

بهینه سازی فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه متکا (*Ferula persica*) به کمک امواج فراصوت با استفاده از دماها و زمانهای متفاوت و نسبتهای مختلف حلال اتانول-آب به روش سطح پاسخ

پرویز استخر^۱، جواد توکلی^{۲*}، فرانک بیگ محمدی^۱، شیما علایی^۳

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، فارس، ایران

۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۲۰)

چکیده

در تحقیق حاضر، بهینه سازی فرایند استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی (قدرت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی آهن، و شاخص پایداری اکسایشی) متکا (*Ferula persica*) با استفاده از امواج فراصوت از طریق روش سطح پاسخ بررسی شد. جهت بهینه سازی فرایند استخراج از طرح مرکب مرکزی با سه متغیر مستقل زمان (۵، ۲۷،۵ و ۵۰ دقیقه)، دما (۲۵، ۴۵ و ۶۵ درجه سانتیگراد) و نسبت اتانول در حلال آب-اتانول (۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) استفاده شد. به طور کلی نتایج آنالیز واریانس نشان داد، که پارامترهای مستقل دارای اثر معنی داری بر قدرت جذب رادیکالهای آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی آهن و شاخص پایداری اکسایشی عصاره متکا بودند که ضریبهای رگرسیونی آنها به ترتیب ۰،۹۱، ۰،۹۴ و ۰،۹۳ تعیین شد، در حالیکه مدل پیشنهادی برای ترکیبات فنلی کل بیانگر معنی دار نبودن اثر این پارامترها با ضریب تبیین بسیار پایین بود. بررسی نتایج نشان داد که شرایط بهینه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متکا در دمای ۵۲،۹ درجه سانتی گراد با استفاده از غلظت ۵۳،۵ درصد اتانول در حلال اتانول-آب به مدت ۳۴،۱ دقیقه فرایند فراصوت مشاهده شد. همچنین مشخص شد که نتایج آزمونهای تجربی به مقادیر پیش بینی شده توسط روش سطح پاسخ نزدیک بود. بررسی نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف متکا نشان داد که در اکثر شرایط دارای قدرت آنتی اکسیدانی مناسب است.

کلید واژگان: گیاه متکا، امواج فراصوت، فعالیت آنتی اکسیدانی، بهینه سازی، روش سطح پاسخ

* مسئول مکاتبات: javadtavakoli@jahromu.ac.ir

۱- مقدمه

استفاده از آنتی اکسیدانهای طبیعی به دلیل خصوصیات سلامتی بخش امروزه رو به گسترش است. اما مشکلی که در استفاده از این آنتی اکسیدانها وجود دارد، گران بودن هزینه استخراج آنها است. تاکنون تحقیقات مختلفی در زمینه استخراج این ترکیبات به روشهای سنتی (سوکسله و غرقابی) و نوین (استفاده از ماکروویو و امواج فراصوت) صورت گرفته است [۱]. مشکل روشهای سنتی طولانی بودن زمان فرایند، مصرف بالای حلال و تحت کنترل نبودن دما است که باعث تجزیه ترکیبات آنتی اکسیدانی می شود [۲]. برای حل این مشکل امروزه تحقیقات مختلفی در مورد بهینه سازی استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی، به کمک روشهای نوین صورت گرفته است که در نتیجه نوع حلال و مقدار مصرفی آن و دمایی که باعث بهترین شرایط فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها می شود، مشخص می گردد. در بین روشهای نوین استفاده از امواج فراصوت بیشترین کاربرد را دارد. در صنایع غذایی، امواج فراصوت با فرکانس پایین (۱۸ تا ۱۰۰ کیلوهرتز) بیشترین کاربرد را دارد [۳]. توکلی و همکاران در تحقیقی به بررسی تاثیر عصاره حاصل از جوانه معمولی و قرار گرفته تحت امواج فراصوت سه رقم مختلف گندم کشت شده در ایران بر پایداری اکسایشی روغن سویا پرداختند [۴]. نتایج نشان داد که عصاره آبی-تانولی (۵۰:۵۰) جوانه های گندم قرار گرفته تحت امواج فراصوت دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر از عصاره معمولی در روغن سویا بودند که دلیل آن به استخراج بیشتر ترکیبات آنتی-اکسیدانی مربوط بود. رایجترین روشی که جهت بهینه سازی فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده می گردد، روش سطح پاسخ می باشد [۵، ۲] در این روش تجزیه و تحلیل سطح پاسخ اثرات مابین متغیرهای مستقل را به تنهایی یا در ترکیب با سایرین تعریف می نماید. در مطالعه ای که تاثیر حلالهای مختلف (آب، اتانول، متانول، آب/متانول) بر ترکیبات فنولی یک گونه جلبک آزمایش شد، آب بالاترین ویژگی آنتی-اکسیدانی و ترکیبات فنولی کل را داشت و حلال آب/متانول نیز پس از آب دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی بود [۶]. باباخانی و سرزارع در تحقیقی به بررسی بهینه سازی فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه آذولا پرداختند که نتایج نشان داد غلظت ۵۰ درصد اتانول، نسبت ۱۵ ماده خشک به حلال و زمان استخراج ۴۸ ساعت، به عنوان تیمار بهینه انتخاب شد [۷]. در

تحقیقی دیگر مشخص شد که بهترین شرایط فعالیت آنتی-اکسیدانی گندم کامل و سبوس آن به ترتیب در غلظت اتانول ۵۳ درصد، دمای ۶۱ درجه سانتیگراد و زمان ۶۴ دقیقه و غلظت اتانول ۴۹ درصد، دمای ۶۴ درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه حاصل شد [۸]. غفور و همکاران در تحقیقی به بررسی بهینه سازی استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی دانه انگور و فعالیت آنتی اکسیدانی آن پرداختند. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در غلظت اتانول ۵۰ درصد، دمای ۶۱ درجه سانتیگراد و ۳۰،۵ دقیقه قرار گرفتن تحت امواج فراصوت حاصل شد [۹]. بنابراین بهینه سازی شرایط استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهان مختلف و فعالیت آنتی اکسیدانی آنها امری لازم و ضروری است. یکی از گیاهانی که در مناطق مختلف ایران رشد می کند، متکا (*Ferula persica*) است. این گیاه در استان سمنان به وفور مشاهده می شود. جنس *Ferula* از خانواده *Apiaceae*، نمایانگر بیش از ۱۵۰ گونه بوده و بومی آسیای مرکزی است که ۵۳ گونه به صورت خودرو در ایران می روید و به عنوان غذا و نیز در طب سنتی مورد استفاده قرار می گیرند [۱۱، ۱۰]. از گونه های بومی دیگر ایران می توان به *Ferula asafetida*، و *Ferula gummosa* Bioss اشاره کرد [۱۳، ۱۲]. اکثر گونه های *Frula* دارای فعالیت ضد اکسایشی و فعالیت ضد میکروبی بوده و همچنین دارای ترکیباتی از قبیل آلکالوئیدها، کارتنوئیدها و فلاونوئیدها می باشند [۱۴]. در تحقیقی که توسط مهدینیا لیچایی و همکاران (۲۰۱۸) در مورد استخراج ترکیبات فنولی و توکوفرولی گیاه متکا و بررسی تاثیر عصاره آن در پایداری روغن آفتابگردان بعنوان جایگزین آنتی اکسیدان سنتزی انجام شد، مشخص گردید که عصاره متکا در غلظت ۲۵۰۰ پی پی ام به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و توکوفرولی، دارای اثر آنتی اکسیدانی است و توانایی رقابت با TBHQ را دارا می باشد که منجر به افزایش پایداری اکسایشی روغن گردید [۱۵]. لذا عصاره متکا می تواند جایگزین مناسبی برای آنتی-اکسیدان سنتزی TBHQ باشد. اما تاکنون تحقیقی در مورد بهینه سازی استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه متکا صورت نگرفته است. بنابراین در تحقیق حاضر به بررسی بهینه سازی فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه متکا به کمک امواج فراصوت با استفاده از نسبتهای مختلف حلال اتانول-آب در دماهای مختلف پرداخته شد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد

گیاه متکا از بازار محلی شهرستان سمنان تهیه شد. این گیاه را پس از تمیز نمودن، در سایه خشک شده و سپس به وسیله آسیاب (Molnix-684-French) به صورت پودر در آمد. روغن سویا بدون آنتی اکسیدان نیز از کارخانه روغن نباتی نرگس شیراز تهیه گردید. پودر متکا تا زمان انجام آزمایشات (یک هفته) در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سایر مواد شیمیایی مورد نیاز نیز از دو کمپانی مرک و سیگما خریداری شد.

۲-۲- استخراج عصاره متکا

به منظور تعیین بهترین تیمار، ۵۰ گرم نمونه با ۲۵۰ میلی لیتر از حلال های آب و اتانول، مخلوط شد. سپس ارلنهای حاوی نمونه در حمام فراصوت (DT 102H, Bandelin, Germany) تحت امواج فراصوت قرار گرفتند. جهت بهینه یابی شرایط استخراج با فراصوت، از نسبتهای مختلف اتانول - آب در دمای ۲۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد و زمان های مختلف ۵ تا ۵۰ دقیقه در حمام فراصوت استفاده شد. سپس محلولها با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و حلالها توسط آن تحت خلاء تبخیر شدند. عصاره های حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری شدند [۱۶].

۲-۳- اندازه گیری ترکیبات پلی فنلی کل

میزان ترکیبات فنلی کل بر اساس روش فولین - سیوکالچو توضیح داده شده توسط اسفهلان و همکاران (۲۰۰۹) اندازه گیری شد. میزان ترکیبات پلی فنلی با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک رسم شده بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر ۱۰۰ گرم عصاره گزارش شد [۱۷].

۲-۴- اندازه گیری قدرت مهار کنندگی

رادیکال آزاد DPPH

به منظور سنجش قدرت آنتی رادیکالی عصاره ها در جذب رادیکال های آزاد DPPH (۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازین) از روش بیم و همکاران استفاده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریک خانه گذاری در دمای اتاق آزمایشگاه جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد

خوانده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها طبق فرمول زیر بر اساس درصد مهار گزارش شد [۱۸].

$$\%A = \left[1 - \frac{AS}{AC} \right] \times 100$$

که A درصد مهر رادیکال های آزاد As.DPPH جذب نمونه و Ac جذب شاهد است.

۲-۵- اندازه گیری قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP)

جهت اندازه گیری قدرت احیا کنندگی آهن از روش رازالی و همکاران استفاده گردید. جذب نمونه ها در ۵۹۳ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در مقابل شاهد خوانده شد [۱۹].

۲-۶- اندازه گیری شاخص پایداری اکسایشی روغن سویا با رنسیمت

برای تعیین قدرت اکسایشی عصاره ها، از دستگاه رنسیمت (شرکت Metrohm، مدل ۷۴۳) استفاده شد به این ترتیب که ۳ گرم روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان حاوی ۱۵۰۰ پی پی ام عصاره در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد با سرعت جریان هوا ۱۵ لیتر بر ساعت مورد آزمایش قرار گرفت. داده های به دست آمده بر مبنای شاخص پایداری اکسایشی روغن (ساعت) مقایسه شدند [۲۰].

۲-۷- طرح آماری و بهینه یابی فرآیند

طرح آزمایشی، آنالیز نتایج و تعیین شرایط بهینه استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ و نرم افزار Design Expert نسخه ۶،۰،۲ انجام شد. در این تحقیق از طرح مرکب مرکزی محوری قابل چرخش با سه متغیر مستقل، چهار متغیر وابسته، سه سطح و سه تکرار در نقطه مرکزی طرح (به منظور بررسی تکرار پذیری طرح) استفاده شد. متغیرهای مستقل شامل زمان (X₁)، دما (X₂) و نسبت اتانول:آب (X₃) و متغیرهای وابسته شامل میزان ترکیبات فنلی کل، میزان جذب رادیکال های آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP) و شاخص پایداری اکسایشی بود. دامنه متغیر های مستقل بر اساس آزمایشات اولیه تعیین گردید. این طرح آزمایش شامل سه سطح فاکتوری کد بندی (+۱، صفر، -۱) بود که ۱- مربوط به سطح پایین فاکتور، +۱ سطح بالا و صفر سطح میانی می باشد (جدول ۱). داده های حاصل از طرح مرکب مرکزی محوری

قابل چرخش با مدل چند جمله ای درجه دوم زیر متناسب بود:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j = 1\beta_0 + 1\beta_i X_i + 1\beta_{ii} X_i^2 + 0\sum \beta_{ij} = 2\beta_{ij} X_i X_j$$

در این مدل Y پاسخ پیش گویی شده، β_0 ، β_i ، β_{ii} ، β_{ij} به ترتیب ثابت، ضریب رگرسیونی خطی فاکتور i ام، ضریب رگرسیونی درجه دوم فاکتور i ام و اثر متقابل X_1 و X_2

X_1 نیز متغیرهای مستقل هستند. مناسب بودن مدل از روی داده های عدم برازش مدل (Lack of fit)، ضریب رگرسیونی (R^2) و F-value حاصل از جدول آنالیز واریانس (ANOVA) بررسی شد. معنی داری مدل و متغیرهای آن در سطح ۰/۰۵ درصد ($P < 0/05$) تعیین شد.

Table 1 Independent variables and their coded and actual values used for optimization.

