مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۲ شماره ۳/ سال ۱۴۰۱/ صفحات ۲۹ تا ۶۰
DOI: 10.22034/FR.2022.42566.1770

# مقایسه اثربخشی عصاره نانوریزپوشانی شده با صمغ های کیتوزان، قدومه شیرازی و کیتوزان-قدومه شیرازی با عصاره آزاد برگ گیاه پونه (*Mentha pulegium*) بر پایداری اکسایشی روغن سویا در شرایط گرمخانه گذاری ۱۸ روزه

**حورا طریقتی[۱]، زینب رفتنی امیری[۲]* و رضا اسماعیل زاده کناری[۲]**

تاریخ دریافت: ۹۹/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۱/۱۶

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
* مسئول مکاتبه: Email: zramiri@gmail.com, z.raftani@sanru.ac.ir

**چکیده**

**زمینه مطالعاتی**: افزودن عصاره گیاه پونه ریزپوشانی شده به روغن سویا می تواند منجر به افزایش پایداری اکسایشی روغن نسبت به عصاره آزاد در طی نگهداری شود. **هدف**: مقایسه نانوامولسیون‌های ریزپوشانی شده با پوشش‌های کیتوزان، قدومه شیرازی و کیتوزان: قدومه شیرازی (۱:۱) با عصاره آزاد(۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام) در پایداری اکسایشی روغن سویا طی گرمخانه گذاری ۱۸ روزه، هدف این مطالعه بود. **روش کار**: آزمون های مرتبط با محتوای فنولی، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و پایداری اکسایشی بر روی عصاره‌ها انجام شد. امولسیون اولیه با پوشش‌دهی عصاره با روغن سویا و به کمک توئین ۸۰ (۵ :۶۲:۳۳) و امولسیون ثانویه با پوشش امولسیون اولیه با صمغ های مذکور(۱: ۳ ) تشکیل گردید. اثر آنتی‌اکسیدانی تیمارها در روغن سویا در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد و طی ۱۸ روز گرمخانه گذاری و با سنجش های پایداری اکسایشی بررسی شد. **نتایج**: بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به تیمار ۱۰-۵۰ در غلظت ۵۰۰ پی پی ام عصاره بود ($p<0/05$). در پایان دوره گرمخانه‌گذاری، روغن حاوی عصاره نانوریزپوشانی شده با پوشش ترکیبی قدومه شیرازی:کیتوزان نسبت به پوشش های کیتوزان و قدومه شیرازی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام ، پایداری اکسایشی بیشتری( با عدد پراکسید ۴۸/۰۰ میلی اکی‌والان در کیلوگرم روغن ، اندیس تیوباربیوتیک اسید ۰/۶۱ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن و دی ان مزدوج ۴۳/۶۴ میلی مول در لیتر) را از خود نشان داد که با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ[۱] اختلاف معنی داری نداشت ($p>0/05$). نانوریزپوشانی عصاره با پوشش ترکیبی، بیشترین رهایش ترکیبات فنولی را طی زمان داشت (از ۳۴/۱۵ به ۶۴/۸۹ میلی گرم بر کیلوگرم). **نتیجه گیری نهایی**: نانوریزپوشانی عصاره برگ گیاه پونه در پوشش ترکیبی صمغ قدومه شیرازی:کیتوزان به نسبت ۱:۱ و با غلظت ۵۰۰ پی پی ام می تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده واقع شود.

**واژگان کلیدی**: عصاره پونه، کیتوزان، قدومه شیرازی، روغن سویا، نانوامولسیون

[1] Tert-butyl hydroquinoe

**مقدمه**

امروزه روغن‌های گیاهی به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیر اشباع مورد توجه زیادی واقع شدند. یکی از این روغن‌های با اهمیت، روغن سویا است که در دسته ی روغن‌های گروه اسید لینولئیک می‌باشد. روغن سویا با توجه به پروفیل اسیدهای چرب آن (اسید لینولنیک جز خانواده امگا ۳، اسید لینولئیک جز خانواده امگا ٦ و اسید اولئیک جز خانواده امگا ۹) و نیز مقادیر نسبتا بالای دلتا و گاما توکوفرول (خاصیت آنتی اکسیدانی) از لحاظ تغذیه‌ای نیز با اهمیت است، اما از طرفی روغن‌های گروه اسید لینولئیک به اکسیداسیون حساس هستد و پایدارسازی این روغن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (فرهمندفر ۱۳۹۱). امروزه عصاره‌های گیاهی غنی از آنتی اکسیدان، به عنوان منبعی از مواد غذایی به کار می رود که به کاهش تنش اکسیداتیو و در نتیجه ممانعت و تاخیر در ابتلا به بیماری ها موثر است. گیاه پونه با نام علمی *Mentha pulegium*، یک گیاه دارویی از خانواده *Labiatae(Lamiaceae)* است که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد (پناهی و اسماعیل زاده کناری ۱۳۹۷؛ کامکار و همکاران ۲۰۱۰). همانطور که در جدول ۱ نیز آورده شده است، عصاره آن حاوی استرهای اسیدهای فنولیک ومشتقات فلاونوئید و فلاونوئیدهای گلوکوزیدی هیدروکسیله شده در جایگاه ۳ و ٥ می باشد (تریانتافیلو و همکاران ۲۰۰۱). با توجه به وجود اسیدهای فنولیک، پونه غنی از اسید کافئیک و مشتقات آن، اسید رزمارینیک و کلروژنیک می باشد که طبق آخرین آمار ٦۰ تا ۸۰ درصد از کل ترکیبات فنولی را شامل می شدند ( برهمی و همکاران،۲۰۱۷ ).

روش اولتراسونیک برای استخراج سریع ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی و نیز به دلیل جلوگیری از تخریب آن‌ها در حین فرآیند، کارایی بالاتر، کاهش زمان عصاره‌گیری و کاهش مصرف حلال متداول تر از دیگر روش های استخراج می‌باشد. (آزوانیدا و همکاران ۲۰۱۵؛ چن و همکاران ۲۰۰۷).

انکپسولاسیون یا ریزپوشانی، فرآیندی برای به دام انداختن عوامل فعال درون مواد حامل و کمک به رساندن این مواد به مواد غذایی هدف می‌باشد که تکنیکی بسیار کارآمد برای رها سازی به موقع و تحت کنترل مواد هسته در زمان معین و در یک نسبت کنترل شده است (اژیلارسی و همکاران ۲۰۱۳). احمد و همکاران (۲۰۲۰) با مطالعه بر روی نانوریزپوشانی عصاره فنولی تفاله سیب و انگور در کیتوزان و پروتئین سویا نشان دادند که راندمان ریزپوشانی در پوشش پروتئین سویا ۹۵٪ و در کیتوزان ۷۵٪ بود و خاصیت آنتی اکسیدانی این عصاره ها در این پوشش ها حفظ گردید.

موادی که برای پوسته‌ی انکپسوله کردن استفاده می-شود باید درجه غذایی، زیست تجزیه‌پذیر و دارای قابلیت تشکیل حائل میان فاز داخلی و محیط اطراف باشد. در این میان، پلی‌ساکارید ها کاربرد گسترده‌ای دارند ولی پروتئین ها و لیپیدها نیز مناسبند.

کیتوزان نوعی پلی ساکارید کاتیونی با ویژگی های عملکردی مناسب و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متنوع جهت استفاده به عنوان پوشش دیواره می باشد (یوسفی و همکاران ۲۰۱۹). دانه ی قدومه شیرازی با نام علمی *Allysum homolocarpum* از جمله دانه های بومی کشورمان است که حاوی مقادیر بالای صمغ بوده و با توجه به مصارف سنتی خوراکی، از پتانسیل بالایی جهت تولید هیدروکلوئیدهای غذایی برخوردار (رضوی و همکاران ۲۰۰۷) و محلول این صمغ آنیونی دارای ویسکوزیته بالا می باشد ( خوش اخلاق و همکاران ۲۰۱۷). برای ریزپوشانی مواد غذایی، روش‌های مختلفی وجود دارد که خشک کردن انجمادی یکی از رایج‌ترین روش‌ها به خصوص برای مواد حساس به حرارت است زیرا نسبت به سایر تکنیک ها که در دمای بالاتر انجام می شوند، موجب وارد شدن آسیب کمتری به ماده می-شود و عمدتا عطر، طعم و سایر مواد مغذی بدون تغییر باقی می‌مانند (بالستروز و همکاران ۲۰۱۷؛ دسوبری و همکاران ۱۹۹۷).

هدف اصلی پژوهش حاضر، استخراج عصاره گیاه پونه به روش اولتراسوند و ریزپوشانی این عصاره با پوشش‌های کیتوزان و صمغ قدومه شیرازی (به صورت مستقل و در ترکیب با هم با نسبت ۱:۱) بود که در نهایت اثر نانوریزپوشانی شده‌ها در مقایسه با عصاره‌های آزاد در کنترل اکسایش روغن سویا مورد بررسی قرار گرفت.

**جدول ۱- ترکیبات عصاره گیاه *Mentha pulegium*( برهمی و همکاران ۲۰۱۷ )**

**Table 1- compounds of *Mentha pulegium*'s extract**

| Class of compounds | Identified compounds |
|---|---|
| **Phenolic acids** | Rosmarinic acid |
| | Veratric acid |
| | Vanillic, homovanillic, hydroxybenzoic, syringic, 4-hydroxy cinnamic, trans-hydroxy cinnamic, 2-hydroxy cinnamic, and ferulic acids |
| | Gallic acid |
| | Protocatechuic acid |
| | Gallic, chlorogenic, caffeic, vanillic, syringic, *p*-coumaric, ferulic, and rosmarinic acids |
| | Protocatechuic and vanillic acids |
| | 4-Hydroxy benzoic, caffeic, *p*-coumaric, chlorogenic, and rosmarinic acids |
| **Flavonoids** | Diosmetin, diosmin, diosmin-7-glucoside |
| | 6,4′-trihydroxy-7,3′-dimethoxyflavone |
| | 5-Desmethoxynobiletin, 5,6-dihydroxy-7,8,3′,4′-tetramethoxyflavone, thymonin, sideritiflavone |
| | 5-Hydroxy-3′,4′,6,7-tetramethoxyflavone and thymonin |
| | Naringenin, luteolin |
| | Apigenin, rutin, catechin |
| | Chrysoeriol, 5, 6-dihydroxy-7, 8, 3′, 4′-tetramethoxyflavone and nodifloretin |
| | Rutin, quercetin, luteolin |
| **Lignans** | Spicatolignan A and spicatolignan B |

## مواد و روش ها

### جمع آوری و آماده سازی برگ گیاه پونه

گیاه پونه (*Mentha pulegium*) از روستاهای اطراف شهرستان ساری جمع‌آوری گردید و پس از تمیز نمودن، برگ هایش، در دمای اتاق و سایه به مدت ٤ روز تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد (کامکار و همکاران ۲۰۱۰). برگ های خشک شده توسط آسیاب برقی، پودر و از الک با مش ٤٠ عبور داده شدند. در نهایت در بسته های نایلونی زیپ دار جهت جلوگیری از نفوذ رطوبت و در پوشش ثانویه ی آلومینیومی برای ممانعت از عبور نور، بسته بندی و تا زمان انجام آزمایش در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (علیخانی فرادنبه و همکاران ۱۳۹۷: مقصودلو و همکاران ۲۰۱٦).

### استخراج عصاره برگ گیاه پونه به کمک پروب فراصوت

۱۰ گرم از پودر برگ گیاه پونه با ۱۰۰ میلی لیتر از حلال اتانول–آب (۵۰:۵۰) در دمای ٤٠ و ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان ۱۰ و ۲۰ دقیقه، تحت امواج فراصوت با قطر پروب ۰/۵ سانتیمتر، فرکانس ۲۰ کیلوهرتز و شدت ۷۵ عصاره گیری شد. سپس محتویات حاصل به مدت ۱۵ دقیقه و دور ٤٠٠٠ rpm سانتریفیوژ شده و محلول رویی از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ توسط قیف بوخنر پمپ تحت خلا عبور داده شد. در ادامه عصاره ی صاف شده حاوی

حلال به پلیت های شیشه ای منتقل شد و در آون تحت خلا در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد، تا تبخیر حلال و رسیدن به وزن ثابت نگهداری شد. عصاره ی خشک شده تا زمان آزمایش در دمای ١٨- درجه سانتیگراد نگهداری شد (روحانی و همکاران ١٣٩٤؛ قربانی و همکاران ١٣٩٦).

محاسبه راندمان استخراج

بازده استخراج هر کدام از عصاره‌های مذکور، از فرمول زیر بدست آمد (دلفانیان و همکاران ٢٠١٦):

$$\text{راندمان استخراج} = \frac{\text{وزن عصاره خشک}}{\text{وزن گیاه اولیه } (20 \text{ گرم})} \times 100$$

**اندازه گیری محتوای فنولی عصاره های برگ گیاه پونه**

میزان کل ترکیبات فنولی عصاره به روش فولین-سیوکالتیو اندازه گیری می‌شود. در این روش معرف فولین [1] در حضور ترکیبات فنولی در محلول قلیایی، احیا و رنگ آبی در محلول تولید می‌شود. برای این منظور ابتدا یک میلی‌گرم از عصاره را در حلال خود تهیه و ٠/٥ میلی‌لیتر از هر نمونه را با ٢ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات ٧/٥٪ و ٢/٥ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو ١٠ بار رقیق شده مخلوط شد و برای انجام واکنش به مدت ٣٠ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در پایان، جذب نوری نمونه‌ها توسط اسپکتروفوتومتر در ٧٦٠ nm خوانده و به صورت میلی‌اکی والان گالیک اسید در گرم عصاره خشک بیان شد (ساویز و همکاران ٢٠١٥).

**بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با آزمون مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH)[2]**

در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از DPPH به عنوان معرف استفاده شد. برای این منظور ٠/٣ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت‌های مختلف (٥٠، ١٠٠، ٣٠٠، ٤٠٠، ٥٠٠، ٦٠٠، ٧٠٠، ٨٠٠ و ١٠٠٠ ppm ) را با ٢/٧ میلی‌لیتر از محلول رادیکال DPPH با غلظت ٠/٠٠٤ گرم در ١٠٠ سی سی متانول مخلوط کرده و کاهش رادیکال DPPH نمونه‌ها بعد از ٣٠ دقیقه تاریک خانه گذاری در دمای معمولی اتاق، از طریق پایش جذب در ٥١٧nm با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در این آزمون TBHQ (١٠٠ ppm) به جهت اهمیت و کاربرد گسترده‌ای که در صنایع غذایی دارد به عنوان استاندارد برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی با عصاره‌ها استفاده شد و اثر مهارکنندگی به صورت درصد بیان شده و از معادله زیر محاسبه گردید: (گویمارائس و همکاران، ٢٠١٠)

$$\text{Scavenging Effect\%} = (A_{DPPH} - A_S / A_{DPPH}) \times 100$$

در این فرمول $A_{DPPH}$ جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره می‌باشد نشان می دهد و $A_s$ میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان می‌کند.

شاخص پایداری اکسایشی (OSI)[3]

برای تعیین پایداری اکسایشی از دستگاه رنسیمت استفاده شد. برای این منظور، نمونه با غلظت ٥٠٠ ppm (غلظت بهینه با بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در این مطالعه) در روغن تهیه شد. برای هر آزمون ٣ گرم از هر نمونه روغنی مورد نیاز است. دما و سرعت جریان هوا در این دستگاه به ترتیب ١٢٠ درجه سانتیگراد و ١٥ لیتر بر ساعت تنظیم شد (فرهوش و موسوی، ٢٠٠٧).

**آماده سازی محلول های پلیمری**

**آماده سازی محلول کیتوزان**

محلول کیتوزان توسط حل کردن پودر کیتوزان در اسید استیک ١٪، بر روی هم زن مغناطیسی در دمای اتاق به مدت ١ ساعت آماده شد (جمشیدی و همکاران ١٣٩٨؛ گیبیس و همکاران ٢٠١٣).

**آماده سازی صمغ قدومه شیرازی**

پس از خریداری دانه های قدومه شیرازی، جهت حذف نا خالصی هایی نظیر خار و خاشاک، سنگ و دانه های شکسته به روش دستی تمیز شدند. سپس به روش کوچکی و همکاران (٢٠٠٩)، صمغ آن استخراج گردید. برای استخراج صمغ دانه قدومه شیرازی، نسبت دانه به آب ١ به ٤٠ بود. ابتدا pH آب دیونیزه توسط محلول ٠/١

[1]Folin-Ciocalteu's phenol reagent
[2]2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
[3]Oxidative stability index

مولار HCl به ٤ رسیده و سپس در حمام آب گرم حرارت دید تا به دمای ٣٦ درجه سانتیگراد رسید. سپس دانه ها به آن اضافه گردیدند و مجددا جهت تکمیل فرآیند جذب آب، در حمام آب گرم قرار گرفته و به طور متناوب هم زده شد. در نهایت عصاره هیدروکلوئیدی توسط اکستراکتور آزمایشگاهی استخراج و در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شد. سپس آسیاب گردیده و از الک (مش ۱۸) عبور داده شدند در آخر، پودر صمغ ها در ظروف در بسته و در مکان خشک جهت انجام آزمایشات مورد نظر نگهداری شدند.

