



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بهینه سازی شرایط پلاسمای سرد و فراصوت پالسی در استخراج ترکیبات فنولیک از کنجاله هسته انار

لیلا قاسمی نژاد^۱، سید امیرحسین گلی^{۲*}، صبیحه سلیمانیان زاد^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۲۷

کلمات کلیدی:

کنجاله هسته انار،

ترکیبات فنولیک،

پلاسمای سرد،

امواج فراصوت،

عصاره

DOI: 10.48311/fsct.2025.84020.0.

* مسئول مکاتبات:

amirgoli@iut.ac.ir

ضایعات ایجاد شده طی فراوری و تولید محصولات غذایی، یکی از مشکلات عمده در صنعت غذا هستند. دفع ضایعات، سبب از بین رفتن ترکیبات زیست فعال با ارزش می شود که در صورت شناسایی و استخراج، می توانند کاربردهای زیادی در محصولات غذایی داشته باشند. انار، از جمله میوه هایی است که فراوری آن موجب تولید مقدار قابل توجهی ضایعات می شود و این ضایعات، معمولاً بدون استفاده مجدداً، دور ریخته می شوند. در این پژوهش، تهیهی عصاره ی فنولیک از کنجاله هسته انار به دست آمده با پرس سرد، بررسی شد. بدین منظور، کنجاله ی برشته شده با مایکروویو به مدت ۱۰ دقیقه، تحت پلاسمای سرد به عنوان پیش تیماری برای استخراج ترکیبات فنولیک قرار گرفت و شرایط ولتاژ (۱۶، ۱۸ و ۲۰ کیلوولت) و زمان (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) از لحاظ دستیابی به میزان مناسب کل ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی بهینه سازی شد. بهینه سازی توان (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات) و زمان (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) نیز برای استخراج ترکیبات با امواج فراصوت پالسی انجام شد. در انتها، نوع و میزان ترکیبات فنولیک با استفاده از HPLC بررسی شد. بر اساس نتایج، اعمال پیش تیمار پلاسمای سرد با ولتاژ ۲۰ کیلو ولت با مدت زمان ۱۵ دقیقه و استخراج با امواج فراصوت با توان ۲۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه، بهترین شرایط برای استخراج ترکیبات فنولیک بودند. نتایج HPLC نیز حاکی از وجود مقدار زیاد گالیک اسید نسبت به سایر ترکیبات در عصاره بود. بنابراین می توان گفت که استفاده از پیش تیمار پلاسمای سرد به همراه استخراج با امواج فراصوت، روشی مؤثر و بهینه برای استخراج ترکیبات فنولیک ارزشمند از کنجاله هسته انار است.

۱- مقدمه

میوه‌ی انار (*Punica granatum L.*)، منبع بسیار غنی از ترکیبات ارتقاء دهنده‌ی سلامتی است که می‌تواند فعالیت آنتی اکسیدانی، ضدالتهاب، ضدسرطان و ضد میکروبی داشته باشد [۱]. این میوه به دلیل سطح زیاد ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، اسیدهای آسکوربیک و گالیک اسید، پتانسیل آنتی اکسیدانی بسیار خوبی دارد. تاثیرات سلامتی بخش ترکیبات زیست فعال انار، به طیف گسترده‌ای از ترکیبات موجود در آن نسبت داده شده و ثابت شده است که یک اثر تشدیدکنندگی بین این ترکیبات وجود دارد که خاصیت زیست فعالی آن‌ها را افزایش می‌دهد [۲]. از کل میوه‌ی انار، آب انار ۳۸ تا ۵۰ درصد، پوست انار، ۳۹ تا ۵۳ درصد و هسته‌ها ۸ تا ۱۲ درصد وزن میوه را به خود اختصاص می‌دهند [۳]. از آن‌جا که هسته‌های انار، منبع غنی از روغن هستند، برای استخراج و تولید روغن، کاربرد دارند. در این میان، پرس سرد^۱، یکی از قدیمی‌ترین روش‌های استخراج روغن است که برای تولید روغن بدون هیچ‌گونه تیمار حرارتی، فرایند تصفیه و نیاز به حلال استفاده می‌شود. یکی از مزایای این روش، به حداقل رساندن تخریب ترکیبات مغذی موجود در روغن است.

یکی از محصولات جانبی تولید روغن هسته‌ی انار، کنجاله‌ای است که در طی فراوری، تولید شده و ۱۰ تا ۳۰ درصد ماده‌ی خام ورودی را شامل می‌شود و باعث ایجاد مشکلات زیست محیطی می‌گردد. بنابراین برای صنایع غذایی، توسعه‌ی سیستم‌های دفع زباله و مدیریت مناسب محصولات جانبی برای کاهش خطرات زیست محیطی، بسیار حائز اهمیت است. پتانسیل بازیابی محصولات جانبی، به خصوصیات شیمیایی و برخی خواص دیگر مانند خواص عملکردی و ضد میکروبی ترکیبات آن بستگی دارد. ضایعات غذایی می‌توانند به عنوان غنی کننده‌ی محصولات غذایی مختلف، یا به عنوان منبعی برای تولید اجزای غذایی مانند

رنگ، ماده‌ی ضد میکروبی و فیبر، استفاده شوند. بازیابی مواد مغذی از ضایعات غذایی، به عنوان یک راه جایگزین برای استفاده از این مواد جانبی که دارای مقادیر زیادی از ترکیبات فعال با ویژگی زیست فعالی مانند آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی هستند، پیشنهاد شده است [۴]. مطالعات نشان می‌دهند که می‌توان قبل از استخراج عصاره و با کمک اعمال فرایندهایی بر روی ماده‌ی اولیه از جمله برشته کردن و استفاده از پلاسمای سرد، میزان ترکیبات فنولیک را در عصاره‌ی گیاهی افزایش داد.

برشته کردن، یک روش فراوری سنتی است که می‌تواند ارزش تغذیه‌ای و کیفیت حسی مواد غذایی را افزایش دهد؛ زیرا که باعث آزاد شدن ترکیبات معطر می‌شود. علاوه بر این، برشته کردن می‌تواند بر ظرفیت آنتی اکسیدانی محصولات نیز تاثیرگذار باشد [۵]. این فرایند وابسته به دما و زمان است که سبب تغییرات فیزیکی و شیمیایی می‌گردد. برشته کردن سبب تجزیه‌ی اجزای سلولی، آزاد شدن ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی و تشکیل ترکیبات ناشی از حرارت می‌شود [۶]. برشته کردن قبل از استخراج عصاره، می‌تواند میزان ترکیبات فنولیک قابل استخراج را در عصاره‌ی به دست آمده افزایش دهد. این فرایند می‌تواند با استفاده از روش‌های متفاوتی مانند آون، مایکروویو و غیره انجام شود که هر کدام بسته به زمان و دمای اعمال شده، تاثیرات متفاوتی بر خصوصیات ماده‌ی برشته شده دارند. بولک (۲۰۲۲)، برشته کردن دانه‌های تمر هندی با مایکروویو (۶۰۰ وات) را بررسی کرده و مشاهده کرد که همراه با افزایش ترکیبات فنولیک، خاصیت آنتی اکسیدانی نیز به طور معنی داری افزایش یافت به طوری که با برشته کردن در مدت زمان‌های ۸، ۱۶ و ۲۴ دقیقه، خاصیت آنتی اکسیدانی به ترتیب از ۳۲/۲۲ (در نمونه ی برشته نشده) به ۳۵/۳۶، ۳۹/۷۳ و ۴۰/۴۸ درصد افزایش یافت [۷]. پلاσμα به عنوان حالت چهارم ماده تعریف می‌شود که رفتاری متفاوت با سه حالت