Independent variable	Symbol	Coded level		
		-1	0	1
Time (min)	X_1	5	27.5	50
Temperature (C°)	X_2	25	45	65
Concentration of ethanol (%)	X_3	0	50	100

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- بررسی متناسب بودن مدل های حاصل از

روش سطح پاسخ

بررسی نتایج حاصل از روش سطح پاسخ و مقایسه میان مدل های رگرسیونی مختلف تحقیق حاضر، حاکی از آن بود که مدل چند جمله ای درجه دوم برای تمامی آزمون های اندازه گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی داری با سایر مدل ها بود. کفایت مدل ها با استفاده از F-test، عدم برازش داده، ضریب رگرسیون، ضریب رگرسیونی پیش بینی شده، ضریب رگرسیون تنظیم شده و P-value بررسی شد. همانطور که نتایج آنالیز واریانس (جدول ۳، ۴ و ۵) نشان می دهد، مدل های پیشنهادی برای قدرت احیا کنندگی آهن، قدرت جذب

رادیکال های آزاد DPPH و شاخص پایداری اکسایشی دارای کمترین سطح P-value با ضریب رگرسیون، ضریب رگرسیون پیش بینی شده و ضریب رگرسیون تنظیم شده بالاتر از ۰/۸ و عدم معنی داری عدم برازش (lack of fit) ($P > 0/05$) بودند. به طور کلی نتایج آنالیز واریانس نشان داد، ارتباط و همبستگی مناسبی بین پاسخها و پارامترهای مستقل وجود دارد و ضریب رگرسیونی برای قدرت جذب رادیکال های آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی آهن و شاخص پایداری اکسایشی به ترتیب ۰/۹۱، ۰/۹۴ و ۰/۹۳ بود. اما مدل پیشنهادی برای ترکیبات فنلی کل دارای P-value بالاتر از ۰/۰۵ با ضریب رگرسیونی بسیار پایین و غیر قابل قبول بود (جدول ۲).

Table 2 Analysis of variance of the quadratic model adjusted for total phenolic compounds.

Squares	DF	Sum of Square	Mean Square	F-Value	P-value
Model	5	14858649	2971730	1.08	0.385
X_1	1	5501	5501	0.00	0.965
X_2	1	1905304	1905304	0.69	0.410
X_3	1	2260780	2260780	0.82	0.370
X_1^2	1	3640055	3640055	1.32	0.256
$X_2 * X_3$	1	3215376	3215376	1.16	0.286
Error	51	140952817	2763781		
Lack of fit	13	34834638	2679588	0.96	0.506
Pure Error	38	106118179	2792584		
total	56	155811466			
R^2	9.54%				
Adj. R^2	0.67%				
Pred. R^2	0.00%				

کنندگی رادیکالهای آزاد DPPH و پارامترهای استخراجی ارتباط درجه دوم با ضریب رگرسیون ۰,۹۱ وجود داشت. معادله ۱، مدل پیشنهادی و متناسبی است که توسط روش سطح پاسخ تعیین شد:

$$DPPH = 13,87 + 0,413X_1 + 1,124X_2 + 0,4727X_3 - 0,00619X_1^2 - 0,01084X_2^2 - 0,00472X_3^2$$

معادله ۱:

در این تحقیق X_1 ، X_2 و X_3 به ترتیب زمان، دما و میزان اتانول در حلال است. این مدل نشان داد که پارامترهای زمان، دما و نسبت حلال اتانول - آب دارای اثرات خطی و درجه دوم بر پاسخ درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH ($P < 0,05$) بود. همچنین اثر متقابل معنی داری ($P < 0,05$) بین پارامترهای مختلف مشاهده نشد. کفایت و تناسب مدل برای پیش-بینی پاسخ DPPH، با وجود ضریب رگرسیونی بالا تأیید شد. همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می شود، اثر پارامترهای مختلف زمان، دما و نسبت اتانول - آب به صورت دوتایی بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین قدرت مهار رادیکال های آزاد DPPH به ترتیب در زمان و دما ۳۴,۵ دقیقه و ۵۰,۵ درجه سانتیگراد (شکل ۱- A)، در زمان و غلظت اتانول در حلال ۳۰,۹ دقیقه و ۵۱,۳ درصد (شکل ۱- B) و در دما و غلظت اتانول در حلال ۵۱,۳ درجه سانتیگراد و ۵۳,۵ درصد (شکل ۱- C) مشاهده شد که در مقادیر بالاتر و پایین تر پارامترهای ذکر شده قد

رت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد کاهش یافت و این مطلب به خوبی تأیید کننده اثر درجه دوم این پارامترها است. به طور کلی با در نظر گرفتن هر سه پارامتر مستقل، نتایج به وضوح نشان داد که بیشترین قدرت مهار رادیکال های آزاد DPPH در عصاره متکا به دست آمده در شرایط نقطه مرکزی پارامترها، در دمای ۵۱,۷ درجه سانتی گراد به مدت ۳۳,۲ دقیقه با غلظت اتانول در حلال ۵۲,۵ درصد حاصل شد. با توجه به اهمیت کاهش هزینه های استخراج و صرفه جویی در زمان، عمدتاً کمترین سطوح پارامترها در شرایط استخراج مطلوب به نظر می رسد. نتایج حاصل از این آزمون با مطالعات بیم و همکاران و کوچکی و همکاران موافقت داشت [۲۳، ۱۸].

در حقیقت نتایج این جدول بیانگر این موضوع بود که تأثیر پارامترهای مستقل دما، زمان و نسبت اتانول - آب فاقد اثر معنی دار ($P > 0,05$) بر استخراج ترکیبات فنلی عصاره متکا بود و به همین دلیل در ادامه آنالیز روش سطح پاسخ مقدار ترکیبات فنلی بررسی نگردید. در تحقیق حاضر میزان ترکیبات فنلی عصاره های مختلف متکا بین ۱۳۹۴ تا ۱۴۵۰ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم تعیین شد که به نتایج حاصل از تجزیه مهندسی لیچایی و همکاران (۱۴۹۵,۸۱ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم) نزدیک بود. این در حالی بود که در این تحقیق از حلال اتانول و روش CO_2 فوق بحرانی جهت فرایند استخراج عصاره استفاده شد [۱۵]. برخلاف نتایج کسب شده در این تحقیق، رجایی و همکاران نشان دادند، که پارامترهای مستقل زمان فرایند اولتراسونیک، غلظت حلال (میزان آب در اتانول) و نسبت حلال به مواد جامد تأثیر معنی داری بر استخراج ترکیبات فنلی کل عصاره کاکوتی داشت به طوریکه در شرایط زمانی ۱۸,۲۹ دقیقه، غلظت حلال ۲۲,۱۵ درصد و نسبت حلال به ماده خشک ۹۵ به ۲۵ بیشترین استخراج ترکیبات فنلی مشاهده شد [۲]. در تحقیقی دیگر که در مورد بهینه سازی استخراج ترکیبات فنلی پوست سبز پسته انجام شد، مشخص گردید که بهترین شرایط استخراج در نسبت حلال به مواد جامد ۲۰، دمای ۶۵ درجه سانتیگراد و زمان ۲۵ دقیقه فرایند اولتراسونیک مشاهده گردید [۲۱]. همچنین نتایج تحقیق دیگر نشان داد که با افزایش دما و زمان فرایند اولتراسونیک و کاهش pH، استخراج ترکیبات فنلی پونه گاوی بیشتر شد. بهترین نتیجه در زمان ۳۵ تا ۵۵ دقیقه، دمای ۳۵ تا ۴۵ درجه سانتیگراد و pH بین ۶ تا ۶,۵ حاصل شد [۲۲].

