

بررسی روش تهیه دمنوش گیاه مرزنجوش بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلزات سنگین آن

نازیلا زینالی نامدار¹، مهدی قره‌خانی^{2*}

1- دانشجوی دکتری شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

2- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: 98/05/02 تاریخ پذیرش: 99/02/27)

چکیده

روش‌های متفاوتی برای تهیه دمنوش‌ها وجود دارد که می‌تواند بر خواص و ویژگی‌های این دمنوش‌ها موثر باشد. روش معمول تهیه دمنوش‌ها روش غرقابی است که با استفاده از آب جوش و صافی تهیه می‌شود. هدف از این مطالعه تهیه دمنوش از گیاه مرزنجوش و بررسی تأثیر روش تهیه (غرقابی و فراصوت) برای زمان‌های مختلف (5 و 15 دقیقه) بر میزان ترکیبات فنولی، توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد (DPPH) و فلزات سنگین (آرسنیک، سرب و کادمیوم) در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد که روش تهیه دمنوش بر میزان تمامی پارامترهای مورد مطالعه تأثیر معنی‌دار داشت. نتایج نشان داد که با افزایش زمان هر دو فرایند (فراصوت و غرقابی) میزان ترکیبات فنولی، توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH، آرسنیک، سرب و کادمیوم افزایش یافت. از طرفی مشخص شد که استفاده از امواج فراصوت منجر به افزایش ترکیبات مفید و همچنین فلزات سنگین در دمنوش مرزنجوش گردید. میزان تمامی فلزات سنگین اندازه‌گیری شده در این مطالعه کمتر از میزان استاندارد تعریف شده برای فلزات سنگین دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای بود. در نهایت با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بیان داشت که استفاده از 15 دقیقه فراصوت بهترین روش تهیه دمنوش مرزنجوش بود.

کلید واژگان: مرزنجوش، دمنوش، فراصوت، فلزات سنگین، قدرت آنتی‌اکسیدانی

* مسئول مکاتبات: m.gharekhani@iaut.ac.ir

1- مقدمه

دمنوش‌های گیاهی یکی از رایج‌ترین نوشیدنی‌های مورد استفاده در دنیا می‌باشد. این دمنوش‌ها حاوی ترکیبات فنولی، معدنی و عناصر موثر بر سلامتی انسان هستند [1]. از جمله این گیاهان می‌توان به مرزنجوش اشاره نمود. مرزنجوش (*Origanum Vulgare*) گیاهی است که سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های فنولی و یک منبع مهم برای افزودنی‌های غذایی محسوب می‌شود. این گیاه پراکنش وسیع جهانی دارد و سال‌ها در طب سنتی در درمان بیماری‌های مزمن و بیماری‌های مرتبط با اکسیدان‌ها نظیر دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد [2] و [3]. بخش هوایی و بخصوص برگ‌های این گیاه در سراسر جهان به‌عنوان یک ادویه پسندیده و معطر مورد استفاده قرار می‌گیرد و علاوه بر استفاده‌های سنتی، در درمان بیماری‌های معده و روده، یبوست، ناراحتی‌های تنفسی (آسم) و به‌عنوان التیام‌دهنده و ضدعفونی‌کننده نیز کاربرد دارد. همچنین اسانس این گیاه در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، غذایی و عطرسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد [4 و 5]. روش‌های متفاوتی برای تهیه دمنوش‌ها وجود دارد که می‌تواند بر خواص و ویژگی‌های این دمنوش‌ها موثر باشد. روش معمول تهیه دمنوش‌ها که در منازل هم استفاده می‌شود، روش غرقابی است که با استفاده از آب جوش و صافی تهیه می‌شود [6]. روش جدیدی که در این باب اخیراً معرفی شده است، روش استفاده از فراصوت می‌باشد. مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون مربوط می‌شود که طی آن حباب‌های بسیار ریزی در مایع تشکیل شده، به سرعت تا اندازه بحرانی رشد می‌کنند و منفجر می‌گردند [7]. فواید اصلی استفاده از فراصوت در استخراج جامد- مایع شامل افزایش بازده استخراج و سرعت استخراج است. فراصوت می‌تواند دمای عملیاتی را کاهش دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم می‌سازد. در مقایسه با تکنیک‌های استخراج جدید دیگر همچون استخراج با مایکروویو، دستگاه فراصوت ارزان‌تر است و اجرای آن راحت‌تر می‌باشد. استخراج به کمک فراصوت، مشابه استخراج با سوکسله می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود [8]. زیا و همکاران (2006) در مطالعه‌ای نتیجه گرفتند که روش استخراج به کمک فراصوت در مقایسه با روش معمول باعث افزایش بازده استخراج ترکیبات آروما در

