



The effect of antimicrobial properties of nano-encapsulated red quinoa and ginseng extracts on the shelf life of cream

Hadis Aziminezhad¹, Reza Esmaeilzadeh Kenari²✉, Zeynab Raftani Amiri²

¹ PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran

² Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran

✉ Corresponding author: reza_kenari@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: May 11, 2023

Accepted: Jul 24, 2023

Published: March 3, 2024

Keywords:

Cream, Ginseng, MBC, MIC, Nanoencapsulation, Quinoa

ABSTRACT

Background: Microbial contamination is one of the reasons for reducing the quality of cream. Nanoencapsulated extracts can have a high antimicrobial effect in cream.

Aims: The present study was conducted with the aim of investigating the antimicrobial effect of ginseng and quinoa extracts nanoencapsulated in the walls of chitosan, whey protein, chitosan/whey protein on cream.

Methods: Ginseng and quinoa extracts were prepared by ultrasound method and their chemical composition was checked using GC-MS. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum antibacterial concentration (MBC) of the extracts were determined. Then nanoemulsions containing ginseng, quinoa and ginseng + quinoa mixture were prepared with chitosan, whey protein, chitosan/whey protein walls. Particle size and pH of nanoemulsions, nanoencapsulation efficiency and antimicrobial properties of cream containing nanoencapsulated extracts were measured.

Results: The highest phenolic composition of ginseng and quinoa extracts was related to m-coumaric acid and ellagic acid, respectively. The amount of MBC of ginseng extract against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* was higher than quinoa extract. MBC and MIC of quinoa extract against *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* bacteria were higher than ginseng. The chitosan wall had the smallest size and the highest encapsulation efficiency. The pH of nanoemulsions varied between 5.86-6.11. Nanoencapsulated quinoa extract had the greatest effect in reducing the number of bacteria in the cream.

Conclusion: Considering the reduction of the microbial load of cream by the extract of quinoa and ginseng nanoencapsulated in the chitosan wall, adding them to the cream is a good way to increase its shelf life.



Extended Abstract

Introduction: The cream is a product obtained from the physical separation of milk and its conversion from fat emulsion to fat-free milk. Milk, its products like cream, are susceptible to microbial spoilage (Cano-sarmiento et al., 2018). Often, the color, smell, and taste of dairy products become undesirable due to the decomposition of existing proteins and fats with enzymes produced by microorganisms. The main cause of spoiled milk and its products that are kept at low temperatures is psychrophilic bacteria. *Pseudomonas*, *Bacillus*, and *Streptococcus* can be mentioned as psychrophilic bacteria. They grow well at a temperature lower than 15°C and can grow at a temperature of 4°C. Due to their proteolytic and lipolytic properties, these bacteria easily spoil milk even if it is kept at relatively low temperatures (Lemieux & Simard, 1992). Natural extracts with antimicrobial properties can be used to reduce the microbial load of dairy products, including cream. Polyphenols are the most important and numerous secondary groups of metabolites in the plant kingdom. These compounds play a role in defense against ultraviolet rays, oxidizing agents or invasion, and some plant pathogen agents.

Quinoa belongs to the family Chenopodiaceae, genus *Chenopodium*. The name of the plant is Willd quinoa *Chenopodium*. Quinoa and its products are rich in macronutrients, such as protein, polysaccharides, and fats, and rich in micronutrients, such as polyphenols, vitamins, and minerals. Ginseng belongs to the Araliaceae family. The properties of this plant include its anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, anti-blood pressure, memory improvement, Antifungal, sexual enhancement, anti-diabetes properties, and anti-tumor properties. Ginseng also adjusts metabolism, immune functions, and blood pressure (Zhang et al., 2020). Ginseng plant and red quinoa seeds contain high phenolic and flavonoid compounds and also have antimicrobial properties. On the other hand, extraction affects the compounds in the extracts. Extraction with the help of ultrasound is one of the green extraction methods. The

encapsulation method is used to protect bioactive compounds, and its purpose is to protect bioactive compounds from harmful environmental effects, and to control release. On the other hand, so far no research has been conducted on the antimicrobial effect of quinoa and ginseng extracts nanoencapsulated with different walls (chitosan, whey protein, chitosan/whey protein) on the shelf life of cream. In this research, extracts of ginseng and red quinoa seeds were obtained using ultrasound. Then the extracts were nanoencapsulated in the mentioned wall materials and the antimicrobial effect of the nanoencapsulated extract on the creams was investigated.

Material and methods: The extract was extracted by an ultrasound probe. The ratio of solvent to sample was 10:1. First, the dried powder was added to the desired solvent, and the ethanol-water solvent with the ratios (50:50) and (80:20) was separately subjected to ultrasonic waves with a frequency of 37 Hz and an intensity of 100 and a temperature of 40°C for 15 minutes was placed. Then, the chemical compounds of the obtained extracts were measured using GC-MS. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of ginseng and quinoa extract in water-ethanol solvent with two different ratios (80-20 and 50-50) were determined by microdilution method of sterile 96-well microplate. Then nanoemulsions containing ginseng, quinoa and ginseng + quinoa mixture with different walls (chitosan, whey protein, chitosan/whey protein) were prepared. In this way, wall solutions were prepared with chitosan, whey protein and a mixture of chitosan and whey protein in equal proportions. These ingredients were first mixed well and kept in the refrigerator for 24 hours to absorb more water. Then the primary emulsion was prepared with ginseng extract ethanol-water (80:20) and quinoa extract ethanol-water (80:20) and the mixture of these two extracts (1:1) with wall materials in a ratio of 1:3. Then, to form the final nanoemulsion, the primary emulsion was combined with cream and emulsifier Tween 80 (1% of cream weight) in a ratio of 1:2. The

prepared emulsions were homogenized using a high-speed homogenizer at a speed of 18,000 rpm for 8 minutes. Then, to further reduce the size of nanoemulsion particles, probe-type ultrasound was used with the maximum intensity of the device at a temperature of 37°C for 3 minutes. In the next step, a freeze dryer was used for 48 hours at a temperature of -57°C and a pressure of 0.017 millipascals. Nanoemulsion particle size was measured by dynamic light scattering based on laser light diffraction method at 25°C, pH of nanoemulsions was measured by pH meter and nanoencapsulation efficiency. The antimicrobial properties of the cream containing nanocapsule extract were investigated on different bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *E. coli*) at two temperatures of 4 and 25 degrees Celsius during 14 days (day 1, 7 and 14). In this way, microencapsulated extracts were added to the pasteurized cream first, and the total number of bacteria in the treated creams was compared with the control cream (without extract) using the porplate method and Kant's agar plate culture medium. Then, to determine the antimicrobial effect of the extract of the tested bacteria (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*), 100 grams of pasteurized cream from each of the bacteria was abnormally inoculated so that the final sample was 10⁶ CFU/mL. After the storage period, the inhibition percentage of each sample was evaluated.

Results and discussion: Many compounds were identified in ginseng and quinoa extracts using GC-MS. The highest phenolic compounds of ginseng and quinoa extracts were related to coumaric acid (111.09) and ellagic acid (73.88) micrograms per gram, respectively. The highest amount of flavonoid compounds in ginseng and quinoa extracts was related to catechin and rutin (29.6) and (34.12) micrograms per gram, respectively. These compounds play an important role in the antimicrobial activity of these extracts. These extracts had inhibitory and lethal effects on all the investigated bacteria in different concentrations, but the response of different

microorganisms was different to each of the extracts.

