

Investigation of Antioxidant Properties of Free and Bounded Phenol of Kiwifruit Peel Extract and Its Nanocapsules Properties

NAZILA MOBASSERI¹, REZA ESMAILZADEH KENARI^{2*}, RAZIE RAZAVI²

1. Food Science and Technology, Department of food science and technology, Khazar University, Mahmoodabad, Iran
2. Department of food science and technology, Faculty of agricultural engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

(Received: Oct. 5, 2019- Revised: Nov. 10, 2019- Accepted: Dec. 3, 2019)

ABSTRACT

Kiwifruit peel extract was extracted using ultrasound bath and probe at 50 and 80% intensities. The extract obtained using ultrasound probe at 80% intensity had the highest extraction efficiency (42.19%). Bath ultrasound (265.88 mg/g) and probe at 80% intensity (298.46 mg/g) had the least and highest amount of free phenolic compound, respectively. Bath ultrasound (265.88 mg/g) and probe at 80% intensity (298.46 mg/g) had the highest amount of free phenolic compound. Acid hydrolysis (55.79 to 63.83 mg / g) was more effective in separating the bounded phenols than alkaline hydrolysis (54.39 to 61.92 mg/g). The antioxidant activity of extracted phenols was measured at 100 to 800 mg/L of concentrations by using two free radical scavenging method (DPPH) and iron reduction assay. Increasing the concentration of phenolic compounds in both free and bounded phenols increased the rate of iron reduction and free radical scavenging of DPPH. The highest antioxidant activity was observed in bounded phenols. A concentration of 800 mg/L of each phenol was used to encapsulation with *Lepidium sativum* L. seed gum. The encapsulation efficiency of phenols was 51.96 to 82.36% and the highest efficiency was for phenol bounded sample and acid hydrolyzed ultrasound at 80% intensity. Zeta potential in all samples was negative and the particles were nanometer sized (less than 172.3 nm). The results of this study showed that *Lepidium sativum* L. seed gum is a good wall for encapsulation of free and bounded phenols of kiwifruit peel extract and the acid-bound phenolic samples using probe ultrasound at 80 and 50% intensities and also free phenol obtained with bath ultrasound can be used as antioxidant compounds in food products.

Keywords: Nanoencapsulation, Phenol, Ultrasound

بررسی خاصیت ضد اکسایشی فنول آزاد و باند شده عصاره پوست کیوی و خصوصیات نانوکپسول های آن

نازیلا مبصری^۱، رضا اسماعیل زاده کناری^{۲*}، راضیه رضوی^۲

۱. گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی دانشگاه خزر، محمودآباد، ایران

۲. گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری،

ایران

(تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۷/۱۳- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۸/۱۹- تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۹/۱۲)

چکیده

عصاره پوست کیوی با استفاده از فراصوت حمام و پروب در دو شدت ۵۰ و ۸۰ درصد استخراج شد. عصاره استخراج شده با استفاده از فراصوت پروب در شدت ۸۰ درصد بالاترین راندمان استخراج (۴۲/۱۹ درصد) را داشت. فراصوت حمام (۲۶۵/۸۸ mg/g) و پروب در شدت ۸۰ درصد (۲۹۸/۴۶ mg/g) به ترتیب کمترین و بیشترین میزان فنول آزاد را داشتند. هیدرولیز اسیدی (۵۵/۷۹ تا ۶۳/۸۳ mg/g) نسبت به هیدرولیز قلیایی (۵۴/۳۹ تا ۶۱/۹۲ mg/g) در جداسازی فنول‌های باند شده موثرتر عمل نمود. فعالیت ضد اکسایشی فنول‌های استخراجی در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۸۰۰ mg/L با استفاده از دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و احیا آهن اندازه گیری شد. با افزایش غلظت ترکیبات فنولی در هر دو نوع آزاد و باند شده میزان احیا آهن و مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت. بیشترین فعالیت ضد اکسایشی مربوط به فنول‌های باند شده بود. غلظت ۸۰۰ mg/L از هر نوع فنول برای نانوریزپوشانی با صمغ دانه شاهی استفاده شد. راندمان ریزپوشانی فنول‌ها ۵۱/۹۶ تا ۸۲/۳۶ درصد و بیشترین راندمان مربوط به نمونه فنول باند شده و هیدرولیز اسیدی فراصوت در شدت ۸۰ درصد بود. پتانسیل زتا در تمام نمونه‌ها منفی و ذرات اندازه نانومتری (کمتر از ۱۷۲/۳ نانومتر) داشتند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد صمغ دانه شاهی دیواره مناسبی برای ریزپوشانی فنول‌های آزاد و باند شده عصاره پوست کیوی است و نمونه‌های فنول باند شده اسیدی با استفاده از فراصوت پروب در شدت‌های ۸۰ و ۵۰ درصد و همچنین فنول آزاد حمام استخراجی می‌توانند به عنوان ترکیبات ضد اکسایشی در محصولات غذایی مورد استفاده قرار بگیرند.

واژه های کلیدی: نانوریزپوشانی، فنول، فراصوت

مقدمه

جهت جلوگیری از اکسایش مواد غذایی روش‌های مختلفی وجود دارد که از آن جمله می‌توان به غیر فعال کردن آنزیم‌های کاتالیز کننده اکسایش، اضافه کردن عوامل چنگالی کننده و یا استفاده از بسته‌بندی‌های مناسب اشاره نمود. روش دیگر به منظور جلوگیری از اکسایش اضافه کردن ضد اکسایش‌ها، خصوصاً ضد اکسایش‌های طبیعی به مواد غذایی می‌باشد؛ چراکه استفاده زیاد از ضد اکسایش‌های سنتزی به علت اثرات سمیت و سرطان زایی آن‌ها در مصرف کننده مورد انتقاد قرار گرفته است. ضد اکسایش‌های اضافه شده بایستی از محصولات غذایی محافظت نمایند. عصاره‌های استخراج شده از گیاهان و میوه‌ها مانند آویشن، رزماری، مریم گلی، مرزنجوش، پونه کوهی و ... منابع مهم ترکیبات ضد اکسایشی طبیعی هستند (Nieva-Echevarría et al., 2015; Oliveira et al., 2018; Generalić Mekinić et al., 2014). همچنین مشخص گردیده است که پوست میوه‌جات و سبزیجات مانند کیوی (Esmailzadeh Kenari et al., 2017)،

سیب زمینی (Mohdaly et al., 2010)، بادمجان (Razavi & Esmailzadeh Kenari et al., 2019)، پیاز (Esmailzadeh Kenari, 2016) دارای خصوصیات ضد اکسایشی بالایی می‌باشد. این خصوصیات ضد اکسایشی با حضور ترکیبات فنولی در عصاره این گیاهان که باعث افزایش عمر نگهداری مواد غذایی و جلوگیری از فساد آنها می‌شود؛ تخمین زده می‌شود (Kozłowska & Gruczyńska, 2018). کیوی با نام علمی *Actinia deliciosa* محصول باغی متعلق به خانواده *Actinidiaceae* می‌باشد. گیاهی دو پایه، نیمه گرمسیری و بالارونده با شاخه‌های ماشوره‌ای است (Abedi Gheshlaghi et al., 2018). میوه کیوی منبع غنی از ویتامین‌های C، E، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و مواد معدنی است. مطالعات گوناگون نشان داده است مقدار ترکیبات فنولیک در کیوی بالا می‌باشد و این ترکیب فنولیک می‌تواند منجر به ایجاد خصوصیات ضد اکسایشی در کیوی گردد. لذا پوست کیوی می‌تواند به عنوان یک منبع مناسب از ضد اکسایش‌های طبیعی مورد استفاده قرار

جداسازی فنول‌ها نیز بر میزان فعالیت ضد اکسایشی آنها تأثیر می‌گذارد لازم است تا روش‌های مختلف استخراج آن‌ها و فعالیت ضد اکسایشی آنها مورد بررسی قرار بگیرد (Kajdanzoska *et al.*, 2011). روش‌های مختلفی برای جداسازی ترکیبات فنولی باند شده گیاهان که محکم با پیوندهای استری و کووالانسی به ترکیبات سلولزی، پکتین و پلی ساکاریدها چسبیده‌اند وجود دارد. هیدرولیز اسیدی، آنزیمی و قلیایی مهمترین روش‌های استفاده شده جهت آزاد کردن ترکیبات فنولی باند شده در گیاهان هستند (Naczka & Shahidi, 1989; Cuevas Montilla *et al.*, 2011).

