

تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ (*Eryngium caucasicum* Trautv) به کمک امواج فراصوت

عارف نوروزی^۱، ماندانا بی مکر^{۲*}، علی گنجلو^۱ و سهیلا زرین قلمی^۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۱۸

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

^۲ استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

*مسئول مکاتبه: Email: mandana.bimakr@znu.ac.ir

چکیده

در این پژوهش تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با استفاده از حلال به کمک امواج فراصوت تحت شرایط بهینه (۵۰٪ شدت امواج فراصوت، دما ۴۲ °C و زمان اعمال امواج فراصوت معادل ۵۱min) مورد مطالعه قرار گرفت. متغیرهای مستقل پیش تیمار خیساندن شامل مدت زمان (۳۰، ۶۰ و ۹۰) و دما (۲۵ °C، ۳۵، ۴۵ و ۵۵) بود. از مدل پلگ جهت بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی استفاده شد. مقادیر بالای ضریب تبیین ($R^2 > 0.98$) و ریشه میانگین مربعات خطا ($RMSE < 0.16$) و مدول میانگین انحراف نسبی ($E < 0.44$) پایین حاکی از آن است که می‌توان از مدل پلگ به صورت موفقیت آمیزی برای بیان سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی استفاده نمود. نتایج تجربی نشان دادند که استفاده از پیش تیمار خیساندن به صورت معنی داری ($P < 0.05$) منجر به بهبود کار آبی استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با حلال به کمک امواج فراصوت می‌شود. مقدار ضریب باد کردگی و کل ترکیبات زیست فعال فنولی استخراج شده تحت بهترین شرایط پیش تیمار خیساندن (دمای ۴۵ °C به مدت ۶۰ min) به ترتیب معادل ۱۴/۵۰ ± ۰/۰۵ mL/g و ۹۵/۵۰ ± ۰/۱۱ mg GAE/g به دست آمد. در این شرایط مقدار فعالیت ضد رادیکالی عصاره معادل ۶۷/۲۰ ± ۰/۱۵٪ مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ۳۶/۱۱ ± ۰/۱۲٪ مهار رادیکال‌های آزاد OH تعیین گردید. به علاوه، مقدار ثابت سرعت استخراج پلگ (K_1) تحت بهترین شرایط معادل ۰/۰۰۹۶۳۹ min.g/mg به دست آمد.

واژگان کلیدی: زولنگ، حلال به کمک امواج فراصوت، خیساندن، سینتیک استخراج، ترکیبات زیست فعال فنولی

مقدمه

جهت مصرف راحت‌تر، کم‌تر شده است. در حال حاضر به دلیل اثرات جانبی ترکیبات مصنوعی، استفاده از گیاهان به عنوان دارو و غذاهای فراسودمند چه در ایران و چه در کشورهای اروپایی گسترش یافته است (کریمی پور اصفهانی ۱۳۹۴). گیاه زولنگ با نام علمی

گیاهان قسمت اعظم طبیعت را تشکیل می‌دهند و از دیرباز به عنوان ماده غذایی و همچنین برای درمان بیماری‌ها مورد توجه انسان‌ها بوده اند. امروزه توجه به گیاهان با ورود ترکیبات مصنوعی به زندگی انسان به

روش‌های متداول استخراج نظیر خیساندن، سوکسله و غیره به دلیل دارا بودن معایبی مانند نیاز به زمان‌های طولانی، مقدار زیاد نمونه، مقدار زیاد حلال‌های آلی و دمای بالا کمتر شده است (ته و بریچ ۲۰۱۴). از این‌رو مطالعه و بررسی روش‌های نوین استخراج مطرح شده است که در بین این روش‌ها استخراج با حلال به کمک امواج فراصوت یکی از ساده‌ترین و کارآمدترین روش‌ها است. نتایج مطالعات قربانی و همکاران (۱۳۹۶)، رئیسی و همکاران (۱۳۹۶)، گوهرکانی و محمدی (۱۳۹۶) و فیاض مهر و آصفی (۱۳۹۱) حاکی از برتری روش استخراج ترکیبات زیست فعال با کمک امواج فراصوت از منابع گیاهی مختلف نظیر گیاه دارویی رازیانه، هسته انگور (رقم سیاه سردشت)، میوه درخت بلوط و تفاله گوجه فرنگی نسبت به روش‌های سنتی استخراج نظیر سوکسله و ماسراسیون بود. از آنجایی‌که تا کنون تاثیرات هم زمان دما و زمان به عنوان دو متغیر مستقل تاثیرگذار پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با استفاده از حلال به کمک امواج فراصوت گزارش نشده است در این مطالعه برای اولین بار به بررسی تاثیر این دو متغیر مستقل بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با استفاده از حلال به کمک امواج فراصوت جهت بررسی امکان افزایش کار آیی فرایند استخراج تحت شرایط بهینه شده در مطالعه قبلی پرداخته شده است.

بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعه قبلی، شرایط بهینه استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با حلال به کمک امواج فراصوت از برگ گیاه زولنگ به صورت ۵۰٪ شدت امواج فراصوت، دما ۴۲ °C و زمان اعمال امواج فراصوت معادل ۵۱min بود (نوروزی و همکاران ۱۳۹۶). در این مطالعه، تأثیر پیش تیمار خیساندن با در نظر گرفتن متغیرهای مستقل شامل مدت‌زمان خیساندن (۳۰، ۶۰ و ۹۰) و دمای خیساندن (۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵) قبل از اعمال امواج فراصوت برای به‌دست آوردن حداکثر مقدار ترکیبات زیست فعال فنولی بررسی شد.

Eryngium caucasicum Trautv متعلق به خانواده چتریان (Apiaceae) و از جنس *Eryngium* L. است (پیمینو و لیونو ۱۹۹۳). این جنس گیاهی علفی و چندساله است که در قاره‌های اروپا، آسیا، آمریکا و شمال آفریقا پراکنده شده و شامل ۳۱۷ گونه است (ورز ۲۰۰۴). از این جنس در ایران ۹ گونه‌ی علفی خاردار وجود دارد که از رایج‌ترین آن‌ها می‌توان به *E. caucasicum*، *E. billardieri* و *E. bungei* اشاره نمود (مظفریان ۱۳۸۶). برگ‌های این گیاه قبل از مرحله‌ی گل‌دهی، از جمله سبزی‌های برگ‌ی محلی شمال کشور ایران محسوب می‌شود که از رایحه معطری برخوردار است (خوشبخت و همکاران ۲۰۰۷). گیاه زولنگ در شهرهای ایران با نام‌های مختلفی شناخته می‌شود، به عنوان مثال در تنکابن به نام ششاک، در رامسر، شوشاخ (در واقع همان شش شاخ) و در گیلان آن را چوچاق یا انارچوچاق می‌نامند (نبوی و همکاران ۲۰۰۸). نتایج مطالعات پیشین نشان داده که این گیاه در فاز رویشی دارای فلاونوئید بالایی است و به دلیل داشتن فنول و فلاونوئید فراوان پتانسیل بالایی در دفع رادیکال‌های آزاد دارد (ابراهیم زاده و همکاران ۲۰۱۰). در طب سنتی رومانیایی از جوشانده و یا دم‌کرده‌ی گونه‌های *Eryngium* به عنوان درمان برای بیماری‌های دهان و دندان مانند پوسیدگی دندان و درد دندان استفاده شده است (بویه و همکاران ۱۳۹۱).

