



مقایسه روش استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره چای کوهی (*Stachys lavandulifolia* V.)

و بهینه سازی شرایط تولید عصاره ریزپوشانی شده آن

رضا اسماعیل زاده کناری^{۱*}، زینب رفتنی امیری^۱، علی معتمدزادگان^۱، جعفر محمدزاده میلانی^۱، جمشید فرمانی^۱
رضا فرهمندفر^۱

^۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشکده مهندسی زراعی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، ساری، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۰ کلمات کلیدی: آلژینات، چای کوهی، ریزپوشانی، صمغ عربی، نانوکپسول. DOI: 10.22034/FSCT.19.130.183 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.16.5 * مسئول مکاتبات: Reza_kenari@yahoo.com	در این پژوهش عصاره گیاه چای کوهی با کمک روش های خیساندن، سیال فوق بحرانی، فراصوت، آب زیربحرانی و ماکروویو استخراج شد. بیشترین بازده استخراج (۲۲/۵۵٪) و فنول کل (۸۰/۵۰ mg GA/gDM) در عصاره استخراج شده با کمک فراصوت مشاهده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره ها با ۱۰۰ ppm آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ مقایسه شد که با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. نوع و درصد مواد دیواره (۰، ۵۰ و ۱۰۰)، نسبت عصاره به مواد دیواره (۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۴ درصد وزنی/وزنی) و زمان فراصوت (۲، ۴ و ۶ دقیقه) به عنوان سطوح متغیر مستقل و راندمان ریزپوشانی ترکیبات فنولی، اندازه نانوکپسول و پتانسیل زتا به عنوان پاسخ جهت بهینه سازی شرایط ریزپوشانی عصاره در نظر گرفته شدند. افزایش زمان فراصوت منجر به افزایش راندمان ریزپوشانی و کاهش اندازه کپسول شد. با افزایش نسبت عصاره به مواد دیواره نیز راندمان ریزپوشانی عصاره افزایش و اندازه ذرات کاهش یافت. نوع مواد دیواره بر راندمان، پتانسیل زتا و اندازه کپسول ها تاثیر داشتند. شرایط بهینه برای ریزپوشانی عصاره چای کوهی به صورت ۶ دقیقه فراصوت، نسبت عصاره به دیواره ۰/۴ و مقدار صمغ عربی و آلژینات به ترتیب ۳۰/۳ و ۶۹/۷ درصد بود. در شرایط بهینه راندمان ریزپوشانی ۵۷/۴۳ درصد، پتانسیل زتا ۵۲/۱- میلی ولت و اندازه ذرات ۸۲/۰۶ نانومتر بدست آمد. میزان ته نشینی و رهایش نانوکپسول طی دوره نگهداری افزایشی بود. از نظر ساختاری نانوکپسول عصاره چای ساختاری صاف و بهم پیوسته داشت که با توجه به راندمان بالای ریزپوشانی این نانوکپسول می تواند به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان به مواد غذایی اضافه شود.

۱- مقدمه

چای کوهی با نام علمی (*Stachys lavandulifolia* V.) گیاه شکوفه دار و بومی ایران است که در دامنه کوه‌های ایران می‌روید. این گیاه متعلق به خانواده *Lamiaceae* و راسته *Lamiales* و حاوی ۲۰۰ جنس و ۳۰۰۰ گونه می‌باشد. گل‌های آن به صورت سنبله‌های پنبه مانند و آبی مایل به بنفش است. مهمترین ترکیبات موجود در چای کوهی فلاونوئید، فنیل ۱-اتانوئید گلیکوزید، فنولیک اسید، منوترین، سسکوئی ترپن، دی ترپن و تری ترپن ساپونین می‌باشد [۱]. جهت استخراج عصاره‌های گیاهی روش‌های مختلفی از قبیل خیساندن، استفاده از آب تحت فشار، شیکر، ماکروویو، آب زیر بحرانی، سیال فوق بحرانی و فراصوت وجود دارد. کاستی‌هایی همچون مصرف بالای انرژی و حلال‌های سمی، زمان طولانی استخراج و از بین رفتن ترکیبات زیست فعال توجه به روش‌های استخراج سبز که مصرف حلال و انرژی پائین تری دارند؛ را افزایش داده است [۲، ۳]. عصاره‌های گیاهی به علت حضور ترکیبات مؤثره از جمله پلی‌فنول‌ها از نظر آنتی اکسیدانی بسیار فعال هستند اما ممکن است در اثر برخورد با اکسیژن یا ماده غذایی اثرات سودمند خود را از دست بدهند. محققان سال‌ها کاربرد آنها را برای پایدارسازی روغن‌های خوراکی تحت شرایط نگهداری و حرارت‌دهی مورد بررسی قرار داده‌اند. اما مشکلاتی مانند عدم انحلال عصاره‌ها در روغن به علت ماهیت قطبی‌شان، مصرف مقدار بالایی از عصاره برای رسیدن به پایداری مطلوب و نیز تغییر در رنگ و طعم روغن توجه محققان را به روش‌هایی مثل تولید نانوامولسیون‌ها و نانوریزپوشانی‌ها جلب کرده است [۴]. استفاده از روش‌هایی برای محافظت از آنها به منظور حصول بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی ضروری می‌باشد. ریزپوشانی یا انکپسولاسیون تکنولوژی قرار دادن مواد مختلف مایعات، جامدات و گازها درون یک پوشش هموزن یا هتروژن یا قرار دادن در یک ماده زمینه‌ای پیوسته برای حفاظت، تثبیت می‌باشد [۵]. انکپسولاسیون تکنیکی بسیار مؤثر برای آزاد شدن به موقع و تحت کنترل مواد هسته در زمان معین و با یک نسبت کنترل شده است. معمولاً از کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها برای دیواره یا کپسول با سطح اندازه ذرات میکرو و نانو (ابعاد بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر) استفاده می‌شود [۶، ۷].

موادی که برای دیواره کپسول استفاده می‌شوند باید توانایی

شکل دهی امولسیون و پایدارسازی ترکیبات فعال را طی مراحل اولیه فرآیند دارا باشند. باید به سادگی در غلظت‌های بالای آن جریان یابند و محافظت از ذرات کوچک ترکیبات فعال را تضمین نمایند. [۸]. آلزینات اصطلاح کلی برای پلی ساکاریدهای طبیعی است که از برخی جلبک‌های قهوه‌ای (*Phaeophyceae*) استخراج می‌شود. این پلی ساکارید در ماده زمینه بین سلولی به صورت ژل متشکل از کاتیون‌های مختلف وجود دارد و تا ۴۰ درصد وزن خشک را به خود اختصاص می‌دهد. آلزینات اهمیت تجاری بالایی دارد زیرا کاربردهای مختلفی در تهیه موادی نظیر پایدارکننده‌ها، قوام دهنده‌ها، ژل سازها و عوامل ورقه ساز در منابع مختلف دارد [۹، ۱۰]. صمغ عربی از درخت آکاسیا گرفته می‌شود. یک پلی ساکارید خوراکی، طبیعی، خشک با ساختاری منشعب است که ساختار شیمیایی آن پیچیده و بسته به منبع، شرایط آب و هوا، فصل، سن درخت و ... کمی فرق می‌کند. بدنه اصلی این صمغ از واحدهای ۱۰۳ و ۱۰۴ بتاگالاکتوپیرانوزیل تشکیل شده است. که با اتصال ۱ و ۶ به زنجیره اصلی متصل است. صمغ عربی به راحتی در آب حل می‌شود و محلولی شفاف ایجاد می‌کند، ارزان و در دسترس است [۱۱]. بهینه سازی با استفاده از طرح آماری آزمایشگاهی به میزان زیادی متغیرهای پاسخ را اندازه گیری و بهترین مدل را انتخاب می‌نماید. طرح مرکب مرکزی به میزان زیادی برای بهینه سازی روند فرآیند استفاده می‌شود بسیار کارآمد و انعطاف پذیر است و اطلاعات مناسبی را در مورد اثرات متغیر آزمایش در اختیار می‌گذارد [۱۲]. نتایج بررسی در منابع کتابخانه‌ای نشان می‌دهد تا کنون پژوهشی مبنی بر بررسی تاثیر روش‌های استخراج بر خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره چای کوهی انجام نشده است. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره چای کوهی و بهینه سازی شرایط ریزپوشانی عصاره حاصل با استفاده از آلزینات و صمغ عربی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

