مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال پانزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، صفحات ۱۳۰-۱۲۱

تولید نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*) و بررسی اثر عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر ویژگی‌های میکروبی کالباس طی دوره نگهداری

محبوبه سرابی جماب[۱]، منا کاوه[۲]، معصومه مدرس[۳]، آرام بستان[۴]

۱- نویسنده مسئول: دانشیار، گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران. پست الکترونیکی: m.sarabi@rifst.ac.ir
۲- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فرآوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران
۳- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فرهنگیان، مشهد، ایران
۴- استادیار، گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۲

چکیده

سابقه و هدف: تحقیقات نشان داده‌اند که تبدیل ترکیبات زیست‌فعال به مقیاس نانو، به دلیل کاهش اندازه و افزایش سطح، اثرگذاری آن‌ها را افزایش خواهد داد؛ بنابراین در صورت استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی در مقیاس نانوذرات، می‌توان غلظت مصرفی مورد نیاز را کاهش داد. گیاه نوروزک با داشتن متابولیت‌های ثانویه با ارزش نظیر فلاونوئیدها و آلکالوئیدها از خاصیت ضدمیکروبی بالایی برخوردار می‌باشد. در تحقیق حاضر، ضمن بررسی امکان تولید نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک، اثر ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر نمونه‌های کالباس بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: به منظور تهیه نانوعصاره، از روش تولید امولسیون نانوکپسول‌های آلژینات کلسیم حاوی عصاره استفاده گردید. نسبت عصاره (با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به آلژینات سدیم، ۱ به ۴ بود. تولید نانوکپسول حاوی عصاره با افزودن نانوذرات کلریدکلسیم به نانوامولسیون آلژینات حاوی عصاره در سه نسبت ۱ به ۶؛ ۱ به ۹ و ۱ به ۱۲ و در طی مدت زمان ۳، ۴ و ۵ ساعت صورت گرفت. همچنین؛ جهت بررسی قدرت ضدمیکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره، ویژگی‌های میکروبی نمونه‌های کالباس در مدت زمان دو ماه نگهداری؛ ارزیابی شد.

یافته‌ها: در همه تیمارهای نانوکپسول، کارایی درون‌پوشانی و پتانسیل زتا بالا بود و بر اساس اندازه ذره و شاخص پراکندگی، نانوکپسول تولیدی با نسبت آلژینات به کلریدکلسیم ۶ به ۱و مدت زمان تشکیل ۴ ساعت، به عنوان بهترین تیمار انتخاب شد. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد که تنها در نمونه فاقد نگهدارنده در پایان ماه دوم، مقدار شمارش‌کلی از حد مجاز استاندارد فراتر رفت. پس از ۲ ماه نگهداری کم‌ترین میزان کپک و مخمر در نمونه کالباس دارای نانوکپسول حاوی عصاره محاسبه گردید. هیچ‌کدام از نمونه‌های کالباس در طی مدت ماندگاری، آلوده به *اشریشیا کلی*، سالمونلا، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت و *کلستریدیوم پرفرنژنس* نبودند؛ این درحالی است که افزودن عصاره یا نانوکپسول حاوی عصاره و حتی نیتریت به نمونه‌ها نتوانست مانع رشد کلی‌فرم‌ها شود.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان داد با استفاده از عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات ضدمیکروبی نظیر عصاره برگ گیاه نوروزک، به‌ویژه در ابعاد نانو و در مقادیر مناسب، به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی، تولید محصول غذایی سالم‌تر و با زمان ماندگاری بیشتر امکان‌پذیر خواهد بود.

واژگان کلیدی: عصاره برگ نوروزک، فعالیت ضد میکروبی، کالباس، نانوکپسول

• مقدمه

از دیرباز سلامت مواد غذایی از لحاظ میکروبی یکی از دغدغه‌های مهم مصرف‌کنندگان، تولیدکنندگان و سازمان‌های کنترل‌کننده بوده است. میکروارگانیسم‌های آلوده کننده مواد غذایی می‌توانند باعث ایجاد فساد، کاهش عمر نگهداری و از بین رفتن خواص ارگانولپتیکی ماده غذایی شده و حتی می‌تواند منجر به بیماری فرد گردند. عمر انبارداری کوتاه

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

محصولات پروتئینی یکی از مشکلات نگهداری این محصول می‌باشد. گوشت و محصولات گوشتی به دلیل غنی بودن مواد مغذی بسیار مستعد به فساد میکروبی می‌باشد. هرچند فرآوری محصولات گوشتی سبب افزایش عمر انبارمانی و مقاومت آن به میکروارگانیسم‌های عامل فساد می‌شود؛ محصولات را همچنان مستعد آلودگی به میکروارگانیسم‌ها و به تبع آن ایجاد مسمومیت‌های غذایی می‌نمایند؛ لذا بر مبنای استانداردهای فراورده‌های گوشتی، حداکثر مقدار مجازی برای مهم‌ترین گروه میکروارگانیسم‌های آلوده کننده این محصولات تعیین می‌گردد (۱).

از سویی دیگر، به دلیل آثار سوء نگهدارنده‌های سنتزی، تمایل به استفاده از آن‌ها در نگهداری مواد غذایی با چالش‌هایی روبرو است. با اینکه بسیاری از این نگهدارنده‌ها از سوی سازمان‌های مسئول مجوز استفاده در مواد خوراکی را دارند ولی بحث در مورد عوارض جانبی آن‌ها هنوز مطرح می‌باشد. از این‌رو؛ انتخاب جایگزین مناسب و طبیعی برای این نگهدارنده‌ها احساس می‌شود (۴-۲).

Salvia leriifolia که در ایران به نام نوروزک معروف است، گیاه بومی استان خراسان و بخشی از استان سمنان می‌باشد (۵). برگ گیاه نوروزک حاوی آلکالوئید، ساپونین، فلاونوئید و تانن است (۶). هرچند تحقیقات محدودی در خصوص بررسی اثر ضدمیکروبی اندام‌های مختلف گیاه نوروزک بر میکروارگانیسم‌ها انجام شده، نتایج آن‌ها، حاکی از اثرات ضد میکروبی مؤثر گیاه نوروزک می‌باشد. در تحقیقی اثر عصاره برگ گیاه نوروزک بر مهار باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس باسیلوس سابتیلیس، اشریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا* و *کاندیدا آلبیکنس* بررسی گردید؛ نتایج نشان داد هرچند عصاره برگ بر تمامی میکروارگانیسم‌های مورد اشاره اثر ضدمیکروبی داشت، تأثیر آن بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بیشتر بود (۷). امروزه تکنولوژی نانو در تولید غذاداروها و غذاهای عملگرا به منظور بهبود عملکرد ترکیبات زیست فعال کاربرد گسترده‌ای یافته است؛ چرا که علاوه بر حفاظت بیش‌تر از آن ها، به دلیل کاهش اندازه و افزایش سطح، اثرگذاری این‌گونه ترکیبات افزایش خواهد یافت (۲).

