

(مقاله پژوهشی)

## بهینه‌سازی استخراج ترکیبات زیست‌فعال از ضایعات پیاز زرد به کمک مایکروویو با استفاده از روش سطح پاسخ

مهرانوش غریبی تهرانی<sup>۱</sup>، امیرحسین الهامی راد<sup>۱</sup>، الهام آذرپژوه<sup>۲\*</sup>، احمدپدرام نیا<sup>۳</sup>، پروین شرایعی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۳- استادیار پژوهش بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۰۳

### چکیده

یکی از تکنیک‌های موثر جهت استخراج ترکیبات زیست‌فعال و ارزشمند موجود در مواد بیولوژیکی (زیستی)، استخراج به کمک مایکروویو می‌باشد که منجر به تسریع فرایند حرارت‌دهی، کاهش زمان استخراج و بهبود کیفیت عصاره، کاهش مصرف حلال، بدون تجزیه ترکیبات حساس در برابر حرارت می‌شود که در مقیاس صنعتی و آزمایشگاهی قابل اجرا می‌باشد. هدف از این پژوهش، بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره ضایعات پیاز با استفاده از روش سطح پاسخ (طرح مرکب مرکزی محوری) بود. بدین منظور، تاثیر متغیرهای مستقل فرایند استخراج شامل زمان (۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه)، توان استخراج (۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ وات) و غلظت اتانول (۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد) بر ویژگی‌های کیفی عصاره مانند بازده نهایی استخراج، قدرت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی کل، کوئرستین بررسی گردید. نتایج نشان داد که مدل به دست آمده رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته را به خوبی بیان می‌کند. میزان ترکیبات فنولی با افزایش غلظت اتانول کاهش معنی‌داری یافتند. افزایش همزمان زمان و توان مایکروویو منجر به افزایش معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) گردید. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، در مدت زمان استخراج ۱۲۰ ثانیه، توان ۳۰۰ وات و غلظت اتانول ۸۰ درصد، حاصل شد که تحت این شرایط میزان استخراج کوئرستین (۲۵/۳۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، میزان به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH، (۵۳/۶۰ درصد)، راندمان استخراج عصاره (۷۷/۷۶ درصد)، میزان ترکیبات فنلی کل (۴۷/۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و توان آنتی‌اکسیدانی احیای آهن III (۴۱۶/۷۹ میکرومول بر گرم) بر آورده شده است. در نتیجه روش استخراج به کمک مایکروویو توسط دو حلال دوستدار محیط زیست (آب و اتانول) در غلظت‌های مختلف، می‌تواند جهت استخراج ترکیبات زیست‌فعال و آنتی‌اکسیدانی ضایعات پیاز در مدت زمان کوتاه‌تر و مصرف انرژی کم‌تر استفاده شود.

**واژه های کلیدی:** آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنلی، روش سطح پاسخ، عصاره، ضایعات پیاز.

## ۱- مقدمه

پیاز خوراکی با نام علمی *Allium cepa* متعلق به خانواده Alliaceae و یکی از پر مصرف ترین سبزیجات حاوی مقادیر بالای فلاونوئیدی می باشد. که بخش مهمی از رژیم غذایی بسیاری از کشورهاست (۱). فلاونوئیدهای موجود در مواد غذایی و ترکیبات فنلی دیگر مانند فلاونولهای<sup>۱</sup> کوئرستین<sup>۲</sup>، کائمپفرول<sup>۳</sup>، اسید گالیک<sup>۴</sup> و میرستین<sup>۵</sup> دارای اثرات مانند فعالیت های آنتی باکتریایی، آنتی ویروسی و ضد آلرژیک هستند (۱۹ و ۳۷). فلاونوئیدهای موجود در پیاز اساساً به صورت گلیکوزیدهایی از کوئرستین و کائمپفرول حضور دارند و از خود فعالیت ضد اکسایشی نشان می دهند (۸). در سال های اخیر، تمرکز دانشمندان بر روی مطالعه ترکیبات فعال زیستی گیاهی شامل ترکیبات فنلیکی جهت توانایی بالقوه بیولوژیکی زیاد آنها بوده است (۲۹). ترکیبات فنلی به عنوان آنتی اکسیدان قوی و ترکیبات ضد میکروبی عمل نموده و در صنایع مختلف دارویی و غذایی مورد استفاده قرار گرفتند (۳)، ۵، ۲۵ و ۳۵). با توجه به اینکه استفاده بهینه از ضایعات گیاهی جهت استخراج ترکیبات زیست فعال (ترکیبات ضد میکروبی و ضد اکسایشی) در حال افزایش می باشد، یکی از کاربردهای آنها، استخراج فلاونوئیدها از ضایعات پیاز (پوست) خصوصاً جهت استفاده از اثرات آنتی اکسیدانی مانند فلاونولها<sup>۱</sup>، فلاونول، فلاوانون<sup>۷</sup> می باشد (۲۱). ضایعات پیاز به عنوان یک ماده خام قابل بازیافت، غنی از آنتی اکسیدان کوئرستین می باشد (۳۸). اهمیت آنتی اکسیدانها از جنبه سلامت موجب شد تا تکنیک هایی جهت استخراج آنتی اکسیدانها در نظر گرفته شوند که بیشترین بازده استخراج را داشته باشند. یکی از روش های مهم بازیافت آنتی اکسیدانها، استخراج به کمک

مایکروویو بود که اولین بار در سال ۱۹۸۷ و در قرن بیستم انجام شد (۴۱). بازده استخراج و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده به کمک مایکروویو به میزان زیادی به حلال، توان مایکروویو و زمان استخراج بستگی دارد. این روش به عنوان جایگزینی مناسب جهت استخراج جامد- مایع ترکیبات موثره گیاهی، آنتی اکسیدان های طبیعی در گیاهان، میوه ها و محصولات مشتق شده مطرح بود (۴۲). تاثیر استخراج به کمک مایکروویو و ماسراسیون روی بازیافت ترکیبات زیست فعال از ضایعات صنعتی چوب اکالیپتوس<sup>۸</sup> بررسی شد که روش ماسراسیون منجر به استخراج بهتر ویژگی های آنتی اکسیدانی گردید، در صورتیکه تکنیک استخراج به کمک مایکروویو سبب کاهش چشمگیر زمان استخراج گردید (۱۵). روش های سنتی و رایج مانند تقطیر آبی، سوکسله، ماسراسیون جهت استخراج و بازیافت ترکیبات فنلی از محصولات گیاهی توسعه یافتند (۲۵، ۳۶ و ۴۰) که مزیت تکنیک مایکروویو در مقایسه با روش های سنتی، کاهش زمان فرایند، انتقال موثر و سریع تر حرارت، کاهش مصرف انرژی، کاهش مصرف حلال و نفوذ سریع حلال، سهولت کاربرد، بازده بالای استخراج و محدودیت در تجزیه ترکیبات هدف بود (۳۱ و ۴۳) که به دلیل فرایند حرارتی سریع داخلی بر پایه بر هم کنش مولکولهای قطبی با امواج الکترومگنتیک منجر به صدمه بافت های گیاهی گردید (۴۶). ترکیبات هدف محبوس شده در سلول های گیاهی، به سرعت در حلالها توسط انرژی مایکروویو و ویسکوزیته پایین حلالها حل شدند که منجر به بازده بالای استخراج گردیدند. استخراج با استفاده از مایکروویو بهتر از روش های متداول و اولتراسونیک در رابطه با بازده استخراج و فعالیت های آنتی اکسیدانی بود. در حال حاضر، استفاده از روش مایکروویو در دمای پایین جهت استخراج ترکیبات ناپایدار در نمونه های غذایی اجرا شده است (۴۳) این امر سبب جلوگیری از تجزیه ترکیبات حساس به حرارت گردید و همچنین پتانسیل خوبی برای استخراج ترکیبات با ارزش در

- 1-Flavonols
- 2-Quercetin
- 3-Kaempferol
- 4- Gallic acid
- 5-Myricetin
- 6-Flavones
- 7-Flavanone

ضایعات پیاز با استفاده از نرم افزار رویه پاسخ و طرح مرکب مرکزی محوری بوده است.

## ۲- موادوروشها

### ۲-۱- مواد اولیه

ضایعات پیاز زرد به نام پیاز قهدریجان رقم روز کوتاه (شامل کلیه قسمت‌های پیاز اعم از پوست و بخش‌های خوراکی) از بازار محلی شهرمشهد تهیه شد. مواد شیمیایی شامل معرف فولین سیوکالچو، اسیدگالیک، کوئرستین، متانول، کربنات سدیم، سولفات آهن III شش آبه، معرف ۲ و ۴ و ۶- تری پیریدیل- اس- تریازین (TPTZ)، ۲ و ۲ دی فنیل- ۱ پیکریل هیدرازیل (DPPH) و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت های مرک، سیگما آلدریج و شارلو خریداری شدند.