اندام‌های هوایی گیاه چای کوهی در فصل بهار و در زمان گلدهی از اطراف کوه های استان مازندران برداشت شد و

نسبت عصاره به مواد پوششی و زمان فراصوت پروب)، سه متغیر وابسته (راندان ریزپوشانی ترکیبات فنولی، اندازه نانوکپسول و پتانسیل زتا)، سه سطح و سه تکرار در نقطه مرکزی طرح (به منظور بررسی تکرار پذیری طرح) استفاده شد. متغیرهای مستقل شامل زمان فراصوت، غلظت عصاره به ماده پوششی و نوع پوشش متغیرهای وابسته شامل راندان ریزپوشانی ترکیبات فنولی، اندازه نانوکپسول و پتانسیل زتا بود. این طرح آزمایش شامل سه سطح فاکتوری کدبندی (۱)، ۰، ۱- است. به طوریکه ۱- مربوط به سطح پایین فاکتور، ۱+ سطح بالا و صفر سطح میانی می باشد که در جدول ۱ نشان داده شده است.

Table 1 The levels of studied variables

The levels of independents factors			Source
+1	0	-1	Independents factors
100	50	0	Wall material (%)
0.4	0.25	0.1	Extract/wall ratio (w/w)
6	4	2	Sonication time (min)

۲-۲-۵-تهیه نانوکپسول

برای نانوریزپوشانی از صمغ عربی و آلزینات به عنوان مواد پوششی دیواره استفاده شد. دیواره پوشش به نسبت مشخص شده 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 فرایند جذب آب به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. عصاره به نسبت های مشخص شده به امولسیفایر اسپن ۸۰ و روغن سویا با نسبت ۱ به ۲ اضافه شد و سپس امولسیون تشکیل شده به فاز آبی یعنی دیواره پوشش اضافه شد. با استفاده از همگن ساز اولتراتراکس با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm در ۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه هموزن - شد تا امولسیون تشکیل شود. سپس برای کاهش بیشتر اندازه ذرات از دستگاه مولد فراصوت نوع پروپی با توان ۱۵۰ وات استفاده شد [۲۱]. سدیم آزید به میزان ۰/۰۲ درصد وزنی/حجمی برای جلوگیری از رشد میکروبها استفاده شد. برای خشک کردن نانو ریزپوشینه ها از روش خشک کردن انجمادی در فشار ۰/۰۱۷ میلی پاسکال در دمای ۵۷- درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد [۲۲].

توسط متخصص گیاه شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی مورد تایید قرار گرفت. روغن سویای بدون آنتی اکسیدان از مجتمع کشت و صنعت شمال تهیه شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در پژوهش دارای درجه تجزیه ای بودند که از شرکت رومیل^۱ انگلستان تهیه شدند.

۲-۲-۲-روش ها

۲-۲-۱-استخراج عصاره

چای کوهی در محیط خشک و تاریک به دور از نور خورشید و در جریان هوا خشک شد. سپس با آسیاب به صورت پودر در آمد و از الک مش ۸۰ (۸۰۰ میکرون) عبور داده شد و تا زمان استفاده در کیسه پلی اتیلنی دو لایه تیره در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. استخراج عصاره با روش های ماسراسیون [۱۳]، سیال فوق بحرانی [۱۴]، فراصوت [۱۵]، آب زیر بحرانی [۱۶] و ماکروویو [۱۷] انجام شد.

۲-۲-۲-بازده استخراج و فنول کل عصاره

بازده استخراج عصاره از اندازه گیری نسبت وزن عصاره خشک شده به وزن ماده اولیه بدست آمد. مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق روش طیف سنجی با معرف فولین- سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بر اساس میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره بیان شد [۱۸].

۲-۲-۳-اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

مهار رادیکال آزاد DPPH [۱۳]، بیرنگ شدن بتاکاروتن؛ لینولیک اسید [۱۹] و احیاء آهن عصاره ها [۲۰] به عنوان آزمون های ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی انجام شد. آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ ppm به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

۲-۲-۴-طراحی آزمایش و بهینه سازی شرایط تهیه

کپسول

طراحی آزمایش، آنالیز نتایج و تعیین شرایط بهینه تهیه کپسول با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM^۲) و نرم افزار Design Expert نسخه ۷ انجام گرفت. در این تحقیق از طرح مرکب مرکزی محوری (Central composite face centered design) با سه متغیر مستقل (نوع مواد پوشش،

1. Romil

2. Response Surface Methodology

۲-۲-۶-راندمان ریزپوشانی و خصوصیات

نانوکپسول‌ها

راندمان ریزپوشانی پلی فنول‌ها مطابق روش روبرت و همکاران (۲۰۱۵) از اندازه گیری نسبت ترکیبات فنولی ریزپوشانی شده به مقدار اولیه ترکیبات فنولی تعیین شد [۲۳]. اندازه کپسول‌ها [۲۴] و پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه انکسار نور لیزر اندازه‌گیری شد [۲۴]. عصاره نانوریزپوشانی شده جهت تعیین شکل با میکروسکوپ الکترونی به وسیله یک لایه نازک رسانا (طلا با قطر ۵۰ نانومتر) پوشانده شدند و با استفاده از نیروی اتمی ساختار مورد بررسی قرار گرفتند [۲۵].

۲-۲-۷-آزمون‌های رهایش و ته نشینی نانوکپسول‌ها

ته نشینی نانوکپسول‌ها پس از افزودن نانوریزپوشینه‌ها به روغن سویا طی ۶۰ روز نگهداری در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد تعیین شد [۲۶]. رهایش ترکیبات فنولی نانوریزپوشانی شده در طی شرایط نگهداری روغن براساس روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد [۲۷].

