(مقاله پژوهشی)

تاثیر روش استخراج به کمک فراصوت بر میزان ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌محمدی

نسیم پورابراهیم[۱]، امیرحسین الهامی راد[۲]، سودابه عین افشار[۳*]، محمد آرمین[۴]

۱- دانش آموخته دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی ، سبزوار، ایران.

۲-دانشیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی ، سبزوار، ایران.

۳-استادیار پژوهش، بخش تحقیقات فنی و مهندسی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

۴- دانشیار، گروه‌کشاورزی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی ، سبزوار، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۰۸

چکیده

گل‌محمدی با نام علمی *Rosa Damascena* Mill. گیاهی متعلق به تیره Rosaceae است که عصاره استخراج شده آن حاوی چند ماده مؤثره دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی می باشد. روش‌های مختلف استخراج بر روی بازده استخراج و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اثر می‌گذارد. این تحقیق به منظور مقایسه تأثیر دو روش استخراج عصاره با حلال و به کمک فراصوت بر بازده استخراج، میزان ترکیبات فنولی و خواص‌آنتی‌اکسیدانی عصاره انجام شد. بیشترین بازده استخراج (۳۶/۳٪) مربوط به عصاره استخراج شده به کمک فراصوت در شدت ۱۰۰ وات و زمان ۱۰ دقیقه بود. روش استخراج تأثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات فنولی عصاره داشت ($P<0/05$). بالاترین میزان ترکیبات فنولی در عصاره استخراجی به کمک فراصوت در شدت ۱۰۰ وات و زمان ۳۰ دقیقه (۵۴۸/۳ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره) مشاهده شد. نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS و بر پایه طرح کاملا تصادفی نشان داد روش استخراج تاثیر معنی‌داری بر روی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نداشت درحالی‌که بین نتایج فعالیت‌های ضداکسایشی عصاره‌های استخراجی به دو روش خیساندن و فراصوت اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ($P<0/05$). به‌علاوه با افزایش زمان، میزان احیا آهن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌عصاره‌ها افزایش یافت و بین فعالیت‌های ضداکسایشی عصاره‌ها اختلاف‌معنی‌دارآماری مشاهده شد. در حالی‌که بالاترین میزان ترکیبات آنتوسیانینی در عصاره استخراجی به کمک فراصوت (۱۲۵/۰۶ میلی‌گرم در گرم عصاره) تعیین گردید، عصاره استخراج شده به روش خیساندن کمترین (۶۸/۳ میلی گرم در گرم عصاره) میزان ترکیبات آنتوسیانینی را نشان داد.

واژه های کلیدی: ترکیبات فنولی، خواص آنتی‌اکسیدانی، عصاره گل محمدی، فراصوت.

*مسئول‌مکاتبات: soodabeheyn@yahoo.com

۱- مقدمه

گل محمدی با نام علمی *Rosa Damascena Mill.* از خانواده Rosaceae و از جنس Rosa،گل ملی ایران، بومی خاورمیانه و یکی از فراوان‌ترین گل‌ها در ایران می‌باشد و چون بسیارمقاوم به خشکی است، هم به‌صورت طبیعی و هم زراعی در بسیاری از نقاط ایران می‌روید. نام انگلیسی آن پرشیا رز[۱] است و عموماً به داماسک رز[۲] معروف می‌باشد (۱۶-۱۸، ۳۱). آب مهم ترین ماده موجود در گل محمدی است که میزان آن به بیش از ۸۰٪ می رسد. همچنین گل‌ها حاوی مقادیر کمی پروتئین، چربی، کربوهیدرات، فیبر، املاح‌معدنی و دارای انواع زیادی از ترکیب‌های فلاونوئیدی و آنتوسیانین‌ها می باشند (۳۶). مهم‌ترین فرآورده‌های حاصل از گلبرگ‌های[۳] تازه گل‌محمدی عبارتند از اسانس، گلاب، گلبرگ و غنچه خشک‌شده، میوه گل‌سرخ، عصاره‌غلیظ و مطلق که به‌طور گسترده‌ای در صنایع‌عطرسازی، دارویی و غذایی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۶، ۲۴). عصاره استخراج شده از کاسبرگ و گلبرگ گل‌سرخ، مخلوط پیچیده ای از بیش از ۱۰ ترکیب مختلف‌می‌باشد. ترکیب بیشتری که ازشکوفه های گل محمدی بدست می آید فنیل اتیل الکل[۴] بوده و دیگر ترکیب های اصلی آن شامل الکل های ژرانیول[۵]، سیترونلول[۶] و نرول[۷] می باشند (۹). خواص‌دارویی خانواده رزاسه[۸] عمدتاً به فراوانی ترکیبات فنولی‌آن‌ها نسبت داده می‌شود (۲۷). ترکیبات فنولیکی در گیاه گل محمدی شامل کامپفرول[۹]، کوئرستین[۱۰]، اسیدگالیک[۱۱]، سیانیدین ۳ و ۵-دگلوکوزیک[۱۲]می‌باشند. این ترکیبات با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند (۱۶، ۳۱). در مطالعه ای که توسط جایمند[۱۳] و همکاران (۲۰۱۰) به منظور بررسی میزان فلاونوئیدهای (کامپفرول وکوئرستین) گونه های گل محمدی انجام‌شده‌است، نتایج تحقیق نشان داده تمامی ژنوتیپ‌های این گیاه از محتوای فنلی بالایی برخوردارند (۲۲). کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان نسبت به تغییرات شرایط محیطی، کشت و نحوه نگهداری، ماندگاری، طریقه خشک کردن و روشهای مختلف فرآوری، اسانس‌گیری و نحوه استخراج متفاوت می‌باشد (۴۵). استخراج عصاره از گیاهان به روشهای مختلفی انجام می‌گیرد که هر روش ممکن است بر راندمان استخراج و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماده حاصل اثر بگذارد. استخراج با روش‌های معمول به‌عنوان مثال خیساندن، نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیادی دارند؛ بنابراین نیاز به روش‌های استخراج جدید با زمان استخراج کوتاه‌تر، مصرف حلال آلی کم‌تر و ایجاد آلودگی کمتر، افزایش یافته است (۱۴). فراصوت[۱۴] یکی از روش‌های نوین استخراج می باشد. سازوکار اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون[۱۵] مربوط می‌شود (۴، ۸). از این‌رو، تصور می‌شود استخراج با روش‌های جدیدی مانند استخراج به کمک فراصوت و مایکروویو، سبب افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول‌های گیاهی، افزایش انتقال جرم، مصرف کم‌تر حلال، محافظت ویژه از ترکیبات ناپایدار در برابر حرارت و کاهش آلودگی محیط زیست می شوند (۴۰). ایکسیا[۱۶] و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که فراصوت اثر بهتری بر استخراج ترکیب های فیتوشیمیایی از چای حتی در پایین‌ترین دما ،در مقایسه با تکنیک‌های معمولی

