

## Production of water-in-oil nanoemulsion containing garlic extract and investigation of physicochemical, antimicrobial properties and release of its volatile components

Hamed Hassanzadeh Ochtapeh<sup>1\*</sup>, Mohammad Alizadeh Khaled Abad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Department of Hygiene and Food Technology, Faculty of Para-veterinarian, Ilam University, Ilam, Iran, Email: h.hassanzadeh@ilam.ac.ir

<sup>2</sup>Professor, Department of food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

### Article Info

**Article type:**  
Research Full Paper

**Article history:**  
Received: 2021/12/26  
Revised: 2022/02/13  
Accepted: 2022/02/26

**Keywords:**  
Nanoemulsion  
Garlic extract  
Release kinetic  
Encapsulation  
Antimicrobial property

### ABSTRACT

**Introduction:** Garlic extract, due to its high volatility and its effects on organoleptic properties, has limitations for direct use in food products, and therefore it is better to encapsulate it by one of the different methods and then use it in food formulations. Nanocapsulation can highly protect the essential oils against degradation or oxidation and may increase dispersibility in aqueous media, reduce adverse interaction with food components, and it generally did not affect the antimicrobial activity of essential oils. Water-in-oil emulsions are used to encapsulate hydrophilic bioactive compounds, and the number of studies on this type of emulsion is low. In this research, it has been tried to surrounding garlic extract by surfactant and forms a water in oil nanoemulsion and its physicochemical and antimicrobial properties are measured in order to be used in suitable food formulations.

**Material and Methods:** In this study, nanoemulsions containing garlic extract were produced by high energy method (ultrasound bath) and the effect of different percentages of the extract on droplet size, antimicrobial properties, release kinetics, and viscosity were investigated. Encapsulation efficiency was determined by comparing the total area under the peaks of the nanoemulsions and not emulsified mixture headspace in gas chromatography. The release of volatile compounds of garlic oil was recorded during storage time by gas chromatography. Microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration. TGA and FT-IR were also used to evaluate the thermal resistance and study the functional groups and confirm the presence of the compounds used in the formulation of the prepared nanoemulsions, respectively.

**Results:** Drop size varied from 62 to 302 nm for nanoemulsions based on volume fraction. Microbial results showed that water-in-oil nanoemulsions in high concentrations of garlic extract had antimicrobial properties and a stronger effect against gram-positive bacteria. In general, in all emulsions, with increasing the volume fraction (percentage of garlic extract) from 5 to 25%, the viscosity increased from 50 to 150 cp. Evaluation of viscosity changes at different temperatures showed that the activation energy for samples with different volume fractions were not significantly different. Also, the release rate of volatiles increases with increasing volume fraction in nanoemulsion formulations and storage temperature.

---

---

**Conclusion:** The present study showed that the application of water-in-oil nanoemulsion was effective for the encapsulating of garlic extract and antimicrobial properties were also observed in high concentrations of nanoemulsion. Analysis of the stability of produced nanoemulsions showed that the samples prepared in this study have a high potential for use in food formulations such as mayonnaise, buttermilk and shallot yogurt due to the ability of the encapsulation technique to cover the smell of garlic extract.

---

---

Cite this article: Hassanzadeh Ochtapeh, H., Alizadeh Khaled Abad, M. 2022. Production of water-in-oil nanoemulsion containing garlic extract and investigation of physicochemical, antimicrobial properties and release of its volatile components. *Food Processing and Preservation Journal*, 14 (2), 35-50.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/EJFPP.2022.19759.1691

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

---

### تولید نانومولسیون آب در روغن حاوی عصاره سیر و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ضد میکروبی و رهایش مواد فرار آن

حامد حسن زاده اوچتپه<sup>۱\*</sup>، محمد علیزاده خالدآباد<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>استادیار، گروه بهداشت و صنایع غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: h.hassanzadeh@ilam.ac.ir  
<sup>۲</sup>استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	<b>سابقه و هدف:</b> عصاره سیر به دلیل فراریت بالا و همچنین تاثیر آن بر خواص حسی، محدودیت‌هایی برای استفاده مستقیم در محصولات غذایی دارد و در نتیجه بهتر است که با یکی از انواع روش‌های مختلف درون پوشانی انکپسوله شده و سپس در فرمولاسیون مواد غذایی به کار رود. نانوکپسولاسیون می‌تواند از اسانس‌ها در برابر تخریب یا اکسایش بخوبی محافظت کند و ممکن است پراکندگی در محیط‌های آبی را افزایش داده و برهمکنش نامطلوب با اجزای غذا را کاهش دهد اما به‌طور کلی بر فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها تأثیر منفی نمی‌گذارد. امولسیون‌های آب در روغن برای درون پوشانی ترکیبات زیست‌فعال آب دوست به‌کار رفته و تعداد کمتری از پژوهش‌ها بر روی این نوع امولسیون انجام شده‌اند. در این تحقیق سعی شده است که عصاره سیر با سورفکتانت پایدار احاطه شود و نانومولسیون آب در روغن تولید شود و خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی آن اندازه‌گیری شود تا در فرمولاسیون غذایی مناسب به‌کار گرفته شود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۵ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷	<b>مواد و روش‌ها:</b> در این مطالعه، نانومولسیون‌های حاوی عصاره سیر با روش انرژی بالا (حمام التراسوند) تولید شدند و تاثیر درصدهای مختلف عصاره بر اندازه ذرات، خواص ضد میکروبی، سنتتیک رهایش و ویسکوزیته بررسی شد. کارایی انکپسولاسیون با مقایسه سطح زیر پیک نانومولسیون‌ها و مخلوط‌های غیرامولسیونی در گازکروماتوگرافی تعیین شد. رهایش ترکیبات فرار روغن سیر در طول زمان نگهداری با کروماتوگرافی گازی انجام شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی از روش رقیق سازی (میکرودایلوشن) استفاده شد. همچنین TGA و FT-IR به ترتیب جهت بررسی مقاومت حرارتی و بررسی گروه‌های عاملی و تائید حضور ترکیبات استفاده شده در فرمولاسیون نانومولسیون‌های تهیه شده به کار گرفته شدند.
واژه‌های کلیدی: نانومولسیون عصاره سیر سنتتیک رهایش درون پوشانی خاصیت ضد میکروبی	<b>یافته‌ها:</b> اندازه قطرات از ۶۲ تا ۳۰۲ نانومتر برای نانومولسیون‌ها بر اساس کسر حجمی متغیر بود. نتایج میکروبی نشان داد که نانومولسیون‌های آب در روغن در غلظت‌های بالای عصاره سیر خاصیت ضد میکروبی داشته و در مقابل باکتری‌های گرم مثبت اثر قوی تری داشتند. به‌طور کلی در همه امولسیون‌ها، با افزایش کسر حجمی (درصد عصاره سیر) از ۵ به ۲۵ درصد، میزان ویسکوزیته از ۵۰ سانتی پواز به ۱۵۰ سانتی پواز رسید. بررسی تغییرات ویسکوزیته در دماهای

---

مختلف نشان داد که انرژی فعال‌سازی برای نمونه‌های با کسر حجمی متفاوت تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. همچنین با افزایش کسر حجمی در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها و دمای نگهداری، میزان رهایش مواد فرار نیز افزایش می‌یابد.

