مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی فاکتورهای مؤثر بر بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه به‌لیمو (*Aloysia citriodora* Palau) تحت امواج فراصوت و بررسی خاصیت آنتی باکتریایی آن

زینب صمیمی[۱]، ملیحه یعقوبی[۲*]، محسن ثانی خانی[۳]، عزیزاله خیری[٤]

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- دکتری تخصصی، استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۳-دکتری تخصصی، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

٤- دکتری تخصصی، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۲/۰۹/ ۱٤۰۰

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰٤/۱۲

کلمات کلیدی:

استخراج مواد مؤثره،

اشرشیا کلی،

ظرفیت آنتی اکسیدانی،

عصاره به‌لیمو،

روش سطح پاسخ.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2

* مسئول مکاتبات:

myaghoobi@znu.ac.ir

چکیده

یکی از چالش‌های مهم در استفاده از گیاهان دارویی، بهبود بازده استخراج ترکیبات مؤثره گیاهی می‌باشد. بنابراین مطالعه بر روی فاکتورهای اثرگذار در استخراج این مواد از موارد مهمی است که همواره مورد توجه پژوهشگران می‌باشد. گیاه به‌لیمو (*Aloysia citriodora* Palau) به دلیل وجود مواد مؤثره بالا در برگ‌های آن دارای خواص دارویی و غذایی است که همواره مورد توجه پژوهشگران گیاهان دارویی و معطر بوده است. در این پژوهش اثر نوع حلال، دمای استخراج، زمان استخراج و نسبت ماده خشک گیاهی به حلال بر بازده استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی برگ گیاه تحت امواج فراصوت بر مبنای آزمایشات طراحی شده با روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایشات نشان داد که دمای استخراج و نسبت ماده خشک گیاهی به حلال دو متغیر اثرگذار استخراج ترکیبات مؤثره گیه به لیمو تحت امواج فراصوت می‌باشند. همچنین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی-اتانولی در شرایط استخراج مشابه نسبت به آب خالص بیشتر بود. خاصیت ضد باکتریایی عصاره آبی-اتانولی نسبت به عصاره آبی خالص تفاوت معنی داری داشت. حساسیت باکتری *اشریشیا کلی* نسبت به هر دو عصاره آبی-اتانولی و آبی نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

۱-مقدمه

بهلیمو با نامهای علمی *Lippia citriodora* (Kunth) و *Aloysia citriodora* (Palau) متعلق به خانواده شاهپسند (Verbenaceae) میباشد. این گیاه ارزشمند بومی آمریکای جنوبی بوده که در مناطق دیگر جهان از جمله منطقه مدیترانه و خاورمیانه کشت میشود [۲-۱]. بهلیمو به طور گسترده برای درمان بیماریهای سیستم گوارش و سیستم عصبی مورد استفاده قرار گرفته و مهمترین اثرات مفید آن شامل آرامبخشی، محافظت کننده قلبی، ضد تشنج، ضد التهاب، خواص آنتی اکسیدانی، خواص ضد میکروبی و ضد سرطانی میباشند [۳]. ترکیبات فنولی مانند ورباسکوزید و ایزوورباسکوزید بخش مهمی از ترکیبات زیست فعال بهلیمو را تشکیل میدهند که اثرات ضد التهابی و ضد میکروبی و فعالیت آنتی اکسیدانی قوی آنها ثابت شده است. همچنین بهلیمو دارای مقدار قابل توجهی از ترکیبات فلاونوئیدی است که مهمترین آنها کریزواریول (chrysoeriol) و مشتقات لوتئولین است [٤]. قدرت آنتی اکسیدانی بهلیمو در بررسی فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی از قبیل گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پراکسیداز ثابت شده است [۲]. انواع مختلفی از آنتیاکسیدانها در صنایع غذایی وجود دارند و شامل ترکیبهایی میباشند که از فاسد شدن چربیها در غذا جلوگیری کرده، خود اکسایشی اسیدهای چرب را مهار میکنند، گونههای نیتروژن و اکسیژن فعال را به دام میاندازند و در نتیجه اثرات نامطلوب آنها را در غذاها کاهش میدهند [۵]. آنتیاکسیدانها از یک طرف باعث کاهش خطر ابتلا به بیماریهای قلبی-عروقی و سکته میشوند و از طرف دیگر از پیشرفت سرطانها که موجب آسیب به DNA میشوند جلوگیری میکنند[٦]. به طور کلی آنتیاکسیدانها در غلظتهای کم از طریق ساز و کارهای خاصی در عمل اکسایش با مولکولهای زیستی رقابت میکنند و آنها را از تخریب شدن توسط اکسیدانها محافظت مینمایند. امروزه مشخص شده است که تعدادی از ترکیبهای طبیعی مشتق شده از گیاهان مانند پلیفنلها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها، آنتیاکسیدانهای بسیار موثری هستند [۷]. آنتی اکسیدانهای طبیعی نه تنها قادر به از بین بردن اثرات نامطلوب رادیکالهای آزاد به سیستم غذایی هستند بلکه مصرف آنها مکانیسم آنتی اکسیدانی درون زا بدن را برای مبارزه با تنش اکسیداتیو را نیز تقویت میکند. مواد آنتی اکسیدان طبیعی موجود در منابع غذایی نسبت به افزودنیهای مصنوعی ایمن هستند [۹-۸].

زمان استخراج، دمای استخراج، نوع حلال و نسبت ماده خشک به حلال از فاکتورهای مهم و اثرگذار در بازده استخراج ترکیبات مؤثره گیاهی میباشند. در مقایسه با روشهای رایج استخراج، استفاده از امواج فراصوت به دلیل دمای پایین استخراج، مصرف کم حلال، مقرون به صرفه بودن و زمان استخراج کوتاه پرطرفدار میباشد [۱۲-۱۰]. فشار ناشی از این امواج صوتی همراه با انرژی ناشی از شکسته شدن حبابهای در حال فروپاشی، پدیدههایی از قبیل قطعه قطعه شدن، نیروی برشی، تشکیل منافذ، افزایش جذب حلال به بافت، سائیده شدن موضعی بافت و سلول گیاهی را القا میکنند. تشکیل منافذ در غشای سلول منجر به آزاد شدن ترکیبات زیست فعال موجود در سلول و نهایتا آزاد شدن آنها در حلال می شود که به دنبال آن راندمان استخراج افزایش مییابد [۱۳]. در این پژوهش اثر دمای استخراج، زمان استخراج، نسبت گیاه خشک به حلال و همچنین نوع حلال بر راندمان استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی بهلیمو با استفاده از امواج فراصوت مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر آن خواص آنتی باکتریال عصاره بهلیمو برای دو با کتری *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* ارزیابی شد.

