بررسی تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و برخی از ترکیبات شیمیایی عصاره حاصل از میوه ولیک

آی تکین نجاتی راد[1]، معصومه مقیمی[2]، راحیل رضایی[1*]، حمید بخش آبادی[1]

1- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد گنبد کاووس، دانشگاه آزاد اسلامی، گنبد کاووس، ایران

2- گروه شیمی، واحد گنبد کاووس، دانشگاه آزاد اسلامی، گنبد کاووس، ایران

(تاریخ دریافت: 97/11/15 تاریخ پذیرش: 98/11/14)

چکیده

ولیک (*Crataegus spp.*) منبع غنی ازآنتی اکسیدان‌های طبیعی به ویژه فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌باشد که این ترکیبات زیست فعال اثرات مختلف و مفید دارویی و سلامتی بخش دارند. در این مطالعه به منظور استخراج عصاره از گوشت میوه ولیک به کمک پیش‌تیمارهای فراصوت (برای 30 دقیقه)، مایکروویو (150 ثانیه) و فراصوت- مایکروویو (30 دقیقه فراصوت +150 ثانیه مایکروویو) استفاده گردید و بعد از اعمال این پیش‌تیمارها، عصاره میوه‌ها با اتانول استخراج گردید و یک نمونه نیز بدون پیش تیمار به‌عنوان شاهد انتخاب شد. میزان ترکیبات فنولی کل، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی آهن، اسیدیته و برخی از ترکیبات مهم موجود (توسط دستگاه گازکروماتوگرافی/طیف سنجی جرمی) نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری و بهینه سازی فرایند به روش کاملا تصادفی و توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از پیش تیمارهای مختلف منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولی کل، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و میزان قدرت احیاکنندگی آهن در عصاره‌های استخراج شده گردید به‌طوری که نمونه حاصل از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو نسبت به نمونه شاهد، 9/89 درصد فنول کل بیشتری داشت و نمونه حاصل از فراصوت- مایکروویو دارای بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن بود. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اسیدیته نمونه‌ها نشان داد که نوع پیش تیمار بر میزان اسیدیته نمونه‌ها تأثیر معنی دار نداشت ($p > 0/01$). استفاده از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو منجر به افزایش بیشتر ترکیبات موجود در عصاره شد و ترکیب بیس (2- اتیل هگزیل) فتالات بیشترین ترکیب قابل شناسایی در عصاره‌ها بود. در پایان می‌توان بیان داشت که پیش‌تیمار فراصوت- مایکروویو بهترین پیش تیمار برای تهیه عصاره از میوه ولیک بود.

کلید واژگان: پیش تیمار، فراصوت- مایکروویو، فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره ولیک

*مسئول مکاتبات: rezaei.rahil@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

1-مقدمه

ولیک، نام عمومی گونه‌های گیاهی جنس *Crataegus spp.* متعلق به خانواده گل سرخ می‌باشد. درختچه‌ها یا درختان کوچک کم و بیش خارداری هستند که دارای برگ‌های سبز و روشن، گل‌های سفید یا صورتی رنگ بر روی گل آذین دیهیم می‌باشند [1]. ولیک منبع غنی آنتی اکسیدان‌های طبیعی به ویژه فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها است. این ترکیبات زیست فعال اثرات مختلف و مفید دارویی و سلامتی بخش از قبیل حفاظت قلبی-عروقی، کاهش فشار خون و کلسترول کل پلاسما، اثرات آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد، اثرات ضد ویروسی و رفع ناراحتی‌های گوارشی در انسان دارد [2 و3]. از عمده‌ترین ترکیبات فلاونوئیدی گیاه دارویی ولیک می‌توان به فلاونوئیدهای روتین، هیپروزید، ویتکسین رامنوز و پروسیانیدین‌های الیگومریک اشاره نمود [4].

اکسیداسیون چربی‌ها در مواد غذایی، نگهداری آنها را شدیداً کاهش داده و باعث می‌شود که غذاهایی با کیفیت غیر قابل قبول به مشتری ارائه شود. برای جلوگیری از اکسیداسیون روش‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن موادی به نام آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بد طعمی و تندشوندگی را با توسعه زمان پایداری به تأخیر می‌اندازند. آنتی‌اکسیدان‌ها با مکانیسم‌های مختلفی مانند کنترل سوبستراهای اکسایش، کنترل پرواکسیدان و همچنین غیر فعال نمودن رادیکال‌های آزاد سبب به تأخیر انداختن اکسایش لیپیدها می‌شوند [5]. از طرفی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر بوتیل هیدروکسی تولوئن[1]، بوتیل هیدروکسی آنیزول[2] و ترسیو بوتیل هیدروکینون[3] در مواد غذایی به دلیل اثرات مخرب آنها بر سلامت انسان‌ها به مخاطره افتاده است. در سال‌های أخیر تلاش برای یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدانی طبیعی به‌دلیل اثرات سوء ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی گسترش یافته است [6 و7]. ترکیبات فنولی کل مهمترین دسته آنتی اکسیدان‌های طبیعی یافت شده از فراورده های فرعی گیاهان می‌باشند. مطالعات انجام شده در این خصوص نشان داده است که ترکیبات فنولی کل، آنتی اکسیدان‌های خوبی در برابر پراکسیداسیون چربی‌ها در فسفولیپیدها و سیستم‌های بیولوژیکی هستند [8].