۳-۲- آنالیز روش سطح پاسخ

۳-۲-۱- قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH

آزمون مهارکنندگی رادیکالهای آزاد DPPH، از آزمونهای معتبر و قابل اطمینان برای ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها می باشد که در عموم تحقیقات از آن استفاده می شود [۱۸]. بر اساس نتایج آنالیز واریانس بین میزان درصد مهار

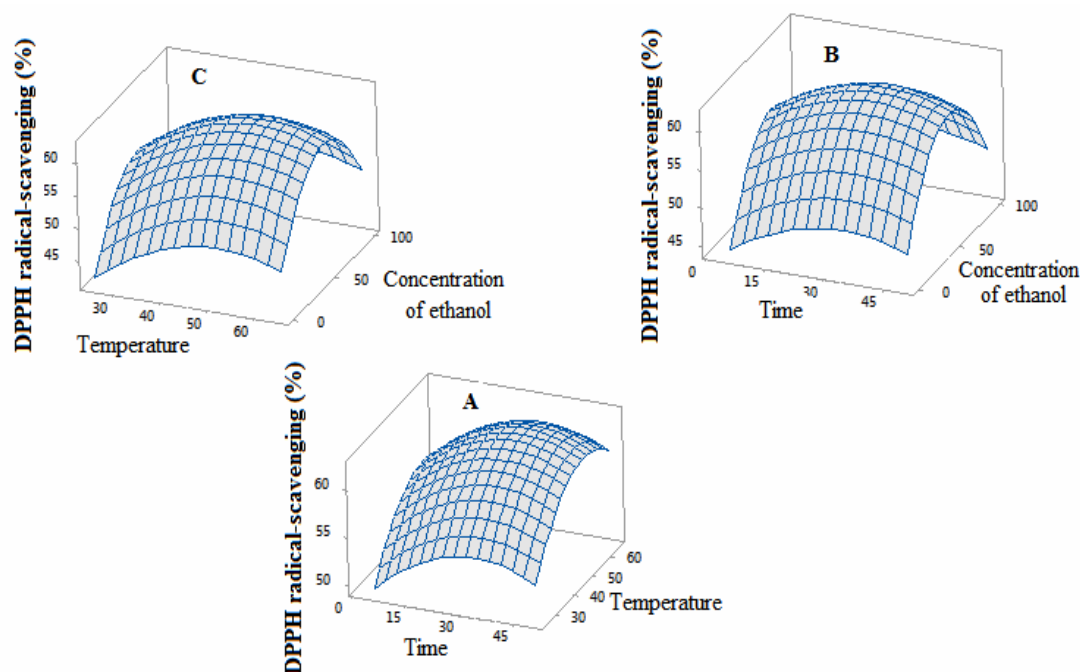


Fig 1 Response surface plot for the effect of different parameters on the amount of DPPH radical-scavenging power.

دوم بودند. در تحقیقی که توسط رجایی و همکاران صورت گرفت، مشخص شد که شرایط بهینه مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره فنلی کاکوتی در نسبت حلال به ماده خشک ۱۴،۷۷، زمام فرایند اولتراسوند ۶۶،۶ دقیقه و غلظت اتانول ۲۳،۳۷ درصد مشاهده شد [۲] که برخلاف تحقیق حاضر در زمانهای طولانی تر و با غلظت کمتر اتانول شرایط بهینه مهارکنندگی رادیکال آزاد مشاهده شد.

به این ترتیب که در شرایط استخراج ترکیبات با فراصوت، پارامترهای دما و زمان را در حد متوسط گزارش کردند. همچنین مورلی و پرادو در بهینه یابی استخراج با فراصوت ترکیبات فنلی میوه انگور قرمز به این نتیجه رسیدند که بیشترین قدرت جذب رادیکال های DPPH در عصاره استخراجی با غلظت اتانول در حلال ۶۰ درصد در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و زمان ۲۰ دقیقه حاصل شد [۲۴]. همچنین در مدل پیشنهادی آنها هر سه پارامتر استخراج دارای اثر درجه

Table 3 Analysis of variance of the quadratic model adjusted for DPPH radical-scavenging assay.

Squares	DF	Sum of Square	Mean Square	F-Value	P-value
Model	6	3159.4	526.57	3424	0.000
X ₁	1	94.46	94.46	6.14	0.017
X ₂	1	337.16	337.16	21.92	0.000
X ₃	1	54.96	54.96	3.57	0.044
X ₁ ²	1	104.53	104.53	6.8	0.012
X ₂ ²	1	194.14	194.14	12.62	0.001
X ₃ ²	1	1457.61	1457.61	94.78	0.000
Error	50	768.91	15.38		
Lack of fit	12	767.37	63.95	1575.68	0.000
Pure Error	38	1.54	0.04		
total	56	3928.31			
R ²	91%				
Adj. R ²	88%				
Pred. R ²	84%				

آزمون FRAP یک روش ساده، قابل تکرار، سریع و ارزان برای تعیین قدرت احیا یون فریک به یون فرو می باشد.

۳-۲-۲- قدرت احیا کنندگی آهن

زمان، دما و درصد حلال اتانول - آب دارای اثرات خطی و درجه دوم بر پاسخ قدرت احیا کنندگی آهن ($0.05 < P$) هستند. همچنین اثر متقابل معنی‌داری بین پارامترهای مختلف مشاهده نشد. بر اساس نتایج جدول آنالیز واریانس مدل پیشنهادی با وجود ضریب رگرسیونی و ضریب اطمینان بالا تأیید شد. بنابراین مدل می‌تواند برای پیش بینی پاسخ FRAP با ضریب همبستگی بالا بین داده‌های پیش بینی شده و تجربی مورد استفاده قرار بگیرد.

آنتی‌اکسیدان‌هایی با قدرت احیا کنندگی آهن بالاتر، دارای توانایی بیشتری در پایان دادن به واکنشهای مخرب زنجیره‌ای رادیکالی هستند [۲۵]. معادله ۲ مدل پیشنهادی مرتبط با آزمون FRAP است که اثر معنی‌دار پارامترهای مستقل توسط روش سطح پاسخ با ضریب همبستگی ۰,۹۴ را نشان می‌دهد:

$$FRAP = 18.25 + 0.456X_1 + 1.049X_2 + 0.4985X_3 - 0.0065X_1^2 - 0.0082X_2^2 - 0.0072X_3^2$$

مدل آزمون قدرت احیا کنندگی آهن نشان داد که پارامترهای

Table 4 Analysis of variance of the quadratic model adjusted for FRAP test.

Squares	DF	Sum of Square	Mean Square	F-Value	P-value
Model	6	3562.61	593.77	43.03	0.000
X_1	1	164.46	164.46	11.92	0.001
X_2	1	416.97	416.97	30.22	0.000
X_3	1	56.01	56.01	4.06	0.049
X_1^2	1	116.98	116.98	8.48	0.005
X_2^2	1	159.35	159.35	11.55	0.001
X_3^2	1	1628.71	1628.71	118.04	0.000
Error	50	689.93	13.80		
Lack of fit	12	685.63	57.14	506.01	0.000
Pure Error	38	4.29	0.11		
total	56	4252.53			
R^2	94%				
Adj. R^2	94%				
Pred. R^2	89%				

سانتیگراد و ۵۳,۱ درصد (شکل ۲- C) مشاهده شد. در مقادیر بالاتر و پایین‌تر پارامترهای ذکر شده قدرت احیاء کنندگی آهن کاهش یافت و این مطلب به خوبی تأیید کننده اثر درجه دوم این پارامترها بود.

