون آزمایشی در محدوده ۱۲۵ تا ۴۰۰۰ ppm در میکروپلیت ۹۶ خانه (Nunc، کپنهاگ، دانمارک) پر شده با مولر هینتون براث تنظیم شده با کاتیون (CAMHB) تهیه شد (pH ۵/۹). باکتری ها در هر چاهک تلقیح شدند تا تعداد اولیه باکتری ها در حدود $1 \approx 2 \times 10^5$ CFU/ml بدست آید. محتویات چاهک ها با تکان دادن مخلوط و در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. چگالی نوری (OD) هر چاهک با استفاده از میکرو پلیت ریدر (M200 Pro، TECAN، سوئیس) در طول موج ۶۰۰ نانومتر (OD_{600}) هر ۲ ساعت اندازه گیری و ثبت شد. فعالیت ضد باکتریایی تیمارها مطابق با معادله (۱) محاسبه شد (Mohammadi et al., 2020):

(۱) فعالیت ضدباکتریایی (٪) = (ODc-ODs)/ODs × 100 =

[۴] Minimum inhibitory concentration (MIC)
[۵] Minimum Bactericidal Concentration (MBC)
[۶] Broth microdilution test

ODs: چگالی نوری نمونه، ODc: چگالی نوری کنترل

MIC به عنوان کمترین غلظت تیمار در چاهک بدون کدورت پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون تعیین شد. برای تعیین MBC، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک بدون رشد به MHA منتقل شد و یک شب در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه شد. MBC به عنوان کمترین غلظت نمونه در چاهک ثبت شد که رشد میکروارگانیسمی در آن مشاهده نشد. هر آزمون در سه تکرار انجام شد (Mohammadi et al., 2020).

سنجش زمان کشتن پویا[۷]

برای بررسی اثرات کشندگی و سرعت نابودکنندگی نانوامولسیون بر روی باکتری‌های *E.coli*، *S.aureus* و *S. typhimurium*، در ۲ لوله‌آزمایش حاوی محیط MHB و محلول نانوامولسیون و محلول اسانس، کشت باکتری ۲۴ ساعته (تراکم $10^6 \approx$ CFU/ml) تلقیح گردید. لوله کنترل نیز حاوی محیط کشت و سوسپانسیون باکتری در نظر گرفته شد. سپس لوله‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰ دور در دقیقه انکوبه شد و در فاصله‌های زمانی ساعت صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت از هرکدام از لوله‌ها نمونه‌برداری و رقت‌سازی انجام و در پلیت حاوی MHA کشت داده شد. سپس محیط‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند و بعدازاین مدت انکوبه شدن تعداد باکتری‌های زنده شمارش گردید و منحنی زمان مرگ باکتری به صورت سنجش زمان کشتن دینامیکی (پویا) رسم شد (Vosoughian et al., 2023).

تحلیل آماری:

تجزیه و تحلیل آماری با تحلیل واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری معادل ۰/۰۵ ($p < ۰/۰۵$) با استفاده از نرم‌افزار آماری GraphPad Prism، نسخه ۶,۰۲ (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). انجام شد.

[7] Dynamic Time- Kill Assays

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

نتایج و بحث

اثر ترکیب فاز روغن

در این تحقیق از روش تولید کم انرژی استفاده شد زیرا روشی سریع و نسبتا ساده برای تهیه نانوامولسیون با توزیع اندازه باریک و اندازه قطرات کوچک است. این روش تولید علاوه بر این دارای مزایای واقعی از نظر افزایش بالقوه صنعتی، کارایی فرمولاسیون، و خواص غیر تهاجمی است (Chuesiang et al., 2018). ابتدا NCLOهای حاوی ۴٪ فاز روغنی (PCLO)، ٪ ۱۲-۴ وزن حجمی در حجم توئین ۲۰/۸۰ به عنوان سورفکتانت و درصد وزنی باقیمانده فاز آبی (آب دیونیزه) با استفاده از روش امولسیون سازی خود به خود تهیه شدند. نتایج نشان داد که بین دو توئین ۸۰ و ۲۰، نانوامولسیون های ساخته شده با توئین ۸۰ با غلظت مساوی، از شفافیت ظاهری بهتری برخوردار بودند. علاوه بر این، نانوامولسیون های ساخته شده از توئین ۲۰ پس از چند دقیقه کدرتر شده و در نهایت به صورت دو فاز درآمدند اما نانوامولسیون های ساخته شده با توئین ۸۰ تغییری نکردند. بنابراین نتیجه‌گیری شد که توئین ۸۰ نسبت به سورفکتانت توئین ۲۰ مناسب‌تر است. توئین ۲۰ دارای ساختار نسبتا خطی اسید لوریک اشباع شده در مقایسه با ساختار پیچیده تر بخش اولئیک اسید غیراشباع در توئین ۸۰ است. به گفته وانگ و همکاران (۲۰۰۰)، ورود یک پیوند دوگانه در بخش آبگریز سورفکتانت های غیریونی منجر به تولید نانوذرات کوچکتر و پایدارتر می شود (Wang et al., 2009).

در این پژوهش، تأثیر مقدار سورفکتانت توئین ۸۰ و SDS بر تشکیل و پایداری NCLO ها مشخص شد. در حالت ایده آل، به دلیل مسائل اقتصادی و نگرانی‌های هزینه، و همچنین طعم و سمیت، ساخت نانو امولسیون‌های شفاف و پایدار با کمترین مقدار سورفکتانت مورد نظر بودند که بدون جداسازی فاز ظاهر می‌شدند. در این راستا، هشت سری نانوامولسیون متشکل از PCLO با غلظت ثابت ۴٪ v/v (تعیین شده بر اساس مطالعات اولیه)، SDS ٪ ۰/۲۵ v/v به عنوان کوسورفکتانت و توئین ۸۰ در نسبت‌های مختلف مورد آزمایش قرار گرفتند. وضعیت نانوامولسیون‌های تولید شده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- تأثیر میزان سورفکتانت توئین ۸۰ و SDS بر تشکیل و پایداری NCLO ها.

