

(مقاله پژوهشی)

## بهینه‌سازی استخراج ترکیبات زیست فعال از سیر (*Allium sativum* L.) به کمک امواج فراصوت و بررسی فعالیت ضد اکسایشی آن

ماندانا بی مکر<sup>۱</sup>، علی گنجلو<sup>۱\*</sup>

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۰۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۴

### چکیده

در این پژوهش با توجه به لزوم استفاده از تکنیک‌های نوین در فرایند استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی تاثیر شدت امواج فراصوت (۲۵-۷۵ درصد)، مدت زمان اعمال فراصوت (۵۰-۱۰۰ دقیقه) و غلظت اتانول (۳۰-۷۰ درصد) در دمای محیط بر میزان استخراج عصاره خام، محتوای کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی سیر با استفاده از روش سطح پاسخ مورد مطالعه قرار گرفت و بهینه‌سازی گردید. نتیجه بهینه‌سازی عددی حاکی از آن بود که بیشترین میزان استخراج عصاره خام، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به ترتیب برابر ۲۷/۴۳ درصد، ۲۷/۵۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره و ۵/۰۹ میلی‌گرم معادل کاتکین در گرم عصاره با اعمال امواج فراصوت با شدت ۵۷ درصد، مدت زمان اعمال امواج فراصوت ۱۰۰ دقیقه و غلظت حلال اتانول ۷۰ درصد قابل دستیابی است. فعالیت به‌دام اندازی رادیکال‌های آزاد ۲،۲ دی فنیل - ۱ پیکریل هیدرازیل (DPPH) و قدرت کاهندگی آهن (FRAP) برای عصاره به‌دست آمده تحت شرایط بهینه به ترتیب برابر ۷۷/۵۷ درصد و ۳/۲۱ میلی‌مول سولفات آهن بر لیتر بود. ویژگی‌های کمی و کیفی عصاره به‌دست آمده تحت شرایط بهینه استخراج به کمک امواج فراصوت در مقایسه با نمونه شاهد (عدم اعمال فراصوت) به صورت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر بود که این امر حاکی از کارآیی مطلوب تکنیک فراصوت به منظور استخراج ترکیبات زیست فعال می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** استخراج، فراصوت، سیر، فعالیت ضد اکسایشی، عصاره.

## ۱- مقدمه

دی آلایل دی سولفید<sup>۱۱</sup> و دی آلایل تری سولفید<sup>۱۲</sup> تجزیه می‌شود. با استخراج ترکیبات زیست فعال و کاربرد آن در مواد غذایی می‌توان علاوه بر فائق آمدن بر مشکل عطر و طعم قوی سیر از اثرات مثبت آن نیز بهره برد. در مطالعه‌ای دوردویچ و همکاران<sup>۱۳</sup> (۲۰۰۴) سیر وحشی (*A. ursinum*) را به عنوان یکی از منابع خوب ترکیبات فنولی از جمله فرولیک اسید<sup>۱۴</sup>، وانیلیک اسید<sup>۱۵</sup>، کوماریک اسید<sup>۱۶</sup> و هیدروکسی بنزوئیک اسید<sup>۱۷</sup> معرفی نمودند (۱۷). به منظور استخراج ترکیبات زیست فعال روش‌های سنتی و نوین متعددی نظیر استخراج به روش سوکسله، غرقابی، استخراج به روش حلال متلاطم، استخراج به کمک مایکروویو مورد استفاده قرار می‌گیرند که استفاده از هریک از این روش‌ها می‌تواند تاثیر منحصر به فردی بر کمیت و کیفیت ترکیبات هدف داشته باشد. محققان بسیاری استفاده از تکنیک استخراج به کمک امواج فراصوت را به علت کارایی بالاتر، مقرون به صرفه تر بودن و سادگی این تکنیک به منظور استفاده در مقیاس بزرگ تر توصیه کرده‌اند (۲۴). امواج فراصوت به امواجی با فرکانس بیش از ۱۸ کیلوهرتز اطلاق می‌شوند که توسط گوش انسان قابل شناسایی نیستند و در دو محدوده قوی (فرکانس پایین ۱۸ تا ۱۰۰ کیلوهرتز) و ضعیف (فرکانس بالا ۱۰۰ کیلوهرتز تا ۱۰ مگاهرتز) طبقه بندی می‌شوند که امواج فراصوت با فرکانس پایین در فراوری مواد غذایی و امواج فراصوت با فرکانس بالا در زمینه تشخیصی کاربردهای متعددی دارد (۱۸). کارایی امواج فراصوت برای استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی مختلف از جمله میوه بلوط (۹)، سیر وحشی (۳۲)، ریزوم گیاه زردچوبه (۲)، فلفل قرمز (۴) و میوه داغداغان<sup>۱۸</sup> (۱۱) به اثبات رسیده است. استفاده از روش‌های آماری سنتی برای مطالعه فرایندهایی که متغیرهای زیادی

استفاده از ترکیبات ضد اکسایش به منظور جلوگیری یا درمان بسیاری از بیماری‌های ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد نظیر دیابت، بیماری‌های گوارشی و سرطان بسیار مورد توجه قرار دارد. از طرفی استفاده از ترکیبات طبیعی به جای افزودنی‌های سنتزی که عمدتاً سمی بوده یا اثرات نامطلوبی بر سلامتی انسان‌ها دارند رو به گسترش می‌باشد. سیر به علت دارا بودن ترکیباتی نظیر ویتامین‌ها، فلاونوئیدها<sup>۱</sup>، ترپنوئیدها<sup>۲</sup>، کارتوئیدها<sup>۳</sup>، اسیدهای پلیفنول کربوکسیلیک<sup>۴</sup>، فیتواستروژن‌ها<sup>۵</sup> و ترکیبات حاوی سولفور مورد علاقه محققان بسیاری قرار گرفته است (۲۶، ۳۶). سیر (*Allium sativum* L.) گیاهی چند ساله از خانواده لیلیاسه<sup>۶</sup> و از دسته سبزی‌های پیازی است که بومی غرب آسیا و سواحل مدیترانه می‌باشد. در سال ۲۰۱۴ میزان تولید این محصول در جهان حدود ۲۵ میلیون تن بود که از این مقدار ایران حدود ۷۵ هزار تن را به خود اختصاص داده است. در ایران گیاه سیر عمدتاً در استان‌های همدان، مرکزی، خراسان، زنجان، خوزستان و آذربایجان کشت می‌شود (۵). از این گیاه از قدیم الایام به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یکی از داروهای گیاهی و ادویه استفاده می‌شده است اما عطر و طعم قوی این گیاه که عمدتاً مربوط به وجود ترکیبی به نام آلیئین<sup>۷</sup> (پیش ساز اس-آلیل سیستین<sup>۸</sup>) می‌باشد یکی از بزرگترین مشکلات موجود به هنگام استفاده مستقیم از آن در محصولات غذایی بوده که کاربرد آن را محدود می‌سازد. همان‌طور که پیش‌تر بیان شد آلیئین عامل اصلی ایجاد عطر و طعم قوی در سیر است که با از بین رفتن ساختار سلولی سیر توسط آنزیم آلیناز به آلیسین<sup>۹</sup> تبدیل می‌شود که این ترکیب ناپایدار بوده و به ترکیبات سولفور نظیر دی آلایل سولفید<sup>۱</sup>،

- 1-Flavonoids
- 2-Terpenoids
- 3-Carotenoids
- 4-Polyphenol Carboxylic Acids
- 5-Phytoestrogens
- 6-Liliaceae
- 7-Alliin
- 8-S-allylcysteine
- 9- Allicin
- 10- Diallyl Sulfides