1-Persia Rose
2- Damask Rose
3-Petals
4- Phenyl ethyl alcohol
5-Geraniol
6-Citronellol
7-Nerol
8-Rosaceae
9- Kaempferol
10-Quercetin
11- Galic Acid
12- Cyanidin-3, 5-diglucoside
13-Jaymand
14-Ultrasound
15-Cavitation
16- Xia

عصاره‌گیری داشتند (۴۲). در تحقیق دیگری چیمات[1] و همکاران (۲۰۰۴) به بررسی سرعت استخراج کاروون و لیمونن[2] به دست آمده از عصاره مرکبات با روش فراصوت پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده از امواج فراصوت با توجه به دمای بکار رفته، باعث افزایش سرعت استخراج به میزان ۱/۳ تا ۲ برابر نسبت به روشهای مرسوم گردید (۱۷). یانگ[3] و همکاران (۲۰۱۳) همچنین زمان کم تر استخراج و کاهش مصرف حلال را از عوامل مهم کارامدی روش فراصوت برای استخراج عصاره دانستند (۴۴). شارما و گوپتا[4] (۲۰۰۴) نیز گزارش کردند که فراصوت یک پیش تیمار مناسب بوده و باعث افزایش بازدهی استخراج روغن از بادام و سبوس برنج می شود (۳۴). در زمینه خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی عصاره گل‌محمدی استخراج شده با روش‌های نوین، تحقیقات اندکی انجام شده است. به طوری که منوچهری و همکاران (۱۳۹۴) اثر روش های مختلف تقطیر با آب، اهمیک و مایکروویو را بر مقدار و ترکیبات اسانس گل‌محمدی مورد بررسی قرار دادند. بازده اسانس حاصل از سه روش استخراج اختلاف معنی‌داری نشان داد. بیشترین و کم‌ترین بازده استخراج اسانس به ترتیب مربوط به روش مایکروویو و تقطیر با آب بود (۱۰). در تحقیق دیگری محمدی و همکاران (۲۰۱۳) به منظور استخراج اسانس گل محمدی به مقایسه روش سنتی تقطیر آبی و فرایند استخراج با حلال به کمک مایکروویو پرداختند. استخراج اسانس روغنی گل‌محمدی به روش مایکروویو نسبت به روش تقطیر آبی مزایای مهمی از نظر صرفه‌جویی انرژی، زمان استخراج و عملکرد استخراج را نشان داد (۲۸). همچنین ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره های گل‌محمدی حاصل از فرآیند سنتی تقطیر و استخراج شده با امواج فراصوت و مایکروویو (US/MW) توسط پاتراسکو و رادیو[5] (۲۰۱۶) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که هر دو ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ها به روش استخراج بستگی دارد به طوری که عصاره تهیه شده به روش US/MW بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و بالاترین بازده استخراج اسانس را نشان داد (۳۰). باتوجه به بومی بودن گل‌محمدی در ایران، دسترسی آسان و ارزان آن و از طرفی‌خواص‌دارویی این گیاه مطالعه روش‌های نوین استخراج عصاره گل محمدی به‌منظور کاهش و یا حتی عدم استفاده از حلال در فرایند استخراج و همچنین به‌دست آوردن محصولات خالص‌تر ضروری به‌نظر می‌رسد. لذا این تحقیق با هدف مقایسه تأثیر دو روش استخراج با حلال و به‌کمک فراصوت بر بازده استخراج، میزان ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گل محمدی انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع‌آوری نمونه‌ها

در اوایل اردیبهشت‌ماه همزمان با شروع فصل گلدهی، گل‌های محمدی از سطح مزرعه واقع در شهرستان گناباد جمع‌آوری و تا زمان انتقال به آزمایشگاه در شرایط سرد نگهداری شدند. برای انجام آزمایش‌ها، ابتدا گل‌های محمدی از انتهای اتصال دمگل به گل چیده شده و پس از آن گلبرگ‌ها با دقت جدا و برای استخراج آماده گردیدند.

۲-۲- روش‌های استخراج عصاره گل محمدی

۲-۲-۱- استخراج عصاره توسط حلال

در این پژوهش عصاره‌گیری به‌روش خیساندن انجام شد. ۲۰ گرم نمونه پودر شده گلبرگ گل محمدی با ترازو (AND مدل EK-i، ساخت‌ژاپن) توزین‌شد و در بشر ۱۰۰۰ میلی‌لیتری با ۴۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول– آب (۸۰:۲۰) با نسبت (۱:۲۰) مخلوط شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر (پل

1- Chemat
2-Carvon and Limonene
3-Yang
4- Sharma and Gupta
5-Patrascu and Radoiu

ایده آل پارس، ساخت ایران) قرار داده شد تا عمل استخراج عصاره از گیاه صورت بگیرد. عصاره سپس به کمک کاغذ صافی واتمن شماره۱صاف شد. به منظور حذف حلال، عصاره صاف شده بر روی پلیت‌های شیشه‌ای پخش گردید و در معرض هوا قرار گرفت تا زمانی‌که عصاره به‌طور کامل خشک گردید. عصاره خشک شده از سطح پلیت‌ها به وسیله تیغه فلزی خراش داده شد و پودر حاصله در ظروف درب‌دار تا زمان انجام‌آزمایش در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۰).

۲-۲-۲- استخراج عصاره توسط حلال و به‌کمک امواج فراصوت

۲۰ گرم پودر گلبرگ گل محمدی با ۴۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول-آب (۸۰ :۲۰) مخلوط شد. جهت افزایش کارآیی حلال از پیش فرایند فراصوت در سه زمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه و شدت ۱۰۰ وات استفاده شد. در این تحقیق از یک دستگاه مولد امواج فراصوت مدل UP400S (Hielscher، ساخت آلمان) به منظور ایجاد امواج فراصوت استفاده گردید. دما در طی فرآیند عصاره‌گیری با استفاده از قرار دادن بشر در ظرف حاوی یخ ثابت نگه داشته شد. سپس محلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شیکر (پل ایده‌آل پارس، ساخت ایران) قرار داده شدند تا عمل استخراج عصاره از گیاه تکمیل‌گردد. عصاره توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و در معرض هوا خشک شد. پودر عصاره در ظرف درب‌دار و در فریزر ۱۸ـ درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۲۰،۱۵).