دمنوش‌ها می‌شود [6]. هرزیک و همکاران (2008) محتوای ترکیبات فنولی و متیل زانتین‌ها را در چای سبز و دمنوش‌های گیاهی مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که چای سبز دارای بیشترین محتوای ترکیبات فنولی و بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است و موثرترین دما برای استخراج محتوای بالاتر ترکیبات فنولی و متیل زانتین‌ها در همه چای‌های مورد مطالعه دمای 100 درجه سانتی‌گراد بود [9]. میرزایی و همکاران (1390) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی عصاره هیدروالکلی مرزنجوش، کلپوره و آویشن را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی متفاوتی بوده و مرزنجوش دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [10]. امتارا و همکاران (2018) با بررسی خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزنجوش در عسل نشان دادند که این ویژگی‌ها به میزان محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها بستگی دارد که میزان این ترکیبات در مناطق مختلف متفاوت می‌باشد [11]. مولودی و همکاران (2018)، ترکیبات شیمیایی، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی گیاه مرزنجوش بخارایی را مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که اسانس این گیاه بر روی باکتری‌های لیستریا مونوسیژنوز و اشرشیا کلی خاصیت مهارکنندگی دارد [12]. این دمنوش‌های گیاهی حاوی فلزات و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند. صلاحی نژاد و افلاکی (2009) در مطالعه‌ای فلزاتی شامل سرب، آهن، کادمیوم، روی و آلومینیوم را در نمونه‌های چای سیاه و سبز شناسایی کردند [1]. همچنین نشان داده شده که فلزات سنگینی مانند سرب، کادمیوم، آرسنیک در غلظت‌های خاصی می‌تواند اثرات نامطلوب بر سلامت انسان داشته باشد [13، 14 و 15]. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر دو روش مختلف تهیه دمنوش مرزنجوش (روش غرقابی و فراصوت) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلزات سنگین بود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

برای این پژوهش گیاه مرزنجوش از شرکت گیاهان دارویی ناجیان خریداری شد که از مناطق ارسباران و میشوداغی جمع‌آوری شده بود و مواد شیمیایی مورد استفاده (فولین -

سیوکالته¹، کربنات سدیم، اسیدگالیک، اسیدنیتریک، متانول، DPPH²) از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

2-2- آماده سازی نمونه

سرشاخه‌های مرزنجوش که در مرحله گل‌دهی جمع آوری شده بود، تحت شرایطی طبیعی محیطی و با استفاده از جریان هوای طبیعی در سایه خشک گردید. سپس این برگ‌ها با استفاده از دستگاه آسیاب (Kenwood, Blender bl 718, ژاپن) به پودر تبدیل و پس از الک کردن با الک مش 20 در بسته‌های نیم کیلویی با دو لایه نایلونی و مقوایی به منظور جلوگیری از نفوذ هوا و رطوبت بسته‌بندی شد و تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری گردید [16].

2-3- روش‌های تهیه دمنوش از مرزنجوش

2-3-1- استخراج به روش غرقابی

به دو گرم از نمونه، 250 میلی لیتر آب جوش که دمای آن 100 درجه سانتی‌گراد بود، اضافه گردید و سپس بر روی صفحه داغی با دمای 100 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 و 15 دقیقه حرارت داده شد و بعد از این مرحله محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن نمره 1 فیلتر شد [17].

2-3-2- استخراج به روش فراصوت

به دو گرم از نمونه، 250 میلی لیتر آب مقطر (60 درجه سانتی‌گراد) اضافه شد و سپس ظرف حاوی آب و نمونه، داخل حمام فراصوت (الماسونیک، آلمان) با فرکانس (37 کیلوهرتز) و دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 و 15 دقیقه قرار داده شد سپس عصاره حاصله، فیلتر گردید [6].