- 11-Diallyl Disulfide
- 12-Diallyl Trisulfide
- 13-Durdevic et al.
- 14-Ferulic Acid
- 15-Vanillic Acid
- 16-Coumaric acid
- 17-Bydroxybenzoic
- 18-*Celtis australis*

سلسیوس با سرعت ۱ متر بر ثانیه تا رسیدن به رطوبت ۹۵±۰/۶ درصد خشک گردید. در نهایت سیر خشک شده توسط آسیاب آزمایشگاهی (گوسونیک، ایران) به پودر تبدیل شد و پس از تعیین اندازه با الک مش ۱۸ (اندازه منافذ ۱ میلی‌متر) تا زمان انجام آزمایش در بسته بندی مقاوم به هوا و رطوبت در داخل فریزر ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد. مواد شیمیایی شامل اتانول ۹۶ درصد، معرف فولین، گالیک اسید، کاتکین، سدیم کربنات، سدیم هیدروکسید، نیتريت سدیم، کلرید پتاسیم، آلومینیوم کلرید، استات سدیم و کلرید آهن از شرکت مرکالمان و ۲، دی فنیل - ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و ۴ و ۶-۶ و ۴-۲-۱- پیریدیل-اس-تریازین (TPTZ) از شرکت سیگما آلمان تهیه شدند.

## ۲-۲- استخراج ترکیبات زیست فعال

۳ گرم از پودر خشک شده سیر با ۹۰ میلی‌لیتر از حلال اتانول-آب با غلظت‌های مختلف بر اساس جدول ۱ مخلوط شد و جهت استخراج ترکیبات زیست فعال به کمک امواج فراصوت در دمای محیط از دستگاه فراصوت پروب، UP200HHielscher (ساخت کشور آلمان) با توان ۲۰۰ وات، فرکانس ۲۴ KHz، سونوتروود از جنس تیتانیوم با قطر ۳ میلی‌متر به صورت انتشار پیوسته امواج استفاده شد. عصاره‌های به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (اندازه منافذ ۱۱ میکرومتر) صاف گردید. به منظور حذف حلال از عصاره خام از دستگاه تبخیر کننده چرخشی تحت خلأ Buchi Rotavapor R-205 (ساخت کشور سوئیس) استفاده شد. نمونه‌های به دست آمده تا زمان انجام آزمون‌های مورد نظر در محل تاریک و در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. شرایط هر آزمون شامل شدت امواج فراصوت، مدت زمان اعمال فراصوت و غلظت حلال اتانول بر اساس سطوح متغیرهای پیش بینی شده در طرح باکس- بنکن در نظر گرفته شد (جدول ۱). برای بررسی کارایی کمی و کیفی فرایند استخراج به کمک فراصوت، فرایند استخراج بدون اعمال فراصوت تحت شرایط بهینه به عنوان روش شاهد انجام شد.

آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهند بسیار مشکل، هزینه بر و مستلزم صرف زمان زیاد است. امروزه استفاده از روش‌های آماری چند متغیره نظیر روش سطح پاسخ<sup>۱</sup> از رایج‌ترین روش‌ها برای مطالعه چنین فرایندهایی است که سبب کاهش تعداد آزمایشات مورد نیاز و در نتیجه کاهش زمان و هزینه می‌گردد. در این روش اثرات مابین متغیرهای مستقل به تنهایی یا در ترکیب با سایر متغیرها تجزیه و تحلیل می‌شود. این در حالی است که تعداد آزمایش‌ها نسبت به سایر روش‌ها کاهش می‌یابد و در نهایت با ارائه مدل رگرسیونی کل فرایند توصیف می‌گردد (۳۰). بهینه‌سازی موفقیت آمیز بسیاری از فرایندها نظیر بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات فنولی از منابع گیاهی مختلف نظیر گیاه کاکوتی (۶)، گلبرگ زعفران (۱)، برگ شاتوت (۳)، گیاه متکا<sup>۱۰</sup> و پوست بنه (۷) نیز گزارش شده است. از این رو هدف این پژوهش مطالعه تاثیر و بهینه‌سازی متغیرهای فرایند استخراج به کمک امواج فراصوت شامل شدت امواج فراصوت (۲۵-۷۵ درصد)، مدت زمان اعمال فراصوت (۱۰۰ دقیقه) و غلظت اتانول (۳۰-۷۰ درصد) بر میزان استخراج عصاره خام، میزان کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با استفاده از روش سطح پاسخ بر اساس طرح باکس- بنکن<sup>۳</sup> از سیر به جهت استفاده در انواع مواد غذایی و دارویی بود. در نهایت میزان فعالیت ضد اکسایشی عصاره سیر به دست آمده تحت شرایط بهینه ارزیابی گردید. به منظور بررسی کارایی تکنیک فراصوت، فرایند استخراج در غیاب امواج فراصوت به عنوان روش شاهد در نظر گرفته شد و با داده‌های به دست آمده مقایسه گردید.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

در این پژوهش سیر تازه (*Allium sativum* L.) در اوایل تیر ماه سال ۱۳۹۶ از بازار محلی شهر زنجان تهیه گردید و پس از پوست گیری با استفاده از یک دستگاه خشک کن هوای گرم (پژواک پژوه صنعت، ایران) در دمای ۴۰ درجه

1-Response Surface Methodology

2-Ferula persica

3-Box-Behnken Design

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل و کدهای مربوطه

متغیر مستقل	نماد	سطوح متغیرها
		۰
		۱+
شدت امواج فراصوت (درصد)	X1	۲۵
مدت زمان اعمال فراصوت (دقیقه)	X2	۵۰
غلظت حلال اتانول (درصد)	X3	۳۰
		۵۰
		۷۵
		۱۰۰
		۷۰

دیونیزه اضافه گردید. سپس ۷۵ میکرولیتر محلول سدیم نیتريت ۵ درصد نیز به مخلوط مورد نظر افزوده شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد افزوده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و در محیط تاریک نگهداری گردید و در پایان ۵۰۰ میکرولیتر محلول سدیم هیدروکسید ۱ مولار و ۲۷۵ میکرولیتر آب اضافه شد. میزان جذب نمونه با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی-ماورابنفش SPECORD 250-Analytik Jena (ساخت کشور آلمان) در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. میزان کل فلاونوئیدها بر اساس منحنی استاندارد کاتکین محاسبه شد و بر حسب معادل میلی گرم کاتکین بر گرم عصاره گزارش گردید (۱۲).

#### ۲-۶- بررسی فعالیت ضد اکسایشی

فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات زیست فعال گیاهی را با توجه به پیچیدگی واکنش های ترکیبات شیمیایی گیاهی نمی توان تنها با یک روش ارزیابی کرد و استفاده از حداقل دو روش به منظور اعتبار بخشی به نتایج به دست آمده پیشنهاد می گردد (۲۵). لذا در این مطالعه از دو روش DPPH و FRAP برای ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی عصاره خام حاوی ترکیبات زیست فعال سیر استفاده شد.

#### ۲-۶-۱- اندازه گیری میزان مهار رادیکال های آزاد به

##### روش ۱-۲-۲- دیفنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

ارزیابی مهار رادیکال های DPPH معمول ترین روش برای ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی بر مبنای بی رنگ شدن محلول DPPH به جهت توانایی ترکیبات احیاء کننده در اهدا اتم هیدروژن به رادیکال DPPH می باشد. برای تعیین فعالیت

#### ۲-۳- اندازه گیری میزان استخراج عصاره خام<sup>۱</sup>

میزان استخراج عصاره خام تحت شرایط مختلف با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (۱۵).

$$Y = \left( \frac{M_2}{M_1} \right) \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه Y میزان استخراج عصاره خام بر حسب درصد،  $M_1$  وزن نمونه آسیاب شده مورد استفاده جهت استخراج و  $M_2$  وزن عصاره استخراج شده بر حسب گرم است.