با توجه به زیان‌های حاصل از مصرف ترکیبات ضد اکسایش مصنوعی در صنعت غذا، مطالعه و پژوهش برای یافتن جایگزین‌های طبیعی و سالم افزایش یافته است. همچنین مطالعه جهت یافتن بهترین و کارآمدترین روش استخراج، از بین انواع مختلف روش‌های استخراج ضروری است. امروزه یکی از اهداف فناوری‌های مورد استفاده در صنایع فراوری مواد غذایی رسیدن به بیشترین بازده با صرف کمترین انرژی، زمان و هزینه است که این کار تنها با بهینه کردن و تطبیق چندین روش امکان‌پذیر است. هم‌چنین مدل سازی ریاضی فرایند می‌تواند در جهت صنعتی کردن فرایند موردنظر فراهم آورنده اطلاعات مفید و ارزشمندی باشد (صالحی و کاشانی نژاد ۱۳۹۲). در سال‌های اخیر، استفاده از

¹ Ultrasound-assisted extraction

امواج فراصوت، مقدار ۱ g از نمونه برگ آماده شده به درون بالن انتقال داده شد و سپس مقدار ۴۰ mL از حلال اتانول با درجه آزمایشگاهی به درون بالن ریخته شد. نمونه‌های آماده شده به ترتیب بعد از گذراندن تیمارهای تعیین شده در دما و مدت زمان معین پیش تیمار خیساندن (جدول ۱) تحت اعمال امواج فراصوت شرایط بهینه تعیین شده در مطالعه پیشین شامل ۵۰٪ شدت امواج فراصوت، دما ۴۲ °C و زمان اعمال امواج فراصوت معادل ۵۱ min بود، قرار گرفتند (نوروزی و همکاران ۱۳۹۶). به منظور حذف حلال از عصاره از دستگاه تبخیر کننده چرخشی تحت خلأ Buchi Rotavapor R-205 (ساخت کشور سوئیس) استفاده شد. نمونه به دست آمده تا زمان انجام آزمون‌های موردنظر در محل تاریک و در دمای ۱۸ °C - نگهداری گردید.

اندازه گیری مقدار کل ترکیبات زیست فعال فنولی (TPC)

تعیین کل ترکیبات زیست فعال فنولی نمونه‌ها

میزان کل ترکیبات فنولی نمونه‌های به دست آمده از برگ گیاه زولنگ با استفاده از روش فولین-سیکالتو طبق روش کوکیک و همکاران (۲۰۰۸) مورد اندازه گیری قرار گرفت. این روش بر مبنای رنگ سنجی عمل می‌کند و اساس کار در این روش، احیای معرف فولین-سیکالتو توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۵ nm نشان می‌دهد. برای تعیین ترکیبات فنولی عصاره ۰/۵ عصاره با غلظت ۲۴۰ ppm به لوله آزمایش منتقل شد و بعد ۲/۵ mL معرف فولین-سیوکالتیو ده بار رقیق شده با آب دیونیزه، به لوله‌ها اضافه شد و در نهایت با افزودن ۲/۵ mL کربنات سدیم ۷/۵٪ آماده سازی نمونه به پایان رسید. مخلوط‌ها به مدت ۳۰ min در دمای محیط نگهداری شدند. مقدار جذب نمونه‌ها توسط دستگاه طیف سنج مرئی-ماورا بنفش SPECORD 250-Analytik jena (ساخت کشور آلمان) در طول موج ۷۶۵ nm خوانده شد و نتایج به دست آمده به صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان گردید (کوکیک و همکاران ۲۰۰۸).

فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات زیست فعال به دست آمده تحت بهترین شرایط پیش تیمار نیز اندازه گیری گردید. در ادامه سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با حلال به کمک امواج فراصوت با استفاده از پیش تیمار خیساندن مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد مورد نیاز

در این پژوهش به منظور انجام آزمایشات، میزان ۴ kg از برگ‌های تازه گیاه زولنگ (*E. caucasicum*)، در اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۵ از حواشی مناطق جنگلی شهرستان رامسر (جنگل دالخان) جمع آوری شد. شناسایی گونه‌ی زولنگ (*E. caucasicum*) توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان انجام گردید. تمامی مواد مورد استفاده در این پژوهش دارای خلوص بالا بودند و از شرکت‌های معتبر (مرک و سیگما) خریداری شدند.

آماده سازی برگ‌های زولنگ

به منظور آماده سازی نمونه، برگ‌های تهیه شده پس از جداسازی ناخالصی‌ها، در دستگاه آون مدل K.M.85 (ساخت کشور ایران) با دمای ۴۰ °C تا رسیدن به رطوبت مطلوب (۵۰/±۸٪) خشک گردید. سپس برگ‌های خشک شده توسط دستگاه خرد کن آزمایشگاهی مدل GSC-911 (ساخت کشور چین)، خرد شده و بعد از تعیین اندازه (الک با مش ۱۸) تا زمان انجام آزمایش در بسته بندی مقاوم به هوا و رطوبت در داخل فریزر ۱۸ °C - نگهداری شدند.

استخراج با حلال به کمک امواج فراصوت

با توجه به نتایج مطالعات اولیه انجام شده جهت استخراج ترکیبات زیست فعال از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت از دستگاه فراصوت پروب، UP 200H Hielscher (ساخت کشور آلمان) با توان ۲۰۰ W، فرکانس ۲۴ KHz، سونوترود از جنس تیتانیوم با قطر ۳/۰۰ mm به صورت انتشار پیوسته امواج استفاده شد.

جهت بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن بر عملکرد استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با حلال به کمک

پراکسید هیدروژن توسط ترکیبات ضد رادیکالی استخراج شده از برگ‌های گیاه زولنگ از روش بولیک باچی - مخلوف و همکاران (۲۰۱۳) استفاده شد. برای این منظور مقدار ۱/۵ mL از عصاره با غلظت ۲/۰ mg/mL را با ۰/۰۲ mL هیدروژن پراکسید ۳۰٪ مخلوط کرده و میزان جذب آن در طول موج ۵۳۰ nm طی زمان ۵۵-۶۰ با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی- ماورا بنفش SPECORD 250-Analytik jena (ساخت کشور آلمان) قرائت شد. کاهش جذب نمونه نشان‌دهنده افزایش فعالیت مهار کنندگی است. درصد مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد H₂O₂ با استفاده از رابطه %RSA = $(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$ (باچی- مخلوف و همکاران ۲۰۱۳).

اندازه‌گیری ضریب باد کردگی

در این پژوهش به منظور اندازه‌گیری ضریب بادکردگی برگ گیاه زولنگ از روش توما و همکاران (۲۰۰۱) با اندکی اصلاحات استفاده گردید، بدین منظور برای انجام آزمایش، ۱/۰۰ g از نمونه خشک وزن گردید و درون استوانه مدرج ریخته شد و سپس ۱ mL اتانول و ۲۵ mL آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس نمونه به مدت ۴ h در دمای اتاق قرار گرفت. ضریب بادکردگی نمونه هر یک ساعت قرائت‌شده و اعداد به‌دست‌آمده به‌صورت میلی‌لیتر بر گرم بیان گردید (توما و همکاران ۲۰۰۱).