دیگر نشان می دهد. پلاسما را می توان به عنوان یک گاز خنثی با میزان قابل توجهی از ذرات یونیزه توصیف کرد. در این شرایط، گاز می تواند تحت تاثیر میدان های الکتریکی و مغناطیسی تبدیل به یک هادی الکتریکی شود. پلاسما را می توان با استفاده از گاز و افزودن نوعی انرژی (تخلیه الکتریکی، فرکانس رادیویی و امواج مایکروویو) تولید کرد [۸]. براساس مطالعات، پلاسمای سرد می تواند در برخی از صنایع از جمله صنایع غذایی برای جلوگیری از آلودگی میکروبی میوه و سبزیجات و غیرفعال سازی آنزیم نیز استفاده شود [۹]. به منظور بهبود قابلیت استخراج ترکیبات فنولیک، معمولاً از هیدرولیز اسیدی و یا قلیایی استفاده می شود که روش سازگاری با محیط زیست نبوده و به دلیل استفاده زیاد از ترکیبات اسیدی و قلیایی قوی و همچنین دمای بسیار زیاد ($95^{\circ}\text{C} - 80^{\circ}\text{C}$) برای هیدرولیز اسیدی باعث آسیب به ترکیبات فنولیک و کاهش استخراج این ترکیبات می گردد [۱۰]. علاوه بر این، استخراج برخی از ترکیبات مانند دیوسمتین^۱ از برگ گیاه *لوکوستا والرینلا*^۲ و یا ترکیبات فنولیک از آب زغال اخته به کمک پیش تیمار پلاسمای سرد افزایش می یابد که تأکیدی برتاثیر این پیش تیمار بر استخراج ترکیبات فنولیک است [۹]. در مطالعه ای، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره میوه کاکتوس گلابی خاردار پس از تیمار با پلاسمای سرد با قدرت ۷۵۰ وات به مدت ۴۰ دقیقه و ۸۵۶ وات به مدت ۳۶ دقیقه، به ترتیب ۱/۸ و ۱/۷ درصد افزایش یافت [۱۱].

برای استخراج ترکیبات فنولیک نیز روش های متفاوتی وجود دارد که به طور کلی به دو دسته ی ساده و پیچیده تقسیم بندی می شود. روش استخراج جامد-مایع^۳ یک روش استخراج ساده است که سال های متمادی است که رایج بوده و نیاز به فناوری مدرن نداشته و می تواند با ابزارهای ساده ای انجام شود. در این روش برای استخراج ترکیبات فنولیک، انواع

مختلفی از حلال های قطبی مانند متانول، اتانول، استون، کلروفرم و اتیل استات استفاده می شود. از دیدگاه محققان، اتانول به دلیل ایمنی بیشتر و کمک به تبخیر سریع تر آب، نسبت به استفاده از سایر حلال ها ترجیح داده می شود [۱۲]. استخراج به کمک امواج فراصوت پالسی، یک روش استخراج پیشرفته، اقتصادی و سودمند است که به تجهیزات گران قیمت نیاز ندارد. فراصوت منجر به ایجاد حباب هایی می شود که دیواره ی سلولی گیاه را تخریب کرده و محتویات سلولی آزاد می شوند [۱۲]. استخراج به کمک امواج فراصوت پالسی، نسبت به روش های استخراج سنتی، به زمان کوتاه تر و مصرف انرژی، حلال و مواد شیمیایی کم تر نیاز دارد. علاوه بر این، روش ذکر شده نسبت به استخراج با امواج فراصوت پیوسته، مشکلات تکنولوژیکی (استهلاک تجهیزات) کمتری داشته و چون در روش پالسی، روشن و خاموش شدن مداوم در طی فرایند استخراج وجود دارد، حرارت کمتری ایجاد شده و برای استخراج ترکیبات حساس به حرارت مانند پلی فنول ها مناسب تر است [۱۳]. در مطالعه ای، ترکیبات فنولیک موجود در پوست گردو با استفاده از سه روش متفاوت حمام اولتراسونیک، پروب اولتراسونیک و تکان دادن، استخراج شدند. بازده استخراج با استفاده از پروب اولتراسونیک mg DW ۵۱/۲ GAE/g (دوبرابر بیشتر از حمام اولتراسونیک و تکان دادن) بود [۱۴]. افزایش بازده استخراج در طی استفاده از امواج فراصوت، به دلیل تاثیر مکانیکی آن است. این اثر باعث تخریب دیواره های سلولی شده و زمانی که حباب های ناشی از حفره دار شدگی در سطح ماتریس جامد فرو می ریزند، انتقال جرم افزایش یافته که باعث نفوذ بیشتر حلال به ماتریس نمونه می شود [۱۵]. کنجاله هسته انار (پس از روغن کشی) حاوی ترکیبات تغذیه ای ارزشمندی است و با این وجود به عنوان ضایعات غذایی دور ریخته شده و یا در خوراک دام مورد استفاده قرار می گیرد. به همین دلیل هدف از این پژوهش، تلاش برای ایجاد ارزش افزوده برای این نوع

3- Prickly pear cactus fruit

4- Solid Liquid Extraction

1- Diosmetin

2- *Valerianella locusta*

ضایعات کارخانجات غذایی می‌باشد؛ از این رو، در این مطالعه با به کارگیری تیمارهای مختلف، راندمان استخراج ترکیبات فنولیک از کنجاله هسته انار افزایش یافت تا بهترین شرایط برای استخراج این ترکیبات ارزشمند استفاده شود.

۲-مواد و روش

۲-۱-مواد

کنجاله هسته انار از شرکت دستچین عالی (اصفهان، ایران) تهیه شد. اتانول ۹۶ درصد از شرکت نصر اصفهان و سایر مواد شیمیایی شامل متانول، معرف فولین سیوکالتیو^۶، ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل^۷ و کربنات سدیم از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

۲-۲-بررسی ترکیبات کنجاله هسته انار

ترکیبات کنجاله هسته انار طبق آزمون های زیر تعیین شد:

۲-۲-۱-اندازه گیری رطوبت

اندازه گیری رطوبت، طبق روش ازکان و همکاران (۲۰۲۱) صورت گرفت. در مرحله اول، ظرف آلومینیومی در آون با دمای 105°C به وزن ثابت رسید. سپس ۱۰ گرم از کنجاله هسته انار در ظرف توزین شد و کاملاً پخش گردید. ظرف حاوی نمونه در آون با دمای 105°C قرار گرفت تا زمانی که وزن ظرف و نمونه به مقدار ثابتی رسید. درصد رطوبت طبق فرمول زیر محاسبه شد [۱۶]؛

$$100 \times \left(\frac{\text{وزن نمونه بعد از خشک کردن} - \text{وزن نمونه قبل از خشک کردن}}{\text{وزن نمونه قبل از خشک کردن}} \right) = \text{درصد رطوبت}$$

۲-۲-۲-اندازه گیری چربی

اندازه گیری میزان چربی، طبق استاندارد (AOAC 1990) صورت گرفت. ۵ گرم از نمونه وزن شد و داخل تیمبل

