Journal of Applied Microbiology in Food Industry (Volume 11 – Issue 4) … Pages 98 to 120

Investigating the effects of antimicrobial and natural preservatives (niosome containing myrtle essence) on raw milk and pasteurized cow's milk

Atefeh Yousefinezhad[1], Abbas Pardakhty[2], **Nadia Kazemipour[1*]**, Mohammad Amin Raiesi Estabragh[2], Faezeh Amiri[1]

[1] Department of Microbiology, Ke.C., Islamic Azad University, Kerman, Iran

[2] Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences

Received Date:2025.03.06 Accepted Date:2025.10.22

Abstract

Milk contains a set of important nutrients. Essential oils have been well documented due to their antimicrobial effects against a wide range of bacterial pathogens. The plant in question is also a medicinal plant plant that is used all over the world. Niosomes are considered as a safe carrier for food preservatives. The aim of this research was to investigate the effects of natural antimicrobial and preservative (nisome containing myrtle essence) on raw milk and pasteurized cow's milk in Kerman city In this experimental study, various niosomes including: Span 60, Tween 60, cholesterol and essential oil were synthesized by thin film hydration method and the identification of the made nisome was done by optical microscope and dynamic laser light scattering device. Antibacterial activity of synthesized niosomes was evaluated by microbial load measurement and microbial identification in raw milk and pasteurized milk. Data and curves were analyzed using statistical methods and Excel software. Accordingly, niosomes nanosystems were identified as spherical vesicles with sizes of 65.48 ± 2.82 and 4.95 ± 0.09 micrometers, respectively. As a result of adding nisomes containing Oil essence to raw milk, the number of bacteria detected was far less than raw milk without nano nisomes containing essential oil. Therefore, the nisome containing the Oil essence increased the shelf life of milk. Unlike various food preservatives, nanoniosomes do not cause the risk of resistance in pathogenic microbes.

Key words: Myrtle Essential, Milk,Nano Niosome, Antimicrobial preservative

.

* kazemipour@iau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: There exists a substantial discourse within the public sphere concerning the potential advantages and increasing benefits derived from the consumption of raw milk. As the populace gravitates towards more natural products, there appears to be an escalating preference for raw milk, which is often linked to numerous perceived health benefits purportedly diminished during the pasteurization process. Nonetheless, regulatory bodies and public health organizations, including the Food and Drug Administration and the Centers for Disease Control and Prevention, express considerable apprehension regarding the risk of milk-borne illnesses stemming from the contamination of raw milk with pathogenic microorganisms. Many pathogens can be extracted from raw bovine milk. The occurrence of foodborne pathogens in raw milk is variable, yet their detection has been established in numerous studies, with frequent reports of foodborne illnesses. In developed nations, milk and dairy products are responsible for 2–6% of bacterial foodborne outbreaks. Consequently, the ingestion of raw milk poses a significant risk to human health due to potential contamination by pathogens. Furthermore, the pursuit of extended shelf life and broader distribution of milk and dairy products has prompted the innovation of methods aimed at prolonging shelf life during cold chain distribution. In this investigation, the utilization of these carriers and the encapsulation of essential oils within vesicles have resulted in an enhancement of milk's shelf life and a reduction in microbial contamination. In this study, encapsulating the plant's essential oil within these vesicles as carriers has extended the milk's shelf life and reduced microbial contamination. The laboratory aim is to investigate the antimicrobial and natural preservative effects of niosomes containing the plant's essential oil on raw milk and pasteurized cow's milk.

Method: To the preparation of niosomes via thin-film hydration using nonionic surfactants of the sorbitan ester family (Spans®) and their polyoxyethylene derivatives (Tweens®), in combination with cholesterol. Surfactants and cholesterol were dissolved in chloroform in molar ratios detailed in Table 1, forming a total lipid phase of 300 µmol. An essential oil stock was prepared by dissolving 200 µL of plant essential oil in 800 µL of chloroform. A portion (250 µL) of this oil-containing solvent was added to the lipid–surfactant–cholesterol mixture. The organic solvent was evaporated under rotary evaporation at 55°C and 150 rpm, producing a thin lipid film on the inner surface of the reaction vessel. Hydration was performed by warming 5 mL of normal saline to 55°C and then adding it to the dried lipid film. Lipid hydration proceeded at 150 rpm for 30 minutes, resulting in niosomes containing the essential oil at a concentration of 10 µL per mL of suspension (1% v/v). The mixture was allowed to equilibrate at room temperature for 24 hours to ensure complete hydration and then stored at 4°C for later analyses. The same procedure was repeated without the essential oil to prepare empty, oil-free niosome controls. Both the physiochemical properties of the formulated niosomes and the antimicrobial activities of the essential oil and formulated niosomes were evaluated.

Results: The particle size distribution was characterized using a Malvern instrument. In the distribution plot, the vertical axis represents the percentage abundance, while the horizontal axis indicates particle diameter in micrometers (µm). Dynamic light scattering (DLS) analysis of the niosomes (Malvern, England) revealed distinct differences between formulations. For the 70:30 niosomes composed of Span and Tween 20, the size distribution plot exhibited two peaks with evident non-uniformity in the nanoniosome population. In contrast, the 70:30 niosomes formulated with Span and Tween 60 displayed a single, bell-shaped peak, indicating a uniform size distribution of the niosomes. The incorporation of essential oil–loaded niosomes into raw milk resulted in a statistically significant reduction in the viable bacterial count compared with raw milk lacking the essential oil–loaded niosomes.

Discussion and Conclusion: This study evaluates the antimicrobial efficacy of an essential oil from a focal plant when encapsulated in niosomal carriers and applied to milk-containing culture media. Niosomes offer advantages as preservative delivery systems by entrapping active agents, enabling enhanced antimicrobial activity at lower dosages. The essential oil was loaded into niosomes using the thin-layer hydration method, with cholesterol playing a critical role in bilayer stability and entrapment efficiency. Increased cholesterol generally improves bilayer rigidity and reduces permeability, facilitating oil entrapment; however, excessive cholesterol can impede incorporation due to interlamellar competition. Characterization by light microscopy showed multilamellar, spherical niosomes with suitable size distribution, consistent with prior literature on niosomal encapsulation of plant extracts and essential oils. Niosomes are adaptable carriers for hydrophilic, hydrophobic, and amphiphilic compounds, offering biodegradability, ease of preparation, stability, and potential for controlled release, with notable capacity to penetrate microbial cells. Surfactant selection and cholesterol content, as well as surfactant chain length and HLB, significantly influence vesicle formation, entrapment efficiency, and release kinetics. In this study, formulations containing Span 60 and Tween 60 yielded larger, more balanced vesicles and demonstrated favorable entrapment and stability profiles, while also showing enhanced antimicrobial performance.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

بررسی اثرات ضدمیکروبی و نگهدارندگی طبیعی (نیوزوم حاوی اسانس گیاه مورد) بر شیر خام و شیر پاستوریزه گاو

عاطفه یوسفی نژاد[۱]، عباس پرداختی[۲]، **نادیا کاظمی پور[۱]***، محمد امین رئیسی استبرق[۲]، فائزه امیری[۱]

