Applied Biology, Volume 11, Issue 41, 2021

Research Article

The effect of extraction conditions using ultrasonic and maceration methods on the extraction rate of phenolic compounds and the extraction efficiency of jujube fruit (*Ziziphus spp.*)[1]

Zahra Khoshdouni Farahani | Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Food Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran **(Corresponding Author).** Zahra.farahani@srbiau.ac.ir

Mohammad Ali Mousavi | Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Biosystem Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. mousavi@ut.ac.ir

Abstract

Background: Plants are among the most important sources of phenolic compounds, which also include natural antioxidants. The aim of this study was to investigate the effect of two methods of extraction by ultrasonic bath and maceration on the extraction of phenolic compounds from jujube fruit using water and 80% ethanol solvents.

Methods: In the ultrasonic bath method, water and 80% ethanol solvents were used in three time levels of 15, 30 and 60 minutes and two temperature levels of 50 and 70 °C. In the maceration method, water and 80% ethanol solvents and their combinations were used and the content of phenolic compounds using the Folin-Ciocalteu method and the extraction efficiency of the extracts were determined.

Results: Based on the results of ultrasonic bath extraction method, 80% ethanol solvent, 60 minutes and 50 °C extracted the highest content of phenolic compounds (86.33 mg GAE/100 g of dry sample) from the fruit and the extraction efficiency of its extract was 95.66%. In the maceration extraction method, 80% ethanol solvent extracted the highest content of phenolic compounds (61.40 mg GAE/100 g of dry sample) and the extraction efficiency of the extract was 77%.

Conclusion: According to the results of both methods, the content of extraction of bioactive compounds based on the type of solvent, temperature and time were significantly different and 80% ethanol solvent was the best solvent for the extraction of compounds. Ultrasonic extraction had a significant effect on the extraction of phenolic compounds of jujube fruit.

Keywords: Phenolic compounds, Jujube fruit, Extraction, Ultrasound bath, Maceration, Solvent.

1. **Received:** 2020/08/09 ; **Accepted:** 2021/03/12

**Copyright © the authors

http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

بیولوژی کاربردی، دوره ۱۱، شماره ۴۱، بهار ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

تاثیر شرایط عصاره‌گیری با روش‌های اولتراسونیک و خیساندن، بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و بازده استخراج میوه عناب (*Ziziphus spp.*)[1]

زهرا خوشدونی فراهانی | دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (**نویسنده مسئول**). Zahra.farahani@srbiau.ac.ir

محمدعلی موسوی | استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی بیوسیستم کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. mousavi@ut.ac.ir

چکیده

هدف: گیاهان از مهم‌ترین منابع حاوی ترکیبات فنولی بوده که آنتی اکسیدان‌های طبیعی را نیز شامل می‌شوند. هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر دو روش استخراج با حمام فراصوت و خیساندن بر میزان استخراج ترکیبات فنولی از میوه عناب با استفاده از دو حلال آب و اتانول ۸۰٪ بود.

روش‌شناسی: در روش حمام فراصوت از دو حلال آب و اتانول ۸۰٪ در سه سطح زمانی ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه و دو سطح دمایی ۵۰ و ۷۰ درجه سلسیوس استفاده شد. در روش خیساندن دو حلال آب و اتانول ۸۰٪ و ترکیب آنها مورد استفاده قرار گرفت و میزان ترکیبات فنولی با استفاده از روش فولین سیوکالتیو و بازده استخراج عصاره‌ها تعیین شدند.

یافته‌ها: براساس نتایج حاصل، در روش استخراج با حمام فراصوت، حلال اتانول ۸۰٪، زمان ۶۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس بیشترین میزان ترکیبات فنولی (۸۶/۳۳ میلی گرم معادل اسیدگالیک در صد گرم نمونه خشک) را از میوه عناب استحصال نمود و بازده استخراج عصاره آن نیز ۹۵/۶۶٪ بود. در روش استخراج به کمک خیساندن، حلال اتانول ۸۰٪ بالاترین میزان ترکیبات فنولی (۶۱/۴۰ میلی گرم معادل اسیدگالیک در صد گرم نمونه خشک) را استخراج نمود و بازده استخراج عصاره ۷۷٪ بود.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج هر دو روش، میزان استخراج ترکیبات زیست فعال براساس نوع حلال، دمای مورد استفاده و زمان به کار رفته تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند و حلال اتانول ۸۰٪ بهترین حلال برای استخراج ترکیبات مورد نظر بود. استخراج به کمک حمام فراصوت تاثیر معنی‌داری در میزان استخراج ترکیبات فنولیک میوه عناب داشت.

کلیدواژه‌ها: ترکیبات فنولی، میوه عناب، روش استخراج، حمام فراصوت، خیساندن، حلال.

---

۱. **تاریخ دریافت:** ۱۳۹۹/۰۵/۲۹ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۱۲/۲۲

۱. مقدمه

یکی از دلایل رشد سریع بازار محصولات طبیعی، رشد آگاهی مصرف‌کننده درباره امنیت غذایی می‌باشد. امروزه مصرف سبزیجات و میوه‌جات به دلیل تاثیر قابل توجه بر سلامتی، افزایش یافته است. این مواد سرشار از ترکیبات پلی فنولی، آنتی اکسیدانی و ترکیبات غذا- دارویی بوده (۱) و دارای ویژگی‌های عملکردی چون ضد جهش‌زایی، ضد سرطان‌زایی، ضد التهاب و ضد استرس اکسیداتیو می‌باشند (۲،۳). آنتی اکسیدان‌ها با جذب رادیکال آزاد و ممانعت از ادامه اکسیداسیون، از تند شدن چربی‌ها ممانعت می‌کنند (۴). امروزه استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی، به دلیل تاثیرات سوء همچون سمّیت و خطر برای سلامت انسان، محدود شده است. بنابراین، تحقیق و بررسی جهت شناخت انواع آنتی اکسیدان‌های طبیعی با منشاء گیاهی، افزایش یافته است. فعالیت آنتی اکسیدانی برخی از این سبزیجات و میوه‌جات به محتوای ترکیبات فنولی آنها بستگی دارد.

