



استخراج ترکیبات زیست فعال گلنار فارسی (*punica pranatum*) با استفاده از روش های اهمیت، فراصوت و پرکولاسیون

نازنین امیراحمدی^۱، اکرم شریفی^{۱*} محمد کوبا^۲

۱- گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۳	چکیده: ترکیبات زیست فعال گیاهی، دارای اثرات سلامت بخش برای انسان ها و دارای اثرات نگهدارندگی در محصولات غذایی می باشند. شرایط استخراج عصاره ها تأثیر قابل توجهی بر میزان ترکیبات زیست فعال آن ها دارد از روش های متداول و هم روش های جدیدتر برای استخراج ترکیبات زیست فعال از گیاهان استفاده می شود. هدف از این تحقیق، مقایسه روش های استخراج ترکیبات زیست فعال گلنار فارسی بود. در این تحقیق از سه روش اهمیت (دماهای ۴۵ و ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان های ۴۰ و ۶۰ دقیقه)، اولتراسونیک (دماهای ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان های ۲۰ و ۴۰ دقیقه) و پرکولاسیون (زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) برای استخراج عصاره گلنار فارسی استفاده شد و بر اساس بازده استخراج، محتوای فنول کل، آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال DPPH) بهترین شرایط استخراج انتخاب گردید. نتایج نشان داد که بین بازده استخراج هر سه روش اختلاف معنی داری وجود نداشت ($p>0/05$). روش اهمیت دارای محتوای فنول مشابهی با روش اولتراسونیک بود، ولی محتوای آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان داد. تیمار بهینه شامل روش اهمیت، دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان استخراج ۴۰ دقیقه بود و عصاره حاصله تحت این شرایط حاوی ۱۰۹/۷۴ mg GAE/g فنول کل، ۳۷۳/۲۶ mg/g آنتوسیانین کل و ۸۱/۱۱ درصد فعالیت آنتی اکسیدانی بود. از عصاره گلنار فارسی در صنایع غذایی و دارویی می توان استفاده کرد.
کلمات کلیدی: گلنار فارسی، روش های استخراج، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی	
DOI: 10.22034/FSCT.21.148.164. مسئول مکاتبات: * asharifi81@gmail.com	

۱- مقدمه

در زمان‌های اخیر، مصرف‌کنندگان علاقه بیشتری به محصولات غذایی که دارای مقادیر کافی از اجزای فعال زیستی هستند، پیدا کرده‌اند. دلیل اصلی آن این است که تحقیقات زیادی ثابت کرده است که بین مصرف اجزای زیست‌فعال و پیشگیری از بیماری‌های مزمن مختلف مانند بیماری‌های قلبی-عروقی رابطه وجود دارد [۱]. ترکیبات زیست‌فعال، ترکیباتی هستند که به طور طبیعی وجود دارند و جزء ضروری یا غیرضروری زنجیره غذایی هستند و تأثیر مفیدی بر سلامت انسان دارند. اسیدهای چرب چندغیراشباعی، ترکیبات پلی‌فنولی، آنتوسیانین‌ها و ویتامین‌ها، برخی از ترکیبات زیست‌فعال هستند که به بهبود سلامت کمک می‌نمایند [۲، ۳].

گل‌های انار، گل‌های درختچه‌های خزان‌کننده یا درختان کوچک انار هستند و گیاهی از جنس انار می‌باشند [۴]. انار غنی از فنول‌ها، تانن‌ها، قندها، رنگدانه‌ها و عناصر کمیاب است و پلی‌فنول‌ها فراوان‌ترین ترکیبات فعال آن هستند [۵]. عصاره خام انار دارای اثرات فارماکولوژیک خوبی مانند آنتی اکسیدان، ضدپیری، کاهش قند خون، کاهش فشار خون، کاهش چربی خون و ضدتصلب شرایین است [۶]. در اوایل تابستان، گل‌های زنگوله‌ای شکل که نمی‌توانند میوه بدهند، معمولاً زمانی که گل‌های انار برای اولین بار در جوانه‌ها ظاهر می‌شوند، جدا می‌گردند و بیشتر آن دسته از گل‌هایی که در طول رشد بعدی به درستی جوانه نمی‌زنند، به طور طبیعی می‌ریزند. بنابراین، گل‌های انار دسترسی فراوانی دارند. پلی‌فنول‌های موجود در گل‌های انار دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه [۴] و عملکردهایی نظیر کاهش فشار خون و چربی خون [۷]، جلوگیری از تصلب شرایین و ممانعت از تکثیر سلول‌های سرطانی هستند [۸]. بسیاری از عملکردهای گل‌های انار به دلیل حضور آنتوسیانین‌ها می‌باشد. آنتوسیانین‌های مهم موجود در گل‌های انار شامل: پلارگونیدین-۵،۳-دی‌گلوکوزید^۱ و پلارگونیدین-۳-گلوکوزید می‌باشند [۹].

