بررسی اثر استخراجی التراسوند حمام در شرایط مختلف بر خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره زوفا

حدیث عظیمی نژاد[1]، رضا اسماعیل زاده کناری[2*]، زینب رفتنی امیری[2]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
2- دانشیار گروه صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: 97/07/01 تاریخ پذیرش: 97/09/25)

چکیده

یکی از روشهای نوین استخراج آنتی اکسیدان‌های طبیعی از بافت‌های گیاهی، استخراج به کمک اولتراسوند است .در این پژوهش از روش استخراج اولتراسوند حمام با حلال اتانول -آب به نسبت‌های (50:50) و (80:20) در دمای 30 و 40 درجه سانتی گراد و زمان‌های 10 و 20 دقیقه برای استخراج عصاره برگ زوفا استفاده شد .میزان کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و DPPH و قدرت آنتی‌اکسیدانی در سیستم مدل بتاکاروتن – لینولئیک اسید هر یک از عصاره ها به روش اسپکتروفتومتری و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با آزمون شاخص پایداری اکسایشی(OSI) اندازه گیری شد.بر اساس نتایج بدست آمده عصاره (20-40-80) با بالاترین ترکیبات موثره بیشترین میزان ترکیبات فنولی(53/5± 38/193 بر حسب میلی-گرم گالیک اسید در گرم عصاره)و فلاونوئیدی(36/2±63/40 میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره) ،و بیشترین مقدار در آزمون‌های سنجش آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH و سنجش بی رنگ شدن بتاکاروتن – لینولئیک اسید)و کمترین میزان IC_{50} را کسب کرد.در نتیجه بهترین عملکرد آنتی اکسیدانی را نشان داد .در تست رنسیمت نیز تیمار (20-40-80) با غلظت 200ppmبالاترین پایداری اکسایشی روغن کانولا را نشان داد.بنابراین مناسبترین تیمار برای حصول بهترین نتیجه تیمار (20-40-80) انتخاب شد.

کلید واژگان: التراسوند حمام،زوفا،آنتی اکسیدان

* مسئول مکاتبات: reza_kenari@yahoo.com

1- مقدمه

پراکسیداسیون لیپیدها یکی از شایع‌ترین عوامل تخریب روغن‌های گیاهی است و از جمله علل عمده خرابی روغن در طی نگه‌داری و یا عمل‌آوری مواد غذایی است که دارای مقادیر بالایی روغن هستند. اکسیداسیون چربی از واکنش اکسیژن با چربی رخ می‌دهد به ویژه در روغن های غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع اکسیداسیون منجر به طعم و عطر نامطبوع و طعم ترشیدگی می‌شود و همچنین منجر به از بین رفتن مواد مغذی می‌شود و تشکیل ترکیبات سمی مضر برای سلامت انسان در روغن‌های گیاهی و یا غذاهای غنی از روغن می‌شود. [1].

با وجود این که برخی از روش‌های جلوگیری از اکسیداسیون در روغن وجود دارد. رایج ترین و موثرترین روش برای جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی اضافه کردن عوامل آنتی اکسیدانی به فرمولاسیون مواد غذایی است.به طور کلی، برخی از عوامل آنتی اکسیدان مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)، تری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و پروپیل گالات (PG) هستند برای جلوگیری از اکسیداسیون در صنایع غذایی بیشتر استفاده می‌شود. با این حال، برخی از تحقیقات علمی گزارش کرده است که ممکن است اثرات سمی برای سلامت انسان داشته باشند [2].

ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی که بی خطر و موثر هستند ،می توانند به عنوان جایگزینی برای آنتی اکسیدان های مصنوعی استفاده شوند. [3]. در نتیجه استخراج کارآمد و کاربرد آنتی اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی در پزشکی و فرآوری غذایی، مورد نیاز است. زوفا با نام علمی ***Hyssopus officinalis*** ،به خانوادهٔ نعناعیان (***Lamiaceae***) تعلق دارد، گیاهی خشبی، چندساله،به صورت درختچه با ساقه های چهار گوش کوتاه به ارتفاع50 تا 70 سانتیمتر است. این گیاه بیشتر به شکل بوته ای،قسمت پایهٔ ساقه ها چوبی، ریشه ها مستقیم با انشعابات فراوان است. علاوه بر این برگهای آن صاف، کوچک، باریک، نوک تیز، معطر و زود افت است که از نقاط مختلف ساقه بدون دم برگ به طور متقابل خارج می‌شوند. از قدیم ، مردم این گیاه را برای درمان بیماری ها استفاده می‌کردند. از سرشاخه های گلدار گیاه به عنوان محرک، بادشکن، نرم کنندهٔ سینه و برای ناراحتی های ریوی و سرماخوردگی ، سرفه، گلودرد، برونشیت و آسم استفاده می شود [4]. این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است که به حضور pinocamphone، ISO-pinocamphone و β-پینن نسبت داده شده است و احتمالا فعالیت ضد ویروسی آن به دلیل وجود اسید کافئیک و تانن ها مربوط است [5]. استفاده از عصاره‌ها گیاهی زوفا در جهت افزایش پایداری اکسایشی و ماندگاری محصولات غذایی و به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی قابل توجه است.بنابراین هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر امواج اولتراسوند حمام تحت شرایط دمایی و زمانی مختلف و نوع حلال بر استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوییدی از عصاره برگ گیاه زوفا است.