**تهیه نانوامولسیون**

صمغ‌های دانه ی قدومه شیرازی و کیتوزان، به عنوان مواد پوششی دیواره به صورت جدا و ترکیبی به نسبت ۱:۱ استفاده شد. صمغ‌های قدومه شیرازی و کیتوزان برای رسیدن به ماده جامد کل ۰/۵٪ (وزنی/ وزنی)، در آب دیونیزه (صمغ قدومه شیرازی) و اسید استیک ۱٪ (کیتوزان و ترکیبی) مخلوط شدند. از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط برای انحلال بهتر ترکیبات استفاده گردید. محلول‌ها جهت تکمیل فرآیند جذب آب به مدت ٢٤ ساعت در یخچال نگهداری شدند (منجذب مرودشتی و همکاران ۲۰۱۷؛ خوش‌اخلاق و همکاران ۲۰۱۷). امولسیون اولیه آب/ روغن (w/o) با مخلوط کردن عصاره برگ گیاه پونه، امولسیفایر (توین ۸۰) و روغن سویا با نسبت به ترتیب ۵: ۳۳: ٦٢٪ تهیه شد. سپس برای تهیه امولسیون نهایی آب/ روغن/ آب (w/o/w)، امولسیون اولیه با صمغ هیدارته شده به نسبت ٪۲۵:۷۵ (وزنی/ وزنی) با یکدیگر مخلوط شدند (فریدی اسفنجانی و همکاران ۲۰۱۷). امولسیون های حاصل، با استفاده از همگن ساز دور بالا (اولتراتوراکس) با سرعت rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه و سپس با سرعت rpm ۱۸۰۰۰ به مدت ۸ دقیقه هموژن شدند. سپس برای کاهش بیشتر اندازه ذرات نانوامولسیون از دستگاه مولد فراصوت نوع پروب با دامنه نوسان ۷۵٪، دمای ۳۷ $^{\circ}C$ به مدت ۳ دقیقه (٦ سیکل ۳۰ ثانیه ای) استفاده گردید (میرمجیدی هشتجین و همکاران ۲۰۱۵).

**نانو ریزپوشانی و خشک کردن امولسیون**

**خشک‌کن انجمادی**

برای خشک کردن عصاره‌های نانو ریزپوشانی شده از روش خشک کردن انجمادی درفشار ۰/۰۱۷ میلی‌پاسکال در دمای ۵۷- $^{\circ}C$ به مدت ٤٨ ساعت استفاده شد. قبل از آن، عصاره به مدت ٢٤ ساعت در درمای ۱۸- درجه سانتیگراد منجمد گردید. (چارنیوتی و همکاران ۲۰۱۵: دهقان و همکاران ۱۳۹۷: جمشیدی و همکاران ۱۳۹۸).

**بررسی خصوصیات نانوامولسیون ها**

**اندازه‌گیری اندازه، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا**

اندازه ذرات، **توزیع اندازه ذرات** (PDI) و پتانسیل زتابا روش پراکنش نور دینامیکی (DLS)[۱] اندازه‌گیری شد. دستگاه حامل یک سل الکتروشیمیایی حاوی دو الکترود است. نمونه‌ها با آب دیونیزه به نسبت ۱ به ۵ رقیق و در سل قرار گرفتند. زمانی که ولتاژ اعمال می‌گردد، ذرات با بار منفی به سمت الکترود مثبت حرکت می‌کنند و سرعت حرکت ذرات اندازه‌گیری می‌شود (جوی و همکاران ۲۰۱۵).

**اندازه‌گیری بریکس**

بریکس نانوامولسیون ها توسط رفرکتومتر دستی تعیین گردید (حسین زاده و همکاران ۱۳۹۵).

**اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری**

ویسکوزیته ظاهری هر یک از نمونه‌ها از طریق ویسکومتر چرخشی و و با اسپیندل شماره ۲ و در دمای ۲۵ $^{\circ}C$ و در سرعت چرخشی ۵۰ دور در دقیقه برحسب mPa.s اندازه‌گیری شد. این ویسکومتر در محل قرارگیری نمونه و اسپیندل، مجهز به یک محفظه استوانه‌ای دوجداره است که توسط یک دستگاه حمام آب و سیرکولاتور مربوطه، دمای نمونه را تنظیم می‌کند. لذا در حین اندازه‌گیری گرانروی، دمای نمونه ثابت باقی می‌ماند (باقری و همکاران ۲۰۱۵).

---

۱ Dynamic Light Scattering

**اندازه‌گیری pH**

pH نانوامولسیون‌ها توسط pH متر اندازه‌گیری شد (حسین زاده و همکاران ۱۳۹۵).

**اندازه‌گیری پایداری نانوامولسیون ها**

برای بررسی پایداری امولسیون‌ها، توانایی امولسیون کنندگی و درصد تفکیک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری توانایی امولسیون کنندگی**

اندازه‌گیری توانایی امولسیون کنندگی با استفاده از سانتریفیوژ بر اساس روش سیارینی و همکاران (۲۰۰۹) با کمی اصلاحات صورت گرفت. بلافاصله پس از تهیه نانوامولسیون‌ها، نمونه‌ها را درون فالکون مندرج ریخته و با دور rpm ۴۰۰۰ و به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط سانتریفیوژ نمودیم. سپس بر اساس حجم فازهای تفکیک‌شده، شاخص ویژگی امولسیون کنندگی اندازه‌گیری گردید.

$$ESI = \left(\frac{f\,EV}{i\,EV}\right) \times 100$$

$f_{EV}$ و $i_{EV}$ به ترتیب حجم نهایی و حجم اولیه امولسیون است.

**اندازه‌گیری درصد تفکیک**

بلافاصله بعد از آماده‌سازی نانوامولسیون‌ها، ۲۵ میلی لیتر از هر نمونه را به استوانه‌های مدرج ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شده، درب آن‌ها به‌خوبی مهروموم گردیده و در دمای اتاق به مدت یک روز نگهداری شدند. درصد تفکیک از فرمول زیر محاسبه می‌شود (کارنیرو و همکاران ۲۰۱۳):

$$\text{تفکیک}(\%) = \frac{\text{ارتفاع فاز بالایی}}{\text{ارتفاع امولسیون اولیه}} \times 100$$

**راندمان ریزپوشانی (EE)[1]**

۰/۶ گرم از پودر با ۲۰ میلی‌لیتر آب قلیایی (pH=۱۰/۵) مخلوط و سپس ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس در rpm ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز رویی با اسید غلیظ، خنثی (pH=۷) شد. میزان فنول موجود در فاز رویی توسط روش فولین سیوکالتیو تعیین گردید. راندمان ریزپوشانی توسط فرمول زیر محاسبه شد:

$$EE\ (\%) = (c_e/c_t) \times 100$$

$C_e$ مقدار ترکیبات فنولی ریزپوشانی شده و $C_t$ مقدار اولیه ترکیبات فنولی موجود می باشد (جیوان و همکاران ۲۰۱٤; ساویز و همکاران ۲۰۱۵).

**بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره نانو ریزپوشانی و آزاد برگ گیاه پونه در پایداری اکسایشی روغن سویا**

عصاره نانو ریزپوشانی شده و آزاد، هر یک در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام و آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ در یک غلظت مجاز ۱۰۰ پی پی ام به روغن سویای بدون آنتی اکسیدان اضافه شدند (محمدی و همکاران ۲۰۱۵). عمل اختلاط عصاره‌ها با روغن توسط همزن مغناطیسی و به مدت ۳۰ دقیقه برای هر غلظتی از تیمارها انجام گردید. مقداری از روغن سویا (بدون هیچ گونه افزودنی) نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ظروف مورد استفاده در این بررسی، غیرشفاف و درب دار بودند که تا حجم ۷۰ میلی لیتر با روغن پر شده و به گرمخانه (آون) ٦٥ °C منتقل شدند. دوره آزمایش ۱۸ روز بود و طی این مدت، میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای ۰، ۱، ۲، ۳، ٤، ٥، ٦، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱٤، ۱٦ و ۱۸ با اندازه‌گیری عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و دی ان مزدوج تعیین گردید.

**اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV)[2]**

۵ گرم روغن در یک ارلن توزین و سپس ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک- کلروفرم( نسبت ۲:۳) به آن افزوده و خوب هم زده شد تا روغن در آن حل گردد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع به آن اضافه و به مدت ۱ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول بالا افزوده و در نهایت ۰/۵ میلی لیتر معرف چسب نشاسته به آن اضافه شد.، تیتراسیون

[1] Encapsulation Efficiency

[2] Peroxide Value

نمونه با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ آبی محلول و بی رنگ شدن ادامه یافت. همراه با تیتراسیون نمونه‌ها، تیتراسیون نمونه شاهد نیز انجام شد و عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در کیلوگرم روغن، با رابطه زیر محاسبه گردید (AOCS، ۲۰۰۷).

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{V_2 - V_1 \times N \times 1000}{m}$$

$V_1$ و $V_2$ به ترتیب عدد تیتراسیون نمونه و شاهد، N نرمالیته تیوسولفات سدیم و m وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد (AOAC، ۲۰۰۵).

**اندازه‌گیری عدد تیوباربیتوریک اسید (TBA)**

اندازه گیری عدد تیوباربیتوریک اسید توسط رنگ سنجی، جهت اندازه گیری محصولات ثانویه ی اکسیداسیون به روش AOCS (۲۰۰۷) انجام شد. ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه به یک بالن ۲۵ میلی لیتری منتقل و سپس با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. بعد از آن ۵ میلی‌لیتر از این مخلوط با ۱۰ میلی‌لیتر از معرف TBA (۰/۲ ٪) در یک فالکون ۱۵ میلی لیتری مخلوط و به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ °C قرار داده شد، سپس در زیر آب سرد به دمای ۲۵ °C رسانده شد. میزان جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد. عدد تیوباربیتوریک اسید بر حسب میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{TBA Value} = 50 \times (A - B)/ m$$

جذب نمونه، B جذب شاهد و m وزن روغن (میلی‌گرم) می باشد.

**اندازه‌گیری عدد دی‌ان مزدوج (CDV)** [۲]

برای این منظور، نمونه های روغن به نسبت ۱ به ۶۰۰ هگزان (گرم به میلی‌لیتر) رقیق شد. سپس میزان جذب نمونه رقیق شده در طول موج ۲۳۴ نانومتر خوانده شد. میزان جذب نمونه شاهد نیز با خواندن میزان جذب هگزان به دست آمد. برای تعیین غلظت دی ان مزدوج شکل گرفته طی اکسیداسیون از ضریب ثابت ۲۹۰۰۰ مول بر لیتر، از رابطه زیر محاسبه گردید (ساگوی و همکاران ۱۹۹۶ ; رضوی زاده و همکاران ۱۳۹۳):

$$CDV = \frac{A \times 600 \times 1000}{29000}$$

A اختلاف جذب بین نمونه و شاهد در طول موج ۲۳٤ نانومتر، عدد ٦۰۰ بیانگر رقت نمونه در هگزان و عدد ۲۹۰۰۰ بیانگر ضریب رقت می‌باشند.

**اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی**

ترکیبات فنولی موجود در نمونه‌های روغن با متانول–آب مطابق با روش بیل و همکاران (۲۰۰۸) با اندکی تغییر استخراج گردید. طبق این روش ۲/۵ گرم از هر نمونه روغن با ۲/۵ میلی‌لیتر هگزان در فالکون مخلوط شد. پس از ۱ دقیقه ورتکس محلول مذکور، ۲/۵ میلی لیتر حلال متانول–آب با نسبت (۲۰:۸۰) به آن اضافه گردید و مجددا ۱ دقیقه ورتکس شد. سپس محلول‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز روغنی با سمپلر خارج ولی فاز آبی جداگانه نگهداری و دوبار دیگر تحت مراحل استخراج قرار گرفت. در نهایت تمام فازهای آبی مربوط به هر نمونه به بالن ۵۰ میلی لیتری منتقل شدند. محتوای فنول کل بر اساس روش فولین‌سیوکالتیو تعیین شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین- سیوکالتو رقیق شده با آب به نسبت (۱:۱۰) به بالن افزوده و پس از ۳ دقیقه سکون، ۵ میلی‌لیتر از کربنات‌سدیم ۷/۵٪ به آن اضافه شد. بعد از مدت ۱ دقیقه، بالن ها به حجم رسانده شده و در طول شب در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب آنها در طول موج ۷٦۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فنولی با استفاده از معادله خط رسم شده بر مبنای اسیدگالیک و به صورت میلی‌گرم در گرم عصاره بیان گردید (وجیک و همکاران ۲۰۱۵).

[1]Thiobarbituric Acid

[2]Conjugated Dien Value

### بررسی تغییرات رنگ روغن

### روش پردازش تصویر

به منظور بررسی رنگ نمونه‌های روغن از روش پردازش تصویر استفاده شد. در این روش از یک جعبه با ابعاد ۵۰×۵۰×۵۰ سانتی‌متر با زمینه‌ای به رنگ سفید به عنوان سکوی تصویربرداری استفاده شد. نمونه در وسط جعبه قرار گرفت و یک دوربین دیجیتال در دیواره بالای جعبه روبروی نمونه‌ها مستقر بود. سیستم نورپردازی از دو لامپ فلورسنت (۱۰ واتی به طول ٤۰ سانتی‌متر) تشکیل شده بود که در وسط اتاقک عکس‌برداری قرار داشتند. تصویرگیری با دوربین دیجیتالی در فاصله ۲۰ سانتی‌متری نمونه انجام شد. تصاویر با فرمت jpg و در فضای رنگی RGB ذخیره شدند. تصاویر گرفته شده با نرم‌افزار Image J و برنامه آن (Color-Space-Converter) از فضای رنگی RGB به $a^*$، $b^*$ و L تبدیل شدند (تقوایی و همکاران ۲۰۱٤).

### تعیین شاخص رنگی با دستگاه اسپکتروفوتومتری

شاخص رنگی نمونه های روغن سویا با خواندن جذب در ناحیه ی ٤۲۰ نانومتر در برابر آب مقطر در روزهای نمونه گیری اندازه گیری شد (ساگوی و همکاران ۱۹۹٦).

### تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آماری داده های حاصل از آزمون با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱٦، در طرح کاملاً تصادفی و آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA)[1]انجام شد. نتایج به صورت میانگین های حاصل از سه تکرار با انحراف معیار گزارش گردید. صورت گرفت. تفاوت معنی داری آزمون‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ تعیین شد. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel نسخه ۱٦ ترسیم گردیدند.

## نتایج و بحث

### میزان محتوای فنولی کل عصاره برگ گیاه پونه

جدول ۲ مقایسه ی میانگین ترکیبات فنولی حاصل از عصاره برگ گیاه پونه و راندمان استخراج که با استفاده از روش پروب اولتراسوند انجام شده است را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز آماری در این تحقیق نشان داد که دما و زمان استخراج، تاثیر معنی داری بر مقدار ترکیبات فنولی و نیز راندمان استخراج دارد ($p<۰/۰۵$). بیشترین میزان ترکیبات فنولی و راندمان استخراج به ترتیب مربوط به دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و مدت زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه و مدت زمان ۲۰ دقیقه بود. طبق نتایج مشخص گردید که با افزایش زمان، میزان ترکیبات فنولی در دمای ٤۰ درجه سانتیگراد افزایش معناداری نداشت. اما طولانی شدن زمان در دمای ۵۰ درجه باعث کاهش معنی داری در میزان ترکیبات فنولی گردید که این کاهش می تواند مربوط به حساس بودن ترکیبات فنولی به دما باشد که با افزایش زمان، منجر به تخریب بخشی از ترکیبات فنولی گردید. بطور کلی افزایش دما از ٤۰ به ۵۰ درجه سانتیگراد، موجب افزایش ترکیبات فنولی شد که یعنی دمای بالاتر سبب استخراج بیشتر این ترکیبات می‌گردد اما افزایش زمان در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد با توجه به طولانی شدن در معرض قرار گرفتن ترکیبات فنولی در دمای بالا و حساس بودن این ترکیبات، منجر به کاهش مقدار این ترکیبات بطور معناداری شد. دما یکی از عوامل اصلی در اولتراسوند است. به‌طورکلی افزایش در این متغیر با بهبود در عملکرد استخراج ترکیبات فنلی به علت القای گسیختگی و پارگی پیوندهای ماتریکس سلول، باعث افزایش حلالیت ترکیب، سرعت انتشارحلال، انتقال جرم و کاهش ویسکوزیته و تنش حلال می‌گردد ( سلی و همکاران ۲۰۱۵ ; حسین و همکاران ۲۰۱۲). اگرچه ممکن است دما در طول استخراج انتقال جرم را افزایش دهد، اما ممکن است میزان تخریب ترکیبات را نیز افزایش دهد. دما و زمان استخراج، سبب پدیدار شدن افزایش معنی داری در راندمان استخراج عصاره شد، بطوریکه سیر صعودی معنی داری از تیمار اول تا تیمار چهارم را نشان داد. به همین دلیل افزایش زمان استخراج از ۱۰ به ۲۰ دقیقه منجر به افزایش بازده استخراج گردید (جدول۲)؛ زیرا افزایش زمان استخراج اجازه

[1]Analysis of variance

می‌دهد که ماده حل شونده مورد نظر در تماس با حلال برای مدت طولانی تری قرار گیرد و فرصـــت کافی برای تشـــکیل حباب و متلا شی شدن آن‌ها طی فرایند اولترا سوند را دا شته با شند (غفور و همکاران ۲۰۰۹). تومسیک و همکاران (۲۰۱٦) در مورد سیر وحشی (*Allium ursinum*) نیز به همین نتیجه رسیدند که همسو با نتایج حاصل از این تحقیق است.

**جدول ۲- مقدار ترکیبات فنولی و راندمان استخراج در نمونه های عصاره برگ گیاه پونه**

**Table 2- Total phenolic compounds and extraction yeild of *Mentha puleguim* extracts**

| Sample | Extraction yield | Total phenolic content (mg of gallic acid/g of dry extract) |
|---|---|---|
| 40-10 | 12/04 ± 0/05 [d] | 330 ± 0/00 [b] |
| 40-20 | 16/00 ± 0/01 [c] | 329 ± 4/00 [b] |
| 50-10 | 18/07 ± 0/03 [b] | 364 ± 2/00 [a] |
| 50-20 | 20/03 ± 0/02 [a] | 268 ± 2/00 [d] |

Means with different letters within column indicate significance difference at $P < 0.05$

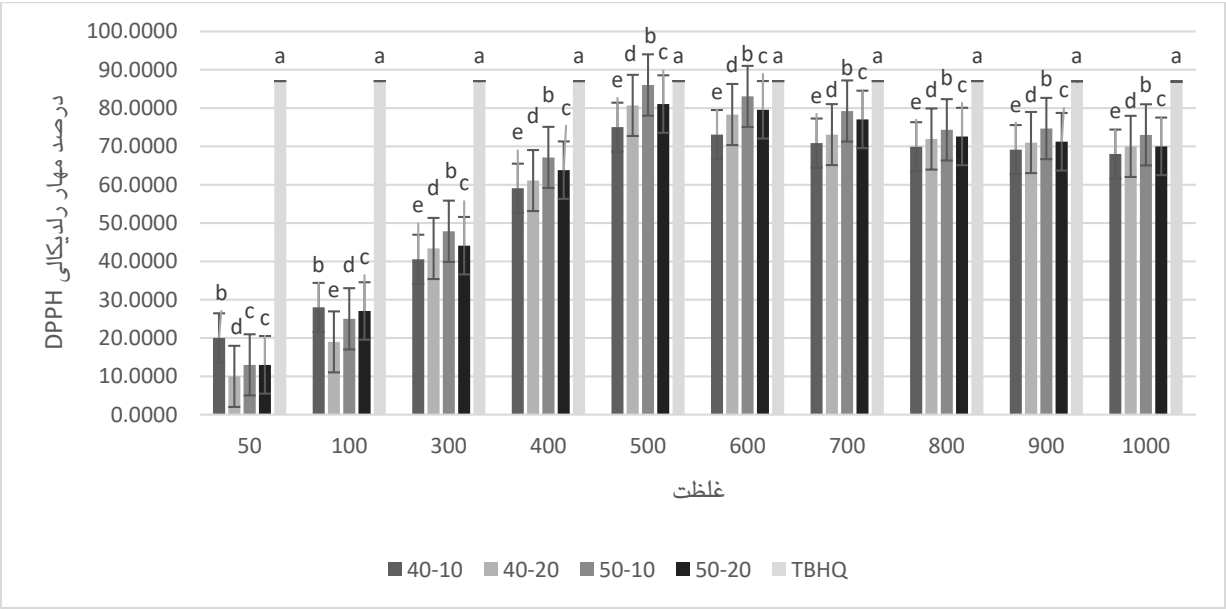
## بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های برگ گیاه پونه

### میزان توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

مهار رادیکال آزاد توسط عصاره استخراجی پونه در غلظت های ۵۰ تا ۱۰۰۰ پی پی ام با آزمون DPPH اندازه گیری گردید. طبق نتایج بدست آمده در شکل ۱، بین تیمارها هم از حیث غلظت و هم از حیث دما و زمان استخراج، اختلاف معناداری وجود دارد. نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که اثر غلظت فنول عصاره‌ها بر مهار رادیکال های آزاد با افزایش غلظت معنادار بود. بالاترین مهار رادیکالی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام و مربوط به تیمار ۱۰–۵۰ با درصد مهارکنندگی برابر با ۸٦/۰۱ ٪ بود. نتایج نشان داد که افزایش دما سبب افزایش مهار رادیکالی در عصاره گیاه پونه شده است. اما افزایش زمان استخراج در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد موجب کاهش این ویژگی گردید. این کاهش را می‌توان به حساس بودن ترکیبات فنولی به دما مرتبط دانست که طی افزایش زمان در دمای بالاتر موجب تخریب این ترکیبات و در نتیجه کاهش مهار رادیکالی شد که برعکس این روند در دمای ٤۰ درجه است، بدین معنا که افزایش زمان در دمای کمتر نه تنها آسیبی به ترکیبات فنولی نمی‌رساند، بلکه مهار رادیکالی را افزایش نیز می‌دهد که این نتایج مطابق با نتایج میزان ترکیبات فنولی در هر تیمار نیز می باشد. از سوی دیگر افزایش غلظت بیشتر از ۵۰۰ پی پی ام در نمونه ها، موجب ایجاد روند کاهشی در توانایی مهار رادیکالی گردید که می‌توان مرتبط به پدیدار شدن خاصیت پرواکسیدانی ترکیبات فنولی در غلظت بالا دانست. همیشه بالاتر بودن مقادیر ترکیبات فنولی به منزله بالاتر بودن قدرت آنتی اکسیدانی نیست بلکه به نوع ترکیبات فنولی تشکیل دهنده آن بستگی دارد .(چاندراسکارا و شهیدی ۲۰۱۰). این نشان دهنده این است که برخی ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ندارند . همچنین شرایط استخراج می تواند با تغییر ترکیبات آنتی اکسیدانی و ایجاد محصولات اکسیداسیون منجر به کاهش حلالیت گردد (اینگلت و همکاران ۲۰۱۱) و همچنین محتوای آنتی اکسیدان های دیگر مواد گیاهی می تواند اثر سینرژیتی یا آنتاگونیسمی بین ترکیبات فعال داشته باشد (یانیشلیوا و همکاران ۲۰۰٦).

ابوطالبیان و همکاران (۲۰۱٦) با استخراج عصاره پونه (*Mentha longifolia*) به کمک حمام فراصوت با متانول ۸۰٪ به فعالیت آنتی اکسیدانی ٤۹/۳ ٪ در غلظت ۵۰۰ پی پی ام دست یافتند. در اینجا نیز این تفاوت ها می تواند مربوط به نوع روش استخراج و تخریب ترکیبات زیست فعال در طول استخراج عصاره با روش‌های مختلف (آیالا–زاوالا و همکاران ۲۰۰٤) ، نوع حلال، شرایط آزمون، اختلاف در نوع پونه، شرایط جغرافیایی گیاه و زمان برداشت باشد. همان طور که نتایج نشان داد،

عصاره‌های برگ گیاه پونه غنی از ترکیبات فنولی می‌باشد و این ترکیبات به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، قادر به خنثی سازی رادیکال‌های آزاد هستند و می‌توانند به عنوان دهنده الکترون یا هیدروژن عمل کنند. ارتباط مؤثر و معنی‌داری بین مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH وجود دارد. در نتیجه عصاره با مقدار ترکیبات فنولی بالاتر، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری را دارا می باشد. تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار یک مولکول آنتی اکسیدان، معمولاً فاکتور تعیین کننده ی فعالیت آنتی اکسیدانی نمی باشد. موقعیت گروه‌های هیدروکسیل فنولی، حضور گروه‌های عاملی دیگر مانند پیوندهای دوگانه و ترکیب گروه‌های هیدروکسیل و کتونی نقش ویژه ای در فعالیت آنتی اکسیدانی ایفا می کنند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های طبیعی معمولاً به توانایی آنها در اهداء هیدروژن نسبت داده می‌شود. در نتیجه عمل عصاره‌ها به عنوان مهارکننده‌ی رادیکال آزاد نشان دهنده‌ی این است که عصاره‌ها حاوی آنتی اکسیدان های اولیه هستند. با افزایش غلظت عصاره، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره‌ها افزایش می‌یابد. اما در غلظت‌های بالاتر مهار رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابد. زیرا یک غلظتی از فنول‌ها برای کسب فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوب کافی است و در غلظت بالاتر از حد اشباع تأثیری در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی ندارد و یا مانند این پژوهش، موجب کاهش آن می شود (رومبائو و همکاران ۲۰۰۹). توانایی مهارکنندگی فنول‌ها به دلیل گروه‌های هیدروکسیل (OH-) و گروه‌های قابل تعویض متوکسی ($OCH_3$-) در مولکول‌هاست (کای و همکاران ۲۰۰۶).



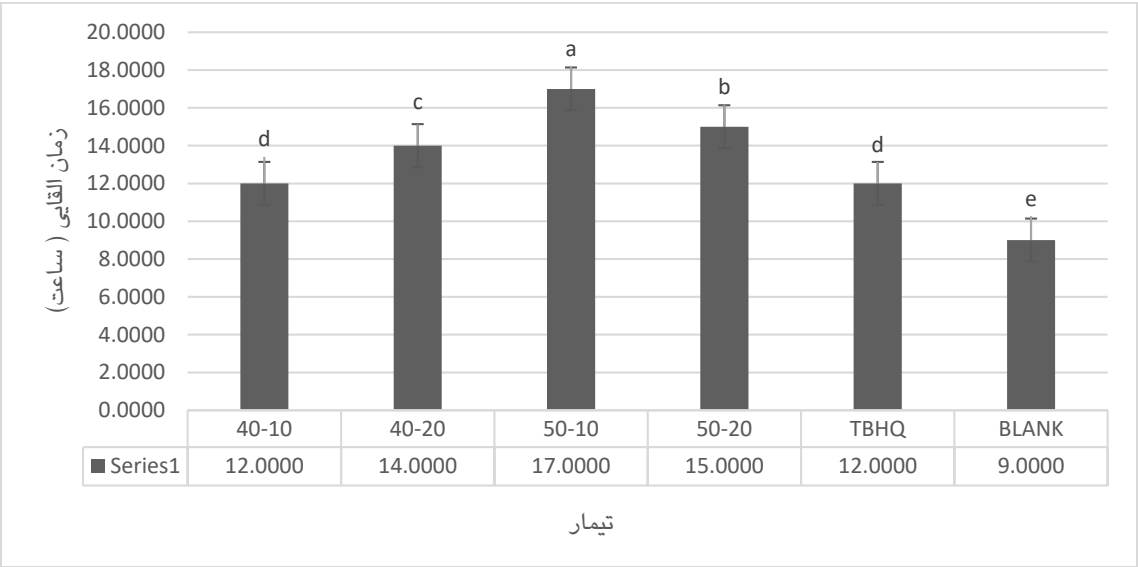

**شکل ۱- درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره‌های برگ گیاه پونه**

**Figure 1- Percentage of inhibition of DPPH free radicals in leaf extracts of peppermint**

similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

**سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون شاخص پایداری اکسایشی(OSI)**

شکل ۲ شاخص پایداری اکسایشی تیمارهای مختلف در غلظت ۵۰۰ پی پی ام در روغن سویا را نشان می‌دهد. در بررسی آنالیز واریانس مشاهده شد که دما و زمان استخراج، تاثیر معناداری بر شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا دارند ($p<0.05$). بیشترین پایداری اکسایشی مربوط به تیمار ۵۰–۱۰ (۱۷ ساعت) بود که با اختلاف معناداری از آنتی اکسیدان TBHQ در غلظت ۱۰۰ پی پی ام (۱۲ ساعت) بالاتر بود. کمترین پایداری نیز مربوط به تیمار ۱۰–۴۰ بود که با TBHQ اختلاف معنی داری نداشت. تمامی تیمارها با اختلاف معناداری از نمونه شاهد، شاخص پایداری روغن سویا را افزایش می دادند ($p<0.05$).




**شکل ۲- شاخص پایداری اکسایشی(OSI) عصاره های برگ گیاه پونه**

**Figure 2- Oxidative stability index (OSI) of mint leaf extracts**

Similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

اوساوا و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان ها موجب بهبود پایداری اکسیداسیون شده است که همسو با نتایج حاصل ما بود (البته تا غلظت ۵۰۰ پی پی ام). فعالیت های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum Möhench*) توسط سان و هو (۲۰۰۵) مورد بررسی قرار گرفت و با حلال هایی با قطبیت مختلف استخراج شد. آن ها گزارش کردند که عصاره متانولی، طولانی ترین زمان القا شدن (۰/۲ ± ۷ ساعت) با روش رنسیمت نشان داد.

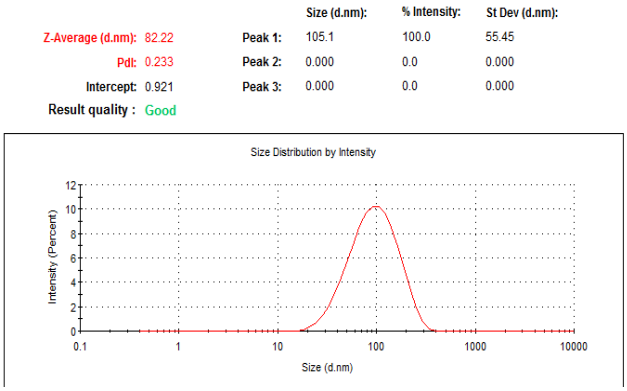
**بررسی تأثیر ترکیبات دیواره بر اندازه و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها**

در این مطالعه، از صمغ کیتوزان و دانه قدومه شیرازی به عنوان مواد دیواره ریزپوشانی استفاده گردید. کیتوزان نوعی پلی ساکارید چند قندی کاتیونی است که از واحدهای گلوکوزآمین و ان–استیل دی–گلوکز آمین (با اتصالات بتا ۱ و ٤) تشکیل شده است که از استیل-زدایی کیتین و از پوست سخت پوستان مثل خرچنگ و میگو با روش‌های شیمیایی، آنزیمی و میکروبیولوژی تهیه می‌گردد (قیصربیگی و همکاران ۱۳۹٤). این پلی ساکارید دارای ویژگی های عملکردی مانند خصوصیت ضدمیکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی است و نیز

دارای خواصی مانند سازگاری با محیط، زیست تخریب پذیر بودن و خصوصیات فیزیکی- شیمیایی متنوعی می باشد.

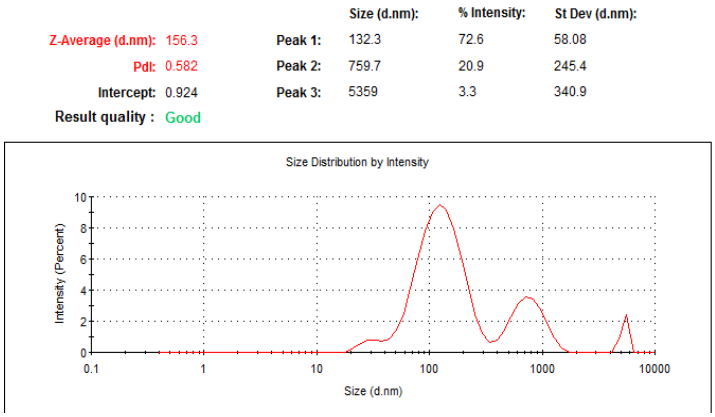
نتایج آنالیز واریانس (جدول ۳)، اثر نوع دیواره را بر اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها مؤثر و معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). به ترتیب میانگین اندازه ذرات آن‌ها برای پوشش قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیبی ۸۲/۲۲، ۱۵٦، ۱۰۷ نانومتر بود. همچنین نتایج آماری نشان داد که نوع دیواره بر توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها نیز تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). در این تحقیق توزیع اندازه ذرات برای پوشش قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیبی ترتیب برابر با ذرات ۰/۲۳۳، ۰/۵۸۲، ۰/۳۵۲ بود. نتایج مربوط به‌اندازه و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها که با دستگاه DLS اندازه‌گیری شد، در شکل‌های ۳ تا ۵ ارائه شده است. تفاوت های معنی دار بدست آمده می تواند به تفاوت خصوصیات امولسیون‌کنندگی این دو صمغ از قبیل فعالیت سطحی آن‌ها، خصوصیات شکل‌پذیری، سرعت جذب سطحی آن‌ها در سطح قطره و برهمکنش درون‌مولکولی در سطح مشترک روغن-آب مربوط باشد. علت کوچک‌تر بودن اندازه ذرات نانوامولسیون با پوشش قدومه شیرازی نسبت به دو نوع دیگر را می‌توان مربوط به بیشتر بودن ویسکوزیته و درنتیجه کاهش حرکت براونی قطرات روغن دانست (جمشیدی و همکاران ۲۰۲۰).

