JRIFST

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

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

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

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

* نویسنده مسئول(smamashloo@yahoo.com)

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

چکیده

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

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۲۴

واژه های کلیدی
ازگیل
پایداری
ترکیبات فنولی
فعالیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

ترکیبات فنولی به فنول های ساده، اسیدهای فنولیک، مشتقات هیدروکسی سینامیک و فلاونوئید ها طبقه بندی می شوند. عملکرد بسیاری از ترکیبات فنولی به عنوان ترکیبات آنتی اکسیدان قوی توسط محققین گزارش شده است (Serrano et al., 2006). در دهه های اخیر علاقه محققین به بررسی حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی در محصولات کشاورزی به ویژه میوه ها و سبزیجات به طور چشمگیری افزایش یافته است. ویژگی های سلامتی بخش آنتی اکسیدان ها و نقش آنها در پیشگیری از بیماری ها دلایل عمده این افزایش بوده است. در واقع آنتی اکسیدان ها از فرایند اکسیداسیون که از عوامل بروز بیماری هایی همچون سرطان است پیشگیری کرده و از این جهت اثرات خود را بر سلامت انسان ها می گذارند. علاوه بر این، ترکیبات آنتی اکسیدانی معمولا به منظور

جلـوگیری از پراکسیداسـیون لیپیـدها، در برخـی محصولات به عنوان افزودنی به آنها اضافه شده که باعث افزایش زمان ماندگاری نیز خواهد شد(Shi et al., 2005).

ازگیل با نام علمی *Mespilus germanica* L. ازخانواده *Rosaceae* می باشد؛ درختی وحشی بوده که در گروه درختان برگ ریز طبقه بندی می شود. در ایران در حدود ۳-۲ متر رشد می کند میوه های آن نیمه کروی و وقتی رسیده و آماده خوردن می شوند رنگ آنها قهوه ای است. مرکز میوه ها از دانه های گرد با رنگ متمایل به زرد تا قهوه ای پر شده و غشایی خاکستری تا زرد رنگ اطراف هسته مرکزی این میوه را در بر می گیرد. چندین واریته از این میوه در اروپا و آسیا شناخته شده است (Ozcan et al., 2005). ازگیل در ایران در اواخر پاییز و اوایل زمستان می رسد و معمولا به صورت خام مصرف می شود. در ایران زمانی میوه را از درخت می چینند که کاملا رسیده و شاداب است ولی در برخی کشورها ازگیل را چیده، روی کاه انبار می کنند و زمانی که بر اثر ماندن رسید و رنگ آن قهوه ای شد جهت فروش به بازار عرضه می شود (Dincer et al., 2002). ازگیل حاوی ویتامین های ب و ث، تانن، سلولز و اسید سیتریک می باشد. در درمان عفونت های روده بزرگ نقش داشته و ویتامین ب ازگیل تقویت کننده اعصاب بوده و از نظر تغذیه ای اهمیت دارد (Khoshbakht & Hammer, 2005). میوه ازگیل همچنین حاوی قند، اسیدهای آلی و آمینواسیدها می باشد (Ayaz et al., 2003). از آن جایی که این میوه در مناطق خاصی از جهان و تحت شرایط خاصی رشد می یابد تحقیقات گسترده ای در سطح بین المللی بر روی ویژگی های این میوه به خصوص خواص آنتی اکسیدانی آن صورت نگرفته است. بخش اعظم پژوهش های انجام شده مربوط به کشور ترکیه می باشد که در شمال انتالیا (شهری در ترکیه) این میوه به صورت وحشی رشد می کند و البته مردم این منطقه به کاشت باغی این میوه نیز می پردازند. در این کشور این میوه را به صورت های مختلف مانند مربا، مارمالاد و یا به صورت ژله مصرف می کنند (Ayaz et al., 2008).

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

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

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

مواد و روش ها

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

اندازه گیری مقدار ترکیبات فنولی کل

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

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

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

رابطه (۱)

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

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

قدرت احیاءکنندگی

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

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

در این روش ۰/۱ میلی لیتر از محلول عصاره با ۱ میلی لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/۶ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی مولار) در لوله آزمایش مخلوط و به مدت ۱/۵

ساعت در حمام آب با دمای ۹۵°C قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت گردید (Yildirim et al., 2001).

