

تاثیر پیش تیمار اولتراسونیک بر قدرت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک عصاره برنج قهوه‌ای و سفید حاصل از وارسته سرخه لنجان

کیانا پورمحمدی^a، الهه عابدی^{a*}، محسن خالقان^b، محمدرضا محمودی^c

^aاستادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه فسا، فارس، ایران

^bدانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^cاستادیار گروه آمار، دانشگاه فسا، فارس، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۷/۰۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۲/۰۷

۷۵

چکیده

مقدمه: برنج قهوه‌ای از نظر ویژگی‌های تغذیه‌ای و ترکیبات فنولیک در مقایسه با برنج سفید، مفیدتر می‌باشد. به کارگیری پیش تیمار فراصوت روش موثری می‌باشد که علاوه بر صرف زمان کمتر، راندمان عمل و سرعت فرآیند استخراج را افزایش داده و مصرف حلال را کاهش می‌دهد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، میزان فنل تام، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (با استفاده از ظرفیت مهارکنندگی DPPH) دو عصاره برنج سفید و قهوه‌ای با استفاده از حلال‌های مختلف (آب، متانول ۱۰۰٪، اتانول ۵۰٪، اتانول ۵۰٪، اتانول ۵۰٪-آب ۵۰٪ و متانول ۵۰٪-آب ۵۰٪) و دو روش استخراج معمولی و فراصوت اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بیشترین میزان فلاونوئید (۱۶۲ mg Gallic acid/ kg)، پلی فنل (۱۴۲/۵ mg quercetin / kg) و قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH (۷۶/۴٪) مربوط به برنج قهوه‌ای در شرایط استخراج توسط فراصوت و حلال متانول-اتانول بود. از آزمون کولموگروف اسمیرنوف به منظور بررسی نرمال بودن متغیرهای پژوهش استفاده شد. تمام اثرات اصلی شامل (روش استخراج، نوع برنج و حلال مورد استفاده برای استخراج) و تمام اثرات متقابل (روش استخراج × نوع برنج، روش مورد استفاده برای استخراج × حلال مورد استفاده برای استخراج، نوع برنج × روش استخراج × نوع برنج × حلال مورد استفاده برای استخراج) تاثیر معناداری بر میزان پلی فنل، فلاونوئیدها و قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH دارند ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج کلی این تحقیق نشان داد که تحت شرایط یکسان استخراج توسط حلال‌های مختلف، میزان محتوی فنول تام و فلاونوئیدی برنج قهوه‌ای بیش از برنج سفید بود و روش فراصوت بسیار موثرتر از سوکسله به منظور فرآیند استخراج ارزیابی شد.

واژه‌های کلیدی: برنج سفید، برنج قهوه‌ای، ترکیبات فنولیک، پیش تیمار فراصوت

مقدمه

غلات کامل، از اندوسپرم، جوانه و سبوس تشکیل شده‌اند که اندوسپرم حدود ۸۰٪ از کل دانه را تشکیل می‌دهد. مطالعات نشان داده است که غلات سبوس‌دار حاوی سطوح بالاتری از ترکیبات فعال زیستی نسبت به غلات سبوس‌گیری شده می‌باشند و همچنین مصرف منظم غلات سبوس‌دار میزان بروز بیماری‌های مزمن و سرطان دستگاه گوارش را بطور قابل توجهی کاهش می‌دهند. مکانیسم مسئول این ویژگی ممکن است مربوط به مهار رادیکال‌های آزاد توسط ترکیبات فعال زیستی در غلات سبوس‌دار باشد (Zamani et al., 2007). ترکیبات فعال زیستی در غلات کامل شامل فنولیک اسیدها و فلاونوئیدها می‌باشند. فنولیک اسیدهای عمده شامل فرولیک، وانیلیک، کافیک و کوماریک اسید و فلاونوئیدهای عمده شامل فلاونولها، فلاوانها و فلاونها می‌باشند. این ترکیبات ضداکسایشی نقش مهمی در حفاظت بافتها در مقابل اکسیدکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند، به طوری که از بروز بیماری‌های متعددی از جمله بیماری‌های التهابی، سرطان، دیابت، سکته قلبی، آلزایمر و پارکینسون جلوگیری می‌نمایند (Kermani et al., 2008). از طرف دیگر برخی مطالعات نیز حاکی از آن است که انواع مواد ضداکسایشی سنتزی باعث ایجاد تومور در قسمت‌های مختلف بدن، جهش‌های ژنتیکی و آثاری از این قبیل می‌گردند. از این رو، دامنه‌ی کاربرد انواع مواد ضد اکسایشی سنتزی (مصنوعی) روز به روز محدودتر و لزوم یافتن منابع طبیعی غنی از این مواد افزودنی بیش از پیش حس می‌گردد. گیاهان حاوی انواع ضداکسایندهای طبیعی همچون ویتامین‌ها (A, E و C)، پلی‌فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و کارتنوئیدها هستند، که قادر به واکنش با انواع رادیکال‌های آزاد و تاخیر در وقوع بیماری‌ها می‌باشند (Sabouri et al., 2012).

برنج یکی از غلاتی است که در دو نوع سبوس‌دار و سبوس‌گیری شده در بازار وجود دارد و از مهمترین غذاهای اصلی در جهان است که در حدود دو سوم جمعیت جهان از این غله استفاده می‌کنند (Zamani et al., 2007). برنج به دو نوع برنج سفید و قهوه‌ای تقسیم‌بندی می‌شود و این

تقسیم‌بندی مربوط به وجود پوشش روی آن می‌باشد. برنجی را که پوسته آن جدا شده و تنها دارای سبوس باشد را با نام برنج قهوه‌ای می‌شناسند. برنج قهوه‌ای شامل پریکارپ (حدود ۲٪)، پوشش هسته، اپیدرم و لایه آلورون (حدود ۵٪)، جوانه (۲-۳٪) و اندوسپرم (۸۹-۹۴٪) است. همانند سایر غلات، لایه آلورون خارجی‌ترین لایه اندوسپرم می‌باشد که در طی فرایند آسیاب سایشی (شالیکوبی) به همراه پریکارپ و پوشش هسته از برنج قهوه‌ای جدا می‌شود و آنچه حاصل می‌شود، برنج سفید است (Kermani et al., 2008). برنج قهوه‌ای در مقایسه با برنج سفید دارای میزان بیشتری پروتئین، چربی، فیبر، املاح معدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد، به همین دلیل در سال‌های اخیر مصرف آن افزایش یافته است. جدول ۱ مقایسه ترکیبات برنج سفید و قهوه‌ای را نشان می‌دهد (Kermani et al., 2008). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در مواد غذایی و اندازه‌گیری آن می‌تواند روشی برای پیش‌بینی پتانسیل ماده غذایی در پیشگیری از بیماری‌های مختلف و فعالیت ضداکسایشی باشد (Mohammadi et al., 2015). در ایران سه دسته برنج گروه صدری، چمپا و گرده وجود دارد. برنج گروه صدری مرغوبترین برنج محسوب می‌شود و دارای ارزش تجاری، خصوصیات عطر و پخت بالایی می‌باشد، برنج گروه چمپا دارای عملکرد بالاتری نسبت به گروه صدری هستند اما از لحاظ عطر و پخت در مرتبه پایین‌تری نسبت به گروه صدری قرار دارند. برنج گروه گرده به نسبت دو گروه قبل دارای عملکرد بالاتری بوده اما به لحاظ ارزش تجاری، خصوصیات پخت و عطر دارای رتبه کمتری است. برنج لنجان یکی از انواع برنج‌های ایران است که در خطه لنجان کشت می‌شود. این خطه از لحاظ کشاورزی مهم‌ترین تولیدکننده برنج در استان اصفهان به شمار می‌آید. این برنج از نوع چمپا و خوش‌بو و خوش طعم است. امروزه تولید این نوع برنج کمتر شده و در همان منطقه و شهرستان اصفهان مصرف می‌شود.