بررسی سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی
در مطالعه حاضر، به منظور بررسی سینتیک اثر پیش تیمار خیساندن بر استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت از معادله پلگ استفاده شد. معادله پلگ را می‌توان به صورت زیر نوشت:

$$C_t = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad [1]$$

در این معادله C_t مقدار ترکیبات زیست فعال فنولی استخراج شده (mg/g) در زمان t، K₁ ثابت سرعت پلگ^۱ (min g/mg) و K₂ ثابت ظرفیت پلگ^۲ (g/mg) است. C₀ مقدار اولیه ترکیبات زیست فعال در زمان صفر است که

ترسیم منحنی کالیبراسیون با استفاده از گالیک اسید ابتدا غلظت‌های ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰ و ۶۰ از گالیک اسید در آب مقطر تهیه شد و سپس ۰/۵ mL از هر غلظت به لوله‌های آزمایش منتقل شدند و ۲/۵ mL معرف فولین-سیوکالتیو ده بار رقیق‌شده با آب دیونیزه، به لوله‌ها اضافه شد و در نهایت با افزودن ۲/۵ mL کربنات سدیم ۷/۵٪ آماده‌سازی نمونه به پایان رسید. مخلوط‌ها به مدت ۳۰ min در دمای محیط نگهداری شدند. مقدار جذب نمونه‌ها توسط دستگاه طیف سنج مرئی- ماورا بنفش SPECORD 250-Analytik jena (ساخت کشور آلمان) در طول موج ۷۶۵ nm خوانده شد. برای نمونه شاهد از ۰/۵ mL آب مقطر به جای گالیک اسید استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد به روش

۲-۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال‌های DPPH یکی از روش‌های تعیین میزان فعالیت ضد رادیکالی است که در این روش رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط ترکیبات ضد رادیکال، کاهش یافته و به رنگ زرد روشن تبدیل می‌شود. درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد توسط ترکیبات ضد رادیکال است. توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط ترکیبات استخراج شده، طبق روش شایوو و هووانگ (۲۰۰۲) انجام شد. جهت انجام آزمایش ۲/۰ mL از محلول DPPH با غلظت ۰/۱ mM به ۲/۰ mL از عصاره با غلظت ۰/۵ mg/mL افزوده شد و مخلوط به دست آمده به مدت ۳۰ min در تاریکی قرار گرفت. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ nm با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی- ماورا بنفش SPECORD 250-Analytik jena (ساخت کشور آلمان) قرائت شد و در نهایت درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه %RSA = $(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$ محاسبه گردید (شایوو و هووانگ ۲۰۰۲).

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد به روش

هیدروژن پراکسید (H₂O₂)

برای ارزیابی توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد

¹ Peleg equation

² Peleg rate constant

³ Peleg capacity constant

همکاران ۲۰۱۲). معیارهای ذکر شده را از طریق روابط ۴-۶ می‌توان محاسبه نمود.

$$R^2 = 1 - (Residual\ SS) / (Corrected\ total\ SS) \quad [4]$$

$$RMSE = \frac{1}{n} \left[\sum_{i=1}^n (V_{exp} - V_{pre})^2 \right]^{0.5} \quad [5]$$

$$E\% = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|V_{exp} - V_{pre}|}{V_{exp}} \quad [6]$$

نتایج و بحث

تأثیر پیش تیمار خیساندن بر ضریب باد کردگی

در این پژوهش هدف از اعمال پیش تیمار خیساندن بهبود نفوذ پذیری دیواره سلولی به منظور بهبود کارایی فرایند استخراج با حلال به کمک امواج فراصوت است. از آنجایی که دما و زمان از مهم‌ترین متغیرهای مستقل پیش تیمار خیساندن بشمار می‌روند تأثیر سطوح مختلف دما (۲۵، ۳۵، ۴۵ و ۵۵) و مدت زمان خیساندن (۳۰ min، ۶۰ و ۹۰) بر ضریب باد کردگی نمونه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس جدول ۱ بالاترین میزان ضریب باد کردگی نمونه‌ها در دمای ۴۵ °C و مدت زمان خیساندن ۶۰ min قابل دستیابی است. در ادامه، اعمال دما و زمان-های بالاتر تغییر محسوسی در ضریب باد کردگی نمونه‌ها ایجاد نمی‌نماید. بافت گیاهی خشک شده هنگامی که در محیط حلال قرار داده می‌شود آماده جذب حلال است که این امر سبب ایجاد تغییرات در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه می‌شود (ویتروا- راجچرت و لیویکی ۲۰۰۶). جذب حلال توسط نمونه هم‌چنین باعث باد کردگی سلول‌ها و افزایش حجم آن‌ها می‌شود (توما و همکاران ۲۰۰۱). با افزایش میزان باد کردگی سطح بیشتری از نمونه‌ها هدف امواج فراصوت قرار می‌گیرد که این امر می‌تواند بهبود کارایی فرایند استخراج را به دنبال داشته باشد. از طرفی سیکل‌های انبساط و انقباض ایجاد شده در محیط انتشار امواج فراصوت می‌توانند حباب‌ها و حفره‌هایی را در درون مایع به وجود آورند که به نام پدیده حفره‌زایی^۴ شناخته می‌شود و در نتیجه فشار و حرارت موضعی ناشی از ترکیدن حباب‌ها در سطح سلول‌ها سبب شکستن دیواره سلولی و تسهیل خروج و آزادسازی محتویات درون سلولی به محیط

با توجه به استفاده از حلال تازه مقدار آن برابر صفر خواهد بود. فرایند استخراج معمولاً در دو مرحله رخ می‌دهد که در مرحله اول به صورت درجه اول و در مرحله بعد به صورت درجه صفر است. معادله پلگ اصلاح شده را به صورت رابطه ۲ می‌توان نوشت:

$$C_t = \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad [2]$$

شیب و مقدار عرض از مبدأ نمودار $1/C_t$ در برابر $1/t$ نشان‌دهنده مقادیر K_1 (ثابت سرعت پلگ) و K_2 (ثابت ظرفیت پلگ) می‌باشند. مقدار C_t با استفاده از معادله ۲ در شرایط مختلف به منظور کنترل تطابق مدل با داده‌های تجربی قابل محاسبه است. مقدار تعادلی ترکیبات زیست فعال استخراج شده را می‌توان با استفاده از رابطه زیر محاسبه نمود.