پایداری حرارتی و pH

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

آنالیز آماری

در روش های اندازه گیری ترکیبات فنولی کل، میزان به دام اندازی رادیکال های آزاد، قدرت احیاء کنندگی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، مقایسه میانگین های به دست آمده از سه تکرار با آزمون دانکن (P<۰/۰۵) بر پایه طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم گراف ها با نرم افزار Excell انجام گردید. کلیه ی آزمایشات در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار ترکیبات فنولی کل

جدول ۱ نتایج مربوط به اندازه گیری مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره ها را نشان می دهد همان طوری که مشاهده می شود، عصاره های مورد بررسی از این نظر اختلاف معنی داری (P<۰/۰۵) با یکدیگر داشتند. بیشترین مقدار ترکیبات فنولی توسط حلال استون ۸۰٪ استخراج گردید.

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

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

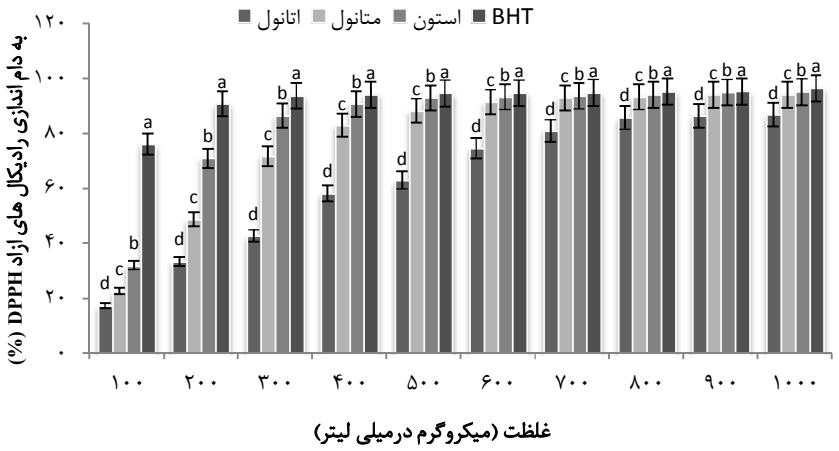
نتایج حاصل از میانگین ۳ تکرار ± S.D. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

محققین تفاوت های مشاهده شده بین عصاره های مختلف را به تفاوت در قطبیت حلال های مورد استفاده مربوط می دانند. استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال های مختلف بستگی دارد. بعلاوه قطبیت حلال های مورد استفاده نقش کلیدی را در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می کند (Silva et al., 2006; Huang et al., 2005; Javanmardi et al., 2003).

به دام اندازی رادیکال های آزاد DPPH

اساس این روش بر پایه بیرنگ شدن محلول DPPH است که توسط آنتی اکسیدان های موجود در عصاره انجام می شود و این عمل از طریق مهار رادیکال های آزاد صورت می پذیرد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع و غلظت عصاره ها و آنتی اکسیدان های سنتزی تاثیر معنی داری بر میزان مهار رادیکال های آزاد داشت.

همان طور که در شکل ۱ مشاهده می شود عصاره استونی پس از آنتی اکسیدان سنتزی BHT در تمام غلظت ها دارای قدرت مهارکنندگی بالاتری نسبت به عصاره های دیگر داشت.



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH توسط غلظت های مختلف عصاره های میوه ازگیل و آنتی اکسیدان سنتزی BHT

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

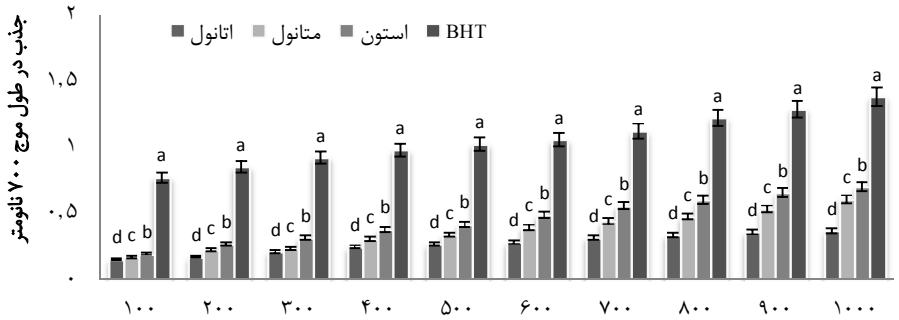
جدول ۲- مقادیر EC_{50} (میکروگرم عصاره در میلی لیتر) عصاره ها و آنتی اکسیدان سنتزی

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

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

قدرت احیاء کنندگی

شکل ۲ مقایسه میانگین میزان جذب غلظت های مختلف عصاره های استونی، متانولی، اتانولی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT را به عنوان شاخصی از قدرت احیاءکنندگی در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان می-دهد. پس از BHT عصاره ی استونی بیشترین میزان قدرت کاهندگی را به خود اختصاص داده است.

