مطالعه خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست‌های چرمی و اسفنجی انار (*Punica granatum* L.)

سیده سکینه خاکزاد[۱]، رضا فرهمندفر[۲*]، امیر احمدپور[۳]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم وصنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۳- دانشیار، گروه ترویج و آموزش کشاورزی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران

(تاریخ دریافت: ۹٦/۰۸/۰۳ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰۹/۲۵)

چکیده

میوه‌ها منابع غنی از ترکیبات بیواکتیو هستند. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات بیواکتیو به ویژگی‌های دارویی مختلف و اثرات سلامتی‌بخش آنها نسبت داده می‌شود. امروزه انار (*Punica granutum* L.) به عنوان میوه بی‌نظیر با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه، مورد پذیرش قرار گرفته است. تحقیق حاضر به منظور تعیین محتوی فنول کل (TPC) و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست‌های چرمی و اسفنجی واریته انار ملس انجام شد. محتوی فنول کل با استفاده از روش کالریمتری فولین-سیوکالتیو بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره مورد ارزیابی قرار گرفت. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های پوست با آزمون‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، بتا-کاروتن/لینولئیک اسید و شاخص پایداری اکسایشی (OSI) اندازه گیری شد. بر اساس نتایج، پوست چرمی محتوی فنولی بالاتری نسبت به پوست اسفنجی داشت. ضمناً، میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره پوست‌های چرمی و اسفنجی، افزایش یافت. همچنین قابل توجه است که فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتری در پوست چرمی نسبت به پوست اسفنجی مشاهده شد. نتایج نشان داد که پوست‌های چرمی و اسفنجی عصاره به عنوان محصولات جانبی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند.

کلید واژگان: آنتی‌اکسیدان، انار، پوست اسفنجی، پوست چرمی

*مسئول مکاتبات: r.farahmandfar@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

انار[1] (*Punica granatum* L.) گیاهی متعلق به خانواده Punicaceae است که میوه آن، از گذشته تا به امروز کاربرد زیادی داشته و در قرآن، انجیل، اساطیر مصری و غیره نقش مهمی را به خود اختصاص داده است[۳-۱]. اساساً انار با نواحی معتدل و نیمه گرمسیری سازگار است ولی در عین حال، انار می‌تواند در مناطق گرمسیری نیز رشد کند. مناطقی با میانگین دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتیگراد برای رشد انار ایده‌آل است ولی این گیاه می‌تواند آسیب‌های شدید در دمای ۱۱- درجه سانتیگراد را تحمل کند. این گیاه در شرایطی نیمه خشک با میانگین بارش باران ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌متر رشد کرده و تا حد زیادی مقاوم در برابر خشک سالی است لذا این گیاه را می‌توان در مناطق مختلفی از دنیا، کشت داد [٤]. امروزه، انار در مناطق مختلفی همچون مصر، چین، افغانستان، ترکیه، سوریه، پاکستان، بنگلادش، هند، ایران و غیره یافت می‌شود [۳]. بر اساس آمارنامه کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹٤، رتبه پنجم میزان تولید محصولات باغی کشور مربوط به انار با حدود ۱۰/۹ میلیون تن بوده که در واقع ۵/٦۱٪ از کل محصولات باغی ایران را به خود اختصاص داده است [۵].

پوست انار به عنوان ضایعات صنایع تبدیلی مطرح می‌شود و این در حالی است که این جزء انار دارای منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و غیره می‌باشد. پوست (پریکارپ) حدود ۳۰-۲٦٪ وزن میوه انار را تشکیل می‌دهد [۸-٦]. پوست انار دارای محتوی فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به پالپ می‌باشد [۹]. محققین مختلف گزارش دادند که محتوی فنولی و فلاونوئیدی پوست انار به طور معنی‌داری از اجزاء دیگر (همچون گل، برگ و دانه) بالاتر است و پوست را به عنوان منبع بهتری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی معرفی کردند [۱۱-۹].

