



## ارزیابی استخراج CO<sub>2</sub> فوق بحرانی بر پایداری رنگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آنتوسیانین نانوریزپوشانی شده پودر پوست انار

نیلوفر زاهد<sup>۱</sup>، رضا اسماعیل زاده کناری<sup>۲\*</sup>، رضا فرهمندفر<sup>۳</sup>

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲-استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳-دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	در این مطالعه، ترکیبات آنتوسیانین و فنولی از پودر پوست انار با CO <sub>2</sub> فوق بحرانی استخراج و از صمغ دانه قدومه شهری و مالتودکسترین به عنوان دیواره نانوریزپوشانی استفاده شد. عصاره نانوریزپوشانی شده با خشک کن انجمادی خشک شد. پایداری رنگ و فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره نانوریزپوشانی ارزیابی گردید. میزان آنتوسیانین و ترکیبات فنولی به ترتیب از طریق pH افتراقی و روش فولین سیوکالتو بررسی شد. اندازه ذرات، راندمان آنتوسیانین نانوریزپوشانی شده، فنول نانوریزپوشانی شده، پایداری رنگ در دما و pH مختلف و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق DPPH ارزیابی شد. میزان آنتوسیانین و فنول استخراج شده در این روش به ترتیب $3/943 \pm 0/133$ میلی گرم بر گرم پودر پوست انار، $504/521 \pm 2/379$ میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم پوست انار بود. راندمان نانوریزپوشانی برای آنتوسیانین‌ها بیشتر از فنول‌ها بوده است. رهایش آنتوسیانین در pH مختلف، متفاوت بود به طوری که آنتوسیانین‌ها در pH مختلف رفتار متفاوتی از هم داشتند. با افزایش دما پلیمریزاسیون و رنگ افزایش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نانوریزپوشانی شده به روش DPPH با افزایش غلظت افزایش یافت و IC <sub>50</sub> آن معادل $1/092 \pm 0/024$ میلی گرم در میلی لیتر بود.
کلمات کلیدی: ترکیبات فنولی، رهایش، pH، دما، DPPH	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱۷	
DOI:10.22034/FSCT.21.153.29.	
* مسئول مکاتبات: Reza_kenari@yahoo.com	

## ۱- مقدمه

افزایش کل عصاره مواد گیاهی، استخراج اولتراسوند، استخراج مایکروویو، استخراج سیال فوق بحرانی، جزء روش سبز به حساب می آیند [۸]. در استخراج فوق بحرانی دستگاه استخراج در حالت فوق بحرانی خود قرار دارد. در این روش دما و فشار بالاتر از مقادیر بحرانی خود هستند. این روش برای استخراج ترکیبات در مدت زمان کوتاه با بازده بالاتر مناسب است [۶]. دی اکسید کربن (CO<sub>2</sub>) تا کنون بیشترین استفاده را به عنوان سیال فوق بحرانی برای بازیابی ترکیبات زیست فعال از ماتریس های گیاهی و حیوانی را دارد [۹]. قطبیت کم CO<sub>2</sub> با استفاده از مواد حلال مانند اتانول، متانول، آب، استون، با موفقیت برطرف شده است [۶]. ریزپوشانی به طور گسترده ای در صنایع غذایی برای کنترل انتشار عطر، طعم دهنده و به خصوص مواد زیست فعال و تولید مواد غذای حاوی پروبیوتیک رواج یافته است [۱۰]. ریزپوشانی کردن یک روش برای پوشش دهی مواد (مانند: رنگ های طبیعی) به شکل میکرو و نانو ذرات است [۱۱]. راندمان و پایداری ریزپوشینه عمدتاً به اجزای ماده پوشش دهنده بستگی دارد. عامل پوشش دهنده می تواند به عنوان یک مانع عمل کند و از هسته در مقابل عوامل محیطی از جمله: اکسیژن، آب و نور و دیگر مواد محافظت کند [۱۲]. از جمله ویژگی های مهم عامل پوشش دهنده شامل: قابلیت حل پذیری زیاد در آب، پایداری، ایجاد شبکه متراکم در طول خشک کردن می باشد [۱۳] و بنابراین خواص و ترکیب مواد دیواره و هسته نقش مهمی در راندمان [۱۴] و پایداری ریزپوشینه ها دارند [۱۲]. مالتودکسترین نقش مهمی در افزایش پایداری ماده غذایی پوشش دهی شده در برابر اکسیداسیون دارد [۱۵]. با توجه به کاربرد و نقش هیدروکلوئیدها در صنعت غذا و قیمت بالای این ترکیبات، استفاده از صمغ های بومی گسترش یافته و در ایران به دلیل وفور منابع گیاهی کسترده، پژوهشگران به فکر جایگزینی

انار (*Punica granatum L.*) میوه ای متعلق به خانواده *Punicaceae* است، به طیف گسترده ای از شرایط آب و هوایی سازگار و میوه بومی ایران است. این میوه را می توان به صورت تازه یا به عنوان آبمیوه و همچنین به عنوان نوشیدنی به همراه سایر محصولات غذایی (مربا و ژله) مصرف کرد [۱]. انار منبع غنی برای استخراج مواد بیولوژیکی فعال یا زیست فعال مانند ترکیبات فنلی، تانن و آنتوسیانین است. این ترکیبات دارای فعالیتهای زیستی متنوعی مانند خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی هستند. با این حال، استخراج و تصفیه این گونه ترکیبات از قسمتهای مختلف انار به همان میزان کارآمد، یک کار چالش برانگیز است [۲]. اثر سلامتی بخش میوه انار علاوه بر قسمت خوراکی، قسمت های غیرخوراکی آن را (به خصوص پوست که حاوی ترکیبات فعال بیولوژیکی بیشتری نسبت به قسمت خوراکی هستند نیز شامل می شود [۱]. پوست انار حدود ۳۰-۴۰٪ از میوه انار را شامل می شود و بعنوان محصول جانبی پس از استخراج آب باقی می ماند [۳]. پوست انار از ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به گوشت و دانه برخوردار است و می تواند منبع خوبی برای تولید آنتی اکسیدان هایی با ارزش بالا باشد [۴]. در چین پوست انار دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در بین پوست، پالپ میوه ها و دانه های گیاهی است [۵]. فرایند استخراج یک مرحله حیاتی است و نقش مهمی در تعیین مقدار مطلوب ترکیبات زیست فعال مانند آنتوسیانین دارد. مهمترین پارامترهای موثر بر بهره وری استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی شامل: خواص ماتریس بخش گیاهی، نوع حلال، دما، فشار، زمان [۶]، غلظت حلال و نسبت مایع/جامد است [۷]. امروزه تقاضای روزافزونی برای توسعه فرایندهای استخراج سبز، با کاهش زمان عملیاتی، نتایج بهتر و کیفیت عصاره و به طور قابل توجهی کاهش استفاده از حلال های آلی وجود دارد. برای

گردید سپس استخراج به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. برای جلوگیری از کاهش عملکرد عصاره در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - ذخیره شد [۱۷].

