فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۶، شمارهٔ ۳، صفحهٔ ۴۰۵-۳۸۹ (۱۳۸۹)

مقایسه روشهای مختلف استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی از گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.)

مهدی قره‌خانی[1*]، محمد قربانی[2]، محمدعلی ابراهیم‌زاده[3]، سیدمهدی جعفری[2] و علیرضا صادقی ماهونک[2]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
پست الکترونیک: M.Ghrekhani@yahoo.com
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳- دانشیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ساری

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۸

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر روشهای استخراج غرقابی، استخراج به کمک اولتراسوند و استخراج به کمک مایکروویو بر میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی از برگهای گزنه (*Urtica dioica* L.) به همراه سه حلال استخراجی آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم بود. در روش غرقابی، حلال آب و کلروفرم به‌ترتیب بیشترین مقدار ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی را استخراج کردند. در دو روش استخراج به کمک اولتراسوند و مایکروویو تأثیر زمانهای مختلف اشعه‌دهی امواج نیز به همراه نوع حلال مصرفی بررسی شد. به‌طوری که در روش استخراج به کمک اولتراسوند، حلال آب و زمان ۹۰ دقیقه بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و حلال کلروفرم و زمان ۹۰ دقیقه بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی را داشته است. همچنین بین دو زمان ۶۰ و ۹۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد. بنابراین بهترین تیمار حلال- زمان با بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی در روش استخراج به کمک مایکروویو به‌ترتیب مربوط به تیمارهای حلال آب- زمان ۹ دقیقه و حلال متانول- زمان ۹ دقیقه بود. حلال کلروفرم در روش استخراج به کمک مایکروویو کمترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی را داشت و تأثیر زمان اشعه‌دهی امواج مایکروویو بر میزان استخراج معنی‌دار نبود. در مقایسه بین روشها، روش استخراج به کمک مایکروویو با حلال آب- زمان ۹ دقیقه بالاترین قدرت استخراج‌کنندگی ترکیب‌های فنولی (۰/۴۱±۱۱/۵۷ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک) و روش غرقابی (ساعت) با حلال کلروفرم بیشترین میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی (۰/۵۳۳±۱۳/۶۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک) را استخراج کرد.

واژه‌های کلیدی: گزنه (*Urtica dioica* L.)، ترکیب‌های فنولی، ترکیب‌های فلاونوئیدی، استخراج به کمک اولتراسوند، استخراج به کمک مایکروویو.

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که با جذب رادیکال آزاد و ممانعت از ادامه اکسیداسیون از فساد، از تغییر رنگ یا تُند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. به‌خصوص آنتی‌اکسیدان‌هایی که بنیان حلقوی فنلی حاوی گروه OH را دارا می‌باشند، نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها دارند (Mahdavi *et al*., 1995). اخیراً عوارض نامطلوبی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی گزارش شده است و در حیوانات آزمایشگاهی باعث سرطان‌زایی و آسیب کبدی شده است (Hwang *et al*., 2001). بنابراین جستجو برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی منجر به بررسی آنتی‌اکسیدان‌های متعددی از منابع گیاهی شده است.

مطالعات نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از میوه‌ها و سبزیجات به مقدار کل ترکیب‌های فنولی آنها بستگی دارد (Mour *et al*., 2001). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی در گیاهان عمدتاً به‌دلیل ویژگی‌های اکسایش-کاهش (Redox) و ساختار شیمیایی آنهاست که می‌توانند نقش‌های مهمی را در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، شلاته‌کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن (Quenching) مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه بازی کنند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های فنولی بر روی سلامت در ارتباط هستند که به‌دلیل تأثیرات بازدارندگی‌شان در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماریهای وابسته به تنش- اکسایش، همچون بیماریهای قلبی- عروقی، سندرم روده التهابی (Inflammatory bowel syndrome) و بیماری آلزایمر است (Ahmadi *et al*., 2007).

استخراج اولین مرحله اساسی را در تحقیقات گیاهان دارویی تشکیل می‌دهد و آماده‌سازی عصاره‌ها از گیاهان، نقطه شروعی برای جداسازی و خالص‌سازی اجزای شیمیایی موجود در گیاهان می‌باشد (Mandal *et al*., 2007). عصاره‌های گیاهی به‌طور وسیعی در صنایع غذایی، داروسازی و صنایع آرایشی- بهداشتی استفاده می‌شوند. روشهای مختلف استخراج به‌طور وسیعی به منظور بدست آوردن چنین ترکیب‌های طبیعی باارزش بررسی شدند. روشهای سنتی استخراج همچون روش غرقابی نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیادی دارند، بنابراین نیاز به روشهای استخراج جدید با زمان استخراج کوتاهتر، مصرف حلال آلی کمتر و ایجاد آلودگی کمتر، افزایش یافته است. روشهای استخراج جدید شامل استخراج به کمک اولتراسوند (Ultrasound-assisted extraction) و استخراج به کمک مایکروویو (Microwave-assisted extraction) از روشهای سریع و مؤثر برای استخراج ترکیب‌های مؤثره از بافت‌های گیاهی هستند (Wang & Weller, 2006). با انتخاب صحیح و مناسب روش استخراج می‌توان حداکثر غلظت ترکیب‌های فنولی را با خلوص بالا از ماده مورد نظر استخراج کرد.

یکی از گیاهانی که امکان بررسی و مطالعه بیشتر از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی برای آن وجود دارد گیاه گزنه (*Urtica dioica*) است. در ایران این گیاه در نواحی مرطوب غالب نقاط ایران به‌ویژه مناطق شمالی و کرانه خزر و شمال غربی می‌روید (خضری، ۱۳۸۲). در این مطالعه ما تأثیر سه روش استخراج غرقابی، استخراج به کمک اولتراسوند و استخراج به کمک مایکروویو و اثر حلال‌های مختلف را

Archive of SID

www.SID.ir

برای استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی از گیاه گزنه مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روشها

مواد گیاهی و شیمیایی

گیاه گزنه (*Urtica dioica*) از منطقه هزارپیچ واقع در شهر گرگان در اردیبهشت‌ماه ۱۳۸۷ جمع‌آوری شد و بعد برگ‌های آن از ساقه‌ها جدا گردید و تحت شرایط طبیعی محیطی و با استفاده از جریان هوای خشک در سایه خشک شدند و با استفاده از دستگاه آسیاب با مش ٤٠ به صورت پودر درآمد. نمونه‌های خشک شده تا زمان آزمایش در یخچال با دمای زیر صفر درجه نگهداری شدند. همچنین درصد رطوبت در نمونه‌های خشک شده گزنه، ۱۱/٤٪ اندازه‌گیری شد. مواد شیمیایی مورد نیاز نیز از شرکت مرک تهیه شدند.

استخراج به روش غرقابی

نمونه‌های ۵۰ گرمی پودر خشک گزنه با نسبت ۱:٦ [حلال (میلی‌لیتر): ماده گیاهی (گرم)] با هر یک از حلال‌های آب، متانول۸۰٪ و کلروفرم در یک دکانتور به‌طور جداگانه مخلوط شدند و پس از ٢٤ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) عصاره‌ها با استفاده از کاغذ صافی از مواد گیاهی جدا شدند. عصاره‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده بعدی نگهداری شدند. تمام اندازه‌گیریها در همان روز انجام شد. روش استخراج فوق مشابه روش Ebrahimzadeh و همکاران (۲۰۰۸) بود که این محققان از روش غرقابی (خیساندن مخلوط ماده گیاهی و حلال در یک دکانتور) برای استخراج عصاره از Corn Silk استفاده کرده بودند. دلیل انتخاب این سه حلال به دلیل قطبیت‌های مختلف آنها بود که در یک بازه قطبی تا غیرقطبی قرار دارند.