Table 1. The effect of Tween 80 surfactant and SDS on the formation and stability of NCLOs

نانوامولسیون	PCLO(V/V%)	توئین ۸۰ (v/v%)	SDS(V/V%)	رنگ ظاهری	پایداری
۱	۴	۴	-	کدر	ناپایدار
۲	۴	۸	-	کدر	ناپایدار
۳	۴	۱۲	-	شفاف	ناپایدار
۴	۴	۱۶	-	شفاف	ناپایدار
۵	۴	۴	۰/۲۵	شفاف	ناپایدار
۶	۴	۸	۰/۲۵	شفاف	ناپایدار
۷	۴	۱۲	۰/۲۵	شفاف	پایدار
۸	۴	۱۶	۰/۲۵	شفاف	پایدار

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تنوع سورفکتانت‌ها و نسبت‌های مختلف آن باعث ایجاد تفاوت در کدورت، رنگ و پایداری نانومولسیون‌ها می‌شود. NCLOهای به دست آمده از ۴ و ۸٪ v/v فقط توئین ۸۰ مات (سفید) به نظر می‌رسند. علاوه بر این، با افزایش غلظت سورفکتانت (توئین ۸۰) و در عین حال ثابت نگه‌داشتن غلظت PCLO، کدورت نانومولسیون‌ها اندکی کاهش یافت. افزودن کوسورفکتانت SDS نیز همین اثر را داشت. همان‌طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، نسبت‌های ۱۲٪ v/v از توئین ۸۰ به تنهایی، و همچنین ۴٪ و ۸٪ توئین ۸۰ با SDS، منجر به تولید نانومولسیون‌های شفاف شد. در این نانومولسیون‌ها بلافاصله پس از تشکیل، جداسازی فاز در دمای محیط مشاهده شد. با این وجود، با افزایش بیشتر غلظت توئین ۸۰ و افزودن کوسورفکتانت در غلظت‌های بالاتر توئین ۸۰ باعث شفافیت کامل نانومولسیون‌ها شده است. نتایج نشان داد که ۱۶٪ v/v از توئین ۸۰ به تنهایی و همچنین ۱۲٪ و ۱۶٪ توئین ۸۰ با SDS منجر به تولید نانومولسیون‌های کاملاً شفاف شده است. شکل ۱ ظاهر نانومولسیون‌های بهینه شده را نشان می‌دهد. برای مطالعات تکمیلی، دو نانومولسیون بهینه شده بر اساس شفافیت و پایداری فیزیکی آنها انتخاب شدند: شماره ۷ و ۸ که شماره ۷ به دلیل استفاده کمتر از توئین ۸ انتخاب گردید.



شکل ۱- برخی از نانومولسیون‌های میخک تولید شده با استفاده از توئین ۸۰ به تنهایی و ترکیب با **SDS** که باعث تفاوت در رنگ ظاهری و پایداری شده است.

Figure 1. Some clove nanoemulsions produced using Tween 80 alone and combined with SDS caused differences in appearance color and stability.

.

خواص نانومولسیون‌ها

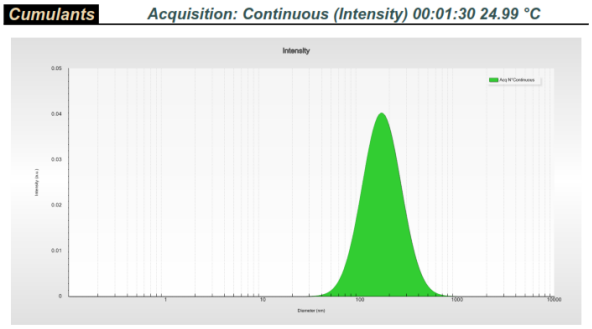
قطر ذرات یک ویژگی مهم و اساسی است که می‌تواند سرنوشت و کارایی نانومولسیون‌ها را در داخل بدن تعیین کند، بنابراین تعیین اندازه ذرات نانومولسیون‌ها مهم است. در مطالعه ما، میانگین Z از NCLO های تهیه شده با استفاده از توئین ۸۰ به همراه SDSزیر ۱۵۰ نانومتر تعیین شد (شکل ۲). شهابی و همکاران (۲۰۱۷) نتایج مشابهی را برای نانومولسیون‌هایی که با روشی کم انرژی با استفاده از یک سورفکتانت غیریونی (پلی سوربات ۲۰) فرموله شده اند، به دست آوردند. نتیجه آنها اندازه قطره کمتر از ۲۰۰ نانومتر را نشان می دهد (Shahabi et al., 2017) . در تحقیق دیگری توسط یزدی و همکاران (۲۰۲۰)، NCLO با مخلوط کردن اسید اولئیک، PCLO (1:1 v/v)، سپس اضافه کردن محلول نرمال سالین حاوی توئین ۸۰، و فراصوت با دستگاه اولتراسونیکاتور تهیه شد. آنها نشان دادند که اندازه قطرات NCLO ۲± ۸۰ نانومتر است (Yazdi et al., 2020) . به گفته هوانگ و همکاران (۲۰۱۰)، کاهش قطر قطرات در نانومولسیون ها می تواند در کاهش تجمع و خامه‌ای شدن موثر باشد. همچنین می توان با استفاده از سورفکتانت های مناسب از بروز پدیده تجمع و خامه‌ای شدن جلوگیری کرد (Mendes et al., 2018). در مطالعه ما، اندازه اولیه قطرات NCLO در حضور SDS به‌عنوان کوسورفکتانت به‌طور قابل‌توجهی کوچک‌تر از غیاب آن بود، که نشان می‌دهد مواد کوسورفکتانت سهم بیشتری در تشکیل نانومولسیون‌ها دارند.

مقادیر PDI در نانومولسیون های تشکیل شده با استفاده از ترکیب Tween 80 و SDS حدود ۰/۲۳ بود، که نشان دهنده نتایج کیفی قابل قبول برای نانومولسیون PCLO است. لازم به ذکر است که مقادیر کوچک PDI (کوچکتر از ۰/۳) نشان دهنده یکنواختی توزیع تا حدودی باریک و اندازه قطرات EOs در یک سیستم آبی است (Yazgan et al., 2019) که در نمونه تهیه شده با ترکیب tween 80 و SDS مشاهده شد. به همین ترتیب شهابی و همکاران. (۲۰۱۷) توسعه NCLO با مقادیر PDI در حدود ۰/۲ را گزارش کردند (Shahabi et al., 2017).