۲-۳- محاسبه بازده عصاره

با محاسبه وزن اولیه پلیت و وزن نهایی آن که حاوی عصاره خشک برجای مانده است، مقدار کل عصاره خشک استخراج شده محاسبه شد و عصاره خشک در ۱۰۰ گرم پودر گلبرگ گل محمدی بر حسب گرم اندازه‌گیری گردید (۱۲).

بازده عصاره = (وزن عصاره خشک شده / وزن ماده اولیه) × ۱۰۰

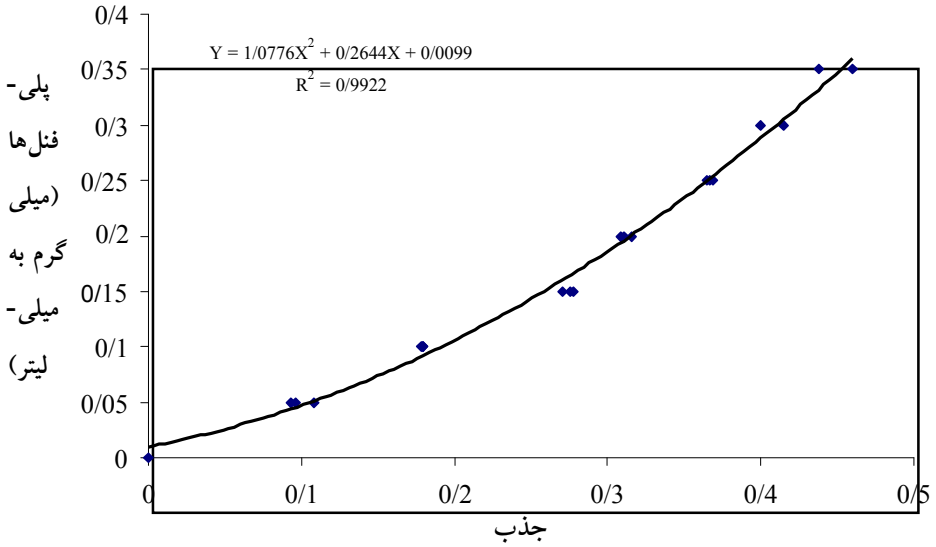
۲-٤- اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌های گل محمدی

میزان کل ترکیبات فنولی با روش اسلینکارد و سینگلتون[1] (۱۹۷۷) و بر اساس روش رنگ‌سنجی با معرف فولین سیوکالتو[2] انجام شد (۳۷). ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره (۱۰۰ میلی گرم از عصاره با ۱۰ میلی‌لیتر متانول) برداشته با ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو رقیق‌شده با آب با نسبت (۱ به ۱۰) و ۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و پس از ۸ دقیقه استراحت، ۱/۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰٪ اضافه شد. محلول حاصل پس از اینکه به‌خوبی تکان داده شد، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری و سپس جذب آن‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Pharmacia LKB Novaspec، ساخت انگلستان) خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسیدگالیک استفاده گردید (شکل ۱). میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره بر حسب اسید گالیک و با استفاده از معادله (۱) به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد.

رابطه(۱)

محتوای فنلی = ۱/۰۷۷۶ x^2 + ۰/۲۶۴۴ x +۰/۰۰۹۹

1- Slinkard and Singleton
2- Folin-Ciocalteu



شکل ۱- منحنی کالیبراسیون غلظت ترکیبات پلی‌فنلی در برابر جذب خوانده‌شده در طول موج ۷۶۵ نانومتر

۲-۵-ارزیابی‌قدرت‌آنتی‌اکسیدانی‌عصاره‌های‌گل حمدی

۲-۵-۱- اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

به‌منظور ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، ۴ میلی‌لیتراز غلظت‌های مشخص از عصاره گلبرگ گل محمدی با ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۶ درصد DPPH حل‌شده در متانول مخلوط شد. بعد از ۶۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق در مکان تاریک، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومترقرائت‌شد (۴۳). درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول ذیل (۲) محاسبه شد که در آن A_c جذب کنترل و A_s جذب نمونه می‌باشند.

رابطه(۲)

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد DPPH} = [(A_c - A_s)/A_c] \times ۱۰۰$$

۲-۵-۲-اندازه‌گیری‌قدرت‌احیاءکنندگی‌آهن‌سه ظرفیتی FRAP[1]

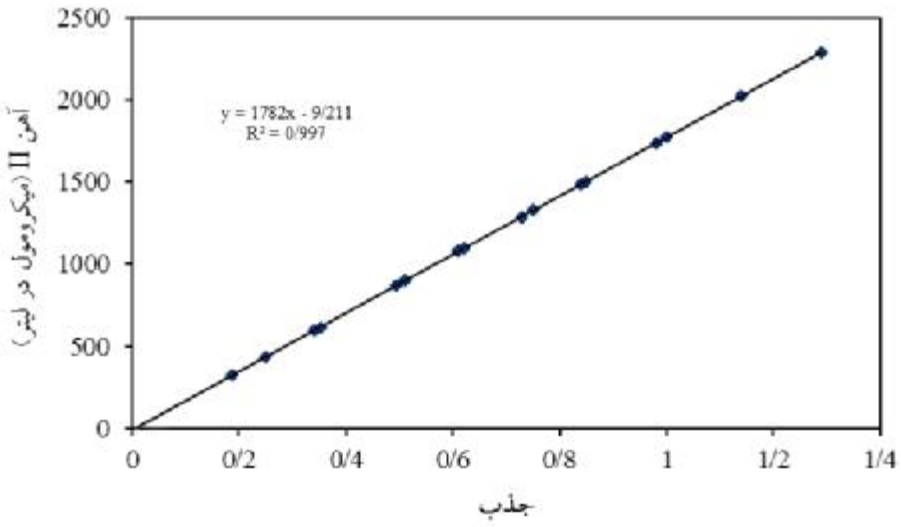
توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه‌ظرفیتی توسط روش بنزی و استرین[2] (۱۹۹۹) اندازه‌گیری شد (۱۳). معرف FRAP (۰/۰۲۳گرم TPTZ[3] با ۷/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴۰ میلی‌مول بر لیتر، ۰/۵۴گرم کلرید آهن ($Fecl_3$) با ۱۰۰ میلی‌لیترآب‌مقطر و بافر استات ۰/۳ مولار با pH= ۳) به‌طور تازه آماده شد. ۹۰ میکرولیتر از نمونه متانولی با ۲۷۰۰ میکرولیتر معرف FRAP و ۲۷۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط گردید و جذب مخلوط واکنش بعد از انکوباسیون در ۳۷درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. فعالیت احیاکنندگی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد و معادله (۳) بدست آمده از آن بر حسب میکرومول آهن در میلی‌گرم وزن خشک عصاره محاسبه شد (شکل ۲).

