

## عصاره اتانولی دانه زنیان: بهینه سازی استخراج، ترکیبات فنولی و خواص آنتی اکسیدانی

آرزو مشیری روشن<sup>۱</sup>، عباسعلی ساری<sup>۲\*</sup>، نرجس آقاجانی<sup>۳</sup>، امیرداری گرمه خانی<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۲- استادیار، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۳- استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۴- استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و منابع طبیعی تویسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۱۱)

### چکیده

روغن‌ها و چربیها تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند اکسیژن، نور، حرارت، یون‌های فلزی و آنزیم‌ها اکسید می‌شوند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، به دلیل احتمال سمیت و سرطان‌زایی، زیر سؤال قرار گرفته است. هدف از این تحقیق، بهینه‌سازی شرایط استخراج عصاره دانه زنیان و بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل از آن می‌باشد. در این مطالعه عصاره دانه زنیان تحت شرایط مختلف استخراج با حلال (از دو حلال، آب و اتانول در غلظت‌های ۰، ۵۰ و ۱۰۰٪)، مدت زمان استخراج (۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت) و دمای استخراج (۲۰، ۵۰ و ۸۰ درجه سلسیوس تهیه شد. بهترین شرایط استخراج برای عصاره‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ تعیین و عصاره‌گیری در شرایط بهینه انجام شد. از عصاره‌های استخراجی در شرایط بهینه غلظت‌های مختلف (۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد) تهیه و به روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. تیمارهای مختلف در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ روز نگهداری شدند و هر روز شاخص‌های عدد اسیدی، عدد پراکسید و عدد تیوباریتوریک اسید مربوط به هر کدام از تیمارها ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که افزودن آب به حلال کارایی آن را در استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌دهد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل افزایش می‌یابد. بر اساس شاخص‌های پایداری حرارتی روغن مورد مطالعه، بهترین نتایج مربوط به BHT و غلظت‌های بالاتر عصاره‌های اتانولی بود. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان در فرمولاسیون روغن‌های خوراکی از عصاره اتانولی دانه زنیان به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی استفاده نمود.

کلید واژگان: دانه زنیان، آنتی‌اکسیدان طبیعی، عصاره اتانولی، روش سطح پاسخ.

\* مسئول مکاتبات: sari@basu.ac.ir

## ۱- مقدمه

امروزه استفاده از روغن‌های گیاهی رشد بسیار زیادی داشته و به صورت‌های مختلفی نظیر روغن‌های سالادی، پخت و پز و سرخ کردنی مصرف می‌شوند [۱]. یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های روغن‌های خوراکی عدم پایداری حرارتی آنها می‌باشد [۲]. از آنجایی که اغلب روغن‌های خوراکی بویژه روغن‌های نباتی حساسیت زیادی به واکنش‌های اکسیداسیون دارند [۳]. از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به منظور حفظ آنها در برابر واکنش‌های اکسایش استفاده می‌شوند [۴]. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به خوبی در روغن حل می‌شوند؛ اما به دلیل سمیت و گزارش‌هایی مبنی بر سرطان‌زایی استفاده از آنها محدود شده است [۵]. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر داشتن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در کاهش سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی و سایر بیماری‌های مرتبط با پیری تأثیر داشته باشند [۶].

از این رو در تحقیق حاضر اثر عصاره دانه زنیان بر پایداری اکسیداتیو روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان در شرایط اکسیداسیون تسریع یافته مورد ارزیابی قرار گرفت. گیاه زنیان با نام علمی *Trachyspermum copticum* L. یک ساله از راسته چتریان و میوه‌هایی به رنگ خاکستری متمایل به قهوه‌ای دارد. این گیاه در ایران، مصر و نواحی شرق هند می‌روید و در صنایع دارویی و غذایی کاربرد دارد. مهم‌ترین ترکیبات موجود در این گیاه شامل تیمول، سیمن، آلفا پینن، دی پینن، گاماترپنین، بتاپینن، میرسن و کارواکرول می‌باشد [۵]. این ترکیبات به دلیل ساختار فنولی می‌توانند جایگزین موثری برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی باشند. در زمینه استفاده از عصاره دانه زنیان جهت پایداری روغن تحقیق‌چندانی صورت نگرفته است علی‌رغم اینکه در زمینه کاربردهای ضد میکروبی و درمانی آن تحقیقات وسیعی صورت گرفته است، بنابراین هدف از این مطالعه انتخاب بهترین روش و شرایط جهت استخراج عصاره از دانه زنیان از

لحاظ میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی جهت انتخاب و استفاده در پایداری اکسیداتیو روغن سویا بدون آنتی‌اکسیدان تحت شرایط اکسیداسیون تسریع یافته می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- مواد و تجهیزات

در این تحقیق گیاه زنیان از یکی از فروشگاه‌های گیاهان دارویی سطح شهر همدان خریداری شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق شامل حلال استون، معرف فولین-سیو کالتو، کربنات سدیم، اسید گالیک، تری کلرو استیک اسید، کلرید آهن (III)، معرف DPPH، بافر فسفات، فری سیانید پتاسیم، مولیبدات آمونیوم، اسید سولفوریک، فسفات سدیم. همه مواد شیمیایی از شرکت مرک و حلال‌ها از شرکت‌های داخلی با بالاترین خلوص تهیه شدند. همچنین دستگاه‌ها و تجهیزاتی مورد استفاده شامل مخلوط کن خانگی (سانی، ایران)، آون (فن آزما گستر، ایران)، ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۰۱ (سارتوریوس آلمان)، دستگاه اسپکتروفوتومتر دو پرتویی ماوراء بنفش- مرئی (پی جی اینسترومنت، انگلستان)، سانتیفریوژ آزمایشگاهی (سیگما، آلمان)، دستگاه تبخیر کننده چرخشی (ای کا آر وی ۱۰ آلمان)، pH متر (دنور آلمان)، دستگاه بن ماری (فن آزما گستر ایران)، شیکر لوله (لایبکو پارس خزر، ایران) و ... بود.

## ۲-۲- استخراج عصاره دانه زنیان با حلال به

## روش غوطه وری

دانه گیاه زنیان با نام علمی *Trachyspermum ammi* L. از یکی از فروشگاه‌های گیاهان دارویی سطح شهر همدان خریداری شد و عصاره‌گیری بر اساس روش منصوری و همکاران (۲۰۰۵) انجام گرفت [۷]. جهت استخراج ۴۰ گرم دانه زنیان آسیاب شده با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال (مخلوط آب

۲-۲-۳- اندازه گیری قدرت مهارکنندگی رایکال

#### DPPH

توانایی عصاره‌ها برای جذب رادیکال‌های DPPH طبق روش بلویس (۱۹۵۸) تعیین شد [۱۱].

۲-۲-۴- اندازه گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر اساس احیای مولیبدنوم (VI) به مولیبدنوم (V) و ایجاد کمپلکس سبز رنگ فسفات مولیبدنوم در محیط اسیدی اندازه گیری شد [۱۲].

۲-۳- ارزیابی شاخص های اکسیداسیون روغن

بسته به میزان اکسیداسیون روغن، ۰/۱ تا ۰/۲ گرم نمونه بر اساس روش شانتا و دکر (۱۹۹۴) مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۳]. شاخص تیوباربتوریک اسید و عدد اسیدی به ترتیب بر اساس روش وینک (۱۹۷۰) [۱۴] و گرمه خانی و همکاران (۲۰۰۸) [۱۵] تعیین شد.