۲-۳-روش‌های آماری انجام پژوهش

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و آزمون‌های رهایش و ته نشینی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ و سطح معنی داری ۵٪ با استفاده از آزمون آنوای دو طرفه نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. بهینه‌سازی شرایط تهیه نانوکپسول‌های عصاره با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۷ انجام شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-ترکیبات موثره عصاره و بازده استخراج

گیاهان گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به نام متابولیت‌های ثانوی را تولید می‌کنند که توسط انسان به عنوان ترکیب دارویی مصرف می‌شوند. با توجه به اینکه بخش اعظم بازار گیاهان دارویی دنیا، به تولید و عرضه متابولیت‌های ثانوی مشتق از این گیاهان مربوط می‌شود، لذا متابولیت‌های ثانوی گیاهی از ارزش اقتصادی و همچنین ارزش افزوده بسیار بالایی برخوردار هستند و سنتز شیمیایی این متابولیت‌ها معمولاً پیچیده و پرهزینه می‌باشد. ترکیبات فنولی شامل گروه

کثیری از متابولیت‌های ثانوی است که در نتیجه استرس‌های محیطی در گیاهان تولید می‌شوند، توانایی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و دادن الکترون یا هیدروژن به رادیکال‌های آزاد را دارا می‌باشند؛ زیرا دارای گروه‌های هیدروکسیل هستند [۲۸].

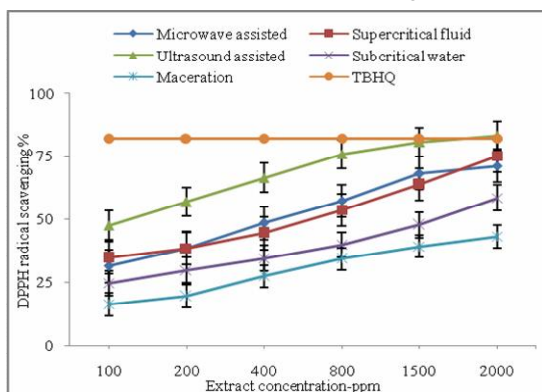
نتایج مربوط به میزان ترکیبات فنولی و بازده استخراج عصاره در جدول ۲ نشان می‌دهد که کمترین میزان ترکیبات فنولی به ترتیب در روش‌های ماسراسیون > آب زیر بحرانی > میکروویو > سیال فوق بحرانی > فراصوت بدست آمد و روش‌های مختلف از نظر میزان ترکیبات فنولی با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری ($P < 0.05$) دارند. رحیمی خویگانی و همکاران (۲۰۱۷) ترکیبات فنولی عصاره متانولی گیاه چای کوهی را ۱۶/۵۹ میلی گرم اسید گالیک بر گرم خشک گیاه محاسبه نمودند که کمتر از مقادیر بدست آمده در پژوهش حاضر است [۲۹]. در پژوهش دیگر خانوی و همکاران (۲۰۰۹) میزان ترکیبات فنولی ۹ گونه از جنس *Stachys* را مورد بررسی قرار دادند و میزان ترکیبات فنولی آنها را ۴/۳۰ تا ۴۴/۵۰ میلی گرم گالیک اسید بر گرم خشک گیاه اعلام نمودند و بالاترین میزان ترکیبات فنولی را به چای کوهی اختصاص دادند [۳۰]. توندیس و همکاران (۲۰۱۵) میزان ترکیبات فنولی چای کوهی ۳۶/۲ میلی گرم گالیک اسید بر گرم خشک عصاره گزارش نمودند [۳۱]. به طور کلی اختلاف در مقادیر بدست آمده در مطالعات دیگر مرتبط با شرایط استخراج عصاره و همچنین منطقه رشد گیاه می‌باشد [۲۹]. آل ابراهیم دهکردی و همکاران (۲۰۰۷) میزان ترکیبات فنولی عصاره چای کوهی که با روش ماسراسیون و حلال اتانول: آب ۷۰٪ استخراج شده بود را ۱۸/۶۱ میلی گرم بر گرم گزارش نمودند. تقی خانی و همکاران (۲۰۱۴) میزان ترکیبات فنولی عصاره چای کوهی را که با روش ماسراسیون و حلال اتانول: آب ۸۰٪ استخراج شده بود را ۴۴۳/۳ میلی گرم اکوی والانت اسید گالیک بر گرم محاسبه نمودند [۳۲]. فراصوت با اعمال تغییرات مکانیکی در دیواره سلول‌های گیاهی نفوذ حلال به داخل سلول گیاهی را سهولت می‌بخشد و منجر به آزاد سازی ترکیبات موجود در گیاه می‌شود. لذا فراصوت به دلیل تخریب سلولی و انتقال جرم کارآمد نقش به سزایی در افزایش ترکیبات فنولی عصاره دارد. بنظر می‌رسد پرتودهی ماکروویو به دلیل افزایش دمای غیر قابل کنترل موجبات لازم برای تخریب حرارتی ترکیبات فنولی را فراهم می‌کند [۳۳].

Table 2 Extraction efficiency and total phenolic content of extracts

Total phenolic content (mg GA/g DM)	Extraction efficiency (%)	Extraction method
54.96 ^c	19.74 ^c	Microwave assisted extraction
63.27 ^b	22.55 ^b	Supercritical fluid extraction
80.50 ^a	25.32 ^a	Ultrasound assisted extraction
39.91 ^d	17.19 ^c	Subcritical water extraction
24.02 ^e	11.48 ^d	Maceration

Different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$)

موثره و فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره استخراج شده به وسیله فراصوت که با سه روش مهار رادیکال آزاد DPPH، ABTS و احیا آهن اندازه گیری شده است؛ بالاتر است که همراستا با نتایج پژوهش حاضر است. به طور کلی در هنگام استخراج با فراصوت ترکیدن حباب‌های مایع اتفاق می‌افتد که در نتیجه آن انتقال جرم ترکیبات موثره از درون بافت‌های گیاهی به حلال و نفوذ حلال به بافت‌های گیاهی با سرعت بیشتری اتفاق می‌افتد [۳۷].

**Fig 1** DPPH radical scavenging of mountain tea extract

در شکل ۲ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی آن که به صورت احیا آهن اندازه‌گیری شده بود افزایش یافته است و اختلاف معنی دار آماری بین غلظت‌های مختلف عصاره استخراج شده ایجاد شده است. بالاترین میزان احیا آهن مربوط به نمونه استخراج شده به کمک فراصوت و پس از آن نمونه استخراج شده به کمک مایکروویو بود. عصاره چای کوهی استخراج شده به وسیله فراصوت در غلظت ۸۰۰ و ۱۵۰۰ ppm با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ اختلاف معنی دار آماری نداشت و در غلظت ۲۰۰۰ ppm فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری بود. رحیمی خوئیگانی و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه چای کوهی را با روش احیا آهن اندازه‌گیری نمودند و

۳-۲- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها

اثرات آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی تنها مرتبط با تغییر در عطر و طعم ماده غذایی نیست بلکه از تغییرات بافتی که در ماده غذایی رخ می‌دهد و همچنین جلوگیری از سرطان، تب و تصلب شراین از دیگر مزایای استفاده از گیاهان دارویی است [۳۴]. ترکیبات آنتی اکسیدانی با DPPH واکنش می‌دهند و تعداد مولکول‌های DPPH با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس برابر می‌شود [۳۵]. با توجه به اینکه رادیکال‌های سنتزی DPPH نمی‌توانند با سوپسترای اکسیژن بیولوژیکی ترکیب شوند. بنابراین اطلاعات دقیق و مشخصی از فعالیت مهار رادیکال‌ها در عصاره نمی‌دهند. به این علت است که برای تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره از روش بتا کاروتن/مولسیون اسید لینولئیک و احیا آهن نیز استفاده شده است [۱۳]. نتایج مربوط به فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های مختلف چای کوهی در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد که روش استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره موثر بوده است. با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی آن افزایش یافته است و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شده است. عصاره چای کوهی که به روش فراصوت و مایکروویو استخراج شدند به ترتیب بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت مهار رادیکال آزاد نشان دادند که عصاره استخراج شده به کمک فراصوت در دو غلظت ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ ppm با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ اختلاف معنی دار آماری نداشت.

