بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره های آبی و الکلی (اتانول) گیاه آجار (*Allium ampelloprasum*) به روش سطح پاسخ و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی آن بر پایداری روغن سویا طی مدت‌زمان ماندگاری

الهام آزادفر[1]، مریم ثابت قدم[1*]، زهره بهرامی[2]، بیتا بیضایی[2]

۱. دانشجوی دکترای رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۲. کارشناس صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

***نویسنده مسئول:** *m.sabetghadam68@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

چکیده

گیاهان دارای گستره‌ای از ترکیبات فنولی، از مولکول‌های ساده مانند اسیدهای فنولی تا مولکول‌هایی با درجه پلی‌مریزاسیون بالاتری مانند تانن‌ها، هستند. فنول‌ها و پلی‌فنول‌های بافت‌های گیاهی بر سلامت و بهبود زندگی انسان اثر می‌گذارند. در این پژوهش گیاه آجار (*Allium ampelloprasum*) از سبزوار تهیه و هموژن شد. عصاره‌گیری با روش استخراج اولتراسوند با کمک حلال اتانول و آب انجام شد. سنجش میزان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده به ترتیب به روش (DPPH) مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش فرایند استخراج توسط فناوری اولتراسوند با دو فاکتور سه سطح که شامل غلظت (ppm ۲۰۰-۸۰۰)، زمان (۳۰-۱۰ دقیقه) توسط روش سطح پاسخ صورت گرفت. نتایج فرایند بهینه‌سازی، نشان داد؛ که شرایط بهینه استخراج الکلی زمان ۱۷/۸۱ دقیقه و غلظت ۸۰۰ppm می باشد. همچنین شرایط بهینه برای استخراج آبی غلظت ppm ۸۰۰ و زمان ۱۳/۵۲ دقیقه تعیین گردید. با توجه به نتایج بهینه‌سازی میزان استخراج آنتی‌اکسیدانی در استخراج آبی و الکلی به ترتیب ۳۳/۸۹۳-۳۳/۴۹۹ درصد گزارش شد. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد اندیس پراکسید و تیوباربیوتیک اسید در استخراج آبی و الکلی ۳/۱۵۸-۱/۹۳۸ و ۰/۳۳۷- ۰/۱۷۳تعیین گردید.

کلید واژه ها: آجار، پراکسید، سطح پاسخ، قدرت رادیکال گیرندگی.

مقدمه

امروزه بیش از ۸۰ درصد مردم جهان (نزدیک به ۵ میلیارد نفر) برای درمان، هنوز از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند. تقریباً، یک چهارم داروهای تهیه شده دنیا، دارای منشأ گیاهی هستند که یا مستقیماً از گیاهان عصاره‌گیری شده‌اند و یا بر اساس ترکیب گیاهی، سنتز شده‌اند. واژه گیاه دارویی تنها به عنوان تسکین‌دهنده آلام مردم نمی‌باشد، بلکه گیاهان، در زیرگروه غذا به عنوان طعم دهنده، نوشیدنی‌ها، شیرین‌کننده‌ها، رنگ طبیعی و حشره‌کش‌ها و همچنین به عنوان ماده اولیه محصولات آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرارمی‌گیرند. به طور تقریبی حدود ۵۰۰ هزارگونه گیاهی در جهان شناسایی شده است (Bagheri, 2006). از آن میان کمتر از هزار گونه به عنوان گیاه دارویی نام‌گذاری شده است. در حال حاضر حدود یک سوم تا نیمی از فراورده‌های موجود درکشور آمریکا دارای منشأ گیاهی می‌باشند. امروزه استفاده از تولیدات گیاهی در انگلستان افزایش یافته و مکمل‌های فراوانی به شکل سالم و بی‌خطر استخراج شده است (Gülçın et al., 2003).

آجار گیاهی علفی و پیازدار متعلق به خانواده آماریلیداسه یا نرگسیان (*Amaryllidaceae*) است (Zargari, 1996). برگ‌های آن شبیه تره است. (درسال دوم گل می‌دهد گل‌های آن سفید و گاهی بنفش رنگ است، بوی زننده‌ای دارد. نام علمی این گیاه (*Allium ampelloprasum*) می‌باشد. آجار دارای اسانسی است که در اثر پختن از بین می‌رود. اثر درمانی

آن مربوط به ترکیبات گوگرددار و ویتامین آن است (David Raja and Arockiasamy, 2008; Bagheri, 2006).گونه آلیوم همچنین دارای مقادیر قابل توجهی از لوتئین کاروتن ویتامین C و E می‌باشد.

امروزه آنتی‌اکسیدان‌ها به طور فزاینده‌ای به منظور به تأخیر انداختن فرایند اکسیداسیون به مواد غذایی اضافه می‌شوند. اما به دلیل اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت، یافتن منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی به میزان زیادی مورد توجه محافل علمی قرارگرفته‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت پایین به طور قابل توجهی اکسیداسیون سوبستراهای قابل اکسید را به تأخیر انداخته یا ممانعت می‌نمایند (Burits and Bucar, 2000). مطالعات بسیاری نشان داده است که مصرف میوه‌ها و سبزیجات با کاهش خطر ابتلا به بیماری‌هایی همچون قلبی- عروقی مرتبط است. حضور ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی به ویژه ترکیبات پلی‌فنولی و ویتامین‌ها در مواد غذایی با منشأ گیاهی عامل مؤثر در حفظ سلامت انسان می‌باشد. علاوه بر نقشی که اکسیداسیون در فساد مواد غذایی ایفا می‌کند، اهمیت آن در سلامت انسان به ویژه در ایجاد و پیشرفت بیماری‌هایی چون بیماری‌های قلبی- عروقی، تصلب شرایین، سرطان و فرآیند پیری بسیار مورد توجه و مطالعه قرارگرفته است. رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در فرآیند اکسیداسیون در بدن، سبب اکسیداسیون لیپید غشاء سلولی می‌شوند که این امر منجر به ناپایداری غشاء و متلاشی شدن سلول می‌شود و یا این که ترکیبات سلولی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و از همه مهمتر DNA مورد حمله قرار می‌گیرند. نتیجه نهایی این امر بروز بیماری و مشکلات عدیده دیگر است (Ferreres et al.,2007).

استرس اکسیداتیو در لیپیدهای دیواره رگ‌های خونی می‌تواند عامل مهمی در ایجاد تصلب شرایین باشد. در اثر اکسیداسیون لیپید، فرآورده‌هایی تولید می‌شوند که به اکسید شدن LDL [1] کمک می‌کنند که یکی از عوامل در پیشرفت تصلب شرایین است. یکی دیگر از مشکلاتی که صنعت غذا و دارو با آن مواجه است، گسترش سویه‌های میکروبی مقاوم به داروها و آنتی‌بیوتیک‌هاست (Negi, 2012).

آلبو [2] و همکاران (۲۰۰۴) در تحقیقی تأثیر امواج فراصوت را بر استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از گیاه رزماری مورد بررسی قراردادند. آن‌ها از سه حلال بوتانول، استات اتیلن و اتانول استفاده کردند و دریافتند که امواج فراصوت اثر حلال اتانول که در شرایط معمولی حلال ضعیفی است به یک سطح استخراج مشابه با دو حلال دیگر رساند. ثابت شد استخراج از گیاه خشک شده با اتانول مؤثرتر از ماده تازه می‌باشد که احتمالاً به دلیل آب موجود در دومی است.

در تحقیقی که توسط غفور [3] (۲۰۰۹) برای بهینه‌سازی شرایط استخراج به‌وسیله سه پارامتر غلظت حلال، دمای استخراج و زمان استخراج بر روی پوست انگور به کمک امواج فراصوت از طریق RSM انجام گرفت مشخص شد با افزایش غلظت و دمای استخراج، مقدار ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد.

در این مطالعه هدف بهینه‌سازی اثر زمان‌های مختلف در روش استخراج به کمک فراصوت، بر میزان استخراج فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره بود و همچنین میزان پایداری روغن سویا از طریق اندازه‌گیری اندیس پراکسید و تیوباربیوتیک اسید در روزهای مختلف بود.

روش کار

آماده‌سازی نمونه

در این پژوهش گیاه آجار در سال ۱۳۹۴ از مناطق اطراف شهرستان از کلاته سیفر وکیزقان مناطق اطراف شهرستان سبزوار جمع آوری گردید. در آزمایشگاه

1 . Low Density Lipoprotein
2. Albu
3. Ghafoor

تحقیقات دانشگاه آزاد سبزوار انجام و توسط کارشناسان گیاه شناسی بررسی گردید. به منظور کاهش فعالیت‌های تنفسی و بیولوژیکی تا زمان آزمایش در یخچال، در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس توسط آسیاب برقی پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده‌شده و برای آزمایش‌های بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردید.

استخراج با فراصوت

نمونه پودر شده با حلال به نسبت یک به ۱۰ با هم مخلوط می‌شوند حلال آب و اتانول به نسبت ۱ به ۱۰ حجمی بوده است است. مخلوط نمونه و حلال در معرض امواج فراصوت در دمای محیط در سه زمان ۱۰، صفر، ۳۰ دقیقه قرار گرفت. فراصوت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوپی ۴۰۰ ثانیه و با قدرت ۴۰۰ ولت و پروب H از جنس تیتانیوم با قطر هفت میلی متر ، طول ۱۰۰میلی متر انجام شد (Farhoosh and Moosavi, 2006).

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH)عصاره آجار

در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده (DPPH) به عنوان معرف استفاده می‌شود. بدین ترتیب که ۵۰ میکرو لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره در متانول به طور جداگانه هر کدام به دو میلی متر محلول ۰/۰۰۴ درصد (DPPH) اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه گرم‌خانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید (Burits and Bucar, 2000).

معادله یک:

I - ASample) /ABlank ×۱۰۰

ABlank) = درصد

در این فرمول جذب نوری شاهد منفی را که فاقد عصاره است نشان داده و میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان کرده است.

افزودن عصاره اتانولی آجار به روغن سویا

کیفیت روغن سویا از طریق اندازه‌گیری اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تعیین خواهد شد. عصاره اتانولی تغلیظ شده و خشک شده در سه سطح (ppm ۲۰۰-۸۰۰) به روغن سویا اضافه شد. عمل اختلاط به کمک همزن مغناطیسی در دمای محیط به مدت ۳۰ دقیقه انجام گردید. هر یک از تیمارها به ظروف نمونه منتقل شده است. اثر تیمارهای به کار رفته بر روی اکسیداسیون روغن سویا در آون با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت و در فواصل زمانی ثابت ۲۴ ساعت از طریق سنجش اندیس پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت (Ghafoor, 2009).

اندازه‌گیری عدد پراکسید

عدد پراکسید به روش متداول اندازه‌گیری و با استفاده از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک دو به سه) و تیتراسیون آن با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال و برحسب میلی‌اکی والان پراکسید در ۱۰۰ گرم روغن بیان گردید (Horwitz,1975).

معادله دو:

(حجم نمونه) ÷ (حجم تیتراسیون مصرفی × نرمالیته× ۱۰۰۰) = عددپراکسید

محاسبه شاخص تیوباربیتوریک اسید (*TBA*)

یک گرم روغن در تتراکلریدکربن حل‌شده و به آن محلول اسید تیوباربیتوریک اضافه گردید سپس سانتریفوژ شده و قسمت آبی آن جدا شد و در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Seabury, 2000).

طراحی آزمایش

در این مطالعه از طرح آماری روش سطح پاسخ RSM برای بهینه‌سازی مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (DPPH) و اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیوتیک اسید استفاده شده است. از روش سطح پاسخ با به‌کارگیری نرم‌افزار Design Expert نسخه هفت استفاده شده است. متغیرهای مستقل شامل که غلظت (X_1) ، زمان (X_2) ،روز (X_3) و متغیرهای وابسته مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (DPPH)، اندیس پراکسید و اندیس تیوباربیوتیک هستند که جدول یک نشان داده‌شده است.

جدول ۱- مقادیر کد شده و سطوح متغیرهای مستقل فرایند بهینه‌سازی

متغیرها	مقادیر واقعی	
	پایین	بالا
غلظت (ppm) (X_1)	۸۰۰	۲۰۰
زمان (min) (X_2)	۳۰	۱۰
روز نگهداری (X_3)	۳	۱

نتایج و بحث

بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (**DPPH**) عصاره گیاه آجار

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی به کاررفته، استفاده شد. نتایج آنالیز واریانس مدل تجربی نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود مقادیر بالای F-value (F>۰/۰۵) و مقادیر به دست آمده از P-value (p<۰/۰۵). نشان می‌دهد که مدل استفاده شده معنی‌دار است. همان‌طور که در جدول (یک) نیز مشاهده می‌شود میانگین مربعات برازش خطی (Lack of fit) معنی‌دار نیست که نشان‌دهنده برازش مدل درجه دو و عدم وجود سایر روابط در تأثیر بر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) است و می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد. تعیین شرایط بهینه به روش صفحات سطح پاسخ از طریق نرم‌افزار امکان‌پذیر است.

معادله برازش داده شده در مورد این پاسخ به صورت زیر می‌باشد:

معادله سه: $Y= 37.79+2.90\ A +2.23\ B +1.04\ A\ B -0.54\ A^2+2.68\ B^2$ معادله فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در استخراج الکلی

معادله چهار: $Y= 21.26+3.41\ A +2.93\ B +0.069\ A\ B -0.77\ A^2+0.55\ B^2$ معادله فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در استخراج آبی

همبستگی بالای در استخراج الکلی و آبی بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل را نشان می‌دهد. همچنین بین مقدار بر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) در استخراج الکلی و آبی همبستگی بالا (r=۰/۸۴۲۹) وجود داشت و می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

اثر متقابل زمان و غلظت در عصاره آبی و الکلی بر روی میزان استخراج فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) در شکل یک نشان داده شده است. با بررسی نمودارهای سه بعدی در شکل یک نتایج زیر به دست آمده است.

در عصاره الکلی با افزایش مدت زمان بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه افزوده می‌شود و زمان بهینه برابر با ۱۷/۸۱۱دقیقه تخمین زده می‌شود. جهت بررسی اثر زمان نشان داد که تأثیر این فاکتور بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) ارتباط معنی داری داشت. همچنین در عصاره آبی با افزایش مدت زمان از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه بر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) افزوده می‌شود و مقدار

بهینه زمان برابر ۱۳/۵۲ دقیقه تخمین زده می‌شود. در عصاره الکلی نیز با افزایش زمان ابتدا میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) کاهش و سپس افزایش یافت. مقدار بهینه زمان برای استخراج الکلی ۱۷/۸۱۱ به دست آمده است. در عصاره الکلی و آبی با افزایش غلظت میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) افزایش یافت.

مقدار بهینه فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) در استخراج الکلی و آبی به ترتیب ۳۳/۸۹۴، ۳۳/۴۹۹ می باشد.

در عصاره آبی و الکلی با افزایش غلظت میزان این اندیس به علت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش یافت. علت بالا بودن میزان ترکیبات فنلی در مقایسه با عصاره را می‌توان به تفاوت در نوع روش تهیه و استخراج، ماهیت شیمیایی آن‌ها و نیز متفاوت بودن ترکیبات مؤثره هرکدام از آن‌ها مرتبط دانست. افزایش غلظت باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی در عصاره شده که این دلیلی بر افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در عصاره الکلی نیز با افزایش غلظت، میزان کل ترکیبات فنولی افزایش یافت، همچنین بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) را می‌توان به محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها نسبت داد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد.

دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با افزایش غلظت را می‌توان مرتبط با مقدار ترکیبات فنولی عصاره دانست (Rostagno et all, 2003).

ابوطالبیان[1] و همکاران (۲۰۱۶)؛ جریدانی و همکاران؛ کاتالینیک و همکاران و کاتسوبی[2]و همکاران، نیز ارتباط قوی بین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی استخراج شده با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارائه نمودند که همراستا با نتایج این پژوهش است. این نتایج با نتایج الوگبامی[3] و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت، آن‌ها اعلام نمودند مهار رادیکال‌های آزاد عصاره گیاه *Terminali glaucescens* با غلظت وابسته است و با افزایش غلظت میزان مهار افزایش می‌یابد. زیرا در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش احتمال اهدا هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد.

الوگبامی و همکاران (۲۰۱۵) اعلام نمودند مهار رادیکال‌های آزاد عصاره گیاه با غلظت وابسته است و با افزایش غلظت میزان مهار افزایش می‌یابد. زیرا در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش احتمال اهدا هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد.

ابوطالبیان و همکاران (۲۰۱۶) از روش مهار رادیکال آزاد به عنوان یک روش سریع جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند عصاره خانواده Mentha استفاده نمودند و نشان دادند که با افزایش غلظت فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت مهار رادیکال آزاد عصاره افزایش می‌یابد.

بن سالم[4]و همکاران (۲۰۱۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ کنگر فرنگی را با استفاده از روش بیرنگ شدن بتاکاروتن مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش می‌یابد.

افرازه و همکاران (۱۳۹۳) تأثیر عصاره گلبرگ زعفران با حلال‌های الکلی اتانول و متانول ۳۰،۷۰،۹۰ درصد و آب به طور جداگانه استخراج کردند. نتایج نشان داد که نوع و میزان حلال بر میزان ترکیبات فنولی و آنتی-

1. Abootalebian
2. Katsube,
3. Olugbami
4 . Ben Salem

اکسیدانی اثر دارد و ارتباط معنی‌داری بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت بازدارندگی مشاهده شد. همچنین با افزایش غلظت، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره افزایش می‌یابد. در پایان عصاره اتانولی به عنوان بهترین حلال برای بیشترین استخراج ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی مشخص شد.

مدینی[1] و همکاران (۲۰۱۴)، مطالعه‌ای با هدف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی ده عصاره گیاه شوره‌زی اسطوخودوس برداشت شده در دو مرحله ی فیزیولوژیکی گل و گیاه، در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند و ترکیبات فنولی‌شان با فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا تعیین شد عصاره اسطوخودوس در استون، متانول و اتانول مؤثرتر از هگزان و یا آب بود. عصاره‌های اتانولی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را داشتند.

علت افزایش میزان استخراج ترکیب‌های فنولی، فلونوئیدی و (DPPH) با افزایش زمان فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد- مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که باعث تشکیل حباب‌هایی شده که این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند. در نتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این، دیگر اثرها مانند امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام کمک می‌کند (Rostagno et al., 2003).

وازکواز[2] و همکاران (۲۰۱۲)، تأثیر سه پارامتر دما، غلظت اتانول و زمان استخراج را برای جداسازی آنتی‌اکسیدان‌ها از بلوط مورد بررسی قراردادند. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که درجه حرارت و غلظت اتانول تنها متغیرهای مستقل معنی‌دار مؤثر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) بودند.

مورلا [3] و همکاران (۲۰۱۲) بهینه سازی استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی در مربای انگور قرمز با استفاده از امواج فراصوت با روش سطح پاسخ را مورد بررسی قرار دادند. نتایج با استفاده از روش سطح پاسخ نشان داد که بهترین ترکیب برای بهینه‌سازی، اتانول ۶۰ درصد با زمان استخراج ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سلسیوس درجه به دست آمد.

هیسمث[4](۲۰۱۱) جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولیک توسط سه فاکتور دما، زمان استخراج و غلظت حلال روی برگ‌های گیاه آزاد ایراچتا ایندیکا[5] (درختی از تیره سنجد تلخیان و بومی شبه‌قاره هند) به کمک امواج فراصوت و از طریق RSM انجام دادند مشخص شد که افزایش غلظت و دمای استخراج باعث افزایش ترکیبات فنولیک می‌شود.

در تحقیقی که توسط سیلوا [6] و همکاران به منظور بهینه‌سازی اثر متقابل سه فاکتور غلظت، زمان، دما زمان استخراج به کمک امواج فراصوت به منظور استخراج ترکیبات فنولی از برگ گیاه *Inga edulis* به وسیله انجام گرفت مشخص شد با افزایش غلظت و دما استخراج، مقدار استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد.

تعیین اندیس پراکسید

نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ مرکب مرکزی نشان داد که اثرات خطی (A، B)، درجه دوم (A^2 و B^2) و اثرات متقابل (AB) تأثیر معناداری بر روی اندیس پراکسید داشتند. در بین اثرات در استخراج آبی پارامتر C و در استخراج الکلی پارامتر C،A بیشترین تأثیررا بر روی اندیس پراکسید داشتند.

1. Medini
2 Vázquez

3 Morella
4 Hismath
5 Azadirachta indica
6 Silva

جدول۲- مقادیر بدست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) در استخراج آبی (الف) و الکلی (ب)

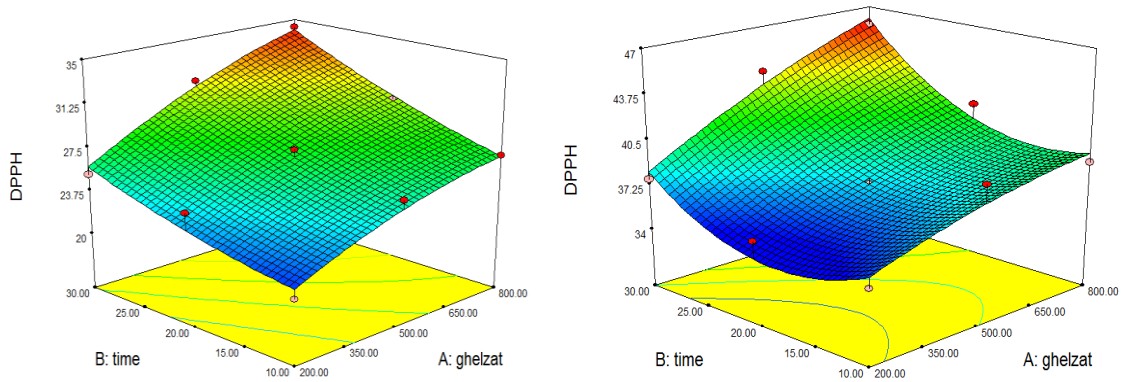
(الف)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	۵/۳۳	۹	۰/۵۹	۱۰/۰۳	۰/۰۰۳۰	s
A-ghelzat	۰/۰۲۸	۱	۰/۰۲۸	۰/۴۷	۰/۵۱۶۱	
B-Time	۰/۵۶	۱	۰/۵۶	۹/۵۱	۰/۰۱۷۷	
Residual	۰/۴۱	۷	۰/۰۵۹			
Lack of Fit	۰/۰۳۳	۳	۰/۰۱۱	۰/۱۱	۰/۹۴۷۴	ns

(ب)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	۱۰۵/۰۲	۵	۲۱/۰۰	۱۸/۳۷	۰/۰۰۷	s
A-ghelzat	۵۰/۴۰	۱	۵۰/۴۰	۴۴/۰۸	۰/۰۰۰۳	
B-Time	۲۹/۷۵	۱	۲۹/۷۵	۲۶/۰۲	۰/۰۰۱۴	
Residual	۰/۴۱	۷	۰/۰۵۹			
Lack of Fit	۸/۰۰	۳	۲/۶۷	۸/۰۰	۳	ns

(الف) (ب)



شکل۱- نمایش تغییرات میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) در اثر تغییرات زمان و غلظت آبی (الف) و الکلی (ب)

معادله پیشگویی زیر برای مقدار اندازه‌گیری میزان اندیس پراکسید به دست آمد.

معادله پنج: $3/66+0.059\ A\ +0.34C^2\ +0.26\ B\ +0.67C+0.10\ A\ B\ +0.15AC-0.12BC-0.13\ A^2+0.13\ B^2$ = معادله اندیس پراکسید استخراج آبی

معادله شش: $2/42+0.014\ A\ +0.25C^2\ +0.67\ B\ +0.29C+0.042A\ B\ +0.15AC-0.27BC-0.071\ A^2+0.31\ B^2$ = معادله اندیس پراکسید الکلی

همان‌طور که در جدول (سه) مشاهده می‌شود مقادیر به دست آمده از ($p<۰/۰۵$). نشان می دهد که مدل استفاده شده معنی‌دار است.

با توجه به شکل (دو) می‌توان مشاهده کرد که اندیس پراکسید در نمونه‌های حاوی دو عصاره حلالی اتانول و آب با افزایش زمان، اندیس پراکسید افزایش یافت.

با توجه به شکل دو در عصاره الکلی با افـزایش زمـان از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه میزان میزان اندیس پراکسید به صورت خطی افزایش یافت به طوری که مقدار بهینه آن برابـر ۱/۹۳۸ بود ودر عصاره آبی همچنـین بـا افـزایش زمـان ابتدا میزان اندیس پراکسید آب کاهش و سپس افزایش یافت و مقدار بهینه اندیس پراکسید ۳/۲۵۸ می‌باشد.

با افزایش زمان نگهداری در دمای ۶۵ درجه سـانتیگراد روند افزایشی از خود نشان دادند. به طوری که مشاهده می‌شود عصاره حلال اتانول پـایین‌تـرین مقـدار انـدیس پراکسید را دارا بودند. نتایج نشـان داد کـه بـا افـزایش زمان فراصوت مقدار استخراج ترکیبـات فنلـی افـزایش می‌یابد، فاکتور زمان مدت انتقال جرم را افـزایش مـی-دهد، بنابراین روند صعودی استخراج ترکیبات فنلـی از گیاه آجار با افزایش زمان با توجه به نمودار سطح پاسخ کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. در زمـان‌هـای بـالاتر بـه دلیل وقـوع علـت آن، وجـود ترکیبـات فنولیـک، پلـی فنولیک و سایر ترکیبات آنتـی‌اکسـیدانی در عصـاره‌هـا بوده است. به این ترتیب که عصاره‌ها تأثیر این ترکیبات بر روند ممانعت از افزایش عدد پراکسـید بیشـتر شـده است و موجب افـزایش پایـداری روغـن سـویا گردیـده است.

اثر متقابل زمان و غلظت در عصاره آبی و الکلی بـر روی میزان اندیس پراکسید در شکل (سه) نشـان داده شـده است. در عصاره الکلی و آبی نیز با افزایش غلظت، میزان کل ترکیبات فنولی افـزایش یافـت و انـدیس پراکسـید کاهش یافت (شکل سه).

دلیل کمتـر بـودن انـدیس پراکسـید در حـلال اتـانول نسبت به حلال آب را می‌توان ایـن گونـه توجیـه کـرد. استفاده از آب برای استخراج، یک محیط کـاملاً قطبـی ایجاد می‌کند، در نتیجه برخـی از ترکیبـات فنـولی بـا درجه قطبیت پائین کمتر استخراج می‌شوند. علاوه بـر این عصاره‌های آبی حاوی ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشند (Chirinos et al., 2007). اما اتانول توانائی بیشتری در اسـتخراج ترکیبات فنولی دارد (Suzuki, 2002) با توجه به ایـن موارد، علت میزان بالای اسـتخراج ترکیبـات فنـولی در عصاره‌های اتانولی نسبت به آب توجیه می‌شود.

نتایج هر سه روز نگهـداری نشـان داد در نمونـه میـزان اندیس پراکسید روغن کاهش یافت که به دلیل فعالیـت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیـاه آجار می‌باشد. افزایش ترکیبـات فنـولی موجـود در آن، منجر بـه افـزایش خاصـیت آنتـی‌اکسـیدانی و فعالیـت مهارکنندگی در روغن شـده کـه بـه نوبـه خـود باعـث کاهش اندیس پراکسـید و در نتیجـه افـزایش پایـداری اکسایشی روغن می‌گردد.

به دلیل تجزیه هیدروپراکسیدها روند کاهشـی در تمـام تیمارهـا ناشـی از تجزیـه ترکیبـات اولیـه ناپایـدار اکسیداسیون به ترکیبات ثانویه شامل آلدهیدها، کتون-ها، الکل‌ها و اسیدهای چرب اسـت. بـا افـزایش انـدیس پراکسید، ترکیبات ثانویه حاصل از اکسیداسیون چربی-ها مانند ترکیبات مـزدوج، کربونیـل‌هـا و آلدئیـدها نیـز افزایش می‌یابند.

دلیل این کـاهش را مـی‌تـوان بـه واکـنش‌هـای ثانویـه اکسیداسیون وتولیدکربونیل و ترکیبات فرار نسـبت داد و یا می‌توان بـه علـت خـروج ترکیبـات آنتـی‌اکسـیدان بیشتر از گیاه به داخل روغـن بـا گذشـت زمـان باشـد. ترکیبات فنولی با مرور با از بین رفتن رادیکال‌هـای آزاد از تشـکیل هیدروپراکسـید جلـوگیری نمـوده و باعـث کاهش عدد پراکسید مـی‌شـود (فیـاض مهـر و آصـفی، ۱۳۹۵).

یساری در سال (۲۰۱۳)، تـأثیر عصـاره پوسـت پرتقـال تامسون به عنوان یک آنتی‌اکسـیدان طبیعـی در ثبـات روغن کانولا را مورد مطالعه قرار دادند و با اثرات آنتـی-اکسیدان سنتزی تـرت بوتیـل هیـدروکینون (*TBHQ*) مورد مقایسه قرار دادند. نتایج نشان داد افزودن غلظت-های بالاتر عصاره پوسـت پرتقـال بـه روغـن کـانولا، در افزایش مهار اندیس پراکسید مؤثرتر بود. غلظـت بـالای عصاره پوست پرتقال به طور قابل توجهی در مقایسه بـا

آنتی‌اکسیدان سنتزی، پایداری روغن کانولا را افزایش داد ($P<0.01$).

اسماعیل‌زاده کناری و مهدی‌پور (۱۳۹۱) خصوصیات آنتی‌اکسیدانی پوست کیوی را جهت پایدارسازی روغن آفتابگردان بررسی کردند. با افزایش زمان نگهداری عدد پراکسید افزایش یافت.

یانگ و همکاران (۲۰۱۶)، ضمن بررسی تأثیر عصاره رزماری در نه نمونه روغن سویا، کتان و سبوس برنج اعلام نمودند که نمونه‌های شاهد نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره و نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی دارای عدد پراکسید بالاتری هستند.

آراگون[1] و همکاران (۲۰۱۶)، اعلام کردند که عدد پراکسید در نمونه‌های روغن شاهد بالاتر از نمونه‌های روغن حاوی (BHT) و عصاره گیاه شقایق هست و کمترین عدد پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی عصاره است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

تعیین شاخص تیوباربیتوریک اسید (***TBA***)

نتایج آنالیز در عصاره آبی واریانس نشان داد (جدول سه) که معادله درجه دوم زمان و دما با یکدیگر ارتباط معنی‌داری داشتند. بر این اساس، با افزایش زمان، تیوباربیتوریک اسید (*TBA*) افزایش یافت. به طوری‌که بیشترین تیوباربیتوریک اسید ۰/۱۷۳ بود. مطابق جدول (سه) تجزیه واریانس، جملات خطی زمان استخراج بیشترین تأثیر مثبت و جملات درجه دوم (C) و دارای بیشینه تأثیر مثبتی بر میزان تیوباربیتوریک اسید (*TBA*) در استخراج آبی داشتند. اما جمله اثر متقابل (A-B) غلظت-زمان تأثیر مثبتی در مدل برازش داده شده در استخراج آبی و تأثیر منفی در استخراج الکلی داشت. در استخراج الکلی می‌توان دریافت در بین اثرات به زمان نگهداری (C) بیشترین تأثیر را بر شاخص تیوباربیتوریک اسید (*TBA*) داشتند، به طوری‌که بیشترین تیوباربیتوریک اسید ۱۷۳ در استخراج الکلی۰/۳۳۷ بود. با توجه به پارامترهای دارای اثر معنی‌دار، معادله برازش داده شده در مورد این پاسخ به صورت زیر می‌باشد:

معادله پیشگویی زیر برای مقدار اندازه‌گیری میزان اندیس پراکسید به دست آمد.

معادله هفت $+0.37+0.059\ A\ .+0.026C^2$
$++0.26\ B\ +0.035C+0.030\ A\ B\ -0.030AC-$
$0.015BC$ = معادله اندیس TBA استخراج آبی

معادله هشت
$= 0.25\ +031\ B\ -0.062A\ B\ +0.14\ A^2.+0.27C^2$
معادله TBA استخراج الکلی

با بررسی مقادیر عددی ضرایب برای غلظت و زمان و روز نگهداری می‌توان دریافت که در استخراج الکلی روز نگهداری تأثیر مثبتی بر میزان رطوبت داشتند، ولی در استخراج الکلی دما تأثیر منفی بر میزان رطوبت داشتند. همچنین با افزایش زمان نیز در ابتدا میزان رطوبت به شدت کاهش و سپس با سرعت بیشتری افزایش یافت و مقدار بهینه دما ۱۴۶ دقیقه تخمین زده می‌شود.

در روزهای ابتدایی مقدار این اندیس بسیار پایین است، زیرا این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آن‌ها به آلدئیدها و کتون افزایش می‌یابد. در نتیجه با پیشرفت روزهای آزمایش و در روزهای پایانی مقدار این اندیس بیشتر افزایش می‌یابد. شکل (چهار) همان طور که مشاهده می‌شود عصاره استخراج شده با حلال اتانول میزان اندیس تیوباربیتوریک اسید (*TBA*) به دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافته است و اختلاف معنی‌دار آمار بین عصاره‌های حاوی حلال مختلف ایجاد شده است.

1 Agregán

جدول۳- مقادیر بدست آمده برای اندازه‌گیری میزان اندیس پراکسید در استخراج آبی (الف) و الکلی (ب)

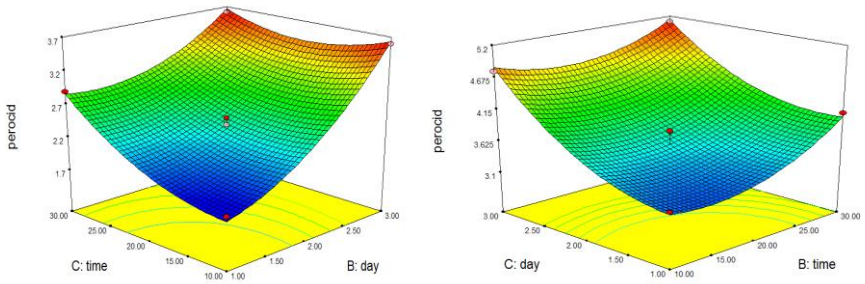
(الف)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	۰/۰۱۸	۹	۲/۰۴۰E-۰۰۳	۴/۴۳	۰/۰۳۱۳	s
A-ghelzat	۱/۲۵۰E-۰۰۵	۱	۱/۲۵۰E-۰۰51	۰/۰۲۷	۰/۸۷۳۸	
B-Time	۱/۲۵۰E-۰۰۵	۱	۱/۲۵۰E-۰۰۵	۰/۰۲۷	۰/۸۷۳۸	
C-day	۹/۸۰۰E-۰۰۳	۱	۹/۸۰۰E-۰۰۳	۲۱/۲۷	۰/۰۰۲۴	
Residual	۳/۲۲۵E-۰۰۳	۷	۴/۶۰۷E-۰۰۴			
Lack of Fit	۲/۶۲۵E-۰۰۳	۳	۸/۷۵۰E-۰۰۴	۵/۸۳	۰/۰۶۰۷	ns

(ب)

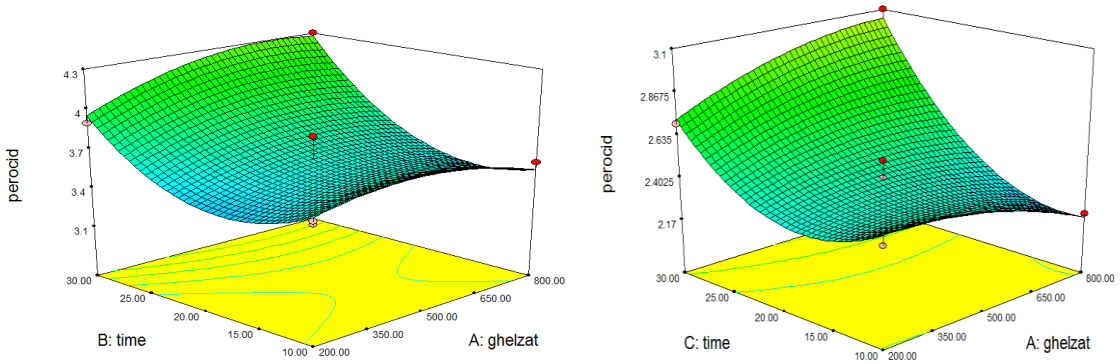
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	۵/۳۶	۹	0.60	۱۰۰/۷۹	<۰/۰۰۰۱	s
A-ghelzat	۱/۵۱۳E-۰۰۳	۱	۱/۵۱۳E-۰۰۳	۰/۲۶	۰/۶۲۸۳	
B-Time	۰/۶۵	۱	۰/۶۵	۱۱۰/۰۷	<۰/۰۰۰۱	
	۳/۶۰	۱	۳/۶۰	۶۱۰/۵۸	<۰/۰۰۰۱	3.60
Residual	۰/۰۴۱	۷	۵/۹۰۴E-۰۰۳	۰/۰۴۱		
Lack of Fit	۰/۰۳۳	۳	۰/۰۱۱	۵/۵۵	۰/۰۶۵۶	ns

(ب) (الف)



شکل ۲- نمایش تغییرات میزان اندیس پراکسید در اثر تغییرات زمان و روز نگهداری آبی (الف) و الکلی (ب)

(الف) (ب)



شکل ۳- نمایش تغییرات میزان اندیس پراکسید در اثر تغییرات زمان و غلظت آبی (الف) و الکلی (ب)

از نظر اختلاف بین نمونه‌ها مشاهده می‌شود، در تمام حلال‌های مورد بررسی همواره میزان اندیس تیوباربیتوریک اسید (*TBA*) با افزایش زمان افزایش یافته است، دلیل کاهش اندیس تیوباربیتوریک اسید (*TBA*) را می‌توان به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حلال اتانول مرتبط با مقدار ترکیبات فنولی عصاره دانست. بالا بودن میزان ترکیبات فنلی در مقایسه با عصاره را می‌توان به تفاوت در نوع روش تهیه و استخراج، ماهیت شیمیایی آن‌ها و نیز متفاوت بودن ترکیبات مؤثره هرکدام از آن‌ها مرتبط دانست و بالا بودن در ترکیبات فنولی لزوماً قدرت بالاتر آنتی‌رادیکالی را ایجاب نمی‌کند. در واقع این پدیده نشانگر آن است که ترکیبات آنتی‌اکسیدا نی دیگری نیز علاوه بر ترکیبات فنولی در این عصاره موجود است که حلال اتانول توانایی استخراج بیشتری از آن‌ها را دارد.

بالاتر بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالاتر بودن فعایت آنتی‌اکسیدانی بعضی عصاره‌ها از جمله عصاره‌های اتانولی و متانولی می‌باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد و از طرف دیگر به نظر می‌رسدکه ترکیبات فنلی به صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و قدرت آنتی اکسیدانی بالایی دارد و بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی در مقایسه با آن‌ها قابل استخراج می‌باشد (Muret et al., 2007).

گولیسین و همکارانش (۲۰۰۳) گزارش کردند که بین میزان ترکیبات فنلی و اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهی ارتباط مستقیمی وجود ندارد به طوری‌که میزان فنل عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی بوده ولی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی نسبت به آبی کمتر می‌باشد.

سایر بررسی‌ها محمدی و همکاران در سال (۲۰۱۴) به اندازه‌گیری ترکیب فنولی، رزمارینیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی بادرنجبویه با استفاده از روش (DPPH) و اثر آنتی‌اکسیدانی آن پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره غنی از ترکیب فنولی و رزمارنیک اسید بوده و عصاره می‌تواند باعث پایداری اکسایشی روغن سویا شود.

بوتا و همکاران در سال (۲۰۱۳)، تأثیر عصاره برگ گیاه بادرنجبویه را با بوتیلات هیدروکسی تولوئن در به تأخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان مقایسه نمودند. عصاره بادرنجبویه در غلظت‌های ppm ۶۰۰،۲۰۰،۱۰۰ و ۲۰۰ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) به روغن آفتابگردان اضافه کردند. عصاره بادرنجبویه در مقدار ۲۰۰ppmآنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) در جلوگیری از اکسیداسیون تقریباً مشابه مقدار ۲۰۰ppmعصاره بادرنجبویه بود، ولی در مقدار ۶۰۰ppm کاهش معنی‌داری مشاهده گردید.

جدول۴- مقادیر بدست آمده برای اندازه گیری میزان اندیس تیوباربیوتیک اسید در استخراج آبی (الف) و الکلی (ب)

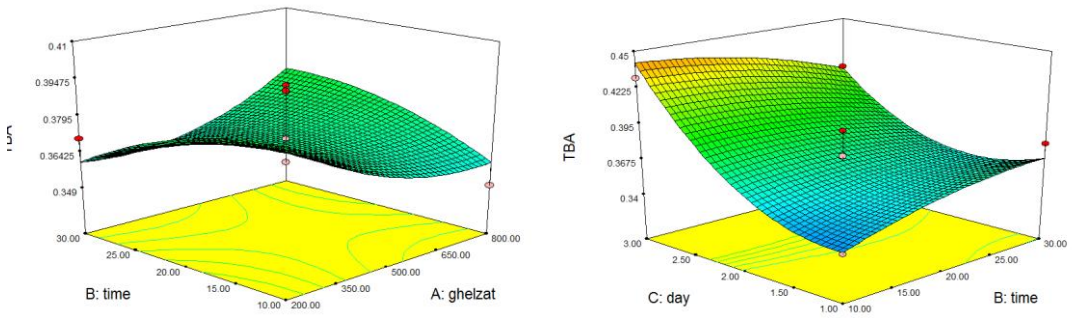
(الف)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	۰/۰۱۸	۹	۲/۰۴۰E-۰۰۳	۴/۴۳	۰/۰۳۱۳	s
A-ghelzat	۱/۲۵۰E-۰۰۵	۱	۱/۲۵۰E-۰۰51	۰/۰۲۷	۰/۸۷۳۸	
B-Time	۱/۲۵۰E-۰۰۵	۱	۱/۲۵۰E-۰۰۵	۰/۰۲۷	۰/۸۷۳۸	
C-day	۹/۸۰۰E-۰۰۳	۱	۹/۸۰۰E-۰۰۳	۲۱/۲۷	۰/۰۰۲۴	
Residual	۳/۲۲۵E-۰۰۳	۷	۴/۶۰۷E-۰۰۴			
Lack of Fit	۲/۶۲۵E-۰۰۳	۳	۸/۷۵۰E-۰۰48	۵/۸۳	۰/۰۶۰۷	ns

(ب)

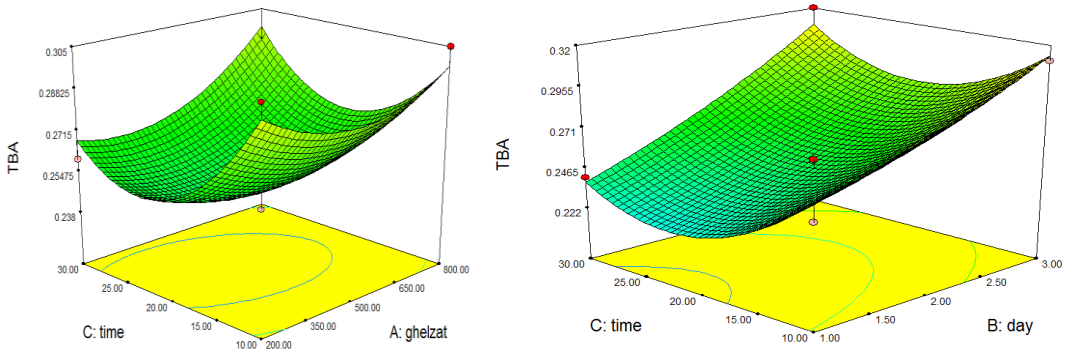
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0.028	۹	3.153E-003	۳۴/۶۰	۰/۰۶۰۷	s
A-ghelzat	۱/۵۱۳E-۰۰۳	۱	۱/۵۱۳E-۰۰۳	۰/۲۶	۰/۰۶۰۷	
B-Time	۴/۳۵۱E-۰۰۴	۱	۴/۳۵۱E-۰۰۴	۴/۷۷	۰/۰۶۰۷	
day	۷/۵۰۳E-۰۰۳	۱	۷/۵۰۳E-۰۰۳	۸۲/۳۳	۰/۰۶۰۷	
Residual	۶/۳۷۹E-۰۰۴	۷	۹/۱۱۴E-۰۰۴	۶/۳۷۹E-۰۰۴		
Lack of Fit	۵/۰۲۷E-۰۰۴	۳	۱/۶۷۶E-۰۰۴	۴/۹۶	۰/۷۸۰	ns

(الف) (ب)



شکل ۴- نمایش تغییرات میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید در اثر تغییرات زمان و روز نگهداری آبی (الف) و الکلی (ب)

(ب) (الف)



شکل ۵- نمایش تغییرات میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید در اثر تغییرات زمان و روز نگهداری آبی (الف) و الکلی (ب)

نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل نشان داد استخراج به روش عصاره‌گیری الکلی نسبت به عصاره‌گیری آبی روش مطلوب‌تری می‌باشد، به طوری‌که افزودن گیاه آجار حاصل از عصاره‌گیری الکلی موجب افزایش معنی دار (P>۰/۰۵) شد. نتایج نشان داد که شرایط بهینه زمان ۲۵/۱۴دقیقه و غلظت ppm ۸۰۰ بود. با توجه به نتایج بهینه‌سازی میزان آنتی‌اکسیدانی در استخراج آبی و الکلی به ترتیب ۴۹۹/۸۹۳-۳۳/۳۳ درصد گزارش شد. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد اندیس پراکسید و

تیوباربیوتیک اسید در استخراج آبی و الکلی ۳/۱۵۸-۱/۹۳۸ و ۰/۳۳۷- ۰/۱۷۳ تعیین گردید. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد اندیس پراکسید و تیوباربیوتیک اسید در استخراج آبی و الکلی ۳/۱۵۸-۱/۹۳۸ و ۰/۳۳۷- ۰/۱۷۳تعیین گردید. تأثیر افزودن گیاه آجار استخراج شده به روش عصاره الکلی بر نمونه-های روغن بدین صورت بود که افزایش غلظت و زمان موجب بهبود روغن نسبت به عصاره آبی شد. بهترین روغن تولید شده در عصاره الکلی به دست آمد. از نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گیاه آجار کاربرد وسیع آن در زمینه صنایع غذایی منطقی خواهد بود و انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری جلوه می‌نماید.

منابع

۱- اسماعیل زاده کناری، ر.، و مهدی پور، س. (۱۳۹۱). اثرآنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست کیوی درپایداری سازی روغن آفتاب گردان. پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، جلد۸، شماره ۲، صفحه۲۵۰-۲۴۵.

۲- افرازه، ز.، بلندی، م.، خورشیدی، م.، و محمدی نافچی، ع. (۱۳۹۳). بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی (متانول، اتانول) گلبرگ زعفران، زراعت و فناوری زعفران، جلد۲، شماره ۳، صفحه ۲۳۶-۲۳۱.

۳- فیاض مهر، ب.، و آصفی، ن. (۱۳۹۱). تأثیر امواج فراصوت بر مقدار و ظرفیت آنتی اکسیدانی لیکوپن استخراج شده از تفاله گوجه فرنگی. پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد۲۲، شماره۲، صفحه ۲۴۸-۲۴۲.

4-Abootalebian. M. Keramat. J. Kadivar. M. Ahmadi. F. and Abdinian. M. 2016. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different Mentha spicata and M. longifolia accessions. Annals of Agricultural Sciences, 61 (2), 175-179

5-Agregán. R. Lorenzo. J. M. Munekata. P. E. Dominguez. R. Carballo. J. and Franco. D. 2016. Assessment of the antioxidant activity of Bifurcaria bifurcata aqueous extract on canola oil. Effect of extract concentration on the oxidation stability and volatile compound generation during oil storage. Food Research International. In press

6-Bagheri. AR. 2006. Fundamentals of Plant Tissue Culture (eds. R. L. Piric). Mashhad: Ferdosi University of Mashhad.

7-Ben Salem. M. Affes. H. Athmouni. K. Ksouda. K. Dhouibi. R. Sahnoun. Z. Hami, S. and Zeghal. K. M. 2017. Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Cynara scolymus Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

8-Burits. M. Bucar. F. 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotheraphy Research 14, 323–328.

9-Chirinos. R. Rogez. H. Campos. D. Pedreschi. R. and Larondelle. Y. 2007. Optimization of extractionconditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum tuberosum Ruız & Pavon) tubers. Separation and Purification Technology 55: 217–2

10- David Raja. H. and Arockiasamy. DI. 2008. In vitro Propagation of Mentha viridis L. from Nodal and Shoot tip Explants. Plant Tissue Cult & Biotech, 18:1-6.

14-Farhoosh. R. and Moosavi. S.M.R. 2006. Determination of carbonylvalue in rancid oils: a critical reconsideration .J Food Lipids. 13: 298–305.

11- Ferreres. F. Sousa. C. Valento. P. Seabra. R. M., Pereira. J. A. and Andrade. P. B. 2007. Tronchuda cabbage (Brassica oleracea L. var. costata DC) seeds: phytochemicalcharacterization and antioxidant potential. J Food Chem., 101: 549-558

12-Ghafoor. K. and Choli, H. 2009. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compound and antioxidant fram grape peel through

response surface methodology. J Bilogical chemistry 52 (3):295-300.
13-Gülçın. İ. Oktay. M. Kıreçcı. E. Küfrevıoğlu. Öİ. 2003. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise. (Pimpinella anisum L.) seed extracts. Food chem; 83 (3): 371-82.
14-Hismath. Wan Aida. 2011. Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (Azadirachta indica) leaves. J International Food, 18 (3):931-939.
15-Horwitz. W. 1975. Official methods ofanalysis of the association of official analytical chemist. (AOAC). 13th ed.
16-Morella. L. and Prado. M.A. 2012. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry, 19:1144-1149.
17-Muret. K. Sevgi. K. Sengul. K. Esra. U. Cemalettin. B. Fedra. V. 2007. Biological activities, chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chem. 100 (2): 526-534.
18-Negi. P.S. 2012. Review Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. Int J Food Microbiol; 156: 7-17.
19-Olugbami. J. O. Gbadegesin. M. A. and Odunola. O. A. 2015. In vitro free radical scavenging and antioxidant properties of ethanol extract of Terminalia glaucescens. Pharmacognosy research, 7 (1), 49-55.
20-Rostagno. A. Palma. M. and Barroso, C. 2003. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. J Chromatography A, 1012: 119-128.
21-Seabury. k. 2002.The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. Project number, Jo404.
22-Stoilova. I. Krastanov. A. Stoyanova. A. Denev. P. and Gargova. S. 2007. Antioxidant actirity of ginger extract (Zingiber officinale). Food Chem; 102: 764-70.
23-Suzuki. M. Watanabe. T. Miura. A. Harashima. E. Nakagawa. Y. and Tsuji. K. 2002. An extractionsolvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi 49: 507-511.
24-Yang. Y. Song. X. Sui. X. Qi, B. Wang. Z. Li, Y. and Jiang. L. 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. Industrial Crops and Products, 80, 141-147.
25-Yassari. S. and Yasari. E. 2013. Effects of extracts of Thompson orange peel on the stability of canola oil. J International of Agriculture and Crop Sciences. 5-5:410-420
26-Zargari. A. 1996. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Publications: 437.

Optimization of the extraction process of aqueous and alcoholic (ethanol) extracts of *Allium ampelloprasuml* plant by response surface methodology and Its antioxidant effect on soybean oil stability over Shelf Life

Azadfar A[1], Sabetghadam M[1*], Bahrami Z[2], Beyzaei B[2]

1. Ph.D. student in Food Science and Engineering, Young and Elite Researchers Club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran,

2. Expert in Food Industry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

***Corresponding author:** *m.sabetghadam68@gmail.com*

Received: 3 March 2020 Accepted: 2 June 2020

Abstract

Plants contain Phenolic compounds are ranging from simple molecules such as phenolic acids to highly polymerized molecules such as tannins Phenols and polyphenols in plant tissues have gained increasing scientific interest because of their potential beneficial effects on human health. In this study, *Allium ampelloprasum* L. known as "Ajar" was prepared and homogenized from Sabzevar, Iran The extraction was performed by the ultrasound extraction method using ethanol and water solvent. The amount of and antioxidant compounds of extracts was investigated by and DPPH method, respectively. The results of the optimization process have shown that the optimum conditions of alcoholic extraction were determined as 17.81 minutes with a concentration of 800 ppm. Also, the optimum conditions for the aqueous extraction were determined as the concentration of 800 ppm and the time of 13.52 minutes. According to the optimization results, the extraction amount of antioxidant compounds in aqueous and alcoholic extractions were reported as 33.893-33.499, respectively. The results of the oxidative stability of oil have shown that the peroxide and thiobarbituric acid index in water and alcoholic extractions were 1.938-3.158 and 0.173-0.337, respectively.

Keywords: *Allium ampelloprasum* L., Peroxide, Response surface, Radical scavenging power.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited

Copyright © 2021 Shahrekord Branch, Islamic Azad University.