از آن‌جا که خواص عملکردی عصاره‌های گیاهی، همچون فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، اساس کاربرد آن‌ها در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی می‌باشد، مسئله مهم در رابطه با عصاره‌ها روش به کار گرفته شده در استخراج آن‌ها از ماتریکس گیاه است، که بتواند به خوبی این ترکیبات فعال طبیعی را از منابع گیاهی استخراج نماید [9].

روش‌های سنتی مانند روش سوکسله و تقطیر با آب که سال‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفته است، دارای اشکالات مختلف و معایب تکنیکی می‌باشند. این روش‌ها بسیار زمان بر بوده و علاوه بر مصرف مقدار زیادی حلال منجر به تخریب حرارتی ترکیبات حساس به حرارت می‌شوند. به همین دلیل، تقاضای زیادی برای روش‌های عصاره‌گیری جدید با زمان کوتاه تر، دما و میزان مصرف حلال کم‌تر و محافظ محیط زیست وجود دارد و پژوهشگران همواره به دنبال جایگزینی برای این روش‌ها در صنایع غذایی و دارویی می‌باشند. فراصوت به امواجی گفته می‌شود که فرکانس آنها بیش از 20-18 کیلوهرتز باشد. روش اسخراج با کمک فراصوت به دلیل بهره‌وری بالاتر و مصرف انرژی و آب کمتر، در حال تبدیل شدن به جایگزینی مناسب برای روش‌های سنتی استخراج می‌شود و روشی بهبود یافته برای فراوری مواد گیاهی به خصوص استخراج ترکیبات با وزن مولکولی کم می‌باشد [10]. اثر افزایشی امواج فراصوت بر سرعت استخراج مواد گیاهی به شکستن سلول‌ها و انتشار محتویات آنها به محیط استخراج ارتباط دارد [11]. از محققینی که از فراصوت برای استخراج ترکیبات موثره گیاهان استفاده کرده بودند، می‌توان به رومهان و گوردون (2002)، شارما و گاپتا (2004)، حسین و همکاران (2012)، پروماژاک و همکاران (2014) و مقیمی و همکاران (2018) اشاره نمود [12، 13، 14، 15 و 16].

امواج مایکروویو، امواج الکترومغناطیس غیریونیزه با فرکانس 300 مگاهرتز تا 300 گیگاهرتز هستند که بین امواج رادیویی و مادون قرمز در طیف الکترومغناطیس قرار دارند. اثر این فرایند به وسیله دو پدیده انتقال یونی و چرخش دو قطبی می‌باشد که در اکثر موارد این دو همزمان اتفاق می‌افتد [17]. انرژی این امواج به ماده غذایی نفوذ کرده و حرارت داخلی تولید می‌کند، این مسئله منجر به نرخ حرارتی بیشتر و کوتاه‌تر شدن زمان فرایند می‌گردد. در دانه‌های روغنی آب به‌عنوان یک ماده دو قطبی به میزان فراوانی یافت می‌شود، هرچند در این رابطه مواد

1. Butylated hydroxytoluene (BHT)
2. Butylated hydroxyanisole (BHA)
3. tert-Butylhydroquinone (TBHQ)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

دیگری همچون نمک و پروتئین نیز می‌توانند به‌عنوان ترکیبات دی‌الکتریک عمل نمایند [18]. از پژوهشگرانی که از مایکروویو در استخراج ترکیبات زیست فعال گیاهان استفاده نمودند، می‌توان به ژیائو و همکاران (2014) و سانچز و همکاران (2017) اشاره نمود [19 و 20].

با توجه به کم بودن مطالعاتی که اثر پیش تیمار فراصوت- مایکروویو را بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدنی گیاهان مورد بررسی قرار داده باشند، لذا هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پیش تیمارهای مایکروویو، فراصوت و فراصوت- مایکروویو بر استخراج ترکیبات زیست فعال از میوه ولیک بود.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

میوه‌های ولیک مورد استفاده در این تحقیق از بازار محلی شهرستان گنبد کاووس و مواد شیمیایی، اتانول، معرف فولین- سیوکالته، DPPH، اسید گالیک، استات سدیم بدون آب و کلرید آهن(III) از شرکت مرک آلمان تهیه شد. تجهیزات مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از الک آزمایشگاهی، آون آزمایشگاهی (Memert، آلمان)، ترازوی دیجیتال(Gec Avery، ساخت انگلستان)، دستگاه مایکروویو خانگی (LG، کره‌جنوبی)، دستگاه فراصوت حمام‌دار (طیف‌گستر، ایران)، اسپکتروفتومتر (Biochrom، انگلیس) و دستگاه گاز کروماتوگرافی/ طیف‌سنجی جرمی[1] (Agilen ، آمریکا).