روش‌های مختلفی برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال از گیاهان به کار گرفته شده‌اند. روش‌های سنتی استخراج شامل تراوش، پرکولاسیون و استخراج گرم توسط سیستم سوکسله می‌باشند، که معمولاً زمان استخراج طولانی داشته و بازده استخراج آن‌ها ناکافی است [۱۰]. بنابراین، روش‌های غیرمتداول و جدیدتری نظیر روش‌های استخراج به کمک امواج اولتراسوند، مایکروویو و گرمایش پالسی اهمیت برای غلبه بر معایب روش‌های سنتی جهت استخراج ترکیبات زیست‌فعال از منابع گیاهی ارائه شده‌اند. این روش‌ها دارای زمان عملیات کوتاه‌تری بوده و ظرفیت بازیافت ترکیبات فعال بالاتری دارند. مطالعات همچنین مشکلات زیست‌محیطی روش‌های متداول را به دلیل نیاز به حجم بالای حلال آلی نشان داده است [۱۱، ۱۲]. در سیستم استخراج به کمک گرمایش اهمیت، استفاده از حرارت اهمیت به دلیل حرکت یونی ایجاد شده در اثر فرآیند گرمایشی با میدان الکتریکی در محدوده متوسط (بیشتر از ۱۰۰ V/cm)، موجب افزایش دما شده و ابزاری قدرتمند برای استخراج ترکیبات فعال با بازده بالاتر را فراهم می‌سازد [۱۳]. در تحقیق انجام شده توسط Shahidi و همکاران (۲۰۲۰) نیز به مقایسه روش‌های اهمیت، اولتراسونیک، دکوکشن و ماسراسیون بر میزان استخراج ترکیبات فعال از خاکشیر پرداخته و دریافتند که بهترین روش جهت استخراج ترکیبات زیست‌فعال خاکشیر، روش اولتراسونیک بود [۱۴]. Moeini و همکاران (۲۰۲۲) در بررسی روش‌های استخراج عصاره از گیاه غافث نشان دادند که روش اولتراسونیک در مقایسه با روش مایکروویو در استخراج ترکیبات فعال مؤثرتر بود [۱۵]. Matini و همکاران (۲۰۲۰)، روش اولتراسونیک را کارآمدتر از روش متداول ماسراسیون در استخراج ترکیبات زیست‌فعال باقیمانده انگور سیاه سردست گزارش کردند [۱۶]. در این تحقیق به مقایسه روش‌های مختلف استخراج و همچنین شرایط عملیات بر استخراج ترکیبات زیست‌فعال از گل‌نار فارسی پرداخته شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

گلنار فارسی (*punica pranatum*) از عطاری در تهران خریداری شد و کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲- آماده سازی عصاره گلنار فارسی به روش اهمیک

فرآیند استخراج در یک سیستم گرمایش اهمیک نوع دسته ای با ولتاژ ۸-۲ V/cm و ۲۵ کیلو هرتز انجام شد. استخراج کننده شامل یک فلاسک شیشه ای گرد ۵۰۰ میلی لیتری بود که به دو الکتروود تیتانیوم و منبع کنترل واریاک ترانسفورماتور مجهز شده بود. دما، ولتاژ و جریان در طول آزمایش ۱۵ دقیقه نظارت و کنترل شد. برای این استخراج از دو دمای ۴۵ و ۶۰ درجه سانتی گراد و دو زمان عملیات ۴۰ و ۶۰ دقیقه استفاده گردید. یک کندانسور به محفظه استخراج متصل شد تا تبخیر حلال از فلاسک به حداقل برسد. در هر آزمایش، پودر گلنار با حلال اتانول ۷۰ درصد در نسبت ۱ به ۱۰ ترکیب شد و ۰/۵ گرم نمک طعام نیز به محفظه اهمی اضافه گردید. نمک برای دستیابی به رسانایی مناسب اضافه شد. برای اطمینان از ثبات عملیات، افزودن نمک در سه حالت دیگر استخراج تکرار گردید [۱۷].

۲-۳- آماده سازی عصاره گلنار فارسی به روش اولتراسونیک

برای استخراج عصاره گلنار به روش اولتراسونیک، پودر گیاه در یک لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی لیتری قرار داده شد و حلال اتانول ۷۰ درصد در نسبت ۱ به ۱۰ به آن اضافه گردید. استخراج در سه دمای ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی گراد و دو زمان ۲۰ و ۴۰ دقیقه انجام گرفت. پس از استخراج، محلول های حاصله فیلتر شده و سپس در یک اواپراتور روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد حلال آن ها تبخیر شد [۴].

۲-۴- آماده سازی عصاره گلنار فارسی به روش پرکولاسیون

برای استخراج عصاره گلنار فارسی به روش پرکولاسیون، ۱۰ گرم پودر گیاه با ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد مخلوط

شده و درون شیشه ریخته شد و یک مگنت در داخل آن قرار داده شده و شیشه بر روی هیتز گذاشته شد و عملیات استخراج عصاره در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام گرفت. عصاره های حاصله صاف شده و در اواپراتور روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد حلال آن ها تبخیر گردید [۱۸].

۲-۵- تعیین بازده استخراج عصاره ها

برای تعیین بازده استخراج عصاره های گلنار، عصاره (۲ میلی لیتر) در یک آون در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد تا زمان تبخیر حلال قرار گرفت و بازده استخراج عصاره ها با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید [۱۹]:

(۱)

$$100 \times \frac{\text{وزن عصاره خشک شده}}{\text{وزن نمونه اولیه}} = \text{بازده استخراج (\%)}$$

۲-۶- اندازه گیری محتوای فنول کل عصاره ها

برای تعیین محتوای فنول کل عصاره های گلنار فارسی، ۳۰ میکرو لیتر از هر عصاره با آب دیونیزه (۳ میلی لیتر) و واکنشگر فولین-سیوکالتیو (۲۰۰ میکرو لیتر) مخلوط شد و مخلوط حاصله در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه نگهداشته شد. پس از آن، به مخلوط ۶۰۰ میکرو لیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد) اضافه گردید و مخلوط به دست آمده در یک حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه گرمخانه گذاری شده و سپس سرد گردید. رنگ مخلوط حاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد و از طریق منحنی استاندارد گالیک اسید، محتوای فنول کل عصاره ها بدست آمده و بر حسب mg GAE/100g dw گزارش گردید [۲۰].

۲-۷- اندازه گیری محتوای آنتوسیانین کل عصاره ها

محتوای آنتوسیانین کل عصاره های گلنار فارسی با استفاده از افتراقی pH تعیین گردید. ابتدا عصاره در محلول بافر دارای pH 1 (۰/۲۵ M) کلرید پتاسیم و هیدروکلریک اسید) و محلول بافر دارای pH 4.5 (۰/۴ M) استات سدیم) به طور جداگانه حل گردید. جذب محلول در هر کدام از بافرها در هر دو طول موج ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر اندازه گیری شد.

غلظت آنتوسیانین عصاره از طریق رابطه زیر محاسبه گردید، که در این رابطه: Mw وزن مولکولی آنتوسیانین برای سیانیدین-۳-گلوکوزید (۴۴۹/۲)؛ DF فاکتور رقت؛ L طول سل؛ ε ضریب جذب (۲۶۹۰۰)؛ A جذب نمونه که از طریق معادله (۲) به دست آمد [۲۱].

