

بررسی و بهینه سازی استخراج ترکیبات فنولی از دانه آفتابگردان آجیلی و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی آن با آنتی اکسیدان سنتزی در پایداری اکسیداتیو روغن آفتابگردان

لاله مهریار^{۱*}، مریم اسکندر خانی^۲

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 ضد اکسایشی دانه آفتابگردان آجیلی چربی گیری شده مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت ضد اکسایشی با استفاده از ظرفیت جمع آوری 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 عصاره گیری می باشد. به طوری که محتوای فنول کل استخراجی و فعالیت ضد اکسایشی عصاره استخراجی دانه آفتابگردان در شرایط دمایی و زمانی بالا (۸۰ درجه سانتی گراد، 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، رابطه مستقیمی بین میزان ترکیبات فنولی و درصد مهار رادیکالی و رابطه عکس با میزان ترکیبات فلاوونوئیدی وجود دارد. نتایج نشان داد که عصاره گیری توسط حلال متانول در دمای ۸۰ و زمان ۲ ساعت استخراج ترکیبات فنولی بالاتری داشت، بنابراین درصدی از این عصاره را به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی، با نمونه ای از آنتی اکسیدان سنتزی BHA در روغن آفتابگردان مورد مطالعه قرار گرفت. که نتایج وجود خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دانه آفتابگردان و حتی برابری نمونه حاوی ۰/۱٪ عصاره با نمونه ۰/۰۱٪ BHA را بیان می کند.

کلید واژگان: دانه آفتابگردان، 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 می باشد و عمدتاً شامل سه نوع روغنی، آجیلی (غیر روغنی) و زیتنی است [۱]. نوع آجیلی یکی از مهمترین انواع آفتابگردان در ایران است که اغلب در نواحی شمال غرب و غرب ایران کاشت می شوند [۲]. تخم آفتابگردان آجیلی دارای ۲۴٪ مواد پروتئینی، ۴۷٪ روغن، ۲۰٪ مواد هیدروکربنی، ۸٪ فسفر، ۹٪ پتاسیم و همچنین دارای ویتامین های A و B نیز می باشد. طبق آمار فائو، روسیه، اکراین و آرژانتین سه کشور عمده تولید کننده دانه آفتابگردان می باشند [۳]. و براساس آمار سازمان جهاد کشاورزی، استان آذربایجان غربی با میزان سطح زیر کشت ۳۵ هزار و ۶۵۰ تندر سال ۱۳۹۱ در مقایسه با سایر استان های کشور، رتبه نخست کشوری را در تولید آفتابگردان آجیلی به خود اختصاص داده بود [۴]. امروزه اثرات مفید مصرف برخی از منابع غذایی گیاهی بر سلامت انسان به اثبات رسیده است. این اثرات در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد رادیکالی ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهی حاصل می شوند [۵]. مطالعات بسیاری نشان داده است که حضور ترکیبات زیست فعال با خاصیت آنتی اکسیدانی بویژه ترکیبات پلی فنولی و ویتامین ها در مواد غذایی با منشا گیاهی، عامل مؤثر در حفظ سلامت انسان می باشند [۶]. رادیکال های آزاد طی پدیده های بیوشیمیایی بدن تولید می شوند. علیرغم وجود آنتی اکسیدان های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال های آزاد نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی اکسیدان از منابع خارجی دارد، که میتوان از طریق مواد غذایی تهیه کرد. پلی فنول ها ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند و قادرند رادیکال های آزاد را جذب نمایند [۷ و ۸]. آقایی و همکاران (۱۳۹۴)، محتوای فنول کل، محتوای فلاوونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی در قسمت های مختلف دانه آفتابگردان را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که محتوای فنول کل

