بهینه سازی استخراج، بررسی خصوصیات شیمیایی، ساختاری و فعالیت ضد اکسایشی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب برگ فیجوآ

مه رو مرادیان[۱]، علی گنجلو[۲*]، ماندانا بی مکر[۲]

۱دانش آموخته کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۲۹)

چکیده

یافتن منابع طبیعی، ارزان قیمت و جدید پلی‌ساکاریدها به دلیل پتانسیل بالا برای بهرهبرداریدر صنایع غذایی و دارویی ضروری است. لذا مطالعه حاضر با هدف بهینه سازی فرایند استخراج پلی‌ساکاریدها از برگ فیجوآ به منظور به حداکثر رساندن راندمان، بررسی خصوصیات شیمیایی، ساختاری و بررسی فعالیت ضد اکسایشی انجام شد. در این راستا تاثیر سه فراسنجه مستقل شامل دمای استخراج (۹۰-۵۰ درجه سلسیوس)، pH آب (۹/۵-۳/۵) و مدت زمان استخراج (٤-۱ ساعت) بر راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها ارزیابی گردید. شرایط بهینه به صورت دمای استخراج ٦٨ درجه سلسیوس، pH آب ٦/٧٥ و مدت زمان استخراج ۲/۹٦ ساعت به دست آمد. تحت شرایط بهینه میزان راندمان استخراج پیش بینی شده توسط مدل (۳/۳۸ درصد) با میزان راندمان استخراج تجربی (۰/۰۲±۳/۳۵ درصد) مطابقت داشت. خصوصیات اولیه شیمیایی پلی‌ساکاریدهای استخراج شده از برگ فیجوآ تحت شرایط بهینه تعیین گردید. بر اساس نتایج بررسی خصوصیات شیمیایی، میزان کربوهیدرات کل معادل ٥٤/۳۷ درصد، پلی فنول‌ها و پروتئین به ترتیب معادل ۰/۱٤ میلی‌گرم معادل گالیک اسید و ۰/۱۸ درصد بود. درطیف تبدیل فوریه مادون قرمز باندهای شاخص پلی‌ساکاریدها مشاهده گردید. پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ عمدتا شامل مونوساکاریدهای گلوکز، ریبوز، مانوز، آرابینوز و گالاکتوز می‌باشند. نتایج بررسی فعالیت ضد اکسایشی بیانگر توانایی مطلوب پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ برای مهار رادیکال‌های آزاد DPPHواحیا نمودن یون آهناست. درنهایت،برگ فیجوآ را می‌توان به عنوان یک منبع طبیعی،ارزانقیمت و جدید برای استحصال پلی‌ساکاریدها با فعالیت زیستی مطلوب جهت تولید مواد غذایی فراسودمند یا داروها معرفی نمود.

کلید واژگان: استخراج، پلی‌ساکاریدها، برگ فیجوآ، بهینه سازی، فعالیت ضد اکسایشی.

* مسئول مکاتبات: aganjloo@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

۱- مقدمه

پلی‌ساکاریدها که با بهم پیوستن مونوساکاریدها از طریق پیوندهای گلیکوزیدی تشکیل می‌شوند بطور گسترده‌ای در منابع گوناگون نظیر محصولات کشاورزی، میکروارگانیسم‌ها، منابع دریایی، مایعات بدن حیوانات و پوسته سخت‌پوستان یافت می‌شوند [۱]. پلی‌ساکاریدها با توجه به فعالیت‌های زیستی مختلف نظیر فعالیت ضد توموری [۲]، ضد پیری [۳]، ضد التهابی [٤]، فعالیت ضد اکسایشی [٥] و ضد باکتریایی [٦] نقش بسیار مهمی در رشد و توسعه اندام‌های حیاتی زنده دارند. لذا جستجو برای یافتن منابع طبیعی، جدید و ارزان قیمت به منظور استحصال پلی‌ساکاریدها به علت وجود پتانسیل بالا برای بهره برداری از این بسپارهای طبیعی غیر سمی در صنایع مختلف نظیر غذایی و دارویی ضروری به‌نظر می‌رسد. استخراج از ابتدایی ترین و مهم‌ترین اقدامات در جهت جداسازی انواع ترکیبات زیست فعال خصوصا پلی‌ساکاریدها از منابع مختلف گیاهی و جانوری بشمار می‌رود [۱٥]. به عنوان مثال، در پژوهشی پلی‌ساکاریدهای جنسینگ پرویی (*LepidiumMeyenii*) با استفاده از آب داغ استخراج گردید. بر اساس نتایج پلی‌ساکاریدهای جینسینگ پرویی فعالیت مهار کنندگی مطلوبی در برابر رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل، آنیون‌های سوپراکسید و DPPH از خود نشان دادند [۷]. در پژوهشی ین و همکاران (۲۰۱۸) پلی‌ساکاریدهای نوعی قارچ به نام شیتاکه[1] را استخراج نمودند. نتایج بیانگر قدرت بالای احیا کنندگی پلی‌ساکاریدهای قارچ شیتاکه بود [۸]. خماخم و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی به استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ زیتون پرداختند. نتایج حاکی از توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی و فعالیت ضد میکروبی مطلوب پلی‌ساکاریدهای برگ زیتون بود [۹]. همچنین طی مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ مشخص گردید پلی‌ساکاریدهای گیاه پنیرک (*Malvaaegyptiaca*) از فعالیت ضد اکسایشی و ضد باکتریایی مطلوبی برخوردار هستند [۱۰].

از آنجایی‌که فراسنجه‌های متعدد بر کارآیی فرایند استخراج تاثیر گذار هستند استفاده از روش‌های آماری سنتی برای بررسی تاثیرات هر یک به تنهایی بسیار زمان‌بر می‌باشد و علاوه بر آن ممکن است تعامل میان آنها نیز نادیده گرفته شود. لذا امروزه از تکنیک‌های ریاضی و آماری جدید به منظور بررسی اثرات چندین فراسنجه به صورت هم‌زمان و در زمانی کوتاه‌تر استفاده می‌شود. در این راستا از روش شناسی سطح پاسخ[2] می‌توان برای بررسی تاثیرات خطی و برهم‌کنش بین فراسنجه‌های مختلف با تعداد کمتری از آزمایشات و در نهایت بهینه سازی فرایند استفاده نمود. از این تکنیک به‌طور موفقیت آمیزی خصوصا برای بررسی اثرات فراسنجه‌های مختلف و تعیین شرایط بهینه استخراج پلی‌ساکاریدها از منابع مختلف نظیر نوعی کلم [۱۱]، قره قاط [۱۲]، کامفری [۱۳]، نوعی قارچ وحشی (*Paxillusinvolutus*) [۱٤] و غلاف نخود فرنگی [٥] استفاده شده است.