با توجه به توضیحات فوق، در تحقیق حاضر برای نخستین بار ضمن تولید نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک، اثرات ضدمیکروبی عصاره مستخرج و نانوکپسول‌های حاوی عصاره بر ماندگاری فرآورده گوشتی کالباس ارزیابی گردیده است.

• مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه‌ها: برگ گیاه نوروزک از ارتفاعات اطراف مشهد جمع‌آوری گردید و سپس در دمای اتاق و به دور از تابش مستقیم آفتاب خشک شد. برگ‌های خشک‌شده با آسیاب خرد و برای به دست آوردن پودر یکنواخت از الکی با اندازه حفرات ۵۰۰ میکرومتر (مش ۳۵) عبور داده شد. رطوبت اولیه نمونه با استفاده از آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت طبق استاندارد AOAC اندازه‌گیری شد (۸). رطوبت اولیه نمونه‌ها ۰/۰۵±۹/۹۴درصد بر پایه وزن خشک به‌دست آمد.

تهیه عصاره برگ گیاه نوروزک: جهت تهیه عصاره برگ گیاه نوروزک از استخراج به روش سیال فوق داغ (دمای استخراج ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲۰ دقیقه و نسبت حلال آب به اتانول ۸۰ به ۲۰) استفاده شد. ابتدا ۵ گرم پودر برگ نوروزک در ۵۰ میلی‌لیتر از حلال به طور کامل به صورت سوسپانسیون درآمده و سپس درون سل دستگاه ریخته شد. بعد از رسیدن به دمای مورد نظر، به مدت ۲۰ دقیقه درون دستگاه قرار گرفت. عصاره به دست آمده بعد از عبور از صافی پارچه‌ای، با سرعت۳۰۰۰ واحد گرانش به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و در آون تحت خلا در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و خلاء ۰/۸ بار در مدت زمان حدود ۵ ساعت خشک شد. عصاره خشک شده تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۹، ۳).

تولید نانوکپسول‌های حاوی عصاره

الف- تهیه نانوذرات کلرید کلسیم: به منظور تولید ژل آلژینات کلسیم حاوی عصاره به روش امولسیون آب در روغن، ضروری است ابتدا ذرات کلرید کلسیم که برای تشکیل ژل مورد استفاده قرار می‌گیرد به ابعاد نانو تبدیل گردد؛ لذا به منظور تولید نانوذرات کلرید کلسیم، ۳۰ درصد از محلول ۰/۱مولار کلرید کلسیم در الکل خالص به روغن حاوی ۶ درصد وزنی/وزنی سورفاکتانت (توئین ۸۰) اضافه شد. مخلوط حاصله به مدت ۲ دقیقه صوت‌دهی شد و سپس برای تبخیر اتانول، به مدت یک شب در آون تحت خلاء ۴۰ درجه سانتی-گراد نگهداری شد. بعد از تبخیر کامل اتانول، قبل از استفاده در دمای اتاق سرد شد. در انتها با استفاده از دستگاه پراش دینامیکی نور ، اندازه ذرات کلرید کلسیم بررسی و پس از تأیید اندازه ذرات در ابعاد نانو، برای تشکیل ژل استفاده گردید (۱۰، ۱۱).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

ب- تهیه نانوذرات آلژینات‌کلسیم حاوی عصاره: برای پوشش‌دهی عصاره با نانو آلژینات‌کلسیم از روش امولسیون آب در روغن و تشکیل ژل آلژینات‌کلسیم استفاده شد. بدین منظور، محلول آلژینات‌سدیم ۲ درصد وزنی/حجمی، از حل کردن آلژینات‌سدیم در آب یون‌زدایی شده به‌دست آمد. بعد از حل شدن کامل آلژینات‌سدیم، با عصاره با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مخلوط شد. نسبت عصاره به آلژینات سدیم، ۱ به ۴ بود که بر اساس بررسی منابع و انجام یکسری پیش‌آزمون به‌دست آمد. سپس فاز آبی تهیه شده قطره قطره به فاز روغنی حاوی ۶ درصد وزنی/وزنی سورفاکتانت، روی همزن مغناطیسی با سرعت ۱۰ واحد گرانش، افزوده شد. نسبت فاز آبی به روغنی ۱۰ به ۹۰ بود. پس از تشکیل امولسیون، از هموژنایزر با سرعت ۱۵۰۰۰ واحد گرانش برای تولید نانوامولسیون آلژینات سدیم حاوی عصاره استفاده شد (۱۳، ۱۲). به منظور تشکیل ژل آلژینات‌کلسیم در ابعاد نانو، نانوذرات کلریدکلسیم در روغن حاوی ۶ درصد وزنی/وزنی سورفاکتانت قطره قطره به نانوامولسیون افزوده شد. نسبت نانوامولسیون به نانو ذرات کلرید کلسیم، ۶ به ۱؛ ۹ به ۱ و ۱۲ به ۱ انتخاب گردید. سیستم نهایی تهیه شده در سه زمان مختلف (۳، ۴ و ۵ ساعت)، روی همزن مغناطیسی با سرعت کم جهت تشکیل ذرات قرار گرفت. در انتها جهت جداسازی نانوکپسول‌های آلژینات کلسیم حاوی عصاره از سانتریفوژ با سرعت ۴۰۰۰ واحد گرانش به مدت ۵ دقیقه استفاده شد. برای حذف کامل روغن چندین بار شستشو با استون انجام شد (۱۳، ۱۱، ۱۰).

تعیین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی اندازه ذرات و پتانسیل زتا : اندازه ذرات بر اساس میانگین قطرحجمی کپسول‌ها، شاخص پراکندگی اندازه ذرات و پتانسیل زتا بر اساس بار الکتریکی سطحی ذره در دمای اتاق با دستگاه پراش دینامیکی نور (Malvern, ZEN3600, UK) اندازه‌گیری شد.

کارایی درون‌پوشانی: برای به‌دست آوردن کارایی درون پوشانی، میزان ترکیبات فنولی عصاره قبل از افزودن به امولسیون (A) اندازه‌گیری شد. همچنین پس از تهیه نانوکپسول حاوی عصاره پوشش داده شده با آلژینات و سانتریفیوژ کردن، میزان ترکیبات فنولی در سوپرناتانت (B) اندازه‌گیری و از میزان کل ترکیبات فنولی عصاره کم شد. با تقسیم عدد به دست آمده (C) بر میزان کل ترکیبات فنولی عصاره (A) کارایی درون‌پوشانی مطابق رابطه ۱ محاسبه و به صورت درصد بیان گردید (۱۴).