2-2- آماده سازی نمونه و استخراج عصاره از آن‌ها

ابتدا میوه‌های هسته‌گیری شده این گیاه تحت شرایط طبیعی محیطی و با استفاده از جریان هوای طبیعی در سایه خشک گردید. میوه‌های خشک شده با استفاده از دستگاه آسیاب به پودر تبدیل شده و از الک با مش 40 عبور داده شدند. سپس نمونه‌های خشک شده در بسته‌های دولایه نایلونی و مقوایی به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت قرار گرفتند و تا زمان آزمایش در فریز 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای اعمال پیش‌تیمارهای مختلف نمونه‌ها به 4 قسمت تقسیم و بخشی از نمونه‌ها در یک حمام فراصوت (US) با فرکانس 37 کیلوهرتز برای 30 دقیقه قرار گرفت. برای نمونه‌های با پیش تیمار مایکروویو (MW)، آن‌ها در مایکروویو 540 واتی برای مدت 150 ثانیه قرار داده شدند و برای اعمال پیش تیمار فراصوت- مایکروویو (MW-US)، نمونه‌ها ابتدا برای 30 دقیقه در حمام فراصوت و سپس برای 150 ثانیه در معرض امواج مایکروویو قرار گرفتند. در نهایت یک نمونه نیز به‌عنوان نمونه فاقد پیش تیمار (Control) استفاده گردید. سپس مقداری نمونه پودر میوه با نسبت 1:10 با حلال (اتانول 70 درصد) به مدت 24 ساعت مخلوط شد. سپس عصاره استخراج شده با استفاده از کاغذ صافی از مواد جامد گیاهی جدا و به وسیله دستگاه تبخیر کننده چرخان، حلال تبخیر شد و عصاره تغلیظ گردید در نهایت عصاره‌ها در یخچال نگهداری شدند [9، 14، 15 و 21].

2-2-1- اندازه گیری محتوی ترکیبات فنولی کل

محتوی ترکیبات فنولی کل موجود در عصاره این میوه توسط رنگ سنجی بـه روش فـولین - سـیوکالته مورد بررسی قرار گرفت. در این روش در واقع تعداد گروه‌های فنولی که قابل اکسید شدن هستند، اندازه گرفته می‌شـود. پس از تهیه عصاره‌ها، 0/5 میلی لیتر از عصاره در لوله آزمایش ریخته شده و با 5 میلی لیتر معرف فولین- سیوکالته (که به نسبت 1:10 با آب مقطر رقیق شده بود) و 4 میلی لیتر محلول کربنـات سـدیم یک مولار به خوبی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سـپس مقـدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد در محدوده غلظت ppm 20 تا 140 بر اساس اسید گالیک رسم شد، در نهایت محتوی ترکیبـات فنولی کل بر مبنای اسید گالیک و به صـورت میلـی گرم در گرم نمونه خشک بیان گردید [22].

2-2-2- اندازه‌گیری فعالیت به دام‌اندازی (توانایی مهار) رادیکال آزاد DPPH

2 و 2- دی‌فنیل 1- پیکریل هیدرازین (DPPH)، رادیکالی چربی دوست است که دارای جذب بیشینه در طول موج 517 نانومتر است. در آزمون DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش می‌دهند و مقدار آن کاهش می‌یابد. در نتیجه جذب در طول موج 517-515 نانومتر کاهش می‌یابد. کاهش مولکول‌های DPPH

1. Gas Chromatography/Mass Spectrometry

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

با تعداد گروه‌های هیدروکسیل در دسترس نسبت مستقیم دارد. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن به رادیکال‌های DPPH آن‌ها را از رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌کنند. جذب در طول موج 517 نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی‌مانده است. در این روش به 1 میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده 1 میلی‌لیتر محلول متانولی 0/1 میلی‌مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت 15 دقیقه در مکان تاریک در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 517 نانومتر قرائت گردید و از رابطه زیر درصد توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH به‌دست آمد [23].

رابطه (1)

$$\text{درصد توانایی مهار رادیکال های آزاد DPPH} = \frac{AS-AC}{AC} \times ۱۰۰$$

در این رابطه AS جذب نوری نمونه و AC جذب نوری شاهد بود.

2-2-3- قدرت احیاکنندگی آهن

توانایی عصاره ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی توسط روش یالدیریم و همکاران (2001) ، تعیین شد. در این روش محلول‌هایی حاصل از پیش‌تیمارهای مختلف در حلال‌های استخراجی تهیه گردیدند. یک میلی لیتر از محلول عصاره با 2/5 میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=6.6 و M=0.2) و 2/5 میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (10 گرم در لیتر) مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس 2/5 میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید 10 درصد (وزنی- حجمی) به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت 10 دقیقه با سرعت 1650 g سانتریفوژ شد. از محلول بالایی پس از سانتریفوژ 2/5 میلی لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن 2/5 میل لیتر آب مقطر و 0/5 میلی لیتر کلرید آهن (III) (1 گرم در لیتر) جذب نمونه‌ها در طول موج 700 نانومتر خوانده شد. میزان جذب بالا نشان دهنده قدرت احیاکنندگی بالای عصاره‌ها می باشد [24].

2-2-4- اندازه‌گیری اسیدیته

دو گرم از نمونه به یک ارلن منتقل و سپس با آب مقطر خنثی‌شده، رقیق گردید. مقدار آب بسته به نوع رنگ مصرفی فرآورده ژله‌ای، ممکن است کم و یا زیاد به کار رود. پس از آن یک میلی‌لیتر محلول شناساگر فنل فتالئین اضافه و با محلول هیدروکسید سدیم 0/1 نرمال تیتر شد. نقطه پایان تیتراسیون هنگامی است که رنگ صورتی ظاهرشده در محیط برای مدت 30 ثانیه پایدار بماند. میزان اسیدیته طبق رابطه 2 به دست آمد [25]. که در این رابطه N: نرمالیته سود مصرفی، V: حجم سود مصرفی به میلی‌لیتر، W: وزن نمونه به گرم بود.