2-4- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در دمنوش حاصل توسط رنگ سنجی به روش فولین - سیوکالته مورد بررسی قرار گرفت. در این روش در واقع تعداد گروه‌های فنولی که قابل اکسید شدن هستند، اندازه گرفته می‌شود. پس از تهیه دمنوش، 0/5 میلی لیتر از آن در لوله آزمایش ریخته شده و با 5 میلی‌لیتر معرف فولین - سیوکالته (که به نسبت 1:10 با آب مقطر رقیق شده بود) و 4 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم یک مولار به خوبی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه

اسپکتروفتومتر (Hach، آمریکا) در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی بر مبنای اسید گالیک و به صورت میلی گرم در هر 100 گرم نمونه خشک بیان گردید [18].

2-5- ارزیابی میزان توانایی به دام اندازی

رادیکال آزاد DPPH)

در این روش به یک میلی‌لیتر از نمونه، یک میلی‌لیتر محلول متانولی 0/1 میلی‌مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت 15 دقیقه در مکان تاریک در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 517 نانومتر قرائت گردید. آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و میزان IC₅₀³ به معنی غلظتی از هر عصاره که لازم است تا 50 درصد رادیکال‌های آزاد DPPH پاک‌سازی شود، برای دمنوش‌ها تعیین شد. در نهایت از رابطه زیر درصد به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH به دست آمد [19].

رابطه (1)

$$\text{درصد فعالیت دام اندازی رادیکال های آزاد DPPH} = \frac{AS-AC}{AC} \times 100$$

که در رابطه (1) AS: جذب نوری نمونه و AC: جذب نوری شاهد بود. پس از آن میزان IC₅₀ توسط نمودار مشخص شد.

2-6- اندازه گیری فلزات سنگین (آرسنیک،

سرب و کادمیوم، به روش ICP- AES⁴)

در این مطالعه ابتدا برای فلزات مورد اندازه‌گیری، منحنی استاندارد رسم گردید. برای رسم منحنی‌های استاندارد از محلول‌های استوک آنالیت‌های فلزی (سرب، آرسنیک و کادمیوم) استفاده شد. بدین منظور عملیات هضم برای 5 گرم از نمونه در ظرف مخصوص توسط 5 میلی‌لیتر اسید نیتریک 5% به مدت 20 دقیقه انجام گرفت. سپس محصول هضم که محلول شفاف بود در بالن مندرج 50 میلی‌لیتری با آب مقطر 6 بار تقطیر شده استریل به حجم رسید. در نهایت 10 میلی‌لیتر از این نمونه در اتوسمبلر دستگاه طیف سنج‌نشر اتمی پلاسما Inductively Coupled Plasma - Optical

