



بهینه‌سازی استخراج عصاره اتانولی گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) به روش سطح پاسخ و مقایسه

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره بر پایداری اکسایشی روغن سویا

مهدی عبادی^۱، زهرا لطیفی^{۲*}، سینا مؤلایی^۳

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- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، سیستان و بلوچستان، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۳

امروزه از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به منظور جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای به تأخیر انداختن و یا ممانعت از اکسیداسیون روغن‌های خوراکی استفاده می‌شود. در این تحقیق، از گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) به عنوان یک ترکیب طبیعی برای بهبود پایداری اکسیداتیو و افزایش زمان ماندگاری روغن سویا استفاده شده است. در این مطالعه، عصاره تحت تأثیر سه متغیر و در سه سطح، غلظت (۸۰۰، ۵۰۰ و ۲۰۰ پی. پی. ام)، زمان (۳۰-۱۰ دقیقه) و دما (۵۵-۳۵ درجه سانتی‌گراد) استخراج گردید. پس از بهینه‌سازی استخراج، عصاره‌ای با بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان کل ترکیبات فنولی به روغن سویا با سه غلظت (۸۰۰، ۵۰۰ و ۲۰۰ پی. پی. ام) اضافه گردید و سپس نمونه‌های روغن در سه سطح زمانی (۷۲، ۴۸ و ۲۴ ساعت) و دمایی (۶۵، ۵۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. انجام آزمایش‌های مختلف روی عصاره‌های حاصل، بهترین شرایط استخراج برای عصاره‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ تعیین و عصاره‌گیری در شرایط بهینه انجام شد. نتایج فرآیند بهینه‌سازی استخراج عصاره نشان داد که در عصاره هیدرواتانولی، غلظت بهینه برابر با ۲۰۰ پی. پی. ام، زمان بهینه برابر با ۳۰ دقیقه و مقدار بهینه دما ۴۷/۰۲۸ درجه سانتی‌گراد تخمین زده شد که در بررسی مقدار بهینه فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و میزان کل ترکیبات فنولیک در استخراج هیدرواتانولی به ترتیب، ۴۳/۸۸۵ درصد و $39/852 \text{ mg GA/g}$ بود. زمان حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد؛ زمان ۷۲ ساعت، غلظت ۲۰۰ پی. پی. ام، دما ۴۵ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن نشان داد اندیس پراکسید و تیوباریوتیک اسید در استخراج هیدرواتانولی به ترتیب، $\text{meq O}_2/\text{kg}$ ۲/۳۸۸ و $0/329 \text{ mg mal/kg}$ گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در فرمولاسیون روغن‌های خوراکی استفاده نمود.

کلمات کلیدی:

پراکسید،

ترکیبات فنولی،

تیوباریوتیک اسید،

سطح پاسخ،

گیاه کلزا

DOI: 10.52547/fsct.18.121.4

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.10.4

* 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 بدطعمی، کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌شود ضایعات اقتصادی بسیاری را در بر دارد لذا یکی از مهم‌ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌گردد [۲].

بیماری‌های مزمن در جهان به سرعت در حال افزایش می‌باشند. رادیکال‌های آزاد که با مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها و DNA و غیره واکنش می‌دهند و منجر به بیماری‌هایی همچون سرطان و دیابت می‌گردند [۳]. علاوه بر تأثیر رادیکال‌های آزاد بر بیومولکول‌ها، این ترکیبات از جمله عوامل مهم اکسیدکننده مواد غذایی خصوصاً چربی‌ها و روغن‌ها بوده و باعث اثرات نامطلوب حسی و از بین رفتن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری می‌شوند [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].

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد، آنها را خنثی می‌کنند و در نتیجه سبب جلوگیری یا کاهش اثرات مخرب آنها در بدن می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند سنتزی یا با منشأ طبیعی باشند [۳]. اخیراً استفاده از افزودنی‌های سنتتیک در محصولات غذایی، به دلیل اثرات نامطلوبی که بر سلامتی دارند دارای محدودیت می‌باشد و به همین دلیل تمایل زیادی به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی وجود دارد [۵]. ترکیبات مؤثره گیاهی مانند فلاونوئیدها، تانن، اسیدهای فنولیک، ترپنوئیدها و غیره که منبع بالقوه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌روند بعنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی، دارای فعالیت

ضدالتهابی و ضد سرطانی می‌باشند [۶]. از این رو در پژوهش حاضر، منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی به نسبت فراوان، ارزان و قابل دسترس از جمله عصاره گیاه کلزا جهت پایداری به روغن گیاهی بدون آنتی‌اکسیدان اضافه می‌شوند و اثرات پایداری آن مورد بررسی قرار می‌گیرد.

کلزا (*Brassica napus* L.) بعد از سویا و نخل سومین محصول دانه روغنی در جهان است. کلزا دارای محتوای روغن بالا (۶۷/۹-۴۰/۵ درصد) با ترکیب متوسط زیر است: اسیدهای چرب اشباع (۱۰-۵ درصد)، اسیدهای چرب تک غیراشباع (۷۵-۴۴ درصد) و اسید آلفا-لینولنیک (۳-n اسید چرب) (۱۳-۹ درصد). وعده‌های غذایی کلزا، به عنوان محصولات جانبی فراوری روغن، دارای مقدار زیادی پروتئین و فیبر خام هستند. آنها همچنین حاوی ویتامین‌های متعدد و سایر ترکیبات فعال زیستی مانند توکوفرول‌ها، ویتامین B و کولین هستند که باعث می‌شوند وعده غذایی از نظر غذایی بسیار ارزشمند باشد. علاوه بر این، وعده‌های غذایی کلزا سرشار از ترکیبات فنلی هستند و بسیاری از ترکیبات فنلی استخراج شده از کنجاله کلزا مزایای سلامتی را دارند و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند. بنابراین، ترکیبات فنلی موجود در کنجاله کلزا توجه زیادی را در مواد غذایی، دارویی و محصولات بهداشتی جلب کرده است (۲۰۱۹).

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در مورد بسیاری از منابع آنتی‌اکسیدانی با منشأ گیاهی انجام شده است. از میان این آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات مستخرج از بسیاری از گیاهان معطر نشان داده‌اند که در به تأخیر انداختن روند پراکسیداسیون لیپیدی در روغن و غذاهای چرب مؤثر بوده و همین امر توجه محققان زیادی را برای شناسایی این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به خود معطوف ساخته است [۷]. مظاهری و همکاران در سال ۲۰۱۴ و تهامی و همکاران در سال ۲۰۱۳، در مورد اثر عصاره دانه رازیانه به ترتیب در روغن‌های سویا و آفتابگردان از نظر روند تأثیر اثر آنتی‌اکسیدانی، به یک نتیجه واحد رسیدند؛ آنها نشان دادند که فعالیت ضداکسایشی عصاره دانه رازیانه در روغن‌های سویا و آفتابگردان بالاتر از آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی BHT و BHA بود [۸، ۹]. قره‌خانی و همکاران در سال ۲۰۰۹، به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ گزنه بر روغن سویا پرداختند

و نتایج مشابهی گرفتند [۱۰]. علاوه بر این، یکرنگ و جوانمرد در سال ۲۰۱۲، نشان دادند که پایین‌ترین میزان اندیس پراکسید در روغن ماهی آنچوی در حضور غلظت‌های معینی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی استخراج شده از عصاره هسته گریپ‌فروت، بدست آمد [۱۱]. هدف از انجام این مطالعه، بررسی امکان استفاده از گیاه کلزا به عنوان ترکیبی طبیعی جهت بهبود پایداری اکسیداسیون و زمان ماندگاری روغن سویا می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه

در این پژوهش، گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) از عطاری‌ای معتبر در شهرستان سبزوار خریداری شد و پس از تأیید 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 بامش ۴۰ عبور داده شده و برای آزمایش‌ها بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردید.

۲-۲- استخراج با 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 با سه غلظت (۸۰۰، ۵۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام.) در معرض امواج فراصوت در سه زمان (۱۰، ۲۰، ۳۰ دقیقه) و سه دما (۳۵، ۴۵، ۵۵) درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فراصوت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوپی ۴۰۰ اس با قدرت ۴۰۰ وات و پروب H از جنس تیتانیوم با قطر ۷ میلی‌متر، طول ۱۰۰ میلی‌متر cycle انجام شد [۱۲].