### ۲-۱-۲- آماده سازی نمونه

ابتدا ضایعات پیاز جهت استخراج عصاره با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم توزین شدند. سپس هر یک از تیمارها در سه سطح توان (۵۰۰، ۷۰۰ و ۳۰۰ وات)، غلظت اتانول (۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد)، زمان (۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه) در داخل بشر ۱۰۰۰ میلی‌لیتری از جنس پیرکس در داخل دستگاه مایکروویو خانگی جهت استخراج عصاره قرار داده شدند.

### ۲-۲- روش های استخراج

#### ۲-۲-۱- روش استخراج به کمک مایکروویو

در این روش استخراج، از یک مایکروویو خانگی ۲/۴۵ گیگاهرتز (سامسونگ، مدل ۲۰۱۱، ساخت کشور کره) و حداکثر توان خروجی ۱۰۰۰ وات در آزمایشگاه بخش فنی مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی-مشهد استفاده گردید. زمان و توان مورد نیاز قابل تنظیم بود. ظرف استخراج عصاره، بشر از جنس پیرکس و با حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر بود. راندمان نهایی براساس گرم عصاره در ۲۰۰ گرم وزن خشک پیاز گزارش گردید. سپس آزمون‌های قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد، میزان کوئرستین، آزمون قدرت

مواد غذایی و ترکیبات طبیعی ایجاد نمود (۱۱). در این تکنیک، استخراج ترکیبات موثره به دلیل مهاجرت یون‌های حل شده مناسب بوده که سبب افزایش نفوذ حلال و رهایش ترکیبات از ماتریکس آن‌ها گردید (۲۷). به علاوه، بیشترین کاربرد استخراج به کمک مایکروویو، شامل مخلوط حلال غیرقطبی و آب می باشد. حجم حلال وابسته به نوع و سایز نمونه بوده، اما میانگین مقادیر حلال ممکن است در حدود ۱۰ برابر کمتر از آن‌هایی باشد که در استخراج کلاسیکی استفاده شدند (۲۶). در بعضی موارد، توان بسیار بالای مایکروویو سبب کاهش کارایی استخراج از طریق تجزیه نمونه یا جوشیدن سریع حلال در سیستم‌های لوله باز می باشد که تماس با نمونه را مختل می نماید. به طور کلی، مزیت استخراج به کمک مایکروویو، کوتاه بودن زمان استخراج در مقایسه با روش های استخراج کلاسیکی می باشد. معمولاً افزایش زمان استخراج بیشتر از مقادیر بهینه، سبب بهبود کارایی استخراج نمی شود در حالی که در بعضی موارد، ممکن است حتی بازیافت مولکول‌های هدف را کاهش دهد (ترکیبات حساس به حرارت). در بیشترین موارد، دمای افزایش یافته منتج به کارایی استخراج بهبود یافته شد، اما بررسی اختصاصی نشان داد ممکن است سبب تجزیه ترکیبات حساس به حرارت در دماهای بالا گردد (۲۵). با توجه به این که شرایط استخراج بهینه برای ضایعات پیاز زرد رنگ (شامل کلیه قسمت‌های پیاز اعم از پوست و بخش خوراکی) با استفاده از روش استخراج به کمک مایکروویو بررسی نشده است، بنابراین، پژوهش حاضر با هدف تاثیر متغیرهای مستقل فرایند استخراج شامل زمان (۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه)، توان استخراج (۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ وات) و غلظت اتانول (۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد) بر ویژگی‌های کیفی عصاره مانند بازده نهایی استخراج، قدرت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی کل، کوئرستین، مدل‌سازی مناسب و بهینه سازی شرایط استخراج به کمک مایکروویو برای افزایش کارایی بازده استخراج، مقادیر ترکیبات فنلی کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از

صافی واتمن شماره ۱ و پمپ خلا از مواد جامد گیاهی جدا گردید و در مرحله بعدی به منظور حذف حلال، عصاره های حاصل در دستگاه روتاری (تحت Rotaryvapor, Buchi, Swizeland مدل EI141) تحت عملیات تقطیر در خلا قرار گرفتند. در نهایت عصاره به پلیت های شیشه ای منتقل شده و در داخل بنماری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت حرارت داده شدند. سپس درب پلیت ها را بسته و بافویل آلومینیومی پوشانده و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند (۳۲).

احیا کنندگی آهن III، میزان ترکیبات فنلی کل و میزان کوئرستین انجام شدند.

### ۲-۲-۲- روش استخراج با حلال (ماسراسیون)

استخراج عصاره ضایعات پیاز با حلال اتانول انجام شد. مراحل استخراج عصاره مانند شکل ۱ می باشد. نمونه های ضایعات پیاز به نسبت ۱ به ۱۰ (حجمی/وزنی) با الکل اتانول ۷۰ درصد در دماهای (۲۵،۳۰ و ۳۵ درجه سانتیگراد) و زمان های (۱۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت) توسط دستگاه همزن مغناطیسی با دور ۲۱۰rpm همزده شدند. سپس عصاره استخراج شده با استفاده از کاغذ



شکل ۱- نحوه استخراج عصاره ضایعات پیاز با حلال

حجم نهایی رسانده شد. محلول در طول شب نگهداری و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. منحنی مقدار جذب در برابر غلظت اسید گالیک (میلی گرم به میلی لیتر) رسم شد (شکل ۲) و رابطه برازشی ۱ با ضریب تبیین ۰/۹۹ به دست آمد: (رابطه ۱)

$$Y = 1/0.776X^2 + 0.2644X + 0.009$$

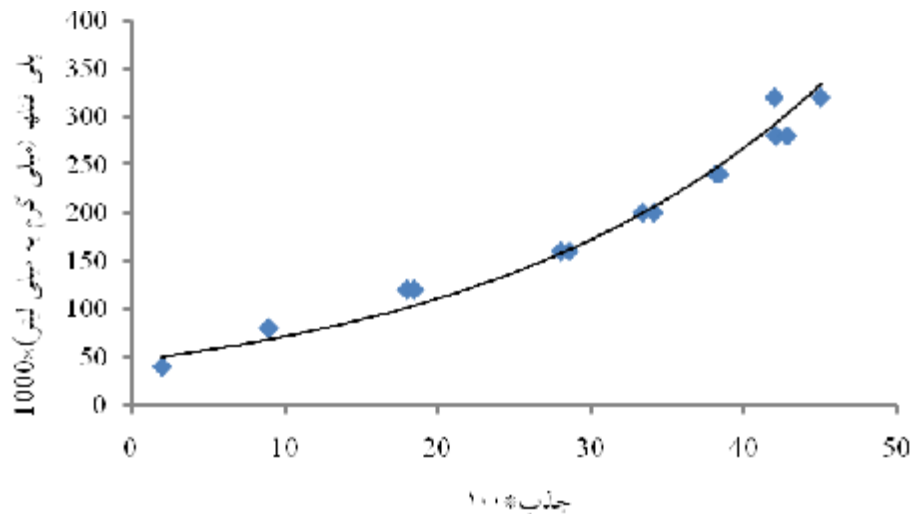
که X جذب خوانده شده در طول موج ۷۶۵ نانومتر و Y مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر است

### ۲-۳- روش های آزمون

#### ۲-۳-۱- اندازه گیری ترکیبات فنلی

#### ۲-۳-۱-۱- ترسیم منحنی کالیبراسیون

محلول های استاندارد اسید گالیک در متانول با غلظت های مختلف در دامنه ۰/۰۴ تا ۰/۴ میلی گرم در میلی لیتر آماده شد. سپس در بالن ژورنه های ۵۰ میلی لیتر، یک میلی لیتر محلول استاندارد اسید گالیک، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیو کالچو و ۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه و با آب خالص به



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون غلظت ترکیبات پلی فنلی در طول موج ۷۶۵ نانومتر

### ۲-۳-۱-۲- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی نمونه

مقدار ۱۰ میلی گرم از عصاره‌های ضایعات پیاز را در متانول حل کرده، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالچو (برای تهیه معرف محلول فولین سیوکالچو را به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر رقیق می‌کنیم) به آن اضافه کرده پس از اختلاط به مدت ۳ دقیقه در حالت سکون قرار داده شد تا واکنش صورت گیرد. در ادامه ۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به فاز آبی اضافه و بعد از یک دقیقه با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. نمونه به مدت ۲۴ ساعت در مکانی تاریک نگهداری و سپس جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر در برابر شاهد قرائت شد. مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی گرم به گرم در نمونه طبق رابطه (۲) محاسبه می‌گردد.

$$P = \frac{Y}{W} \times 1000$$

که P مقدار ترکیبات فنلی نمونه بر حسب میلی گرم بر گرم، W وزن نمونه می‌باشد (۲۴).

