# بررسی و بهینه سازی استخراج ترکیبات فنولی از دانه آفتابگردان آجیلی و مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن باآنتی‌اکسیدان سنتزی در پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان

لاله مهریار[1*]، مریم اسکندرخانی[2]

۱- دکتری تکنولوژی مواد غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (مدرس مؤسسه آموزش عالی صبا)
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد مؤسسه آموزش عالی صبا
**(تاریخ دریافت: ۹۷ /۰۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۷)**

## چکیده

در این مطالعه محتوای فنول کل، فلاوونوئیدی کل و فعالیت ضداکسایشی دانه آفتاب‌گردان آجیلی چربی‌گیری شده مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت ضداکسایشی با استفاده از ظرفیت جمع‌آوری رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازین تعیین گردید. نتایج مطالعه نشان داد که میزان استخراج ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی و ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد وابسته به نوع حلال، دما و زمان عصاره‌گیری می‌باشد. به طوری که محتوای فنول کل استخراجی و فعالیت ضداکسایشی عصاره استخراجی دانه آفتابگردان در شرایط دمایی و زمانی بالا (۸۰ درجه سانتی‌گراد، ۲ ساعت) توسط حلال متانول بیشتر (۱۵۲/۰۲۶ mg/g و ۹۷/۷۶۰٪) و محتوای فلاوونوئیدی کل (۲۱/۵ mg/g) در همان شرایط دمایی و زمانی توسط حلال استون بیشتر بوده است. بر طبق آزمایشات انجام شده، رابطه‌ی مستقیمی بین میزان ترکیبات فنولی و درصد مهار رادیکالی و رابطه عکس با میزان ترکیبات فلاوونوئیدی وجود دارد. نتایج نشان داد که عصاره‌گیری توسط حلال متانول در دمای۸۰ و زمان ۲ ساعت استخراج ترکیبات فنولی بالاتری داشت، بنابراین درصدی از این عصاره را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، با نمونه‌ای ازآنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در روغن آفتاب‌گردان مورد مطالعه قرار گرفت. که نتایج وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دانه آفتاب‌گردان و حتی برابری نمونه حاوی ۰/۱ ٪ عصاره با نمونه ۰/۰۱٪ BHA را بیان می‌کند.

**کلید واژگان:** دانه‌آفتابگردان، محتوای فنول کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، محتوای فلاوونوئید کل، BHA

* مسئول مکاتبات: Laleh.Mehryar@Gmail.com

## ۱- مقدمه

آفتاب‌گردان گیاهی است یکساله با نام علمی. *helianthus annuus* L، که متعلق به خانواده Asteraceae می‌باشد و عمدتاً شامل سه نوع روغنی، آجیلی (غیر روغنی) و زینتی است [۱]. نوع آجیلی یکی از مهمترین انواع آفتاب‌گردان در ایران است که اغلب در نواحی شمال غرب و غرب ایران کاشت می‌شوند [۲]. تخم آفتاب‌گردان آجیلی دارای ٪۲٤ مواد پروتئینی، ٪٤۷ روغن، ٪۲۰ مواد هیدروکربنی، ٪۸ فسفر، ٪۹ پتاسیم و همچنین دارای ویتامین‌های A و B نیز می‌باشد. طبق آمار فائو، روسیه، اکراین و آرژانتین سه کشور عمده تولید کننده دانه آفتاب‌گردان می‌باشند [۳]. و براساس آمار سازمان جهاد کشاورزی، استان آذربایجان غربی با میزان سطح زیر کشت ۳۵ هزار و٦۵۰ تندر سال ۱۳۹۱ در مقایسه با سایراستان‌های کشور، رتبه نخست کشوری را در تولید آفتاب‌گردان آجیلی به خود اختصاص داده بود [٤]. امروزه اثرات مفید مصرف برخی از منابع غذایی گیاهی بر سلامت انسان به اثبات رسیده است. این اثرات در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی حاصل می‌شوند [۵]. مطالعات بسیاری نشان داده است که حضور ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بویژه ترکیبات پلی‌فنولی و ویتامین‌ها در مواد غذایی با منشا گیاهی، عامل مؤثر در حفظ سلامت انسان می‌باشند [٦]. رادیکال‌های آزاد طی پدیده‌های بیوشیمیایی بدن تولید می‌شوند. علیرغم وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی-اکسیدان از منابع خارجی دارد، که میتوان از طریق مواد غذایی تهیه کرد. پلی فنول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال‌های آزاد را جذب نمایند [۷و ۸]. آقایی و همکاران (۱۳۹٤)، محتوای فنول کل، محتوای فلاوونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی در قسمت‌های مختلف دانه آفتاب‌گردان را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که محتوای فنول کل و فلاوونوئید کل وابسته به قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ می‌باشد.به طوری که محتوای فنول و فلاوونوئید کل در مغز دانه حدود دانه به ترتیب ۷/٦ و۳/۸ برابر میزان آنها در پوسته بود [۹]. در مطالعه‌ای دیگر که توسط Taha و همکارانش در سال ۲۰۱۱ صورت گرفت، محتوای فنل کل کنجاله آفتابگردان استحصالی در محدوده بین ۱۲٤۳/۵۱-٦۸۷/۲۲ میلی گرم کلروژنیک اسید در ۱۰۰ گرم توسط روش اسپکتروفتومتری ماورای بنفش و در محدوده ۹۲۳/٤۵- ۷۲٦/۲۷ میلی گرم کلروژنیک اسید در ۱۰۰ گرم توسط روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بدست آمد. همچنین ظرفیت مهار رادیکال آزاد آنها در محدوده بین ٪۹۵-٪۸٦ بود. بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از بررسی منابع، مغز دانه‌های آفتاب‌گردان را می‌توان به عنوان ضداکسایندهای طبیعی در رژیم غذایی گنجاند (۱۰).ترکیبات آنتی اکسیدانی سنتزی مانند BHT[1], BHA[2], TBHQ[3], PG[4]، با وجود خاصیت آنتی اکسیدانی دارای اثرات زیان‌بار برای بشر می‌باشند [۱۱]. مانند جهش‌زایی، ایجاد مسمومیت و سرطانزایی که سبب شده است تا استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ترکیبات پلی فنول، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی شامل اسیداسکوربیک، توکوفرول، ویتامین A، β کاروتن و... که اثرات محافظتی در برابر بیماری‌ها دارند، توصیه شوند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌توانند به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به کار روند و همچنین به نظر می‌رسد دارای اثر برابر و یکسانی با اغلب آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی روی بازدارندگی اکسیداسیون بافت داشته باشند [۱۲و ۱۳]. بنابراین نیاز به آنتی اکسیدان قوی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب ناپذیر است. هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات فنولی، توانایی ظرفیت ضد رادیکالی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مغز دانه آفتابگردان آجیلی تحت شرایط مختلف استخراج و بررسی اکسیداسیون روغن آفتابگردان حاوی آنتی اکسیدان‌های استخراجی می‌باشد.

1. Butylated hydroxytoluene
2. Butylated hydroxyanisol
3. Tertiary butyl hydroxyl quinine
4. propyl gallate

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

دانه آفتاب‌گردان آجیلی با کیفیت عالی از بازار محلی شهرستان ارومیه خریداری شد و در جای خشک و خنک نگهداری شد. پس از پوست گیری، مغز دانه آفتاب‌گردان با استفاده از یک آسیاب (مدل *HR2027PHILIPS*) پودر گردید و تا زمان آزمایشات بعدی در ظروف شیشه‌ای تاریک ودر ببسته در یخچال نگهداری شد.

تمامی مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده از شرکت‌های Merck, Sigma Aldrich, Aplychem, Scharlau تهیه شدند.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- چربی‌گیری

به منظور افزایش راندمان استخراج ترکیبات فنولی، حذف چربی قبل از عمل عصاره‌گیری انجام گرفت. اندازه‌گیری و حذف چربی طبق روش سوکسله انجام شد. به منظور استخراج بهتر چربی، از دمای $^0$C ۴۰-۶۰ و زمان ۶ ساعت استفاده شد.

