



بهینه‌سازی شرایط فرایندی استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی میوه خرماي ایران با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

زرین نصری*

استادیار پژوهشی، مهندسی شیمی، گروه فناوری‌های شیمیایی سبز، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

(تاریخ دریافت: 96/5/21، تاریخ بازنگری: 96/9/17، تاریخ پذیرش: 96/9/19)

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد و اکسنشگر را مهار کنند و از اکسیداسیون مولکول‌های دیگر جلوگیری نمایند، بنابراین در پیشگیری بیماری‌های مختلف نقشی اساسی دارند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که علاوه بر ارزش تغذیه‌ای خرما، عصاره‌های این میوه توانایی زیادی در مهار رادیکال‌های آزاد به‌واسطه حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی دارند. هدف از این مطالعه آنالیز آماری و بهینه‌سازی شرایط فرایندی استخراج عصاره یک نمونه از میوه خرماي ایران با استفاده از روش سطح پاسخ برای اولین بار می‌باشد. از حلال متانول به منظور استخراج استفاده شده است. متغیرهای مستقل شامل زمان استخراج (30، 60 و 90 min)، درجه حرارت (30، 50، 70 °C)، نسبت حلال به جامد (10، 25 و 40 cc/gr) و درصد حلال متانول (10، 50 و 90 v/v) می‌باشند. ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه خرما به‌عنوان متغیرهای پاسخ در نظر گرفته شده‌اند. طراحی باکس-بنکن و روش سطح پاسخ برای تعیین سطوح پارامترها و مدل کردن پاسخ‌ها، به ترتیب استفاده شده‌اند. نتایج نشان می‌دهد که شرایط بهینه برای حداکثرسازی استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما، شامل زمان استخراج، 90 min، درجه حرارت، 70 °C، نسبت حلال به جامد، 39/89 cc/gr، درصد حلال 10/11 v/v می‌باشد که منجر به استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما به میزان 633/36 mg GAE/ 100g FW و 59/46 % بر پایه مهار رادیکال DPPH، به ترتیب می‌گردد. شرایط پیش‌بینی شده با مقادیر تجربی به‌خوبی مطابقت دارد که بیانگر دقت مدل است.

واژه‌های کلیدی: میوه خرما، استخراج عصاره، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روش سطح پاسخ.

1- مقدمه

را مورد ارزیابی قرار دادند. در این بررسی عصاره‌های متانولی و پترولیم اتر و آبی میوه خرما مورد استفاده قرار گرفت. آن‌ها قسمت خوراکی و هسته‌های خرما را مورد ارزیابی قرار دادند. میزان ترکیبات فنلی کل قسمت خوراکی $1461 \text{ mg GAE}/100 \text{ g dw}$ تعیین گردید. آن‌ها بیان کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قسمت خوراکی به‌واسطه وجود ترکیبات فنلی و آلفا توکوفرول است [12]. منصوری و همکاران ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه خرما را در کشور الجزیره را مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی از حلال آب- متانول استفاده شده است. نتایج آن‌ها نشان داد که میزان ترکیبات فنلی کل خرما در محدوده $8/36 - 2/49 \text{ mg GAE}/100 \text{ g FW}$ است [13]. عباس و همکاران چند نمونه خرما را در کشور مالزی از نقطه‌نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار دادند. در این بررسی از حلال آب- متانول استفاده شده است [6]. الایت و همکاران میوه‌های خرما را از کشور بحرین را از نقطه‌نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی در مراحل مختلف رشد مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله خرما نرسیده است [7]. بیگلری و همکاران میوه خرما را به منظور ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بررسی کردند. نمونه‌های خرما مورد استفاده شامل چهار نوع خرما رطب، سه نوع خرما نیمه خشک و یک نوع خرما خشک می‌باشد. در این بررسی از حلال متانول- آب استفاده شده است. میزان ترکیبات فنلی خرماهای مورد بررسی در محدوده $2/89 - 141/31 \text{ mg GAE}/100 \text{ g dw}$ تغییر می‌کند [14]. ال ترکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و هسته‌های خرما را در کشورهای آمریکا و عربستان سعودی را مورد ارزیابی قرار داد. خرما Deglet Nour حدود 90% خرما کالیفرنیا را تشکیل می‌دهد. مقدار ترکیبات فنلی کل در حدود $225/02 \text{ mg GAE}/100 \text{ g fw}$ برای خرما آمریکا و $507/03 \text{ mg GAE}/100 \text{ g fw}$ برای خرما عربستان سعودی گزارش گردید [15]. احمد خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی گیاهان مختلف از جمله خرما را مورد ارزیابی قرار داد. در این بررسی میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها اندازه‌گیری شد و میزان ترکیبات فنلی خرما $498/97 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$ بیان گردید [16]. خانوی و

درخت خرما با نام علمی "*Phoenix dactylifera*" از تیره نخل‌ها¹ می‌باشد [1، 2]. خرما یکی از قدیمی‌ترین گیاهان است که برای حدود 6000 سال به‌عنوان غذا مصرف شده است. خرما در 35 کشور در سراسر دنیا تولید می‌شود و در حدود 4000 گونه از این میوه وجود دارد. ایران بعد از مصر و عربستان رتبه سوم تولید این محصول را دارد [3، 4]. در ایران سالانه بیش از یک میلیون تن خرما تولید می‌شود، که از آن میان 600 هزار تن ضایعات خرما است. خرما به‌عنوان یکی از ارزان‌ترین و مطمئن‌ترین منبع آنتی‌اکسیدانی در کشورهای خاورمیانه محسوب می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های خرما به‌واسطه حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که حتی هسته‌های خرما نیز شامل مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان هستند [5، 6]. فنل‌های موجود غالب در میوه‌های خرما به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های خیلی فعال محسوب می‌شوند. خرما هم‌چنین شامل آنتی‌اکسیدان‌های قابل حل در آب مانند ویتامین C است [7، 8].

ال- فارسی و همکاران بعضی از خواص شامل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی سه نمونه خرما تازه و خشک کشور عمان را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که تمام گونه‌های خرما یک منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. آن‌ها نتیجه گرفتند که ترکیبات فنلی کل عصاره‌های خرما از $134 - 280 \text{ mg FAE}/100 \text{ g}$ در مورد گونه‌های تازه و در محدوده $217 - 343 \text{ mg FAE}/100 \text{ g}$ در مورد گونه‌های خشک تغییر می‌کند [9]. گو و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی قسمت‌های مختلف 28 میوه متداول در چین شامل خرما را بررسی کردند. نتایج نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی خرما در مرتبه دوم قرار دارد [10]. وایلیل عصاره‌های آبی خرما را از کشور عمان را از نقطه نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد انگلی مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفت که عصاره میوه خرما به میزان زیادی برای بازدارندگی پراکسیداسیون چربی و اکسیداسیون پروتئین موثر بود. مقدار عصاره تازه لازم برای مهار 50٪ رادیکال‌های سوپراکسید برابر با $0/8 \text{ mg/ml}$ میوه خرما با روش نورسنجی ریپوفلاوین بود. [11]. دوها و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی کل خرما را مورد

همکاران پنج گونه خرماي عربستان سعودی را از نظر ظرفیت آنتی اکسیدانی در مراحل مختلف رشد مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی از حلال متانول استفاده شده است. بررسی نشان می دهد که فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی در طی مراحل رشد کاهش می یابد [24].

در این مقاله بررسی آماری استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی میوه خرماي ایران با روش سطح پاسخ برای اولین بار صورت گرفته است. تاثیر پارامترهای متغیر شامل زمان استخراج، درجه حرارت، نسبت حلال به جامد و درصد حلال متانول بر ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما به صورت مستقل و هم چنین آثار متقابل آن ها ارزیابی شده است. شرایط بهینه استخراج برای حداکثر نمودن پارامترهای هدف با استفاده از مدل درجه دوم حاصل شده توسط روش RSM و با نتایج تجربی مقایسه شده است.

2- مواد و روش ها

2-1- تهیه و آماده سازی میوه خرما

نمونه خرماي ایران به نام زاهدی از مرکز توزیع شهر تهران خریداری شده و مورد استفاده قرار گرفته است. میوه های بالغ با اندازه های یکنواخت، عاری از خرابی فیزیکی و زیان حشرات انتخاب شده و برای همه تجربیات استفاده گردید. در آزمایشگاه نمونه ها در درجه حرارت 4°C نگهداری شدند. در هنگام استفاده خرماي خریداری شده با آب شیر شسته شده، از مواد خارجی عاری شده و هسته ها از خرما جدا گردید. سپس خرما با استفاده از یک هاون بصورت خمیر در آمده، در بسته های پلی اتیلنی بسته بندی شده و در درجه حرارت 4°C قرار داده شد.

اسید گالیک و فولین سیوکالتیو از شرکت مرک ساخت آلمان و DPPH از شرکت سیگما ساخت آمریکا خریداری شده اند. همه مواد شیمیایی و معرف ها گرید آنالیتیکال داشتند.

2-2- فرایند استخراج

استخراج با حلال متانول با درصدهای مختلف صورت گرفته است. برای استخراج از محفظه های شیشه ای با حجم 250 ml

همکاران فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی کل عصاره های میوه خرماي ایران را با حلال های مختلف از جمله آب و متانول 50٪ مورد ارزیابی قرار دادند و میزان ترکیبات فنلی کل عصاره های میوه خرماي ایران را با حلال های مختلف از جمله آب، متانول 50٪ در محدوده 102/72 mg GAE/ mg df تا 276/85 mg GAE/ 100g گزارش دادند [17]. لیولیوس و همکاران فعالیت آنتی اکسیدانی یک نمونه خرماي وحشی کشور یونان را مورد ارزیابی قرار دادند. در این بررسی از عصاره متانولی استفاده شد [18]. صافی و همکاران مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی چهار گونه میوه خرماي کشور تونس را مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی از حلال متانول- آب استفاده شده است. آن ها میزان ترکیبات فنلی چهار گونه میوه خرماي کشور تونس را در محدوده 209/42 mg GAE/ 100g fw تا 447/73 mg GAE/ 100g fw گزارش کردند. [19]. بیگلری و همکاران اثر ذخیره دراز مدت در سرما را بر ظرفیت آنتی اکسیدانی خرماي ایران مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان می دهد که ترکیبات فنلی کل و ترکیبات فلاونوئیدی کل در طی ذخیره افزایش یافته است. حلال مورد استفاده شامل آب- متانول بود. آن ها میزان ترکیبات فنلی کل خرماي ایران را در محدوده 3/29-197/41 mg GAE/ 100 g dw با حلال آب- متانول گزارش کردند [20]. المعمری و همکاران فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های خرماهای عربستان سعودی و عراق را مورد ارزیابی قرار دادند. در این تحقیق سه گونه مختلف خرما مورد ارزیابی قرار گرفت. از حلال اتانول- آب جهت استخراج استفاده شد [21]. کاستی و همکاران فعالیت آنتی اکسیدانی 16 نمونه از میوه های ذکر شده در قرآن از جمله خرما را مورد ارزیابی قرار دادند. در این بررسی از حلال اتانول- آب استفاده شد و ترکیبات فنلی کل خرما را 47/4 mg GAE/ g FW گزارش کردند [22]. حسن و همکاران سه گونه میوه خرماي کشور لیبی را از نظر مواد غذایی و فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی از آب مقطر به عنوان حلال استفاده شد و میزان ترکیبات فنلی را در محدوده 51/67 تا 71/62 GAE/100g گزارش کردند [23]. دهاوادی و همکاران عصاره خرماي تونس را از نقطه نظر فعالیت آنتی اکسیدانی ارزیابی نمودند. از حلال آب استفاده شده است [8]. عواد و

محلول DPPH به‌عنوان محلول کنترل تهیه می‌شود. سپس میزان جذب نمونه‌ها در 517 nm به‌وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود. میزان جذب برای متانول به صفر تنظیم شده و برای محلول نمونه‌ها و محلول کنترل ثبت می‌گردد. درصد بازدارندگی رادیکال DPPH از محلول کنترل محاسبه می‌گردد.

$$\text{درصد فعالیت مهار رادیکال DPPH} = \frac{A_b - A_s}{A_b} \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه A_b ، جذب محلول کنترل و A_s ، جذب نمونه است [21].