کاغذی قرار داده شد و تیمبل حاوی نمونه به قسمت استخراج کننده‌ی دستگاه سوکسله منتقل و حلال پترولیوم اتر به آن اضافه شد. با اعمال حرارت و جوشیدن حلال، حلال تبخیر شده با کندانسور برخورد کرده و پس از چکه کردن بر روی نمونه، چربی استخراج شد. فرایند استخراج شش ساعت ادامه پیدا کرد تا تمام چربی نمونه استخراج شد. پس از گذشت این زمان، بالن حاوی حلال و چربی به دستگاه تبخیرکننده‌ی چرخان با خلاء با دمای 50°C منتقل و حلال آن جدا شد. با توزین بالن حاوی چربی و مشخص بودن وزن بالن، درصد چربی نمونه طبق فرمول زیر محاسبه شد [17]؛

$$100 \times \left(\frac{\text{وزن بالن خالی} - \text{وزن بالن حاوی روغن}}{\text{وزن نمونه}} \right) = \text{درصد روغن}$$

۲-۲-۳-اندازه گیری پروتئین

یک گرم از نمونه‌ی کنجاله هسته انار، درون لوله‌ی آزمایش دستگاه کلدال ریخته شد؛ سپس پنج گرم کاتالیزور (شامل $4/5$ گرم سولفات پتاسیم و $0/5$ گرم سولفات مس) به همراه ۱۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد، به لوله افزوده شد و لوله‌ی هضم به مدت ۳ ساعت در دمای 300°C حرارت داده شد تا هضم به طور کامل انجام شده و مخلوط کاملاً شفاف شود. هنگامی که مخلوط کاملاً سرد شد، ۷۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و برای تقطیر و تیتراسیون، در دستگاه قرار داده شد. برای مرحله‌ی تقطیر از هیدروکسید سدیم ۴۰ درصد و برای تیتراسیون از اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال و اسیدبوریک استفاده شد. دستگاه با شاهد صفر شد که شامل تمام موارد ذکر شده به جز کنجاله هسته انار است. نیتروژن کل موجود در نمونه با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه و از حاصل ضرب نیتروژن کل در ضریب ۶/۲۵، درصد پروتئین به دست آمد [۱۸]؛

= درصد نیتروژن کل

$$\left(\frac{\text{حجم اسید مصرفی} \times \text{نرمالیت اسید} \times 14}{1000 \times \text{وزن نمونه (g)}} \right) \times 100$$

۳-۲- برشته کردن کنجاله

بدین منظور، کنجاله هسته انار به صورت لایه‌ای یکنواخت پخش شده و در مایکروویو با توان ۶۴۰W برای ۱۰ دقیقه برشته شد [۱۶]. نمونه‌ی کنجاله پس از اعمال تیمار حرارتی، آسیاب شده و سپس از الک با مش ۴۰ عبور داده شد.

۴-۲- استخراج عصاره از کنجاله‌ی برشته شده

برای مقایسه‌ی اثر برشته کردن بر ویژگی‌های کنجاله هسته انار، استخراج عصاره‌ی فنولیک با مخلوط آب و اتانول (۵۰:۵۰) از تیمار برشته شده با مایکروویو به همراه نمونه‌ی کنترل (کنجاله خام هسته انار) انجام گرفت.

برای تهیه‌ی عصاره از نمونه‌ها، ۵ گرم از هر تیمار توزین شده، به یک ارلن در پیچ دار ۲۵۰ میلی لیتری منتقل و ۵۰ میلی لیتر مخلوط آب و اتانول (۵۰:۵۰) به آن اضافه شد (نسبت ۱ به ۱۰ بین نمونه و حلال)، سپس ارلن به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار با دور ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴۰°C قرار گرفت. پس از گذشت این زمان، برای جداسازی عصاره از بخش جامد، محتوای ارلن به فالكون منتقل شده و به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴°C قرار گرفت. سپس فاز رویی با کاغذ صافی صاف شده و تا زمان انجام آزمون، در لوله‌های شیشه‌ای پوشیده شده با ورق آلومینیوم (برای جلوگیری از اثر سوء نور) تا زمان انجام آزمون، در یخچال با دمای ۴°C نگهداری شد [۱۹].

۵-۲- بررسی رنگ عصاره‌ی کنجاله

از آن جا که عصاره‌ی حاصل باید در محصولات غذایی مورد بررسی و استفاده قرار بگیرد، لذا تغییرات رنگ در عصاره‌ی استخراج شده از کنجاله (خام و برشته شده) اندازه گیری شد. بدین منظور از دستگاه رنگ سنج (ZE 6000- Nippon- Denshoku- Japan) برای ارزیابی تأثیر برشته کردن بر روی پارامترهای L* (سیاه تا سفید)، a* (سبز تا قرمز) و b* (آبی

تا زرد) در عصاره‌ی کنجاله‌ی برشته شده نسبت به عصاره‌ی کنجاله‌ی خام استفاده شد.

۶-۲- پیش تیمار پلاسمای سرد

کنجاله‌ی برشته شده در مایکروویو ۶۴۰W به مدت ۱۰ دقیقه، تحت پلاسمای سرد به عنوان پیش تیماری برای بخش استخراج عصاره، مورد ارزیابی قرار گرفت. دستگاه پلاسمای سرد مورد استفاده در این پژوهش، از نوع تخلیه‌ی سد دی الکتریک در سطح فشار اتمسفری بود. به منظور اعمال پیش تیمار پلاسمای سرد، ۲ گرم پودر نمونه‌ی برشته شده، به صورت لایه‌ای نازک درون ظرف دستگاه پلاسمای سرد ریخته شد و برای جلوگیری از پخش شدن نمونه‌ی پودری، سطح پتری دیش توسط یک لایه سلفون پوشانده شد و بررسی فرایند با سه ولتاژ ۱۶، ۱۸ و ۲۰ کیلوولت و در سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه انجام گرفت. سپس از تیمارهای تهیه شده با پلاسمای سرد، استخراج عصاره با مخلوط آب و اتانول (۵۰:۵۰) و با کمک انکوباتور شیکردار (۱۰۰ دور در دقیقه، ۲۴ ساعت، ۴۰ درجه‌ی سلسیوس) انجام گرفت و میزان کل ترکیبات فنولیک و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره بررسی گردید و بهترین زمان و ولتاژ برای اعمال پیش تیمار پلاسمای انتخاب شد.

۷-۲- استخراج عصاره با امواج فراصوت

برای استخراج عصاره با امواج فراصوت، ابتدا بهینه سازی توان و زمان استخراج انجام گرفت. بدین منظور ۵ گرم از پودر کنجاله‌ی برشته شده در مایکروویو به مدت ۱۰ دقیقه، در یک بشر ریخته شد و ۵۰ میلی لیتر مخلوط آب و اتانول (۵۰:۵۰) به آن اضافه و در سه توان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات و سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه، عمل استخراج عصاره انجام شد. عصاره‌ی به دست آمده از نظر میزان کل ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی بررسی شد.

