

تأثیر روش استخراج و فراصوت بر بازده استخراج و ترکیبات زیست فعال عصاره اتانولی پودر دانه بزرک

مجید شیرمحمدی^۱، سهیلا زرین قلمی^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

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

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۰۵ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۲۵)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر روش‌های استخراج غرقابی و سوکسله و استخراج به کمک فراصوت (زمان‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) بر بازده استخراج، میزان فنل کل، خواص ضداکسایشی و ضد میکروبی عصاره اتانولی پودر دانه بزرک بود. نتایج به دست آمده، نشان داد که بازده استخراج به روش سوکسله به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به روش غرقابی بیشتر می‌باشد. نتایج تیمارهای مختلف زمانی فراصوت نیز بیانگر اثر معنی‌دار زمان اعمال تیمار فراصوت از صفر تا ۲۰ دقیقه، بر افزایش بازده استخراج در هر دو روش سوکسله و غرقابی بود. به علاوه میزان فنل کل در روش سوکسله نسبت به روش غرقابی به طور معنی‌داری بیشتر بوده ($P < 0.05$) و زمان‌های ۱۰ و ۲۰ دقیقه اعمال فراصوت در هر دو روش استخراج، نیز تأثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر افزایش مقدار این ترکیبات داشته است. به علاوه اعمال زمان‌های مختلف فراصوت، اثر افزایشی معنی‌داری ($P < 0.05$) را در غلظت‌های ۵۰ تا ۱۵۰ پی‌پی‌ام، بر درصد مهار رادیکال‌های آزاد عصاره اتانولی نشان داد. مطابق نتایج حاصل از بررسی قطر هاله عصاره به دست آمده از روش سوکسله همراه با اعمال امواج فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه (بالاترین فعالیت ضداکسایشی)، مشخص شد که این عصاره بر رشد باکتری‌های ایکلائی و استافیلوکوکوس/اورئوس با قطر هاله به ترتیب ۹ و ۶ میلی‌متر، اثر بازدارندگی دارد.

کلید واژگان: دانه بزرک، عصاره اتانولی، روش استخراج، فراصوت، ترکیبات زیست-فعال

۱- مقدمه

بزرگ (*Linum usitatissimum*) یک دانه روغنی است که امروزه در دنیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است. چرا که دانه کامل و محصولات به دست آمده از آن نظیر روغن، کنجاله روغن‌کشی شده و پوسته دانه به تنهایی یا برای غنی‌سازی مواد غذایی، کاربرد فراوانی دارند. به دلیل میزان بالای آلفالینولینیک اسید (حدود ۵۵ درصد) در روغن حاصل از دانه، غنی بودن از لیگنان‌ها، ترکیبات فنلی، مواد ضداکسایشی و سایر ترکیبات زیست-فعال که می‌توانند خاصیت ضد میکروبی نیز داشته باشند، این دانه به عنوان یک ماده غذایی فراسودمند معرفی شده است. مواد غذایی مختلفی که با این دانه غنی‌سازی می‌شوند نیز در زمره مواد غذایی فراسودمند قرار می‌گیرند [۱، ۲، ۳]. بنابراین در سال‌های اخیر تحقیقات مختلفی در زمینه استخراج بهینه‌ی ترکیبات زیست-فعال موجود در این دانه روغنی با ارزش انجام گرفته است و سعی بر این بوده تا روشی انتخاب گردد تا در حین افزایش بازده استخراج، کمترین آسیب را به این ترکیبات وارد کند [۴، ۵]. در سال ۲۰۱۵ Zhanqui و همکاران از روش استخراج توسط سیال مادون بحرانی (Subcritical extraction) به منظور استخراج روغن از دانه بذرك استفاده کردند. نتایج نشان داد که روغن به دست آمده از این روش نسبت به روش سوکسله، خلوص و پایداری اکسایشی بیشتری داشته و از نظر میزان مواد فعال زیستی مشابه آنها می‌باشد. در سال ۲۰۰۸ Zhang و همکاران از امواج فراصوت برای استخراج روغن از دانه‌های بذرك استفاده کردند. طبق نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از امواج فراصوت نه تنها میزان بازده استخراج را افزایش می‌دهد بلکه تاثیری بر ترکیبات اصلی روغن نیز نمی‌گذارد. امروزه استفاده از امواج فراصوت به عنوان یک روش مکمل در استخراج ترکیبات مختلف موثره از مواد طبیعی، در زمره روش‌های استخراج سبز، بسیار مورد بررسی قرار گرفته است. کاهش میزان مصرف انرژی، زمان فرایند، کاهش اثرات مخرب حرارت روی ترکیبات زیست-فعال، کاهش مصرف حلال‌های شیمیایی و سمی و در نتیجه کاهش اثرات منفی بر انسان و محیط زیست، از مزایای مهم این روش محسوب می‌شوند [۶، ۷].

