JRIFST

www.rifst.ac.ir/jrifst.aspx
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۱، جلد ۱، شماره ۳، صفحات ۲۲۸-۲۱۹

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان پایداری ترکیبات فنولی حاصل از میوه ازگیل (*Mespilus germanica* L.)

سمانه ممشلو[1*]، علیرضا صادقی ماهونک[2]، محمد قربانی[2]، مهران اعلمی[2]، مرتضی خمیری[2]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذائی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول(smamashloo@yahoo.com)

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذائی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

میوه ازگیل یکی از میوه‌های بومی مناطق شمالی ایران است که علاوه بر استفاده خوراکی مصارف زیادی در درمان های خانگی دارد. در این پژوهش ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی کل استخراج شده از میوه ازگیل (*Mespilus germanica* L.) با استفاده حلال‌های استون، متانول و اتانول ۸۰ درصد و آب مورد ارزیابی قرار گرفت. بالاترین میزان ترکیبات فنولی با استون ۸۰ درصد و پس از آن با متانول، اتانول و آب حاصل شد. مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره ی استونی برابر با ۷/۴۳۷ گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی آهن ۳ ظرفیتی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بررسی شده و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید. عصاره استونی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در تمام آزمون‌های انجام شده نشان داد. بعلاوه تأثیر دما (۵۰ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) و pH (۳، ۵، ۷، ۹) روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مورد بررسی قرار گرفت. دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد تأثیری روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نداشت و بالاترین پایداری عصاره در pH برابر ۵ مشاهده شد. نتایج نشان داد میوه ازگیل با داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه، منبعی غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی است.

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۲/۲۴

واژه‌های کلیدی
ازگیل
پایداری
ترکیبات فنولی
فعالیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

ترکیبات فنولی به فنول‌های ساده، اسیدهای فنولیک، مشتقات هیدروکسی سینامیک و فلاونوئیدها طبقه‌بندی می‌شوند. عملکرد بسیاری از ترکیبات فنولی به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان قوی توسط محققین گزارش شده است (Serrano et al., 2006). در دهه‌های اخیر علاقه محققین به بررسی حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در محصولات کشاورزی به ویژه میوه‌ها و سبزیجات به طور چشمگیری افزایش یافته است. ویژگی‌های سلامتی بخش آنتی‌اکسیدان‌ها و نقش آنها در پیشگیری از بیماری‌ها دلایل عمده این افزایش بوده است. در واقع آنتی‌اکسیدان‌ها از فرایند اکسیداسیون که از عوامل بروز بیماری‌هایی همچون سرطان است پیشگیری کرده و از این جهت اثرات

Archive of SID
www.SID.ir

خود را بر سلامت انسان‌ها می‌گذارند. علاوه بر این، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی معمولاً به منظور جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها، در برخی محصولات به عنوان افزودنی به آنها اضافه شده که باعث افزایش زمان ماندگاری نیز خواهد شد(Shi et al., 2005).