2-مواد و روش ها

2-1-تهیه و آماده‌سازی نمونه

در این پژوهش از برگ گیاه زوفا به عنوان مواد اولیه استفاده شد.گیاه زوفا از مناطق اطراف استان مازندران جمع‌آوری و پس از تمیز کردن در دمای اتاق و در سایه خشک و سپس آسیاب و در دمای 18- درجه سانتی گراد در فریزر نگه‌داری شد [6].

2-2- استخراج عصاره به روش اولتراسوند حمام

10 گرم از نمونه به نسبت 1 به 10 با حلال اتانول_ آب با نسبت‌های (50:50) و (80:20) مخلوط شد و در دماهای (30و 40 سانتیگراد) در زمان‌های مختلف (10و20 دقیقه) تحت امواج اولتراسوند با فرکانس 37 کیلو هرتز در حمام اولتراسونیک مدل Elma s 30H با توان مصرفی280W و توان حرارتی200W قرار گرفت. سپس سانتریفیوژ درrpm 4000 به مدت 10 دقیقه و فاز رویی جدا شده با کاغذ صافی واتمن شماره *1* صاف شد. در ادامه به آون تحت خلاء با دمای 40 درجه سانتیگراد منتقل گردید. پس از تبخیر حلال، عصاره‌ها تا رسیدن به وزن ثابت در دسیکاتور قرار داده شد و در انتها بازده استخراج را محاسبه شد. عصاره‌های حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای 18- درجه سانتیگراد نگهداری شد [6].

2-3-اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک عصاره

برای این منظور ابتدا یک میلی‌گرم از عصاره را در حلال خود تهیه و5/0 میلی‌لیتر از هر نمونه را با 2 میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات7/5 % و 5/2 میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو 10 بار رقیق شده مخلوط شد و برای انجام واکنش به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در پایان جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفوتومتر در *nm* 760 خوانده و به صورت میلی‌اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک بیان شد [7].

2-4- اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدی

ابتدا 0/5میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با 1/5 میلی لیتر متانول ، 0/1 میلی‌لیتر آلمینیوم کلراید 10% در اتانول(10 گرم آلومینیوم کلرید در 100 میلی‌لیتراتانول و آب مقطر) 0/1 استات پتاسیم یک مولار (2/41 گرم در 10 میلی‌لیتر آب مقطر) 2/8 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی، تنها از متانول خالص استفاده گردید. سپس مخلوط 0/5ساعت در تاریکی قرار گرفت و بلافاصله در طول موج415 نانومتر قرائت شد. به منظور رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد و نتایج را بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد [6]

2-5-فعالیت مهار رادیکال DPPH

برای این منظور 0/3 میلی‌لیتر از عصاره با غلظت‌های مختلف (۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰ ppm)را با 2/7 میلی‌لیتر از محلول رادیکال DPPHقرار داده شد و کاهش رادیکال DPPH نمونه‌ها از طریق پایش جذب در 517 nm با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در این آزمونTBHQ (ppm *100*محلول متانولی) به جهت اهمیت و کاربرد گسترده‌ای که در صنایع غذایی دارد به عنوان استاندارد برای مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی با عصاره‌ها استفاده شد و اثر مهارکنندگی به صورت درصد بیان شده و از معادله زیر محاسبه گردید:[8]

$$\text{Scavenging Effect \%} = A_{DPPH_}A_{S/}A_{DPPH} \times 100$$

2-6-آزمون بی رنگ بتاکاروتن – لینولئیک اسید

برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتا کاروتن – لینولئیک اسید (سیگما-آلدریچ) به صورت زیر تهیه شد: 5 میلی‌گرم بتاکاروتن در 10 میلی‌لیتر کلروفرم حل گردید و 600 میکرولیتر از محلول تهیه شده به فلاسک ته گردی که حاوی 40mg لینولئیک اسید و 40g توین 20 است، اضافه شد. پس از خارج شدن گاز ازت،100 میلی‌لیتر آب مقطر اشباع از اکسیژن به فلاسک اضافه گردید و فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت هم زده شد .3 میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده را، به لوله‌های آزمایش که حاوی 100 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و 100 ppm TBHQ ،اضافه کرده و بلافاصله در زمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج 470 نانومتر خوانده شد. سپس درب لوله‌های آزمایش بسته و به مدت 60دقیقه در حمام آب گرم با دمای 50 درجه سانتیگراد قرار داده شد . سپس جذب نمونه‌ها در طول موج 470 نانو متر خوانده و فعالیت آنتی اکسیدانی از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$AA\% = (A_{S(60)} - A_{C(60)}) / (A_{C(0)} - A_{C(60)})$$

$A_{S(60)}$= میزان جذب نمونه بعد از 60 دقیقه.