استخراج به کمک اولتراسوند

نمونه‌های ۲۰ گرمی پودر خشک گزنه با نسبت ۱:٦ [حلال (میلی‌لیتر): ماده گیاهی (گرم)] با هر یک از حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم به طور جداگانه مخلوط شدند و بعد مخلوط‌های بدست آمده در یک حمام اولتراسونیک (Tecno-Gas.S.P.A، ایتالیا) برای زمانهای مختلف (۳۰، ٦۰ و ۹۰ دقیقه) در معرض امواج اولتراسوند (فرکانس ۲۸-۳٤ کیلوهرتز) قرار گرفتند. سپس عصاره‌های استخراج شده با استفاده از کاغذ صافی از مواد جامد گیاهی جدا شده و تا زمان آزمایش بعدی در یخچال نگهداری شدند (Martino *et al.*, 2006).

استخراج به کمک مایکروویو

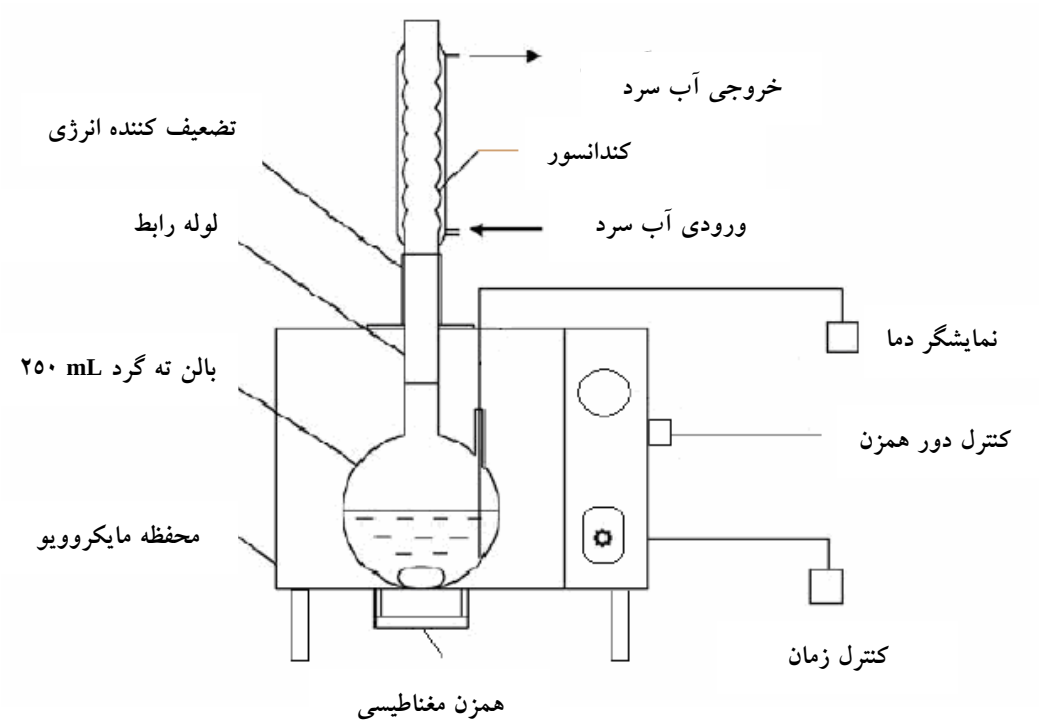
برای استفاده از امواج مایکروویو و مطالعه اثرهای آن، با انجام تغییرات و اضافه کردن ملحقات دیگر یک دستگاه مایکروویو (سامسونگ، کره) به‌عنوان مایکروویو محفظه باز طراحی شد. اصلاحات انجام شده با اضافه کردن یک همزن مغناطیسی با قابلیت تنظیم دور چرخش، کندانسور آب، سنسور دما و کنترل زمان بر روی مایکروویو صورت گرفت (شکل ۱).

در این روش نمونه‌های ۵ گرمی پودر خشک گزنه با نسبت ۱:۲۰ [(حلال (میلی‌لیتر): ماده گیاهی (گرم)] با هر یک از حلال‌های آب، متانول۸۰٪ و کلروفرم مخلوط شدند. مخلوط‌های بدست آمده سپس با امواج مایکروویو در زمانهای مختلف (۱، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۱، ۱۳ و ۱۵ دقیقه) در معرض اشعه قرار گرفتند. عصاره‌های استخراج شده با

Archive of SID

www.SID.ir

استفاده از کاغـذ صـافی از مـواد گیـاهی جـدا و بعـد در یخچـال نگهـداری شـدند. قابـل ذکـر اسـت کـه همـه اندازه‌گیریها در همه روشها در همان روز انجام شده است. (Pan *et al.*, 2000).



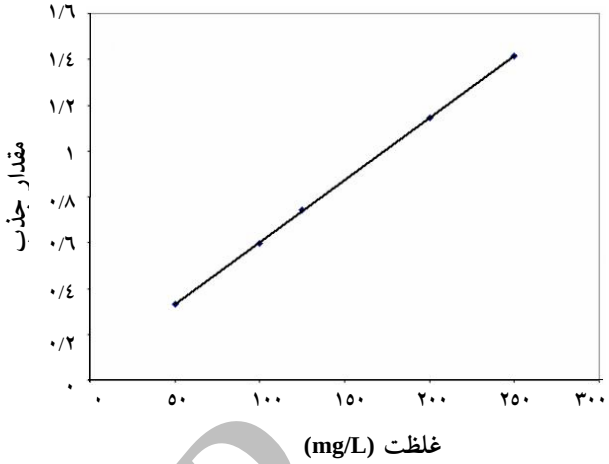
شکل ۱- سیستم مایکروویو محفظه باز

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیب‌های فنولی

مقدار کل ترکیب‌های فنولی موجود در عصاره گزنه از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین- سیوکالتو (Folin-ciocalteu) اندازه‌گیری شد (McDonald *et al.*, 2001). مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی به روشهای فوق‌الذکر با ۵ میلی‌لیتر از معرف فولین- سیوکالتو (ساخت شرکت مرک) که با آب مقطر ۱۰ برابر رقیق شده بود و ٤ میلی‌لیتر از معرف کربنات‌سدیم ۱ مولار به خوبی مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر دوپرتویی ماوراء بنفش- مرئی (PG instruments, UK) در طول موج ۷٦۵ نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیب‌های فنولی با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسید گالیک (ساخت شرکت مرک)، بر مبنای اسیدگالیک و به صورت میلی‌گرم در گرم نمونه خشک بیان گردید (McDonald *et al.*, 2001). منحنی استاندارد اسید گالیک (شکل ۲) و معادله خط رگرسیونی که رابطه غلظت اسید گالیک (۵۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم به لیتر) را با میزان جذب محلولها در ۷٦۵ نانومتر نشان می‌دهد به صورت زیر می‌باشند. در این معادله Y مقدار جذب و X مقدار ترکیبهای فنولی براساس اکی‌والانت اسید گالیک را نشان می‌دهد:

$$Y= 0.0054X+0.0628 \qquad R^2=0.9998$$

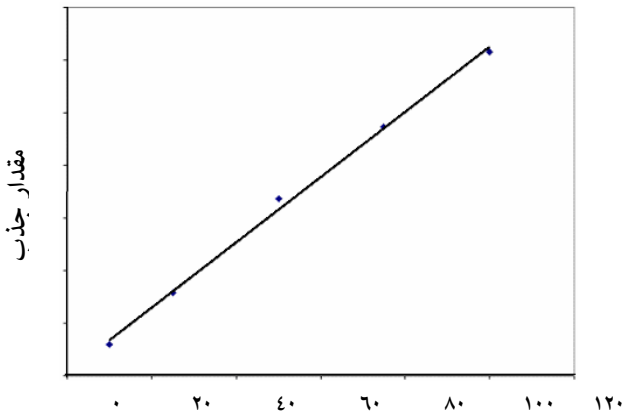
Archive
www.SID.ir



شکل ۲- منحنی استاندارد اسید گالیک جهت تعیین مقدار کل ترکیب‌های فنولی در عصاره‌های گیاه گزنه

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی

مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی هر عصاره به روش رنگ‌سنجی انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره درون لوله آزمایش در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ و ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم‌استات ۱ مولار به آن اضافه شد. در نهایت ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آنها اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و بعد جذب مخلوط حاصل در طول موج ٤١٥ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری خوانده شد. کوئرستین (ساخت شرکت مرک) به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. مقدار فلاونوئید براساس میزان میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم نمونه خشک گزارش شد (Chang *et al.*, 2002). منحنی استاندارد کوئرستین (شکل ۳) و معادله خط رگرسیونی که رابطه غلظت کوئرستین (۱۲/۵ تا ۱۰۰ میلی‌گرم به لیتر) با میزان جذب محلول را در طول موج ٤١٥ نانومتر نشان می‌دهد به صورت زیر هستند. در این معادله Y مقدار جذب و X مقدار



شکل ۳- منحنی استاندارد کوئرستین جهت تعیین مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی در عصاره‌های گیاه گزنه

ترکیب‌های فلاونوئیدی براساس اکی‌والانت کوئرستین را نشان می‌دهند:

$Y= 0.0063X$ $R^2= 0.997$

تجزیه و تحلیل آماری

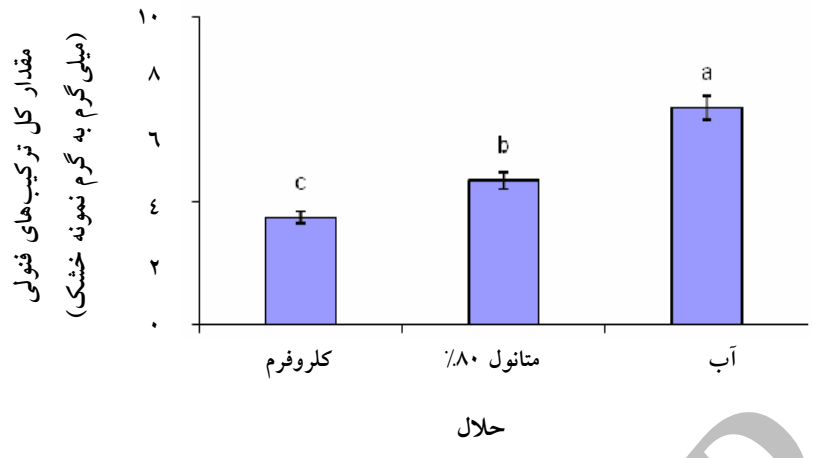
همه تجزیه و تحلیل‌ها و آزمایش‌ها سه بار تکرار شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با نرم‌افزار کامپیوتری EXCEL انجام گردید.

نتایج

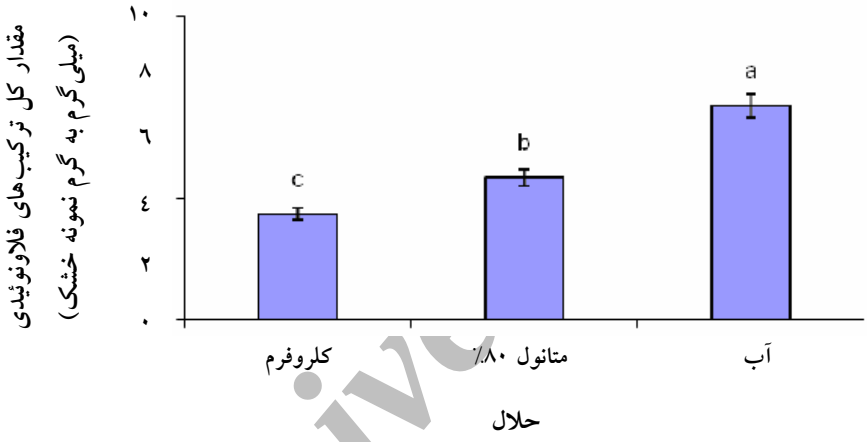
روش سنتی استخراج (روش غرقابی)

مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی بدست آمده با استفاده از سه حلال برای روش غرقابی در شکلهای ٤ و ۵ نشان داده شده است.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ٤- مقدار کل ترکیب‌های فنولی استخراج شده با روش غرقابی در حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم



شکل ٥- مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی استخراج شده با روش غرقابی در حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم

نتایج نشان دادند که اثر نوع حلال بکار رفته در استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی در سطح احتمال (P<۰/۰٥) مؤثر و معنی‌دار بود. به طوری که حلال آب با میزان استخراج ۷/۰۷±۰/۳۸ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک، بیشترین قدرت استخراج‌کنندگی ترکیب‌های فنولی را نسبت به سایر حلال‌ها داشته است. همچنین کمترین قدرت استخراج مربوط به استفاده از کلروفرم (۳/٤۹±۰/۱۹ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک) برای استخراج این دسته از ترکیب‌ها بوده است.

در مورد ترکیب‌های فلاونوئیدی، حلال کلروفرم بیشترین تأثیر را در استخراج داشت. میزان استخراج در این روش برابر با ۱۳/٦٤±۰/٥۳۳ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک بود. میزان استخراج با استفاده از حلالهای آب و متانول ۸۰٪ از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت.

روش استخراج به کمک اولتراسوند

با بررسی نتایج آنالیز واریانس و نیز مقایسه میانگین مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی تیمارهای

Archive of SID
www.SID.ir

مختلف مشاهده شد که تنها اثرهای اصلی سطوح مختلف پارامترهای حلال و زمان در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بودند (جدول ۱ و۲). همچنین به منظور نشان دادن تأثیر زمانهای مختلف بر روی میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی در حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم، اثر متقابل حلال در زمان نیز در جدولهای ۳ و ٤ آورده شده است.