در سال‌های اخیر، برخی گونه‌های گیاهان دارویی معروف در ایران توجهات زیادی را در بخش صنعتی به خود جلب کرده‌اند. تعدادی از آنها دارای بازار محدودی بوده و مصرف آنها به شکل سنتی می‌باشد. یکی از این گیاهان، میوه عناب است که به عنوان یک ترکیب دارویی استفاده می‌شود و بیشتر به عنوان آجیل در میان خانواده‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. عناب[1] به خانواده *Rhamnaceae* تعلق دارد و به عنوان یک گیاه درمانی شناخته می‌شود. عناب به طور گسترده در جهان رشد می‌کند (۵) و یکی از تولیدکنندگان اصلی آن، ایران می‌باشد (۶). این میوه به طور وسیعی در غذاهای عملکردی مثل مربا، آبنبات، نوشیدنی‌ها، کیک‌ها، پاستیل و غیره استفاده می‌شود (۵،۷،۸،۹).

از میوه عناب به عنوان ضد درد، کاهش‌دهنده فشارخون، ضد دیابت، بیماری‌های عصبی، ضد سرطان، ضد قارچ، ضد باکتری، ضد التهاب، ضد اسپاسم، کاردیوتونیک، آنتی اکسیدان و بهبوددهنده زخم استفاده می‌شود. نتایج بررسی دارویی نشان می‌دهد که فلاوونوئیدها، ترکیبات پلی فنولیک و ترکیبات آنتی اکسیدانی، از اجزای اصلی فعال آن هستند. مقادیر بالای ترکیبات فنل کل موجود در آن نسبت به برخی از میوه‌جات دیگر سبب تلاش جهت یافتن مناسب‌ترین روش جهت استخراج این ترکیبات شده است (۱۰).

فاکتورهای گوناگونی بر روی استخراج ترکیبات فنولی و خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره

1. Ziziphus spp.

حاوی آنها موثر هستند، از جمله روش استخراج، دما، نوع حلال و مدت زمان استحصال (۱۱). تاثیر پارامترهایی همچون زمان استخراج و نوع حلال در روش استخراج به دلیل قطبیت متفاوت مولکول‌های تشکیل‌دهنده حلال و تفاوت در پیوندهای درون مولکولی و بین مولکولی این ترکیبات می‌باشد (۱۲).

روش‌های گوناگونی جهت استخراج ترکیبات زیست فعال از گیاهان وجود دارد. یکی از روش‌های معمول، روش خیساندن یا غرقابی است. روش خیساندن تکنیکی است که به طور گسترده جهت استخراج ترکیبات جامد استفاده می‌گردد و سبب استخراج ترکیبات با ارزش بالا، با انتخاب مناسب قطبیت حلال با توجه به نوع نمونه می‌گردد (۱۳).

در این روش جهت غوطه‌ور شدن نمونه، از حلال بیشتری استفاده شده و زمان بیشتری صرف می‌شود. روش‌های جدیدتر نیاز به زمان استخراج کم‌تری داشته و مصرف حلال در آنها کم‌تر است (۱۱). در این میان می‌توان به استخراج با کمک امواج فراصوت و ماکروویو اشاره داشت که روشی موثر در استخراج ترکیبات موثره می‌باشد (۱۴). امواج فراصوت دارای مزایای منحصر به فردی هستند و استفاده از آن روز به روز در حال گسترش می‌باشد. در فرایند استفاده از امواج فراصوت می‌توان از دمای پایین‌تر نیز استفاده کرد که به استخراج ترکیبات حساس به حرارت، کمک می‌کند. عملکرد این امواج بدین نحو است که اثر مکانیکی این امواج و حفره‌سازی آنها باعث جریانی شده که باعث افزایش سرعت نفوذپذیری حلال به درون سلول و بافت‌های گیاهی و افزایش انتقال جرم می‌شود و در نتیجه سبب ازدیاد بازدهی استخراج می‌گردد (۱۵). امواج فراصوت توسط دو روش معمول حمام و پروب مورد استفاده قرار می‌گیرند. مزیت حمام به پروب فراصوت در تکرارپذیری بالای آن و عملکرد آن به طور هم‌زمان بر دامنه‌ای از نمونه‌ها می‌باشد (۱۶).

در مطالعه حاضر اثر نوع حلال، زمان و دماهای مختلف در روش استخراج توسط حمام فراصوت و اثر نوع حلال در روش خیساندن، بر میزان ترکیبات فنولیک و بازده استخراج عصاره از میوه عناب مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد و تجهیزات

مواد شیمیایی مورد استفاده شامل اسید کلریدریك، کربنات سدیم، معرف فولین سیوکالچو، اسیدگالیك، اتانول و متانول از شرکت مرك آلمان تهیه گردیدند. دستگاه‌های

مورد استفاده نیز شامل آسیاب (IKA، مدل M20)، آون[1]، تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (Heidolph, Laborota 4003, Germany)، شیکر (Heidolph, UNIMAX 2010)، اسپکتروفتومتر (Cary 300 UV-Vis, Varian, Mulgrave, Victoria, Australia)، حمام اولتراسوند[2] و سانتریفیوژ (Sigma, 3-18k) بودند.

میوه عناب از بازار محلی (شهر بجنورد، خراسان رضوی) تهیه گردید. میوه‌ها پس از شستشو و خشک کردن در دمای محیط، هسته‌گیری شده و توسط آسیاب (IKA، مدل M20)، به صورت پودر درآمدند. نمونه‌های پودر شده تا زمان استفاده در یک ظرف تیره و در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده دارای خلوص بالا بوده و از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲. استخراج عصاره به روش خیساندن

در ابتدا، میوه‌های تازه عناب با آب مقطر شسته شده و در دمای اتاق برای ۱۵روز در تاریکی خشک شدند. پس از هسته‌گیری، میوه‌ها با یک ماشین آسیاب الکتریکی پودر گردیده و از مش۶۰ عبور داده شدند. سپس در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس برای ۸ ساعت جهت حذف رطوبت خشک شدند. پودر عناب در یخچال تاریک تا زمان استفاده نگه داشته شد (۱۸،۱۷).