بار خالص سطحی قطراتNCLO برابر با 7.16- میلی‌ولت بود. بر اساس اطلاعات موجود، این بار سطحی منفی می‌تواند باعث دافعه الکترواستاتیکی کافی بین ذرات شود. در این رابطه مندس و همکاران (۲۰۱۸) و آرتیگا-آرتیگاس و همکاران (۲۰۱۷) فرض کرده‌اند که قطرات با پتانسیل ζ زیر ۳۰- میلی‌ولت به دلیل دافعه الکترواستاتیکی بین قطرات، پایداری کلوئیدی خوبی دارند (Artiga-Artigas et al., 2017; Mendes et al., 2018)، که

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

پتانسیل زتا در مطالعه ما نیز نشان دهنده پایداری الکترواستاتیک خوب نانوامولسیون های PCLO است.

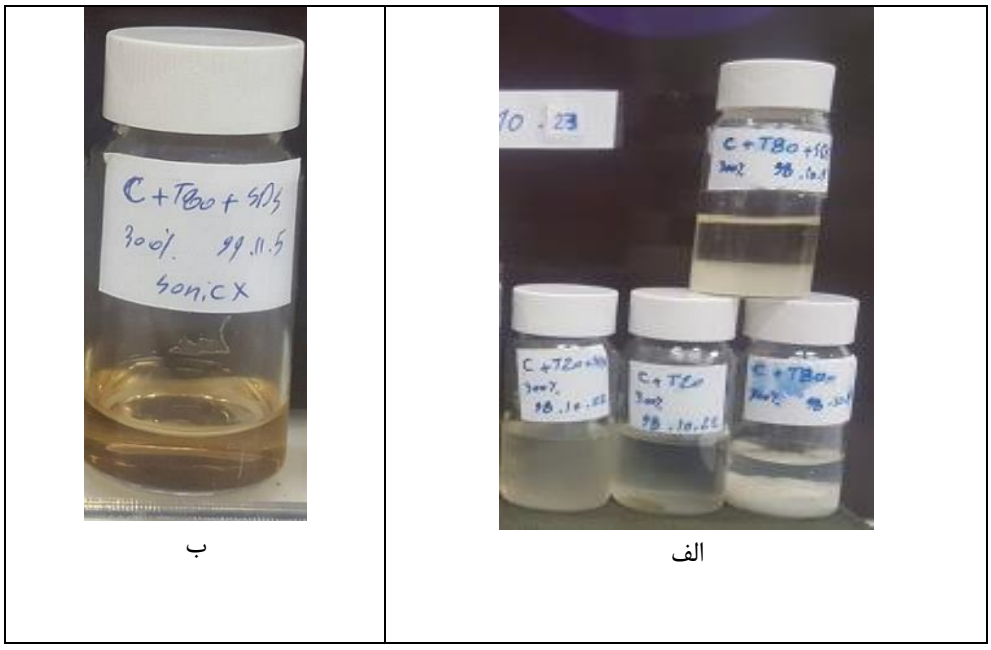


شکل ۲- میانگین اندازه ذرات نانوامولسیون‌های میخک تولید شده با استفاده از ترکیب توئین ۸۰ و **SDS**. میانگین اندازه ذرات حدود ۱۲۱/۳۴ نانومتر بود.

Figure 2. The average particle size of clove nanoemulsions produced using Using a combination of Tween 80 and SDS. The average size is about 121.34 nm.

پایداری

نتایج نشان داد که بین دو نانوامولسیون ساخته شده با توئین ۸۰ به تنهایی و در ترکیب با SDS، با وجود شفاف بودن هر دو در روز اول، نانوامولسیون‌های ساخته شده با توئین ۸۰ پس از ۱ روز کدر شده و ذرات روغن در ته ظرف ظاهر می‌شوند. با این وجود، PCLO نانوامولسیفه شده با استفاده از SDS + توئین ۸۰ پس از ۹۰ روز پایدار بود و از نظر ظاهری تغییری نکرد (شکل ۳). در واقع، کدورت و جداسازی فاز در این نمونه‌های نگهداری شده در طی ۹۰ روز در دمای محیط مشاهده نشد. علاوه بر این، تغییرات اندازه ذرات در این دوره از نظر آماری ناچیز بود. نتایج مشابهی توسط شهابی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است. آنها مشاهده کردند که نانوامولسیون ساخته شده در طول ۲۱ روز ذخیره سازی در دمای ۲ ± ۲۳ درجه سانتیگراد پایدار بود. پایداری کمتر نانوامولسیون ساخته شده توسط یزدی و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش شد. نانوامولسیون آنها به مدت ۳ روز در دمای ۳ ± ۵ درجه سانتیگراد پایدار بود. در مقایسه با آثار ذکر شده، نانوامولسیون‌های ما که با ترکیبات SDS + توئین ۸۰ ساخته شده‌اند، پایداری بالایی داشته و در دمای معمولی اتاق نیز این پایداری را حفظ می‌کنند. بنابراین نتیجه گیری شد که این ترکیب منجر به تولید نانوامولسیون‌های مناسب‌تری می‌شود. در این میان، NCLO تولید شده با ترکیبی از ۱۲٪ v/v توئین ۸۰ و SDS به دلیل استفاده از غلظت‌های پایین‌تر سورفکتانت ترجیح داده می‌شود که از نظر هزینه مواد تشکیل دهنده مزیت محسوب می‌شود. بر این اساس، این نانوامولسیون برای مطالعات بعدی انتخاب شد.



شکل ۳- بررسی پایداری نانوامولسیون‌های ساخته شده اسانس میخک تهیه شده به روش خودبه‌خودی با الف) سورفکتانت‌های توئین ۸۰ و ۲۰ ب) ترکیب توئین ۸۰ و **SDS**

Figure 3. Investigating the stability of clove essential oil nanoemulsions prepared by spontaneous method with Tween 80 and 20 surfactants (A) Tween 80 and SDS combination (B).