گهان و همکاران (۲۰۱۸)، توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون با پوشش کیتوزان-سیترال را در محدوده‌ی ۰/۵۰۸ تا ۰/٦١٤ به دست آوردند. توزیع اندازه ذرات از ۰/٦١٤ به ۰/۵۰۸ با افزایش نسبت سیترال-کیتوزان از ۱: ۰/۱ به ۱: ۰/۸ کاهش یافت. همچنین مشاهده شد که اندازه‌ی ذره وابسته به غلظت است و افزایش غلظت سیترال موجب افزایش اندازه ذره می‌گردد (از ۲۷ به ۱۱۱۵ نانومتر)؛ اما بیشترین اندازه ذره مربوط به زمانی بود که کیتوزان به‌تنهایی استفاده شد (۱۲۸۳ نانومتر). افزایش و کاهش در اندازه ذرات می‌تواند مربوط به تشدید برهمکنش‌های بین پلیمرهای جذب شده در سطح مشترک آب-روغن با یکدیگر یا با پلیمرهایی باشد که به‌طور آزادانه در فاز پیوسته حضور دارند و حرکت می‌کنند. تحت این شرایط انجام برهمکنش‌های قطره-قطره و احتمال تشکیل شبکه با کمک پل یا تشکیل خوشه بیشتر می‌گردد. به‌طورکلی عوامل مختلفی در اندازه ذرات یک نانوامولسیون مؤثر است که از آن‌ها می‌توان به نوع فازها، مقدار و نوع امولسیفایر، روش‌های تهیه نانوامولسیون، شرایط محیطی مانند pH، وجود یون‌های فلزی و ... اشاره کرد ( رضوی و همکاران ۱۳۹۰: جمشیدی و همکاران ۲۰۲۰).



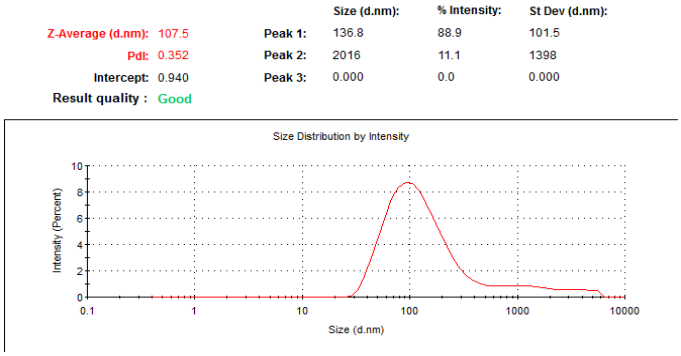

**شکل ۳- اندازه و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون آب/روغن/آب با پوشش قدومه شیرازی**

**Figure 3- Size and particle size distribution of nano-emulsion (w/o/w) coated with *Allysum homolocarpum***




**شکل ۴- اندازه و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون آب/روغن/آب با پوشش کیتوزان**

**Figure 4- size and particle size distribution of nano-emulsion (w/o/w) coated with chitosan**




**شکل ۵- اندازه و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون آب/روغن/آب با پوشش ترکیب کیتوزان–قدومه شیرازی**

**Figure 5- size and particle size distribution of nano-emulsion (w/o/w) coated with chitosan - *Allysum homolocarpum***

یکی از خصوصیات مهم نانوامولسیون‌ها که بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مانند رفتار رئولوژیک و در پی آن بر پایداری این سیستم‌ها تأثیرگذار است توزیع اندازه ذرات (PDI) است. آنالیز داده‌های حاصل از توزیع اندازه ذرات، اطلاعات مناسبی را در مورد مجتمع شدن ذرات امولسیون‌ها طی زمان در اختیار می‌دهد. در نتایج DLS اگر ۰/۱≤PDI<۰/۵ باشد ذرات پلی‌دیسپرس تا حدودی قابل‌قبول اگر PDI≥۰/۵ باشد ذرات آگلومره شده و نتایج غیرقابل‌قبول است. همچنین هرچقدر PDI کمتر باشد، نشان‌دهنده توزیع اندازه ذرات باریک‌تر و سیستم کلوئیدی همگن‌تر خواهد بود. به‌طورکلی کاهش اندازه ذرات و توزیع اندازه آن‌ها می‌تواند به بهبود و یا اختلال در خصوصیاتی مانند ویسکوزیته، پایداری ذرات، رنگ، ظاهر نانوامولسیون و خامه‌ای شدن اثرگذار باشد (گویمارائس و همکاران ۲۰۱۰)، زیرا هرچه اندازه ذرات کمتر باشد، موجب کاهش تأثیر نیروی جاذبه و حرکت براونی می‌شود و درنهایت احتمال فلوکه شدن و به هم پیوستن آن‌ها به میزان قابل‌توجهی کم می‌شود (دیکینسون ۲۰۰۳). در این پژوهش، توزیع اندازه ذرات برای تمام نمونه‌ها با دیواره‌های متفاوت باریک و کمتر از ۰/۵ (PDI<۰/۵) بود (جدول ۳). نمونه‌هایی با توزیع باریک در برابر پدیده ناپایداری از نوع رسیدگی استوالد مقاوم‌تر می‌باشند (مانکونی و همکاران ۲۰۰۹). پایداری امولسیون با جداسازی گرانشی، از طریق کاهش اندازه قطرات تشدید می‌شود (سولانز و همکاران ۲۰۰۵). همچنین کاهش اندازه ذرات سبب بهبود ویژگی‌های

امولسیون و کاهش PDI ذرات امولسیون می‌شود. با توجه به نتایج آزمون، ویسکوزیته ظاهری از قدومه شیرازی، قدومه شیرازی-کیتوزان و کیتوزان به ترتیب کاهش یافت و در تهیه نانوامولسیون، اندازه ذرات و توزیع آن‌ها به ترتیب روند افزایشی نشان داد که این نتایج با نتایج تحقیق کارنیو و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت. نجف نجفی و فاضلی (۱۳۹٦) در تحقیق خود، کند کردن حرکت بروانی ذرات روغن در امولسیون را دلیل کاهش اندازه ذرات امولسیون با افزایش ویسکوزیته عنوان کردند. همچنین بیان کردند که عکس این قضیه نیز صادق است، به‌طوری‌که امولسیون‌هایی با قطرات کوچک‌تر، ویسکوزیته بالاتری نسبت به امولسیون‌های با قطرات بزرگ‌تر دارند. در تأیید نتایج فوق، اکبری و همکاران (۱۳۹۵) در پژوهش خود اشاره داشتند که صمغ دانه مرو به دلیل ایجاد ویسکوزیته بالا و افزایش گرانروی فاز پیوسته و کاهش حرکت ذرات روغن توانایی لازم برای پایدارسازی امولسیون‌های روغن در آب تثبیت‌شده با پروتئین آب پنیر را دارد و صمغ دانه مرو با کند کردن حرکات ذرات در اثر افزایش ویسکوزیته از بزرگ شدن ذرات امولسیون روغن در آب جلوگیری می‌کند.

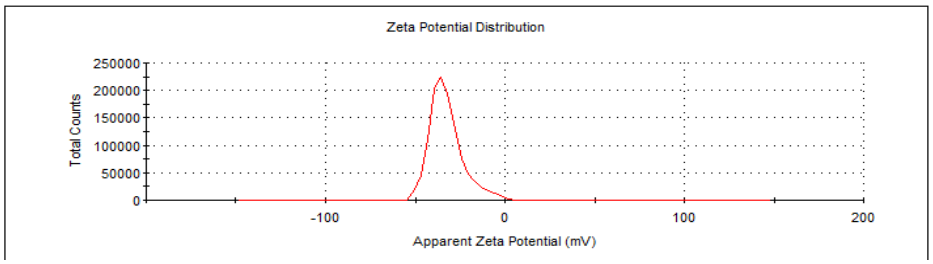
**بررسی تأثیر ترکیبات دیواره بر پتانسیل زتای نانوامولسیون‌ها**

بالا بودن پتانسیل زتای ذرات امولسیون موجب بالا رفتن نیروی دافعه الکترواستاتیک و درنتیجه افزایش پایداری فیزیکی سیستم می‌گردد. عوامل متعددی ازجمله قدرت یونی، نوع و غلظت ماکرو مولکول‌های پلی ساکاریدی، نسبت بین آن‌ها، pH و ... بر روی میزان بار سطحی، تحرک الکتروفوریک و پتانسیل زتا تأثیر می‌گذارد (خوش منظر و همکاران ۱۳۹۱ ؛ هوراسفند و همکاران ۲۰۱۵).

میزان پتانسیل زتا برای نانوامولسیون ها با پوشش قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیبی به ترتیب ۳۲/۵-، ۳/٥٤-، ٦/٨٤- میلی ولت به دست آمد. نتایج آنالیز واریانس(جدول ۳) نشان داد که اثر نوع دیواره بر پتانسیل زتای نانوامولسیون‌ها معنی‌دار بود ($P<0/05$). نتایج پتانسیل زتای نانوامولسیون‌ها که با دستگاه DLS اندازه‌گیری شد، در اشکال ٦ تا ۸ ارائه شده است. حصاری نژاد و همکاران (۲۰۱۵) پتانسیل زتا را برای محلول ۰/۱ درصد (وزنی/حجمی) صمغ قدومه شیرازی را برابر ۲۵/۸۱- میلی ولت گزارش کردند که نشان داد صمغ قدومه شیرازی دارای بار منفی و یک صمغ آنیونی است. مثبت‌تر شدن پتانسیل زتای نانوامولسیون با پوشش کیتوزان نسبت به نانوامولسیون با پوشش قدومه شیرازی را می‌توان به وزن مولکولی کمتر کیتوزان نسبت به قدومه شیرازی نسبت داد. لسمس و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از بتا لاکتوگلوبولین-دکستران، پایداری امولسیون را افزایش دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش وزن مولکولی دکستران باعث منفی‌تر شدن پتانسیل زتا در امولسیون‌ها گردید. همچنین مابین بودن پتانسیل زتای نانوامولسیون با پوشش ترکیبی، نشان‌دهنده‌ی برهمکنش بین صمغ‌ها در نانوامولسیون است. اگر پتانسیل زتا پایین‌تر از ۳۰ میلی ولت باشد، ثبات و پایداری نانوامولسیون به دلیل تجمع یا به هم‌پیوستگی، کمتر بوده اما اگر بیشتر از ۳۰ میلی ولت باشد، نانوامولسیون مورد بحث پایدار است (گوئراروزاس و همکاران ۲۰۱٦). اصغری و همکاران (۱۳۹۲) نیز بیان نمودند که تولید نانو ذرات کیتوزان در محدوده‌ی خاصی از غلظت کیتوزان و تری پلی فسفات امکان‌پذیر است و پایدارترین نانوامولسیون دارای زتای ۳۰ میلی ولت بود. به‌طورکلی، پتانسیل زتای بالاتر نشان‌دهنده پایداری بیشتر و طولانی‌تر ذرات است.

| | | Mean (mV): | Area (%) | Width (mV): |
|---|---|---|---|---|
| Zeta Potential (mV): -32.8 | Peak 1: | -32.8 | 100.0 | 9.30 |
| Zeta SD (mV): 9.30 | Peak 2: | 0.00 | 0.0 | 0.00 |
| Conductivity (mS/cm): 0.0522 | Peak 3: | 0.00 | 0.0 | 0.00 |

Zeta potential out of range  Conductivity is out of range - check cell or sample

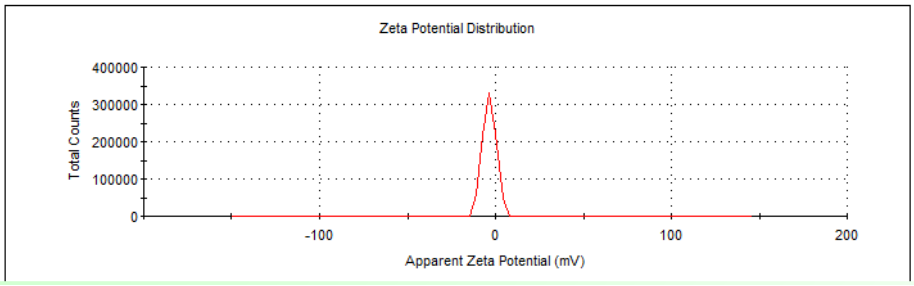



شکل ۶– پتانسیل زتای نانوامولسیون آب/روغن/آب با پوشش قدومه شیرازی

**Figure 6- zeta potential of nano-emulsion (w/o/w) coated with *Allysum homolocarpum***

| | | Mean (mV): | Area (%) | Width (mV): |
|---|---|---|---|---|
| Zeta Potential (mV): -3.54 | Peak 1: | -3.54 | 100.0 | 3.72 |
| Zeta SD (mV): 3.72 | Peak 2: | 0.00 | 0.0 | 0.00 |
| Conductivity (mS/cm): 0.108 | Peak 3: | 0.00 | 0.0 | 0.00 |

Zeta potential out of range  Conductivity is out of range - check cell or sample

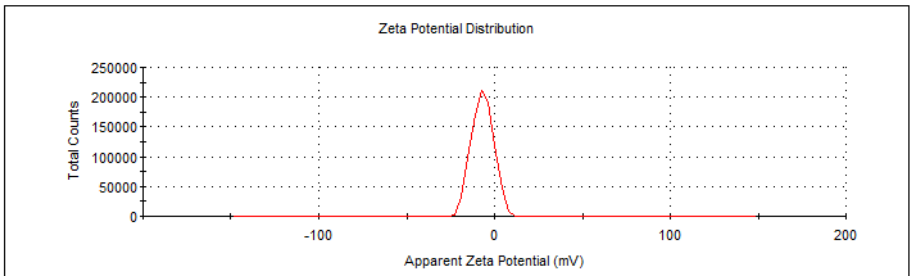



شکل ۷– پتانسیل زتای نانوامولسیون آب/روغن/آب با پوشش کیتوزان

**Figure 7- zeta potential of nano-emulsion (w/o/w) coated with chitosan**

| | | Mean (mV): | Area (%) | Width (mV): |
|---|---|---|---|---|
| Zeta Potential (mV): -6.84 | Peak 1: | -6.84 | 100.0 | 5.93 |
| Zeta SD (mV): 5.93 | Peak 2: | 0.00 | 0.0 | 0.00 |
| Conductivity (mS/cm): 0.0865 | Peak 3: | 0.00 | 0.0 | 0.00 |

Zeta potential out of range  Conductivity is out of range - check cell or sample




شکل ۸– پتانسیل زتای نانوامولسیون آب/روغن/آب با پوشش ترکیبی کیتوزان–قدومه شیرازی

**Figure 8– zeta potential of nano-emulsion (w/o/w) coated with chitosan and *Allysum homolocarpum***

**جدول ۳- میانگین اندازه ذرات، توزیع ذرات و پتانسیل زتای نانوامولسیون ها با پوشش های مختلف**

( تیمار ۱ تا ۳ به ترتیب مربوط به پوشش قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیب هردو می باشد).

**Table 3- Mean particle size, polydispersity index (PDI) and zeta potential values of nano-emulsions with different coatings**

(samples 1 to 3, is related to nano-emulsions with *Allysum homolocarpum*, chitosan and mix coatings, respectively).

| Sample | Particle size (nm) | PDI | Zeta Potential (Mv) |
|---|---|---|---|
| 1 | 82.22±0/05[c] | 0.233±0/02[c] | -32.50±0/00[a] |
| 2 | 156.30±0/19[a] | 0.582±0/05[a] | -3.54±0/00[c] |
| 3 | 107.50±0/05[b] | 0.352±0/00[b] | -6.84±0/01[b] |

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within the same line represent significant difference at P<0.05.

## تأثیر نوع پوشش دیواره بر روی بریکس نانوامولسیون

ویژگی‌های نانوامولسیون های حاصل در جدول ٤ آمده است. دلیل یکسان بودن بریکس در هر سه نوع نانوامولسیون، استفاده از غلظت‌های برابر از ماده دیواره (۰/۵ ٪ وزنی/وزنی) و دیگر اجزای امولسیون است.

## تأثیر نوع پوشش دیواره بر ویسکوزیته ظاهری نانوامولسیون

ویسکوزیته ظاهری برای نانوامولسیون های حاوی صمغ قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیبی به ترتیب ۱۵۸/٤، ۱۲۰/۵ و ۱۳۸/٦ میلی پاسکال ثانیه به دست آمد (جدول ٤) و نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر نوع دیواره بر ویسکوزیته ظاهری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).به‌احتمال زیاد، اختلاف در ویسکوزیته ظاهری نانوامولسیون‌ها مرتبط با ساختار شیمیایی و وزن مولکولی صمغ‌ها است. به‌طورکلی هرچقدر وزن مولکولی و اندازه‌ی صمغ بیشتر باشد، اصطکاک میان مولکول‌ها و درنتیجه ویسکوزیته بیشتر خواهد بود. ساختارهای شیمیایی نیز با توجه به انواعشان اعم از گروه‌های باردار و بدون بار، شاخه‌دار بودن یا بدون انشعاب‌های مولکولی، تأثیر مستقیم بر ویسکوزیته و رفتار رئولوژیکی صمغ‌های موردنظر می‌گذارند (فرهوش و موسوی ۲۰۰۷). اصولاً هنگامی‌که دو پلی‌ساکارید در یک فاز آبی با هم مخلوط می‌شوند، می‌توانند بر گرانروی یکدیگر، اثر کاهشی یا افزایشی (آنتاگونیستی یا سینرژیستی) داشته باشند. در این پژوهش نیز با توجه به ویسکوزیته ی نانوامولسیون با پوشش ترکیبی کیتوزان و قدومه شیرازی که ما بین ویسکوزیته دو نانو امولسیون دیگر بود، می‌توان گفت که ترکیب دیواره‌ها، اثر کاهشی بر ویسکوزیته نانوامولسیون با پوشش قدومه شیرازی و اثر افزایشی بر نانوامولسیون با پوشش کیتوزان داشته است. اثر کاهشی هنگامی مشاهده می‌شود که ویسکوزیته ترکیب دو پلی‌ساکارید به دلیل ایجاد برهمکنش بین‌مولکولی آن‌ها کمتر از مجموع ویسکوزیته هر یک به‌تنهایی در غلظت مشابه باشد(جمشیدی و همکاران ۲۰۲۰). نتایج تحقیق حاضر با نتایج پژوهش حصاری نژاد و همکاران (۲۰۱۵) که بیان نمودند، صمغ قدومه شیرازی با وزن مولکولی کم، ویسکوزیته متوسطی را در دمای محیط ایجاد می‌کند مطابقت داشت. در این تحقیق می‌توان ویسکوزیته بالاتر صمغ قدومه شیرازی را نسبت به ویسکوزیته کیتوزان به ساختار منشعب و زنجیره‌های بلند این صمغ نسبت داد.

ویسکوزیته ی امولسیون به زمان ماندگاری امولسیون و سرعت خامه‌ای شدن آن مرتبط است، ازاین‌رو محاسبه آن بسیار اهمیت دارد. بر اساس جدول ٤، ویسکوزیته ی نانوامولسیون تهیه‌شده با صمغ قدومه شیرازی بیشتر از نانوامولسیون تهیه‌شده با کیتوزان بود. از طرفی ویسکوزیته ی نانوامولسیون تهیه‌شده از مخلوط این دو صمغ، مابین ویسکوزیته ی دو نمونه‌ی دیگر بود که دلیل آن، ترکیب شدن با نسبت برابر این دو صمغ است و

ویسکوزیته ی هر سه نمونه با هم ازلحاظ آماری اختلاف معنی‌دار داشتند. اختلاف بین ویسکوزیته ی امولسیون حاوی صمغ قدومه شیرازی و حاوی کیتوزان را می‌توان به وزن مولکولی و ساختار شیمیایی آن‌ها نسبت داد. به‌طورکلی هرچقدر وزن مولکولی و اندازه‌ی صمغ بیشتر باشد، اصطکاک بین مولکول‌ها بیشتر و درنتیجه ویسکوزیته بیشتر خواهد بود. همچنین ساختارهای شیمیایی با توجه به انواعشان اعم از شاخه‌دار یا بدون انشعاب، منعطف تا سخت، دارای گروه‌های باردار یا بدون بار و ... تأثیر مستقیمی بر رفتار رئولوژیکی و ویسکوزیته ی امولسیون می‌گذارد (جمشیدی و همکاران ۲۰۲۰؛ رضوی و همکاران ۱۳۹۰). زمانی که صمغ‌های هیدراته شده به امولسیون اضافه می‌گردد، به دلیل وزن مولکولی بالای این صمغ‌ها، حرکت قطره‌های امولسیون کاهش‌یافته و گرانروی بیشتر می‌شود. درنتیجه برخورد ذرات با هم کمتر و از شدت به هم آمیختن ذرات به یکدیگر کاسته می‌شود. ازاین‌رو، گرانروی فاز پیوسته در تثبیت امولسیون بسیار اهمیت دارد. تغییر در ویسکوزیته ی محیط به دلیل یکسان نبودن ساختار صمغ‌ها متفاوت است که برخی موجب کاهش و برخی موجب افزایش ویسکوزیته محیط می‌گردند (رضوی زاده و همکاران ۱۳۹۳).

**تأثیر نوع پوشش دیواره بر روی pH نانوامولسیون**

بین pH نانوامولسیون ها ازلحاظ آماری اختلاف معنادار مشاهده شده است. (جدول ٤) هر امولسیونی در pH بهینه‌ی خود دارای ثبات و پایداری بیشتر به دلیل افزایش پتانسیل زتا در آن pH است زیرا پتانسیل زتا تحت تأثیر pH تغییر می‌کند (خوش منظر و همکاران ۱۳۹۱). در مشاهدات یوسفی و همکاران (۱۳۹۱) ، بیان کردند که در امولسیون با pH برابر ۸، تعداد قطره‌های با اندازه‌ی ریز بیشتری دیده شد اما در امولسیون با pH برابر ۳/۵، قطره‌های روغن بافاصله‌ی بیشتر و به شکل غیر متراکم از هم قرار داشتند که به‌احتمال زیاد نشان‌دهنده‌ی تأثیر pH بر تغییر در ساختار و رفتار صمغ در امولسیون است.

**تأثیر نوع دیواره بر پایداری نانو امولسیون‌ها**

برای بررسی پایداری امولسیون، توانایی امولسیون کنندگی و درصد تفکیک در آن‌ها بررسی شد (جدول ٤). **تأثیر نوع دیواره بر روی درصد** تفکیک در بررسی پایداری امولسیون پس از ٢٤ ساعت، لایه‌ای کف در بالای امولسیون مشاهده گردید. پایداری امولسیون‌ها با توجه به نوع دیواره متفاوت بود که بیشترین درصد تفکیک در نانوامولسیون با پوشش کیتوزان و کمترین در قدومه شیرازی مشاهده شد، به این معنی که کف کنندگی در کیتوزان بیشتر بود. نتایج به‌دست‌آمده از دستگاه DLS نیز نشان داد که نانوامولسیون حاوی صمغ قدومه شیرازی دارای پتانسیل زتای بیشتری بود و در نتیجه پایداری بیشتری نسبت به کیتوزان دارد که با نتایج حاصل از این روش نیز مطابقت دارد. به‌طورکلی صمغ‌ها، مولکول‌های آب‌دوستی می‌باشند که حضورشان موجب افزایش فضای آبی پیوسته پیرامون قطره‌های فاز پراکنده می‌شود و با تثبیت این فضا در شبکه ژل‌مانند با ایجاد ممانعت فضایی، سرعت خامه‌ای شدن را کاهش و درنهایت پایداری امولسیون را افزایش می‌دهند (هوآنگ و همکاران ۲۰۰۱).

**تأثیر نوع دیواره بر توانایی امولسیون کنندگی**

توانایی امولسیون کنندگی قدومه شیرازی بیشتر از دو پوشش دیگر بود که با نتایج حاصل از روش درصد تفکیک مطابقت داشت و تأییدی برای صحت این آزمون بود.

**جدول ۴- ویژگی های نانوامولسیون ها با پوشش های مختلف**

( تیمار ۱ تا ۳ به ترتیب مربوط به پوشش قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیب هردو می باشد).

**Table 4- Characteristics of nano-emulsions with different coatings**

(Treatment 1 to 3, respectively, is related to nano-emulsions with *Allysum homolocarpum* and chitosan and mix coatings)

| Treatment | Viscosity | Brix | PH | Emulsification efficiency | Separation (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 158/45±0/05[a] | 15[a] | 6/43±0/00[a] | 90/03±0/03[a] | 2/03±0/04[c] |
| 2 | 120/71±0/19[c] | 15[a] | 4/26±0/00[b] | 86/13±0/11[b] | 3/43±0/05[b] |
| 3 | 138/66±0/05[b] | 15[a] | 4/19±0/01[c] | 80/06±0/05[c] | 8/47±0/04[a] |

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within the same line represent significant difference at P<0.05.

**بررسی تأثیر ترکیبات دیواره بر راندمان ریزپوشانی (EE)**

نانوامولسیون های مذکور به وسیله خشک کن انجمادی خشک گردیدند. سپس طبق روش توضیح داده شده راندمان ریزپوشانی آن ها محاسبه گردید. نتایج حاصل از تجزیه واریانس میانگین راندمان ریزپوشانی نمونه‌های حاصل از خشک‌کن انجمادی که در جدول ۳ نشان داده شده است حاکی از تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) راندمان ریزپوشانی بین نمونه‌ها است.

EE نمونه‌ها بین ۸۹/۲۱±۰/۹۸ تا ۹۵/٤٦±۰/۳۱ درصد متغیر بود. راندمان ریزپوشانی برای نانوریزپوشانی با پوشش قدومه شیرازی، نانوریزپوشانی با پوشش کیتوزان و نانوریزپوشانی با پوشش ترکیبی قدومه شیرازی/کیتوزان به ترتیب برابر با ۹۵/٤٦±۰/۳۱، ۸۹/۰±۲۱/۹۸ و ۹۱/±٦۳/۰/۳۹ درصد به دست آمد. یکی از اولین ویژگی‌هایی که در مورد فرآیند ریزپوشانی مدنظر قرار می‌گیرد تعیین راندمان ریزپوشانی کردن است تا به نوعی به مؤثر بودن فرآیند بکار رفته جهت تهیه ریزپوشینه‌ها پی برد. در حقیقت راندمان نانو ریزپوشانی نشان می‌دهد که چه مقدار از عصاره برگ گیاه پونه ی اولیه بکار رفته، در نانو ریزپوشینه‌ها بارگذاری شده است. از آنجایی که یکی از ویژگی‌های صمغ‌ها خاصیت چسبندگی آنها می‌باشد، انتظار می‌رود که عصاره برگ گیاه پونه‌ی به دام افتاده در درون نانو ریزپوشینه و پیوند شده در سطح، هر دو با هم به عنوان راندمان ریزپوشانی در نظر گرفته شود. اندازه ذرات نانوامولسیوهای تهیه شده را می‌توان دلیل تفاوت در درصد نانو ریزپوشانی‌ها دانست. به نظر می‌رسد ابعاد مولکولی نقش مهمی در از دست دادن ترکیبات فنولی بر عهده دارند، زیرا به شکل مستقیم با انتشار مولکولی در ارتباط هستند. به طور کلی ترکیبات ریزپوشانی شده در امولسیون‌هایی با ذرات کوچک‌تر در مقایسه با آنهایی که اندازه بزرگ‌تری دارند، بهتر باقی می‌مانند و به همین ترتیب ترکیبات هسته راحت تر از ذرات درشت‌تر امولسیون تبخیر می‌گردند (سوتیتانتاوا و همکاران ۲۰۰۵). بررسی‌های سایر محققین نیز نشان داد که راندمان ریزپوشانی با کوچک‌تر شدن اندازه‌ی ذرات امولسیون افزایش می‌یابد (جمشیدی و همکاران ۲۰۲۰؛ میرعلایی مطلق و همکاران ۱۳۹٤؛ روسنبرگ و شئو ۱۹۹٦). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که کاهش اندازه ذرات امولسیون، که عموماً نشان دهنده افزایش پایداری امولسیون می‌باشد، موجب حفظ بیشتر مواد فعال می‌شود (لیو و همکاران۲۰۰۱؛ سوتیتانتاوا و همکاران ۲۰۰۵ ؛ جعفری و همکاران ۲۰۰۸ و دهقان و همکاران ۱۳۹۷). در تأیید نتایج فوق و با توجه به نتایج سنجش اندازه و توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها در این تحقیق، نانوریزپوشانی با پوشش قدومه شیرازی، دارای اندازه و توزیع اندازه ذرات کوچک‌تر نسبت به

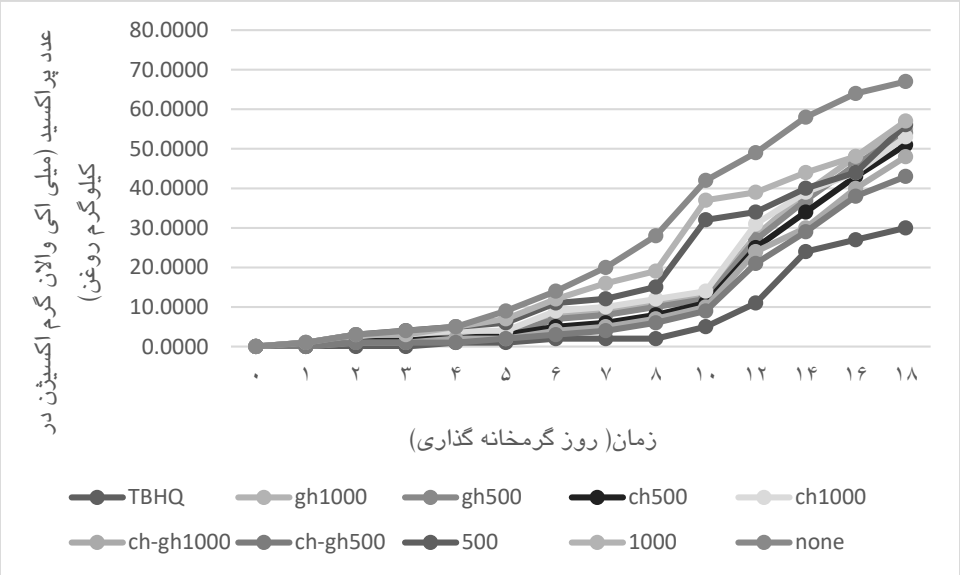
نانوریزپوشانی های با پوشش کیتوزان و قدومه شیرازی- کیتوزان بود که درصد راندمان ریزپوشانی بالاتری نیز نسبت به دو نانو ریزپوشانی دیگر داشت.

**بررسی اثر عصاره نانو ریزپوشانی شده و آزاد برگ گیاه پونه در پایداری اکسایشی روغن سویا**

**عدد پراکسید**

شکل ۹، تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های مختلف طی دوره‌ی آزمایش را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر نوع دیواره و همچنین غلظت عصاره برگ گیاه پونه، بر میزان عدد پراکسید نمونه‌ها معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$). در این بررسی عدد پراکسید تمام نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در ۶۵ °C به تدریج افزایش یافت. افزایش عدد پراکسید به دلیل تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها می‌باشد. مقدار پراکسید نمونه کنترل به میزان حداکثر ۶۷/۰۰ میلی اکی‌والان در گیلوگرم روغن پس از ۱۸ روز گرمخانه گذاری رسید. از سوی دیگر مقدار پراکسید برای نمونه‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره آزاد پونه پس از ۱۸ روز، به ترتیب برابر با ۵۶/۰۷ و ۵۷/۰۰ میلی اکی‌والان در کیلوگرم روغن بود. همچنین عدد پراکسید برای نمونه‌هایی که حاوی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام نانوریزپوشانی با پوشش قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیبی بود، به ترتیب به حداکثر میزان ۵۴/۰۰، ۵۵/۰۰، ۵۱/۰۰، ۵۳/۰۰، ۴۳/۰۰ و ۴۸/۰۰ میلی اکی‌والان در کیلوگرم روغن بعد از ۱۸ روز گرمخانه‌گذاری در ۶۵ °C رسید. به طور کلی نتایج نشان دادند که افزایش غلظت عصاره پونه به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) مقدار پراکسید در نمونه‌های روغن سویا را افزایش می‌دهد که به دلیل پیدایش خاصیت پراکسیدانی در غلظت بیشتر است. زیرا یک غلظتی از فنول‌ها برای کسب فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوب کافی است و در غلظت بالاتر از حد اشباع تأثیری در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی ندارد و یا مانند این پژوهش، موجب کاهش آن می شود (رومبائو و همکاران ۲۰۰۹).

همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، مقدار پراکسید همه‌ی نمونه‌ها روند افزایشی در طول زمان آزمایش داشت که با نتایج کامکار و همکاران (۲۰۱۰)، ابوطالبیان و همکاران (۲۰۱۶) و علیخانی فرادنبه و همکاران (۱۳۹۷) مطابقت داشت. اما این روند افزایشی برای نمونه‌های حاوی عصاره برگ گیاه پونه ی نانو ریزپوشانی شده و نمونه‌ی حاوی آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ، در مقایسه با نمونه کنترل و نمونه حاوی عصاره آزاد با شیب کمتری بود. نانوریزپوشانی شده ها تأثیر مثبت بر روی حفظ فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی عصاره در طول زمان آزمایش داشتند، به طوری که افزودن آنتی اکسیدان های طبیعی نانوریزپوشانی شده به روغن سویا می‌تواند اکسیداسیون آن را به طور موفقیت آمیزی در مقایسه با شکل آزاد عصاره کاهش دهد. بنابراین، عصاره پونه نانوریزپوشانی شده می‌تواند شاخص پراکسید را بسیار بهتر از عصاره آزاد پونه در طول ذخیره ی روغن‌های خوراکی کنترل کند. از سوی دیگر، نانوریزپوشانی می‌تواند موجب افزایش مهارکنندگی آنتی اکسیدان های طبیعی به دلیل انتشار کنترل شده ترکیبات فنولی و دسترسی تدریجی به این آنتی اکسیدان ها شود. نتایج ما با نتایج تحقیق محمدی و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت. آنها تأثیر عصاره برگ زیتون نانوریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و پروتئین آب پنیر–پکتین را در روغن سویای بدون آنتی اکسیدان، طی شرایط گرمخانه‌گذاری و با اندازه‌گیری عدد پراکسید و TBA بررسی کرده و با آنتی اکسیدان مصنوعی TBHQ و عصاره آزاد برگ زیتون مقایسه نمودند. نتایج نشان داد که عصاره نانو ریزپوشانی شده، قادر به کنترل بهتر عدد پراکسید از عصاره آزاد بود. همچنین ترکیب پروتئین وی–پکتین، پوشش بهتری را برای عصاره‌ها در جهت پایداری روغن سویا ایجاد کرد. به طوری که عصاره نانوریزپوشانی شده با این پوشش، دارای عملکردی مشابه TBHQ بود.




Similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

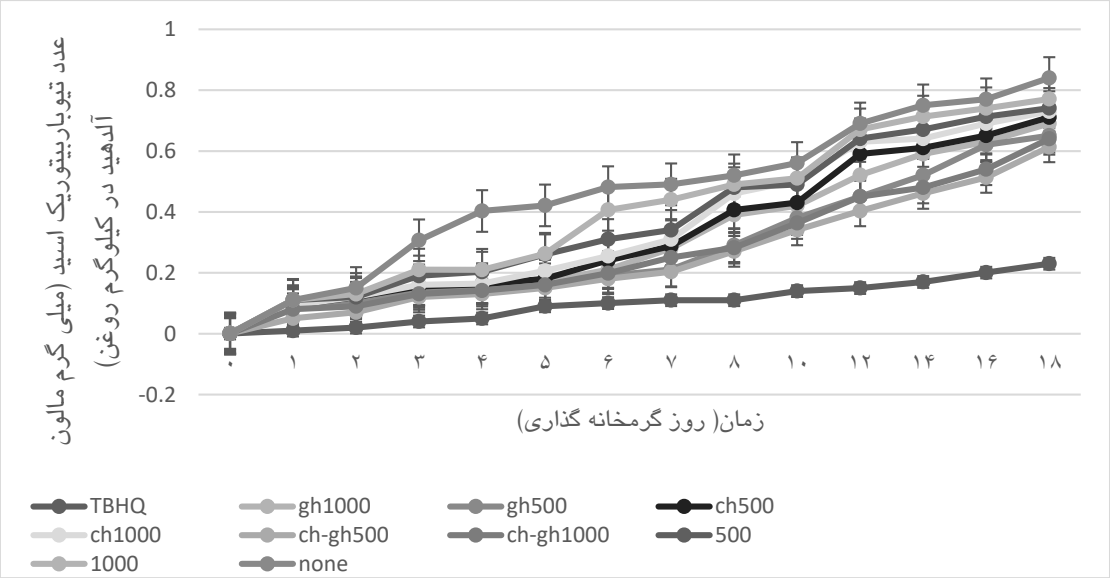
**شکل ۹- تغییرات عدد پراکسید نمونه‌ها طی ۱۸ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۵ °C**

**Figure 9- Peroxide number changes in samples during 18 days of incubation at 65 ° C**

**عدد تیوباربیتوریک اسید**

مقدار این اندیس در روزهای اولیه پایین است اما پس از گذشت زمان که با افزایش مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون، تجزیه شروع شده و تبدیل به محصولات ثانویه (مثل آلدهیدهای فرار، عامل اصلی بد طعمی روغن) می‌شوند، مقدار این اندیس افزایش می‌یابد (کبیری و سیدالنگی ۱۳۹٤). بر اساس نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر که در شکل ۱۰ آمده است، مقادیر TBA نمونه‌های مختلف تحت تأثیر زمان گرمخانه‌گذاری بوده و در شروع آزمایش در مقدار حداقل بوده و اختلاف کمی بین نمونه‌ها وجود داشت. با این وجود با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری، مقدار TBA نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). عدد TBA در تمام روزهای آزمون روند افزایشی از خود نشان داد. هنگام اندازه‌گیری عدد TBA، مالون‌دی‌آلدهید با تیوباربیتوریک اسید واکنش می‌دهد. در نتیجه، در طول اکسیداسیون روغن، میزان تیوباربیتوریک اسید افزایش پیدا می‌کند. در این فرآیند، ممکن است آلدهیدها به کربوکسیلیک اسید اکسید شوند، از این رو مقدار تیوباربیتوریک اسید کاهش می‌یابد. تقوایی و همکاران در ۲۰۱٤ بیان نمودند که این اتفاق می تواند مربوط به اکسیداسیون خودبخودی ثانویه و تشکیل اسیدهای کربوکسیلیک باشد. همانطور که در شکل ۱۰ مشاهده می شود، نمونه کنترل (Blank) دارای بیشترین اندیس TBA و آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ دارای کمترین میزان بود که با نتایج کامکار و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت. در بین ریزپوشانی عصاره ها، کمترین اندیس TBA (بهترین عملکرد) مربوط به پوشش ترکیبی قدومه شیرازی – کیتوزان در غلظت ۵۰۰ پی پی ام (۰/٦۱ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن) و بیشترین اندیس مربوط به کیتوزان در غلظت ۱۰۰۰ (۰/۷۳ میلی گرم مالون آلدهید در کیلوگرم روغن) بود. نمونه های حاوی عصاره ی آزاد نیز در رتبه قبل از نمونه بدون آنتی اکسیدان قرار داشتند. بر اساس نتایج مشخص شد که غلظت عصاره‌ها، اثر معنی داری بر این اندیس دارد بطوریکه با افزایش غلظت در هر نمونه( از ۵۰۰ به ۱۰۰۰ پی پی ام)، میزان این اندیس بطور معنی داری افزایش یافت (P<۰/۰۵) که همانطور که ذکر شد به

دلیل پیدایش خاصیت پراکسیدانی در غلظت های بالاتر از حد اشباع این عصاره است.



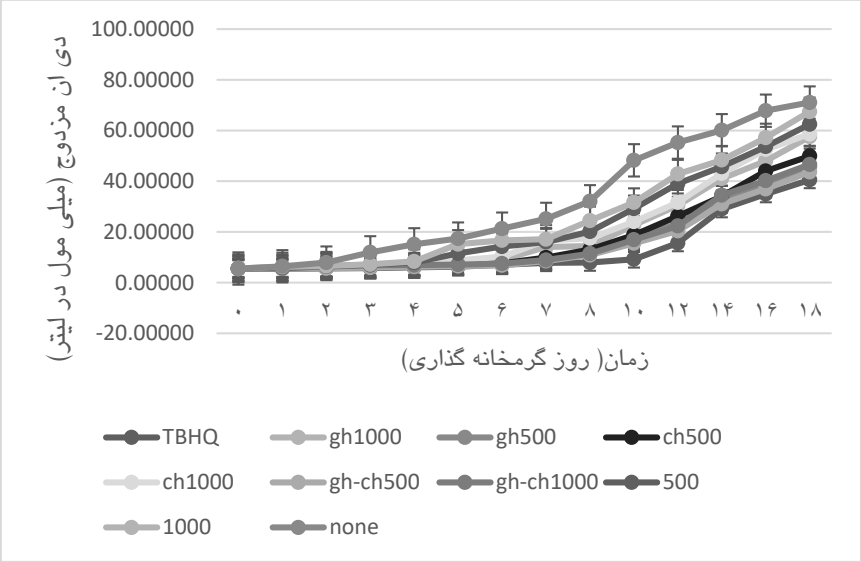

Similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

**شکل ۱۰- تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها طی ۱۸ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۵ °C**

**Figure 10 - Changes in the number of thiobarbituric acid samples during 18 days of incubation at 65 ° C**

**دی ان مزدج**

این آزمون نیز مانند آزمون تعیین عدد پراکسید، عمدتاً محصولات تولیدی در مراحل اولیه اکسیداسیون را مورد سنجش قرار می‌دهد، از این رو انجام این دو آزمون در کنار هم می‌تواند نقش مکملی داشته باشد. ارزیابی محتوای دی‌ان مزدوج، پارامتر مناسبی برای اندازه‌گیری فساد اکسایشی روغن‌ها است، از این رو از آن به عنوان شاخصی برای نشان دادن اثربخشی آنتی اکسیدان ها در به تأخیر انداختن فساد اکسایشی روغن‌ها استفاده می‌گردد (اقبال و همکاران ۲۰۰۸). هر چه اکسیژن دریافتی بیشتر باشد، عدد دی‌ان مزدوج نیز افزایش پیدا می‌کند. در حالت کلی، میزان بیشتر عدد دی‌ان مزدوج نشان دهنده ثبات و پایداری کمتر روغن در برابر اکسیداسیون است (حقیقت و همکاران ۱۳۹۲). شکل ۱۱، افزایش نسبی محتوای دی‌ان‌های مزدوج در روغن سویای گرمخانه‌گذاری شده را به عنوان تابعی از زمان نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، افزایش دی‌ان‌های مزدوج به آرامی و از روز اول آزمون آغاز شده و بین نمونه‌های حاوی عصاره نانو ریزپوشانی، عصاره‌ی آزاد برگ گیاه پونه و آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). نتایج حاصل از آزمون دی‌ان مزدوج مشابه نتایج آزمون اندیس پراکسید بود. به این ترتیب که عدد دی ان مزدوج در عصاره های نانو ریزپوشانی، کمتر از عصاره های آزاد بودند و در بین نانو ریزپوشانی‌ها نیز نانوریزپوشانی با پوشش ترکیبی قدومه شیرازی/کیتوزان (٤٣/٦٤ میلی مول در لیتر) عملکرد بهتری (محتوای دی ان مزدوج کمتر) نسبت به نانو ریزپوشانی‌های دیگر از خود نشان داد. اثر غلظت نیز در اینجا مشابه سایر آزمون ها بود.




**شکل ۱۱- تغییرات عدد دی‌ان مزدوج نمونه‌ها طی ۱۸ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۵ °C**

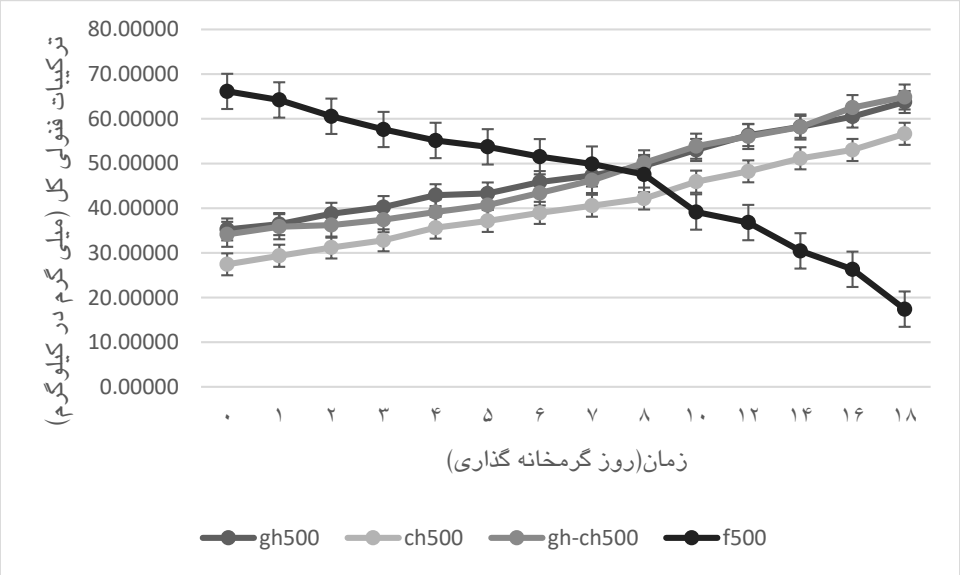
**Figure 11- Changes in the conjugate number of samples during 18 days of incubation at 65 ° C**

similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

**رهایش ترکیبات فنولی**

انتشار ترکیبات فنولی از عصاره برگ نانو ریزپوشانی شده در ماتریکس روغن طی نگهداری ۱۸ روزه در °C ٦٥ با استفاده از محاسبه ی محتوای کل فنولی در غلظت ۵۰۰ پی پی ام که طی آزمایشات پیشین بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشت، مورد ارزیابی قرار گرفت، شکل ۱۲، نتایج آنالیز واریانس، تأثیر نوع دیواره را بر میزان رهایش ترکیبات فنولی نانو ریزپوشانی‌ها و معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). در نانو ریزپوشانی‌های عصاره برگ گیاه پونه، ترکیبات فنولی سطحی به خاطر سطح تماس وسیع نانو ریزپوشانی‌ها منجر به رهایش سریع می‌شوند و در پی آن انتشار ترکیبات فنولی و رهایش از ماتریکس پلیمر صورت می‌گیرد. مقدار کل فنول موجود در روغن سویای حاوی عصاره آزاد پونه با غلظت ۵۰۰ پی پی ام در روز اول گرمخانه‌گذاری ٦٦/١٤ پی پی ام (میلی گرم در کیلوگرم) بود که پس از ۱۸ روز به ۱۷/۳۹ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید. به خاطر سیر نزولی در میزان ترکیبات فنولی، می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که فنول‌های گیاه پونه در °C ٦٥ پایدار نبوده و دستخوش تجزیه حرارتی شده‌اند. همچنین آزاد شدن ناگهانی ترکیبات فنولی از نانو ریزپوشانی‌ها در روزهای اولیه را می‌توان مربوط به حضور ترکیبات فنولی آزاد گیاه پونه در سطح دیواره‌ها، بدون اتصال دانست که این روند آزادسازی با گذشت زمان کندتر شد. تقوایی و همکاران (۲۰۱٤) در تحقیق خود بر روی عصاره برگ زیتون نانو ریزپوشانی با صمغ عربی و مالتودکسترین و ترکیب این دو دیواره به نسبت ۱:۱ و عصاره آزاد در پایدارسازی اکسایشی روغن سویا در °C ٥٥ به مدت ۲۰ روز مطالعه کردند. نتایج رهایش ترکیبات فنولی موجود در عصاره برگ زیتون نشان داد که در نمونه ی روغن سویای حاوی عصاره آزاد برگ زیتون، میزان فنول کل از ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز اول آزمایش به ٦٢ میلی‌گرم در کیلوگرم در روز پایانی رسید. آنها کاهش در مقدار ترکیبات فنولی را به تجزیه حرارتی ترکیبات فنولی عصاره در °C ٥٥ نسبت دادند که نتایج این تحقیق (شکل ۱۲) نیز با نتایج پژوهش آنها هم‌خوانی داشت. براساس نتایج اندازه‌گیری میزان فنول کل، نانوریزپوشانی های حاوی صمغ قدومه شیرازی، کیتوزان و ترکیبی به ترتیب از ٣٦/٢٥، ٢٧/٤٤ و ٣٤/١٥ به ٦٣/٧٦، ٥٦/٦٤ و ٦٤/٨٩ میلی‌گرم در کیلوگرم رسید.

همانطور که در شکل ٦ نشان داده شده است، رهایش ترکیبات فنولی در ماتریکس روغن کنترل شده است و با گذشت زمان این رهایش بیشتر شد. می‌توان نتیجه گرفت که ریزپوشانی قادر به رهایش کنترل شده ترکیبات فنولی برگ گیاه پونه و محافظت از آنها در برابر تجزیه حرارتی در طول گرمخانه‌گذاری در ٦٥ °C شده است. این نتایج با گزارش جمشیدی و همکاران(۱۳۹۸) و فنگا و بانداری (۲۰۱۰) مطابقت دارد.