با توجه به این که روش‌های سنتی استخراج ترکیبات زیست فعال چون اسانس و عصاره‌ها مانند روش غرقابی^۱ و سوکسله^۲ نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیادی

¹ Soxhlet² Submerged

۱۰۰٪، اتانول ۵۰٪- آب ۵۰٪، متانول ۱۰۰٪، متانول ۵۰٪- آب ۵۰٪ و اتانول ۵۰٪ - ۵۰٪ متانول) بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک عصاره برنج قهوه‌ای و سفید واریته سرخه‌ی لنجان می‌باشد که تاکنون پژوهشی در ارتباط با واریته لنجان که برنج بومی استان اصفهان می‌باشد، انجام نشده است. به منظور بررسی هر کدام از متغیرها از دو نوع مقایسه آماری دانکن و تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیره سه طرفه استفاده شد.

مواد و روش‌ها

- تهیه و آماده سازی نمونه

دانه‌های برنج سفید و قهوه‌ای واریته لنجان توسط آسیاب الکتریکی (Kenwood, Iran) آسیاب و تا زمان انجام آزمایشات در دمای فریز نگهداری شدند. برنج‌های آسیاب شده از الک با مش ۲۰ عبور داده شدند و سپس با حلال اتانول ۱۰۰٪، متانول ۱۰۰٪، اتانول ۵۰٪- آب ۵۰٪، متانول ۵۰٪- آب ۵۰٪، اتانول ۵۰٪- متانول ۵۰٪، به نسبت ۱ به ۵ مخلوط گردیده و در دستگاه سوکسله قرار گرفت و سپس توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. برای اعمال تیمار فراصوت از حمام فراصوت (25 kHz, 400 W, Pacisa SA, Spain) استفاده شد. در روش ترکیبی حلال- فراصوت نسبت وزنی حلال به برنج ۵ به ۱، در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و تحت تاثیر امواج فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و عمل استخراج صورت گرفت. سپس عصاره‌های بدست آمده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردیدند. برای تبخیر حلال از آن تحت خلا استفاده می‌شود (Kamazani et al., 2017; Khajeh nouri et al., 2014).

- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک

مقدار کل ترکیبات فنولیک موجود در عصاره نمونه‌ها توسط فولین-سیوکالتو به روش رنگ‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با ۱ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتو ۱۰ بار رقیق شده و ۰/۸ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد به خوبی مخلوط شد و لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام

داشته، همچنین از لحاظ دمایی ایمن نبوده و سبب تجزیه تعدادی از ترکیبات موجود می‌شود (Mardani et al., 2013)، بنابراین نیاز به روش‌های استخراج جدید با صرف زمان کوتاه‌تر، مصرف حلال آلی و ایجاد آلودگی کمتر، افزایش یافته است. به کارگیری پیش تیمارهایی چون فراصوت^۱ روش موثری برای استخراج ترکیب‌های موثره از بافتهای گیاهی می‌باشند که اخیرا مورد توجه قرار گرفته‌اند (Kamazani et al., 2017; Karimi et al., 2011).

جدول ۱- مقایسه ارزش تغذیه‌ای برنج سفید و برنج قهوه‌ای

ارزش تغذیه‌ای	برنج سفید	برنج قهوه‌ای
کالری	۲۶۶	۲۱۸
پروتئین (گرم)	۵	۵/۴
کربوهیدرات (گرم)	۵۸/۶	۴۵/۸
فیبر (گرم)	۰/۵	۳/۵
چربی (گرم)	۰/۴	۱/۶
اسید های چرب غیر اشباع (گرم)	۰/۱	۰/۶
کلسترول (میلی گرم)	۰	۰

مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون^۲ مربوط می‌شود که طی آن حباب‌های بسیار ریزی در مایع تشکیل شده، به سرعت تا اندازه‌ی بحرانی رشد می‌کنند و منفجر می‌گردند. از اینرو، استفاده از این امواج در استخراج ترکیبات مختلف از بافتهای گیاهی، راندمان عمل و سرعت فرآیند استخراج را افزایش داده و مصرف حلال را کاهش می‌دهد. از جمله مزایای این روش می‌توان به افزایش کارایی فرآیند و سرعت عمل اشاره نمود. در مقایسه با سایر روش‌های استخراج استفاده از امواج فراصوت ارزان‌تر بوده و کاربرد آن ساده‌تر است. اولتراسوند می‌تواند دمای عملیاتی را کاهش دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد. استخراج به کمک اولتراسوند مشابه استخراج با سوکسله می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه‌ی وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود (Kamazani et al., 2017; Karimi et al., 2011).

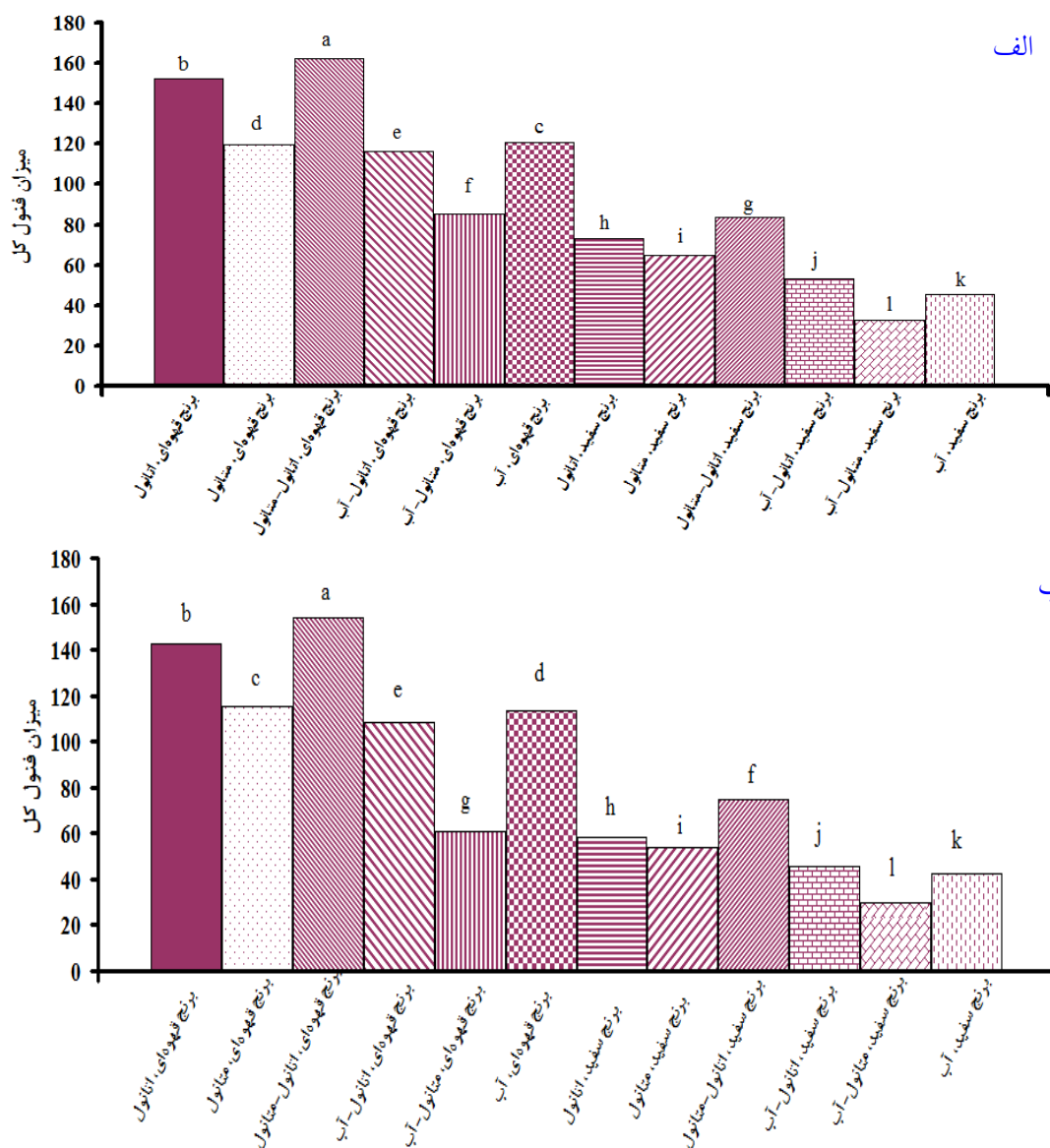
هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر پیش تیمار اولتراسونیک در شرایط حلال‌های مختلف (آب، اتانول