مطابق شکل ۲ بیشترین قدرت احیاء کنندگی آهن به ترتیب در زمان و دما ۳۵,۵ دقیقه و ۵۱,۳ درجه سانتیگراد (شکل ۲- A)، در زمان و غلظت اتانول در حلال ۳۲,۷ دقیقه و ۵۱,۵ درصد (شکل ۲- B) و در دما و غلظت اتانول در حلال ۵۲,۹ درجه

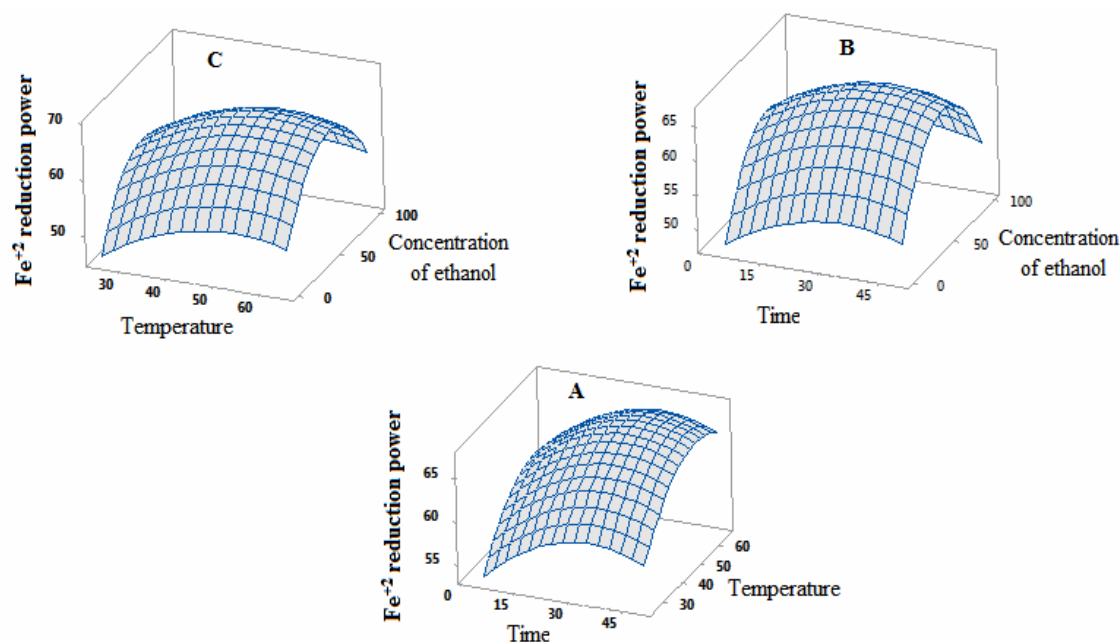


Fig 2 Response surface plot for the effect of different parameters on the amount of Fe^{+2} reduction power (FRAP test).

اکسایشی بر حسب زمان (ساعت) نشان دهنده بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی می باشد [۲۰]. در این پژوهش از آزمون رنسیمت به عنوان یک سنجش قدرت آنتی اکسیدانی برای بهینه یابی شرایط استخراج با فراصوت استفاده شد. برای این منظور، عصاره های استخراجی در غلظت ۱۵۰۰ پی پی ام به روغن سویا تصفیه شده فاقد آنتی اکسیدان اضافه شدند و سپس تأثیر آنها بر پایداری اکسایشی - حرارتی روغن سویا در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت.

معادله پیش بینی شده ۳ توسط روش سطح پاسخ برای تعیین شاخص پایداری اکسایشی (OSI) تأثیر یافته از پارامترهای مستقل معنی دار به صورت زیر تعیین شد:

$$OSI = 1.764 + 0.0426X_1 + 0.0807X_2 + 0.0453X_3 - 0.000617X_1^2 - 0.000746X_2^2 - 0.000423X_3^2$$

همانند آزمونهای قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن، تمامی پارامترهای زمان، دما و نسبت اتانول - آب دارای تأثیر معنی دار خطی و درجه دوم بر پاسخ رنسیمت بود. همچنین اثر متقابل معنی داری بین پارامترهای مختلف مشاهده نشد. با توجه به شکل ۳ بهترین شاخص پایداری به ترتیب در زمان و دمای ۳۵،۵ دقیقه و ۵۱،۳ درجه سانتیگراد (شکل ۳-۱)، در زمان و غلظت اتانول در حلال ۳۲،۷ دقیقه و ۵۱،۳ درصد (شکل ۳-۲) و در دما و غلظت اتانول در حلال ۵۳،۳ درجه سانتیگراد و ۵۳،۶ درصد (شکل ۳-۳) مشاهده شد.

با در نظر گرفتن مجموعه ۳ پارامتر مستقل و متغیرهای ذکر شده، بیشترین توانایی آنتی اکسیدانی عصاره های در آزمون قدرت احیا کنندگی آهن در غلظت اتانول در حلال اتانول - آب ۵۲،۸ درصد، در دمای ۵۳،۳ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ دقیقه فرایند اولتراسونیک (در نقطه مرکزی پارامترها) مشاهده شد. نتایج حاصل با نتایج حاصل از مطالعات مویو و همکاران و بیم و همکاران دارای تشابه بود. آنها نیز گزارش کردند که در شرایط استخراج با فراصوت اثر خطی پارامترها بر پاسخ FRAP کمتر از اثر درجه دو آنها بود [۲۶، ۱۸]. سهین و سملی؛ چن و همکاران و رودریگز - پرز و همکاران در بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی ترکیبات پلی فنلی برگ زیتون، سبوس آرکا و برگ *Moringa oleifera* به این نتیجه رسیدند که مؤثرترین پارامتر از میان زمان، دما و نوع حلال، حلال اتانول - آب ۵۰ درصد بود [۲۹-۲۷]. خو و همکاران در تحقیقی به بررسی بهینه سازی ظرفیت آنتی اکسیدانی *Canarium odontophyllum* Miq با استفاده از روش سطح پاسخ پرداختند که بهترین شرایط در زمان ۱ دقیقه فرایند استخراج با شیکر با ۵۳ متانول در حلال آب - متانول حاصل شد [۳۰].

