بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی میوه گیاه تاجریزی با استفاده از روش سطح پاسخ

فروغ خانلری[a]، سید علی یاسینی اردکانی[b]*، نوید نصیری‌زاده[b]

[a] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران
[b] استادیار گروه صنایع غذایی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

Archive of SID

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۹/۲۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۲/۹

چکیده

مقدمه: تاجریزی (SN) گیاه بومی شمال شرق آسیا بوده و دارای فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی می‌باشد. در این پروژه روش سطح پاسخ (RSM) به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیب‌های فنولی گونه گیاهی تاجریزی مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش ها: اولین مجموعه آزمون با استفاده از حلال‌های مختلف به منظور انتخاب حلال مناسب برای استخراج حداکثری از گیاه انجام گرفت. آزمایش توسط طرح مرکب مرکزی (CCD) جهت بهینه‌سازی متغیرهای مستقل شامل درجه حرارت (۷۰–۲۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان استخراج (۲۴۰– ۳۰ دقیقه) و نسبت حلال به گیاه (۲۰– ۱۰ میلی‌لیتر برگرم) طراحی شد. نتایج در قالب محتوای فنول کل (TP) توسط روش فولین– سیوکالتو و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) توسط روش DPPH بررسی گردید.

یافته‌ها: آزمایش‌های مقدماتی در سطح معناداری ($P<0.05$) مشخص نمودند بهترین حلال برای استخراج تاجریزی، اتانول می‌باشد. تطبیق داده‌های به دست آمده از RSM با مدل درجه دوم و سطح پاسخ سه بعدی نشان داد، نقطه بهینه استخراج برای نتایج TP ,DPPH شامل دما $70^{\circ}C$، زمان ۳۰ دقیقه، نسبت حلال به گیاه ۲۰ میلی‌لیتر بر گرم بود. نتایج فرایند بهینه‌سازی برابر مقادیر ۱۸/۰۴ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم وزن خشک برای فنول کل و ۶۱/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای DPPH بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر کارایی مفید روش سطح پاسخ به کار رفته در بهینه‌سازی شرایط استخراج می‌باشد. این شرایط بهینه‌سازی شده، اجازه استخراج سریع و حداکثری از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی از تاجریزی را فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی: *بهینه‌سازی، تاجریزی، ترکیبات فنولی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، RSM*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: a.yasini@ysrbiau.ac.ir

www.SID.ir

مقدمه

فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در بدن انسان ممکن است منجر به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن محور و دیگر گونه‌های اکسیژن فعال به عنوان محصولات جانبی شوند. تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌تواند باعث آسیب اکسایشی مولکول‌های زیستی (مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها، DNA) و در نهایت منجر به بسیاری از بیماری های مزمن از قبیل آترواسکلروز، سرطان، دیابت، پیری و سایر بیماری‌های تخریبی در انسان گردد (Yizhong *et al*., 2004).

از این رو امروزه توجه زیادی به ترکیب‌های فعال زیستی طبیعی که می‌تواند در رژیم غذایی و یا به عنوان داروهای طبیعی مورد استفاده قرار گیرد شده‌است. ترکیب‌های فنولی، با طیف گسترده‌ای از خواص فیزیولوژیکی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Middleton *et al*., 2000). بسیاری از گیاهان حاوی مقدار زیادی آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک می‌باشند. این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمدتاً ترکیب‌های پلی‌فنولی و متابولیت‌های ثانویه معطر گیاهی است. آنتی‌اکسیدان‌های فنولی در گیاهان به طور عمده متشکل از اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها می‌باشند (Xiao *et al*., 2000; Mau *et al*., 2002).

تاجریزی (SN) گیاه بومی شمال شرق آسیا بوده که در مناطقی از اروپا، شمال آمریکا و آسیا میروید و پراکندگی آن در هندوستان و ایران بیشتر است. نواحی رویش گیاه در ایران شامل گرگان، مازندران، آمل، لاهیجان، آذربایجان، ارومیه، فارس و سیستان بلوچستان است (اکبرزاده وهمکاران، ۱۳۸۹). تاجریزی (سولاناسه[1]) معمولاً به عنوان تاجریزی سیاه نامیده می‌شود و دارای فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی می‌باشد. این علف هرز سالانه ۶۰cm رشد می‌کند و به صورت شاخه‌ای و معمولاً عمودی بوده است و در زمین‌های بایر شن و ماسه‌ای یا در کنار گودال‌ها و زمین‌های زراعتی به صورت خود رو رشد می‌نماید. برگ‌های متناوب سبز تیره و تخم‌مرغی فاصله‌دار با حاشیه و نوک تیز دارد. دارای گل‌های سفید رنگ همراه با رنگ زرد در مرکز هستند. میوه این گیاه در مرحله‌ی اولیه به رنگ سبز و در نهایت میوه رسیده آن، تبدیل به نارنجی یا سیاه می‌شود. میوه و برگ این گیاه به عنوان یک محصول غذایی کشت داده می‌شود. در اکثر نقاط جهان، ازجمله در کشورهای روسیه، رومانی، لهستان، مصر، کوبا و مجارستان زمین‌هایی زیرکشت تاجریزی داروئی است.

بیش از چند دهه، از تولید تاجریزی داروئی نمی‌گذرد. پیکر رویشی این گیاه دارای مواد ارزشمندی (ترکیبات استروئیدی) است که در ساخت بعضی هورمون‌ها مانند هورمون‌های جنسی و هورمون آدرنالین استفاده می‌گردد، مواد موثره تاجریزی داروئی، در ساخت مواد داروئی ضدتورم و مداوای بیماری‌های مربوط به قلب، گردش خون و بیماری‌های مربوط به سیستم عصبی استفاده می‌شود. این مواد اثر ضد باکتریای دارند و همچنین باعث کاهش فشار خون می‌شوند. گلایکوسید میوه تاجریزی در شرایط آزمایشگاهی[2] و در بدن موجود زنده[3] فعالیت استروژنی بالایی نشان می‌دهد و عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی فعالیت های ضد ویروسی در مقابل ویروس هپاتیت C نشان داده‌است و در درمان بیماری التهابی روده و سرطان سینه مورد استفاده می‌باشند. عصاره میوه این گیاه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی پرلیپیدمیک[4] است (Nirmal *et al*., 2012; Edmonds & Chweya, 1997). بازداری رادیکال آزاد که عامل آسیب به DNA است (Sultana *et al*., 1995) و مهار رشد سلول‌های سرطانی سینه[5] توسط عصاره هیدروالکلی تاجریزی نیز گزارش شده است. در این مطالعه استفاده از عصاره اتانولی میوه‌های رسیده‌ی تاجریزی و بررسی مکانیسم‌های درگیری در مهار رشد و اثر آن بر روی سلول‌های سرطان پستان انسانی انجام شد. نتایج حاکی از این بود که سلول‌های سرطانی به شدت در حضور عصاره اتانولی تاجریزی سرکوب شدند. این مطالعه‌ها نشان می‌دهند که تاجریزی دارای فعالیت بسیار مفیدی به عنوان آنتی‌اکسیدانی قوی و عامل ضد تومور می‌باشد (Sona *et al*., 2003). در بررسی دیگری فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی، متانولی و کلرومتان میوه‌های تاجریزی مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت زیاد احیای رادیکال‌های آزاد در روش DPPH و فعالیت ضد قارچی

[1] Solanaceae [2] Invitro [3] Invivo [4] Antihyperlipidemic [5] MCF

Archive of SID

www.SID.ir

بالایی علیه پاتوژن‌های قارچی از خود نشان دادند (Al-Fatimi *et al*., 2007).