فیجوآ (*AccasellowianaBerg*) یک گونه خاص متعلق به خانواده موردیان (*Myrtaceae*) است. فیجوآ یک درختچه همیشه سبز با برگ‌های بسیار خوشبو و بومی نواحی مرتفع آمریکای جنوبی است و با توجه به سازگاری بسیار خوبی که با مناطق نیمه گرمسیری و معتدل دارد در حال حاضر به طور گسترده در نیوزیلند و به طور محدود در برخی از کشورها کشت می‌شود. این گیاه در انتهای قرن نوزدهم به عنوان گیاه زینتی به نواحی مدیترانه معرفی شد اما امروزه برای استحصال میوه خوراکی پرورش می‌یابد [۱٥، ۱٦]. میوه فیجوآ سفید، شیرین، بسیار معطر و شبیه به آناناس است. فعالیت‌های زیستی میوه فیجوآ نظیر فعالیت ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد التهابی و فعالیت ضد اکسایشی گزارش شده است [۱۷، ۱۸]. در این پژوهش با توجه به فقدان مطالعاتی در زمینه استخراج پلی‌ساکاریدها از برگ فیجوآ به عنوان یک منبع طبیعی، ارزان و همیشه در دسترس، تاثیر فراسنجه‌های مستقل نظیر درجه حرارت، مدت زمان استخراج و pH حلال بر راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها با استفاده از روش شناسی سطح پاسخ بر اساس طرح باکس- بنکن بررسی و بهینه سازی فرآیند با هدف به حداکثر رساندن راندمان استخراج انجام شد. خصوصیات اولیه شیمیایی پلی‌ساکاریدهای به دست آمده تحت شرایط بهینه از طریق آزمون‌های شیمیایی و خصوصیات ساختاری از طریق تعیین مونوساکاریدها، طیف سنجی فرابنفش (UV^3) و طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز ($FT\text{-}IR^4$) تعیین شد. در نهایت فعالیت ضد اکسایشی پلی‌ساکاریدهای

1. Shiitake mushroom

2. Response surface methodology (RSM)
3. Ultraviolet
4. Fourier transform-infrared

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

برگ فیجوآ به روش‌های مها رادیکال‌های آزاد۱،۱- دی‌فنیل- ۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH) و قدرتاحیاکنندگیآهن ارزیابی گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه

برگ های فیجوآ در پاییز ۹۴ از شهرستان رامسر تهیه شد و پس از شستشو در سایه و در دمای اتاق تا رسیدن به رطوبت ۷/۵±۰/۲ درصد خشک شدند. برای حذف برخی از قندهای آزاد، اسیدهای آمینه و برخی فنول‌ها، نمونه‌های خشک شده با اتانول ۹۵ درصد (با رعایت نسبت ۲۰ میلی‌لیتر حلال به ازاء یک گرم ماده اولیه) مخلوط شدند و در حمام آب گرم با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. سپس مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد و در دمای ٤٠ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ ساعت خشک گردید [۱۹].

۲-۲- استخراج پلی‌ساکاریدهای محلول در آب

برای استخراج پلی‌ساکاریدها، ۳ گرم پودر خشک برگ فیجوآ گذرانده شده از الک با مش ۱۸ با ۹۰ میلی‌لیتر آب مخلوط شد. فرایند استخراج بر اساس فراسنجه‌های درجه حرارت (۹۰-۵۰ درجه سلسیوس)، مدت زمان استخراج (٤-۱ ساعت) و pH حلال (۹/۵-۳/۵) انجام شد. عصاره به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۲۵ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. محلول رویی به دست آمده از سانتریفیوژ توسط دستگاه تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء در دمای ٦٠ درجه سلسیوس تا رسیدن به یک پنجم حجم اولیه تغلیظ شد. پروتئین‌زدایی به روش *Sevag* انجام گرفت. سپس ٤ برابر حجم عصاره تغلیظ شده اتانول ۹۵ درصد اضافه شد و به مدت یک شب در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری گردید. در نهایت برای به دست آوردن پلی‌ساکاریدهای خام از نیروی گریز از مرکز (۵۰۰۰ دور در دقیقه، ۲۰ دقیقه) استفاده شد و ترکیب رسوب کرده با استون و اتانول خالص شسته شد و در دمای ٤٠ درجه سلسیوس تا زمان رسیدن به وزن ثابت خشک گردید [۱۹]. راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$Y(\%)=\frac{W_2}{W_1}\times 100$$

در این معادله، Y راندمان استخراج بر حسب درصد، W_2 وزن پلی‌ساکاریدهای خشک بر حسب گرم و W_1 وزن پودر خشک برگ فیجوآ بر حسب گرم می‌باشد.

۲-۳- تعیین خصوصیات شیمیایی و ساختاری پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ

۲-۳-۱- روش‌های عمومی

محتوای قند کل به روش فنل- سولفوریک اسید با استفاده از گلوکز به عنوان استاندارد تعیین گردید [۲۰]. وجود قند احیا کننده به روش فهلینگ مورد بررسی قرار گرفت. محتوای فنول کل به روش رنگ‌سنجی فولین- سیکالتیو مورد بررسی قرار گرفت [۲۱] و برحسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید به ازاء۱۰۰ میلی‌گرم نمونه بیان شد.

۲-۳-۲- طیف سنجی فرابنفش (UV) و تبدیل فوریه مادون قرمز (FT-IR)

طیف فرابنفش برای تعیین وجود پروتئین در نمونه پلی‌ساکاریدی در دامنه ٤٠٠ -۲۰۰ نانومتر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس توسط دستگاه طیف سنج نوری فرابنفش- مرئیبه دست آمد.

از روش طیف سنجیتبدیل فوریه مادون قرمز برای شناسایی پیوندهای بین اتم‌های مختلف و گروه‌های عاملی استفاده شد. برای این منظور ۲ میلی‌گرم پلی‌ساکارید با ۳۰۰ میلی‌گرم پودر *KBr* مخلوط و به صورت قرص با ضخامت ۱ میلی‌متر فشرده شد و پیک‌ها توسط دستگاه طیف سنج تبدیل فوریه مادون قرمز در محدوده فرکانس cm^{-1} ٤٠٠٠-٤٠٠ به دست آمد [۲۲].

۲-۳-۳- شناسایی مونوساکاریدها

به منظور شناسایی مونوساکاریدها از روش الاتونجی و همکاران (۲۰۱٦) با اندکی تغییرات استفاده شد[۲۳]. ۳۰ میلی‌گرم از نمونه پلی‌ساکاریدی در ۲ میلی‌لیتر تری فلوئورو استیک اسید (۲ مولار) حل شد و به مدت ۳ ساعت در آون با دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. بعد از حذف تری فلوئورو استیک اسید باقیمانده توسط اتانول و تبخیر کننده چرخشی تحت خلاء ترکیب به دست آمده با ۲۰ میلی‌گرم هیدروکسیل-آمین هیدروکلرید و ۲ میلی‌لیتر پیریدین در دمای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

۹۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت تیمار شد. سپس ترکیب به دست آمده با استفاده از غشاء نایلونی با قطر منافذ ۰/٤٥ میکرومتر صاف گردید. در نهایت مشتقات تهیه شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله و ستون موئین سیلیسی شناسایی شدند.

۲-٤- اندازه گیری فعالیت ضد اکسایشی پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ

۲-٤-۱- اندازه گیری فعالیت ضد اکسایشی به روش ۱،۱- دی‌فنیل- ۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH)

فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ طبق روش ژی و همکاران (۲۰۱۲) با اندکی تغییرات مورد بررسی قرار گرفت [۲٤]. به طوری که ۱/۵ میلی‌لیتر از نمونه پلی‌ساکاریدی با غلظت‌های مختلف (۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول DPPH (۰/۱ میلی مول بر لیتر در اتانول ۹۵ درصد) مخلوط شد. مخلوط حاصل هم زده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک نگهداری شد. مقدار جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری گردید. برای محاسبه درصد فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH از رابطه زیر استفاده شد.

DPPHهای آزاد محاسبه درصد فعالیت مهار کنندگی رادیکال =

$$\frac{1-(A_2-A_1)}{A_0}\times 100$$

در رابطه، A_0: میزان جذب محلول DPPH بدون اضافه کردن نمونه؛ A_1: میزان جذب نمونه پلی‌ساکاریدی بدون اضافه کردن محلول DPPH؛ A_2: میزان جذب محلول DPPH و نمونه می‌باشد.

