Archive of SID

تاثیر نوع حلال بر میزان ترکیبات زیست فعال و فعالیت ضداکسایندهٔ عصاره آلبالو تلخه (*White mahlab* L.)

فیروزه بذرافکن[1]، سهیلا زرین قلمی[2*]، علی گنجلو[3]

۱– دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زنجان
۲– استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زنجان
۳– استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زنجان

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۱۳)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر سه نوع حلال مختلف آب، اتانول و متانول بر بازده استخراج، میزان فنل کل (TPC)، فلاونوئید کل (TFC) و فعالیت ضداکسایندهٔ به دو روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) عصاره آلبالو تلخه (*White mahlab* L.) بوده است. نتایج نشان داد که در بین عصاره‌های مورد بررسی، عصاره اتانولی بالاترین راندمان استخراج (۰/۵±۳/۳۳ درصد) را داشته است. در حالی که عصاره متانولی بیشترین میزان فنل کل (۰/۰۹±۳/۷۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم نمونه) و فلاونوئید کل (۰/۰۰۰۷±۰/۱٦ معادل میلی‌گرم روتین در گرم نمونه) را نشان داد. همچنین عصاره متانولی بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروژن پراکسید را در غلظت ۰/۰۰۵ مشخص کرد (به ترتیب ۱/۸۱±٦٤/۲۹ و ۰/۰۵±۲/۲۸ درصد). با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان عصاره متانولی میوه آلبالو تلخه را که در کشور ما به آن هیچگونه توجهی نشده است به عنوان یک منبع طبیعی دارای ترکیبات زیست فعال مفید و دارای فعالیت ضداکسایندهٔ بالا برای استفاده در صنعت غذا و دارو معرفی کرد.

کلید واژگان: آلبالو تلخه، استخراج، ترکیبات زیست فعال، فعالیت ضداکسایندهٔ

* مسئول مکاتبات: zaringhalami@znu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

اکسایش یک روند تخریبی است که باعث از بین رفتن ارزش غذایی و تغییر در ترکیب‌های شیمیایی مواد غذایی می‌گردد. حساس‌ترین مواد غذایی نسبت به اکسایش، لیپیدها هستند. ترکیب‌های حاصل از اکسایش لیپیدها، علاوه بر اثرات نامطلوب حسی در محصولات غذایی، با از بین بردن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری بدن منجر به ایجاد ترکیبات سمی و عوارض سوء مختلف می‌شوند [۱].

ترکیبات ضداکسایند به موادی اطلاق می‌شود که قادر به ایجاد تاخیر، کند کردن و حتی توقف فرایندهای اکسایشی می‌باشند. این ترکیبات می‌توانند به نحو مطلوبی از تغییرهای نامطلوب رنگ و طعم مواد غذایی ایجاد شده در نتیجه واکنش‌های اکسیداسیون جلوگیری کنند. ضداکسایندهها در دو دسته سنتزی و طبیعی قرار می‌گیرند. اما به دلیل اثرات سمی ضداکسایندههای سنتزی از یک طرف و استقبال مصرف‌کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از جانب دیگر، تمایل به استفاده از ضداکسایندههای طبیعی با منشا گیاهی بیشتر شده است [۲].

میوهها و سبزی‌ها، عمده‌ترین منابع حاوی ترکیبات ضداکسایند هستند که در این بین می‌توان به میوه آلبالو تلخه اشاره کرد. آلبالو تلخه یا محلب با نام علمی ***Prunus mahaleb***، میوه‌ای کروی شکل و به رنگ بنفش تیره است. این میوه از خانواده Rosaceae بوده که در زبان انگلیسی با نام ***White mahlab*** نامیده می‌شود. زیستگاه طبیعی این میوه در بیشتر نقاط دنیا از جمله شرق و مرکز اروپا و غرب آسیا و در گستره ایران، استان‌های آذربایجان، کردستان، لرستان، اصفهان، چهار محال و بختیاری، یزد، زنجان و همدان است. از خواص دارویی مهم این میوه می‌توان به تقویت قلب، شش‌ها، جگر، کبد، طحال، رفع درد پهلو، خارج کردن خلط‌های سینه ناشی از سینوزیت و همچنین درمان غش اشاره کرد [۳،٤،٥].