معادله (۲)

$$\text{Anthocyanin } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \cdot \text{MW} \cdot \text{DF} \cdot 1000}{\epsilon \cdot L}$$

$$A = (A_{510} - A_{700})\text{pH}1.0 - (A_{510} - A_{700})\text{pH}4.5$$

۸-۲- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گلنار فارسی، از روش مهار رادیکال DPPH استفاده گردید. برای این منظور، عصاره (۵ میلی لیتر) ابتدا با محلول متانولی DPPH ۱۰۰ میکرومولار (۱ میلی لیتر) مخلوط شد و پس از همزدن شدید، به مدت ۱ ساعت در تاریکی و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداشته شد. در آخر جذب مخلوط حاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. محلول استاندارد شامل ۵ میلی لیتر اسید آسکوربیک مخلوط شده با ۱ میلی لیتر محلول DPPH بود. در آخر، مقادیر مهار رادیکال DPPH نمونه ها با استفاده از معادله (۳) به دست آمد و بر حسب درصد گزارش گردید. در رابطه زیر: Ac و As به ترتیب جذب شاهد و جذب نمونه عصاره بودند [۲۲].

معادله (۳)

$$\text{DPPH } (\%) = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

۹-۲- روش آنالیز آماری داده ها

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از سه بار تکرار آزمون های مربوط به عصاره ها، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و نرم افزار SPSS 22.0 انجام گرفت. برای مقایسه معنی داری میانگین ها در سطح ۵ درصد، از آزمون چنددامنه ای دانکن استفاده شد و نمودارهای مربوطه با Excel رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- بازده استخراج عصاره

مقادیر درصد بازده استخراج عصاره های گلنار فارسی تهیه شده به روش ها و شرایط عملیات مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. به طور کلی، روش استخراج عصاره تأثیر قابل توجهی بر بازده استخراج عصاره ها نداشت. در روش همیک و اولتراسونیک، با افزایش دما و زمان استخراج، افزایش در بازده استخراج عصاره های حاصله مشاهده گردید و در روش پرکولاسیون نیز افزایش زمان عملیات، بازده استخراج عصاره های گلنار فارسی را افزایش داد. افزایش دمای استخراج از طریق نرم تر کردن دیواره سلولی گیاهی و کاهش ویسکوزیته حلال، موجب افزایش نفوذپذیری و رهاسازی بیشتر ترکیبات فعال گیاهی می شود. با افزایش زمان استخراج نیز، تخریب بیشتری در ساختار سلولی گیاهی رخ می دهد که بازده استخراج عصاره ها را افزایش می دهد. در کل، بیشترین بازده استخراج مربوط به عصاره تهیه شده توسط روش اولتراسوند در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۴۰ دقیقه بود (۲۱/۶۵ درصد) و عصاره تهیه به روش اولتراسوند در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و زمان ۲۰ دقیقه کمترین بازده استخراج را داشت (۲۰/۳۸ درصد)، با این حال بین این تیمار و عصاره تهیه شده به روش همیک در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد و زمان ۴۰ دقیقه (۲۰/۵۲ درصد) و همچنین عصاره تهیه شده به روش پرکولاسیون در زمان ۲۴ ساعت (۲۰/۴۵ درصد) از لحاظ آماری اختلاف معنی داری وجود نداشت. Shahidi و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی اثرات تکنیک های متفاوت (خیساندن، استخراج به کمک اولتراسوند، استخراج به کمک همیک و جوشاندن) بر عملکرد استخراج عصاره های دانه های خاکشیر پرداخته و مشاهده کردند که استخراج به کمک همیک و اولتراسوند به ترتیب بیشترین (۱۰ درصد) و کمترین (۲ درصد) راندمان استخراج را به دست آوردند [۱۴]. Gahruie و همکاران (۲۰۲۰) نیز دریافتند که افزایش زمان عملیات استخراج با کمک امواج اولتراسونیک و گرمایش همیک موجب افزایش بازده استخراج عصاره زعفران گردید. این محققین، بازده استخراج عصاره های حاصله توسط روش اولتراسونیک را بالاتر از روش همیک

کاهش یافته و سرعت رهایش ترکیبات فعال کمتر می شود. به طور کلی، محتوای فنول کل عصاره های گلنار فارسی حاصله توسط روش های مختلف در محدوده ۳۶/۵۳-۸۵/۱۲۰ به دست آمد. بالاترین محتوای فنول کل مربوط به عصاره تهیه شده به روش اولتراسونیک در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و زمان ۲۰ دقیقه بود و عصاره تهیه شده توسط روش پرکولاسیون به مدت ۷۲ ساعت، کمترین محتوای فنول کل را داشت. دلیل کارایی خوب سیستم اولتراسونیک در استخراج ترکیبات فعال از گیاهان در مقایسه با روش های متداول این است که پدیده کویتاسیون ایجاد شده توسط امواج اولتراسوند موجب ایجاد نیروهای برشی بالایی در ساختار گیاه می شود و دیواره سلولی را شکسته و باعث نفوذ حلال به مواد گیاهی می گردد و اجازه می دهد تا محتوی درون سلولی در محیط آزاد گردد [۲۳]. در سیستم استخراج اهمیت نیز گرمایش حجمی در سیستم رخ می دهد که دما را بسیار سریع تر از روش های استخراج سنتی و غیرمتعارف افزایش می دهد و افزایش ولتاژ اعمالی، نرخ گرمایش فرآیند را بالاتر می برد. این افزایش ناگهانی دما به سلول ها آسیب می رساند، ساختار را مختل می کند و مولکول مورد نظر را به محفظه اطراف می ریزد و به استخراج ترکیبات فعال سرعت می بخشد [۲۸]. در پژوهش حاضر، محتوای ترکیبات فنولی استخراج شده به روش اهمیت و اولتراسونیک بالاتر از روش متداول پرکولاسیون بود. در تحقیق Kutlu و همکاران (۲۰۲۱) مشخص گردید که مقادیر ترکیبات فنولی استخراج شده از زغال اخته در روش اهمیت به طور قابل توجهی بالاتر از روش متداول ماسراسیون و روش اولتراسونیک بود [۱۲]. Coelho و همکاران (۲۰۱۷) اظهار داشتند که به دلیل استفاده از میدان الکتریکی بالا و حرارت دهی سریع در روش اهمیت، این روش نسبت به روش های متداول موجب حفظ بهتر ترکیبات فنولی محصولات فرعی گوجه فرنگی گردید [۲۹]. در تحقیق Safarzadeh Markhali و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده گردید که با افزایش دمای استخراج به کمک گرمایش اهمیت از ۴۵ تا ۷۵ درجه سانتی گراد، در ابتدا