رابطه(۳)

$$Y = ۱۷۸۲ x - ۹/۲۱۱$$

که Y میکرومول آهن بر لیتر و X جذب خوانده شده در طول موج ۵۹۵ نانومتر است.

1-Ferric Reducing Activity of Plasma
2-Benzie and Strain
3-2,4,6-tripyridyl-S-triazine



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون غلظت آهن II در برابر جذب خوانده‌شده در طول موج ۵۹۵ نانومتر

۲-٦- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات آنتوسیانینی کل

مقدارترکیبات آنتوسیانینی‌کل با استفاده از روش تغییر pH تعیین‌شد(۲۵).برای‌این‌منظوردوبافرکلرید پتاسیم دارای pH=۱ و استات‌سدیم با pH=۴/۵ استفاده شد. ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده گل‌محمدی با بافرها به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر یک بار با بافر۱و بار دیگر با بافر۲ خوانده شد. غلظت آنتوسیانین‌ها توسط معادله (۴) زیر محاسبه می‌شود :

(رابطه۴)

میزان آنتوسیانین کل = A × Mw × DF × ۱۰۰۰/Ɛ

A اختلاف جذب بین دو pH=۱ و pH=۴/۵، Mw و Ɛ به ترتیب وزن‌مولکولی و ضریب جذب مولی مولکول سیانیدین-۳-گلیکوزید و DF نیز فاکتور رقت محسوب می‌شود (۲۵).

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده، بااستفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین‌چنددامنه‌ای‌دانکن(P<۰/۰۵) با نرم‌افزار SPSS برپایه طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. نمودارها به‌کمک نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ رسم گردید.

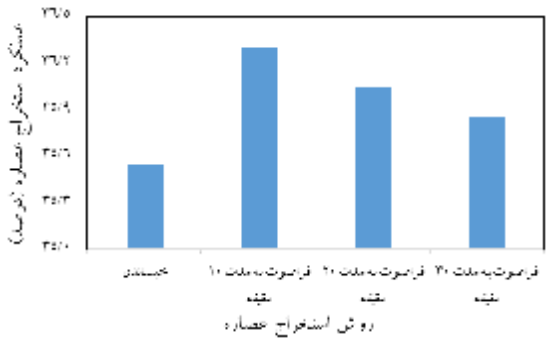
۳- نتایج و بحث

۳-۱- تأثیر فرآیند استخراج بر بازده عصاره

بازده‌استخراج‌عصاره باروش‌های‌خیساندن و به‌کمک فراصوت در شکل 3 آورده شده است. در هر دو روش عصاره‌گیری با حلال و به کمک فراصوت تفاوت معنی‌داری از نظر بازده استخراج عصاره وجود ندارد (P<۰/۰۵). نتایج بدست‌آمده از این مقایسه با گزارش دزاشیبی[1] در سال ۲۰۰۷ مطابقت دارد. این محقق گزارش کرد که بین راندمان عصاره‌گیری برگ حنا با دو روش مختلف استخراج با حلال و به‌کمک فراصوت تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (۱۹). مقایسه و بررسی درصد استخراج‌درزمان‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) عصاره‌گیری به‌کمک فراصوت حاکی از آن است که در توان ثابت ۱۰۰ وات با افزایش زمان، بازده استخراج عصاره‌ها کاهش یافته است. به نظر می‌رسد در زمان‌های بالاتر به دلیل وقوع اکسیداسیون و به‌علت در معرض امواج فراصوت قرارگرفتن

1- Dezashibi

در مدت طولانی، میزان استخراج کاهش می‌یابد (۳۲). با این‌حال از نقطه نظر زمان استفاده از زمان‌های بیش از ۳۰ دقیقه در به‌کارگیری از امواج فراصوت توصیه نمی‌شود (۳۰). براساس نتایج حاصل از این تحقیق، مناسب ترین شرایط جهت استخراج بیشتر عصاره گل محمدی به کمک روش فراصوت، در زمان ۱۰ دقیقه و با توان ۱۰۰ وات حاصل گردید. تحت این شرایط میزان استخراج ۳۶/۳ گرم عصاره خشک در ۱۰۰ گرم گل‌محمدی بود که به مقدار ۰/۸درصد عصاره خشک بیشتری در مقایسه با روش خیساندن استخراج گردید. می‌توان گفت استرس برشی حاصل از امواج فراصوت باعث افزایش انتشار حلال به‌درون بافت‌گیاهی و استخراج بهتر ترکیبات فنولی نسبت به روش خیساندن می شود (۳۳). درهرحال، روش فراصوت به‌دلیل کاستن قابل توجه زمان عصاره‌گیری و بهبود بازده استخراج عصاره نسبت به روش خیساندن ارجح می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه بازده استخراج عصاره گل محمدی (درصد) بااستفاده از روش‌های استخراج خیساندن و به کمک فراصوت

۳-۲-تأثیر فرآیند استخراج به کمک فراصوت بر تغییرات مقدار کل ترکیبات فنولی

نتایج مربوط به میزان ترکیبات فنولی کل عصاره‌های گل محمدی حاصل از روش‌های استخراج خیساندن و فراصوت در جدول۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود روش استخراج تأثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات فنولی عصاره داشته است ($P<0/05$). به‌طوری‌که بالاترین میزان ترکیبات فنولی در عصاره استخراج شده به کمک فراصوت (۵۴۸/۳ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره) مشاهده شد و عصاره استخراج شده به روش خیساندن کمترین (۵۲۱/۴ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره) ترکیبات فنولی را داشت. پژوهش‌های زیادی افزایش میزان ترکیبات فنولی توسط صوت‌دهی را در مقایسه با روش‌های متداول نشان داده است. منصول و وارسته[1] (۲۰۱۴)، عصاره اتانولی ۷۰ درصد گیاه کنگر فرنگی‌را با استفاده از روش‌های مختلف خیساندن و اولتراسوند استخراج کردند که نتایج آن‌ها نشان داد بیشترین مقدار ترکیبات فنولی‌متعلق به عصاره فراصوت دهی می‌باشد(۲۶). همچنین حیدری مجد و همکاران (۲۰۱۲) افزایش میزان ترکیبات فنولی کل از گیاه پونه گاوی را نسبت به روش خیساندن گزارش کردند و دلیل آن را تنش برشی حاصل از امواج فراصوت بیان نمودند که باعث شکسته شدن مولکول‌های پلیمری بزرگ و در نتیجه باعث استخراج بهتر ترکیبات فنولی می‌شوند (۲). به‌همین دلیل روش فراصوت سریع‌تر و کامل‌تر از روش خیساندن است. در تحقیقی که بر روی‌ترکیبات‌فلاونوییدی (کامفرول و کوئرستین)گل محمدی انجام شد نتایج نشان داد که تمامی ژنوتیپ‌های این گیاه از محتوای فنلی بالایی برخوردارند (۱). همچنین خادمی و مرادی نژاد (۱۳۹۴) پس از سنجش محتوای فنلی عصاره های گلبرگ و برگ گل محمدی، میوه و دانه درخت به، میوه سیب و دانه بادام، بیشترین میزان ترکیبات فنلی را مربوط به عصاره برگ گل محمدی و کمترین مقدار را مربوط به میوه سیب گزارش کردند (۳). در بررسی پراکنش و تنوع فیتوشیمیایی گونه های دارویی رز (*Rosa spp.*) شمال غرب ایران، شامه و همکاران (۱۳۹۵) فرآیند عصاره‌گیری گل‌های خشک شده را بااستفاده از دستگاه فراصوت دهی انجام دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ گیاه تاثیر معنی‌داری بر روی میزان فنل کل، گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف رز دارد، بطوری‌که بیشترین میزان ترکیبات فنلی کل (۱۰۴/۰۲ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) در گل‌های (*R. canina*) و کم ترین میزان آن