3. Inhibition Concentration

4. Inductively coupled Plasma Atomic Emission Spes

1. Folin- Ciocalteu

2. 2,2 - diphenly- 2- picryl hydrazyl radical

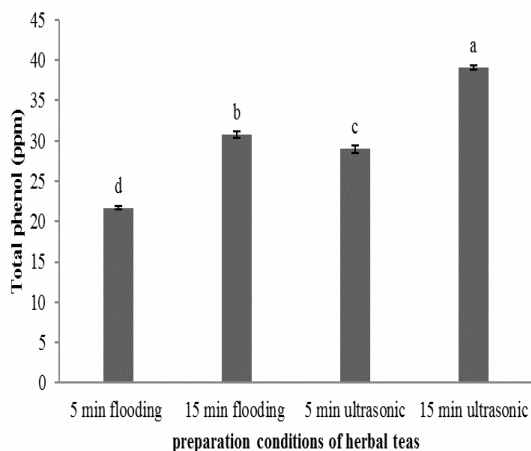


Fig 1 The effect of preparation conditions of herbal teas on total phenol

3-2-2- تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان IC₅₀

با توجه به شکل 2، استفاده از روش‌ها و زمان‌های مختلف فراوری به طور قابل توجهی موجب کاهش مقادیر IC₅₀ شد ($P < 0/01$). استفاده از روش غرقابی به مدت 15 دقیقه تأثیری مشابه استفاده از امواج فراصوت به مدت 5 دقیقه داشت ($P > 0/01$). با این حال، افزایش زمان فرایند فراصوت تا 15 دقیقه منجر به افزایش چشمگیری در توانایی به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH و یا کاهش IC₅₀ شد، که این امر را می‌توان به افزایش مدت زمان اختلاط نمونه با حلال و نیز انتشار بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی داخل سلولی به حلال طی پدیده کاویتاسیون نسبت داد. اثرات حفاظتی پلی‌فنول‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی به توانایی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، ظرفیت انتقال الکترون‌ها، فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش رادیکال‌های آلفا-توکوفرول و جلوگیری از اکسیدازها توسط آن‌ها بستگی دارد [25 و 26]. بنابراین، با توجه به افزایش محتوای فنول کل نمونه‌ها طی زمان فراوری با روش‌های مختلف، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دمنوش جهت اهدای هیدروژن یا الکترون آزاد افزایش یافت [27]. محققان دریافته‌اند که استفاده از امواج فراصوت در تیمار سنجید تزئینی طی زمان طولانی‌تر موجب افزایش درصد مهار رادیکال‌های آزاد شد [28]. نتایجی مشابه طی استخراج ترکیبات فنولی از برگ گیاه فیجوا، آب سیب و پوست پرتقال پس از تیمار با امواج فراصوت مشاهده گردید [29، 30 و 31].

Emission Spectroscopy (ICP-OES). جهت قرائت

مقدار عناصر خواسته شده قرار داده شد [1].

2-7- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از سه تکرار با استفاده از طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. از نرم افزار SAS برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 1 درصد برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

3- نتایج و بحث

3-1- تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان

ترکیبات فنولی

بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان نمود که روش تهیه دمنوش تأثیر معناداری بر میزان ترکیبات فنولی نمونه داشت ($P < 0/01$)؛ به طوری که استفاده از امواج فراصوت موجب افزایش کارایی استخراج ترکیبات فنولی در مقایسه با روش غرقابی گردید (شکل 1). همچنین افزایش زمان فرایند (فراصوت و غرقابی) موجب افزایش میزان استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شد. به‌طور کلی نمونه فراوری شده با استفاده از امواج فراصوت به مدت 15 دقیقه دارای بیشترین محتوای فنول کل بود. در واقع، حین انتشار امواج فراصوت، ایجاد سبک‌های انقباض و انبساط موجب تشکیل حباب‌هاب ریزی در محلول و در نتیجه وقوع پدیده کاویتاسیون می‌شود. این پدیده در کنار افزایش دمای نمونه موجب تخریب دیواره سلولی، افزایش میزان انتشار و انتقال جرم و در نهایت خروج هر چه بیش‌تر ترکیبات داخل سلولی مانند ترکیبات فنولی می‌گردد [20 و 21]. از طرفی، این تخریب سلولی خود موجب افزایش سطح تماس میان حلال قطبی (آب) و ترکیبات فنولی موجود در سلول و افزایش کارایی فرایند فراصوت خواهد شد. پژوهشگران گزارش کردند که میزان استخراج ترکیبات فنولی موجود در سبوس گندم، پرچم گل زعفران، پونه گاوی و پوست نارنگی با افزایش زمان تیمار فراصوت افزایش یافت [22، 23 و 24].

