

بررسی ترکیبات فنولی عصاره‌های استخراج شده از میوه زرشک بی دانه (*Berberis vulgaris*) با استفاده از دو روش خیساندن و سیال مادون بحرانی آب

مرتضی محمدی^{1*}، عبدالمجید مسکوی²، سید علی مرتضوی³، آرش کوچکی³

¹ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران

² استادیار گروه علوم و صنایع غذایی پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی، مشهد، ایران

³ گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: 1392/3/13

تاریخ دریافت: 1391/11/3

چکیده

اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها باعث کاهش کیفیت و زمان ماندگاری غذاهای حاوی آنها می‌گردد. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یکی از موثرترین راه‌های جلوگیری از فساد ناشی از اکسیداسیون می‌باشد. در این مطالعه، آنتی‌اکسیدان‌های موجود در میوه زرشک بی دانه با استفاده از سیال مادون بحرانی آب در دو دمای 120 و 180 درجه سانتی‌گراد و فشار ثابت 10 بار، استخراج شد و مقدار ترکیبات فنولی کل و قدرت احیاکنندگی عصاره‌های بدست آمده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج در طرح فاکتوریل با استفاده از جدول ANOVA تجزیه و تحلیل شده و توسط آزمون LSD در سطح 99% مقایسه شدند. مقدار کل ترکیبات فنولی از 1861/9 تا 2439/3 mg G.A/100 g D.M در تغییر بود. قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها با دو آنتی‌اکسیدان BHT و اسید آسکوربیک نیز مقایسه شد. قدرت احیاکنندگی عصاره‌های بدست آمده به روش SCW، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با قدرت احیاکنندگی عصاره حاصل از روش خیساندن و دو آنتی‌اکسیدان BHT و اسید آسکوربیک داشت ($P < 0.01$).

کلید واژه‌ها: زرشک بی دانه، سیال مادون بحرانی، خیساندن، قدرت احیاکنندگی.

1- مقدمه

تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن استفاده می‌کند (17). آب در محدوده دمایی 100 تا 374 درجه سانتی‌گراد و تحت فشار مورد نیاز برای باقیماندن در فاز مایع، به یک سیال مادون بحرانی تبدیل می‌شود (5). تحت این شرایط باندهای هیدروژنی ضعیف و سست شده، قطبیت آب به مقدار قابل توجهی کاهش یافته و ثابت یونیزاسیون آب (K_w) افزایش می‌یابد (12، 18). هدف از انجام این مطالعه اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی و بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از میوه زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*) تحت شرایط مادون بحرانی و مقایسه نتایج آن با عصاره‌های بدست آمده به روش سنتی خیساندن می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1 مواد اولیه

میوه زرشک بی‌دانه، به عنوان ماده اولیه اصلی برای استخراج آنتی‌اکسیدان، از گیاهان کشت شده در باغات اصلاح نژاد پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی تهیه و تحت شرایط مناسب (به دور از نور و حرارت و در سایه) خشک و تا زمان مصرف درون ظرف‌های درب دار آلومینیوم پیچ شده در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. نمونه‌ها قبل از استخراج توسط آسیاب آزمایشگاهی (Tos Shekan T8300) خرد شده و مورد استفاده قرار گرفتند.

2-2 استخراج به روش خیساندن⁸

20 گرم از نمونه‌های زرشک با 400^{cc} آب مقطر مخلوط و به مدت 18 ساعت بر روی همزن مغناطیسی (VELP Scientifica, Type ARE) در دمای محیط قرار گرفتند تا فرایند استخراج به روش خیساندن انجام شود. پس از آن نمونه‌ها در تبخیرکننده دوار (Buchi Rota vapor, R-114) در دمای 50^{°C} تغلیظ و سپس توسط آون خلا (Heraeus instruments vacuum therm) در دمای 45^{°C} کاملاً خشک و تا زمان مصرف تحت شرایط دمایی 18^{°C}- نگهداری شدند.

اکسیداسیون چربی‌ها در مواد غذایی، نگهداری آنها را شدیداً کاهش داده و باعث می‌شود که غذاهایی با کیفیت غیر قابل قبول به مشتری ارائه شود. تحقیقات زیادی برای یافتن پتانسیل آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدست آمده از مواد مختلف کشاورزی (مانند پوست، ریشه، ساقه، برگ و میوه گیاهان) به عنوان جایگزینی برای ترکیبات سنتزی انجام شده است (2).

