Iranian Food Science and Technology Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 22, No. 6, Jan.-Feb. 2027, p. 691-708

Extraction and Microencapsulation of Garlic Essential Oil and Investigation of Its Effect on the Physicochemical and Microbial Properties of White Brine Cheese

Y. Namaki[1], A. Shahab Lavasani[2*], N. Mooraki[1]
1- Department of Food Science and Technology, NT.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Department of Food Science and Technology, VaP.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: alireza_shahablavasani@iau.ac.ir)

Received: 28.07.2026
Revised: 05.09.2026
Accepted: 19.09.2026
Available Online: 03.11.2026

How to cite this article:
Namaki, Y., Shahab Lavasani, A., & Mooraki, N. (2027). Extraction and microencapsulation of garlic essential oil and investigation of its effect on the physicochemical and microbial properties of white brine cheese. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 22*(6), 691-708. (In Persian). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2026.100109.1609

Introduction

Garlic essential oil (GEO), owing to its bioactive sulfur compounds, exhibits strong antimicrobial activity; however, its high volatility and environmental sensitivity limit direct application in foods. Microencapsulation offers an effective strategy to enhance stability and enable controlled release. This study aimed to produce white brine cheese enriched with microencapsulated GEO and evaluate its microbiological, physicochemical, and sensory properties.

Materials and Methods

GEO composition was determined by GC–MS, identifying diallyl disulfide and diallyl trisulfide as dominant sulfur compounds. GEO was microencapsulated via spray drying using maltodextrin and gum Arabic as wall materials. Encapsulation was confirmed by FTIR, and microcapsule characteristics—including morphology, particle size distribution, polydispersity index (PDI), and zeta potential—were assessed. Particles exhibited spherical morphology, appropriate size distribution, low PDI, and favorable zeta potential. White brined cheese was produced traditionally. Treatments included control (no GEO), free GEO (FG), and microencapsulated GEO (MG) at 0.5%, 1%, and 1.5% were prepared. Samples were evaluated on days 0, 30, and 60 for microbiological, physicochemical, and sensory attributes (5-point hedonic test). Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of free and microencapsulated GEO were determined against *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Escherichia coli,* and *Salmonella Typhimurium.*

Results and Discussion

Treatment, time, and treatment×time interaction significantly affected *L. monocytogenes* counts ($p \leq 0.05$). The 0.5% MG treatment reduced pathogenic bacteria by 1.6 log CFU/g versus control on day 60, without adverse sensory effects. The results of zeta potential measurements showed that the average zeta potential of the microcapsules containing garlic essential oil was 34.20±1.5 mV. This negative and relatively high value indicates the presence of a significant negative surface charge on the microcapsule particles and indicates the favorable electrostatic stability of the colloidal system. DLS results showed that the average hydrodynamic diameter of the garlic essential oil microcapsules is in the nanometer range. Such a size is usually associated with the formation of more stable colloidal systems, since Brownian motion can overcome sedimentation. In addition, the low PDI

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.22067/ifstrj.2026.100109.1609

value indicates a narrow particle size distribution and good uniformity of the system. SEM images showed that the microcapsules were mainly spherical to quasi-spherical in shape and their surface was relatively smooth and uniform. Based on SEM image analysis with ImageJ software, the average diameter of the produced microcapsules was 2.64±13.79 µm. This particle size distribution and low standard deviation indicate proper uniformity of the microcapsule process and optimal control over production conditions. Morphological results confirm that the garlic essential oil microcapsule process has led to the production of microcapsules with a regular structure, intact walls, and appropriate size distribution. Physicochemically, 0.5% MG better controlled pH and titratable acidity changes; fat content was unaffected by treatments. The results of MIC and MBC tests showed that Gram-positive bacteria are more sensitive to garlic essential oil than Gram-negative bacteria, and this effect is enhanced by increasing the concentration. The results of two-way ANOVA showed that the effect of treatment, storage time, and their interaction on the moisture content of cheese was significant ($P<0.05$). In general, the moisture content of cheese decreased during 60 days of storage, which could be due to water evaporation, syneresis of the casein matrix, and rearrangement of the protein structure during ripening. Sensory evaluation showed 0.5% MG achieved the highest scores for flavor, aroma, texture, color, and overall acceptability (4.4/5) throughout storage. Thus, 0.5% microencapsulated GEO effectively enhances microbial safety and preserves sensory quality of white brine cheese.

Conclusion

The results of this study showed that garlic essential oil, especially in microencapsulated form, can be used as a natural and effective preservative to improve microbial safety and increase the shelf life of brine white cheese, without causing a significant decrease in sensory acceptance. Compared with the free essential oil, the microencapsulated form showed a more stable and effective antimicrobial effect against the examined microorganisms, especially *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureu*. Also, the gradual release and reduced evaporation of the active compounds in this system played an important role in maintaining the microbial and sensory quality of the product.

Acknowledgement

We would like to express our gratitude for the cooperation of the research laboratories of the Food and Drug Administration of Markazi Province (Arak).

Keywords: *Listeria monocytogenes*, Natural preservative, Microencapsulated garlic, Sensory properties, White brine cheese

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۲، شماره ٦، بهمن-اسفند ١٤٠٥، ص. ۷۰۸-٦٩١

استخراج و ریزپوشانی اسانس سیر و بررسی اثر آن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی پنیر سفید آب‌نمکی

یلدا نمکی[۱]- علیرضا شهاب لواسانی[۲*]- نرگس مورکی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۲۸

چکیده

اسانس سیر به‌دلیل ترکیبات گوگردی زیست‌فعال، خاصیت ضد میکروبی قوی دارد، اما فراریت بالا و حساسیت محیطی، کاربرد مستقیم آن را در مواد غذایی محدود می‌کند؛ ازاین‌رو ریزپوشانی راهکاری برای پایداری و رهایش کنترل‌شده است. هدف این پژوهش، تولید پنیر سفید آب‌نمکی غنی‌شده با اسانس سیر میکروریزپوشانی‌شده و ارزیابی ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی آن بود.ترکیب شیمیایی اسانس با GC-MS تعیین و دی‌آلیل دی‌سولفید و دی‌آلیل تری‌سولفید به‌عنوان ترکیبات غالب شناسایی شدند. ریزپوشانی با روش اسپری‌درایینگ و با استفاده از مالتودکسترین و صمغ عربی انجام شد و با FTIR تأیید گردید؛ همچنین مورفولوژی، توزیع اندازه ذرات، PDI و پتانسیل زتا ارزیابی شدند که ذرات کروی، با توزیع مناسب، PDI پایین و پتانسیل زتای مطلوب بودند. پنیر به روش سنتی تولید و تیمارها شامل شاهد، اسانس آزاد (FG) و ریزپوشانی‌شده (MG) در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد بودند که در روزهای ۰، ۳۰ و ۶۰ از نظر میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی (آزمون هدونیک ۵ امتیازی) بررسی شدند. MIC و MBC اسانس آزاد و ریزپوشانی علیه *Staphylococcus aureus*، *Listeria monocytogenes*، *Escherichia coli* و *Salmonella Typhimurium* تعیین شد.تأثیر تیمار، زمان و برهم‌کنش تیمار×زمان بر جمعیت لیستریا مونوسیتوژنز معنی‌دار بود ($p\leq0/05$). تیمار ۰/۵٪ اسانس ریزپوشانی‌شده باعث کاهش ۱/۶ واحد لگاریتمی (log CFU/g) جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به شاهد در روز ۶۰ شد، بدون تأثیر منفی بر کیفیت حسی، از نظر فیزیکوشیمیایی، این تیمار کنترل بهتری بر pH و اسیدیته داشت و درصد چربی تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. ارزیابی حسی نشان داد تیمار ۰/۵٪ اسانس ریزپوشانی‌شده بالاترین امتیازات طعم، عطر، بافت، رنگ و پذیرش کلی (۴/۴ از ۵) را در طول نگهداری کسب کرد. درنتیجه، اسانس سیر ریزپوشانی‌شده با غلظت ۰/۵٪ برای افزایش ایمنی میکروبی و حفظ کیفیت حسی پنیر سفید آب‌نمکی مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: پنیر سفید، سیر ریزپوشانی شده، لیستریا مونوسیتوژنز، ویژگی‌های حسی، نگهدارنده‌های طبیعی

مقدمه

امروزه گرایش مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد غذایی طبیعی، سالم و با ارزش تغذیه‌ای بالا افزایش یافته است. در این میان، پنیر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های لبنی، علاوه بر ارزش تغذیه‌ای و زیستی، می‌تواند بستر مناسبی برای غنی‌سازی با ترکیبات زیست‌فعال باشد؛ ازاین‌رو، استفاده از افزودنی‌های طبیعی، به‌ویژه اسانس‌های گیاهی، به‌جای ترکیبات شیمیایی بالقوه مضر، راهبردی مؤثر برای ارتقاء کیفیت و سلامت محصول محسوب می‌شود (Falleh, Ben Jemaa, Saada, & Ksouri, 2020). با وجود این، کاربرد مستقیم اسانس‌ها در مواد غذایی به‌دلیل ناپایداری در برابر اکسیداسیون و حرارت، فرّاریت

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: alireza_shahablavasani@iau.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2026.100109.1609

بالا، بوی تند و احتمال ایجاد اثرات نامطلوب حسی با محدودیت‌هایی همراه است؛ بنابراین، ریزپوشانی می‌تواند راهکاری کارآمد برای افزایش پایداری، محافظت از ترکیبات فرّار و کنترل رهایش آن‌ها در سامانه‌های غذایی باشد (Farazi, Asadi, & Gharachorloo, 2023; Melo *et al.*, 2020). در پژوهش‌های اخیر، روش‌های متعددی برای ریزپوشانی اسانس‌های گیاهی در ماتریس‌های غذایی به‌کار رفته است؛ از جمله خشک‌کردن پاششی با دیواره‌های کربوهیدراتی (مانند مالتودکسترین، صمغ عربی، نشاسته اصلاح‌شده)، امولسیفیکاسیون/هم‌پخت–پیچیده‌سازی با پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها، ژل‌سازی یونی (مثلاً آلژینات–کلسیم)، و لیپوزوم/نانوامولسیون که همگی با هدف بهبود پایداری، کاهش فرّاریت و دستیابی به رهش کنترل‌شده توسعه یافته‌اند. انتخاب روش و دیواره به‌طور مستقیم بر مورفولوژی ذرات، توزیع اندازه، کارایی کپسوله‌سازی، پتانسیل زتا و در نهایت اثربخشی ضد میکروبی و پذیرش حسی محصول نهایی تأثیر می‌گذارد.

پنیر سفید آب‌نمکی یکی از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین انواع پنیر است که به‌صورت نرم تا نیمه‌سخت تولید شده و در آب‌نمک نگهداری و رسیدگی می‌شود. این محصول به‌دلیل دارا بودن مقادیر قابل‌توجهی از پروتئین، کلسیم، مواد معدنی و ویتامین‌ها، جایگاه ویژه‌ای در رژیم غذایی دارد. کیفیت آن نیز تا حد زیادی به ویژگی‌های شیر خام، شرایط حرارتی فرآوری، بار میکروبی، میزان جذب نمک و pH نهایی وابسته است (Soltani, Saremnezhad, Faraji, & Hayaloglu, 2022).