۸-۲- میزان کل ترکیبات فنولیک

در هر دو بخش بهینه سازی شرایط پیش تیمار پلاسمای سرد و استخراج با امواج فراصوت، برای اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولیک، مطابق با روش راجها و همکاران (۲۰۲۰)،

شد و به ۱ میلی لیتر فولین سیوکالتیو ۱:۱۰ رقیق شده و ۰/۸ میلی لیتر کربنات سدیم (۷/۵٪) افزوده گردید و کاملاً مخلوط شد و به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی و در دمای محیط قرارگرفت، سپس جذب نمونه‌ها در اسپکتروفتومتر و در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد و منحنی جذب در برابر غلظت رسم گردید [۲۰]:

به ۱ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو که به نسبت ۱:۱۰ رقیق شده بود، ۵۰ میکرولیتر عصاره و ۰/۸ میلی لیتر کربنات سدیم (۷/۵٪) اضافه گردید و محتوای لوله‌ها کاملاً مخلوط شده و برای ۹۰ دقیقه در تاریکی و در دمای محیط قرارگرفتند، سپس جذب نمونه‌ها در اسپکتروفتومتر و در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد، غلظت‌های متفاوتی از پودر گالیک اسید در آب و اتانول (۵۰:۵۰) تهیه

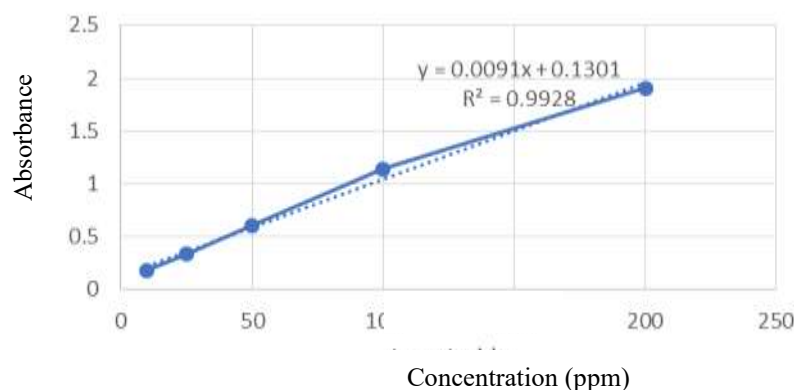


Figure 1- Absorption curve against different concentrations of gallic acid as standard.

اسپکتروفتومتر، خوانده شد [۲۱]. برای محاسبه درصد فعالیت آنتی اکسیدانی، از فرمول زیر استفاده گردید:

$$\left(1 - \frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب کنترل}}\right) = \text{درصد فعالیت آنتی اکسیدانی} \times 100$$

۲-۱۰- شناسایی کمی و کیفی ترکیبات فنولیک با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی زیاد^۱

به منظور تعیین و بررسی ترکیبات فنولیک موجود در عصاره‌ی کنجاله هسته انار، از دستگاه HPLC مدل HP 1090-agilent با ستون C₁₈ استفاده گردید. از محلول ۰/۱ درصد فرمیک اسید در آب (حلال A) و محلول ۰/۱ درصد استونیتریل در آب (حلال B) به عنوان فاز متحرک با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه در دمای ۲۵°C استفاده شد [۲۲]. عصاره‌های حاصل از استخراج با امواج فراصوت (با

۲-۹- فعالیت آنتی اکسیدانی

در هر دو بخش بهینه سازی شرایط پیش تیمار پلاسمای سرد و استخراج با امواج فراصوت، برای بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره، ابتدا محلول ۰/۱۵ میلی مولار از DPPH در متانول تهیه شد. به ۳ میلی لیتر از محلول متانولی، ۵۰ میکرولیتر از عصاره اضافه شد و کاملاً مخلوط گردید. در رابطه با نمونه‌ی کنترل نیز به ۳ میلی لیتر از محلول متانولی DPPH، فقط ۵۰ میکرولیتر مخلوط آب و اتانول (۵۰:۵۰) اضافه شد. نمونه‌ها برای جلوگیری از اثر سوء نور با ورق آلومینیومی پوشانده شدند و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس، جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه

و بدون اعمال پیش تیمار پلاسمای سرد)، برای شناسایی نوع و میزان ترکیبات فنولیک مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور، عصاره از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد و درون ظرف نمونه‌ی دستگاه ریخته شد و سپس از طریق پورت تزریق، به سیستم تزریق گردید. مقدار کمی ترکیبات شناسایی شده در عصاره با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

۲-۱۱- آنالیز آماری

داده ها پس از جمع آوری، با استفاده از نرم افزار Statistix ویرایش ۸، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در

این تحقیق، از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. وجود تفاوت معنی دار در نتایج، با استفاده از روش ANOVA از نظر آماری بررسی شده و در صورت معنی دار بودن، آزمون حداقل تفاوت معنی دار^۹، در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیبات کنجاله هسته انار

نتایج اندازه گیری پروتئین، چربی و رطوبت در کنجاله هسته انار در جدول ۱ گزارش شده است.

Table 1- Chemical compounds in pomegranate seed meal

Chemical composition	Content (%)
Protein	11.8±0.08
Moisture	3.9±0.14
Oil	9.44±0.06

-Data express mean ± standard deviation (SD).

بخش، رنگ عصاره‌ی کنجاله‌ی برشته شده و کنجاله‌ی خام اندازه گیری شد.

همان طور که در شکل ۲ مشخص است، برشته کردن باعث تغییرات قابل مشاهده در رنگ عصاره نسبت به عصاره‌ی کنجاله‌ی خام شد. طبق نتایج ذکر شده در شکل ۳، برشته کردن باعث شد نسبت به نمونه‌ی کنترل، پارامتر L^* کاهش و a^* و b^* افزایش یابند که این تغییرات در سطح ۹۵٪ معنی دار بود ($p < 0.05$). پارامتر L^* (بیانگر روشنی) در عصاره‌ی کنجاله‌ی خام، ۵۸/۲۵ بود که با برشته کردن با میکروویو به مدت ۱۰ دقیقه کاهش یافته و به ۴۴/۴۴ رسید. فرآیند های حرارتی مانند برشته کردن، عمدتاً از طریق واکنش هایی از جمله تخریب یا قهوه‌ای شدن، باعث تغییر رنگ می‌شوند [۲۴]. بنابراین می‌توان احتمال داد که کاهش مقدار L^* به دلیل تشکیل رنگدانه‌های قهوه‌ای ناشی از واکنش های کاراملیزاسیون و مایلارد در طی فرآیند حرارتی برشته کردن است [۲۵]. پارامتر a^* (بیانگر سبزی و قرمزی) نسبت به

طبق اطلاعات به دست آمده و گزارش شده در جدول ۱، میزان پروتئین، رطوبت و چربی، به ترتیب ۱۱/۸، ۳/۹ و ۹/۴۴ درصد بود. ته و همکاران (۲۰۱۹)، میزان پروتئین، رطوبت و چربی در کنجاله هسته انار که در فرایند پرس کردن به دست آمده بود را به ترتیب ۱۱/۷، ۱/۴ و ۶/۸ درصد گزارش کردند [۲۳]. لازم به ذکر است درصد ترکیبات موجود در هسته‌ی انار در واریته‌های مختلف، بسیار متفاوت است و بنابراین در کنجاله هسته انار به دست آمده از واریته‌های مختلف نیز این تفاوت در میزان ترکیبات، مشاهده می‌شود.

۳-۲- بررسی اثر برشته کردن بر رنگ عصاره

برشته کردن کنجاله هسته انار می‌تواند بر نوع ترکیبات و ویژگی آن تاثیر بگذارد. پارامترهایی چون دما، روش و زمان برشته کردن، می‌تواند در میزان این تغییر موثر باشند و سبب تغییر در پارامترهایی از جمله رنگ گردند. بنابراین در این

نیز تجزیه‌ی فسفولیپیدها نسبت داده شد [۲۶].^{b*} (بیانگر آبی و زرد بودن) نسبت به نمونه‌ی کنترل، روند افزایشی و معناداری را نشان داد (از ۳۸/۷۲ در نمونه‌ی کنترل به ۴۳/۲۱ در نمونه‌ی برشته شده رسید). این افزایش می‌تواند ناشی از وجود مواد قهوه‌ای رنگ مانند ملانوئیدین حاصل از واکنش مایلارد باشد [۲۴].

