



بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره میوه هندوانه کوهی به روش سطح پاسخ و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی آن بر پایداری روغن سویا طی مدت‌زمان ماندگاری

مریم ثابت قدم^{۱*}، زهرا لطیفی^۲، پریسا معلمی^۲، نفیسه محمدی کرتلایی^۳، الهه رازقندی^۴

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار.

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری.

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، خراسان رضوی، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۲

کلمات کلیدی:

ترکیبات فنولی،

هندوانه کوهی،

سطح پاسخ،

قدرت رادیکال گیرندگی.

DOI: 10.52547/fsct.18.120.5

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.5.7

مسئول مکاتبات:

m.sabetghadam.m.s@gmail.com

اکسایش چربی و روغن موجب تولید مواد مضر می‌گردد که سلامت مصرف‌کننده را به خطر می‌اندازد. ازجمله روغن‌های مستعد اکسایش روغن سویا است که به دلیل وجود مقدار نسبتاً زیاد اسیدهای چرب غیراشباع در این روغن، پایداری آن در برابر اکسایش کم می‌باشد. از این‌رو هدف پژوهش حاضر، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه هندوانه کوهی و تأثیر عصاره این میوه در افزایش پایداری روغن سویا است. عصاره‌گیری با روش استخراج فراصوت با کمک اتانول به عنوان حلال با سه فاکتور (زمان، شدت و دما) در ۳ سطح و ۶ تکرار در نقطه مرکزی طرح با روش سطح پاسخ انجام شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری در شرایط بهینه، میزان زمان ۱۸/۶۲ دقیقه، شدت صوت ۵۶/۸۴ kHz و دما ۵۲/۴۹ درجه سانتی‌گراد و میزان بازده استخراج ۸۴/۳۴ درصد گزارش شد. در این شرایط بهینه میزان ترکیبات فنولی و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌ها در غلظت‌های (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ ppm) با آزمون فولین و DPPH مورد سنجش قرار گرفت و سپس عصاره در غلظت‌های (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰) به نمونه روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شده و پارامترهای اندیس پراکسید، شاخص تیوباریوتیک اسید (TBA) با نمونه روغن سویا حاوی ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) و نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره میوه هندوانه کوهی در روغن سویا ۸۰۰ تا ۱۰۰ ppm میزان اندیس پراکسید، شاخص تیوباریوتیک اسید (TBA) کاهش پیدا می‌کند و غلظت ۸۰۰ ppm عصاره به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از نظر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مؤثرتر عمل نموده است.

۱- مقدمه

اکسیداسیون روغن‌ها و لیپیدها علاوه بر نقشی که در فساد مواد غذایی ایفاء می‌کند، اهمیت آن در سلامت انسان به‌ویژه در ایجاد و پیشرفت بیماری‌هایی همچون سرطان، قلبی-عروقی، تصلب شرایین و فرآیند پیری بسیار مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است. این پدیده نه‌تنها اثرات نامطلوبی بر عمر انبارداری بسیاری از فرآورده‌های غذایی دارد، بلکه در کاهش کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها نیز مؤثر است [۱]. در صنعت روغن برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به‌منظور پایداری اکسایشی روغن‌ها است. اما با توجه به این‌که آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی اثرات نامطلوبی مانند اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی در بدن انسان دارند به‌تدریج از لیست آنتی‌اکسیدان‌های مصرفی حذف می‌شوند. در سال‌های اخیر مواد غذایی طبیعی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاهی مانند ویتامین‌ها و ترکیبات فنولی به دلیل عملکردهای مفید فراوان بر سلامت انسان و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو، توجه رو به رشدی را دریافت نموده‌اند [۲]. هندوانه کوهی یکی از گیاهان دارویی است که به خاطر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی خود شناخته شده است. گیاه کبر (داغ قار پوزی) یا هندوانه کوهی با نام علمی کاپرس (*capers*) که در کوه‌ها و ارتفاعات و تپه‌های پلدشت آذربایجان شرقی، غربی و دشت مغان (اصلاح‌دوز) استان اردبیل رشد می‌کند. این گیاه بومی مناطق گرمسیری غرب و مرکز آسیاست، پراکندگی آن از اقیانوس اطلس، مراکش، تونس تا دریای سیاه، ارمنستان، نواحی شرقی دریای خزر تا افغانستان و هند امتداد دارد. پوست این گیاه مزه‌ی تند و گس و اثر آرام‌کننده، معرق و نرم‌کننده دارد و در رفع سرفه و آرام کردن حملات آسم و دفع کرم، کارساز بوده و در درمان دانه‌های پوستی سودمند است [۳، ۴]. برای تولید ترکیبات طبیعی

بازرزش از گیاهان و تجاری‌سازی آن‌ها، روش‌های مختلفی بررسی شده است. دامنه کاربرد استخراج گیاهان با فراصوت در استخراج روغن، پروتئین، مواد مؤثره گیاهی، ترکیبات فعال زیستی (فلاونوئیدها، اسانس‌ها، آلکالوئیدها، پلی ساکاریدها، استرهای اسید چرب، استروئیدها، ...) است [۵]. استخراج مولکول‌ها از مواد بیولوژیک توسط روش‌های معمول به‌طور مثال غرقابی، نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیادی دارد. بنابراین نیاز به روش‌های استخراج جدید با زمان استخراج کوتاه‌تر و مصرف حلال آلی کمتر و ایجاد آلودگی کمتر افزایش یافته است [۶]. روش‌های جدید استخراج مانند استخراج به کمک فراصوت و استخراج به کمک مایکروویو از روش‌های سریع و مؤثر برای استخراج ترکیبات مؤثر از بافت‌های گیاهی هستند. امروزه استفاده از امواج فراصوت با توجه به اثرات مؤثر آن در نگهداری و فرایند مواد غذایی رو به گسترش است. اثرات مکانیکی امواج فراصوت و پدیده کاویتاسیون ایجاد شده در اثر این امواج سبب افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول‌های گیاهی، افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازدهی استخراج در دماهای پایین‌تر می‌شود [۵].

کامران خان^۱ و همکاران (۲۰۱۰)، در مطالعه‌ای با بررسی استخراج پلی‌فنولی از پوست پرتقال به‌وسیله فراصوت دریافتند بین میزان پلی‌فنول‌های استخراجی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیم وجود دارد. یعنی با افزایش پلی‌فنولی استخراجی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد [۷].