ازگیل با نام علمی *Mespilus germanica* L. ازخانواده *Rosaceae* می‌باشد؛ درختی وحشی بوده که در گروه درختان برگ ریز طبقه‌بندی می‌شود. در ایران در حدود ۳-۲ متر رشد می‌کند میوه‌های آن نیمه کروی و وقتی رسیده و آماده خوردن می‌شوند رنگ آنها قهوه‌ای است. مرکز میوه‌ها از دانه‌های گرد با رنگ متمایل به زرد تا قهوه‌ای پر شده و غشایی خاکستری تا زرد رنگ اطراف هسته مرکزی این میوه را در بر می‌گیرد. چندین واریته از این میوه در اروپا و آسیا شناخته شده‌است (Ozcan et al., 2005). ازگیل در ایران در اواخر پاییز و اوایل زمستان می‌رسد و معمولاً به صورت خام مصرف می‌شود. در ایران زمانی میوه را از درخت می‌چینند که کاملاً رسیده و شاداب است ولی در برخی کشورها ازگیل را چیده، روی کاه انبار می‌کنند و زمانی که بر اثر ماندن رسید و رنگ آن قهوه‌ای شد جهت فروش به بازار عرضه می‌شود (Dincer et al., 2002). ازگیل حاوی ویتامین‌های ب و ث، تانن، سلولز و اسید سیتریک می‌باشد. در درمان عفونت‌های روده بزرگ نقش داشته و ویتامین ب ازگیل تقویت کننده اعصاب بوده و از نظر تغذیه‌ای اهمیت دارد (Khoshbakht & Hammer, 2005). میوه ازگیل همچنین حاوی قند، اسیدهای آلی و آمینواسیدها می‌باشد (Ayaz et al., 2003). از آن جایی که این میوه در مناطق خاصی از جهان و تحت شرایط خاصی رشد می‌یابد تحقیقات گسترده‌ای در سطح بین المللی بر روی ویژگی‌های این میوه به خصوص خواص آنتی‌اکسیدانی آن صورت نگرفته است. بخش اعظم پژوهش‌های انجام شده مربوط به کشور ترکیه می‌باشد که در شمال انتالیا (شهری در ترکیه) این میوه به صورت وحشی رشد می‌کند و البته مردم این منطقه به کاشت باغی این میوه نیز می‌پردازند. در این کشور این میوه را به صورت‌های مختلف مانند مربا، مارمالاد و یا به صورت ژله مصرف می‌کنند (Ayaz et al., 2008).

برخی ویژگی‌های فیزکی (ابعاد، کرویت، دانسیته، سختی، تخلخل) و شیمیایی (رطوبت، پروتئین، روغن، فیبر، خاکستر، اسیدیته) میوه ازگیل توسط Ozcan و همکاران (۲۰۰۵) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین بر طبق گزارش این محققین و بررسی میزان مواد معدنی این میوه، پتاسیم بالاترین میزان را به خود اختصاص داده بود.

در مطالعه Dincer و همکاران (۲۰۰۲) بر روی میوه ازگیل خصوصیات آنزیمی پلی فنول اکسیداز و دما و pH مناسب فعالیت آنزیم مورد آزمون و بررسی قرار گرفت و دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد و pH=۷ به عنوان شرایط بهینه برای فعالیت این آنزیم معرفی گردید. لازم به ذکر است که که یکی از مشکلات عمده کیفیت میوه ازگیل قهوه‌ای شدن بیش از اندازه میوه به دلیل فعالیت این آنزیم می‌باشد. Ayaz و همکاران (۲۰۰۳) تغییرات قندها، اسید های آلی و آمینو اسیدهای میوه ازگیل را در طول رسیدن این میوه مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد فروکتوز، گلوکز و ساکاروز عمده قندهای این میوه را تشکیل می‌دهند و میزان آن‌ها در طول دوره رسیدگی میوه متفاوت بود.

با در نظر گرفتن تحقیقات انجام شده در زمینه ترکیبات فنولیک و خواص آنتی‌اکسیدانی، هدف این تحقیق بررسی حضور این ترکیبات در میوه ازگیل می‌باشد. ازگیل از میوه‌های جنگلی مناطق شرقی استان گلستان بوده و از دیر باز مورد توجه بومیان این منطقه بوده است زیرا علاوه بر داشتن طعم و رنگ جالب توجه و منحصر به فرد در بسیاری از موارد در درمان‌های خانگی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این وجود، این میوه و بسیاری از میوه‌های بومی منطقه و ویژگی‌های سلامت بخش آن‌ها برای بسیاری از افراد جامعه ناشناخته بوده و آن طور که باید به آن‌ها توجه نشده است از این رو هدف عمده از این تحقیق جلب توجه افراد جامعه و پژوهشگران مربوطه به این محصولات با ارزش با ارائه دلایل علمی و مستند و تجاری سازی محصولات تولید شده از آنها می باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش ها