نمونه‌ی کنترل، به طور معنی داری ($p < 0.05$) تغییر کرد. میزان این پارامتر در عصاره کنجاله خام، ۱۱/۳۶ بود و در نمونه‌ی برشته شده با میکروویو به مدت ۱۰ دقیقه به ۱۶/۴۸ رسید. در مقاله‌ای که برشته کردن کنجد با هوای داغ بررسی شد، قرمزتر شدن رنگ بر اثر اعمال حرارت، به تشکیل رنگدانه‌های قهوه‌ای حاصل از قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی و

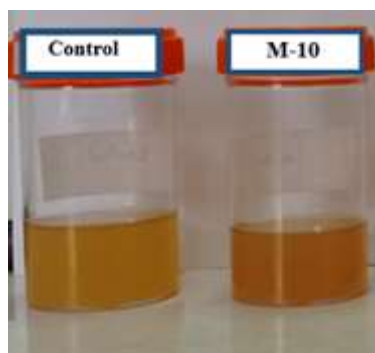
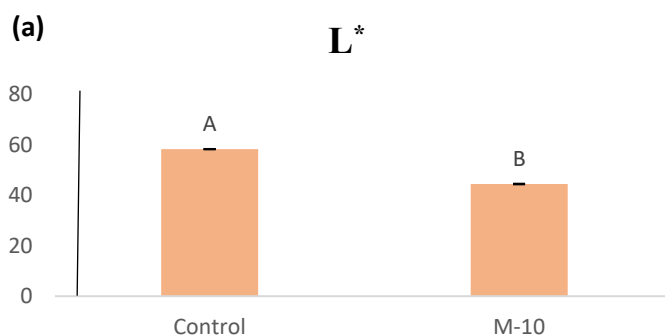


Figure 2- Visual appearance of the meal extract in the microwave for 10 min compared to the raw extract. Abbreviations: M: Microwave roasted. The number next to the letter M indicates the duration of the process in minutes.

رنگدانه پس از استخراج است که بر درک بصری ما از رنگ و نیز پارامترهای قابل اندازه‌گیری مربوط به رنگ تاثیر می‌گذارند.

به طور کلی می‌توان گفت، تفاوت‌های مشاهده‌شده بین عصاره‌ی نمونه‌ی برشته شده در مقایسه با عصاره‌ی کنجاله‌ی خام، تحت تأثیر واکنش‌های شیمیایی و تغییر در حالیت



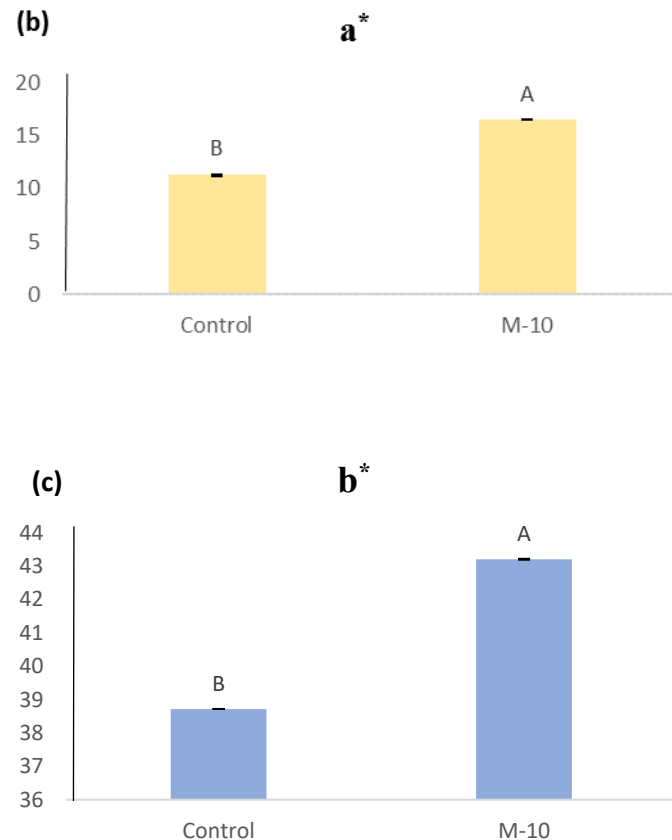


Figure 3- Color values of the roasted extract compared to the raw extract. Abbreviation: M: microwave roasted. The number next to the letter M indicates the processing time in minutes. (a): L*, (b): a*, (c): b*.

معناداری نداشت؛ اما با افزایش ولتاژ به ۲۰ کیلوولت، این تفاوت معنی دار شد و در زمان ۱۵ دقیقه به حداکثر میزان خود رسید. در ولتاژ ثابت ۲۰ کیلوولت، با افزایش زمان از ۵ به ۱۵ دقیقه، افزایش میزان ترکیبات فنولیک مشاهده شد. در رابطه با خاصیت آنتی اکسیدانی، در هر ولتاژ، با افزایش مدت زمان، خاصیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش یافت. در ولتاژهای بیشتر، پارگی‌های قابل توجهی در دیواره سلولی ایجاد می‌شود که امکان استخراج آسان‌تر ترکیبات فنولیک را فراهم می‌کند. به عنوان مثال، تفاله‌ی انگور تیمار شده با پلاسمای سرد در ولتاژ زیاد، به دلیل اختلال در ساختار سلولی، ۲۲/۸-۱۰/۹ درصد افزایش در محتوای فنولیک نسبت به نمونه‌ی کنترل نشان داد [۲۷]. با افزایش مدت زمان قرارگیری در معرض پلاسمای سرد، اختلال در ساختار سلولی نیز به میزان بیشتری رخ داده و در نتیجه ترکیبات موجود در ساختار سلولی بیشتر آزاد می‌شوند که ممکن است سبب افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی شود. از طرفی باید توجه داشت که

۳-۳- بهینه سازی شرایط پلاسمای سرد

کنجالی برشته شده در مایکروویو به مدت ۱۰ دقیقه، برای بررسی اثر پلاسمای سرد در سه مدت زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه و سه ولتاژ ۱۶، ۱۸ و ۲۰ کیلوولت قرار گرفت تا شرایط بهینه‌ی پیش تیمار برای استخراج عصاره با بیشترین میزان ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی انتخاب شود.

بررسی نتایج به دست آمده، نشان دهنده‌ی تاثیر معنی دار ($p < 0.05$) پیش تیمار پلاسما بر میزان ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی در کنجاله هسته انار است. طبق نتایج جدول ۲، میزان کل ترکیبات فنولیک در محدوده‌ی ۱۴۶/۴۷ تا ۱۹۷/۰۳ میلی گرم معادل گالیک اسید در یک لیتر عصاره بود. در ولتاژ ۱۶ و ۱۸ کیلوولت و در سه زمان مورد بررسی، میزان کل ترکیبات فنولیک نسبت به نمونه‌ی کنترل تفاوت

ترکیب شده اند. پلاسما بر سطح و به خصوص دیواره‌ی سلولی تاثیر می‌گذارد و سبب تغییر ساختار دیواره و آزاد شدن ترکیبات فنولیک متصل به آن می‌گردد [۲۹]. بنابراین احتمال داده می‌شود در کنجاله هسته انار نیز ترکیبات فنولیک به شکل متصل به دیواره‌ی سلولی وجود داشته که اعمال فرایند پلاسما سبب رها شدن این ترکیبات و در نتیجه افزایش محتوای کل فنولیک و نیز افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی شده است. در مطالعه‌ی حاضر، تیمار پلاسما سرد در ولتاژ ۲۰ کیلوولت و به مدت زمان ۱۵ دقیقه با بیشترین میزان ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی، به عنوان تیمار بهینه‌ی پلاسما سرد انتخاب شد.