رابطه (۱) کارایی درون‌پوشانی = C / A ×100

اندازه‌گیری محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو و بر اساس از روش پیشنهادی Singleton و همکاران (۱۹۹۹) با کمی تغییرات انجام شد و در نهایت نتایج بر اساس منحنی استاندارد اسیدگالیک و بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم عصاره بیان شد (۱۵). معادله این نمودار خطی به صورت ذیل به دست آمد:

رابطه (۲) $y = ۰/۰۷۳۹ x + ۰/۰۱۹ \quad (R^2 = ۰/۹۹۵۲)$

که در آن y میزان جذب و x مقدار ترکیبات فنولی بر اساس معادل اسیدگالیک است. جذب‌های خوانده شده از هر نمونه در این فرمول جاگذاری شد و مقدار x بدست آمد.

بررسی ریخت‌شناسی نانوکپسول حاوی عصاره با میکروسکوپ الکترونی روبشی: استاپ نمونه منتخب، پس از آماده‌سازی و پوشش با لایه نازکی از طلا به اتاقک نمونه تحت خلا منتقل و خشک شد. سپس تصویر به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی به دست آمد.

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر کالباس: اثر عصاره و نانوکپسول‌های حاوی عصاره بر ماندگاری کالباس مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای مورد بررسی در این مرحله شامل نمونه‌های کنترل (کالباس بدون عصاره برگ گیاه نوروزک و کالباس دارای نیتریت به میزان ۰/۰۱ گرم در ۱۰۰ گرم محصول) و کالباس دارای عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک به میزان ۰/۵ گرم در هر ۱۰۰ گرم محصول بود. لازم به ذکر است؛ در این آزمون از میزان یکسانی از عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره استفاده شد؛ این درحالی است که با توجه به محاسبات انجام شده میزان عصاره موجود در نانوکپسول، در حدود یک پنجم میزان عصاره به همان میزان وزنی بود.

جهت تهیه نمونه‌های کالباس در یک کارخانه صنعتی و تحت شراط استاندارد، از مایه کالباس تهیه شده در کارخانه استفاده شد. سپس نمونه‌های کالباس با قطر ۴۵ میلی‌متر، به مدت ۴۵ دقیقه حرارت دیدند؛ به‌طوری که دمای پخت در مرکز محصول ۸۰ درجه سانتی‌گراد بود؛ در نهایت تحت شرایط بهداشتی تا انجام آزمایشات در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تیمارهای تهیه شده در مدت ۲ ماه در بازه‌های زمانی ۱۵ روزه تحت آزمایشات میکروبی بر اساس روش استاندارد ملی ایران برای سوسیس و کالباس قرار گرفت (۱).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

جداسازی و شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها، کپک و مخمر، کلی‌فرم‌ها، *اشریشیا کلی*، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، سالمونلا و *کلستریدیوم پرفرنژنس* به ترتیب مطابق استانداردهای شماره ۱-۵۲۷۲ و ۲-۵۲۷۲ ، ۱-۱۰۸۹۹ ، ۹۲۶۳ ، ۲۹۴۶ ، ۱-۶۸۰۶ ، ۱۸۱۰ و ۲۱۹۷ انجام شد (۲۳-۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری: در مرحله تولید نانوکپسول حاوی عصاره اثر متغیرهای مورد آزمون (نسبت آلژینات حاوی عصاره به کلرید کلسیم در سه سطح ۶ به ۱، ۹ به ۱ و ۱۲ به ۱و زمان تشکیل نانوکپسول‌ها در سه سطح ۳، ۴ و ۵ ساعت) بر تولید ذرات در مقیاس نانو، بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی بررسی گردید. ارزیابی خصوصیات میکروبی محصول گوشتی کالباس (حاوی عصاره، نانوعصاره، نیتریت و نمونه فاقد نگهدارنده) در طی زمان ماندگاری، با استفاده از روش اندازه-گیری‌های تکرار شده در زمان (Repeated Measures) صورت گرفت. همه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شده و نتایج به دست آمده با کمک نرم افزار Minitab و با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ($p<۰/۰۵$) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

• یافته‌ها

بررسی اندازه ذرات، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و کارایی ریزپوشانی نانوکپسول‌های حاوی عصاره: جدول ۱ ویژگی‌های نانوکپسول‌های آلژینات‌کلسیم حاوی عصاره را بعد از جداسازی از سیستم امولسیون نشان می‌دهد. بر این اساس، اندازه ذرات در تیمارهای مختلف بین ۴۵/۷ تا ۳۳۶/۶ نانومتر متغیر بود. کوچک‌ترین اندازه ذره در نسبت آلژینات به کلریدکلسیم ۶ به ۱ و بزرگ‌ترین ذره مربوط در نسبت آلژینات به کلرور کلسیم ۱۲ به ۱ به‌دست آمد. بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری ذرات نشان داد که با افزایش نسبت آلژینات به کلریدکلسیم، اندازه ذرات بزرگ‌تر شد.

بررسی شاخص پراکندگی ذرات نشان داد مدت زمان لازم برای تشکیل نانوکپسول‌های حاوی عصاره بر شاخص پراکندگی ذرات تأثیر معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۵$)؛ به‌طوری که بهترین زمان برای تشکیل نانوکپسول‌ها ۴ ساعت در مورد هر سه نسبت آلژینات به کلریدکلسیم به‌دست آمد.

طبق جدول ۱، پتانسیل زتا در تیمارهای مختلف بین ۱۴۲/۰ تا ۶۱۶/۶ میلی‌ولت به‌دست آمد که نشان‌دهنده پایداری فیزیکی مناسب در سیستم بود.

برای محاسبه کارایی درون‌پوشانی، از اندازه‌گیری ترکیبات فنولی عصاره قبل و بعد از درون‌پوشانی استفاده شد (۱۵). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، کارایی درون-پوشانی بین ۹۷/۷۸ تا ۹۹/۸۵ درصد به‌دست آمد و این نتایج نشان‌دهنده کارایی درون‌پوشانی بالا در روش تولید نانوکپسول بود.