**نتیجه‌گیری:** مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد نانوامولسیون آب در روغن جهت درون پوشانی عصاره سیر کارآمد بوده و در غلظت‌های بالای نانوامولسیون خواص ضد میکروبی نیز مشاهده شد. بررسی پایداری نانوامولسیون‌های تولید شده نشان داد که نمونه‌های تهیه شده در این مطالعه به دلیل توانایی تکنیک درون پوشانی در پوشاندن بوی عصاره سیر، پتانسیل بالایی برای استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی از جمله سس مایونز، دوغ و ماست موسیر دارند.

---

استناد: حسن‌زاده اوچتپه، ح، علیزاده خالدآباد، م. (۱۴۰۱). تولید نانوامولسیون آب در روغن حاوی عصاره سیر و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، ضد میکروبی و رهایش مواد فرار آن. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۴ (۲)، ۳۵-۵۲.

DOI: 10.22069/EJFPP.2022.19759.1691



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

## مقدمه

سیر دارای انواع ترکیبات فعال زیستی از جمله ترکیبات گوگردی، ساپونین‌ها، ترکیبات فنلی و پلی‌ساکاریدها می‌باشد. اجزای اصلی فعال سیر شامل ترکیبات گوگردی آن مانند تیوسولفونات دی‌آلیل (آلیسین)، سولفید دی‌آلیل، دی‌آلیل دی‌سولفید، دی‌آلیل تری‌سولفید و... می‌باشد. همه ترکیبات یاد شده دارای وزن مولکولی پایین و فراریت بالایی هستند که نیاز آن‌ها را به درون پوشانی بیشتر می‌کند. مطالعات زیادی نشان داده است که سیر و مواد تشکیل‌دهنده فعال زیستی آن نقش ضداکسایشی، ضدالتهاب، ضدباکتری، ضدقارچ، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، محافظت از قلب و عروق، ضد سرطان، محافظت از کبد، بهبود سیستم گوارش، ضد دیابت، ضد چاقی، محافظت از سیستم اعصاب بدن و خواص محافظتی از کلیه دارند (۱).

عصاره سیر به دلیل فراریت بالا و همچنین تاثیرات آن در خواص ارگانولپتیکی، محدودیت‌هایی از جمله تغییرات نامطلوب در ویژگی‌های محصول برای استفاده مستقیم در محصولات غذایی دارد و در نتیجه بهتر است که با یکی از انواع روش‌های مختلف درون‌پوشانی انکپسوله شده و سپس در فرمولاسیون مواد غذایی قرار بگیرد. در چند سال اخیر روش‌های زیادی برای انکپسوله کردن ترکیبات زیست‌فعال در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گرفته اند که یکی از رایج‌ترین روش‌ها استفاده از نانوامولسیون‌ها می‌باشد که به روش‌های مختلفی تهیه می‌شوند (۲).

امولسیون‌های با اندازه قطرات در حدود نانومتر (به‌طور معمول، در محدوده ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتر) تحت عنوان نانوامولسیون یاد می‌شود. نانوامولسیون‌ها به واسطه ویژگی اندازه، با چشم غیرمسلح به‌صورت شفاف و نیمه شفاف قابل مشاهده‌اند و پایداری بالایی در برابر پدیده‌های ترسیب و خامه‌ای شدن دارند.

به‌عبارت‌دیگر، نانوامولسیون‌ها امولسیون‌های حقیقی با قطراتی با اندازه خیلی کوچک هستند که از این لحاظ تشابه زیادی با میکروامولسیون‌ها دارند. اما برخلاف میکروامولسیون‌ها، که آن‌ها هم شفاف یا نیمه شفاف و به‌صورت ترمودینامیکی پایدار هستند، نانوامولسیون‌ها فقط به‌صورت سینتیکی پایدارند (۳). نانوامولسیون‌ها به دلیل اندازه کوچک قطرات و در نتیجه شفافیت و پایداری فیزیکی طولانی مدت (بدون هیچ انعقاد ظاهری، رسوب و یا دو فاز شدن) و همچنین نیاز به سورفاکتانت کم‌تر، باعث جذب بیش‌تر مواد ضد میکروبی توسط میکروارگانیزم و کاهش مصرف می‌شوند که از مزایای آن‌هاست. تولید نانوامولسیون برای ریزپوشانی و کنترل رهایش ترکیبات فراسودمند مانند انواع داروها، رنگ‌ها، اسانس‌ها و ویتامین‌ها یکی از زمینه‌های کاربردی فناوری نانو در صنایع غذایی بوده است (۴).

یوشیکیو و سونها (۲۰۱۴) به بررسی مکانیسم پایداری امولسیون‌های آب در روغن مایع پرداخته و اثر ترکیب دو روغن مختلف (روغن سویا و هگزا دکان) و سه نوع امولسیفایر (Span 80, PGPR<sup>۱</sup>) و لیستین) در دو نسبت آب به روغن مختلف را بر روی پایداری امولسیون‌های آب در روغن بررسی کرده‌اند. این محقق گزارش کرده است که با استفاده از آب، روغن سویا و امولسیفایرهای Span 80 و لیستین قادر به تشکیل ماکروامولسیون نشده و یک ساختار ژلی به دست آمده است (۵).

طیبی‌آذر و همیشه‌کار (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر فاکتورهایی نظیر زمان فراصوت، افزودن نمک کلرید کلسیم و سرم آلبومین گاوی به فاز آبی، نوع فاز روغنی (ذرت یا میگلیول) و میزان PGPR را بر روی پایداری فیزیکی و اندازه ذرات نانوامولسیون‌های آب در روغن در نسبت ثابت آب به روغن ۳۰ به ۷۰

کیفی انتشار دیسک بررسی شده اند. آنان گزارش کردند که نانوامولسیون‌ها در غلظت‌های ۱ تا ۵ درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی با متوسط اندازه ذرات ۱۲ نانومتر و خواص ضد میکروبی با میانگین ۷۵ درصد و ۳/۱۲ میلی‌مترهاله عدم رشد علیه باکتری گرم منفی *اشرشیا کلای* به دست آمده است (۴).

امولسیون‌های آب در روغن جز ساختاری بسیاری از غذاها، داروها و محصولات آرایشی به حساب می‌آیند. همچنین این نوع امولسیون جهت انتقال دارویی هدفمند و ساخت امولسیون‌های چندگانه به کار می‌رود (۷). امولسیون‌های آب در روغن برای درون پوشانی ترکیبات زیست فعال آب دوست به کار رفته و تعداد پژوهش‌هایی که بر روی این نوع امولسیون انجام شده نسبت انواع نانوامولسیون روغن در آب کمتر هستند. در این پژوهش سعی شده است که عصاره سیر به وسیله سورفکتانت پایدار شود و یک نانوامولسیون آب در روغن تولید شود و خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و ضد میکروبی آن به منظور استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی مناسب از جمله سس مایونز و دوغ اندازه گیری شود.

### مواد و روش‌ها

**مواد:** پلی گلیسرول پلی ریسینوئلات (E467) (با HLB حدود ۱/۵ تا ۲) خریداری شده از شرکت Oleon-Belgium، DPPH<sup>۱</sup> از شرکت سیگما الدریچ، متانول از شرکت مرک بودند. *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC ۲۵۹۲۳) و *اشرشیا کلای* H70157 (ATCC ۷۰۰۷۲۸) از پژوهشکده مطالعات زیستی دریاچه ارومیه (آرتمیا) تهیه شد. سایر مواد مورد استفاده در این مطالعه سرم فیزیولوژیک، محیط کشت مولر هیتون مایع (مرک)، دیسک کاغذی، محیط

پرداختند و گزارش کردند که کاهش شدیدی در کشت بین سطحی تا ۶ میلی نیوتن بر متر و اندازه ذرات تا  $35 \pm 347$  نانومتر در امولسیون‌های تشکیل شده با آب و میگلایول، مشاهده شده اما پایداری فیزیکی کافی حاصل نشده است. همچنین افزودن نمک کلرید کلسیم و سرم آلبومین به خوبی باعث کاهش اندازه ذرات تا  $37 \pm 128$  نانومتر و افزایش پایداری فیزیکی امولسیون‌های آب در روغن بر پایه روغن ذرت شده است (۱).