۳-۲-۳- شاخص پایداری اکسایشی

آزمون رنسیمت اغلب برای تخمین شاخص پایداری اکسایشی روغها بر اساس تغییرات در میزان هدایت الکتریکی آب در نتیجه تولید اسیدهای فرار از جمله فرمیک اسید مورد استفاده قرار می گیرد. به این ترتیب که بیشترین شاخص پایداری

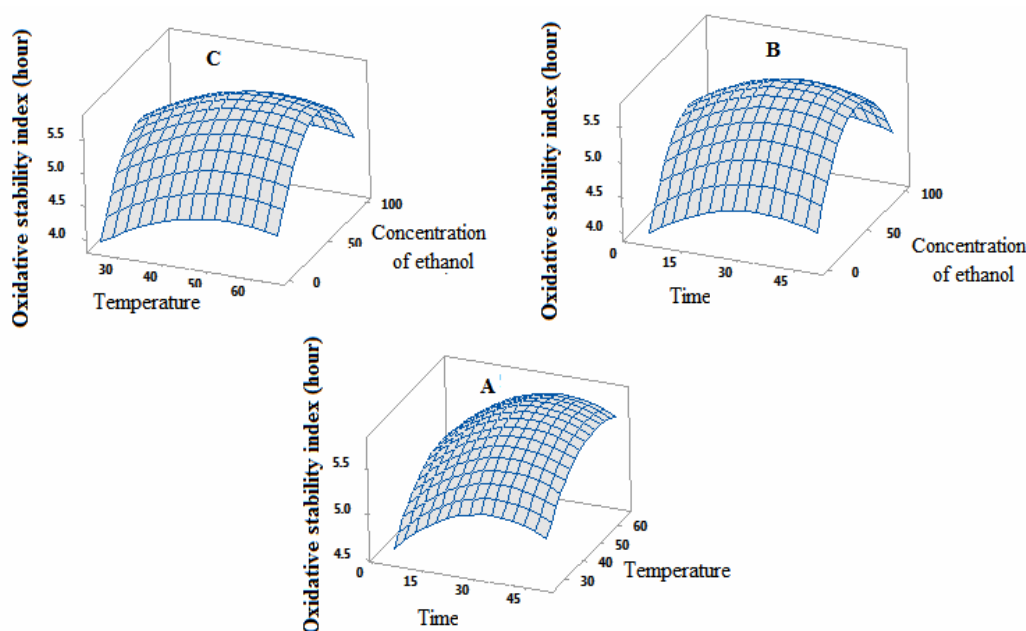


Fig 3 Response surface plot for the effect of different parameters on the amount of oxidative stability index.

شاخص پایداری اکسایشی در مقادیر بالاتر و پایین‌تر پارامترهای ذکر شده کاهش یافت و این مطلب تأیید کننده اثر درجه دوم این پارامترها است. بیشترین میزان شاخص پایداری اکسایشی به مدت ۵,۹۳ ساعت بود، که در نمونه های روغنی حاوی عصاره استخراجی با نسبت اتانول -آب ۵۰ درصد در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ دقیقه مشاهده شد. در صورتی که نمونه روغن سویا فاقد آنتی اکسیدان تنها توانست به مدت ۳,۰۲ ساعت شرایط اکسایش حرارتی را تحمل کند و بعد از آن به سرعت اکسید شد. رضایی و همکاران در تحقیقی که بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی پوست بانه انجام دادند به این نتیجه رسیدند که روغن سویا حاوی عصاره آبی استخراجی با فراصوت دارای پایداری اکسایشی - حرارتی بیشتری نسبت به روغن حاوی عصاره های اتانولی بود [۳۱] که با نتایج تحقیق حاضر که نسبت اتانول -آب ۵۰ درصد باعث بهترین شاخص پایداری اکسایشی شد، متفاوت بود. علت این نتایج مختلف می تواند به تفاوت در نوع ترکیبات فنلی متکا و پوست بانه باشد.

۳-۲-۴- بهینه یابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره فنلی متکا

بهینه یابی فاکتورهای مستقل مؤثر بر فعالیت آنتی اکسیدانی آنتی اکسیدانی متکا با استفاده از معادلات درجه دوم و تصاویر سه بعدی حاصل از روش سطح پاسخ صورت گرفت. مجموع نتایج حاصل از پارامترهای وابسته (قدرت جذب رادیکال های آزاد DPPH، قدرت احیا کنندگی آهن و شاخص پایداری اکسایشی) نشان داد که دمای ۵۲,۹ درجه سانتی گراد با استفاده از غلظت ۵۳,۵ درصد اتانول در حلال اتانول -آب به مدت

۳۴,۱ دقیقه باعث ایجاد بهترین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره فنلی متکا شد. به این ترتیب تقریباً حد فاصل نقاط مرکزی متغیرهای مستقل، نقاط بهینه شرایط استخراج بودند. بیشترین مقادیر پیش بینی شده قدرت آنتی اکسیدانی سنجیده شده با آزمونهای DPPH، احیا آهن و رنسیمت بر اساس معادلات روش سطح پاسخ به ترتیب ۶۰,۵۵ درصد، ۶۶,۱۵ میلی مول بر ۱۰۰ گرم و ۵,۸ ساعت بود. در حالی که تحت شرایط بهینه حاصل از روش سطح پاسخ، داده های آزمایشی پاسخ ها برای هریک از موارد فوق به ترتیب ۶۲,۷ درصد، ۶۹,۰۳ میلی مول بر ۱۰۰ گرم و ۵,۹۳ ساعت تعیین شد، که نشان دهنده انطباق و نزدیکی داده های پیش بینی شده با معادلات روش سطح پاسخ با داده های آزمایشی می باشد. به طور کلی روش سطح پاسخ توانست معادلات درجه دوم مناسبی را برای بهینه یابی فعالیت آنتی اکسیدانی متکا با روش فراصوت پیش بینی کند.

نتایج حاصل با نتایج گزارش شده توسط کارسوجی و همکاران ؛ سایکیا و همکاران و فتاحی و رحیمی مطابقت داشت [۳۲-۳۴]. آنها نیز در تحقیق خود گزارش کردند استفاده از فراصوت در بازه دمایی ۴۵ تا ۶۰ درجه سانتی گراد می تواند باعث افزایش راندمان استخراج ترکیبات زیست فعال و تقویت فعالیت آنتی اکسیدانی در زمان کوتاه شود. به این خاطر که اثرات حرارتی و کاویتاسیون ایجاد شده در فاز مایع در طی امواج فراصوت، منجر به تخریب دیواره سلولی و کاهش اندازه ذرات و در نهایت افزایش افزایش راندمان استخراج ترکیبات زیست فعال می شود. در صورتی که استفاده از دماهای بالاتر منجر به تبخیر حلال و آسیب به ترکیبات زیست فعال می شود.

Table 5 Analysis of variance of the quadratic model adjusted for oxidative stability index.