وارد کردن ترکیبات فنولی به صورت خالص به مواد غذایی دارای محدودیت‌هایی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به مواردی همچون آزاد شدن سریع ترکیبات فنولی، حلالیت پائین، نفوذ پائین، دسترسی پائین و تخریب سریع بوسیله ترکیبات محیطی اشاره نمود. برای غلبه بر مشکلات فوق لازم است تا ترکیبات فنولی با استفاده از روش‌های میکروانکپسولاسیون و نانوانکپسولاسیون ریزپوشانی شوند (Fang *et al.*, 2010; Munin & Edwards-Lévy, 2011). بعلاوه عصاره‌های گیاهی در صورتیکه ریزپوشانی شوند می‌توانند به سایر مواد خوراکی فرمولاسیون اضافه شوند که در این حالت تولید، استفاده، نگهداری و انتقال آنها به ماده غذایی راحت تر است (Sagalowicz *et al.*, 2010). امروزه توجه به پلیمرهای زیست تخریب پذیر خوراکی جهت ریزپوشانی ترکیبات فنولی افزایش یافته است. دلایل گرایش به این ترکیبات به دلیل سازگاری زیستی، سهولت آماده سازی، تنوع در ساختار و قیمت ارزان آنها می‌باشد (Esfanjani *et al.*, 2016). شاهی با نام علمی (*Lipidum sativum*) گیاهی یکساله است که به میزان زیادی در خاورمیانه و آمریکا رشد می‌کند. دانه‌های شاهی به سرعت آب را جذب می‌کنند و مقدار زیادی موسیلاژ صمغی با وزن مولکولی بالا تولید می‌کنند. قیمت ارزان و خصوصیات رئولوژیکی مناسب آن توانایی تشکیل ژل بالایی در صمغ دانه شاهی ایجاد نموده است (Karazhiyan *et al.*, 2009). پژوهش‌های متعددی در زمینه استفاده از صمغ‌های دانه‌ای جهت ریزپوشانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی انجام شده است که از آن جمله می‌توان به نانوریزپوشانی اسانس پوست پرتقال در صمغ دانه شاهی (Dehghan *et al.*, 2018)، اسانس دی-لیمون در صمغ قدومه شیرازی (Khoshakhlagh *et al.*, 2017)، آنتوسیانین‌های گلبرگ زعفران در صمغ عربی و صمغ دانه شاهی (Jafari *et al.*, 2016) اشاره نمود. اما تا کنون پژوهشی مبنی بر ریزپوشانی فنول آزاد و باند شده به صورت جداگانه و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها انجام نشده است و تمرکز اکثر مقالات بر روی ریزپوشانی عصاره

بگیرد (Esmaeilzadeh Kenari *et al.*, 2017).

امروزه از روش‌های متفاوتی از جمله حلالی، فراصوت، سیال فوق بحرانی، آب مادون بحرانی و میکروویو برای استخراج ترکیبات فنولی عصاره‌ها استفاده می‌شود. استخراج ترکیبات با هر یک از این روش‌ها مستلزم کنترل پارامترهایی از جمله نوع حلال، دما، زمان، نسبت نمونه به حلال است (Jun *et al.*, 2011). روش‌های قدیمی تر مانند استخراج با حلال به دلیل مصرف بالای حلال و زمان طولانی از نظر اقتصادی به صرفه نیستند و کیفیت عصاره بدست آمده از آن‌ها پائین است. لذا تمایل به استفاده از روش‌های نوین استخراج مانند استخراج به وسیله فراصوت افزایش یافته است (Huang *et al.*, 2009). استخراج ترکیبات فنولی چغندرقد (Chen *et al.*, 2015)، زیتون تازه (Deng *et al.*, 2017) هلو و کدو تنبل (Altemimi *et al.*, 2016)، پوست بادمجان (Ferarsa *et al.*, 2018)، سیوس برنج (Irakli *et al.*, 2018)، برگ و دانه تمشک (Wang *et al.*, 2019) و پوست انار (Kazemi *et al.*, 2016) به کمک فراصوت با موفقیت انجام شده است. دستگاه فراصوت به دو صورت حمام و پروب وجود دارد. تأثیرات مکانیکی امواج فراصوت باعث نفوذ بیشتر حلال به درون سلول‌ها می‌شود و انتقال جرم را بهبود می‌دهد. بنابراین تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم مؤثر، دو فاکتور اصلی هستند که باعث افزایش استخراج به کمک فراصوت می‌شوند (Huang *et al.*, 2009).

ترکیبات فنولی ممکن است با مهار رادیکال‌های آزاد به عنوان یک ضد اکسایش عمل نمایند. آن‌ها فعالیت ضد اکسایشی خود را زمانی که در غلظت بهینه استفاده شوند اعمال می‌نمایند و استفاده از مقادیر بالاتر آنها به علت اثرات پرو اکسایشی مجاز نمی‌باشد و لذا لازم است این ترکیبات قبل از اضافه شدن به محصولات غذایی از نظر میزان فعالیت ضد اکسایشی با روش‌های مختلف مورد سنجش قرار بگیرند (Su *et al.*, 2014; Liu, 2004). ترکیبات فنولی به دو شکل آزاد و باند شده در سلول‌های گیاهی وجود دارند و ترکیبات فنول آزاد قابل استخراج به وسیله حلال هستند. بر خلاف ترکیبات فنولی آزاد، انواع فنول باند شده با پیوندهای کووالانسی محکم به ماتریکس سلول گیاهی متصل است و قابل استخراج با حلالی‌های آلی یا آب نیست (Pérez-Jiménez *et al.*, 2011). آنچه تا کنون در مورد خصوصیات ضد اکسایشی ترکیبات فنولی عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفته است مرتبط با فنول آزاد بوده است و مطالعات بسیار کمی بر روی خصوصیات ضد اکسایشی فنول‌های باند شده گیاهان انجام شده است (Bhoopat *et al.*, 2011; Saxena *et al.*, 2011; Luximon-*et al.*, 2003). با توجه به اینکه بیش از ۵۰ درصد ترکیبات فنولی گیاهان به صورت باند شده هستند و روش‌های

متانول/سولفوریک اسید (۱۰:۹۰ حجمی/حجمی) درون ارلن مایر ریخته شد و به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر بهم زده شد. مخلوط با استفاده از سدیم هیدروکسید ۱۰ مولار خنثی شد. حلال‌های موجود در مخلوط حاصل در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد و بوسیله حلال اتانول:آب ۵۰ درصد بازسازی شد و جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولی مورد استفاده قرار گرفت (Bonoli et al., 2004).