### ۲-۳- راندمان استخراج

سنجش راندمان استخراج، از تقسیم وزن خشک عصاره بر گرم پودر خشک پوست انار ضرب در ۱۰۰ حاصل شد.

$$\text{راندمان استخراج} = \frac{\text{وزن عصاره}}{\text{وزن پودر پوست انار}} \times 100$$

### ۲-۴- تعیین آنتوسیانین کل (TAC)

تعیین مقدار آنتوسیانین مونومرکل از روش pH افتراقی که توسط کایرسا و همکاران [۱۷] توصیف گردید، محاسبه شد. ۱ میلی لیتر عصاره با ۹ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده سپس با نسبت ۴ به ۱ به محلول بافر KCl و  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (۱ و ۵/۵ pH) اضافه شد. بعد از ۲۰ دقیقه، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS (مدل ۱۵۰۲) جذب در  $520\text{ nm}$  خوانده شد و در صورت لزوم رقیق سازی صورت گرفت [۱۸].

$A = \text{pH}_{1/0} - \text{pH}_{4/5}$  تفاوت جذب بین  $\text{pH}_{1/0}$  و  $\text{pH}_{4/5}$  است.  $MW = \text{وزن مولکولی سیانیدین ۳}$  - گلوکوزید  $449/2$  (گرم بر مول)،  $DF = \text{عکس رقت}$ ،  $V = \text{حجم استخراج (میلی لیتر)}$ ،  $\varepsilon = \text{ضریب جذب مولی سیانیدین ۳-گلوکوزید (۲۹۶۰۰ لیتر بر مول در سانتی متر)}$ ،  $L = \text{طول سل اسپکتروفتومتر (سانتی متر)}$ ،  $M = \text{وزن پودر پوست انار (گرم)}$ ،  $TAC = \text{آنتوسیانین مونومرکل (میلی گرم بر گرم)}$ .

$$A = (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}}) \text{pH}_{1/0} - (A_{520\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}}) \text{pH}_{4/5}$$

صمغ دانه‌های بومی از جمله صمغ دانه قدومه شهری<sup>۱</sup> از خانواده شب‌بویان<sup>۲</sup> با نمونه‌های تجاری هستند [۱۶]. انتخاب روش مناسب برای ریزپوشینه‌شدن آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی بسیار مهم است زیرا بر روی خواص فیزیکی و شیمیایی و همچنین مکانیسم آزادسازی هسته پوشش‌دهی شده تاثیر می‌گذارد [۱۲]. در این پژوهش از  $\text{CO}_2$  فوق بحرانی جهت استخراج آنتوسیانین و ترکیبات فنلی پودر پوست انار استفاده شد. با توجه به عدم ثبات عصاره آنتوسیانین‌ها در دما، pH و زمان ذخیره سازی، در این مطالعه اثر ترکیبی صمغ دانه قدومه شهری و مالتودکسترین به عنوان ماده پوشش‌دهنده برای عصاره آنتوسیانین و ترکیبات فنلی به دست آمده از استخراج پودر پوست انار استفاده شد و پایداری رنگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نانوریزپوشانی شده ارزیابی شد.

### ۲- مواد و روش‌ها

#### ۲-۱- مواد اولیه

ابتدا ۵ کیلو میوه انار رقم ساوه پوست قرمز تهیه شد. پوست انار از میوه جدا گردید سپس به مدت ۴ روز در دمای محیط به دور از نور خورشید کاملاً خشک شد. سپس با آسیاب خرد و از الک (مش ۱۸) جهت آماده سازی پودر استفاده شد و در نایلون وکیوم تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. دانه قدومه شهری از شرکت عطارک خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی از شرکت مرک آلمان و سیگما آلدریچ خریداری شدند.

#### ۲-۲- استخراج به کمک $\text{CO}_2$ فوق بحرانی

۳ گرم پودر پوست انار جهت استخراج در در دمای مشخص ( $45^{\circ}\text{C}$ ) در دستگاه فوق بحرانی گذاشته شد. فشار (۲۰۰ بار) و حلال جهت استخراج بهتر (اتانول ۲۰٪) تنظیم شد. شدت جریان برای دی‌اکسید کربن در ۲ میلی لیتر در دقیقه ثابت

آسیاب و الک (مش ۴۰) برای استفاده در نانوریزپوشانی در ظروف در بسته در یخچال نگهداری شد [۲۰].

## ۲-۶-۲- روش نانوریز پوشانی عصاره آنتوسیانین پوست انار

برای نانوریزپوشانی کردن عصاره آنتوسیانین از مالتودکسترین (DE<sup>۴</sup>=۱۸) و صمغ دانه قدومه شهری استفاده شد. در این آزمایش، به ازای هر ۹ گرم مالتودکسترین، ۱ گرم پودر صمغ قدومه شهری به عنوان مواد پوشش دهنده دیواره مورد استفاده قرار گرفت. مالتودکسترین با پودر صمغ دانه قدومه شهری مخلوط شد سپس برای رسیدن به ماده جامد ۱۵ درصد، با استفاده از همزن مغناطیسی (۴۰rpm) برای انحلال بهتر به مدت ۴۵ دقیقه در دمای محیط به طور آرام به آن آب مقطر اضافه شد. نمونه جهت یکنواخت شدن بافت، به مدت ۱۲ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس عصاره آنتوسیانین با نسبت ۱ به ۲ (وزنی/وزنی) به مواد پوشش دهنده (وزن خشک) اضافه شد و با استفاده از اولتراتراکس DRAGONLAB (هموژنایزر D-۵۰۰) با سرعت ۱۵۰۰۰ rpm در ۱۰°C به مدت ۶ دقیقه همگن شد. در ادامه، از دستگاه اولتراسوند پروپ (مدل KS-۲۵۰F) به مدت ۶ دقیقه (زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل ها) برای کاهش اندازه ذرات استفاده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۸°C- در فریزر منجمد گردید و به مدت ۴۸ ساعت توسط دستگاه خشک کن انجمادی خشک شد [۲۱].

