مجله تحقیقات مهندسی کشاورزی/جلد ۱۵/ شماره ۲/سال ۱۳۹۳/ص ۷۶-۶۳

ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی رادیکال‌های آزاد عصاره‌های به‌دست آمده از هسته انار (*Punica granatum* L.)

شادی بصیری

نگارنده مسئول: مشهد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، ص. پ. ۴۸۸، تلفن: ۴-۳۸۲۲۳۰۱(۰۵۱۱)،
پیام‌نگار: shbasiri35@yahoo.com
عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۵

چکیده

در این پژوهش عصارهٔ هستهٔ انار با شش حلال با درجات مختلف قطبیت استخراج شد. بازده استخراج، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی، توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد، ارزیابی تأثیر آن بر مقاومت حرارتی و شرایط اکسیداسیون روغن بدون آنتی‌اکسیدان سویا به‌عنوان یک سیستم مدل غذایی به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار آنالیز شد. بررسی راندمان عصاره‌گیری نشان می‌دهد که حلال‌های هگزان و استون به‌ترتیب بالاترین راندمان استخراج را از هسته و کنجاله هسته انار دارند. نتایج بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی احیای یون‌های آهن سه ظرفیتی و همچنین فعالیت به دام انداختن رادیکال‌های آزاد عصاره‌ها، نشان می‌دهد که عصارهٔ متانولی هستهٔ انار دارای بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی در بین سایر عصاره‌ها است. ارزیابی پایداری اکسایشی عصاره‌های استخراجی به روش رنسیمت نشان می‌دهد که عصارهٔ متانولی هستهٔ انار به‌صورت معنی‌داری پایداری اکسایشی نمونه شاهد را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی

توانایی به‌دام انداختن رادیکال‌های آزاد، خواص آنتی‌اکسیدانی، رنسیمت، قدرت احیاکنندگی آهن، هستهٔ انار

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. به خانوادهٔ Punicaceae تعلق دارد، در اقلیم‌های خشک و نیمه‌گرمسیری و مدیترانه‌ای رشد می‌کند و باردهی خوبی دارد. انار با مناطق دارای تابستان‌های گرم و زمستان‌های سرد سازگار است و مقاومت نسبتاً زیادی نسبت به عوامل اکولوژی دارد. انار بومی ایران، اسپانیا، مصر، روسیه، فرانسه، آرژانتین، چین، ژاپن، آمریکا، هند و مناطق مدیترانه‌ای است (Ozgen *et al*., 2008).

پژوهش‌ها در زمینه صنایع غذایی در دنیا نشان می‌دهد که حجم عمده این تحقیقات در چند سال اخیر روی موضوع غذاها و ترکیبات سلامت‌زا و نیز نگهدارنده‌های طبیعی متمرکز بوده که این خود نمایانگر تمایل و استقبال جهانی از این نوع ترکیبات است. این امر با محرز شدن خواص سرطان‌زایی و بیماری‌زایی بسیاری از افزودنی‌های شیمیایی شدت گرفته است. در این بین انار و ترکیبات مشتق شده از آن از جایگاه ویژه‌ای دارند.

انار با دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی به‌طور گسترده‌ای در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی- عروقی، زخم معده و چاقی مفرط، التهابات پوستی و نیز به‌عنوان نگهدارندهٔ مؤثر و قوی در مواد غذایی به‌کار می‌رود

© 2016,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

(Gil *et al.*, 2000; Aviram *et al.*, 2004; Kohno *et al.*, 2004; Seeram, 2005; Khan *et al.*, 2007).

میوه انار بسته به رقم آن از اواسط تابستان تا انتهای پاییز آمادهٔ برداشت می‌شود. وزن میوه بین ۲۰۰ تا ۷۵۰ گرم متغیر است. مقدار هسته در ارقام مختلف انار از نظر وزنی متفاوت است و در محدودهٔ ۳۰ تا ۱۴۳ گرم به ازا هر کیلوگرم وزن میوه قرار دارد. وزن روغن و ترکیبات فعال موجود در هستهٔ انار نیز بستگی به رقم میوه دارد (Hernandez *et al.*, 1998). روغن هسته انار یکی از معدود منابع گیاهی است که دارای اسیدهای چرب مزدوج سه‌تایی به نام اسید لینولنیک مزدوج (CLNA) یا اسید پونیسیک است که از نظر بیولوژیکی خاصیت ضد التهابی و تسکین‌دهندگی دردهای عضلانی دارد (Saha & Ghosh, 2009). دانشمندان در سال‌های اخیر به قدرت بالای آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های مختلف انار از جمله هسته آن پی برده‌اند (Gil *et al.*, 2000) آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند انسان را در برابر خطرهای ناشی ازآلودگی‌ها، مواد شیمیایی و بیماری‌های مختلف محافظت کنند.

در بیشتر موارد، ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی، اساس و پایهٔ بسیاری از کاربردهای تحقیقاتی می‌باشد. کالیتراکا و همکاران (Kallithraka *et al.*, 1995) مطالعات جامعی در مورد اثر حلال‌های مختلف بر استخراج ترکیبات فنلی هسته انگور انجام دادند. در این مطالعات از حلال‌های آب، اتانول خالص، اتانول ۷۵ درصد، استون ۷۵ درصد، متانول، بوتانول، دی‌اتیل‌اتر، اتیل‌استات و مخلوطی از دی‌اتیل‌اتر و اتیل‌استات استفاده شده است. نتایج نشان می‌دهد که متانول بهترین حلال برای استخراج کاتشین، اپی‌کاتشین و اپی‌کاتشین گالات است. و استون ۷۵ درصد سبب بیشترین استخراج پروسیانیدین‌ها می‌شود و اتانول ۷۵ درصد نیز بیشترین مقدار اسیدگالیک را استخراج می‌کند. در مجموع، استون ۷۵ درصد موجب استخراج بیشترین میزان ترکیبات فنلی می‌شود.

صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.*, 2009)، قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی عصارهٔ هسته‌های ۶ رقم مختلف انار را بررسی و برای این منظور از حلال‌های آب و اتانول برای تهیهٔ عصاره از هسته‌ها استفاده کردند. نتایج تحقیقات آنها نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ آبی به‌صورت معنی‌داری از فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی بیشتر است.

سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2002) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های به‌دست آمده از پوست و هستهٔ انار را به کمک آزمون‌هایی نظیر بتا کاروتن لینولئات و DPPH بررسی و برای این منظور از حلال‌های اتیل‌استات، متانول و آب استفاده کردند.در تحقیقات آنها نشان داده شد که عصاره‌ی متانولی بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را در بین سایر عصاره‌ها دارد و عصاره متانولی پوست، نسبت به عصاره متانولی هسته‌ها، بیشترین بازدارندگی رادیکال‌های آزاد را دارند.

پکیک و کواک (Pekic & Kovac, 1997) عصارهٔ هستهٔ انگور را با به‌کارگیری مخلوطی از استون- آب و اتیل- استات- آب استخراج کردند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، افزایش نسبت آب در مخلوط حلال تا حد اشباع سبب افزایش بازدهی پروآنتوسیانیدین‌ها با وزن مولکولی کم می‌شود. عصاره‌های حاصل از این دو مخلوط حلال با HPLC تجزیه شدند و مشخص گردید که مخلوط اتیل‌استات - آب به‌طور کاملا انتخابی پروآنتوسیانیدین‌ها را استخراج می‌کند.

جایاپراکاشا (Jayaprakasha, 2003) خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی عصارهٔ هسته انگور را بررسی و از مخلوط حلال‌های استون- آب - اسیداستیک و متانول- آب - اسیداستیک برای استخراج ترکیبات قطبی

موجود در هستهٔ انگور استفاده کرد. عصاره‌های حاصل توسط HPLC مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده، تأییدی بر مقادیر بالای پروسیانیدین‌های مونومری در عصاره‌های حاصل از هر دو سیستم حلال بود.

بر این اساس، هدف از این پژوهش ارزیابی تأثیر حلال‌های با درجات مختلف قطبیت بر مقدار و نوع ترکیبات استخراج شده از هسته و کنجالهٔ هسته انار و تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی و پایداری اکسایشی آنها است.

مواد و روش‌ها

مواد

نمونهٔ انار مورد استفاده در این پژوهش از رقم بومی ملس با وزن تقریبی هر میوه ۲۵۰ گرم با شاخص رسیدگی تجاری، از منطقهٔ خسروجرد در شهرستان سبزوار تهیه گردید.

هیدروکسید پتاسیم، هیدروکسید سدیم، اتانول، متانول، هگزان نرمال، اتیل- استات، بوتانول، فنل‌فتالئین، اسیدکلریدریک غلیظ، دی‌اتیل اتر، سولفات سدیم بدون آب، کلسترول، اسیدسولفوریک غلیظ، انیدرید استیک، کلروفرم، BHT، ۲ و۲´- بی‌پیریدین، کلرید آهن III شش آبه، تولوئن، اسیدگالیک، فولین سیوکالچو، کربنات سدیم، استون، تیوسیونات آمونیوم، کلریدآهن II، پودر آهن، پراکسید هیدرژن، سولفات آهن هفت آبه، کلرید باریم دو آبه، سیلیکاژل، ایزوهگزان، دی‌ایزوپروپیل اتر، هگزان، ۲ پروپانول، بوروهیدرید سدیم، ۲ و ۴- دکادی‌انال، تتراهیدروفوران، دی‌کرومات پتاسیم، اکسیدآلومینیم، ۱- متیل‌ایمیدازول، سولفات آهن II، استات‌سدیم سه آبه، اسیداستیک، معرف TPTZ، بافر استات و کلروفرم از شرکت‌های مرک، شارلو، کالدون و سیگما آلدریچ خریداری شدند. روغن سویا تصفیه شده بدون آنتی‌اکسیدان از کارخانهٔ روغن نباتی شادگل نیشابور تهیه گردید.

روش‌ها

جداسازی هسته از میوه: پس از شستشوی میوه و برش آن به قطعات کوچکتر، دانه‌ها با دست از بافت جدا، و عصارهٔ آنها از طریق مالش ملایم روی توری فلزی استخراج شد. برای جداسازی ذرات باقیماندهٔ‌گوشت، هسته‌ها با آب شسته شدند و با پهن کردن آنها روی پارچهٔ تمیز، در دمای اتاق خشک شدند. هسته‌های خشک شده در کیسهٔ کتانی و تا زمان مصرف در دمای ۱۸- درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مقدار رطوبت و روغن هسته: رطوبت هسته‌های انار بر اساس روش AOAC به شماره ۹۸۴/۲۵ و روغن با کمک حلال هگزان (مرک، آلمان) با روش سوکسله بر اساس روش پیشنهادی AOAC به شماره ۹۶۳/۱۵ استخراج و اندازه‌گیری شد (Anon, 2005).

اندازه‌گیری عدد اسیدی روغن: عدد اسیدی بر طبق روش Aa 6-38 (Anon, 1993) محاسبه شد.

اندازه‌گیری عدد پراکسید روغن: عدد پراکسید با روش اسپکتروفتومتری تیوسیونات محاسبه شد (Shantha & Decker, 1994).

شاخص پایداری اکسایشی[1] (OSI) روغن: مقاومت اکسایشی روغن به کمک دستگاه رنسیمت[2] (مدل ۷۴۳، ساخت شرکت Metrohm Ltd. Herisau کشور سوئیس) به‌دست آمد (Farhoosh, 2007).