هیدرولیز قلیایی: جهت انجام هیدرولیز قلیایی مطابق با روش Bonoli et al. (2004) عمل شد. تفاله گیاه حاصل از استخراج در سدیم هیدروکسید ۲ مولار ریخته شد و به مدت ۱۸ ساعت و در دمای اتاق بر روی شیکر بهم زده شد. سپس ترکیب با استفاده از هیدروکلریک اسید غلیظ خنثی شد و سپس ۶ بار با استفاده از اتیل استات شستشو داده شد. حلال‌های آلی در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تبخیر شدند و بوسیله حلال اتانول:آب ۵۰ درصد بازسازی شد و جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنولی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و خاصیت ضد اکسایشی

با استفاده از روش Mc Donald & Sun (2001) اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون گالیک اسید رسم شد و با قرار دادن مقدار جذب غلظت‌های مختلف فنول در معادله خطی مقدار فنل کل محاسبه و بر اساس میلی گرم گالیک اسید بر گرم بیان شد. برای ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی از روش مهار رادیکال آزاد DPPH و احیاء آهن (FRAP) مطابق روش Benzie & Strain (1996) با اندکی تغییر استفاده شد. ضد اکسایشی سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ ppm به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

نانوریزپوشانی ترکیبات فنولی آزاد و باند شده

صمغ دانه شاهی به عنوان ماده پوششی دیواره جهت نانوریزپوشانی انتخاب شد. دانه شاهی از عطاری در ساری خریداری شد و پس از تمیز کردن آن‌ها به روش دستی، دانه‌ها برای رسیدن به ماده جامد کل ۳۰ درصد، در آب دیونیزه مخلوط شد. از همزن مغناطیسی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط برای انحلال بهتر ترکیبات استفاده شد. محلول جهت تکمیل فرآیند جذب آب به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند. ترکیبات فنولی آزاد و باند شده به نسبت ۵:۱ به محلول اضافه و امولسیفایر توئین ۸۰ به میزان ۴ درصد به آن اضافه شد. سپس با استفاده از همگن‌ساز اولتراتوراکس (مدل T 10 basic ULTRA-TURRAX ساخت شرکت IKA آلمان) با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm در ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه هموژن می‌شود. سپس برای کاهش بیشتر اندازه ذرات از دستگاه مولد فراصوت نوع پروپی (مدل E

کل گیاه یا ترکیبات پلی فنولی کل بوده است نه منحصراً فنول - های آزاد یا باند شده. لذا این مطالعه با هدف بررسی تاثیر روش - های مختلف استخراج بر میزان ترکیبات فنولی آزاد و باند شده عصاره پوست کیوی و بررسی خصوصیات نانوکپسول‌های فنول آزاد و باند شده ریزپوشانی شده آن انجام شد.

مواد و روش‌ها

استخراج عصاره پوست کیوی و اندازه‌گیری راندمان استخراج

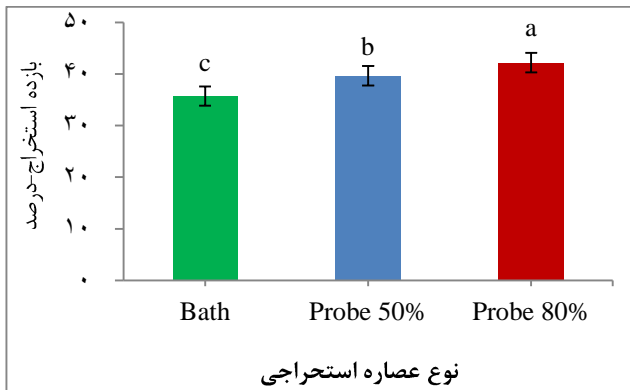
پوست کیوی‌ها (رقم هیوارد) به روش دستی جدا شد و سپس در آون تخت خلا (مدل EV 018، ساخت شرکت NUVE ترکیه) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. استخراج عصاره پوست کیوی مطابق با روش Esmailzadeh Kenari et al. (2014) انجام شد. پودر خشک و آسیاب شده پوست کیوی به منظور یکنواختی در اندازه ذرات از الک عبور داده شد (Esmailzadeh Kenari et al., 2017). ۱۰ گرم نمونه خرد شده پوست کیوی در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری با نسبت ۱ به ۱۰ (۲۰ گرم پودر گیاه و ۲۰۰ میلی لیتر حلال) با حلال اتانول:آب (۵۰:۵۰) مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از حمام فراصوت با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و توان ۲۸۰ وات (مدل PARSONIC 2600، شرکت پارس نهاد، ایران) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. همچنین از فراصوت نوع پروپی در فرکانس ۲۰ کیلوهرتز و توان ۲۵۰ وات (مدل E Series ساخت شرکت Scientz کشور China) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه و در دو دامنه نوسان ۵۰ و ۸۰ درصد استفاده شد (Esmailzadeh Kenari et al., 2014). پس از استخراج نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی - گراد سانتریفوژ شد و سوپرناتانت حاصله برای اندازه‌گیری فنول آزاد مورد استفاده قرار گرفت (Irakli et al., 2018). عصاره‌ها با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شدند و با استفاده از روتاری اوپراتور (مدل Strike 300 ساخت شرکت MedicalExpo ژاپن) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۵۰ میلی متر جیوه حلال پرانی انجام شد. سپس جهت خشک کردن تکمیلی نمونه‌ها در آون با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. از تقسیم وزن عصاره خشک شده به وزن گیاه اولیه بدست آمد و بر حسب درصد اعلام شد (Esmailzadeh Kenari et al., 2014).

استخراج ترکیبات فنولی باند شده عصاره

بعد از جداسازی سوپرناتانت در بخش قبل، باقیمانده آن برای مرحله هیدرولیز قلیایی و اسیدی مورد استفاده قرار گرفت.

هیدرولیز اسیدی: بدین منظور تفاله باقیمانده از سانتریفوژ در مرحله قبل با ۱۲۰ میلی لیتر محلول

است. عصاره پوست کیوی استخراج شده با استفاده از پروب در شدت ۸۰ درصد، عصاره پوست کیوی استخراج شده با استفاده از پروب در شدت ۵۰ درصد و عصاره پوست کیوی استخراج شده با استفاده از حمام فراصوت به ترتیب بازده معادل $42/19 \pm 1/5$ ، 2 ± 3 و $39/65 \pm 1/71$ درصد داشتند. مشاهده می‌شود که نوع روش استخراج بر بازده استخراج موثر بوده است. کمترین بازده استخراج مربوط به فراصوت حمام و بیشترین بازده استخراج مربوط به فراصوت پروب در شدت ۸۰ درصد بوده است. با افزایش شدت فراصوت بازده استخراج عصاره پوست کیوی افزایش یافته است. Wang *et al.* (2019) نشان دادند نوع ترکیبات فنولی باند شده و آزاد استخراج شده بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ و دانه تمشک تاثیر دارد. لذا می‌توان ادعا نمود بازده استخراج شاخص مناسبی جهت اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی فنول-های آزاد و باند شده نمی‌باشد.



شکل ۱- بازده استخراج عصاره پوست کیوی

اندازه گیری ترکیبات فنولی

ترکیبات فنولی و مشتقات آنها بطور گسترده ای در گیاهان توزیع شده‌اند. برخی از ترکیبات فنولی به ترکیبات دیواره سلولی مانند آرابینوزایلان ها و پروتئین‌ها متصل شده‌اند. ترکیبات فنولی به دلیل خاصیت ضد اکسایشی و همچنین قابلیت اهدا هیدروژن یا الکترون و تشکیل رادیکال‌های واسطه پایدار که از اکسایش چربی جلوگیری می‌کنند؛ شناخته شده هستند (Subba & Muralikrishna, 2002). نتایج مربوط به میزان ترکیبات فنولی آزاد و باند شده و همچنین فنول کل عصاره ها در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود کمترین مقادیر فنول آزاد و باند شده و همچنین فنول کل در نمونه‌های استخراج شده با استفاده از حمام فراصوت و بیشترین مقادیر فنول آزاد و باند شده و همچنین فنول کل در نمونه‌های استخراج شده با استفاده از فراصوت نوع پروبی در شدت ۸۰ درصد بدست آمد. به عبارتی نوع روش استخراج عصاره پوست کیوی بر میزان ترکیبات فنولی کل عصاره، ترکیبات فنولی آزاد و باند شده موثر

Series ساخت شرکت Scientz کشور China) با تعداد ۶ سیکل، زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه، زمان استراحت ۱۵ ثانیه، دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد بین سیکل‌ها استفاده شد (Carneiro *et al.*, 2013). برای خشک کردن نانوریزپوشانی‌ها از روش خشک کردن انجمادی در فشار ۰/۰۱۷ میلی‌پاسکال در دمای ۵۷- درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد (Chranioti *et al.*, 2015).