In general, Gram-positive bacteria are more sensitive to extracts than Gram-negative bacteria, because the growth inhibitory and lethal effects of quinoa extract against Gram-positive *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* are higher than Gram-negative bacteria such as *coli* and *Salmonella typhi*, and showed lower MIC and It MBC, which indicates the high potency of this extract against these two bacteria. The pH of nanoemulsions varied between 5.86-6.11. The size of nanocapsules also varied from 250.67 to 387.13 nm. The chitosan wall had the smallest size (250.67 ± 11.74) and the highest encapsulation efficiency. The difference in particle size and microencapsulation efficiency depends on the effect of the type of compounds that make up the capsule, the preparation conditions of the emulsion, etc. In the present study, nanoemulsions with chitosan walls and cheese juice had the highest (72.79 containing quinoa extract) and the lowest (59.9 containing ginseng and quinoa extract in a ratio of 1:1) encapsulation efficiency, respectively. Quinoa extract in nanoencapsulated form with chitosan wall was more effective than other extracts in reducing the number of tested bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *E. coli*). In the cream containing nano-encapsulated quinoa extract in the chitosan wall, on the fourteenth day, the number of *Staphylococcus aureus* was 2.19 and 1.63 log at 4 and 25 degrees Celsius, respectively. The number of *Bacillus cereus* at 4 and 25 degrees Celsius was 1.03 and 1.9 logarithms, respectively. However, *Salmonella typhi* at 4 and 25 °C were 2.73 and 2.36 logarithms, respectively, and *E. coli* were 2.88 and 2.47 logarithms, respectively. After quinoa extract, the mixture of ginseng and quinoa extracts had the greatest effect in reducing the number of bacteria, and finally, ginseng extract with nanocapsules showed the least effect in reducing these four bacteria present in the treated creams. Also, the rate of reduction of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* at 4°C was higher than at 25°C. Because *Staphylococcus aureus* and *Bacillus*

cereus are mesophilic and thermophilic, respectively, which grow easily at high temperature and are sensitive to low temperature. But *Salmonella typhi* and *E. coli* were more sensitive to 25°C than 4°C. Based on the results, different extracts had the highest reducing effect at 4°C and the lowest reducing effect on *E. coli* bacteria at 4°C.

Conclusion: This research was conducted with the aim of investigating the antimicrobial properties of quinoa and ginseng extracts in cream. The results showed that quinoa and ginseng extracts have different phenolic and flavonoid compounds. MIC and MBC showed that the extracts had high antibacterial properties. Chitosan wall was better than other walls in terms of microencapsulation efficiency and particle size. The cream containing nanoencapsulated quinoa extract in the chitosan wall stored at two temperatures of 4 and 25 degrees Celsius was more effective than other extracts in reducing the tested bacteria, which indicates the higher antimicrobial effect of the quinoa extract and also the better preservation of the extract compounds by the wall. It is chitosan. As a result, nanoencapsulated quinoa extract with chitosan wall can be used in dairy products containing fat, including cream, due to its natural antimicrobial properties. Because it reduces the microbial load of dairy products and increases the shelf life of the product.

خواص ضد میکروبی عصاره کینوا و جنسینگ نانوریزپوشانی شده بر ماندگاری خامه

حدیث عظیمی نژاد^۱، رضا اسماعیل زاده کناری^۲✉ و زینب رفتنی امیری^۲

^۱ دانشجوی دکتری علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
^۲ استاد دانشجوی دکتری علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
 ✉ مسئول مکاتبه: reza_kenari@yahoo.com

چکیده

مشخصات مقاله

زمینه مطالعاتی: آلودگی میکروبی یکی از دلایل کاهش کیفیت خامه است. عصاره های نانوریزپوشانی شده می توانند اثر ضد میکروبی بالایی در خامه داشته باشند.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های جنسینگ و کینوا نانوریزپوشانی شده در دیواره های کیتوزان، پروتئین آب پنیر، کیتوزان/پروتئین آب پنیر روی خامه انجام شد.

روش کار: عصاره های جنسینگ و کینوا به روش اولتراسوند تهیه و ترکیب شیمیایی آنها با استفاده از دستگاه GC-MS بررسی شد. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) عصاره ها تعیین شد. سپس نانوامولسیون های حاوی جنسینگ، کینوا و مخلوط جنسینگ + کینوا با دیواره های کیتوزان، پروتئین آب پنیر، کیتوزان/پروتئین آب پنیر تهیه شد. اندازه ذرات و pH نانوامولسیون ها، کارایی نانوریزپوشانی و خواص ضد میکروبی خامه حاوی عصاره های نانوریزپوشانی شده اندازه گیری شد.

نتایج: بیشترین ترکیب فنلی عصاره های جنسینگ و کینوا به ترتیب مربوط به اسید کوماریک و اسید الازیک بود. میزان MBC عصاره جنسینگ در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس بیشتر از عصاره کینوا بود. MIC و MBC عصاره کینوا در برابر باکتری های اشریشیا کلی و سالمونلا تیپه بیشتر از جنسینگ بود. دیواره کیتوزانی کمترین اندازه و بیشترین راندمان نانوریزپوشانی را داشت. pH نانوامولسیون ها بین ۵/۸۶-۶/۱۱ متغیر بود. عصاره کینوا نانوریزپوشانی شده بیشترین تاثیر را در کاهش تعداد باکتری ها در خامه داشت.

نتیجه گیری نهایی: با توجه به کاهش بار میکروبی خامه توسط عصاره کینوا و جنسینگ نانوریزپوشانی شده در دیواره کیتوزانی، افزودن آنها به خامه راه خوبی برای افزایش ماندگاری آن است.

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲۱

پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۲

انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۱۳

کلید واژه:

جنسینگ، خامه، کینوا،

نانوریزپوشانی، MBC،

MIC

مقدمه

خامه محصولی است که از جداسازی فیزیکی شیر و تبدیل آن از امولسیون چربی به شیر بدون چربی بدست می‌آید. محتوای چربی خامه از ۱۰ تا ۵۰ درصد متغیر است و شامل ۲ درصد پروتئین است که شامل غشاهای گلبول چربی شیر، کازئین‌ها و پروتئین‌های آب پنیر می‌شود. (کانوسارمیتو ۲۰۱۸). خامه توسط فرایند خامه‌زنی از شیر جدا می‌شود. خامه به سبب درصد چربی بالا، ارزش کالری زیادی دارد. از سوی دیگر ویتامین‌های محلول در چربی شیر مثل ویتامین A و یا پیشساز آن‌ها مثل بتاکاروتن در این بخش متمرکز می‌شوند (عظیمی یانچشمه و شریفی ۱۳۹۵).

شیر و فرآورده‌های آن مانند خامه مستعد فساد میکروبی هستند. اغلب به دلیل تجزیه پروتئین‌ها و چربی‌های موجود با آنزیم‌های تولیدشده توسط میکروارگانیسم‌ها رنگ، بو و طعم محصولات لبنی نامطلوب می‌شود. باکتری‌های سرمادوست علت اصلی فساد شیر و فرآورده‌های آن که در دماهای پایین نگهداری می‌شوند هستند. از باکتری‌های سرمادوست میتوان سودوموناس، باسیلوس و استریپتوکوکوس را نام برد که در دمای پایین‌تر از 15°C به خوبی رشد می‌کنند به طوری که در دمای 4°C نیز قادر به رشد هستند. بیشتر میکروارگانیسم‌های سرمادوست در اثر تیمارهای حرارتی از بین می‌روند اما تعدادی از آن‌ها آنزیم‌های برون سلولی مقاوم به حرارت تولید می‌کنند. این آنزیم‌ها باعث پروتئولیز و لیپولیز پروتئین‌ها و چربی‌های شیر شده و باعث نامطلوب شدن کیفیت شیر و فرآورده‌های آن می‌گردند (لمیکس و سیمارد ۱۹۹۲).

در سال‌های اخیر تلاش‌های روزافزونی برای توسعه آنتی - میکروب‌های طبیعی به منظور کاهش فساد و افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی صورت گرفته است و تقاضای استفاده از ترکیبات طبیعی به علت نگرانی مصرف کنندگان از نظر ایمنی نسبت به استفاده از ترکیبات سنتزی افزایش یافته است.