غفور و همکاران^۲ (۲۰۰۹)، در پژوهشی که روی استخراج پلی‌فنول‌ها از هسته انگور به کمک فراصوت صورت گرفت، مشاهده کردند با افزایش دما تا ۵۶ درجه سانتی‌گراد، میزان استخراج ترکیبات پلی‌فنولی افزایش یافت [۸].

در این مطالعه بهینه‌سازی بازده استخراج عصاره میوه هندوانه

1. Kamran Khan

2. Ghafoor et al.

کوهی تحت شدت و زمان و دماهای مختلف در روش استخراج به کمک فراصوت صورت گرفته است. در این شرایط بهینه میزان ترکیبات فنولی و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌ها در غلظت‌های (۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ ppm) با آزمون فولین و DPPH مورد سنجش قرار گرفت و سپس عصاره در غلظت‌های (۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ ppm) به نمونه روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شده و پارامترهای اندیس پراکسید، شاخص تیوباریوتیک اسید (TBA) با نمونه روغن سویا حاوی ppm ۲۰۰ آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) و نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفتند.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه

در این پژوهش، هندوانه کوهی از بازار محلی در تهران از یک نوع واریته تهیه گردید و به‌منظور کاهش فعالیت‌های تنفسی و بیولوژیکی تا زمان آزمایش در یخچال، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از انجام مراحل پاکسازی و حذف هر گونه آلودگی از میوه‌های هندوانه کوهی تهیه شده، با رعایت مقررات و ضوابط بهداشتی به وسیله چاقو به قطعات کوچک برش داده و به مدت یک روز (۲۴ ساعت) در آون (شرکت بهداد، مدل ۳۴۹۴، ساخت کشور ایران) در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس ورقه‌های میوه خشک شده توسط آسیاب برقی پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده شد و برای آزمایش‌ها بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردید.

۲-۲- استخراج با امواج فراصوت

نمونه پودر شده با اتانول ۷۰ درصد به نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط گردید و سپس در معرض امواج فراصوت در دمای محیط در سه

زمان ۱۰، ۲۰، ۳۰ دقیقه و سه شدت (۲۰، ۶۰، ۱۰۰ kHz) و دمای (۳۵، ۴۵، ۵۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. عمل فراصوت با استفاده از دستگاه فراصوت ساخت شرکت هلشر آلمان مدل LMS ۱۰۰ انجام شد [۹]. پس از آن تحت شرایط خلاء توسط قیف بوخنر با کاغذ صافی واتمن صاف گردید و در ادامه به‌وسیله تبخیرکننده چرخان (مدل Laborata ۴۰۰) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت عصاره‌ها توسط خشک‌کن تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیرقابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. تمامی مواد مورد استفاده در این تحقیق از شرکت‌های مرک و سیگما با درصد خلوص بالا تهیه شدند.

۲-۳- آزمون‌های شیمیایی

۲-۳-۱- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی عصاره

هندوانه کوهی

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو انجام گرفت. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده گردید. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره برحسب اسید گالیک و با استفاده از معادله به‌دست‌آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد [۱۰].

۲-۳-۲- اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های

آزاد (DPPH) عصاره هندوانه کوهی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH اندازه‌گیری شد. ماده ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکرید هیدرازیل یا DPPH یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش است که با احیاء شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) به دی فنیل پیکرید هیدرازیل زرد رنگ تبدیل می‌شود. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این آزمون با میزان

۲-۳-۴- محاسبه شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA)

یک گرم روغن در تترا کلرید کربن حل شده و به آن محلول اسید تیوباریتوریک 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 [۱۳].

۲-۴- طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل نتایج

RSM مجموعه‌ای از تکنیک‌هایی آماری است که در بهینه‌سازی فرایندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از مزایای این طرح می‌توان به کاهش تعداد آزمایش‌ها و به دست آوردن مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در یک فرایند و برهم‌کنش‌های احتمالی بین آن‌ها اشاره کرد. از این رو در این مطالعه از طرح آماری سطح پاسخ با به‌کارگیری نرم‌افزار Design Expert نسخه ۷ استفاده شده است. به‌طوری‌که زمان (A) و شدت صوت (B) و دما (C) به‌عنوان متغیرهای مستقل فرایند انتخاب گردید درحالی‌که درصد استخراج (Y_1) به‌عنوان پاسخ مورد ارزیابی قرار گرفته شده است. هر یک از متغیرهای مستقل در سه سطح مورد بررسی قرار گرفته‌اند که در جدول ۱ نشان داده شده است.

بی‌رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش DPPH در متانول مورد سنجش قرار گرفت. در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده DPPH به‌عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره در متانول به‌طور جداگانه هرکدام به ۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۴ درصد DPPH اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه گرم‌خانه-گذاری 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. [۱۱].

$$\text{معادله (۱)} \quad I\% = (A_{\text{Blank}} - A_{\text{Sample}}) \times A_{\text{Sample}} \times 100$$

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 [۱۱].

۲-۳-۳- اندازه‌گیری عدد پراکسید

عدد پراکسید به روش متداول اندازه‌گیری و با استفاده از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۲:۳) و تیتراسیون آن با تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال و برحسب میلی‌اکی والان پراکسید در ۱۰۰ گرم روغن بیان گردید. [۱۲].

$$\text{معادله (۲)} \quad = \text{عدد پراکسید}$$

$$(\text{حجم نمونه}) \div (\text{حجم تیتراسیون مصرفی} \times \text{نرمالیت} \times ۱۰۰۰)$$

Table 1 Independent variables

variable	Actual values		
	-1	-1	+1
Temperature (°C) (A)	35	35	55
Sound Intensity (kHz) (B)	20	20	100
Time (minutes) (C)	10	10	30

پاسخ‌های به دست آمده در جدول ۲ نشان داده شده است. برای بررسی صحت مدل و میزان تأثیرگذاری هر کدام از متغیرها بر پاسخ استخراج از جدول آنالیز واریانس استفاده شد. جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را نشان می‌دهد.