رابطه (2)

$$\text{درصد اسیدیته} = \frac{0.064 \times V \times N \times 100}{W}$$

2-2-5- اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره

برای شناسایی و مشخص کردن میزان برخی از ترکیبات مختلف موجود در عصاره‌های حاصل از بهترین روش استخراجی و شاهد از دستگاه گاز کروماتوگرافی- طیف‌سنجی جرمی و روش آدامز (1995) با کمی تغییرات استفاده گردید [26]. بدین منظور 1 میلی‌لیتر عصاره با سولفات سدیم انیدرید خشک و با هگزان مخلوط شد. ترکیب حاصل با استفاده از یک دستگاه GC/MS با سیستم مجهز به ستون مویینه HP-SMS (به طول 30 متر، قطر 0/25 میلی‌لیتر و ضخامت لایه داخلی 0/25 میکرون) تجزیه شد. گاز حامل هلیوم با جریان 0/8 میلی‌لیتر در دقیقه و نسبت شکافت نمونه 1 به 10 بود. برنامه‌ی دمایی ستون از 60 تا 260 درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت 4 درجه در دقیقه تنظیم شد. طیف‌های جرمی در 70 الکترون ولت تهیه شده و دامنه‌ی این طیف‌ها 35 تا 350 m/z بودند. شناسایی اجزای عصاره در نتیجه‌ی مقایسه‌ی طیف جرمی آنها با بانک طیفی و مقایسه‌ی ضرایب بازداری‌شان با مقادیر رفرنس صورت گرفت. ضرایب بازداری با استفاده از زمان‌ها بازداری آلکان‌های نرمال که با همان دستگاه و تحت همان شرایط کروماتوگرافی، تزریق شد، تهیه گردیدند. مقادیر نسبی اجزا از روی سطح کل پیک‌ها توسط نرم‌افزار دستگاه محاسبه شد..

2-3- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی ساده با سه تکرار انجام گردید. از نرم افزار SAS برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد برای مقایسه‌ی میانگین داده‌ها استفاده شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

3- نتایج و بحث

3-1- تأثیر نوع پیش تیمار بر محتوی ترکیبات فنولی کل

همانطور که در شکل 1 مشخص است استفاده از پیش تیمارهای مختلف منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولی کل در عصاره‌های استخراج شده گردید به‌طوری که نمونه حاصل از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو نسبت به نمونه شاهد، 9/89 درصد فنول کل بیشتری داشت. اصول حرارت‌دهی با استفاده از انرژی مایکروویو به اثرات مستقیم این امواج روی مولکول‌ها با مکانیسم‌های چرخش دو قطبی و انتقال یونی وابسته است. مولکول‌های قطبی همانند ترکیبات فنولی و محلول‌های یونی انرژی مایکروویو را به دلیل داشتن گشتاور دو قطبی به میزان زیادی جذب می‌کنند که منجر به افزایش دما و تکمیل سریع واکنش می‌شود و این امر موجب وارد شدن هرچه بیشتر این ترکیبات به داخل عصاره می‌شود [27]. نتایج این بخش با نتایج جیائو و همکاران (2014)، مطابقت داشت [19]. دلیل افزایش محتوی ترکیبات فنولی کل، تشدید انتقال جرم ناشی از فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیکی دیوار سلولی است که منجر به تماس بهتر بین حلال و مواد گیاهی می‌شود. به علاوه در زمان فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون یک جریان سریع امواج فراصوت تولید می‌کنند که به عنوان یک میکرو پمپ عمل کرده و می‌تواند به اجبار حلال به درون سلول رانده و ترکیبات مورد نظر را حل نماید [28]. در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد- مایع، چرخه انقباض و انبساط در محیط ایجاد می‌شودکه موجب تشکیل حباب‌ها شده و این حباب‌ها رشد می‌کنند و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند در نتیجه مواد حل شونده سریع از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این، اثرات دیگری مثل امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای موردنظر از مواد خام کمک می‌کنند. همچنین می‌توان چنین بیان کرد که اثر حلال در زمان تماس طولانی موجب استخراج ترکیبات ناخالص می‌شود [29]. علت بیشتر بودن ترکیبات فنولی کل در نمونه حاصل از پیش تیمار فراصوت – مایکروویو را می‌توان به اثر ترکیبی این دو پیش تیمار یعنی تخریب دیواره سلولی و کاویتاسیون که احتمالا تکمیل کننده یکدیگر هستند، نسبت داد. سلمانیان و همکاران (2013) که به ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی و تعیین ترکیبات فلاونوئیدی میوه ولیک پرداختند، آنها در این مطالعه بیان کردند که میزان ترکیبات فنولی کل میوه ولیک برابر با 51/74 میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره بود [30].