با توجه به مطالب ذکر شده، در پژوهش حاضر تاثیر دو روش استخراج غرقابی و سوکسله و تیمارهای مختلف زمانی

فراصوت (۱۰، ۲۰، ۳۰ دقیقه) بر بازده، میزان فنل کل و خواص ضد اکسایشی و ضد میکروبی عصاره اتانولی پودر دانه بزرگ مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد شیمیایی و میکروارگانیزم‌ها

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، از شرکت مرک آلمان تهیه شد. باکتری‌های *ایکلاهی* (ATCC 10536) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 6538) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، بخش قارچ‌ها و باکتری‌ها، به صورت لیوفیلیزه خریداری شد و مطابق با روش ذکر شده توسط این سازمان، فعال‌سازی باکتری‌ها انجام گرفت. دانه‌های بزرگ نیز از یکی از بازارهای محلی شهر تبریز تهیه شدند.

۲-۲- روش‌های تهیه عصاره از پودر دانه

بذرك

دانه‌ها توسط آسیاب آزمایشگاهی کاملاً پودر شده و از الک با مش ۶۰ عبور داده شد. برای تهیه پودر بدون روغن، پودر با نسبت ۱:۶ وزنی-حجمی با هگزان نرمال به مدت ۱۶ ساعت در دمای اتاق و در ظرف کاملاً دربسته و در محیط تاریک هم‌زده شد. پودر بدون روغن به دست آمده به مدت یک روز در تاریکی و در دمای اتاق به صورت لایه نازکی خشک گردید و قبل از انجام آزمون‌ها، در دمای ۱۸- درجه سلسیوس و خشک شده به مدت ۳۰ دقیقه با اتانول ۷۰ درصد و با نسبت ۱:۶ وزنی-حجمی، در همزن با ۴۰۰ دور بر دقیقه کاملاً مخلوط شد. سپس عصاره‌گیری توسط روش سوکسله در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و روش غرقابی در دمای ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت انجام شد. برای بررسی کارایی روش کمکی فراصوت نیز، پس از مخلوط کردن پودر با اتانول و قبل از استخراج، مخلوط تحت امواج فراصوت (Dr. hielscher GmbH, UP 200 H, 200W, 24kHz) برای مدت زمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه قرار گرفت. امواج فراصوت توسط پروب استوانه‌ای از جنس تیتانیوم با قطر ۶۷ میلی‌متر که در ارتفاع ۱ میلی‌متری از بالای ظرف و درون نمونه قرار داشت منتقل شد. سپس نمونه‌ی حاصل، با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه به

۲-۵- اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی با

استفاده از روش $DPPH^2$

میزان فعالیت ضد اکسایشی به روش Sharma و همکاران در سال ۲۰۱۵ و با کمی تغییر انجام گرفت. به طور خلاصه ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های ۵۰ تا ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از عصاره در حلال متانل ۵۰ درصد در لوله‌های آزمایش آماده شد. سپس ۴ میلی‌لیتر از محلول -دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل متانولی با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار به ۲ میلی‌گرم از پودر حاصله از عصاره اتانولی افزوده و مخلوط به دست آمده به شدت هم‌زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱ ساعت در محل تاریک و در دمای اتاق قرار گرفت. بعد از این مدت، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در نمونه کنترل، عصاره با ۲ میلی‌لیتر متانل ۵۰ درصد جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های آزاد توسط عصاره، طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$100 \times \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} = \text{درصد مهارکنندگی}$$

A_{control} : جذب نمونه کنترل (شامل همه چیز به جز ترکیب معرف آزمون)

A_{sample} : جذب ترکیب مورد آزمون.

