بررسی تأثیر عصاره نانو ریزپوشانی شده برگ گزنه در کنترل پایداری اکسایشی روغن سویا

رضا اسماعیل زاده کناری[۱*]، پونه پناهی[۲]

۱- دکتری، دانشیار گروه علوم و صنایع مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

۲- دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ،گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، موسسه آموزش عالی غیر دولتی و غیرانتفاعی خزر محمود آباد، مازندران، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۱)

چکیده

اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها یکی از مهمترین عوامل فساد این ترکیبات هنگام نگهداری به شمار می‌رود که باعث ایجاد بوی تند، طعم نامطلوب و رنگ نامناسب شده و ارزش غذایی و ایمنی محصول را کاهش می دهد. یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و یا حفاظت در برابر آسیب-های ناشی از رادیکال‌های آزاد، استفاده از ضد اکسایندە می باشد.هدف از این مطالعه، بررسی اثر بخشی عصاره نانوریزپوشانی شده برگ گزنه در کنترل پایداری اکسایشی روغن سویا می‌باشد. آزمایش‌ها در کپسول مالتودکسترین: ثعلب (۱:۱) به مقدار ۲۵۰۰ پی پی ام (۵:۱ وزنی/وزنی) و عصاره خالص (۲۵۰۰ پی پی ام) طی دوره نگهداری و به مدت ٤٠ روز انجام شد. نمونه‌های شاهد و تیمار شده با TBHQ، عصاره خالص و ریزپوشانی شده در فواصل زمانی ۸ روزه برای عدد پراکسید، عدد اسید تیوباربیتوریک و پایداری اکسایشی مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج بدست آمده، روغن‌های حاوی عصاره برگ گزنه ریزپوشانی شده، کمترین میزان اکسایش چربی در طی نگهداری را در مقایسه با نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی TBHQ و نمونه‌های حاوی عصاره خالص داشتند. بطور کلی ریزپوشانی با مالتودکسترین: ثعلب می‌تواند به فراهم نمودن فعالیت ضد اکسایشی بالاتر عصاره برگ گزنه در روغن کمک کند.

کلید واژگان: گزنه، نانوریزپوشانی، اکسایش، روغن سویا

[*]مسئول مکاتبات: Reza_kenari@yahoo.com

۱- مقدمه

گزنه با نام علمی *Urtica dioica* L. گیاهی از خانواده Urticaceae می‌باشد به طوری که به عنوان یک گیاه یک ساله و دائمی محسوب می‌شود و با پرزهایی روی برگ‌ها و ساقه‌های آن قابل تشخیص می‌باشد. این گیاه در کشور مراکش، ترکیه، اردن و در ایران در نواحی مرطوب با فراوانی زیاد به ویژه در مناطق شمالی، کرانه‌ی خزر و شمال غربی کشور رشد می‌کند[۱]. برگ‌ها بخش دارویی این گیاه را تشکیل می دهند. گزنه به صورت خوراکی به عنوان یک گیاه مدر، پایین آورنده قند خون و اسید اوریک و به صورت موضعی در درمان برخی از بیماری‌های پوست و مو از جمله اگزما، بیماری‌های التهابی و حتی در درمان ریزش مو مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲].

چربی‌ها و روغن‌ها ترکیبات غذایی با ارزشی هستند که نقش مهمی در سلامت و ادامه حیات انسان داشته است. [۳]اکسیداسیون چربی ها و روغن ها منجر به تشکیل رادیکال های آزاد می شود.. یکی از راه های مقابله با اکسیداسیون چربی ها استفاده از مواد ضد اکسایشی است. ضد اکساینده های سنتزی کارایی بالایی دارند. اما امروزه به دلیل اثرات سمیت و سرطان زایی که دارند لازم است تا با ضد اکساینده های طبیعی جایگزین شوند. عصاره های گیاهی به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی خاصیت ضد اکسایشی دارند و میتوانند در نگهداری محصولات غذایی مورد استفاده قرار بگیرند.از طرفی خوب حل نشدن عصاره ها در روغن و آزاد سازی کنترل نشده فنل های عصاره منجر به کاهش کارایی ضد اکسایشی آن خواهد شد لذا با استفاده از ریزپوشانی این مشکلات تا حدودی حل خواهد شد.[٤].

ریز پوشانی، تکنولوژی به دام انداختن مواد جامد، مایع یا گازی در کپسول‌هایی که محتویات خود را در سرعت‌های کنترل‌شده و تحت شرایط ویژه آزاد می‌کنند، می‌باشد که شامل مراحل تشکیل دیواره اطراف ترکیب زیست فعال، اطمینان از عدم نشت این ترکیبات به بیرون و عدم پوشش ترکیبات نامطلوب در کپسول می‌باشد. جذب کم ترکیبات فنولی در روده، ناپایداری طی فرآیند و نگهداری مواد غذایی در برابر عوامل محیطی از قبیل اکسیژن، حرارت، عوامل شیمیایی و بیولوژیکی، حلالیت کم در آب و طعم تلخ، کاربرد این ترکیبات را در مواد غذایی محدود کرده است که این مشکلات بطور بالقوه می‌تواند با ریزپوشانی بهبود یابد[۵].