### ۲-۳-۲- اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن III (FRAP)

#### تهیه محلول بافر استات

برای تهیه محلول بافر استات (۰/۳ مولار، pH=۳/۶) ۳/۱ گرم استات سدیم سه آبه با ۱۶ میلی لیتر اسید استیک مخلوط گردید و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. برای حصول اطمینان pH آن اندازه‌گیری شد.

#### تهیه معرف TPTZ

برای تهیه معرف مقدار ۲۳/۴ میلی گرم معرف TPTZ را با ۷/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۴۰ میلی مولار مخلوط و حل شد.

#### تهیه محلول FRAP

بافر استات، معرف TPTZ و محلول ۲۰ میلی مولار کلرید آهن III شش آبه را به نسبت ۱:۱:۱۰ حجمی با هم مخلوط و در جای تاریک نگهداری شد. این محلول می‌بایست روزانه تهیه گردد.

### ۲-۳-۱- ترسیم منحنی کالیبراسیون

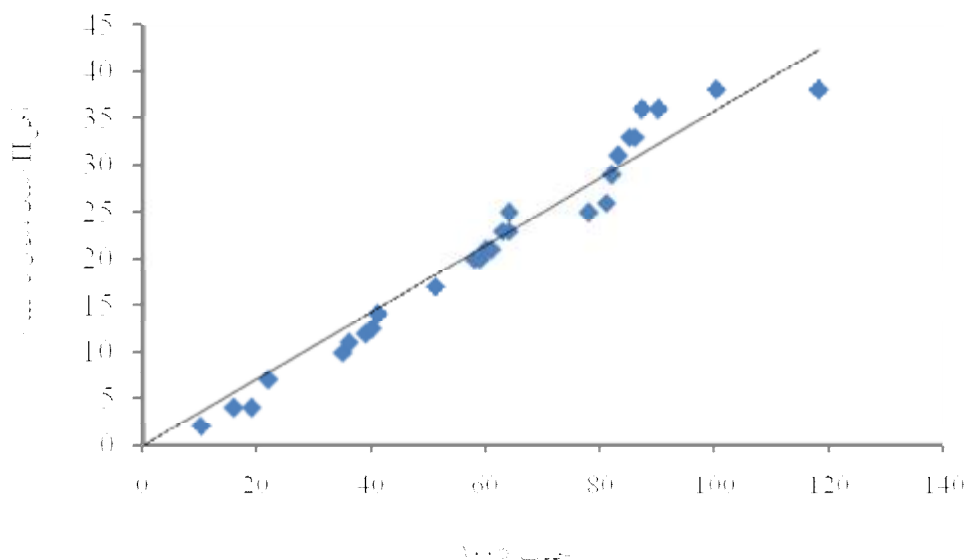
محلول‌های استاندارد سولفات آهن II با غلظت‌های ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومول در لیتر تهیه شد. ۳۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد، ۹۰۰ میکرولیتر محلول FRAP و ۹۰ میکرولیتر آب دیونیزه در داخل لوله آزمایش مخلوط شدند. محلول حاصل در داخل بن ماری قرار گرفت و بعد از رسیدن دمای آن به ۳۷ درجه سلسیوس، مقدار جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (شکل ۳).

بسته به قدرت مهارکنندگی نمونه، محلولی شامل ۱۰۰ میلی گرم نمونه در ۱۰ میلی لیتر متانول تهیه شد و ۳۰ میکرولیتر آن با ۹۰۰ میکرولیتر محلول FRAP و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر در لوله آزمایش مخلوط شد. لوله آزمایش بعد از ورتکس در بن ماری قرار گرفت و پس از رسیدن دمای آن به ۳۷ درجه سلسیوس، مقدار جذب در مقابل شاهد و در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (۶). مقدار آهن II از رابطه ۳ به دست آمد:

$$Y = 1772 X - 9/211 \quad (3) \text{ (رابطه، ۳)}$$

$Y =$  میکرومول آهن II بر لیتر،  $X =$  جذب خوانده شده در طول موج ۵۹۵ نانومتر

### ۲-۳-۲- اندازه گیری قدرت احیاکنندگی نمونه



شکل ۳- منحنی کالیبراسیون غلظت آهن II در برابر جذب خوانده شده در طول موج ۵۹۵ نانومتر

مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۲ نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد بر حسب رابطه ۴ محاسبه شد (۱۳).

$$A\% = \frac{AC - AS}{AC} * 100$$

که  $A\%$ ، درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH،  $AC$  جذب شاهد و  $AS$  جذب نمونه است.

### ۲-۳-۳- اندازه گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH<sup>1</sup>

در این روش ابتدا محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH<sup>1</sup> در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حامل یک میلی لیتر محلول متانولی عصاره با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد)، یک میلی لیتر از محلول فوق اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از ورتکس شدن به

### ۲-۳-۴- آزمون اندازه‌گیری میزان کوئورستین

این آزمون مطابق روش (چانگ و همکاران، ۲۰۰۲) با اندکی تغییرات انجام شد. ابتدا جهت تهیه نمونه، میزان ۱/۱۰ گرم از عصاره ضایعات خشک پیاز را در ۴ سی سی اتانول مخلوط نموده، سپس ۴۰۰ میکرومول از آن را با ۱۲۰۰ میکرومول متانول، ۱۶۰ میکرومول کلرید آهن سه ظرفیتی (ALCL<sub>3</sub>) ۱۰ درصد، ۱۶۰ میکرومول پتاسیم استات یک مولار و ۲۰۸۰ میکرومول آب مقطر را مخلوط نموده، سپس ۴۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده و جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۹).

### ۲-۳-۵- تحلیل آماری

#### ۲-۳-۵-۱- مدل‌سازی متغیرها

به منظور دریافت پاسخ متغیرها، یک مدل چندجمله‌ای درجه دوم جهت تناسب داده‌ها مطابق رابطه (۵) استفاده شد:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + \epsilon$$

جدول ۱- نمادها، مقادیر کد شده و مقادیر واقعی متغیرهای مستقل

نماد	متغیرهای مستقل	سطح کد شده
X <sub>1</sub>	توان استخراج	۱ ۰ ۱- (۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ وات)
X <sub>2</sub>	زمان استخراج	۱ ۰ ۱- (۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه)
X <sub>3</sub>	غلظت اتانول	۱ ۰ ۱- (۶۰، ۸۰ درصد)

برازش شده<sup>۴</sup>، مدل و P ضرایب با استفاده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت (نسخه ۷) استفاده شد (جدول ۲).

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تاثیر شرایط فرایند استخراج بر میزان ترکیبات

##### فنلی کل

نتایج جدول ۳ نشان داد که مقدار ضریب تبیین (R<sup>2</sup>) جهت پاسخ مقادیر ترکیبات فنلی کل ۰/۸۵۴ بود که نشان دهنده ارتباط نزدیک بین مقادیر واقعی و مقادیر پیش‌بینی شده ترکیبات فنلی

برای طراحی آزمایش و آنالیز نتایج از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت (نسخه ۷) استفاده گردید. جهت نمایش رابطه هر یک از متغیرهای وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل، نمودار سطوح آنها به وسیله این نرم‌افزار ترسیم شدند. به منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش شده، آزمون ضعیف برازش<sup>۱</sup>، ضریب تغییرات<sup>۲</sup>، مقادیر ضریب تبیین<sup>۳</sup>، ضریب تبیین

1-Lack of Fit

2-Coefficient of Variation (CV)

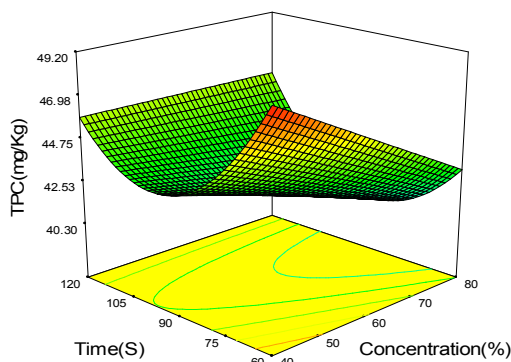
3-R square

4-R square (adj)