2-4- روش آماری

روش سطح پاسخ (RSM) به‌عنوان یک ابزار موثر و قوی برای بهینه‌سازی فرایندهای شیمیایی و غذایی استفاده می‌شود. این روش به‌ویژه در شرایطی که چند متغیر مستقل روی پاسخ مطلوب تاثیر می‌گذارد، اهمیت وافری دارد. هدف از این بررسی بهینه‌سازی شرایط فرایندی استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه خرما با روش سطح پاسخ است. متغیرهای مستقل در این بررسی شامل زمان استخراج، درجه حرارت، نسبت حلال به جامد (میوه خرما) و درصد حلال (متانول) است. متغیرهای پاسخ شامل ترکیبات فنلی استخراج شده به ازاء 100 g میوه خرما و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌باشد. به‌طور خلاصه 31 آزمایش انجام شده است. بررسی آماری و بهینه‌سازی شرایط فرایندی با روش سطح پاسخ با استفاده از نرم‌افزار Design Expert-version 7 انجام شده است. روش طراحی باکس بنکن برای مطالعه آثار متغیرهای مستقل روی متغیرهای پاسخ یا وابسته مورد استفاده قرار گرفته است. RSM یک طراحی Central Composite با چهار فاکتور طراحی شامل 31 اجرای تجربی با هفت بار تکرار در نقطه مرکزی ارائه داده است. سایر پارامترها شامل سرعت همزدن برابر با 200 دور بر دقیقه در همه آزمایش‌ها ثابت استفاده شده است. در این روش اطلاعات به‌دست آمده از طراحی Central Composite با یک چند جمله‌ای مرتبه دوم به‌شرح زیر برآزش می‌شود.

استفاده شد. ابتدا حلال به میزان مورد نظر وارد محفظه شیشه‌ای می‌شود و شیشه در دستگاه Shaker-Incubator در درجه حرارت مورد نظر قرار می‌گیرد. محفظه استخراج به منظور جلوگیری از تبخیر حلال به صورت بسته است. هم‌چنین از آن جایی که همزدن باعث افزایش انتقال جرم می‌شود، دور همزدن برابر با 200 rpm در همه آزمایش‌ها قرار داده می‌شود. پس از آن که استخراج صورت گرفت، سوسپانسیون حاصل فیلتر می‌گردد. سپس دو بار از عصاره مایع حاصل از استخراج نمونه برداری شده و میزان عصاره خشک اندازه‌گیری می‌شود. باقی‌مانده عصاره پس از تغلیظ تا رسیدن به وزن ثابت در آن حرارت داده می‌شود و عصاره‌های خشک در شرایط سرد و خشک نگهداری می‌شود تا آنالیزهای مربوط روی آن‌ها انجام گیرد.

2-3- آنالیز

آنالیز ترکیبات فنلی بر اساس روش رنگ‌سنجی معرف فولین سیوکالتیو انجام شده است. این روش بر اساس میزان نمونه لازم برای جلوگیری از بازدارندگی اکسیداسیون معرف است. روش FC به‌عنوان یک روش استاندارد برای ترکیبات فنلی در همه مراجع پذیرفته شده است. این روش بر اساس مقدار جسمی از ماده مورد آزمایش است که برای بازدارندگی اکسیداسیون معرف مورد نیاز است. محصولات احیاء اکسید فلز دارای رنگ آبی است که جذب نور وسیعی با یک حداکثر در 765 nm به نمایش می‌گذارد. شدت جذب نور در این طول موج متناسب با غلظت فنل‌ها است. جذب به‌وسیله یک اسپکتروفتومتر UV-VIS با یک سل با اندازه یک سانتی‌متر اندازه‌گیری شده است. منحنی استاندارد بر اساس گالیک اسید ترسیم گردیده و میزان ترکیبات فنلی عصاره میوه خرما مطابق گالیک اسید بر حسب mg GAE/g اندازه‌گیری شده است.

در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه خرما ابتدا محلول متانولی از هر نمونه شامل 1 mg/ml تهیه می‌شود. مقدار لازم عصاره میوه خرما در غلظت‌های مختلف به 1/5 ml محلول DPPH با غلظت مناسب اضافه می‌شود. مخلوط‌ها به هم زده شده و در شیشه‌های قهوه‌ای در درجه حرارت اطاق برای مدت 30 min می‌ماند. یک محلول شاهد شامل متانول و

با توجه به جدول (3) در مورد پارامتر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما نتایج زیر به دست می آید:

1- چنان که مشاهده می گردد F-Value مدل درجه دوم برابر با 12/44 است که بیانگر این است مدل معنادار است. این پارامتر آزمون برای مقایسه واریانس مدل با واریانس باقی مانده است. اگر واریانس ها به یکدیگر نزدیک باشند، این نسبت به یک نزدیک خواهد بود. مقدار بالای این پارامتر برای مدل بیانگر کارایی مدل است.

2- مقادیر $\text{prob} > F$ کم تر از 0/05 نشان می دهد که جملات مربوط به پارامترهای زمان استخراج، درجه حرارت و درصد حلال بر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی تاثیر معناداری می گذارند، اما پارامتر نسبت حلال به جامد تاثیر معناداری بر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی ندارد.

3- چنان که مشاهده می شود مقدار p-value مربوط به آثار متقابل جمله AB کم تر از 0/05 است (0/001)، بنابراین تاثیر معناداری بر مدل دارد. به عبارت دیگر پارامترهای زمان و درجه حرارت دارای اثر متقابل می باشند. مقادیر p-value سایر جملات بزرگ تر از 0/05 است، بنابراین تاثیر معناداری بر مدل ندارند و می توانند از مدل حذف گردند.

4- در مورد جملات درجه دوم، جمله B^2 (توان دوم پارامتر درجه حرارت) دارای مقدار p-value کم تر از 0/05 است (0/0136) و تاثیر معناداری بر مدل دارد. سایر جملات درجه دوم تاثیر معناداری بر مدل ندارند و می توانند از مدل حذف گردند.

5- مقدار F-value مربوط به Lack of Fit در این مدل برابر با 1/69 است. بیانگر آن است که عدم برازش معنادار نیست. به عبارت دیگر مدل داده های تجربی را برازش می کند ($p\text{-value} > 0/05$).

6- مقدار R-Squared برابر با 0/9158 نشان می دهد که این عدد کاملاً به یک نزدیک بوده و بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است.

7- Adeq Precision نسبت سیگنال به نویز را اندازه گیری نموده و محدوده مقادیر پیش بینی شده را در نقاط طراحی با میانگین خطای پیش بینی مقایسه می کند. این پارامتر بیانگر کارایی مدل برای پیش بینی پاسخ است. یک نسبت بزرگ تر از 4 مطلوب است. در این مدل عدد 14/87 بیانگر سیگنال

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^4 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

در این رابطه، Y، پارامتر پاسخ (شامل چهار متغیر وابسته فوق)، β_0 ، ثابت، β_i ، ضریب خطی، β_{ii} ، ضریب درجه دوم، β_{ij} ، ضریب تقابل و X_i و X_j پارامترهای مستقل هستند.

3- نتایج و بحث

3-1- بررسی آماری بهینه سازی شرایط فرایندی با روش سطح پاسخ

جدول (1) مقادیر واقعی و کددار متغیرهای مستقل مورد استفاده برای طراحی تجربی استخراج خرما را نشان می دهد. جدول (2) مقادیر متغیرهای مستقل مورد استفاده برای طراحی آزمایشات و نتایج تجربی متغیرهای پاسخ را نشان می دهد.

جدول (1) مقادیر واقعی و کددار متغیرهای مستقل مورد استفاده برای طراحی تجربی

Table 1 The real and coded values of independent variables for experimental design

مقادیر کددار Coded values			مقادیر واقعی Real values	متغیرهای مستقل Independent variables
-1	0	1		
30	60	90		زمان استخراج Extraction time (min)
30	50	70		درجه حرارت Temperature (°C)
10	25	40		نسبت حلال به جامد Solvent to solid ratio (cc/g)
10	50	90		درصد حلال Solvent concentration (v/v)

3-2- ارزیابی پارامتر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما

هدف از بررسی حاضر بهینه سازی فعالیت آنتی اکسیدانی به عنوان پارامتر پاسخ می باشد. جدول (3) نتایج ANOVA را برای ارزیابی پارامتر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی در مورد مدل کامل درجه دوم با آثار متقابل نشان می دهد.

جدول (2) طراحی تجربی متغیرها و نتایج تجربی متغیرهای پاسخ

Table 2 Experimental design of variables and the test results of responses

فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity (DPPH radical scavenging)	ترکیبات فنلی کل Total phenolic contents (mg GAE/100 g FW)	درصد حلال Solvent concentration (v/v)	نسبت حلال به جامد Solvent to solid ratio (cc/g)	درجه حرارت Temperature (°C)	زمان استخراج Extraction time (min)	شماره آزمایش Test No.
15.21	206.24	90	10	70	30	1
10.29	135.43	90	40	30	30	2
21.80	276.56	90	25	50	60	3
23.63	117.82	10	10	70	30	4
7.68	137.46	90	10	30	30	5
37.69	453.55	90	10	70	90	6
24.24	242.18	50	25	50	60	7
46.57	464.63	50	25	70	60	8
20.16	266.59	90	40	70	30	9
11.42	202.88	90	10	30	90	10
17.68	217.80	10	40	30	30	11
25.87	278.84	50	25	50	60	12
25.49	208.22	50	25	30	60	13
23.52	379.78	10	25	50	60	14
28.29	345.85	50	25	50	90	15
34.26	281.54	50	25	50	60	16
26.12	331.14	10	40	70	30	17
20.39	254.12	50	10	50	60	18
23.53	210.03	90	40	30	90	19
32.18	376.89	50	40	50	60	20
27.31	295.80	50	25	50	60	21
34.81	441.46	90	40	70	90	22
19.07	224.61	10	10	30	30	23
60.19	569.42	10	10	70	90	24
26.87	308.57	50	25	50	60	25
30.29	307.51	10	40	30	90	26
20.74	294.05	10	10	30	90	27
33.89	324.32	50	25	50	60	28
25.81	358.79	50	25	50	60	29
19.69	284.94	50	25	50	30	30
61.90	637.48	10	40	70	90	31

تاثیر منفی است. هم‌چنین مشاهده می‌گردد که اثر توان دوم پارامترها تاثیر معنی‌داری بر پاسخ‌ها ندارد. این نتیجه منطبق بر سایر مراجع در مورد استخراج عصاره‌های سیب [25]، انگور [26] و گوجه فرنگی [27] است.

کافی است. جدول (4) میزان ضرائب جملات مدل را نشان می‌دهد. چنان‌که مشاهده می‌گردد پارامتر درجه حرارت و زمان استخراج بیش‌ترین تاثیر را روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. پارامتر غلظت حلال در مرتبه سوم قرار دارد و دارای

جدول (3) نتایج ANOVA برای ارزیابی پارامتر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل

Table 3 ANOVA for response surface full quadratic model including interactions for response of antioxidant activity

مقدار P p-value	مقدار F F Value	میانگین مربعات Mean Square	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of Squares	منبع Source
< 0.0001	12.44	291.82	14	4085.50	مدل Model
< 0.0001	52.81	1239.11	1	1239.11	زمان استخراج-A A-Extraction Time (min)
< 0.0001	60.69	1424.10	1	1424.10	درجه حرارت-B B-Temperature (°C)
0.0637	3.97	93.11	1	93.11	نسبت حلال به جامد-C C-Solvent to Solid Ratio (cc/g)
0.0002	23.93	561.58	1	561.58	درصد حلال-D D-Solvent Concentration (v/v)
0.0010	16.30	382.46	1	382.46	AB
0.5501	0.37	8.75	1	8.75	AC
0.1128	2.82	66.07	1	66.07	AD
0.4033	0.74	17.30	1	17.30	BC
0.1527	2.25	52.91	1	52.91	BD
0.8224	0.05	1.22	1	1.22	CD
0.2364	1.51	35.51	1	35.51	A ²
0.0136	7.69	180.40	1	180.40	B ²
0.6462	0.22	5.13	1	5.13	C ²
0.1138	2.80	65.66	1	65.66	D ²
		23.46	16	375.43	باقیمانده Residual
0.2694	1.69	27.70	10	276.98	عدم برازش Lack of Fit
		16.41	6	98.45	خطای خالص Pure Error
			30	4460.93	مجموع مربعات کل Cor Total
0.9158	R ² R-Squared		4.84		انحراف استاندارد Std. Dev.
0.8422	R ² متعادل شده Adj R-Squared		26.99		میانگین Mean
0.5609	R ² پیش گویی Pred R-Squared		17.95		ضریب تغییرات C.V. %
14.87	دقت کافی Adeq Precision		1958.75		مجموع مربع های خطای پیش بینی شده PRESS