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

فعالیت ضدمیکروبی

نتایج چاهک آگار

اثر ضدباکتریایی PCLO و نانوامولسیون بهینه آن علیه *E.coli*، *S.aureus* و *S. typhimurium* در جدول ۲ آورده شده است. آموکسی سیلین و آمپی سیلین به عنوان کنترل مثبت استفاده شدند.. در چنین ارزیابی، منطقه بازدارنده بزرگ‌تر نشان دهنده اثربخشی بیشتر آن در برابر باکتری هدف است. اسانس PCLO بیشترین فعالیت ضدمیکروبی خود را علیه استافیلوکوکوس اورئوس با قطر ناحیه مهار ۲۰ میلی متر از خود نشان داد. در حالی که شکل نانوامولسیون شده آن اثر بازدارندگی کمتری (۱۵ میلی متر) نشان داد. در خصوص سالمونلا نیز فرم نانوامولسیون میخک فعالیت ضدمیکروب کمتری نسبت به فرم خالص اسانس از خود نشان داد این یافته با مطالعات قبلی که نشان می‌داد نانوامولسیون PCLO در مقایسه با شکل خالص آن اثر ضد باکتریایی کمتری علیه لیستریا مونوسیتوژنز و سالمونلا تیفی موریوم دارد، مطابقت دارد (Shahabi et al., 2017). نتایج همچنین نشان داد که آموکسی سیلین و ونکومایسین فعالیت ضد میکروبی مناسبی علیه باکتری های استفاده شده از خود نشان دادند. توئین ۸۰ در غلظت مورد استفاده خاصیت شدمیکروبی قابل توجهی از خود نشان نداد.

PCLO و نانوامولسیون آن اثرات ضد باکتریایی خوبی بر روی باکتری مورد آزمایش نشان دادند. با این حال، در مقایسه با فرم نانوامولسیون، نتایج نشان داد که اسانس PCLO خالص اثرات بازدارندگی موثرتری بر سالمونلا و سودوموناس دارد لیکن در خصوص اشرشیا کلی این نانوامولسیون است که خاصیت مهاری بیشتری دارد. این نتیجه کاملاً با نتایج منتشر شده برخی از مطالعات مطابقت دارد که نشان داده اند خواص ضد میکروبی EOs لزوماً با تبدیل به شکل امولسیونی یا نانوامولسیونی افزایش نمی یابد (Doghish et al., 2023; Yazgan, 2020). در این رابطه دوگیش و همکاران نشان دادند که نانوامولسیون *Thymus Vulgaris* در مقایسه با فرم خالص آن دارای اثرضدقارچی ضعیف تری علیه *Candida albicans* است (Doghish et al., 2023). در مقابل، برخی از مطالعات افزایش اثرات ضد باکتریایی EOs امولسیون شده را در مقایسه با شکل خالص آنها گزارش کرده‌اند (Ghaderi et al., 2017; Padrilah et al., 2024; Pandey et al., 2024). برای نمونه وایفو چو و همکاران نشان دادند که نانوامولسیون‌های اسانس مریم گلی نسبت به فرم خالص آن، اثر ضد باکتریایی قدرتمندتری علیه میکروارگانیسم‌های فاسدکننده غذا یا پاتوژن‌هایی همچون مانند *Salmonella Paratyphi* A، *Enterococcus faecalis* و *S. aureus* دارا می‌باشند (Chu et al., 2020). همچنین شهاب الدین و همکاران نشان دادند که نانوامولسیون روغن میخک در مقایسه با فرم خالص آن دارای خواص ضدباکتریایی بیشتری در برابر *Bacillus cereus*، *Klebsiella oxytoca*، *S. aureus* و *E. coli* است (Shehabeldine et al., 2023). دوگیش و همکاران خاصیت ضدقارچی قوی‌تر نانوامولسیون *Thymus Vulgaris* در مقایسه با فرم خالص آن را علیه *Aspergillus brasiliensis* و *A. fumigatus* گزارش کردند (Doghish et al., 2023). چنین مطالعاتی نشان دهنده برتری نانوامولسیون‌ها در مقایسه با فرم خالص اسانس‌ها و عصاره‌های طبیعی است که می‌تواند علیه گروه های مختلف میکروارگانیسم‌ها بکار گرفته شود.

جدول ۲- نتایج آزمایش انتشار چاهک آگار با استفاده از اسانس میخک، نانوامولسیون مربوطه و شاهد.

Table 2. Agar well diffusion test results using clove essential oil, related nanoemulsion and control.

باکتری	اسانس (۳۰ میکرولیتر)	محلول نانو (۳۰ میکرولیتر)	آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین (۳۰ میکرولیتر)	آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (۳۰ میکرولیتر)
E.coli	۱۵±۰/۳	۱۸±۱	۱۲±۰/۴	۰
S.aureus	۲۰±۰/۴	۱۵±۰/۳	۳۰±۰/۷	۲۲±۰/۴
S. typhimurium	۱۵±۰/۴	۱۰±۰/۸	۲۵±۰/۴	۱۰±۰/۴

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

تعیین غلظت MIC و MBC

نتایج درصد مهاری خواص ضد باکتریایی میخک خالص و محلول نانو امولسیون آن تهیه شده با روش میکرودیلوشن علیه باکتری هدف در شکل‌های ۴ تا ۶ نشان داده شده است.

محلول‌های آزمایش شده در غلظت‌های فزاینده به طور قابل‌توجهی مقادیر OD باکتری را در مقایسه با شاهد در طول زمان انکوباسیون کاهش دادند ($p < ۰/۰۵$). فعالیت ضدباکتریایی با افزایش غلظت PCLO و NCLO از ۱۲۵ به ۴۰۰۰ پی پی ام افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). نتایج نشان دادند که چاهک‌های حاوی PCLO و NCLO دارای عملکردی متفاوت هستند. در غلظت‌های پایین معمولا نانوامولسیون ها فعالیت قدرتمندتری از اسانس خالص داشتند لیکن با افزایش غلظت این عصاره های خالص بودند که خاصیت ضدمیکروبی قدرتمندتری داشته اند. شاید یکی از دلایل این است که غلظت های بالاتر NCLO موجب تجمع و ادغام ذرات می شود به نحوی که به صورت ذرات میکرو عمل می کنند.