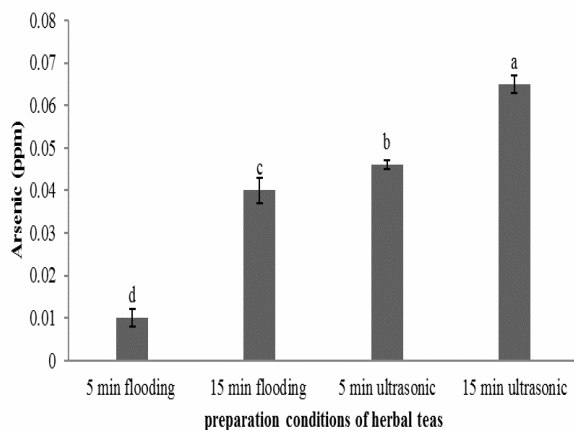


Fig 3 The effect of preparation conditions of herbal teas on arsenic

4-3- تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان سرب

همان‌گونه که در شکل 4 نمایش داده شده است، میزان سرب دمنوش‌های تیمار شده با استفاده از امواج فراصوت بیشتر از نمونه‌های تهیه شده به روش غرقابی بود ($P < 0/01$)؛ این امر نشان‌گر تأثیر پدیده کاوناسیون بر انتقال جرم بالاتر ترکیبات درون سلولی طی فراوری فراصوت است که این نتایج مشابه گزارشات سایر محققین در این زمینه می‌باشد [35]. همچنین طی استفاده از هر دو روش، نمونه‌های فراوری شده به مدت 15 دقیقه حاوی مقادیر بالاتر سرب بودند. محققان گزارش کردند که افزایش زمان در تهیه دمنوش (چای گیاه ترکی) موجب افزایش مقادیر مواد معدنی گردید [17]. به‌طور کلی، شرایط استفاده از امواج فراصوت مانند دمای نسبتاً بالا و کاوناسیون به دلیل افزایش انحلال، انتشار، میزان نفوذ و انتقال بر میزان استخراج این فلزات تأثیرگذار است [36]. به دلیل تأثیر عوامل شیمیایی موجود در خاک، هوا و آب، بافت گیاهان می‌تواند حاوی فلزات سنگینی مانند سرب و کادمیوم باشد، بنابراین امکان ورود این ترکیبات به چرخه غذایی انسان وجود دارد [37]. با توجه به آسیب‌های احتمالی دریافت زیاد سرب بر بخش‌ها و اندام‌های مختلف بدن [38]، حداکثر میزان مجاز این فلز توسط استاندارد ملی ایران به شماره 17226 معادل 1 میلی‌گرم بر کیلوگرم (ppm) تعیین شده است [33] که در مطالعه انجام شده میزان سرب دمنوش‌ها کمتر از این مقدار بود.

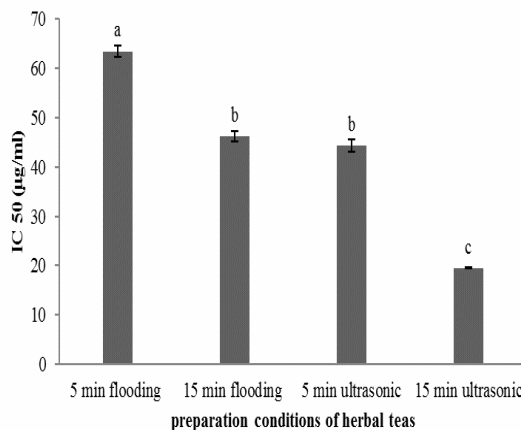


Fig 2 The effect of preparation conditions of herbal teas on IC₅₀

3-3- تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان آرسنیک

آنالیز واریانس نتایج به‌دست آمده نشان داد که در مقایسه با کاربرد روش غرقابی، دمنوش تهیه شده با استفاده از امواج فراصوت حاوی مقادیر بالاتر آرسنیک بود ($P < 0/01$). همان‌طور که در شکل (3) مشاهده می‌شود، میزان آرسنیک در نمونه‌های فراوری شده با هر دو روش به مدت طولانی‌تر، افزایش یافت ($P < 0/01$). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که استفاده از فراصوت به مدت 40 دقیقه موجب افزایش میزان استخراج فلزات سنگین از برگ‌های تنباکو گردید [32]. بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره 17226، میزان حداکثر غلظت آرسنیک در دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای باید برابر 0/15 میلی‌گرم بر کیلوگرم (ppm) باشد [33]، از این‌رو، میزان این ترکیب در تمامی دمنوش‌های فراوری شده در این مطالعه در حد مطلوبی بود. بنابراین، با توجه به خطرات آرسنیک بر سلامتی انسان مانند افزایش خطر احتمال ابتلا به انواع سرطان‌های مختلف مانند سرطان پوست و ریه می‌توان استفاده از امواج فراصوت و روش غرقابی را در تهیه این دمنوش به عنوان راهکاری جهت افزایش ایمنی محصول غذایی معرفی نمود [34].

4- نتیجه گیری کلی

در این مطالعه تأثیر دو روش مختلف تهیه دمنوش مرزنجوش (غرفایی و فراصوت) به مدت 5 و 15 دقیقه بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلزات سنگین مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده گردید که افزایش زمان فراوری در هر دو روش تأثیر چشمگیری در میزان استخراج ترکیبات مختلف داشت. همچنین، کارایی روش فراصوت بیشتر از تیمار غرفایی ارزیابی شد. به دلیل وقوع پدیده کایتاسیون و افزایش میزان استخراج و انتشار، نمونه‌های فراوری شده با امواج فراصوت به مدت 15 دقیقه دارای بالاترین محتوای فنول کل، میزان آرسنیک، سرب و کادمیوم و نیز کمترین میزان IC50 بودند. با توجه به استاندارد ملی ایران، میزان فلزات موجود در این نمونه‌ها در حد مطلوبی بود؛ بنابراین، می‌توان استفاده از امواج فراصوت را در تهیه این دمنوش به عنوان روشی جهت افزایش ایمنی و نیز ارزش غذایی دمنوش معرفی نمود.

5- منابع

- [1] Salahinejad, M. and Aflaki, F. 2009. Toxic and essential mineral elements content of black tea leaves and their tea infusions consumed in Iran. *Biological Trace Element Research*. 134: 109-117
- [2] Kulisic, T., Radonic, V. and katalinic, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative active oil. *Food Chemistry*, 85:633-640.
- [3] Lemhardi, A., zeggwagh, N.A., Maghrani, M., Jouad, H and Eddouks, M. 2004. Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafi lalet region. *Ethnopharmacology*, 92: 251-256.
- [4] Afsharypuor S, Sajjadi E S and Erfan-Manesh M. 1997. Volatile constituents of *Origanum vulgare* sp. *Viride* (syn. *O. heracleoticum*) from Iran. *Planta Medica*. 63: 179 - 80.
- [5] Zargari A. 1968. *Medicinal Plants*. Vol II, Amirkabir. Press. pp: 606 - 10.
- [6] Xia, T., Shi, S and Wan, X. 2005. Impact of ultrasonic assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *Journal of Food Engineering*. 74: 557-560.
- [7] Maskoki, A., Mohebi, M. 2011. *Modern*

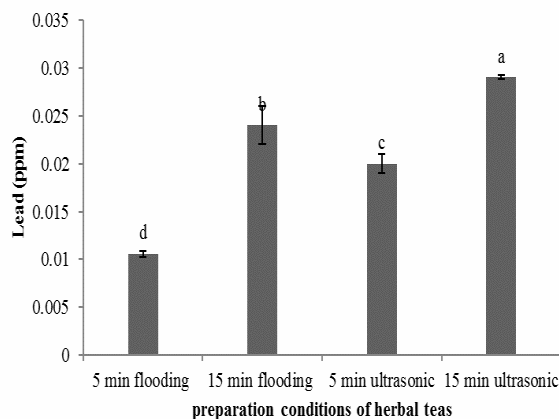


Fig 4 The effect of preparation conditions of herbal teas on lead

3-5- تأثیر شرایط تهیه دمنوش بر میزان

کادمیوم

مطابق شکل 5، استفاده از روش غرفایی و امواج فراصوت در زمان‌های ابتدایی فراوری تهیه دمنوش تأثیر معناداری بر محتوای کادمیوم نمونه‌ها نداشت ($P > 0/01$). اما فراوری طولانی‌تر نمونه‌ها (15 دقیقه) با امواج فراصوت موجب استخراج بیشتر این ترکیب گردید ($P < 0/01$). میزان کادمیوم در نمونه‌های تهیه شده در این مطالعه مطابق با حد مجاز تعیین شده این فلز در دمنوش‌های گیاهی و میوه‌ای توسط استاندارد ملی ایران به شماره 17226 (حداکثر 0/1 ppm) بود [33]. با افزایش آلودگی‌های زیست محیطی از طریق ترکیبات صنعتی، خودرو، کودهای کشاورزی و غیره، میزان کادمیوم جذب شده توسط گیاهان افزایش می‌یابد. با ورود این ترکیب به بدن انسان، بیماری‌ها و مشکلاتی مانند احتمال ابتلا به انواع سرطان‌ها، کم‌خونی و افزایش فشار افزایش خواهد یافت [39].

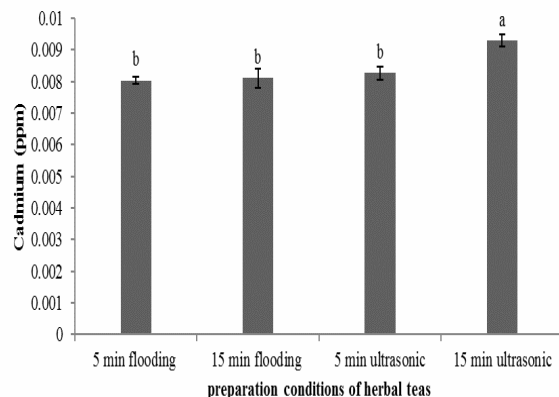


Fig 5 The effect of preparation conditions of herbal teas on cadmium

- Food Chemistry. 73(7):73-84.
- [19] Koleva, I.I., Van Beek, T. A. Linssen, G. A. and Evstatieva, L. N. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*. 13(1): 8-17
- [20] Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S. and Abert-Vian, M. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34: 540-560.
- [21] O'donnell, C. P., Tiwari, B. K., Bourke, P. and Cullen, P. J. 2010. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in food science & technology*. 21(7): 358-367.
- [22] Rouhani, R., Eyenafshar, S. and Ahmadzadeh, R. 2015. Study of anthocyanin and antioxidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 11(2): 161-170.
- [23] Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 106(2): 804-810.
- [24] Ma, Y. Q., Chen, J. C., Liu, D. H. and Ye, X. Q. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16(1): 57-62.
- [25] AmzadHossain, M., Salehuddin, S. M., Kabir, M. J., Rahman, S. M. M. and Rupasinghe, H. P. 2009. Sinensetin, rutin, 3'-hydroxy-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of the skin of apple fruit. *Food chemistry*. 113(1): 185-190.
- [26] Drogoudi, P. D., Michailidis, Z. and Pantelidis, G. 2008. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae*. 115(2): 149-153.
- [27] Demirci, B., Koşar, M., Demirci, F., Dinc, M., & Başer, K. H. C. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food chemistry*. 105(4): 1512-1517.
- [28] Kamali, F., Sadeghi Mahoonak, A.R. and food industry. sokhan gostar publisher. 416 p. (In Persian).
- [8] Wang, L., and Weller, C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*. 17(6): 300-312.
- [9] Horzic, D., komes, D., Belscak, A., kovacevic, Ganic, K., vekovic, D., and karlovic, D. 2009. The Composition of polyphenols and methylxanthines in tea and herbal infusions. *Food chemistry*. 115:441-448
- [10] Mirzaei, A., aberi Hafashani, H. and Madani, A. 2012. Antioxidant activities, total phenols and total Flavonoids assay of *Origanum vulgare*, *Teucrium polium* and *Thymus daensis*. *Hormozgan Medical Journal*. 4: 285-294. (In Persian).
- [11] Imtara, H., Elamine, Y. and Lyoussi, B. 2018. Honey Antibacterial Effect Boosting Using *Origanum vulgare* L. Essential Oil. *Evid-Based Complementary Alternative Medical*. 1-14.
- [12] Moulodi, F., Alizade Khaledabad, M., Mahmoudi, R. and Rezazad Bari, M. 2018. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Essential Oil of *Origanum vulgare* ssp. *Gracile*. *Journal babol university Medical Science*. 2 (10): 36-44. (In Persian).
- [13] Abdullahi, M.S. 2013. Toxic effects of lead in humans: Global advanced Researcher Journal of Environmental science and Toxicology. 2(6): 157-162.
- [14] Bernard, A. 2008. Cadmium & its adverse effects on human health. *Indian Journal of al Research*. 128: 557-564.
- [15] Singh, N. and Anand, p. 2006. Arsenic in the environment: effects on human health and possible prevention. *Journal of Environmental Biology*. 28 (2): 359-365.
- [16] Abotalebian, M. 2006. Extraction of phenolic compounds in leaves of peppermint, Pune and Basil plants and comparison of their antioxidant effect in sunflower oil. Master's thesis of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology. (In Persian).
- [17] Ozcan, M. 2005. Determination of mineral contents of Turkish herbal tea at different infusion periods. *Journal of Medicinal food*. 8 (1): 110-112.
- [18] McDonald, S., Prenzler, P. D. Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts.

- Research of Iran. 2014. Features of herbs and fruits. Standard No. 17226. First Appeal. (In Persian).
- [34] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). 2009. Scientific Opinion on arsenic in food. *EFSA Journal*. 7(10): 1351.
- [35] Liu, L.Y., Zhang, Y.X., Ma, J., Song, T., Gong, W. and Du, X. 2009. Ultrasonic extraction of trace metals in biological and food samples. *Journal of Hygiene Research*. 38: 96-8.
- [36] Luque-Garcia, J. L. and Luque de Castro, M. D. 2003. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*. 22 (1): 41-47.
- [37] Ruiz-Jiménez, J., Luque-Garcia, J. L. and de Castro, M. L. (2003). Dynamic ultrasound-assisted extraction of cadmium and lead from plants prior to electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 480(2): 231-237.
- [38] Mohammadi, M., Riyahi Bakhtiari, A. and Khodabandeh, S. 2014. Concentration of Cd, Pb, Hg, and Se in different parts of human breast cancer tissues. *Journal of Toxicology*. 1-5.
- [39] Haji Ghasemkhan, A. 2007. *Industrial Toxicology*. Tehran: Baraye Farda Pub; (In Persian).
- Nasirifar, Z. 2015. The effect of ultrasonic extraction conditions on the extraction of phenolic and flavonoid compounds from ornamental saplings (*Elaeagnus umbellata*). *Food Technology & Nutrition*. 12(2): 23-32. (In Persian).
- [29] Poodi; Y., Bimakr, M., Ganjloo, A. and Zarringhalami, S. 2017. Optimization and comparative evaluation of ultrasound-assisted extraction of bioactive phenolic compounds from feijoa (*Feijoa sellowiana*) leaves. *Innovative food technologies*. 5(1): 49-64. (In Persian).
- [30] Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*. 119(2): 851-858.
- [31] Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M. M., Hu, B., Lei, S. and Zeng, X. 2013. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonic Sonochemistry*, 20(5): 1182-1187.
- [32] Wu, Y.P., Li, F.T., Li, Q.Z., Wang, D.D. and Yang, J.H. 2002. ICP-AES determination of multi-elements in tobacco extracted with ultrasonic. *Chin Journal Spectroscopy Lab*. 19: 508-511.
- [33] Institute of Standards and Industrial

Investigation of the effect of marijuana seedling preparation on the level of antioxidant activity and its heavy metals

Zeinali Namdar, N. ¹, Gharekhani, M. ^{2*}

1. Ph.D. Student, Department of Food science and engineering, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food science and engineering, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

(Received: 2019/07/24 Accepted: 2020/05/16)

There are different methods for the preparation of infusions that can affect the properties of these infusions. The usual method for preparing of infusion is a maceration method that is made using boiling water and a filter. The aim of this study was to prepare marjoram infusion and evaluate the effect of the method of maceration and ultrasonic for different times (5 and 15 min) on phenolic compounds, free-radical scavenging capacity (DPPH) and heavy metals (arsenic, lead and Cadmium) in the form of a completely randomized design. The results of data analysis obtained from the experiment showed that the preparation method of infusion had a significant effect on all the parameters of the study. The results showed that the amount of phenolic compounds, free-radical scavenging capacity (DPPH) and heavy metals (arsenic, lead and Cadmium) increased by increasing the time of both processes (ultrasound and maceration). On the other hand, the use of ultrasound waves was found to increase the usefulness of the compounds and also the heavy metals in the marjoram infusion. The total amount of heavy metals measured in this study was less than the standard defined for heavy metals for plant and fruit infusions. Finally, according to the results of this research, it can be stated that using 15 min ultrasound was the best method for making marjoram infusion.

Keywords: Marjoram, Infusion, Ultrasound, Heavy metals, Antioxidant capacity

* Corresponding Author E-Mail Address: m.gharekhani@iaut.ac.ir