با توجه به این موضوع که کارایی درون‌پوشانی همه نمونه‌ها بالا بوده، همچنین پتانسیل زتای کلیه نمونه‌ها مناسب بود، بر اساس اندازه ذره و نیز شاخص پراکندگی، تیماری که نسبت آلژینات به کلرید کلسیم در آن ۶ به ۱و مدت زمان تشکیل نانوکپسول حاوی عصاره، ۴ ساعت بود؛ به عنوان بهترین تیمار انتخاب شد.

جدول۱. اندازه ذره، پتانسیل زتا، نحوه پراکنش ذرات و کارایی ریز پوشانی* سوسپانسیون حاوی نانوکپسول‌های آلژینات کلسیم دارای عصاره

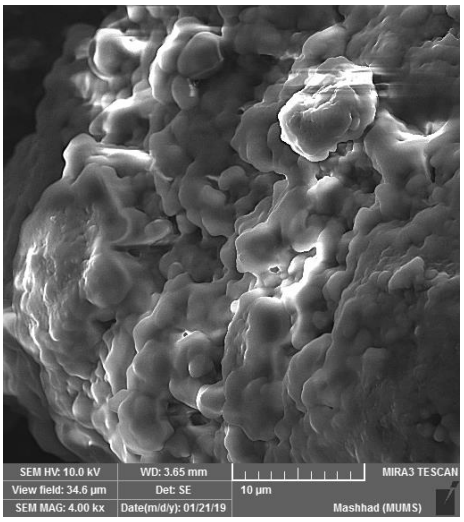
کارایی ریز پوشانی (درصد)	پتانسیل زتا (میلی ولت)	شاخص پراکنش ذرات	اندازه ذره (نانومتر)	زمان (ساعت)	آلژینات به کلرید کلسیم
۹۷/۷۸±۰/۱۹^{d**}	۴۵۲/۸±۹/۲^{c}	۰/۷۲۵±۰/۰۹^{b}	۱۹۴/۵±۱۰/۴^{e}	۳	۶ به ۱
۹۸/۹۳±۰/۲۲^{bc}	۱۴۲/۰±۰/۴^{h}	۰/۱۲۳±۰/۰۵^{h}	۴۵/۷±۲/۳^{g}	۴	۶ به ۱
۹۹/۵۳±۰/۴۱^{ab}	۶۱۶/۶±۵/۵^{a}	۰/۵۲۹±۰/۰۲^{d}	۲۰۰/۵±۷/۶^{d}	۵	۶ به ۱
۹۶/۶۶±۰/۱۸^{e}	۴۷۰/۸±۷/۵^{b}	۰/۴۰۲±۰/۰۲^{e}	۲۰۵/۱±۸/۱^{d}	۳	۹ به ۱
۹۸/۵۴±۰/۵۳^{c}	۱۵۵/۶±۰/۲^{g}	۰/۳۶۹±۰/۰۳^{f}	۱۷۷/۸±۱/۵^{f}	۴	۹ به ۱
۹۹/۲۷±۰/۱۱^{b}	۲۰۵/۱±۴/۴^{d}	۰/۶۸۲±۰/۰۲^{c}	۲۲۰/۷±۰/۶۰^{e}	۵	۹ به ۱
۹۹/۸۵±۰/۲۰^{a}	۳۶۹/۰±۲/۱^{d}	۰/۷۲۵±۰/۰۵^{b}	۲۴۴/۰±۵/۳^{b}	۳	۱۲ به ۱
۹۹/۹۴±۰/۳۲^{a}	۱۵۶/۶±۰/۳^{f}	۰/۱۳۴±۰/۰۱^{g}	۲۲۷/۸±۷/۲^{c}	۴	۱۲ به ۱
۹۹/۰۲±۰/۱۱^{b}	۲۰۵/۴۶±۶/۹^{e}	۰/۷۷۰±۰/۰۴^{a}	۳۳۶/۶±۱۱/۴^{a}	۵	۱۲ به ۱

*میانگین±انحراف معیار

** حروف غیرمشترک در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می باشد ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

بررسی ریخت‌شناسی نانوکپسول‌حاصل با استفاده از SEM: شکل ۱ تصویر میکروسکوپ الکترونیکی روبشی نمونه نانوکپسول منتخب محتوی عصاره برگ گیاه نوروزک تهیه شده را با بزرگنمایی ۴× نشان می‌دهد. همان‌طور که درتصویر قابل مشاهده است، شکل نانوکپسول‌های حاصل کروی بوده و متوسط اندازه ذرات نیز کمتر از ۲۰۰ نانومتر می‌باشد.



شکل۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نانوکپسول‌های حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک

بررسی خاصیت ضدمیکروبی نانوکپسول حاوی عصاره بررسی تأثیر تیمارها بر ویژگی‌های میکروبی کالباس در طی زمان ماندگاری: نتایج آماری شمارش‌کلی میکروارگانیسم‌ها (جدول ۲) نشان داد که در روز اول نگهداری، تنها در نمونه فاقد نگهدارنده، بار آلودگی میکروبی مشاهده شد. پس از آن با افزایش زمان ماندگاری در همه نمونه‌ها، به غیر از نمونه دارای نانوکپسول حاوی عصاره، بار میکروبی به‌طور معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد افزایش یافت. در خصوص نمونه دارای نانوکپسول، میزان بار میکروبی از روز ۱۵ تا روز ۶۰ روندی کاهشی را نشان داد؛ هرچند این میزان کاهش کمتر از یک سیکل لگاریتمی بود. این نتیجه را می‌توان به رهایش تدریجی ترکیبات ضدمیکروبی از نانوکپسول در طی مدت ماندگاری نسبت داد. با توجه به اینکه بر طبق استاندارد ملی ایران، حداکثر میزان قابل قبول شمارش کلی میکروبی برای نمونه‌های سوسیس و کالباس ۵ سیکل لگاریتمی در هر گرم نمونه تعیین گردیده است، نتایج حاکی از آن است که تنها در نمونه فاقد نگهدارنده در روز ۶۰، مقدار شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها از حد مجاز استاندارد فراتر رفته است و نمونه‌های حاوی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک به‌خوبی توانسته‌اند مانع افزایش بیش از حد بار آلودگی کلی میکروبی شوند. در این خصوص نمونه نانوکپسول محتوی عصاره، بهترین عملکرد را نشان داده است (۱).

