

(مقاله پژوهشی)

استخراج و ریز پوشانی عصاره ریز پوشانی شده گیاه زوفا و تاثیر آن بر پایداری اکسیداتیو سیستم مدل غذایی (روغن سویا)

نگین رضایی سوادکوهی^۱، پیمان آریایی^{۲*}، مهدی چرمچیان لنگرودی^۳

- ۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران.
 ۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران..
 ۳- گروه ترویج و آموزش کشاورزی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران..

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۶

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر فرآیند ریزپوشانی بر خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره گیاه زوفا (*Hyssopus Officinalis L*) انجام شد. عصاره گیاه زوفا با استفاده از دستگاه فرا صوت و حلال هیدروالکلی استخراج شد. میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن اندازه گیری شد که به ترتیب $117/43 \pm 9/22$ (میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و $31/62 \pm 8/15$ (میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره) بوده است. سپس فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی پی ام با استفاده از روش مهارادیکال آزاد DPPH و احیا آهن اندازه گیری شد. نتایج نشان داد در هر دو روش با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره افزایش می یابد. غلظت ۴۰۰ پی پی ام از عصاره به علت دارا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر برای عمل ریزپوشانی انتخاب شد. صمغ قدومه شهری و ثعلب به عنوان مواد دیواره پوشش انتخاب شدند. خصوصیات نانوکپسول ها شامل اندازه، توزیع اندازه ذرات، سطح ویژه، پتانسیل زتا و راندمان ریزپوشانی اندازه گیری شد که به ترتیب $56/713 \pm 1/84$ نانومتر، $8/111 \pm 0/62$ مترمربع بر میلی لیتر، $32/8 \pm 0/4$ میلی ولت و $88/36 \pm 2/4$ درصد بوده است. میزان رهایش و ته نشینی نانوکپسول ها و همچنین اثرات آنتی اکسیدانی آنها در روغن طی ۴۰ روز نگهداری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و در فواصل زمانی ۸ روزه انجام شد. روند رهایش ترکیبات فنولی از نانوکپسول ها افزایشی و روند ته نشینی کاهش می بود. طی دوره نگهداری با گذشت زمان میزان اکسایش روغن افزایش یافت که به صورت افزایش در عدد پراکسید و عدد اسید تیوباربتوریک مشخص گردید. کمترین میزان اکسایش چربی طی نگهداری، نمونه های حاوی عصاره نانوریزپوشانی شده زوفا داشتند. نتایج این تحقیق پیشنهاد می کند که ریزپوشانی روش موثری در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره محسوب می شود و به این ترتیب می توان عمر ماندگاری روغن های خوراکی را با آنتی اکسیدان های طبیعی افزایش داد.

واژه های کلیدی: اکسایش، روغن سویا، ریزپوشانی، عصاره زوفا

۱- مقدمه

عصاره گیاه زوفا دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی به ویژه ایدز و در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربردهای فراوانی دارد (۲). ریز پوشانی فرآیندی است که در آن اجزای جامد، مایع یا گاز درون کپسول کوچک پوشانده میشوند بطوریکه بتوان محتوای آن‌ها را با سرعت کنترل شده تحت شرایط خاص آزاد کرد. تکنیک‌ها و روش‌های زیادی جهت ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال غذایی وجود دارد. باین حال سه هدف عمده شامل تشکیل دیواره مناسب اطراف ماده موردنظر، جلوگیری از تراوش و نفوذ ماده ریزپوشانی شده به سطح کپسول در حین نگهداری و ممانعت از تماس و واکنش عوامل محیطی با هسته در همه این فرآیندها دنبال می‌شود (۹). ناپایداری ترکیبات فنولی طی فرآیند و نگهداری مواد غذایی در برابر عوامل محیطی از قبیل اکسیژن، حرارت، عوامل شیمیایی و بیولوژیک، حلالیت کم در آب و طعم تلخ، کاربرد این ترکیبات را در مواد غذایی محدود کرده است که این مشکلات به‌طور بالقوه می‌تواند با درون پوشانی بهبود یابد (۳۳). با توجه به اهمیت عصاره‌های گیاهان دارویی در جلوگیری از اکسایش روغن‌ها و جستجو در مطالعات کتابخانه‌ای که نشان می‌دهد تاکنون پژوهشی مبنی بر مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زوفای انکپسوله شده در نانوامولسیون بیوپلیمری در جلوگیری از اکسایش روغن و افزایش پایداری آن انجام نشده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

گیاه زوفا در فصل پائیز از مزارع شهر ساری استان مازندران جمع آوری شد. پس از تمیزکردن برگ‌های زوفا جداسازی شد و در آون تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد. نمونه‌ها پس از آسیاب در بسته‌های پلی‌اتیلنی تیره به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایش در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۸). ثعلب پنجه‌ای و دانه قدومه شهری از عطاری در شهرساری

اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها یکی از مهم‌ترین عوامل فساد این ترکیبات در مواقع قرار گرفتن آن‌ها در حرارت‌های بالا و همچنین هنگام نگهداری به شمار می‌رود که در اثر خوداکسایش چربی‌ها، باعث ایجاد بوی تند، طعم نامطلوب و رنگ نامناسب شده و ارزش غذایی و ایمنی محصول را کاهش می‌دهد. همچنین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد غشای دیواره سلولی آسیب می‌بیند و منجر به بیماری‌های قلبی و سرطان می‌شود. یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و یا حفاظت در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (۴۳). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسیداسیون، از فساد، تغییررنگ و یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند (۸). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی اثرات نامطلوبی همچون اثرات جهش‌زایی و سرطان‌زایی در بدن انسان دارند و به تدریج از لیست آنتی‌اکسیدان‌های مصرفی حذف می‌شوند؛ لذا تهیه و تولید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جانشین ضروری می‌باشد (۴). جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با انواع طبیعی، دارای مزایایی می‌باشد که از جمله آن‌ها می‌توان به تأثیر ویژه آن‌ها بر سلامتی و ویژگی‌های عملکردی آن‌ها، مانند قابلیت حل شدن این ترکیبات در آب و در روغن اشاره نمود. در همین زمینه تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی ترکیبات فنلی موجود در منابع گیاهی است (۸). زوفا با نام علمی *Hyssopus officindis* L. از خانواده نعناع (Lamiaceae) از کلمه یونانی آزوب به معنای گیاه مقدس گرفته شده است و از مهم‌ترین گونه‌های گیاهی است. در ایران گیاه زوفا به صورت خودرو در استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، سیستان و بلوچستان و نواحی اطراف دریای خزر می‌روید. مناطق خشک و گرم و نواحی جنوبی تپه‌ها مناطق شنی مناسبی برای گیاه زوفا می‌باشد. گیاه زوفا به خشکی مقاوم است.

گردید و غلظت فلاونوئیدها بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک ارائه شد (۲۰).

۲-۴-اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

۲-۴-۱-پروسی مهار رادیکال آزاد (DPPH)

این آزمون مطابق روش توضیح داده شده توسط Maleki و همکاران (۳۰) انجام شد. ماده DPPH ترکیبی بنفش رنگ است که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال‌های آزاد می‌باشد. این آزمون بر اساس درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با اضافه کردن ترکیبات آنتی اکسیدانی تعیین گردید. این ترکیب با گرفتن الکترون از آنتی اکسیدان‌ها از بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند.