چای کوهی حاوی ترکیبات فعال با فعالیت آنتی اکسیدانی مانند فنیل اتانوئید، ترپینوئید و فلاونوئید می‌باشد. از دیگر ترکیبات گیاه می‌توان به میرسن، آلفاپینن، گامامورولن و آگنول اشاره نمود [۳۶]. ژائو و همکاران (۲۰۱۷) روش‌های ماکروویو و فراصوت را در استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه *Millettiaspeciosa* مورد بررسی قرار دادند که نتایج آنها نشان داد میزان ترکیبات

در شکل ۳ مشاهده می‌شود که روند تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره افزایشی است و اختلاف معنی دار آماری بین غلظت‌های مختلف عصاره چای کوهی مشاهده شد. در یک پژوهش توندیس و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره چای کوهی را با روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، بیرنگ شدن بتاکاروتن:لینولیک اسید، احیا آهن و ABTS اندازه‌گیری نمودند و مشخص گردید که بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی رابطه مستقیم وجود دارد بطوریکه عصاره‌ای که ترکیبات فنولی بیشتری دارد فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان داد. همچنین نتایج بدست آمده از روش‌های مختلف اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی تایید کننده یکدیگر بودند [۳۱].

۳-۳- بهینه سازی شرایط ریزپوشانی عصاره

با استفاده از صمغ عربی و آلزینات

ریزپوشانی یکی از روش‌های مهم در نگهداری ترکیبات موثره مورد استفاده در فرآوری مواد غذایی است. با استفاده از این روش پایداری ترکیبات موثره در مواد غذایی افزایش می‌یابد چراکه کپسول باعث محافظت از آنها در محیط ماده غذایی می‌شود [۲۵]. صمغ عربی و آلزینات از متداول ترین مواد دیواره‌ای مورد استفاده در ریزپوشانی مواد مختلف هستند. پلی ساکاریدها به دلیل دارا بودن مقادیر بالای گروه‌های هیدروکسیل و آمینو تمایل زیاد به پیوستگی دارند [۱۲، ۴۰]. مقادیر پاسخ‌های بدست آمده از ریزپوشانی عصاره چای کوهی با استفاده از دیواره‌های صمغ عربی و آلزینات تحت تاثیر زمان فراصوت و نسبت‌های مختلف هسته به دیواره در جدول ۳ نشان داده است. راندمان ریزپوشانی در تیمارهای مختلف برای عصاره چای کوهی در محدوده ۷۸/۸۶-۵۵/۳۹ متغیر است. مشاهده می‌شود افزایش زمان فراصوت در تمام تیمارهای مورد بررسی منجر به افزایش راندمان ریزپوشانی شده است. نوع مواد دیواره‌ای بر راندمان ریزپوشانی عصاره موثر بوده است به طوریکه در شرایط یکسان راندمان عصاره ریزپوشانی شده با آلزینات بیشتر از صمغ عربی است. با افزایش نسبت عصاره به مواد دیواره نیز راندمان ریزپوشانی عصاره افزایش یافت. خصوصیات تشکیل پیوند در پلی ساکاریدها با تغییر در غلظت محلول تغییر می‌کند [۴۱]. محمد و همکاران (۲۰۱۶) بازده انکپسولاسیون پروتئین در پوشش با جنس دیواره آلزینات و صمغ عربی را ۶۲/۳ الی ۸۷/۵ درصد محاسبه نمودند که با

مشخص گردید که عصاره به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است. از سوی دیگر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بالاتر از آنتی اکسیدان سنتزی BHT بود و IC50 عصاره کمتر از BHT بود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر در مورد آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ است [۲۹].

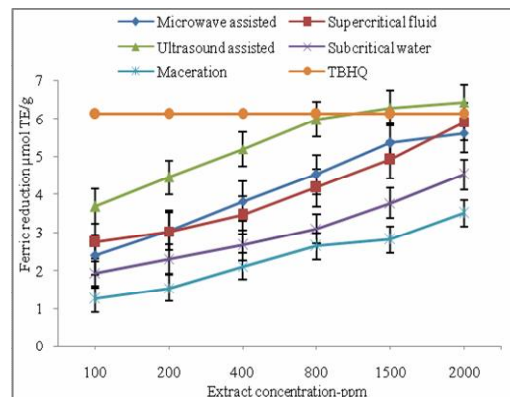


Fig 2 Ferric reduction of mountain tea extract

در پژوهش آل ابراهیم دهکردی و همکاران (۲۰۱۶) نیز فعالیت آنتی اکسیدانی BHT کمتر از عصاره چای کوهی بود [۳۸]. فعالیت بالاتر عصاره چای کوهی نسبت به آنتی اکسیدان‌های سنتزی مرتبط با تعداد گروه‌های هیدروکسیل آنها است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره‌های مختلف یک گیاه که با روش‌های مختلف بدست آمده است با یکدیگر متفاوت است [۳۹]. خانوی و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گونه‌های مختلف *Stachys* را با استفاده از روش احیا آهن مورد بررسی قرار دادند و مشخص گردید که بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره به صورت احیا آهن رابطه وجود دارد و با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره فعالیت آنتی اکسیدانی آن افزایش می‌یابد [۳۰].

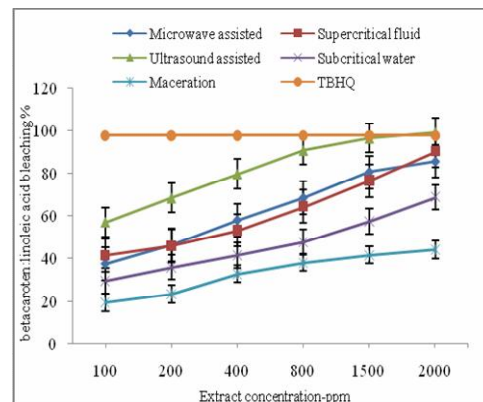


Fig 3 Betacaroten:linoleic acid bleaching of mountain tea extract

نتایج پژوهش حاضر برای عصاره گیاهی همخوانی دارد [۴۲]. اندازه ذرات کپسول در تیمارهای مختلف عصاره چای کوهی در محدوده ۷۹/۷۸-۱۰۱/۶۹ نانومتر بود. افزایش زمان فراصوت در تمام تیمارهای مورد بررسی منجر به کاهش اندازه ذرات شده است. نوع مواد دیواره‌ای بر اندازه ذرات عصاره-های ریزپوشانی شده موثر بوده است به طوریکه در شرایط یکسان اندازه ذرات نانوکپسول عصاره‌های ریزپوشانی شده با آلژینات کوچکتر از صمغ عربی بود. آلژینات‌ها پلی ساکاریدهای طبیعی استخراج شده از دیواره جلبک‌های قهوه‌ای هستند که در دهه‌های گذشته مورد استفاده قرار می‌گرفته‌اند و به دلیل خاصیت بی نظیر خود این قابلیت را دارند که به عنوان حامل‌هایی برای سایر مواد و مخصوصاً عصاره‌ها مورد استفاده قرار بگیرند [۴۲]. با افزایش نسبت عصاره به مواد دیواره نیز اندازه ذرات نانوکپسول کاهش یافت. بار الکتریکی کپسول‌های پلی ساکاریدی بستگی زیادی به میزان پتانسیل زتا آنها دارد. پتانسیل زتا به عنوان پتانسیل الکتریکی موجود در سطح هیدرودینامیکی اطراف کپسول یا ذره است و تعیین کننده حرکت ذرات یا باقی ماندن آنها می‌باشد [۴۳]. مقدار پتانسیل زتا در تیمارهای مختلف برای چای کوهی در محدوده ۵۸/۴۸- میلی ولت تا ۲۷/۴۱- میلی ولت محاسبه گردیده