$$C_{eq} = C_0 \pm \frac{1}{K_2} \quad [3]$$

تجزیه و تحلیل آماری

تأثیر پیش تیمار خیساندن با در نظر گرفتن متغیرهای مستقل شامل سطوح دمایی و زمانی معین (جدول ۱) بر استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با استفاده از حلال با کمک امواج فراصوت به صورت آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال از برگ گیاه زولنگ پیش تیمار شده از معادله پلگ استفاده شد. برای برآزش داده‌های تجربی با مدل پلگ و به دست آوردن ثابت‌های استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی (K_1 و K_2) از طریق تجزیه و تحلیل رگرسیون غیرخطی از نرم افزار Statistica V.6.0 استفاده شد. مقایسه میانگین-ها به روش توکی در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد صورت گرفت و به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. از شاخص‌های آماری ضریب تبیین (R^2)، ریشه میانگین مربعات خطا^۲ (RMSE) و مدول میانگین انحراف نسبی^۳ (E) برای بررسی کارایی مدل پلگ برای برآزش داده‌های تجربی استفاده شد. برای برآزش مناسب، مقدار ضریب تبیین بالا و ریشه میانگین مربعات خطا و مدول میانگین انحراف نسبی کم ($< 10\%$) مطلوب است (گنجلو و

¹ Correlation coefficient

² Root mean square error

³ Mean relative percentage deviation modulus

⁴ Cavitation

جدول ۱- ضریب باد کردگی نمونه‌های پیش تیمار شده در

زمان‌ها و دماهای مختلف

زمان (min)	ضریب باد کردگی (mL/g)	
	دما (°C)	آزمون‌های خیساندن
۳۰	۲۵	۱۲/۰۳۰ ± ۱/۰۶ ^d
	۳۵	۱۲/۰ ± ۱۳/۰۵ ^d
	۴۵	۱۲/۰ ± ۲۰/۱۰ ^{cd}
	۵۵	۱۲/۰ ± ۴۰/۱۰ ^c
۶۰	۲۵	۱۳/۰ ± ۷۰/۱۰ ^b
	۳۵	۱۳/۰ ± ۹۰/۰۵ ^b
	۴۵	۱۴/۰ ± ۵۰/۱۰ ^a
	۵۵	۱۴/۰ ± ۵۰/۱۰ ^a
۹۰	۲۵	۱۳/۰ ± ۷۰/۱۰ ^b
	۳۵	۱۳/۰ ± ۹۰/۰۵ ^b
	۴۵	۱۴/۰ ± ۵۰/۱۰ ^a
	۵۵	۱۴/۰ ± ۵۰/۱۰ ^a

با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که مقدار استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با استفاده از پیش تیمار خیساندن در مدت زمان ۳۰ min در دامنه دمایی ۲۵-۵۵ °C افزایش داشته است که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر پیش تیمار خیساندن بر باد کردگی سلولی و شل شدن دیواره سلولی باشد. همان‌گونه که پیشتر نیز بیان شد هر قدر میزان ضریب باد کردگی نمونه‌ها بیشتر باشد به دلیل اینکه سطح بیشتری از سلول‌های نمونه گیاهی مورد مطالعه هدف امواج فراصوت قرار می‌گیرند می‌توان خروج میزان بیشتری از ترکیبات زیست فعال فنولی را انتظار داشت. اختلاف بین میزان ترکیبات زیست فعال فنولی نمونه‌های پیش تیمار شده با نمونه کنترل تأیید کننده صحت این موضوع است. با اعمال پیش تیمار خیساندن به مدت ۶۰ min بر میزان استخراج کل ترکیبات زیست فعال فنولی افزوده می‌شود در صورتی که افزایش مدت زمان پیش تیمار به ۹۰ min دقیقه تغییر محسوس در میزان کل ترکیبات زیست فعال فنولی ایجاد نمی‌نماید. نتایج مشابهی توسط جاده‌او و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه پیش تیمار خیساندن بر استخراج وانیلین از غلاف‌های وانیل با استفاده از امواج فراصوت به دست آمده است. آن‌ها گزارش نموده‌اند که می‌توان با استفاده از مدت زمان ۳۰ min پیش تیمار خیساندن کار آبی فرایند استخراج با حلال به کمک امواج

حلال می‌گردد (چمت و همکاران ۲۰۱۷). لذا با افزایش سطح سلولی نمونه‌ها می‌توان بهبود کارآیی استخراج را انتظار داشت. با توجه به ضرایب باد کردگی نمونه‌های پیش تیمار شده (جدول ۱) مشاهده می‌شود که در صورت اعمال مدت زمان ۳۰ min، میزان ضریب باد کردگی نمونه‌ها در سطوح دامنه دمایی ۲۵-۴۵ °C دارای روند افزایشی است که در نهایت به میزان ۱۲/۰ ± ۲۰/۱۰ mL/g می‌رسد و در ادامه با افزایش دما تا سطح ۵۵ °C تغییر محسوس در ضریب باد کردگی نمونه مشاهده نمی‌شود. لازم به توضیح است که در این پژوهش از دماهای بالاتر از ۵۵ °C به دلیل ماهیت ناپایدار حرارتی ترکیبات زیست فعال فنولی استفاده نشده است. با اعمال پیش تیمار خیساندن در زمان ۶۰ min مقدار ضریب باد کردگی نمونه‌ها تنها تا اعمال دمای ۴۵ °C افزایش یافت و سپس مقدار این ضریب ثابت گردید. در ادامه آزمایشات با اعمال ۹۰ min پیش تیمار خیساندن تغییر چشمگیری در افزایش ضریب باد کردگی نمونه‌ها در مقایسه با زمان خیساندن ۶۰ min مشاهده نشد که این امر می‌تواند بیانگر کفایت مدت زمان ۶۰ min پیش تیمار خیساندن در دمای ۴۵ °C جهت دستیابی به حداکثر میزان ضریب باد کردگی نمونه‌های مورد مطالعه (۱۴/۰ ± ۵۰/۱۰ mL/g) باشد.

پس از انجام پیش تیمارهای خیساندن تحت شرایط مشخص، فرایند استخراج با حلال به کمک امواج فراصوت تحت شرایط بهینه با اعمال ۵۰٪ شدت امواج فراصوت، دما ۴۲ °C طی ۵۱ min زمان اعمال امواج فراصوت انجام شد. مقدار ترکیبات زیست فعال فنولی استخراج شده از برگ گیاه زولنگ با اعمال پیش تیمار خیساندن در محدوده ۷۶/۴۲mg GAE/g - ۹۶/۰۴ به دست آمد (جدول ۲). با توجه به مقدار ترکیبات زیست فعال فنولی استخراج شده از نمونه کنترل (mg ۷۴/۸MGAE/g) افزایش محسوس کار آیی استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با حلال به کمک امواج فراصوت به همراه اعمال پیش تیمار خیساندن قابل مشاهده است.