گزارش کردند [۲۳]. Pereira و همکاران (۲۰۱۶) نیز رابطه مستقیم بین زمان استخراج و بازده استخراج ترکیبات فعال از سیب زمینی را نشان دادند [۲۴]. محقق و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که بین بازده استخراج عصاره ها پوست سیب زمینی راموس تهیه شده به دو روش پرکولاسیون و اولتراسونیک اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت [۲۵].

۲-۳- محتوای فنول کل عصاره

نتایج بررسی محتوای فنول کل عصاره های گلنار فارسی در جدول ۱ آورده شده است. در استخراج عصاره های گیاهی، دما هم محرک استخراج ترکیبات فعال است و هم می تواند موجب تخریب ترکیبات فنولی گردد. افزایش دما تا حد مناسب موجب نرم تر شدن بافت گیاهی شده و رهاسازی ترکیبات فنولی از گیاه را تسهیل می بخشد [۲۶]. افزایش زمان در شرایط مناسب نیز می تواند دمای حلال را افزایش داده و ویسکوزیته و کششی سطحی آب را کاهش دهد و از این طریق موجب افزایش سرعت انتشار و انتقال جرم ترکیبات فنولی شده و استخراج ترکیبات فعال را بهبود بخشد [۲۷]. از آنجایی که دماهای مورد استفاده جهت استخراج عصاره با روش اهمیت نسبتاً پایین بود، بنابراین افزایش دما از ۴۵ تا ۶۰ درجه سانتی گراد اثر مثبت بر استخراج ترکیبات فنولی از گلنار نشان داد و با افزایش دما، محتوای فنول کل عصاره ها افزایش یافت. در دمای پایین تر (دمای ۴۵ درجه سانتی گراد) در اثر افزایش زمان عملیات، به دلیل زمان کافی برای استخراج ترکیبات فعال، محتوای فنول کل افزایش یافت، ولی در دمای بالاتر (دمای ۶۰ درجه سانتی گراد)، افزایش زمان موجب کاهش محتوای فنول کل عصاره ها گردید، زیرا در دماهای بالاتر، در اثر طولانی تر شدن فرآیند، بخشی از فنول های استخراج شده تخریب می شوند. در سیستم استخراج پرکولاسیون، افزایش زمان استخراج در ابتدا موجب افزایش و سپس موجب کاهش محتوای فنول کل عصاره های حاصله گردید. به طور کلی، در زمان های کوتاه تر، به دلیل بالاتر بودن شیب غلظت مواد فنولی بین سلول گیاهی و حلال، فرآیند استخراج سریع تر رخ می دهد، ولی در زمان های طولانی تر، شیب غلظت مواد

بهینه استخراج عصاره در این تحقیق شامل: زمان استخراج ۶۰ دقیقه، دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد و قدرت اولتراسوند ۲۰۰ وات بود [۳۱]. Sadeghi و همکاران (۲۰۲۱) نیز دریافتند که با افزایش زمان استخراج پرکولاسیون تا ۴۵/۴۰ ساعت، محتوای فنول کل عصاره‌های استخراج شده Khandal افزایش یافت، ولی افزایش بیشتر زمان استخراج موجب کاهش محتوای فنول کل گردید که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۳۲].

محتوای ترکیبات فنولی عصاره برگ‌های زیتون کمی افزایش یافت و سپس تغییری نکرد [۳۰]. در تحقیق انجام شده توسط Saifullah و همکاران (۲۰۲۰) نیز در مقایسه روش استخراج متداول (حمام آب لرزشی) با روش استخراج اولتراسونیک بر استخراج ترکیبات فنولی از برگ‌های گیاه *Leptospermum petersonii* مشاهده گردید که روش استخراج اولتراسونیک کارایی بالاتری برای استخراج ترکیبات فنولی و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری در مقایسه با روش متداول از خود نشان داد. شرایط

Table 1. Extraction yield and total phenol content of Persian Golnar extracts

Extraction methods	Temperature (°C)	Time	Extraction yield (%)	TPC (mg GAE/g)
Ohmic	45	40 min	20.52 ± 0.09 ^{fg}	94.80 ± 1.27 ^e
		60 min	20.89 ± 0.07 ^d	102.15 ± 2.59 ^d
Ultrasonic	60	40 min	20.83 ± 0.11 ^{de}	109.74 ± 0.53 ^b
		60 min	21.35 ± 0.09 ^{bc}	104.80 ± 2.87 ^{cd}
	40	20 min	20.38 ± 0.07 ^g	107.04 ± 0.36 ^c
		40 min	20.65 ± 0.12 ^{ef}	106.66 ± 0.18 ^c
Perculation	50	20 min	20.97 ± 0.05 ^d	120.53 ± 0.10 ^a
		40 min	21.24 ± 0.08 ^c	103.33 ± 2.36 ^d
	60	20 min	21.47 ± 0.06 ^b	89.15 ± 0.21 ^f
		40 min	21.65 ± 0.05 ^a	86.00 ± 0.17 ^h
	-	24 h	20.45 ± 0.10 ^{fg}	87.78 ± 0.54 ^g
		48 h	20.93 ± 0.08 ^d	106.69 ± 0.20 ^c
		72 h	21.38 ± 0.12 ^{bc}	85.36 ± 0.25 ⁱ

*Values represent mean (n=3) ± SD. Different letters in each column represent statistical significant difference at 5% level. TPC: Total phenol content; GAE: Gallic acid equivalent.