و فلاوونوئید کل وابسته به قسمت های مختلف دانه و ژنوتیپ می باشد. به طوری که محتوای فنول و فلاوونوئید کل در مغز دانه حدود دانه به ترتیب ۷/۶ و ۳/۸ برابر میزان آنها در پوسته بود [۹]. در مطالعه ای دیگر که توسط Taha و همکارانش در سال ۲۰۱۱ صورت گرفت، محتوای فنل کل کنجاله آفتابگردان استحصالی در محدوده بین ۶۸۷/۲۲-۱۲۴۳/۵۱ میلی گرم کلروژنیک اسید در ۱۰۰ گرم توسط روش اسپکتروفتومتری ماورای بنفش و در محدوده ۹۲۳/۴۵-۷۲۶/۲۷ 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 ۸۶٪-۹۵٪ بود. بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از بررسی منابع، مغز دانه های آفتابگردان را می توان به عنوان ضد اکساینده های طبیعی در رژیم غذایی گنجانده (۱۰). ترکیبات آنتی اکسیدانی سنتزی مانند BHT^۱، BHA^۲، TBHQ^۳، PG^۴ با وجود خاصیت آنتی اکسیدانی دارای اثرات زیان بار برای بشر می باشند [۱۱]. مانند جهش زایی، ایجاد مسمومیت و سرطان زایی که سبب شده است تا استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی مانند ترکیبات پلی فنول، ویتامین های آنتی اکسیدانی شامل اسید اسکوربیک، توکوفرول، ویتامین A، β کاروتن و... که اثرات محافظتی در برابر بیماری ها دارند، توصیه شوند. آنتی اکسیدان های طبیعی می توانند به عنوان جایگزین آنتی اکسیدان های مصنوعی به کار روند و همچنین به نظر می رسد دارای اثر برابر و یکسانی با اغلب آنتی اکسیدان های مصنوعی روی بازدارندگی اکسیداسیون بافت داشته باشند [۱۲ و 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 آنتی اکسیدانی عصاره مغز دانه آفتابگردان آجیلی تحت شرایط مختلف استخراج و بررسی اکسیداسیون روغن آفتابگردان حاوی آنتی اکسیدان های استخراجی می باشد.

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

Table 1 Extraction chart using different solvents, times and temperatures

Run	Solvent	Temperature °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- 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 و در بیسته 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 40°C - 60°C و زمان ۶ ساعت استفاده شد.

۲-۲-۲- عصاره‌گیری

جدول ۱ تیمارهای عصاره‌گیری 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 ۵/۵ ساعت یکبار به منظور افزایش امکان خروج ترکیبات فنولی از نمونه و ورود آن به حلال تازه انجام گرفت. برای عصاره‌گیری در دمای 80°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.

۲-۲-۳- حذف حلال

در این پژوهش از دستگاه تبخیر روتاری مدل IKA digitd RVIO برای حذف حلال (دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و پمپ خلأ با قدرت مکش ۶۰۰ 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 فولین سیوکالتنو و طبق روش Tsantili و همکاران (۲۰۱۰) با اندکی تغییرات تعیین گردید [۱۴]. بدین ترتیب که به ۰/۲

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 (۱۶). 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.

۷-۲-۲- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در

روغن آفتابگردان و مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی

به منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، بعد از چربی‌گیری، عصاره‌گیری با حلال متانول در دمای 80°C بمدت ۲ ساعت انجام شد. سپس عصاره حاصله در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۶، ۰/۰۸ و 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°C منتقل شدند و اندازه‌گیری عدد پراکسید در فواصل زمانی ۲۴ ساعت طی ۵ روز انجام شد.