محیط کشت سوسپانسیون باکتریایی و اسانس خالص با غلظت‌های ≥ ۱۰۰۰ppm پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون کدر شدند که نشان دهنده رشد باکتری است. در حالی که محیط کشت با سوسپانسیون باکتریایی و رقت ≤۱۰۰۰ ppm برای PCLO و ≤ ۲۰۰ ppm برای NCLO کاملاً شفاف بود که نشان دهنده مهار رشد باکتری است. بر این اساس غلظت MIC و MBC برای باکتری‌های مورد آزمایش تعیین شدند که در جدول ۳ آمده است. مقادیر MIC و MBC برای PCLO و NCLO در برابر سالمونلا و استاف به ترتیب ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm به دست آمد. نتایج به دست آمده نشان دادند که MIC باکتری اشرشیا کلی در حضور PCLO حدود۱۰۰۰ ppm بود، در حالی که این مقدار برای NCLO به ۲۰۰۰ ppm افزایش یافت نتیجه پیشنهاد کرد که PCLO ۲ برابر بیشتر از NCLO اثر ضد باکتریایی دارد، که نشان می‌دهد تبدیل این EO به فرم نانوامولسیونی تا حد زیادی فعالیت باکتری‌کشی آن را کاهش می‌دهد. این نتایج کاملاً مطابق با سایر مطالعات اخیر است که نشان می‌دهد تبدیل EOs به اشکال نانوامولسیونی، فعالیت ضد باکتریایی آنها را کاهش می‌دهد (Xue et al., 2015; Yazgan, 2020). البته این نتایج با برخی از یافته‌ها تفاوت دارد از جمله Shehabeldine و همکاران که نشان دادند که نانوامولسیون روغن میخک در مقایسه با فرم خالص آن دارای کمترین مقادیر MIC و MBC در برابر *B. cereus*، *K. oxytoca*، *S. aureus* و *E. coli* است (Shehabeldine et al., 2023).

یکی از مطالعات قبلی توسط شارما و همکاران (Sharma et al., 2022) نشان داد که باکتری های گرم منفی مانند *E. coli* نسبت به باکتری های گرم مثبت نسبت به نانوامولسیون آسیب پذیرتر هستند که با نتایج ما کاملاً مطابقت دارد. یکی از دلایل احتمالی این است که دیواره سلول‌های باکتریایی با توجه به گرم مثبت یا گرم منفی بودن آنها از نظر محتوایی متفاوت است. *E. coli* دارای یک غشای سلولی متمایز با یک شکاف پری پلاسمیک است که آن را نسبت به اثرات ضد میکروبی حساس‌تر می‌کند. همچنین، بهبود فراهمی زیستی در نانوامولسیون منجر به پراکندگی و انتشار همگن اسانس یا عصاره گیاهی می شود که برای سرکوب رشد باکتری کفایت می کند (Shehabeldine et al., 2023).

متفاوت بودن نتایج مطالعات مختلف را می توان به تفاوت در ترکیب EOs، فرمولاسیون امولسیون، قطر ذرات و نوع میکروارگانیسم آزمایش شده نسبت داد. یکی دیگر از دلایل این تفاوت ها وجود روغن حامل است که می تواند فعالیت ضد باکتریایی نانوامولسیون‌ها را با عمل به عنوان حلال برای EOs کاهش دهد، بنابراین مقدار EOs موجود برای تعامل با باکتری را کاهش می‌دهد (Yazgan, 2020).

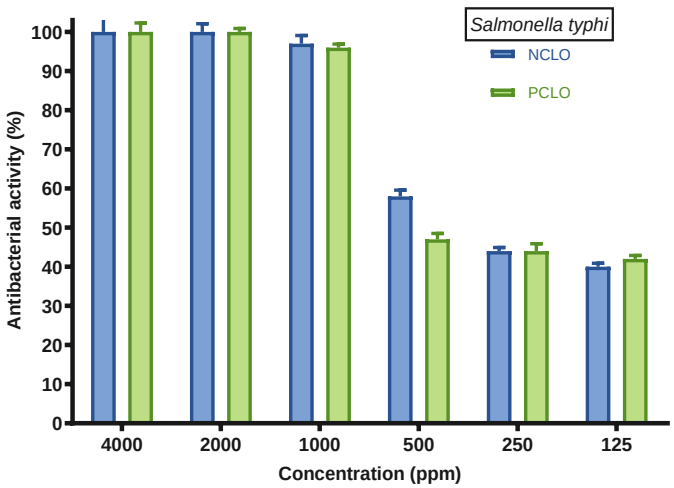
جدول ۳- نتایج **MIC** و **MBC** محلول اسانس میخک و نانوامولسیون مربوطه علیه سه باکتری

Table 3. MIC and MBC results of clove essential oil and corresponding nanoemulsion against three bacteria

تیمار	*S. typhi*		*E.coli*		*S.aureus*	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
PCLO	٪۱	٪۲	٪۱	٪۲	٪۱	٪۲
NCLO	٪۱	٪۲	٪۲	٪۲	٪۱	٪۲

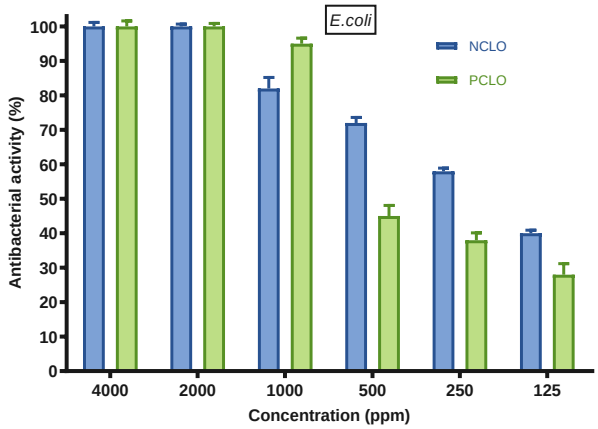
[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]



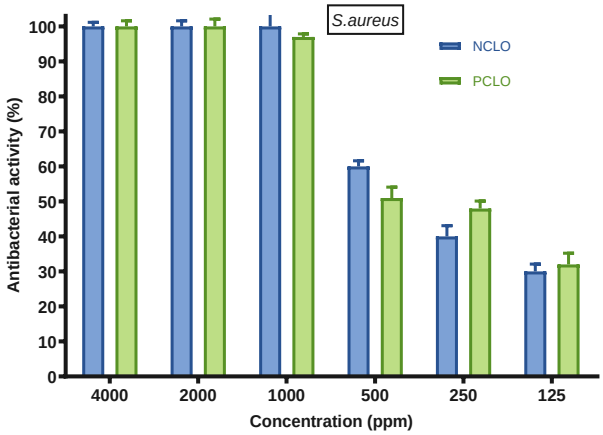
شکل ۴- نتایج درصد بازدارندگی مربوط به اسانس میخک و ترکیبات نانوامولسیونی آن بر روی باکتری *Salmonella typhi*.

