Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Food Processing and Preservation

Print ISSN: 2423-3544
Online ISSN: 2423-3803

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

Extraction of phenolic and flavonoid compounds of *Grammosciadium platycarpum* Boiss. & Hausskn extract and their microencapsulation in alginate hydrogel

Maryam Rezaei-Saraji[1], Mohammad Ghorbani[2*], Alireza Sadeghi Mahoonak[3], Hoda Shahiri Tabarestani[4], Azim Ghasemnezhad[5]

[1]M.Sc. student, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, Email: moghorbani@yahoo.com
[3]Professor of the Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
[4]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[5] Associate Professor, Department of Horticulture, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2022-09-27
Revised: 2022-11-13
Accepted: 2022-12-03

Keywords:
Antioxidant
Extract
Encapsulation
Alginate hydrogel
Grammosciadium platycarpum Boiss. & Hausskn

ABSTRACT

Background and objectives: *Grammosciadium platycarpum Boiss*. & Hausskn which is named 'Shevid Koohi' belonging to the *Apiaceae* family, is a rich source of phenolic and flavonoid compounds with antioxidant properties. Antioxidants in human diet are crucial, in terms of protecting the body against oxidative stress and maintaining health. The aim of this study was to extract and encapsulate the phenolic and flavonoid compounds of dill plant in sodium alginate hydrogel.

Materials and methods: In this study, phenol and flavonoid compounds were extracted from *Grammosciadium platycarpum Boiss* and then used for encapsulation at three concentrations of 1, 2, and 3% in sodium alginate with its three concentrations of 1.5, 2, and 3%. In the next step, antioxidant activity (total antioxidant, DPPH free radical scavenging capacity, OH radical scavenging and reducing power), loading capacity of phenolic compounds of *Grammosciadium platycarpum Boiss* extract in alginate hydrogel, encapsulation efficiency and process efficiency, were evaluated. Also, structural properties of encapsulated material, including chemical structure using infrared spectroscopy were also measured. The ability to preserve phenolic compounds and antioxidant properties of the product during 30 days of storage in different environmental conditions (light and dark, temperatures of 25 ° C and 4°C) were also evaluated.

Results: The results showed the maximum loading capacity of 1.178 mg as Gallic acid per gram of extract were obtained for alginate hydrogel containing 3% of extract. In addition, it was found that through using this method, high coating efficiency about 75% was obtained. For hydrogels containing different amounts of extract during 30 days of storage the results revealed a significant difference

($P<0.05$) in the ability to maintain antioxidant activity against environmental conditions. Similar results obtained with respect to the ability of phenolic compounds retention during storage in hydrogels containing the extract, maximum retention of total antioxidant properties, free radical scavenging of DPPH and OH, and reducing power under different storage conditions were observed for hydrogels containing 2% extract. The greatest reduction in antioxidant properties were observed for hydrogels containing 1% extract under artificial light conditions. The ability to maintain the antioxidant property of the observed in artificial light condition about 55.18% and in dark conditions about 74.15%. The rate of free radical DPPH in artificial lighting conditions accounted for about 3.42 %, and about 84.15 % in dark conditions. The rate of free radical OH in artificial lighting conditions accounted about 44.11% and about 68.34% in the dark conditions. The rate of regenerative power in artificial lighting conditions was 63.53 % and was estimated at 75.83% in dark conditions.

Conclusion: In this study, it was found that 2% of alginate containing 2% extract has the best encapsulation ability and has the highest retention of phenolic compounds and antioxidant properties during storage.

Cite this article: Rezaei-Saraji, M., Ghorbani, M., Sadeghi Mahoonak, A.R., Shahiri Tabarestani, H., Ghasemnezhad, A. 2022. Extraction of phenolic and flavonoid compounds of dill plant extract powder and their microencapsulation in alginate hydrogel. *Food Processing and Preservation Journal*, 14 (4), 91-110.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/FPPJ.2022.20617.1718
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵٤٤-۲٤۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲٤۲۳

استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی پودر عصاره گیاه شوید کوهی و ریزپوشانی آن‌ها در هیدروژل آلژینات

مریم رضائی‌سراجی[۱]، محمدقربانی[۲*]، علیرضاصادقی ماهونک[۲]، هدی شهیری[۳]، عظیم قاسم‌نژاد[٤]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، رایانامه: moghorbani@yahoo.com
[۳] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
[٤] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰۷/۰۵
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰۹/۱۲

واژه‌های کلیدی:
شویدکوهی
ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی
ریزپوشاتی
هیدروژل آلژینات

چکیده

سابقه و هدف: گیاه شوید (*Grammosciadium Platycarpum* Boiss) متعلق به خانواده Apiaceae منبع غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی به لحاظ محافظت بدن در مقابل استرس اکسیداتیو و حفظ سلامت، حائز اهمیت هستند. هدف از این پژوهش استخراج و ریزپوشانی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه شوید کوهی در هیدروژل آلژینات سدیم بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ابتدا ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از عصاره گیاه شوید کوهی استخراج و سپس جهت ریزپوشانی، در سه غلظت ۱، ۲ و ۳ درصد به همراه آلژینات سدیم با سه غلظت ۱/۵، ۲ و ۳ درصد استفاده گردید. در مرحله بعد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (آنتی‌اکسیدانی کل، ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل، قدرت احیاکنندگی)، بارگیری ترکیبات فنولی عصاره گیاه شوید کوهی در هیدروژل آلژینات، بازده ریزپوشانی، خصوصیات ساختاری ماده‌ی ریزپوشانی شده از قبیل ساختار شیمیایی با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز و قابلیت حفظ ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی فرآورده طی ۳۰ روز نگهداری در شرایط محیطی مختلف (نور و تاریکی، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و یخچال ٤ درجه سلسیوس) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در این بررسی بالاترین بازده، ریزپوشانی ۷۵ درصد بدست آمد. نتایج وجود تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در قابلیت حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر شرایط محیطی، برای هیدروژل‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره در طول ۳۰ روز نگهداری نشان داد. مشابه نتایج بدست آمده در رابطه با قابلیت حفظ ترکیبات فنولی طی زمان نگهداری برای هیدروژل‌های حاوی عصاره، بیشترین میزان حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل، مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل و قدرت احیاکنندگی در شرایط نگهداری مختلف، برای هیدروژل‌های حاوی عصاره ۲ درصد مشاهده شد. بیشترین کاهش در خاصیت آنتی‌اکسیدانی برای

هیدروژل‌های آلژینات حاوی عصاره ۱ درصد در شرایط نور مصنوعی مشاهده شد که مشابه نتایج بدست آمده در رابطه با تخریب ترکیبات فنولی آن‌ها در همین شرایط بود. قابلیت حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل در شرایط نورمصنوعی حدود ۵۵/۱۸ درصد و در شرایط تاریکی حدود ۷٤/۱۵ درصد مشاهده شد. میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در شرایط نور مصنوعی حدود ۳٦/٤۲ درصد و در شرایط تاریکی حدود ۸٤/۱۵ درصد مشاهده شد. میزان مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل در شرایط نور مصنوعی حدود ٤٤/۱۱ درصد و در شرایط تاریکی حدود ٦۸/۳٤ درصد مشاهده شد. میزان قدرت احیاکنندگی در شرایط نورمصنوعی حدود ٦۳/۵۳ درصد و در شرایط تاریکی حدود ۷۵/۸۳ درصد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش مشخص گردید که آلژینات ۲ درصد حاوی عصاره ۲ درصد بهترین ریزپوشانی را داشته و در طول مدت نگهداری بالاترین میزان حفظ ترکیبات فنولی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکالی را دارد.

استناد: رضائی‌سراجی، م.، قربانی، م.، صادقی ماهونک، ع.ر.، شهیری، هـــ، قاسم‌نژاد، ع. (۱٤۰۱). استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی پودر عصاره گیاه شوید کوهی و ریزپوشانی آن‌ها در هیدروژل آلژینات. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱٤ (٤)، ۱۱۰-۹۱.

DOI: 10.22069/FPPJ.2022.20617.1718

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

شوید با نام علمی (*Grammosciadium Platycarpum* Boiss) گیاهی متعلق به خانواده (*Apiaceae*) از تیره چتریان (*Umbelliferae*) می‌باشد که نام لاتین آن *Dill* است. شوید گیاهی یک‌ساله است با ارتفاع ۴۰-۱۰۰ سانتی‌متر ریشه آن راست و مخروطی شکل و سفید است (۱). گیاهان متعلق به خانواده *Apiacea* غنی از ترکیبات پلی‌فنولی‌اند و تعداد زیادی از آن‌ها (مانند رزماری، آویشن، نعنا و جعفری) به‌دلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، معروف می‌باشند و به‌عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شوند (۲). اکسیداسیون موجب توسعه طعم و بوی نامطلوب و تولید محصولات سمی می‌شود. همچنین نقش مهمی در ایجاد برخی بیماری‌ها دارد که عامل این بیماری‌ها پراکسیدهای چربی و ترکیبات مولکولی با وزن کم تولید شده در مرحله نهایی واکنش اکسیداسیون می‌باشند (۳). از این‌رو به منظور پیشگیری از فساد غذاها و محافظت در مقابل بسیاری از بیماری‌ها ضروری است از اکسیداسیون و تشکیل رادیکال‌های آزاد درسلول‌های زنده و محصولات غذایی جلوگیری شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با به تأخیر انداختن اکسیداسیون، تخریب ترکیبات حساس و جلوگیری از تغییرات نامطلوب در رنگ، موجب حفظ کیفیت محصولات غذایی می‌شوند (۴،۵). بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به عنوان افزودنی‌های غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند اگرچه این آنتی‌اکسیدان‌ها فعالیت آنتی اکسیدانی قوی‌تری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از خود نشان می‌دهند ولی استفاده از این ترکیبات شیمیایی به دلیل آسیب به DNA و سمیت، محدود شده است (۶). در سال‌های اخیر علاقه زیادی به یافتن آنتی‌اکسیدان‌های جدید از منابع طبیعی جهت استفاده در غذاها و مواد دارویی به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان‌های مصنوعی بوجود آمده است (۴، ۵). آنتی‌اکسیدان‌های با منشا طبیعی ساختاری فنولی یا پلی‌فنولی داشته و از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی اساساً به دلیل خصوصیات مهار رادیکال آزاد توسط آن‌ها است. علاوه بر این، توانایی شلاته کردن فلزات را نیز دارند. این ترکیبات واکنش‌های اکسایشی روغن‌ها، چربی‌ها و ترکیبات محلول در چربی را نیز به تأخیر می‌اندازند (۷). درکنار ویژگی‌های مفید، پلی‌فنول‌ها طعم گس و تلخ آن‌ها و حساسیت به شرایط نامساعد محیطی مانند نور و رطوبت و زیست‌دسترسی پایین این ترکیبات منجر به کاربرد محدود آن‌ها شده است. ریزپوشانی راهکاری مفید برای رفع این محدودیت‌ها می‌باشد (۸). ریزپوشانی یک تکنولوژی جهت قراردادن ترکیبات مختلف به شکل جامد، مایع و گاز در کپسول‌های کوچک می‌باشد که قادرند محتویات خود را با سرعت کنترل شده و تحت شرایط خاص رها سازند (۹). از ضرورت‌های ریزپوشانی می‌توان به، حفاظت از ترکیبات فنولی در برابر آسیب و تجزیه، افزودن این ترکیبات کپسوله شده به محصولات غذایی پس از فرایند، پوشاندن عطر و طعم نامطلوب برخی از اجزای تشکیل دهنده ترکیبات فنولی، در نتیجه امکان تولید غذاهای فراسودمند با خواص حسی مطلوب ، حفاظت از ترکیبات حساس فنولی در برابر فعل‌و انفعالات نامطلوب با دیگر اجزا در طول ذخیره سازی، حفاظت در برابر واکنش‌های اکسیداسیون ناشی از نور و سایر واکنش‌های اکسیداسیون و رهایش کنترل شده‌ی مواد اشاره کرد (۱۰). هیدروژل آلژینات گزینه مناسبی برای ریزپوشانی این ترکیبات حساس می‌باشد. هیدروژل آلژینات می‌تواند از طریق پیوندهای عرضی فیزیکی و یا از طریق پیوندهای شیمیایی تشکیل گردد. خصوصیات ژلی که در نهایت از آلژینات تشکیل

می‌گردد به نوع پیوندها (فیزیکی یا شیمیایی بودن)، چگالی پیوندها، وزن مولکولی آلژینات و خصوصیات ساختاری آن (نوع بلوک‌ها) بستگی دارد (٤). مرسوم‌ترین راه استفاده از آلژینات برای تهیه هیدروژل و متعاقبا به دام‌انداختن ترکیبات حساس غذایی در آن، اتصالات عرضی یونی با یون‌های چندظرفیتی می‌باشد که این نحوه از تشکیل تحت شرایط ملایم صورت می‌گیرد شرایطی که ایده‌آل برای به دام‌اندازی ترکیبات حساس می‌باشد (۱۱).

در یک بررسی که آیزوپروا- اولایزولا و همکاران در سال ۲۰۱٦ بر روی ضایعات انگور بدست آمده در صنایع تولید شراب که منابع با ارزشی از ترکیبات فنولی می‌باشد، انجام دادند؛ دریافتند که این ترکیبات به روش اکستروژن و با استفاده از سدیم آلژینات و کلسیم کلرید ریزپوشانی شد و پایداری ترکیبات برای مدت ٦ ماه در شرایط محیطی مختلف از قبیل دما و نور مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد ترکیبات ریزپوشانی شده در مقایسه با ترکیبات فنولی فاقد پوشش تحت شرایط مختلف نگهداری، بسیار پایدارتر بودند. در این پژوهش بیشترین پایداری در رابطه با میکروکپسول‌های نگهداری شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (۱۲). همچنین در مطالعه‌ای وانگ و همکاران در سال ۲۰۱٦ به‌منظور افزایش پایداری ترکیبات فنولی عصاره چای سبز، ریزپوشانی این ترکیبات با استفاده از هیدروکسی پروپیل متیل سلولز به‌عنوان ماده‌ی دیواره با استفاده از تکنیک خشک‌کردن پاششی انجام دادند، دریافتند که بازده ریزپوشانی طی فرایند در حدود ۷۰/۹۸ درصد محاسبه شد. فرآیند ریزپوشانی منجر به افزایش پایداری ترکیبات فنولی و نیز حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی فراورده‌ی ریزپوشانی شده تحت شرایط مختلف از قبیل دمای بالا، نور و pH در مقایسه با شکل فاقد پوشش این ترکیبات گردید (۱۳). آریولا و همکاران (۲۰۱٦) ریزپوشانی عصاره‌ی آبی استویا[1] را با استفاده از سدیم آلژینات به روش اکستروژن، انجام دادند و پایداری ترکیبات فنولی و نیز حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی فراورده را طی دوره نگهداری به مدت ۳۰ روز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار دادند. بازده‌ی ریزپوشانی برای دانه‌های کلسیم آلژینات مرطوب در حدود ٦۹/۸ درصد و برای دانه‌های خشک شده به روش خشک‌کن انجمادی در حدود ۹۷/۷ درصد تعیین شد. طی بررسی‌ها، همبستگی بالایی بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی فراورده، مشاهده شد. علاوه بر این، نتایج نشان داد فراورده‌ی ریزپوشانی شده قادر است ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را طی دوره نگهداری حفظ کنند (۱٤).

تاکنون هیچ گزارشی در منابع علمی در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ریزپوشانی با هیدروژل آلژینات عصاره شوید کوهی یافت نشده است. با در نظر گرفتن خصوصیات ذکر شده، هدف از این پژوهش بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، حفظ ترکیبات فنولی، فعالیت ضدرادیکالی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاکنندگی عصاره گیاه شوید کوهی در گویچه‌های هیدرول آلژینات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه گیاهی: این تحقیق در بهار و تابستان ۱٤۰۰ در آزمایشگاه تجزیه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. گیاه شوید در یکی از مزارع شمال ایران (مازندران-شهرستان بهشهر)، در اوایل فصل بهار جمع‌آوری شد. بلافاصله بعد از جمع‌آوری و جداسازی ناخالصی‌ها، شسته شد و در دمای اتاق به

1. *Stevia rebaudiana*

مدت ٤٨ ساعت به صورت سنتی خشک گردید و توسط آسیاب (Porten-3100، ساخت آلمان) کاملاً پودر شد. پودر شوید تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت اتاق در بسته‌های پلاستیکی زیپ دار محافظ در برابر هوا و رطوبت نگهداری گردید. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده نیز، از نوع آزمایشگاهی و تولید شرکت مرک آلمان بوده است.