نجفی و همکاران (۱۳۹۸) به ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی و پایداری نانوامولسیون آب در روغن حاوی عصاره زعفران پرداختند که بدین منظور، نانوامولسیون‌های آب در روغن با استفاده از مخلوط اسپان ۸۰ و توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر در سه سطح ۱۰، ۱۲/۵ و ۱۵ درصد و با کمک امواج فراصوت را تولید کردند. اندازه قطرات، شاخص پراکندگی و درصد پایداری هر کدام از نمونه‌ها در مقابل نور و در طی ۲۸ روز پس از تولید را بررسی نمودند. نتایج نشان داده است که امولسیون حاوی ۱۵ درصد امولسیفایر در مقایسه با سایر امولسیون‌ها همواره اندازه قطرات و شاخص پراکندگی کمتری داشته و به لحاظ درصد پایداری فیزیکی نیز در طول مدت نگهداری تغییری از خود نشان نداده است (۶).

حیدری و باقری (۱۳۹۸) به مطالعه اثرات ضد میکروبی نانوامولسیون عصاره آبی گیاه نعناع فلفلی بر باکتری گرم منفی *اشرشیا کلای* پرداختند و در این مطالعه آزمایشگاهی، از عصاره گیاه نعناع فلفلی و توئین ۸۰ استفاده شده که با استفاده از روش اولتراسونوفیکاسیون، پارامترهای درصد سورفکتانت، غلظت اسانس و زمان سونیکاسیون مورد بررسی قرار گرفته است. سبزی نمونه‌ها به وسیله آنالیز پراکندگی نور دینامیکی و خواص ضد میکروبی در برابر باکتری *اشرشیا کلای* به دو روش کمی واحد کلونی‌ساز و

نانوامولسیون آب در روغن به وسیله روغن با نسبت ۱ به ۵۰ رقیق شده و به وسیله دستگاه (Dynamic Light Scattering) اندازه ذرات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با زاویه ۹۰ درجه مشخص گردید (۳).

بررسی رهائش مواد فرار سیر: پس از تهیه نانوامولسیون‌ها، مواد فرار حاصل از آن‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent Technologies, Inc) ساخت کشور آمریکا تزریق شد و در مرحله بعد مجموع مساحت زیر پیک‌های حاصله از مواد فرار ناشی از عصاره و اسانس سیر اندازه‌گیری شده تا درصد پوشاندن بو توسط فاز پیوسته در نانوامولسیون‌های آب در روغن مشخص شود. در دستگاه کروماتوگرافی گازی، نمونه از فضای بالای نمونه به وسیله سرنگ (حدوداً ۵ سی‌سی) برداشته شده و به داخل دستگاه تزریق شده و تزریق نمونه با مشخصات زیر انجام گرفت (۲، ۹).

دمای اتاقک تزریق برابر ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، دمای آغازین آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و با گرادیان دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد رسید و دستگاه به مدت دو دقیقه در این دما باقی مانده و زمان کل هر آزمایش ۱۲ دقیقه بود. ستون مورد استفاده از نوع (Agilent Technologies, Inc Catalog 19091J-413 HP-5) بوده و دارای طول ۵۰ متر با قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرون بود. گاز حامل نیتروژن با سرعت جریان ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه بوده و شناساگر از نوع یونیزاسیون شعله‌ای با دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. در نهایت با مقایسه مجموع مساحت سطح زیر پیک‌های حاصل از نانوامولسیون و مساحت سطح زیر پیک‌های حاصل از اسانس سیر بدون درون‌پوشانی در غلظت یکسان اسانس و شرایط کاملاً یکسان، کارایی

کشت<sup>۱</sup> TSB (مرک)، پتاسیم برومید (شرکت سیگما، آمریکا)، پتاسیم کلرید (سیگما الدریج) و سدیم کلرید (سیگما الدریج) بودند.

### روش آماده سازی نمونه

ابتدا حبه‌های سیر را به منظور جداسازی بهتر پوست در آب خیس کرده و سپس پوست و ته حبه‌های سیر را جدا کرده و حبه‌های سیر شست‌وشو داده شدند. بعد از شست‌وشو سیرها را داخل همزن ریخته و بعد از خرد کردن کامل آن‌ها با نسبت ۱ به ۱ با آب مقطر مخلوط کرده سپس مواد را ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای زیر ۱۵ درجه نگهداری شد. در نهایت ترکیب را از صافی پارچه‌ای جهت جداسازی ذرات درشت سیر عبور داده و مایع صاف شده را از کاغذ صافی نیز عبور داده و در نهایت با سرعت دورانی ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه عصاره را سانتریفیوژ کرده و بدین ترتیب عصاره سیر تهیه گردید. بعد از آماده شدن عصاره سیر، روغن زیتون با سورفاکتانت PGPR را در حال هم زدن مخلوط کرده و سپس عصاره سیر به صورت قطره قطره و به آرامی به مخلوط روغن و سورفاکتانت در حال هم زدن با سرعت دورانی ۵۰۰ دور در دقیقه افزوده شد. مخلوط تهیه شده با سرعت دورانی ۷۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه ادامه یافت و به دستگاه حمام اولتراسوند (۱۰۰ وات و فرکانس ۴۰ کیلوهرتز) جهت همگن کردن بیشتر منتقل گردید و به این ترتیب نانوامولسیون مورد نظر تهیه شد (۸). نمونه‌های تهیه شده تا موقع انجام آزمون‌ها در ظروف شیشه‌ای رنگی قرار داده شده و در یخچال نگهداری شدند.

**اندازه ذرات:** جهت اندازه‌گیری ذرات ابتدا همه نانو امولسیون‌ها به منظور جلوگیری از پراکنش متعدد ذرات (Multiple Scattering)، نمونه‌های

### 1. Tryptic Soy Broth

درون پوشانی و پوشاندن بو طبق فرمول زیر مشخص شد (۹ و ۱۰).

**تعیین میزان MIC<sup>۱</sup> و MBC<sup>۲</sup>:** جهت تعیین حداقل غلظت مهارکننده و حداقل غلظت کشندگی از روش مایکرو دایلوژن استفاده شد. برای این منظور، ابتدا از باکتری‌ها کشت تازه تهیه شد. باکتری‌های مطالعه شده شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC ۲۵۹۲۳) و *شرشیا کلائی* H7 O157 (ATCC ۷۰۰۷۲۸) در لوله‌های فالکون ۱۵ میلی لیتر که حاوی محیط کشت مولر هینتون مایع بودند تلقیح شده و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرمادهی باکتری‌های رشد کرده در محیط مایع کدورت ایجاد کردند. بنابراین جهت به دست آوردن رسوب باکتری، لوله‌های فالکون در دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوب باکتری دو بار با سرم فیزیولوژی استریل شست‌وشو داده شد و در چهارمین مرحله از سانتریفیوژ رقت ۰/۵ مک فارلند با کمک لوله‌های استاندارد مک فارلند و توسط سرم فیزیولوژی استریل، تهیه گشت. به‌طور جداگانه محیط کشت TSB آماده شد و به ۷ چاهک پلیت ۱۰۰ میکرو لیتر از آن افزوده گردید (۱۱). سپس رقت‌های مختلفی از نانو امولسیون‌ها در این محیط کشت در داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه تهیه شد (ابتدا ۱۰۰ میکرو لیتر نانو امولسیون به ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت TSB در چاهک اول اضافه شد و بعد از هم زدن، یک میلی لیتر از آن به چاهک دوم و از چاهک دوم به چاهک سوم و تهیه رقت تا چاهک ششم ادامه پیدا کرد). در واقع رقت‌های ۱/۲ تا ۱/۶۴ از امولسیون‌ها تشکیل شد. در مرحله بعد، ۲۰ میکرو لیتر از رقت تهیه شده از باکتری‌ها در چاهک‌های حاوی محیط

