



بررسی کارایی روش اسمزی و استفاده از پیش تیمار فراصوت در استخراج ترکیبات فعال و آنتی اکسیدانی چای ترش و مقایسه آن با سایر روش ها

فاطمه برنا^{۱*}، مصطفی رحمتی جنیدآباد^۲

^{۱*} - نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

^۲ - دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱

کلمات کلیدی:

آنتوسیانین

استخراج اسمزی،

پیش تیمار فراصوت،

فلاونوئید کل،

Hibiscus sabdariffa

DOI: 10.22034/FSCT.22.161.244.

* مسئول مکاتبات:

Borna@asnruk.ac.ir

این پژوهش به بررسی کارایی روش های مختلف استخراج مواد مؤثره از گیاه چای ترش (*Hibiscus sabdariffa*)، با تمرکز بر تکنیک اسمز و به کارگیری پیش تیمار فراصوت پرداخته است. چای ترش که به دلیل محتوای بالای آنتوسیانین، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضدباکتری و کاهنده فشار خون است، به عنوان منبعی غنی از ترکیبات مفید دارویی و غذایی شناخته می شود. در این مطالعه، از کاسبرگ های تازه چای ترش برای استخراج استفاده شد و تأثیر غلظت های مختلف محلول های اسمزی و پیش تیمار فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که ترکیب روش اسمز با پیش تیمار فراصوت و حلال اتانول به طور معنی داری بازدهی استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را افزایش می دهد. بیشترین مقدار این ترکیبات در تیمار EO50S، شامل محلول اسمزی ۵۰ درصد ساکارز و ۱۰ درصد اتانول به همراه فراصوت، به دست آمد. این روش به دلیل حفظ خواص آنتی اکسیدانی مواد استخراج شده، به ویژه در مقایسه با روش های استخراج مرسوم، عملکرد بهتری نشان داد. همچنین، نتایج تجزیه به مولفه های اصلی نشان داد که روش های EO50S، EO40S و EO40S از بیشترین بازدهی در استخراج مواد مؤثره گیاهی برخوردارند. در مجموع، یافته های این تحقیق نشان می دهد که روش اسمز با ترکیب فراصوت روشی کارآمد و دوستدار محیط زیست برای استخراج مواد مؤثره چای ترش است و می تواند در صنایع دارویی و غذایی برای استخراج ترکیبات مفید گیاهان دارویی به کار گرفته شود.

۱-مقدمه

به‌طور کلی، تکنیک اسمز غالباً با مواد مایع مورد استفاده قرار گرفته و تحقیقات کمی درباره استخراج مواد جامد موجود است. با این حال، حلال استخراج به‌سختی به ترکیبات دارویی گیاهان نفوذ کرده و اجزای فعال به‌سختی از سلول‌های گیاهی خارج می‌شوند. در طی فرآیند اسمزی، مشخص شده که استفاده از نمک‌های معدنی و مواد قندی می‌تواند کارایی استخراج را افزایش دهد [۹]. از سوی دیگر، استفاده از پیش‌تیمارهایی چون امواج فراصوت نیز در افزایش راندمان استخراج مواد مؤثره گیاهی کاربرد دارد. به‌طوری‌که با ایجاد حباب‌های ریز و پدیده کاویتاسیون، دیواره‌های سلولی گیاه تخریب شده و مواد مؤثره آزاد می‌شوند [۲۲]. در این روش، به دلیل ایجاد دمای پایین، امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت فراهم می‌شود [۲۳]. امواج فراصوت با تولید حباب‌ها و ترکیدن آن‌ها باعث انتقال جریان‌های قوی به داخل ماده شده و در نهایت خروج مواد مؤثره را تسهیل می‌کنند [۲۴].

چای ترش با نام علمی *Hibiscus sabdariffa* از خانواده مالواسه، گیاهی یک‌ساله یا چندساله با خواص دارویی متعدد است. این گیاه در طب سنتی به‌منظور پیشگیری و درمان سنگ‌های کلیوی و مثانه، به‌عنوان آنتی‌باکتریال، ضدقارچ، هیپوکلسترولمیک، آنتی‌اسپاسمودیک و کاهش‌دهنده فشار خون استفاده می‌شود [۲۵]. همچنین، از این گیاه برای خنک‌کنندگی بدن، تصفیه و کنترل کلسترول خون و نیز به‌عنوان منبع غنی آهن بهره می‌برند. مقدار زیاد آنتوسیانین موجود در کاسبرگ‌های گیاه نقش مهمی در کاهش فشار خون و خواص ضدسرطانی آن دارد [۲۶]. کاسبرگ‌ها حاوی فلاونوئیدهای گوسی‌پتین، هیبیسستین و سابدارتین بوده و نیز شامل آکالوئیدها، بتاسیتوسترول، آنتوسیانین، اسید سیتریک، و دیگر ترکیبات مفید هستند [۲۷].

گیاهان دارویی منبعی غنی از ترکیبات مؤثره نظیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند [۱]. بسیاری از گیاهان دارویی حاوی ترکیبات خاصی هستند که عصاره‌های آن‌ها جایگزینی مؤثر برای ترکیبات شیمیایی در صنایع غذایی و دارویی فراهم می‌کند [۳، ۲]. عصاره‌گیری گیاهی به‌عنوان روشی مطرح در دسترسی به ترکیبات مؤثره محسوب می‌شود [۴]، که با پیشرفت فناوری، روش‌های نوین عصاره‌گیری جایگزین روش‌های مرسوم شده و در زمانی کوتاه‌تر، با مصرف حلال کمتر و راندمان بالاتر به کار گرفته می‌شوند [۲].

استخراج اسمزی که بر اساس اصول تبادل یونی توسعه یافته، یک روش سبز و پایدار محسوب می‌شود که به دلیل سادگی، ارزانی و سازگاری با محیط‌زیست، جایگاه مهمی در صنایع مختلف یافته است [۵، ۶]. در این روش، با استفاده از محلول‌های دارای فشار اسمزی بالا، بخشی از آب ماده غذایی حذف شده و ترکیبات مؤثره به محلول منتقل می‌شوند [۷]. این روش که فاقد فرآیند حرارتی است، امکان حفظ و دسترسی به ترکیبات حساس به حرارت را بدون تخریب حرارتی فراهم می‌آورد. تکنیک اسمز به‌عنوان یکی از فناوری‌های مؤثر در غنی‌سازی محصولات غذایی با ترکیبات فراسودمند مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدان‌ها شناخته می‌شود [۸].

این تکنیک برای استخراج اجزای فعال از منابع بیولوژیکی همچون فلاونوئیدها [۹، ۱۰]، آکالوئیدها [۱۱]، ترکیبات فنلی [۱۲]، پلی‌ساکاریدها [۱۳]، لیگنان‌ها [۱۴]، گلیکوزیدهای فیل‌اتانوئیدی [۱۵]، جین‌سنوزیدها [۱۶، ۱۷] و سوکسینیک اسید [۱۸] به کار رفته است. علاوه بر این، تکنیک اسمز کاربرد جذابی برای جداسازی و خالص‌سازی پروتئین‌های فعال نظیر لیپاز [۱۹]، فاژ [۲۰] و پروتئاز سرین [۲۱] دارد.

