

مطالعه تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی و بررسی فعالیت ضد رادیکالی آن

علی گنجلو^{۱*}، ماندانا بی مکر^۱ و مسعود قربانی^۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۲۸

^۱ به ترتیب دانشیار و استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

* مسئول مکاتبه: Email: aganjloo@znu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعه: استخراج ترکیبات فنولی از منابع ارزان قیمت خصوصاً محصولات جانبی و ضایعات صنایع فرآوری مواد غذایی از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف: این پژوهش به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی انجام شد. روش کار: غلاف نخود فرنگی به روش‌های خشک کردن در سایه، هوای داغ (۵۰°C و ۷۰°C) و انجمادی خشک شد و ترکیبات فنولی به روش غرقابی با استفاده از حلال‌های آب، استون، اتانول و هگزان استخراج گردید. از شناساگر فولین - سیکالتیو برای اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی کل و از روش‌های مهار رادیکال‌های آزاد ۱،۱-دی فنیل - ۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و هیدروژن پراکسید برای ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی استفاده شد. سینتیک استخراج ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی با استفاده از مدل‌های سینتیکی قابل برازش مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج: روش خشک کردن و نوع حلال تأثیر بسزایی بر میزان استخراج ترکیبات فنولی داشت. داده‌های آزمایشگاهی با در نظر گرفتن حداکثر ضریب همبستگی، حداقل ریشه میانگین مربعات خطا و مدول میانگین انحراف نسبی به خوبی با مدل پلگ برازش شدند. مقدار ترکیبات فنولی در دامنه ۱۴/۴۴-۰/۲۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم عصاره به دست آمد. بر اساس مدل پلگ، کمترین مقدار ثابت سرعت پلگ برای نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی و استفاده از اتانول به دست آمد که نشانگر سرعت بالاتر انتقال جرم است. حداکثر فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های فنولی غلاف نخود فرنگی معادل ۸۵/۴۸٪ برای مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ۱۴/۵۱٪ برای هیدروژن پراکسید بود. رابطه خطی با ضریب همبستگی بالا (۰/۷۰-۰/۸۰) بین محتوای فنولی کل و فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد به دست آمد. نتیجه‌گیری نهایی: غلاف نخود فرنگی را می‌توان به عنوان یک منبع ارزان قیمت برای استحصال ترکیبات فنولی به منظور استفاده در صنایع غذایی و دارویی معرفی نمود. روش آماده‌سازی و نوع حلال تأثیر چشمگیری بر استخراج ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی دارند. از مدل پلگ می‌توان برای بررسی سینتیک انتقال جرم حین فرایند استخراج ترکیبات فنولی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: استخراج، ترکیبات فنولی، سینتیک انتقال جرم، غلاف نخود فرنگی، فعالیت ضد رادیکالی

مقدمه

صنایع فرآوری محصولات کشاورزی تولید کننده بخش بزرگی از محصولات جانبی هستند که معمولا به عنوان ضایعات یا مواد دور ریز شناخته می‌شوند. نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که این مواد منبع بالقوه - ای از ترکیبات زیست فعال با فعالیت ضد رادیکالی هستند (سگویا و همکاران ۲۰۱۶؛ آبی و همکاران ۲۰۱۷). فنول‌ها گروه اصلی متابولیت‌های ثانویه هستند که در بخش‌های مختلف گیاه اعم از برگ، میوه، دانه، پوست و ریشه یافت می‌شوند و به علت توانایی در مهار رادیکال‌های آزاد از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار هستند (دیوف و همکاران ۲۰۰۹). از آنجایی‌که تأثیرات منفی استفاده از ترکیبات ضد رادیکال سنتزی نظیر بوتیلات هیدروکسی تولوئن و بوتیلات هیدروکسی آنیزول بر سلامتی انسان‌ها به اثبات رسیده است استفاده از این ترکیبات در بسیاری از کشورها محدود یا منع شده است (جایا پراکاش و همکاران ۲۰۰۳). در نتیجه استحصال و استفاده از ترکیبات ضد رادیکال طبیعی خصوصا فنول‌ها در صنایع غذایی و دارویی به علت نقش آنها در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌های خوراکی، کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های التهابی و سرطان در سالیان اخیر به‌طور چشمگیری مورد توجه قرار گرفته است (مور و همکاران ۲۰۰۱). استخراج چنین ترکیباتی از منابع ارزان قیمت نظیر ضایعات و یا محصولات جانبی حاصل از فرآوری محصولات کشاورزی از نقطه نظر کاهش تأثیرات زیست محیطی ناشی از وجود این ضایعات در طبیعت و همچنین ایجاد ارزش افزوده اقتصادی می‌تواند بسیار حایز اهمیت باشد.

نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) گیاهی یک ساله است که از نظر گیاه‌شناسی به عنوان میوه شناخته می‌شود و معمولا به صورت تازه، قوطی گذاری شده یا منجمد به مصرف می‌رسد (هایمانتی و همکاران ۲۰۱۴). طبق گزارش سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل متحد

سطح زیر کشت این گیاه در جهان در سال ۲۰۱۴ بالغ بر ۸/۱۴ میلیون هکتار با تولید دانه به مقدار ۱۵/۳۴ میلیون تن بوده است. در سال ۲۰۱۴ تولید نخود فرنگی در ایران حدود ۳۴۴۲۳۰۰ تن گزارش شده است. در سراسر جهان نخود فرنگی پس از غلاف‌گیری به بازار عرضه و مصرف می‌شود. در نتیجه دفع مواد زائد تولید شده پس از فرآوری این محصول یک مشکل قابل توجه در صنعت بشمار می‌آید.

استخراج یکی از مهم‌ترین اقدامات در جهت جداسازی انواع مختلف مواد زیست فعال از منابع مختلف بشمار می‌رود (سماواتی و منوچهری زاده ۲۰۱۳). عوامل مختلفی از جمله روش استخراج، نوع حلال مورد استفاده، pH حلال، دما، تعداد دفعات استخراج، نسبت ماده خام به حلال، اندازه ذرات ماده خام و استفاده از پیش تیمارهای مختلف تأثیر بسزایی بر کارایی فرایند استخراج دارند (چریونز و همکاران ۲۰۰۷). خشک کردن یکی از قدیمی ترین تکنیک‌های نگهداری مواد غذایی محسوب می‌شود که یک پیش تیمار مهم جهت آماده سازی مواد خام قبل از انجام فرایند استخراج نیز محسوب می‌شود. تاکنون روش‌های مختلفی از جمله خشک کردن زیر نور آفتاب، در سایه، هوای داغ، انجمادی، میکروویو و پاششی معرفی شده است. هر یک از این روش‌ها علاوه بر تأثیر گذاری بر پروفایل و غلظت ترکیبات زیست فعال قابل استخراج بر ساختار ماده اولیه مورد استفاده نیز تأثیر قابل توجهی دارند (لیم و مورتی جایا ۲۰۰۷؛ توی فام و همکاران ۲۰۱۵). در نتیجه انتخاب بهترین روش خشک کردن برای هر نوع ماده اولیه مورد استفاده در فرایند استخراج ضروری به‌نظر می‌رسد. از طرفی تعیین بهترین نوع حلال با هدف به حداکثر رساندن بازده استخراج این ترکیبات با توجه به این که طبیعت و قطبیت ترکیبات زیست فعال در منابع طبیعی مختلف متفاوت است نیز ضروری است.