کشت و امولسیون تلقیح شدند. در چاهک هفتم فقط ۱۰۰ میکرو لیتر محیط کشت اضافه شد و سپس تلقیح باکتری صورت گرفت تا این خانه به‌عنوان خانه‌ی شاهد در نظر گرفته شود. رقت تهیه شده از باکتری‌ها نیم مک فارلند یا به تعداد تقریبی  $1/5 \times 10^8$  بود ولی برای به دست آوردن نتایج صحیح‌تر نیم مک فارلند نیز توسط سرم فیزیولوژی استریل رقیق شد تا تعداد تقریبی  $5 \times 10^5$  به دست بیاید. به این صورت در نهایت دو پلیت ۹۶ خانه حاوی ردیف‌هایی با محیط کشت و نانو امولسیون‌های متفاوت و باکتری‌های تلقیح شده موجود بود که جهت گرمادهی و بررسی میزان کدورت تشکیل شد. در نهایت پلیت‌های ۹۶ خانه به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور با ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند، سپس با مقایسه کدورت چاهک‌های تحت تیمار با چاهک‌های کنترل میزان MIC مشخص شد. به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)، از باکتری‌های تحت تیمار در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه، از یک رقت پایین‌تر از حداقل غلظت مهارکنندگی و دو رقت بالاتر از آن بر روی محیط مولر هینتون آگار به‌صورت خطی کشت داده شد و کمترین غلظتی که در آن خط رشدی بر روی محیط آگاردار دیده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۱۱، ۱۲).

**اندازه‌گیری گرانروی نانو امولسیون‌ها:** ویسکوزیته نمونه‌های نانو امولسیونی به وسیله ویسکومتر بروکفیلد (DVII Pro ساخت آمریکا) در دمای محیط و همچنین در چند دمای مختلف و با سرعت دورانی ۶۰ دور در دقیقه و با اسپیندل شماره ۶۱ به مدت ۳۰ ثانیه انجام شدند. ویسکوزیته‌های یادداشت شده در دماهای مختلف با مدل آرنیوس برازش شده و پارامترهای سینتیکی مربوطه محاسبه شدند.

1. Minimum inhibitory concentration
2. Minimum bactericidal concentration



امولسیون‌های آب در روغن چاپ نشده است اما در این تحقیق سعی شده است که خواص ضد میکروبی نانو امولسیون‌های آب در روغن حاوی عصاره سیر نیز بررسی شود. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای نانو امولسیون‌های آب در روغن حاوی درصدهای مختلف عصاره نشان داد که تنها در درصدهای بالای عصاره سیر در فرمولاسیون نانو امولسیون‌های آب در روغن، فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد (جدول ۱). در این نوع نانو امولسیون نیز مشخص شد که فعالیت ضد میکروبی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارند.

عصاره حاصل از جنس *Allium* سبب کاهش دریافت اکسیژن، ممانعت از سنتز لیپیدها، پروتئین‌ها و اسید نوکلئیک، کاهش رشد و نهایتاً آسیب به دیواره سلولی می‌گردد (۱۳). بنابراین حضور مقادیر قابل توجه ترکیبات ارگانوسولفور و سایر ترکیبات ذکر شده با مکانیسم‌های فوق به‌ویژه تأثیر بر غشاء سلولی و مختل نمودن فعالیت آن و نیز ایجاد اختلال در فعالیت‌های متابولیسمی نشان از توان بالای فعالیت ضد میکروبی اسانس سیر و موسیر است. چندین سازوکار برای تشریح فعالیت ضد میکروبی سیر پیشنهاد شده است. جلوگیری از سنتز DNA و RNA و پروتئین سلول‌ها از جمله سازوکارهای پیشنهادی می‌باشند (۱۴). بیان شده است که بخش عمده‌ای از خواص ضد میکروبی سیر مربوط به آلیسین و متابولیت‌های حاصل از آن است. این ترکیبات فعالیت‌های ضد میکروبی خود را از طریق مهار اختصاصی آنزیم استیل کوآنزیم آ-سنتتاز ایفا می‌کنند. مهار این آنزیم موجب مهار زیست سنتز لیپید و اسیدهای چرب شده و در نهایت باعث اختلال در قابلیت زیستی سلول می‌شود. یکی از خصوصیات مهم ترکیبات ارگانوسولفور سیر، قابلیت نفوذپذیری و عبور از طریق فسفولیپیدهای غشاء است. در بین ترکیبات موجود در

انجام آزمون FT-IR: طیف‌های جذبی مربوط به نمونه‌های نانوامولسیونی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با امواج فرسرخ انتقال فوریر (Nexus-670, Thermo Nicolet, ساخت آمریکا) به روش تهیه قرص پتاسیم برومید تهیه شدند. بدین منظور نمونه‌های ۲ میلی‌گرمی از نمونه‌های نانوامولسیونی خشک شده با پتاسیم برومید مخلوط شده و قرص‌های موردنظر ساخته شدند. آنالیز فوق در ناحیه جذبی  $500\text{ cm}^{-1}$  تا  $4000\text{ cm}^{-1}$  انجام شده است. آزمون وزن سنجی حرارتی (TGA): آنالیزهای TG/DTG برای نمونه‌های نانوامولسیونی به طور هم‌زمان به وسیله دستگاه آنالیز حرارتی (STA PT-1000) ساخت شرکت Linseis از کشور آلمان انجام شد. داده‌های مربوط به کاهش وزن نمونه‌های نانوامولسیون در طول زمان در بازه دمایی ۲۵ تا ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ دمایی ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه ثبت شده و نمودارهای مربوطه توسط دستگاه رسم شدند. همچنین وزن اولیه نمونه‌ها ۴۰ میلی‌گرم بوده است.

### آنالیز آماری

در این مطالعه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شدند. آنالیز واریانس داده‌ها (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام شد و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط نرم افزار SPSS برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. از نرم‌افزار اکسل و STATGRAPHIC جهت رسم نمودارها استفاده شد.

### نتایج و بحث

اندازه‌گیری MIC و MBC نانو امولسیون‌ها: اگرچه تاکنون تحقیقی در مورد خواص ضد میکروبی نانو

1. Fourier transform infrared
2. Thermogravimetric analysis

عصاره سیر دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس بود و احتمالاً برای مشاهده اثرات مهارکنندگی این نانوامولسیون‌ها (۵ و ۱۵ درصد) باید از غلظت‌های بالاتر آنها در محیط کشت استفاده نمود ( $1/2 <$ ). علاوه بر این، هیچ یک از نانوامولسیون‌ها در غلظت مورد بررسی عصاره سیر فعالیت کشندگی علیه دو باکتری بیماری‌زا نشان ندادند.