$A_{C(60)}$= میزان جذب شاهد بعد از 60 دقیقه.

$A_{C(0)}$ = میزان جذب شاهد در زمان شروع.

AA%= درصد بازدارندگی.

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتاکاروتن به درصد مورد سنجش قرار می‌گیرد [9].

2-7-شاخص پایداری اکسایشی (OSI)

برای تعیین پایداری اکسایشی از دستگاه رنسیمت استفاده می‌شود. برای این منظور، نمونه با غلظت‌های مختلف (ppm ۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰)روغن تهیه شد. برای هر آزمون 3 گرم از هر نمونه روغنی بر داشته دما و سرعت جریان هوا در این دستگاه به ترتیب 120 درجه سانتیگراد و 15 لیتر بر ساعت تنظیم شد [10].

2-8-آنالیز آماری

در این تحقیق کلیه آزمایشات در سه تکرار در طرح کاملاً تصادفی انجام شد و داده‌های بدست با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح 5 درصد انجام شد آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel شد [11].

3-نتایج و بحث

3-1-تاثیر حمام اولتراسوند بر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

مقدار کل ترکیبات فنولی بر مبنای گالیک اسید محاسبه گردید.شکل 1 میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از برگ گیاه زوفا توسط روش استخراج اولتراسوند(با کمک حلال های اتانول-آب (50:50) و (80:20) و دماهای 30و40 درجه سانتیگراد و زمان‌های 10 و 20 دقیقه) نشان می‌دهد.نتایج آنالیز واریانس تاثیر تیمارهای مختلف بر مقدار ترکیبات فنولی نشان داد که تیمارهای مختلف نسبت به یکدیگر معنی‌دار بوده($p<05/0$) و عصاره‌ی حاصل از تیمار اتانولی 80٪ در دمای 40 درجه و زمان 20 دقیقه (20-40-80)،بیشترین میزان ترکیبات فنولی را 53/5± 38/193 بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره استخراج شده نشان داد. ($p<05/0$) و کمترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به تیمار اتانولی 50٪ در دمای 40 درجه سانتیگراد به مدت 20 دقیقه (20-40-50) بود که میزان آن برابر.87/4 ± 45/142 است. ($p<05/0$)

میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی بر مبنای کوئرستین تعیین گردید. شکل2 میزان ترکیبات فلاونوئیدی استخراج شده از عصاره برگ زوفا را نشان می‌دهد که با استفاده از اولتراسوند حمام (با حلال های اتانول –آب (80:20) و (50 :50) و دماهای 30 و 40 درجه سانتی‌گراد و زمان های 10 20- دقیقه) استخراج گردید.نتایج آنالیز واریانس تاثیر تیمارهای مختلف استخراج را بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی نشان می‌دهد.تیمارها مختلف نسب به یکدیگر دارای اثر معنی‌دار بود. و تیمار 80 ٪ انانولی در دمای 40 درجه سانتی گراد و زمان 20 دقیقه(-80 20-40) دارای بیشترین میزان محتوای فلاونوئیدی بود که برابر بود با 36/2±63/40 میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره، که دارای اختلاف معنی دار بود ($p<05/0$) و کمترین میزان مربوط به تیمار که تحت شرایط حلال اتانولی 50٪ در دمای 40 درجه سانتی گراد و زمان 20 دقیقه(20-40-50) و مقدار آن برابر 1/44± 78/32 میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره، که دارای اختلاف معنی داری با سایر تیمار ها بود ($p<05/0$).

بسیاری آنتی اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی همانند ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها و آنتوسیانین، بوسیله حلال‌های آلی دارای قطبیت کمتربه راحتی حل شوند، از قبیل متانول، اتانول و استون با سطوح مختلف آب [14و 13 و 12]. اتانول آبی با توجه به سمیت کم و در دسترس‌بودن و به صرفه بودن از نظر اقتصادی، بطور معمول برای استخراج آنتی‌اکسیدان‌ها از گیاهان بکار گرفته می‌شود.

در همین راستا در مطالعه ای که سان و همکاران برروی بره موم انجام دادند مشاهده کردند میزان استخراج ترکیبات فنولی وابسته به غلظت حلال آب/اتانول می باشد آن ها از غلظت 25٪ تا 100٪ حلال اتانول آبی را برای استخراج استفاده کردند و مشاهده کردند که در مجموع 29 ترکیب شناسایی شد که شامل 12 فنولیک اسید ،13 فلاونوئید و 4 استر فنولیک اسید که بهترین خواص آنتی اکسیدانی و بیشترین عملکرد استخراج در غلظت 75٪ حلال اتانول/آب بود [15].

