

بهینه سازی شرایط استخراج عصاره از پوست بادمجان با استفاده از روش سطح پاسخ

رضا اسماعیل زاده کناری^{۱*}، راضیه رضوی^۲، عالمه محمدی^۳، ماندانا جقه تایی^۳

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
 ۲- دانشجوی دکتری مهندسی علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
 ۳- کارشناس ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی موسسه آموزش عالی خزر محمودآباد
 (تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۴/۲۵)

چکیده

ضد اکسایش ها با حذف و ختنی کردن رادیکال های آزاد مضر نقش مهمی در جلوگیری از واکنش های مخرب اکسایش غذاها بازی می کنند. بادمجان یکی از سبزی های دارای فعالیت ضد رادیکالی است و فعالیت آن مربوط به محتوی فنولی و فلاونوئیدی پوست آن است. در این مطالعه اثرات نوع حلال (آب: ۱۰۰، اتانول: ۱۰۰، آب: اتانول ۵۰:۵۰)، زمان فراصوت (۱۰، ۱۵، ۲۰ دقیقه) و دمای عصاره گیری (۴۰، ۴۵ و ۵۰ درجه سانتیگراد) بر راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره بررسی شد و بهینه سازی شرایط استخراج به روش سطح پاسخ با استفاده از طرح مرکب مرکزی انجام شد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد نوع حلال و دمای استخراج بیشترین تاثیر را بر راندمان استخراج و میزان مواد فنولی و فلاونوئیدی داشته است. شرایط بهینه استخراج بصورت نسبت حلال اتانول: آب (۲۵، ۱۹، ۷۴، ۸۱)، دمای استخراج ۴۹/۹۴ درجه سانتیگراد و زمان فراصوت ۱۱/۲۳ دقیقه بدست آمد. سپس عصاره در شرایط بهینه استخراج شد و خاصیت ضد اکسایشی عصاره با استفاده از آزمون های مهار رادیکال آزاد DPPH^۱ و بتاکاروتن-لینولیک با ضد اکسایش سنتزی TBHQ^۲ مقایسه شد. فعالیت ضد اکسایشی عصاره در هر دو روش با میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن مرتبط بود و با افزایش این ترکیبات، فعالیت ضد اکسایشی عصاره افزایش یافت. عصاره پوست بادمجان به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای خاصیت ضد اکسایشی است و می تواند جایگزین مناسبی برای ضد اکسایش های طبیعی سنتزی باشد.

کلید واژگان: عصاره، پوست بادمجان، حلال، فراصوت، بهینه سازی

* مسئول مکاتبات: Reza_kenari@yahoo.com

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
2. Tert-Butylhydroquinone

۱- مقدمه

بادمجان (*Solanum melongena* L.) یکی از رایج‌ترین سبزیجات مورد استفاده در دنیا می باشد که در مناطق استوایی رشد می کند. این گیاه بومی منطقه جنوب شرقی آسیا، هند و چین است و قسمت اعظم تولیدات جهانی آن از آسیا و حوزه مدیترانه تامین می گردد [۱]. امروزه ترکیبات شیمیایی گیاهان توجه زیادی را به خود جلب نموده اند [۲]، که مقدار زیادی از این توجه عموماً به دلیل خواص ضدکاسایشی آن‌ها می باشد [۳]. پلی فنول‌ها و فلاونوئیدها مهمترین ترکیبات هستند که عموماً با یک حلقه آروماتیک همراه با گروه‌های هیدروکسیلی آزاد و یا بصورت ترکیب با کربوهیدرات هستند [۴]. بادمجان به علت دارا بودن ۴۰۰۰ ترکیب مهم از جمله فنولیک اسیدها [۵] و آنتوسیانین‌ها [۶]، اسیدآسکوربیک، گلوکوتانین، آمین‌های بیوژنیک [۷]، پلی فنول‌ها، فلاونوئیدها و ویتامین‌ها [۸] ظرفیت بالایی در جذب رادیکال‌های آزاد دارد [۹]. مطالعات قبلی حضور ترکیبات ضدکاسایش در بادمجان را به اثبات رسانده است [۱۰-۱۳]. فعالیت ضدکاسایش میوه‌ها و سبزیجات به طور گسترده به میزان کل ترکیبات فنولی آن‌ها بستگی دارد با اینکه فرآیندهای استخراج یک فاکتور اصلی در خصوصیات ضدکاسایشی عصاره می باشد، اما دما، قدرت استخراج کنندگی حلال [۱۴]، زمان و روش مورد استفاده برای استخراج [۱۵] به طور قابل توجهی ترکیبات عصاره را تحت تاثیر قرار می دهند [۱۶]. این تغییر پذیری به تفاوت در پیوندهای درونی این ترکیبات و به خصوص به قطبیت مولکول‌های تشکیل دهنده حلال بستگی دارد به همین جهت در فرآیند استخراج عواملی چون نوع حلال و زمان استخراج بسیار مهم هستند [۱۵]. روش‌های مختلفی برای استخراج ترکیبات فنولی وجود دارد که از آن جمله می توان به استخراج به کمک امواج فراصوت، مایکروویو و استخراج با سیال فوق بحرانی اشاره نمود. استخراج این ترکیبات با روش فراصوت از قدرت استخراج کنندگی بیشتری نسبت به سایر روش‌های استخراج برخوردار است [۴]. در این مطالعه تاثیر نوع حلال، زمان تیمار با فراصوت و دماهای مختلف استخراج بر راندمان استخراج و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره پوست بادمجان مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از روش سطح پاسخ برای تعیین مقادیر بهینه