استخراج عصاره با حلال: برای استخراج عصاره، ابتدا پودر شوید را به نسبت ۱ به ۱۰ (۲۰ گرم پودر شوید با ۲۰۰میلی‌لیتر حلال) اتانول ۸۰٪ به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق و در جای تاریک استخراج شد. سپس عصاره‌ی حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره‌ی یک، فیلتر شد و وارد دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء (IKA- RV05 Basic، ساخت آلمان) برای حذف حلال گردید (۱۵).

تهیه گویچه‌های آلژینات: آلژینات سدیم تجاری تهیه شده از بازار به منظور تهیه گویچه‌های هیدروژلی مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور آلژینات سدیم و کلسیم‌کلرید روی ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ (GCA803S-سارتوریوس ساخت آلمان) توزین شدند. سپس برای تولید محلول‌ها، ۱/۵، ۲ و ۳ گرم از آلژینات سدیم (هرکدام به طور جداگانه) با مقداری آب مقطر حل شدند، سپس در ارلن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و جهت هیدراسیون کامل، توسط همزن مغناطیسی به مدت ٢٤ ساعت همزده شدند. از طرفی برای تولید محلول‌های کلسیم‌کلرید ۱، ۲ و ۳ درصد، مانند مراحل تولید محلول سدیم آلژینات انجام شد با این تفاوت که مدت زمان حل شدن کلسیم کلرید در آب ۳۰ دقیقه بود. سپس هرکدام از غلظت‌های آلژینات به طور جداگانه با اسید HCL، ۰/۱ نرمال به pH= ۳/۵ رسانده شدند، زیرا تشکیل گویچه در این pH بهتر صورت می‌گرفت. در مرحله‌ی بعد جهت تشکیل گویچه، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۳-۱٪ حاصل از آلژینات سدیم با استفاده از سرنگ با ضخامت ٤ میلی‌متر به صورت قطره قطره به ۲۰ میلی‌لیتر محلول کلسیم کلرید ۳-۱٪ اضافه شد. فاصله نوک سوزن تا سطح محلول ٦ سانتی‌متر تنظیم شد. گویچه‌های تشکیل شده به مدت ۱۵ دقیقه درون محلول نگه‌داشته شدند سپس با استفاده از یک توری استیل ضدزنگ، گویچه‌ها از محلول باند دهنده جدا، با آب مقطر شسته و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگه داشته شدند.

بارگیری ترکیبات فنولی عصاره گیاه شویدکوهی در هیدروژل آلژینات: جهت بارگیری ترکیبات فنولی عصاره گیاه شویدکوهی در هیدروژل آلژینات، ابتدا ۵۰ میلی‌لیتر از محلول آلژینات سدیم ۳-۱ درصد وزنی/ حجمی تهیه شد. سپس ۲ میلی لیتر عصاره گیاه شویدکوهی در غلظت‌های ۳- ۱٪ حجمی/ حجمی به آن اضافه و محلول آلژینات سدیم و پلی فنول عصاره کاملا مخلوط شدند. محلول به صورت قطره‌ای به داخل ۱۰۰ میلی لیتر محلول کلسیم کلراید (غلظت ٢٪ وزنی/ حجمی) از طریق سرنگ به صورت قطره قطره وارد و سپس محلول حاوی کلرید کلسیم در ٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (Centurion-K 2042 ساخت کانادا) به مدت ۱ ساعت همزده شد و دانه‌های آلژینات کلسیم با فیلتراسیون برداشته شدند. سپس با آب مقطر شسته شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگه داشته شدند و در بسته‌های پلاستیکی زیپ‌دار محافظ به هوا و رطوبت در دمای اتاق نگهداری و مورد آزمایش قرار گرفتند (١٦).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل: میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو اندازه گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد (۱۷). روش فولین سیوکالتو از متداولترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات

فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷٦۰ نانومتر نشان می‌دهد. به طور خلاصه در این روش، ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره درون لوله آزمایش با ۱/۱٦۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شدند. بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (٪۲۰ وزنی/حجمی) به محتوای لوله آزمایش افزوده شد و به مدت ۱ دقیقه به صورت شدید با ورتکس (LS100-لبترون ساخت هلند) هم‌زده شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ٤۵ دقیقه در دمای ٤۰ درجه سلسیوس در حمام آب گرم (Memert-WNB22 ساخت آلمان) قرار گرفت. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر(PG instrument Ltd- T80+) در طول موج ۷٦۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنول موجود در عصاره محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان گردید.

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی کل: میزان فلاونوئید به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و بعد جذب مخلوط در ٤۱۵ نانومتر خوانده شد. از کوئرستین به‌منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان گردید. بدین صورت که محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه و سپس از این محلول پایه غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) آماده شد. پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده در بالا مقدار جذب نمونه‌ها خوانده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون کوئرستین، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فلاونوئید کل موجود در عصاره محاسبه گردید. در نهایت، داده‌ها براساس معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره بیان شد. اصول روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید، تشکیل کمپلکس‌های اسیدی آلومینیوم کلرید با گروه کتو و یا گروه هیدروکسیل فلاونوئیدها است که این ترکیبات بیشترین جذب را در طول موج ٤۱۵ نانومتر دارند(٤،۵).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل: براساس روش پریتو و همکاران (۱۹۹۹)، پودر به‌دست آمده از حلال (اتانول ۸۰ درصد) و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، در این حلال آماده می‌گردد. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱ میلی‌لیتر از معرف مولیبدات (اسید سولفوریک ۰/٦ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ٤ میلی‌مولار) را در لوله اپندورف ریخته و پس از دربندی به‌مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب با دما ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ٦۹۵ نانومتر خوانده شد. در نمونه شاهد به جای نمونه عصاره گیاه شویدکوهی حجم یکسانی آب مقطر استفاده شد(۱۸).

بررسی مهار رادیکال آزاد (DPPH): فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و براساس روش شیمادا و همکاران (۱۹۹۲)، انجام شد. برای این منظور، پودر فنولی (پودر به‌دست آمده از عصاره اتانولی ۸۰ درصد) و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حلال اتانول ۸۰ درصد آماده شدند. ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول اتانولی DPPH (با غلظت ۱ میلی مولار) به ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و به

مدت ۲۰ ثانیه مخلوط شدند. سپس، مخلوط حاصل در ٦۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ و به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفت. بعد از این مدت میزان جذب محلول سوپرناتانت در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد(۱۹). در نهایت درصد مهار رادیکال DPPH توسط عصاره با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

رابطه (۱)

$$DPPH\ (\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل (OH): فعالیت مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از اکسیداسیون ۲-داکسی ریبوز بر طبق روش جامدار و همکاران (۲۰۱۰) اندازه‌گیری شد. برای این آزمون، ۰/۲ میلی‌لیتر از مخلوط ۱۰ میلی‌لیتر ($FeSO_4$-EDTA)، ۰/۵ میلی لیتر (۱۰ میلی‌مولار) آلفا داکسی ریبوز، ۰/۲ میلی‌لیتر نمونه هیدرولیز شده، ۰/۹ میلی‌لیتر سدیم فسفات بافر ۰/۲ مولار (pH= ۷/٤) و ۰/۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن (۱۰ میلی‌مولار) با هم مخلوط شدند. مخلوط در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت در انکوباتور (JTSL20-ژال تجهیز) قرار گرفت. سپس، ۱ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲/۸ ٪ برای توقف واکنش به مخلوط افزوده شد. مخلوط برای ۱۵ دقیقه در حمام آب داغ قرارگرفت، سپس در یخ سرد شد، و در نهایت جذب آن در ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید(۲۰). برای تهیه شاهد به جای نمونه حجم یکسانی آب مقطر استفاده شد. نتایج به صورت درصد مهار رادیکال هیدروکسیل با استفاده از معادله زیر اندازه‌گیری گردید.