Figure **4**. Results of inhibition percentage related to clove essential oil and its nanoemulsion compounds on *Salmonella typhi* bacteria.



شکل ۵- نتایج درصد بازدارندگی مربوط به اسانس میخک و ترکیبات نانوامولسیونی آن بر روی باکتری *E.coli*.

Figure **5**. Results of inhibition percentage related to clove essential oil and its nanoemulsion compounds on *E.coli*. bacteria.



شکل ۶- نتایج درصد بازدارندگی مربوط به اسانس میخک و ترکیبات نانوامولسیونی آن بر روی باکتری *S.aureus*.

Figure **6**. Results of inhibition percentage related to clove essential oil and its nanoemulsion compounds on *S.aureus*. bacteria.

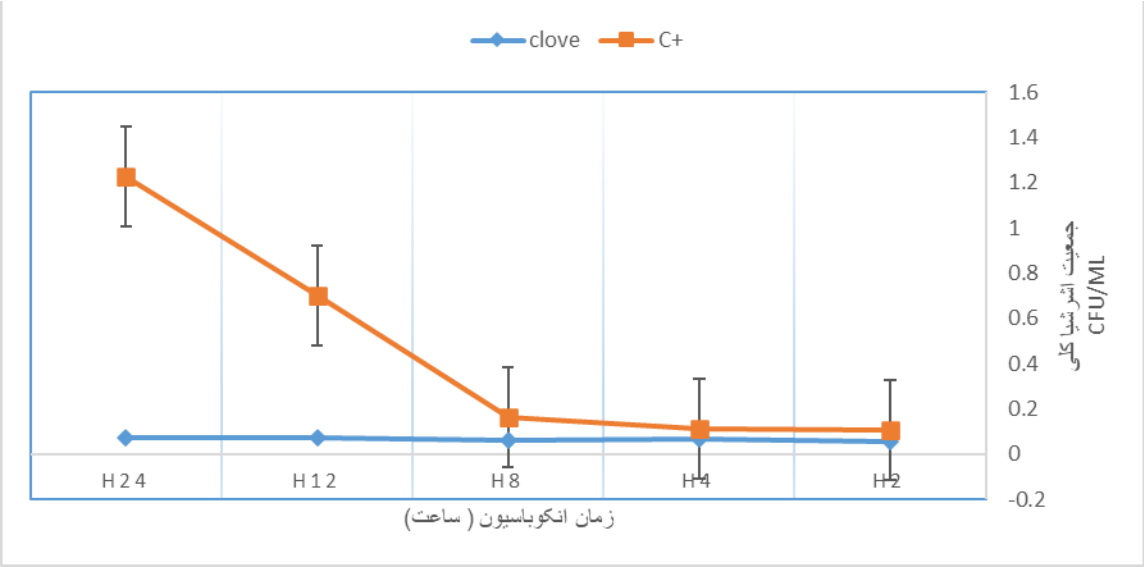
[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

سنجش سینتیک مرگ

شکل‌های شماره ۷--۹ تعداد باکتری‌های زنده باقی مانده حاصل از تأثیر رقت MIC ۲ محلول نانوامولسیون میخک را در مدت ۲۴ ساعت نسبت به گروه کنترل در محیط MHB براث نشان می‌دهد همان‌طور که دیده می‌شود در رقت۰/۰۰۰۱ کنترل رشد و یا توقف رشد باکتری بررسی شد.

یک سنجش سینتیک کشتار برای کشف مکانیسم احتمالی عمل و ایجاد تغییرات در زنده‌ماندن *S. typhimurium* پس از تعامل با رقت‌های مختلف نانوامولسیفای شده (NCLO) و مقدار MIC آن به مدت ۶۰ دقیقه استفاده شد. سینتیک تحقیقات کشتار تغییری را در زنده ماندن *S. typhimurium* پس از تعامل با NCLO در یک دوره کوتاه نشان داد. شکل ۷ سرعت کشتن *S. typhimurium* را نشان می‌دهد که در تیمار با رقت‌های مختلف NCLO مشاهده شده است. برای NCLO ۴۰ برابر رقیق شده (غلظت MIC)، کاهش سریع و گسترده‌ای در مقدار میکروارگانیسم‌های زنده در طول ۱۵ دقیقه اول وجود داشت، یعنی از حدود ۱۰۶ به ۱۰۲ CFU/mL. این نتیجه با گزارش قبلی مطابقت دارد که نشان می‌دهد نانوامولسیون‌ها می توانند باعث کاهش سریع سلول‌های باکتریایی زنده شوند (Zhang et al., 2009). کاهش CFU نیز پس از برهمکنش سایر رقت‌های NCLO مشاهده شد، اما این کاهش کمتر بود، یعنی از حدود ۱۰۶ به ۱۰۱,۵ (۱۰ برابر)، ۱۰۳,۶ (۱۰۰ برابر) و ۱۰۵,۲ (۱۰۰۰ برابر) CFU / میلی لیتر پس از ۶۰ دقیقه.

