



استخراج ترکیبات زیست فعال گلنار فارسی (*punica pranatum*) با استفاده از روش های اهمیتیک، 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

چکیده	اطلاعات مقاله
<p>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 اهمیتیک (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 اهمیتیک دارای محتوای فنول مشابهی با روش اولتراسونیک بود، ولی محتوای آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان داد. تیمار بهینه شامل روش اهمیتیک، 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.</p>	<p>تاریخ های مقاله :</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۴</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۳</p> <p>کلمات کلیدی:</p> <p>گلنار فارسی، روش های استخراج، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی</p> <p>DOI: 10.22034/FSCT.21.148.164.</p> <p>مسئول مکاتبات: *</p> <p>asharifi81@gmail.com</p>

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 آنتی‌اکسیدان، 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 آنتی‌اکسیدانی 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-۳-۵، 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- آماده‌سازی عصاره گلنار فارسی به روش همیک

فرآیند استخراج در یک سیستم گرمایش همیک نوع دسته ای با ولتاژ ۸-۲ V/cm و ۲۵ کیلو هرتز انجام شد. استخراج‌کننده شامل یک فلاسک شیشه‌ای گرد ۵۰۰ میلی‌لیتری بود که به دو الکتروود تیتانیوم و منبع کنترل واریاک ترانسفورماتور مجهز شده بود. ولتاژ و جریان در طول آزمایش ۱۵ دقیقه نظارت و کنترل شد. برای این استخراج از دو دمای ۴۵ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد 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- آماده‌سازی عصاره گلنار فارسی به روش اولتراسونیک

برای استخراج عصاره گلنار به روش اولتراسونیک، پودر گیاه در یک لوله سانتریفیوژ ۵۰ میلی‌لیتری 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 سانتی‌گراد و دو زمان ۲۰ و ۴۰ دقیقه انجام گرفت. پس از استخراج، محلول‌های حاصله فیلتر شده و سپس در یک اوپراتور روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها تبخیر شد [۴].

۲-۴- آماده‌سازی عصاره گلنار فارسی به روش پرکولاسیون

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

شده و درون شیشه ریخته شد و یک مگنت در داخل آن قرار داده شده و شیشه بر روی هیتر گذاشته شد و عملیات استخراج عصاره در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام گرفت. عصاره‌های حاصله صاف شده و در اوپراتور روتاری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد حلال آن‌ها تبخیر گردید [۱۸].

۲-۵- تعیین بازده استخراج عصاره‌ها

برای تعیین بازده استخراج عصاره‌های گلنار، عصاره (۲ میلی‌لیتر) در یک آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان تبخیر حلال قرار گرفت و بازده استخراج عصاره‌ها با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید [۱۹]:

$$100 \times \frac{\text{وزن عصاره خشک شده}}{\text{وزن نمونه اولیه}} = \text{بازده استخراج (\%)} \quad (1)$$

۲-۶- اندازه‌گیری محتوای فنول کل عصاره‌ها

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

۲-۷- اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل عصاره‌ها

محتوای آنتوسیانین کل عصاره‌های 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 اندازه‌گیری شد.

مقادیر درصد بازده استخراج عصاره‌های گلنار فارسی تهیه شده به روش‌ها و شرایط عملیات مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. به طور کلی، روش استخراج عصاره تأثیر قابل توجهی بر بازده استخراج عصاره‌ها نداشت. در روش همیک و اولتراسونیک، با افزایش دما و زمان استخراج، افزایش در بازده استخراج عصاره‌های حاصله مشاهده گردید و در روش پرکولاسیون نیز افزایش زمان عملیات، بازده استخراج عصاره‌های گلنار فارسی را افزایش داد. افزایش دمای استخراج از طریق نرم‌تر کردن دیواره سلولی گیاهی و کاهش ویسکوزیته حلال، موجب افزایش نفوذپذیری و رهاسازی بیشتر ترکیبات فعال گیاهی می‌شود. با افزایش زمان استخراج نیز، تخریب بیشتری در ساختار سلولی گیاهی رخ می‌دهد که بازده استخراج عصاره‌ها را افزایش می‌دهد. در کل، بیشترین بازده استخراج مربوط به عصاره تهیه شده توسط روش اولتراسوند در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۴۰ دقیقه بود (۲۱/۶۵ درصد) و عصاره تهیه به روش اولتراسوند در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد 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 سانتی‌گراد 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 معنی‌داری وجود نداشت. Shahidi و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی اثرات تکنیک‌های متفاوت (خیساندن، استخراج به کمک اولتراسوند، استخراج به کمک همیک و جوشاندن) بر عملکرد استخراج عصاره‌های دانه‌های 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]. Gahrue 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 عصاره‌های حاصله توسط روش اولتراسونیک را بالاتر از روش همیک