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری و بهینه‌سازی

از روش سطح پاسخ جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج عصاره‌های دانه زنیان تحت تأثیر غلظت حلال، دما و زمان استخراج استفاده گردید. به این منظور طرح مرکب مرکزی (CCD<sup>۱</sup>) با ۳ سطح و ۶ تکرار در نقطه مرکزی برای بررسی تأثیر شرایط استخراج بر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل مورد استفاده قرار گرفت (+۱، ۰، -۱) (جدول ۱). در این تحقیق محدوده‌ی متغیرهای مستقل غلظت حلال مورد استفاده (X<sub>۱</sub>)، دمای استخراج (X<sub>۲</sub>) و زمان استخراج (X<sub>۳</sub>) از آزمون‌های اولیه استنتاج گردید. جهت کاهش اثرات تغییرات پیش‌بینی‌نشده، تیمارهای آزمایشی به صورت تصادفی در آمدند. جهت رسم نمودارهای سه‌بعدی و بهینه‌سازی داده‌ها از نرم‌افزار Design Expert 6.0.2 استفاده شد.

مقطر و اتانول در غلظت‌های ۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد وزنی- وزنی) مخلوط شد و به مدت ۰/۲۵، ۱۲ و ۲۴ ساعت در دمای ۲۰، ۵۰ و ۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند و توسط همزن مغناطیسی همزده می‌شدند. سپس عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی (واتمن شماره یک) فیلتر شد و مایع حاصل توسط تبخیرکننده چرخشی در دمای ۴۰ درجه سانتی-گراد تا خروج کامل حلال استخراجی و دستیابی به عصاره غلیظ و ویسکوز تغلیظ گردید. پس از انجام آزمایش‌های مختلف روی عصاره‌های حاصل بهترین شرایط استخراج برای عصاره‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ تعیین و عصاره گیری در شرایط بهینه انجام شد. سپس از عصاره‌های استخراجی در شرایط بهینه، مقادیر مختلف (۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶٪) به ترتیب معادل ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۶۰۰۰ ppm) به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان اضافه شد. تیمارهای مختلف در شرایط اکسیداسیون تسریع یافته (آون با دمای ۹۰ درجه سلسیوس) به مدت ۵ روز نگهداری شد و هر روز شاخص‌های عدد اسیدی، عدد پراکسید و عدد تیوباربتوریک اسید مربوط به هر کدام از تیمارها مورد بررسی قرار گرفت. همچنین یک نمونه روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان (نمونه شاهد) و یک نمونه روغن سویای حاوی ۲۰۰ ppm آنتی‌اکسیدان BHT نیز جهت مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آنتی‌اکسیدان سنتزی تهیه و در شرایط مذکور نگهداری شد [۸].

۲-۲-۱- ارزیابی عصاره‌ها

۲-۲-۱-۱- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی

میزان کل ترکیبات فنولی با استفاده از روش رنگ سنجی فولین سیوکالتو بررسی شد [۹].

۲-۲-۲- اندازه گیری قدرت احیاء کنندگی

توانایی عصاره‌ها برای احیا آهن سه ظرفیتی توسط روش بیلدریم و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد [۱۰].

**Table 1** Independent variables and their applied levels to optimize the antioxidant properties of Ajowan seed ethanolic extracts under the influence of different extraction conditions

| Independent variables                   | Levels and variables |     |      |
|---|----------------------|-----|------|
|   | -1.0                 | 0.0 | +1.0 |
| Extraction time (hour)                  | 0.25                 | 12  | 24   |
| Extraction temperature (°C)             | 20                   | 50  | 80   |
| Ethanol-water solvent concentration (%) | 0.0                  | 50  | 100  |

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ترکیبات فنولی کل عصاره‌های

##### استخراجی

راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل عصاره‌های اتانولی دانه زینان تحت تأثیر شرایط مختلف استخراج در شکل ۱ ارائه شده است. همان طور که در بخش a شکل ۱ مشاهده می‌شود در دمای یکسان استخراج با افزایش غلظت اتانول راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها کاهش یافته است. درحالی‌که در غلظت ثابت اتانول با افزایش دمای استخراج میزان راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل افزایش یافته است. همان طور که در بخش b شکل ۱ مشاهده می‌شود در غلظت ثابت اتانول با افزایش زمان استخراج راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل روند تقریباً ثابت و توأم با افزایش جزئی را دارا می‌باشد. در بخش c شکل ۱ مشاهده می‌شود که با افزایش دمای استخراج میزان راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل عصاره‌های اتانولی افزایش نسبتاً شدیدی را دارا می‌باشند درحالی‌که با افزایش زمان استخراج میزان راندمان استخراج ترکیبات فنولی به آرامی افزایش می‌یابد و حتی در دماهای بالای استخراج با افزایش زمان استخراج میزان راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل کاهش جزئی را نیز نشان می‌دهد که می‌تواند به دلیل از بین رفتن ترکیبات فنولی کل بر اثر نگهداری طولانی مدت نمونه‌ها در دمای بالا باشد.

به عبارت دیگر می‌توان چنین بیان نمود که زمان استخراج بر راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل بی‌تأثیر است اما اثر مثبت دمای استخراج و اثر منفی غلظت اتانول در این تحقیق مشاهده شد. در حقیقت تنها دمای استخراج تأثیر معنی‌داری بر راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل دارد. مطالعه حاضر نشان داد که دمای استخراج تأثیر معنی‌داری بر راندمان استخراج ترکیبات فنولی کل دارد که با نتایج بس بس و همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد. این محققین اثر تخریبی دماهای بالا بر ترکیبات

