مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

کاربرد روش استخراج آب مادون بحرانی در عصاره گیری از صمغ کندر و بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره‌ها

سحر گلچین[۱]، بهاره حاجی رستملو[۱*]، زهره دیدار[۱]، محسن وظیفه دوست[۱]، مرتضی محمدی[۲]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۲- گروه فرآوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱ /۰۴/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۶

کلمات کلیدی:

آب مادون بحرانی،

آسپرژیلوس فلاووس،

صمغ کندر،

قدرت رادیکال گیرندگی،

لاکتوباسیلوس.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2

* مسئول مکاتبات:

rostamlo_b214@yahoo.com

چکیده

استخراج به روش آب مادون بحرانی، به‌عنوان روشی کارآمد، اقتصادی و دوست‌دار محیط زیست، به‌منظور استخراج ترکیبات موثره صمغ کندر مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از آب مادون بحرانی در دماهای ۱۲۰ تا ۱۶۰ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۵ و ۱۵ دقیقه استفاده و مقدار ترکیبات فنولی کل، قدرت رادیکال گیرندگی و خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های حاصل مورد بررسی قرار گرفت. عصاره به‌دست آمده با بهترین خصوصیات، به روش خشک کن پاششی انکپسوله شد و خصوصیات آن شامل توزیع اندازه ذرات و خاصیت ضدآسپرژیلوسی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که روش استخراج آب مادون بحرانی، تاثیر معنی داری در افزایش راندمان استخراج عصاره صمغ کندر داشته است.بیشترین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده در روش آب مادون بحرانی در دمای ۱۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۱۵ دقیقه مشاهده شد که مقدار آن ۱۳۰/۸۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های حاصل از روش آب مادون بحرانی مشابه با آنتی اکسیدان طبیعی اسید آسکوربیک بود و عصاره حاصل از روش سنتی خیساندن کارایی کمتری در جذب رادیکال‌های آزاد DPPH داشت. نتایج میکروبی نشان داد که تاثیر عصاره‌های حاصل از روش‌های خیساندن و آب مادون بحرانی، بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، بیشتر از باکتری ایشرشیاکلی بوده است. پودر ریزپوشانی شده کندر در غلظت‌های کمتر از ۶۰۰ هزار میلی‌گرم بر لیتر فاقد قدرت ضدآسپرژیلوسی بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

۱- مقدمه

صمغ کندر از درختی با نام علمی *Boswellia serrata* به دست می‌آید که در مناطق مختلفی از شرق آفریقا، خاورمیانه و هند کشت شده و از دیرباز با اهداف درمانی در این مناطق مورد استفاده بوده است. در طب ایرانی و هندی قدیمی از خاصیت ضدالتهابی صمغ و عصاره کندر بسیار استفاده شده است و در چندین پژوهش به خواص درمانی آن برای درمان آسم، آرتریت روماتوئید و استئوآرتریت اشاره شده است[۱-۳]. علاوه بر آن صمغ کندر در برابر برخی آنزیم‌ها مانند لیپوکسی ژناز دارای خاصیت مهارکنندگی نیز می‌باشد[٤-٦]. خواص ضدالتهابی صمغ کندر به بوسولیک اسید[1] مربوط است که می‌بایست استخراج شده تا اثربخشی آن بیشتر شود [۷]. علاوه بر آن سایر ترکیبات مانند ترکیبات فنولی نیز دارای خواص ضداکسیدانی و ضدمیکروبی می‌باشند [۸].

ترکیبات فنولی به روش‌های مختلفی از منابع گیاهی استخراج می‌شوند و برای این کار معمولا از روش‌های سنتی استفاده می‌شده است. اما در سال‌های اخیر گرایش به استفاده از روش‌های دوست‌دار محیط زیست و ایمن افزایش یافته است. از جمله این روش‌ها می‌توانبه استخراج مادون بحرانی آب، روش مایکروویو، فراصوت، میدان‌های الکتریکی پالسی، آب مادون بحرانی و ... اشاره نمود [۹ و ۱۰].

روش استخراج آب مادون بحرانی[2](SCW) یک روش استخراج سبز، پیشرفته و با صرفه اقتصادی (techno-economically) می‌باشد که قابلیت جایگزینی با روش‌های متداول استخراج توسط حلال را دارا می‌باشد.دراین روش از آب به‌عنوان حلال استفاده می‌شود. در روش استخراج توسط آب مادون بحرانی، از آب به‌عنوان حلال استخراج استفاده می‌شود. آب یک حلال در دسترس، ارزان، غیر قابل اشتعال، تجدید پذیر، غیرسمی بوده و بر محیط زیست فاقد اثرات سو می‌باشد. از دیگر مزایای روش آب مادون بحرانی در مقایسه با روش‌های سنتی و مرسوم استخراج، می‌توان به زمان کوتاه‌تر استخراج و راندمان استخراج بالاتر آن اشاره نمود[۱۱-۱٤].

آب مادون بحرانی، سیالی است که ثابت دی‌الکتریک آن به طور چشمگیری کاهش می‌یابد. ثابت دی الکتریک آب وابستگی بالایی به قطبیت و دمای زیر بحرانی (under elevated) فرایند SCW دارد. کاهش ثابت دی الکتریک آب، خواص انحلالی آن را افزایش می‌دهد. از اینرو ترکیبات غیرقطبی در آب مادون بحرانی، قابلیت انحلال بیشتری پیدا می‌کنند. علاوه بر آن نرخ انتقال جرم، در اثر کاهش ویسکوزیته و کشش سطحی آب، افزایش یافته و منجر به افزایش ضریب نفوذ حلال می‌گردد [۱۵-۱۸].