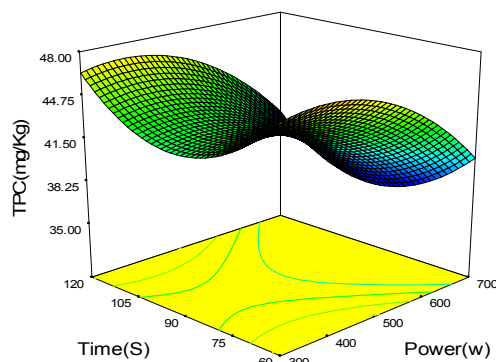
۸۰ درصد در طی مدت زمان طولانی اتفاق بیفتد، تجزیه ترکیبات حساس به حرارت در عصاره آلگال<sup>۱</sup> اتفاق افتاد (۱۱). توان پایین مایکروویو در زمان طولانی جهت استخراج و کاهش میزان ترکیبات فنلی به دلیل هیدرولیزاسیون و اکسیداسیون بعضی ترکیبات فنلی کل در دماهای بالا اتفاق افتاد و با تجزیه ترکیبات حساس به حرارت در عصاره همراه بود که با تحقیقات نازک و شهیدی (۲۰۰۴) مطابقت داشت (۲۸). از مدل می توان دریافت که بیشترین میزان ترکیبات فنلی کل عصاره ضایعات پیاز، به ترتیب (۲۵/۴۸ میلی گرم بر کیلوگرم) در توان ۵۰۰ وات، زمان ۶۰ ثانیه و غلظت اتانول ۶۰ درصد بود و این نشان دهنده عدم معنی دار بودن غلظت اتانول در استخراج ترکیبات فنلی کل می باشد ( $P < 0.05$ ). درصد بالای اتانول (۸۰ درصد) نقشی در تولید مقادیر بالای ترکیبات فنلی وجود نداشت که با نتایج محققین قبلی بخاطر اجزای سازنده مطابقت داشت که می توان آن را به میزان نسبت ترکیبات فنلی کل در عصاره نسبت داد (۱۶ و ۱۸). تقریباً تمام ترکیبات فنلی مولکولهای قطبی هستند که به راحتی توسط حلالهای قطبی حل می شوند. نسبت اتانول در مخلوط به قطبیت آن که مناسب با قطبیت ترکیبات در استخراج می باشد، کمک نمود. هنگامی که درصد اتانول افزایش یافت، ترکیبات فنلی کمتر استخراج شدند زیرا ویسکوزیته محیط بواسطه عدم رسوب مقداری از ترکیبات مانند پلی ساکاریدها افزایش یافت (۱۴).

کل داده های مدل بود. ضریب خطی توان بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل معنی دار بود ( $P < 0.001$ ). همچنین ضریب خطی غلظت اتانول نیز بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). در معادله درجه دوم، تاثیر متغیر مستقل زمان بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل معنی دار بود ( $P < 0.001$ ). این نشان دهنده افزایش استخراج ترکیبات پلی فنلی پس از رسیدن به حداکثر زمان بود. در حالی که ضریب برهمکنش توان و زمان، توان و غلظت و مقادیر ضعف برازش جهت تعیین تناسب مدل معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ) که نشان دهنده این است که مدل مربوطه می توانست بطور مناسب جهت انجام داده های آزمایشی مدل سازی شود. بر اساس ضرایب رگرسیون، ترکیبات فنلی کل به ترتیب بیشتر تحت تاثیر زمان و توان مایکروویو بودند. تاثیر معنی دار عبارت چند جمله ای توان مایکروویو بر میزان ترکیبات فنلی کل عصاره ضایعات پیاز مشاهده شد. مطابق شکل ۴-الف نمودار رویه پاسخ میزان ترکیبات فنلی کل تحت تاثیر زمان، توان مایکروویو را نشان می دهد. افزایش ثابت در میزان ترکیبات فنلی کل عصاره وجود داشت هنگامی که زمان از ۶۰ ثانیه به ۱۲۰ ثانیه افزایش و درصد اتانول بین ۶۰ و ۸۰ درصد در توان ثابت ۵۰۰ وات بود. این واضح است که توان بالا با سرعت سبب افزایش دمای محیط استخراج شد که به خاطر تبدیل انرژی بیشتر مایکروویو به گرما بوده است. دمای بالا سبب بهبود حلالیت ترکیبات، سرعت انتشار و انتقال جرم بین حلال و ماتریکس مواد می باشد. هنگامی که توان استخراج بیش از





ب



الف

شکل ۴- نمودار سطح پاسخ تاثیر شرایط استخراج (الف) تاثیر زمان (ثانیه) و توان (وات) استخراج؛ (ب) زمان (ثانیه) و غلظت اتانول (درصد) بر میزان پلی فنل (میلی گرم اسیدگالیک در کیلوگرم) عصاره استخراج شده از ضایعات پیاز

برهمکنش توان و زمان تاثیر معنی‌داری بر قدرت گیرندگی رادیکال آزاد نداشت ( $P > 0.05$ ). براساس مجموع مربعات اهمیت متغیرهای مستقل بر میزان قدرت گیرندگی رادیکال آزاد در عبارت خطی  $X_2$  و در عبارت درجه دوم  $X_2X_2$  و در برهمکنش  $X_1X_2$  بود. براساس شکل ۵ (الف، ب) نمودار رویه پاسخ بیشترین میزان DPPH (۵۴/۸۰ درصد) در مدت زما ۱۲۰ ثانیه، غلظت اتانول ۸۰ درصد و توان ۳۰۰ وات بود که با نتایج محققین در مورد مقدار DPPH عصاره *S. vestitum* سازگار بود که آنها نشان دادند با افزایش زمان از ۲۵ ثانیه به ۷۵ ثانیه، غلظت اتانول بین ۳۰-۷۰ درصد و توان ۸۰۰ وات، میزان DPPH افزایش یافت که بیانگر ارتباط مثبت بین ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره *S. vestitum* بود. به عبارتی پلی فنل‌ها به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل در مهار رادیکال‌های آزاد نقش موثری دارند (۱۰، ۲۰ و ۲۲). به علاوه، توان مایکروویو در سطوح کمتر از ۵۰ درصد مناسب بود که دارای مقادیر بالای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود و با نتایج پژوهمکاران، ۲۰۱۴ همخوانی نداشت که نشان دادند افزایش در توان مایکروویو منجر به افزایش DPPH در

### ۲-۳- تاثیر شرایط فرایند استخراج به کمک مایکروویو بر

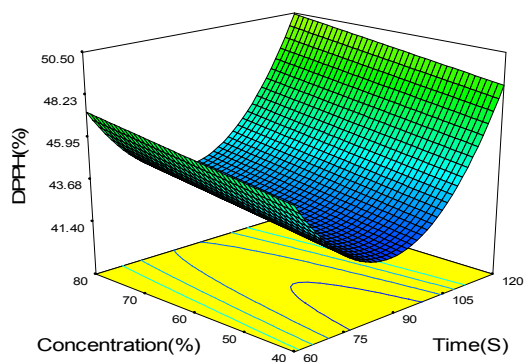
#### میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

#### ۱-۲-۳- قدرت گیرندگی رادیکال آزاد (DPPH)

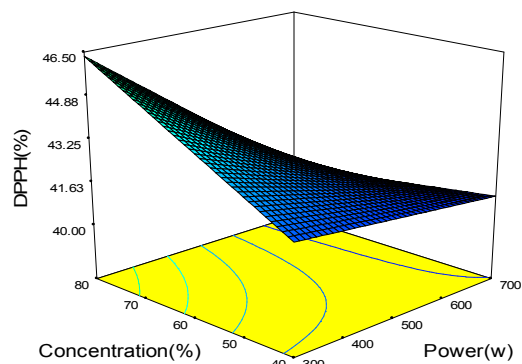
مطابق جدول ۲، مقادیر  $R^2$  برای مدل DPPH، ۰/۹۳۲ بود که عدم معنی‌داری بودن را مطرح نمودند ( $P > 0.05$ ). مقادیر جهت ضعف برازش معنی‌دار نبودند (که  $P > 0.05$  نشان‌دهنده این است که تفاوت معنی‌داری بین مقادیر DPPH آزمایشگاهی و پیش‌بینی شده وجود نداشت). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ضرایب خطی توان، زمان بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قدرت گیرندگی رادیکال آزاد معنی‌دار بودند ( $P < 0.001$ ). همچنین ضریب خطی غلظت اتانول بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قدرت گیرندگی رادیکال آزاد معنی‌دار بودند ( $P < 0.05$ ). معادله درجه دوم زمان بر میزان استخراج ترکیبات فنلی کل معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ). در حالی که ضریب برهمکنش توان و زمان و غلظت معنی‌دار نبودند ( $P > 0.05$ ). ضریب برهمکنش توان و غلظت معنی‌دار بودند ( $P < 0.01$ ). نتایج جدول (۲) نشان داد که عبارت درجه دوم زمان استخراج تاثیر معنی‌داری بر قدرت گیرندگی رادیکال آزاد داشت ( $P < 0.01$ ). در حالی که ضریب عبارت

تحقیق نبود(۴۵). در حالی که این نتایج با نتایج لین و همکاران، ۲۰۱۳ سازگار بود که سطح پایین عصاره vestitum تحت تاثیر زمان، غلظت اتانول و توان میکروویو بود(۲۳).