۲-۳. عصاره اتانولی

۵۰ گرم پودر عناب در یک ظرف تیره توزین گردید و ۲۰۰ میلی لیتر حلال اتانول/ آب (۲۰:۸۰) اضافه و مخلوط شد. سپس برای یک شب در دور ۱۸۰ rpm (دمای محیط) بر روی شیکر قرار گرفت. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد و توسط تبخیرکننده چرخان (Heidolph, Laborota 4003, Germany) تحت خلاء تغلیظ شد. عصاره حاصل در ویال‌های تیره رنگ قرار گرفتند و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (۱۸).

۲-٤. عصاره آبی

ابتدا آب مقطر به ۵۰ گرم تفاله عناب افزوده شد و سپس در دور ۱۸۰ rpm (دمای محیط) برای یک شب بر روی شیکر قرار گرفت. عصاره توسط کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر شد و با استفاده از یک

1. Wiseven
2. WiseClean

تبخیرکننده چرخان (Heidolph, Laborota 4003, Germany) تحت خلاء در ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ گردید. نهایتاً عصاره شفاف در ویال‌های رنگی و تیره قرار گرفتند و تا زمان استفاده در دمای یخچالی نگه داشته شدند (۱۸).

۲-۵. عصاره اتانولی/ آبی

ترکیبات قطبی و غیر قطبی گوناگونی در میوه عناب یافت می‌شود و هر کدام از حلال‌های آب و اتانول می‌توانند بخشی از این ترکیبات را استخراج نمایند. از این‌رو در این بخش در دو مرحله طبق روش پیشین با استفاده از اتانول و آب، عصاره‌گیری انجام گرفت و عصاره‌های حاصل با یکدیگر ترکیب شدند تا همزمان اثربخشی عصاره‌گیری (حاوی ترکیبات فنولی قطبی و غیر قطبی) نیز مورد بررسی قرار گیرد.

۲-٦. استخراج توسط حمام فراصوت

جهت بررسی اثر حلال، عملیات استخراج با دو حلال با قطبیت‌های متفاوت انجام شد. در این روش حلال‌های آب و اتانول ۸۰% به طور جداگانه با نمونه‌های ۳ گرمی پودر خشک شده میوه عناب به نسبت ۱:۶ مخلوط شدند و سپس مخلوط‌های به دست آمده به مدت ۱ ساعت بر روی شیکر قرار گرفتند (۱۸۰ rpm) و بعد در یک حمام اولتراسوند (WiseClean) برای زمان‌های مختلف (۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه) و دماهای ۵۰ و ۷۰ درجه سلسیوس در معرض امواج فراصوت قرار گرفتند. سپس عصاره‌های استخراج شده با استفاده از سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور بر دقیقه، زمان ۱۰ دقیقه) از مواد جامد گیاهی جدا گردیدند (۱۹). عصاره‌های حاصل با استفاده از تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء (IKA-RV05 Basic) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ شدند. عصاره حاصل تا زمان استفاده، در ظروف تیره رنگی در دمای یخچالی نگهداری شدند.

۲-۷. بازده استخراج

بازده استخراج توسط اندازه‌گیری وزن عصاره به دست آمد و وزن نمونه اولیه براساس فرمول زیر محاسبه شد (۲۰).

$$\text{بازده استخراج} = \frac{\text{وزن عصاره} \times ۱۰۰}{\text{وزن نمونه اولیه}}$$

۲-۸. اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنولی

مقدار کل ترکیبات فنولیک با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (۲۱). در ابتدا، ۲۰ میکرولیتر

از محلول عصاره‌ها با ۱/۶ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵% به آنها افزوده شد. لوله‌های آزمایش پس از تکان دادن به مدت ۲ ساعت در یک محیط تاریک قرار گرفته و سپس جذب آنها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary 300 UV-Vis, Varian, Mulgrave, Victoria, Australia) در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله رگرسیون به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی گرم اسید گالیک در هر صد گرم عصاره ارائه گردید.

$$y= ۲۲/۵۵۳x + ۰/۰۷۱۴$$

۲-۹. تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی داده‌ها و مقایسه میانگین‌های به دست آمده (سه تکرار) از نرم‌افزار تجزیه واریانس SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ۲۶ استفاده شد. نتایج با آزمون دانکن ($P<۰/۰۵$) بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند.

۳. یافته‌ها

۳-۱. بازده استخراج و ترکیبات فنولی کل عصاره حاصل از روش خیساندن

پس از انجام عصاره‌گیری، وزن عصاره‌ها و بازده هر يك از آنها محاسبه شد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، استفاده از دو حلال آب و اتانول۸۰% و ترکیب آنها جهت استخراج هر دو ترکیبات فنولیک قطبی و غیرقطبی انجام گرفت. بین بازده استخراج عصاره حلال‌های مختلف، اختلاف آماری در حد پنج درصد وجود داشت. استخراج با حلال‌های مختلف، بازده‌های متفاوتی را نشان داد. عصاره حاصل از اتانول ۸۰% با بازده استخراج ۷۷% بیشترین میزان را به خود اختصاص داد و سپس عصاره آبی و اتانولی/آبی به ترتیب با بازده استخراج ۴۸% و ۶۲/۵% بودند. قطبیت بالای آب قادر به استخراج تمامی ترکیبات فنولیک نبود، اما حلال‌های آلی معمولاً کارایی بیشتری در استخراج ترکیبات فنولیک دارند و این نتایج در توافق با یافته‌های سایر محققان بود (۲۳،۲۲). محتوای ترکیبات فنولی کل عصاره‌ها به صورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید (GAE) درصد گرم پودر اولیه میوه (جدول ۲) بیان شد. عصاره حاصل از حلال اتانول ۸۰%