مطالعات بسیاری در این خصوص انجام شده و نشان داده است که ترکیبات پلی‌فنولی، آنتی‌اکسیدان‌های خوبی در برابر پراکسیداسیون چربی‌ها در فسفولیپیدها و سیستم‌های بیولوژیکی هستند (5). این قضیه عموماً پذیرفته شده که تنش اکسیداتیو به وسیله گروه‌های مختلف اکسیژن فعال شده (ROS^1) مانند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و متوکسیل، ایجاد می‌شود (7).

یکی از منابع سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، گیاه زرشک می‌باشد که تا کنون مطالعات بسیاری بر روی قسمت‌های مختلف این گیاه از جمله ریشه، ساقه، برگ و میوه آن انجام شده است. گیاه زرشک به صورت درختچه ای با ارتفاع 1 تا 3 متر، پوشیده از خارهای تیز، دارای چوب زرد رنگ، برگ‌های دوک مانند، گل‌های پاندولی و میوه‌ای قرمز رنگ می‌باشد (9). مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت اصلی آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های زرشک به خاطر الکلوئیدهایی با یک هسته ایزوکینولین² مانند بربرین³، اکسیاکانتین، برامین⁴ و پلاماتین می‌باشد (14) و بیشترین خواص دارویی زرشک عمدتاً بر دو الکلوئید⁵ بربرین و برامین⁶ تکیه دارد (1).

تا کنون استفاده از حلال‌های آلی بیشترین دامنه کاربرد را در استخراج ترکیبات موثره از منابع طبیعی داشته است. اما روش‌های معمول استخراج بر پایه حلال‌های آلی ممکن است اثرات نامطلوبی بر محیط‌زیست و مواد غذایی داشته باشند. از این رو اخیراً تکنولوژی سبز مورد توجه قرار گرفته است. استخراج به وسیله سیال مادون بحرانی⁷ (SCW) از آب به عنوان حلال، همراه با

1-Reactive Oxygen Species (ROS)

2-Isoquinoline

3-Berberin

4-Berbamine

5-Alkaloid

6-Berbamin

7-Subcritical Water

8-Maceration

3-2 استخراج به روش SCW

محلول نهایی در محدوده نمودار استاندارد ترسیم شده باشد، تهیه و مطابق روش فوق، مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها بر مبنای mg G.A/100 g D.M محاسبه گردید.

عصاره‌گیری از میوه زرشک بی‌دانه توسط دستگاه استخراج مادون بحرانی طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه فن‌آوری‌های نوین پژوهش‌سکده علوم و صنایع غذایی انجام گرفت. فرآیند استخراج در دو دمای 120 و 180 درجه سانتی‌گراد و دو سطح نسبت اختلاط (1:10 و 1:30) در فشار ثابت 10 بار و در مدت زمان 30 دقیقه صورت گرفت. دمای مورد نظر به وسیله المنت‌های الکتریکی تامین و توسط ترمو کنترلر دیجیتالی (Abtin Mfg Eng CO, Iran) کنترل شد. فشار مورد نظر نیز توسط پمپ آب (Comet Type:MTP Ax 2/70 m) تامین شد. نمونه‌ها پس از استخراج توسط تبخیرکننده دوار در دمای 50°C تغلیظ و پس از آن به وسیله آون خلا در دمای 45°C کاملاً خشک و تا زمان مصرف تحت شرایط دمایی 18°C- نگهداری شدند.

2-6 اندازه‌گیری مقدار ملانویدین‌ها

برای اندازه‌گیری ترکیبات حاصل از واکنش قهوه ای شدن از جمله ملانویدین‌ها در عصاره‌های بدست آمده از روش خیساندن و سیال مادون بحرانی، جذب نمونه‌ها پس از رقیق‌سازی به نسبت 1:4 توسط آب مقطر، در طول موج 420 نانومتر قرائت شد (8).