عصاره جلبک قهوه ای سارگاسوم موتیکوم گردید (۳۰). همچنین طبق تحقیق بینگ و لی (۲۰۱۲) بیشترین میزان فعالیت گیرندگی رادیکال آزاد عصاره پورفیرایزونسیز<sup>۲</sup> تحت شرایط توان ۵۰۰ وات و زمان ۶ دقیقه فراهم شد که مطابق با نتایج این



(ب)

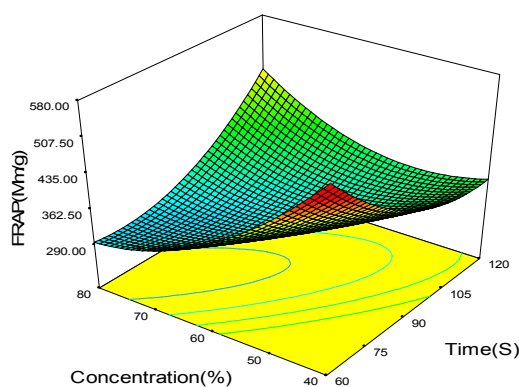


(الف)

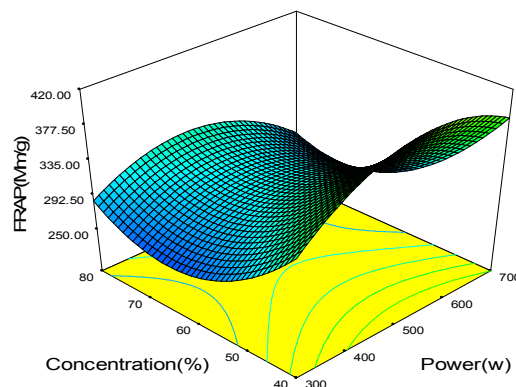
شکل ۵- نمودار سطح پاسخ تاثیر شرایط استخراج (الف) تاثیر زمان(ثانیه) و توان(وات) استخراج ؛ (ب) زمان (ثانیه) و غلظت اتانول (درصد) بر میزان قدرت گیرندگی رادیکال آزاد(درصد) عصاره استخراج شده از ضایعات پیاز

کاهش یافت، در حالی که با افزایش زمان (۹۰ ثانیه) و غلظت اتانول به میزان (۶۰ درصد) میزان FRAP کاهش و سپس تا پایان استخراج (زمان ۱۲۰ ثانیه و غلظت اتانول ۸۰ درصد) افزایش یافت. بالاترین میزان FRAP (۵۳۲/۷۰ میکرومول بر میلی‌گرم) در توان ۷۰۰ وات، مدت زمان ۶۰ ثانیه و غلظت اتانول ۴۰ درصد بود و کمترین میزان آن (۲۲۲/۹۰ میکرومول بر میلی‌گرم) در توان ۷۰۰ وات و مدت زمان ۶۰ ثانیه و غلظت اتانول ۸۰ درصد بود. با افزایش بیشتر توان تا ۷۰۰ وات و مدت زمان بیشتر از ۶۰ ثانیه به دلیل تجزیه حرارتی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی حساس به حرارت میزان FRAP کاهش یافت. که نتایج احمدیان و همکاران، ۲۰۱۶، و رگارسالیناس و همکاران، ۲۰۱۲، مطابقت داشت (۳۹ و ۲). نتایج نشان می‌دهد که فعالیت FRAP شبیه DPPH و TPC بایشتترین تاثیر توسط فاکتور زمان بوده، بطوریکه با افزایش زمان تا ۶۰ ثانیه میزان ترکیبات استخراج شده کاهش و سپس تا ۱۲۰ ثانیه افزایش یافت. همچنین افزایش ترکیبات پلی‌فنلی کل سبب افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گردید. بدین صورت که آن‌ها فرصت انحلال در حلال را داشته باشند و به طور کامل ترکیبات موثره گیاه وارد حلال جهت فرایند استخراج شدند (۱۰، ۲۰ و ۲۲).

۳-۲-۲- بررسی قدرت احیاکنندگی آهن ۳ ظرفیتی (FRAP) ویژگی قدرت احیاکنندگی آهن ۳ ظرفیتی جهت تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی به کار رفت. کاهش یون فریک در واکنشگر FRAP توسط تشکیل رنگ آبی ایجاد شد. نتایج جدول (۲) نشان داد که هم در عبارت خطی و هم عبارت درجه دوم پارامتر توان و زمان معنی‌دار بودند ( $P < 0.001$ ). عبارت برهمکنش توان و زمان، توان و غلظت، غلظت و زمان نیز بر میزان FRAP معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ ). در مدل رگرسیون ضریب تبیین بسیار بالا (۰/۹۹۹) و میزان ضعف برازش معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ ). این مقادیر یک مدل ریاضی مناسبی ارائه می‌دهد. بر طبق مجموع مربعات اهمیت متغیرهای مستقل (زمان، توان و غلظت اتانول) بر میزان راندمان قدرت احیاکنندگی آهن ۳ ظرفیتی شامل: عبارت خطی توان استخراج ( $X_1$ )، زمان استخراج ( $X_2$ )، غلظت اتانول ( $X_3$ ) عبارت درجه دوم توان ( $X_1X_1$ )، زمان ( $X_2X_2$ )، غلظت اتانول ( $X_3X_3$ ) و عبارت برهمکنش توان و زمان استخراج ( $X_1X_3$ )، توان و غلظت اتانول ( $X_1X_2$ )، غلظت اتانول و زمان ( $X_2X_3$ ) بود. همان‌طور که در شکل ۶ (الف، ب) نمودارهای رویه پاسخ نشان داده شد نیروی کاهندگی یون فریک با افزایش توان تا ۵۰۰ وات میزان FRAP افزایش و سپس تا پایان استخراج (توان ۷۰۰ وات)



(ب)



(الف)

شکل ۶- نمودار سطح پاسخ تاثیر شرایط استخراج (الف) تاثیر توان (وات) و غلظت اتانول (درصد)؛ (ب) زمان (ثانیه) و غلظت اتانول (درصد) بر میزان قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی (میکرومول بر گرم) عصاره استخراج شده از ضایعات پیاز

جدول ۲ - آنالیز واریانس ضرایب رگرسیونی مدل های بدست آمده بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ضایعات پیاز به کمک فرایند مایکروویو

قدرت احیا کنندگی آهن III(میکرومول آهن بر میلی لیتر)		قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد(درصد)		درجه آزادی	منبع
مجموع مربعات	ضریب رگرسیون	مجموع مربعات	ضریب رگرسیون		
۱/۲۷۷	۲۰۲۷/۷۲۴***	۲۴۱/۰۱	۸۰/۹۰***	۹	مدل خطی
۳۵۷/۴۸	۱/۲۸۳***	۳۱/۷۶	۰/۰۱۱***	۱	توان
۱۹۶۷۷/۲۱	-۳۲/۲۰۰***	۶/۹۸	۰/۲۱*	۱	غلظت
۵۰۹/۶۲	-۲۲/۳۲۸***	۲۳/۷۱	-۱/۰۹***	۱	زمان
درجه دوم					
۶۴۰۶/۴۲	-۱/۲۰۶***	ns	ns	۱	توان*توان
۹۹۶۴/۰۳	۰/۱۵۰***	ns	ns	۱	غلظت*غلظت
۹۹۱۹/۰۱	۰/۰۶۴***	۱۶۳/۵۹	۶/۳۵۵***	۱	زمان*زمان
اثر متقابل					
۲۲۹۳/۰۰	-۴/۲۳۲***	۱۴/۹۹	-۳/۴۲**	۱	توان*غلظت
۷۰۰۹۸/۹۱	۰/۱۵۶***	ns	ns	۱	غلظت*زمان
۱۵۲۳/۵۲	۲/۳۰۰***	ns	ns	۱	توان*زمان
۸۰/۷۹		۱۷/۰۵		۱۰	مانده ها
۶۱/۵۷	ns	۱۰/۰۲	ns	۵	عدم برازش
۱۹/۲۳		۷/۰۳		۵	خطای خالص
۱/۲۷		۲۵۸/۰۶		۱۹	کل
	۲/۸۴		۱/۱		انحراف معیار
	۳۴۲/۹۲		۴۵/۲۲		میانگین
	۰/۸۳		۲/۴۴		CV(%)
	۰/۹۹۹		۰/۹۳۳		ضریب تبیین
	۰/۹۹۸		۰/۹۱۰		ضریب تبیین برازش شده
	۰/۹۹۷		۰/۸۷۶		ضریب تبیین پیش بینی شده

\*\* P<0.01

\*\*\* P<0.001

ns: در سطح ۹۵٪ معنی دار نمی باشد.