است. کارنیرو و همکاران (۲۰۱۱) نیز پتانسیل زتا برای محلول آلژینات سدیم را در محدوده ۵۲- تا ۸۲/۲ میلی ولت گزارش نمودند [۴۴]. آلژینات‌ها کopolimerهای پلی آنیونی ساخته شده از گلوکورونیک و مانورونیک اسید هستند (Mohamed et al., 2016). صمغ عربی یک کمپلکس پیچیده پلی ساکاریدی با شاخه‌های متعدد شامل نمک‌های کلسیم، منیزیم و پتاسیم پلی ساکارید است. زنجیره اصلی آن از واحدهای ۳ و ۱ بتادی گالاکتوپیرانوزیل و زنجیره‌های جانبی آن آلفا-آلفال-آرابینوفورانوزیل، آلفا-ال-رامنوپیرانوزیل، بتادی گلوکورونوپیرانوزیل و ۴-امتیل بتادی گلوکورونوپیرانوزیل می‌باشد [۴۵]. گزارشات متعدد نشان می‌دهد صمغ عربی به دلیل ترکیبات سازنده خود به میزان زیادی قابلیت تشکیل کمپلکس با آلژینات را دارد و در سیستم‌های انتقال دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۲]. مشاهده می‌شود افزایش زمان فراصوت در منجر به کاهش پتانسیل زتا شده است. نوع مواد دیواره ای بر اندازه ذرات عصاره‌های انکپسوله شده موثر بوده است بطوریکه در شرایط یکسان پتانسیل زتا نانوکپسول عصاره‌های ریزپوشانی شده با آلژینات کمتر از صمغ عربی بود. با افزایش نسبت عصاره به مواد دیواره نیز پتانسیل زتا کاهش یافت.

Table 3 Treatment designed by response surface methodology and their responses

No	Wall material	Sonication Time (min)	Extract/wall ratio (w/w)	Encapsulation efficiency (%)	Particle size (nm)	Zeta potential (mv)
1	Alginate	4	0.1	65.42	101.69	-49.07
2	Alginate	2	0.25	74.17	98.78	-52.01
3	Alginate	6	0.25	78.02	97.66	-55.72
4	Alginate	4	0.4	78.86	93.03	-58.45
5	Composite	2	0.1	58.83	99.27	-38.42
6	Composite	6	0.1	61.82	95.08	-41.11
7	Composite	4	0.25	63.55	83.04	-43.57
8	Composite	4	0.25	64.19	85.0	-43.81
9	Composite	2	0.4	67.32	81.91	-46.62
10	Composite	6	0.4	73.71	79.78	-47.43
11	Arabic gum	4	0.1	55.39	101.56	-27.45
12	Arabic gum	2	0.25	63.02	101.04	-27.41
13	Arabic gum	6	0.25	65.93	100.75	-27.69
14	Arabic gum	4	0.4	67.01	96.84	-28.17

پس از تجزیه داده ها توسط برنامه دیزاین اکسپرت جهت تعیین بهترین مدل پیشنهادی از میان پنج مدل موجود یعنی Quadratic، cubic، Mean، 2FI و Linear با توجه به جدول تجزیه واریانس مدلی که مقدار Sum of Squares آن دارای اختلاف معنی دار بوده و مقدار Lack of fit آن معنی

دار نشود به عنوان بهترین مدل انتخاب می‌شود. با توجه به این موضوع و پس از بررسی نتایج بدست آمده و مقایسه میان مدل های رگرسیونی نتایج حاکی از آن بود که مدل Quadratic برای کپسول‌های تهیه شده در این پژوهش، دارای اختلاف معنی دار با سایر مدل‌ها بوده است و تنها مدلی است که

بهینه سازی شرایط ریزپوشانی، پتانسیل زتا و اندازه ذرات به صورت زیر می باشد. جاییکه A، درصد صمغ عربی استفاده شده در دیواره، B، نسبت عصاره به مواد دیواره و C زمان سونیکاسیون می باشد. A^2 ، B^2 و C^2 به ترتیب توان دوم متغیرهای درصد صمغ عربی موجود در دیواره، نسبت عصاره به مواد پوششی و توان دوم زمان سونیکاسیون می باشد. اثر متقابل مقدار صمغ عربی اضافه شده در ساختار و نسبت عصاره به پوشش، مقدار صمغ عربی اضافه شده در ساختار و زمان سونیکاسیون و نسبت عصاره به پوشش و زمان سونیکاسیون نیز به ترتیب با AB، AC و BC نشان داده شده است.

$$\begin{aligned} \text{Efficiency} &= +63.87 - 5.64*A + 5.68*B + 2.02*C - 0.45*A*B - 0.23*A*C + 0.85*B*C + 3.83*A^2 - 1.03*B^2 + 2.58*C^2 \\ \text{Zeta potential} &= -43.69 + 13.07*A - 3.08*B - 0.94*C + 2.16*A*B + 0.86*A*C + 0.47*B*C + 2.80*A^2 + 0.11*B^2 + 0.19*C^2 \\ \text{Particle Size} &= +84.02 + 1.13*A - 5.75*B - 0.97*C + 0.99*A*B + 0.21*A*C + 0.51*B*C + 12.41*A^2 + 1.86*B^2 + 3.14*C^2 \end{aligned}$$

شرایط بهینه برای ریزپوشانی عصاره چای کوهی به صورت ۶ دقیقه فراصوت، نسبت عصاره به دیواره ۰/۴ و مقدار صمغ عربی و آلژینات به ترتیب ۳/۳ و ۶۹/۷ درصد بود. در شرایط بهینه راندمان ریزپوشانی ۵۷/۴۳ درصد، پتانسیل زتا ۵۲/۱- میلی ولت و اندازه ذرات ۸۲/۰۶ میلی ولت بدست آمد.