#### ۲-۴- تعیین محتوای کل ترکیبات فنولی<sup>۲</sup>

میزان کل ترکیبات فنولی بر اساس روش رنگ سنجی بر اساس واکنش با معرف فولین تعیین گردید. ۰/۵ میلی لیتر از عصاره خام سیر با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین (ده بار رقیق شده با آب دیونیزه) مخلوط شد و در نهایت با افزودن ۲/۵ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد آماده سازی نمونه به پایان رسید. مخلوطها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شدند. مقدار جذب نمونه ها توسط دستگاه طیف سنج مرئی- ماورابنفش- SPECORD 250 Analytik Jena (ساخت کشور آلمان) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقدار کل ترکیبات فنولی بر اساس معادله به دست آمده از منحنی استاندارد گالیکاسید بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان گردید (۲۱).

#### ۲-۵- تعیین محتوای کل ترکیبات فلاونوئیدی<sup>۳</sup>

اندازه گیری فلاونوئیدها بر اساس روش رنگ سنج یا آلومینیوم کلرید انجام گرفت. بدین منظور، ۰/۲۵ میلی لیتر از عصاره به یک لوله آزمایش حاوی ۰/۷۵ میلی لیتر آب

1-Crude Extraction Yield (CEY)

2-Total Phenolic Content (TPC)

3-Total Flavonoid Content (TFC)

استخراج عصاره خام، مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی استخراج شده از سیر و بهینه‌سازی فرایند از روش سطح پاسخ بر اساس طرح باکس- بنکن استفاده شد. سطوح بالا و پائین متغیرها براساس پیش تیمارهای اولیه انتخاب گردید. در جدول ۲ تیمارهای حاصل از طرح باکس- بنکن شامل ۱۷ آزمون با ۵ تکرار در نقطه مرکزی جهت تعیین خطا به صورت کاملاً تصادفی به منظور به حداقل رساندن اثرات تغییرات پیش بینی نشده در پاسخ‌ها ارائه شده است. مدل رگرسیونی چند جمله‌ای به منظور پیش بینی پاسخ(ها) به صورت رابطه ۳ است.

رابطه (۳)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{j=1}^k \beta_{ii} X_j^2 + \sum \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j$$

که در این رابطه  $Y$  پاسخ،  $\beta_0$  و  $\beta_i$  و  $\beta_{ii}$  و  $\beta_{ij}$  ضرایب رگرسیونی برای به ترتیب عرض از مبدأ، اثرات خطی، درجه دوم و متقابل و  $X_i$  و  $X_j$  متغیرهای مستقل هستند. مقادیر عددی ضرایب رگرسیونی حاکی از میزان تاثیرگذاری هر یک از اجزاء مدل بر پاسخ مورد مطالعه است در حالی که علامت ضرایب رگرسیونی نشان‌دهنده تاثیر سینرژیتی (علامت +) یا آنتاگونیستی (علامت -) اجزاء مدل بر پاسخ مورد مطالعه است. صحت مدل از طریق آزمون ضعف برازش<sup>۱</sup>، ضریب تغییرات<sup>۲</sup>، مقادیر ضریب همبستگی ( $R^2$ )،  $R^2$ (adj) و  $p$ -value مدلدرد سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شد. در مرحله بعد، برای تعیین شرایط بهینه از تکنیک بهینه‌سازی عددی<sup>۳</sup> با هدف به حداکثر رساندن میزان استخراج عصاره خام سیر و مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی استفاده شد. صحت نتایج به دست آمده تحت شرایط بهینه پیش‌بینی شده توسط مدل ریاضی از طریق مقایسه نتایج پیشگویی با نتایج حاصل از آزمایشات تجربی بررسی شد. از نرم افزار Stat-Design Expert 7.0.3 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارهای سه بعدی استفاده گردید.

ضد اکسایشی عصاره سیر به روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ۲ میلی‌لیتر از محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی مولار به ۲ میلی‌لیتر از عصاره افزوده شد و مخلوط به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی- ماورا بنفش SPECORD 250-Analytik Jena (ساخت کشور آلمان) قرائت شد و در نهایت درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید (۲۷).

رابطه (۲)

$$\%RSA = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100$$

۲-۶-۲- تعیین فعالیت ضد اکسایشی به روش کاهندگی

آهن FRAP

واکنش گر FRAP، از طریق مخلوط کردن ۲/۵ mL محلول ۱۰ میلی مولار TPTZ، ۲/۵ mL میلی‌لیتر محلول ۲۰ میلی مولار کلرید آهن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات ۳۰۰ میلی مولار تهیه شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری گردید. ۳ میلی‌لیتر از محلول تازه FRAP با ۱۵۰ میکرولیتر عصاره سیر مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب آن در طول موج ۳۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی-ماورا بنفش SPECORD 250-Analytik Jena (ساخت کشور آلمان) اندازه گیری شد. از محلول آبی سولفات آهن ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) جهت تهیه نمودار استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب معادل میلی‌مول محلول آبی سولفات آهن بر لیتر گزارش گردید (۱۴).

۲-۷- طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش به منظور بررسی اثرات سه متغیر مستقل شامل شدت امواج فراصوت ( $X_1$ )، مدت زمان اعمال امواج فراصوت ( $X_2$ ) و غلظت حلال اتانول ( $X_3$ ) بر میزان

1-Lack of Fit

2-Coefficient of Variation (CV)

3-Numerical Optimization Technique

### ۳-نتایج و بحث

#### ۳-۱- تجزیه و تحلیل طرح باکس- بنکن

مقادیر تجربی میزان استخراج عصاره خام سیر، کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی تحت شرایط مختلف در جدول ۲ آورده شده است. میزان استخراج عصاره خام سیر در محدود ۱۹/۸۸-۲۷/۳۴ درصد متغیر است در حالی که مقادیر کل فنول و فلاونوئید به ترتیب در محدوده ۲۱/۱۰-۲۸/۱۰ میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره و ۳/۱۵-۵/۳۹ میلی گرم معادل کاتکین در گرم عصاره بود. داده‌های آزمایشگاهی به دست آمده تحت شرایط مختلف (جدول ۲) توسط چهار مدل خطی، تعاملی (2FI)، درجه دوم و مکعبی به دو روش مجموع مربعات مدل پیوسته<sup>۱</sup> و خلاصه آماری مدل<sup>۲</sup> برازش شدند. نتایج بررسی کفایت هر یک از مدل‌ها به منظور تصمیم گیری در مورد انتخاب بهترین مدل در جدول ۳ آورده شده است (با توجه به یکسان بودن نتایج هر دو روش تنها اطلاعات مربوط به روش مجموع مربعات مدل پیوسته ارائه گردیده است). براساس نتایج به دست آمده مدل چند جمله‌ای درجه دوم برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی

انتخاب گردید. به منظور توسعه مدل ریاضی برای تخمین میزان استخراج عصاره خام، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، داده‌های تجربی به دست آمده توسط معادله چند جمله‌ای درجه دوم برازش شدند. ضرایب رگرسیونی چهار مدل تجربی توسعه یافته در این پژوهش شامل مدل خطی، تعاملی (2FI)، درجه دوم و مکعبی در جدول ۴ آورده شده است. بر اساس نتایج تجزیه و تحلیل واریانس برای پاسخ‌های میزان استخراج عصاره خام سیر، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی تمامی معادلات به دست آمده از ضریب همبستگی بالا ( $R^2 > 0.9793$ ) و ضریب تغییرات پایین ( $C.V. < 2/62$ ) برخوردار بوده که نشانگر مناسب بودن معادلات ارائه شده است (جدول ۴). دقت برازش مدل‌ها با استفاده از آزمون ضعف برازش ( $p > 0.05$ ) نیز مورد ارزیابی و تایید قرار گرفت. بررسی جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان می‌دهد که شدت امواج فراصوت در مقایسه با سایر متغیرهای استخراج، تأثیر بیش‌تری بر میزان استخراج عصاره خام سیر و مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارد.