۲-مواد و روشها

۲-۱-مواد

مواد شیمیایی استفاده شده در این پژوهش فولین- سیوکالچو، سدیم کربنات، استات پتاسیم، کلرید آلومینیوم، هیدروکسید سدیم، اسید گالیک، کوئرسیتین، اسیدآسکوربیک، متانول، کلرید آهن III، دی سدیم هیدروژن فسفات، سدیم دی هیدروژن فسفات، تری کلرو استیک اسید، پتاسیم فری سیانید، معرف ۲و ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH)[1] بودند که همگی تولید شرکت مرک آلمان بود. همچنین برای آزمون آنتیباکتریال از محیط کشت مولر هینتون آگار (کندالب-اسپانیا)، نوترینت براس (کندالب-اسپانیا)، آنتیبیوتیک سفکسیم[2] (شرکت داروسازی

1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
2. *Cefixim*

فارابی) و سیپروفلوکساسین[1] (شرکت داروسازی فارابی) استفاده شدند. باکتری‌های *اشرشیاکلی*[2] (*E. coli*) و *استافیلوکووس آرئوس*[3] (*S.aureus*) (شرکت تاو نوآوران آریسان) برای آزمون آنتی‌باکتریال استفاده شدند.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱-طراحی آزمایشات

برای طراحی آزمایشات از آزمون سطح پاسخ (RSM)[4] و روش باکس بنکن (Box-Behnken) استفاده شد. دمای استخراج (X_1) ۷۰، ۵۰ و ۳۰ ، زمان استخراج (X_2) ۵، ۲۰ و ۳۵ دقیقه و همچنین جرم گیاه g ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ در mL ۱۰ حلال (X_3) به عنوان متغیرهای استخراج در نظر گرفته شدند. جدول ۱ طراحی آزمایشات استخراج را نمایش می‌دهد.

۲-۲-۲-آماده‌سازی به لیمو و تهیه عصاره

برگ‌های تازه گیاه به‌لیمو برداشت شده از مزرعه دانشگاه زنجان در سایه خشک شده و قبل از عصاره گیری توسط آسیاب برقی آزمایشگاهی خرد شدند. نسبت‌های گیاه به حلال در عصاره گیری، مطابق جدول شماره ۱ مربوط به طراحی آزمایشات تعیین شد. گیاه خرد شده به همراه آب و اتانول ۷۰ درصد به عنوان حلال‌های استخراج به طور جداگانه در فالکن‌های ۵۰ سی‌سی ریخته شده و پس از بستن درب فالکن‌ها در حمام فراصوت با توان ۲۰۰ قرار غوطه ور شدند. پس از تمام شدن مدت زمان قرارگیری در معرض امواج فراصوت (مطابق زمان‌های مشخص شده در جدول ۱)، عصاره‌ها با کاغذ صافی فیلتر شدند و نهایتا برای اطمینان از زلا بودن عصاره، نمونه‌ها را سانتریفیوژ کرده و مایع رویی به عنوان عصاره نهایی برای سنجش میزان فنول، فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-۲-۳-اندازه‌گیری میزان فنول کل

برای اندازه گیری محتوای ترکیبات فنولی (TPC)[5] عصاره‌ها، ۵۰ µL میکرولیتر از عصاره به۵۰۰ µL فولین–سیوکالچو رقیق شده با آب مقطر (به نسبت ۱به ۱۰) اضافه شد. پس از سه دقیقه، ۵۰۰ µL محلول کربنات سدیم (۷٪) اضافه شده و با آب مقطر به حجم mL ۳ رسانده شد. سپس محلول نهایی در تاریکی قرار داده شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب محلول‌های نهایی در طول موج nm ۷۶۵ توسط اسپکتروفتومتر(شرکت سافاس، موناکو) قرائت شد. برای بیان میزان ترکیبات فنولی کل، منحنی استانداردی برای اسید گالیک در غلظت‌های مختلف (mg/mL ۳/۲- ۰/۰۵) رسم شد. سپس بر اساس منحنی استاندارد، مقدار ترکیبات فنولی کل هر عصاره بر حسب میلی گرم معادل اسید گالیک بر هر گرم برگ خشک (GAE/ g DW) بیان شد.

Table 1 Design of experiments using response surface methodology (RSM)

	Extraction Variables		
	X_1	X_2	X_3
Run	Temperature (^oC)	Time (min)	Solid to solvent ratio (g/10 mL)
1	30	5	0.25
2	70	5	0.25
3	30	35	0.25
4	70	35	0.25
5	30	20	0.1
6	70	20	0.1
7	30	20	0.4
8	70	20	0.4
9	50	5	0.1
10	50	35	0.1
11	50	5	0.4
12	50	35	0.4
13	50	20	0.25
14	50	20	0.25
15	50	20	0.25

۲-۲-۴- اندازه‌گیری میزان فلاونوئید

برای اندازه‌گیری محتوای کل ترکیبات فلاونوئیدی (TFC)[6] هر یک از عصاره‌ها، ابتدا به ۵۰ µL از عصاره ، ۱۰۰ µL آلومینیوم کلراید (۱۰٪)، ۱۰۰ µL استات پتاسیم (۱M) اضافه شده و محلول نهایی با آب مقطر به حجم mL ۳ رسید. سپس محلول نهایی به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شده و جذب محلول‌های نهایی در طول موج nm ۴۱۵ توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای بیان میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل، منحنی استانداردی برای کوئرستین در غلظت‌های مختلف (mg/mL

1. Ciprofloxacin
2. *Escherichia coli*
3. *Staphylococcus aureus*
4. Response Surface Methodology (RSM)
5. Total Phenolic Content (TPC)
6. Total Flavonoid Content (TFC)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

۳/۲- ۰/۰۵) رسم شد. سپس بر اساس منحنی استاندارد، مقدار ترکیبات فلاونوئیدی کل هر عصاره بر حسب میلی گرم معادل کوئرسیتین بر هر گرم برگ خشک (QE/ g DW) بیان شد.