¹ Ultrasonic

² Cavitation

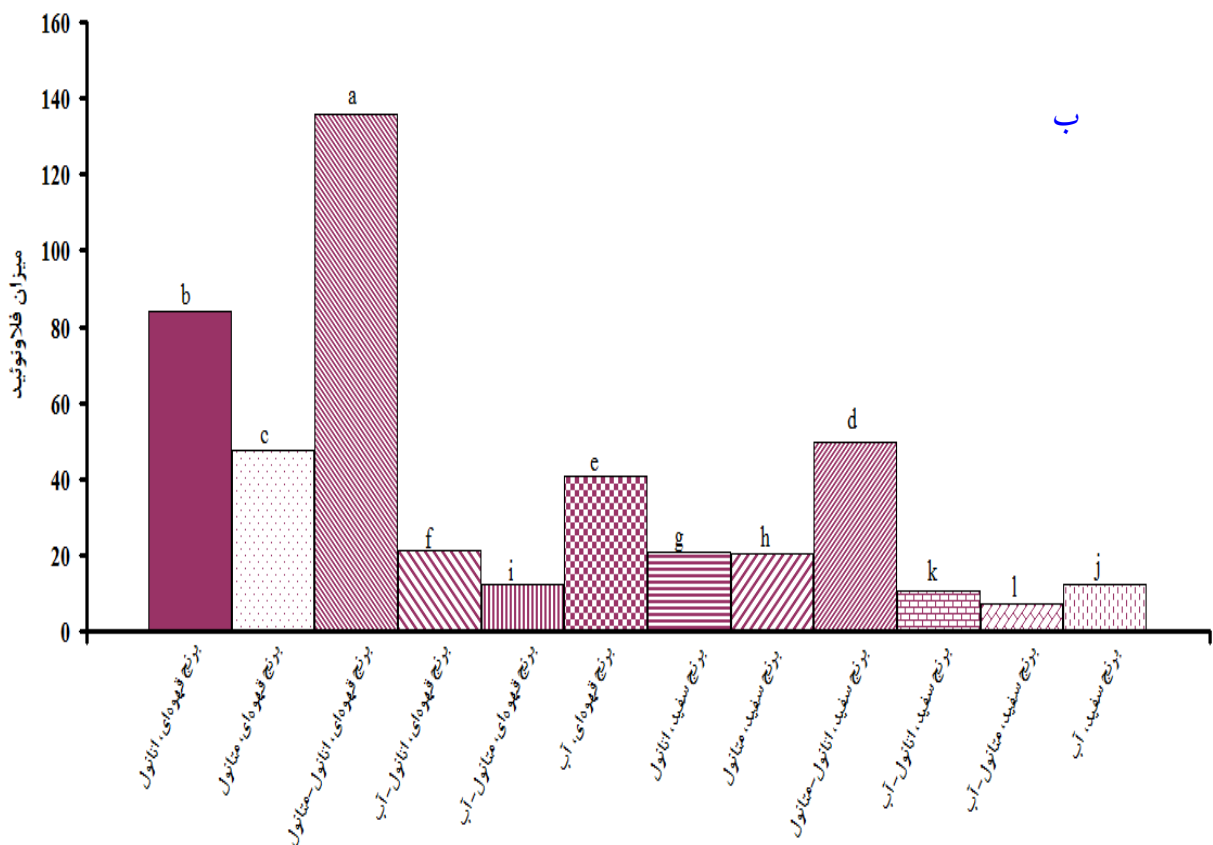
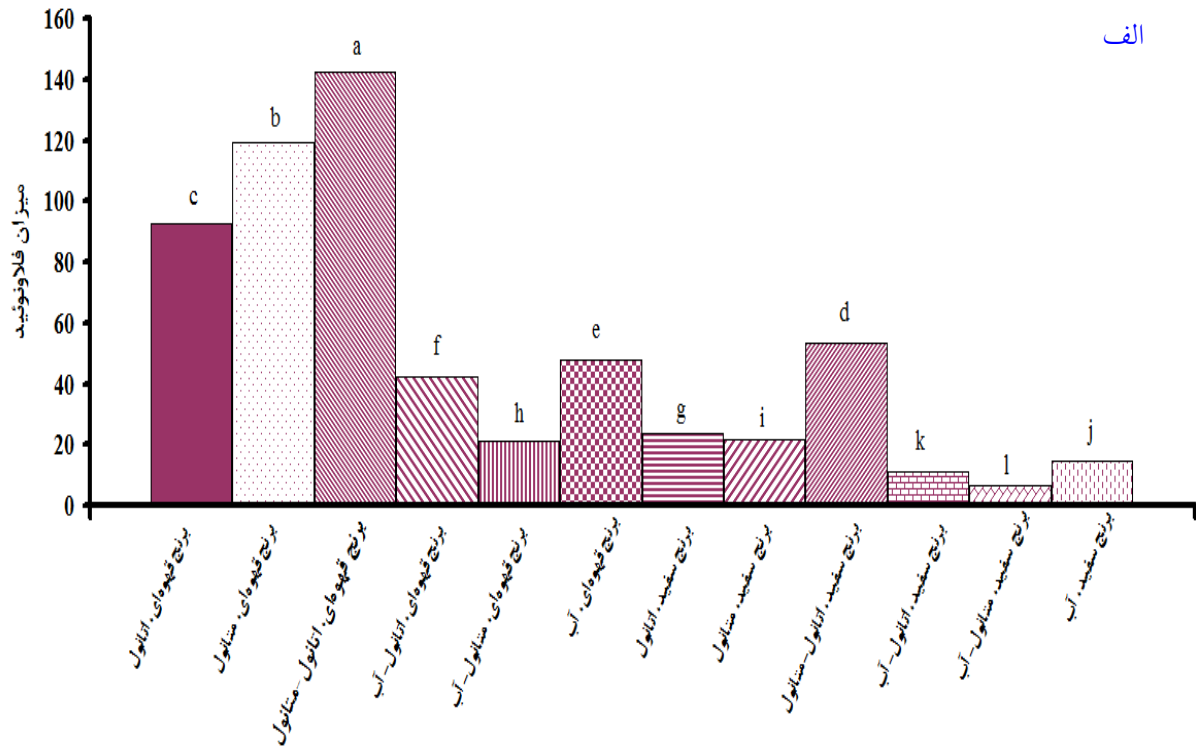
ترکیبات فلاونوئیدی در برنج سفید ($53/38 \pm 0/03$) و برنج قهوه‌ای ($142/56 \pm 0/07$) استخراج شده مربوط به ترکیب حلال اتانول-متانول و تحت شرایط استخراج با فراصوت بود. روند تاثیر حلال‌های مختلف بر میزان استخراج ترکیبات فنول کل و فلاونوئیدها به ترتیب به صورت اتانول < متانول < آب بودند (جدول ۲). میزان ترکیبات فنولی برنج قهوه‌ای با تفاوت معناداری ($p < 0.05$)، بسیار بیشتر از میزان فنول کل استخراج شده از برنج سفید بود که در جدول ۳ به ذکر تمامی مقادیر از انواع حلال و روش استخراج اشاره گردیده است.

متانول ۵۰٪ و متانول ۵۰٪-آب ۵۰٪) را بر میزان ترکیبات فنولی کل، فلاونوئیدها و خاصیت ضد اکسایشی (DPPH) دو رقم برنج سفید و قهوه‌ای نشان می‌دهند. همانطور که در نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، بین برنج سفید و قهوه‌ای تفاوت معناداری ($P < 0.05$) در میزان فنول کل (بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در کیلوگرم نمونه) و فلاونوئید (بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در کیلوگرم نمونه) استخراج شده تحت شرایط فراصوت و سوکسله مشاهده می‌شود. بین میزان استخراج ترکیبات توسط حلال‌های مختلف تفاوت معنادار وجود داشت ($p < 0.05$). بالاترین میزان فنول کل در هر دو نوع برنج سفید ($83/75 \pm 0/06$) و قهوه‌ای ($162/21 \pm 0/12$) و



تأثیر اولتراسونیک بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک عصاره برنج قهوه ای و سفید

نمودار ۱- میزان فنول (میلی گرم معادل گالیک اسید در کیلوگرم نمونه) کل برنج سفید و قهوه‌ای استخراج شده توسط (الف) فراصوت، (ب) سوکسله تحت شرایط حلال‌های مختلف