های آزاد H_2O_2 بود (نوروزی و همکاران ۱۳۹۶). در مطالعه حاضر، مقدار فعالیت ضد رادیکالی عصاره به دست آمده با استفاده از شرایط بهینه شده استخراج با حلال به کمک امواج فراصوت به همراه بهترین شرایط پیش تیمار خیساندن (۶۰ min در دمای $45^\circ C$) معادل $0.15 \pm 0.067/20$ مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و $0.12 \pm 0.036/11$ مهار رادیکال‌های آزاد H_2O_2 به دست آمد. این افزایش محسوس در مقدار فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات به دست آمده بیانگر اثر مثبت پیش تیمار خیساندن بر فرایند استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی با حلال به کمک امواج فراصوت است. مقدار ترکیبات زیست فعال فنولی با فعالیت ضد رادیکالی نمونه به دست آمده دارای ضریب همبستگی بالاتر از ۹۸٪ ($y = 0.8177x - 10.891$) است. این همبستگی بالا حاکی از آن است که مهار رادیکال‌های آزاد توسط نمونه به دست آمده عمدتاً ناشی از حضور ترکیبات زیست فعال فنولی است. در مطالعات متعددی ارتباط مثبت بین مقدار کل ترکیبات زیست فعال فنولی و فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌های به دست آمده نشان داده شده است (وانجنستین و همکاران ۲۰۰۴؛ کانات و همکاران ۲۰۰۷؛ بی مکر و همکاران ۲۰۱۲ و بی مکر و همکاران ۲۰۱۶).

بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ

مدل‌سازی ریاضی می‌تواند در طراحی، بهینه‌سازی و کنترل فرایندهای مورد مطالعه مفید باشد. به منظور صنعتی ساختن فرایندها مدل‌سازی ریاضی می‌تواند فراهم آورنده اطلاعات مفیدی باشد. مدل‌های ریاضی تئوری، تجربی و نیمه تجربی متفاوتی به منظور شبیه سازی فرایند استخراج جامد-مایع ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی وجود دارد (تاو و همکاران ۲۰۱۴). در این پژوهش به منظور بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن در محدوده دمایی و زمانی مورد مطالعه بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت از تطبیق معادله پلگ بر داده‌های تجربی استفاده شد. از شاخص‌های آماری

فراصوت را تا ۲۰٪ بهبود بخشید (جاده‌او و همکاران ۲۰۰۹). در مطالعه دیگری دی و راند (۲۰۱۳) تأثیر پیش تیمار خیساندن را بر استخراج بتا-کاروتن از *Spirulina platensis* با حلال به کمک امواج فراصوت بررسی کردند. آن‌ها نیز به تأثیر معنی‌دار پیش تیمار خیساندن بر بازده استخراج بتا-کاروتن توسط حلال به کمک امواج فراصوت اشاره کردند. آن‌ها بیان نمودند که با خیساندن نمونه به مدت ۲ min در متانول می‌توان بازده استخراج بتا-کاروتن را حدود ۳۹٪ بهبود داد (دی و راند ۲۰۱۳).

جدول ۲- داده‌های تجربی و ثابت‌های مدل پلگ برای بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ توسط حلال به کمک امواج فراصوت

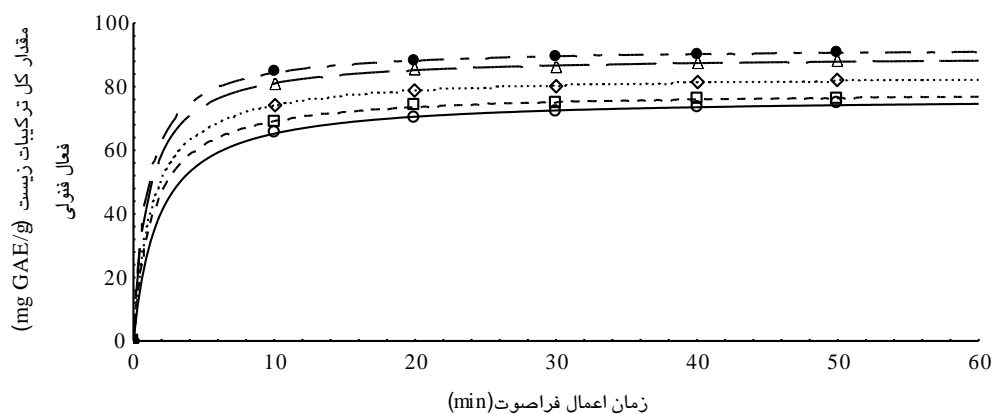
شرایط خیساندن	ترکیبات زیست فعال فنولی (mg)	K_1 (min g/mg)	K_2 (g/mg)	C_{eq} (mg)	C_{eq} (GAE/g)
دما (°C)	زمان (min)				
۲۵	۰	۷۴/۸۸	۰/۰۲۳۰۶۸	۰/۰۱۳۰۱۹	۷۶/۸۱
۲۵	۲۵	۷۶/۴۲	۰/۰۱۷۲۲۲	۰/۰۱۳۷۲۶	۷۸/۵۷
۲۵	۳۰	۸۲/۰۰	۰/۰۱۵۷۰۹	۰/۰۱۱۹۰۴	۸۴/۰۰
۲۵	۴۵	۸۸/۰۵	۰/۰۱۱۷۹۳	۰/۰۱۱۱۴۴	۸۹/۷۳
۲۵	۵۵	۹۱/۰۹	۰/۰۱۰۲۳۶	۰/۰۱۰۸۲۲	۹۲/۴۰
۲۵	۶۰	۸۳/۰۰	۰/۰۱۵۵۹۹	۰/۰۱۱۷۶۸	۸۴/۹۷
۲۵	۴۵	۸۶/۸۰	۰/۰۱۴۰۲۰	۰/۰۱۱۲۴۹	۸۸/۸۹
۲۵	۵۵	۹۵/۵۰	۰/۰۰۹۶۳۹	۰/۰۱۰۲۸۹	۹۷/۱۹
۲۵	۵۵	۹۵/۸۷	۰/۰۰۹۰۳۴	۰/۰۱۰۲۵۶	۹۷/۵۰
۲۵	۲۵	۸۳/۲۸	۰/۰۱۵۸۲۷	۰/۰۱۱۷۴۲	۸۵/۱۶
۲۵	۹۰	۸۶/۸۸	۰/۰۱۴۰۴۵	۰/۰۱۱۲۳۱	۸۹/۰۳
۲۵	۴۵	۹۵/۴۱	۰/۰۰۹۲۱۳	۰/۰۱۰۳۰	۹۷/۰۸
۲۵	۵۵	۹۶/۰۴	۰/۰۰۹۱۳۲	۰/۰۱۰۲۲۳	۹۷/۸۱

بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن بر فعالیت ضد رادیکالی

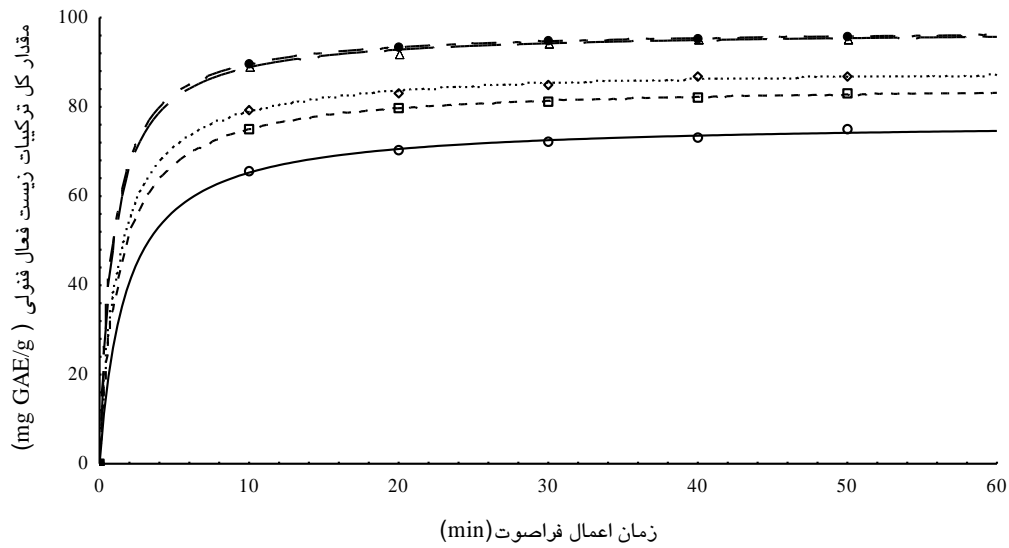
بر اساس نتایج مطالعه پیشین، میزان فعالیت ضد رادیکالی عصاره به دست آمده تحت شرایط بهینه استخراج با حلال به کمک امواج فراصوت معادل ۵۰/۲۰٪ مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ۲۶/۵۵٪ مهار رادیکال-

راند ۲۰۱۳؛ وتال و همکاران ۲۰۱۳؛ جوکیک و همکاران ۲۰۱۳؛ کاراکابی و همکاران ۲۰۱۳ و شیرسات ۲۰۱۷). شکل‌های ۱-۳ داده‌های تجربی مربوط به تأثیر پیش تیمار خیساندن را در شرایط زمانی و دمایی مختلف بر مقدار استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت در مقایسه با نمونه کنترل (بدون استفاده از پیش تیمار خیساندن) نشان می‌دهند. افزایش غیر خطی میزان ترکیبات زیست فعال استخراج شده در تمام شرایط قابل مشاهده است. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد در تمام شرایط مورد مطالعه یک افزایش سریع در ابتدای فرایند استخراج و در ادامه کاهش میزان استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی وجود دارد که بیانگر نزدیک شدن سیستم به انتهای فرایند استخراج است.

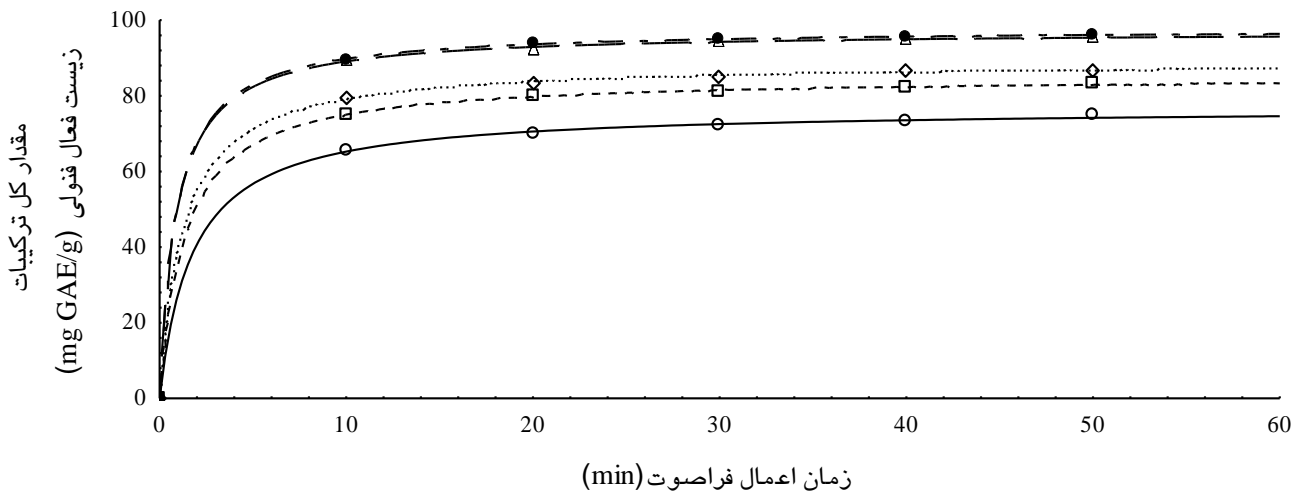
ضریب تبیین (R^2)، ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) و مدول میانگین انحراف نسبی (E) برای ارزیابی کفایت مدل برای برآزش داده‌های تجربی استفاده شد (راتکوسکای ۲۰۰۳). ضریب تبیین بالا (۰/۹۸۹۹-۰/۹۹۹۹) و مقادیر کم ریشه میانگین مربعات خطا (۰/۰-۰/۲۷/۱۶۰) و مدول میانگین انحراف نسبی (۰/۰۵۶) بیانگر آن است که می‌توان از معادله پلگ به صورت موفقیت آمیزی برای مطالعه تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت استفاده نمود (جدول ۳). در مطالعات متعددی از مدل پلگ به صورت موفقیت آمیزی جهت بررسی سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال از منابع گیاهی استفاده شده است (همویمون و همکاران ۲۰۰۷؛ دی و



شکل ۱- استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت: بدون استفاده از پیش تیمار خیساندن (○)، با استفاده از ۳۰ min خیساندن در ۲۵ °C (□)، با استفاده از ۳۰ min خیساندن در ۳۵ °C (◇)، با استفاده از ۳۰ min خیساندن در ۴۵ °C (△) و با استفاده از ۳۰ min خیساندن در ۵۵ °C (●) خطوط بیانگر مدل پلگ می‌باشند.

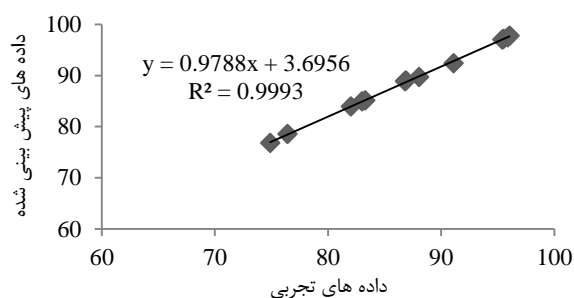


شکل ۲- استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت: بدون استفاده از پیش تیمار خیساندن (○)، با استفاده از ۶۰ min خیساندن در ۲۵ °C (□)، با استفاده از ۶۰ min خیساندن در ۳۵ °C (◇)، با استفاده از ۶۰ min خیساندن در ۴۵ °C (△) و با استفاده از ۶۰ min خیساندن در ۵۵ °C (●)



شکل ۳- استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت: بدون استفاده از پیش تیمار خیساندن (○)، با استفاده از ۹۰ min خیساندن در ۲۵ °C (□)، با استفاده از ۹۰ min خیساندن در ۳۵ °C (◇)، با استفاده از ۹۰ min خیساندن در ۴۵ °C (△) و با استفاده از ۹۰ min خیساندن در ۵۵ °C (●)
خطوط بیانگر مدل پلگ می باشند.