فاکتورهای مورد بررسی استفاده شد. سپس خواص ضدکاسایشی عصاره حاصل با استفاده از روش های مهار رادیکال آزاد DPPH و بیرنگ شدن بتاکاروتن-لینولیک اسید با ضدکاسایش سنتزی TBHQ مقایسه گردید.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

بادمجان رقم جوینار (*S. melongena* L.) مازندران (۶۰ کیلوگرم) از بازار محلی شهر محمودآباد ایران خریداری و پس از شست و شو با چاقوی تیز پوست‌گیری شدند و پوست‌ها در آن با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد خشک گردید [۱۷]. سپس پوست خشک شده بادمجان توسط آسیاب به مدت ۲ دقیقه آسیاب و به صورت پودر درآمد و با الک مش ۸۰ (۸۰۰ میکرون) الک شد. کلیه مواد شیمیایی و معرف‌ها از شرکت مرک آلمان و سیگما آلد ریچ خریداری شد.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- استخراج عصاره

دستگاه اولتراسوند مورد استفاده در این پژوهش (مدل S30H ساخت کشور آلمان) دارای فرکانس ثابت ۲۰ کیلوهرتز با سیستم کنترل دما و زمان دیجیتالی بود. استخراج عصاره با روش اسماعیل زاده کناری و همکاران [۱۸] انجام شد. بدین منظور ۲۰ گرم از نمونه پودر شده پوست بادمجان با استفاده از ترازوی دیجیتالی (دقت ۰/۰۱) در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری توزین و سپس با ۲۰۰ میلی لیتر از حلال‌های آب، اتانول و آب-اتانول (۷۰:۳۰) مخلوط شدند. سپس در یک حمام اولتراسوند برای زمان‌های مختلف ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه و در دماهای ۴۰، ۴۵ و ۵۰ درجه سانتیگراد در معرض امواج فراصوت قرار گرفتند. عصاره‌های استخراج شده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک از مواد جامد گیاهی جدا گردید. عصاره‌های بدست آمده به کمک دستگاه بن ماری (مدل WM22 ساخت کشور ایران) به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد تغلیظ و سپس بوسیله فریزدرایر (مدل 5003-URT ساخت کشور ایران) خشک شدند. عصاره‌های حاصل تا زمان انجام آزمایشات در میکروتیوب و در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شدند [۱۸].

این مطالعه از طراحی سطح پاسخ با سه متغیر برای بررسی ارتباط بین پاسخ‌های به دست آمده و متغیرهای فرآیند و بهینه سازی ترکیب متغیرها استفاده شد. مقادیر عددی متغیرهای مستقل شامل: X₁ (نوع حلال)، X₂ (دما) و X₃ (زمان) در سه سطح در جدول ۱ نشان داده شده است.

می رود. مزیت اصلی روش سطح پاسخ کاهش تعداد آزمایشات لازم جهت ارزیابی پارامترهای متعدد و برهمکنش بین آنها است و در صورتیکه پاسخ تحت تاثیر تعدادی از فاکتورها قرار گیرد استفاده از این روش مناسب است. در بهینه‌سازی بسیاری از فرآیندهای استخراجی که در آن چند فاکتور موثر است، روش آماری سطح پاسخ کارایی بالایی از خود نشان می‌دهد [۲۴].

Table 1 Independent variables levels

Independent variables	Factors	Levels		
		+1	0	-1
Solvent	X ₁	100	50	0
Temperature(°C)	X ₂	50	45	40
Time (Min)	X ₃	20	15	10

راندمان استخراج عصاره دارای اختلاف معنی دار آماری با سایر مدل‌ها انتخاب شد و به صورت زیر بدست آمد:

$$Y = 20.32 + 1.81X_1 + 1.6X_2 - 0.11X_3 - 0.19X_1X_2 + 0.26X_1X_3 - 0.92X_2X_3 - 3.03X_1^2 - 0.53X_2^2 + 0.41X_3^2$$

فناوری کول عصاره

$$Y = 2251.22 + 170.66X_1 + 264.12X_2 + 61.96X_3 + 9.98X_1X_2 + 62.08X_1X_3 - 189.13X_2X_3 - 312.95X_1^2 - 12.35X_2^2 + 13.83X_3^2$$

فلاونوئید عصاره

$$Y = 792.39 + 70.42X_1 + 93.4X_2 + 12.77X_3 - 0.62X_1X_2 + 18.74X_1X_3 - 64.26X_2X_3 - 88.75X_1^2 + 38.66X_2^2 - 15.38X_3^2$$

جدول آنالیز واریانس برای ارزیابی معنی‌داری استفاده شد. برای هر یک از عبارت‌های مدل مقادیر F و P مشخص شد. هرچه میزان F بیشتر و مقدار P کمتر باشد عبارت مورد نظر تاثیر بیشتری در میزان پاسخ و در واقع معنی‌داری بیشتری خواهد داشت [۲۶]. در جدول ۳ راندمان استخراج نشان می‌دهد که تاثیر نوع حلال و دما بر راندمان استخراج عصاره معنی‌دار بوده است. همچنین در بین عبارت‌های درجه دوم تنها نوع حلال معنی‌دار بود. برهمکنش متقابل هیچ یک از متغیرها معنی‌دار نبود.

