



## بهینه‌سازی استخراج ترکیبات زیست فعال از میوه زرشک بی‌دانه با پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی

فاطمه طیبی راد<sup>۱</sup>، حمید بخش آبادی<sup>۱\*</sup>، شیلان رشیدزاده<sup>۱</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه غیرانتفاعی ساعی، گرگان، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

در این تحقیق به منظور بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره اتانولی میوه زرشک، افزایش و بهینه‌سازی شرایط استخراج آنتوسیانین‌ها و ترکیبات زیست فعال به کمک پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی از ۳ سطح شدت میدان الکتریکی (۰/۵، ۱/۷۵ و ۳ کیلوولت بر سانتی‌متر) و ۳ سطح تعداد پالس (۱۵، ۳۰ و ۴۵) استفاده شد و سپس برای استخراج عصاره آنها، حلال اتانول مورد استفاده قرار گرفت. میزان فلاونوئیدها، آنتوسیانین کل، فعالیت رادیکال گیرندگی به روش DPPH، میزان ترکیبات فنلی کل، قدرت احیاکنندگی آهن، میزان ویتامین C و اسیدیته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که محتوای فنل کل عصاره با افزایش تعداد پالس و کاهش شدت میدان الکتریکی پالسی اعمال شده به نمونه کاهش یافت. افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس‌ها در ابتدا منجر به افزایش میزان فلاونوئید، DPPH و قدرت احیاکنندگی یون آهن گردید ولی با افزایش بیشتر این متغیرها، این سه پارامتر کاهش یافتند. همچنین با افزایش این پارامترها میزان آنتوسیانین و محتوای ویتامین C افزایش یافت. میزان اسیدیته نمونه با افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس اعمال شده ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت. با توجه به نتایج بهینه‌سازی فرایند می‌توان بیان نمود که شدت میدان الکتریکی ۲/۰۰۳ کیلوولت بر سانتی‌متر و اعمال ۲۹ پالس، موجب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی در محصول فراوری شده نسبت به نمونه شاهد شد.

### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۱۷

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱۷

### کلمات کلیدی:

آنتوسیانین،

زرشک،

میدان الکتریکی پالسی،

پیش تیمار.

DOI: 10.52547/fsct.18.05.25

\* مسئول مکاتبات:

h.bakhshabadi@yahoo.com

## ۱- مقدمه

زرشک‌ها، گروه بزرگی از درختچه‌های خاردار همیشه سبز هستند که به دلیل مصارف و کاربردهای متعدد از قبیل مصارف خوراکی میوه، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. حصول دانش فنی فراوری میوه زرشک می‌تواند به صورت یک فراوری منحصربه‌فرد و بومی و اجرای آن در منطقه، ضمن ارتقای علمی، سبب گسترش و توسعه اقتصادی و صنعتی در منطقه گردد. میوه زرشک دارای ترکیبات با ارزشی از جمله فنل‌های کل، آنتوسیانین‌ها، اسیدسیتریک، ویتامین ث و ترکیبات دیگر می‌باشد که روش‌های استخراج، فرمولاسیون و تهیه اشکال مختلف خوراکی و دارویی آن‌ها بایستی مورد پژوهش قرار گیرد. کاربرد روش‌هایی برای استخراج این ترکیبات با ارزش که بتوان بیشترین ماده عملگر را با کمترین ناخالصی و حداقل تخریب به دست آورد از اهمیت بسزایی برخوردار است [۱]. استخراج ترکیبات گیاهی با حلال به‌عنوان یکی از قدیمی‌ترین روش‌های جداسازی شناخته‌شده است، به طوری که عمدتاً، استخراج ترکیب‌های زیست فعال<sup>۱</sup> از گیاهان توسط تقطیر با بخار و استخراج با حلال آلی و با استفاده از روش‌های تراوش<sup>۲</sup>، خیساندن<sup>۳</sup> و سوکسله<sup>۴</sup> انجام می‌گرفته است [۲]. زمان طولانی استخراج، بازدهی کم، مسمومیت فاز استخراج‌شده با حلال و شرایط عملیاتی سخت، استفاده از چنین روش‌هایی را با چالش روبرو کرده است. روش‌های دیگری نیز برای استخراج یا کمک به استخراج ترکیبات زیست فعال نظیر ماکروویو<sup>۵</sup>، استخراج با سیال فوق بحرانی<sup>۶</sup> و یا امواج فراصوت<sup>۷</sup> وجود دارد که در نتیجه کاربرد این روش‌ها، استخراج سریع‌تر و مؤثرتر و در نتیجه مقدار نمونه خروجی نیز بیشتر است. به دلیل مصرف کمتر حلال آلی، این روش‌ها به‌عنوان روش‌های دوستدار محیط‌زیست معرفی می‌شوند [۳]. استخراج با پرس سرد نیز فرایندی است با توانایی تولید محصولات طبیعی، بدون هیچ‌گونه اثری از وجود حلال و مواد آلوده یا مصنوعی. این روش امکان استخراج مواد حساس به حرارت و ترکیباتی که به راحتی اکسید می‌شوند را فراهم می‌کند [۴]. معمولاً عصاره گیری از زرشک با روش‌های معمول به زمان

زیاد، درجه حرارت بالا و حجم زیادی از حلال نیاز دارد. عصاره گیری حرارتی باعث افت آنتوسیانین‌ها شده و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک را کاهش می‌دهد [۱،۵].

عدم پذیرش افزودنی‌ها و نگه‌دارنده‌های شیمیایی از سوی مصرف‌کنندگان به دلیل سرطان‌زایی و سمیت احتمالی، منجر به پژوهش‌های گسترده در زمینه کشف ترکیبات فعال طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی شده است. ترکیبات طبیعی قادر به افزایش عمر نگهداری مواد غذایی از طریق بازدارندگی رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن و فاسد کننده مواد غذایی و نیز حفاظت مواد غذایی از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو می‌باشند. ترکیبات فنلی دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌باشند که توانایی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ناشی از حضور گروه‌های هیدروکسیل در ساختارشان است. توجه و کاربرد فنل‌های طبیعی در صنعت غذا رو به افزایش است؛ زیرا این ترکیبات تجزیه اکسیداتیو لیپیدها را به تأخیر انداخته و از این رو کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را بهبود می‌بخشند. با افزایش شدت میدان‌های الکتریکی می‌توان به افزایش این ترکیبات کمک کرد. علت این افزایش را می‌توان آزداسازی بیشتر این ترکیبات بر اثر میدان الکتریکی نسبت داد [۶].