جدول ۳ - آنالیز واریانس ضرایب رگرسیونی مدل‌های بدست آمده بر میزان ترکیبات فنلی کل، کوئرستین و راندمان استخراج عصاره ضایعات پیاز به کمک فرایند مایکروویو

منبع	درجه آزادی	پلی فنل کل (میلی گرم بر کیلوگرم)		کوئرستین (میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک)		راندمان استخراج (درصد)
		مجموع مربعات	ضریب رگرسیون	مجموع مربعات	ضریب رگرسیون	
مدل خطی	۹	۸۸/۱۴۹***	۰/۰۵۱***	۵۱۰/۵۵	۰/۱۳۰**	۲۳۳/۴۴
توان	۱	۱۱۰/۸۹	۰/۱۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۴۳	۰/۰۱۶۰*	۱۰۲/۴۰
غلظت	۱	۲۲/۶۶	۰/۲۹۴*	۸۰/۹۱	ns	ns
زمان	۱	۰/۲۲	۰/۹۶۸ <sup>ns</sup>	۱۵۹/۷۲	۰/۱۲۰*	۱۳۱/۰۴
درجه دوم						
توان*توان	۱	۲۳/۶۸۷	۰/۷۹۹*	۱۳۱/۵۱	۰/۶۰۲***	ns
غلظت*غلظت	۱	ns	ns	ns	ns	ns
زمان*زمان	۱	۵۳/۴۷	۴/۵۴۱***	۱۹۶/۴۱	۸/۷۰۴***	ns
اثر متقابل						
توان*غلظت	۱	ns	ns	ns	ns	ns
غلظت*زمان	۱	۱۷/۰۸	۲۴/۳۵*	ns	ns	ns
توان*زمان	۱	ns	ns	۵۸/۴۵	۴/۵۰۵*	ns
مانده ها	۱۰	۳۴/۹۳	ns	۸۳/۶۷	ns	۳۶۱/۳۲
عدم برازش	۵	۲۱/۵۹	ns	۶۱/۱۵	ns	۲۷۷/۸۲
خطای خالص	۵	۱۳/۳۴	ns	۲۲/۵۲	ns	۸۳/۵۰
کل	۱۹	۲۳۹/۶۰	ns	۵۹۴/۲۲	ns	۵۹۴/۷۶
انحراف معیار		۱/۶۴	۲/۵۴	۴/۶۱		
میانگین		۴۲/۶۱	۲۳/۳۱	۶۱/۲۷		
CV(%)		۳/۸۵	۱۰/۸۹	۷/۵۲		
ضریب تبیین		۰/۸۵۴	۰/۸۵۹	۰/۳۹۲		
ضریب تبیین برازش شده		۰/۷۸۷	۰/۷۹۴	۰/۳۲۱		
ضریب تبیین پیش بینی شده		۰/۶۷۸	۰/۶۳۷	۰/۱۵۶		

\*\* P<0.01

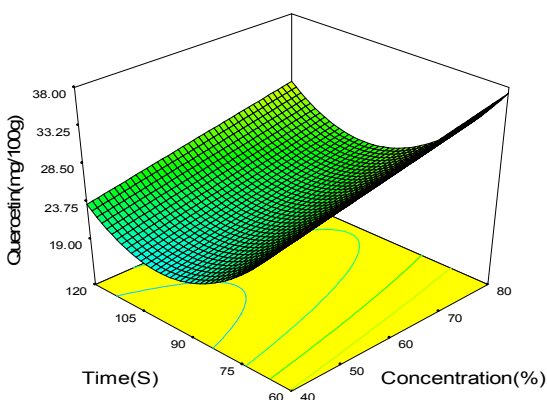
\*\*\* P<0.001

ns: در سطح ۹۵٪ معنی دار نمی باشد.

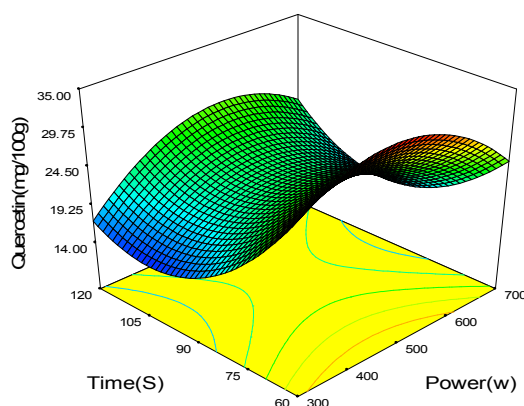
### ۳-۳- تأثیر پارامترهای استخراج بر میزان کوئرستین

بررسی جدول (۳) تجزیه واریانس نشان می‌دهد در ضرایب خطی غلظت اتانول و زمان استخراج بر میزان کوئرستین به ترتیب معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). عبارت درجه دوم توان و زمان بر میزان کوئرستین معنی‌دار بودند ( $P < 0.05$ ). اثر متقابل توان و زمان استخراج تأثیر معنی‌دار بر میزان کوئرستین داشت ( $P < 0.05$ ). مدل رگرسیون با ضریب تبیین نسبتاً مناسب ( $R^2 = 0.859$ ) بود. همان گونه که در شکل ۷ (الف)، نمودارهای رویه پاسخ مشاهده شد با توان استخراج (از ۳۰۰ به ۵۰۰ وات) میزان کوئرستین افزایش و سپس کاهش یافت (از ۵۰۰ تا ۷۰۰ وات). با افزایش غلظت اتانول از ۴۰ تا ۸۰ درصد میزان کوئرستین افزایش یافت، این در حالی است که میزان آن با افزایش زمان استخراج تا ۶۰ ثانیه کاهش و سپس تا ۱۲۰ ثانیه افزایش یافت. از آن جایی که کوئرستین ترکیب فلاوونوئیدی مقاوم به حرارت می‌باشد (۱۲). لذا با افزایش توان تا ۵۰۰ وات که توام با افزایش دما می‌باشد انحلال‌پذیری آن افزایش یافته و بازده استخراج افزایش یافت. نتایج سایر محققین در پژوهش بر روی برگ‌های گیاه

*edulis Inga* با نتایج این بررسی مطابقت داشت (۳۴). همچنین با در نظر گرفتن معنی دار بودن عبارت درجه دوم پارامتر توان مشخص گردید که با افزایش توان استخراج تا حدود ۵۰۰ وات در مدت زمان ۶۰ ثانیه و در غلظت اتانول ۶۰ درصد، بالاترین میزان استخراج کوئرستین (۳۴/۹۷ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌گرم) و کمترین میزان آن در توان ۳۰۰ وات طی مدت زمان ۱۲۰ ثانیه و غلظت اتانول ۴۰ درصد (۱۳/۵۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) بود. با افزایش توان بیشتر از ۵۰۰ وات، میزان کوئرستین کاهش یافت. این اثر را می‌توان به افزایش توان و در نتیجه تخریب حرارتی این ترکیب نسبت داد. نتایج این بررسی با بررسی آیاما و همکاران، ۲۰۰۷ مطابق داشت (۴). با توجه به ارزیابی مدل ارائه شده برای این پارامتر، مشخص می‌گردد که رابطه حاصل از ضریب تبیین و ضریب تبیین برازش شده متناسب، بالا و معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) برای پیشگویی برخوردار است (جدول ۳). آزمون ضعف برازش بی‌معنی ( $P > 0.05$ ) و ضریب تغییرات آن نیز (۱۰/۸۹) می‌باشد که تاییدکننده قدرت این مدل است.



(ب)



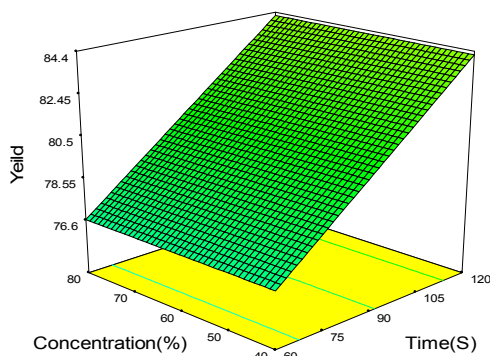
(الف)

شکل ۷- نمودار سطح پاسخ تأثیر شرایط استخراج (الف) تأثیر زمان (ثانیه) و توان (وات) استخراج؛ (ب) (زمان (ثانیه) و غلظت اتانول (درصد) بر میزان کوئرستین (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) عصاره استخراج از ضایعات پیاز