سیر گیاهی چندمنظوره از خانواده لیلیاسه است که به‌طور گسترده به‌عنوان ماده غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به‌دلیل دارا بودن ترکیبات زیست‌فعال، توجه بسیاری را در صنایع غذایی به خود جلب کرده است. اسانس سیر، به‌عنوان بخش فرّار و زیست‌فعال این گیاه، حاوی ترکیباتی نظیر دی‌آلیل سولفید، آلیل متیل دی‌سولفید، آلیل متیل تری‌سولفید، دی‌آلیل دی‌سولفید و دی‌آلیل تری‌سولفید است و فعالیت‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و سلامت‌زای قابل‌توجهی نشان می‌دهد (Sarangi, Das, Panigrahi, Arakha, & Bhattacharya, 2024; Zhang *et al.*, 2024). با این حال، استفاده مستقیم از اسانس سیر در فرآورده‌های لبنی می‌تواند به‌دلیل شدت عطر و طعم، پذیرش حسی را کاهش دهد؛ ازاین‌رو، ریزپوشانی این اسانس می‌تواند ضمن حفظ اثرات زیست‌فعال، اثرات نامطلوب حسی را محدود کند (Ahmed, Saleem, & Hassanzadeh, 2023).

مرور پیشینه نشان می‌دهد که کاربرد اسانس‌های گیاهی ریزپوشانی‌شده در پنیر و سایر فرآورده‌های لبنی در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. برای نمونه، ریزپوشانی اسانس دارچین و آویشن با دیواره‌های پلی‌ساکاریدی و افزودن آن‌ها به محصولات گوشتی و لبنی منجر به کاهش جمعیت لیستریا مونوسیتوژنز تا حدود ۳–۴ واحد لگاریتمی (log CFU/g) شده است (Akram, Pavone, Munir, & Lopez, 2025). در پنیر موزارلا، اسانس زنیان و نایسین توانستند رشد لیستریا را به‌طور معنی‌داری مهار کنند و کمترین رشد باکتریایی در نمونه حاوی ۲٪ اسانس زنیان مشاهده شد (Ghaibi, Mohamadi, Velayati, Abdolshahi, & Shariatifar, 2025). همچنین، کاربرد پوشش خوراکی بر پایه نشاسته آچیرا حاوی روغن‌های سیر یا اورگانو در پنیر دابل‌کریم، از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و آلوده‌کننده طی ۴۲ روز نگهداری در ۵ درجه سانتی‌گراد جلوگیری کرد (Molina-Hernández, Echeverri-Castro, Martínez-Correa, & Andrade-Mahecha, 2020). این یافته نشان داد که استفاده از پوشش‌های حاوی ترکیبات گیاهی ضدمیکروبی می‌تواند به افزایش ماندگاری میکروبی پنیر کمک کند. با این وجود، تاکنون گزارشی از کاربرد اسانس سیر میکروریزپوشانی‌شده در پنیر سفید آب‌نمکی ارائه نشده است. بنابراین، هدف از این پژوهش تهیه پنیر سفید آب‌نمکی غنی‌شده با اسانس سیر ریزپوشانی‌شده و بررسی ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی آن است.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در تحقیق

شیر گاو تازه مورد استفاده در این پژوهش از دامداری محلی شهر اراک تهیه و در همان روز تولید به آزمایشگاه غذا و دارو اراک منتقل شد. مایه پنیر تجاری با قدرت انعقادی استاندارد (Chr. Hansen، دانمارک) برای انعقاد شیر به کار رفت. کلرید کلسیم ($CaCl_2$) گرید غذایی (Merck، آلمان) به‌صورت محلول ۴۰٪ (w/v) و نمک طعام برای تهیه آب‌نمک ۲۰٪ (w/v) استفاده شد. سیر تازه سالم و بدون آسیب فیزیکی از بازار محلی تهیه گردید. اسانس سیر به شکل آزاد در آزمایشگاه با دستگاه کلونجر استخراج شد (Yasin *et al.*, 2022) و پودر اسانس سیر ریزپوشانی شده با استفاده از مالتودکسترین (DE 10–12) و صمغ عربی (نسبت ۱:۱) تهیه گردید (Sigma-Aldrich). محیط‌های کشت میکروبی شامل پلیت کانت آگار[1]، ویولت رد بایل آگار[2]، ائوزین متیلن بلوآگار[3]، سابورو دکستروز آگار[4] حاوی کلرامفنیکل، برد پارکر آگار[5]، هاف فریزر براث[6]، فریزر براث[7]، پالکام آگار[8] و آکسفورد

1- Plate Count Agar
2- Violet Red Bile Agar
3- EMB Agar
4- Sabouraud Dextrose Agar
5- Baird-Parker Agar
6- Half Fraser Broth
7- Fraser Broth
8- PALCAM Agar

آگار[1] همگی از شرکت Merck (آلمان) تهیه شدند. همچنین بافر PBS (pH ۷/۴)، آب مقطر استریل و سایر مواد مصرفی آزمایشگاهی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه اسانس سیر

سیر با نام علمی (*Allium sativum* L.) از بازار محلی اراک تهیه شد و بعد از تأیید اسم علمی آن توسط گیاه‌شناسان با استفاده از کلیدهای شناسایی میزان ۵۰ گرم از حبه‌های خرد شده سیر با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با بخار آب اسانس‌گیری انجام شد مدت زمان عمل اسانس گیری ۳ ساعت به طول انجامید در انتها شیر دستگاه باز گردید و اسانس جمع‌آوری شد (Satyal, Craft, Dosoky, & Setzer, 2017). پس از پایان فرآیند، اسانس جمع‌آوری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره و در شرایط مناسب نگهداری شد. هدف از استخراج، تأمین اسانس مورد نیاز برای تهیه تیمارهای آزمایشی بود ازاین‌رو، راندمان استخراج به‌عنوان شاخص مستقل در این پژوهش اندازه‌گیری و تحلیل نشد.

آنالیز ترکیبات مؤثره اسانس سیر

یک میلی‌لیتر از اسانس سیر به‌دست آمده به دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی[2] (GC-MS) برای شناسایی اجزای آن تزریق شد. کروماتوگراف مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای[3] (FID) و ستون مویین مدل DB5 (۳۰ متر × ۲۵۰ میکرومتر قطر داخلی × ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر)، برنامه دمایی عبارت بود از: افزایش دمای داخلی ۵۰ تا ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و دمای تزریقگاه ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. ستون به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۶۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سرعت تزریق هلیوم ۱/۵ میلی‌متر بر دقیقه بود. طیف‌سنجی جرمی با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و دمای یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد اجرا شد (Raoofi, Noori, & Khanjari, 2023).

تهیه اسانس سیر ریزپوشانی شده

مواد دیواره شامل مالتودکسترین و صمغ عربی (۱:۱، w/w) با حل‌شدن در آب مقطر تهیه و به‌مدت ۲۴ ساعت در ۲۵ °C برای هیدراتاسیون کامل نگهداری شدند. اسانس سیر به محلول مواد دیواره افزوده و امولسیون اولیه با همزن مکانیکی (۳۰۰۰ rpm) به‌مدت ۵ دقیقه) تهیه شد. سپس امولسیون تحت اولتراسوند (۲۴۰ W، ۲۰ kHz به‌مدت ۲ دقیقه) قرار گرفت. برای هر تیمار، ۲۰۰ mL امولسیون استفاده شد. خشک‌سازی به روش اسپری‌درایینگ با نازل دو مایع انجام گرفت (دمای ورودی ۱۷۰ °C، نرخ تغذیه ۰/۹L h^{-1}، جریان هوای ا تمیزه‌کننده ۴۰ L min^{-1}). پودرهای ریزپوشانی شده پس از تولید در ظروف دربسته و در ۴ °C تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

اندازه‌گیری پتانسیل زتا[4]، اندازه ذرات[5] و شاخص پراکندگی چندگانه[6] برای میکروکپسول‌های اسانس سیر

اندازه ذرات، شاخص پراکندگی چندگانه (PDI) و پتانسیل زتا میکروکپسول‌های اسانس سیر برای ارزیابی پایداری کلوئیدی تعیین شد. اندازه ذرات و PDI با روش پراکندگی نور پویا (DLS) روی دستگاه Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) در دمای ۲۵ °C و زاویه پراکندگی ۱۷۳ درجه اندازه‌گیری شد؛ سوسپانسیون میکروکپسول‌ها به نسبت ۱:۱۰۰ با آب دیونیزه رقیق، ۵ دقیقه تعادل دمایی داده شد و قطر هیدرودینامیک میانگین PDI بر اساس تحلیل Cumulants گزارش گردید. پتانسیل زتا با الکتروفورز لیزری داپلر در pH=۷، دمای ۲۵ °C و محیط ۱۰ mM NaCl اندازه‌گیری شد تحرک الکتروفورزی ثبت و پتانسیل زتا بر اساس معادله هنری محاسبه گردید. طبق اصول علم کلوئید، مقدار مطلق پتانسیل زتا بزرگ‌تر از ۳۰ میلی‌ولت نشان‌دهنده پایداری سیستم در برابر تجمع است (Israelachvili, 2011).

ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی و کیفیت ساختاری ریزپوشانی اسانس سیر

به‌منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و کیفیت ساختاری میکروکپسول‌های اسانس سیر ریزپوشانی‌شده، از میکروسکوپ الکترونی روبشی[7] مدل Jeol JCM-7000 (Jeol Ltd., ژاپن) استفاده شد. بدین‌منظور، مقدار اندکی از پودر میکروکپسول‌ها بر روی استاب آلومینیومی مجهز به چسب کربنی دوطرفه تثبیت گردید. به‌منظور افزایش هدایت الکترونی سطح نمونه و جلوگیری از پدیده شارژشدگی در حین تصویربرداری، نمونه‌ها تحت شرایط خلأ با لایه‌ای نازک از طلا یا آلیاژ طلا–پالادیم به روش اسپاترینگ پوشش‌دهی شدند. به‌منظور تعیین توزیع اندازه ذرات، قطر میکروکپسول‌ها با استفاده از نرم‌افزار تحلیل تصویر (نظیر ImageJ) از تصاویر SEM اندازه‌گیری شد و

1- Oxford Agar
2- Gas Chromatograph-Mass Spectrometry
3- Flame ionization detector
4- Zeta Potential
5- Particle Size
6- PD
7- Scanning Electron Microscopy

شاخص‌های آماری مربوطه شامل میانگین قطر و انحراف معیار محاسبه گردید.