در این تحقیق، میزان ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایشی برگ‌های گزنه مورد بررسی قرار گرفت و همچنین اثر ضد اکسایشی عصاره گزنه به طور مستقیم و ریز پوشانی شده در جلوگیری از اکسایش روغن و افزایش پایداری آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه وآماده سازی نمونه‌ها

برگ گیاه گزنه، در اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ از مزارع منطقه دابودشت واقع در شهرستان آمل از استان مازندران جمع آوری شد و سپس برگ‌های آن از ساقه‌ها جدا گردیدند. نمونه‌ها برای رسیدن به وزن ثابت، در آون تحت خلاء در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد تا خشک شدند. نمونه‌های خشک شده، پس از آسیاب پودر شدند در نهایت به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت، در بسته‌های نایلونی بسته‌بندی شده و تا زمان شروع آزمایش در یخچال (با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند [٦]. روغن سویا بدون آنتی اکسیدان از کارخانه روغن رعنا واقع در استان گلستان تهیه شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از درجه تجزیه‌ای برخوردار بودند و از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲- استخراج عصاره با فراصوت

نمونه‌های خرد شده گزنه، به مقدار ده گرم با ۱۰۰ میلی‌لیتر از اتانول: آب (۸۰ درصد) در دمای (٤٥ درجه سانتی‌گراد) و زمان (۲۰ دقیقه) در حمام فراصوت در فرکانس۲۰ کیلو هرتز عصاره‌گیری شدند. سپس محلول‌ها با کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) صاف شده و حلال‌ها با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلاء از محلول عصاره جدا گردید. عصاره حاصله تا زمان انجام آزمایش در یخچال با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد..[۷].

۲-۳- اندازه‌گیری فنول کل عصاره

به منظور اندازه‌گیری ترکیبات فنولی، عصاره ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره (با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۰/۵ میلی-لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) مخلوط شد. پس از مدت۱ تا ۸ دقیقه، ٤ میلی‌لیتر

محلول کربنات سدیم (۷/۵ درصد وزنی/حجمی) به محتوای لوله آزمایش افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن، درون حمام آب با دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد، قرار گرفتند و پس از مدت ۳۰ دقیقه، جذب نوری آن‌ها در طول موج ٧٦٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از معادله خطی، بر مبنای اسید گالیک و به صورت میلی گرم در گرم عصاره محاسبه شد [۸].

۲-٤- اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایندگی عصاره

۲-٤-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH (۲ و۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل)

بدین منظور ۰/۳ میلی لیتر از عصاره گزنه با غلظت‌های مختلف با ۲/۷ میلی لیتر محلول متانولی (٦×١٠^{-٥}) DPPH مخلوط و به مدت ٦٠ دقیقه در دمای اتاق در مکان تاریک نگهداری شده و سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب در ٥١٧ نانومتر قرائت شد. برای نمونه شاهد از تمام ترکیبات و شرایط ذکر شده بدون افزودن عصاره استفاده شد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره در آزمایش با میزان بی رنگ‌کردن محلول بنفش ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل در اتانول مورد سنجش قرار گرفت. میزان مهار رادیکال‌های آزاد، از طریق رابطه (۱)، حاصل شد [۷] و همچنین ضد اکسایندگی سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ پی‌پی‌ام به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

DPPH% = جذب نمونه – جذب DPPH/100×DPPH

۲-٤-۲- قدرت احیاکنندگی آهن FRAP

برای اندازه‌گیری توان ضد اکسایشی احیاء آهن، از روش بنزی و استرین (١٩٩٦) با اندکی تغییر استفاده شد. در لوله آزمایش به مقدار ۰/۰۲ میلی‌لیتر عصاره (با غلظت های مختلف بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) یا محلول استاندارد آبی سولفات آهن (غلظت ۰/۳۷- ۰/۱۸۵ میکرومول)، ۱ میلی لیتر از محلول کاری اضافه و مخلوط شد. مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد[۷]. دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥٩٣ نانومتر توسط محلول کاری گردید و سپس جذب نوری نمونه‌ها قرائت شد. همچنین فعالیت ضد اکسایندگی سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ پی‌پی‌ام به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. بعد از تعیین بهترین غلظت عصاره، این عصاره برای تزریق به روغن و انجام عمل ریزپوشانی مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۵- تهیه کپسول

در این آزمایش، ترکیب مالتودکسترین:ثعلب، به نسبت (۱:۱) به عنوان مواد پوششی دیواره مورد استفاده قرار گرفت. مالتودکسترین به نسبت ۱:۱ با 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 ٢٤ ساعت در یخچال نگهداری شد. عصاره به نسبت (۵:۱) به محلول اضافه و با استفاده از همگن‌ساز اولتراتوراکس با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه هموژن شد. در نهایت برای کاهش بیشتر اندازه ذرات، از دستگاه مولد فراصوت نوع پروپی با تعداد ٦ سیکل، زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها به کار برده شد سپس با خشک کن انجمادی خشک گردید[۱۰]

۲-٦-اندازه کپسول

اندازه‌گیری قطر کپسول‌ها، با استفاده از دستگاه پارتیکل سایز آنالایزر مدل Shimadzu (SALD-2101، ساخت کشور ژاپن) و بر اساس روش تفرق نور لیزر محاسبه گردید. در نهایت، متوسط اندازه ذرات بر اساس میانگین قطر حجمی توسط معادله (۲) محاسبه و کلیه نمونه‌ها در سه تکرار اندازه-گیری شدند.

DD[4,3]=(∑_nidi4)/(∑_nidi3)

به طوری که، n_i تعداد ذرات، d_i قطر میانگین ذرات، و D میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) می باشند[۱۱].