۱۰۰× جذب شاهد / جذب نمونه-جذب شاهد = درصد مهار رادیکال آزاد DPPH

۲-۴-۲-اندازه گیری قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP)

این آزمون مطابق روش توضیحی Akkol و همکاران، (۱۰) انجام شد. در این روش آنتی اکسیدان‌ها نقش احیاکنندگی دارند و باعث احیا آهن III به آهن II می‌شود. بسته به قدرت احیاکنندگی عصاره، رنگ زرد محلول آزمایش به رنگ سبز یا آبی تغییر می‌یابد. به منظور سنجش این ویژگی، مقدار ۰/۱ گرم از عصاره با ۵ میلی لیتر آب مقطر در هاون چینی سرد در حمام یخ هموژن می‌شود. هموژنات حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس به ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ی بدست آمده ۱/۵ میلی لیتر معرف FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی مولار با pH= ۳/۶، فریک-تری پریدیل-اس-تریازین و فریک کلرید) اضافه می‌گردد. مخلوط حاصل ورتکس و به مدت ۴ دقیقه در دمای ۳۰°C انکوبه شد. جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد (شامل ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به همراه ۱/۵ میلی لیتر معرف FRAP)، خوانده شد. آمونیم فروس سولفات به عنوان شاهد برای مقایسه بکار رفت.

خریداری شد. دانه قدمه شهری پس از خریداری، جهت حذف مواد خارجی نظیر خار و خاشاک، سنگ، دانه‌های شکسته و گاه به شیوه دستی تمیز شد. روغن سویا تصفیه شده و بدون آنتی اکسیدان از کارخانه روغن رعنا گلستان تهیه شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از درجه تجزیه ای برخوردار بودند و از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲-استخراج عصاره با امواج حمام فراصوت

ده گرم نمونه خرد شده زوفا با ۱۰۰ میلی لیتر از اتانول: آب (۸۰ درصد) در دمای (۴۵ درجه سانتی گراد) و زمان (۲۰ دقیقه) در حمام فراصوت در ۲۰ KHz عصاره گیری شد. سپس محلول‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و حلال‌ها توسط تبخیر گردان تحت خلاء تبخیر شد. عصاره حاصله تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شد (۳۰).

۲-۳-اندازه گیری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

روش فولین سیوکالتیو از متداولترین روش‌های اندازه گیری فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است، که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. ترکیبات فنولی کل بر اساس روش توضیح داده به وسیله Donald و همکاران (۲۰) با استفاده از اسپکتروفتومتر بر مبنای اسید گالیک و به صورت میلی گرم بر گرم عصاره تعیین شد. فلاونوئیدهای کل با روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم انجام شد. ۵/۵ میلی لیتر از عصاره، ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار اضافه نموده، بعد از ۵ دقیقه به ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد و ۲/۸ میلی لیتر آب دیونیزه به محلول اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه شدت جذب محلول در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین رسم

۲-۵- استخراج صمغ قدومه شهری

صمغ دانه قدومه شهری به روش Razavi و همکاران (۳۶) استخراج شد. شرایط بهینه استخراج برای صمغ دانه قدومه شهری (نسبت آب به دانه ۱:۳۰، دما ۴۸ درجه سانتی گراد و pH=۸) در فرآیند استخراج صمغ دانه قدومه شهری، ابتدا pH آب دیونیزه به وسیله محلول ۰/۱ مولار سدیم هیدروکسید یا هیدروژن کلرید تنظیم شد و در حمام آب گرم تا رسیدن به دمای مورد نظر حرارت دید و سپس دانه‌ها به آن افزوده شد و مجدداً جهت تکمیل فرآیند جذب آب در حمام آب گرم قرار گرفت و به طور متناوب هم‌زده شد، در نهایت عصاره هیدروکلوئیدی توسط اکستراکتور آزمایشگاهی (پارس خزر، ایران) استخراج می‌شد و در آن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و سپس آسیاب و الک (با مش ۱ میلی متر) شد و پودر صمغ‌ها در ظروف در بسته و در مکان خشک به منظور انجام آزمایشات مورد نظر نگاه‌داری شد.

۲-۶- تهیه امولسیون

ترکیب صمغ قدومه شهری: صمغ ثعلب (۱:۱) به عنوان فاز پیوسته امولسیون استفاده شد. صمغ قدومه شهری به نسبت ۱:۱ با صمغ ثعلب برای رسیدن به ماده جامد کل ۳۰ درصد، در آب دیونیزه مخلوط شد. از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط برای انحلال بهتر ترکیبات استفاده شد. محلول جهت تکمیل فرآیند جذب آب به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگاه‌داری شد. عصاره زوفا به نسبت ۵:۱ به محلول صمغ اضافه شد. ۲۰ گرم روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان (فاز پراکنده روغنی) به محلول اضافه شد در این مرحله از امولسیفایر توئین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت استفاده شد. برای تهیه امولسیون که هر دو فاز به طور جداگانه تا دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند و سپس با استفاده از همزن مغناطیسی امولسیون اولیه شکل گرفت. به منظور کاهش اندازه ذرات به نانو، از همگن‌ساز اولتراسونیک با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm در ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه جهت هم‌وزن‌سازی استفاده شد. برای کاهش بیشتر اندازه ذرات از دستگاه مولد

فراصوت نوع پروپی با تعداد ۶ سیکل، زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها استفاده شد (۱۶). برای خشک کردن نانوریزپوشینه‌ها از روش خشک کردن انجمادی در فشار ۰/۰۱۷ میلی پاسکال در دمای ۵۷- درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد (۱۷).

۲-۷- آزمایشات نانو امولسیون‌ها

متوسط قطر، توزیع اندازه ذرات و سطح مخصوص ذرات با کمک دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Zetasizer nano Zs، شرکت Malvern، کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد (۲۸). برای اندازه‌گیری پتانسیل زتا از دستگاه زتاسایزر (مدل Zetasizer nano Zs، شرکت Malvern، کشور انگلستان) استفاده شد. دستگاه حامل یک سل الکتروشیمیایی حاوی دو الکترود است. نمونه‌ها با آب دیونیزه به نسبت ۵:۱ رقیق و در سل قرار داده شد. زمانی که ولتاژ اعمال شد، ذرات با بار منفی به سمت الکترود مثبت حرکت کرد و سرعت حرکت ذرات اندازه‌گیری شد (۲۸). راندمان ریزپوشانی پلی‌فنول‌ها مطابق روش توضیح داده شده توسط Robert و همکاران (۳۸) تعیین شد ۲۰۰ میلی‌گرم ریز پوشینه به ۲ میلی لیتر اتانول اضافه شد و به مدت یک دقیقه هم‌زده شد و در ادامه تحت فرا صوت (Chroma tech، تایوان) به مدت ۲۰ دقیقه در دو مرحله با شدت ۱۰۰ درصد و فرکانس ۲۰ کیلو هرتز قرار گرفت. بعد از این مرحله سانتریفوژ کردن در ۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲ دقیقه انجام گرفت. الکل می‌تواند عصاره ای که خارج از کپسول است را بدون تخریب در خود حل کند. مقدار ترکیبات فنولی کل در محلول رویی با استفاده از روش فولین سیوکالتو و جذب در ۷۴۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفوتومتر تعیین شد. درصد کارایی کپسوله کردن از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Encapsulation Efficiency (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_2} \times 100$$

در این معادله w_1 مقدار عصاره در مایع فوقانی مقدار معین از نانو کپسول و w_2 مقدار عصاره افزوده شده برای آماده‌سازی همان مقدار نانو کپسول می باشد که بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید به ازای هر گرم گیاه بیان می شوند.