نتایج بدست آمده از شمارش کپک‌ومخمر برای نمونه‌های کالباس (جدول ۳) نشان داد، همه نمونه‌ها در روز اول تولید فاقد آلودگی به کپک و مخمر بودند؛ این نتیجه تا پایان ماه اول نگهداری برای نمونه‌های حاوی عصاره و نانوکپسول عصاره و در خصوص نمونه حاوی نیتریت تا پایان روز ۱۵ ادامه یافت و پس از آن در همه نمونه‌ها رشد کپک‌ومخمر مشاهده گردید. پس از ۲ ماه نگهداری کم‌ترین میزان کپک‌ومخمر در نمونه دارای نانوکپسول حاوی عصاره (در حدود ۱ سیکل لگاریتمی) و بیش‌ترین میزان آلودگی به کپک و مخمر در نمونه فاقد نگهدارنده (در حدود ۳ سیکل لگاریتمی) بدست آمد. با توجه به اینکه بر اساس استاندارد ملی ایران، حداکثر حد قابل قبول کپک و مخمر در نمونه‌های سوسیس و کالباس، ۱۰۰ کلنی به ازای یک گرم نمونه است، می‌توان گفت که تنها در نمونه حاوی نانوکپسول، شمارش کپک و مخمر از حد استاندارد خارج نشده و در سایر نمونه‌ها، در پایان دوره نگهداری، این رقم بیش از حد استاندارد بود (۱).

جدول ۲. بررسی شمارش کلی میکروارگانیسم‌های (لگاریتم واحد تشکیل کلنی/گرم) نمونه‌های کالباس

زمان‌ماندگاری	نمونه حاوی عصاره	نمونه حاوی نانوکپسول عصاره	نمونه حاوی نیتریت	نمونه فاقد نگهدارنده
روز تولید	۰/۰۰ ± ۰/۰ ^{Ce**}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Ce}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Cc}	۳/۰۶ ± ۰/۰۴ ^{Ad}
روز ۱۵	۲/۰۰ ± ۰/۰۵ ^{Ad}	۲/۸۱ ± ۰/۰۴ ^{Ca}	۳/۰۱± ۰/۰۷ ^{Db}	۳/۰۴ ± ۰/۰۹ ^{Dd}
روز ۳۰	۲/۷۳ ± ۰/۰۲ ^{Dc}	۲/۶۹ ± ۰/۰۳ ^{Db}	۳/۰۰ ± ۰/۰۴ ^{Bb}	۳/۲۵ ± ۰/۰۵ ^{Ac}
روز ۴۵	۳/۰۴ ± ۰/۰۵ ^{Bb}	۲/۴۴ ± ۰/۰۷ ^{Cc}	۳/۰۹ ± ۰/۰۶ ^{Bb}	۳/۴۳ ± ۰/۰۴ ^{Ab}
روز ۶۰	۳/۶۳ ± ۰/۰۳ ^{Ca}	۲/۲۸ ± ۰/۰۴ ^{Dd}	۳/۷۹ ± ۰/۰۳ ^{Ba}	۵/۳۸ ± ۰/۰۲ ^{Aa}

*میانگین±انحراف معیار

**حروف غیرمشترک بزرگ نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ردیف، و حروف غیر مشترک کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

جدول۳. بررسی شمارش کپک و مخمر (لگاریتم واحد تشکیل کلنی/گرم) نمونه‌های کالباس

زمان ماندگاری	نمونه حاوی عصاره	نمونه حاوی نانوکپسول عصاره	نمونه حاوی نیتریت	نمونه فاقد نگهدارنده
روز تولید	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Ac**}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Ac}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Ac}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Ae}
روز ۱۵	۰/۰۰ ±۰ /۰۰ ^{Bc}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Bc}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Bc}	۲/۰۴ ± ۰/۰۹ ^{Ad}
روز ۳۰	۰/۰۰ ±۰/۰۰ ^{Cc}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Cc}	۱/۷۰ ± ۰/۰۷ ^{Bb}	۲/۶۹ ± ۰/۰۳ ^{Ac}
روز ۴۵	۱/۳۲ ± ۰/۰۲ ^{Db}	۱/۶۱ ± ۰/۰۲ ^{Ca}	۱/۷۹ ± ۰/۰۲ ^{Bb}	۲/۸۳ ± ۰/۰۲ ^{Ab}
روز ۶۰	۲/۰۰ ± ۰/۰۷ ^{Ba}	۱/۰۵ ± ۰/۰۵ ^{Cb}	۲/۰۰ ± ۰/۰۸ ^{Ba}	۳/۰۹ ± ۰/۰۶ ^{Aa}

*میانگین±انحراف معیار

**حروف غیرمشترک بزرگ نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ردیف، و حروف غیر مشترک کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود در روز تولید، در نمونه‌های حاوی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره، کلی‌فرم مشاهده نگردید ولی در نمونه دارای نیتریت و نمونه فاقد نگهدارنده بیش از ۲ سیکل لگاریتمی آلودگی به کلی‌فرم‌ها مشاهده شد. این درحالی است که از روز پانزدهم تا پایان دوره نگهداری در همه نمونه‌ها کلی‌فرم شناسایی گردید. هرچند در خصوص نمونه حاوی نانوکپسول عصاره در روز شصتم میزان کلی‌فرم‌ها کمتر از سایر نمونه‌ها بود؛ با توجه به آن‌که حداکثر میزان مجاز کلی‌فرم‌ها در محصول گوشتی کالباس ۱۰ کلنی به ازای هر گرم نمونه است، می‌توان نتیجه گرفت که افزودن عصاره یا نانوکپسول حاوی عصاره و حتی نیتریت به نمونه‌ها نتوانسته مانع رشد این میکروارگانیسم‌ها شود (۱).

بررسی نتایج حاصل ازشمارش *اشریشیا کلی*، سالمونلا، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت و *کلستریدیوم پرفرنژنس* نشان داد که هیچ‌کدام از نمونه‌های کالباس در طی مدت ماندگاری، آلوده به میکروارگانیسم‌های مذکور نبودند. با توجه به این‌که بر اساس ویژگی‌های میکروبیولوژیکی سوسیس و کالباس بر اساس استاندارد ملی، نباید به ترتیب در یک و ۲۵ گرم نمونه محصول، *اشریشیا کلی* و سالمونلا حضور داشته باشد؛ میزان قابل قبول استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت، کمتر از ۱۰ کلنی در هر گرم و حد قابل قبول *کلستریدیوم پرفرنژنس* حداکثر ۵۰ کلنی در هر گرم می‌باشد، همه نمونه‌های مورد آزمون، حتی نمونه فاقد هر گونه نگهدارنده، به لحاظ میکروارگانیسم‌های نامبرده در دوره نگهداری، مطابق یا بهتر از استانداردهای تعیین شده بودند (۱).