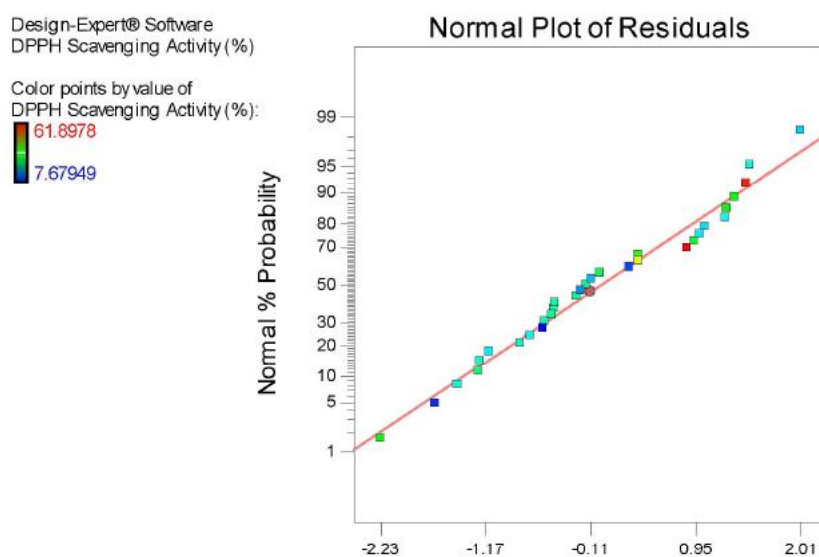
جدول (4) ضرائب جملات مدل درجه دوم برای پیش‌بینی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دو حالت واقعی و کد دار

Table 4 The second order model terms coefficients for prediction of antioxidant activity response in real and coded cases

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH) (کددار) Antioxidant Activity (DPPH scavenging activity) (coded)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH) (واقعی) Antioxidant Activity (DPPH scavenging activity) (real)	=
28.0315	30.3295	
8.2970	0.4059	زمان استخراج* *Extraction Time (min)
8.8947	-1.9283	درجه حرارت* * Temperature (°C)
2.2743	0.5159	نسبت حلال به جامد* * Solvent to Solid Ratio (cc/g)
-5.5856	0.3785	درصد حلال* * Solvent Concentration (v/v)
4.8892	0.0081	درجه حرارت* زمان استخراج* * Extraction Time (min) * Temperature (°C)
0.7393	0.0016	نسبت حلال به جامد* زمان استخراج* * Extraction Time (min) * Solvent to Solid Ratio (cc/g)
-2.0321	-0.0017	درصد حلال* زمان استخراج* * Extraction Time (min) * Solvent Concentration (v/v)
-1.0397	-0.0035	نسبت حلال به جامد* درجه حرارت* * Temperature (°C) * Solvent to Solid Ratio (cc/g)
-1.8184	-0.0023	درصد حلال* درجه حرارت* * Temperature (°C) * Solvent Concentration (v/v)
0.2764	0.0005	درصد حلال* نسبت حلال به جامد* * Solvent to Solid Ratio (cc/g) * Solvent Concentration (v/v)
-3.6991	-0.0041	زمان استخراج* * Extraction Time (min) ²
8.3375	0.0208	درجه حرارت* * Temperature (°C) ²
-1.4066	-0.0063	نسبت حلال به جامد* * Solvent to Solid Ratio (cc/g) ²
-5.0301	-0.0031	درصد حلال* * Solvent Concentration (v/v) ²

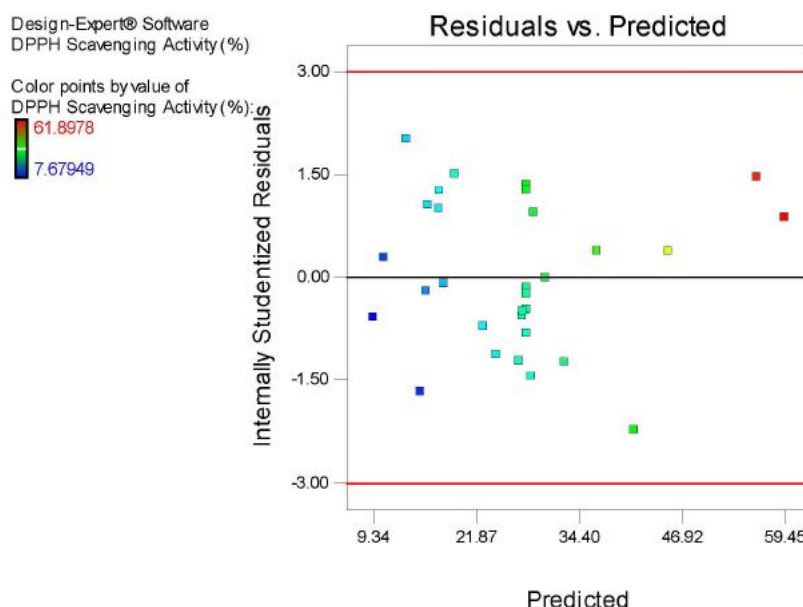
3-2-1- نمودارهای ارزیابی مدل

مشاهده می‌گردد نقاط در بین دو خط قرار دارند. بنابراین مدل شکل (1) نمودار نرمال باقی‌مانده‌ها را نشان می‌دهد. به‌خوبی داده‌های تجربی را برازش می‌کند. شکل (3) مقادیر چنان‌که مشاهده می‌شود نقاط روی خط راست قرار دارند و از توزیع نرمال تبعیت می‌کنند. شکل (2) نمودار باقی‌مانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده را نشان می‌دهد. چنان‌که



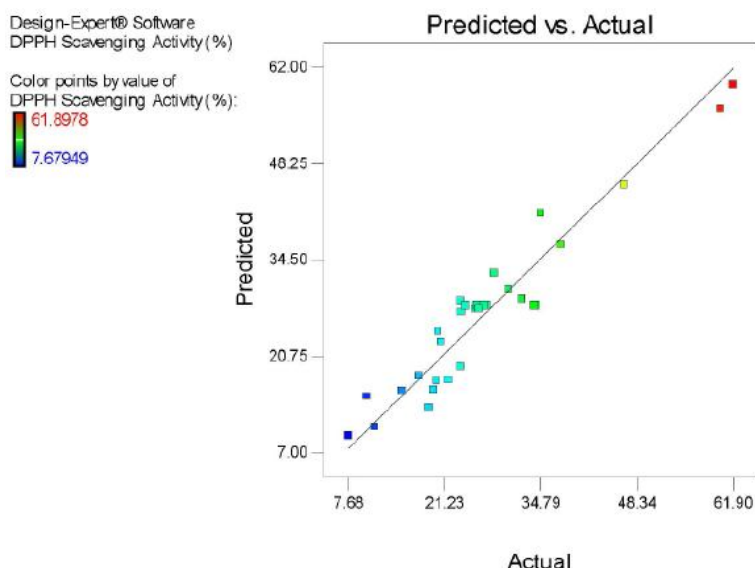
شکل (1) نمودار نرمال باقی‌مانده‌ها در مورد پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما

Fig. 1 The normalized residuals plot for antioxidant activity of date extract



شکل (2) نمودار باقی‌مانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده در مورد پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما

Fig.2 The residuals versus predicted values plot for antioxidant activity of date extract



شکل (3) مقادیر داده‌های تجربی بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده به‌وسیله مدل در مورد پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما

Fig.3 The experimental data versus predicted value plot for the model of antioxidant activity of date extract

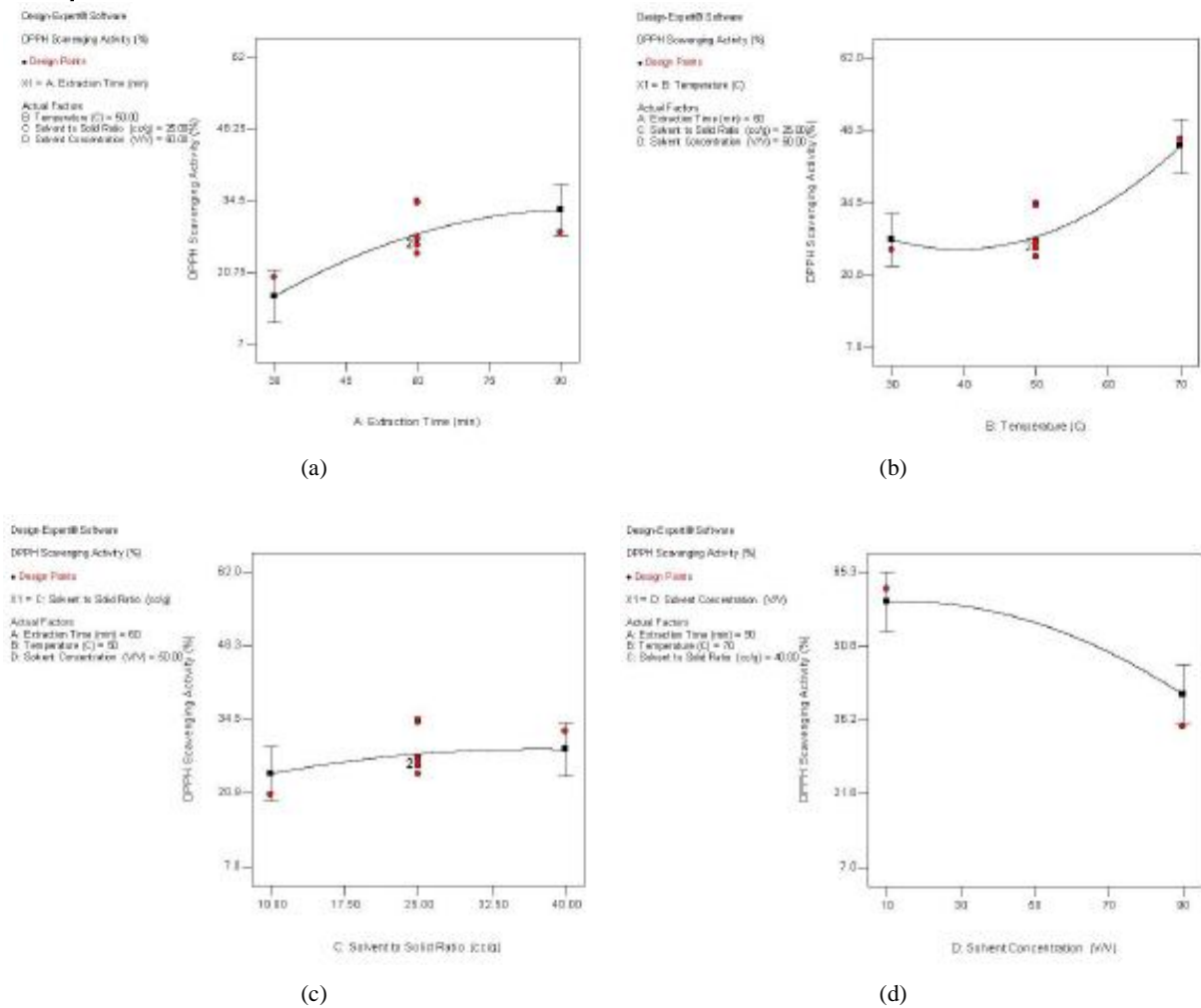
3-2-2- نمودارهای یک فاکتوری

گرفته شده است (زمان استخراج: 60 min، درجه حرارت: 50 °C، غلظت حلال: 50 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش نسبت حلال به جامد تاثیر معناداری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ندارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای این پارامتر برابر با 0/0637 است که بیانگر معنادار نبودن تاثیر این پارامتر است. شکل (4-d) تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر درصد حلال نشان می‌دهد. سایر پارامترها ثابت در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 60 min، درجه حرارت: 70 °C، نسبت حلال به جامد: 40 cc/g). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش غلظت حلال تاثیر معناداری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای این پارامتر برابر با 0/0002 است که بیانگر معنادار بودن تاثیر این پارامتر است.

