Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 7, No. 1, 2011, p. 50-59

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۷، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰، ص. ۵۹ ۵۰

تاثیر شرایط اسیدی، قلیائی و نمک بر میزان حذف ترکیبات فنولی از مغز میوه دو واریته بلوط ایرانی

مریم قادری قهفرخی[۱] علیرضا صادقی ماهونک[۲*] مهران اعلمی[۲] محمد قربانی[۲] محمد حسین عزیزی[۳]

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۱
تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱۸

چکیده

میوه‌ی بلوط یکی از مغزهای خوراکی حاصل از درخت بلوط (جنس کوئرکوس) می‌باشد که استفاده از آن در تغذیه‌ی انسان قدمتی طولانی دارد. در مطالعه حاضر دو واریته بلوط ایرانی به نام های کوئرکوس کاستانیفولیا واریته کاستانیفولیا (Qc) و کوئرکوس برانتی واریته پرسیکا (Qb) مورد استفاده قرار گرفتند. مقدار کل ترکیبات فنولی در این دو واریته به ترتیب ۹/۱۱ و ۴/۳۳ گرم معادل تانیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده‌ی خشک بود. تاثیر خیساندن در آب (در دماهای ۲۵ و ۵۰°C)، اسید استیک و سود (در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ مولار) و کلرید سدیم (در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰٪) به مدت ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت بر میزان حذف ترکیبات فنولی از میوه‌ی دو واریته بلوط مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده با استفاده از روش اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان در سطح احتمال (P<۰/۰۵) صورت گرفت. تمامی فرآیندها به طور قابل ملاحظه ای مقدار ترکیبات فنولی دو واریته را نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش دادند. در روش خیساندن در آب با افزایش دما و زمان افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان خروج ترکیبات فنولی هر دو واریته مشاهده گردید. در واریته‌ی Qb، بیشترین میزان حذف ترکیبات فنولی در تیمار سود ۰/۵ مولار در زمان ۱۲ ساعت و در واریته Qc نیز طی خیساندن در سود ۰/۱ مولار به مدت ۱۸ ساعت مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید استیک، ترکیبات فنولی، خیساندن، میوه بلوط، هیدروکسید سدیم

مقدمه

درخت بلوط متعلق به خانواده فاگاسه[۲] و جنس کوئرکوس[۳] می‌باشد. این جنس شامل ۵۰۰ گونه مختلف است که به صورت درخت و درختچه درمناطق مختلف دنیا می‌روید. درخت و میوه‌ی بلوط از هزاران سال قبل توسط مردم مناطق مختلف جهان نظیر اروپا، آسیا، آفریقای شمالی، خاورمیانه و آمریکای شمالی مورد استفاده قرار گرفته است. آنالیز تقریبی میوه بلوط نشان می‌دهد که ترکیب شیمیایی میوه بلوط مشابه غلات است (Ozcan, 2006). طبق بررسی‌های انجام شده روی گونه‌های مختلف بلوط مشخص شد که کربوهیدرات‌ها بخش اعظم میوه بلوط را (۸۵ ۴۸٪) تشکیل می‌دهند. یکی دیگر از ترکیبات شیمیایی میوه‌ی بلوط، روغن آن می‌باشد. مهم‌ترین ویژگی روغن این میوه وجود مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر اولئیک اسید و لینولئیک اسید است. از این رو، این روغن در زمره‌ی روغن‌های گیاهی با ارزش غذایی بالا قرار می‌گیرد. پروتیین، فیبر و مواد معدنی و ویتامین‌هایی نظیر A، C و ویتامین‌های خانواده‌ی B، سایر ترکیبات تشکیل دهنده‌ی میوه‌ی بلوط می‌باشند. علاوه بر ترکیبات مغذی، میوه بلوط حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و تانن می‌باشد (Saffarzadeh et al., 1999).

ترکیبات فنولی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده و حدود ۸۰۰۰ ترکیب مختلف در این گروه قرار می‌گیرند. ترکیبات فنولی مسئول برخی ویژگی‌های حسی مرتبط با کیفیت مواد غذایی

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استادیار دانشکده علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(* نویسنده مسئول: Email: sadeghiaz@yahoo.com)
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذائی، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی.
2 - Fagaceae
3 - Quercus

گیاهی می‌باشند که از آن جمله می‌توان به تـاثیر آنهـا در ایجـاد طعـم تلخ وگس، رنگ تیره، بو و پایداری اکسیداتیو مواد غذایی اشـاره کـرد. از آن جا که فنول‌ها مولکول‌های فعالی می‌باشند، به سـرعت بـا سـایر فنول‌ها و یا دیگر ترکیبات موجود در مواد غذایی واکـنش مـی‌دهنـد و رنگدانه‌های پلیمری ایجاد می‌کنند (Shoji, 2007). تلخی و گسی نیز دو ویژگی ارگانولپتیکی دیگر می‌باشند که به واسطه حضـور ترکیبـات فنولی موجود در مواد غذایی در دهان احساس می‌شوند. تلخـی توسـط گیرنده‌های چشایی روی زبان به طور مستقیم احسـاس مـی‌شـود امـا گسی به دلیل رسوب گلیکوپروتئین‌های بزاقی توسط ترکیبـات فنـولی ایجاد می‌گردد (Rakic et al., 2007).

علاوه بر تاثیر این ترکیبـات بـر ویژگـی‌هـای ارگـانولپتیکی مـواد غذائی، اثرات ضد تغذیه‌ای برخـی از ترکیبـات فنـولی و عملکردهـای مفید برخی دیگر از آنها، برای بسیاری از تولیـد کننـدگان و مصـرف کنندگان حائز اهمیت است. شـواهد نشـان مـی‌دهـد مصـرف مقـادیر زیادی تانن (حدود ۵٪) منجر به مسـمومیت شـدید حتـی در مـواردی منجر به مرگ می‌شود (Deshpande, 2002). ترکیبات فنولی اثـرات نامطلوب خود را از طریق اتصـال بـه مـاکرومولکول‌هـا و آنـزیم‌هـا و رسوب آنها اعمال می‌کنند به طوری‌که این ترکیبات با هضم و جـذب ترکیبات مغذی نظیر پروتیین‌ها، کربوهیدرات‌ها، امـلاح و ویتـامین‌هـا مداخله ایجاد کرده و باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای و قابلیت هضم مواد غذایی می‌گردند. از سایر آثار نامطلوب تانن ها و ترکیبات فنولی مـی توان به افزایش دفع پروتیین‌ها، آمینواسیدها و املاح ضروری از بدن و آسیب به لایه مخاطی دستگاه گـوارش اشـاره کـرد (Bravo, 1998). بنا به دلایل گفته شده، تانن ها و ترکیبات فنولی جـزء ترکیبـات ضـد تغذیه ای گیاهی قلمداد می شـوند امـا نبایـد اثـرات مفیـد آنهـا نظیـر فعالیت های ضد رادیکالی و ویژگی های آنتی اکسیدانی آنها را نادیـده گرفت.

