مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تاثیر پیش تیمار اولتراسوند به همراه حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره استخراج شده از گیاه هوفاریقون (*Hypericum perforatum* L.)

لیلا یوسفی

گروه شیمی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۱

کلمات کلیدی:

هوفاریقون،

Hypericum perforatum L.،

اولتراسوند،

استخراج،

ترکیبات فنلی.

DOI: 10.22034/FSCT.20.143. 126

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.143.9.1

* مسئول مکاتبات:

Leila.Yousefi@iau.ac.ir

چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر پیش تیمار اولتراسوند در توان ۴۰ کیلو وات و در مدت زمان ۲۰ دقیقه به همراه حلال‌های تک جزئی آب و اتانل و دو جزیی آب/اتانل به صورت ۳۰٪ (آب):۷۰٪ (اتانل) و ۶۰٪ (آب):۴۰٪ (اتانل)، بر بازدهی استخراج، مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی و همچنین میزان مهار رادیکال‌های آزاد عصاره استخراج‌شده از گیاه هوفاریقون مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، از طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال $\alpha=1\%$ و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴ انجام پذیرفت. طبق نتایج، بیشترین میزان استخراج (۱۸/۳ درصد)، مقادیر کل ترکیبات فنولی (۰/۲۹۵ mg GAE/g dw) و فلاوونوئیدی (۰/۱۰۵ mg QE/g dw) و میزان مهار رادیکال‌های آزاد (۸۴/۲۱ درصد) در نمونه‌های پیش تیمار شده با اولتراسوند به همراه حلال دو جزیی آب / اتانل [۳۰٪ (آب):۷۰٪ (اتانل)] و کمترین میزان استخراج (۴/۲۱ درصد)، مقادیر کل ترکیبات فنولی (۰/۰۵۱ mg GAE/g dw) و فلاوونوئیدی (۰/۰۱۱۵ mg QE/g dw) و همچنین میزان مهار رادیکال‌های آزاد (۴۷/۵۳ درصد) در حلال تک جزئی آب (۱۰۰٪) اندازه‌گیری شدند.

۱- مقدمه

امروزه به دلیل سمیت و سرطان‌زا بودن ترکیبات شیمیایی و سنتزی و عوارض جانبی مصرف آن‌ها و همچنین ایجاد مقاومت‌های دارویی، استفاده از عصاره‌های گیاهی غنی از ترکیبات زیست فعال، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است لذا ضرورت جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با انواع طبیعی و یافتن منابع طبیعی دارای فعالیت ضد باکتریایی مناسب، به منظور افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد. گزارش‌های متعددی نشان می‌دهند که برخی از فراورده‌های گیاهی نظیر عصاره‌ها دارای اثرات بیولوژیک و فارماکولوژیک متعددی بوده و دارای اثرات ضدمیکروبی و ضدعفونی هستند[۱و۲]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که باعث به تاخیر انداختن یا کندکردن اکسیداسیون مواد غذایی می‌شوند. این مواد قابلیت اکسیدشدن از طریق اتواکسیداسیون را دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان دهنده هیدروژن یا پذیرنده رادیکال آزاد، با افزایش دوره القا باعث به تاخیرانداختن اتواکسیداسیون می‌شوند. بعضی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را می‌توان به‌عنوان جانشین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، در مواد غذایی به‌کار برد. همچنین با توجه به هزینه‌ی بالای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و در دسترس بودن بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های طبیعی و گیاهی مقرون به صرفه‌تر است [۳ و۴].

هوفاریقون، علف چای یا گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) گیاهی دارویی از خانواده Hypericaceae محسوب می‌شود. این گیاه در سال اول دارای رشد رویشی بوده ولی گلدهی آن از سال دوم به بعد آغاز می‌گردد. هوفاریقون دو نوع ساقه تولید می‌کند. ساقه‌های گل‌دهنده و ساقه‌های رویشی که بدون گل می‌باشند و به ترتیب در اواخر زمستان و اوایل پاییز از روی طوقه خارج می‌شوند. همچنین گل‌ها به رنگ زرد روشن و دارای تقارن شعاعی هستند. برگ‌های این گیاه بدون دمبرگ، با انتهای گرد و بدون بریدگی است. روی برگ‌ها نقاط تیره و روشن فراوان مشاهده می‌گردد. نقاط تیره در حاشیه برگ‌ها بوده اما نقاط روشن در تمام سطح برگ پراکنده هستند که به ترتیب محل تجمع هیپریسین (مهم‌ترین ماده موثر هوفاریقون) و اسانس می‌باشند[۵]. نکته قابل توجه این‌که غلظت مواد موثر در برگ واریته‌های نازک برگ، ۲ تا ۳ برابر بیشتر از واریته‌های پهن برگ است. طبق پژوهش‌های انجام شده، ترکیبات موثر بیولوژیکی مختلفی در این گیاه شناسایی شده‌اند که عبارتند از: مشتقات آنتراکینونی که به میزان ۰/۱ تا ۰/۱۵ درصد در این گیاه وجود دارند و شامل هیپریسین و پسودوهایپریسین (که مقدار آن‌ها در گل بیشتر از ساقه است) و پیش ماده‌های آن‌ها یعنی پروتوهیپریسین، پروتوپسودوهیپریسین و ترکیب نادر سیکلوپسودوهیپریسین می‌باشند. پیش ماده‌های نام برده شده تحت تاثیر نور به ترکیبات حلقوی هیپریسین و پسودوهیپریسین تبدیل می‌شوند لذا عصاره‌گیری می‌بایست در تاریکی انجام شود [۶]. فلاونوییدها که شامل فلاونول (مثل کامپفرول)، فلاون‌ها (مثل کوئرستین و روتین)، بی‌فلاونوییدها، آمنتوفلاون و کاتشین‌ها می‌باشند. همچنین تانن‌ها به میزان ۹-۸ درصد که نوع آن‌ها دقیقا مشخص نیست[۷]. سایر فنل‌ها شامل کافئیک، کلروژنیک و فرولیک و در ادامه روغن‌های فرار که بخش عمده آن‌ها شامل متیل-۲-اکتان بوده و α و β پینن، ژرانیول و همچنین مقادیر جزیی از میرسن و لیمونن نیز در آن وجود دارد [۸ و ۹].