۲-۶- اندازه‌گیری میزان فعالیت ضد میکروبی

برای این منظور از روش چاهک استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا سوسپانسیونی از سلول‌های رویشی میکروارگانیسم‌ها، معادل با نیم مک فارلند ($10^8 \times 1/5$ سلول در میلی‌لیتر) تهیه گردید. سپس از باکتری‌های مورد نظر روی محیط‌های جامد کشت داده شد و چاهک‌هایی در محیط‌های کشت ایجاد گردید. چاهک‌ها با عصاره خالص اولیه استریل شده توسط صافی ۰/۲ میکرون، پر شد. پتری دیش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد و بعد از ۲۴ ساعت تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد، مورد بررسی قرار گرفت. از دیسک‌های استاندارد آنتی‌بیوتیک آمیکاسین و اریترومايسين نیز به عنوان شاهد و برای مقایسه قطر هاله‌ها استفاده گردید [۱۴].

۲-۷- آنالیز آماری

بررسی آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌ها توسط نرم افزار Minitab نسخه ۱۹ و توسط طرح کامل تصادفی و آنالیز

مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف گردید. عصاره به دست آمده، جهت تبخیر کامل حلال در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته شد و در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس تا زمان خشک شدن کامل نمونه‌ها قرار گرفت. پس از توزین، پلیت‌های حاوی پودر عصاره‌ی به دست آمده، ماده خشک توسط کاردک از پلیت جدا شد و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سلسیوس قرار گرفت.

۲-۳- تعیین میزان بازدهی عصاره

میزان بازدهی عصاره از نسبت گرم پودر به دست آمده از روش عصاره‌گیری به گرم پودر اولیه محاسبه گردید.

۲-۴- تعیین میزان فنل کل عصاره (TPC)

ابتدا محلول‌های استاندارد گالیک اسید در متانول با غلظت‌های مختلف در دامنه ۰/۰۴ تا ۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آماده شد. سپس به بالن ژوژه‌های ۵۰ میلی‌لیتری، ۱ میلی‌لیتر محلول استاندارد گالیک اسید، ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالچو^۱ (برای تهیه این معرف، معرف فولین سیوکالچو غلیظ با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد) و ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه گردید و با آب مقطر به حجم نهایی رسانده شد. محلول به مدت ۲ ساعت در مکان تاریک نگهداری شد و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SPECORD 250 UV/ VIS، آلمان) در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد جذب در برابر غلظت گالیک اسید (میلی‌گرم به میلی‌لیتر) رسم شد و معادله زیر به دست آمد.

$$Y = 0.0010 + 0.3735x$$

برای تعیین میزان فنل کل موجود در عصاره اتانولی، مقدار ۰/۵ گرم عصاره، با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالچو مخلوط شد و بعد از ۵ دقیقه، با ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد به خوبی مخلوط گردید. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت و سپس جذب محلول در سه تکرار توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار محتوای فنل کل با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسیدگالیک، بر مبنای میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک بیان شد [۸].

2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

1. Folin-Ciocalteu

[۹]. به علاوه، Rostagno و همکاران در سال ۲۰۰۳ نیز در نتایج مشابهی بیان کرده‌اند که اعمال زمان‌های بالاتر فراصوت ممکن است منجر به وقوع اکسیداسیون گردد که می‌تواند بر میزان استخراج اثر منفی داشته باشد.

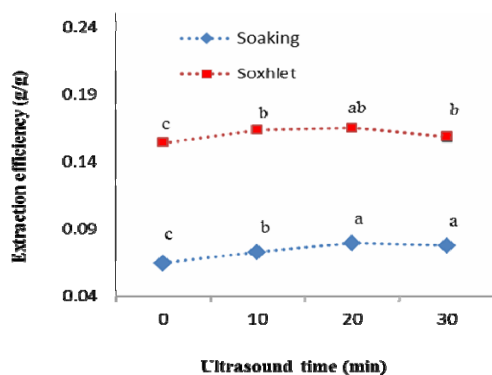


Fig 1 Effect of ultrasound different times on extraction efficiency
(Each different value represents the mean \pm standard deviation of triplicate analysis and different superscripts show significant difference at $P < 0.05$).