استخراج ترکیب‌های فعال زیستی از مواد گیاهی اولین قدم در استفاده از مواد فتوشیمیایی[1] در آماده‌سازی مکمل‌های غذایی یا مواد غذایی، فرآورده‌های دارویی و لوازم آرایشی و بهداشتی است (Dai & Mumper, 2010). به‌طور معمول عملکرد استخراج شیمیایی به نوع حلال با قطبیت مختلف، زمان استخراج، دماو نسبت نمونه به حلال وابسته می‌باشد و بهینه سازی به طور قابل توجهی عملکرد استخراج را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

روش سطح پاسخ (RSM) مجموعه‌ای از تکنیک‌های مفید آماری و ریاضی برای توسعه، پیشرفت و بهینه‌کردن فرآیندهاست. RSM کاربرد مهمی در طراحی، توسعه و فرموله کردن محصولات جدید و همچنین در توسعه طراحی فرآورده‌های موجود دارد. علاوه بر این، در حقیقت برای تحلیل اثرات متغیرهای مستقل، این روش آزمایشی یک مدل ریاضی را به وجود می‌آورد که فرآیندهای شیمیایی یا بیوشیمیایی را توصیف می‌کند. در روش سطح پاسخ (RSM)، پاسخ مورد نظر توسط چند متغیر تحت تأثیر قرار می‌گیرد و هدف بهینه کردن این پاسخ می‌باشد. RSM اثر متغیرهای مستقل را به تنهایی یا ترکیبی در فرآیند توصیف می‌کند (Jimoh *et al*., 2010).

گیاه مورد بررسی دارای پتانسیل بالای فنولی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و مطالعه‌های اندکی تاکنون در این زمینه صورت گرفته است. همچنین بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیب‌های فنولی و سایر آنتی‌اکسیدان‌های این گیاه و استفاده از روش سطح پاسخ تاکنون انجام نشده‌است. هدف از کار حاضر، رسیدن به نقطه بهینه‌ی استخراج ترکیب‌های فنولی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. نوع حلال، دما، زمان و نسبت حلال به گیاه به عنوان متغیرهای مستقل درنظر گرفته شده‌است. همچنین میزان فنول کل (TP) و فعالیت مهار رادیکال آزاد (DPPH) به عنوان متغیرهای وابسته که درواقع بیانگر نتیجه و کارآیی استخراج می‌باشند، مورد ارزیابی قرار می‌گیرند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش مواد و ترکیبات شیمیایی۲و۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) (Sigma)، گالیک اسید (Sigma)، کربنات سدیم (Merck، آلمان)، (Merck BHT، آلمان)، Folin Ciocalteu (Merck، آلمان)، اتانول و متانول (شرکت تولیدکننده حلال غدیر)، تهیه و مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین، بن ماری مدل ST.7C، ساخت شیمی فن ایران، اسپکتروفتومتر UV/Vis مدلT80 Double Beam، ساخت PG Instruments Ltd کانادا، روتاری اواپوراتور مدل 4002 Labora control ساخت Heidolph آلمان، سانتریفوژ مدلFunke Gerber ساخت انگلیس، شیکر اینکوباتور ساخت Memert آلمان، ترازو بادقت ۰/۰۱ و ۰/۰۰۰۱ مدل Sartorius GE 1302-CPA224s آلمان، استفاده گردید.

- آماده‌سازی نمونه گیاهی

گیاه تاجریزی (*Solanum nigrum*) از منطقه جغرافیایی '۲۸ °E۵۳ - '۸ °N۲۹، ساعت ۸ صبح شهریور ماه، جمع‌آوری شد. این گیاه توسط متخصصین بخش زیست‌شناسی دانشگاه شیراز، ایران، به منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی شناسایی شد.

- آماده‌سازی عصاره و استخراج

اولین مجموعه آزمون به منظور انتخاب حلال مناسب برای استخراج می‌باشد. قسمت میوه تاجریزی (خوراکی)، در دمای اتاق (۳ °C ± ۲۶) و در تاریکی به مدت ۳۰ روز خشک شد و توسط خرد کن پودر گردید. ۵ گرم از میوه پودر شده به صورت جداگانه به ml ۵۰ (۱:۱۰)، اتانول ۹۶٪، متانول ۹۶٪، اتانول/ متانول (v/v ۵۰:۵۰) و آب اضافه گردید. انتخاب این حلال‌ها بر اساس آزمایش‌های مقدماتی صورت پذیرفت که این آزمایش‌ها نشان‌دهنده استخراج بیشتر ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه نسبت به سایر حلال‌های رایج مانند استون و هگزان بود. استخراج در بطری شیشه‌ای (ml ۲۵۰) با استفاده از اینکوباتور شیکردار با سرعت RPM ۲۰۰ به مدت ۲۴۰ دقیقه در دمای °C ۵۰ صورت گرفت. سپس عصاره‌ها پس از خنک شدن، با پارچه استریل فیلتر شده و عصاره در سانتریفوژ با سرعت RPM ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته، ناخالصی‌ها جدا شده و محتوای مایع رویی توسط

[1] Phytochemical

Archive of SID
www.SID.ir

روتاری تحت خلأ (زیر ۴۰ °C) تغلیظ و بلافاصله برای تعیین محتوای فنول کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، استفاده شد. حلال‌های آلی و آبی مناسب با توجه به آزمایش‌های مقدماتی برای تعیین نوع حلال برای استخراج استفاده شد. هر استخراج در ۲یا ۳ تکرار انجام (عصاره‌ها مستقل و در روزهای متفاوت) و آنالیز در همان روز استخراج انجام شد (Micheils *et al*., 2012).