با هدف حداکثر کارآمدی سازی استخراج، دماهای متفاوت، مورد ارزیابی قرار گرفته و نشان داده شد، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی استخراجی از گل‌های ***Limonium sinuatum***، با توجه به افزایش دما از 30 به 40 درجه سانتی-گراد افزایش یافته است [16]. این به این خاطر است که دمای بالاتر، می‌تواند ویسکوزیته حلال را کاهش دهد، باعث بالا رفتن حرکت مولکولی می‌شود و میزان قابلیت حل شدن را افزایش می‌دهد، با این وجود ، وقتی دما بیشتر از 40 درجه سانتی‌گراد بود، یک افول مشاهده شد. دلیل آن این است که دمای بالاتر می‌تواند منجر شود به از هم پاشیدگی آنتی اکسیدانها شود [17]. بنابراین، 40 درجه سانتی گراد ، بعنوان دمای بهینه انتخاب کردند.

همچنین افزایش زمان فراصوت به علت پدیده کاویتاسیون که به خاطر انتشار امواج صوتی در فاز جامد-مایع، چرخه های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌کند که باعث تشکیل حباب شده و این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی میشوند .این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا میکنند .در نتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می کنند [18].

ولسه و همکاران نیز میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه زوفا را به ترتیب83/1 ± 72/77 بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره و 10/0 ± 30/1 میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان کردند [19]. سلیمانی و همکاران نیز میزان

ترکیبات فنولی را 200 میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش کردند [20].

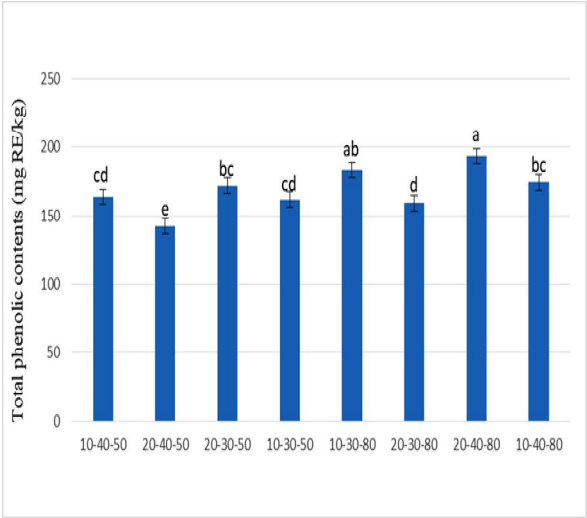

Fig 1 The amount of phenolic compounds of bath ultrasound extract of *Hyssopus officinalis* leaf (similar letters indicate no significant difference.)

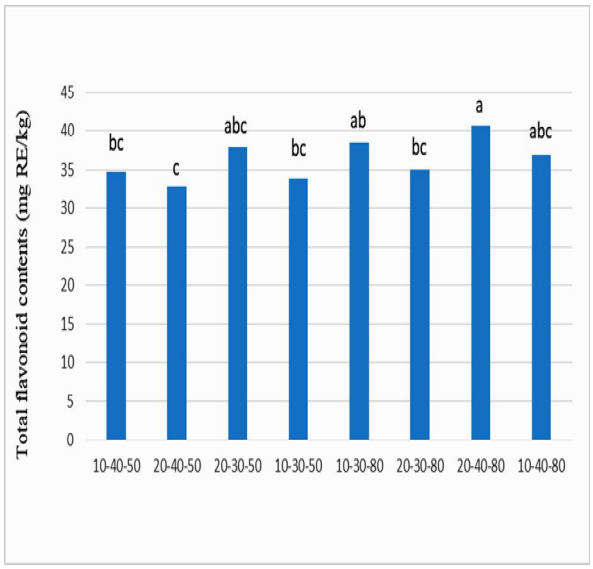

Fig 2 The amount of Flavonoid compounds of bath ultrasound extract of *Hyssopus officinalis* leaf (similar letters indicate no significant difference.)