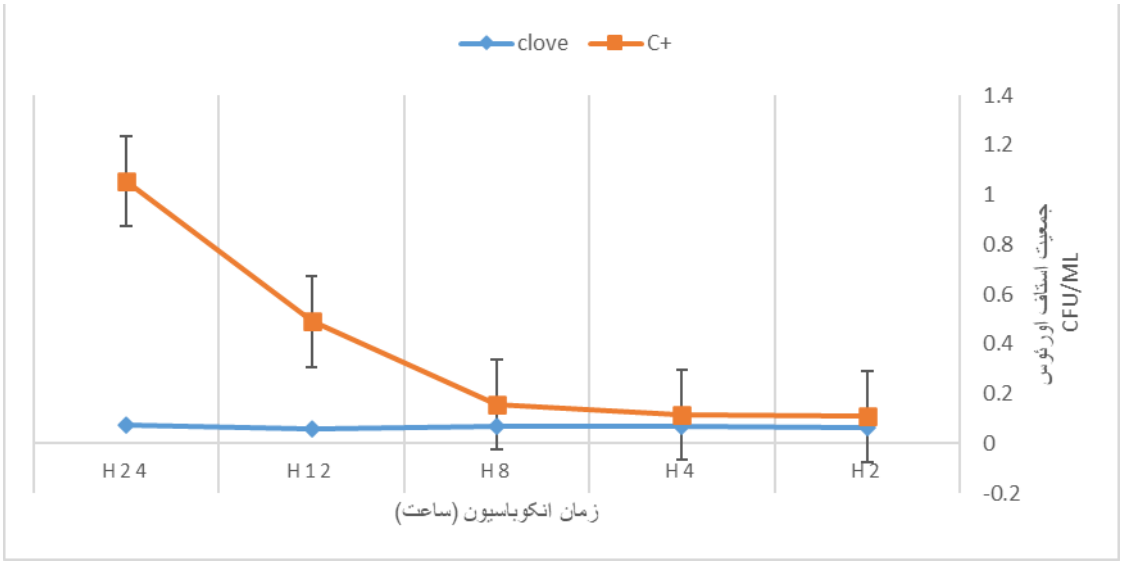


شکل ۷- منحنی مرگ رقت ۰/۰۰۰۱ باکتری اشرشیاکلی در محیط MHB براث در تیمار با نانوامولسیون میخک (clove). رشد باکتری به صورت کامل نسبت به نمودار شاهد متوقف شده (+c).

Figure 7. *Escherichia coli* 0.0001 dilution death curve in MHB broth medium in treatment with clove nanoemulsion. The growth of bacteria is completely stopped compared to the control chart.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]



شکل ۸- منحنی مرگ رقت ۰/۰۰۰۱ باکتری استاف اورئوس در محیط MHB براث در تیمار با نانوامولسیون میخک. رشد باکتری به صورت کامل نسبت به نمودار شاهد متوقف شده.

Figure 8. *S.aureus* 0.0001 dilution death curve in MHB broth medium in treatment with clove nanoemulsion. The growth of bacteria is completely stopped compared to the control chart.



شکل ۹- منحنی مرگ رقت ۰/۰۰۰۱ باکتری سالمونلاتیفی موریوم در محیط MHB براث در تیمار با نانوامولسیون میخک. رشد باکتری به صورت کامل نسبت به نمودار شاهد متوقف شده.

Figure 9. *Salmonella Typhimurium* 0.0001 dilution death curve in MHB broth medium in treatment with clove nanoemulsion. The growth of bacteria is completely stopped compared to the control chart.

نتیجه گیری

مطالعه تحقیقاتی ما خواص فیزیکی و ضدباکتریایی اسانس میخک و نانوامولسیون آن را ارزیابی کرد. فرمول بهینه‌سازی‌شده منجر به نانوامولسیونی شد که پایداری طولانی مدت آن بر اساس توزیع اندازه کوچک آن (شاخص چند پراکندگی <۰/۳)، اندازه قطرات کوچک (۱۲۱/۳۴ نانومتر)، و پتانسیل زتا قابل قبول (۷/۱۶ میلی‌ولت) در طول ۹۰ روز ذخیره‌سازی رضایت‌بخش بود. داده‌های به دست آمده نشان داد که نانوامولسیون میخک دارای

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

فعالیت ضدمیکروبی قابل قبولی است، اما غلظت‌های بالای آن دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی نمی‌باشد. فعالیت ضدباکتری و همچنین میزان بالای کشتار باکتریایی که در مطالعه حاضر تعیین شده است، توصیه می‌کند که نانوامولسیون‌های حاوی PCLO ترکیب ضدمیکروبی فوق‌العاده قدرتمندی هستند که ممکن است پتانسیل بالایی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در کاربردهای غذایی داشته باشند.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از داوران محترم مجله یافته‌های نوین در علوم زیستی برای ارائه پیشنهادهای سازنده تشکر می‌نمایند

References

Agarwal, H., Kumar, S.V., Rajeshkumar, S., 2017. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles–An eco-friendly approach. Resour. Technol. 3, 406–413.

Anton, N., Vandamme, T.F., 2009. The universality of low-energy nano-emulsification. Int. J. Pharm. 377, 142–147.

Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., Martín-Belloso, O., 2017. Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsion-based edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber. Food Control 76, 1–12.

Chu, Y., Gao, C., Liu, X., Zhang, N., Xu, T., Feng, X., Yang, Y., Shen, X., Tang, X., 2020. Improvement of storage quality of strawberries by pullulan coatings incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsion. Lwt 122, 109054.

Chuesiang, P., Siripatrawan, U., Sanguandeekul, R., McClements, D.J., McLandsborough, L., 2019a. Antimicrobial activity of PIT-fabricated cinnamon oil nanoemulsions: Effect of surfactant concentration on morphology of foodborne pathogens. Food Control 98, 405–411.

Chuesiang, P., Siripatrawan, U., Sanguandeekul, R., McLandsborough, L., McClements, D.J., 2018. Optimization of cinnamon oil nanoemulsions using phase inversion temperature method: Impact of oil phase composition and surfactant concentration. J. Colloid Interface Sci. 514, 208–216.

Chuesiang, P., Siripatrawan, U., Sanguandeekul, R., Yang, J.S., McClements, D.J., McLandsborough, L., 2019b. Antimicrobial activity and chemical stability of cinnamon oil in oil-in-water nanoemulsions fabricated using the phase inversion temperature method. LWT 110, 190–196.

CLSI, 2015. Approved Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. CLSI Doc. M07-A9.