از آن جا که میوه اکثر گونه‌های بلوط کمی تلخ و گس می‌باشند، لذا این میوه‌ها پس از خیساندن در آب و خروج ترکیبـات عامـل طعـم تلخ، از قدیم الایام جهت تهیه نان، کیک و نوشیدنی‌های بر پایه بلـوط مورد استفاده قرار می‌گرفتند (Saffarzadeh et al., 1999). بنـابراین به منظور استفاده بهینه از ترکیبات تغذیه‌ای موجـود در میـوه‌ی بلـوط، کاهش خطرات احتمالی ناشی از مصـرف مقـادیر زیـادی از ترکیبـات فنولی و به دسـت آوردن محصـولاتی بـا ویژگـی‌هـای ارگـانولپتیکی مطلوب، لازم است این ترکیبات تا حـد امکـان از میـوه حـذف شـوند. روش‌های مختلفی برای کاهش این ترکیبات از منابع غـذایی مختلـف وجود دارد که از آن جملـه مـی‌تـوان بـه پوسـت‌گیـری، خیسـاندن در محلول‌هـای مختلـف و یـا روش‌هـای حرارتـی نظیـر برشـته‌کـردن، جوشاندن و اتوکلاو کردن اشاره کرد. خیساندن یکـی از متـداول‌تـرین روش‌های حذف ترکیبات ضد تغذیه ای می‌باشد کـه در مقیـاس‌هـای صنعتی و خانگی کاربرد زیادی دارد. این روش معمولاً به صورت پیش تیمار همراه با سایر روش‌ها نظیر پختن، جوانـه‌زنـی، تخمیـر و برشـته کردن نیز به کار می‌رود. دور ریختن آبـی کـه عمـل خیسـاندن در آن انجام شده است، قبل از فرآوری بعدی نقش موثری در حذف ترکیبات ضد تغذیه‌ای محلول در آب نظیر پلی فنل‌ها، فیتـات و بازدارنـده‌هـای آنزیمی دارد (Deshpande, 2002). محلول‌هایی که عمـل خیسـاندن در آن انجام می‌شود، شامل آب، محلول های نمکـی (یـا مخلـوطی از نمک‌ها)، محلول‌های رقیق قلیایی و اسیدی می‌باشـند. میـزان حـذف این ترکیبات تحت تاثیر عوامل زیـر قـرار دارد : نـوع محلـول، مـدت زمان خیساندن، نوع ماده غذایی، نسبت فاز جامد به مایع، دما و قدرت حلالیت این ترکیبات در محلول‌هـای مـورد اسـتفاده (Deshpande, 2002; Laurena et al., 1986). بـرای حـذف ترکیبـات فنـولی از کنجاله دانه آفتاب‌گردان از حلال‌هـای مختلفـی اسـتفاده شـد. نتـایج نشان داد، سولفیت سدیم، کلرید سـدیم، هیدروکسـید سـدیم و اسـید هیدروکلریدریک به ترتیب میزان ترکیبات فنولی را از ۴۲۷۰ بـه ۲۲۰، ۱۹۹۵، ۲۹۰۵ و ۵۰ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم کاهش دادند (Gandhi et al., 2008).

با توجه به غنی بودن پوشش گیاهی جنگل‌هـای غـرب و شـمال کشور از درخت بلوط، سالانه هزاران تـن میـوه بلـوط در ایـن منـاطق تولید می‌شود که متاسفانه به جزمصارف محدود این میوه‌هـا در تغذیـه دام، طیور و حیوانات جنگلی، هیچ استفاده مفید دیگری از ایـن منـابع غذایی طبیعی در کشورمان به عمل نمی‌آید. مهم ترین هـدف از ایـن تحقیق تعیین بهترین روش یا تیمارها بر کاهش مقدار ترکیبات فنـولی از میوه دو واریته بلوط ایرانی می باشد. تعیین روش آسان و کم هزینه برای کاهش ترکیبات فنولی، گامی مهم در کاربرد هر چه بیشـتر از آن تلقی می‌شود. وجود مقادیر زیادی از این ترکیبات در میـوه عـلاوه بـر اعمال اثرات سوء بر سلامتی با احساس طعم تلخ و گس همراه اسـت، که میزان پذیرش مصرف کننده را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

مواد و روش ها

تهیه و آماده سازی نمونه‌ها

در این تحقیق از میـوه دو واریتـه‌ی بلـوط اسـتفاده شـد. میـوه‌ی گونه‌های کوئرکوس برانتی واریته پرسـیکا و کوئرکـوس کاسـتانیفولیا واریته‌ی کاستانیفولیا به ترتیب از مناطق جنگلی استان‌های چهارمحال و بختیاری و گلستان در اواخر آبان ماه سال ۱۳۸۷ جمـع آوری شـدند. جهت سهولت و پرهیز از تکرار اسامی، از این پس اسامی دو واریتـه را به ترتیب به صورت Qb و Qc بیان می گـردد. بـه دلیـل بـالا بـودن محتوای رطوبت، میوه‌ها به مدت ۳ هفته در شرایط محیط تـا رسـیدن به رطوبت مطلوب، خشک شدند. به دلیل غیر یکنواخت بودن شکل و اندازه مغزهای بلوط، پس از جداکردن پوسته چـوبی و پوشـش داخلـی مقداری از میوه‌ها کوبیده و از الک با شماره مش ۲۰ عبـور داده شـدند

تا نمونه هائی یکنواخت با ابعاد کوچک‌تر به دست آید.

به منظور بررسی تاثیر فرآیند خیساندن بر میزان حذف ترکیبات فنولی، از حلال‌های مختلفی استفاده شد. در تمامی تیمارهای زیر، ۱۰۰ میلی‌لیتر از حلال مربوطه به ۱۰ گرم از نمونه‌ها افزوده گردید و نمونه‌ها به مدت ۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴ ساعت در این شرایط خیسانده شدند.

شرایط خیساندن

خیساندن در آب

به منظور بررسی تاثیر دما بر میزان حذف ترکیبات فنولی، خیساندن نمونه‌ها در دمای محیط و نیز دمای۵۰ درجه سانتیگراد صورت گرفت.

خیساندن در آب نمک

برای این منظور از محلول کلرید سدیم با غلظت های ۱، ۵ و ۱۰ درصد استفاده شد.