اولتراسونیک، در زمان کوتاه‌تر، با افزایش دما از ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد، میزان آنتوسیانینی افزایش و سپس با افزایش دما از ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد میزان آنتوسیانین به طور معنی‌داری کاهش یافت. افزایش زمان عملیات استخراج با اولتراسونیک موجب کاهش محتوای آنتوسیانین عصاره‌ها گردید. در استخراج توسط پرکولاسیون، با افزایش زمان استخراج، محتوای آنتوسیانین‌ها به دلیل تخریب کاهش یافت. تخریب آنتوسیانین‌ها در اثر افزایش زمان استخراج اولتراسونیک نیز در تحقیق انجام شده توسط Tiwari و همکاران (۲۰۱۰) مشاهده گردید [۳۴]. مکانیسم تخریب آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فعال در اثر افزایش زمان عملیات استخراج با اولتراسونیک، به دلیل تشکیل رادیکال‌های آزاد در لثر هیدرولیز آب، لثر حرارت و

۳-۳- محتوای آنتوسیانین کل عصاره

آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های طبیعی هستند که مسئول رنگ‌های آبی، قرمز و ارغوانی در گل‌ها سبزیجات و میوه‌ها می‌باشند. این رنگدانه‌ها در pH های اسیدی به رنگ قرمز، در pH خنثی بی‌رنگ و در pH های قلیایی به رنگ آبی و ارغوانی می‌باشند. آنتوسیانین‌های حاصله از منابع گیاهی مختلف همچنین فعالیت‌های آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان داده‌اند [۳۳]. نتایج بررسی محتوای آنتوسیانین کل عصاره‌های گلنار فارسی (جدول ۲) نشان داد که در سیستم اهمیک، افزایش دما و زمان موجب افزایش محتوای آنتوسیانین استخراج شده از گلنار فارسی گردید. در سیستم

بالاتر از روش اولتراسونیک بود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۲۳].

۴-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره

در جدول ۲ نتایج بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گلنار فارسی در روش متداول مهار رادیکال DPPH نشان داده شده است. که با وجود محتوای فنول کل تقریباً برابر عصاره های حاصله توسط روش های اهمیت و اولتراسونیک، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های حاصله توسط روش اهمیت بالاتر بود که این موضوع می تواند به دو علت باشد: اولین علت، بالاتر بودن محتوای آنتوسیانین های عصاره در روش اهمیت در مقایسه با اولتراسونیک می باشد و به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی آنتوسیانین ها، حضور مقادیر بالاتر آن ها موجب ایجاد فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر می گردد. از سوی دیگر، موقعیت و تعداد گروه های هیدروکسیل عصاره ها تأثیر قابل توجهی بر فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها دارد و تحقیقات نشان داده است که روش استخراج به کمک گرمایش اهمیت دارای اثر هیدروکسیل زایی می باشد و تعداد گروه های هیدروکسیل را افزایش می دهد [۲۸]، که این موضوع می تواند دلیلی برای بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره های حاصله توسط گرمایش اهمیت نسبت به روش اولتراسونیک و پرکولاسیون باشد. در روش اهمیت، در دمای کمتر، با افزایش زمان استخراج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها افزایش یافت، ولی در دمای بالاتر، افزایش زمان موجب کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها گردید، زیرا محققین طولانی شدن عملیات استخراج در دماهای بالاتر موجب تخریب برخی از ترکیبات فعال با ارزش استخراج شده نظیر ترکیبات فنولی و آنتوسیانین ها می گردد و عملیات هایی که دارای زمان های استخراج کوتاه تری انجام می گیرند، غالباً فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان می دهند [۱۲]. در روش استخراج با امواج اولتراسونیک، افزایش دمای استخراج تا ۵۰ درجه سانتی گراد، به دلیل افزایش محتوای ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها گردید، ولی افزایش دما از ۵۰ تا ۶۰ درجه

ایزومریزاسیون بیان شده است [۳۵]. به طور کلی، محتوای آنتوسیانین ها عصاره گلنار استخراج شده توسط روش استخراج اهمیت بالاتر از دو روش دیگر بود و روش اولتراسونیک نیز محتوای آنتوسیانین های گلنار را در مقایسه با روش پرکولاسیون بهتر استخراج کرد. در کل، عصاره تهیه شده به روش اهمیت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان ۶۰ دقیقه بالاترین آنتوسیانین کل را داشت ($426/42 \text{ mg/g}$) و کمترین میزان این ترکیبات فعال مربوط به عصاره تهیه شده به روش پرکولاسیون در زمان ۷۲ ساعت بود (mg/g) (۱۵۲/۶۵).

در تحقیق انجام شده توسط Zhang و همکاران (۲۰۱۱)، دو آنتوسیانین شامل پلارگونیدین ۳،۵-دی گلوکوزید و پلارگونیدین ۳-گلوکوزید در عصاره گل انار شناسایی شدند که فعالیت های ضد رادیکالی قوی داشتند [۹]. در تحقیق Perreira و همکاران (۲۰۱۶) نیز به طور موافق با نتایج پژوهش حاضر مشاهده شد که افزایش دمای اهمیت از ۳۰ تا ۹۰ درجه سانتی گراد موجب افزایش بازده استخراج آنتوسیانین ها گردید و افزایش زمان استخراج از صفر تا ۱۰ دقیقه نیز محتوای آنتوسیانین های عصاره را افزایش داد [۲۴]. Belwal و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که افزایش زمان اولتراسونیک تا ۲۱ دقیقه موجب افزایش محتوای آنتوسیانین ها در عصاره پوست گلابی گردید، ولی استفاده از زمان های بالاتر از ۲۱ دقیقه، کاهش محتوای آنتوسیانین های عصاره را به همراه داشت. افزایش دمای اولتراسونیک تا ۵۵ درجه سانتی گراد نیز محتوای آنتوسیانین عصاره را افزایش داد [۳۶]. Kutlu و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که محتوای آنتوسیانین های استخراج شده از زغال اخته در روش اهمیت بالاتر از سایر روش ها بود و روش اولتراسونیک پس از آن قرار داشت و کمترین میزان مربوط به روش متداول ماسراسیون بود، که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۱۲]. در تحقیق Gahruie و همکاران (۲۰۲۰) نیز محتوای آنتوسیانین های کل عصاره زعفران استخراج شده توسط روش اهمیت

فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH, ABTS, FRAP) و مهار رادیکال O_2^{2-} ، عصاره‌های گل‌های انار ظرفیت آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان دادند [۴]. Papoutsis و همکاران (۲۰۱۸) دریافتند که هم روش متداول استخراج با آب گرم و هم روش جدیدتر اولتراسونیک موجب تخریب دیواره سلولی می‌شوند و عصاره‌های حاصله توسط هر دو روش‌ها دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بالایی هستند [۴۰]. برخی محققین اظهار داشتند که ممکن است محتوای ترکیبات فنولی استخراج شده توسط روش‌های مختلف با هم فرق داشته باشد، ولی در برخی مواد با وجود این تفاوت در ترکیبات زیست‌فعال، بین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است که این موضوع به عدم فعالیت آنتی اکسیدانی برخی از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان مربوط می‌شود [۴۱، ۴۲]. در تحقیق Safarzadeh Markhali و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده گردید که با افزایش دمای استخراج به کمک گره‌های اهمیت از ۴۵ تا ۷۵ درجه سانتی‌گراد، در ابتدا محتوای ترکیبات فنولی عصاره برگ‌های زیتون کمی افزایش یافت و سپس تغییری نکرد، ولی درصد مهار رادیکال DPPH عصاره‌ها به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. این محققین این نتایج خود را به حضور ترکیبات فنولی مختلف در این عصاره نسبت دادند که بر رابطه بین محتوای فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی اثر گذاشته است [۳۰]. Sadeghii و همکاران (۲۰۲۱) دریافتند که با افزایش زمان استخراج پرکولاسیون تا ۴۵/۴۰ ساعت، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها افزایش یافت، ولی افزایش بیشتر زمان استخراج موجب کاهش محتوای فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گردید که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۳۲].

سانتی‌گراد، به دلیل کاهش محتوای ترکیبات زیست‌فعال، فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌ها را کاهش داد. افزایش زمان استخراج با امواج اولتراسونیک موجب کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها گردید و همانطوری که انتظار می‌رفت، در این روش استخراج بین محتوای ترکیبات فنولی، آنتوسیانینی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گلنار فارسی رابطه مستقیمی وجود داشت. در روش پرکولاسیون، با افزایش زمان استخراج در ابتدا محتوای ترکیبات فنولی افزایش یافته و بنابراین افزایش در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها مشاهده شد، ولی افزایش بیشتر زمان عملیات، با کاهش محتوای ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی موجب کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی گردید. به طور کلی، بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره تهیه شده به روش اهمیت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۰ دقیقه مشاهده شد (۸۱/۱۱ درصد) و کمترین میزان آن مربوط به عصاره تهیه شده به روش پرکولاسیون و زمان عملیات ۷۲ ساعت بود (۶۱/۰۷ درصد).

Abid و همکاران (۲۰۲۲) اظهار داشتند که عصاره‌های هیدروالکلی گل‌های انار فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند [۳۷]. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های سبوس گندم استخراج شده توسط روش اهمیت در تحقیق Al-Hilphy و همکاران (۲۰۱۵) نیز بالاتر از عصاره‌های استخراج شده توسط روش متداول بود و این محققین نیز کوتاه‌تر بودن زمان استخراج توسط روش اهمیت را دلیل بالاتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های حاصله توسط این روش در مقایسه با روش متداول دانستند [۳۸]. Rodrigues و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که روش‌های اولتراسونیک و اهمیت به دلیل عملکرد در دماهای پایین موجب حفظ بهتر ترکیبات فنولی در آب نیشکر می‌گردند [۳۹]. Wu و همکاران (۲۰۲۱) اظهار داشتند که در کلیه آزمون‌های مورد استفاده برای بررسی

Table 2. Total anthocyanin content and antioxidant activity of Persian Golnar extracts

Extraction method	Temperature (°C)	Time	TAC (mg/g)	Antioxidant activity (%)
Ohmic	45	40 min	175.54 ± 2.65 ^j	71.72 ± 0.46 ^d
		60 min	296.23 ± 0.52 ^f	76.69 ± 1.08 ^c

Ultrasonic	60	40 min	373.26 ± 1.24^b	81.11 ± 0.96^a
		60 min	426.42 ± 1.54^a	78.59 ± 0.78^b
	40	20 min	337.40 ± 1.48^d	75.42 ± 0.52^c
		40 min	309.42 ± 2.56^e	71.55 ± 0.72^{de}
Perculation	50	20 min	354.50 ± 1.94^c	78.98 ± 0.43^b
		40 min	297.56 ± 1.21^f	71.00 ± 1.83^{de}
	60	20 min	283.15 ± 0.98^g	75.63 ± 0.90^c
		40 min	250.54 ± 1.39^h	66.86 ± 1.05^f
	-	24 h	218.64 ± 1.12^i	65.02 ± 0.45^g
		48 h	159.72 ± 0.70^k	70.05 ± 0.84^e
		72 h	152.65 ± 3.09^l	61.07 ± 0.59^h

*Values represent mean (n=3) $\pm$ SD. Different letters in each column represent statistical significant difference at 5% level. TAC: Total anthocyanin content.

۴- نتیجه گیری کلی

روش اهمیک، دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و زمان استخراج ۴۰ دقیقه، تیمار بهینه بود و محتوای فنول کل، آنتوسیانین کل، فعالیت آنتی اکسیدانی و بازده استخراج این عصاره به ترتیب $۱۰۹/۷۴$ mg GAE/g، $۳۷۳/۲۶$ mg/g، $۸۱/۱۱$ درصد و $۲۰/۸۳$ درصد به دست آمد. کاربرد روش های غیرحرارتی و نوین مانند اهمیک به استخراج بهتر ترکیبات زیست فعال گیاهی کمک میکند، از ترکیبات زیست فعال استخراج شده میتوان در صنایع غذایی به عنوان نگهدارنده های طبیعی و در صنایع دارویی استفاده کرد.