۲-۳- آزمون‌های شیمیایی

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

میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتیو انجام گرفت. در این روش مقدار کل ترکیبات فنولی براساس یک ترکیب فنولی انتخاب شده، که در اغلب موارد این ترکیب گالیک‌اسید است، بیان گردید و نتیجه آن به صورت میلی‌گرم گالیک‌اسید بیان

می‌شود. جهت انجام آزمون، ۱ میلی‌لیتر عصاره به ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه اضافه و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو ۰/۱ مولار هم اضافه گردید و محتویات کاملاً مخلوط شدند. پس از ۱ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه و مخلوط کاملاً همزده شد. نمونه شاهد شامل معرف واکنش بدون نمونه بود. نمونه پس از قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه به مدت ۲ ساعت، میزان جذب آن در ۷۵۰ نانومتر قرائت شد. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره برحسب اسید گالیک و با استفاده از معادله به دست‌آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد [۱۳].

۲-۳-۲- اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های

آزاد (DPPH) عصاره کلزا

در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده (DPPH) به‌عنوان معرف استفاده می‌شود. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از هر عصاره در رقت‌های مختلف (۶۷۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۶۰۰ و ۳۲۰۰) را در میکروپلیت ۹۶ خانه ریخته، سپس به هر یک از آن‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محلول متانولی DPPH اضافه شد. آزمایش در محیط تاریک و دور از نور به کمک فویل انجام گردید زیرا محلول DPPH به نور حساس بوده و باعث شکسته شدن ساختار آن می‌گردد. برای هر رقت عصاره یک نمونه شاهد (محلول DPPH فاقد عصاره) در نظر گرفته شد. از ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH و ۱۰۰ میکرولیتر حلال به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. سپس میکروپلیت ۹۶ تایی را درون میکروپلیت ریدر قرار داده تا ۱۰ ثانیه تکان داده و بعد از ۳۰ دقیقه در تاریکی به حالت سکون گذاشته شد و سپس جذب نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر UV-Vis در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید [۱۴].

معادله (۱)

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

A_{Blank} : جذب نوری شاهد منفی فاقد عصاره

A_{Sample} : میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره

۲-۴- افزودن عصاره اتانولی کلزا به روغن سویا

ابتدا کیفیت روغن سویا از طریق اندازه‌گیری اندیس پراکسید

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

منظور ارزیابی فعالیت ضداکسایشی ترکیبات شیمیایی در اکسیداسیون روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این آزمون مقدار ۵۰ میلی‌گرم از نمونه روغن در ۱۰ میلی‌لیتر، ۱-بوتانول حل شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ درصد تیوباربتوریک اسید در ۱-بوتانول به آن اضافه گردید و برای مدت ۲ ساعت در بن‌ماری ۹۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه سرد گردید، سپس جذب محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری در مقابل شاهد قرائت شد و شاخص تیوباربتوریک اسید بر مبنای میلی‌مول دی‌آلدهید در گرم روغن گزارش گردید [۱۶].

۲-۶- طراحی آزمایش

RSM مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرآیندهایی بکار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر 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 (A)، زمان (B)، دما (C) بر بهینه‌سازی استخراج عصاره اتانولی گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) به روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن با تعداد ۱۷ تیمار و ۵ تکرار در نقطه مرکزی استخراج شد (جدول ۱). در ادامه بعد از بهینه‌سازی استخراج عصاره کلزا، جهت بررسی تأثیر عصاره با بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان کل ترکیبات به روغن سویا افزوده که از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن شامل سه متغیر مستقل غلظت (۲۰۰، ۵۰۰ و ۸۰۰ پی.پی.ام.)، زمان (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) و دما (۴۵، ۵۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد) با تعداد ۱۷ تیمار و ۵ تکرار در نقطه مرکزی مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). مدل مورد استفاده در روش سطح پاسخ، عموماً رابطه درجه دوم کامل یا درجه دوم کاسته می‌باشد. مدل درجه دوم به صورت زیر می‌باشد:

و تیوباربتوریک اسید تعیین شد. عصاره اتانولی کلزا که در مرحله قبل براساس بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولیک بهینه‌سازی شده، تغلیظ و خشک شده در ۳ سطح (۲۰۰-۵۰۰-۸۰۰ پی.پی.ام.) 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 شد. اثر تیمارهای به کار رفته بر روی اکسیداسیون روغن سویا در آن با ۳ سطح دما (۴۵-۵۵-۶۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۷۲ ساعت و در فواصل زمانی ثابت ۲۴ ساعت (۲۴-۴۸-۷۲ ساعت) از طریق سنجش اندیس پراکسید و شاخص تیوباربتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت [۱۵].

۲-۵- بررسی ویژگی‌های کیفی روغن سویا

۲-۵-۱- 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 ۰/۰۱ نرمال انجام گردید. روش کار بدین صورت بود که 5 ± 0.05 گرم نمونه روغن آماده شده در ارلن مایر سر سمباده‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری وزن شده و ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط استیک اسید و کلروفرم به آن افزوده و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشیاع اضافه گردید. محلول به دست آمده را به مدت ۱ دقیقه بدون هم‌زدن گذاشته، سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه کرده و چند قطره چسب نشاسته به آن افزوده که یک رنگ آبی در محلول ایجاد کرد، سپس با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا از بین رفتن رنگ آبی عیارسنجی ادامه داشت و برحسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در ۱۰۰ گرم روغن بیان گردید [۱۵].

معادله (۲)

(حجم نمونه) ÷ (حجم تیتراسیون مصرفی × نرمالیه × ۱۰۰۰) = عدد پراکسید

۲-۵-۲- محاسبه شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA^۲)

شاخص تیوباربتوریک اسید، میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است. در میان محصولات اکسیداسیون روغن که برای آزمون ضداکسایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد، مالون‌آلدهید بطور گسترده‌ای به

2. Thiobarbituric acid

معادله (۳)

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

در این رابطه β_0 ، β_{ij} ، β_{jj} و β_{ij} به ترتیب ضرایب رگرسیون 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.11 به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارهای سه بعدی استفاده گردید. برای بهینه‌سازی عددی با هدف به حداکثر رسیدن عملکرد کمی استخراج استفاده شده است.

Table 1 Independent variables and the levels used in the response surface methodology for Rapeseed (*Brassica napus* L.) extract extraction

| Independent variables | symbol | Factor levels | | |
|-----------------------|--------|---------------|-----|-----|
| | | +1 | 0 | -1 |
| Concentration (ppm) | A | 800 | 500 | 200 |
| Time (hours) | B | 30 | 20 | 10 |
| Temperature (°C) | C | 55 | 45 | 35 |

Table 2 Independent variables and the levels used in the response surface methodology for soybean oil

| Independent variables | symbol | Factor levels | | |
|-----------------------|--------|---------------|-----|-----|
| | | +1 | 0 | -1 |
| Concentration (ppm) | A | 800 | 500 | 200 |
| Time (hours) | B | 72 | 48 | 24 |
| Temperature (°C) | C | 65 | 55 | 45 |

استفاده مطابقت دارد.

مقدار R^2 به عنوان یک شاخص برای بیان دقت خط رگرسیون و نشان دهنده میزان تغییرات متغیر وابسته توسط متغیر مستقل، بین صفر و یک تغییر می‌کند؛ بنابراین هرچه مقدار R^2 به یک نزدیک‌تر شود، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد. چنین عنوان می‌شود که برای یک مدل با برازش خوب، مقدار R^2 بایستی حداقل ۰/۸ باشد ولی بایستی فراموش شود که R^2 به تنهایی نمی‌تواند معیاری از صحت مدل باشد. از این‌رو، بهتر از $adj-R^2$ (ضریب تبیین تعدیل شده) برای ارزیابی کیفیت مدل استفاده شود، که مقدار محاسبه شده آن برای مدل، ۰/۸۴۹۹ می‌باشد که نشان دهنده مدل با برازش مناسب است. مقدار دقت مناسب بدست آمده در مدل، ۱۰/۷۳۸ است؛ دقت مناسب نسبت سیگنال به نویز^۳ را اندازه‌گیری می‌کند، یک نسبت بزرگ‌تر از ۴ مطلوب است. برای مدل پیشنهادی، این مقدار دقت مناسب خوب است.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های

آزاد DPPH در عصاره کلزا

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته، استفاده شد. با توجه به جدول (۳) در مورد فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره کلزا، ارتباط معنی‌داری بین فاکتورها مشاهده شد. بطوری که، اثر خطی دما (C) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره معنی‌دار نشان داده شد ($p < 0/01$). همچنین اثرات درجه دوم زمان (B^2) و دما (C^2) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره معنی‌دار نشان داده شد ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$). همانطور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود مقادیر بالای F-value ($F > 0/05$) و مقادیر به دست آمده از P-value ($p < 0/05$) نشان می‌دهند که مدل استفاده شده معنی‌دار است. همبستگی بالایی در استفاده از دما بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل وجود داشت ($R^2 = 0/9343$) و می‌توان نتیجه گرفت که نتایج حاصل با مدل آزمایشی مورد