[۱] گروه میکروبیولوژی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

[۲] گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ایران

تاریخ دریافت:۱۴۰۳/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۰۷/۳۰

چکیده

شیر حاوی مجموعه‌ای از مواد مغذی ضروری است. اسانس‌ها به دلیل اثرات ضد میکروبی خود در برابر طیف وسیعی از پاتوژن‌های باکتریایی به خوبی مستند شده‌اند. همچنین گیاه مورد یک گیاه دارویی است که در سراسر جهان استفاده می‌شود. نیوزوم‌ها به عنوان حاملی ایمن برای نگهدارنده‌های غذایی در نظر گرفته می‌شوند. هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضدمیکروبی و نگهدارندگی طبیعی (نیوزوم حاوی اسانس گیاه مورد) بر شیر خام و شیر پاستوریزه گاو در شهر کرمان می‌باشد. در روش کار این مطالعه آزمایشگاهی، نیوزوم‌های مختلف شامل: اسپن ۶۰، توئین ۶۰، کلسترول و اسانس مورد با روش هیدراتاسیون لایه نازک سنتز شدند و شناسایی سامانه‌های نیوزومی ساخته شده با میکروسکوپ نوری و دستگاه پراکندگی پرتو نور لیزر دینامیکی انجام شد. فعالیت ضدباکتریایی نیوزوم‌های سنتز شده به روش سنجش بار میکروبی و شناسایی میکروبی در شیر خام و شیر پاستوریزه بررسی گردید. داده‌ها و منحنی‌ها با استفاده از روش‌های آماری و نرم افزار Excel تجزیه و تحلیل شد. در یافته‌های این پژوهش سامانه‌های نیوزومی به صورت وزیکول‌های کروی شکل و با اندازه به ترتیب ۲/۸۲ ± ۶۵/۴۸ و ۰/۰۹ ± ۴/۹۵ میکرومتر مشخص شدند. در نتیجه‌ی افزودن نیوزوم حاوی اسانس مورد به شیر خام، تعداد باکتری‌های شناسایی شده به مراتب کمتر از شیر خام بدون نیوزوم حاوی اسانس بود. لذا نیوزوم حاوی اسانس مورد، باعث افزایش ماندگاری شیر شد. برخلاف نگهدارنده‌های غذایی مختلف، نیوزوم‌ها خطر مقاومت در میکروب‌های بیماری‌زا را ایجاد نمی‌کنند. بنابراین پیشنهاد می‌شود با تحقیقات بیشتر نیوزوم حاوی اسانس مورد ممکن است، به‌عنوان جایگزین ترکیبات شیمیایی نگهدارنده شیر باشد

کلید واژه ها : اسانس گیاه مورد، شیر، نانو نیوزوم، نگهدارنده ضدمیکروبی

* kazemipour@iau.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مقدمه

امروز بحث عمومی قابل توجهی در مورد مزایای احتمالی و رو به رشد مصرف شیر خام وجود دارد(۱). با گرایش غالب جمعیت‌ها به سمت مصرف محصولات طبیعی‌تر، به نظر می‌رسد ترجیح فزایندهای برای مصرف شیر خام وجود دارد، زیرا که شیر خام با چندین فواید سلامتی درک شده مرتبط است، اعتقاد بر این است که با گرم شدن از بین می‌روند(۲). با این حال سازمان‌های نظارتی و بهداشت عمومی مانند سازمان غذا و دارو و مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها به دلیل خطر ابتلا به بیماری‌های منتقله از شیر در صورت آلوده شدن شیر خام به عوامل بیماری زای انسانی، نگرانی‌های قابل توجهی دارند(۱). بسیاری از پاتوژن‌های انسانی را می‌توان از شیر خام گاو جدا کرد. شیوع پاتوژن‌های منتقله از غذا در شیر خام گاو متفاوت است، اما حضور آنها در بسیاری از بررسی‌ها نشان داده شده و عفونت‌های منتقله از غذا به طور مکرر گزارش شده است. در کشورهای صنعتی همه گیری‌های ناشی از شیر و فرآورده‌های شیری ۲ تا ۶ درصد از طغیان‌های غذایی باکتریایی را تشکیل می‌دهند. به این ترتیب این طور به نظر میرسد که مصرف شیر خام به دلیل آلودگی‌های احتمالی و عوامل بیماری‌زای انسانی، تهدیدی واقعی برای سلامتی انسان می‌باشد(۲). همچنین تقاضا برای ماندگاری بیشتر و توزیع گسترده تر شیر و فرآورده‌های شیری منجر به توسعه فرآیندها برای افزایش ماندگاری این محصولات در توزیع زنجیره سرد شده است(۳).

در این پژوهش با کمک گرفتن از این حامل‌ها و محبوس‌سازی اسانس گیاه مورد در داخل این وزیکول‌ها، موجب افزایش ماندگاری شیر و کاهش آلودگی‌های میکروبی آن شده است. هدف در این تحقیق آزمایشگاهی بررسی اثرات ضدمیکروبی و نگهدارندگی طبیعی (نیوزوم حاوی اسانس گیاه مورد) بر شیر خام و شیر پاستوریزه گاو است.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس گیاه مورد

گیاه مورد، از مناطق کوهپایه‌ای واقع در شهر کرمان جمع آوری شد. سپس گیاه مذکور توسط متخصصین تاکسونومیست یا آرایه شناس گیاهی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان شناسایی و تایید گردیدند و اسانس آن به روش تقطیر با بخار با استفاده از دستگاه اسانس-گیری کلونجر مطابق دستور العمل فارماکوپه اروپا به مدت ۳ ساعت استخراج شد. سپس اسانس حاصل تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره در بسته، در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید(۷و۶).

ساخت نیوزوم

برای تهیه نیوزوم‌ها به روش هیدراتاسیون لایه نازک (Film Hydration)، سورفکتانت‌های غیر یونی از خانواده استرهای سوربیتان (Spans®) و مشتقات پلی اکسی اتیلنه آن (Tweens®) و کلسترول در نسبت‌های مولی مطابق جدول ۱، در کلروفرم حل گردید. میزان کل فاز چربی ۳۰۰ میکرومول بود. برای تهیه استوک اولیه از اسانس ۲۰۰ میکرولیتر اسانس گیاه مورد را با ۸۰۰ میلی لیتر کلروفرم ترکیب شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از محلول بدست آمده به مخلوط فاز چربی حاوی سورفکتانت و کلسترول اضافه شد. حلال آلی (کلروفرم) توسط دستگاه تبخیر کننده چرخان در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و با سرعت چرخش ۱۵۰ دور در دقیقه تبخیر و فیلم نازکی از چربی های مورد استفاده در دیواره داخلی ظرف تشکیل گردید. برای انجام عمل هیدراتاسیون، ۵ میلی لیتر نرمال سالین، به همراه لایه نازک چربی و به طور جداگانه در دمای ۵۵ درجه در حمام آب گرم هم دما گردید. سپس فاز مایعی به محتویات لایه نازک چربی داخل بالن افزوده شد و با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه عمل هیدراته شدن چربی‌ها انجام پذیرفت. هر میلی‌لیتر

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

سوسپانسیون نیوزومی حاوی ۱۰ میکرولیتر اسانس است (۱ درصد حجمی/ حجمی). سوسپانسیون حاصل جهت تکمیل مراحل هیدراتاسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. پس از تکمیل هیدراتاسیون سوسپانسیون نیوزومی برای مطالعات بعدی در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی گراد) نگهداری گردید. این مراحل مجدداً بدون اسانس گیاه مورد تکرار شد و نیوزوم‌های بدون بارگذاری اسانس، به عنوان شاهد قرار گرفت(۹و۸).

جدول ۱. فرمولاسیون تهیه نانوذرات نیوزوم

نام فرمولاسیون	اجزا تشکیل دهنده فاز چربی	درصد مولی اجزا تشکیل دهنده
فرمولاسیون ۱	اسپن ۲۰/توین ۲۰/کلسترول	۳۰/۳۵/۳۵
فرمولاسیون ۲	اسپن ۶۰/توین ۶۰/کلسترول	۳۰/۳۵/۳۵

مشخصه‌یابی وزیکول‌ها

مورفولوژی وزیکول‌ها

پس از ساخت فرمولاسیون‌ها، اولین اقدام بررسی چگونگی و کیفیت شکل گیری نیوزوم‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری بود. جهت بررسی این موضوع یک قطره از فرمولاسیون روی لامل قرار داده شد و سپس با بزرگ نمایی ۱۰×۴۰ مشاهده و با استفاده از دوربین متصل به میکروسکوپ از نمونه های نیوزومی عکس تهیه گردید (۱۰).

بررسی توزیع اندازه ذره‌ای

جهت بررسی اندازه ذره‌ای از دستگاه پراکندگی نور دینامیکی[1] (مالورن – انگلستان) با تکنیک پرش پرتوی اشعه لیزر استفاده گردید. اساس کار دستگاه به صورتی است که نور لیزریک از منبع لیزر ، به ذره می تابد و سایه ذره توسط نرم افزار تجزیه و تحلیل گردیده و اندازه‌ها به صورت نمودار توزیع اندازه ذره‌ای تهیه گردید (۱۱و۸).