Malviya و همکاران (۲۰۱٤) عصاره‌های پوست انار را با حلال های مختلف همچون آب، اتانول، متانول، اتانول-آب و متانول آب مورد بررسی قرار دادند. بالاترین راندمان استخراج و محتوی فنولی به ترتیب از حلال اتانول-آب (۵۰:۵۰) و آب بدست آمد. بیشترین فعالیت آزمون DPPH و مهارکنندگی ABTS به ترتیب در متانول و اتانول-آب (۳۰:۷۰) مشاهده شد [۱۲]. Shiban و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره انار در محیط in vitro گزارش دادند که عصاره متانول ۸۰٪ دارای راندمان کل، محتوی فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره آب یا دی اتیل اتر بود [۱۳]. محققین در بررسی استخراج ترکیبات فنولی پوست انار با حلال‌های مختلف دریافتند که عصاره متانول و به دنبال آن عصاره آب، اتانول، استون و اتیل استات به ترتیب بیشترین راندمان استخراج را دارا بودند. بیشترین مقدار فنول کل، پروآنتوسیانیدین و فلاونوئید در عصاره اتیل استات مشاهده شد [١٤]. محققین محتوی فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیست و یک رقم انار تونسی را با روش های فولین-سیوکالتیو و DPPH مورد بررسی قرار دادند. عصاره متانولی نسبت به عصاره آبی، محتوی فنولی بالاتری داشت. شش ترکیب فنولی مختلف در پوست انار به کمک HPLC شناسایی و تعیین مقدار شد. در پوست انار به ترتیب اسید گالیک، اسید الاژیک[2]، اسید کافئیک، اسید p-کوماریک[3]، کوئرستین و اسید وانیلیک بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. فعالیت آنتی اکسیدانی میان ارقام و حلال‌ها متفاوت بود و همبستگی زیادی با محتوی فنولی داشت [۱۵].

گزارش شده است که پوست و مزوکارپ انار به دلیل حضور تانین‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و اسیدهای ارگانیک، دارای اثرات سلامتی بخشی متعددی هستند. گالاگیلدیلاکتون[4]، اسید گالیک و گرانتین B[5] دارای فعالیت ضدالتهابی هستند [١٦]. تانین های پوست و مزوکارپ انار همچون پونیکالین[6]، پونیکالاگین[7]، پدونکلاگین[8]، کاسوارین[9] و اسید گالیک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی می‌باشند. علاوه بر این، فلاونوئیدهای مختلف مانند کاتچین، اپی‌کاتچین، اپی‌گالوکاتچین-۳-گالات، کامپفرول، نارینجین، پلارگونیدین، پرودلفیندین و غیره نیز در پوست و

1. Pomegranate

2. Ellagic acid
3. P-coumaric acid
4. Gallagyldilacton
5. Granatin B
6. Punicalin
7. Punicalagin
8. Pedunculagin
9. Casuarinin

مزوکارپ انار یافت شده که از خود اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی نشان می‌دهند [۱۲و۱۷].

بنابراین، با توجه به اهمیت میوه انار و حداکثر استفاده از پسماندهای حاصل از فرآوری این محصول، تحقیق حاضر با هدف شناخت هر چه بیشتر پتانسل آنتی‌اکسیدانی پوست‌های چرمی و اسفنجی انار ایرانی (رقم ملس ممتاز) از طریق آزمون های فعالیت رادیکال آزاد DPPH، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن–لینولئیک اسید و شاخص پایداری اکسایشی انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی نمونه‌ها

رقم انار مورد استفاده (ملس ممتاز) از مزرعه شرکت تعاونی تولیدی و توزیعی گل انار صاحبی، استان مازندران تهیه گردید. برداشت محصول در اواخر آبان انجام گرفت و پس از جدا کردن انارهای مرغوب، در دمای ٤ درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. پوست انار به صورت دستی از دانه‌های انار جدا و سپس به پوست چرمی و مزوکارپ (بافت اسفنجی) تقسیم شد. کلیه نمونه‌ها در آون با دمای۵۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس پوست‌های خشک شده با استفاده از آسیاب خرد و سپس الک گردید. در انتها، نمونه‌ها تا زمان آزمایش در یخچال با دمای ٤ °C نگهداری شد.

۲-۲- استخراج عصاره

استخراج عصاره بر اساس روش Fernández-Agulló و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد. در ابتدا، مقدار ۱۰ گرم پودر بافت چرمی و اسفنجی توزین و ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول–آب (٪۵۰–٪۵۰) به نمونه‌ها اضافه شد و سپس با همزن مگنت‌دار (٦۰ دور در دقیقه) به مدت ٢٤ ساعت همزده شد. سپس محتوی ارلن ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. عصاره های حاصل توسط تبخیر کننده چرخشی در دمای ٤۰ درجه سانتیگراد تا خروج کامل حلال تغلیظ شد [۱۸].