- روش ارزیابی DPPH (Free radical scavenging activity)

فعالیت احیای رادیکال آزاد با اندازه‌گیری فعالیت احیای ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) توسط عصاره و مقدار رنگبری محلول بنفش DPPH به رنگ زرد ارزیابی می‌شود. فعالیت احیای رادیکال توسط عصاره‌ها با استفاده از روش Sarker با کمی تغییرات تعیین شده است (Sarker *et al*., 2006). پس از تهیه‌ی غلظت‌های مناسب، ۱ ml از محلول نمونه با ۱ ml از محلول متانولی DPPH ۰/۱ mM مخلوط گردیده است. مخلوط کاملاً هم زده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ °C قرار داده شد و سپس، جذب محلول‌ها در ۵۱۷ nm توسط دستگاه اسپکترو فتومتر قرائت شده است. همچنین لازم به ذکر است که نمونه شاهد که در آن نمونه‌ای از متانول استفاده شده است، با همان شیوه اندازه‌گیری گردیده است.

توانایی احیای رادیکال $DPPH^{\cdot}$ با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید:

(معادله ۱)

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = [(A_0 - A_1) \times 100]/A_0$$

که در آن A_0 جذب کنترل و A_1 جذب نمونه است، که در نمونه کنترل فقط از متانول استفاده شد. غلظت‌هایی از نمونه که به میزان ۵۰٪ ممانعت کنندگی را نشان داده‌اند (IC_{50})، با رسم نمودار درصد ممانعت کنندگی در برابر غلظت‌های نمونه به دست آمده است. تمامی آزمون‌ها با دو تکرار انجام شده و مقادیر IC_{50} به صورت انحراف از معیار ± میانگین در ادامه گزارش می‌گردد.

- روش تعیین محتوای کل فنولیک (TP)

محتوای TP به روش فولین- سیوکالتو با استفاده از روش Vatai (۲۰۰۹) با تغییرات جزئی اندازه‌گیری شده است. به طور خلاصه، ۰/۵ ml از نمونه رقیق شده مناسب را با ۲/۵ ml معرف فولین- سیوکالتو ۰/۲ mol/lit مخلوط و ۲/۰ ml از سدیم کربنات، ۵ دقیقه بعد اضافه شد. این مخلوط در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت پس از شیک کردن کامل، اینکوبه گذاری گردید.

جذب مخلوط در طول موج ۷۶۰nm در برابر شاهد با دستگاه اسپکتروفتومتر UV اندازه‌گیری و با نمودار معیارگیری گالیک اسید مقایسه شده‌است. کل ترکیبات فنولیک به صورت هم‌ارزهای گالیک اسید (میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم عصاره) تعیین و مقادیرگزارش شده‌اند (Gong *et al*., 2012).

- طراحی آزمایش

در این پژوهش بهینه‌سازی عوامل استخراج ترکیبات فنولی گیاه مورد آزمایش برای حداکثر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از RSM صورت گرفته است. متغیرهای مستقل فرآیند شامل درجه حرارت(A; °C)، زمان استخراج (دقیقه ;B) و نسبت گیاه به حلال (;g/ml; C) بوده است. تیمارها در رنج دمایی ۷۰-۲۵ °C و زمان ۴-۰/۵ ساعت و نسبت حلال به گیاه ۲۰-۱۰ ml/g توسط نرم افزار مشخص گردیده است. نوع حلال برای هر گیاه بر اساس نتایج تجربی اولیه مشخص شده‌است.

مدل مورد استفاده در روش سطح پاسخ عموما رابطه درجه دوم می‌باشد. در روش سطح پاسخ برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیرجداگانه بیان می‌نماید، مدل چند متغیره به‌صورت معادله ۲ می‌باشد. در معادله یادشده، Y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1، β_2، β_3 ضرایب خطی، β_{11}، β_{22}، β_{33} اثرات مربعی و β_{12}، β_{13}، β_{23} اثرات متقابل می‌باشند.

(معادله ۲)

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_{12} + \beta_{22}X_{22} + \beta_{33}X_{32} + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3$$

در این پژوهش طراحی مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی متغیرهای فرآیند در ۳ سطح با ۲۰ اجرا، از جمله شش تکرار در نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش انتخاب شده است. محدوده و سطوح متغیرهای مستقل در اشکال رمزی و غیر رمزی خود در جدول ۱ آورده شده‌اند. داده‌های

Archive of SID

www.SID.ir

تجربی با مدل چند جمله ای درجه دوم پردازش شده که بیانگر عملکرد فنول کل و فعالیت مهار رادیکال DPPH به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل است. آزمون معنادار آماری بر اساس خطای کل همراه با سطح اعتماد ۹۵٪ ($P<0.05$) می‌باشد.

- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از نرم افزار Microsoft office 2010 جهت رسم جداول و نمودارها و از نرم‌افزار Spss16.0, Design Expert 8.0.7.1 جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای مربوط به بهینه‌سازی استفاده شد. داده‌های نمایش داده شده به شکل میانگین ± انحراف از استاندارد، با حداقل ۳ تکرار هستند.

یافته‌ها

- انتخاب حلال مناسب استخراج

فرآیند استخراج یک مرحله بسیار مهم برای جداسازی و شناسایی ترکیبات فنولی است. استخراج مواد آلی از مواد گیاهی به طور مستقیم به سازگاری مواد تشکیل دهنده به حلال بر می‌گردد. وقتی که مواد به خوبی در قطب همسان حلال قرار می‌گیرند، می‌توان آن‌ها را به راحتی استخراج نمود، در غیر این صورت، استخراج آن‌ها سخت است (Sun *et al*., 2011).

در بخش اول از مطالعه حاضر اثر حلال اتانول، متانول، آب خالص، متانول/ اتانول در استخراج پلی‌فنول گونه گیاهی این آزمایش، مورد بررسی قرار گرفت. شرایط دما، زمان و نسبت حلال به گیاه ثابتی ($^{\circ}C$ ۵۰، ۲۴۰ دقیقه، ۱۰ml/g) در جهت انتخاب حلال مناسب استفاده شد. محتوای فنول کل و DPPH به عنوان شاخص فرآیند استخراج انتخاب گردید.

معمولاً برای مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان IC_{50} استفاده می‌شود. طبق تعریف IC50 به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر، فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد (قادری و همکاران ۱۳۹۱).