جدول ۲- آرایش متغیرهای فرایند استخراج در طرح باکس- بنکن و پاسخ‌های مورد مطالعه

ردیف	متغیرهای استخراج					شدت امواج فراصوت (%)
	پاسخ‌ها	مدت زمان اعمال فراصوت (دقیقه)	غلظت اتانول (%)	استخراج عصاره خام (%)	ترکیبات کل فنولی (mg GAE/g)	
	ترکیبات کل فلاونوئیدی (mg CE/g)					
۱	۵/۳۹	۲۶/۲۲	۲۴/۴۸	۵۰	۷۵	۵۰
۲	۴/۱۶	۲۴/۵۱	۲۶/۲۴	۵۰	۱۰۰	۷۵
۳	۴/۴۵	۲۴/۵۷	۲۷/۳۴	۷۰	۷۵	۷۵
۴	۵/۱۹	۲۸/۱۰	۲۶/۷۲	۷۰	۱۰۰	۵۰
۵	۴/۵۴	۲۴/۳۹	۲۲/۸۸	۵۰	۵۰	۷۵
۶	۵/۲۹	۲۶/۷۱	۲۴/۶۹	۵۰	۷۵	۵۰
۷	۴/۱۱	۲۴/۲۲	۲۲/۱۹	۳۰	۷۵	۷۵
۸	۴/۵۱	۲۴/۸۰	۲۰/۰۱	۳۰	۵۰	۵۰
۹	۳/۱۵	۲۲/۰۶	۱۹/۸۸	۳۰	۷۵	۲۵
۱۰	۳/۱۹	۲۱/۱۰	۲۰/۱۴	۵۰	۵۰	۲۵
۱۱	۳/۳۷	۲۲/۶۱	۲۱/۰۰	۷۰	۷۵	۲۵
۱۲	۴/۵۷	۲۵/۵۰	۲۲/۶۵	۷۰	۵۰	۵۰
۱۳	۵/۱۱	۲۶/۱۱	۲۴/۲۴	۵۰	۷۵	۵۰
۱۴	۴/۴۹	۲۵/۴۸	۲۲/۱۰	۳۰	۱۰۰	۵۰
۱۵	۵/۱۹	۲۶/۲۷	۲۴/۵۸	۵۰	۷۵	۵۰
۱۶	۵/۱۷	۲۶/۱۴	۲۴/۳۲	۵۰	۷۵	۵۰
۱۷	۳/۶۲	۲۳/۴۰	۲۱/۱۵	۵۰	۱۰۰	۲۵

جدول ۳- کفایت مدل‌های پیشنهادی برای تجزیه و تحلیل طرح باکس- بنکن

ملاحظات	Prob > F	عدد F	میانگین مربع	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع
میزان استخراج عصاره خام (CEY)						
			۹۱۵۹/۸۳	۱	۹۱۵۹/۸۳	میانگین
	<۰/۰۰۰۱	۱۶/۶۳	۲۳/۵۶	۳	۷۰/۶۹	خطی
	۰/۲۱۳۶	۱/۷۸	۲/۱۴	۳	۶/۴۲	2FI
<u>مدل پیشنهادی</u>	۰/۰۰۰۱	۳۵/۳۵	۳/۷۵	۳	۱۱/۲۵	درجه دوم
	۰/۰۵۸۶	۵/۹۷	۰/۲۰	۳	۰/۶۱	مکعبی
			۰/۰۳	۴	۰/۱۴	باقیمانده
			۵۴۴/۰۵	۱۷	۹۲۴۸/۹۳	کل
میزان کل ترکیبات فنولی (TPC)						
			۱۰۴۸۴/۹۶	۱	۱۰۴۸۴/۹۶	میانگین
	۰/۱۹۱۶	۱/۸۳	۵/۱۲	۳	۱۵/۳۶	خطی
	۰/۸۸۹۸	۰/۲۱	۰/۷۱	۳	۲/۱۲	2FI
<u>مدل پیشنهادی</u>	<۰/۰۰۰۱	۷۲/۳۴	۱۱/۰۷	۳	۳۳/۲۰	درجه دوم
	۰/۰۸۴۵	۴/۷۰	۰/۲۸	۳	۰/۸۳	مکعبی
			۰/۰۵	۴	۰/۲۴	باقیمانده
			۶۱۹/۸۱	۱۷	۱۰۵۳۶/۷۲	کل
میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی (TFC)						
			۳۳۵/۳۱	۱	۳۳۵/۳۱	میانگین
	۰/۲۸۲۶	۱/۴۰	۰/۷۳	۳	۲/۲۰	خطی
	۰/۹۳۵۱	۰/۱۴	۰/۰۹	۳	۰/۲۷	2FI
<u>مدل پیشنهادی</u>	<۰/۰۰۰۱	۱۵۸/۹۳	۲/۱۴	۳	۶/۴۳	درجه دوم
	۰/۴۰۳۸	۱/۲۵	۰/۰۱	۳	۰/۰۴	مکعبی
			۰/۰۱	۴	۰/۰۴	باقیمانده
			۲۰/۲۵	۱۷	۳۴۴/۳۱	کل

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس متغیرهای وابسته و ضرایب رگرسیونی

منبع	میزان استخراج عصاره خام	میزان ترکیبات کل فنولی	میزان ترکیبات کل فلاونوئیدی
ضریب ثابت ( $\beta_0$ )	+۲۴/۴۶	+۲۶/۲۹	+۵/۲۳
شدت امواج فراصوت (X1)	+۲/۰۶	+۱/۰۷	+۰/۴۹
مدت زمان اعمال فراصوت (X2)	+۱/۳۲	+۰/۷۱	+۰/۰۸ <sup>ns</sup>
غلظت حلال اتانول (X3)	+۱/۶۹	+۰/۵۳	+۰/۱۷
X1X2	+۰/۵۹	-۰/۵۵	-۰/۲۰
X1X3	+۱/۰۱	-۰/۰۵ <sup>ns</sup>	+۰/۰۳ <sup>ns</sup>
X2X3	+۰/۵۰	+۰/۴۸	+۰/۱۶
$X_1^2$	-۱/۰۶	-۲/۷۷	-۱/۱۴
$X_2^2$	-۰/۸۰	-۰/۱۷ <sup>ns</sup>	-۰/۲۲
$X_3^2$	-۰/۸۰	-۰/۱۵ <sup>ns</sup>	-۰/۳۲
ضریب همبستگی ( $R^2$ )	۰/۹۹۱۷	۰/۹۷۹۳	۰/۹۸۹۵
$R^2(\text{adj})$	۰/۹۸۰۹	۰/۹۵۲۷	۰/۹۷۶۰
عدد P	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
عدد F	۹۲/۵۳	۳۶/۸۱	۷۳/۳۳
ضعف برازش	۰/۰۵۸	۰/۰۸۴	۰/۴۰۳
ضریب تغییرات (%)	۱/۴۰	۱/۵۷	۲/۶۲

ns: در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار نمی باشد.

### ۳-۲- بررسی تاثیر متغیرهای فرایند استخراج ترکیبات

#### زیست فعال سیر به کمک امواج فراصوت

#### ۳-۲-۱- تاثیر متغیر شدت امواج فراصوت

شدت امواج فراصوت یکی از مهم ترین متغیرهای تاثیر گذار بر فرایند استخراج می باشد (۲۰). با بررسی جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) تاثیر مثبت و بیشتر شدت امواج فراصوت در مقایسه با سایر متغیرهای مورد مطالعه بر پاسخ های مورد مطالعه خصوصا میزان استخراج عصاره خام قابل مشاهده است. تاثیر شدت امواج فراصوت بر میزان استخراج عصاره خام (شکل ۱ الف- ب) و مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی سیر در شکل ۱ (ج- د) نشان داده شده است. با افزایش شدت امواج فراصوت تا حدود ۵۵ درصد مقادیر پاسخ های مورد مطالعه افزایش یافت که این امر به دلیل افزایش پدیده انتقال جرم با افزایش میزان شدت امواج فراصوت است. ساز و کار اصلی استخراج با

امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیونیا حفره زایی مربوط می شود که در اثر آن حباب های بسیار ریزی در حلال تشکیل شده، سپس به سرعت رشد کرده و منفجر می شوند. اثرات مکانیکی امواج فراصوت و پدیده حفره سازی ایجاد شده در اثر این امواج، سبب افزایش نفوذ حلال به داخل سلول های گیاهی، شویش ترکیبات هدف، افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازدهی استخراج دردهماهای پایین تر می گردد (۳۴). نتایج مطالعه حاضر با نتایج ارائه شده توسط پاراکاش ماران<sup>۱</sup> و همکاران (۲۲) و تومسیک و همکاران<sup>۲</sup> (۳۲) مطابقت داشت. همان طور که ملاحظه می گردد با افزایش بیشتر شدت امواج فراصوت تغییر چشمگیری در میزان استخراج ترکیبات زیست فعال مشاهده نمی شود که علت این امر را می توان به تجزیه ترکیبات

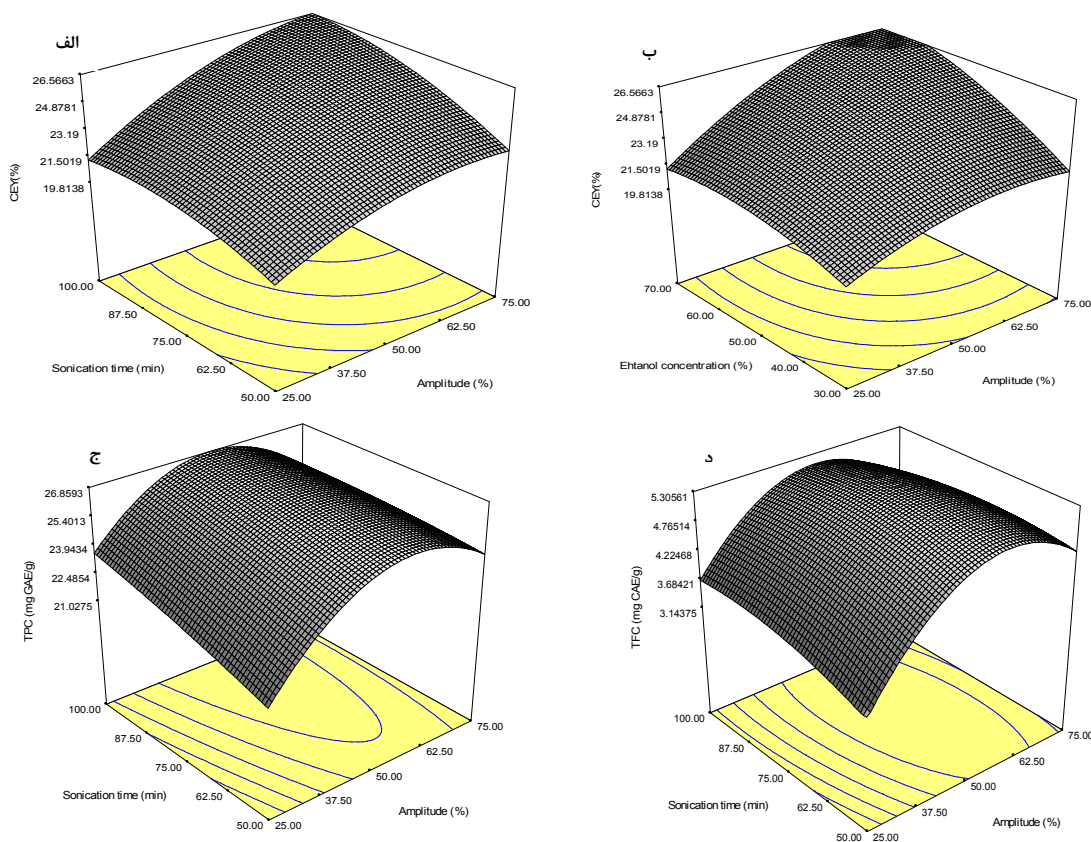
1-Prakash Maran et al.

2-Tomšik et al.



مطالعه تا شدت حدود ۵۵٪ ادامه یافته و با افزایش بیش تر، این مقادیر کاهش می یابد. به علاوه با توجه به منفی بودن اثر متقابل شدت امواج فراصوت و مدت زمان اعمال امواج فراصوت خصوصا برای مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می توان استفاده از شدت های پایین تر امواج فراصوت را در ترکیب با زمان های طولانی پیشنهاد نمود.

زیست فعال نسبت داد. پروهیت و گوگیت<sup>۱</sup> (۲۰۱۵) که تجزیه ترکیبات حساس به حرارت با افزایش میزان حفره سازی و تبدیل انرژی به صورت حرارت می یابد (۲۳). تاثیر منفی و معنی دار ( $p < 0.05$ ) عبارت درجه دوم متغیر شدت امواج فراصوت در شکل ۱ (ج - د) قابل مشاهده می باشد به طوری که روند افزایشی میزان پاسخ های مورد



شکل ۱- اثر شدت امواج فراصوت و مدت زمان اعمال فراصوت بر میزان استخراج عصاره خام (الف)، شدت امواج فراصوت و غلظت حلال اتانول بر میزان استخراج عصاره خام (ب)، شدت امواج فراصوت و مدت زمان اعمال فراصوت بر میزان ترکیبات کل فنولی (ج) و شدت امواج فراصوت و مدت زمان اعمال فراصوت بر میزان ترکیبات کل فلاونوئیدی (د).

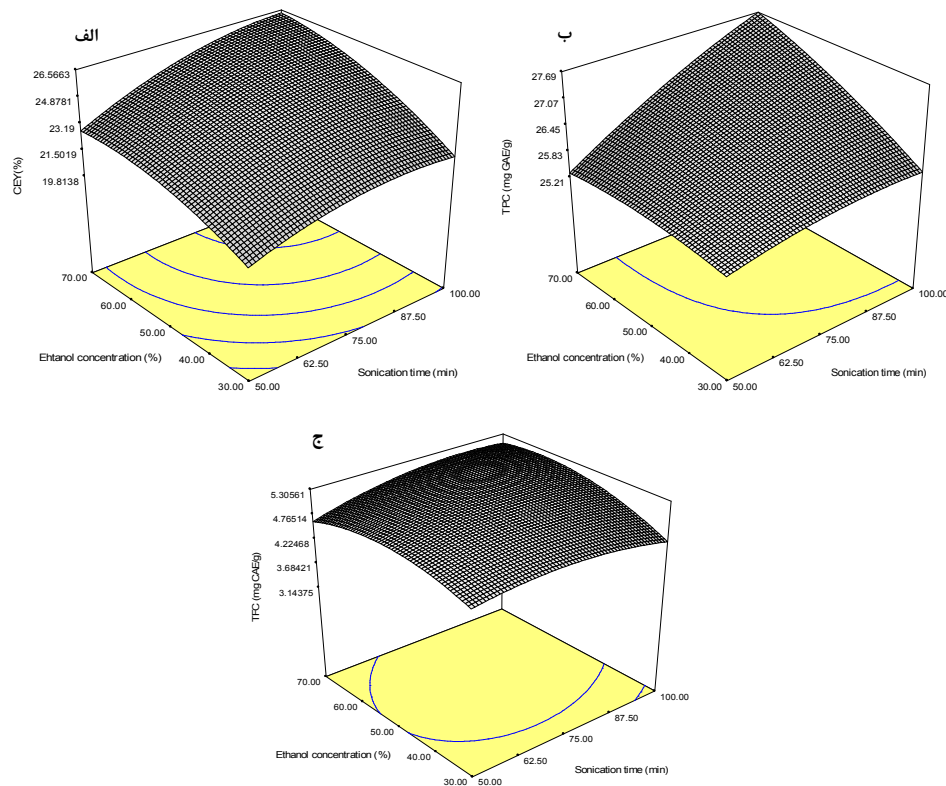
## ۲-۲-۳- تاثیر متغیر مدت زمان اعمال فراصوت

مدت زمان اعمال فراصوت یکی از متغیرهای مهم تاثیرگذار بر هزینه‌های انرژی فرایند می‌باشد. براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) تاثیر متغیر مدت زمان اعمال امواج فراصوت بر میزان استخراج عصاره خام و مقدار کل ترکیبات فنولی مثبت و معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) بود در حالی که مدت زمان اعمال امواج فراصوت تاثیر معنی‌داری ( $p > 0/05$ ) بر مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی نداشت. همان‌طور که در شکل ۱ (الف و ج) ملاحظه می‌گردد با افزایش مدت زمان اعمال امواج فراصوت تا حدود ۸۰ دقیقه میزان پاسخ‌های مورد مطالعه به صورت خطی افزایش می‌یابد اما پس از آن تغییرات تقریباً ثابت بود در حالی که با افزایش مدت زمان اعمال فراصوت میزان ترکیبات کل فلاونوئیدی اندکی کاهش یافت (شکل ۱-د و شکل ۲-ج). بر این اساس می‌توان دریافت که ترکیبات پلی فنولی موجود در سلول‌های تجزیه شده در اثر اعمال فراصوت در مدت زمان حدود ۸۰ دقیقه وارد حلال شده است و افزایش مدت زمان اعمال فراصوت بیش از این مقدار می‌تواند فرایند تجزیه ترکیبات پلی فنولی را تشدید نماید. ویلخو و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۰۸) بیان نمودند که تعداد حباب‌های تشکیل شده با افزایش زمان اعمال فراصوت افزایش می‌یابد که ترکیدن این حباب‌ها در نزدیکی سطح ترکیبات موجود در حلال نظیر ترکیبات فنولی می‌تواند منجر به تخریب و کاهش پایداری آنها گردد (۳۳).

## ۳-۲-۳- تاثیر متغیر غلظت حلال اتانول

پلی فنول‌ها گروهی از ترکیبات زیست فعال و متابولیت‌های ثانویه گیاهان با یک چند حلقه آروماتیک و قابلیت تعویض

گروه هیدروکسیل هستند که معمولاً مقدار آنها در منابع گیاهی تحت تاثیر گونه، جنس، آب و هوا، درجه حرارت، فصل رشد قرار دارد (۱۶). از طرفی گیاهان مختلف حاوی ترکیبات زیست فعال با ساختارهای متفاوت هستند که استخراج آنها به عوامل مهمی همچون نوع حلال بستگی دارد. همان‌طور که در شکل‌های ۱ (ب) و ۲ (الف-ج) ملاحظه می‌گردد با افزایش غلظت حلال اتانول تا حدود ۶۰ درصد میزان استخراج ترکیبات زیست فعال افزایش چشمگیری یافت. تاثیر مثبت و معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) این متغیر نیز تایید کننده این مطلب می‌باشد (جدول ۳). نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که حلال الکل سرعت و بازده استخراج را به دلیل تخریب دیواره سلولی و افزایش میزان دسترسی مواد قابل حل شدن، افزایش می‌دهد. علاوه بر آن، با استفاده از سیستم‌های ترکیبی از حلال‌های مختلف جهت استخراج می‌توان از قدرت تمامی حلال‌ها در جهت استخراج ترکیبات زیست فعال با قطبیت‌های متفاوت به رهمرد و بازده استخراج را افزایش داد (۳۵). نتایج ایستر و همکاران<sup>۲</sup> (۱۳)، گوهرکانی و همکاران (۹) و حسین و شاه<sup>۳</sup> (۱۹) نیز حاکی از آن است که استفاده از حلال ترکیبی اتانول- آب سبب افزایش استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی مختلف می‌شود. از آن جایی که افزایش میزان آب در حلال‌های ترکیبی سبب افزایش استخراج سایر ترکیبات همراه با ترکیبات فنولی می‌گردد لذا کاهش غلظت ترکیبات فنولی در چنین عصاره‌هایی قابل توجیه می‌باشد (۲۸).



شکل ۲- اثر مدت زمان اعمال فراصوت و غلظت حلال اتانول بر میزان استخراج عصاره خام (الف)، اثر مدت زمان اعمال فراصوت و غلظت حلال اتانول بر میزان ترکیبات کل فنولی (ب) و مدت زمان اعمال فراصوت و غلظت حلال اتانول بر میزان ترکیبات کل فلاونوئیدی (ج).

همکاران (۲۰۱۶) انجام شد. آنها با اعمال دمای ۸۰ درجه سلسیوس، غلظت اتانول ۷۰ درصد، شدت امواج فراصوت ۲۰/۰۶ وات بر لیتر و مدت زمان ۷۹/۸ دقیقه به حداکثر میزان استخراج عصاره خام، ترکیبات کل فنولی و فلاونوئیدی دست یافتند. تحت شرایط بهینه میزان استخراج عصاره خام، ترکیبات کل فنولی و فلاونوئیدی به ترتیب معادل ۳۸/۱ درصد، ۱۶ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره و ۳/۵ میلی‌گرم معادل کاتکین بر گرم عصاره به دست آمد (۳۲). اختلاف غلظت ترکیبات کل فنولی و فلاونوئیدی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال سیر وحشی با مطالعه حاضر را می‌توان به تفاوت در گونه و انجام فرایند در دمای محیط طی مطالعه حاضر نسبت داد که سبب حفظ ترکیبات حساس به حرارت می‌گردد.