برای تهیه عصاره گیاهی ۱۰ گرم کاسبرگ تازه چای ترش به نسبت ۱ به ۳ با حلال (جدول ۱) به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور شیکردار و در شرایط تاریکی قرار داده شد. در نهایت حلال حاوی مواد مؤثره گیاهی جدا سازی و سانتریفیوژ گردید و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای اعمال پیش تیمار امواج فراصوت، تیمارهای حاوی محلول قندی ۴۰ و ۵۰ درصد با الکل و بدون الکل به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه تولیدکننده امواج فراصوت H 200UP، ساخت شرکت Euronda ایتالیا با توان ۳۵۰ وات و فرکانس ۳۴ کیلوهرتز قرار داده شد. در جدول ۱، تیمارهای مختلفی که برای استخراج ترکیبات مؤثره از کاسبرگ های چای ترش معرفی شده اند، آمده است که شامل ترکیب های آب و ساکاروز در غلظت های مختلف (از ۳۰ تا ۶۰ درصد)، ترکیب های حاوی اتانول ۱۰ درصد، و ترکیب هایی که به کمک امواج فراصوت به دست آمده اند، است. برای هر تیمار یک کد اختصاری در نظر گرفته شده است که در ادامه با آن توضیح داده شده است

در این مطالعه، اثر استخراج اسمزی قندی در استخراج مواد مؤثره چای ترش بررسی شد و با استفاده از پیش تیمار فراصوت برای افزایش راندمان استخراج، این روش با سایر روش های مرسوم استخراج مقایسه گردید

۲- مواد و روش ها

آزمایش در پاییز و زمستان ۱۴۰۲ در گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملاثانی، ۳۵ کیلومتری شمال شرقی اهواز) انجام شد.

۲-۱- تهیه ماده گیاهی

گیاه دارویی چای ترش در آبان ماه ۱۴۰۲ از یک مزرعه واقع در شهرستان باوی، ملاثانی بصورت تازه جمع آوری سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش قرار داده شد.

۲-۲- روش عصاره گیری

Table 1. Solvents used to extract the active ingredients of fresh sour tea sepals

No.	Solvents	Abbreviation
1	Water	W
2	Water/ 30% Sugar (Osmosis30)	O30
3	Water/ 40% Sugar (Osmosis40)	O40
4	Water/ 50% Sugar (Osmosis50)	O50
5	Water/ 60% Sugar (Osmosis60)	O60
6	10% Ethanol /Osmosis 30	EO30
7	10% Ethanol /Osmosis 40	EO40
8	10% Ethanol /Osmosis 50	EO50
9	10% Ethanol /Osmosis 40/Sonication	EO40S
10	10% Ethanol /Osmosis 50/Sonication	EO50S
11	Osmosis 40/Sonication	O40S
12	Osmosis 50/Sonication	O50S

۲-۳- اندازه گیری میزان اسیدیته و هدایت

الکتریکی

نمونه ها تحت فرآیند اسمز در نسبت های مختلف ساکارز در دمای ۲۳ درجه سلسیوس (دمای محیط) قرار گرفته و مقادیر pH و EC در فواصل زمانی ۰، ۱، ۶، ۱۲ ساعت اندازه گیری شدند.

۲-۵- تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل

برای تعیین مقدار فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم استفاده شد [۲۹]. هر کدام از عصاره های متانولی گیاهی (۲۰۰ میکرولیتر) به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰٪ متانولی)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۱ میلی لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. منحنی استاندارد با محلول روتین^۲ (ساخت شرکت سیگما) متانولی در غلظت های ۱۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه شد و منحنی با نرم افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط $y=0.0743x+0.0413$ بدست آمد. جذب های خوانده شده از نمونه ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد.

۲-۶- فعالیت آنتی اکسیدانی براساس مهار

رادیکال آزاد DPPH

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی براساس مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد [۳۰]. ابتدا عصاره های گیاهی در غلظت های متفاوت (۵-۵۰۰ میکرولیتر) در متانل خالص تهیه شد. سپس آزمایش بر روی نمونه انجام تا غلظت مناسب تعیین گردد. در اینجا ۴۰ میکرولیتر غلظت

اندازه گیری pH: pH نمونه های محلول اسمزی توسط دستگاه pH متر در طول مدت زمان فرایند اسمز تعیین گردید.

اندازه گیری ضریب هدایت الکتریکی (Electrical Conductivity (EC)): ضریب هدایت الکتریکی نمونه های محلول در طول مدت اسمز توسط EC متر بر اساس $\mu S/Cm$ اندازه گیری شد.

۲-۴- تعیین مقدار فنل کل

مقدار فنل کل با معرف فولین-سیکالتو^۱ تعیین شد [۲۸]. برای سنجش مقدار فنل کل، ابتدا آزمایش را برای دامنه بزرگی از یک نمونه به عنوان مثال ۵ تا ۲۰۰ میکرولیتر انجام داده تا حجم مناسب نمونه عصاره برای ادامه کار مشخص شود. مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر از عصاره رقیق شده انتخاب و با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس به آن ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین اضافه گردید و پس از ۶ دقیقه قراردادن در تاریکی، دو میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه شده و نمونه ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در تاریکی قرار گرفتند. در نهایت جذب آن در ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط غلظت های مختلف ۵ تا ۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر اسید گالیک تهیه و منحنی با نرم افزار

فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب IC₅₀ نشان داده شد (غلظت مؤثر عصاره برای مهار ۵۰ درصد رادیکالهای ABTS).

۸-۲- اندازه گیری میزان آنتوسیانین تام عصاره

گیاهی

میزان آنتوسیانین تام با استفاده از روش تفاضلی pH، با تغییرات جزئی تعیین شد [۳۲]. ۲ نمونه از یک میلی لیتر عصاره متانولی گرفته شد و به یکی از آنها بافر کلرید پتاسیم، pH 1.0 و دیگری بافر استات سدیم، pH 4.5 اضافه و به حجم ۱۰ میلی لیتر رسید. پس از تعادل در ۱۵ دقیقه، جذب به ترتیب در 520 نانومتر و ۷۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. محتوای آنتوسیانین تام براساس میلی گرم در لیتر سیانیدین-۳-گلوکوزید به صورت فرمول (۳) محاسبه شد.

فرمول (۳)

$$\text{Anthocyanin content (mg/g)} = \frac{Abs_{eL}}{MW \times D \times \frac{V}{G}}$$

A = تفاوت میزان در pH 1.0 و pH 4.5

MW = وزن مولکولی = ۴۴۹.۲ گرم/مول سیانیدین-

۳- گلوکوزید

DF = ضریب رقت

E = ۲۶۹۰۰ ضریب خاموشی مولی برای سیانیدین-

۳- گلوکوزید

V = حجم محلول نهایی (میلی لیتر)

G = ماده خشک (میلی گرم)

مناسب تعیین شد. سپس نمونه با متانول ۱۰۰ درصد به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده و به آن ۳۵۰ میکرولیتر DPPH یک میلی مولار اضافه گردید. سپس کل حجم را به غلظت ۲ میلی لیتر رسانده و جذب نمونه ها بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه ها با استفاده از رابطه زیر به دست آمد.