2-7 تعیین قدرت احیا کنندگی

ابتدا غلظت‌های مختلفی از هر عصاره تهیه و 2/5^{cc} از هر غلظت به لوله‌های آزمایش درب دار منتقل و سپس 2/5^{cc} بافر فسفات (0/2^M و pH=6/6) و 2/5^{cc} فری سیانید پتاسیم 1% تهیه شده در آب مقطر به لوله‌ها اضافه گردید و به مدت 20 دقیقه در دمای 50 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آن 2/5^{cc} تری کلرواستیک اسید 10% به لوله‌ها اضافه و به مدت 10 دقیقه در 3000rpm سانتریفوژ شدند (Hettich-EBA 20). در پایان 5^{cc} از لایه بالایی با 5^{cc} آب مقطر و 1^{cc} محلول فریک کلراید 0/1% مخلوط و جذب آن در 700nm قرائت شد (10). نتایج به غلظت مؤثر³ در احیا کنندگی آهن تبدیل و به منظور مقایسه بهتر از اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی و BHT⁴ به عنوان یک آنتی‌اکسیدان سنتزی استفاده و قدرت عصاره‌ها با یکدیگر و با اسید آسکوربیک و BHT با استفاده از معیار EC₅₀ مقایسه شد. EC₅₀ برابر است با غلظتی از آنتی‌اکسیدان که قادر است 50% از آهن سه ظرفیتی موجود در محیط را به آهن دو ظرفیتی تبدیل کند.

2-8 روش تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از جدول ANOVA در طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی و سطح معنی داری P<0.01 انجام شد. آزمون حداقل اختلاف معنی داری (LSD⁵) بین میانگین‌ها نیز انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SAS 6.2 استفاده شد. نمودارها نیز توسط نرم افزار Sigma plot ver 10 و Office 2007 ترسیم گردید.

2-4 اندازه‌گیری pH و بریکس عصاره‌ها

برای سنجش pH، دستگاه pH متر (WTW inolab level2) توسط محلول‌های بافر با pHهای 4 و 7 کالیبره و pH عصاره‌ها اندازه‌گیری شد. بریکس عصاره‌ها نیز توسط دستگاه بریکس متر (ATAGO, Rx- 5000a) کالیبره شده با آب مقطر تعیین گردید.

2-5 اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل¹ (TPC) به روش

فولین سیوکالتو

غلظت‌های 10 و 20 و 30 و 40 و 50 و 60ppm، از اسید گالیک² در آب مقطر تهیه و سپس 0/5^{cc} از هر غلظت به لوله‌های آزمایش منتقل شده و 2/5^{cc} معرف فولین سیوکالتو در بار رقیق شده در آب مقطر، به لوله‌ها منتقل و در نهایت 2^{cc} کربنات سدیم 7/5% اضافه و به مدت 30 دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. در پایان جذب نمونه، در سل‌های 1 سانتی متری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible Recording - Shimadzu) در طول موج 765nm قرائت گردید. برای نمونه شاهد از 0/5^{cc} آب مقطر استفاده شد (11). بعد از ترسیم منحنی کالیبراسیون غلظت مناسبی از عصاره‌ها به صورتی که جذب

3- Efficient Concentration

4- Butylated Hydroxy Toluene

5- Least Significant Difference

1- Total Phenolic Compound

2- Gallic acid

3- نتایج و بحث

3-1 بررسی مقدار ترکیبات فنولی کل

مقایسات میانگین انجام شده در مورد ترکیبات فنولی کل نشان داد که افزایش دما از 120 به 180 درجه سانتی گراد باعث افزایش معنی داری در استخراج ترکیبات فنولی میوه گیاه زرشک بی دانه شده است ($P < 0.01$). هم چنین افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 نیز باعث افزایش معنی داری در استخراج ترکیبات فنولی توسط روش سیال مادون بحرانی گردید ($P < 0.01$). به نظر می رسد افزایش دما باعث تخریب بیشتر غشا سلول های گیاهی و در نتیجه ورود بیشتر ترکیبات فنولی در دماهای بالاتر شده است. موضوع دیگر اینکه افزایش دما باعث افزایش ضریب نفوذ و افزایش انتقال جرم شده که تمامی این موارد باعث استخراج بیشتر فنول ها شده است (17). کاکا که¹ در سال 2006 نشان داد که ترکیبات فنولی بیشتری از پوست بذرك در دمای 140 نسبت به دمای 160°C، به روش SCW بدست می آید (4). استخراج بیشتر ترکیبات فنولی در نسبت اختلاط های بالاتر به خاطر افزایش قدرت حلال بوده است، زیرا در نسبت اختلاط های بالا، حلال بیشتری در برابر مقدار ثابتی از نمونه اولیه وجود داشته که هنوز به حالت اشباع نرسیده و در نتیجه قدرت انحلال بالاتری داشته است (6).