**شکل۱۲- رهایش ترکیبات فنولی طی۱۸ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۶۵ °C**

**Figure 12 - Release of phenolic compounds during 18 days of incubation at 65 ° C**

Similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

## بررسی تغییرات رنگ روغن

### پردازش تصویر

رنگ، یکی از پارامترهای مهم در کنترل کیفیت روغن‌های خوراکی می باشد. تغییر رنگ در نمونه‌های روغن در طی گرمخانه‌گذاری در ٦٥ °C در جدول ٥ آمده است. مدل رنگی Lab مرکب از جزء روشنایی که نشان دهنده طیف سیاه و سفید (مقدار L که دامنه‌ای از صفر تا ۱۰۰ را دارد) و دو جزء رنگی (دامنه‌ای از ۱۲۰- تا ۱۲۰+) که شامل جزء $a^*$ (دارای طیف رنگی سبز تا قرمز) و جزء $b^*$ (دارای طیف رنگی آبی تا زرد) می باشد. از نتایج بدست آمده مشخص شد که با افزودن پودرهای نانوریزپوشانی عصاره های برگ گیاه پونه و عصاره های آزاد آن و آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ به روغن سویا، میزان روشنایی (L) تغییر کمی در مقایسه با میزان روشنایی نمونه کنترل داشت. شاخص $a^*$ منفی است که نشان‌دهنده گرایش نمونه‌ها به رنگ سبز است و $b^*$ مثبت است که نشان‌دهنده گرایش نمونه‌ها به سمت زردی است. در طول ذخیره‌سازی روغن سویا (تصفیه شده، بی‌رنگ شده و بی‌بو شده) عمدتاً افزایش رنگ رخ می‌دهد. تقویت زرد شدن در طول ذخیره‌سازی در رنگ روغن که عمدتاً در روغن سویا اتفاق می‌افتد یک پدیده شناخته شده به نام واکنش رنگ می باشد. بر اساس اظهارات شهیدی (۲۰۰۵)، واکنش رنگ مربوط به اکسیداسیون گاما–توکوفرول به یک محصول دیمریک و تبدیل آن به (۲، ۷، ۸–تری‌متیل–۲، ٤٠، ۸٠، ۱۲٠–تری‌دسیل ۲)–کروم، ٥، ٦–کینون است. رنگ روغن سویا با اضافه کردن عصاره آزاد به رنگ زرد پررنگ مایل به سبز تغییر یافت که به دلیل ترکیبات موجود در عصاره برگ گیاه پونه بود. رنگ نمونه‌های روغن حاوی عصاره ی پونه‌ی نانو ریزپوشانی شده پس از ۱۸ روز

گرمخانه‌گذاری در ۶۵ °C به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) تغییر نکرد، که به علت محصور بودن عصاره در ترکیبات دیواره می‌باشد که مانع از تماس مستقیم این ترکیبات با روغن شده است. روستایی و همکاران (۱۳۹۵) نیز به نتایج مشابهی در ریزپوشانی کردن عصاره پوست سبز پسته به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی در روغن خام سویا دست یافتند. تقوایی و همکاران (۲۰۱٤)، به بررسی پایداری اکسایشی روغن سویا با عصاره برگ زیتون نانو ریزپوشانی شده با صمغ عربی و مالتودکسترین و ترکیب این دو دیواره به نسبت ۱:۱ و آزاد در ۵۵ °C به مدت ۲۰ روز پرداختند. نتایج مربوط به رنگ نمونه‌های روغن طی ۲۰ روز ذخیره‌سازی نشان داد که رنگ روغن سویا پس از افزودن عصاره برگ زیتون به آن مشابه رنگ روغن زیتون سبز می‌شود. آنها این رنگ سبز را به محتوای کلروفیل عصاره برگ زیتون نسبت دادند. همچنین گزارش کردند که رنگ نمونه‌های روغن حاوی عصاره برگ زیتون ریزپوشانی شده بعد از ۲۰ روز نگهداری در دمای ۵۵ °C به طور معنی‌داری تغییر نکرد (P>۰/۰۵) که نتایج ما نیز با نتایج تحقیق آنها مطابقت داشت.

**جدول ۵- مقادیر L، a* و b* نمونه‌ها**

**Table 5- The values of L, a* and b* of samples**

| Samples | L | a* | b* |
|---|---|---|---|
| Encapsulated extract with *Allysum homolocarpum* | $63.67^{a}$ | $-4.47^{c}$ | $20.16^{c}$ |
| Encapsulated extract with chitosan | $63.45^{a}$ | $-4.42^{c}$ | $20.13^{c}$ |
| Encapsulated extract with *Allysum homolocarpum*/chitosan | $63.39^{a}$ | $-4.39^{c}$ | $20.14^{c}$ |
| Free extract | $63.76^{a}$ | $-2.73^{d}$ | $18.92^{d}$ |
| TBHQ | $63.43^{a}$ | $-4.71^{b}$ | $21.73^{a}$ |
| Blank | $63.75^{a}$ | $-4.88^{a}$ | $21.09^{b}$ |

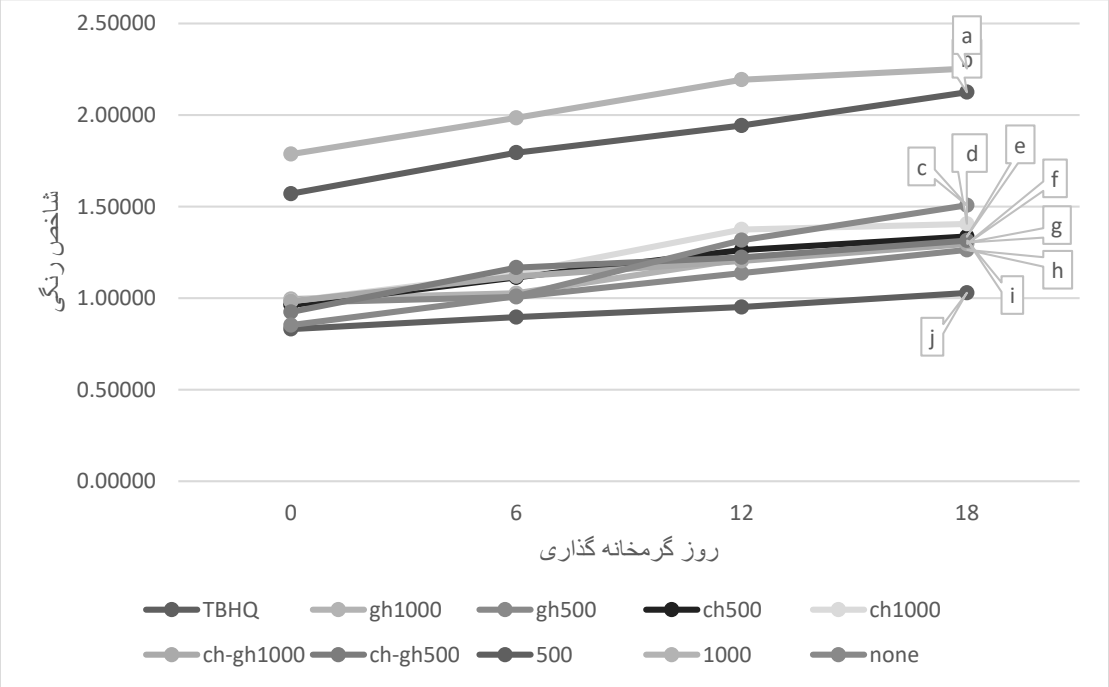
Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within the same line represent significant difference at P<0.05.

**تعیین شاخص رنگی با دستگاه اسپکتروفوتومتری**

نتایج مربوط به مقادیر شاخص رنگی در طی فرآیند حرارتی در شکل ۱۳ آمده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد که مقدار شاخص رنگی در تمام نمونه ها با افزایش زمان گرمخانه گذاری افزایش می‌یابد. افزایش شاخص رنگی به انجام فرایند اکسایشی نسبت داده می-شود که به طور معمول به تولید هیدروپراکسیدها، اسیدهای دی ان مزدوج، اپوکسیدها، هیدروکسیدها وکتون ها منجر می‌گردد. این ترکیبات ممکن است متحمل اکسایش بیشتری شده و به ترکیبات کوچکتری تجزیه گردد و یا آنکه متصل به بخش تری گلیسرید باقی بماند و بر اثر ایجاد اتصلات عرضی، تری گلیسریدهای دیمری و پلیمری را پدید آورند (جمشیدی و همکاران ۱۳۹۸؛ مقصودلو وهمکاران ۲۰۱٦ ؛ لوگانی و داویس ۱۹۸۰). طبق شکل ۱۳ و آنالیز انجام شده، بیشترین مقدار شاخص رنگی مربوط به نمونه های عصاره ی آزاد و کمترین آن مربوط به نمونه حاوی TBHQبود ($p<0.05$) . همچنین پس از ۱۸ روز، بین تمام نمونه‌های روغن اختلاف معنی دار مشاهده شد. دلیل بالا بودن شاخص رنگی در نمونه های حاوی عصاره آزاد و نیز بیشتر بودن شیب تغییرات این شاخص در این نمونه ها می تواند مربوط به رنگ سبز مایل به قهوه‌ای این عصاره باشد که بدون هیچ پوششی به روغن تزریق شده و علاوه بر رنگ خود عصاره، با گذشت زمان به دلیل سرعت بیشتر اکسایش در این نمونه‌ها نسبت به نمونه های حاوی عصاره ریزپوشانی شده، شیب تغییرات شاخص رنگی نیز افزایش می‌یابد. شیب نمونه کنترل نیز نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره ریزپوشانی شده و TBHQ بیشتر بود; زیرا پیشرفت اکسایش در آن به دلیل عدم وجود آنتی اکسیدان بیشتر بود. نتایج حاصل از این آزمون مشابه آزمون پردازش تصویر و تاییدی بر صحت آن بود. در روش پردازش

تصویر نیز روند مقایسه تغییر رنگ و تیره شدن نمونه ها به همین منوال مشاهده شد.

تقوایی و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که با افزایش زمان نگهداری، تغییرات رنگی و برگشت رنگ در روغن سویا اتفاق می‌افتد، اما نمونه های حاوی ترکیبات فنولی بصورت ریزپوشانی شده تغییرات رنگ بسیار کمی دارند که به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی می‌باشد و با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. بالاترین شاخص رنگی تا روز ۲٤ نگهداری مربوط به نمونه های حاوی عصاره آزاد بود و بعد از آن نمونه کنترل بالاترین شاخص رنگی را داشت. مقصودلو و همکاران (۲۰۱٦) نیز اعلام نمودند که با گذشت زمان فرآیند حرارتی، شاخص رنگی در روغن کانولا افزایش می یابد.




**شکل ۱۳ – تغییرات شاخص رنگی نمونه های روغن سویا در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد طی ۱۸ روز**

**Figure 13 - Changes in the color index of soybean oil samples at 65 ° C for 18 days**

Similar letters in each concentration indicate no significant difference (P> 0.05)

## نتیجه گیری

در این مطالعه مشاهده گردید که افزایش غلظت عصاره تا غلظت ۵۰۰ پی پی ام موجب افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی گردید اما با افزایش غلظت بیشتر از این مقدار، با توجه به دلایل ذکر شده در بخش بحث و نتایج، از میزان این خاصیت کاسته شد. پایداری اکسایشی روغن سویای حاوی عصاره نانوریزپوشانی شده بیشتر از روغن سویای حاوی عصاره‌ی آزاد پونه در همه‌ی غلظت‌ها بود. نمونه روغن حاوی عصاره‌ی نانو-ریزپوشانی شده با پوشش ترکیبی قدومه شیرازی/کیتوزان، پایداری اکسایشی بهتری نسبت به دو پوشش دیگر داشت. در پایان دوره گرمخانه‌گذاری (۱۸ روز)، نمونه ی کنترل بیشترین عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و دی‌ان مزدوج را از خود نشان داد و نانوریزپوشانی باعث بهبود خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ گیاه پونه گردید.

**منابع مورد استفاده**

اصغری س م، ابراهیمی سامانی س، سراج ز، خواجه خ و حسینخانی س، ۱۳۹۲. بهینه سازی سنتز نانوذرات کیتوزان، زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، ٤(۲)، ٦٥-۷۳.

اکبری ا، قربانی م، ماهونک ع، اعلمی م و کاشانی نژاد م، ۱۳۹۵. تأثیر میزان صمغ دانه مرو و ایزوله پروتئین سویا در پایداری امولسیون روغن در آب با استفاده از روش سطح پاسخ، فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی. ۱۰، ۲۳-۳۲.

باقری ه، گرایلی ز و کاشانی نژاد م، ۱۳۹٤. بررسی تغییرات رئولوژیکی صمغ قدومه شهری به عنوان تابعی از غلظت و فرایند انجماد و مقایسه آن با صمغ تجاری زانتان، فصلنامه فناوریهای نوین غذایی، ۳ (۹)، ۳۳-٤۲.

پناهی پ و اسماعیل زاده کناری ر، ۱۳۹۷. بررسی تاثیر عصاره نانوریزپوشانی شده برگ گزنه در کنترل پایداری اکسایشی روغن سویا، علوم و صنایع غذایی، ۷۵(۱۵)، ۲۳-۳۳.

جمشیدی م، اسماعیل زاده کناری ر، معتمدزادگان ع و بی پروا پ، ۱۳۹۸. اثر ترکیبات غیر قابل صابونی شونده نانوریزپوشانی شده روغن سبوس برنج طارم در پایداری اکسایشی روغن سویا، علوم و صنایع غذایی، ۹۱(۱٦)، ۹۳-۱۰۵.

حقیقت خرازی س، اسماعیل زاده کناری ر و رفتنی امیری ز، ۱۳۹۲. اثر تیمار حرارتی بر تغییرات شیمیایی و پایداری اکسایشی روغن زیتون بکر ارقام رایج ایرانی منطقه رودبار: مطالعه‌ای بر زرد، ماری و فیشمی، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، (٤)، ۳۳۰- ۳۳۹.

حسین زاده س، بستان ا، حداد خداپرست م ح و محبی م، ۱۳۹۵. ریزپوشانی روغن نعناع (*Menthaspicata*) با استفاد از نشاسته اصلاح شده، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۵، ٦۵۱-٦۳۹.

خوش منظر م، قنبرزاده ب، همیشه کار ح، صوتی خیابانی م و رضایی مکرم ر، ۱۳۹۱. بررسی عوامل موثر بر اندازه ذرات، پتانسیل زتا و ویژگیهای رئولوژیک پایا در سامانه کلوئیدی حاوی نانو ذرات کاپاکاراگینان – کازئینات سدیم، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۱(٤)، ۲۵۵-۲۷۲.

دهقان ب، اسماعیل زاده کناری ر، رفتنی امیری ز، ۱۳۹۷. اثر صمغ دانه شاهی و قدومه شهری بر خصوصیات نانوکپسول حاوی اسانس پوست پرتقال، علوم و صنایع غذایی، ۷۹(۱۵)، ۱۵۷-۱٦۹.

روحانی ر، عین افشار س، احمدزاد ر، ۱۳۹٤. استخراج ترکیبات آنتوسیانینی و آنتی‌اکسیدانی پرچم گل زعفران به کمک فناوری امواج فراصوت، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۱(۲)، ۱٦۱-۱۷۰.

رضوی زاده ب م، خان محمدی ف و عزیزی ن، ۱۳۹۳. مقایسه ویژگیهای ریزکپسولهای روغن سبوس برنج تهیه شده با خشک کن پاششی و خشک کن انجمادی، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۳(۲)، ۹۷-۱۱٤.

روستایی م، برزگر م و سحری م ع، ۱۳۹۵. عصاره ی ریزپوشانی شده ی پوست سبز پسته به عنوان یک ضداکساینده طبیعی در روغن خام سویا، اولین کنگره بین المللی و بیست و چهارمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران.

علیخانی دنبه م، اسماعیل زاده کناری ر و قادری قهفرخی م، ۱۳۹۷ بررسی تأثیر ضداکسایشی عصاره پوست کیوی (*Actinidia deliciosa* L.) بر پایداری اکسایشی روغن سویا در مقایسه با ضداکساینده مصنوعی TBHQ، علوم و صنایع غذایی ، ۸۲(۱۵)، ۳۰۷-۳۱۸.

فرهمندفر ر، ۱۳۹۱. شیمی و تکنولوژی جامع روغن های خوراکی، مشهد، صحرا.

قیصربیگی ش، رامین ع ا، امینی ف، ۱۳۹٤. تاثیر پوشش خوراکی کیتوزان بر حفظ کیفیت و عمر انبارمانی میوه لیمو شیرین، نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۵(۱۸)، ۱۵۳-۱٦۳.

قربانی م، ابونجمی م، قربانی جاوید م و عرب حسینی ا، ۱۳۹٦. تأثیر امواج فراصوت بر میزان استخراج آسکوربیک اسید از دانه رازیانه و توانایی عصاره آن در بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۷ (۱)، ۵۹- ۷۱.

کبیری س و سیدالنگی س ز، ۱۳۹٤. مقایسه ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissaofficinalis*) حاصل از دو روش استخراج غرقابی و استخراج به کمک امواج مایکرویو و تاثیر آن بر پایداری اکسایشی روغن سویا، فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، ۲(۸)، ۲۳–۳۸.

میرعلائی مطلق م، آریان فر ا و شهیدی نوقابی م، ۱۳۹٤. ریزپوشانی روغن زنجبیل در عصاره چای سبز با نشاسته اصلاح شده و مالتودکسترین، ویژه نامه علوم و صنایع غذایی،۱۳(۱)، ٦۳–۷۲.

نجف نجفی م و فاضلی ا، ۱۳۹٦. بررسی اثر صمغ دانه شاهی بر پایداری فیزیکی و خصوصیات رفتار جریان امولسیون روغن در آب تهیه شده توسط همگن ساز سرعت بالا، علوم و صنایع غذایی، ٦٤، ۱۲٦–۱۱٦.

یوسفی ف، عباسی س و عزت پناه ح، ۱۳۹۱. تأثیر میزان صمغ فارسی، روغن، پروتئین و پ هاش بر پایداری امولسیون تهیه شده با فراصوت، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۳، ۲۱۸–۱۹۹.

AOCS, 2007. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist’s Society ,7th Edition. Champaign: American Oil Chemists-Society.

AOAC, 2005. Official methods of Analysis, 15th Edition. Association of official analytical chemist.

Abootalebian M, Keramat J, Kadivar M, Ahmadi F, Abdinian M, 2016. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different Mentha spicata and *M. longifolia* accessions. Annals of Agricultural Science 61: 175–179.

Ayala-Zavala JF, Wang SY, Wang CY and González-Aguilar GA, 2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. LWT-Food Science and Technology 37:687–695.

Azwanida NN, 2015. A Review on the Extraction Methods use in Medicinal Plants, Principles, Strength and Limitation. Medicinal Aromatic Plants 4(3).