۲-٤-۲- اندازه گیری میزان فعالیت ضد اکسایشی به روش قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP)

برای اندازه گیری فعالیت ضد اکسایشی به روش قدرت احیا کنندگی آهن از روش یو و همکاران (۲۰۱٤) استفاده شد [۲۵]. محلول‌های مورد نیاز شامل بافر استات ۳۰۰ میلی مولار با pH معادل ۳/٦، محلول ۱۰ میلی مولار TPTZ تهیه شده با کلریدریک اسید ٤۰ میلیمولار و محلول $FeCl_3.6H_2O$ ۲۰ میلی مولار می‌باشد. محلول معرف تازه با مخلوط کردن۲۵ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول$FeCl_3.6H_2O$ آماده شد. ۱۵۰ میکرولیتر از محلول پلی‌ساکاریدی با غلظت‌های مختلف (۰/۲، ۰/٤، ۰/٦، ۰/۸ و۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۲۸۵۰ میکرولیتر از محلول FRAP مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک نگهداری شد. میزان جذب مخلوط در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید.

۲-۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این مطالعه، برای اعمال روش شناسی سطح پاسخ، بررسی روابط میان فراسنجه‌های مستقل و پاسخ،ایجاد نمودارهای سه بعدی و بهینه یابی از نرم افزار آماری Design Expert 7.0.3 (Minneapolis, USA)استفاده شد. درجه حرارت، مدت زمان استخراج و pH حلال فراسنجه‌های مستقل مورد مطالعه در این پژوهش بودند. آزمایشات بر اساس طرح باکس–بنکن شامل ۱۷ تیمار با ۵ تکرار در نقطه مرکزیبود. سطوح بالا (+۱)، میانی (صفر) و پایینی (–۱) فراسنجه‌های مورد مطالعه بر اساس مطالعات اولیه انتخاب گردید (جدول ۱). از مدل چند جمله ای درجه دوم برای مدل سازی فرایند به منظور بیان اثرات اصلی و متقابل فراسنجه‌های مستقل بر پاسخ استفاده می‌شود. مدل درجه دوم را می‌توان به صورت زیر نوشت:

$$Y(\%) = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3}\beta_i X_i + \sum_{i=1}^{3}\beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i<j=2}^{3}\beta_{ij} X_i X_j$$

در این رابطه β_0 ،β_i ،β_{ii} وβ_{ij} ضرایب رگرسیونی به ترتیبرای عرض از مبدا، اثرات خطی، درجه دوم، متقابل وX_jوX_iمتغیرهای مستقل هستند. از آزمون ضعف برازش، ضریب تغییرات (C.V.)، ضریب همبستگی (R^2)، ضریب همبستگی اصلاح شده (adj-R^2) و عدد p در سطح اطمینان ۹۵ درصد برای بررسی صحت مدل وتاثیر فراسنجه‌ها استفاده شد.برای تعیین شرایط بهینه از روش بهینه سازی عددی[5] با هدف به حداکثر رسیدن راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ استفاده شد. برای اعتبار سنجی مدل پیشنهادی، مقادیر پیشبینی شده با مقادیرتجربی به دست آمدهتحت شرایط بهینه مقایسه گردید.

5. Numerical optimization

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

Table 1 Levels of independent variables and related codes

Process variables	Symbol	Levels		
		-1	0	+1
Temperature (ºC)	A	50	70	90
pH	B	3.5	6.5	9.5
Extraction time (h)	C	1	2.5	4

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تأثیر فراسنجه‌های مستقل بر راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها از برگ فیجوآ

مقادیر تجربی راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ برای ۱۷ تیمار مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. بر این اساس مقدار راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ در محدوده ۳/۳۷ -۱/۰۳ درصد قرار داشت. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس به دست آمده برای راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ در جدول ۳ ارائه شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود اثرات خطی، درجه دوم و متقابل فراسنجه‌های مستقل با توجه به مقدار بالای F-value و مقدار P به‌دست آمده تاثیر معنی داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد بر راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ داشتند. از طرفی آزمون ضعف برازش مدل در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی دار نبود که نشان‌دهنده کارآیی مدل مورد استفاده برای پیشبینی‌راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ می‌باشد (جدول ۳). بر اساس جدول ۳ ضریب همبستگی و همبستگی اصلاح شده مدل به ترتیب معادل ۰/۹۹ و ۰/۹۸ بود که حاکی از دقتبالایمدل برازش شدهبرای پیش بینی مقادیرپاسخ است. مقدار کم ضریب تغییرات (۵/۰۵ درصد) نیز تایید کننده دقت مدل برازش شده بر داده‌های تجربی می‌باشد. در شکل ۱ نیز تطابق خوب نتایج تجربی و مقادیر پیش بینی شده با مدل رگرسیونی قابل مشاهده است. نمودار پرتوربیشن به منظور بررسی ارزیابی حساسیت پاسخ به فراسنجه‌های مستقل مورد مطالعه در شکل ۲ نشان داده شده است. وجود خط صاف و انحنا در این نمودار به ترتیب نشانگر عدم حساسیت و حساسیت پاسخ به تغییرات فراسنجه‌های مستقل است [۲۶]. با توجه به شکل ۲ واضح است که راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ به ترتیب تحت تاثیر مدت زمان استخراج، درجه حرارت و pH حلال قرار دارد.

رابطه رگرسیونی زیر مدل برازش شده به منظور تخمین راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ تحت شرایط مورد مطالعه را به صورت کد گذاری شده نشان می‌دهد.

$$Y= +3.22+ 0.24\ A+0.22\ B+ 0.36C - 0.23AB - 0.14AC+14\ BC-1.18A^2 -0.51\ B^2 -0.56\ C^2$$

در این رابطه، Y بیانگر راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ و A، B و C به ترتیب فراسنجه‌های کد گذاری شده برای درجه حرارت (درجه سلسیوس)، pH حلال و مدت زمان استخراج (ساعت) می‌باشد.

Table 2 The Box–Behnken design experimental and response values for the extraction yield.

Run	A:Temperature (ºC)	B: pH	C: Extraction time (h)	Extraction yield (٪)
1	50.00	3.50	2.50	1.26
2	90.00	3.50	2.50	1.33
3	50.00	9.50	2.50	2.33
4	90.00	9.50	2.50	1.48
5	50.00	6.50	1.00	1.33
6	90.00	6.50	1.00	1.03
7	50.00	6.50	4.00	2.35
8	90.00	6.50	4.00	1.50
9	70.00	3.50	1.00	1.86
10	70.00	9.50	1.00	1.87
11	70.00	3.50	4.00	2.30
12	70.00	9.50	4.00	2.85
13	70.00	6.50	2.50	3.24
14	70.00	6.50	2.50	3.37
15	70.00	6.50	2.50	3.25
16	70.00	6.50	2.50	3.24
17	70.00	6.50	2.50	3.35

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for response surface quadratic model obtained from experimental results.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F value	P value Prob>F
Model	11.320	9	1.260	98.26	< 0.0001
A: Temperature	0.470	1	0.470	38.62	0.00050
B:pH	0.400	1	0.400	31.39	0.00080
C:Extraction time	1.060	1	1.060	90.23	< 0.0001
AB	0.210	1	0.210	17.55	0.00470
AC	0.076	1	0.076	6.27	0.04460
BC	0.073	1	0.073	6.98	0.04760
A^2	5.850	1	5.850	454.46	< 0.0001
B^2	1.100	1	1.100	81.56	< 0.0001
C^2	1.310	1	1.310	98.38	< 0.0001
Residual	0.089	7	0.013		
Lack of Fit	0.072	3	0.024		0.0613
Pure Error	0.017	4	4.150E-003		
R^2	0.9922	ADJ-R^2	0.9822	C.V.	5.05%