۷-۲-۲-۱- تعیین عدد پراکسید

۵ گرم روغن در ۳۰ 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

میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده، ۰/۲ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو و ۲/۶ 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 ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY 6320 D) ساخت کشور انگلیس در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید ($R^2 = 0.9847$).

$$0.022 + \text{جذب خوانده شده} = \text{میزان فنول}$$

$$0.0041$$

۵-۲-۲- تعیین محتوای فلاوونوئیدی کل

محتوای فلاوونوئید موجود در عصاره‌ها طبق روش Lenucci و همکاران (۲۰۰۶) 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 نیتريت 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 ۶ 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 بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY 6320D) ساخت کشور انگلیس در طول موج ۵۱۰ نانومتر سنجیده شد و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد کاتچین محاسبه شد [۱۵].

$$0.0206 + \text{جذب خوانده شده} = \text{میزان فلاوونوئید}$$

$$0.0091$$

۶-۲-۲- 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 عصاره‌ها با ۱/۵ میلی لیتر از محلول DPPH (۰/۱۵ میلی مولار در اتانول ۹۶ درصد) مخلوط شده و با ورتکس هم زده شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار

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

= میلی اکی والان اکسیژن به ازای ۱۰۰۰ گرم روغن

$$N \times 1000 \times \text{تیو سولفات مصرفی (mL)}$$

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 ($p < 0.0001$) 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 در حین 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 ۱۳۹۴ انجام دادند نشان دادند که محتوای فنول و فلاوونوئید به ژنوتیپ و قسمت‌های مختلف دانه آفتابگردان بستگی دارد. Besbes و همکاران در سال ۲۰۰۴ 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.

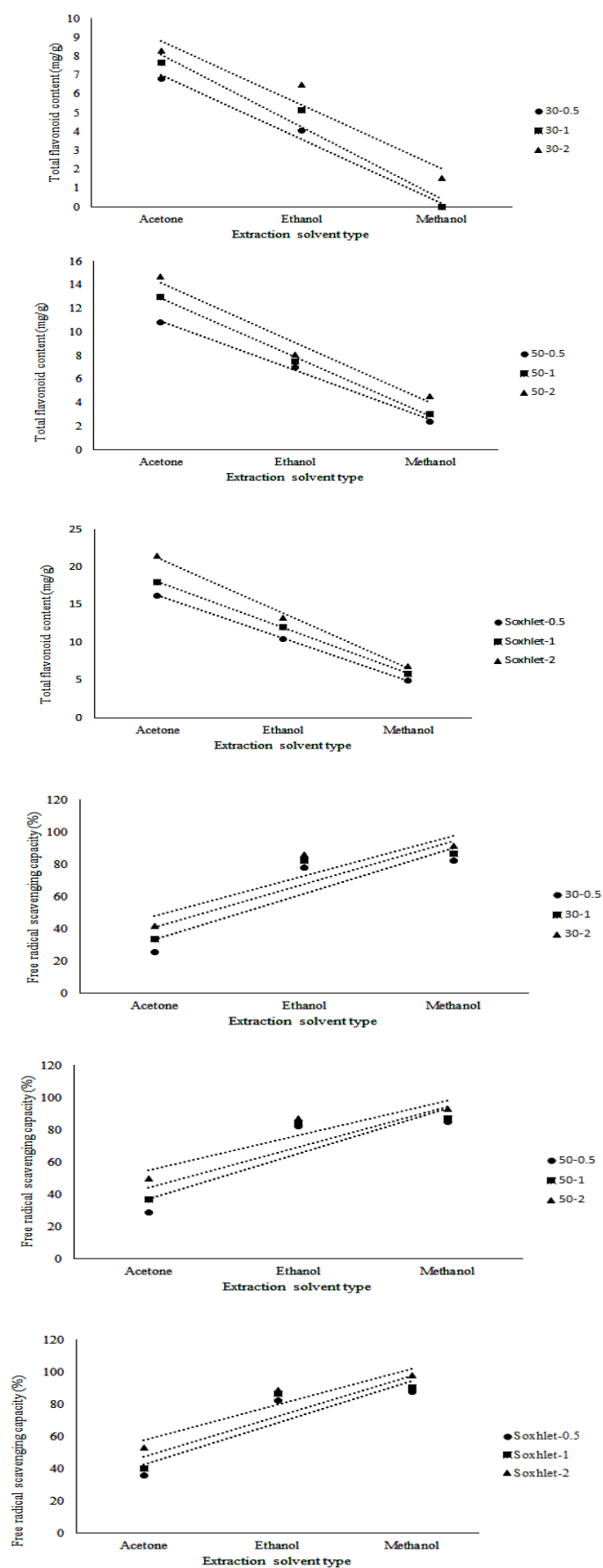
Table 2 Total phenolic content, free radical scavenging activity and total flavonoid content obtained through different extraction conditions