میوه‌های مورد استفاده در این تحقیق در آبان ماه ۱۳۸۹، از مناطق جنگلی شرق استان گلستان جمع‌آوری و پس از آن در دمای ۲۰- منجمد شدند. برای استخراج ترکیبات فنولی میوه کاملاً خرد و همگن شده و پس از آن به روش غرقابی در حلال‌های استون، متانول، اتانول ۸۰٪ (حجمی: حجمی) و آب فرایند استخراج انجام شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به ۱۰ گرم پودر افزوده و مخلوط حاصله به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰°C در بن ماری شیک دار هم زده شد. پس از این مرحله هر یک از عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی از بخش جامد جدا و عصاره‌های متانولی و اتانولی با استفاده از تبخیر کننده چرخان (Heidolph LABOROTA 4000) در دمای ۴۰°C تغلیظ شدند. برای تغلیظ عصاره استونی از خشک کن تحت خلأ در دمای ۴۵°C استفاده شد و در نهایت همه عصاره‌ها توسط خشک کن انجمادی (Operun- FDB5503، کره) در دمای ۵۰°C- به پودر تبدیل شدند و تا زمان استفاده در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا در فریزر ۱۸°C- قرار گرفتند. تمامی مواد مورد استفاده در این پژوهش با درجه خلوص بالا و از شرکت های مرک و سیگما تهیه گردید.

اندازه گیری مقدار ترکیبات فنولی کل

مقدار ترکیبات فنولی کل با روش فولین سیوکالچو با روش Vasco و همکاران (۲۰۰۸) اندازه گیری شد. در این روش ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۱۶ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو مخلوط و پس از طی زمان ۸ تا ۱ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر از محلول کربنات کلسیم ۲۰٪ (Na_2CO_3) به آن اضافه گردید. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۴۰°C قرار گرفت و در نهایت جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. میزان محتوای ترکیبات فنولی بر اساس معادله بدست آمده از منحنی استاندارد اسید بر حسب گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بیان شد.

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

اندازه‌گیری توانایی عصاره در مهار رادیکال‌های آزاد به این صورت انجام شد که ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH به ۳ میلی‌لیتر محلول عصاره اضافه گردید (غلظت‌های ۱۰۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر). مخلوط حاصله به شدت هم زده و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد؛ در نهایت جذب آن در طول موج ۵۱۷ قرائت گردیده و نتایج بر اساس درصد مهار رادیکال‌های DPPH با استفاده از معادله زیر بیان شد.

رابطه (۱)

$$\text{به دام اندازی رادیکال آزاد (٪)} = \frac{(A_c - A_s)}{A_c} \times 100$$

که در این رابطه A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند (Arabshahi & Urooj, 2007). نمونه کنترل حاوی ۳ میلی‌لیتر متانول به همراه ۱ میلی‌لیتر معرف DPPH بود.

قدرت احیاءکنندگی

توانایی عصاره در احیاء آهن ۳ ظرفیتی به این صورت انجام شد که پس از آماده سازی غلظت های مختلف از پودر عصاره خشک شده در حلال‌های مورد استفاده (غلظت های ۱۰۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره را با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH =۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط و به مدت نیم ساعت در حمام آب با دمای ۵۰°C قرار گرفت. پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ (وزنی: حجمی) نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۶۵۰g سانتریفوژ (Centurion K2042) شدند. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول بالایی به دقت برداشته و پس از افزودن ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید (Shimada et al., 1992). جذب بیشتر نشان دهنده‌ی قدرت احیاکنندگی بالاتر است.

Archive of SID

www.SID.ir

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی مولار) در لوله آزمایش مخلوط و به مدت ۱/۵ ساعت در حمام آب با دمای ۹۵°C قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت گردید (Yildirim et al., 2001).

پایداری حرارتی و pH

برای ارزیابی پایداری حرارتی، عصاره استونی در دمای ۵۰°C و ۱۰۰°C (۶۰ و ۱۲۰ دقیقه) قرار داده شد و باقیمانده فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مورد ارزیابی قرار گرفت. برای سنجش پایداری عصاره در pH های مختلف عصاره را در محلول‌های بافر تهیه شده با درجه pH متفاوت (۳، ۵، ۷ و ۹) آماده کرده و پس از آن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مطابق روش فوق اندازه‌گیری شد (Prieto et al., 1999).