۲-۳- اندازه گیری محتوی فنول کل

میزان کل ترکیبات فنولی عصاره بافت چرمی و اسفنجی انار با استفاده از معرف فولین–سیوکالتیو و مطابق با روش Siddhuraju و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های تهیه شده را به ۱ میلی‌لیتر محلول فولین–سیوکالتیو (٪۰/۱) و ۰/۸ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اضافه و به مدت ۲ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول بدست آمده را با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب هر یک از نمونه‌ها، در طول موج ٧٦۰ نانومتر قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و مقدار میلی‌گرم ترکیبات فنولی در یک گرم پودر بر حسب اسید گالیک و با معادله y= ۰/۰۰۲۵ x – ۰/۰۲۹۲ (با ضریب همبستگی ۰/۹۹) تعیین شد [۱۹].

۲-٤- آزمون مهارادیکال آزاد DPPH

برای تعیین قدرت عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ابتدا ۳ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره با ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی میلی‌مولار DPPH به شدت مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در مکانی تاریک نگهداری و در نهایت جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. فعالیت بر حسب درصد مهارکنندگی DPPH طبق فرمول زیر محاسبه شد [۲۰]:

$$A\% = \frac{(A_C - A_S)}{A_C} \times 100 \qquad (۱)$$

که A% درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، Ac جذب شاهد و As جذب نمونه است.

۲-۵- آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن – لینولئیک اسید

برای انجام این آزمایش، ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن–لینولئیک اسید به صورت زیر تهیه گردید. ۰/۵ میلی‌گرم از بتاکاروتن در ۱ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد و سپس ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی‌گرم توئین ٤۰ به آن اضافه گردید. سپس با روش تبخیر در خلاء، کلروفرم جدا و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و سپس به شدت همزده شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل و ۳۵۰ میکرولیتر از هر یک عصاره‌ها (با غلظت ۲ گرم در لیتر در حلال‌های مختص خود) به لوله آزمایش اضافه گردید. جذب نوری نمونه‌ها با

اسپکتروفتومتر در ٤٧٠ نانومتر در زمان صفر و همچنین بعد از ١٢٠ دقیقه گرمخانه گذاری در بن ماری ٥٠ درجه سانتیگراد قرائت شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به عنوان درصد بازداری با استفاده از فرمول زیر بیان شد [٢١و٢٢]:

$$I\% = \frac{(A_C - A_S)}{A_C} \times 100 \qquad (٢)$$

که I% درصد بازدارندگی، Ac جذب شاهد و As جذب نمونه است.

٢-٦- آزمون شاخص پایداری اکسایشی(OSI)

دستگاه رنسیمت مدل ٧٤٣ به منظور اندازه گیری شاخص پایداری اکسایشی مورد استفاده قرار گرفت. جریانی از هوای خشک و تمیز با سرعت ١٥ لیتر بر ساعت به درون ظرف حاوی ٣ گرم نمونه روغن سویا فاقد هرگونه آنتی‌اکسیدان و عصاره و روغن‌های حاوی غلظت‌های مختلف (٠/١ ، ١، ٥ و ١٠ درصد) از عصاره‌های پوست‌های چرمی و اسفنجی انار دمیده شد. هوای حامل اسیدهای آلی فرار ناشی از اکسایش نمونه‌ها به ظرف اندازه گیری هدایت الکتریکی (حاوی ٦٠ میلی‌لیتر آب مقطر) هدایت گردید. شاخص پایداری اکسایشی به طور خودکار در دمای ١٢٠ درجه سانتیگراد اندازه گیری شد [٢٣].

٢-٧- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در قالب فاکتوریل به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد و داده‌های حاصله مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها بر صفت‌های مورد نظر، با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح α=٠/٠٥ توسط نرم افزار SPSS صورت پذیرفت. در رسم نمودار از نرم افزار اکسل ٢٠١٦ استفاده گردید.