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش شد. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. تفاوت معنی داری میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ تعیین شد و نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی عصاره زوفا

گیاه زوفا یکی از گیاهان مهم مورد استفاده در صنایع داروسازی است. علی رغم اینکه این گیاه طعم تلخ و تند دارد ولی در صنایع غذایی به عنوان طعم‌دهنده غذایی علی‌الخصوص در تولید سس مورد استفاده قرار می‌گیرد. خصوصیات دارویی و تغذیه ای گیاه زوفا به متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاه مرتبط می‌باشد (۲۲). با توجه به نتایج مقدار فنول کل عصاره هیدروالکلی با استفاده از دستگاه روش فرصت $117/43 \pm 9/22$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره و مقدار فلاونوئید $31/62 \pm 8/15$ میلی گرم کوئرستین بر گرم عصاره گزارش گردید. در یک پژوهش Vlase و همکاران (۴۲) مقدار ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی در عصاره زوفا را که با استفاده از روش ماسراسیون و حلال اتانول استخراج شده بود را به ترتیب $77/72$ و $1/30$ میلی گرم بر گرم گیاه گزارش نمودند و اعلام نمودند این گیاه دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و دارویی است که به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی است. دلیل بالاتر بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره استخراج شده به روش فرا صوت، اثرات کاویتاسیون ناشی از امواج فرا صوت می‌باشد. همچنین تخریب مکانیکی دیواره سلولی منجر به نفوذ بیشتر حلال در بافت های گیاهی میشود که به نفوذ هرچه بیشتر ترکیبات فنولی عصاره در بافت های گیاه کمک میکند (۲۶). در یک مطالعه مشخص شد میزان ترکیبات فنولی بدست آمده از عصاره متانولی گیاه زوفا ایرانی نسبت به زوفای به دست آمده در کشور رومانی بالاتر

میزان رهایش ترکیبات فنولی نانوریزپوشانی شده طی شرایط نگهداری روغن مطابق Esfanjani و همکاران (۲۱) براساس روش فولین سیوکالتیو اندازه گیری شد. بدین منظور ۳ گرم از کپسول با ۳ گرم از فسفات بافر (pH=۷) ترکیب و بعد در ۴۵۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق و به مدت ۹۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس فاز پایینی جمع آوری شد مقدار کل ترکیبات فنولی آن اندازه گیری و بر اساس گالیک اسید بیان شد. با استفاده از فرمول زیر میزان رهایش ترکیبات از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد رهاسازی} = 100 - \frac{C2 \times 100}{C1}$$

در این فرمول:

C2 = درصد انکپسوله شدن ترکیبات فاز خارجی، C1 =

درصد انکپسوله شدن ترکیبات فاز داخلی

به منظور اندازه‌گیری میزان ته‌نشینی، پس از افزودن نانوریزپوشانی‌ها به روغن سویا، نمونه در لوله شیشه‌ای ۱۰ میلی‌لیتری تا ارتفاع ۸ سانتی‌متر ریخته شد. ارتفاع فاز ته‌نشین شده در نمونه‌ها (ht) طی نگهداری ۴۰ روزه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با نمونه اولیه (h0) مقایسه و میزان ته‌نشینی (S) با فرمول زیر تعیین شد (۳۲).

$$S = (h0 - ht) / h0 \times 100$$

۲-۸- آزمون های روغن

عصاره خالص و عصاره نانوریزپوشانی شده گیاه زوفا به میزان ۴۰۰ پی‌پی‌ام به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شدند و به مدت ۴۰ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آزمون های شیمیایی روغن در فواصل زمانی ۸ روزه بر روی نمونه ها انجام شد. برای اندازه گیری عدد پراکسید و عدد اسید تیوباریتوریک از روش AOCS به ترتیب به شماره (Cd 8-53) و (Cd 19-90) استفاده شد. عدد پراکسید بر حسب میلی اکسی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن و عدد اسید تیوباریتوریک بر حسب میلی گرم مالون آلدئید در ۱۰۰۰ گرم روغن بیان شد (۱۳).

است که نشان دهنده تاثیر منطقه جغرافیایی، نوع حلال مورد استفاده و روش استخراج بر میزان ترکیبات فنولی عصاره است (۲۲).

۳-۲- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه زوفا

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی یکی از مهمترین پارامترهایی است که برای عصاره های گیاهی اندازه گیری می شود. عصاره های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنولی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ظرفیت بالای برای اهدای اتم هیدروژن با الکترون و الکترون آزاد می باشند. در روش مهار رادیکال آزاد DPPH آنتی اکسیدان ها (که توانایی اهدای هیدروژن را دارند) با رادیکال آزاد و پایدار (۱و- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل واکنش داده و آن را به ۱و- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل بیرنگ تبدیل می کنند. میزان از بین رفتگی رنگ و یا به عبارت دیگر درجه رنگبری رادیکال آزاد به عنوان شدت فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در احیای رادیکال آزاد مورد سنجش قرار میگیرد (۱۹). در جدول ۱ نشان داده شد که با افزایش غلظت عصاره گیاه زوفا، میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH افزایش یافته است و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شده است. غلظت ۳۰۰ پی پی ام از عصاره زوفا با ۱۰۰ پی پی ام از آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ اختلاف معنی دار آماری نداشت ($P > 0.05$). با افزایش غلظت عصاره و یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنولی، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش می یابد که به عنوان فعالیت آنتی اکسیدانی تعریف می شود از این رو در این آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره بر حسب درصد کاهش در میزان جذب در محلول های DPPH در حضور عصاره های فنولی نسبت به محلول فاقد عصاره بیان شده است (۱۲). محققان دیگر نیز فعالیت مهار رادیکال های آزاد را متناسب با غلظت عصاره دانستند (۱۲)،

(۳۸). در روش سنجش قدرت احیا کنندگی (آنتی اکسیدان) آهن II با اهدا الکترون به آهن III تبدیل میشود. میزان کمپلکس آهن با اندازه گیری میزان تشکیل رنگی آبی پروس در ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه گیری است (۴۶). همانطور که در جدول ۱ نتایج مربوط به قدرت احیا کنندگی آهن نمونه های مختلف عصاره و آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ نشان داده شده است، مشاهده می شود با افزایش غلظت عصاره گیاه زوفا از ۱۰۰ به ۴۰۰ پی پی ام میزان احیا آهن و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته است و بین غلظت های مختلف از عصاره اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد ($P < 0.05$). فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً به دلیل ویژگی های اکسیداسیون و احیای آنها می باشد. ترکیبات فنولی با عمل نمودن به عنوان عوامل احیا کننده، دهنده هیدروژن و درگیر کننده اکسیژن فعال عمل می نمایند و اثرات آنتی اکسیدانی خود را اعمال می نمایند (۳۴). مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در سیستم های غذایی مرتبط با غلظت آن ها، سیستم مورد بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، زمان اکسیداسیون و روش آزمون متفاوت است (۱۴). این نتایج با نتایج شاکری نیا و حسینی قابوس (۷) در مورد تاثیر بتاکاروتن استخراج شده از کدو حلواپی بر قدرت احیا کنندگی آهن مطابقت دارد. اهدای الکترون یکی از مکانیسم های مهمی است که ترکیبات فنولی از طریق آن با تبدیل رادیکال های آزاد به فرم های غیر رادیکالی، باعث پایان دادن به واکنش های زنجیره رادیکالی می شوند. علاوه بر این ترکیبات فنولی با اهدای الکترون به ترکیبات ضد اکسایشی اکسید شده مجدداً آنها را فرم های فعال تبدیل می کنند (۴۶). به همین دلیل افزایش غلظت ترکیبات فنولی در هر یک از عصاره ها قدرت احیای یون های آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی را افزایش می دهد.

