مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 4، زمستان 1392، صفحات 124-113

پایداری حرارتی روغن سویا توسط آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استخراج شده از میوه زرشک بی دانه به وسیله آب مادون بحرانی

مرتضی محمدی[1]، عبدالمجید مسکوکی[2]، سید علی مرتضوی[3]، منیره نهاردانی[4]، زهرا پورفلاح[4]، علیرضا صادقیان[2]

1- نویسنده مسئول: پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، گروه فرآوری مواد غذایی، مشهد، ایران، پست الکترونیک: mohamadi2003@yahoo.com
2- پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، گروه فرآوری مواد غذایی، مشهد، ایران.
3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
4- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران

تاریخ دریافت: 92/4/2 تاریخ پذیرش: 92/7/20

چکیده

سابقه و هدف: امروزه با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در جلوگیری از عمل پاتوژن‌ها و رادیکال‌های آزاد، کاربرد آنها در پزشکی و صنایع غذایی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. هدف این مطالعه بررسی قابلیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه زرشک بی‌دانه به وسیله سیال مادون بحرانی آب بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ترکیبات فنولی موجود در میوه زرشک بی‌دانه با استفاده از سیال مادون بحرانی آب (SCW)، در فشار ثابت 50bar، دماهای 120 و 180°C و نسبت اختلاط‌های 1:10 و 1:30 (1 قسمت میوه زرشک و به ترتیب 10 و 30 قست حلال)، استخراج و میزان ترکیبات فنولی کل (TPC)، اندازه‌گیری و با عصاره به دست آمده از روش خیساندن مقایسه شد. پایداری حرارتی روغن سویا به روش رنسیمت در حضور عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی استخراج شده در دمای 110°C و جریان هوای 20lit/h، بررسی گردید. به منظور بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های حاصل از SCW، قدرت رادیکال‌گیرندگی و احیاکنندگی عصاره‌ها اندازه‌گیری و با اسیدآسکوربیک و BHT (در غلظت 300ppm) مقایسه شد. نتایج در طرح فاکتوریل و توسط آزمون LSD در سطح 99% بوسیله نرم افزار SAS مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: مقدار TPC از 2848/21–1729/76 میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک (بر حسب اسیدگالیک)، در تغییر بود. مقدار عددی بیشترین راندمان عصاره‌گیری به اثر متقابل دمای 120°C و نسبت اختلاط 1:10 مربوط بود. بیشترین قدرت پایدارکنندگی محیط روغن سویا در دمای 180°C و نسبت اختلاط 1:10 مشاهده شد. قدرت پایدارکنندگی عصاره‌های استخراجی به روش SCW بسیار نزدیک به روغن حاوی ویتامین E به عنوان آنتی‌اکسیدان بود.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های به دست آمده با استفاده از سیال مادون بحرانی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجه بوده و منجر به افزایش پایداری حرارتی روغن سویا شدند که با مطالعه بیشتر می‌توان از آن به عنوان جایگزین در صنایع مربوطه استفاده نمود.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان طبیعی، سیال مادون بحرانی، زرشک بی دانه، قدرت پایدارکنندگی، قدرت رادیکال گیرندگی

• مقدمه

رادیکال‌های اکسیژن مهمترین عامل ایجاد بسیاری از ناهنجاری‌های پزشکی از جمله سرطان، تصلب شرائین و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌باشند. هر چند آنتی‌اکسیدان های سنتزی برای جلوگیری از عمل رادیکال‌های آزاد به کار می‌روند اما در سال‌های اخیر گرایش عمومی به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است (1).

میوه‌های کوچک منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. عصاره گونه‌های مختلفی از میوه توت سیاه، تمشک، انگور فرنگی و زرشک به عنوان مهارکننده رادیکال‌های آزاد شناخته شده‌اند (2).

یکی از منابع سرشار آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، گیاه زرشک می‌باشد که تا کنون مطالعات بسیاری بر روی

قسمت‌های مختلف این گیاه از جمله ریشه، ساقه، برگ و میوه آن انجام شده است. در طب سنتی عصاره‌های به دست آمده از گونه‌های مختلف این گیاه از جمله *Berberis aquifolium*، *Berberis vulgaris* و *Berberi saristata*، برای درد مفاصل و التهاب‌های بافتی استفاده شده است. همچنین عصاره‌های این گیاه دارای اثر بازدارندگی از رشد بر روی باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها، پروتوزوآها، انگل‌های روده‌ای و کلامیدیا دارد (3).

گیاه زرشک به صورت درختچه‌ای با ارتفاع 1 تا 3 متر، پوشیده از خارهای تیز، دارای چوب زرد رنگ، برگ‌های دوک مانند، گل‌های پاندولی و میوه‌ای قرمز رنگ می‌باشد (4). زرشک یکی از محصولات استراتژیک ایران بوده و سطح زیر کشت آن در ایران، به عنوان بزرگترین تولید کننده زرشک در جهان، با سهم 95 درصدی در تولید زرشک، به بیش از 5724 هکتار می‌رسد. از طرفی با توجه به افزایش کاربردهای خواص داروئی ترکیبات فنولی زرشک، از جمله خاصیت ضدمیکروبی، ضد قارچی، ضد انگلی آن در پزشکی جدید، نیز موجب گرایش محققان به این منبع از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی شده است (5). بیشتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های زرشک به خاطر آلکالوئیدهایی با یک هسته ایزوکینولین (Isoquinoline) مانند بربرین (Berberin) ، اکسیاکانتین (Oxyaconthine)، بربامین (Berbamin) و پلاماتین (palmatine) می‌باشد (6) و بیشترین خواص دارویی زرشک عمدتاً بر دو آلکالوئید بربرین و بربامین تکیه دارد (7) که بربرین به صورت نمک به مقدار قابل توجهی در پزشکی کاربرد دارد (5).

تاکنون استفاده از حلال‌های آلی بیشترین کاربرد را در استخراج ترکیبات موثره از منابع طبیعی داشته است. اما روش‌های معمول استخراج بر پایه حلال‌های آلی ممکن است اثرات نا مطلوبی بر محیط زیست و مواد غذایی داشته باشند. از این رو اخیراً تکنولوژی سبز مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این روش‌های نوین، استخراج به وسیله سیال مادون بحرانی SCW (Sub Critical Water) می‌باشد که در آن از آب به عنوان حلال استفاده می‌شود که در این حالت خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب دچار تغییر می‌شود (8). آب در محدوده دمایی 100 تا 374 درجه سانتی‌گراد و تحت فشار مورد نیاز برای باقیماندن در فاز مایع، به یک سیال مادون بحرانی تبدیل می‌شود (9). تحت این شرایط پیوندهای هیدروژنی ضعیف و سست شده، قطبیت آب به میزان قابل توجهی کاهش یافته و ثابت یونیزاسیون آب (K_w) افزایش می‌یابد (11، 10).