(۰/۰۳ ± ۶۱/۴۰ GAE درصد گرم پودر اولیه) و حلال آب (۰/۰۴± ۳۴/۲ GAE درصد گرم پودر اولیه) به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقدار ترکیبات پلی‌فنولی بودند. از نظر آماری نیز بین هر سه تیمار تفاوت معنی‌داری در محتوای فنول کل عصاره‌ها وجود داشت. فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان به میزان ترکیبات فنولی موجود در آنها مربوط است که به آنها امکان از دست دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال آزاد را می‌دهد (۲۵،۲۴). ترکیبات فنولی دارای یك حلقه آروماتیك بوده و تقریباً در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند. ترکیبات پلی فنولی که حاوی دو بخش فنولی باشند، فلاونوئید نام دارند (۲۵). خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره به روش استخراج ترکیبات فنولی مرتبط است. از عوامل تاثیرگذار بر روی محتوای آن می‌توان به حلال، دما، زمان استخراج و روش استخراج اشاره نمود. قطبیت حلال و نوع ترکیبات گیاهی نیز بر روی میزان استخراج موثر می‌باشد.

ترکیبات فنولیک اکثراً قطبی هستند، اما برخی ممکن است به دلیل اتصال گروه‌های غیرقطبی به مولکول‌های آنها غیرقطبی تلقی شوند و محلول در حلال‌هایی با قطبیت ضعیف باشند. بنابراین، ترکیب حلال‌ها (آب با حلال‌های آلی) نتایج بهتری در استخراج ترکیبات فنولیک دارند. برخی از محققین ترکیبات فنولیک را با استفاده از حلال‌های گوناگون استخراج کردند (۲۶). در بررسی‌ای که بر روی ترکیبات زیست فعال *Lepidiumsativum* انجام گرفت، حلال‌های اتانول و آب، اثرات متفاوتی بر روی ترکیبات استخراجی در روش‌های گوناگون استخراج داشتند (۲۷). در پژوهشی دیگر که بر روی ترکیبات فیتوشیمی و ظرفیت آنتی اکسیدانی دانه لوبیا انجام شد، قطبیت حلال‌های استخراجی بر روی راندمان استخراج این ترکیبات موثر بود. بنابراین، استفاده از هر دو حلال قطبی و غیر قطبی در این زمینه تاثیرگذار بود (۲۸). در پژوهشی دیگر عصاره برگ گیاه *Cucumismelo* با روش‌های سوکسله، اولتراسونیک و ماسراسیون استخراج شد. عصاره حاصل از سوکسله، ترکیبات فنولی بیشتری را نسبت به عصاره‌های دیگر حاصل کرد. نتایج نشان داد که هر سه روش در استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی موثر بودند، اما اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود نداشت (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر، تاثیر روش‌های مختلف استخراج در فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی گیاه *Crocus caspius* بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره حاصل از روش اولتراسونیک دارای محتوای فنولی بیشتری بود و عصاره حاصل از روش خیساندن در تست قدرت احیاءکنندگی، قوی‌تر بود (۳۰).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر نوع حلال در میزان استخراج ترکیبات فنولی و بازده استخراج به کمک روش خیساندن

تیمار	نوع حلال	بازده استخراج عصاره (٪)	محتوای ترکیبات فنولی (میلی‌گرم اسید گالیک درصد گرم پودر اولیه)
۱	اتانول ۸۰٪	۷۷ ±۰/۰۵^{a}	۶۱/۴۰ ± ۰/۰۳^{a}
۲	آب	۵۰ ±۰ /۰۳^{c}	۳۴/۲ ± ۰/۰۴^{b}
۳	آب/ اتانول ۸۰٪	۶۴/۵ ±۰/۰۶^{b}	۴۵/۶۵ ± ۰/۰۲^{c}

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

۳-۲. بازده استخراج و ترکیبات فنولی کل عصاره حاصل از روش حمام فراصوت

طبق نتایج مندرج در جدول ۲، در سطوح دما، زمان و حلال مصرفی، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد در مورد میزان بازده استخراج و ترکیبات فنولی مشاهده گردید. با افزایش زمان، میزان بازده استخراج و ترکیبات فنولی در روش فراصوت افزایش یافت و در بین سه سطح زمانی (۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در این روش از دو دما (۵۰ و ۷۰ درجه سلسیوس) استفاده شد و مشاهده گردید که افزایش دما تا ۷۰ درجه سلسیوس بر روی بازده استخراج و ترکیبات فنولی تاثیر قابل توجهی داشت. استفاده از حلال اتانول۸۰ درصد نیز نشان داد که بازده استخراج و ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به حلال آب حاصل می‌گردد. افزایش میزان بازده استخراج و ترکیبات فنولی با افزایش دما در حمام فراصوت (در بهره‌وری از هر دو حلال) به دلیل افزایش حلالیت و نفوذ بیشتر حلال، به بهبود انتقال جرم منجر می‌شود. همچنین می‌تواند استخراج ناخالصی‌ها و ترکیبات زائد را افزایش دهد که در تیمارهای استخراجی با اتانول ۸۰ درصد در دمای ۷۰ درجه سلسیوس مشاهده می‌گردد، به نحوی که افزایش بازده، توأم با افزایش ترکیبات فنولی نبوده است.