درصد محبوس سازی

پس از جداسازی اسانس آزاد از اسانس محبوس شده در ساختار نیوزومی با استفاده از کیسه دیالیز (یک میلی لیتر سوسپانسیون نیوزومی در کیسه دیالیز ریخته شده و در بشر حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب و اتانول (۸۰:۲۰ حجمی/حجمی) قرار می گیرد.) غلظت اسانس در محلول داخل مشخص شد (جهت از بین بردن ساختار نیوزومی ۱۰ میلی لیتر اتانول به سوسپانسیون داخل کیسه اضافه و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری فرابنفش تعیین مقدار شد). میزان داروی محبوس در نیوزوم محاسبه شد و درصد محبوس‌سازی دارو با استفاده از فرمول ذیل تعیین گردید(۹):

۱۰۰×(مقدار کل دارو در محلول اولیه/مقدار داروی موجود در نیوزوم) = درصد محبوس سازی(۹).

روش تعیین مقدار

محلول استاندارد اسانس تهیه (یک دهم میکروگرم در میلی لیتر) و در محدوده ۲۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر فرابنفش اسکن انجام شد. طول‌موج حداکثر جذب مشخص و پس از تهیه استانداردهای کاری (دو صدم تا یک دهم میکروگرم در میلی‌لیتر) و مشخص‌کردن مقدار جذب هر کدام، منحنی استاندارد تعیین غلظت اسانس با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم و معادله آن محاسبه شد(۹و۸).

[1] DLS: dynamic light scattering

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

ارزیابی میکروبی

سنجش بار میکروبی شیر خام و پاستوریزه

در ابتدا ۱۰۰ میلی لیتر از شیر خام را در بطری شیشه درب دار استریل جدا کردیم، پس از آن ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل را به لوله استریل اول، دوم و سوم اضافه گردید، سپس در لوله اول ۱ میلی لیتر از شیر خام درون بطری شیشه‌ای و در لوله دوم ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون قبلی ریخته شد و در لوله بعدی ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون دومی ریخته شد و در نهایت ۱ میلی لیتر از لوله آخر دور ریخته شد تا رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ ایجاد شد. به همین ترتیب برای شیر پاستوریزه این کار تکرار شد. از هر رقت به میزان ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار با سوآب استریل کشت چمنی داده شد(۷و۶). جهت شمارش بار میکروبی شیر با کلنی شمار، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید و تعداد کلنی‌ها در رقت‌های مختلف شمارش شد و این کار طی ۱۲ روز تکرار و به عنوان بار میکروبی شیر منظور گردید. تعداد کلنی‌های هر پلیت در کشت اول که از اولین روز نگهداری شیر و کشت دوم که روز چهارم نگهداری شیر و کشت سوم که روز دوازدهم از نگهداری شیر بود، شمارش شد(۷و۶).

جداسازی میکروبی

در ابتدا از رقت ۰/۰۰۱ شیر خام در پلیت حاوی محیط مولر هینتون آگار کشت چمنی داده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد از ۴ تک کلنی متفاوت با کمک نیدل کشت سه شعله روی محیط مولر هینتون اگار در پلیت های جداگانه انجام شد تا کلنی تک بدست بیاید و سپس هر کلنی به صورت مجزا با تست‌های تشخیصی شامل: رنگ آمیزی گرم، KOH، TSI، SIM، سیمون سیترات و متیل رد شناسایی شد(۱۲).

افزودن اسانس و نیوزوم به شیر

پس از تهیه شیر خام گاو و شیر پاستوریزه رامک ، ۱۰۰ سی‌سی از هر یک از شیرها بصورت جداگانه در بطری‌های دربدار استریل ریخته و اسانس و نیوزوم مورد نظر را با غلظت‌های مشخص، که در ادامه توضیح داده شده، به آن‌ها اضافه کرده در درمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداشته و به آزمایشگاه انتقال داده شد. که این آزمایش همزمان با شمارش کلنی‌ها و تشخیص باکتری‌ها در مرحله ازمایش سنجش بار میکروبی شیر خام و پاستوریزه بود(۷و۶).

درون همه بطری ها ۱۰۰ میلی لیتر شیر خام افزوده شده بود. بدین صورت که بطری اول حاوی شیر خام به عنوان کنترل، بطری دو شیر خام و ۵ میکرولیتر اسانس *مورد*، بطری سه شیر خام و۱۰ میکرولیتر اسانس *مورد*، بطری چهار شیر خام و ۲۰ میکرولیتر اسانس *مورد*، بطری پنج شیر خام و ۲ میکرولیتر نیوزوم خالی، بطری شش شیر خام و ۰/۵ میکرولیتر نیوزوم حاوی اسانس *مورد*، بطری هفت شیر خام و ۱ میکرولیتر نیوزوم حاوی اسانس *مورد*، بطری هشت شیر خام و ۲ میکرولیتر نیوزوم حاوی اسانس *مورد* بود. همچنین از بطری نهم به بعد از ۱۰۰ میلی لیتر شیر پاستوریزه درون همه ظروف افزوده شده بود. بطری نهم حاوی شیر پاستوریزه به تنهایی و بطری ده شیر پاستوریزه و ۵ میکرولیتر اسانس *مورد*، بطری یازده شیر پاستوریزه و ۱۰ میکرولیتر اسانس *مورد*، بطری دوازده شیر پاستوریزه و ۲۰ میکرولیتر اسانس *مورد*، بطری سیزده شیر پاستوریزه و ۲ میکرولیتر نیوزوم خالی، بطری چهارده شیر پاستوریزه و ۰/۵ میکرولیتر نیوزوم حاوی اسانس *مورد*، بطری پانزده شیر پاستوریزه و ۱ میکرولیتر نیوزوم حاوی اسانس *مورد*، بطری شانزده شیر پاستوریزه و ۲ میکرولیتر نیوزوم حاوی اسانس *مورد* بود(۷و۶).

سنجش خاصیت ضد میکروبی اسانس و نیوزوم

در ابتدا ۹ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل را به لوله استریل اول، ۹ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل به لوله‌ی دوم و۹ سی‌سی سرم فیزیولوژی استریل به لوله‌ی سوم اضافه کردیم، سپس در لوله اول ۱ سی‌سی از شیر خام درون بطری

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شماره یک و در لوله دوم ۱ سی‌سی از سوسپانسیون قبلی ریخته شد و در لوله بعدی ۱ سی‌سی از سوسپانسیون دومی ریخته شد و در نهایت ۱ سی‌سی از لوله آخر دور ریخته شد تا رقت‌های ۰/۱ ، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ ایجاد شود. به همین ترتیب برای سایر بطری‌ها تا شماره پانزده نیز این کار تکرار شد. از هر رقت به میزان ۱۰ میکرولیتر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار با سوآب استریل کشت چمنی داده شد(۷و۶). مابقی شیر درون بطری ها را در دمای ۲ تا ۴ درجه سانتی گراد طی مدت ۱۲ روز تا اتمام ازمایش نگهداری شد. جهت شمارش بار میکروبی شیر با کلنی شمار، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید و تعداد کلنی‌ها در رقت‌های مختلف شمارش شد و این کار طی ۱۲ روز تکرار و به عنوان بار میکروبی شیر منظور گردید. تعداد کلنی‌های هر پلیت در کشت اول که از اولین روز نگهداری شیر و کشت دوم که روز چهارم نگهداری شیر و کشت سوم که روز دوازدهم از نگهداری شیر بود، شمارش شد(۷و۶).

در این پژوهش تمامی آزمون‌های میکروبی در ۳ مرتبه تکرار گردید. داده‌ها و منحنی‌ها با استفاده از روش‌های آماری و نرم افزار Excel تجزیه و تحلیل شد.

این مطالعه دارای کد اخلاق از دانشگاه آزاد اسلامی کرمان به شماره ثبت IR.IAU.KERMAN.REC.1402.056 می‌باشد.

نتایج تهیه و ساخت نیوزوم

در مرحله اول هیدراتاسیون لایه نازک، کف بالن لایه نازک لیپیدی مشاهده گردید (شکل۱).



(ب) (الف)

تصویر۱: تشکیل نیوزوم کف بالن:

الف) نیوزوم نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۶۰)، ب) نیوزوم نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۲۰)

در مرحله دوم هیدراتاسیون لایه نازک، نیوزوم حاوی اسانس *مورد* در بالن بدست آمد(شکل۲).