1-Mansoul and Varasteh

(۱۹/۷۸میلی‌گرم‌اسیدگالیک‌برگرم‌وزن‌خشک) در گل‌هـــای (*R. hemisphaerica*) مشاهده شد. میزان فنل کل در گل محمدی (*R.damascena*) ۶۰/۶۴ (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) گزارش گردید (۶). نتایج حاصل از این تحقیق هم‌چنین نشان داد کـه روش فراصوت دهی در استخراج ترکیبات فنولی مـوثرتر از روش کلاسـیک خیساندن عمل می‌کند. نتایج بررسی تأثیر زمان در روش استخراج به کمک فراصوت نشان داد که در توان ثابت ۱۰۰ وات با افزایش زمان از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه میزان ترکیبات فنلی عصاره گل‌محمدی افزایش یافته است. فاکتور زمان مدت انتقال جرم را افزایش می‌دهد، بنابراین روند صعودی استخراج ترکیبات فنلی از عصاره‌های استخراج شده به‌کمک فراصوت با افزایش زمان منطقی به‌نظر می‌رسد. وانگ و همکاران (۲۰۰۸) نیز در بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنلی از سبوس گندم به‌کمک روش فراصوت نشان دادند که میزان استخراج ترکیبات فنلی از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (۴۱).

جدول ۱- تاثیر روش استخراج بر میزان گیرندگی رادیکال آزاد DPPH، ترکیبات فنلی کل و قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی در عصاره اتانولی گل محمدی

آزمون عصاره	میزان گیرندگی رادیکال آزاد DPPH (درصد)	ترکیبات فنلی کل (میلی‌گرم اسید گالیک در گـــرم)	قدرت احیاءکنندگی آهن سه ظرفیتی (میکرومول فروس سولفات در یک میلی گرم)
عصاره اتانولی (خیساندن)	٤٩/٣±١/١	٥٢١/٤±١/٥٥	١٠٠٣/٤±٠/٩b
عصاره اتانولی به کمک فراصوت (۱۰ دقیقه)	٤٥/٠٧±١/٤٥	٥٢٨/٧±١/٠٢	٨٧٣/٧٨±١/٢C
عصاره اتانولی به کمک فراصوت (۲۰ دقیقه)	٥٥±١/٦٦	٥٣٩/٤±١/٤٤	٨٩٠/٣٧±١/٣٧c
عصاره اتانولی به کمک فراصوت (۳۰ دقیقه)	٦١/٠٧±١/٢٥	٥٤٨/٣±١/٧٦	١٠٧٣/٦٥±١/٦٥a

*داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

۳-۳-تاثیر فرآیند استخراج به کمک فراصوت بر تغییرات خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره

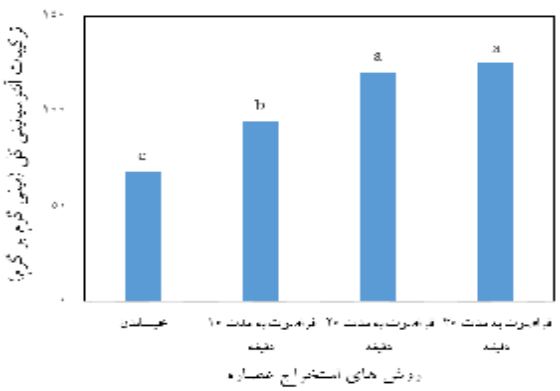
اساس‌روشDPPH برپایهٔ بی‌رنـگ‌شـدن محلـول DPPH اسـت که به‌وسـیلهٔ آنتی‌اکسـیدان‌های موجـود در عصـاره انجـام می‌شـود و این عمل از طریق مهـار رادیکال‌هـای آزاد صـورت می‌پـذیرد. مـدل به‌دام‌اندازی رادیکال پایدار DPPH بـه‌طـور گسـترده بـرای ارزیـابی توانایی بـه‌دام انـداختن رادیکال‌هـای آزاد در نمونـه‌های مختلـف به‌کـار مـی‌رود (۲۵). در این مطالعه نتایج آنالیز واریانس نشان داد که روش استخراج عصاره‌ها تاثیر معنی‌داری روی مهار