رابطه (۲)

$$OH\ (\%) = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

آزمون قدرت احیاکنندگی: در این روش توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه‌ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاءکننده منجر به احیاء کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آنها به فرم فروس می‌گردد. برای تعیین قدرت احیاکنندگی، ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه حل شده در آب مقطر با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH= ٦/٦) و ۰/۵ میلی‌لیتر فری سیانید پتاسیم ۱ درصد مخلوط گردید. مخلوط در ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور قرار گرفت و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزنی–حجمی) به آن اضافه شد. مخلوط برای ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و در نهایت ۱ میلی‌لیتر از محلول سوپرناتانت با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد (وزنی –حجمی) فریک کلرید مخلوط گردید. پس از ۱۰ دقیقه در دمای محیط، جذب محلول حاصل در ۷۰۰ نانومتر قرائت شد. جذب بیشتر، بیانگر افزایش قدرت احیاکنندگی آن می‌باشد (۲۱).

بازده ریزپوشانی: بازده ریزپوشانی پلی فنول‌های عصاره گیاه شویدکوهی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و بر طبق روش Aguirre-càlvo و همکاران (۲۰۱۸) محاسبه شد. به این‌صورت که ۱ گرم از گویچه‌های تولیدی در محلول سدیم سیترات ۲ درصد به نسبت ۱به ۵ (وزنی/حجمی) حل شد و با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه به‌طور مداوم همزده شد، سپس با اندازه‌گیری جذب آن در ۷٦۰ نانومتر میزان کل ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شد، سپس برای اندازه‌گیری مقدار فنول آزاد ۲ میلی‌لیتر از ترکیب را فیلتر کرده و با سانتریفوژ با ۵۰۰۰ دور دردقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و سرانجام جذب آن در ۷٦۰ نانومتر قرائت شد(۲۲). با استفاده از معادله زیر بازده ریزپوشانی محاسبه گردید.

رابطه (۳)

$$EE\ (\%)=\frac{Total\ phenol\ content-Phenol\ content\ supernatant}{Totalphenolcontent}\times 100$$

که در آن:

EE: بازده ریزپوشانی

Total phenol content: مقدار کل فنول در هیدروژل آلژینات

Phenol content supernatant: مقدار فنول در سطح محلول

طیف سنجی فروسرخ (FTIR): به‌منظور ارزیابی ساختار شیمیایی پودر حاوی عصاره گیاه شویدکوهی و اندازه‌گیری طیف IR هیدروژل‌های آلژینات بارگیری نشده و بارگیری شده در نمونه بهینه با استفاده از دستگاه FTIR و در محدوده cm^{-1} ٤۰۰۰-٤۰۰ انجام خواهد شد (۲۳).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول ریزپوشانی شده در هیدروژل آلژینات در طی نگهداری: قابلیت آنتی‌اکسیدانی پلی فنول ریزپوشانی شده در هیدروژل آلژینات در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ریزپوشانی شده در دو دمای، محیط (۲۵ درجه سلسیوس) و یخچال (٤ درجه سلسیوس)، دو نوع مختلف بسته بندی (در بسته‌های پلاستیکی زیپ دار تیره و غیر قابل نفوذ به نور و نگهداری زیر نور مصنوعی (لامپ ۳۲ واتی با شدت روشنایی Lux ۱/۷) قرار گرفت. اندازه‌گیری صفات در بازه زمانی ۱ ماه و هر ۱۰ روز (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰) انجام شد. به این صورت که ۱ گرم از گویچه‌های تولیدی در محلول سدیم سیترات ۲ درصد به نسبت ۱به ۵ (وزنی/حجمی) حل شده و با استفاده از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه به‌طور مداوم همزده شد و روی نمونه بدست آمده، صفات قابل اندازه‌گیری شامل فعالیت آنتی اکسیدانی توسط روش مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد OH، قدرت احیاکنندگی آهن (III) و آنتی‌اکسیدانی کل مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز آماری مربوط به ۹ تیمار، با سه غلظت محلول آلژینات سدیم (۳-۱٪ وزنی/حجمی) و سه غلظت عصاره (۳-۱٪ وزنی/حجمی) تهیه شدند. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به بخش ریز پوشانی در قالب طرح کاملا تصادفی با کاربرد آنالیز واریانس یکطرفه با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن جهت بررسی معنی‌دار بودن متغیر در سطح احتمالی ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل: مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره گیاه شوید کوهی استخراج شده با حلال اتانول ۸۰ درصد در جدول ۱ آورده شده است. مقدار ترکیبات فنولی به روش فولین سیوکالتو و بر مبنای منحنی استاندارد اسیدگالیک ($Y = ۰/۰٦٦۹x + ۰/۰۱۱٦$ ،r^2=۰/۹۹۸۷) و مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید و بر مبنای منحنی استاندارد کوئرستین ($Y =١٤/٥٦٤x - ۰/۰۰۰۷$ ،r^2 =۰/۹۹۹۱) محاسبه گردید. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، ریزپوشانی تاثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر مقدار ترکیبات فنولی دارد.

جدول ۱- مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره گیاه شوید کوهی

Table 1- Total of phenolic and flavonoid compounds of dill extract

فلاونوئید کل ($mg\ g^{-1}$) Total flavonoid ($mg\ g^{-1}$)	فنول کل ($mg\ g^{-1}$) Total phenolic ($mg\ g^{-1}$)	درصد عصاره Extract (%)
۱۸,۸٦ ± 0.01 [a]	1.71± 0.01 [a]	(%) 1
25.73 ± 0.02 [b]	۲,۹۲ ± 0.02 [b]	(%) 2
42.74 ± 0.03 [c]	۳,۵۹ ± 0.03 [c]	(%) 3

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگراختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Different letters within a column indicate significant difference ($P < 0.05$).

بازده ریزپوشانی: بازده ریزپوشانی به یون‌های Ca^{2+} که با واحدهای گلورونیک آلژینات ارتباط متقابل دارند، بستگی دارد. این واحدها باعث می‌شوند که مقادیر بیشتری ازعصاره ریزپوشانی شود، یا با افزایش غلظت آلژینات، مقادیر ریزپوشانی را می‌توان افزایش داد (۲٤). جدول۲ نشان می‌دهد که تغییرات در غلظت‌های آلژینات سدیم و کلریدکلسیم تاثیر قابل توجهی در بازده ریزپوشانی عصاره دارد. همانطور که مشاهده می‌شود بهترین بازده ریزپوشانی در آلژینات سدیم ۲٪، غلظت عصاره ۲٪ و کلرید کلسیم ۲٪ در مقایسه با دیگر نمونه‌ها می‌باشد. بنابراین در این پژوهش برای آزمون‌های خواص آنتی‌اکسیدانی (آنتی‌اکسیدان کل، مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد OH و قدرت احیاکنندگی)، با توجه به نتایج بدست آمده از نمونه با کد A3 که بالاترین بازده ۷۵/۳۹ را داشت، مورد استفاده قرارگرفت.