همانطور که در شکل های 1 و 2 مشاهده شد، استخراج ترکیبات فنولی وابستگی بیشتری به تغییرات نسبت اختلاط داشته است به طوری که با افزایش دما از 120 به 180 درجه سانتی گراد، مقدار ترکیبات فنولی 221/429 mg G.A/100 g D.M افزایش داشته در حالی که با افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 مقدار ترکیبات فنولی 541/667 mg G.A/100 g D.M افزایش نشان داده است.

بررسی متغیرهای ثابت مطالعه (دما و نسبت اختلاط) بر روی استخراج ترکیبات فنولی نشان داد که اثر متقابل آنها اثر معنی داری در استخراج ترکیبات فنولی کل داشته است. شکل 3 نشان می دهد که بیشترین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده به نسبت اختلاط 1:30 و دمای 180 درجه سانتی گراد مربوط می شود. کمترین مقدار استخراج ترکیبات فنولی در نسبت اختلاط 1:10 و دمای 120 درجه سانتی گراد مشاهده گردید. افزایش مقدار ترکیبات فنولی در عصاره حاصل از اثر متقابل دمای 180°C و

نسبت اختلاط 1:30 ناشی از اثرگذاری توأم این دو متغیر بر فرآیند استخراج بود، به این صورت که افزایش دما باعث تخریب دیواره سلولی و افزایش ضریب نفوذ و افزایش نسبت اختلاط باعث افزایش قدرت حلال، برای استخراج ترکیبات فنولی شد (4، 17).

نتایج نشان داد که عصاره بدست آمده به روش خیساندن حاوی مقدار ترکیبات فنولی کل کمتری نسبت به عصاره های حاصل از روش سیال مادون بحرانی در شرایط دمایی 120 و 180 درجه سانتی گراد با نسبت اختلاط 1:30 بود ($P < 0.01$).

رانگسریونگ² و همکاران در سال 2008 بر روی استخراج ترکیبات فنولی از میوه گیاه *Terminalia chebula* با استفاده از سیال مادون بحرانی مطالعه نمودند گزارش کردند که بیشترین مقدار ترکیبات فنولی بر حسب اسید گالیک در 180 درجه سانتی گراد و شدت جریان 4 ml/min (یعنی حداکثر شدت جریان در بین تیمارهای مورد مطالعه یا به عبارتی حداکثر نسبت حلال در برابر ماده جامد)، با مقدار 5 mg G.A/g D.M بدست آمد (16).

در پژوهش های مختلفی که بر روی مقدار ترکیبات فنولی گونه های مختلف زرشک و هم چنین قسمت های مختلف گیاه زرشک انجام شده، محدوده مقدار ترکیبات فنولی کل در گونه های مختلف از 2611-657 mg G.A/100 g D.M برای قسمت های مختلف گیاه زرشک، از جمله ریشه، شاخه و پوست، به ترتیب، 10/34، 12/53 و 52/54 mg G.A.g⁻¹ بیان شده است (15، 19).

در مطالعه ای که بر روی استخراج ترکیبات فنولی به روش SCW و دو روش سنتی استخراج با متانول و آب بر روی ترکیبات فنولی میوه *Momordica charantia* انجام شد، بیان گردید که مقدار ترکیبات فنولی کل بدست آمده از عصاره های SCW، 52/63 mg G.A/100 gr Dry Matter، و مقدار آن برای عصاره متانولی و آبی به ترتیب 6 - 5 و 7 - 5 میلی گرم اسید گالیک در صد گرم ماده خشک بود که بیانگر اختلاف چشمگیر میان مقدار ترکیبات فنولی بدست آمده از میوه زرشک بی دانه و میوه گیاه *Momordica charantia* بود (3).