3. Signal to Noise

Table 3 Analysis of variance of the effects of independent variables on DPPH free radical scavenging activity in Rapeseed (*Brasica napus* L.) extract

| P-Value | F-Value | Mean Square | df | Sum of Squares | Source |
|-----------------------|---------|----------------------|----|----------------|-----------------------|
| 0.0023 Significant | 11.07 | 37.19* | 9 | 334.72 | Model |
| 0.6483 | 0.2269 | 0.7626 ^{ns} | 1 | 0.7626 | A-Concentration (ppm) |
| 0.1460 | 2.67 | 8.99 ^{ns} | 1 | 8.99 | B- Time (hours) |
| 0.0094 | 12.58 | 42.27** | 1 | 42.27 | C- Temperature (°C) |
| 0.9643 | 0.0021 | 0.0072 ^{ns} | 1 | 0.0072 | AB |
| 0.0963 | 3.69 | 12.39 ^{ns} | 1 | 12.39 | AC |
| 0.3357 | 1.07 | 3.59 ^{ns} | 1 | 3.59 | BC |
| 0.2127 | 1.88 | 6.32 ^{ns} | 1 | 6.32 | A ² |
| 0.0329 | 7.02 | 23.60* | 1 | 23.60 | B ² |
| < 0.0001 | 73.41 | 246.73** | 1 | 246.73 | C ² |

Significant difference at 1% ** * Significant difference at 5% ^{ns} Not significant

مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در شکل (۱) نشان داده شده است. با توجه به شکل (۱-الف) اثر همزمان غلظت-زمان بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مشاهده شده است که با افزایش هردو متغیر روند افزایشی در درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد وجود داشته است اما این افزایش چشمگیر نبود، در شکل (۱-ب) مربوط به اثر همزمان غلظت-دما، مشاهده گردید که تأثیر دما بیشتر از غلظت بوده بطوری که حداکثر درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بوده و با افزایش دما به ۵۵ درجه سانتی‌گراد درصد مهارکنندگی کاهش یافته است، در شکل (۱-ج) مربوط به اثر همزمان زمان-دما، افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش هردو متغیر افزایش یافته بطوری که با افزایش زمان به ۳۰ دقیقه و دما به ۴۵ درجه سانتی‌گراد حداکثر افزایش مهارکنندگی وجود داشت.

با بکارگیری آنالیز رگرسیون دو جمله‌ای در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد معادله (۴) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. معادله (۴) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه اول تأثیر مثبت میزان زمان دما (C) بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره کلزا داشتند و جملات مربوط به اثرات درجه دوم تأثیر مثبت زمان (B²) و تأثیر منفی دما (C²) بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره کلزا داشت.

معادله (۴)

$$Y (\%) = + 38/65 + 2/30 C + 2/37 B^2 - 7/66 C^2$$

Y (%): فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH؛ B: زمان؛ C: دما.

اثر متقابل متغیرهای مستقل غلظت، زمان و دما بر فعالیت

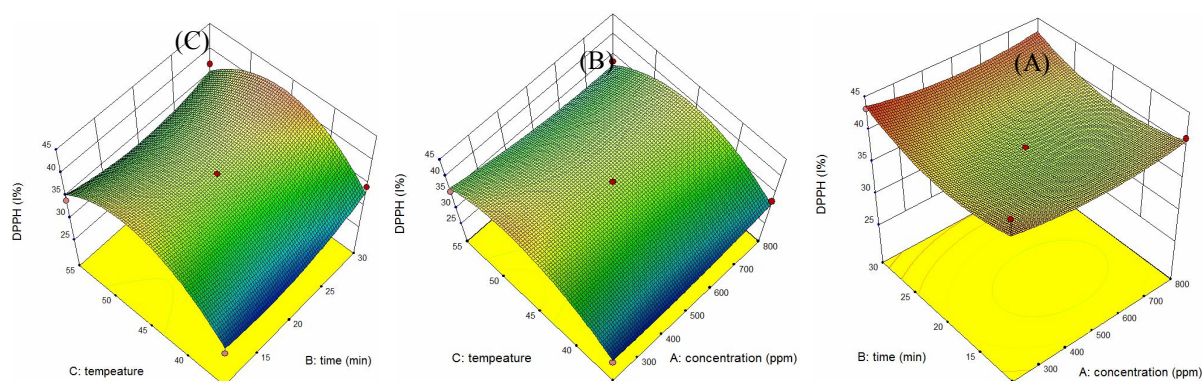


Fig 1 Interaction effects of variables on DPPH free radical scavenging activity; (A): Concentration; (B): Time; (C): Temperature.

بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در یک عصاره را می‌توان به محتوای فنولی و فلاونوئیدی آن نسبت داد. ترکیبات فنولی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای مهار رادیکال‌های آزاد دارند و توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیک و ماهیت گروه‌های جابه‌جا شونده هیدروکسیل دارد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره را افزایش می‌دهند [۱۷]. نتایج نشان داد که در عصاره هیدروآتانولی، با افزایش میزان غلظت عصاره از ۲۰۰ تا ۸۰۰ پی.پی.ام، تأثیر معنی‌داری بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH وجود نداشت ($p > 0.05$) و غلظت بهینه برابر با ۲۰۰ پی.پی.ام تخمین زده شد. با افزایش مدت زمان از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه، بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH افزوده شد و زمان بهینه برابر با ۳۰ دقیقه تخمین زده شد. بررسی اثر زمان در جدول (۳) نشان داد که تأثیر این فاکتور بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). در عصاره هیدروآتانولی با افزایش دما از ۳۵ تا ۴۵ درجه سانتیگراد حداکثر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH وجود داشت و مقدار بهینه دما ۴۷/۰۲۸ درجه سانتیگراد تخمین زده شد که در بررسی این اثر در جدول (۳) مشاهده گردید که تأثیر این فاکتور بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$). مقدار بهینه فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در استخراج هیدروآتانولی ۴۳/۸۵ درصد بود.

شکل (۱)، مقادیر میانگین مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را نشان می‌دهد، همان‌طور که مشاهده می‌شود در عصاره استخراج شده، با افزایش زمان و دما، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بصورت مهار رادیکال آزاد افزایش یافته است. بن عبدالله و همکاران در سال ۲۰۱۶، در بررسی محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شش گونه نعنا وحشی از شمال شرقی الجزایر نشان دادند که همبستگی بالایی بین میزان ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره وجود دارد [۱۸]. ابوطالبیان و همکاران در سال ۲۰۱۶، از روش مهار رادیکال آزاد به عنوان یک روش سریع جهت اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

چندین عصاره استفاده نمودند و نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره از ۵۰ به ۵۰۰ پی.پی.ام، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره به صورت مهار رادیکال آزاد افزایش یافت؛ آن‌ها دریافتند فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان مورد مطالعه بالاتر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بود [۱]. باربرو و همکاران در سال ۲۰۰۸، نیز در تحقیقی که به منظور استخراج کاپسایسینوئیدهای فلفل به کمک امواج فراصوت انجام دادند، بهترین تیمار برای استخراج را در دمای ۵۰ درجه سلسیوس با حلال متانول گزارش کردند [۴]. کمالی و همکاران در سال ۲۰۱۵، میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از سنجد زیتنی را به کمک فراصوت مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که با افزایش زمان، درصد مهار رادیکال آزاد افزایش یافت [۲۲].

هررا و دی‌کاسترو در سال ۲۰۰۵ و همچنین پینلو و همکاران در سال ۲۰۰۵، بیان داشتند افزایش دما و زمان استخراج بطور معنی‌داری بر روی میزان استخراج ترکیبات فنولیک به ترتیب بر روی توت‌فرنگی آسیاب شده و تفاله انگور مؤثر بود. این محققان دلیل این امر را اثر دما روی افزایش حلالیت و افزایش ضریب نفوذ دانستند [۲۲،۲۱].

بونکرد و همکاران در سال ۲۰۰۸، بیان داشتند که با افزایش دما از ۳۰ به ۴۵ درجه سانتیگراد، استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد. آنها شرایط مناسب استخراج ترکیبات فنولی را با روش فراصوت در فرکانس ۳۵ کیلوهرتز، حلال اتانول ۹۵ درصد، دمای ۴۵ درجه سانتیگراد و زمان ۳ ساعت تعیین کردند که در این شرایط ۸۵ درصد از کاپسایسینوئیدهای فلفل تند استخراج شد که در مقایسه با دو روش سوکسله (۵ ساعت) و غوطه‌وری (۱۵ ساعت)، زمان کاهش چشمگیری داشت [۲۳].