#### ۲-۲-۲- عصاره گیری

جدول ۱ تیمارهای عصاره گیری با استفاده از سه حلال متانول (۸۰٪)، اتانول (۵۰٪) و استون (۵۰٪) را در سه دمای ۳۰، ۵۰ و ۸۰ درجه سانتیگراد و سه زمان ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه نشان می‌دهد. نسبت حلال به نمونه ۱۰ به ۱ (حجمی/ حجمی) برای این منظور استفاده گردید و تعویض حلال هر ۰/۵ساعت یکبار به منظور افزایش امکان خروج ترکیبات فنولی از نمونه و ورود آن به حلال تازه انجام گرفت. برای عصاره گیری در دمای ۸۰ $^0$C از دستگاه سوکسله استفاده گردید. برای این منظور از طرح فاکتوریل کامل با تعداد ۲۷ اجرا استفاده شد. طراحی و تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۷ و Design-Expert 6.0.8 انجام شد و نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار Excel 2013 رسم شدند.

**Table 1** Extraction chart using different solvents, times and temperatures

| Run | Solvent | Temperature $^0$C | Time (hr) |
|---|---|---|---|
| 1 | Ethanol | 30 | 0.5 |
| 2 | Acetone | 30 | 1 |
| 3 | Methanol | 30 | 2 |
| 4 | Ethanol | 30 | 2 |
| 5 | Ethanol | 80 | 2 |
| 6 | Methanol | 80 | 1 |
| 7 | Methanol | 50 | 1 |
| 8 | Acetone | 30 | 2 |
| 9 | Acetone | 80 | 2 |
| 10 | Methanol | 30 | 0.5 |
| 11 | Methanol | 50 | 2 |
| 12 | Methanol | 80 | 2 |
| 13 | Ethanol | 50 | 0.5 |
| 14 | Acetone | 50 | 2 |
| 15 | Ethanol | 80 | 1 |
| 16 | Methanol | 30 | 1 |
| 17 | Ethanol | 50 | 2 |
| 18 | Ethanol | 50 | 1 |
| 19 | Acetone | 50 | 1 |
| 20 | Acetone | 80 | 0.5 |
| 21 | Ethanol | 30 | 1 |
| 22 | Methanol | 50 | 0.5 |
| 23 | Methanol | 80 | 0.5 |
| 24 | Acetone | 80 | 1 |
| 25 | Acetone | 30 | 0.5 |
| 26 | Acetone | 50 | 0.5 |
| 27 | Ethanol | 80 | 0.5 |

#### ۲-۲-۳- حذف حلال

در این پژوهش از دستگاه تبخیر روتاری مدل IKA digitd RVIO برای حذف حلال (دمای۵۰ درجه سانتی‌گراد و پمپ خلأ با قدرت مکش۶۰۰ بار) استفاده گردید. بدلیل امکان آسیب رسیدن به ترکیبات فنولی، از افزایش دما اجتناب گردید.

#### ۲-۲-۴- تعیین محتوای فنول کل

محتوای فنول کل موجود در عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین‌سیوکالتئو و طبق روش Tsantili و همکاران (۲۰۱۰) با اندکی تغییرات تعیین گردید [۱۴]. بدین ترتیب که به ۰/۲

میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده، ۰/۲ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتئو و ۲/٦ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. بعد از ۳ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به آن اضافه شده و با ورتکس به صورت دوره‌ای هم زده شد و در دمای اتاق قرار گرفت. بعد از گذشت ۹۰ دقیقه جذب مخلوط در طول موج ۷٦۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر *( JENWAY 6320 D)* ساخت کشور انگلیس در طول موج۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید ($R^2$= 0.9847).

میزان فنول = (جذب خوانده شده +۰/۰۲۲) / ۰/۰۰٤۱

### ۲-۲-۵- تعیین محتوای فلاوونوئیدی کل

محتوای فلاوونوئید موجود در عصاره‌ها طبق روش Lenucci و همکاران (۲۰۰٦) با اندکی تغییرات سنجیده شد. به این صورت که ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره‌های ۱۰ برابر رقیق شده با ۱/۲۵ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۰۷ میلی‌لیتر نیتریت سدیم ۵ درصد مخلوط شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه ۰/۱۵ میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه شده و اجازه داده شد تا واکنش کامل شود. بعد از زمان ٦ دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار به آن اضافه شد و در پایان به تمامی لوله‌های آزمایش یک میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. برای جواب دهی بهتر سانتریفیوژ انجام شد و بلافاصله جذب آن بوسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر(*JENWAY6320D*) ساخت کشور انگلیس در طول موج۵۱۰ نانومترسنجیده شد و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد کاتچین محاسبه شد [۱۵].

میزان فلاوونوئید = (جذب خوانده شده +۰/۰۲۰٦) / ۰/۰۰۹۱

### ۲-۲-٦- ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد DPPH

میزان جمع آوری رادیکال آزاد DPPH با استفاده از روش Wu و همکاران (۲۰۰۳) با اندکی تغییرات محاسبه گردید. طبق این روش ۰/۱ میلی لیتر از عصاره ها با ۱/۵ میلی لیتر از محلول DPPH (۰/۱۵ میلی مولار در اتانول ۹٦ درصد) مخلوط شده و با ورتکس هم زده شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نمونه‌ها در ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. دستگاه اسپکتروفتومتر با حلال اتانول کالیبره شده و درصد مهار رادیکال آزاد در مقایسه با یک محلول شاهد که فقط معرف DPPH داشت و فاقد عصاره بود، اندازه‌گیری شد. منحنی تغییرات درصد مهار در مقابل لگاریتم غلظت رسم گردید. این روش با سه بار تکرار انجام شد و میانگین نتایج محاسبه گردید (۱٦). درصد جمع آوری رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول ۳ زیر محاسبه شد:

$$RAS\% = A_0 - A_1/A_0 \times 100$$

در این معادله $A_0$، جذب مربوط به نمونه شاهد (شامل تمامی عوامل واکنش به استثناء عصاره) و $A_1$ جذب مربوط به محلول واکنش حاوی عصاره می‌باشد.

### ۲-۲-۷- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در روغن آفتابگردان و مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی

به منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، بعد از چربی‌گیری، عصاره‌گیری با حلال متانول در دمای $80^0C$ بمدت ۲ ساعت انجام شد. سپس عصاره حاصله در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۲، ۰/۰٤، ۰/۰٦ و ۰/۰۸ درصد به روغن آفتابگردان بکر و فاقد آنتی‌اکسیدان اضافه شد (عصاره ابتدا در پروپیلن گلیکول حل شده و بعد از همزنی کامل در درصدهای گفته شده به عصاره اضافه شد). از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA نیز به میزان ۰/۰۱ ٪ و ۰/۰۲ ٪ به روغن آفتاب‌گردان افزوده شد. علت استفاده از روغن آفتابگردان به دلیل وجود مقادیر زیاد اسید لینولئیک در آن و در نتیجه، اکسیداسیون سریع این روغن بود. همه نمونه‌ها جهت آزمون عدد پراکسید به گرمخانه $90^0C$ منتقل شدند و اندازه‌گیری عدد پراکسید در فواصل زمانی ۲٤ ساعت طی ۵ روز انجام شد.

#### ۲-۲-۷-۱- تعیین عدد پراکسید

۵ گرم روغن در۳۰ سی سی مخلوط اسید استیک و کلروفرم ۳ به ۲ (حجمی–حجمی) حل شده، نیم میلی‌لیتر یدور پتاسیم اشباع به آن اضافه گردید. سپس ارلن همزده شده و دو دقیقه بعد از افزودن یدورپتاسیم،۳۰ میلی‌لیتر آب اضافه گردید و ید آزاد شده با تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال یا ۰/۰۱ نرمال (بسته

به مقدار ید آزاد شده) تیتر گردید. نتیجه بصورت میلی‌اکی والان اکسیژن به ازای هزار گرم روغن بیان گردید.