نمودار ۲- میزان فلاونوئید (بر حسب میلی گرم کونرستین در کیلوگرم نمونه) برنج سفید و قهوه‌ای استخراج شده توسط (الف) فراصوت، (ب) سوکسله تحت شرایط حلال‌های مختلف

جدول ۲ - نتایج آزمون دانکن جهت مقایسه تاثیرات حلال‌های مختلف روی پلی‌فنل، فلاونوئید و DPPH

PolyPhenols		Flavonoides		DPPH		حلال
Mean	Group	Mean	Group	Mean	Group	
152.59	22	92.47	22	23.01	11	فراصوت، برنج قهوه ای، اتانول
119.36	19	57.74	20	50.10	18	فراصوت، برنج قهوه ای، متانول
120.65	20	47.52	16	34.29	14	فراصوت، برنج قهوه ای، آب
162.22	24	142.56	24	44.22	16	فراصوت، برنج قهوه ای، اتانول - متانول
116.45	18	42.38	15	70.36	20	فراصوت، برنج قهوه ای، اتانول - آب
85.24	14	21.05	10	80.39	22	فراصوت، برنج قهوه ای، متانول - آب
73.10	11	23.39	13	2.90	2	فراصوت، برنج سفید، اتانول
64.96	10	21.58	12	5.89	4	فراصوت، برنج سفید، متانول
45.08	4	14.42	7	7.21	5	فراصوت، برنج سفید، آب
83.75	13	53.39	19	24.32	12	فراصوت، برنج سفید، اتانول - متانول
53.27	6	11.15	4	5.86	4	فراصوت، برنج سفید، اتانول - آب
32.77	2	6.47	1	2.96	2	فراصوت، برنج سفید، متانول - آب
142.88	21	83.87	21	62.77	19	سوکسله، برنج قهوه ای، اتانول
115.45	17	47.73	17	44.30	17	سوکسله، برنج قهوه ای، متانول
113.67	16	40.87	14	35.47	15	سوکسله، برنج قهوه ای، آب
153.84	23	135.96	23	76.45	21	سوکسله، برنج قهوه ای، اتانول - متانول
108.34	15	21.38	11	32.73	13	سوکسله، برنج قهوه ای، اتانول - آب
60.64	9	12.10	5	18.75	10	سوکسله، برنج قهوه ای، متانول - آب
58.03	8	20.70	9	11.21	7	سوکسله، برنج سفید، اتانول
53.94	7	20.24	8	7.93	6	سوکسله، برنج سفید، متانول
42.56	3	12.41	6	4.57	3	سوکسله، برنج سفید، آب
74.65	12	49.63	18	18.37	9	سوکسله، برنج سفید، اتانول - متانول
45.55	5	10.67	3	16.55	8	سوکسله، برنج سفید، اتانول - آب
29.73	1	7.02	2	2.68	1	سوکسله، برنج سفید، متانول - آب

ظرفیت گیرندگی رادیکال آزاد عصاره برنج سفید و قهوه‌ای در حلال‌های مختلف متانول ۱۰۰٪، اتانول ۱۰۰٪، آب ۵۰٪-متانول ۵۰٪ و آب ۵۰٪-اتانول ۵۰٪-متانول ۵۰٪ توسط سوکسله و فراصوت در نمودار ۳ نشان داده شده است. بالا بودن ترکیبات فنولی در برنج قهوه‌ای نسبت به سفید و در عصاره‌های غیرقطبی‌تر مانند مخلوط اتانول-متانول و نیز روش استخراج فراصوت نسبت به سوکسله باعث گردیده که میزان اثر بازدارندگی رادیکال DPPH این مجموعه (برنج قهوه‌ای در شرایط استخراج با اتانول، متانول توسط فراصوت) بیش از آنتی-اکسیدان‌های سنتزی چون BHA، BHT و TBHQ باشد.

- تاثیر نوع روش (پیش تیمار فراصوت) در استخراج ترکیبات مختلف

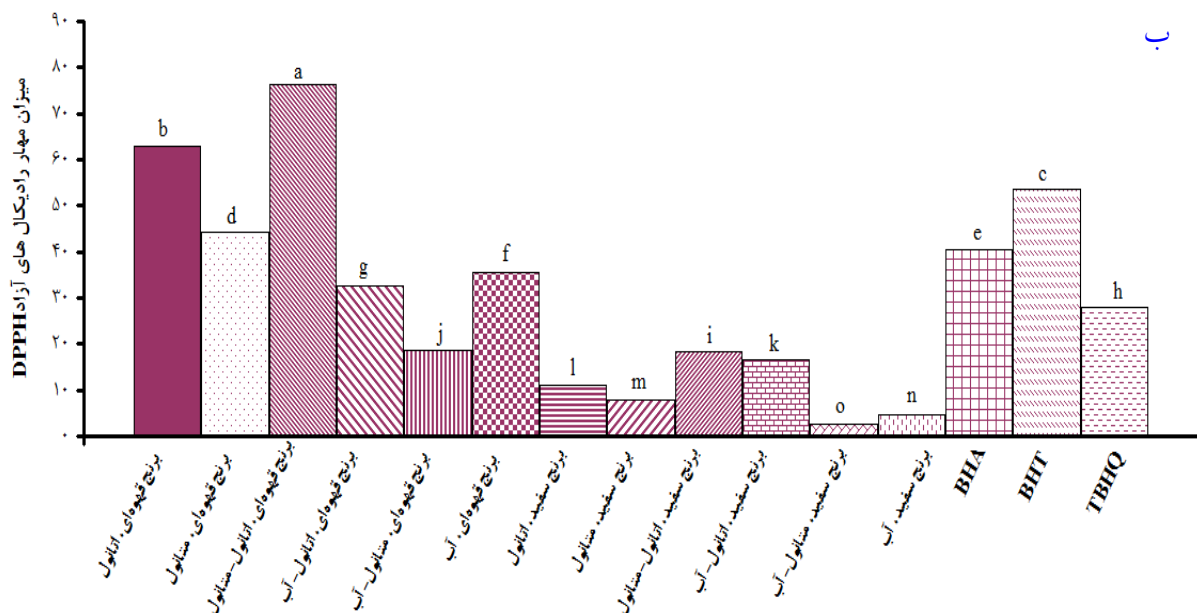
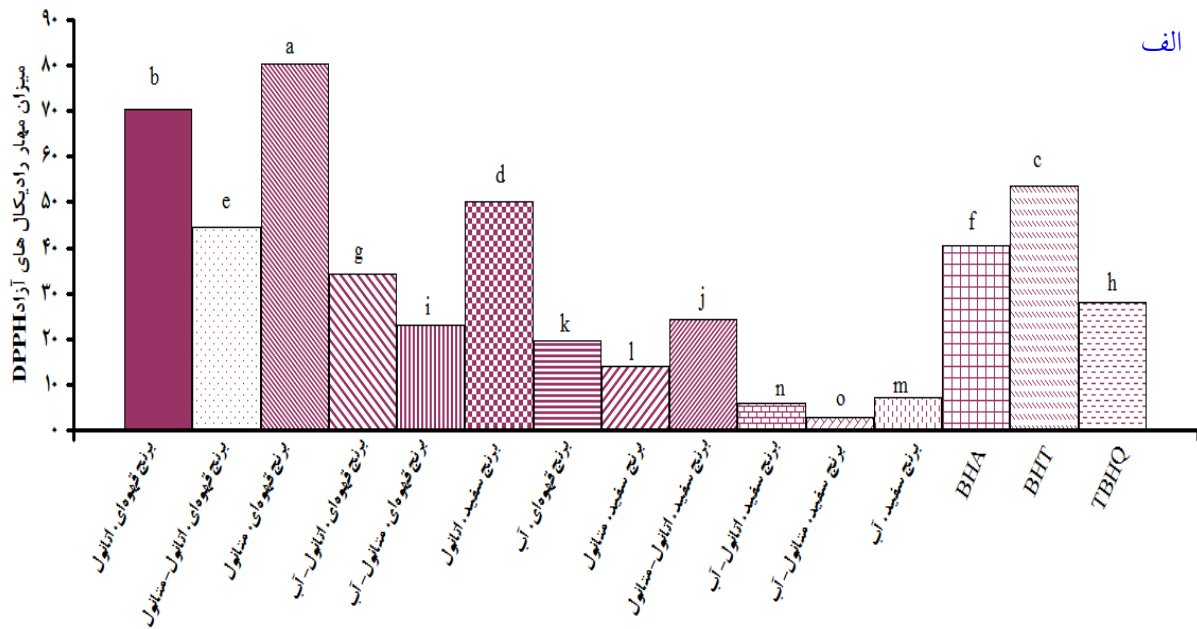
با مقایسه دو روش استخراج سوکسله و فراصوت، همانطور که از نمودارهای ۱ و ۲ دیده می‌شود، میزان ترکیبات فنولی استخراج شده در هر دو نوع برنج سفید و قهوه‌ای توسط مختلف حلال، استخراج توسط فراصوت بسیار موثرتر از سوکسله عمل می‌کند.