جدول ۱- طرح آزمایش بهینه سازی استخراج عصاره تاجریزی (Central Composit Design)

شماره آزمایش	A	B	C	TP (mg GAE/g)	DPPH (μg/ml)
۱	۷۰/۰۰(+۱)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۴/۳۳	۹۸
۲	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۳/۹۵	۲۷۳
۳	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۲/۵	۲۶۰
۴	۴۷/۵۰(۰)	۳۰/۰۰(−۱)	۱۵/۰۰(۰)	۱۱/۹۸	۲۰۴
۵	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۴/۵	۲۶۰
۶	۷۰/۰۰(+۱)	۲۴۰/۰۰(+۱)	۱۰/۰۰(−۱)	۱۰	۹۲
۷	۷۰/۰۰(+۱)	۳۰/۰۰(−۱)	۱۰/۰۰(−۱)	۱۳/۴۳	۹۳
۸	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۳	۲۵۵
۹	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۳/۸۳	۲۸۰
۱۰	۲۵/۰۰(−۱)	۲۴۰/۰۰(+۱)	۱۰/۰۰(−۱)	۱۴/۵۳	۱۱۰
۱۱	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۳	۲۷۶
۱۲	۲۵/۰۰(−۱)	۳۰/۰۰(−۱)	۲۰/۰۰(+۱)	۲۰/۴۳	۱۵۳
۱۳	۷۰/۰۰(+۱)	۳۰/۰۰(−۱)	۲۰/۰۰(+۱)	۱۸/۳۱	۴۶/۳
۱۴	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۲۰/۰۰(+۱)	۱۶/۶۲	۳۳۵
۱۵	۷۰/۰۰(+۱)	۲۴۰/۰۰(+۱)	۲۰/۰۰(+۱)	۱۵/۸۸	۱۵۴/۷
۱۶	۴۷/۵۰(۰)	۲۴۰/۰۰(+۱)	۱۵/۰۰(۰)	۸/۵۳	۲۵۳/۸
۱۷	۲۵/۰۰(−۱)	۲۴۰/۰۰(+۱)	۲۰/۰۰(+۱)	۱۷/۶۱	۲۱۵
۱۸	۲۵/۰۰(−۱)	۳۰/۰۰(−۱)	۱۰/۰۰(−۱)	۱۶/۸۶	۱۰۹
۱۹	۴۷/۵۰(۰)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۰/۰۰(−۱)	۱۱/۴۵	۲۳۵
۲۰	۲۵/۰۰(−۱)	۱۳۵/۰۰(۰)	۱۵/۰۰(۰)	۱۶/۱۶	۱۵۰

A، دما ($^{\circ}C$) ؛ B، زمان (دقیقه) ؛ C، نسبت حلال به گیاه (ml/g).

اعداد درون پرانتز مقادیر رمزی به کار رفته در آزمون می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- فنول کل و فعالیت مهار رادیکال آزمایشات مقدماتی برای چهارنمونه حلال

حلال	DPPH (µg/ml)	TPC (mgGAE/g)
اتانول	۱۹۵/۶۹±۱/۸۳[a]	۱۴/۵۶±۰/ ۱۵[d]
متانول	۲۳۵/۰۳±۲/۴۸[b]	۸/۱۷±۰/۲۶[b]
(اتانول / متانول ۵۰:۵۰v/v)	۲۳۳/۸۸±۳/۰۴[b]	۱۳/۶۶±۰/۰۷[c]
آب	۲۵۳/۳۰±۲/۰۴[c]	۷/۰۳۵±۰/۱۱[a]
BHT	۰/۳۹۶	-

حروف کوچک غیرمشترک (a, b, c, d) در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح معناداری (P<۰/۰۵) است.

نتایج به دست آمده از فنول کل با روش فولین سیوکالچو بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک و فعالیت مهار رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل عصاره‌های مختلف بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با میزان IC_{50} در بوتیلیت هیدروکسی تولوئن (BHT) به عنوان کنترل مثبت در جدول ۲ بررسی گردید. BHT یک آنتی‌اکسیدان سنتزی رایج می‌باشد و در مطالعات بسیاری به عنوان شاخصی برای مقایسه فعالیت مهار رادیکال DPPH مورد استفاده قرار گرفته است و چندین برابر قوی‌تر از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد (Akrout *et al*., 2010; Jimoh *et al*., 2011). همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، مقدار BHT چندین برابر قوی‌تر از فعالیت مهار رادیکال عصاره‌های دیگر می‌باشد. در نهایت با توجه به آنالیز آماری والر دانکن نتایج در سطح معناداری (P<۰/۰۵) با یکدیگر تفاوت معناداری داشتند و اتانول مناسب‌ترین حلال استخراج در این مطالعه در نظر گرفته شد.

- گزینش مدل مناسب

در جدول ۱، همان‌طور که مشاهده می‌گردد، بهترین نتایج از نظر میزان فنول کل و DPPH، در شرایط°C ۷۰-۲۵ و زمان۳۰ دقیقه و نسبت حلال به گیاه ml/g ۲۰ به ترتیب برای فنول کل و DPPH به دست آمد. در این آزمایش میزان فنول کل در محدوده (mg GAE/g ۸/۵۳-۲۰/۴۳) و DPPH در محدوده (µg/ml ۳۳۵-۹۲) بود. تطبیق داده‌ها با مدل‌های متفاوت (خطی، درجه دوم و درجه سوم) و آنالیز واریانس آن‌ها نشان داد که مدل درجه دوم مناسب‌ترین می‌باشد.

مدل‌های آماری که فنول کل و DPPH را به عنوان تابعی از متغیرهای وابسته در محدوده مورد مطالعه ارائه می‌دهد به صورت معادله‌های ۳ و ۴ می‌باشد که در آن، A دمای عصاره‌گیری (°C)، B مدت زمان عصاره گیری (دقیقه) و C نسبت به کار رفته حلال به گیاه (ml/g) می‌باشد. بهترین مدل منطبق با حذف عوامل و بر هم کنش‌های غیر معنادار (P > ۰/۰۵) به دست آمد. دقت مدل با ۲ عامل R^2 وR^2 تنظیم شده[1] نیز در جداول ANOVA گزارش شده‌اند.