تأثیر فراسنجه‌های مستقل مختلف بر میزان راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ به صورت نمودارهای سه بعدی و نمودارهای دو بعدی کانتور درشکل ۱ نشان داده شده است. به طور کلی نمودارهای کانتور دارای خطوط دایره ای یا بیضوی هستند. نمودارهای کانتور دایره ای بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین متغیرها است در حالی‌که نمودارهای کانتور بیضوی حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین متغیر ها می‌باشد [۲۷]. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش درجه حرارت تا ۷۰ درجه سلسیوس راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ افزایش یافت. افزایش دما با کاهش گرانروی حلال که منجر به افزایش میزان نفوذ حلال به داخل ماتریکس گیاهی می‌شود و افزایش توانایی حلال برای حل کردن ترکیبات هدف در خود سبب افزایش راندمان استخراج می‌گردد [۱۱]. اما در ادامه با افزایش درجه حرارت میزان راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها کاهش یافت. استفاده از دمای بالا به دلیل تخریب حرارتی ساختار پلی‌ساکاریدها منجر به کاهش راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها می‌گردد [۲۸]. نتیجه مشابهی توسط لیو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است به طوری که آنها نیز دریافتند که استفاده از درجه حرارت بالای ۷۰ درجه سلسیوس سبب کاهش راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای نوعی قارچ وحشی می‌گردد [۱٤]. با افزایش pH حلال تا حدود ٦/٥ راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها افزایش یافت. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش بیشتر pH حلال به سمت محدود قلیایی اندکی از راندمان استخراج کاسته شد. ژانگ و همکاران (۲۰۱٦)،

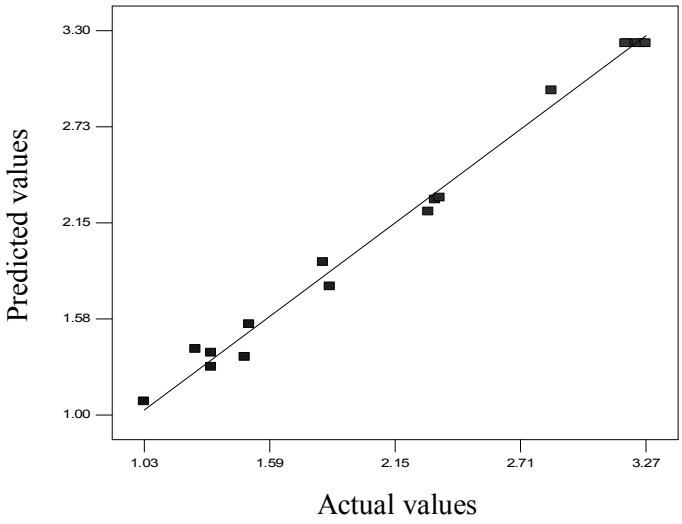


Fig 1 Plot of Actual vs. Predicted values

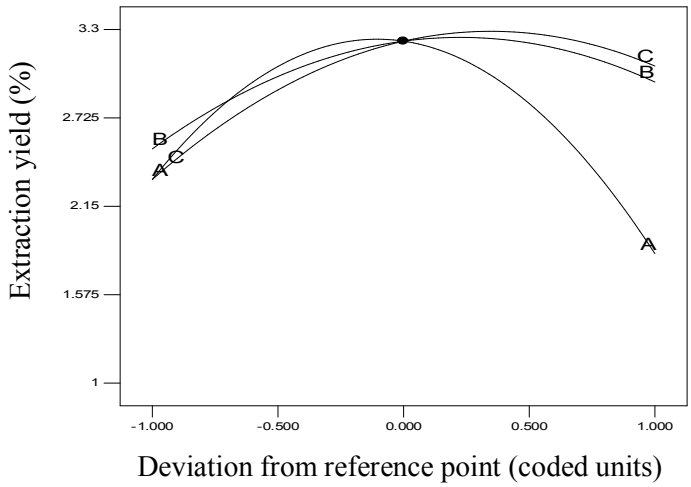
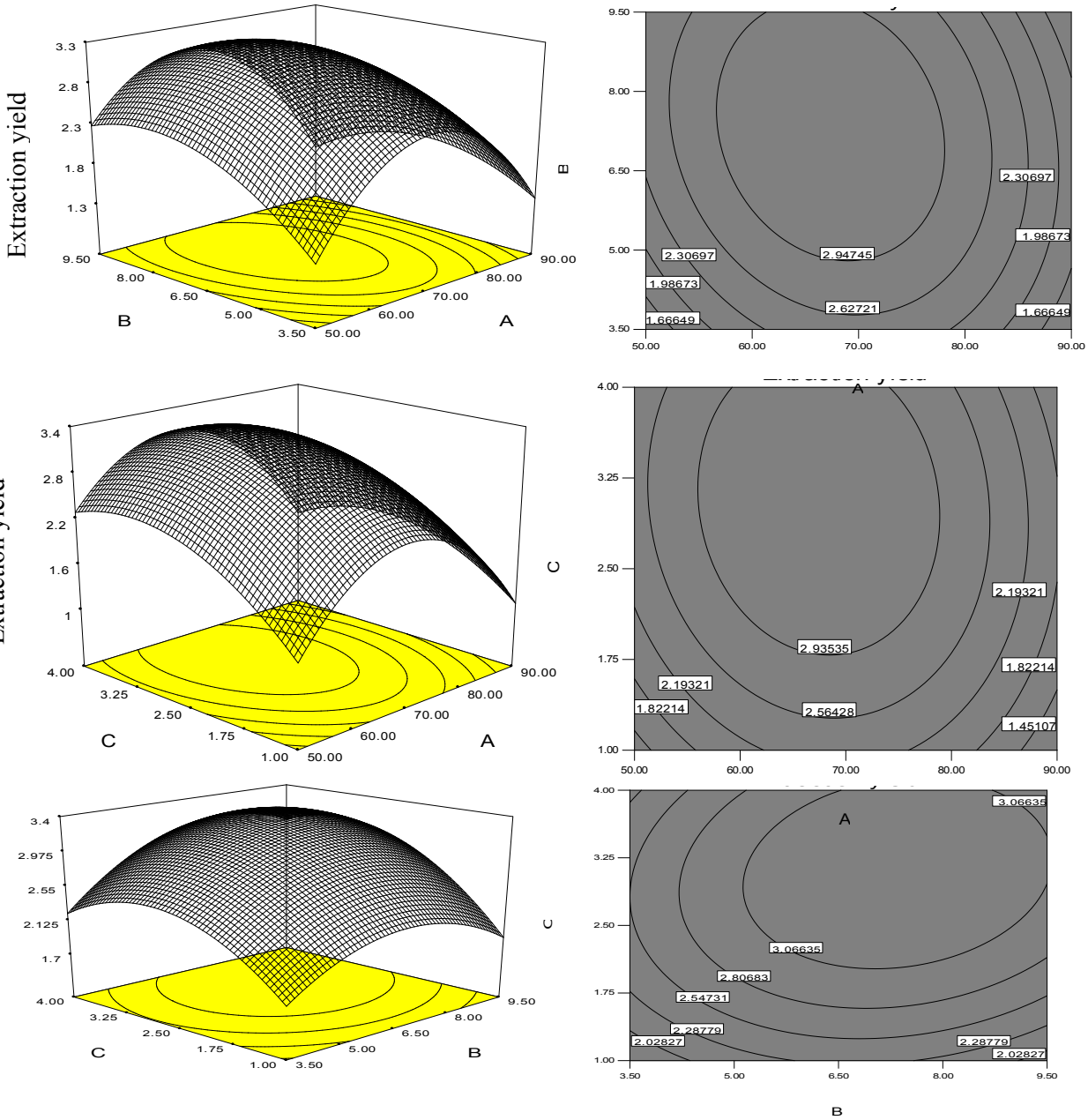


Fig 2 Perturbation plot of extraction yield against (A) Temperature (ºC), (B) pH and (C) Extraction time (h).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

وانگ و همکاران (۲۰۱۱) و وو و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که با افزایش pH حلال تا حدود ۷ راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها افزایش می‌یابد در حالی‌که با افزایش بیشتر pH تغییر چشمگیری در راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها مشاهده نمی‌شود [۲۹-۳۱]. به علاوه استفاده از pH پایین (۳/۵) نیز سبب آبکافت پلی‌ساکاریدها و در نتیجه کاهش راندمان استخراج می‌گردد [۳۱].