مطالعات بسیاری بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های متفاوت گیاهان و محصولات کشاورزی انجام شده است که از جمله می‌توان به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی گل‌های درخت آتش (Delonix regia)، انگور سیاه، برگ‌های درخت ماته (Ilex paraguariensis)، پوست درخت کاج، عصاره توت سیاه اشاره نمود (16-12).

در سال 2010 Bountagkidou و همکاران بر روی خاصیت پایدارکنندگی عصاره‌های زعفران که به روش خیساندن استخراج شده بود مطالعه نمودند. در سال 2008 نیز محققان به رابطه میان قدرت رادیکال گیرندگی و قدرت پایدارکنندگی روغن به وسیله عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی پرداختند. قدرت احیاکنندگی، قدرت رادیکال گیرندگی و پایدارکنندگی عصاره‌های استخراجی از گیاه دارویی با نام علمی *Lithospermum erythrorhizon* و برای عصاره‌گیری از روش سوکسله به مدت 12 ساعت بهره بردند (19-17).

قویدل و همکاران در سال 2013 با استفاده از امواج التراسوند عصاره‌های متانولی میوه زرشک را استخراج و اثر عصاره‌های استخراجی را بر پایداری حرارتی روغن سویا بررسی نمودند (20). یوسفی و همکاران در سال 2009 به بهینه سازی نسبت اختلاط حلال‌های مورد استفاده در فرآیند استخراج آنتوسیانین‌های زرشک پرداختند و شریفی و همکاران در سال 2011 نیز بر روی ریزپوشانی آنتوسیانین‌های زرشک به وسیله خشک کن افشانه‌ای پرداختند و در همان سال محققان دیگری بر روی فعالیت آنتی رادیکالی عصاره‌های زرشک مطالعه نمودند (23-21).

در اکثر مطالعات انجام شده برای یافتن جایگزین مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، به استفاده از روش‌های جدید و تکنولوژی‌هایی که در آنها سلامت مصرف کننده و افزایش راندمان فرآیند مورد نظر باشد، توجه چندانی نشده است. از این رو هدف از این مطالعه، بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های میوه زرشک بی‌دانه به عنوان یکی از محصولات سرشار از ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی که از مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های به دست آمده از SCW در دو دمای 120 و 180 درجه سانتی‌گراد با یکدیگر و با عصاره به دست آمده به روش سنتی خیساندن (maceration)، با اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل (Total Phenol Compounds) (TPC)، قدرت رادیکال

گیرندگی و قدرت احیاکنندگی و همچنین اندازه‌گیری قدرت پایدارکنندگی محیط روغن سویا به وسیله آنتی‌اکسیدان‌های استخراجی بود.

• مواد و روش‌ها

مواد اولیه: میوه زرشک بی‌دانه به عنوان ماده اولیه اصلی برای استخراج آنتی‌اکسیدان، از گیاهان کشت شده در باغات اصلاح نژاد پارک علم و فناوری خراسان تهیه و تحت شرایط مناسب (به دور از نور و حرارت، در سایه و در دمای 20 تا 25°C) خشک و تا زمان مصرف، درون ظرف‌های دربدار آلومینیوم پیچ شده در دمای 18- درجه سانتی گراد نگهداری شد. در هنگام استخراج، نمونه‌ها توسط آسیاب آزمایشگاهی (TosShekan T8300) خورد شده و مورد استفاده قرار گرفتند.

استخراج به روش خیساندن: 20 گرم از نمونه‌های زرشک با 400^{cc} آب مقطر مخلوط و به مدت 18 ساعت بر روی همزن مغناطیسی (VELP Scientifica, Type ARE) در دمای محیط و با سرعت هم زدن 400rpm، قرار گرفتند تا فرایند استخراج به روش خیساندن انجام شود. پس از آن نمونه‌ها تا زمان مصرف تحت شرایط دمایی 18°C- نگهداری شدند.

استخراج به روش SCW: عصاره‌گیری از میوه زرشک بی دانه توسط دستگاه استخراج مادون بحرانی آب، طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه فن‌آوری‌های نوین پژوهشکده علوم و صنایع غذایی (RIFST) انجام گرفت. در این روش، فرآیند استخراج با دو متغیر دما (120 و 180 درجه سانتی‌گراد) و دو سطح نسبت اختلاط (1:10 و 1:30) (1 قسمت نمونه میوه زرشک و به ترتیب 10 و 30 قسمت حلال)، در فشار ثابت 50 بار و در مدت زمان 30 دقیقه صورت گرفت. دمای مورد نظر به وسیله المنت‌های الکتریکی تأمین و توسط ترمو کنترلر دیجیتالی (Abtin Mfg Eng CO, Iran) کنترل شد. فشار مورد نظر نیز توسط پمپ آب (Comet Type: MTP Ax 2/70 m) تأمین شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل (TPC) به روش Folin ciocalteo: اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو، به روش انجام شده به وسیله ژو و همکارانش در سال 2002 انجام شد (24). پس از ترسیم منحنی کالیبراسیون غلظت مناسبی از عصاره‌ها به صورتیکه جذب محلول نهایی در رنج نمودار استاندارد ترسیم شده باشد، تهیه و مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها بر مبنای میلی‌گرم اسید گالیک در صد گرم ماده خشک محاسبه گردید.

تعیین قدرت احیا کنندگی: پس از اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی به دو ظرفیتی به وسیله عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی استخراج شده، نتایج به غلظت مؤثر (Efficient Concentration) در احیاکنندگی آهن تبدیل و به منظور مقایسه بهتر از اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی و BHT (Butylated Hydroxy Toluene) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان سنتزی استفاده و قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها، به روش ارائه شده به وسیله اینگولد (Ingold)، با یکدیگر و با اسید آسکوربیک و BHT، با استفاده از معیار EC_{50} مقایسه شد (25). EC_{50} برابر است با غلظتی از آنتی‌اکسیدان که قادر است 50% از آهن سه ظرفیتی موجود در محیط را به آهن دو ظرفیتی تبدیل کند.

اندازه‌گیری قدرت رادیکال گیرندگی: قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های استخراجی و آنتی‌اکسیدان‌ها با استفاده از روش توصیف شده توسط برند – ویلیامس (Brand- Williams) و همکاران، با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد (26). در این روش از متانول به عنوان شاهد استفاده شد. جذب‌های به دست آمده از آزمون شیمیایی، با استفاده از فرمول زیر به درصد توانایی جذب رادیکال RSA (Radical Scavenging Ability) تبدیل و در ترسیم منحنی‌های رادیکال گیرندگی استفاده شدند.

$$RSA\% = (Abs_{control} - Ads_{sample}) \times 100/Abs_{control} \quad (1)$$

در این مطالعه از آنتی‌اکسیدان‌های BHT و اسید آسکوربیک، به ترتیب به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و طبیعی، به منظور مقایسه بهتر، استفاده شد. برای مقایسه قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی، از فاکتور IC_{50} که برابر است با غلظت موثر برای جذب 50% از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط، استفاده شد.