جدول ۲- بازده ریزپوشانی در غلظت‌های متفاوت عصاره، آلژینات سدیم و کلسیم کلرید

Table2- Entrapment efficiency in different formulation of extract, sodium alginate and chloride calcium

بازده ریزپوشانی(٪) EE (%)	غلظت عصاره Extract Concentration	غلظت آلژینات سدیم Alginate Concentration	غلظت $CaCl_2$ $CaCl_2$ Concentration	نمونه‌ها samples
37.71 ± 0.11	2	1.5	2	A1
35.42 ± 0.12	3	1.5	2	A2
75.39 ± 0.06	2	2	2	A3
68.51 ± 0.16	3	2	2	A4
45.57 ± 0.06	2	1.5	3	B1
32.27 ± 0.10	3	1.5	3	B2
46.84 ± 0.13	2	2	3	B3
57.52 ± 0.01	3	2	3	B4

در مطالعه‌ای که زام و همکاران (۲۰۱٤) بر روی دانه‌های پلی‌فنولی پوست انار با پوشش آلژینات داشتند، عوامل مختلفی مانند غلظت $CaCl_2$ و غلظت آلژینات سدیم که مسئول ریزپوشانی هستند را مورد بررسی قرار دادند، آن‌ها دریافتند که غلظت ۱ تا ۲ درصد آلژینات سدیم به‌دلیل کاهش ویسکوزیته، انکپسولاسیون خوبی ندارد ولی با افزایش غلظت، بازده ریزپوشانی آن افزایش پیدا کرد (۲۵). طی گزارشی که اوستنبرگ و همکاران (۱۹۹٤) بر روی ماتریس آلژینات کلسیم برای تجویز خوراکی داشتند مشخص شد که ممکن است به دلیل اشباعیت جایگاه‌های پیوند کلسیم در زنجیره گلوکورونیک اسید، جلوگیری از به دام افتادن بیشتر یون کلسیم به میکروکپسول آسیب رسیده باشد(۲٦)، یا طبق گزارش تاکایوکی و همکاران (۲۰۰۹) که روی پوشش‌دهی باکتری لاکتیک اسید با آلژینات داشتند، تنش اسمزی رخ داده باشد(۲۷).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال آزاد عصاره گیاه شویدکوهی قبل و بعد از ریزپوشانی با غلظت

آلژینات ۲ درصد: میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (آنتی‌اکسیدان کل، ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل و قدرت احیاکنندگی) عصاره گیاه شویدکوهی قبل و بعد از ریزپوشانی با غلظت آلژینات ۲ درصد در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در عصاره قبل از ریزپوشانی بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال آزاد را نشان می‌دهد.

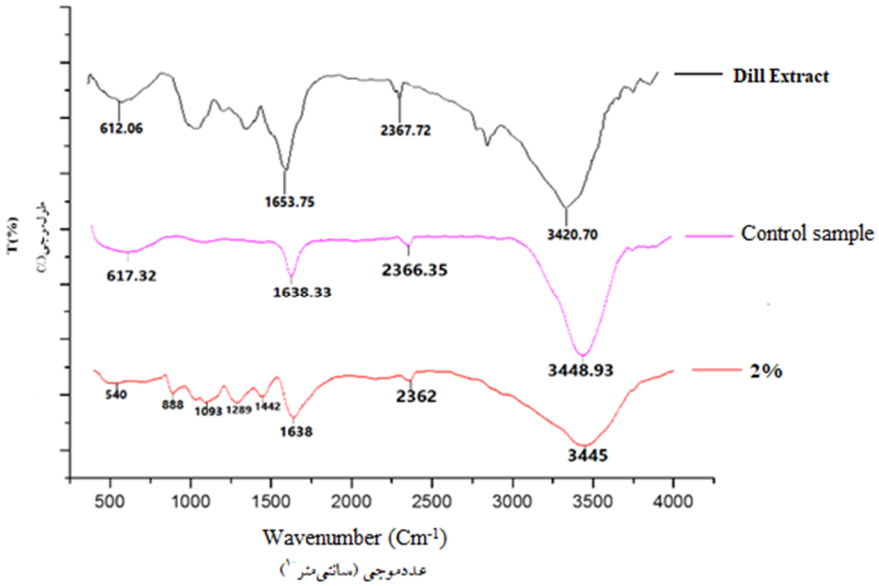
جدول۳- میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال آزاد عصاره گیاه شویدکوهی قبل و بعد از ریزپوشانی با غلظت آلژینات ۲ درصد

Table 3- The average antioxidant activity and free radical inhibition of dill extract before and after encapsulation with 2% alginate concentration

	قبل از ریزپوشانی Before Encapsulation	بعد از ریزپوشانی با غلظت آلژینات ۲(٪) After Encapsulation with concentration 2(%) alginate
آنتی‌اکسیدان کل Total antioxidant	1.44 ± 0.03	0.212 ± 0.03
مهارراديكال آزاد DPPH(%) DPPH free radical scavenging (%)	81.51	33.92
مهار رادیکال آزاد OH(%) OH free radical scavenging (%)	35.01	24.66
قدرت احیاکنندگی regenerative power	1.64	0.39

طیف سنجی مادون قرمز (FTIR): طیف سنجی مادون قرمز یکی از پر کاربردترین ابزار طیف سنجی به منظور مطالعه ساختار ترکیبات می‌باشد. این روش سریع و نسبتا ارزان قیمت بوده و از حساسیت بالایی برخوردار است. طیف‌سنجی مادون قرمز تابش‌های مربوط به فرکانس cm^{-1} ٤۰۰ تا ٤۰۰۰ را جذب می‌کند. این جذب ارتعاشات کششی و خمشی پیوندهای کووالانسی اکثر مولکول‌ها را در بر می‌گیرد. لازم به ذکر است، تمام پیوندهای موجود در مولکول قادر به جذب انرژی مادون قرمز نیستند. فقط آن دسته از پیوندهایی که دارای گشتاور دو قطبی هستند، قادر به جذب اشعه مادون قرمز خواهند بود (۲۸). همه نمونه‌های مورد آنالیز باندهای مختص به مولکول هیدروژل‌آلژینات را که توسط کتاکی و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش شده بود از خود نشان دادند. یک پیک نسبتا عمیق در محدوده فرکانس cm^{-1} ۳٤٤٥ در طیف نشان داده شد که مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H می‌باشد(۲٤). وجود پیک در محدوده فرکانس cm^{-1} ۲۳٦۲ مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های C=O می‌باشد. وجود پیک در محدوده فرکانس cm^{-1} ۱٦۳۸ مربوط به ارتعاشات کششی N-H می‌باشد. ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن مربوط به گروه‌های C-O-H, C-O در محدوده cm^{-1} ۱٤٤۲ تا ۱۰۹۳ مشاهده شد. ارتعاشات کششی در محدوده فرکانس cm^{-1} ۸۸۸ تا ٥٤۰ مربوط به گروه‌های C-H و C-O-H می‌باشد. این یافته‌ها نیز در تطابق با نتایج بدست آمده توسط کتاکی و همکاران (۲۰۱۷) در رابطه با محصول ریزپوشانی شده حاوی عصاره عناب می‌باشد(۲٤).

طبق شکل ۱ در محدوده عدد موجی (Cm^{-1} ۱۲۸۹-۱٦۳۸) تغییرات پیک عصاره ریزپوشانی شده در آلژینات ۲ درصد نسبت به شاهد نشان داد که در محدوده موجی شاهد هیچگونه پیکی دیده نشده اما در رابطه با غلظت ۲ درصد پیک‌های پیوسته‌ای مشاهده شد که به معنی برهمکنش میان عصاره و آلژینات می‌باشد.



شکل ۱- طیف FTIR مربوط به نمونه ریزپوشانی شده عصاره ۲ درصد و نمونه شاهد عصاره و آلژینات

Figure 1- FTIR spectrum related to the encapsulation of 2% extract, control sample and alginate

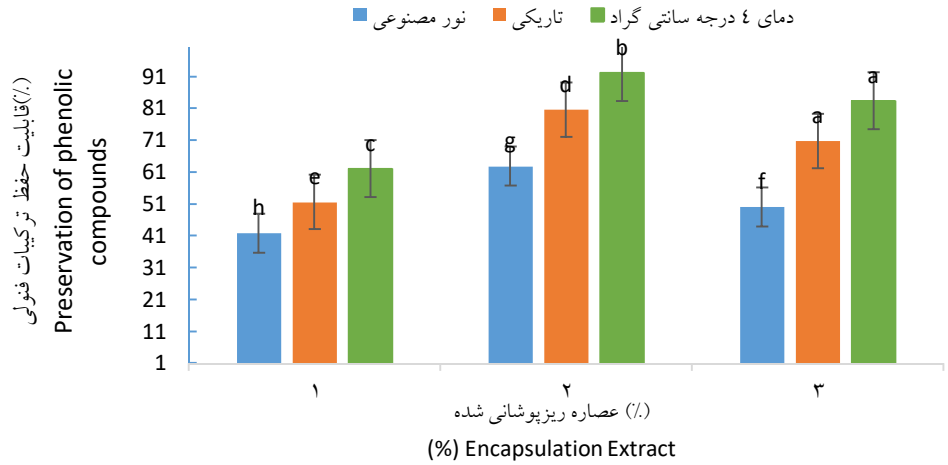
همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است در محدوده ۳٤٤۸ در آلژینات شاهد، نسبت به عصاره ریزپوشانی شده با آلژینات ۲ درصد به فرکانس‌های بالاتر ($3445\ Cm^{-1}$) تغییر یافت همچنین بنظر می‌رسد در محدوده غلظت ۲درصد در مقایسه با شاهد پیک پهن‌تری داشتند. پهنی پیک و کاهش در عدد موجی پیک نشان دهنده‌ی درگیری گروه NH فنول در تشکیل پیوند هیدروژنی به واحدهای قندی آلژینات (گلورونات) است به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت پیوند هیدروژنی بیشتری در این محدوده شکل گرفته است (۲۹).