در پژوهشی آیری و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات زیست‌فعال از جمله میزان آنتوسیانین کل، کومارین و اسید فنولیک در میوه، هسته و لیکور حاصل از میوه آلبالو تلخه را اندازه‌گیری و شناسایی کردند. نتایج نشان داد که در بافت تازه میوه آلبالو تلخه سه ترکیب اصلی از ترکیبات فنلی از جمله مشتقات اسید فنولیک (O–کوماریک اسید گلوکوزید[1])، گلیکوزیدهای کوئرستین و آنتوسیانین‌ها (سیانیدین ۳،۵–دیگلوکوزید[2]، سیانیدین۳–سامبوبیوسید[3]، سیانیدین۳–ایکسلوسیل–روتینوزید[4] و سیانیدین۳–روتینوزید[5]) وجود دارد.

امروزه به دلیل اهمیت ضداکسایندههای طبیعی در صنایع غذایی، روش‌هایی برای استخراج آن‌ها در نظر گرفته شده است که بیش‌ترین بازده استخراج و فعالیت ضداکسایندگی را داشته باشند. یکی از روش‌های رایج استحصال ترکیبات ضداکسایندهٔ از منابع گیاهی، استخراج با حلال است. بازده استخراج و فعالیت ضداکسایندگی عصاره استخراج شده، به میزان زیادی به نوع حلال مورد استفاده بستگی دارد. حلال‌های آلی با نقطه جوش پایین مانند متانول و اتانول به طور عمده و موثر برای جداسازی ترکیبات زیست‌فعال از محصولات گیاهی استفاده می‌شوند. همچنین حلال آب به دلیل ارزان بودن، فراوانی و بی‌ضرر بودن امروزه کاربرد گسترده‌ای دارد [٦].

در پژوهشی رزلی و همکاران (۲۰۱۲) تاثیر حلال‌های مختلف بر استخراج ترکیبات ضداکسایندهٔ فنلی برگ، دانه و پوست تمبر هندی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که متانول نسبت به اتیل استات و هگزان، دارای بالاترین بازده استخراج می‌باشد و آن را موثرترین حلال جهت استخراج ترکیبات فنلی به خصوص از قسمت برگ تمبر هندی گزارش کردند [۷].

در پژوهش دیگری موکرانی و مدنی (۲۰۱٦) از حلال‌های اتانول و متانول در استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت ضداکسایندگی میوه هلو استفاده کردند. نتایج نشان داد که اتانول حلالی موثر جهت استخراج ترکیبات فلاونوئیدی و تانن‌ها است در حالی که حلال متانول جهت استخراج اسیدهای فنلی و کاتچین بهتر عمل می‌کند [۸].

تحقیقات مختلف انجام شده روی میوه‌های حاوی رنگدانه‌های آبی یا قرمز تیره، بیانگر غنی بودن آنها از ترکیبات زیست فعال و سلامت بخش طبیعی است. با توجه به اینکه آلبالو تلخه، میوه‌ای حاوی رنگدانه‌های آبی و بنفش مفید برای سلامتی، است و در مناطق مختلفی از کشور ما به ویژه غرب ایران، به وفور یافت می‌شود که فقط به عنوان پیوند پایه گیلاس کاربرد داشته است و تا به حال میزان ترکیبات زیست‌فعال و ویژگی‌های ضداکسایندگی میوه‌های آن مورد بررسی

1. O-coumaric acid glucoside

2.Cyanidin 3,5-diglucoside
3. Cyanidin 3-sambubioside
4. Cyanidin 3-xylosyl-rutinoside
5. Cyanidin 3-rutinoside

www.SID.ir

Archive of SID

قرار نگرفته است، لذا هدف از این پژوهش انتخاب حلال مناسب به منظور استخراج ترکیبات زیست‌فعال از میوه آلبالو تلخه و بررسی میزان فعالیت ضداکسایندگی آن‌ها می‌باشد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-آماده‌سازی ماده اولیه

نمونه‌های آلبالو تلخه از ۵ درخت انتخاب شده در دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان به صورت کاملا تصادفی جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از تمیز کردن و شست و شو، میوه‌ها تا قبل از انجام آزمون‌های بعدی، در فریزر و در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

۲-۲-تهیه عصاره

عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی آلبالو تلخه به روش غرقابی[6] تهیه شد. در این روش، میوه‌ها از فریزر خارج گردید و در دمای محیط قرار داده شدند تا این که یخ‌زدایی شوند. هسته آلبالو تلخه‌ها به روش دستی جدا گردید و سپس به وسیله هاون به طور کامل و یکدست له شدند. یک گرم از آلبالو تلخه له شده، به طور جداگانه توزین و در سه بشر ریخته شد و ۱۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مورد نظر اضافه گردید. بشرها به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق و در محیط تاریک قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت زمان، عصاره استخراج شده توسط کاغذ صافی، صاف گردید. حلال حاوی عصاره با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلا (مدل R-205، سوئیس) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس از عصاره جدا گردید.