مطالعه گارسیا- پرز و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی بیشترین غلظت ترکیبات ضد اکسایشی را داشتند و بالاترین ضریب انتقال جرم و نفوذ موثر نیز در این نمونه‌ها مشاهده گردید. نتایج بررسی مدل‌های مختلف به منظور یافتن بهترین مدل جهت بیان سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از تفاله انگور توسط سانتانا و همکاران (۲۰۱۲) حاکی از آن است که مدل شبه درجه اول مناسب‌ترین مدل در این مطالعه بود. همچنین مطالعاتی با هدف بررسی محتوای فنولی و فعالیت ضد اکسایشی بخش‌های مختلف گیاه نخود فرنگی از جمله دانه (آماروویچ و تروژنسکا ۲۰۰۳)، پوسته دانه (اوما و همکاران ۲۰۱۱) و غلاف نخود فرنگی (هایمانتی و همکاران ۲۰۱۴؛ قربانی و همکاران ۲۰۱۷) صورت پذیرفته است. اما بررسی منابع نشان می‌دهد تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی و عوامل موثر بر آن انجام نشده است. لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن نظیر خشک کردن در سایه، هوای داغ (۵۰°C) و انجمادی و همچنین نوع حلال با میزان قطبیت‌های مختلف شامل آب، استون، اتانول و هگزان بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی و دستیابی به ضرایب ثابت معادله انتقال جرم صورت پذیرفت. در نهایت فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی نیز تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

نخود فرنگی‌های مورد استفاده در این پژوهش در خرداد ماه سال ۱۳۹۴ از مزارع شهرستان طارم در استان زنجان برداشت شدند. در ابتدا غلاف از میوه جدا شد و پس از شستشو، به سه روش سایه، هوای داغ (۷۰°C و ۵۰°C) و انجمادی تا رسیدن به رطوبت ۹۰/۰±۵۰/۲۲ خشک شدند. نمونه‌های خشک شده تا قبل

آگاهی از پارامترهای انتقال جرم نظیر نرخ استخراج و زمان تعادل فرایند لازمه طراحی، تجزیه و تحلیل فرآیند، تخمین و کنترل دقیق پدیده‌های انتقال جرم است، لذا انجام این گونه پژوهش‌ها نظیر پژوهش حاضر از اهمیت بالایی برخوردار هستند. بر اساس ساز و کار انتقال جرم در سامانه‌های جامد- مایع، مدل‌های ریاضی جهت بررسی سینتیک استخراج توسعه یافته است که می‌توان آنها را به دو گروه مدل‌های فیزیکی و تجربی تقسیم نمود. به‌طور کلی مدل‌های فیزیکی بسیار پیچیده هستند که بر اساس رخدادهای فیزیکی انتقال جرم در داخل و بر روی سطوح خارجی ماتریکس گیاهی به داخل فاز مایع توسعه یافته‌اند. مدل‌های تجربی که تغییرات مقدار ترکیبات قابل استخراج را در واحد زمان به زبان ریاضی بیان می‌کنند معمولاً ساده تر از مدل‌های فیزیکی هستند اما همچنان از کارایی مطلوب در این زمینه برخوردار هستند (کیتانویچ و همکاران ۲۰۰۸). مدل‌های تجربی شبه درجه اول^۱، تئوری فیلم^۲، مینکوف^۳، پلگ^۴، درجه n ام^۵ و وی بول^۶ از متداول‌ترین مدل‌های مورد استفاده در مطالعاتی از این دست می‌باشند (بوکیک-کوچیک و همکاران ۲۰۰۷). با وجود مطالعات فراوان در زمینه انتقال جرم در فرایندهایی نظیر خشک کردن، برشته کردن و سرخ کردن تاکنون مطالعات اندکی در زمینه بررسی سینتیک انتقال جرم حین فرایند استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع طبیعی خصوصاً ضایعات و مواد دور ریز صورت گرفته است. به عنوان مثال، گارسیا- پرز و همکاران (۲۰۱۰)، پینلو و همکاران (۲۰۰۶) و سانتانا و همکاران (۲۰۱۲) انتقال جرم حین فرایند استخراج ترکیبات ضد اکسایشی از محصولات جانبی میوه انگور را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج

¹ Pseudo-first order model

² Film Theory

³ Minchev and Minkov model

⁴ Peleg model

⁵ n th order model

⁶ Weibull model

حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد (امین و همکاران ۲۰۰۴).

اندازه‌گیری فعالیت ضد رادیکالی به روش ۱،۱-دی-

فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

توانایی ترکیباتی نظیر فنول‌ها جهت انتقال اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد از طریق تعیین فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH ارزیابی گردید. این روش معمول‌ترین روش اندازه‌گیری فعالیت ضد رادیکالی است که اساس آن بر پایه بی‌رنگ شدن رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط ترکیبات ضد رادیکال در عصاره می‌باشد. بدین منظور ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره با حلال متانول تا غلظت نهایی ۰/۰۱ گرم بر میلی‌لیتر رقیق شد و ۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ میلی مولار DPPH به آن اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط نگهداری شد. میزان جذب توسط دستگاه طیف سنج نوری-ماوراء بنفش در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقایسه با نمونه کنترل که تنها حاوی محلول DPPH است قرائت گردید. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (مانزوکو و همکاران ۱۹۹۸).

$$\text{DPPH} (\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

در این رابطه A_s میزان جذب نمونه (حاوی نمونه و رادیکال DPPH) و A_c میزان جذب محلول DPPH خالص است.

اندازه‌گیری فعالیت ضد رادیکالی به روش هیدروژن

پراکسید

توانایی به دام انداختن هیدروژن پراکسید توسط عصاره فنولی غلاف نخود فرنگی با استفاده از روش راج و همکاران اندازه‌گیری شد (راج و همکاران ۱۹۸۹). در ابتدا محلول ۴۰ میلی مولار هیدروژن پراکسید در بافر فسفات (۵۰ میلی مولار، pH ۷/۴) تهیه گردید. سپس عصاره با غلظت ۰/۰۱ گرم بر میلی‌لیتر به هیدروژن پراکسید اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۲۳۰ نانومتر در مقایسه با نمونه

از فرایند استخراج (حداکثر روز بعد) در یخچال با دمای ۴°C نگهداری شدند. قبل از عصاره‌گیری، نمونه‌ها با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی پودر شده و از الک آزمایشگاهی با مش ۳۵ عبور داده شدند. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت‌های مرک، سیگما-آلدریچ و فلوکا تهیه شدند.

استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی

به منظور استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی به روش غرقابی سه گرم از پودر خشک غلاف نخود فرنگی با نسبت ۱ به ۲۰ با حلال‌های مورد نظر (آب، استون، اتانول و هگزان) مخلوط گردید و به مدت ۲۴ ساعت در ظروف تیره درب‌دار و محیط تاریک در دمای محیط (۲۵°C) قرار داده شد. پس از سپری شدن زمان مورد نظر (۵، ۱۰، ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۲۴۰، ۳۶۰، ۷۲۰ و ۱۴۴۰ دقیقه) مخلوط از یک کاغذ صافی عبور داده شد و در نهایت حلال اضافی توسط دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلا در دمای ۴۰°C جدا گردید. عصاره به‌دست آمده تا زمان آزمون در فریزر با دمای ۱۸°C- (حداکثر ۲۴ ساعت) نگهداری شد (رازالی و همکاران ۲۰۱۲).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی کل

۱۰۰ میکرولیتر از محلول حاوی ترکیبات زیست فعال فنولی با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و پس از انتقال به لوله آزمایش با ۷۵۰ میکرولیتر شناساگر فولین-سیکالتیو (قبلاً با نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه شده رقیق شده است) به خوبی مخلوط گردید. محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک قرار گرفت. سپس ۷۵۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۶٪ (وزنی-حجمی) به آن اضافه و به آرامی بهم زده شد. پس از نگهداری محلول نهایی به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک میزان جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری-ماوراء بنفش قرائت گردید. مقدار ترکیبات فنولی کل بر اساس معادله به دست آمده از منحنی استاندارد اسید گالیک بر

کنترل که حاوی بافر فسفات بدون هیدروژن پراکسید است، قرائت گردید. درصد به دام اندازی هیدروژن پراکسید از طریق رابطه زیر به دست آمد.

$$(\%) = A_c - A_s / A_c \times 100$$
 در این رابطه A_s میزان جذب نمونه مورد آزمایش و A_c میزان جذب نمونه کنترل است.

بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی

به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی از مدل‌های سینتیکی قابل برازش بر داده‌های آزمایشگاهی (جدول ۱) استفاده شد. برازش مدل‌ها بر داده‌های آزمایشگاهی با استفاده از رگرسیون غیرخطی توسط نرم افزار STATISTICA V. 10 (Stat

$$R^2 = 1 - (\text{Residual SS}) / (\text{Corrected total SS})$$

$$RMSE = \frac{1}{n} \left[\sum_{i=1}^n (V_{exp} - V_{pre})^2 \right]^{0.5}$$

$$E\% = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|V_{exp} - V_{pre}|}{V_{exp}}$$

جدول ۱- مدل‌های ریاضی مورد استفاده برای بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی

Table 1- Mathematical models used to evaluate the kinetics of phenolic compounds extraction from green pea pod

Model	Equation	Reference
nth order	$C = k \cdot t^{-n}$	Vetal et al. 2012
Peleg	$C = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t}$	Peleg 1988
Weibull	$C = C_0 \exp(kt^n)$	Amendola et al. 2010

نتایج و بحث

بررسی تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی

روند تغییرات میزان استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی تحت شرایط مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، استخراج ترکیبات فنولی از فرم غیر خطی تبعیت می‌کند. بر اساس شکل ۱ فرایند استخراج در دو مرحله رخ می‌دهد. مرحله اول، مرحله انتقال جرم با سرعت بالا است. سرعت بالا در این مرحله را می‌توان ناشی از بالا بودن اختلاف گرادیان غلظت ترکیبات هدف در ماتریکس گیاهی و حلال احاطه کننده دانست که سبب خروج

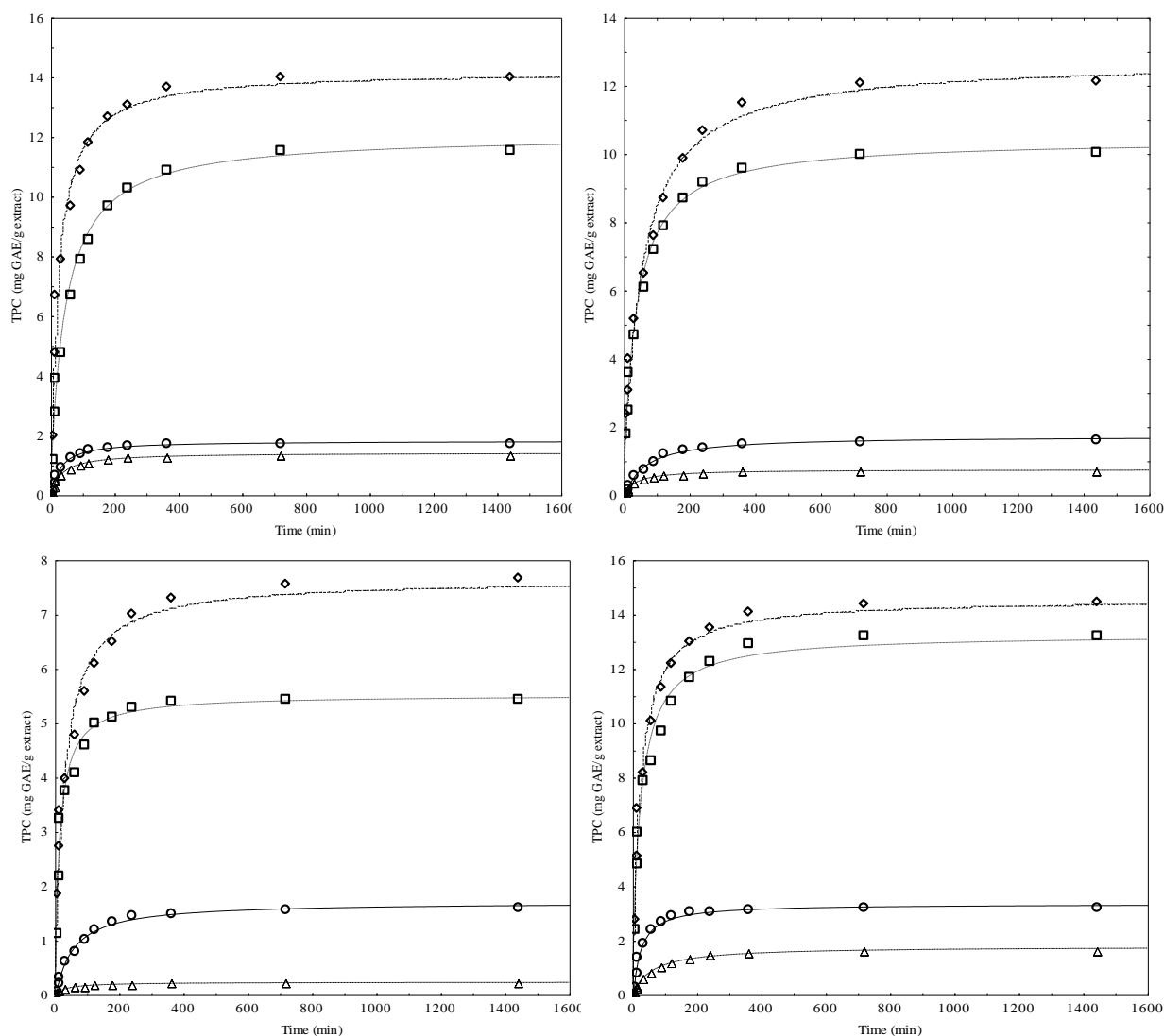
تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی بر اساس آزمایشات فاکتوریل کامل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار V.16 (Minitab Inc. State College, PA, USA) در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل واریانس به روش مدل خطی تعمیم یافته^۱ و مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

¹ Generalized linear model

(گارسیا- پرز و همکاران ۲۰۱۰)، برگ‌های ریحان (وتال و همکاران ۲۰۱۲)، دانه آواکادو (سگویا و همکاران ۲۰۱۶)، کاسنی (پارادال و همکاران ۲۰۱۶) و چای سفید (لین و همکاران ۲۰۱۷) نیز گزارش شده است.

سریع ترکیبات فنولی از درون ماده اولیه به درون حلال می‌گردد. با گذشت زمان، سرعت انتقال جرم کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد فرایند استخراج ترکیبات فنولی به سمت تعادل پیش می‌رود (مرحله دوم). روند مشابهی برای استخراج ترکیبات زیست فعال از ساقه انگور



شکل ۱- استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی (الف) خشک شده به روش سایه، (ب) هوای داغ 50°C ، (ج) هوای داغ 70°C ، (د) انجمادی. نشانه‌های (Δ) مربوط به حلال هگزان، (\circ) آب، (\square) استون و (\diamond) اتانول می‌باشند. مدل پلگ بر داده‌های آزمایشگاهی برازش شده است

Figure 1- Phenolic compounds extraction from green pea pod (A) Shade dried (B) Hot air dried at 50°C (C) Hot air dried at 70°C (D) Freeze dried. Signs of (Δ) related to hexane, (\circ) water, (\square) acetone and (\diamond) ethanol solvent. Peleg model was fitted on experimental data

اسید گالیک بر گرم عصاره قرار داشت (جدول ۲). حداکثر میزان استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود

به‌طور کلی، میزان استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی در دامنه $0.22-14/44$ میلی‌گرم معادل