۲-۲-۵-تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش احیا کنندگی DPPH

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق معرف ۲و ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) انجام شد. برای هر عصاره سه غلظت تهیه شد (نمونه مستقیم، ۱ به ۲ رقیق شده و ۱ به ۳ رقیق شده). ۲۰ میکرولیتر از هر عصاره را برداشته و به هر کدام ۱/۵ میلی‌لیتر DPPH (با غلظت ۰/۱ mM در متانول) اضافه شد. به طور موازی همراه با نمونه یک نمونه کنترلی نیز که در آن به جای عصاره، ۲۰ µL آب مقطر بود، به همراه نمونه های اصلی به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. پس از صفر نمودن جذب اسپکتروفتومتر با استفاده از متانول، جذب هر محلول در طول موج ۵۱۷ nm قرائت شد. پس از کشیدن نمودار برای هرنمونه (محور افقی بر اساس غلظت و محور عمودی بر اساس درصد بازدارندگی)، غلظتی از نمونه که درصد بازدارندگی آن ۵۰ درصد بود (IC50)، از روی معادله نمودار مربوطه بدست آمد. سپس برای محاسبه IC50 نمونه استاندارد، درصد ممانعت برای محلول اسید آسکوربیک (۲۰- ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) نیز مراحل بالا تکرار شد. پس از تعیین IC50 برای استاندارد، نسبت IC50 نمونه بر IC50 اسید آسکوربیک محاسبه شده و در نهایت مقدار آنتی اکسیدان موجود در نمونه‌ها بر حسب بر حسب میلی گرم معادل اسید آسکوربیک بر هر گرم برگ خشک (AAE/ g DW) بیان شد.

۲-۲-۶-تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش احیا کنندگی یون آهن (FRAP)[1]

جهت تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش توانایی احیاکنندگی آهن (FRAP)، از یک واکنش اکسیداسیون احیا استفاده می شود که با تغییر رنگ همراه است. در این روش، ابتدا ۳۰۰ µL از عصاره با ۴۰۰ µL بافر فسفات (۰/۲ M) با pH ۶/۶ و ۴۰۰ µL پتاسیم فری سیانات (۱ درصد) ترکیب شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ^{0}C ۵۰ قرار گرفت. در ادامه ۴۰۰ µL تری کلرواستیک اسید (۱۰ درصد) به ترکیب بالا افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس در یک لوله آزمایش جدید ۳۰۰ µL از مایع رویی با ۱۰۰۰ µL آب مقطر و ۱۰۰ µL از کلرید آهن (۰/۱ درصد) ترکیب شده و جذب آن در طول موج ۷۰۰ nm قرائت شد. سپس با توجه به محلول‌های استاندارد اسید آسکوربیک (۴- ۰/۰۵ mg/mL) منحنی‌های استاندارد نیز براساس محلول‌های استاندارد و جذب‌های نوری بدست آمده در نرم افزار اکسل رسم شد.

۲-۲-۷-آزمون آنتی باکتریال

خواص آنتی باکتریال عصاره آبی-الکلی بهلیمو، با استفاده از میکروارگانیسم‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* با روش نفوذ در چاهک بررسی شد. کشت میکروبی تازه به میزان ۱۰۰ µL (۱۰^{6} CFU /mL) با سوآب استریل در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار جامد آماده شده در پتری دیش‌ها به طور یکنواخت پخش شد. چهار چاهک با قطر ۶ mm با یک کاتر استوانه‌ای فلزی استریل درون محیط کشت جامد ایجاد شد. در شرایط استریل، چاهک‌ها به طور مجزا با ۱۵۰ µL از عصاره پر شدند. سفکسیم و سیپروفلوکساسین به عنوان شاهد مثبت و آنتی بیوتیک‌های استاندارد برای بررسی و مقایسه اثرات آنتی باکتریال نمونه‌ها استفاده شدند. علاوه بر آن آب مقطر استریل هم به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پتری دیش‌های کشت داده شده به منظور جذب اولیه عصاره به مدت یک ساعت در یخچال قرار داده شده و سپس به مدت ۲۰ ساعت در دمای ^{0}C ۳۸ نگهداری شدند. آزمون ضد باکتریایی، برای هر نمونه سه بار تکرار شد. قطر ناحیه ممانعت رشد باکتری‌ها توسط عصاره اندازه‌گیری شد.

۲-۳-تجزیه و تحلیل آماری

برای طراحی آزمایشات و رسم نمودارها از نرم افزار Design-Expert نسخه ۱۱/۰۳ استفا ده شد. همچنین برای مقایسه نتایج بازدهی دو حلال و نتایج آنتی باکتریال از آزمون TTEST نرم افزار اکسل ۲۰۱۶ استفاده شد.

یک چندجمله‌ای درجه ۲ برای بیان همبستگی رابطه بین متغیرهای مستقل (دمای استخراج، زمان استخراج و نسبت جامد به حلال) و پاسخ‌ها (مقادیر فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها) با توجه به معادله زیر برازش شد:

1. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

$$Y = \alpha_0 + \sum_{i=1}^{3} \alpha_i x_i + \sum_{i=1}^{3} \alpha_{ii} x_i^2 + \sum_{i<j=2}^{3} \alpha_{ij} x_i x_j$$

که در آن Y مقدار پاسخ پیش بینی شده توسط مدل است و ضرایب α_0، α_i، α_{ii} و α_{ij} به ترتیب عرض از مبدأ، اثرات خطی، اثرات مربعی و اثرات متقابل بین متغیرهای استخراج می‌باشد. x_i و x_j همان متغیرهای استخراج ارائه شده در جدول شماره ۱ می‌باشند. اعتبار مدل نیز با جدول آنالیز واریانس ارائه شده توسط نرم‌افزار برای هر یک از پاسخ‌های مورد بررسی (مقادیر فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها) ارائه شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱- اثر متغیرهای استخراج بر TFC و TPC عصاره‌های استحصالی با آب خالص و اتانول ۷۰ درصد