عصاره‌های باقیمانده تا زمان انجام آزمون در ظرف‌های دربسته و تیره درون یخچال با دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند [۹].

۲-۳- تعیین بازده استخراج

بازده استخراج بر اساس درصد وزن عصاره به دست آمده از نمونه اولیه طبق معادله زیر محاسبه شد [۱۰]:

$$\text{درصد بازده استخراج} = W/W_0 \times 100$$

W: وزن عصاره W_0: وزن نمونه اولیه

۲-٤- اندازه‌گیری میزان فنل کل (TPC)[7]

میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین-سیوکالتو[8] اندازه-گیری شد. در این روش به ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه (در غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) ، یک میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتو که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، اضافه شد. بعد از پنج دقیقه، دو میلی‌لیتر سدیم کربنات ۲۰ درصد به آن اضافه گردید و کاملا مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SPECORD 250 UV/ VIS، آلمان) در ۷٦٥ نانومتر خوانده شد. پس از رسم منحنی استاندارد گالیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب نمونه در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل کل عصاره آلبالو تلخه محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره آلبالو بیان گردید [۱۱].

۲-۵- اندازه‌گیری فلاونوئید کل (TFC)[9]

میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید تعیین شد. در این روش یک میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده، با چهار میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس به آن ۰/۳ میلی‌لیتر سدیم نیتریت ۵ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به همراه ۲ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید یک مولار اضافه گردید. بعد از ۵ دقیقه با ۲/٤ میلی‌لیتر آب مقطر کاملا مخلوط شد و سپس جذب نمونه در ۵۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان فلاونوئید کل با استفاده ازمعادله منحنی استاندارد و بر اساس معادل میلی‌گرم روتین در گرم عصاره آلبالو گزارش گردید [۱۲].

۲-٦-ارزیابی فعالیت ضداکسایندگی

۲-٦-۱-درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)[10]

در این آزمون مطابق روش شارما و همکاران (۲۰۱۵)، ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه (در غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به علاوه ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول ۶×۱۰^{-۵} مولار ۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل متانولی مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در مکان تاریک نگهداری شدند. سپس جذب نمونه

6. Maceration
7. Total phenol content (TPC)
8. Folin–Ciocalteu
9. Total flavonoid content (TFC)
10. (DPPH) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

www.SID.ir

Archive of SID

توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت ضداکسایندگی بر مبنای درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد مهار رادیکال‌های DPPH = $[(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}] \times 100$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری نمونه شاهد (فاقد آب آلبالو) و A_{sample} بیانگر جذب نوری نمونه مورد آزمایش می‌باشد [۱۱].

۲-۶-۲- روش مهار هیدروژن پراکسید (H_2O_2)

توانایی مهارکنندگی هیدروژن پراکسید با استفاده از روش راش و همکاران (۱۹۸۹) مشخص شد. ابتدا محلولی از پراکسید هیدروژن ۴۰ میلی‌مولار در بافر فسفات (۵۰ میلی-مولار و pH=7) تهیه شد. سپس غلظت هیدروژن پراکسید از طریق جذب محلول آماده شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۳۰ نانومتر مشخص گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده با آب به محلول هیدروژن پراکسید اضافه گردید و بعد از ۱۰ دقیقه جذب آن در طول موج ۲۳۰ نانومتر در مقابل محلول بافر فسفات بدون هیدروژن پراکسید (نمونه شاهد) خوانده شد. درصد مهارکنندگی هیدروژن پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۳].

درصد مهارکنندگی هیدروژن پراکسید = $[(A_i - A_t) / A_i] \times 100$

A_i: جذب نمونه شاهد A_t : جذب نمونه مورد آزمایش

۲-۷-آنالیز آماری داده‌ها

در این پژوهش، تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار Minitab 16 و با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفت. مقایسه میانگین‌های حاصل از سه تکرار، به روش توکی در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد و به منظور رسم نمودارها از نرم-افزار Excel 2013 استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-بازده استخراج

همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، بازده استخراج عصاره حاصل از حلال‌های اتانول، متانول و آب به ترتیب ۰/۵±۳/۳۳، ۰/۰۵±۲/۷۵ و ۰/۰۷±۱/۹۵ درصد به دست آمد. در نتیجه عصاره آبی کمترین بازده استخراج را نشان داد. تفاوت در بازده استخراج به قطبیت حلال و میزان انحلال ترکیبات در حلال استخراج بستگی دارد. به منظور افزایش بازده استخراج حلال آب بهتر است از آن در ترکیب با سایر حلال‌ها استفاده شود تا باعث انحلال بیشتر دیگر ترکیبات مانند پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها گردد. البته باید در نظر داشت بازده استخراج بالاتر به تنهایی نمی‌تواند یک عامل مثبت در زمینه افزایش تمامی ترکیبات فنلی و ضداکسایندگی تلقی شود [۱۴].