= میلی اکی والان اکسیژن به ازای ۱۰۰۰ گرم روغن

$$\frac{1000\times N\times \text{تیو سولفات مصرفی (mL)}}{\text{وزن نمونه (g)}}$$

این فرمول زمانی صحیح است که مقدار تیوسولفات برای آزمایش شاهد صفر باشد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- محتوای فنول کل

محتوای فنول کل استخراج شده از نمونه‌های آرد آفتابگردان آجیلی چربی گیری شده، در شرایط مختلف دمایی و زمانی، تحت تأثیر حلال‌های مختلف در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به این جدول مشخص می‌شود که محتوای فنول کل تحت تأثیر استفاده از حلال‌های مختلف و شرایط دمایی و زمانی می‌تواند تغییر کند. به عنوان مثال محتوای فنول کل استخراج شده توسط حلال متانول در تمامی تیمارها بیشتر از ترکیبات فنولی کل استخراج شده از حلال‌های استون و اتانول بود. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان تأثیر دما و زمان استخراج شده بر میزان ترکیبات فنولی کل را مشاهده نمود. همانطور که در جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نیز مشخص است تأثیر نوع حلال، دمای استخراج، مدت زمان استخراج و تمامی اثرات متقابل آنها بر میزان استخراج محتوای فنول کل تأثیر معنی‌داری ($p$<۰/۰۰۰۱) نشان دادند. به طور کلی با افزایش دما و زمان استخراج، میزان ترکیبات فنول کل نیز افزایش نشان داده است. افزایش دمای استخراج فاکتور مهمی در استخراج ترکیبات فنولیک به شمار رفته بنابراین می‌توان آن را با ضریب انتشار ترکیبات فنولیک داخل حلال مرتبط دانست. همچنین دمای بالا تخریب بافت ماتریکس را تسهیل نموده و ترکیبات بیشتری در حلال وارد می‌شوند [۱۷]. حلال داغ نسبت به حلال با دمای محیط می‌تواند برخی از پلی‌ساکاریدهای پکتیکی را از دیواره سلولی استخراج نموده و موجب شکستن دیواره سلولی گردد. دماهای بالا قطبیت حلال را کاهش داده و بنابراین توانایی حل کردن ترکیباتی با قطبیت کمتر بهبود می‌یابد. افزایش دما همچنین کشش سطحی و ویسکوزیته حلال را کاهش داده و سرعت انتشار و سرعت انتقال جرم را درحین استخراج افزایش می‌دهد (۱۸).

محتوای فنول کل استخراج شده از نمونه‌های آرد آفتابگردان آجیلی چربی گیری شده، در شرایط مختلف دمایی و زمانی، تحت حلال‌های مختلف توسط LeonardisDe و همکاران در سال ۲۰۰۵ مورد آزمون قرار گرفت بر اساس نتایج بدست آمده میزان pH و نوع حلال استفاده شده نیز می‌تواند در میزان فنل کل تشخیص داده شده مؤثر باشد [۱۹]. در بررسی که آقایی و همکاران در ۱۳۹٤ انجام دادند نشان دادند که محتوای فنول و فلاوونوئید به ژنوتیپ و قسمت‌های مختلف دانه آفتابگردان بستگی دارد. Besbes و همکاران در سال ۲۰۰٤ گزارش دادند که نگهداری عصاره‌های حاوی ترکیبات فنولی به مدت طولانی در دمای بالا باعث از بین رفتن ترکیبات فنولی کل می‌شود [۲۰]. در تحقیقی دیگر که توسط Upadhyay و همکاران در سال ۲۰۱۵ [۱۵] انجام گرفت، تأثیر حلال‌های مختلف متانول، استون و آب بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل، فلاوونوئیدها و اسید آسکوربیک از گونه‌های مختلف ارزن مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس یافته‌های این محققین محتوای فنل کل استخراجی حاصل از استون بیشتر از مقادیر بدست آمده برای متانول و آب بود. از اینرو استون بعنوان یک حلال استخراج کننده خوب در میان سایر حلال‌های قطبی گزارش گردید که این به خاطر حلالیت بهتر و قابلیت استخراج ترکیبات فنولی ارزن در استون می‌باشد. تغییرات در راندمان و محتوای ترکیبات فنولی عصاره‌های مختلف به قطبیت ترکیبات فنولی موجود در گونه‌های ارزن مربوط می‌شود. حلال‌های قطبی بدلیل قطبیت خود در استخراج پلی فنل‌ها از ماتریس پروتئینی کارآمد می‌باشند.

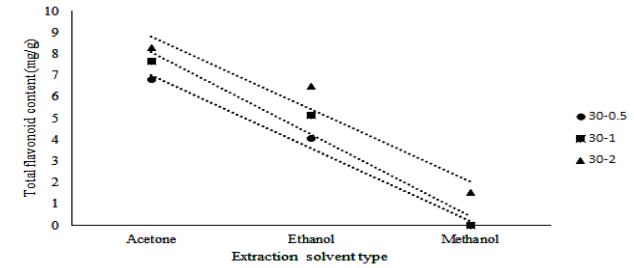
**Table 2** Total phenolic content, free radical scavenging activity and total flavonoid content obtained through different extraction conditions

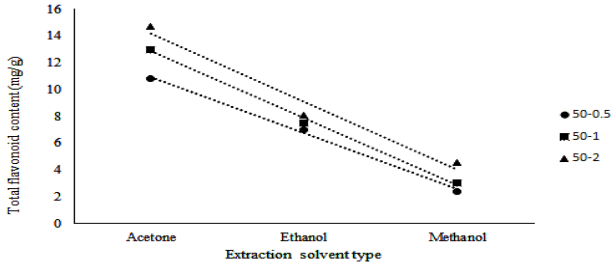
| Extraction efficiency (%) | Total flavonoid content(mg/g) | Free radical scavenging activity (%) | Total phenol content(mg/g) | Time | Temperature | Solvent | Run |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 29.99 | 4.07 | 77.726 | 45.600 | 0.5 | 30 | Ethanol | 1 |
| 29.86 | 7.68 | 33.303 | 45.389 | 1 | 30 | Acetone | 2 |
| 87.53 | 1.52 | 91.418 | 133.074 | 2 | 30 | Methanol | 3 |
| 61.70 | 6.5 | 85.776 | 93.798 | 2 | 30 | Ethanol | 4 |
| 91.46 | 13.27 | 88.891 | 139.040 | 2 | 80 | Ethanol | 5 |
| 85.21 | 5.86 | 90.459 | 129.537 | 1 | 80 | Methanol | 6 |
| 62.85 | 3 | 86.836 | 95.540 | 1 | 50 | Methanol | 7 |
| 54.79 | 8.28 | 41.719 | 83.293 | 2 | 30 | Acetone | 8 |
| 66.25 | 21.5 | 53.254 | 100.714 | 2 | 80 | Acetone | 9 |
| 32.60 | 0 | 82.127 | 49.560 | 0.5 | 30 | Methanol | 10 |
| 94.13 | 4.52 | 93.072 | 143.105 | 2 | 50 | Methanol | 11 |
| 100 | 6.88 | 97.760 | 152.026 | 2 | 80 | Methanol | 12 |
| 49.09 | 7 | 82.369 | 74.635 | 0.5 | 50 | Ethanol | 13 |
| 63.47 | 14.71 | 49.851 | 96.491 | 2 | 50 | Acetone | 14 |
| 62.43 | 12.05 | 86.521 | 94.907 | 1 | 80 | Ethanol | 15 |
| 57.39 | 0 | 86.760 | 87.252 | 1 | 30 | Methanol | 16 |
| 66.32 | 8.08 | 86.856 | 100.819 | 2 | 50 | Ethanol | 17 |
| 55.87 | 7.51 | 84.338 | 84.930 | 1 | 50 | Ethanol | 18 |
| 44.99 | 13.01 | 36.697 | 68.406 | 1 | 50 | Acetone | 19 |
| 28.71 | 16.25 | 35.747 | 43.647 | 0.5 | 80 | Acetone | 20 |
| 52.01 | 5.12 | 82.294 | 79.070 | 1 | 30 | Ethanol | 21 |
| 55.83 | 2.41 | 84.792 | 84.877 | 0.5 | 50 | Methanol | 22 |
| 57.98 | 4.92 | 87.517 | 88.150 | 0.5 | 80 | Methanol | 23 |
| 26.49 | 18.07 | 40.267 | 85.088 | 1 | 80 | Acetone | 24 |
| 19.96 | 6.79 | 25.194 | 30.344 | 0.5 | 30 | Acetone | 25 |
| 25.24 | 10.81 | 28.552 | 38.368 | 0.5 | 50 | Acetone | 26 |
| 34.96 | 10.54 | 82.142 | 53.150 | 0.5 | 80 | Ethanol | 27 |