در سال‌های گذشته مطالعات متعددی بر روی توانایی تیمار با میدان‌های پالسی قوی انجام گرفته است و اثرات این روش بر میزان امن بودن و ماندگاری محصولات تیمار شده بررسی شده است. در دهه‌های اخیر پیشرفت تکنولوژی میدان الکتریکی پالسی با کاربرد در فراوری مواد غذایی به صورت غیرحرارتی، یکی از زمینه‌های مهم تحقیقاتی و جایگزین مطالعه در مورد کاربردهای کارآمد انرژی گردیده است [۷]. میدان الکتریکی پالسی یک روش فیزیکی جدید است که به‌عنوان جایگزینی با ارزش برای تکنیک‌های تجزیه سلولی سنتی (آسیاب کردن، حرارت دهی، یا کشش آنزیمی) به‌منظور بهبود میزان انتقال جرمی آب و ترکیبات داخل سلولی در طی عملیات استخراج است. در طی PEF<sup>۸</sup>، بافت‌های گیاهی در مدت کوتاهی در معرض پالس‌های الکتریکی با شدت متوسط (۱ تا ۱۰ کیلوولت / سانتی‌متر) و نسبتاً کم انرژی (۱-۱۰ کیلوژول بر کیلوگرم) است که ایجاد منافذ در غشای سلولی (الکتروپوراسیون)

1. Bioactive
2. Percolation
3. Maceration
4. Soxhlet
5. Microwave assisted Extraction
6. Supercritical Fluid Extraction
7. Ultrasound assisted Extraction

8. Pulsed electric field

برداشت و به منظور انجام آزمون‌های حاضر، مورد استفاده قرار گرفت.

## ۲-۱- آماده‌سازی و تهیه نمونه‌ها

برای این تحقیق میوه زرشک، در محیط تاریک در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و تحت تأثیر پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی با سه سطح شدت میدان الکتریکی (۰/۵، ۱/۷۵ و ۳ کیلوولت بر سانتی‌متر) و سه سطح تعداد پالس (۱۵، ۳۰ و ۴۵) قرار گرفتند و یک نمونه نیز فاقد پیش تیمار که فقط از حلال اتانول استفاده شده بود به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد.

## ۲-۲- عصاره‌گیری نمونه‌ها

در این پژوهش پودر دانه‌های زرشک بعد از اعمال پیش تیمارهای مختلف میدان الکتریکی پالسی با نسبت ۵:۱ با حلال اتانول ۷۰ درصد در دمای محیط توسط شیکر ارلن و بالن به مدت ۲۴ ساعت مخلوط و بعد از طی این مدت در دمای اتاق، مخلوط پودر زرشک و حلال با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ فیلتر شدند. حلال اتانولی به وسیله تبخیرکننده تحت خلأ در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و نهایتاً در آون ۵۵ درجه در یک ارلن با دهانه‌گشاد تا خشک شدن کامل در مدت زمان حدود ۴ ساعت خشک شدند. همچنین یک نمونه عصاره اتانولی زرشک به عنوان نمونه شاهد (فاقد پیش تیمار که سایر شرایط استخراج مانند نمونه‌های دیگر بود) در نظر گرفته شد.

## ۲-۳- آزمون‌ها

### ۲-۳-۱- اندازه‌گیری فنل کل

میزان کل ترکیبات فنلی به روش رنگ سنجی فولین سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت [۱۶]. اسیدگالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون بکار رفت. میزان فنل کل بر اساس معادل گالیک اسید در گرم وزن خشک بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد.

### ۲-۲-۲- اندازه‌گیری فلاونوئید کل

جهت اندازه‌گیری این ترکیبات از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد [۱۷].

### ۲-۲-۳- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره‌های مختلف در این آزمایش با میزان بی‌رنگ شدن محلول بنفش

در نتیجه افزایش نفوذپذیری غشاء و کاهش میزان محتوای سلول را تسهیل می‌کند [۸]. این فرآیند یک فرآیند غیرحرارتی است که قادر به کاهش میکروارگانیسم‌ها است اما حداقل تغییرات را در ویژگی‌های حسی و ارزش غذایی ماده غذایی ایجاد می‌کند. همچنین این فرآیند مانند سایر فرآیندهای غیرحرارتی سبب حفظ ویژگی‌های کیفی، تغذیه‌ای و افزایش بهره‌وری در فرآیندهای تولید مواد غذایی می‌گردد [۹]. مطالعات گرمی و همکاران (۲۰۱۱)، جایگر و همکاران (۲۰۱۲) و بوبینات (۲۰۱۴) نشان داده‌اند که استفاده از پیش تیمار PEF بر عملکرد و خواص آنتی‌اکسیدانی آب‌میوه‌های سبب، هویج و زغال‌اخته توسط فشار مکانیکی، منجر به بهبود عملکرد و خواص آنتی‌اکسیدانی شده است [۱۰، ۱۱ و ۱۲].

محققان نشان دادند که شدت‌های مختلف میدان برای تخریب غشای سلولی باید به یک حد بحرانی در کمتر از  $1 \mu\text{s}$  برسد تا تخریب برگشت‌ناپذیر صورت گیرد [۱۳]. با استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی به علت افزایش در نفوذپذیری سلول‌ها، میزان راندمان استخراج افزایش می‌یابد. قابل‌قبول‌ترین نظریه پذیرفته شده درباره نحوه عملکرد روش PEF با مدل الکترومکانیکی معرفی شده توسط زیمرمن و همکاران (۱۹۷۶) تطابق دارد [۱۴]. پارانیکو و همکاران (۲۰۱۵) تأثیر میدان الکتریکی پالسی را روی استخراج پروتئین، ترکیبات فنلی، کربوهیدرات‌ها و ایزوتیوسیانات‌های دانه پاپایا مطالعه نمودند. نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که راندمان استخراج پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات فنلی، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و اندیس معادل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترولوکس (TEAC) در مورد تیمارهای فراوری شده به وسیله PEF، بالاتر از روش استخراج آبی بود [۱۵].

هدف از این تحقیق به‌طور کلی افزایش و بهینه‌سازی شرایط استخراج آنتوسیانین‌ها و ترکیبات زیست فعال دیگر از میوه زرشک بی‌دانه با استفاده از پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

نمونه‌های زرشک مورد استفاده در این پژوهش از مزرعه‌ای در شهر قائنات در استان خراسان جنوبی جمع‌آوری شد. میوه‌های رسیده زرشک در آبان ماه سال ۱۳۹۶ به روش خوشه‌چین

9. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

مخلوط شد و هر یک در دو طول موج ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. غلظت آنتوسیانین برحسب میلی‌گرم در لیتر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزید در عصاره بر اساس فرمول زیر بیان گردید [۲۰].

$$C(\text{mg/l}) = (\text{abs pH1} - \text{Abs pH} \\ 4.5) \times 484.82 \times 1000 / 24825 \times \text{DF}$$

اعداد ۴۸۴/۲ و ۲۴۸۲۵ به ترتیب وزن مولکولی و ضریب مولی سیانیدین-۳-گلیکوزید در طول موج ۵۱۰ نانومتر در محلول بافری می‌باشد. DF نیز عامل رقت محسوب می‌شود.