۳-۲- اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنولی عصاره گیاه کلزا

از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به منظور تعیین مناسب بودن مدل تجربی بکار رفته، استفاده شد. با توجه به جدول (۴) در میزان کل ترکیبات فنولی در عصاره کلزا، ارتباط معنی‌داری بین فاکتورها مشاهده شد. بطوری که، اثر خطی زمان (B) و دما (C) بر میزان کل ترکیبات فنولی در عصاره کلزا معنی‌دار بود ($p < 0.01$). همچنین اثر متقابل غلظت-دما (AC) ($p < 0.05$) و اثرات درجه

حاصل با مدل آزمایشی مورد استفاده مطابقت دارند. از سوی دیگر مقدار $adj-R^2$ ، ۰/۹۲۳۳ و مقدار دقت مناسب بدست آمده در مدل، ۱۷/۱۸۹ است؛ که با توجه به این پارامترهای گزارش شده با اطمینان می‌توان قابلیت اطمینان مدل را بیان کرد.

دوم متغیرهای غلظت (A^2)، زمان (B^2) و دما (C^2) بر میزان کل ترکیبات فنولی در عصاره کلزا معنی‌دار بود ($p < 0/01$). در بررسی بین سه متغیر غلظت، زمان و دما بین اعداد حاصل از آزمایش و اعداد پیش‌بینی شده توسط مدل همبستگی بالایی وجود داشت ($R^2 = 0/9665$) و می‌توان نتیجه گرفت که نتایج

Table 4 Analysis of variance of the effects of independent variables on the total phenolic content in Rapeseed (*Brasica napus* L.) extract

| P-Value | F-Value | Mean Square | df | Sum of Squares | Source |
|-------------|---------|--------------------|----|----------------|-----------------------|
| 0.0002 | 22.41 | 42.05* | 9 | 378.49 | Model |
| Significant | | | | | |
| 0.1881 | 2.13 | 3.99 ^{ns} | 1 | 3.99 | A-Concentration (ppm) |
| 0.0036 | 18.44 | 34.61** | 1 | 34.61 | B- Time (hours) |
| 0.0015 | 25.67 | 48.17** | 1 | 48.17 | C- Temperature (°C) |
| 0.0661 | 4.73 | 8.88 ^{ns} | 1 | 8.88 | AB |
| 0.0215 | 8.68 | 16.28* | 1 | 16.28 | AC |
| 0.2017 | 1.99 | 3.72 ^{ns} | 1 | 3.72 | BC |
| 0.0008 | 32.17 | 60.36** | 1 | 60.36 | A ² |
| 0.0003 | 42.73 | 80.18** | 1 | 80.18 | B ² |
| < 0.0001 | 71.72 | 134.59** | 1 | 134.59 | C ² |

Significant difference at 1% ** * Significant difference at 5% ^{ns} Not significant

داشت.

معادله (۵)

$$Y (\%) = + 28.36 + 2/0.8 B + 2/4.5 C - 2/0.2 AC + 3/7.9 A^2 + 4/3.6 B^2 - 5/6.5 C^2$$

Y (mg GA/g): میزان کل ترکیبات فنولیک؛ A: غلظت؛ B: زمان؛ C: دما.

اثر متقابل متغیرهای مستقل غلظت، زمان و دما بر میزان کل ترکیبات فنولیک در شکل (۲) نشان داده شده است.

با بکارگیری آنالیز رگرسیون دو جمله‌ای در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد معادله (۵) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. معادله (۵) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثر درجه اول تأثیر مثبت میزان زمان (B) و دما (C) بر میزان کل ترکیبات فنولیک در عصاره کلزا داشت و جمله اثر متقابل غلظت-دما (AC) تأثیر منفی و جملات مربوط به اثرات درجه دوم تأثیر مثبت غلظت (A^2) و زمان (B^2) و تأثیر منفی دما (C^2) بر میزان کل ترکیبات فنولیک در عصاره کلزا

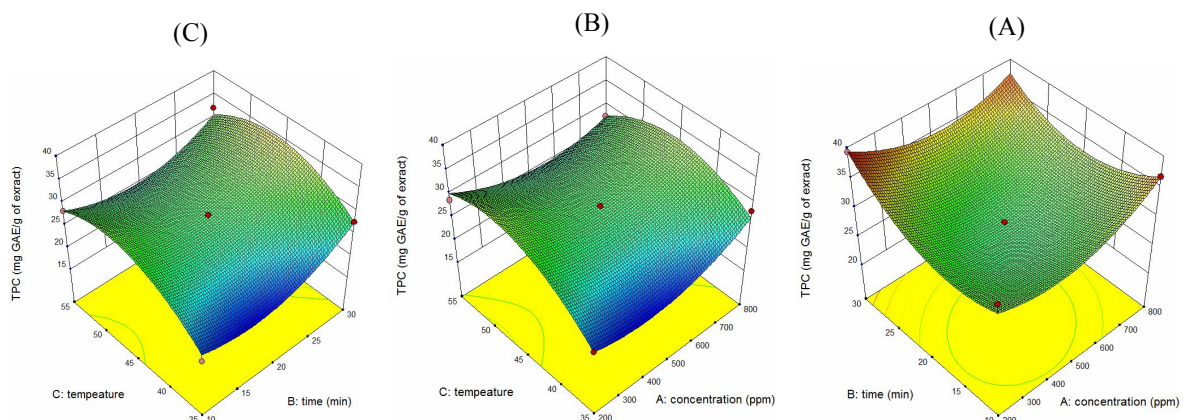


Fig 2 Interaction effects of variables on the total phenolic content; (A): Concentration; (B): Time; (C): Temperature.

با توجه به شکل (۲-الف) اثر همزمان غلظت-زمان بر میزان کل ترکیبات فنولیک مشاهده شده است که با افزایش هردو متغیر روند افزایشی در میزان کل ترکیبات فنولیک وجود داشته است، در شکل (۲-ب) مربوط به اثر همزمان غلظت-دما، مشاهده گردید که تأثیر دما بیشتر از غلظت بوده بطوری که حداکثر میزان کل ترکیبات فنولیک در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بوده، در شکل (۲-ج) مربوط به اثر همزمان زمان-دما، افزایش میزان کل ترکیبات فنولیک با افزایش هردو متغیر افزایش یافته بطوری که با افزایش زمان به ۳۰ دقیقه و دما به ۴۵ درجه سانتی‌گراد حداکثر میزان کل ترکیبات فنولیک وجود داشت.

نتایج نشان داد که در عصاره هیدروآتانولی، با افزایش میزان غلظت عصاره از ۲۰۰ تا ۸۰۰ پی.پی.ام، تأثیر معنی‌داری بر میزان کل ترکیبات فنولیک وجود داشت ولی این افزایش معنی‌دار نبود ($p > 0.05$) و غلظت بهینه برابر با ۲۰۰ پی.پی.ام تخمین زده شد. با افزایش مدت زمان از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه، بر میزان کل ترکیبات فنولیک افزوده شد و زمان بهینه برابر با ۳۰ دقیقه تخمین زده شد. بررسی اثر زمان در جدول (۴) نشان داد که تأثیر این فاکتور بر میزان کل ترکیبات فنولیک معنی‌دار بود ($p < 0.01$). در عصاره هیدروآتانولی با افزایش دما از ۳۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد حداکثر میزان کل ترکیبات فنولیک وجود داشت و مقدار بهینه دما ۴۷/۰۲۸ درجه سانتی‌گراد تخمین زده شد که در بررسی این اثر در جدول (۴) مشاهده گردید که تأثیر این فاکتور بر میزان کل ترکیبات فنولیک معنی‌دار بود ($p < 0.01$). مقدار بهینه میزان کل ترکیبات فنولیک در استخراج هیدروآتانولی عصاره ۳۹/۸۵۲ mg GA/g بود. با توجه به اثر متقابل غلظت و دما استخراج عصاره بر قدرت آنتی‌اکسیدانی، نتایج حاکی از آن است که با افزایش غلظت و دما، میزان ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد. هیسمنت در سال ۲۰۱۱، جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولیک توسط سه فاکتور دما، زمان استخراج و غلظت حلال روی برگ‌های گیاه چریش (*Azadirachta indica*) به کمک امواج فراصوت و از طریق RSM، مشخص کردند که افزایش غلظت و دمای استخراج باعث افزایش ترکیبات فنولیک می‌شود [۲۴].