آنالیز آماری

در روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل، میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد، قدرت احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، مقایسه میانگین‌های به دست آمده از سه تکرار با آزمون دانکن ($P<0/05$) بر پایه طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم گراف ها با نرم افزار Excell انجام گردید. کلیه‌ی آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار ترکیبات فنولی کل

جدول ۱ نتایج مربوط به اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها را نشان می‌دهد همان طوری که مشاهده می‌شود، عصاره‌های مورد بررسی از این نظر اختلاف معنی داری ($P<0/05$) با یکدیگر داشتند. بیشترین مقدار ترکیبات فنولی توسط حلال استون ۸۰٪ استخراج گردید.

جدول ۱- مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره های حاصل از میوه ازگیل

نوع عصاره	مقدار کل ترکیبات فنولی (گرم گالیک اسید/ ۱۰۰گرم ماده خشک)
عصاره ی استونی (۸۰٪)	۷/۴۳۷ ± ۰/۶۴a
عصاره متانولی(۸۰٪)	۵/۰۸۶ ± ۰/۱۷ B
عصاره اتانولی(۸۰٪)	۴/۱۰۶ ± ۰/۲۶c
عصاره ی آبی	۱/۲۴۰± ۰/۳۲d

نتایج حاصل از میانگین ۳ تکرار ± S.D. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

محققین تفاوت‌های مشاهده شده بین عصاره‌های مختلف را به تفاوت در قطبیت حلال‌های مورد استفاده مربوط می‌دانند. استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی دارد. بعلاوه قطبیت حلال‌های مورد استفاده نقش کلیدی را در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می‌کند (Silva et al., 2006; Huang et al., 2005; Javanmardi et al., 2003).

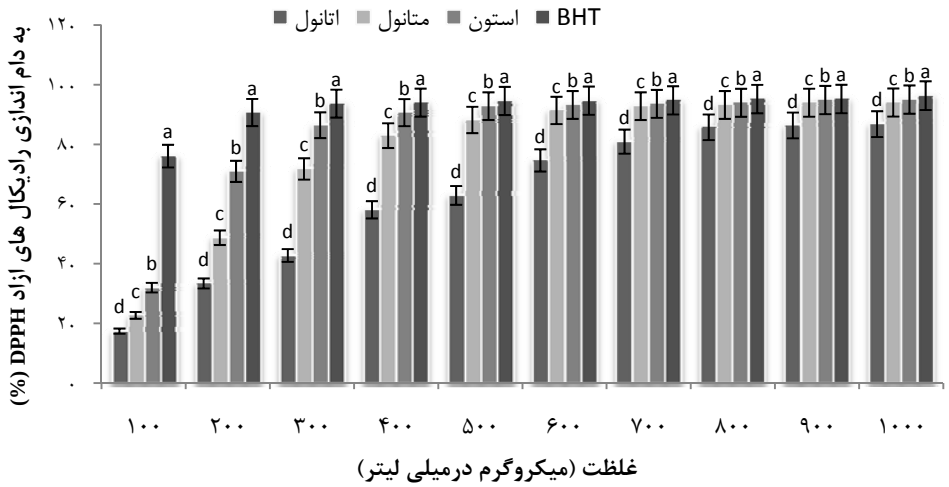
به دام اندازی رادیکال های آزاد DPPH

اساس این روش بر پایه بیرنگ شدن محلول DPPH است که توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره انجام می‌شود و این عمل از طریق مهار رادیکال‌های آزاد صورت می‌پذیرد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تاثیر معنی داری بر میزان مهار رادیکال های آزاد داشت.

همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود عصاره استونی پس از آنتی اکسیدان سنتزی BHT در تمام غلظت‌ها دارای قدرت مهارکنندگی بالاتری نسبت به عصاره‌های دیگر داشت.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ازگیل و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

با افزایش غلظت ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش یافت (Sanchez et al., 1999). معمولاً برای مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می‌شود. طبق تعریف EC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند (Rakic et al., 2007). بنابراین هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد. همبستگی بالایی بین توانایی به دام اندازی رادیکال‌های آزاد و مقدار ترکیبات فنولی برای میوه‌ها، سبزیجات و غلات گزارش شده است (Arabshahi & Urooj, 2007). مقادیر EC_{50} عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول ۲- مقادیر EC_{50} (میکروگرم عصاره در میلی لیتر) عصاره ها و آنتی اکسیدان سنتزی

آنتی اکسیدان	EC_{50} (به دام اندازی رادیکال های آزاد)
عصاره استونی	۱۴۶/۴۳۹^{c}
عصاره متانولی	۲۰۵/۹۶۵^{b}
عصاره اتانولی	۳۴۷/۴۳۷^{a}
BHT	۵۴/۲۰۷^{d}

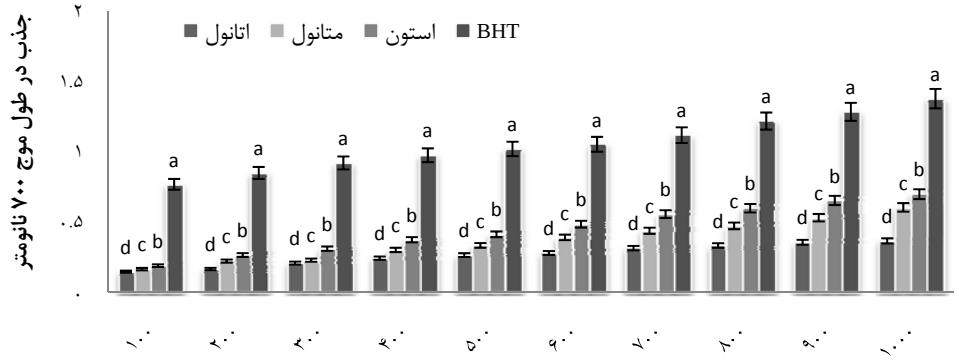
حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ می باشد

قدرت احیاء کنندگی

شکل ۲ مقایسه میانگین میزان جذب غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی، متانولی، اتانولی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT را به عنوان شاخصی از قدرت احیاءکنندگی در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان می‌دهد. پس از BHT عصاره ی استونی بیشترین میزان قدرت کاهندگی را به خود اختصاص داده است.

Archive of SID

www.SID.ir

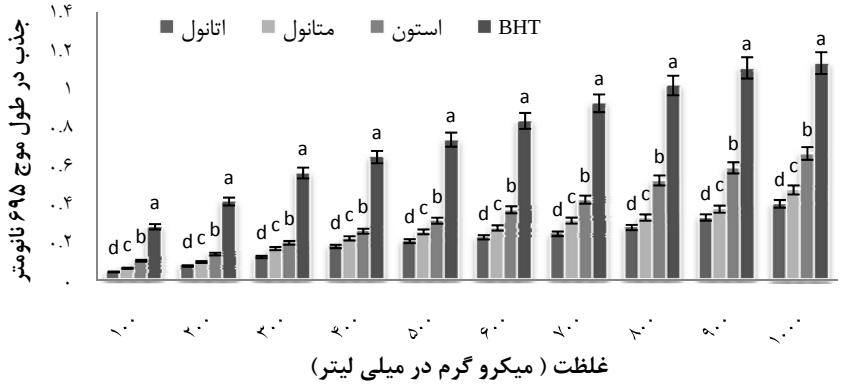


شکل ۲- مقایسه میانگین قدرت احیاء کنندگی غلظت های مختلف عصاره های میوه ی ازگیل و آنتی اکسیدان سنتزی BHT

در کل ویژگی‌های احیاءکنندگی با حضور ترکیبات اهداء کننده‌ی الکترون همراه است. به عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاءکنندگی آن افزایش می‌یابد، در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء تعداد بیشتری الکترون یا اتم‌های هیدروژن واکنش‌های زنجیری تشکیل رادیکال‌های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تأخیر بیاندازد (Hackman et Uggla et al., 2000; al., 2002). همچنین تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که ظرفیت اهدا الکترون در ترکیبات بیواکتیو به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها مربوط می‌شود (Yen et al., 1993; Mohan et al., 2002).