انکپسولاسیون تکنیکی است که در صنایع مختلفی کاربرد دارد و در بخش‌های آنزیم سازی، تولید سلول‌ها و یاخته‌ها در مقیاس بسیار ریز کاربرد دارد. به دلیل اینکه ترکیبات محصور شده را می‌توان در برابر گرما، رطوبت، اکسیژن و سایر شرایط محافظت نمود، کاربرد انکپسولاسیون افزایش یافته است. استفاده از این تکنولوژی باعث افزایش ماندگاری محصول و حفظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن شده و از کاهش خواص حسی و ارگانولپتیک آن جلوگیری می‌نماید [۱۹].

کپسوله سازی و میکروسیال سازی هر دو شامل ترکیب مواد غذایی، آنزیمها، سلولها یا سایر مواد در کپسولهای کوچک است. با اینحال، کاربردهای کپسوله‌سازی در صنایع غذایی افزایش یافته است زیرا مواد محصور شده را می‌توان در برابر رطوبت، گرما یا سایر شرایط شدید محافظت کرد و پایداری و ماندگاری را حفظ نمود. کپسوله کردن روغنهای خوراکی توسط ذرات پودر، حاوی کربوهیدرات یا پروتئین، یک فرآیند علمی است که برای محافظت از روغنهای چندغیراشباع از اکسیداسیون و در نتیجه حفظ طعمها دنبال میشود.

از این‌رو هدف از این مطالعه استخراج ترکیبات موثره از کندر به روش SCW و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی، ضدمیکروبی و ضدآسپرژیلوسی عصاره‌های آن و همچنین مقایسه نتایج روش استخراج SCW با روش سنتی خیساندن بود. علاوه بر آن تفاوت ترکیبات استخراج شده در این دو روش نیز مورد بررسی قرار گرفت.

1boswellic acid
2Subcritical Water

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-تهیه مواد اولیه

تمامی محلول‌های شیمیایی و محیط‌های کشت از شرکت مرک آلمان، سوش‌های باکتریایی از بانک میکروبیولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و دیسک‌های جنتامایسین از شرکت پادتن طب تهیه گردید.

۲-۲-عصاره‌گیری به روش خیساندن

نسبت ۱:۳۰ از آب مقطر و کندر تهیه شد و به مدت ۱۸ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. پس از آن عصاره حاصل، صاف و درون ظروف مقاوم در برابر نفوذ نور نگهداری شد[۲۰].

۲-۳-عصاره‌گیری با استفاده از آب مادون بحرانی

دراین روش نسبت ۱:۳۰ از آب مقطر و کندر تهیه و با استفاده از دستگاه استخراج کننده مادون بحرانی آب (طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه فناوری‌های نوین موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران)، (در دماهای۱۲۰ و ۱۶۰درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ و۱۵ دقیقه) انجام و عصاره حاصل صاف و درون ظروف مقاوم در برابر نفوذ نور نگهداری گردید[۱۵].

۲-٤-تولید پودر ریزپوشانی شده عصاره صمغ کندر

برای این منظور از مالتودکسترین به عنوان ماده دیواره و جهت ایجاد یک پوشش در اطراف آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده از کندر استفاده شد. غلظت ۲۰ درصد از عصاره کندر حاوی مالتودکسترین تهیه و با استفاده از همزن مغناطیسی به خوبی همگن گردید. محلول حاصل توسط خشک کن پاششی (Buchi, B-191, Switzerland) در دمای ۱۶۰-۱۸۰ درجه سانتیگراد خشک و پودر حاصل درون ظروف مقاوم در برابر نفوذ رطوبت و نور تا زمان مصرف نگهداری شد[۱۹].

۲-۵-اندازه‌گیری راندمان استخراج

راندمان عصاره‌گیری با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

رابطه (۱)

$$\text{Extraction Efficiency\%} = (m_1-m_0)/m_2\times100$$

که در آن m_0 وزن پلیت خالی، m_1 وزن پلیت و نمونه خشک شده و m_2 وزن پلیت و نمونه می‌باشد[۲۰].

۲-٦-سنجش میزان ترکیبات فنولی کل[3] (TPC)

برای تعیین فنول کل، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره آنتی اکسیدانی با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۱۰ ٪ و ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵٪ مخلوط شده و سپس جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shmadzu, UV-160A, Japan) در طول موج ۷٦۰ نانومتر قرائت گردید. برای محاسبه مقدار ترکیبات فنولی برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده گیاهی، از منحنی استاندارد ترسیم شده در غلظت‌های ۰ تا ۲۰۰ppm استفاده شد [۲۱].

۲-۷-بررسی قدرت رادیکال گیرندگی

برای این منظور غلظت ثابتی از عصاره‌های کندر تهیه و ۳ میلی‌لیتر از آن با ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH (۵۰۰ میکرومولار) مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در مکان تاریک، جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد[۱۵].

رابطه (۲)

$$\text{RSA\%} = (\text{Ablank} - \text{Asample} / \text{Ablank}) \times 100$$

در این فرمول Ablank جذب نمونه شاهد، Asample جذب عصاره آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

۲-۸-بررسی قدرت ضد میکروبی

۲-۸-۱- تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد باکتری (MIC)

جهت ارزیابی شاخص (MIC) ابتدا کشت باکتریایی از باکتری‌های اشرشیاکلی ٤٦٣٨٩ ATCC و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC۹۵۳۸ در محیط کشت مولرهینتون به مدت ۲٤ ساعت برای تمامی باکتری‌های مذکور انجام شد. سپس برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی با استاندارد ۰/۵ مک فارلند، ابتدا باکتری‌های لیوفلیزه به طور جداگانه روی محیط کشت مولرهینتون براث (مرک آلمان) تلقیح و کشت میکروبی به‌منظور رسیدن به فاز لگاریتمی به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷

3 Total Phenolic Compounds (TPC)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

درجه سانتی‌گراد قرار داده شد[۲۱]. پس از آن جذب نمونه در طول موج ٦٢٠ نانومتر در دستگاه الایزا ریدر (Cormate, State Fax 4300, USA) قرائت گردید.