۲-۳- میزان فنل کل (TPC)

نتایج اندازه‌گیری مقدار فنل کل، بیانگر میزان بالاتر ترکیبات فنلی در روش سوکسله نسبت به روش غرقابی می‌باشد (شکل ۲). به نظر می‌رسد که دلیل این امر تفاوت در ماهیت روش‌های مورد استفاده است. زیرا در روش سوکسله جریان حلال خالص در هر بار گردش به صورت آرام بوده و فرصت برای حل شدن ترکیب‌های کاملاً محلول در آن وجود دارد و در هر بار گردش، نوعی شویش انتخابی ایجاد می‌شود. این در حالی است که در روش غرقابی با جریان ۴۰۰ دور بر دقیقه، وضعیت جریانی، آرام نبوده که این امر می‌تواند به شویش ترکیبات غیر فنلی قابل حل در حلال مورد نظر نیز منجر گردد. همچنین دمای بالاتر در روش سوکسله (۶۰ درجه سلسیوس)، می‌تواند عامل مهم دیگری برای جداسازی بهتر ترکیب‌های فنلی باشد. چرا که در این دما هم حلالیت این ترکیبات بیشتر شده و هم انتقال جرم و حرارت بیشتر صورت می‌گیرد [۶، ۷، ۱۲]. به علاوه نتایج اعمال زمان‌های مختلف فراصوت در هر دو روش استخراج، نشان داد که اعمال امواج فراصوت تا زمان

واریانس یک‌طرفه انجام شد. مقایسه میانگین‌های حاصل از سه تکرار، توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بازدهی استخراج

نتایج بررسی تاثیر دو روش سوکسله و غرقابی بر بازدهی عصاره‌گیری، نشان داد که روش سوکسله به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بازدهی بالاتری نسبت به روش غرقابی دارد (شکل ۱). دلیل این امر احتمالاً بیشتر به ماهیت متفاوت دو روش سوکسله و غرقابی مرتبط است. در روش سوکسله، حلال خالص چندین بار گردش کرده و به درون نمونه نفوذ می‌کند. اما در روش غرقابی در طول زمان سه ساعت، حلال همراه با عصاره و به صورت تدریجی و به صورت رفت و برگشتی، درون پودر غوطه‌ور شده در حلال، وارد می‌گردد. بنابراین در هر بار رفت و برگشت، حلال مانند روش سوکسله خالص نبوده و حاوی عصاره است و نسبت به روش نفوذی که هر بار حلال خالص از روی نمونه عبور می‌کند، بازده کمتری را نشان می‌دهد. همچنین استفاده از دمای بالاتر در روش سوکسله نیز بر بازده استخراج تاثیر مثبت دارد. در حالیکه در روش غرقابی امکان افزایش دمای بالاتر از ۳۵ درجه سلسیوس به دلیل عدم کنترل بخارات تولید شده از حلال وجود ندارد. از سوی دیگر تیمارهای مختلف زمانی فراصوت تا زمان ۲۰ دقیقه در هر دو روش باعث افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) بر بازده عصاره‌گیری شد. ولی اعمال زمان ۳۰ دقیقه فراصوت، در روش غرقابی تاثیری بر بازده استخراج نداشته ($P > 0.05$) و در روش سوکسله نیز، به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) سبب کاهش بازده استخراج نسبت به نمونه‌های ۱۰ و ۲۰ دقیقه شده است (شکل ۱). احتمال می‌رود که زمان‌های کم اعمال امواج فراصوت سبب ایجاد پدیده کاویتاسیون و در نتیجه ایجاد خلل و فرج‌های میکرونی در ذرات پودر شده که در نهایت منجر به افزایش بازده استخراج شده است. اما اعمال زمان‌های بالاتر، می‌تواند سبب تخریب خلل و فرج ایجاد شده گردد و در نتیجه بازده استخراج را کاهش دهد [۵]. بنابراین اعمال تیمارهای مختلف زمانی فراصوت تا مدت زمان معینی باعث افزایش در بازدهی عصاره می‌شود و زمان‌های بالاتر یا تاثیری بر بازده نداشته و یا میزان آن را کاهش می‌دهد

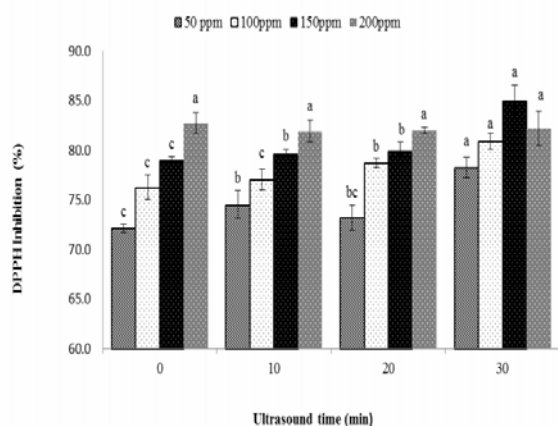


Fig 3 Effect of ultrasound different times on antioxidant activity (DPPH inhibition) of flaxseed methanolic extract obtained from Soxhlet method. (Each different value represents the mean \pm standard deviation of triplicate analysis and different superscripts show significant difference at $P < 0.05$).