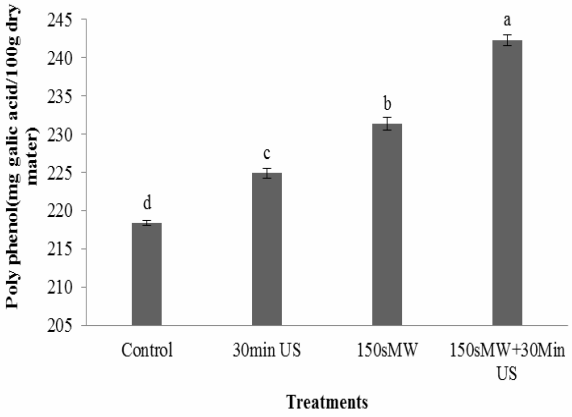

Fig 1 The influence of various pretreatments on the Poly phenol from Hawthorn extract

3-2- تأثیر نوع پیش تیمار بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

نتایج نشان داد که نوع پیش تیمار به‌کار گرفته شده در استخراج عصاره‌ها از میوه ولیک بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH تأثیر کاملا معنی‌دار داشت ($P < 0/05$). همانطور که شکل 2 نشان می‌دهد، استفاده از پیش تیمارهای مختلف نسبت به نمونه شاهد منجر به افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره‌ها گردید به گونه‌ای که نمونه حاصل از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو، بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را داشت. DPPH نوعی رادیکال آزاد هیدروفیل و پایدار و ارغوانی رنگ است که به دلیل وجود الکترون‌های منفرد دارای حداکثر جذب در طول موج 515-517 nm است. انتقال الکترون و یا اتم هیدروژن به رادیکال‌های DPPH از ترکیبات

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

احیاء کننده نظیر فنول‌ها و تبدیل آن‌ها به فرم غیر رادیکالی منجر به کاهش میزان جذب محلول DPPH در این طول موج می‌گردد [31]. درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیان‌گر قدرت به دام‌اندازی و یا مهار رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان مربوطه است. علت افزایش این ویژگی با استفاده از مایکروویو ممکن است با افزایش محتوای پیوندهای مضاعف کونژوگه طی تیمار با مایکروویو و یا تشکیل محصولات حاصل از واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی، طی فرآیند برشته کردن در ارتباط باشد [32]. رسولیان شبستری و همکاران (2017) نیز بیان داشتند که استفاده از مایکروویو منجر به افزایش ترکیبات فنولی آب گریب فروت می‌گردد [33]. با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد، زیرا در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد DPPH و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد [34]. نتایج این بخش با نتایج نصیری فر و همکاران (2014) که بیان داشته بودند، استفاده از فراصوت منجر به افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره داغداغان می‌گردد، تطابق داشت [35].

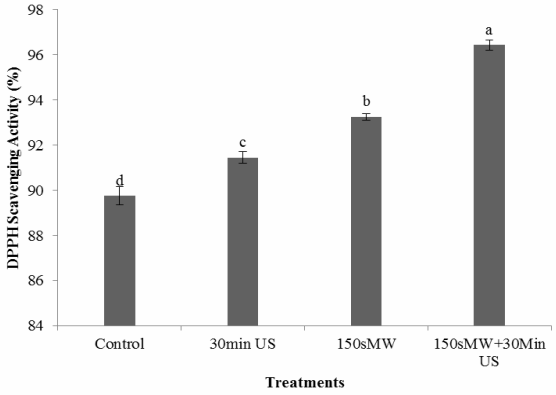

Fig 2 The influence of various pretreatments on the DPPH Scavenging Activity from Hawthorn extract

3-3- تأثیر نوع پیش تیمار بر میزان قدرت احیاکنندگی آهن

میزان قدرت احیاکنندگی آهن نیز همانند دو ویژگی توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ترکیبات فنولی در نمونه حاصل از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو بیش از سایر نمونه‌ها بود و نمونه بدون پیش تیمار دارای کمترین میزان قدرت احیاکنندگی آهن بود (شکل 3). حسین و همکاران (2012) بر استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولی گیاه مرزن جوش به کمک فراصوت از مدت زمان 15-5 دقیقه و دمای15- 35 درجه‌سانتی‌گراد استفاده کردند. بیشترین میزان ترکیبات فنولی و قدرت احیاءکنندگی آهن **(III)** در مدت زمان 15 دقیقه و دمای 35 درجه سانتی‌گراد بود که مشخص گردید که همبستگی بین قدرت احیاکنندگی آهن **(III)** و ترکیب فنولی وجود دارد. فراصوت یکی از فاکتورهای موثر در افزایش میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که علت آن می‌تواند مربوط به نیروی برشی ایجاد شده و محتوای انرژی بالای این امواج و تأثیر آن‌ها ر شکستن و متلاشی کردن دیواره‌های سلولی و افزایش احتمال رهایش محتویات آن‌ها به محیط استخراج و بهبود انتقال جرم باشد [14]. فراصوت همچنین سبب کاهش اندازه ذرات می‌شود که سطح تماس را افزایش داده و در نتیجه انتشار حلال در بافت افزایش می یابد [36]. علت افزایش قدرت احیاکنندگی آهن با استفاده از مایکروویو را می‌توان به افزایش آزاد سازی موادی که در احیا آهن نقش دارند و همچنین غیرفعال شدن بعضی از آنزیم‌ها نسبت داد. در کل ویژگی‌های احیاکنندگی با حضور ترکیبات اهداءکننده‌ی الکترون همراه است. به‌عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاکنندگی آن افزایش می‌یابد در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء الکترون یا اتم‌های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تأخیر بی‌اندازد. واکنش ترکیبات احیاکننده با پیش‌سازهای پراکسید نیز یکی دیگر از مکانیسم‌های که ترکیبات آنتی اکسیدانی و احیاکننده از تشکیل پراکسید در روغن‌ها و چربی‌ها جلوگیری می‌کنند [37].