نتایج میانگین بازده استخراج و مقدار کل ترکیبات فنولی تیمارهای مختلف حاصل از روش فراصوت نشان داد که اثرات متقابل حلال، زمان و دما در سطح پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). در بررسی اثر متقابل حلال مصرفی و زمان و دما (جدول ۳)، تیمار اتانول ۸۰ درصد در طی زمان ۶۰ دقیقه و دمای ۷۰ درجه سلسیوس با بازده استخراج ۹۵/۶۶% بیشترین میزان بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت و کم‌ترین میزان بازده استخراج نیز مربوط به حلال آب در طی زمان ۱۵ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس بود (۶۱/۶۶%). تیمار اتانول ۸۰ درصد در

طی زمان ۶۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس با ۸۶/۳۳ میلی گرم معادل اسید گالیک در صد گرم نمونه خشک، بیشترین میزان استخراج ترکیات فنولی را داشت که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت و کم‌ترین میزان استخراج ترکیات فنولی نیز مربوط به حلال آب در طی زمان ۱۵ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس با ۳۶/۴۹ میلی گرم معادل اسید گالیک در صد گرم نمونه خشک بود. بین زمان‌های گوناگون، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود داشت. از این‌رو می‌توان بیان گفت که استفاده از اتانول به عنوان حلال استخراجی در روش استخراج عصاره عناب به کمک حمام فراصوت و افزایش زمان استخراج از ۱۵ تا ۶۰ دقیقه، تاثیر معنی‌داری در میزان استخراج ترکیبات فنولی و بازده استخراج دارد. افزایش زمان تا ۶۰ دقیقه باعث افزایش میزان استخراج ترکیبات فنولی می‌گردد که به دلیل حفره‌سازی (کاویتاسیون) می‌باشد که ناشی از گسترش امواج فراصوت در بافت گیاهی و حلال بوده و سبب ایجاد حالت‌های انقباض و انبساط در محیط می‌شود. این فرایندها منجر به ایجاد حباب‌هایی در دو فاز شده و افزایش رشد آنها در طول زمان، سبب از بین رفتنشان می‌گردد و فراصوت این نوسانات را سرعت می‌بخشد و موجب انتقال ترکیبات از بخش جامد به حلال می‌گردد. عوامل دیگری همچون افزایش سطح ذرات سبب افزایش استخراج می‌شود. در صورتی که ترکیبات گیاهی دارای ترکیبات زیست فعال حساس به اکسیداسیون باشند، در معرض طولانی قرار گرفتن آنها می‌تواند سبب کاهش میزان استخراج گردد (۳۱). در خصوص تاثیر دما نیز بین دماهای ۵۰ و ۷۰ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری در میزان ترکیبات فنولی استخراجی و بازده استخراج مشاهده گردید. با افزایش دما از ۵۰ به ۷۰ درجه سلسیوس، محتوای فنولی و بازده استخراج در نمونه‌های استخراج شده با حلال آب افزایش یافت. بدین معنی که دما به نفوذ امواج و تسریع انتشار حلال در ترکیبات جامد کمک کرده و بر روی دو فاکتور مدنظر موثر بوده است. اما افزایش دما تا ۷۰ درجه سلسیوس در نمونه‌های استخراج شده با حلال اتانول ۸۰ درصد کاهش کمی در محتوای فنولی نسبت به تیمارهای همتای خود در دمای ۵۰ درجه سلسیوس نشان دادند که می‌تواند به دلیل تاثیر سوء افزایش حرارت در عصاره‌گیری اتانولی باشد، اما بازده استخراج، روند افزایشی خود را داشت.

مطالعات گوناگون حاکی از عملکرد مناسب امواج فراصوت در افزایش بازده استخراج عصاره می‌باشد. در برخی تحقیقات مشاهده گردید که عصاره گیاه زرشک در مقایسه با روش بدون

فراصوت، بازده بالاتری دارد (۳۲)، عصاره گیاه رازیانه بازده بیشتری در شرایط فراصوت، در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و زمان ۴۵ دقیقه داشت (۳۳). همچنین افزایش عملکرد عصاره گیاه بومادران نسبت به روش خیساندن رویت شد (۳۴). در بررسی‌ای دیگر استخراج ترکیبات فلاونوئیدی میوه سنجد، انرژی بیشتر (دمای بیشتر و زمان بیشتر) حاصل از امواج فراصوت سبب ورود ترکیبات از بافت گیاهی توسط منافذ دیواره سلولی به محیط مایع شده و انتقال جرم را بهبود بخشیده و منجر به افزایش بازده و میزان عصاره می‌گردد (۳۳). استخراج ترکیبات فنولی از بافت‌های گیاهی به وسیله روش‌های استخراج معمول همچون خیساندن و تکنیک‌های نوین استخراج توسط امواج اولتراسوند انجام می‌گیرد. امواج اولتراسوند با شکستن غشاء سلولی سبب کاهش زمان عصاره‌گیری و افزایش بازده استخراج می‌گردند. امواج فراصوت در طی استخراج، دیواره‌های سلولی را تخریب نموده و کمک به آزادسازی محتوای ترکیبات زیست فعال می‌نماید. بنابراین، تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم، باعث افزایش استخراج با اولتراسوند می‌گردد (۳۵). در تحقیقی استخراج ترکیبات زیست فعال پوست *Citrus reticuata* توسط اولتراسونیک بررسی شد. نتایج نشان داد که بازده استخراج ترکیبات با افزایش زمان افزایش یافت که تا ۶۰ دقیقه محسوس بود و پس از آن تا ۱۶۰ دقیقه شیب آرامی داشت (۳۶).

Rosangela و همکاران (۲۰۰۷) استخراج با امواج فراصوت ترکیبات شیمیایی عصاره‌های چای میت برگ‌های ایلکس پاراگارنسیس را بررسی کردند که منجر به بهبود بازده میزان کافئین و اسید پالمیتیک در حلال متانول شد (۳۷). استخراج نوعی آفت‌کش آلکالوئیدی از عصاره ریشه ستمونا کولینسای با روش‌های استخراج فراصوت، خیساندن و غیره با اتانول۷۰% انجام شد. نتایج حاکی از بالاترین مقدار بازده توسط فراصوت بود، به طوری که انرژی فراصوت در طول فرایند توانست زمان استخراج را کاهش داده و به افزایش بازده کمک نماید (۳۸).