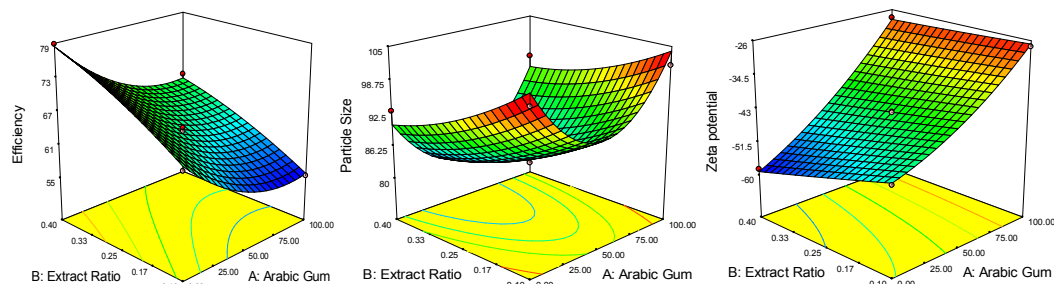


Fig 4 3D diagram of optimization of mountain tea extract microencapsulated in alginate: Arabic gum

خصوصیات آنتی اکسیدانی آنها دارد [۴۷]. نتایج مربوط به میزان رهایش ترکیبات فنولی از نانوکپسول های چای کوهی در شکل ۵ نشان داده شده است. مشاهده می شود روند رهایش ترکیبات فنولی از نانوکپسول ها افزایشی است و با گذشت زمان نگهداری ۶۰ روز میزان رهایش افزایش یافت. محمدی و همکاران (۲۰۱۶) روند رهایش ترکیبات فنولی عصاره برگ زیتون از کپسول های با دیواره کنسانتره پروتئینی آب پنیر و

Lack of fit آن معنی دار نشده است. لذا این مدل جهت بررسی روند تغییرات پارامترهای اندازه گیری شده در این مطالعه انتخاب شد. برای رسم نمودارهای سه بعدی نیز با توجه به کثرت داده ها زمان سونیکاسیون ۴ دقیقه به عنوان Actual Factor در نظر گرفته شد و نمودارها بر اساس نوع پوشش و نسبت عصاره به پوشش ترسیم شدند. همچنین به منظور یافتن شرایط بهینه تولید کپسول راندمان ریزپوشانی در حداکثر مقدار، پتانسیل زتا در محدوده $+30 >$ و $-30 <$ و کپسول ها در حداقل اندازه خود در نظر گرفته شدند. نتایج مربوط به بهینه سازی شرایط ریزپوشانی عصاره چای کوهی ریزپوشانی شده در دیواره آلژینات و صمغ عربی در شکل ۴ نشان داده شده است. کوچکترین اندازه کپسول زمانی بدست آمد که از ۵۰ درصد صمغ عربی و ۵۰ درصد آلژینات در دیواره استفاده شد، عصاره استفاده شده در بیشترین نسبت بود (۰/۴) و زمان سونیکاسیون ۴ دقیقه اعمال شد. بیشترین پتانسیل زتا کپسول زمانی بدست می آید که از ۱۰۰ درصد صمغ عربی در دیواره پوشش استفاده شود، مقدار عصاره استفاده شده در کمترین نسبت باشد (۰/۱). همچنین زمان سونیکاسیون ۲ دقیقه بالاترین پتانسیل زتا را داشت. بیشترین کارایی ریزپوشانی زمانی بدست می آید که از پوشش آلژینات به صورت جداگانه در دیواره کپسول استفاده شود، مقدار عصاره استفاده شده در بیشترین نسبت باشد (۰/۴) و از بیشترین زمان سونیکاسیون (۶ دقیقه) استفاده شود. مدل های پیشنهادی برای

۳-۴- اندازه گیری میزان رهایش و ته نشینی

کپسول ها

ترکیبات فنولی ترکیبات حساسی هستند که بعد از تزریق به سامانه های غذایی به سرعت اثرات خود را ظاهر می سازند، لذا آزاد شدن آنها طی فرآیند نگهداری قابل انتظار است [۴۶]. میزان رهایش ترکیبات فنولی از کپسول ها نقش مهمی بر

همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با گذشت زمان نگهداری ته نشینی افزایش یافته است. درصد ته نشینی نانوکپسول‌ها در روغن طی دوره نگهداری به عوامل متعددی بستگی دارد. اندازه یکی از پارامترهای موثر بر میزان ته نشینی کپسول‌ها می‌باشد. بین اندازه نانوکپسول‌ها و میزان ته نشینی رابطه معکوس وجود دارد. بطوریکه به هر میزان اندازه نانوکپسول‌ها کوچکتر باشد میزان ته نشینی آنها در روغن کمتر است. میزان ته نشینی ذرات به جنس دیواره نانوکپسول‌ها نیز بستگی دارد. با توجه به اینکه دیواره نقش حائل بین عصاره و روغن را دارد؛ پدیده ته نشینی با متلاشی شدن دیواره و فیلم قرار گرفته بر روی امولسیون عصاره مرتبط است. طی دوره نگهداری در واقع بهم پیوستن نانوکپسول‌ها و افزایش بسیار کم در اندازه آنها اتفاق می‌افتد که بخشی از آن مرتبط با جذب رطوبت توسط لایه‌های کپسول می‌باشد [۴۷]. محمدی و همکاران (۲۰۱۶) درصد ته نشینی امولسیون‌های دوگانه عصاره برگ زیتون در پروتئین آب پنیر و پکتین را طی ۲۲ روز نگهداری صفر درصد اعلام نمودند. آنها پایداری و الاستیسیته کپسول‌های با دیواره ترکیبی پروتئین و پلی ساکارید را بیشتر از دیواره‌های تک جنسی اعلام نمودند و ایتراکشن‌های ایجاد شده بین پروتئین و پلی ساکارید را عامل اصلی پایداری کپسول‌ها دانستند [۴۷].

۳-۶- مورفولوژی کپسول بهینه

مورفولوژی کپسول در شکل ۵ نشان داده شده است.

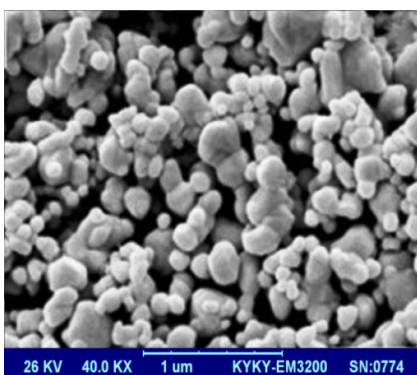


Fig 5 Surface morphology of optimized capsule

نانوکپسول تولید شده ساختاری صاف و یکنواخت داشت و چروک در سطح کپسول مشاهده نشد. پلی ساکاریدها پلیمرهای طبیعی با مقاومت بسیار بالا، تجزیه پذیر و غیر سمی هستند [۵۰]. این ترکیبات به دلیل خصوصیات آبدوستی که دارند

ترکیب پکتین:کنسانتره پروتئینی آب پنیر طی ۲۰ روز نگهداری را افزایشی اعلام نمودند که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است. بین میزان ترکیبات فنولی و درصد رهایش پلی فنول‌ها رابطه وجود دارد بطوریکه هرچه میزان اتصال بین فنول عصاره با دیواره‌های داخلی و فاز خارجی بیشتر باشد رهایش ترکیبات فنولی کمتر اتفاق می‌افتد [۴۷]. دیواره اطراف نانوکپسول‌ها نیز نقش مهمی در میزان رهایش مواد از کپسول‌ها دارد. کالوسویک و همکاران (۲۰۱۷) رهایش عصاره لوبیای سویا سیاه انکپسوله شده در پوشش‌های مالتودکسترین و صمغ عربی را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که با گذشت زمان میزان رهایش ترکیبات عصاره افزایش می‌یابد که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است [۲۵]. هرچه میزان پایداری کپسول‌ها بیشتر باشد، رهایش ترکیبات فنولی از آنها کمتر اتفاق می‌افتد. مکانیسم‌های متفاوتی برای رهایش ترکیبات فنولی از کپسول‌ها یا امولسیون‌ها به درون روغن مطرح شده است که مهمترین آنها جابجایی ترکیبات آبدوست از فاز داخلی به فاز خارجی می‌باشد که در نتیجه فشار اسمزی و متلاشی شدن دیواره کپسول‌ها اتفاق می‌افتد [۴۸]. در اکثر مواقع کپسول‌های با اندازه بزرگتر رهایش ترکیبات فنولی بیشتری دارند که بستگی به جنس دیواره‌ها نیز دارد [۴۷]. بتز و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهش خود در مورد انکپسولاسیون آنتوسیانین‌ها اعلام نمودند که تجزیه میکروکپسول منجر به آزاد سازی آنتوسیانین‌ها طی دوره نگهداری می‌شود و در نهایت ۱۰۰٪ آنتوسیانین‌های موجود در کپسول خارج می‌شوند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد [۴۹].