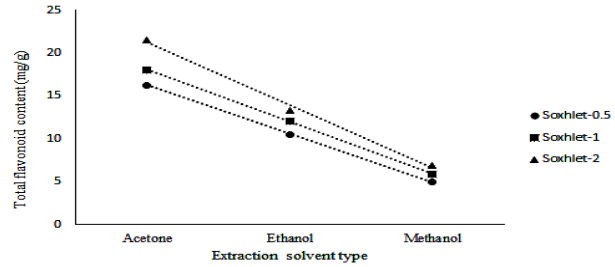
**Table 3** Results of analysis of variance of extracted phenolic content

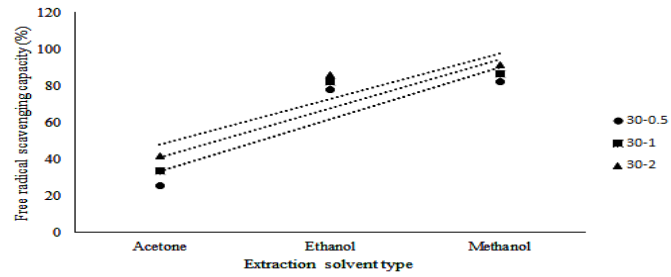
| Source | DF | Adj SS | Seq SS | Adj MS | valueF | Probability(P) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Model | 26 | 78516.6 | 78516.6 | 3019.9 | 3582.41 | <0.0001 |
| Linear | 6 | 71004.7 | 71004.7 | 11834.1 | 14038.59 | <0.0001 |
| Solvent | 2 | 20814.0 | 20814.0 | 10407.0 | 12345.61 | <0.0001 |
| Temperature | 2 | 8854.4 | 8854.4 | 4427.2 | 5251.90 | <0.0001 |
| Time | 2 | 41336.3 | 41336.3 | 20668.2 | 24518.25 | <0.0001 |
| 2-Way Interactions | 12 | 3630.7 | 3630.7 | 302.6 | 358.92 | <0.0001 |
| Solvent×Temp | 4 | 866.8 | 866.8 | 216.7 | 257.07 | <0.0001 |
| Solvent×Time | 4 | 165.8 | 165.8 | 41.4 | 49.16 | <0.0001 |
| Temp×Time | 4 | 2598.1 | 2598.1 | 649.5 | 770.52 | <0.0001 |
| 3-Way Interactions | 8 | 3881.2 | 3881.2 | 485.2 | 575.53 | <0.0001 |
| Solvent×Temp×Time | 8 | 3881.2 | 3881.2 | 485.2 | 575.53 | <0.0001 |
| Error | 54 | 0.8 | 45.5 | | | |
| Total | 80 | | 78562.2 | | | |

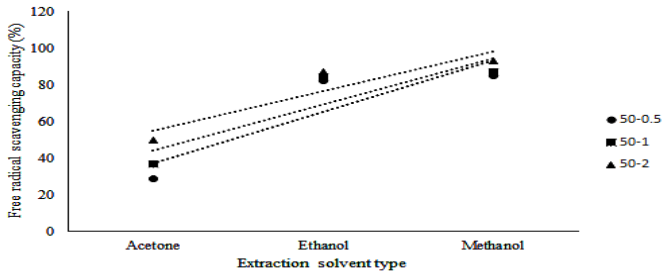
Seq SS: Sequential sums of squares, Adj SS: adjusted sum of squares, Adj MS: Adjusted mean squares

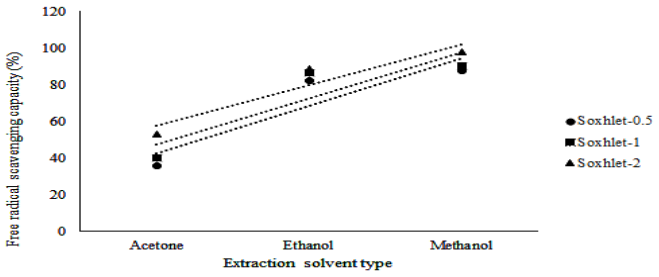

Total flavonoid content (mg/g)
Acetone
Ethanol
Methanol
Extraction solvent type
30-0.5
30-1
30-2


Total flavonoid content (mg/g)
Acetone
Ethanol
Methanol
Extraction solvent type
50-0.5
50-1
50-2


Total flavonoid content (mg/g)
Acetone
Ethanol
Methanol
Extraction solvent type
Soxhlet-0.5
Soxhlet-1
Soxhlet-2


Free radical scavenging capacity (%)
Acetone
Ethanol
Methanol
Extraction solvent type
30-0.5
30-1
30-2


Free radical scavenging capacity (%)
Acetone
Ethanol
Methanol
Extraction solvent type
50-0.5
50-1
50-2


Free radical scavenging capacity (%)
Acetone
Ethanol
Methanol
Extraction solvent type
Soxhlet-0.5
Soxhlet-1
Soxhlet-2

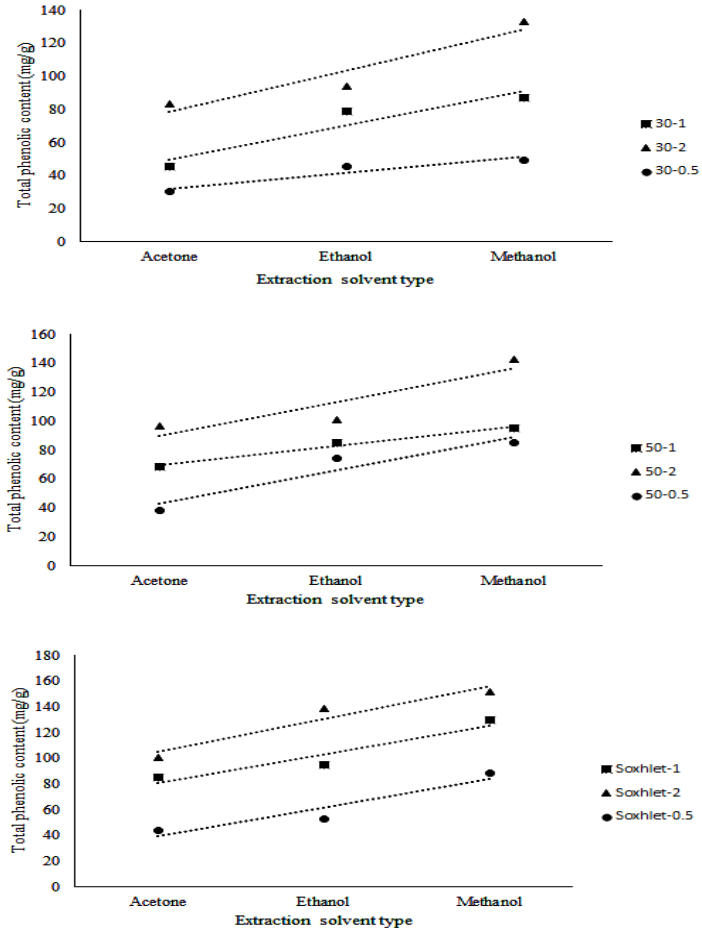



**Fig 1** Diagrams of the effects of solvent type, time and temperature on total phenolic compounds, free radical scavenging activity and total flavonoid content of the extracts from sunflower seeds