اندازه‌گیری خصوصیات نانوکپسول‌ها

اندازه گیری اندازه ذرات نانوکپسول و پتانسیل زتا نانوکپسول‌ها با کمک دستگاه انکسار نور لیزر (مدل Zetasizer nano zs، شرکت Malvern، کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد (Joye *et al.*, 2015). راندمان ریزپوشانی پلی‌فنول‌ها مطابق روش توضیح داده شده توسط Jivan *et al.* (2014) تعیین شد. به منظور تصویربرداری از دستگاه SEM (ساخت شرکت Hitachi کشور Japan) استفاده شد. ولتاژ دستگاه ۳۰ کیلو ولت با برزگنمایی ۲۰۰۰ برابر بود و با استفاده از نیروی اتمی ساختار مورد بررسی قرار گرفت. نمونه با لایه ای از طلا پوشانده شد (Joye *et al.*, 2015). جدول ۱ کدگذاری تیمارهای مورد بررسی در پژوهش را نشان می‌دهد.

جدول ۱- کدگذاری تیمارهای مورد بررسی در پژوهش

کد نمونه	نوع فراصوت	شدت فنول	نوع فنول باند شده	روش استخراج فنول باند شده
BF	حمام	-	آزاد	-
BBA	حمام	-	باند شده	اسیدی
BBB	حمام	-	باند شده	قلیایی
P50F	پروب	۵۰٪	آزاد	-
P50BA	پروب	۵۰٪	باند شده	اسیدی
950BB	پروب	۵۰٪	باند شده	قلیایی
P80F	پروب	۸۰٪	آزاد	-
P80BA	پروب	۸۰٪	باند شده	اسیدی
980BB	پروب	۸۰٪	باند شده	قلیایی

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های بدست آمده از این پژوهش با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب دانکن با یکدیگر مقایسه شدند. بدین منظور از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. نرم افزار آماری مورد استفاده SPSS نسخه ۲۰ بود و رسم نمودارها با نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۵ انجام شد.

نتایج و بحث

اندازه گیری بازده استخراج عصاره

نتایج مربوط به بازده استخراج عصاره در شکل ۱ نشان داده شده

آزاد بخش زیادی از ترکیبات فنولی را تشکیل می‌دهند که میزان آنها بستگی زیادی به روش استخراج دارد. مثلاً در یک پژوهش نسبت ترکیبات فنولی آزاد به کل ترکیبات فنولی بین ۱۵ تا ۳۸ درصد گزارش نمودند که نشان دهنده کمتر بودن میزان ترکیبات فنولی است (Ti et al., 2014). بنابراین برای حصول حداکثری ترکیبات فنولی لازم است تا بهترین روش استخراج انتخاب شود. Nardini & Ghiselli (2004) ترکیبات فنولی در نمونه‌های جو را اندازه‌گیری کردند و مشخص گردید مقدار ترکیبات فنولی در حالت هیدرولیز شده در شرایطی قلیایی نسبت به نمونه‌های هیدرولیز شده در حالت اسیدی افزایش یافته است که نشان می‌دهد روش هیدرولیز قلیایی در جداسازی فنول‌های باند شده و افزایش فنول کل موثر عمل کرده است در حالیکه Wang et al. (2019) نشان دادند هیدرولیز اسیدی در مقایسه با هیدرولیز قلیایی و آنزیمی روش مناسبتری جهت جداسازی ترکیبات فنولی باند شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

Subba & Muralikrishna (2002) نیز بررسی تاثیر فرآیند مالت سازی بر فنول‌های آزاد و باند شده ارزن را مورد بررسی قرار دادند و مشخص گردید فنول‌ها دارای فعالیت ضداکسایشی هستند مقدار فنول‌های آزاد بسیار بیشتر از فنول‌های باند شده بود (Subba & Muralikrishna, 2002) که در این پژوهش نیز مقدار فنول‌های آزاد بالاتر از فنول‌های باند شده بود. Waterhouse et al. (2014) مقدار ترکیبات فنولی در پوست و پالپ میوه کیوی را بررسی نمودند که میزان ترکیبات فنولی در پوست کیوی برای نمونه‌های مختلف بین ۰/۵۵ تا ۱/۵۴ میلی گرم کاتچین بر گرم عصاره بدست آمد که دلیل اختلاف بیشتر توضیح داده شد.

بوده است و اختلاف از نظر آماری معنی دار ($p < 0.05$) است. شدت فراصوت بر میزان ترکیبات فنولی موثر بود و منجر به افزایش ترکیبات فنولی گردید اما اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. Sukor et al. (2018) نشان دادند که نوع روش استخراج بر بازده ترکیبات فنولی استخراج شده موثر است و میزان ترکیبات فنولی در روش استخراج با پروب فراصوت بالاتر از روش متداول است که در این پژوهش نیز بالاترین مقدار ترکیبات فنولی از روش استخراج نوع پروبی بدست آمد (Sukor et al., 2018). پژوهشگران دیگر مقدار ترکیبات فنولی کل در عصاره پوست کیوی را $320 \pm 342/12$ mg GA/g E (Pourshayegan et al., 2019)، $5/89$ mg GA/g E (Alikhani Faradonbeh et al., 2019)، و $4/8$ میلی گرم بر گرم وزن خشک (Afsharnezhad et al., 2017)، $78/60$ میلی گرم بر گرم (Esmailzadeh Kenari et al., 2017) گزارش نمودند. دلیل اختلاف جزئی بین مقادیر بدست آمده در پژوهش‌های مختلف میتواند مرتبط با شرایط استخراج از نظر زمان، دما، نوع حلال و نوع روش و دستگاه مورد استفاده باشد. عوامل ژنتیکی و محیطی نقش مهمی در نوع و محتوای فنولی ترکیبات مختلف بازی می‌کنند. همچنین شرایط آب و هوایی و منطقه کشت گیاه بر میزان ترکیبات فنولی گیاه موثر است.

Ti et al. (2014) بررسی ترکیبات فنولی آزاد و باند شده در سبوس واریته‌های مختلف برنج را انجام دادند و میزان ترکیبات فنولی آزاد بسیار بیشتر از ترکیبات فنولی باند شده بود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است. بطور عمده فنول‌های باند شده پیوندهای کوالانتهی دارند که به دیواره‌های سلولی متصل هستند آنها به طور عادی توسط اسید معده هضم نمی‌شوند و ترکیبات فنولی خود را درون روده آزاد می‌کنند. بطور کلی ترکیبات فنولی

جدول ۲- ترکیبات فنولی آزاد و باندشده و فنول کل عصاره ها (میلی گرم بر گرم عصاره)

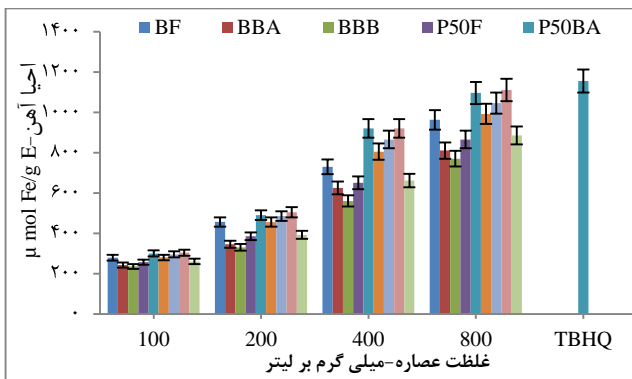
نوع عصاره	فنول آزاد	فنول باند شده اسیدی	فنول باند شده قلیایی	فنول کل عصاره
Bath	$265/88 \pm 2/8^c$	$55/79 \pm 2/2^c$	$54/39 \pm 2/7^b$	$319/77 \pm 4/0^c$
Probe 50%	$286/60 \pm 4/1^{ab}$	$60/36 \pm 3/0^{ab}$	$58/14 \pm 3/1^{ab}$	$344/19 \pm 3/8^b$
Probe 80%	$298/46 \pm 3/6^a$	$63/83 \pm 2/6^a$	$61/92 \pm 3/7^a$	$361/56 \pm 3/4^a$

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح ۰/۰۵ است.