کمالی و همکاران در سال ۲۰۱۵، در تحقیقی بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از میوه سنجد زیتنی (*umbellate*) (*Elaeagnus*) با دو روش حمام و پرآب فراصوت، دریافتند در

هر دو روش با افزایش زمان، درصد مهار رادیکال آزاد افزایش یافت [۲۰].

در تحقیقی که توسط سیلوا و همکاران در سال ۲۰۰۷، به‌منظور بهینه‌سازی اثر متقابل سه فاکتور غلظت، زمان و دمای استخراج به کمک امواج فراصوت به منظور استخراج ترکیبات فنولی از برگ گیاه *Inga edulis* انجام گرفت، مشخص شد با افزایش غلظت و دما استخراج، مقدار استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد [۳۳]. با بررسی نتایج بدست آمده مربوط به بازده استخراج، همانطور که در شکل (۲) نشان داده شد، مشخص گردید که متغیرهای زمان و دما باعث افزایش معنی‌داری در بازده ترکیبات فنولیک گردیدند؛ به گونه‌ای که با افزایش دما، بازده استخراج ترکیبات فنولیک نیز افزایش یافت. این افزایش ممکن است به علت تأثیر دما بر تخریب دیواره سلولی و همینطور افزایش نفوذپذیری حلال به درون سلول و در نتیجه افزایش ترکیبات درون سلولی باشد. افزایش بازده استخراج در پی افزایش دما نیز می‌تواند ناشی از بهبود انتقال جرم در نتیجه افزایش حلالیت عصاره و کاهش ویسکوزیته حلال باشد [۲۶].

جهانگیری و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش نمودند که افزایش دمای استخراج، میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از برگ‌های انجیر را افزایش داد. بیشترین ترکیبات فنولی در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. افزایش دمای گرمخانه‌گذاری میزان استخراج ترکیبات فنولی را به دلیل تضعیف یکپارچگی سلولی بهبود می‌دهد [۲۷].

در اثر حرارت دهی عصاره، ترکیبات فنولی آزاد می‌شوند که این ترکیبات می‌توانند به گروه‌های در معرض اکسیداسیون، هیدروژن یا الکترون بدهند و از این‌رو این ترکیبات درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد بالایی دارند [۲۸]. کرمی و همکاران در سال ۲۰۱۵، افزون بر اینها، اشاره کرد که افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره در اثر حرارت دهی، ممکن است ناشی از باز شدن ساختار سوم پروتئین موجود در آن در اثر دنا‌توراسیون جزئی آنها باشد. به این ترتیب میزان در دسترس بودن باقیمانده‌های اسیدآمینو دارای زنجیره‌های جانبی سولفوردار (سیستین و متیونین) یا آروماتیک (تریتوفان، تیروزین و فنیل‌آنتین) که به راحتی پروتون آزاد می‌کنند افزایش پیدا می‌کند [۲۹]. کارابگوویک و همکاران در سال ۲۰۱۴، نیز اعلام نمودند با

افزایش ترکیبات فنولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش می‌یابد [۲۳].

۳-۳- تعیین اندیس پراکسید روغن سویا

متغیرهای فرآیند و داده‌های تجربی برای تأثیر متغیرهای مستقل بکار رفته بر اندیس پراکسید در روغن سویا در جدول (۵) ارائه شده است. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول (۵)، جملات مربوط به اثرات درجه دوم غلظت عصاره (A^2) و دما (C^2) بر میزان پراکسید روغن سویا تأثیر معنی‌دار داشتند ($p < 0.05$) و مقدار R^2 ، 0.9617 ، $adj-R^2$ ، 0.9125 و مقدار p ($p < 0.01$)

دقت مناسب بدست آمده در مدل، $11/239$ است؛ که با توجه به این پارامترهای گزارش شده می‌توان قابلیت اطمینان مدل را بیان کرد. همچنین با بکارگیری آنالیز رگرسیون دو جمله‌ای در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد معادله (۶) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. معادله (۶) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات درجه دوم تأثیر مثبت غلظت عصاره (A^2) و دما (C^2) بر کاهش میزان پراکسید روغن سویا داشت.

Table 5 Analysis of variance of the effects of independent variables on soybean oil peroxide index

| P-Value | F-Value | Mean Square | df | Sum of Squares | Source |
|--------------------|---------|----------------------|----|----------------|-----------------------|
| 0.0004 Significant | 19.54 | 1.03** | 9 | 9.23 | Model |
| 0.4656 | 0.5952 | 0.031 ^{ns} | 1 | 0.0313 | A-Concentration (ppm) |
| 0.0676 | 4.67 | 0.24 ^{ns} | 1 | 0.2450 | B- Time (hours) |
| 0.2075 | 1.93 | 0.10 ^{ns} | 1 | 0.1013 | C- Temperature (°C) |
| 0.4117 | 0.7619 | 0.040 ^{ns} | 1 | 0.040 | AB |
| 0.5336 | 0.4286 | 0.0225 ^{ns} | 1 | 0.0225 | AC |
| 0.4117 | 0.7619 | 0.040 ^{ns} | 1 | 0.0400 | BC |
| 0.0141 | 10.54 | 0.55* | 1 | 0.55 | A^2 |
| 0.4590 | 0.6140 | 0.032 ^{ns} | 1 | 0.032 | B^2 |
| < 0.0001 | 148.88 | 7.82** | 1 | 7.82 | C^2 |

^{ns} Not significant

* Significant difference at 5%

** Significant difference at 1%

معادله (۶)

اثر متقابل غلظت عصاره، زمان و دما بر میزان تغییرات اندیس پراکسید روغن سویا در شکل (۳) نشان داده شده است.

$$Y = + 4/00 - 0/36 A^2 - 1/36 C^2$$

اندیس پراکسید؛ A: غلظت عصاره؛ C: دما.

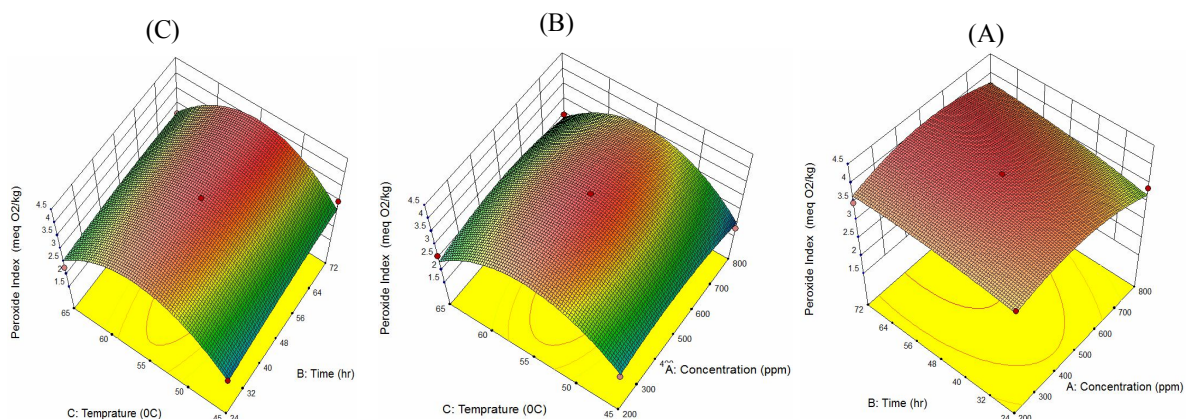


Fig 3 Interaction effects of variables on the peroxide index of soybean oil; (A): Concentration; (B): Time; (C): Temperature

با توجه به شکل (۳-الف) اثر همزمان غلظت-زمان بر میزان تغییرات اندیس پراکسید مشاهده شده است که با افزایش غلظت هردو متغیر روند افزایشی بوده که متغیر زمان تأثیر بیشتری بر افزایش میزان پراکسید داشته است، در شکل (۳-ب) مربوط به اثر همزمان غلظت-دما، با افزایش غلظت روند افزایشی قابل توجهی مشاهده نشد اما دما بخصوص در ۵۵ درجه سانتیگراد تأثیر زیادی در افزایش میزان پراکسید داشته است، و شکل (۳-ج) مربوط به اثر همزمان زمان-دما نشان داد که افزایش دما به ویژه در ۵۵ درجه سانتیگراد باعث تأثیر زیادی در افزایش میزان پراکسید نمونه‌های روغن سویا گردید. 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 [۳۱]. در استخراج عصاره با امواج فراصوت، طول مدت عصاره‌گیری اهمیت خاصی داشته و افزایش بیش از حد آن موجب تغییر در کیفیت عصاره حاصله خواهد شد. احتمالاً افزایش ورود ترکیبات ناخواسته از گیاه به داخل روغن، طی افزایش زمان اولتراسونیک صورت می‌گیرد که باعث افزایش مواد مؤثره عصاره حاصل در روغن سویا می‌شود. از سوی دیگر افزایش زمان اولتراسونیک باعث کاهش میزان اکسیداسیون در روغن به دلیل از بین رفتن رادیکال‌های آزاد شده، در نتیجه کاهش اندیس پراکسید مشهودتر است [۳۲].

رفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۱، میزان ترکیبات فنولی برگ زیتون را به کمک حلال‌های آب و متانول ۸۰ درصد و استون استخراج کردند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را با ۳ روش مهار رادیکال DPPH، نیروی احیاکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تعیین و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA مقایسه کردند و در ادامه، اثر عصاره متانولی برگ زیتون را بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان با اندازه‌گیری دو فاکتور اندیس پراکسید و اسید تیوباریبوتیک بررسی کرده و نتیجه گرفتند که عصاره متانولی برگ زیتون در سطح ۱۰۰۰ پی.پی.ام به خوبی توانست اندیس پراکسید و اسید تیوباریبوتیک را کنترل کرده و جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ پی.پی.ام شود و بنابراین می‌تواند جایگزین این

ترکیبات در روغن‌های خوراکی شود [۳۳].

یانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶، ضمن بررسی تأثیر عصاره رزماری در نمونه‌های روغن گیاهی از جمله روغن سویا، کتان و سبوس برنج، اعلام نمودند که نمونه‌های شاهد نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره و نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان سنتزی دارای عدد پراکسید بالاتری هستند [۳۴]. سانتوسو و همکاران در سال ۲۰۰۴، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هفت گونه از جلبک‌های دریایی اندونزی را در یک سیستم امولسیون روغن ماهی بررسی کردند؛ آن‌ها مشاهده کردند که نمونه‌های حاوی عصاره جلبک دریایی اندیس پراکسید کمتری نسبت به نمونه شاهد داشتند. [۳۵].

ابوبالبیان و همکاران در سال ۲۰۱۶، نشان دادند استفاده از عصاره‌های خانواده نعناعیان (نعنا دشتی و پونه) در روغن منجر به افزایش پایداری روغن آفتابگردان می‌شود و عدد پراکسید در نمونه‌های روغن فاقد عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی بسیار بالا است [۱]، که هم‌راستا با نتایج این پژوهش می‌باشد. آنها همچنین نشان دادند که عصاره‌های گیاهان خانواده نعنا در جلوگیری از اکسایش روغن مؤثرتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی عمل نموده است. اگر یگان و همکاران در سال ۲۰۱۷، در پژوهشی اظهار داشتند که عدد پراکسید در نمونه‌های روغن شاهد بالاتر از نمونه‌های روغن کانولا حاوی BHT و عصاره آبی بیفوریکاریا (*Bifurcaria bifurcata*) هست و کمترین عدد پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی عصاره است [۲]، که بانتهای این پژوهش مطابقت دارد.

۳-۴- تعیین شاخص تیوباریبوتیک اسید (TBA)

متغیرهای فرآیند و داده‌های تجربی برای تأثیر متغیرهای مستقل بکار رفته بر شاخص تیوباریبوتیک اسید در روغن سویا در جدول (۶) ارائه شده است. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول (۶)، جملات مربوط به اثرات خطی غلظت (A) و زمان (B) بر میزان تیوباریبوتیک اسید روغن سویا تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). همچنین جملات مربوط به اثر متقابل غلظت-دما (AC) و اثرات درجه دوم غلظت عصاره (A^2)، زمان (B^2) و دما (C^2) بر میزان تیوباریبوتیک اسید روغن سویا تأثیر معنی‌دار داشتند ($p < 0.01$). مقدار R^2 ، ۰/۹۴۶۶، $adj-R^2$ ، ۰/۸۷۸۰ و

(V) نیز نشان داد که جملات مربوط به اثرات خطی غلظت (A) و زمان (B) تأثیر مثبت و اثر متقابل غلظت-دما (AB) تأثیر مثبت و اثرات درجه دوم تأثیر مثبت غلظت عصاره (A²), زمان (B²) و دما (C²) بر کاهش میزان تیوباربیتوریک اسید روغن سویا داشت.

مقدار دقت مناسب بدست آمده در مدل، ۱۲/۳۲۰ است؛ که با توجه به این پارامترهای گزارش شده می‌توان قابلیت اطمینان مدل را بیان کرد. همچنین با بکارگیری آنالیز رگرسیون دو جمله‌ای در داده‌های آزمایشی برای پیش‌بینی رابطه بین متغیرهای مستقل و متغیر وابسته پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح ۹۵ درصد معادله (V) توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ارائه شده است. معادله

Table 6 Analysis of variance of the effects of independent variables on thiobarbitoric acid index of soybean oil

| P-Value | F-Value | Mean Square | df | Sum of Squares | Source |
|-------------|---------|--------------------------|----|----------------|-----------------------|
| 0.0011 | 13.79 | 0.0096** | 9 | 0.0869 | Model |
| Significant | | | | | |
| 0.0149 | 10.29 | 0.0072* | 1 | 0.0072 | A-Concentration (ppm) |
| 0.0217 | 8.64 | 0.0060* | 1 | 0.0060 | B- Time (hours) |
| 0.3205 | 1.14 | 0.0008 ^{ns} | 1 | 0.0008 | C- Temperature (°C) |
| 0.3762 | 0.8929 | 0.0006 ^{ns} | 1 | 0.0006 | AB |
| 0.0003 | 43.75 | 0.031** | 1 | 0.031 | AC |
| 0.8555 | 0.0357 | 2.500E-005 ^{ns} | 1 | 2.500E-005 | BC |
| 0.0069 | 14.30 | 0.0100** | 1 | 0.0100 | A ² |
| 0.0345 | 6.85 | 0.0048* | 1 | 0.0048 | B ² |
| 0.0007 | 32.72 | 0.023** | 1 | 0.023 | C ² |

Significant difference at 1% ** * Significant difference at 5% ^{ns} Not significant

با افزایش غلظت هردو متغیر روند افزایشی بوده است، در شکل (۴-ب) مربوط به اثر همزمان غلظت-دما، با افزایش غلظت روند کاهشی مشاهده شد اما در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد تأثیر زیادی در افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید وجود داشت، و شکل (۴-ج) مربوط به اثر همزمان زمان-دما نشان داد هردو متغیر زمان و دما باعث ایجاد روند افزایشی شده از طرفی افزایش دما در مای ۵۵ درجه سانتیگراد باعث تأثیر زیادی در افزایش میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن سویا گردید.

معادله (V)

$$Y (\%) = + 0.057 + 0.030 A + 0.028 B - 0.028 C - 0.088 AC - 0.049 A^2 - 0.034 B^2 - 0.074 C^2$$
 (mg of malonaldehyde /kg)Y
 اسید؛ A: غلظت عصاره؛ B: زمان؛ C: دما.
 اثر متقابل غلظت عصاره، زمان و دما بر میزان تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید روغن سویا در شکل (۴) نشان داده شده است. با توجه به شکل (۴-الف) اثر همزمان غلظت-زمان بر میزان تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید مشاهده شده است که

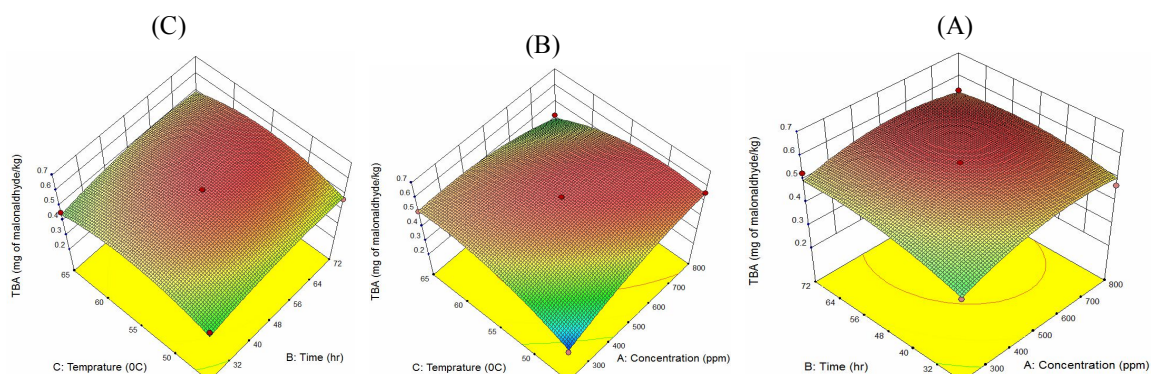


Fig 4 Interaction effects of variables on the thiobarbitoric acid index of soybean oil; (A): Concentration; (B): Time; (C): Temperature

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 بکار می‌رود. محصولات اکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع با تیوباریتوریک اسید (TBA) ایجاد کمپلکس قرمز رنگ می‌کنند که این کمپلکس در طول موج ۵۳۲-۵۳۵ نانومتر جذب خوبی دارد. اندیس TBA میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید موجود در یک کیلوگرم روغن را نشان می‌دهد و بطور گسترده به عنوان شاخص نشان دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها و کتون اکسید می‌شوند. این ترکیب باعث فساد مواد غذایی در نتیجه تندشدگی اکسیداتیو و ایجاد بدطعمی و طعم نامطبوع و آسیب به بافت‌های انسانی می‌شود تا جایی که ممکن است علت سرطان، بیماری التهابی، جهش‌زایی و تصلب شرایین باشد [۳۳].