باتوجه به نمودارهای شکل ۱ کمترین میزان استخراج ترکیبات فنولی مربوط به حلال استون، دمای عصاره‌گیری $^{0}$C ۳۰ و زمان۳۰ دقیقه با مقدار ۳۰/۳٤٤ میلی‌گرم برگرم اسید گالیک در عصاره بوده و بیشترین میزان مربوط به حلال متانول با دمای عصاره‌گیری $^{0}$C۸۰ و زمان ۱۲۰ دقیقه با مقدار ۱۵۲/۰۲٦میلی‌گرم برگرم اسید گالیک در عصاره می‌باشد. بنابراین تیمار متانول ۸۰٪ در دمای سوکسله بعنوان تیمار بهینه انتخاب گردید. تأثیر نوع حلال، دمای استخراج، مدت زمان استخراج و تمامی اثرات متقابل آنها بر میزان استخراج محتوای فنول کل تأثیر معنی‌داری ($p$<۰/۰۰۰۱) نشان دادند. با توجه به نتایج پژوهش‌های پیشین، دلیل این امر را می‌توان این‌طور توجیه نمود که استفاده از آب برای استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند در نتیجه برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پایین، کمتر استخراج می‌شوند میزان استخراج ترکیبات فنولی درنمونه‌های مورد آزمایش این پروژه نسبت به میزان ترکیبات فنولی گزارش شده در برخی منابع به دلیل حذف چربی بیشتر می‌باشد. چرا که در روش چربی‌گیری (که تقریبا ٥۰٪ از محتوای نمونه‌ها را چربی تشکیل می‌دهد)، با حذف چربی ماده خشک نمونه بالا رفته در نتیجه میزان ترکیبات فنولی نیز افزایش می‌یابد. نمودار تک فاکتور میانگین محتوای فنل کل تحت تأثیر دما در شکل ۲ آورده شده است. با توجه به شکل مشخص است که مقدار میانگین ترکیبات فنلی کل استخراجی در محدوده دمایی $^{0}$C ۳۰-۸۰ بین ٦۰/۷٦ تا ۹۱/۱۹ میلی‌گرم بر گرم قرار دارد.

در مطالعه‌ای دیگر Abozed و همکارانش (۲۰۱٤)، تأثیر سه حلال آبی استون ٥۰٪، متانول ۷۰٪ و اتانول ۷۰٪ را بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گندم کامل و سبوس آن مورد مطالعه قرار دادند. بر طبق نتایج، عصاره‌های حاصل از حلال آبی اتانول ۷۰٪ هم در گندم کامل و هم در سبوس آن توانسته بودند بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان دهند [۲۲].

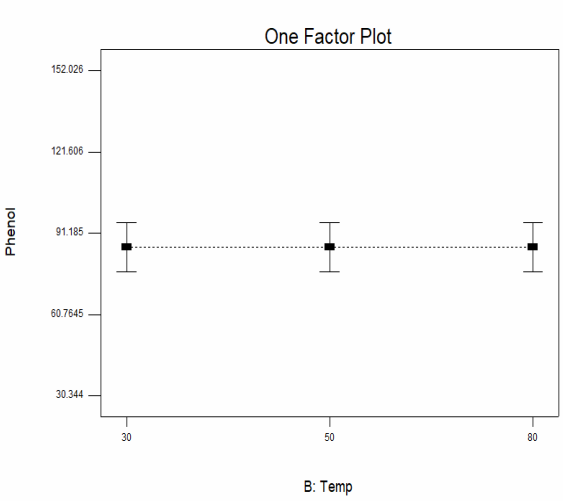



**Fig 2** The one factor plot of total phenol content under temperature influence

## ۳-۲- ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد (DPPH)

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد نمونه‌های آرد آفتابگردان آجیلی چربی گیری شده، در شرایط مختلف دمایی و زمانی، تحت حلال‌های مختلف مورد آزمون قرارگرفت و در جدول۲ آورده شده است. با توجه به نتایج، مشخص می‌شود که ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد تحت تأثیر استفاده از حلال‌های مختلف و شرایط دمایی و زمانی می‌تواند تغییر کند. به عنوان مثال ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد توسط حلال متانول در تمامی تیمارها بیشتر از ظرفیت استون و اتانول بود. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان تأثیر دما و زمان استخراج شده بر میزان ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد را مشاهده نمود. همانطور که در جدول تجزیه واریانس ٤ نیز مشخص است تأثیر نوع حلال، دمای استخراج، مدت زمان استخراج و تمامی اثرات متقابل آنها بر میزان درصد مهار رادیکالی تأثیر معنی‌داری ($p<$۰/۰۰۰۱) نشان دادند. به طور کلی با افزایش دما و زمان استخراج، میزان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد نیز افزایش نشان داده است. دلیل آنرا می‌توان به افزایش استخراج ترکیبات فنولی نسبت داد زیرا میان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد با ترکیبات فنولی رابطه مستقیمی وجود دارد. همانطور که مشاهده شد عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های قطبی نسبت به استون قدرت آنتی‌اکسیدانی و بازده استخراج بالاتری داشتند. با توجه به تحقیقات انجام یافته کمترین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد مربوط به حلال استون با دمای عصاره‌گیری $^{0}$C ۳۰ وزمان۳۰ دقیقه بوده و بیشترین میزان مربوط به حلال متانول با دمای عصاره‌گیری $^{0}$C ۸۰ و زمان ۱۲۰ دقیقه می‌باشد. بر اساس آزمایشات انجام شده و نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که میزان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد با حلال متانول ۸۰٪ > اتانول۵۰٪ > استون۵۰٪ بود. Upadhyay و همکاران (۲۰۱۵)[۲۱] در تأثیر حلال‌های مختلف متانول، استون و آب بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل، فلاوونوئیدها و اسید آسکوربیک در دانه‌های ارزن نشان دادند که ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد بدست آمده از حلال استون (۹٤/۱٪–۳۱/٦ ٪) بیشتر از حلال‌های متانول (۹۲/۱ ٪–۲٦/٦ ٪) و آب (۵۳/۹ ٪– ۱٦/۲ ٪) بود. بر اساس نتیجه‌گیری محققین، مقادیر محتوای فنلی و فلاوونوئیدی بالا در عصاره‌ها باعث افزایش در فعالیت آنتی اکسیدانی گردید.

در مطالعه‌ای که توسط Akowuah و همکارانش در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت (۲۳)، تأثیر حلال‌های استخراجی متفاوت بر فعالیت آنتی اکسیدانی برگ‌های *Orthosiphon stamineus* را مورد مطالعه قرار دادند. حلال‌های مورد استفاده شامل آب مقطر، محلول ۵۰٪ آبی متانول، متانول، محلول ۷۰٪ آبی استون و کلروفرم در زمان‌های ۲، ٤ و ۸ ساعت در حمام آب $^{0}$C ٤۰ بود.بر اساس یافته‌های بدست آمده، تمامی عصاره‌های حاصله فعالیت بازدارندگی قابل توجهی را در برابر رادیکال DPPH در غلظت نهایی mg/mL ۰/۰۵ نشان دادند و در بین تمامی حلال‌های فوق، عصاره‌های حاصل از محلول ۵۰٪ آبی متانول دارای بیشترین فعالیت بودند. در مطالعه‌ای دیگر Abozed و همکارانش (۲۰۱٤)، تأثیر سه حلال آبی استون ۵۰٪، متانول ۷۰٪ و اتانول ۷۰٪ را بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گندم کامل و سبوس آن مورد مطالعه قرار دادند. بر طبق نتایج، عصاره‌های حاصل از حلال آبی اتانول ۷۰٪ هم در گندم کامل و هم در سبوس آن توانسته بودند بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان دهند.

نمودار تک فاکتور میانگین ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد تحت تأثیر دما در شکل ۳ آورده شده است. با توجه به شکل مشخص است که مقدار میانگین ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد در محدوده دمایی $^{0}$C ۳۰–۸۰ بین ٦۱/٤۸ تا ٦۲/۷۹ درصد قرار دارد.