برای بیان رفتار داده‌ها و تخمین روند آن‌ها، نرم افزار معادله چند جمله‌ای درجه ۲ را پیشنهاد کرد که ضرایب مربوط به متغیرهای استفاده شده در جدول ۲ ارائه شده است. اثر معناداری هر یک از متغیرها و همچنین معنادار بودن اثر هر جفت متغیر ارائه شده است که می‌توان از معادلات ارائه شده برای تخمین بازدهی TFC و TPC برای هر یک از عصاره‌ها مطابق جدول ۲ از معادلات مربوط استفاده نمود. ارزیابی محتوای ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های الکلی نشان داد که دمای استخراج و نسبت جرم گیاه خشک به حلال متغیرهای معناداری بودند. با وجود اینکه زمان متغیر معناداری نبود ولی اثر متقابل و همزمان زمان استخراج و نسبت جرم گیاه خشک به حلال نیز اثر معناداری داشت. در عصاره های آبی دمای استخراج نسبت به دو متغیر دیگر اثر معناداری در TFC نمونه‌ها داشت. همچنین در هر دو عصاره آبی و الکلی متغیر دمای استخراج نسبت به دو متغیر دیگر اثر معناداری روی TPC نمونه‌ها داشت (جدول ۲).

شکل ۱ اثر متغیرهای استخراج بر TFC و TPC را برای دو حلال آب خالص و اتانول نمایش می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود برای هر دو حلال، کاهش نسبت جرم گیاه خشک به حلال باعث افزایش TFC و TPC شد. همچنین افزایش دما و افزایش زمان اثر افزایشی بر TFC و TPC داشت که در شکل ۱ قابل مشاهد می‌باشد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود برای عصاره‌های اتانولی روند افزایشی TFC و TPC تا دمای ^0C ۵۰ مشاهده شد و بعد از آن دما تا دمای ^0C ۷۰ در روند کاهشی در TFC و TPC مشاهده شد. در صورتیکه که برای حلال آب، TFC و TPC با افزایش دما تا ^0C ۷۰ به طور پیوسته روند افزایشی داشت.

مطابق شکل ۱، ارزیابی میزان فلاونوئید برای اتانول ۷۰ ٪ نشان داد که میزان استخراج ترکیبات فلاونوئیدی گیاه به لیمو در دمای ^0C ۵۰ و نسبت g ۰/۱ گیاه خشک به mL ۱۰ حلال در مدت زمان ۳۵ دقیقه، بالاترین TFC را در مقایسه با سایر نقاط جدول طراحی آزمایش را دارد که برای این شرایط میزان فلاونوئید QE/(g DW) ۱۹/۶۰ بدست آمد. همچنین در حلال آب، بالاترین میزان فلاونوئید در دمای ^0C ۷۰ و نسبت g ۰/۱ گیاه خشک به mL ۱۰ حلال در مدت زمان ۲۰ دقیقه مشاهده شد که برابر با QE/(g DW) ۱۶/۳۹ بود. در مقایسه با حداکثر TFC بدست آمده برای اتانول ۷۰ ٪، این مقدار در حلال آب ۱۶/۳۸ درصد کمتر می‌باشد که نشان دهنده توانایی بالاتر الکل ۷۰ ٪ در به لستخراج ترکیبات فلاونوئیدی و بازیافت آن‌ها نسبت به آب خالص است.

مشابه با ترکیبات فلاونوئیدی، میزان فنول کل نیز در دمای ^0C ۵۰ و نسبت g ۰/۱ گیاه خشک به mL ۱۰ حلال در مدت زمان ۳۵ دقیقه، بالاترین میزان را در مقایسه با سایر شرایط آزمایش طراحی شده برای حلال اتانول ۷۰ ٪ داشت که این مقدار GAE/(g DW) ۴۰/۲۹ بدست آمد. همچنین ماکزیمم TPC برای حلال آب در دمای ^0C ۷۰ و نسبت g ۰/۱ گیاه خشک به mL ۱۰ حلال در مدت زمان ۲۰ دقیقه GAE/(g DW) ۲۹/۳۷ بدست آمد که در مقایسه با حلال اتانول ۷۰ ٪ این میزان ۲۷/۱۰ درصد کمتر بود.درصد فلاونوئیدها به فنول در نقاط حداکثر گزارش شده به ترتیب برای حلال اتانول ۷۰ ٪ و آب خالص ۴۸/۶۵ و ۵۵/۷۷ بود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

Table 2 The quadratic model for all responses with some parameters of analyses of variance (ANOVA)

Title	Ethanol (70 %)				Water			
	TFC (QE/g DW)	TPC (GAE/g DW)	FRAP (AAE/g DW)	DPPH (AAE/g DW)	TFC (QE/g DW)	TPC (GAE/g DW)	FRAP (AAE/g DW)	DPPH (AAE/g DW)
Intercept	14.450*	36.210**	61.010***	50.270***	15.180*	26.210**	36.360***	71.540***
X_1-Extaction Temperature	2.340**	3.720*	4.260*	8.900***	1.150**	4.920***	2.480***	7.840***
X_2-Extraction Time	0.737	1.250	2.460	1.000	0.565	1.050	1.360**	1.640
X_3-Solid to Solvent Ratio	-1.780**	-1.140	-22.900***	-7.460***	-0.149	0.701	-26.300***	-17.600***
$X_1.X_2$	-1.290*	0.036	0/625	-1.320	-0.413	-0.728	-1.250**	-0.713
$X_1.X_3$	-1.000	-0.637	-3.320	-3.320**	0.603	-1.180	-0.530	-6.900**
$X_2.X_3$	-1.690	-0.273	-0.084	0.122	-0.201	-0.091	-0.363	-0.891
X_1^2	-2.250*	-2.530*	-4.940	-2.290*	-0.161	-1.780	0/57۷	-5.130*
X_2^2	-0.132	0.018	-3.040	-2.350*	-1.080*	-2.190*	1.360**	-1.010
X_3^2	-0.146	0.558	14.820**	1.440	0.296	-2.060*	15.140***	-0.518
R^2	0.942	0.916	0.984	0.989	0.911	0.959	1.000	0.988
Adjusted R^2	0.838	0.764	0.954	0.969	0.751	0.884	0.999	0.967