در بین حلال‌های مصرفی (اثر اصلی) آب و کلروفرم به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار کل ترکیب‌های فنولی را دارا بودند (جدول ۱). همچنین در سطوح مختلف زمان (اثر اصلی)، اختلاف معنی‌داری میان دو زمان ٦۰ و ۹۰ دقیقه مشاهده نشد و زمان ۳۰ دقیقه کمترین میزان ترکیب‌های فنولی را داشت (جدول ۲). نتایج نشان داد که افزایش زمان تا ٦۰ دقیقه باعث افزایش مقدار ترکیب‌های فنولی گردید و بعد از این زمان تا ۹۰ دقیقه، میزان افزایش استخراج ترکیب‌های فنولی خیلی کم بود و از لحاظ آماری در مقایسه با زمان ٦۰ دقیقه معنی‌دار نبود.

جدول ۱- مقایسه میانگین حلال‌های مصرفی با روش استخراج به کمک اولتراسوند بر روی میزان ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی

تیمار (حلال مصرفی)	میانگین	
	ترکیب‌های فنولی (mg GAE/g dry sample)	ترکیب‌های فلاونوئیدی (mg QE/g dry sample)
آب	٦/٦١[a]	٥/۲[b]
متانول ۸۰٪	٤/٦٤[b]	٤/۸٦[b]
کلروفرم	۳/۸۲[c]	۱۰/۲٦[a]

حرف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

جدول ۲- مقایسه میانگین زمانهای مورد استفاده با روش استخراج به کمک اولتراسوند بر روی میزان ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی

تیمار (زمان برحسب دقیقه)	میانگین	
	ترکیب‌های فنولی (mg GAE/g dry sample)	ترکیب‌های فلاونوئیدی (mg QE/g dry sample)
۳۰	٤/٥٤[b]	٦/۰٤[b]
٦۰	٥/۱٤[a]	٦/۹٥[a]
۹۰	٥/۳۹[a]	۷/۳۳[a]

حرف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مقدار کل ترکیب‌های فنولی بدست آمده از گیاه گزنه با روش استخراج به کمک اولتراسوند در حلال‌ها و زمانهای مختلف (میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک)

تیمار حلال– زمان (دقیقه)	ترکیب‌های فنولی (mg GA eq/g dry sample)
آب – ۳۰	۵/۸۷±۰/٤۱^{bc}
آب – ٦۰	٦/۷۹±۰/۳۸^{ab}
آب – ۹۰	۷/۱۵±۰/۳۷^{a}
متانول ۸۰٪ – ۳۰	٤/۱۵±۰/۳٦^{def}
متانول ۸۰٪ – ٦۰	٤/٦٤±۰/۲۹^{de}
متانول ۸۰٪ – ۹۰	۵/۱٤±۰/۲۷^{cd}
کلروفرم – ۳۰	۳/۵۹±۰/٤۹^{f}
کلروفرم – ٦۰	۳/۹۷±۰/۲۹^{ef}
کلروفرم – ۹۰	۳/۸۹±۰/۳۱^{ef}

میانگین‌های اثر متقابل حلال× زمان دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

جدول ٤- مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی بدست آمده از گیاه گزنه با روش استخراج به کمک اولتراسوند در حلال‌ها و زمانهای مختلف (میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک)

تیمار حلال– زمان (دقیقه)	ترکیب‌های فلاونوئیدی (mg Qu eq/g dry sample)
آب- ۳۰	٤/۷٦±۰/۳۲^{dc}
آب- ٦۰	۵/۲۳±۰/۲۷^{c}
آب- ۹۰	۵/٦۱±۰/۳۸^{c}
متانول ۸۰٪- ۳۰	٤/۱۸±۰/۲٦^{d}
متانول ۸۰٪- ٦۰	٤/۹۷±۰/۳۰^{cd}
متانول ۸۰٪- ۹۰	۵/٤۲±۰/٤۰^{c}
کلروفرم- ۳۰	۹/۱۷±۰/۸۷^{b}
کلروفرم- ٦۰	۱۰/٦۵±۰/۵۵^{a}
کلروفرم- ۹۰	۱۰/۹٦±۰/۳٤^{a}

میانگین‌های اثر متقابل حلال× زمان دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

در بررسی اثر متقابل حلال در زمان، تیمار آب- ۹۰ دقیقه با ۷/۱۵±۰/۳۷ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی را داشت که از لحاظ آماری با آب- ٦۰ دقیقه اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی نیز مربوط به کلروفرم- ۳۰ دقیقه (۳/۵۹±۰/٤۲۹

Archive of SID

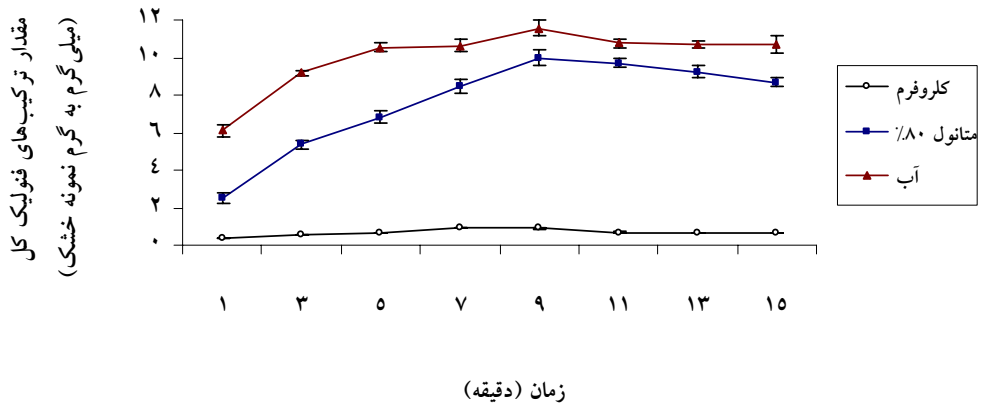
www.SID.ir

میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک) بود که اختلاف معنی‌داری بین این تیمار با تیمارهای کلروفرم- ۶۰ دقیقه، کلروفرم- ۹۰ دقیقه و همچنین متانول- ۳۰ دقیقه مشاهده نشد. بنابراین می‌توان گفت که در صورت استفاده از کلروفرم به‌عنوان حلال استخراجی در روش استخراج به کمک اولتراسوند، افزایش زمان استخراج از ۳۰ تا ۹۰ دقیقه، تأثیر معنی‌داری در میزان استخراج ترکیب‌های فنولی نداشت.

در مورد استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی به کمک اولتراسوند نیز در سه نوع حلال مصرفی، بیشترین مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی مربوط به حلال کلروفرم بود و حلال‌های آب و متانول ۸۰٪ تفاوت معنی‌داری از نظر میزان استخراج نداشتند (جدول ۱). در بررسی اثر اصلی سطوح مختلف زمان مشاهده شد که میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی تا زمان ۶۰ دقیقه افزایش یافته بود و تا زمان ۹۰ دقیقه افزایش معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ نشان نداد (جدول ۲). در بررسی اثر متقابل حلال در زمان (جدول ٤)، تیمارهای متانول- ۳۰ دقیقه و کلروفرم- ۹۰ دقیقه به‌ترتیب با ٤/۱۸±۰/۲٦ و ۱۰/۹٦±۰/۳٤ میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک، کمترین و بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی را در بین تیمارها داشتند. همچنین تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای متانول- ۳۰ دقیقه، آب- ۳۰ دقیقه و متانول- ۶۰ دقیقه در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد.