از سویی توجه روز افزون به جایگزینی آنتی ترکیبات سنتزی با ترکیبات طبیعی بسیاری از تحقیقات را به سوی مواد خام مشتق از گیاهان کشانیده است. برای کاهش بار میکروبی خامه میتوان از عصاره‌های طبیعی گیاهان که خواص آنتی میکروبی دارند

استفاده کرد. پلی فنل‌ها یکی از مهم‌ترین ترکیبات در دفاع در برابر اشعه ماوراء بنفش، عوامل اکسیدکننده یا تهاجم و برخی عوامل بیماری‌زای گیاهی نقش دارند و پلی فنل‌ها را می‌توان با توجه به تعداد حلقه‌های فنولی که در آن‌ها وجود دارد و عناصر ساختاری پیوند دهنده این حلقه‌ها به اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها (فلاونون‌ها، فلاون‌ها، زانتون‌ها، کاتچین‌ها و آنتوسیانین‌ها) لیگنان‌ها و سایر پلی فنول‌ها با ساختار غیر فلاونوئیدی طبقه بندی کرد (رودینو و بوتو ۲۰۱۹).

مکانیسم عمل ترکیبات فنولی اختلال در غشا سیتوپلاسمیک، مختل کردن نیروی حرکتی پروتون جریان الکترونی، انتقال فعال تجمع انعقاد، اجزای سلولی و اختلال در سنتز پروتئین و اسید نوکلئیک است که در نهایت می‌تواند منجر به اثر بازدارندگی در برابر باکتری‌ها شود. تحقیقات مختلف نشان می‌دهند که حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضد میکروبی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت کمتر است. زیرا باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپتید بوده، در حالی که باکتری‌های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپتید دارند و بخش بزرگی از ساختمان دیواره در آن‌ها لیپوپروتئین و لیپوپلی ساکارید است، به همین علت در مقابل مواد ضد باکتریایی مقاوم‌ترند (داوودی مقدم ۱۳۹۲).

کینوا از خانواده *Chenopodiaceae*، جنس *Chenopodium* است. نام گیاهی آن *Willd quinoa* است. کینوا یک شبه غلات بومی آمریکای جنوبی است. کینوا و فرآورده‌های آن نه تنها از نظر درشت مغذی‌ها بلکه از نظر ریزمغذی‌هایی مانند پلی فنل‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی نیز غنی هستند. پلی فنول‌ها به خواص فیزیولوژیکی متنوعی از جمله اثرات ضد میکروبی، آنتی - اکسیدانی، ضد التهابی، ضد توموری و ضد سرطان کمک می‌کنند (پارک و همکاران ۲۰۱۷).

جینسینگ متعلق به خانواده *Araliaceae* است و در سراسر آسیای شرقی و روسیه یافت می‌شود. از خواص آن می‌توان به خاصیت ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، ضد چاقی، ضد حساسیت، ضد فشار خون، بهبود حافظه، تقویت جنسی، ضد دیابت و ضد توموری آن اشاره کرد (ژانگ و همکاران ۲۰۲۰).

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

سوش‌های باکتری‌های باسیلوس سرئوس^۱ (PTCC:۱۹۴۸)، استافیلوکوکوس اورئوس^۲ (PTCC:۱۸۲۶)، سالمونلا تیفی^۳ (PTCC:۱۶۰۹)، اشریشیا کلی^۴ (PTCC:۱۳۹۵) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران تهیه شدند. عصاره ی جینسینگ و دانه کینوا قرمز از شرکت ادونیس گل دارو و خامه ۳۶٪ از شرکت کاله آمل خریداری شد. تمامی مواد شیمیایی نیز از مرک آلمان تهیه شدند.

فرایند استخراج

دانه‌ی کینوا در مکانی تاریک و در دمای محیط خشک شد. سپس با آسیاب پودر شده و از الک با مش ۸۰ عبور داده شد و تا زمان استفاده در کیسه پلی اتیلن تیره دو لایه در دمای ۴°C نگهداری شد. در فرآیند استخراج، از اولتراسوند پروپ و نسبت حلال به نمونه ۱۰ به ۱ استفاده شد. ابتدا پودر خشک شده دانه کینوا به حلال مورد نظر اضافه شده و حلال اتانول-آب حاوی پودر دانه کینوا با نسبت‌های (۵۰:۵۰) و (۸۰:۲۰) به طور جداگانه تحت امواج فراصوت با فرکانس ۳۷ هرتز و شدت ۱۰۰ و دما ۴۰°C برای ۱۵ دقیقه قرار داده شد. در نهایت عصاره‌های استخراج شده با ۷۸۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس قسمت شفاف بالای مخلوط جدا گردید و عصاره به دست آمده به وسیله تبخیرکننده‌های چرخشی تحت خلاء در دمای ۴۰°C و ۲۰۰ دور بر دقیقه تغلیظ و در نهایت توسط خشک‌کن انجمادی در دمای ۵۰°C خشک و به پودر تبدیل گردید. پودرهای فنولی بدست آمده تا زمان استفاده در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا و رطوبت در فریزر با دمای ۱۸°C - نگهداری شدند (عظیمی نژاد و همکاران ۲۰۲۱).

تعیین ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها

برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی عصاره از دستگاه GC-MS (انگلستان، Thermo Quest) استفاده کروماتوگراف با

لو و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات بیولوژیکی عصاره‌های ریشه جینسینگ پرداختند و بیان کردند عصاره‌ی جینسینگ فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد (لو و همکاران ۲۰۱۸).

استخراج به کمک اولتراسوند یکی از مهم‌ترین تکنیک‌ها جهت تهیه عصاره از مواد گیاهی است و در مقیاس کوچک یا بزرگ‌تر (در آزمایشگاه یا در مقیاس صنعتی) نسبتاً سازگار است (رودینو و بوتو ۲۰۱۸). مزیت آن زمان استخراج کوتاه‌تر، مقدار انرژی کمتر و مقدار کمتر حلال مورد نیاز است (چمت و همکاران ۲۰۰۸).

روش ریزپوشانی برای محافظت از ترکیبات فعال زیستی (مانند پلی فنل‌ها) به کار گرفته می‌شود و هدف نهایی، محافظت آن‌ها از اثرات مخرب محیطی و همچنین کنترل رهایش در محل هدف است. نانوریزپوشانی دارای پتانسیل لازم برای محافظت از ترکیبات زیست فعال ناپایدار در برابر شرایط سخت فراوری مانند: دمای بالا، اکسیژن، حفاظت از ترکیبات فرار، رهاسازی کنترل شده ترکیبات، جابجایی آسان‌تر، پوشاندن طعم‌ها یا بوی نامطلوب برخی از ترکیبات فعال که پذیرش آن‌ها را به عنوان محصولات بهبود می‌بخشد (حجتی و همکاران ۲۰۱۱ و ژیلاراسی و همکاران ۲۰۱۳). محمد و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که افزودن عصاره *Moringa oleifera* به پنیر خامه‌ای با نسبت‌های مختلف ماندگاری آن را تا چهار هفته افزایش می‌دهد و تعداد پروبیوتیک‌ها، میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی محصولات نهایی را افزایش می‌دهد (محمد و همکاران ۲۰۱۸).

از سویی تا کنون پژوهشی در زمینه بررسی اثر ضد میکروبی عصاره کینوا و جینسینگ بر روی ماندگاری خامه انجام نشده است. در این پژوهش عصاره دانه کینوا قرمز و جینسینگ استخراج و سپس نانوریزپوشانی شد و اثر ضد میکروبی عصاره‌های نانوریزپوشانی شده بر روی خامه بررسی شد.

¹ *Bacillus cereus*

² *Staphylococcus aureus*

³ *Salmonella typhi*

⁴ *Escherichia coli*

مواد، ۲۴ ساعت قبل از تهیه امولسیون، در آب مقطر به خوبی با مگنت به هم زده شدند. سپس امولسیون اولیه با عصاره جینسینگ اتانول-آب (۲۰-۸۰) و عصاره کینوا اتانول-آب (۲۰-۸۰) و مخلوط این دو عصاره (۱:۱) با مواد دیواره به نسبت ۱ به ۳ تهیه گردید.