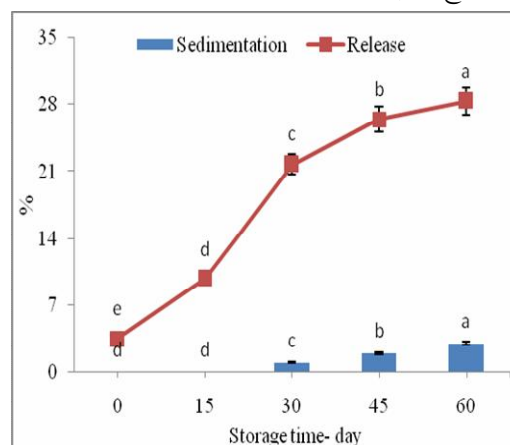


Fig 4 Sedimentation and release of phenolic compound during storage

- 2448-2457.
- [4] Khazaei, K.M., Jafari, S.M., Ghorbani, M. and Kakhki, A.H.(2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate polymers*, 105, 57-62.
- [5] Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. and Bugarski, B.(2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815.
- [6] Esfanjani, A.F., Jafari, S.M., Assadpoor, 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.
- [7] Kenari, R.E. and Razavi, R. (2022). Encapsulation of bougainvillea (*Bougainvilleaspectabilis*) flower extract in *Urtica dioica* L. seed gum: Characterization, antioxidant/antimicrobial properties, and in vitro digestion. *Food Science & Nutrition*, 10(10), 3436-3443.
- [8] Prata, A.S., Garcia, L., Tonon, R.V. and Hubinger, M.D.(2013). Wall material selection for encapsulation by spray drying. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 2(2), 86-92.
- [9] Opasanon, S., Muangman, P. and Namviriyachote, N.(2010). Clinical effectiveness of alginate silver dressing in outpatient management of partial - thickness burns. *International wound journal*, 7(6), 467-471.
- [10] Razavi, R., Kenari, R. E., Farmani, J. Jahanshahi, M. (2020). Fabrication of zein/alginate delivery system for nanofood model based on pumpkin. *International journal of biological macromolecules*, 165, 3123-3134.
- [11] Williams, P.A. and Phillips, G.O.(2009). Introduction to food hydrocolloids. In *Handbook of hydrocolloids* (1-22). Woodhead Publishing.
- [12] Nayak, A.K., Das, B. and Maji, R.(2012). Calcium alginate/gum Arabic beads containing glibenclamide: Development and in vitro characterization. *International journal of biological macromolecules*, 51(5), 1070-1078.
- [13] Esmailzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. and Amiri, Z.R.(2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of

برای ریزپوشانی ترکیبات آبدوست مانند عصاره‌ها مناسبند. نانوکپسول عصاره چای کوهی به علت ساختار بهم پیوسته، کروی و بدون منفذ و همچنین راندمان ریزپوشانی بالا که نشان دهنده محصور شدن عصاره در ساختار آنها است می‌تواند به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار بگیرد.

۴- نتیجه گیری نهایی

در این پژوهش عصاره گیاه چای کوهی با استفاده از روش‌های مختلف استخراج شد و مشخص گردید عصاره استخراج شده با کمک فراصوت بازده استخراج و ترکیبات فنولی بیشتری داشته است. در آزمون‌های ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مذکور بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان داد. شرایط بهینه ریزپوشانی عصاره چای کوهی به صورت ۶ دقیقه فراصوت، نسبت عصاره به دیواره ۰/۴ و مقدار صمغ عربی و آلژینات به ترتیب ۳۰/۳ و ۶۹/۷ درصد بدست آمد. کپسول‌های تهیه شده در شرایط بهینه اندازه نانومتری داشتند و از نظر پتانسیل زتا پایدار بودند. همچنین ساختاری صاف و یکنواخت و راندمان ریزپوشانی بالا داشتند که نشان می‌دهد عصاره در کپسول‌ها به دام افتاده است و این نانوکپسول به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره و همچنین رهایش کنترل شده و ته نشینی پائین می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار بگیرد.

۵- منابع

- [1] Sadrmomtaz, A., Meshkatsadat, M.H. and Taherparvar, P.(2011). Comparison of volatile components of *Stachys lavandulifoliavahl* obtained by MWD and HD techniques. *Dig J NanomaterBiostruct*, 6(3), 1343-1348.
- [2] Kaderides, K., Goula, A.M. and Adamopoulos, K.G.(2015). A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 31, 204-215.
- [3] Razavi, R. and Kenari, R.E. (2021). Antioxidant evaluation of *Fumaria parviflora* L. extract loaded nanocapsules obtained by green extraction methods in oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3),

- type fruits. Trends in foods. *Molecules*, 20(4), 5875-5888.
- [24] 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.
- [25] Kalušević, A., Lević, S., Čalija, B., Pantić, M., Belović, M., Pavlović, V., Bugarski, B., Milić, J., Žilić, S. and Nedović, V. (2017). Microencapsulation of anthocyanin-rich black soybean coat extract by spray drying using maltodextrin, gum Arabic and skimmed milk powder. *Journal of microencapsulation*, 34(5), 475-487.
- [26] Mohammadi, A., Jafari, S.M., Esfajani, A.F. and Akhavan, S.(2016). Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food chemistry*, 190, 513-519.
- [27] Esfajani, A.F. and Jafari, S.M. (2016). Biopolymer nano-particles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, 532-543.
- [28] Rafiee, M., Naseri, L., Bakhshi, D. and Alizadeh, A.(2012). Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and commercial apple varieties in West Azarbaijan province.
- [29] Rahimi Khoigani, S., Rajaei, A. and Goli, S.A.H.(2017). Evaluation of antioxidant activity, total phenolics, total flavonoids and LC-MS/MS characterisation of phenolic constituents in *Stachys lavandulifolia*. *Natural product research*, 31(3), 355-358.
- [30] Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A. and Oveisi, M.R.(2009). Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some *Stachys* species. *African Journal of Biotechnology*, 8(6).
- [31] Tundis, R., Bonesi, M., Pugliese, A., Nadjafi, F., Menichini, F. and Loizzo, M.R. (2015). Tyrosinase, acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory activity of *Stachys lavandulifolia* Vahl (Lamiaceae) and its major constituents. *Records of Natural Products*, 9(1), 81.
- [32] Taghvaei, M., Jafari, S.M., Mahoonak, A.S., Nikoo, A.M., Rahmanian, N., Hajitabar, J. and Meshginfar, N.(2014). The effect of natural antioxidants extracted from Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food science & nutrition*, 2(4), 426-435.
- [14] Goli, A.H., Barzegar, M. and Sahari, M.A.(2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food chemistry*, 92(3), 521-525.
- [15] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P. and Mason, T.J.(2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics sonochemistry*, 11(3-4), 261-265.
- [16] Roudsari, M.H.(2007). *Subcritical water extraction of antioxidant compounds from canola meal* (Doctoral dissertation).
- [17] Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, K., Onishi, K. and Azuma, J.I. (2010). Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, 123(2), 542-547.
- [18] Mc Donald, K. and Sun, D.W. (2001). Effect of evacuation rate on the vacuum cooling process of a cooked beef product. *Journal of Food Engineering*, 48(3), 195-202.
- [19] Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J.A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562.
- [20] Benzie, I.F. and Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- [21] 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(4), 443-451.
- [22] 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.
- [23] Robert, P. and Fredes, C.(2015). The encapsulation of anthocyanins from berry-