p:***<0.001،**<0.01 ،*<0.05

مطالعه اثر متغیرهای استخراج و رابطه دو به دوی این متغیرها در بازده ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نشان داد که کاهش نسبت گیاه خشک به حلال در روش استخراج همراه امواج فراصوت مانند سایر روش‌های استخراج باعث افزایش بازده استخراج ترکیبات مؤثره می‌شود، چرا که افزایش حلال تحت امواج فراصوت باعث افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول و بافت گیاه شده سبب حل شدن بیشتر ترکیبات مؤثره گیاه در حلال می‌شود. بدیهی است که با اشباع شدن حلال از ترکیبات مؤثره، حلال کارایی خود را از دست خواهد داد [۱٤]. همچنین با توجه به اینکه نفوذپذیری با دما رابطه مستقیمی دارد با کاهش دما نفوذپذیری حلال و به دنبال آن انحلال ترکیبات مؤثره کاهش خواهد یافت. زمان استخراج نیز فاکتور مهمی است که بیشتر تابع تغییرات دمای استخراج می‌باشد.

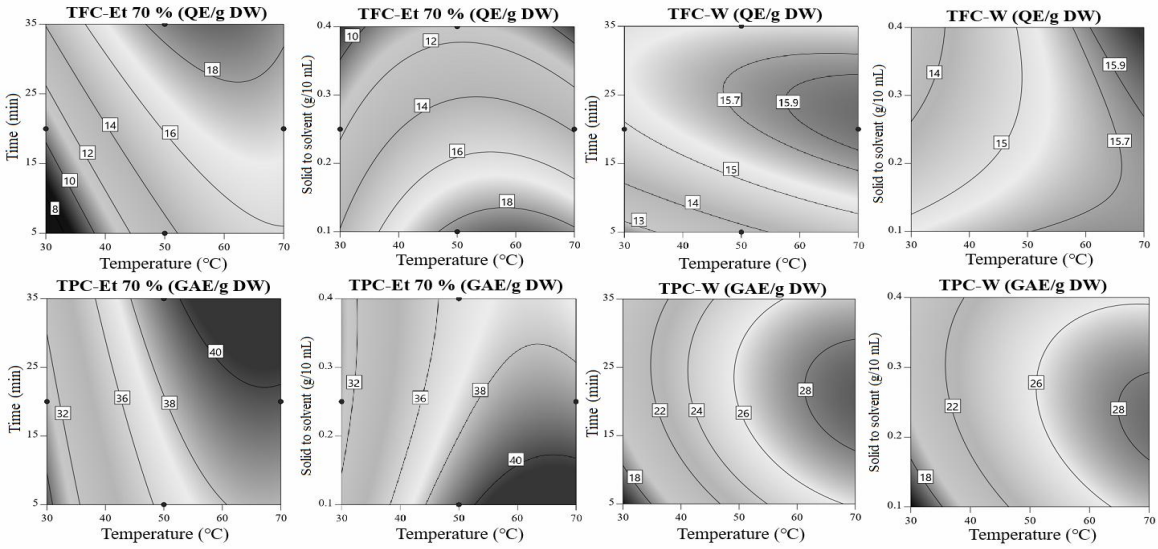

Fig 1 The effect of extraction variables on total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of both extracts

با وجود اینکه افزایش زمان استخراج باعث فرصت دهی به نفوذ بهتر حلال و خروج مواد مؤثره خواهد شد ولی در دماهای بالای استخراج تحت امواج فراصوت امکان تخریب ترکیبات فنولی نیز وجود خواهد داشت. بنابراین برای استفاده از این روش باید شرایط عملیاتی را به گونه‌ای بهینه کرد که استخراج ترکیبات مؤثره گیاهی مانند ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با انتخاب حلال مناسب بیشترین بازدهی استخراج را به همراه داشته باشد. همچنین ممکن است شدت بالای امواج فراصوت در مدت زمان طولانی و در دمای بالا از طریق تخریب و اکسیداسیون ترکیبات فنولی باعث کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره شود [۱۵]. یکی دیگر از فاکتورهای اثرگذار در فرآیند استخراج انتخاب حلال مناسب است. چرا که بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به طور مستقیم به توانایی حلال در جذب و انحلال این ترکیبات از بافت گیاه به درون حلال بستگی دارد و بر ترکیب شیمیایی و خواص عملکردی عصاره نهایی نیز تأثیر می‌گذارد. خواص بیوشیمیایی و فیزیکوشیمیایی از معیارهای مهم انتخاب حلال ها است. به دلیل برهم کنشی که ممکن است بین حلال‌ها و مواد مؤثره استخراج شده وجود داشته باشد، لذا لازم است حلال مورد نظر به گونه‌ای انتخاب شود که اثر مخربی روی مواد مؤثره نداشته باشد. تغییرات احتمالی که در حلال‌ها در طول فرآیند استخراج رخ می‌دهد می‌تواند اثرات قابل توجهی بر پایداری ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی داشته باشد [۱۶]. حلالی با فشار بخار پایین در دمای تنظیم شده می‌تواند پدیده کاویتاسیون را تقویت نموده و باعث افزایش کارایی استخراج شود. حلالی سبز مثل آب و اتانول و همچنین ترکیب آنها برای بهبود عملکرد استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی توسط پژوهشگران مختلف نیز تأیید شده است [۱۸-۱۷]. ترکیب این دو حلال با توجه به امتزاج پذیری آن‌ها، قطبیت و ویسکوزیته آن‌ها می تواند انتخاب مناسبی برای به تله انداختن این ترکیبات باشد. نتایج آزمایشات تحقیق حاضر نیز نشان داد قطبیت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برگ‌های گیاه به لیمو مابین آب و اتانول است چرا که ترکیب اتانول و آب استحصال این ترکیبات را بهبود می‌بخشد. در بعضی از گیاهان مانند گیاه مورد، قطبیت ترکیبات فنولی آن نزدیک قطبیت آب بوده و بنابراین آب حلال مناسبی برای استخراج بود [۱۹].