۲-۸-۲-تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

به‌منظور بررسی حداقل غلظت کشندگی، به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های تعیین شده در روش MIC، به طور جداگانه روی محیط کشت مولرهینتون آگار منتقل گردید و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد[۲۱].

۲-۸-۳-تعیین قدرت ضد آسپرژیلوسی پودر ریزپوشانی شده

برای تعیین قدرت ضد قارچی (MFC) عصاره به‌دست آمده از نقطه بهینه، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی ۰/۵ مک فارلند به محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) حاوی غلظت‌های ۳۰۰ و ٦٠٠ هزار میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره کندر، اضافه و پس از تلقیح با به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۱]

۲-۹-بررسی خصوصیات پودر ریزپوشانی شده

۲-۹-۱-اندازه گیری اندازه ذرات امولسیون و شاخص بس پاشیدگی

متوسط قطر، توزیع اندازه و سطح مخصوص ذرات با کمک دستگاه سنجش اندازه ذرات (Fritsch Analysette, Germany) و با روش توصیف شده توسط موروگکار[4] و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد[۱۹]. این دستگاه قطر ذرات را بر اساس تئوری Mie و از روی پراکنش اشعه لیزر محاسبه نموده و میانگین قطر را تحت عنوان عدد ساتر[5] یا میانگین قطر سطح-وزن ($D_{3,2}$) به دست می‌دهد. سطح مخصوص ذرات (SSA) نیز برحسب m^2/ml از روی قطر متوسط به صورت ذیل محاسبه شد:

رابطه ۳ $$D_{3,2}=\sum z_i d_i^3/\sum z_i d_i^2$$

رابطه ٤ $$SSA=6/D_{3,2}$$

قطر متوسط ذرات که با نماد $D_{4,3}$ (قطر حجم به طول) نمایش داده می‌شود، با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

رابطه ۵ $$D_{4,3}=\sum z_i d_i^4/\sum z_i d_i^3$$

در معادله مذکور Z_i تعداد ذرات با قطر d_i می‌باشد.

برای مقایسه درجه یکنواختی اندازه ذرات نمونه‌ها از شاخصی به نام Span که از معادله زیر محاسبه می‌شود، استفاده شد:

رابطه ٦ $$Span=[d(v,90)-d(v,10)]/d(v,50)$$

در این معادله $d(v,90)$،$d(v,50)$ و $d(v,10)$ به ترتیب قطر متوسط ۹۰، ۵۰ و ۱۰ درصد ذرات پودر می‌باشد.

۲-۱۰-تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از کار آزمایشگاهی با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسات میانگین توسط روش چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ١٦ در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-بررسی راندمان استخراج عصاره

راندمان عصاره‌گیری روش خیساندن و آب مادون بحرانی (در دماها و زمان‌های متفاوت) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که روش خیساندن کمترین تاثیر را در استخراج عصاره از صمغ کندر دارا بوده است. در میان عصاره‌های به‌دست آمده از روش آب مادون بحرانی نیز عصاره به‌دست آمده از دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد و زمان ۵ دقیقه، کمترین مقدار راندمان عصاره‌گیری را دارا بود که با راندمان عصاره گیری روش خیساندن، اختلاف معنی داری نداشت ($p>0.05$) (شکل ۱). بیشترین مقدار راندمان عصاره‌گیری نیز به عصاره حاصل از روش SCW در دمای ١٦٠ درجه سانتی گراد و زمان ۵ دقیقه مربوط بود و اختلاف معنی داری با سایر عصاره‌ها داشت ($p<0.05$). استفاده از آب در شرایط مادون بحرانی، به دلیل دمای بالا و افزایش فشار در حین فرایند، باعث افزایش ضریب نفوذ حلال و قابلیت استخراج عصاره در این روش می‌گردد[۲۲]. هائو[6] و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که با افزایش دما از ۱۱۰ تا ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد، راندمان استخراج عصاره افزایش یافته است [۲۳]. لی[7] و همکاران (۲۰۲۰) بیان داشتند که افزایش دما در

4Murugkar
5Sauter

6Hao
7Li

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

روش آب مادون بحرانی باعث افزایش ضریب نفوذ حلال در نمونه می‌گردد. این تاثیر برای نمونه‌هایی که بافت خشبی و سفت دارند از اهمیت بیشتری برخوردار است [۲۴]

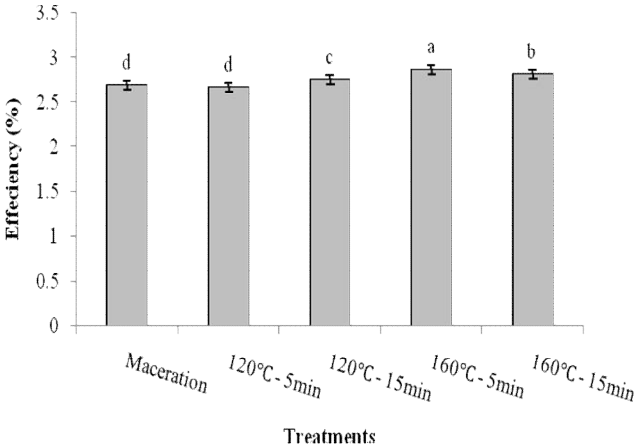

Fig 1 Extraction efficiency of extracts obtained from subcritical water and maceration methods. Statistical analysis was carried out at α<0.05.