#### ۲-۲-۶- اندازه‌گیری ویتامین C

جهت اندازه‌گیری ویتامین C از روش طیف‌سنجی استفاده شد. به این صورت که استخراج اسید اسکوربیک آزمونه، در حضور محلول اسید اگزالیک و یا محلول اسید متافسفوریک به همراه اسید استیک می‌باشد. محلول رنگی ۲ و ۶ - دی کلروفل اندوفنل که توسط اسید اسکوربیک احیا می‌شود. استخراج اضافی محلول رنگی توسط گزین صورت گرفته و تعیین این مقدار اضافی محلول رنگی توسط دستگاه طیف‌سنج در طول موج ۵۰۰ نانومتر انجام می‌گیرد [۲۱].

#### ۲-۲-۷- اندازه‌گیری اسیدیت

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 فتالین اضافه و با محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیتیر شد. نقطه پایان تیتراسیون هنگامی است که رنگ صورتی ظاهر شده در محیط برای مدت ۳۰ ثانیه پایدار بماند. میزان اسیدیت طبق فرمول زیر به دست آمد [۲۲].

$$\text{درصد اسیدیت} = 0.64 \times V \times N \times 100 / W$$

#### ۲-۳- آنالیز آماری

در قسمت اول این مطالعه برای بهینه‌سازی فرایند و ارزیابی پارامترهای مورد مطالعه از روش سطح پاسخ با یک طرح مرکب مرکزی، استفاده شد. در نهایت برای مقایسه بین بهترین نمونه‌هایی که تحت شرایط بهینه به دست می‌آید، با نمونه کنترل (با حلال) از آزمون t و نرم‌افزار SAS استفاده شد.

۲۰۲ دی فنیل ۱-پیکروهیدروزیل در متانول مورد سنجش قرار گرفت [۱۸]. برای این منظور یک میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با غلظت یک میلی‌مولار) به ۳ میلی‌لیتر از عصاره خشک افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی‌لیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

که در این رابطه  $A_s$  و  $A_c$  به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند.

#### ۲-۲-۴- ارزیابی قدرت احیاکنندگی آهن

توانایی عصاره‌ها برای احیای آهن سه‌ظرفیتی توسط روش یلدیریم و همکاران (۲۰۰۱)، تعیین شد. یک میلی‌لیتر از محلول عصاره یا آنتی‌اکسیدان سنتزی با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH= ۶/۶ و  $M= 0/۲$ ) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شد و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزنی: حجمی) به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۶۵۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ شدند. از محلول بالای ۲/۵ میلی‌لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن (III) (۱ گرم در لیتر)، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. میزان جذب بالا نشان‌دهنده قدرت احیاکنندگی بالای عصاره‌ها می‌باشد [۱۹].

#### ۲-۲-۵- اندازه‌گیری آنتوسیانین

میزان ترکیبات آنتوسیانینی با روش اختلاف pH اندازه‌گیری شد. دو سیستم بافر، بافر پتاسیم کلرید (۰/۰۲۵ مولار) با pH= ۱ و بافر سدیم استات (۰/۴ مولار) با pH= ۴/۵، استفاده شد. به‌طور خلاصه در این روش، ۴۰۰ میکرو لیتر از محلول عصاره با ۳/۶ میلی‌لیتر از هریک از بافرها به‌طور جداگانه

### ۳- بحث و نتایج

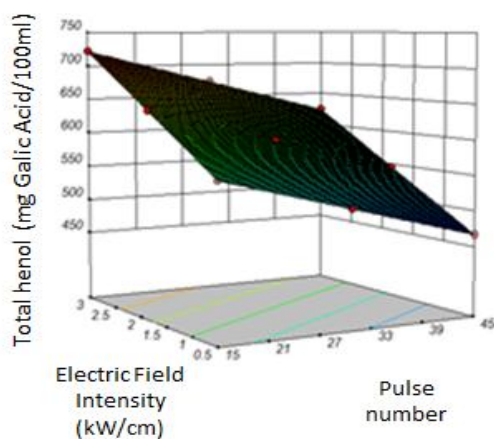
#### ۳-۱- بررسی روند تغییرات محتوای ترکیبات

##### فنلی کل

ترکیبات پلی فنول در گیاهان به طور گسترده‌ای در دسترس هستند و گزارش‌ها نشان می‌دهد که بین محتوای کل فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گونه‌های گیاهی رابطه مثبت وجود دارد. ترکیبات فنلی در گیاهان به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی درونی به علت توانایی آنها برای اهدای هیدروژن یا الکترون و تبدیل شدن به فرم پایدار رادیکال واسطه شناخته شده‌اند. فنل‌ها گروه‌های مهمی از متابولیت ثانویه ترکیبات گیاهی هستند زیرا به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل ظرفیت به دام انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند. بنابراین محتوای فنلی گیاهان می‌تواند به طور مستقیم به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن کمک کند [۲۳]. جدول (۱) نشان داد که برای برآزش داده‌های فنل کل مدل خطی نسبت به سایر مدل‌های پیشنهادی، مدل بهتری بود ( $p < 0.01$ ). مدل مناسب با توجه به معنی‌دار بودن آزمون  $F$  ( $p < 0.01$ ) و معنی‌دار نبودن مقدار فقدان برآزش ( $p > 0.01$ ) در مورد آن و همچنین مقادیر  $R^2$  و  $R^2$  اصلاح شده و ضریب تغییرات انتخاب شد و در نهایت پارامترهای مؤثر بر مدل‌های به دست آمده با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۳) انتخاب و در مدل نهایی جای گذاری شدند. مسئله مهم در استخراج ترکیبات فنلی از منابع گیاهی، آزاد کردن این ترکیبات از ساختار گیاهی می‌باشد. بر اساس داده‌های به دست آمده در شکل ۱، مشاهده شد که محتوای فنل کل عصاره با افزایش تعداد پالس و کاهش شدت میدان الکتریکی پالسی اعمال شده به نمونه کاهش یافت. با توجه به پیچیدگی واکنش‌های شیمیایی موجود در سیستم‌های طبیعی، تشریح افزایش محتوای فنلی کل مشکل است. فنل کل در محصولات گیاهی از طریق فعالیت فنیل آلانین آمونیاک لیاز (PAL) در متابولیسم فنیل پروپانوئیدی تشکیل می‌شوند [۲۴]. کاهش این ترکیبات احتمالاً به علت اثر تخریبی شدت میدان الکتریکی در پالس‌های بالا، روی این ترکیبات می‌باشد. بخش آبادی و همکاران (۱۳۹۶) با بررسی تغییرات ترکیبات فنلی کل روغن سیاه‌دانه، نشان دادند که شدت میدان الکتریکی بیشترین

تأثیر را بر میزان ترکیبات فنلی کل داشت و اثرگذاری آن از نوع منفی بود بدین معنی که با افزایش شدت میدان الکتریکی، میزان این ترکیبات کاهش یافت، افزایش تعداد پالس‌ها نیز اثر مشابهی بر ترکیبات فنلی کل داشت که با افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس ابتدا میزان ترکیبات فنلی کل به علت آزادسازی این ترکیبات افزایش ولی با شدت بیشتر این دو متغیر به علت اثر تخریبی شدت‌های بالای میدان الکتریکی از میزان این ترکیبات کاسته شد [۲۵]. با افزایش ترکیبات فنل تام خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد دارند. این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جابه‌جاشونده هیدروکسیل دارد.