دارای روند کاهشی از 0.12726 g/mg به 0.10822 است. اما با افزایش زمان خیساندن به 60 min و 90 min مقدار K_2 با فزایش دما به بالاتر از 45°C دچار تغییر محسوسی نشده است. مقادیر تعادلی (C_{eq}) با استفاده از رابطه ۳ قابل دستیابی است و نتایج در جدول ۲ ارائه شده است. در مدت زمان ثابت خیساندن 30 min مقادیر تعادلی با افزایش دما دارای روند افزایشی بودند. اما با افزایش دمای خیساندن به 60 min و 90 min مقادیر تعادلی با افزایش دما به بالاتر از 45°C دچار تغییر چشمگیری نشدند که این امر تأیید کننده کفایت پیش تیمار خیساندن در سطح زمان 60 min و دمای 45°C پیش از اعمال امواج فراصوت است. در شکل ۴ مقایسه میان داده‌های تجربی و پیش بینی شده توسط مدل نشان داده شده است. با توجه به مقادیر بالای R^2 می‌توان نتیجه گرفت داده‌های تجربی به خوبی با مدل پلگ قابل برازش می‌باشند.



شکل ۴- مقایسه داده‌های تجربی و داده‌های پیش بینی

شده توسط مدل پلگ

خطوط بیانگر مدل پلگ می‌باشند.

نتیجه گیری

در این مطالعه، تأثیر پیش تیمار خیساندن بر استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ با حلال به کمک امواج فراصوت تحت شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن است که با افزایش دما و زمان پیش تیمار خیساندن تا سطح معین (60 min) و دمای 45°C) از طریق افزایش میزان ضریب باد کردگی نمونه‌ها می‌توان به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) میزان استخراج کل ترکیبات زیست فعال فنولی را بهبود

جدول ۳- دقت برازش مدل پلگ بر اساس شاخص‌های

آماری در زمان‌ها و دماهای مختلف پیش تیمار خیساندن

شرایط خیساندن		R^2	RMSE	E
دما ($^\circ\text{C}$)	زمان (min)			
۲۵	.	۰/۹۹۹۸	۰/۱۵۴	۰/۴۴۰
۲۵	۳۰	۰/۹۹۹۹	۰/۰۹۵	۰/۲۲۷
۳۵	۳۰	۰/۹۸۹۹	۰/۰۸۰	۰/۱۹۴
۴۵	۳۰	۰/۹۹۹۹	۰/۱۰۱	۰/۲۰۳
۵۵	۳۰	۰/۹۹۹۹	۰/۰۹۹	۰/۱۸۳
۲۵	۶۰	۰/۹۹۸۹	۰/۰۷۷	۰/۱۵۶
۳۵	۶۰	۰/۹۹۸۷	۰/۱۲۸	۰/۲۹۴
۴۵	۶۰	۰/۹۹۹۹	۰/۱۵۸	۰/۳۰۱
۵۵	۶۰	۰/۹۹۷۹	۰/۰۲۷	۰/۰۵۶
۲۵	۹۰	۰/۹۸۹۹	۰/۰۹۷	۰/۲۰۳
۳۵	۹۰	۰/۹۹۹۹	۰/۰۹۴	۰/۲۱۳
۴۵	۹۰	۰/۹۹۷۹	۰/۱۶۰	۰/۲۹۹
۵۵	۹۰	۰/۹۹۹۹	۰/۰۶۸	۰/۱۳۰

در راستای بررسی سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ، ثابت سرعت پلگ (K_1)، ثابت ظرفیت پلگ (K_2) و مقدار تعادلی ترکیبات زیست فعال فنولی (C_{eq}) تعیین گردید (جدول ۲). بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۲ در اثر اعمال پیش تیمار خیساندن به مدت 30 min در دامنه دمایی 25°C تا 55°C ثابت سرعت پلگ از 0.17222 min g/mg به 0.10236 کاهش یافت که این امر بیانگر تشدید استخراج کل ترکیبات زیست فعال فنولی از برگ گیاه زولنگ توسط حلال به کمک امواج فراصوت است. به علاوه با افزایش زمان پیش تیمار خیساندن تا 60 min ثابت سرعت پلگ در دامنه دمایی 25°C - 45°C همچنان کاهش یافت ولی در ادامه با اعمال دمای 55°C تفاوت محسوسی مشاهده نگردید که این تغییرات در ثابت پلگ با تغییرات ضریب باد کردگی نمونه‌های مورد مطالعه همخوانی دارد (جدول ۱ و ۲). نتیجه بررسی سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی نیز کفایت پیش تیمار خیساندن را در سطح زمان 60 min و دمای 45°C به منظور دستیابی به حداکثر ترکیبات زیست فعال فنولی را تأیید می‌نماید.

بر اساس جدول ۲، در زمان ثابت 30 min مقدار K_2

بالای $R^2 (<0/98)$ و پایین $RMSE (0/160-0/027)$ و E ($0/0-440/056$) نشان‌دهنده کفایت مدل پلگ برای برآزش داده‌های تجربی است. برگ‌های گیاه زولنگ منبع غنی از ترکیبات زیست فعال هستند که میزان استخراج این ترکیبات را توسط حلال به کمک امواج فراصوت می‌توان با استفاده از پیش تیمار خیساندن بهبود بخشید.

بخشید. هم‌چنین به دنبال افزایش میزان استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی مقدار فعالیت ضد رادیکالی عصاره به دست آمده نیز افزایش چشمگیری داشت. به منظور بررسی تأثیر پیش تیمار خیساندن بر سینتیک استخراج ترکیبات زیست فعال فنولی داده‌های تجربی به دست آمده با معادله پلگ برآزش داده شدند. مقادیر

منابع مورد استفاده

- بویه ب، کاشفی ب، رامته و، علی پور، ۱۳۹۱، بررسی پتانسیل‌های کشت پایدار در گیاه دارویی زولنگ *Eryngium causicum* Trautv. اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش‌های کشاورزی، منابع طبیعی و محیط‌زیست، تهران، وزارت کشور، صفحه ۱۵-۲۰.
- رئیزی س، اسمعیلی م، هاشمی س.م.ب، ۱۳۹۶، تأثیر دامنه فراصوت پالسی و دما بر بازده، سینتیک و ترمودینامیک استخراج با حلال روغن هسته انگور (رقم سیاه سردشت). مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۷ شماره ۲، صفحه ۴۱-۵۰.
- صالحی ف، کاشانی نژاد م، ۱۳۹۲، مدل‌سازی استخراج صمغ دانه بالنگو (*Lallemantia royleana*). فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، شماره ۱، صفحه ۱۳-۲۰.
- فیاض مهر ب، آصفی ن، ۱۳۹۱، تأثیر امواج فراصوت بر مقدار و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی لیکوپن استخراج شده از تفاله گوجه فرنگی. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۲ شماره ۳، صفحه ۲۴۱-۲۴۸.
- قربانی م، ابونجمی م، قربانی جاوید م، عرب حسینی ا، ۱۳۹۶، تأثیر امواج فراصوت بر میزان استخراج آسکوربیک اسید از دانه رازیانه و توانایی عصاره آن در بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۷ شماره ۱، صفحه ۵۹-۷۱.
- کرمی پور اصفهانی م، عابدی محمد، ۱۳۹۴، استاندارد سازی گیاهان دارویی و فراورده‌های دارویی و غذایی گیاهی. فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، سال سوم، شماره ۱۰، صفحه ۵۶-۷۶.
- گوهرگانی م، محمدی ع، ۱۳۹۶، مقایسه روش‌های استخراج (مایکروویو، فراصوت و ماسراسیون) جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از میوه‌ی بلوط. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۷ شماره ۱، صفحه ۲۷-۳۵.
- مظفریان و، ۱۳۸۶، فلور ایران، تیره چتریان. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، شماره ۵۴، صفحه ۵۰-۵۲.
- نوروزی ع، بی‌مکر م، گنج‌لوع، زرین قلمی س، ۱۳۹۶، مدل‌سازی و بهینه‌سازی فعالیت ضد رادیکالی ترکیبات استخراج‌شده به کمک امواج فراصوت از برگ گیاه زولنگ (*Eryngium causicum* Trautv). فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، شماره ۱۵، صفحه ۲۵-۳۷.