با افزایش مدت زمان استخراج تا حدود ۳ ساعت راندمان استخراج پلی‌ساکاریدها افزایش یافت اما با افزایش بیشتر مدت زمان راندمان استخراج تغییر محسوسی مشاهده نگردید. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت جداسازی بخش اعظم پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ طی ۳ ساعت اولیه فرایند رخ داده است و سپس از سرعت جداسازی پلی‌ساکاریدها کاسته شده است. نتایج به دست آمده با نتایج وانگ و همکاران (۲۰۱۶) و سان و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت [۱۱، ۳۲].



[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

Fig 3 Response surface plots and contour plots showing the effects of (A) Temperature (ºC), (B) pH and (C) Extraction time (h) on the extraction yield of water-soluble polysaccharides from Feijoa leaves.

۳-۲- بهینه سازی و اعتبار سنجی شرایط فرایند استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ

شرایط بهینه برای دستیابی به بالاترین راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ به صورت درجه حرارت ٦٧/٥٤ درجه سلسیوس، مدت زمان استخراج ١٧٧/٦٠ دقیقه و pH معادل ٦/٧٥ به دست آمد. تحت این شرایط، حداکثر راندمان استخراج پیش‌بینی شده توسط مدل ٣/٣٨ درصد بود. با این حال، با توجه به محدودیت‌های شرایط واقعی استخراج، شرایط بهینه بدین شرح اصلاح شد: درجه حرارت ٦٨ درجه سلسیوس، مدت زمان استخراج ١٧٨ دقیقه و pH معادل ٦/٧٥. استخراج پلی‌ساکاریدها در شرایط بهینه اصلاح شده در سه تکرار به منظور مقایسه نتیجه پیشبینی شده با مقدار تجربی انجام شد. تحت شرایط بهینه اصلاح شده، راندمان تجربی استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ نزدیک به مقدار پیش‌بینی شده بود (جدول ٣). در نتیجه، روش شناسی سطح پاسخ بر اساس طرح باکس- بنکن را می‌توان به‌عنوان یک ابزار دقیق و قاطع برای پیشبینی راندمان استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ نیز در نظر گرفت.

Table 4 Predicted and experimental values of the response at optimum conditions.

Extraction yield (%)		pH	Extraction time (h)	Temperature (ºC)
Experimental	Predicted			
3.35±0.02	3.38	6.75	2.96	68

۳-۳- بررسی خصوصیات اولیه شیمیایی

خصوصیات اولیه شیمیایی پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ تحت شرایط بهینه تعیین گردید. بر اساس نتایج به دست آمده میزان کربوهیدرات کل در پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ معادل ٠/٩٥± ٥٤/٣٧ درصد بود. وجود قندهای احیا کننده در پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ براساس نتیجه آزمون فهلینگ منفی است. میزان پلی فنول‌ها و پروتئین به ترتیب معادل ٠/٠١± ٠/١٤ میلی‌گرم معادل گالیک اسید به ازاء ١٠٠ میلی‌گرم نمونه و ٠/٠٤± ٠/١٨ درصد بود. مقادیر ناچیز پلی فنول‌ها و پروتئین‌ها حاکی از کفایت مراحل آماده سازی و پروتئین زدایی است.

۳-٤- شناسایی مونوساکاریدها

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل مونوساکاریدها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنجی جرمی نشان داد که مونوساکاریدهای تشکیل دهنده پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ عمدتا شامل ریبوز (٤١/٢١درصد)، آرابینوز (٤/٣٧درصد)، مانوز (٥/١٠ درصد)، گلوکز (٤٤/١٩ درصد) و گالاکتوز (٣/٢١ درصد) می‌باشد. در نتیجه پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ را می‌توان به عنوان یک هتروپلی‌ساکارید محسوب نمود.

۳-٥- تجزیه و تحلیل ساختار پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ

پویش طیف کامل فرابنفش پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ در شکل ٤ نشان داده شده است. با توجه به وجود پیک در طول موج ٢٠٠-٢١٥ نانومتر و عدم وجود پیک در دامنه ٢٨٠-٢٥٠ نانومتر ترکیب استخراج شده را می‌توان به عنوان پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ و عاری یا وجود مقدار ناچیزی از پروتئین‌ها یا نوکلئیک اسیدها معرفی نمود [٣٣]. نتیجه به دست آمده تایید کننده نتیجه مربوط به تجزیه و تحلیل اولیه شیمیایی پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ است (میزان پروتئین معادل ٠/٠٤±٠/١٨).

همان‌طور که در شکل ٥ ملاحظه می‌شود طیف مادون قرمز پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ شامل یک پیک در محدوده cm^{-1} ٣٦٠٠-٣٢٠٠ است که مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل است [٣٤]. باند مشاهده شده در محدوده cm^{-1} ٢٩٠٠ مربوط به ارتعاشات کششی و خمشی پیوند C–H می‌باشد که این باند به‌عنوان باند شاخص قندها محسوب می‌شود [٣٥]. وجود باند در محدوده cm^{-1} ١٦١٧- ١٤٣٧ مربوط به ارتعاشات کششی نامتقارن COO^-است که نشان می‌دهد پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ ماهیت اسیدی دارند [٣٦]. مشاهده باندر محدوده cm^{-1} ١٠٠٠-١٢٠٠ تایید کننده ارتعاشات کششی C– O–H در گروه‌های جانبی و باندهای گلیکوزیدی (C– O–C) است. مشاهده باند در محدوده cm^{-1} ١٠٣٥ تایید کننده فرم پیرانوزی قندها است [٣٧].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

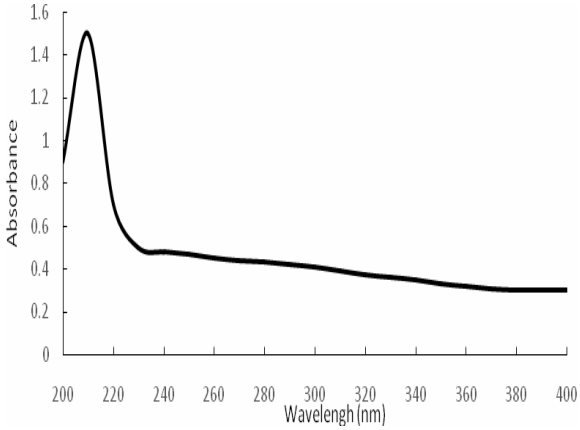


Fig 4 UV spectra of water-soluble polysaccharides from Feijoa leave.