• بحث

یکی از اهداف تحقیق حاضر تولید نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک بود. در تولید نانوذرات بررسی ویژگی‌های آن نظیر اندازه نانوذرات، شاخص پراکندگی ذرات، پتانسیل زتا و نیز کارایی روش تولید نانوذرات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. همان‌طور که عنوان گردید بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری ذرات نشان داد که با افزایش نسبت آلژینات به کلریدکلسیم، اندازه ذرات بزرگ‌تر شد. عامل اصلی ایجاد ذرات آلژینات‌کلسیم، تمایل گروه‌های عاملی به‌ویژه گروه‌های کربوکسیل زنجیره‌های پلی‌مر آلژینات‌سدیم برای ایجاد پیوند با یون کلسیم و تشکیل ساختار کمپلکس با این یون می‌باشد. ذرات آلژینات‌کلسیم تشکیل شده، به دلیل ماهیت الکترواستاتیکی و پیوند یونی بسیار قوی، همواره به عنوان ذراتی با چسبندگی زیاد به یکدیگر شناخته می‌شوند. با افزایش غلظت یون کلسیم، مقدار کمتری از زنجیرهای پلی‌مری درگیر تعداد بیشتری از یون کلسیم می‌شوند. از این‌رو، اندازه نانوذرات کاهش می‌یابد (۲۴).

جدول۴. بررسی شمارش کلی‌فرم‌های (لگاریتم واحد تشکیل کلنی/گرم) نمونه‌های کالباس

زمان ماندگاری	نمونه حاوی عصاره	نمونه حاوی نانوکپسول عصاره	نمونه حاوی نیتریت	نمونه فاقد نگهدارنده
روز تولید	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Be**}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{Bd}	۲/۲۰ ± ۰/۰۴ ^{Ae}	۲/۲۰ ± ۰/۰۵ ^{Ae}
روز ۱۵	۱/۶۹ ± ۰/۰۸ ^{Cd}	۲/۴۳ ± ۰/۰۱ ^{Bc}	۲/۷۹ ± ۰/۰۸ ^{Ac}	۲/۹۱ ± ۰/۰۴ ^{Ad}
روز ۳۰	۲/۸۰ ± ۰/۰۶ ^{Bc}	۲/۷۷ ± ۰/۰۸ ^{Ba}	۲/۶۳ ± ۰/۰۳ ^{Cd}	۳/۴۷ ± ۰/۰۷ ^{Ac}
روز ۴۵	۳/۱۴ ± ۰/۰۶ ^{Bb}	۲/۶۱ ± ۰/۰۲ ^{Db}	۳/۰۰ ± ۰/۰۵ ^{Cb}	۳/۷۴ ± ۰/۰۱ ^{Ab}
روز ۶۰	۳/۴۶ ± ۰/۰۵ ^{Ba}	۲/۵۷ ± ۰/۰۵ ^{Db}	۳/۱۳ ± ۰/۰۳ ^{Ca}	۴/۱۷ ± ۰/۰۸ ^{Aa}

*میانگین±انحراف معیار

**حروف غیرمشترک بزرگ نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در هر ردیف، و حروف غیر مشترک کوچک بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

Deepa و همکاران (۲۰۱۲)، از آلژینات‌کلسیم برای ریزپوشانی عصاره گیاهی *Pyllanthus amarus* به روش نانوامولسیون استفاده کردند. کارایی ریزپوشانی و اندازه ذرات در نانوکپسول‌های نهایی به‌دست‌آمده به‌ترتیب ۸۹ درصد و ۲۱۳ نانومتر گزارش شد (۲۵).

علاوه بر اندازه ذرات، شاخص پراکندگی ذرات نیز از فاکتورهای مهم در بررسی کیفیت نانوذرات تولیدی است. کم‌ترین شاخص پراکندگی ذرات در تحقیق حاضر نسبت آلژینات سدیم به کلرید سدیم ۶ به ۱ بدست آمد. Daemi و همکاران (۲۰۱۲)، نشان دادند که با افزایش غلظت یون کلسیم در محلول آلژینات‌سدیم، اندازه و پراکنش نانوذرات به‌طور چشمگیری بهبود یافت. این محققان علت این پدیده را کم بودن یون کلسیم نسبت به آلژینات در محیط توجیه نمودند؛ چراکه باعث می‌گردد تعداد زنجیرهای پلی‌مری آلژینات‌سدیم در اطراف یون کلسیم افزایش یابد که نتیجه نهایی آن، افزایش متوسط ابعاد ذرات آلژینات‌کلسیم و شاخص پراکندگی ذرات می‌باشد (۲۴).

در یک سیستم کلوئیدی، اختلاف پتانسیل بین لایه یونی غیرمتحرک و لایه متحرک (لایه انتشار) در اتمسفر یونی اطراف ذرات باردار، پتانسیل زتا نامیده می‌شود (۲۶). پتانسیل زتا بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطح ذرات است؛ زیرا نشان‌دهنده میزان تجمع بار در لایه غیر متحرک و شدت جذب یون‌های مخالف روی سطح ذره است. بالا بودن پتانسیل زتای ذرات موجب بالا رفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و در نتیجه افزایش پایداری فیزیکی سیستم می‌شود (۲۵). با توجه به آن‌که در تمام تیمارهای اعمال شده در این پژوهش پتانسیل زتا مقادیر مثبت و بالا بدست آمد، نتایج تحقیق نشان‌دهنده پایداری مناسب نانوذرات تولیدی به لحاظ فیزیکی بود.

Natrajan و همکاران (۲۰۱۵)، استفاده از پلیمرهای آلژینات و کیتوزان را جهت تولید نانوکپسول‌هایی به منظور حفاظت از اسانس‌های روغنی زردچوبه و لیمو مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آلژینات به همراه ۰/۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کیتوزان سبب تولید نانوکپسول‌هایی با اندازه ذرات ۲۵۶ و ۲۲۶ نانومتر به ترتیب برای دو اسانس زردچوبه و لیمو گردید. پتانسیل زتا در هر دو مورد در حدود ۳۵ میلی‌ولت بود که نشان‌دهنده پایداری مناسب نانوکپسول‌های تولیدی حاوی اسانس‌های روغنی می‌باشد. همچنین کارایی کپسولاسیون دو اسانس زردچوبه و لیمو به ترتیب ۷۱/۱ و ۸۶/۹ درصد به‌دست آمد.

نتایج SEM نیز نشان‌دهنده تشکیل کپسول‌هایی به شکل کروی با متوسط اندازه ذرات کمتر از ۳۰۰ نانومتر بود (۱۲).

Bhowmik و همکاران (۲۰۰۶)، به منظور تولید نانوکپسول‌های حاوی تستوسترون از تکنیک تولید نانوامولسیون با استفاده از آلژینات بهره بردند. نتایج TEM نشان داد که نانوکپسول‌های تولیدی از شکل کروی برخوردار بوده و در هسته آن، تستوسترون به صورت متراکم حضور دارد. قطر نانوکپسول‌های تولیدی ۳۵/۵ نانومتر تخمین زده شد و پتانسیل زتا ۰/۵- میلی ولت محاسبه شد (۱۱).