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



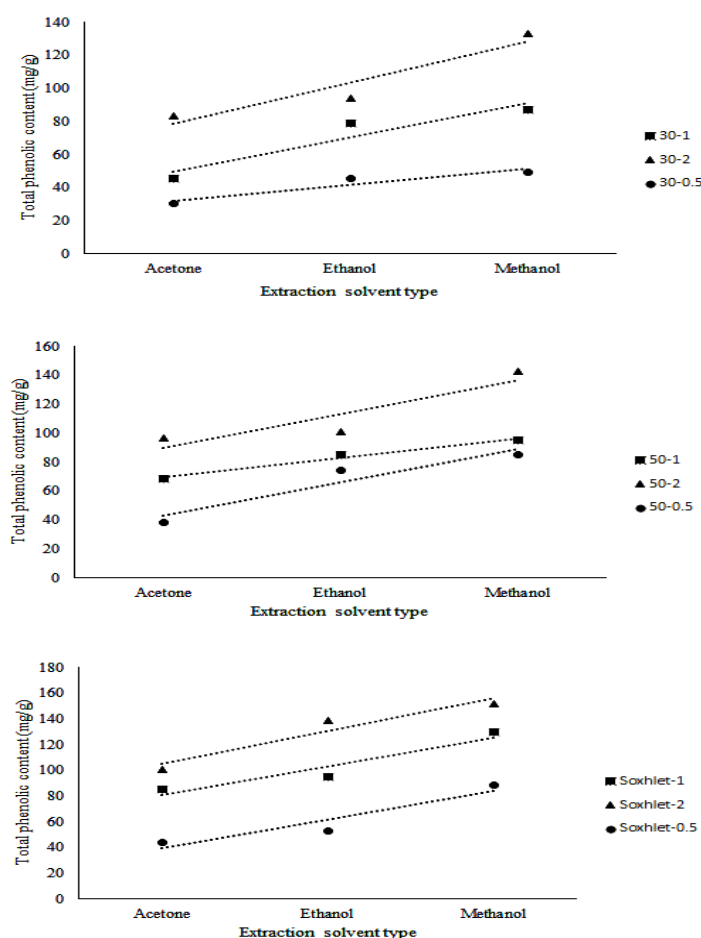


Fig 1 Diagrams of the effects of solvent type, time and temperature on total phenolic compounds, free radical scavenging activity and total flavonoid content of the extracts from sunflower seeds

چربی بیشتر می‌باشد. چرا که در روش چربی‌گیری (که تقریباً ۵۰٪ 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 فنولی کل استخراجی در محدوده دمایی 30°C – 80°C بین $60/76$ تا $91/19$ میلی‌گرم بر گرم قرار دارد.

در مطالعه‌ای دیگر Abozed و همکارانش (۲۰۱۴)، 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 [۲۲].

باتوجه به نمودارهای شکل ۱ کمترین میزان استخراج ترکیبات فنولی مربوط به حلال استون، دمای عصاره‌گیری 30°C و زمان ۳۰ دقیقه با مقدار $30/344$ میلی‌گرم برگرم اسید گالیک در عصاره بوده و بیشترین میزان مربوط به حلال متانول با دمای عصاره‌گیری 80°C و زمان ۱۲۰ دقیقه با مقدار $152/026$ میلی‌گرم 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 ($p < 0.001$) 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 در نمونه‌های مورد آزمایش این پروژه نسبت به میزان ترکیبات فنولی گزارش شده در برخی منابع به دلیل حذف