در پژوهشی که توسط Wu و همکارانش (۲۰۱۹) بر روی بهینه‌سازی شرایط استخراج پلی ساکاریدهای عناب توسط اولتراسونیک انجام گرفت، نتایج، شرایط بهینه را در دمای ۸۳/۱ درجه سلسیوس، زمان ۱۰ دقیقه و توان ۱۴۰ وات نشان داد (۳۹).

Dias و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای دو روش سوکسله و اولتراسونیک را با چهار نوع حلال جهت استخراج عصاره فلفل dedo de moça مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از اثربخشی و راندمان بالای ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی حاصل از روش اولتراسونیک بود (۴۰).

در تحقیقی دیگر تاثیر فاکتورهای نوع حلال، زمان و دما بر روی میزان استخراج ترکیبات فنولیک سبوس گندم توسط روش فراصوت بررسی گردید. حلال‌های استون، اتانول ۸۰% و متانول ۷۰%، محدوده دمایی ۲۵ تا ۷۵ درجه سلسیوس و زمان ۱۰ تا ۵۰ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که در شرایط یکسان از لحاظ دما و زمان، بیشترین استخراج ترکیبات فنولی توسط اتانول انجام شد و با افزایش دما و زمان نیز میزان استخراج افزایش یافت (۴۱).

در پژوهشی جهت عصاره‌گیری از گیاه *Mesembryanthemumedule* از امواج اولتراسونیک استفاده شد. در این کار حلال‌های متانول و اتانول و زمان عصاره‌گیری ۵ و ۱۰ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که نوع حلال مصرفی نسبت به زمان عصاره‌گیری تاثیر قابل توجهی روی محتوای فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. عصاره متانولی، ترکیبات پلی فنولی بیشتری نسبت به عصاره اتانولی داشت و افزایش زمان استخراج سبب محتوای فنلی بیشتر شد (۲۴).

Zemouri-Alioui و همکاران (۲۰۱۸) میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی برگ‌های عناب را توسط اولتراسوند و با استفاده از چند حلال مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از اثربخشی بیشتر حلال متانول ۶۰% در استخراج ترکیبات مذکور بود (۴۲).

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر نوع حلال، زمان و دما در میزان استخراج ترکیبات فنولی و بازده استخراج به کمک روش حمام فراصوت

تیمار (زمان (دقیقه))	بازده استخراج عصاره (٪)	ترکیبات فنولی (میلی‌گرم اسید گالیک به ازای صد گرم پودر اولیه)
۱۵	۶۹/۶۶ ± ۰/۰۴^{c}	۴۶/۶۹ ± ۰/۰۱^{c}
۳۰	۷۳/۲۴ ± ۰/۰۴^{b}	۴۹/۸۹ ± ۰/۰۲^{b}
۶۰	۸۳/۸۴ ± ۰/۶^{a}	۶۶/۵ ± ۰/۰۳^{a}
تیمار (دما (درجه سلسیوس))		
۵۰	۷۲/۹۴ ± ۰/۰۲^{b}	۵۳/۵۰ ± ۰/۰۵^{b}
۷۰	۷۸/۸۸ ± ۰/۰۲^{a}	۵۵/۲۱ ± ۰/۰۲^{a}
تیمار (حلال مصرفی)		
آب	۷۰/۳۳ ± ۰/۰۱^{b}	۴۲/۹۱ ± ۰/۰۵^{b}
اتانول ۸۰٪	۸۱/۴۹ ± ۰/۰۱^{a}	۶۵/۸۰ ± ۰/۰۴^{a}

حروف غیرمشابه در هر ستون و برای هر فاکتور بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل نوع حلال، زمان و دماهای مختلف در میزان استخراج ترکیبات فنولی

تیمار	شرایط استخراج			بازده استخراج عصاره (٪)	محتوای ترکیبات فنولی (میلی‌گرم اسید گالیک به ازای صد گرم پودر اولیه)
	نوع حلال	دما (درجه سلسیوس)	زمان (دقیقه)		
۱	آب	۵۰	۱۵	۶۱/۶۶ ± ۰/۰۱^{m}	۳۶/۴۹ ± ۰/۰۶^{m}
۲	آب	۵۰	۳۰	۶۳/۶۶ ± ۰/۰۴^{l}	۳۸/۵۱ ± ۰/۰۱^{l}
۳	آب	۵۰	۶۰	۷۲/۳۳ ± ۰/۰۳^{j}	۴۵/۷۵ ± ۰/۰۲^{h}
۴	آب	۷۰	۱۵	۷۱ ± ۰/۰۴^{k}	۴۲/۶ ± ۰/۰۴^{k}
۵	آب	۷۰	۳۰	۷۲/۸۸ ± ۰/۵۶^{g}	۴۳/۹۴ ± ۰/۰۵^{j}
۶	آب	۷۰	۶۰	۸۱ ± ۰/۰۲^{c}	۵۰/۲۲ ± ۰/۰۲^{g}
۷	اتانول ۸۰ ٪	۵۰	۱۵	۷۲/۶۶ ± ۰/۰۳^{h}	۵۵/۲۴ ± ۰/۰۱^{e}
۸	اتانول ۸۰ ٪	۵۰	۳۰	۷۷ ± ۰/۰۳^{e}	۵۸/۷۱ ± ۰/۰۶^{c}
۹	اتانول ۸۰ ٪	۵۰	۶۰	۹۰/۳۳ ± ۰/۰۱^{b}	۸۶/۳۳ ± ۰/۰۱^{a}
۱۰	اتانول ۸۰ ٪	۷۰	۱۵	۷۳/۳۳ ± ۰/۰۴^{f}	۵۲/۴۳ ± ۰/۰۳^{f}
۱۱	اتانول ۸۰ ٪	۷۰	۳۰	۸۰ ± ۰/۰۹^{d}	۵۸/۴ ± ۰/۰۴^{d}
۱۲	اتانول ۸۰ ٪	۷۰	۶۰	۹۵/۶۶ ± ۰/۰۴^{a}	۸۳/۷ ± ۰/۰۴^{b}