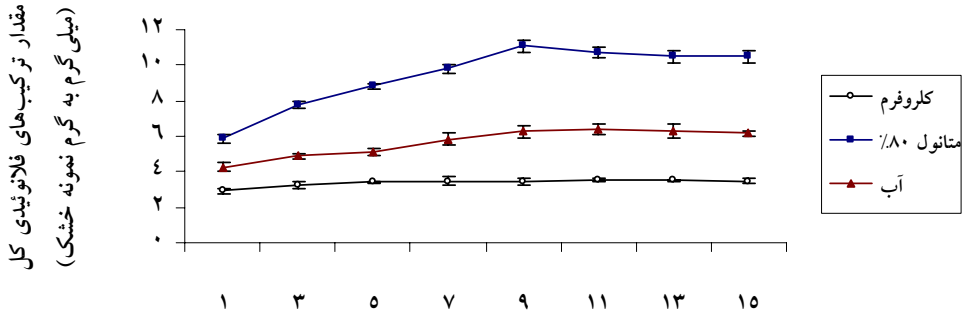
روش استخراج به کمک مایکروویو

نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) و نیز مقایسه میانگین مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی تیمارهای مختلف در روش استخراج به کمک مایکروویو نشان داد که اثرهای اصلی و متقابل سطوح مختلف حلال و زمان در سطح احتمال P<۰/۰۵ بر روی میزان ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی معنی‌دار بودند.



شکل ٦- اثر استفاده از مایکروویو در استخراج ترکیب‌های فنولی با استفاده از حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم در زمانهای مختلف

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۷- اثر استفاده از مایکروویو در استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی با استفاده از حلال‌های آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم در زمانهای مختلف

شکلهای ٦ و ۷ روند تغییرات مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی را در طی زمانهای مختلف اشعه‌دهی امواج مایکروویو برای هر سه حلال مصرفی نشان می‌دهند. نتایج نشان داد که در همه زمانهای مورد بررسی حلال آب و کلروفرم به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار کل ترکیب‌های فنولی را استخراج کرده بودند و حلال متانول ۸۰٪ و کلروفرم بیشترین و کمترین میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی را داشتند.

مقایسه میانگین اثر متقابل حلال در زمان بر روی مقدار کل ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی در جدولهای ۵ و ٦ نشان داده شده‌اند. با توجه به جدولها، حلال آب- زمان ۹ دقیقه بیشترین میزان ترکیب‌های فنولی در مقایسه با دیگر تیمارها استخراج کرد. همچنین در بین تیمارهای مربوط به حلال آب با زمانهای اشعه‌دهی ۱۱، ۱۳ و ۱۵ دقیقه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در بین تیمارهای مربوط به حلال متانول ۸۰٪، بیشترین میزان مربوط به زمان ۹ دقیقه بود که با زمان ۱۱ دقیقه و همچنین با زمانهای ۱۳ و ۱۵ دقیقه حلال آب تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در بین همه حلال‌ها و زمانهای مورد استفاده، تیمار مربوط به حلال متانول۸۰٪- زمان ۹ و ۱۱ دقیقه بیشترین میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی را استخراج کرده بود که این دو زمان با یکدیگر و همچنین با زمان ۱۳ و ۱۵ دقیقه تفاوت معنی‌داری نداشتند. در بین زمانهای اشعه‌دهی با مایکروویو در استخراج با حلال آب، بعد از زمان ۷ دقیقه تفاوت معنی‌داری تا زمان ۱۵ دقیقه میان تیمارها مشاهده نشد (جدول ٦). استخراج ترکیب‌های فنولی با حلال کلروفرم نیز در همه زمانها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال $P<0/05$ نشان نداد و کمترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی را به خود اختصاص داده بود.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۵- مقدار کل ترکیب‌های فنولی بدست آمده با روش استخراج به کمک مایکروویو در سه حلال آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم در زمانهای مختلف (میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک)

زمان (دقیقه)	حلال		
	آب	متانول ۸۰٪	کلروفرم
۱	۶/۱۱±۰/۳۶ ^{i}	۲/۴۹±۰/۲۸ ^{k}	۰/۳۶۶±۰/۰۱۷ ^{l}
۳	۹/۱۷±۰/۱۲ ^{efg}	۵/۳۶±۰/۲۴ ^{j}	۰/۵۴۰±۰/۰۲۱ ^{l}
۵	۱۰/۵۵±۰/۲۴ ^{bc}	۶/۸۱±۰/۳۲ ^{h}	۰/۶۵۶±۰/۰۱۷ ^{l}
۷	۱۰/۶۴±۰/۳۲ ^{bc}	۸/۴۵±۰/۳۴ ^{g}	۰/۹۲۳±۰/۰۲۴ ^{l}
۹	۱۱/۵۷±۰/۴۱ ^{a}	۹/۹۶±۰/۴۱ ^{cd}	۰/۹۰۶±۰/۰۲۶ ^{l}
۱۱	۱۰/۷۶±۰/۲۵ ^{b}	۹/۷۰±۰/۲۵ ^{ed}	۰/۶۸۶±۰/۰۲۶ ^{l}
۱۳	۱۰/۷۲±۰/۲۰ ^{bc}	۹/۲۲±۰/۳۲ ^{ef}	۰/۶۴۶±۰/۰۱۲ ^{l}
۱۵	۱۰/۶۷±۰/۴۸ ^{bc}	۸/۷۰±۰/۲۲ ^{fg}	۰/۶۲۶±۰/۰۱۶ ^{l}

میانگین‌های اثر متقابل حلال× زمان دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

جدول ۶- مقدار کل ترکیب‌های فلاونوئیدی بدست آمده با روش استخراج به کمک مایکروویو در سه حلال آب، متانول ۸۰٪ و کلروفرم در زمانهای مختلف (میلی‌گرم معادل کوئرستین به گرم نمونه خشک)

زمان (دقیقه)	حلال		
	آب	متانول ۸۰٪	کلروفرم
۱	۴/۲۷±۰/۲۴ ^{g}	۵/۸۵±۰/۲۷ ^{e}	۲/۹۳±۰/۱۴ ^{h}
۳	۴/۸۹±۰/۱۶ ^{fg}	۷/۸۰±۰/۱۸ ^{d}	۳/۲۷±۰/۲۰ ^{h}
۵	۵/۱۰±۰/۱۹ ^{f}	۸/۸۱±۰/۱۶ ^{c}	۳/۴۱±۰/۰۸۸ ^{h}
۷	۵/۸۴±۰/۳۷ ^{e}	۹/۸۲±۰/۲۳ ^{b}	۳/۴۵±۰/۲۴ ^{h}
۹	۶/۲۸±۰/۳۴ ^{e}	۱۱/۰۸±۰/۳۳ ^{a}	۳/۴۸±۰/۲۱ ^{h}
۱۱	۶/۳۵±۰/۲۹ ^{e}	۱۰/۷۱±۰/۲۷ ^{a}	۳/۵۱±۰/۱۱ ^{h}
۱۳	۶/۳۱±۰/۴۲ ^{e}	۱۰/۴۸±۰/۳۵ ^{ab}	۳/۵۱±۰/۰۶ ^{h}
۱۵	۶/۱۷±۰/۱۶ ^{e}	۱۰/۴۷±۰/۳۱ ^{ab}	۳/۴۸±۰/۱۸ ^{h}

میانگین‌های اثر متقابل حلال× زمان دارای حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد هستند.