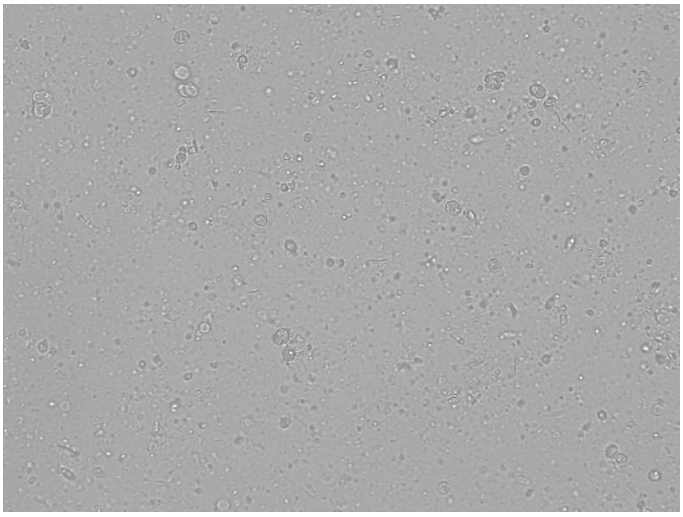


شکل ۲: نیوزوم حاوی اسانس *مورد*

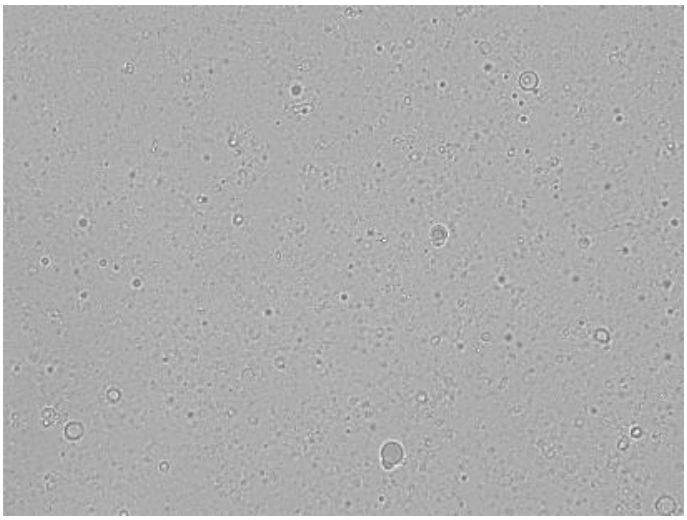
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مورفولوژی نانوذرات

در شکل(۳و۴) نتایج حاصل بررسی مورفولوژی نیوزوم‌ها حاوی اسانس مورد که بصورت کروی شکل، دو یا چند لایه‌ای با استفاده از دوربین دیجیتال متصل به میکروسکوپ نوری با بزرگ نمایی ۴۰۰ برابری مشاهده شد.



شکل۳: تصویر میکروسکوپ نوری بزرگنمایی ۴۰۰X فرمولاسیون نانو نیوزوم حاوی اسانس گیاه مورد نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۶۰)

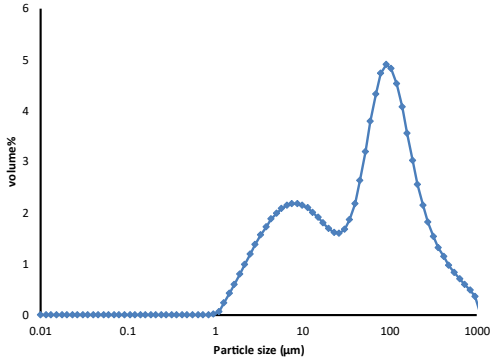


شکل۴: تصویر میکروسکوپ نوری بزرگنمایی ۴۰۰X فرمولاسیون نانو نیوزوم حاوی اسانس گیاه مورد نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۲۰)

توزیع اندازه ذره‌ای

نتایج نمودار توزیع اندازه‌ی ذره‌ای با استفاده از دستگاه مالورن تهیه گردید (نمودار۱). محور عمودی درصد فراوانی و محور افقی قطر بر حسب میکرومتر را نشان می‌دهد. طبق بررسی اندازه نانو نیوزوم‌ها با استفاده از دستگاه DLS (مالورن – انگلستان)، نمودار توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون نیوزومی ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۲۰) نشان دهنده دو پیک و عدم یکنواختی نانو نیوزوم‌های تشکیل شده بود. همچنین در نمودار توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون نیوززومی ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۶۰) یک پیک زنگوله‌ای نرمال و یکنواخت بودن نیوزوم‌های تشکیل شده را نشان می‌دهد.

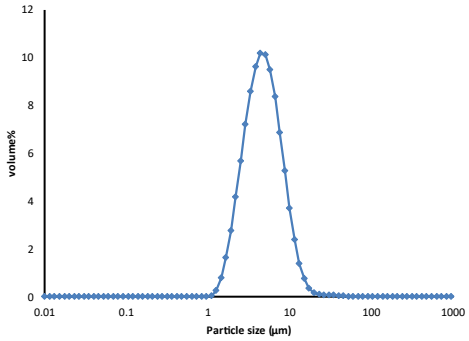
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



نمودار۱: توزیع اندازه ذره‌ای نانو نیوزوم حاوی اسانس مورد با نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۲۰)

جدول۲: توزیع اندازه ذره‌ای نانو نیوزوم حاوی اسانس مورد با نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۲۰)

قطر حجمی ۱۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی ۵۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی ۹۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی میانگین± انحراف استاندارد (میکرومتر)
۴/۷۹	۶۵/۴۷	۲۷۱/۴۶	۶۵/۴۸ ± ۲/۸۲



نمودار ۲: توزیع اندازه ذره‌ای نانو نیوزوم حاوی اسانس مورد با نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۶۰)

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

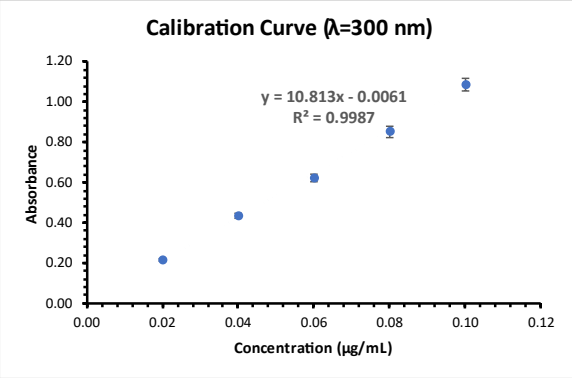
جدول۳: توزیع اندازه ذره‌ای نیوزوم حاوی اسانس مورد با نسبت ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۶۰)

قطر حجمی ۱۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی ۵۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی ۹۰٪ (میکرومتر)	قطر حجمی میانگین ± انحراف استاندارد (میکرومتر)
۲/۵۵	۴/۹۵	۹/۷۲	۴/۹۵ ± ۰/۰۹

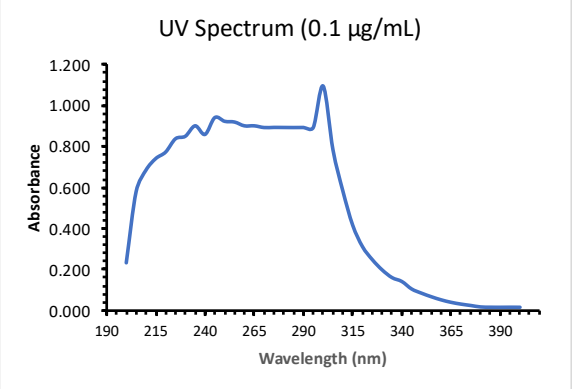
غلظت اسانس مورد بدست آمده بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر حاصل گردید.

درصد محبوس سازی

نتایج بدست آمده طبق فرمول در نمودار ۲ و ۱ نشان داده شد. طیف جذبUV بر اساس طول موج نانومتر و میزان



نمودار۳: منحنی استاندارد تعیین غلظت اسانس در طول موج ۳۰۰ نانومتر



نمودار۴: منحنی جذب محلول استاندارد حاوی اسانس مورد (۰/۱ میکروگرم در میلی لیتر) در محدوده ۲۰۰ تا ۴۰۰ (طول موج حداکثر جذب برابر با ۳۰۰ نانومتر است.)