Squares	DF	Sum of Square	Mean Square	F-Value	P-value
Model	6	27.80	4.63	41.78	0.000
X ₁	1	1.33	1.33	12.01	0.001
X ₂	1	2.77	2.77	25	0.000
X ₃	1	0.76	0.76	6.86	0.012
X ₁ ²	1	1.0386	1.0386	9.37	0.004
X ₂ ²	1	0.92	0.92	8.30	0.006
X ₃ ²	1	13.06	13.06	117.74	0.000
Error	50	5.5452	0.1109		
Lack of fit	12	5.5090	0.4591	482.80	0.000
Pure Error	38	0.0361	0.0010		
total	56	33.3432			
R ²	93%				
Adj. R ²	91%				
Pred. R ²	88%				

۳-۳- اعتبارسنجی آزمایش

جهت اعتبارسنجی روش سطح پاسخ، میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی (میزان ترکیبات فنلی کل، قدرت احیا کنندگی آهن، قدرت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد DPPH و شاخص پایداری اکسایشی) حاصل از عصاره ها در مرحله آزمایش با

مقدار پیشبینی شده توسط معادلات طرح مرکب مرکزی محوری قابل چرخش روش سطح پاسخ مقایسه شد (جدول ۶). همانگونه که مشخص است نتایج بدست آمده به روش تجربی به مقدار پیشبینی شده توسط روش آماری نزدیک بود.

Table 6 Comparison of the observed value and predicted data by central composite rotatable design equations of Response surface methodology

Runs	Independent variable			Dependent variable						Total phenolic content (mg/100gr)
	Time (min)	Temperature (°C)	Concentration of ethanol (%)	DPPH radical-scavenging (%)		FRAP test		Oxidative stability index (hour)		Observed value
	X ₁	X ₂	X ₃	Observed value	Predicted value	Observed value	Predicted value	Observed value	Predicted value	
1	50	65	50	62.68±0.12	60.55	69.03±0.90	66.16	5.93±0.04	5.8	1450±15
2	5	45	0	40.9±0.40	41.18	45.04±0.14	44.63	3.75±0.01	3.63	1396±17
3	50	25	50	50.4±0.20	54.86	55.00±0.82	57.82	4.82±0.02	5.07	1424±16
4	50	25	0	41±0.50	38.18	45.88±0.12	43.82	3.80±0.10	3.55	1397±11
5	27.5	25	50	50.88±0.12	53.91	56.18±0.11	58.31	4.93±0.03	5.12	1426±13
6	50	65	100	48.5±0.30	49.48	53.80±0.20	54.65	4.65±0.03	4.76	1412±21
7	50	65	0	41.17±0.03	43.87	46.20±0.10	48.15	3.92±0.03	4.18	1398±18
8	50	45	50	61.71±0.10	59.75	67.17±0.06	65.66	5.69±0.03	5.49	1447±19
9	27.5	45	50	61.4±0.10	58.80	64.38±0.10	63.16	5.51±0.02	5.37	1446±22
10	27.5	45	100	45.19±0.06	47.73	50.55±0.01	51.65	4.31±0.01	4.33	1407±17
11	5	25	0	38.12±0.08	36.29	41.23±0.03	39.80	3.48±0.02	3.45	1394±13
12	27.5	25	100	43.02±0.03	42.85	47.22±0.08	46.81	4.03±0.01	4.08	1401±17
13	5	25	100	43.36±0.030	41.90	47.56±0.14	45.30	4.11±0.01	4.03	1402±23
14	50	25	100	45.02±0.03	43.80	48.11±0.12	48.32	4.18±0.04	4.13	1407±27
15	27.5	45	0	59.07±0.25	58.80	62.14±0.13	63.16	5.36±0.02	5.37	1443±25
16	5	65	100	48.26±0.09	47.59	51.13±0.11	51.64	4.40±0.00	4.38	1410±19
17	5	65	0	40.31±0.01	41.98	44.19±0.47	46.13	3.66±0.01	3.80	1395±16
18	5	45	50	55.83±0.03	57.85	59.62±0.08	61.64	5.1±0.02	5.25	1437±29
19	27.5	65	50	62.15±0.12	59.60	68.03±0.03	65.65	5.84±0.01	5.61	1450±19
20	27.5	45	100	51±0.1	51.80	55±0.10	55.53	5.01±0.04	4.85	1432±11

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش به بررسی بهینه سازی استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه متکا به کمک روش سطح پاسخ پرداخته شد. متغیرهای مستقل شامل دما، زمان فرایند فراصوت و نسبت اتانول - آب و پارامترهای وابسته شامل میزان ترکیبات فنلی کل، قدرت احیا کنندگی آهن، قدرت مهارکنندگی رادیکالهای آزاد DPPH و شاخص پایداری اکسایشی بود. بررسی نتایج نشان داد که پارامترهای مستقل دما، زمان و نسبت اتانول - آب، فاقد اثر معنی دار ($P > 0.05$) بر استخراج ترکیبات فنلی عصاره متکا بود، در حالیکه در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی (قدرت احیا کنندگی آهن، قدرت جذب رادیکالهای آزاد DPPH و شاخص پایداری اکسایشی) نتیجه

برعکس بود. همچنین مشخص شد که شرایط بهینه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متکا در دمای ۵۲٫۹ درجه سانتی گراد با استفاده از غلظت ۵۳٫۵ درصد اتانول در حلال اتانول - آب به مدت ۳۴٫۱ دقیقه فرایند فراصوت مشاهده شد. بیشترین مقادیر پیش بینی شده قدرت آنتی اکسیدانی سنجیده شده با آزمونهای DPPH، احیا کنندگی آهن و رنسیمت بر اساس معادلات روش سطح پاسخ به ترتیب ۶۰٫۵۵ درصد، ۶۶٫۱۵ میلی مول بر ۱۰۰ گرم و ۵٫۸ ساعت بود. در حالی که تحت شرایط بهینه حاصل از روش سطح داده های آزمایشی پاسخها برای هریک از موارد فوق به ترتیب ۶۲٫۷ درصد، ۶۹٫۳ میلی مول بر ۱۰۰ گرم و ۵٫۹۳ ساعت تعیین شد، که نشان دهنده انطباق و نزدیکی داده های پیش بینی شده با معادلات روش سطح پاسخ با داده های آزمایشی بود.