مقایسه روشهای استخراج غرقابی، اولتراسوند و مایکروویو از نظر میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی

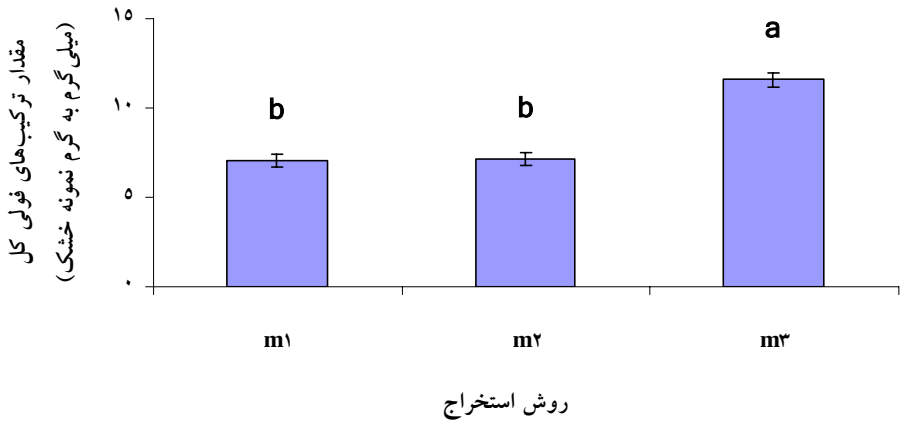
بهترین تیمار هر کدام از روشهای استخراج که دارای بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی بودند، برای مقایسه بین روشهای استخراج انتخاب شدند. در روش غرقابی حلال آب، در روش استخراج به کمک اولتراسوند حلال آب- زمان ۹۰ دقیقه و در روش استخراج به کمک مایکروویو حلال آب- زمان ۹ دقیقه بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی را داشتند. بهترین تیمارها با بیشترین میزان

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی نیز برای روشهای غرقابی، استخراج به کمک اولتراسوند و استخراج به کمک مایکروویو به‌ترتیب حلال کلروفرم، حلال کلروفرم- ۹۰ دقیقه و حلال متانول ۸۰٪- ۹ دقیقه بودند که برای مقایسه بین روشها انتخاب شدند.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر نوع روش بکار رفته در استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی مؤثر و معنی‌دار بودند ($P<۰/۰۵$). در همه روشهای استخراج بیشترین میزان ترکیب‌های فنولی کل با حلال آب استخراج شده بود. بنابراین روش استخراج به کمک مایکروویو بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فنولی (۰/۴۱±۱۱/۵۷ میلی‌گرم به گرم نمونه خشک) را در بین روشهای استخراج به خود اختصاص داده است ($P<۰/۰۵$). همچنین بین دو روش غرقابی و روش استخراج به کمک اولتراسوند تفاوت معنی‌داری از نظر میزان استخراج ترکیب‌های فنولی کل مشاهده نشد (شکل ۸).



شکل ۸- مقایسه روشهای مختلف استخراج از نظر میزان استخراج ترکیب‌های فنولی کل

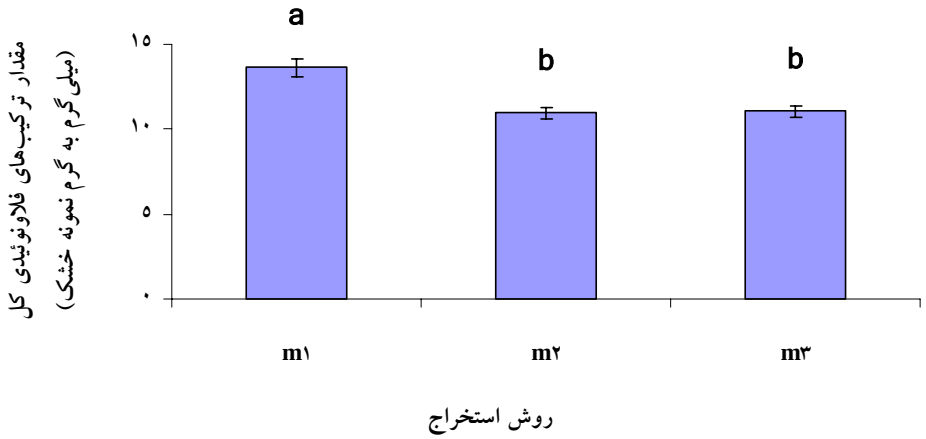
m_1: روش غرقابی، m_2: روش استخراج به کمک اولتراسوند، m_3: روش استخراج به کمک مایکروویو

روش غرقابی نیز با حلال کلروفرم بیشترین میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی (۰/۵۳±۱۳/۶۴ میلی‌گرم به گرم نمونه خشک) را در مقایسه با دو روش دیگر داشت. به‌نحوی که بین روشهای استخراج به کمک اولتراسوند و استخراج به کمک مایکروویو از نظر میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۹).

بحث

در بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه گزنه، Gülçin و همکاران (۲۰۰۴) فقط از حلال آب برای استخراج ترکیب‌های فنولی با روش غرقابی استفاده کردند. آنها مقدار کل ترکیب‌های فنولی را ۲۵/۳ میکروگرم معادل پیروکاتکول به میلی‌گرم ماده خشک (عصاره) گزارش کردند. Mavi و همکاران (۲۰۰۴)، در بررسی ویژگی‌های

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۹- مقایسه روشهای مختلف استخراج از نظر میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی

m_1: روش غرقابی، m_2: روش استخراج به کمک اولتراسوند، m_3: روش استخراج به کمک مایکروویو

آنتی‌اکسیدانی گزنه، مقدار کل ترکیب‌های فنولی را در عصاره متانولی، ۲۱/۷ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم ماده خشک با استفاده از روش غرقابی بیان کردند. همچنین استخراج ترکیب‌های فنولی از قارچ خوراکی با استفاده از ٤ نوع حلال (آب، متانول، اتیل استات و پترولیوم اتر) انجام شده است که عصاره آبی بیشترین مقدار ترکیب‌های فنولی را استخراج کرد (Cheung *et al.*, 2003). این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیق حاضر از نظر انتخاب حلال آب به‌عنوان حلال استخراجی مناسب همخوانی دارد. نتایج مربوط به بالا بودن میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی با حلال کلروفرم، با نتایج Ozturk و همکاران (۲۰۰۷) در مقایسه دو حلال کلروفرم و متانول در بررسی میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی ریشه *Rheum ribes* همخوانی دارد. این محققان میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی با حلال کلروفرم را ۹ برابر حلال متانول گزارش کردند.

علت افزایش میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی با افزایش زمان اولتراسونیک را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد- مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که باعث تشکیل حبابهایی شده که این حبابها در ادامه رشد و درنهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل اولتراسونیک سرعت پیدا می‌کنند. درنتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این، دیگر اثرها مانند امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام کمک می‌کند. به‌طوری که در زمانهای بالاتر ممکن است به دلیل وقوع اکسیداسیون (به علت قرار گرفتن در معرض امواج اولتراسوند) میزان استخراج کاهش یابد (Rostagno *et al.*, 2003). در بهینه‌سازی روش استخراج به کمک اولتراسوند ترکیب‌های فنولی از سبوس گندم، Wang و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که زمان استخراج به میزان زیادی مقدار ترکیب‌های فنولی عصاره‌ها را تحت تأثیر قرار داد. از این رو میزان استخراج ترکیب‌های فنولی از

Archive of SID

www.SID.ir

۱۰ تا ۳۰ دقیقه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ولی از ۳۰ تا ۵۰ دقیقه تقریباً ثابت بود و در بهترین شرایط استخراج، میزان ترکیب‌های فنولی ۳/۱۲ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم پوسته گندم گزارش شد که در مقایسه با گیاه گزنه ترکیب‌های فنولی کمتری داشت. Ma و همکاران (۲۰۰۸) استخراج هیسپریدین را از پوست *Citrus reticuata* به کمک امواج اولتراسوند بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که بازده استخراج با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش از ۲۰ تا ٦۰ دقیقه با شیب زیاد ولی از ٦۰ تا ۱٦۰ دقیقه به آرامی افزایش یافت. بنابراین مؤثرترین دوره استخراج برای رسیدن به بیشترین بازده استخراج هیسپریدین حدود زمان ٦۰ دقیقه بود و این نتایج با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. به‌طوری که تفاوت در زمانهای استخراجی به دلیل تفاوت در نوع گیاه و ترکیب‌های استخراجی و ساختار شیمیایی این ترکیب‌هاست و تحقیق مشابهی در مورد گیاه گزنه در منابع کتابخانه‌ای و اینترنتی یافت نشد.

اصول حرارت‌دهی با استفاده از انرژی مایکروویو به اثر مستقیم امواج مایکروویو روی مولکولها با مکانیسمهای چرخش دوقطبی و انتقال یونی وابسته است. مولکولهای قطبی (همچون پلی‌فنل‌ها) و محلولهای یونی، انرژی مایکروویو را به دلیل داشتن گشتاور دوقطبی دائمی به میزان زیادی جذب می‌کنند که منجر به افزایش دما و تکمیل سریع واکنش می‌شود و این امر موجب انتقال سریع انرژی به حلال استخراجی و مواد گیاهی خام می‌شود. بنابراین برهم‌کنش مستقیم امواج مایکروویو با حلال منجر به شکست دیواره‌های سلولی و آزادسازی سریع مواد درون سلولی به حلال می‌شود. همچنین در زمانهای بالاتر اشعه‌دهی امواج مایکروویو ممکن است به دلیل تخریب حرارتی، میزان استخراج ترکیب‌های فنولی کاهش یابد (Proestos & komaitis, 2008). برای انتخاب حلال در روش استخراج با مایکروویو، باید حلالیت ترکیب مورد نظر، واکنش متقابل میان حلال و ماده گیاهی و درنهایت خصوصیات جذب مایکروویو درنظر گرفته‌شود. حلالهای غیرقطبی همچون هگزان و کلروفرم به دلیل اینکه ثابت دی الکتریک و فاکتور اتلاف خیلی کمتری در مقایسه با حلال‌های قطبی دارند، شفاف یا گذرا (Transparent) با مایکروویو هستند و از این رو حرارتی تولید نمی‌کنند و مناسب برای استخراج ترکیب‌های مورد نظر با روش استخراج به کمک مایکروویو نیستند و تنها در مواقعی که ترکیب مورد نظر حلالیت خوبی در حلالهای غیرقطبی داشته باشد در مخلوط با حلالهای قطبی برای استخراج با این روش استفاده می‌شوند (Mandal *et al.*, 2007). دلایل فوق دلیل افزایش استخراج با افزایش زمان اشعه‌دهی و کم بودن میزان استخراج ترکیب‌های فنولی را با حلال کلروفرم توجیه می‌کند. در بررسی تحقیقات مشابه Proestos و komaitis (۲۰۰۸) میزان استخراج ترکیب‌های فنولی کل را به کمک امواج مایکروویو برای گیاهان *Styrax officinalis*، *Rosmarinus officinalis*، *Origanum dictamnus*، *Origanum majorana*، *Teucrium polium* و *Vitex agnus–cactus* به‌ترتیب ۱۸/٤، ۱٤/۱، ۲۰/۳، ۱۷/۲، ۹/۸ و ۱۱/۱ میلی‌گرم معادل اسید گالیک به گرم نمونه خشک با استفاده از حلال آب (حلال استخراجی) گزارش کردند. همچنین در بررسی زمانهای مختلف اشعه‌دهی امواج مایکروویو (۱ تا۱۰ دقیقه) برای استخراج پلی‌فنول‌ها و کافئین از برگهای چای سبز، زمان ٤ دقیقه بیشترین میزان استخراج را برای هر دو ترکیب داشت. به‌طوری که با افزایش زمان از ٤ تا ۱۰ دقیقه میزان استخراج پلی‌فنل‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

تقریباً ثابت بود ولی میزان استخراج کافئین چای کاهش یافته بود (Pan *et al.*, 2003). نتایج Xiao و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تأثیر زمانهای مختلف اشعه‌دهی امواج مایکروویو (۵ تا ۳۰ دقیقه) بر میزان استخراج فلاونوئیدها از گیاه *Radix astragali* نشان داد که بازده فلاونوئیدها در ابتدا با افزایش زمان اشعه‌دهی امواج مایکروویو افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود ۱/۰۳۳ میلی‌گرم به گرم در ۲۵ دقیقه رسید و بعد به آرامی کاهش یافت. بنابراین قرار گرفتن بیشتر در معرض امواج مایکروویو باعث اتلاف فلاونوئیدها می‌شود (Xiao *et al.*, 2008).

میزان استخراج ترکیب‌های فنولی کل با روش استخراج به کمک مایکروویو تقریباً بیش از ۱/۵ برابر روشهای دیگر بود. این نشان‌دهنده توانمندی این روش برای جایگزینی با دو روش دیگر است که دارای نیروی نفوذی عمیق‌تر و میزان استخراج بیشتر ترکیب‌های فنولی کل می‌باشد. البته در بررسی سایر گیاهان، محققان نتایجی را در مقایسه بین روشها گزارش کردند که نتایج تحقیق حاضر با آنها همخوانی داشت. به‌نحوی که برای استخراج تانشینون‌ها از *salvia miltiorrhiza*، با روش استخراج به کمک مایکروویو تنها ۲ دقیقه زمان نیاز است، در حالی که برای استخراج همین مقدار و با کیفیت مشابه با روشهای استخراج در دمای اتاق، استخراج با سوکسله، استخراج به کمک اولتراسوند به‌ترتیب نیاز به ۲۴ ساعت، ۹۰ دقیقه و ۷۵ دقیقه زمان است (Pan *et al.*, 2002). بدین ترتیب برای استخراج پلی‌فنل‌های چای و کافئین از برگهای سبز چای، ٤ دقیقه زمان در روش استخراج به کمک مایکروویو بازده بالاتری را نشان داد که این در مقایسه با روش معمولی در دمای اتاق و روش اولتراسوند به‌ترتیب به ۲۰ ساعت و ۹۰ دقیقه زمان نیاز داشته است (Pan *et al.*, 2003).