جدول ۱- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی زوفا با دو روش مختلف

فعالیت آنتی اکسیدانی	۱۰۰ پی پی ام	۲۰۰ پی پی ام	۳۰۰ پی پی ام	۴۰۰ پی پی ام	TBHQ
مهار رادیکال آزاد DPPH (درصد)	۲۶/۷۱±۲/۹۱ ^d	۴۸/۱۶±۳/۵۶ ^c	۷۹/۰۴±۲/۷۳ ^b	۹۳/۲۷±۴/۰۵ ^a	۷۸/۸۷±۳/۱۵ ^b
احیا آهن FRAP (میکرومول فرس / گرم عصاره)	۲۳۳/۸۹±۷/۳۰ ^e	۴۲۸/۳۷±۸/۱۹ ^d	۷۱۴/۵۱±۶/۴۲ ^c	۸۳۵/۶۲±۷/۱۳ ^b	۸۷۳/۴۶±۹/۲۱ ^a

حروف کوچک غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری بین نمونه های مختلف است (p < ۰/۰۵).

کپسول ها استفاده شد و متوسط اندازه ذرات نانوکپسول ۵۶/۷۱۳±۱/۸۴ نانومتر به دست آمد. اسماعیل زاده کناری و پناهی (۱) اندازه نانوکپسول های عصاره برگ گزنه در پوشش مالتودکسترین: ثعلب را ۵۱۹/۳۶ نانومتر گزارش نمودند که بزرگتر از نانوکپسول های به دست آمده در پژوهش حاضر است. بطور کلی هر چه اندازه ذرات کوچک تر باشد پایداری آنها در امولسیون بالاتر است که به دلیل مقاومت بالاتر نسبت به نیروی ثقل به واسطه حرکت بروانی می باشد و همچنین خصوصیات عملکردی مناسب تری دارند (۲۲). توزیع اندازه ذرات یا شاخص بس پاشیدگی نانوکپسول ها در این پژوهش ۰/۲۹۳±۰/۰۴ میکرون به دست آمد. این شاخص به صورت تئوری در محدوده صفر تا یک قرار دارد و مقادیر بزرگتر از ۰/۵ نشان دهنده پراکندگی وسیع اندازه ذرات می باشد (۴۱). با توجه به این که مقدار شاخص چند بس پاشیدگی در این پژوهش کمتر از ۰/۳ به دست آمد مبین توزیع اندازه یکنواخت و در نتیجه موفقیت آمیز بودن فرآیند در تولید نانوامولسیون می باشد. اندازه ذرات و توزیع آن ها به تعداد دفعاتی که امولسیون تحت این فشار قرار می گیرد و همچنین فشار اعمال شده آن بستگی دارد (۴۵). همانطور که در بخش مواد و روش ها توضیح داده شد در این پژوهش به منظور کاهش اندازه از همگن ساز اولتراتوراکس و مولد فراصوت پروبی استفاده شد که هر دو آنها در کاهش اندازه ذرات نقش داشتند که منجر به شکل گیری ذرات کوچک و توزیع یکنواخت آن ها میشود (۴۰).

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون های اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه زوفا غلظت ۴۰۰ پی پی ام از عصاره این گیاه برای عمل تولید امولسیون و تزریق به روغن استفاده شد.

۳-۳- خصوصیات کپسول

شکل گیری قطرات نانوامولسیون ها در نتیجه برهم کنش دو پدیده شکستن قطرات و به هم پیوستگی قطرات تشکیل شده انجام می شود. استفاده از فراصوت منجر به فراهم آوردن نیروی برشی لازم برای شکستن قطرات می شود (۲۹). ترکیبات فنولی ترکیبات حساسی هستند که به فاکتورهای محیطی حساس هستند. انکپسولاسیون از اجزای حساس غذاها طی فرآیند های دمایی، رطوبت، pH محافظت می کند تا زمانی که آن ها در سیستم آزاد شوند. از سوی دیگر انکپسولاسیون از طعم های شدید و ناخواسته ای که ترکیبات فنولی در غذاها ایجاد می کنند جلوگیری می نماید (۳۸). خصوصیات مختلف کپسول که شامل، اندازه نانوکپسول و راندمان ریز پوشانی است در جدول ۲-۴ نشان داده شده است که در اینجا به بحث در مورد هر پارامتر پرداخته می شود.

۳-۳-۱- اندازه و توزیع ذرات نانوکپسول

اندازه و توزیع ذرات از مهم ترین ویژگی های کیفی امولسیون ها است. قطر متوسط ذرات در پایداری امولسیون ها اهمیت ویژه ای دارد (۳۱). در این پژوهش از دو ماده صمغ قدومه شهری و ثعلب برای ساختن دیواره

۳-۳-۲- پتانسیل زتا

حضور ترکیبات فعالی سطحی باردارمانند سورفاکتانت های یونی، پلی ساکاریدها و پروتئین ها در امولسیون های منجر به ایجاد بارهای الکتریکی متفاوت در سطح قطرات می شود. پتانسیل زتا بیانگر بزرگی بار الکتریکی و واکنش های الکترواستاتیک بین ذرات در تعلیق ها می باشد. هر چه مقدار پتانسیل زتا بیشتر باشد به معنی وجود نیروهای دافعه بیشتر بین قطرات و تمایل کمتر آن ها برای بهم چسبیدن است که در این حالت قطرات امولسیون یکدیگر را دفع می کنند و منجر به پایدار ماندن سامانه میشوند (۲۵). در این پژوهش مقدار پتانسیل زتا نانوامولسیون $32/8 \pm 0/4$ میلی ولت به دست آمد. دلیل منفی بودن پتانسیل زتا را میتوان به ساختار آنیونی صمغ نسبت داد. بازدارندگی استری یکی از مهم ترین عواملی است که باعث پایداری نانوذرات امولسیون طی نگهداری میشود. برای نانوسوسپانسیون های پایدار شده به صورت الکترواستاتیکی حداقل پتانسیل زتای ۳۰ میلی ولت مورد نیاز می باشد (۲۵). مقادیر پتانسیل زتای بدست آمده در این پژوهش با پژوهش های Rasti و همکاران (۳۵) و Sebaaly و همکاران (۳۹) مطابقت دارد.