## ۲-۷- آزمون خواص نانوریزپوشانی

### ۲-۷-۱- اندازه گیری قطر پوشش

اندازه گیری اندازه ذرات نانوریزپوشانی توسط دستگاه

$$TAC = \frac{A \times MW \times DF \times 1000 \times V}{\varepsilon \times L \times M}$$

## ۲-۵- تعیین ترکیبات فنولی کل

سنجش ترکیبات فنولی از روش فولین سیوکالتو مطابق روش سینگ و همکاران [۱۹] استفاده شد. ابتدا غلظت ۱۰۰۰ ppm از نمونه تهیه و ۰/۵ میلی لیتر از آن با معرف فولین فنول ۱۰ برابر رقیق شده مخلوط شد. ۲ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵٪ اضافه شد. به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. نتایج نهایی معادل میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم نمونه از معادله مقابل محاسبه شد [۱۹].

$$Y = 1/6507X + 0/0494 \quad R^2 = 0/990$$

Y=جذب

X=غلظت نمونه

## ۲-۶- روش نانوریزپوشانی

### ۲-۶-۱- روش صمغ گیری دانه قدومه شهری

ابتدا ناخالصی موجود در دانه قدومه شهری جدا شد و سپس صمغ آن به روش کوچکی و همکاران [۲۰] (نسبت آب به دانه ۳۰ به ۱ در دمای ۴۸ درجه سانتیگراد و با pH برابر ۸ با در حمام آب) استخراج شد. pH آب مقطر با محلول قلیایی NaOH تنظیم و در حمام آب دمای ۴۸°C قرار داده شد. پس از رسیدن حمام به دمای مورد نظر، دانه ها به آن اضافه شد برای افزایش جذب آب توسط دانه مداوم (به مدت ۲ ساعت) هم زده شد، از آبمیوه گیری آزمایشگاهی جهت استخراج صمغ استفاده شد. خشک کردن عصاره حاصل در آون دمای ۷۰°C صورت گرفت. سرانجام پودر صمغ بعد از

راندمان نانوریزپوشانی (EEA) طبق روش باربوسا و همکاران [۲۴] با فرمول زیر محاسبه شد.

$$\%EEA = \frac{TA - SA}{TA} \times 100$$

۴-۷-۲-راندمان نانوریزپوشانی ترکیبات فنلی

راندمان نانوریز پوشانی ترکیبات فنلی مطابق روش کادریز و همکاران [۵] توصیف شد، انجام شد. برای سنجش فنل نانوریز پوشانی شده (TP) ابتدا ۱۰ میلی گرم نمونه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده سپس به مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد سپس با کاغذ واتمن شماره ۴۲ فیلتر شد. سپس به روش فولین سیوکالتو محاسبه شد.

برای سنجش ترکیبات فنلی نانوریز پوشانی نشده ابتدا ۱۰ میلی گرم نمونه را در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته و به سرعت از سطح رویی مخلوط برداشته و برای سنجش ترکیبات فنلی نانوریزپوشانی نشده (SP) از روش فولین-سیوکالتو استفاده شد. محاسبه راندمان نانوریزپوشانی فنولی (EEP) مطابق فرمول زیر انجام شد [۵].

$$\%EEP = \frac{TP - SP}{TP} \times 100$$

۸-۲-آزمون پایداری رنگ و فعالیت آنتی اکسیدانی

۱-۸-۲- اثر pH بر رهائش آنتوسیانین

عصاره های نانوریزپوشانی شده از پودر پوست انار در محلول های آبی با pH مختلف (۲/۰، ۵/۰ و ۷/۰) به مدت ۲ ساعت قرار داده شد و سپس طیف جذب محلول را در زمان های مختلف در طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری و میزان رنگ محاسبه شد [۲۵].

$$AT = A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$$

$$\%R = \frac{AT}{AMAX} \times 100$$

6- Cyanidin 3-glucozide

اسکاتروسکوپ ۵۱ (ساخت شرکت Qudix کره جنوبی) صورت گرفت [۲۲].

۲-۷-۲-راندمان نانوریزپوشانی ترکیبات آنتوسیانینی

ابتدا ۱ میلی لیتر آب مقطر به ۱۰۰ میلی گرم پودر نانوریزپوشانی شده اضافه گردید، محلول با همزن مغناطیسی (سرعت ۶۰rpm) به مدت ۵ دقیقه مخلوط شد و سپس ۹ میلی لیتر اتانول به آن اضافه و پودر به طور کامل حل شود. سپس با کاغذ واتمن شماره ۴۲ فیلتر شد. میزان آنتوسیانین کل (TA) با استفاده از روش pH افتراقی [۲۳] محاسبه شد.

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{pH}_{1/0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{pH}_{4/5}$$

$$\text{TAC} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000 \times V}{\varepsilon \times L \times M}$$

A=تفاوت جذب بین  $\text{pH}_{1/0}$  و  $(A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{pH}_{4/5}$ ،  $(A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})$  = MW، وزن مولکولی سیانیدین ۳-گلوکوزید<sup>۶</sup> (۴۴۹/۲ گرم بر مول)، DF=عکس رقت، V=حجم استخراج (میلی لیتر)،  $\varepsilon$ =ضریب جذب مولی سیانیدین ۳-گلوکوزید (۲۹۶۰۰ لیتر بر مول در سانتی متر)، L=طول سل اسپکتروفتومتر (سانتی متر)، M=وزن پودر پوست انار (گرم)، TAC=آنتوسیانین مونومرکل (میلی گرم بر گرم).

جهت محاسبه آنتوسیانین نانوریزپوشانی نشده (SA) ۱۰ میلی لیتر اتانول به ۱۰۰ میلی گرم پودر نانوریزپوشانی شده اضافه شد. سپس به مدت ۲ دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰°C با سرعت ۶۰rpm ۳۰۰۰ سانترفیوز شد و سوپرناتانت جدا شد و SA همانند TA محاسبه شد.