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)

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

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

۲-۸- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گلنار فارسی، از روش مهار رادیکال DPPH استفاده گردید. برای این منظور، عصاره (۵ میلی‌لیتر) ابتدا با محلول متانولی DPPH ۱۰۰ میکرومولار (۱ میلی‌لیتر) مخلوط شد و پس از همزدن شدید، به مدت ۱ ساعت در تاریکی و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداشته شد. در آخر جذب مخلوط حاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت گردید. محلول استاندارد شامل ۵ میلی‌لیتر اسید آسکوربیک مخلوط شده با ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH بود. در آخر، مقادیر مهار رادیکال DPPH نمونه‌ها 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)

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

۲-۹- روش آنالیز آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از سه بار تکرار آزمون‌های مربوط به عصاره‌ها، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و نرم‌افزار SPSS 22.0 انجام گرفت. برای مقایسه معنی‌داری میانگین‌ها در سطح ۵ درصد، از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد و نمودارهای مربوطه با Excel رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بازده استخراج عصاره

گزارش کردند [۲۳]. Perreira 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 عصاره‌ها 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 عصاره‌های گلنار فارسی در جدول ۱ آورده شده است. در استخراج عصاره‌های گیاهی، دما هم محرک استخراج ترکیبات فعال است و هم می‌تواند موجب تخریب ترکیبات فنولی گردد. افزایش دما تا حد مناسب موجب نرم‌تر شدن بافت گیاهی شده و رهاسازی ترکیبات فنولی از گیاه را تسهیل می‌بخشد [۲۶]. افزایش زمان در شرایط مناسب نیز می‌تواند 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 سانتی‌گراد اثر مثبت بر استخراج ترکیبات فنولی از گلنار نشان داد و با افزایش دما، محتوای فنول کل عصاره‌ها افزایش یافت. در دمای پایین‌تر (دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد) 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 سانتی‌گراد)، افزایش زمان موجب کاهش محتوای فنول کل عصاره‌ها گردید، زیرا در دماهای بالاتر، در اثر طولانی‌تر شدن فرآیند، بخشی از فنول‌های استخراج شده تخریب می‌شوند. در سیستم استخراج پرکولاسیون، افزایش زمان استخراج در ابتدا موجب افزایش و سپس موجب کاهش محتوای فنول کل عصاره‌های حاصله گردید. به طور کلی، در زمان‌های کوتاه‌تر، به دلیل بالاتر بودن شیب غلظت مواد فنولی بین سلول گیاهی و حلال، فرآیند استخراج سریع‌تر رخ می‌دهد، ولی در زمان‌های طولانی‌تر، شیب غلظت مواد

کاهش یافته و سرعت رهایش ترکیبات فعال کمتر می‌شود. به طور کلی، محتوای فنول کل عصاره‌های گلنار فارسی حاصله توسط روش‌های 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 سانتی‌گراد 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 روش‌های متداول این است که پدیده کویتاسیون ایجاد شده توسط امواج اولتراسوند موجب ایجاد نیروهای برشی بالایی در ساختار گیاه می‌شود و دیواره سلولی را شکسته و باعث نفوذ حلال به مواد گیاهی می‌گردد و اجازه می‌دهد تا محتوی درون سلولی در محیط آزاد گردد [۲۳]. در سیستم استخراج اهمیت نیز گرمایش حجمی در سیستم رخ می‌دهد که دما را بسیار سریع‌تر از روش‌های استخراج سنتی و غیرمعارف افزایش می‌دهد و افزایش ولتاژ اعمالی، نرخ گرمایش فرآیند را بالاتر می‌برد. این افزایش ناگهانی دما به سلول‌ها آسیب می‌رساند، ساختار را مختل می‌کند و مولکول مورد نظر را به محفظه اطراف می‌ریزد و به استخراج ترکیبات فعال سرعت می‌بخشد [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 زغال‌اخته 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 حرارت‌دهی سریع در روش اهمیت، این روش نسبت به روش‌های متداول موجب حفظ بهتر ترکیبات فنولی محصولات فرعی گوجه‌فرنگی 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 سانتی‌گراد، در ابتدا