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

جدول ٤- مقایسه تغییرات میزان بازده استخراج و فنول عصاره‌ها در شرایط مختلف استخراج (فراصوت و خیساندن)

آزمون‌ها	روش استخراج	
	فراصوت	خیساندن
میزان بازده استخراج (٪)	۷۵/۹۱ ± ۰/۰۳^{a}	۶۲/۵ ± ۰/۰۳^{b}
فنول (میلی‌گرم معادل اسید گالیک درصد گرم نمونه خشک)	۵۴/۳۶ ± ۰/۰۴^{a}	۴۷/۰۸ ± ۰/۰۲^{b}

حروف غیرمشابه در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

به طور کلی در خصوص مقایسه عملکرد دو روش فراصوت و خیساندن، نتایج نشان داد (جدول ۴) که روش فراصوت با میزان بازده استخراج ۷۵/۹۱% و محتوای فنولی ۵۴/۳۶ میلی‌گرم معادل اسید گالیک در صد گرم نمونه اولیه روشی کاراتر جهت استخراج ترکیبات فنولی عصاره عناب برای کاربردهای صنعتی و تحقیقاتی می‌باشد. به طور کلی میزان ترکیبات فنولی موجود در این میوه با توجه

به خشک یا تازه بودن آن، محل برداشت، واریته و محل کشت می‌تواند متفاوت باشد.

٤. نتیجه‌گیری

دستیابی به مواد طبیعی با استفاده از روش‌های ایمن و سریع، می‌تواند تقاضاهای پیش‌رو را پاسخگو باشد. انتخاب نوع حلال چه از لحاظ فاقد سمیّت بودن و چه از لحاظ کمک به افزایش راندمان استخراج، حائز اهمیت است. از طرفی اعتبار نتایج حاصل از روش‌های استخراجی می‌بایست مورد توجه قرار گرفته و سریع و مقرون به صرفه باشند. میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی ماده گیاهی و میوه‌جات، تحت تاثیر نوع حلال مصرفی، زمان و دمای استخراج می‌باشد. خروج پلی فنول‌ها از مواد گیاهی، براساس میزان حلال مورد استفاده است. افزایش زمان و دما نیز تا محدوده مشخصی در میزان استخراج موثر است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استخراج به روش‌های خیساندن و حمام فراصوت اثر معنی‌داری در استخراج مواد زیست فعال میوه عناب دارد. در هر دو روش میزان استخراج ترکیبات زیست فعال بسته به شرایط فرایند متفاوت بود. در روش خیساندن تیمار اتانول۸۰% بیشترین میزان ترکیبات فولیک و بازده استخراج را داشت و در روش حمام فراصوت، تیمار اتانول۸۰% در زمان استخراجی ۶۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سلسیوس بیشترین میزان ترکیبات فولیک و بازده استخراج را دارا بود. از این‌رو در تمامی روش‌های استخراج، حلال اتانول۸۰% بهترین حلال برای استخراج ترکیبات مد نظر میوه عناب بود. استفاده از تکنیک‌های انتخابی همچون امواج فراصوت برای استخراج، جهت افزایش بازده استخراج و کاهش استفاده از حلال با هدف کمک به حفاظت محیط زیست انجام می‌گیرد و می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های معمول و سنتی استخراج همچون خیساندن باشد. همچنین این روش امکان استخراج ترکیبات زیست فعال گیاهی حساس به حرارت را نیز فراهم می‌کند.

References

1. Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, Trabelsi N, Mhamdi B, Chaieb K, Bakrouf A, Magné C & Abdelly C. Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte Tamarix gallica L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical toxicology*. 2009; 47(8): 2083-2091.
2. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*. 2000; 36(10): 1235-1247.
3. Kris-Etherton PM, Lichtenstein AH, Howard BV, Steinberg D, Witztum JL. Antioxidant vitamin supplements and cardiovascular disease. *Circulation*. 2004; 110(5): 637-641.
4. Mahdavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK. *Food Antioxidant.* New York: Marcel Dekker Inc. 1995: 746.
5. San B, Yildirim AN. Phenolic, alpha-tocopherol, beta-carotene and fatty acid composition of four promising jujube (Ziziphus jujuba Miller) selections. *Journal of food composition and analysis*. 2010; 23(7): 706-710.
6. Golmohammadi F. Medicinal plant of Jujube (Ziziphus jujuba) and its indigenous knowledge and economic importance in desert regions in east of Iran: situation and problems. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2013; 3(6): 493-505.
7. Nazni P, Mythili A. Formulation and optimization of vitamin-C rich beverage prepared from ziziphus jujube. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*. 2013; 2(2): 54.
8. Sun YF, Liang ZS, Shan CJ, Viernstein H, Unger F. Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in Ziziphus jujuba Mill. var. spinosa (Bunge) Hu ex HF Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method. *Food Chemistry*. 2011; 124(4): 1612-1619.
9. Najafabadi NS, Sahari MA, Barzegar M, Esfahani ZH. Effect of gamma irradiation on some physicochemical properties and bioactive compounds of jujube (Ziziphus jujuba var vulgaris) fruit. *Radiation Physics and Chemistry*. 2017; 130: 62-68.
10. Ebrahimi H, Pouyan M, Ragh Ara H, Shahi T, Hosseini S, Kohansal Vajargah S .A Review of the Chemical Compounds and Applications of Jujube in Traditional Medicine. *Barberry and Jujube Extension Journal*. 2019; 1: 26-37 [In persian].
11. Betancourt AO. *Analysis, extraction and recovery of poly-3-hydroxybutyrate in the biomass*. University of Quebec at Montreal Thesis. 2008; 45-55.
12. Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. *Food chemistry*. 2007; 105(3): 1126-1134.
13. Garcia-Vaquero M, Rajauria G, Tiwari B. *Conventional extraction techniques: Solvent extraction.* In Sustainable Seaweed Technologies, Elsevier. 2020: 171-189.
14. Wang L, Weller CL. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends*