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی: مقدار ترکیبات فنلی نمونه مورد نظر به روش اسپکتروفتومتری با کمک معرف فولین سیوکالچو اندازه‌گیری شد (Capannesi *et al.*, 2000)

استخراج عصاره: ترکیبات موجود در هسته و کنجالهٔ هستهٔ انار با حلال‌های دارای درجات مختلف قطبیت استخراج شدند، این حلال‌ها به‌ترتیب درجهٔ قطبیت عبارت‌اند از آب، متانول، بوتانول، استون، اتیل‌استات و هگزان.

1- Oxidative Stability Index (OSI)

2- Rancimat Instrument

کنجاله مورد استفاده در این آزمایش با متوسط ۲/۰۲ درصد روغن و ۵/۹۴ درصد رطوبت، حاصل فرایند استخراج روغن از هسته انار با استفاده از پرس سرد بود. به‌منظور استخراج عصاره از هسته و کنجاله هستهٔ انار ۳۰ گرم پودر هسته یا کنجالهٔ هستهٔ انار با ۳۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های مذکور مخلوط و سوسپانسیون حاصل درون ارلن مایر به‌مدت ۲۰ ساعت روی هم‌زن، به آرامی هم زده شد (Molero Gbmez *et al*., 1996). عصاره به‌دست آمده به‌کمک قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شمارهٔ ۱ صاف شد. عصاره روی سطح پتری دیش به‌صورت ورقه‌ای نازک پخش و به آون تحت خلأ زیر ۴۰ درجهٔ سلسیوس منتقل گردید تا حلال موجود در آن به‌طور کامل تبخیر شود. نمونه پس از خشک شدن کامل و تا رسیدن به وزن ثابت، در دسیکاتور نگهداری و در انتها بازده استخراج محاسبه شد. عصاره خشک شده با تیغهٔ فلزی از روی سطح پلیت خراشیده و برداشت شد. و تا آزمایش‌های بعدی در دمای ۱۸- درجه سلسیوس و به دور از نور نگهداری گردید (Jayaprakasha, 2003).

اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP): بسته به نوع نمونه و قدرت مهارکنندگی آن، محلولی شامل ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر هگزان یا متانول تهیه شد و ۳۰ میکرولیتر آن با ۹۰۰ میکرولیتر محلول FRAP (مخلوط بافر استات (۰/۳ مولار، pH= ۳/۶)، معرف TPTZ[2] و محلول ۲۰ میلی‌مولار کلرورآهن III شش آبه به نسبت ۱:۱:۱۰ حجمی) و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر در لوله آزمایش مخلوط گردید. لولهٔ آزمایش بعد از ورتکس در بن‌ماری قرار گرفت و پس از رسیدن دمای آن به ۳۷ درجه سلسیوس، میزان جذب در مقابل شاهد و در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد[3] (DPPH): محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حاوی ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی نمونه با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد)، ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH تهیه شده، اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن، به‌مدت ۱ ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۲ نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید.

درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد از رابطه ۱به‌دست می‌آید:

$$\%A = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100 \qquad (۱)$$

که در آن،

A = درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH؛ A_C = جذب شاهد؛ و A_S = جذب نمونه است. پس از ترسیم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت ترکیب آنتی‌اکسیدانی، رابطهٔ رگرسیونی مناسب روی نقاط داده‌ها برازش شد و سپس با عددگذاری، غلظتی را که در آن ترکیب آنتی‌اکسیدانی قادر به مهار کردن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد است تحت عنوان EC_{50} محاسبه شد.

خالص‌سازی روغن فاقد آنتی‌اکسیدان: انتهای ستون شیشه‌ای کروماتوگرافی با قطر داخلی ۲/۵ سانتی‌متر و طول ۴۵ سانتی‌متر به ارلن بوخنر متصل به خلأ وصل شد. صد گرم آلومینا (نوع ۶۰ فعال خنثی)، که قبلاً در دمای ۲۰۰ درجه سلسیوس به‌مدت سه ساعت فعال شده بود، به‌طور یکنواخت داخل ستون قرار گرفت و سپس ۲۰۰ گرم روغن سویای تصفیه شده فاقد آنتی‌اکسیدان سنتزی از ستون عبور داده شد. برای اطمینان از حذف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، روغن حاصل دوباره از ستون پر شده با آلومینای تازه عبور داده شد. اطراف ستون و ارلن بوخنر با ورقهٔ آلومینیومی پوشانیده شد تا از اکسایش روغن جلوگیری شود.

1- Ferric Reducing Activity of Plasma (FRAP)
2- 2,4,6-Tri (2-Pyridyl)-S-Tria Zine
3- 2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

اندازه‌گیری قدرت اکسایشی عصاره: برای تعیین قدرت اکسایشی عصاره از دستگاه رنسیمت استفاده شد. برای این منظور۳ گرم نمونه روغن سویای تصفیه شدهٔ فاقد آنتی‌اکسیدان در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس مورد آزمایش قرار گرفت. عصارهٔ مورد نظر در غلظت ۲ درصد وزنی روغن تصفیه شده استفاده گردید. سرعت جریان هوا ۱۵ لیتر برساعت تنظیم شد. برای مقایسه از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۱۰۰ پی پی‌ام استفاده گردید. داده‌های به‌دست آمده بر مبنای پایداری اکسایشی روغن (ساعت) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

مقدار رطوبت و روغن هسته و چند مشخصه از روغن هستهٔ انار در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- برخی از مشخصات هسته انار و روغن آن

	کمیت اندازه‌گیری شده	مقدار
هسته انار	مقدار رطوبت (درصد)	۳/۷۵±۰/۲
	مقدار روغن (وزن خشک)	۱۷/۳۳±۱/۳۳
روغن هسته انار	عدد پراکسید (میلی اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن)	۰/۷۹۱±۰/۱۹
	اسیدهای چرب آزاد (میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم روغن)	۰/۵۵۹±۰/۰۱
	شاخص پایداری اکسایشی (ساعت)	۳/۰۳±۰/۱۵