٣- نتایج و بحث

٣-١- بررسی میزان ترکیبات فنول کل در پوست های چرمی و اسفنجی انار

ترکیبات فنولی، محدوده گسترده‌ای از ترکیبات ثانویه گیاهی هستند که از نظر ساختاری حداقل یک گروه فنولی دارند. میزان فنول کل در پوست‌های چرمی و اسفنجی انار از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌داری در سطح ٥ درصد بود. همان طوری که در شکل ١ مشاهده می‌کنید، میزان ترکیبات فنول کل در پوست چرمی انار (با ٣٩ میلی‌گرم بر گرم) به طور معنی‌داری از پوست اسفنجی انار (با ٢٨/١ میلی‌گرم بر گرم) بیشتر بود. تانین‌ها، پلی فنول‌های گیاهی با وزن مولکولی بالا هستند که به دو گروه به نام های تانین‌های متراکم (پروآنتوسیانیدین‌ها) و تانین‌های قابل هیدرولیز (الاجی‌تانین‌ها و گالوتانن‌ها) تقسیم می‌شوند [٢٤و٢٥]. خواص دارویی انار عمدتاً به خاطر وجود تانین در بخش‌های مختلف همچون ریشه، ساقه، گل، پوست میوه و برگ‌های آن است. Fischer و همکاران (٢٠١١) چهل و هشت نوع ترکیب مختلف را در پوست چرمی، مزوکارپ و آریل‌ها شناسایی کردند که شامل نُه آنتوسیانین، دو گالوتانین[2] بیست و دو الاژیتانین[3] دو گالاگیل استر، چهار هیدروکسی بنزن اسید، هفت هیدروکسی سینامیک اسید و یک دی‌هیدروفلاونول بود [١٧]. با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که در قسمت‌های مختلف انار میزان ترکیبات فنولی با توجه به تغییرات شیمیایی در دوره بلوغ، متغیر می‌باشد [٢٦]. Tehranifar و همکاران (٢٠١٠) اظهار داشتند که تفاوت در میزان ترکیبات فنولی کل در میوه انار مربوط به تفاوت در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در میوه انار است [٢٦].

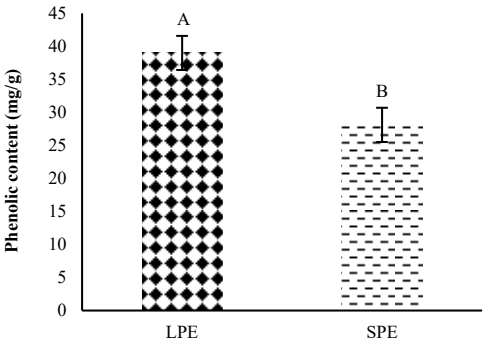

Fig 1 Phenolic content of leathery and spongy peels of pomegranate (LPS =Leathery Peel Extract; SPE = Spongy Peel Extract)

1. Oxidavtive Stability Index

2. Gallotannin

3. Ellagitannins

۳-۲- بررسی قدرت مهار ردایکال آزاد DPPH در پوست‌های چرمی و اسفنجی انار

آنتی‌اکسیدن‌ها از طریق مهار رادیکال‌های آزاد قبل از حمله به مولکول‌های ضروری بدن عمل می‌نمایند. محصولات این واکنش ترکیبات پایدار و رادیکال استخراج شده از آنتی‌اکسیدان می‌باشد [۲۷و۲۸]. DPPH یکی از رادیکال‌های هیدروفیل آزاد و پایدار با رنگ بنفش تیره است که حداکثر جذب آن در دامنه طول موج ۵۱۵ تا ۵۱۷ نانومتر می‌باشد. هنگام دریافت الکترون از ترکیبات احیاکننده نظیر فنول‌ها، این رادیکال به فرم هیدرازین بی‌رنگ تبدیل می‌شود که این تغییر ساختاری با کاهش میزان جذب همراه است. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش غلظت عصاره از ۰/۱ به ۱۰ درصد میزان قدرت مهار کنندگی رادیکال DPPH در پوست چرمی از ۵/۳ به ۸۱/۲۷ درصد و در پوست اسفنجی از ۲/۰۲ به ۷۰/۶۱ درصد افزایش یافت (شکل ۲).

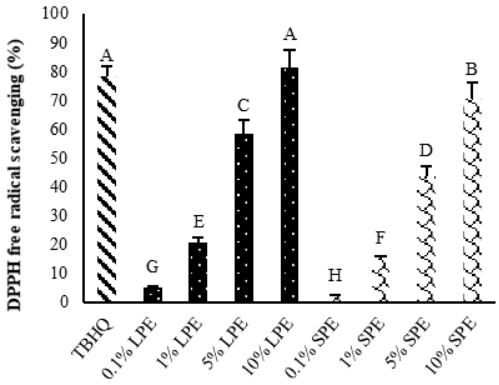

Fig 2 Antioxidant activity of leathery and spongy peels of pomegranate by DPPH radical scavenging assay (LPS = Leathery Peel Extract; SPE = Spongy Peel Extract)