مدل مورد استفاده در روش RSM معمولاً معادله درجه دوم است. در روش RSM برای هر متغیر وابسته، مدلی تعریف شده که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می‌نماید، مدل چند متغیره به صورت زیر می‌باشد [۲۵]:

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_4X_4 + \beta_{11}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 + \beta_{44}X_4^2 + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{14}X_1X_4 + \beta_{23}X_2X_3 + \beta_{24}X_2X_4 + \beta_{34}X_3X_4$$

در این معادله ذکر شده Y پاسخ پیش بینی شده، β_0 ضریب ثابت، $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$ اثرات خطی، $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}, \beta_{44}$ اثرات مربعی و $\beta_{12}, \beta_{23}, \beta_{34}, \beta_{14}, \beta_{24}, \beta_{34}$ اثرات متقابل می‌باشند. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار Design Expert نسخه ۱.۵.۷ استفاده شد و رسم نمودارها به روش رویه پاسخ صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- برازش مدل

پس از تجزیه داده‌ها جهت تعیین بهترین مدل پیشنهادی از میان پنج مدل موجود با توجه به جدول تجزیه واریانس مدلی که مقدار مجموع مربعات آن دارای اختلاف معنی‌دار باشد و مقدار عدم برازش آن معنی‌دار نشود به عنوان بهترین مدل انتخاب می‌شود. لذا پس از بررسی نتایج بدست آمده و مقایسه مدل‌های رگرسیونی نتایج حاکی از آن بود که مدل Quadratic برای بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر میزان فنول کل، فلاونوئید و

Table 2 Randomized trial treatments based on formulation variables

Treatment	Time (Min)	Temperature (°C)	Solvent (% ethanol)	Efficiency (%)	Total Phenol (mgGA/100gE)	Flavonoid (mgQE/100gE)
1	15	45	50	20.42±1.2	2396.55±12.1	890.52±15.1
2	15	45	100	18.29±2.9	2002.91±9.7	745.87±13.8
3	10	40	0	13.15±3.5	1345.06±7.3	506.57±16.6
4	15	40	50	17.83±3.2	2091.72±4.5	777.25±9.5
5	10	50	0	19.1±2.4	2241.5±5.8	832.9±12.7
6	15	45	50	20.35±4.5	2158.64±13.4	823.84±9.8
7	15	50	50	21.08±3.3	2473.15±6.6	918.98±15.5
8	15	45	0	15.58±1.5	1843.21±8.1	651.11±10.6
9	20	40	0	13.97±3.8	1639.72±9.4	609.29±11.9
10	20	45	50	21.95±1.3	2483.72±5.7	831.56±13.2
11	10	50	100	21.49±4.2	2521.45±3.9	936.93±9.3
12	15	45	50	20.40±2.7	2030.77±7.4	684.24±8.8
13	15	45	50	22.33±1.4	2445.62±8.1	734.77±5.3
14	20	50	100	19.67±3.6	2307.88±10.9	857.57±11
15	15	40	50	18.16±2.8	1857.22±11.1	693.21±12.7
16	10	45	50	18.81±4.9	2015.97±12.4	712.16±13.2
17	15	45	50	19.48±5.3	2285.28±13.8	849.17±14.7
18	10	40	100	17.42±3.8	1590.25±12.2	632.3±12.5
19	20	40	100	18.14±4.6	2128.07±8.9	790.75±11.1
20	20	50	0	15.12±2.8	1774.48±9.4	659.37±10.4

Table 3 Analysis of variance for extract efficiency in Response Surface Quadratic Model

Source	df	Sum of squares	Mean square	F value	P value
Model	9	112.63	12.51	9.1	0.0009
X ₁	1	32.72	32.72	23.79	0.0006
X ₂	1	27.37	27.37	19.9	0.0012
X ₃	1	0.13	0.13	0.092	0.7677
X ₁ X ₂	1	0.28	0.28	0.2	0.6608
X ₁ X ₃	1	0.53	0.53	0.39	0.5485
X ₂ X ₃	1	6.73	6.73	4.9	0.0513
X ₁ ²	1	26.83	26.83	19.5	0.0013
X ₂ ²	1	0.94	0.94	0.68	0.4278
X ₃ ²	1	0.50	0.50	0.36	0.5609
Residual	10	13.76	1.38		
Pure Error	5	4.43	0.89		

Table 4 Analysis of variance for total phenol in Response Surface Quadratic Model

Source	df	Sum of squares	Mean square	F value	P value
Model	9	1.819×10^6	2.021×10^5	8.37	0.0013
X ₁	1	2.912×10^5	2.912×10^5	12.07	0.006
X ₂	1	7.475×10^5	7.475×10^5	30.98	0.0002
X ₃	1	38393.76	38393.76	1.59	0.2385
X ₁ X ₂	1	796.01	796.01	0.033	0.8595
X ₁ X ₃	1	30828.15	30828.15	1.28	0.2847
X ₂ X ₃	1	2.862×10^5	2.862×10^5	11.86	0.0063
X ₁ ²	1	2.856×10^5	2.856×10^5	11.83	0.0063
X ₂ ²	1	508.22	508.22	0.021	0.8875
X ₃ ²	1	558.05	558.05	0.023	0.8821
Residual	10	2.413×10^5	24128.54		
Pure Error	5	1.44×10^5			

جدول ۵ نشان داده شد که تاثیر نوع حلال و دما بر میزان فلاونوئید معنی دار بوده است ($p < 0.05$) اما تاثیر زمان استخراج و برهمکنش متقابل متغیرها معنی دار نبود. همچنین در بین عبارات های درجه دوم تنها تاثیر نوع حلال معنی دار بود ($p < 0.05$).