اندازه‌گیری پایداری حرارتی روغن سویا به وسیله آنتی‌اکسیدان‌های استخراجی: به منظور پایداری اکسایش روغن از دستگاه رنسیمت (Metrohm 743) استفاده شد. در این روش از شرایط تشدید شده اکسایش مانند دمای بالا و جریان هوا استفاده می شود. اکسایش نمونه ها در ظروف مخصوص و در محفظه مجهز به گرم کن انجام می‌گیرد. در این حال جریانی از هوا از محل واکنش اکسایش به ظرف محتوی آب هدایت و ضریب هدایت الکتریکی آب بر حسب میکروزیمنس بر سانتی‌متر (µs/cm) محاسبه می

گردد. افزایش هدایت الکتریکی آب به عنوان شاخصی از پیشرفت اکسایش در نظر گرفته می‌شود.

روش کار به این صورت بود که غلظت ثابت 300 ppm از BHT در متانول، اسید آسکوربیک و پودر عصاره‌ها در آب، به کمک ماده حد واسط پروپیلن گلایکول که در صنعت روغن به منظور توزیع BHT در روغن کاربرد دارد، در روغن سویای تصفیه، بوگیری و رنگبری شده بدون آنتی‌اکسیدان، تهیه و 4 گرم از نمونه آماده شده به درون لوله‌های مخصوص دستگاه منتقل شد. پس از آن لوله‌ها در دمای 110 درجه سانتی‌گراد و با شدت جریان هوای 20 لیتر بر ساعت، درون دستگاه قرار گرفتند. زمان لازم برای رسیدن روغن به شرایط اکسید شده، بر حسب ساعت، تحت عنوان دوره القا (Induction Period) بیان گردید (27). نتایج مربوط به دوره القا به وسیله فرمول زیر به فاکتور P_f تبدیل شدند:

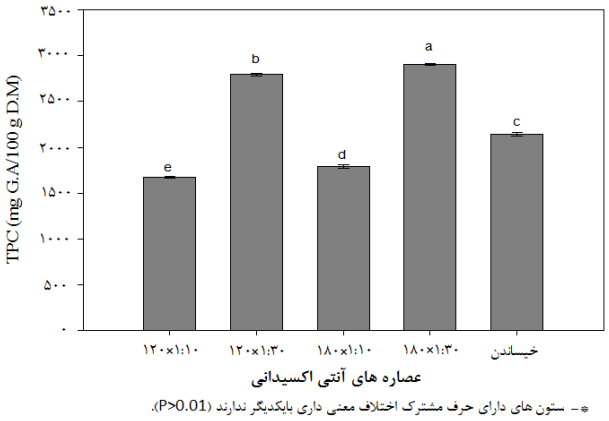
$$P_f = IP_{antioxidant} / IP_{control} \quad (2)$$

که در آن $IP_{antioxidant}$ و $IP_{control}$ به ترتیب دوره القا روغن حاوی آنتی‌اکسیدان و نمونه شاهد می‌باشد (28).

روش تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از جدول ANOVA در طرح کاملاً تصادفی و سطح معنی‌داری $P<0.01$ انجام شد. آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری LSD (Least Significant Difference) بین میانگین‌ها نیز انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام گردید.

• یافته‌ها

اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل: مقدار ترکیبات فنولی کل موجود در عصاره‌های استخراجی به وسیله معرف فولین سیوکاتو اندازه‌گیری گردید که میزان این ترکیبات در عصاره‌ها از 2848/21 – 1729/76 میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک (برحسب گالیک اسید) در تغییر بود. افزایش دما از 120 به 180 درجه سانتی‌گراد باعث افزایش TPC شد و همچنین افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 نیز اثر افزایشی بر میزان ترکیبات فنولی کل داشت (جدول 1). بررسی اثر متقابل دما و نسبت اختلاط استخراج در روش SCW بر مقدار ترکیبات فنولی کل، حاکی از این بود که بیشترین مقدار TPC به اثر متقابل دمای 180°C و نسبت اختلاط 1:30 مربوط بود. کمترین TPC در دمای 120°C و نسبت اختلاط 1:10 مشاهده شد. عصاره به دست آمده به روش خیساندن از مقدار ترکیبات فنولی نسبتاً مناسبی برخوردار بود (شکل 1).



* – ستون های دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری بایکدیگر ندارند (P>0.01).

شکل 1. مقادیر ترکیبات فنولی کل (TPC) در عصاره‌های تهیه شده از میوه زرشک با روش‌های SCW و خیساندن

جدول 1. اثر دما و نسبت اختلاط بر مقادیر ترکیبات فنولی کل (TPC)، EC_{50}، IC_{50}، P_f و راندمان عصاره‌گیری

	دما (°C)		نسبت اختلاط	
	120	180	1:10*	1:30**
مقدار ترکیبات فنولی کل (میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک بر حسب اسید گالیک)	2232/14[a]	2345/83[a]	1729/76[b]	2848/21[a]
EC_{50} (ppm)	303/25[b]	341/46[a]	306/63[b]	338/07[a]
IC_{50} (ppm)	2809/55[a]	2341/26[b]	2597/85[a]	2552/96[a]
P_f	0/94[b]	1/38[a]	1/22[a]	1/1[b]
راندمان عصاره گیری(%)	56/5[a]	52/83[b]	44/83[b]	64/5[a]

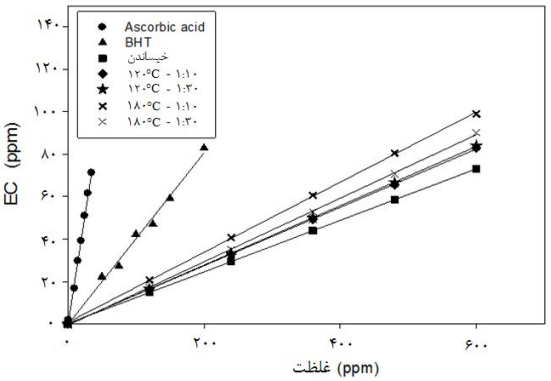
- اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری، در سطح 99% با یکدیگر ندارند.

*- یک واحد نمونه میوه زرشک و ده واحد آب مقطر.