میزان ولتاژ و مدت زمان قرارگیری در معرض پلاسما سرد باید بهینه سازی شود. در بررسی تاثیر زمان قرارگیری سبب های تازه برش خورده در معرض پلاسما سرد مشاهده شد که پروفایل ترکیبات فنولیک نمونه ها پس از ۱۰ دقیقه تیمار با پلاسما سرد از نظر کمی و کیفی تحت تاثیر قرار گرفت (افزایش تقریباً ۲۰ درصدی) اما با افزایش زمان قرارگیری، کاهش تدریجی همهی پلی فنول ها مشاهده شد و فعالیت آنتی اکسیدانی نیز روند مشابهی را طی کرد [۲۸].

ترکیبات زیست فعال به ویژه پلی فنول ها به دو شکل آزاد و باند شده وجود دارند که برخی از آن ها با دیواره‌ی سلولی

Table 2 - Total phenolic content and antioxidant activity under different cold plasma conditions

Treatment (Voltage-Time)	Parameter	
	Total phenolic content (mgGAE/L)	Antioxidant activity (%)
Control (without cold plasma)	162.08±0.26 ^B	85.91±0.70 ^C
16-5	159.29±16.52 ^B	86.53±0.07 ^{BC}
16-10	155.99±13.66 ^B	90.77±4.91 ^A
16-15	148.71±13.13 ^B	88.29±0.39 ^{ABC}
18-5	146.47±16.80 ^B	78.71±1.81 ^D
18-10	171.18±20.41 ^B	86.97±0.60 ^{ABC}
18-15	165.80±15.01 ^B	89.42±0.99 ^{ABC}
20-5	173.56±19.54 ^{AB}	89.75±0.44 ^{ABC}
20-10	173.13±1.49 ^{AB}	85.99±0.66 ^C
20-15	197.03±1.72 ^A	90.31±0.81 ^{AB}

-Data express mean $\pm$ standard deviation (SD). Means with different superscripts in each column are significantly different at $p < 0.05$. The control refers to the seed meal sample microwaved for 10 min that has not been subjected to plasma pre-treatment. The numbers 16, 18, and 20 represent voltage (kV), and the numbers 5, 10, and 15 represent the plasma process time (min).

۳۰۰ وات و سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه انجام شد و

خصوصیات عصاره‌ی حاصل از نظر محتوای ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی بررسی شد. نتایج آنالیز آماری، نشان دهنده‌ی معنی دار بودن تیمارهای متفاوت استخراج با امواج فراصوت، بر میزان کل ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی کنجاله هسته انار است.

۳-۴- بهینه سازی شرایط استخراج با امواج فراصوت

پس از این که شرایط پیش تیمار پلاسما بهینه سازی شد، برای انتخاب بهترین شرایط استخراج عصاره با امواج فراصوت نیز بررسی لازم صورت گرفت. به همین منظور، استخراج عصاره با امواج فراصوت در سه توان ۱۰۰، ۲۰۰ و

Table 3 - Total phenolic content and antioxidant activity in different treatments extracted with ultrasonic waves

Treatment (Power-Time)	Parameter	
	Total phenolic content (mg GAE/L)	Antioxidant activity (%)
100-5	72.47±1.43 ^G	41.16±1.04 ^D
100-10	67.18±0.12 ^H	39.83±1.07 ^D
100-15	84.32±0.40 ^F	51.10±3.66 ^C
200-5	133.87±0.89 ^E	65.26±6.37 ^B
200-10	147.06±0.17 ^C	73.74±2.27 ^{AB}
200-15	158.19±0.37 ^A	78.06±3.96 ^A
300-5	145.41±2.23 ^{CD}	71.87±6.17 ^{AB}
300-10	142.69±0.85 ^D	77.36±3.45 ^A
300-15	152.81±2.32 ^B	80.32±0.03 ^A

-Data express mean $\pm$ standard deviation (SD). Means with different superscripts in each column are significantly different at $p < 0.05$. The numbers 5, 10, and 15 represent the duration under consideration in minutes, and the numbers 100, 200, and 300 represent the power (W) under consideration.

کیلوهرتز، توانایی استخراج ترکیبات فنولیک بیشتری دارد. در استخراج ترکیبات فنولیک با امواج فراصوت، کاهش میزان این ترکیبات با افزایش قدرت را می توان به پدیده ی حفره سازی^{۱۰} نسبت داد. حفره سازی زمانی اتفاق می افتد که امواج فراصوت باعث ایجاد و فروپاشی حبابها در حلال و در نزدیکی بافت ماده ی غذایی می شوند. این فروپاشی باعث ایجاد گرما و فشار موضعی شدید می شود که منجر به شکسته شدن دیواره های سلولی و آزاد شدن ترکیبات می شود. با این حال، قدرت بیش از حد می تواند باعث حفره سازی شدیدتر شود که ممکن است ترکیبات حساسی مانند ترکیبات فنولیک را تخریب کند و در نتیجه کارایی کلی استخراج این ترکیبات را کاهش دهد [۳۱].

همان طور که در جدول ۳ مشخص است، میزان خاصیت آنتی اکسیدانی نیز با افزایش توان و زمان، روند افزایشی نشان داد و عصاره به دست آمده در توان ۲۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه که دارای حداکثر میزان ترکیبات فنولیک بود، خاصیت

طبق نتایج جدول ۳، با افزایش توان و افزایش مدت زمان استخراج عصاره، میزان کل ترکیبات فنولیک افزایش یافت اما نکته ی جالب توجه در این موضوع، کم تر بودن میزان ترکیبات فنولیک در توان ۳۰۰ وات نسبت به ۲۰۰ وات است که احتمالاً افزایش توان، منجر به تخریب ترکیبات فنولیک شده است. بنابراین شرایط بهینه از نظر حداکثر میزان ترکیبات فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی، توان ۲۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه بود. احمد و همکاران (۲۰۲۲)، بهینه سازی استخراج ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره را در پالپ آلو به کمک امواج فراصوت بررسی کردند. نتایج نشان داد با افزایش مدت زمان استخراج، میزان ترکیبات فنولیک بیشتر شد و در نتیجه گزارش شد که به احتمال زیاد زمان طولانی استخراج، به پلی فنولها اجازه می دهد تا از بافت خارج شوند [۳۰]. آلتیمی و همکاران (۲۰۱۶)، در استخراج ترکیبات فنولیک از کدوتنبل و هلو به کمک امواج فراصوت دریافتند که فرکانس ۳۷ کیلوهرتز نسبت به ۸۰

آنتی اکسیدانی زیادی را نیز دارا بود؛ اما بر خلاف تغییرات میزان ترکیبات فنولیک که در توان ۳۰۰ وات روند کاهشی مشاهده شد، در همین توان در زمان های متفاوت اعمال شده، هم چنان خاصیت آنتی اکسیدانی زیاد بود. قاسمی و همکاران (۲۰۰۹)، بیان کردند لزوماً بین تغییرات محتوای فنولیک و خاصیت آنتی اکسیدانی، همبستگی خطی وجود ندارد [۳۲]. از طرفی، اختلاف بین سطوح ترکیبات فنولیک و آنتی اکسیدانی را می توان به تشکیل ترکیباتی غیر از پلی فنول ها نسبت داد که به روش DPPH (برای تعیین خاصیت آنتی اکسیدانی) پاسخ می دهند اما به روش استفاده از-Folin Ciocalteu's phenol reagent (برای تعیین میزان کل ترکیبات فنولیک) پاسخ نداده اند [۳۳].