2-3-میزان توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

توانایی هر یک از تیمار های عصاره های بدست آمده از روش اولتراسوند حمام که تحت شرایط دمایی 30 و 40 درجه سانتی گراد و زمانی10 و 20 دقیقه با کمک حلال های اتانول-آب در غلظت های (80:20) و (50:50) قرار گرفتند در شکل 3 ارائه شده است.نتایج آنالیز واریانس اثر غلظت عصاره ها را بر مهار رادیکال های آزاد نشان می دهد که با افزایش غلظت در همه عصاره ها ،میزان مهارکنندگی رادیکال افزایش یافت و بالا ترین درصد مربوط به عصاره حاصل از تیمار با حلال 80 ٪اتانولی دمای 40 درجه و مدت زمان 20 دقیقه بود(20-40-80) که در غلظت 200ppm درصد مهارکنندگی آن برابر با 68/79 درصد است که در این غلظت با بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی دارای تاثیر معنی داری بر فعالیت مهارکنندگی در مقایسه با سایر تیمارها بود. هم چنین در غلظت های پایینتر نیز 150 ،۱۰۰،۵۰ ppm دارای اثر معنی دار بود . (p<05/0) و پایین ترین درصد مهارکنندگی مربوط به تیماری بود که تحت شرایط دمایی 40 درجه سانتی گراد و زمانی 20 دقیقه با حلال اتانولی 50٪ درصد (50 20-40-) در غلظت 50ppm بود .

شکل 4 مقدار IC_{50} محاسبه شده برای عصاره های حاصل از تیمارهای مختلف استخراج است که نشان دهنده غلظتی است که عصاره قادر به مهار 50 ٪ رادیکال آزاد DPPH موجود در محیط واکنش است .کمترین میزان IC50 مربوط به عصاره حاصل از تیمار تحت امواج اولتراسوند با دمای 40 درجه سانتی گراد و زمان 20 دقیقه با حلال 80٪ اتانولی است (-80 40-20)که برابر 108 /14 ppm است که بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان می دهد. تیمار های (-80-30 10) و (50 -30 20) از نظر قدرت مهارکنندگی در مرتبه بعد قرار گرفتند و و بیشترین مقدار IC_{50} که دارای کمترین قدرت مهار کنندگی است مربوط به تیمار (20-40-50) است که غلظت آن برابر است با 54/142.

سلیمانی و همکاران بیان کردند که با افزایش میزان ترکیبات فنولی قدرت آنتی اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد [20]. که با یافته های ما همسو بود.. در مطالعه ای نیز که یانگ شین شیو و همکارانش بر روی گل شوید انجام دادند در تست DPPH میزان مهار رادیکال به اندازه 50٪ را در حلال های اتیل استات ، اتانول و هگزان به ترتیب 15/28 ، 83/56 ، 07/399 گزارش کردند [21]. اوزر و همکاران در مطالعه ای بر روی عصاره متانولی گیاه زوفا انجام دادند در تست DPPH مهارکنندگی در 50 ٪ را 177 µg/ml بیان نمودند.[22]. فتیح‌زاده و همکاران میزان IC_{50} گیاه زوفا برای عصاره های آپیژنین O-7

–ß -Dگلوکورونید ،اتیل استات و n- بوتانول به ترتیب mg 116 /mL-1 0, 0/103, 0/25گزارش کردند [23].

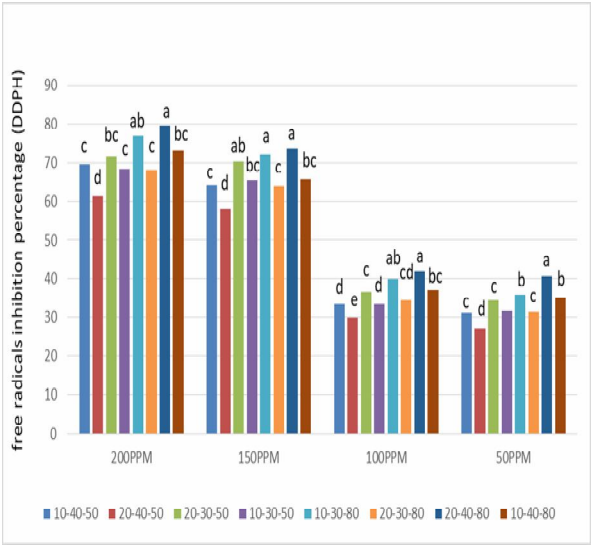

Fig 3 Relationship between the inhibitory power of DPPH radical and different concentrations of bath ultrasound extract of *Hyssopus officinalis* leaf (similar letters indicate no significant difference.)

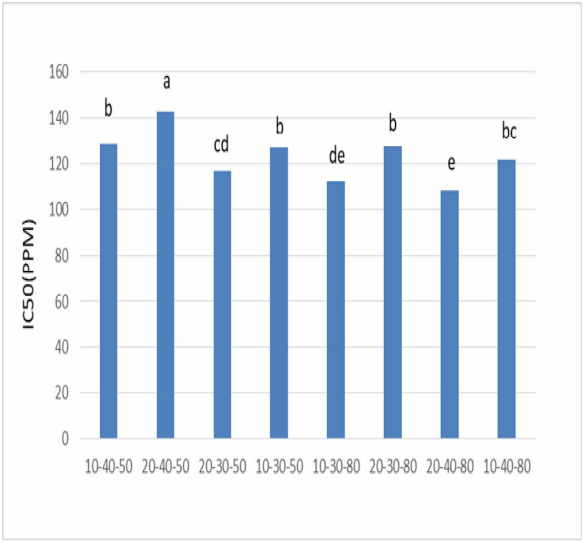

Fig 4 IC50 Extract of different treatments of *Hyssopus officinalis* leaf in the DPPH free radical inhibitory test (similar letters indicate no significant difference).