پس از تولید نانوکپسول‌های حاوی عصاره برگ نوروزک، در بخش دوم تحقیق، اثر ضدمیکروبی نانوکپسول حاوی عصاره بر ماندگاری کالباس در مقایسه با اثر عصاره و نیتریت سدیم و نیز نمونه فاقد نگهدارنده، بررسی شد. همان‌گونه که در بخش نتایج عنوان گردید در نمونه‌های حاوی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک، روند افزایش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در طی مدت ماندگاری بهتر از نمونه‌های حاوی نیترت و فاقد نگهدارنده؛ به‌طوری که کم‌ترین میزان بارمیکروبی کلی در نمونه‌های دارای نانوکپسول حاوی عصاره بدست آمد. همچنین تنها در نمونه اخیر، شمارش کپک و مخمر از حد استاندارد تجاوز نکرد. هرچند تحقیقاتی در زمینه اثر ضدمیکروبی عصاره و اسانس‌های گیاهی بر زمان ماندگاری محصولات غذایی (از جمله محصولات گوشتی) وجود دارد، تاکنون اثر استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی گیاهی در مقیاس نانو بر افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی گزارش نشده است.

Yousefli و همکاران (۲۰۱۱)، اثر ضدمیکروبی پودر عصاره برگ نوروزک را در طی دوره زمانی ۴۵ روزه بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* و شمارش کلی در همبرگر نگهداری شده در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج حاصل کاهش تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* و شمارش‌کلی میکروب‌ها را در تمامی سطوح پودر افزوده شده نشان داد که این روند کاهشی در روزهای پانزدهم و سی‌ام به ترتیب برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و شمارش‌کلی معنی‌دار بود. در بین سطوح پودر افزوده شده به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر مربوط به مقادیر ۲۰۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد (۲۷).

Yousefzadi و همکاران (۲۰۰۷)، با بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس چندین گونه از گیاه نوروزک (*S. sclarea* و *S. verticillata* و *S. multicaulis*) بر روی ۸ باکتری گرم مثبت و گرم منفی و سه قارچ بر مبنای روش انتشار دیسک و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

کمترین فعالیت مهارکنندگی نشان دادند که تمام نمونه‌ها علیه باکتری‌های مورد آزمون دارای فعالیت‌های مهارکنندگی متوسط تا قوی هستند این درحالی است که فعالیت ضد قارچی در آن‌ها، بسیار کم گزارش شد (۲۸).

Cui و همکاران (۲۰۱۵)، اثر ضدباکتری اسانس گونه *S. sclarea* را روی *اشریشیا کلی* در نمونه‌های گوشت بررسی نمودند. طبق نتایج به‌دست آمده، پس از ۴۸ ساعت از ادغام اسانس با سه نوع گوشت مرغ، خوک و گوساله، به ترتیب تقریباً ۹۹/۹۹۹۹۹، ۹۹/۹۹۹۹۹ و ۹۹/۹۹۹۹ درصد کاهش در جمعیت *اشرشیا کلی* مشاهده شد (۲۹).

نتایج بررسی اثر تیمارهای مختلف بر ویژگی‌های نانوکپسول آلژینات حاوی عصاره برگ گیاه نوروزک نشان داد که تیمار حاوی نسبت آلژینات سدیم به کلرید کلسیم ۶ به ۱ و زمان تشکیل ۴ ساعت بهترین تیمار برای تشکیل نانوذرات با کارایی ریزپوشانی مناسب بود. در خصوص اثر عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر محصول گوشتی کالباس، نتایج نشان داد اثر نانوکپسول حاوی عصاره بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و به‌ویژه کپک و مخمر بهتر از عصاره بود؛ این درحالی است که در مقایسه با نمونه حاوی نگهدارنده نیتریت و نمونه فاقد نگهدارنده، نمونه‌های حاوی عصاره و نانوکپسول دارای عصاره از عملکرد بهتری برخوردار بودند. باتوجه به آن‌که مقادیر مورد استفاده از عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره نتوانست از فعالیت باکتری‌های کلی‌فرم جلوگیری کند؛ به نظر می‌رسد به منظور اثربخشی عصاره و نانوکپسول حاوی عصاره بر کلی‌فرم‌ها نیاز به استفاده از مقادیر بیشتری از آن‌ها است. یکی از دلایل استفاده از نیتریت در سوسیس و کالباس اثر نگهدارندگی آن می‌باشد. طبق نتایج تحقیق حاضر، نیتریت در مقادیر مجاز، قابلیت نگهدارندگی مناسبی در محصول نداشته و با توجه به نتایج حاصل و نیز خطر تولید نیتروزآمین در محصولات گوشتی حاوی آن، جایگزینی نیتریت با نگهدارنده‌های طبیعی توصیه می‌شود. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد تبدیل عصاره به شکل نانوکپسول‌های حاوی آن، اثربخشی این ترکیبات را افزایش داده و به ویژه در طی مدت ماندگاری با رهایش تدریجی، می‌تواند در مدت ماندگاری محصول غذایی مفید واقع شود.

• References

1. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Sausages - features and test methods. ISIRI no 2303. 2006 [in Persian].
2. Perumalla A, Hettiarachchy NS. Green tea and grape seed extracts -Potential applications in food safety and quality. Int. Food Res. J. 2011; 44: 827-39.
3. Aliakbarian B, Fathi A, Perego P, Dehghani F. Extraction of antioxidant from winery wastes using subcritical water. J Supercrit Fluids. 2012; 65: 18-24.
4. Silvan M, Mingo E, Hidalgo M, Pascual-Teresa S, Carrascosa AV, Martinez-Rodriguez AJ. Antibacterial activity of a grape seed extract and its fractions against Campylobacter spp. Food Control. 2013; 29: 25-31.
5. Rechinger KH. Flora Iranica. Academishe Druk.u.Verlag sustalt Gratz. 1982. N.150
6. Tabatabaee-Yazdi F. Antioxidant activity of essential oil and leaf extract of Salvia L. and its phytochemical identification. Mashhad: Ferdowsi University, M. C. 1995 [in Persian].
7. Baghi N. Antimicrobial effects of Salvia L. Mashhad: University of Medical Sciences. Ph.D. in Pharmacy, School of Pharmacy. 1996 [in Persian].
8. AOAC. Official method of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 1990. (No. 934.06).
9. Marino C, Rivas-Gonzalo C, Ibanez E, Moreno C. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by-products using subcritical water extraction. Analytica Chimica Acta. 2006; 563: 44-50.
10. Yoksan R, Jirawutthiwongchai J, Arpo K. Ionic gelation processes. Colloids Surf. B. 2010; 76(1): 292-297
11. Bhowmik BB, Sa B, Mukherjee A. Preparation and in vitro characterization of slow release testosterone nanocapsules in alginates. ACTA Pharmaceutica. 2006; 56: 417–429.
12. Natrajan D, Srinivasan S, Sunder K, Ravindran A. Formilation of essential oil-loaded chitosan-alginate nanocapsoules. J Food Drug Anal. 2015; 23: 560-568.
13. Paques JP, Van-Der-Linden E, Van-Rijn CGM, Sagis LMC. Alginate submicron beads prepared through w/o emulsification and gelation with $CaCl_2$ nanoparticles. Food Hydrocoll. 2012; 40: 182-188.
14. Saikia S, Mahnot NK, Mahanta CH. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulationby spray and freeze drying. Food Chem. 2015; 171: 144- 152.
15. Singleton V, Orthofer R, Raventos R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin- Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. 1999; 299: 152-178.
16. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of the food chain- comprehensive method for counting microorganisms - Part 1: Colony count at