- Carbohydrate Polymers*, 82(1), 153-159.
- [42] Mohamed, H.N., Mustafa, S., Fitrianto, A. and Manap, Y.A.(2017). Development of alginate–gum arabic beads for targeted delivery of protein.
- [43] McConaughy, S.D., Stroud, P.A., Boudreaux, B., Hester, R.D. and McCormick, C.L. (2008). Structural characterization and solution properties of a galacturonate polysaccharide derived from Aloe vera capable of in situ gelation. *Biomacromolecules*, 9(2), 472-480.
- [44] Carneiro-da-Cunha, M.G., Cerqueira, M.A., Souza, B.W., Teixeira, J.A. and Vicente, A.A.(2011). Influence of concentration, ionic strength and pH on zeta potential and mean hydrodynamic diameter of edible polysaccharide solutions envisaged for multilayered films production. *Carbohydrate polymers*, 85(3), 522-528.
- [45] Gils, P.S., Ray, D. and Sahoo, P.K. (2010). Designing of silver nanoparticles in gum arabic based semi-IPN hydrogel. *International journal of biological macromolecules*, 46(2), 237-244.
- [46] McGhie, T.K. and Walton, M.C.(2007). The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Molecular nutrition & food research*, 51(6), 702-713.
- [47] 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.
- [48] Bonnet, M., Cansell, M., Berkaoui, A., Ropers, M.H., Anton, M. and Leal-Calderon, F.(2009). Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 92-101.
- [49] Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mäder, K., Richling, E. and Kulozik, U.(2012). Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*, 47(1), 51-57.
- [50] Liu, Z., Jiao, Y., Wang, Y., Zhou, C. and Zhang, Z.(2008). Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1650-1662.
- plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT-Food Science and Technology*, 56(1), 124-130.
- [33] Yang, L., Jiang, J.G., Li, W.F., Chen, J., Wang, D.Y. and Zhu, L.(2009). Optimum extraction process of polyphenols from the bark of *Phyllanthus emblica* L. based on the response surface methodology. *Journal of separation science*, 32(9), 1437-1444.
- [34] Gupta, V.K. and Sharma, S.K.(2006). Plants as natural antioxidants.
- [35] Jun, X., Deji, S., Ye, L. and Rui, Z.(2011). Comparison of in vitro antioxidant activities and bioactive components of green tea extracts by different extraction methods. *International Journal of Pharmaceutics*, 408(1-2), 97-101.
- [36] Meshkatsadat, M.H., Sajjadi, S.E. and Amiri, H.(2007). Chemical constituents of the essential oils of different stages of the growth of *Stachys lavandulifolia* Vahl. from Iran. *Pak J Biol Sci*, 10(16), 2784-6.
- [37] Zhao, Z., Liu, P., Wang, S. and Ma, S.(2017). Optimization of ultrasound, microwave and Soxhlet extraction of flavonoids from *Millettia speciosa* Champ. and evaluation of antioxidant activities in vitro. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 1947-1958.
- [38] Alebrahim-Dehkordy, Elahe. and Rafieian-Kopaei, Mahmoud. and Bahmani, Mahmoud. and Abbasi, Safieh. (2016). *Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content, and antibacterial effects of Stachys lavandulifolia* Vahl. Flowering shoots gathered from Isfahan. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 9 (4). 3403-3408.
- [39] Baradaran, A., Nasri, H., Nematbakhsh, M. and Rafieian-Kopaei, M.(2014). Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of Aloe Vera on gentamicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *La clinicatrapeutica*, 165(1), 7-11.
- [40] Burchard, W.(2001). Structure formation by polysaccharides in concentrated solution. *Biomacromolecules*, 2(2), 342-353.
- [41] Carneiro-da-Cunha, M.G., Cerqueira, M.A., Souza, B.W., Carvalho, S., Quintas, M. A., Teixeira, J. A. and Vicente, A. A.(2010). Physical and thermal properties of a chitosan/alginate nanolayered PET film.



Evaluation of extraction method on antioxidant activity of mountain tea (*Stachys lavandulifolia* V.) extract and optimization condition of encapsulated extract production

Esmailzadeh Kanari, R.^{1*}, Raftani Amiri, Z.¹, Motamedzadegan, A.¹,
 Mohammadzadeh Milani, J.¹, Farmani, J.¹, Farahmandar, R.¹

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

ABSTRACT

In this study, extracts of mountain tea were obtained by maceration, supercritical fluid, ultrasound assisted, subcritical water and microwave. The highest extraction efficiency (22.55%) and total phenolic content (80.50 mg GA/g DM) was observed in extract obtained via ultrasound assisted extraction. Antioxidant activity of different concentrations of extracts was compared with 100 ppm TBHQ synthetic antioxidant and an increased in concentration of extract increased antioxidant activity. Type and percentage of wall materials (0, 50 and 100), the ratio of extracts to wall materials (0.1, 0.25 and 0.4 w/w), and sonication time (2, 4 and 6 min) as independent variable levels and encapsulation efficiency of phenolic compounds, particle size of nanocapsule and zeta potential were considered as a response to optimization of encapsulation conditions of the extract. An increase in sonication time resulted in increased encapsulation efficiency and decreased particle size of capsule. As the ratio of extract to wall materials increased, the encapsulation efficiency of extract increased and particle size decreased. Type of wall materials has effect on encapsulation efficacy, zeta potential, and particle size of capsule. The optimum conditions for encapsulating of mountain tea extract were 6 min ultrasound; the ratio of extract to wall 0.4 and the amount of Arabic gum and alginate were 30.3% and 69.7% respectively. In optimum conditions, the encapsulation efficiency, Zeta potential and particle size were 57.43%, -52.1 mV and 82.06 nm. The amount of sedimentation and release of extract during the storage period was increasing. Nanocapsule has a smooth and interconnected structure that due to high encapsulation efficiency this nanocapsule can be added to food as an antioxidant compound.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2019/ 05/ 06
 Accepted 2019/ 09/ 01

Keywords:

Alginate,
 Mountain tea,
 Encapsulation,
 Gum Arabic,
 Nanocapsule.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.183
 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.16.5

*Corresponding Author E-Mail:
 Reza_kenari@yahoo.com