- Bimakr M, Rahman RA, Ganjloo A, Taip FS, Adzahan NM and Sarker MZI, 2016. Characterization of valuable compounds from winter melon (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) seeds using supercritical carbon dioxide extraction combined with pressure swing technique. Food Bioprocess Technology 9: 396-406.
- Bimakr M, Rahman RA, Taip FS, Adzahan NM, Sarker MZI 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 composition. Molecules 17: 11748-11762.
- Boulekbache-Makhlouf L, Medouni L, Medouni-Adrar S, Arkoub L and Madani K, 2013. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. Industrial Crops and Products 49: 668-674.
- Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AG 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.
- Dey S and Rathod VK, 2013. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry* 20: 271-276.
- Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF, Nabavi SM and Pourmorad F, 2010. Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 9: 5212-5217.
- Ganjloo A, Rahman RA, Bakar J, Osman A and Bimakr M, 2012. Kinetics modeling of mass transfer using Peleg's equation during osmotic dehydration of seedless guava (*Psidium guajava* L.): effect of process parameters. *Food Bioprocess Technology* 5: 2151-2159.
- Hemwimon S, Pavasant P and Shotipruk A, 2007. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Separation and Purification Technology* 54: 44-50.
- Jadhav D, Rekha BN, Gogate PR, Rathod VK, 2009. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *Journal of Food Engineering* 93: 421-426.
- Jokic S, Velic D, Bilic M, Bucic-kojic A, Planinic M and Tomas S, 2010. Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from soybeans. *Czech Journal of Food Sciences* 28: 206-212.
- Kanatt SR, Chander R and Sharma A, 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry* 100: 451-458.
- Karacabey E, Bayindirli L, Artik N and Mazza G, 2013. Modeling solid-liquid extraction kinetics of trans-resveratrol and trans- ϵ -viniferin from grape cane. *Journal of Food Process Engineering* 36: 103-112.
- Khoshbakhat K, Hammer K and Pistrick K, 2007. *Eryngium caucasicum* Trautv cultivated as a vegetable in the Elburz mountains (Northern Iran). *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 445-448.
- Kukic J, Popovic VN, Petrovic S, Mucaji P, Ciric A, Stojkovi D and Sokovic M, 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynaracardunculus* extracts. *Food Chemistry* 107: 861-868.
- Nabavi SM, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SF and Jafari M, 2008. Free radical scavenging activity and antioxidant capacity of *Eryngium caucasicum* Trautv and *Froripia subpinnata*. *Pharmacology* 3: 19-25.
- Pimenov MG and Leonov MV, 1993. The Genera of the *Umbelliferae*. Royal Botanic Gardens, Landon, Pp 92-93.
- Ratkowsky D A, 2003. Model fitting and uncertainty. In modeling microbial responses in food. CRC Press.
- Shirsath SR, Sable SS, Gaikwad SG, Sonawane SH, Saini DR and Gogate PR, 2017. Intensification of extraction of curcumin from *Curcuma amada* using ultrasound assisted approach: Effect of different operating parameters. *Ultrasonics Sonochemistry* 38: 437-445.
- Shyu YS and Hwang LS, 2002. Antioxidant activity of the crude extract of lignin glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Research International* 35: 357-365.
- Tao Y, Zhang Z and Sun DW, 2014. Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: influence of acoustic energy density and temperature. *Ultrasonics Sonochemistry* 21: 1461-1469.
- Teh S and Brich JB, 2014. Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed cakes. *Ultrasonics Sonochemistry* 21: 346-353.
- Toma M, Vinatoru M, Paniwnyk L, Mason TJ, 2001. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 8: 137-142.
- Vetal MD, Lade VG and Rathod VK, 2013. Extraction of ursolic acid from *Ocimum sanctum* by ultrasound: process intensification and kinetic studies. *Chemical Engineering Processing* 69: 24-30.
- Wangensteen H, Samuelsen AB, and Malterud KE, 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chemistry* 88: 293-297.
- Witrowa-Rajchert D and Lewicki PP, 2006. Rehydration properties of dried plant tissues. *International Journal of food Science and Technology* 41: 1040-1046.
- Worz A, 2004. On the distribution and relationships of the South-West Asian species of *Eryngium* L. (*Apiaceae-Saniculoideae*). *Turkish Journal of Botany* 28: 85-92.

Effect of soaking pretreatment on kinetics of total phenolic compound extraction from *Eryngium Caucasicum* Trautv leaves using ultrasound waves

A Norouzi¹, M Bimakr^{2*}, A Ganjloo² and S Zarringhalami²

Received: June 11, 2017

Accepted: October 10, 2017

¹MSc student. Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

²Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

*Corresponding author: Email: mandana.bimakr@znu.ac.ir

Abstract

In this study, the effect of soaking pretreatment on kinetics of bioactive phenolic compound extraction from *Eryngium caucasicum* Trautv leaves using ultrasound-assisted extraction (UAE) under optimized conditions (50% amplitude, 42 °C temperature and 51 min sonication time) was investigated. The soaking pretreatment independent variables were time (30, 60 and 90 min) and temperature (25, 35, 45 and 55 °C). The kinetics of bioactive phenolic compounds extraction was studied using Peleg's model. The high value of correlation coefficient ($R^2 > 0.98$) and low values of root mean square error (RMSE < 0.160) and mean relative deviation modulus ($E < 0.44$) revealed that Peleg's model could be applied successfully to describe the kinetics of bioactive phenolic compounds extraction. The experimental results showed that soaking pretreatment had significant ($P < 0.05$) effect on improvement of UAE of bioactive phenolic compounds. Swelling index and total phenolic content obtained using the best conditions of soaking pretreatment (temperature of 45 °C and 60 min) were 14.50 ± 0.05 mL/g and 95.50 ± 0.11 mg GAE/g, respectively. Under these conditions, the radical scavenging activity of extract was $67.20\% \pm 0.15$ of DPPH free radical scavenging activity and $36.11\% \pm 0.12$ of OH free radicals scavenging activity. In addition, the Peleg rate constant (K_1) was 0.009639 min.g/mg under the best conditions.

Key words: *Eryngium caucasicum* Trautv, Ultrasound-assisted extraction, Soaking, Extraction kinetics, Bioactive phenolic compounds.