روش طیف‌سنجی مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR) برای ارزیابی تشکیل و پایداری میکروکپسول‌های حاوی اسانس سیر

روش طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) برای شناسایی گروه‌های عاملی و پیوندهای شیمیایی در ساختار اسانس سیر و میکروکپسول‌های حاوی آن به‌کار گرفته شد (Tavares, Santos, & Noreña, 2021b). نمونه‌ها به‌صورت پودر خشک و همگن تهیه و با استفاده از روش پرس قرص KBr نسبت ۱:۱۰۰ آماده‌سازی شدند. طیف‌ها در محدوده عددموج ۴۰۰۰ تا 40 cm−1 با وضوح 4 cm−1 و ۳۲ اسکن تجمعی ثبت گردیدند (Fitriyani, Damayantia, Ruwaidaha, Nabila, & Fadilah, 2023).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و کشندگی (MBC)

MIC و MBC اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله‌شده علیه باکتری های گرم‌مثبت (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923، *Listeria monocytogenes* ATCC 19115) و گرم‌منفی (*Escherichia coli* ATCC 25922، *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* ATCC 14028). با روش رقت میکروپلیت[1] مطابق دستورالعمل CLSI تعیین شد. برای تهیه‌ی سوسپانسیون باکتریایی، از کشت ۱۸–۲۴ ساعته‌ی هر سویه بر روی محیط Mueller–Hinton Agar استفاده شد و کدورت سوسپانسیون با سرم فیزیولوژیک استریل معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند (معادل تقریبی $1/5\times10^8$ CFU/mL) تنظیم گردید. این سوسپانسیون سپس با غلظت نهایی 5×10^5 CFU/mL در محیط Mueller–Hinton Broth تهیه و غلظت‌های ۰/۰۵–۵٪ (v/v) اسانس در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. Tween 80 (۰/۵ ٪) برای بهبود انحلال‌پذیری استفاده گردید. پلیت‌ها ۲۴ ساعت در ۳۷ °C انکوبه شدند. MIC به‌عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد قابل مشاهده و MBC با کشت مجدد روی Mueller–Hinton Agar و تعریف کاهش ۹۹/۹ ٪ جمعیت تعیین شد. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار با کنترل‌های مثبت و منفی انجام گرفت (Vanegas *et al.*, 2021).

تولید نمونه‌های پنیر سفید آب‌نمکی

ابتدا شیر خام در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه و تا دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد سرد شد. سپس کلرید کلسیم، آغازگر پنیر و رنت مطابق دستورالعمل شرکت سازنده اضافه گردید و بلافاصله بعد از یکنواخت‌سازی شیر به قسمت‌های مساوی برای ساخت نمونه‌های آزمایشی مورد نیاز تقسیم شد. به نمونه‌های شیر یک ساعت جهت تشکیل لخته استراحت داده شد. سپس به‌منظور سهولت خروج آب پنیر لخته تشکیل شده با استفاده از وزنه‌هایی استریل به‌مدت چند ساعت فشرده گردید. سپس لخته آبگیری شده در آب نمک ۲۰ درصد جوشانده شده و سردشده به‌مدت ۶ تا ۸ ساعت قرار گرفت و پس از آن نمونه‌های پنیر برش داده شد. سرانجام نمونه‌ها در بسته‌های ۳۰۰ گرمی قرار گرفته و روی آن‌ها آب نمک ۸ درصدجوشانده شده و سردشده اضافه و درب‌بندی شد و در جای خنک نگهداری گردید. تمامی آزمایش‌ها در روزهای ۰، ۳۰ و ۶۰ انجام گرفت (Lazárková *et al.*, 2021).

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی تیمارهای پنیر

اندازه‌گیری pH: مقدار pH نمونه‌های پنیر با استفاده از pHمتر کالیبره‌شده و پس از همگن‌سازی نمونه اندازه‌گیری شد؛ این آزمون میزان اسیدی یا قلیایی بودن نمونه را نشان می‌دهد. روش آزمون مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ انجام شد.

اندازه‌گیری اسیدیته: اسیدیته قابل تیتر نمونه‌ها با تیتر کردن بخش مشخصی از نمونه با محلول استاندارد قلیایی و بیان نتیجه برحسب درصد اسید لاکتیک تعیین شد؛ این شاخص بیانگر میزان اسیدهای تولیدشده طی فرآیند تخمیر و رسیدن پنیر است. روش آزمون مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ انجام شد

اندازه‌گیری چربی: درصد چربی نمونه‌های پنیر به روش مرجع تعیین چربی پنیر و پنیرهای ذوب‌شده اندازه‌گیری شد؛ مقدار چربی یکی از عوامل اصلی مؤثر بر ارزش تغذیه‌ای، بافت و ویژگی‌های حسی پنیر است. روش آزمون مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۷۶۰ انجام شد.

اندازه‌گیری رطوبت: رطوبت نمونه‌ها بر اساس کاهش وزن نمونه پس از خشک‌کردن تا رسیدن به وزن ثابت تعیین شد و نتیجه به‌صورت درصد وزنی گزارش گردید؛ میزان رطوبت بر بافت، قابلیت نگهداری و روند رسیدن پنیر اثر مستقیم دارد. روش آزمون مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۵۳ انجام شد.

آزمایش‌های میکروبی پنیر سفید آب‌نمکی

1- Broth microdilution

شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل (TVC) با روش پورپلیت[1] با استفاده از محیط‌کشت پلیت کانت آگار پس از تهیه رقت‌های متوالی و انکوباسیون به‌مدت ۴۸–۷۲ ساعت در دمای ۳۰±۱ °C انجام گرفت. شمارش کلی فرم‌ها با استفاده از محیط‌کشت ویولت رد بایل آگار[2] پس از ۲۴ ساعت در ۳۷ ± ۱ °C انجام شد. شمارش *i* با روش اسپرید پلیت[3] با استفاده از محیط‌کشت ائوزین متیلن بلو آگار انجام شد شناسایی کلنی‌های دارای درخشش فلزی و تأیید آن با آزمون‌های ایمونولوژیک [4] انجام شد. شمارش کپک و مخمر با استفاده از محیط‌کشت سابورد دکستروز آگارحاوی کلرامفنیکل پس از ۵–۷ روز انکوباسیون در ۲۵ ± ۱ °C انجام شد. شمارش *Staphylococcus aureus* با استفاده از محیط‌کشت بردپارکر آگار و تأیید آن با آزمون‌های کاتالاز و کواگولاز انجام شد. شناسایی *Listeria monocytogenes* پس از پیش‌غنی‌سازی در هالف فریزر، غنی‌سازی در فرایزر براث و کشت روی پالکام و آکسفورد آگارانجام و نتایج به‌صورت وجود/عدم وجود در ۲۵ g گزارش گردید. کلیه نتایج شمارشی به‌صورت Log CFU/g بیان شدند (Koçak Kızanlık, 2018).

خصوصیات حسی

برای ارزیابی خصوصیات حسی نمونه‌های پنیر سفید آب‌نمکی، از روش آزمون هدونیک[5] با مقیاس ۵ نقطه‌ای استفاده شد. پانل ارزیاب شامل ۱۵ نفر از افراد آموزش‌دیده و آشنا با ارزیابی حسی محصولات لبنی بود که از بین کارکنان و دانشجویان دانشکده کشاورزی انتخاب شدند. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری تجزیه‌وتحلیل و میانگین امتیازات با آزمون دانکن [6] در سطح احتمال ۵٪ مقایسه گردید (Ribeiro *et al*., 2024).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی [7] در سه بار تکرار انجام شد. جهت تحلیل واریانس داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ استفاده گردید. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند و اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمون کروماتوگرام اسانس سیر

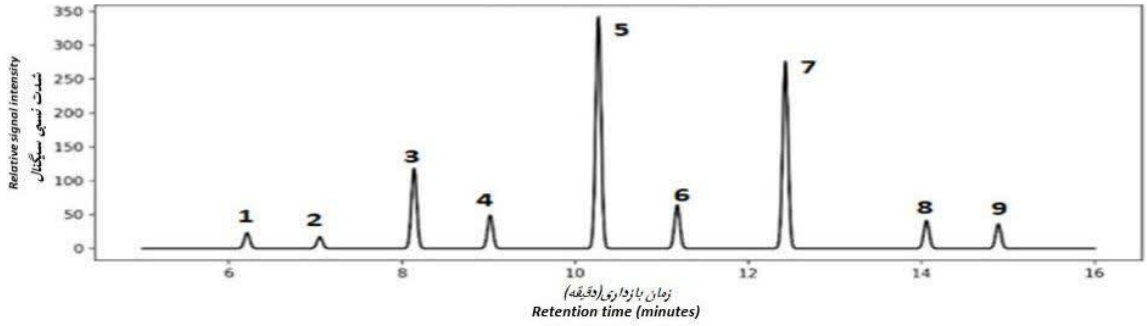
نمایه کروماتوگرافی (GC-MS) اسانس سیر استخراج‌شده به روش تقطیر با بخار آب، نشان‌دهنده حضور ترکیبات مختلفی است (شکل ۱). پیک‌های اصلی که با شماره‌های ۱ تا ۹ مشخص شده‌اند، مربوط به ترکیبات گوگردی فرار غالب در اسانس سیر هستند. جزئیات کمی این ترکیبات شامل زمان بازداری[8]، نام ترکیب، فرمول مولکولی و درصد سطح نسبی پیک‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. بر اساس نتایج، دی‌آلیل دی‌سولفید (پیک شماره ۳، ۲/۳۴٪) و دی‌آلیل تری‌سولفید (پیک شماره ۶، ۶/۲۷٪) بیشترین درصد را دارا بودند. این ترکیبات گوگردی به‌عنوان اجزای زیست‌فعال اصلی که مسئول اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس سیر هستند، شناخته می‌شوند (Tavares, Santos, & Noreña, 2021a). با توجه به ماهیت فرار[9] و حساسیت بالای این ترکیبات، ریزپوشانی آن‌ها جهت کاربرد در پنیر سفید آب‌نمکی امری ضروری است؛ زیرا در صورت عدم استفاده از تکنولوژی ریزپوشانی، این ترکیبات طی فرآیند تولید و انبارداری به سرعت تبخیر شده یا در محیط آب‌نمک شسته می‌شوند (Ezhilarasi, Karthik, Chhanwal, & Anandharamakrishnan, 2013).

نتایج آزمون‌های ریزپوشانی اسانس سیر

نتایج حاصل از آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) تأیید کرد که فرآیند ریزپوشانی اسانس سیر با موفقیت انجام شده است. در طیف‌های به‌دست‌آمده از نمونه‌های ریزپوشانی‌شده، حضور همزمان پیک‌های مشخصه مربوط به پلیمر پوشش و ترکیبات اسانس سیر، نشان‌دهنده حضور هر دو جزء در ساختار نهایی ریزپوشان‌ها است. پیک پهن و شدید در ناحیه $3200–3400\ cm^{-1}$ که به ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل (O–H) نسبت داده می‌شود، علاوه بر اسانس سیر، عمدتاً ناشی از گروه‌های هیدروکسیل فراوان موجود در ساختار مالتودکسترین و صمغ عربی (به‌عنوان مواد دیواره‌ی پوشاننده) و رطوبت جذب‌شده در ساختار ریزپوشانی است.

1- Pour Plate
2- Violet Red Bile Agar
3- Spread Plate
4- Immunological assays
5- Hedonic Test

6- Duncan
7- Completely Randomized Designs
8- Retention time
9- Volatiles



شکل ۱- کروماتوگرام GC–MS اسانس سیر (*Allium sativum* L.) استخراج‌شده، شامل پیک‌های اصلی ترکیبات آلی گوگردی از جمله دی‌آلیل دی‌سولفید و دی‌آلیل تری‌سولفید

Fig. 1. GC–MS chromatogram of the extracted garlic (*Allium sativum* L.) essential oil, showing the major peaks of organosulfur compounds, including diallyl disulfide and diallyl trisulfide

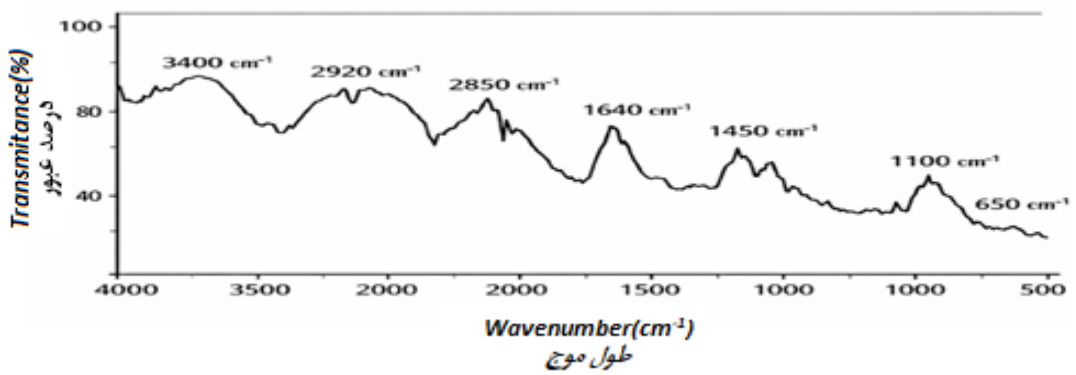
جدول ۱- پروفایل ترکیبات فرار اسانس سیر حاصل از آنالیز GC–MS

Table 1- Volatile compound profile of garlic essential oil determined by GC–MS analysis

پیک Messenger شماره Number	زمان بازداری Retention time (minutes)	ترکیب شیمیایی Chemical composition	فرمول مولکولی Molecular formula	درصد سطح پیک Peak area percentage
1	10.2	دی آلیل دی سولفید Diallyl disulfide	$C_4 H_8 S_3$	34.2
2	12.43	دی آلیل تری سولفیت Diallyl trisulfide	$C_6 H_{10} S_2$	37.6
3	8.14	دی آلیل سولفید Diallyl sulfide	$C_6 H_{10} S_3$	11.8
4	7.05	دی متیل سولفید Dimethyl sulfide	$C_6 H_{10} S_2$	7.1
5	11.18	آلیل متیل دی سولفید Allyl methyl disulfide	$C_2 H_6 S_3$	6.4
6	9.02	آلیل متیل سولفید Allyl methyl sulfide	$C_4 H_8 S_2$	4.9
7	14.06	وینیل- ۴ هیدروکسی ۱ و ۲و دیتینین- ۲ Vinyl-4-hydroxy-1,2-dithinin-2	$C_6 H_{10} S_4$	4.1
8	14.89	وینیل- ۴ هیدروکسی ۱ و ۳و دیتینین- ۲ 2-vinyl-4-hydroxy-1,3-dithietane	$C_4 H_5 NS$	3.6
9	6.21	متیل آلیل سولفات Methyl allyl sulfate	$C_6 H_{10} OS_2$	3.4
جمع کل 100		سایر ترکیبات جزئی Other minor ingredients		

کاهش شدت نسبی یا جابه‌جایی جزئی این پیک در نمونه‌های ریزپوشانی‌شده نسبت به پلیمر خالص، می‌تواند نشان‌دهنده برهم‌کنش‌های هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل پلیمر و ترکیبات فعال اسانس باشد؛ این برهم‌کنش‌ها نقش کلیدی در پایداری ساختاری و کاهش فراریت اسانس ایفا می‌کنند (Sousa, Parente, Marques, Forte, & Tavares, 2022). همچنین، پیک‌های مشاهده‌شده در نواحی ۲۸۵۰ و ۲۹۲۰ cm^{-1}، که مربوط به کشش‌های متقارن و نامتقارن پیوندهای C–H در گروه‌های آلکیلی هستند، حضور زنجیره‌های هیدروکربنی اسانس سیر (از جمله دی‌آلیل دی‌سولفید و دی‌آلیل تری‌سولفید) و همچنین ساختار آلی پلیمر پوشش را تأیید

می‌کنند. حضور این پیک‌ها در طیف ریزپوشانی‌ها، نشان‌دهنده حفظ موفقیت‌آمیز ترکیبات فرار اسانس در طول فرآیند ریزپوشانی است. در نهایت، در ناحیه اثرانگشت حدود ۱۲۶۶۰–۱۰۰۰cm^{-1}مربوط پیک‌های قوی و پیچیده‌ای مشاهده شد که مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای C–O و C–O–C در ساختار پلیمر پوشش می‌باشد.



شکل ۲- طیف FTIR اسانس سیر ریزپوشانی شده

پیک‌های مشخصه در تقریباً ۳۴۰۰، ۲۹۲۰، ۲۸۵۰، ۱۶۴۰، ۱۴۵۰، ۱۱۰۰ و ۶۵۰ cm^{-1} به‌ترتیب مربوط به پیوندهای O–H، C–H، C=C، C–O و C–S / S–S هستند که نشان‌دهنده وجود ترکیبات زیست‌فعال اسانس سیر و برهمکنش‌های فیزیکی آن‌ها با ماتریس پلیمری کپسوله‌کننده است.

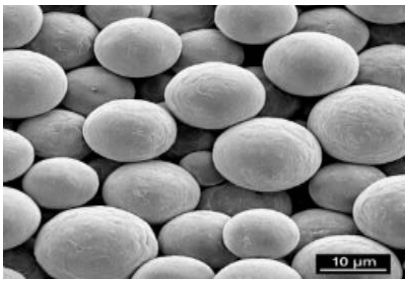
Fig. 2. FTIR spectrum of microencapsulated garlic essential oil

Characteristic peaks at approximately 3400, 2920, 2850, 1640, 1450, 1100, and 650 cm^{-1} correspond to O–H, C–H, C=C, C–O, and C–S/S–S bonds, respectively, indicating the presence of bioactive compounds of garlic essential oil and their physical interactions with the polymeric encapsulating matrix.

شکل ۲، طیف‌سنجی FTIR حضور ترکیبات فعال اسانس سیر و برهم‌کنش فیزیکی آن‌ها با ماتریس پلیمری را تأیید کرد. پیک‌های مشخصه‌ی گروه‌های O–H، C–H، C=C، C–O، وC–S/S–S در نواحی ۳۴۰۰، ۲۹۲۰، ۱۶۴۰، ۱۱۰۰ و ۶۵۰ cm^{-1} مشاهده شدند. علاوه بر ترکیبات فعال اسانس سیر، حضور مواد دیواره‌ساز (مالتودکسترین و صمغ عربی) نیز در ساختار ریزپوشانی شده تأیید گردید. پیک پهن و شدید مشاهده شده در ناحیه ۳۴۰۰ cm^{-1} که پیش تر به گروه O–H اسانس نسبت داده شد، عمدتا ناشی از ارتعاش کششی گروه‌های هیدروکسیل فراوان موجود در ساختار پلی‌ساکاریدی مالتودکسترین و صمغ عربی است که با پیک O–H ترکیبات فنولی/آلیلی اسانس هم پوشانی دارد. پیک مشاهده شده در ناحیه‌ی ۱۶۴۰cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی پیوند C= O است که به‌عنوان یکی از پیک‌های شاخص این هیدروکلوئید شناخته می‌شود. همچنین پیک‌های مشاهده شده در محدوده ۱۱۰۰–۱۰۰۰ cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی پیوندهای C–O–C است که ساختار اصلی مالتودکسترین و صمغ عربی را تشکیل می‌دهد. به‌ویژه، حفظ پیک‌های ارگانوسولفور در ناحیه ۶۸۰–۶۲۰cm^{-1} (با کاهش شدت نسبت به اسانس خالص)، نشان‌دهنده تثبیت موفقیت‌آمیز ترکیبات گوگردی است. حضور همزمان این پیک‌های مشخصه پلی‌ساکاریدی در کنار پیک‌های باقی‌مانده ارگانوسولفور (۶۸۰–۶۲۰cm^{-1})، تأییدی بر تشکیل موفق ساختار ریزپوشانی شده و درگیر شدن فیزیکی اسانس درون ماتریس دیواره‌ای مالتودکسترین/صمغ عربی است. بدون آن‌که پیوند کووالانسی جدیدی شکل گرفته باشد. این نتایج حاکی از آن است که ریزپوشانی از طریق برهم‌کنش‌های فیزیکی و بدون ایجاد پیوند کووالانسی جدید صورت گرفته که منجر به بهبود پایداری و کاهش فراریت اسانس شده است (Sousa *et al.*, 2022).

نتایج بررسی خصوصیات مورفولوژی میکروکپسول های اسانس سیر

بررسی مورفولوژی میکروکپسول‌های حاوی اسانس سیر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) اطلاعات ارزشمندی فراهم نمود. تصاویر SEM نشان دادند که ریزپوشانی‌ها عمدتاً دارای شکل کروی تا شبه‌کروی بوده و سطح آن‌ها نسبتاً صاف و یکنواخت است. براساس تحلیل تصاویر SEM با نرم‌افزار ImageJ، میانگین قطر ریز پوشانی‌های تولید شده ۱۳/۷۹±۲/۶۴ میکرومتر به‌دست آمد این توزیع اندازه ذرات و انحراف معیار پایین، نشان‌دهنده یکنواختی مناسب فرآیند ریزپوشانی و کنترل مطلوب برشرایط تولید است. نتایج مورفولوژیکی تأیید می‌کند که فرآیند ریزپوشانی اسانس سیر منجر به تولید ریزپوشانی هایی با ساختار منظم، دیواره‌های سالم و توزیع اندازه مناسب شده است (شکل ۳).



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) میکروکپسول‌های اسانس سیر میکروریزپوشانی‌شده که شکل کروی تا شبه‌کروی، سطح نسبتاً صاف و یکنواخت و دیواره‌های سالم بدون ترک‌های آشکار را نشان می‌دهد

این ساختار بیانگر درستی فرآیند میکروریزپوشانی و محافظت مؤثر از اسانس سیر می‌باشد (Scale bar = 10 µm).

Fig. 3. Scanning electron microscopy (SEM) image of microencapsulated garlic essential oil showing spherical to quasi-spherical particles with relatively smooth, uniform surfaces and intact walls, without apparent cracks

This morphology indicates Process integrity of microencapsulation and effective protection of the garlic essential oil (scale bar = 10 µm).

نتایج ارزیابی خصوصیات زتا پتانسیل، PDI و اندازه ذرات میکروکپسول‌ها

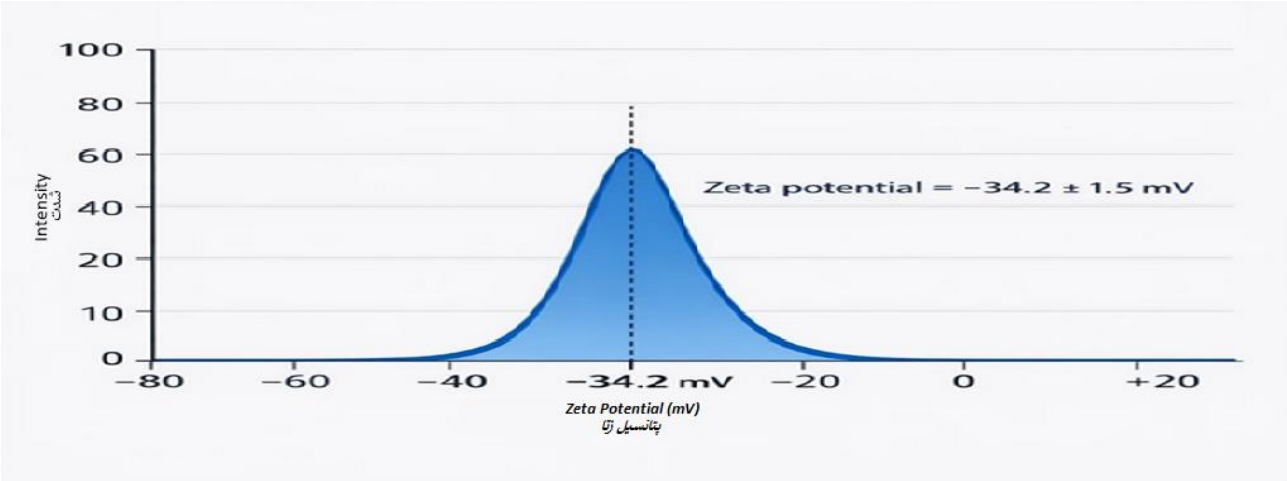
نتایج حاصل از اندازه‌گیری پتانسیل زتا نشان داد که میانگین زتای پتانسیل ریزپوشانی‌های حاوی اسانس سیر برابر با ۱/۵mV ± ۳۴/۲۰ است. این مقدار منفی و نسبتاً بالا بیانگر وجود بار سطحی منفی قابل‌توجه بر روی ذرات ریزپوشانی بوده و نشان‌دهنده پایداری الکترواستاتیکی مطلوب سیستم کلوئیدی است. بر اساس گزارش‌های پیشین، مقادیر زتا پتانسیل با قدر مطلق بالاتر از ۳۰ mV به‌عنوان شاخصی از پایداری مناسب سوسپانسیون‌های کلوئیدی در نظر گرفته می‌شوند، زیرا دافعه الکترواستاتیکی ایجادشده میان ذرات مانع از تجمع، فلوکولاسیون و رسوب آن‌ها می‌گردد (Sousa *et al*., 2022).

تفاوت مقیاس مشاهده شده بین اندازه ذرات گزارش شده توسط DLS (مقیاس نانومتری) و تصاویر SEM (مقیاس میکرومتری) با ماهیت متفاوت دو روش قابل توجیح است. تصاویر SEM اندازه مستقیم ذرات خشک شده را نشان می‌دهد، در حالی‌که اندازه‌گیری DLS بر روی پودر پراکنده شده در فاز مایع انجام شد که می‌تواند منجر به شکست جزئی آگلومرات‌های میکرونی و آزادسازی زیر واحدهای کوچک‌تر یا اجزای محلول دیواره پلیمری گردد. همچنین به‌دلیل حساسیت بالای روش DLS به ذرات کوچکتر (ناشی از رابطه‌ی شدت پراکندگی نور با توان ششم قطر ذره)، حضور حتی مقدار محدودی از ذرات نانومتری می‌تواند میانگین گزارش شده را به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار دهد. این نا همخوانی پدیده‌ای شناخته شده در مطالعات ریزپوشانی است (شکل ۴).

نتایج DLS نشان داد که میانگین قطر هیدرودینامیکی ریزپوشانی‌های اسانس سیر در محدوده نانومتری قرار دارد. چنین اندازه‌ای معمولاً با تشکیل سامانه‌های کلوئیدی پایدارتر همراه است، زیرا حرکت براونی می‌تواند بر ته‌نشینی غلبه کند اندازه متوسط حدود ۲۱۰ نانومتر نیز با گزارش‌های مربوط به نانوکپسولاسیون ترکیبات فرّار همخوانی دارد و می‌تواند به حفاظت از اسانس و رهایش تدریجی آن کمک کند (Ezhilarasi *et al*., 2013). علاوه بر این، مقدار پایین PDI نشان‌دهنده توزیع باریک اندازه ذرات و یکنواختی مناسب سامانه است (شکل ۵).

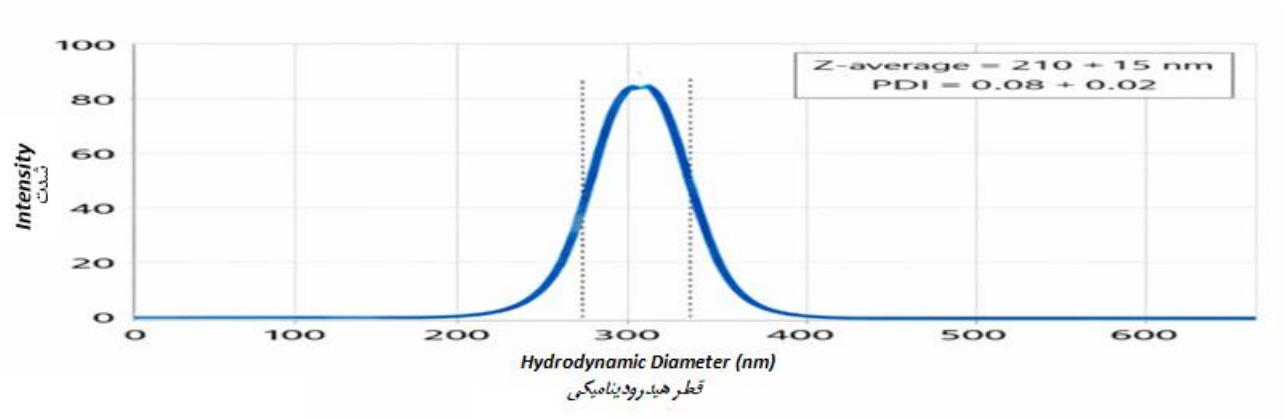
نتایج حداقل مهارکنندگی (MIC) میزان کشندگی (MBC) اسانس سیر و میکروکپسول‌های اسانس سیر

نتایج آزمون‌های MIC و MBC نشان داد که باکتری‌های گرم‌مثبت نسبت به باکتری‌های گرم‌منفی حساسیت بیشتری به اسانس سیر دارند و این اثر با افزایش غلظت تقویت می‌شود. این الگو با گزارش‌های نیز که نشان می‌دهند ترکیبات فعال سیر، به‌ویژه ترکیبات گوگردی، فعالیت ضدمیکروبی قابل‌توجهی علیه پاتوژن‌های غذایی دارند و می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در سامانه‌های غذایی مورد استفاده قرار گیرند، همخوانی دارد (Bhatwalkar *et al*., 2021). همچنین، تفاوت میان فرم آزاد و ریزپوشانی‌شده می‌تواند ناشی از آزادسازی سریع‌تر ترکیبات مؤثر در فرم آزاد و رهایش تدریجی در سامانه‌های کپسوله باشد، موضوعی که در مطالعات جدید حوزه ریزپوشانی و فرمولاسیون مواد زیست‌فعال نیز گزارش شده است. در مجموع، اسانس سیر می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی مؤثر برای کنترل پاتوژن‌های غذایی، از جمله در محصولات لبنی، مورد توجه قرار گیرد (Ribeiro *et al*., 2024).



شکل ٤- منحنی توزیع زتاپتانسیل میکروکپسول‌های حاوی اسانس سیر اندازه‌گیری‌شده با دستگاه Zetasizer Nano ZS که یک پیک منفرد در مقدار 1±34.2− میلی‌ولت را نشان می‌دهد و بیانگر پایداری الکترواستاتیکی مناسب سیستم می‌باشد.

Fig. 4. Zetapotential distribution curve of microcapsules containing garlic essential oil measured with the Zetasizer Nano ZS device, which shows a single peak at -34.2 ± 1 mV, indicating the appropriate electrostatic stability of the system.



شکل ٥- توزیع اندازه ذرات و شاخص پلی دیسپرسیتی میکروکپسول‌های اسانس سیر اندازه‌گیری‌شده به روش پراکندگی نور دینامیکی

Fig. 5. Particle size distribution and polydispersity index of garlic essential oil microcapsules measured by dynamic light scattering method

نتایج آزمایش‌های پنیر

pH و اسیدیته

نتایج نشان داد (شکل ۶ و ۷)که pH و اسیدیته پنیر سفید آب‌نمکی به‌طور معنی‌داری (P<0/05) تحت تأثیر نوع تیمار، غلظت اسانس سیر و زمان نگهداری قرار داشتند. در تیمار شاهد، کاهش pH و افزایش اسیدیته شدیدتر بود که با تغییرات میکروبی و فرآیندهای رسیدن پنیر هم‌خوانی دارد (Lazárková *et al.*, 2021). در مقابل، افزودن اسانس سیر، به‌ویژه در قالب ریزپوشانی‌شده، روند تغییرات pH و اسیدیته را تعدیل کرد و موجب حفظ pH بالاتر و اسیدیته پایین‌تر در طول نگهداری شد. این اثر می‌تواند به فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات ارگانوسولفوری سیر و نیز رهایش تدریجی آن‌ها از سامانه ریزپوشانی نسبت داده شود. همچنین، ریزپوشانی می‌تواند رهایش این ترکیبات را کنترل کرده و پایداری عملکرد ضدمیکروبی را در ماتریس غذایی افزایش دهد (Peanparkdee, Iwamoto, & Yamauchi, 2016).

جدول ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس سیر آزاد و ریزپوشانی‌شده در برابر باکتری‌های شاخص (v/v%)

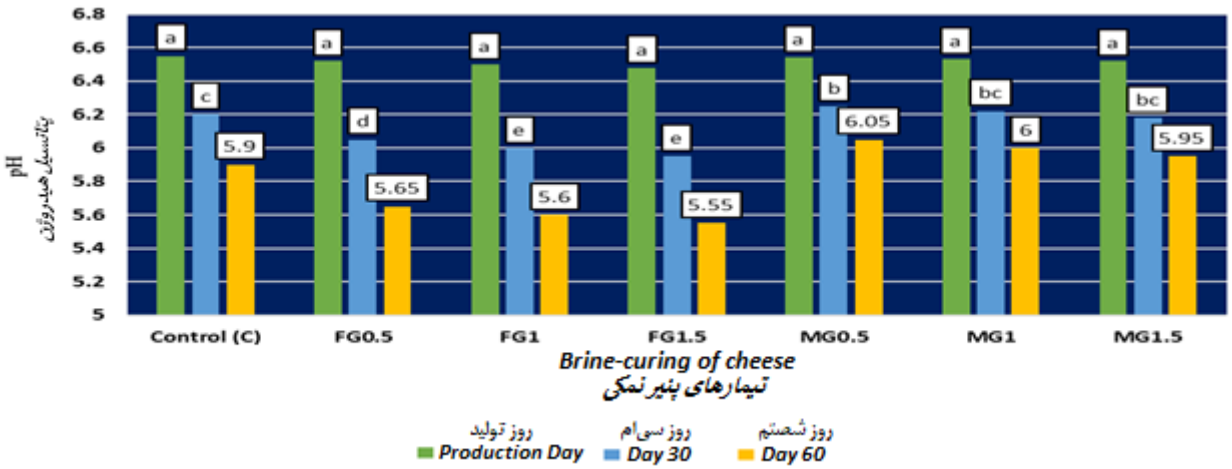
Table 2- Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of free and microencapsulated garlic essential oil against selected indicator bacteria.(v/v%)

کد تیمار Code-Timar	*استافیلوکوکوس اورئوس Staphylococcus aureu*		*سالمونلا تیفی Salmonella typhi*		*اشرشیاکلی Escherichia coli*		*لیستریا مونوسیتوژنز Listeria monocytogenes*	
نوع آزمون Test Type	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
FG0.5	0.45	0.9	0.5	0.5	1	0.6	1.20	0.65
FG 1	0.30	0.6	0.35	0.35	0.7	0.45	0.90	0.5
FG1.5	0.20	0.4	0.25	0.25	0.5	0.35	0.70	0.4
MG0.5	0.30	1	0.35	0.55	1.10	0.7	1.40	0.75
MG1	0.35	0.7	0/4	0.40	0.8	0.55	1.10	0.6
MG1.5	0.25	0.5	0.3	0.30	0.6	0.45	0.90	0.5

با افزایش غلظت اسانس ریزپوشانی‌شده، شیب تغییرات pH و اسیدیته کاهش یافت و تیمار ۱/۵ درصد پایدارترین وضعیت را نشان داد. در مجموع، ریزپوشانی اسانس سیر با بهبود کنترل رهایش و تقویت اثر ضدمیکروبی، نقش مؤثری در حفظ ثبات شیمیایی پنیر سفید آب‌نمکی طی دوره نگهداری داشت (Calderón-Oliver & Ponce-Alquicira, 2022; English, Okagu, Stephens, Goertzen, & Udenigwe, 2023).

درصد رطوبت

نتایج آنالیز واریانس دوطرفه نشان داد (شکل ۸) که اثر تیمار، زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها بر درصد رطوبت پنیر معنی‌دار است (P<0/05). به‌طور کلی، رطوبت پنیر طی ۶۰ روز نگهداری کاهش یافت که این تغییر می‌تواند ناشی از تبخیر آب، سینرزیس ماتریس کازئینی و بازآرایی ساختار پروتئینی در طول رسیدن باشد (Lazárková *et al*., 2021). تیمار شاهد در تمام زمان‌ها کمترین رطوبت را داشت و در روز ۶۰ بیشترین افت رطوبت را نشان داد که احتمالاً به مهاجرت آب و انقباض شبکه پروتئینی نسبت داده می‌شود.

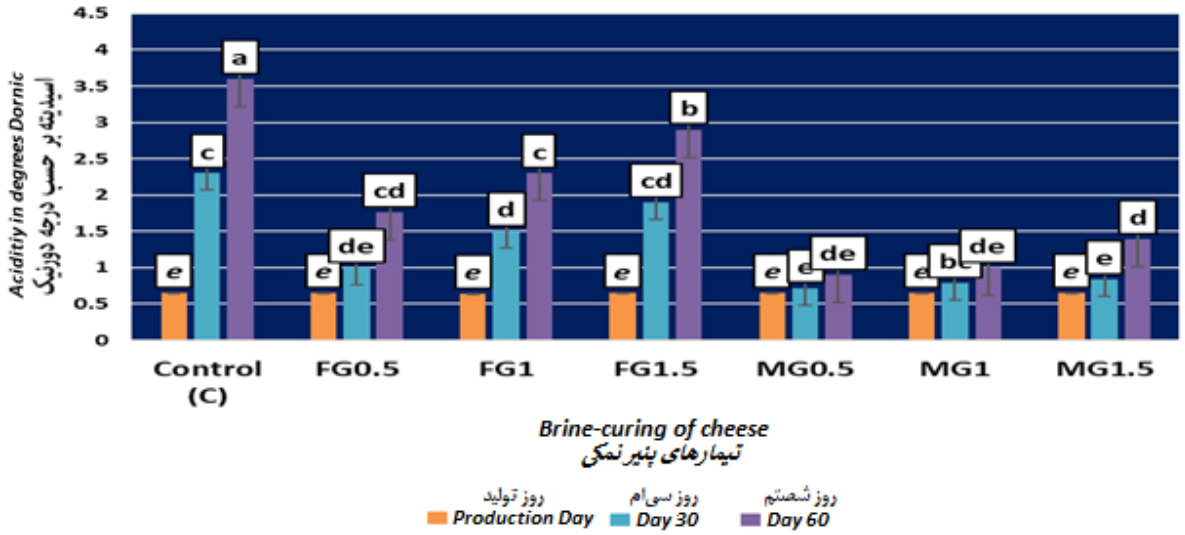


شکل ٦- مقایسه میانگین pH پنیر سفید آب‌نمکی حاوی اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله در طول دوره نگهداری

میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵مقایسه شده‌اند؛ میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف غیرمشترک هستند، اختلاف معنی‌دار آماری نشان می‌دهند.

Fig. 6. Comparison of the mean pH values of brined white cheese containing free and microencapsulated garlic essential oil during the storage period

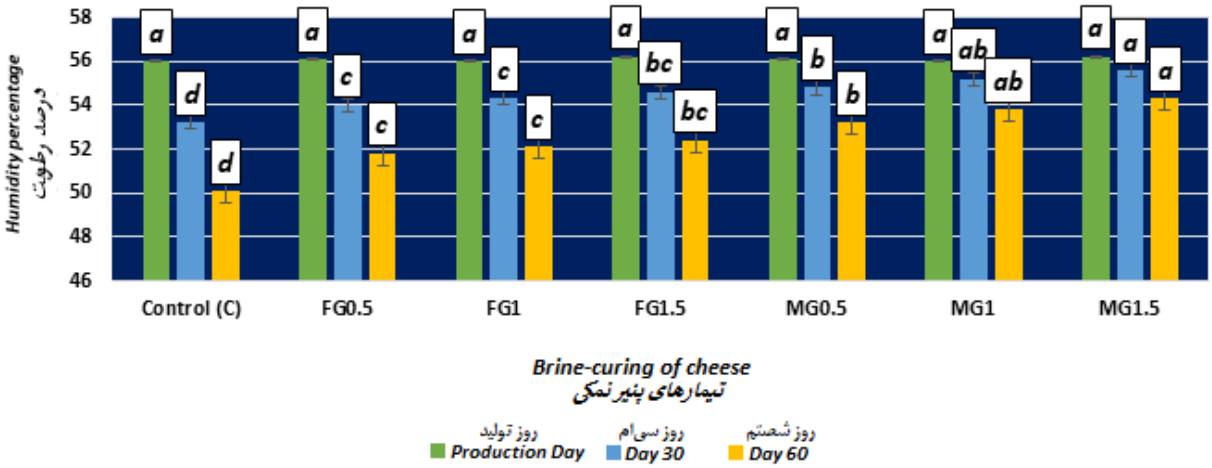
Mean values were compared using Tukey's multiple range test at p<0/05; means within each column followed by different letters indicate statistically significant differences.



شکل ۷- مقایسه میانگین اسیدیته پنیر سفید آب‌نمکی حاوی اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله در طول دوره نگهداری

Fig. 7. Comparison of the average acidity of brine white cheese containing free and microencapsulated garlic essential oil during storage

در مقابل، تمامی تیمارهای حاوی اسانس سیر، چه در فرم آزاد (FG)و چه در فرم میکروکپسوله (MG)، رطوبت بیشتری نسبت به شاهد نشان دادند که بیانگر نقش محافظتی اسانس در کاهش افت آب است (Calderón-Oliver & Ponce-Alquicira, 2022; English *et al.*, 2023). همچنین با افزایش غلظت اسانس در هر دو فرم آزاد و ریزپوشانی، میانگین رطوبت افزایش یافت که نشان‌دهنده وابستگی اثر اسانس به غلظت بود. در تمامی غلظت‌ها، تیمارهای میکروکپسوله (MG) رطوبت بالاتری نسبت به اسانس آزاد (FG) داشتند که می‌تواند ناشی از رهایش کنترل‌شده ترکیبات فعال و بهبود پایداری ساختار ژلی پنیر باشد. در میان تیمارها، ۱/۵ ٪MG بیشترین مقدار رطوبت را حفظ کرد و کمترین افت رطوبت را در طول نگهداری نشان داد (Calderón-Oliver & Ponce-Alquicira, 2022; English *et al.*, 2023).



شکل ۸- مقایسه میانگین درصد رطوبت پنیر سفید آب‌نمکی حاوی اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله در طول دوره نگهداری

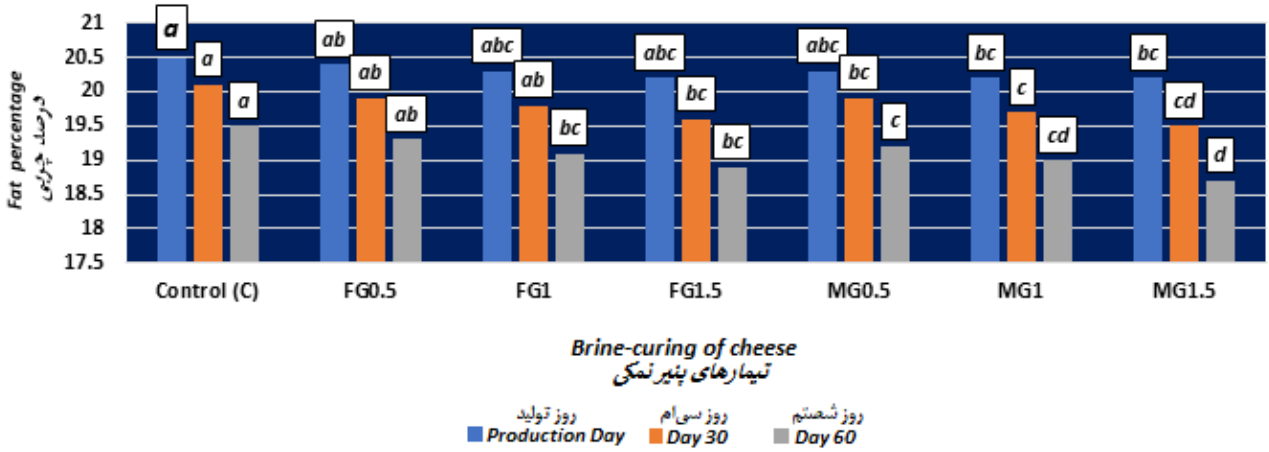
میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه چنددامنه‌ای Tukey در سطح ۰/۰۵مقایسه شده‌اند. میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف غیرمشترک هستند، اختلاف معنی‌دار آماری نشان می‌دهند.

Fig. 8. Comparison of the mean moisture content (%) of brined white cheese containing free and microencapsulated garlic essential oil during the storage period

Mean values were compared using Tukey's multiple range test at $p<0.05$; means within each column followed by different letters indicate statistically significant differences.

درصد چربی

اثر تیمار و زمان نگهداری بر درصد چربی پنیر معنی‌دار بود (شکل ۹) (P<0.05)، اما اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود (P>0.05)؛ بنابراین، روند تغییرات چربی در تیمارهای مختلف طی نگهداری مشابه بود. درصد چربی در طول ۶۰ روز کاهش یافت که می‌تواند با تغییرات طبیعی ترکیب پنیر، ازجمله هیدرولیز بخشی از تری‌گلیسریدها توسط لیپازهای طبیعی شیر، مایه‌پنیر یا میکروارگانیسم‌ها مرتبط باشد. بااین‌حال، از آنجاکه شاخص‌های مستقیم لیپولیز در این مطالعه اندازه‌گیری نشدند، نمی‌توان خاصیت لیپولیتیک مستقیم اسانس سیر را تأیید کرد. کاهش بیشتر چربی در تیمارهای حاوی اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله، به‌ویژه تیمار MG۰/۵، صرفاً به‌عنوان یک مشاهده تجربی گزارش می‌شود و برای تعیین سازوکار آن به بررسی‌های تکمیلی نیاز است.



شکل ۹- مقایسه میانگین درصد چربی پنیر سفید آب‌نمکی حاوی اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله در طول دوره نگهداری

میانگین‌ها بر اساس آزمون مقایسه چنددامنه‌ای Tukey در سطح ۰/۰۵مقایسه شده‌اند؛میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف غیرمشترک هستند، اختلاف معنی‌دار آماری نشان می‌دهند.

Fig. 9. Comparison of the mean total fat content (%) of brined white cheese containing free and microencapsulated garlic essential oil during the storage period

Mean values were compared using Tukey's multiple range test at p<0/05; means within each column followed by different letters indicate statistically significant differences.

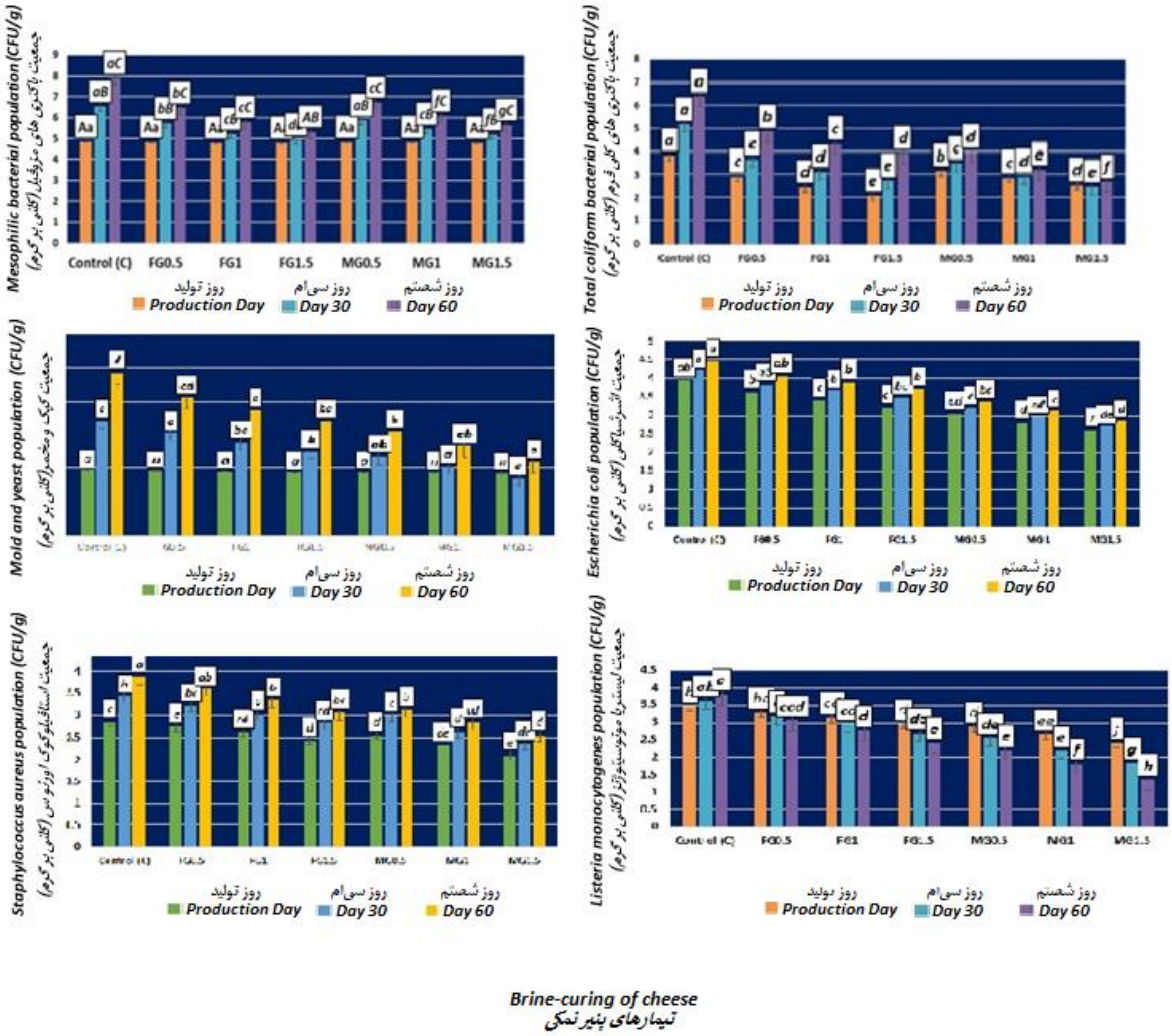
در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از اسانس سیر، به‌ویژه در فرم ریزپوشانی و در غلظت‌های بالاتر، می‌تواند به‌عنوان رویکردی مؤثر برای تعدیل و کنترل تغییرات شیمیایی پنیر سفید آب‌نمکی در طی دوره نگهداری مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج آزمایش‌های میکروبی پنیر آب نمکی

افزودن اسانس سیر، به‌ویژه در فرم ریزپوشانی‌شده، به‌طور معنی‌داری (P<0/05) جمعیت کلی میکروارگانیسم‌ها، کلیفرم‌ها، کپک و مخمر، *E. coli*، *S. aureus* و *L. monocytogenes* را کاهش داد و این اثر در غلظت ۱/۵ درصد بیشترین شدت را نشان داد (Tekin & Hayaloglu, 2023). در مقایسه با اسانس آزاد، فرم میکروکپسوله اثر مهارکنندگی بیشتر و طولانی‌تری داشت که به رهایش کنترل‌شده ترکیبات ارگانوسولفوری و حفاظت بهتر آن‌ها در برابر تخریب محیطی نسبت داده می‌شود (Hassanzadeh & Alizadeh, 2022). در مجموع، تیمار ۱/۵ درصد اسانس سیر ریزپوشانی‌شده مؤثرترین فرمولاسیون برای حفظ ایمنی میکروبی پنیر سفید آب‌نمکی طی دوره نگهداری بود (شکل ۱۰).

نتایج ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی نشان داد که امتیاز طعم پنیرهای حاوی اسانس سیر آزاد، در مقایسه با نمونه شاهد، روند کاهشی داشت و این کاهش در غلظت‌های بالاتر اسانس مشهودتر بود (P<0/05). با افزایش زمان نگهداری نیز در برخی تیمارها کاهش امتیاز طعم مشاهده شد. در مقابل، تیمارهای حاوی اسانس سیر ریزپوشانی‌شده، نسبت به نمونه‌های دارای اسانس آزاد در غلظت‌های مشابه، به‌طور کلی امتیاز طعم مطلوب‌تری داشتند. در میان تیمارهای ریزپوشانی‌شده، تیمار MG ۰/۵ در اغلب زمان‌های نگهداری میانگین امتیاز طعم نزدیک‌تری به شاهد داشت. این یافته نشان می‌دهد که ریزپوشانی می‌تواند شدت ادراک حسی نامطلوب ناشی از حضور مستقیم اسانس سیر را کاهش دهد. شکل ۱۱ روند تغییرات میانگین امتیاز طعم تیمارها را در طول دوره نگهداری نشان می‌دهد.



Brine-curing of cheese
تیمارهای پنیر نمکی

شکل ۱۰- تغییرات شمارش جمعیت میکروبی پنیر سفید آب‌نمکی تیمارشده با اسانس سیر آزاد و میکروکپسوله طی ٦٠ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد

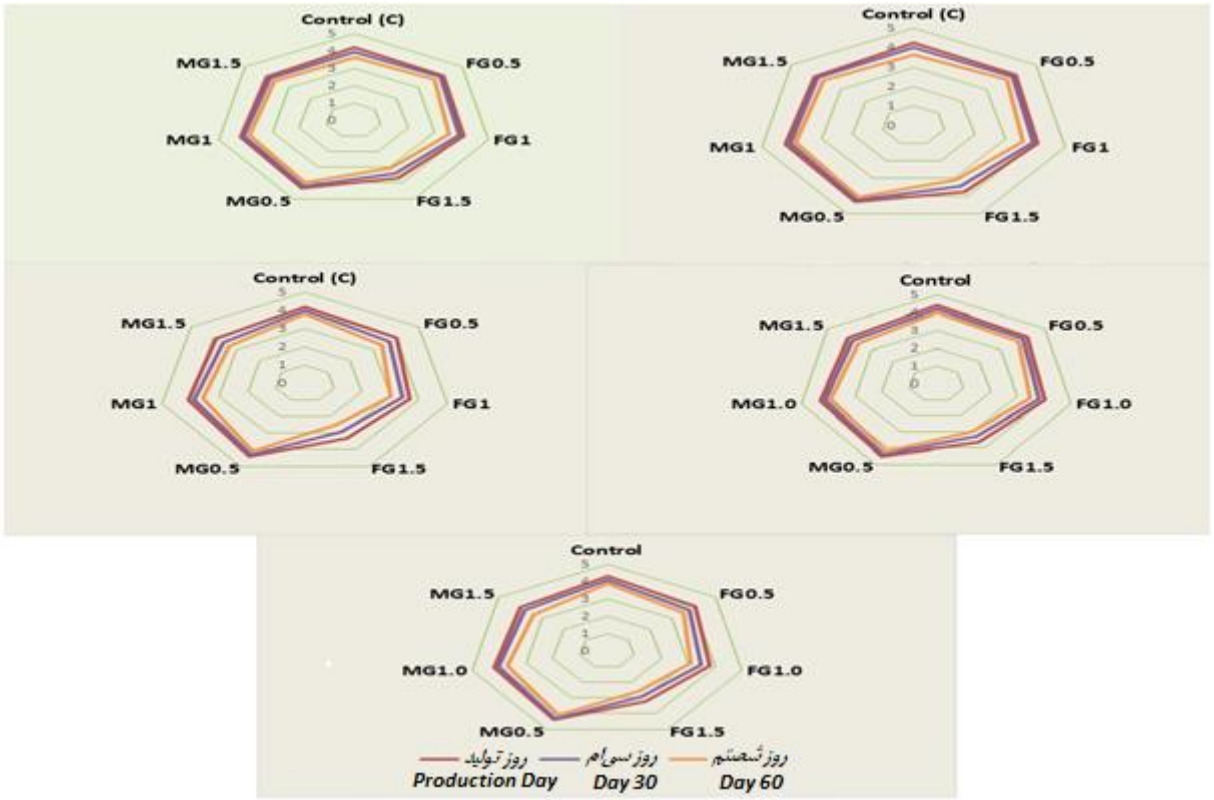
Control :شاهد (بدون اسانس)،FG: اسانس آزاد، MG: اسانس میکروکپسوله، اعداد ۰/۵، ۱ و ۱/۵ نشان‌دهنده غلظت اسانس (% v/w) است.

Fig. 10. Changes in microbial population counts of brined white cheese treated with free and microencapsulated garlic essential oil during 60 days of storage at 4 °C

C: control (without essential oil); FG: free garlic essential oil; MG: microencapsulated garlic essential oil. Concentrations of 0.5, 1, and 1.5 represent essential oil levels (% v/w).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس سیر، به‌ویژه در شکل ریزپوشانی‌شده، می‌تواند به‌عنوان نگهدارنده‌ای طبیعی و مؤثر برای بهبود ایمنی میکروبی و افزایش ماندگاری پنیر سفید آب‌نمکی به‌کار رود، بدون آنکه افت معنی‌دار در پذیرش حسی ایجاد کند. شکل ریزپوشانی در مقایسه با اسانس آزاد، اثر ضدمیکروبی پایدارتر و مؤثرتری علیه میکروارگانیسم‌های شاخص و پاتوژن‌ها، به‌ویژه *Listeria monocytogenes* و *Staphylococcus aureus*، نشان داد. همچنین، آزادسازی تدریجی و کاهش تبخیر ترکیبات فعال در این سامانه، نقش مهمی در حفظ کیفیت میکروبی و حسی محصول داشت.



شکل ۱۱- روند تغییرات میانگین امتیاز طعم پنیر سفید آب‌نمکی حاوی اسانس سیر آزاد (FG) و ریزپوشانی‌شده (MG) در غلظت‌های مختلف طی دوره نگهداری

Fig. 8. Trend of changes in the average taste score of brine white cheese containing free (FG) and microencapsulated (MG) garlic essential oil at different concentrations during storage period

منابع تأمین مالی

این تحقیق هیچ کمک مالی خاصی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیر انتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

یلدا نمکی: پیش‌نویس اصلی، تحقیق و بررسی. **علیرضا شهاب لواسانی:** بررسی و ویرایش مقاله، ناظر تحقیق، روش‌شناسی. **نرگس مورکی:** بررسی و نظارت.

References

1. Ahmed, S.A., Saleem, M.F., & Hassanzadeh, H. (2023). Optimization of solvent evaporation method in liposomal nanocarriers loaded-garlic essential oil (*Allium sativum*): Based on the encapsulation efficiency, antioxidant capacity, and instability. *IET Nanobiotechnology*, *17*(5), 438–449. https://doi.org/10.1049/nbt2.12142
2. Akram, S., Pavone, V., Munir, S., & Lopez, C.C. (2025). Essential oils (EOs) as natural preservatives in cheese: Exploring mechanisms and matrix interactions for mold control. *Applied Food Research*, 101504. https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101504
3. Bhatwalkar, S.B., Mondal, R., Krishna, S.B.N., Adam, J.K., Govender, P., & Anupam, R. (2021). Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*). *Frontiers in Microbiology*, *12*, Article 613077. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.613077
4. Calderón-Oliver, M., & Ponce-Alquicira, E. (2022). The role of microencapsulation in food application. *Molecules*, *27*(5), Article 1499. https://doi.org/10.3390/molecules27051499
5. English, M., Okagu, O.D., Stephens, K., Goertzen, A., & Udenigwe, C.C. (2023). Flavour encapsulation: A comparative analysis of relevant techniques, physiochemical characterisation, stability, and food applications. *Frontiers in Nutrition*, *10*, Article 1019211. https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1019211

6. Ezhilarasi, P., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: A review. *Food and Bioprocess Technology, 6*(3), 628–647. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0944-0
7. Falleh, H., Ben Jemaa, M., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry, 330*, 127268 https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127268
8. Farazi, G., Asadi, G., & Gharachorloo, M. (2023). Investigating the effect of garlic essential oil nanoemulsion encapsulated with Arabic gum on antioxidant activity, shelf life, and sensory properties of flavored olive oil. *Journal of Food Science and Technology (Iran), 20*(140), 96–112. https://doi.org/10.22034/FSCT.20.140.96
9. Fitriyani, E., Damayantia, A.D., Ruwaidaha, L.A., Nabila, S.A., & Fadilah, F. (2023). Microencapsulation of garlic oil with gelatin and maltodextrin encapsulant using the coacervation method. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering, 7*(1), 47–52. https://doi.org/10.20961/equilibrium.v7i1.64248
10. Ghaibi, N., Mohamadi, B., Velayati, N., Abdolshahi, A., & Shariatifar, N. (2025). Investigating the antimicrobial effect of Zenian essential oil and nisin on *Listeria monocytogenes* bacteria inoculated on mozzarella cheese (pizza cheese) and changing its chemical and sensory parameters. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 20*(3), 65–77. https://doi.org/10.61882/nsft.20.3.65
11. Hassanzadeh, H., & Alizadeh, M. (2022). Production of water-in-oil nanoemulsions containing garlic extract and investigation of physicochemical, antimicrobial properties and release of its volatile components. *Food Processing and Preservation Journal, 14*(2), 35–51. https://doi.org/10.22069/ejfpp.2022.19759.1691
12. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (Year). *Cheese—Determination of total solids content (Reference method)* (Iranian National Standard No. 1753).
13. Iran National Standards Organization. (2022). *Milk and milk products—Determination of titrable acidity and pH—Test method* (Iranian National Standard No. 2852, 2nd revision).
14. Israelachvili, J.N. (2011). Intermolecular and surface forces (3rd ed.). Academic Press.
15. Koçak Kızanlık, P. (2018). Microbiological quality evaluation of various types of cheese. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15*(2), 86–93. https://izlik.org/JA85PU47PE
16. Lazárková, Z., Šopík, T., Talár, J., Purevdorj, K., Salek, R.N., Buňková, L., Černíková, M., Novotný, M., Pachlová, V., Němečková, I., & Buňka, F. (2021). Quality evaluation of white brined cheese stored in cans as affected by the storage temperature and time. *International Dairy Journal, 121*, Article 105105. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105105
17. Melo, A.M.D., Turola Barbi, R.C., Souza, W.F.C.D., Luna, L.C., de Souza, H.J.B., Lucena, G.L., Quirino, M.R., & de Sousa, S. (2020). Microencapsulated lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) essential oil: A new source of natural additive applied to Coalho cheese. *Journal of Food Processing and Preservation, 44*(10), Article e14783. https://doi.org/10.1111/jfpp.14783
18. Molina-Hernández, J.B., Echeverri-Castro, A., Martínez-Correa, H.A., & Andrade-Mahecha, M.M. (2020). Edible coating based on achira starch containing garlic/oregano oils to extend the shelf life of double cream cheese. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 73*(1), 9099–9108. https://doi.org/10.15446/rfnam.v73n1.75234
19. Peanparkdee, M., Iwamoto, S., & Yamauchi, R. (2016). Microencapsulation: A review of applications in the food and pharmaceutical industries. *Reviews in Agricultural Science, 4*, 56–65. https://doi.org/10.7831/ras.4.56
20. Raoofi, M., Noori, N., & Khanjari, A. (2023). Effect of *Bunium persicum* Boiss. essential oil on the production of biogenic amines (tyramine and histamine) and microbiological profile in cheddar cheese. *Journal of Nutrition, Fasting and Health, 11*(1), 32–40. https://doi.org/10.22038/JNFH.2023.69084.1411
21. Ribeiro, A.C., Magnani, M., Baú, T.R., Esmerino, E.A., Cruz, A.G., & Pimentel, T.C. (2024). Update on emerging sensory methodologies applied to investigating dairy products. *Current Opinion in Food Science, 56*, Article 101135. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2024.101135
22. Sarangi, A., Das, B.S., Panigrahi, L.L., Arakha, M., & Bhattacharya, D. (2024). Formulation of garlic essential oil-assisted silver nanoparticles and mechanistic evaluation of their antimicrobial activity against a spectrum of pathogenic microorganisms. *Current Topics in Medicinal Chemistry, 24*(22), 2000–2012. https://doi.org/10.2174/0115680266322180240712055727
23. Satyal, P., Craft, J. D., Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. (2017). The chemical compositions of the volatile oils of garlic (*Allium sativum*) and wild garlic (*Allium vineale*). *Foods, 6*(8), 63. https://doi.org/10.3390/foods6080063
24. Soltani, M., Saremnezhad, S., Faraji, A., & Hayaloglu, A. (2022). Perspectives and recent innovations on white cheese produced by conventional methods or ultrafiltration technique. *International Dairy Journal, 125*, Article 105232. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105232
25. Sousa, V.I., Parente, J.F., Marques, J.F., Forte, M.A., & Tavares, C.J. (2022). Microencapsulation of essential oils: A review. *Polymers, 14*(9), Article 1730. https://doi.org/10.3390/polym14091730

26. Tavares, L., Santos, L., & Noreña, C.P.Z. (2021a). Bioactive compounds of garlic: A comprehensive review of encapsulation technologies, characterization of the encapsulated garlic compounds and their industrial applicability. *Trends in Food Science & Technology, 114*, 232–244. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.019
27. Tavares, L., Santos, L., & Noreña, C. P. Z. (2021b). Microencapsulation of organosulfur compounds from garlic oil using β-cyclodextrin and complex of soy protein isolate and chitosan as wall materials: A comparative study. *Powder Technology, 390*, 103–111 https://doi.org/10.1016/j.powtec.2021.05.080
28. Tekin, A., & Hayaloglu, A.A. (2023). Understanding the mechanism of ripening biochemistry and flavour development in brine ripened cheeses. *International Dairy Journal, 137*, Article 105508. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105508
29. Vanegas, D., Abril-Novillo, A., Khachatryan, A., Jerves-Andrade, L., Peñaherrera, E., Cuzco, N., Wilches, I., Calle, J., & León-Tamariz, F. (2021). Validation of a method of broth microdilution for the determination of antibacterial activity of essential oils. *BMC Research Notes, 14*, Article 439. https://doi.org/10.1186/s13104-021-05838-8
30. Yasin, G., et al. (2022). Investigating the effect of garlic (Allium sativum) essential oil on foodborne pathogenic microorganisms. *Food Science and Technology*, 42, e03822 https://doi.org/10.1590/fst.03822
31. Zhang, X., Guo, X., Sun, J., Chen, Y., Zhang, M., Tang, X., Wang, W., Simal-Gandara, J., Xu, H., & Li, N. (2024). Evaluating the hypolipidemic effect of garlic essential oil encapsulated in a novel double-layer delivery system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 237*, Article 113835. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2024.113835