نتایج این بخش با نتایج سرکیس و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت [۲۶].



**Fig 1** Effect of the electric field intensity and the number of pulses on the total phenol content

#### ۳-۲- بررسی روند تغییرات محتوای ترکیبات

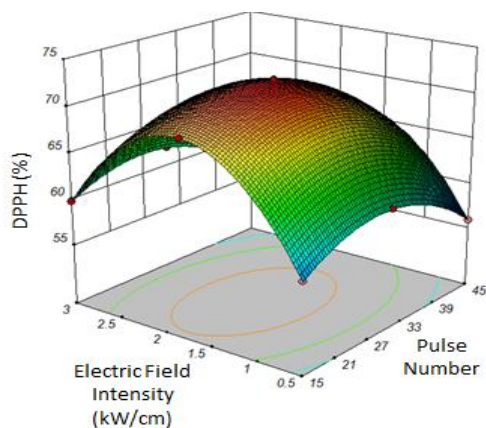
##### فلاونوئید

برای برآزش نتایج محتوای فلاونوئید مدل چندجمله‌ای درجه دوم نسبت به سایر مدل‌های پیشنهادی، مدل بهتری بود. ( $p < 0.01$ ) (جدول شماره ۱). آنالیز واریانس محتوای فلاونوئیدها نیز در جدول ۲ آورده شده است. محتوای فلاونوئید موجود در نمونه ابتدا با افزایش تعداد پالس تا سطح ۳۰ افزایش و سپس کاهش یافت. تأثیر شدت میدان الکتریکی بر میزان این ترکیب نیز مشابه اثر تعداد پالس مورد استفاده در فراوری بود؛ به طوری که با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی تا ۱/۷۵ کیلوولت بر سانتی‌متر محتوای این ترکیب

فلاونوئیدها شود. با این حال تحقیقات بیشتری در مورد اثرات نفوذپذیری غشا ناشی از تیمار PEF مورد نیاز است [۲۴].

### ۳-۳- بررسی روند تغییرات DPPH

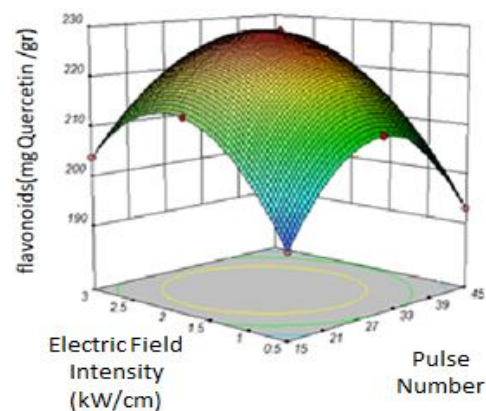
آزمون DPPH به‌طور گسترده‌ای به عنوان یک روش برای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در یک دوره نسبتاً کوتاه نسبت به سایر روش‌ها استفاده می‌شود [۲۳]. مطابق جدول (۱) برای پرازش داده‌های DPPH مدل چندجمله‌ای درجه دوم نسبت به سایر مدل‌های پیشنهادی، اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ). نتایج نشان‌دهنده وجود یک ارتباط غیرخطی میان DPPH و متغیرهای مستقل مورد مطالعه بودند؛ به‌گونه‌ای که با افزایش تعداد پالس (تا ۳۰) میزان این ترکیب افزایش و پس از آن کاهش یافت. با افزایش شدت میدان الکتریکی تا ۱/۷۵ کیلوولت بر سانتی‌متر توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به‌طور غیرخطی ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت (شکل ۳).



**Fig 3** Effect of electric field intensity and pulse number on DPPH

احتمالاً علت افزایش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را می‌توان به آزادسازی بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از قبیل توکوفرول‌ها و همچنین فلاونوئیدها کاهش آن را نیز می‌توان به اثر تخریبی افزایش پالس نسبت داد. نتایج این بخش با نتایج گودرجان و همکاران (۲۰۰۷) تطابق داشت [۳۰]. پارانیکو و همکاران (۲۰۱۵) بر روی تأثیر PEF بر روی استخراج پروتئین، ترکیبات فنلی، کربوهیدرات‌ها و ایزوتیوسیانیدها دانه پایا مطالعه نمودند، نتایج آن‌ها حاکی از این بود که راندمان استخراج پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات فنلی، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و اندیس معادل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترولوکس (TEAC) در مورد تیمارهای فراوری شده به‌وسیله PEF، بالاتر از روش

شیمیایی افزایش و پس‌از آن کاهش یافت (شکل ۲). اثر اولیه این فرآیند روی فلاونوئیدها مربوط به تغییرات ساختاری و شکست غشا می‌باشد که نقش مهمی را به‌عنوان ممانعت‌کننده نیمه انتخابی ایفا کرده و نقل و انتقالات سلولی را کنترل می‌کند. اختلاف پتانسیل غشا در حالت طبیعی حدود ۱۰ میلی‌ولت است. اگر یک میدان الکتریکی خارجی اعمال شود، اختلاف پتانسیل اطراف غشا را افزایش داده که باعث کاهش ضخامت غشا می‌گردد. در صورتی که اختلاف پتانسیل اطراف غشا به مقدار بحرانی (حدود ۱ ولت) برسد، باعث ایجاد حفره‌هایی در غشا می‌شود که سبب آسیب به غشا و تخلیه محتویات سلولی می‌گردد [۲۷].



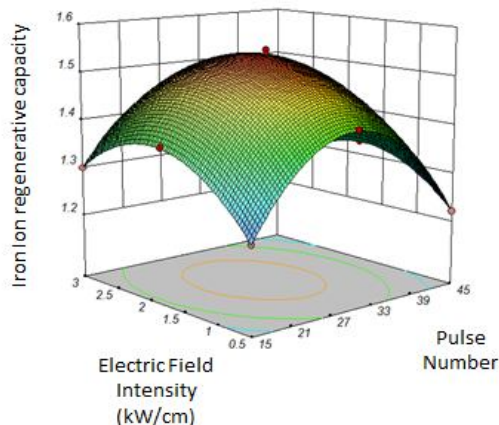
**Fig 2** Effect of electric field intensity and number of pulses on flavonoids content

اگر حفره‌ها نسبت به کل سطح غشا کوچک باشند، شکست غشا ممکن است برگشت‌پذیر باشد اما زمانی که حفره‌هایی ایجاد شده بزرگ باشند، تخریب غشای سلولی رخ می‌دهد. افزایش قدرت و شدت میدان الکتریکی یا افزایش زمان پالس و یا تعداد پالس‌ها، باعث ایجاد حفرات بزرگ می‌شوند [۲۸].