این امر نشان می‌دهد که کنجاله دانه بزرک، دارای خواص ضداکسایشی بالایی است. به علاوه در تمامی غلظت‌ها به جز ۱۵۰ پی‌پی‌ام، با افزایش زمان اعمال فراصوت، اثر مهارکنندگی عصاره‌ها افزایش داشته است که احتمال می‌رود دلیل این امر خاصیت پرواکسیدانی ایجاد شده در غلظت‌های بالا باشد. از آنجا که بیشتر فعالیت ضداکسایشی به ترکیبات فنلی نسبت داده می‌شود و این ترکیبات در ۳۰ دقیقه اول اعمال فراصوت بیشترین میزان را داشته‌اند، افزایش فعالیت ضداکسایشی یا مهارکنندگی عصاره در طول این مدت زمان، کاملاً قابل انتظار است [۶]. به علاوه Gaafar و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که لیگنان‌های موجود در عصاره دانه بزرک نیز می‌توانند رادیکال‌های آزاد DPPH را به خوبی مهار کنند. با افزایش زمان اعمال فراصوت، به دلیل پاره شدن دیواره سلولی و افزایش انتقال جرم، میزان این ترکیبات نیز افزایش یافته، بنابراین ویژگی ضداکسایشی نیز افزایش می‌یابد.

۳-۴- فعالیت ضد باکتریایی

از آنجا که عصاره به دست آمده از روش سوکسله همراه با اعمال امواج فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه، بالاترین خاصیت ضداکسایشی را نشان داد، این عصاره برای بررسی ویژگی ضد میکروبی مورد استفاده قرار گرفت. مطابق نتایج به دست آمده در جدول ۱، مشخص شد که این عصاره می‌تواند رشد باکتری‌های *ایکلائی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* را به ترتیب با

۲۰ دقیقه، تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر میزان فنلی کل دارد (شکل ۲). این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیق He و همکاران در سال ۲۰۱۶ که نشان دادند در اعمال امواج فراصوت به مدت ۲۵ دقیقه، بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنلی انجام می‌گیرد، مطابقت دارد. همچنین در سال ۲۰۱۶، Pradal و همکاران در تحقیقی مشابه بیان داشتند که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در ۳۰ دقیقه اول اعمال امواج فراصوت مشاهده می‌گردد.

۳-۳- فعالیت ضد اکسایشی

از آنجا که روش سوکسله نسبت به روش غرقابی نتیجه بهتری در بازده استخراج و میزان فنل کلداشت، پودر دانه بزرک ابتدا در معرض اعمال تیمارهای مختلف زمانی فراصوت (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) قرار گرفت و سپس استخراج به روش سوکسله انجام شد. نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های ضداکسایشی عصاره حاصل، نشان داد که میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در تمامی غلظت‌های مورد استفاده از عصاره، بالای ۶۰ درصد بوده است (شکل ۳).

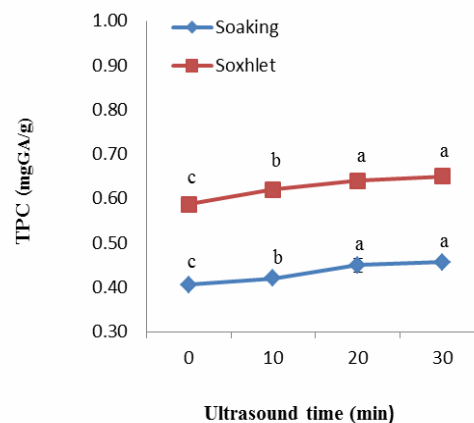


Fig 2 Effect of ultrasound different times on total polyphenols content (TPC) of flaxseed methanolic extracts obtained from soaking and Soxhlet methods.

(Each different value represents the mean \pm standard deviation of triplicate analysis and different superscripts show significant difference at $P < 0.05$).