خیساندن در محلول‌های اسیدی و قلیائی

محلول های ۰/۱ ، ۰/۵ و ۱ مولار از اسید استیک و هیدروکسید سدیم برای این منظور مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده‌سازی نمونه‌های تیمار شده جهت اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی

پس از اتمام زمان مورد نظر، آب مورد استفاده و نیز محلول‌های اسیدی، قلیائی، نمکی دور ریخته شد و نمونه‌ها چندین مرتبه با آب شسته شدند تا کلیه باقی مانده محلول از آن‌ها خارج گردد. نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت در دمای ۵۰°C خشک شدند و توسط هاون به صورت آرد در آمدند (Vijayakumari et al., 1998) و سپس مقدار ترکیبات فنولی آنها با روش ذیل اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی نمونه‌های خام و فرآیند شده

به منظور اندازه‌گیری ترکیبات فنولی، از روش فولین سیو کالته استفاده شد (Deshpande et al., 1986). غلظت های مختلف اسید تانیک جهت رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت و مقدار ترکیبات فنولی بر حسب گرم اسید تانیک در ۱۰۰ گرم از نمونه های خام یا فرآیند شده گزارش شد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده با استفاده از روش اندازه گیری‌های تکرار شده در زمان[1] در سطح احتمال (P<۰/۰۵) صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم گراف‌ها با نرم افزار Excel انجام گردید. کلیه‌ی آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار کل ترکیبات فنولی

میانگین مقدار کل ترکیبات فنولی برای دو واریته Qc و Qb، در جدول ۱ آورده شده است. میوه بلوط دو واریته مورد بررسی از این نظر با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند و مقدار ترکیبات فنولی در واریته‌ی Qc بیش از دو برابر واریته‌ی Qb بود. مقدار ترکیبات فنولی در میوه بلوط هر دو واریته مورد بررسی از مقادیر گزارش شده برای حبوباتی نظیر *Canavalia cathartica* (۱/۴۹٪) و غلاتی نظیر سورگوم (۴/۳ ۰/۱٪) و گندم (۱/۴ ۰/۰۷٪) بیشتر بود.

ابوتراب (۱۳۸۷) مقدار ترکیبات فنولی میوه خام کوئرکوس برانتی را ۲/۰۱٪ گزارش کرد که از نتایج به دست آمده در این بررسی کمتر بود. در تحقیق انجام شده توسط (Rakic et al., 2007) روی میوه بلوط گونه کوئرکوس روبور مشخص شد این میوه حاوی ۱۲/۳۳٪ ترکیبات فنولی است که به ترتیب ۹/۰۶٪ و ۰/۱۴۲٪ از این مقدار را تانن و اسید گالیک تشکیل می‌دادند. به دلیل اهمیت تانن ها در تغذیه انسان و حیوانات، بررسی های انجام شده روی ترکیبات فنولی میوه بلوط اکثراً به اندازه گیری ترکیبات تاننی محدود شده است. مقدار تانن در گونه‌های کوئرکوس سراتا و مونگولیکا به ترتیب ۷/۳، ۱۱/۷٪ در گونه کوئرکوس برانتی ۴/۷ میوه بلوط‌های سفید آمریکائی ۴/۱ ۰/۶٪ و میوه بلوط‌های سیاه آمریکائی ۸/۸ ۵/۷٪ گزارش شده است (Shimada, 2001).

خیساندن در آب

خیساندن در آب یکی از روش های متداول در طی مراحل آماده سازی و فرآوری بسیاری از منابع غذائی گیاهی می باشد که به وفور در ابعاد خانگی و صنعتی مورد استفاده قرار می گیرد. شکل‌های ۱ و ۲ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی واریته‌های Qb و Qc را پس از خیساندن در آب نشان می‌دهد.

نتایج نشان داد، اختلاف معنی‌داری بین مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌های خیسانده شده در زمان ها و دماهای مختلف با نمونه های شاهد در هر دو واریته وجود دارد. در واریته Qb، طی ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت خیساندن در تیمار ۴۵ Wat(آب دمای ۲۵)، مقدار ترکیبات

1 - Repeated Measurement

فنولی به ترتیب ۳۹/۷، ۴۳/۴۲، ۴۶/۹ و ۴۸/۶۴٪ کاهش یافت، اگرچه اختلاف معنی‌داری بین زمان ۱۸ و ۲۴ ساعت مشاهده نگردید (شکل ۱).

جدول ۱ مقایسه میانگین مقدار کل ترکیبات فنولی (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)میوه دو واریته بلوط

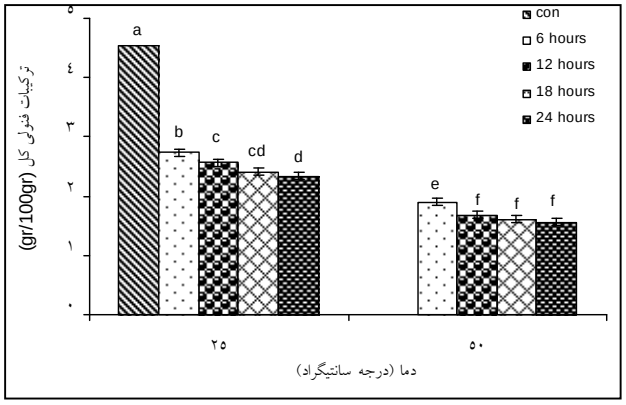
واریته	
کوئرکوس برانتی	کوئرکوس کاستانیفولیا
۴/۳۳ ± ۰/۱۷ b	۹/۱۱ ± ۰/۳۸ a

حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است.

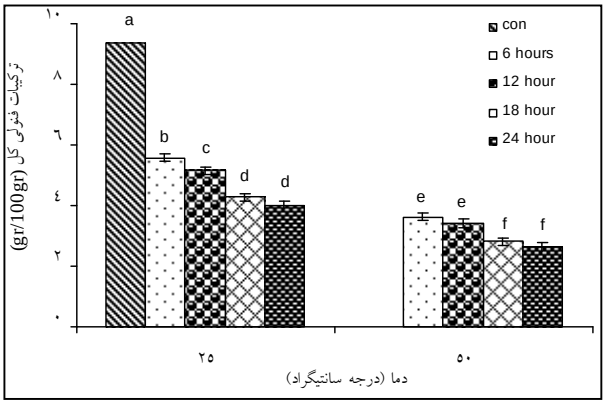
با افزایش دمای خیساندن، از ۲۵ به ۵۰°c میزان خروج ترکیبات فنولی از نمونه‌ها به آب به طور معنی‌داری افزایش یافت به گونه‌ای که در زمان‌های مشابه خیساندن، در تیمار Wat ۵۰ مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی نمونه‌ها از آنها خارج گردید. خیساندن در این دما به مدت ۶ ساعت منجر به حذف ۵۸/۰۶٪ از ترکیبات فنولی گردید که با افزایش زمان خیساندن به ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت، مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده نیز به ۶۳، ۶۴ و ۶۵/۷۶٪ افزایش یافت.

در واریته Qc نیز، با افزایش زمان و دمای خیساندن مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها کاهش یافت (شکل ۲) به طوریکه در تیمار Wat ۴۵ پس از ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت به ترتیب ۴۰، ۴۴/۸، ۵۴/۴ و ۵۷٪ و در تیمار Wat ۵۰، ۶۱/۵، ۶۳/۵، ۷۰ و ۷۲٪ از این ترکیبات حذف گردیدند. هم چنین اختلاف معنی‌داری بین مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها در تیمارهای Wat ۴۵ و Wat ۵۰ پس از ۱۸ و ۲۴ ساعت خیساندن وجود نداشت.