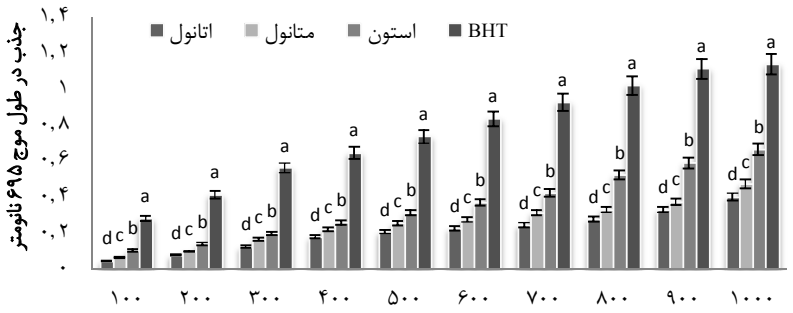


شکل ۲- مقایسه میانگین قدرت احیاء کنندگی غلظت های مختلف عصاره های میوه ی ازگیل و آنتی اکسیدان سنتزی BHT

در کل ویژگی های احیاءکنندگی با حضور ترکیبات اهداء کننده ی الکترون همراه است. به عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاءکنندگی آن افزایش می یابد، در نتیجه عصاره قادر خواهد بود با اهداء تعداد بیشتری الکترون یا اتم های هیدروژن واکنش های زنجیری تشکیل رادیکال های آزاد را شکسته و اکسیداسیون چربی را به تاخیر بیاندازد (Uggla et al., 2000; Hackman et al., 2002). همچنین تحقیقات مختلف نشان داده اند که ظرفیت اهدا الکترون در ترکیبات بیواکتیو به فعالیت آنتی اکسیدانی آنها مربوط می شود (Mohan et al., 2002; Yen et al., 1993).

اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه است که در طول موج ۶۹۵ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می باشد. این کمپلکس ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تاثیر قرار نمی-گیرند. عصاره هایی که شدت جذب بالاتری در این طول موج دارند، ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری از خود نشان می دهند (Yildirim et al., 2001). همان طور که در شکل ۳ نیز مشاهده می شود، عصاره‌ی استونی در تمامی غلظت های مورد بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره های دیگر داشت.

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل



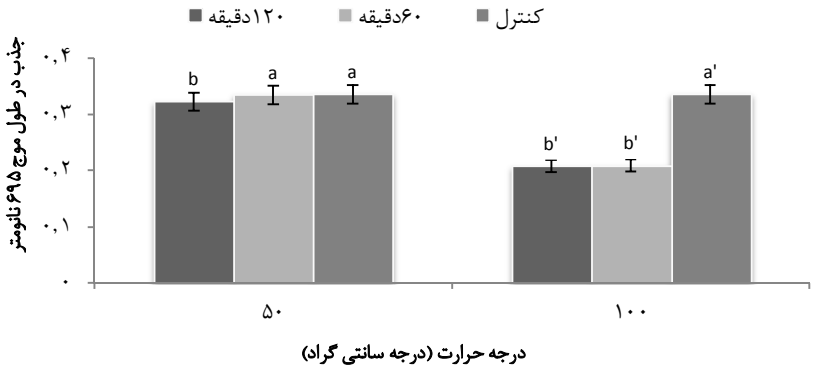
شکل ۳- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره های میوه ی ازگیل و آنتی اکسیدان سنتزی BHT

نتایج به دست آمده در این تحقیق از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره ها با ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها با نتایج به دست آمده توسط Arabshahi و Urooj (۲۰۰۷) مطابقت داشت. این

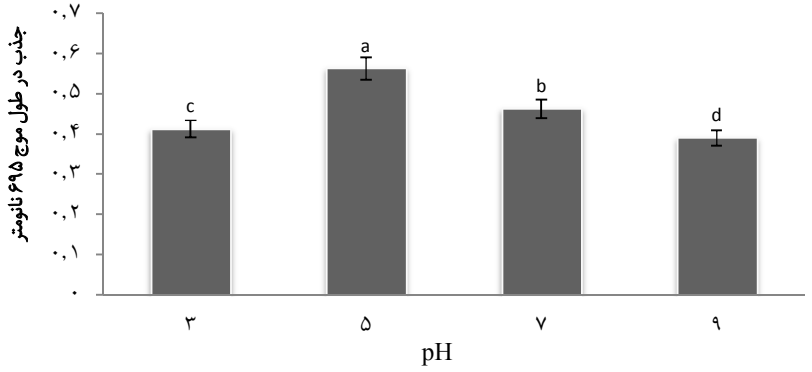
محققین با بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی میوه تمشک گزارش دادند که عصاره متانولی حاصل از این میوه که دارای بالاترین بازده استخراج و بیشترین میزان ترکیبات فنولی بود، ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به عصاره های آبی و اتانولی داشت.

