استخراج عصاره پوسته گردو واریته شهمیرزادی و تاثیر حلال و روش استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حاصله

سمیه رضایی ارمی[a*]، سید مهدی جعفری[b]، مرتضی خمیری[c]، هومان بیات[d]

[a] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذائی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران
[b] استادیار گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذائی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران
[c] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران
[d] دکترای داروسازی، شرکت داروسازی نیاک، گرگان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۶/۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۹/۸

چکیده

مقدمه: تردید در مورد ایمنی و سلامتی آنتی‌اکسیدان های سنتزی منجر به علاقه فزاینده‌ای به سمت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و تحقیق در این زمینه شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی و الکلی پوسته سبز گردو واریته شهمیرزادی حاصل از دو روش استخراج (غرقابی، استخراج مایکروویو) به سه روش نیروی احیاکنندگی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و مهار رادیکال DPPH (۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکرو هیدرازیل) بررسی شد و در نهایت تاثیر آن بر مهار اکسیداسیون روغن سویا با اندازه‌گیری دو اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید ارزیابی شد. ترکیبات فنولی عصاره‌ها با حلال متانول (۸۰٪)، اتانول (۵۰٪) و آب استخراج و میزان ترکیبات فنولی آنها با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیشترین مقدار فنول کل مربوط به عصاره متانولی حاصل از استخراج مایکروویو بود. کمترین EC_{50} در آزمون DPPH و نیروی احیاکنندگی مربوط به عصاره اتانولی و در آزمون ظرفیت آنتی اکسیدانی کل مربوط به عصاره متانولی بود که در همه این موارد نتایج بهتر از آنتی اکسیدان سنتزی BHA بوده و در آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نتیجه بهتری از BHT بدست آمد. همچنین عصاره‌ها توانایی به تاخیر انداختن اکسیداسیون را داشتند. با افزایش غلظت عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ها به خوبی اکسیداسیون روغن را مهار کرد.

نتیجه‌گیری: با توجه به مطالب ذکر شده می توان پوسته سبز گردو را به عنوان منبع قابل توجهی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مطرح نمود و پس از آزمایشات تکمیلی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی به روغن خوراکی افزود.

واژه‌های کلیدی: *امواج مایکروویو، روغن سویا، مهار رادیکال آزاد DPPH، نیروی احیاکنندگی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: somayeheram@yahoo.com

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ترکیبات فنولی هستند که در همه بخش‌های یک گیاه وجود دارد و از انواع متابولیت های ثانویه هستند که گیاهان در مواجه با گونه‌های فعال اکسیژن آن‌ها را تولید می‌کنند (Hagen *et al*., 2007) . فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی اساسا به دلیل خصوصیات اکسایشی و کاهشی آنهاست که این امکان را به آنها می‌دهد که به عنوان یک عامل احیاکننده، دهنده هیدروژن و خنثی کننده اکسیژن یگانه عمل کنند. به‌علاوه آنها توانایی شلاته کردن فلزات را نیز دارند (Wijngaard *et al*., 2009). این ترکیبات واکنش‌های اکسایشی روغن‌ها، چربی‌ها و ترکیبات محلول در چربی را به تاخیر می‌اندازند و بنابراین از توسعه عطر و طعم و بوهای نامطبوع در اثراکسایش ممانعت به عمل می‌آورند. آنتی‌اکسیدان‌ها به طور طبیعی در اکثر منابع غذایی موجود هستند. فراوری ممکن است باعث تخریب یا حذف این ترکیبات گردد. بنابراین افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی برای حفظ کیفیت برخی محصولات موردنیاز است. خصوصا روغن‌ها، چربی‌ها و محصولاتی با محتوی چربی بالا، مستعد اکسیداسیون هستند و نیاز به افزودن آنتی‌اکسیدان در این محصولات وجود دارد. آنتی اکسیدان‌های سنتزی فرار و حساس به گرما هستند و برای ثبات و پایداری مواد غذایی مطلوب نیستند. از طرفی استفاده از آن‌ها سلامتی انسان را تهدید می‌کند. بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. پوسته سبز گردو به عنوان محصولی جانبی و منبعی از ترکیبات فیتوشیمیایی ارزش تولید گردو را بالا می‌برد. برای استفاده از ترکیبات فنولی موجود در پوسته گردو این ترکیبات باید استخراج گردد. از روش‌های مختلفی برای استخراج ترکیبات فنولی استفاده می شود. یکی از این روش‌های نوین، استخراج به کمک امواج مایکروویو می‌باشد. کاهش زمان استخراج، عملکرد و خلوص بالا، امکان اتوماسیون، حرارت دهی یکنواخت و مصرف کم حلال از مزایای استخراج با امواج مایکروویو می‌باشند (Mandal *et al*., 2007). تاکنون گزارشی مبنی بر استخراج ترکیبات فنولی پوسته سبز گردو با کمک امواج مایکروویو و کاربرد در مهار اکسیداسیون روغن سویا وجود ندارد. Li و همکاران (۲۰۰۶) ترکیبات فنولی پوست پنج گونه مرکبات را با اتانول و آب استخراج کردند. نتایج حاکی از آن بود که پارامترهای اصلی تاثیردهنده روی بازده استخراج پلی‌فنول‌ها، شرایط پوست (منظور از شرایط پوست یعنی نحوه آماده سازی، خشک کردن، میزان رطوبت، تیمارهای به کار رفته روی آن، نوع گونه گردویی که پوسته آن جدا شده است و بسیاری از عوامل دیگر است)، دمای استخراج، غلظت حلال و گونه مرکبات بوده است.

Pan و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست لنگان[1] را با اتانول ۹۵٪ و دو روش غرقابی و مایکروویو استخراج کردند. در هر دو روش عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به BHT از خود نشان دادند. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از روش مایکروویو بهتر از روش غرقابی بوده است.

Ballard و همکاران (۲۰۱۰) ترکیبات فنولی پوسته بادام زمینی را با اتانول ۳۰٪ تحت توان، زمان و مقادیر مختلف مواد اولیه با استفاده از امواج مایکروویو استخراج کردند. در شرایط بهینه که شامل توان ۹۰٪، زمان ۳۰ ثانیه، ۱/۵ گرم نمونه و ۳۷/۵ میلی‌لیتر اتانول ۳۰٪ بود، مقدار فنول کل ۱۴۳/۶ میلی‌گرم گالیک اسید بر هر گرم پوسته بوده است. Goli و همکاران (۲۰۰۵) اثر ترکیبات فنولی پوست سبز پسته را بر روغن سویا بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش میزان ترکیبات فنولی افزوده شده به روغن، اثر آنتی‌اکسیدانی آن افزایش یافت. همچنین تیمار ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره قابل مقایسه با غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHA و BHT) می باشد. پس ترکیبات آنتی اکسیدانی که در منابع گیاهی وجود دارند با کاهش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها موجب بهبود ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی می‌شوند. از آنجا که استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی به دلیل سمیت و خطراتی که برای بدن موجودات زنده دارند باید محدودتر گردد. بنابراین گرایش به سمت استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در منابع طبیعی ایجاد شده است.