مطابق نتایج بدست آمده، مشاهده شد که افزایش دما باعث افزایش بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی شد به طوری که بیشترین میزان استخراج این ترکیبات در دمای ۷۰°C بود که این نتیجه در بیشتر گزارشات مربوط به بهبود استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گزارش شده که دلیل کاهش ویسکوزیته حلال وافزایش نفوذپذیری حلال به درون سلول‌های گیاهی بوده است. که در نتیجه آن افزایش انتقال جرم باعث بهبود استخراج این ترکیبات می‌شود [۲۱-۲۰]. نتایج سانتوس و همکارانش [۲۲] نیز نشان داد که با افزایش دمای استخراج ترکیبات فنولی بیشتری از برگ چای ریبوس مشاهده می‌شود و دما را به عنوان مؤثرترین فاکتور استخراج معرفی نمودند. همچنین بنچیخ [۲۳] و همکارانش نشان دادند که بازده ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه خرنوب در عصاره‌ای که در شیکر حمام آب استخراج می‌شد، بعد از ۶۰ دقیقه استخراج تا زمان استخراج ۹۰ دقیقه، بهبود قابل توجهی یافت.

۳-۲- اثر متغیرهای استخراج بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های استحصالی با آب خالص و اتانول

ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان به شدت وابسته به وجود ترکیبات فنولی می‌باشد زیرا گروه‌های هیدروکسیل آن‌ها در موقعیت‌های ارتو و پارا به خاصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها کمک می کند [۲۴]. برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نیز از دو روش به دام اندازی ترکیب DPPH و احیاکنندگی یون آهن یا FRAP استفاده شد. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، افزایش زمان استخراج و دمای استخراج و همچنین کاهش نسبت جرم گیاه خشک به حلال در هر دو حلال استفاده شده باعث بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده بر حسب DPPH و FRAP شد. مطابق جدول ۲ متغیرهای اثرگذار در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی برحسب DPPH، دمای استخراج و نسبت جرم گیاه خشک به حلال بود و همچنین اثر متقابل و همزمان این دو متغیر نیز نسبت به سایر فاکتورها معنی دار بود. مشابه با عصاره آبی برای عصاره الکلی نیز همین روند برای فعالیت آنتی اکسیدانی برحسب DPPH مشاهده شد. در فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب FRAP برای عصاره‌های آبی، با وجود اینکه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

هر سه متغیر استخراج معنی دار بودند اما نسبت جرم گیاه خشک به حلال اثر گذاری بیشتری در فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها داشت. اثر معنی داری برای جفت متغیرهای استخراج مشاهده نشد. اثرگذاری دمای استخراج و نسبت جرم گیاه خشک به حلال نسبت به زمان استخراج در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی بر حسب FRAP بیشتر بود. همچنین اثر متقابل و همزمان دما و زمان نسبت به اثرات هر یک از دو متغیر بیشتر بود.

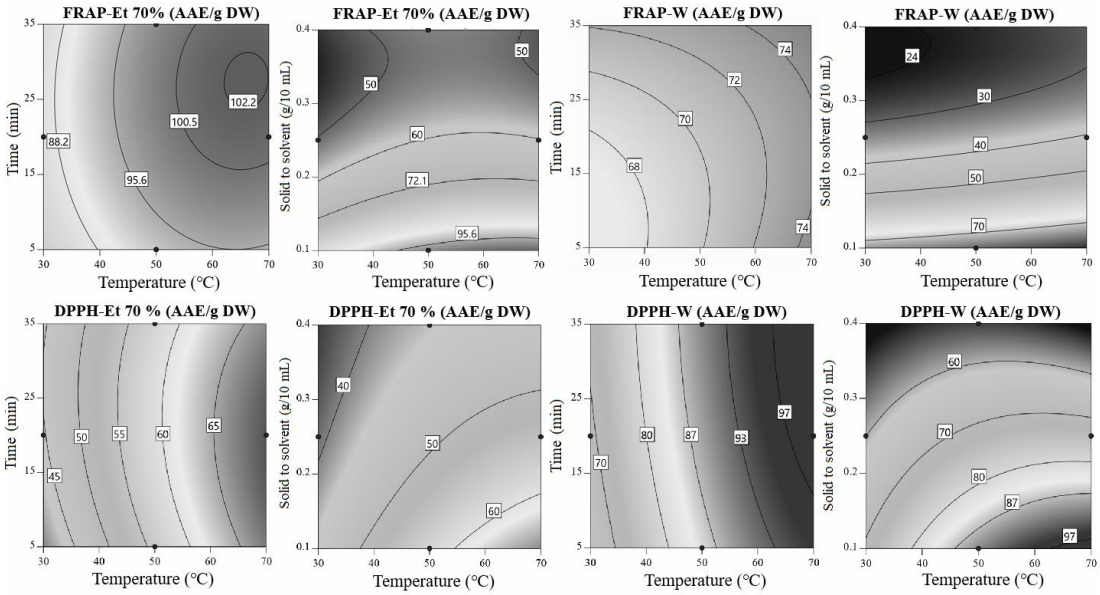

Fig 2 The effect of extraction variables on antioxidant activity (DPPH and FRAP) of both extracts

همانطور که از اثر متغیرهای استخراج بر بازده فعالیت آنتی اکسیدان عصاره‌ها مشاهده می‌شود، قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با مقدار ترکیبات فنلی مرتبط می‌باشد، به طوریکه عصاره‌هایی که در شرایط استخراج مشخص فعالیت آنتی اکسیدانی بالا دارند به تبع آن همان نمونه‌هایی هستند که محتوی ترکیبات فنلی بالایی دارند [۲۷-۲۵]. درنتایج ظرفیت آنتی اکسیدانی حاکی از توانایی بالاتر الکل ۷۰ ٪ در بازیافت ترکیبات آنتی اکسیدانی نسبت به حلال آب خالص نشان داد. در عصاره اتانول ۷۰ ٪ استفاده شده، فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب مهار DPPH و FRAP به ترتیب AAE/(g DW) ۹۵/۴۳ و ۱۰۵/۷۹ بدست آمد که این نقاط حداکثر در شرایط استخراج ۷۰ و نسبت g ۰/۱ گیاه خشک به mL ۱۰ حلال در مدت زمان ۲۰ دقیقه مشاهده شد. همچنین در شرایط مشابه برای عصاره‌های آبی، حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب DPPH و احیای یون آهن (FRAP) به ترتیب AAE/(g DW) ۷۰/۶۰ و ۸۱/۶۸ بدست آمد.