۲-۷- راندمان ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی پلی‌فنول‌ها مطابق روش روبرت و همکاران (۲۰۱۵) تعیین شد[۱۲]. ۲۰۰ میلی گرم ریز پوشینه به ۲ میلی لیتر محلول استخراجی شامل متانول- اسید استیک- آب (به ترتیب به نسبت ۵۰- ۸-٤٢ حجمی/حجمی.حجمی) اضافه شد و به مدت یک دقیقه همزده شد و در ادامه تحت اولتراسوند (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 سانتریفوژکردن در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰

دقیقه انجام گرفت. مقدار ترکیبات فنولی کل در محلول رویی با استفاده از روش فولین سیوکالتو تعیین شد. برای محاسبه مقدار اولیه ترکیبات فنولی، در ابتدا به صورت تئوری مقدار عصاره‌ای که در ۲۰۰ میلی‌گرم ریزپشینه را انتظار داشته داشته محاسبه و سپس مقدار ترکیبات فنولی آن محاسبه و بدست آمد. درصد کارایی کپسوله‌کردن از رابطه زیر محاسبه شد:

مقدار ترکیبات فنولی ریزپوشانی شده/مقداراولیه=EE%
100× ترکیبات فنولی موجود

۲-۸- اندازه‌گیری میزان رهایش

میزان رهایش ترکیبات فنولی نانوریزپوشانی شده در طی شرایط نگهداری روغن، مطابق اسفنجانی و همکاران (۲۰۱۵) بر اساس روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد[۱۳] . بدین منظور ۳ گرم از کپسول با ۳ گرم از فسفات بافر (pH=۷) ترکیب و بعد در ٤٥۰۰ دور در دقیقه، در دمای اتاق و به مدت ۹۰ دقیقه سانتریفوژ شد و سپس فاز پایینی جمع آوری شد. مقدار کل ترکیبات فنولی آن اندازه‌گیری و بر اساس گالیک اسید بیان شد. با استفاده از فرمول زیر میزان رهایش ترکیبات از طریق رابطه ٤ محاسبه شد:

$$\text{درصد رها سازی} = 100 - (C2 \times 100)/C1$$

که در آن C_2 درصد ریزپوشانی‌شدن ترکیبات فاز خارجی و C_1 درصد ریزپوشانی‌شدن ترکیبات فاز داخلی می باشند.

۲-۹- 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 (h_t) طی نگهداری ٤۰ روزه در دمای٦۰ درجه سانتی‌گراد با نمونه اولیه (h_0) مقایسه و میزان ته‌نشینی (S) با رابطه ۵ تعیین شد [١٤].

$$S = (h_0 - h_t)/ h_0 \times 100 \qquad (۵)$$

۲-۱۰- آزمون های روغن

۲-۱۰-۱- اندازه‌گیری عدد پراکسید

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید از روش AOCS به شماره (Cd 8-53) استفاده شد. همراه با نمونه، تیتراسیون شاهد (مخلوط اسیداستیک و کلروفرم بدون روغن) نیز انجام شد. در نهایت عدد پراکسید با استفاده از رابطه ٦ محاسبه شد و بر حسب میلی اکی والان پراکسید در ۱۰۰۰ گرم روغن بیان شد [۱۵].

(٦)

$$PV=(S\times M)\times 1000/g$$

که در آن S حجم تیوسولفات مصرفی بر حسب میلی لیتر، M مولاریته سدیم تیوسولفات و g وزن روغن بر حسب گرم می باشند.

۲-۱۰-۲- اندازه‌گیری عدد اسید تیوباربیتوریک

عدد اسید تیوباربیتوریک مطابق با روش AOCS انجام شد. بدین منظور ۲۰۰ میلی‌گرم روغن در یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری توزین شد. ۱ میلی‌لیتر محلول ۱- بوتانول به نمونه-ها اضافه شد و نمونه‌ها به‌خوبی در آن حل شدند و سپس به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول نمونه به همراه ۵ میلی‌لیتر از واکنش‌گر TBA در لوله مخصوص ریخته شد و با شیکر به‌خوبی بهم زده شدند. سپس لوله‌ها به مدت ۲ ساعت در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر قرائت شد و از طریق فرمول‌های مربوطه بدست آمد [١٦].

$$TBA=(e/d)\times a \qquad (۷)$$

که در آن، e جذب نوری اندازه‌گیری‌شده، d ضخامت سل نوری بر حسب سانتی‌متر و a وزن نمونه بر حسب گرم می-باشند.

۲-۱۰-۳- اندازه‌گیری پایداری اکسایشی روغن

برای تعیین پایداری اکسایشی نمونه‌های روغن از دستگاه رنسیمت استفاده شد. به این منظور از هر تیمار به‌همراه ۲ گرم نمونه روغن در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد مورد آزمایش قرار گرفت. سرعت هوادهی ۲۰ لیتر بر ساعت تنظیم شد. داده‌های حاصله بر حسب طول دوره القا مورد مقایسه قرار گرفتند [۱۷].

۲-۱۱- تجزیــه و تحلیــل آماری

تجزیه تحلیل آماری داده‌های بدست آمده از روش‌های مختلف در این پژوهش با استفاده از مقایسه میانگین آنوای دو طرفه در قالب طرح آزمایشی کاملا! تصادفی و با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد که با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم

افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد. به منظور کاهش خطا کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-تأثیر پیش تیمار فراصوت بر مقدار ترکیبات فنولی عصاره گزنه

در این مطالعه مقدار ترکیبات فنولی عصاره گزنه که با روش فراصوت استخراج شده بود ۲۷٤۸/٦ میلی‌گرم اسید گالیک بر صد گرم عصاره بدست آمد. این نتایج با نتایج قره‌خانی و همکاران (۱۳۸۹)که عصاره برگ گزنه را با حلال‌های مختلف و دو روش مایکروویو و اولتراسوند استخراج نمودند و مقدار آن را ٦٦۱ تا ۳۸۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر صد گرم ماده خشک اعلام نمودند مطابقت ندارد.[۱۸].