ترکیبات فنولی کل، فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین های دانه های سویا پس از ۲۴ ساعت خیساندن در آب و در دمای محیط به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (Boateng et al., 2008). در تحقیق دیگری که توسط (Towo et al., 2003) صورت گرفت، مشخص شد دانه های سورگوم قرمز و ارزن پس از ۲۴ ساعت خیساندن در آب، به ترتیب ۲۳ و ۱۹٪ از ترکیبات فنولی خود را از دست دادند. مهم‌ترین دلیل حذف ترکیبات فنولی در طی خیساندن در آب، حلالیت بالای این ترکیبات در آب می باشد. پلیمریزه شدن ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پائین و تشکیل ترکیبات نامحلول دلیل دیگری برای کاهش مشاهده شده در مقدار این ترکیبات است چرا که این ترکیبات نمی‌توانند از سلول خارج گردند (Deshpande et al., 1982).



شکل ۱ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط کوئرکوس برانتی پس از خیساندن در آب

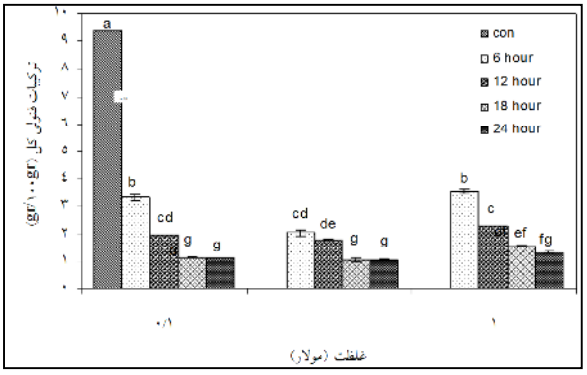


شکل ۲ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط کوئرکوس کاستانیفولیا پس از خیساندن در آب

علاوه براین تشکیل کمپلکس‌های نامحلول پلی فنول ها با پروتئین‌ها یا کربوهیدرات‌ها، آنها را به فرم غیر قابل اندازه‌گیری تبدیل می کند. فعال شدن آنزیم پلی فنول اکسیداز و تجزیه ترکیبات فنولی توسط این آنزیم را، یکی دیگر از دلایل اتلاف این ترکیبات طی خیساندن بر شمرده شده است. در بررسی تاثیر دمای خیساندن بر میزان استخراج ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی میوه لیچی در دماهای ۳۰ ۸۰°C استخراج شدند. نتایج نشان داد با افزایش دما به ویژه دماهای بالاتر از ۷۰°C، مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت (Ruenroengklin et al., 2008). هم چنین، در استخراج ترکیبات فنولی از هسته انگور، افزایش دما از ۴۰°c ۵۰، بازدهی استخراج ترکیبات فنولی به ویژه کاتچین‌ها را افزایش داد. دلیل این افزایش نرم شدن بافت های گیاهی، ضعیف شدن برهمکنش های فنولی با پروتئین و پلی ساکاریدها و در نتیجه خروج مقدار بیشتری از این ترکیبات از نمونه گیاهی به حلال گزارش شد (Shi et al., 2003).

خیساندن در سود

شکل‌های ۳ و ۴ روند تغییرات محتوای فنولی میوه بلوط دو واریته را طی خیساندن در سود نشان می‌دهند. غلظت‌های مختلف سود تاثیر قابل ملاحظه‌ای در حذف ترکیبات فنولی هر دو واریته داشتند به طوری که در واریته Qc، بیشترین میزان حذف به ترتیب در تیمارهای ۰/۵ NaOH، ۰/۱ NaOH و ۱ NaOH و در واریته Qb، به ترتیب در تیمارهای ۰/۵ NaOH، ۱ NaOH و ۰/۱ NaOH مشاهده گردید. همانطور که در شکل ۳ دیده می‌شود، در نمونه Qc، با افزایش زمان خیساندن از ۶ به ۲۴ ساعت در تمامی تیمارها، مقدار ترکیبات فنولی به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت اما اختلاف معنی‌داری از این نظر بین زمان‌های ۱۸و ۲۴ ساعت وجود نداشت. میزان ترکیبات فنولی حذف شده طی ۲۴ ۶ ساعت خیساندن در تیمارهای ۰/۵ NaOH، ۰/۱ NaOH و ۱ NaOH به ترتیب ۸۷/۹، ۶۴/۵، ۸۸/۲ ۷۷/۹٪ و ۸۵/۹ ۶۲٪ بود. بیشترین میزان حذف ترکیبات فنولی در تیمار ۰/۵ NaOH در زمان های ۱۸و ۲۴ ساعت و کمترین مقدار در نمونه‌های خیسانده شده در ۱ NaOH در زمان ۶ ساعت مشاهده گردید.



شکل۳ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی کوئرکوس کاستانیفولیا پس از خیساندن در هیدروکسید سدیم

در واریته Qb نیز، میزان حذف ترکیبات فنولی در تمامی غلظت‌ها با افزایش زمان خیساندن، افزایش یافت. خیساندن نمونه‌ها در محلول سود با غلظت ۰/۱ مولار طی ۲۴ ۶ ساعت، با حذف ۸۸/۴ ۷۳/۸٪ از ترکیبات فنولی همراه بود در حالی که با افزایش غلظت سود به ۰/۵ و ۱ مولار به ترتیب ۹۰ ۸۵/۳ و ۸۹ ۷۶/۹٪ از ترکیبات فنولی از نمونه‌ها خارج گردید. در بین نمونه‌های تیمار شده واریته Qb، بیشترین میزان ترکیبات فنولی در تیمار ۰/۱ NaOH در زمان ۶ ساعت مشاهده گردید و پس از آن با افزایش زمان خیساندن مقدار بیشتری از این ترکیبات حذف گردیدند. در تیمارهای ۰/۵ NaOH و ۱ NaOH، افزایش زمان خیساندن به بیشتر از ۱۲ ساعت با کاهش معنی داری در میزان ترکیبات فنولی نمونه‌ها همراه نبود.

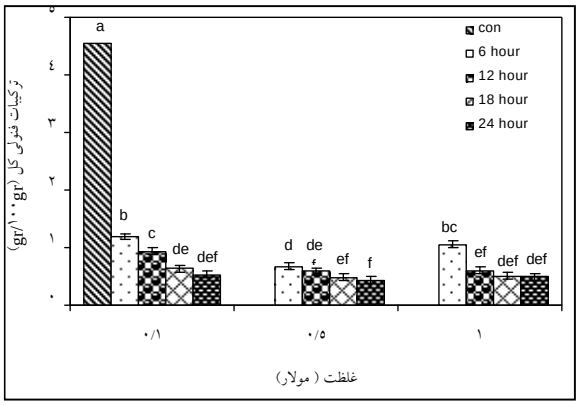
محققان دیگری نیز، از محلول های قلیائی جهت حذف ترکیبات ضد تغذیه‌ای گیاهی استفاده کردند و نتایج مشّابهی را ارائه دادند. برای کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای قهوه از غلظت های مختلف سود (۵ و ۱۰٪) استفاده شد. نتایج نشان داد، افزایش غلظت سود از ۵ به ۱۰٪، با حذف مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی و تانن همراه بود (Ulloa-Rojas et al., 2002).