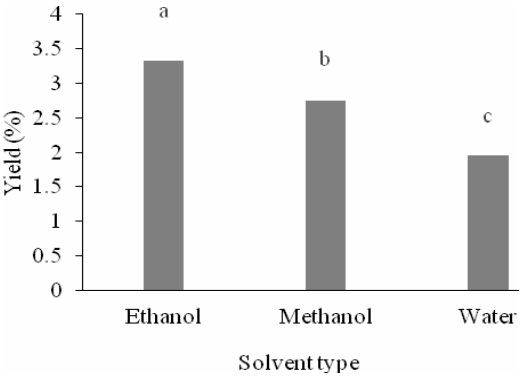

Fig 1 Extraction yield of three different *White mahaleb* extracts.

۳-۲- میزان فنل کل

مطابق شکل (a،۲) استخراج فنل کل به شدت تحت تاثیر ماهیت حلال استخراج کننده قرار دارد. میزان فنل کل عصاره-های سه حلال مختلف آب، اتانول و متانول در محدوده‌ی ۰/۱±۲/۶۱ تا ۰/۰۹±۳/۷۹ معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره تعیین شد که بیانگر غنی بودن عصاره آلبالو تلخه از ترکیبات فنلی می‌باشد. کمترین میزان فنل کل در عصاره آبی و در غلظت ۰/۰۰۰۲ مشاهده شد که با نتایج پژوهش ژو و یو (۲۰۰۴) بر عصاره‌گیری از سبوس گندم و فو و همکاران (۲۰۱۶) بر عصاره‌گیری برگ سیب‌زمینی شیرین مطابقت دارد [۱۰،۱۵]. استفاده از آب به عنوان حلال استخراج کننده، یک محیط کاملا قطبی ایجاد می‌کند که موجب کاهش استخراج برخی از ترکیبات فنلی با درجه قطبیت پایین می‌شود. در پژوهشی که توسط ژانگ و همکاران در سال ۲۰۰۱، انجام شد، احتمال کمتر بودن میزان فنل کل در عصاره آبی نسبت به عصاره‌های الکلی فعالیت بیشتر آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و کاهش ترکیبات پلی‌فنلی در عصاره آبی عنوان گردید. در پژوهشی دیگر دلیل کاهش ترکیبات فنلی در عصاره آبی نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره‌های اتانولی و متانولی را حضور و فعالیت بیشتر میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه کاهش این ترکیبات مطرح کردند. اما با توجه به خاصیت ضدمیکروبی ترکیبات فنلی، احتمال بروز این مساله کمتر است [١٧]. همچنین در تحقیق انجام گرفته توسط لاپورنیک و همکاران در سال ٢٠٠٥، تاثیر نوع حلال و زمان را بر بازده استخراج ترکیبات ضداکسایند از میوه انگور و دو نوع کشمش سیاه و قرمز مورد بررسی قرار دادند. میزان فنل کل و آنتوسیانین کل در عصاره اتانولی و متانولی کشمش و میوه انگور به ترتیب دو برابر و هفت برابر بیشتر از عصاره آبی گزارش شد که دلیل این امر را بالاتر بودن درجه قطبیت آب نسبت به درجه قطبیت متانول و اتانول به ترتیب ٠/٧٦٢ و ٠/٦٥٤ عنوان کردند [١٨]. حلال‌های متانول و اتانول به دلیل دارا بودن بخش غیرقطبی و قطبیت کمتر از آب، در تخریب دانه و دیواره سلولی موثرتر هستند و موجب آزاد شدن ترکیبات آنتوسیانینی و دیگر ترکیبات مفید از سلول‌ها می‌شوند. علاوه بر این حلالیت بالای آنتوسیانین‌ها در حلال متانول نسبت به اتانول به دلیل ساختار قطبی این ترکیبات می‌باشد. همچنین مشخص شده است که بین آنتوسیانین‌های مختلف، نوع و موقعیت قند در مولکول آنتوسیانین نیز بر حلالیت آنها موثر است. در نتیجه برای استخراج انواع ترکیبات فنلی و زیست‌فعال، انتخاب یک حلال مناسب بسیار مشکل است [١٨].