Table 1 Total phenol of extract

(Mg Gallic Acid per 100 g of extract)
2748/ 6 ± 79/39

در مطالعه‌ای دیگر اوتلس و یالسین [۱۹] مقدار ترکیبات فنولی عصاره برگ گزنه ۱۹۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم خشک عصاره گزارش شد. اختلاف در نوع گزنه و شرایط عصاره‌گیری می‌تواند دلیل اختلاف در مقادیر بدست آمده در پژوهش ها باشد.

۳-۲- تأثیرغلظت عصاره گزنه بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH

نتایج مربوط به میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره گزنه در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش غلظت عصاره، میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافته است و بین آن‌ها اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت. غلظت ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره گزنه با ۱۰۰ پی‌پی‌ام از ضد اکسایندە سنتزی TBHQ اختلاف معنی دار آماری نداشت و برای تزریق به روغن و فرآیند ریزپوشانی استفاده شد.

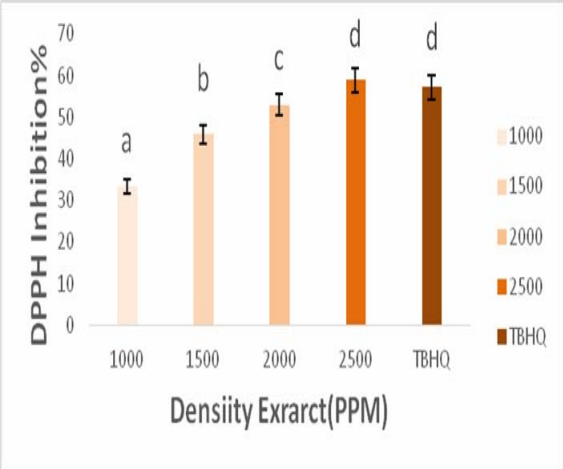

Fig 1 Scavenging of free DPPH radicals

عصاره گزنه به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی، قدرت آنتی رادیکالی بالایی نشان داد. منوترپن‌های فنولیک موجود در عصاره قدرت هیدروژن دهندگی بالایی دارند و توان احیای رادیکال‌های آزاد DPPH را دارا می باشند [۲۰].

۳-۳- تأثیر غلظت عصاره بر قدرت احیاکنندگی آهن FRAP

نتایج مربوط به قدرت احیاکنندگی آهن نمونه‌های مختلف عصاره وضد اکسایندە سنتزی TBHQ در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهده می شود که با افزایش غلظت عصاره برگ گزنه از ۱۰۰۰ به ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام، میزان احیای آهن و فعالیت ضد اکسایشی افزایش یافته است و بین غلظت‌های مختلف از عصاره اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. غلظت ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره گزنه با ضد اکسایندە سنتزی TBHQ اختلاف معنی‌دار آماری نداشت. محققانی از جمله پریماناث و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعات خود بر روی فعالیت ضد اکسایشی عصاره برگ‌های شنبلیله با استفاده از روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و احیای آهن گزارش کردند که با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضد اکسایشی آن افزایش می‌یابد که مطابق با نتایج این پژوهش است[۲۱].

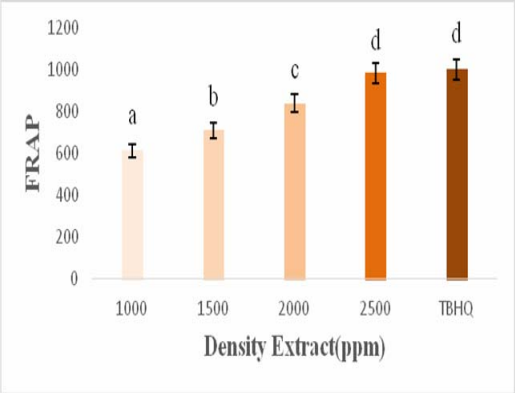

Fig 2 antioxidant properties of FRAP

٤-٣- خصوصیات کپسول

ریزپوشانی از اجزای حساس غذاها طی فرآیند های دمایی، رطوبت، pH محافظت می‌کند، تا زمانی که آن‌ها در سیستم آزاد شوند. از سوی دیگر ریزپوشانی از طعم‌های شدید و ناخواسته‌ای که ترکیبات فنولی در غذاها ایجاد می‌کنند جلوگیری می‌نماید [٢٢]. خصوصیات مختلف کپسول که شامل، اندازه نانوکپسول و راندمان ریزپوشانی نشان داده شده در جدول ٢ می‌باشد در ادامه مورد بحث قرار می‌گیرد.

٥-٣- اندازه نانوکپسول

یکی از مهمترین ویژگی‌های ترکیبات پودری و ریزپوشانی شده، اندازه و توزیع ذرات است. از دو ماده مالتودکسترین و ثعلب برای ساختن دیواره کپسول‌ها استفاده شد. اندازه کپسول یک عامل مهم در تعیین خصوصیات کپسول می‌باشد. اندازه ذرات از طریق محاسبه قطر متوسط قطره که با نماد d43 نمایش داده می‌شود بعد از تولید اندازه‌گیری شد[١١].