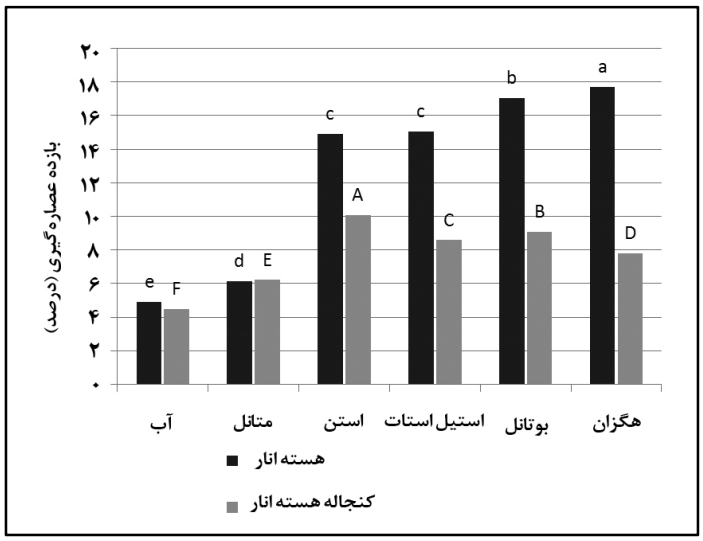
راندمان عصاره‌گیری از هسته و کنجالهٔ هستهٔ انار

نتایج تجزیهٔ واریانس اثر نوع حلال مصرفی به‌منظور استحصال ترکیبات موجود در هسته انار و کنجالهٔ هسته انار نشان می‌دهد که نوع حلال در سطح ۱ درصد دارای اثر معنی‌داری بر بازده عصاره‌گیری است.

مقایسهٔ میانگین نتایج در شکل ۱ آورده شده است. این داده‌ها نشان می‌دهد که حلال‌های هگزان و استون به‌ترتیب در عصاره‌گیری از هسته و کنجالهٔ هسته انار، بیشترین بازده استخراج را به‌دست داده‌اند. حلال‌های استون و اتیل‌استات در عصاره‌گیری از هستهٔ انار اختلاف معنی‌دار ندارند و در بقیهٔ موارد، اثر حلال‌های مختلف بر راندمان عصاره‌گیری از هسته انار و کنجالهٔ آن، دارای تفاوت معنی‌داری هستند.

هستهٔ انار حاوی مقدار قابل توجهی روغن است، لذا بیشترین راندمان عصاره‌گیری از هسته انار با حلال هگزان به‌دست آمد. ولی در مورد کنجالهٔ هسته انار، به‌علت روغن‌کشی اولیه و کاهش میزان روغن، بیشترین بازده در نتیجهٔ استفاده از حلال هگزان حاصل نشد. از آن‌جا که ترکیبات غیرقطبی (روغن) در حلال‌های غیرقطبی نظیر هگزان و اتیل‌استات به‌خوبی حل می‌شوند، بیشترین راندمان تولید روغن در نتیجه استفاده از این حلال‌ها به‌دست آمد حال آن‌که حلال‌های قطبی، توان استخراج ترکیبات قطبی بیشتری دارند و کمترین مقدار روغن در عصاره این نوع حلال‌ها مشاهده شد. با کاهش قطبیت حلال، میزان روغن بیشتری در آن حل می‌شود. از این رو، حلال‌های استون و بوتانول با درجهٔ قطبیت متوسط، ضمن استخراج ترکیبات قطبی، توان استحصال روغن را نیز دارند. بنابراین، استون به‌دلیل استخراج روغن و ترکیبات قطبی به‌طور هم‌زمان، بیشترین راندمان تولید از کنجالهٔ هسته انار را نشان می‌دهد. آب و متانول کاملا قطبی، تنها ترکیبات قطبی و هگزان و اتیل‌استات ترکیبات غیرقطبی را استخراج کرده‌اند. در شکل ۱ مشاهده می‌شود که مقدار عصارهٔ استخراج شده با آب از هر دو منبع هسته و کنجالهٔ هسته تقریباً یکسان است که می‌رساند با وجود

استخراج روغن در روش پرس، کلیهٔ ترکیبات قطبی مانند فنل‌ها در داخل کنجاله بدون تغییر باقیمانده‌اند. به‌همین دلیل به‌منظور بهره‌گیری از آثار مفید ترکیبات قطبی (فنل‌ها) نمی‌توان به استفاده از روغن موجود در هسته اکتفا کرد و از این رو استخراج آنها مستلزم استفاده از روش‌های تکمیلی است.



شکل ۱- اثر نوع حلال بر بازده عصاره‌گیری از هسته و کنجالهٔ هسته انار

به نظر می‌رسد به‌منظور افزایش راندمان استحصال عصاره از هسته، استفاده از مخلوط حلال‌های مختلف با قطبیت متفاوت، نتایج بهتری به‌دست می‌دهد. سالاری و همکاران (Salari *et al.*, 2009)، تأثیر سیستم‌های مختلف حلال را بر استخراج عصاره از هسته انگور بررسی کردند. آنها عصارهٔ هستهٔ انگور را با شش سیستم ۳ جزئی از حلال‌های آب، متانول، اتیل‌استات و استون استخراج و راندمان عصاره‌گیری را تعیین کردند و نشان دادند که بالاترین بازده استخراج از هستهٔ انگور به سیستم حلال حاوی ۶۰ درصد اتیل‌استات، ۳۰ درصد متانول و ۱۰ درصد آب با فاکتور قطبیت کل ۵/۶ اختصاص دارد.

ترکیبات فنلی عصارهٔ هسته

از نتایج تجزیه واریانس اثر نوع حلال مصرفی برای استحصال ترکیبات فنلی هستهٔ انار می‌توان نتیجه گرفت که نوع حلال مورد بررسی در سطح یک درصد (اطمینان ۹۹ درصد) دارای اثر معنی‌داری بر مقادیر فنل استحصالی از هسته انار در حین عصاره‌گیری است. در جدول ۲، میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌های استحصالی از هسته انار نشان داده شده است. بیشترین میزان ترکیبات فنلی هستهٔ انار، در عصارهٔ متانولی (۲۷/۹۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن) و پس از آن به‌ترتیب در عصارهٔ آبی (۲۲/۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن) و عصارهٔ استونی (۳/۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن) مشاهده می‌شود.