۳-۳-۳- راندمان انکپسوله کردن

راندمان ریزپوشانی عصاره گیاه زوفا در بیوپلیمر مرکب در پژوهش حاضر $88/36 \pm 2/4$ درصد به دست آمد. در یک پژوهش بادفرسا و همکاران (۳) تاثیر فرآیند ریزپوشانی بر خصوصیات آنتی اکسیدانی اسانس گلپر را مورد بررسی قرار دادند و راندمان انکپسولاسیون اسانس در دیواره پلی ساکاریدی را ۸۵ درصد گزارش نمودند. آن ها اعلام نمودند پلیمرهای با درجه غذایی که عموماً برای ریزپوشانی ترکیبات مهم غذای انتخاب میشوند بایستی از ماده هسته در برابر اکسایش، حرارت و تبخیر محافظت نمایند. با توجه به اینکه صمغ ثعلب از واحدهای گلوکومانان تشکیل شده است و دارای گروه های باردار می باشد، بخش های هیدروفیلی یا آب دوست ایجاد می نماید. صمغ قدومه شهری نیز به دلیل دارا بودن خصوصیات امولسیون شونده مطلوب از راندمان بالایی برای ریزپوشانی برخوردار بودند.

اسماعیل زاده کناری و پناهی (۱) راندمان ریزپوشانی عصاره برگ گزنه در بیوپلیمر مرکب مالتودکسترین: ثعلب را ۵۹/۸۱ درصد گزارش نمودند که کمتر از راندمان به دست آمده در پژوهش حاضر است.

۳-۳-۴- سطح ویژه

یکی از فاکتورهای تعیین کننده ثبات امولسیون ها سطح ویژه است و هرچه سطح ویژه بزرگ تر باشد ثبات و پایداری امولسیون بالاتر است. همچنین سطح ویژه بر اندازه و راندمان ریزپوشانی امولسیون ها تاثیر دارد (۲۴). در این پژوهش سطح ویژه نمونه های نانوامولسیون عصاره گیاه زوفا در پوشش بیوپلیمری مرکب $8/11 \pm 0/62$ مترمربع بر میلی لیتر گزارش گردید. کاربردهای صنعتی و تجاری استفاده از نانوکپسول ها منوط به پایداری آن ها در سیستم های غذایی است. به منظور بررسی تاثیر زمان نگهداری روی پایداری نانوکپسول ها میزان ته نشینی و رهائش آنها در روغن مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۳-۵- اندازه گیری میزان رهائش

فاکتورهای متعددی بر آزادسازی مواد فعال تاثیرگذار هستند که عبارتند از ضرایب انتشار و توزیع، میزان به دام افتادگی عصاره، حلالیت، سطح، ضخامت و شکل ذره می باشند. مقدار حلالیت نانوکپسول ها از مهمترین خصوصیات است که میزان رهائش آن ها در محیط را تعیین می نماید. به طور کلی هرچه اندازه ذرات نانوکپسول کوچک تر باشد رهاسازی آن ها در محیط آهسته تر اتفاق می افتد. سرعت آزادسازی همچنین به تخلخل دیواره بستگی دارد (۴۴). ترکیبات فنولی ترکیبات حساسی هستند که بعد از تزریق به سامانه های غذایی به سرعت اثرات خود را ظاهر می سازند، لذا آزاد شدن آن ها طی فرآیند نگهداری قابل انتظار است (۴۴). در جدول ۲ مشاهده شد که گذشت زمان نگهداری منجر به افزایش میزان رهائش عصاره شده است و اختلاف معنی دار آماری در روزهای مختلف نگهداری ایجاد شده است ($P < 0/05$). در هنگام نگهداری با گذشت زمان به تدریج تجزیه نانوکپسول ها اتفاق می افتد

که منجر به آزاد شدن مواد کپسول می شود. این نتایج با نتایج Mohammadi و همکاران (۳۲) مطابقت دارد. آن ها ضمن بررسی مشخصات نانو کپسول تهیه شده از پروتئین آب پنیر و پکتین در ریز پوشانی پلی فنول های برگ زیتون اعلام نمودند که با گذشت زمان نگهداری تا روز ۲۰ میزان رهایش ترکیبات فنولی از کپسول افزایش می یابد. قرآنی و همکاران (۹) ضمن بررسی تاثیر بیوپلیمرهای مختلف بر کپسول های زعفران ریز پوشانی شده نشان دادند که با گذشت زمان نگهداری رهایش ترکیبات موثره اتفاق می افتد و این روند طی دوره نگهداری افزایشی است که

این نتایج مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش آن ها است. آن ها دلیل این امر را مرتبط با کاهش پایداری و انسجام بیوپلیمرهای بکار رفته به عنوان ماده پوشش دهنده، افزایش نرخ انتشار تحت تنش های محیطی دما و رطوبت می باشد. جذب رطوبت از محیطی که نانو کپسول ها در آن قرار میگیرند منجر به تورم دیواره های بیوپلیمری شده و همزمان دمای انتقال شیشه ای نیز کاهش می یابد. در نتیجه از انسجام و در هم تنیدگی زنجیره های بیوپلیمری کاسته شده و میزان جنبش مولکولی ذرات ریز پوشانی شده افزایش می یابد.

جدول ۲- میزان رهایش عصاره ریز پوشانی شده

زمان نگهداری	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲	۴۰
میزان رهایش (%)	۰/۰۵±۰/۰۰ ^f	۰/۷۳±۰/۱۱ ^e	۱۰/۹۲±۰/۷۳ ^d	۲۳/۴۰±۱/۲۹ ^c	۳۹/۴۱±۱/۳۷ ^b	۵۵/۳۹±۱/۰۸ ^a

حروف کوچک غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری ($P < 0/05$) بین نمونه های مختلف است.

۳-۳-۶- اندازه گیری میزان ته نشینی

در جدول ۳ نشان داده شد که با گذشت زمان نگهداری میزان ته نشینی عصاره ریز پوشانی شده کاهش یافت و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شده است ($P < 0/05$). در روز ۰ و ۸ بیشترین میزان ته نشینی مشاهده شد اما اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). در روز ۱۶ و ۲۴ نگهداری میزان ته نشینی نمونه ها با هم اختلاف معنی دار آماری داشت و همچنین دارای روند کاهش بود به طوری که در روز ۳۲ و ۴۰ نگهداری هیچ ته نشینی کپسول در نمونه های روغن مشاهده نشد ($P < 0/05$) و Çam. و همکاران (۱۵) ریز پوشانی پلی فنول های پوست انار با استفاده از مالتودکسترین به عنوان ماده دیواره ای انجام دادند و اعلام

نمودند که ته نشینی پلی فنول ها طی دوره نگهداری اتفاق می افتد که نتایج این پژوهش همراستا با نتایج آن ها می باشد. دو مکانسیم احتمالی برای این پدیده گزارش شده است. نخست این که برخی از ترکیبات فنولی ممکن است در برابر تخریب اکسیداتیو مستعدتر باشند در نتیجه سریع تر از سایر پلی فنول ها موجود در نانو کپسول درگیر واکنش های تخریبی میشوند و از بین میروند. فرضیه دوم که برای این پدیده گزارش شده است این است که ترکیبات فنولی موجود در سطح نانو کپسول ها در مقایسه با پلی فنول های قرار گرفته در ساختار کپسول، بیشتر در معرض اکسیداسیون قرار میگیرند (۱۵).

جدول ۳- میزان ته نشینی عصاره ریز پوشانی شده

زمان نگهداری (روز)	۰	۸	۱۶	۲۴	۳۲	۴۰
میزان ته نشینی (%)	۱۳/۷۰±۰/۰۲ ^a	۱۲/۴۰±۰/۷۰ ^a	۷/۳۰±۱/۰۰ ^b	۳/۴۰±۰/۷۰ ^c	۰/۰±۰/۰ ^d	۰/۰±۰/۰ ^d

حروف کوچک غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری ($P < 0.05$) بین نمونه های مختلف است.