**Table 4** Results of analysis of variance of free radical scavenging activity

| Source | DF | Adj SS | Seq SS | Adj MS | valueF | Probability(P) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Model | 26 | 45046.7 | 45046.7 | 1732.6 | 6467.22 | <0.0001 |
| Linear | 6 | 44519.6 | 44519.6 | 7419.9 | 27696.70 | <0.0001 |
| Solvent | 2 | 42222.4 | 42222.4 | 21111.2 | 78802.75 | <0.0001 |
| Temperature | 2 | 527.1 | 527.1 | 263.6 | 983.78 | <0.0001 |
| Time | 2 | 1770.1 | 1770.1 | 885.0 | 3303.59 | <0.0001 |
| 2-Way Interactions | 12 | 484.7 | 484.7 | 40.4 | 150.78 | <0.0001 |
| Solvent×Temp | 4 | 92.3 | 92.3 | 23.1 | 86.16 | <0.0001 |
| Solvent×Time | 4 | 378.6 | 378.6 | 94.7 | 353.33 | <0.0001 |
| Temp×Time | 4 | 13.8 | 13.8 | 3.4 | 12.86 | <0.0001 |
| 3-Way Interactions | 8 | 42.4 | 42.4 | 5.3 | 19.76 | <0.0001 |
| Solvent×Temp×Time | 8 | 42.4 | 42.4 | 5.3 | 19.76 | <0.0001 |
| Error | 54 | 14.5 | 14.5 | 0.3 | | |
| Total | 80 | | 45061.1 | | | |

Seq SS: Sequential sums of squares, Adj SS: adjusted sum of squares, Adj MS: Adjusted mean squares

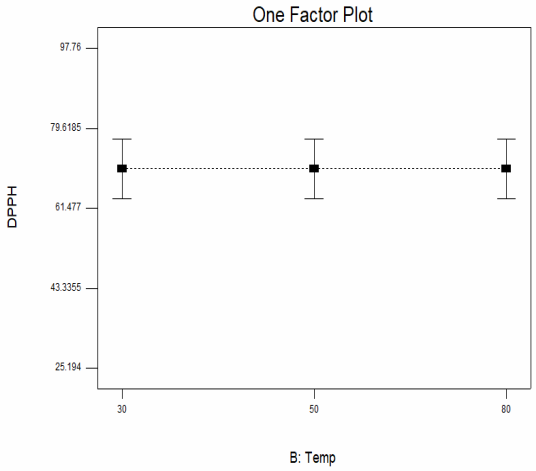



**Fig 3** The one factor plot of free radical scavenging activity affected by the temperature

## ۳-۳- محتوای فلاوونوئیدکل

محتوای فلاوونوئید کل استخراج شده از نمونه‌های آرد آفتابگردان آجیلی چربی گیری شده، در شرایط مختلف دمایی و زمانی،تحت حلال‌های مختلف مورد آزمون قرارگرفته و در جدول۲ آورده شده است با توجه به نتایج مشخص می‌شود که محتوای فلاوونوئید کل تحت تاثیر استفاده از حلال‌های مختلف و شرایط دمایی و زمانی می‌تواند تغییر کند. به عنوان مثال محتوای فلاوونوئید استخراج شده توسط حلال استون در تمامی تیمارها بیشتر از فلاوونوئید کل استخراج شده از متانول و اتانول بود (مقایسه با مثالها) همچنین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان تاثیر دما و زمان استخراج شده بر میزان فلاوونوئید کل را مشاهده نمود. همانطور که در جدول ۵ تجزیه واریانس نیز مشخص است تأثیر نوع حلال، دمای استخراج، مدت زمان استخراج و تمامی اثرات متقابل آنها بر میزان استخراج فلاوونوئید کل تأثیر معنی‌داری ($p$<۰/۰۰۰۱) نشان دادند. به طور کلی با افزایش دما و زمان استخراج، میزان فلاوونوئید کل نیز افزایش یافته است. بر اساس آزمایشات انجام شده و نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که میزان محتوای فلاوونوئیدی کل بیشتر به درجه قطبیت حلال وابسته است و حلال غیر قطبی مانند استون برعکس حلال اتانول و متانول که قطبیت بیشتری دارند در استخراج فلاوونوئید کارآمدتر است. این درحالی است که حلال قطبی استخراج مقادیر بیشتر ترکیبات فنولی را امکان پذیر می‌نماید و این ترکیبات بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در عصاره دارا می‌باشند. پس میتوان نتیجه گرفت که خروج ترکیبات فنولی با درصد مهار رادیکالی رابطه مستقیم و با ترکیبات فلاوونوئیدی دارای یک رابطه معکوس می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده محتوای فلاوونوئید استخراج شده توسط حلال استون در تمامی تیمارها بیشتر از فلاوونوئید کل استخراج شده از متانول و اتانول بود. بر اساس نتایج بدست آمده از Upadhyay و همکاران (۲۰۱۵) [۲۱]، ترکیبات فلاوونوئیدی ارزن در حلال متانول به مراتب بهتر از حلال‌های استون و آب استخراج گردیدند که دلیل آن را می‌توان به قدرت حلال متانول در حل کردن ترکیبات فلاوونوئیدی نسبت داد. تحقیقات Mokrani و Madani (۲۰۱٦) [۲٤]، نشان داد که تأثیر حلال اتانول ٦۰٪ در محتوای فلاوونوئیدی کل میوه هلو به مراتب بیشتر از حلال‌های متانول ٦۰٪، استون ٦۰٪ و آب بود. با این حال، آنها

نشان دادند که محلول‌های ٢٠٪ و ١٠٠٪ از استون در استخراج ترکیبات فلاوونوئیدی از هلو با مقادیر ٧٦ mgQE/100g و mg ٧٣ QE/100g به ترتیب بسیار کارآمدتر بودند. مقادیر میانگین ٦٣ mgQE/100g و ٥٦ mgQE/100g، برای محلول استون ٤٠٪ و ٨٠٪ بدست آمدند. همچنین کمترین بازده محتوای فلاوونوئید کل (٣٨ mgQE/100g) با استفاده از استون ٦٠٪ بدست آمد.

نمودار تک فاکتور میانگین محتوای فلاوونوئید کل تحت تأثیر دما در شکل ٤ آورده شده است. همانطور که در شکل نیز مشخص است، مقدار میانگین محتوای فلاوونوئید کل در محدوده دمایی $^{0}$C ٣٠-٨٠ بین ٥/٣٧٥mg/g تا ١٠/٧٥ mg/g قرار دارد.

**Table 5** Results of analysis of variance of total flavonoid content

| Source | DF | Adj SS | Seq SS | Adj MS | valueF | Probability(P) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Model | 26 | 2288.38 | 2288.38 | 88.015 | 366.46 | <0.0001 |
| Linear | 6 | 2182.74 | 2182.74 | 363.790 | 1514.68 | <0.0001 |
| Solvent | 2 | 1291.73 | 1291.73 | 645.864 | 3689.12 | <0.0001 |
| Temperature | 2 | 808.03 | 808.03 | 404.014 | 1682.16 | <0.0001 |
| Time | 2 | 82.98 | 82.98 | 41.491 | 172.75 | <0.0001 |
| 2-Way Interactions | 12 | 96.33 | 96.33 | 8.028 | 33.42 | <0.0001 |
| Solvent×Temp | 4 | 83.15 | 83.15 | 20.787 | 86.55 | <0.0001 |
| Solvent×Time | 4 | 7.74 | 7.74 | 1.934 | 8.05 | <0.0001 |
| Temp×Time | 4 | 5.45 | 5.45 | 1.362 | 5.67 | <0.0001 |
| 3-Way Interactions | 8 | 9.31 | 9.31 | 1.164 | 4.85 | <0.0001 |
| Solvent×Temp×Time | 8 | 9.31 | 9.31 | 1.164 | 4.85 | <0.0001 |
| Error | 54 | 12.97 | 12.97 | 0.240 | | |
| Total | 80 | | 2301.35 | | | |

Seq SS: Sequential sums of squares, Adj SS: adjusted sum of squares, Adj MS: Adjusted mean squares

٨٥/٩٦ برای ترکیبات فنولی کل، ٧٠/٤٥ ٪ برای ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد و٨/١٦ mg/g برای محتوای فلاوونوئید کل با حلال اتانول، دمای $^{0}$C ٣٠ و زمان ٠/٥ ساعت گردید. تابع مطلوبیت برای آزمون مقدار ٠/٥ تعیین گردید. این نتایج در شکل ٥ و جدول ٦ آورده شده‌اند.