3-2-3- نمودارهای دو فاکتوری کانتور و سطح پاسخ

شکل‌های (5-a) و (5-b) کانتور دو بعدی و نمودار سطح پاسخ سه بعدی تاثیر درجه حرارت و زمان استخراج را روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما نشان می‌دهند. سایر پارامترها در مقادیر ثابت هستند (نسبت حلال به جامد:

شکل (4-a) تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر زمان استخراج نشان می‌دهد. سایر پارامترها در مقادیر حد وسط در نظر گرفته شده است (درجه حرارت: 50 °C، نسبت حلال به جامد: 25 cc/g، درصد حلال: 50 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش زمان استخراج تاثیر معناداری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای پارامتر زمان استخراج 0/0001 است که بیانگر معنادار بودن تاثیر این پارامتر است. شکل (4-b) تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر درجه حرارت نشان می‌دهد. سایر پارامترها در مقادیر حد وسط در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 60 min، نسبت حلال به جامد: 25 cc/g، درصد حلال: 50 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش درجه حرارت تاثیر معناداری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای پارامتر درجه حرارت 0/0001 < است که بیانگر معنادار بودن تاثیر این پارامتر است. شکل (4-c) تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر نسبت حلال به جامد نشان می‌دهد. سایر پارامترها در مقادیر حد وسط در نظر

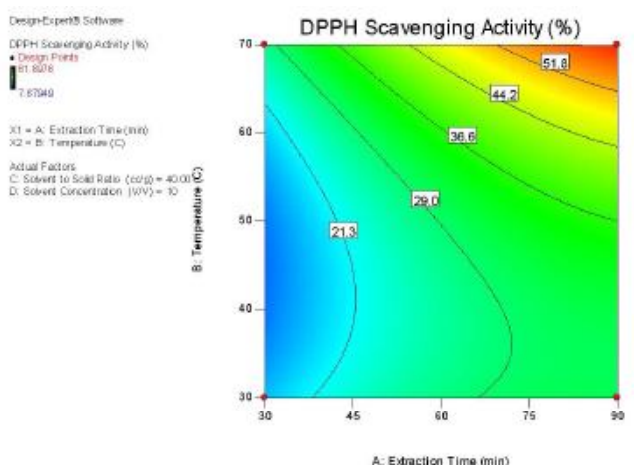


شکل (4) تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی به عنوان پارامتر پاسخ بر حسب (a) زمان استخراج (b) درجه حرارت (c) نسبت حلال به جامد (d) درصد حلال

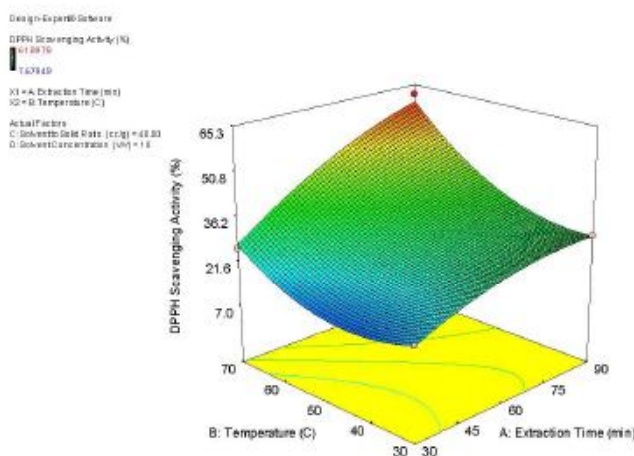
Fig.4 Effects of a) extraction time, b) temperature, c) solvent to solid ratio, d) solvent concentration on antioxidant activity response

شکل حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی در حداکثر درجه حرارت (70 °C) و حداکثر زمان استخراج (90 min) صورت می گیرد. شکل های (a-6) و (b-6) کانتور دو بعدی و نمودار سطح پاسخ سه بعدی تاثیر نسبت حلال به جامد و درجه حرارت را روی پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما نشان می دهند. سایر پارامترها در مقادیر ثابت هستند (زمان استخراج: 90 min، درصد حلال: 10 v/v). چنان که مشاهده می گردد افزایش درجه حرارت و نسبت حلال به جامد باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما می گردند. ولی تاثیر افزایش درجه حراد در این شکل مشهودتر است. مطابق با نتایج این شکل حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی در حداکثر درجه حرارت

چنان که مشاهده می گردد. چنان که مشاهده می گردد. افزایش درجه حرارت و زمان استخراج باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما می گردد. درجه حرارت منجر به کاهش ویسکوزیته و افزایش حلالیت مواد در حلال می گردد. شکل کانتورها و انحناي آن ها بیانگر تاثیر معنادار این دو پارامتر روی پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی است. در مراحل اولیه نرخ استخراج زیاد می باشد و با افزایش زمان، میزان نرخ استخراج کاهش یافته است. این موضوع را می توان توسط قانون دوم فیک در ارتباط با نفوذ جسم حل شونده به داخل حلال شرح داد که سیستم به سمت تعادل نهایی نزدیک می شود و تاثیر افزایش زمان کاهش می یابد. مطابق با نتایج این



(a)



(b)

شکل (5) نمودارهای تاثیر درجه حرارت و زمان استخراج روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما (a) کانتور (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

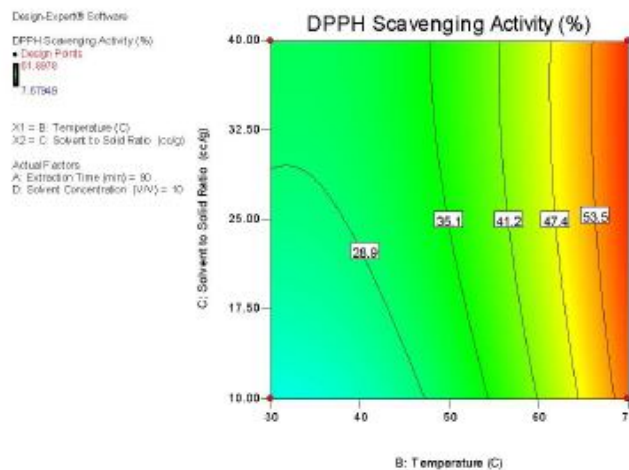
Fig.5 Plots of temperature and process time effects on antioxidant activity response a) Contour, b) Response surface plot

این دو شکل حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در حداکثر (70 °C) و حداکثر نسبت حلال به جامد (40 cc/g) صورت می‌گیرد و برابر با 61/9٪ می‌باشد.

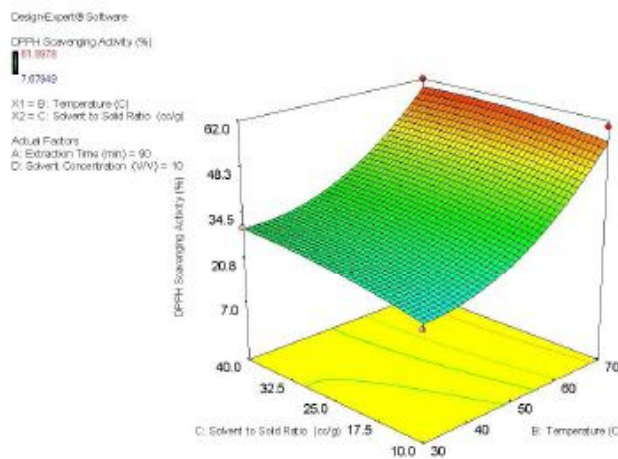
شکل‌های (7-a) و (7-b) کانتور دو بعدی و نمودار سطح پاسخ سه بعدی تاثیر درصد حلال و نسبت حلال به جامد را روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما نشان می‌دهند. سایر پارامترها در مقادیر ثابت هستند (زمان استخراج: 90 min، درجه حرارت: 70 °C). چنان‌که مشاهده می‌شود افزایش نسبت حلال به جامد باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما می‌گردد. اما افزایش درصد حلال اثر معکوس دارد و باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. مطابق با نتایج

3-2-4- نمودارهای اثر متقابل

شکل (8-a) تاثیر متقابل دو پارامتر زمان استخراج



(a)



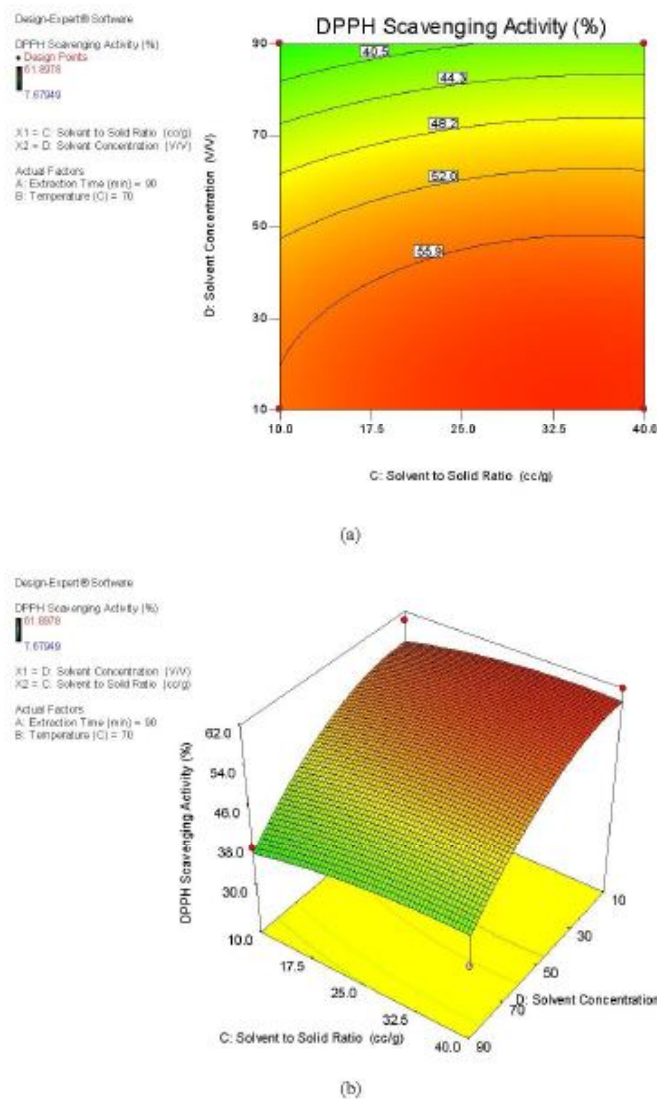
(b)

شکل (6) نمودارهای تاثیر نسبت حلال به جامد و درجه حرارت روی پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما (a) کانتور (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

Fig.6 Plots of solvent to solid ratio and temperature effects on antioxidant activity response a) Contour, b) Response surface plot

و درجه حرارت را روی پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما نشان می دهد. چنان که مشاهده می گردد این دو پارامتر دارای اثر متقابل می باشند. دو پارامتر دیگر در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده است (نسبت حلال به جامد: 40 cc/g، درصد حلال: 90 v/v). نتایج جدول ANOVA نیز نشان می دهد که p-value در مورد ضرایب تاثیر متقابل دو پارامتر زمان استخراج و درجه حرارت (AB) برابر با 0/001 است. بنابراین این جمله معنادار می باشد. چنان که در شکل (8-a) و در جدول (4) مشاهده می گردد تقابل درجه حرارت و زمان، اثر مثبت معنی داری روی

پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. در درجه حرارت های کم زمان استخراج معنادار نیست. ولی با افزایش درجه حرارت به 70 °C زمان استخراج تاثیر مثبتی بر پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما دارد. این نتیجه گیری در شکل های کانتور شکل (8) نیز مشهود است. شکل (8-b) تاثیر متقابل دو پارامتر درجه حرارت و نسبت حلال به جامد را روی پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خرما نشان می دهد. چنان که مشاهده می گردد این دو پارامتر دارای اثر متقابل نمی باشند و نمودارها موازی هستند. دو پارامتر دیگر ثابت در نظر گرفته شده است

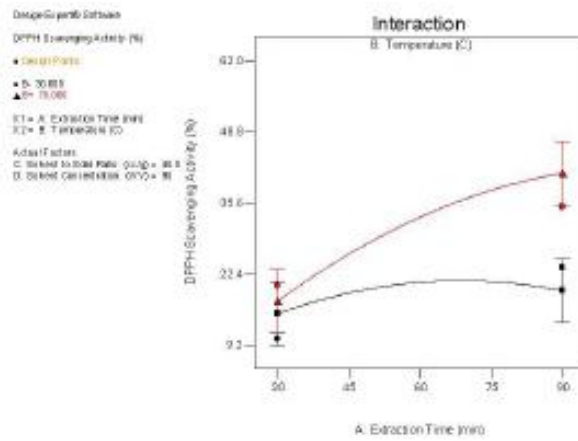


شکل (7) نمودارهای تاثیر درصد حلال و نسبت حلال به جامد روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما (a) کانتور (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی Fig.7 Plots of solvent concentration and solvent to solid ratio effects on antioxidant activity response a) Contour, b) Response surface plot

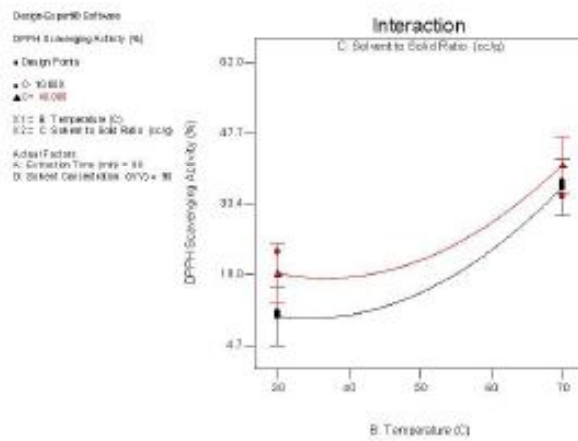
(زمان استخراج: 90 min ، درصد حلال: 90 v/v). نتایج ANOVA نیز نشان می‌دهد که p-value در مورد ضرائب تاثیر متقابل دو پارامتر درصد حلال و نسبت حلال به جامد (BC) برابر با 0/4033 است. بنابراین این جمله معنادار نمی‌باشد.