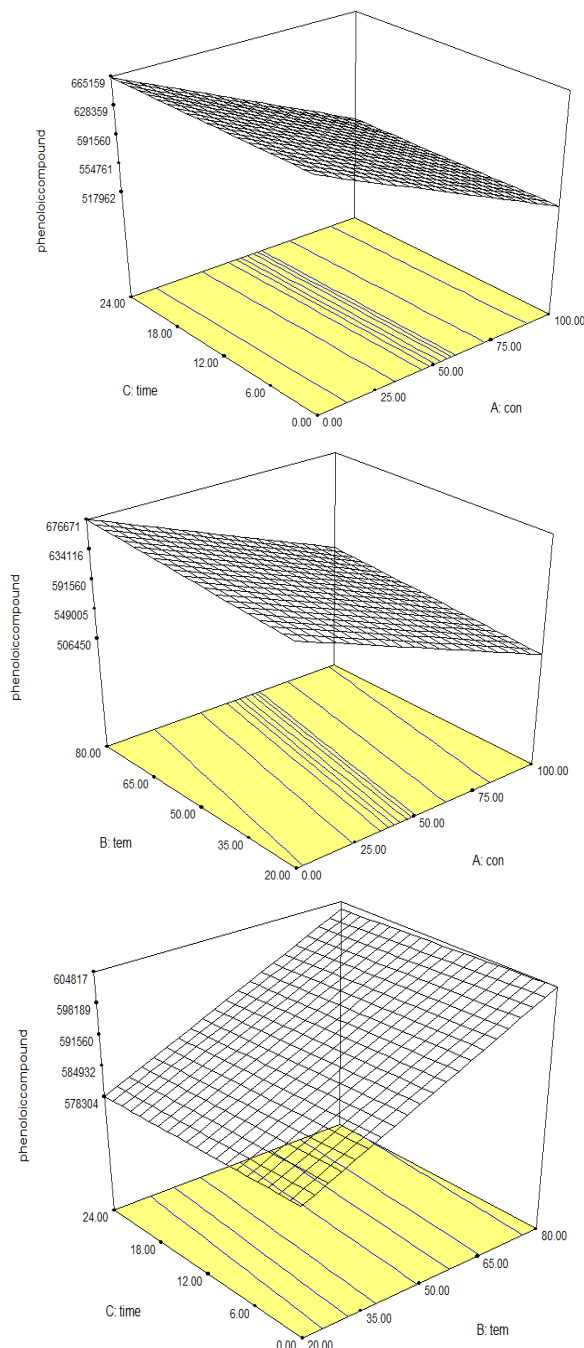
فنولی خرما را گزارش نمودند. در فرآیند حرارت دادن با حلال آب به تدریج با افزایش زمان استخراج، نمونه‌ها مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی خود را از دست می‌دهند علاوه بر این ترکیبات فنولی مختلف از لحاظ مقاومت حرارتی متفاوت‌اند [۱۶]. بر اساس یافته‌های مورلو و همکاران (۲۰۰۴) اسیدهای فنولی آزاد نسبت به سایر ترکیبات فنولی مقاومت حرارتی بیشتری دارند [۱۷]. این ترکیبات به ویژه مشتقات اسید سینامیک نظیر اسید کافئیک، فرولیک و پی کوماریک، در سلول به صورت متصل به یکدیگر یافت می‌شوند در فرآیندهای حرارتی، هیدرولیز این ترکیبات منجر به جدا شدن آن‌ها از یکدیگر و آزاد شدن آن‌ها گردیده و در نتیجه این ترکیبات به آرامی وارد محیط اطراف می‌شوند [۱۸]. بعضی از ترکیبات مثل اسید تانیک (تانن قابل هیدرولیز) به راحتی توسط حرارت تخریب نمی‌شوند و برای غیرفعال شدن به زمان بیشتری نیاز دارند [۱۹]. همان طور که مشاهده شد زمان استخراج تأثیر مهمی بر میزان استخراج ترکیبات فنولی کل دارد زیرا با گذشت زمان حلال فرصت پیدا می‌کند تا به بافت گیاهی نفوذ کند و ترکیبات فنولی فرصت کافی برای جدا شدن از سوبسترای خود و ورود به حلال اطراف را دارند که با نتایج به دست آمده توسط اسپینگو و همکاران (۲۰۰۶) [۲۰] مطابقت داشت. همچنین اعمال دمای بالا به راحتی می‌تواند اجزای گیاهی را تخریب کند و ترکیبات گیاهی به درون محیط وارد شوند به همین دلیل با افزایش دما میزان ترکیبات فنولی استخراج شده روند صعودی دارد. در کل روش‌های حرارتی به ویژه آن‌هایی که در محیط مرطوب انجام می‌پذیرد از طریق شکستن دیواره سلولی باعث آزاد شده هر چه بیشتر ترکیبات فنولی می‌شوند. برای استخراج ترکیبات فنولی از بافت‌های گیاهی می‌توان از حلال‌های مختلف و روش‌های متعدد استفاده کرد. در انتخاب حلال مناسب برای استخراج ترکیبات فنولی باید به نکاتی مانند هزینه، قابلیت دسترسی، بی‌خطر بودن، ویژگی‌های اختصاصی برخی از ترکیبات فنولی و خصوصیات

نتایج حاکی از آن بود که مقدار ترکیبات فنولی در حالت خالص کمتر از آب بود به گونه‌ای که حلال‌های استون، متانول و اتانول به ترتیب حاوی کمترین میزان این ترکیبات بودند. با افزودن ۵۰ درصد آب به حلال‌های نامبرده کارایی حلال‌ها در استخراج ترکیبات فنولی به طور قابل توجهی افزایش یافت. مقدار ترکیبات فنولی کل در استون ۵۰ درصد < اتانول ۵۰ درصد < متانول ۵۰ درصد < آب بود [۲۲]. یو و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند مقدار ترکیبات فنولی از پوسته بادام‌زمینی توسط اتانول (۸۰٪)، متانول (۸۰٪) و آب به ترتیب ۸۹/۹، ۹۰/۱ و ۵۶/۷ میلی‌گرم در هر گرم عصاره بود. این محققین اتانول و متانول را به صورت مخلوط با آب به عنوان کاراترین حلال‌ها در استخراج ترکیبات فنولی معرفی نمودند. نتایج به دست آمده در این بررسی با تحقیق حاضر مطابقت داشت [۲۳]. در بررسی دیگری به منظور استخراج ترکیبات فنولی از برگ توت‌فرنگی از ۴ حلال آب، متانول، اتانول و دی اتیل اتر استفاده شد. نتایج نشان داد نوع حلال مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر میزان استخراج ترکیبات فنولی داشت و حلال اتانول با ۹۲/۶۶ و حلال دی اتیل اتر با ۱۴/۹۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره به ترتیب بیش‌ترین و کمترین میزان استخراج را به خود اختصاص دادند [۲۴].

### ۲-۳- قدرت احیاء کنندگی عصاره‌های استخراجی

منحنی‌های سه بعدی تغییرات قدرت احیاء کنندگی عصاره‌های اتانولی دانه زنیان تحت تأثیر شرایط مختلف استخراج در شکل ۲ ارائه شده است. همان طور که در بخش a و b شکل ۲ مشاهده می‌شود در زمان‌ها و دماهای ثابت استخراج با افزایش غلظت اتانول تا ۶۰٪ میزان قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها افزایش می‌یابد درحالی‌که با افزایش غلظت اتانول از ۶۰٪ به بالا میزان قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها روند نزولی را طی می‌کند. بالاترین مقدار قدرت احیاء کنندگی ۱۹/۱۷۶۶ در دو محدوده غلظت ۵۰٪-۲۰ اتانول و زمان و دمای استخراج به ترتیب ۰/۲۵ ساعت و ۲۰ درجه سلسیوس و زمان استخراج ۱۸ تا ۲۰ ساعت و غلظت اتانول ۷۵-۲۰٪ دماهای استخراج ۸۰-۶۵ درجه سلسیوس مشاهده شد. در بخش c شکل ۲ مشاهده می‌شود که با افزایش زمان و دمای استخراج میزان قدرت احیاء کنندگی عصاره‌های اتانولی روند صعودی را دارا

فیزیکوشیمیایی ماتریکس گیاهی توجه کرد [۲۱]. ترکمن و همکاران (۲۰۰۶) به منظور استخراج ترکیبات فنولی از چای، از حلال‌های استون، متانول و اتانول به صورت خالص و مخلوط با آب استفاده کردند.



**Fig 1** Three-dimensional diagram of variations in the total phenolic compounds (mg of gallic acid per 100 grams) of Ajowan seed ethanolic extracts under the influence of different extraction conditions: a; ethanolic extract concentration and extraction time (extraction temperature= 50), b; ethanolic extract concentration and extraction temperature (extraction time= 12 hours), c; extraction time and temperature (ethanolic extract concentration= 50%)

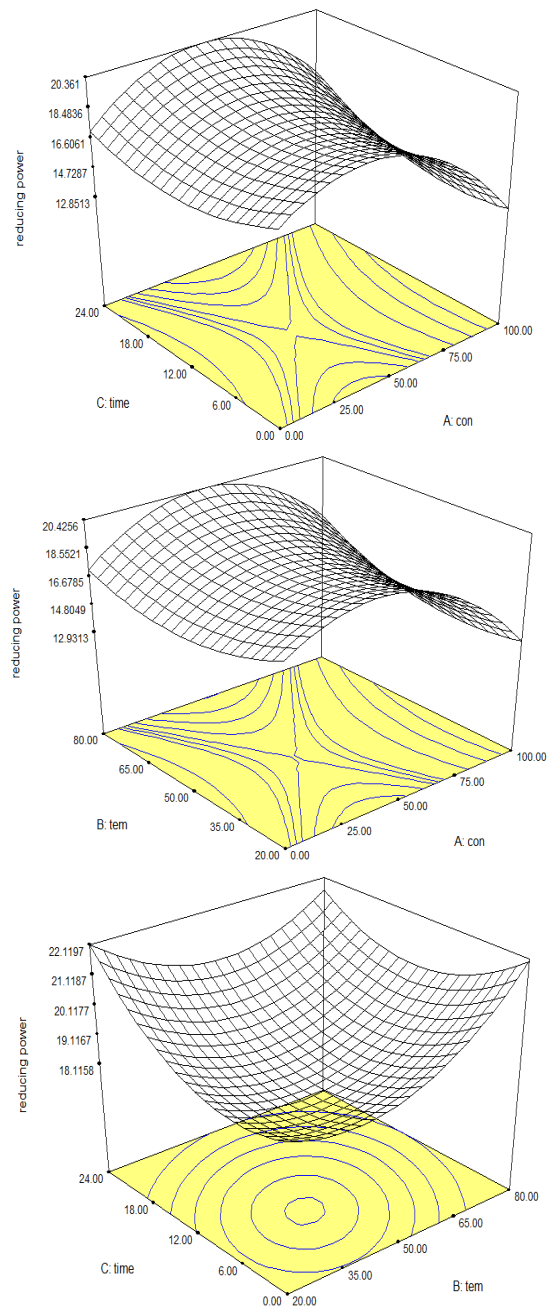
خواهند بود با اهدا الکترون یا اتم‌های هیدروژن سبب توقف واکنش‌های زنجیره‌ی رادیکال‌های آزاد و در نتیجه ایجاد تاخیر در اکسیداسیون چربی‌ها شوند [۲۵]. با افزایش غلظت حلال اتانول مقدار قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها کاهش می‌یابد زیرا میزان ترکیبات فنولی عصاره‌های استخراجی با افزایش غلظت حلال اتانول روند کاهشی داشت [۱۲] و قدرت احیاکنندگی رابطه مستقیمی با میزان ترکیبات فنولی دارد [۲۶-۲۷] هر چند این رابطه همیشه خطی نمی‌باشد [۲۸]. افزایش میزان قدرت احیاءکنندگی با افزایش زمان و دمای استخراج نیز می‌تواند به علت افزایش میزان ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها تحت شرایط استخراج طولانی مدت با دمای بالا باشد.

### ۳-۳- خاصیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال

#### فعال DPPH عصاره‌های استخراجی

منحنی‌های سه بعدی روند تغییرات خاصیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال فعال DPPH عصاره‌های اتانولی دانه زینان تحت تأثیر شرایط مختلف استخراج در شکل ۳ ارائه شده است. همان طور که در بخش a و b شکل ۳ مشاهده می‌شود در دماها و زمان‌های ثابت استخراج با افزایش غلظت اتانول میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال فعال DPPH عصاره‌های اتانولی حاصل از دانه زینان روند افزایشی از خود نشان می‌دهند درحالی‌که در غلظت‌های ثابت حلال اتانول با افزایش دما و زمان استخراج میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال فعال DPPH عصاره‌های اتانولی حاصل از دانه زینان روند نزولی را طی می‌کند. در بخش c تأثیر همزمان دماها و زمان‌های مختلف استخراج بر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال فعال DPPH عصاره‌های اتانولی دانه زینان نشان داده شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود بالاترین میزان قدرت مهارکنندگی رادیکال فعال DPPH در محدوده دمایی ۲۷-۲۰ درجه سلسیوس و زمان استخراج کمتر از ۴ ساعت مشاهده می‌شود و هرچقدر دما و زمان استخراج بالاتر رود میزان خاصیت مهارکنندگی رادیکال فعال DPPH نمونه‌ها کاهش می‌یابد ( $P > 0.05$ ). نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که غلظت حلال تأثیر معنی‌داری بر میزان رادیکال‌های آزاد داشت و لذا با افزایش غلظت حلال فعالیت جذب رادیکال‌های آزاد آن‌ها افزایش یافت. از آنجا که رابطه مستقیمی بین فعالیت گیرندگی رادیکال با میزان ترکیبات فنولی در میوه‌ها وجود دارد [۲۶-۲۷]، بنابراین با افزایش مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های استخراج شده انتظار می‌رود که

می‌باشند ( $P < 0.05$ ). بالاترین مقدار قدرت احیاء کنندگی ۲۲/۱۱۹۷ در محدوده دمای استخراج ۸۰ درجه سلسیوس و زمان استخراج ۲۴ ساعت مشاهده شد.



**Fig 2** Three-dimensional diagram of changes in the reducing power amount of Ajowan seed ethanolic extracts under different conditions. a; ethanolic extract concentration and extraction time (extraction temperature= 50), b; ethanolic extract concentration and extraction temperature (extraction time= 12 hours), c; extraction time and temperature (ethanolic extract concentration= 50%)

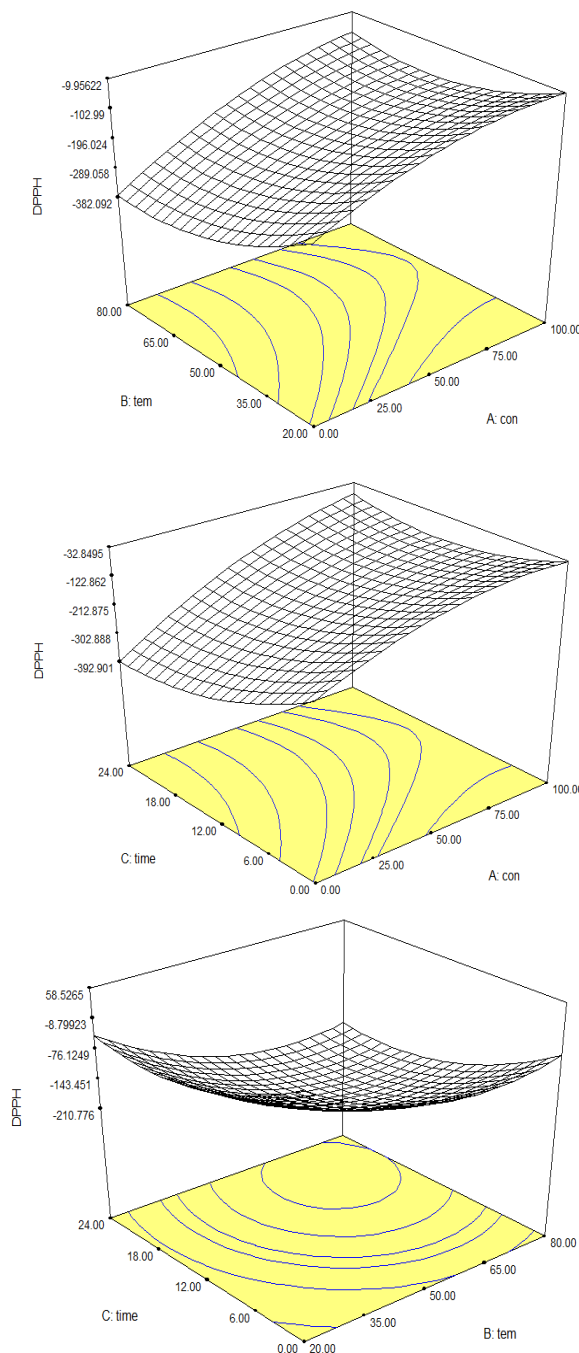
با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌ها قدرت احیاکنندگی آن‌ها افزایش می‌یابد در نتیجه عصاره‌ها قادر

تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف به میزان ترکیبات فنلی هیدروفیل و هیدروفوب موجود در عصاره ارتباط دارد اساساً آزمایش DPPH فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی محلول در آب را اندازه گیری می کند. چن و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که عصاره آبی و متانولی آویشن (*Origanum vulgare*) به میزان ۸۰-۸۲ درصد سبب مهار رادیکال DPPH شدند [۲۹]. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی اکسیدانی غلظتهای مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی پی ام) عصاره متانولی کرفس و BHT را در روغن آفتابگردان بررسی کردند. نتایج نشان داد که اسید اسکوربیک دارای بالاترین قدرت مهارکنندگی DPPH (به میزان ۷۱/۴ درصد) و پس از آن عصاره متانولی کرفس (به میزان ۵۰-۴۰ درصد) و BHT (کمتر از ۲۰ درصد) ۱ دارد [۳۰]. کلکارنی و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که عصاره های متانولی پوست و غشا اطراف دانه انار به میزان ۹۳/۲ درصد رادیکال DPPH را مهار کردند که بسیار نزدیک به ظرفیت مهارکنندگی این رادیکال توسط آنتی اکسیدان BHA (۹۴/۵ درصد) است. درحالیکه عصاره ی کلروفومی به میزان ۳/۳۵ درصد و عصاره ان هگزانی هیچگونه فعالیت مهارکنندگی نداشت [۳۱].

### ۴-۴- خاصیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های استخراجی

منحنی های سه بعدی روند تغییرات خاصیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های اتانولی دانه زنیان تحت تأثیر شرایط مختلف استخراج (در شکل ۴ ارائه شده است. همان طور که در بخش a و b شکل ۴ مشاهده می شود در غلظت ثابت حلال اتانول با افزایش دما و زمان استخراج فعالیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های اتانولی حاصل از دانه زنیان روند صعودی را طی می کند درحالی که در زمانها و دماهای ثابت استخراج با افزایش غلظت اتانول میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های اتانولی حاصل از دانه زنیان روند نزولی پیدا می کنند که می تواند به علت کاهش استخراج ترکیبات فنولی کل با افزایش غلظت حلال اتانول باشد. در بخش c شکل ۴ تأثیر همزمان دماها و زمانهای مختلف استخراج روی فعالیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های اتانولی دانه زنیان مشاهده می شود.

درصد مهارکنندگی رادیکال فعال DPPH عصاره ها افزایش یابد، ولی علی رغم افزایش مقدار ترکیبات فنولی با افزایش دما و زمان استخراج در این تحقیق، میزان قدرت مهارکنندگی رادیکال فعال DPPH عصاره های حاصل کاهش یافت که با نتایج سایر محققین متفاوت است.



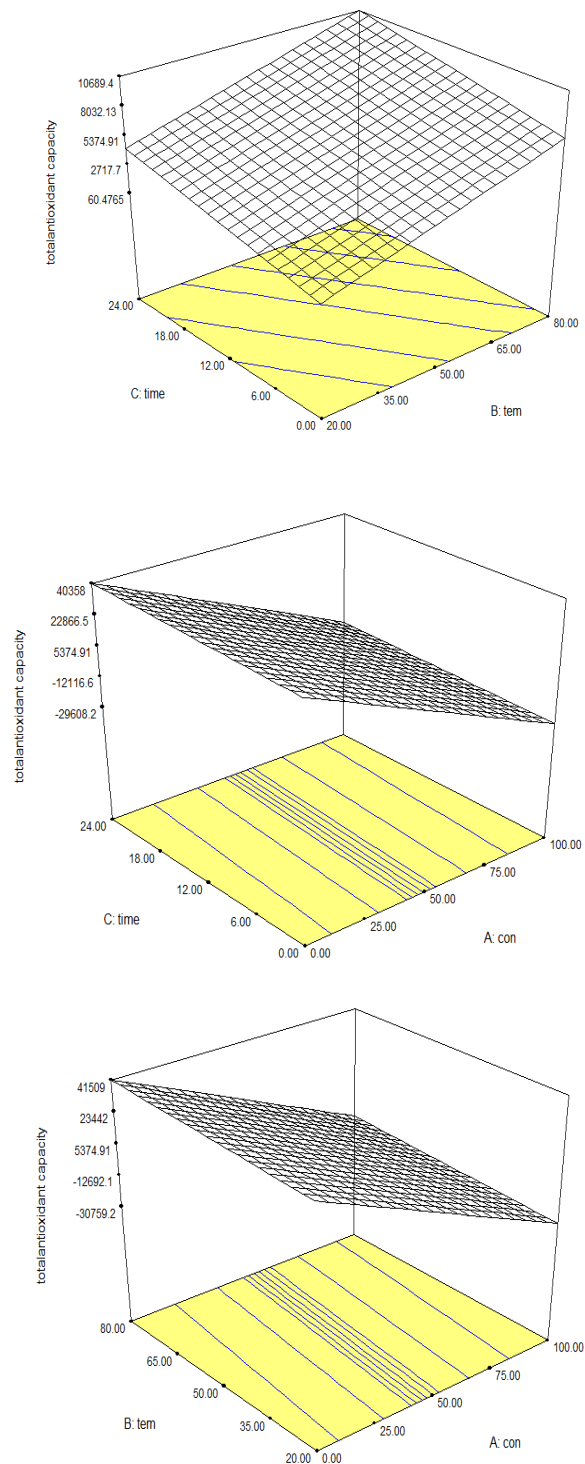
**Fig 3** Three-dimensional diagram of changes in the inhibition power of DPPH active radical of Ajowan seed ethanolic extracts under the influence of different extraction conditions. a; ethanolic extract concentration and extraction time (extraction temperature= 50), b; ethanolic extract concentration and extraction temperature (extraction time= 12 hours), c; extraction time and temperature (ethanolic extract concentration= 50%)

همان طور که ملاحظه می شود با افزایش دما و زمان استخراج میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های اتانولی افزایش می یابد به طوری که بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کل (۱۰۶۸۹/۴) مربوط به عصاره های استخراج شده در دمای ۸۰ درجه سلسیوس و زمان استخراج ۲۴ ساعت می باشد ( $P < 0.05$ ). به طور کلی با افزایش زمان و دمای استخراج میزان ترکیبات فنولی کل عصاره ها روند صعودی دارد و همین امر می تواند دلیل افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کل عصاره های حاصل باشد.

محسن و عمار (۲۰۰۹) برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی کاکل ذرت از ۹ حلال مختلف با قطبیت متفاوت استفاده کردند و گزارش کردند، میزان ترکیبات فنولی عصاره های اتانولی، متانولی و آبی به ترتیب حاوی ۰/۱۵۷، ۰/۱۱۲ و ۰/۰۷۳ درصد می باشد. آن ها تفاوت های مشاهده شده بین عصاره های مختلف را با تفاوت در قطبیت حلال مورد استفاده مرتبط دانستند و گزارش کردند حلال های با درجه قطبیت پایین مثل هگزان و استون نسبت به حلال های قطبی، توانایی کمتری در استخراج ترکیبات فنولی دارند [۳۲]. استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می کند که در آن برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پایین تر به میزان کمتری استخراج می شوند اما افزودن آب به حلال های آلی با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنولی در این شرایط اطمینان حاصل می گردد. علاوه بر این عصاره آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین و قندهای محلول می باشد که می توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبات فنولی تداخل ایجاد نمایند [۳۳].

### ۳-۵- بهینه سازی فرآیند استخراج عصاره از دانه زنیان تحت شرایط مختلف استخراج با حلال

جدول ۲ شرایط تعیین شده برای متغیرهای مستقل جهت بهینه سازی استخراج عصاره از دانه زنیان و شرایط بهینه شده را نشان می دهد. از آنجا که در فرآیندهای استخراج هدف دستیابی به بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی و حفظ ترکیبات فعال و به حداقل رساندن خسارت حرارتی در زمان های طولانی استخراج می باشد، بنابراین متغیرهای مستقل شامل



**Fig 4** Three-dimensional diagram of changes in total antioxidant capacity of Ajowan seed ethanolic extracts under the influence of different extraction conditions. a; ethanolic extract concentration and extraction time (extraction temperature= 50), b; ethanolic extract concentration and extraction temperature (extraction time= 12 hours), c; extraction time and temperature (ethanolic extract concentration= 50%)

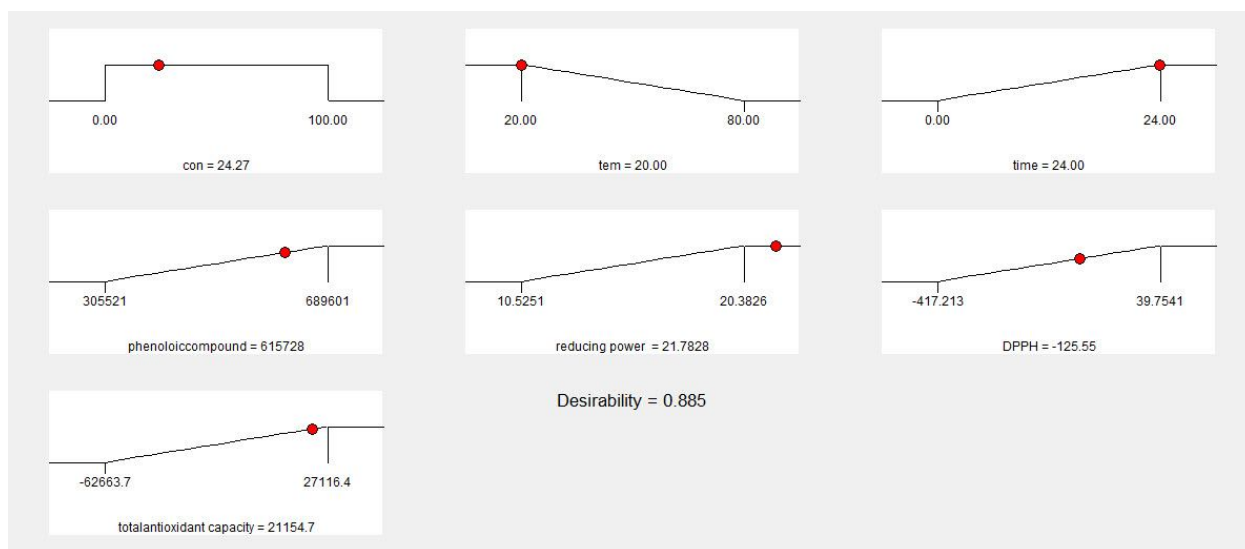


داده شد. با توجه به شرایط مورد نظر راه حل دارای بالاترین مطلوبیت مناسب‌ترین و بهترین شرایط خواهد بود که راه حل اول (با شرایط: زمان استخراج ۲۴ ساعت، دمای استخراج ۲۰ درجه سلسیوس و غلظت حلال اتانول ۲۴٪) به عنوان بهترین شرایط جهت دستیابی به شرایط بهینه در نظر گرفته شد. در صورت اعمال شرایط راه حل اول، خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره‌های حاصل از دانه زنیان به صورت بهینه حفظ می‌شود (شکل ۵)

غلظت حلال در محدوده اعمال شده (۱۰۰-۰٪)، مدت زمان استخراج، حداکثر و دمای استخراج جهت کاهش تأثیر نامطلوب حرارت بر ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی، حداقل در نظر گرفته شده است. همچنین متغیرهای وابسته‌ای نظیر مقدار ترکیبات فنولی کل، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، میزان مهارکنندگی رادیکال فعال DPPH و میزان قدرت احیاء کنندگی عصاره‌ها حداکثر در نظر گرفته شده است. در فرآیند بهینه‌سازی به تمامی پارامترهای مستقل وزن و اهمیت یکسان

**Table 2** Determined conditions for extraction optimization of Ajowan seed using ethanolic solvent

| Conditions                        | (Target)     | Lower limit | Higher limit | High weight | Low weight | Importance |
|-----------------------------------|--------------|-------------|--------------|-------------|------------|------------|
| Extraction time (hour)            | (Maximum)    | 0.0         | 24           | 1.0         | 1.0        | 3.0        |
| Extraction temperature (°C)       | (Minimum)    | 20.0        | 80           | 1.0         | 1.0        | 3.0        |
| Ethanol solvent concentration (%) | In the range | 0.0         | 100          | 1.0         | 1.0        | 3.0        |



**Fig 5** Results of extraction optimization of Ajowan seed using water- ethanol solvent

همچنین عصاره‌های اتانولی دانه زنیان در کلیه غلظت‌های اضافه‌شده به روغن باعث کاهش عدد اسیدی روغن در مقایسه با نمونه شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان شد. عصاره‌های اتانولی در روزهای ۴ و ۵ گرمخانه‌گذاری در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به لحاظ شاخص عدد اسیدی اختلاف معنی‌داری با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نداشتند ( $P > 0.05$ ).

عدد اسیدی روغن بر اثر هیدرولیز طی فرآیند سرخ کردن افزایش می‌یابد و مقادیر بالای آن منجر به ایجاد بدطعمی شدید در روغن و محصول سرخ شده می‌شود. عدد اسیدی معیاری از میزان کل اسیدهای چرب آزاد ناشی از انجام

### ۳-۶- پایداری اکسایشی روغن بدون آنتی‌اکسیدان طی شرایط اکسیداسیون تسریع یافته تحت تأثیر عصاره‌های استخراجی

همان‌طور که از شکل ۶- a مشاهده می‌شود بالاترین مقدار عدد اسیدی در نمونه‌های شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان مشاهده شد درحالی‌که افزودن آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT سبب کاهش معنی‌دار عدد اسیدی نمونه‌های روغن طی فرآیند اکسیداسیون تسریع یافته شده بود. پایین‌ترین میزان عدد اسیدی در نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشاهده شد.

*Combretum hartmannianum* در مقایسه با ۲۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان BHA سبب کاهش بیشتر اندیس پراکسید و مهار رادیکال DPPH (به میزان ۵۰ درصد) در روغن آفتابگردان شدند [۳۶]. در مطالعه سوچا و همکاران (۲۰۰۴) غلظت‌های ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره تفاله کنجد سبب کاهش عدد پراکسید در روغن‌های مورد مطالعه شد همچنین عصاره تفاله کنجد در مقایسه با ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHT اثر آنتی‌اکسیدانی بهتری داشت [۳۷].

در مطالعه حاضر افزودن عصاره‌های اتانولی به روغن سویای بدون آنتی‌اکسیدان سبب کاهش معنی‌دار عدد پراکسید و عدد تیوباریتوریک اسید طی فرآیند اکسیداسیون تسریع یافته گردید که بدلیل نقش آنتی‌اکسیدانی این عصاره‌ها می‌باشد که با نتایج سایر محققین همخوانی دارد [۳۶ و ۳۸].

همان‌طور که از شکل ۶- c مشاهده می‌شود بالاترین مقدار عدد تیوباریتوریک اسید در نمونه‌های شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان و نمونه‌های روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشاهده شد در حالی که افزودن عصاره‌های اتانولی منجر به کاهش معنی‌دار عدد تیوباریتوریک اسید نمونه‌های روغن طی فرآیند اکسیداسیون تسریع یافته شده بود. پایین‌ترین میزان عدد تیوباریتوریک در نمونه‌های روغن حاوی عصاره‌های اتانولی مشاهده شد. همچنین عصاره‌های اتانولی دانه زنیان در کلیه غلظت‌های اضافه‌شده به روغن باعث کاهش عدد تیوباریتوریک اسید روغن در مقایسه با نمونه شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان شد و با افزایش غلظت عصاره میزان عدد تیوباریتوریک اسید نمونه‌های روغن طی اکسیداسیون تسریع یافته نیز کاهش یافت. با افزایش زمان گرمخانه گذاری در دمای ۹۰ درجه سلسیوس میزان عدد تیوباریتوریک اسید نمونه‌های روغن روند صعودی را نشان داد که به علت تأثیر دما و زمان بر تشکیل ترکیبات ثانویه حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه شد میزان عدد تیوباریتوریک اسید در روزهای ابتدایی بسیار پایین است، زیرا این اندیس در اثر تجزیه هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در روزهای اول و تبدیل آن‌ها به آلدئیدها و کتون‌ها افزایش می‌یابد. در نتیجه با پیشرفت روزهای آزمایش و در روزهای پایانی مقدار این اندیس بیشتر افزایش می‌یابد.

واکنش‌های مخرب هیدرولیزی در روغن‌های سرخ کردنی است [۳۴]. تحقیق حاضر نشان داد که نمونه‌های شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان دارای بالاترین مقادیر عدد اسیدی بودند کلیه ی غلظت‌های عصاره‌های اتانولی دانه زنیان سبب کاهش عدد اسیدی در مقایسه با گروه شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان شدند. اسماعیل زاده و مهدی پور (۱۳۹۱) با بررسی اثر عصاره متانولی پوست کیوی بر میزان عدد اسیدی طی ۶۰ روز نگهداری روغن آفتابگردان نشان دادند که غلظت ۸۰۰ ppm از عصاره این گیاه سبب کاهش بیشتر عدد اسیدی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی شد [۳۵] که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

همان‌طور که از شکل ۶- b مشاهده می‌شود بالاترین مقدار عدد پراکسید در نمونه‌های شاهد فاقد آنتی‌اکسیدان مشاهده شد در حالی که افزودن آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و عصاره‌های اتانولی منجر به کاهش معنی‌داری عدد پراکسید در نمونه‌های روغن طی فرآیند اکسیداسیون تسریع یافته شده بود. پایین‌ترین میزان عدد پراکسید در نمونه‌های روغن حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مشاهده شد. همچنین عصاره‌های اتانولی دانه زنیان در کلیه غلظت‌های اضافه‌شده به روغن باعث کاهش عدد پراکسید روغن در مقایسه با نمونه شاهد بدون آنتی‌اکسیدان شد و با افزایش غلظت عصاره میزان عدد پراکسید نمونه‌های روغن طی فرآیند اکسیداسیون تسریع یافته نیز کاهش یافت. غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ درصد عصاره آبی- اتانولی در روزهای ۲، ۳ و ۴ گرمخانه گذاری در دمای ۹۰ درجه سلسیوس باعث کاهش بیشتری در مقدار عدد پراکسید نمونه‌های روغن حتی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT شده بودند.

محصولات اولیه اکسیداسیون روغن‌ها در شرایط حرارتی پایدار نبوده و تجزیه آن‌ها سبب تشکیل ترکیبات ثانویه اکسایش می‌شود آلدئیدها و کتون‌ها جزء مهم‌ترین محصولات اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشند که نسبت به ترکیبات پراکسیدی پایدارتر بوده و موجب ایجاد طعم بد در روغن‌های خوراکی اکسیده می‌شوند [۱]. مطالعه ماریود و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم از عصاره متانولی برگ و ریشه *Guiera senegalensis* و برگ‌های

## ۴- نتیجه گیری

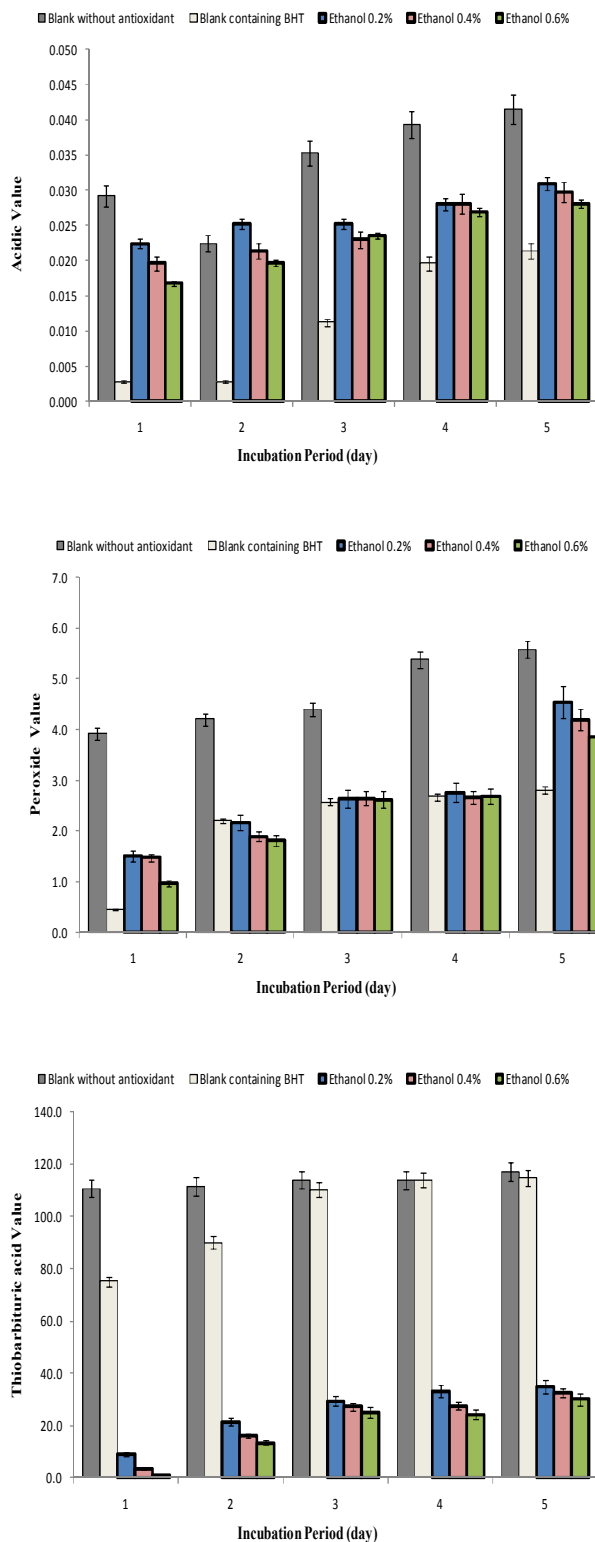
تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که با افزودن آب به حلال‌های مورد مطالعه کارایی آن‌ها در استخراج ترکیبات فنولی افزایش یافته و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصل افزایش می‌یابد که به علت افزایش قطبیت حلال می‌باشد مطابق با شاخص‌های پایداری روغن مورد مطالعه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ روز بهترین نتایج مربوط به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و غلظت‌های بالاتر عصاره‌های استخراجی با حلال اتانول بود که پایداری روغن تحت تأثیر مواد فنولی و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره دانه زینان می‌باشد؛ بنابراین می‌توان با توجه به خصوصیات رنگی و طعمی روغن از آنتی‌اکسیدان طبیعی به جای استفاده از آنتی‌اکسیدان سنتزی در پایدارسازی روغن استفاده نمود. البته بایستی در نظر گرفت که افزودن آنتی‌اکسیدان طبیعی به روغن بر اساس استانداردهای ملی و بین‌المللی صورت گیرد و در صورت عدم وجود استاندارد در این زمینه با توجه به ویژگی‌های کیفی محصول تولیدی اقدام به تهیه استاندارد مورد نیاز شود.

## ۵- سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا همدان بدلیل حمایت‌های مالی صمیمانه قدردانی می‌شود.

## ۶- منابع

- [1] Kamal-Eldin A. (2006). Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *Eur J Lipid Sci Tech.*, 58, 1051-1061.
- [2] Parker T.D., Adams D.A., Zhou K., Harris M., Yu L. (2003). Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. *J Food Sci.*, 68, 1240-1243.
- [3] Halli Well B., Gutteridge J.M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. 3th ed. Oxford University Press, Oxford, pp 246-247.
- [4] Irwandi J., Che Man Y.B., Kitts D.D. (2000). Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. *Food Res Int.*, 33, 501-508.
- [5] Mahdavi, D.I., deshpande, S.S., salunkhe, d.k. (1995). *Food antioxidants*. Marcel Dekker, INC, Newyork, pp 240-275.



**Fig 6** Effect of ethanolic extracts on a; Acid value changes, B; Peroxide value changes and C; Thiobarbituric acid value changes in the oil samples during period of accelerated oxidation

- [18] Clifford M.N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates-Nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J Sci Food Agric.*, 80, 1033-1043.
- [19] Somsab W., Kongkachuichai R., Sungpuag P., Charoensiri R. (2008). Effects of three conventional cooking methods on vitamin C, tannin, myo-inositol phosphates contents in selected Thai vegetables. *J Food Comp Anal.*, 21, 187-197.
- [20] Spigno G., Tramelli L., De Faveri M.D. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *J Food Eng.*, 81, 200-208.
- [21] Zhou K, Yu L. (2004). Effects of extraction solvent on the wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT - Food Sci Technol.*, 37, 717-721.
- [22] Turkmen N., Sari F., Sedat-Velioglu Y. (2006). Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chem.*, 99, 835-841.
- [23] Yu J., Ahmedna M., Goktepe I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chem.*, 90, 199-206.
- [24] Oliveira I., Coelho V., Baltasar R., Pereira J.A., Baptista P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food Chem Toxicol.*, 7, 1507-1511.
- [25] Kumaran A., Karunakaran R.J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Sci Technol.*, 40(2), 344-352.
- [26] Benzie I.F.F., Szeto Y.T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing antioxidant power assay. *J Agr Food Chem.*, 47, 633-636.
- [27] Gao X., Ohlander M., Jeppsson N., Bjork L., Trajkovski V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *J Agr Food Chem.*, 48, 1485-1490.
- [28] Yildirim A., Mavi A., Oktay A.A., Algur O.F., Bilaloglu V. (2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activity of tilia
- [6] Henry G.E., Momin R.A., Nair M.G., Dewitt D.L. (2002). Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food. *J Agr Food Chem.*, 50, 2231-2234.
- [7] Mansouri G., Embarek G., Kokkalou E., Kefalas P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.*, 89, 411-420.
- [8] Mazaheri Kalahrodi M., Bassiri A., Jalali H. (2014). Evaluation of antioxidant properties of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare*) and its effect on the oxidative stability of soybean oil. *Iranian J Biosyst Eng.*, 45(2), 131-139.
- [9] McDonald S., Prenzler P.D., Autolovich M., Robards K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chem.*; 73, 73-84.
- [10] Yildirim A., Mavi A., Kara A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agr Food Chem.*, 49, 4083-4089.
- [11] Blois M.S., (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.*, 26, 1199-1200.
- [12] Arabshahi-Delouee S., Urooj A. (2006). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem.*, 102, 1233-1240.
- [13] Shantha N.C., Decker E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *J AOAC Int.*, 77(2), 421-424.
- [14] Vyncke W. (1970). Direct Determination of the Thiobarbituric Acid Value in Trichloroacetic Acid Extracts of Fish as a Measure of Oxidative Rancidity. *Eur J Lipid Sci Technol.*, 72, 1084-1087.
- [15] Garmakhany A.D., Mirzaei H.O., Nejad M.K., Maghsudlo Y. (2008). Study of oil uptake and some quality attributes of potato chips affected by hydrocolloids. *Eur J Lipid Sci Technol.*, 110, 1045-1049.
- [16] Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Bahloul N., Lognay G., Drira N.E. (2004). Date seed oil: Phenolic, tocopherol and sterol profiles. *J Food Lipids.*, 11, 251-265.
- [17] Morello J.R., Motilva M.J., Tovar M.J., Romero M.P. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chem.*, 85: 357-364.

- mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) tubers. *Sep Purif Technol.*, 55, 217-225.
- [34] Gertz, C. (1996). Chemical changes of oils and fats at elevated temperatures, In: Bell, B.M., *Fat in the Diet*, Bridgwater, UK, pp 11-16.
- [35] Esmaeilzadeh Kenari R., Mehdipoor S.Z. (2012). Antioxidant effect of kiwi peel methanolic extract on oxidative stability of sunflower oil during storage condition. *IFSTRJ.*, 8(2), 245-250.
- [36] Mariod, A., Matthaus, B and Hussein, I. H. 2006. Antioxidant activities of extracts from *Combretum hartmannianum* and *Guiera senegalensis* on the oxidative stability of sunflower oil. *Emir. J. Agric. Sci.* 18 (2):20-28.
- [37] Suja, K. P., Abraham, J. T., Thamizh, S. N., Jayalekshmy, A and Arumughan, C. 2004. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chemistry.* 84, 3:393-400.
- [38] Ayoughi F., Barzegar M., Sahari M., Naghdi Badi H. (2009). Antioxidant Effect of Dill (*Anethum graveolens* Boiss.) Oil in Crude Soybean Oil and Comparison with Chemical Antioxidants. *JMP.*, 2 (30), 71-83.
- (*Tilia argenta* Desf. Ex. D. C.), sage (*Salvia triloba* L.) and black tea (*Camellia sinensis* L.) extracts. *J Agr Food Chem.*, 48, 5030-5034.
- [29] Chun, S. S., Vattem, D. A., Lin, Y. T., & Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicro-bial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, 40,809-816. [30] Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry.* 105: 57-64.
- [31] Kulkarni, A. P., Aradhya, S. M., & Divakar, S. (2004). Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant-punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry*, 87(4), 551-557.
- [32] Mohsen S.M., Ammar A.S.M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.*, 112: 595-598.
- [33] Chirinos R., Rogez H., Campos D., Pedreschi R., Larondelle Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from

## Ajowan seed ethanolic extract: extract optimization, phenolic compounds and antioxidant properties

Moshiri Roshan, A. <sup>1</sup>, Sari, A. A. <sup>2\*</sup>, Aghajani, N. <sup>3</sup>, Daraei Garmakhany, A. <sup>4</sup>

1. MSc graduated, Department of food hygiene and quality control, Faculty of veterinary science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2. Assistant Professor, Department of food hygiene and quality control, Faculty of veterinary science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
3. Assistant Professor, Department of food Science and Technology, Bahar Faculty of food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
4. Assistant Professor, Department of food Science and Technology, Faculty of Engineering and Natural resources of Touyserkan, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

(Received: 2018/10/13 Accepted: 2020/05/31)

Oils and fats under the influence of several factors such as oxygen, light, heat, metal ions and enzyme are oxidized. Use of synthetic antioxidants due to the possibility of toxicity and carcinogenicity, has been under questioned. The aim of this study was to optimize the extraction conditions of Ajowan seed extracts and evaluate their antioxidant properties. In this study Ajowan seed under different concentration of solvents (water and ethanol in 0, 50 and 100% concentration), extraction time (0.25, 12 and 24 hours) and different temperatures (20, 50, 80 °C) were prepared. The optimal extraction conditions were defined by response surface methods and extraction was performed at the optimum condition. Then different concentrations (0.2, 0.4 and 0.6%) of optimum extracts were prepared and added to the non- containing antioxidant soybean oil. All treatments were kept under 90 °C for 5 days. Acidic value, peroxide value and thiobarbituric acid (TBA) were performed on each treatment in every day. Data analysis showed that addition of water to the solvent increased phenolic compounds extracts and antioxidant activity. According to the results of the thermal stability of soybean oil, the best results were related to BHT and other higher concentrations of ethanolic extracts. The results of the present study showed that the ethanolic extracts of Ajowan seed can be used as natural antioxidants in the formulation of edible oils.

**Keywords:** Ajowan seed, Natural antioxidant, Ethanolic

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: sari\_abas@yahoo.com.