٣-٣- میزان فلاونوئید کل

با توجه به شکل (b،٢) تمامی عصاره‌های آلبالو تلخه مورد آزمایش، حاوی ترکیبات فلاونوئیدی است. نتایج نشان می‌دهد میزان این ترکیبات با توجه به نوع حلال مورد استفاده در استخراج و غلظت عصاره‌ها متفاوت می‌باشد. میزان فلاونوئید کل در عصاره‌های سه حلال مختلف آب، اتانول و متانول در محدوده ٠/١٥±٠/٠٠٠٨ تا ٠/١٦±٠/٠٠٠٧ معادل میلی‌گرم روتین بر گرم نمونه تعیین شد. بیشترین مقدار فلاونوئید در غلظت ٠/٠٠٥ و به میزان ٠/١٧±٠/٠٠٠٨ معادل میلی‌گرم روتین بر گرم نمونه تشخیص داده شد، درحالی که غلظت ٠/٠٠٠٢ کمترین میزان فلاونوئید ٠/١٤±٠/٠٠٠٨ معادل میلی‌گرم روتین در گرم نمونه را شامل می‌شود.

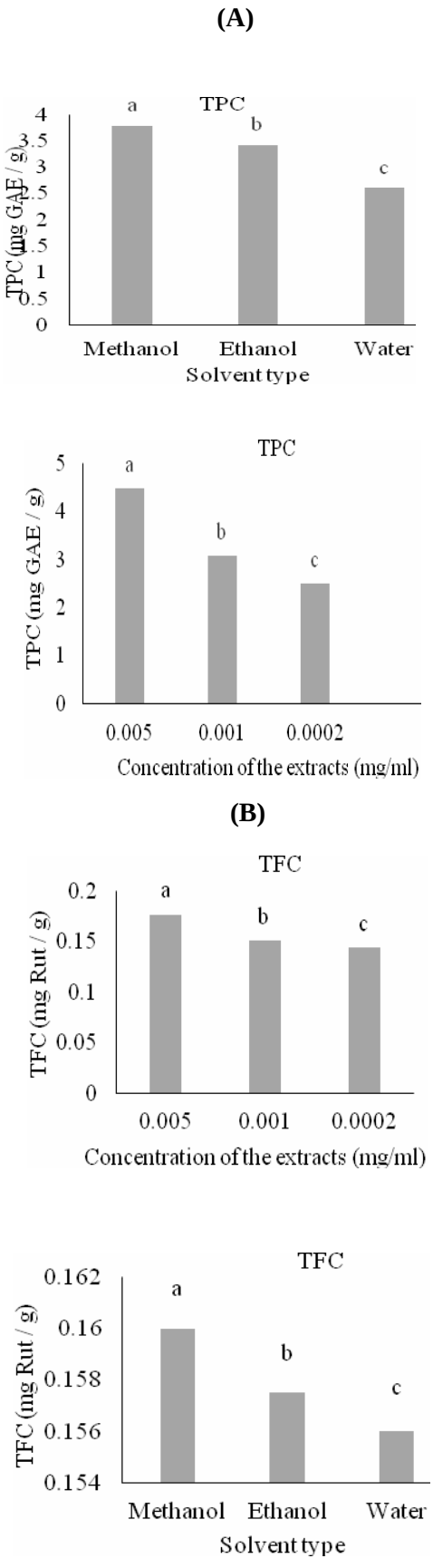

Fig 2 Effect of solvent type and concentration of *White mahaleb* extract on the TPC (a) and TFC (b).

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج تحقیق حاضر با نتایج شریفی و پوراکبر (۱۳۹۳) که گزارش کردند عصاره متانولی زرشک خشک و تازه نسبت به عصاره آبی دارای بالاترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی است، همخوانی دارد [۱۹]. اما در سال ۲۰۱۳، مخلوف و همکاران، طی پژوهشی بر عصاره‌گیری از پوست بادمجان با حلال‌های متانول و اتانول بیان کردند، اختلاف زیادی بین میزان ترکیبات فلاونوئیدی این دو عصاره مشاهده نشده است. به طوریکه میزان فلاونوئید عصاره متانولی و اتانولی به ترتیب ۱۶/۲۶ و ۱۶/۱۳ معادل میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم نمونه بود [٦].

با توجه به نتایج این پژوهش و نتایج سایر محققین مشخص شد حلال متانول نسبت به اتانول و آب برای استخراج ترکیبات فلاونوئیدی مناسب‌تر است که دلیل این امر انحلال کم فلاونوئیدها در حلال آب نسبت به دیگر حلال‌های آلی می‌باشد.

۳-٤- درصد مهار رادیکال‌های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل و هیدروژن پراکسید

نتایج بررسی درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروژن پراکسید توسط عصاره‌ها، در شکل۳ نشان داده شده است. بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروژن پراکسید به ترتیب ۱/۸۱±٦٤/۲۹ درصد و ۰/۰۵±۲/۲۸ درصد در عصاره متانولی مشاهده شد. فعالیت ضداکسایندگی عصاره، به دلیل تفاوت در ماهیت ترکیبات ضداکسایندگی، به شدت وابسته به نوع حلال هستند. کاربرد حلال‌هایی نظیر اتانول و متانول موجب خروج بهتر و بیشتر ترکیبات فنلی گیاه می‌گردد. از آنجایی که بسیاری از ترکیبات ضداکسایندگی از گروه فنل‌ها هستند، این امر می‌تواند دلیل مشخصی برای افزایش فعالیت ضداکسایندگی باشد. در حالی که عصاره آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی‌ها نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشد که می‌تواند در تعیین و تشخیص مقدار ترکیبات فنلی و نیز فعالیت ضداکسایندگی آنها تداخل ایجاد نمایند [۲۰].

مطابق شکل ۳، علاوه بر نوع حلال، غلظت عصاره نیز بر درصد مهارکنندگی موثر است به طوری که با افزایش غلظت عصاره آلبالو تلخه میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروژن پراکسید افزایش می‌یابد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج یونگ کیل و همکاران (۲۰۰۹)؛ شوکلا و همکاران (۲۰۰۹)؛ سان و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد.

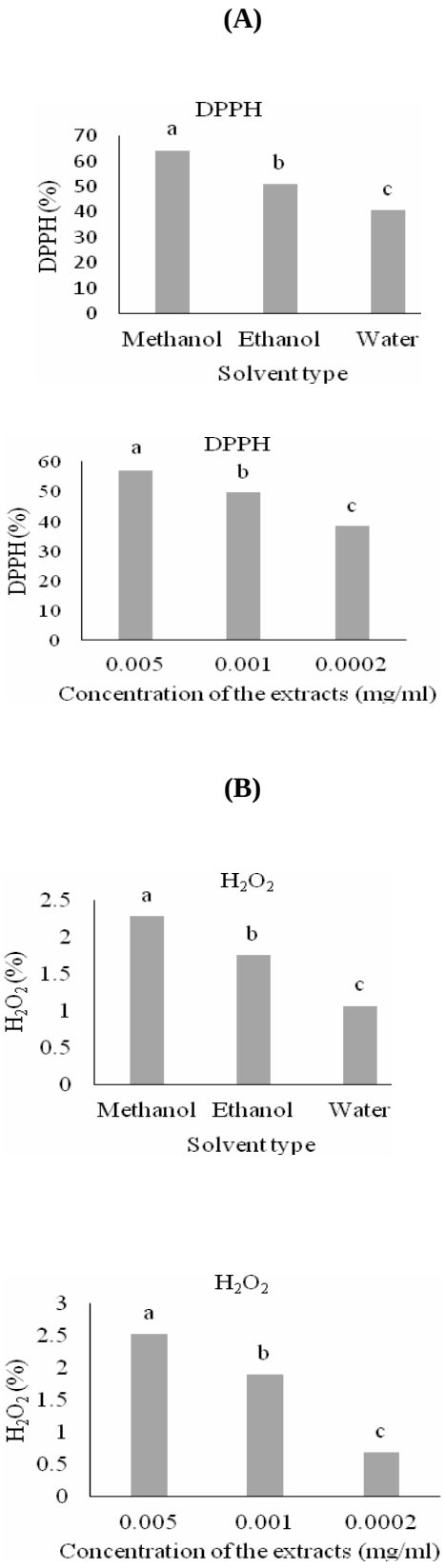

Fig 3 Effect of solvent type and concentration of *White mahaleb* extracts on DPPH (A) and H_2O_2 (B).

www.SID.ir

Archive of SID

این محققان گزارش کردند که، فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌های گیاهی به غلظت آنها بستگی دارد به طوری که در غلظت‌های بالاتر، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل ترکیب‌های فنلی موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد بیشتر شده و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. همچنین فعالیت ضداکسایندگی قوی عصاره‌های گیاهی را با میزان بالای فنل‌ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره‌ها مرتبط دانستند. این ترکیبات توانایی اهدای الکترون‌ها به رادیکال‌های آزاد فعال را دارند، در نتیجه می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد را متوقف کنند [٢١،٢٢،٢٣].