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه است که در طول موج ۶۹۵ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می‌باشد. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرند. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری در این طول موج دارند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان می‌دهند (Yildirim et al., 2001). همان طور که در شکل ۳ نیز مشاهده می‌شود، عصاره‌ی استونی در تمامی غلظت‌های مورد بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره‌های دیگر داشت.



شکل ۳- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره های میوه ی ازگیل و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

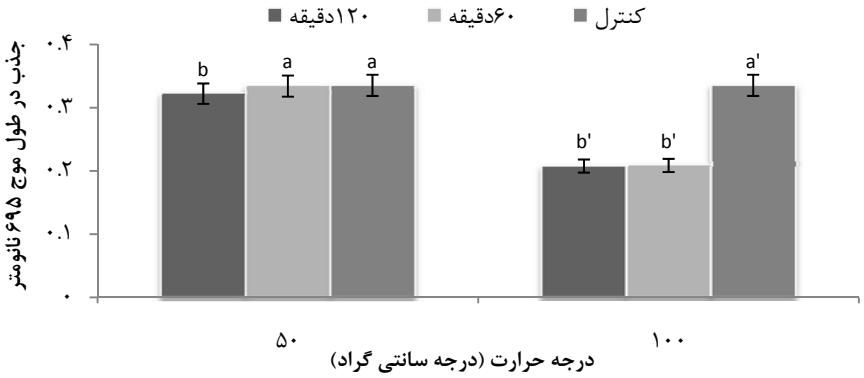
www.SID.ir

نتایج به دست آمده در این تحقیق از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌ها با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها با نتایج به دست آمده توسط Arabshahi و Urooj (۲۰۰۷) مطابقت داشت. این محققین با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه تمشک گزارش دادند که عصاره متانولی حاصل از این میوه که دارای بالاترین بازده استخراج و بیشترین میزان ترکیبات فنولی بود، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره‌های آبی و اتانولی داشت.

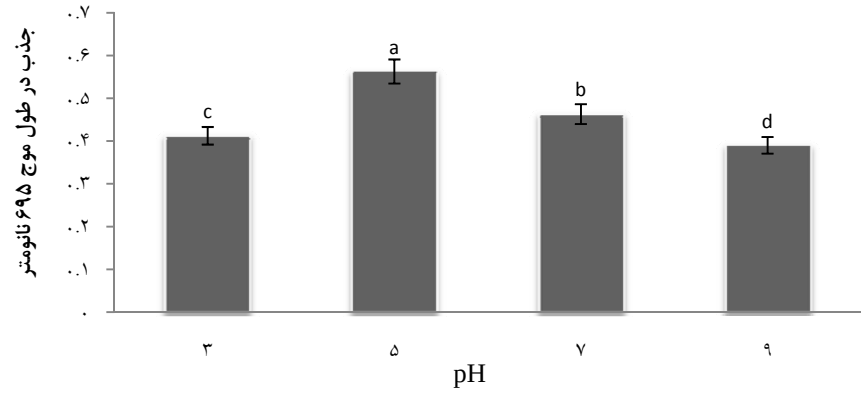
پایداری حرارتی و pH

تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند که که عوامل متعددی مانند غلظت، دما و pH بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها مؤثر است (Gazzani et al., 1998).

در تحقیق انجام شده عصاره استونی که دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود برای آزمون پایداری انتخاب شده و همان طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در دمای ۵۰°C تغییر قابل توجهی در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل نشد ($P<0/05$) پس از ۱۰۰°C میزان فعالیت به حدود ۷۶ درصد کاهش یافت؛ اما این کاهش حتی پس از دو ساعت نیز در همین سطح باقی ماند. این کاهش در ۱۰۰°C می‌تواند مربوط به از بین رفتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در عصاره و یا به وجود آمدن ترکیبات پراکسیدانی جدید در این دما مربوط باشد.