در جدول ۴ مشاهده میشود تاثیر نوع حلال و دمای استخراج بر میزان فنول کل عصاره معنی دار بوده است ($p < 0.05$)، اما تاثیر متقابل متغیرها معنی دار نبود. همچنین در بین عبارات های درجه دوم تنها تاثیر نوع حلال معنی دار بود. به جز برهمکنش نوع حلال و زمان استخراج، سایر برهمکنش های متغیرها معنی دار نبود. در

Table 5 Analysis of variance flavonoid in Response Surface Quadratic Model

Source	df	Sum of squares	Mean square	F value	P value
Model	9	2.056×10^5	22848.46	5.77	0.0057
X ₁	1	49587.3	49587.3	12.53	0.0054
X ₂	1	93485.28	93485.28	23.63	0.0007
X ₃	1	1630.37	1630.37	0.41	0.5354
X ₁ X ₂	1	3.08	3.08	0.007	0.9783
X ₁ X ₃	1	2808.75	2808.75	0.71	0.4192
X ₂ X ₃	1	33032.21	33032.21	8.35	0.0161
X ₁ ²	1	22963.32	22963.32	5.8	0.0367
X ₂ ²	1	4981.93	4981.93	1.26	0.2881
X ₃ ²	1	689.44	689.44	0.17	0.6852
Residual	10	3957.03	3957.03		
Pure Error	5	2.452×10^5			

مانند متانول، اتانول، بوتانول، استون، کلروفرم و آب به طور متداول برای استخراج ترکیبات فنولی استفاده می شوند. لویز و همکاران [۲۷] اعلام نمودند که نوع حلال تاثیر بسزایی بر بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارد. دوکیو و همکاران [۲۲] عصاره گیاه رزماری را با استفاده از حلال های آب، اتانول:آب و اتانول استخراج نمودند. نتایج نشان داد حلال اتانول:آب بیشترین بازده استخراج را داشته است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

۳-۲- اثر متغیرهای مستقل بر راندمان استخراج

عصاره

شکل ۱ تاثیر متقابل نوع حلال، زمان و دمای استخراج را بر راندمان استخراج عصاره نشان می دهد. با افزایش درصد اتانول در ترکیب حلال راندمان استخراج افزایش یافته است. حلال هایی

۳-۳- اثر متغیرهای مستقل بر راندمان فنول کل

عصاره

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌باشند که بطور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند. این ترکیبات خواص ضداکسایشی خوبی داشته [۳۰] و غالباً در میوه‌ها و سبزی‌ها یافت می‌شوند و از طریق عصاره‌های گیاهی آن‌ها قابل استخراج باشد [۳۱]. مهمترین عملکرد این ترکیبات از نظر اکسایش، غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد و تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی می‌باشد [۳۲].

مطابق با شکل ۲ مشاهده می‌شود که با افزایش نسبت اتانول به آب میزان فنول کل عصاره افزایش یافته است. افزایش دمای استخراج منجر به افزایش فنول کل عصاره شد. به‌طوری‌که با افزایش دما از ۴۰ به ۵۰ درجه سانتیگراد بالاترین میزان فنول در عصاره بدست آمد. قیتسکو و همکاران [۳۳] نیز نتایج مشابهی درباره اثرات افزایش دما بر افزایش استخراج ترکیبات فنولی *chokeberry* گزارش نمودند. با افزایش دما پیوندهای بین ترکیبات فنولی و بافت گیاه شکسته می‌شود و بر روی ساختار شیمیایی غشای بافت‌های گیاهی اثر می‌گذارد که در نتیجه منجر به انعقاد لیپوپروتئین می‌شود [۳۴]. وجود ترکیبات فنولی همچون در ۳- استیل-۵- کافئویل کوئینیک اسید^۳، ۵-کافئویل کوئینیک اسید^۴ و ان-کافئویل پوترسین^۵ پوست بادمجان ثابت شده است [۳۵].

افزایش زمان تیمار با فراصوت نیز منجر به افزایش فنول کل عصاره شد. با افزایش زمان تیمار با فراصوت از ۱۰ به ۲۰ دقیقه بالاترین میزان فنول در عصاره بدست آمد. درانسا و اورویان [۱۷] ۱۰ تا ۲۰ دقیقه برای فراصوت را بهترین زمان برای استخراج ترکیبات فنولی اعلام نمودند. در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد: مایع و وقوع انقباضات و انبساطات متوالی در محیط، حباب‌هایی ایجاد و رشد می‌کنند. این حباب‌ها ضمن متلاشی شدن ترکیبات فاز جامد را به حلال مایع انتقال می‌دهند و با ایجاد پدیده کاویتاسیون میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره را افزایش می‌دهند [۳۶].

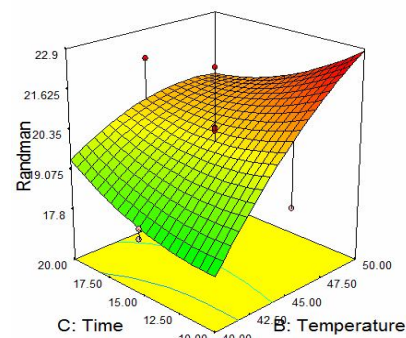
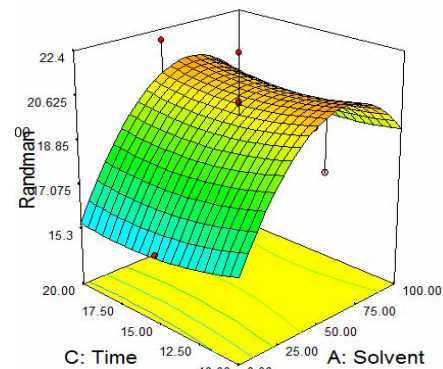
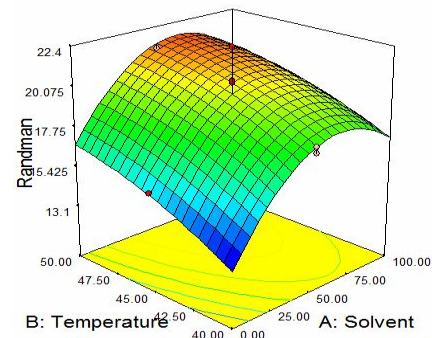