### ۳-۳- تعیین و اعتبارسنجی شرایط بهینه فرایند استخراج

#### ترکیبات زیست فعال سیر به کمک امواج فراصوت

براساس داده‌های تجربی بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات زیست فعال از سیر با هدف به حداکثر رساندن میزان استخراج عصاره خام سیر و مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام شد. نتایج به دست آمده در جدول ۵ آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با اعمال فراصوت ویژگی‌های کمی و کیفی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال سیر بهبود یافت که تایید کننده تاثیر مثبت فراصوت در فرایند استخراج ترکیبات زیست فعال می‌باشد. بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات زیست فعال به کمک امواج فراصوت از سیر وحشی (*Allium ursinum* L.) توسط تومسیک و

جدول ۵- مقادیر پیش بینی شده و تجربی میزان استخراج عصاره خام، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی تحت شرایط بهینه به کمک امواج فراصوت و استخراج در غیاب امواج فراصوت

استخراج با کمک امواج فراصوت		استخراج در غیاب			
پاسخ	مقادیر پیش بینی شده	مقادیر تجربی	X1	X2	X3
			(درصد)	(دقیقه)	(درصد)
استخراج عصاره خام	۲۷/۳۴	۲۷/۳۹ <sup>a</sup> ± ۰/۰۴	۵۷	۱۰۰	۷۰
مقادیر کل ترکیبات فنولی	۲۷/۵۹	۲۷/۵۰ <sup>a</sup> ± ۰/۰۵			
مقادیر کل ترکیبات فلاونوئیدی	۵/۰۹	۴/۹۷ <sup>a</sup> ± ۰/۰۴			

مقادیر ارائه شده به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می باشد.

حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ( $p > 0.05$ ) می باشد.

### ۳-۴- بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال سیر

نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن است که در فعالیت ضد اکسایشی عصاره های حاوی ترکیبات زیست فعال به دست آمده به دو روش استخراج به کمک امواج فراصوت و در غیاب امواج فراصوت تفاوت معنی داری ( $p < 0.05$ ) وجود دارد (جدول ۶). این اختلاف را می توان به بالاتر بودن مقادیر ترکیبات کل فنولی و فلاونوئیدی و در نتیجه افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل و افزایش احتمال اهدا هیدروژن به رادیکال های آزاد در روش استخراج به کمک

فراصوت فعالیت نسبت داد. سلیمان و همکاران [۲۹]، تاتیا و همکاران [۳۱] و شکوه صارمی و همکاران (۸) دلیل افزایش فعالیت ضد اکسایشی را نیز افزایش مقدار ترکیبات فنولی بیان نمودند. شکل ۳ نشان دهنده رابطه بین فعالیت ضد اکسایشی عصاره های زیست فعال به دست آمده به روش استخراج به کمک فراصوت و استخراج به کمک حلال در غیاب امواج فراصوت به روش DPPH و FRAP می باشد. ضریب تبیین بالا ( $R^2$ ) حاکی از وجود رابطه مطلوب بین این دو روش ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی می باشد.

جدول ۶- فعالیت ضد اکسایشی عصاره های حاوی ترکیبات زیست فعال سیر به دست آمده توسط روش های مختلف استخراج

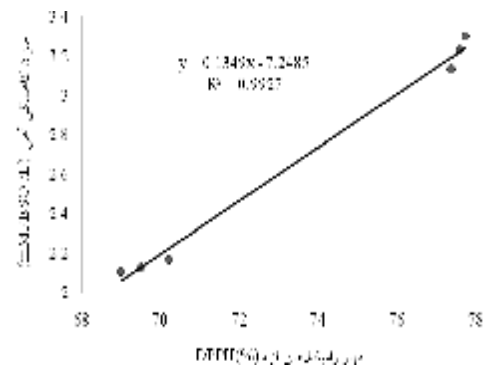
عصاره استخراج شده در غیاب امواج فراصوت		عصاره استخراج شده به کمک امواج فراصوت	
FRAP (mMFeSo <sub>4</sub> /L)	DPPH (%)	FRAP (mMFeSo <sub>4</sub> /L)	DPPH (%)
۲/۱۰ <sup>B</sup> ± ۰/۰۴	۶۹/۵۷ <sup>b</sup> ± ۰/۶۱	۳/۲۱ <sup>A</sup> ± ۰/۰۸	۷۷/۵۷ <sup>a</sup> ± ۰/۱۸

مقادیر ارائه شده به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار می باشد.

حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ( $p > 0.05$ ) می باشد.

## ۵- منابع

۱. احمدیان کوچکسرایی، ز.، نیازمند، ر.، نجف نجفی، م. ۱۳۹۵. بهبه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات زیست فعال از گلبرگ زعفران به روش سطح پاسخ. فناوریهای نوین غذایی، جلد ۵، شماره ۱، ۳۹-۵۴.
۲. بلوریان، ش.، خلیلیان، ص.، خلیلیان، م. ۱۳۹۲. بهبه‌سازی شرایط استخراج کورکومین از ریزوم گیاه زردچوبه (*Curcuma longa*) به کمک امواج فراصوت با استفاده از روش سطح پاسخ. فرآوری و نگهداری مواد غذایی، جلد ۵، شماره ۱، ۷۵-۸۹.
۳. بی مکر، م.، گنجلو، ع.، زرین قلمی، س.، انصاریان، ا. ۱۳۹۶. بهبه‌سازی استخراج ترکیبات با ارزش زیست فعال از برگ شاتوت به روش حلال متلاطم. علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۴، شماره ۶۵، ۳۵۳-۳۴۳.
۴. دهقان تنها، ر.، بیات، ح.، امینی فرد، م. ح. ۱۳۹۶. تأثیر امواج فراصوت بر استخراج کارتنوئیدهای بتاکاروتن و لیکوپن از فلفل قرمز و بهبه‌سازی شرایط استخراج به روش سطح پاسخ. علوم و صنایع غذایی ایران، شماره ۷۲، دوره ۱۴، ۱۸۵-۱۷۷.
۵. راسخ، م.، مجدیرا. ۱۳۹۱. برخی خواص مکانیکی سیر. علوم و صنایع غذایی ایران، شماره ۳۳، ۶۳-۵۳.
۶. رجایی، ا.، میرزایی مقدم، ح.، برداران، ن. ۱۳۹۶. بهبه‌سازی استخراج ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه کاکوتی به کمک امواج فراصوت با روش سطح پاسخ. علوم صنایع غذایی ایران، جلد ۱۴، شماره ۷۰، ۲۴۸-۲۳۷.
۷. شاددل، ر.، حداد خداپرست، م. ح.، مسکوکی، ع.، شریف، ع.، آزاد مردد میرچی، ص. ۱۳۹۲. بهبه‌سازی فرایند استخراج مواد زیست فعال از پوست بنه به روش آب مادون بحرانی با کاربرد روش سطح پاسخ. پژوهش های صنایع غذایی، جلد ۱، شماره ۲، ۷۵-۸۶.
۸. شکوه صارمی، ا.، حبیبی نجفی، م. ب.، حداد خداپرست، م. ح.، بحرینی، م. ۱۳۹۶. اثر روش های استخراج بر خصوصیات ضد اکسایشی گیاه اناریجه



شکل ۳- رابطه بین فعالیت ضد اکسایشی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال سیر به روش های DPPH و FRAP

## ۴- نتیجه گیری

این مطالعه با هدف افزایش میزان استخراج عصاره خام، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه سیر با در نظر گرفتن سه متغیر مستقل شامل شدت امواج فراصوت، مدت زمان اعمال فراصوت و غلظت حلال اتانول انجام گردید. مدل های درجه دوم پیشنهادی برای تخمین پاسخ های مورد مطالعه در این پژوهش کار آیی بالایی داشتند. بر اساس نتیجه بهبه‌سازی عددی با اعمال امواج فراصوت با شدت ۵۷٪، مدت زمان اعمال امواج فراصوت ۱۰۰ دقیقه و غلظت حلال اتانول ۷۰ درصد، بیشترین میزان استخراج عصاره خام، مقادیر کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به ترتیب برابر ۲۷/۴۳ درصد، ۲۷/۵۹ میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره و ۵/۰۹ میلی گرم معادل کاتکین در گرم عصاره قابل دستیابی است. عصاره به دست آمده تحت شرایط بهبه فعالیت ضد اکسایشی قابل قبولی از خود نشان داد. در مقایسه با روش شاهد (عدم استفاده از امواج فراصوت) استفاده از تکنیک نوین استخراج به کمک فراصوت سبب افزایش کمی و کیفی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال از سیر می گردد. بنابراین از سیر به عنوان یکی از منابع غنی ترکیبات پلی فنولی می توان نام برد و از تکنیک فراصوت به عنوان یک روش نوین و کارآمد برای تهیه ترکیبات زیست فعال به منظور استفاده در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی استفاده نمود.