۳-۲-بررسی تغییرات مقدار ترکیبات فنولی کل

با توجه به شکل ۳ بالاترین مقدار TPC در عصاره به‌دست آمده از آب مادون بحرانی در دمای ۱۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۱۵ دقیقه به‌دست آمد که با سایر عصاره‌های به‌دست آمده در روش SCW و روش خیساندن اختلاف معنی داری داشت ($p<0.05$) (شکل ۳). مقادیر ترکیبات فنولی در عصاره‌ها با استفاده از نمودار استاندارد ترسیم شده بر حسب گالیک اسید صورت پذیرفت (شکل ۲). با افزایش دما و زمان استخراج در روش SCW مقدار ترکیبات فنولی به صورت معنی داری افزایش یافت. کمترین مقدار ترکیبات فنولی نیز به عصاره حاصل از روش خیساندن مربوط بودکه اختلاف معنی داری با نمونه استخراج شده در روش SCW (دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۵ دقیقه) نداشت ($p>0.05$). با افزایش دما در روش SCW، قابلیت انحلال ترکیبات فنولی نیز افزایش می‌یابد. علاوه بر آن با افزایش دما، ویسکوزیته آب کاهش یافته که مربوط به تاثیر مثبت افزایش دما در روش SCW می‌باشد و منجر به نفوذ راحت‌تر حلال به نمونه می‌گردد[۲۴]. افزایش زمان استخراج در روش SCW به واسطه تماس بیشتر بین آب و نمونه منجر به افزایش راندمان استخراج ترکیبات فنولی شد که این تاثیر از افزایش نفوذ حلال ناشی می‌گردد[۱۵]. روش استخراج SCW برای استخراج ترکیبات فنولی از منابع مختلفی از جمله رزماری[۲۵]، اورگانو[۲۶]، هندوانه[۲۷] و هلو [۲۸] مورد استفاده قرار گرفت. آب مادون بحرانی به دلیل دمای بالای انجام فرایند، ضریب نفوذ بیشتری نسبت به سایر حلال‌های شیمیایی دارد. در روش‌های معمول استخراج که از حلال‌های آلی مانند هگزان، استونیتریل و ... استفاده می‌شود، قابلیت استفاده از دماهای بالا وجود نداشته و این امر منجر به کاهش ضریب نفوذ حلال و کاهش راندمان استخراج ترکیبات فنولی می‌شود.

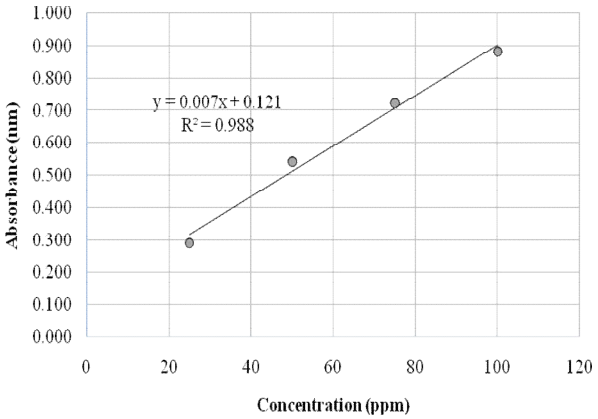

Fig 2 Standard curve of gallic acid.

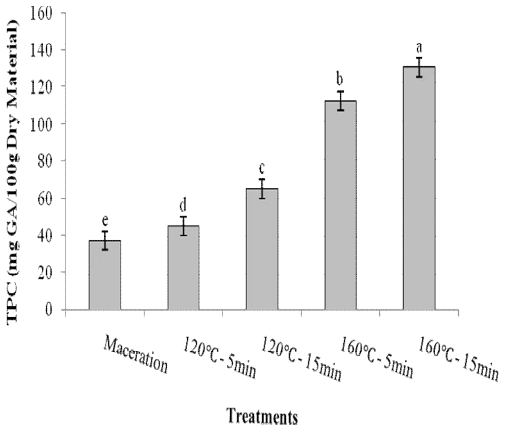

Fig 3 TPC of extracts obtained from subcritical water and maceration methods. Statistical analysis was carried out at α<0.05.

۳-۳- بررسی قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های استخراجی

قدرت جذب رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های استخراج شده به روش SCW و خیساندن مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به شکل ۳ می‌توان بیان نمود که عصاره حاصل از روش خیساندن،

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

کمترین قدرت جذب رادیکال‌های آزاد DPPH را دارا بود که به صورت معنی داری از سایر عصاره‌ها کمتر بود ($p<0.05$).

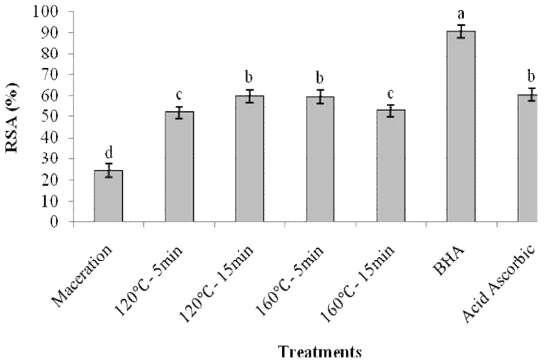

Fig 4 RSA% of extracts obtained from subcritical water and maceration methodscompared to BHA and ascorbic acid antioxidants.
Statistical analysis was carried out at $\alpha<0.05$.

بیشترین قدرت رادیکال گیرندگی نیز به آنتی اکسیدان سنتزی BHA مربوط بود که بصورت معنی داری از سایر عصاره‌های استخراجی بیشتر بود ($p<0.05$). در میان عصاره‌های حاصل از روش SCW، عصاره‌های استخراجی شده در دمای ۱۶۰ و ۱۲۰ درجه سانتی گراد در مدت زمان به ترتیب ۵ و ۱۵ دقیقه، اختلاف معنی داری با یکدیگر و آنتی اکسیدان اسیدآسکوربیک نداشتند ($p>0.05$). قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های حاصل از روش SCW مشابهت بیشتری با آنتی‌اکسیدان اسید آسکوربیک داشت (شکل ٤). رادیکال DPPH از طریق اهدا اتم‌های هیدروژن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها، غیرفعال می‌شود و DPPHبه طور گسترده‌ای به‌منظور ارزیابی قدرت رادیکال گیرندگی ترکیبات طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۹]. محققان بیان کردند که با افزایش دما از در روش SCW، قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌ها نیز افزایش یافته است[۲۳]. آی‌واسا[8] و همکاران (۲۰۱۹) بیان کردند که افزایش دما در روش SCW ممکن است به تخریب دمایی ترکیبات آنتی اکسیدانی و کاهش تاثیر آن‌ها منجر شود[۳۰]. لی[9] و همکاران همچنین بیان کردند که با افزایش زمان استخراج، قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌ها نیز افزایش یافته است که در تضاد با نتایج این تحقیق می‌باشد[٢٤].