برای تشکیل نانوامولسیون نهایی، امولسیون اولیه به نسبت ۱ به ۲ با خامه و امولسیفایر توئین ۸۰ (۱٪ وزنی خامه) ترکیب شد. سپس با استفاده از همگن ساز دور بالا با سرعت ۱۸۰۰۰ rpm به مدت ۸ دقیقه هموژن شدند. تا امولسیون یکنواخت به دست آید.

برای کاهش بیشتر اندازه ذرات نانو ۱۰۰ امولسیون از دستگاه مولد فراصوت نوع پروب با حداکثر شدت دستگاه در دمای ۵°C به مدت ۳ دقیقه استفاده شد (هشتجین و عباسی ۲۰۱۵).

اندازه گیری pH

در این آزمون pH نانو امولسیون‌ها توسط pH متر اندازه گیری شد (امیری و همکاران ۲۰۲۱).

راندمان ریزپوشانی

برای انجام این آزمایش ۲۰ میلی لیتر آب قلیایی (pH=۱۰/۵) با ۰/۶ گرم از پودر مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد و در نهایت در ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا فاز آبی از حلال جدا گردد. فاز روئی با اسید غلیظ، خنثی شد. میزان فنول موجود در فاز روئی توسط روش فولین سیوکالتیو تعیین شد و راندمان ریزپوشانی نیز توسط رابطه ۱ محاسبه شد (جیوان و همکاران ۲۰۱۴).

$$\text{R}(\%) = \frac{ce}{ct} \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه ce مقدار ترکیبات فنولی ریزپوشانی شده و ct مقدار اولیه ترکیبات فنولی موجود است.

تعیین اندازه ذرات

در این پژوهش اندازه ذرات، به وسیله پراکنش نور دینامیکی (مدل nano Zetasizer zs. شرکت Malvern کشور انگلستان) بر اساس روش تفرق نور لیزر در دمای ۲۵°C اندازه گیری شد (امیری و همکاران ۲۰۲۱).

یک ستون مویین DB5 (Aligent، امریکا) مجهز شد. درصد نسبی هر ترکیب با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به دست آمد (عزیزخوانی و توریان ۲۰۲۰). داده ها تحت شرایط زیر به دست آمد: دمای اولیه ۵۰°C، نرخ افزایش دما ۲/۵°C در دقیقه، دمای نهایی ۲۶۵°C و دمای انژکتور ۲۵۰°C، حجم تزریق ۰/۵μl با استفاده از نمونه‌بر خودکار مورد استفاده قرار گرفت. گاز حامل هلیوم بود. فشار سر ستون ۲۴/۹ کیلو پاسکال بود. یک آشکارساز یونیزاسیون شعله با فرکانس ۲۰۰ هرتز، مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون حداقل غلظت بازدارندگی رشد و حداقل غلظت

باکتری کشی عصاره ها

در این پژوهش برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی عصاره‌ی جینسینگ و کینوا، از روش میکرودیالوژن میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای استریل استفاده شد.

باکتری‌های باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی، سالمونلا تیفی به ۲۴ مدت ساعت پیش از انجام آزمایش، در محیط کشت نوترینت براث کشت داده شدند و در دمای ۳۷°C انکوبه شدند. محلول اصلی عصاره‌ها با رقت ۱۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر توسط دی متیل سولفوکساید تهیه گردید. ابتدا در هر چاهک میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت نوترینت براث ریخته شد. سپس در چاهک اول و دوم ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها ریخته و سپس از چاهک دوم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته به چاهک سوم و از سوم به چهارم الی چاهک ۹ انتقال داده شد. از چاهک ۹ مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره خارج گردید. (به چاهک شاهد باکتری، عصاره اضافه نشد) پس از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های مورد نظر، رقت ۱۰^۶ CFU/mL تهیه شد و در تمامی چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون ریخته شد. پس از طی زمان انکوباسیون چاهک‌ها از نظر کدورت و رشد باکتری بررسی شدند (جعفرپور و همکاران ۱۴۰۰).

تهیه‌ی نانوامولسیون

ابتدا محلول‌های دیواره با کیتوزان، پروتئین آب پنیر و مخلوط کیتوزان و پروتئین آب پنیر با نسبت‌های برابر تهیه شد. این

آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره کینوا و جینسینگ

جدول ۱ و ۲ به ترتیب اجزای شیمیایی عصاره‌های جینسینگ و کینوا را نشان داده است که از طریق آنالیز GC-MS تجزیه و تحلیل شدند. بیشترین ترکیب فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره‌ی جینسینگ (ام-کوماریک اسید ۱۱۱/۰۹-کاتچین ۲۹/۶) و کینوا (الاژیک اسید ۷۳/۸۸-روتین ۳۴/۱۲) بر حسب میکرو گرم بر گرم بر پایه وزن خشک بدست آمد. هر چه میزان ترکیبات فنولی بیشتر باشد به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (اعلمی و همکاران ۲۰۱۴). فلاونوئید یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان است که هم از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و هم به عنوان پاک‌کننده‌های رادیکال‌هایی مثل سوپراکسیدها، پراکسیل لیپیدها و هیدروکسیل‌ها عمل می‌کنند (لو و بین ۲۰۱۸).

تیمار کردن خامه با عصاره‌ی جینسینگ و کینوا نانوریزپوشانی شده

ابتدا عصاره‌های نانوریزپوشانی شده به خامه پاستوریزه افزوده شد و شمارش کلی باکتری خامه‌های تیمار شده با استفاده از روش پورپلیت و محیط کشت پلیت کانت آگار انجام و با خامه شاهد (فاقد عصاره) مورد مقایسه قرار گرفت. دمای نگهداری خامه‌ها ۴°C و ۲۵°C بوده و بررسی در طول دو هفته در بازه‌های زمانی ۱، ۷ و ۱۴ روز پس از تیمار صورت گرفت. سپس جهت مشخص شدن اثر ضد میکروبی عصاره بر باکتری‌های مورد آزمایش (باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کلی، سالمونلا تیغی)، به ۱۰۰ گرم خامه پاستوریزه از هر کدام از باکتری‌ها به‌طور جداگانه تلقیح شد به نحوی که غلظت نهایی باکتری‌ها ۱۰^۶ CFU/mL بود. پس از مدت زمان نگهداری، درصد بازدارندگی هر کدام از نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت (جعفرپور و همکاران، ۱۴۰۰).

تجزیه و تحلیل آماری

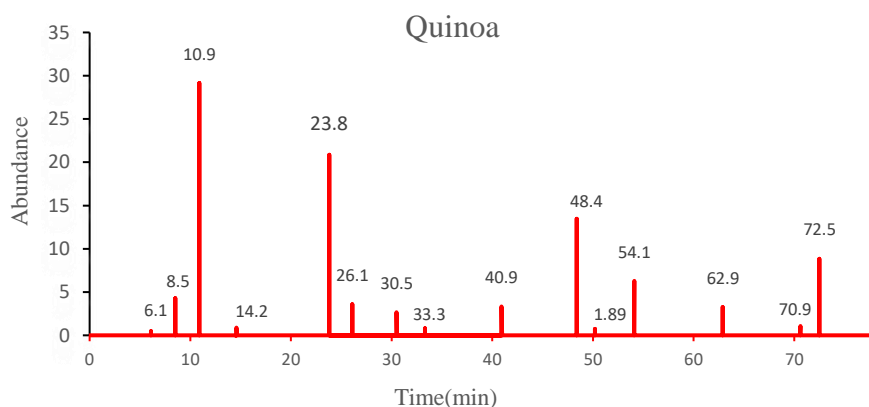
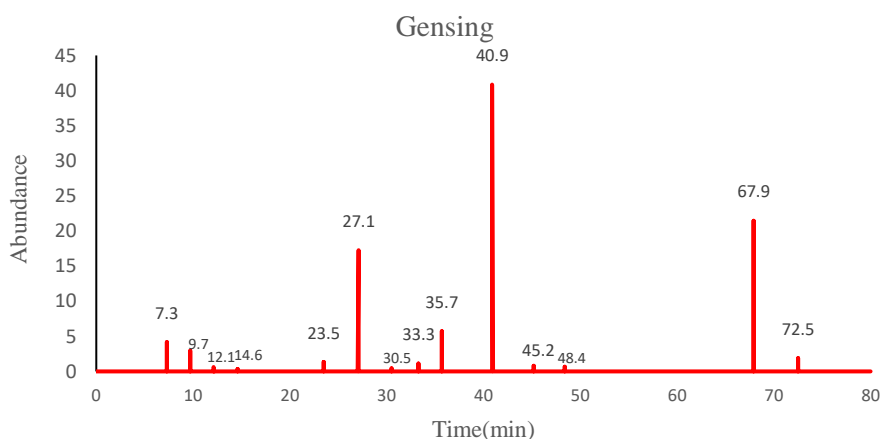
در این پژوهش کلیه آزمون‌ها با سه تکرار انجام گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS ۹/۴M۶ در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد و برای مقایسه میانگین‌ها از