در کشور ما به دلیل وجود باغات متعدد گردو، توجه به صنایع تبدیلی این محصول کشاورزی از جایگاه ویژه‌ای

[1] Longan

برخوردار بوده و باید در تولید محصولات جدید از گردو گام برداشت. پوسته سبز گردو ماده خام ارزان قیمتی می‌باشد که می‌تواند به عنوان منبع مفیدی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به کار رود. هدف از این تحقیق بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی پوسته گردو می باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق پوسته گردو واریته شهمیرزادی در مرداد ۸۸ از مرکز جهاد کشاورزی مازندران تهیه شد. پس از برداشت گردو، پوسته‌ها با چاقو جدا گردید و در آون (ساخت شرکت ممرت آلمان مدل ۸۰۰-۱۰۰) ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و با آسیاب ساخت شرکت ایران خودساز تا مش ۴۰ خرد و سپس در کیسه‌های محافظ به رطوبت در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

- استخراج ترکیبات فنولی

استخراج غرقابی: ۱۰ گرم پوسته خشک شده گردو با نسبت ۱:۱۰ با حلال (متانول ۸۰٪، اتانول ۵۰٪، آب با دمای محیط وآب داغ (درون آون با دمای ثابت ۹۵ درجه)) مخلوط شدند. بعد از طی مدت زمان استخراج (۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت) عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شدند. عصاره‌های الکلی ابتدا توسط تبخیرکننده چرخشی (ساخت کشور آلمان مدل‌ای کا آ آوری ۱۰) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا خروج کامل حلال استخراجی تغلیظ شده و سپس با خشک‌کن انجمادی (ایران مدل اف دی بی ۵۵۰۳) خشک شدند. عصاره‌های آبی فقط با خشک‌کن انجمادی خشک و برای آزمایشات بعدی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج ترکیبات فنولی به کمک امواج مایکروویو: در این روش ۵ گرم نمونه با نسبت ۱:۲۰ با حلال (متانول ۸۰٪، اتانول ۵۰٪ و آب) مخلوط شده و در فلاسک مخصوص قرار گرفته و در یک مایکروفر خانگی که اصلاحاتی روی آن انجام شده بود تحت پرتودهی قرار گرفتند. این اصلاحات شامل اضافه کردن یک همزن مغناطیسی با قابلیت تنظیم دورچرخش، کندانسور آب، سنسور دما و کنترل زمان بر روی مایکروویو بوده است (قره خانی و همکاران، ۱۳۸۸). توان مایکروویو ۲۷۰ وات و مدت زمان پرتودهی برای حلال‌های آلی ۲، ۴، ۶ و ۸ دقیقه و برای آب ۳، ۶ و ۹ دقیقه بود که این زمان‌ها به کمک روش آزمون و خطا حاصل گشت. سپس عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شدند. عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی ابتدا توسط تبخیرکننده چرخشی و سپس با خشک‌کن انجمادی و عصاره‌های آبی فقط با خشک‌کن انجمادی خشک شدند.

- اندازه گیری ترکیبات فنولی

میزان کل ترکیبات فنولی با روش رنگ‌سنجی فولین‌سیوکالتو در طول موج ۷۶۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت (Arabshahi-Delouee & Urooj, 2007). اسیدگالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به‌کار رفت و میزان آن براساس معادل گالیک‌اسید در گرم وزن خشک بیان شد.

- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش‌های مختلف

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد دی پی پی اچ[1]: ابتدا ۳ میلی‌لیتر عصاره در متانول ۸۰٪ با ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی یک میلی‌مولار DPPH مخلوط شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در مکانی تاریک نگهداری و در نهایت جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Li *et al*., 2005).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش قدرت احیا کنندگی[2]: یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر بافرفسفات و ۲/۵ میلی‌لیتر فری‌سیانیدپتاسیم مخلوط و به مدت نیم ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه (۱۷۰۰g) سانتریفیوژ (ساخت سنتوریون کانادا مدل کا ۲۰۴۲) گردید. پس از آن، ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدآهن (III) مخلوط گردید و جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (Arabshahi-Delouee & Urooj, 2007).

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به روش

[1] 2, 2`- Diphenyl 1-2- Picryl Hydrazyl

[2] Reducing Power Activity

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل[1]: یک‌دهم میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره در حلال‌های استخراجی و ۱ میلی‌لیتر از معرف (مخلوطی از اسیدسولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و مولیبدات‌آمونیوم ۴ میلی‌مولار) را در لوله اپندروف ریخته و به مدت ۹۰ دقیقه در بن‌ماری (ساخت شرکت فن آزما گستر ایران) ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و جذب در طول موج ۶۹۵ نانومتر در برابر یک نمونه بلانک قرائت گردید. نمونه بلانک حاوی ۱ میلی‌لیتر محلول معرف و ۰/۱ میلی‌لیتر حلال استفاده شده بود (Prieto *et al*., 1995).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا: عصاره‌های متانولی پوسته گردو که به روش امواج مایکروویو استخراج شدند در سه سطح غلظت (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان و اسیدسیتریک اضافه و به مدت ۱۶ روز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و در روزهای صفر، چهار، هشت، دوازده و شانزده عدد پراکسید (AOAC., 1990) و تیوباربیتوریک‌اسید (Goli *et al*., 2007) آن تعیین شد.

- تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل نتایج از طرح کاملا تصادفی و تجزیه واریانس (ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری با نرم افزار SAS (۲۰۰۱) و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته‌ها

- بررسی مقادیر ترکیبات فنولی

جدول ۱ تاثیر مدت زمان استخراج و نوع حلال را بر میزان ترکیبات فنولی کل عصاره حاصل از استخراج سنتی نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود آب داغ بیشترین مقدار ترکیبات فنولی را استخراج کرد. زمان استخراج نیز تاثیر معنی‌داری روی میزان استخراج ترکیبات فنولی کل داشت. در آب داغ بعد از زمان ۱۸ ساعت کاهش در مقدار ترکیبات فنولی مشاهده شده است. دلیل آن را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که دما پایداری ترکیبات فنولی را به علت تجزیه آنزیمی یا تجزیه حرارتی تحت تاثیر قرار می‌دهد یا در اثر تبخیر مقدار ترکیبات فنولی کاهش می‌یابد. ظاهرا تجزیه حرارتی مهم‌ترین مکانیسم در کاهش مقدار پلی‌فنول‌ها محسوب می‌گردد.

جدول ۲ تاثیر مدت زمان استخراج و نوع حلال را بر میزان ترکیبات فنولی کل پوسته حاصل از استخراج مایکروویو را نشان می‌دهد. با افزایش زمان پرتودهی مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته است که در برخی موارد معنی‌دار بوده است. در استخراج مایکروویو در میان حلال‌ها، متانول ۸۰٪ بهترین حلال و آب ضعیف‌ترین آن بوده است. مقدار فنول کل در روش استخراج به کمک مایکروویو بیشتر از روش غرقابی است. زمان‌های آورده شده در جدول ۲ که مربوط به استخراج به کمک مایکروویو است براساس آزمون و خطا بدست آمده است. بنابراین زمان‌های مختلفی برای حلال‌های آلی و آب آورده شده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین مقادیر مختلف فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک) حاصل از استخراج سنتی در زمان‌ها و حلال‌های مختلف در پوسته رقم شهمیرزادی*

حلال	زمان (ساعت)			
	۶	۱۲	۱۸	۲۴
متانول ۸۰٪	۲۶/۳۳±۰/۶۳^{j}	۲۷/۶۸±۰/۲۳^{ij}	۳۲/۱۹±۰/۳۱^{hi}	۳۵/۴۴±۰/۲۱^{gh}
اتانول ۵۰٪	۳۹/۳۸±۰/۶۶^{fg}	۴۴/۲۲±۰/۷۶^{de}	۴۷/۷۹±۰/۸۸^{cd}	۴۹/۶۳±۰/۶۳^{bc}
آب داغ (۹۵ ^{0}C)	۴۶/۱۰±۰/۴۴^{cde}	۵۲/۵۱±۰/۳۲^{ab}	۵۵/۶۲±۰/۸۵^{a}	۴۲/۶۱±۰/۴۶^{ef}
آب محیط (۳۰ ^{0}C)	۲۷/۷۶±۰/۴۷^{ij}	۲۸/۳۵±۰/۶^{ij}	۳۲/۱۸±۰/۴^{ih}	۳۵/۴۷±۰/۱۴^{hg}

* حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

[1] Total Antioxidant Activity

جدول ۲- مقایسه میانگین مقادیر مختلف فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک) حاصل از استخراج به کمک امواج مایکروویو در زمان‌ها و حلال‌های مختلف در پوسته واریته شهمیرزادی*

حلال	زمان (دقیقه)					
	۲	۳	۴	۶	۸	۹
متانول ۸۰٪	۵۷/۳۹ ± ۱/۰۱^{cd}	–	۶۸/۱۵ ± ۰/۶۱^{b}	۷۶/۷۶ ± ۰/۸۷^{a}	۷۸/۱۴ ± ۰/۸۶^{a}	–
اتانول ۵۰٪	۴۸/۳۷ ± ۰/۹۵^{d}	–	۵۶/۴۷ ± ۰/۲۶^{c}	۵۷/۴۷ ± ۰/۲^{c}	۵۸/۰۵ ± ۰/۷۹^{c}	–
آب	–	۵۱/۱۲ ± ۰/۵^{cd}	–	۵۳/۳۸ ± ۰/۶۱^{cd}	–	۵۶/۵۹± ۰/۷^{cd}

*حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

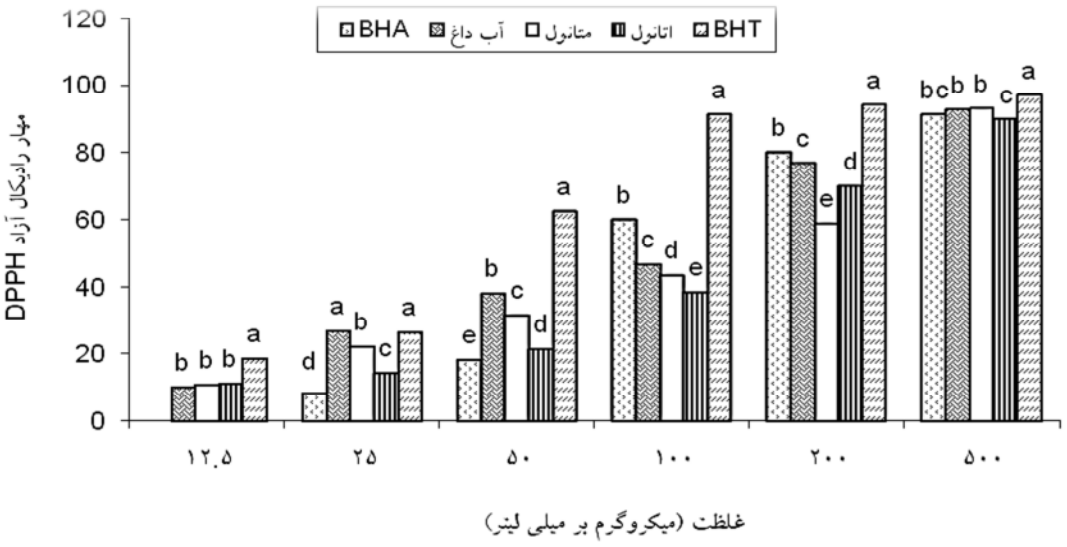
- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل از پوسته سبز گردو

همانطور که در بالا شرح داده شده است استخراج عصاره‌ها در زمان‌های مختلف انجام و میزان ترکیبات فنولی آنها سنجش شده است. حال برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده در زمان‌های مختلف، عصاره‌ای انتخاب می‌گردد که در آن زمان بالاترین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده است و به عنوان عصاره برتر برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد سنجش قرار می‌گیرد. در استخراج غرقابی برای حلال‌های آلی از عصاره‌ای که در مدت زمان ۲۴ ساعت استخراج شده است برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده شده است ولی برای عصاره آب داغ از عصاره ای که در مدت ۱۸ ساعت تحت استخراج بوده استفاده شد. در استخراج به کمک امواج مایکروویو نیز در مورد عصاره های حاصل از حلال‌های آلی از عصاره حاصل از زمان ۸ دقیقه و برای عصاره آبی از عصاره حاصل از ۹ دقیقه استخراج استفاده شده است.

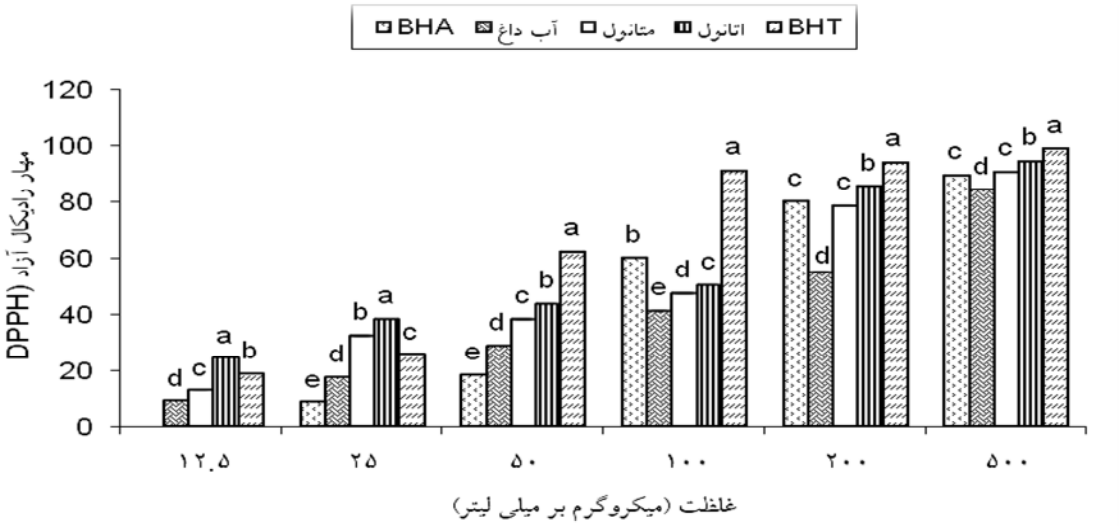
- بررسی توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

نمودارهای ۱ و ۲ میزان کاهش جذب محلول DPPH را در حضور غلظت‌های مختلف عصاره نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها تاثیر معنی‌داری روی مهار رادیکال آزاد DPPH در سطح ۰/۰۵ دارد ($p < 0/05$). فعالیت آنتی‌رادیکالی در هر سه عصاره و در هر دو روش وابسته به غلظت بود. در استخراج غرقابی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، در همه غلظت‌ها فعالیت آنتی‌رادیکالی بالاتری نسبت به عصاره‌ها داشت وآنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در غلظت‌های پایین فعالیت آنتی‌رادیکالی پایینی داشت (نمودار ۱). در استخراج مایکروویو در بین عصاره‌ها عصاره اتانولی بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی داشت. در غلظت‌های پایین فعالیت مهارکنندگی عصاره‌ها بیشتر از BHA بود اما در عصاره اتانولی در اکثر غلظت‌ها فعالیت بالاتری از BHA مشاهده شد. در عصاره اتانولی در غلظت‌های پایین فعالیت مهاری بهتری از BHT مشاهده شد (نمودار ۲). معمولاً برای مقایسه فعالیت ضدرادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می‌گردد. طبق تعریف EC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هرچه این غلظت کمتر باشد نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌رادیکالی بالاتر عصاره‌هاست. این نتایج در جدول ۳ آورده شده است.