برای تجزیه تحلیل آماری از طرح باکس-بنکن^۱ شامل ۱۸ آزمایش با ۶ تکرار در نقاط مرکزی، استفاده شد. تعداد تیمارهای مربوط به استخراج طراحی شده توسط نرم‌افزار و همچنین

1. Box-Benhken

Table 2 Treatments used to optimize the extraction efficiency of chestnut bark

alignment	time	ultrasound intensity	temperature	Edge extraction efficiency
1	20	100	55	33.42
2	10	60	55	30.37
3	20	60	45	32.76
4	10	60	35	25.39
5	30	60	55	27.74
6	20	60	45	32.76
7	20	20	35	19.33
8	20	60	45	32.76
9	10	100	45	30.09
10	20	60	45	35.76
11	20	60	45	31.36
12	30	20	45	18.25
13	30	100	45	27.82
14	20	20	55	22.55
15	20	100	35	32.21
16	10	20	45	20.04
17	30	60	35	23.29
18	20	60	45	30.87

Table 3 Analysis of variance of the effects of independent variables on extraction efficiency

Sources Change	sum of squares	Degrees of freedom	average of squares	F Value	Prob > F	
model	476.94	9	52.99	21.38	< 0.0001	significant
(A)time	9.66	1	9.66	3.9	0.0836	
Sound Intensity (B)	235.12	1	235.12	94.85	0.0001	
temperature (C)	24.01	1	24.01	9.69	0.0144	
Residual	19.83	8	2.48			not significant
Lack of Fit	5.31	3	1.77	0.61	0.627	
	R-Squared	0.9601				
	Adj R-Squared	0.9152				

دقیقه، بازده استخراج افزایش یافت، اما در زمان ۳۰ دقیقه این روند کاهش یافت.

شکل ۲ نمایش سه بعدی اثر زمان و دما و استخراج را نشان می دهد. با افزایش زمان و دما مقدار بازده استخراج به صورت معنی دار افزایش یافته است.

نتایج نشان داد بازده استخراج با افزایش زمان و فرکانس، افزایش می یابد. این مسئله احتمالاً به علت استفاده از فراصوت است که به واسطه افزایش انتقال جرم بین حلال و مواد گیاهی می تواند فرایند استخراج را افزایش دهد. پدیده کاویتاسیون منجر به شکستن بهتر سلول و تسهیل آزادسازی محتوای آن می شود [۱۴].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بازده استخراج

نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ مرکب مرکزی نشان داد که اثرات خطی (A، B و C) و درجه دوم (A_2 و $A_2 C_2$) تأثیر معناداری روی درصد استخراج میوه هندوانه کوهی داشت. در بین اثرات درجه دوم و اثرات متقابل پارامتر B_2 و بیشترین تأثیر را روی بازده استخراج داشت (جدول ۳).

شکل ۱ نمایش سه بعدی اثر زمان و شدت استخراج را نشان می دهد. با افزایش زمان و شدت، مقدار بازده استخراج به صورت معنی دار افزایش یافته است. با افزایش شدت و زمان از ۱۰ تا ۲۰

جریانی از مایع با سرعت بسیار زیاد به سمت سطح ذرات کشیده شود. اصابت میکروجت‌ها به سطح سبب سایش سبب شکستگی و تخریب آن می‌شود [۷، ۱۵].

جیمز و همکاران^۱ (۲۰۰۷)، در مطالعه‌ای تأثیر استفاده از امواج فراصوت با قدرت بالا بر استخراج روغن از دانه‌های آسیاب شده زیتون را بررسی کرد و بیان نمود در حضور این امواج، دیواره سلول‌ها و بافت گیاهی تخریب شده و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (توکوفرول‌ها و پلی فنول‌ها) و رنگدانه‌های (کلروفیل و کاروتنوئید) بیشتر به داخل روغن راه یافتند و باعث افزایش ارزش تغذیه‌ای روغن شدند [۱۶].

در پژوهشی، هررا و لوک^۲ (۲۰۰۵) گزارش کردند افزایش زمان فراصوت تا ۲۰ دقیقه منجر به افزایش بازده استخراج شد اما به‌کارگیری زمان‌های بیشتر از ۴۰ دقیقه منجر به ظهور روند کاهشی در فرایند استخراج گردید. بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فلاونوئیدی میوه سنجید نشان داد دلیل افزایش عملکرد با افزایش توان در روش فراصوت، تولید انرژی بیشتری است که خروج ترکیبات از بافت گیاهی به حلال را از طریق تخلخل و منافذ در دیواره سلولی و بهبود انتشار و انتقال جرم، تسهیل می‌کند؛ بنابراین می‌تواند موجب خروج بیشتر مواد مؤثره و در نهایت افزایش درصد عصاره خشک گردد [۱۷].

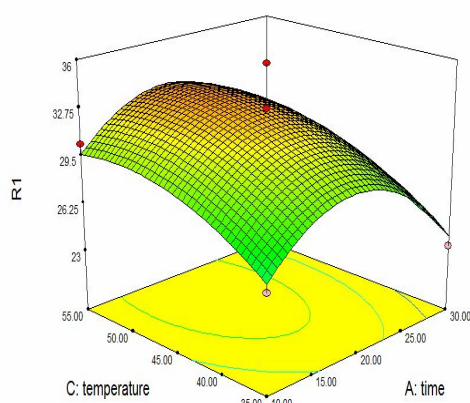


Fig 2 Simultaneous effect of temperature and time on extraction efficiency

دونگ رویی^۳ و همکاران (۲۰۱۱)، تأثیر دماهای ۳۰ تا ۷۰ درجه

در امواج فراصوت، افزایش شدت، سبب افزایش تغییر مکان یا جابجایی ذرات می‌گردد؛ بنابراین در نتیجه کاربرد امواج فراصوت، فاصله مولکول‌ها بیشتر از فاصله بحرانی خواهد بود که برای نگه‌داشتن مولکول‌های مایع در کنار هم ضروری است. به این ترتیب زمانی خواهد رسید که فاصله مولکول‌های جابجایی در حدی خواهد شد که باعث خروج یک مولکول از دایره ارتباطی مولکول مجاورش و ایجاد حباب می‌گردد، که به این پدیده کاویتاسیون گفته می‌شود. مولکول‌ها از جای اصلی خود جدا شده و به‌عنوان موج صوتی عبور می‌کنند که می‌توانند با مولکول‌های اطراف برخورد کنند. سپس در طی مرحله انبساط، اولین گروه مولکولی به عقب و سمت موقع اصلی خود کشیده می‌شود و انرژی جنبشی آن‌ها را بیشتر به عقب می‌کشند و بنابراین مناطق انبساطی در محیط ایجاد می‌شود. حفره‌های ایجاد شده در محیط، حباب‌های حفره‌زایی ناشی از فراصوت بوده که قادر به رشد در طول مراحل انبساط و کاهش اندازه در چرخه‌های انقباض هستند. وقتی اندازه حباب‌ها به نقطه بحرانی می‌رسد در طول چرخه انقباض متلاشی شده و تغییرات ناگهانی در فشار و دما سبب تجزیه بافت و متلاشی کردن آن و همچنین نازک کردن غشای سلولی می‌گردد که باعث می‌شود از این امواج در استخراج استفاده شود [۸].