**- یک واحد نمونه میوه زرشک و سی واحد آب مقطر

اندازه گیری قدرت احیاکنندگی: قدرت احیاکنندگی آهن توسط نمودارهای استاندارد ترسیم شده برای هر یک از آنتی‌اکسیدان‌های مرجع و همچنین عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی استخراج شده (شکل 2) و فاکتور EC50 اندازه‌گیری شد که در محدوده 282/08 تا 358/02 میکروگرم در میلی‌لیتر در تغییر بود. قدرت احیاکنندگی با افزایش دما از 120 به 180°C و همچنین با افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 کاهش یافت یا به عبارت دیگر غلظت EC50 افزایش یافت که این تغییرات در سطح α=0/01 معنی‌دار بود.

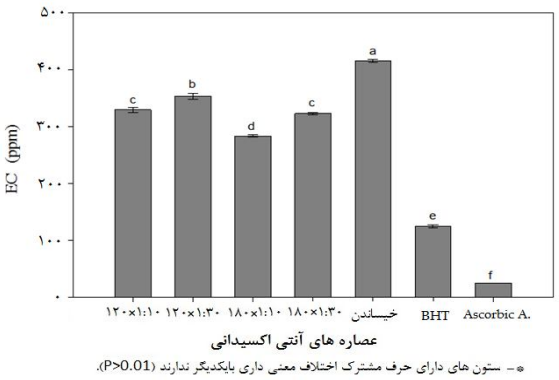
در نمودار شکل 3، قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی به دو ظرفیتی، به وسیله عصاره‌های استخراجی به دو روش SCW و خیساندن و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های BHT و اسکوربیک اسید، به ترتیب به عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی و طبیعی نشان داده شده است. عصاره حاصل از روش سنتی خیساندن کمترین قدرت احیاکنندگی را در میان عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌اکسیدان‌های مورد بررسی دارا بود.



شکل 2. نمودارهای استاندارد ترسیم شده برای عصاره‌های آنتی‌اکسیدنی تهیه شده از میوه زرشک با روش‌های SCW و خیساندن، اسید آسکوربیک و BHT

با توجه به شکل 2، در میان عصاره‌های به دست آمده از روش SCW، اثر متقابل دمای 180°C و نسبت اختلاط 1:10، با کاهش مقدار EC_{50} به حداقل خود، دارای بالاترین قدرت احیاکنندگی بود. کمترین مقدار EC_{50} در میان آنتی‌اکسیدان‌ها و عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی این مطالعه در حضور آنتی‌اکسیدان طبیعی اسید آسکوربیک مشاهده شد.

همچنین در مورد آنتی‌اکسیدان BHT، غلظت 124/6 ppm برای رسیدن به 50% احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی به دو ظرفیتی مورد نیاز بود.

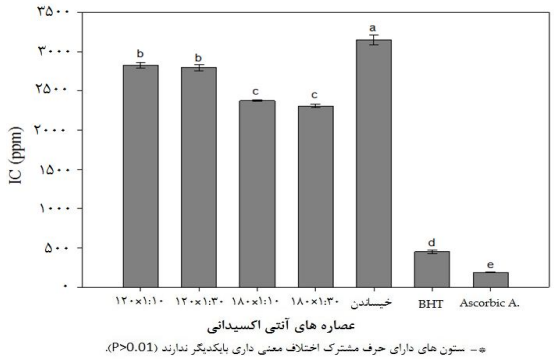


شکل 3. قدرت احیاکنندگی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی تهیه شده از میوه زرشک با روش‌های SCW و خیساندن، اسید آسکوربیک و BHT

بررسی قدرت رادیکال گیرندگی: قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های استخراجی به روش SCW با افزایش دما بصورت معنی داری کاهش یافت. کمترین قدرت رادیکال گیرندگی در عصاره به دست آمده از روش خیساندن مشاهده شد ($p<0/01$). افزایش و یا کاهش نسبت اختلاط اثر معنی‌داری بر قدرت رادیکال گیرندگی نداشت ($p>0/01$).

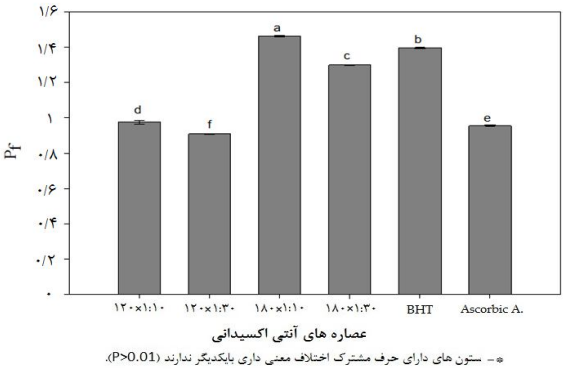
همانند تست احیاکنندگی، قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های به دست آمده به روش SCW، با قدرت رادیکال گیرندگی عصاره استخراجی در روش خیساندن، BHT و اسید آسکوربیک مقایسه شد.

بیشترین مقدار IC_{50} به عصاره آنتی‌اکسیدانی حاصل از روش خیساندن و کمترین مقدار آن به اسید آسکوربیک مربوط بود. در میان عصاره‌های حاصل از روش SCW، بیشترین قدرت رادیکال‌گیرندگی در دمای 180 درجه سانتی‌گراد و نسبت اختلاط 1:30 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با عصاره حاصل از دمای 180 درجه سانتی‌گراد و نسبت اختلاط 1:10 نداشت ($p>0/01$). شکل 3 نشان می‌دهد که کمترین قدرت رادیکال گیرندگی در دمای 120°C و نسبت اختلاط 1:10 به دست آمد (شکل 4).



شکل 4. قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی تهیه شده از میوه زرشک با روش‌های SCW و خیساندن، اسید آسکوربیک و BHT

بررسی میزان پایدارکنندگی محیط روغن خوراکی: نتایج نشان داد که با افزایش دمای استخراج، قدرت پایدارکنندگی عصاره‌های استخراجی در روش SCW افزایش معنی داری داشت ($p<0/01$) اما با افزایش نسبت اختلاط، قدرت پایدار کنندگی بصورت معنی داری کاهش یافت ($p<0/01$). از این رو در بررسی اثر متقابل دمای استخراج و نسبت اختلاط نمونه به حلال، در روش SCW مشاهده شد که عصاره‌های به دست آمده در دمای 120 درجه سانتی‌گراد و نسبت اختلاط 1:10 و 1:30، باعث کاهش پایداری روغن در دمای 110°C و جریان هوای 20 لیتر بر ساعت، در آزمون رنسیمت شدند اما عصاره‌های به دست آمده در دمای 180°C و نسبت اختلاط‌های 1:10 و 1:30 دارای قدرت پایدارکنندگی قابل توجهی بودند، بطوری که عصاره حاصل از دمای 180°C و نسبت اختلاط 1:10 بیشترین قدرت پایدارکنندگی و یا بالاترین مقدار فاکتور P_f را دارا بود و پس از آن BHT با P_f برابر با 1/397 قرار داشت (شکل 5).