کاهش یافته و سرعت رهایش ترکیبات فعال کمتر می‌شود. به طور کلی، محتوای فنول کل عصاره‌های گلنار فارسی حاصله توسط روش‌های 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 سانتی‌گراد 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 روش‌های متداول این است که پدیده کویتاسیون ایجاد شده توسط امواج اولتراسوند موجب ایجاد نیروهای برشی بالایی در ساختار گیاه می‌شود و دیواره سلولی را شکسته و باعث نفوذ حلال به مواد گیاهی می‌گردد و اجازه می‌دهد تا محتوی درون سلولی در محیط آزاد گردد [۲۳]. در سیستم استخراج اهمیت نیز گرمایش حجمی در سیستم رخ می‌دهد که دما را بسیار سریع‌تر از روش‌های استخراج سنتی و غیرمعارف افزایش می‌دهد و افزایش ولتاژ اعمالی، نرخ گرمایش فرآیند را بالاتر می‌برد. این افزایش ناگهانی دما به سلول‌ها آسیب می‌رساند، ساختار را مختل می‌کند و مولکول مورد نظر را به محفظه اطراف می‌ریزد و به استخراج ترکیبات فعال سرعت می‌بخشد [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 زغال‌اخته 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 حرارت‌دهی سریع در روش اهمیت، این روش نسبت به روش‌های متداول موجب حفظ بهتر ترکیبات فنولی محصولات فرعی گوجه‌فرنگی 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 سانتی‌گراد، در ابتدا

بهینه استخراج عصاره در این تحقیق شامل: زمان استخراج ۶۰ دقیقه، دمای استخراج ۵۰ درجه سانتی‌گراد و قدرت اولتراسوند ۲۰۰ وات بود [۳۱]. Sadeghii 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 آنتی‌اکسیدانی 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
Percolation	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 آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان داده‌اند [۳۳]. نتایج بررسی محتوای آنتوسیانین کل عصاره‌های گلنار فارسی (جدول ۲) نشان داد که در سیستم اهمیت، 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 عصاره‌های گلنار فارسی در روش متداول مهار رادیکال DPPH نشان داده شده است. که با وجود محتوای فنول کل تقریباً برابر عصاره‌های حاصله توسط روش‌های اهمیت و اولتراسونیک، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های حاصله توسط روش اهمیت بالاتر بود که این موضوع می‌تواند به دو علت باشد: اولین علت، بالاتر بودن محتوای آنتوسیانین‌های عصاره در روش اهمیت در مقایسه با اولتراسونیک می‌باشد و به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی آنتوسیانین‌ها، حضور مقادیر بالاتر آن‌ها موجب ایجاد فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر می‌گردد. از سوی دیگر، موقعیت و تعداد گروه‌های هیدروکسیل عصاره‌ها تأثیر قابل توجهی بر فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها دارد و تحقیقات نشان داده است که روش استخراج به کمک گرمایش اهمیت دارای اثر هیدروکسیل‌زایی می‌باشد و تعداد گروه‌های هیدروکسیل را افزایش می‌دهد [۲۸]، که این موضوع می‌تواند دلیلی برای بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH عصاره‌های حاصله توسط گرمایش اهمیت نسبت به روش اولتراسونیک و پرکولاسیون باشد. در روش اهمیت، در دمای کمتر، با افزایش زمان استخراج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها افزایش یافت، ولی در دمای بالاتر، افزایش زمان موجب کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها گردید، زیرا محققین طولانی شدن عملیات استخراج در دماهای بالاتر موجب تخریب برخی از ترکیبات فعال با ارزش استخراج شده نظیر ترکیبات فنولی و آنتوسیانین‌ها می‌گردد و عملیات‌هایی که دارای زمان‌های استخراج کوتاه‌تری انجام می‌گیرند، غالباً فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری نشان می‌دهند [۱۲]. در روش استخراج با امواج اولتراسونیک، افزایش دمای استخراج تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد، به دلیل افزایش محتوای ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها گردید، ولی افزایش دما از ۵۰ تا ۶۰ درجه