- ارزیابی فعالیت ضداکسایشی عصاره حاصل از برنج سفید و قهوه‌ای توسط آزمون DPPH°

تأثیر اولتراسونیک بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک عصاره برنج قهوه ای و سفید

در این تحقیق نخست از آزمون کولموگروف اسمیرنوف به منظور بررسی نرمال بودن متغیرهای پژوهش روش استخراج (سوکسله و فراصوت)، حلال‌های استخراج (آب، متانول و اتانول و تلفیق آن‌ها) و نوع برنج (سفید و قهوه‌ای) استفاده شد. نتایج نشان داد که تمام متغیرهای پژوهش از توزیع نرمال پیروی می‌کنند ($P > 0.05$). بنابراین برای تجزیه و تحلیل آماری از روش‌های پارامتری استفاده گردید. به منظور بررسی اثرات روش استخراج، حلال مورد

استخراج و نمونه برنج بر میزان پلی فنل تام، فلاونوئید و DPPH، تجزیه و تحلیل واریانس چند متغیره سه طرفه به کار برده شد. چنانچه در جدول‌های ۴ و ۵ مشاهده می‌شود، تمام اثرات اصلی (روش، نوع برنج و حلال) و تمام اثرات متقابل (روش × نوع برنج، حلال × نوع برنج، روش × حلال، روش × حلال × نوع برنج) تاثیر معناداری بر میزان پلی فنل تام، فلاونوئید و DPPH دارا بودند ($P < 0.05$).



نمودار ۳- درصد مهار رادیکال‌های DPPH برنج سفید و قهوه‌ای استخراج شده توسط الف) فراصوت، ب) سوکسله تحت شرایط حلال‌های مختلف

جدول ۳- تاثیر روش استخراج و نوع حلال بر میزان ترکیبات فنولی کل، فلاونوئید و DPPH در برنج سفید و قهوه‌ای

DPPH (%)		میزان فلاونوئید (بر حسب میلی گرم کوئرستین در کیلوگرم نمونه)		میزان فنول کل (میلی گرم معادل گالیک اسید در کیلوگرم نمونه)								
برنج قهوه‌ای	برنج سفید	برنج قهوه‌ای	برنج سفید	برنج قهوه‌ای	برنج سفید							
سوکسه	فراصوت	سوکسه	فراصوت	سوکسه	فراصوت							
۶۷/۷۵±/۰.۳ ^{BB}	۷۰/۳۷±/۰.۵ ^{AA}	۱۱/۲۰±/۰.۳ ^{DD}	۱۹/۶۷±/۰.۳ ^{CC}	۸۲/۸۶±/۰.۵ ^{BB}	۹۷/۶۶±/۱.۷ ^{BB}	۲۰/۱۷±/۰.۲ ^{BB}	۲۳/۷۸±/۰.۳ ^{BB}	۱۴۳/۸۷±/۰.۵ ^{BB}	۱۵۴/۵۸±/۰.۷۵ ^{BB}	۵۸/۰۳±/۰.۵ ^{BB}	۷۳/۰۹±/۰.۷ ^{BB}	۱۰۰ اتانول
۴۴/۲۰±/۰.۳ ^{AA}	۴۴/۱۷±/۰.۸ ^{AA}	۷/۹۷±/۰.۳ ^{DD}	۱۴/۰۹±/۰.۳ ^{CC}	۴۷/۷۶±/۰.۲ ^{CC}	۵۷/۷۳±/۰.۳ ^{CC}	۲۰/۲۴±/۰.۲ ^{CC}	۲۱/۵۷±/۰.۶ ^{CC}	۱۱۵/۴۵±/۰.۳ ^{CC}	۱۲۰/۶۵±/۱.۵ ^{CC}	۵۳/۹۴±/۰.۳ ^{CC}	۶۴/۹۵±/۰.۳ ^{CC}	۱۰۰ متانول
۲۵/۳۷±/۰.۵ ^{BB}	۸۰/۴۵±/۰.۶ ^{AA}	۴/۵۶±/۰.۱ ^{DD}	۳۴/۲۹±/۰.۵ ^{CC}	۱۷/۰۹±/۰.۲ ^{BB}	۲۱/۰۴±/۰.۳ ^{FF}	۷۱/۰۷±/۰.۴ ^{FF}	۶/۴۶±/۰.۳ ^{FF}	۶۰/۶۳±/۰.۳ ^{FF}	۸۵/۲۴±/۰.۳ ^{FF}	۴۷/۵۶±/۰.۳ ^{FF}	۳۳/۷۶±/۰.۳ ^{FF}	۱۰۰ آب
۳۳/۱۶±/۰.۵ ^{BB}	۷۶/۴۳±/۰.۶ ^{AA}	۵/۸۸±/۰.۲ ^{DD}	۱۸/۶۶±/۰.۳ ^{CC}	۱۳/۵۹±/۰.۲ ^{BB}	۱۴۲/۵۶±/۰.۳ ^{AA}	۴۹/۶۳±/۰.۳ ^{AA}	۵۳/۷۸±/۰.۳ ^{AA}	۱۵۳/۸۳±/۰.۳ ^{AA}	۱۶۲/۲۱±/۱.۷ ^{AA}	۷۴/۶۶±/۰.۵ ^{AA}	۸۳/۷۵±/۰.۶ ^{AA}	۵۰ اتانول
۳۳/۰۷±/۰.۵ ^{BB}	۳۳/۷۷±/۰.۳ ^{AA}	۱۶/۴۵±/۰.۳ ^{CC}	۷/۹۳±/۰.۲ ^{DD}	۲۱/۷۸±/۰.۲ ^{BB}	۴۷/۵۳±/۱.۳ ^{DD}	۱۷/۲۰±/۰.۲ ^{DD}	۱۴/۴۱±/۰.۸ ^{DD}	۱۱۲/۶۶±/۰.۵ ^{DD}	۱۱۹/۳۶±/۱.۳ ^{DD}	۴۵/۵۳±/۰.۲ ^{DD}	۵۳/۳۷±/۰.۵ ^{DD}	۵۰-آب-۵۰ اتانول
۱۷/۹۴±/۰.۵ ^{BB}	۱۸/۷۵±/۰.۳ ^{AA}	۷/۲۳±/۰.۳ ^{DD}	۷/۶۷±/۰.۳ ^{CC}	۴۰/۸۷±/۰.۲ ^{DD}	۴۲/۳۷±/۰.۵ ^{EE}	۱۰/۶۷±/۰.۵ ^{EE}	۱۱/۸۵±/۰.۳ ^{EE}	۱۰۸/۳۴±/۰.۳ ^{EE}	۱۱۶/۲۴±/۰.۹ ^{EE}	۴۹/۷۳±/۰.۳ ^{EE}	۴۵/۰۸±/۰.۴ ^{EE}	۵۰-آب-۵۰ متانول

* حروف معنای کوچک و بزرگ نشان دهنده تفاوت معنادار در سطر و ستون می باشد (p<۰/۰۵).