Fig 1 3D surface view of variables on extract efficiency of extract

افزایش دما منجر به افزایش راندمان استخراج شد که با نتایج درانسا و اورویان [۱۷] مطابقت داشت. افزایش دما با اثر بر ویسکوزیته، حلالیت و کشش سطحی بازده استخراج را افزایش می‌دهد [۲۸]. با افزایش زمان تیمار با فراصوت راندمان استخراج به مقدار کمی افزایش یافت که به دلیل تاثیر مکانیکی فراصوت بر دیواره سلول‌های گیاهی بود و منجر به افزایش انتقال جرم بین حلال و ترکیبات جامد شد [۲۹]. مطابق شکل بیشترین راندمان استخراج عصاره در شرایط استفاده از حلال اتانول: آب (۵۰:۵۰)، دمای ۴۵ درجه سانتیگراد و زمان فراصوت ۱۵ دقیقه بدست آمد.

3. 3-acetyl-5-caffeoylquinic acid
4. 5-caffeoylquinic acid
5. N-caffeoylputrescine

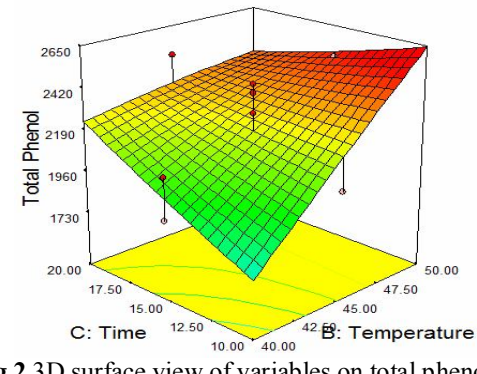
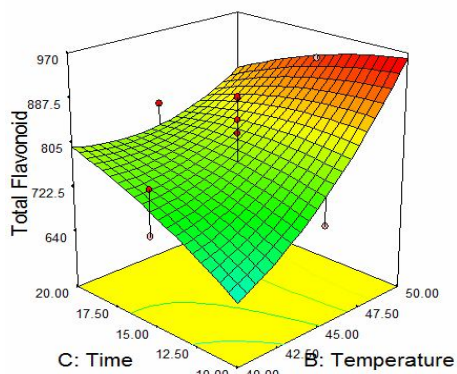
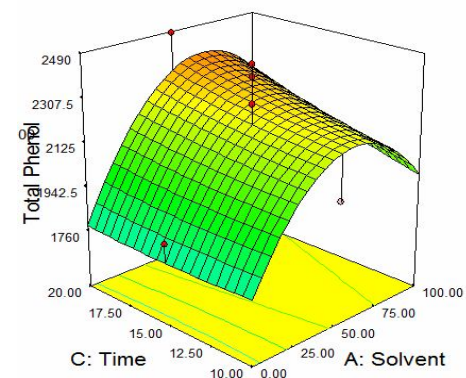
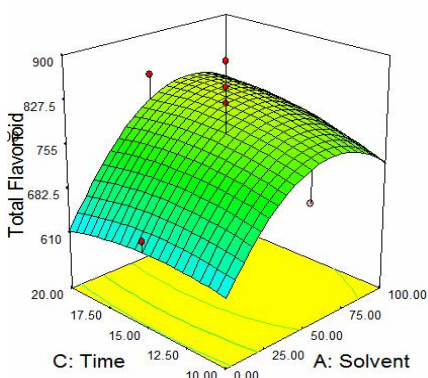
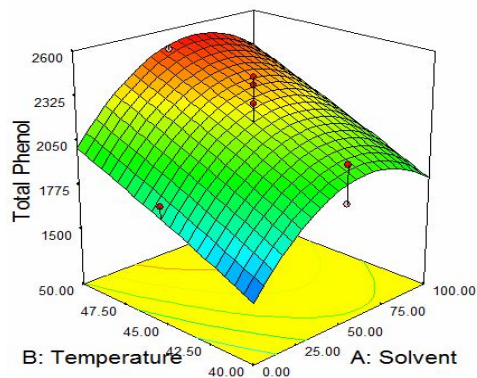
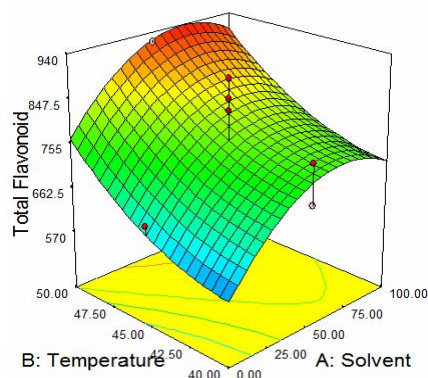


Fig 3 3D surface view of variables on flavonoid of extract

Fig 2 3D surface view of variables on total phenol of extract

مشاهده می‌شود که با افزایش میزان اتانول در نسبت حلال اتانول:آب از ۰ به ۱۰۰ میزان فلاونوئید عصاره افزایش یافته است. این نتایج با نتایج جانگ و همکاران [۳۸] مطابقت دارد. آن‌ها ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره آبی و اتانولی (اتانول ۷۰٪) را استخراج نمودند و اعلام نمودند که کمترین میزان این ترکیبات با استفاده از حلال آب استخراج شده است. همچنین افزایش دمای استخراج و زمان تیمار با فراصوت عصاره پوست بادمجان

بین زمان فراصوت و میزان استخراج ترکیبات فنولی یک رابطه خطی مثبت وجود داشت [۳۷]. بیشترین میزان فنول کل عصاره در شرایط حلال اتانول:آب (۱۰۰:۰)، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان تیمار با فراصوت ۱۰ دقیقه مشاهده شد.