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

30°c using mixed culture method. ISIRI no 5272-1; 2014 [in Persian].

17. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of the food chain- comprehensive method for counting microorganisms - Part 1: Colony count at 30 ° c using mixed culture method. ISIRI no 5272-2; 2014 [in Persian].
18. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feed - A comprehensive method for counting malt and yeast - Part I: Colony counting method in aquatic products more than 0.95. ISIRI no 10899-1; 2008 [in Persian].
19. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feed- comprehensive method for total counting of formulas-colony counting method. ISIRI no 9263; 2007 [in Persian].
20. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feed- the method of searching and counting *Escherichia coli* using the most likely method. ISIRI no 2946; 2005 [in Persian].
21. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feed- coagulase-positive Staphylococcus count (*Staphylococcus aureus* and other species) - Test method, Part 1: Method of using the bird-parker agar culture medium. ISIRI no 6806-1; 2005 [in Persian].
22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feed, comprehensive method for the search and identification of Salmonella species. ISIRI no 1810; 2014 [in Persian].
23. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feed-comprehensive method for the search, identification and counting of Clostridium perfringens. ISIRI no 2197; 2006 [in Persian].
24. Daemi H, Barikani M, Bremer M. The effect of calcium and alginate ions on the properties of calcium alginate nanoparticles. JPST. 2012; 1: 32-25.
25. Deepa V, Sridhar R, Goparaju A, Reddy P, Murthy P. Nanoemulsified ethanolic extract of Pyllanthus amarus Scham & Thonn ameliorates ccl4 induced hepatotoxicity in Wistar rats. Indian J. Exp. Biol. 2012; 50: 785-794.
26. Khoshmanzar M, Ghanbarzadeh M, Hamishehkar H, Soti-Khiabani M, Rezaei Makaram R. Investigating Factors Affecting Particle Size, Zeta Potential and Permanent Rheological Properties in a Colloidal System Containing Sodium Capacaragin-Casetinate Nanoparticles. JRIFST. 2012; 4: 272-255 [in Persian].
27. Yousefli M, Azarnivand H, Hosseini Z, Haddad Khodaprast MD. Medicine, Antimicrobial effect of Salvia L. leaf extract on *Staphylococcus aureus* in hamburger. JFST. 2011; 8(29): 126-136 [in Persian].
28. Yousefzadi M, Sonboli A, Karimi F, Ebrahimi SN, Asghari B, Zeinalia A. Antimicrobial activity of some Salvia species essential oils from Iran. J Nat Res. 2007; 62(7-8):514-8.
29. Cui H, Zhang X, Zhou H, Zhao C, Lin L. Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil. Bot. Stud. 2015; 56(1):16.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

Production of Nanocapsules Using *Salvia Leriifolia* Leaf Extract and Assessing Effects of the Extract and Nanocapsules Containing the Extract on Microbial Properties in Sausages During the Shelf Life

Sarabi-Jamab M[1], Kaveh M[2], Modarres M[3], Bostan A[4]*

*1- *Corresponding author: Associate Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran. Email: m.sarabi@rifst.ac.ir*

2- PhD Student, Department of Food Technology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of basic Science, Farhangian University, Mashhad, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

Received 2 Oct, 2019 **Accepted 1 Feb, 2020**

Background and Objectives: Researches have shown that converting bioactive compounds to nanoscales increases their effectiveness due to their size surface area. Therefore, use of antimicrobial compounds at nanoscales can progress their effectiveness, decreasing their necessary concentrations. *Salvia leriifolia*, with valuable secondary metabolites such as flavonoids and alkaloids, includes a high antimicrobial activity against a wide range of microorganisms. In the present study, possibility of producing nanocapsules containing leaf extract of *S. leriifolia* and antimicrobial effects of the extract and nanocapsules containing the extract on sausage samples were investigated.

Materials & Methods: Emulsion method was used for the preparation of calcium alginate nanocapsules containing the extract. The ratio of extract (at a concentration of 500 mg/ml) to sodium alginate was 1:4. Nanocapsules containing extract was produced by adding calcium chloride nanoparticles to alginate nanoparticles containing extract in three ratios of 1:6, 1:9 and 1:12 within 3, 4 and 5 h. To investigate antimicrobial potency of the extract and nanocapsules containing extract, microbial properties of sausage samples were assessed during two months of storage.

Results: Encapsulation efficiency and zeta potential were high in all samples. Based on the particle size and dispersion index, nanocapsules with an alginate to calcium chloride ratio of 6 to 1 and formation time of 4 h were selected as the best treatment. Results of microbial analysis showed that only in the sample with no preservatives on day 60 of storage, the total microbial count exceeded the national standard limit. After 2 months of storage, the lowest number of molds and yeasts was achieved in sausage samples with nanocapsules containing the extract. None of the sausage samples were contaminated with *Escherichia coli*, Salmonella, coagulase-positive staphylococci and *Clostridium perfringens* during the shelf life; however, addition of the extract, nanocapsules containing the extract or nitrite did not prevent growth of the coliforms.

Conclusion: Results of the present study showed that use of herbal extracts containing antimicrobial compounds such as leaf extract of *Salvia leriifolia*, especially in nanoscales and appropriate concentrations as alternatives to synthetic preservatives, facilitates production of healthier foods with longer shelf life.

Keywords: *Salvia leriifolia* leaf extract, Antimicrobial activity, Sausage, Nanocapsule

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]