عصاره آبی سیر، ترکیب دی آلیل تیوسولفینات مؤثرترین ترکیب در فعالیت‌های بیولوژیکی و ضد میکروبی سیر می‌باشد. چنانچه از جدول ۱ پیداست، به دلیل پوشاندن قسمت عمده ترکیبات فرار و کاربردی عصاره سیر در طی فرآیند امولسیون کردن، نانوامولسیون‌های دارای درصد عصاره سیر کمتر، فعالیت ضد میکروبی از خود نشان نداده و تنها نانوامولسیون حاوی ۲۵ درصد

جدول ۱- حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی نانوامولسیون‌ها بر اساس درجه رقت برای دو باکتری مورد آزمایش.

Table 1. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of nanoemulsions by degree of dilution for two tested bacteria.

۲۵ درصد عصاره سیر 25% garlic extract		۱۵ درصد عصاره سیر 15% garlic extract		۵ درصد عصاره سیر 5% garlic extract		نوع نانوامولسیون Nano emulsion type
<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	نوع باکتری Bacterial type
$1/2 <$	$1/2$	$1/2 <$	$1/2 <$	$1/2 <$	$1/2 <$	MIC
$1/2 <$	$1/2 <$	$1/2 <$	$1/2 <$	$1/2 <$	$1/2 <$	MBC

افزایش می‌یابد (جدول ۲). افزایش دمای نمونه‌ها نیز باعث کاهش ویسکوزیته نمونه‌ها شده است. داده‌های مربوط به تغییرات ویسکوزیته با افزایش دما نیز با مدل آرنیوس برازش داده شده و انرژی فعال‌سازی محاسبه شد.

ویسکوزیته نانو امولسیون‌ها: ویسکوزیته نمونه‌های نانوامولسیون آب در روغن به وسیله ویسکومتر بروکفیلد اندازه‌گیری شده است. نتایج نشان می‌دهد با افزایش کسر حجمی (عصاره سیر) در فرمولاسیون نانوامولسیون‌های آب در روغن، ویسکوزیته آن‌ها

جدول ۲- ویسکوزیته نمونه‌های نانو امولسیون حاوی عصاره سیر در دمای محیط.

Table 2. Viscosity of nanoemulsion samples containing garlic extract at ambient temperature.

Viscosity (centipoise) ویسکوزیته (سانتی پواز)	Activation energy (kJ / mol) انرژی فعال‌سازی (کیلوژول بر مول)	Type of nanoemulsion نوع نانوامولسیون
$51 \pm 1.8^a$	45.50	۵ درصد عصاره سیر 5% garlic extract
$86 \pm 3.2^b$	49.12	۱۵ درصد عصاره سیر 15% garlic extract
$125 \pm 4.3^c$	50.41	۲۵ درصد عصاره سیر 25% garlic extract

وجود حروف مشابه در هر ردیف نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ( $P < 0.05$ ).

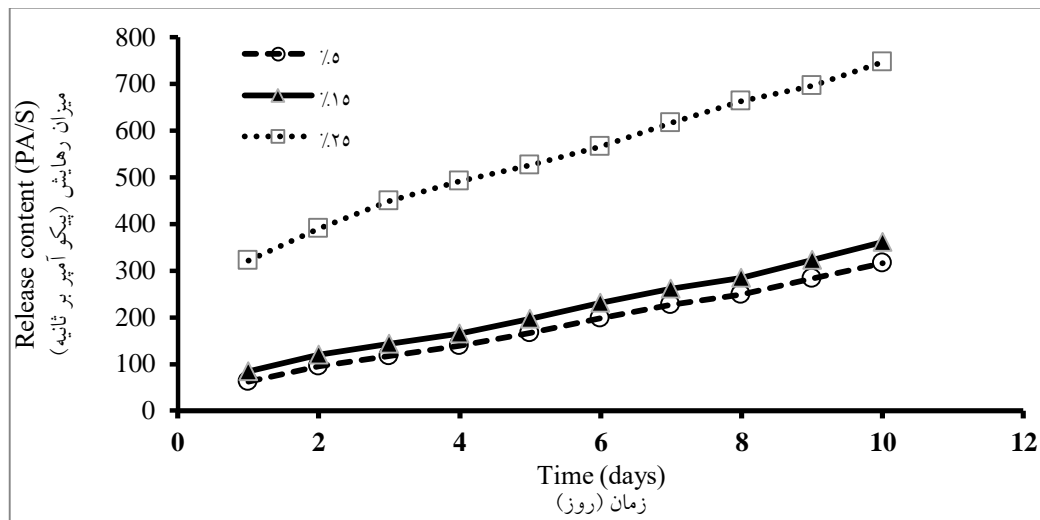
The presence of similar letters indicates no significant difference in the level 0.05.

فرمولاسیون نانوامولسیون‌ها، میزان رهایش مواد فرار نیز افزایش می‌یابد. همان‌طور که قبلاً نیز اشاره شد یکی از دلایل این حالت به پدیده انتشار است به طوری که هر چه درصد عصاره سیر در فرمولاسیون

رهایش مواد فرار عصاره سیر از نانو امولسیون‌ها اثر کسر حجمی فاز پراکنده بر روی رهایش مواد فرار عصاره سیر از نانو امولسیون‌ها: چنانچه در شکل ۱ مشاهده می‌شود با افزایش کسر حجمی در

افزایش پیدا کرده و میزان بیشتری از مواد فرار عصاره سیر به سرفضای نمونه‌ها انتشار پیدا می‌کنند.

نانوامولسیون‌ها بالا می‌رود اختلاف بین غلظت مواد فرار عصاره سیر بین فاز درونی و فاز بیرونی نانوامولسیون‌ها بیشتر شده و در نتیجه میزان انتقال



شکل ۱- تأثیر کسر حجمی در فرمولاسیون نانوامولسیون‌ها بر میزان آزادسازی ترکیبات فرار اسانس سیر در طی نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد.

Figure 1. Effect of volume fraction in the formulation of nanoemulsions on the release rate of volatile compounds of garlic essential oil during storage at 37 ° C.

سیر (۲۵ درصد) تغییرات عمده در میزان رهائش مواد فرار مشاهده می‌شود (۱۳).

**اثر دمای نگهداری بر روی رهائش مواد فرار عصاره سیر از نانو امولسیون‌ها:** چنانچه در شکل ۲ مشاهده می‌شود در این نوع نانوامولسیون نیز با افزایش دمای نگهداری از ۲۴ به ۵۰ درجه سانتی‌گراد میزان رهائش مواد فرار به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا کرده است به طوری که فقط با گذشت ۱۰ روز میزان رهائش مواد فرار به طور کلی حدود ۵ برابر افزایش پیدا کرده است که این افزایش در دماهای بالاتر به مراتب بیشتر است. در روز دهم نگهداری میزان رهائش مواد فرار برای نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تقریباً دو برابر میزان رهائش در دمای محیط است. دمای نگهداری بر روی روند رهائش مواد فرار سیر از فاز