آزمون پایداری ترکیبات فنولی و حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه شوید کوهی ریزپوشانی شده در طی نگهداری

آزمون پایداری ترکیبات فنولی در مدت زمان ۳۰ روز نگهداری: به منظور بررسی پایداری ترکیبات فنولی بارگیری شده در هیدروژل آلژینات و نیز حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن طی زمان نگهداری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، هیدروژل‌های بارگیری شده حاوی عصاره ۲،۱و ۳ درصد، در شرایط محیطی مختلف از قبیل دمای ۲۵ درجه سلسیوس (نور، تاریکی) و دمای ٤ درجه سلسیوس در بازه زمانی هر ۱۰ روز (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰) نگهداری شدند. به طور کلی نتایج آزمون‌ها تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) در رابطه با قابلیت حفظ ترکیبات فنولی در برابر شرایط محیطی، برای هیدروژل‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره در طول ۳۰ روز نگهداری نشان داد. همانطور که در نمودارهای شکل ۲ و حروف آماری آن‌ها نشان داده شده است، کاهش معنی‌داری در محتوای ترکیبات فنولی هیدروژلی برای همه تیمارها در هر سه شرایط نگهداری در ۱۰ روز اول مشاهده نشد. در این بررسی میزان محافظت از ترکیبات فنولی عصاره گیاه شویدکوهی بارگیری شده در هیدروژل آلژینات به صورت، درصد ترکیبات فنولی باقی‌مانده در کپسول‌ها پس از طی مدت زمان مشخص و تحت شرایط خاص نگهداری به محتوای ترکیبات فنولی عصاره هیدروژلی اولیه بیان می‌شود، که بر این اساس کپسول‌های هیدروژلی نگهداری شده در شرایط حاوی نور و دمای

۲۵ درجه سلسیوس، بیشترین کاهش در محتوای پلی فنولی پس از گذشت ۳۰ روز در مقایسه با شرایط دمای یخچال (دمای ٤ درجه سلسیوس) از خود نشان دادند. ژنگ (۲۰۱۱) ریزپوشانی عصاره توت‌فرنگی چینی[1] را در اتیل سلولز انجام و پایداری پودر حاصله را در شرایط نگهداری در دماهای مختلف مورد ارزیابی قرار دادند. ایشان نیز گزارش کردند که با افزایش دمای محیط نگهداری پودرها، میزان حفاظت از ترکیبات فنولی موجود در ساختار اتیل سلولز کاهش یافته است. آن‌ها همچنین کاهش حدود ۱۸ درصدی را در مقدار پلی‌فنول‌های پودر پس از گذشت ٦ هفته از زمان نگهداری در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس گزارش کردند(۳۰).

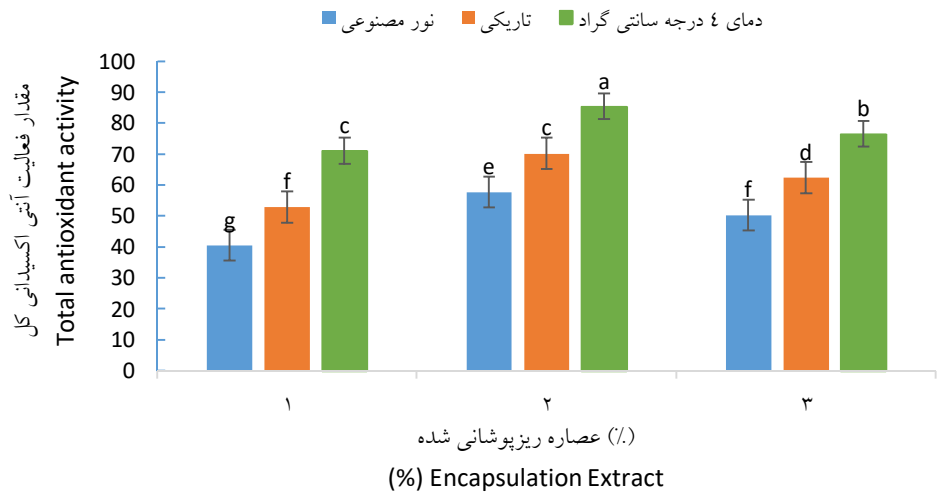
آزمون پایداری آنتی‌اکسیدانی کل در مدت زمان ۳۰ روز نگهداری: خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به واسطه گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار مولکول‌های آن می‌باشد که قادرند از طریق دادن اتم هیدروژن به رادیکال آزاد منجر به ثبات آن شده و درنتیجه با جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و DNA، باعث کاهش هرچه بیشتر عوارض جانبی ناشی از اکسیداسیون گردند (۳۱). با توجه به قابلیت حفاظت مناسب از ترکیبات فنولی طی زمان نگهداری در شرایط مختلف، هیدروژل آلژینات پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مناسبی را از خود نشان داد. محققین بسیاری نیز گزارش کردند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به میزان زیادی با محتوای فنولی در ارتباط است (۳۲،۳۳). مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره ریزپوشانی شده در طی زمان نگهداری در شکل ۳ آورده شده است. نتایج وجود تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) در قابلیت حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر شرایط محیطی، برای هیدروژل‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره در طول ۳۰ روز نگهداری نشان داد. طبق شکل ۳ و نتایج بدست آمده در رابطه با قابلیت حفظ ترکیبات فنولی طی زمان نگهداری برای هیدروژل‌های حاوی عصاره، و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در شرایط نگهداری مختلف، ۷۱/۰۹ درصد بیشترین میزانی بود که در عصاره ۲ درصد مشاهده شد.



شکل ۲- حفظ ترکیبات فنولی عصاره ریزپوشانی شده ۱، ۲ و۳ درصد، پس از اتمام ۳۰ روز نگهداری در شرایط مختلف محیطی: تاریکی دمای ۲۵ درجه سلسیوس، یخچال دمای ٤ درجه سلسیوس، نور مصنوعی دمای ۲۵ درجه سلسیوس.

Figure 2- Preservation of phenolic compounds of 1, 2, 3% encapsulation extract after 30 days of storage in different environmental conditions: Dark condition at 25ºC, Refrigerator 4 ºC, Artificial light at 25 ºC.

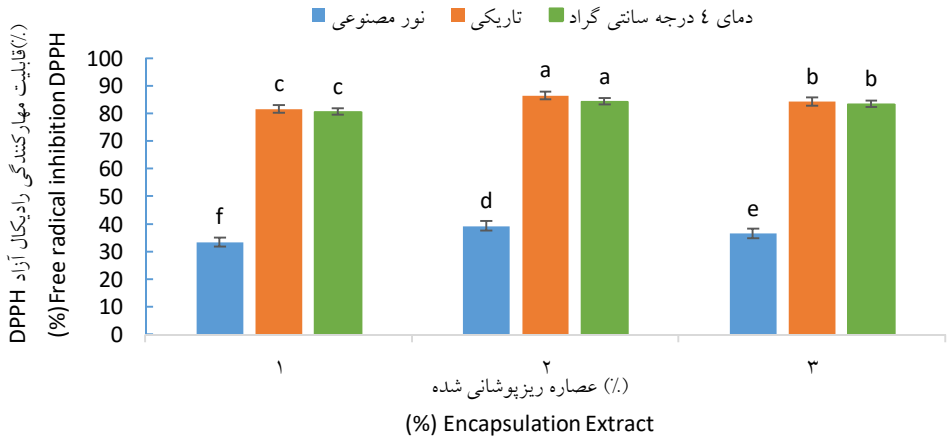
1. Bayberry (Myrica)



شکل ۳- مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره ریزپوشانی شده ۱، ۲ و ۳ درصد، پس از اتمام ۳۰ روز نگهداری در شرایط مختلف محیطی: تاریکی دمای ۲۵ درجه سلسیوس، یخچال دمای ٤ درجه سلسیوس، نور مصنوعی دمای ۲۵ درجه سلسیوس.