عصاره‌گیری 30°C و زمان ۳۰ دقیقه بوده و بیشترین میزان مربوط به حلال متانول با دمای عصاره‌گیری 80°C 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٪، اتانول ۵۰٪، استون ۵۰٪ بود. Upadhyay و همکاران (۲۰۱۵) [۲۱] در تأثیر حلال‌های مختلف متانول، استون و آب بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدها و اسید آسکوربیک در دانه‌های ارزن نشان دادند که ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد بدست آمده از حلال استون (۳۱/۶-۹۴/۱٪) بیشتر از حلال‌های متانول (۹۲/۱-۲۶/۶٪) و آب (۵۳/۹-۱۶/۲٪) بود. بر اساس نتیجه‌گیری محققین، مقادیر محتوای فنلی و فلاونوئیدی 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، ۴ و ۸ ساعت در حمام آب 40°C بود. بر اساس یافته‌های بدست آمده، تمامی عصاره‌های حاصله فعالیت بازدارندگی قابل توجهی را در برابر رادیکال DPPH در غلظت نهایی ۰/۰۵ mg/mL 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 (۲۰۱۴)، 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 جمع‌آوری رادیکال آزاد تحت تأثیر دما در شکل ۳ آورده شده است. با توجه به شکل مشخص است که مقدار میانگین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد در محدوده دمایی $30-80^{\circ}\text{C}$ بین ۶۱/۴۸ تا ۶۲/۷۹ درصد قرار دارد.

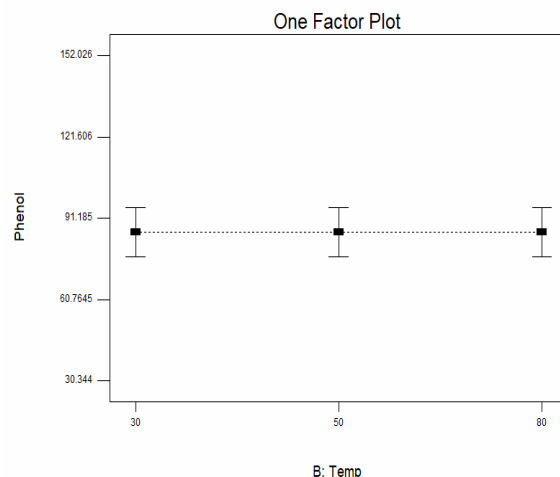


Fig 2 The one factor plot of total phenol content under temperature influence

۲-۳- ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد (DPPH)

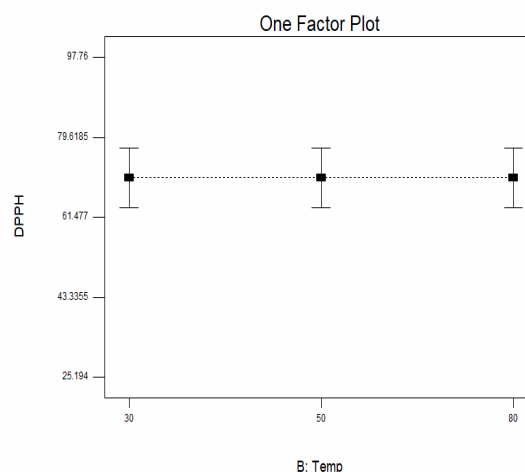
ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد نمونه‌های آرد آفتابگردان آجیلی چربی‌گیری شده، در شرایط مختلف دمایی و زمانی، تحت حلال‌های مختلف مورد آزمون قرار گرفت و در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به نتایج، مشخص می‌شود که ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد تحت تأثیر استفاده از حلال‌های مختلف و شرایط دمایی و زمانی می‌تواند تغییر 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 جمع‌آوری رادیکال آزاد را مشاهده نمود. همانطور که در جدول تجزیه واریانس ۴ نیز مشخص است تأثیر نوع حلال، دمای استخراج، مدت زمان استخراج و تمامی اثرات متقابل آنها بر میزان درصد مهار رادیکالی تأثیر معنی‌داری ($p < 0.0001$) 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 آنتی اکسیدانی و بازده استخراج بالاتری داشتند. با توجه به تحقیقات انجام یافته کمترین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال آزاد مربوط به حلال استون با دمای