ترکیبات فنلی، بیشتر از دیدگاه قدرت آنتی‌اکسیدانی مورد توجه هستند. این ترکیبات دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مهمی در موجودات زنده‌اند و آثار سودمندی در مبارزه با بیماری‌های مرتبط با تولید رادیکال آزاد دارند. همان‌گونه که گفته شد، کلیهٔ ترکیبات قطبی در حلال‌های قطبی حل می‌شوند. از این رو ترکیبات فنلی با قطبیت بالا به راحتی در آب و سایر حلال‌های قطبی حل می‌شوند ولی با هگزان قابل استخراج نیستند. بنابراین روغن استخراج شده با استفاده از حلال هگزان، دارای کمترین

میزان فنل (۰/۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن) است، فنل‌های هسته در داخل کنجاله باقی می‌مانند. مشابه بودن نتایج راندمان عصاره آبی از هسته و کنجاله این مطلب را تأیید می‌کند (شکل ۱). بنابراین، کنجاله هسته انار را می‌توان منبع ارزشمندی از ترکیبات فنلی دانست.

جدول ۲- میزان ترکیبات فنلی موجود در عصارهٔ هسته انار

نوع عصاره	میزان ترکیبات فنلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
آبی	۲۲/۶۳±۰/۳۹ [b]
متانولی	۲۷/۹۹۳±۰/۳ [a]
استونی	۳/۳۷۲±۰/۰۴ [c]
بوتانولی	۰/۵۶۹±۰/۰۰۲ [d]
اتیل‌استاتی	۰/۳۷±۰/۰۱ [d]
هگزانی	۰/۲۹۷±۰/۰۱۶ [d]

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

کالیتراکا و همکاران (Kallithraka *et al.*, 1995) با بررسی اثر حلال‌های مختلف در استخراج ترکیبات مختلف موجود در هسته انگور نتیجه گرفتند که متانول سبب بیشترین استخراج ترکیبات فنلی (پروسیانیدین‌ها و کاتشین‌ها) از هسته انگور می‌شود. ونگ و همکاران (Wang *et al.*, 2011)، نیز ترکیبات فنلی (پروآنتوسیانیدین‌ها و فلاوونوئیدها) پوست انار را با حلال‌های مختلف (آب، متانول، اتانول، استون و اتیل‌استات) استخراج کردند.

نتایج نشان می‌دهد که متانول دارای بیشترین راندمان استخراج ترکیبات فنلی (۸/۲۶ درصد) است و پس از آن به‌ترتیب آب (۵/۹ درصد)، اتانول (۱/۵۵ درصد)، استون (۰/۳۷درصد) و اتیل‌استات (۰/۱۸ درصد) قرار دارند. آب بهترین حلال از نظر اقتصادی، حفظ سلامت انسان و محیط زیست در کلیه مراحل اجرای آزمایش‌ها و استخراج پیشنهاد شده است. نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های ذکر شده، تأییدی بر نتایج تحقیقات پژوهش حاضر است.

قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP) عصاره

تعیین قدرت احیاکنندگی آهن، روشی سریع و مناسب برای اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی ترکیبات شیمیایی است و می‌توان آن را به‌عنوان شاخصی از قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها به‌کار برد. تجزیهٔ واریانس نتایج آزمون قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌های استحصالی از هسته انار و کنجالهٔ هستهٔ انار نشان می‌دهد که انواع عصاره‌ها از نظر قدرت احیاکنندگی آهن با اطمینان ۹۹ درصد دارای اختلاف معنی‌داری هستند.

در جدول ۳، میانگین نتایج حاصل از آزمایش اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن در عصاره‌های مختلف هسته و کنجالهٔ هسته انار، نشان داده شده است. در بین عصاره‌های مختلف هستهٔ انار، همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بیشترین قدرت احیاکنندگی آهن مربوط است به عصارهٔ متانولی (۵۵۷ میکرو مول بر لیتر آهن II) و پس از آن عصارهٔ آبی (۲۱۷/۳ میکرو مول بر لیتر آهن II) و کمترین آن به عصارهٔ هگزانی (۶/۳۸ میکرومول بر لیتر آهن II). تمام عصاره‌ها با نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار دارند. عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی و استونی در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند و عصاره‌های استونی و بوتانولی نیز فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگرند.

جدول ۳- قدرت احیا کنندگی آهن عصاره‌های هسته و کنجاله هسته انار (میکرو مول بر لیترآهن II)

نوع عصاره	هسته انار	کنجاله هسته انار
آبی	۲۱۷/۳ ^{c}	۲۰۷/۶ ^{C}
استونی	۴۰/۶۵ ^{de}	۱۵۵/۱ ^{D}
متانولی	۵۵۷ ^{b}	۷۲۱/۸ ^{B}
بوتانولی	۵۹/۳ ^{d}	۶۰/۵ ^{E}
اتیل‌استاتی	۲۲/۱۶ ^{e}	۳۵/۰۵ ^{EF}
هگزانی	۶/۳۸ ^{e}	۹/۹۳ ^{F}
BHT	۸۶۰/۱ ^{a}	۸۶۰/۱ ^{A}

قدرت احیاکنندگی آهن عصاره‌های هستهٔ انار و کنجاله هسته انار به‌ترتیب با حروف کوچک و بزرگ مشخص شده است.

در بین عصاره‌های مختلف کنجالهٔ هسته انار، بیشترین قدرت احیاکنندگی آهن به عصاره متانولی (۷۲۱/۸ میکرومول بر لیتر آهن II) و سپس عصاره آبی (۲۰۷/۶ میکرومول بر لیتر آهن II) و کمترین آن به عصاره هگزانی (۹/۹۳ میکرومول بر لیترآهن II) مربوط است که این رقم با نتیجهٔ حلال اتیل‌استات به‌طور معنی‌داری متفاوت نیست.

همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، قدرت احیاکنندگی عصاره متانولی و استونی هستهٔ انار و کنجاله هستهٔ انار اختلاف قابل توجهی دارند. دلیل این اختلاف را می‌توان به قطبیت این حلال‌ها نسبت داد. با توجه به اینکه در عصاره‌های متانولی و استونی حاصل از هستهٔ انار، به همراه خروج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، به‌دلیل وجود روغن در دانه، مقدار زیادی از آن نیز وارد عصاره می‌شود و در نتیجه سهم مواد فعال آنتی‌اکسیدانی در وزن ثابت عصاره، در مقایسه با عصاره حاصل از کنجاله، کمتر می‌شود. به همین دلیل در وزن ثابت عصاره هسته انار نسبت به کنجاله، درصد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد و قدرت احیاکنندگی کمتری نشان می‌دهد. این منطق در سایر موارد با وجود اختلاف‌های جزئی نیز صدق می‌کند. به گزارش صادقی و همکاران (Sadeghi *et al.*, 2009)، عصاره‌های آبی و اتانولی به‌دست آمده از هسته انار، دارای بیشترین قدرت احیاکنندگی آهن هستند. اسکریبانوبیل و ساتوس‌بولگا (Escribano-Bail & Satos Buelga, 2003) در مطالعات خود دریافتند که متانول کارآمدترین حلال برای استخراج ترکیبات فنلی (فلاوانون‌ها، فلاوون‌ها و آنتوسیانین‌ها) است. از سوی دیگر، مشخص شد که استون حلال مناسبی برای استخراج آنتوسیانین‌هاست و بازده بالاتری نسبت به متانول دارد. این مطلب نشان‌دهنده قدرت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی توسط آب، متانول و استون است که با نتایج این پژوهش نیز مطابقت دارد.

کالیتراکا و همکاران (Kallithraka *et al.*, 1995)، نقش متانول و استون در استخراج ترکیبات فنلی (پروسیانیدین‌ها و کاتشین‌ها) از هسته انگور، ونگ و همکاران (Wang *et al.*, 2011)، اثر حلال‌های مختلف آب، متانول، اتانول، استون و اتیل‌استات را در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از پوست انار بررسی کرده و گزارش داده‌اند که حلال‌های متانول، استون و

آب قادر به استخراج بیشترین مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند در نتیجه بیشترین قدرت احیاکنندگی را دارند. یمیس و همکاران (Yemis *et al.*, 2007)، نشان دادند که ارتباط زیادی بین مقدار ترکیبات فنلی موجود در هسته و قدرت آنتی‌اکسیدانی آنها وجود دارد. یافته‌های پژوهش حاضر درخصوص راندمان عصاره‌گیری، نتایج ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی (FRAP) با یافته‌های محققان یاد شده هم‌خوانی دارد.

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) عصاره

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد از جمله شاخص‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. در این مورد غلظت لازم برای غیر فعال کردن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط (EC_{50}) مد نظر قرار گرفت. یادآوری می‌شود که میزان EC_{50} با افزایش قدرت مهارکنندگی، کاهش می‌یابد. میانگین نتایج حاصل از اندازه‌گیری و محاسبه EC_{50} عصاره‌های مختلف هسته و کنجاله هسته انار در جدول ۴ گزارش شده است. نتایج تحلیل واریانس عصاره‌های هسته انار و کنجاله هسته انار نشان می‌دهد که میانگین EC_{50} عصاره‌ها با اطمینان ۹۹ درصد دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند.

جدول ٤- مقادیر EC_{50} عصاره‌های هسته و کنجاله هسته انار

نوع عصاره	هسته انار	کنجاله هسته انار
آبی	۰/۳۰۱±۰/۰۱۴۸ ^{e}	۰/۳۱۷±۰/۰۲۲ ^{D}
استونی	۰/۳۳۵±۰/۰۰۲۴ ^{d}	۰/۲۳۹±۰/۰۰۸۲ ^{E}
متانولی	۰/۱۴۸±۰/۰۰۲۹ ^{f}	۰/۱۹۲±۰/۰۰۰۶ ^{E}
بوتانولی	۱/۷۷۴±۰/۱۰ ^{c}	۱/۶۹۴±۰/۰۰۸۳ ^{C}
اتیل‌استاتی	۲/۰۱۳±۰/۰۵۵ ^{b}	۱/۸۳۱±۰/۰۱۵۴ ^{B}
هگزانی	۴/۲۲۷±۰/۰۶۷ ^{a}	۳/۸۷۹±۰/۰۸۱۹ ^{A}
BHT	۰/۰۲۳±۰/۰۰۰۲ ^{g}	۰/۰۲۳±۰/۰۰۰۲ ^{G}

قدرت مهارکننده رادیکال‌های آزاد عصاره‌های هسته و کنجاله هسته انار به‌ترتیب با حروف کوچک و بزرگ مشخص شده است.

در بین عصاره‌های هسته انار، بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (کمترین EC_{50}) مربوط است به عصارهٔ متانولی (۰/۱۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، و پس از آن عصارهٔ آبی (۰/۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و استونی (۰/۳۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) قرار دارند. کمترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد به عصارهٔ هگزانی (۴/۲۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) اختصاص دارد. این نتایج توانایی قابل توجه حلال‌های متانول، آب و استون را در استخراج بخش اعظم ترکیبات مهارکنندهٔ رادیکال‌های آزاد موجود در هسته انار نشان می‌دهد.

در بین عصاره‌های استخراجی از کنجاله هسته انار، بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد به عصارهٔ متانولی (۰/۱۹۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و پس از آن عصارهٔ آبی (۰/۳۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین آن به عصاره هگزانی (۳/۸۷۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط می‌شود. قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره‌های متانولی و استونی فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند.