۳-۳-بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود از بررسی نتایج ضد باکتریایی عصاره‌ها می‌توان نتیجه گرفت که هر دو عصاره آبی-الکلی و آبی نسبت به اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس آرئوس اثر ممانعت کنندگی داشتند و تفاوت اثر بازدارندگی عصاره آبی-الکلی و عصاره آبی نسبت به اشریشیا کلی معنی دار بود ($P<0.01$). همچنین هر دو عصاره نیز نسبت به باکتری استافیلوکوکوس آرئوس اثر بازدارندگی داشتند که این تفاوت نیز معنی دار بود ($P<0.01$). علاوه بر آن، نتایج آزمایشات آنتی باکتریال عصاره آبی-الکلی و آبی بهلیمو نشان داد که اثر بازدارندگی هر دو عصاره نسبت به *اشریشیا کلی* بیشتر از *استافیلوکوکوس اورئوس* بود که این برای بیشتر عصاره‌های گیاهی در تحقیقات انجام شده توسط پژوهشگران دیگر نیز تأیید شده است [۲۸]. گیاهان دارویی حاوی مواد زیست فعالی مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، تانن‌ها و ترپنوئیدها هستند که دارای خواص آنتی باکتریال و آنتی اکسیدانی هستند [۲۹]. در بیشتر تحقیقات انجام شده از گروه باکتری‌های گرم منفی، حساسیت *اشریشیا کلی* نسبت به عصاره‌های گیاهی بیشتر است. و این

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

حساسیت *اشریشیا کلی* در مقایسه با حساسیت گروه باکتری‌های گرم مثبت نیز از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر است و به عبارت دیگر مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به اثر سمیت عصاره‌های گیاهی بیشتر است. این موضوع در اکثر منابعی که اثر آنتی باکتریال عصاره‌های گیاهی را بررسی می‌کنند به طور مکرر مشاهده شده است. با توجه به اینکه از گروه باکتری‌های گرم منفی باکتریهای سالمونلا تیفی موریوم و سودوموناس آئروژینوزا نیز در مقایسه با اشریشیا کلی حساسیت کمتری به عصاره‌های گیاهی دارند، بنابراین نمی توان این حساسیت را به جنس دیواره ربط داد و نیاز به آزمایشات دقیق‌تری در مورد ژنوم باکتری دارد [۳۰].

Table 3 Antibacterial properties of aqueous and ethanol extracts

The diameter of inhibition zone		Inhibitor	Concentration (mg/mL)
S.aureus	***E.coli***		
13.5±0.4^{c}	15.5±0.36^{c}	Ethanol (70 %) extract	100 (Solid to solvent ratio)
11.3±0.62^{d}	12.8±0.26^{d}	Water extract	100 (Solid to solvent ratio)
19.5±0.25^{b}	27.5±0.67^{a}	Cefixime	0.1
28.2±0.33^{a}	26.1±0.43^{b}	Ciprofloxacin	0.1

۵-نتیجه گیری

از بین متغیرهای استخراج در نظر گرفته شده (دما، زمان و نسبت گیاه خشک به حلال) در استخراج ترکیبات مؤثره گیاه به لیمو تحت امواج فراصوت، دمای استخراج و نسبت گیاه خشک به حلال، دو متغیر اثرگذارتر در بازده استخراج ترکیبات مؤثره بودند. به‌طوری که با افزایش دما در مدت زمان محدد، بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و به دنبال آن فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها افزایش یافت. همچنین قطبیت مناسب حلال برای بهبود استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از ترکیب آب و اتانول (۷۰ ٪) بدست آمد و اتانول ۷۰ درصد نسبت به آب خالص بازده بیشتری برای استخراج عصاره برگ‌های گیاه به‌لیمو به همراه داشت. همچنین نتایج بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره‌های آبی-الکلی و آبی تنها نشان داد که برگ‌های این گیاه خواص ضد باکتریایی خوبی نسبت به باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت دارد. بنابراین می‌توان علاوه بر کاربرد عصاره به‌لیمو به عنوان طعم دهنده از خاصیت ضد باکتری آن نیز در انواع مواد غذایی بهره برد.

٦- منابع

[1] Martínez-Rodríguez, A., Martínez-Olcina, M., Mora, J., Navarro, P., Caturla, N. and Jones, J., 2022. Anxiolytic Effect and Improved Sleep Quality in Individuals Taking *Lippia citriodora* Extract. *Nutrients*, *14*(1): 1-14.

[2] Sánchez-Marzo, N., Lozano-Sánchez, J., Cádiz-Gurrea, M. D. L. L., Herranz-López, M., Micol, V., and Segura-Carretero, A., 2019. Relationships between chemical structure and antioxidant activity of isolated phytocompounds from lemon verbena. *Antioxidants*, *8*(8), 1-20.

[3] Choupani, M., Arabshahi-Delouee, S. and Alami, M., 2014. Antioxidant properties of various solvent extracts of lemon verbena (Lippia Citriodora) leaves. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, *2*(42): 494-500.

[4] Leyva-Jiménez, F.J., Manca, M.L., Manconi, M., Caddeo, C., Vázquez, J.A., Lozano-Sánchez, J., Escribano-Ferrer, E., Arráez-Román, D. and Segura-Carretero, A., 2020. Incorporation of lippia citriodora microwave extract into total-green biogelatin-phospholipid vesicles to improve its antioxidant activity. *Nanomaterials*, *10*(4): 1-13.

[5] Bondet, V. Brand-Williams, W. and Berset, C., 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30: 609– 615.

[7]Pokorny, J. Yanishlieva, N. and Gordon, M.H., 2001. Antioxidants in Food: Practical Applications. Prague Institute of Chemical Technology, CRC Press, 70- 80.

[6] Noguchi, N. and Niki, E. 2000. Phenolic antioxidants: A rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine,* 28: 1538- 1546.

[8] Sarkar, A., and Ghosh, U., 2016. Natural antioxidants-The key to safe and sustainable life. *International Journal of Latest Trends in Engineering and Technology*, 6(3): 460-466.