Cortés-Rojas, D.F., de Souza, C.R.F., Oliveira, W.P., 2014. Clove (Syzygium aromaticum): a precious spice. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 4, 90–96.

Doghish, A.S., Shehabeldine, A.M., El-Mahdy, H.A., Hassanin, M.M.H., Al-Askar, A.A., Marey, S.A., AbdElgawad, H., Hashem, A.H., 2023. Thymus vulgaris oil nanoemulsion: synthesis, characterization, antimicrobial and anticancer activities. Molecules 28, 6910.

Ghaderi, L., Moghimi, R., Aliahmadi, A., McClements, D.J., Rafati, H., 2017. Development of antimicrobial nanoemulsion- based delivery systems against selected pathogenic bacteria using a thymol- rich Thymus daenensis essential oil. J. Appl. Microbiol. 123, 832–840.

Lu, W.-C., Huang, D.-W., Wang, C.-C., Yeh, C.-H., Tsai, J.-C., Huang, Y.-T., Li, P.-H., 2018. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. J. food drug Anal. 26, 82–89.

Mazarei, Z., Rafati, H., 2019. Nanoemulsification of Satureja khuzestanica essential oil and pure carvacrol; comparison of physicochemical properties and antimicrobial activity against food pathogens. LWT 100, 328–334.

McClements, D.J., Jafari, S.M., 2018. Improving emulsion formation, stability and

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

performance using mixed emulsifiers: A review. Adv. Colloid Interface Sci. 251, 55–79.

Mendes, J.F., Martins, H.H.A., Otoni, C.G., Santana, N.A., Silva, R.C.S., Da Silva, A.G., Silva, M. V, Correia, M.T.S., Machado, G., Pinheiro, A.C.M., 2018. Chemical composition and antibacterial activity of Eugenia brejoensis essential oil nanoemulsions against Pseudomonas fluorescens. LWT 93, 659–664.

Moghimi, R., Aliahmadi, A., Rafati, H., Abtahi, H.R., Amini, S., Feizabadi, M.M., 2018. Antibacterial and anti-biofilm activity of nanoemulsion of Thymus daenensis oil against multi-drug resistant Acinetobacter baumannii. J. Mol. Liq. 265, 765–770.

Mohammadi, A., Hashemi, M., Hosseini, S.M.S.M., 2016. Postharvest treatment of nanochitosan-based coating loaded with Zataria multiflora essential oil improves antioxidant activity and extends shelf-life of cucumber. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 33, 580–588. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.015

Mohammadi, A., Hosseini, S.M.S.M., Hashemi, M., 2020. Emerging chitosan nanoparticles loading-system boosted the antibacterial activity of Cinnamomum zeylanicum essential oil. Ind. Crops Prod. 155. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112824

Padrilah, S.N., Samsudin, N.I.P., Shukor, M.Y.A., Masdor, N.A., 2024. Nanoemulsion strategies in controlling fungal contamination and toxin production on grain corn using essential oils. Green Chem. Lett. Rev. 17, 2315138.

Pandey, V.K., Srivastava, S., Dash, K.K., Singh, R., Dar, A.H., Singh, T., Farooqui, A., Shaikh, A.M., Kovacs, B., 2024. Bioactive properties of clove (Syzygium aromaticum) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review. Heliyon.

Shahabi, N., Tajik, H., Moradi, M., Forough, M., Ezati, P., 2017. Physical, antimicrobial and antibiofilm properties of Zataria multiflora Boiss essential oil nanoemulsion. Int. J. food Sci. Technol. 52, 1645–1652.

Sharma, M., Mann, B., Pothuraju, R., Sharma, R., Kumar, R., 2022. Physico-chemical characterization of ultrasound assisted clove oil-loaded nanoemulsion: As enhanced antimicrobial potential. Biotechnol. Reports 34, e00720.

Shehabeldine, A.M., Doghish, A.S., El-Dakroury, W.A., Hassanin, M.M.H., Al-Askar, A.A., AbdElgawad, H., Hashem, A.H., 2023. Antimicrobial, antibiofilm, and anticancer activities of syzygium aromaticum essential oil nanoemulsion. Molecules 28, 5812.

Vosoughian, N., Asadbeygi, M., Mohammadi, A., Soudi, M.R., 2023. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using novel bacterium strain (Bacillus subtilis NH1-8) and their in vitro antibacterial and antibiofilm activities against Salmonella typhimurium. Microb. Pathog. 106457. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106457

Wang, L., Dong, J., Chen, J., Eastoe, J., Li, X., 2009. Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. J. Colloid Interface Sci. 330, 443–448.

Xue, J., Davidson, P.M., Zhong, Q., 2015. Antimicrobial activity of thyme oil co-nanoemulsified with sodium caseinate and lecithin. Int. J. Food Microbiol. 210, 1–8.

Yazdi, M.K., Haniloo, A., Ghaffari, A., Torabi, N., 2020. Antiparasitic effects of Zataria multiflora essential oil nano-emulsion on larval stages of Echinococcus granulosus. J. Parasit. Dis. 1–7.

Yazgan, H., 2020. Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. LWT 130, 109669.

Yazgan, H., Ozogul, Y., Kuley, E., 2019. Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. Int. J. Food Microbiol. 306, 108266.

Zhang, H., Shen, Y., Weng, P., Zhao, G., Feng, F., Zheng, X., 2009. Antimicrobial activity of a food-grade fully dilutable microemulsion against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Int. J. Food Microbiol. 135, 211–215.

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]

*****

How to cite this article:

Asgari.B, Mohammadi.A, Attaran.B, 2024**.** Nanoemulsification of Syzygium aromaticum essential oil; Preparation, optimization, and study of its antibacterial activity against some gastrointestinal poisoning bacteria . Nova Biologica Reperta 11: 33-47. (In Persian).

عسکری. ب.، محمدی. الف ، عطاران.ب، ۱۴۰۳. نانوامولسیفیکاسیون اسانس Syzygium aromaticum; تهیه، بهینه سازی و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آن در برابر برخی از باکتری های دستگاه گوارش، یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱: ۳۳-۴۷

[Downloaded from ndea10.khu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.61186/nbr.11.1.33]