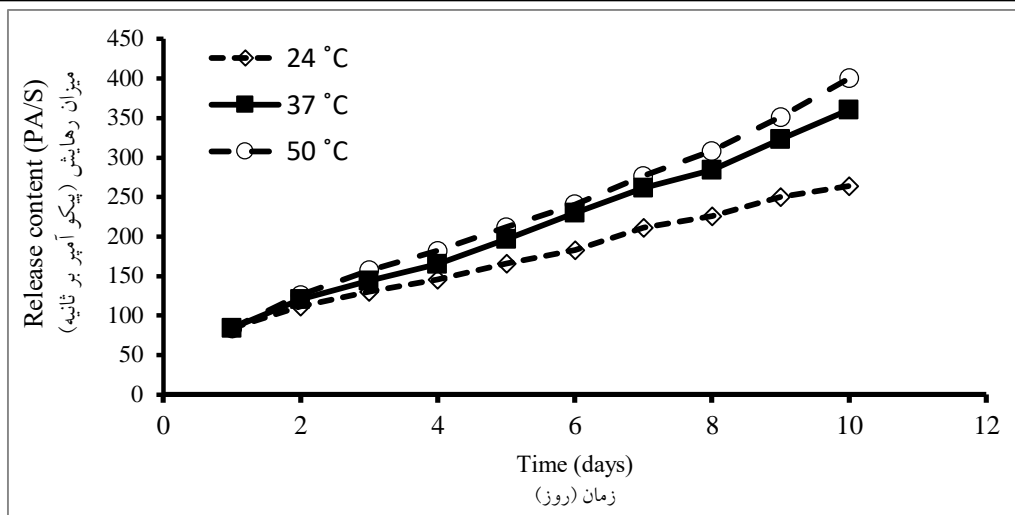
با مقایسه رهائش مواد فرار تحت تأثیر کسر حجمی در دو نوع نانو امولسیون تهیه شده می‌توان دریافت که به‌طور کلی در نانوامولسیون‌های آب در روغن نسبت به نانوامولسیون‌های روغن در آب میزان رهائش مواد فرار کمتر بوده که دلیل این امر از طرفی به غلظت کمتر مواد فرار عصاره سیر نسبت به اسانس سیر است و از طرفی نیز احتمالاً نشان‌دهنده این موضوع است که روغن در مقایسه با آب به‌عنوان فاز پیوسته دارای ویسکوزیته بیشتری بوده و نگه‌دارنده بهتری برای مواد فرار عصاره سیر بوده و اجازه کمتری به انتشار مواد فرار از فاز درونی به فاز خارجی نانوامولسیون‌ها داده است. همچنین شکل ۱ نشان می‌دهد که در درصدهای پایین عصاره سیر تفاوت معنی‌داری بین رهائش مواد فرار حاصله از آن‌ها وجود ندارد و تنها در درصدهای بالاتر عصاره

که مربوط به نانو امولسیون‌های تهیه شده هستند با هم تفاوت‌هایی در ظاهر شدن بعضی پیک‌های آن‌ها وجود دارد و از روی شدت پیک‌ها می‌توان درصد تقریبی ترکیبات را در فرمولاسیون آن‌ها تشخیص داد. یکی از شاخص‌ترین پیک‌هایی که در ناحیه جذبی حدود  $3000\text{ cm}^{-1}$  در هر سه طیف مربوط به نانوامولسیون‌ها دیده می‌شود مربوط به گروه‌های عاملی موجود در روغن آفتابگردان و PGPR (ارتعاشات مربوط به CH-های آلیفاتیک متقارن و نامتقارن) است. همچنین پیک ظاهر شده در ناحیه جذبی حدود  $1740\text{ cm}^{-1}$  که هم در طیف مربوط به روغن آفتابگردان (A) و هم هر سه طیف مربوط به نانو امولسیون‌ها وجود دارد مربوط به گروه‌های عاملی کربونیل استری موجود در روغن آفتابگردان است (۱۸) که تأیید کننده وجود روغن در فرمولاسیون نانوامولسیون‌ها است. پیک ظاهر شده در ناحیه جذبی  $1731\text{ cm}^{-1}$  که در طیف مربوط به PGPR دیده می‌شود به ارتعاشات کششی C=O نسبت داده شده است (۹) که با پیک مربوط به گروه‌های کربونیل موجود در روغن تداخل داشته و به صورت یک پیک مشترک در همان ناحیه در پیک هر سه نوع نانو امولسیون ظاهر شده‌اند.

درونی به فاز بیرونی نانو امولسیون‌ها اثر قابل ملاحظه‌ای دارد. دلیل افزایش میزان رهایش مواد فرار در نتیجه افزایش دما می‌تواند به دلایل زیر باشد:

عملاً افزایش دما در نانو امولسیون‌ها باعث کاهش ویسکوزیته نانو امولسیون‌ها می‌شود که در این صورت جاذبه بین مولکولی بین در فاز پیوسته و فاز پراکنده نانوامولسیون‌ها کاهش پیدا کرده و این موضوع زمینه را برای تسهیل خروج و مهاجرت مواد فرار از فاز درونی به سرفضای نانو امولسیون‌ها فراهم می‌سازد. دلیل دوم به افزایش انرژی جنبشی مربوط می‌شود به طوری که افزایش دما باعث افزایش انرژی جنبشی شده و در نتیجه انرژی برخورد مولکول‌ها و بی‌نظمی سیستم نیز بیشتر شده و بدین ترتیب میزان رهاسازی و مهاجرت ترکیبات فرار از فاز درونی به بیرون سیستم بیشتر می‌شود.

**آنالیز طیف‌های FT-IR نانو امولسیون‌ها:** از آزمون FT-IR جهت شناسایی گروه‌های عاملی نانوامولسیون‌های آب در روغن با فرمولاسیون‌های مختلف و نیز ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون آن‌ها استفاده شده است. همان‌طور که از شکل ۳ نیز مشخص است با مقایسه طیف‌های مختلف می‌توان وجود ترکیبات استفاده شده را در فرمولاسیون نانو امولسیون‌های تهیه شده تأیید کرد. طیف‌های E, D, F و

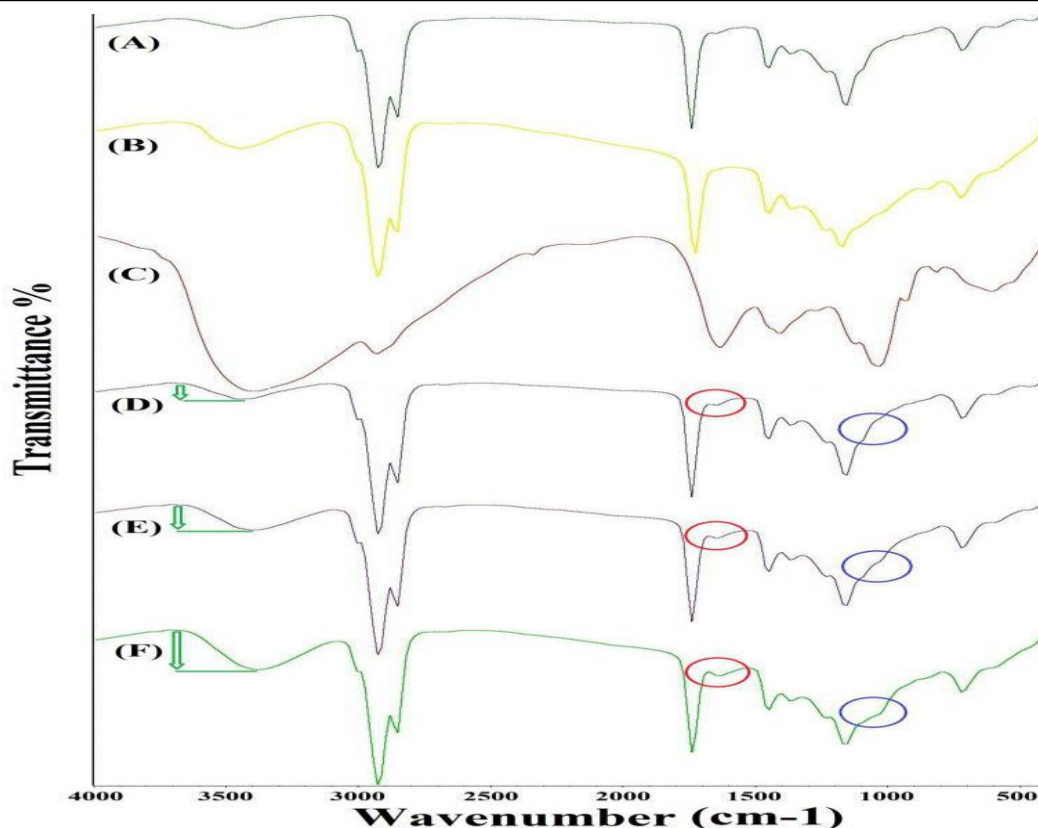


شکل ۲- تأثیر دمای نگهداری نانوامولسیون‌ها بر میزان آزادسازی ترکیبات فرار اسانس سیر در طول نگهداری برای نمونه‌های حاوی ۱۵ درصد عصاره سیر.