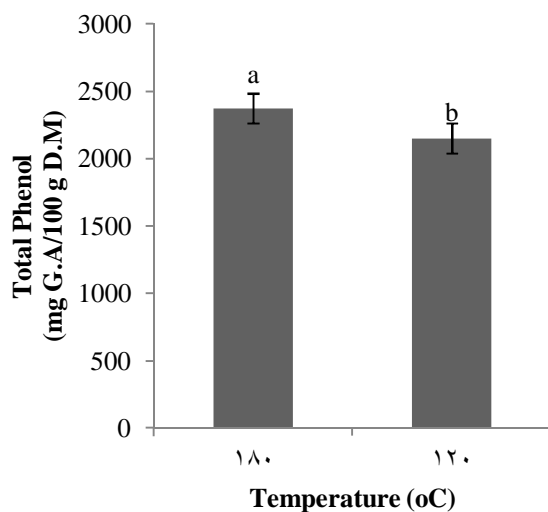
2-3 بررسی قدرت احیاکنندگی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که تغییرات دما و نسبت اختلاط اثر معنی داری بر EC_{50} داشت ($P > 0.01$). به اینصورت که با افزایش دما و نسبت اختلاط مقدار EC_{50} کاهش معنی داری داشته است به عبارت دیگر با افزایش دما از 120 به $180^{\circ}C$ و افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30، قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها افزایش معنی داری داشت ($P < 0.01$). با توجه به اینکه افزایش دما از 120 به 180 درجه سانتی گراد و همچنین افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 باعث افزایش در مقدار ترکیبات فنولی شده بود، همین مسئله باعث افزایش قدرت احیاکنندگی عصاره بدست آمده در دمای 180 نسبت به 120 درجه سانتی گراد و عصاره بدست آمده از نسبت اختلاط 1:30 در مقایسه با نسبت اختلاط 1:10 شده است که بیانگر رابطه مستقیم میان مقدار ترکیبات فنولی کل و قدرت احیاکنندگی بود. نتایج نشان داد که تغییرات مقدار EC_{50} وابستگی بیشتری به تغییرات دما داشته است بطوریکه افزایش دما از 120 به $180^{\circ}C$ باعث کاهش 37/58 ppm در مقدار EC_{50} شد اما افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 مقدار EC_{50} را 26/77 ppm کاهش داد. افزایش دما باعث تجزیه دمایی ترکیبات فنولی با وزن مولکولی بالا به چند ترکیب فنولی کوچکتر با وزن مولکولی پایین تر و قدرت احیاکنندگی بیشتر نسبت به ترکیبات اولیه شد (16) در حالیکه افزایش نسبت اختلاط چنین اثری را بر ترکیبات استخراج شده نداشت.

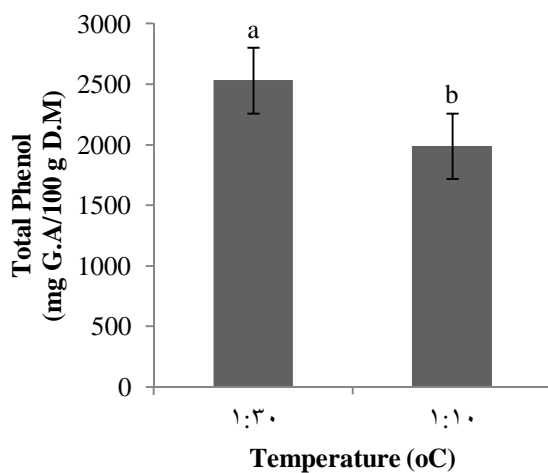
شکل 6 نشان می‌دهد که قدرت احیاکنندگی BHT و اسید آسکوربیک اختلاف معنی داری با یکدیگر و با عصاره‌های استخراجی داشته است. با توجه به شکل 6 می‌توان گفت که کمترین قدرت احیاکنندگی، به عصاره بدست آمده از روش سنتی خیساندن در مدت زمان 16 ساعت مربوط می‌شد که اختلاف معنی داری با عصاره‌های حاصل از سیال مادون بحرانی و هم چنین با دو آنتی‌اکسیدان BHT و اسید آسکوربیک داشت ($P < 0.01$). دلیل اختلاف معنی دار موجود میان عصاره بدست آمده از روش خیساندن و عصاره‌های حاصل از سیال مادون بحرانی را می‌توان به اعمال شرایط دمایی بالا و فشار بیشتر از فشار اتمسفری (فشار 10bar) نسبت داد که منجر به افزایش ضریب نفوذ و قدرت حلال در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موثر در قدرت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل شد. هم چنین می‌توان بیان

کرد که قدرت احیاکنندگی اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی بیشتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود ($P < 0.01$). تحقیق به عمل آمده بر روی قدرت احیاکنندگی عصاره‌های بدست آمده به روش خیساندن در الکل، پختن در آب داغ¹ (80 درجه سانتی گراد در 30 دقیقه) و به روش سیال مادون بحرانی در دو دمای 110 و 160 درجه سانتی گراد، حاکی از این بود که عصاره اتانولی دارای بیشترین قدرت احیاکنندگی بوده و عصاره‌های بدست آمده به روش Hot Water و SCW دارای قدرت احیاکنندگی کمتر و نزدیک به یکدیگر بودند (17). میزوسو² و همکاران در سال 2006 نظر خود را اینگونه بیان نمودند که ترکیبات فنولی کل با قدرت احیاکنندگی همبستگی نداشته و دلیل آن، استخراج ترکیبات مختلف در شرایط متفاوت است (13). قدرت احیاکنندگی قسمت‌های مختلف گیاه زرشک اندازه‌گیری و بیان شده که قدرت احیاکنندگی پوست گیاه زرشک بیشتر از سایر قسمت‌های آن از جمله ریشه و شاخه می‌باشد (19).