میدان الکتریکی پالسی بالا همراه با قرار گرفتن در معرض اکسیژن مولکولی ممکن است گروه‌های خاصی از ترکیبات زیست فعال مانند آنتوسیانین‌ها، را تخریب کند، در نتیجه تخریب آنتوسیانین‌ها با زمان و دما افزایش می‌یابد [۲۹].

مورنو و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی تأثیر فشار بالا و میدان الکتریکی پالسی بر روی ترکیبات زیست فعال آب پرتقال بیان کردند که تغییرات ساختاری در دیواره سلولی که تحت تأثیر تیمار PEF قرار گرفت می‌تواند منجر به افزایش میزان

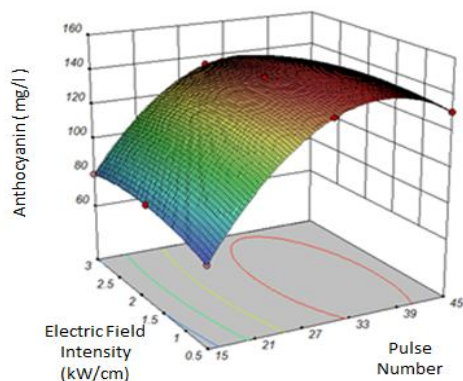
احیاء آهن نقش دارند و همچنین غیرفعال شدن بعضی از آنزیم‌ها نسبت داد [۳۵].



**Fig 4** Effect of electric field intensity and pulse number on iron ion regenerative capacity

### ۳-۵- بررسی روند تغییرات محتوای ترکیبات ارزیابی آنتوسیانین

برای برآزش داده‌های محتوای آنتوسیانین مدل چندجمله‌ای درجه دوم نسبت به سایر مدل‌های پیشنهادی، اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ، جدول ۱). محتوای آنتوسیانین موجود در نمونه با افزایش تعداد پالس تا ۳۰ به سرعت افزایش یافت و سپس این ترکیب با نرخ آهسته‌تری افزایش یافت. همچنین نتایج نشان داد که محتوای آنتوسیانین موجود در عصاره با کاهش شدت میدان الکتریکی اعمال‌شده به تدریج کاهش یافت (شکل ۵).



**Fig 5** Effect of electric field intensity and number of pulses on anthocyanin content

می‌توان علت این امر را به این صورت بیان کرد که در ابتدا اختلاف غلظت زرشک و محلول کم است و عمل استخراج سریع‌تر صورت می‌گیرد، اما با گذشت زمان، این اختلاف غلظت کم شده و استخراج کندتر می‌شود.

استخراج آبی بود [۳۱].

علت کاهش این ترکیبات با افزایش PEF را می‌توان به تخریب گروه‌های خاصی از ترکیبات فعال زیستی شامل آنتوسیانین‌ها نسبت داد [۲۹].

ژی هونگ و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی تیمار PEF روی ویتامین C و خواص آنتی‌اکسیدانی نشان دادند که PEF، وزن مولکولی، ساختار فضایی و قطبیت مولکول‌های پروتئین را تغییر می‌دهد، که این امر سبب افزایش یا کاهش مهار رادیکال آزاد DPPH می‌شود همچنین نتایج آنها نشان داد که این تیمار میزان آنتی‌اکسیدان‌ها را صرف نظر از روش ارزیابی فعالیت آنها افزایش داد که علت این اتفاق افزایش نگهداری واکنش الکتروشیمیایی و تشکیل کمپلکس‌های فلز-آنتوسیانین که دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری هستند می‌باشد. در این مطالعه اثرات تیمار PEF بر ساختار ویتامین C و محتوای نسبی آن و خواص آنتی‌اکسیدانی آن نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که تیمار PEF به ویتامین C آسیب نمی‌زند و می‌تواند روند اکسیداسیون را به تاخیر بیندازد. علاوه بر این PEF می‌تواند خواص آنتی‌اکسیدانی را از طریق به دام انداختن رادیکال آزاد افزایش دهد [۳۳].

### ۳-۴- بررسی روند تغییرات قدرت احیاکنندگی آهن

برای برآزش داده‌های احیاکنندگی یون آهن مدل چندجمله‌ای درجه دوم به عنوان بهترین مدل انتخاب گردید (جدول ۱). آنالیز واریانس احیاکنندگی یون آهن نیز در جدول ۲ آورده شده است. مطابق شکل ۴، میزان احیاکنندگی یون آهن با افزایش تعداد پالس (تا ۳۰) و همچنین شدت میدان الکتریکی تا ۱/۷۵ کیلوولت بر سانتی‌متر به طور غیرخطی ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. عصاره‌های گیاهی که حاوی مقادیر زیاد ترکیبات فنلی، از فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری برخوردار می‌باشند. ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی می‌تواند به دلیل قابلیت احیاکنندگی آن‌ها باشد به گونه‌ای که به این ترکیب‌ها اجازه می‌دهد به عنوان احیاکنندگی دانتورهای هیدروژن و چلات کنندگان آهن عمل نمایند [۳۴].

علت این افزایش را می‌توان به افزایش آزادسازی موادی که در

**Table 1** Choosing the model for the parameters to be measured

Model		Flavonoid		DPPH		Iron Ion		Anthocyanin		Acidity	
Source	df	Sum of squares	Probability level	Sum of squares	Probability level	Sum of squares	Probability level	Sum of squares	Probability level	Sum of squares	Probability level
Model	5	2636.55	<0.0001	533.94	<0.0001	0.21	<0.0001	8651.33	<0.0001	21.83	<0.0001
A	1	48.85	<0.0001	13.89	<0.0001	$3.750 \times 10^{-3}$	<0.0001	3776.55	<0.0001	0.21	<0.0001
B	1	39.89	<0.0001	1.25	<0.0001	$1.350 \times 10^{-3}$	<0.0003	3.65	<0.0001	$9.6 \times 10^{-3}$	<0.0001
A2	1	861.88	<0.0001	49.14	<0.0001	0.097	<0.0001	3531.27	<0.0001	6.72	<0.0001
B2	1	697.38	<0.0001	301.21	<0.0001	0.032	<0.0001	103.51	<0.0001	6.66	<0.0001
AB	1	32.89	<0.0001	0.54	<0.0001	$9.000 \times 10^{-4}$	<0.0001	80.46	<0.0001	$2.5 \times 10^{-5}$	0.7916
residual	7	$6.3 \times 10^{-3}$	-	0.022	-	$2.167 \times 10^{-4}$	-	0.13	-	$2.2 \times 10^{-3}$	-
Lack of fit	3	$1.01 \times 10^{-3}$	0.8557	$6.7 \times 10^{-5}$	0.9996	$1.589 \times 10^{-5}$	0.9525	0.022	0.8524	$1.23 \times 10^{-4}$	0.9706
Net error	4	$5.29 \times 10^{-3}$	-	0.022	-	$2.008 \times 10^{-4}$	-	0.11	-	$2.2 \times 10^{-3}$	-
Sum of square	12	2636.56	-	533.96	-	0.21	-	8651.47	-	21.83	-