شکل5. قدرت پایدارکنندگی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی تهیه شده از میوه زرشک با روش‌های SCW و خیساندن، BHT ویتامین E

راندمان استخراج: افزایش نسبت اختلاط به خاطر حضور مقدار بیشتری حلال در برابر ماده جامد یکسان، باعث افزایش راندمان استخراج شد. با افزایش دما از 120 به 180°C، راندمان استخراج بصورت معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین اثرگذاری در راندمان استخراج به متغیر نسبت اختلاط مربوط می‌شد به طوری که با تغییرات نسبت اختلاط، راندمان استخراج 19/7 واحد تغییر داشت در حالی که با تغییر دما، تنها 3/7 واحد در راندمان استخراج تغییر ایجاد شد.

• بحث

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین در سطح اطمینان آماری 99% نشان داد که مقدار ترکیبات فنولی به دست آمده از عصاره‌های SCW، در دمای 180°C بیشتر از دمای 120°Cبود اما اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($p>0/01$). در حالی که افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30 باعث افزایش مقدار ترکیبات فنولی به دست آمده از روش SCW شد که دلیل این امر، افزایش قدرت حلال در نسبت اختلاط‌های بالاتر می‌باشد (29).

در بررسی اثر متقابل دما و نسبت اختلاط استخراج به روش SCW بر مقدار ترکیبات فنولی کل، نتایج حاکی از این بود که بیشترین مقدار TPC به اثرمتقابل دمای 180°C و نسبت اختلاط 1:30 مربوط بود که به خاطر اثر توأم افزایش دما و نسبت اختلاط، در فرآیند استخراج ترکیبات فنولی بود (شکل 1). به این صورت که با افزایش دما قطبیت حلال کاهش یافته و بنابراین قدرت حلال در استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد (30). ازطرفی می‌توان گفت که افزایش مقدار ترکیبات فنولی کل، با افزایش دما تحت شرایط SCW، به اثر واکنش هیدرولیز که با افزایش ثابت یونیزاسیون آب (K_w) تحت شرایط SCW اتفاق می‌افتد، مربوط می‌شد (31) و با افزایش نسبت اختلاط قدرت حلال افزایش یافته و در نسبت اختلاط‌های بالاتر، با استخراج مقدار بیشتری از ترکیبات به نقطه اشباع می‌رسد. افزایش نسبت اختلاط باعث افزایش سرعت (Velosity) نفوذ حلال و در نتیجه منجر به انتقال جرم بیشتر می‌شود (29). مشکل عمده نسبت اختلاط‌های بالاتر افزایش حجم عصاره استخراج شده، کاهش غلظت عصاره و نهایتاً افزایش هزینه‌های تغلیظ و جدا سازی می‌باشد (32).

عصاره‌ای که به روش خیساندن به دست آمده بود از مقدار ترکیبات فنولی نسبتاً مناسبی در مقایسه با عصاره‌های

به دست آمده از آب مادون بحرانی، برخوردار بود. دلیل افزایش مقدار TPC در روش خیساندن، به زمان طولانی این روش نسبت داده می‌شود، زیرا فرایند استخراج به مدت 18 ساعت و بر روی همزن مغناطیسی انجام شد که همین زمان طولانی فرآیند، از نقاط ضعف روش‌های سنتی می‌باشد.

ترکیبات فنولی زرشک در سال 2013 که به روش خیساندن و با دستگاه سانتریفیوژ، طی دو مرحله استخراج شده بود، 323/3 mg در صد گرم نمونه محاسبه و گزارش گردید که زمان کوتاه این روش باعث کاهش استخراج ترکیبات فنولی شده است (33). در همان مطالعه بیشترین مقدار ترکیبات فنولی میوه زرشک مربوط به اسید گالیک گزارش گردید. در سال 2007 از روش خیساندن برای استخراج عصاره‌های گل میمونی به مدت 24 ساعت استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنولی 1800 میلی‌گرم اسیدگالیک به ازای صد گرم نمونه بود که کمتر از میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از زرشک به روش خیساندن و بسیار کمتر عصاره حاصل از اثر متقابل دمای 180°C و نسبت اختلاط 1:30 در این مطالعه بود (34). محمدی و همکاران نیز نشان دادند که با افزایش دما از 120 به 180°C، میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از میوه زرشک بی‌دانه به وسیله سیال مادون بحرانی آب، افزایش یافته است (35).

ترکیبات فنولی میوه درخت کاکابریا (*Terminalia chebula*)، که بومی مناطق جنوب شرقی آسیا از جمله هند و تایلند می‌باشد، به وسیله سیال آب مادون بحرانی، در مای 120 تا 220°C و فشار ثابت 40 – 50bar استخراج شدند و نتایج نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات فنولی بر حسب گالیک اسید در دمای 180°C استخراج شدند و با افزایش دما به 220°C، میزان ترکیبات فنولی استخراج شده کاهش یافت (36).

محققانی که در سال 2005 بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده از پوست انگور قرمز مطالعه نمودند به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان ترکیبات فنولی در دمای 140 درجه سانتی‌گراد به میزان 134mg گالیک اسید در صد گرم ماده خشک استخراج شده است. آن‌ها از روش خیساندن نیز برای عصاره‌گیری استفاده نمودند که میزان ترکیبات فنولی آن 68mg گالیک اسید در صد گرم ماده خشک به دست آمد (37).

آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به عنوان عوامل احیاکننده و غیر فعال‌کننده اکسیدان‌ها به کار روند. به این صورت که در یک واکنش اکسایشی- کاهشی، عوامل اکسیدکننده موجود در محیط به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها احیا شده و آنتی‌اکسیدان، اکسید می‌گردد (38).

با توجه به این که با افزایش دما قدرت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل از روش SCW کاهش یافته بود، می‌توان گفت افزایش دما از 120 به 180 درجه سانتی‌گراد باعث تخریب دمایی آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده در دماهای بالا و در نتیجه کاهش قدرت احیاکنندگی عصاره شده است (39). Yang و همکاران در سال 2008 گزارش کردند که قدرت احیاکنندگی BHT و عصاره فلاوونی مشتق شده از کوئرسیتین-3-رامنوسیل گلیکوزاید که یک ترکیب طبیعی موجود در گندم سیاه است، شبیه به یکدیگر بوده و قدرت احیاکنندگی همان عصاره فلاوونی، کمتر از قدرت احیاکنندگی آسکوربیک اسید بوده است (40).