(معادله۳)

$$TP = 36.71693 - 0.61830(A) + 0.035653(B) - 1.66258(C) + 5.87026E-003(A^2) - 1.83055E-004(B^2) + 0.070473(C^2)$$

(معادله ۴)

$$DPPH = -255.16304 + 26.73433(A) + 0.37858(B) - 22.38315(C) - 0.14778(AC) + 0.040571(BC) - 0.26992(A^2) - 2.87941E-003(B^2) + 0.97418(C^2)$$

- آنالیز متغیرهای استخراج فنول کل و DPPH

جداول ۳ و ۴ گیاه تاجریزی، نشان می‌دهد که مدل استفاده شده در سطح اعتماد ۹۵٪ (P <۰/۰۵)، معنی دار است و مقدار ضریب تعیین R^2 معادله ارائه شده برای فنول کل و DPPH مشخص شده است. بنابراین روش سطح پاسخ قادر به پیش‌بینی بیشتر تغییرات فرآیند استخراج این گیاه به عنوان تابعی از دما، زمان و نسبت حلال به گیاه می‌باشد (P <۰/۰۵)؛ با توجه بهR^2 ، مدل پیشنهادی با نتایج به دست آمده مطابقت دارد. به طور کلی، می‌توان

[1] Adjusted R^2

Archive of SID

www.SID.ir

اعتبار مدل را توسط عدم تطبیق ارزیابی کرد، که میزان مناسب بودن مدل را بررسی می‌کند؛ آنالیز واریانس نشان دهنده‌ی عدم تطبیق غیرمعنادار فنول کل و DPPH است و نمایانگر اعتبار بیشتر مدل می‌باشد. این در حالی است که مقدار عددی P برای همه مدل‌ها بسیار معنی‌دار می باشد (P<۰/۰۰۰۱). به علاوه ضریب تعیین R^2 و عدم تطبیق غیرمعنادار نشان می‌دهند که مدل ایجاد شده برای پیش بینی استخراج منطبق می‌باشد. تاثیرخطی دو جمله‌ای و بر هم کنش دما (°C) A، زمان (دقیقه) B، (ml/g) C، بر پاسخ در جداول ۳ و ۴ آورده شده است.

طبق مدل جدول ۳، دما، زمان، نسبت حلال به گیاه و حالت درجه دوم عوامل دما، زمان، نسبت حلال به گیاه تاثیر مثبتی بر میزان محتوای فنول تام دارند، که در این میان نسبت حلال به گیاه معنادارترین تاثیر را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۰۱). در حالی که در این مطالعه بر هم‌کنش AB، BC و AC اثر معناداری بر میزان فنول نشان ندادند (P>۰ /۰۵).

در جدول ۴، با توجه به مدل چند جمله‌ای درجه دوم، دما، زمان، نسبت حلال به گیاه، حالت درجه دوم عامل (دما، زمان، نسبت حلال به گیاه)، بر هم‌کنش (دما و نسبت حلال) و بر هم کنش (زمان و نسبت حلال) تاثیر مثبتی بر میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH دارند، که در این میان حالت درجه دوم عامل دما معنادارترین تاثیر را نشان می‌دهد (p<۰/۰۰۰۱). اما بر هم کنش AB اثر معناداری بر میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH نشان نداد (p>۰/۰۵).

جدول ۳- ANOVA مربوط به پاسخ فنول کل در فرآیند بهینه‌سازی تاجریزی

منبع	مربعات مجموع	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P	
مدل	۱۴۴/۶۴	۶	۲۴/۱۱	۲۸/۶۸	< ۰/ ۰۰۰۱	معنادار
A	۱۸/۶۰	۱	۱۸/۶۰	۲۲/۱۳	۰/۰۰۰۴	
B	۲۰/۹۱	۱	۲۰/۹۱	۲۴/۸۷	۰/۰۰۰۲	
C	۵۰/۹۹	۱	۵۰/۹۹	۶۰/۶۵	< ۰/۰۰۰۱	
A^2	۲۴/۲۹	۱	۲۴/۲۹	۲۸/۸۹	۰/۰۰۰۱	
B^2	۱۱/۲۰	۱	۱۱/۲۰	۱۳/۳۲	۰/۰۰۲۹	
C^2	۸/۵۴	۱	۸/۵۴	۱۰/۱۵	۰/۰۰۷۱	
باقی مانده	۱۰/۹۳	۱۳	۰/۸۴		< ۰/۰۰۰۱	
عدم تطبیق غیر معنادار	۸/۱۲	۸	۱/۰۲	۱/۸۱	۰/۲۶۵۸	غیرمعنادار
خطای خالص	۲/۸۰	۵	۰/۵۶			

A، دما (°C) ؛ B، زمان (دقیقه)؛ C، نسبت حلال به گیاه، P< ۰/۰۵، تأثیر معنادار

R^2=0.9298; Coefficient of Variation =6.39%; Adjusted R^2=0.8973

جدول ٤- ANOVA مربوط به پاسخ فعالیت مهار رادیکال در فرآیند بهینه‌سازی تاجریزی

منبع	مربعات مجموع	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P	
مدل	۱/۲۶۹ E+۰۰۵	۸	۱۵۸۵۲/۲۶	۶۶/۶۸	<۰/۰۰۰۱	معنادار
A	۶۴۰۰/۹۰	۱	۶۴۰۰/۹۰	۲۶/۹۱	۰/۰۰۰۳	
B	۴۸۴۸/۸۰	۱	۴۸۴۸/۸۰	۲۰/۳۸	۰/۰۰۰۹	
C	۷۰۲۲/۵۰	۱	۷۰۲۲/۵۰	۲۹/۵۲	۰/۰۰۰۲	
AC	۲۲۱۱/۱۲	۱	۲۲۱۱/۱۲	۹/۲۹	۰/۰۱۱۱	
BC	۳۶۲۹/۵۲	۱	۳۶۲۹/۵۲	۱۵/۲۶	۰/۰۰۲۵	
A^2	۵۱۳۴۷/۹۵	۱	۵۱۳۴۷/۹۵	۲۱۵/۸۵	<۰/۰۰۰۱	
B^2	۲۷۷۱/۳۸	۱	۲۷۷۱/۳۸	۱۱/۶۵	۰/۰۰۵۸	
C^2	۱۶۳۱/۱۵	۱	۱۶۳۱/۱۵	۶/۸۶	۰/۰۲۳۹	
باقی مانده	۲۶۱۶/۷۶	۱۱	۲۳۷/۸۹			
عدم تطبیق غیر معنادار	۲۰۸۹/۴۳	۶	۳۴۸/۲۴	۳/۳	۰/۱۰۵۵	غیرمعنادار
خطای خالص	۵۲۷/۳۳	۵	۱۰۵/۴۷			