رادیکال‌های‌آزاد DPPH ($P<0/05$) ندارد. میزان گیرندگی رادیکال‌های‌آزاد DPPH در عصاره‌های گل محمدی حاصل از دو روش مختلف استخراج عصاره (خیساندن و فراصوت) درجدول۱آورده شده است. بالا بودن میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در این تیمارها به علت بالا بودن ترکیبات فنولی در آن‌ها است. افزایش غلظت ترکیبات فنلی به‌طور مستقیم توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی وابسته به توانایی آن‌ها در دادن الکترون برای به دام انداختن رادیکال‌های‌آزاد به وسیله تشکیل ترکیبات پایدار فنوکسیل می‌باشد (۲۶). مقایسه و بررسی درصد مهار رادیکال‌آزاد DPPH عصاره‌ها حاکی از آن است که در روش فراصوت درصد مهار رادیکال آزاد نسبت به روش معمولی خیساندن افزایش یافته است. در تحقیقی که صداقت و نجفیان (۱۳۹۷) برروی روش‌های مختلف استخراج (حلال اتانولی، اولتراسوند و سیال فوق بحرانی) عصاره برگ توت سفید (*Morus alba* L.) انجام دادند، مقدار ترکیبات فنولی و توکوفرول‌ها در روش استخراج با فراصوت بیشتر از سایر روش‌ها بود که این نتایج مشابه یافته‌های این تحقیق بود (۷). همچنین شکوه صارمی و همکاران (۲۰۱۷) عصاره گیاه اناریجه را بااستفاده از روش‌های غوطه‌وری، فراصوت و سیال فوق بحرانی استخراج و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را توسط آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار دادند. به‌طوری که عصاره حاصل از فراصوت بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در روش مهار رادیکال آزاد داشت که به‌دلیل وجود ترکیبات فنولی بالاتر و ظرفیت بالاتر در اهدای اتم هیدروژن و توقف زنجیره ایجاد رادیکال های آزاد می‌باشد (۳۵). اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی به روش FRAP یک واکنش اکسیداسیون و احیاست که از طریق تغییر رنگی که در طی انجام واکنش نمایان می‌شود قابل شناسایی است (۲۱). قدرت احیاکنندگی به‌عنوان شاخصی درتعیین‌ظرفیت‌آنتی‌اکسیدانی‌گیاهان دارویی به‌کار می‌رود (۲۳). در حالت کلی، حضور عوامل احیاکننده فعالیت خود را از طریق اهدا الکترون اعمال می‌کنند. چنانچه ترکیبی دارای این ویژگی‌ها باشد، می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کند. سنجش احیاکنندگی نمونه، ناشی از احیا آهن III به آهنII با اهداء الکترون می‌باشد. میزان کمپلکس آهن با اندازه‌گیری میزان تشکیل‌آبی پروس[1] در طول موج ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. افزایش جذب در این طول موج حاکی از افزایش قابلیت احیاکنندگی می‌باشد. روش استخراج تاثیر زیادی بر فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل داشت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) بین نتایج فعالیت‌های ضداکسایشی عصاره‌های استخراجی به دو روش خیساندن و فراصوت وجود دارد. همچنین میزان فعالیت ضداکسایشی به‌روش FRAP در عصاره‌های گل‌محمدی مربوط به‌روش فراصوت‌دهی در توان ثابت ۱۰۰ وات برای زمان‌های ۱۰، ۲۰ و۳۰ دقیقه به‌ترتیب ۸۷۳/۷۸، ۸۹۰/۳۷ و ۱۰۷۳/۶۵ (میکرومول فروس سولفات در میلی گرم عصاره) می‌باشد، به‌طوری‌که با افزایش زمان، میزان احیا آهن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها افزایش می‌یابد و بین فعالیت‌های ضداکسایشی عصاره‌ها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده می‌شود (جدول ۱). تست FRAP بر پایه توانایی ترکیبات فنلی در احیای Fe^{+3} به Fe^{+2} استوار می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که با افزایش زمان از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه میزان ترکیبات فنلی عصاره افزایش یافته است. لذا عصاره گل محمدی استخراج‌شده به کمک صوت‌دهی در زمان ۳۰ دقیقه دارای بیشترین فعالیت ضداکسایشی به روش FRAP می‌باشد.

1- Prussian Blue

۳-٤- تاثیرفرآیند استخراج به کمک فراصوت بر مقدار آنتوسیانین کل عصاره

ترکیبات اصلی گیاه گل‌محمدی آنتوسیانین، سیانیدین ۵، ۳ دی گلیکوزید[1] و چندین ترکیب دیگر مانند کامفرول، کوئرستین، گالاکتوزید[2]، آرابینوزید[3]، سیترونلول[4]، لینالول[5]، ژرانیول[6] و ترپن‌ها[7]می‌باشند (۳۹). آنتوسیانین‌ها دسته مهمی از ترکیبات فنولی می‌باشند، که به‌علت دارا بودن گروه‌های الکترون‌دهنده در ساختمان خود می‌توانند نقش آنتی‌اکسیدان را در برابر عوامل اکسیداتیو نظیر اشعه ماورا بنفش، رادیکال‌های آزاد و تنش‌های حرارتی محیطی ایفا کنند (۲۹). در پژوهش حاضر نیز مقدار قابل توجه آنتوسیانین (۱۲۵-۶۸ میلی‌گرم بر گرم) بدست آمده تائیدی بر بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه گل محمدی می‌باشد.نتایج مربوط به میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل عصاره‌های گل محمدی حاصل از روش‌های استخراج خیساندن و فراصوت در شکل۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود روش استخراج تأثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات آنتوسیانینی عصاره داشته است ($P<0/05$). بالاترین میزان ترکیبات آنتوسیانینی در عصاره استخراج شده به‌کمک فراصوت (۱۲۵/۰۶ میلی‌گرم در گرم عصاره) مشاهده می‌شود و عصاره استخراج شده به روش خیساندن کمترین (۶۸/۳ میلی‌گرم در گرم عصاره) ترکیبات آنتوسیانینی را دارد. نتایج این تحقیق نشان دادند که بکارگیری تکنیک‌های نوینی نظیر امواج فراصوت می‌توانند میزان استخراج ترکیبات آنتوسیانینی کل عصاره گل محمدی را بهبود ببخشند. این نتایج با نتایج سردرودیان و همکاران (۱۳۹۵) هم‌خوانی داشتند، آن‌ها عصاره اتانولی گیاه سنجد را با استفاده از روش‌های مختلف خیساندن و اولتراسوند استخراج کردند که نتایج نشان داد بیشترین راندمان استخراج ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدها متعلق به عصاره اولتراسوند بود بطوری که ترکیبات فلاونوئیدی در روش فراصوت و خیساندن به ترتیب ۳۲/۹۸ و ۲۸/۹۵ میلی‌گرم کوئرستین به ازای۱گرم از پودر اولیه گزارش شد (۵). نتایج حاصل از مراحل مختلف نشان داده که روش فراصوت ترکیبات آنتوسیانینی بیشتری را نسبت به روش خیساندن استخراج کرده است. باتوجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان گفت استرس برشی حاصل از امواج فراصوت منجر به بهبود انتقال مواد و استخراج بهتر ترکیبات فنلی، افزایش میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و بالا بردن خواص ضداکسایشی عصاره‌های گل محمدی نسبت به‌روش خیساندن می‌شود. به‌همین دلیل روش فراصوت سریعتر و کاملتر از روش خیساندن است.



شکل٤- میزان ترکیبات آنتوسیانینی کل عصاره‌های گل محمدی (میلی گرم بر گرم) حاصل از روش‌های استخراج خیساندن و به کمک فراصوت، حروف متفاوت نشان‌دهندهٔ وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P<0/05 است.