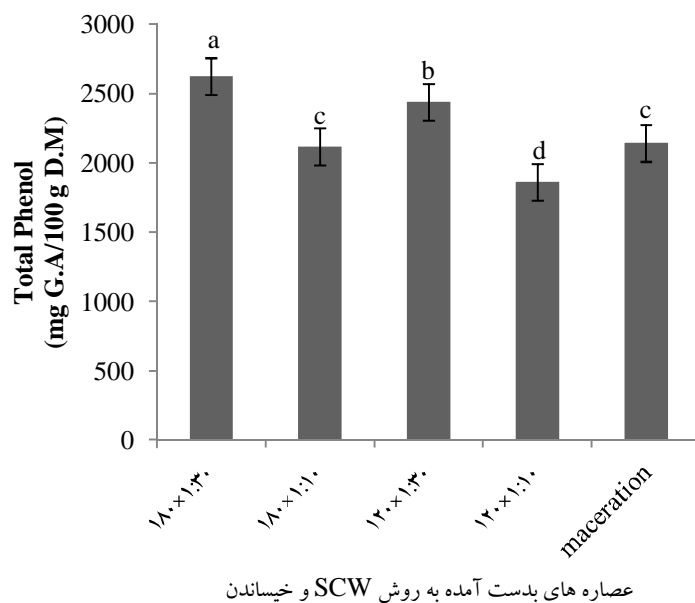
با توجه به شکل 6 می‌توان گفت که بیشترین قدرت احیاکنندگی یا به عبارتی کمترین غلظت برای رسیدن به 50% از احیاکنندگی در میان عصاره‌های حاصل از سیال مادون بحرانی، به اثر متقابل دمای $180^{\circ}C$ و نسبت اختلاط 1:10 مربوط بود. کمترین قدرت احیاکنندگی یا بیشترین مقدار EC_{50} برای عصاره‌های حاصل از سیال مادون بحرانی در عصاره‌های حاصل از اثر متقابل نسبت اختلاط‌های 1:10 و 1:30 در دمای $120^{\circ}C$ مشاهده شد که اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند ($P > 0.01$). این نتیجه نشان داد که تغییرات نسبت اختلاط در دمای 120 درجه سانتی گراد اثر معنی داری بر قدرت احیاکنندگی نداشت ($P > 0.01$) اما در مورد عصاره‌های حاصل از اثر متقابل دمای 180 درجه سانتی گراد با دو نسبت اختلاط 1:10 و 1:30 مشاهده شد که افزایش نسبت اختلاط، باعث افزایش معنی داری در مقدار EC_{50} شد.



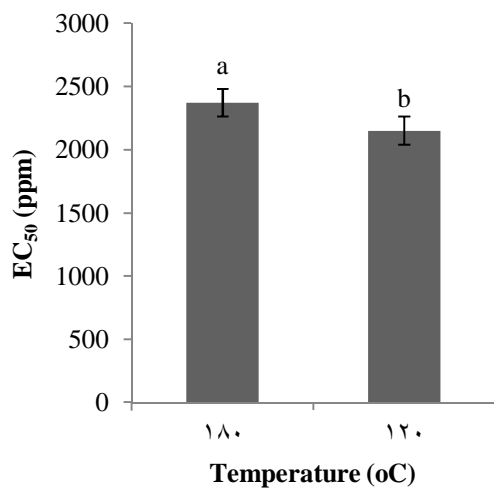
شکل 1- تغییرات مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های حاصل از روش SCW با توجه تغییرات دما.



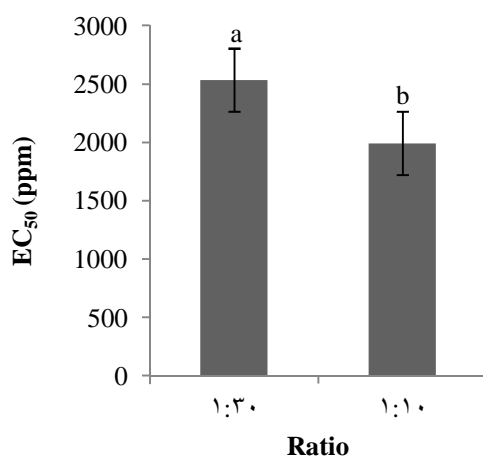
شکل 2- تغییرات مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های حاصل از روش SCW با توجه تغییرات نسبت اختلاط.