در ماتریکس گیاهی نسبت دادند. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد ترکیبات زیست فعال فنولی استخراج شده از غلاف نخود فرنگی کمی بیشتر از میزان استخراج شده از زنجبیل است. والادز-کارمونا و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی تأثیر روش‌های خشک کردن میکروویو، هوای داغ و انجمادی بر ترکیبات فنولی پوسته غلاف کاکائو دریافتند که با استفاده از روش خشک کردن انجمادی می‌توان به بالاترین میزان ترکیبات فنولی دست یافت. میزان ترکیبات فنولی پوسته غلاف کاکائو خشک شده به روش انجمادی حدوداً معادل ۱۸ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره به دست آمد که کمی بالاتر از میزان ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی بود. برای نمونه‌های خشک شده به روش هوای گرم حداکثر میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از غلاف نخود فرنگی با ثابت در نظر گرفتن نوع حلال برای نمونه‌های خشک شده در دمای 50°C مشاهده شد. اختلاف مشاهده شده در میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از غلاف نخود فرنگی به این روش را می‌توان به دما و زمان فرایند خشک کردن در هوای داغ نسبت داد به طوری که در دماهای بالاتر احتمال تخریب ترکیبات فنولی از طریق تجزیه حرارتی بیشتر است. حتی اعمال دماهای پایین‌تر به دلیل افزایش زمان برای کاهش رطوبت تا مقدار مطلوب می‌تواند منجر به تخریب ترکیبات فنولی از طریق واکنش آنها با اکسیژن محیط گردد. با توجه به تنوع ساختاری ترکیبات فنولی در منابع گیاهی تأثیر حرارت و زمان بر تخریب ترکیبات فنولی می‌تواند بسیار متغیر و پیچیده باشد. لذا آگاهی از نحوه تأثیر دما و زمان فرایند خشک کردن بر ترکیبات فنولی هر یک از منابع گیاهی به‌طور اختصاصی ضروری است. به‌طور کلی استفاده از دماهای بالا و یا زمان‌های طولانی برای خشک کردن ماده اولیه می‌تواند بر ساختار ماده اولیه، دسترسی و قابلیت استخراج ترکیبات هدف تأثیر گذارد (پلانینیچ و همکاران ۲۰۱۵). میزان استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی

فرنگی خشک شده به روش انجمادی و استفاده از حلال اتانول معادل $14/44 \pm 0/27$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره به دست آمد. در حالی که حداقل بازده استخراج ترکیبات فنولی مربوط به غلاف نخود فرنگی خشک شده به روش هوای گرم در دمای 70°C و استفاده از حلال هگزان معادل $0/22 \pm 0/02$ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره بود. به‌طور کلی با ثابت در نظر گرفتن نوع حلال، میزان استخراج ترکیبات فنولی در صورت استفاده از فناوری خشک کردن به روش انجمادی بالاتر بود که علت این امر را می‌توان به حداقل رسیدن تخریب ترکیبات زیست فعال در این روش به دلیل کاهش رطوبت از طریق تصعید در دمای پایین و تحت شرایط خلاء نسبت داد (پلانینیچ و همکاران ۲۰۱۵). به‌طور کلی اعمال روش‌های مختلف خشک کردن با تأثیر بر دانسیته و در نتیجه میزان تخلخل بافت ماده اولیه می‌توانند بر میزان استخراج ترکیبات زیست فعال تأثیر گذار باشند. نتایج مطالعه گارسیا-پرز و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی به طور معنی‌داری متخلخل‌تر از نمونه‌های خشک شده به روش هوای داغ است. در این مطالعه تأثیر معنی‌دار دمای مورد استفاده برای خشک کردن به روش هوای گرم نیز مشاهده گردید به طوری که نمونه‌های خشک شده در دمای کمتر تخلخل بیشتری داشتند. نتایج مطالعه آن و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد که میزان ترکیبات زیست فعال فنولی استخراج شده از زنجبیل‌های خشک شده به روش انجمادی ($13/83$) میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره) بالاتر از سایر روش‌های مورد مطالعه از جمله، میکروویو ($8/41$) میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره، مادون قرمز ($11/35$) میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره) و هوای داغ ($9/69$) میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره) بود. آنها علت میزان بازده بالاتر در روش خشک کردن انجمادی را به تخریب دیواره سلولی در نتیجه ایجاد کریستال‌های یخ

فنولی حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف متفاوت می‌باشد (وتال و همکاران ۲۰۱۲؛ سیلوا و همکاران ۲۰۰۶). نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر با نتایج سایر محققان نظیر کوفی و همکاران (۲۰۱۰)، وارداتون و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت داشت. این محققان دریافتند که با استفاده از حلال اتانول در مقایسه با سایر حلال‌ها نظیر استون، آب مقطر و متانول می‌توان به ترکیبات زیست فعال فنولی بالاتری دست یافت. لذا ماهیت ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی را می‌توان تقریباً مشابه ماهیت ترکیبات فنولی گلبرگ‌های چای ترش، پوست دانه بادام زمینی و دارچین در نظر گرفت. ذکر این نکته نیز لازم است که فاکتورهای کلیدی مختلف نظیر رقم، محیط کشت، زمان برداشت، شرایط نگهداری ماده اولیه، شرایط استخراج و روش‌های آزمایشگاهی مورد استفاده بر میزان و محتوای ترکیبات فنولی به دست آمده از یک ماده اولیه تأثیر گذار است لذا نتایج به دست آمده در این دست از مطالعات با ماده اولیه یکسان ممکن است متفاوت باشند (چانگ و همکاران ۲۰۰۸؛ پلانینیچ و همکاران ۲۰۱۵). هر چند که در بررسی منابع انجام شده مطالعه مشابه با تحقیق حاضر یافت نشد.

خشک شده در سایه در حد مطلوب بود (جدول ۲) اما مدت زمان طولانی مورد نیاز برای خشک کردن ماده اولیه به این روش می‌تواند بر جوانب اقتصادی فرایند تأثیر منفی داشته باشد. تخمین نحوه تعامل مواد اولیه گیاهی با حلال‌های مورد استفاده برای استخراج ترکیبات هدف به دلیل ساختار شیمیایی متنوع ترکیبات هدف مشکل است. بنابراین، استفاده از حلال‌های مختلف منجر به تولید عصاره‌هایی با مقادیر و ترکیب شیمیایی مختلف از یک ماده اولیه خواهد شد (زارنوسکی و سوزوکی ۲۰۰۴). در نتیجه انتخاب حلال مناسب یکی از مهم‌ترین اقدامات ضروری جهت استخراج ترکیبات فعال به صورت موفقیت آمیز است. از این‌رو، در این مطالعه از حلال‌هایی با قطبیت-های مختلف شامل آب، استون، اتانول و هگزان به‌منظور استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی استفاده گردید. همان‌طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود با ثابت در نظر گرفتن روش خشک کردن بیشترین میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از غلاف نخود فرنگی به ترتیب با استفاده از حلال اتانول، استون، آب و هگزان به‌دست آمد که این تفاوت در مقادیر ترکیبات فنولی استخراج شده را می‌توان به تفاوت در قطبیت حلال‌های مورد استفاده نسبت داد زیرا با توجه به ماهیت ترکیبات

جدول ۲- مقادیر تعادلی تجربی و تخمینی ترکیبات فنولی کل عصاره‌های غلاف نخود فرنگی

Table 2- Experimental and predicted equilibrium values of total phenolic compounds of green pea pod extracts

Drying method	Solvent type	Experimental equilibrium values	Predicted equilibrium values
Shade drying	Water	1.75±0.05	1.85
	Acetone	11.58±0.02	12.06
	Ethanol	14.04±0.04	14.23
	Hexane	1.35±0.12	1.40
Hot air drying at 50 °C	Water	1.62±0.05	1.75
	Acetone	10.03±0.12	10.42
	Ethanol	12.12±0.19	12.77
	Hexane	0.72±0.05	0.74
Hot air drying at 70 °C	Water	1.60±0.07	1.71
	Acetone	5.44±0.25	5.51
	Ethanol	7.68±0.74	7.66
	Hexane	0.22±0.02	0.22
Freeze drying	Water	3.21±0.07	3.36
	Acetone	13.24±0.10	13.26
	Ethanol	14.44±0.27	14.58
	Hexane	1.64±0.23	1.77

فرایند استخراج را از منابع گیاهی مختلف توصیف نمایند. از این‌رو مدل‌های تجربی معرفی شده در جدول ۱ بر داده‌های آزمایشگاهی برازش شدند و نتایج تجزیه و تحلیل خطا شامل ضریب همبستگی (R^2)، ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) و مدول میانگین انحراف نسبی (E) در جدول ۳ ارائه شده است. با توجه به ضریب همبستگی بالا (۰/۹۹۷۹-۰/۹۹۰۸)، مقادیر پایین ریشه میانگین مربعات خطا (۰/۱۴۰-۰/۰۰۱) و مدول میانگین انحراف نسبی (۳/۴۴۳-۹/۷۰۴) مدل پلگ به عنوان کارآمدترین مدل در این مطالعه انتخاب گردید.

از طریق بررسی سینتیک انتقال جرم حین فرایند استخراج می‌توان تأثیر عوامل مختلف بر استخراج ترکیبات فنولی از منابع گیاهی را به‌طور کمی نیز بررسی نمود. لذا انتخاب بهترین معادله برای مطالعه سینتیک انتقال جرم حین فرایند استخراج به‌منظور به حداقل رساندن خطاها و در نتیجه افزایش دقت فرایند و کیفیت محصول نهایی ضروری است (سانتانا و همکاران ۲۰۱۲).

بررسی منابع نشان می‌دهد که مدل‌های معرفی شده در جدول ۱ به خوبی می‌توانند سینتیک انتقال جرم حین

جدول ۳- تجزیه و تحلیل خطا برای ارزیابی مدل‌های ریاضی مورد استفاده

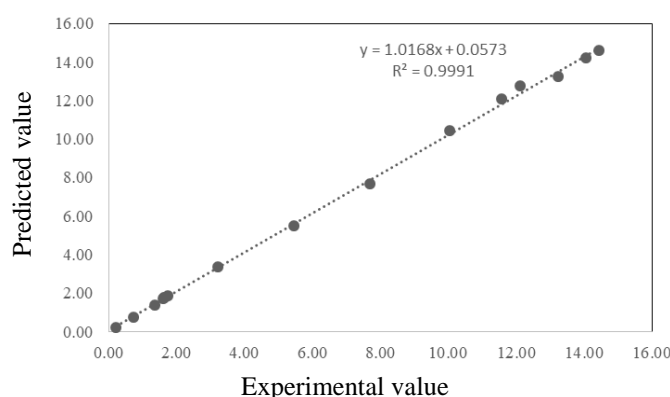
Table 3- Error analysis to evaluate the mathematical models used

Model	R^2	RMSE	E (%)
nth order	(0.9072-0.9651)	(0.006-0.432)	(15.019-54.415)
Peleg	(0.9908-0.9979)	(0.001-0.140)	(3.443-9.704)
Weibull	(0.9051-0.9631)	(0.006-0.439)	(12.403-55.620)

در نظر گرفتن روش خشک کردن کمترین مقدار ثابت سرعت پلگ برای حلال اتانول مشاهده گردید (جدول ۴). این نتایج حاکی از آن است که خروج ترکیبات فنولی در نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی و در صورت استفاده از حلال اتانول با سرعت بالاتری صورت می‌پذیرد.

ثابت ظرفیت پلگ نشان‌دهنده انتقال جرم در مرحله تعادلی است به‌طوری‌که مقادیر کم این ثابت نشان‌دهنده مقادیر تعادلی بالاتر در فرایند انتقال جرم است. مقادیر ثابت ظرفیت پلگ در شرایط مختلف در جدول ۴ ارائه شده است. مقادیر تعادلی ترکیبات فنولی استخراج شده از غلاف نخود فرنگی که تحت شرایط مختلف توسط مدل پلگ تخمین زده شده در جدول ۲ ارائه شده است. وجود ضریب همبستگی بالا ($R^2=0/991$) بین مقادیر تجربی و مقادیر تخمینی توسط مدل پلگ بیانگر دقت بالایی مدل پلگ در تخمین میزان استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی می‌باشد (شکل ۲).

محققان بسیاری نظیر گالوان دی-الساندرو و همکاران (۲۰۱۴)، مصتیا و همکاران (۲۰۱۵)، پوجاری و پاساموتتی (۲۰۱۵)، توسیک و همکاران (۲۰۱۶) و نوروزی و همکاران (۱۳۹۷) مدل پلگ را به عنوان کارآمدترین مدل برای بررسی سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال به ترتیب از ضایعات *Aronia melanocarpa* نوعی گیاه دارویی (*Clinacanthus nutans* Lindau)، ضایعات فرآوری گوجه فرنگی و گیاهان خانواده کاسنیان معرفی کردند. در ادامه پارامترهای سینتیک انتقال جرم از جمله ثابت‌های سرعت پلگ (K_1) و ظرفیت پلگ (K_2) تحت شرایط مختلف تعیین گردید (جدول ۴). ثابت سرعت پلگ توصیف کننده انتقال جرم در مرحله ابتدایی است به‌طوری‌که مقادیر کم این ثابت نشان‌دهنده سرعت بالاتر انتقال جرم است. با ثابت در نظر گرفتن نوع حلال کمترین مقدار ثابت سرعت پلگ برای نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی به دست آمد و در ادامه با ثابت



شکل ۲- مقایسه مقادیر تعادلی تجربی و تخمینی میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از غلاف نخود فرنگی توسط مدل پلگ
Figure 3- Comparison of experimental and predicted equilibrium values of phenolic compounds extracted from green pea pod using Peleg model

جدول ۴- ضرایب ثابت‌ها و تجزیه و تحلیل خطای مدل پلگ برای بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی

Table 4 - Constant coefficients and error analysis of Peleg model to evaluate the kinetics of phenolic compounds extraction from green pea pod

Drying method	Solvent type	K_1 (min.g/mg)	K_2 (g/mg)	R^2	RMSE	E (%)
Shade drying	Water	13.96	0.52	0.9968	0.013	7.650
	Acetone	3.86	0.08	0.9972	0.079	5.505
	Ethanol	1.60	0.07	0.9954	0.119	5.735
	Hexane	23.10	0.69	0.9973	0.009	9.704
Hot air drying at 50 °C	Water	34.36	0.55	0.9970	0.012	4.872
	Acetone	3.83	0.09	0.9975	0.063	3.620
	Ethanol	4.87	0.08	0.9933	0.123	6.033
	Hexane	46.78	1.29	0.9964	0.005	7.482
Hot air drying at 70 °C	Water	30.52	0.56	0.9976	0.010	6.078
	Acetone	2.52	0.17	0.9941	0.051	4.564
	Ethanol	4.12	0.14	0.9908	0.087	5.981
	Hexane	177.96	4.46	0.9953	0.001	8.115
Freeze drying	Water	6.37	0.28	0.9960	0.027	8.383
	Acetone	1.84	0.07	0.9925	0.140	5.359
	Ethanol	1.54	0.06	0.9965	0.105	3.443
	Hexane	33.78	0.55	0.9979	0.010	4.187

بسیاری بر ساختار و عملکرد بافت‌های بدن شوند، جلوگیری از ادامه فعالیت آنها از طریق استفاده از ترکیبات ضد رادیکال امری ضروری به نظر می‌رسد. از این‌رو در این مطالعه فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی جهت مهار رادیکال‌های آزاد DDPH و هیدروژن پراکسید مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال تأثیر معنی‌داری ($p < 0.05$) بر میزان فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و

تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن و نوع حلال بر فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی

رادیکال‌های آزاد از طریق سازوکارهای متفاوت و عمدتاً از طریق شکستگی یک پیوند در یک مولکول پایدار تشکیل می‌شوند. در نتیجه رادیکال‌های آزاد، اتم-ها یا مولکول‌هایی با یک الکترون جفت نشده‌اند. از آنجایی‌که تولید رادیکال‌های آزاد در بدن مسئله‌ای طبیعی است و می‌توانند منجر به بروز اثرات نامطلوب

پراکسید از خود نشان دادند. نتایج مطالعه خانلری و همکاران (۱۳۹۵) نشان داد که ترکیبات فنولی استخراج شده از گیاه تاجریزی توسط اتانول بالاترین قدرت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH را دارند. سوارز و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر حلال‌های مختلف بر محتوای ترکیبات شیمیایی گیاهی و فعالیت ضد اکسایشی عصاره علف لیمو پرداختند. بررسی فعالیت ضد اکسایشی به‌روش هیدروژن پراکسید نشان داد، بیشترین فعالیت ضد اکسایشی به ترتیب مربوط به عصاره اتانولی، متانولی و سپس آب بود. در پژوهش دیگری خراسانی اسماعیلی و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های مختلف شبدر قرمز پرداختند. در این بررسی مشخص گردید فعالیت ضد اکسایشی اندازه گیری شده به‌روش هیدروژن پراکسید برای عصاره اتانولی بسیار بیشتر از عصاره هگزانی است.

هیدروژن پراکسید توسط ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی داشتند. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که با ثابت در نظر نوع حلال بالاترین فعالیت ضد رادیکالی برای نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی مشاهده گردید در حالی که کمترین میزان فعالیت ضد رادیکالی مربوط به نمونه‌های خشک شده به روش هوای داغ ۷۰°C بود. برای نمونه‌های خشک شده به روش انجمادی میزان مهار رادیکال‌های DPPH معادل ۸۵٪/۱±۴۸/۲۰ و میزان مهار رادیکال‌های آزاد هیدروژن پراکسید معادل ۱۴/۵۱±۰/۰۲ بود (جدول ۵ و ۶). نتایج به دست آمده با نتایج مطالعات آن و همکاران (۲۰۱۶) و ساموتیچا و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشت. با ثابت در نظر گرفتن روش خشک کردن، عصاره اتانولی و هگزانی به ترتیب بیشترین و کمترین توانایی را در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروژن

جدول ۵- درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی

Table 5- Percentage of DPPH free radicals inhibition by phenolic compounds of green pea pod

Solvent type	Percentage of DPPH free radicals inhibition			
	Drying method			
	Shade drying	Hot air drying at 50 °C	Hot air drying at 70 °C	Freeze drying
Water	56.12±0.60 ^{Cb}	48.04±0.17 ^{Cc}	35.32±0.44 ^{Cd}	63.70±0.99 ^{Ca}
Acetone	70.28±1.53 ^{Bb}	65.94±1.33 ^{Bc}	51.26±0.72 ^{Bd}	75.48±1.82 ^{Ba}
Ethanol	82.47±0.45 ^{Aa}	81.96±0.15 ^{Aa}	66.85±2.48 ^{Ab}	85.48±1.20 ^{Aa}
Hexane	51.93±1.43 ^{Da}	41.53±0.19 ^{Db}	26.23±0.77 ^{Dc}	53.67±0.69 ^{Da}

Values are means ± SD of three replicates. Small and capital different superscripts within the same raw and column represent significant differences at $p < 0.05$, respectively.

جدول ۶- درصد مهار رادیکال‌های آزاد هیدروژن پراکسید توسط ترکیبات فنولی غلاف نخود فرنگی

Table 6- Percentage of hydrogen peroxide free radicals inhibition by phenolic compounds of green pea pod

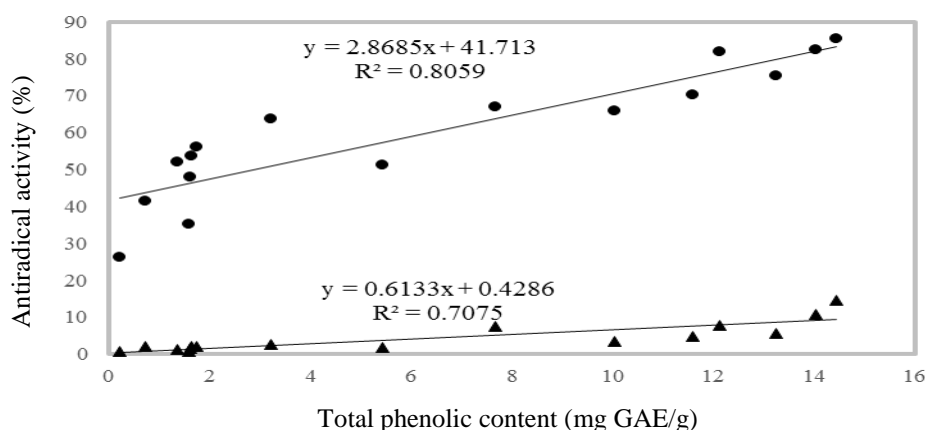
Solvent type	Percentage of hydrogen peroxide free radicals inhibition			
	Drying type			
	Shade drying	Hot air drying at 50 °C	Hot air drying at 70 °C	Freeze drying
Water	2.12±0.34 ^{Ca}	1.41±0.07 ^{Db}	0.79±0.19 ^{Cc}	2.62±0.11 ^{Ca}
Acetone	4.74±0.23 ^{Bb}	3.33±0.13 ^{Bc}	1.88±0.14 ^{Bd}	5.52±0.32 ^{Ba}
Ethanol	10.63±0.07 ^{Ab}	7.65±0.12 ^{Ac}	7.40±0.73 ^{Ac}	14.51±0.02 ^{Aa}
Hexane	1.20±0.13 ^{Da}	1.94±0.35 ^{Cb}	0.70±0.06 ^{Cb}	2.15±0.02 ^{Da}

Values are means ± SD of three replicates. Small and capital different superscripts within the same raw and column represent significant differences at $p < 0.05$, respectively.

همبستگی بالاتری (۰/۸۰) داشت و در واقع می‌توان این-گونه نتیجه گرفت که فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات فنولی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به مهار رادیکال‌های حاصل از هیدروژن پراکسید (۰/۷۰) موثرتر است. گزارشات سوارز و همکاران (۲۰۱۳)، پلانینیچ و همکاران (۲۰۱۵) و آن و همکاران (۲۰۱۶) نیز وجود رابطه همبستگی بین ترکیبات فنولی و فعالیت ضد رادیکالی را تایید می‌کند.

بررسی همبستگی میان محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت ضد رادیکالی

بررسی همبستگی میان میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد رادیکالی به دلیل این که معمولاً فعالیت ضد رادیکالی با میزان ترکیبات فنولی مرتبط است انجام شد (سیلوا و همکاران ۲۰۰۶). این بررسی نشان می‌دهد که هرچند مهار رادیکال‌ها در هر دو روش با میزان محتوای فنولی کل رابطه خطی دارند ولی میزان محتوای فنولی کل با فعالیت بازدارندگی به روش DPPH ضریب



شکل ۳- ضریب همبستگی بین محتوای فنولی کل و فعالیت ضد رادیکالی به روش DPPH (●) و هیدروژن پراکسید (▲)
Figure 3- Correlation coefficient between total phenolic content and antiradical activity by DPPH (●) and hydrogen peroxide (▲)

ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی دارند به طوری که می‌توان با استفاده از پیش تیمار خشک کردن به روش انجمادی و استفاده از حلال اتانول به بیشترین میزان

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که پیش تیمار خشک کردن و نوع حلال تأثیر بسزایی بر میزان استخراج

استفاده نمود. عصاره‌های فنولی غلاف نخود فرنگی فعالیت ضد رادیکالی چشمگیری در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH (۲۳/۴۸-۲۶/۸۵) و هیدروژن پراکسید (۷۰/۵۱-۱۴/۰) از خود نشان دادند. میان محتوای فنول کل و فعالیت ضد رادیکالی یک رابطه خطی با ضریب همبستگی بالا ($R^2=0.70-0.80$) نیز به دست آمد. در نهایت می‌توان غلاف نخود فرنگی را به عنوان یک منبع ارزان قیمت برای استحصال ترکیبات فنولی به منظور استفاده در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی معرفی نمود.

استخراج ترکیبات فنولی از غلاف نخود فرنگی دست یافت. حداقل میزان استخراج ترکیبات فنولی در نمونه‌های خشک شده به روش هوای داغ 70°C مشاهده گردید. این امر می‌تواند در نتیجه تأثیر چشمگیر دما بر تخریب ترکیبات فنولی موجود در غلاف نخود فرنگی باشد. سینتیک استخراج ترکیبات فنولی به منظور بررسی کمی اثرات پیش تیمار خشک کردن و نوع حلال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه و تحلیل خطا و ضریب همبستگی بالا ($R^2=0.991$) بین مقادیر تجربی و مقادیر تخمینی نشانگر آن است که جهت بررسی سینتیک و پیش بینی روند استخراج می‌توان از مدل پلگ

منابع مورد استفاده

- خانلری ف، یاسینی اردکانی س ع و نصیری زاده ن، ۱۳۹۵. بهینه سازی استخراج ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی میوه گیاه تاجریزی با استفاده از روش سطح پاسخ. مجله علوم غذایی و تغذیه، ۱۳، ۸۷-۹۸.
- قربانی م، گنجلوع و بی مکر م، ۱۳۹۶. بررسی اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی عصاره غلاف نخود فرنگی. علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۴، ۸۳-۹۲.
- نوروزی ع، بی مکر م، گنجلوع و زرین قلمی س، ۱۳۹۷. تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trautv) به کمک امواج فراصوت. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۸(۴)، ۱۸۱-۱۶۹.
- Abid Y, Azabou S, Jridi M, Khemakhem I, Bouaziz M and Attia H, 2017. Storage stability of traditional Tunisian butter enriched with antioxidant extract from tomato processing by-products. Food Chemistry 233: 476-482.
- Amarowicz, R and Troszyńska A, 2003. Antioxidant activity of extract of pea and its fractions of low molecular phenolics and tannins. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 12:10-15.
- Amendola D, De Faveri DM and Spigno DF, 2010. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. Journal of Food Engineering 97: 384-392.
- Amin I, Zamaliah MM and Chin WF, 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. Food Chemistry 87: 581-586.
- Bucic-Kojic A, Planinic M, Tomas S, Bilic M and Velic D, 2007. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. Journal of Food Engineering 81: 236-242.
- Chirinos R, Rogez H, Camposa D, Pedreschi R and Larondelle Y, 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from *Mashua* Tubers. Separation and Purification Technology 55: 217-225.
- Chung YC, Chiang BH, Wei JH, Wang CK, Chen PC and Hsu CK, 2008. Effects of blanching, drying and extraction processes on the antioxidant activity of yam (*Dioscorea alata*). International Journal of Food Science and Technology 83: 859-864.

- Diouf PN, Stevanovic T and Cloutier A, 2009. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry* 113: 897-902.
- Garcia-Perez JV, García-Alvarado MA, Carcel JA and Mulet A, 2010. Extraction kinetics modeling of antioxidants from grape stalk (*Vitis vinifera* var. *Bobal*): Influence of drying conditions. *Journal of Food Engineering* 101: 49-58.
- Galván D' Alessandro L, Krasimir Dimitrov K, Vauchel P and Nikov I, 2014. Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) wastes. *Chemical Engineering Research and Design* 92: 1818-1826.
- Haymanti SH, Alok P, Venkat kS, Manimegalai S and Devi Rajeswari V, 2014. Evaluation of antioxidant activity of *Pisum sativum* (pod and grain) and detection of its bioactive compounds by GC-MS analysis. *Der Pharmacia Lettre* 6: 359-365.
- Jayaprakasha GK, Selvi T and Sakariah KK, 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International* 36: 117-122.
- Khorasani Esmaeili A, Mat Taha R, Mohajer S and Banisalam B, 2015. Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifolium pratense* L. (Red Clover). *BioMedical Research International* 1-11.
- Kitanovic S, Milenovic D and Veljkovic VB, 2008. Empirical kinetic models for the resinoid extraction from aerial parts of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Biochemical Engineering Journal* 41: 1-11.
- Koffi E, Sea T, Dodehe Y and Soro S. 2010. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *Journal of Animal & Plant Sciences* 5: 550- 558.
- Lim YY and Murtijaya J, 2007. Antioxidant properties of *Phyllanthus amarus* extracts as affected by different drying methods. *LWT- Food Science and Technology* 40: 1664-1669.
- Lin C, Guobin Xia G and Liu S, 2017. Modeling and comparison of extraction kinetics of 8 catechins, gallic acid and caffeine from representative white teas. *LWT - Food Science and Technology* 83: 1-9.
- Manzocco L, Anese M and Nicoli MC, 1998. Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 31: 694-698.
- Moure A, Cruz, JM, Franco D, Domínguez JM, Sineiro J, Domínguez H, Núñez MJ and Parajó JC, 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry* 72: 145-171.
- Mustapa AN, Martin A, Gallego JR, Mato RB and Cocero MJ, 2015. Microwave-assisted extraction of polyphenols from *Clinacanthus nutans* Lindau medicinal plant: Energy perspective and kinetics modeling. *Chemical Engineering and Processing* 97: 66-74.
- Oomah BD, Caspar F, Malcolmson LJ and Bellido A-S, 2011. Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Research International* 44: 436-441.
- Pradal D, Vauchel P, Decossin S, Dhulster P and Dimitrov K, 2016. Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. *Ultrasonics Sonochemistry* 32: 137-146.
- Peleg M, 1988. An empirical model for the description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science* 53: 1216-1219.
- Pinelo M, Sineiro J and Núñez MJ, 2006. Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape by products. *Journal of Food Engineering* 77: 57-63.
- Planinić M, Aliakbarian B, Perego P, Greganić K, Tomas S and Bucić-Kojić A, 2015. Influence of temperature and drying time on extraction yield of phenolic compounds from grape pomace variety "Portogizac". *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 29: 343-350.