بررسی شیب نمودارهای استاندارد ترسیم شده برای قدرت احیاکنندگی عصاره‌های استخراجی در روش SCW و خیساندن نیز نشان می‌دهد که عصاره به دست آمده به روش خیساندن طولانی مدت، دارای کمترین مقدار قدرت احیاکنندگی بود و نمودارهای تمامی عصاره‌های به دست آمده با استفاده از سیال مادون بحرانی آب دارای شیب بیشتری نسبت به عصاره روش خیساندن بوده و در نتیجه از قدرت احیاکنندگی بالاتری برخودار بودند (شکل 3). این تفاوت به نوع ترکیبات استخراج شده در روش آب مادون بحرانی مربوط می‌شود. از طرفی مدت زمان زیاد استخراج به روش خیساندن (18 ساعت) ممکن است باعث تخریب برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره استحصالی این روش شده باشد.

با توجه به اینکه در نسبت اختلاط‌های بالاتر حلال بیشتری در برابر مواد اولیه وجود دارد هنگامی که نسبت اختلاط افزایش می‌یابد راندمان کلی استخراج افزایش می‌یابد. این افزایش راندمان استخراج تنها مربوط به ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی نبوده و سایر ترکیبات که فاقد قدرت آنتی‌اکسیدانی هستند نیز استخراج می‌شوند. به همین خاطر با افزایش نسبت اختلاط، قدرت احیاکنندگی عصاره‌های استخراجی (به دلیل اثر ترکیبات ناخواسته استخراج شده بر قدرت احیاکنندگی) میزان این پارامتر کاهش یافت.

روش‌های توسعه یافته برای سنجش قدرت آنتی‌اکسیدان های غذایی، بر مکانیسم‌های مختلفی متمرکز شدند از جمله غیر فعال کردن اکسیژن‌های فعال، رادیکال‌های هیدروکسیل، جلوگیری از لیپید پراکسیداسیون و یا چلات کردن یون فلزات سنگین. معمولاً صرف نظر از مرحله واکنش های زنجیره‌ای اکسیداسیون، مهمترین فعالیت غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها، غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از لیپید پراکسیداسیون به وسیله واکنش‌های اکسایش-کاهش می‌باشد (41).

با توجه به جدول 1، قدرت رادیکال گیرندگی عصاره‌های به دست آمده از روش SCW با افزایش دما از 120 به 180°C و افزایش نسبت اختلاط از 1:10 به 1:30، کاهش یافت. همان طور که مشاهده می‌شود، نتایج تست رادیکال گیرندگی و احیاکنندگی عصاره‌های SCW مشابه یکدیگر می‌باشد. مشاهده چنین روندی در نتایج این دو آزمون را می‌توان به استخراج ترکیبات غیر موثر در قدرت احیاکنندگی و رادیکال گیرندگی، نسبت داد که افزایش نسبت اختلاط منجر به حصول این نتیجه گردیده است. دلیل این امر را به این صورت می‌توان توضیح داد که با افزایش نسبت اختلاط، قدرت حلال برای استخراج ترکیبات موجود در ماده اولیه افزایش می‌یابد که مقداری از این ترکیبات ممکن است دارای قدرت رادیکال گیرندگی و احیاکنندگی نباشند.

کاهش قدرت احیاکنندگی و رادیکال گیرندگی عصاره‌های حاصل از روش SCW، با افزایش دما را می‌توان به از هم گسیختگی دمایی ترکیبات فنولی استخراجی در دماهای بالا نسبت داد که به ترتیب باعث افزایش مقادیر EC_{50} و IC_{50} شده است. لازم به ذکر است که با توجه به نتایج آنالیز واریانس، علیرغم کاهش قدرت رادیکال‌گیرندگی با افزایش نسبت اختلاط، این افزایش در قدرت رادیکال گیرندگی معنی‌دار نبوده است ($p>0/01$).

محققان که برای استخراج عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی 27 گیاه داروئی از هموژنایزر دور بالای التراتوراکس استفاده نمودند، گزارش کردند که عصاره‌های استخراج شده از زرشک جزو عصاره‌هایی با بالاترین میزان قدرت چلات کنندگی و رادیکال گیرندگی بود. میزان گزارش شده برای قدرت رادیکال گیرندگی در مطالعه مذکور 1/458 میلی‌گرم عصاره به ازای یک میلی‌گرم رادیکال آزاد DPPH بود (42).

پس از محاسبه فاکتور P_f عصاره‌های استحصالی در مورد قدرت پایدارکنندگی روغن سویا (که روغنی بوگیری، رنگبری، تصفیه شده و فاقد آنتی‌اکسیدان بود) مشاهده شد که افزایش نسبت اختلاط باعث کاهش قدرت پایدارکنندگی گردید اما با افزایش دما از 120 به 180°C قدرت پایدارکنندگی محیط روغن سویا به وسیله عصاره‌های استخراجی افزایش یافت، دلیل این امر می‌تواند به اثرگذاری مثبت ترکیبات استخراج شده در روش SCW در دماهای بالا و از هم گسیختگی دمایی ترکیبات اولیه، بر قدرت پایدارکنندگی روغن مربوط باشد. با افزایش دما قطبیت حلال کاهش یافته و در نتیجه این تغییر، ترکیباتی با قطبیت پایین‌تر استخراج می‌شوند. از طرفی ترکیبات اولیه موجود در میوه زرشک بی‌دانه، در دماهای بالا دچار تغییرات ساختاری در اثر فرایند دمایی شده و در نهایت، این ترکیبات جدید باعث افزایش قدرت پایدارکنندگی عصاره‌ها می‌شوند.

آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده از ریشه گیاه داروئی *Lithospermum erythrorhizon* در پایداری حرارتی روغن خام استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان فاکتور P_f برای روغن حاوی غلظت 0/02 درصد از عصاره آنتی‌اکسیدانی، 1/36 بوده است (19). مقادیر متفاوتی برای زمان القا روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه فرهوش در سال 2007 و کوالسکی (Kowalski) و همکارانش در سال 2004 اشاره نمود که میزان پایداری اکسیداتیو روغن سویا فاقد آنتی‌اکسیدان را به ترتیب 8/25 و 10/2 ساعت اندازه‌گیری نمودند که به خاطر مواد اولیه متفاوت استفاده شده برای استخراج روغن، پایداری حرارتی متفاوتی مشاهده شد (44، 43).

قویدل و همکاران در سال 1390 نشان دادند که عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی متانولی زرشک که به روش التراسوند استخراج شده بودند باعث افزایش قدرت پایداری روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان، در دمای 120°C و شدت جریان هوای 20 لیتر بر ساعت گردید (20). اثر آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده از تفاله انگور بر پایداری حرارتی روغن سویا بررسی و گزارش شد که با اضافه نمودن 10% از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از تفاله انگور، میزان پایداری حرارتی روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان، 243/2% افزایش یافت (45).