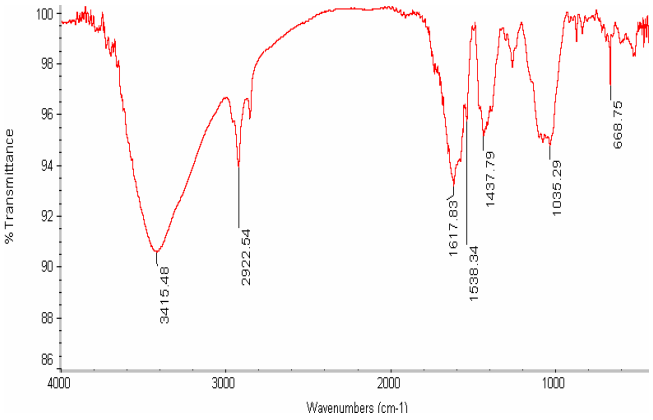


Fig 5 FT-IR spectra of water-soluble polysaccharides from Feijoa leave within the frequency range of 4000–400 cm^{-1}.

۳-۶- بررسی فعالیت ضد اکسایشی به روش DPPH

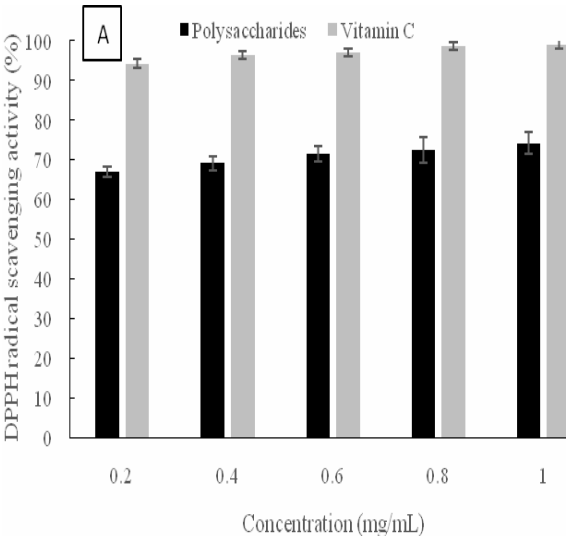
DPPH یک رادیکال آزاد ناپایدار با بیشترین مقدار جذب در ۵۱۷ نانومتر استکه با دریافت هیدروژن به فرم پایدار DPPH • Hتبدیل می‌شود که این مساله با تغییر رنگ محلول DPPH و تغییر میزان جذب محلول آن مشخص می‌شود[۳۸]. لذا این روش به طور گسترده برای ارزیابی فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در شکل ٦ (الف) توانایی پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ در مقایسه با ویتامین ث برای مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به غلظت پلی‌ساکاریدها وابسته است به طوری که با افزایش غلظت پلی‌ساکاریدها از ۰/۲ تا ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH از ٦٧ تا ٧٤/٢٥ درصد افزایش می‌یابد. علریغم اینکه فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ در سطح مطلوبی قرار دارد اما نتایج به دست آمده بیانگر آنست که فعالیت مهار کنندگی پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ در تمام غلظت‌های مورد مطالعه کم‌تر از توانایی ویتامین ث می‌باشد. افزایش فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش غلظت پلی‌ساکاریدها را می‌توان به افزایش شدت آزاد سازی الکترون‌ها یا اتم‌های هیدروژن و انتقال آنها به رادیکال‌های آزاد مرتبط دانست [۳۹]. ذکر این تکته ضروری است که نوع مونوساکاریدها، وزن مولکولی، نوع پیوندهای گلیکوزیدی، وجود ترکیباتی نظیر پلی فنول‌ها و گروه‌هایی مانند کربونیل و کربوکسیل در ساختار پلی‌ساکاریدها بر فعالیت ضد اکسایشی آنها تاثیر گذار است [٤٠]. بررسی منابع نشان می‌دهد که فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ بیشتر از پلی‌ساکاریدهای برگ جینسینگ پرویی [۷]، کلم راپا [۱۱]، قره قاط [۱۲] و پوست هندوانه [٤١] و اندکی کمتر از پلی‌ساکاریدهای پوست انار [٤٢] در غلظت برابر می‌باشد.

۳-۷- بررسی فعالیت ضد اکسایشی به روش FRAP

جایگزینی انتقالی یون‌های فلزی نظیر Fe^{2+} یا Cu^{2+} می‌تواند سبب آغاز فرایندهای تولید رادیکال‌های آزاد گردد که در نهایت منجر به اکسایش چربی‌ها و وارد شدن آسیب به دئوکسی‌ریبونوکلئیک‌اسید می‌گردد. احیاء شدن یون‌های فلزی می‌تواند اثر حفاظتی بر آسیب‌های اکسایشی داشته باشد [٤٣]. فعالیت احیا کنندگی برخی از گروه‌های عاملی نظیر OH ، SH ، COOH ، C=O، S و O گزارش شده است [٣٦]. از طرفی ارتباط بین قدرت احیاء کنندگی پلی‌ساکاریدهای گیاهی با ظرفیت تعامل آنها با پیش سازهای پراکسید نیز گزارش شده است [٤٤]. همان‌طور که در شکل ٦ (ب) ملاحظه می‌شود با افزایش غلظت پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ قدرت احیا کنندگی آنها نیز افزایش می‌یابد. به‌طوری که با افزایش غلظت پلی‌ساکاریدها در دامنه ۰/۲ – ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قدرت احیا کنندگی آهن از ۱/۱۲ تا ۱/۹۸ میلی مول بر لیتر افزایش یافت. قدرت احیا کنندگی آهن پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

بیش از مقدار گزارش شده برای پلی‌ساکاریدهای میوه *Zizyphus lotus*[٤٥] بود.



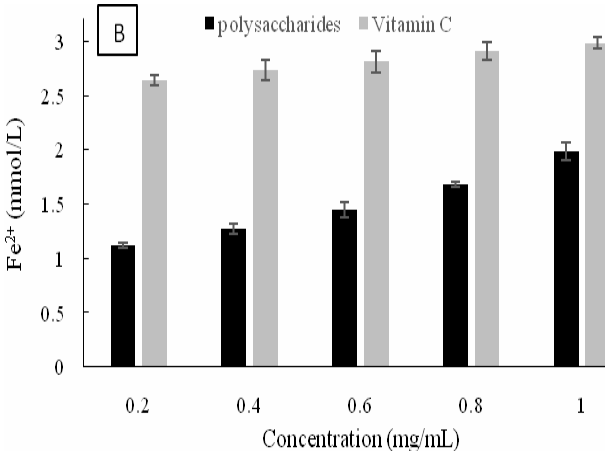


Fig 6 The effect of increasing concentration of water-soluble polysaccharides from Feijoa leave on DPPH radical scavenging activity (A) and FRAP (B). All the data were expressed as mean ± SD of three replicates.