٣-٥- تعیین ضریب همبستگی بین ترکیبات فنلی و فعالیت ضداکسایندگی

در شکل٤. a وb ارتباط خطی بین فعالیت ضداکسایندگی (میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و H_2O_2) و ترکیبات فنلی مورد بررسی در این تحقیق، نشان داده شده است. ضریب همبستگی بین میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و هیدروژن پراکسید و ترکیبات فنلی به ترتیب $R^2 = 0.87$ و $R^2 = 0.90$ تعیین شد. با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که بین ترکیبات فنلی و میزان فعالیت ضداکسایندگی تعیین شده به روش DPPH همبستگی بیشتری نسبت به روش هیدروژن پراکسید وجود دارد. اما در کل ترکیبات فنلی یکی از اجزای اصلی و موثر در تعیین فعالیت ضداکسایندگی محسوب می‌شوند [٢٤،٢٥]. نتایج حاضر با نتایج حاصل از تحقیق اسروکا و سیسوسکی در سال ٢٠٠٣ که تاثیر فنولیک اسیدها را روی درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و H_2O_2 مورد ارزیابی قرار دادند، مشابهت دارد. به طوریکه نتایج آن‌ها نشان داد که ضریب همبستگی نسبتا بالایی بین فنولیک اسیدها و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH وجود دارد و بیان کردند که میزان این همبستگی در مورد رادیکال‌های آزاد هیدروژن پراکسید نسبت به DPPH کاهش می‌یابد. آنها دلایل قابلیت مهار شدن رادیکال‌ها توسط این ترکیبات را مربوط به گروه‌های کربونیل و استیل فنولیک اسیدها و گروه‌های هیدروکسیل متصل شده به حلقه‌های آروماتیک آنها گزارش کردند [٢٦].

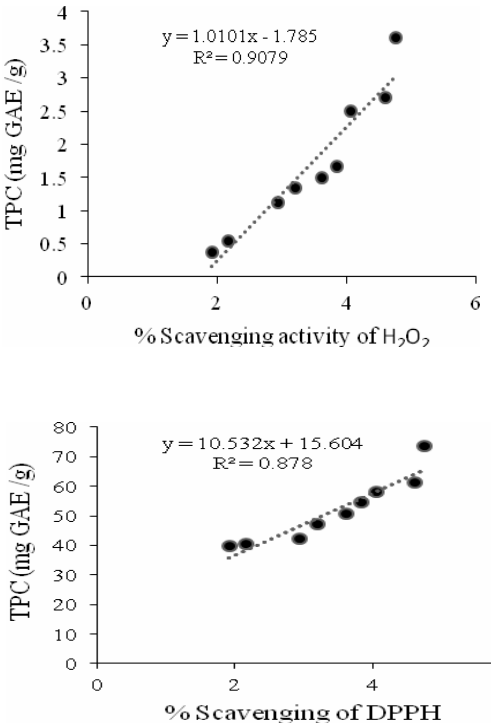

Fig 4 Relationship between total phenolic content (TPC), H_2O_2 (a) and DPPH (b) antioxidant activity of white mahaleb extract

٤- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که حلال اتانول بازده استخراج بیشتری از سایر حلال‌های مورد استفاده دارد. اما عصاره متانولی میوه آلبالو تلخه به دلیل دارا بودن مقادیر قابل ملاحظه-ای از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، قدرت ضداکسایندگی بالاتری را نشان داد. در نتیجه حلال متانول کیفیت بالاتری را نسبت به سایر حلال‌ها در استخراج ترکیبات زیست‌فعال دارد. اما به منظور افزایش بازده استخراج و کارایی بالاتر در خروج ترکیبات مفید در عصاره، بهتر است که به منظور عصاره‌گیری، از ترکیب حلال‌های مختلف استفاده گردد.

٥- منابع

[1] Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H and Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. Food chemistry, 72(2): 145–171.

[2] Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K., and Bhargav, V. K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic

www.SID.ir

Archive of SID

antioxidants from fruits juices. Food chemistry, 185, 284–288.

[12] Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., and Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant–rich US foods. Journal of food composition and analysis, 24(7), 1043–1048.

[13] Ruch, R. J., Cheng, S.J., and Klainig JE. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogen 10, 1003–1008.

[14] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran–Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., and Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica. Journal of food and drug analysis, 22(3), 296–302.

[15] Zhou, K., and Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. LWT–Food Science and Technology, 37(7), 717–721.

[16] Zhang, Z., Pang, X., Ji, Z., and Jiang, Y. (2001). Role of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. Food chemistry, 75(2), 217–221.

[17] Nychas, G.J.E. (1995). Natural antimicrobials from plants. In New methods of food preservation (pp. 58–89). Springer US.