A، دما (°C) ؛ B، زمان (دقیقه) ؛ C، نسبت حلال به گیاه، P< ۰/۰۵، تأثیر معنادار

R^2=0.9798; Coefficient of Variation =8.01%; Adjusted R^2=0.9651

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

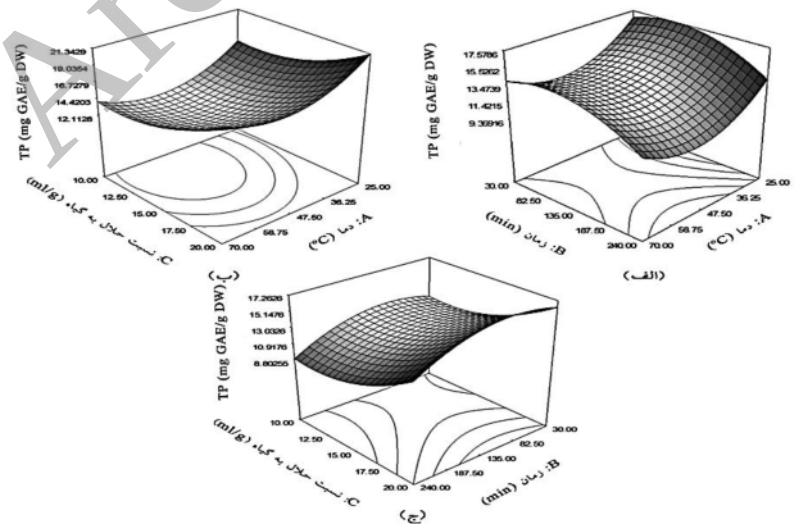
در این مطالعه حلالیت ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی با قطبیتی کمتر از متانول و آب، بیشتردر اتانول صورت گرفت. این موضوع در بررسی Nirmal و همکاران، که به بررسی فعالیت ضد حساسیت تاجریزی توسط استخراج با حلال آبی اتانول و پترولیوم اتر انجام داده بودند نیز مشاهده شد در این پژوهش بعد از پترولیوم اتر، حلال مناسب، اتانول بود. در این پژوهش ترکیبات فلاونوئیدی و استروئیدی در عصاره اتانولی و ترکیبات کربوهیدراتی و تانن بیشتر در عصاره آبی مشاهده شد (Nirmal *et al.*, 2012). مانند دیگر سولانوم‌ها، گونه سولانوم نیگروم حاوی گلیکوزیدهای استروئیدی آلکالوئید است. اثرات ضد توموری، ضد باکتری و فعالیت‌های ضد قارچ احتمالاً توسط آلکالوئیدهای گونه‌های آبی الکلی سولانوم نیگروم به خوبی مشاهده شده است (Al-Fatimi *et al*., 2007).

- آنالیز مدل‌های برازش یافته

تطبیق داده‌ها به دست آمده از RSM بامدل درجه دوم و سطح پاسخ سه بعدی صورت گرفت. شکل (۱- الف)، تاثیر دو متغیر دما و زمان در سطح ثابت نسبت حلال به گیاه (۱۵ ml/g)، بر میزان فنول کل را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌گردد افزایش دما از ۲۵°C به ۷۰°C و افزایش زمان از ۳۰ به ۲۴۰ دقیقه (هر کدام به تنهایی) تغییر معناداری در میزان فنول ایجاد می‌کند ($P<0/05$) و منجر به کاهش فنول به میزان mg GAE/g DW ۸/۵۳ در ۴۷/۵ °C و زمان ۲۴۰ دقیقه نیز می‌شود، که در این میان تاثیر دما بر کاهش ترکیبات فنولی قابل توجه می‌باشد. کاهش سریع این ترکیبات نشان‌دهنده حساسیت ترکیبات فنولی تاجریزی به دما و افزایش زمان استخراج در این دماها است.

در شکل (۱- ب) تاثیر دو متغیر دما و نسبت حلال به گیاه در سطح ثابت زمان (۱۳۵دقیقه)، بر میزان فنول کل نشان داده شده است. افزایش نسبت حلال از ۱۰ ml/g به ۲۰ ml/g به تدریج افزایش ترکیب‌های فنولی را در پی دارد. تأثیر مستقل نسبت آب به ماده جامد بر میزان فنول، بدون لحاظ نمودن سایر متغیرها، به صورت خطی است به طوری که با افزایش نسبت آب به ماده‌ی جامد، میزان بازده افزایش یافت؛ معنی‌دار بودن اثر خطی نسبت آب به ماده ($P<0/0001$) مؤید آن است. افزایش بازده احتمالاً به دلیل نفوذ بیشتر آب و افزایش پدیده اسمز بوده که قابلیت حل شدن فنول افزایش یافته و در نتیجه میزان فنول بیشتری خارج گردیده است. به طور معمول در روش‌های استخراج سنتی میزان بیش‌تر حلال، بازدهی ترکیب‌های موثر را افزایش می‌دهد (کرمی و همکاران، ۱۳۸۹).

به منظور بررسی تاثیر عامل‌های زمان و نسبت حلال به گیاه در سطح ثابت دما (۴۷/۵ °C)، بر میزان فنول کل، شکل (۱-ج) رسم شده است. با مشاهده شکل می‌توان دریافت که بر هم کنش دو عامل در میزان فنول کل تاثیر معناداری بر میزان فنول نداشت ($P>0/05$).



شکل ۱- نمایش نمودار سه بعدی؛ اثر همزمان دو متغیردما-زمان (الف)، دما - نسبت آب به ماده جامد (ب)،زمان- نسبت آب به ماده جامد(ج) بر میزان ترکیبات فنولی

Archive of SID

www.SID.ir

در شکل (۲- الف) اثر عامل دما و زمان در سطح ثابت نسبت حلال به گیاه (۱۵ ml/g)، بر میزان DPPH نشان داده شده است. با افزایش دما و زمان (هر کدام به تنهایی) تاثیر معنا داری (P<۰/۰۵) بر میزان DPPH خواهد داشت؛ اما در این بین تاثیر دما نسبت به زمان بسیار چشم گیر است. همچنین با افزایش دما ابتدا تا دمای ۴۷/۵ °C ، DPPH افزایش یافته که نشان دهنده کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد اما با افزایش دما تا ۷۰°C این میزان کاهش یافته و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به حداکثر مقدار خود در کمترین میزان DPPH (۴۶/۳ µg/ml) می‌رسد. کاهش DPPH در دماهای بالا در تمام زمان‌ها می‌تواند حاکی از افزایش آزادسازی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در سلول‌ها با افزایش میزان دما از میزان مشخصی به بعد باشد. انکوباسیون در حلال گرم منجر به بهبود استخراج آنتی‌اکسیدان‌ها شد، در عین حال حرارت می‌بایست برای جلوگیری از تخریب آنتی اکسیدان‌ها به اندازه کافی ملایم باشد. حرارت ممکن است باعث نرمی بافت گیاهی، تضعیف یکپارچگی دیواره سلولی، هیدرولیز زنجیرهای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و همچنین افزایش حلالیت و در نتیجه توزیع بیشتر به حلال شود (Chan *et al*., 2009). افزایش زمان در ابتدا تاثیر کاهشی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته است و در نهایت به میزان ثابتی رسیده که اثرات خطی مثبت و درجه ۲ منفی مؤید این مطلب است. با این حال در دماهای بالاتر، انحلال ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در زمان کوتاه‌تر به تعادل برسد. در نتیجه به راحتی توسط تغییرات زمان در استخراج تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد (Li *et al*., 2012).