$$R\% = \frac{AD - AS}{AD} \times 100 \quad \text{فرمول (۱)}$$

R% = درصد مهارکنندگی، AD : جذب DPPH

در ۵۱۷ نانومتر، AS : جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر

۷-۲- فعالیت آنتی اکسیدانی براساس مهار

رادیکال آزاد ABTS

برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال ABTS [۳۱]، ابتدا حجم یکسانی از محلول ۷ میلی مولار ABTS و ۲/۴۵ میلی مولار K₂S₂O₈ با هم مخلوط شده و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۶ ساعت در شرایط تاریک نگهداری شد. محلول کاتیونی رادیکال ABTS به دست آمده سپس با متانول رقیق شد تا به جذب ۰/۲ ± ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر برسد. پس از آن، عصاره (۰/۱ میلی لیتر) با محلول رادیکال ABTS (۳/۹ میلی لیتر) مخلوط شد و محلول به دست آمده به مدت ۶ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد و سپس جذب آن در ۷۳۴ نانومتر (As) در برابر نمونه شاهد (متانول؛ Ac) اندازه گیری شد. فعالیت مهار رادیکال ABTS عصاره طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$I\% = \frac{(Ac - As)}{Ac} \times 100 \quad \text{فرمول (۲)}$$

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

آنتی اکسیدانی) با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ انجام شد. از ضریب همبستگی پیرسون با استفاده از SAS و تجزیه به مولفه های اصلی با استفاده از نرم افزار MATLAB انجام شد.

۳- نتایج و بحث

بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس اثر روش های مختلف استخراج بر میزان pH و EC در واحد زمانی صفر، یک ساعت، شش ساعت و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تیمار (جدول ۲) نشان داد. تغییرات درجه اسیدیته و هدایت الکتریکی ($\mu\text{S}/\text{Cm}$) در واحد زمان در سطح احتمال یک درصد معنی دار شده است.

در ابتدا اثر تیمارهای مختلف استخراج بر میزان pH و EC در چهار سطح زمانی (۰، ۱، ۶ و ۱۰ ساعت) در قالب آزمون فاکتوریل بررسی شد. سپس اثر روش های مختلف استخراج بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و خاصیت آنتی اکسیدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار ۹.۴ SAS استفاده شد و مقایسه میانگین ها برای داده های pH و EC با آزمون LSmeans در سطح احتمال خطای ۰/۰۱ و برای داده های کیفی (فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، خاصیت

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) results for the effect of time and different extraction methods on the pH and EC levels of fresh roselle calyces extracts.

Sources	DF	Mean Squares	
		pH	EC
Treatment	11	0.11**	1213383.09**
Time	3	125.9**	26788483.25**
Treatment × Time	33	0.02**	239402.69**
Error	96	0.001	14.11
CV (%)	-	1.24	10.91

EO50S، در مقایسه با تیمارهای دیگر تغییرات pH کمتری در طول زمان دارند، به طوری که کاهش pH در بازه های زمانی ۶ و ۱۲ ساعت در این تیمارها نسبت به تیمارهای بدون فراصوت ناچیز است. تغییرات pH در طول زمان ممکن است به دلیل ویژگی های ترکیبات خروجی (اسیدی، بازی یا یونی و غیر یونی) در فرآیند اسمز و دیگر فرایندها رخ دهد. همچنین، غلظت بالای محلول اسمزی ممکن است حالت بافری ایجاد کرده و سرعت حرکت یون ها و الکتردها را کاهش دهد. علاوه بر این، امواج فراصوت می توانند به آزادسازی ترکیبات کمک کرده و در مراحل اولیه بر کاهش pH تأثیرگذار باشند، اگرچه تأثیر آن در ساعات بعدی کمتر به چشم می خورد [۲].

در جدول ۳، مقایسه اثر تیمارهای مختلف استخراج بر تغییرات pH عصاره کاسبرگ های تازه چای ترش در چهار بازه زمانی (۰، ۱، ۶ و ۱۲ ساعت) براساس آزمون LS means (در سطح احتمال یک درصد) بررسی شده است. نتایج نشان می دهد که در همه تیمارها، pH از زمان صفر به مرور کاهش می یابد. بطوریکه بیشترین میزان pH در زمان صفر در تیمار O30، O40، O40S و W مشاهده شد. تیمارهایی که دارای غلظت بالاتری از ساکارز و اتانول هستند، pH کمتری نسبت به تیمارهای دیگر دارند. به عنوان مثال، تیمارهای O60، EO30 و EO40 در ابتدای آزمایش (زمان صفر) pH کمتری نشان داده اند. تیمارهایی که از امواج فراصوت استفاده کرده اند، مانند EO40S و

بین تیمار ۰، ۱، ۶ و ۱۲ اختلاف معنی داری مشاهده شد. به نظر می رسد استفاده از پیش تیمار امواج فراصوت باعث خروج حجم بالای الکترولیتها از اندام هایی گیاهی شده است. غلظت بالای یونها در ارتباط با هدایت زیاد الکتریکی است که به ورود ترکیبات غذایی به آب مربوط می شود [۳۵]. هدایت الکتریکی تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله افزایش دما، غلظت محلول، اندازه ذرات مواد غذایی و نوع پیش فرآوری به کار رفته قرار دارد و به همین دلیل افزایش می یابد [۳۶]. در یک مطالعه، تأثیر هدایت الکتریکی ناشی از ترکیبات مختلف (محلول قندی و محلول قندی - نمکی) بر فرآیند خشک کردن اسمزی قطعات آناناس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد از آنجا که هدایت الکتریکی بالا نشان دهنده وجود یون های بیشتر است، محلول اسمزی ترکیب قند و نمک به تسهیل انتقال جرم و افزایش کارایی فرآیند اسمز منجر شد. همچنین در این نوع محلول، مقدار الکترولیت های آزاد شده (یون) کمتری، اندازه گیری شدند [۳۷].

در جدول ۴، تأثیر تیمارهای مختلف استخراج بر تغییرات هدایت الکتریکی (EC) عصاره کاسبرگ های تازه چای ترش در طول زمان بررسی شده است. نتایج نشان می دهد هدایت الکتریکی (EC) در تمام تیمارها به مرور زمان افزایش می یابد، به طوری که کمترین EC در زمان صفر و بیشترین آن در زمان ۱۲ ساعت ثبت شده است. این امر نشان می دهد که با گذشت زمان، یون های بیشتری به محلول منتقل شده و هدایت الکتریکی آن افزایش یافته است. ترکیبات با اتانول و غلظت ساکارز، در زمان صفر EC کمتری نشان می دهند. این کاهش هدایت الکتریکی در اثر حضور اتانول به عنوان ماده ای که توانایی حل کردن یونها را نسبت به آب کاهش می دهد و غلظت بالای ساکارز، می تواند باعث کندتر شدن تحرک یونها و کاهش اولیه EC شود [۳۳، ۳۴]. تیمارهایی که با امواج فراصوت پردازش شده اند (مثل EO40S و EO50S)، تغییرات کمتری در EC نشان می دهند. در واقع، در این تیمارها در مقایسه با سایر روش ها، افزایش هدایت الکتریکی در بازه زمان به میزان کمتری رخ می دهد. این در حالی است که در سایر تیمارها

Table 3. The effect of different extraction treatments on changes in pH of the fresh calyx of roselle per time