3-3 -بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در سیستم مدل بتاکاروتن – لینولئیک اسید

شکل 5 توانایی آنتی اکسیدانی عصاره زوفا را در تیمارهای مختلف در مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید در سیستم مدل بتاکاروتن-لینولئیک اسید در غلظت های مختلف نشان می دهد.نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تاثیر غلظت بر میزان مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید عصاره ها و درنتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها در غلظت های 50 ppm و 150 معنا دار و در غلظت های 100 ppm و 200 با سایر تیمارها در آن غلظت غیر معنادار بود. (p<05/0) درصد مهار اکسیداسیون با افزایش غلظت عصاره ها افزایش یافت.در تمام غلظت ها بیشترین درصد مهار مربوط تیمار(20-40-80) است.

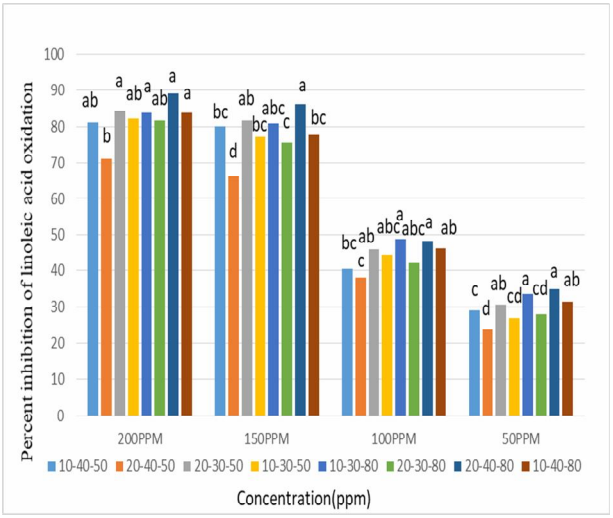

Fig 5 The inhibitory effect of linoleic acid oxidation on various treatments of *Hyssopus officinalis* extract at different concentrations in the system of beta-carotene-linoleic acid model (similar letters indicate no significant difference).

به غیر از 100 ppm که تیمار (10-30-80) بیشترین میزان مهار اکسیداسیون رادارد.و کمترین درصد مهار در تمامی تیمارها مربوط به تیمار (20-40-50)است. قاسم زاده و همکاران بر مطالعه ای که برروی عصاره سبوس برنج انجام دادند (آب-اتانول-اولتراسوند)سبوس برنجی که بالاترین درصد فنول و فلاونوئید را داشت بالاترین درصد مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید را نیز داشت [24]. که همسو با نتایج بدست آمده در این تحقیق است .سلیمانی و همکاران، بیشترین درصد مهار را در عصاره گیاه زوفا در غلظتppm 750 و کمترین درصد مهار درppm 25 گزارش کردند [20]. یانگ شین شیو نیزدرتست مهار اکسیداسیون اسید لینولئیک عصاره اتانولی شوید ،درصد مهار را 23/72 گزارش کردند [21].

4-3-سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با آزمون شاخص پایداری اکسایشی(OSI)

شکل 6 شاخص پایداری اکسایشی نمونه های مختلف روغن کانولا را نشان می‌دهد.در بررسی نتایج آنالیز واریانس مشاهده شد که تاثیر تیمارهای مختلف استخراج بر پایداری اکسایشی عصاره برگ زوفا و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها در سطح 5 ٪ معنی دار است.کمترین پایداری اکسایشی در تمامی غلظت ها مربوط به تیمار (20-40-50)است و بالاترین پایداری اکسایشی مربوط به تیمار (20-40-80) در تمامی غلظت ها به غیر از 150 ppm است در این غلظت بالاترین پایداری را تیمار(10-30-80) از خود نشان داد. ماریاسوا، کنسانتره آنتی اکسیدانی از گل همیشه بهار (*Calendula officinalis L.*)، ریحان (*Ocimum basilicum L.*)، نعناع چمنی (*Prunella vulgaris L.*) و گل ماهور (*Verbascum densiflorum L.*) به روغن آفتابگردان و روغن کلزا به ترتیب اضافه کردند و پایداری اکسایشی آن‌ها را توسط، رنسیمت اندازه گیری کردند و بیان کردند آنتی اکسیدان موثر در هر دو روغن آفتابگردان و روغن کلزا، کنسانتره گل همیشه بهار بود همچنین کنسانتره ریحان دارای اثر آنتی اکسیدانی است که با اثر آنتی اکسیدانی کنسانتره گل همیشه بهارقابل مقایسه است [25].