ایزومریزاسیون بیان شده است [۳۵]. به طور کلی، محتوای آنتوسیانین‌ها عصاره گلنار استخراج شده توسط روش استخراج اهمیت بالاتر از دو روش دیگر بود و روش اولتراسونیک نیز محتوای آنتوسیانین‌های گلنار را در مقایسه با روش پرکولاسیون بهتر استخراج کرد. در کل، عصاره تهیه شده به روش اهمیت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ۶۰ دقیقه بالاترین آنتوسیانین کل را داشت (۴۲۶/۴۲ 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-دی‌گلوکوزید و پلارگونیدین ۳-گلوکوزید در عصاره گل انار شناسایی شدند که فعالیت‌های 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 سانتی‌گراد موجب افزایش بازده استخراج آنتوسیانین‌ها گردید و افزایش زمان استخراج از صفر تا ۱۰ دقیقه نیز محتوای آنتوسیانین‌های عصاره را افزایش داد [۲۴]. Belwal و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که افزایش زمان اولتراسونیک تا ۲۱ دقیقه موجب افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها در عصاره پوست گلابی گردید، ولی استفاده از زمان‌های بالاتر از ۲۱ دقیقه، کاهش محتوای آنتوسیانین‌های عصاره را به همراه داشت. افزایش دمای اولتراسونیک تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد نیز محتوای آنتوسیانین عصاره را افزایش داد [۳۶]. Kutlu و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که محتوای آنتوسیانین‌های استخراج شده از زغال‌اخته در روش اهمیت بالاتر از سایر روش‌ها 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 آنتوسیانین‌های کل عصاره زعفران استخراج شده توسط روش اهمیت

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH, ABTS, FRAP) و مهار رادیکال O_2^{2-} ، عصاره‌های گل‌های انار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشده است که این موضوع به عدم فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی اثر گذاشته است [۳۰]. Sadeghi و همکاران (۲۰۲۱) دریافتند که با افزایش زمان استخراج پرکولاسیون تا ۴۵/۴۰ ساعت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها افزایش یافت، ولی افزایش بیشتر زمان استخراج موجب کاهش محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها گردید و همانطوری که انتظار می‌رفت، در این روش استخراج بین محتوای ترکیبات فنولی، آنتوسیانینی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها مشاهده شد، ولی افزایش بیشتر زمان عملیات، با کاهش محتوای ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی موجب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گردید. به طور کلی، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره تهیه شده به روش همیک 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 آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان می‌دهند [۳۷]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های سبوس گندم استخراج شده توسط روش همیک 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 همیک را دلیل بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های حاصله توسط این روش در مقایسه با روش متداول دانستند [۳۸]. Rodrigues و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که روش‌های اولتراسونیک و همیک 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}
Percolation	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) ± SD. Different letters in each column represent statistical significant difference at 5% level. TAC: Total anthocyanin content.

روش اهمیک، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و زمان استخراج ۴۰ دقیقه، تیمار بهینه بود و محتوای فنول کل، آنتوسیانین کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 زیست‌فعال گیاهی کمک میکند، از ترکیبات زیست‌فعال استخراج شده میتوان در صنایع غذایی به عنوان نگهدارنده‌های 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.

۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که روش‌های 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 معنی‌دار بین محتوای فنول کل عصاره‌های تهیه شده به روش‌های گرمایش اهمیک و اولتراسوند، محتوای آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده به روش گرمایش اهمیک به طور قابل توجهی بالاتر از روش اولتراسوند بود. نتایج این تحقیق در کل نشان داد که بین عصاره‌های 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-Madrigal, 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] Algarrá, 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
<p>Article History: Received: 2023/11/25 Accepted: 2024/1/13</p>	<p>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.</p>
<p>Keywords: <i>Punica pranatum</i>, Extraction methods, Phenolic compounds, Antioxidant activity</p>	
<p>DOI: 10.22034/FSCT.21.148.164. *Corresponding Author E-Mail: asharifi81@gmail.com</p>	