پوست انار غنی از منابع پلی‌فنول‌ها همچون اسید گالیک، اسید الاژیک، اسید کافئیک، اسید p-کوماریک، کوئرستین و اسید وانیلیک است [۹،۱۵،۲۹و۳۰]. با افزایش غلظت عصاره‌های استخراج شده از پوست‌های چرمی و اسفنجی انار میزان غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا کرد و این امر سبب افزایش قدرت مهار رادیکال آزاد در مقایسه با نمونه شاهد بود. محققین گزارش داده‌اند که قدرت محدود کردن اکسیداسیون لیپوپروتئین ها توسط عصاره پوست انار نسبت به سایر بخش‌های آن بیشتر است [۳۱]. از طرف دیگر، عصاره پوست چرمی قدرت مهارکنندگی بالاتری را نسبت به پوست اسفنجی داشت که علت این امر را می‌توان به بالاتر بودن محتوی فنولی پوست چرمی به پوست اسفنجی نسبت داد. محققین یک رابطه خطی مناسب (R^2= ۰/۹۷۷۹) را بین فعالیت مهارکنندگی DPPH و محتوی فنول کل عصاره انار گزارش کرده‌اند [۱٤و۳۲].

۳-۳- بررسی فعالیت رنگبری بتاکاروتن در پوست‌های چرمی و اسفنجی انار

در شکل ۳، میزان درصد بازداری در پوست‌های چرمی و اسفنجی انار مورد بررسی قرار گرفته است. نمونه شاهد با میزان ۲/٦۳ درصد کمترین درصد بازداری را در بین تمامی نمونه‌های مورد بررسی داشت درحالیکه نمونه حاوی ۰/۱٪ TBHQ با میزان ۷۰/۲٤ درصد، بیشترین میزان درصد بازداری را به خود اختصاص داد. با افزایش غلظت عصاره از ۰/۱ به ۱۰ درصد میزان درصد بازدارندگی عصاره پوست چرمی از ۸/٤۲ به ٦۲/۲۱ درصد و عصاره پوست اسفنجی از ۲/٦۳ به ۵۲/۵۲ درصد افزایش معنی داری یافت ($P<۰/۰۵$). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان این گونه بیان کرد که با افزایش غلظت عصاره پوست‌های چرمی و اسفنجی انار میزان ترکیبات فنولی روند افزایشی داشته و این امر سبب افزایش درصد بازداری در بین تیمارها نسبت به نمونه شاهد شده است [۱٤و۳۲]. Li و همکاران (۲۰۰٦) در مطالعات خود دریافتند که بین پوست، پالپ و هسته بیست و هشت نوع میوه انار متداول در چین، پوست میوه انار بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را دارا بود. نتایج این محققین نشان داد که عصاره پوست انار به طور قابل توجهی دارای درصد بازداری بالاتری نسبت به پالپ میوه می‌باشد [۹]. دلیل درصد بازداری بالای پوست انار را می‌توان به حضور مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی‌فنولی همچون الاژیک تانین، الاژیک اسید و گالیک اسید نسبت داد [۹و۳۳]. به طوری که در تولید تجاری آب انار، اینالاژیک تانین‌ها به دلیل خاصیت آب‌دوستی، به مقادیر قابل توجهی از پوست میوه به درون آب میوه وارد می‌شوند [۲۵]. همان طور که مشاهده می‌کنید، با افزایش میزان محتوی فنول کل در عصاره پوست چرمی نسبت به پوست اسفنجی، قدرت بازدارندگی در عصاره پوست چرمی بالاتر بدست آمد که در هماهنگی با نتایج سایر محققین است [۱٤و۳۲].

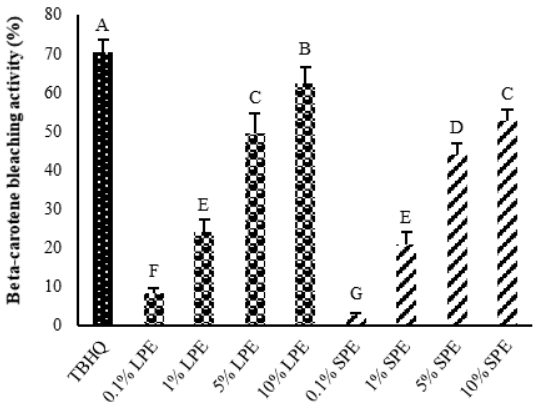

Fig 3 Antioxidant activity of leathery and spongy peels of pomegranate by β-carotene linoleic acid assay (LPS = Leathery Peel Extract; SPE = Spongy Peel Extract)