8Iwassa
9Li

۳-٤-تعیین عصاره با حداکثر کارایی در روش آب مادون بحرانی

پس از انجام آزمون‌های تعیین قدرت آنتی اکسیدانی، مقدار ترکیبات فنولی کل و راندمان عصاره گیری، شرایط بهینه استخراج در روش SCWبا در نظر گرفتن حداکثر جذب رادیکال‌های آزاد، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی و بالاترین میزان راندمان عصاره گیری، تعیین و به‌منظور ادامه آزمایشات مورد بررسی قرار گرفت که با توجه به مجموعه این پارامترها، عصاره حاصل از روش آب مادون بحرانی دردمای ۱٦۰ درجه سانتی گراد و زمان ۵ دقیقه، انتخاب گردید.

۳-۵-بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های استخراج شده

ترکیبات شیمیایی گیاهی مختلفی به صورت طبیعی در گیاهان، به‌عنوان مولکول‌های موثر بیولوژیکی، وجود دارد که نقش حیاتی در گیاهان در برابر عوامل پاتوژن مختلف داشته و به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی، با کاهش رشد و یا از بین بردن این میکرواورگانیسم‌ها، عمل می‌نمایند[۳۱]. ازاین‌روو با توجه به پتانسیل گیاهان در استفاده به‌عنوان داروهای ضدمیکروب و از طرفی افزایش روز افزون نیاز به یافتن جایگزین طبیعی داروهای شیمیایی، خواص ضدمیکروبی صمغ کندر مورد بررسی قرار گرفت. قدرت عصاره‌های حاصل از روش‌های مختلف استخراج (شامل عصاره‌گیری به روش خیساندن و عصاره گیری با آب مادون بحرانی)، در تاثیر برباکتری‌های گرممثبتوگرم منفی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور از باکتری ایشرشیاکلی به‌عنوان باکتری گرم منفی و از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، به عنوان باکتری گرم مثبت بهره گرفته شد. کفایت عمل و شدت تاثیرگذاری عصاره‌ها بر این دو دسته از باکتری‌ها به ترتیب با استفاده از معرف تری فنیل تترازولیوم کلراید و روش خوانش جذب محیط کشت باکتریایی توسط الایزاریدر صورت گرفت.

با توجه به شکل ۵ می‌توان بیان نمود که عصاره‌های حاصل از روش‌های آب مادون بحرانی، نسبت به عصاره حاصل از روش خیساندن، تاثیر بیشتری در کاهش رشد باکتری ایشرشیاکلی داشتند. نکته قابل توجه در این بخش، نحوه و شدت تاثیرگذاری عصاره‌ها بر رشد باکتری‌های مورد بررسی، با توجه به نوع پوشش دیواره باکتریایی آن‌ها می‌باشد. با مقایسه جذب‌های به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

دست آمده از دستگاه الایزاریدر مشخص گردید که تاثیر عصاره‌های حاصل از روش‌های خیساندن و آب مادون بحرانی، بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، بیشتر از باکتری ایشرشیاکلی بوده است. به عبارتی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، حساسیت بیشتری در برابر عصاره‌های استخراجی از صمغ کندر داشت. این نتیجه نشان می‌دهد که تاثیر عصاره حاصل از روش SCW از صمغ کندر، بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر بوده است. این نتیجه را می‌توان با توجه به ساختار دیواره سلولی توجیه نمود. زیرا باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجیاز جنس لیپوپلی ساکاریدها است که در مقایسه با باکتری های گرم مثبت مانعی اضافی است[۳۲].

غلظت‌هایی از عصاره که دارای اثر مهارکنندگی رشد بودند، به‌منظور بررسی قدرت باکتری کشی، در آزمون گرمخانه گذاری مورد بررسی قرارگرفتند (جدول). بدین صورت که غلظت‌های بالاتر از غلظت دارای اثر مهارکنندگی به همراه غلظت دارای اثر مهارکنندگی به محیط کشت رشد باکتریایی افزوده شدو باکتری‌های ایشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط کشت، کشت داده شدند. نتایج حاکی از آن بود که غلظت ۲۰۰۰۰۰ppm از تمامی عصاره‌های استخراج شده، دارای تاثیر باکتری کشی بوده است.

۳-۶-تعیین قدرت ضد آسپرژیلوسی پودر ریزپوشانی شده

عصاره بهینه حاصل از روش خیساندن و SCW به پودر ریزپوشانی شده تبدیل گردید. نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ هزار ppm از عصاره صمغ کندر، فاقد اثر ضدآسپرژیلوسی بوده است. اسانس‌های گیاهی از ساخت و سازDNA، RNA، پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها در سلول‌های قارچی و باکتریایی جلوگیری می‌نماید[۳۳]. علی محمدزاده و همکاران (۱۳۹۹) بیان کردند که عصاره حاصل از زیره سبز در غلظت‌های بالاتر از ppm ۶۰۰۰ از رشد کپک آسپرژیلوس فلاووس و تولید آفلاتوکسین جلوگیری می‌نماید[۳۴].