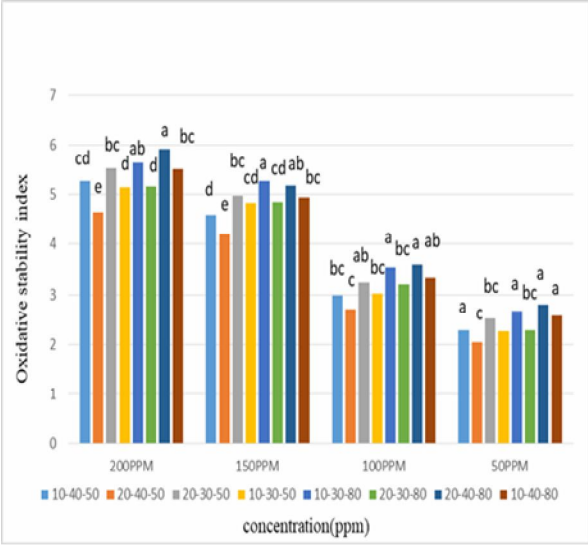

Fig 6 Comparison of oxidative stability index of oil containing different treatments of *Hyssopus officinalis* leaf extract in different concentrations.

فعالیت های آنتی اکسیدانی عصاره‌های گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum Möhench*) توسط سان و هو مورد بررسی قرار گرفت و با حلال‌هایی با قطبیت مختلف استخراج گردید،و بیان کردند که عصاره متانولی طولانی ترین زمان القا شدن 0/2 ± 7 ساعت با روش رنسیمت نشان داد. بنابراین می‌توان گفت عصاره‌های این تحقیق در پایداری اکسایشی روغن موثر هستند [26].

5- نتیجه گیری

بر اساس نتایج بدست آمده می توان گفت اولتراسوند با کاهش تخریب ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی ،با عملکردی بالا ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را استخراج نمود.تیمارهای (20-40-80)و (20-40-50) به ترتیب بالاترین و پایینترین مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را از خود نشان دادند.در روش سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های حاصل از تیمارهای مختلف ،قدرت آنتی اکسیدانی متفاوتی را نشان دادند با این وجود عصاره حاصل از تیمار (20-40-80) به دلیل محتوای فنولیک بالا ،عملکرد بهتری داشت.همچنین غلظت های مختلف بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی موثر بود.در تست رنسیمت ،عصاره‌های بدست آمده از تیمار های مختلف در روغن کانولا پایداری اکسایشی خوبی را نشان دادند.در نتیجه برگ زوفا می تواند به دلیل داشتن محتوای آنتی‌اکسیدانی بالا به عنوان یک منبع طبیعی و بی خطر آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار گیرد.

6- منابع

[1] Pan Y, Zhu J, Wang H, Zhang X, Zhang Y, He C, Ji X, Li H (2007) Antioxidant activity of ethanolic extract of Cortex fraxini and use in peanut oil. Food Chem 103:913–918CrossRefGoogle Scholar.

[2] Sultana B, Anwar F, Przybylski R (2007) Antioxidant potential of corncob extracts for stabilization of corn oil subjected to microwave heating. Food Chem 104:997–1005CrossRefGoogle Scholar.

[3] Yalcin, H. J. Verbr. Lebensm. (2011) Antioxidative effects of some phenolic compounds and carotenoids on refined hazelnut oil . SP Birkhäuser Verlag Basel 353–358

[4] Ghasemi, A., Hamidi, H., Aros, J., Masoumi, A., (2013) Investigating the effect of salinity and temperature on the germination of Hyssopus officinalis, University of Tehran Magazine. To agricultural crop. Volume 15 Number 3 P. (155-169)

[5] Said-Al Ahl ., A, H, H., Abbas., K, Z., Sabra., S, A., Tkachenko., G , K. (2015) . Essential Oil Composition of Hyssopus officinalis L.Cultivated in Egypt. International Journal of Plant Science and Ecology Vol. 1, No. 2, pp. 49-53

[6] Maghsoudlou , E ,. Esmaeilzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri , Z .(2016).Evaluation of Antioxidant Activity of Fig (Ficus carica) Pulp and Skin Extract and its Application in Enhancing Oxidative Stability of Canola Oil.Journal of Food Processing and Preservation , 1745-4549

[7] Capannesi C.Palchetti I.Mascici M.Parenti A.(2000).Electrochemical sensor and biosensor for polyphenol detection in olive oils.Food chemistry.71:553-562.

[8] Guimaraesr.Sousa.M.J.,Carvalho,.A.M.,&Ferreira I.C.F.R.(2010)Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits:Grapefruit,Lemon,Lime and Orange.Journal of Food and Chemical Toxicology,48:99-106.

[9] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Freeradical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry, 84,551–562.

[10] Farhoosh, R., 2007, The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. Journal of the American Oil Chemists Society, 84(3), 205-209.