به منظور حذف ترکیبات پلی فنولی از دانه لوبیای چشم بلبلی و افزایش قابلیت هضم پروتئین، این دانه ها را در محلول های قلیائی مختلف نظیر هیدروکسید سدیم، هیدروکسید پتاسیم، کربنات سدیم و بی کربنات سدیم به مدت ۴۸ ساعت خیسانده شدند. بیشترین میزان کاهش در نمونه‌های خیسانده شده در هیدروکسید پتاسیم (۸۶/۲ ۵۸/۳٪) و هیدروکسید سدیم (۸۴/۹ ۵۰/۶٪) مشاهده گردید. علاوه بر این در تمامی محلول های قلیائی به جز بی‌کربنات سدیم، غلظت

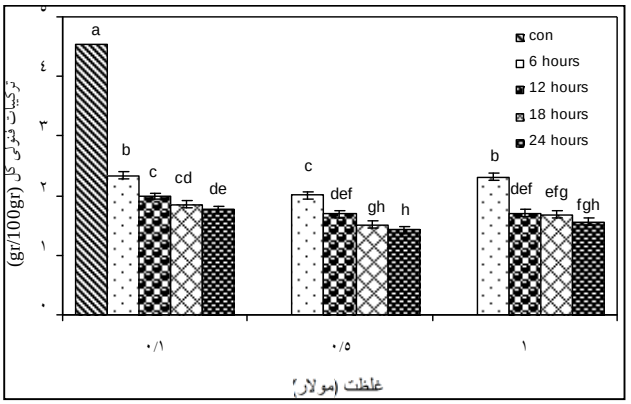
های ۰/۵ مولار قلیا، بیشترین تاثیر را در کاهش ترکیبات فنولی اعمال کرد و در غلظت های بالاتر، میزان خروج ترکیبات فنولی کمتر بود. در محلول هـای قلیـائی رقیـق، بخشـی از ترکیبـات فنـولی بـه صـورت کمپلکس‌های فنات سـدیم محلـول، خـارج مـی گردنـد. بـه مـوازات افزایش غلظت قلیا، گروه‌هـای هیدروکسـیل ترکیبـات فنـولی یـونیزه شده، بنابراین این ترکیبات دیگر قادر به تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها و هیدروکسـید سـدیم نمـی باشـند (Laurena et al., 1986). در بررسی دیگـری، مقـدار ترکیبـات پلـی فنـولی *Vigna aconitifolia* و*Vigna sinensis* پس از ۶ ساعت خیساندن در محلول بـی کربنـات سدیم، به ترتیـب ۲۱ و ۶۴٪ و میـزان تـانن آنهـا ۵۷ و ۷۴٪ کـاهش یافت. این کاهش بـه ناپایـداری ترکیبـات فنـولی در pH هـای بـالا نسبت داده شد (Vijayakumari et al., 1998).

خیساندن در اسید استیک

مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت اسید استیک و زمان بر روی میزان ترکیبات فنولی میوه بلوط دو واریته Qb و Qc، در شـکل ۵ و ۶ نشان داده شده است.



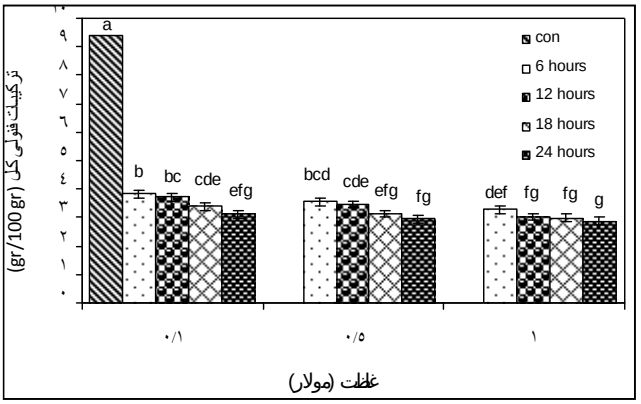
شکل ٤ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی کوئرکوس برانتی پس از خیساندن در هیدروکسید سدیم



شکل ۵ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط کوئرکوس برانتی پس از خیساندن در اسید استیک

خیساندن نمونه‌ها در محلول‌های اسیدی هماننـد محلـول هـای قلیائی و آب، منجر به کـاهش قابـل ملاحظـه‌ای در مقـدار ترکیبـات فنولی هر دو واریته، نسـبت بـه نمونـه شـاهد گردیـد. در واریتـه Qb، کمترین مقدار ترکیبـات فنـولی در تیمـار ۰/۵ Acid و در زمـان ۲۴ ساعت مشاهده گردید که از این نظر اختلاف معنی داری ($P<0/05$) با تیمار ۰/۵ Acid در زمان ۱۸ سـاعت و نیـز ۰ Acid در زمـان ۲۴ ساعت نداشت. همچنین، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی پس از نمونـه شـاهد بـه ترتیـب در تیمارهـای ۰ Acid و ۰/۱ Acid در زمـان ۶ ساعت دیده شـد. در تمـامی غلظـت هـای اسـید، بـا افـزایش زمـان خیساندن مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی نمونه ها حذف گردیـد بـه طوریکه این مقادیر در تیمـار ۰/۱ Acid و ۰/۵ Acid طـی ۲۴ ۶ به ترتیب ۶۱ ۴۸٪ و ۶۸ ۵۵٪ بود و اختلاف معنی‌داری از نظر مقـدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها در زمان های ۱۸ و ۲۴ ساعت وجـود نداشـت. در تیمار ۰ Acid، پس از ۶ ساعت ۴۹/۱٪ ترکیبات فنولی از نمونـه

ها خارج شد که با افزایش زمان به ۱۲ ساعت این مقدار به ۶۲/۳٪ افزایش یافت و از آن پس، با افزایش زمان کاهش معنی داری در مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها مشاهده نشد.



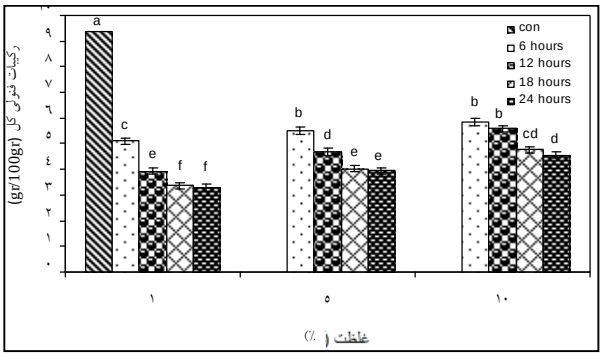
شکل ٦ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط کوئرکوس کاستانیفولیا پس از خیساندن در اسید استیک

در واریته Qc، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی پس از نمونه شاهد، به ترتیب به تیمارهای ۱/۰ Acid در زمان ۶ و ۱۲ ساعت و تیمار ۰/۵ Acid در زمان ۶ ساعت تعلق داشت و از این نظر اختلاف معنی‌داری بین آنها دیده نشد. بیشترین میزان کاهش ترکیبات فنولی، ۶۹/۳٪ بود که در تیمار ۱ Acid در زمان ۲۴ ساعت مشاهده گردید که از این نظر با تیمارهای ۱ Acid در زمان های ۱۲و ۱۸ساعت، تیمار ۰/۵ Acid در زمان های ۱۸ و ۲۴ ساعت و تیمار ۰/۱ Acid در زمان ۲۴ ساعت اختلاف معنی داری نداشت. در تیمارهای ۰/۱ Acid و ۰/۵ Acid، مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها نسبت به شاهد به ترتیب ۶۶/۸ ۵۹ و ۶۸/۸ ۶۲/۷٪ کاهش یافت و اختلاف معنی داری از این لحاظ در زمان های ۱۸ و ۲۴ ساعت دیده نشد. نتایج به دست آمده توسط سایر محققین در استفاده از محلول‌های اسیدی به منظور حذف فنول‌ها یا سایر ترکیبات ضد تغذیه‌ای، یافته های به دست آمده در این بررسی را تائید می کنند. مقدار ترکیبات فنولی قابل استخراج دانه های سورگوم قرمز، ارزن، نخود، ماش و لوبیا قرمز پس از ۲۴ ساعت خیساندن در اسید لاکتیک (۰/۰۲٪) به ترتیب ۷۰، ۲۸، ۳۸، ۳۷ و ۸٪ کاهش یافت. کاهش مشاهده شده را به تجزیه آنتوسیانیدین‌ها به فنول‌های ساده‌تر نظیر فلاوان ۳ ال نسبت داده شد (Towo et al., 2003). نتایج به دست آمده توسط (Laurena et al., 1986) نیز نشان داد، محلول های اسیدی، نظیر اسید استیک، اسید کلریدریک، اسید سولفوریک و سرکه خانگی در غلظت های مختلف تاثیر زیادی در کاهش ترکیبات فنولی دانه لوبیا چشم بلبلی دارند. در این بین بیشترین میزان کاهش (۷۳ ۶۱٪) پس از ۲۴ ساعت خیساندن در سرکه خانگی حاصل شد. محلول های اسید استیک ۰/۰۵ مولار، اسید کلریدریک و اسید سولفوریک ۰/۵ مولار و سرکه ۰/۰۰۵ مولار، بیشترین تاثیر را در خروج این ترکیبات داشتند و با افزایش غلظت درصد پلی‌فنول‌های باقی مانده در دانه‌ها افزایش یافت. این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت داشت. این محققین اظهار داشتند، صرف نظر از نفوذ ترکیبات فنولی از بافت گیاه به محلول اسیدی تحت تاثیر گرادیان غلظت و تسریع در تشکیل کمپلکس‌های محلول تانن – پروتئین در pH های پائین، تشکیل الیگومرهای فنولی یکی دیگر از دلایل کاهش در میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های خیسانده شده در اسید است چرا که این ترکیبات نا محلول بوده و لذا با روش های معمول قابل اندازه گیری نیستند.

خیساندن در نمک

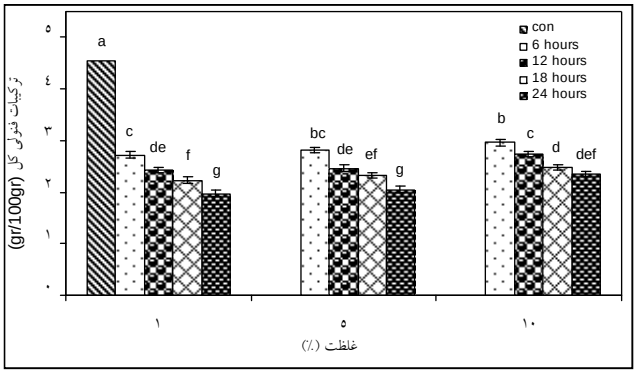
شکل ۷ و ۸، مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط دو واریته Qb و Qc را پس از خیساندن در محلول‌های کلرید سدیم نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، در این تیمار نیز، مقدار ترکیبات فنولی در تمامی نمونه‌های تیمار شده، به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از نمونه شاهد بود. در واریته Qc، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی به ترتیب در تیمارهای ۰ NaCl در زمان ۶ و ۱۲ و نیز در تیمار ۵ NaCl در زمان ۶ ساعت مشاهده گردید و اختلاف معنی‌داری از این نظر بین آنها وجود نداشت. هم چنین تیمار ۱ NaCl در زمان های ۲۴ و ۱۸ ساعت بیشترین تاثیر را در کاهش ترکیبات فنولی نشان داد. در تمامی تیمارها با افزایش زمان خیساندن درصد حذف ترکیبات فنولی از نمونه‌ها افزایش یافت اما اختلاف معنی‌داری بین زمان ۱۸ و ۲۴ ساعت مشاهده نشد ($P<0/05$). تیمارهای ۱ NaCl، ۵ NaCl و ۰ NaCl به ترتیب مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها را ۶۵ ۴۵/۶، ۵۷ ۴۱/۲ و ۵۱/۲ ۳۷/۷٪ کاهش دادند. در زمان‌های مشابه خیساندن،

کمترین و بیشترین مقدار ترکیبات فنولی به ترتیب در تیمارهـای ۶ NaCl و ۱۰ NaCl ملاحظه گردید (شکل ۷).



شکل ۷ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط کوئرکوس کاستانیفولیا پس از خیساندن در کلرید سدیم