Figure 2. Effect of storage temperature of nanoemulsions on the release rate of volatile compounds of garlic essential oil during storage for samples containing 15% garlic extract.

اما به صورت تورفتگی کوچک در هر سه طیف ظاهر شده است و با افزایش درصد عصاره سیر در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها، مقدار تورفتگی نیز در این ناحیه جذب بیشتر شده است. سومین تفاوت مربوط به طیف‌های D، E و F در ناحیه جذب حدود  $1100\text{ cm}^{-1}$  است که معمولاً پیک جذب گروه‌های تیوسولفینات در نواحی  $1095\text{--}1080\text{ cm}^{-1}$  مشاهده می‌شود و پیک جذب  $1078\text{ cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاشات کششی گروه C-S(O)-C می‌شود. منشأ این گروه‌های عاملی مربوط به عصاره سیر استفاده شده در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها (طیف C) است. با مقایسه سه طیف نام‌برده می‌توان مشاهده کرد که با افزایش درصد عصاره سیر در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها، شدت پیک ظاهر شده در این ناحیه جذب نیز افزایش یافته است.

اولین تفاوت سه طیف آخر در شکل ۳ مربوط به شدت پیک ظاهر شده در ناحیه جذب  $3500\text{ cm}^{-1}$  است که مربوط به گروه عاملی OH- است به طوری که در طیف D که مربوط به نانو امولسیون‌های حاوی ۵ درصد عصاره سیر (فاز آبی) می‌باشد، درحالی که طیف‌های E و F به ترتیب مربوط به نانوامولسیون‌های حاوی ۱۵ و ۲۵ درصد عصاره سیر هستند و این امر باعث شده است که با افزایش درصد عصاره سیر در فرمولاسیون نانو امولسیون‌ها، پیک موجود در ناحیه جذب  $3500\text{ cm}^{-1}$  با شدت بیشتری ظاهر گردد. تفاوت دوم سه طیف مذکور در شدت پیک ظاهر شده در ناحیه جذب  $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  است که احتمالاً مربوط به گروه‌های عاملی C=O و S-H موجود در عصاره سیر می‌باشد (۱۵). هرچند در این ناحیه به علت تداخل پیک‌ها به طور مستقل این پیک در طیف‌های مربوط به نانو امولسیون‌ها ظاهر نشده است



شکل ۳- طیف FTIR برای نانوامولسیون‌های حاوی ۵ (D)، ۱۵ (E) و ۲۵ (F) درصد عصاره سیر، روغن آفتابگردان (A)، PGPR به‌عنوان سورفکتانت (B) و عصاره سیر (C)

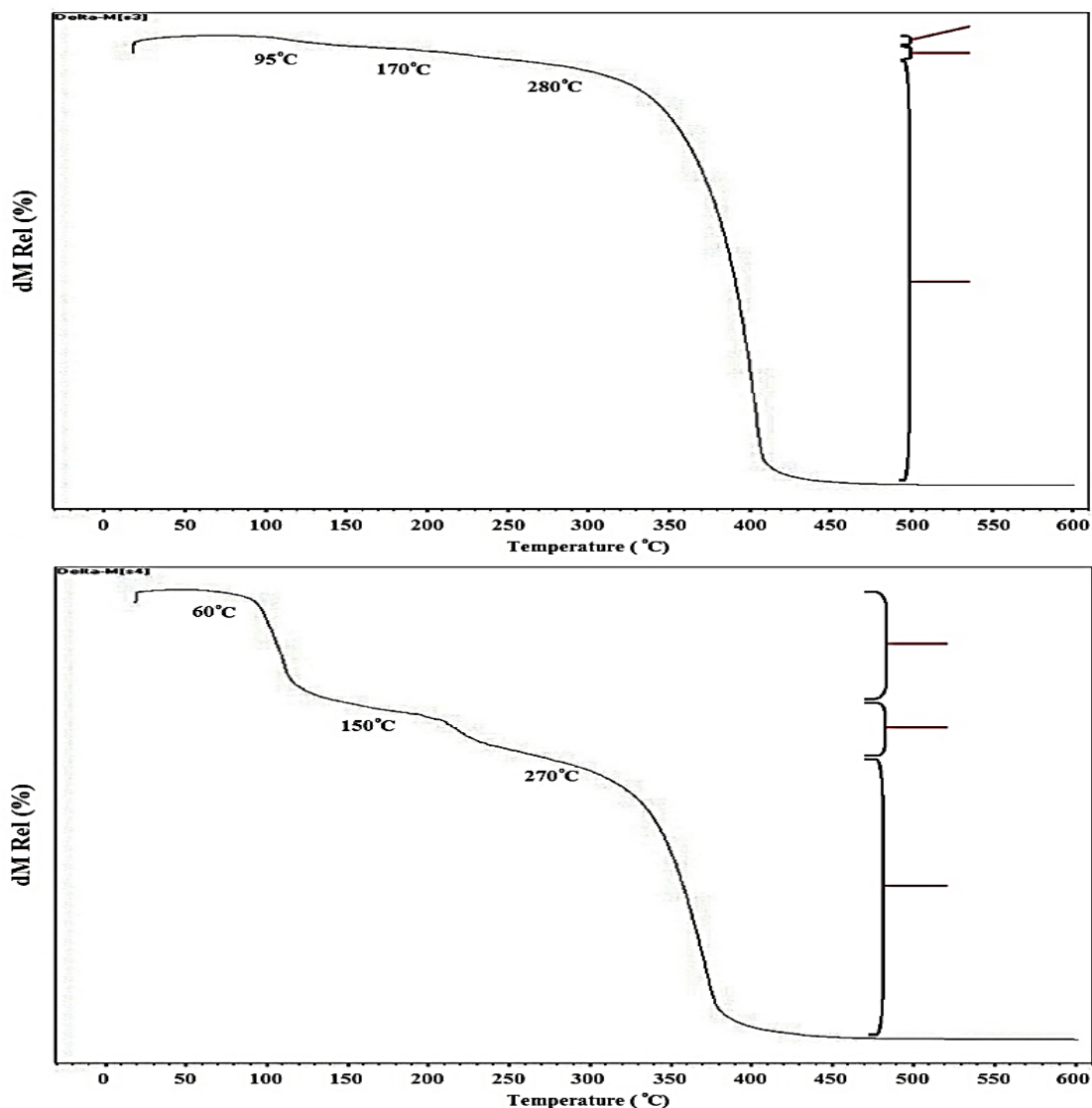
Figure 3. FTIR spectra for nanoemulsions containing 5 (D), 15 (E) and 25 (F) percent of garlic extract and sunflower oil (A), PGPR as surfactant (B) and Garlic extract (C)