پایداری حرارتی و pH

تحقیقات انجام شده نشان داده اند که که عوامل متعددی مانند غلظت، دما و pH بر فعالیت آنتی اکسیدان ها موثر است (Gazzani et al., 1998). در تحقیق انجام شده عصاره استونی که دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی بود برای آزمون پایداری انتخاب شده و همان طور که در شکل ۴ مشاهده می شود در دمای ۵۰°C تغییر قابل توجهی در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره حاصل نشد (P<۰/۰۵) پس از ۱۰۰°C میزان فعالیت به حدود ۷۶ درصد کاهش یافت؛ اما این کاهش حتی پس از دو ساعت نیز در همین سطح باقی ماند. این کاهش در ۱۰۰°C می تواند مربوط به از بین رفتن آنتی اکسیدان های طبیعی موجود در عصاره و یا به وجود آمدن ترکیبات پراکسیدانی جدید در این دما مربوط باشد.



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



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

بررسی تاثیر pH بر فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که عصاره فنولی حاصل از میوه ازگیل بیشترین پایداری را در pH برابر ۵ داشت و همان طور که در شکل ۵ مشاهده می شود بیشترین کاهش در فعالیت آنتی اکسیدانی در pH برابر ۹ بوده است. Gazzani و همکاران (۱۹۹۸) گزارش دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی تعدادی از عصاره سبزیجات با جوشاندن پایدار شده و ثابت باقی می ماند که علت آن می

تواند به غیر فعال شدن پراکسیداز در دماهای بالا و در نتیجه کاهش فعالیت پراکسیدانی آنها باشد. Castenmiller و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی گونه هایی از سبزیجات اعلام کردند که عصاره های گیاهی ممکن است خاصیت پراکسیدانی یا فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دهند که بستگی به فرآیند حرارتی و واریته آن گیاه دارد. کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی در pH قلیایی ممکن است به از بین رفتن فعالیت آنتی اکسیدان های عصاره و یا افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در این pH مربوط باشد (Mansour & Khalil, 2000)

نتیجه گیری و پیشنهادات

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

منابع

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

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

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

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

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

6- Dincer, B., Colak, A., Aydin, N., Kadioglu, A. & Guner, S. 2002. Characterization of polyphenoloxidase from medlar fruits (*Mespilus germanica* L., *Rosaceae*). Food Chemistry, 77: 1–7.
7- Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G. & Daglia, M. 1998. Antioxidative and pro-oxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. Food Chemistry, 6:4118–4122.
8- Hackman, R. M., Zhu, Q. Y., Ensunsa, J. L., Holt, R. R. & Keen, C. L. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:6929–6934.
9- Huang, D., Ou B. & Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1841–1856.
10- Javanmardi, L., Stushnoff, C., Locke, E., and Vivanco, J. M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic contents of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry, 83:547–550.
11- Khoshbakht, K. & Hammer, K. 2005. Notes on neglected and underutilized crops, Savadkouh (Iran) – an evolutionary centre for fruit trees and shrubs. Genetic Resources and Crop Evolution, 1–11.
12- Mansour, E. H. & Khalil, A. H. 2000. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application to ground beef patties. Food Chemistry, 69: 135–141.
13- Mohan P. S., Siddhuraju P. & Becker K. 2002. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. Food Chemistry, 79: 61–67.
14- Ozcan M., Hacıseferogulları, H., Sonmete, M. H. & Ozbek, O. 2005. Physical and chemical parameters of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit grown in Turkey. Journal of Food Engineering, 69: 1-7.
15- Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry, 269: 337-341.
16- Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. & Siler-Marinkovic, S. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry, 104: 830-834.
17- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-Calixto, F.1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32:407–412.
18- Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto, F. 2006. Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. Food Research International, 40: 15–21.
19- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 945-948.
20- Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J. & Mittal, G. 2005. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods–Engineering and Technology. Food Reviews International, 21: 1–12.
21- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F. & Larondelle, Y. 2006. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chemistry,101: 1012–1018.
22- Uggla, M., Gao, X., Bjork, L. & Trajkovski, V. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 80: 2021–2027.
23- Vasco, C., Ruales, J. & Kamal-Eldin, A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food Chemistry, 111: 816–823.
24- Yen, G. C., Duh, P. D. & Tsai, C. L. 1993. Relationship between antioxidant activity and maturity of peanut hulls. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41: 67–70.
25- Yildirim, A., Mavi, A. & Kara, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 4083-4089.

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

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

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

Abstract

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

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