۳-٤- بررسی شاخص پایداری اکسایشی در پوست‌های چرمی و اسفنجی انار

آزمون رنسیمت برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به کار می‌رود. افزایش هدایت الکتریکی در نتیجه اسیدهای کربوکسیلیک فرار تولید شده در اکسیداسیون لیپید رخ می‌دهد. هدف این آزمون، تعیین هدایت الکتریکی در رنسیمت بر اساس اندازه‌گیری مقاومت اسیدهای فرار است [٣٤]. شاخص پایداری اکسایشی بالاتر به منزله فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است. افزودن عوامل آنتی‌اکسیدانی یکی از تکنیک‌های رایج در جهت کاهش رنسیدیتی و ایجاد طعم نامطلوب، به تأخیر انداختن تولید ترکیبات سمی، افزایش زمان ماندگاری روغن‌های گیاهی و حفظ کیفیت تغذیه‌ای می‌باشد. روند تغییر میزان پایداری اکسایشی عصاره‌های پوست های چرمی و اسفنجی انار در شکل ٤ مقایسه شده است. میزان پایداری اکسایشی با افزایش غلظت از ۰/۱ تا ۱۰ درصد، به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$) به طوری که میزان OSI در پوست چرمی از ۲/۱۵ به ۱۰ ساعت و در پوست اسفنجی از ۱/۵ به ۸/۲ ساعت رسید. با افزایش غلظت عصاره، محتوی فنولی و فلاونوئیدی افزایش می‌یابد لذا سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها کم و دوره القاء بیشتر می‌گردد [۳۵،۳۲و۳٦]. همان گونه که از شکل ٤ قابل استنباط است در تمامی سطوح مشابه از غلظت پوست‌های چرمی و اسفنجی انار، میزان پایداری اکسایشی در پوست چرمی انار نسبت به پوست اسفنجی انار بیشتر بود. یکی از دلایل اصلی این پایداری اکسایشی احتمالاً به دلیل وجود مقدار بیش‌تر آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنولی می‌باشد. همانطور که قبلاً گفته شد، میزان ترکیبات فنول کل در پوست چرمی انار به طور معنی‌داری از پوست اسفنجی انار بیشتر بود [١٤و٣٢].

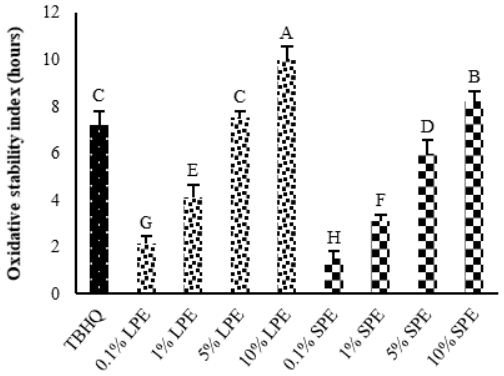

Fig 4 Antioxidant activity of leathery and spongy peels of pomegranate by rancimat (LPS = Leathery Peel Extract; SPE = Spongy Peel Extract)

٤- نتیجه گیری

در این پژوهش تأثیر عصاره حاصل از پوست‌های چرمی و اسفنجی انار در غلظت‌های مختلف بر ویژگی‌های شیمیایی نظیر ترکیبات فنولی کل، قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH، میزان پایداری اکسایشی و درصد بازداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان ترکیبات فنولی کل در پوست چرمی انار پوست به بافت اسفنجی انار بیشتر بود. علاوه بر این با افزایش غلظت پوست‌های چرمی و اسفنجی انار میزان تمامی این شاخص‌ها روند صعودی داشت و میزان این شاخص ها در پوست چرمی نسبت به بافت اسفنجی بیشتر بود. لذا می توان گفت که پوست‌های چرمی و اسفنجی انار دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند.

٥- تشکر و قدردانی

در پایان از شرکت تعاونی تولیدی و توزیعی گل انار صاحبی، جهت همکاری و تأمین هزینه‌های این طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

٦- منابع

[1] Amjadi, O., Mousavi, T., Rafiei, A., Afzali, M.A., Yousefpour, M. and Ghaemi, A., 2016. Therapeutic and Nutritional Effects of Pomegranate from the Perspective of Islamic Texts, Traditional and Modern Medicine. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*, *25*(134), pp.374-393.