[9] Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P., & Ferreira, I. C., 2017. A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. *Food chemistry*, 216: 342-346.

[10] Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S. and Abert-Vian, M., 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, *34*: 540-560.

[11] Allaf, T., Tomao, V., Ruiz, K., and Chemat, F., 2013. Instant controlled pressure drop technology and ultrasound assisted extraction for sequential extraction of essential oil and antioxidants. *Ultrasonics Sonochemistry*, *20*(1): 239-246.

[12] Jamalabadi, M., Saremnezhad, S., Bahrami, A., and Jafari, S. M., 2019. The influence of bath and probe sonication on the physicochemical and microstructural properties of wheat starch. *Food Science & Nutrition*, *7*(7): 2427-2435.

[13]Kumar, K., Srivastav, S. and Sharanagat, V.S., 2021. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*: 1-11.

[14] Siregar, A. R., Maeda, Y., Yoshino, T., and Tanaka, T., 2020. The Effects of Solvents and Solid-to-Solvent Ratios on Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Chlorella vulgaris. *International Journal of Technology*, *11*(5): 941-950.

[15] Giorgis, M., Garella, D., Cena, C., Boffa, L., Cravotto, G., and Marini, E., 2017. An evaluation of the antioxidant properties of Arthrospira maxima extracts obtained using non-conventional techniques. *European Food Research and Technology*, *243*(2): 227-237.

[16] Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., and Ma, H., 2020. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, *35*: 100547.

[17] Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., ... and Santini, A., 2019. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, *33*(9): 2221-2243.

[18] Lohvina, H., Sándor, M., and Wink, M., 2022. Effect of Ethanol Solvents on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Seed Extracts of Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) Varieties and Determination of Phenolic Composition by HPLC-ESI-MS. *Diversity*, *14*(1): 1-21.

[19] Yaghoobi, M., Sanikhani, M., Samimi, Z., and Kheiry, A., 2022. Selection of a suitable solvent for bioactive compounds extraction of myrtle (Myrtus communis L.) leaves using ultrasonic waves. Journal of Food Processing and Preservation, e16357.

[20] Mokrani, A., and Madani, K., 2016. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (Prunus persica L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162: 68-76.

[21] Antony, A., and Farid, M., 2022. Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences*, *12*(4): 2107-2114.

[22] Santos, J. S., Deolindo, C. T. P., Esmerino, L. A., Genovese, M. I., Fujita, A., Marques, M. B., and Granato, D., 2016. Effects of time and extraction temperature on phenolic composition and functional properties of red rooibos (Aspalathus linearis). *Food Research International*, *89*: 476-487.

[23] Benchikh, Y., and Louailèche, H., 2014. Effects of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of carob (Ceratonia siliqua L.) pulp. *Acta Botanica Gallica*, *161*(2): 175-181.

[24] Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., and Andrade, P. B., 2009. Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, *14*(6): 2202-2211.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

[25] Falah, S., Suzuki, T., & Katayama, T., 2008. Chemical constituents from Swietenia macrophylla bark and their antioxidant activity. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *11*(16): 2007-2012.

[26] Katsarou, A., Rhizopoulou, S., & Kefalas, P., 2012. Antioxidant potential of the aerial tissues of the mistletoe Loranthus europaeus Jacq. *Records of Natural Products*, *6*(4): 394-402.

[27] Mrvčić, J., Posavec, S., Kazazić, S., Stanzer, D., Peša, A., and Stehlik-Tomas, V., 2012. Spirit drinks: a source of dietary polyphenols. *Croatian journal of food science and technology*, *4*(2): 102-111.

[28] Nayaka, N. M. D. M. W., Sasadara, M. M. V., Sanjaya, D. A., Yuda, P. E. S. K., Dewi, N. L. K. A. A., Cahyaningsih, E., and Hartati, R., 2021. Piper betle (L): Recent review of antibacterial and antifungal properties, safety profiles, and commercial applications. *Molecules*, *26*(8): 1-21.

[29] Al-Talib, H., Ali, N. D. M., Suhaimi, M. H., Rosli, S. S. N., Othman, N. H., Mansor, N. A. S., and Al-Khateeb, A., 2016. Antimicrobial effect of Malaysian vegetables against enteric bacteria. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, *6*(3): 211-215.

[30] Elisha, I. L., Botha, F. S., McGaw, L. J., and Eloff, J. N., 2017. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against Escherichia coli against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *17*(1): 1-10.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of effective factors on the extraction efficiency of phenolic and flavonoid compounds of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau) under ultrasonic waves and evaluation of its antibacterial properties

Samimi, Z. [1], Yaghoobi, M. [2*], Sanikhani, M. [3], Kheiry, A. [4]

1. MSc., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2. PhD, Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
3. PhD, Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
4. PhD, Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 02/ 28
Accepted 2022/ 07/ 03

Keywords:

Extraction of Active Substances,
Escherichia coli,
Antioxidant Capacity,
Lemon Verbena Extract,
Response Surface Methodology.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2

*Corresponding Author E-Mail:
myaghoobi@znu.ac.ir

ABSTRACT

One of the major challenges in application of medicinal plants is to improve the extraction efficiency of bioactive materials. Therefore, the study of factors affecting the extraction of these materials is one of the important attractive subject for researchers. Lemon verbena due to the presence of high active substances in its leaves and nutritional properties has always been noticed by researchers of medicinal and aromatic plants. In this study, the effect of solvent type, extraction temperature, extraction time and solid to solvent on the extraction efficiency of phenolic compounds, flavonoid compounds and antioxidant activity of plant leaves under ultrasonic waves was investigated based on designed experiments using response surface methodology (RSM). Our result showed that the extraction temperature and solid to solvent ratio are two effective extraction variables on bioactive compounds extraction of lemon verbena leaves under ultrasonic waves. Also our results showed that aqueous- alcoholic extract has a higher efficiency for extraction of phenolic and flavonoid compounds, and trapping free radicals when compared with pure water. The antibacterial properties of aqueous-alcoholic extract showed a significant difference compared to pure aqueous extract. The susceptibility of *Escherichia coli* to both aqueous-alcoholic extracts and aqueous extracts was higher than that of *Staphylococcus aureus*.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-12]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.19.2]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.155]