در استخراج سنتی کمترین میزان EC_{50} و در نتیجه فعالیت آنتی‌رادیکالی بالاتر در بین عصاره‌ها مربوط به عصاره آبی می‌باشد که بیانگر بالا بودن مقدار فنول کل آن می‌باشد. عصاره آبی مقدار EC_{50} معادل BHA و بیشتر از BHT داشت. در استخراج با کمک امواج مایکروویو عصاره اتانولی در بین عصاره‌ها دارای کمترین مقدار EC_{50} می‌باشد و این عصاره از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA بهتر عمل کرده است.



نمودار ۱- مقایسه میانگین درصد مهار DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره (استخراج غرقابی) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی



نمودار ۲ -مقایسه میانگین درصد مهار DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره (استخراج مایکروویو) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی

جدول۳ - مقایسه میانگین مقادیر مختلف EC_{50} (میکروگرم در هر میلی‌لیتر) عصاره پوسته شهمیرزادی حاصل از استخراج غرقابی و مایکروویو در آزمون‌های مختلف

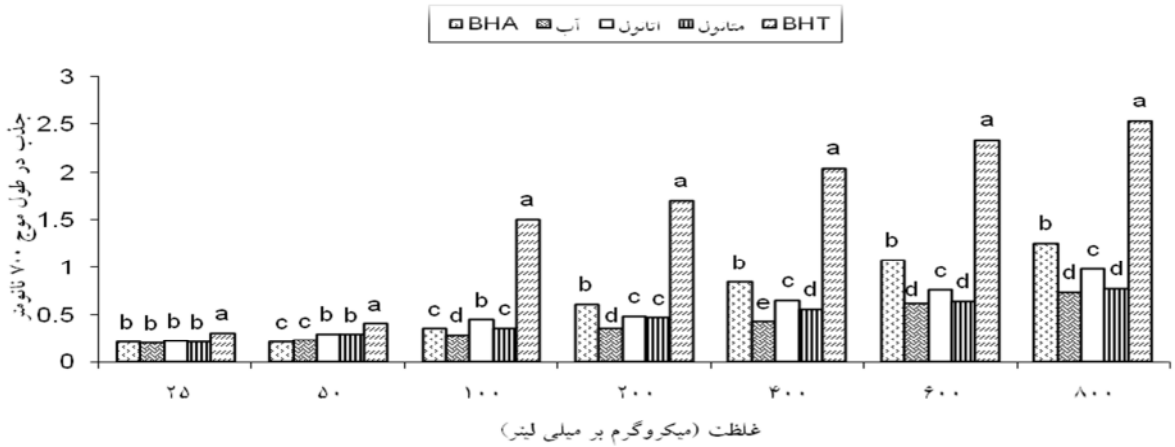
EC50	استخراج	عصاره متانولی	عصاره اتانولی	عصاره آب داغ	BHA	BHT
مهار رادیکال DPPH	غرقابی	۹۶/۵۴ a	۱۰۱/۴۹ a	۸۴/۷۷ b	۸۵/۷۳ b	۳۵/۸۷ c
	مایکروویو	۱۰۷/۹۱ b	۸۱/۴۳ c	۱۶۵/۲۸ a	۸۵/۷۳ c	۳۵/۸۷ d
نیروی احیاکنندگی	غرقابی	۲۹۲/۴۶b	۲۱۳/۷۶c	۵۱۷/۷۰ a	۱۶۸/۶۶ d	۵۴/۶۳ e
	مایکروویو	۳۲۵/۶۶ b	۱۵۹/۱۶ c	۴۷۸/۰۰ a	۱۶۸/۶۶ c	۵۴/۶۳ d
ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل	غرقابی	۱۴۸/۹۹ d	۱۸۵/۸۱ b	۲۶۵/۸۸ a	۱۵۸/۲۳ c	۹۹/۱۹ e
	مایکروویو	۷۱/۲۶ e	۸۰/۴۹ d	۹۵/۵۶ c	۱۵۸/۲۳ a	۹۹/۱۹ b

حروف غیرمشابه در هر سطر بیان‌گر اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

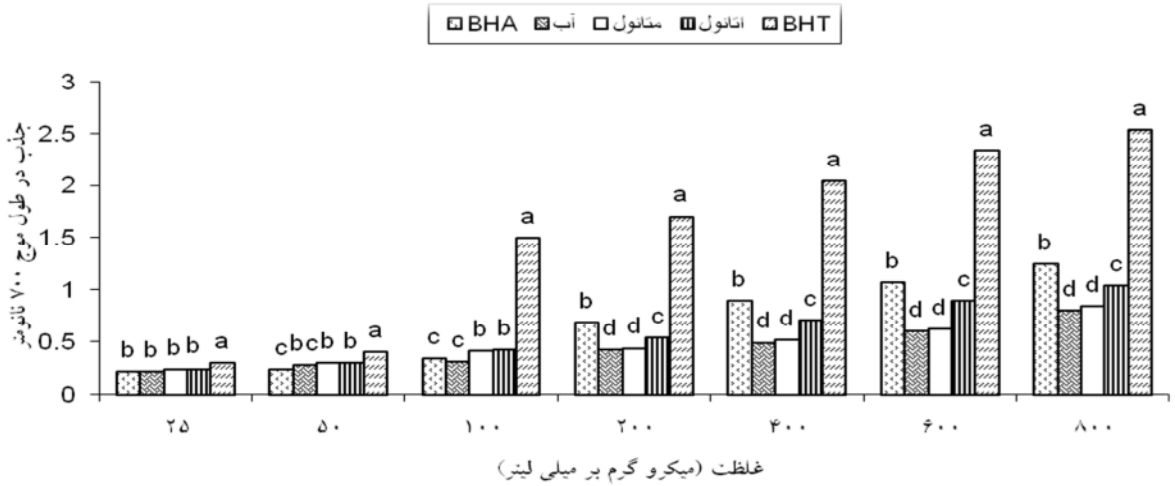
- بررسی نیروی احیاکنندگی

نمودارهای ۳ و ۴ مقایسه میانگین نیروی احیاکنندگی از غلظت های مختلف عصاره آبی و الکلی را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تاثیر نوع حلال و غلظت روی نیروی احیاکنندگی عصاره‌ها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$). در روش غرقابی در هر سه عصاره با افزایش غلظت، نیروی احیاکنندگی عصاره‌ها افزایش یافت. در میان عصاره‌ها، عصاره اتانولی بالاترین نیروی احیاکنندگی را دارا بود. عصاره اتانولی در غلظت‌های پایین نیروی احیاکنندگی بالاتری نسبت به BHA داشتند (نمودار ۳). در استخراج مایکروویو عصاره اتانولی بالاترین نیروی احیاکنندگی را دارا بود. در غلظت‌های پایین نیروی احیاکنندگی عصاره‌های اتانولی و متانولی و آبی بهتر از BHA بوده است (نمودار ۴).

معمولا برای مقایسه نیروی احیاکنندگی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می‌گردد. طبق تعریف EC_{50} به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در طول موج ۷۰۰ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ داشته باشد. بنابراین هر چه این غلظت کمتر باشد نشان‌دهنده نیروی احیاکنندگی بالاتر عصاره‌ها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتر آنهاست که به‌دلیل وجود ترکیبات فنولی می‌باشد. در استخراج سنتی در بین عصاره‌ها کمترین مقدار EC_{50} مربوط به عصاره اتانولی بود. در استخراج با مایکروویو بالاترین نیروی احیاکنندگی مربوط به عصاره اتانولی بود که اختلاف معنی‌داری با BHA نداشت.