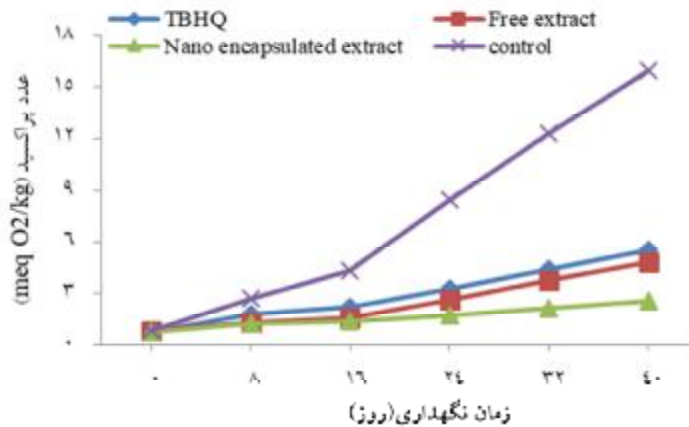
عصاره گیاه زوفا به میزان ۴۰۰ پی پی ام، به صورت خالص و نانو ریزپوشانی شده به روغن سویای بدون آنتی اکسیدان افزوده شد.

۳-۴- آزمون های روغن

۳-۴-۱- اندازه گیری عدد پراکسید

پراکسیدها محصول اولیه اکسایش چربی ها هستند و میتوانند با استفاده از اندیس پراکسید تخمین زده شوند. مقادیر بالای عدد پراکسید نشان دهنده پایداری اکسیداتیو کم تر در نمونه های روغن می باشد. عدد پراکسید یکی از پارامترهای کیفی و شاخص های در ارتباط با فساد شیمیایی روغن ها محسوب می شود و غلظت پراکسیدها و هیدروپراکسیدها را طی دوره نگهداری اندازه گیری می کند (۱۱). در شکل ۱ نشان داده شد که در تمام نمونه های مورد بررسی با افزایش زمان نگهداری روغن، عدد پراکسید در تمام نمونه های

مورد بررسی افزایش یافته است و اختلاف این پارامتر در زمان های مختلف نگهداری معنی دار است. نمونه شاهد بالاترین میزان عدد پراکسید را داشت و بجز روز صفر در سایر زمان های نگهداری با نمونه های حاوی آنتی اکسیدان اختلاف معنی دار آماری داشت ($P < 0.05$). در نمونه های حاوی TBHQ، عصاره خالص و عصاره ریزپوشانی شده نمونه ها تا روز ۱۶ نگهداری با هم اختلاف معنی دار آماری نداشتند و بعد از آن اختلاف معنی دار شد. کم ترین میزان عدد پراکسید به ترتیب در نمونه های حاوی عصاره ریزپوشانی شده، عصاره خالص و TBHQ مشاهده شد ($P < 0.05$).



شکل ۱- تغییرات عدد پراکسید نمونه های مختلف روغن سویا طی دوره نگهداری

اکسایش چربی روغن جلوگیری می کند که تاثیر آنتی اکسیدانی عصاره انکپسوله بالاتر است. این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. این امر نشان دهنده توانایی کپسول در بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

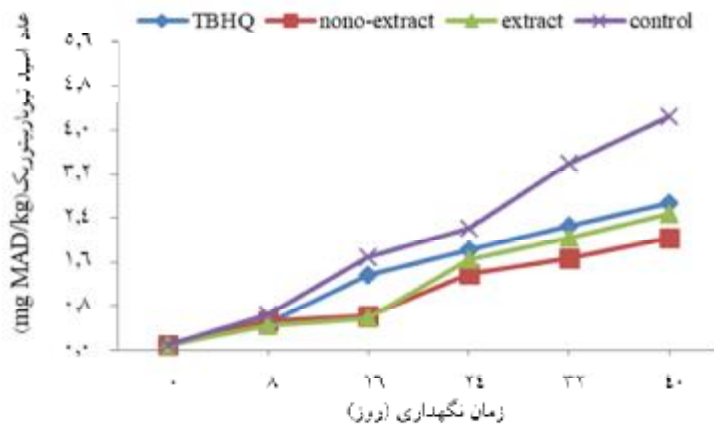
Javadian و همکاران (۲۷) ضمن بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره آزاد و انکپسوله شده آویشن در جلوگیری از اکسایش گوشت چرخ شده ماهی اعلام نمودند که عصاره به دلیل دارا بودن ترکیب فنولی از

افزایش دسترسی عصاره است. این نتایج با نتایج روستایی و همکاران (۵) مطابقت دارد. آن‌ها به بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره خالص پوست سبز پسته ریز پوشانی شده به صورت لیپوزوم در روغن سویا پرداختند. طبق نتایج به دست آمده، پایداری اکسایشی روغن سویای حاوی عصاره ریز پوشانی شده بیشتر از روغن سویای حاوی ضد اکسایندهی سنتزی BHT بود. در مقایسه قدرت ضد اکسایشی عصاره ریز پوشانی شده با عصاره آزاد، عصاره ریز پوشانی شده عملکرد بالاتری داشتند.

۳-۴-۲- اندازه گیری عدد اسید تیوباریتوریک

پراکسیدهای تولید شده از مرحله اول اکسایش ترکیبات بسیار ناپایداری هستند و بویژه تحت اثر حرارت به سرعت

تجزیه شده و ترکیبات ثانویه اکسایش را ایجاد می نمایند (۱۱). همان طور که در شکل ۲ نشان داده شد روند تغییرات این پارامتر در تمام نمونه های مورد بررسی افزایشی بود و اختلاف معنی دار آماری بین زمان های مختلف نگهداری مشاهده شد ($P < 0.05$). بجز روز ۰ و نگهداری که با هم اختلاف معنی دار آماری نداشتند ($P > 0.05$). از نظر اختلاف بین نمونه ها، کلیه نمونه ها در روز ۰ با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری نداشتند ($P > 0.05$). از روز ۲۴ تا ۴۰ نگهداری نمونه های حاوی عصاره خالص و TBHQ از نظر اندیس اسید تیوباریتوریک اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$). نمونه حاوی عصاره ریز پوشانی شده کمترین عدد اسید تیوباریتوریک را داشتند و با سایر نمونه ها اختلاف معنی دار آماری نداشتند ($P < 0.05$).