۳-۴- اثر متغیرهای مستقل بر راندمان فلاونوئید عصاره

شکل ۳ اثر متقابل متغیرهای مستقل بر میزان فلاونوئید عصاره را نشان می‌دهد.

که با افزایش غلظت عصاره از ۱۰۰ به ۶۰۰ ppm در هر دو روش فعالیت ضداکسایشی عصاره افزایش یافته است و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شده است. مطالعات قبلی ارتباط قوی معنی دار بین فعالیت ضداکسایشی و میزان ترکیبات فنولی عصاره را نشان داده‌اند [۴۳-۴۱]. در مطالعه حاضر ارتباط قوی بین میزان کل ترکیبات فنولی با مهار رادیکال‌های آزاد و بازدارندگی از اکسایش مشاهده شد که نشان می‌دهد ترکیبات فنولی عامل اصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هستند. غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم/لیتر از عصاره با ضداکسایش سنتزی TBHQ اختلاف معنی دار آماری نداشت. این نتایج با نتایج جانگ و همکاران [۳۸]، سولتانا و همکاران [۴۴]، دوکیو و همکاران [۲۲] مطابقت دارد. سوموواتهی و همکاران [۴۳] به بررسی عصاره بادمجان با واریته‌های گوناگون پرداختند. نتایج نشان داد میزان مهار رادیکال‌های آزاد و بازدارندگی از اکسایش در نمونه‌هایی که ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بیشتری دارند بالاتر بود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

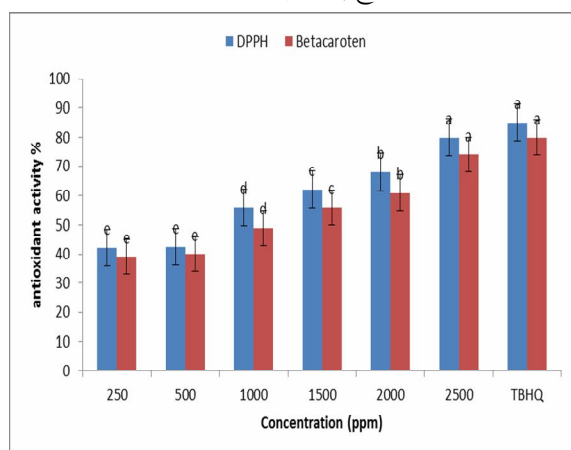


Fig 4 Antioxidant activity of eggplant peel extract extracted by ultrasound

۵- نتیجه گیری

در این مطالعه تاثیر حلال‌های مختلف، دمای استخراج و زمان تیمار با فراصوت بر راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره پوست بادمجان با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد کاربرد روش سطح پاسخ در یافتن شرایط بهینه استخراج عصاره از پوست بادمجان بسیار موثر و قابل اعتماد است. از میان متغیرهای مورد بررسی نوع حلال و دمای استخراج دارای بیشترین تاثیر بر راندمان

منجر به استخراج بیشتر ترکیبات فلاونوئیدی شد. ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها محلول در آب [۳] هستند. افزایش دما منجر به افزایش استخراج میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌شود. افزایش انتشار حلال درون سلول‌های گیاهی که در نتیجه افزایش دما اتفاق می‌افتد، مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را استخراج می‌کند [۳۶]. بیشترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی در شرایط استفاده از حلال اتانول:آب (۱۰۰:۰)، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان فراصوت ۱۰ دقیقه بدست آمد.

۴- بهینه‌سازی

با بکارگیری روش آماری سطح پاسخ، شرایطی که دارای بالاترین راندمان استخراج، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بود بصورت نسبت حلال اتانول:آب (۸۱، ۷۴، ۱۹، ۲۵)، دمای استخراج ۴۹/۹۴ درجه سانتیگراد و زمان فراصوت ۱۱/۲۳ دقیقه بدست آمد. میزان فلاونوئید کل، فنول کل و بازده استخراج عصاره استخراج شده در شرایط بهینه به ترتیب $932/2 \pm 10/4$ (mgQE/100gE)، $21/17 \pm 4/6$ (mgGA/100gE) و $2570/61 \pm 14/5$ بدست آمد. پروهن و همکاران [۱۲] میزان ترکیبات فنولی پوست بادمجان را ۲۸۰ میلی‌گرم/کیلوگرم گزارش نمودند. روش استخراج و واریته متفاوت بادمجان دلیل اصلی اختلاف در میزان ترکیبات فنولی بدست آمده است. درانسا و اورویان [۱۷] ضمن بررسی اثرات دما، حلال و زمان بر میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از پوست بادمجان، نوع حلال را عامل اصلی موثر بر میزان استخراج این ترکیبات گزارش نمودند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

پس از استخراج عصاره در شرایط بهینه، فعالیت ضداکسایشی غلظت‌های مختلف عصاره با ۱۰۰ میلی‌گرم/لیتر ضداکسایش سنتزی TBHQ با استفاده از دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و بیرنگ شدن بتاکاروتن مقایسه شد. مهار رادیکال آزاد DPPH و بیرنگ شدن بتاکاروتن به ترتیب دو روش متداول اندازه‌گیری مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره‌های طبیعی هستند [۳۹]. بادمجان یکی از ده سبزی اول مهارکننده رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۴۰] که این فعالیت وابسته به میزان ترکیبات فنولی بادمجان می‌باشد [۳۵]. وجود فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در پوست بادمجان به اثبات رسیده است. در شکل ۴ مشاهده می‌شود