Treat		Time (h)			
		0	1	6	12
1	W	6.31(ab)	3.08(e)	2.78(gf)	2.58(ji)
2	O30	6.35(a)	2.77(gf)	2.67(ih)	2.45(onml)
3	O40	6.37(a)	2.72(gh)	2.55(jk)	2.37(orpq)
4	O50	6.25(bc)	2.71(gh)	2.52(jkl)	2.35(rqq)
5	O60	6.15(d)	2.75(gfh)	2.44(onmpl)	2.3(r)
6	EO30	6.24(bcd)	2.76(gf)	2.55(jk)	2.4(onmpq)
7	EO40	6.18(cd)	2.82(f)	2.49(nmkl)	2.4(onpq)
8	EO50	6.25(bc)	2.78(gf)	2.46(onmkl)	2.43(onmp)
9	EO40S	6.18(cd)	2.48(nmkl)	2.40(onmpq)	2.32(rq)
10	EO50S	6.25(bc)	2.43(onmp)	2.43(onmpl)	2.36(rpqq)
11	O50S	6.25(bc)	2.38(orpq)	2.36(rpqq)	2.32(rq)
12	O40S	6.38(a)	2.49(jmkl)	2.48(nmkl)	2.39(orpq)

Table 4. The effect of different extraction treatments on changes in EC of the fresh calyx of roselle per time

Treat		Time (h)			
		0	1	6	12
1	W	104.3(r)	1667.3(hij)	2383.3(cb)	2993.3(a)
2	O30	104.3(r)	1251.3(lm)	1777.6(hfglj)	2543.3(b)

3	O40	86.03(r)	1096.3(nm)	1645.0(ij)	2206.6(cd)
4	O50	63.40(r)	656.0(oqp)	1165.6(nm)	1658.0(ij)
5	O60	41.63(r)	421.6(q)	950.3(on)	1274.3(lm)
6	EO30	88.90(r)	1280.0(lm)	2166.6(cd)	2630.0(b)
7	EO40	70.86(r)	883.3(onp)	1626.0(ij)	2064.6(fde)
8	EO50	49.80(r)	646.6(qp)	1313.6(klm)	1616.6(ij)
9	EO40S	70.80(r)	1848.6(hfgie)	1990.6(fdge)	2070.0(fde)
10	EO50S	49.46(r)	1542.3(klj)	1608.3(kij)	1714.6(hgij)
11	O50S	63.80(r)	1657.0(ij)	1660.6(ij)	1825.0(hfgij)
12	O40S	86.40(r)	1777.0(hfgij)	1957.3(hfgde)	2128.3(cde)

همچنین بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و خاصیت آنتی اکسیدانی آنتوسیانین و خاصیت آنتی اکسیدانی کاسبرگ های تازه چای ترش (جدول ۵) نشان داد، اختلاف معنی داری در سطح یک درصد بین تیمارهای مختلف از نظر میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و خاصیت آنتی اکسیدانی وجود دارد.

Table 5. The analysis of variance of the effect of different extraction methods on total phenol, total flavonoid, anthocyanin, and antioxidant activity of fresh roselle calyces.

Source	DF	Mean Square				
		Total Phenol	Flavonoid	Anthocyanin	IC50 (DPPH)	IC50 (ABST)
Treat	11	912.19**	46.29**	87.53**	9456.03**	13882.47**
Error	24	215.16	14.11	5.9	22.37	1112.46
CV. (%)	-	9.57	10.8	24.1	13.09	11.01

اختلاف معنی داری از نظر میزان فنول کل مشاهده نشد. غلظت بالای ساکارز به همراه کاربرد پیش تیمار فراصوت و اتانول باعث خروج بهتر ترکیبات فنولی موجود در چای ترش گردید. پژوهشی در زمینه نفوذ ترکیبات فنلی انگور به میوه ها و سبزیجات در اثر اسمز انجام شد. عملیات اسمز در محلول حاوی عصاره ترکیبات فنلی انگور در سه غلظت مختلف، بررسی گردید. مقدار کل ترکیبات فنولی جذب شده در پایان فرآیند اسمز بین ۰/۵ تا ۱/۵ برابر بیشتر از میوه های مورد نظر در ابتدای آزمایش بود [۳۸].

مقایسه میانگین روش استخراج اسمز با سایر روش ها بر روی میزان فنول کل براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد پیش تیمار امواج صوتی بر میزان استخراج فنول کل تاثیر معنی داری داشته است. بطوریکه بیشترین میزان فنول کل در تیمار EO50S (۱۹۲/۶۹ میلی گرم در ۱۰۰ گرم ماده تازه) بدست آمد که اختلاف معنی داری با تیمار EO40S نداشت و کمترین میزان فنول کل در تیمار O30 بدست آمد. بین تیمارهای O50S و EO50، EO40 و O60 و O30، O40، O30، W

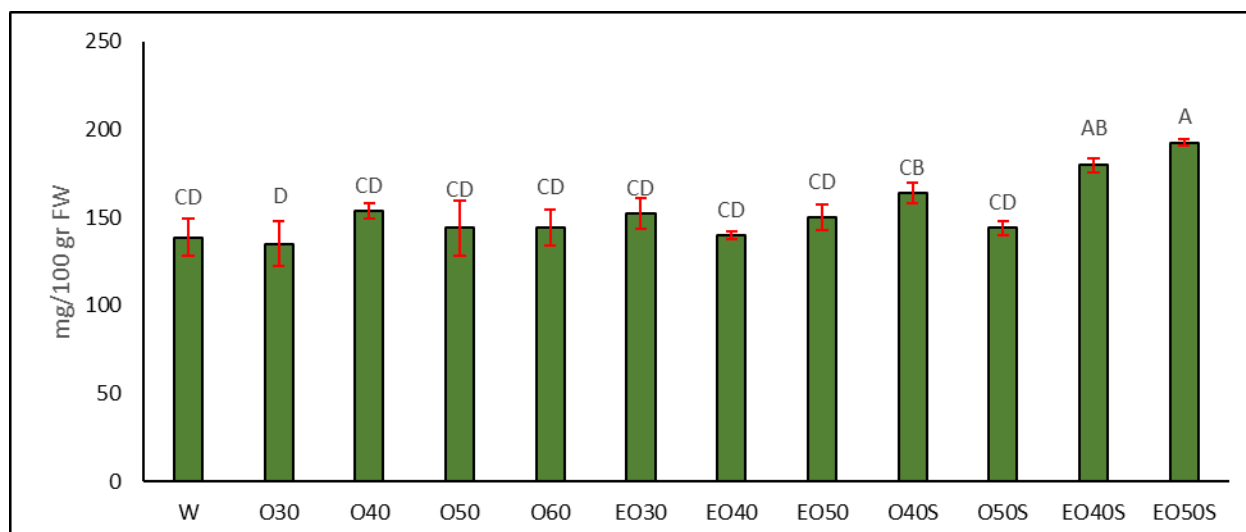


Fig1. The mean Comparison of osmosis extraction method on total phenol content based on Duncan's test ($p < 0.05$)

فلاونوئید کل در تیمار O40S بدست آمد که اختلاف معنی داری با تیمارهای O30، O40، EO50، EO40S، EO50S وجود نداشت. کمترین میزان فلاونوئید در تیمار O50 و O60 مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمار O30، O40، O50S و EO40، EO50 مشاهده نشد.