حال به نظر می‌رسد که عصاره گیاه هوفاریقون به دلیل داشتن ترکیبات ترپنوئیدی، فلاونوئیدی، پلی‌فنلی و تانن‌ها از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد قارچی برخوردار باشد. در این راستا به منظور دستیابی به این ترکیبات بیواکتیو، فرآیند استخراج و خالص‌سازی عصاره‌های طبیعی با منشا گیاهی، اولین و ضروری‌ترین گام به‌نظر می‌رسد. یکی از نکات قابل توجه در استخراج ترکیبات مؤثره از گیاهان دارویی، انتخاب روشی مناسب برای استخراج ترکیبات زیست فعال از ماتریکس، با حداقل ناخالصی و همچنین حفظ فعالیت بیولوژیکی آن‌ها می‌باشد. این تغییرپذیری به تفاوت در پیوندهای درونی این ترکیبات و به خصوص به قطبیت مولکول‌های تشکیل دهنده حلال بستگی دارد به همین جهت در فرآیند استخراج عواملی چون نوع حلال، نسبت نمونه به حلال، اندازه ذرات نمونه، مدت زمان استخراج و دما بسیار مهم هستند[۱۰]. در حال حاضر عصاره‌گیری به صورت سنتی از طریق روش‌هایی مانند سوکسله، تقطیر، خیساندن و پرکولاسیون و با استفاده از آب و حلال‌های آلی انجام می‌پذیرد. بدیهی است که با توجه به روش و حلال مورد استفاده، عصاره‌های به‌دست‌آمده خواص متفاوتی را از خود نشان می‌دهند. آن‌چه مسلم است، روش‌های سنتی زمان‌بر بوده و نیاز به مقدار زیادی از انواع حلال‌ها دارند. همچنین بسیاری از مواد فعال ممکن است هنگام استخراج از بین بروند [۴]. اما در سال‌های اخیر، استخراج به کمک فناوری‌های نوین مانند مایکروویو، امواج مافوق صوت و یا با مایع فوق بحرانی به دلیل کاهش مدت‌زمان عصاره‌گیری، کاهش میزان حلال مصرفی، افزایش بازده استخراج و بهبود کیفیت عصاره‌های حاصله، گسترش یافته‌است. امواج فراصوت از طریق پدیده کاویتاسیون منجر به ایجاد یکسری تغییرات فیزیکی، مکانیکی، شیمیایی و بیوشیمیایی می‌شود و از این‌رو می‌توان از آن در فرایندهایی از جمله استخراج استفاده کرد. اثرات مکانیکی امواج فراصوت و پدیده کاویتاسیون ایجاد شده در اثر این امواج، سبب افزایش نفوذ پذیری حلال به داخل سلولهای گیاهی، افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازدهی استخراج در دماهای پایین‌تر میشود. به دلیل اثرات مکانیکی امواج فراصوت، غالبا از آن به‌عنوان پیش تیمار در فرایند استخراج استفاده می‌شود. همچنین امواج فراصوت امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم می‌سازد[۱۱]. بررسی‌ها نشان می‌دهند که پژوهش‌های مختلفی در خصوص تاثیر پیش تیمار اولتراسوند بر میزان عصاره استخراج‌شده از گیاهان مختلف انجام شده است[۱۲،۱۳و۱۴].

همان‌طور که بیان شد، علف چای در گستره وسیعی از اقلیم‌ها قابلیت رشد و نمو دارد و حاوی مواد فعال زیستی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی قوی و قابل ملاحظه‌ای است. اما مهم‌ترین ویژگی گونه ایرانی این گیاه بالا بودن درصد هیپریسین به‌عنوان مهم‌ترین ماده موثر در برگ و گل‌های آن است که نقش بسیار مهمی در درمان انواع بیماری‌ها دارد. طبق بررسی‌های به‌عمل آمده، پژوهشی در ارتباط با تهیه عصاره‌های آبی و الکلی این گیاه به کمک امواج اولتراسوند انجام نشده است. لذا در این پژوهش تاثیر حلال‌های مختلف به همراه پیش‌تیمار اولتراسوند بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی استخراج شده از این گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

گیاه هوفاریقون مورد آزمایش، از مزرعه کلکسیون تحقیقات گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، در بهار ۱۴۰۲ تهیه گردید. در ادامه سرشاخه‌های گلدار این گیاه بلافاصله پس از جمع‌آوری و جداسازی ناخالصی‌ها در سایه خشک و تا زمان انجام آزمایش در کیسه‌های پلی‌اتیلنی و در یک فریزر خانگی (دمای ۱۸- درجه سلسیوس) نگه داشته شدند. در ادامه، هنگام فرایند استخراج عصاره، نمونه‌های خشک‌شده با استفاده از آسیاب مکانیکی (آسیاب بوش مدل BOSCH TSM6A01) به ذرات بسیار ریز تبدیل و از الکی با مش ۴۰ عبور داده شدند. کلیه معرف‌ها و استانداردها همچنین کلیه مواد شیمیایی و حلال‌ها به ترتیب از شرکت‌های سیگما و مرک و با بالاترین خلوص خریداری گردیدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- استخراج عصاره به روش غرقابی و به کمک پیش تیمار اولتراسوند