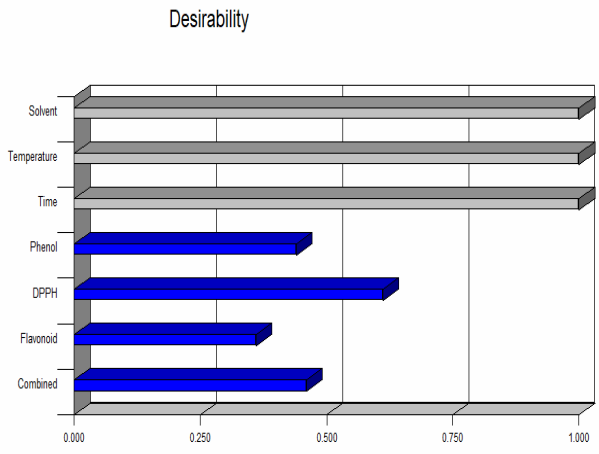



**Fig 5** Desirability plot of the effect of solvent, temperature and time on studied responses

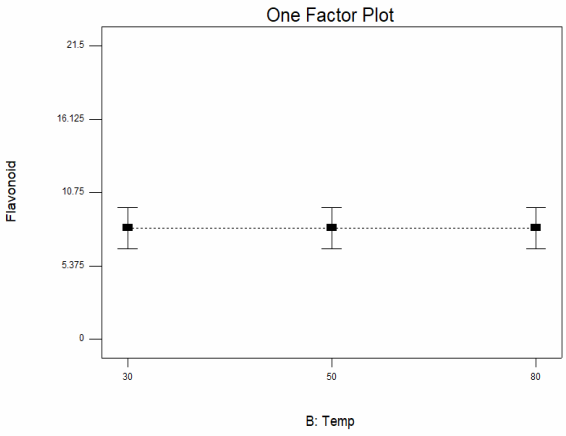



**Fig 4** One factor plot of total flavonoid content under temperature influence

## ٣-٤- بهینه‌سازی

تجزیه و تحلیل و نتایج فرآیند بهینه سازی با استفاده از تکنیک بهینه سازی عددی و با نرم افزار آماری Design-Expert 6.0.8 نشان داد که شرایط بهینه استخراج از کنجاله آفتابگردان آجیلی با کاربرد هر سه متغیر نوع حلال، دما و زمان و با هدف دستیابی به مقدار بیشینه پاسخ، منجر به پیش بینی مقادیرmg/g

**Table 6** Results of optimization analysis

| | Predicted | SE Mean | 95% CI low | 95% CI high | SE Pred | 95% PI low | 95% PI high |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Total phenol content | 85.9558 | 6.39 | 72.82 | 99.09 | 33.82 | 16.44 | 155.47 |
| DPPH | 70.4533 | 4.63 | 60.95 | 79.96 | 24.47 | 20.15 | 120.76 |
| Total flavonoid content | 8.16111 | 1.04 | 6.02 | 10.30 | 5.51 | -3.17 | 19.49 |

## ۳-۵- اندازه گیری عدد پراکسید

بررسی روند تغییرات اندیس عدد پراکسید در روغن آفتابگردان حاوی عصاره استخراج شده از دانه آفتابگردان در مدت زمان نگهداری پنج روزه و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در جدول (۷) آورده شده است.

**Table 7** Changes in sunflower oil peroxide value over 120 hours at 90 ℃

| 120h | 96h | 72h | 48h | 24h | Extract concentration (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $158^{aA}$ | $120^{aB}$ | $60^{aC}$ | $50^{aD}$ | $24^{aE}$ | Blank (0 %) |
| $60^{bA}$ | $52^{bB}$ | $44^{bC}$ | $35^{bD}$ | $12.2^{bE}$ | 0.02 % |
| $58^{cA}$ | $48^{cB}$ | $40^{cC}$ | $30^{cD}$ | $12^{bE}$ | 0.04 % |
| $54^{dA}$ | $40^{dB}$ | $30^{dC}$ | $26^{dD}$ | $8^{cE}$ | 0.06 % |
| $40^{eA}$ | $32^{eB}$ | $24^{eC}$ | $20^{eD}$ | $5.8^{dE}$ | 0.1 % |
| $30^{fA}$ | $28^{fB}$ | $18^{fC}$ | $20^{eD}$ | $5^{eE}$ | BHA 0.01 % |

Different letters in each row (capital letters) and the column (lowercase) indicate a significant difference ($P < 0.05$).

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ها در نمونه‌ها، عدد پراکسید این تیمارها در همه روزها مقاومت بیشتری در مقابل افزایش نشان داد. علت آن را می‌توان به وجود ترکیبات فنولیک، پلی فنولیک و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در این عصاره‌ها نسبت داد. به این ترتیب که با افزایش غلظت عصاره-ها تأثیر این ترکیبات بر روند ممانعت از افزایش عدد پراکسید بیشتر شده است. در تمام روزها نمونه آفتاب‌گردان حاوی ۰/۰۱ ٪BHA کمترین اندیس پراکسید را داشت و بعد از آن به ترتیب تیمار حاوی۰/۱، ۰/۰۶، ۰/۰۴و ۰/۰۲ درصد قرار داشتند. نمونه شاهد بالاترین عدد پراکسید را در تمام روزها دارا بود که به دلیل عدم حضور آنتی‌اکسیدان افزوده شده به این نمونه می‌باشد. بنابراین می‌توان اظهار کرد که کارایی نمونه آفتابگردان حاوی ۰/۱٪ از عصاره متانولی که در دمای سوکسله و مدت ۲ ساعت استخراج شده بود بسیار نزدیک به نمونه حاوی ۰/۰۱٪BHA بوده که میتوان درصدی از این عصاره را بعنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA در صنعت غذا مورد استفاده قرار داد. مطالعات مشابهی در ارتباط با کاربرد انواع ترکیبات آنتی اکسیدانی بر پایداری اکسیداتیو روغن‌های مختلف انجام یافته است. به عنوان مثال عزیزخانی و همکاران در سال ۱۳۸۵ [۲۵] تأثیر مخلوط آنتی اکسیدان-های طبیعی را بر پایداری اکسیداتیو مارگارین مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که می‌توان از آنها بعنوان جانشین TBHQ برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مارگارین استفاده نمود. در مطالعه‌ای دیگر، کمالی روستا و همکاران (۱۳۹۰)، اثر عصاره دارچین استخراج شده را بر پایداری روغن آفتابگردان مورد مطالعه قرار داده و گزارش نمودند که با افزایش غلظت عصاره‌ها اثر آنتی اکسیدانی آنها بیشتر شده و عصاره استونی بهتر از عصاره متانولی عمل می-نماید به طوری که عصاره استونی دارچین با غلظت ۰/۱ ٪ اثر آنتی اکسیدانی بیشتری بعد از آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ با غلظت ۰/۰۱٪ دارد [۲۶].