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

استخراج، مدت زمان استخراج و تمامی اثرات متقابل آنها بر میزان استخراج فلاوونوئید کل تأثیر معنی داری ($p < 0.0001$) 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 می شود 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 می نماید و این ترکیبات بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در عصاره دارا می باشند. پس میتوان نتیجه گرفت که خروج ترکیبات فنولی با درصد مهار رادیکالی رابطه مستقیم و با ترکیبات فلاوونوئیدی دارای یک رابطه معکوس می باشد. 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 حلال های استون و آب استخراج گردیدند که دلیل آن را می توان به قدرت حلال متانول در حل کردن ترکیبات فلاوونوئیدی نسبت داد. تحقیقات Mokrani و Madani (۲۰۱۶) [۲۴]، نشان داد که تأثیر حلال اتانول ۶۰٪ در محتوای فلاوونوئیدی کل میوه هلو به مراتب بیشتر از حلال های متانول ۶۰٪، استون ۶۰٪ و آب بود. با این حال، آنها

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

۳-۳- محتوای فلاوونوئید کل

محتوای فلاوونوئید کل استخراج شده از نمونه های آرد آفتابگردان آجیلی چربی گیری شده، در شرایط مختلف دمایی و زمانی، تحت حلال های مختلف مورد آزمون قرار گرفته و در جدول ۲ آورده شده است با توجه به نتایج مشخص می شود که محتوای فلاوونوئید کل تحت تأثیر استفاده از حلال های مختلف و شرایط دمایی و زمانی می تواند 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 می توان تأثیر 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، دمایی

نمودار تک فاکتور میانگین محتوای فلاوونوئید کل تحت تأثیر دما در شکل ۴ آورده شده است. همانطور که در شکل نیز مشخص است، مقدار میانگین محتوای فلاوونوئید کل در محدوده دمایی 30°C – 80°C بین $5/375\text{mg/g}$ تا $10/75\text{mg/g}$ قرار دارد.

نشان دادند که محلول‌های ۲۰٪ و ۱۰۰٪ از استون در استخراج ترکیبات فلاوونوئیدی از هلو با مقادیر $76\text{mgQE}/100\text{g}$ و $73\text{QE}/100\text{g}$ به ترتیب بسیار کارآمدتر بودند. مقادیر میانگین $73\text{mgQE}/100\text{g}$ و $56\text{mgQE}/100\text{g}$ برای محلول استون ۴۰٪ و ۸۰٪ بدست آمدند. همچنین کمترین بازده محتوای فلاوونوئید کل ($38\text{mgQE}/100\text{g}$) با استفاده از استون ۶۰٪ بدست آمد.

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

۸۵/۹۶ برای ترکیبات فنولی کل، ۷۰/۴۵٪ برای ظرفیت جمع آوری رادیکال آزاد و $8/16\text{mg/g}$ برای محتوای فلاوونوئید کل با حلال اتانول، دمای 30°C و زمان ۰/۵ ساعت گردید. تابع مطلوبیت برای آزمون مقدار ۰/۵ تعیین گردید. این نتایج در شکل ۵ و جدول ۶ آورده شده‌اند.