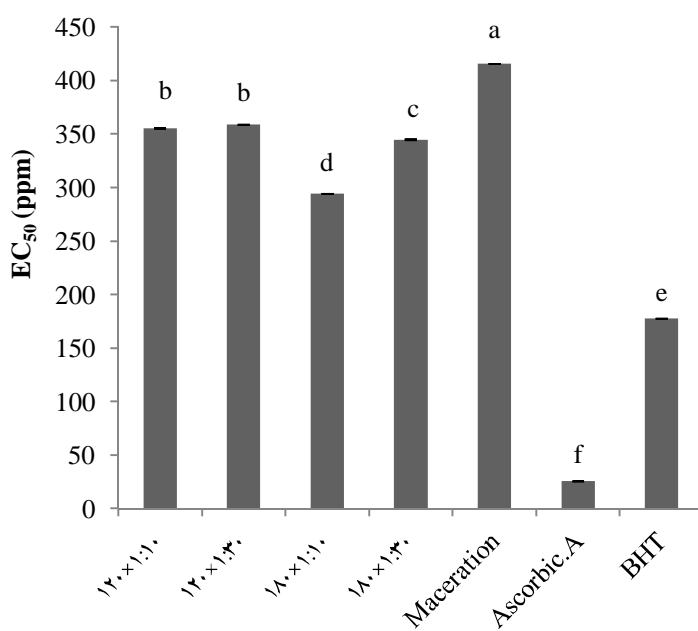
شکل 3- اثر متقابل شرایط استخراج در شرایط مادون بحرانی بر مقدار ترکیبات فنولی کل و مقایسه آنها با مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره حاصل از خیساندن.



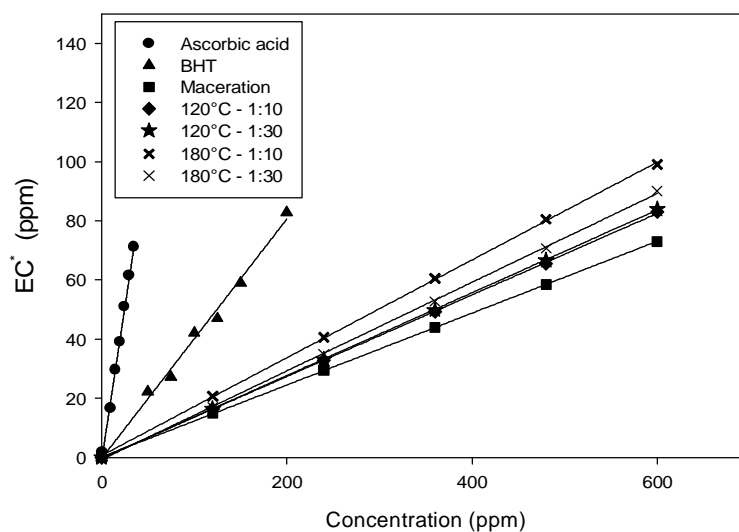
شکل 4- تغییرات قدرت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل از SCW با تغییر دما.



شکل 5- تغییرات قدرت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل از SCW با تغییر نسبت اختلاط.



شکل 6- مقایسه مقدار EC₅₀ عصاره‌های حاصل از اثر متقابل شرایط SCW و روش خیساندن با یکدیگر و با BHT و اسیدآسکوربیک.



*- EC = غلظت موثر در مورد درصد احیاکنندگی

شکل 7- نمودارهای قدرت احیاکنندگی عصاره‌های استخراجی توسط SCW، خیساندن، BHT و اسیدآسکوربیک.