5- Scatteroscope1

$$AT = A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$$

$$\%C = \frac{AT}{A_0} \times 100$$

A = جذب، AT = اختلاف جذب بین طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر در زمان مشخص، C = میزان رنگ آنتوسیانین، A<sub>0</sub> = جذب در زمان صفر،

$$A_{520\text{nm}} = \text{جذب در طول موج } 520 \text{ نانومتر، } A_{700\text{nm}}$$

$$= \text{جذب در طول موج } 700 \text{ نانومتر}$$

جهت سنجش پلیمری شدن آنتوسیانین طبق روش تین و همکاران [۲۶] انجام شد. در هر ۳۰ دقیقه ۲/۸ میلی لیتر نمونه با ۰/۲ میلی لیتر بی سولفیت سدیم ۱ نرمال، به نمونه دیگر ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. و بعد از ۱۵ دقیقه نگهداری در محیط، درصد پلیمری شدن (P) محاسبه شد [۲۷].

$$CD = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) + (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})$$

$$PC = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) + (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})$$

$$\%P = \frac{PC}{CD} \times 100$$

CD = دانسیته رنگ (ترکیب محلول با آب)، PC = رنگ

پلیمره شده (ترکیب با محلول بی سولفیت سدیم ۱ نرمال)

، A<sub>520nm</sub> = جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر، A<sub>700nm</sub>

= جذب در طول موج ۷۰۰ نانومتر، A<sub>520nm</sub> = جذب در

طول موج ۴۲۰ نانومتر

#### ۲-۸-۴- DPPH-آزمون

فعالیت ضد رادیکالی عصاره نانوریزپوشانی شده و TBHQ با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH مطابق با روش ساویز و همکاران [۲۷] انجام گرفت. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر عصاره نانوریزپوشانی شده با غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۷۰۰ و ۹۰۰ میکروگرم در میلی-

AT = اختلاف جذب بین طول موج A<sub>520nm</sub> - A<sub>700nm</sub>

در زمان، R = میزان رهائش آنتوسیانین، A<sub>max</sub> = بیشترین

جذب در بین pHهای مختلف نمونه، A<sub>520nm</sub> = جذب

در طول موج ۵۲۰ نانومتر، A<sub>700nm</sub> = جذب در طول موج

۷۰۰ نانومتر

#### ۲-۸-۲- اثر دما بر روی کارایی رنگ آنتوسیانین نانوریز

پوشانی شده

سنجش کارایی رنگ آنتوسیانین نانوریزپوشانی شده طبق

روش ایسوز و همکاران [۲۵] انجام شد. ۲۰۰ میلی گرم نمونه

در ۱۰ میلی لیتر محلول اسیدی (pH=۲/۰) ریخته شد و در

حمام آب با دماهای مختلف (۲۵ تا ۱۰۰°C) قرار داده شد.

نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه، در حمام یخ قرار داده شدند و

جذب محلول در طول موج ۷۰۰، ۵۲۰ nm با

اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد و درصد رنگ اندازه‌گیری

شد [۲۵].

$$AT = A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$$

$$\%C = \frac{AT}{AT_{25}} \times 100$$

A = جذب، AT = اختلاف جذب بین طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰

نانومتر در دمای (°C) مشخص، C = میزان رنگ

آنتوسیانین، AT<sub>۲۵</sub> = جذب در دمای ۲۵ °C

#### ۳-۸-۲- پایداری حرارتی آنتوسیانین نانوریزپوشانی شده

و پلیمریزاسیون

۱۰۰ میلی گرم نمونه به ۱۰ میلی لیتر محلول

اسیدی (pH=۲/۰) اضافه شد در دمای ۹۰°C درجه سانتیگراد

برای ۱۸۰ دقیقه نگهداری شد. هر ۳۰ دقیقه نمونه برداری

انجام شد و پس از خنک شدن در حمام یخ، جذب محلول

در طول موج ۷۰۰، ۵۲۰ nm اندازه‌گیری شد و درصد

رنگ محاسبه شد [۲۶].

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- راندمان استخراج، محتوای آنتوسیانین کل و

## محتوای فنول کل

نتایج در جدول ۱ نشان داده شد. پوست انار سرشار از ترکیبات فنلی و آنتوسیانین می باشد. در پژوهشی توسط ماران و همکاران [۲۸] ترکیبات فنلی و آنتوسیانین با سیال فوق بحرانی از پالپ میوه استخراج شد با افزایش فشار (۲۰۰ بار) محتوای ترکیبات فنلی و آنتوسیانین افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان به ترتیب ۱۱۴۴ و ۲۳۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم محاسبه شد. همچنین در پژوهش بوسامانت و همکاران [۲۹] که ترکیبات فنلی پوست انار با سیال فوق بحرانی استخراج کردند، بیشترین میزان ترکیبات فنلی استخراجی معادل ۸/۹۴ میلی گرم اسید گالیک در گرم با شرایط استخراجی (اتانول ۲۰٪، دما ۴۰ درجه و فشار ۴۰۰ بار) را گزارش دادند. کمترین میزان استخراج با افزایش دما و کاهش درصد اتانول در همان فشار معادل ۱/۲۴ میلی گرم اسید گالیک در گرم گزارش دادند.

لیتر) به ۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴/۰ DPPH در متانول اضافه گردید و به شدت هم زده شد. بعد از ۳۰ دقیقه گرم خانه گذاری در دمای ۲۵ °C، جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر مقابل نمونه شاهد شد. در این آزمایش از TBHQ با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۲۷].

$$\%I = \frac{A \text{ blank} - A \text{ sample}}{A \text{ blank}} \times 100$$

## ۹-۲- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه روش های آماری در این پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه تحلیل شد و برای نشان دادن حداقل تفاوت معنی داری در سطح اطمینان بالاتر از ۹۵ درصد ( $P_{\text{value}} \leq 0.05$ ) از آزمون دانکن استفاده شد. نتایج در قالب میانگین با انحراف استاندارد نشان داده شد و به منظور کاهش خطا، کلیه آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد.

**Table 1** Efficiency Extraction, Total Anthocyanin Content and Total Phenolic Content Supercritical CO<sub>2</sub> extract

Extraction	Efficiency Extraction	Total Anthocyanin Content (mg/g)	Total Phenolic Content(mg GA/100g)
Supercritical CO <sub>2</sub>	11.499±0.965	3.943±0.133 <sup>b</sup>	504.521±2.379 <sup>a</sup>

$P_{\text{value}} \leq 0.05$

پیک ۳۴/۶۵٪ است. اندازه ذرات ۱۰٪ از نمونه کمتر ۱۰۰ نانومتر می باشد. میانگین اندازه ذرات نانوریزپوشانی شده ۳۰۸ نانومتر می باشد. در پژوهشی توسط مورالی و همکاران [۳۰] بیان کردند زمانی که از صمغ به عنوان دیواره در ریزپوشانی عصاره آنتوسیانین استفاده کردند باعث غیر یکنواختی در توزیع ذرات شد.

## ۳-۲- آزمون خواص نانوریزپوشانی

## ۳-۲-۱- اندازه ذرات نانوریزپوشانی

اندازه ذرات نانوریزپوشانی عصاره آنتوسیانینی توسط دستگاه اسکاتروسکوپ ۱ (شرکت Qudix کره جنوبی) اندازه گیری شد (نمودار ۱). همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شد اندازه ذره در پیک اول ۱۷۹ نانومتر، درصد توزیع ذرات در این

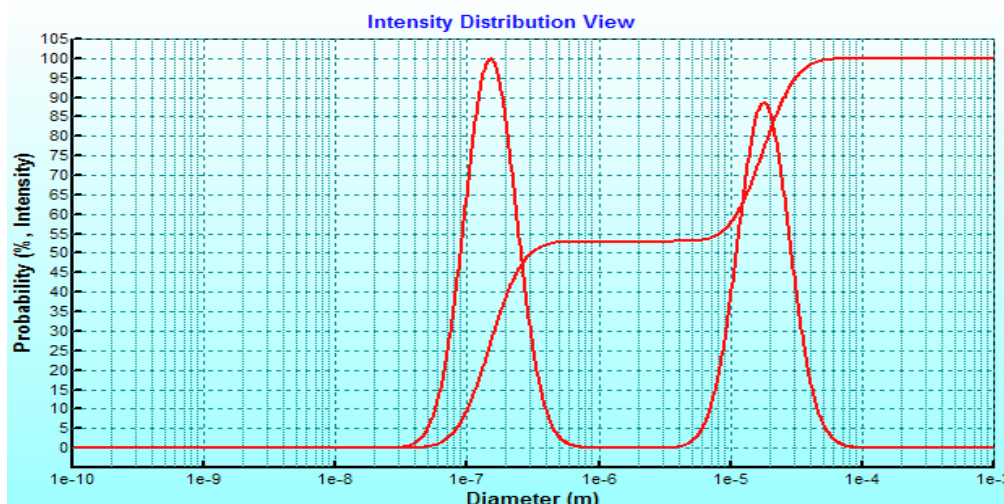


Fig 1 Droplets size distribution of nanoencapsulated extract with *Lepidium perfoliatum* and maltodextrin

نتایج نشان می‌دهد ترکیب صمغ دانه قدومه شهری با مالتودکسترین نسبت به دیگر ترکیبات ذکر شده با عصاره استخراج CO<sub>2</sub> فوق بحرانی باند شده است در نتیجه راندمان بالاتری داشته است. همچنین نتایج نشان داد ترکیبات دیواره، پوشش مناسب تری برای حفظ آنتوسیانین نسبت به ترکیبات فنولی هستند. در گزارشی توسط بوسامانت و همکاران [۲۹] ترکیبات فنول پوست انار حاصل از استخراج سیال فوق بحرانی با نشاسته اصلاح شده ریزپوشانی کردند بیان کردند بیشترین راندمان ترکیبات فنولی (پونیکالازین) ۷۲ درصد بوده است. در این پژوهش راندمان نانوریزپوشانی ترکیبات فنولی توسط مالتودکسترین و صمغ قدومه شهری  $71.0 \pm 0.77/44.3\%$  بود که نسبت به نشاسته اصلاح شده پوشش مناسب تری می باشد.

### ۲-۲-۳- راندمان نانوریزپوشانی ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی

نتایج در جدول ۲ نشان داده شد ترکیب صمغ قدومه شهری و مالتودکسترین، پوشش مناسبی برای ترکیبات آنتوسیانین حاصل از استخراج فوق بحرانی می باشند. در پژوهشی توسط مهدوی و همکاران [۳۱] بر روی ریزپوشانی کردن آنتوسیانین (۵۰٪ دیواره/هسته) گزارش دادند که در راندمان ریزپوشانی با دیواره مالتودکسترین/صمغ عربی، مالتودکسترین/ژلاتین و مالتودکسترین به ترتیب ۸۹٪، ۸۷٪ و ۸۶٪ بود. در راندمان نانوریزپوشانی با همین نسبت هسته به دیواره توسط صمغ دانه قدومه شهری و مالتودکسترین در استخراج CO<sub>2</sub> فوق بحرانی  $69.0 \pm 0.93/53.7\%$  بود. در واقع

Table 2 Nanoencapsulated efficiency of anthocyanin and phenolic compounds of the extract

Sample	Encapsulation Efficiency of Phenol	Encapsulation Efficiency of Anthocyanin
Supercritical CO <sub>2</sub>	$77.443 \pm 0.710^b$	$93.537 \pm 0.690^a$

$P_{\text{Value}} \leq 0.05$

### ۳-۳-۱- اثر زمان و pH های مختلف بر رهائش و پایداری

آنتوسیانین نانوریز پوشانی شده

### ۳-۳-۲- آزمون پایداری رنگ و فعالیت آنتی اکسیدانی



مهم و تاثیرگذار در این آزمون تاثیرپذیری دیواره و آنتوسیانین نسبت به pH می باشد. افزایش pH منجر به گسترش ساختار صمغ قدومه شهری می شود [۳۳] در نتیجه رهایش با افزایش pH افزایش می یابد همینطور آنتوسیانین ها در pH بالا ناپایدار هستند. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شد رهایش آنتوسیانین در pH=۷ در ابتدا بیشتر از دیگر pHها می باشد اما به دلیل ناپایداری آن شیب رهایش کاهش می یابد که نشان از ناپایداری آنتوسیانین است.