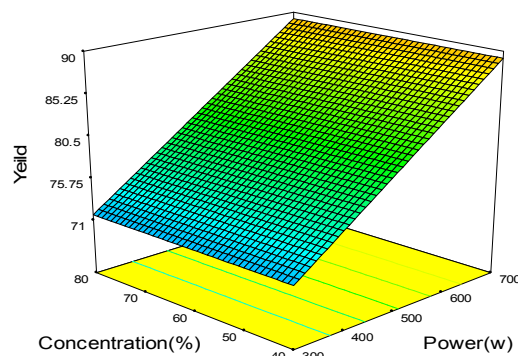
## ۳-۴- بررسی راندمان استخراج عصاره

بازدهی نهایی استخراج عصاره ضایعات پیاز در جدول (۳) نشان داده شد. در عبارت خطی توان و زمان بر میزان استخراج عصاره معنی دار ( $P < 0.05$ ) و در عبارت برهمکنش توان و زمان و غلظت اتانول بر میزان استخراج عصاره معنی دار نبودند ( $P > 0.05$ ). در مدل رگرسیون ضریب تبیین و میزان ضعف برازش معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). این مقادیر یک مدل ریاضی مناسبی ارائه می‌دهد. بر طبق مجموع مربعات اهمیت متغیرهای مستقل بر میزان راندمان قدرت احیاکنندگی آهن ۳

ظرفیتی شامل: عبارت خطی توان استخراج ( $X_1$ ) و زمان ( $X_3$ ) بود. از عوامل مهم در بازده استخراج عصاره توسط مایکروویو دو مکانیسم انتقال جرم و انتقال حرارت می‌باشد. براساس شکل ۸ (الف، ب) نمودارهای رویه پاسخ بالاترین میزان بازدهی نهایی استخراج عصاره (۹۴/۳۸ درصد) در توان ۷۰۰ وات، غلظت اتانول ۸۰ درصد و زمان ۱۲۰ ثانیه و کمترین میزان آن در توان ۳۰۰ وات، غلظت اتانول ۴۰ درصد و زمان ۶۰ ثانیه (۶۶/۲۴ درصد) بود.



(ب)



(الف)

شکل ۸- نمودار سطح پاسخ تاثیر شرایط استخراج (الف) تاثیر توان (وات) و غلظت اتانول (درصد)؛ (ب) زمان (ثانیه) و غلظت اتانول (درصد) بر میزان راندمان (درصد) عصاره استخراج شده از ضایعات پیاز

میلی‌گرم بر کیلوگرم) و توان آنتی‌اکسیدانی احیای آهن ۳ ظرفیتی (۴۱۶/۷۹ میکرومول بر میلی‌گرم) بود. جهت بررسی صحت فرایند بهینه‌سازی شده، تیمار پیشنهادی تحت شرایط یکسان مانند سایر تیمارها تولید و نتایج حاصل از تولید ترکیبات پلی‌فنلی، آزمون DPPH، آزمون FRAP، میزان کوئرستین با نتایج پیشگوی شده توسط مدل مقایسه گردید. عدم وجود تفاوت معنی دار ( $P > 0.05$ ) بین مدل‌ها و مشاهدات تجربی کارایی مدل‌ها را اثبات می‌کند (جدول ۴).

## ۳-۵- بهینه‌سازی

بهینه‌سازی استخراج عصاره ضایعات پیاز جهت بیشترین میزان بازدهی استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی انجام گردید. نتایج نشان داد در صورتی که زمان استخراج ۱۲۰ ثانیه، توان ۳۰۰ وات و غلظت اتانول ۸۰ درصد باشد، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی حاصل می‌شود. در این شرایط میزان استخراج کوئرستین (۲۵/۳۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم)، میزان به‌دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH (۵۳/۶۰ درصد)، راندمان استخراج عصاره (۷۷/۷۶ درصد) میزان ترکیبات فنلی کل (۴۷/۴۳)

## جدول ۴- مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده متغیرهای پاسخ در شرایط بهینه استخراج با کمک روش مایکروویو

استخراج با حلال (ماسراسیون)	مایکروویو		پارامترها
	مقادیر واقعی	مقادیر پیش‌بینی شده	
۵۸/۲۱±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۴۵/۴۶	۴۷/۴۳±۰/۰۲ <sup>a</sup>	ترکیبات فنلی کل ( میلی گرم بر کیلوگرم)
۲۸/۶۷±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۵۴/۵۰	۵۳/۶۰±۰/۰۲ <sup>a</sup>	قدرت گیرندگی رادیکال آزاد (DPPH) (درصد)
۵۱۰/۷۸±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۴۱۵/۰۹	۴۱۶/۷۹±۰/۰۲ <sup>a</sup>	قدرت احیاکنندگی آهن ۳ ظرفیتی (FRAP) (میکرومول آهن بر میلی گرم)
۲۱/۳۹±۰/۰۲ <sup>b</sup>	۲۳/۳۲	۲۵/۳۷±۰/۰۲ <sup>a</sup>	میزان کوئرستین (میلی گرم در ۱۰۰ گرم)
۶۷/۶۶±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۷۹/۸۰	۷۷/۷۶±۰/۰۲ <sup>a</sup>	بازده استخراج (درصد)

\* ارقام دارای حروف مشترک در هر ردیف و ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند ( $P < 0.05$ ).

## ۴- نتیجه گیری

فراهم گردد. با استفاده از این مدل رگرسیون می‌توان شرایط مورد نیاز در استخراج به روش مایکروویو را پیش‌بینی و اصلاح نمود.

در این پژوهش، استخراج ترکیبات موثره عصاره ضایعات پیاز به کمک فرایند مایکروویو، با استفاده از روش سطح پاسخ، طراحی مرکب مرکزی محوری و سه متغیر مستقل توان، غلظت اتانول و زمان به انجام رسید. نتایج نشان داد که روش سطح پاسخ به خوبی در ارزیابی و بررسی راندمان فرایند استخراج و ویژگی‌های کیفی عصاره، موثر واقع گردید. متغیرهای مستقل توان، غلظت اتانول و زمان استخراج در عبارت خطی، درجه دوم و اثرات متقابل (توان، زمان و غلظت) نیز بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP) عصاره معنی دار بودند ( $P < 0.05$ ). استخراج ترکیبات فنلی کل و میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی از عصاره ضایعات پیاز به کمک فرایند مایکروویو توسط روش سطح پاسخ، بهینه‌سازی گردید. هدف از این تحقیق، بهینه‌سازی استخراج ترکیبات موثره و زیست‌فعال از عصاره ضایعات پیاز به کمک مایکروویو بود. شرایط استخراج بهینه در فرایند مایکروویو، در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه، توان ۳۰۰ وات و غلظت اتانول به آب ۸۰:۲۰ درصد بود. تناسب بالای مدل نشان داد که مدل چندجمله‌ای درجه دوم می‌تواند جهت بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ضایعات پیاز مورد استفاده واقع شود و امکان کاهش مصرف حلال در مدت زمان کوتاه

## ۵- منابع

۱. باقرلو، م.، جامعی، ر.، قادرپور، ص.، حیدری، ر. ۱۳۹۰. ف. عالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی چند رقم از پیاز *allium cepa* ایرانی و توانایی آنها در خشتی سازی رادیکالهای آزاد. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی. جلد ۲۱. شماره ۴. صفحات ۵۴-۶۸.
2. Ahmadian-Kouchaksaraie, Z., Niazmand, R., Najafi, M. N. J. I. F. S., & Technologies, E. (2016). Optimization of the subcritical water extraction of phenolic antioxidants from *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Box-Behnken design and principal component analysis. 36, 234-244.
3. Amarowicz, R., & Weidner, S. (2009). Biological activity of grapevine phenolic compounds. In *Grapevine molecular physiology & biotechnology*, (pp. 389-405): Springer.
4. Aoyama, S., Yamamoto, Y. J. F. s., & research, t. (2007). Antioxidant activity and flavonoid content of Welsh onion