برای انجام آزمایش، ۱ گرم گیاه هوفاریقون پودر شده توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم (Sartorius, model PT210, Germany) توزین و داخل ارلنی به ظرفیت ۵۰۰ میلی‌لیتر ریخته‌شد. در تمام تیمارهای آزمایش، نسبت پودر خشک‌شده به حلال، ۱:۱۰ (وزنی– حجمی) لحاظ گردید. در ادامه نسبت‌های مختلف حلال (۳۰٪ (آب):۷۰٪ (اتانل) ، ۶۰٪ (آب):۴۰٪ (اتانل)، ۱۰۰٪ (اتانل) و ۱۰۰٪ (آب)) به داخل ارلن ریخته شد و با پودری که از قبل درون ارلن ریخته شده بود، به مدت ۱۲ ساعت به وسیله شیکر و در دمای محیط مخلوط گردید. تیمارهایی که می‌بایست بر روی آن‌ها پیش تیمار اولتراسوند اعمال گردد، قبل از قرار دادن ارلن بر روی شیکر، به مدت ۲۰ دقیقه در معرض امواج فراصوت (۴۰ کیلو وات) قرار می‌گرفتند. در این راستا از یک دستگاه اولتراسونیک پروب‌دار (شرکت تاپ سونیک) و پراب استوانه‌ای شکل از جنس تیتانیوم به قطر (۲/۵) سانتی‌متر استفاده شد. در ادامه مخلوط حلال حاوی عصاره و مواد جامد گیاهی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک از یکدیگر جدا گردیدند. پس از این مرحله، عصاره استخراج شده در ۷۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ و سپس قسمت شفاف بالای مخلوط جدا گردید. عصاره‌های به‌دست آمده به وسیله تبخیرکننده چرخشی تحت خلا (IKA-RV05، آلمان) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس (با هدف جلوگیری از آسیب ترکیبات فنولی) و در ۲۰۰ درور در دقیقه، تغلیظ شده و در نهایت توسط خشک‌کن انجمادی (Operun-FDB550، کره جنوبی) و در دمای ۵۰- درجه سلسیوس خشک و به پودر تبدیل شدند. پودرهای به‌دست آمده در بسته‌های پلی اتیلنی غیرقابل نفوذ به هوا و رطوبت، بسته‌بندی شده و در فریزر خانگی (دمای ۱۸- درجه سلسیوس) نگهداری شدند [۴ و ۱۵].

Table1. The type of solvent and pretreatment used in the study

Treatment types	Code
70% (ethanol)/30% (water)	E70.W30
40% (ethanol)/60% (water)	E40.W60
Ultrasound pretreatment (40 kW, 20 min) + 70% (ethanol)/30% (water)	P40.E70.W30
Ultrasound pretreatment (40 kW, 20 min) + 40% (ethanol)/60% (water)	P40.E40.W60
70 % ethanol	E70
Water	W

۲-۲-۲- بازدهی کل استخراج

هریک از عصاره‌های به‌دست‌آمده، درون آونی با دمای ۵۰ درجه سیلسیوس و به مدت ۱۶ ساعت قرار داده شدند. پس از دسیکاتورگذاری و رسیدن به وزن ثابت، مقدار بازدهی استخراج با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید [۱۶].

(۱)

$$Extraction\ efficiency\ (\%) = \frac{A \times 100}{B}$$

که در آن: A= وزن ترکیبات خشک شده (g) و B= وزن ترکیبات اولیه (g) است.

۲-۲-۳- اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک

مقدار ترکیبات فنلی عصاره هوفاریقون با روش فولین سیوکالتو (Folin-Ciocalteu) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی، یک میلی‌لیتر محلول عصاره با یک میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک (۶ مولار) و ۵ میلی‌لیتر محلول ۷۵ درجه متانول در آب مخلوط گردید. محلول حاصل به مدت ۲ ساعت درون ی حمام آب با دمای ۹۰ درجه سلسیوس تکان داده شد. محلول پس از خروج از حمام آب و خنک‌شدن، تا رسیدن به حجم ۱۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رقیق گردید. سپس یک میلی‌لیتر محلول حاصل با ۵ میلی‌لیتر محلول فولین که ۹ برابر رقیق شده بود و ۱۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم مخلوط و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. در ادامه مقدار جذب محلول در طول موج ۷۶۰ نانومتر، با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی کالیبراسیون، محلول پایه‌ای از اسید گالیک با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و با استفاده از آن، غلظت‌های مختلف دیگری آماده گردید. در ادامه، تمام مراحل بالا توسط غلظت‌های مختلف اسید گالیک (به جای عصاره) انجام و مقدار جذب نمونه‌ها قرائت شد. حال مطابق اعداد به‌دست آمده، منحنی جذب در برابر غلظت‌های مختلف اسید گالیک (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) رسم و معادله آن تعیین شد. در ادامه با قرار دادن مقدار جذب هر نمونه در معادله به دست آمده، مقدار کل فنل موجود در عصاره تعیین و بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره خشک شده گزارش شد [۱۷].

۲-۲-۴- اندازه‌گیری مقدار فلاوونوئید کل عصاره

مقدار کل ترکیب‌های فلاوونوئیدی هر عصاره به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری گردید. ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانل حل شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار به آن اضافه گردید. در ادامه ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس مقدار جذب محلول در طول موج ۴۱۵ نانومتر، با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و. میزان فلاوونوئید بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره گزارش گردید [۱۸].

۲-۲-۵- اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH)

۲ و۲ دی‌فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش است که با احیا شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن به دی فنیل پیکریل هیدرازین زرد رنگ تبدیل می‌شود. برای اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد، ۳ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های استخراج شده در متانول ۸۰٪ با ۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۱ میلی مولار DPPH مخلوط و به شدت تکان داده شد در ادامه مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۳۰

دقیقه در تاریکی و در دمای محیط (۲۶- ۲۵ درجه سلسیوس) قرار گرفت تا تغییر رنگ در آن صورت بگیرد و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. حال هرچه مقدار DPPH بدست آمده بالاتر بود، نشان می‌داد که عصاره مورد نظر از پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار است [۱۹].

$$Inhibition\ (\%) = \frac{(A_0 - A_{30}) \times 100}{A_0} \quad (۲)$$

که در آن: A_0= جذب نمونه شاهد و A_{30}= جذب نمونه‌پس از ۳۰ دقیقه.