- depend on cultivar and harvest year. *Food Chemistry*, 122: 819-825.
17. Đurđević, L., Dinic, A., Pavlovic, P., Mitrović, M., Karadzic, B. and Tešević, V. 2004. Allelopathic potential of *Allium ursinum* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32: 533-544.
18. Fellows, P. 2000. *Food Processing Technology: 2<sup>edn</sup>*. CRC press. Boca Raton Boston New York Washington, DC.
19. Hossain, M.A. and Shah, M.D. 2015. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian Journal of Chemistry*, 8: 66-71.
20. Hossain, M.B., Brunton, N.P., Patras, A., Tiwari, B. and O'Donnell, C.P. 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19: 582-590.
21. Kukic, J., Popovic, V.N., Petrovic, S., Mucaji, P., Ciric, A., Stojkovi, D. and Sokovic, M. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynaracardunculus* extracts. *Food Chemistry*, 107: 861-868.
22. Prakash Maran, J., Manikandan, S., Vigna Nivetha, C. and Dinesh, R. 2017. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: 1145-1157.
23. Purohit, A.J. and Gogate, P.R. 2015. Ultrasound-assisted extraction of b-carotene from waste carrot residue: effect of operating parameters and type of ultrasonic irradiation. *Separation Science Technology*, 50 (10): 1507-1517.
24. Ramic, M., Vidovic, S., Zekovic, Z., Vladoic, J., Cvejic, A. and Pavlic, B. 2015. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23: 360-368.
25. Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V. and Bitsch, R. 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radicals Research*, 36(2): 177-187.
26. Shin, J.H., Kang, M.J., Kim, R.J., Sung, N.J. 2011. The quality characteristics of sausage with added black garlic extracts. (*Pimpinella affinis*). علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۴، شماره ۶۹، ۱۶۹-۱۵۹.
۹. گوهرگانی، م.و.، محمدی، ع. ۱۳۹۶. مقایسه روشهای استخراج (مایکروویو، فراصوت و ماسراسیون) جهت استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از میوه ی بلوط. پژوهشهای صنایع غذایی، جلد ۲۷، شماره ۱، ۳۵-۲۷.
۱۰. مهدی نیا لیچانی، ب.، اسماعیل زاده کناری، ر.، دین پناه، غ. ۱۳۹۶. بهینه سازی استخراج عصاره گیاه متکا با روش های فراصوت و سیال فوق بحرانی و بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره آن. علوم و صنایع غذایی ایران. جلد ۱۴، شماره ۷۳، ۵۱-۵۹.
۱۱. نصیری فر، ز.، صادقی ماهونک، ع.، کمالی، ف. ۱۳۹۲. تاثیر شرایط عصاره گیری به کمک فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از میوه داغداغان (*Celtis australis*). فرآوری و نگهداری مواد غذایی، جلد ۵، شماره ۲، ۱۳۰-۱۱۵.
12. Al-Saeedi, A.H. and Hossain, M.A. 2015. Total phenols, Total Flavonoids Contents and Free radical Scavenging Activity of Seeds Crude Extracts of Pigeon Pea Traditionally Used in Oman For the Treatment of Several Chronic Diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5: 316-321.
13. Aybaster, Ö., Işık, E., Şahin, S. and Demir, C. 2013. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant compounds from blackberry leaves using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 44: 558-565.
14. Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The Frap Assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
15. Bimakr, M., Rahman, R.A., Salina Taip, F., Adzahan, N.M., Sarker, M.Z.I. and Ganjloo, A. 2012. Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*Benincasa hispida*) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. *Molecules*, 7: 11748-11762.
16. Bolling, B., Dolnikowski, G., Blumberg, J. and Chen, C.Y. 2010. Polyphenol content and antioxidant activity of California almonds

- properties of *Bridelia retusa* Spreng. stem bark. *Indian Journal of Natural Product Research*, 2(4): 442-447.
32. Tomšik, A. Pavlic, B. Vladoic, J. Ramic, M. Brindza, J. and Vidovic, S. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 29: 502-511.
33. Vilku, K. Mawson, R. Simons, L. and Bates, D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - a review. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 9: 161-169.
34. Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3):303-313.
35. Wijngaard, H. Hossain, M.B. and Brunton, R.D.K. 2012. Technique to extract bioactive compounds from by food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46: 505-513.
36. Yang, Seung-Mi., Shin, Jung-Hye., Jung, Kang Min., Hyun, Kim Sung., Sung, Nak-Ju. 2010. Quality characteristics of bread with added black garlic extract. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 26(5):503-510.
- Korean journal of food and cookery science*, 27(6):701-711.
27. Shyu, Y.S. and Hwang, L.S. 2002. Antioxidant activity of the crude extract of lignin glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Research International*, 35: 357-365.
28. Spigno, G. Tramelli, L. and De Faveri, D.M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.
29. Sulaiman, S.F. Sajak, A.A.B. Ooi, K.H. Supriatno, L. and Seow, E.M. 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(4-5): 506-515.
30. Sumaya-Martinezl, T. Castillo-Morales, A. Favela-Torres, E. Huerta-Ochoa, S. and Prado-Barragan, L.A. 2005. Fish protein hydrolysates from gold carp (*Carassius auratus*). A study of hysolysis parameters using response surface methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 98-104.
31. Tatiya, A.U. Tapadiya, G.G. Kotecha, S. and Surana, S.J. 2011. Effect of solvents on total phenolics, antioxidant and antimicrobial

(Original Research Paper)  
**Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Bioactive  
Compounds From Garlic  
(*Allium sativum* L.) and Its Antioxidant Activity**

Mandana Bimakr<sup>1</sup>, Ali Ganjloo<sup>1\*</sup>

1-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture,  
University of Zanjan, Zanjan, Iran.

Received: 26/10/2017

Accepted:24/09/2018

**Abstract**

In this study, the effect of amplitude (25-75%), sonication time (50-100min) and ethanol concentration (30-70%) at ambient temperature on the crude extraction yield, total phenolic and total flavonoid contents of garlic was studied and optimized using response surface methodology due to the importance of using emerging techniques in bioactive compounds extraction process from plant sources. The result of numerical optimization showed that the highest amount of crude extraction yield of 27.34%, total phenolic content of 27.59 (mg GAE/g of extract) and total flavonoid content of 5.09 (mg CAE/g of extract) are achievable using ultrasound intensity of 57%, ultrasound duration of 100 min and 70% ethanol concentration. The DPPH free radicals scavenging activity and FRAP for the extract obtained under optimal conditions were 77.57% and 3.21 mM FeSO<sub>4</sub>/L. The quantitative and qualitative properties of the extract obtained under ultrasound-assisted extraction optimized conditions were significantly (p<0.05) higher than those of control (absence of ultrasound) indicating that the ultrasound technique is desirable for bioactive compounds extraction.

**Keywords:** Extraction, Ultrasound, Garlic, Antioxidant Activity, Extract.

---

\*Corresponding Author: [aganjloo@znu.ac.ir](mailto:aganjloo@znu.ac.ir)