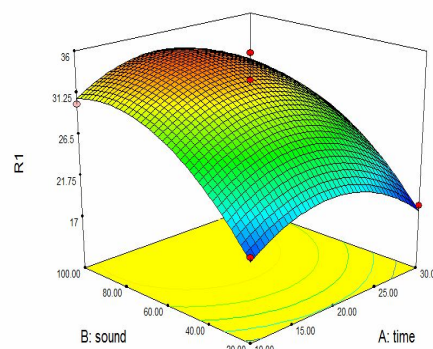


Fig 1 Simultaneous effect of sound intensity and time on extraction efficiency

انفجار حباب‌ها سبب ایجاد اغتشاشات شدید موضعی می‌شود و از این طریق انتقال جرم را افزایش می‌دهد. انفجار حباب‌ها در

مجاورت ذرات جامد نامتقارن است به‌طوری‌که موجب می‌شود

1. Jiménez et al.
2. Herrera & Luque de Castro
3. Dong-rui

$$C = -32.72 - 1.1A + 5.42B + 1.73C_2 - 0.12AB - 0.13AC - 0.5B^2 - 4.42C_2^2 - 1.59B_2C_2$$

۳-۲- بهینه‌سازی

با توجه به تحلیل نمودارها و این نکته که شرایط بهینه‌ی یک پاسخ، ممکن است برای پاسخ دیگر نامساعد باشد. بنابراین باید الگوی ساختی را معرفی کرد که تا حد امکان تمامی پاسخ‌ها را به نحو رضایت‌بخشی بهینه نماید. برای این منظور کانتور پلات‌های مختلف روی هم قرار گرفتند و منطقه‌ای که مشخصات تمامی پاسخ‌ها را برآورد کرد، به‌عنوان منطقه بهینه معرفی گردید. مدل‌های برازش استفاده شده برای فرآیند بهینه‌سازی در استخراج عصاره با سه فاکتور زمان، شدت و دما، عصاره‌هایی که دارای بالاترین بازده استخراج بودند در نظر گرفته شد. نتیجه به دست آمده با تابعیت مطلوب، مورد ارزیابی قرار گرفت که تابعیت مطلوب بالاتر از ۰/۷ بیانگر شرایط بهینه است. همانطور که در شکل (۳) مشاهده می‌گردد در شرایط بهینه، میزان زمان ۱۸/۶۲ دقیقه، شدت صوت ۸۴/۵۶ kHz و دما ۴۹/۵۲ درجه سانتی‌گراد میوه هندوانه تعیین گردید. در این شرایط میزان بازده استخراج ۳۴/۸۴۵۶ با میزان مطلوبیت ۰/۹۴ تعیین شد. در این تحقیق هدف از بهینه‌سازی، به حداکثر رساندن میزان بازده استخراج بود. در جدول ۴ دامنه مقادیر به‌دست‌آمده برای فرآیند بهینه‌سازی و هدف آن مشخص گردیده است. در نهایت، نتیجه به‌دست‌آمده از نمونه بهینه از عصاره میوه هندوانه کوهی انتخاب گردید و میزان ترکیبات فنولی و فعالیت مهارکنندگی بر رادیکال آزاد تحت غلظت‌های مختلف نمونه بهینه و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) نسبت به نمونه شاهد مورد بررسی قرار گرفت و این نمونه بهینه همراه با آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) به روغن سویا افزوده شد و با نمونه شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

سلسیوس را روی دانه گیلان بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد قدرت مهار رادیکال‌های آزاد تا دمای ۶۰ درجه سلسیوس زیاد می‌شود و بعد از آن به دلیل تجزیه شدن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، کاهش را در مقدار مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد خواهیم داشت. طول مدت عصاره‌گیری در این روش اهمیت خاصی داشته و افزایش بیش از حد آن موجب تغییر در کیفیت عصاره حاصل خواهد شد. استفاده از امواج فراصوت سبب شکستن فیزیکی دیواره و غشای سلول می‌شود و این پدیده فرایند نفوذ حلال به داخل سلول را سرعت می‌بخشد و جریان انتقال جرم بین بافت و انتقال ذرات از داخل سلول به داخل حلال را آسان می‌کند. در نتیجه فرایند استخراج در مدت کوتاه‌تری نسبت به روش‌های دیگر به انجام می‌رسد [۱۸]. سیواکومار^۱ و همکاران (۲۰۱۱)، به استخراج ترکیبات رنگی از مواد گیاهی مختلف با استفاده از فراصوت پرداخت و عنوان کرد به‌کارگیری فراصوت با افزایش دما و زمان به میزان ۴۵ تا ۱۰۰ درصد موجب بهبود راندمان استخراج ترکیبات رنگی در مقایسه با استخراج متداول با هم‌زدن است [۱۹]. لوکی^۲ و همکاران (۲۰۰۳)، بازده استخراج انگور توسط امواج فراصوت را مورد بررسی قرار دادند که مشخص شد با افزایش زمان و دما، بازده استخراج افزایش پیدا کرد. که دمای بهینه را ۷۴ درجه سانتی‌گراد و زمان بهینه را ۱۳ دقیقه عنوان کردند [۲۰]. ذوالفقاری^۳ و همکاران (۲۰۰۹)، در مطالعه‌ای اثر سه روش عصاره‌گیری همراه با فراصوت و امواج مایکروویو و عصاره‌گیری همراه با مایع فوق بحرانی به‌منظور استخراج ترکیبات گیاهی را بررسی نمودند که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد تخریب مؤثر بافت گیاهی و نفوذ حلال به داخل آن از خصوصیات روش عصاره‌گیری همراه با امواج فراصوت است [۲۱]. غفور^۴ (۲۰۰۹)، در پژوهشی که روی استخراج پلی‌فنول‌ها از هسته انگور به کمک امواج فراصوت انجام داد، نتیجه تقریباً مشابهی گزارش نمود. بدین ترتیب که با افزایش دما تا ۵۶ درجه سانتی‌گراد، میزان استخراج ترکیبات پلی‌فنولی افزایش یافت [۸]. معادله پیشگویی زیر برای بازده استخراج و با استفاده از جدول ۳ و برازش داده‌ها به دست آمد.