همانطور که در شکل ۸ دیده می شود، در واریته Qb نیز در تمامی غلظت ها با افزایش زمان خیساندن، مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها کاهش یافت. هم چنین، تیمار ۱۰ NaCl نسبت به دو تیمار دیگر تاثیر کمتری در خروج ترکیبات فنولی نشان داد. در این تیمار، با افزایش زمان خیساندن به بیشتر از ۱۸ ساعت، کاهش معنی‌داری ($P<0/05$) در مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌ها دیده نشد و طی ۲۴ ۶ ساعت ۴۸/۲ ۳۴/۸٪ از این ترکیبات حذف گردید. این مقدار برای دو تیمار ۶ NaCl و ۵ NaCl به ترتیب ۵۶/۶ ۴۰ و ۵۴/۸ ۳۷/۹٪ بود. کمترین مقدار ترکیبات فنولی در نمونه های تیمار شده، ۱/۹۵ و ۲/۰۵ ٪ بود که به ترتیب در تیمارهای ۶ NaCl و ۵ NaCl پس از ۲۴ ساعت مشاهده گردید. هم چنین، در زمان های مشابه خیساندن، اختلاف معنی‌داری بین درصد کاهش ترکیبات فنولی در دو تیمار ۶ NaCl و ۵ NaCl دیده نشد. در تحقیقی که توسط (Gandhi et al., 2008) انجام شد، از محلول‌های نمکی به منظور حذف ترکیبات ضد تغذیه‌ای از دانه‌های آفتاب‌گردان روغن‌کشی شده استفاده شد. نتایج نشان داد خیساندن در محلول های کلرید سدیم (۵٪) و سولفیت سدیم (۱٪) طی ۲۴ ساعت به ترتیب با ۵۱ و ۹۴٪ کاهش در مقدار ترکیبات فنولی آنها همراه است. در استخراج ترکیبات فنولی از دانه آفتابگردان از محلول‌های نمکی با غلظت‌های مختلف استفاده شد (Sripad et al., 1982). نتایج حاکی از آن بود که افزایش غلظت کلرید سدیم از ۰/۱ به ۱ مولار، قابلیت استخراج ترکیبات فنولی را افزایش نداد حال آنکه در محلول‌های کلرید کلسیم و کلرید منیزیم، با افزایش غلظت، نمونه‌ها مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی خود را از دست دادند. کارائی نمک‌ها در استخراج ترکیبات فنولی، به توانائی آنها در ایجاد تداخل با پیوندهای یونی تشکیل شده بین این ترکیبات و پروتئین‌ها بستگی دارد که در این میان نمک‌های دو ظرفیتی تاثیر بیشتری از خود نشان می‌دهند.



شکل ۸ مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی میوه بلوط کوئرکوس برانتی پس از خیساندن در کلرید سدیم

نتیجه گیری کلی

در واریته‌ی Qb، کمترین مقدار ترکیبات فنولی به ترتیب در تیمار ۵/۰ NaOH و ۵۰ Wat در زمان ۱۲ ساعت، ۵/۰ Acid در زمان ۱۸ ساعت و ۶ NaCl در زمان ۲۴ ساعت مشاهده گردید. اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) بین دو تیمار ۵۰ Wat در زمان ۱۲ ساعت و ۵/۰ Acid در زمان ۱۸ ساعت وجود نداشت. به طور کلی

در این واریته، کمترین میزان استخراج ترکیبات فنولی به ترتیب در تیمارهای ۱۰ NaCl و ۲۵ Wat و ۰/۱ Acid در زمان ۶ ساعت مشاهده گردید و اختلاف بین آنها از این نظر معنی‌دار بود. در واریته Qc، تیمارهای ۰/۱ NaOH، ۵۰ Wat ، ۰/۵ Acid و ۱ NaCl در زمان ۱۸ ساعت به عنوان بهترین تیمارها انتخاب شدند که در این میان، تیمارهای ۰/۵ Acid و ۱ NaCl در زمان ۱۸ ساعت اختلاف معنی‌داری (P<۰/۵۰) با هم نداشتند. بیشترین مقدار ترکیبات فنولی نیز به ترتیب در تیمارهای ۲۵ Wat ، ۱۰ NaCl و ۰/۱ Acid دیده شد. کاهش مشاهده شده در میزان ترکیبات فنولی طی خیساندن در آب را در درجّه اول می‌توان به نرم شدن بافت های دیواره سلول های گیاهی نسبت داد، که معمولاً با افزایش قدرت انحلال ترکیبات فنولی باند شده همراه است. از آنجائی که این ترکیبات حلالیت بالائی در آب دارند، لذا تحت تاثیر گرادیان غلظت به فاز آبی وارد می شوند (Boateng et al., 2008; Kumaran and Karunakaran, 2007) همانطور که در نتایج مشاهده شد، با افزایش زمان و دمای خیساندن مقدار ترکیبات فنولی هر دو واریته به میزان بیشتری کاهش یافت. این کاهش در واریته Qc بیشتر از Qb بود، که می‌توان آنرا به تفاوت در نوع و قابلیت انحلال ترکیبات فنولی هر یک از این دو واریته در آب نسبت داد. در پژوهش انجام شده توسط مولف، مقدار پروتئین دو واریته Qb و Qc به ترتیب ۴/۴۹ و ۵/۴۹ ٪ گزارش شد (قادری قهفرخی، ۱۳۸۸). وجود مقادیر بیشتری پروتئین در واریته Qc، احتمال تشکیل کمپلکس‌های نامحلول بین پروتئین و فنول افزایش می‌یابد.

همانطور که در قسمت‌های قبلی دیده شد، کاهش مشاهده شده در مقدار ترکیبات فنولی در محلول‌های قلیائی و اسیدی بیشتر از آب می‌باشد. یکی از مهمترین دلایل این نتایج، از دست رفتن یکپارچگی دیواره سلولی در محیط‌های اسیدی و قلیائی و در نتیجه افزایش قدرت انحلال و سرعت دیفوزیون این ترکیبات از بافت‌های گیاهی به محیط اطراف است (Vijayakumari et al., 1998). در شرایط اسیدی اکسیداسیون آنزیمی ترکیبات فنولی با سرعت کمتری انجام می‌شود. هیدرولیز ترکیبات فنولی پلیمری و نیز آزاد شدن ترکیبات باند شده به ترکیبات موجود در غشای سلولی نظیر مشتقات هیدروسینامیک اسید، در این شرایط تسریع می‌گردد. خیساندن بافت های گیاهی در شرایط اسیدی و حتی در آب با تشکیل الیگومرهای فنولی نامحلول همراه است. این ترکیبات داخل بافت باقی مانده و مقدار آنها در اندازه‌گیری ها در نظر گرفته نمی‌شود (Laurena et al., 1986). طبق نتایج به دست آمده در بررسی‌های مختلف، قابلیت استخراج اکثر ترکیبات فنولی از قبیل اسید های فنولی و تانن ها در pH های قلیائی افزایش می یابد. یکی دیگر از مهمترین دلایل کاهش مقدار ترکیبات فنولی در محیط‌های قلیائی، تغییرات اساسی در ساختمان آنها در نتیجه جذب الکترون و در نتیجه کاهش ثبات و پایداری آنها در این شرایط می‌باشد. این در حالی است که ثبات بالای بسیاری از ترکیبات فنولی به ویژه آنتوسیانین‌ها و برخی از اسیدهای فنولی در محیط‌های اسیدی به اثبات رسیده است. پلیمریزاسیون اکسیداتیو تانن‌های کندانس شده و تغلیظ و متراکم شدن ترکیبات فنولی ساده‌تر در شرایط قلیائی تسریع می‌گردد. از دیدگاه دیگر، می توان کاهش مقدار ترکیبات فنولی را به تشکیل کمپلکس با پروتئین‌ها نسبت داد. در شرایط قلیائی به موازات افزایش pH، به دلیل افزایش بارهای منفی روی پروتئین ها، بر هم کنش های الکترو استاتیکی بین پلی فنل های دارای بار مثبت و پروتئین ها افزایش می یابد و مقداری از این ترکیبات به صورت کمپلکس‌های محلول پروتئین فنول، از بافت خارج می‌گردند (Xu and Diosady, 2000). در تعداد محدودی از بررسی‌های انجام شده توسط محققین دیگر، از محلول های اسیدی، قلیائی و آبی جهت حذف ترکیبات فنولی یا تاننی استفاده شد. در خیساندن دانه‌های*Phaseolus vulgaris* در محلول های اسیدی (اسید سیتریک)، قلیائی (بی‌کربنات سدیم) و آب مشخص گردید، میزان کاهش در مقدار تانن و ترکیبات پلی فنولی کل، به ترتیب در محیط‌های قلیائی> اسیدی > آبی است و اختلاف معنی‌داری بین محلول‌های اسیدی و قلیائی از این نظر دیده نشد. در کاهش ترکیبات ضد تغذیه‌ای برگ اقاقیا، (Yasmin et al., 2008) از محلول‌های هیدروکسید سدیم، اسید کلریدریک و آب استفاده کردند. نتایج نشان داد، بیشترین میزان کاهش پلی‌فنول و تانن به ترتیب در محلول‌های هیدروکسید سدیم، آب و اسید صورت گرفت و این تیمارها به ترتیب مقدار پلی فنول‌ها را ۷۴، ۶۹/۶ و ۴۰/۹٪ و مقدار تانن را ۷۴/۹، ۷۰/۹ و ۴۰/۹٪ کاهش دادند. از دیدگاه تغذیه‌ای خیساندن در آب ممکن است به خیساندن در محلول‌های قلیائی ترجیح داده شود و این به دلیل صدمات وارد شده به برخی از ترکیبات مغذی در شرایط قلیائی است. ویتامین‌های گروه B، به ویژه تیامین و ریبوفلاوین در شرایط قلیائی و در دمای محیط به آرامی تجزیه می شوند (Shimelis et al., 2007).