۲-۲-۶- تجزیه و تحلیل داده‌ها

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پژوهش، از طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال α=5% و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تاثیر تیمارهای مختلف بر بازدهی کل استخراج، مقدار کل ترکیبات فنولیک، مقدار فلاوونوئید کل عصاره و میزان مهار رادیکال‌های آزاد در جدول ۲ نشان داده شده است.

Table2. The variance analysis of data

	TEE			TPC			TFC			DPPH		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Treatment	5	28.92	12.52**	5	25.28	10.32**	5	21.01	11.42**	5	40.76	24.12**
Error	12	2.31	-	12	2.45	-	12	1.84	-	12	1.69	-
Total	17	-	-	17	-	-	17	-	-	17	-	-

TEE: Total extraction efficiency (%), TPC: Total phenolic compounds (mg GAE/g dw), TFC: Total Flavonoids compound (mg QE/g dw), DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (%); **Significant difference at α = 1% probability level.

۳-۱- ارزیابی بازدهی کل استخراج

مطابق جدول ۲، تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان بازدهی عصاره‌های استخراج‌شده معنی‌دار است ($p\leq 0.01$). همچنین با توجه به شکل ۱، بین تیمارهای مختلف از نظر تاثیر بر بازدهی کل عصاره استخراج‌شده، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p\leq 0.01$). در همین راستا بیشترین (۱۸/۳ درصد) و کمترین (۴/۲۱ درصد) میزان بازدهی استخراج به‌ترتیب در تیمارهای P40.E70.W30 و W به دست آمد.

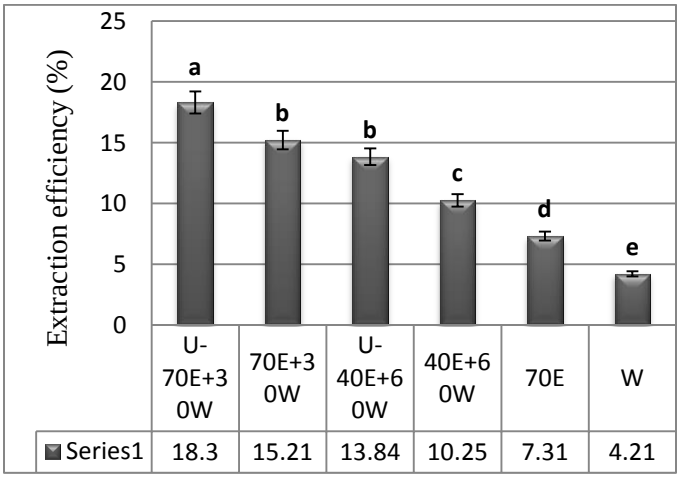

Fig 1. The effect of ultrasound pretreatment with different solvents on the extraction efficiency of *Hypericum perforatum* L. extract

به‌طور کلی میزان بازده استخراج به عوامل مختلفی از جمله نوع حلال، ترکیبات موجود در نمونه، دما، زمان، توان و روش استخراج بستگی دارد [۲۰]. طبق نتایج، تیمارهای P40.E70.W30، P40.E40.W60، E70.W30 و E40.W60 نسبت به تیمارهای E70 و W از میزان بازدهی استخراج عصاره بیشتری برخوردار بودند زیرا حلال‌هایی مانند اتانل در مقایسه با آب از قطبیت کمتری برخوردارند لذا با کاهش ثابت دی‌الکتریک حلال، باعث انحلال و انتشار بیشتر ترکیبات فنلی می‌شوند. البته استفاده از مقادیر مناسب آب به همراه حلال‌های آلی، علاوه‌بر این‌که سبب استخراج ترکیبات قطبی می‌گردد، سبب افزایش تورم بافت‌های گیاهی شده که در نتیجه آن، تماس بین ماتریکس گیاهی و حلال افزایش یافته و میزان استخراج افزایش می‌یابد [۲۱و۲۲]. از سوی دیگر، در تمام نمونه‌های تیمارشده با اولتراسوند، راندمان استخراج افزایش یافت. زیرا امواج فراصوت، فرایند استخراج ترکیبات گیاهی را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلول‌ها بهبود می‌بخشند و انتقال جرم را تسهیل و تسریع می‌کنند. همچنین حباب کاویتاسیون تولید شده، در مجاورت سطح مواد گیاهی طی چرخه انقباض متلاشی شده و میکروجت را به طور مستقیم به سطح مواد وارد می‌کند. فشار بالای ایجاد شده طی این فرایند، دیواره‌های سلولی ماتریس گیاهی را پاره کرده و محتوای آن ها را در محیط آزاد می‌نماید [۲۳]. از سوی دیگر استفاده از توان بالای اولتراسوند سبب افزایش دمای محلول گردید لذا افزایش میزان بازدهی عصاره استخراج شده در پی افزایش دمای ایجاد شده می‌تواند ناشی از بهبود انتقال جرم در نتیجه افزایش حلالیت عصاره و کاهش ویسکوزیته حلال باشد [۲۱].

۳-۲- ارزیابی مقدار کل ترکیبات فنولیک

مطابق جدول ۲، تاثیر تیمارهای مختلف بر مقدار کل ترکیبات فنولی استخراج شده از گیاه هوفاریقون معنی‌دار است ($p\leq 0.01$). در همین راستا و مطابق شکل ۲، بیشترین مقدار ترکیبات فنولی (۰/۲۹۵ mg GAE/g dw) در تیمار P40.E70.W30 و کمترین مقدار آن (۰/۰۵۱ mg GAE/g dw) در تیمار حاوی حلال آب (W) مشاهده گردید. در همین راستا بین تیمارهای مختلف از نظر تاثیر بر مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره استخراج‌شده، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد.