Figure 3- Total antioxidant activity of 1, 2, 3% encapsulation extract after 30 days of storage in different environmental conditions: Dark condition at 25ºC, Refrigerator 4 ºC, Artificial light at 25 ºC.

آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH در مدت زمان ۳۰ روز نگهداری: مقادیر مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره ریزپوشانی شده، طی زمان نگهداری در شکل ٤ آورده شده است. نتایج وجود تفاوت معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) در قابلیت حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر شرایط محیطی، برای هیدروژل‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره در طول ۳۰ روز نگهداری نشان داد. مشابه نتایج بدست آمده در رابطه با قابلیت حفظ ترکیبات فنولی طی زمان نگهداری برای هیدروژل‌های حاوی عصاره، مهار رادیکال آزاد DPPH در شرایط نگهداری مختلف، برای هیدروژل‌های حاوی عصاره ۲ درصد بیشترین میزان ۷۰/۰۷ درصد مشاهده شد.

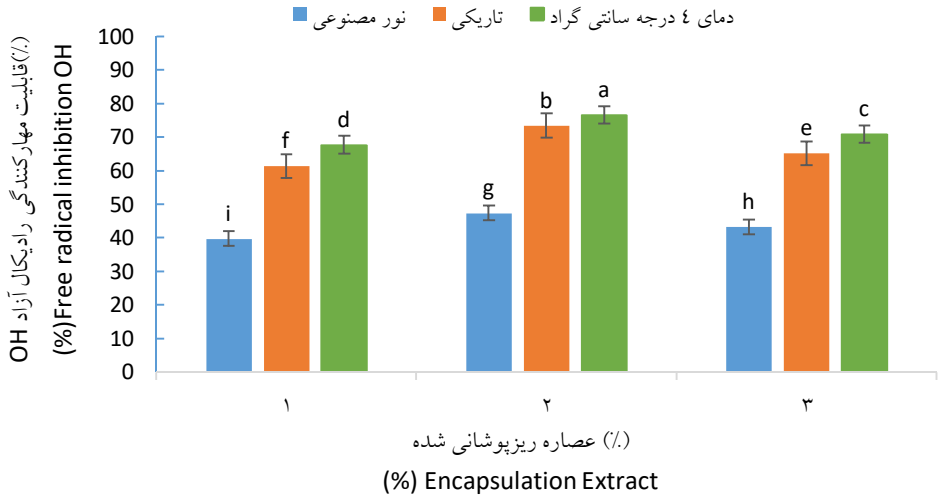


شکل ٤- قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره ریزپوشانی شده ۱، ۲ و ۳ درصد، پس از اتمام ۳۰ روز نگهداری در شرایط مختلف محیطی: تاریکی دمای ۲۵ درجه سلسیوس، یخچال دمای ٤ درجه سلسیوس، نور مصنوعی دمای ۲۵ درجه سلسیوس.

Figure 4- Free radical inhibition DPPH of 1, 2, 3% encapsulation extract after 30 days of storage in different environmental conditions: Dark condition at 25ºC, Refrigerator 4 ºC, Artificial light at 25 ºC.

مطالعات مختلف نشان داده است که توانایی الکترون‌دهی ترکیبات زیست فعال با فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مرتبط است و نتایج بیانگر آن است که عصاره‌های فنولی با بالاترین مقدار ترکیبات فنولی، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود (۳٤).

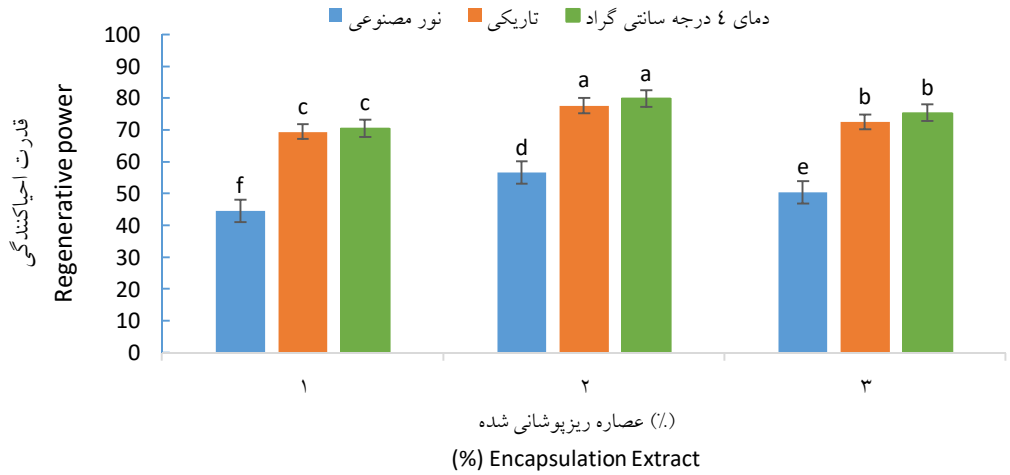
آزمون مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل در مدت زمان ۳۰ روز نگهداری: مقادیر مهار رادیکال آزاد OH عصاره ریزپوشانی شده، طی زمان نگهداری در شکل ۵ آورده شده است. نتایج وجود تفاوت معنی‌داری (P< ۰/۰۵) در قابلیت حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر شرایط محیطی، برای هیدروژل‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره در طول ۳۰ روز نگهداری نشان داد. مشابه نتایج بدست آمده در رابطه با قابلیت حفظ ترکیبات فنولی طی زمان نگهداری برای هیدروژل‌های حاوی عصاره، بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد OH در شرایط نگهداری مختلف، برای هیدروژل‌های حاوی عصاره ۲ درصد ٦۵/۸۱ درصد مشاهده شد.



شکل۵- قابلیت مهار رادیکال آزاد OH عصاره ریزپوشانی شده ۲،۱ و ۳ درصد، پس از اتمام ۳۰ روز نگهداری در شرایط مختلف محیطی: تاریکی دمای ۲۵ درجه سلسیوس، یخچال دمای ٤ درجه سلسیوس، نور مصنوعی دمای ۲۵ درجه سلسیوس.

Figure 5- Free radical inhibition OH of 1, 2, 3% encapsulation extract after 30 days of storage in different environmental conditions: Dark condition at 25ºC, Refrigerator 4 ºC, Artificial light at 25 ºC.

آزمون قدرت احیاکنندگی در مدت زمان ۳۰ روز نگهداری: قدرت احیا کنندگی عصاره ریزپوشانی شده طی زمان نگهداری در شکل ٦ آورده شده است. نتایج وجود تفاوت معنی‌داری (P< ۰/۰۵) در قابلیت حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برابر شرایط محیطی، برای هیدروژل‌های حاوی مقادیر مختلف عصاره در طول ۳۰ روز نگهداری نشان داد. مشابه نتایج بدست آمده در رابطه با قابلیت حفظ ترکیبات فنولی طی زمان نگهداری برای هیدروژل‌های حاوی عصاره، بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی در شرایط نگهداری مختلف، برای هیدروژل‌های حاوی عصاره ۲ درصد ۷۱/۳۷ درصد مشاهده شد.



شکل ٦- قدرت احیاکنندگی عصاره ریزپوشانی شده ۲،۱ و ۳ درصد، پس از اتمام ۳۰ روز نگهداری در شرایط مختلف محیطی: تاریکی دمای ۲۵ درجه سلسیوس، یخچال دمای ٤ درجه سلسیوس، نور مصنوعی دمای ۲۵ درجه سلسیوس.

Figure 6- Regenerative power of 1, 2, 3% encapsulation extract after 30 days of storage in different environmental conditions: Dark condition at 25ºC, Refrigerator 4 ºC, Artificial light at 25 ºC.

نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از آن است که قبل از ریزپوشانی عصاره با غلظت ۳ درصد بیشترین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی (آنتی‌اکسیدانی کل، مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل و قدرت احیاکنندگی) را دارا بود. در این پژوهش غلظت‌های مختلف عصاره با غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم بارگیری شدند بهترین بازده ریزپوشانی در آلژینات سدیم ۲٪، غلظت عصاره ۲٪ و کلرید کلسیم ۲٪ در مقایسه با دیگر نمونه‌ها مشاهده شد. در غلظت‌های ۱ و ۳ درصد آلژینات سدیم کمترین بازده و در بهترین حالت، غلظت ۲ درصد بالاترین راندمان ریزپوشانی عصاره را داشته است که نتایج بدست آمده نشان داد طی این فرایند حداکثر راندمان برای ریزپوشانی ۷۵/۳۹ درصد بدست آمد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (آنتی‌اکسیدانی کل، مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل و قدرت احیاکنندگی) برای هیدروژل حاوی ۲ درصد عصاره مشاهده گردید. نتایج آزمون‌های پایداری ترکیبات فنولی و نیز حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی در طول دوره ۳۰ روز نگهداری نشان‌دهنده پایداری مناسب ترکیبات فنولی ریزپوشانی شده در ساختار هیدروژلی و نیز حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل، مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد هیدروکسیل و بالاترین قدرت احیاکنندگی در شرایط مختلف محیطی (دما و نور) بود. بیشترین قابلیت حفظ ترکیبات فنولی کل ۹۲/۲۵ درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور میانگین ۷۱/۸۳ درصد برای عصاره ریزپوشانی شده ۲ درصد نگهداری شده در دمای یخچال مشاهده شد. هرچند تفاوت در قابلیت حفظ ترکیبات فنولی کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی برای عصاره ریزپوشانی شده نگهداری شده در تاریکی و یخچال در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. کمترین قابلیت حفظ ترکیبات فنولی کل ٤٥/۷۸ درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌طور میانگین ٤۳/۵۵ درصد برای عصاره ریزپوشانی شده ۱ درصد نگهداری شده در نور مصنوعی مشاهده شد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت ریزپوشانی ترکیبات فنولی گیاه شوید کوهی به روش هیدروژلی انتخابی مناسب برای

حفاظت از این ترکیبات حساس به شرایط محیطی می‌باشد. در نتیجه این فراورده می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان با ماندگاری بالا در فرمولاسیون ترکیبات غذایی عملگرا و نیز مواد دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

References

1. Bahramikia, S., and Yazdanparast, R. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of different fractions of Anethum graveolens leaves using in vitro models. Pharmacology online. 2: 233-219.
2. 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.
3. Lin, C.C., and Liang, J.H. 2000. Effect of antioxidants on the oxidative stability of chicken breast meat in a dispersion system. Food Science. 67: 530–533.
4. Lee, K.Y., and Mooney, D.J. 2012. Alginate: Properties and biomedical applications. Prog. Polym. Sci. 37: 106–136.
5. Li, P.H., and Chiang, B.H. 2012. Process optimization and stability of D-limonene-in-water Nano emulsions prepared by ultrasonic emulsification using response surface methodology. Ultrasonic Sono chemistry. 19:192-197.
6. Ito, N., Hirose, M., Fukushima, S., Tsuda, H., Shirai, T. and Tatematsu, M. 1986. Studies on antioxidants: Thecarcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenic. Journal of Food and Chemical Toxicology. 24: 1099–1102.
7. Kumar, A. 2006. Antioxidants: Natural and Synthetic. Amani International Publishers. ISBN-10: 3-938054-05-0.
8. Kamali, A., Niazmand, R., and Shurmij, M. 2011. Application and methods of microencapsulation (encapsulation) in food industry. The 20th Food Industry Congress. (In Persian).
9. Desai, K.G.H., and Park, H.J. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Drying Technology. 23:94-1361.
10. Tari, T.A. and Singhal, R.S. 2002. Starch based spherical aggregates: Reconfirmation of the role of amylose on the stability of a model flavoring compound, vanillin. Journal of Carbohydrate Polymers. 50: 279-282.
11. Poojari, R. and Srivastava, R. 2013. Composite alginate microspheres as the next generation egg-box carriers for biomacromolecules delivery. Expert Opinion on drug delivery.10: 1061-1076.
12. Aizpurua-Olaizola, O., Navarro, P., Vallejo, A., Olivares, M., Etxebarria, N., and Usobiaga, A. 2016. Microencapsulation and storage stability of polyphenols from Vitis vinifera grape wastes. Food Chemistry, 190: 614-621.
13. Wang, J., Li, H., Chen, Z., Liu, W., and Chen, H. 2016. Characterization and storage properties of a new microencapsulation of tea polyphenols. Industerial Crops and products, 89: 152-156.
14. Arriola, N.D.A., de Medeiros, P.M., Prudencio, E.S., Muller, C.M.O., and Amboni, R.D. D.M.C. 2016. Encapsulation of aqueous leaf extract of Stevia rebaudiana Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. Food Bioscience. 13: 32-40.
15. Haghighati, F., Jafari, S., and Momen Beitollahi, J. 2003. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extract with chlorhexidine on three different oral pathogens. Journal of Hakim Med. an in vitro study. 6(3): 71-6. (In Persian).
16. Mandal, S., Kumar, S., Krishnamoorthy, B., and Basu, S.K. 2010. Development and evaluation of calcium alginate beads prepared by sequential ad simultaneous methods. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 46(4): 785–793.
17. Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M., and Hamdi, M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian

Quercus coccifera L. *and Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chemistry. 105(3):1126–34.
18. Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. 269: 337-341.
19. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Agricultural and Food Chemistry. 40: 945-948.
20. Jamdar, S.N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M.D., Juan, F., Yardi, V. and Sharma, A. 2010. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. Food Chemistry. 121: 178-184.
21. Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y. and Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry. 114: 1198-1205.
22. Aguirre-calvo, T.R., Perullini, A.M., and Santagapita, P.R. 2018. Encapsulation of tacyanins and polyphenols from leaves and stems of beetroot in Ca (II) alginate beads: A structural study. Journal of Food Engineering. 235: 32-40.
23. López-Córdoba, A., Deladino, L., Agudelo-Mesa, L. and Martino, M. 2014. Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage. Journal of Food Engineering. 124: pp.158-165.
24. Ketaki, D., Kanbargi, Sachin K., Sonawane and Shalini, S. 2017. Encapsulation characteristics of protein hydrolysate extracted from Ziziphusjujube seed. International Journal of Food Properties. 20:12: 3215-3224.
25. Zam, W., Bashour, G., Abdelwahed, W., and Khayata, W. 2014. Alginate-Pomegranate Peels' Polyphenols Beads: Effects of Formulation Parameters on Loading Efficiency. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 50(4): 741–748.
26. Ostberg, T., Lund, ME., and Graffner, C. 1994. Calcium Alginate Matrices for Oral Multiple Unit Administration: Release Characteristics in Different Media. International Journal of Pharmaceutics. 112: 241–248.
27. Takayuki, T., Masahiro, Y., Yasuo, H., Kouichiro, S., and Shiro, K. 2009. Preparation of Lactic Acid Bacteria-Enclosing Alginate Beads in Emulsion System: Effect of Preparation Parameters on Bead Characteristics. Polymer Bulletin. 63: 599–607.
28. Kacurakova, M., and Wilson, R. H. 2001. Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. Carbohydrate Polymers. 44: 291-303.
29. Lin, D., Xiao, L., Wen, Y., Qin, W., Wu, D., Chen, H., Zhang, Q., and Zhang, Q. 2021. Comparison of apple polyphenol-gelatine binary complex and apple polyphenol-gelatine-pectin ternary complex: Antioxidant and structural characterization. LWT. 148: 111-740.
30. Zhang, Z. 2011. "Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits" J. NUTR. 12: 144-152pp.
31. Rice-Evans, C., Miller, N., and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science. 2: 152-159.
32. Ersus, S., and Yurdagel, U. 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. Journal of Food Engineering. 80: 805-812.
33. Moyer, R.A., Hummer, K.E., Finn, C.E., Frei, B., and Wrolstad, R.E. 2012. Anthocyanin's, phenol's, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinia, Rubeus, and Ribs. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50: 519-525.
34. Sahreen, S., Rashid Khan, M., and Ali Khan, R. 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of Carissa opaca fruits. Food Chemistry. 122: 1205-1211.