## ٤- نتیجه گیری

نتایج بدست آمده نشان داد کـه دانـه آفتـاب‌گـردان سرشـار از ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی بوده و ایـن امـر نـشان دهنـده پتانسیل بالای این دانه جهت استفاده در فرمولاسـیونهای مـواد غذایی است. با توجه به این نتایج، مشخص می‌شـود کـه سـه متغیر حلال، دما و زمان بر میـزان اسـتخراج ترکیبـات فنـولی، ترکیبات فلاوونوئیدی و ظرفیت به دام اندازی رادیکالDPPH تأثیرگذار است همچنین مـشاهده مـی‌شـود کـه میـزان درصـد استخراج ترکیبات فنـولی و ظرفیـت بـه دام انـدازی رادیکـال DPPH با حلال متانول٪۸۰ بیشتر از اتانول٪۵۰ و اتانول بیشتر از استون ٪۵۰ بوده و دمای سوکسله با زمان ۲ ساعت بالاترین

استخراج ترکیبات فنولی، و به دام اندازی رادیکال DPPH را از دانه آفتاب‌گردان داشت. باتوجه به نتایج پژوهش‌های پیشین، دلیل این امر را میتوان این طور توجیه نمود که استفاده از آب برای استخراج، یک محیط کاملا ًقطبی ایجاد می‌کند در نتیجه برخی از ترکیبات فنولی با درجه قطبیت پایین، کمتر استخراج می‌شوند. برای استخراج ترکیبات فنولی استفاده از حلال متانول ٪۸۰، زمان ۲ ساعت و دمای ۸۰ درجه بالاترین راندمان را دارد. این در حالی است که برای استخراج ترکیبات فلاوونوئیدی، حلال استون ۵۰٪، زمان ۲ ساعت و دمای ۸۰ درجه بالاترین کارایی را از خود نشان داد. حلال‌های غیرقطبی برای استخراج فلاوونوئید مناسب‌تر هستند و چون استون حلال غیرقطبی است برای استخراج ترکیبات فلاوونوئیدی مناسب می‌باشد. پس می‌توان نتیجه گرفت که خروج ترکیبات فنولی با ٪ مهار رادیکالی را بطه مستقیم و با ترکیبات فلاوونوئیدی دارای یک رابطه معکوس می‌باشد. در حالیکه زمان و دمای بالا با افزایش استخراج ترکیبات فنولی، فلاوونوئیدی و به دام اندازی رادیکال DPPH رابطه مستقیمی دارد. در اندازه‌گیری عدد پراکسید، با گذر زمان میزان اکسیداسیون روغن و اندیس پراکسید افزایش می‌یابد همچنین نمونه حاوی ۰/۱٪ عصاره قابلیت رقابت با نمونه حاوی ۰/۰۱٪ BHA را دارد. این بیانگر بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه آفتابگردان می‌باشد.

## ۵- منابع


[1] González - Pérez, S., & Vereijken, J. M. (2007). Sunflower proteins: overview of their physicochemical, structural and functional properties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87(12), 2173-2191.

[2] Vafaei, N., Tavakkoli Pour, H. & Ghods Vali, A. (1387). Investigation of the factors affecting on dehulling capacity and some physical and chemical properties of sunflower seeds in Golestan Province. 18th National Congress of Food Science and Technology. 23 to 25th of October. Mashhad

[3] Fao, I. (2013). WFP, The State of Food Insecurity in the World 2013. The multiple dimensions of food security. FAO, Rome.

[4] W.A.A. Organization. West Azerbaijan Agricultural Organization [Online]. Available: http://waaj.ir/ [Accessed 21May 2014].

[5] Dillard, C. J., & German, J. B. (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(12), 1744-1756.

[6] Wang, S., Meckling, K. A., Marcone, M. F., Kakuda, Y., & Tsao, R. (2011). Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities. Journal of agricultural and food chemistry, 59(3), 960-968.

[7] Wettasinghe, M., & Shahidi, F. (2000). Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radicals by extracts of borage and evening primrose meals. Food Chemistry, 70(1), 17-26.

[8] Salta, F. N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. Revista de Agaroquimica y Tecnologia de Alimentos, 13(6), 413-421.

[9] Aghaei, A., Darvishzadeh, R., Hatamnia, A. & Abbasi, N. (1394). The antioxidant activity and total phenol content in different portions of the four genotypes of sunflower seeds (Helianthus annus L.). Journal of Plant Environmental Physiology, Vol. 10, No. 38, 1-10.

[10] Taha, F. S., Mohamed, G. F., Mohamed, S. H., Mohamed, S. S., & Kamil, M. M. (2011). Optimization of the extraction of total phenolic compounds from sunflower meal and evaluation of the bioactivities of chosen extracts. American Journal of Food Technology, 6, 1002-1020.

[11] Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of agricultural and food chemistry, 53(6), 1841-1856.

[12] Parr, A. J., & Bolwell, G. P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(7), 985-1012.

[13] Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food chemistry, 85(4), 633-640.

[14] Tsantili, E., Shin, Y., Nock, J. F., & Watkins, C. B. (2010). Antioxidant concentrations during chilling injury

development in peaches. Postharvest Biology and Technology, 57(1), 27-34.

[15] Lenucci, M. S., Cadinu, D., Taurino, M., Piro, G., & Dalessandro, G. (2006). Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(7), 2606-2613.

[16] Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (Scomber austriasicus). Food research international, 36(9), 949-957.

[17] Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentao, P., Andrade, P. B., González-Álvarez, J., & Pereira, J. A. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (Juglans regia L.) green husk extracts. *Industrial crops and products*, *42*, 126-132.

[18] Rezaei Urmi, S., Jafari, S.M. & Khamiri, M. (1390). Evaluation of antimicrobial activity of walnut leaves and green husk extracted by microwave-assisted extraction. Journal of food processing and preservation, Volume 3, Issue 1, 31-41.

[19] De Leonardis, A., Macciola, V., & Di Domenico, N. (2005). A first pilot study to produce a food antioxidant from sunflower seed shells (Helianthus annuus). *European journal of lipid science and technology*, *107*(4), 220-227.

[20] Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Bahloul, N., Lognay, G., Drira, N.E.and Attia, H. (2004). Date seed 0il: phenolic, tocopherol and sterol profiles.Journal Of Food Lipids, 11(4):251-265.

[21] Upadhyay, R., Jha, A., Singh, S. P., Kumar, A., & Singh, M. (2015). Appropriate solvents for extracting total phenolics, flavonoids and ascorbic acid from different kinds of millets. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(1), 472-478.

[22] Abozed, S. S., El-Kalyoubi, M., Abdelrashid, A., & Salama, M. F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. *Annals of Agricultural Sciences*, *59*(1), 63-67.

[23] Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I., & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, *93*(2), 311-317.

[24] Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (Prunus persica L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, *162*, 68-76.

[25] Azizkhani, M., Zandi, P., Gayini, A., Safafar, H. & Akhavan Attar, Z. (1385). The effect of mixture of natural antioxidants on oxidative stability of margarine. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 2, 35-44.

[26] Kamaliroosta, L., Ghavami, M., Gharachorloo, M. & Azizinezhad, R. (1390). Isolation of cinnamon extract and assessing its effect on the stability of sunflower oil. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, No. 1, 13-22.Iranian Journal of Nutrition & Food Technology

# Investigation and optimization of phenolic compounds extraction from sunflower seeds and comparing its antioxidant activity with synthetic antioxidants in oxidative stability of sunflower oil

**Mehryar, L. [1*], Maryam Eskandarkhani[b]**

1. Ph.D. of Food Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University
(Lecturer at Saba Higher Education Institute)
2. M.Sc. Graduate student of Saba Higher Education Institute

**(Received: 2018/05/31 Accepted:2019/03/18)**

In this research, total phenolic content, total flavonoids content and total antioxidant activity of defatted sunflower seeds were evaluated. The antioxidant activity was determined using scavenging capacity of diphenyl-1-picrylhydrazyl. The results showed that the extraction of phenolic compounds, flavonoids and free radical-gathering capacity depends on the type of solvent, temperature, and time of extraction. So that, the content of the total phenol content and antioxidant activity (152.026 mg/g and 97.760 %) of the extract of the seeds were higher at the same conditions (80℃ , 2h) by methanol, and total flavonoid content (21.5 mg/g) was reported to be higher using acetone as the solvent. According to the obtained results, there was found a linear relationship between the percentage of phenolic compounds and radical scavenging activity and an inverse relationship was observed between the level of flavonoids compounds and total phenol content. The results showed that extraction by methanol at 80℃ and for 2 hours, resulted in higher amounts of phenolic compounds, therefore; the mentioned extract was applied as the natural antioxidants for comparison with synthetic antioxidants (BHA) in sunflower oil. The results revealed powerful effects of extracted sunflower extracts, in which the samples containing 0.1% of extract, acted similar to 0.01% BHA.

**Keywords:** Sunflower seeds, Total phenolic content, Antioxidant activity, Total flavonoid content, BHA

*Corresponding Author E-Mail Address: Laleh.Mehryar@Gmail.com