نتایج نشان داد رهایش ترکیبات آنتوسیانینی تحت تاثیر pH قرار گرفت رهایش آنتوسیانین اختلاف معنی داری در سطح ۹۵ در صد باهم داشتند. رهایش آنتوسیانین در pH=۲ به صورت خطی بوده است. بیشترین میزان آنتوسیانین در pH=۲ نشان دهنده پایداری آنتوسیانین در محیط اسیدی بوده است. محققان بیان کردند در pH اسیدی عصاره آنتوسیانین پایدارتر از pH قلیایی است و همچنین میزان آنتوسیانین کمتری را با افزایش pH گزارش دادند [۲۵،۳۲]. دو عامل

**Table 3** Release percentage of anthocyanin compounds of nanoencapsulated extract in 120 minutes at different pH (2.0, 5.0 and 7.0)

pH	Time(min)					
	0	5	15	30	60	120
2	8.852±0.132 <sup>c</sup>	15.844±0.419 <sup>c</sup>	19.751±0.841 <sup>c</sup>	34.336±0.284 <sup>c</sup>	62.383±0.718 <sup>c</sup>	100 <sup>a</sup>
5	10.643±0.227 <sup>a</sup>	24.867±0.475 <sup>b</sup>	57.732±0.899 <sup>a</sup>	73.423±0.938 <sup>a</sup>	84.824±1.352 <sup>a</sup>	87.329±1.293 <sup>c</sup>
7	10.123±0.073 <sup>b</sup>	34.150±0.162 <sup>a</sup>	36.627±0.333 <sup>b</sup>	64.499±0.820 <sup>b</sup>	72.838±1.003 <sup>b</sup>	89.627±0.819 <sup>b</sup>

P<sub>Value</sub>≤0.05

داده است. از دیگر عوامل ایجاد رنگ می توان به پلیمریزاسیون با افزایش دما و همچنین وجود ترکیبات پرو-آنتوسیانیدین در عصاره اشاره کرد. در پژوهشی توسط وانگ و همکاران [۳۳] بیان کردند که ۲/۶۵٪ ترکیبات پرو-آنتوسیانیدین ۳/۹۲٪ ترکیبات فلاونوئیدی از پوست انار استخراج گردید.

### ۲-۳-۳- اثر دما بر روی کارایی رنگ آنتوسیانین نانوریزپوشانی شده

نتایج در جدول ۴ نشان داد عصاره نانوریزپوشانی شده در دماهای مختلف در مدت زمان ۳۰ دقیقه افزایش رنگ دارند. علت آن افزایش رهایش آنتوسیانین ها با افزایش دما می باشد و بیشترین رهایش در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد رخ

**Table 4** Anthocyanin dye percentage of nanoencapsulated extract at different temperatures (25-100°C) at pH=2.0

Sample	Temperature (°C)						
	40	50	60	70	80	90	100
Supercritical CO <sub>2</sub> (%)	110.42	118.22	126.08	140.5	169.29	178.17	181.36
	2±0.595 <sup>g</sup>	1±1.015 <sup>f</sup>	9±0.547 <sup>e</sup>	90±0455 <sup>d</sup>	0±1.414 <sup>c</sup>	5±0.620 <sup>b</sup>	0±1.551 <sup>a</sup>

P<sub>Value</sub>≤0.05

نتایج (جدول ۵) نشان داد، حرارت ابتدا منجر به افزایش رنگ در عصاره نانوریز پوشانی شده می شود. بیشترین افزایش رنگ در ۱۵۰ دقیقه مشاهده شد در زمان ۱۸۰ دقیقه کاهش رنگ مشاهده شد. نگهداری طولانی مدت آنتوسیانین ها در دمای بالا منجر به نابودی آنتوسیانین ها می

### ۳-۳-۳- اثر پایداری حرارتی آنتوسیانین نانو ریزپوشانی شده و پلیمریزاسیون

گذشت زمان پلیمریزاسیون افزایش یافته است و همچنین آنتوسیانین ها در دمای بالا ناپایدار هستند. تسای و همکاران [۳۵] بیشترین میزان پلیمریزاسیون ۸۵٪ در دمای ۱۴۶°C گزارش دادند که نتایج این پژوهش را تایید می کند.

شود. میزان پلیمریزاسیون در زمان صفر ۸۵/۶۳۶±۰/۷۴۴<sup>e</sup> بود که نشان دهنده پیوند آنتوسیانین ها در کربن شماره ۴ با دیگر ترکیبات می باشد. بیشترین پلیمریزاسیون بعد از ۱۸۰ دقیقه ۹۷/۶۹۴±۰/۹۴۴<sup>a</sup> همکاران [۲۶] بر روی عصاره خشک آنتوسیانین در محلول اسیدی در دمای ۴۵ درجه نگهداری کردند بیان کردند با

**Table 5** Percentage of dye and polymerization of Nano-encapsulated anthocyanin extract for 180 minutes at pH=2.0 and temperature 90 °C

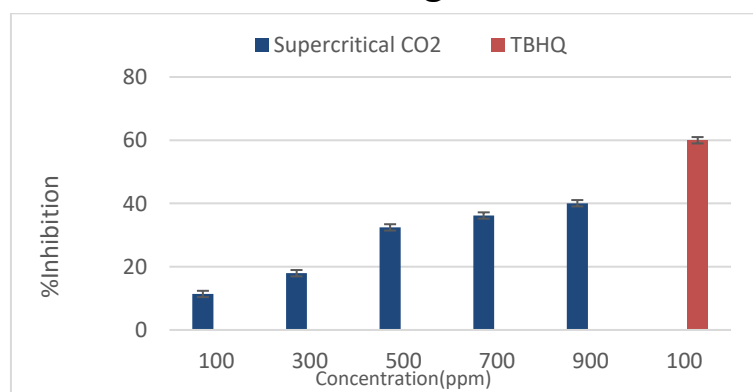
Supercritical CO <sub>2</sub>	Heating Time(min)						
	zero	30	60	90	120	150	180
Color (%)	100 <sup>e</sup>	178.175±1.029 <sup>f</sup>	184.789±1.876 <sup>e</sup>	205.061±1.213 <sup>d</sup>	215.796±1.428 <sup>b</sup>	232.152±1.405 <sup>a</sup>	209.938±1.297 <sup>c</sup>
Polymerization (%)	85.636±0.744 <sup>e</sup>	87.384±0.661 <sup>d</sup>	95.812±1.437 <sup>b</sup>	90.384±1.033 <sup>c</sup>	95.814±1.011 <sup>b</sup>	90.635±1.950 <sup>c</sup>	97.694±0.944 <sup>a</sup>