**Table 2** Analysis of variance of measured parameters

Model	Total Phenol		Flavonoid		DPPH		Iron Ion regeneration		Anthocyanin		Vitamin C		Acidity	
	Sum of Squares	Probability level	Sum of Squares	Probability level	Sum of Squares	Probability level	Sum of Squares	Probability level	Sum of Squares	Probability level	Sum of Squares	Probability level	Sum of Squares	Probability level
Intercept	$4.6 \times 10^6$	-	$5.9 \times 10^5$	-	5515.48	-	25.65	-	$2 \times 10^5$	-	9004.1	-	632.89	-
Linear model	51439	0.0001<	88.74	0.8427	15.14	0.8660	$5 \times 10^{-3}$	0.8826	3780.2	0.0566	0.075	0.9780	0.22	0.9512
Simple polynomial	0.000	1.000	32.89	0.7394	0.54	0.9250	$9 \times 10^{-4}$	0.8453	80.46	0.7065	16.81	0.0001<	$2.5 \times 10^5$	0.9975
Quadrilateral polynomials	$6.6 \times 10^4$	0.996	2514.92	0.0001<	518.26	0.0001<	0.20	0.0001<	4790.7	0.0001<	$9 \times 10^5$	0.7373	21.61	0.0001<
Third degree polynomials	$3.7 \times 10^3$	0.983	$6.2 \times 10^4$	0.7727	$1.7 \times 10^4$	0.9981	0.0000	1.0000	$6 \times 10^3$	0.8910	0.0000	1.0000	$1 \times 10^4$	0.8938
Residual	0.53	-	$5.7 \times 10^3$	-	0.22	-	$2.2 \times 10^4$	-	0.13	-	$9.5 \times 10^4$	-	$2 \times 10^3$	-
Total	$4.6 \times 10^6$	-	$6 \times 10^5$	-	5604.94	-	25.86	-	$2.1 \times 10^5$	-	9021	-	654.72	-

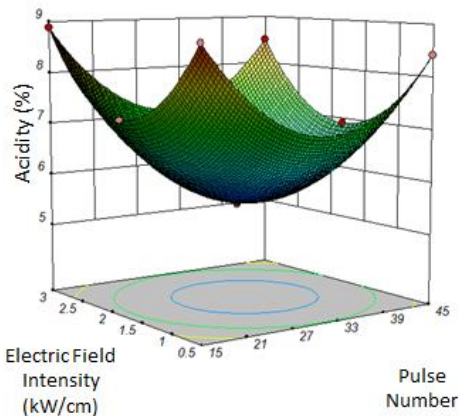
**Table 3** Analysis of variance of measured parameters

Source	df	Total Phenol		df	Vitamin C	
		Sum of squares	Probability level		Sum of squares	Probability level
Model	2	51438.92	<0.0001	3	16.88	<0.0001
A	1	14198.04	<0.0001	1	0.060	<0.0001
B	1	37240.88	<0.0001	1	0.015	<0.0001
AB	-	-	-	1	16.81	<0.0001
Residual	10	$4.591 \times 10^{-3}$	1.0000	9	$1.031 \times 10^{-3}$	-
Lack of fit	5	0.53	-	5	$1.108 \times 10^{-4}$	0.9878
Net error	5	0.53	-	4	$9.200 \times 10^{-4}$	-
Sum of square	19	51439.46	-	12	16.89	-



### ۷-۳- بررسی روند تغییرات محتوای اسیدیته

برای برآزش داده‌های میزان اسیدیته مدل چندجمله‌ای درجه دوم نسبت به سایر مدل‌های پیشنهادی، مدل بهتری بود ( $p < 0/001$ )، جدول ۱). شکل ۷ نشان داد که درصد اسیدیته نمونه به صورت غیرخطی تغییر یافت. میزان اسیدیته نمونه با افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس اعمال شده ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت.



**Fig 7** Effect of electric field intensity and number of pulses on acidity

علت افزایش اسیدیته را می‌توان به آزاد سازی بیشتر برخی از ترکیبات اسیدی از جمله برخی از اسیدهای فنولی موجود در بافت داخلی میوه نسبت داد. بخش آبدی و همکاران با بررسی بهینه‌سازی و مدل‌سازی استخراج روغن از سیاه‌دانه به کمک پیش تیمارهای میدان الکتریکی پالسی و ریزموج، بیان نمودند که افزایش شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس منجر به افزایش اسیدیته روغن گردید [۲۵].

### ۸-۳- بهینه‌سازی فرایند

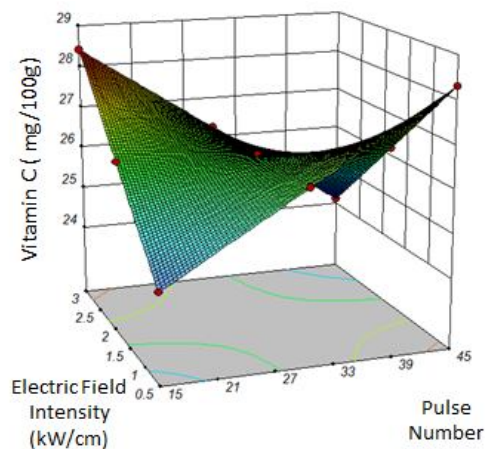
با توجه به شدت میدان الکتریکی در دامنه ۰/۵ تا ۳ کیلوولت بر سانتی‌متر و تعداد پالس که بین ۱۵ تا ۴۵ تنظیم شده بود، بهترین شرایط فراوری به منظور رسیدن به حداکثر میزان محتوای فنل کل، اسید اسکوربیک، فلاونوئید، آنتوسیانین، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و احیاکنندگی یون آهن تعیین گشت. با توجه به نتایج به دست آمده، فراوری عصاره در نقطه‌ای با شدت میدان الکتریکی ۲/۰۰۳ کیلوولت بر سانتی‌متر با اعمال ۲۹ پالس، با ضریب مطلوبیت ۰/۸۲۷ موجب استخراج عصاره‌ای با کیفیت قابل قبول گردید.

### ۹-۳- مقایسه بین نمونه شاهد با نمونه حاصل

از شرایط بهینه

### ۶-۳- بررسی روند تغییرات محتوای ویتامین C

برای برآزش داده‌های میزان اسید اسکوربیک مدل چندجمله‌ای ساده نسبت انتخاب گردید ( $p < 0/001$ )، جدول ۱). محتوای اسید اسکوربیک موجود در نمونه با افزایش تعداد پالس و شدت میدان الکتریکی اعمال شده افزایش یافت (شکل ۶). هرچند در تعداد پالس‌های بالا با افزایش شدت میدان الکتریکی به علت تخریب این ماده، از میزان آن کاسته شد. تجزیه اسید اسکوربیک در طی PEF به طور عمده مربوط به تولید رادیکال آزاد و شرایط فیزیکی شدید تحت تأثیر با تیمارهای PEF است. [۳۳].