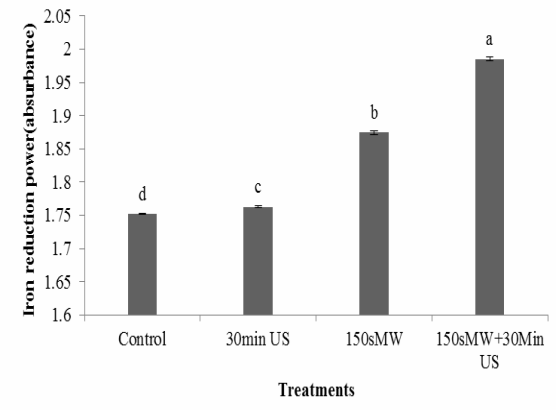

Fig 3 The influence of various pretreatments on the Iron reduction power from Hawthorn extract

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

4-3- تأثیر نوع پیش تیمار بر اسیدیته عصاره‌های حاصل

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اسیدیته نمونه‌ها مشخص گرداند که نوع پیش تیمار بر میزان اسیدیته نمونه‌ها تأثیر معنی دار نداشت (P >0/05). میزان اسیدیته نمونه‌ها نیز بین 4/10-3//60 درصد متغیر بود که نمونه حاصل از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو به‌صورت غیرمعنی‌داری دارای بیشینه میزان اسیدیته بود که علت این اتفاق را می‌توان به آزاد شدن هرچه بیشتری اسیدهای ارگانیک در نتیجه تجزیه ترکیباتی نظیر کربوهیدارت‌ها و پروتئین‌ها نسبت داد [38]. یوسفی و همکاران (2016)، بیان کردند که طی تغلیظ عصاره تمشک قرمز و سیاه سیاهکل با دو روش مایکروویو و تحت خلاء تغییر معنی‌داری در pH آن مشاهده نمی‌شود [39].

5-3- تأثیر نوع پیش تیمار بر برخی از ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌ها

بررسی یافته‌های حاصل از قدرت‌های آنتی اکسیدانی عصاره‌های به‌دست آمده از میوه ولیک تحت تأثیر پیش‌تیمارهای مختلف مشخص گرداند که پیش‌تیمار فراصوت- مایکروویو بهترین پیش تیمار بود، به همین دلیل برای آزمون شناسایی برخی از ترکیبات مهم از این نمونه و نمونه شاهد استفاده گردید. نتایج حاصل از دستگاه گازکروماتوگرافی/ طیف سنجی جرمی در جدول 1 آورده شده است، همانطور که مشخص است استفاده از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو منجر به افزایش بیشتر ترکیبات موجود در عصاره شده است و همانطور که نشان داده شده در هر دو نمونه بیس (2- اتیل هگزیل) فتالات بیشترین ترکیب قابل شناسایی بود که این ماده استفاده گسترده‌ای به‌عنوان نرم کننده در ساخت تولیدات پلی وینیل کلراید، وسیال پزشکی، بسته بندی‌های غذایی، لوازم آرایشی و محصولات لبنی دارد هرچند قرار گرفتن بیشتر در معرض این ماده می‌تواند منجر به اختلال عملکرد سلول‌های بتا، هموستاز گلوگز و تغییراتی در محتوای گلیکوژن کبدی گردد [40]. همچنین جدول 1 نشان داد که میزان قندهای الکلی موجود در عصاره (گالاکتیتول و مانیتول) با استفاده از پیش تیمار افزایش می‌یابد، این قندها معمولا دارای کالری کمتر و از شیرین‌کننده‌های طبیعی محسوب می‌شوند. محققین نشان دادند که استفاده از اولیگوساکاریدهای غیر قابل هضم 40-50 درصد ساکاروز ارزش کالری‌زایی دارند. از طرفی نتایج این بخش نشان داد که برخی از اسیدهای چرب همانند استارئیک اسید نیز در عصاره استخراجی وجود داشت [41]. بخش آبادی و همکاران در سال 2018، با مطالعه‌ای که روی تاثیر پیش تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و مایکروویو بر برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن و کنجاله سیاه دانه انجام دادند، بیان داشتند که استفاده از پیش تیمارهای مختلف منجر به افزایش ترکیبات قابل شناسایی در روغن سیاه دانه گردید [21].

Table 1 The influence of different pretreatments on the chemical composition of extracts

Compound	Control	150sMW+30minUS
Phenol, 2,4-bis (1,1- dimethylethyl)	8.16±0.03[b]	9.19±0.06[a]
Hexadecanoic acid, methyl ester	3.88±0.01[b]	4.97±0.02[a]
n-Hexadecanoic acid	12.25±0.30[a]	12.25±0.25[a]
9,22)-Octadecadienoic acid (Z,Z(	4.59±0.11[a]	4.59±0.11[a]
9, 12, 15 Octadecatrienoic acid, (...	8.79±0.13[b]	9.37±0.15[a]
Galactitol and Mannitol	1.07±0.03[b]	1.39±0.00[a]
Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(...	11.99±0.09[b]	13.58±0.05[a]
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	31.07±0.33[b]	33.68±0.05[a]

Numbers with different letters in each row imply significant differences in the 5% level of probability.

4- نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پیش تیمار فراصوت- مایکروویو به‌دلیل افزایش استخراج ترکیبات زیست فعال از قبیل ترکیبات آنتی اکسیدانی از میوه ولیک، روش مناسبی برای استخراج عصاره از میوه‌ها می‌باشد و همچنین استفاده از مایکروویو و فراصوت منجر به افزایش قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌های استخراجی از ولیک گردید. از طرفی نوع پیش تیمار بر میزان اسیدیته نمونه‌ها تأثیر معنی‌دار ندارد و استفاده از پیش تیمارهای مختلف منجر به افزایش ترکیبات قابل شناسایی توسط دستگاه گازکروماتوگرافی/ طیف سنجی جرمی می‌شود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

5- منابع

[1] Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F. and Chow, M. S. 2002. Hawthorn. The Journal of clinical pharmacology. 42: 605-612.

[2] Liu, P., Yang, B. and Kallio, H. 2010. Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (Crataegus pinnatifida Bge. var. major) fruit by high performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. Food chemistry. 121: 1188-97.

[3] Cui, H.Y., Jia, X.Y., Zhang, X., Zhang, J. and Zhang, Z.Q. 2011. Optimization of high-speed counter-current chromatography for separation of polyphenols from the extract of hawthorn (Crataegus laevigata) with response surface methodology. Separation and purification technoloy. 77: 269-274.

[4] Tracy, T. S. and Kingston, R.L. 2007. Herbal Products: toxicology and clinical pharmacology. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey, 288 PP.

[5] Wasowicz, E., Gramza, A., Hes, M., Jelen, H.H., Korczak, J., Małecka, M., Mildner-Szkudlarz, M.S., Urszula Samotyja, U. and Zawirska-Wojtasiak, R. 2004. Oxidation of Lipids in foods. Polish Journal of food and nutrition sciences. 13(54): 87-100 .

[6] Barreca, D., Laganà, G., Leuzzi, U., Smeriglio, A., Trombetta, D. and Bellocco, E. 2016. Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (Pistacia vera L., variety Bronte) hulls. Food chemistry. 196: 493–502.

[7] Shahidi, F. and Naczk, M. 2003. Phenolics in food and nutraceuticals. *CRC Press. 403-426* .

[8] Budrat, P. and Shotipruk, A. 2008. Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (Momordica charantia) by subcritical water extraction. Separation and purification technology. 66:125-129.

[9] Mohamadi, M. 2018. Optimization the use of Subcritical Water fluid and pretreatment with pulsed electric field for extraction of phenolic compound from pistachio hull. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of PhD in Food Science and Technology- Food Chemistry in Gorgan univercity. 219 p.

[10] Shirsath, S.R., Sonawane, S.H. and Gogate, P.R. 2012. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—a review of current status. Chemical engineering and processing. 53: 10–23.

[11] Lingyun, W., Jianhua,W., Xiaodong, Z., Yalin,Y., Chenggang, C., Tianhua, F. and Fan, Z. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. Journal of Food Engineering. 79 :1087–1093.

[12] Romdhane, M., and Gourdon, C. 2002. Investigation in solid–liquid extraction: influence of ultrasound. Chemical engineering journal. 87 (1): 11-19.

[13] Sharma, A. and Gupta, M.N. 2004. Oil extraction from almond, apricot and rice bran by three-phase partitioning after ultrasonication. European journal of lipid science and technology. 106(44): 183–186.

[14] Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B. O. , Donnell, C. P., Martin-Diana, A. B. and Barry-Ryan, V. 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (Origanum majorana L.) using response surface methodology. Ultrasonics sonochemistry. 19(3): 582-590.

[15] Prommajak, T., S. Surawang, and N. Rattanapanone. 2014. Ultrasonic-assisted extraction of phenolic and antioxidative compounds from lizard tail *(Houttuynia cordata Thunb.)*. Songklanakarin Journal of science and technology. 36(9):65-72.

[16] Moghimi, M., Farzaneh, V. and Bakhshabadi, H. 2018. The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (Nigella Sativa). Nutrire. 4(18): 2-8.

[17] Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S. 2007. Microwave Assisted Extraction – An Innovative & Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. Pharmacognosy reviews. 1: 8-14.

[18] Sultana, B., Anwar, F. and Przybylski, R. 2007. Antioxidant potential of corncob extracts for stabilization of cornoil subjected to microwave heating. Food chemistry. 104: 997–1005.

[19] Jiao, J., Li, Z.G., Gai, Q-Y, Li, X.G., Wei, F.U., Fu, Y.J. and Ma, W. 2014. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. Food chemistry. 147: 17-24.

[20] Sanchez, R.J., Mateo, C.M., Fernandez, M.B. and Nolasco, S.M. 2017. Bidimensional modeling applied to oil extraction kinetics of microwave-pretreated canola seeds. Journal of Food Engineering. 192: 28–35.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