با کاهش وزن نمونه را نشان می‌دهد. با مقایسه منحنی‌های دمانگار TGA، می‌توان گفت که مراحل تجزیه‌ای مختلف به درصد ترکیبات مورد استفاده بستگی دارد. در نانوامولسیون‌های آب در روغن B (۲۵ درصد عصاره سیر، ۲۵ درصد PGPR و ۵۰ درصد روغن سویا)، اولین مرحله تجزیه‌ای در بازه دمایی ۶۰ تا ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به تجزیه حرارتی آب و ترکیبات فرار موجود در عصاره سیر است. مرحله تجزیه بعدی در بازه دمایی ۱۵۰ تا ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به تجزیه حرارتی ترکیبات باقیمانده موجود در عصاره سیر و اسید چرب‌های چند غیراشباعی موجود در روغن سویا در ساختار میسل‌ها است. مرحله تجزیه‌ای سوم در بازه دمایی ۲۷۰ تا ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد مربوط به تجزیه PGPR و اسید

آنالیز وزن سنجی حرارتی نانوامولسیون‌ها: آنالیزهای TGA/DTG به منظور بررسی تجزیه حرارتی نمونه‌های نانوامولسیون‌ها به‌طور هم‌زمان در بازه دمایی ۲۵ تا ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد تحت گاز نیتروژن انجام شده است. شکل ۴، دمانگار TGA/DTG مربوط به نمونه‌های نانوامولسیون A (۵ درصد عصاره سیر، ۵ درصد PGPR و ۹۰ درصد روغن سویا) و B (۲۵ درصد عصاره سیر، ۲۵ درصد PGPR و ۵۰ درصد روغن سویا) را نشان می‌دهد. شکل ۴ (A) یک مرحله تجزیه اصلی را در همان ابتدا نشان می‌دهد که مربوط به از دست رفتن روغن سویا است. مراحل تجزیه‌ای دیگر به دلیل مقادیر کم عصاره سیر و سورفکتانت (مجموعاً ۱۰ درصد) زیاد قابل توجه نیستند. شکل ۴ (B) سه مرحله انتقالی مجزا را همراه

کلی می‌توان استنباط کرد که تشکیل نانوامولسیون حاوی عصاره سیر با فرمولاسیون‌های مختلف توسط آنالیزهای TGA تأیید شده است.

چرب‌های تک غیراشباعی موجود در روغن سویا می‌شود که کاهش وزن در این مرحله در بازه دمایی ۴۰۰ تا ۵۲۰ درجه سانتی‌گراد به تجزیه اسیدهای چرب اشباع موجود در روغن سویا می‌شود. به‌طور



شکل ۴- تجزیه و تحلیل TGA برای نانوامولسیون‌های آب در روغن A (۵٪ عصاره سیر، ۵٪ PGPR و ۹۰٪ روغن آفتابگردان) و B (۲۵٪ عصاره سیر، ۲۵٪ PGPR و ۵۰٪ روغن آفتابگردان)

Figure 4. TGA analysis for water/oil nanoemulsions A (5% garlic extract, 5% PGPR and 90% sunflower oil) and B (25% garlic extract, 25% PGPR and 50% sunflower oil)

روغن در آب می‌باشند. اما مطالعه بر روی نانوامولسیون‌های آب در روغن جهت درون پوشانی ترکیبات زیست فعال هیدروفیل جهت بهبود خواص فیزیکیوشیمیایی و ضد میکروبی مواد غذایی نیز

### نتیجه گیری

اگرچه بسیاری از تحقیقات انجام شده در زمینه نانوامولسیون‌ها مربوط به درون پوشانی ترکیبات زیست فعال لیپوفیل به وسیله انواع امولسیون‌های

توانایی تکنیک درون پوشانی در پوشاندن بوی عصاره سیر، پتانسیل بالایی برای استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی از جمله سس مایونز، دوغ و ماست موسیر دارند و نوید بخش تولید مواد غذایی فراسودمند غنی شده با نانوامولسیون در مقیاس صنعتی هستند.

می تواند حائز اهمیت باشد. مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد نانوامولسیون آب در روغن جهت درون پوشانی عصاره سیر کارآمد بوده و در غلظت‌های بالای نانوامولسیون خواص ضد میکروبی نیز مشاهده شد. بررسی پایداری نانوامولسیون‌های تولید شده نشان داد که نمونه‌های تهیه شده در این مطالعه به دلیل

### References

1. Tabibiazar, M., and Hamishehkar, H. 2015. Formulation of a Food Grade Water-In-Oil Nanoemulsion: Factors Affecting on Stability. *Pharmaceutical Sciences*. 21(4).
2. Hasanzadeh, H., Alizadeh, M., and Rezazad Bari, M. 2017. Production and assessment of physicochemical characteristics and encapsulation efficiency of garlic essential oil nanoemulsions. *Journal of Food Research*, 27(4), 159-170.
3. Gutiérrez, J., González, C., Maestro, A., Sole, I., Pey, C., and Nolla, J. 2008. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 13(4), 245-251.
4. Heydari, M. and Bagheri, M. 2019. Study of antimicrobial effects of nanoemulsion of aqueous extract of Peppermint (*Mentha Piperita Lamiaceae*) on gram-negative bacteria *Escherichia coli*: a laboratory study. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 18 (6), 515-528. (In Persian)
5. Ushikubo, F., and Cunha, R. 2014. Stability mechanisms of liquid water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*. 34:145-153.
6. Najafi, N., Nemati, M., Mohammadi, S., Thani, A. and Kadkhodai, R. 2019. Evaluation of physical properties and stability of water nanoemulsion in oil containing saffron extract. *Iranian Medicinal Plants Technology*. 2(2), 12-24. (In Persian).
7. Peng, L.-C., Liu, C.-H., Kwan, C.-C., and Huang, K.-F. 2010. Optimization of water-in-oil nanoemulsions by mixed surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 370(1), 136-142.
8. Ghadermazi, R., Khosroshahi Asl, A. Azizi, M.H. and Tamjidi, F. 2019. The effect of ultrasonic bath, surfactant to oil ratio and grain mucilage concentration on the properties of spontaneous nanoemulsions. *New technologies in the food industry*. 6(4), 533-546. (In Persian)
9. Hassanzadeh, H., Alizadeh, M., and Rezazad Bari, M. 2018. Formulation of garlic oil-in-water nanoemulsion: antimicrobial and physicochemical aspects. *IET nanobiotechnology*, 12(5), 647-652.
10. Hassanzadeh, H., Alizadeh, M., and Rezazad, B.M. 2019. Nano-encapsulation of garlic extract by water-in-oil emulsion: physicochemical and antimicrobial characteristics. *Iranian Food Science & Technology*, 15(84), 337-47.
11. Andrews, J.M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl 1), 5-16.
12. Hassanzadeh, H., Alizadeh, M., Hassanzadeh, R., and Ghanbarzadeh, B. 2022. Garlic essential oil-based nanoemulsion carrier: Release and stability kinetics of volatile components. *Food Science & Nutrition*, 10(5), 1613-1625.
13. Hann, G. 1996. History, folk medicine and legendary uses of garlic (2 ed.): Williams and Wilkins press.
14. Feldberg, R.S., Chang, S.C., Kotik, A.N., Nadler, M., Neuwirth, Z., Sundstrom, D.C., and Thompson, N.H. 1988. In vitro mechanism of inhibition



- of bacterial cell growth by allicin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 32(12), 1763-1768.
15. Acri, G., Testagrossa, B., and Vermiglio, G. 2016. FT-NIR analysis of different garlic cultivars. Journal of Food Measurement and Characterization. 10(1), 127-136.