**Fig 6** Effect of electric field intensity and number of pulses on ascorbic acid content

برخلاف نتایج به دست آمده، سیمسان و همکاران (۱۹۹۵) بیان داشتند که میدان الکتریکی بر روی غلظت اسید اسکوربیک تأثیری نداشته است [۳۶]. میزان اسید اسکوربیک که به سرعت پس از عملیات میدان الکتریکی پالسی در قدرت‌های مختلف الکتریکی و در کل زمان عملیات اندازه‌گیری می‌شود، از صفر تا ۵۰ درصد می‌باشد. کاهش مقادیر این ویتامین بیشتر در طول مدت ذخیره قابل توجه است تا در مدت خود عملیات، به خصوص در صورتی که نمونه‌های عملیاتی در محفظه‌های نفوذپذیر اکسیژن نگه‌داری شوند [۳۷]. ژو هونگ و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که استفاده از میدان الکتریکی پالسی در توان‌های کمتر منجر به افزایش میزان ویتامین C نسبت به نمونه فاقد تیمار شد در حالی که با افزایش توان از میزان ویتامین C کاسته شد. علت افزایش میزان ویتامین C این بود که تیمار PEF ساختار و قطبیت ویتامین C را تغییر می‌دهد در نتیجه فراهم کردن الکترون برای سنتز ویتامین C آسانتر خواهد بود [۳۳].

شرایط بهینه موجب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش اسیدیته در محصول فراوری‌شده نسبت به نمونه شاهد شد ( $p < 0.001$ ) که این امر کارایی این روش را در فراوری محصولات غذایی نشان می‌دهد.

جهت بررسی تأثیر فراوری در شرایط بهینه، نتایج به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار با خصوصیات شیمیایی نمونه شاهد مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت (جدول ۴). بر اساس آنالیز آماری می‌توان بیان نمود که استفاده از میدان الکتریکی پالسی در

**Table 4** Compare some of the characteristics of the control sample and the optimal

Parameter Measured	Type of pretreatment	
	PEF	Control
Total Phenol(mg Gallic acid/100 ml)	614.745 <sup>a</sup>	570 <sup>b</sup>
Flavonoid(mg/100)	229.100 <sup>a</sup>	193.28 <sup>b</sup>
DPPH(%)	71.890 <sup>a</sup>	58.78 <sup>b</sup>
Iron Ion Regeneration	1.541 <sup>a</sup>	1.25 <sup>b</sup>
Anthocyanin (mg/l)	139.452 <sup>a</sup>	94.32 <sup>b</sup>
Vitamin C(mg/100g)	26.354 <sup>a</sup>	24.7 <sup>b</sup>
Acidity (%)	5.641 <sup>b</sup>	8.45 <sup>a</sup>

\* Mean  $\pm$  SD of treatments with the same letters are not significantly different at any time ( $P > 0.05$ ).

- [2] Herreroa, M. Mendiola, b. Jose, A. Cifuentes, A. and neza E. I. 2010. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications, *Journal of Chromatography*. 16: 2495-511.
- [3] Scalia, S. Giuffreda, L. and Pallado, P.1999. Analytical and Preparative Supercritical Fluid Extraction of Chamomile Flowers and its Comparison with Conventional Methods”, *Journal of Pharmacy Biomedical Analysis*. 21: 549-558.
- [4] Wenqiang, G. Shufen, L. Ruixiang, Y. Shaokun, T. and Can, Q. 2007. Comparison of Essential Oils of Clove Buds Extracted with Supercritical Carbon Dioxide and other Three Traditional Extraction Methods”, *Food Chemistry* 101: 1558-1564.
- [5] Luque de Castro, M. D. and Garcia-Ayuso, L. E. 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*. 369: 1-10.
- [6] Guderjan, M., Topfl, S., Angersbach, A. and knorr, D. 2005. Impact of pulsed electric Fields treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*. 67 (3): 281-287.
- [7] Toepfl, S., Heinz, V. and Knorr, D. 2005. 4 - Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food. In: *Emerging Technologies for Food Processing* (Editor: D.W. Sun). Elsevier Ltd., London, pp. 69-97.
- [8] Donsi, F., Ferrari, G. and Pataro, G. 2010. Applications of Pulsed Electric Field Treatments for the Enhancement of Mass Transfer from Vegetable Tissue, *Food Engineering Reviews*. 2(2): 109-130.

## ۴- نتیجه‌گیری

میدان الکتریکی پالسی فرآیندی غیرحرارتی است که در آن ماده غذایی در معرض میدان پالسی با ولتاژ قرار می‌گیرد. این روش ضمن این‌که اثر کمی روی ویژگی‌های حسی و ارزش تغذیه‌ای محصولات دارد، به‌عنوان یک پیش‌فرآیند باعث افزایش بازدهی استخراج مواد داخل سلولی و افزایش سرعت خشک شدن می‌گردد. نتایج به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار با خصوصیات شیمیایی نمونه شاهد مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که استفاده از میدان الکتریکی پالسی در شرایط بهینه موجب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش اسیدیته در محصول فراوری‌شده نسبت به نمونه شاهد شد که این امر کارایی این روش را در فراوری محصولات غذایی نشان می‌دهد. از طرفی مشخص گردید که استفاده از میدان الکتریکی پالسی موجب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی در محصول پیش‌تیمار دیده نسبت به نمونه شاهد شد که این امر کارایی این روش را در فراوری محصولات غذایی نشان می‌دهد.

## ۵- منابع

- [1] Mortazavi, S. A., Sharifi, A., Maskooki, A., Niakoosari, M., Elhamiraad, A, H. and Reigi, S. 2013. Optimization of the process of premature extraction of phenolic compounds, anthocyanins and vitamin C from micronutrient to the response surface methodology, *Journal of Food Science and Technology*. 3(1): 11-24. (In Persian).