** اعداد میانی سه تکرار می باشد.

جدول ۴- آزمون چند متغیره جهت بررسی بین تاثیرات متغیرهای مستقل بر پاسخها (همزمانی)

P	Error df	Hypothesis df	F	Value	Effect
<.001	46.000	3.000	87590.742	1.000	Pillai's Trace
<.001	46.000	3.000	87590.742	.000	Wilks' Lambda
<.001	46.000	3.000	87590.742	5712.440	Hotelling's Trace
<.001	46.000	3.000	87590.742	5712.440	Roy's Largest Root
<.001	46.000	3.000	7760144.959	1.000	Pillai's Trace
<.001	46.000	3.000	7760144.959	.000	Wilks' Lambda
<.001	46.000	3.000	7760144.959	506096.410	Hotelling's Trace
<.001	46.000	3.000	7760144.959	506096.410	Roy's Largest Root
<.001	144.000	15.000	195320.909	3.000	Pillai's Trace
<.001	127.387	15.000	836685.221	.000	Wilks' Lambda
<.001	134.000	15.000	928148.552	311691.678	Hotelling's Trace
<.001	48.000	5.000	2692075.933	280424.576	Roy's Largest Root
<.001	46.000	3.000	55423.647	1.000	Pillai's Trace
<.001	46.000	3.000	55423.647	.000	Wilks' Lambda
<.001	46.000	3.000	55423.647	3614.586	Hotelling's Trace
<.001	46.000	3.000	55423.647	3614.586	Roy's Largest Root
<.001	144.000	15.000	5787.671	2.995	Pillai's Trace
<.001	127.387	15.000	39063.727	.000	Wilks' Lambda
<.001	134.000	15.000	158158.889	53113.060	Hotelling's Trace
<.001	48.000	5.000	498068.802	51882.167	Roy's Largest Root
<.001	144.000	15.000	12637.332	2.998	Pillai's Trace
<.001	127.387	15.000	112595.077	.000	Wilks' Lambda
<.001	134.000	15.000	228013.168	76571.586	Hotelling's Trace
<.001	48.000	5.000	659137.238	68660.129	Roy's Largest Root
<.001	144.000	15.000	1828.212	2.984	Pillai's Trace
<.001	127.387	15.000	29843.251	.000	Wilks' Lambda
<.001	134.000	15.000	176528.172	59281.849	Hotelling's Trace
<.001	48.000	5.000	553088.181	57613.352	Roy's Largest Root

جدول ۵- آزمون چند متغیره جهت بررسی متغیرهای مستقل بر پاسخها (جدا از هم)

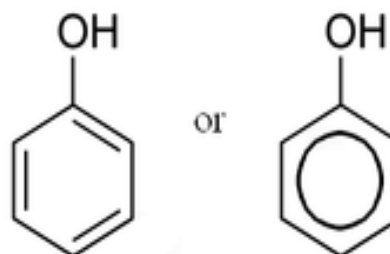
p	F	Mean Square	df	Type III Sum of Squares	Dependent Variable	Source
<.001	708912.756	5065.772	23	116512.765 ^a	PolyPhenol	Corrected Model
<.001	1032880.410	4335.769	23	99722.677 ^b	Flavonoides	
<.001	801095.050	1841.373	23	42351.570 ^c	DPPH	
<.001	212280.568	1516.922	1	1516.922	PolyPhenol	روش استخراج
<.001	152391.331	639.700	1	639.700	Flavonoides	
<.001	21208.663	48.750	1	48.750	DPPH	
<.001	11026738.697	78795.237	1	78795.237	PolyPhenol	نوع برنج
<.001	7283796.623	30575.521	1	30575.521	Flavonoides	
<.001	11628500.722	26728.916	1	26728.916	DPPH	
<.001	900532.558	6435.056	5	32175.278	PolyPhenol	نوع حلال
<.001	2610832.936	10959.611	5	54798.055	Flavonoides	
<.001	257057.131	590.864	5	2954.318	DPPH	
<.001	3062.109	21.881	1	21.881	PolyPhenol	روش استخراج × نوع برنج
<.001	80843.683	339.361	1	339.361	Flavonoides	
<.001	105555.830	242.627	1	242.627	DPPH	
<.001	4721.556	33.739	5	168.697	PolyPhenol	روش استخراج × نوع حلال
<.001	4201.667	17.638	5	88.188	Flavonoides	
<.001	490273.358	1126.927	5	5634.637	DPPH	
<.001	96082.496	686.590	5	3432.948	PolyPhenol	نوع برنج × نوع حلال
<.001	625705.595	2626.553	5	13132.763	Flavonoides	
<.001	45016.682	103.474	5	517.370	DPPH	
<.001	11245.795	80.361	5	401.803	PolyPhenol	روش استخراج × نوع حلال × نوع برنج
<.001	7103.359	29.818	5	149.090	Flavonoides	
<.001	541637.013	1244.990	5	6224.951	DPPH	

بحث

بالاترین میزان ترکیبات فنول کل و فلاونوئیدها در هر دو نوع برنج با هر دو روش استخراج، مربوط به غیر قطبی-ترین حلال یعنی مخلوط اتانول ۵۰٪-متانول ۵۰٪ تعلق داشت. این نتیجه با نتایج حاصل از راکیک و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابق داشت (Rakik et al., 2007). آن‌ها از حلال‌های با قطبیت متفاوت جهت استخراج ترکیبات فنل تام بلوط استفاده نمودند و اتانول بیش از متانول و آب در استخراج ترکیبات فنولی موثر عمل نمود. در تحقیق دیگری توسط ژو و یو در سال ۲۰۰۴ از حلال‌های اتانول، اتانول ۷۰٪، متانول ۷۰٪ و استون ۵۰٪ به منظور استخراج ترکیبات زیست فعال سبوس گندم استفاده شد و نتایج حاکی از بالا بودن ترکیبات استخراج شده توسط حلال اتانول نسبت به بقیه حلال‌ها بود (Zhou et al., 2004). به طور کلی در هر دو نوع برنج سفید و قهوه‌ای و با هر دو روش استخراج (فراصوت و سوکسله) ترتیب استخراج فنول کل به قرار زیر بود: آب > متانول ۵۰٪ اتانول ۵۰٪ متانول ۱۰۰٪ اتانول ۱۰۰٪ اتانول-متانول. این مقادیر برای برنج سفید و قهوه‌ای توسط روش فراصوت به ترتیب آب (۳۲/۷۶±۰/۰۳ و ۸۵/۲۴±۰/۰۴)، متانول ۵۰٪ (۴۵/۰۷±۰/۰۶ و ۱۱۶/۴۴±۰/۰۹)، اتانول ۵۰٪ (۵۳/۲۷±۰/۰۵ و ۱۱۹/۳۶±۰/۰۱۲)، متانول ۱۰۰٪ (۶۴/۹۵±۰/۰۶ و ۱۲۰/۶۵±۰/۰۱۵)، اتانول ۱۰۰٪ (۷۳/۰۹±۰/۰۷ و ۱۵۴/۵۹±۰/۰۲۵) و متانول-اتانول (۸۳/۷۵±۰/۰۶ و ۱۶۲/۲۱±۰/۰۱۲) و برای روش سوکسله به ترتیب برای آب (۴۲/۵۶±۰/۰۴ و ۶۰/۶۳±۰/۰۴)، متانول ۵۰٪ (۲۹/۷۲±۰/۰۳ و ۱۰۸/۳۴±۰/۰۳)، اتانول ۵۰٪ (۴۵/۵۴±۰/۰۴ و ۱۱۳/۶۶±۰/۰۵)، متانول ۱۰۰٪ (۵۳/۹۴±۰/۰۴ و ۱۱۵/۴۵±۰/۰۳)، اتانول ۱۰۰٪ (۵۸/۰۳±۰/۰۵ و ۱۴۲/۸۷±۰/۰۵) و متانول-اتانول (۷۴/۶۴±۰/۰۵ و ۱۵۳/۸۳±۰/۰۴) مشاهده شد. همزمان با وجود بالاترین مقادیر فنل کل، این عصاره بالاترین میزان فلاونوئید را نیز دارا بود. حلال‌های غیرقطبی بیشترین راندمان استخراج ترکیبات فنول کل و فلاونوئیدها را دارا بودند و این نتیجه با نتایج حاصل از Abouzed و همکاران در سال ۲۰۱۴ و نیز Do و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطابقت داشت. Abouzed و همکاران (۲۰۱۴)، از حلال‌های اتانول، متانول و استون برای استخراج ترکیبات پلی فنولی از گندم سبوس استفاده کردند و از آنجا که میزان

نتایج این پژوهش نشان داد که پوسته همه واریته‌های برنج (خصوصاً واریته‌های با رنگ قهوه‌ای)، منبع مناسبی از ترکیبات پلی فنولی بوده که طی فرایند آسیاب کردن خارج نشده است. تفاوت بین برنج قهوه‌ای و سفید تنها در رنگ آن‌ها نیست. دانه کامل برنج دارای چندین لایه می‌باشد. اگر فقط یک لایه خارجی آن را برداریم، آنچه باقی می‌ماند، برنج قهوه‌ای است. در اثر این فرایند، مواد مغذی موجود در برنج، به مقدار خیلی کم از بین می‌روند. حال اگر برنج قهوه‌ای آسیاب شود، مقدار زیادی از لایه‌های دانه برنج به همراه سبوس و مواد مغذی آن از بین می‌روند و آن چه باقی می‌ماند، همان برنج سفید است (Zamani et al., 2007; Sabouri et al., 2012).