Ahmed GHG, Fernandez-Gonzalez A and Garcia MED, 2020. Nano-encapsulation of grape and apple pomace phenolic extract in chitosan and soy protein via nanoemulsification, Food Hydrocolloids 108: 105806.

Brahmi F, Khodir M, Mohamed Ch and Pierre D, 2017. Chemical Composition and Biological Activities of Mentha Species, Chapter 3.

Ballesteros LF, Ramirez MJ, Orrego CE, Teixeira JA and Mussatto SI, 2017. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials, Food Chemistry 237: 623-631.

Bail S, Stuebiger G, Krist S, Unterweger H and Buchbauer G, 2008. Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. Food Chemistry 108: 1122–1132.

Chen Z, Bertin R and Froldi G, 2013. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH_ assay using several statistical programs. Food Chemistry 138: 414–420.

Chandrasekara A and Shahidi F, 2010. Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(11): 6706–6714.

Celli GB, Ghanem A and Brooks MSL, 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (Lonicera caerulea L.) using Response Surface Methodology. Ultrasonics Sonochemistry 27: 449–455.

Chranioti Ch., Nikoloudaki A., 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.

Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q and Corke H, 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Science 78: 2872-88.

Carneiro HCF, Tonon RV, Grosso CRF and Hubinger MD, 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. Food Engineering 115:443–451.

Desobry S A, Netto FM and Labuza TP, 1997. Comparison of Spray-drying, drumdrying and freeze-drying for b-carotene encapsulation and preservation. Food Science 62:1158-1162.

Delfanian M, Esmaeilzadeh Kenari R and Sahari MA, 2016. Utilization of Jujube Fruit (*Ziziphus mauritiana Lam*.) Extracts as a Natural Antioxidants in Stability of Frying Oil. International Journal of Food 19(4): 789-801.

Dickinson E, 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. Food Hydrocolloids 17:25–39.

Ezhilarasi P, Karhik P, Chhanwal N and Anandharamakrishnan C, 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. Food and Biprocess Technology 6: 628-647.

Farhoosh R and Moosavi SMR, 2007. Rancimat test for the assessment of used frying oils quality. Journal of Food Lipids 14(3): 263–271.

Faridi Esfanjani A, Jafari SM, Assadpour E 2017. Preparation of a multiple emulsion based on pectin-whey protein complex for encapsulation of saffron extract nanodroplets. Food Chemistry 221:1962–1969.

Fanga Z and Bhandari B, 2010. Encapsulation of polyphenols e a review. Trends in Food Science and Technology, 21:510-523.

Gibis M, Rahn N, Weiss J, 2013. Physical and Oxidative Stability of Uncoated and Chitosan-Coated Liposomes Containing Grape Seed Extract. Pharmaceutics 5(3): 421-433.

Ghafoor K, Chol YH, Jeon JY and Jo JH, 2009. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins from Grape (*Vitis vinifera*) Seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57: 4988-4994.

Guimaraesr Sousa MJ, Carvalho AM and Ferreira ICFR, 2010. Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, Lemon, Lime and Orange. Journal of Food and Chemical Toxicology 48: 99-106.

Guerra-Rosas MI, Morales-Castro J, Ochoa-Martínez LA, Salvia-Trujillo L, & Martín-Belloso O, 2016. Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. Food Hydrocolloids 52: 438-446.

Gehan IKhM, Entsar IR, Mohamed EIB, 2018. Preparation and Characterizations of Chitosan/Citral Nanoemulsions and their Antimicrobial Activity. Applied Food Biotechnology 5 (2):69-78.

Hesarinejad MA, Razavi SM and Koocheki A, 2015. Alyssum homolocarpum seed gum: Dilute solution and some physicochemical properties. International Journal of Biological Macromolecules 81:418–426.

Huang X, Kakuda Y & Cui W, 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. Food hydrocolloids 15(4-6): 533-542.

Hossain MB, Brunton NP, Patras A, Tiwari B, O'Donnell CP, Martin-Diana AB and Barry-Ryan C, 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (Origanum majorana L.) using response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry 19(3): 582–590.

Iqbal S, Haleem S, Akhtar M, Zia-ul-Haq M and Akbar J, 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. Food Research International 41(2): 194–200.

Inglett GE, Chen D, Berhow M and Lee S, 2011. Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. Food Chemistry 125(3): 923–929.

Jamshidi M, Esmaeilzadeh Kenari R, Motamedzadegan A and Biparava P, 2020. Encapsulation of Unsaponifiable Matter of Rice Bran Oil Bychitosan and Lepidium perfoliatum Seed Gum: Characterization and Antioxidant Activity, Journal of the American Oil Chemists' Society 7(21):1-9.

Jafari SM, Assadpoor E, He Y and Bhandari B, 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. Drying Technology 26:816–835.

Joye IJ, Davidov-Pardo G and McClements DJ, 2015. Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 2: Stability and functionality. Food Hydrocolloids 49: 127-134.

Jivan MJ, Yarmand M and Madadlou A, 2014. Encapsulation of date palm pit extract via particulation of starch nanocrystals in a microemulsion. Food Science and Technology 49:920-923.

Kamkar A, Jebelli Javan A, Asadi F and Kamalinejad M, 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology 48: 1796- 1800.

Koocheki A, Taherian AR, Razavi SMA, Bostan A, 2009. Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from Lepidium perfoliatum seeds. Food Hydrocolloids 23: 2369-2379.

Khoshakhlagh Kh, Koocheki A, Mohebbi M and Allafchian A 2017. Development and characterization of electrosprayed Alyssum homolocarpum seed gum nanoparticles for encapsulation of D-limonene. Colloid and Interface Science 490:562–575.

Logani MK Davies RE, 1980. Lipidoxidation: biologicaleffects and antioxidants (Review). Journal of Lipids 15: 485- 495.

Lesmes U, and McClements DJ, 2012. Controlling lipid digestibility: Response of lipid droplets coated by β–lactoglobulin– dextran Maillard conjugates to simulated gastrointestinal conditions. Food Hydrocolloids 26: 221-230.

Hoorasfand Z, Ghanbarzadeh S and Hamishehkar H, 2015. Preparation and Characterization of Rutin-loaded Nanophytosomes. Pharmaceutical Sciences 21:145-151.

Liu XD, Atarashi T, Furuta T, Yoshii H, Aishima S, Ohkawara M and Linko P, 2001. Microencapsulation of emulsified hydrophobic flavors by spray drying. Drying Technology 19:1361–1374.

Mohammadi A, Jafari M, Assadpoor E and Esfanjani A, 2015. Nano-encapsulation of olive leaf phenolic Compounds through WPC-pectin complexes and evaluating their release rate. International Journal of Biological Macromolcules 82: 816-822.

Maghsoudlou E, Esmaeilzadeh Kenari R and Raftani Amiri Z, 2016. Evaluation of Antioxidant Activity of Fig (*Ficus carica*) Pulp and Skin Extract and Its Application in Enhancing Oxidative Stability of Canola Oil. Journal of Food Processing and Preservation 41(4).

Manconi M, Mura S, Sinco C, Fadda AM, Vila AO and Molina F, 2009. Development and characterization of liposomes containing glycols as carriers for diclofenac. Colloids and Surfaces A 342:53-58.

Monjazeb Marvdashti M, Koocheki A and Yavarmanesh M, 2017. Alyssum homolocarpum seed gum-polyvinyl alcohol biodegradable composite film: Physicochemical, mechanical, thermal and barrier properties. Carbohydrate Polymers 155: 280–293.

Mirmajidi Hashtjin A and Abbasi S, 2015. Nano-emulsification of orange peel essential oil using sonication and native gums. Food Hydrocolloids 44:40-48.

Osawa WO, Sahoo P K, Onyari JM and Mulaa FJ, 2016. Effects of antioxidants on oxidation and storage stability of Croton megalocarpus biodiesel. International Journal of Energy and Environmental Engineering 7(1): 85–91.

Razavi SMA, Farhoosh R and Bostan A, 2007. Functional properties of hydrocolloid extract of some Iranian seeds. Journal of Food Research 21 (3), 379-389.

Rumbaoa C and Gernomio D, 2009. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. Food Composition and Analysis 22: 546-550.

Rosenberg M and neu TY, 1996. Microencapsulation of volatiles by spray-drying in whey protein-based wall systems. International Dairy Journal 6:273–284.

Soottitantawata A, Bigeardb F, Yoshiia H, Furutaa T, Ohkawarac M and Linkod P, 2005. Microencapsulation of l-menthol by spray drying and its release characteristics. Innovative Food Science and Emerging Technologies 6:107–114.

Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N and Garcia-Celma MJ, 2005. Nano-emulsions. Current Opinions in Colloid and Interface Science 10:102–110.

Sciarini LS, Maldonado F, Ribotta PD, Perez GT, Leon AE, 2009. Chemical composition and functional properties of Gleditsia triacanthos gum. Food Hydrocolloids 23: 306-313.

Saviz A, Esmaeilzadeh Kenari R and Khalilzadeh Kelagar MA, 2015. Investigation of cultivate cone and ultrasound on antioxidant activity of Fenugreek leaf extract. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences 4: 174-18

Saguy IS, Shani A, Weinberg P and Garti N, 1996. Utilization of Jojoba Oil for Deep-fat Frying of Foods. LWT - Food Science and Technology 29: 573-577.

Sun T and Ho CT, 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. Food Chemistry 90(4): 743–749.

Shahidi F, 2005. Bailey's industrial oil and fat products. New Jersey: John Wiley and Sons.

Taghvaei M, Jafari SM, Mahoonak AS, Nikoo AM, Rahmanian N, Hajitabar J and Meshginfar N, 2014. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. LWT-Food Science and Technology 56: 124-130.

Tomšik A, Pavlić B, Vladić J, Ramić M, Brindza J and Vidović S, 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum L.*). Ultrasonics Sonochemistry 29: 502–511.

Triantaphyllou K, Blekas G, Boskou D, 2001. Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. International Journal of Food Sciences and Nutrition 52: 313–317.

Vajic UJ, Grujic-Milanovic J, Zivkovic J, Savikin K, Godevac D, Miloradovic Z, Bugarski B and Mihailovic-Stanojevic N, 2015. Optimization of extraction of stinging nettle leaf phenolic compounds using response surface methodology. Industrial Crops and Products 74:912-917.

Yanishlieva NV, Marinova E and Pokorný J, 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. European Journal of Lipid Science and Technology 108(9): 776-793.

Yousefi M, Khorshidian N, Mortazavian AM and Khosravi-Darani K, 2019. Preparation optimization and characterization of chitosan-tripolyphosphate microcapsules for the encapsulation of herbal galactagogue extract, International Journal of Biological Macromolecules 140:920-928.

Journal of Food Research, 2022,32(3):29-60
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)

DOI: 10.22034/FR.2022.42566.1770

# Comparison of free and encapsulated extracts of *Mentha pulegium*'s leaves in *Allysum homolocarpum*, chitosan *and* chitosan- *Allysum homolocarpum* on oxidative stability of soybean oil during 18 days incubation conditions

**H Tarighati[1], Z Raftani Amiri[2*] and R Esmaeilzadeh Kenari[2]**

Received: November 18, 2020 Accepted: April 5, 2021

[1]MSc, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[2] Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
[*]Corresponding Author: Email: zramiri@gmail.com, z.raftani@sanru.ac.ir

**Introduction:** Oxidation of lipids occurs during storage and processing of food products due to the presence of a significant number of double bonds, which in addition to reducing their nutritional quality, leads to the production of free radicals and hydroperoxides. These free radicals cause spontaneous oxidation and the production of undesirable chemical compounds, resulting in bad taste in food. The most important vegetable oil produced in the world is soybean oil Which has high unsaturated compounds and are Its oxidation probability is high. Today, plant extracts rich in antioxidants are used as a source of nutrients that are effective in reducing oxidative stress (Farahmandfar 1391). *Mentha pulegium* is a medicinal plant of the *Labiatae* family (*Lamiaceae*) that has antioxidant activity and we used extract of this plant which extracted by ultrasound in this study (Kamkar et al. 2010). One of the most widely used methods in food formulation to deliver the active ingredient like this extract to the target product is the use of emulsion-based delivery systems and the most common of them are nanoemulsion systems. In water / oil / water emulsions, two general mechanisms for the release of bioactive compounds occur: 1) Release through the internal connection between the internal aqueous phase droplets and the surface cells formed by the rupture of the membrane between the internal aqueous phase and the surface cell, 2) Release of soluble materials trapped in the internal aqueous phase through diffusion from the internal aqueous phase into the external aqueous phase without membrane rupture due to density difference (Magdassi and Garti 1986). Therefore, when phenolic compounds are added to oils as natural antioxidants, controlling their release during storage, plays an important role in their antioxidant activity. The materials used for the encapsulation wall must be food grade, biodegradable and capable of forming a barrier between the internal phase and the environment. In this study, chitosan gum and *Allysum homolocarpum* seed were used as wall covering materials. There are several methods for micro-coating food, and freeze-drying is one of the most common methods which was also used in this study because it causes less damage to the material than other techniques performed at higher temperatures, and mainly aroma, flavor and other nutrients remain unchanged. The main purpose of this research is to extract the extract of Mentha pulegium by ultrasound method and nano-encapsulation of this extract with chitosan and *Allysum homolocarpum* gum coatings (independently and in combination

with a ratio of 1: 1). when they are added to oils as natural antioxidants, controlling their release during storage, plays an important role in their antioxidant activity. Finally, we studied the effect of extract and encapsulated extract on oxidative stability in soybean oil

**Material and methods:** In the first part of this study, the leaf extract of *Mentha pulegium* was extracted by ethanol-water solvent (50:50) using an ultrasonic probe at 2 and 40 ° C for 10 and 20 minutes. The phenolic content of all extracts was measured by folin-ciocalteu method and their antioxidant activity was evaluated by DPPH free radical scavenging (50,100.300,400,500,600,700,800,1000 ppm) and oxidative stability tests using rancimat (500 ppm) and compared with TBHQ synthetic antioxidant (100 ppm). The initial water/oil emulsion (w/o) was prepared by mixing *Mentha pulegium* extract, emulsifier (Twin 80) and soybean oil in a ratio of 5: 33: 62%, respectively. Then, to prepare the final water /oil / water emulsion (w/o/w), the initial emulsion was mixed with hydrated gum in a ratio of 75:25% (w/w). After that, mean particle size, polydispersity index (PDI) and zeta potential values of nanoemulsions by Dynamic Light Scattering and also pH, brix, EE (%) were measured. These nanoemulsions were dried by freezing dryer. In the next part of this study, nanocoated extracts and free extracts of *Mentha pulegium* leaves each at concentrations of 500 and 1000 ppm and synthetic antioxidant TBHQ at a concentration of 100 ppm were added to soybean oil. The control sample was considered soybean oil without antioxidants. The antioxidant effect of treatments in soybean oil was investigated at 65 ° C during 18 days of incubation by measuring peroxide (PV), thiobarbituric acid (TBA) and Conjugated diene value (CDV). Also, the release rate of phenolic compounds in oil and the color index of oil samples during incubation were measured.

**Results and discussion**: The extract was selected at a temperature of 50 ° C and a time of 10 minutes due to the higher content of phenolic compounds and antioxidant activity to continue the experiments of this study. The results of analysis of variance showed that the effect of phenol concentration of extracts on inhibition of free radicals was significant with increasing concentration. The highest radical inhibition at a concentration of 500 ppm was related to the treatment of 10-50 with a percentage of inhibition of 86.01%. Particle size of nanoemulsions coated by *Allysum homolocarpum*, chitosan *and Allysum homolocarpum*/chitosan combination are 82.22, 156.30 and 107.50 nm, respectively. At the end of the incubation period, the control sample showed the highest number of peroxide, thiobarbituric acid and conjugated diene value. The oxidative stability of soybean oil containing encapsulated extract was higher than soybean oil containing free in all concentrations. The sample of oil containing encapsulated extract coated with *Allysum homolocarpum*/chitosan combination showed higher oxidation stability than chitosan and *Allysum homolocarpum* coatings alone which was not significantly different from synthetic antioxidant TBHQ ($p < 0.05$). Encapsulated extract with the Combination coating had the highest release of phenolic compounds over time. The results of analysis of variance showed the effect of wall type on the release rate of phenolic compounds of nanoparticles and were significant ($p < 0.05$).

**Conclusion:** The oxidative stability of soybean oil containing encapsulated extract was higher than soybean oil containing free extract in all concentrations. The oil sample containing encapsulated extract coated with *Allysum homolocarpum* /chitosan combination coating had better oxidation stability than the others. At the end of the incubation period (18 days), the control sample showed the highest number of peroxides, thiobarbituric acid and conjugated diene, and nanocoating improved the antioxidant properties of *Mentha pulegium* leaf extract. Oxidative stability of soybean oil containing nano-coated extract was higher than soybean oil containing free *Mentha pulegium* extract in all concentrations. Increasing the concentration of *Mentha pulegium* extract more than 500 ppm caused the prooxidating properties of these compounds in soybean oil. Also, nanocoating of extract reduced the increasing trend of color index in soybean oil.

**Keywords**: *Alyssum homolocarpum*, Chitosan, *Mentha pulegium*, Nanoemulsion, Soybean oil