- boliviana Lechler fruit anthocyanins. Food Chemistry, 128:717-724.
- [18] Dolatabadi, Z., Elhami Rad, A. H., Farzaneh, V., Akhlaghi Feizabad, S. H., Estiri, S. H., and Bakhshabadi, H. 2016. Modeling of the lycopene extraction from tomato pulps. Food Chemistry, 190: 968-973.
- [19] 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: 4083-40.
- [20] Wrolstad R.E. 1976. Color and pigment analysis in fruit products. Station Bull. 621. Agric. Exp. Sta. Oregon Sta. University.
- [21] ISIRI. 2001. Iranian Institution of Standard and Industrial Researches. barberry fruit. Standard no. 3337.
- [22] AOAC. 2008. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, Vol. II. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- [23] Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R. and Sahari, M.A. 2015. Influence of extraction techniques on antioxidant properties and bioactive compounds of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.) skin and pulp extracts. Food Sci Nutr. 3(3): 179-187.
- [24] Moreno, C., Plaza, L., Martinez, P., Deancos, B., Belloso, O. and Pilar Cano, M. 2005. Impact of High Pressure and Pulsed Electric Fields on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Orange Juice in Comparison with Traditional Thermal Processing. J. Agric. Food Chem. 53: 4403-4409.
- [25] Bakhshabadi, H., Mirzaei, H., Ghodsvali, A., Jafari, S.M., Ziaifar, A.M. and Bigbabaie, A. 2017. Optimizing the Extraction Process of Oil from Black Cumin Seeds by Using Pulsed Electric Field (PEF) Pretreatment, 6(3): 221-231.
- [26] Sarkis, J.R., Boussetta, N., Blouet, C., Tessaro, I.C., Ferreira Marczak, L.D. and Vorobiev, E. 2015. Effect of pulsed electric fields and high voltage electrical discharges on polyphenol and protein extraction from sesame cake. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 29: 170-177.
- [27] Rahman, M. S. 2015. Handbook of Food Preservation. CRC Press Taylor & Francis Group, 287-858.
- [28] Brennan, J. G. 2011. Food Processing Handbook. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 645- 657.
- [9] Yu, L. J., Ngadi, M. and Raghavan, G. S. V. 2009. Effect of temperature and pulsed electric field treatment on rennet coagulation properties of milk. Journal of Food Engineering, 79, 559 -558.
- [10] Grimi N., Mamouni F., Lebovka N., Vorobiev E., Vaxelaire J., 2011, Impact of apple processing modes on extracted juice quality: Pressing assisted by pulsed electric fields, Journal of Food Engineering, 103: 52-61.
- [11] Jaeger H., Schulz M., Lu P., Knorr D. 2012. Adjustment of milling, mash electroporation and pressing for the development of a PEF assisted juice production in industrial scale, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 14, 46-60.
- [12] Bobinaite R., Pataro G., Lamanauskas N., Šatkauskas S., Viškėlis P. and Ferrari G. 2015. Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products, Journal of Food Science and Technology. 52(9): 5898-5905.
- [13] Knorr, D., Angersbachm A., Eshtiaghi, M., Heinz, V. and Lee, D. U. 2001. Processing concept based on high intensity electric field pulses. Trends in Food Science and Technology, 12:129-135.
- [14] Zimmerman, U., Riemann, F. and Pilwat, G. 1976. Enzyme loading of electrically homogeneous human red blood cell ghosts prepared by dielectric breakdown. Biochemical and Biophysical Acts, 436: 460-474.
- [15] Parniakov, O., Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N. and Vorobiev, E. 2015. New approaches for the effective valorization of papaya seeds: Extraction of proteins, phenolic compounds, carbohydrates, and isothiocyanates assisted by pulsed electric energy. Food Research International, 77 (4): 711-717.
- [16] Shaddel, R., Maskooki, A. M., Haddad-Khodaparast, M. H., Azadmard-Damirchi S., Mohamadi, M., and Fathi-Achachlouei, B. 2014. Optimization of extraction process of bioactive compounds from Bene hull using subcritical water. Food Science and Biotechnology, 23 (5):1459-1468.
- [17] Jiménez, C. D. C., Flores, C. S., He, J., Tian, Q., Schwartz. S. J., and Giusti, M. M. 2011. Characterisation and preliminary bioactivity determination of Berberis

- International Journal of Molecular Sciences. 16: 24159-24173.
- [34] Azimzadeh, B., Jahadi, M., and Fazel, M. 2017. Antioxidant and antibacterial effects of *laurus nobilis* aqueous extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Food Hygiene*, 7(25): 65-73.
- [35] Wiktor, A., Sledz, M., Nowacka, M., Rybak, K., Chudoba, T., Lojkowski, W. and Witrowa-Rajchert, D. 2015. The impact of pulsed electric field treatment on selected bioactive compound content and color of plant tissue. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 30: 69–78.
- [36] Simpson, M. V., Barbosa-Cánovas, G. V., and Swanson, B. G. 1995. Influence of PEF on the composition of apple juice. Internal Report, Washington State University, Pullman, WA.
- [37] Raso, J. and Heinz, V. 2007. Pulse Electric Fields Technology for the Food Industry. *Fundamentals and Applications*, 3(8): 144-146.
- [29] Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J., Nindo, C. 2013. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry* 20 (2013) 1316–1323.
- [30] Guderjan, M., Elez-Martínez, P. and Knorr, D. 2007. Application of pulsed electric fields at oil yield and content of functional food ingredients at the production of rapeseed oil. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 55-62.
- [31] Parniakov, O., Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N. and Vorobiev, E. 2015. New approaches for the effective valorization of papaya seeds: Extraction of proteins, phenolic compounds, carbohydrates, and isothiocyanates assisted by pulsed electric energy. *Food Research International*, 77 (4): 711–717.
- [33] Zhang, Z., Zeng, X., Brennan, C., Brennan, M., Han, Z. and Xiong, X. 2015. Effects of Pulsed Electric Fields (PEF) on Vitamin C and Its Antioxidant Properties.



## Scientific Research

## Optimization of extraction of bioactive compounds from seedless barberry fruit using pulsed electric field pretreatment

Taiebirad, F. <sup>1</sup>, Bakhshabadi, H. <sup>1\*</sup>, Rashidzadeh, Sh. <sup>1</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Saei University, Gorgan, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2018/ 10/ 09 Accepted 2019/ 02/ 06</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b> Anthocyanin, Barberry, Pulse electric field, Pretreatment.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.52547/fsct.18.05.25</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: h.bakhshabadi@yahoo.com</p>	<p>In this research, in order to optimize the extraction process of Ethanolic extract of barberry fruit, the increase and optimization of the conditions for the extraction of anthocyanin's and bioactive compounds by means of intermittent electric field pretreatment from three levels of electric field intensity (0.5, 1.75 and 3 kV / cm) and 3 levels of number of pulses (15, 30 and 45); then with ethanol solvent was used to extract their extracts and the amount of flavonoids, total anthocyanin, DPPH, total phenolic compounds, iron regeneration capacity, vitamin C and acidity compared to control (no treatment) Was studied. The results showed that the total phenol content of the extract decreased by increasing the number of pulses and reducing the intensity of the pulsed electric field applied to the sample. The increase in the electric field strength and the number of pulses initially increased the flavonoid content, DPPH and iron ion recovery capacity, but with the increase of these variables, these three parameters decreased. Also, with increasing of these parameters, the anthocyanin level and vitamin C content increased. The acidity of the sample was reduced and then increased by increasing the electric field strength and applied pulse number. Regarding the results of the process optimization, it can be concluded that the electrical field intensity of 2.003 kV / cm and applying 29 pulses can increases the antioxidant properties of the produced product compared with the control sample.</p>