۵- منابع

- [11] Javidnia, K., Miri, R., Kamalinejad, M., Edraki, N., 2005. Chemical composition of *Ferula persica* Wild. essential oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 605–606.
- [12] Zargari, A., 1988. Medicinal plants. 4th ed. Tehran: Tehran University Publications. pp. 592-602.
- [13] Akhonzadeh, S., 2000. Encyclopedia of Iranian medicinal plants. Tehran: Arjmand Press. pp. 76-77.
- [14] Barthomeuf, C., Lima, S., Iranshahi, M., Chollet, P., 2008. Umbelliprenin from *Ferula szowitsiana* inhibits the growth of human M4Beu metastatic pigmented malignant melanoma cells through cell-cycle arrest in G₁ and induction of caspase-dependent apoptosis. *Phytomedicine*, 15: 103–111.
- [15] Mahdinia Liachi, B., Esmailzadeh Kenari, R., Dinpanah, G.H., 2018. Extraction of Phenolic Compounds and Tocopherols from *Ferula Persica* and Evaluating the Effect of the Extract on the Stability of Sunflower Seed Oil as an Alternative to the Synthetic Antioxidant. *Food Technology & Nutrition*, 15: 81-90.
- [16] Hammi, K. M., Jdey, A., Abdelly, C., Majdoub, H., Ksouri, R., 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from *Tunisian Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chemistry*, 184: 80-89.
- [17] Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., Jamei, R., 2009. Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 115: 529-533.
- [18] Yim, H. S., Chye, F. Y., Koo, S. M., Matanjun, P., How, S. E., Ho, C. W., 2012. Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*. *Food and Bioproducts Processing*, 90: 235-242.
- [19] Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul-Muthalib, A. F., Subramaniam, S., Abdul-Aziz, A., 2012. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chemistry*, 131: 441-448.
- [20] Tavakoli, J., Hamedani, F., Haddad Khodaparast, M.H., 2016. Investigating chemical properties and oxidative stability of kernel oil from *Pistacia khinjuk* growing
- [1] Wang, L., Weller, C. L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Science & Technology*, 17: 300-312.
- [2] Rajaei, A., Mirzaei Moghaddam, H., Baradaran, N., 2017. Optimization of Phenolic Compounds and antioxidant activity of the extract of *Ziziphora clinopodioides* using ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Food Science & Technology*, 14:237-248.
- [3] Fellows, P., 2000. Food processing technology. 2th ed. CRC press. Boca Raton Boston new York Washington, DC.
- [4] Tavakoli, J., Khani, J., Shahroozi, M., 2019. Investigating the effect of extracts from the germs of different wheat cultivars (usual and under the ultrasonic process) in oxidative stability of soybean oil. *Food Science & Technology*, 88: 97-107.
- [5] Bezerra, M. A., Santelli, R.E. Oliveira, E.P., Villar, L. S., Escalera, L. A., 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76: 965–977.
- [6] Lopez, A., Rico, M., Rivero, A., Tangil, D. M. S., 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125:1104-1109.
- [7] Babakhani, A., Sarzare, A., 2016. Optimization of antioxidant compounds extraction from *Azolla fern*, *Azolla filiculoides*. *Scientific Research Journal*, 1: 117-130.
- [8] Liyana-Pathirana, C., Shahidi, F., 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*, 93: 47–56.
- [9] Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y., Jo, I. H., 2009. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins from Grape (*Vitis vinifera*) Seeds. *Agricultural and Food Chemistry*, 57: 4988–4994.
- [10] Iranshahi, M., Mojarab, M., Sadeghian, H., Hanafi-Bojd, M. Y., Schneider, B., 2008. Polar secondary metabolites of *Ferula persica* roots. *Phytochemistry*, 69: 473–478.

- [28] Chen, W., Huang, Y., Qi, J., Tang, M., Zheng, Y., Zhao, S., Chen, L., 2014. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from Areca Husk. *Food Processing and Preservation*, 38: 90-96.
- [29] Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A., 2015. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from Moringa oleifera Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, 66: 246-254.
- [30] Khoo, H.E., Azlan, A., Ismail, A., Abas, F., 2013. Response surface methodology optimization for extraction of phenolics and antioxidant capacity in Defatted dabai parts. *Sains Malaysiana*, 42: 949-954.
- [31] Rezaie, M., Farhoosh, R., Sharif, A., Asili, J., Iranshahi, M., 2015. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull essential oil. *Food Science and Technology*, 52: 6784-6790.
- [32] Carciochi, R. A., Manrique, G. D., Dimitrov, K., 2015. Optimization of antioxidant phenolic compounds extraction from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds. *Food Science and Technology*, 52: 4396-4404.
- [33] Saikia, S., Mahnot, N. K., Mahanta, C. L., 2015. Optimisation of phenolic extraction from *Averrhoa carambola* pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying. *Food Chemistry*, 171: 144-152.
- [34] Fattahi, M., Rahimi, R., 2016. Optimization of Extraction Parameters of Phenolic Antioxidants from Leaves of Capparis spinosa. *Food Analytical Methods*, 9, Doi: 10.1007/s12161-016-0414-9.
- wild in Iran. *American Oil Chemists' Society*, 93: 681-687.
- [21] Rajaei, A., Barzegar, M., Hamidi, Z., Sahari, M.A., 2017. Optimization of Extraction conditions of phenolic compounds from Pistachio (*Pistacia vera*) green hull through Response Surface Method. *Agricultural science and technology*, 12: 605-615.
- [22] Heydari, Majd., M., Rajaei., A., Salar Bashi., D., Mortazavi, S. A., Bolourian, S. 2014. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from bovine pennyroyal (*Phlomis chemaparviflorum*) leaves using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 57: 195-202.
- [23] Koocheki, A., Razavi, S. M., Hesarinejad, M. A., 2012. Effect of extraction procedures on functional properties of Eruca sativa seed mucilage. *Food Biophysics*, 7: 84-92.
- [24] Morelli, L., Prado, M. A., 2012. Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 1144-1149.
- [25] Berker, K.I., Güllü, K., Demirata, B., Apak, R., 2010. A novel antioxidant assay of ferric reducing capacity measurement using ferrozine as the colour forming complexation reagent. *Analytical Methods*, 2: 1770-1778.
- [26] Moyo, S., Gashe, B., Collison, E., Mpuchane, S., 2003. Optimising growth conditions for the pectinolytic activity of *Kluyveromyces wickerhamii* by using response surface methodology. *International Journal of Food Microbiology*, 85: 87-100.
- [27] Şahin, S., Şamlı, R., 2013. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 595-602.

Optimization of antioxidant activity of *Ferula persica* by Ultrasound waves using various ratios of ethanol-water solvent at different temperatures whit Response Surface Methodology

Estakhr, P.¹, Tavakoli, J.^{2*}, Beigmohammadi, F.¹, Alaei, Sh.³

1. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Fars, Iran.

3. Department of Agronomy and plant breeding, Faculty of Agriculture, Kermanshah branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

(Received: 2019/05/21 Accepted:2019/10/12)

In the present study, the optimization process of phenolic compounds extraction and antioxidant activity (DPPH radical-scavenging assay, FRAP test, and oxidative stability index) of *Ferula persica* was evaluated using ultrasound waves through response surface methodology (RSM). To optimize the extraction process from the central composite design with three independent variables including time (5, 27.5 and 50 minutes), temperature (25, 45 and 65 ° C) and ethanol ratio in water-ethanol solvent (0, 50 and 100%) was used. In general, the results of analysis of variance showed that independent parameters had a significant effect on the DPPH radical-scavenging assay, FRAP test, and oxidative stability index of *Ferula persica* extract, their Correlation coefficients (R^2) were 0.91, 0.94 and 0.93, respectively. However, the proposed model for total phenolic compounds does not indicate the significant effect of these mention parameters. The results showed that the optimum conditions for antioxidant activity of *Ferula persica* extract were at 52.9 ° C and 53.5% ethanol concentration in water-ethanol solvent with 34.1 minutes for sonication. It was also found that the experimental results were close to those predicted by the response surface methodology. Evaluation of the antioxidant activity results of various extracts of *Ferula persica* showed that in most conditions, it has a suitable antioxidant power.

Key words: *Ferula persica*, Ultrasound waves, Antioxidant Activity, Optimization, Response surface methodology.

*Corresponding Author E-Mail Address: javadtavakoli@jahromu.ac.ir