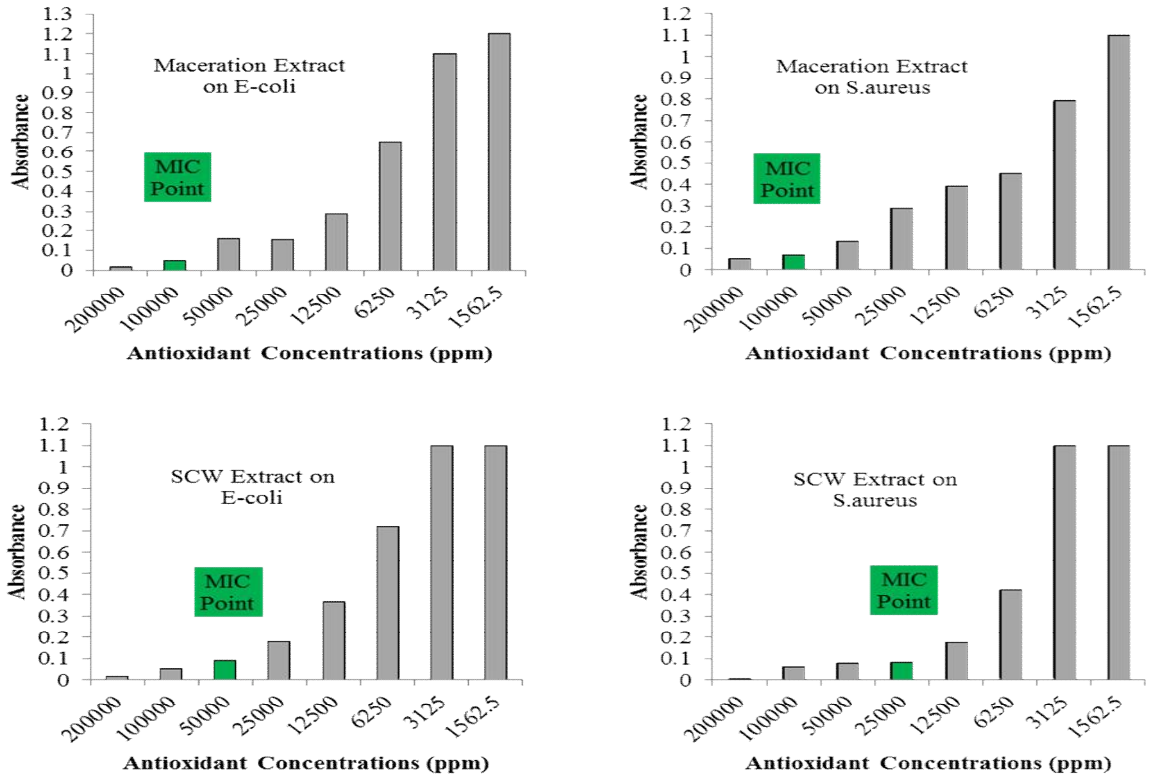

Fig 5 MIC concentration in Maceration and SCW extracts for E-coli and S.aureus. Statistical analysis has not been performed for this parameter.

Table 1 Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Maceration and SCW extracts for E-coli and S.aureus.

	MIC concentration (ppm)		MBC concentration (ppm)	
Extraction Method	Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Staphylococcus aureus	Escherichia coli
Maceration	100000	100000	200000	200000
SCW 160 ^{0}C- 5min	25000	50000	200000	200000

* Statistical analysis has not been performed for this parameter

قطرات و شاخص بس پاشیدگی ذرات افزایش یافت (جدول ۲). به طور کلی افزایش قطر متوسط ذرات پودر در طی نگهداری نشان دهنده وقوع پدیده‌های ناپایداری از جمله تجمع و به هم پیوستن ذرات است [۳۵]. اندازه ذرات در در کارایی کلی یک پودر به‌عنوان بخشی از سیستم تحویل و انتقال دارای اهمیت می‌باشد[۳٦]. با توجه به اندازه ذرات پودر که کمتر از ۱۰۰ نانومتر می‌باشد، پودر تهیه شده در گستره نانوپودر طبقه بندی می‌گردد[۲۲].

۳-۷-اندازه گیری اندازه ذرات امولسیون و شاخص بس پاشیدگی

مشخصات پودر ریزپوشانی شده صمغ کندر، تهیه شده به روش خشک کن پاششی در جدول ۲ ارائه شده است. با بررسی شکل منحنی‌های توزیع اندازه ذرات مشخص شد که توزیع اندازه ذرات در پودر تهیه شده دارای توزیع نرمال و از نوع مونومودال (Monomodal) بوده است. از طرفی با افزایش زمان نگهداری پودر، منحنی‌های توزیع اندازه ذرات به سمت راست تغییر مکان دادند. به عبارتی اندازه ذرات پودر بزرگ‌تر شد و متوسط قطر

Table 2 Characteristics of coated frankincense powder.

Time (day)	Size Distribution (µm)			Mean diameter (volume-long)	Mean diameter (surface-weight)	SpecificSurface m^2/ml	Span
	D10	D50	D90	D 4,3	D 3,2	SSA	
0	4.1	10.6	35.4	20.59	15.88	0.377834	2.95283
24	6.3	18.9	84.93	44.36	15.42	0.389105	4.160317

* Statistical analysis has not been performed for this parameter

٤- نتیجه گیری کلی

این مطالعه از روش استخراج آب مادون بحرانی برای عصاره‌گیری از صمغ کندر استفاده شد و نتایج آن با روش سنتی خیساندن مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که روش SCW تاثیر بسزایی در مقدار راندمان عصاره گیری داشته است. همچنین مشخص گردید با کاربرد روش SCW برای عصاره گیری از صمغ کندر، مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده نیز به صورت معنی داری افزایش یافته است. تاثیر مثبت روش SCW در نتایج قدرت جذب رادیکال‌های آزاد DPPH نیز مشهود بود و باعث شد عصاره‌هایی با قدرت رادیکال گیرندگی بیشتری حاصل شود. عصاره حاصل از روش SCW قدرت مهارکنندگی از رشد باکتری بالاتری از عصاره حاصل از روش خیساندن داشت. تاثیر عصاره‌های حاصل از صمغ کندر بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از تاثیر آن بر باکتری‌های گرم منفی بود. همچنین مشخص گردید عصاره صمغ کندر به‌دست آمده از دمای ۱٦۰ درجه سانتی گراد و زمان ۵ دقیقه، در غلظت‌های بالاتر از ٦۰۰ هزار پی پی ام دارای اثر ضدآسپرژیلوسی می‌باشد. نتایج اندازه گیری توزیع اندازه ذرات نشان داد که اندازه ذرات دارای توزیع نرمال بود. با بررسی تاثیر پارامتر زمان در نگهداری پودر تولید شده مشخص گردید که افزایش زمان ماندگاری پودر باعث افزایش شاخص بس پاشیدگی ذرات شده است.