٤- نتیجه گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش، مقایسه بازده روش‌های استخراج عصاره گل محمدی نشان داد که در هر دو روش عصاره‌گیری با حلال و به کمک فراصوت تفاوت معنی‌داری از نظر عملکرد استخراج عصاره وجود نداشته است. همچنین روش استخراج تأثیر معنی‌داری بر میزان ترکیبات

1-Cyanidin 3,5-diglucoside
2- Galactoside
3-Arabinoside
4-Citronellal
5-Linalool
6-Geraniol
7-Terpenes

فنولی عصاره داشته است به‌طوری‌که بالاترین میزان ترکیبات فنولی در عصاره استخراج شده به کمک فراصوت مشاهده شد و عصاره استخراج شده به روش خیساندن کمترین ترکیبات فنولی را داشت. مقایسه و بررسی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره‌ها حاکی از آن است که در روش فراصوت درصد مهار رادیکال آزاد نسبت به روش معمولی خیساندن به علت بالا بودن ترکیبات فنولی افزایش یافته است. از سوی دیگر روش استخراج تاثیر زیادی بر فعالیت احیاکنندگی عصاره‌های حاصل داشت و با افزایش زمان میزان احیا آهن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها افزایش یافت. نتایج حاصل از مراحل مختلف نیز نشان داد که روش فراصوت ترکیبات آنتوسیانینی بیشتری را نسبت به روش خیساندن استخراج کرده است. هر روش استخراجی باید داده‌هایی معتبر ایجاد کند و همچنین سریع، آسان، مقرون به‌صرفه و سازگار با محیط زیست باشد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان گفت استفاده از روش فراصوت جهت استخراج عصاره گل محمدی با توجه به راندمان استحصال بیشتر، استخراج بهتر ترکیبات فنولی، افزایش میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و بالا بردن خواص ضداکسایشی عصاره نسبت به‌روش خیساندن روش مناسب تری است.

۵- منابع

۱. جایمند، ک.، رضایی، م. ب.، عصاره، م. ح.، طبایی‌عقدایی، ر. و مشکی‌زاده، س. ۱۳۸۸. استخراج و اندازه‌گیری ترکیب‌های فلاونوییدی کامفرول و کوئرستین در گلبرگ ده ژنوتیپ از گل‌محمدی (*Rosa damascena* Mill.) از مناطق غربی ایران. *فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، جلد ۲۵، شماره٤، ۵۵۵-۵٤۷.

۲. حیدری‌مجد، م.، مرتضوی، س. ع.، اصیلی، ج.، بلوریان، ش.، آرمین، م. عبدالشاهی، ا. ۱۳۹۱. بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه پونه گاوی (*Flomidoschema parviflora*) با-استفاده از دستگاه اولتراسوند. فصلنامه داروهای گیاهی، سال سوم، شماره ۱، ۱۳-۷.

۳. خادمی، س. و مرداتی‌نژاد، ش. ۱۳۹٤. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی از گیاهان تیره گل سرخ به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان های سنتزی در صنایع غذایی. *مجله صنایع غذایی و تغذیه*، سال‌دوازدهم، شماره۲، ٤۰-۳۳.

٤. خواجه نوری، م. و حقیقی اصل، ع. ۱۳۹۳. بررسی استخراج ترکیبات طبیعی گیاهان با کمک امواج میکروویو و فراصوت. *فصلنامه‌علوم و فناوری‌های نوین غذایی*، سال‌اول، شماره ۳، صفحه ۹۱-۸۱.

۵. سردرودیان، م.، مهربان، م.، و آریانفر، ا. ۱۳۹۵. بهینه‌سازی و مقایسه اثر شرایط مختلف استخراج (فراصوت و خیساندن) بر ترکیبات شیمیایی عصاره میوه گیاه *Elaeagnus angustifolia* L. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، شماره‌پیاپی۱۵، سال‌چهارم، شماره ۳، ۹٤-۷۹.

٦. شامه، ش.، حسینی، ب. و علیرضالو، الف. ۱۳۹٦. بررسی پراکنش و تنوع فیتوشیمیایی گونه‌های دارویی رز (*Rose spp.*) در شمال غرب ایران. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، جلد ۲٤، شماره٤، ٤۵-۳۱.

۷. صداقت، ب. و نجفیان، ل. ۱۳۹۷. اثر روش‌های مختلف استخراج بر ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ توت سفید(*Morus alba* L.). *نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، جلد۱۰، شماره ۱، ۹۸-۸۵.

composition. *Molecules*, 17: 11748-11762.

16. Boskabady, M. H., Shafei M. N., Saberi, Z. and Amini, S. 2011. Pharmacological effects of Rosa Damascena. *Iranian journal of basic medical sciences*, 14: 295-307.
17. Chemat, S., Lagha, A., Aitamar, H., Bartels, P.V. and Chemat, F. 2004. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavors and Fragrance Journal*, 19: 188-195.
18. Davoodi, I., Rahimi, R., Abdollahi, M., Farzaei, F., Farzaei, M.H., Memariani Z. and et al. 2017. Promising effect of *Rosa Damascena* extract on high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7: 508-51.
19. Dezashibi, Z., 2007. Evaluation of antioxidant activity of Hana leaf extrct, MS thesis, Islamic Azad University, Sabzevar Branch, 81.
20. Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr, S. J., Hamidinia, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant, and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. *Pharmacology*, 1:7-14.
21. Irshad, M., Zafaryab, M., Singh, M. and Rizvi, M. A. 2012. Comparative analysis of the antioxidant activity of cassia fistula extracts. *International Journal of Medicinal Chemistry*, 1-7.
22. Jaymand, K., Rezaei, M. B., Asare, M. H., Oghdaei, S. R. and Moshki zadeh, S. 2010. Evaluation Flavonoid composition of rose species *Rosa damascena* Mill. *Journal of Medicinal Plants*, 36: 161-168.
23. Khalili, M., Ebrahimzadeh, M. A. 2015. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*; 24(120):188-208.

24. Kovacheva, N., Rusanov, K., Atanassov, I. 2010. Industrial cultivation of oil bearing rose and rose oil production in bulgaria during 21st century, directions and challenges. *Biotechnology and.*

۸. قربانی، م.، ابونجمی، م. و قربانی جاوید، م. ۱۳۹٤. امواج فراصوتی روشی نوین در استخراج ترکیب-های گیاهی. *نشریه علمی ترویجی صوت و ارتعاش*، سال ٤، شماره ۸، ۹۹-۸۵.

۹. کافی، م. و ریاضی، ی. ۱۳۸۰. پرورش گل محمدی و تولید گلاب، انتشارات مکعب، ۱۵٤ صفحه.