بررسی افزایشی است و اختلاف غلظت‌های مختلف عصاره در میزان مهار رادیکال آزاد DPPH از نظر آماری معنی دار است. بیشترین فعالیت ضداکسایشی مربوط به نمونه باند شده اسیدی استخراج شده با استفاده از فراصوت پروب در شدت ۸۰ و سپس ۵۰ درصد بود. اگرچه فعالیت ضداکسایشی در دو نمونه فنول آزاد فراصوت پروب باهم اختلاف معنی دار آماری نداشت اما با نمونه

اندازه گیری فعالیت ضداکسایشی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH نتایج مربوط به فعالیت ضداکسایشی نمونه‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که روند تغییرات خاصیت ضداکسایشی که به صورت درصدی از مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه‌ها نشان داده شده است؛ در تمام نمونه‌های مورد

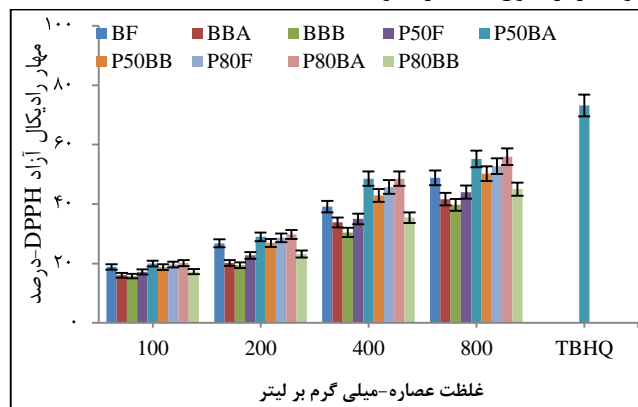
گفت به دلیل اختلاف در ماهیت مواد مورد استفاده است که در آنجا از سبوس برنج و در اینجا از پوست کیوی استفاده شد.



شکل ۳- خاصیت ضد اکسایشی احیا آهن

فعالیت ضد اکسایشی در نمونه‌های مختلف فنول آزاد و باند شده بستگی بسیار زیادی به نوع ترکیب فنولی، آزاد یا باند شده بودن آن و نوع ماده ای که ترکیب فنولی از آن استخراج شده است بستگی دارد. در پژوهشی *Ti et al.* (2014) نشان دادند که فنول‌های آزاد نسبت به فنول‌های باند شده در سبوس دارای فعالیت ضد اکسایشی بالاتری داشتند که در مورد فنول آزاد و باند شده در روش استخراج با حمام مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که فعالیت ضد اکسایشی در بخش‌های اندوسپرم برنج در نمونه‌های باند شده بیشتر از نمونه‌های آزاد است که در مورد نمونه‌های استخراج شده از روش هیدرولیز اسیدی و فراصوت مطابقت دارد (*Ti et al.*, 2014). در یک پژوهش فعالیت ضد اکسایشی فنول‌های آزاد در ارزن بالاتر از فنول باند شده بود (*Subba & Muralikrishna*, 2002). *Peng et al.* (2018) فعالیت ضد اکسایشی فنول‌های آزاد و باند شده دانه و سبوس برنج را اندازه‌گیری نمودند و مشخص گردید فنول‌های باند شده به علت مقادیر بیشتری که دارند فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به فنول‌های آزاد داشتند لذا میزان فعالیت ضد اکسایشی در هر دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS بستگی به غلظت ترکیبات فنولی دارد. خصوصیات ضد اکسایشی فنول آزاد و باند شده در عصاره آرد باک ویت که با استفاده از حلال‌های مختلف استخراج شده بود در فنول آزاد کمتر از فنول باند شده بود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است (*Inglett et al.*, 2011). *Nara et al.* (2006) فعالیت ضد اکسایشی فنول‌های باند شده و آزاد در پوست سیب زمینی را مورد بررسی قرار دادند و همبستگی بسیار قوی بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت ضد اکسایشی مشاهده شد. از نظر قدرت ضد اکسایشی فنول‌های باند شده قوی تر از فنول‌های آزاد بودند. *Su et al.* (2014) ارزیابی فعالیت آنتی

فنول آزاد حمام فراصوت اختلاف معنی دار آماری داشت. کمترین فعالیت ضد اکسایشی مربوط به فنول باند شده قلیایی در روش استخراج با حمام بود. *Subba & Muralikrishna* (2002) فعالیت ضد اکسایشی فنول‌های آزاد و باند شده در دانه ارزن را مورد بررسی قرار دادند و مشخص گردید فنول‌های مختلف دارای فعالیت ضد اکسایشی مختلفی در قیاس با ضد اکسایش‌های سنتزی BHT و BHA بود. بنظر می‌رسد در فنول‌های استخراجی توسط روش فراصوت پروپ و هیدرولیز قلیایی فنول‌های پایدارتر استخراج شده‌اند که رادیکال‌های پایدار تشکیل می‌دهند. *Nara et al.* (2006) فعالیت آنتی اکسیدانی فنول‌های باند شده و آزاد در پوست سیب زمینی را مورد بررسی قرار دادند و از روش مهار رادیکال آزاد DPPH برای این منظور استفاده نمودند. همبستگی بسیار قوی بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد. از نظر قدرت آنتی اکسیدانی فنول‌های باند شده قوی تر از فنول‌های آزاد بودند.



شکل ۴- خاصیت ضد اکسایشی مهار رادیکال آزاد DPPH

اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی به روش احیا آهن FRAP

نتایج مربوط به فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌های مختلف بصورت نرخی از احیا آهن در شکل ۳ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود غلظت عصاره بر فعالیت ضد اکسایشی آن موثر بوده است و با افزایش غلظت عصاره فعالیت ضد اکسایشی افزایش یافته است و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شده است. بیشترین فعالیت ضد اکسایشی مربوط به ضد اکسایش سنتزی TBHQ و در بین عصاره‌ها نیز عصاره فنول باند شده اسیدی فراصوت در شدت ۸۰ و سپس ۵۰ درصد بالاترین فعالیت ضد اکسایشی را نشان دادند. بطور کلی مشاهده می‌شود فعالیت ضد اکسایشی در فنول‌های باند شده به روش استخراج با استفاده از اسید بالاتر از فعالیت ضد اکسایشی فنول‌های باند شده به روش استخراج با استفاده از قلیا می‌باشد. *Ti et al.* (2014) استخراج قلیایی فنول‌های باند شده را موثرتر از استخراج اسیدی فنول باند شده در نمونه‌های سبوس برنج دانستند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد که می‌توان

شاخص پراکندگی ذرات در جدول ۳ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که از نظر راندمان ریزپوشانی نمونه‌های نانوریزپوشانی شده با فنول باندشده نسبت به نمونه‌های ریزپوشانی شده با فنول آزاد دارای راندمان ریزپوشانی بالاتری بودند. یکی از مهمترین ویژگی‌های ترکیبات پودری و انکپسوله شده، اندازه و توزیع ذرات است. بین اندازه ذرات و راندمان ریزپوشانی فنول‌ها رابطه مستقیمی مشاهده شد بطوریکه با افزایش اندازه نانوکپسول‌ها راندمان ریزپوشانی کاهش یافت و اختلاف معنی دار آماری مشاهده شد. اندازه نمونه‌های فنول نانوریزپوشانی شده از ۱۴۶/۵ تا ۱۷۲/۳ نانومتر متغیر بود. تمام نمونه‌ها اندازه کمتر از ۲۰۰ نانومتر داشتند. اندازه نانوکپسول‌ها در فنول باند شده کمتر از فنول آزاد بود.

اکسیدانی فنولی آزاد و باند شده میوه لیچی را بر اساس سیستم-های ORAC^۲ و CCA^۲ انجام شد. نتایج آنها نشان داد حلال استون بیشترین میزان ترکیبات فنولی را داشته است و بعد از آن اتانول و اتیل استات ترکیبات فنولی بالایی داشتند. روش هیدرولیز اسیدی بسیاری از ترکیبات فنولی باند شده را آزاد نمود و مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی در این روش نسبت به روش هیدرولیز قلیایی بدست آمد. فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی در روش هیدرولیز اسیدی بالاتر از هیدرولیز قلیایی بود که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است. غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر از هر نوع ترکیب فنولی به دلیل دارا بودن فعالیت ضداکسایشی بالاتر برای نانوریزپوشانی مورد استفاده قرار گرفت.