مقایسه میانگین روش استخراج اسمز با سایر روش ها بر روی میزان فلاونوئید کل براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد، بیشترین میزان

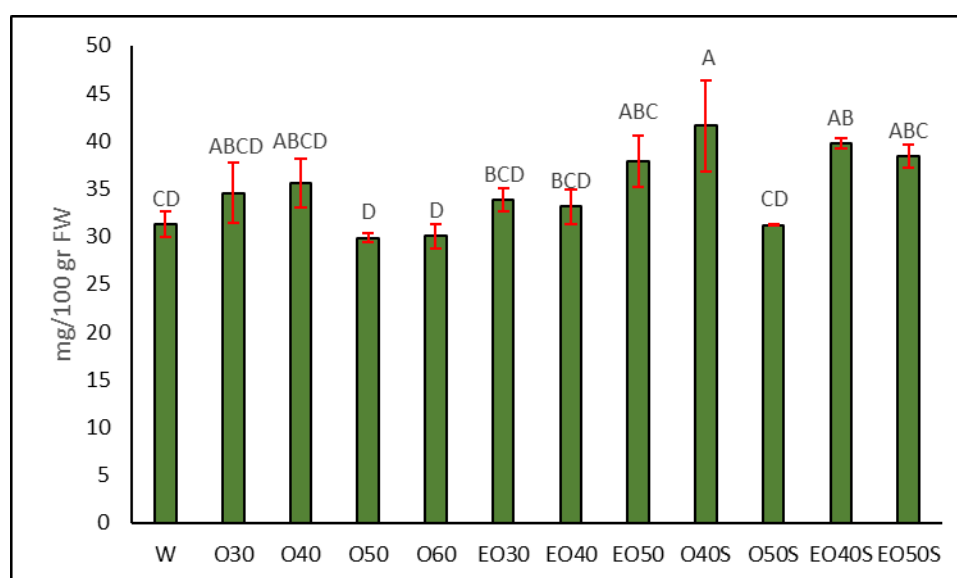


Fig2. The mean Comparison of the osmosis extraction method on total Flavonoid content based on Duncan's test ($p < 0.05$)

ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار EO50S و تیمار EO40S بدست آمد.

مقایسه میانگین روش استخراج اسمز با سایر روش ها بر روی میزان آنتوسیانین کل براساس آزمون چند دامنه

فراصوت بر برخی ویژگی های کیفی موز خشک شده به روش هوای داغ ارزیابی شد. از محلول های اسمزی قندی با غلظت های مختلف و با کمک امواج فراصوت با زمان های صوت دهی متغیر استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان حذف آب و جذب مواد جامد و کمترین میزان چروکیدگی در استفاده از محلول ۵۰ درصد گلوکز و پیش تیمار فراصوت حاصل شد [۳۹].

بین تیمارهای O30, O40, O50, O60, EO40, EO50 و O50S اختلاف معنی داری از نظر کمترین میزان آنتوسیانین مشاهده نشد. بصیری و غیبی (۱۴۰۱) تاثیر اسمز و پیش تیمارهای آنزیم بری و فراصوت بر خروج ترکیبات موثره از گیاه دارویی آویشن را بررسی کردند که براساس نتایج استفاده از امواج فراصوت و آنزیم زدایی به عنوان پیش تیمار و فرآیند آبگیری اسمزی، اثرات مهم در رهاسازی مواد موثره از گیاه دارویی آویشن داشتند [۲]. همچنین شهیدی و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر پیش تیمار اسمز و

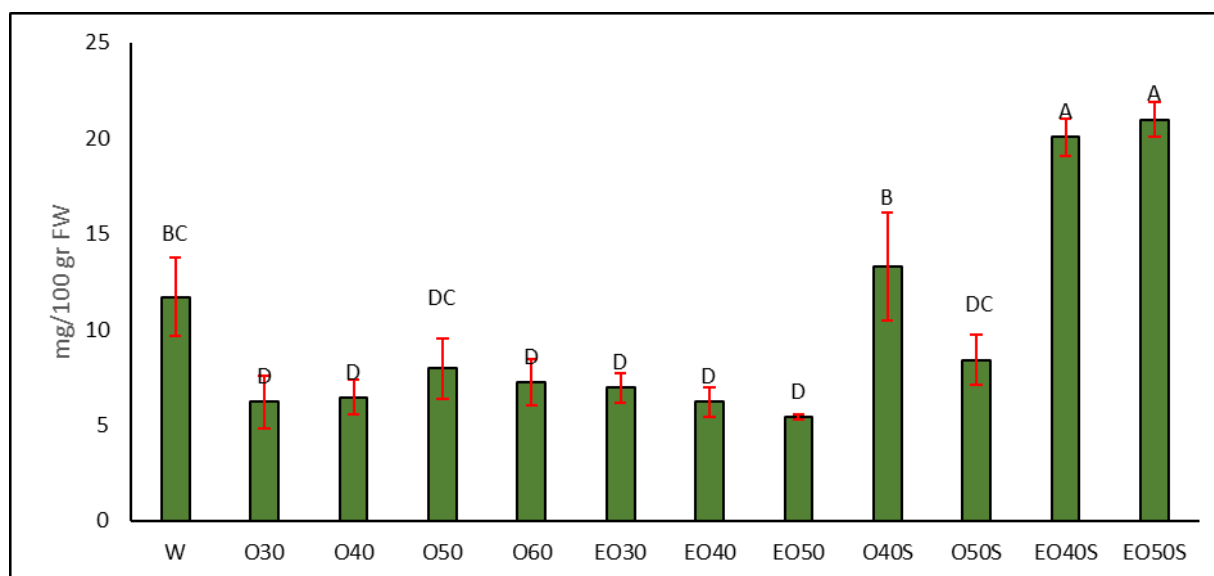


Fig3. The mean Comparison of osmosis extraction method on total Anthocyanin content based on Duncan's test ($p < 0.05$)

مقایسه میانگین روش استخراج اسمز با سایر روش ها بر روی میزان IC50 براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد کمترین غلظت موثر بر مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد در تیمار EO40S و EO50S به میزان (میلی گرم در میلی لیتر) بدست آمد که این میزان اختلاف معنی داری با تیمار O40S نداشت. کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی در تیمار O30 بدست آمد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت. در مطالعه فنگ و همکاران (۲۰۲۰) یک تکنیک جدید استخراج سبز برای استخراج فلاونوئیدها از نیلوفر آبی با تغییر فشار اسمز مورد بررسی قرار گرفت و در این روش راندمان استخراج فلاونوئیدها با فعالیت آنتی اکسیدانی بالا بیشتر از روش

فعالیت آنتی اکسیدانی براساس غلظت موثر در مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد DPPH (IC50) برآورد گردید. مقایسه میانگین روش استخراج اسمز با سایر روش ها بر روی میزان IC50 براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد کمترین غلظت موثر بر مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد در تیمار EO50S به میزان (میلی گرم در میلی لیتر) بدست آمد که این میزان اختلاف معنی داری با تیمار O40S و EO40S نداشت. کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی در تیمار O30 بدست آمد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی براساس غلظت موثر در مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد ABTS (IC50) برآورد گردید.

سستی شد. اثر رابط باعث افزایش استخراج در طول استخراج نمکی شد و اسمز عامل اصلی بهبود کارایی استخراج بود [۴۰].