بررسی اثر متقابل دما و نسبت اختلاط بر راندمان استخراج، در روش SCW و مقایسه آن با نتایج روش

خیساندن نشان داد که عصاره حاصل از روش خیساندن، با راندمان 70%، دارای بیشترین راندمان استخراج بود و در میان عصاره‌های SCW، عصاره به دست آمده در دمای 180°C با نسبت اختلاط 1:10 و عصاره حاصل از دمای 120°C و نسبت اختلاط 1:30، به ترتیب دارای کمترین و بیشترین راندمان استخراج بودند. مقایسه اطلاعات مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی استخراجی در دو روش سیال مادون بحرانی و روش سنتی خیساندن، با نتایج اندازه‌گیری راندمان استخراج، نشان داد که هرچند روش SCW دارای راندمان استخراج کمتری نسبت به روش سنتی خیساندن بود اما عصاره‌های به دست آمده در این روش، از خواص آنتی‌اکسیدانی بالاتری، از جمله قدرت احیاکنندگی و رادیکال گیرندگی بالاتر، برخوردار بودند.

نتایج این مطالعه نشان داد که روش استخراج توسط سیال مادون بحرانی آب، با توجه به زمان کوتاه استخراج (30 دقیقه)، در مقایسه با روش خیساندن طولانی مدت در آب (18 ساعت)، روشی کار آمد برای استخراج ترکیبات فنولی با بهترین خواص آنتی‌اکسیدانی، از جمله قابلیت احیاکنندگی و رادیکال گیرندگی مناسب می‌باشد.

این مطالعه نشان داد که قدرت احیاکنندگی و مقدار ترکیبات فنولی کل با یکدیگر رابطه مستقیم داشته و قدرت احیاکنندگی عصاره ها متناسب با تغییر مقدار ترکیبات فنولی کل تغییر نمود. علاوه بر این آنتی‌اکسیدان‌های استخراج شده در روش مادون بحرانی آب، دارای قدرت پایدارکنندگی روغن سویا بودند. همچنین می توان گفت که موثرترین عامل در استخراج ترکیبات فنولی از میوه زرشک بی‌دانه توسط سیال مادون بحرانی آب، متغیر نسبت اختلاط بود که بیشترین مقدار اثر گذاری را در مقدار ترکیبات فنولی کل داشت.

• References

1. Al-Dabbas MM, Suganuma T, Kitahara K, Xing Hou D, Fujii M. Cytotoxic, antioxidant and antibacterial activities of Varthemia iphionoides Boiss Extracts. J Ethnopharmacol 2006; 108: 287-93.
2. Pantelidis GE, Vasilakakis M, Manganaris GA, Diamantidis G. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. Food Chem 2006; 102: 777–83.
3. Musumeci R, Speciale A, Costanzo R, Annino A, Ragusa S, Rapisarda A, et al. Berberis aetnensis C. Presl. Extracts: antimicrobial properties and interaction with ciprofloxacin. Int J Antimicrob Ag 2003; 22: 48-53.
4. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. Pharmacological and Therapeutic Effects of Berberis vulgaris and its Active Constituent, Berberine. Phytother Res 2008; 22: 999–1012.
5. Balandari A, Rashed-Mohaseh MH, Kafi M, Karbasi AR, Marashi H, Maskooki AM. Berberis, production and processing. Mashhad: Ferdowsi University. Press: 2002. p. 44 [in Persian].
6. Min DB, and Smouse TH. Flavochemisy of fats and oils. Second Edition, Am Oil Chem Soc 1985. p. 14-15.
7. Maskooki AM. Comprehensive plan amendment study ,improvement and development of the processing technology and packaging barberry . Khorasan Research Institute for Food Science and Technology 2005. [in Persian].
8. Roudsari MH, Chang PR, Pegg RB, Tyler RT. Analytical Methods Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. Food Chem 2009; 114: 717-26.
9. Dun Lin S, Hui Liu E, Leun Mau J. Effect of different brewing methods on antioxidant properties of steaming green tea. LWT-Food Sci Technol 2008; 41: 1616-23.
10. Latawiec AE, Reid BJ. Sequential extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using subcritical water. Chemosphere 2010; 78:1042–1048.
11. Watchararuji K, Motonobu G, Sasaki M, Shotipruk A. Value-added subcritical water hydrolysate from rice bran and soybean meal. Bioresource Technol 2008; 99: 6207-13.
12. Adjé F, Lozano YF, Lozano P, Adima A, Chemat F, Gaydou EM. Optimization of anthocyanin, flavonol and phenolic acid extractions from Delonix regia tree flowers using ultrasound-assisted water extraction. Ind Crop Prod 2010; 32: 439-44.
13. Assis Jacques R, Freitas LD.S, Pe´rez VFP, Dariva C, Oliveira AP, Oliveira JV, et al. The use of ultrasound in the extraction of Ilex paraguariensis leaves: A comparison with maceration. Ultrason Sonochem 2007; 14: 6–12.

14. González-Manzano S, Rivas-Gonzalo JC, Santos-Buelga C. Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. Anal Chimacta 2004; 513: 283-89.

15. Landbo AK, Meyer AS. Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. Innov Food Sci Emerg 2004 5: 503-13.

16. Aspé E, Fernández K. The effect of different extraction technique esonextraction yield, totalphenolic, and anti-radicalcapacityofextra-ctsfrom Pinus radiata Bark. Ind Crop Prod 2007; 1–7.

17. Bountagkidou OG, Ordoudi SA,M, Tsimidou MZ. Structure–antioxidant activity relationship study of natural hydroxybenzaldehydes using in vitro assays. Food Res Int 2010; 43: 2014–19.

18. Arranz S, Cert R, Pérez-Jiménez J, Cert A, Saura-Calixto F. Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. Food Chem 2008; 110: 985–90.

19. Han J, Weng X, Bi K. Antioxidants from a Chinese medicinal herb – Lithospermum erythrorhizon. Food Chem 2008; 106: 1–10.

20. Ahmadzadeh-Ghavidel R, Ghiafeh-Davoodi M, Sheikh-Slami Z, Bahman-Abadi J. Antioxidant effect of methanolic extract of Barberry on soybean oil thermal stability. Secound National Confrence on Food Science and Technology: 2013 Feb. 20. Ghochan, Iran. [in Persian].

21. Yousefi R, Khodaian F, Rezaee K, Razavi H. Optimization of antioxidants extraction from red barberry (Berberris vulgaris) using response surface methodology. Secound National Confrence on Food Science and Technology: 2013 Feb. 20. Ghochan, Iran. [in Persian].