اختلافات جزئی بین نتایج عصارهٔ هسته و عصاره کنجاله نیز پیش از این به میزان روغن و اختلاف در سایر ترکیبات موجود در هسته و کنجاله نسبت داده شده بود.

داده‌های مربوط به سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره‌ها نیز نتایج قبل مبنی بر باقیماندن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را در کنجالهٔ حاصل از فرایند روغن‌کشی تأیید می‌کنند. نتایج کلی مربوط به آزمایش‌های احیاکنندگی آهن و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد.

پایداری اکسایشی عصاره

نتایج تجزیهٔ واریانس اثر نوع عصارهٔ استحصالی از هستهٔ انار بر پایداری اکسایشی روغن تصفیه شدهٔ سویا نشان می‌دهد که نوع عصاره اثر معنی‌داری (سطح ۱ درصد) بر پایداری اکسایشی روغن تصفیه شده سویا دارد.

اثر افزودن عصاره‌های استحصالی از هسته انار بر شاخص پایداری اکسایشی (OSI) روغن خالص شده سویا در جدول ۵، نشان داده شده است. در بین عصاره‌های مورد مطالعه تنها عصاره متانولی به‌طور معنی‌داری پایداری اکسایشی روغن تخلیص شده سویا را افزایش داده است.

در جدول ۵ مشاهده می‌شود که با افزودن عصارهٔ آبی به روغن سویا پایداری اکسایشی نسبت به نمونه شاهد کاهش می‌یابد ولی شاخص پایداری اکسایشی در نمونه متانولی افزایش نشان می‌دهد. با کاهش قطبیت حلال، پایداری اکسایشی مخلوط روغن و عصاره از نمونه شاهد کمتر می‌شود. کاهش پایداری اکسایشی نمونه‌های حاوی عصاره‌های غیرقطبی، با توجه به نتایج بخش‌های قبل مبنی بر وجود خواص آنتی‌اکسیدانی، کمتر مورد انتظار است ولی با وجود خواص آنتی‌اکسیدانی کم عصاره‌های غیرقطبی، انتظار کاهش پایداری اکسایشی به کمتر از مقدار نمونهٔ شاهد وجود نداشت. همچنین در خصوص نمونهٔ حاوی عصارهٔ آبی با توجه به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی انحلال‌پذیر در آب پیش‌بینی می‌شد که این عصاره تأثیری بر پایداری اکسایشی نداشته باشد. با وجود این، پایداری اکسایشی این نمونه از شاهد کمتر بود.

جدول ۵- پایداری اکسایشی روغن سویای تصفیه شده حاوی دو درصد عصاره

نمونه	پایداری اکسایشی (ساعت)
روغن سویا (شاهد)	۴/۴۳ [c]
روغن سویا و آنتی‌اکسیدان BHT	۵/۱ [b]
روغن سویا و عصارهٔ آبی	۳/۷۵ [d]
روغن سویا و عصارهٔ متانولی	۶/۲ [a]
روغن سویا و عصارهٔ بوتانولی	۳/۶۶ [d]
روغن سویا و عصارهٔ استونی	۳/۴۴ [e]
روغن سویا و عصارهٔ اتیل‌استاتی	۳/۰۸ [f]
روغن سویا و عصارهٔ هگزانی	۲/۸۱ [g]

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

اساس کار در آزمون رنسیمت بر مبنای استفاده از دمای بالا و جریان هوا در نمونهٔ روغن است تا پایداری آن در شرایط مشخص شده تعیین و مقایسه شود. روغن انار به‌علت داشتن مقادیر بالای اسیدپونیسیک (۷۶ درصد) روغنی ناپایدار است. عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی، بوتانولی و استونی هستهٔ انار مقادیری متفاوت از روغن استحصال شده از هسته را دارند. به نظر می‌رسد به‌علت ناپایداری روغن مذکور با اضافه شدن هر یک از عصاره‌ها به روغن سویا، بسته به میزان روغن موجود در عصاره، اکسایش روغن سویا تشدید می‌شود. بنابراین نمونه‌های

روغن سویای حاوی عصاره‌های مذکور، همگی پایداری اکسایشی پایین‌تری نسبت به روغن سویای خالص دارند. همچنین احتمال استخراج ترکیبات پرواکسیدان توسط حلال‌های گفته شده از هسته انار وجود دارد که اکسایش روغن سویا را تسریع می‌کنند. عصارهٔ آبی با داشتن قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا نیز، به‌علت انحلال‌پذیری کم در روغن سویا، نمی‌تواند مؤثر واقع شود و سرانجام پایداری اکسایشی کمتری نسبت به شاهد نشان داد. در این میان عصارهٔ متانولی با داشتن قدرت بالای آنتی‌اکسیدانی و انحلال‌پذیری خوب در روغن، از پایداری اکسایشی نسبتاً بالایی نسبت به شاهد برخوردار است.

نتیجه‌گیری

هستهٔ انار محصول فرعی و جانبی کارخانه‌های صنعتی فرآوری انار، منبع خوبی از ترکیبات ارزشمند غذایی از جمله آنتی‌اکسیدان‌هاست که می‌تواند به عنوان افزودنی خوراکی به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم دارای کاربردهای زیادی باشد. اما فقدان اطلاعات لازم در خصوص ترکیبات زیست فعال هستهٔ انار ایرانی می‌طلبید که تحقیقات بیشتری در مورد شناسایی ترکیبات مؤثر آن انجام شود. به همین منظور، اثر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در آن مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور بررسی کارآیی آنتی‌اکسیدانی هستهٔ انار و هسته روغن‌کشی شده آن (کنجاله)، اثر نوع حلال بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین راندمان عصاره‌گیری از هسته و کنجالهٔ هستهٔ انار به‌ترتیب با استفاده از حلال‌های هگزان و استون به‌دست می‌آید. بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنلی هستهٔ انار، به‌ترتیب در عصاره‌های متانولی و هگزانی (۲۷/۹۹ و ۰/۲۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم روغن) اندازه‌گیری شد. نتایج بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف با استفاده از آزمون‌های FRAP و DPPH نشان می‌دهد که عصاره‌های متانولی و آبی به‌ترتیب قوی‌ترین عصاره‌ها را از نظر آنتی‌اکسیدانی به‌دست می‌دهند. ولی با توجه به سالم، ارزان و در دسترس بودن آب و از طرفی نزدیک بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی آن به قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ متانولی، آب مناسب‌ترین حلال برای استحصال ترکیبات آنتی اکسیدانی، به‌خصوص ترکیبات فنلی انتخاب شد. مقایسهٔ تأثیر عصاره‌های مختلف بر میزان پایداری اکسایشی روغن سویای تخلیص شده (شاهد) نشان می‌دهد که عصارهٔ متانولی به‌صورت معنی‌داری پایداری اکسایشی نمونه شاهد را افزایش می‌دهد.