با توجه به نتایج بدست آمده، در عصاره هیدروآتانولی با افزایش زمان از ۲۴ تا ۷۲ ساعت، میزان اندیس تیوباریتوریک اسید به صورت خطی افزایش یافت و با افزایش غلظت، میزان اندیس تیوباریتوریک اسید آن کاهش یافت. دلیل کاهش اندیس تیوباریتوریک اسید (TBA) با افزایش غلظت را می‌توان به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با توجه به افزایش مقدار ترکیبات فنولی عصاره دانست. همچنین با افزایش دما از ۴۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد، در مای ۵۵ درجه سانتیگراد باعث تأثیر زیادی در افزایش میزان شاخص تیوباریتوریک اسید نمونه‌های روغن سویا گردید.

با مقایسه عدد پراکسید و تیوباریتوریک می‌توان به ارتباط مستقیم بین تولید هیدروپراکسید و افزایش عدد تیوباریتوریک اسید اشاره کرد. طبق نمودار ۴، کاهش عدد پراکسید می‌تواند در پی استخراج بیشتر ترکیبات فنولیک باشد. به عنوان مثال تانابی و همکاران در سال ۲۰۰۲، توانایی عصاره زنجبیل در ممانعت از اکسیداسیون چربی‌های گوشت خوک را گزارش نمودند [۳۶]؛ همچنین سحری و همکاران در سال ۲۰۰۴، گزارش نمودند که روغن بذر چای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و موجب نگهداری بهتر

روغن آفتابگردان می‌شود [۳۷]. گلی و همکاران در سال ۲۰۰۵، نیز اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی پوست سبز پسته را در روغن سویا بررسی و با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT و BHA مقایسه نمودند و مشاهده کردند که عصاره پوست پسته به علت دارا بودن ترکیبات فنولی قوی در غلظت ۶۰۰ پی.پی.ام. بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود که قابل مقایسه با غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مورد استفاده بود [۱۳].

از نکته نظر استفاده کاربردی، در مطالعه عطای صالحی و همکاران در سال ۲۰۱۴، در بررسی اثر عصاره متانولی گیاه اناریجه در پایدارسازی روغن کانولا طی شرایط ذخیره‌سازی گزارش گردید که گیاه اناریجه به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات فنولی و توکوفرولی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۳۸]. دلفانیان و همکاران در سال ۲۰۱۵، اثر عصاره هیدروآتانولی پوست (غلظت ۱۰۰۰ و ۴۰۰ پی.پی.ام) و عصاره اتانولی پالپ (غلظت ۱۰۰ و ۴۰۰ پی.پی.ام) از گیاه ژاپنی را طی مدت نگهداری در روغن سویا بررسی کردند و مشاهده کردند که عصاره‌ها از افزایش مقدار TBA در روغن سویا جلوگیری کردند [۳۹].

۳-۵- بهینه سازی

در مطالعه حاضر جهت بهینه‌سازی از جدول (۷) و (۸) برای روغن سویا استفاده گردید. مدل‌های برازش استفاده شده برای این منظور در نمونه‌های تیمار شده با متغیرهای مختلف غلظت عصاره، زمان نگهداری و دمای نگهداری، نمونه‌هایی که دارای کم‌ترین میزان اندیس پراکسید و شاخص تیوباریتوریک اسید را دارا بودند در نظر گرفته شد. نتایج بدست آمده با تابعیت مطلوب، مورد ارزیابی قرار گرفتند که تابعیت مطلوب بالاتر از ۰/۷ بیانگر شرایط بهینه است. همانطور که مشاهده می‌گردد با استفاده از غلظت ۲۰۰ پی.پی.ام عصاره هیدروآتانولی گیاه کلزا، حداکثر زمان نگهداری ۷۲ ساعت و حداقل دمای نگهداری ۴۵ درجه سانتیگراد مطلوبیت کل پارامترها با میزان ۰/۸۶۸ می‌باشد. براساس حدود تعریف شده برای متغیرهای وابسته، ویژگی‌های بهینه مدل انتخاب شده در نمونه روغن سویا غنی شده با عصاره کلزا بصورت شکل (۵) تعیین گردید.

Table 7 Data used in optimization

| Importance | Weight | Upper Limit | Lower Limit | Goal | Parameter |
|------------|--------|-------------|-------------|-------------|---------------------------|
| 3 | 1 | 800 | 200 | Is in range | Concentration (ppm) |
| 3 | 1 | 72 | 24 | maximize | Time (hours) |
| 3 | 1 | 65 | 45 | Is in range | Temperature (°C) |
| 3 | 1 | 1.8 | 1.8 | minimize | peroxide index |
| 3 | 1 | 0.3 | 0.3 | minimize | thiobarbitoric acid index |

Table 8 Optimal characteristics of the selected model soybean oil

| Desirability | The desired limit | Parameter |
|--------------|-------------------|---------------------------|
| 1 | 200 | Concentration (ppm) |
| 1 | 72 | Time (hours) |
| 1 | 45 | Temperature (°C) |
| 0.73 | 2.388 | peroxide index |
| 0.89 | 0.329 | thiobarbitoric acid index |
| 0.868 | -- | Total Desirability |

بنابراین می‌توان با توجه به خصوصیات رنگی و طعمی روغن از آنتی‌اکسیدان طبیعی به جای استفاده از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، 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 و تدوین استاندارد مورد نیاز شود.

۵- منابع

- [1] Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F. and Abdinian, M. 2016. Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 175-179.
- [2] Agregán, R., Lorenzo, J.M., Munekata, P.E., Dominguez, R., Carballo, J. and Franco, D., 2017. Assessment of the antioxidant activity of *Bifurcaria bifurcata* aqueous extract on canola oil. Effect of extract concentration on the oxidation stability and volatile compound generation during oil storage. *Food Research International*; 99, pp.1095-1102.
- [3] Jayathilake, C., V. Rizliya, and R. Liyanage., 2016. Antioxidant and free radical scavenging capacity of extensively used medicinal plants in Sri Lanka. *Procedia food science*;6, pp. 123-

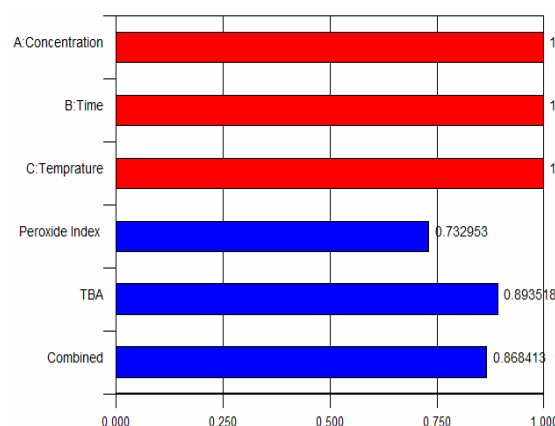


Fig 5 Optimal characteristics of the selected model soybean oil

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در فرمولاسیون روغن‌های خوراکی استفاده نمود. هدف از این تحقیق، بهینه‌سازی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدرواتانولی گیاه کلزا بر پایداری اکسایشی روغن سویا می‌باشد. در این مطالعه عصاره کلزا تحت تأثیر غلظت‌های مختلف، مدت زمان و دماهای مختلف استخراج گردید. پس از انجام آزمایش‌های مختلف روی عصاره‌های حاصل، بهترین شرایط استخراج برای عصاره با استفاده از روش سطح پاسخ تعیین و عصاره‌گیری در شرایط بهینه انجام شد.