22. Mortazavi S A, Sharifi A, Eivaz M. Microencapsolation of barberry anthocyanin using spry dryer. 20th National Food Science and Industrial Congress: 2011 Dec. 1-3: Tehran, Iran. [in Persian].

23. Rezaee A, Khodaian F, Yousefi R, Rezaee K. Calculation of antioxidation and antiradical activity of barberry (Berberis vulgaris). 20th National Food Science and Industrial Congress: 2011 Dec. 1-3: Tehran, Iran. [in Persian].

24. Xu Q, Tao W, Ao Z. Antioxidant activity of vinegar melanoidins. Food Chem 2002; 102: 841–849.

25. Ingold KU. Inhibation of autoxidation. Adv Chem Ser 1968; 75: 296-305.

26. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berest C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss. Technol 1995; 28: 25-30.

27. Fregaa N, Mozzona M, Lerckerb G. Effects of Free Fatty Acids on Oxidative Stability of Vegetable Oil. JAOCS 1999; 76: 325-29.

28. Han J, Weng X, Bi K. Antioxidants from a Chinese medicinal herb – Lithospermum erythrorhizon. Food Chem 2010; 106: 2–10.

29. Cacace JE, Mazza G. Pressurized low polarity water extraction of lignans from whole flaxseed. J Food Eng 2006; 77: 1087–1095.

30. Budrat P, Shotipruk A. Enhanced recovery of phenolic compounds from bitter melon (Momordica charantia) by subcritical water extraction. Sep Purif Technol 2009; 66: 125-29.

31. Goto M, Sasaki M, Wahyudiono X. Chem Eng Process 2008; 47 (9–10): 1609-19.

32. Eikani MH, Golmohammad F, Rowshanzamir S. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (Coriandrum sativum L.). J Food Eng 2007; 80: 735-40.

33. Gundogdu M. Determination of Antioxidant Capacities and Biochemical Compounds of Berberis vulgaris L. Fruits. Adv Enviro Bio 2013; 7 (2): 344-48.

34. Sharafati-chaleshtori R, Sharafati-chaleshtori F, Sharafati-chaleshtori A, Ashrafi K. Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of *Scrophularia striata*. JSKUMS 2010; 11 (4): 32-37.

35. Mohamadi M, Maskooki AM, Mortazavi SA. Evaluation of stabilizing properties of soybean oil by antioxidandts extracted from seedless barbery fruits using subcritical water. 20th National Food Science and Industrial Congress: 2011 Dec. 1-3: Tehran, Iran. [in Persian].

36. Rangsriwong P, Rangkadilok N, Shotipruk A. Subcritical Water Extraction of Polyphenolic Compounds from *Terminalia chebula* Fruits. Chiang Mai J of Sci 2008; 35 (1): 103-108.

37. Ju ZY, Howard LR. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. J Food Sci 2005; 70 (4): 270-76.

38. Siddhuraju P. Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated Tamarindusindica seed coat. LWT-Food Sci Technol 2007; 40: 982-90.

39. Ibanez E, Kubatovoa A, Senorans FJ, Cavero S, Reglero G, Hawthorne SB. Subcritical Water Extraction of Antioxidant Compounds from Rosemary Plants. J Agric Food Chem 2003; 51: 375-82.

40. Yang J, Guoa J, Yuanb J. In vitro antioxidant properties of rutin. LWT-Food Sci Technol 2008; 41: 1060-66.

41. Qingping X, Wenyi T, Zonghua A. Antioxidant activity of vinegar melanoidi. Food Chem 2007; 102: 841-49.

42. Serteser A, Kargıolu m, Gök M, Bacı Y, Musa Özcan M, Arslan D. Antioxidant properties of some plants growing wild in Turkey. Grasas Aceites 2009; 60 (2): 147-54.

43. Farhoosh R. The effect of operational parameters of the rancimat method on the determination of the oxidative stability measures and shelf-life prediction of soybean oil. J Am Oil Chem Soc 2007; 84: 205–209.

44. Kowalski K, Ratusz K, Kowalska D, Bekas W. Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and *Rancimat* measurements. Eur J Lipid Sci Tech 2004; 106: 165-9.

45. Gámez-Meza N,Noriega-Rodríguez JA, Medina-Juárez LA, Ortega-García J, Cázarez-Casanova R, Angulo-Guerrero O. Antioxidant Activity in Soybean Oil of Extracts from Thompson Grape Bagasse. J J Am Oil Chem Soc 1999; 76 (12): 1445-47.

Stability and heat resistance of soybean oil with natural antioxidants from seedless barberries extracted using subcritical water

*Mohamadi M[*1], Maskooki AM[2], Mortazavi SA[3], Nahardani M[4], Pourfallah Z[4], Sadeghian AR[2]*

*1- *Ccorresponding author: Food Processing Department, Research Institute of Food Science & Technology (RIFST), Mashhad, Iran. E-mail: mohamadi2003@yahoo.com*

2- Food Processing Department, Research Institute of Food Science & Technology (RIFST), Mashhad, Iran

3- Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, University of Ferdowsi, Mashad, Iran

4- MSc in Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

Received 23 Jun, 2013 **Accepted 12 Oct, 2013**

Background and Objective: Scientists have recently focused attention on the properties of natural antioxidants on pathogens and free radicals and their application in the medical and food industries. The present study evaluated the antioxidant properties of the extract of seedless barberries, a popular fruit cultivated in Iran, extracted using subcritical water as a novel technology.

Materials and Methods: The phenolic compounds of the seedless barberry were extracted using subcritical water (SCW) at ratios of 1:10 to 1:30 at 50 bar constant pressure and temperatures of 120 and 180 °C. The total phenolic compounds (TPC) were measured using folin ciocalteu reagent and compared with those of maceration extracts. The thermal stability of the soybean oil and the antioxidant extracts was investigated using the Rancimat method at 110°C and 20 l/h air flow rate. Radical scavenging and Fe^{+3} reduction power of the extracts was measured to evaluate the antioxidant characteristics of the SCW extracts and they were then compared the results for ascorbic acid and BHT (300 ppm). The results were evaluated using a factorial design and LSD test at $\alpha = 0.01$ using SAS software.

Results: The TPC varied from 1729.76 to 2848.21 mg/100 g dry material (Gallic acid). The maximum extract yield was produced by the treatment at 120°C and a 1:10 ratio. The highest antioxidant power of soybean oil was observed at 180°C and a 1:10 ratio. The thermal resistance of the soybean oil with SCW extracts was very similar to that of soybean oil enriched with E vitamin as a natural antioxidant.

Conclusion: The extracts obtained by SCW had remarkable antioxidant properties and resistance to increased temperature and reinforced the stability of the soybean oil. Subject to further study, This combination can be recommended as a good alternative frying oil in the food industry.

Keywords: Natural antioxidant, Subcritical fluid, Seedless barberry, Resistance, Radical scavenging