1. Sivakumar
2. Luque
3. Zolfaghari
4. Ghafoor

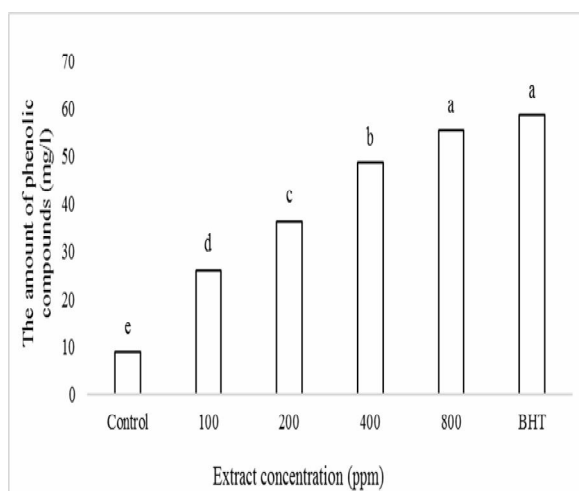


Fig 4 The effect of different concentrations of mountain watermelon extract on the total amount of phenolic compounds

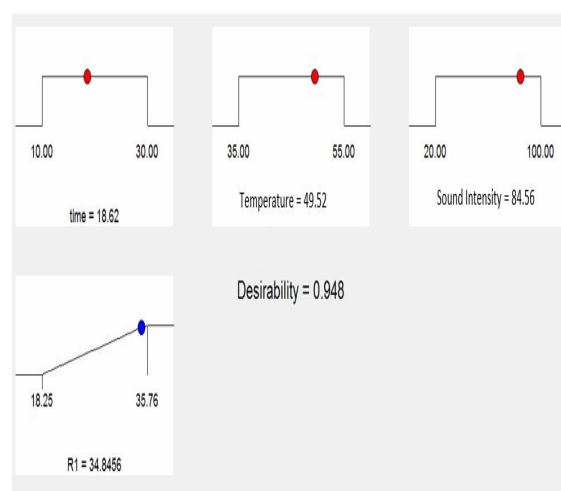


Fig 3 Optimization of mountain watermelon extraction by ultrasound process

۳-۳- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره میوه هندوانه کوهی

با توجه به بررسی‌های انجام‌شده، بیشینه‌ی ترکیبات پلی فنلی با اختلاف معنی‌دار در غلظت ۸۰۰ ppm عصاره میوه هندوانه کوهی مشاهده گردید (شکل ۴). نتایج نشان داد کمترین مقدار ترکیبات پلی فنلی در نمونه شاهد مشاهده شد. در مورد عصاره میوه هندوانه کوهی همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت عصاره از ۱۰۰ ppm تا ۸۰۰ ppm میزان ترکیبات پلی فنلی موجود در عصاره افزایش یافت که این امر منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده، با افزایش غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه کوهی میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان از ۲۶/۲۲ (میلی گرم اسیدگالیک در لیتر عصاره) در غلظت ۱۰۰ ppm تا ۵۵/۵ (میلی گرم اسید گالیک در لیتر عصاره) ۸۰۰ ppm افزایش یافت و این افزایش در تمام غلظت‌های عصاره در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی‌دار بود. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ۲۰۰ ppm دارای میزان ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره هندوانه کوهی بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). با توجه نتایج مقایسات میانگین، بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به نمونه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با مقدار ۵۸/۶۶ و کمترین میزان برای نمونه دارای ۱۰۰ ppm عصاره با میزان ۲۶/۲۲ بود.

۳-۴- بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره

نتایج مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره میوه هندوانه کوهی بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد که با استفاده از آزمون DPPH اندازه‌گیری شده است را در شکل ۵، نشان می‌دهد.

با بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه کوهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که با افزایش غلظت عصاره، فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط عصاره به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت به‌طوری‌که فعالیت مهارکنندگی عصاره از ۶۰/۸۶ درصد برای غلظت ۱۰۰ ppm تا ۸۳/۶۲ درصد در سطح ۸۰۰ ppm افزایش یافت (شکل ۵)، که این نتیجه حاکی از این واقعیت بود که توانایی عصاره در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت ضد رادیکالی آن افزایش می‌یابد. با مقایسه فعالیت مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه کوهی با نمونه آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ ppm و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برابر ۸۰/۵۱ درصد مشخص شد که به‌جز غلظت ۸۰۰ ppm عصاره، سایر غلظت‌ها به‌طور معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با غلظت ۲۰۰ ppm داشتند (شکل ۵). افزایش غلظت ترکیبات فنولی به‌طور مستقیم میزان توانایی

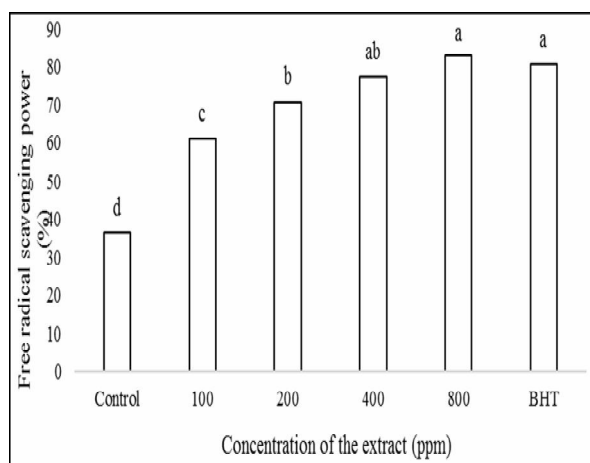


Fig 5 Effect of different concentrations of mountain watermelon extract on free radical scavenging activity

۳-۵- عدد پراکسید

نتایج بررسی حاکی از معنی دار بودن اثر عصاره هندوانه کوهی در کنترل و کاهش سرعت اکسیداسیون روغن سویا در طول زمان نگهداری در مقایسه با نمونه فاقد آنتی اکسیدان بود ($p < 0.05$). همان طور که در شکل (۶) مشاهده می شود در نمونه کنترل (فاقد آنتی اکسیدان) میزان عدد پراکسید از مقدار اولیه $4/2$ تا مقدار $7/2$ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن پس از ۷۲ ساعت نگهداری روغن در دمای 65 درجه افزایش یافت در حالی که برای نمونه های روغن حاوی 800 ، 400 ، 200 و 100 ppm عصاره هندوانه کوهی، عدد پراکسید پس از ۳ روز نگهداری در آن 65 درجه افزایش یافت که از نظر آماری نیز اختلاف معنی داری بین این غلظت ها مشاهده گردید. همان طور که از نتایج پیداست، افزودن 800 ppm عصاره هندوانه کوهی به روغن سویا منجر به کاهش عدد پراکسید نسبت به نمونه های فاقد آنتی اکسیدان پس از ۷۲ ساعت آن گذاری شد که به دلیل وجود ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره مذکور است و این موضوع نشان دهنده این است که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره وابسته به غلظت است، چرا که با افزایش غلظت عصاره در روغن سویا به دلیل افزایش ترکیبات فنولیک موجود در آن، خاصیت آنتی اکسیدانی در روغن افزایش یافته که به نوبه خود باعث کاهش اندیس پروکسید و در نتیجه افزایش پایداری حرارتی روغن سویا می شود.

عصاره های مختلف را در مهار رادیکال های آزاد افزایش می دهد. در غلظت های بالاتر، ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد [۲۲]. قدرت مهارکنندگی عصاره های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه های هیدروکسیل وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین تر، گروه های هیدروکسیل راحت تر در دسترس قرار می گیرند [۱۵].

فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی قارچ ترامتس جیبوزا (*Trametes gibbosa*) توسط جونسی و کاوی یاراسان^۱ (۲۰۱۱)، بررسی شد. دو روش آنتی اکسیدانی DPPH و RP توسط دو حلال متانول و آب انجام و همچنین میزان فنل و فلاونوئید نیز مشخص شد. نتایج آن ها نشان داد که با افزایش غلظت، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت [۲۳].

تهامی و همکاران (۲۰۱۳)، اثر آنتی اکسیدانی عصاره دانه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) را بر پایداری روغن آفتابگردان بررسی کردند. عصاره گیری دانه رازیانه با دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت و در دمای 60 درجه سانتی گراد انجام گردید. عصاره حاصل به طور جداگانه و در شش سطح و آنتی اکسیدان سنتزی بررسی شد. آزمایشات انجام گرفته نشان دادند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره دانه رازیانه، وابسته به غلظت بوده و در محدوده تحت بررسی با افزایش غلظت، افزایش یافت [۲۴].

عرب شاهی^۲ (۲۰۰۷)، مقدار ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف برگ شاه توت را مورد بررسی قرار دادند. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره های متانولی، استونی و آبی و آنتس اکسیدان سنتزی BHT به ترتیب: $1/93$ ، $1/386$ ، $0/66$ ، $3/921$ معادل میکرومول آلفا توکوفرول در گرم عصاره بود. همچنین مقدار ترکیبات فنولی به ترتیب در عصاره های متانولی > استونی > آبی بود [۲۵]. نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر از نظر وجود ارتباط بین مقدار ترکیبات فنولی عصاره ها با ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ها با نتایج به دست آمده توسط سایر محققین دیگر مطابقت داشت.

1. Kaviyaran and Johnsy
2. Arabshahi

۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در دو سطح ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ در روغن سویا اعلام کردند که در آزمون پراکسید، غلظت‌های ppm ۴۰۰ و ۸۰۰ بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را داشته و معادل با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در هر دو سطح غلظتی ppm ۱۰۰ و ۲۰۰ عمل کرده است ولی نسبت به آنتی‌اکسیدان BHT در هر دو سطح بهتر عمل نموده است [۲۹].

۳-۶- شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA)

نتایج نشان داد که تغییرات اندیس تیوباربتوریک اسید (TBA) روغن سویای نگهداری شده در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر عصاره هندوانه کوهی قرار گرفت ($p < 0.05$). نتایج مقایسه میانگین اندیس تیوباربتوریک اسید (TBA) حاصل از اثر غلظت‌های مختلف عصاره هندوانه کوهی در شکل ۷ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود در روزهای ابتدایی مقدار این اندیس بسیار پایین است، زیرا این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل‌شده 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. همان‌طور که مشاهده می‌شود، نمونه شاهد در تمام مراحل نگهداری افزایش بیشتری نسبت به نمونه‌های تیمار شده داشت. بیشترین میزان عدد تیوباربتوریک اسید در تمامی روزها متعلق به نمونه شاهد بود به‌طوری‌که پس از ۷۲ ساعت نگهداری روغن سویا در دمای ۶۵ درجه مقدار این اندیس افزایش یافت. از آنجائی که مالون آلدئید از تجزیه هیدروپراکسیدها حاصل می‌گردد. بیشترین توانایی در جلوگیری از تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون توسط تیمار ppm ۸۰۰ عصاره میوه هندوانه کوهی اعمال گردید، بطوری‌که مقدار این اندیس در نمونه‌های تحت این تیمار در طول ۷۲ ساعت نگهداری به ترتیب برابر ۰/۲۵۰، ۰/۴۳۸ و ۰/۵۰۶ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم به دست آمد (شکل ۷). این در حالی بود که مقدار اندیس تیوباربتوریک اسید (TBA) برای غلظت‌های ppm ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ عصاره پس از ۷۲ ساعت نگهداری در آون ۶۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب برابر ۰/۳۳۷، ۰/۶۸۷ و ۰/۶۲۹ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم بود. این نتایج

پوپوویچ^۱ (۲۰۰۸)، به بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی جعفری، آویشن و رازیانه روی روغن آفتابگردان غنی‌شده پرداختند. نتایج نشان داد که آنتی‌اکسیدانهای طبیعی گیاهان تحت بررسی، در پایداری روغن آفتابگردان مؤثر می‌باشند [۲۶]. توکلی و همکاران (۱۳۸۷)، به مقایسه‌ی روغن زیتون و بنه پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که بین ساختار اسید چرب روغن‌زیتون و بنه تفاوت معنی‌داری وجود دارد و در مجموع، روغن بنه به خاطر وجود اسیدهای چرب ضروری بیشتر، دارای ارزش تغذیه‌ای بالاتر و به خاطر سرشار بودن از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، دارای پایداری اکسایشی بهتری نسبت به روغن زیتون بود [۲۷].

کرامت جو و همکاران (۱۳۹۲)، اثر افزودن عصاره برگ زیتون به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی کره و پایداری اکسیداسیونی آن را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که نمونه‌های حاوی عصاره برگ زیتون در مقایسه با نمونه کنترل عدد اسیدی، عدد پروکسید، سفتی و شمارش میکروبی کمتر و پایداری اکسیداسیونی و میزان ترکیبات پلی فنولی بیشتری داشتند. در طول نگهداری، عدد اسیدی نمونه‌ها افزایش، عدد پروکسید و میزان ترکیبات پلی فنولی کاهش یافت [۲۸].

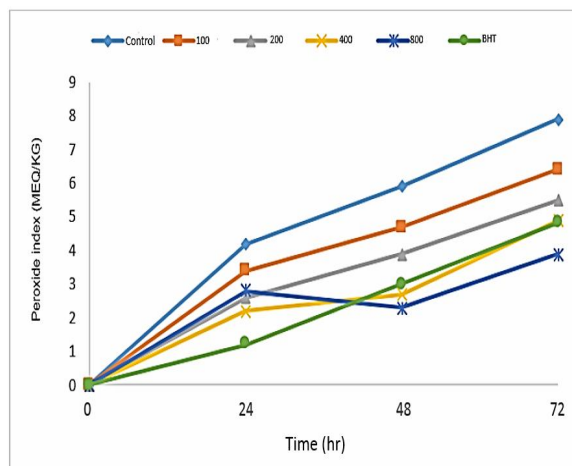


Fig 6 Changes in the peroxide index of the studied oil samples during the period of 3 days storage at 65°C

در تحقیقی مشابه، طاهر نژاد و همکاران (۱۳۹۱)، در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره پنیرک در روغن سویا با غلظت‌های ۲۰۰،

استخراج کارآمدتر و اقتصادی‌تر شده است و استفاده از منابع عظیم گیاهی کشور با روش‌های اقتصادی همواره مورد نظر بوده است. امروزه برای جایگزینی این روش‌ها، شیوه‌های استخراجی نوینی معرفی شده است که باعث کاهش مقدار حلال مصرفی و کوتاه‌تر شدن زمان فرایند، افزایش بازدهی و بهبود کیفیت ترکیبات استخراج شده نسبت به روش‌های متداول مانند سوکسله و خیساندن می‌شود. استخراج با کمک فراصوت به‌عنوان روشی اثبات شده و به صورت جایگزینی مناسب برای شیوه‌های استخراج قدیمی برای بسیاری از گیاهان می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد. در پژوهش حاضر، عصاره‌گیری با روش استخراج فراصوت با کمک حلال هیدروآتانول انجام شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری در شرایط بهینه، میزان زمان ۱۸/۶۲ دقیقه، شدت صوت ۵۶/۸۴ kHz و دما ۵۲/۴۹ درجه سانتی‌گراد و میزان بازده استخراج ۸۴/۳۴ درصد گزارش شد. در این شرایط بهینه میزان ترکیبات فنولی و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌ها در غلظت‌های (۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰) ppm با آزمون فولین و DPPH مورد سنجش قرار گرفت و سپس عصاره در غلظت‌های (۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰) ppm به نمونه روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان اضافه‌شده و پارامترهای اندیس پراکسید، شاخص تیوباربیتیک اسید (TBA) با نمونه روغن سویا حاوی ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره میوه هندوانه کوهی (از ۱۰۰ تا ۸۰۰ پی‌پی‌ام) در روغن سویا، میزان اندیس پراکسید و شاخص تیوباربیتیک اسید (TBA) کاهش پیدا می‌کند و غلظت ۸۰۰ ppm عصاره به دلیل داشتن مقادیر بالاتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از نظر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مؤثرتر عمل نموده است. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در فرمولاسیون روغن‌های خوراکی استفاده نمود.

۵- منابع

- [1] Shukla Sh, Mehta A, Bajpai VK and Shukla S. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. Food and Chemical Toxicology. 2009; 47: 2338–2347.

نشان می‌دهد که در روزهای پایانی آزمایش، تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد و مقدار زیادی از پراکسیدهای تشکیل شده در مراحل اولیه طی روزهای پایانی آزمایش، تجزیه و به مالون آلدئید تبدیل شده‌اند.

یاسوبی^۱ و همکاران (۲۰۰۷)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست انار را روی روغن سویا بررسی کردند نتایج نشان داد عصاره استونی در غلظت بالاتر، اثرات آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT در غلظت ۰/۲ درصد داشت [۳۰].

سینگ^۲ و همکاران (۲۰۰۶)، به بررسی ترکیبات شیمیایی روغن فرار رازیانه پرداخته و در ادامه ویژگی‌های ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی مربوط به روغن فرار رازیانه و عصاره استونی آن را در روغن کتان مورد بررسی قرار دادند. خواص آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری مقادیر اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید روغن کتان در فواصل زمانی ثابت ارزیابی شد. آزمایش‌ها نشان دادند که هم روغن فرار و هم عصاره استونی رازیانه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT است [۳۱].

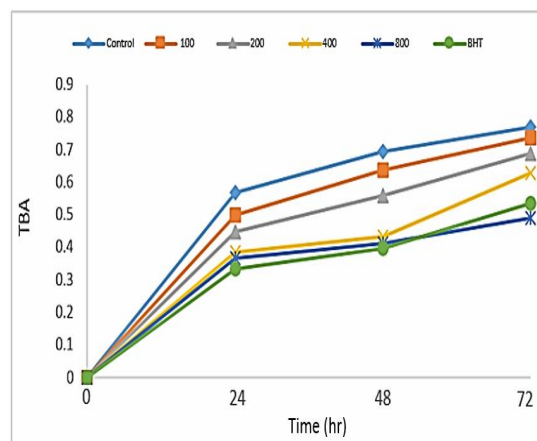


Fig 7 Changes in thiobarbituric acid index of soybean oil samples during 3 days of storage at 65°C

۴- نتیجه‌گیری

امروزه نیاز مداوم جامع بشری به استخراج ترکیبات مؤثره گیاهی سبب انجام پژوهش‌های زیادی در زمینه معرفی یک فرایند

1 Yasoubi
2 Sing

- (AOAC). 1975; 13th ed
- [13] Seabury k. The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. 2002; Project number, Jo404.
- [14] Vilku K, Mawson R, Simons L, Bates D. "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review." *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2008; Vol. 9, No. 2, pp. 161-169.
- [15] Jung CH, Seog HM, Choi IW, Park MW and Cho HY. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT*. 2006; 39: 266-27.
- [16] Jiménez A, Beltran G, Uceda T M. "Highpower ultrasound in olive paste pretreatment. Effect on process yield and virgin olive oil characteristics." *Ultrasonics Sonochemistry*. 2007; Vol. 14, No. 6, pp. 725-731.
- [17] Herrera M C, Luque de Castro M D. "Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection." *Journal of Chromatography*. 2005; A, Vol. 1100, No. 1, pp. 1-7.
- [18] Dong-rui Y, Leil G, Shu-jun W, Fu-quan X. "Response surface optimization of Extraction process for DPPH Free Radical scavenging components from cherry seed." *Food Science*. 2011; Vol. 32, No. 22, pp. 46-50.
- [19] Sivakumar V, Vijaeswarri J and Lakshmi Anna J. "Effective natural dye extraction from different plant materials using ultrasound". *Journal of Industrial Crops and Products*. 2011; 33 (1): 116-122.
- [20] Luque-Garcia J L and Luque de Castro M D. Where is microwave based analytical treatment for solid sample pretreatment going? *Trends Analays Chemistry*. 203; 22: pp. 90-99.
- [21] Zolfaghari B, Ykdanh A. Recent advances in extraction techniques herbal combined, *Journal herbal medicine .Shahrekord Branch, Islamic Azad University*. 2009; p: 51-55.
- [22] Sanchez-Moreno C, Larrauri JA and Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity
- [2] Kim S Y, Jeong S M, Kim S J, Jeon K I, Park E, park H R, et al. Effect of Heat Treatment on the Antioxidative and Antigenotoxic Activity of Extracts from persimmon (*Diospyros kaki* L.) peel. *Bioscience Biotechnological Biochemistry*. 2006; 70: 999 - 1002.
- [3] Zargari Ali. Medicinal plants. Sixth Edition, Volume 2, University of Tehran Press. 1993; 155-153.
- [4] Mir Haider, Hussein. Plant Education: The Use of Plants in the Prevention and Treatment of Diseases, Second Edition, Volume 3, Tehran: Islamic Culture Publishing Office. 1996; 182-176.
- [5] Qarakhani M, Ghorbani M, Rasoul Nejad N, Jabraili Sh. New methods of extracting effective compounds from medicinal plants: extraction by ultrasound and microwave and extraction with compressed solvent. *Iranian Chemical Engineering*. 2011; 10 (59), 24-36.
- [6] Betancourt A O. Analysis, extraction and recovery of poly-3-hydroxybutyrate in the biomass. University of Quebec at Montreal Thesis. 2008; pp. 45-55.
- [7] Kamran Khan M, Abert-Vian M, Fabiano-Tixier A, Dangles O and Chemat F. "Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) Peel". *Food Chemistry*. 2010; 119 (2): 851-858.
- [8] Ghafoor K, Choi Y H, Jeon J Y, Jo I H. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *J. Agric. Food. Chem.* 2009. 57 (11), 4988-4994.
- [9] Farhoosh R, and Moosavi S M R. Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. *Journal of Food Lipids*. 2006; 13: 298-305.
- [10] Stoilova I, Krastanov A, Stoyanova A, Denev P, Gargova S. Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*. 2007; 70-102.
- [11] Burits M, and Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*. 2000; 14, 323-328.
- [12] Horwitz W. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist

- oil using Motica and Atlantica coriander oil, the first specialized conference on olive oil. 2008; 46-37.
- [28] Keramat Jo E, Hesaree J, Azad Mard Mirchi S, Peyghambar Dost H, Nemate H. Antioxidant effect of olive leaf extract on butter stability, Journal of Food Processing and Storage. 2013; Volume 5, Number One.
- [29] Tahernejad M, Barzegar MA, Naqdi Badi H. Evaluation of anti-radical activity of *Malva sylvestris* L. extract and its application in the oil system of Medicinal Plants Quarterly. 2012; 11 (2), 86-97.
- [30] Yasoubi P, Barzegar M, Sahari M A & Aziz M A. Total phenolic content and antioxidant activity of pomegranate (*Punica ngranatum*) peel extract. Journal of Agricultural Science. 2007; 35-42.
- [31] Singh G S, Maurya M P & de Lampasona C. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control. 2006; 745-752.
- andinhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. FoodResearch International. 1999; 32: 407-412.
- [23] Johnsy G & Kaviyarasan V. Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Trametes gibbosa*. Journal of pharmacy research, 2011; 4(11): 3939-3942.
- [24] Tahami F, Basiri A, Ghiasi Tarzi B, Mahasti P. Antioxidant effect of Fennel seed extract (*Foeniculum vulgare*) on the stability of sunflower oil. Food Science and Nutrition. 2012; 10 (1 (37 consecutive)), 71-78.
- [25] Arabshahi DS. Studies on selected plant extracts with reference to their nutritional and pharmacological characteristics, PhD Thesis. University of Mysore, Department of Studies in Food Science and Nutrition. 2006.
- [26] Popovich K M. The Influence of Natural Antioxidants on the Oxidative Stability of Iodine-Fortified Sunflower Oil in the Process of Storage. Surface Engineering and Applied Electrochemistry. 2008; 44 (5), 415-421.
- [27] Tavakoli J, Najafi Z, Haddad Khodaparast M H. Increasing the oxidative stability of olive



Optimization of mountain watermelon fruit extract extraction process by response surface method and evaluation of its antioxidant effect on the stability of soybean oil during shelf life

Sabetghadam, M.^{1*}, Latifi, Z.², Moallemi, P.², Mohammadi kartalaei, N.³, Razghandi, E.⁴

1. Young Researchers and Elites Researchers Club, Islamic Azad University, Sabzvar Branch.

2. Young Researchers and Elites Researchers Club, Islamic Azad University, Sari Branch.

3. M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4. PhD Student, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Khorasan Razavi, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2021/02/01 Accepted 2021/10/14</p>	<p>Oxidation of fats and oils leads to the production of harmful substances that endanger the health of the consumer. One of the oils disposed to oxidation is soybean oil, which due to the relatively high amount of unsaturated fatty acids in this oil, its stability against oxidation is low. Therefore, the aim of this study was to investigate the antioxidant activity of mountain watermelon fruit extract and the effect of this fruit extract on increasing the stability of soybean oil. Extraction was performed by solvent extraction method with the help of ethanol as solvent with three factors (time, intensity and temperature) at 3 levels and 6 replications at the center point of the design by the response surface method. The results of statistical analysis were reported in optimal conditions, time of 18.62 minutes, sound intensity of 84.56 kHz and temperature of 49.52°C and extraction efficiency of 34.84%. Under these optimal conditions, the amount of phenolic compounds and free radical scavenging power of the extracts at concentrations (100, 200, 200, 400, 800 ppm) were measured by Folin and DPPH tests, and then the extract was concentrated at concentrations (100, 200, 400, 800, 800 ppm). Samples of soybean oil without added antioxidants and parameters of peroxide index, thiobarbitotic acid index (TBA) were compared with samples of soybean oil containing 200 ppm synthetic antioxidants (BHT) and control sample. The results showed that with increasing the concentration of mountain watermelon extract in soybean oil from 800 to 100 ppm, the index of peroxide, thiobarbitotic acid index (TBA) decreases and the concentration of 800 ppm of the extract due to higher levels of antioxidant compounds is more effective in inhibiting free radicals.</p>
<p>Keywords:</p> <p>Phenolic compounds, Mountain Watermelon, Response level, Radical receptor power.</p>	
<p>DOI: 10.52547/fsct.18.120.5</p> <p>DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.5.7</p> <p>*Corresponding Author E-Mail: m.sabetghadam.m.s@gmail.com</p>	