نتایج بررسی فوق نشان می‌دهد که حداکثر مهار رادیکال DPPH عصاره خرما در این تحقیق 61/9% می‌باشد. عصاره‌های خرما به‌وسیله اعطای هیدروژن و/یا الکترون می‌توانند از رسیدن گونه‌های رادیکال واکنشگر به بیومولکول‌ها مانند لیپوپروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع، DNA، آمینواسیدها، پروتئین‌ها و سیستم‌های غذایی جلوگیری

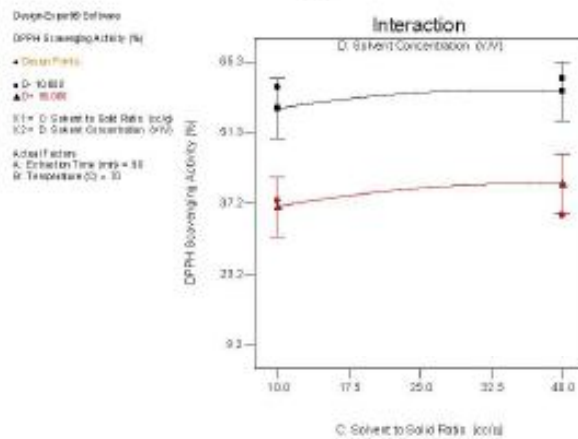
نمیدهند. بنابراین این جمله معنادار نمی‌باشد. شکل (8-c) تاثیر متقابل دو پارامتر درصد حلال و نسبت حلال به جامد را روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما نشان می‌دهد. چنان‌که مشاهده می‌گردد این دو پارامتر دارای اثر متقابل نمی‌باشند و نمودارها موازی هستند. دو پارامتر دیگر ثابت در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 90 min ، درجه حرارت: 70 °C). نتایج جدول



(a)



(b)



(c)

شکل (8) تاثیر متقابل پارامترها روی پاسخ فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما (a) زمان استخراج و درجه حرارت (b) درجه حرارت و نسبت حلال به جامد (c) درصد حلال و نسبت حلال به جامد

Fig.8 Interaction of parameters on predicted response of antioxidant activity of date extract a) extraction time with temperature, b) temperature with solvent to solid ratio, c) solvent concentration with solvent to solid ratio

6- مقدار R-Squared برابر با 0/9058 نشان می‌دهد که این عدد کاملاً به یک نزدیک است و بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است.

7- مقدار Pre R-Squared برابر با 0/5241 در توافق مناسب با مقدار Adj R-Squared برابر با 0/8233 است.

8- Adeq Precision نسبت سیگنال به نویز را اندازه‌گیری می‌کند. یک نسبت بزرگ‌تر از 4 مطلوب است. در این مدل عدد 13/877 بیانگر سیگنال کافی است.

جدول (6) میزان ضرائب جملات مدل را نشان می‌دهد. بررسی جدول (6) نشان می‌دهد که پارامتر درجه حرارت و زمان استخراج بیش‌ترین تاثیر را روی میزان ترکیبات فنلی دارد. پارامتر غلظت حلال در مرتبه سوم قرار دارد و دارای تاثیر منفی است. این نتیجه‌گیری مطابق با پاسخ فعالیت آنتی اکسیدانی است. پارامتر نسبت حلال به جامد نسبت به سایر پارامترها تاثیر کم‌تری دارد.

3-3-1- نمودارهای ارزیابی مدل

شکل (9) نمودار نرمال باقی‌مانده‌ها را نشان می‌دهد. چنان‌که مشاهده می‌گردد نقاط روی خط راست قرار دارند و از توزیع نرمال تبعیت می‌کنند. شکل (10) نمودار باقی‌مانده‌ها را بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده نشان می‌دهد. چنان‌که مشاهده می‌گردد نقاط در بین دو خط قرار دارند، بنابراین مدل به‌خوبی داده‌های تجربی را برازش می‌کند. شکل (11) مقادیر داده‌های تجربی را بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده به‌وسیله مدل نشان می‌دهد. مشاهده می‌گردد که نقاط بر روی یک خط قرار دارند که بیانگر آن است که به‌خوبی داده‌های تجربی را برازش می‌کند.

3-3-2- نمودارهای یک فاکتوری

شکل (12-a) تغییرات ترکیبات فنلی کل عصاره خرما را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر زمان استخراج نشان می‌دهد. سایر پارامترها در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده است (درجه حرارت: 70 °C، نسبت حلال به جامد: 40 cc/g، درصد حلال: 90 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش زمان استخراج تاثیر معناداری بر استخراج ترکیبات فنلی کل عصاره

نمایند. در مراجع مهار رادیکال DPPH توسط عصاره خرما ایران با استفاده از حلال DMSO 56/61٪ گزارش شده است [17]. میزان مهار رادیکال آزاد عصاره خرما لیبی نیز 87/66٪ گزارش شده است [23]. البته باید توجه داشت از آنجایی که در مراجع مختلف فعالیت آنتی اکسیدانی با روش‌های مختلف اندازه‌گیری شده مقایسه مشکل است.

3-3-3- ارزیابی پارامتر پاسخ ترکیبات فنلی کل استخراج شده

جدول (5) نتایج ANOVA را برای ارزیابی پارامتر پاسخ ترکیبات فنلی استخراج شده بر اساس وزن میوه خرما در مورد مدل کامل درجه دوم با آثار متقابل نشان می‌دهد. با توجه به جدول (5) در مورد پارامتر پاسخ ترکیبات فنلی استخراج شده از خرما نتایج زیر به‌دست می‌آید.

1- چنان‌که مشاهده می‌گردد F-Value مدل درجه دوم برابر با 10/98 است، بیانگر آن است که مدل معنادار است.

2- مقادیر Prob>F کم‌تر از 0/05 نشان می‌دهد که جمله‌های مدل معنادار است. در این حالت جملات مربوط به پارامترهای زمان استخراج، درجه حرارت، نسبت حلال به جامد و درصد حلال معنادار هستند. به عبارت دیگر این پارامترها بر پاسخ ترکیبات فنلی استخراج شده تاثیر معناداری می‌گذارد.

3- چنان‌که مشاهده می‌شود مقدار p-value جمله AB مربوط به آثار متقابل کم‌تر از 0/05 است (0/0004) و تاثیر معناداری بر مدل دارد. به عبارت دیگر پارامترهای زمان و درجه حرارت دارای اثر متقابل می‌باشند. مقادیر p-value سایر جملات بزرگ‌تر از 0/05 است. بنابراین تاثیر معناداری بر مدل ندارند و می‌توانند از مدل حذف گردند.

4- در مورد جملات درجه دوم، همه جملات دارای مقادیر p-value بزرگ‌تر از 0/05 هستند و تاثیر معناداری بر مدل ندارند و می‌توانند از مدل حذف گردند.

5- مقدار F-Value مربوط به Lack of Fit در این مدل برابر با 2/26 است که بیانگر آن است که عدم برازش معنادار نیست. به عبارت دیگر مدل داده‌های تجربی را برازش می‌کند (p-value > 0/05).

جدول (5) نتایج ANOVA برای ارزیابی پارامتر پاسخ ترکیبات فنلی استخراج شده بر اساس وزن میوه خرما در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل

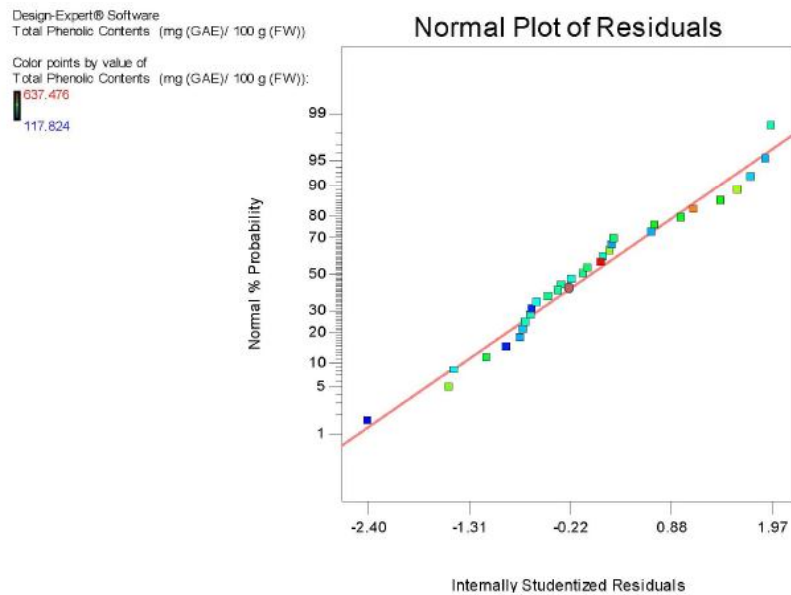
Table 5 ANOVA for response surface full quadratic model including interactions for response of total phenolic contents based on date fruit weight

مقدار P p-value	مقدار F Prob > F	میانگین مربعات Mean Square	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of Squares	منبع Source
< 0.0001	10.98	27053.73	14	378752.23	مدل Model
< 0.0001	53.50	131787.04	1	131787.04	زمان استخراج-A A-Extraction Time (min)
< 0.0001	54.21	133527.72	1	133527.72	درجه حرارت-B B-Temperature (°C)
0.0425	4.86	11969.93	1	11969.93	نسبت حلال به جامد-C C-Solvent to Solid Ratio (cc/g)
0.0026	12.67	31200.14	1	31200.14	درصد حلال-D D-Solvent Concentration (v/v)
0.0004	19.69	48506.06	1	48506.06	AB
0.3571	0.90	2214.73	1	2214.73	AC
0.0928	3.20	7870.56	1	7870.56	AD
0.1289	2.56	6314.97	1	6314.97	BC
0.7285	0.12	307.51	1	307.51	BD
0.2545	1.40	3440.92	1	3440.92	CD
0.7102	0.14	352.57	1	352.57	A ²
0.7649	0.09	227.91	1	227.91	B ²
0.7128	0.14	345.82	1	345.82	C ²
0.9715	0.00	3.25	1	3.25	D ²
		2463.19	16	39411.10	باقیمانده Residual
0.1648	2.26	3115.45	10	31154.54	عدم برازش Lack of Fit
		1376.09	6	8256.56	خطای خالص Pure Error
			30	418163.33	مجموع مربعات کل Cor Total
0.9058		R ² R-Squared	49.63		انحراف استاندارد Std. Dev.
0.8233		R ² متعادل شده Adj R-Squared	304.34		میانگین Mean
0.5241		R ² پیش گویی Pred R-Squared	16.31		ضریب تغییرات C.V. %
13.8766		دقت کافی Adeq Precision	198987.20		مجموع مربع های خطای پیش بینی شده PRESS

جدول (6) ضرایب جملات مدل درجه دوم برای پیش‌بینی پاسخ ترکیبات فنلی کل در دو حالت واقعی و کددار