نوشاد و همکاران (٢٠١٥) ،اندازه کپسول‌های مالتودکسترین و ایزوله پروتئین سویا را ٧/١٩ تا ٦/٩٥ نانومتر گزارش نمودند که با نتایج پژوهش [٢٣] مطابقت ندارد. رضوی زاده و همکاران (١٣٩٣) ضمن بررسی اثرات ترکیبات مختلف بر اندازه کپسول‌ها گزارش کردند که نوع ترکیبات سازنده کپسول بر اندازه، تاثیر دارد که با نتایج پژوهش [٢٤] مطابقت دارد.

Table 2 Characteristics of capsule

Nanocapsules size (Nm)	Encapsulation efficiency (%)
519.36±17.22	59.81±3.26

٦-٣- راندمان ریزپوشانی

راندمان ریزپوشانی عصاره گزنه با مالتودکسترین و ثعلب برابر 59/81±3/26 درصد بود. نوشاد و همکاران میزان راندمان ریزپوشانی وانیلین در مالتودکسترین و ایزوله پروتئینی سویا را ٥١/٩ درصد گزارش نمودند که با نتایج پژوهش [٢٣] مطابقت دارد. روبرت و همکاران (٢٠١٥) ضمن بررسی اثرات ریزپوشانی عصاره انار با استفاده از مالتو دکسترین و ایزوله پروتئینی سویا، راندمان آن‌ها را به ترتیب ٥١/٤-٨٢/٨٪ و ٥٢/٩-٨٢/٨٪ گزارش نمودند که با نتایج پژوهش[١٢] مطابقت دارد.

عصاره گزنه به میزان ٢٥٠٠ پی‌پی‌ام، به دلیل عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری با ضداکسایندهٔ سنتزی TBHQ صورت خالص و ریزپوشانی شده به روغن سویا بدون ضد اکساینده افزوده شد.

٧-٣- آزمون‌های روغن

١-٣-٧- اندازه‌گیری میزان رهایش

نتایج مربوط به میزان رهایش عصاره از نانوریزپوشانی طی دوره نگهداری در جدول ٣ نشان داده شده است. مشاهده می شود که گذشت زمان نگهداری منجر به افزایش میزان رهایش عصاره شده است و اختلاف معنی دار آماری در روزهای مختلف نگهداری ایجاد شده است. در هنگام نگهداری با گذشت زمان به تدریج تجزیه میکروکپسول ها اتفاق می‌افتد که منجر به آزاد شدن مواد کپسول می‌شود. بتز و همکاران (٢٠١٢) در پژوهش خود در مورد ریزپوشانی آنتوسیانین‌ها اعلام نمودند که تجزیه میکروکپسول منجر به آزاد سازی آنتوسیانین‌ها می‌شود و در نهایت ١٠٠٪ آنتوسیانین‌های موجود در کپسول خارج می‌شوند که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد [٢٥].

Table 3 The release rate of nanoencapsulated extract (%)

During storage	0	8	16	24	32	40
The release rate	4.23a	25.53b	43.38c	61.17d	73.66de	84.32e

Dissimilar lowercase letters indicate significant difference at the level of 5%.

٤-۲- اندازه‌گیری میزان ته‌نشینی

نتایج میزان ته نشینی عصاره ریز پوشانی‌شده طی دوره نگهداری در جدول ٤ نشان داده شده است. مشاهده می شود که با گذشت زمان نگهداری میزان ته نشینی عصاره ریز پوشانی شده افزایش یافته است و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شده است. در روز ۰ و ۸ نگهداری میزان ته‌نشینی صفر بود. در روز ١٦ و ٢٤ نگهداری میزان ته‌نشینی نمونه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشت. بیشترین میزان ته‌نشینی در روز ٤٠ نگهداری مشاهده شد و با روز ٣٢ نگهداری اختلاف معنی دار آماری نداشت.

Table 4 The sedimentation rate of of nanocapsulated extract (%)

During storage	0	8	16	24	32	40
Sedimentation%	0a	0a	4b	6b	13c	14c

Dissimilar lowercase letters indicate significant difference at the level of 5%.

محمدی و همکاران (۲۰۱۵) ضمن بررسی نانوریزپوشانی پلی فنول‌های برگ زیتون گزارش کردند که این ترکیبات طی دوره نگهداری هیچ ته‌نشینی نداشته است که با نتایجی این پژوهش مطابقت ندارد. اختلاف در نوع مواد پوشش می‌تواند دلیلی برای توجیه این عدم تطابق باشد[١٤].

٤-٤-۳- اندازه‌گیری عدد پراکسید

پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون مواد چرب است و به طور کلی هر قدر که درجه غیراشباعی روغن‌ها بیشتر باشد روغن‌ها و چربی‌ها آمادگی بیشتری برای اکسیداسیون دارا می باشند[٢٦]. عدد پراکسید یکی از پارامترهای کیفی و شاخص-های در ارتباط با فساد شیمیایی روغن‌ها محسوب می‌شود و غلظت پراکسیدها و هیدروپراکسیدها را طی دوره نگهداری اندازه‌گیری می کند [٢٧].