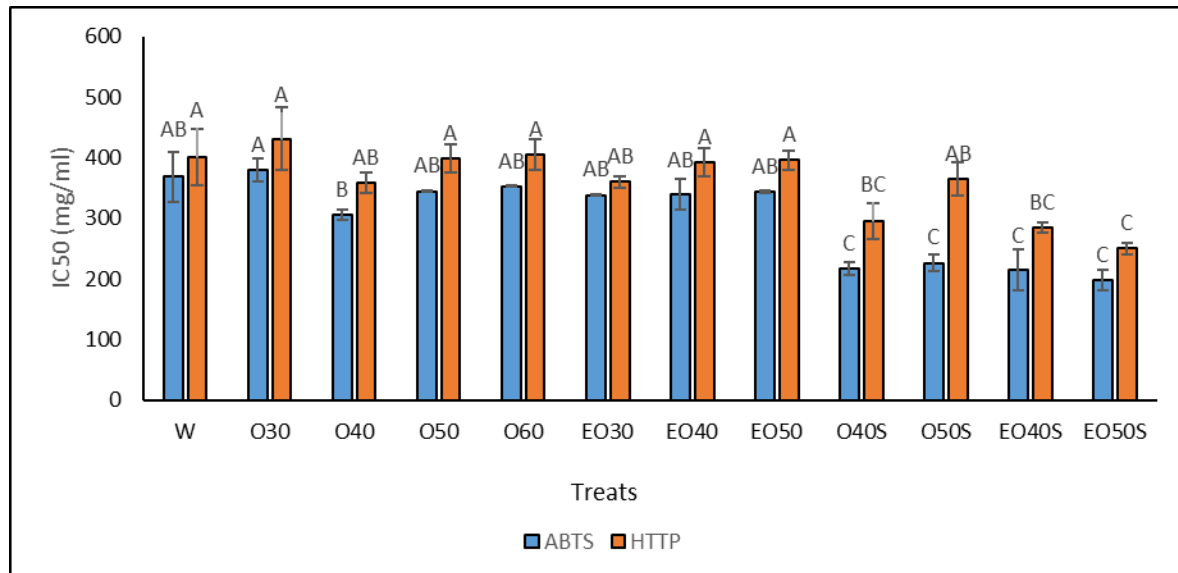


Fig4. The mean Comparison of osmosis extraction method on IC50 values of antioxidant activities, ABTS and DPPH radical scavenging based on Duncan's test ($p < 0.05$)

ارزش فعالیت مهار ABST و DPPH یا IC50 کمتری را به همراه خواهد داشت. مقدار کمتر IC50 به معنای فعالیت آنتی اکسیدانی قوی تر است. ترکیبات فنلی به دلیل توانایی آن در اهدای الکترون به عنوان یک مهارکننده خوب شناخته شده اند [۴۱].

همبستگی پیرسون برای مشاهده همبستگی محتوای کل فلاونوئید و فنل و آنتوسیانین با فعالیت آنتی اکسیدانی آنها انجام شد. نتایج جدول ۶ نشان داد که محتوای فنلی کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین عصاره های گیاهی با IC50 فعالیت های مهار DPPH و ABST آنها همبستگی منفی معنی داری داشت. همبستگی منفی به این معنی است که مقدار بالاتر فلاونوئید کل، محتوای فنولی کل و آنتوسیانین،

Table 6. Correlation of total flavonoid and phenolic and Anthocyanin content with IC50 DPPH, ABST scavenging activity.

Antioxidant Parameter	Pearson's Correlation Coefficient (r)		
	Total Phenol	Total Flavonoid	Anthocyanin
IC50 DPPH	-0.89**	-0.58**	-0.80**
IC50 ABST	-0.60**	-0.47**	-0.66**

** : significant at $p < 0.01$

تاثیر ۷۲/۳۵ بیشترین تفکیک را در بین روش های مختلف استخراج نشان می دهد و مؤلفه های دوم (PC2) و سوم (PC3) به ترتیب با تاثیر ۱۴/۰۱ و ۷/۹ درصد تغییرات

تجزیه به مؤلفه های اصلی روش های استخراج مواد موثره براساس نتایج فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین و خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داد مؤلفه اول (PC1) با ضریب

نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌شود، روش‌های استخراج EO50S، EO40S و O40S به طور واضح از سایر روش‌ها جدا شده‌اند و در سمت راست نمودار قرار گرفته‌اند. این تفکیک نشان‌دهنده عملکرد بالای این روش‌ها در استخراج ترکیبات موثره‌ای مانند فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین و یا در بهبود خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. مولفه دوم (PC2) با 14.01% از واریانس، تغییرات کمتری را نسبت به مولفه اول نشان می‌دهد. این مولفه به تفکیک برخی دیگر از روش‌های استخراج کمک می‌کند، اما تأثیر آن نسبت به مولفه اول کمتر است. مولفه سوم (PC3) با 7.9% از واریانس، نقش کمتری نسبت به مولفه‌های قبلی دارد، اما هنوز تفکیک‌هایی بین برخی از روش‌ها ایجاد می‌کند.

روش‌هایی مانند O50، EO30 و O60 که در مرکز نمودار قرار گرفته‌اند، نشان‌دادند تأثیرات متوسطی بر استخراج مواد موثره دارند، به طوری که تفاوت آن‌ها با سایر روش‌ها نه به اندازه‌ی روش‌های مانند EO50S و EO40S واضح است و نه کاملاً کم‌اثر.

کمتری در بین روش‌های استخراج نشان می‌دهند. مولفه اول نشان می‌دهد که روش‌های استخراج EO50S، EO40S و O40S بیشترین تفاوت را با سایر روش‌ها دارند. این روش‌ها به صورت جداگانه در سمت راست نمودار گروه‌بندی شده‌اند که نشان می‌دهد این روش‌ها مقادیر بالاتری از مواد موثره مانند فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین یا خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. مولفه‌های دوم و سوم نیز به طور مؤثری تفکیک روش‌های استخراج را انجام داده‌اند، اما تفاوت‌ها کمتر از مولفه اول است. برخی روش‌های استخراج مانند O50، EO30 و O60 در مرکز نمودار قرار دارند که نشان‌دهنده تأثیر متوسط این روش‌ها بر استخراج مواد موثره است. این نتایج نشان می‌دهد که انتخاب روش استخراج مناسب نقش کلیدی در افزایش بازده استخراج مواد موثره گیاهی دارد، به ویژه روش‌های اسمز و فراصوت که در نمودار به صورت گروه‌بندی شده متمایز شده‌اند. برای به دست آوردن بیشترین مقدار از مواد موثره (فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و خواص آنتی‌اکسیدانی)، استفاده از روش‌های EO50S، EO40S و O40S مناسب‌تر به نظر می‌رسد. تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) بر اساس نتایج فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که مولفه اول (PC1) با 72.35% از واریانس، بیشترین تفکیک را در میان روش‌های مختلف استخراج