نتایج بدست آمده از منحنی استاندار(نمودار ۳) و منحنی طیف جذب UV اسانس مورد (نمودار۴) در جدول (۴) ذکر گردید. در نتایج بدست آمده، میزان محبوس سازی اسانس مورد در فرمولاسیون نانو نیوزوم ۷۰:۳۰ (اسپن و توئین ۶۰) ۹۵/۸۳ درصد بود(جدول ۵).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

جدول۵: درصد محبوس سازی اسانس مورد در فرمولاسیون نیوزومی ۷۰:۳۰ (اسپن وتوئین ۶۰)

فرمولاسیون ۷۰:۳۰ (اسپن وتوئین ۶۰)	جذبuv	مقدار غلظت اولیه (میکروگرم در میلی لیتر)	ضریب رقت	درصد محبوس سازی
	۰/۵۱۲	۱۰	۲۰۰	۹۵/۸۳

ارزیابی میکروبی

نتایج رنگ آمیزی گرم

نتیجه رنگ آمیزی گرم باکتری A (باکتری مجهول جدا شده از شیر) با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی،۱۰۰۰ به صورت باسیل گرم منفی مشاهده شد.

نتیجه رنگ آمیزی گرم باکتری B (باکتری مجهول جدا شده از شیر) با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی،۱۰۰۰ به صورت باسیل گرم منفی مشاهده شد.

نتیجه رنگ آمیزی گرم باکتری C (باکتری مجهول جدا شده از شیر) با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی،۱۰۰۰ به صورت کوکوباسیل گرم منفی مشاهده شد.

نتیجه رنگ آمیزی گرم باکتری D (باکتری مجهول جدا شده از شیر) با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی،۱۰۰۰ به صورت کوکوباسیل گرم منفی مشاهده شد.

نتایج تست KOH

نتایج مثبت تست KOH هر چهار باکتری مشاهده شد.

نتایج تست‌های TSI، MR، SIM و سیمون سیترات

نتایج بدست آمده از تست‌های TSI، MR، SIM و سیمون سیترات برای باکتری‌های A، B، C، D با جدول تشخیصی گونه‌های شایع انتروباکتریاسه شرکت داروش تطابق داده شد و نوع باکتری‌ها شناسایی شده در جدول(۶) گزارش شد.

جدول۶: نوع باکتری‌های شناسایی شده براساس تست‌های تشخیصی و تطابق داده شده با جدول تشخیصی گونه‌های شایع انتروباکتریاسه شرکت داروش

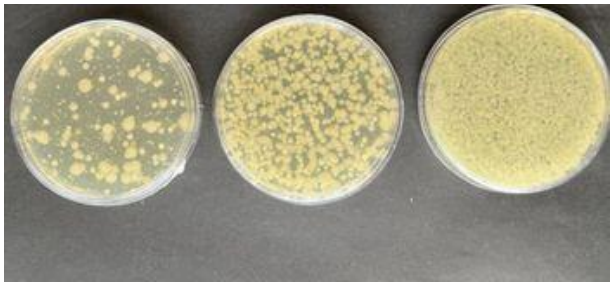
	TSI			MR	SIM		سیمون سیترات	باکتری
	Alk-A	H2S	GAS		M	I		
A	Alk/A	−	−	−	+	+	−	*Providencia rustigianii*
B	A/A	−	+	+	+	+	−	*Edwardsiella tarda*
C	A/A	−	+	−	+	−	+	*Enterobacter cloacae*
D	A/A	−	+	+	+	+	+	*Providencia rettgeri*

نتایج سنجش بار میکروبی شیر

در شیر خام بدلیل غیر قابل شمارش بودن کلنی‌ها در کشت چمنی محیط کشت مولر هینتون آگار با رقت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ ، مقایسه و سنجش نتایج در بهترین رقت یعنی ۰/۰۰۱ ثبت و بررسی شد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

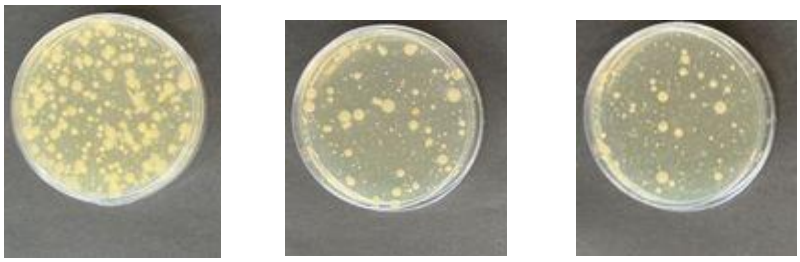
نتایج کشت اول (پس از یک روز):



رقت۰/۱ رقت۰/۰۱ رقت۰/۰۰۱

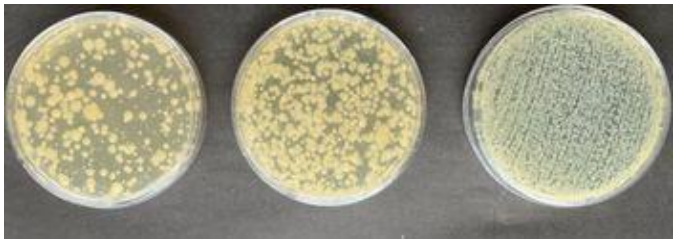
شکل۵: کشت چمنی شیر خام اولیه با سه رقت، در محیط کشت مولرهینتون آگار پس از یک روز

در کشت چمنی محیط کشت مولر هینتون اگار با رقت های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ در مورد شیر پاستوریزه کلنی تشکیل نشد.



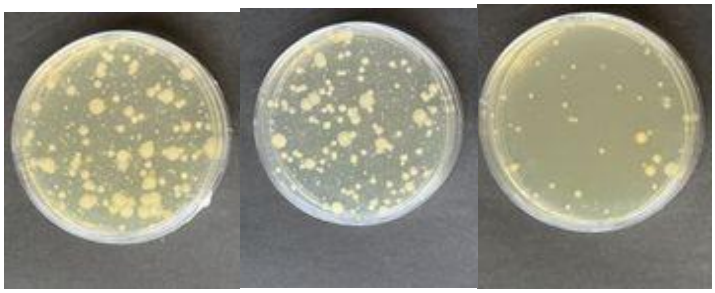
۲۰میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتر اسانس مورد

شکل۶: کشت چمنی شیر خام همراه با اسانس گیاه مورد با رقت۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز



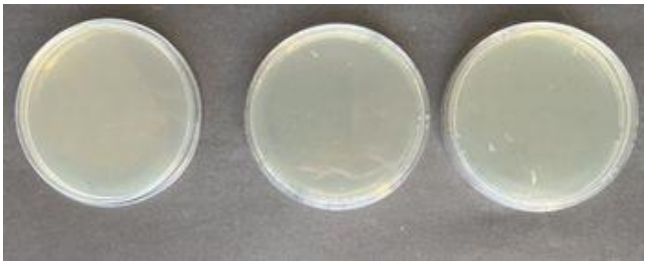
شکل ۷: کشت چمنی شیر خام همراه با ۲سی‌سی نیوزوم بدون اسانس مورد در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



۲سی‌سی نیوزوم با اسانس مورد ۱سی‌سی نیوزوم با اسانس مورد ۰/۵سی‌سی نیوزوم با اسانس مورد

شکل۸: کشت چمنی شیر خام همراه با نانو نیوزوم حاوی اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز



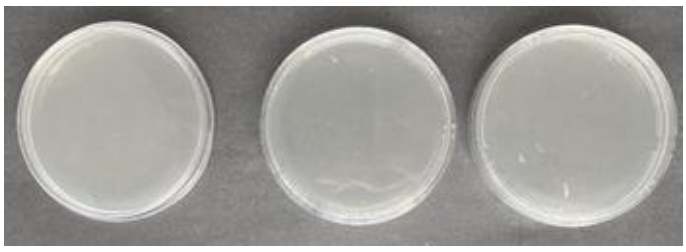
رقت۰/۱ رقت۰/۰۱ رقت۰/۰۰۱

شکل۹: کشت چمنی شیر پاستوریزه اولیه با سه رقت در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز



۲۰ میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتر اسانس مورد

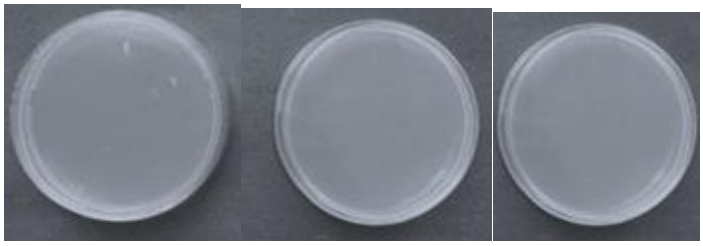
شکل۱۰: کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه با اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز



رقت۰/۱ رقت۰/۰۱ رقت۰/۰۰۱

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شکل۱۱:کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه با ۲سی‌سی نانو نیوزوم بدون اسانس مورد در سه رقت در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز



۲سی‌سی نیوزوم ۱سی‌سی نیوزوم ۰/۵سی‌سی نیوزوم

شکل۱۲:کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه با نیوزوم حاوی اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از یک روز

نتایج کشت دوم (پس از چهار روز):



شکل ۱۳:کشت چمنی شیرخام با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز



شکل۱۴: کشت چمنی شیر پاستوریزه با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



۲۰میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتر اسانس مورد

شکل ۱۵: کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه با اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز

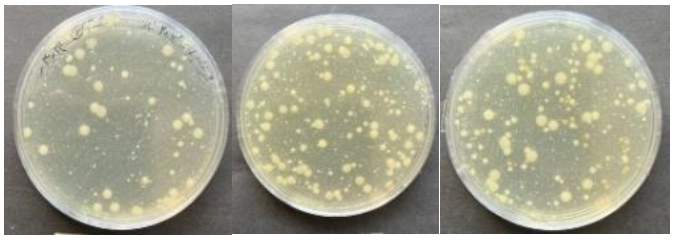


شکل۱۶: کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه با ۲سی‌سی نیوزوم بدون اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز



۲۰ میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتراسانس مورد

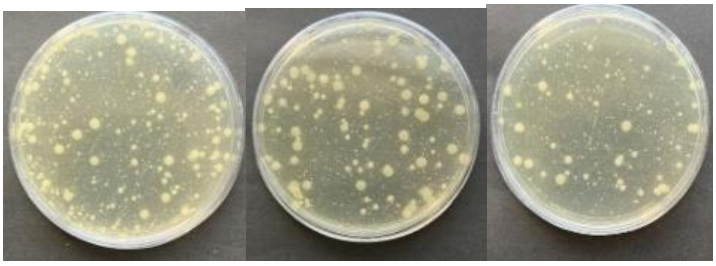
شکل۱۷:کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه با نیوزوم حاوی اسانس مورد در سه رقت در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز



۲۰میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتر اسانس مورد

شکل۱۸:کشت چمنی شیر خام همراه با اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



۲سی‌سی اسانس مورد ۱سی‌سی اسانس مورد ۰/۵سی‌سی اسانس مورد

شکل ۱۹:کشت چمنی شیرخام همراه با نیوزوم حاوی اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز



شکل۲۰:کشت چمنی شیر خام همراه با ۲سی‌سی نیوزوم بدون اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از چهار روز

نتایج کشت سوم(پس از دوازده روز):



شکل۲۱:کشت چمنی شیر خام با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز



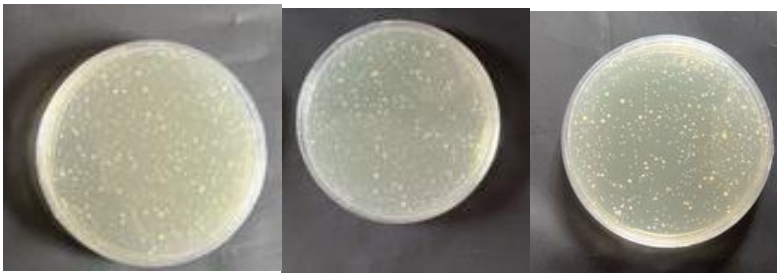
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شکل۲۲:کشت چمنی شیر پاستوریزه با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز



۲۰میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتر اسانس مورد

شکل ۲۳:کشت چمنی شیر خام همراه اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز



۲۰میکرولیتر اسانس مورد ۱۰میکرولیتر اسانس مورد ۵میکرولیتر اسانس مورد

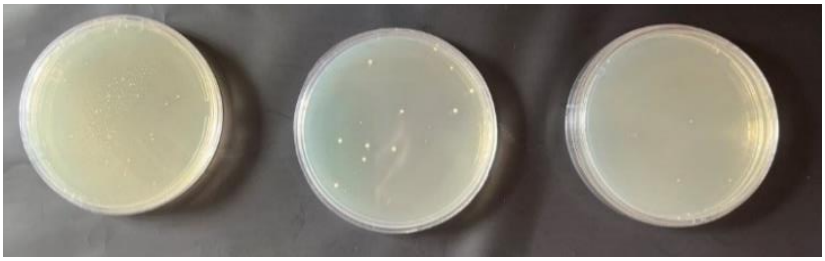
شکل۲۴:کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه اسانس مورد با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز



۲سی‌سی نیوزوم با اسانس مورد ۱سی‌سی نیوزوم با اسانس مورد ۰/۵ سی‌سی نیوزوم با اسانس مورد

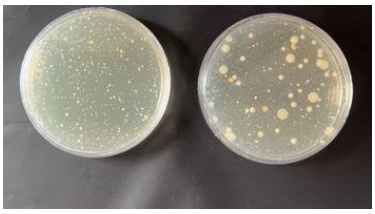
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شکل۲۵:کشت چمنی شیر خام همراه نیوزوم حاوی اسانس *مورد* با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز



۲سی‌سی نیوزوم بااسانس *مورد* ۱سی‌سی نیوزوم با اسانس *مورد* ۰/۵ سی‌سی نیوزوم با اسانس *مورد*

شکل۲۶: کشت چمنی شیر پاستوریزه همراه نیوزوم حاوی اسانس *مورد* با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز



(الف) (ب)

شکل۲۷: کشت چمنی الف) شیر پاستوریزه و ب) شیر خام همراه با ۲ سی‌سی نیوزوم بدون اسانس *مورد* با رقت ۰/۰۰۱ در محیط کشت مولر هینتون آگار پس از دوازده روز

جدول۷: نتایج گزارش شده از میانگین شمارش کلنی‌های باکتریایی در شیر خام رقت۰/۰۰۱ میلی‌لیتر در کشت‌های اول (روز اول)،دوم(روز چهارم) و سوم (روز دوازدهم) در محیط کشت مولر هینتون آگار

	شیر خام رقت۰/۰۰۱							
	نمونه شیر اولیه	**۵ میکرولیتر اسانس**	**۱۰ میکرولیتر اسانس**	**۲۰ میکرولیتر اسانس**	**۰/۵ سی‌سی نیوزوم حاوی اسانس**	**۱ سی‌سی نیوزوم حاوی اسانس**	**۲ سی‌سی نیوزوم حاوی اسانس**	**۲ سی‌سی نیوزوم بدون اسانس**
کشت اول (روز اول)	۱۹۳۵	۱۶۰۹	۷۸۴	۶۴۰	۹۸۳	۷۸۰	۵۰	۱۷۴۰
کشت دوم (روز چهارم)	۲۶۸۳	۲۴۶۰	۲۴۰۸	۱۹۶۵	۲۰۳۲	۱۹۸۴	۹۷۸	۲۱۲۷
کشت سوم (روز دوازدهم)	۵۸۹۳۹	۵۶۷۸۵	۵۰۹۸۷	۴۸۹۰۶	۵۷۹۹۸	۴۹۷۶۹	۴۲۰۹۵	۵۸۷۹۸

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

جدول۸: نتایج گزارش شده از شمارش کلنی‌های باکتریایی در شیر پاستوریزه رقت۰/۰۰۱ میلی‌لیتر در کشت‌های اول (روز اول)، دوم(روز چهارم) و سوم(روز دوازدهم) در محیط کشت مولر هینتون آگار

	شیر پاستوریزه رقت۰/۰۰۱							
	نمونه شیر اولیه	۵ میکرولیتر اسانس	۱۰ میکرولیتر اسانس	۲۰ میکرولیتر اسانس	۰/۵ سی‌سی نیوزوم حاوی اسانس	۱ سی- سی نیوزوم حاوی اسانس	۲ سی‌سی نیوزوم حاوی اسانس	۲ سی‌سی نیوزوم بدون اسانس
کشت اول (روز اول)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کشت دوم (روز چهارم)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کشت سوم (روز دوازدهم)	۱۹۸۳	۱۸۹۳	۱۷۲۷	۹۶۸	۳۷	۱۵	۷	۱۸۳۶

در کشت سوم شیر پاستوریزه (روز دوازدهم) رشد باکتری‌ها در پلیت‌ها به صورت کلنی مشاهده گردید و باکتری‌ها مشابه باکتری‌های شیر خام بود.