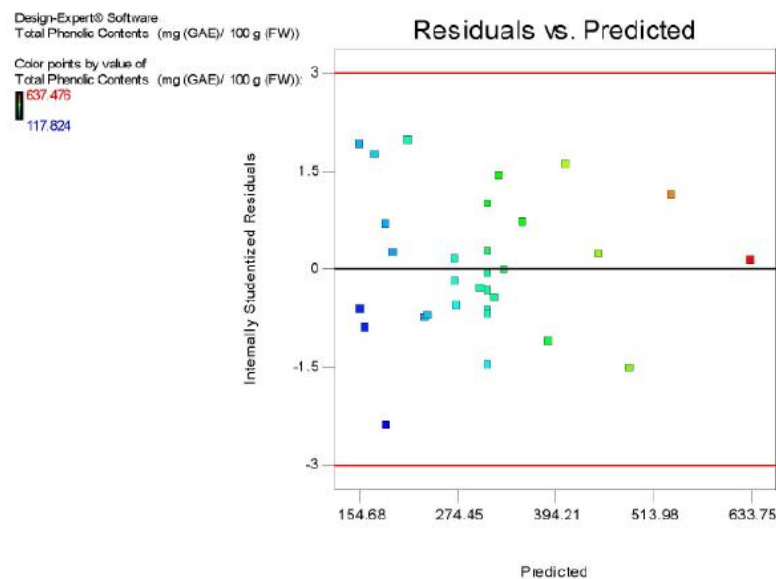
Table 6 The second order model terms coefficients for prediction of total phenolic contents response in real and coded cases

ترکیبات فنلی کل (کددار)	ترکیبات فنلی کل (واقعی)	=
Total Phenolic Contents (mg GAE/ 100 g FW) (coded)	Total Phenolic Contents (mg GAE/ 100 g FW) (real)	
311.7183	162.5177	
85.5658	1.3957	زمان استخراج* *Extraction Time (min)
86.1290	-5.4719	درجه حرارت* * Temperature (°C)
25.7875	3.7641	نسبت حلال به جامد* * Solvent to Solid Ratio (cc/g)
-41.6334	0.3353	درصد حلال* * Solvent Concentration (v/v)
55.0602	0.0918	درجه حرارت* زمان استخراج* * Extraction Time (min) * Temperature (°C)
-11.7652	-0.0261	نسبت حلال به جامد* زمان استخراج* * Extraction Time (min) * Solvent to Solid Ratio (cc/g)
-22.1790	-0.0185	درصد حلال* زمان استخراج* * Extraction Time (min) * Solvent Concentration (v/v)
19.8667	0.0662	نسبت حلال به جامد* درجه حرارت* * Temperature (°C) * Solvent to Solid Ratio (cc/g)
4.3840	0.0055	درصد حلال* درجه حرارت* * Temperature (°C) * Solvent Concentration (v/v)
-14.6648	-0.0244	درصد حلال* نسبت حلال به جامد* * Solvent to Solid Ratio (cc/g) * Solvent Concentration (v/v)
-11.6558	-0.0130	زمان استخراج* * Extraction Time (min) ²
9.3712	0.0234	درجه حرارت* * Temperature (°C) ²
-11.5437	-0.0513	نسبت حلال به جامد* * Solvent to Solid Ratio (cc/g) ²
1.1184	0.0007	درصد حلال* * Solvent Concentration (v/v) ²



شکل (9) نمودار نرمال باقی مانده‌ها در مورد پاسخ ترکیبات فنلی کل استخراج شده عصاره خرما

Fig.9 The normalized residuals plot for total phenolic contents of date extract

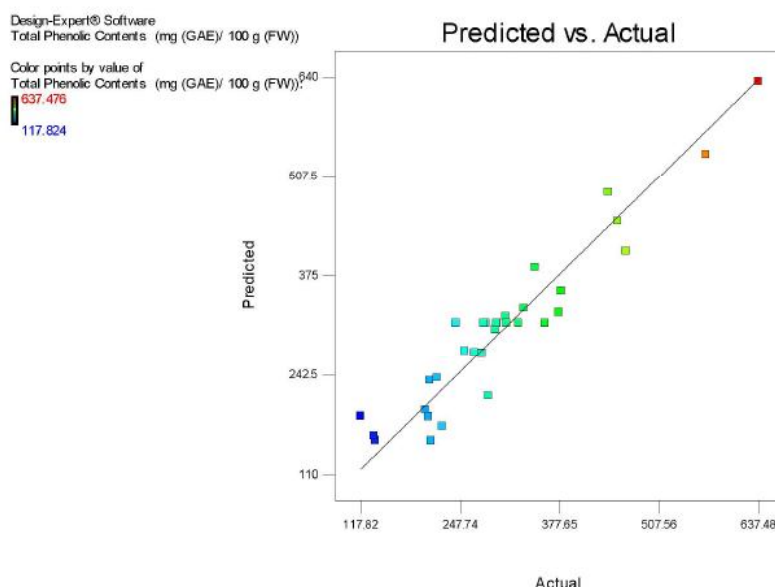


شکل (10) نمودار باقی مانده‌ها بر حسب مقادیر پیش‌بینی شده در مورد پاسخ ترکیبات فنلی کل عصاره خرما

Fig.3 The residuals versus predicted values plot for total phenolic contents of date extract

خرما دارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای پارامتر زمان استخراج 40 cc/g، درصد حلال: 90 v/v، چنان‌که مشاهده می‌گردد $< 0/0001$ است که بیانگر معنادار بودن تاثیر این پارامتر است. افزایش درجه حرارت تاثیر معناداری بر استخراج ترکیبات فنلی کل عصاره خرما دارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر درجه حرارت نشان می‌دهد. سایر پارامترها در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده

است. (زمان استخراج: 90 min، نسبت حلال به جامد: 40 cc/g، درصد حلال: 90 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد $< 0/0001$ است که بیانگر معنادار بودن تاثیر درجه حرارت $< 0/0001$ است که بیانگر معنادار بودن تاثیر



شکل (11) مقادیر داده‌های تجربی بر حسب مقادیر پیش بینی شده به وسیله مدل در مورد پاسخ ترکیبات فنلی کل عصاره خرما

Fig.11 The experimental data versus predicted value plot for the model of total phenolic contents of date extract

این پارامتر است. نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای این پارامتر برابر با 0/0026 است که بیانگر معنادار بودن تاثیر این پارامتر است.

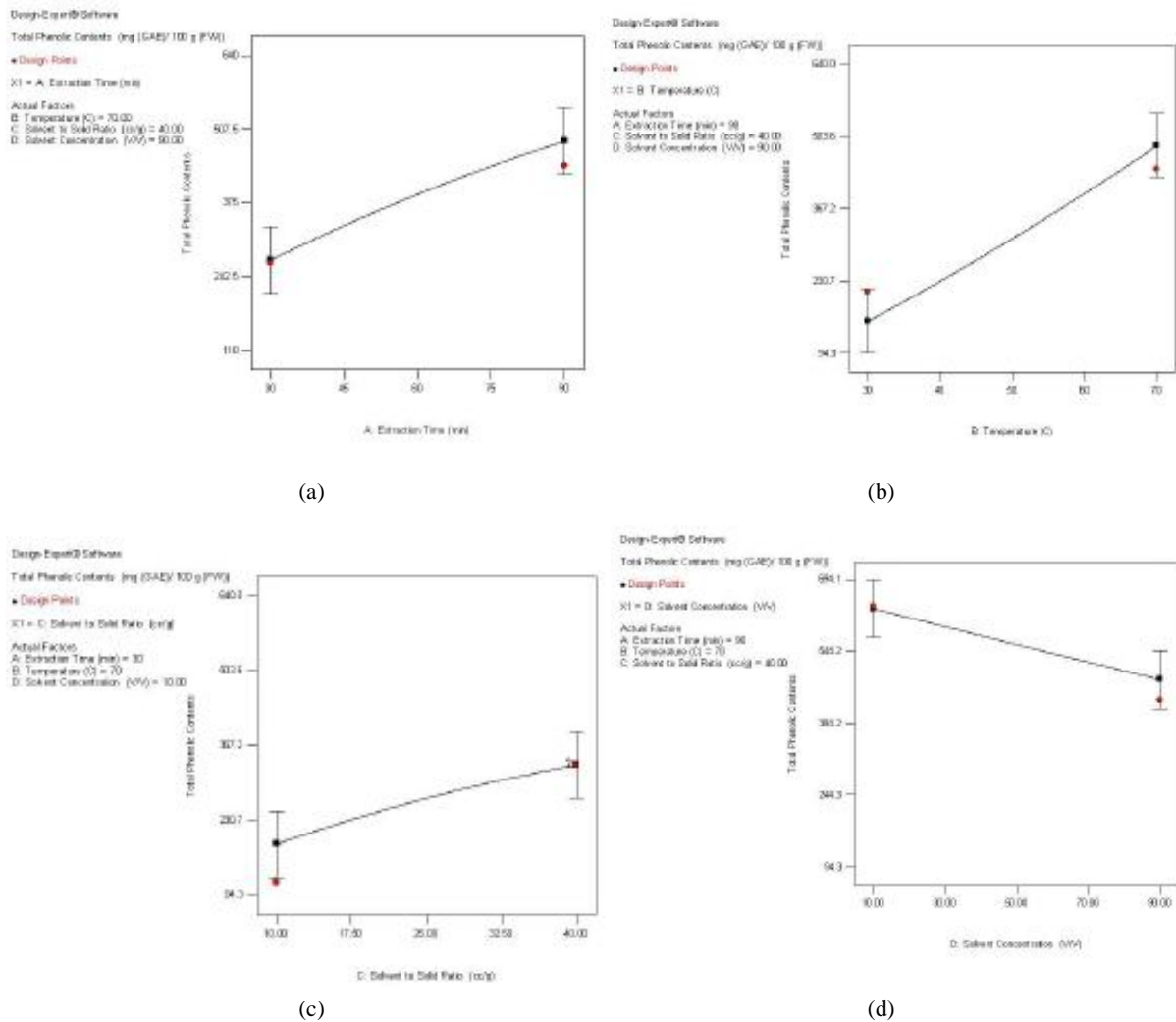
3-3-3- نمودارهای دو فاکتوری و سطح پاسخ

شکل‌های (13-a) و (13-b) کانتور دو بعدی و نمودار سطح پاسخ سه بعدی تاثیر درجه حرارت و زمان استخراج را روی پاسخ ترکیبات فنلی کل استخراج شده عصاره خرما نشان می‌دهند. سایر پارامترها در مقادیر ثابت هستند (نسبت حلال به جامد: 40 cc/g، درصد حلال: 10 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش درجه حرارت و زمان استخراج باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در استخراج ترکیبات فنلی کل در عصاره خرما می‌گردد. با افزایش درجه حرارت ضریب نفوذ و حلالیت ترکیبات فنلی در حلال افزایش می‌یابد. شکل کانتورها و انحناهای آنها بیانگر تاثیر معنادار این دو پارامتر روی پاسخ است. مطابق با نتایج این شکل حداکثر ترکیبات فنلی کل استخراج شده در حداکثر درجه حرارت (70 °C) و حداکثر زمان استخراج (90 min) صورت می‌گیرد.

شکل‌های (14-a) و (14-b) کانتور دو بعدی و نمودار سطح پاسخ سه بعدی تاثیر نسبت حلال به جامد و درجه حرارت

شکل (12-c) تغییرات ترکیبات فنلی کل عصاره خرما را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب نسبت حلال به جامد نشان می‌دهد. سایر پارامترها در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 30 min، درجه حرارت: 70 °C، درصد حلال: 10 v/v). چنان‌که مشاهده می‌شود در این شرایط افزایش نسبت حلال به جامد تاثیر معناداری بر ترکیبات فنلی کل استخراج شده عصاره خرما دارد. این نتیجه‌گیری از جدول نتایج ANOVA نیز مشاهده می‌گردد. مقدار p-value برای این پارامتر برابر با 0/0425 است که بیانگر معنادار بودن تاثیر این پارامتر است. این موضوع منطبق بر اصول انتقال جرم می‌باشد. با افزایش میزان حلال، غلظت مواد موثره در محلول کاهش یافته و گرادیان غلظت به‌عنوان نیروی محرکه افزایش یافته و در نتیجه نرخ نفوذ افزایش می‌یابد.