در شیمی آلی، ترکیبات فنولی، به ترکیباتی گفته می‌شود که دارای یک گروه هیدروکسیل OH- بوده که به یک گروه هیدروکربن آروماتیک وصل شده است. نمونه‌ای از آن در شکل داده شده است (Kumar et al., 2013).



شکل ۱- ساختار ترکیبات پلی فنولی

بازیافت ترکیبات فنولی در نمونه‌های مختلف به شدت تحت تأثیر قطبیت حلال‌ها و حلالیت ترکیبات در این حلال‌های مورد استفاده برای فرایند استخراج است. حلال‌های با ویسکوزیته و دانسیته پایین به سهولت به داخل بافت سلول نفوذ کرده و ترکیبات زیست فعال را خارج می‌کند. بنابراین انتخاب یک حلال بی نظیر برای استخراج ترکیبات بسیار دشوار می‌باشد (Zelotek et al., 2016). در این تحقیق از ۳ نوع حلال و ترکیب آن‌ها استفاده شده است که شامل آب، اتانول، متانول، آب-اتانول، آب-متانول و اتانول-متانول می‌باشند. ترتیب قطبیت حلال‌های فوق از بیشترین به کمترین به قرار زیر می‌باشد: آب < آب-متانول < آب-اتانول < متانول < اتانول < متانول و اتانول.

تأثیر اولتراسونیک بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک عصاره برنج قهوه ای و سفید

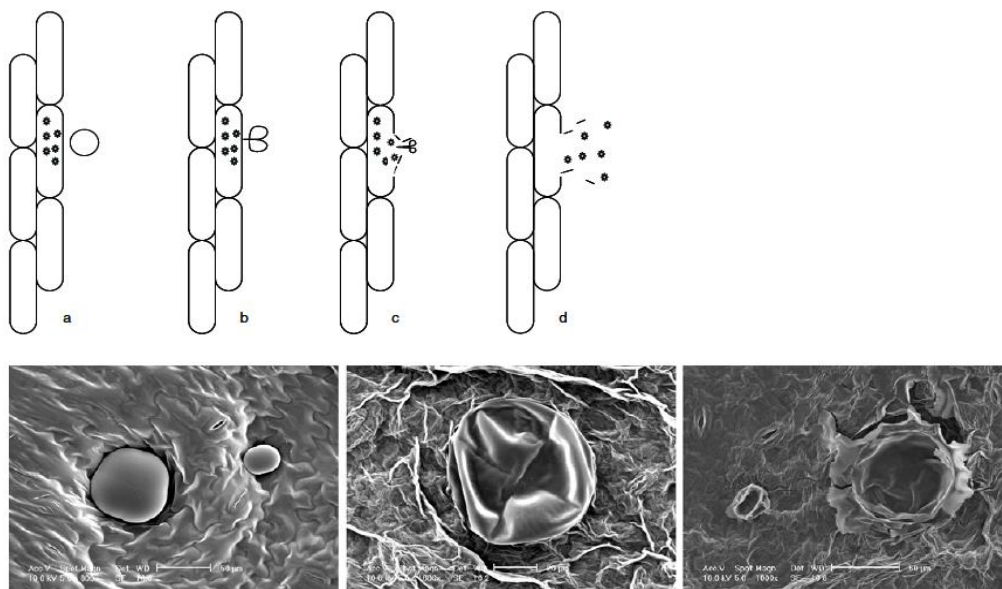
OH^۰ گردیده که به دیواره سلول چسبیده و منجر به سوراخ شدن دیواره سلول خواهند شد. خود فروپاشی سلول‌ها نیز منجر به افزایش دما و فشار موضعی خواهد شد که در از بین رفتن دیواره سلولی موثر خواهد بود (Chandrapala *et al.*, 2012a & 2012b) (شکل ۲). مکانیسم فیزیکی: در طی این مکانیسم، فروپاشی حباب‌ها منجر به ایجاد جریان‌های گردابی با فشار بالا می‌گردند که در نهایت سبب از بین رفتن غشا خواهند شد (Chandrapala *et al.*, 2012a & 2012b) (شکل ۲).

در تحقیقی که توسط تامسون و دورایس‌وامی در سال ۱۹۹۹ انجام شد، استخراج ترکیبات زیست فعال شامل آنتوسیانین‌ها، تارتاریک‌اسید، ترکیبات آروما، پلی‌ساکاریدها و ترکیبات فراسودمند بررسی گردید (Thomson *et al.*, 2009). بهبود استخراج توسط فراصوت مربوط به پخش امواج با فشار در محیط است که باعث ایجاد نیروی برشی بالایی گشته و سبب افزایش انتقال جرم از ماده استخراج شونده می‌شود. انفجار حباب‌های حفره‌زایی باعث ایجاد آشفستگی و اغتشاش بزرگ، برخورد بین ذرات با سرعت بالا و ایجاد آشفستگی درون ذرات با تخلخل‌های خیلی کوچک گشته که در نهایت منجر به تسریع در عملکرد انتشار می‌گردد. به‌علاوه حفره‌زایی نزدیک به فضای بین سطحی جامد- مایع جریان حرکتی سریعی از مایع را به داخل حفرات موجود در سطح می‌فرستد. حفره‌زایی روی سطح نیز منجر به اصابت فواره میکروسکوپی^۱ گشته که در نهایت منجر به لایه‌برداری سطحی، فرسایش و شکست ذرات می‌گردد. این پدیده باعث در معرض قرار دادن سطوح جدید شده و افزایش قابل توجه در انتقال جرم می‌گردد. در واقع فراصوت منجر به انتشار ذرات جامد درون ذرات می‌گردد. اگر سوبسترا جامد باشد، فراصوت منجر به تسریع در تورم و هیدراتاسیون ذرات جامد گشته و در نتیجه سوراخ‌های موجود در دیواره سلولی بزرگ می‌گردد. حفره‌زایی توانایی سوراخ کردن و بزرگ کردن چاهک‌های موجود در دیواره سلولی را دارد که این عمل به‌وسیله سونیکاسیون روی سلول‌های باکتری امتحان شده است. تنوع در بازدهی استخراج از وارته‌های گیاهان مختلف به ساختار، طبیعت رئولوژیک (سفتی ساختار دانه) یا تفاوت در ترکیبات

غیر قطبی بودن حلال استون بیش از اتانول و متانول است، بیشترین میزان استخراج ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئید را دارا بود. پس از استون، اتانول و در نهایت متانول بیشترین میزان استخراج را در برداشت. چنانچه در جدول ۲ مشاهده می‌شود برای فنل تام، به ترتیب AWRMW و UBREM، برای فلاونوئیدها، به ترتیب UWRMW و UBREM و برای DPPH، به ترتیب AWRMW و UBRMW، کمترین و بیشترین مقدار را دارا بودند.