منابع

ابوتراب، ن. ۱۳۸۷. بررسی خواص و ترکیب آرد بلوط و امکان بهبود کیفیت نان حاصل از آن. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذائی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه صنعتی اصفهان.

قادری، ق.م. ۱۳۸۸. بررسی ویژگی‌های شیمیائی، آنتی اکسیدانی و تاثیر فرآیندهای مختلف بر میزان ترکیبات فنولی دو گونه بلوط ایران. پایان نامه

کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذائی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
Boateng, J., Verghese, M., Walker, L. and Ogutu, S. 2008. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). LWT- Food Science and Technology. 41: 1541-1547.
Bravo, L. 1998. Polyphenols : chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Review. 56: 317-333.
Deshpande, S.S. 2002. Handbook of food toxicology. Toxicants and antinutrient in plant foods. Marcel Dekker, New York. 920 p.
Deshpande, S.S., Chrryan, M. and Salunkhe, D.K. 1986. Tannin analysis of food products. Critical Reviews in Food Nutrition. 24: 41-49.
Deshpande, S.S., Sathe, S.K., Salunkhe, D.K. and Cornforth, D.P. 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). Journal of Food Science. 47: 1846-1850.
Fardet,A., Rock,E. and Remesy, C. 2008. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? Journal of Cereal Science. 48: 258-276.
Gandhi, A., Jha, P. and Gupta, V. 2008. Studies on the Production of Defatted Sunflower Meal with Low Polyphenol and Phytate Contents and its Nutritional Profile. Asian Food Journal. 15: 97-100.
Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT. 40: 344-352.
Laurena, A.C., Garcia, V.V. and Mendoza, E.T. 1986. Effects of soaking in aqueous acidic and alkali solutions on removal of polyphenols and in vitro digestibility of cowpea. Qual. Plant Foods for Human Nutrition. 36: 107-118.
Ozcan, T. 2006. Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish *Quercus* L.taxa. Genetic Research and Crop Evolution. 53: 419-429.
Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. 1999. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimers and trimers**.** Journal of the Science of Food and Agriculture. 79: 123-1128.
Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. and Siler-Marinkovic, S. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry 104: 830-834.
Ruenroengklin, N., Zhong, J., Duan, X., Yang, B., Li, J. and Jiang, Y. 2008. Effects of Various Temperatures and pH Values on the Extraction Yield of Phenolics from Litchi Fruit Pericarp Tissue and the Antioxidant Activity of the Extracted Anthocyanins. International Journal of Molecule Science. 9: 1333-1341.
Saffarzadeh, A., Vincze, L., Csap, J. 1999. Determiniation of the chemical composition of acorn (*Quercus branti*), *Pistacia atlantica* and *Pistacia Khinjuk* seed as non-conventional feedstuff. Journal of Acta Agraria Kaposváriensis. 3: 59-69.
Seena, S., Sridhar, K.A. and Jung, K. 2005. Nutritional and antinutritional evaluation of raw and processed seeds of a wild legume, *Canavalia cathartica* of coastal sand dunes of India. Food Chemistry. 92: 465-472.
Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, C., Bryan, M. and Wu, Y. 2003. Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. Journal of Food Agriculture and Environment. 2: 42-47.
Shimada, T. 2001. Nutrient compositions of acorns and horse chestnuts in relation to seed-hoarding. Ecological Research. 16: 803-808.
Shimelis, E.A. and Rakshit, S.K. 2007. Effect of processing on antinutrients and in vitro protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in East Africa. Food Chemistry. 103: 161-172.
Shoji, T. 2007. Polyphenols as natural food pigments: changes during food processing. American Journal of Food Technology. 2: 570-581.
Sripad, G., Prakasha, V. and Narasinga-Rao, M.S. 1982. Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. Journal of Bioscience. 4: 145-152.
Towo, E.E., Svanberg, U. and Ndossi, G.D. 2003. Effect of grain pre-treatment on different extractable phenolic groups in cereals and legumes commonly consumed in Tanzania. Journal of Science of Food and Agriculture. 83: 980-986.
Ulloa-Rojas, J.B., Verreth, J.A.J., Vanweerd, J.H. and Huisman, E.A. 2002. Effect of different chemical treatments on nutritional and antinutritional properties of coffee pulp. Animal Feed Science. 99: 195-204.
Vijayakumari, K., Siddhuraju, P., Pugalenthi, M. and Janardhanan, K. 1998. Effect of soaking and heat processing on the levels of antinutrients and digestible proteins in seeds of *Vigna aconitifolia* and *Vigna sinensis*. Food Chemistry. 63: 259-264.
Wina, E., Tangendjaja, B. and Susana, I.W.R. 2005. Effects of chopping, and soaking in water, hydrochloric acidic and calcium hydroxide solutions on the nutritional value of *Acacia villosa* for goats. Animal Feed Science and Technology. 122: 79–92.
Xu, L. and Diosady, L.L. 2000. Interactions between canola proteins and phenolic compounds in aqueous media. Food Research International. 33: 725-731.
Yasmin, A., Zeb, A., Khalil, A.W., Paracha, G.M. and Khattak, A.M. 2008. Effect of Processing on Anti-nutritional Factors of Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) Grains. Food Bioprocessing and Technology. 1: 415-419.