بنابراین دلیل بالا بودن میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی روش غرقابی را می‌توان به استخراج بیشتر این ترکیب‌ها با حلال کلروفرم نسبت داد که این بیش از دو برابر در مقایسه با روشهای دیگر بود. همچنین به دلیل اینکه حلال کلروفرم حالت شفاف (گذرا) به امواج مایکروویو دارد، میزان استخراج ترکیب‌های فلاونوئیدی عصاره‌های این حلال برای روش استخراج به کمک مایکروویو خیلی کمتر بود. در مقایسه میزان فلاونوئید استخراجی با دو حلال آب و متانول ۸۰٪ ما بین سه روش استخراجی، می‌توان نتیجه گرفت که روش استخراج با مایکروویو میزان استخراج این ترکیب‌ها را به ۱/۵ و ۲ برابر به‌ترتیب برای حلالهای آب و متانول ۸۰٪ در مقایسه با دو روش دیگر افزایش داده است. در مقایسه روشهای استخراج سوکسله، استخراج به کمک اولتراسوند و استخراج به کمک مایکروویو برای استخراج فلاونوئیدها از گیاه *Radix astragali*، مشاهده شد که روش سنتی استخراج (سوکسله) بیشترین میزان استخراج را در مقایسه با دو روش دیگر داشت، ولی تفاوت معنی‌داری با روش استخراج به کمک مایکروویو نداشت. به‌طوری که بازده استخراج فلاونوئیدها برای سوکسله (٤ ساعت)، استخراج به کمک اولتراسوند (۳۰ دقیقه) و استخراج به کمک مایکروویو (۲۵ دقیقه) به‌ترتیب ۱/۲۹۲، ۰/۷۳٦ و ۱/۱۹۰ میلی‌گرم به گرم نمونه توسط Xiao و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شد.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که انتخاب نوع حلال و روش استخراج، تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی دارد. نتایج نشان می‌دهد روش استخراج به کمک مایکروویو به‌عنوان یک روش نوین استخراج بالاترین بازدهی استخراج ترکیب‌های فنولی و کمترین زمان استخراج را در مقایسه با روشهای

Archive of SID

www.SID.ir

سنتی استخراج و روش استخراج به کمک اولتراسوند دارد، ولی کارایی مایکروویوها زمانی که ترکیب‌های هدف یا حلال غیر قطبی باشند و یا زمانی که آنها فرّار باشند، خیلی کم و ضعیف است. بنابراین در مورد ترکیب‌های فلاونوئیدی نیز باید گفت که روش استخراج به کمک مایکروویو در بین حلالهای قطبی (آب و متانول) بهتر از دو روش دیگر عمل کرده بود و میزان استخراج بیشتری داشت.

منابع مورد استفاده

- خضری، ش.، ۱۳۸۲. فرهنگ گیاهان دارویی (خواص میوه‌ها، گیاهان و سبزیجات).انتشارات شابک، تهران، ۸۲ صفحه.
- Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M., 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Moza. in model and food systems. Food Chemistry, 105: 57-64.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K. and Ooi, V.E.C., 2003. Antioxidant activity and total phenolices of edible mushroom extracts. Food Chemistry, 81: 249-255.
- Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Hafezi, S., 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turkish Journal of Biology, 32: 43-49.
- Gülçin, I., Küfrevioglu, Ö.I., Oktay, M. and Büyükokuroglu, M., 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). Journal of Ethnopharmacology, 90: 205-215.
- Hwang, J.Y., Shue, Y.S. and Chang, H.M., 2001. Antioxidative activity of roasted and defatted peanut kernels. Food Research International, 34: 639-647.
- Ma, Y., Ye, X., Hao, Y., Xu, G., Xu, G. and Liu, D., 2008. Ultrasound assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. Ultrasonics Sonochemistry, 15: 227-232.
- Mahdavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K., 1995. Food Antioxidant. Marcel Dekker Inc., New York, USA, 746p.
- Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S., 2007. Microwave assisted extraction, an innovative & promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacognosy Reviews, 1: 8-14.
- Martino, E., Ramaiola, I. and Urbano, M., 2006. Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas Alternative to Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. Journal of Chromatography, 1125:147-151.
- Mavi, A., Terzi, Z., Ozgen, U., Yildirim, A. and Coskun, M., 2004. Antioxidant Properties of Some Medicinal Plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum subsp. verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). Biological & Pharmaceutical Bulletin, 27(5): 702-705.
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K., 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73:73-84.
-Mour, A., Sruz, G.M., Franco, D. and Dominguez, J., 2001. Natural antioxidant from residual sources. Food chemistry, 72: 145-171.
- Ozturk, M., Aydogmus-Ozturk, F., Duru, M.E. and Topcu, G., 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. Food Chemistry, 103: 623-630.
- Pan, X., Liu, H., Jia, G. and Shu, Y.Y., 2000. Microwave assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. Biochemical Engineering Journal, 5: 173-77.
- Pan, X., Niu, G. and Liu, H., 2002. Comparison of microwaveassisted extraction and conventional extraction techniques for the extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* bunge. Biochemical Engineering Journal, 12: 71-77.
- Pan, X., Niu, G. and Liu, H., 2003. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. Chemical Engineering and Processing, 42: 129-133.
- Proestos, C. and Komaitis, M., 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. Learning with Technologies, 41: 652-659.
- Rostagno, A., Palma, M. and Barroso, C., 2003. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. Journal of Chromatography A, 1012: 119-128.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X., 2008. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry, 106: 804-810.
- Wang, L. and Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science and Technology, 17: 300-312.
- Xiao, W., Han, N. and Shi, B., 2008. Microwave-assisted extraction of flavonoids from *Radix Astragali*. Seperation and Purification Technology, 62(3): 614-618.

Archive of SID

www.SID.ir

Compare different methods of phenolic and flavonoid compounds extraction from *Urtica dioica* L.

M. Gharekhani[1*], M. Ghorbani[2], M.A. Ebrahimzadeh[3], S.M. Jaafari[2] and A.R. Sadeghi Mahoonak[2]

1*- Corresponding author, MSc Student, Science and Food Industry Group, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran, E-mail: M.Ghrekhani@yahoo.com
2- Science and Food Industry Group, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran
3- Medicinal Chemistry Group, Faculty of Pharmacy, Sari University of Medical Science, Sari, Iran

Received: September 2009 Revised: January 2010 Accepted: March 2010

Abstract

The present study was conducted to examine the efficiency of the traditional soaking extraction, Ultrasound-assisted extraction(UAE) and Microwave-assisted extraction (MAE) methods on the content of phenolic and flavonoid compounds extracted from nettle (*Urtica dioica* L.) leaves with three different solvents (water, 80% methanol and chloroform). In traditional method, water and chloroform solvents extracted the maximum phenolic and flavonoid contents, respectively. In UAE and MAE methods, the effect of different extraction times, with used solvent type were examined. In UAE method, the water-90 min and chloroform-90 min treatments had extracted the highest phenolic and flavonoid contents, respectively. Also, between the times 60 and 90 minutes, no significant difference were observed ($p<0.05$). The best solvent-time treatments with maximum extraction contents of phenolic and flavonoid compounds in MAE method were water-9 min and methanol-9 min treatments. In MAE method, chloroform solvent had the lowest extraction contents of phenolic and flavonoid compounds, and the extraction times were not significant. A comparison among the three methods revealed that the MAE method with water-9 min treatment (11.57±0.41) and traditional method (24 h) with chloroform solvent (13.64±0.53) had the highest extraction power of phenolic and flavonoid compounds, respectively.

Key words: *Urtica dioica* L., phenolic compounds, flavonoid compounds, ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction.

Archive of SID

www.SID.ir