ترکیبات فنولی آزاد و باند شده نانوریزپوشانی شده

نتایج مربوط به راندمان ریزپوشانی، اندازه ذرات، پتانسیل زتا و

جدول ۳- راندمان ریزپوشانی، اندازه ذرات، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی ذرات

شاخص پراکندگی	پتانسیل زتا	اندازه ذرات	راندمان ریزپوشانی (%)	نوع عصاره
(PDI)	(mv)	(nm)		
۰/۳۸۳ ^a	-۱۸/۷۴ ^d	۱۴۶/۵ ^f	۵۱/۱±۹۶/۸ ^f	BF
۰/۳۵۲ ^{cd}	-۱۱/۴۳ ^a	۱۵۵/۴ ^d	۷۰/۴±۶۵/۰ ^d	BBA
۰/۳۶۵ ^{bc}	-۱۱/۰۸ ^a	۱۵۲/۳ ^{de}	۶۷/۲±۰۲/۷ ^{de}	BBB
۰/۳۷۹ ^a	-۱۹/۴۳ ^c	۱۵۰/۱ ^e	۶۴/۲±۳۲/۱ ^e	P50F
۰/۳۲۸ ^f	-۱۴/۱۲ ^c	۱۶۹/۷ ^{ab}	۷۹/۳±۴۲/۶ ^{ab}	P50BA
۰/۳۵۴ ^{cd}	-۱۲/۷۲ ^b	۱۵۹/۱ ^c	۷۴/۳±۵۵/۷ ^c	P50BB
۰/۳۷۱ ^{ab}	-۱۹/۸۱ ^e	۱۵۰/۸ ^e	۶۵/۳±۵۱/۳ ^e	P80F
۰/۳۲۰ ^g	-۱۴/۷۳ ^c	۱۷۲/۳ ^a	۸۲/۲±۳۶/۳ ^a	P80BA
۰/۳۴۲ ^{de}	-۱۲/۵۵ ^b	۱۶۳/۹ ^b	۷۷/۴±۱۵/۱ ^b	P80BB

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری در سطح ۰/۰۵ است.

قرار داشتند. با توجه به اینکه پتانسیل زتا تنها بار سطحی نانوکپسول‌ها را نشان می‌دهد و اطلاعات دقیق وابسته به اندازه ذرات و توزیع آنها در اختیار نمی‌گذارد، لذا اندازه گیری این پارامتر ضروری است.

تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی (SEM)

بررسی میکروسکوپی فنول‌های نانوریزپوشانی شده بسیار مهم است چراکه بایستی اطمینان حاصل شود که فنول‌ها در ماتریکس دیواره قرار گرفته است. تصاویر مورفولوژی مربوط به فنول آزاد و باند شده نانوریزپوشانی شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی در شکل ۴ نشان داده شده است. تصاویر آ و ب به ترتیب مربوط به عصاره‌های استخراج شده با حمام فراصوت در شدت ۸۰ درصد است. شکل ۴-آ نانوریزپوشینه فنول باند شده استخراج شده به

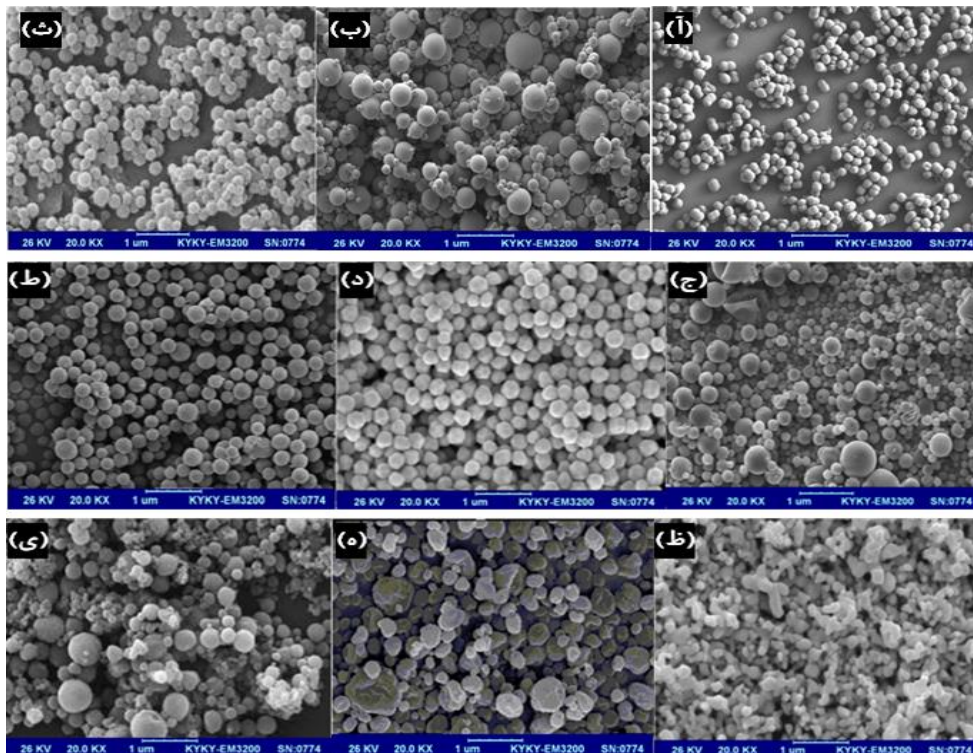
اندازه ذرات در مورد امولسیون‌ها پارامتر بسیار مهمی است. پتانسیل زتا یک پارامتر مهم برای بررسی بار الکتریکی سطحی نانوکپسول‌ها می باشد. پتانسیل زتا در تمام نمونه‌ها در محدوده ۰ تا ۳۰- میلی ولت قرار داشت که نشان دهنده ناپایدار بودن نانوکپسول‌ها می‌باشد. Delfanian *et al.* (2018) پتانسیل زتا برای نمونه‌های فنول محصور در صمغ دانه ریحان و ماکرومولکول‌های دیگر را منفی اعلام نمودند. در یک پژوهش Taheri & Razavi (2015) اندازه‌گیری پتانسیل زتا در نانوذرات تهیه شده از صمغ دانه شاهی را انجام و پتانسیل زتا در نمونه‌های مختلف را در محدوده ۲۵- تا ۳۷- میلی ولت اعلام نمودند. پتانسیل زتا بر روی میزان تجمع و بهم پیوستن نانوذرات تاثیر دارد و نقش مهمی بر روی پایداری آن‌ها دارد (Rydström Lundin, 2012). نمونه‌ها همچنین از نظر شاخص پراکندگی نمونه‌ها در محدوده مناسب

بدون تجمع و اندازه‌های یکسان داشتند. بعبارت دیگر در فنول-های باند شده استخراج شده به روش اسیدی (شکل ۴-د) و قلیایی (شکل ۴-ط) اختلاف فاحشی در ساختار نانوریزپوشینه‌ها مشاهده نشد. شکل‌های ۴-ظ، ۴-ه و ۴-ی تصاویر نانوریزپوشینه-های فنول‌های آزاد استخراج شده با ۳ روش استخراج با حمام فراصوت و فراصوت نوع پروب در دو شدت ۸۰ و ۵۰ درصد را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود نانوریزپوشینه‌های حاصل دارای ساختاری ناهمگون و اساساً غیرهمسان بودند. اشکال کروی و میله‌ای و نامتعارف در آنها بسیار دیده شد. با این حال بیشترین میزان کرویت نانوکپسول‌ها در نمونه‌های ریزپوشینه فنول آزاد استخراجی به روش فراصوت در شدت ۸۰ درصد (شکل ۴-ی) و پس از آن در نمونه استخراج شده توسط فراصوت پروب در شدت ۵۰ درصد مشاهده می‌شد. ضعیفترین مورفولوژی مربوط به نمونه‌های ریزپوشانی شده فنول آزاد استخراج شده به روش حمام فراصوت بود. با توجه به نتایج بررسی تصاویر میکروسکوپی و همچنین نتایج فعالیت ضداکسایشی فنول‌ها در بخش قبل، نمونه‌های فنول باند شده اسیدی با استفاده از فراصوت پروب در شدت‌های ۸۰ و ۵۰ درصد و همچنین فنول آزاد حمام استخراجی به دلیل خصوصیات مورفولوژی و ضداکسایشی مناسبتر می‌توانند برای استفاده در محصولات غذایی و مقایسه فعالیت ضداکسایشی با ضداکسایش‌های سنتزی مانند TBHQ انتخاب شدند.