۵- منابع

[1] Seku, K., Hussaini, S.S., Hussain, M., Siddiqui, M.A., Golla, N., Ravinder, D., Reddy, B. 2022. Synthesis of Frankincense gum stabilized AgNPs by microwave irradiation and their catalytic, antioxidant, and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

antibacterial properties. Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures, 140: 115169. https://doi.org/10.1016/j.physe.2022.115169.

[2] Umar, S., Umar, K., Sarwar, A. H. M. G., Khan, A., Ahmad, N., Ahmad, S. 2014. Boswellia serrata extract attenuates inflammatory mediators and oxidative stress in collagen induced arthritis. Phytomedicine, 21(6): 847–856.

[3] Shahidpour, F., Zare Mehrjerdi, F., Mozayan, M.R., Marefati, N., Hosseini, M. 2021. The effects of frankincense extract on depression and anxiety-like behaviors induced by lipopolysaccharide in rats. Learning and Motivation, 73: 101708. https://doi.org/10.1016/j.lmot.2021.101708

[4] Kheirkhah, H., Baroutian, S., Quek, S.Y. 2019. Evaluation of bioactive compounds extracted from Hayward kiwifruitpomace by subcritical water extraction. Food Bioprod. Process.,115: 143–153.

[5] Kora, A.L., Rastogi, L. 2018. Green synthesis of palladium nanoparticles using gum ghatti (Anogeissus latifolia) and its application as an antioxidant and catalyst. Arabian Journal of Chemistry, 11: 1097-1106.

[6] Weber, C.C., Reising, K., Müller, W. E., Schubert-Zsilavecz, M., Abdel-Tawab, M. 2006. Modulation of Pgp function by boswellic acids. Planta Medica Journal, 72 (06), 507–513.

[7] Peng, S., Song, Z., Wang, C., Liang, D., Wan, X., Liu, Z., Lu, A., Ning, Z. 2022. Frankincense vinegar-processing improves the absorption of boswellic acids by regulating bile acid metabolism. Phytomedicine 98: 153931. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.153931

[8] Wang, Y., Ye, Y., Wang, L., Yin, W., Liang, J. 2021. Antioxidant activity and subcritical water extraction of anthocyanin from raspberry process optimization by response surface methodology. Food Bioscience, 44: 101394. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101394

[9] Nastic, N., Svarc-Gajic, J., Delerue-Matos, C., Morais, S., Barroso, M.F., Moreiram M.M. 2018. Subcritical water extraction of antioxidants from mountain germander (Teucrium montanum L.). The Journal of Supercritical Fluids, 138: 200-206.

[10] Svarc-Gajić, J., Stojanović, Z., Carretero, A.S., Román, D.A., Borrás, I., Vasiljević, I. 2018. Development of a microwave-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds from Rosmarinus officinalis, J. Food Eng. 119: 525–532.

[11] Liang, X., Fan, Q. 2013. Application of sub-critical water extraction in pharmaceutical industry. J. Mater. Sci. Chem.Eng. 1, 1.

[12] Todd, R., Baroutian, S. 2017. A techno-economic comparison of subcritical water, supercritical CO2 and organic solvent extraction of bioactives from grape marc. J. Clean. Prod. 158,349–358.

[13] Guthrie, F., Wang, Y., Neeve, N., Quek, S.Y., Mohammadi, K., Baroutian, S. 2020. Recovery of phenolic antioxidants from green kiwi fruit peel using subcritical water extraction. Food and Bioproducts Processing, 122: 136-144.

[14] Rodrigues, A.L., Matias, A.A., Paiva, A. 2021. Recovery of antioxidant protein hydrolysates from shellfish waste streams using subcritical water extraction. Food and Bioproducts Processing, 130: 154-163.

[15] Shaddel, R., Maskooki, A., Haddad-Khodaparast, M.H., Azadmard-Damirchi, S., Mohamadi, M., 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.

[16] Asl, A.H., M.J.M.T.-A.I.S.E. Khajenoori, Modeling, E.O.N. 2013.Subcritical Water Extraction., pp. 459–487.

[17] Abdelmoez, W., Nage, S.M., Bastawess, A., Ihab, A., Yoshida, H.J. 2014. Subcritical water technology for wheat straw hydrolysis to produce value added products. J. Clean. Prod. 70, 68–77.

[18] Song, R., Ismail, M., Baroutian, S., Farid, M. 2018. Effect of subcritical water on the extraction of bioactive compounds from carrot leaves. Food Bioprocess 11, 1895–1903.

[19] Murugkar, D. A., Zanwar, A.A., Shrivastava, A. 2021. Effect of nano-encapsulation of flaxseed oil on the stability, characterization and incorporation on the quality of eggless cake. Applied Food Research, 1: 100025. https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100025.

[20] Mohammadi, M., Ghorbani, M., Beigbabaei, A., Yeganehzad, S., Sadeghi-Mahoonak, A. 2019. Investigation effects of extracted compounds from shell and cluster of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]

pistachio nut on the inactivation of free radicals. Heliyon, 5: DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02438.