[11] Bower, J.A. 2009. Statistical Methods for Food Science:Introductory Procedures for the Food Practitioner, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. doi: 10/1002/9781118541593.

[12] Carciochi, R. A., Manrique, G. D., & Dimitrov, K. (2015). Optimization of antioxidant phenolic compounds extraction from quinoa (Chenopodium quinoa) seeds. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 52(7), 4396–4404.

[13] Chavan, Y., & Singhal, R. S. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (Areca catechu L.) and optimization study using response surface methodology. Innovative Food Science & Emerging Technologies,17, 106–113.

[14] Zou, T. B., Wang, M., Gan, R. Y., & Ling, W. H. (2011). Optimization of ultrasoundassisted extraction of anthocyanins from mulberry, using response surface methodology. International Journal of Molecular Sciences, 12(5), 3006–3017.

[15] Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., & Zhang, H. (2015). Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2015*. https://doi.org/10/1155/2015/595393.

[16] Wang, J. M., Geng, Y., Li, P., Hu, F., & Li, L. Y. (2013). Optimization of ultrasoundassisted extraction procedure to determine total isoflavones in Chinese soybean cheese by Box-Behnken Design. Food Analytical Methods, 6(1),221–226.

[17] Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2007). Ultrasound-assisted extraction of isoflavones from soy beverages blended with fruit juices. Analytica Chimica Acta,597(2), 265–272.

[18] Rostagno, A., Palma, M. and Barroso, C. (2003). Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012: 119-128.

[19] Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., … 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. https://doi.org10/3390/molecules19055490.

[20] Soleimani, H.Barzegar, M. Sahari, M. A. Naghdi Badi, H.(2011). An investigation on the antioxidant activities of Hyssopus officinalis L. and Echinacea purpurea L. plant extracts in oil model system. Volume 10, No. 37, Winter 2011.

[21] Yung-Shin S, Jau-Tien L, Yuan-Tsung C, China-Jung C, Deng-Jue Y.(2009)Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (Anethum graveolens L.) flower. Food Chemistry; 115(2): 515-521.

[22] Ozer H, Sokmen M, Gulluce M, Adiguzel A, Kilic H, Sahin F, Sokmen A(2006). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of Hyssopus officinalis L. ssp. Angustifolius. Italian. J. Food Sci., 18: 73-83.

[23] Fathiazad. F, Mazandarani. M, Hamedeyazdan. S.(2011). Phytochemical analysis and antioxidant activity of Hyssopus officinalis L. from Iran. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 1(2), 63-67 doi: 10/5681/apb./ 2011/009 http://apb.tbzmed. ac.ir/ Phytochemical.

[24] Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., Juraimi, A. S., & Tayebi-Meigooni, A. (2015). Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice bran. Molecules, 20(6), 10822–10838.

[25] Máriássyová, M. (2006). Antioxidant activity of some herbal extracts in rapeseed and sunflower oils. *Journal of Food and Nutrition Research*, *45*(3), 104–109.

[26] Sun, T., & Ho, C. T. (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 90(4), 743–749. https: //doi.org/10.1016/j. foodchem. 2004.04.035.

Investigating the effect of extraction of bath ultrasound in different conditions on antioxidant properties of Hyssop (*Hyssopus officinal*is) extract

Aziminezhad, H. [1], Esmaeilzadeh Kenari, R. [2*], Raftani Amiri, Z. [2]

1. MSC student of food science and tecnology-Sari Agricultural Sciences and Natural Resources university, Sari, Iran
2. Associate Professor of food science and tecnology-Sari Agricultural Sciences and Natural Resources university, Sari, Iran

(Received: 2018/09/23 Accepted:2018/12/16)

One of the new methods for extracting natural antioxidants from plant tissues is ultrasound extraction. In this study, the method of extraction of bath ultrasound with ethanol-water solvent (50:50) and (80:20) at a temperature of 30 and 40 ° C and 10 and 20 minutes was used to extract the extract of the leaves of the zoo. Became The total phenolic and flavonoid compounds, DPPH and antioxidant potency in beta-carotene-linoleic acid model of each extract were measured by spectrophotometric method and antioxidant activity of the extracts by oxidative stability index (OSI). Based on the results, The extract (80-40-20) with the highest effective compounds had the highest phenolic compounds (193.3 ± 5.53) mg/g extract per gram of extract) and flavonoid (40.63±2.36 mg / 40 mg quercetin in Gram of extract) and the highest amount in antioxidant assays (DPPH radical inhibition and beta-carotene-linoleic acid coloration assay) and the lowest I C50 showed the best antioxidant performance. In the Ransted test, treatment (80-40-20) with a concentration of 200 ppm showed the highest oxidative stability of canola oil. Therefore, the most suitable treatment was to obtain the best treatment result (80-40 -20) was selected.

Keyword: Hyssop (*Hyssopus officinal*is), Bath ultrasound, Antioxidant

* Corresponding Author E-Mail Address: reza_kenari@yahoo.com