روش اسیدی و شکل ۴-ب نانوریزپوشینه فنول باند شده استخراج شده به روش قلیایی را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که هر دو شکل از نظر مورفولوژی سطحی دارای سطح صاف و کروی شکل بودند. خلل و فرج و ساختارهای فرورفته در آنها دیده نشد. پیوستگی نانوریزپوشینه‌های فنول باند شده در روش استخراج اسیدی بیشتر از روش استخراج فنول‌های باند شده به روش قلیایی بود و فنول‌های باند شده ریزپوشانی شده در حالت قلیایی دارای فضاهای خالی در تصاویر میکروسکوپ الکترونی بودند.

شکل ۴-ث و ۴-ج تصاویر میکروسکوپ الکترونی برای نمونه‌های فنول باند شده استخراج شده با استفاده از فراصوت نوع پروبی در شدت ۵۰ درصد را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود از نظر شکل ظاهری تمامی نمونه‌های نانوریزپوشانی شده ساختاری کروی دارند و اشکال میله‌ای، فرو رفته و یا دارای خلل و فرج در آنها دیده نشد. همچنین مانند نمونه‌های فنول باند شده در شدت ۸۰ درصد، در شدت ۵۰ درصد نیز برای نمونه‌هایی که از استخراج قلیایی برای آنها استفاده شده (شکل ۴-ج) بود حالتی از تجمع نانوکسیپول‌ها به میزان کم دیده شد. در حالیکه در نمونه-های نانوریزپوشانی شده فنول باند شده به روش استخراج اسیدی (شکل ۴-ث) پراکندگی ذرات بسیار کم بود و در تصویر میکروسکوپ الکترونی نیز نقاط خالی از نانوریزپوشینه‌ها مشاهده نشد.

در فنول‌های باند شده استخراجی به روش حمام فراصوت، نانوریزپوشینه‌ها ساختاری کروی، بهم پیوسته، بدون خلل فرج،



شکل ۴- مورفولوژی کپسول‌های مورد بررسی در پژوهش

نتیجه گیری نهایی

در این پژوهش فعالیت ضداکسایشی عصاره پوست کیوی به عنوان یک ضداکسایش طبیعی و قابل رقابت با ضداکسایش سنتزی مورد استفاده در صنایع غذایی بررسی گردید و مشخص شد عصاره پوست کیوی به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی آزاد و باند شده دارای خاصیت ضداکسایشی در روش های مهار رادیکال آزاد DPPH و احیا آهن می باشد. روش استخراج بر میزان ترکیبات فنولی کل عصاره موثر بود و استخراج با پروب فراصوت در شدت ۸۰ درصد بیشترین میزان ترکیبات فنولی را جداسازی نمود. با توجه به اینکه بخشی از ترکیبات فنولی در گیاهان به صورت باند

شده هستند؛ نوع روش هیدرولیز ترکیبات فنولی عصاره بر میزان استخراج آنها تاثیر داشت و روش هیدرولیز اسیدی از این حیث موثرتر عمل نمود. ریزپوشانی فنول ها در غلظت ۸۰۰ میلی گرم بر لیتر با استفاده از صمغ دانه شاهی می تواند اثرات پرواکسایشی و بوی شدید فنول ها در محصولات غذایی را کاهش دهد. لذا نتایج این تحقیق نمونه های فنول باند شده اسیدی با استفاده از فراصوت پروب در شدت های ۸۰ و ۵۰ درصد و همچنین فنول آزاد حمام استخراجی به دلیل خصوصیات مورفولوژی و ضداکسایشی مناسبتر را برای استفاده در محصولات غذایی و جایگزینی برای ضداکسایش های سنتزی مانند TBHQ معرفی می نماید.

REFERENCES

- Abedi Gheshlaghi, E., Rabiei, V., Ghasemi, M., Razavi, F. & Fattahi Moghaddam J. (2018). Assessment of chilling and heat requirements in some commercial cultivars and genotypes of kiwifruit in the west of Mazandaran. *Journal of Agricultural Crops Production*, 20(1), 85-100. (In Farsi).
- Afsharnezhad, M., Shahangian, S., Panahi, E. & Sariri, R. (2017). Evaluation of the antioxidant activity of extracts from some fruit peels. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 15, 213-222.
- Alikhani Faradonbeh M., Esmaeilzadeh Kenari, R. & Ghaderi Ghahfarokhi M. (2019). Comparison of Antioxidant Activity of Kiwifruit (*Actinidia Deliciosa* L.) Peel's extract extracted by Ultrasound Bath and Probes. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 15(1), 223- 233.
- Altemimi, A., Watson, D.G., Choudhary, R., Dasari, M.R. & Lightfoot, D.A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PLoS One*, 11(2), 48-58.
- Benzie, I.F. & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239, 70-76
- Bhooapat, L., Srichairatanakool, S., Kanjanapothi, D., Taesotikul, T., Thananchai, H. & Bhooapat, T. (2011). Hepatoprotective effects of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.): A combination of antioxidant and anti-apoptotic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 136(1), 55-66.
- Bonoli, M., Verardo, V., Marconi, E. & Caboni, M.F. (2004). Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(16), 5195-5200.
- Carneiro, H.C., Tonon, R.V., Grosso, C.R. & Hubinger, M.D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443-451.
- Chen, M., Zhao, Y. & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food chemistry*, 172, 543-550.
- Chranioti, C., Nikoloudaki, A. & Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate polymers*, 127, 252-263.
- Cuevas Montilla, E., Hillebrand, S., Antezana, A. & Winterhalter, P. (2011). Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(13), 7068-7074.
- Dehghan, B., Esmaeilzadeh Kenari, R., Raftani Amiri, Z. (2018). The effect of *Lepidium sativum* and *Lepidium perfoliatum* gums on properties of nanocapsule containing essential oil of orange. *Journal of Food Science and Technology*, 75(16), 157-169. (In Farsi).
- Deng, J., Xu, Z., Xiang, C., Liu, J., Zhou, L., Li, T., Yang, Z. & Ding, C. (2017). Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 328-334.
- Delfanian, M., Razavi, S.M., Khodaparast, M.H.H., Kenari, R.E. & Golmohammadzadeh, S. (2018). Influence of main emulsion components on the physicochemical and functional properties of W/O/W nano-emulsion: Effect of polyphenols, Hi-Cap, basil seed gum, soy and whey protein isolates. *Food Research International*, 108, 136-143.
- Esfanjani, A.F. & Jafari, S.M. (2016). Biopolymer nanoparticles and natural nano-carriers for nano-encapsulation of phenolic compounds. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 146, 532-543.
- Esmaeilzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. & Amiri, Z.R. (2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-