P<sub>Value</sub>≤0.05

نشان می دهد با افزایش غلظت درصد مهارکنندگی عصاره افزایش یافت و اختلاف معنی داری بین درصد مهارکنندگی عصاره نانوریزپوشانی شده در غلظت های مختلف مشاهده شد. به طوری که IC<sub>50</sub>= ۱/۰۹۲±۰/۰۲۴ میلی گرم در گرم گزارش شد و همچنین درصد مهارکنندگی TBHQ در این آزمون با غلظت ۱۰۰ ppm، ۶۰٪ محاسبه شد. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می شود. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره با افزایش غلظت از ۱۰۰ به ۹۰۰ ppm افزایش یافته است. پژوهشگران بیان کردند با افزایش غلظت عصاره پوست انار و دیگر عصاره ها با افزایش غلظت فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره افزایش یافته است [۳۹،۴۰] که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

#### ۴-۳-۳-آزمون DPPH

DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با رنگ بنفش است که در حضور آنتی اکسیدان ها به زرد تغییر می کند. به طور کلی، کاهش ظرفیت رادیکال آزاد DPPH با کاهش جذب آن در ۵۱۷ نانومتر تعیین می شود [۳۶]. با افزایش غلظت یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنولی، فعالیت مهار رادیکال DPPH نیز افزایش یافته و به عنوان فعالیت آنتی اکسیدانی تعریف می شود [۳۷]. کل سیستم به دلیل حساسیت زیاد رادیکال های آزاد در حضور اهداکنندگان هیدروژن در غلظت بسیار کمی انجام می شود [۳۸]. نتایج مهارکنندگی عصاره نانوریزپوشانی حاصل استخراج CO<sub>2</sub> فوق بحرانی و آنتی-اکسیدان سنتزی TBHQ در نمودار ۲ نشان داده شد. نتایج



**Fig 2** DPPH radical scavenging activity of extract and TBHQ.

P<sub>Value</sub>≤0.05

## ۴- نتیجه گیری

محصول می شوند. عصاره حاصل از استخراج CO<sub>2</sub> فوق بحرانی پایداری رنگ خوبی در pH اسیدی و دما داشت و همچنین قدرت مهارکنندگی رادیکالی بالایی را از خود نشان داد به طوری که با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی-اکسیدانی افزایش یافت. با توجه به بومی بودن میوه انار و تولید صنعتی آب میوه انار در کشور و در نتیجه تولید مقدار زیادی پوست انار به عنوان ضایعات جانبی که دارای مقدار زیادی ترکیبات آنتی اکسیدانی بالقوه و رنگدانه آنتوسیانین می باشد، می توان از آن در صنعت غذا و دارو بهره جست.

## ۵- منابع

- [1] Abid, M., Cheikhrouhou, S., Renard, C. M. G. C., Bureau, S., Cuvelier, G., Attia, H., & Ayadi, M. A. 2017. Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties. *Food Chemistry*, 215: 318-325.
- [2] Mehdipour Biregani, Z., Sharifan, A. 2021. Extraction of bioactive compounds from pomegranate: A review. *Journal of Food Bioprocess Engineering*.
- [3] Çam, M., İcyer, N. C., & Erdoğan, F. 2014. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1): 117-123.
- [4] Shaban, N. Z., El-Kersh, M. A. L., El-Rashidy, F. H., & Habashy, N. H. 2013. Protective role of Punica granatum (pomegranate) peel and seed oil extracts on diethylnitrosamine and phenobarbital-induced hepatic injury in male rats. *Food Chemistry*, 141(3): 1587-1596.
- [5] Kaderides, K., Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. 2015. A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 31: 204-215.
- [6] Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4): 426-436.
- [7] Ilaiyaraja, N., Likhith, K. R., Sharath Babu, G. R., & Khanum, F. 2015. Optimisation of extraction of

در این پژوهش عصاره پودر پوست انار با استفاده از CO<sub>2</sub> فوق بحرانی استخراج شد. از حلال اتانول به منظور استخراج بهتر ترکیبات قطبی استفاده شد و سپس با مالتودکسترین و صمغ دانه قدومه شهری نانوریزپوشانی گردید. نتایج نشان داد پوست انار سرشار از ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی است و همچنین ترکیب صمغ دانه قدومه شهری و مالتودکسترین پوشش مناسبی برای ترکیبات آنتوسیانین و فنولی پوست انار

- bioactive compounds from *Feronia limonia* (wood apple) fruit using response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*, 173: 348-354
- [8] Galván D'Alessandro, L., Dimitrov, K., Vauchel, P., & Nikov, I. 2014. Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) wastes. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(10): 1818-1826.
- [9] da Silva, R. P. F. F., Rocha-Santos, T. A. P., & Duarte, A. C. 2016. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76: 40-51.
- [10] Kuang, S. S., Oliveira, J. C., & Crean, A. M. 2010. Microencapsulation as a Tool for Incorporating Bioactive Ingredients into Food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10): 951-968.
- [11] Mahdavee Khazaei, K., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Hemmati Kakhki, A. 2014. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 105: 57-62.
- [12] Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Assadpoor, E. 2014. Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers: A Review. *Drying Technology*, 32(5): 509-518.
- [13] Chranioti, C., & Tzia, C. 2014. Arabic Gum Mixtures as Encapsulating Agents of Freeze-Dried Fennel Oleoresin Products. *Food and Bioprocess Technology*, 7(4): 1057-1065.
- [14] Fernandes, R. V. d. B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. 2014. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101: 524-532.
- [15] Kandansamy, K., & Somasundaram, P. D. 2012. Microencapsulation of Colors by Spray Drying - A