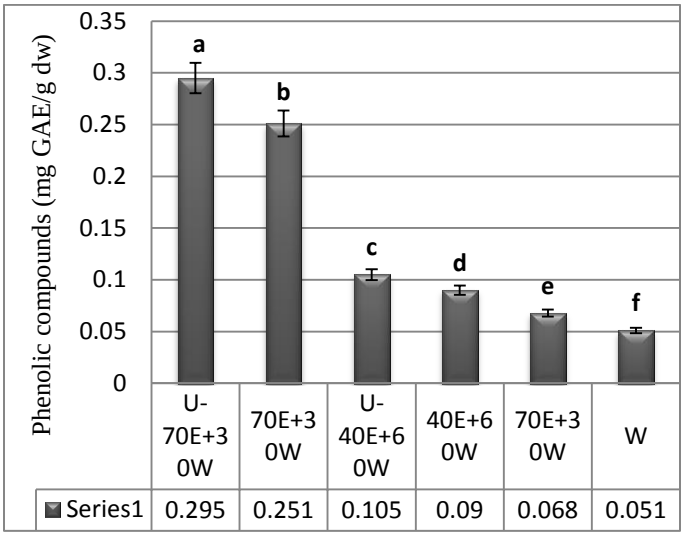

Fig 2. The effect of ultrasound pretreatment with different solvents on the total phenolic compounds of *Hypericum perforatum* L. extract

ترکیبات فنولی، مشتقات پنتوز فسفات و فنیل پروپانوئید در گیاهان هستند. این متابولیت‌های ثانویه قادر به خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه می‌باشند. استخراج این ترکیبات از گیاهان، به حلالیت این

ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی داشته به‌علاوه قطبیت حلال‌های استفاده شده نیز نقشی اساسی در افزایش حلالیت این ترکیبات دارند. حلالیت ترکیبات فنلی بسته به نوع حلال، درجه پلیمریزاسیون آن‌ها و برهم کنش آن‌ها با سایر ترکیبات موجود در بافت‌های گیاهی متفاوت است[۲۴]. مطابق شکل۲، تیمارهای P40.E70.W30، P40.E40.W60، E70.W30 و E40.W60 نسبت به تیمارهای E70 و W از توانایی بیشتری در استخراج ترکیبات فنلی برخوردار بودند. علت نتیجه حاصل آن است که استفاده از آب به تنهایی، یک محیط کاملا قطبی ایجاد می‌کند در نتیجه برخی از ترکیبات فنلی با درجه قطبیت پایین، کمتر استخراج می‌شوند اما افزودن آب به حلال‌های آلی، یک محیط نسبتا قطبی ایجاد کرده که می‌توانند مقادیر و طیف وسیع‌تری از ترکیبات فنلی با قطبیت‌های متفاوت را استخراج کنند. مطابق نتایج برخی پژوهش‌های انجام شده، در نسبت‌های بالاتر آب نسبت به حلال‌های آلی، ترکیبات فنولیک بیشتری مشاهده گردید [۲۱و۲۲]. اما در این پژوهش، میزان ترکیبات فنولیک بیشتر در نسبت‌های بالاتر اتانل اندازه‌گیری شد که این نتیجه در پژوهش‌های برخی از محققین دیگر نیز گزارش شده‌است [۲۵و۲۶]. به نظر می‌رسد که علت نتیجه حاصل را می‌توان به کاهش ثابت دی‌الکتریک حلال در اثر افزایش مقدار اتانل نسبت داد که این عامل سبب می‌شود مولکول‌های ماده حل شونده راحت‌تر بین مولکول‌های حلال قرار گرفته و حل شوند [۲۷]. از سوی دیگر بر اساس شکل ۲، استفاده از پیش تیمار اولتراسوند سبب افزایش ترکیبات فنولیک عصاره استخراج شده گردید. علت افزایش میزان استخراج را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد. در واقع در اثر انتشار امواج فراصوت در فاز جامد–مایع، چرخه انقباض و انبساط در محیط ایجاد می‌گردد که این فرایند باعث تشکیل حباب‌هایی می‌شود.این حباب‌ها به تدریج بزرگ و در نهایت متلاشی می‌گردند. انرژی زیاد امواج تولید شده سبب شکستن و متلاشی‌کردن دیواره سلولی و در نتیجه افزایش احتمال رهایش محتویات درون سلول به محیط می‌شود. همچنین نیروی برشی ایجاد شده توسط امواج فراصوت می‌تواند سبب کاهش اندازه ذرات شده لذا سطح تماس ذرات با حلال و در نتیجه انتشار حلال درون ذرات را افزایش دهد. به‌طور خلاصه افزایش میزان استخراج ترکیبات فنولیک، تشدید انتقال جرم ناشی از فروپاشی حبابهای کاویتاسیون در نزدیکی دیواره‌های سلولی است. از سوی دیگر استفاده از پیش تیمار اولتراسوند مخصوصا در توان‌های بالا سبب افزایش دمای محصول شده که این افزایش دما بر تخریب دیواره سلولی و در نتیجه افزایش نفوذپذیری حلال به درون سلول و در نتیجه افزایش ترکیبات استخراج‌شده تاثیر گذار است [۲۸]. محققین دیگر نیز در تحقیقات خود به نتایج مشابهی دست یافته‌اند[۱۳، ۱۴و۲۳].