نمودار ۳- مقایسه میانگین نیروی احیاکنندگی از غلظت های مختلف عصاره آبی و الکلی (غرقابی) و آنتی اکسیدان های سنتزی

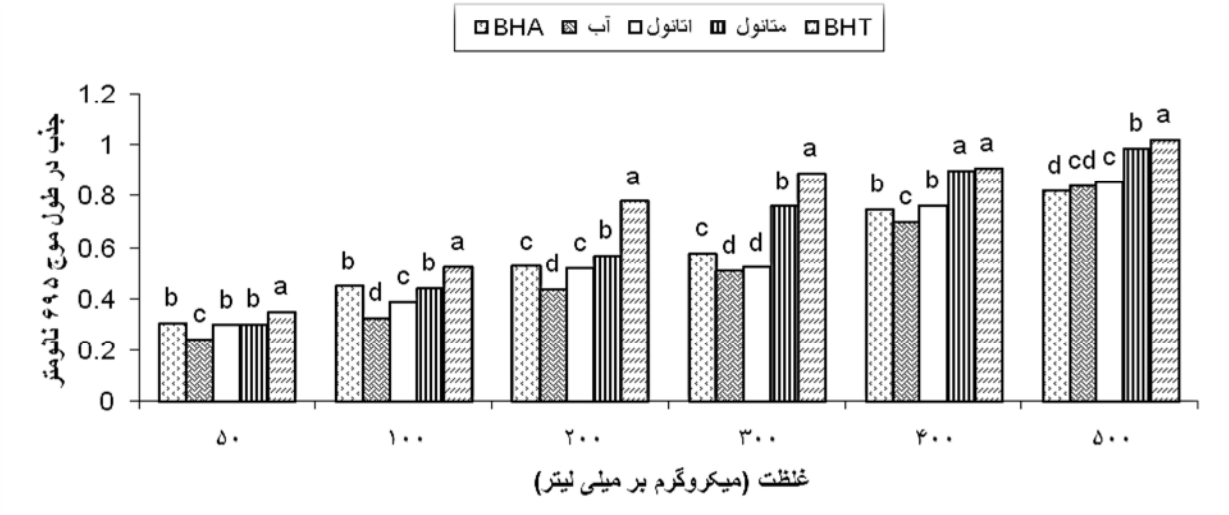


نمودار ٤- مقایسه میانگین نیروی احیاکنندگی از غلظت‌های مختلف عصاره آبی و الکلی (مایکروویو) و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی

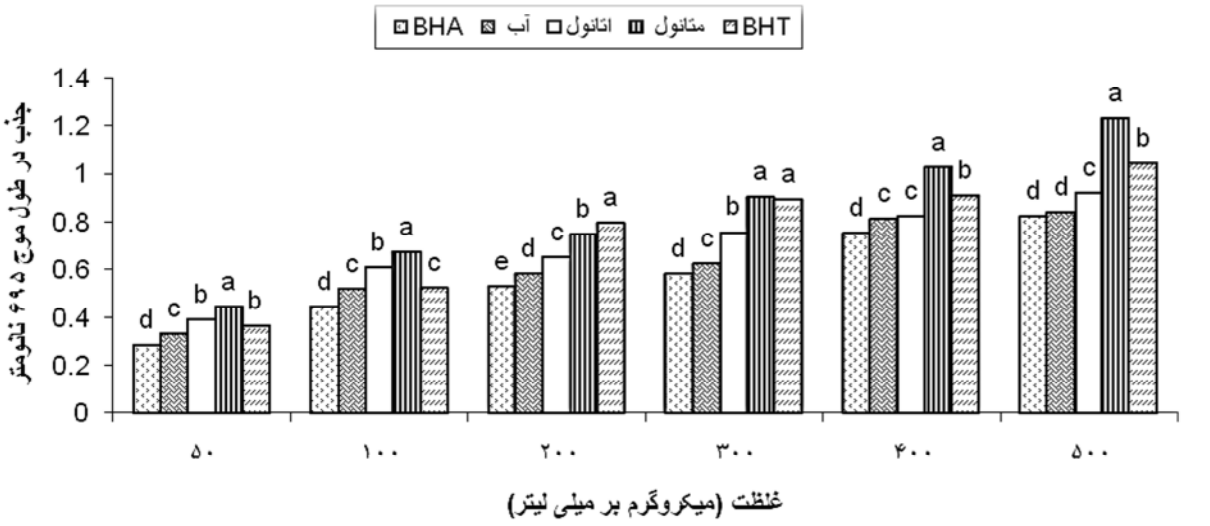
- بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

همانطور که در نمودارهای ۵ و ۶ مشاهده می‌شود نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ظرفیت آنتی اکسیدانی وجود دارد ($p<۰/۰۵$). هر سه عصاره ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت را نشان دادند. در هر دو روش عصاره متانولی بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را داشت. در روش مایکروویو آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را دارا بود که قابل رقابت با عصاره‌ها نبود. در روش مایکروویو عصاره متانولی در اکثر غلظت‌ها فعالیت بالاتری از BHT داشت.

معمولاً برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می‌گردد. هرچه این غلظت کمتر باشد نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌هاست که در جدول ۳ آورده شده است. در استخراج سنتی کمترین مقدار EC_{50} و در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر مربوط به عصاره متانولی بود. این عصاره EC_{50} کمتری از BHA و بیشتری از BHT داشت. در استخراج به کمک امواج مایکروویو عصاره متانولی کمترین EC_{50} را دارا بود. همچنین تمامی عصاره‌ها EC_{50} کمتری نسبت به BHA داشتند.



نمودار ۵- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت های مختلف عصاره (استخراج غرقابی) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی



نمودار ٦ - مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره (استخراج مایکروویو) و آنتی اکسیدان‌های سنتزی

- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

اندیس پراکسید

با توجه به جدول ۴ در بررسی میانگین اعداد پراکسید در مجموع روزهای مورد مطالعه (که به طور معمول برای بررسی میزان اکسیداسیون روغن در روزهای مختلف استفاده می‌شود) مشخص شد که نمونه شاهد دارای بالاترین مقدار اعداد پراکسید بوده است. همه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بهتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) توانستند از اکسیداسیون جلوگیری کنند. غلظت ۱۰۰۰ عصاره بهتر از این دو آنتی-اکسیدان عمل کرده است. مقدار پراکسید روغن اولیه بسیار ناچیز بوده و صفر درنظر گرفته شده است.

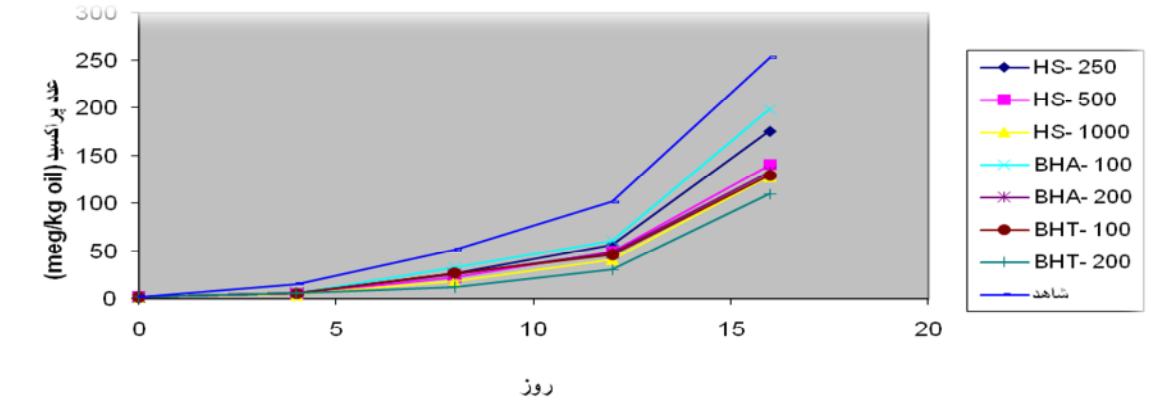
اندیس اسید تیوباربیتوریک

با توجه به مقادیر اندیس تیوباربیتوریک‌اسید ارائه شده در جدول ۴ نیز مشخص شد که نمونه شاهد دارای بالاترین مقدار این اندیس بود که اختلاف معنی‌داری با همه تیمارها داشته است. غلظت ۲۵۰ عصاره تفاوت معنی‌داری با BHA-100 نداشته است. غلظت ۵۰۰ بهتر از BHA-100 عمل کرده و تفاوت معنی‌داری با BHA-200 و BHT-100 نداشته است. غلظت ۱۰۰۰ عصاره بهتر از BHA در هر دو غلظت عمل کرده است و تفاوت معنی داری با BHT-100 و BHT-200 نداشته است. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های روغن در شرایط اکسیداسیون، میزان عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید افزایش یافته است (نمودارهای ۷ و ۸).