شکل ۴- بررسی پایداری حرارتی عصاره استونی در دمای ۵۰°C و ۱۰۰°C در مدت زمان ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه



شکل ۵- بررسی پایداری عصاره استونی در pH های مختلف (۳، ۵، ۷ و ۹)

بررسی تأثیر pH بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که عصاره فنولی حاصل از میوه ازگیل بیشترین پایداری را در pH برابر ۵ داشت و همان طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود بیشترین کاهش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در pH برابر ۹ بوده است. Gazzani و همکاران (۱۹۹۸) گزارش دادند که فعالیت

www.SID.ir

آنتی‌اکسیدانی تعدادی از عصاره سبزیجات با جوشاندن پایدار شده و ثابت باقی می‌ماند که علت آن می‌تواند به غیر فعال شدن پراکسیداز در دماهای بالا و در نتیجه کاهش فعالیت پراکسیدانی آنها باشد. Castenmiller و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌هایی از سبزیجات اعلام کردند که عصاره‌های گیاهی ممکن است خاصیت پراکسیدانی یا فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دهند که بستگی به فرآیند حرارتی و واریته آن گیاه دارد. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در pH قلیایی ممکن است به از بین رفتن فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های عصاره و یا افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در این pH مربوط باشد (Mansour & Khalil, 2000).

نتیجه گیری و پیشنهادات

هدف از این تحقیق استخراج ترکیبات فنولی و بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی میوه ازگیل بوده که یکی از میوه‌های بومی مناطق شمالی کشور است. در این پژوهش اثر نوع حلال بر بازده استخراج ترکیبات فنولی از این میوه مورد ارزیابی قرار گرفت و در بین حلال‌های استون ۸۰٪، متانول ۸۰٪، اتانول ۸۰٪ و آب، حلال استون ۸۰٪ به عنوان بهترین حلال از لحاظ استخراج بیشترین ترکیبات فنولی شناخته شد. در مرحله بعد خاصیت آنتی‌اکسیدانی با سه روش اندازه‌گیری شد (مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل). در هر سه روش عصاره استونی دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود میزان پایداری عصاره استونی در دو دمای ۵۰°C و ۱۰۰°C و به مدت ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه نیز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل در این بخش نشان داد که ترکیبات فنولی موجود در عصاره پایداری مناسبی در دمای ۵۰°C داشته و با اعمال درجه حرارت بالاتر در دمای ۱۰۰°C میزان فعالیت به حدود ۷۶ درصد کاهش یافت اما این کاهش حتی پس از دو ساعت نیز در همین سطح باقی ماند. این کاهش در ۱۰۰°C را می توان به از بین رفتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در عصاره و یا به وجود آمدن ترکیبات پراکسیدانی جدید در این دما نسبت داد. بررسی تأثیر pH بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در pH های ۳، ۵، ۷ و ۹ نشان داد که عصاره فنولی حاصل از میوه ازگیل بیشترین پایداری را در pH برابر ۵ داشت و بیشترین کاهش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در pH برابر ۹ ملاحظه گردید. نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد، میوه ازگیل که یکی از میوه‌های بومی استان‌های شمال کشور به شمار می‌آید به واسطه‌ی داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالائی است و از این رو می‌تواند به عنوان منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در تولید محصولات مختلف همچون مربا، مارمالاد، ترشی و همچنین دیگر محصولات غذایی که در آنها به دلیل حضور چربی‌ها احتمال اکسیداسیون وجود دارد به صورت مؤثری استفاده شود.

منابع

1- Arabshahi-Delouee, S. & Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry, 102: 1233–1240.

2- Ammar, A. S., Mohsen, S. M. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. Food Chemistry, 112: 595–598.

3- Ayaz, F.A., Demir, O., Torun, H., Kadioglu, Y. & Colak, A. 2008. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. Food Chemistry, 106: 291–298.

4- Ayaz, F. A., Glew, R., Sanz, C. & Vanderjagt, D. J. 2003. Changes in sugars, organic acids and amino acids in medlar (*Mespilus germanica* L.) during fruit development and maturation. Food Chemistry, 83: 363–369.