۳-۵- شناسایی ترکیبات فنولیک در عصاره توسط

HPLC

در این بخش، نوع و میزان ترکیبات فنولیک موجود در عصاره های حاصل از استخراج با امواج فراصوت پالسی با و بدون اعمال پیش تیمار پلاسما سرد بررسی شدند. طبق اطلاعات جدول ۴، در بین ترکیبات شناسایی شده در هر دو عصاره ای استخراج شده با امواج فراصوت (با و بدون اعمال پیش تیمار پلاسما)، گالیک اسید بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است که از لحاظ مقداری نسبت به سایر ترکیبات بسیار قابل توجه است. مقدار گالیک اسید در عصاره ای پیش تیمار شده با پلاسما (۴۰/۶۹ میلی گرم در لیتر عصاره) بیشتر از عصاره ای بدون پیش تیمار پلاسما (۳۵/۱۹ میلی گرم در لیتر عصاره) بود که بیانگر تاثیر مثبت این پیش

تیمار بر افزایش میزان این ترکیب است. از طرفی سیرینجیک اسید و کلروژنیک اسید در عصاره ای پیش تیمار شده با پلاسما وجود داشت که در عصاره ای بدون پیش تیمار پلاسما مشاهده نشد. در مطالعه ای تاثیر پیش تیمار پلاسما سرد بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی برش های سیب بررسی شد و نتایج حاکی از افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی بود. این تغییر به اکسیداسیون کاتچین نسبت داده شد که باعث تشکیل پروسیانیدین هایی می گردد که فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به کاتچین دارند [۱۱]. بنابراین می توان به نقش موثر ترکیبات ایجاد شده ای جدید در اثر اعمال پیش تیمار پلاسما اشاره کرد که باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شده اند.

ازکان و همکاران (۲۰۲۰) نیز ترکیبات فنولیک موجود در عصاره ای هسته ای انار که در مایکروویو با توان ۷۲۰W به مدت ۱۰ دقیقه برشته شده بود را شناسایی کردند؛ در میان ترکیبات گزارش شده، گالیک اسید با میزان ۱۹۲/۷۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه، بیشترین میزان نسبت به سایر ترکیبات فنولیک را به خود اختصاص داد [۱۶]. الستاف و همکاران (۲۰۲۱)، ترکیبات فنولیک موجود در عصاره ای پودر هسته ای انار را به کمک HPLC بررسی و گزارش کردند که ترکیبات گالیک اسید، کافئیک اسید و ۴-هیدروکسی بنزوئیک اسید، به ترتیب به میزان ۱۴/۵، ۲/۵ و ۰/۶ میکروگرم در گرم، از جمله ترکیبات فنولیک مهم در عصاره ای هسته ای انار هستند [۳۴].

Table 4- The type and amount of phenolic compounds identified in the pomegranate seed meal extract

	Phenolic compound	Retention Time (min)	Phenolic compound content (mg/l of extract)
C-UI	Gallic acid	5.5	40.69±0.72 ^A
	Syringic acid	16.1	12.13±0.25 ^C
	Ferulic acid	29.7	6.07±0.23 ^D

	Chlorogenic acid	13.7	1.63±0.13 ^E
N-UI	Gallic acid	5.5	35.19±0.59 ^B
	Ferulic acid	29.7	5.91±1.1 ^D
	Syringic acid	16.1	-
	Chlorogenic acid	13.7	-

-Data express mean ± standard deviation (SD). Means with different superscripts in each column are significantly different at $p < 0.05$. Abbreviations: UI: Ultrasonic extraction method, C: Cold plasma pre-treatment processes, N: Non-applying cold plasma pre-treatment.

۴- نتیجه گیری

با برشته کردن با مایکروویو (۶۴۰ وات به مدت ۱۰ دقیقه)، استفاده از پیش تیمار پلاسمای سرد (۲۰ کیلو ولت به مدت ۱۵ دقیقه) و استخراج با امواج فراصوت (۲۰۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه)، می توان به مقادیر مناسب از ترکیبات فنولیک از کنجاله هسته انار دست پیدا کرده و از این عصاره به شکل موثرتری در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی استفاده کرد.

کنجاله هسته انار، از جمله ضایعات غذایی حاوی ترکیبات فنولیک است. از آنجا که این ضایعات ارزشمند بدون استفاده‌ی مناسب معمولاً دور ریخته می شوند، می توان با شناسایی و به کارگیری روش های مناسب برای استخراج، علاوه بر جلوگیری از هدر رفتن این ترکیبات، در زمینه های بسیاری از آنها استفاده کرد. نتایج این پژوهش نشان داد که

۵- منابع

- [1] Yang, B., Kealey, K., Chen, J., & Solval, K. M. (2022). Developing microencapsulated powders containing polyphenols and pectin extracted from Georgia-grown pomegranate peels. *LWT*, 154, 112644.
- [2] Kandyliis, P., & Kokkinomagoulos, E. (2020). Food applications and potential health benefits of pomegranate and its derivatives. *Foods*, 9(2), 122.
- [3] Campos, L., Seixas, L., Henriques, M. H., Peres, A. M., & Veloso, A. C. (2022). Pomegranate peels and seeds as a source of phenolic compounds: Effect of cultivar, by-product, and extraction solvent. *International Journal of Food Science*, 2022.
- [4] Karaman, S., Karasu, S., Tornuk, F., Toker, O. S., Gecgel, U., Sagdic, O., Ozcan, N., & Gul, O. (2015). Recovery potential of cold press byproducts obtained from the edible oil industry: Physicochemical, bioactive, and antimicrobial properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(8), 2305-2313.
- [5] Kittibunchakul, S., Kemsawasd, V., Hudthagosol, C., Sanporkha, P., Sapwarabol, S., & Suttisansanee, U. (2023). The Effects of Different Roasting Methods on the Phenolic Contents, Antioxidant Potential, and In Vitro Inhibitory Activities of Sacha Inchi Seeds. *Foods*, 12(22), 4178.
- [6] Ahmed, I. A. M., Al Juhaimi, F. Y., Osman, M. A., Al Maiman, S. A., Hassan, A. B., Alqah, H. A., Babiker, E. E., & Ghafoor, K. (2020). Effect of oven roasting treatment on the antioxidant activity, phenolic compounds, fatty acids, minerals, and protein profile of Samh (Mesembryanthemum forsskalei Hochst) seeds. *LWT*, 131, 109825.
- [7] Bolek, S. (2022). Valorization of microwave roasted Tamarindus indica seed in functional biscuit production and effects on rheological and textural properties of biscuit dough. *Journal of Food Science and Technology*, 59(5), 2080-2086
- [8] Munekata, P. E., Domínguez, R., Pateiro, M., & Lorenzo, J. M. (2020). Influence of plasma treatment on the polyphenols of food products—A review. *Foods*, 9(7), 929.