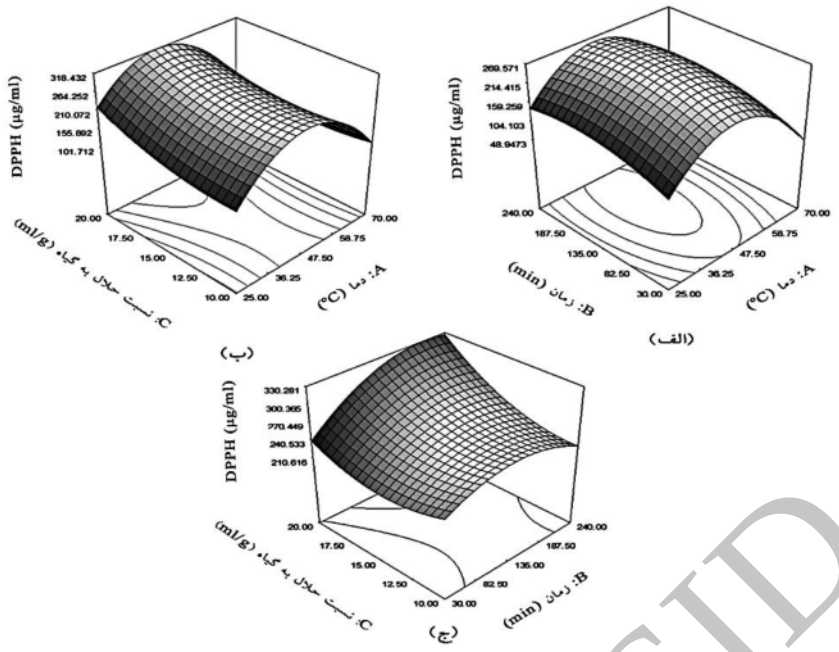
شکل (۲- ب) نشان دهنده تاثیر دو عامل دما و نسبت حلال به گیاه در سطح ثابت زمان (۱۳۵ دقیقه)، بر میزان DPPH می‌باشد. دما تاثیر درجه اول و دوم نزولی را بر DPPH دارا می‌باشد. با توجه به شکل با افزایش دما از ۲۵°C به ۷۰°C میزان DPPH ابتدا افزایش یافته و از ۴۵ °C به بعد کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش نسبت حلال به گیاه به صورت آهسته DPPH افزایش یافته که این افزایش در دمای ۲۵°C بیشتر قابل ملاحظه است و دلیل آن می‌تواند تاثیر کمتر دما نسبت به ۷۰°C بر روی میزان مواد آنتی‌اکسیدانی باشد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با کاهش نسبت مایع به جامد می‌تواند توسط انتقال جرم توضیح داده شود. نسبت مایع به جامد بالاتر، نیروی محرکه‌ی بیشتری در درون جامد ایجاد کرده، که منجر به افزایش میزان انتشار می‌گردد. اثر اصلی نسبت مایع به جامد می‌تواند تغییر دهنده در حلالیت و ثابت تعادل و در نتیجه افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها به میزان حداکثری آن‌ها در پایین‌ترین نسبت مایع به جامد باشد (lai *et al*., 2013).

بر هم کنش دو عامل زمان و نسبت حلال به گیاه در سطح ثابت دما (۴۷/۵ °C)، بر میزان DPPH در شکل (۲- ج) بررسی شده است. تاثیر این دو عامل نسبت به هم بر روی DPPH تقریبا به یک میزان می‌باشد. با توجه به شکل در تمام نسبت‌های حلال به گیاه بیشینه خاصیت آنتی‌اکسیدانی در زمان‌های ۷۲-۳۰ دقیقه می‌باشد که در زمان ۳۰ دقیقه بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را استخراج شده است. این نتیجه حاکی از آن است که ۳۰ دقیقه زمان کافی استخراج آنتی‌اکسیدان‌ها از تاجریزی است. از دیگر مشاهدات مهم این مطالعه می‌توان به این مورد اشاره کرده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش نسبت مایع به جامد کاهش می‌یابد، این در حالی‌است که دمای استخراج، اثر مثبتی بر فعالیت آنتی اکسیدانی، هنگامی که زمان استخراج ثابت است می گذارد (lai *et al*., 2013).

- روابط بین پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف و محتوای فنول کل

در گیاه تاجریزی محتوای ترکیبات فنولی نمی‌تواند به عنوان یک شاخص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شود، ممکن است ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مختلفی مانند فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و پلی ساکارید ها وجود داشته باشند که در مطالعه حاضر مشخص نشده‌اند و می‌تواند به فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها کمک کند. مقدار ضریب تعیین R^2 (جداول ۳ و ۴) برای فنول کل و DPPH نشان از عدم تأثیر ترکیبات فنولی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و با افزایش فنول کل، DPPH افزایش می‌یابد.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲- نمایش نمودار سه بعدی؛ اثر همزمان دو متغیردما-زمان (الف)، دما - نسبت آب به ماده جامد (ب)،زمان- نسبت آب به ماده جامد(ج) بر میزان خاصیت آنتی اکسیدانی

- بهینه‌سازی شرایط استخراج

نتایج فرایند بهینه‌سازی، نشان داد؛ شرایط بهینه استخراج تاجریزی با مقادیر ۱۸/۰۴ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم وزن خشک برای فنول کل و ۶۱/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای DPPH ؛ شامل دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۰ دقیقه و نسبت حلال به ماده‌ی جامد ml/g ۲۰ با درجه مطلوبیت ۰/۸۷۰ تعیین گردید. بررسی عامل‌های استخراج گیاه این پژوهش حاکی از این بود که کمترین IC_{50} یا در واقع بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی توسط روش DPPH مربوط به دمای استخراج $70^{\circ}C$ ، زمان ۳۰ دقیقه و نسبت حلال به گیاه ml/g ۲۰ پیش بینی شد (جدول ۱). این در حالی‌ست که بالاترین محتوای فنول کل در دمای ۲۵ ^{o}C، زمان ۳۰ دقیقه و نسبت حلال به گیاه ml/g ۲۰ در جدول ۱ بود. با توجه به این نتایج، ارتباطی بین محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تاجریزی وجود ندارد. اگرچه برخی از مطالعات ارتباط بین محتوای فنولیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند (Jimoh *et al*., 2010).

عدم وجود همبستگی بین محتوای فنول کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این پژوهش ممکن است به دلیل حضور یکی از موارد زیر باشد: ظرفیت آنتی اکسیدانی مشاهده شده نه تنها به دلیل حضور ترکیبات فنولی، بلکه احتمالاً به دلیل حضور برخی از فیتو شیمیایی‌های دیگر مانند اسید اسکوربیک، توکوفرول‌ها و رنگدانه‌ها بوده که به عنوان اثرات هم‌افزایی میان آن‌ها، به کمک ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌آید. از سوی دیگر، ممکن است در این گیاه روش فولین- سیوکالچو تنها روش اندازه‌گیری مطلق محتوای فنولی کل نباشد. به علاوه، انواع مختلف ترکیبات فنولی خاصیت آنتی‌اکسیدانی مختلف دارند که به ساختار آن‌ها وابسته است. احتمالا عصاره حاوی انواع مختلفی از ترکیبات فنولی است، که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مختلفی دارند.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، مدل چند جمله‌ای درجه دوم نرم افزار RSM برای بهینه سازی شرایط مطلوب، جهت استخراج آنتی‌اکسیدان‌های پلی فنولیک گیاه دارویی تاجریزی به‌وسیله توصیف و پیش‌بینی عملکرد فنول کل و DPPH مورد استفاده قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده از آزمایشات مقدماتی که به بررسی انتخاب حلال مناسب جهت استخراج پرداخته بود، حلال اتانول برای استخراج در نظر گرفته شد. در ادامه، نتایج حاصل از تحقیق بیانگر

Archive of SID

www.SID.ir

کارایی مفید روش سطح پاسخ در بهینه سازی فرایند استخراج تاجریزی بود. نتایج مشخص کننده تاثیر بسزای دما و نسبت حلال به گیاه بر مقدار فنول کل و DPPH تاجریزی بود و اثر زمان نسبت به دو فاکتور دیگر به میزان کمتری بود.

با توجه به فاصله قابل ملاحظه بین مقدار بیشینه و کمینه پاسخ‌ها می‌توان به این نتیجه رسید که بهینه‌سازی عامل‌های استخراج می‌تواند هزینه و کیفیت فرایندها، به ویژه فرایندهای صنعتی را ارتقا دهد. بایستی اشاره نمود که هدف از انجام این تحقیق، به دست آوردن شرایط تأثیرگذار بر استخراج ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی از تاجریزی به عنوان یک کار آغازین بود که به هر حال، انجام تحقیقات بیشتر در این رابطه ضروری جلوه می نماید و در نهایت مطالعات بیشتر در مورد تعداد مطلوب گام‌های متوالی به منظور ارتقاء اثربخشی سیستم استخراج در مقیاس‌های بزرگ مورد نیاز است.

منابع

اکبرزاده، ع.، جایمند، ک.، همتی، ا. و خانجانی شیراز، ب. (۱۳۸۹). گیاهان دارویی استان گیلان و قسمت های مورد استفاده آنها. *فصلنامهٔ علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، شماره ۳، صفحه ۳۲۶-۳۴۷.

قادری قهفرخی، م.، صادقی ماهونک، ع.، اعلمی، م.، عزیزی، م. ح. و قربانی، م. (۱۳۹۱). تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های فنولی میوه یک واریته بلوط ایرانی (*Q.castaneifolia var. castaneifolia*). *فصلنامه علوم و صنایع غذایی*، شماره ۳۵، صفحه ۵۶-۴۵.

کرمی، ز.، میرزائی، ح.، امام جمعه، ز.، صادقی ماهونک، ع.، خمیری، م. و آیدانی، ع. (۱۳۸۹). مدلسازی و بهینه سازی استخراج ترکیبات فنولیک از ریشه شیرین بیان به کمک امواج مایکروویو. *مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، شماره ۴، صفحه ۵۵-۳۵.

Akrout, A., Gonzalez, L. A., Jani, H. E. & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of Artemisia campestris and Thymelaea hirsuta from southern Tunisia, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 342-347.

Al-Fatimi, M., Wurster, M., Schroder, G. & Lindequist, U. (2007). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen, *Journal of Ethnopharmacology,* 111, 657-666.

Chan, S. W., Lee, C. Y., Yap, C. F., Wan Aida, W. M. & Ho, C. W. (2009). Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *International Food Research Journal*, 16, 203-213.

Dai, J., Mumper, RJ. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.

Edmonds, J. & Chweya, J. (1997). *Black nightshades*. Rome: IPGRI.

Gong, Y., Hou, Z., Gao, Y., Xue, Y., Liu, X. & Liu, G. (2012). Optimization of extraction parameters of bioactive components from defatted marigold (*Tagetes erecta L.*) residue using response surface methodology. *Food and bioproducts processing*, 90, 9-16.

Jimoh, F. O., Adedapo, A. A. & Afolayan, A. J. (2010). A Comparison of the nutritional value and biological activities of the acetone, methanol and water extracts of the leaves of *Solanum nigrum* and *Leonotis leonorus*. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 964-971.

Lai, J., Xin, C., Zhao, Y., Feng, B., He, C., Dong, Y., Fang, Y., He, C., Dong, Y., Fang, Y. & Wei, SH. (2013). Optimization of Ultrasonic Assisted Extraction of Antioxidants from Black Soybean (*Glycine max var*) Sprouts Using Response Surface Methodology. *Molecules*, 18, 1101-1110.

Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S. & Tsao, R. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130, 928-936.

Mau, J. L., Lin, H. C. & Chen, C. C. (2002). Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6072-6077.

Michiels, J. A., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O. & Dommes, J. (2012). Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. *Food Chemistry*, 130, 986-993.

Middleton, E., Kandaswami, C. & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.

Nirmal, S. A., Patel, A. P., Bhawar, S. B. & Pattan, S. R. (2012). Antihistaminic and antiallergic actions of extracts of *Solanum nigrum* berries: Possible rolein the treatmen to

Archive of SID

www.SID.ir

fasthma. *Journal of Ethnopharmacology*, 142, 91-97.

Sarker, S. D., Latif, Z. & Gray, A. I. (2006). *Natural products isolation*. Humana Press Inc, 51, 1322-1330.

Son, Y. O., Kim, J., Lim, J. C., Chung, Y., Chung, G. H. & Lee, J. C. (2003). Ripe fruits of *Solanum nigrum L*. inhibits cell growth and induces apoptosis in MCF-7 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1421-1428.

Sultana, S., Perwaiz, S., Iqbal, M. & Athar, M. (1995). Crude extracts of hepatoprotective plants, *Solanum nigrum* and *Cichorium intybus* inhibit free radical-mediated DNA damage. *Journal of Ethnopharmacology*, 45, 189-192.

Sun, Y., Xu, W., Zhang, W., Hu, Q. & Zeng, X. (2011). Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng by using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 78, 311-320.

Xiao, C. H., Yang, S. S. & Hong, X. K. (2000). *The Chemistry of Traditional Chinese Medicines*. Shanghai Science and Technology Publishing House: Shanghai, China.

Archive of SID

www.SID.ir