۵- منابع

- [1] Boyano-Orozco, L., Gallardo-Velázquez, T., Meza-Márquez, O. G. & Osorio-Revilla, G. (2020). Microencapsulation of rambutan peel extract by spray drying. *Foods*, 9(7), 899.
- [2] Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J. & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272, 494-506.
- [3] Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z. & Askari, G. (2020). Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, 38(1-2), 235-258.
- [4] Wu, W., Jiang, S., Liu, M. & Tian, S. (2021). Simultaneous process optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols and ellagic acid from pomegranate (*Punica granatum* L.) flowers and its biological activities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 80, 105833.
- [5] Yisimayili, Z., Abdulla, R., Tian, Q., Wang, Y., Chen, M., Sun, Z. & Huang, C. (2019). A comprehensive study of pomegranate flowers polyphenols and metabolites in rat biological samples by high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1604, 460472.

- نتایج نشان داد که روش های نوین استخراج به کمک گرمایش اهمیک و امواج اولتراسوند در مقایسه با روش متداول پرکولاسیون موجب استخراج بهتر ترکیبات فعال از گلنار فارسی شدند. با وجود عدم اختلاف معنی دار بین محتوای فنول کل عصاره های تهیه شده به روش های گرمایش اهمیک و اولتراسوند، محتوای آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های تهیه شده به روش گرمایش اهمیک به طور قابل توجهی بالاتر از روش اولتراسوند بود. نتایج این تحقیق در کل نشان داد که بین عصاره های تولیدی در این تحقیق، عصاره تهیه شده به
- [6] Dathan, P. C., Nallaswamy, D., Rajeshkumar, S., Joseph, S. & Ismail, S. (2023). Pomegranate uses in biomedicine: a review. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 10(1S), 96-116.
 - [7] Bekir, J., Cazaux, S., Mars, M. & Bouajila, J. (2016). In vitro anti-cholinesterase and anti-hyperglycemic activities of flowers extracts from seven pomegranate varieties. *Industrial Crops and Products*, 81, 176-179.
 - [8] Zhao, Y., Liu, C., Ge, D., Yan, M., Ren, Y., Huang, X. & Yuan, Z. (2020). Genome-wide identification and expression of YABBY genes family during flower development in *Punica granatum* L. *Gene*, 752, 144784.
 - [9] Zhang, L., Fu, Q. & Zhang, Y. (2011). Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 127(4), 1444-1449.
 - [10] Nie, J., Chen, D., Ye, J., Lu, Y. & Dai, Z. (2021). Optimization and kinetic modeling of ultrasonic-assisted extraction of fucoxanthin from edible brown algae *Sargassum fusiforme* using green solvents. *Ultrasonics Sonochemistry*, 77, 105671.
 - [11] Jafari, R., Zandi, M. & Ganjloo, A. (2022). Effect of ultrasound and microwave pretreatments on extraction of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed essential oil by ohmic-assisted hydrodistillation.

- Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 31, 100418.
- [12] Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan, O. & Yilmaz, A. E. (2021). Extraction of phenolic compounds from cornelian cherry (*Cornus mas* L.) using microwave and ohmic heating assisted microwave methods. Food and Bioprocess Technology, 14, 650-664.
- [13] Sarkis, J. R., Jaeschke, D. P., Mercali, G. D., Tessaro, I. C. & Marczak, L. D. F. (2019). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry pulp during ohmic and conventional heating. International Food Research Journal, 26(1), 87-97.
- [14] Shahidi, B., Sharifi, A., Nasiraie, L. R., Niakousari, M. & Ahmadi, M. (2020). Phenolic content and antioxidant activity of flaxseed (*Descurainia sophia*) seeds extracts: Ranking extraction systems based on fuzzy logic method. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 16, 100245.
- [15] Moeini, A., Mortazavi, S. A. & Sharifi, A. (2022). Extraction of phenolic compounds from Agrimonia eupatoria using microwave and ultrasound-assisted extraction methods. Journal of Food and Bioprocess Engineering, 5(1), 1-8.
- [16] Matini, S., Mortazavi, S. A., Sadeghian, A. R. & Sharifi, A. (2020). Optimization of Ultrasound Assisted and Maceration Extraction of Bioactive Compounds of Sardasht Black Grape residue by using Response Surface Methodology. Journal of Food Science and Technology (Iran), 17(98), 147-158.
- [17] Pereira, S. G., Teixeira-Guedes, C., Souza-Matos, G., Maricato, É., Nunes, C., Coimbra, M. A. & Rocha, C. M. (2021). Influence of ohmic heating in the composition of extracts from Gracilaria vermiculophylla. Algal Research, 58, 102360.
- [18] Aslani, A., Zolfaghari, B. & Davoodvandi, F. (2016). Design, formulation and evaluation of an oral gel from Punica granatum flower extract for the treatment of recurrent aphthous stomatitis. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 6(3), 391.
- [19] Oroian, M., Dranca, F. & Ursachi, F. (2020). Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. Journal of Food Science and Technology, 57, 70-78.
- [20] Sánchez-Madriral, M. Á., Quintero-Ramos, A., Martínez-Bustos, F., Meléndez-Pizarro, C. O. & Ruiz-Gutiérrez, M. G. (2014). Effect of different calcium sources on the antioxidant stability of tortilla chips from extruded and nixtamalized blue corn (*Zea mays* L.) flours. Food Science and Technology, 34, 143-149.
- [21] Sengkhampan, N., Chanshotikul, N., Assawajitpukdee, C. & Khamjae, T. (2013). Effects of blanching and drying on fiber rich powder from pitaya (*Hylocereus undatus*) peel. International Food Research Journal, 20(4), 1595.
- [22] Le, T. N., Luong, H. Q., Li, H. P., Chiu, C. H. & Hsieh, P. C. (2019). Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sprouts as the potential food source for bioactive properties: A comprehensive study on in vitro disease models. Foods, 8(11), 532.
- [23] Gahruie, H. H., Parastouei, K., Mokhtarian, M., Rostami, H., Niakousari, M. & Mohsenpour, Z. (2020). Application of innovative processing methods for the extraction of bioactive compounds from saffron (*Crocus sativus*) petals. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 19, 100264.
- [24] Pereira, R. N., Rodrigues, R. M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J. A. & Vicente, A. A. (2016). Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. LWT, 74, 493-503.
- [25] Mohagheghi, S. A., Poorazarang, H., Elhamirad, A. H., Dezashibi, Z. & Hematyar, N. (2010). Extraction of phenolic compounds from potato peel (*Ramus* variety) with solvent and ultrasound-assisted methods and evaluation of its antioxidant activity in soybean oil. FSCT, 8(28):81-91 [In Persian].
- [26] Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J. C., Bryan, M. & Wu, Y. (2003). Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. Journal of Food Agriculture and Environment, 1(2), 42-47.
- [27] Ramos, L., Kristenson, E. M. & Brinkman, U. T. (2002). Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. Journal of Chromatography A, 975(1), 3-29.
- [28] Rifna, E. J., Misra, N. N. & Dwivedi, M. (2023). Recent advances in extraction technologies for recovery of bioactive compounds derived from fruit and vegetable waste peels: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 63(6), 719-752.
- [29] Coelho, M. I., Pereira, R. N. C., Teixeira, J. A. & Pintado, M. E. (2017). Valorization of tomato wastes: influence of ohmic heating process on polyphenols extraction time. Food and Bioprocess Processing, 117, 329-339.
- [30] Safarzadeh Markhali, F., Teixeira, J. A. & Rocha, C. M. (2022). Effect of ohmic heating on the extraction yield, polyphenol content and antioxidant activity of olive mill leaves. Clean Technologies, 4(2), 512-528.
- [31] Saifullah, M., McCullum, R., McCluskey, A. & Vuong, Q. (2020). Comparison of conventional extraction technique with ultrasound assisted extraction on recovery of phenolic compounds from lemon scented tea tree (*Leptospermum petersonii*) leaves. Heliyon, 6(4): e03666.
- [32] Sadeghii, S., Mooraki, N. & Honarvar, M. (2021). Investigating the Possibility of Extraction of khandal Extract by Percolation Method and its Application in Marinated White Indian Shrimp Fillet. Research and Innovation in Food Science and Technology, 10(2), 199-216.
- [33] Algarra, M., Fernandes, A., Mateus, N., de Freitas, V., da Silva, J. C. E. & Casado, J. (2014). Anthocyanin profile and antioxidant capacity of black carrots (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens*

- Alef.) from Cuevas Bajas, Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 71-76.
- [34] Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J. & O'donnell, C. P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(3), 598-604.
- [35] Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S. & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2), 593-606.
- [36] Belwal, T., Huang, H., Li, L., Duan, Z., Zhang, X., Aalim, H. & Luo, Z. (2019). Optimization model for ultrasonic-assisted and scale-up extraction of anthocyanins from *Pyrus communis* 'Starkrimson' fruit peel. *Food Chemistry*, 297, 124993.
- [37] Abid, K. Y., Omer, F. H. & Adel, E. M. Phytochemical, Antibacterial, and Antioxidant Screening of Pomegranate Flowers Properties (Alcoholic Extract and Flavonoids). *Azerbaijan Medical Journal*, 62(3): 1031-1039
- [38] Al-Hilphy, A. R., AlRikabi, A. K. & Al-Salim, A. M. (2015). Extraction of phenolic compounds from wheat bran using ohmic heating. *Food Science and Quality Management*, 43, 21-28.
- [39] Rodrigues, N. P., Brochier, B., de Medeiros, J. K., Marczak, L. D. F. & Mercali, G. D. (2021). Phenolic profile of sugarcane juice: Effects of harvest season and processing by ohmic heating and ultrasound. *Food Chemistry*, 347, 129058.
- [40] Papoutsis, K., Pristijono, P., Golding, J. B., Stathopoulos, C. E., Bowyer, M. C., Scarlett, C. J. & Vuong, Q. V. (2018). Optimizing a sustainable ultrasound-assisted extraction method for the recovery of polyphenols from lemon by-products: Comparison with hot water and organic solvent extractions. *European Food Research and Technology*, 244, 1353-1365.
- [41] Dalagnol, L. M., Dal Magro, L., Silveira, V. C., Rodrigues, E., Manfroi, V. & Rodrigues, R. C. (2017). Combination of ultrasound, enzymes and mechanical stirring: A new method to improve *Vitis vinifera* Cabernet Sauvignon must yield, quality and bioactive compounds. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 197-204.



Extraction of bioactive compounds of Persian Golnar (*punica pranatum*) using ohmic, ultrasound and percolation methods

Nazanin Amirahmadi¹, Akram Sharifi^{1*}, Mohamed Koubaa²

1- Department of Food Science and Technology, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran.

2- Unité Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable TIMR and Ecole Supérieure de Chimie Organique et Minérale ESCOM, Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, France

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2023/11/25 Accepted: 2024/1/13 Keywords: <i>Punica pranatum</i>, Extraction methods, Phenolic compounds, Antioxidant activity DOI: 10.22034/FSCT.21.148.164. *Corresponding Author E-Mail: asharifi81@gmail.com	Herbal bioactive compounds are secondary metabolites of plants that are produced in response to environmental stress and to protect the plant against harsh conditions. These compounds have both health effects on humans and also have preservative effects in food products. The conditions for extracting active compounds have a significant effect on their functional activities, and conventional and new methods have been used to extract bioactive compounds from plants. The aim of this study was to compare the extraction methods of bioactive compounds of Persian Golnar extract (PGE). In this research three methods of ohmic (temperatures of 45 °C and 60 °C for 40 and 60 min), ultrasonic (temperatures of 40 °C, 50 °C and 60 °C for 20 and 40 min) and percolation (for 24, 48 and 72 h) were used to prepare PGE, and the best extract was selected based on the extraction yield, total phenol content (TPC), total anthocyanin content (TAC) and antioxidant activity (DPPH radical scavenging). The results showed that there was no significant difference between the extraction yields of all three methods ($p > 0.05$). The ohmic method had the same TPC as the ultrasonic method, but showed a higher TAC and antioxidant activity and was chosen as the best method. The optimal treatment in this stage included ohmic method, 60 °C and 40 min, and the extract obtained under these conditions contained 109.74 mg GAE/g of TPC, 373.26 mg/g of TAC and 81.11% antioxidant activity.