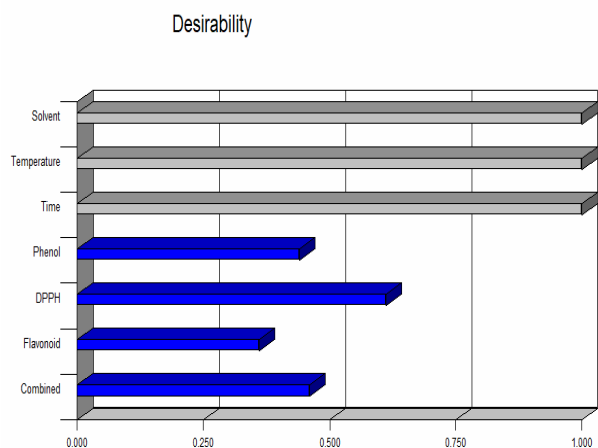


Fig 5 Desirability plot of the effect of solvent, temperature and time on studied responses

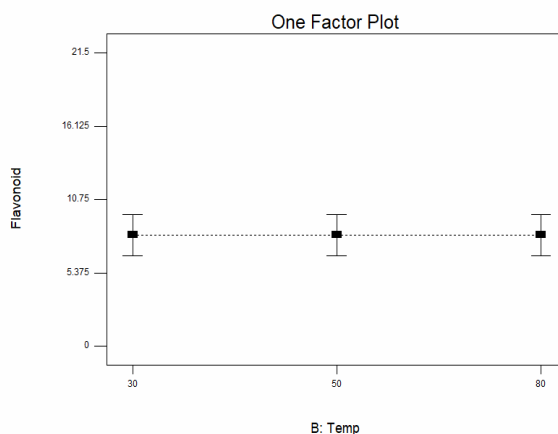


Fig 4 One factor plot of total flavonoid content under temperature influence

۳-۴- بهینه‌سازی

تجزیه و تحلیل و نتایج فرآیند بهینه‌سازی با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی 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 مقادیر mg/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 آنتی اکسیدان سنتزی BHA در جدول (۷) آورده شده است.

Table 7 Changes in sunflower oil peroxide value over 120 hours at 90 °C

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 آنتی اکسیدانی در این عصاره‌ها نسبت داد. به این ترتیب که با افزایش غلظت عصاره‌ها 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 حاوی ۰/۱، ۰/۰۶، ۰/۰۴ و ۰/۰۲ درصد قرار داشتند. نمونه شاهد بالاترین عدد پراکسید را در تمام روزها دارا بود که به دلیل عدم حضور آنتی اکسیدان 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 آنتی اکسیدان 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 می‌نماید 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].

۴- نتیجه گیری

نتایج بدست آمده نشان داد که دانه آفتابگردان سرشار از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده و این امر نشان دهنده پتانسیل بالای این دانه جهت استفاده در فرمولاسیونهای مواد غذایی است. با توجه به این نتایج، مشخص می‌شود که سه متغیر حلال، دما و زمان بر میزان استخراج ترکیبات فنولی، ترکیبات فلاونوئیدی و ظرفیت به دام اندازی رادیکال DPPH تأثیرگذار است همچنین مشاهده می‌شود که میزان درصد استخراج ترکیبات فنولی و ظرفیت به دام اندازی رادیکال DPPH با حلال متانول ۸۰٪ بیشتر از اتانول ۵۰٪ و اتانول بیشتر از استون ۵۰٪ بوده و دمای سوکسله با زمان ۲ ساعت بالاترین

- [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 Agarquimica 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

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 کاملاً 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 فلاونوئیدی، حلال استون ۵۰٪، زمان ۲ ساعت و دمای ۸۰ درجه بالاترین کارایی را از خود نشان داد. حلال‌های غیرقطبی برای استخراج فلاونوئید مناسب‌تر هستند و چون استون حلال غیرقطبی است برای استخراج ترکیبات فلاونوئیدی مناسب می‌باشد. پس می‌توان نتیجه گرفت که خروج ترکیبات فنولی با ٪ مِهار رادیکالی را بطه مستقیم و با ترکیبات فلاونوئیدی دارای یک رابطه معکوس می‌باشد. در حالیکه زمان و دمای بالا با افزایش استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی 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://waaaj.ir/> [Accessed 21May 2014].

- [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*
- 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 Oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. *Journal Of Food Lipids*, 11(4):251-265.

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 °C, 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 °C 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