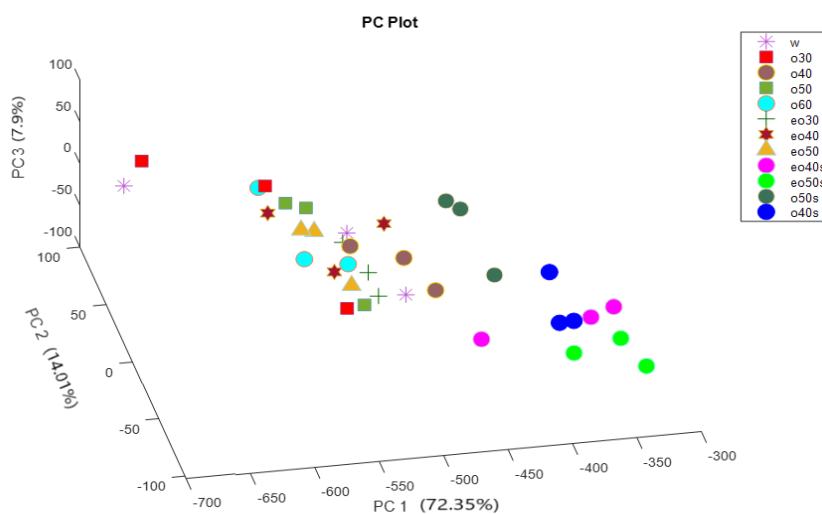


Fig 5. Principal Component Analysis (PCA) of Different Extraction Methods Based on Phenol, Flavonoid, Anthocyanin Content, and Antioxidant Activity

۴- نتیجه گیری کلی

الکل اثر چشم گیری در خروج مواد موثره گیاهی گذاشته و استفاده از روش اسمز را موثرتر می نماید. بطوریکه استفاده از روش اسمز با غلظت ۴۰ درصد به همراه پیش تیمار فراصوت با الکل می تواند در استخراج مواد موثره جای ترش تازه روش مناسبی باشد.

۵- تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی به شماره ۱۴۰۱/۴۸ می باشد. از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بخاطر حمایت مادی و معنوی از طرح تشکر و قدردانی می شود.

در این مطالعه محلول قندی ساکارز با غلظتهای متفاوت و کاربرد پیش تیمار فراصوت و استفاده از حلال الکل بر میزان ترکیبات استخراج شده از کاسبرک های تازه چای مورد بررسی قرار گرفت. بررسی نشان داد میزان pH با افزایش زمان و غلظت کاهش یافت در حالیکه میزان EC با افزایش زمان افزایش و با افزایش غلظت تغییرات معنی داری نداشت. کاربرد پیش تیمار فراصوت و افزودن اتانول اثر معنی داری بر pH و EC نداشت در حالیکه بررسی تاثیر محلول های قندی بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل، خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتوسیانین کل هرچند در بسیاری پارامترها در مقایسه با شاهد (آب) اختلاف معنی داری نداشت ولی کاربرد پیش تیمار فراصوت به همراه افزودن ۱۰ درصد

۶-منابع

- [1] Hashemi Gahruie, H., Eskandari, M. H., Mesbahi, G., Hanifpour, M. A. (2015). Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4 (1), 1–8.
- [2] Basiri, S. H. A. D. I., & Gheybi, F. (2022). The effect of osmosis and blanching and ultrasound pretreatments on extraction of effective compounds from Thyme. *Journal of food science and technology (Iran)*, 19(123), 69-80.
- [3] Hashemi Gahruie, H., Hosseini, S. M. H., Taghavifard, M. H., Eskandari, M. H., Golmakani, M. -T., Shad, E. (2017). Lipid oxidation, color changes, and microbiological quality of frozen beef burgers incorporated with Shirazi thyme, cinnamon, and rosemary extracts. *Journal of Food Quality*, 1–9.
- [4] Samsam shariat, H. (2007). Extraction of active compounds of medicinal plants and methods of their identification and evaluation. *Manii Publications*, 258 pages. (in Persian).
- [5] Wei, Y.Q., Sun, M.M., Fang, H.Y. (2019). Dienzyme-assisted salting-out extraction of flavonoids from the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam. *Ind. Crop. Prod.*, 127, 232–236.
- [6] Fu, H., Yang, S.T., Xiu, Z. (2015). Phase separation in a salting-out extraction system of ethanol-ammonium sulfate. *Sep. Purif. Technol.*, 148, 32–37.
- [7] Chandra, S., Kumari, D. (2015). Recent development in osmotic dehydration of fruit and vegetables: A review *Critical Reviews . Food Science and Nutrition*, 55 , 552–561.
- [8] Alzamora, S. M., Salvatori, D., Tapia, S. M., López -Malo, A., WeltiChanes, J., Fito, P. (2005). Novel Functional Foods from Vegetable Matrices Impregnated with Biologically Active Compounds. *Journal of Food Engineering*, 67 (1), 205–214.
- [9] Hou, B.J., Wei, Y.Q., Ma, F., Wang, X.N., Yang, S.Z. (2017). Chelatometric salting-out extraction and characteristics of flavonoids from *Folium nelumbinis* based on an ethanol/K₂HPO₄ system. *Sep. Sci. Technol.*, 12, 717–724.
- [10] Reis, I.A., Santos, S.B., Pereira, F.D., Sobral, C.R., Freire, M.G., Freitas, L.S., Soares, C.M., Lima, A.S. (2014). Extraction and recovery of rutin from acerola waste using alcohol-salt-based aqueous two-phase systems. *Sep. Purif. Technol.*, 49, 656–663.
- [11] Zhang, W., Zhu, D., Fan, H., Liu, X., Wan, Q., Wu, X., Liu, P., Tang, J.Z. (2015). Simultaneous extraction and purification of alkaloids from *Sophora flavescens* Ait. by microwave-assisted aqueous two-phase extraction with ethanol/ammonia sulfate system. *Sep. Purif. Technol.*, 141, 113–123.
- [12] Chen, Z., Zhang, W., Tang, X., Fan, H., Xie, X., Wan, Q., Wu, X., Tang, J.Z. (2020). Extraction and characterization of polysaccharides from *Semen Cassiae* by microwave-assisted aqueous two-phase extraction coupled with spectroscopy