12. da Costa, E. M., Barbosa Filho, J. M., do Nascimento, T. G., & Macêdo, R. O. J. T. A. (2002). Thermal characterization of the quercetin and rutin flavonoids. *392*, 79-84.
13. Ersus, S., & Yurdagel, U. J. J. o. F. E. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* L.) by spray drier. *80*(3), 805-812.
14. Fayad, S., Nehmé, R., Tannoury, M., Lesellier, E., Pichon, C., & Morin, P. J. J. o. C. A. (2017). Macroalga *Padina pavonica* water extracts obtained by pressurized liquid extraction and microwave-assisted extraction inhibit hyaluronidase activity as shown by capillary electrophoresis. *1497*, 19-27.
15. Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., González-Álvarez, J. J. I. C., & Products. (2015). Effect of the extraction technique on the recovery of bioactive compounds from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) wood industrial wastes. *64*, 105-113.
16. Galan, A.-M., Calinescu, I., Trifan, A., Winkworth-Smith, C., Calvo-Carrascal, M., Dodds, C., Binner, E. J. C. E., & Intensification, P. P. (2017). New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using microwave-assisted extraction and conventional solvent extraction. *116*, 29-39.
17. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification *116*: 29-39.
18. He, Z., Chen, Y., Chen, Y., Liu, H., Yuan, G., Fan, Y., Chen, K. J. C. j. o. o., & limnology. (2013). Optimization of the microwave-assisted extraction of phlorotannins from *Saccharina japonica* Aresch and evaluation of the inhibitory effects of phlorotannin-containing extracts on HepG2 cancer cells. *31*(5), 1045-1054.
19. Hertog, M. G., Hollman, P. C., Katan, M. B. J. J. o. a., & chemistry, f. (1992). Content of potentially anticarcinogenic (*Allium fistulosum*) and the effect of thermal treatment. *13*(1), 67-72.
5. Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., & O'Keefe, S. J. F. C. (2010). Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *120*(4), 1185-1192.
6. Benzie, I. F., & Strain, J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*, *299*, 15-27.
7. Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., & Chemat, F. J. U. S. (2015). Bio-refinery of orange peels waste: a new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *24*, 72-79.
8. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C. J. L.-F. s., & Technology. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *28*(1), 25-30.
9. Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., Chern, J.-C. J. J. o. f., & analysis, d. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *10*(3).
10. Dang, T. T., Vuong, Q. V., Schreider, M. J., Bowyer, M. C., Altena, I. A. V., Scarlett, C. J. J. J. o. F. P., & Preservation. (2017). The effects of drying on physico-chemical properties and antioxidant capacity of the brown alga (*Hormosira banksii* (Turner) Decaisne). *41*(4), e13025.
11. Dang, T. T., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A., Scarlett, C. J. J. S. S., & Technology. (2018). Optimum conditions of microwave-assisted extraction for phenolic compounds and antioxidant capacity of the brown alga *Sargassum vestitum*. *53*(11), 1711-1723.

- production and extraction by solid-state fermentation. A review. *29*(3), 365-373.
28. Naczk, M., & Shahidi, F. J. J. o. c. A. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *1054*(1-2), 95-111.
  29. Nicholson, R., & Vermerris, W. (2006). Phenolic Compound Biochemistry. In: Netherlands: Springer.
  30. Pérez-López, P., Balboa, E. M., González-García, S., Domínguez, H., Feijoo, G., & Moreira, M. T. J. B. t. (2014). Comparative environmental assessment of valorization strategies of the invasive macroalgae *Sargassum muticum*. *161*, 137-148.
  31. Polshettiwar, V., & Varma, R. S. J. C. S. R. (2008). Aqueous microwave chemistry: a clean and green synthetic tool for rapid drug discovery. *37*(8), 1546-1557.
  32. Rouhani, S., VALIZADEH, N., & Salimi, S. (2009). Ultrasonic Assisted Extraction of Natural Pigments from Rhizomes of *Curcuma Longa* L.
  33. Siger, A., Nogala-Kalucka, M., & Lampart-Szczapa, E. (2008). The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, *15*(2), 137-149.
  34. Silva, E.M., Rogez, H., & Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, *55*:381-387.
  35. Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. J. M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *14*(6), 2167-2180.
  36. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., Zhang, Y. J. F., & Toxicology, C. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *49*(10), 2689-2696.
  37. Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., & Polissiou, M. J. F. c. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *40*(12), 2379-2383.
  20. Jiménez-Escrig, A., Jiménez-Jiménez, I., Pulido, R., Saura-Calixto, F. J. J. o. t. S. o. F., & Agriculture. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *81*(5), 530-534.
  21. Ko, M.-J., Cheigh, C.-I., Cho, S.-W., & Chung, M.-S. J. J. o. F. E. (2011). Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. *102*(4), 327-333.
  22. Le Lann, K., Jégou, C., & Stiger-Pouvreau, V. J. P. R. (2008). Effect of different conditioning treatments on total phenolic content and antioxidant activities in two Sargassacean species: comparison of the frondose *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt and the cylindrical *Bifurcaria bifurcata* R. Ross. *56*(4), 238-245.
  23. Lin, Y.-P., Wu, S.-C., Huang, S.-L. J. J. o. M. S., & Technology. (2013). Effects of Microwave-Assisted Extraction on the Free Radical Scavenging and Ferrous Chelating Abilities of *Monostroma Nitidum* Extract. *21*(5), 611-617.
  24. Lister, E., & Wilson, P. (2001). Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity (personal communication). *Crop Research Institute, Lincoln, New Zealand*, 235-239.
  25. Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. J. J. o. C. A. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *1043*(2), 323-327.
  26. Madej, K. J. T. T. i. A. C. (2009). Microwave-assisted and cloud-point extraction in determination of drugs and other bioactive compounds. *28*(4), 436-446.
  27. Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. J. B. a. (2011). Bioactive phenolic compounds:

- Rodriguez, R., Flores, P., & Aguilar, C. J. A. J. A. B. S. (2014). Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidants from semiarid plants. *9*(3), 299-310.
43. Xiao, X., Song, W., Wang, J., & Li, G. J. A. c. a. (2012). Microwave-assisted extraction performed in low temperature and in vacuo for the extraction of labile compounds in food samples. *712*, 85-93.
44. Yan, Y., Chen, X., Hu, S., & Bai, X. J. J. o. c. A. (2014). Applications of liquid-phase microextraction techniques in natural product analysis: a review. *1368*, 1-17.
45. Ying, W., & Lei, G. (2012). Optimization of microwave-assisted extraction conditions of DPPH radical scavenging components from *Porphyra yezoensis* by response surface methodology. In *Information Technology in Medicine and Education (ITME), 2012 International Symposium on*, vol. 2 (pp. 1046-1050): IEEE.
46. hang, H.-F., Yang, X.-H., Wang, Y. J. T. i. F. S., & Technology. (2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: current status and future directions. *22*(12), 672-688.
- extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *90*(3), 333-340.
38. Turner, C., Turner, P., Jacobson, G., Almgren, K., Waldebäck, M., Sjöberg, P., Karlsson, E. N., & Markides, K. E. J. G. C. (2006). Subcritical water extraction and  $\beta$ -glucosidase-catalyzed hydrolysis of quercetin glycosides in onion waste. *8*(11), 949-959.
39. Vergara-Salinas, J. R., Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L., Agosin, E., Pérez-Correa, J. R. J. J. o. a., & chemistry, f. (2012). Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the pressurized hot water extraction of deodorized thyme (*Thymus vulgaris*). *60*(44), 10920-10929.
40. Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. J. F. C. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *106*(2), 804-810.
41. Wang, H., Ding, J., & Ren, N. J. T. T. i. A. C. (2016). Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. *75*, 197-208.
42. Wong-Paz, J., Contreras-Esquivel, J., Muniz-Marquez, D., Belmares, R.,

(Original Research Paper)

## Optimization of Bioactive Components Extraction from Onion by-products by Microwave-Assisted Using Response Surface Method (RSM)

Mehranoosh Gharibi Tehrani<sup>1</sup>, Amir hosein Elhamirad<sup>2</sup>, Elham Azarpazhooh<sup>3\*</sup>, Ahmad Pedramnia<sup>2</sup>, Prarvin Sharayi<sup>3</sup>

1-Ph.D Student of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

3-Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Wducation and Extention Organization, Mashhad, Iran.

Received: 22/02/2019

Accepted:08/06/2019

### Abstract

Microwave- assisted extraction is efficiency technic for extraction bioactive compounds and valuable in biological compounds that lead to accelerating the food heat processing, better extraction and quality, time decreasing and amount of solvent without decomposition of heat sensitive compounds that is applicable in both laboratory and industrial scales. The aim of this study, optimization of extraction was using response surface method and Face-center design, in order to investigate the effect of time (60-120 Sec), power (300-700 W) and ethanol percentage (40–80 %) on the yield of polyphenol, , and also the antioxidant activity and optimization of extraction process. The results showed that, model fitting was suitable. The phenolic content was decreased by increasing the ethanol concentration, significantly. Simultaneous increase of extraction time and power, resulted in significant increase of total phenolic, contents ( $P<0.05$ ). Maximum yield of antioxidant compounds is achieved with extraction time of 120 sec, extraction power of 300 W and ethanol percentage of 80%. Under these conditions, the values have been assayed: 25.37(mg/100 g) for quercetin, 53.60% for DPPH free radical scavenging activity, extraction efficiency, 77.76%, and 47.43 (mg/kG) for total polyphenol and 416.79 ( $\mu\text{m/g}$ ) for ferric ion reducing antioxidant power. As a result, Microwave assisted extraction method by two friendly environment solvent (water and ethanol) in different concentrations for extraction of bioactive compounds and antioxidant of onion by-products can used at a shorter extraction time and energy saving.

**Keywords:** Antioxidants, Phenolic Component, Response Surface Methodology, Extract Onion by-product.

---

\* Corresponding Author: [azarpazhooh@gmail.com](mailto:azarpazhooh@gmail.com)