۳-۳- ارزیابی مقدار فلاوونوئید کل عصاره

فلاوونوئیدها از مشتقات ترکیبات فنلی محسوب شده که توانایی تشکیل کمپلس با ترکیبات پروتئینی از جمله آنزیم‌های موثر در اکسیداسیون نظیر لیپواکسیژناز و الکل دهیدروژناز را داشته و به این صورت در فرآیند اکسیداسیون اختلال ایجاد می‌کنند[۱۵]. مطابق جدول ۲، تاثیر تیمارهای مختلف بر مقدار کل ترکیبات فلاوونوئید استخراج شده از گیاه هوفاریقون معنی‌دار است ($p\leq 0.01$). در همین راستا و مطابق شکل ۳، بیشترین مقدار ترکیبات فلاوونوئید (۰/۱۰۵ mg QE/g dw) در تیمار

P40.E70.W30 و کمترین مقدار آن (mg QE/g dw ۰/۰۱۱۵) در تیمار حاوی حلال آب (W) اندازه‌گیری شد. قابل توجه این‌که اختلاف آماری معنی‌داری بین کلیه تیمارها از نظر مقدار ترکیبات فلاوونوئیدی مشاهده گردید.

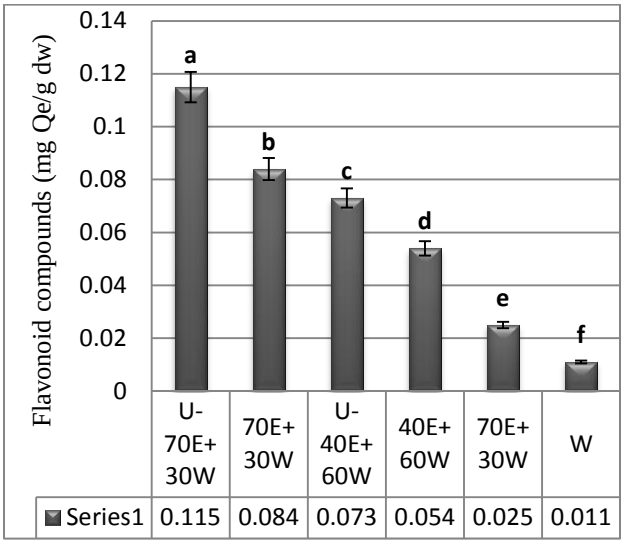

Fig 3. The effect of ultrasound pretreatment with different solvents on the total flavonoid compounds of *Hypericum perforatum* L. extract

مطابق شکل۳، تیمارهای P40.E70.W30، P40.E40.W60، E70.W30 و E40.W60 نسبت به تیمارهای E70 و W از توانایی بیشتری در استخراج ترکیبات فلاوونوئیدی برخوردار بودند. زیرا همان‌طور که قبلا بیان شد، استفاده از آب برای استخراج، یک محیط کاملا قطبی ایجاد می‌کند در نتیجه ترکیبات با درجه قطبیت پایین کمتر استخراج می‌گردند. همچنین عصاره‌های آبی حاوی ناخالصی‌هایی مانند اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول هستند که در شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات فلاوونوئیدی تداخل ایجاد می‌نمایند [۲۹]. از سوی دیگر در ارایه دلایل نتیجه حاصل می‌توان گفت که وقتی از آب به تنهایی به‌عنوان حلال استفاده شود، بخشی از آن توسط سلول‌های گیاهی جذب می‌شود لذا باعث کاهش نسبت حلال به ماده خشک‌شده که در نتیجه میزان استخراج کاهش می‌یابد [۳۰]. از سوی دیگر طبق شکل ۳، استفاده از پیش تیمار اولتراسوند سبب افزایش میزان استخراج ترکیبات فلاوونوئیدی گردید. یکی از دلایل نتیجه حاصل این است که استفاده از اولتراسوند در توان بالا سبب افزایش دمای محلول می‌گردد که این افزایش دما می‌تواند سبب افزایش حلالیت و افزایش ضریب نفوذ شود [۲۵]. همچنین افزایش حرارت ممکن است سبب نرم و ضعیف شدن بافت‌های گیاهی و کاهش مقاومت دیواره سلولی و از سوی دیگر سبب هیدرولیز پیوندهای بین ترکیبات فنل – پروتئین و فنل – پلی ساکارید شده و در نتیجه سبب استخراج بیشتر گردد. از دیگر دلایل می‌توان به تنش برشی حاصل از امواج اولتراسوند اشاره کرد که ممکن است باعث شکسته شدن مولکول‌های پلیمری بزرگ و در نتیجه استخراج مطلوب‌تر ترکیبات فلاوونوئیدی شده باشد [۲۸]. قابل توجه این‌که محققین دیگر نیز در تحقیقات خود به نتایج مشابهی دست یافته‌اند[۲۳و۲۴].

۳-۴- ارزیابی میزان مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH)

مطابق جدول ۲، تاثیر تیمارهای مختلف بر میزان مهار رادیکال آزاد عصاره‌های استخراج‌شده معنی‌دار بود ($p\leq 0.01$). همچنین با توجه به شکل ۴، بین تیمارهای مختلف از نظر تاثیر بر میزان مهار رادیکال آزاد، اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p\leq 0.01$). در همین راستا بیشترین (۸۴/۲۱ درصد) و کمترین (۴۷/۵۳ درصد) میزان مهار رادیکال آزاد به‌ترتیب در تیمارهای P40.E70.W30 و W اندازه‌گیری شد.