- and HPLC. *Carbohydr. Polym.* 2016, 144, 263–270.
- [13] Guo, T., Su, D., Huang, Y., Wang, Y., Li, Y.H. (2015). Ultrasound-assisted aqueous two-phase system for extraction and enrichment of *Zanthoxylum armatum* lignans. *Molecules*, 20, 15273–15286.
- [14] Dong, B., Yuan, X., Zhao, Q., Feng, Q., Zhao, B. (2015). Ultrasound-assisted aqueous two-phase extraction of phenylethanoid glycosides from *Cistanche deserticola* Y. C. Ma stems. *J. Sep. Sci.*, 38, 1194–1203.
- [15] Li, L.J., Jin, Y.R., Wang, X.Z., Liu, Y., Wu, Q., Shi, X.L. (2015). Ionic liquid and aqueous two-phase extraction based on salting-out coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of seven rare ginsenosides in Xue-Sai-Tong injection. *J. Sep. Sci.*, 38, 3055–3062.
- [16] Feng, Y.C., Li, W.L., He, F.M., Kong, T.T., Huang, X.W., Gao, Z.H., Lu, N.H., Li, H.L. (2015). Aqueous two-phase system as an effective tool for purification of phenolic compounds from fig fruits (*Ficus carica* L.). *Sep. Purif. Technol.*, 50, 1785–1793.
- [17] Wei, Y.Q., Hou, B.J., Fang, H.Y., Sun, X.J., Ma, F. (2020). Salting-out extraction of ginsenosides from the enzymatic hydrolysates of *Panax quinquefolium* based on ethanol/sodium carbonate system. *J. Ginseng Res.*, 1, 44–49.
- [18] Sun, Y., Yan, L., Fu, H., Xiu, Z. (2014). Salting-out extraction and crystallization of succinic acid from fermentation broths. *Process. Biochem.*, 49, 506–511.
- [19] Ooi, C.W., Tey, B.T., Hii, S.L., Kamal, S.M.M., Lan, J.C.W., Ariff, A., Ling, T.C. (2009). Purification of lipase derived from *Burkholderia pseudomallei* with alcohol/salt based aqueous two-phase systems. *Process. Biochem.*, 44, 1083–1087.
- [20] Zhang, Z.R., Shen, J.T., Dai, J.Y., Sun, Y.Q., Xiu, Z.L. (2020). Separation and purification of klebsiella phage by two-step salting-out extraction. *Sep. Purif. Technol.*
- [21] Amid, M., Shuhaimi, M., Sarker, M.Z.I., Manap, M.Y.A. (2012). Purification of serine protease from mango (*Mangifera Indica* Cv. Chokanan) peel using an alcohol/salt aqueous two phase system. *Food Chem.*, 132, 1382–1386.
- [22] Bahmania, L., Aboonajmia, M., Arabhosseini, A., Mirsaedghazi, H. (2018). Effects of ultrasound pre-treatment on quantity and quality of essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) leaves. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 8, 47–52.
- [23] Wang, L., Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Science and Technology*, 17, 300–312.
- [24] Soria, A. C., Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Food Science and Technology*, 21, 323–331.
- [25] Javadian, F., Sepehri, Z., Amraee, M., Kiani, Z., Shahraki Mojahed, M., Shahi, Z., & Pourghasemi Fetideh, S. (2015). An Evaluation of Antibacterial activity of Ethanol Extract of sour tea (*Hibiscus Sabdariffa*) against *Klebsiella Pneumoniae* Resistant to antibiotics. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences*, 22(4), 565–570.
- [26] Azimi, M. H., Haji Mirrahimi, S. D., & Asadi, A. (2017). Cultivation and production of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Asrar Elm Publications*. 65 pages. (in Persian).
- [27] Mahadevan N., Shivali, Kamboj, P. (2009). *Hibiscus sabdariffa* Linn._ An overview. *Natural product Radiance* 8(1), 77–83.
- [28] Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., Payvast, Gh. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods*. 3, 44–49.
- [29] Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.
- [30] Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., & Prinyawiwathul W., N.O.H.K. (2007). Antioxidant activities of different colored Sweet bell peppers (*Capsicum annum* L.). *J. Food Sci.* 72, S98–S102.
- [31] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2021). Utilization of Plantago major seed mucilage containing Citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1625–1639.
- [32] Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., & Collaborators: Eisele T Giusti MM Hach J Hofsommer H Koswig S Krueger DA Kupina; S Martin SK Martinsen BK Miller TC Paquette F Ryabkova A Skrede G Trenn U Wightman JD. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH

- differential method: collaborative study. *Journal of AOAC international*, 88(5), 1269-1278.
- [33] Brown, T. L., LeMay, H. E., Bursten, B. E., & Murphy, C. J. Woodward, P., Stoltzfus, M. (2018). Chemistry: The Central Science (14th ed.). Pearson Education. 1248 pages.
- [34] Stokes, J. M., & Stokes, R. H. (1956). The conductances of some simple electrolytes in aqueous sucrose solutions at 25°. *The Journal of Physical Chemistry*, 60(2), 217-220.
- [35] Iyasele, J. U, David, J., Idiata, D. (2015). Investigation of the relationship between electrical conductivity and total dissolved solids for mono -Valent, di -valent and Tri -valent metal compounds. *International Journal of Engineering Research and Reviews*, 3(1), 40 -48.
- [36] Sandeep, D. B. (2004). Effect of ohmic heating on color, rehydration and textural characteristics of fresh carrot cubes. *Louisiana State University*, India.
- [37] Fasogbon, B. M., Gbadamosi, S. O., & Taiwo, K. A. (2013). Studies on the osmotic dehydration and rehydration characteristics of pineapple slices. *J. Food Proc. Technol*, 4(220), 1-8.
- [38] Rózek, A., García -Pérez, J. V., López, F., Güell, C., Ferrando, M. (2010). Infusion of grape phenolics into fruits and vegetables by osmotic treatment: phenolic stability during air drying. *Journal of Food Engineering*, 99 (2), 142 -150.
- [39] Shahidi, F., Mohebbi, M., Noshad, M., Ehtiati, A., Fathi, M. (2012). The effect of osmosis and ultrasound pretreatments on some quality characteristics of hot air dried bananas. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7 (4), 263 - 272.
- [40] Fang HY, Wei YQ, Zhang ML, Liu W. (2020). A Novel Green Extraction Technique for Extracting Flavonoids from Folium nelumbinis by Changing Osmosis Pressure. *Materials* (Basel), 13(18), 4192. doi: 10.3390/ma13184192. PMID: 32967241; PMCID: PMC7560442.
- [41] Indradi, R. B., Fidrianny, I., Wirasutisna, K. R. (2017). DPPH Scavenging Activities and Phytochemical Content of Four Asteraceae Plants. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(6), 755-759



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of the efficiency of osmotic methods and the use of pretreatment in the extraction of active and antioxidant compounds from hibiscus tea and comparison with other methods

Fatemeh Borna^{1*}, Mostafa Rahmati-Joneidabad²,

*1- Corresponding author, Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2024/12/8

Accepted: 2024/12/21

Keywords:

Anthocyanin,

Hibiscus sabdariffa,

Osmotic extraction,

Total flavonoid,

Ultrasonic pretreatment

DOI: 10.22034/FSCT.22.161.244.

*Corresponding Author E-

Borna@asnruk.ac.ir

ABSTRACT

This research examines the efficiency of various methods for extracting active compounds from hibiscus tea (*Hibiscus sabdariffa*), focusing on osmotic techniques and the application of specific pretreatments including ultrasound and ethanol. Hibiscus tea, known for its high content of anthocyanins, flavonoids, and phenolic compounds, possesses antioxidant, antibacterial, and blood pressure-lowering properties, making it a rich source of beneficial medicinal and nutritional compounds. In this study, fresh calyces of hibiscus tea were used for extraction, and the impact of different concentrations of osmotic solutions and ultrasound pretreatment in the presence of ethanol on the extraction yield of compounds was investigated. The results indicate that the combination of osmotic methods with ultrasound pretreatment and ethanol solvent significantly increases the yield of phenolic and flavonoid compounds. The highest amount of these compounds was obtained from the EO50S treatment, which included a 50% sucrose osmotic solution combined with ultrasound and ethanol. This method demonstrated better performance due to the preservation of the antioxidant properties of the extracted materials, especially compared to conventional extraction methods. Additionally, the results of the principal component analysis showed that the methods EO50S, EO40S, and O40S exhibited the highest efficiency in extracting plant active compounds. Overall, the findings of this research suggest that osmotic methods combined with ultrasound and ethanol provide an efficient and environmentally friendly approach for extracting active compounds from hibiscus tea, and could be applied in the pharmaceutical and food industries for extracting beneficial compounds from medicinal plants.