جدول 1- تغییرات Bx، pH و ملانوئیدین عصاره‌های استخراجی از زرشک به روش خیساندن و سیال مادون بحرانی آب

	Temp*Ratio	Bx	pH	Melanoidins
1	1:10×120	5/37 ^b	2/96 ^e	1/834 ^a
2	1:30×120	2/16 ^d	3/036 ^b	0/901 ^c
3	1:10×180	5/54 ^a	3/031 ^c	1/517 ^b
4	1:30×180	4/46 ^c	3/106 ^a	0/284 ^e
5	عصاره خیساندن	2/133 ^e	2/985 ^d	0/33 ^d

5- منابع

- 1- مسکوکی، ع. م. 1383. طرح جامع مطالعاتی اصلاح، بهبود و توسعه فناوری فرایند فراوری زرشک و بسته‌بندی آن. پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی.
- 2- Ballard, S. T. 2008. Optimizing the Extraction of Phenolic Antioxidant Compounds from Peanut Skins. *Ebook. Blacksburg, VA.*
- 3- Budrat, P and Shotipruk, A. 2009. Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (*Momordica charantia*) by subcritical water extraction. *Separation and Purification Technology.* 66:125–129.
- 4- Cacace, J. E. and Mazza, G. 2006. Pressurized low polarity water extraction of lignans from whole flaxseed. *Journal of Food Engineering.* 77:1087–1095.
- 5- Dun Lin. S, Hui Liu. E, Leun Mau. J. 2008. Effect of different brewing methods on

4- نتیجه گیری

نتایج نشان داد که روش استخراج توسط سیال مادون بحرانی آب، با توجه به زمان کوتاه استخراج (30 دقیقه)، در مقایسه با روش خیساندن طولانی مدت در آب (18 ساعت)، روشی کارآمد برای استخراج ترکیبات فنولی با قابلیت احیاکنندگی مناسب می‌باشد. این مطالعه نشان داد که قدرت احیاکنندگی و مقدار ترکیبات فنولی کل با یکدیگر رابطه مستقیم داشته و قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها متناسب با تغییر مقدار ترکیبات فنولی کل، تغییر نمود. همچنین می‌توان گفت که مؤثرترین عامل در استخراج ترکیبات فنولی از میوه زرشک بی‌دانه توسط سیال مادون بحرانی آب، متغیر نسبت اختلاط و مؤثرترین عامل در تغییرات قدرت احیاکنندگی متغیر دما بود.

- mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*. 21:3-11.
- 17- Roudsari, M. H. Chang, P. R. Pegg, R. B. and Tyler, R. T. 2009. Analytical Methods Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. *Food Chemistry*. 114 : 717-726.
- 18- Watchararuj. K, G. Motonobu, M. Sasaki, and A. Shotipruk. 2008. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. *Bioresource Technology*.99:6207–6213.
- 19- Zovoko koncic, M. Kermer, D. Kralovic, K. and Kosalec, I. 2010. Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and Chemical Toxicology*. 48: antioxidant properties of steaming green tea. *LWT - Food Science and Technology*, 41:1616-1623.
- 6- Eikani, M. H. Golmohammad, F. And Rowshanzamir, S. 2007. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Engineering*. 80:735–740.
- 7- Fu, W. Chen, J. Cai, Y. Lei, Y. Chen, L. Pei, L. Zhou, D. Liang, and X. Ruan, J. 2010. Antioxidant, free radical scavenging, anti-inflammatory and hepatoprotective potential of the extract from *Parathelypteris nipponica* (Franch. et Sav.) Ching. *Journal of Ethnopharmacology*. 130: 521-528.
- 8- Hossain. M.B, C. Barry-Ryan, A.B. Martin-Diana, and N.P. Brunton. 2011. Analytical Methods Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry*.126:339–346.
- 9- Imanshahidi, M. and Hosseinzadeh, H. 2008. Pharmacological and Therapeutic Effects of *Berberis vulgaris* and its Active Constituent, Berberine. *Phytotherapy reaserch*. 22: 999–1012.
- 10- Ingold, K. U. 1968. Inhibition of autoxidation. *Adv. Chem. Ser.*, 75:296-305.
- 11- Kulisic, T. Radonic, A. Katalinic, V. and Milos, M. 2004. Use of different method for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*. 85:633-640.
- 12- Latawiec A.E, and B.J. Reid. 2010. Sequential extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using subcritical water. *Chemosphere*. 78:1042–1048.
- 13- Meizoso, R. Marin, F.R. Herrero, M. Señorans, F. J. Reglero, G. Cifuentes, A. and Ibáñez, E. 2006. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41:1560–1565.
- 14- Min, D. B. and Smouse, T. H. 1985. Flavo chemisy of fats and oils. Second Edition, *American Oil Chemists Society*.
- 15- Pantelidis, G. E. Vasilakakis, M. Manganaris, G. A. and Diamantidis, Gr. 2006. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry*. 102: 777–783.
- 16- Patras, A. Brunton, N. P. O'Donnell. C. and Tiwari, B. K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods;