

علمی پژوهشی

## بهینه سازی استخراج عصاره اتانولی گیاه تاتاری پرگل (*Carduus pycnocephalus* L.) به روش سطح پاسخ و مقایسه اثر آنتی اکسیدانی عصاره و اسانس بر پایداری اکسایشی روغن سویا

مهدی عبادی<sup>۱</sup>، زهرا لطیفی<sup>۲\*</sup>، میلاد دانش نیا<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران

۳- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۱۰)

### چکیده

یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها افزودن آنتی اکسیدان است، اما با توجه به اینکه آنتی اکسیدان‌های سنتزی امکان ایجاد اثرات نامطلوبی را در بدن دارند، به تدریج از فهرست آنتی اکسیدان‌های مصرفی حذف می‌شوند. بنابراین تهیه و تولید انواع طبیعی آن‌ها ضروری است. لذا در این پژوهش، هدف بررسی امکان استفاده از عصاره طبیعی استخراج شده از گیاه تاتاری پرگل به منظور جلوگیری از اکسایش روغن سویا و مقایسه آن با اسانس می‌باشد. در این پژوهش، فرایند استخراج توسط فناوری اولتراسوند با ۳ متغیر و هر کدام در ۲ سطح که شامل غلظت (۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ پی. پی. ام)، زمان (۳۰-۱۰ دقیقه) و دما (۳۵-۵۵ درجه سانتی‌گراد) می‌باشد و توسط روش سطح پاسخ انجام شد. برای بررسی اثر آنتی اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره بر پایداری اکسایشی روغن سویا، از اندازه‌گیری عدد پراکسید و شاخص مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتریک استفاده گردید. نتایج فرایند بهینه‌سازی نشان داد شرایط بهینه شامل: دما ۴۸.۳۲۳ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۹.۲۰۱ دقیقه و غلظت ۵۹۴.۷۴۵ پی. پی. ام می‌باشد. با توجه به نتایج بهینه‌سازی، میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد و ترکیبات فولین به ترتیب ۳۲.۵۳۷ درصد و ۴۰.۷۳۷ گزارش شد. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد هر دو نوع تیمار عصاره استخراج شده و اسانس در جلوگیری از اکسایش روغن موثر بودند که در این میان تاثیر عصاره استخراجی، بیشتر از اسانس بود که دلیل این امر را می‌توان مرتبط با اثر سینرژیستی عصاره‌ها روی یکدیگر و نیز نوع مواد استخراج شده در دو روش مرتبط دانست. با توجه به اینکه عصاره ترکیبی بیشترین اثرات آنتی اکسیدانی را در روغن داشته است و نسبت به اسانس در روغن موثرتر عمل نموده است، می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی اکسیدان سنتزی در روغن‌های سرخ کردنی باشد.

**کلید واژگان:** تاتاری پرگل، پراکسید، سطح پاسخ، قدرت رادیکال گیرندگی

\* مسئول مکاتبات: yasamin.latifi131@yahoo.com

## ۱- مقدمه

امروزه روغن‌های گیاهی به دلیل آثار مفیدی چون کاهش کلسترول، بیشتر مورد توجه قرار گرفته و به صورت‌های مختلفی نظیر روغن‌های سالادی، پخت و پز و سرخ کردنی به رژیم غذایی افراد راه پیدا کرده‌اند. روغن‌های خوراکی مختلف حائز درجه غیر اشباعیت و ساختار اسید چرب متفاوتی بوده، کیفیت و کمیت ترکیبات غیر تری‌گلیسریدی آن‌ها با هم متفاوت است. تفاوت‌های ساختاری به نوبه خود به تفاوت در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و پایداری اکسایشی آن‌ها منجر می‌گردد [۱]. فرایند اکسیداسیون و تخریبات اکسیداسیونی که منجر به ایجاد بد طعمی، کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌شود ضایعات اقتصادی بسیاری را در بر دارد لذا یکی از مهم ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌گردد [۲].

از طرفی روغن‌ها و چربی‌ها طی نگهداری در درجه حرارت‌های بالا اکسیده می‌شوند و کیفیت تغذیه‌ای آنها کاهش می‌یابد [۳]. فرایند اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها و تشکیل رادیکال‌های آزاد سبب ایجاد و پیشرفت بیماری‌های قلبی و سرطان می‌شود [۴]. با مصرف رژیم‌های غذایی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در میوه‌ها و سبزی‌ها مانند آلفاتوکوفرول، گلوکاتینون، بتاکاروتن و اسیداسکوربیک و غیره می‌توان از این آسیب‌ها جلوگیری کرد [۵]. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی معمولاً برای ممانعت از واکنش اکسیداسیون استفاده می‌شوند. اثرات سمی و سرطان‌زایی این آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در انسان شناخته شده است. همچنین، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ممکن است باعث تورم کبد شوند و روی فعالیت‌های آنزیمی کبد تاثیر بگذارند [۶].

مطالعات نشان می‌دهد که دلیل محافظت آنتی‌اکسیدان‌ها از چربی‌ها احتمالاً به خاطر توانایی این ترکیبات در گیرندگی رادیکال‌های آزاد است. در حقیقت آنتی‌اکسیدان‌ها به وسیله واکنش با رادیکال‌های آزاد قبل از واکنش با اسیدهای چرب یا فلزات، از اکسیداسیون ممانعت می‌کنند [۷].

آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر داشتن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در کاهش سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی و سایر مشکلات حادی که با پیری در ارتباط هستند تأثیر داشته باشند [۸]. از این رو در پژوهش حاضر، منبع طبیعی آنتی

اکسیدانی به نسبت فراوان، ارزان و قابل دسترس از جمله عصاره و اسانس گیاه تاتاری پرگل جهت پایداری به روغن گیاهی بدون آنتی‌اکسیدان اضافه می‌شوند و اثرات پایداری آن مورد بررسی قرار می‌گیرد.

تاتاری گیاهی است از خانواده کاسنی که در زبان انگلیسی، *Thistle* و *Bristle thistle* نامیده می‌شود و نام علمی آن *Carduus Pycnocephalus L* می‌باشد. ریشه، برگ و دانه آن مصرف دارویی دارد. در طب سنتی ایران برای درمان بیماری‌های کبد، طحال، زردی، یبوست، سرما خوردگی، درد معده و همچنین روماتیسم استفاده می‌شود. این گیاه دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های بیولوژیکی از جمله ضد التهاب، ضد اسپاسم، ضد سرطان، ضد ویروس و ضد باکتری می‌باشد. مطالعات فیتوشیمیایی روی این گیاه نشان داده ترکیباتی از جمله فلاونوئیدها، کومارین، آلکالوئیدها، استرول‌ها و تری‌ترپن‌ها در تاتاری پرگل وجود دارند. تقریباً ۱۰۰ گونه از این گیاه در سراسر جهان و به طور گسترده در سراسر دریای مدیترانه توزیع شده است [۹]. در ایران در ارتفاعات شمال غرب بیرجند، شمال خوسف، ارتفاعات درمیان، قاین، سرایان و فردوس در اواخر فصل بهار و در تابستان به وفور یافت می‌شود.

مطالعات متعددی استفاده از فراصوت را برای استخراج ترکیبات فنولی از منابع گیاهی گزارش کرده‌اند [۱۰]. تپه و همکاران در سال ۲۰۰۵، ترکیبات اسانس *Cyclotrichium & Schenge* را با *GC/MS* شناسایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره آن را با استفاده از دو روش DPPH و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی کردند و دریافتند عصاره دارای فعالیت بالاتری نسبت به اسانس است [۱۱]. وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۸، ترکیبات فنولی سبوس گندم را به کمک روش فراصوت استخراج کردند و تاثیر پارامترهای حلال، دما و زمان را روی میزان استخراج مورد بررسی قرار دادند. در بررسی آن‌ها از یک حمام فراصوت و سه حلال متانول ۷۰ درصد، استون و اتانول ۸۰ درصد در دامنه دمایی ۲۵ الی ۷۵ درجه سانتی‌گراد و زمان بین ۱۰ تا ۵۰ دقیقه استفاده شد. آنها گزارش کردند که در شرایط یکسان دمایی و زمانی، بیشترین استخراج ترکیبات فنولی توسط حلال اتانول صورت گرفت، همچنین با افزایش زمان و دما، میزان استخراج این ترکیبات

نگهداری گردید.

## ۲-۲- استخراج با امواج فراصوت

نمونه گیاه پودر شده و حلال به نسبت ۱ به ۸ با هم مخلوط شدند. حلال آب و اتانول به نسبت ۱ به ۱۰ میلی‌لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. مخلوط نمونه و حلال در معرض امواج فراصوت در دمای محیط در سه زمان ۱۰، ۳۰، ۶۰ دقیقه قرار گرفتند. امواج فراصوت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوبی ۴۰۰ اس با قدرت ۴۰۰ وات و پروب H از جنس تیتانیوم با قطر ۷ میلی‌متر، طول ۱۰۰ میلی‌متر cycle به کار گرفته شد [۱۷].

## ۲-۳- آزمون‌های شیمیایی

### ۲-۳-۱- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی عصاره

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو انجام گرفت. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده گردید. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب اسید گالیک و با استفاده از معادله به‌دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد [۱۸].

### ۲-۳-۲- اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره و اسانس

در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده DPPH به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره در متانول به‌طور جداگانه هرکدام به ۲ میلی‌لیتر محلول ۰.۰۰۴ درصد (DPPH) اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید [۱۹].

معادله (۱)

$$100 \times \left( \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \right) = \text{درصد مهار رادیکال آزاد}$$

این فرمول جذب نوری شاهد منفی (فاقد عصاره) و میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان کرده است.

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

افزایش یافت [۱۲]. در تحقیقی که توسط غفور و چلی در سال ۲۰۰۹، برای بهینه‌سازی شرایط استخراج به‌وسیله سه پارامتر غلظت حلال، دمای استخراج و زمان استخراج روی پوست انگور به کمک امواج فراصوت از طریق RSM انجام گرفت مشخص شد با افزایش غلظت و دمای استخراج، مقدار ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد [۱۳].

امروزه تحقیقات زیادی برای یافتن منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی و استفاده از آن‌ها به منظور کاهش اکسایش روغن‌ها در حال انجام است. به عنوان مثال از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی که در روغن‌های سرخ‌کردنی استفاده شده‌اند، می‌توان به عصاره‌های مرزنگوش در روغن پالم، عصاره متانولی برگ چای و عصاره یولاف در روغن پنبه دانه، عصاره‌های رزماری و مریم گلی در روغن پالم، عصاره رازیانه در روغن کتان، آفتابگردان و سویا، عصاره متانولی برگ چای و عصاره یولاف در روغن پنبه دانه، پودر اسفناج در روغن سویا و عصاره سبزیجات برگی (کلم، برگ‌های گشنیز و جعفری، اسفناج و آویشن) در روغن آفتابگردان اشاره نمود [۱۴، ۱۵، ۱۶].

در راستای بررسی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی مواد مؤثره موجود در گیاه تاتاری پرگل، این تحقیق به بهینه‌سازی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی تاتاری پرگل تحت تاثیر غلظت (۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰) پی. پی. ام. مدت زمان (۱۰-۳۰) دقیقه و دماهای (۳۵-۵۵) درجه سانتی‌گراد می‌پردازد. سپس نمونه بهینه به همراه اسانس بر پایداری اکسایشی روغن سویا مقایسه می‌گردند.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- آماده‌سازی نمونه

در این پژوهش، گیاه تاتاری پرگل (*Carduus pycnocephalus L.*)، از عطاری‌ای معتبر در شهرستان سبزوار خریداری شد و پس از تایید کارشناسان گیاهشناسی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور کاهش فعالیت‌های تنفسی و بیولوژیکی تا زمان آزمایش در یخچال، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس توسط آسیاب برقی پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده شده و برای آزمایش‌ها بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک

### ۲-۳-۳- افزودن عصاره بهینه اتانولی و اسانس تاتاری

#### پرگل به روغن سویا

ابتدا کیفیت روغن سویا از طریق اندازه‌گیری اندیس پراکسید و تیوباربتوریک اسید تعیین شد. عصاره اتانولی تغلیظ شده و خشک شده در غلظت بهینه به روغن سویا اضافه شد. عمل اختلاط به کمک همزن مغناطیسی در دمای محیط به مدت ۳۰ دقیقه انجام گردید. هر یک از تیمارها به ظروف نمونه منتقل شدند. اثر تیمارهای به کار رفته روی اکسیداسیون روغن سویا در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت و در فواصل زمانی ثابت ۲۴ ساعت از طریق سنجش اندیس پراکسید و شاخص تیوباربتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت [۲۰].

#### ۲-۳-۴- اندازه‌گیری عدد پراکسید

عدد پراکسید به روش متداول اندازه‌گیری و با استفاده از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) و تیتراسیون آن با تیوسولفات سدیم ۰.۰۱ نرمال و برحسب میلی اکی‌والان پراکسید در ۱۰۰ گرم روغن بیان گردید [۲۰].

معادله (۲)

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

#### ۲-۳-۵- محاسبه شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA)

یک گرم روغن در تتراکلرید کربن حل شد و به آن محلول اسید تیوباربتوریک اضافه گردید، سپس سانتی‌فریژ و قسمت آبی آن جدا شد و در حمام آب جوش قرار گرفت، سپس میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۲۱].

#### ۲-۴- طراحی آزمایش

RSM مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه سازی فرآیندهایی بکار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه متدولوژی رویه پاسخ شده است. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند.

مهمترین مسئله این تحقیق بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود، از این رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب شد، لذا بر این اساس در این پژوهش به منظور بررسی متغیرهای مستقل غلظت ( $X_1$ )، زمان ( $X_2$ )، دما ( $X_3$ ) بر بهینه سازی استخراج عصاره اتانولی گیاه تاتاری پرگل (*Carduus pycnocephalus* L.) به روش سطح پاسخ استفاده شد. بدین منظور از طرح باکس بنکن شامل سه متغیر مستقل غلظت (۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ پی. پی. ام.)، زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) و دما (۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد) با تعداد ۱۷ تیمار و ۳ تکرار در نقطه مرکزی استخراج شد (جدول ۱). مدل مورد استفاده در روش سطح پاسخ، عموماً رابطه درجه دوم کامل یا درجه دوم کاسته می باشد. مدل درجه دوم به صورت زیر می باشد:

معادله (۳)

$$\gamma = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_j^2 + \sum_{i,j} \beta_{ij} X_i X_j$$

در این رابطه  $\beta_0$ ،  $\beta_i$ ،  $\beta_{ij}$  و  $\beta_{ij}$  به ترتیب ضرایب رگرسیونی برای عرض از مبدأ، اثرات خطی، اثرات مربعی و اثرات متقابل و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل هستند. به منظور ارزیابی صحت مدل برازش داده شده، آزمون فقدان یا ضعف برازش، مقادیر  $R^2$  مدل و  $p$  ضرایب تعیین شدند. تأیید کارایی رابطه ارائه شده توسط مدل از طریق مقایسه نتایج حاصل از تولید آن با نتایج پیشگویی شده توسط مدل مورد بررسی قرار گرفت. از نرم افزار Design Expert V.7 به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارهای سه بعدی استفاده گردید. برای بهینه سازی عددی با هدف به حداکثر رسیدن عملکرد کمی استخراج استفاده شده است. نتایج آزمون‌های توتال فنل و درصد مهار رادیکال آزاد با روش‌های آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way - ANOV) و آنالیز واریانس General Linear Model در سطح احتمال ( $p < 0/05$ ) مورد بررسی قرار گرفته و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ( $p < 0/05$ ) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار Spss V.22 انجام گرفته است.

Table 1: Coded Values and Levels of Independent Variables of Optimization Process (Independent Variables)

Independent Variables	Mathematical symbol	Code and level studied		
Density (ppm)	$X_1$	200	500	800
Time (min)	$X_2$	10	20	30
Temperature (°C)	$X_3$	35	45	55

با توجه به جدول (۳) در مورد میزان کل ترکیبات فنولی عصاره گیاه تاتاری پرگل، ارتباط معنی داری بین فاکتورها مشاهده شد. بنابراین، اثر خطی نسبت غلظت به زمان معنی دار نشان داده شد. معادله نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول تاثیر مثبتی بر میزان زمان (B) و غلظت (A) و دما (C) بر میزان کل ترکیبات فنولی عصاره داشتند و جملات مربوط به اثرات درجه دوم  $A^2$ ،  $B^2$  در استخراج ترکیبات فنولیک تاثیر منفی بر میزان کل ترکیبات فنولی داشتند. همچنین اثر متقابل غلظت و زمان (A-B) خطی تاثیر منفی در استخراج الکلی بر میزان ترکیبات فنولی داشتند.

همبستگی بالایی در استخراج الکلی بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش بینی شده توسط مدل وجود داشت ( $R^2 = 0.9892$ ) و می توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تطبیق مدل

از تجزیه و تحلیل آماری داده ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته، استفاده شد. همانطور که در جدول مشاهده می شود مقادیر بالای  $F$ -value ( $F > 0.05$ ) و مقادیر به دست آمده از  $P$ -value ( $p < 0.05$ ) نشان می دهند که مدل استفاده شده معنی دار است. آزمون ضعف برازش مربوط به مدل برازش یافته (چندجمله ای درجه دوم) بر پاسخ معنی دار نبود. که نشان دهنده برازش مدل درجه دو و عدم وجود سایر روابط در تاثیر بر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد DPPH است و می توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارد. تعیین شرایط بهینه به روش صفحات سطح پاسخ از طریق نرم افزار امکان پذیر است.

Table 2 Quantities obtained for the amount of phenolic compounds

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
<b>Model</b>	323.1	9	35.9**	19.68	0.0004
<b>A-concentration</b>	15.93	1	15.93*	8.73	0.0212
<b>B-time</b>	175.59	1	175.59**	96.27	< 0.0001
<b>C-temperature</b>	65.84	1	65.84**	36.09	0.0005
<b>AB</b>	5.45	1	5.45 <sup>ns</sup>	2.99	0.1275
<b>AC</b>	4.28	1	4.28 <sup>ns</sup>	2.35	0.1692
<b>BC</b>	7.65	1	7.65 <sup>ns</sup>	4.19	0.0799
<b>A<sup>2</sup></b>	6.9	1	6.9 <sup>ns</sup>	3.78	0.0929
<b>B<sup>2</sup></b>	12.71	1	12.71*	6.97	0.0334
<b>C<sup>2</sup></b>	24.05	1	24.05**	13.19	0.0084
<b>Residual</b>	12.77	7	1.82		

\*\* Statistical difference in level 1% \* Statistical difference in level 5% <sup>ns</sup> No statistical differences

**Table 3** Quantities obtained for the amount of free radical inhibition

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
<b>Model</b>	362.57	9	40.29**	71.41	< 0.0001
<b>A-concentration</b>	21	1	21**	37.22	0.0005
<b>B-time</b>	212.08	1	212.08**	375.93	< 0.0001
<b>C-temperature</b>	77.56	1	77.56**	137.49	< 0.0001
<b>AB</b>	8.38	1	8.38**	14.86	0.0063
<b>AC</b>	1.95	1	1.95 <sup>ns</sup>	3.45	0.1056
<b>BC</b>	12.46	1	12.46**	22.09	0.0022
<b>A<sup>2</sup></b>	1.37	1	1.37 <sup>ns</sup>	2.42	0.1634
<b>B<sup>2</sup></b>	7.42	1	7.42**	13.15	0.0084
<b>C<sup>2</sup></b>	18	1	18**	31.9	0.0008
<b>Residual</b>	3.95	7	0.5641		

\*\* Statistical difference in level 1% \* Statistical difference in level 5% <sup>ns</sup> No statistical differences

### ۳-۲- بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره تاتاری پرگل

اثر متقابل زمان و غلظت در عصاره بر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۱-الف اثر همزمان دما-غلظت بر درصد مهار رادیکال آزاد مشاهده شده است که با افزایش دما روند افزایشی بوده بطوری که در غلظت ۵۹۴.۷۴۵ پی. پی. ام. حداکثر درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد داشته است در شکل ۱-ب مربوط به اثر همزمان زمان-غلظت، با افزایش زمان روند افزایشی بوده است، مقدار بهینه زمان برای استخراج هیدروالکلی ۲۹.۲۰۱ دقیقه بوده. که در غلظت ۵۹۴.۷۴۵ حداکثر درصد مهار رادیکال آزاد مشاهده شده است، و شکل ۱-ج مربوط به اثر همزمان دما-زمان نشان داد که با افزایش دما و زمان استخراج بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH افزوده گردید. دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با افزایش غلظت را می‌توان مرتبط با مقدار ترکیبات فنولی عصاره دانست، زیرا بر اساس شواهد موجود، ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد [۲۲].

ولی از غلظت ۶۰۰ تا ۸۰۰ پی. پی. ام. میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد کاهش یافت و غلظت بهینه برابر با ۵۹۴.۷۴۵ پی. پی. ام. تخمین زده شد. احتمالاً در غلظت‌های خیلی بالا به دلیل پیدایش نوعی حالت اشباع شدگی، افزایش غلظت تأثیر

معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد ندارد و یک غلظت بحرانی از ترکیبات فنولیک برای مهار رادیکال‌های آزاد کافی است [۲۳]. همچنین با افزایش زمان، میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت و مقدار بهینه زمان برای استخراج هیدروالکلی ۲۹.۲۰۱ دقیقه بدست آمد. مقدار بهینه فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در استخراج عصاره ۳۲.۵۳۷ درصد بود.

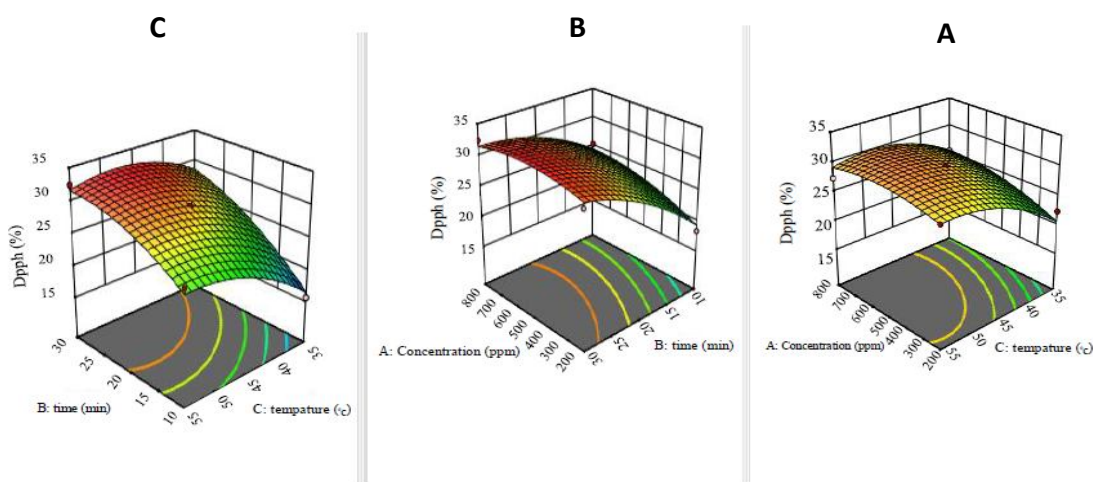
پیرا و همکاران در سال ۲۰۰۷، نیز نشان دادند که در غلظت‌های پایین، ارتباط مستقیمی بین غلظت ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده می‌شود، در حالی که در غلظت‌های بالا مشابه نتایج این پژوهش، شکل منحنی میزان بازداری رادیکال DPPH به صورت خطی راست نمایان می‌شود [۲۴].

ابوباللیان و همکاران در سال ۲۰۱۶، از روش مهار رادیکال آزاد به عنوان یک روش سریع جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند عصاره یاد کردند و نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره از ۵ به ۵۰۰ پی. پی. ام. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برای مهار رادیکال‌های آزاد افزایش یافت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بالاتر از فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بود [۲۵]، که مطابق با نتایج بدست آمده از این پژوهش است.

علت افزایش میزان استخراج ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و DPPH با افزایش زمان فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد-مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که

فراصوت مورد بررسی قراردادند و دریافتند که با افزایش زمان، درصد مهار رادیکال‌های آزاد افزایش یافت [۲۷].  
وازکواز و همکاران در سال ۲۰۱۲، تأثیر سه پارامتر دما، غلظت و زمان استخراج را روی جداسازی آنتی‌اکسیدان‌ها از بلوط مورد بررسی قراردادند. نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن بود که درجه حرارت و غلظت اتانول تنها متغیرهای مستقل معنی‌دار مؤثر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH بودند [۲۸].

باعث تشکیل حباب‌هایی شده که این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند. در نتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این، دیگر اثرها مانند امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام کمک می‌کند [۲۶]. کمالی و همکاران در سال ۲۰۱۵، میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از سنجد زیتنی را به کمک



**Fig 1** shows the changes in the free radical scavenging activity (DPPH) as a result of changes in temperature and concentration (a), concentration and time (b) temperature and time (c).

های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش و احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد باشد، از طرفی بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را می‌توان به محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌ها نسبت داد [۲۹].

ولی از غلظت ۵۰۰ تا ۸۰۰ پی. پی. ام. مقدار ترکیبات فنولی کاهش یافت و دلیل این اتفاق را می‌توان اینطور توجیح کرد که یک غلظت بحرانی از ترکیبات فنولی برای مهار رادیکال‌های آزاد کافی است. احتمالاً در غلظت‌های بالاتر به دلیل پیدایش نوعی حالت اشباع‌شدگی، افزایش غلظت تأثیر معنی‌داری روی میزان مهار رادیکال‌های آزاد ندارد. ضمن اینکه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تا یک حد می‌توانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشند بعد از آن با افزایش غلظت، خاصیت پرواکسیدانی پیدا می‌کنند [۳۱،۳۲].  
وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۸، ترکیبات فنولی سبوس گندم را

### ۳-۳- اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنولی عصاره تاتاری پرگل

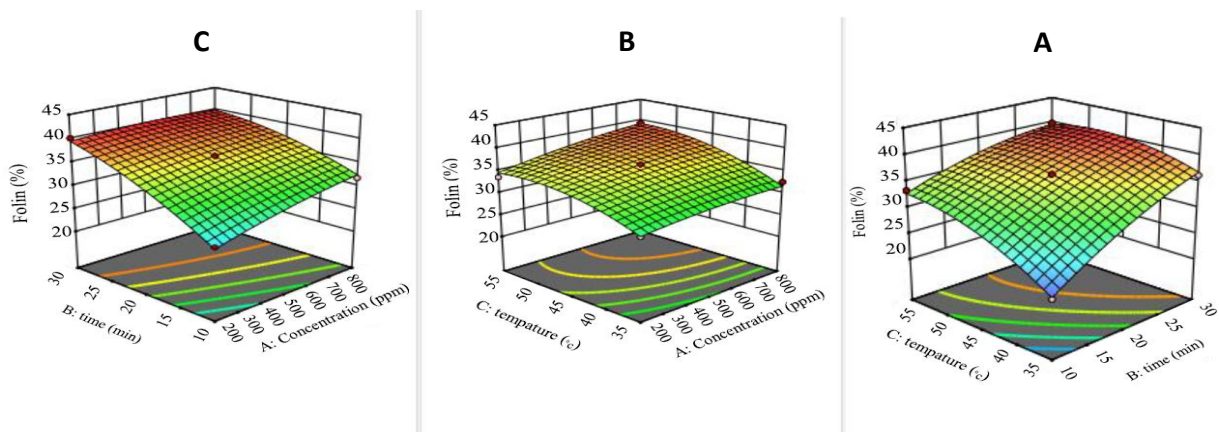
با توجه به شکل ۲-الف اثر همزمان دما-زمان بر درصد استخراج ترکیبات فنولی مشاهده شده است که با افزایش دما تا ۴۸ درجه سانتی‌گراد و زمان تا ۲۹ درجه راندمان استخراج افزایش داشته است در شکل ۲-ب مربوط به اثر همزمان دما-غلظت، با افزایش غلظت تا ۸۰۰ پی. پی. ام. راندمان استخراج افزایش داشته است و شکل ۲-ج مربوط به اثر همزمان زمان-غلظت نشان داد که در زمان ۲۹ دقیقه بالاترین راندمان استخراج در غلظت ۸۰۰ پی. پی. ام. بوده است. لذا مقدار بهینه ترکیبات فنولی در استخراج عصاره برابر ۴۰.۳۷۸ بود. به این ترتیب با افزایش غلظت از ۲۰۰ تا ۸۰۰ پی. پی. ام. میزان کل ترکیبات فنولی و بالطبع قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش یافت. این می‌تواند به دلیل افزایش تعداد گروه

فراصوت از طریق RSM انجام گرفت مشخص شد با افزایش غلظت و دمای استخراج، مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافت [۱۳].

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش زمان فراصوت، میزان استخراج ترکیبات فنولی افزایش یافت. فاکتور زمان، مدت انتقال جرم را افزایش می‌دهد، بنابراین روند صعودی استخراج ترکیبات فنولی با افزایش زمان با توجه به نمودار سطح پاسخ کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. در زمان‌های بالاتر به دلیل وجود بیشتر ترکیبات فنولیک، پلی فنولیک و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در عصاره، روند ممانعت از افزایش عدد پراکسید بیشتر شد و موجب افزایش پایداری روغن سویا گردید.

با روش فراصوت استخراج کردند و تاثیر پارامترهای حلال، دما و زمان را روی میزان استخراج مورد بررسی قرار دادند. در بررسی آنها از یک حمام فراصوت و سه حلال متانول ۷۰ درصد، استون و اتانول ۸۰ درصد در دامنه دمایی ۲۵ الی ۷۵ درجه سانتی‌گراد و زمان بین ۱۰ تا ۵۰ دقیقه استفاده شد. آنها گزارش کردند که در شرایط یکسان دمایی و زمانی، بیشترین استخراج ترکیبات فنولی توسط حلال اتانول صورت گرفت. همچنین با افزایش زمان و دما میزان استخراج این ترکیبات افزایش یافت [۱۲].

در تحقیقی که توسط غفور و چلی در سال ۲۰۰۹، برای بهینه‌سازی شرایط استخراج به وسیله سه پارامتر غلظت حلال، دمای و زمان استخراج روی پوست انگور به کمک امواج



**Fig 2** shows changes in the amount of phenolic compounds due to changes in temperature and time (a), temperature and concentration (b), time and concentration (c).

در این تحقیق هدف از بهینه‌سازی؛ به حداکثر رساندن میزان استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان بود. در نهایت نتیجه به دست آمده از نمونه بهینه از عصاره تاتاری پرگل انتخاب گردید و با اسانس در غلظت بهینه ۵۹۴.۷۴۵ پی.پی.ام. مقایسه گردید. در نهایت این دو نمونه به روغن سویا افزوده شد و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین تأثیر نوع تیمار بر روی پارامترها نشان داد که بین دو تیمار اختلاف آماری معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) وجود دارد.

### ۳-۴- بهینه سازی

از تکنیک بهینه سازی عددی به منظور دستیابی به شرایط بهینه فرآیند استخراج عصاره اتانولی گیاه تاتاری پرگل به روش سطح پاسخ با هدف به حداکثر رساندن عملکرد کمی فرآیند استفاده گردید. نتایج نشان داد که شرایط بهینه استخراج شامل دما ۴۸.۳۲۳ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۹.۲۰۱ دقیقه و غلظت ۵۹۴.۷۴۵ پی.پی.ام. بود. با توجه به نتایج بهینه‌سازی، میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد و ترکیبات فولین به ترتیب ۳۲.۵۳۷ و ۴۰.۷۳۸ درصد گزارش شد.



**Table 4** Comparison of extracts and essential oils under optimum conditions (594.745 ppm concentration)

Type of treatment	peroxide	Thiobarbotic acid
( <i>Carduus pycnocephalus</i> Extract)	2.234 ± 0.013 <sup>b</sup>	0.371 ± 0.018 <sup>b</sup>
(Essential Oils)	2.48 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.410 ± 0.009 <sup>a</sup>

Numbers (Mean±Std.) with different letters in each column have significant statistical differences with each other (p<0.05).

می‌توان به بالا بودن میزان ترکیبات پلی‌فنولی استخراج شده از عصاره با روش اولتراسونیک نسبت داد. ترکیبات پلی‌فنولی به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و دادن اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد تولید شده در حین فرایند از پیشرفت اکسیداسیون جلوگیری می‌نمایند [۳۴].

از آن جایی که اسانس در این مطالعه دارای مقادیر بالای ترکیبات اکسیژن دار و ترکیبات فنولیک است، می‌توان نتیجه گرفت که اسانس به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، توانایی واکنش با رادیکال‌های (L•, LOO•, OH•, LO•, O<sub>2</sub>) حاصل از اکسیداسیون لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و افزایش زمان اکسیداسیون کند و کاهش سرعت اکسیداسیون خود به خودی می‌گردد [۳۴].

در توضیح مکانیسم عملکرد ترکیب‌های ضد اکسایشی اسانس تاتاری پرگل، این احتمال وجود دارد که ضد اکسایندها علاوه بر مکانیسم رادیکالی، از طریق مکانیسم غیررادیکالی نیز می‌توانند هیدروپراکسیدهای روغن سویا را به مواد غیر رادیکالی تخریب کنند و بنابراین میزان هیدروپراکسیدها و در پی آن، شاخص پراکسید را کاهش دهند. ضمن اینکه، میزان رادیکال‌های آزاد نیز در این حالت کاهش می‌یابند. بنابراین می‌توان این گونه استنباط کرد که، اسانس از آن دسته ترکیب‌های ضد اکسایشی است که نحوه عملکرد ضد اکسایشی آن، از طریق تجزیه ترکیب‌های هیدروپراکسید به مواد غیررادیکالی است [۳۵]. افزودن بیش از حد ترکیب‌های فنولیک به روغن سویا، اثر ضد اکسایشی را کاهش می‌دهد. علت این موضوع را به افزایش میزان ناخالصی‌ها در اسانس به موازات افزایش ترکیب‌های فنولیک و ایجاد خطا در سنجش میزان جذب نسبت می‌دهند. علت دیگری که برای این موضوع ذکر می‌شود شرکت ترکیب‌های فنولیک و فلاونوئیدهای موجود در اسانس در واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی است که به از دست رفتن خاصیت ضد اکسایشی در آن‌ها می‌انجامد [۳۶]. اسانس در به تأخیر انداختن تشکیل محصولات اولیه‌ی

### ۳-۵- تعیین اندیس پراکسید

عدد پراکسید یکی از پرکاربردترین شاخص‌های کیفی است که مقدار کل پراکسیدهای موجود در روغن را به عنوان فرآورده‌های اولیه حاصل از اکسایش نشان می‌دهد. کاهش پراکسید پس از رسیدن به حد بیشینه آن طی مراحل ابتدایی اکسایش گزارش شده است که بیانگر ناپایدار بودن پراکسیدها و شکست آنها به فرآورده‌های ثانویه طی مراحل بعدی اکسایش است. تعیین عدد پراکسید جهت ارزیابی روغن‌های سرخ کردنی خیلی مناسب نیست چرا که به دلیل شکست و تشکیل مجدد هیدروپراکسیدها در مراحل بعدی اکسایش عدد پراکسید مستعد تغییر است [۳۳]. عدد پراکسید به عنوان شاخص اولیه اکسیداسیون مطرح بوده، که در درجه حرارت‌های بالا ناپایدار بوده و به سهولت به مخلوطی از ترکیبات فرار آلدئید تبدیل می‌شود، بنابراین عدد پراکسید نمی‌تواند معیار مناسبی جهت تعیین پیشرفت واقعی اکسیداسیون باشد [۱۱].

با توجه به جدول ۴، در نمونه عصاره، میزان اندیس پراکسید روغن کاهش یافت که به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی موجود در عصاره تاتاری پرگل می‌باشد. افزایش ترکیبات فنولی موجود در آن، منجر به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت مهارکنندگی در روغن شده که به نوبه خود باعث کاهش اندیس پراکسید و در نتیجه افزایش پایداری اکسایشی روغن سویا می‌گردد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود، افزودن عصاره تاتاری پرگل به روغن سویا منجر به کاهش عدد پراکسید نسبت به اسانس شد که به دلیل وجود ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره مذکور می‌باشد ولی عصاره نسبت به اسانس، عدد پراکسید بالاتری نشان داد. تشکیل هیدروپراکسید در نمونه عصاره استخراج شده علاوه بر نتیجه عمل اتواکسیداسیون می‌تواند تا حد کمی به واکنش اکسیداسیون آنزیمی مربوط باشد. علت را

تیمار می‌باشد. در تیمارهای اولتراسونیک (تیمار عصاره استخراج شده) به دلیل کاهش عدد پراکسید در پی استخراج بیشتر ترکیبات فنولیک نسبت نمونه اسانس به طور معنی‌داری کمتر می‌باشد، مقدار هیدروپراکسیدها با سرعت بیشتری تشکیل شده و به بالاترین مقدار خود رسید و باعث افزایش ناگهانی در روغن می‌گردد. بالا بودن میزان ترکیبات فنولی در عصاره در مقایسه با اسانس را می‌توان به تفاوت در نوع روش تهیه و استخراج، ماهیت شیمیایی آنها و نیز تفاوت بودن ترکیبات مؤثره هر کدام از آنها مرتبط دانست و بالا بودن در ترکیبات فنولی لزوماً قدرت بالاتر آنتی‌رادیکالی را ایجاد نمی‌کند. در واقع این پدیده نشانگر آن است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی دیگری نیز علاوه بر ترکیبات فنولی در این عصاره موجود است که حلال اتانول توانایی استخراج بیشتری از آنها را دارد [۳۹].

در تحقیقی مشابه، عیوقی و همکاران در سال ۱۳۸۸، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس شوید (*Anethum graveolens*) را در روغن سویا بررسی نمودند. آنها همچنین رفتار آنتی‌اکسیدانی این اسانس را در روغن سویای خام، با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیوتوریک اسید مورد ارزیابی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که اسانس شوید توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون در روغن سویای خام را در سطح غلظتی ۰.۶ میلی گرم در میلی لیتر که تقریباً معادل با آنتی‌اکسیداسیون شیمیایی BHA در سطح غلظتی ۰.۱ میلی گرم در میلی لیتر می‌باشد را دارا می‌باشد [۳۴].

در گزارش عزیزخان و عطایی در سال ۲۰۱۲، آمده که اسانس نعناع، فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در برابر باکتری‌های مورد آزمایش نشان داده در حالی که عصاره متانولی تقریباً غیرفعال بوده است. از سوی دیگر عصاره متانولی نعناع فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به اسانس نعناع در بازداری سیستم رادیکال آزاد DPPH کاروتن/لینولیک اسید نشان داده است [۴۰].

#### ۴- نتیجه‌گیری

فرایند بهینه سازی، نشان داد شرایط بهینه شامل: دما ۴۸.۳۲۳ درجه سانتی گراد و زمان ۲۹.۲۰۱ دقیقه و غلظت ۰.۵۹۴.۷۴۵ پی.

اکسیداسیون نسبت به عصاره استخراج شده، به مقدار ناچیزی تاثیر کرده است. نتایج نشان دادند در عصاره استخراج شده هر دو نوع ترکیبات فعال قطبی و چربی دوست حضور دارند و شرایط مختلف استخراج بر خروج این ترکیبات تأثیرات متفاوتی دارد. دلیل کمتر بودن عدد پراکسید در نمونه‌های روغن حاوی عصاره را می‌توان به نوع ترکیبات سازنده عصاره نسبت داد. هر دو روش در خارج ساختن ترکیبات مؤثره از گیاه مفید بوده و ترکیبات متنوعی را استخراج می‌نمایند که هر ترکیب عملکرد متفاوتی در جلوگیری از فرآیند اکسایش روغن خواهد داشت. لذا عصاره ترکیبی مؤثرتر عمل نموده است [۳۷].

مطالعه‌ای در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست و دانه انگور، توسط عماد در سال ۲۰۰۶، در روغن آفتابگردان انجام گرفت و نتایج نشانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره پوست، به علت وجود ترکیبات فنولیک بیشتر در آن بود، به عبارت دیگر اثرات پرواکسیدانی در عصاره دانه بیشتر دیده شد [۳۸].

#### ۳-۶- تعیین شاخص تیوباربیوتوریک اسید (TBA)

ترکیبی تحت عنوان مالون دی آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب دارای سه و یا تعداد بیشتری باند دوگانه به وجود می‌آید که این ترکیب در مقادیر بسیار کم به عنوان معرف جهت اکسیداسیون چربی‌ها به کار می‌رود. محصولات اکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع با تیوباربیوتوریک اسید (TBA) ایجاد کمپلکس قرمز رنگ می‌کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۵-۵۳۲ نانومتر جذب خوبی دارد. اندیس TBA، میلی گرم مالون دی آلدئید موجود در یک کیلوگرم روغن را نشان می‌دهد و بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون چربی و حضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه است؛ بنابراین بالا بودن این اندیس در روغن نشان دهنده اکسیداسیون بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است.

با مقایسه عدد پراکسید و تیوباربیوتیک می‌توان به ارتباط مستقیم بین تولید هیدروپراکسید و افزایش عدد تیوباربیوتیک اسید اشاره کرد. طبق این جدول (۴) می‌توان بیان کرد در تیمار عصاره تاتاری پرگل استخراج شده میزان این اندیس نسبت اسانس پایین تر می‌باشد، که به دلیل پایین بودن میزان شاخص پراکسید در این

- Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chem*; 85 (2): 215-220.
- [4] Kinsler, T.W., and Taffe, B.G. 1986. Free radicals in tumor promotion. *Adv free radical. Biol Med*; 2: 347-388.
- [5] Jones, D.P., Coates, R.J., Flagg, E.W., Block, G., Greenberg, R.S., Gunter, E.T., and Jackson, B. 1992. Glutathione in foods listed in the national cancer Institutes health habits and history food frequency questionnaire. *Nutr cancer*; 17: 57-75.
- [6] Martin, A.D., and Gilbert, D. 1968. Enzyme change accompanying liver enlargement in rats treated with 3-tert.butyl-4-hydroxyanisol. *Biochem J*; 106 :22-27.
- [7] Cheung, L.M., Peter, C.K., Cheung, C.K., Ooi, E.C. 2003. Antioxidant activity and total phenolic of edible mushroom extracts. *Food Chem.*, 87(2), 240-255.
- [8] Henry, G.E., Momin. R.A., Nair, M.G., Dewitt, D. L. 2002. Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2231-2234.
- [9] Latifa A. Al-Shammari, Wafaa H.B. Hassan, Hanan M. Al-Youssef . 2012. Phytochemical and biological studies of *Carduus pycnocephalus* L. *Journal of Saudi Chemical Society* (2012) 19, 410-416
- [10] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorime, JP., and Manson, TJ. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrason Sonochem*; 11(3-4): 261- 265.
- [11] Tepe, B., Sokmen, M., Sokmen, A., Daferera, D., and Polissiou, M. 2005. Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of *Cyclotrichium origanifolium* (Labill.) Manden. & Scheng. *J Food Eng.* 69: 335-342.
- [12] Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. 2008. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106: pp. 804-810.
- [13] Ghafoor, K., and Choli, H. 2009. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compound and antioxidant from grape peel through response surface methodology. *Journal of the Koran Society for Applied Biological chemistry*, 52(3):295-300.
- پی. ام بوده است. با توجه به نتایج بهینه‌سازی، میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد و ترکیبات فولین به ترتیب ۳۲.۵۳۷ و ۴۰.۷۳۸ درصد گزارش شد. 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 تاحد امکان تمامی پاسخ‌ها را به نحو رضایت بخشی بهینه نماید.
- نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد که مقدار ترکیبات فنولی در عصاره استخراج شده به روش اولتراسوند بالاتر از اسانس بود. بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره استخراج شده با روش اولتراسوند بود. یک رابطه مثبت منطقی بین میزان ترکیبات مؤثره در عصاره و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مشاهده شد. بطوریکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره استخراج شده به روش اولتراسوند به دلیل بالاتر بودن ترکیبات مؤثره، نسبت به اسانس بیشتر بود. هر دو نوع تیمار عصاره استخراج شده و اسانس، در جلوگیری از اکسایش روغن مؤثر بودند که در این میان تأثیر عصاره استخراجی بیشتر از اسانس بود که دلیل این امر را می‌توان مرتبط با اثر سینرژیستی عصاره‌ها روی یکدیگر و نیز نوع مواد استخراج شده در دو روش مرتبط دانست. در مجموع نتایج این طرح پیشنهاد می‌کند که با توجه به اینکه عصاره ترکیبی بیشترین اثرات آنتی‌اکسیدانی را در روغن داشته است و نسبت به اسانس در روغن مؤثرتر عمل نموده است و می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی در روغن‌های سرخ‌کردنی باشد و در کارخانجات تولید روغن می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد و چنانچه در رستوران‌ها و کارگاه‌هایی که فرآیند سرخ کردن مواد غذایی را انجام می‌دهند به روغن افزوده شود، علاوه بر اثرات آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند تأثیر مطلوبی نیز بر طعم ماده غذایی بگذارد.

## ۵- منابع

- [1] Kamal-Eldin, A. 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 58, 1051-1061.
- [2] Halli Well, B., Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals In Biology And Medicine*. (3rded) Oxford University Press, Oxford.
- [3] Zia-ur, R., Habib, F., and Shah, W.H. 2004.

- Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Sciences*. 61(2), 175-179.
- [26] Rostagno, A., Palma, M., and Barroso, C. 2003. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012: 119-128.
- [27] Kamali, F., Sadeghi-Mahunak, A., and Nasiri-far, Z. 2015. "The Effect of Ultrasound-Assisted Conditions on the Extraction of Phenolic Compounds and Flavonoids from Autumn Olive Fruits (*Elaeagnus umbellata*)."  
*Food Technology & Nutrition*, Vol. 12, No. 2, pp. 23-32 (In Persian).
- [28] Vázquez, G., Fernández – Agullo, A., Gomez- Castro, C., Freire, M.S., Antorrena, G., and González- Alvarez, J. 2012. Response surface optimization of antioxidants extraction from chesnut bur. *Industrial Crops and Products*, 35,126-134.
- [29] Elias, R.J., Kellerby, S.S., and Decker, E.A. 2008. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 48(5): 430–41.
- [30] Fatemi, h. 2010. *Food Chemistry*. Publishing Joint Stock Company. Eighth Edition.
- [31] Parizen, T., Elhami Rad, A., Styrie, SA, and Armin, M. 2011. Antioxidant activity of methanolic extract of senna leaf and its effect on soybean oil stability. *Journal of Food Science and Technology*, SUMF No. 1.
- [32] Fatemi, h. 2010. *Food Chemistry*. Publishing Joint Stock Company. Eighth Edition.
33. Shahidi, F. 2005. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6 Volume Set (6th Ed.). John Wiley & Sons, New York, USA.
- [34] Euighi, F., Barzegar, M., Sahari, M.A., Naghdi Badi, h. and Bahar, A. 2009. Antioxidant Activity of *Anethum graveolens* essential oil in soybean oil and its comparison with chemical antioxidants, *Journal of Medicinal Plants*, Eighth Year, Volume II, Cell No. 30.
- [35] Pokorny, J., Yanishlivea, N., and Gordon, M. 2001. *Antioxidant in food*. CRC Press. p. 380.
36. Fatemi, H. 1999. *Food Chemistry*. Enteshar Corporation Eds. p. 480 (In Persian).
- [14] Che Man Y.B. and Jaswir I. 1999. Effects of natural and synthetic antioxidants on changes in refined bleached and deodorized palm olein during deep – fat frying of potato chips, *Journal American Oil Chemistry Society* 76: 331–339.
- [15] Lolos M., Oreopoulou V. and Tzia C. 1999. Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 1524–1528.
- [16] Ryan, D and Robards, K. 1998. Phenolic compounds in olives. *Journal of Analyst*. 123: 1-14
- [17] Farhoosh, R., and Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonylvalue in rancid oils: a critical reconsideration. *Journal of Food Lipids*. 13: 298–305.
- [18] Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., and Gargova, S. 2007. Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*; 102: 764-70.
- [19] Burits, M., and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323–328.
- [20] Horwitz, W. 1975. *Official methods of analysis of the association of official analytical chemist (AOAC)*. 13th ed.
- [21] Seabury, k. 2002. The effect of antioxidants in preventing farther oxidation in TBA analysis. California state science fair. Project number, Jo404.
22. Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S.h., Fathi, F., and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and anioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Medic Plan*; 9(34). 177-183. [In Persian].
- [23] Ling, B., Hou, L., Li, R., and Wang, S. 2014. Thermal treatment and storage condition effects on walnut paste quality associated with enzyme inactivation. *LWT Food Science and Technology*; 59: 786-793.
- [24] Pereira, J.A., Olivwria, I., Sousa, A., Valentao, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., and et al. 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem Toxicol* 2007; 45: 2287–2295.
- [25] Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F., and Abedinian, M. 2016.

- Optimization of extraction of antioxidant compounds of Azolla (*Azolla filiculoides*). *Journal of Fisheries Science and Technology*. Volume 5, Number 1, Spring 2016, Page 117-130.
- [40] Azizkhani, M., and Atae, M. 2012. Antibacterial and antioxidant effects of the essential oil and extract from *Mentha longifolia* Hudson from north of Iran, *J Food Res*; 22(1), 22-29.
- [37] Jäger, A. K., Almqvist, J. P., Vangsøe, S.A., Stafford, G.I., Adersen, A., and Van Staden, J. 2007. Compounds from *Mentha aquatica* with affinity to the GABA-benzodiazepine receptor. *South African Journal of Botany*, 73(4), 518-521.
- [38] Emad, S. 2006. Antioxidant effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT*; 39: 883 - 92.
- [39] Babakhani, A., and SarZare, A. 2016.

## Optimization of the Antioxidant Effect of Ethanolic Extract of Thistle (*Carduus pycnocephalus* L.) by Response Surface Method and Comparison of the Antioxidant Effect of Extract and Essential Oil on Oxidative Soybean Oil Resistance

Ebadi, M.<sup>1</sup>, Latifi, Z.<sup>2\*</sup>, Daneshniya, M.<sup>3</sup>

1. Master of Science (MSc), Student, Department of Food Science and Engineering, Tabriz University, Tabriz, Iran.
2. Young Researchers and elite Club, Sari Branch, Islamic Azad University, Mazandaran, Iran.
3. Young Researchers and elite Club, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran.

(Received: 2019/03/05 Accepted: 2020/09/02)

One of the ways to prevent the oxidation of oils and fats is the addition of antioxidants, but since synthetic antioxidants may have adverse effects on the body, they are gradually removed from the list of antioxidants. Therefore, it is necessary to produce and produce natural varieties. Therefore, the aim of this study was to investigate the possibility of using natural extract extracted from *Carduus pycnocephalus* L. to prevent oxidation of soybean oil and compare it with essential oil. In this study, the extraction process was performed by ultrasound technology with 3 factors of 3 levels including concentration (200, 500 & 800 ppm) time (10-30 minutes) and temperature (55-35°C) by response surface methodology. To investigate the antioxidant effect of different concentrations of extracts on oxidative stability of soybean oil, peroxide value and thiobarbituric acid reactive index were used. The optimization results showed that the optimum conditions were: temperature 48.483 ° C and time 299. 201 min and concentration of 594.745 ppm. According to the optimization results of free radical scavenging and Folin compounds were reported 32.537% and 40.378%, respectively. The results of oxidative stability of oil showed that both extracts and essential oils were effective in preventing oil oxidation. Also, the type of extracted material was related in two ways. Since the extract has the most antioxidant effects in the oil and is more effective than the essential oil in the oil, it can be a good alternative to synthetic antioxidants in frying oils.

**Keywords:** Thistle, Peroxide, Response Level, Radical Receptor Power

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: yasamin.latifi131@yahoo.com