بحث نتایج

شیر خام یکی از فساد پذیرترین نوشیدنی هایی است که پس از دوشیده شدن در معرض آلودگی‌های محیطی قرار می‌گیرد(۱۳). در نتایج پژوهشگران که خواص ضدمیکروبی گیاهان بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های شاخص عفونت و مسمومیت‌غذایی را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند، فعالیت ضدمیکروبی گیاهان بر باکتری‌های بیماریزا تایید شده است(۱۴). همچنین بار میکروبی از فاکتورهای بسیار مهم در ارزیابی کیفیت شیر می‌باشد(۱۵). امروزه گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به طور کلی فراورده‌های طبیعی رو به افزایش بوده، بطوری که داروهای گیاهی سهم بزرگی از فراورده‌های دارویی تجاری ساخته‌شده را به خود اختصاص داده‌اند. گیاهان از زمان‌های بسیار قدیم برای درمان بیماری‌های گوناگون انسان مورد استفاده بوده‌اند(۱۶).

در عصر جدید که عصر استفاده از گیاهان در درمان نام گرفته است، ما شاهد گسترش روز افزون پژوهش‌هایی در زمینه گیاهان دارویی بوده و مشاهده می‌کنیم که روز به روز عرضه جدید داروهای گیاهی ابعاد گسترده‌تری می‌یابد(۱۷). به طور کلی عصاره و اسانس گیاهان دارویی از زمانهای قدیم در طبّ سنتی جهت اهداف درمانی مورد استفاده قرار گرفته اند. همچنین اجرای این طرح در راستای کاربرد عملی نمونه‌ای از این گیاهان از دیدگاه خواص نگهداری مواد غذایی آنها می‌باشد. در منابع گوناگون به خواص ضدمیکروبی گیاهان دارویی اشاره شده است و گیاه مورد از نظر گیاه پزشکی، باعث تسریع در روند درمان می‌شود(۱۸). در این مطالعه اسانس گیاه مورد جهت بررسی اثرات ضدمیکروبی استفاده شد و نتایج ما نیز نشان دادند که این گیاه از قابلیت بازدارندگی رشد میکروب در محیط‌های کشت حاوی شیر برخوردار است.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

در ادامه تحقیقات مطالعه شده، یکی از مزیت‌های نگهدارنده غذایی با حامل‌های نیوزومی نسبت به نگهدارنده‌های بدون حامل ، می‌توان به محبوس سازی مواد نگهدارنده در نیوزوم‌ها با افزایش اثر ماده نگهدارنده‌ی مدنظر با دوزهای کمتر مواد اشاره کرد(۱۹). در فرضیه‌های بسیاری که از مکانیسم‌های ضدمیکروبی نیوزوم ها وجود دارد، به نظر این حامل‌ها بدلیل ویژگی منحصر به فرد خود، رشد باکتری را کاهش می‌دهد(۸).

در این مطالعه نیز اسانس گیاه مورد در حامل نیوزوم با استفاده از روش هیدراسیون لایه نازک بارگذاری شد. مطالعات نشان داده است که اثر غلظت کلسترول بر روی میزان محبوس‌سازی اسانس به فاکتورهای مختلفی بستگی دارد. با افزایش مقدار کلسترول، خاصیت چربی‌دوستی و پایداری دو لایه افزایش و نفوذپذیری کاهش می‌یابد، بنابراین اسانس می‌تواند به طور مؤثرتری درون دو لایه وزیکول به دام بیفتد. اما افزایش زیاد مقدار کلسترول باعث رقابت بین اسانس و کلسترول برای قرارگیری در فضای بین دو لایه می شود و اسانس به صورت وارد نشده در ساختار باقی می‌ماند(۱۸). در این مطالعه، مورفولوژی نیوزوم‌های تهیه شده با میکروسکوپ نوری نشان داد که حامل نیوزومی تهیه شده با روش هیدراسیون لایه نازک، وزیکول هایی چند لایه با سایز و پراکندگی ذرات مناسب هستند. مطالعات زیادی در زمینه تهیه حامل نیوزومی حاوی عصاره و اسانس و داروهای مختلف به انجام رسیده است. همچنین تحقیقات مطالعه شده نشان داده است که حامل نیوزوم ساخته‌شده دارای ساختار کروی می باشد که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد

طبق مطالعات انجام شده، نیوزوم، حاملی مناسب در داورسانی است که توانایی انباشته کردن طیف وسیعی از داروهای آبدوست و آبگریز و دوگانه دوست را دارد. نیوزوم، زیست تخریب پذیر و تهیه و ذخیرسازی آسان‌تری داشته همچنین ذخیره سازی کنترل شده و افزایش و پایداری دارو را سبب می‌شود. همچنین قابلیت نفوذ به باکتری را داشته و امکان استفاده خوراکی را دارد(۲۰). سورفکتانت‌هایی با تعادل آبدوست وچربی دوست بالا HLB[1] و وجود مقادیر کافی کلسترول در تشکیل وزیکول‌های نانو نیوزوم حیاتی است(۲۱). نوع و غلظت سورفکتانت‌های مورد استفاده در سنتز نانو نیوزوم‌ها، نقش مهمی در محبوس‌سازی و رهایش نگهدارنده از نانو ذرات دارند. با افزایش طول زنجیره سورفکتانت، میزان اندازه نیوزوم‌ها بیشتر می‌شود(۲۳،۲۲).

در تایید این تحقیق نتایج اولیه ما نیز نشان داد که اندازه نیوزوم، با ترکیب دو سورفکتانت (اسپن ۶۰ و توئین۶۰) افزایش یافت. طی تهیه و ساخت نیوزوم‌ها با مخلوط سورفکتانت‌های اسپن ۶۰ و توئین ۶۰ با HLB بالاتر منجر به ساختار متعادلی در تشکیل نیوزوم‌ها گردید و روی خواص وزیکول‌ها از قبیل درصد محبوس سازی، و پایداری تاثیر گذاشت.

در این بررسی مشاهدات میکروسکوپی نیوزوم ها، کروی شکل و چند لایه بودند و استفاده از کلسترول در این فرمولاسیون‌ها جهت استحکام و پایداری نیوزوم‌ها بوده است و از طرفی نمودار توزیع اندازه ذره‌ای دو فرمولاسیون ۷۰:۳۰ با اسپن وتوئین ۶۰ و اسپن و توئین ۲۰ و شناسایی نیوزوم‌ها، نشان داد که فرمولاسیون تهیه شده با اسپن و توئین ۶۰ مناسب است(جدول۴-۲، نمودار۴-۲). در این تحقیق مطابق با فرضیات نیوزوم‌ها، عملکرد بسیار خوبی مشاهده شد(جدول۴-۳) .

مطابق با فرضیات محققان، حامل‌های نیوزومی برای مواد محلول در چربی نیز مناسب اند و همچنین استفاده از حامل‌های داورسان مانند، نیوزوم‌های سنتز شده ، در افزایش کارایی دارو وکاهش دوز مصرفی آن موثر بود(۸، ۲۰،۲۴،۲۵). تحقیق حاضر تایید نمود که تهیه و ساختن نیوزوم‌های حامل اسانس گیاه مورد، به عنوان یک ماده محلول در چربی، و شناسایی نیوزوم‌ها، بیش از ٪۹۵ اسانس را در خود جای داده‌اند.