Table 1- Phenolic and flavonoid compounds of ginseng extract

Time (min)	Compound	Content $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, dry weight) (base)
Phenolic compounds:		
7.3	Protocatechuic acid	21.67
9.7	Gentisic acid	15.22
27.1	Syringic acid	89.34
23.5	Phenolic Chlorogenic acid	7.11
40.9	p-Coumaric acid	211.3
72.5	Ferulic acid	9.86
67.9	m-Coumaric acid	111.09
Flavonoid compounds:		
33.3	Naringin	7.23
35.7	Catechin	29.6
45.2	Hesperetin	4.09
48.4	Rutin	3.41
14.6	Myricetin	1.9
30.5	Quercetin	2.22
12.11	Biochanin A	2.18

Table 2- Phenolic and flavonoid compounds of quinoa extract

Time (min)	Compound	Content ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, dry weight base)
Phenolic compounds:		
6.1	Vanillic acid	1.22
54.1	Salicylic acid	15.92
70.6	Cinnamic acid	2.77
62.5	p-Hydroxybenzoic acid	8.23
26.1	Syringic acid	9.22
8.5	Caffeic acid	10.9
40.9	p-Coumaric acid	8.71
72.5	Ferulic acid	22.41
10.9	Ellagic acid	73.88
23.8	Benzoic acid	52.89
Flavonoid compounds:		
33.3	Naringin	2.1
48.4	Rutin	34.12
14.6	Myricetin	2.3
30.5	Quercetin	6.72
50.2	Kaempferol	1.89

**Figure 1 - Chromatogram of quinoa extract obtained by GC-MS****Figure 2 - Chromatogram of gensing extract obtained by GC-MS**

جعفری سالس و همکاران (۲۰۱۹) MBC عصاره متانولی زنیان بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی به ترتیب ۱۲/۵، ۲۵، و ۱۰۰ بدست آمد (جعفری سالس و همکاران ۲۰۱۹). در پژوهشی باکتری‌های اشریشیا کلی و سالمونلا نسبت به استافیلوکوکوس و باسیلوس در برابر عصاره جینسینگ اثر بازدارندگی و کشندگی کمتری در هر دو غلظت داشتند و همچنین میزان MBC باکتری/استرپتوکوکوس پیوجنز^۱ گرم مثبت را از باکتری اشریشیا کلی بالاتر اعلام کردند. همچنین در آن پژوهش میزان MIC باکتری پروتئوس میرابیلیس^۲ گرم منفی از استافیلوکوکوس پایین‌تر بود (دوغری و همکاران ۲۰۰۸). میوه *Conocarpus erectus L* در برابر باسیلوس سوتیلیس گرم مثبت از سودوموناس ائروژینوزا^۳ گرم منفی را بالاتر اعلام کردند (شهیب و همکاران ۲۰۱۳). علت این امر را می‌توان به دیواره باکتری‌ها و نوع ترکیبات موجود در عصاره ربط داد. احتمالاً علت بالاتر بودن میزان MIC و MBC عصاره‌ی جینسینگ در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی این است که وقتی این ترکیبات از لایه‌های باکتری گرم منفی عبور می‌کنند تغییراتی در آن‌ها ایجاد شود که از خصوصیات ضد میکروبی آنها کاسته شود. به طور کلی مقادیر پایین MIC و MBC مشاهده شده در برابر این باکتری‌ها به این معنی است که گیاه پتانسیل درمان هر گونه بیماری مرتبط با این پاتوژن‌های باکتریایی را دارد و مقادیر بالای MIC و MBC، نشانه عدم کارایی عصاره‌های گیاهی در برابر باکتری‌های آزمایشی و یا این احتمال است که باکتری‌ها ممکن است ظرفیت ایجاد مقاومت در برابر عصاره‌های گیاهی را داشته باشند (دوغری و همکاران ۲۰۰۸). در این تحقیق مشاهده شد به غلظت بالاتری از عصاره‌ی جینسینگ نسبت به عصاره‌ی کینوا برای مهارکنندگی رشد و کشندگی استافیلوکوکوس نیاز است اما در مورد باکتری‌های اشریشیا کلی و سالمونلا عکس این قضیه صدق کرد و به غلظت بالاتری از عصاره‌ی کینوا نیاز بود. باکتری باسیلوس نیز به غلظت بیشتر عصاره‌ی جینسینگ برای MBC نیاز دارد.

کروماتوگرام عصاره‌های جینسینگ و کینوا حاصل از GC-MS به ترتیب در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است.

آزمون حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی باکتری عصاره

در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ی جینسینگ و کینوا بر تعدادی از باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به صورت MIC و MBC در جدول ۳ نشان داده شد.

این عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف بر کلیه باکتری‌های مورد بررسی اثرات بازدارندگی و کشندگی داشتند، اما پاسخ میکروارگانیزم‌های مختلف نسبت به هر کدام از عصاره‌ها متفاوت بود. به طور کلی، باکتری‌های گرم مثبت از باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره‌ها حساسیت بیشتری نشان می‌دهند که در مورد واکنش باکتری‌های موجود در این تحقیق نسبت به عصاره کینوا صادق بود و اثرات بازدارندگی ر شد عصاره کینوا بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس و باسیلوس بیشتر از باکتری‌های گرم منفی اشریشیاکلی و سالمونلا بود. در واقع عوامل ضد میکروبی با فعالیت کم در برابر یک ارگانیزم دارای MIC بالا هستند در حالی که یک عامل ضد میکروبی بسیار فعال MIC پایینی می‌دهد (بازسو ۲۰۰۹). توضیح احتمالی برای این مشاهدات ممکن است در این واقعیت نهفته باشد که باکتری‌های گرم منفی دارای یک غشای بیرونی هستند که به عنوان مانعی عمل می‌کند که از نفوذ چندین ضد میکروبی جلوگیری یا کاهش می‌دهد. از آنجایی که باکتری‌های گرم مثبت فاقد غشای خارجی هستند و تنها دارای غشای سیتوپلاسمی هستند، در برابر عوامل ضد میکروبی آسیب پذیرتر هستند و این منجر به نشت محتویات سیتوپلاسمی آن‌ها می‌شود.