[2] Mirzaei, A. & Ghavami Zadeh, M. 2012. Antioxidant activity of Five Fruit Plant Species Mentioned in the Holy Qura'n and Ahadith. *Journal of Islamic and Iranian Traditional Medicine*, 3, 311-318.

[3] Munhuweyi, K., Lennox, C.L., Meitz-Hopkins, J.C., Caleb, O.J. and Opara, U.L., 2016. Major diseases of pomegranate (Punica granatum L.), their causes and management—A review. *Scientia Horticulturae*, *211*, pp.126-139.

[4] Verma, N., Mohanty, A. and Lal, A., 2010. Pomegranate genetic resources and germplasm conservation: a review. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, *4*(S2), pp.120-125.

[5] Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Fazli Estabragh., M., Hoseynpoor, R., Kazemiyan, A., Rafii, M. 2016. Agricultural Statistics of 2014-2015 crop year.

[6] Fawole, O.A., Makunga, N.P. and Opara, U.L., 2012. Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC complementary and alternative medicine*, *12*(1), p.200.

[7] Ismail, T., Sestili, P. and Akhtar, S., 2012. Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of ethnopharmacology*, *143*(2), pp.397-405.

[8] Lansky, E.P. and Newman, R.A., 2007. Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, *109*(2), pp.177-206.

[9] Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry*, *96*(2), pp.254-260.

[10] Ardekani, M.R.S., Hajimahmoodi, M., Oveisi, M.R., Sadeghi, N., Jannat, B., Ranjbar, A.M., Gholam, N. and Moridi, T., 2011. Comparative antioxidant activity and total flavonoid content of Persian pomegranate (Punica granatum L.) cultivars. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, *10*(3), p.519.

[11] Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N. and Ferchichi, A., 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*(32), pp.4724-4730.

[12] Malviya, S., Jha, A. and Hettiarachchy, N., 2014. Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts. *Journal of food science and technology*, *51*(12), pp.4132-4137.

[13] Shiban, M.S., Al-Otaibi, M.M. and Al-Zoreky, N.S., 2012. Antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. *Food and Nutrition Sciences*, *3*(07), p.991.

[14] Wang, Z., Pan, Z., Ma, H. and Atungulu, G.G., 2011. Extract of phenolics from pomegranate peels. *The open food science journal*, *5*, pp.17-25.

[15] Mansour, E., Ben Khaled, A., Lachiheb, B., Abid, M., Bachar, K. and Ferchichi, A., 2013. Phenolic compounds, antioxidant, and antibacterial activities of peel extract from Tunisian pomegranate. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *15*, pp.1393-1403.

[16] Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S. and Tonogai, Y., 2000. High-performance liquid chromatographic determination with photodiode array detection of ellagic acid in fresh and processed fruits. *Journal of Chromatography A*, *896*(1), pp.87-93.

[17] Fischer, U.A., Carle, R. and Kammerer, D.R., 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (Punica granatum L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MS ^{n}. *Food chemistry*, *127*(2), pp.807-821.

[18] Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M.S., Valentao, P., Andrade, P.B., González-Álvarez, J. and Pereira, J.A., 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (Juglans regia L.) green husk extracts. *Industrial crops and products*, *42*, pp.126-132.

[19] Siddhuraju, P., Mohan, P.S. and Becker, K., 2002. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (Cassia fistula L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food chemistry*, *79*(1), pp.61-67.

[20] Li, J.W., Ding, S.D. and Ding, X.L., 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts

from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, *40*(11), pp.3607-3613.

[21] Duarte-Almeida, J.M., Novoa, A.V., Linares, A.F., Lajolo, F.M. and Genovese, M.I., 2006. Antioxidant activity of phenolics compounds from sugar cane (Saccharum officinarum L.) juice. *Plant Foods for Human Nutrition*, *61*(4), p.187.

[22] Farahmandfar, R., Asnaashari, M. and Sayyad, R., 2015. Comparison antioxidant activity of Tarom Mahali rice bran extracted from different extraction methods and its effect on canola oil stabilization. *Journal of food science and technology*, *52*(10), pp.6385-6394.

[23] Farhoosh, R., 2007. The effect of operational parameters of the Rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*(3), pp.205-209.

[24] Reed, J.D., Krueger, C.G. and Vestling, M.M., 2005. MALDI-TOF mass spectrometry of oligomeric food polyphenols. *Phytochemistry*, *66*(18), pp.2248-2263.