٤- نتیجه گیری

در این پژوهش فرایند استخراج پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ با در نظر گرفتن درجه حرارت، مدت زمان استخراج و pH حلال به عنوان فراسنجه‌های مستقل بهینه سازی گردید. شرایط بهینه به صورت ٦٧/٥٤ درجه سلسیوس درجه حرارت ، ١٧٧/٦٠ دقیقه مدت زمان استخراج و pH معادل ٦/٧٥ به دست آمد. با بررسی خصوصیات شیمیایی و ساختاری وجود پلی‌ساکاریدها به عنوان ترکیب غالب تایید گردید. پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ عمدتا از مونوساکاریدهای گلوکز، ریبوز، مانوز، آرابینوز و گالاکتوز تشکیل شده است. با بررسی فعالیت ضد اکسایشی به روش مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت احیاء کنندگی آهن مشخص گردید پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ از فعالیت ضد اکسایشی مطلوبی برخوردار هستند. بر اساس نتایج پژوهش حاضر برگ‌های فیجوآ را می‌توان به عنوان یک منبع طبیعی، جدید و ارزان قیمت حاوی پلی‌ساکاریدهایی با فعالیت ضد اکسایشی مطلوب معرفی نمود. در نهایت انجام مطالعات تکمیلی در راستای بررسی ویژگی‌های عملکردی پلی‌ساکاریدهای برگ فیجوآ و امکان سنجی استفاده از آنها به عنوان یک عامل ضد اکسایش در جهت تولید مواد غذایی فراسودمند ضروری به نظر می‌رسد.

٥- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه زنجان جهت حمایت‌های مالی این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

٦- منابع

[1] Afshari, K., Samavati, V., Shahidi, S.A. 2015, Ultrasonic-assisted extraction and *in-vitro* antioxidant activity of polysaccharide from *Hibiscus* leaf.International Journal of Biological Macromolecules, 74, 558-567.

[2] Wang, J., Bao, A., Meng, X., Guo, H., Zhang, Y., Zhao, Y., Kong, W., Liang, J., Yao, J.,Zhang, J. 2018, An efficient approach to prepare sulfated polysaccharide and evaluation of anti-tumor activities *in vitro*.Carbohydrate Polymers, 184, 366-375.

[3] Li, S., Liu, M., Zhang, C., Tian, C., Wang, X., Song, X., Jing, H., Gao, Z., Ren, Z., Liu, W., Zhang, J.,Jia, L. 2018, Purification, *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-aging activities of soluble polysaccharides by enzyme-assisted extraction from *Agaricus bisporus*.International Journal of Biological Macromolecules, 109, 457-466.

[4] Mzoughi, Z., Abdelhamid, A., Rihouey, C., Le Cerf, D., Bouraoui, A., Majdoub, H. 2018, Optimized extraction of pectin-like polysaccharide from *Suaeda fruticosa* leaves: Characterization, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

activities.Carbohydrate Polymers, 185, 127-137.

[5] Jalili Safaryan, M., Ganjloo, A., Bimakr, M.,Zarringhalami, S. 2016, Optimization of Ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and *in vitro*antioxidant activity of polysaccharides from green pea pods.Foods, 5, doi:10.3390/foods5040078.

[6] Ma, Y.-L., Zhu, D.-Y., Thakur, K., Wang, C.-H., Wang, H., Ren, Y.-F., Zhang, J.-G.,Wei, Z.-J. 2018, Antioxidant and antibacterial evaluation of polysaccharides sequentially extracted from onion (*Allium cepa* L.).International Journal of Biological Macromolecules, 111, 92-101.

[7] Caicai, K., Limin, H., Liming, Z., Zhiqiang, Z.,Yongwu, Y. 2018, Isolation, purification and antioxidant activity of polysaccharidesfrom the leaves of maca (*Lepidium Meyenii*).International Journal of Biological Macromolecules, 107, 2611-2619.

[8] Yin, C., Fan, X., Fan, Z., Shi, D.,Gao, H. 2018, Optimization of enzymes-microwave-ultrasound assisted extraction of *Lentinus edodes* polysaccharides and determination of its antioxidant activity.International Journal of Biological Macromolecules, In press. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.007.

[9] Khemakhem, I., Abdelhedi, O., Trigui, I., Ayadi, M.A.,Bouaziz, M. 2018, Structural, antioxidant and antibacterial activities of polysaccharides extracted from olive leaves.International Journal of Biological Macromolecules, 106, 425-432.

[10] Fakhfakh, N., Abdelhedi, O., Jdir, H., Nasri, M.,Zouari, N. 2017, Isolation of polysaccharides from *Malva aegyptiaca* and evaluation of their antioxidant and antibacterial properties.International Journal of Biological Macromolecules, 105, 1519-1525.

[11] Wang, W., Wang, X., Ye, H., Hu, B., Zhou, L., Jabbar, S., Zeng, X.,Shen, W. 2016, Optimization of extraction, characterization and antioxidant activityof polysaccharides from *Brassica rapa* L.International Journal of Biological Macromolecules, 82, 979-988.

[12] Jooyandeh, H., Noshad, M.,Khamirian, R.A. 2018, Modeling of ultrasound-assisted extraction, characterization and*in vitro* pharmacological potential of polysaccharides from *Vaccinium arctostaphylos* L.International Journal of Biological Macromolecules, 107, 938-948.

[13] Shang, H., Zhou, H., Duan, M., Li, R., Wu, H.,Lou, Y. 2018, Extraction condition optimization and effects of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from comfrey (*Symphytum officinale* L.) root.International Journal of Biological Macromolecules, In Press. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.198.

[14] Liu, Y., Zhou, Y., Liu, M., Wang, Q.,Li, Y. 2018, Extraction optimization, characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of a novel polysaccharide from the wild mushroom *Paxillus involutus*.International Journal of Biological Macromolecules, 112, 326-332.

[15] Schotsmans, W.C., East, A., Thorp, G.,Woolf, A.B. Feijoa (*Acca sellowiana* [Berg]Burret). In: Yahia, E.M. (Ed.), Postharvest biology and technology of tropicaland subtropical fruits: cocona to mango, 3. Woodhead Publishing Ltd., UK, pp.115-135. 2011.

[16] Morton, J.F., Fruit of Warm Climates. 1987: Florida Flair Books, Miami, FL.

[17] Vuotto, M.L., Basile, A., Moscatiello, V., Desole, P., Cobianchi, R.C., Laghi, E.,Ielpo, M.T.L. 2000, Antimicrobial and antioxidant activities of *Feijoa sellowiana* fruit.International Journal of Antimicrobial Agents, 13, 197-201.

[18] Weston, R.J. 2010, Bioactive products from fruit of the feijoa (*Feijoa sellowiana,* Myrtaceae): a review.Food Chemistry, 121 923-926.

[19] Wen, L., Lin, L., You, L., Yang, B., Jiang, G.,Zhao, M. 2011, Ultrasound-assited extraction and structural identification of polysaccharides from I*sodon lophanthoides var. gerardianus* (Bentham) *H. Hara*.Carbohydrate Polymers, 85, 541-547.

[20] Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A.,Smith, F. 1956, Colorimetric Method for determination of sugars and related substances.Analytical Chemistry, 28, 350-356.

[21] Li, J.E., Nie, S.P., Xie, M.Y.,Li, C. 2014, Isolation and partial characterization of a neutral polysaccharide from *mosla chinensis maxim*. Cv. *Jiangxiangru* and its antioxidant and immunomodulatory activities. Journal of Functional Foods, 6, 410-418.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

activity of intracellular selenium polysaccharide by *Cordyceps sinensis* SU-02.Carbohydrate Polymers, 86, 1745- 1750.

[31] Wu, Y., Cui, S.W., Tang, J.,Gu, X. 2007, Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited *sterculia* seeds by response surface methodology.Food Chemistry, 105, 1599-1605.

[32] Sun, Y., Liu, J.,Kennedy, J.F. 2010, Application of response surface methodology for optimization of polysaccharides production parameters from the roots of *Codonopsis pilosula* by a central composite design.Carbohydrate Research, 80, 949-953.

[33] He, R., Zhao, Y., Zhao, R.,Sun, P. 2015, Antioxidant and antitumor activities *in vitro* of polysaccharides from *E. sipunculoides*.International Journal of Biological Macromolecules, 78, 56-61.