شکل ۲- تغییرات عدد اسید تیوباریتوریک نمونه های روغن سویا طی دوره نگهداری

اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدها تشکیل می شود و با گذشت دوره نگهداری تبدیل آن ها به کتون ها و آلدئیدها افزایش می یابد (۶). این نتایج با نتایج روستایی و همکاران (۵) در مورد نانوکپسول های عصاره پوست پسته در روغن سویا مطابقت دارد. Fang و Bhandari (۲۳) اعلام کردند که استفاده از عمل انکپسولاسیون منجر به افزایش کارایی عصاره های ریز پوشانی شده می شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

این نتایج با نتایج سلمانیان و همکاران (۶) به بررسی اثرات عصاره میوه ولیک در پایدار سازی روغن سویا پرداختند. فعالیت آنتی اکسیدان عصاره میوه ولیک در روغن با آنتی اکسیدان سنتزی BHT را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد با گذشت زمان نگهداری عدد اسید تیوباریتوریک روغن افزایش می یابد که در نمونه های حاوی عصاره کمتر از نمونه های حاوی BHT است و با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در ابتدای دوره نگهداری مقادیر عدد اسید تیوباریتوریک بسیار ناچیز است زیرا این

۴- نتیجه گیری

امروزه محدوده وسیعی از افزودنی‌ها، با اهداف گوناگون در تهیه فرآورده‌های غذایی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. نگرانی‌های ناشی از مصرف ترکیبات سنتزی به لحاظ مسایل مربوط به سلامت و ایمنی و نیز محدودیت در حدود مجاز مصرف، مصرف‌کنندگان مواد غذایی را به استفاده از فرآورده‌های طبیعی در مواد غذایی ترغیب نموده است. بر این اساس استفاده از مواد مولد عطر و طعم طبیعی همانند عصاره‌های گیاهان در فرآورده‌های غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این پژوهش اثرات افزودن عصاره خالص، عصاره نانو ریزپوشانی شده گیاه زوفا و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بر افزایش عمر ماندگاری روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان طی شرایط نگهداری به مدت ۴۰ روز در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت. در بخش اول این تحقیق عصاره گیاه زوفا با استفاده از دستگاه فرا صوت (۴۵ درجه سانتیگراد، ۲۰ دقیقه) با استفاده از حلال اتانول: آب استخراج شد. میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن اندازه‌گیری شد که به ترتیب $117/43 \pm 9/22$ (میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم عصاره) و $31/62 \pm 8/15$ (میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم عصاره) محاسبه شد. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استحصالی در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH و احیا آهن اندازه‌گیری شد و با ۱۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه شد. نتایج نشان داد در هر دو روش با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش می‌یابد. صمغ قدومه شهری و ثعلب به عنوان مواد دیواره پوشش انتخاب شدند. ریزپوشانی به روش تولید امولسیون انجام شد. خصوصیات نانوکپسول‌ها شامل اندازه، توزیع اندازه ذرات، سطح ویژه، پتانسیل زتا و راندمان ریزپوشانی اندازه‌گیری شد که به ترتیب $8/11 \pm 0/62$ ، $0/293 \pm 0/04$ نانومتر، $56/713 \pm 1/84$ مترمربع بر میلی‌لیتر، $32/8 \pm 0/4$ میلی‌ولت و $88/36 \pm 2/4$ درصد محاسبه شد. در بخش دوم تحقیق میزان رهايش و

ته‌نشستی نانوکپسول‌ها و همچنین اثرات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در روغن طی ۴۰ روز نگهداری در دمای محیط و در فواصل زمانی ۸ روزه انجام شد. روند رهايش ترکیبات فنولی از نانوکپسول‌ها افزایشی و روند ته‌نشینی کاهش‌ی بود. طی دوره نگهداری با گذشت زمان میزان اکسایش روغن افزایش یافت که به صورت افزایش در عدد پراکسید و عدد اسید تیوباربیتریک مشخص گردید. کم‌ترین میزان اکسایش چربی در طی نگهداری را در مقایسه با نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی عصاره نانوریزپوشانی شده زوفا داشتند که به دلیل کاهش سرعت آزاد سازی عصاره طی زمان نگهداری و محافظت بیشتر از عصاره است. نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند که ریزپوشانی روش موثری در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره محسوب می‌شود، در صورت استفاده از آن میتوان عمر ماندگاری روغن‌های خوراکی را با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی افزایش داد.

۵- منابع

۱. اسماعیل زاده کناری، ر. و پناهی، پ. ۱۳۹۷. بررسی تاثیر عصاره نانوریزپوشانی شده برگ گزنه در کنترل پایداری اکسایشی روغن سویا. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۷۵، شماره ۱۵، ۳۳-۲۳.
۲. امید بیگی، ر. ۱۳۸۱. بررسی کشت و سازگاری زوفا در شمال تهران. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۲، ۲۴۰-۲۳۱.
۳. بادرفرسا، ح.، احمدزاده قویدل، ر. و شرایعی، پ. ۱۳۹۷. تاثیر فرآیند ریزپوشانی با استفاده از خشک کن انجمادی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گلپر. نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی. دوره ۱۰، شماره ۲، ۱۳۶-۱۲۳.
۴. توکلی، خ.، اسماعیل زاده کناری، ر. و ناهیدی، ف. ۱۳۹۲. اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی پوست ازگیل در پایداری روغن افتابگردان طی شرایط حرارتی. دومین همایش ملی علوم و

11. Albo, R.G. 2001. Canola fatty acids – an ideal mixture for health, nutrition and food use. In *Canola and Rapeseed*, Shahidi, F. (ed), Van Nostrand Reinhold, New York, 81-89.
12. Alothman, M., Bhat, R. and Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3):785-788.
13. AOCS. 1990. Official Methods and Recommended Practices of American Oil Chemists' Society, edited by David Firestone, Methods. 15th ed. Washington, DC.
14. Berger, R.G. 2007. Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability. Springer Science & Business Media.
15. Çam, M., İçyer, N.C. and Erdoğan, F. 2014. Pomegranate peel phenolics: microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1): 117-123.
16. Carneiro, H. C., Tonon, R. V., Grosso, C. R. and Hubinger, M. D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115:443-451.
17. Chranioti, C., Nikoloudaki, A., and Tzia, C. 2015. Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate polymers*, 127: 252-263.
18. Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H. and Madani, K. 2015. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry*, 166:585-595.
19. Demirci, B., Kosar, M. and Demirci, F. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *J Agric Food Chemistry*, 105: 1512-1517.
20. Donald, S., Prenzler, P. D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. صنایع غذایی، ۹ و ۱۰ اردیبهشت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.
۵. روستایی، م.، برزگر، م. و سحری، م. ۱۳۹۵. عصاره ی ریزپوشانی شده ی پوست سبز پسته به عنوان یک ضد اکساینده طبیعی در روغن خام سویا، اولین کنگره بین المللی و بیست و چهارمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، تهران.
۶. سلمانیان، ش.، صادقی ماهونک، ع. ر.، اعلمی، م. و قربانی، م. ۱۳۹۲. ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی آنتی اکسیدانی و تعیین ترکیبات فلاونوئیدی میوه ولیک. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، دوره ۸، شماره ۱، ۱۸۵-۱۷۷.
۷. شاکری نیا، م. و حسینی قابوس، س.ح. ۱۳۹۶. بررسی ویژگی های ضد اکسایشی بتاکاروتن استخراج شده از کدو حلوائی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، جلد ۷۳، دوره ۱۴، ۳۱۰-۳۰۱.
۸. علینژاد، س.، اسماعیل زاده کناری، ر. و بلندی، م. ۱۳۹۲. اثر آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست خرمالو در پایداری روغن آفتابگردان طی شرایط حرارتی. همایش ملی صنایع غذایی، ۹ و ۱۰ اسفند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان.
۹. قرآنی، ب.، کدخدایی، ر.، آل حسینی، ع. ۱۳۹۶. تاثیر بیوپلیمر، دما و رطوبت نسبی بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و پایداری ترکیبات زیست فعال زعفران ریزپوشانی شده. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، جلد ۶۴، دوره ۱۴، ۱۴۲-۱۲۷.
10. Akkol, E. K., Orhan, I. E. and Yeşilada, E. 2012. Anticholinesterase and antioxidant effects of the ethanol extract, ethanol fractions and isolated flavonoids from *Cistus laurifolius* L. leaves. *Food Chemistry*, 131:626-631.