phytochemical characterization and antioxidant potential. Journal of Food Chemistry. 101: 549-558.
[32] Lee, Y.C., Oh, S.W., Chang, J. and Kim, I.H, 2004. Chemical composition and oxidative stability of safflower oil prepared from safflower seed roasted with different temperatures. Food Chemistry. 84: 1–6.
[33] Rasoulian Shabestari, S., Aminifar, M. and Rashidi, L. 2017. Investigating the Effect of Two Different Thermal Methods of Rotary Evaporation and Microwave on the Phenolic Content, Antioxidant Activity and Color of Grapefruit Juice Concentrate. Iranian journal of nutrition sciences & food technology. 12(3): 47-54. (In persian).
[34] Sun, T., Powers, J.R. and Tang, J. 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. Food chemistry. 105 (1): 101-106.
[35] Nasirifar, Z., Sadeghi Mahoonak, A.R. and Kamali, F. 2014. Effect of extraction condition with two ultrasonic methods on phenolic, flavonoids and DPPH free radical scavenging of Celtis australis extract. Journal of Food. Processing and Preservation. 5(2): 115-130. (In persian).
[36] Li, J., Dong, S. and Xiao-lin, D. 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from Zizyphus jujube cv. jinsixiaozao. Journal of Food Engineering. 80: 176-183.
[37] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant ctivities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT Food science and technology abbreviation. 40: 344-352.
[38] Pourali, O., Salak Asghari., F, and Yoshida., H. 2009. Sub-critical water treatment of rice bran to produce valuable materials. Food Chemistry. 115: 1-7.
[39] Yosefi, S., Yosefi, G., Amiri Rigi, A., Emam Jomeh, Z. 2016 Evaluation of physicochemical properties of raspberries concentrate prepared by vacuum and microwave techniques. FSCT. 0; 13 (57) :121-132 (In Persian).
[40] Lin, Y., Wei, J., Li, Y., Chen, J., Zhou, Z., Song, L., Wei, Z., Lv, Z., Chen, X., Xia, W. and Xu, S. 2011. Developmental exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate impairs endocrine pancreas and leads to long-term adverse effects on glucose homeostasis in the rat. Am Physiology Society. 301(3): 527-38.
[41] Mussatto, S.I. and Mancilha, I.M. 2007. Non-digestible oligosaccharides: A review, Carbohydrate Polymers. 68(3): 587-597.
[21] Bakhshabadi, H., Mirzaei, H.O., Ghodsvali, A., Jafari, S.M. and Ziaiifar, A.M. 2018. The influence of pulsed electric field and microwave pretreatments on some of the physicochemical properties of oil and the meal of black cumin seed . Food science and nutrition. 1–8.
[22] McDonald, S., Prenzler, P. D. Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food chemistry. 73(7):73-84.
[23] Long, J., Fu, Y., Zu, Y., Li, J., Wang, W., Gu, C. and Luo, M. 2011. Ultrasound-assisted extraction of flaxseed oil using immobilized enzymes. Bioresource technology. 102, 9991–9996.
[24] Yildirim, A., Mavi, A. and Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Agricultural and food chemistry. 49: 4083-4089.
[25] AOAC. 2008. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
[26] Adams, R.P. 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography /Mass Spectroscopy. Allured Publishing Co. IL.
[27] Muanda, F.N., Soulimani, R., Diop, B. and Dicko, A. 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from Stevia rebaudiana Bertoni leaves. LWT- Food Science and Technology. 44: 1865-1872.
[28] Proestos, C. and Komaitis, M. 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds.Lebensm.Wiss.u.Technol. 41: 652–659.
[29] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P. and Mason, T. J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics sonochemistry. 11(3): 261-265.
[30] Salmanian, Sh., Sadeghi Mahoonak, A.R., Alami, M. and Ghorbani, M. 2013. Determination of antiradical and antioxidant activities and flavonoid content in hawthorn fruit (Crataegus elbursensis). Iranian journal of nutrition sciences & food technology. 8(1): 177-185. (In persian).
[31] Ferreres, F., Sousa, C., Valento, P., Seabra, R. M., Pereira, J. A. and Andrade, P. B. 2007. Tronchuda cabbage (*Brassica oleracea L. var. costata., DC*) seed:

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

Effect of different pretreatments on antioxidant and some chemical compounds of extract of hawthorn fruit

Nejati-Rad, A. [1], Moghimi, M. [2], Rezaei, R. [1*], Bakhshabadi, H. [1]

1. Food Science and Technology Department, Gonbad Kavoos Branch, Islamic Azad University, Gonbad Kavoos, Iran
2. Chemistry Department, Gonbad Kavoos Branch, Islamic Azad University, Gonbad Kavoos, Iran

(Received: 2019/02/02 Accepted: 2020/02/03)

Hawthorn (*Crataegus spp*.) Is a rich source of natural antioxidants, especially flavonoids and anthocyanins, and these bioactive compounds have various beneficial effects on health and well-being. In this study, extracts of hawthorn fruits were used with ultrasound (for 30 min), microwave (150 s) and ultrasound- microwave (30 min ultrasound + 150 s microwave) and after applying these supplements, the extract of fruits with Ethanol was extracted and one sample was selected as a control without pre-treatment. The total phenolic compounds, the ability to inhibit DPPH free radicals, iron regeneration capacity, acidity and some of the important compounds (by gas chromatography / mass spectrometry) of the samples were investigated. Statistical analysis and process optimization were performed completely randomly using SAS software. The results showed that the use of different pretreatments resulted in increasing the total phenolic compounds, the ability to inhibit DPPH free radicals and iron regeneration capacity in extracted extracts, so that the samples from the pretreatment of ultrasound-microwave were 9.89 The percentage of total phenol was higher. The results of the analysis of the data from the acidity of the samples showed that the pre-treatment type did not have a significant effect on the acidity of the samples ($p>0.01$). The use of microwave ultrasound pre-treatment resulted in a greater increase in the compounds in the extract and the base-2-ethylhexyl-phthalate combination was the most recognizable combination in the extracts. In the end, it can be stated that microwave ultrasound was the best pretreatment for preparation of extract hawthorn fruit.

Key words: Antioxidant activity, Hawthorn extract, Pre-treatment, Ultrasound- Microwave

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-26]

[DOI: 10.52547/fsct.17.105.113]

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