in Food Science & Technology. 2006; 17(6): 300-312.
15. Vinatoru M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry*. 2001; 8(3): 303-313.
16. Luque-Garcıa JL, De Castro ML. Where is microwave-based analytical equipment for solid sample pre-treatment going?. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2003; 22(2): 90-98.
17. Han HJ, Lee JS, Park SA, Ahn JB, Lee HG. Extraction optimization and nanoencapsulation of jujube pulp and seed for enhancing antioxidant activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015; 130: 93-100.
18. Prachayasittikul S, Buraparuangsang P, Worachartcheewan A, Isarankura-Na-Ayudhya C, Ruchirawat S, Prachayasittikul V. Antimicrobial and antioxidative activities of bioactive constituents from Hydnophytum formicarum Jack. *Molecules*. 2008; 13(4): 904-21.
19. Martino E, Ramaiola I, Urbano M, Bracco F, Collina S. Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from Melilotus officinalis (L.) Pallas as an alternative to Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *Journal of chromatography A*. 2006; 1125(2): 147-151.
20. Rostami H, Gharibzahedi SM. Microwave-assisted extraction of jujube polysaccharide: optimization, purification and functional characterization. *Carbohydrate polymers.* 2016; 143: 100-107.
21. Chen Q, Zhao J, Liu M, Cai J, Liu J. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008; 46(3): 568-573.
22. Rezaei S, Rezaei K, Haghighi M, Labbafi M. Solvent and solvent to sample ratio as main parameters in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from apple pomace. *Food science and biotechnology*. 2013; 22(5): 1-6.
23. Tuncel NB, Yılmaz N. Optimizing the extraction of phenolics and antioxidants from feijoa (Feijoa sellowiana, Myrtaceae). *Journal of Food Science and Technology*. 2015; 52(1): 141-150.
24. Falleh H, Ksouri R, Lucchessi ME, Abdelly C, Magné C. Ultrasound-assisted extraction: Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of Mesembryanthemum edule L. Aizoaceae shoots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 2012; 11(2): 243-249.
25. Khalili M, Ebrahimzadeh MA. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *Journal of Mazandaran University Medical Science*. 2015; 24(120): 188-208 [In Persian].
26. Mokrani A, Madani K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (Prunus persica L.) fruit. *Separation and Purification Technology*. 2016; 162: 68-76.
27. Rafińska K, Pomastowski P, Rudnicka J, Krakowska A, Maruśka A, Narkute M, Buszewski B. Effect of solvent and extraction technique on composition and biological activity of Lepidium sativum extracts. *Food chemistry*. 2019; 289: 16-25.

28. Nawaz H, Shad MA, Rehman N, Andaleeb H, Ullah N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (Phaseolus vulgaris) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020: 56. **DOI:** https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129
29. Ebrahimzadeh MA, Askari M, Forouzani M. Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from Cucumis melo L. fruit and leaves. *International Journal of Forest, Soil and Erosion.* 2013; 3(3): 95-99.
30. Khalili M, Fathi H, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of Crocus caspius, impact of extraction methods. *Pak J Pharm Sci*. 2016; 29(3):773-777.
31. Rostagno MA, Palma M, Barroso CG. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*. 2003; 1012(2): 119-128.
32. Abadi BJ. *Optimization of extraction of barberry using ultrasonic and response surface methods*. Master thesis, Islamic Azad University, Ghuchan Branch. 2011 [In Persian].
33. Ghorbani M, Abunajmi M, Ghorbani Javid M, Arab Hosseini A. The effect of ultrasonic extraction conditions on the performance and antioxidant properties of fennel extract (Foeniculum vulgare). *Journal of Food Science and Technology*. 2017; 67(14): 63-73 [In Persian].
34. Salarbashi D. *Evaluation of antioxidant properties of plant* (*Achilleamillefolium*). Master thesis, Islamic Azad University, Sabzevar Ranch. 2009 [In Persian].
35. Vilkhu K, Mawson R, Simons L, Bates D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry–A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 2008; 9(2): 161-169.
36. Ma Y, Ye X, Hao Y, Xu G, Xu G, Liu D. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (Citrus reticulata) peel. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2008; 15(3): 227-232.
37. Rosangela J, LisianeF, Valeria P, Claudio D, Ana Paula O, Jose O. The use of ultrasound in the extraction of Ilex paraguariensis leaves: a comparison with maceration. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2007; 14: 6-12.
38. Kongkiatpaiboon S, Gritsanapan W. Optimized extraction for high yield of insecticidal didehydrostemofoline alkaloid in Stemona collinsiae root extracts. *Industrial Crops and Products*. 2013; 41: 371-374.
39. Wu Z, Li H, Wang Y, Yang D, Tan H, Zhan Y, Yang Y, Luo Y, Chen G. Optimization extraction, structural features and antitumor activity of polysaccharides from Z. jujuba cv. Ruoqiangzao seeds. *International journal of biological macromolecules*. 2019; 135: 1151-1161.
40. Dias AL, Sergio CS, Santos P, Barbero GF, Rezende CA, Martínez J. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from dedo de moça pepper (Capsicum baccatum L.): Effects on the vegetable matrix and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*. 2017; 198: 36-44.
41. Wang J, Sun B, Cao Y, Tian Y, Li X. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 2008; 106(2): 804-810.

42. Zemouri-Alioui S, Louaileche H, George B. Effects of ultrasound-assisted extraction conditions on the recovery of phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of jujube (Ziziphus jujuba mill.) leaves. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. *Fascicle VI-Food Technology*. 2018; 42(1): 96-108.

استناد به این مقاله

خوشدونی فراهانی، زهرا؛ موسوی، محمدعلی (۱۴۰۰). تاثیر شرایط عصاره‌گیری با روش‌های اولتراسونیک و خیساندن، بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و بازده استخراج میوه عناب (*Ziziphus spp.*). *بیولوژی کاربردی*، دوره ۱۱، شماره ۴۱، ص ۲۳-۴۰.