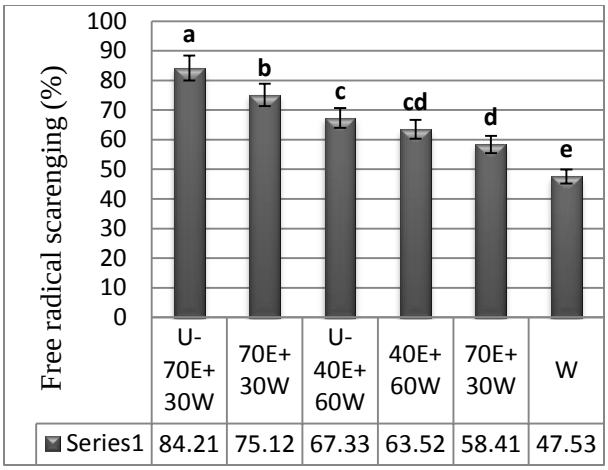

Fig 4. The effect of ultrasound pretreatment with different solvents on the free radical scavenging of *Hypericum perforatum* L. extract

به‌طور کلی قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنلی بستگی دارد. در ترکیبات فنلی با وزن مولکولی پایین‌تر، گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند. علاوه بر این، ترکیبات فنلی پس از اهداء هیدروژن خود، به رادیکال‌های آزاد فنوکسیل تبدیل می‌شوند. میزان ثبات این رادیکال‌ها می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی را تحت تاثیر قرار دهد [۲۷]. طبق نتایج، تیمارهای P40.E70.W30، P40.E40.W60، E70.W30 و E40.W60 نسبت به تیمارهای E70 و W از میزان مهار رادیکال آزاد بیشتری برخوردار بودند که علت آن را می‌توان به بالا بودن ترکیبات فنلی استخراج‌شده توسط این تیمارها و وجود گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار شیمیایی ترکیبات فنلی عصاره گیاه هوفاریقون نسبت داد. به‌عبارت دیگر با افزایش غلظت ترکیبات فنولی یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنولی، فعالیت مهار رادیکالی عصاره نیز افزایش یافت [۳۱]. بسیاری از محققان نتایج مشابهی را در ارتباط با وجود هم بستگی بالا بین توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و مقدار ترکیبات فنولی گزارش کرده‌اند [۲۰و۳۲]. البته در برخی پژوهش‌ها محققین ذکر کرده‌اند که رابطه بین ترکیبات فنولی و قدرت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد لزوماً رابطه‌ی مستقیم نیست زیرا برخی از ترکیبات فنولی قدرت آنتی‌رادیکالی دارند [۳۳].

۴- نتیجه‌گیری

استخراج و آماده‌سازی عصاره، اولین و مهم‌ترین مرحله در تحقیقات گیاهان دارویی محسوب می‌شود. لذا انتخاب روشی مناسب برای استخراج ترکیبات زیست فعال از ماتریکس گیاهی، با حداقل ناخالصی و حفظ خواص بیواکتیو آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این راستا در پژوهش حاضر تاثیر حلال‌های مختلف به همراه پیش تیمار اولتراسوند بر بازدهی استخراج، مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی و همچنین میزان مهار رادیکال‌های آزاد مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج، بیشترین بازده استخراج (۱۸/۳ درصد)، مقدار کل ترکیبات فنولی (۰/۲۹۵ mg GAE/g dw)، مقدار کل ترکیبات فلاوونوئیدی (۰/۱۰۵ mg QE/g dw) و میزان مهار رادیکال‌های آزاد (۸۴/۲۱ درصد) در نمونه‌های پیش تیمار شده با اولتراسوند به همراه حلال (۳۰٪ (آب):۷۰٪ (اتانل)) مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهند که از پیش تیمار اولتراسوند به دلیل ایجاد نوسانات مکانیکی، به همراه درصدهای بالای اتانل، در حلال ترکیبی (آب/اتانل)، می‌توان به‌عنوان روشی موثر در استخراج و حفظ ترکیبات بیواکتیو حساس به حرارت گیاه هوفاریقون استفاده نمود.

۵- منابع

[1] Hasheminia, S. M., Jamshidi, M., and Ostadi, Y. 2018. Determination of Diazinon residue in honey samples from Damavand region. Journal of Food Science and Technology. 15 (83): 421-428.

[2] Kaur, D., Held, M. A., Smith, M. R., and Showalter, A. M. 2021. Functional characterization of hydroxyproline-O-galactosyltransferasesor Arabidopsis arabinogalac tan-protein synthesis. BMC Plant Biology. 21: 590. doi: 10.1186/s12870-021-03362-2.

[3] Davari, A, Solouki, M, and Fazelinasab, B. 2018. Effects of jasmonic acid and titaniumdioxide nanoparticles on process of changes of phytochemical and antioxidant in genotypes of *Satureja hortensis* L. *Ecophytochemistry journal* of *Medicinal Plants.* 5: 1-20.

[4] Afshari, K., Javanmard Dakheli, M., Ramezan, Y., Bassiri, A. R., and Ahmadi Chenarbon, H. (2023). Physicochemical and control releasing properties of date pit (*Phoenix dactylifera* L.) phenolic compounds microencapsulated through fluidized-bed method. Food Science and Nutrition. 11(3): 1367-1382. https://doi.org/10.1002/fsn3.3173

[5] Campbell, M. H., May, C. E., Southwell, I. A., Tomlinson, J. D., and Michael P. W. 1997. Variation in *Hypericum Perforatum* L. (St. John's wort) in New South Wales. Plant Protection Quarterly. 12: 64-66.

[6] Upton, R. 1997. St John's wort, *Hypericum perforatum*. Quality control, analytical and therapeutic monograph. Herbalgram. 40: P: 32.

[7] Barnes, J., Anderson, A., and Phillipson, D. 2001. St.John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of pharmacy and pharmacology.53: 583-600.

[8] Naghdi Badi, H., Amin, G., Makkizadeh, M., and Ziai, S. A. 2005. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A Review**. Journal of Medicinal Plants. 4(16): 1-14.**

[9] Koohsari, H., Khormali, H., and Khormali, A. 2017. Evaluation of flavonoids and phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. collected from two sites in North Country. Ecophytochemistry Journal of Medicinal Plants. 5(1): 78-90.

[10] Mandal, V., Mohan, Y., and Hemalatha, S. 2007. Microwave assisted extraction, an innovative & promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacognosy Reviews. 1: 8-14.

[11] Ayatollahzadeh Shirazi, M., Movahhed, S., Shahab Lavasani, A. R., Ahmadi Chenarbon, H., and Rajaei, P. 2022. Assessment of microwave pretreatment on kinetic modeling of moisture loss and oil uptake and acrylamide constitution during deep frying of carrot slices. Journal of Food Processing and Preservation. 46(3): e16283. https://doi.org/10.1111/jfpp.16283

[12] Gonzez-Centeno, M. R., Comas-Serra, F., Femenia, A., Rossell, C., and Simal, S. 2015. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitisvinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. *Ultrasonics Sonochemistry*.22: 506-514.

[12] Saleh, I., Vinatoru, M., Mason, T. J., Abdel-Azim, N. S., Aboutabl, E. A., and Hammouda, F. M. 2015. Ultrasonic assisted extraction and conventional extraction of Silymarin from *Silybum marianum* seeds; A comparison. Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 6: 709-717.

[13] Elmi Kashtiban, A., and Esmaiili, M. 2019. Extraction of phenolic compounds from Siah - Sardasht grape skin using subcritical water and ultrasound pretreatment. Journal of Food Processing and Preservation. 43(9): e14071.

[14] Mozdastan, Sh., Ebrahimzadeh, M. A., and Khalili, M. 2015. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (*Myrtus communis* L). Journal of *Mazandaran University* of *Medical Sciences*. 25(127): 10-24 (Persian).

[15] Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., and Sridhar, R. 2014. Microwave assisted extraction of pectin

from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds. Carbohydrate polymers. 101: 786-791.

[16] Cam, M., Hısıl, Y., and Durmaz, G. 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. Food Chemistry. 112: 721-726.

[17] Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10: 178-182.

[18] Santos, R. P., Souza, L. M., Balieiro, A. L., Soares, C. M. F., Lima, Á. S., and Souza, R. L. 2018. Integrated process of extraction and purification of betanin from Opuntia ficus-indica using aqueous two-phase systems based on THF and sodium salts. Journal Separation *Science* and *Technology*. 53(5): 734-744.

[19] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., TranNguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., and Ju, Y. H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of Food and Drug Analysis. 22(3): 296-302.

[20] Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S., and Tsao, R. 2012. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. Food Chemistry. 130: 928-936.

[21] Naczk, M., and Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41: 1523–1542.

[22] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P., and Mason, J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry. 11(3): 261−265.

[23] Medina –Torres, N., Ayora –Talavera, T., Espinosa –Andrews, H., Sánchez –Contreras, A., and Pacheco, N. 2017. Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. Agronomy. 7(3): 47.

[24] Cacace, J. E., and Mazza, G. 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. Journal of Food Engineering. 59(4): 379-389.

[25] Ahmadian, K. Z., Niazmand, R., and Najaf, N. M. 2016. Optimization of extraction conditions of bioactive components from saffron petal using response surface method (RSM). Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology. 5(1): 39-54.

[26] Pompeu, D. R., Silva, E. M., and Rogez, H. 2009. Optimization of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of Euterpe oleracea using Response Surface Methodology. Bioresource Technology. 100(23): 6076-6082.

[27] Nasirifara, Z., A.R. Sadeghi Mahoonakb, A. R., and Kamalia, F. 2014. Effect of extraction condition with two ultrasonic methods on phenolic, flavonoids and DPPH free radical scavenging of *Celtis australis* extract. **Food Processing and Preservation Journal.** 5(2): 115-130.

[28] Namadipour, A., Sadeghi Mahoonak, A. R., and Ghorbani, M. 2018. The Effect of extraction conditions on antioxidant properties of Zizyphus fruit and Date kernel Var. Mazafati. **Journal of Food Technology and Nutrition.** 15(2): 55-62.

[29] Shokrollahi Yancheshmeh, B., Hesarinejad, M. A., Rezaei, N., Salimi, A., Shemshadi, Gh., Kazemzadeh, M., and Jebelli Javan, A. 2019.Optimization of extraction conditions of antioxidant and polyphenolic compounds of *Ferula Persica* extract by using response surface methodology. Journal of Food Science and Technology. 15(85): 151-164.

[30] Sarikurkcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., and Harmandar, M. 2008. Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. Globosum (lamiaceae) by three different chemical assay. Bioresource *Technology*. 99: 4239-4246.

[31] Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., and Afolayan, A. J. 2010. 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(3): 964-971.

[32] Chandini, S. K., Ganesan, P., and Bhaskar, N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. Food Chemistry. 107: 707–713.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Impact of ultrasound pretreatment with different solvents on the antioxidant activity, phenolic and flavonoid compounds of the St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extract

Leila Yousefi

Department of Chemistry, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran.

ABSTRACT

In this study, the effect of ultrasound pretreatment (at 40 kW power, for 20 min) with single partial solvent including water and ethanol and two partial solvents containing water/ethanol in the form of 30% (water): 70% (ethanol) and 60% (water): 40% (ethanol), were considered on the extraction efficiency, total phenolic and flavonoid compounds, as well as the free radical inhibition rate of the St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) extract. In order to analyze the data, a completely randomized design was used in three replications, and the comparison of means was done by Duncan's multi-range test, at the probability level of α=1%, and using SPSS 14. Based on the results, the highest amount of extraction efficiency (18.3 %), total phenolic (0.295 mg GAE/g dw) and flavonoid (0.105 mg QE/g dw) compounds and the inhibition rate of free radicals (84.21 %) was measured in the samples pre-treated with ultrasound along with two partial solvents [30% (water): 70% (ethanol)] and the lowest amount of extraction efficiency (4.21%), total phenolic (0.051mg GAE/g dw) and flavonoid (0.0115 mg QE/g dw) compounds as well as free radical inhibition rate (47.53 %) was specified in water (100 %) solvent.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/7/1
Accepted: 2023/9/2

Keywords:

St. John's wort,
Hypericum perforatum L.,
Ultrasound,
Extraction,
phenolic compounds.

DOI: 10.22034/FSCT.20.143.126
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.143.9.1

*Corresponding Author E-Mail:
Leila.Yousefi@iau.ac.ir