[21] Ghazanfari, N., Mortazavi, S.A., Tabatabaei Yazdi, F., Mohammadi, M. 2020. Microwave-assisted hydrodistillation extraction of essential oil from coriander seeds and evaluation of their composition, antioxidant and antimicrobial activity. Heliyon, 6 (9): DOI: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04893

[22] Gandon-Ros, G., Soler, A., Aracil, I., Gomez-Rico, M.F., Conesa, J.A. 2021. Improving efficiency and feasibility of subcritical water debromination of printed circuit boards E-waste via potassium carbonate adding. Journal of Cleaner Production, 319: 128605, https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128605.

[23] Hao, G., Cao, W., Lia, T., Chen, J., Zhang, J., Weng, W., Osako, K., Ren, H. 2019. Effect of temperature on chemical properties and antioxidant activities of abalone viscera subcritical water extract. The Journal of Supercritical Fluids, 147: 17-23. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.02.007.

[24] Li, B., Akram, M., Al-Zuhair, S., Elnajjar, E., Munir, M.T. 2020. Subcritical water extraction of phenolics, antioxidants and dietary fibres from waste date pits. Journal of Environmental Chemical Engineering, 8: 104490. https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104490.

[25] Basile, A., Jim´enez-Carmona, M.M., Clifford, A.A. 1998. Extraction of rosemary by superheated water, J. Agric. Food Chem. 46 (12) (1998) 5205–5209.

[26] Rodríguez-Meizoso, I., Marin, F.R., Herrero, M., Senorans, F.J., Reglero, G., Cifuentes, A., Ibanez, E. 2006. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization, J. Pharm. Biomed. Anal. 41 (5): 1560–1565.

[27] Kim, S.J., Matsushita, Y., Fukushima, K., Aoki, D., Yagami, S., Yuk, H.G., Lee, S.C. 2014. Antioxidant activity of a hydrothermal extract from watermelons, LWT-Food Sci. Technol., 59 (1): 361–368.

[28] Giombelli, C., Iwassa, I.J., da Silva, C., Bolanho Barros, B.C. 2020. Valorization of peach palm by-product through subcritical water extraction of soluble sugars and phenolic compounds, J. Supercrit. Fluids, 165, 104985.

[29] Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., Nasri, M. 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (Mustelus mustelus) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases, Food Chem. 114 (2009) 1198–1205, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.075.

[30] Iwassa, I.J., dos Santos Ribeiro, M.A., Meurer, E.C., Cardozo-Filho, L., Bolanho, B.C., da Silva, C. 2019. Effect of subcritical water processing on the extraction of compounds, composition, and functional properties of asparagus by-product, J. Food Process Eng. 42 (4): e13060.

[31] Tariq, A.L., Reyaz, A.L. 2012. Significances and importance of phytochemical present in Terminalia chebula. Intern. J. Drug Develop. Res. 5 (3), 256–262.

[32] Acimovic, M., Seregelj, V., Sovljanski , O., Saponjac , V.T., Gajic, J.S., Brezo-Borjan, T., Pezo, L. 2021. In vitro antioxidant, antihyperglycemic, anti-inflammatory, and antimicrobial activity of Satureja kitaibelii Wierzb. ex Heuff. Subcritical water extract. Industrial Crops & Products 169: 113672. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.11367.

[33] Bakkali, f., Daomar, D. Averbeck, S. and Averbeck, B. 2008. Biological effects of essential oils- A review. Food Chem. Toxicol. 46: 446-457.

[34] Ali Mohammad Zadeh, M., Ali Doust, M., Khandaghi, J. 2020. A study of antimicrobial effects of alcoholic extract and essential oil of caraway (Bunium persicum Boiss) on selected species of bacteria and molds in lactic cheese. Journal of Food Microbiology, 7 (4): 33-46.

[35] Tadros, T., Izquierdo, R., Esquena, J., Solans, C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. Advances in Colloid and Interface Science, 303–318.

[36] Kouassi, G. K. , Teriveedhi, V. K. , Milby, C. L. , Ahmad, T. , Boley, M. S., Gowda, N. M., Terry, R. J. 2012. Nano-microencapsulation and controlled release of linoleic acid in biopolymer matrices: Effects of the physical state, water activity, and quercetin on oxidative stability. Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences, 02 (01), 1–10.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Application of subcritical water method in extraction from frankincense gum and evaluation of antioxidant and antibacterial ability of extracts.

Golchin, S. [1], Hajirostamloo, B. [1*], Didar, Z. [1],Mohsen Vazifedoost[1], Mohammadi, M. [2]

1. Department of Food Science and Technology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.
2. Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran.

ABSTRACT

Extraction by the subcritical water method was studied as an efficient, economical, green, and environmentally friendly method to extract effective compounds of frankincense gum.For this purpose, subcritical water was used at temperatures of 120 and 160 ° C for 5 and 15 minutes. The amount of total phenolic compounds, radical scavenging ability, and antimicrobial properties of the extracts were investigated. The encapsulated powder of the extract obtained from the optimal conditions was also prepared by spray drying method and the particle size distribution and anti-aspergillus properties of that were also investigated. The results showed that the subcritical water extraction method significantly increased the extraction efficiency of frankincense gum extract. The amount of phenolic compounds extracted at 160 °C and time of 15 minutes was the highest among the extracts with 130.83 mg of gallic acid per 100g dry matter. The radical scavenging ability of the extracts from the subcritical water method was similar to that of the natural antioxidant ascorbic acid, and the extract from the maceration method as a traditional was less efficient at absorbing DPPH free radicals.Microbial results showed that the effects of extracts from maceration and subcritical water methods on Staphylococcus aureus were more than Escherichia coli. Encapsulated frankincense powder had no anti-aspergillus potency at concentrations less than 600,000 µg / ml.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 07/ 19
Accepted 2022/ 10/ 18

Keywords:

Subcritical water,
Aspergillus flavus,
Frankincense gum,
Radical scavenging ability,
Lacto bacillus.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2

*Corresponding Author E-Mail:
rostamlo_b214@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-17]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.13.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.130.143]