5- Castenmiller, J. J. M., Linssen, J. P. H., Heinonen, I. M., Hopia, A. I., Schwarz, K. & Hollmann, P. C. H. 2002. Antioxidant properties of differently processed spinach products. Nahrung/Food, 46: 290–293.

Archive of SID

www.SID.ir

6- Dincer, B., Colak, A., Aydin, N., Kadioglu, A. & Guner, S. 2002. Characterization of polyphenoloxidase from medlar fruits (*Mespilus germanica* L., *Rosaceae*). Food Chemistry, 77: 1–7.
7- Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G. & Daglia, M. 1998. Antioxidative and pro-oxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. Food Chemistry, 6:4118–4122.
8- Hackman, R. M., Zhu, Q. Y., Ensunsa, J. L., Holt, R. R. & Keen, C. L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:6929–6934.
9- Huang, D., Ou B. & Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1841–1856.
10- Javanmardi, L., Stushnoff, C., Locke, E., and Vivanco, J. M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic contents of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry, 83:547–550.
11- Khoshbakht, K. & Hammer, K. 2005. Notes on neglected and underutilized crops, Savadkouh (Iran) – an evolutionary centre for fruit trees and shrubs. Genetic Resources and Crop Evolution, 1–11.
12- Mansour, E. H. & Khalil, A. H. 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. Food Chemistry, 69: 135–141.
13- Mohan P. S., Siddhuraju P. & 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: 61–67.
14- Ozcan M., Hacıseferogulları, H., Sonmete, M. H. & Ozbek, O. 2005. Physical and chemical parameters of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit grown in Turkey. Journal of Food Engineering, 69: 1-7.
15- Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269: 337-341.
16- Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. & Siler-Marinkovic, S. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry, 104: 830-834.
17- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-Calixto, F.1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32:407–412.
18- Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto, F. 2006. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. Food Research International, 40: 15–21.
19- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 945-948.
20- Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J. & Mittal, G. 2005. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods–Engineering and Technology. Food Reviews International, 21: 1–12.
21- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F. & Larondelle, Y. 2006. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chemistry,101: 1012–1018.
22- Uggla, M., Gao, X., Bjork, L. & Trajkovski, V. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 80: 2021–2027.
23- Vasco, C., Ruales, J. & Kamal-Eldin, A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food Chemistry, 111: 816–823.
24- Yen, G. C., Duh, P. D. & Tsai, C. L. 1993. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41: 67–70.
25- Yildirim, A., Mavi, A. & Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 4083-4089.

Archive of SID

www.SID.ir

The evaluation of antioxidant properties and stability of phenolic copmpounds from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit

S. Mamashloo[1], A. Sadeghi Mahoonak[2], M. Ghorbani[2], M. Alami[2], M. Khomeiri[2]

1- MSc. student, Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural sciences & Natural Resources
* Corresponding author (smamashloo@yahoo.com)
2- Assistant professor, Department of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources

Abstract

Medlar is a widely growth in northern Iran and used as an edible fruit as well as in home remedies. In this study, the antioxidant properties and total phenolic contents of acetone, methanol, ethanol 80% and water extracts of medlar (*Mespilus germanica* L.) were examined. Maximum amount of phenolic compounds were obtained with acetone (80%), followed by methanol, ethanol and water. Total phenolic content of acetone extract was 7.437 g GAE/100gr dried matter. Antioxidant activity was evaluated using three different methods including scavenging effect on DPPH radicals, reducing power of Fe^{+3} and total antioxidant capacity. The results were compared with the antioxidant capacity of a synthetic antioxidant, BHT. Acetone extract displayed the highest antioxidant capacity in all the assays. In addition, the effect of temperature (50 °C and 100 °C), pH (3, 5, 7 and 9) on the antioxidant activity of acetone extract was investigated. The antioxidant activity of the extract remained unchanged at 50°C and was at maximum pH (5.0). Results showed that, medlar was found as a potential source of natural antioxidants due to its marked antioxidant activity.

Keywords*:* Antioxidant activity; *Mespilus germanica* L.; Phenplic compound; Stability

Archive of SID

www.SID.ir