نتایج مربوط به تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های مختلف روغن طی دوره نگهداری در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که که در تمام نمونه‌های مورد بررسی با افزایش زمان نگهداری روغن، عدد پراکسید در تمام نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافته است و اختلاف این پارامتر در زمان‌های مختلف نگهداری معنی دار است. نمونه شاهد بالاترین میزان عدد پراکسید را داشت و بجز روز صفر در سایر زمان‌های نگهداری با نمونه‌های حاوی ضد اکسایندە اختلاف معنی دار آماری داشت. در روز ٤٠ نگهداری مقدار عدد پراکسید کاهش یافت. علت کاهش میزان پراکسید برای تیمار شاهد در انتهای دوره ممکن است به دلیل تجزیه هیدروپراکسیدها واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد [٢٨].

در نمونه‌های حاوی TBHQ، عصاره خالص و عصاره ریزپوشانی شده نمونه‌ها تا روز ١٦ نگهداری با هم اختلاف معنی دار آماری نداشتند و بعد از آن اختلاف معنی دار بوجود آمد. کمترین میزان عدد پراکسید به ترتیب در نمونه‌های حاوی عصاره ریزپوشانی شده، عصاره خالص و TBHQ مشاهده شد. کلبادی پور و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی میزان عدد پراکسید در روغن آفتابگردان حاوی عصاره سبوس برنج با غلظت ۸۰۰ پی‌پی‌ام و مقایسه آن با ضد اکسایندە سنتزی TBHQ پرداختند [۲۹]. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد عصاره سبوس برنج به طور موثرتری توانست میزان عددی پراکسید را نسبت به ضد اکسایندە سنتزی TBHQ کاهش دهد. نتایج مطالعه آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی داشت.

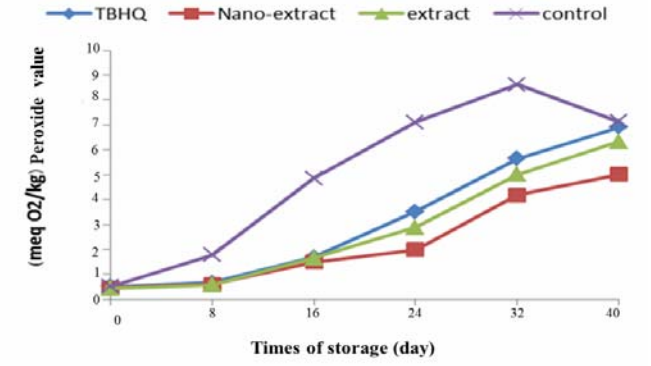

Fig 3 The variations of peroxide value of different samples during storage

این نتایج با نتایج شلبایا و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت. آن‌ها به بررسی اثر ضد اکسایندە برخی از عصاره های پنیرک *Malva Sylvestris* روی اکسیداسیون روغن پنبه دانه پرداختند[۳۰]. نتایج این تحقیق نشان داد که مقادیر پراکسید با گذشت زمان به طور خطی افزایش یافت و مقادیر پراکسید نمونه‌های حاوی ضد اکسایندە سنتزی BHT و عصاره‌های مختلف روغن پنبه دانه به طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های تیمار شاهد بود.

٤-٤-٤- اندازه‌گیری عدد اسید تیوباربیتوریک

نتایج شکل ٤ حاکی از آن است که روند تغییرات این پارامتر در تمام نمونه‌های مورد بررسی افزایشی است و اختلاف معنی دار آماری بین زمان های مختلف نگهداری مشاهده شد به طوری که به جز روز ٨ و ٠ نگهداری که با هم اختلاف معنی دار آماری نداشتند. از نظر اختلاف بین نمونه ها، کلیه نمونه‌ها در روز ٠ با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری نداشتند. در روز ٨ و ١٦ نگهداری نمونه‌های حاوی ضد اکسیانده با یکدیگر نیز اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند. نمونه شاهد در سایر زمان‌ها با نمونه‌های حاوی عصاره اختلاف معنی‌دار آماری داشت. در تمام زمان‌های نگهداری بین نمونه‌های حاوی عصاره خالص و TBHQ از نظر اندیس اسید تیوباربیتوریک اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. نمونه حاوی عصاره ریز پوشانی‌شده کمترین عدد اسید تیوباربیتوریک را داشتند و با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری داشتند.

این نتایج با نتایج میراحمدی و همکاران (١٣٨٤) مطابقت دارد. آن ها ضمن بررسی اثرات ضد اکسایشی عصاره برگ چای و دو ضد اکسیانده سنتزی BHT و BHA گزارش کردند که طی دوره نگهداری عدد اسید تیوباربیتوریک در نمونه‌های روغن افزایش یافت در حالی‌که در نمونه‌های حاوی عصاره این اندیس کمتر از نمونه‌های حاوی ضد اکسیانده های سنتزی بود[٣١].

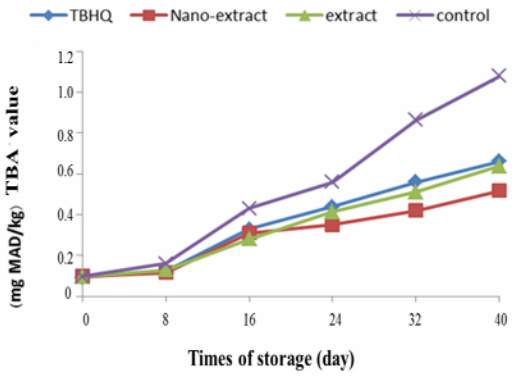

Fig 4 the variations of TBA value during storage

٤-٤-٥- پایداری اکسایشی روغن

پایداری اکسیداتیو روغن، توانایی روغن در مقابل اکسیداسیون بوده و پارامتر مهم در شناسایی شرایطی است که کیفیت محصول در آن حفظ می‌گردد [٧]. نتایج مربوط به تغییرات پایداری اکسایشی نمونه‌های مختلف روغن طی دوره نگهداری در شکل ٥ نشان داده شده است. مطابق شکل طی دوره نگهداری، پایداری اکسایشی در تمام نمونه‌های مورد بررسی کاهش یافته است. کمترین پایداری اکسایشی مربوط به نمونه شاهد بود که در تمام زمان‌های مورد بررسی با نمونه‌های حاوی ضد اکسیانده اختلاف معنی‌دار آماری داشت. در بین نمونه‌های حاوی ضد اکسیانده ، نمونه‌های حاوی عصاره ریز پوشانی شده در انتهای دوره نگهداری، بالاترین میزان پایداری اکسایشی را داشتند و با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی دار آماری داشتند. بین نمونه‌های حاوی TBHQ و عصاره خالص بجز روز ٤٠ نگهداری، در سایر زمان‌ها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نشد. نتایج پژوهش چراغعلی و همکاران (١٣٩٥) پیرامون ریز پوشانی کردن عصاره آبی پوست سبز گردو نشان می دهد که ریزپوشانی عصاره با مقدار برابر منجر به کاهش فعالیت ضد اکسایشی عصاره می شود[٣٢]. همانطور که مشاهده می شود پایداری اکسایشی روغن که تحت تاثیر فعالیت ضد اکسایشی عصاره قرار داشته است در نمونه های ریزپوشانی شده و عصاره آزاد اختلاف معنی دار آماری نداشته است که با نتایج چراغعلی و همکاران (١٣٩٥) مطابقت دارد.

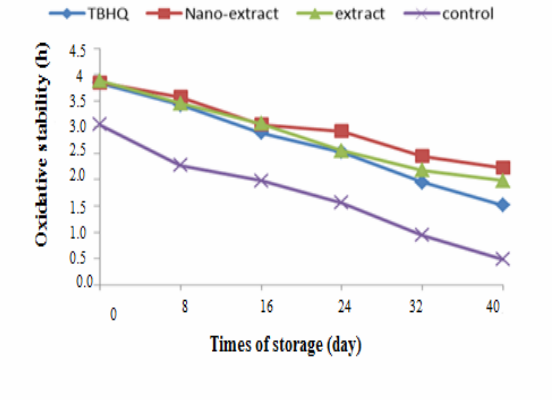

Fig 5 the variations of oxidative stability during storage

٤- نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که استفاده از عمل ریزپوشانی با محافظت عصاره، منجر به افزایش توان ضد اکسایشی عصاره شد و لذا فعالیت ضد اکسایشی این عصاره بالاتر از سایر ضد اکسیانده ها بود و طی مدت نگهداری با رهایش ترکیبات فنولی از کپسول به درون روغن باعث افزایش عمرماندگاری روغن شد. در مجموع نتایج این تحقیق پیشنهاد

می‌کند که با توجه به مضرات ضد اکساینده های سنتزی و اثرات ضد اکسایشی مشابه بین عصاره گزنه به هر دو صورت خالص و ریزپوشانی شده با TBHQ، می‌توان از عصاره ریزپوشانی‌شده گزنه به عنوان یک نگهدارنده طبیعی به منظور افزایش عمر ماندگاری روغن استفاده نمود.

۵- منابع

[1] Modaresi, M., and Resalatpour N. 2012. The Effect of Taraxacum officinale Hydroalcoholic Extract on Blood Cells in Mice. Hindawi Publishing Corporation. 65: 412-416.

[2] Mohammadi, A., Jafari, S.M., Assadpour, E., and Esfanjani, A.F. 2015. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC–pectin complexes and evaluating their release rate. International journal of biological macromolecules, in press.

[3] Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Moza. in model and food systems. Food Chemistry, 105: 57-64.

[4] Noshirvani, N. and Moradi, P. 1394. Extracts and antioxidant effects of green walnut skin powder on the oxidation of sunflower oil. Journal of Nutrition Sciences and Food Industries. 90-72.

[5] Nedovic, V., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarskib, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia Food Science. 1: 1806-15

[6] 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.

[7] Esmaeilzadeh kenari, R., Mohsenzadeh, F. and Amiri, Z., 2014. Antioxidant activity and total phenolic compound of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound assisted extraction methods. Food Science and Nutration, doi;10.1002/fsn3.118

[8] Deladino, L., Anbinder, P.S., Navarro, A.S. and Martino, M.N. 2008. Encapsulation of natural antioxidants extracted from Ilex paraguariensis. Carbohydrate Polymer. 71: 126–134.

[9] Benzie, I.f. and Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power.

[10] Carneiro, H.C., Tonon, RV., Grosso, C.R., 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.

[11]Sadeghian, A., Kadkhodaee, R., Farhoosh, R. koocheki, A. and Najaf Najafi, M. 2013. Inverstigating the effect of whey protein starch conjugate on quality attributes of oil in water emulsion.journal of rifst. 2(2):139152.

[12] Robert, P., Gorena, T., Romero, N., Sepulveda, E., Chavez, J. and Saenz, C .2015. Encapsulation of polyphenols and anthocyanins from pomegranate (Punica granatum) by spray drying. International journal of food science & technology. 45:1386-1394.

[13] Esfanjani AF, Jafari SM, Assadpoor E, 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.

[14] Mohammadi, A., Jafari, S.M., Assadpour, E. and Esfanjani, A.F. 2015. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC–pectin complexes and evaluating their release rate. International journal of biological macromolecules, in press.

[15] AOCS.2004, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.

AOCS Press. Champaign, USA.

[16]AOCS,2009 ,Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS press, Champaign, USA.

[17] Farahosh, R., Mohebb, A. 1393. Solid lipid nanoparticles and their applications in food.Third National Conference on Food Science and Technology, Ghoochan, Islamic Azad University, Quchan.

[18] Gharekhani, E. 1389. Preparation and physical properties of nano-composite heat all aromatic Plyaymyd based on 6FDA, PMDA silica.

[19] Otles, S. and Yalcin, B. 2012. Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle. The ScientificWorld Journal 564367, 1-12.

[20] Hashemi, M.B., Niakousari, M., Saharkhiz, M.J. and Eskandari, M.H. 2012. Effect of Satureja khuzestanica essential oil on oxidative stability of sunflower oil during accelerated storage. Natural Product Research. 26(15): 1458-1463.

[21] Premanath, Ramya, J., Sudisha, N., Lakshmi Devi and Aradhya. S.M. 2011. Antibacterial and Anti-oxidant Activities of Fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) Leaves. 5: 6, 695-705.

[22] Sanchez, V., Baeza R., Galmarini, M., Zamora, M. and Chirife, J. 2011. Freeze-drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. Food Bioprocess Tech. doi: 10.1007/s11947-011-0654-z

[23] Noshad, M., Mohebbi, M. Koocheki, A . Shahidi, F. 2015. Microencapsulation of vanillin by spray drying using soy protein isolate–maltodextrin as wall material. Flavour and Fragrance journal.30: 387-391

[24] Razavizadeh, R. and Tabatabai Pazhoh, Z. 2014.the effect of nanosilver on the activity of antioxidant enzymes in rape (Brassica napus) in vitro, the second congress of Sustainable Agriculture and Natural Resources, Tehran, October Arvand institutions of higher learning, promoting environmental and nature of Iran's support forum

[25] Betz, M. and Kulozik, U. 2011. Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels. Procedia Food Science, 1, 2047–2056.

[26]Aryee, A. N.A.,simpson.B.K.,Phillip,L.E and Cue,R.I.2011.Effect of Temoerature and Time on the stability of salmon skin oil During Storage.J.Am.Oil chem..Soc.45:3244-3249

[27] 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.

[28] Zarenejad F. Peighambardoust H.1392.Functional components and some chemical characteristics changes in cakes fortified with wheat germ , Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, volume 2, Page of153-166

[29] KalbadyPour, A., Esmail-Zadeh, H., and Jalali, R. 2012, antioxidant effect in stabilizing rice bran extract, sunflower oil, the National Conference on Food Science and Technology, Ghoochan, Islamic Azad University, Quchan.

[30] Shelbaya, L.A.M., Sello, A.A.A, Kotp. M.A. Antioxidative Effect of Some Malva Sylvestris Extracts.on Oxidation of Cotton Oil During Heating. The 6th Arab and 3rd International Annual Scientific Conference on: Development of Higher Specific Education Programs in Egypt and the Arab World in the Light of Knowledge Era Requirements

[31] Mir Ahmad, F., Fatemi, h.,Sahari d. 2005. Effect of polyphenols in green tea leaf extract in preventing oxidation of sunflower oil, Food Industry Science Quarterly, 2,4:70-61.

[32] Cheraghali, F., Mirqatday, L., Abadi, SA., Hosseini, M.1395 Compare antioxidant and antimicrobial properties of aqueous extract of green walnut shells before and after microencapsulation. International Journal of Food Industries. 16: 2. 113-124.

Evaluation of the nano-encapsulated extract effect of nettle leaf in controlling the oxidative stability of soybean oil

Esmaeilzadeh Kenari, R. [1*], Pooneh Panahi[2]

1. Ph.D, Associate professor Department of Food Science and Technology, Sari Agriculture and Natural Resource University, Sari, Mazandaran, Iran
2. Master Student, Department of Food Science and Technology, University College of Agriculture and Natural Resource, Khazar institute of Higher Education (Nonprofit-Nongovermental), Mahmoodabad, Mazandaran, Iran

(Received: 2016/12/11 Accepted:2017/01/30)

Oxidation of oils and fats is one of the most important factors when maintenance is corruption of the compounds that cause a pungent odor, taste and color and poor nutritional value and reduce product safety. One of the ways to prevent lipid oxidation or protection against damage caused by free radicals is using antioxidants. The aim of the study is to investigate the effectiveness of nano-encapsulated extract of nettle leaf in controlling the oxidative stability of soybean oil. The experiments were carried out in maltodextrine capsule: salep (1:1) encapsulated (1:5% w/w) and unencapsulated nettle leaf extract (2500 ppm) (NLE) on stability of soybean oil was examined over a storage period of 40 days. The control and the treated oils containing extract and TBHQ were periodically analyzed for peroxide value (PV), thiobarbituric value (TBA) and oxidative stability index (OSI) in priod of 8 days. According to the obtained results, oils containing encapsulated NLE showed the lowest amount of lipid oxidation during storage period compared with the control, and oils containing TBHQ and pure extract. Generally of maltodextrine: salep encapsulation could help to obtain higher antioxidant activity of nettle leaf extract in oils.

Keywords: Nettle, Encapsulation, Oxidation, Soybean oil

[*] Corresponding Author E-Mail Address: