



مقاله علمی-پژوهشی

بررسی اثر پیش تیمار فراصوت بر استخراج ترکیبات فنولیک گل گیاه درمنه (*Artemisia annua*) بر پایداری

اکسایشی روغن سویا حاوی عصاره حاصل

راحیل فائزی خواه<sup>۱</sup>، احمد پدram نیا<sup>۲</sup>، محمد آرمین<sup>۲</sup>

۱- کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	امروزه یکی از مشکلات صنعت غذا استفاده از ترکیبات سنتزی به عنوان نگهدارنده می باشد که خطرات بالقوه هر کدام از این ترکیبات جهت سلامتی انسان ها به اثبات رسیده است. در حال حاضر در صنعت روغن از آنتی اکسیدان های سنتزی مثل بوتیل هیدروکسی آنیزول و بوتیل هیدروکسی تولوئن استفاده می گردد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر پیش تیمار فراصوت بر استخراج ترکیبات فنولیک گل گیاه درمنه بر پایداری اکسایشی روغن حاوی عصاره حاصل می باشد. در این پژوهش از عصاره استخراجی گل گیاه درمنه <i>Artemisia annua</i> با کمک پیش تیمار فراصوت با شدت ثابت ۲۴ کیلوهرتز و دمای ثابت آزمایشگاه و زمان های اعمال امواج فراصوت ده، بیست و سی دقیقه و استخراج حلال متانول به روش ماسراسیون با زمان ثابت ۴۸ ساعت و در دمای ثابت آزمایشگاه (شاهد) به منظور پایداری روغن سویا استفاده شد. با کمک روش سطح پاسخ مناسب ترین پیش تیمار فراصوت با زمان ۳۰ دقیقه انتخاب شد. سپس از پیش تیمار فراصوت با زمان ۳۰ دقیقه غلظت های مختلف صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ تهیه شد. نتایج نشان داد که پیش تیمار با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام با بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنلی (۲۸/۱۵) میلی گرم بر گرم و قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۵۳/۳۰) درصد مناسب ترین نمونه بود که به روغن اضافه شد و آزمون های مربوط به پایداری روغن سویا شامل: اندیس پراکسید، اندیس اسیدی و شاخص تیوباربتوریک اسید انجام گرفت که بنابر نتایج آزمون ها روند صعودی داشته و بیشترین اثر پایدار کنندگی عصاره درمنه در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام بود.
کلمات کلیدی: فراصوت، ترکیبات فنولی، روش سطح پاسخ، پراکسید، تیوباربتوریک اسید	
DOI: 10.22034/FSCT.21.147.45. مسئول مکاتبات: * rahilfaezi@gmil.com	

## ۱- مقدمه

مواد مختلف کشاورزی (مانند پوست، ریشه، ساقه، برگ و میوه گیاهان) به عنوان جایگزینی برای ترکیبات سنتزی می-باشند. پلی فنولها مهمترین دسته آنتی اکسیدانهای طبیعی یافت شده از فراورده‌های فرعی گیاهان می‌باشند [۳].

گیاه درمنه با نام علمی *Artemisia annua* می‌باشد. این گیاه درختچه‌ای با شاخه‌های گسترده که پراز برگ خطی است. برگ‌هایی کرک‌دار به رنگ سفید نقره‌ای که در قسمت‌های انتهایی شاخه‌ها گل‌های زردی که از بغل برگ می‌رویند و میوه آن فندقه است. طول برگ‌های آن به ۱۲۰ سانتی‌متر می‌رسد. ارتفاع این گیاه بین ۹ تا ۱۲ متر است که دارای انشعابات متعدد و متراکم می‌باشد که شکل کپه‌ای را به بوته می‌بخشد [۴]. گل گیاه درمنه حاوی ترکیبات شیمیایی نظیر: آرتیمیزین، سانتوتین، فلاونوئیدها، تری‌ترپن‌ها، کومارین‌ها، آدنین‌ها، آمیرین‌ها، اسکولین، نرول، ولگارین و میرسن می‌باشد. همچنین عمده‌ترین اسانس‌های این گیاه حاوی ترکیباتی نظیر: او-۸-سینئول (۲۶/۹۳ درصد)، کامفور (۱۶/۹۷ درصد)، آلفا-توجون (۷/۵۲ درصد)، برنئول (۷/۷۴ درصد) و آلفا-تریپینئول (۵/۷۷ درصد) می‌باشد. کومارین، ترکیبی از خانواده فنلی رایج در گیاهان است که به عنوان ترکیبات ضد باکتریایی و ضد عفونی کننده شناخته می‌شود. بنابراین این گمان می‌رود که بتوان از عصاره این گیاه برای افزایش پایداری اکسیداتیو روغن سویا استفاده نمود [۵]. یکی از منابع روغن‌های گیاهی دانه سویا می‌باشد که به خاطر ویژگی‌های کشاورزی مطلوب، کیفیت بالای پروتئین آن و روغن خوراکی ارزشمند، مهم‌ترین منبع دانه روغنی در دنیا می‌باشد [۶]. روغن سویا به دلیل داشتن مقادیر بالای اسیدهای چرب چند غیراشباعی مثل اسید لینولئیک و به میزان کمتر اسیدلینولئیک یک منبع مستعد برای تامین اسیدهای چرب ضروری مورد نیاز بدن می‌باشد. از طرفی این اسیدهای چرب چند غیراشباعی به دلیل فعالیت شیمیایی

اکسیداسیون چربی‌ها یکی از اصلی‌ترین نگرانی‌های اقتصادی برای فراورده‌های مواد غذایی می‌باشد. اکسیداسیون چربی موجود در مواد غذایی، نگهداری آنها را شدیداً کاهش می‌دهد و باعث می‌شود غذاهایی با کیفیت غیر قابل قبول به مشتری ارائه شود. هم‌چنین از آنجا که پایداری اکسیداتیو روغن‌ها و چربی‌ها تحت تأثیر فاکتورهای متعددی نظیر نور، یون‌های فلزی، اکسیژن، دما و آنزیم‌ها قرار می‌گیرد، حضور افزودنی‌های غذایی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی برای جلوگیری از اکسیداسیون ضروری می‌باشد [۱].

افزودنی‌های غذایی نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها به منظور افزایش زمان ماندگاری، حفظ ایمنی و کیفیت تغذیه‌ای، خواص عملکردی و مطلوبیت فرآورده، در انواع روغن به کار گرفته می‌شوند. با توجه به آثار سوء اثبات شده برای بسیاری از افزودنی‌های سنتزی نظیر تأثیر رنگ‌های مصنوعی و آنتی-اکسیدان‌ها در ایجاد آسیب‌های رشدی، کاهش قدرت تمرکز، کاهش ضریب هوشی کودکان، اثر موتاژنی، عوارض توکسیکولوژی و سرطان‌زایی و ... امروزه گرایش زیادی برای استفاده از افزودنی‌های طبیعی در صنعت و در تحقیقات بوجود آمده است و در این میان ترکیبات موثره استخراج شده از منابع گیاهی بسیار مورد استقبال قرار گرفته‌اند [۲].

صنعت غذا عموماً از انواع مختلف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ( $BHT^1$ ,  $BHA^2$ ,  $TBHQ^3$ ) برای کمک به نگهداری غذاها در برابر اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌کند. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ذکر شده دارای خاصیت سرطان‌زایی بوده به همین دلیل تقاضای مصرف‌کنندگان برای تهیه تولیدات سالم و طبیعی در سال‌های اخیر افزایش یافته است. محققان هم‌اکنون در حال یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدست آمده از

و جایگزین آنتی‌اکسیدان (BHA) شود [۱۰]. هدف از این پژوهش، بررسی اثر پیش تیمار فراصوت بر استخراج ترکیبات فنولیک گل گیاه درمنه بر پایداری اکسایشی روغن سویا حاوی عصاره حاصل می‌باشد. بهینه سازی فرآیند استخراج ترکیبات فنلی و مهار کنندگی رادیکال آزاد از گیاه گل درمنه به کمک امواج فراصوت از طریق آزمون سطح پاسخ (Response Surface Methodology) انجام شد. در بهینه سازی فرآیند استخراج از طرح مرکب مرکزی (Central Composite Design) با دو متغیر مستقل شامل زمان اعمال انجام فراصوت فراصوت (۳۰-۰ دقیقه)، غلظت (۱۰۰۰ ppm -۰) در ۵ سطح شامل ۱۳ آزمون با ۵ تکرار در نقطه مرکزی استفاده شد. اندازه گیری ترکیبات فنلی با استفاده از روش فولین سیو کالتیو انجام شد. در شرایط بهینه، مقادیر متغیرها مدت زمان فرا صوت (۳۰ دقیقه و غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) تنظیم شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان از کارخانه روغن نباتی سه گل نیشابور تهیه و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. گل گیاه درمنه از بازار محلی شهرستان سبزوار تهیه و قسمت‌های زائد آن جدا شده و بلافاصله پس از تمیز کردن و شستشو به روش آفتابی خشک گردید. مواد شیمیایی شامل متانول، اسید استیک گلاسیال، اتانول، کلروفرم، فولین سیوکالتیو، DPPH، دیدید پتاسیم، تیوسولفات سدیم، هیدروکسید سدیم، کربنات سدیم، آب مقطر و نشاسته، که تمام مواد شیمیایی ذکر شده از شرکت‌های مرک و سیگما با درصد خلوص بالا خریداری و تهیه گردید.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۱-۲- عصاره گیری

بالا، سریعتر اکسید شده و عامل ناپایداری این روغن می‌باشد که بدین وسیله اسیدهای چرب ضروری از بین رفته و نیز طعم و بوی محصولات حاصل از اکسیداسیون نامطلوب می‌باشد [۷].

اکسیداسیون روغن‌ها علاوه بر تغییر ویژگی‌های ارگانولپتیکی ماده غذایی، ارزش غذایی و عمر نگهداری روغن‌ها را کاهش می‌دهد و به دلیل تولید ترکیبات نامطلوب در روغن که برای سلامتی مصرف‌کنندگان تاثیر سوئی دارند باعث پیر شدن، ایجاد بیماری‌های قلبی و جهش سرطان می‌شود. از این جهت پایداری روغن‌ها تحت شرایط حرارتی و نگهداری اجتناب ناپذیر است. روش‌های مختلفی برای پایداری روغن کاربرد دارد که یکی از مهم‌ترین آن‌ها استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها است. در راستای کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، عصاره گل گیاه درمنه می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده قرار گیرد. در این تحقیق با استفاده از پیش تیمار فراصوت با زمان ۳۰ دقیقه منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه درمنه (آرتیمیزین، ساتونین، فلاونوئیدها، تری‌ترین‌ها، کومارین‌ها، اسکولین‌ها) استخراج گردید و جهت پایداری به روغن سویا اضافه می‌شود و اثرات پایداری آن‌ها طی شرایط نگهداری در دمای ثابت آزمایشگاه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به یکدیگر و همچنین بر روی روغن سویای فاقد آنتی‌اکسیدان مقایسه خواهد شد [۸].

در پژوهشی فعالیت آنتی‌اکسیدان برگ سنا را بر پایداری روغن سویا بررسی کرده و نشان دادند که غلظت ۷۵۰ پی‌پی‌ام، عصاره متانولی برگ سنا کارایی خوبی در کند نمودن روند اکسایش روغن سویا دارد [۹]. در پژوهشی دیگر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدان عصاره برگ زیتون در روغن آفتابگردان بررسی شد. نتایج نشان داد نشان داد که عصاره متانولی برگ زیتون در سطح ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، به خوبی توانسته است شاخص پراکسیدو اسید تیوباریتوریک را کنترل کرده

رسانده شد. به این ترتیب محلول مادر تهیه گردید که برای رسم منحنی کالیبراسیون مقادیر صفر، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، میلی لیتر از محلول مذکور به بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و هر یک با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. این محلول‌ها به ترتیب دارای غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید گالیک بودند. سپس به لوله‌های آزمایش فویل پیچ شده، ۰/۵ میلی لیتر از محلول‌های تهیه شده اسید گالیک، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین و پس از ده دقیقه ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. پس از گذشت یک ساعت در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و در نهایت منحنی جذب در برابر غلظت اسید گالیک (میلی گرم به میلی لیتر) محاسبه شد و معادله (۱) با ضریب تبیین ۰/۹۹ به دست آمد:

$$Y=0.0034X+0.1059 \quad \text{معادله (۱)}$$

X میزان جذب خوانده شده در طول موج ۷۶۰ نانومتر و Y مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر است [۱۲].

گل گیاه درمنه بعد از تمیز کردن و شستشو خشک گردید. سپس برای استخراج عصاره، با آسیاب برقی (CG100، کنوود) خرد و پس از الک کردن برای تهیه عصاره به روش ماسوراسیون با حلال متانول با نسبت ۱۰:۱ مخلوط گردیده و در هات پلیت با دور ۲۵۰ rpm به مدت زمان ۴۸ ساعت در دمای محیط قرار گرفت و پس از آن تحت شرایط خلأ توسط قیف بوخنر (کشور آلمان) با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. سپس در تبخیر کننده چرخان (LABORTA4001، شرکت Heidolph ژاپن) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در نهایت عصاره گل گیاه درمنه توسط خشک کن تخت خلأ (UFE600A3، ممرت کشور آلمان) در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیر قابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۱].

آزمون‌های مربوط به عصاره

۲-۳- تعیین معادله اسید گالیک

ابتدا ۰/۴ گرم اسید گالیک خشک در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد حل و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر

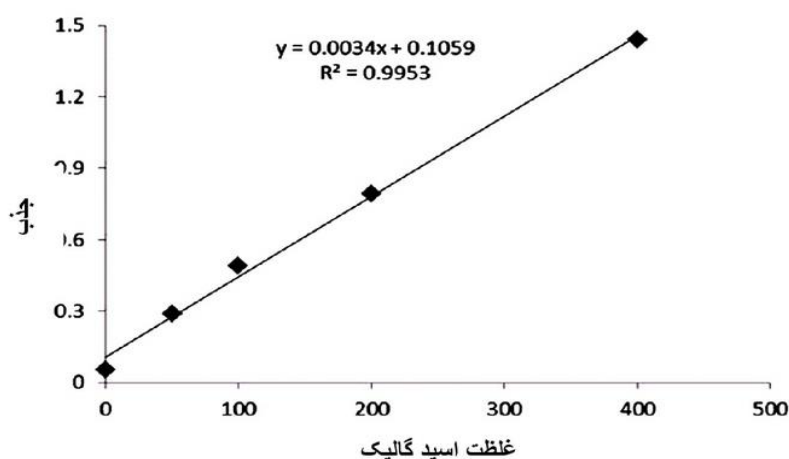


Figure1. Gallic acid calibration curve.

میلی لیتر از غلظت های مختلف عصاره ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و نمونه شاهد در متانول به ۲ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد (DPPH) در متانول اضافه گردید. پس از ۹۰ دقیقه تاریک گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال های آزاد (DPPH) با استفاده از معادله (۲) محاسبه گردید. [۱۵].

معادله (۲)

$$I\% = (A_{Blank} - A_{Sample} \div A_{Blank}) \times 100$$

در این فرمول  $A_{Blank}$  جذب نوری شاهد را که فاقد عصاره می باشد، نشان داده شده و  $A_{Sample}$  میزان جذب نوری غلظت های مختلف عصاره را بیان می کند.

#### آماده سازی نمونه های روغن سویا

بر اساس آزمون های عصاره (اندازه گیری ترکیبات فنلی، اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد) تیمار بهینه حاوی غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام از عصاره انتخاب گردید و به روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان اضافه شد و آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) در سطح ۲۰۰ پی پی ام به روغن فاقد آنتی اکسیدان که در شیشه های تیره رنگ ریخته شده بودند اضافه و درب شیشه ها بسته شد. سپس نمونه ها به همراه نمونه شاهد (روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ثابت آزمایشگاهی قرار گرفت. سپس در مدت زمان نگهداری آزمون های روغن شامل (عدد پراکسید، عدد اسیدی، تیوباریتوریک اسید) انجام و نمونه های روغن سویا حاوی عصاره بهینه با نمونه روغن سویا حاوی آنتی اکسیدان (BHT) و روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان مقایسه و در ادامه خصوصیات کیفی نمونه های روغن مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۶].

#### ۲-۴- اندازه گیری ترکیبات فنلی نمونه

ابتدا محلول های استاندارد از عصاره گل گیاه درمنه با حلالی که توسط آن عمل استخراج صورت گرفته (متانول) با غلظت های مختلف در دامنه ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، و نمونه شاهد آماده شد. سپس به لوله های آزمایش فویل پیچ، ۰/۵ میلی لیتر محلول استاندارد عصاره گل گیاه درمنه، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو ۲٪ (برای تهیه معرف فولین سیوکالتیو غلیظ با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد) و پس از ده دقیقه ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. پس از گذشت یک ساعت در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و از روی معادله درجه بندی (برای اسید گالیک به عنوان استاندارد) مقدار کل ترکیبات فنلی بر مبنای اسید گالیک بر حسب درصد تعیین گردید [۱۳].

#### ۲-۵- اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH):

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با بررسی فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) انجام شد. ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش می باشد که با احیا شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی اکسیدانی) به دی فنیل پیکریل هیدرازیل زرد رنگ تبدیل می شود. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار گرفت [۱۴].

#### ۲-۵-۱- اندازه گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH) نمونه

در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده (DPPH) به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۲

۲-۶-۳-اندیس اسیدی

۲۰ میلی لیتر اتانول و ۲۰ میلی لیتر دی اتیل اتر در یک ارلن مایر ریخته شد و با ۵ قطره فنل فتالین به خوبی مخلوط گردید. سپس ۵ گرم نمونه روغن سویا (فاقد آنتی اکسیدان، روغن سویا دارای آنتی اکسیدان، روغن سویا دارای مخلوط با تیمار بهینه) نگهداری شده در دمای ثابت آزمایشگاه و زمان ۴۸ ساعت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری دیگر توزین و با حلال فوق مخلوط شد. محتویات فوق با هیدروکسید سدیم یا هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ یا ۰/۰۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ که به مدت ۱۵ ثانیه پایدار باشد، تیترا گردید و حجم قلیای مصرفی یادداشت شد. نمونه شاهد (روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان) از طریق تیتراسیون و از طریق معادله (۴) میزان اندیس اسیدی محاسبه شد [۱۹]:

$$W = (A - B) \times N \times 56.1$$

عدد اسیدی

A: حجم قلیای مصرفی در تیتراسیون نمونه (میلی لیتر)

B: حجم قلیای مصرفی در تیتراسیون شاهد (میلی لیتر)

N: نرمالیه قلیای مصرفی

W: وزن نمونه (گرم)

۲-۷-آنالیز آماری

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری RSM (به دلیل صرفه جویی در وقت، در این روش علاوه بر اثرات اصلی بین فاکتورها، امکان تخمین اثرات تعاملی شامل غلظت، زمان اعمال امواج فراصوت و برهمکنش بین فاکتورها) اثرات متقابل)، رسیدن سریع به نقطه اپتیمم) استفاده گردید. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری Expert Design مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین با نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی، نمونه بهینه و با نمونه شاهد (نمونه فاقد آنتی اکسیدان سنتزی) نیز با استفاده از آزمون LSD (حداقل مقایسه میانگین در سطح احتمال آلفا برابر با ۰/۰۵ یا حداقل اختلاف معنی دار) با همین نرم افزار انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel استفاده گردید.

۲-۶-آزمون های روغن

۲-۶-۱-عدد پراکسید

روش اندازه گیری اندیس پراکسید بر اساس استاندارد (A.O.A.C) و در دمای ثابت آزمایشگاه انجام گرفت. در این روش مقدار ۵ گرم نمونه روغن سویا (فاقد آنتی اکسیدان، روغن سویا دارای آنتی اکسیدان، روغن سویا دارای مخلوط با تیمار بهینه) نگهداری شده در دمای ثابت آزمایشگاه و زمان ۴۸ ساعت آماده شده در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری وزن می گردد و ۳۰ میلی لیتر حلال (مخلوط اسید استیک و کلروفرم) به آن اضافه می شود سپس حدود ۰/۵ میلی لیتر یدور پتاسیم اشباع به آن اضافه می شود و به مخلوط به مدت یک دقیقه ساکن گذاشته و گاهی هم زده می شود. ۳ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید معادله (۴): ساکن گذاشته شد و چند قطره چسب

نشاسته به محلول اضافه و با محلول تیوسولفات ۰/۰۲ نرمال تیترا گردید. هنگامی که رنگ محلول به صورت شفاف و زلال رسید تیتراسیون را متوقف و اندیس پراکسید بر حسب میلی اکی والان بر کیلوگرم از طریق معادله (۳) محاسبه شد [۱۷].

(حجم نمونه مصرفی) / (حجم تیتراسیون مصرفی × نرمالیه × ۱۰۰۰) = اندیس پراکسید

۲-۶-۲-شاخص تیوباربیئوریک اسید

برای اندازه گیری شاخص تیوباربیئوریک اسید در ارلن ۲۵۰ میلی لیتری، ۵ گرم نمونه، یک میلی لیتر محلول ۰/۷۵ درصد تیوباربیوتیک اسید و ۲ میلی لیتر محلول ۳۵ درصد تری کلرو استیک اضافه گردید. سپس مخلوط حاصله به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت، پس از این مدت مخلوط به مدت ۳ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ می گردد. فاز آبی با سرنگ خارج و به سل اسپکتروفتومتر منتقل گردید. سپس جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید [۱۸].

۱۰۰۰ پی پی ام مشاهده شد. در زمان ۲۴ ساعت اگر چه افزایش غلظت با افزایش میزان ترکیبات فنولی همراه بود اما این افزایش ترکیبات فنولی از غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام کمتر بوده است.

ترکیبات فنلی (مانند فلاونوئیدها، فنولیک اسیدها و آنتوسیانین‌ها) که به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های آبدوست شناخته شده‌اند، متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که به وفور در گیاهان وجود دارند. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی به طور مستقیم با ساختار آن‌ها مرتبط است. این ترکیبات با داشتن یک یا چند گروه هیدروکسیل قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ترکیبات فنلی عصاره گل گیاه درمنه

(شکل ۲) تاثیر غلظت بر استخراج ترکیبات فنلی در طی زمان‌های مختلف آورده شده است.

نتایج روند تغییرات ترکیبات فنولیک در واکنش به زمان و غلظت به صورت خطی بود. افزایش زمان اعمال امواج فراصوت و غلظت تاثیر بیشتری بر میزان ترکیبات فنولی داشت. بیشترین استخراج ترکیبات فنولی (۲۳/۱۵) میلی‌گرم بر گرم با زمان اعمال امواج فراصوت ۳۰ دقیقه و غلظت

Design-Expert® Software

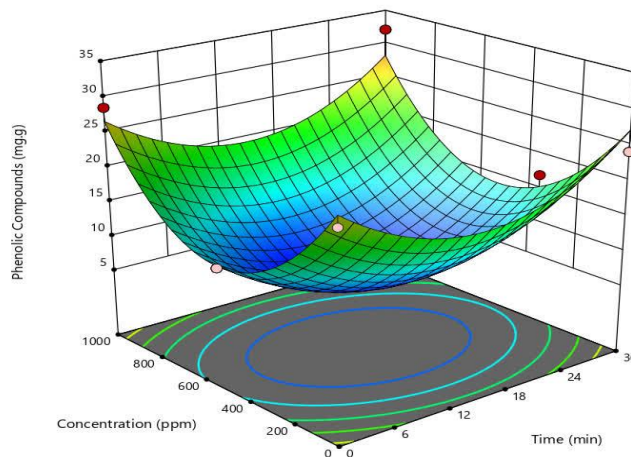


Figure 2. The effect of sonication time and extract concentration on the amount of phenolic compounds

وجود دارد و (A. annua) وجود دارد و کامفور (۴۸ درصد)، او-۸-سینئول (۹/۳۱ درصد)، کامفن (۶/۹۸ درصد) و اسپانتول (۴/۸۹ درصد) به عنوان اجزاء اصلی شناسایی شد [۲۲]. در مطالعه دیگر، میزان فنل عصاره متانولی اندام‌های هوایی درمنه جمع‌آوری شده از نواحی مختلف آذربایجان شرقی برابر با ۱/۴ تا ۲/۳ میکروگرم بر گرم عصاره گزارش شده است [۲۳].

می‌باشد [۲۰]. ترکیبات فنولیک قادرند تا یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد دهند و بدین ترتیب باعث توقف پیش روی واکنش‌های زنجیری در طی فرایند واکنش اکسایش چربی شوند. همچنین، امکان اثر تشدید کنندگی میان ترکیب‌های دارای اکسیژن و افزایش فعالیت ضد اکسایشی نیز وجود دارد [۲۱].

در پژوهش که در آن ترکیبات فنلی گیاه درمنه مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۳۲ جزء در اسانس گونه

در این مطالعه می‌توان بیان داشت که به دلیل افزایش ترکیبات فنلی در سطوح بالای عصاره، سبب افزایش در قدرت مهار رادیکال آزاد شده است. بنابراین می‌توان به این نتیجه رسید که احتمالاً در روش استخراج عصاره به روش متانولی که تیمار شاهد بود با زمان ۴۸ ساعت که در آن از امواج فراصوت استفاده نشد به دلیل بالاتر بودن ترکیبات فنولی، میزان آزاد شدن ترکیبات هیدروکسیل در محیط واکنش بیشتر بوده و احتمال احیاء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. در مقایسه استخراج با حلال‌های آلی، استفاده از روش تیمار با بستر متانولی سبب افزایش استخراج ترکیبات فنولیک آزاد شده می‌گردد. دلیل این مورد را می‌توان به افزایش قطبیت محلول و همچنین تورم بیشتر سلول در این شرایط دانست که می‌تواند در استخراج ترکیبات فنولیک آزاد شده موثر باشد. از سوی دیگر حضور ترکیبات قطبی و شرایط دی‌الکتریک بالا احتمالاً سبب نفوذ ترکیبات به درون سلول شده و به گونه‌ای سبب هیدرولیز دیواره پلی‌ساکارید پیوسته دانه گیاه شده است؛ و در نتیجه در اثر حرارت دهی و تخریب لیگنین ترکیبات فنولیکی را استخراج می‌نماید. حرارت سبب افزایش پارگی سلول در بیشتر گیاهان شده و در نهایت تخریب پلی‌ساکارید را به همراه دارد و از این طریق می‌تواند مقداری ترکیبات فنولیکی به صورت آزاد در محیط رها شده و در مرحله بعد وارد عصاره گردد [۲۵].

### ۳-۲- قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH)

عصاره ی گل گیاه درمنه

نتایج بررسی قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در (شکل ۳) مشاهده است. بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره گل گیاه درمنه ۵۳/۳۰ درصد برای غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین قدرت مهارکنندگی آن ۹/۹۸ درصد در غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام می‌باشد که نتایج حاصل نشان داد که غلظت در قدرت مهارکنندگی تاثیر معنی‌داری داشته است. می‌توان گفت که با استفاده از ۲۰۰ پی‌پی‌ام آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و مقایسه فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد آن با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی گل گیاه درمنه مشخص شد که فعالیت ممانعت‌کنندگی این آنتی‌اکسیدان در غلظت به کار برده شده نسبت به غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام عصاره و به بالا از نظر آماری در سطح پایین‌تری قرار داشت. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در غلظت‌های بالاتر عصاره را نیز می‌توان به محتوای فنولی عصاره‌ها نسبت داد. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم، میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال آزاد افزایش می‌دهد. مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین‌تر، گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند [۲۴].



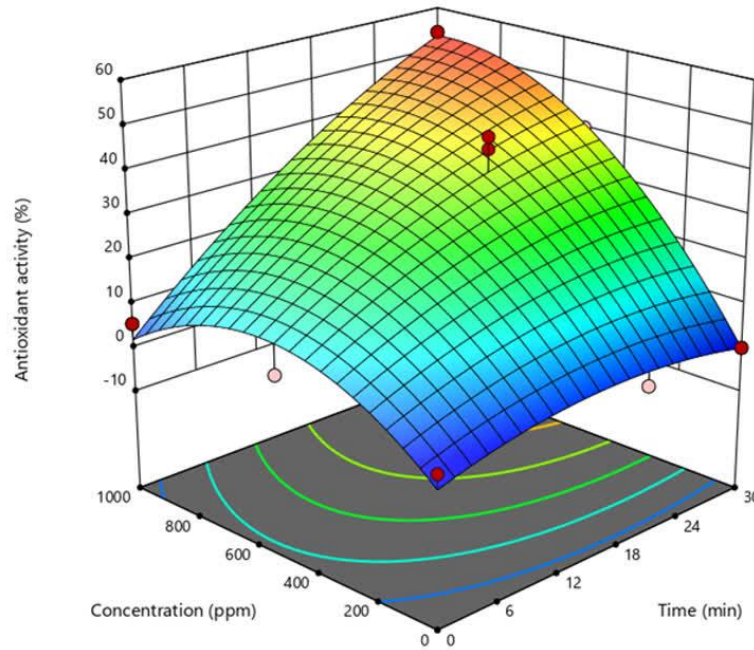


figure3. The effect of sonication time and extract concentration on the amount of DPPH

اِپتیم عدد پر اکسید بیشتری را داراست. با توجه به آنالیز واریانس داده ها می توان بیان داشت که نقطه اِپتیم از سرعت اکسیداسیون کاسته شده است نقطه اِپتیم در مقایسه با نمونه کنترل و حتی آنتی اکسیدان BHT کمتر بود. بنابراین می توان ذکر کرد که در طول زمان نگهداری در دمای ثابت آزمایشگاه و در زمان های متفاوت ۲۴ و ۴۸ ساعت بیشترین و متوسط و کمترین میزان پر اکسید به ترتیب مربوط به نمونه کنترل (روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان)، حاوی آنتی اکسیدان BHT و نقطه اِپتیم به ترتیب (۱۷/۶۶meq/kg)، (۵/۶۶meq/kg)، (۳/۲۶meq/kg) می باشد. انحراف معیار (standard deviation) یکی از شاخص های پراکندگی است که نشان می دهد به طور میانگین داده ها چه مقدار از مقدار متوسط فاصله دارند. انحراف معیار عدد پر اکسید در نمونه کنترل، نمونه BHT و نمونه اِپتیم به ترتیب (۱۷/۶۶±۱/۴۶۲)، (۵/۶۶±۰/۴۱۶)، (۳/۲±۰/۵۰۳) می باشد. ± مقادیر نشان دهنده انحراف معیار است.

هم راستا با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، محقینی پس از بررسی اثر استفاده از اسانس پوست پرتغال بر پایداری اکسیداتیو روغن سویا بیان نمودند که اسانس پوست پرتغال دارای فعالیت ضد رادیکالی بوده و نسبت به نمونه کنترل (فاقد آنتی اکسیدان)، باعث پایداری اکسایش روغن سویا شد [۲۶].

### ۳-۳- عدد پر اکسید

نتایج آنالیز واریانس (ریشه دوم انحراف معیار) نشان داد که تغییرات اندیس پر اکسید عصاره گل گیاه درمنه به طور معنی داری تحت تاثیر نقطه اِپتیم قرار داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج مقایسه میانگین تیمارها در آزمون LSD برای عدد پر اکسید در شکل ۴ نشان داده شده، طبق نتایج بالاترین عدد پر اکسید در تیمار کنترل (روغن سویای که فاقد آنتی اکسیدان سنتزی) می باشد که در مقایسه با آنتی اکسیدان BHT و نقطه اِپتیم (زمان ۳۰ و غلظت ۱۰۰۰) اختلاف آماری معنی داری با سایرین داشت. همچنین تیمار BHT در مقایسه با تیمار

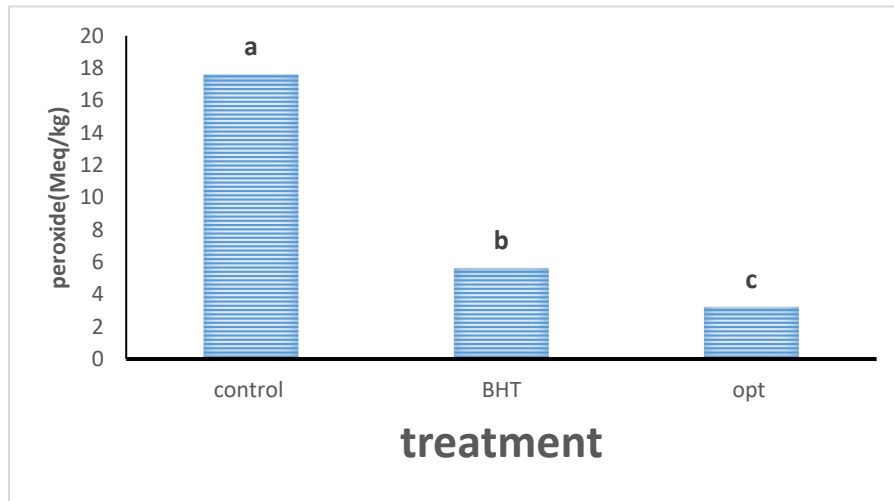


figure4. Comparison of the change in the peroxide number of soybean oil containing the control treatment, antioxidant-containing treatment and the optimum treatment.

#### ۴-۳- اندیس اسیدی

عدد اسیدی یکی از معیارهای شیمیایی مفید برای تعیین شدت تجزیه روغن است. به هر حال، عدد اسیدی معرف اسید چرب آزاد می‌باشد که این اسیدهای چرب به سرعت اکسید می‌شوند و اکسایش اسیدهای چرب غیر اشباع دیگر را نیز از طریق فعال‌سازی و انحلال کاتالیزورهای فلزی افزایش می‌دهند [۲۹]. نتایج بررسی و مقایسه اندیس اسیدی در نمودار ۵ آورده شده مقایسه میانگین تیمارها در آزمون LSD برای عدد اسیدی نشان داد که بالاترین عدد اسیدی در تیمار کنترل می‌باشد که اختلاف آماری معنی داری با سایرین داشت. مقدار تیمار بهینه نسبت به تیمار آنتی اکسیدان سنتزی BHT عدد اسیدی بالاتری را دارا می‌باشد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد عدد اسیدی مربوط به نمونه شاهد (۰/۴۳۶ mgKOH/g) و نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی (۰/۵۶۷ mgKOH/g) و نمونه اپتیمم (۰/۱۷۹۴ mgKOH/g) می‌باشد. طبق نتایج مقایسه میانگین آزمون LSD انحراف معیار عدد اسیدی در نمونه شاهد (۰/۳۴۱ ± ۰/۴۶۳)، نمونه حاوی آنتی اکسیدان (۰/۴۵۶ ± ۰/۵۶۷)، نمونه اپتیمم (۰/۲۹۶ ± ۰/۱۷۹۴) می‌باشد.

عدد پراکسید به عنوان شاخص اولیه اکسیداسیون مطرح بوده، که در درجه حرارت‌های بالا ناپایدار است و به سهولت به مخلوطی از ترکیبات فرار آلدئید تبدیل می‌شود، بنابراین عدد پراکسید نمی‌تواند معیار مناسبی جهت تعیین پیشرفت واقعی اکسیداسیون باشد. نظر به این که فعالیت آنتی اکسیدان با عدد پراکسید نسبت عکس دارد، هر چه فعالیت آنتی اکسیدانی بیش تر باشد، عدد پراکسید روغن پایین تر است، بنابراین نقطه اپتیمم به دلیل افزایش ترکیبات فنلی در عصاره سبب افزایش قدرت پایداری روغن سویا و کاهش میزان اکسیداسیون در روغن گردید. میزان اکسیداسیون نقطه اپتیمم در روغن سویا کاهش و اندیس پراکسید کاهش یافت، که این کاهش حتی نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT نیز مشاهده گردید. [۲۷]. در پژوهشی، فعالیت ضد اکسایشی عصاره دانه رازیانه بر روغن آفتابگردان بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره دانه رازیانه دارای فعالیت ضد اکسایشی بالاتری نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی BHT در روغن آفتابگردان می‌باشد [۲۸].

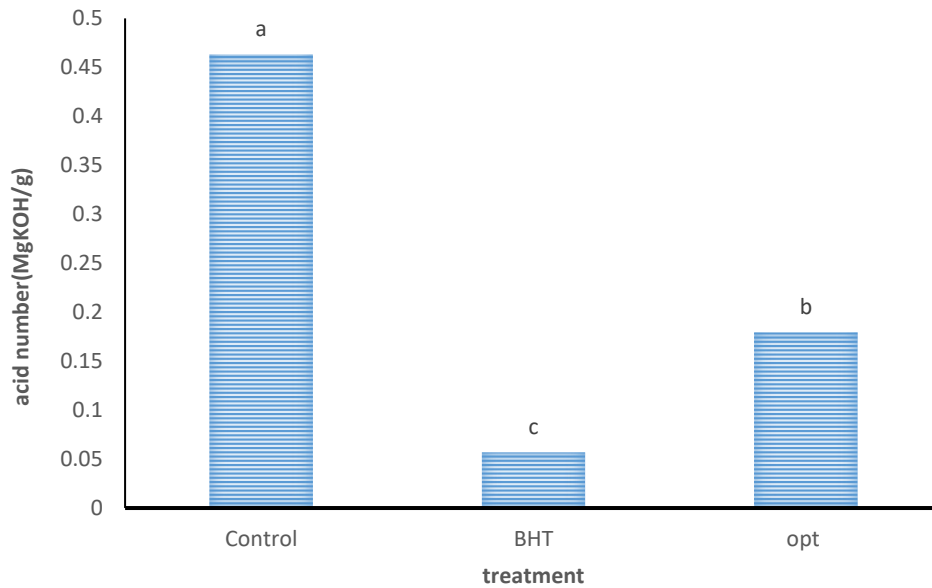


figure5. Comparison of the change in the acid number of soybean oil containing the control treatment, antioxidant-containing treatment and the optimum treatment.

کنترل (روغن سویای فاقد آنتی اکسیدان) روند افزایشی نسبت به سایر تیمارها که اختلاف معنی داری نسبت به سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ). آنتی اکسیدان BHT نیز در مقایسه با تیمار بهینه شاخص تیوباربتوریک بالاتری دارد. در واقع علت افزایش میزان تیوباربتوریک اسید در طی زمان نگهداری شکست هیدروپراکسیدها و تشکیل محصول ثانویه اکسیداسیون لیپید بود [۳۱]. طبق نتایج مقایسه میانگین آزمون LSD انحراف معیار نمونه کنترل ( $0/0020 \pm 0/412$ )، نمونه حاوی آنتی اکسیدان ( $0/0025 \pm 0/180$ )، نمونه اپتیمم ( $0/0036 \pm 0/124$ ) می باشد

در پژوهشی، پس از بررسی اثر عصاره گیاه اناریچه بر پایداری روغن کانولا، نتایج نشان داد که میزان عدد اسیدی نمونه های حاوی عصاره اناریچه تقریباً مشابه با نمونه حاوی آنتی اکسیدان سنتزی بود و طی دوره نگهداری میزان عدد اسیدی همه نمونه ها افزایش یافت [۳۰].

### ۳-۵- شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA)

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییرات اندیس تیوباربتوریک عصاره گل گیاه درمنه به طور معنی داری تحت تاثیر نقطه اپتیمم قرار داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج مقایسه میانگین اندیس TBA در آزمون LSD نشان داد که نمونه

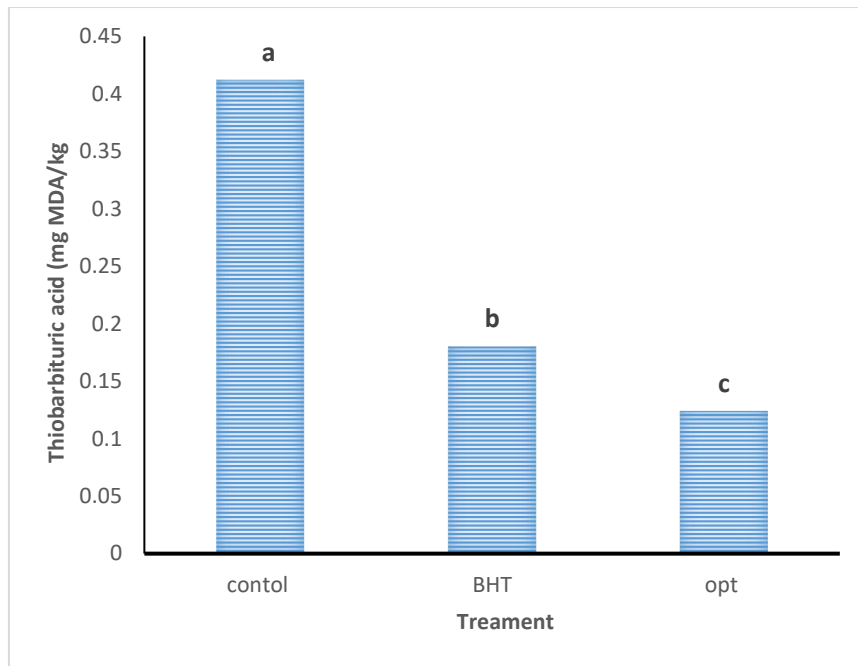


figure6. Comparison of the change in the thiobarbituric acid index of soybean oil containing the control treatment, antioxidant-containing treatment and the optimum treatment.

اکسیداسیون روغن‌های خوراکی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان-های سنتزی می‌باشد. که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت داشت [۳۲].

#### ۴-نتیجه‌گیری

امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب‌های آروماتیک به آن‌ها عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. بنابراین در این تحقیق در راستای کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، از عصاره ی گل گیاه درمنه به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در روغن سویا استفاده شد. بر اساس نتایج مشاهده گردید که غلظت ۸۰۰ و به ویژه ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره گل گیاه درمنه نسبت به غلظت‌های دیگر عصاره شامل ۴۰۰، ۲۰۰ و نمونه شاهد به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، فنولی و از نظر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در پایداری روغن سویا مؤثرتر عمل نموده و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان

طبق نتایج عدد TBA در تیمار کنترل با مقدار ۰/۴۱۲ بود. تیمار آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نقطه ایتیمم به ترتیب دارای مقادیر ۰/۱۸۰، ۰/۱۲۴ بود. با اضافه کردن نقطه حاوی عصاره گیاه گل درمنه (ایتیمم) از میزان TBA کاسته و بر میزان پایداری در طول دوره نگه داری افزایش یافت که احتمالاً به دلیل توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها در مهار اکسیداسیون باشد که با نقطه بهینه هم خوانی داشت. به طوری که افزایش پایداری به اکسیداسیون نسبت به نمونه حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی بیشتر بود. افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه غلظت را می‌توان احتمالاً به دلیل افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت داد. نتیجه به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون‌های مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و میزان ترکیبات فنولی هم خوانی داشت. مویده کارایی اساسی‌ها و عصاره‌های طبیعی گیاهی در جلوگیری از

عصاره نسبت به سایر غلظت‌ها را طی فرآیند حرارتی می‌توان به مقادیر باقی مانده بیشتر ترکیبات فنولی در طی شکستن دیواره سلولی و همچنین مقدار بالای این ترکیبات در عصاره نسبت داد. بنابراین، عصاره گل گیاه درمنه می‌تواند در غلظت‌های مناسب، به عنوان جایگزین طبیعی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر BHT در صنعت به کار رود.

سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ پی پی ام نیز تأثیر بیشتری داشت، همچنین نتایج حاصل از روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره بذر گیاه درمنه در کاهش اندیس پراکسید، اندیس TBA و عدد اسیدی نسبت به سایر غلظت‌ها تأثیر بیشتری داشت. طبیعتاً قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام

## ۵- منابع

- [1] Christie, W. W., & Harwood, J. L. (2020). Oxidation of polyunsaturated fatty acids to produce lipid mediators. *Essays in biochemistry*, 64(3), 401-421.
- [2] Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2015). Natural food additives: Quo vadis?. *Trends in food science & technology*, 45(2), 284-295.
- [3] Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 90, pp. 1-81). Academic Press.
- [4] Zidvand, Sima and Mohed, Sara, (2018), Dermaneh, magical medicinal and aromatic plant, 3rd International Congress and 26th National Congress of Food Sciences and Industries of Iran, Tehran, <https://civilica.com/doc/957247>.
- [5] Bati, Maleeha and Rostami Cherati, Faramarz and Akbari, Reza and Seyedalangi, Seyedah Zahra, 2016, Identification of chemical compounds in Darmena plant by water distillation method, National Congress of Chemistry and Nanochemistry from Research to National Development, Tehran, <https://civilica.com/doc/718303>.
- [6] Johnson, L. A., White, P. J., & Galloway, R. (Eds.). (2015). *Soybeans: chemistry, production, processing, and utilization*. Elsevier.
- [7] Assefa, Y., Purcell, L. C., Salmeron, M., Naeve, S., Casteel, S. N., Kovács, P., ... & Ciampitti, I. A. (2019). Assessing variation in US soybean seed composition (protein and oil). *Frontiers in Plant Science*, 10, 298.
- [8] Bubonga-Sonje, M., Giacoetti, J., & Abram, M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of oliveoil, cacao and rosemary extract polyphenols-7. *Food Chemistry*, 127(4), 1821-7.
- [9] Parizan, T., Elhamirad, A.H., Estiri, S.H., & Armin, M. (2011). Assessing antioxidant activity methanol extract of senna leaf and its effect on the stability of soybean oil. *Inovations in Food Science and Technology*, 1(7), 51-59. (In Persian)
- [10] Rafiei, Z., Jafari, S.M., Alami, M., & Khomeiri, M. (2011). Antioxidant properties of olive Leaf extract and its application in sunflower oil. *Journal of Food Research (University of Tabriz)*, 21(1), 11-23. (In Persian).
- [11] Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. and Jafari, M. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. *Pharmacology online*, 1: 7-14. (In Persian).
- [12] Esmaelzadeh Kanari, R., Ezni Ashari, M. (2017), the effect of the extraction method on the antioxidant property and some secondary metabolites of Oji plant extract, *Food Sciences and Industries*, No. 81, Volume 15. (In Persian).
- [13] Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F., & Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32, 43-49.
- [14] Paez, Vincent, et al. "AOAC SMPR® 2016.002." *Journal of AOAC International* 99.4 (2016): 1122-1124.
- [15] Yao, X., Zhang, D., Zu, Y., Fu, Y., Luo, M., Gu, C., Li, C.M.F., & Effeat, T. (2013). Free radical scavenging capability, antioxidant activity and chemical constituents of Pyrola incarnate Fisch. Leaves. *Industrial Crops and Products*, 49, 247-255.
- [16] Buta, N., Popa, N., Roman, L., Bordea, G., Brodea, A., Bordea, N. (2013). The antioxidant effect of Meliss officinalis extract regarding the sunflower

- oil used in food thermal applications. *Agroal. Proc. Technol.*, 19(2), 276-279
- [17] Selmi, S., Limam, Z., Batista, I., Bandarra, N.M., & Nunes, M. L. (2011). Effects of storage temperature and a tocopherol on oil recovered from sardine minic. *Internationnal Journal of Refregeration*, 34(5), 1315-1322.
- [18] Selmi, S., Limam, Z., Batista, I., Bandarra, N.M., & Nunes, M. L. (2011). Effects of storage temperature and a tocopherol on oil recovered from sardine minic. *Internationnal Journal of Refregeration*, 34(5), 1315-1322.
- [19] Esfandiari, M., & Ziaoihagh, S. (2021). Study on the antioxidant activity of propolis extract and its effect on the oxidation of sunflower oil. *Biochemistry and Forensic*, 17(107), 119-130
- [20] Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Moench, in model and food systems. *Food Chemistry*, 105, 57-64. (In Persian).
- [21] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milosa, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, analytical, nutritional and clinical methods. *Food chemistry*, 85, 633-640
- [22] Williams, R.J., Spencer, J.P. and Rice-Evans, C. (2004). Flavonoids: antioxidants or signaling molecules? *Free Radic Biol Med*, 36(7): 838-849
- [23] Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M.A., Ansaroudi, F., Nabavi, S.F. and Nabavi, S.M. (2009). Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *Afr J Biotech.* 8(24): 7170-5. (In Persian).
- [24] Molyneux, P.H. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar in Journal Science Technology*, 26, 21-9.
- [25] Dordevic, S., & Petrovic, S. (2007). Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacol.* 109, 458-63.
- [26] Dehghan, B., Esmailzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2019). Investigate the antioxidant properties of orange peel essential oil (*Citrus sinensis*) on the stability of soybean oil during storage conditions. *Food Technology & Nutrition*, 16(3), 73-90. (In Persian).
- [27] Iqbal, S., & Bhangar, M. (2007). Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food chemistry*, 100, 246-254.
- [28] Tahami, F.S., Basiri, A., Tarzi, B., & Mahasti, P. (2012). Evaluation of the antioxidant effect of fennel seed extract (*Foeniculum vulgare*) on the stability of sunflower oil. *Food Technology & Nutrition*, 10(1), 71-78. (In Persian).
- [29] Shahidi, F. (2005). *Balies industrial oil and fat products*. (6<sup>th</sup> edn), John Wiley & Sons, Inc, simultaneously in Canada.
- [30] Salehi, E.A., Esmailzadeh Kenari, R., & Nasiri Takami, T. (2014). Investigation of the effect of pomegranate extract (*Pimppinella affinis* Ledeb) on the stabilization of canola oil during storage conditions. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10(2), 176-181. (In Persian).
- [31] Mohammadi, A., Jafari, S.M., Esfanjani, A.F., & Akhavan, S. (2016). Application of nano-encapsulated olive leaf extract in controlling the oxidative stability of soybean oil. *Food Chemistry*, 190, 513-519
- [32] Mohammadi, A., & Arabshahi-Delouee, S. (2016). Antioxidant properties of extract *Boswellia serrata* oleo-gum resin in soybean oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 12(4), 477-78. (In Persian)



## Scientific Research

**Investigating the effect of ultrasound pretreatment on the extraction of phenolic compounds from Artemisia annua flowers oxidative stability of soybean oil containing the resulting extract**

**Faizikhah R<sup>1</sup>, Pedramnia A<sup>2</sup>, Armin M<sup>2</sup>**

*1- Master's student, Department of Food Science and Industry, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran*

*2- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran*

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

**Article History:**

Received: 2023/5/17  
Accepted: 2024/1/13

**Keywords:**

ultrasonic treatment,  
phenolic compounds,  
peroxide,  
response surface methodology,  
Thiobarbituric acid

**DOI: 10.22034/FSCT.21.147.45.**

\*Corresponding Author E-Mail:  
[rahilfaezi@gmail.com](mailto:rahilfaezi@gmail.com)

Today, one of the problems of the food industry is the use of synthetic compounds as preservatives, the potential dangers of each of these compounds for human health have been proven. Currently synthetic antioxidants such as butyl hydroxyl anisole and butyl hydroxyl toluene are used in the oil industry. The purpose of this research is to investigate the effect of ultrasound pretreatment on the extraction of phenolic compounds from the herb flower on oxidative stability of the oil containing the resulting extract. In this research, from the extract of Artemisia annua flower with the help of ultrasound pretreatment with a fixed intensity of 24KHz and a fixed temperature of the laboratory and the application times of ultrasound waves is 10, 20 and 30 minutes and methanol solvent extraction by maceration method with a fixed time of 48 hours and it was used a stabilize soybean oil at a constant temperature in the laboratory (control). With the help of the response level method, the most appropriate ultrasonic pretreatment for 30 minutes. Then, different concentrations of 0,50, 100, 250, 500 and 1000 ppm were prepared after ultrasonic pretreatment for 30 minutes. The results showed that the pretreatment with a concentration of 1000 ppm with the highest amount of phenolic compound extraction (28/15) mg/g and DPPH free radical inhibitory power (53/30)% was the most suitable sample that was added to the oil and The tests related to the stability of soybean oil including: peroxide index, acid index and thiobarbituric acid index were performed, which according to the results of the tests had an upward trend and the most stabilizing effect was at a concentration of 1000 ppm.