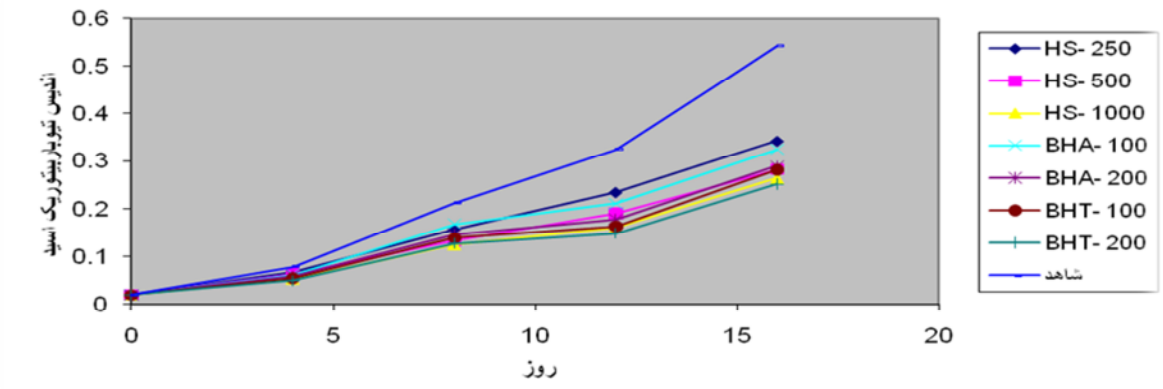
جدول ٤- مقایسه میانگین اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک‌اسید در مجموع روزهای چهارم، هشتم، دوازدهم و شانزدهم برای هر تیمار در سه تکرار

تیمار	عدد پراکسید (میلی اکی والان در ۱۰۰۰ گرم روغن)	عدد تیوباربیتوریک اسید
نمونه کنترل	۱۰۶/۱۳[a]	۰/۲۸۹[a]
غلظت ۲۵۰	۶۵/۷۹[c]	۰/۱۹۴[b]
غلظت ۵۰۰	۵۴/۲۸[d]	۰/۱۶۲[c]
غلظت ۱۰۰۰	۴۷/۷۷[e]	۰/۱۴۵[de]
BHA-100	۷۳/۸۳[b]	۰/۱۸۵[b]
BHA-200	۵۳/۰۴[d]	۰/۱۶۳[c]
BHT-100	۵۱/۶۷[d]	۰/۱۵۳[cd]
BHT-200	۳۹/۴۷[f]	۰/۱۳۷[e]

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد



شکل ۷- مقایسه میانگین اعداد پراکسید روغن‌های حاوی عصاره در روزهای مختلف و همچنین مقایسه آنها با روغن‌های حاوی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و نمونه شاهد



نمودار ۸- مقایسه میانگین اندیس تیوباربیتوریک‌اسید (میلی‌گرم مالون‌آلدهید در هر کیلوگرم روغن) روغن‌های حاوی عصاره

بحث

- مقادیر ترکیبات فنولی

همان‌طور که مشاهده می‌شود با روش غرقابی استخراج حلال آب داغ بیشترین مقدار ترکیبات فنولی را استخراج کرد در واقع درجه قطبیت حلال‌های مختلف میزان استخراج ترکیبات فنولی را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد. ترکیبات فنولی عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف از نظر مقدار ترکیبات فنولی کل، نوع ترکیبات استخراج شده و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتند. مقدار فنول کل در آب داغ نسبت به آب با دمای محیط بالاتر بوده است که دلیل آن را می‌توان این‌گونه تفسیر کرد که دمای بالا موجب نفوذ بهتر حلال به درون ماتریکس و حلالیت بالاتر ترکیبات فنولی در حلال می‌گردد (Sutivisedsak *et al.*, 2010). در واقع آب داغ برخی از پلی‌ساکاریدهای پکتیکی را از دیواره‌سلولی استخراج می‌کند و موجب شکستن دیواره سلولی می‌گردد. در نتیجه حلال آب در تماس با مواد فنولی قرار می‌گیرد و بازیابی ترکیبات فنولی بهبود می‌یابد (Li *et al.*, 2006). افزایش دما همچنین کشش سطحی و ویسکوزیته حلال را کاهش داده و سرعت انتشار و سرعت انتقال جرم را در حین استخراج افزایش می‌دهد (Ramos *et al.*, 2002). همان‌طور که مطرح شد زمان استخراج نیز تاثیر معنی‌داری روی میزان استخراج ترکیبات فنولی کل داشت. زیرا با گذشت زمان حلال فرصت پیدا می‌کند که به درون بافت گیاهی نفوذ کرده و ترکیبات فنولی نیز فرصت کافی برای جدا شدن از ماتریکس و ورود به حلال داشته باشند (Spigno *et al.*, 2007). با افزایش زمان استخراج میزان ترکیبات فنولی در عصاره‌های الکلی و عصاره آبی با دمای محیط افزایش می‌یابد. اما این روند افزایشی در مورد عصاره آب داغ تا زمان ۱۸ ساعت مشاهده شد و بعد از آن یک روند کاهشی را شاهد بودیم. دلیل آن را می‌توان این گونه توجیه کرد که دما پایداری ترکیبات فنولی را به علت تجزیه آنزیمی یا تجزیه حرارتی تحت تاثیر قرار می‌دهد یا در اثر تبخیر مقدار ترکیبات فنولی کاهش می‌یابد. همچنین دلیل آن را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که دما پایداری ترکیبات فنولی را به علت تجزیه آنزیمی یا تجزیه حرارتی تحت تاثیر قرار می‌دهد یا در اثر تبخیر مقدار ترکیبات فنولی کاهش می‌یابد. ظاهرا تجزیه حرارتی مهم‌ترین مکانیسم در کاهش مقدار پلی‌فنول‌ها محسوب می‌گردد. Zhang و همکاران (۲۰۱۰) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی بافت‌های مختلف (پوست، دانه، پالپ) عناب چینی را بررسی کردند. نتایج نشان داد که در همه رقم‌ها پوست دارای بالاترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی و در نتیجه بالاترین مقدار ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین می‌باشد.

در استخراج به کمک امواج مایکروویو قطبیت حلال بسیار مهم است. حلال‌های قطبی معمولا بهتر از انواع غیرقطبی عمل می‌کنند. بهتر است حلالی انتخاب گردد که علاوه بر داشتن ثابت دی‌الکتریک بالا، فاکتور اتلاف بالایی هم داشته باشد تا توزیع گرما در سرتاسر ماتریکس تسهیل گردد. متانول ضریب دی الکتریک بالا و فاکتور اتلاف مناسب‌تری نسبت به آب و اتانول دارد و بنابراین بهتر از اتانول و آب جواب داده است (Proestos & Komaitis, 2008).