- Poojary MM and Passamonti P, 2015. Extraction of lycopene from tomato processing waste: Kinetics and modelling. *Food Chemistry* 173: 943–950.
- Razali N, Mat-Junit S, Abdul-Muthalib AF, Subramaniam S and Abdul-Aziz A, 2012. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chemistry* 131: 441-448.
- Ruch RJ, Cheng SJ and Klaunig JE, 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis* 10: 1003-1008.
- Samavati V and Manoochehrizade A, 2013. Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules* 60: 427- 436.
- Samoticha J, Wojdyło A and Lech K, 2016. The influence of different the drying methods on chemical composition and antioxidant activity in chokeberries. *LWT - Food Science and Technology* 66: 484–489.
- Sant'Anna V, Brandelli A, Marczak LDF and Tessaro IC, 2012. Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts. *Separation and Purification Technology* 100: 82-87.
- Segovia F, Luengo E, Corral-Pérez J, Raso J and Almajano MP, 2015. Improvements in the aqueous extraction of polyphenols from borage (*Borago officinalis* L.) leaves by pulsed electric fields: pulsed electric fields (PEF) applications. *Industrial Crops and Products* 65: 390-396.
- Segovia FJ, Corral-Pérez JJ, and Almajano MP, 2016. Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products* 85: 213-220.
- Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF and Larondelle Y, 2006. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* 101: 1012-1018.
- Soares MO, Alves RC, Pires PC, Oliveira MB and Vinha AF, 2013. *Angolan Cymbopogon citratus* used for therapeutic benefits: Nutritional composition and influence of solvents in phytochemicals content and antioxidant activity of leaf extracts. *Food Chemical Toxicology* 60: 413–418.
- Thuy Pham HN, Nguyen VT, Vuong QV, Bowyer MC and Scarlett CJ, 2015. Effect of extraction solvents and drying methods on the physicochemical and antioxidant properties of *Helicteres hirsuta* Lour. leaves. *Technologies* 3: 285-301.
- Tusek AJ, Benkovic M, Cvitanovic AB, Valinger D, Jurina T and Kljusuri JG, 2016. Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from *Asteraceae* plants. *Industrial Crops and Products* 91: 205–214.
- Valadez-Carmona L, Plazola-Jacinto CP, Hernández-Ortega M, Hernández-Navarro MD, Villarreal F, Necochea-Mondragón H, Ortiz-Moreno A and Ceballos-Reyese G, 2017. Effects of microwaves, hot air and freeze-drying on the phenolic compounds, antioxidant capacity, enzyme activity and microstructure of cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 41: 378–386.
- Wardatun S, Rustiani E, Alfiani N and Rissani D, 2017. Study Effect Type of extraction method and type of solvent to cinnamaldehyde and trans-cinnamic acid dry extract cinnamon (*Cinnamomum burmanii* [Nees & T, Nees]Blume). *Journal of Young Pharmacists* 9: 49-51.
- Vetal MD, Lade VG and Rathod VK, 2012. Extraction of ursolic acid from *Ocimum sanctum* leaves: Kinetics and modeling. *Food and Bioproduct Processing* 90: 793-798.
- Zarnowski R and Suzuki Y, 2004. Expedient soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains. *Journal of Food Composition and Analysis* 17: 649–663.

Study the effect of different drying methods and solvent type on kinetics of phenolic compounds extraction from green pea pod and evaluation of its antiradical activity

A Ganjloo^{1*}, M Bimakr¹ and M Ghorbani²

Received: October 12, 2017

Accepted: June 18, 2019

¹Associate Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

²MSc of Food Technology, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan,

*Corresponding author: aganjloo@znu.ac.ir

Introduction: Agriculture is regarded as one of the most important fields of human industry, due to its role in ensuring global food security for people around the world and supporting other industries. Agricultural processing industries create a great amount of residues/byproducts, which are considered as “wastes”. The green pea (*Pisum sativum* L.) is one of the most important legumes in the world which its pod is considered a biological waste and discarded (Amarowicz and Troszyńska 2003). Interestingly, agricultural wastes contain many valuable bioactive compounds, possessing a wide range of potential pharmacological properties, which have great contributions to make in related industries, such as nutraceuticals or functional foods, medicines, pharmaceuticals and cosmetics. However, they are still underutilized as abundant, inexpensive, renewable and sustainable sources of natural bioactive compounds. Phenolic compounds are a large class of plant secondary metabolites that exhibit multiple biological activities (Diouf et al. 2009). Thus, phenolic compounds recovery from the low-cost resources has become increasingly important in recent years. Extraction is a key step in the way of valuable bioactive compounds preparation which greatly influenced by several parameters (Samavati and Manoochehrizade 2013). Extraction method, solvent type, solvent pH, temperature, extraction time, raw material to solvent ratio, raw material particle size and different pretreatments have a significant effect on the efficiency of valuable bioactive compounds extraction process (Chirinos et al. 2007). Knowledge on the kinetics of mass transfer during the extraction process is required for adequate control and the correct operational design. Different empirical and semi-empirical models such as Pseudo-first order, film Theory, Minchev and Minkov, Peleg, *n*th order, and Weibull presented to predict the kinetics of mass transfer without taking into account the underlying phenomena. These models represent data at conditions similar to those upon which such models were developed. However, far too little attention has been paid to study the kinetics of bioactive compounds extraction from agricultural wastes/byproducts. Thus, the present study was designed to determine the effect of different drying methods and type of solvent on the kinetics of phenolic compounds extraction from green pea pods. Finally, the antiradical activities of green pea pods extracts containing phenolic compounds were determined.

Material and methods: The green pea pods were washed and dried using different drying methods including shade, hot air (50 and 70 °C), and freeze-drying to the final moisture content of 9.5%±0.22. Dried pods were grounded and pass through a 35-mesh sieve to produce homogenous dried green pea pod powder. Phenolic compounds were extracted from green pea pods through maceration technique using different solvents including water, acetone, ethanol and *n*-hexane. The sample to solvent ratio, temperature and extraction time was 1:20 (w/w), 25 °C, and 1440 min, respectively. Total phenolic content (TPC) of extracts was determined using the Folin–Ciocalteu method, based on the colorimetric reaction of the sample with the Folin–Ciocalteu reagent and reported as a milligram equivalent gallic acid per gram of sample (mg GAE/g) (Amin et al. 2004).

The antiradical activities of phenolic extracts were measured using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and hydrogen peroxide (H_2O_2) methods. Different empirical models including n th order, Peleg and Weibull were used for fitting experimental data using non-linear regression through Gauss–Newton method. The quality of the fit between the experimental and predicted data was determined according to values of correlation coefficient (R^2), the root mean square error (RMSE), and the mean relative percentage deviation modulus (E). The best model was chosen as one with the highest R^2 and the least RMSE and E values.

Results and discussion: The results revealed that drying method and solvent type have a significant effect ($P < 0.05$) on phenolic compounds extraction. The amount of phenolic compounds under different conditions was in the range of 0.24–14.44 mg GAE/g. The highest amount of phenolic compounds was obtained using freeze-drying and ethanol as solvent equivalent to 14.44 ± 0.27 mg GAE/g. While the lowest total phenolic content (0.22 ± 0.02 mg GAE/g) was related to the hot air dried ($70^\circ C$) green pea pods treated with *n*-hexane as solvent. The experimental data fitted well with Peleg model considering maximum correlation coefficient (0.9908–0.9979), minimum root mean square error (0.001–0.140) and mean relative percentage deviation modulus (3.443–9.704). Based on the Peleg model, Peleg rate constant (K_1), Peleg capacity constant (K_2) and equilibrium of phenolic compounds (C_{eq}) were estimated. The lower Peleg rate constant described the higher initial mass transfer rate. The minimum Peleg rate constant was obtained for the dried samples by freeze drying and using ethanol as solvent. The lower Peleg capacity constant also represented the higher equilibrium content. Similar trend have been also observed for Peleg capacity constant. The equilibrium point (C_{eq}) is reached when phenolic content of matrix and solvent become equal. The high correlation coefficient ($R^2=0.991$) was found between experimental values and predicted values by the Peleg model confirmed the precision of the Peleg model for estimation of the phenolic compounds extracted from green pea pods. Antiradical activity assessment of green pea pod phenolic extracts showed the high capacity for inhibiting DPPH (up to 48.85%) and hydrogen peroxide (up to 14.51%) free radicals. The highest antiradical activity of phenolic compounds was related to the green pea pods which treated by freeze-drying method and ethanol as solvent whereas the lowest antiradical activity was obtained for air-dried samples at $70^\circ C$ and *n*-hexane as extraction solvent. A linear relationship with the high correlation coefficient ($R^2=0.70$ – 0.80) was found between the total phenolic content and the free radicals inhibitory activity.

Conclusion: The current study found that drying methods and solvent types have a significant effect ($P > 0.05$) on the extraction of phenolic compounds from green pea pods. The highest amount of phenolic compounds was extracted from green pea pods by using freeze-drying and ethanol as solvent. In addition, the Peleg model can be used to study the kinetics of mass transfer during phenolic compounds extraction. As a result, green pea pod can be introduced as a low-cost source for the extraction of phenolic compounds. This finding has important application for developing natural ingredients to be used in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: Extraction, Phenolic compounds, Kinetics of mass transfer, Green pea pod, Antiradical activity