[25] Seeram, N., Lee, R., Hardy, M. and Heber, D., 2005. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and purification technology*, *41*(1), pp.49-55.

[26] Tehranifar, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B. and Vazifeshenas, M.R., 2010. Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranates (Punica granatum L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, *126*(2), pp.180-185.

[27] Huang, W.Y., Majumder, K. and Wu, J., 2010. Oxygen radical absorbance capacity of peptides from egg white protein ovotransferrin and their interaction with phytochemicals. *Food Chemistry*, *123*(3), pp.635-641.

[28] Niki, E., 2010. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, *49*(4), pp.503-515.

[29] Aguilar, C.N., Aguilera-Carbo, A., Robledo, A., Ventura, J., Belmares, R., Martinez, D., Rodríguez-Herrera, R. and Contreras, J., 2008. Production of antioxidant nutraceuticals by solid-state cultures of pomegranate (Punica granatum) peel and creosote bush (Larrea tridentata) leaves. *Food Technology and Biotechnology*, *46*(2), pp.218-222.

[30] Braga, L.C., Shupp, J.W., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J.A., Carmo, L.S., Chartone-Souza, E. and Nascimento, A.M.A., 2005. Pomegranate extract inhibits Staphylococcus aureus growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of Ethnopharmacology*, *96*(1), pp.335-339.

[31] Gold, E.B., Bair, Y., Block, G., Greendale, G.A., Harlow, S.D., Johnson, S., Kravitz, H.M., Rasor, M.O.N., Siddiqui, A., Sternfeld, B. and Utts, J., 2007. Diet and lifestyle factors associated with premenstrual symptoms in a racially diverse community sample: Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *Journal of Women's Health*, *16*(5), pp.641-656.

[32] Ambigaipalan, P., de Camargo, A.C. and Shahidi, F., 2016. Phenolic compounds of pomegranate byproducts (outer skin, mesocarp, divider membrane) and their antioxidant activities. *J. Agric. Food Chem*, *64*, pp.6584-6604.

Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. and Cheng, S., 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry*, *96*(2), pp.254-260.

[33] Zarei, M., Azizi, M. and Bashir-Sadr, Z., 2011. Evaluation of physicochemical characteristics of pomegranate (Punica granatum L.) fruit during ripening. *Fruits*, *66*(2), pp.121-129.

[34] Sun, Y.E., Wang, W.D., Chen, H.W. and Li, C., 2011. Autoxidation of unsaturated lipids in food emulsion. *Critical reviews in food science and nutrition*, *51*(5), pp.453-466.

[35] Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahimzadeh, M.A., 2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*, *22*(3), pp.277-281.

[36] Farahmandfar, R., Shokooh Saremi, E., Shahiri Tabarestani, H., Azizkhani, M. 2014. Fundamental comprehensive microbiology of food technology, Sahra press, Iran.

Study on antioxidant properties of leathery and spongy peels of pomegranate (*Punica granatum* L.)

Khakzad, S.[1], Farahmandfar, R. [2*], Ahmadpour, A. [3]

1. MSc, Department of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Iran
3. Associate Professor, Department of Agricultural Extension and Education, Sari Branch, Islamic Azad University, Iran

(Received: 2017/10/25 Accepted:2017/12/16)

Fruits are rich sources of bioactive compounds. Antioxidative potentials of bioactive compounds are attributed with diverse medicinal properties and health benefit effects. Nowadays, pomegranate (*Punica granutum* L.) is accepted as a unique fruit having considerably high antioxidant activity. The present study was performed to determine the total phenolic content (TPC) and antioxidant potential of extracts obtained from leathery and spongy peels of Malas variety of pomegranate. Total phenolic content was determined using Folin-Ciocalteu colorimetric method and stated as mg gallic acid per g of extract. Antioxidant potential of the peel extracts were measured using DPPH radical scavenging, β-carotene/linoleate acid and oxidative stability index (OSI) methods. According to the results, the leathery peel contains more content of phenolic compounds in comparison to the spongy peel. In addition, the antioxidant activitiy was increased by increasing the concentration of leathery and spongy peel extracts. It is also noteworthy that more antioxidant activity is found in the leathery peel in comparison to the spongy peel. Results revealed that the leathery and spongy peels of pomegranate as byproduct can be categorized with high antioxidant potential.

Keywords: Antioxidant, Pomegranate, Leathery peel, Spongy peel

* Corresponding author E-Mail Address: r.farahmandfar@sanru.ac.ir