29. Li, P.H. and Chiang, B.H. 2012. Process optimization and stability of D-limonene-in-water nanoemulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 19(1): 192-197.
30. Maleki., M., Ariaii, P. and Fallah, H. 2016, Effects of Celery Extracts on the Oxidative Stability of Canola Oil Under Thermal Condition. *Journal of food processing and preservation*, 40 (3): 531-540.
31. McClements, D.J. 2015. Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press.
32. Mohammadi, A., Jafari, S. M., Assadpour, E. and Esfanjani, A. F. 2016. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC-pectin complexes and evaluating their release rate. *International journal of biological macromolecules*, 82: 816-822.
33. Nedovic, V., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarskib, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1:1806-15.
34. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S. and Altundag, S., 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of Satureja cuneifolia Ten. *Food Chemistry*, 112(4): 874-879.
35. Rasti, B., Jinap, S., Mozafari, M.R. and Yazid, A.M. 2012. Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and Mozafari methods. *Food chemistry*, 135(4): 2761-2770.
36. Razavi, S. M. A., Mortazavi, S. A., Matia-Merino, L., Hosseini-Parvar, S. H., Motamedzadegan A. and Khanipour E. 2009. Optimization study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.). *International Journal of Food Science & Technology*, 44:1755-1762.
37. Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. and Saenz, C. 2010. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry Journal*, 73:73-84.
21. Esfanjani, A. F., Jafari, S. M., Assadpour, E. and Mohammadi, A. 2015. Nano-encapsulation of saffron extract through double-layered multiple emulsions of pectin and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 165:149-155.
22. Fathiazad, F. and Hamedeyazdan, S., 2011. A review on Hyssopus officinalis L.: Composition and biological activities.
23. Fang, Z. and Bhandari, B. 2010. Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10): 510-523.
24. Feller, S.E., Gawrisch, K. and MacKerell, A.D. 2002. Polyunsaturated fatty acids in lipid bilayers: intrinsic and environmental contributions to their unique physical properties. *Journal of the American Chemical Society*, 124(2): 318-326.
25. Freitas, C. and Müller, R.H. 1998. Effect of light and temperature on zeta potential and physical stability in solid lipid nanoparticle (SLN™) dispersions. *International journal of pharmaceuticals*, 168(2): 221-229.
26. Hussain, A.I., Chatha, S.A.S., Noor, S., Arshad, M.U., Khan, Z.A., Rathore, H.A. and Sattar, M.Z.A. 2012. Effect of extraction techniques and solvent systems on the extraction of antioxidant components from peanut (*Arachishypogaea* L.) hulls. *Food Analytical Methods*, 5: 890-896.
27. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P. 2017. The Effects of liposomal Encapsulated Thyme Extract on the Quality of Fish Mince and Escherichia coli O157: H7 Inhibition During refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(1):115-123.
28. Joye, I. J., Davidov-Pardo, G. and McClements, D. J. 2015. Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 2: Stability and functionality. *Food Hydrocolloids*, 49:127-134.

- Mot, A.C., Silaghi-Dumitrescu, R. and Tilea, I., 2014. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules*, 19(5):5490-5507.
43. 43. Wanasundara, U. N. and Shahidi, F. 2005. Antioxidant and prooxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry Journal*, 63:335-342.
44. Yang, S. and Washington, C. 2005. Drug release from microparticulate systems (pp. 183-211). CRC Press.
45. Yuan, Y., Gao, Y., Mao, L. and Zhao, J. 2008. Optimisation of conditions for the preparation of β -carotene nanoemulsions using response surface methodology. *Food chemistry*, 107(3):1300-1306.
46. Zou, Q., Opara, L.U. and McKibbin, R. 2006. A CFD modeling system for airflow and heat transfer in ventilated packaging for fresh foods: I. Initial analysis and development of mathematical models. *Journal of Food Engineering*, 77(4): 1037-1047.
- (*Punica granatum*) by spray drying. *International journal of food science & technology*, 45:1386-1394.
38. Sanchez, V., Baeza, R., Galmarini, M., Zamora, M. and Chirife, J. 2013. Freeze-drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. *Food Bioprocess Tech*, 6(5): 1350-1354.
39. Sebaaly, C., Greige-Gerges, H., Agusti, G., Fessi, H. and Charcosset, C. 2016. Large-scale preparation of clove essential oil and eugenol-loaded liposomes using a membrane contactor and a pilot plant. *Journal of Liposome Research*, 26(2):126-38.
40. Tadros, T.F. 2009. Controlled-Release Formulations. *Colloids in Agrochemicals: Colloids and Interface Science*, 5: 235-245.
41. Tamjidi, F., Shahedi, M., Varshosaz, J. and Nasirpour, A. 2013. Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19: 29-43.
42. Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B.,

(Original Research Paper)

Extraction and Microencapsulation of Hyssop Extract and Its Influence on Oxidative Stability of Food Model System (Soybean Oil)

Negin Rezaei Savadkouhi¹, Peiman Ariayi^{2*}, Mehdi Charmchian Langeroodi³

1-Department of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

2-Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

3-Department of Agricultural Extension and Education, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Received:07/12/2019

Accepted:08/04/2020

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of encapsulated process on antioxidant properties of *Hyssopus Officinalis* L. extract. The extract of the *Hyssopus Officinalis* L. was obtained by using ultrasound assisted method and hydro-alcoholic solvent. The amount of total phenolic and flavonoid compounds were measured, which were 117.43 ± 9.22 (mg of gallic acid per 100 g of extract) and 31.62 ± 8.15 (mg of quercetin per 100 g of extract), respectively. Then the antioxidant activity of obtained extracts were measured at concentrations of 100, 200, 300 and 400 ppm by using DPPH-free radical scavenging and iron reduction assay. The results showed that in both methods, by increasing in concentration of the extract, the antioxidant activity of the extract increases. The concentration of 400 ppm of the extract due to its antioxidant activity was selected for encapsulation. *ledium perfoliatum* and *orchis mascula* were chosen as coating material. Nanocapsule characteristics including size, particle size distribution, surface area, zeta potential and encapsulation efficiency were measured to be 56.713 ± 1.84 nm, 0.293 ± 0.04 , and 8.11 ± 0.62 m²/ml, -32.8 ± 0.4 and 88.36 ± 2.4 , respectively. The morphology of samples was measured using a scanning microscope, and it was determined that the nanocapsules were spherical with smooth surface. The rate of release and sedimentation of nanocapsules and their antioxidant effects on oil during 40 days of storage at 60°C and at 8 days intervals. The process of release of phenolic compounds from nano-capsules was increasing and the sedimentation trend was decreasing. During the storage period, the amount of oil oxidation increased with the increase in peroxide value and thiobarbituric acid value. The lowest amount of fat oxidation during storage was observed in sample containing nanoencapsulated extract of *Hyssopus Officinalis* L., due to reduced release rate of the extract during storage and more protection of the extract. The results of this study suggest that encapsulation is an effective way to increase the antioxidant activity of the extract, thus increasing the shelf life of edible oils with natural antioxidants.

Keywords: Oxidation, Soybean Oil, Encapsulation, *Hyssopus Officinalis* Extract.

*Corresponding Author: p.aryaye@yahoo.com