- [9] Keshavarzi, M., Najafi, G., Ahmadi Gavlighi, H., Seyfi, P., & Ghomi, H. (2020). Enhancement of polyphenolic content extraction rate with maximal antioxidant activity from green tea leaves by cold plasma. *Journal of Food Science*, 85(10), 3415-3422.
- [10] Bao, Y., Reddivari, L., & Huang, J.-Y. (2020). Development of cold plasma pretreatment for improving phenolics extractability from tomato pomace. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 65, 102445.
- [11] Kim, S. Y., Lee, S. Y., & Min, S. C. (2019). Improvement of the antioxidant activity, water solubility, and dispersion stability of prickly pear cactus fruit extracts using argon cold plasma treatment. *Journal of Food Science*, 84(10), 2876-2882.
- [12] Jauhar, S., Ismail-Fitry, M. R., Chong, G. H., NorKhaizura, M. A. R., & Ibadullah, W. Z. W. (2018). Polyphenol compounds from Pomegranate (*Punica Granatum*) extracted via various methods and its application on meat and meat products: a review. *Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology*, 12(1), 1-12.
- [13] Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H., & Hamid, A. A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food chemistry*, 206, 156-166.
- [14] Han, H., Wang, S., Rakita, M., Wang, Y., Han, Q., & Xu, Q. (2018). Effect of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds on the characteristics of walnut shells. *Food and Nutrition Sciences*, 9(8), 1034-1045.
- [15] Oroian, M., Dranca, F., & Ursachi, F. (2020). Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 70-78.
- [16] Özcan, M. M., Alkaltham, M. S., Uslu, N., & Salamatullah, A. (2021). Effect of different roasting methods on the bioactive properties, phenolic compounds and fatty acid compositions of pomegranate (*Punica granatum L. cv. Hicaz*) seed and oils. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 2283-2294.
- [17] AOCS, O. (1998). methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA.
- [18] Dadashi, S., Mousazadeh, M., Emam-Djomeh, Z., & Mousavi, S. M. (2013). Pomegranate (*Punica granatum L.*) seed: A comparative study on biochemical composition and oil physicochemical characteristics. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(4), 351-363.
- [19] Basiri, S. (2015). Evaluation of antioxidant and antiradical properties of Pomegranate (*Punica granatum L.*) seed and defatted seed extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1117-1123.
- [20] Rajha, H. N., Koubaa, M., Boussetta, N., Maroun, R. G., Louka, N., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2020). Selective ultrasound-assisted aqueous extraction of polyphenols from pomegranate peels and seeds. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7), e14545.
- [21] Aksoy, F. S., Tekin-Cakmak, Z. H., Karasu, S., & Aksoy, A. S. (2021). Oxidative stability of the salad dressing enriched by microencapsulated phenolic extracts from cold-pressed grape and pomegranate seed oil by-products evaluated using OXITEST. *Food Science and Technology*, 42, e57220.
- [22] Lin, L.-Z., & Harnly, J. M. (2010). Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Food chemistry*, 120(1), 319-326.
- [23] Teh, H. E., Yokoyama, W. H., German, J. B., McHugh, T. H., & Pan, Z. (2019). Hypocholesterolemic effects of expeller-pressed and solvent-extracted fruit seed oils and defatted pomegranate seed meals. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(22), 6150-6159.
- [24] Yoon, S., Jeong, H., Jo, S. M., Hong, S. J., Park, H., Ban, Y., Youn, M. Y., & Shin, E.-C. (2024). Physicochemical and chemosensory properties of pomegranate (*Punica granatum L.*) seeds under various oven-roasting conditions. *Food chemistry*, 446, 138907. .

- [25] Smail, B. B., Huang, R., Liu, D., Ye, X., & Guo, M. (2022). Potential valorisation of baobab (*Adansonia digitata*) seeds as a coffee substitute: Insights and comparisons on the effect of roasting on quality, sensory profiles, and characterisation of volatile aroma compounds by HS-SPME/GC-MS. *Food chemistry*, 394, 133475.
- [26] He, S., Pan, T., Zhang, Z., Wu, Y., Sun, H., Ma, Y., & Zhang, Y. (2023). Interactive effect of hot air roasting processes on the sensory property, allergenicity, and oil extraction of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Grain & Oil Science and Technology*, 6(2), 71-81.
- [27] Bao, Y., Reddivari, L., & Huang, J.-Y. (2020). Enhancement of phenolic compounds extraction from grape pomace by high voltage atmospheric cold plasma. *LWT*, 133, 109970.
- [28] Tappi, S., Ramazzina, I., Rizzi, F., Sacchetti, G., Ragni, L., & Rocculi, P. (2018). Effect of plasma exposure time on the polyphenolic profile and antioxidant activity of fresh-cut apples. *Applied Sciences*, 8(10), 1939.
- [29] Thirumdas, R., Deshmukh, R., & Annapure, U. (2016). Effect of low temperature plasma on the functional properties of basmati rice flour. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 2742-2751.
- [30] Ahmed, T., Rana, M. R., Maisha, M. R., Sayem, A., Rahman, M., & Ara, R. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata* L. f. *kurz*) pulp by response surface methodology. *Heliyon*, 8(10).
- [31] Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., & Lightfoot, D. A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PloS one*, 11(2), e0148758.
- [32] Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, M. A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*, 22(3), 277-281.
- [33] Akele, M. L., Nega, Y., Belay, N., Kassaw, S., Derso, S., Adugna, E., Desalew, A., Arega, T., Tegenu, H., & Mehari, B. (2024). Effect of roasting on the total polyphenol content and antioxidant activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds grown in Ethiopia. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16, 101163.
- [34] Alsataf, S., Başıyigit, B., & Karaaslan, M. (2021). Multivariate analyses of the antioxidant, antidiabetic, antimicrobial activity of pomegranate tissues with respect to pomegranate juice. *Waste and Biomass Valorization*, 12, 5909-5921.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Optimization of cold plasma and pulsed ultrasound conditions in the extraction of phenolic compounds from pomegranate seed meal

Leila Ghasemi-Nezhad, Sayed Amir Hossein Goli*, Sabihe Soleimani-Zad

1- Master's student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156 83111, Iran

2- Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156 83111, Iran

3- Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156 83111, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2025/04/13 Accepted: 2025/06/17 Keywords: Pomegranate seed meal, Phenolic compounds, Cold plasma, Ultrasound waves, Extrac DOI: 10.48311/fsct.2025.84020.0. *Corresponding Author E- amirgoli@iut.ac.ir	The waste generated during the processing and production of food products is one of the major problems in the food industry. Disposing of waste leads to the loss of valuable bioactive compounds, which, if identified and extracted, can have many applications in food products. Pomegranate is one of the fruits whose processing generates a significant amount of waste, and this waste is usually discarded without any reuse. In this study, the preparation of phenolic extract from pomegranate seed meal obtained by cold pressing was investigated. For this purpose, the microwave-roasted meal was treated with cold plasma for 10 min as a pretreatment for extracting phenolic compounds, and the conditions of voltage (16, 18, and 20 kV) and time (5, 10, and 15 min) were optimized in terms of achieving an appropriate amount of total phenolic content and antioxidant activity. Optimization of power (100, 200, and 300 W) and time (5, 10, and 15 min) was also conducted for the extraction of compounds using pulsed ultrasound. In the end, the type and amount of phenolic compounds were analyzed using HPLC. Based on the results, applying a cold plasma pretreatment with a voltage of 20 kV for 15 min and extraction with ultrasonic waves at 200 W for 15 min were the best conditions for extracting phenolic compounds. HPLC results also indicated a high amount of gallic acid compared to other compounds in the extract.