[1] Hydrophilic Lipophilic Balance

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

نتایج نشان داد نیوزوم های حاوی اسانس مورد به طور معناداری رشد باکتری‌ها در شیر پاستوریزه و شیر خام را مهار کردند و فرمولاسیون نیوزوم ۷۰:۳۰ تهیه شده از اسپن و توئین ۶۰می‌تواند معیارها مورد نظر در پایداری و کاهش دوز نگه دارنده‌ها را برآورده کند. در مشاهدات میکروسکوپی ذرات نیوزوم، کروی شکل و چند لایه بودند. نگهدارنده‌های طبیعی به دلیل داشتن خواص ضدمیکروبی مناسب می‌توانند به طور کامل جایگزین یا سطح مورد نیاز نگهدارنده‌های شیمیایی و به مراتب اثرات مخرب آنها را به حداقل ممکن برسانند.

نتیجه‌گیری

هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضدمیکروبی و نگهدارندگی طبیعی (نیوزوم حاوی اسانس گیاه *مورد*) بر شیر خام و شیر پاستوریزه گاو، انجام شد. مورفولوژی نیوزوم های تهیه‌شده کروی و چندلایه و درصد محبوس‌سازی اسانس گیاه مورد در حامل نیوزوم ۹۵/۸۳٪ بود. نیوزوم حاوی اسانس گیاه *مورد* با فرمولاسیون ۷۰:۳۰ ساخته شده از اسپن وتوئین ۶۰ مورد بررسی خاصیت ضدمیکروبی و نگهدارندگی در شیر خام و پاستوریزه قرار گرفت. باکتری‌هایی در نمونه شیر خام شامل: *پرووویدنسیا رتگری، پرووویدنسیا رستجینیا، ادوار دزیلا تاردا و انتروباکتر کلوآکا* بودند. در نتیجه‌ی افزودن نیوزوم حاوی اسانس مورد به شیر خام، تعداد باکتری‌های شناسایی شده به مراتب کمتر از شیر خام بدون نیوزوم حاوی اسانس و اسانس به تنهایی بود. لذا نیوزوم حاوی اسانس *مورد*، باعث افزایش ماندگاری شیر شد. در نتیجه برای تحقیقات آتی نیوزوم بارگذاری شده با اسانس گیاه *مورد* احتمالا می‌تواند به عنوان یک کاندید امیدوارکننده برای نگهدارندگی طبیعی در نظر گرفته شود.

.

.

.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

منابع

1. Lucey JA. Raw milk consumption: risks and benefits. Nutrition today. 2015 Jul 1;50(4):189-93.
2. Claeys WL, Cardoen S, Daube G, De Block J, Dewettinck K, Dierick K, De Zutter L, Huyghebaert A, Imberechts H, Thiange P, Vandenplas Y. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. Food control. 2013 May 1;31(1):251-62.
3. Rysstad G, Kolstad J. Extended shelf life milk—advances in technology. International journal of dairy technology. 2006 May;59(2):85-96.
4. Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: an illustrated review. Journal of controlled release. 2014 Jul 10;185:22-36.
5. Pardakhty A, Moazeni E. Nano-niosomes in drug, vaccine and gene delivery: a rapid overview. Nanomedicine journal. 2013 Oct 1;1(1):1-2.

6. Ghavidel F, Rezaei K, Mirzaei F, Shakerian A. Studying the effect of basil essential oil as a flavoring and preservative for goat milk. National Congress of Food Science and Technology of Iran. 2014 February;21(3):2-7.

7. Bakhshi F, Mirzaei H, Asefi N. Effect of Basil Essential Oil on the Microbial and Sensory Characteristics of Iranian Traditional White Cheese During Ripening. Journal of Veterinary Research/Majallah-i Taḥqīqāt-i Dāmpizishkī University. 2020 Jan 1;75(1):10-12.

8. Thabet Y, Elsabahy M, Eissa NG. Methods for preparation of niosomes: A focus on thin-film hydration method. Methods. 2022 Mar 1;199:9-15.

9. Shirvany A, Rezayan AH, Alvandi H, Barshan Tashnizi M, Sabahi H. Preparation and evaluation of a niosomal drug delivery system containing cefazolin and study of its antibacterial activity. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2021 Dec 10;15(6):638-57.

10. São Pedro A, Santo I, Silva C, Detoni C, Albuquerque E. The use of nanotechnology as an approach for essential oil-based formulations with antimicrobial activity. Microbial pathogens and strategies for combating them. 2013; 2:1364-74.

11. Raeiszadeh M, Pardakhty A, Sharififar F, Farsinejad A, Mehrabani M, Hosseini-Nave H, Mehrabani M. Development, physicochemical characterization, and antimicrobial evaluation of niosomal myrtle essential oil. Research in Pharmaceutical Sciences. 2018 Jun 1;13(3):250-61.

12. Riedel S, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Medical Mycology. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 28th Ed. McGraw-Hill Education. United States. 2019.

13. Jamshidi A,Vakili R, Seifi H, Hajizadeh J.Variations in microbial load of raw milk and influencing factors form dairy farms to collection centers of Esferayen area.2012 May2;21(9):81-88.

14. Alizadeh Behbahani, Noushad, Mohammad, Sahraian. Investigation of the minimum inhibitory concentration and minimum lethal concentration of Eucalyptus globulus essential oil on a number of pathogenic and food spoilage bacteria. Iranian Journal of Food Science and Technology 2019 oct5;67(7):43-53.

15. Fazal Ara Ali, Zarei Mehdi, Mottaqian Nahid. Investigation of the method for measuring the microbial load of raw and pasteurized milk using electrical resistance (impedance) measurement and its correlation with the titratable acidity of milk. Iranian Veterinary Journal, Volume 9, Issue 2, Summer 2013 Apr 5;85(1):32-45.

16. Aboeepoor S, Dehghani Ashkezari M, Aboee-Mehrizi F, Haghiralsadat BF, Nikoonahad Lotfabadi N. Designing and characterizing nano-carriers containing Nepeta persica extract and their effect on bone cancer. Internal Medicine Today. 2020 Mar 10;26(2):142-55.

17. Ardakani H, Khosravani SA, Mansourian A, Jahedi S, Sharifi A. Antimicrobial Effects of Hydroalcoholic Extract of Malva sylvestris as a Food Preservative. Armaghane Danesh. 2021 Sep 10;26(4):563-76..

18. Dabaghian Amiri A, Mirzaie A, Ali Asgari E, Mahmoudzadeh A. Preparation of niosome loaded Artemisia chamamelifolia extract: antibacterial and anti-cancer activities and apoptosis gene expression analysis in breast cancer cell line (MCF-7). Feyz Medical Sciences Journal. 2021 Mar 10;25(2):839-49.

19. China CD. Epidemic update and risk assessment of 2019 Novel Coronavirus. Chinese Center for Diseases Control and Prevention. 2020.

20. Ghashghaei M, Akhlaghi M. Investigation of nanoniosomal formulation containing doxorubicin effect on ovarian cancer cell line (OVCAR-3 cell line). New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 2021 Jul 10;11(43):46-62.

21. Marwa A, Omaima S, Hanaa EG, Mohammed AS. Preparation and in-vitro evaluation of diclofenac sodium niosomal formulations. International journal of pharmaceutical sciences and research. 2013 May 1;4(5):1757.

22. Mirmajidi T, Chogan F, Rezayan AH, Sharifi AM. In vitro and in vivo evaluation of a nanofiber wound dressing loaded with melatonin. International

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

journal of pharmaceutics. 2021 Mar 1;(596):120-213.

23. Kavussi HR, Miresmaeili SM, Lotfabadi NN. Niosomes from Preparation to Application in Drug Delivery. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences. 2020 Jul 1.

24. Khazaei Poul M, Ehteshaminia Y, Javadian B. A brief overview of the permissible limits of preservatives 9 high-consumption foods in Iran and the need to review the standards. Clinical Excellence. 2021 Sep 10;11(2):39-47.

25. Bagheri A, Chu BS, Yaakob H. Niosomal drug delivery systems: Formulation, preparation and applications. World applied sciences journal. 2014;32(8):1671-85.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]