مقدار فنول کل در روش استخراج به کمک مایکروویو بیشتر از روش غرقابی است. زیرا دیواره سلولی مواد گیاهی که حاوی اندکی رطوبت هستند بعد از در معرض‌گیری با گرمای مایکروویو، انرژی مایکروویو را جذب کرده و نهایتا تبدیل به حرارت می‌گردند و رطوبت شروع به تبخیر می‌کند. تبخیر آب، موجب ایجاد فشار در دیواره سلولی گشته که نهایتا موجب گسیختگی و پاره شدن سلول می‌گردد و ترکیبات فعال به درون حلال احاطه کننده وارد می‌شود و بازده استخراج بهبود می‌یابد (Mandal *et al*., 2007). همچنین در استخراج به کمک امواج مایکروویو انرژی مایکروویو از طریق برهم‌کنش ملکولی با میدان الکترومغناطیسی انتقال می‌یابد و بنابراین یک فرایند انتقال سریع انرژی به حلال استخراج و مواد خام گیاهی می‌باشد. به‌علاوه برهم‌کنش مستقیم امواج مایکروویو با حلال منجر به شکافت سلول‌های گیاهی و رهایی سریع محصولات درون‌سلولی به حلال می‌گردد (Lay-Keow & Michel, 2003). ملکول‌های قطبی (مانند پلی‌فنول‌ها) و محلول‌های یونی انرژی مایکروویو را به شدت جذب می‌کنند. زیرا آنها یک گشتاور دوقطبی ثابت دارند. این امر موجب افزایش سریع دما و تکمیل سریع واکنش می‌گردد (Proestos & Komaitis, 2008). در مقایسه بین این دو روش، نوع حلال مصرفی بسیار مهم است. در استخراج غرقابی، قابلیت استخراج حلال‌های مختلف اساسا بستگی به محلولیت ترکیب موردنظر در حلال، سینیتیک انتقال جرم محصول و قدرت برهم‌کنش ماتریکس و ماده حل‌شونده دارد. در حالیکه در روش استخراج به کمک امواج مایکروویو شدت گرمادهی نقش مهمی در کارایی استخراج دارد. به منظور گرم شدن سریع تحت اشعه‌دهی با مایکروویو، حلال باید ثابت دی‌الکتریک و افت دی الکتریک بالا داشته باشد (Spigno & De Faveri, 2009). بنابراین حلال بهینه در دو روش استخراج با یکدیگر تفاوت دارد. در تحقیقی که توسط Spigno و De Faveri (۲۰۰۹) روی استخراج پلی‌فنول‌ها از چای سیاه به کمک امواج مایکروویو صورت گرفت نشان داده شده است که غلظت فنول‌ها بعد از ۹۰ ثانیه پرتودهی، ۴۳/۷٪ بالاتر از مقدار بدست آمده بعد از ۲۱۰ ثانیه خیساندن غرقابی بوده است.

- بررسی توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

در آزمون DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی واکنش داده و مقدار آنها کاهش می‌یابد. گروه‌های هیدروکسیل با دادن هیدروژن، رادیکال‌های DPPH را از رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌کنند. عصاره پوسته گردو سرشار از ترکیبات فنولی می‌باشد. این ترکیبات به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، توانایی خنثی سازی رادیکال‌های آزاد را دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به تعداد گروه هیدروکسیل در حلقه آروماتیک آنها بستگی دارد (Zhang *et al*., 2009). تغییر در قطبیت حلال، توانایی آن حلال را در حل کردن یک گروه خاص از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تغییر می‌دهد و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد. همبستگی منفی بین مقدار فنول کل و مقادیر EC_{50} در آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH نشان‌دهنده شرکت مستقیم فنول‌ها در این فعالیت می‌باشد. فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های بالا به حالت اشباع‌شدگی می‌رسد (Rumbaoa *et al*., 2009). تفاوت در فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌های مختلف را به دلایل مختلف می‌توان نسبت داد. موقعیت گروه‌های هیدروکسیل فنولی، حضور گروه‌های عاملی دیگر در ملکول کامل مانند پیوندهای دوگانه و ترکیب گروه‌های هیدروکسیل و گروه‌های کتونی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند. همچنین تفاوت در نوع و مقدار ترکیبات موثر موجود در آنها نیز در فعالیت آنتی اکسیدانی موثر است. اطلاعات بدست آمده روشن کرد که عمل عصاره‌ها به عنوان مهار کننده رادیکال آزاد می‌باشد.

- بررسی نیروی احیاکنندگی

ویژگی احیاکنندگی در ارتباط با حضور احیا کننده‌ها می‌باشد که نشان می‌دهد فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره‌ها در نتیجه شکست زنجیره‌ای رادیکال آزاد توسط دادن یک اتم هیدروژن می‌باشد (Barreira *et al*., 2008). نیروی احیاکنندگی شامل انتقال الکترون تنها توسط آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک عامل احیاکننده در واکنش اکسایش کاهش مرتبط با روش رنگ‌سنجی می‌باشد (Yang *et al*., 2002). وجود ردکتون‌ها کلید

اصلی نیروی احیاکنندگی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از طریق شکستن واکنش زنجیری رادیکال آزاد توسط دادن یک اتم هیدروژن انجام می‌دهند (Arabshahi-Delouee & Urooj, 2007). Rumbaoa و همکاران (۲۰۰۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی چهار واریته برآمدگی زیر زمینی سیب‌زمینی شیرین (بنگوئتا، گانزا، ایگوروتا و ۱۲۵۴۱۱/۲) را بررسی کردند. در بررسی فعالیت احیاکنندگی، EC_{50} عصاره‌ها به ترتیب۷۲/۴، ۷۸/۷، ۶۹/۲ و ۶۶/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است (Rumbaoa *et al.*, 2009).

- بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای کاهش مولیبدن (VI) به مولیبدن (V) توسط عصاره‌ها و تشکیل کمپلکس فسفات/ مولیبدن (V) سبز رنگ در pH اسیدی می‌باشد. مقادیر بالاتر جذب نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر است. همانطور که مشاهده می‌شود این اثر با افزایش زمان واکنش و افزایش غلظت افزایش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی از ترکیبات فنولی و پلی‌فنولی ناشی می‌شود. بنابراین باید ارتباط و همبستگی نزدیکی بین مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشته باشد. Erkan و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی رزماری گزارش کردند که حلال استخراجی نیز در فعالیت آنتی‌اکسیدانی مهم است. مقدار فنول کل دارای همبستگی و ارتباط مستقیم با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می باشد. بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی منعکس کننده مقدار ترکیبات فنولی است (Erkan *et al.*, 2008). Pan و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت آنتی اکسیدانی پوست لنگان را با اتانول ۹۵٪ و دو روش غرقابی و مایکروویو استخراج کردند. در هر دو روش عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به BHT از خود نشان دادند. فعالیت آنتی اکسیدانی کل در هر دو روش با افزایش زمان و افزایش غلظت افزایش یافت. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره حاصل از استخراج به کمک امواج مایکروویو بالاتر از عصاره حاصل از روش غرقابی بوده است (Pan *et al.*, 2008).

اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش‌های مختلف انجام گرفته است. چون عصاره‌ها دارای مواد فنولی از انواع مختلف هستند بنابراین در هر روش انواعی از آنها مورد شناسایی قرار می گیرد. تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش‌های مختلف (روش فولین سیوکالتیو، سنجش مهار DPPH، سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و نیروی احیاکنندگی) به مقدار زیادی به طبیعت آب‌دوست و آب‌گریز فنول‌های موجود و نسبت آنها وابسته می‌باشد. سنجش DPPH به‌طور اساسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فنول‌های محلول در آب را سنجش می‌کند. بنابراین وقتی دو عصاره در روش DPPH نتایج مشابهی دادند نشان‌دهنده این است که مقدار مولکول‌های آب‌دوست مشابه دارند. روش نیروی احیاکنندگی در واقع ترکیبات احیاکننده‌ای را قدرت احیاکنندگی دارند را نشان می دهد. بنابراین به علت ماهیت متنوع ترکیبات آنتی اکسیدانی، فعالیت آنتی اکسیدانی با روشهای مختلف بررسی شده است.

- تاثیر عصاره‌ها در ممانعت از اکسیداسیون روغن

از آنجاکه عصاره متانولی در روش‌های دیگر سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی مقدار فعالیت بالاتری نشان داده بود به عنوان نمونه برتر برگزیده روی روغن تست شد. دلیل ارائه نتایج هم به صورت جدول و هم به صورت نمودار بدین علت است که در نمودار روند افزایش عدد پراکسید را در طول دوره زمانی از روز اول تا روز ۱۶ بود. اما در جدول میانگین عدد پراکسید را برای هر تیمار نشان داده است تا نشان دهد کدام تیمار بهتر عمل کرده است و مقادیر میانگین است و با نمودار متفاوت است. با افزایش غلظت عصاره‌ها مهار اکسیداسیون بهتر صورت گرفته است و اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک کاهش یافته است. این اثر آنتی‌اکسیدانی را به محتوی فنولی عصاره‌ها نسبت می‌دهند. در واقع با افزایش غلظت، مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافته که منجر به افزایش گروه‌های فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد. نمونه شاهد که حاوی هیچ آنتی‌اکسیدانی نبوده است بیشترین مقدار عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید را در همه روزها دارا بوده است. آنتی‌اکسیدان‌ها طی مدت زمان خاصی فعال باقی مانده و با گذشت زمان به تدریج ازدرجه تاثیر آنها کاسته می‌شود که دلیل آن می‌تواند نگهداشتن نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون و حرارت باشد تا زمانی که کلاً بی‌اثر شوند. همچنین از آنجا که مالون‌آلدهید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد

بنابراین در روزهای ابتدایی مقدار تیوباربیتوریک‌اسید پایین است. اما بعد از گذشت زمان که مقدار محصولات اولیه اکسیداسیون افزایش یافته است و شروع به تجزیه شدن کردند مقدار این اندیس افزایش می‌یابد. به طور کل عصاره پوسته سبز گردو به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خودبخودی می‌شود. Yasoubi و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار را روی روغن سویا بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره استونی پوست انار در غلظت ۰/۰۵٪ اثرات آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با BHA وBHT در غلظت ۰/۰۲٪ داشت (Yasoubi *et al.*, 2007).

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که پوسته سبز گردوی شهمیرزادی دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشد. میزان ترکیبات فنولی تحت‌تاثیر حلال به کار برده شده، زمان، دما و روش استخراج می‌باشد. با افزایش زمان استخراج در اکثر موارد میزان ترکیبات فنولی افزایش یافته است. در استخراج با کمک امواج مایکروویو حلال متانول به عنوان حلال بهینه شناخته شده است. بدیهی است با استخراج ترکیبات موثره با کمک روش‌های بهینه استخراج مانند استخراج به کمک امواج مایکروویو می‌توان میزان ترکیبات فنولی استخراج شده را بهبود بخشید و از این ترکیبات در تولید محصولاتی با ارزش افزوده بالا بهره برد. از آنجا که پوسته سبز گردو از ضایعات کشاورزی و حاوی ترکیبات فنولی فراوان می‌باشد می‌تواند به عنوان منبع غنی و ارزان قیمت از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی معرفی شود.

منابع

قره خانی، م.، رفیعی، ز.، قربانی، م. و جعفری، س. م. (۱۳۸۸). سیستم مایکروویو محفظه باز برای استخراج ترکیبات مؤثره از گیاهان دارویی، ۵۹۳۲۱.

Arabshahi-Delouee, S. & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. Food Chemistry, 102(4), 1233-1240.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC, USA.

Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K. & O'Keefe, S. (2010). Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. Food Chemistry, 120(4), 1185-1192.

Barreira, J. C. M., Ferreira, I. C. F. R., Oliveira, M. B. P. P. & Pereira, J. A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. Food Chemistry, 107(3), 1106-1113.

Erkan, N., Ayranci, G. & Ayranci, E. (2008). Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, 110, 76-8.

Goli, A. H., Barzegar, M. & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (Pistachia vera) hull extracts. Food Chemistry, 92, 521-5.

Hagen, S. F., Borge, G. I. A., Bengtsson, G. B., Bilger, W., Berge. A., Haffner. K. & Solhaug, K. A. (2007). Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (Malus domestica Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. Postharvest Biology and Technology, 45(1), 1-10.

Lay-Keow, N. & Michel, H. (2003). Effects of moisture content in cigar tobacco on nicotine extraction similarity between Soxhlet and focused open-vessel microwave-assisted techniques. Journal of Chromatography A, 1011, 213-219.

Li, B. B., Smith, B. & Hossain, M. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. Separation and Purification Technology, 48(2), 182-188.

Li, J. W., Ding, S. D. & Ding, X. L. (2005). Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. Process Biochemistry, 40(11), 3607-3613.

Mandal, V., Mohan, Y. & Hemalatha, S. (2007). Microwave Assisted extraction- An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Food Chemistry, 92, 144-151.

Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J. & Huang, F. (2008). Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (Dimocarpus Longan

Lour.) peel. Food Chemistry, 106(3), 1264-1270.

Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1995). 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.

Proestos, C. & Komaitis, M. (2008). Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. LWT--Food Science and Technology, 41(4), 652-659.

Ramos, L., Kristenson, E. M. & Brinkman, U. A. T. (2002). Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. Journal of Chromatography A, 975, 3-29.

Rumbaoa, R. G. O., Cornago, D. F. & Geronimo, I. M. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (Solanum tuberosum) tubers. Journal of Food Composition and Analysis, 22(6), 546-550.

Spigno, G., Tramelli, L. & De Faveri, D. M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of Food Engineering, 81(1), 200-208.

Spigno, G. & De Faveri, D. M. (2009). Microwave-assisted extraction of tea phenols: A phenomenological study. Journal of Food Engineering, 93(2), 210-217.

Sutivisedsak, N., Cheng, H. N., Willett, J. L., Lesch, W. C., Tangsrud, R. R. & Biswas, A. (2010). Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (Phaseolus vulgaris L.). Food Research International, 43(2), 516-519.

Wijngaard, H. H., Rle, C. & Brunton, N. A. (2009). Survey of Irish fruit and vegetable waste and by-products as a source of polyphenolic antioxidants. Food Chemistry, 116(1), 202-207.

Yang, J. H., Lin, H. C. & Mau, J. L. (2002). Antioxidant properties of several commercial mushrooms. Food Chemistry, 77(2), 229-235.

Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M. A. & Aziz, M. A. (2007). Total phenolic content and antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel extract. Journal of Agricultural Science and Technology, 9, 35-42.

Zhang, H., Jiang, L., Ye, S., Ye, Y. & Ren, F. (2010). Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (Ziziphus jujuba Mill.) from China. Food and Chemical Toxicology, 48(6), 1461-1465.

Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T. & Wang, Z. (2009). Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (Juglans regia L.). Food Chemistry, 113(1), 160-165.