همانطور که گفته شد در این تحقیق بیشترین اثر کشندگی عصاره کینوا بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس و باسیلوس دیده شد که با پژوهش‌های علمی و همکاران (۲۰۱۴) و اکک و همکاران (۲۰۰۱) همخوانی دارد همچنین در پژوهش

³ *Pseudomonas aeruginosa*

¹ *Streptococcus pyogenes*

² *Proteus mirabilis*

Table 3- Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of ginseng and quinoa extracts

	Extract	Concentration Ethanol-water	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Salmonella typhi</i>
MIC (mg/ml)	Quinoa	80:20	250	1000	500	1000
		50:50	500	1000	500	1000
	Ginseng	80:20	500	250	500	250
		50:50	500	250	500	250
MBC (mg/ml)	Quinoa	80:20	500	1000	500	1000
		50:50	500	1000	500	1000
	Ginseng	80:20	1000	500	1000	250
		50:50	1000	500	1000	250

پژوهش رضوی و کناری (۲۰۲۱) اندازه ذرات نانوریزپوشانی - شده‌های مالتودکسترین، صمغ عربی و مخلوط این دو از ۷۴/۹ تا ۱۲۸/۳ نانومتر متغیر بود. علت این تنوع اندازه ذرات، تنوع مواد دیواره بود که بر اندازه ذرات نانوریزپوشانی شده‌ها تأثیر گذاشت (رضوی و کناری ۲۰۲۱).

راندمان ریزپوشانی یکی از فاکتورهای مهم در تعیین پایداری ترکیبات کپسوله شده می‌باشد که مانع از دست رفتن مواد فرار و سبب افزایش مدت ماندگاری محصولات با کاهش مقدار روغن سطحی بر سطح ذرات می‌گردد (حسینی و همکاران ۲۰۱۷). بسیاری از محققان به این نتیجه رسیده اند که میزان راندمان ریزپوشانی عصاره از ۰ تا ۹۵ درصد متغیر است و به ترکیب مواد دیواره، نسبت هسته به مواد دیواره و پایداری و ترکیب شیمیایی امولسیون وابسته است (حسینی و حسینی ۲۰۱۸، کلینکسورن و همکاران ۲۰۰۶).

پروتئین‌هایی مانند کازئینات سدیم، پروتئین آب پنیر و ایزوله‌های پروتئین سویا، به دلیل گروه‌های شیمیایی مختلف، ویژگی‌های آمفی‌فیلیک و برهمکنش با انواع مختلف مواد، وزن مولکولی بالا و انعطاف پذیری زنجیره‌های مولکولی، دارای خواص عملکردی عالی مانند حلالیت، ویسکوزیته، امولسیون سازی هستند، خاصیت تشکیل فیلم دارند و می‌توانند در کپسوله سازی استفاده شوند. در طول تشکیل امولسیون، مولکول‌های پروتئین به سرعت در سطح مشترک روغن-آب تازه تشکیل شده جذب می‌شوند. لایه تثبیت کننده فضایی حاصل بلافاصله از قطرات روغن در برابر ریزش مجدد

ویژگی‌های نانوامولسیون (pH و اندازه ذره و راندمان نانوریزپوشانی)

در پژوهش حاضر میان میزان pH نانوامولسیون هر یک از عصاره‌ها (عصاره‌ی کینوا، عصاره جنسینگ، مخلوط این دو عصاره با نسبت ۱:۱) با سه نوع دیواره کیتوزانی، آب پنیری و ترکیب این دو دیواره تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۴، جدول ۵، جدول ۶).

اندازه‌ی نانوریزپوشانی شده‌های کیتوزانی ۲۵۰/۶۷-۲۷۵/۴۷ نانومتر بدست آمد (جدول ۴، جدول ۵، جدول ۶). در پژوهش ژانگ و همکاران (۲۰۰۴) اندازه نانوریزپوشانی شده‌های کیتوزانی بطور متوسط ۱۵۳ تا ۵۰۰ نانومتر بود. حسین نیا و همکاران (۲۰۲۰) اندازه ذره‌های ریزپوشانی شده پایدار شده به وسیله ایزوله پروتئین آب پنیر را ۲۹۲/۷ نانومتر اعلام کردند و به این نتیجه رسیدند که ترکیب صمغ عربی یا گوار با ایزوله پروتئین آب پنیر، کارایی پلی‌ساکاریدها را بهبود بخشید (حسین نیا و همکاران، ۲۰۲۰). در این پژوهش اندازه‌ی نانوکپسول‌ها از ۲۵۰/۶۷-۳۸۷/۱۳ نانومتر متغیر بود. اندازه نانوریزپوشانی - شده‌های بدست آمده از مواد مختلف با هم اختلاف معنی دار آماری داشتند. در پژوهشی، پژوهشگران دریافتند که نوع ترکیبات سازنده کپسول بر اندازه آن تأثیر دارد که با تحقیق ما مطابقت دارد. در واقع نوع مواد دیواره، شرایط تهیه امولسیون و عوامل بسیار دیگری بر روی اندازه نانوریزپوشانی شده‌ها تأثیر دارند که می‌توان آن را دلیل اختلاف جزئی در مقادیر اندازه-های بدست آمده دانست (رضوی زاده و همکاران ۲۰۱۵). در

روغن در برابر ریزش مجدد محافظت می‌کند و پس از آن ثبات فیزیکی امولسیون را در طول فراوری و ذخیره سازی فراهم می‌کند (دلگلیش و همکاران ۱۹۹۷).

محافظت می‌کند و پس از آن ثبات فیزیکی امولسیون را در طول فراوری و ذخیره سازی فراهم می‌کند (دلگلیش و همکاران ۱۹۹۷). لایه تثبیت کننده فضایی حاصل بلافاصله از قطرات

Table 4-Properties of nano-emulsions of quinoa extract. (pH- Particle size -Encapsulation efficiency)

Nano-emulsions type	Wall type	pH	particle size (nm)	Encapsulation efficiency (%)
Quinoa extract Nano-emulsions	Chitosan	6.11±0.3 ^a	250.67±11.74 ^c	72.79±1.87 ^a
	Whey protein	6.10±0.3 ^a	347/91±11.53 ^a	64.49±0.55 ^c
	Whey protein/Chitosan	6.10±0.2 ^a	303.75 ±4.98 ^b	68.94±1.39 ^b

Different letters in a column indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table 5- Properties of nano-emulsions of ginseng extract. (pH -Particle size -Encapsulation efficiency)

Nano-emulsions type	Wall type	pH	particle size (nm)	Encapsulation efficiency (%)
Ginseng extract Nano-emulsions	Chitosan	5.92±0.2 ^a	269.67±11.24 ^c	71.13±1.59 ^a
	Whey protein	5.91±0.3 ^a	379.17±16.15 ^a	63.20±0.54 ^c
	Whey protein/Chitosan	5.91±0.2 ^a	331.24±1.19 ^b	66.75±0.42 ^b

Different letters in a column indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table 6- Properties of nano-emulsions of extracts in a ratio of 1:1 (pH -Particle size -Encapsulation efficiency)

Nano-emulsions type	Wall type	pH	particle size (nm)	Encapsulation efficiency (%)
Nano-emulsions of the extracts in a ratio of 1:1	Chitosan	5.97±0.4 ^a	275.47±12.26 ^c	68.03±1.75 ^a
	Whey protein	5.87±0.3 ^a	387.13±10.93 ^a	59.9±0.94 ^c
	Whey protein/Chitosan	5.87±0.4 ^a	330.17±5.48 ^b	64.43±1.30 ^b

Different letters in a column indicate significant differences ($p < 0.05$).

به میکروریزپوشانی‌های دیواره ژلاتینی داشتند (اسکوردو و همکاران ۲۰۱۹). این نتایج نشان دهنده تاثیر نوع مواد استفاده شده در دیواره بر راندمان ریزپوشانی است. مطالعات پیشین نشان می‌دهد که نوع دیواره و هسته و ویژگی‌های امولسیون و پارامترهای خشک کردن همگی بر راندمان ریزپوشانی اثر می‌گذارند. در پژوهش میزان راندمان ریزپوشانی عصاره‌ی کاکوتی با پروتئین آب پنیر برابر ۶۷/۵۴ درصد بدست آمد که به راندمان بدست آمده در تحقیق ما نزدیک بود (حسین نیا و همکاران ۲۰۲۰).

ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌های نانو-ریزپوشانی شده

در پژوهش حاضر با گذشت زمان تعداد هر ۴ نوع باکتری در تیمارهای مختلف کاهش یافت به طوری که کمترین تعداد باکتری در روز چهارم آزمون دیده شد (جدول ۷، جدول ۸، جدول ۹). در تیمار شاهد تعداد باکتری ها با گذشت زمان

پروتئین‌های آب پنیر در ترکیب با کربوهیدرات به عنوان ماده‌ی حامل در ریزپوشانی اجزای فرار مورد استفاده قرار گرفته‌اند در چنین سیستم‌هایی، پروتئین‌های آب پنیر به عنوان عامل امولسیون‌کننده و تشکیل دهنده فیلم عمل می‌کنند در حالی که کربوهیدرات‌ها به عنوان ماده تشکیل دهنده ماتریکس عمل می‌کنند (شو و روزنبرگ ۱۹۹۸). در پژوهش حاضر نانو امولسیون‌های با دیواره کیتوزان و آب پنیر به ترتیب دارای بیشترین (۷۲/۷۹ حاوی عصاره کینوا) در جدول ۴ و کمترین (۵۹/۹ حاوی عصاره‌ی جینسینگ و کینوا به نسبت ۱:۱) در جدول ۶ راندمان ریزپوشانی بودند. در پژوهشی ترکیب صمغ عربی یا گوار با ایزوله پروتئین آب پنیر، کارایی پلی ساکاریدها را بهبود بخشید (حسین نیا و همکاران ۲۰۲۰). در این پژوهش ترکیب کیتوزان با پروتئین آب پنیر، راندمان پروتئین آب پنیر را بالا برد. مطابق پژوهش حاضر در پژوهش اسکوردو و همکاران (۲۰۱۹) میکروریزپوشانی‌های کیتوزانی راندمان بیشتری نسبت

منفی دارای یک لایه پیتیدوگلیکان و یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند. سطح این غشای غنی از مولکول‌های لیپولی ساکاریدی به دلیل هیدروفیلی بودن در برابر آنتی بیوتیک‌ها به عنوان مانع عمل می‌کند. اما دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی باکتری‌های گرم مثبت، به راحتی توسط ترکیبات ضد میکروبی تخریب شده و سیتوپلاسم آن‌ها نشت کرده و منعقد می‌شود (دوفای و همکاران ۲۰۰۱). در پژوهشی بیان شده است که ترکیبات فنولی عصاره چای سبز ممکن است با پروتئین‌ها در دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها پیوند دهند و منجر به لیز شدن دیواره سلول میکروبی شوند (نیرمان و بنجاکول ۲۰۱۱).

مکانیسم عمده و اصلی فعالیت ضد میکروبی توسط ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی، تخریب دیواره سلولی، آسیب به غشای سیتوپلاسمی و پروتئین‌های غشایی، انعقاد سیتوپلاسم، نشت مواد درون سلولی و در نتیجه مرگ باکتری تعریف شده است (نگی و همکاران ۲۰۱۲).

نتیجه‌گیری

این پژوهش با هدف بررسی اثر خواص ضد میکروبی عصاره کینوا و جنسینگ خامه انجام شد. در این پژوهش دانه کینوا قرمز و عصاره جنسینگ از روش استخراج به کمک اولتراسوند با نسب حلال اتانول - آب (۸۰:۲۰) و (۵۰:۵۰) صورت گرفت. میزان اجزای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی توسط دستگاه GC-MS آنالیز شد. همچنین MIC و MBC عصاره‌های کینوا و جنسینگ بدست آمد. سپس عصاره‌ها با نسبت حلال اتانول-آب (۸۰:۲۰) با دیواره‌های مختلف نانوریزپوشانی شدند (کیتوزان، پروتئین آب پنیر، کیتوزان / پروتئین آب پنیر). ویژگی‌های نانوامولوسیون بررسی و عصاره‌های با دیواره کیتوزان به خامه افزوده شد و میزان اثر خواص ضد میکروبی عصاره در خامه بررسی و با نمونه خامه فاقد عصاره‌های نانوریزپوشانی شده مقایسه شدند. نتایج نشان داد که عصاره‌های کینوا و جنسینگ ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی متنوعی دارند. همچنین MIC و MBC عصاره‌ها نشان دهنده خواص بالای ضد باکتریایی بود. استفاده از کیتوزان به عنوان دیواره عصاره-

افزایش پیدا کرد (جدول ۱۰). زیرا در تیمارهای حاوی عصاره به دلیل وجود ترکیبات فنولی از تعداد باکتری‌ها کاسته می‌شود و در صورت عدم وجود ترکیبات ضد میکروبی و وجود شرایط مناسب برای رشد به تعداد آن‌ها افزوده می‌شود (نیرمان و بنجاکول ۲۰۱۱).

در خامه‌ی حاوی عصاره‌ی کینوا نانوریزپوشانی شده در روز ۱۴ باکتری‌های *استافیلوکوکوس* در دمای 4°C و 25°C به ترتیب $2/19$ و $1/63$ لگاریتم و باکتری *باسیلوس سرئوس* در دمای 4°C و 25°C به ترتیب $1/9$ و $1/03$ لگاریتم بود. اما باکتری *سالمونلا* در دمای 4°C و 25°C به ترتیب $2/73$ و $2/36$ لگاریتم و باکتری *شریشیاکلی* به ترتیب $2/88$ و $2/47$ لگاریتم بودند. پس از عصاره‌ی کینوا، مخلوط عصاره‌ی جنسینگ و کینوا بیشترین تاثیر را در کاهش تعداد باکتری‌ها داشت و در نهایت عصاره جنسینگ نانوریزپوشانی شده کمترین تاثیر را در کاهش این چهار باکتری موجود در خامه‌های تیمار شده نشان داد. همچنین میزان کاهش *استافیلوکوکوس* و *باسیلوس* در دمای 4°C نسبت به 25°C بیشتر بود. زیرا *استافیلوکوکوس* و *باسیلوس* به ترتیب مزوفیل و ترموفیل هستند که در دمای بالا راحت‌تر رشد می‌کنند و به دماهای پایین حساس هستند (درافتر و یاماموتو ۱۹۸۵). اما *سالمونلا* و *شریشیاکلی* به دمای 25°C به نسبت 4°C حساستر بودند. در یک بررسی دقیق‌تر نتایج این آزمون، عصاره‌های مختلف بیشترین اثر کاهشی را بر روی باکتری *باسیلوس سرئوس* در دمای 4°C گذاشتند و کمترین تاثیر کاهشی آن‌ها بر روی *شریشیاکلی* در دمای 4°C مشاهده شد.

نتایج نشان داد میزان کاهش باکتری‌های *باسیلوس* و *استافیلوکوکوس* نسبت به *شریشیاکلی* و *سالمونلا* به دلیل حساس‌تر بودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بیشتر بود که با پژوهش محققان مطابقت دارد (اعلمی و همکاران ۲۰۱۴). میزان کاهش هر چهار نوع باکتری موجود در تیمارهای خامه توسط عصاره‌ی کینوا از عصاره‌ی جنسینگ و مخلوط عصاره‌ی جنسینگ و کینوا بیشتر بود. تحقیقات نشان داده است باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی نسبت به این ترکیبات حساسیت بیشتری دارند. باکتری‌های گرم

همچنین حفظ بهتر این ترکیبات عصاره توسط دیواره کیتوزان بود. در نتیجه میتوان از عصاره کینوا ریزپوشانی شده با دیواره کیتوزان به دلیل خواص ضد میکروبی طبیعی در محصولات لبنی بر پایه چربی از جمله خامه استفاده کرد. زیرا باعث کاهش بار میکروبی محصولات لبنی می‌شود و ماندگاری محصول را افزایش می‌دهد.