مراجع

Anon. 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. 4th Ed. American Oil Chemists' Society. AOCS Press.

Anon. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists. AOAC Pub.

Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D. and Nitecki, S. 2004. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. Clin. Nutr. 23(3): 423-433.

Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chem. 71(4): 553-562.

Farhoosh, R. 2007. 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. 84(3): 205-209.

Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. and Kader, A. A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. J. Agric. Food Chem. 48, 4581-4589.

Hernandez, P., Melgarejo, J., Olias, M. and Artes, F. 1998. Fatty acid composition and total lipid content of seed oil from three commercial pomegranate cultivars. Proceedings of the Symposium on Production, Processing and Marketing of Pomegranate in the Mediterranean Region: Advances in Research and Technology. Oct. 15-17. Orihuela. Spain. 205-209.

Jayaprakasha, G. K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifera) seed extracts. Food Res. Int. 36, 117-122.

Kallithraka, S., Viguera, C. G. and Bakker, J. 1995. Survey of Solvents for the extraction of grape seed phenolics. Phytochem. Analysis. 6, 265-267.

Khan, N., Afaq, F., Kweon, M. H., Kim, K. and Mukhtar, H. 2007. Consumption of pomegranate fruit extract inhibits growth and progression of primary lung tumors in mice. Cancer Res. 67(7): 3475-3482.

Kohno, M., Iwabuchi, M., Koba, K. and Imamura, J. 2004. Production of an isomer of conjugated linolenic acid, punicic acid, in rapeseed and rice. Proceedings of the 16th International Plant Lipid Symposium. June 1-4. Budapest. Hungary. 166-168.

Molero Gbmez, A., Pereyra Lopez, C. and Martinez de la Ossa, E. 1996. Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: a comparison with conventional solvent extraction. Chem. Eng. Biochem. Eng. 61(3): 227-231.

Ozgen, M., Durgac, C., Serce, S. and Kaya, C. 2008. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. Food Chem. 111, 703-706.

Pekic, B. and Kovac, V. 1997. Study of the extraction of Proanthocyanidins from grape seeds. Food Chem. 61, 201-206.

Sadeghi, N., Jannat, B., Oveisi, M. R., Hajimahmoodi, M. and Photovat, M. 2009. Antioxidant activity of Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) seed extracts. J. Agric. Sci. Technol. 11(5): 633-638.

Saha, S. S. and Ghosh, M. 2009. Comparative study of antioxidant activity of [alpha]-eleostearic acid and punicic acid against oxidative stress generated by sodium arsenite. Food Chem. Toxicol. 47(10): 2551-2556.

Seeram, N. P. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. J. Nutr. Biochem. 16(6): 360-367.

Shantha, N. C. and Decker, E. A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. J. AOAC Int. 77(2): 421-424.

Singh, R. P., Chidambara Murthy, K. N. and Jayaprakasha, G. K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. J. Agric. Food Chem. 50 (1): 81-86.

Escribano-Bail, M. T. and Satos-Buelga, C. 2003. Polyphenol Extraction from Foods. In: Williamson, G. and Santos-Buelga, C. (Eds.) Methods in Polyphenol Analysis. Royal Society of Chemistry Pub. Cambridge. United Kingdom.

Wang, Zh., Pan, Zh., Ma, H. and Atungulu, G. 2011. Extraction of phenolics, proanthocyanidins and flavonoids from peel of pomegranate Marc. Open Food Sci. J. 5, 17-25.

Yemis, O., Bakkalbasi, E. and Artik, N. 2007. Antioxidative activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts obtained from different varieties grown in Turkey. Int. J. Food Sci. Technol. 43(1): 154-159.

AERI JAER *Journal of Agricultural Engineering Research/Vol.15/No.2/2014/P:63-76*

Antioxidant and Antiradical Properties of Pomegranate Seed Extract (*Punica granatum* L.)

Sh. Basiri

* Corresponding Author: Scientific Member, Khorasan Razavi Agriculture & Natural Resources Research Center, Khorasan Razavi, Iran. E-mail: shbasiri35@yahoo.com
Received: 8 September 2012, Accepted: 15 June 2013

The effect of 6 solvents with different polarities on the extraction of pomegranate seed extracts was studied. Extraction efficiency, reducing activity, radical scavenging properties and the effect of each extract on thermal resistance (oxidative stability index) of antioxidant-free soybean oil were analyzed using a factorial test in a completely randomized design with 3 replications. The results showed that the highest extraction yield from pomegranate seeds was hexane extract and from defatted seeds was acetone extract. The antioxidant properties of the different extracts were analyzed using FRAP and DPPH and revealed that methanol seed extract had the highest antioxidant properties. The antioxidant efficiency of the seed extracts prepared using solvents in combination with antioxidant-free soybean oil was measured using a Rancimat. The results showed that methanol seed extract increased the oxidative stability of the oil sample.

Keywords: Antioxidant properties, Pomegranate seed, Radical scavenging property, Rancimat, Reducing activity