[18] Lapornik, B., Prošek, M., and Wondra, A.G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by–products using different solvents and extraction time. Journal of food engineering, 71(2), 214–222.

[19] Sharifi, F. and Poor Akbar, L. (2014). Anti-oxidant properties of phenolic compounds of fresh and dried hybrid barberry fruitSecond national conference on applied research on chemistry science, biology, geology. University of Applied Sciences, Tehran, Iran. 219– 227. [In Persian].

[20] Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Is-madji, S., and Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. Journal of Food and Drug Analysis, 22(3), 296–302.

[21] Kil, H. Y., Seong, E. S., Ghimire, B. K., Chung, I. M., Kwon, S. S., Goh, E. J. and compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. Journal of food science and technology, 51(10), 2568–2575.

[3] Gharouni, T., Zamani, Z., and Bouzari, N. (2012). Genetic variation of Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes based on morphological traits and RAPD primers. Seed and plant improvement journal, 28(1), 717–739. [In Persian].

[4] Ieri, F., Pinelli, P., and Romani, A. (2012). Simultaneous determination of anthocyanins, coumarins and phenolic acids in fruits, kernels and liqueur of *Prunus mahaleb* L. Food chemistry, 135(4), 2157–2162.

[5] Mariod, A. A., Ibrahim, R. M., Ismail, M., and Ismail, N. (2010). Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. Food Chemistry, 118(1), 120–127.

[6] Boulekbache–Makhlouf, L., Medouni, L., Medouni–Adrar, S., Arkoub, L., and Madani, K. (2013). Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. Industrial Crops and Products, 49, 668–674.

[7] Razali, N., Mat–Junit, S., Abdul–Muthalib, A. F., Subramaniam, S., and Abdul–Aziz, A. (2012). Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. Food Chemistry, 131(2), 441–448.

[8] Mokrani, A., and Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. Separation and Purification Technology, 162, 68–76.

[9] Arabshahi–Delouee, S., and Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry, 102(4), 1233–1240.

[10] Fu, Z. F., Tu, Z.C., Zhang, L., Wang, H., Wen, Q.H., and Huang, T. (2016). Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (Ipomoea batatas L.) leaves extracted with solvents of various polarities. Food Bioscience, 15, 11–18.

[11] Sharma, S., Kori, S., and Parmar, A. (2015). Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and

www.SID.ir

Archive of SID

Yu, C. Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. Food Chemistry, 115(4), 1234–1239.

[22] Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., and Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. Food and Chemical Toxicology, 49(10), 2689–2696.

[23] Shukla, S., Mehta, A., Bajpai, V. K., and Shukla, S. (2009). In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert. Food and Chemical Toxicology, 47(9), 2338–2343.

[24] Kumaran, A., and Joel Karunakaran, R., (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. LWT – Food Science and Technology, 40, 344–352.

[25] Maksimović, Z., Malenčić, Đ., and Kovačević, N. (2005). Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. Bioresource technology, 96(8), 873-877.

[26] Sroka, Z., and Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. Food and Chemical Toxicology, 41(6), 753-758.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of solvent type on bioactive compounds and antioxidant activity of *White mahlab* L. juice

Bazrafkan, F. [1], Zaringhalami, S. [2*], Ganjloo, A. [3]

1Faculty of Agriculture, Department of Food Science and Technology, University of Zanjan,
2Faculty of Agriculture, Department of Food Science and Technology, University of Zanjan,
3Faculty of Agriculture, Department of Food Science and Technology, University of Zanjan,
(Received: 2016/08/13 Accepted: 2016/12/03)

The purpose of current research, was evaluated the effect of three types of extraction solvent including water, ethanol and methanol on extraction yield, total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity using DPPH and H_2O_2 methods of *White mahlab* L extract. Results revealed that ethanolic extract had the highest extraction yield (3.33%) while methanolic extract showed the highest TPC (3.79±0.09 mg GAE/ g sample) and TFC (0.16±0.0007 mg Rutin/g sample) in comparison with other studied extracts. Furthermore, methanolic extract had the highest DPPH and H_2O_2 antioxidant activity at concentration of 0.005 (64.29±1.81 and 2.28±0.05%, respectively). According to the results obtained from this study, it is possible to introduce methanolic extract of *White mahlab* L. fruits which in our country there is no significant, as potential natural source of useful bioactive compounds with high antioxidant activity for application in food and drug industry.

Keywords: *White mahlab* L., Extraction, Bioactive compounds, Antioxidant activity.

* Corresponding Author E-Mail Address: zaringhalami@znu.ac.ir

www.SID.ir