های نانوریزپوشانی از نظر راندمان ریزپوشانی و اندازه ذرات نسبت به دیواره‌های دیگر بهتر بود. همچنین عصاره کینوا نانوریزپوشانی شده با دیواره کیتوزان افزوده شده به خامه در مدت نگهداری در دمای 4°C و 25°C نسبت به عصاره‌های دیگر تاثیر بیشتری در کاهش باکتری‌های مورد آزمون داشت. که نشان دهنده‌ی خواص ضد میکروبی بالاتر عصاره کینوا و

References

- جعفرپور د، هاشم، س م ب و قائدی ا، ۱۴۰۰. بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره قسمت‌های مختلف زعفران و کاربرد آن در خامه. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۸(۱۱۳): ۲۸۹-۲۹۹.
- داوودی مقدم ه، ۱۳۹۲. نقش اسانس خانواده نعناعیان در افزایش ماندگاری مواد غذایی. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران.
- عظیمی یانچشمه م و شریفی ا، ۱۳۹۵. ارزیابی حسی نمونه‌های خامه پس از جایگزینی چربی، به منظور تهیه خامه صبحانه رژیمی. دومین همایش ملی روش‌های افزایش ماندگاری فرآورده‌های غذایی.
- Alami, M., & Ghorbani, M. (2014). Evaluation of total phenolic, flavonoid, anthocyanin compounds, antibacterial and antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus Elbursensis*) fruit acetic extract. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 13(1), 53-66.
- Amiri, Z. R., Nemati, A., Tirgarian, B., Dehghan, B., & Nasiri, H. (2021). Influence of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) extract-loaded nano-emulsion on the storage stability and antioxidant attributes of Doogh (Traditional Iranian yoghurt beverage). *Journal of Food Measurement and Characterization* 15, 437-448.
- Aziminezhad, H., Esmailzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2020). The effect of extraction of probe ultrasound on antioxidant properties of bounded and free phenols of Hyssop (*Hyssopus officinalis*) extract. *Journal of Food Research* 30(2), 101-129.
- Azizkhani, M., & Tooryan, F. (2016). Antimicrobial activities of probiotic yogurts flavored with peppermint, basil, and zataria against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of food quality and hazards control* 3(3), 79-86.
- Banso, A. (2009). Phytochemical and antibacterial investigation of bark extracts of *Acacia nilotica*. *J. Med. Plants Res* 3(2), 082-085.
- Cano-Sarmiento, C. T. D. I., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., & Gutiérrez-López, G. F. (2018). Zeta potential of food matrices. *Food Engineering Reviews* 10, 113-138.
- Chemat, F., Tomao, V., & Viot, M. (2008). Ultrasound-assisted extraction in food analysis. *Handbook of food analysis instruments* 11, 85-103.
- Dalgleish, D. G. (1997). Adsorption of protein and the stability of emulsions. *Trends in Food Science & Technology* 8(1), 1-6.
- Doughari, J. H., & Manzara, S. (2008). In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. *Afr J Microbiol Res* 2(4), 67-72.
- Duffy, J. E., & Harvilicz, A. M. (2001). Species-specific impacts of grazing amphipods in an eelgrass-bed community. *Marine Ecology Progress Series* 223, 201-211.

- Droffner, M. L., & Yamamoto, N. (1985). Isolation of thermophilic mutants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* and transformation of the thermophilic trait to mesophilic strains. *Microbiology* 131(10), 2789-2794.
- Esquerdo, V. M., Monte, M. L., & de Almeida Pinto, L. A. (2019). Microstructures containing nanocapsules of unsaturated fatty acids with biopolymers: Characterization and thermodynamic properties. *Journal of Food Engineering* 248, 28-35.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and bioprocess technology* 6, 628-647.
- Hashtjin, A. M., & Abbasi, S. (2015). Nano-emulsification of orange peel essential oil using sonication and native gums. *Food Hydrocolloids* 44, 40-48.
- Hassani, M., & Hasani, S. (2018). Nano-encapsulation of thyme essential oil in chitosan-Arabic gum system: evaluation of its antioxidant and antimicrobial properties. *Trends in Phytochemical Research* 2(2), 75-82.
- Hojjati, M., Razavi, S. H., Rezaei, K., & Gilani, K. (2011). Spray drying microencapsulation of natural canthaxanthin using soluble soybean polysaccharide as a carrier. *Food Science and Biotechnology*, 20, 63-69.
- Hosseini, S. F., Ramezanzade, L., & Nikkhah, M. (2017). Nano-liposomal entrapment of bioactive peptidic fraction from fish gelatin hydrolysate. *International Journal of Biological Macromolecules* 105, 1455-1463.
- Hoseinnia, M., Almasi, H., & Alizadeh, M. (2020). Evaluation of the properties of microcapsules containing *Ziziphora clinopodiodes* extract stabilized by gum Arabic, whey protein isolate, guar gum and their combinations. *Journal of Food Research* 29(4), 101-123.
- Jafari-Sales, A., Rasi-Bonab, F., & Sayyahi, J. (2019). The survey on antimicrobial effects of methanolic extract of *Carum copticum* L. on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in laboratory conditions. *Paramedical Sciences and Military Health* 13(4), 19-25.
- Jivan, M. J., Yarmand, M., & Madadlou, A. (2014). Short communication Encapsulation of date palm pit extract via particulation of starch nanocrystals in a microemulsion. *International Journal of Food Science and Technology* 49, 920-923.
- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2006). Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. *Food Research International* 39(4), 449-457.
- Lemieux, L., & Simard, R. E. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Le Lait* 72(4), 335-385.
- Lu, C. W., & Yin, Y. G. (2018). Comparison of antioxidant activity of ginseng root extracts obtained by pulsed electric field and hydrolytic enzyme processing. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 185, No. 1, p. 012005). IOP Publishing.
- Mohamed, F. A. E. F., Salama, H. H., El-Sayed, S. M., El-Sayed, H. S., & Zahran, H. A. (2018). Utilization of natural antimicrobial and antioxidant of *Moringa oleifera* leaves extract in manufacture of cream cheese. *J. Biol. Sci.*, 18(2), 92-106.
- Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International journal of food microbiology* 156(1), 7-17.
- Nirmal, N. P., & Benjakul, S. (2011). Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific white shrimp during iced storage. *LWT-food science and technology* 44(4), 924-932.

- Okeke, M. I., Iroegbu, C. U., Eze, E. N., Okoli, A. S., & Esimone, C. O. (2001). Evaluation of extracts of the root of *Landolphia owerrience* for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 78(2-3), 119-127.
- Park, J. H.,
Lee, Y. J., Kim, Y. H., & Yoon, K. S. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds cultivated in Korea. *Preventive nutrition and food science* 22(3), 195.
- Razavi, R., & Kenari, R. E. (2021). Antioxidant evaluation of *Fumaria parviflora* L. extract loaded nanocapsules obtained by green extraction methods in oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Measurement and Characterization* 15(3), 2448-2457.
- Razavizadeh, B. M., Kadkhodae, R., & Zaferani, Z. (2015). Extraction and encapsulation of capsaicinoids of red pepper oleoresin. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(3), 219-232.
- Rodino, S., & Butu, M. (2019). Herbal extracts—new trends in functional and medicinal beverages. In *Functional and medicinal beverages* (pp. 73-108). Academic Press.
- Sheu, T. Y., & Rosenberg, M. (1998). Microstructure of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates. *Journal of Food Science* 63(3), 491-494.
- Shohayeb, M., Abdel-Hameed, E., & Bazaid, S. (2013). Antimicrobial activity of tannins and extracts of different parts of *Conocarpus erectus* L. *Int J Pharm Bio Sci* 3(2), 544-553.
- Zhang, H., Abid, S., Ahn, J. C., Mathiyalagan, R., Kim, Y. J., Yang, D. C., & Wang, Y. (2020). Characteristics of *Panax ginseng* cultivars in Korea and China. *Molecules* 25(11), 2635.
- Zhang, H., Oh, M., Allen, C., & Kumacheva, E. (2004). Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules* 5(6), 2461-2468.