[34] Al-Sheraji, S.H., Ismail, A., Manap, M.Y., Mustafa, S., Yusof, R.M.,Hassan, F.A. 2012, Purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from the fibrous pulp of *Mangifera pajang* fruits.LWT - Food Science and Technology, 48, 291-296.

[35] Luo, A., He, X., Zhou, S., Fan, Y., Luo, A.,Chun, Z. 2010, Purification, composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl.Carbohydrate Polymers, 79, 1014-1019.

[36] Jiang, C., Li, X., Jiao, Y., Jiang, D., Zhang, L., Fan, B.,Zhang, Q. 2014, Optimization for ultrasound-assisted extraction of polysaccharides with antioxidant activity *in vitro* from the aerial root of *Ficus microcarpa*.Carbohydrate Polymers, 110, 10-17.

[37] Figueiro, S.D., Goes, J.C., Moreira, R.A.,Sombra, A.S.B. 2004, On the physic-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan-collagen films.Carbohydrate Research, 56, 313-320.

[38] Li, S. Q., Shah, N.P. 2014, Antioxidant and antibacterial activities of sulphatedpolysaccharides from *Pleurotus eryngii* and S*treptococcus thermophilus* ASCC1275.Food Chemistry, 165, 262-270.

[39] Lai, F., Wen, Q., Li, L., Wu, H.,Li, X. 2010, Antioxidant activities of water-soluble polysaccharide extracted from mung bean (*Vigna radiata* L.) hull with ultrasonic

[22] Chen, Y., Luo, H., Gao, A.,Zhu, M. 2011, Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from litchi (*Litchi chinensis Sonn.*) seed by response surface methodology and their structural characteristics, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12, 305-309.

[23] Olatunji, O.J., Feng, Y., Olatunji, O.O., Tang, J., Wei, Y., Zhen, O.Y.,Su, Z.L. 2016, Polysaccharides purified from *Cordyceps cicadae* protects PC12 cells against glutamate-induced oxidative damage.Carbohydrate Polymers, 153, 187-195.

[24] Xie, J.-H., Shen, M.-Y., Xie, M.-Y., Nie, S.-P., Chen, Y., Li, C., Huang, D.-F.,Wang, Y.-X. 2012, Ultrasonic-assisted extraction, antimicrobial and antioxidant activities of *cyclocarya paliurus* (batal.) iljinskaja polysaccharides.Carbohydrate Polymers, 89, 177-184.

[25] You, Q., Yin, X., Zhang, S.,Jiang, Z. 2014, Extraction, purification, and antioxidant activities of polysaccharides from *Tricholoma mongolicum Imai*.Carbohydrate Polymers, 99, 1-10.

[26] Bimakr, M., Rahman, R.A., Salina Taip, F., Adzahan, N.M., Sarker, M.Z.I.,Ganjloo, A. 2013, Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from winter melon (*Benincasa hispida*) and its antioxidant activity and fatty acid composition.Molecules, 18, 997-1014.

[27] Muralidhar, R.V., Chirumamila, R.R., Marchant, R.,Nigam, P. 2001, A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindra* ceausing two different carbon sources.Biochemical Engineering Journal, 9, 17-23.

[28] Zhang, T.T., Lu, C.L., Jiang, J.G., Wang, M., Wang, D.M.,Zhu, W. 2015, Bioactivities and extraction optimization of crude polysaccharides from the fruits and leaves of *Rubus chingii* Hu.Carbohydrate Polymers, 130, 307-315.

[29] Zhang, J., Meng, G., Zhai, G., Yang, Y., Zhao, H.,Jia, L. 2016, Extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides of spent mushroom compost of *Ganoderma lucidum*.International Journal of Biological Macromolecules, 82, 432-439.

[30] Wang, L., Wang, G., Zhang, J., Zhang, G., Jia, L., Liu, X., Deng, P.,Fan, K. 2011, Extraction optimization and antioxidant

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

assisted treatment.Carbohydrate Polymers, 81, 323-329.

[40] Jahanbin, K., Gohari, A.R., Moini, S., Emam Djomeh, Z.,Masi, P. 2011, Isolation, structural characterization and antioxidant activity of a new water-solublepolysaccharide from *Acanthophyllum bracteatum* roots.International Journal of Biological Macromolecules, 49, 567-572.

[41] Romdhane, M.B., Haddar, A., Ghazala, I., Jeddou, K.B., Helbert, C.B.,Ellouz-Chaabouni, S. 2017, Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities, Food Chemistry, 216, 355-364.

[42] Zhai, X., Zhu, C., Li, Y., Zhang, Y., Duan, Z.,Yang, X. 2018, Optimization for pectinase-assisted extraction of polysaccharides from pomegranate peel with chemical composition and antioxidant activity.International Journal of Biological Macromolecules, 109, 244-253.

[43] Shia, J.-J., Zhang, J.-G., Sun, Y.-H., Qu, J., Li, L., Prasad, C.,Wei, Z.-J. 2016, Physicochemical properties and antioxidant activities ofpolysaccharides sequentially extracted from peony seed dreg, International Journal of Biological Macromolecules, 91, 23-30.

[44] Cheng, Z., Zhang, Y., Song, H., Zhou, H., Zhong, F., Hu, H.,Feng, Y. 2016, Extraction optimization, characterization and antioxidant activity ofpolysaccharide from *Gentiana scabra* bge.International Journal of Biological Macromolecules, 93, 369-380.

[45] Mkadmini Hammi, K., Hammami, M., Rihouey, C., Le Cerf, D., Ksouri, R., Majdoub, H. 2016, Optimization extraction of polysaccharide from Tunisian *Zizyphus lotus* fruit by response surface methodology: Composition and antioxidant activity, Food Chemistry, 212, 476-484.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]

Extraction optimization, chemical, structural characterization and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from Feijoa leave

Moradian, M.[1], Ganjloo, A.[2*], Bimakr, M.[2]

1. MSc in Food Technology, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan,Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 2018/02/20 Accepted:2018/10/21)

Finding natural, inexpensive and new polysaccharides resources is essential due to the high potential for utilization in the food and medicinal industries. Therefore, the current study was aimed to extraction optimization of polysaccharides from Feijoa leaves in order to maximize extraction yield and, evaluate chemical, structural characteristicsand antioxidant activity. In this regard, the effects of three independent parameters including extraction temperature (50-90°C), pH of water (3.5-5.5) and extraction time (1-4 h) on the extraction yield were studied. Optimum conditions were obtained at extraction temperature of 68°C, pH of 6.75 and extraction time of 2.96 h. Under optimum conditions, the predicted yield (3.38%) was consistent with the experimental yield (3.35±0.02%). The preliminary chemical characteristics of the polysaccharides extracted from the Feijoa leaves were determined under optimum conditions. Based on the results obtained, total carbohydrate contentwas 54.77%, polyphenols and protein were 0.14 mg GAE/g and 0.18%, respectively. TheFT-IR spectrum demonstrated obvious characteristic peaks of polysaccharides. Feijoa leave polysaccharides mainly consisted of glucose, ribose, mannose, arabinose and galactose. The results of antioxidant activity revealed the good ability of Feijoa leave polysaccharides to scavenge DPPH free radicals and to reducing iron ions. Finally, the Feijoa leave can be introduced as a natural, inexpensive and new resource for the extraction of polysaccharides with good biological activity for the production of functional foods or medicines.

Keywords: Extraction, Polysaccharides, Feijoa leave, Optimization, Antioxidant activity.

* Corresponding Author E-Mail Address: aganjloo@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-03-28]