- [15] Chemists, A.o.O.A. and W. Horwitz, Official methods of analysis. Vol. 222. 1975: Association of Official Analytical Chemists Washington, DC.
- [16] Selmi, S., Limam, Z., Batista, I., Bandarra, N.M. and Nunes, M.L., 2011. Effects of storage temperature and α -tocopherol on oil recovered from sardine mince. *International Journal of Refrigeration*, 34(5), pp.1315-1322.
- [17] Ghaderi Ghahfarkhi. M., Mashmashlou, S., Sadeghi Mahonak, A., Alami, M. 2011. Evaluation of antioxidant, antioxidant and regenerative effect of different extracts of medicinal plant *Artemisia annu*. *Journal of Plant Science Research*; 6(1), 46-57 (in Persian).
- [18] Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O. Messaoud, C. 2016. Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 760-766.
- [19] Barbero, G.F. Liazid, A. Palma, M. and Barroso, C.G. 2008. Ultrasound- assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*;75(5): 1332-1337.
- [20] Kamali, F., A. Sadeghi-Mahunak, Z. Nasirifar. 2015. "The Effect of Ultrasound-Assisted Conditions on the Extraction of Phenolic Compounds and Flavonoids from Autumn Olive Fruits (*Elaeagnus umbellate*)."
Food Technology & Nutrition, Vol. 12, No. 2, pp. 23-32 (in Persian).
- [21] Herrera, M.C. and De Castro, M.L., 2005. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 1100(1), pp.1-7.
- [22] Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J. and Núñez, M.J., 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), pp.2111-2117.
- [23] Boonkird, S. Phisalaphong, C. and Phisalaphong, M. 2008. Ultrasound- assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum Frutescens* on a lab and pilot-plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15: 1075-126.
- [4] Halliwell, B. and S. Chirico., 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American journal of clinical nutrition*;57(5): 715S-725S.
- [5] Barlow, S.M., 1990. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In *Food antioxidants* (pp. 253-307). Springer, Dordrecht.
- [6] Lee, J.-Y., W.-I. Hwang, and S.-T. Lim., 2004. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. *Journal of ethnopharmacology*;93(2-3): 409-415.
- [7] Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem*; 85(4): 633-40.
- [8] Mazaheri Kalahrodi, M., A. Bassiri, and H. Jalali., 2014. Evaluation of antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extract in soybean oil in comparison with synthetic antioxidants BHA and BHT. *Innovative Food Technologies*;1(3): p. 15-28.
- [9] Tahami, F., Bassiri, A., Ghiassi, T.B. and Mahasti, P. 2013. Evaluation of antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extract in sunflower oil. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 1(10):71-78.
- [10] Gharekhani, M., Ghorbani, M., Ebrahimzadeh, M. A., Jafari, S. M. and Sadeghi, M.A., 2009. Effect of nettle (*Urtica dioica*) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. *Food Process Preserv*, 1, pp.85-102.
- [11] Yekrang A., Javanmard M. 2012. Evaluation of antioxidant activity of grapefruit seed extract on the stability of anchovy oil. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 9 (1): 49-60.
- [12] Farhoosh, R., and Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. *Journal of Food Lipids*. 13: 298–305.
- [13] Goli, A.H., Barzegar, M. and Sahari, M.A., 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3), pp.521-525.
- [14] Burits, M. and F. Bucar, 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5): p. 323-328.

- 84:519-525.
- [32] Fayyaz Mehr, B and Asefi, N. 2012. The effect of ultrasound on the amount and antioxidant capacity of lycopene extracted from tomato pulp. *Journal of Research Food industry*. 22(3), 241-248 (in Persian).
- [33] Rafiei, Z., Jafari, s.m., Almi, M., Khamiri, M. 2011. Antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. *Journal of Food Industry Research*, Volume 21, Number 1.
- [34] Yang, Y. Song, X. Sui, X. Qi, B. Wang, Z. Li, Y. & Jiang, L. (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80, 141-147.
- [35] Santoso, J., Yoshie-Stark, Y. and Suzuki, T., 2004. Anti-oxidant activity of methanol extracts from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Fisheries science*, 70(1), pp.183-188.
- [36] Tanabe H, Yoshida M and Tomita N. 2002. Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal*. 73: 389 - 93.
- [37] Sahari, M.A., Ataii, D. and Hamed, M. 2004. Characteristics of tea seed oil in Comparison with sunflower and olive oils and its effect as a natural antioxidant. *Journal of American oil chemists' society*, 81:585-588.
- [38] Ataei Salehi, E., Esmailzadeh Kenari, R. and Nasiri Takami, S.T., 2014. Antioxidant Effect of *Pimpinella affinis* Ledeb Plant Methanolic Extract on Stability of Canola Oil during Storage Condition. *Iranian Journal Food Science and Technology Research*, 10(2).
- [39] Delfanian, M., Kenari, R.E. and Sahari, M.A., 2015. Antioxidant activity of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit peel and pulp extracts in stabilization of soybean oil during storage conditions. *International Journal of Food Properties*, 18(12), pp.2813-2824.
- 1079.
- [24] Hismath, I., Wan Aida, W.M. and Ho, C.W., 2011. Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from neem (*Azadirachta indica*) leaves. *International Food Research Journal*, 18(3):931-939.
- [25] Silva, E.M, Rogez, H, and Larondelle, Y. 2007. Optimization extraction of Phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology, separation and purification *Technology*, 55(3): 381-387.
- [26] Li, J. Dong, S. and Xiao-lin, D. 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphusjube* cv. jinsixiaozao. *Journal of Food Engineering*, 80: 176-18.
- [27] Jahangiri, Y. Ghahremani, H. Abedini Torghabeh, J. Ataye Salehi, E. 2011. Effect of temperature and solvent on the total phenolic compounds extraction from leaves of *Ficus carica*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(5):253-259.
- [28] Elias R, Kellerby S S, and Decker E .A. 2008. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48: 430- 441.
- [29] Karami, Z., Emam-Djomeh, Z., Mirzaee, H.A., Khomeiri, M., Mahoonak, A.S. and Aydani, E., 2015. Optimization of microwave assisted extraction (MAE) and soxhlet extraction of phenolic compound from licorice root. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), pp.3242-3253.
- [30] Karabegovic I.T., Stojicevic S.S., Velickovic D.T., Todorovic Z.B., Nikolic N.C., and Lazic M.L. 2014. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*. 54:142-148.
- [31] Tepe, B. Donmez, E., 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extract of *salvia cryptantha* and *salviamulticaulis*. *Journal of Food Chemistry*.



Optimization of Ethanol Extraction of Rapeseed (*Brasica napus* L.) by Response Surface Methodology and Comparison of Antioxidant Effect of Extract on Oxidative Stability of Soybean Oil

Ebadi, M. ¹, Latifi, Z. ^{2*}, Molaie, S. ³

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. Master Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Zabol University, Sistan and Baluchestan, Iran.

ABSTRACT

Natural antioxidants are nowadays used to replace synthetic antioxidants to delay or prevent the oxidation of edible oils. In this study, Rapeseed (*Brasica napus* L.) was used as a natural compound to improve oxidative stability and increase shelf life of soybean oil. In this study, the extract was extracted under the influence of three variables at three levels: concentration (200, 500 and 800 ppm), time (10-30 minutes) and temperature (35-55°C). After extraction optimization, extracts with the highest antioxidant activity and total phenolic compounds were added to soybean oil with three concentrations (800, 500 and 200 ppm) and then oil samples at three levels temperature (72, 48 and 24 hours) and temperature (65, 55 and 45°C) were maintained. After various experiments on the extracts, the best extraction conditions for the extracts were determined using response surface methodology and extraction at optimum conditions. The results of the extract extraction optimization process showed that in the hydroethanolic extract, the optimal concentration was 200 ppm, the optimal time was 30 minutes and the optimum temperature was 47.028°C, which was used to evaluate the optimal amount of inhibitory free radical activity and total phenolic compounds in hydroethanol extraction were 43.885% and 39.852 mg GA/g, respectively. The time obtained from the oxidative stability of the oil showed that the time was 72 hours, the concentration was 200 ppm, and the temperature was 45°C. The results of oxidative stability of oil showed that the peroxide and thiobarbitic acid indices in hydroethanolic extraction were 2.388 meq O₂/kg and 0.329 mg/kg, respectively. The results of this study showed that natural antioxidants can be used as an alternative to synthetic antioxidants in edible oil formulations.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2019/04/18
Accepted 2021/09/04

Keywords:

Peroxide,
Phenolic compounds,
Thiobarbituric acid,
Response level,
Rapeseed.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.4

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.10.4

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