شکل (12-d) تغییرات ترکیبات فنلی کل استخراج شده عصاره خرما را به‌عنوان پارامتر پاسخ بر حسب پارامتر درصد حلال نشان می‌دهد. سایر پارامترها ثابت در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 90 min، درجه حرارت: 70 °C، نسبت حلال به جامد: 40 cc/g). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش درصد حلال تاثیر معناداری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این

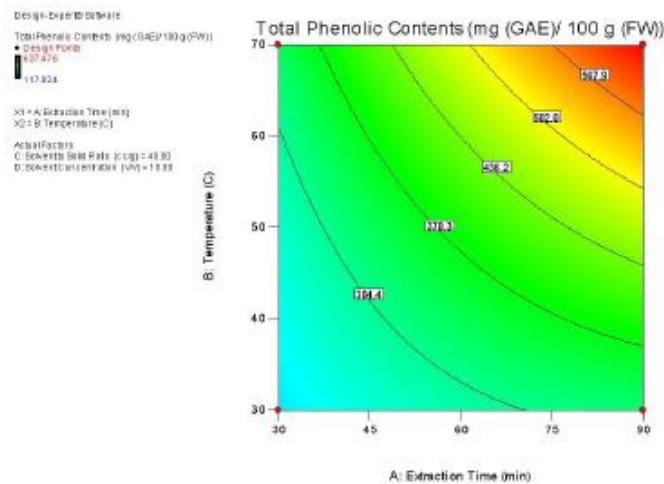


شکل (12) تغییرات ترکیبات فنلی کل عصاره خرما به عنوان پارامتر پاسخ بر حسب (a) زمان استخراج (b) درجه حرارت (c) نسبت حلال به جامد (d) درصد حلال

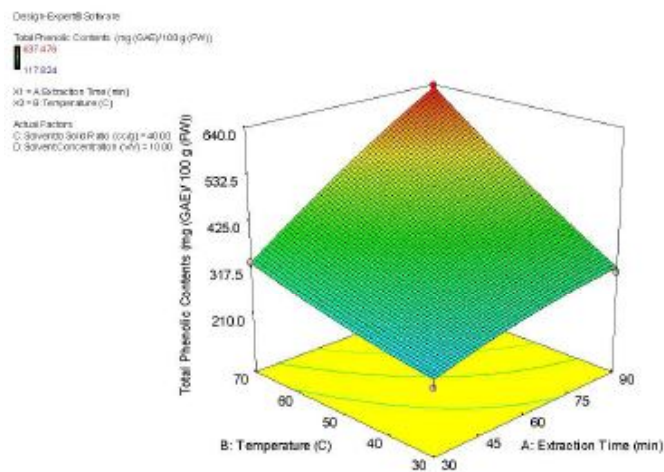
Fig.12 Effects of a) extraction time, b) temperature, c) solvent to solid ratio, d) solvent concentration on total phenolic contents response

شکل‌های (15-a) و (15-b) کانتور دو بعدی و نمودار سطح پاسخ سه بعدی تاثیر درصد حلال و نسبت حلال به جامد را روی پاسخ ترکیبات فنلی کل نشان می‌دهند. سایر پارامترها در مقادیر ثابت هستند (زمان استخراج: 90 min، درجه حرارت: 70 °C). چنان‌که مشاهده می‌شود افزایش نسبت حلال به جامد باعث افزایش استخراج ترکیبات فنلی کل می‌گردد. اما افزایش درصد حلال اثر معکوس دارد و باعث کاهش ترکیبات فنلی کل می‌گردد. مطابق با نتایج این دو شکل حداکثر ترکیبات فنلی درصد حلال اثر معکوس دارد و باعث کاهش ترکیبات

را روی پاسخ ترکیبات فنلی کل عصاره خرما نشان می‌دهند. سایر پارامترها در مقادیر ثابت هستند (زمان استخراج: 90 min، درصد حلال: 10 v/v). چنان‌که مشاهده می‌گردد افزایش درجه حرارت باعث افزایش استخراج ترکیبات فنلی کل می‌گردد. نسبت حلال به جامد در درجه حرارت‌های بالا نیز باعث افزایش استخراج ترکیبات فنلی کل می‌گردد. اما در درجه حرارت‌های پایین تاثیر آن کم‌تر است. مطابق با نتایج این شکل حداکثر استخراج ترکیبات فنلی در حداکثر درجه حرارت (70 °C) و حداکثر نسبت حلال به جامد (40 cc/g) صورت می‌گیرد و برابر با 637/476 mg GAE/100g است.



(a)



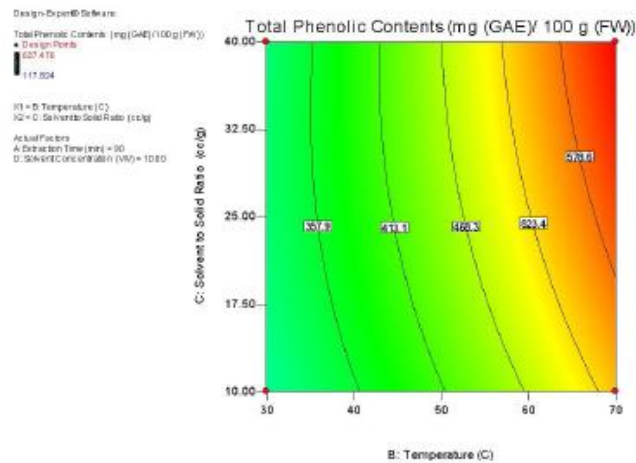
(b)

شکل (13) نمودارهای تاثیر درجه حرارت و زمان استخراج روی پاسخ ترکیبات فنلی کل عصاره خرما (a) کانتور (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

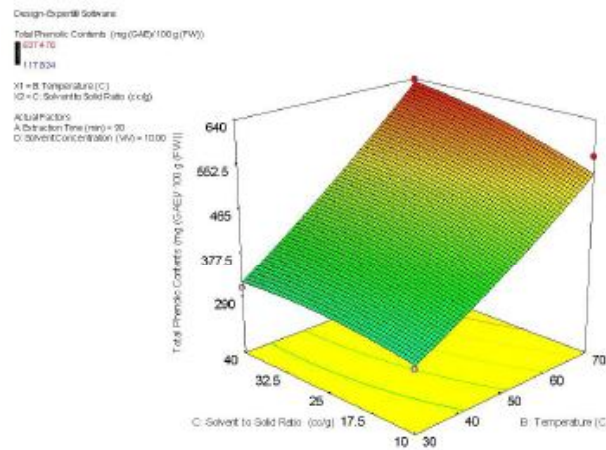
Fig.13 Plots of temperature and process time effects on total phenolic contents response a) Contour, b) Response surface plot

فنلی کل می‌گردد. مطابق با نتایج این دو شکل حداکثر ترکیبات فنلی کل در حداکثر نسبت حلال به جامد (40 cc/g) و حداقل درصد حلال (10 v/v) صورت می‌گیرد (637/476 mg GAE/100g).

بررسی نشان می‌دهد که حداکثر ترکیبات فنلی استخراج شده از خرما در این تحقیق 637/476 mg GAE/100g می‌باشد. این مقدار بیش‌تر از ترکیبات فنلی خرماي کشور عمان (280-134 mg FAE/ 100g) در مورد گونه‌های تازه (343-217 mg FAE/100 gr) در مورد گونه‌های خشک [9]، [9]، خرماي کشور الجزیره [13]، [13] (2/49 -8/36 mg GAE/ 100 g FW) چند نمونه خرماي ایران (1/57 -123/87 mg GAE/ 100g dw) [6]، [6] (2/89 -141 /31 mg GAE/ 100g dw) [14] (با حلال‌های مختلف از جمله آب، متانول 50٪ در محدوده 102/72 mg GAE/ mg df تا 276/85 mg GAE/100g) [17] (در محدوده 197/41 - 3/29 با حلال آب- متانول) [20]، خرماي امریکا (225/02 mg GAE /100g fw)، خرماي عربستان سعودي (507/03 mg GAE / 100g fw) [15]، خرماي کشور تونس (در محدوده 209/42 تا 447/73) [19]، خرماي لیبی



(a)



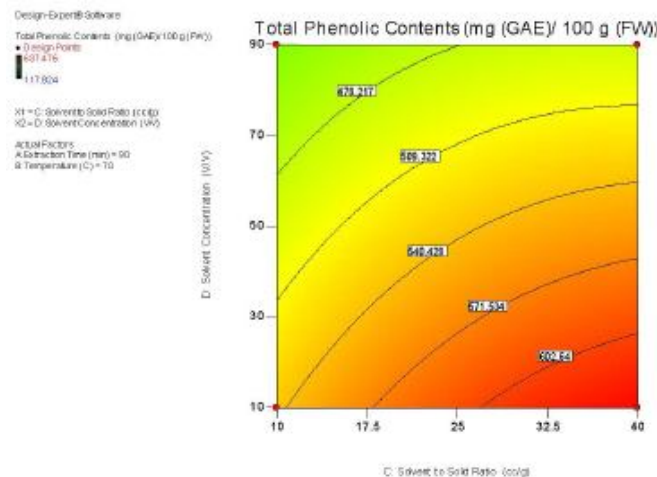
(b)

شکل (14) نمودارهای تاثیر نسبت حلال به جامد و درجه حرارت روی پاسخ ترکیبات فنلی کل استخراج شده عصاره خرما (a) کانور (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

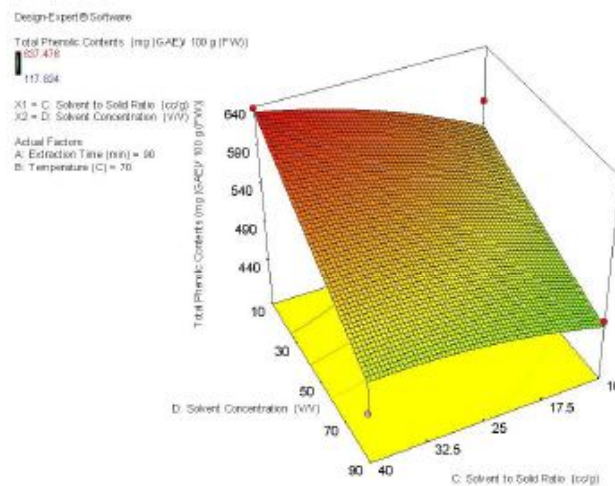
Fig.14 Plots of solvent to solid ratio and temperature effects on total phenolic contents response a) Contour, b) Response surface plot

3-3-4- نمودارهای اثر متقابل در محدوده 51/67 تا 71/62 GAE/100g [23] می باشد. شکل (a-16) تاثیر متقابل دو پارامتر زمان استخراج و درجه حرارت را روی پاسخ ترکیبات فنلی کل استخراج شده در عصاره خرما نشان می دهد. چنان که مشاهده می گردد این دو پارامتر دارای اثر متقابل می باشند. دو پارامتر دیگر در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده است (نسبت حلال به جامد: cc/g 40، درصد حلال: 90 v/v). نتایج جدول ANOVA نیز نشان می دهد که p-value در مورد ضرائب تاثیر متقابل دو پارامتر زمان استخراج و درجه حرارت (AB) برابر با 0/0004 است. بنابراین این جمله معنادار می باشد.

در محدوده 51/67 تا 71/62 GAE/100g [23] می باشد. اختلاف در میزان ترکیبات فنلی عصاره خرما کشورهای مختلف می تواند به اختلاف در نوع گونه، شرایط رشد، فصل، محل جغرافیایی، کود، نوع خاک، میزان نور خورشید و شرایط تجربی فرایند استخراج منسوب گردد. هم چنین بررسی نشان می دهد که میزان ترکیبات فنلی خرما بیش تر از *Loranthus europeas* (335/5 mg GAE/100 g) زنجبیل (266/3 mg GAE/100 g)، مرکبات (404/27 [16]، تمبر هندی (2/14 mg GAE/100 g) و گوجه فرنگی (30 mg GAE/100 g) [23] می باشد.



(a)



(b)

شکل (15) نمودارهای تاثیر درصد حلال و نسبت حلال به جامد روی پاسخ استخراج ترکیبات فنلی کل (a) کانتور (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی

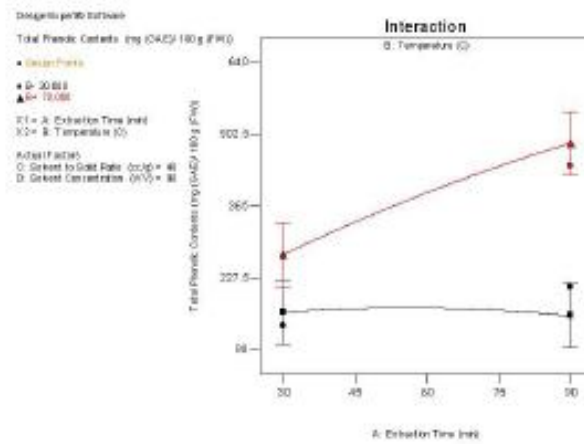
Fig.15 Plots of solvent concentration and solvent to solid ratio effects on total phenolic contents response a) Contour, b) Response surface plot

می‌دهد. چنان‌که مشاهده می‌گردد این دو پارامتر دارای اثر متقابل نمی‌باشند. دو پارامتر دیگر در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 90 min، درجه حرارت: 70 °C). نتایج جدول ANOVA نیز نشان می‌دهد که p-value در مورد ضرائب تاثیر متقابل دو پارامتر درصد حلال و نسبت حلال به جامد (CD) برابر با 0/2545 است. بنابراین این جمله معنادار نمی‌باشد.

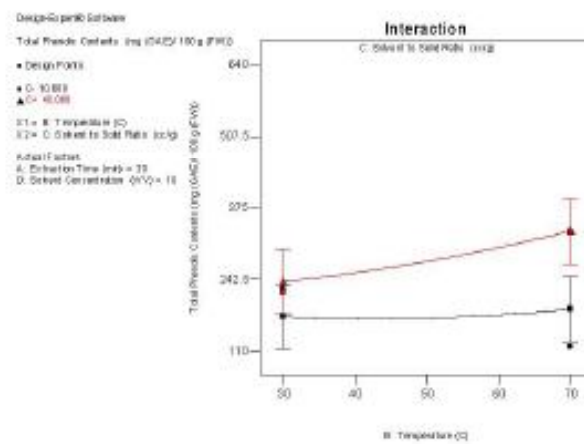
3-4- بهینه سازی پارامترهای پاسخ

جدول (7) بازه‌های پارامترها و مقادیر مطلوب پاسخ برای

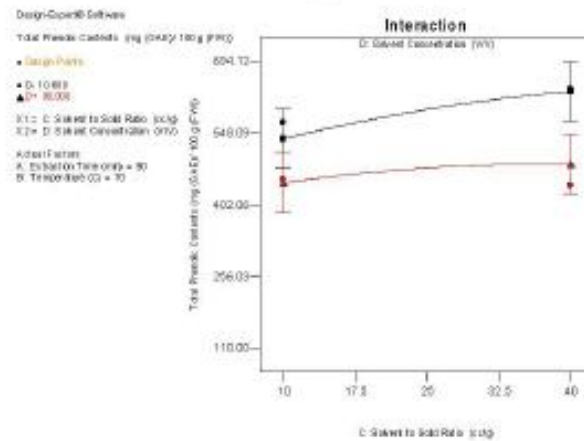
شکل (16-b) تاثیر متقابل دو پارامتر درجه حرارت و نسبت حلال به جامد را روی پاسخ ترکیبات فنلی کل نشان می‌دهد. چنان‌که مشاهده می‌گردد این دو پارامتر دارای اثر متقابل نمی‌باشند. دو پارامتر دیگر در مقادیر ثابت در نظر گرفته شده است (زمان استخراج: 30 min، درصد حلال: 10 v/v). نتایج جدول ANOVA نیز نشان می‌دهد که p-value در مورد ضرائب تاثیر متقابل دو پارامتر درجه حرارت و نسبت حلال به جامد (BC) برابر با 0/1289 است. بنابراین این جمله معنادار نمی‌باشد. شکل (16-c) تاثیر متقابل دو پارامتر درصد حلال و نسبت حلال به جامد را روی پاسخ ترکیبات فنلی کل نشان



(a)



(b)



(c)

شکل (16) تاثیر متقابل پارامترها روی پاسخ ترکیبات فنلی کل عصاره خرما (a) زمان استخراج و درجه حرارت (b) درجه حرارت و نسبت حلال به جامد (c) درصد حلال و نسبت حلال به جامد

Fig.16 Interaction of parameters on predicted response of total phenolic contents of date extract a) extraction time with temperature, b) temperature with solvent to solid ratio, c) solvent concentration with solvent to solid ratio

637/476 g 100/mg GAE می‌باشد که از میزان ترکیبات فنلی بسیاری از خرماهای سایر کشورها و حتی خرمای ایران در کار سایر محققین بیش‌تر می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میوه خرما به‌عنوان یک منبع طبیعی از آنتی‌اکسیدان‌ها محسوب می‌شود و می‌تواند از بسیاری از بیماری‌ها جلوگیری کند و در توسعه محصولات تغذیه‌ای پتانسیل زیادی در بازارهای بین‌المللی دارد.

بهینه‌سازی عددی را نشان می‌دهد. جدول (8) شرایط پیشنهادی نرم‌افزار برای بهینه‌سازی شرایط فرایندی استخراج را نشان می‌دهد. در این جدول هم‌چنین مقادیر پیش‌بینی شده مدل با نتایج تجربی مقایسه شده است که بیانگر دقت مناسب مدل می‌باشد.

5- نتیجه‌گیری

در این مقاله بررسی آماری و بهینه‌سازی شرایط فرایندی استخراج عصاره متانولی خرما با استفاده از RSM به منظور حداکثر نمودن ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره خرما برای اولین بار انجام شده است. در این ارتباط پارامترهای زمان استخراج، درجه حرارت، نسبت حلال به جامد و درصد حلال متانول به‌عنوان پارامترهای متغیر انتخاب شده‌اند. نتایج نشان می‌دهد که مدل آماری درجه دوم با دقت بالایی به منظور پیش‌بینی پارامترهای پاسخ قابل استفاده است. بررسی هم‌چنین نشان می‌دهد که نتایج بهینه‌سازی و پیش‌بینی مدل با نتایج تجربی هم‌خوانی مناسبی دارد. حداکثر ترکیبات فنلی استخراج شده از خرما در این تحقیق

جدول (7) معیارهای تعیین شده برای بهینه‌سازی

Table 7 Specified criteria for optimization

حد آخر Limit	حد اول Limit	هدف Goal	پارامتر Parameter
90	30	در محدوده is in range	زمان استخراج Extraction time (min)
70	30	در محدوده is in range	درجه حرارت Temperature (°C)
40	10	در محدوده is in range	نسبت حلال به جامد Solvent to solid ratio (cc/g)
90	10	در محدوده is in range	درصد حلال Solvent concentration (v/v)
637.476	117.824	حداکثر maximize	ترکیبات فنلی کل Total phenolic contents (FW g 100/mg GAE)
61.9	7.68	حداکثر maximize	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد مهار رادیکال DPPH) Antioxidant activity (DPPH radical scavenging)

جدول (۸) شرایط پیشنهادی نرم افزار برای بهینه سازی شرایط فرایندی استخراج و مقایسه با نتایج تجربی

Table 8 Predicted optimal conditions and comparison with experimental results

فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد مهار رادیکال DPPH) (تجربی)	ت ترکیبات فنلی کل (تجربی)	فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد مهار رادیکال DPPH) (پیش بینی شده)	ت ترکیبات فنلی کل (پیش بینی شده)	درصد حلال	نسبت حلال به جامد	درجه حرارت	زمان استخراج
Antioxidant activity (DPPH radical scavenging) (experimental)	Total phenolic contents (FW g 100/mg GAE) (experimental)	Antioxidant activity (DPPH radical scavenging) (predicted)	Total phenolic contents (FW g 100/mg GAE) (predicted)	Solvent concentration (v/v)	Solvent to solid ratio (cc/g)	Temperature (°C)	Extraction time (min)
61.9	637.48	59.46	633.36	10.11	39.89	70	90
(خطا: 3.94%)	(خطا: 0.65%)						

- varieties grown in Oman. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 7592-7599.
- [10] Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., Jianga, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Res.*, 23, 1719-1726.
- [11] Vayalil, P.K., (2002). Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera* L. arecaceae). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 610-617.
- [12] Mohamed Doha, A., Al-Okbi Sahar Y. (2005). In vitro evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Phoenix dactylifera* L. fruits as functional foods. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 101, 305-308.
- [13] Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.*, 89, 411-420.
- [14] Biglari, F., AlKarkhi, A.F.M., Easa, A.M. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.*, 107, 1636-1641, .
- [15] Al-Turki Mobarak, S. (2008). Antioxidant properties of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars. PhD dissertation, Colorado state university, United States - Colorado.
- [16] Ahmed, S.H. (2009). Antioxidant properties of water extracts for the Iraqi plants *Phoenix dactylifera*, *loranthus europeas*, *zingiber officinalis* and *citrus aurantifolia*. *Modern Applied Sci.*, 3, 161-166.
- [17] Khanavi, M., Saghari, Z., Mohammadirad, A., Khademi, R., Hadjiakhoondi, A., Abdollahi, M. (2009). [1] Biglari, F. (2009). Assessment of antioxidant potential of date (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran, effect of cold storage and addition to minced chicken meat. Master of science thesis, Universiti sains Malaysia.
- [2] شریعتی، ا.؛ پردلی، ح.ر.؛ خادمیان، ان، کیائی، ا. (1389). بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های میوه و هسته خرما علیه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم، مجله علوم غذایی و تغذیه، جلد 7، شماره 4، ص 42-48.
- [3] *Phoenix dactylifera*. Wikipedia, the free encyclopedia.htm.
- [4] Kalaiselvi, T., Jegadeeswari, V. (2007). The date palm. Science tech entrepreneur, Horticultural college and research institute, Tamil nadu agricultural university, India.
- [5] Antioxidant effects of date fruits and date seeds. United Arab Emirates University, uaeuday.uaeu.ac.ae/docs/posters/FFA_Poster_4.pdf.
- [6] Abbas, F.M.A., Foroogh, B., Liang, M.T., Azhar, M.E. (2008). Multivariate statistical analysis of antioxidants in dates (*phoenix dactylifera*). *Int. Food Res. J.*, 15, 193-200.
- [7] Allaith, A.A.A. (2008). «Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 43, 1033-1040.
- [8] Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan, C., Barrajon, E., Vilanova, E., Hamdaoui, M., Fattouch, S. (2011). Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (*Rub El Tamer*) polyphenolic extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 402-406.
- [9] Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., Shahidi, F. (2005). Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.)

- ple) fruit using response surface methodology (RSM), *Food Chem.*, 173, 348–354.
- [26] Karacabey, E. and Mazza, G. (2010). Optimization of antioxidant activity of grape cane extracts using response surface methodology, *Food Chem.*, 119, 343–348.
- [27] 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 Chem.*, 130, 928–936.
- Comparison of antioxidant activity and total phenols of some date varieties. *Daru*, 17 (2), 104-108.
- [18] Liolios, C.C., Sotiroudis, G.T., Chinou, I. (2009). Fatty acids, sterols, phenols and antioxidant activity of phoenix theophrasti fruits growing in Crete, Greece. *Plant Foods Hum Nutr.*, 64, 52–61.
- [19] Saafi, E.B., Arem, A.E., Issaoui, M., Hammami, M., Achour, L. (2009). Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit varieties grown in Tunisia. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 44, 2314–2319.
- [20] Biglari, F., AlKarkhi, A.F.M., Easa, A.M. (2009). Cluster analysis of antioxidant compounds in dates (*Phoenix dactylifera*): Effect of long-term cold storage. *Food Chem.*, 112, 998–1001.
- [21] Al-Mamary, M., AL-Habori, M. (2010). The in vitro antioxidant activity of different types of palm dates (*Phoenix dactylifera*) syrups. *Arabian J. Chem.*, doi: 10.1016/j.arabjc.2010.11.014.
- [22] Qusti, S.Y., Abo-khatwa, A.N., Lahwa, M.A.B. (2010). Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the Holly Quran. *EJBS* 2 (1), 40-51.
- [23] Hasan, N.S., Amom, Z.H., Nor, A.I., Mokhtarudin, N., Esa, N.M. (2010). Nutritional composition and in vitro evaluation of the antioxidant dates extracts (*Phoenix dactylifera* L.) from Libya. *Asian J. Clinical Nutr.*, 2(4), 208.
- [24] Awad, M.A., Al-Qurashi, A.D., Mohamed, S.A. (2011). Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 129, 688–693.
- [25] Ilaiyaraja, N., Likhith, K. R., Sharath Babu, G. R., and Khanum, F. (2015). Optimisation of extraction of bioactive compounds from *Feronia limonia* (wood ap-