تأثیر روش پیش تیمار فراصوت جهت استخراج نسبت به روش سوکسله برای برنج سفید و قهوه‌ای به ترتیب در حلال آبی (۱/۳ و ۱/۴)، متانول ۵۰٪ (۱/۵ و ۱/۷)، اتانول ۵۰٪ (۱/۲ و ۱)، متانول ۱۰۰٪ (۱/۲ و ۱)، اتانول ۱۰۰٪ (۱/۲ و ۱) و اتانول-متانول (۱/۱ و ۱) برابر مشاهده گردید. مهم‌ترین دلیل تأثیر امواج فراصوت با شدت بالا، پدیده‌ای بنام حفره‌زایی است. در هنگام تلاشی شدن حباب پدیده‌های ایجاد شده شامل نقاط داغ موضعی، فواره میکروسکوپی و امواج ضربه‌ای ناشی از تخریب حفره‌ها تأثیرات متعددی خواهند داشت (Thomson *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009). انفجار حباب‌ها منجر به تجمع انرژی در نقاط داغ گردیده و دما و فشار بی‌نهایت (۵۰۰۰ کلون و ۱۰۰۰ اتمسفر) تولید می‌شود. همچنین امواج باعث توسعه جریان‌های کوچک قوی همراه با اختلاف در سرعت مایع و ایجاد انرژی برشی بالا و اغتشاش در مناطق حفره‌زایی می‌گردد (Kentish *et al.*, 2014). تأثیر مهم دیگر فراصوت این است که مولکول‌های آب شکسته شده و رادیکال‌های آزاد با قدرت واکنش دهنده‌گی بالایی ایجاد می‌شود که ممکن است با دیگر ترکیبات موجود در محیط واکنش داده و آن‌ها را تغییر دهد و این سازوکار ایجاد شده توسط امواج فراصوت تأثیرات فیزیکی و شیمیایی مهمی را ایجاد می‌کند (Chandrapala *et al.*, 2012a & 2012b). یکی از بزرگترین کاربردهای امواج اولتراسونیک در استخراج ترکیبات می‌باشد. امواج فراصوت دارای دو مکانیسم در فروپاشی دیواره سلول هستند. مکانیسم شیمیایی: در این مکانیسم کاونتاسیون یا فروپاشی حباب‌ها، منجر به تولید

¹ Micro-Jet



شکل ۲- نمونه‌ای از عملکرد امواج فراصوت بر دیواره سلولی از a تا d (از تشکیل تا فروپاشی امواج) و تصویر میکروسکوپ الکترونی دیواره پس از اصابت امواج فراصوت (Chandrapala *et al.*, 2012a).

غیرقطبی دارا بوده و تمایل به حل شدن در حلال‌های غیرقطبی را دارا هستند. فراصوت با سایش و پاره کردن غشا منجر به افزایش بیشتر ترکیبات فلاونوئیدی و پلی فنلی گردیده و بیشترین مقادیر مربوط به نوع روش استخراج در هر دو نوع برنج سفید و قهوه‌ای مربوط به روش فراصوت نسبت به سوکسله مشاهده گردید.

تشکیل‌دهنده، حساسیت به شوک ایجاد شده توسط امواج فراصوت بستگی داشته که احتمالاً منجر به تماس حباب‌های حفره‌زایی با سطح گیاه در نتیجه فواره میکروسکوپی می‌گردد (Kentish *et al.*, 2014).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق مقایسه ترکیبات فلاونوئیدی، فنل کل و آزمون DPPH مربوط به عصاره حاصل از دو نوع برنج سفید و قهوه‌ای توسط حلال‌های مختلف آب، اتانول ۱۰۰٪، متانول ۱۰۰٪، اتانول ۵۰٪، متانول ۵۰٪، اتانول-متانول تحت دو نوع روش استخراج معمولی و فراصوت بررسی شد. ظرفیت گیرندگی رادیکال آزاد عصاره‌های دو نوع برنج سفید و قهوه‌ای با استفاده از آزمون DPPH به منظور مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی چون BHA، BHT و TBHQ اسانس‌ها انجام گردید و جدول آنالیز آماری آن رسم گردید. با توجه به آزمون پلی فنول انجام شده در این تحقیق، میزان محتوی فنول تام و ترکیبات فلاونوئیدی برنج قهوه‌ای بیش از برنج سفید تحت شرایط یکسان استخراج مشاهده گردید. در مورد حلال‌های مختلف نیز، هرچه میزان غیر قطبی بودن حلال بیشتر بود، احتمال استخراج این ترکیبات زیست فعال افزایش پیدا کرد این امر حاکی از آن است که ترکیبات فنولی ماهیتی

منابع

- Abozed, S. S., El-kalyoubi, M., Abdelrashid, A. & Salama, M. F. (2014). Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. *Annals of Agricultural Science*, 59, 63-67.
- Ahmadi Kamazani, N., Elhami Rad, A. H., Ghavami, M., Moridi Farimani, M. & Armin, M. (2017). Extraction of antioxidant extracts from lettuce waste with ultrasound Evaluation of its antioxidant activity. *Food Technology & Nutrition*, 14, 1-18.
- Basiri, S. H., Shahidi, F., Kadkhodae, R. & Farhosh, R. (2011). An investigation on the effect of ultrasound waves and pretreatment methods on the extraction of oil from pomegranate seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 8, 115-122.
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S. & Ashokkumar, M. (2012a). Ultrasonics in food

processing, Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 26, 88-98.

Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S. & Ashokkumar, M. (2012b). Ultrasonics in food processing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19, 975-983.

Do, Q., Angkawijaya, D., A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, 296-302.

Fereidoni Nory, T., Fahimdanesh, M. & Sahari, M. A. (2016). Investigation extraction of rosemary leaves the phenolic compounds by ultrasonic technique and its effect on organoleptic properties, physicochemical and stability of virgin olive oil. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 112-125.

Ghaderi Ghahfarokhi, M., Alami, M., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M. & Azizi, M. (2011). Chemical composition and effect of thermal processing methods on polyphenol content of two Iranian acorn varieties. *Journal of Iranian Food Science Researches*, 21, 421-431.

Jung, C. H., Seog, H. M., Choi, I. W., Park, M. W. & Cho, H. Y. (2006). Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT Food Science and Technology*, 39, 266-274.

Karami, Z., Emam Jomeh, Z., Mirzaei, H., Sadeghi Mahonak, A., Khomeiri, M. & Aydani, E. (2011). Investigation and comparison of Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) and Soxhlet Extraction of phenolic compound from licorice root. *Food Processing and Storage*, 2, 1-22.

Kentish, S. & Ashokkumar, M. (2011). *The Physical and Chemical Effects of Ultrasound, in Ultrasound technologies for food and bioprocessing*, edited by Feng, H., Barbosa, G. V. & Weiss, J. Springer, New York, pp. 235-252.

Kermani, A. M., Tavakoli Hashjin, T. & Minaei, S. (2008). Investigation and Determination of Moisture Content and Temperature Effects on the Mechanical Properties of Brown Rice. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 9, 53-74.

Khajeh Nori, M. & Haghighi Asl, E. (2014). Investigation of extraction of natural compounds of plants using microwave and ultrasonic waves. *Journal of Food Science and Modern Innovation*, 3, 81-91.

Kumar, S. & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-16.

Mardani Ghahfarokhi, V., Alami, M., Arabshahi Deloui, S., Khodabakhshi, R. & Ghaderi Ghahfarokhi, M. (2013). Evaluation of antioxidant

and antimicrobial activity of Maghrebi Flower. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 2, 182-189.

Mohammadi, M., Salehi, E. & Kenari, R. (2015). Antioxidant properties of common red pepper extract in Iran. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 7, 45-54.

Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. & Siler-Marinkovic, S. (2007). Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry*, 104, 830-834.

Rouhani, R., Eyanafshar, S. & Ahmadzadeh, R. (2015). Study of anthocyanin and antioxidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11, 161-170.

Sabouri, S. & Rofigari Haghighi, Sh. (2012). Investigating the effect of storage temperature on brown rice qualities during whitening process. *Iranian Biotechnology Journal*, 2, 187-192.

Santos, H. M., Lodeiro, C. & Capelo-Martínez, J. L. (2009). *Ultrasound in chemistry, in analytical applications*, edited by Capelo-Martínez, J. L. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

Sepehrifar, R. & Hasanlou, M. (2009). Evaluation of phenolic compounds, total anthocyanins and flavonoids and antioxidant properties of Cranberry herb collected from four regions of Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 1, 66-74.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.

Thompson, L. H. & Doraiswamy, L. K. (1999). *Sonochemistry: Science and Engineering*. Industrial and Engineering Chemistry Research, 38, 1215-1249.

Zamani, Gh. & Alizadeh, M. R. (2007). Characterization and processing of different varieties of rice of Iran. Vaziri publishing, Tehran, pp. 222.

Złotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M. & Swieca, M. (2016). The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23, 628-633.

Zhou, K. & Yu, L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT Food Science and Technology*, 37, 717-721.