- assisted extraction methods. *Food science & nutrition*, 2(4), 426-435.
- Esmailzadeh Kenari, R. Mehdipour, S.Z. & Razavi, R. (2017). Investigation of Fatty Acid Changes and Antioxidant Properties of Kiwifruit Extract in Stabilization of Sunflower Oil during Storage Conditions, *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 68, 14, 125-135. [In Farsi]
- Esmailzadeh Kenari, R., Razavi, R., Mohammadi, A. & Jeghetai, M. (2019). Optimisation of extraction conditions from eggplant peel by using response surface methodology. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 84, 15, 243-255. [In Farsi]
- Fang, Z. & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510-523.
- Ferarsa, S., Zhang, W., Moulai-Mostefa, N., Ding, L., Jaffrin, M.Y. & Grimi, N. (2018). Recovery of anthocyanins and other phenolic compounds from purple eggplant peels and pulps using ultrasonic-assisted extraction. *Food and Bioprocess Technology*, 109, 19-28.
- Generalić Mekinić, I., Skroza, D., Ljubenković, I., Šimat, V., Smole Možina, S. & Katalinić, V., (2014). In vitro antioxidant and antibacterial activity of Lamiaceae phenolic extracts: a correlation study. *Food technology and biotechnology*, 52(1), 119-127.
- Huang, W., Xue, A., Niu, H., Jia, Z. & Wang, J. (2009). Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. *Food chemistry*, 114(3), pp.1147-1154.
- Inglett, G.E., Chen, D., Berhow, M. & Lee, S. (2011). Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. *Food Chemistry*, 125(3), 923-929.
- Irakli, M., Kleisiaris, F., Kadoglidou, K. & Katsantonis, D. (2018). Optimizing Extraction Conditions of Free and Bound Phenolic Compounds from Rice By-Products and Their Antioxidant Effects. *Foods*, 7(6), 93.
- Jafari, S.M., Mahdavi-Khazaei, K. & Hemmati-Kakhki, A. (2016). Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. *Carbohydrate polymers*, 140, 20-25.
- Jivan, M.J., Yarmand, M. & Madadlou, A. (2014). Encapsulation of date palm pit extract via particulation of starch nanocrystals in a microemulsion. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(3), 920-923.
- Joye, I.J., Davidov-Pardo, G. & McClements, D.J. (2015). Encapsulation of resveratrol in biopolymer particles produced using liquid antisolvent precipitation. Part 2: Stability and functionality. *Food Hydrocolloids*, 49, 127-134.
- Jun, X., Deji, S., Ye, L. & Rui, Z. (2011). Comparison of in vitro antioxidant activities and bioactive components of green tea extracts by different extraction methods. *International Journal of Pharmaceutics*, 408(1-2), 97-101.
- Kajdzanoska, M., Petreska, J. & Stefova, M. (2011). Comparison of different extraction solvent mixtures for characterization of phenolic compounds in strawberries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(10), 5272-5278.
- Karazhiyan, H., Razavi, S.M., Phillips, G.O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K. & Farhoosh, R. (2009). Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food hydrocolloids*, 23(8), 2062-2068.
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H. & Hamid, A.A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food chemistry*, 206, 156-166.
- Khoshakhlagh, K., Koocheki, A., Mohebbi, M. & Allafchian, A. (2017). Development and characterization of electrosprayed *Alyssum homolocarpum* seed gum nanoparticles for encapsulation of d-limonene. *Journal of colloid and interface science*, 490, 562-575.
- Kozłowska, M. & Gruczyńska, E. (2018). Comparison of the oxidative stability of soybean and sunflower oils enriched with herbal plant extracts. *Chemical Papers*, 72(10), 2607-2615.
- Leontowicz, H., Leontowicz, M., Latocha, P., Jesion, I., Park, Y.S., Katrich, E., Barasch, D., Nemirovski, A. & Gorinstein, S. (2016). Bioactivity and nutritional properties of hardy kiwi fruit *Actinidia arguta* in comparison with *Actinidia deliciosa* 'Hayward' and *Actinidia eriantha* 'Bidan'. *Food chemistry*, 196, 281-291.
- Liu, R.H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of nutrition*, 134(12), 3479S-3485S.
- Luximon-Ramma, A., Baborun, T. & Crozier, A. (2003). Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 496-502.
- Mc Donald, K. & Sun, D.W. (2001). Effect of evacuation rate on the vacuum cooling process of a cooked beef product. *Journal of Food Engineering*, 48(3), 195-202.
- Mohdaly, A.A.A., Sarhan, M.A., Mahmoud, A., Ramadan, M.F. & Smetanska, I. (2010). Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food Chemistry*, 123(4), 1019-1026.
- Munin, A. & Edwards-Lévy, F. (2011). Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review. *Pharmaceutics*, 3(4), 793-829.
- Naczki, M. & Shahidi, F. (1989). The effect of methanol-ammonia-water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chemistry*, 31(2), 159-164.

- Nara, K., Miyoshi, T., Honma, T. & Koga, H. (2006). Antioxidative activity of bound-form phenolics in potato peel. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 70(6), 1489-1491.
- Nardini, M. & Ghiselli, A. (2004). Determination of free and bound phenolic acids in beer. *Food Chemistry*, 84(1), 137-143.
- Nieva-Echevarría, B., Manzanos, M.J., Goicoechea, E. & Guillén, M.D. (2015). 2, 6-Di-tert-butylhydroxytoluene and its metabolites in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(1), 67-80.
- Oliveira, A.S., Ribeiro-Santos, R., Ramos, F., Castilho, M.C. & Sanches-Silva, A. (2018). UHPLC-DAD multi-method for determination of phenolics in aromatic plants. *Food analytical methods*, 11(2), 440-450.
- Peng, Y., Meng, Q., Zhou, J., Chen, B., Xi, J., Long, P., Zhang, L. & Hou, R. (2018). Nanoemulsion delivery system of tea polyphenols enhanced the bioavailability of catechins in rats. *Food chemistry*, 242, pp.527-532.
- Pérez-Jiménez, J. and Torres, J.L., (2011). Analysis of nonextractable phenolic compounds in foods: the current state of the art. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(24), 12713-12724.
- pourshayegan, M., Esmailzadeh kenari, R. & Farahmandfar, R. (2019). Separated and Combined Effects of Nano Coating of Basil seed gum and perfoliatum seed gum Containing Kiwi Peel Extract to Increase shelf Life of Sheep's Meat. 16 (88), 83-95. (In Farsi).
- Rydström, C. (2012). Nanoparticles in Food-with a Focus on the Toxicity of Titanium Dioxide.
- Razavi, R. & Esmailzadeh Kenari, R. (2016). Antioxidant activity of red onion (*Allium cepa* L.) peel extract produced by maceration, ultrasonic assisted and supercritical extraction techniques. *2nd International and 24th National Iranian Food Science and Technology Congress. Tehran. Iran.*
- Sagalowicz, L. & Leser, M.E. (2010). Delivery systems for liquid food products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15(1-2), 61-72.
- Saxena, S., Hajare, S.N., More, V., Kumar, S., Wadhawan, S., Mishra, B.B., Parte, M.N., Gautam, S. & Sharma, A. (2011). Antioxidant and radioprotective properties of commercially grown litchi (*Litchi chinensis*) from India. *Food Chemistry*, 126(1), 39-45.
- Su, D., Zhang, R., Hou, F., Zhang, M., Guo, J., Huang, F., Deng, Y. & Wei, Z. (2014). Comparison of the free and bound phenolic profiles and cellular antioxidant activities of litchi pulp extracts from different solvents. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 9.
- Subba, M.R. & Muralikrishna, G. (2002). Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet (ragi, *Eleusine coracana* Indaf-15). *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(4), 889-892.
- Sukor, N., Jusoh, R., Rahim, S.A. & Kamarudin, N. (2018). Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phenolic acids from *Quercus Infectoria* galls. *Materials Today: Proceedings*, 5(10), 21990-21999.
- Taheri, A. & Razavi, S.M. (2015). Fabrication of cress seed gum nanoparticles, an anionic polysaccharide, using desolvation technique: An optimization study. *BioNanoScience*, 5(2), 104-116.
- Ti, H., Li, Q., Zhang, R., Zhang, M., Deng, Y., Wei, Z., Chi, J. & Zhang, Y., 2014. Free and bound phenolic profiles and antioxidant activity of milled fractions of different indica rice varieties cultivated in southern China. *Food chemistry*, 159, 166-174.
- Wang, L., Lin, X., Zhang, J., Zhang, W., Hu, X., Li, W., Li, C. & Liu, S. (2019). Extraction methods for the releasing of bound phenolics from *Rubus idaeus* L. leaves and seeds. *Industrial Crops and Products*, 135, pp.1-9.
- Waterhouse, G.I., Wang, W. & Sun-Waterhouse, D. (2014). Stability of canola oil encapsulated by co-extrusion technology: Effect of quercetin addition to alginate shell or oil core. *Food chemistry*, 142, 27-38.