- (*Solanum melongena* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3448–3454.
- [6] Ichiyanagi, T., Kashiwada, Y., Shida, Y., Ikeshiro, Y., Kaneyuki, T., and Konishi, T. 2005. Nasunin from eggplant consists of cis-trans isomers of delphinidin 3-[4-(pcoumaroyl)-L-rhamnosyl (16) glucopyranoside]-5-glucopyranoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9472–9477.
- [7] Braga, P.C., Scalzo, R.L., Sasso, M.D., Lattuada, N., Greco, V., and Fibiani, M. 2016. Characterization and antioxidant activity of semi-purified extracts and pure delphinidin-glycosides from eggplant peel (*Solanum melongena* L.). *Journal of Functional Foods*, 20: 411–421
- [8] Aruoma, O.I. 1998. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 199–212.
- [9] Kaneyuchi, T., Noda, Y., Traber, M.G., Mori, A., and Packer, L. 1999. Superoxide anion and hydroxyl radical scavenging activities of vegetable extracts measured using electron spin resonance. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 47: 979–989.
- [10] Hanson, P.M., Yang, R.Y., Tsou, S.C.S., Ledesma, D., Engle, L., and Lee, T.C. 2006. Diversity in eggplant (*Solanum melongena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics and ascorbic acid. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 594–600.
- [11] Mennella, G., Rotino, G.L., Fibiani, M., D'Alessandro, A., Francese, G., Toppino, L., and Scalzo, R. 2010. Characterization of health-related compounds in eggplant (*Solanum melongena* L.) lines derived from introgression of allied species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 7598–7603.
- [12] Prohens, J., Whitaker, B.D., Plazas, M., Vilanova, S., Hurtado, M., Blasco, M., and Stommel, J.R. 2013. Genetic diversity in morphological characters and phenolic acids content resulting from an interspecific cross between eggplant, *Solanum melongena*, and its wild ancestor (*S. incanum*). *Annals of Applied Biology*, 162: 242–257.
- استخراج عصاره، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بود به طوریکه با افزایش دما و نسبت حلال اتانول میزان پاسخ های بدست آمده به صورت خطی افزایش یافت. همچنین زمان تیمار با فراصوت بر استخراج ترکیبات ضدآکسایشی عصاره موثر بوده است و افزایش زمان تیمار با فراصوت منجر به افزایش بازده استخراج و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی شده است. نتایج آزمون های مهار رادیکال آزاد و بیرنگ شدن بتاکاروتن نشان داد این عصاره دارای فعالیت ضدآکسایشی است و با ضدآکسایش سنتزی TBHQ که به طور متداول در صنعت استفاده میشود توان رقابت دارد. به دلیل اینکه پوست بادمجان از ضایعات محصولات کارخانجات فرآوری ترشی و کنسرو می باشد، تهیه آن نسبت به ضدآکسایش های سنتزی هزینه کمتری داشته و مشکلاتی که ضدآکسایش های سنتزی برای بدن دارند را نداشته و می تواند جایگزین مناسبی برای ضدآکسایش های سنتزی باشد.

۶- منابع

- [1] Boulekbache-makhlouf, L., medouni, L., medouni-adrar, S., and arkoub, L.M. 2013. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *Journal of industrial crops and products*, 49: 668-674.
- [2] Ya-Qin, M., Jian-Chu, C., Dong-Hong, L., and Xing-Qian, Y. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16: 57–62.
- [3] Haminiuk, C.W.I., Maciel, G.M., Plata-Oviedo, M.S.W., and Peralta, R.M. 2012. Phenolic compounds in fruits-an overview. *International journal of food science and technology*, 47: 2023-2044.
- [4] Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.E., Abdelly, C.H., and Magné, C.H. 2012. Ultrasound-Assisted Extraction: Effect of Extraction Time and Solvent Power on the Levels of Polyphenols and Antioxidant Activity of *Mesembryanthemum edule* L. Aizoaceae Shoot. *Journal of Pharmaceutical Research*, 11:243-249.
- [5] Whitaker, B.D., and Stommel, J.R. 2003. Distribution of hydroxyl cinnamic acid conjugates in fruit of commercial eggplant