۱۰. منوچهری، ر.، سحرخیز، م.ج. و کرمی، ا.، ۱۳۹٤، اثر روش‌های مختلف استخراج بر مقدار و ترکیبات اسانس گل محمدی (*Rosa Damascena* Mill.)، *نهمین کنگره علوم باغبانی*، اهواز.

11. Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P. and Mason, T.J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3-4): 261-265.
12. Bahman Abadi, J. 2011. Optimization of extraction of barberry using ultrasonic and response surface methods. Master thesis, Islamic Azad University, Ghuchan Branch [In Persian].
13. Benzie, I., Strain J. 1999. 'Methods in Enzymology, Oxidants and Antioxidants, Part A (Editors: J. Abelson and M. Simon). Academic Press, Cambridge, 299: 3-506.
14. Betancourt, A. O. 2008. Analyse, extraction et récupération de poly-3-hydroxybutyrate présent dans la biomasse. Université du Québec à Montréal Thesis, 45-55.
15. Bimakr, M., Abdul Rahman, R., Saleena Taip, F., Mohd Adzahan, N., Islam Sarker, M.d.Z. and Ganjloo, A. 2012. Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (Benincasa hispida) seed using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid

25. Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R. E. 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.
26. Mansoul Molla Shahi, A. and Varasteh Moradi, A. 2015. Investigation of different extraction methods on effective compounds and antioxidant activity of *Cynara scolymus* L. extract in Golestan province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 3:74-85.
27. Mathew, S. and Abraham, T.E. 2006. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. *Food and Chemical Toxicology*, 44:198-206.
28. Mohammadi, M., Shamspura, T. and Mostafavi, A. 2013. Comparison of microwave-assisted distillation and conventional hydrodistillation in the essential oil extraction of flowers *Rosa damascena* Mill. *The Journal of Essential Oil Research*, 25(1): 55–61.
29. Pascual-Teresa, S., Moreno, D. A. and Viguera, C. 2010. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *International Journal of Moulecular Sciences*, 11: 1679- 1703.
30. Patrascu M. and Radoiu M. 2016. Rose Essential oil extraction from fresh petals using synergetic microwave and ultrasound energy: chemical composition and antioxidant activity assessment. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 10: 136-142.
31. Probir, K. P. 2013. Evaluation, genetic diversity, recent development of distillation method, challenges and opportunities of *Rosa damascena*: A Review. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16 (1): 1 – 10.
32. Roberfroid, M. 2005. *Inulin-type fructans: Functional food ingredients*. CRC Press, New York, pp. 12 - 20.
33. Rostagno, A., Palma, M. and Barroso, C. 2003. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012 (2): 119− 128
34. Sharma, A. and Gupta, M.N. 2004. Oil extraction from almond, apricot and rice bran by three-phase partitioning after ultrasonication. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106:183-186.
35. Shokooh Saremi, E., Habibi Najafi, M. B., Hadad Khodaparast, M.H. and Bahreini, M. 2017. Effect of extraction methods on the antioxidant properties of affinis pimpinella. *Journal of Food Science and Technology*, 14 (69): 159-169.
36. Skrajda, M. N., 2017. Phenolic compounds and antioxidant activity of edible flowers. *Journal of Education. Health and Sport*, 7(8):946-956.
37. Slinkard, K., Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49-55.
38. Somboonpanyakul, P., Wang, Q., Cui, W., Barbut, S. Jantawat, P. 2005. Malva nut gum. (Part I): Extraction and physicochemical characterization. *Carbohydrate polymers*; 64: 247-253.
39. Velioglu, Y. S., Mazza, G. 1991. Characterization of flavonoids in petals of *Rosa damascena* by HPLC and spectral analysis. *Journal of Agricaltural and Food Chemistry*; 39(3): 463-7.
40. Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sono chemistry*, 8: 303-313.
41. Wang, J. Sun, B. Cao, Y. Tian, Y. and Li, X. 2008. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106: 804-810.
42. Xia, T., Shi, S. and Wan, X. 2006. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *Journal of Food Engineering*, 74: 557-560.

Biotechnological. Equipment, 24:1793–1798.

43. Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I., 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12):1249-55.
44. Yang, Y., Wei, M., Huang, T., Lee, S. and Lin, Sh. 2013. Comparison of modified ultrasound-assisted and traditional extraction methods for the extraction of baicalin and baicalein from Radix Scutellariae. *Industrial Crops and Products*, 45: 182–190.
45. Zaouali, Y., Bouzaine, T. and Boussaid, M. 2010. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11): 3144-3152.

(Original Research Paper)

Effect of Ultrasound-assisted Extraction Method on the Contents of Phenolic Compounds and Anti-oxidant Properties of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) Extract

Nasim Pourebrahim[1], Amir Hossein Elhamirad[2], Soodabeh Einafshar[3*], Mohammad Armin[4]

1-PhD Graduated of Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
2-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
3-Assistant Professor, Department of Technical and Agricultural Engineering, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research Education and Extention Organization, Mashhad, Iran.
4-Associate Professor, Department of Agriculture, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

Received: 14/07/2019 Accepted:29/08/2020

Abstract

Damask rose (*Rosa Damascena* Mill.) belongs to the genus Rosaceae. Its extract contains several active ingredients that have antioxidant and anti-radical properties. Different extraction methods affect the extraction efficiency and antioxidant activity of the extract. This study investigates the impact of solvent and ultrasound-assisted extraction methods on yield, the contents of phenolic compounds, and antioxidant properties of the extracts. The highest (36.3%) extraction yield were obtained at the ultrasonic- assisted extraction at 100w amplitude, during 10 minutes. Extraction method had a significant effect ($P<0.05$) on the total content of phenolic compounds of the extract. The highest level of phenolic compounds was observed in the ultrasound-assisted extraction at sonic power of 100 w and sonication time of 30 min (568.3 mg Gallic acid per gram of extract). The analysis of variances (ANOVA) was performed utilizing SPSS software. The findings showed that extraction method had no significant impact ($P<0.05$) on DPPH free radical scavenging activity. However, there was a significant difference ($P<0/05$) between the antioxidant activities extracts obtained from both maceration and ultrasound-assisted methods. In addition, with increasing time, ferric reducing antioxidant potential (FRAP) values and antioxidant activity of the extracts increased and there was a significant difference between the antioxidant activity of the extracts. While the highest anthocyanin compounds content were extracted by the ultrasound-assisted method (125.06 mg/g extract), the lowest extracted anthocyanin compounds content were observed for the maceration method (68.3 mg/g extract).

Keywords: Phenolic Compounds, Antioxidant Properties, Damask Rose Extract, Ultrasound.

*Corresponding Author: soodabeheyn@yahoo.com