- Review %J International Journal of Food Engineering. 8(2).
- [16]Bagheri, H., Graily, Z., Kashani Nejad, M., 2015, Evaluation of changes rheological gum *Lepidium perfoliatum* as a function of concentration and solidification process AND comparison with commercial Xanthan gum, Journal of Food technologies, 9: 33-42.
- [17]Ghafoor, K., Park, J., & Choi, Y.-H. 2010. Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (*Vitis labrusca* B.) peel by using response surface methodology. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 11(3): 485-490.
- [18]Kırca, A., & Cemeroğlu, B. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. Food Chemistry, 81(4): 583-587.
- [19]Singh, R. P., Murthy, K. N. C., & Jayaprakasha, G. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 81–86.
- [20]Razavi, S.M.A., A. Bostan, S. Niknia and S. Razmkhah. 2011, Functional properties of hydrocolloid extracted from selected domestic Iranian seeds, Journal of Food Research, 21(3): 380-389.
- [21]Carneiro, H. C. F., Tonon, R. V., Grosso, C. R. F., & Hubinger, M. D. 2013. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. Journal of Food Engineering, 115(4): 443-451.
- [22]Sadeghian, A. R., Kadkhodae, R., Farhoosh, R., Koocheki, A., & Najaf Najafi, M. 2013. Investigating the effect of whey protein-starch conjugate on quality attributes of oil-in-water emulsion. Journal of research and innovation in food science and technology, 2(2): 139-152.
- [23]AOAC 2005. AOAC Official Method 2005.02: Total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Ed., (H. HOROWITZ, Ed.) AOAC, Washington
- [24]Barbosa, M. I. M. J., Borsarelli, C. D., & Mercadante, A. Z. 2005. Light stability of spray-dried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. Food Research International, 38(8): 989-994.
- [25]Assous, M. T. M., Abdel-Hady, M. M., & Medany, G. M. 2014. Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. Annals of Agricultural Sciences, 59(1): 1-7.
- [26]Le, X. T., Huynh, M. T., Pham, T. N., Than, V. T., Toan, T. Q., Bach, L. G., & Trung, N. Q. 2019. Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of the Anthocyanin Extract from Vietnamese *Carissa Carandas* L. Fruits. 7(7): 468.
- [27]Saviz A., R. Esmaeilzadeh Kenari and M.A. Khalil zadeh Kelagar. 2015. Investigation of Cultivate Zone and Ultrasound on Antioxidant Activity of Fenugreek Leaf Extract. Journal of Applied Environmental and Biological 14 Sciences, 4(11S): 174-181
- [28]Maran, J. P., Priya, B., & Manikandan, S. 2014. Modeling and optimization of supercritical fluid extraction of anthocyanin and phenolic compounds from *Syzygium cumini* fruit pulp. Journal of Food Science and Technology, 51(9): 1938-1946.
- [29]Bustamante, A., Hinojosa, A., Robert, P., & Escalona, V. 2017. Extraction and microencapsulation of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* var. Wonderful) residues. International Journal of Food Science & Technology, 52(6): 1452-1462.
- [30]Murali, S., Kar, A., Mohapatra, D., & Kalia, P. 2014. Encapsulation of black carrot juice using spray and freeze drying. Food Science and Technology International, 21(8): 604-612.
- [31]Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. 2016. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. International Journal of Biological Macromolecules, 85: 379-385.
- [32]Sui, X., Dong, X., & Zhou, W. 2014. Combined effect of pH and high temperature on the stability and antioxidant capacity of two anthocyanins in aqueous solution. Food Chemistry, 163: 163-170.
- [33]Koocheki, A., Hesarnejad, M. A. J. E. N. H. R., & Functions. 2019. Qodume Shahri (*Lepidium perfoliatum*) Seed Gum. 251-272.[33] Wang, Z., Pan, Z., Ma, H., & Atungulu, G. G. J. T. o. f. s. j. 2011. Extract of phenolics from pomegranate peels The Open Food Science Journal. 5(1).
- [34]Wang, Z., Pan, Z., Ma, H., & Atungulu, G. G. J. T. o. f. s. j. 2011. Extract of phenolics from pomegranate peels. 5(1).
- [35]Tsai, P.-J., & Huang, H.-P. 2004. Effect of polymerization on the antioxidant capacity of anthocyanins in Roselle. Food Research International, 37(4): 313-318.
- [36]Duh, P. D. 1998. Antioxidant activity of burdock (*Arctium lappa* Linne): its scavenging effect on free-radical and active oxygen. Journal of the American Oil Chemists' Society. 75(4):455–461.
- [37]Zhou, K., & Yu, L. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. LWT - Food Science and Technology, 37(7): 717-721.
- [38]Iqbal, S., M. I. Bhangar, M. Akhtar, F. Anwar, K. R. Ahmed, and T. Anwer. 2006. Antioxidant

properties of methanolic extracts from leaves of *Rhazya stricta*. *Journal of Medicinal Food*, 9:270–275.

[39]Esmailzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F., & Amiri, Z. R. 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food Science & Nutrition*, 2(4): 426-435.

[40]Sandhya, S., Khamrui, K., Prasad, W., & Kumar, M. C. T. 2018. Preparation of pomegranate peel extract powder and evaluation of its effect on functional properties and shelf life of curd. *LWT*, 92: 416-421.



## Evaluation of supercritical CO<sub>2</sub> extraction on color stability and antioxidant activity of nanoencapsulated anthocyanin extract of pomegranate peel powder

Niloofer Zahed<sup>1</sup>, Reza Esmaeilzadeh Kenari<sup>2</sup> \*, Reza Farahmandfar<sup>3</sup>

1-Master student of Food Industry Science and Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2-Professor, Department of Food Industry Science and Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

3-Associate Professor, Department of Food Industry Science and Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received: 2021/4/25

Accepted: 2021/7/6

#### Keywords:

Phenolic compounds,  
Release,  
pH,  
Temperature,  
DPPH

**DOI:** 10.22034/FSCT.21.153.29.

\*Corresponding Author E-  
Reza\_kenari@yahoo.com

### ABSTRACT

In this study, anthocyanin and phenolic compounds were extracted from pomegranate peel powder with supercritical CO<sub>2</sub> and *Lepidium perfoliatum* seed gum and maltodextrin were used as the nanoencapsulation wall. The nanoencapsulation extract was dried with a freeze dryer. Color stability and antioxidant activity of nanoencapsulation extract were evaluated. The levels of anthocyanin and phenolic compounds were evaluated by differential pH and Folin-Ciocalteu method, respectively. Particle size, nanoencapsulation efficiency of anthocyanin, nanoencapsulation phenol, color stability at different temperatures and pH as well as antioxidant activity were evaluated by DPPH. The amount of anthocyanin and phenol extracted in this method was 3.943±0.133 mg/g of pomegranate peel powder and 504.521±2.537 mg/g of gallic acid per 100 g, respectively. Nanoencapsulation efficiency was higher for anthocyanin than phenols. The release of anthocyanin at different pHs was different, so that anthocyanin behaved differently at different pHs. Polymerization and color increased with increasing temperature. The antioxidant activity of the fine-grained extract by DPPH method increased with increasing concentration and its IC<sub>50</sub> was equivalent to 1.092± 0.024 m/ml.