- [22] Do-Q, D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., and Ismadji, S., Ju, Y.H. 2013. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of food and drug analysis*, 1-7.
- [23] Amarowicz, R., Pegg, R.B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., and Weil, J.A. 2004. Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84: 551-562.
- [24] Salar Bashi, D., Mortazavi, S.A., Rezaei, K., Rajaei, A., and Karimkhani, M.M. 2012. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Yarrow (*Achillea beibrestinii*) by response surface methodology. *Food Science and Biotechnology*, 21(4): 1005-1011.
- [25] Sinha, K., Chowdhury, S., Saha, P.D., and Datta, S. 2013. Modeling of microwave assisted extraction of natural dye from seeds of *Bixa orellana* (Annatto) using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN). *Industrial Crops and Products*, 4: 165-171.
- [26] Quanhong, L., and Caili, F. 2005. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chemistry*, 92: 701-706.
- [27] López, A., Rico, M., Rivero, A., and Tangil, M.S. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125: 1104-1109.
- [28] Boonkird, S., Phisalaphong, C., and Phisalaphong, M. 2008. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15: 1075-1079.
- [29] Esclapez, M.D., Garcia-Pérez, J.V., Mulet, A., and Cárcel, J.A. 2013. Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering*, 3: 108-120
- [30] Senji, S., Yuuya, I. 2008. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegar in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in
- [13] Plazas, M., López-Gresa, M.P., Vilanova, S., Torres, C., Hurtado, M., Gramazio, P., and Prohens, J. 2013. Diversity and relationships in key traits for functional and apparent quality in a collection of eggplant: Fruit phenolics content, antioxidant activity, polyphenol oxidase activity, and browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 8871-8879.
- [14] Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J., and Núñez, M.J. 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *Food Chemistry*, 85: 267-273.
- [15] Hayouni, A., 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 *Quercuscoccifera* L. and *Juniperusphoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105: 1126-1134.
- [16] Betancourt, A.O. 2008. Analysis, extraction and recovery of poly-3-hydroxybutyrate in the biomass. *University of Quebec at Montreal Thesis*, 45-55.
- [17] Dranca, F., and Oroian, M. 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31: 637-646.
- [18] Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F., and Raftani Amiri, Z. 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food Science and Nutrition Original Research*, 2(4): 426-435.
- [19] Jayaprakasha, G.K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitisvinifer*) seed extracts. *Food Research International*, 117-122.
- [20] McDonald, S., Prenzler, P.D., and Antolovich, M. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73-84.
- [21] Chang, C.C., Yang, M.H., and Wen, H.M. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Analysis*, 10:178-82.

- [38] Jung, E.J., Bae, M.S., Jo, E.K., Jo, Y.H., and Lee, S.C. 2011. Antioxidant activity of different parts of eggplant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 18: 4610-4615.
- [39] Apak, R., Guclu, K., Demirata, B., Ozyurek, M., Celik, S., Bektaflolu, B., Berker, K., and Ozyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12: 1496-1547.
- [40] Cao, G., Sofic, E., and Prior, R.L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44: 3426-3431.
- [41] Yang, J., Meyers, K.J., vander Heide, J., and Liu, R.H. 2004. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 6787-6793.
- [42] Kriengsak, T., Unaroj, B., Kevin, C., Luis, C., and David, H.B. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669-675.
- [43] Somawathi, K.M., Rizliya, V., Wijesinghe, D.G.N.G., and Madhujith, W.M.T. 2014. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Different Skin Coloured Brinjal (*Solanum melongena*). *Tropical Agricultural Research*, 26: 152-161.
- [44] Sultana, B., Hussain, Z., Hameed, M., and Mushtaq, M. 2013. Antioxidant activity among different parts of auberging (*Solanum Melongena L.*). *Pakistan journal of botany*, 45: 1443-1448.
- tuna homogenates. *Food Chemistry*, 107: 739-744.
- [31] Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H., and Nattiga, S. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. *Food Chemistry*, 111: 636-641.
- [32] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., and Jimenez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727-747.
- [33] Ghitescu, R.E., Volf, I., Carausu, C., Bühlmann, A.M., Gilca, I.A., and Popa, V.I. 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. *Ultrasonics Sonochemistry*, 22: 535-541.
- [34] Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., and Tauscher, B. 2008. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison. *Innovation Food Science Emerging*, 9: 85-91.
- [35] Singh, A.P., Luthria, D., Wilson, T., Vorsa, N., Singh, V., Banuelos, G.S., and Pasakdee, S. 2009. Polyphenols content and antioxidant capacity of eggplant pulp. *Food Chemistry*, 114: 955-961.
- [36] Rostango, M.A., Palma, M., and Barr, C.G. 2005. Short-term stability of soy isoflavones extracts: Sample conservation aspects. *Food Chemistry*, 93: 557-564.
- [37] Ramic, M., Vidovic, S., Zekovic, Z., Vlastic, J., Cvejic, A., and Pavlic, B. 2015. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23: 360-368.

Optimisation of extraction conditions from eggplant peel by using response surface methodology

Esmaelzadeh Kenari, R. ^{1*}, Razavi, R. ², Mohammadi, A. ³, Jeghetai, M. ³

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
2. Ph.D. Student of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3. MSc in Food Science and Technology, Khazar Institute of Higher Education, Mahmoudabad

(Received: 2017/04/08 Accepted:2017/07/16)

Antioxidants by eliminating and neutralizing the harmful free radicals play very important role in preventing oxidative deterioration of food. Eggplant is one of the vegetable has oxygen radical scavenging capacity and its activity has been correlated to content of phenolic and flavonoid compounds in eggplant's peel. In this study the effects of solvent type (ethanol: water 100:0, ethanol: water 0:100, ethanol: water 50:50), time of ultrasound-assisted extraction (10, 15 and 20 min) and temperature (40, 45 and 50 °C) on efficiency, total phenol content, total flavonoid content of extract was investigated and optimisation of extraction conditions were done with response surface methodology by using central composite design. The results of variance analysis showed that type of solvent and extraction temperature had the most effect on extraction efficiency and amount of total phenolic content and flavonoids. The optimised condition of extraction was obtained as ethanol: water ratio (25.19:74.81), 49.94 °C and 11.23 min for temperature and time of extraction respectively. Then the extract obtained under optimised condition and antioxidant activities of extract was compared to synthetic antioxidant (TBHQ) by useing of DPPH radical scavenging and beta-carotene-linoleic acid tests. Antioxidant activity of extract was related to phenolic and flavonoid content in both methods and by increasing in these compounds antioxidant activity of the extract increased. Eggplant peel extract due to have phenolic and flavonoid compounds has antioxidant activity and it can be suitable alternative for synthetic antioxidant.

Keywords: Extract, Eggplant peel, Solvent, Ultrasonic assisted, Optimisation

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