دیواره شود که باعث ایجاد خواص ضدباکتریایی این عصاره می‌گردد. همچنین Zuk و همکاران در سال ۲۰۱۴ و Pag و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز به اثر ضدباکتریایی این عصاره اشاره کرده‌اند که نتایج به دست آمده از این تحقیق را تایید می‌کند.

قطر هاله ۹ و ۶ میلی‌متر کنترل نماید. در سال ۲۰۱۳، Gaafar و همکاران نشان دادند که لیگنان‌های موجود در عصاره دانه بذک می‌تواند کلسیم و منیزیم را از دسترس غشای لیپولی- ساکارییدی باکتری‌ها خارج کرده و سبب از هم‌پاشیدگی این

Table 1 Antimicrobial activity of flaxseed methanolic extract

Sample	Inhibition areas (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Flaxseed extract	9	6
Amikacin	27	20
Erythromycin	8	24

[2] Edel, A.L., Aliani, M. and Pierce, G.N. 2015. Stability of bioactives in flaxseed and flaxseed-fortified foods. Food Research International, 77, 140–155.

[3] Ozkal, S.G. and Yener, M.E. 2016. Supercritical carbon dioxide extraction of flaxseed oil: Effect of extraction parameters and mass transfer modeling. Journal of Supercritical Fluids, 112, 76–80.

[4] Zanqui A.B., Rodrigues de Morais D., Marques da Silva C., Santos, J.M., Gomes, S.T.M., Visentainer, J.V., Eberlin, M.N., Cardozo-Filho, L. and Matsushita, M. 2015. Subcritical extraction of flaxseed oil with n-propane: Composition and purity. Food Chemistry, 188, 452–458.

[5] Zhang, Zh., Wang, L., Li, D., Shan, Sh., Dong, C.H. and Mao, Zh. 2008. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. Separation and Purification Technology, 62, 192–198.

[6] Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P. and Dimitrov, K. 2016. Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. Ultrasonics Sonochemistry, 32, 137–146.

[7] He, B., Zhang, L.L., Yue, X.Y., Liang, J., Jiang, J., Gao, X.L. and Yue, P.X. 2016. Food Chemistry, 204, 70–76.

[8] McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extract. Food chemistry, 72, 145–171.

[9] Sharma, S., Kori, S., & Parmar, A. 2015. Surfactant mediated extraction of total

۴- نتیجه گیری

به دلیل وجود ترکیبات فنلی و سایر ترکیبات زیست-فعال موجود در کنجاله، دانه بزرک می‌تواند به عنوان یک ماده غذایی فراسودمند مدنظر قرار گیرد. اما استفاده از روش استخراج مناسب برای دسترسی به بازده بالاتر که دارای کمترین افت در میزان ترکیبات زیست-فعال باشد، دارای اهمیت بسیاری است. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از روش سوکسله در دمای ۶۰ درجه سلسیوس نسبت به روش غرقایی، بازده استخراج بالاتر با میزان بیشتری از ترکیبات فنلی را ایجاد می‌کند. از سوی دیگر، استفاده از روش فراصوت به عنوان یک روش کمکی هم در بازده و هم در کارایی ترکیبات موثره تاثیر بسزایی دارد. به طوریکه با اعمال فرایند فراصوت عصاره‌ای حاصل می‌شود که دارای خواص ضداکسایشی و ضدباکتریایی مناسبی است. از آنجا که وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۵، تسهیلات ویژه‌ای را برای کشت دانه‌های روغنی در نظر گرفته است و طرح‌هایی در نظر دارد که اذعان می‌شود، می‌تواند طی دو برنامه پنج ساله، کشور را از واردات دانه‌های روغنی بی‌نیاز کند، کنجاله‌های این دانه‌های روغنی از جمله بذک به عنوان محصول جانبی کارخانجات روغنکشی که حاوی ترکیبات موثره می‌باشند، می‌تواند مورد توجه قرار گیرند.

۵- منابع

[1] Pag, A.I., Radu, D.G., Draganescu, D., Popa, M.I. and Sirghaie, C. 2014. Flaxseed cake - a sustainable source of antioxidant and antibacterial extracts. Cellulose Chemical Technology, 48 (3-4), 265–273.

- [13] Gaafar, AA., Salama, Z.A., Askar, M.S., El-Hariri, D.M. and Bakry, B.A. 2013. In Vitro antioxidant and antimicrobial activities of Lignan flax seed extract (*Linum usitatissimum*, L.). International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 23(2), 291–297.
- [14] Sahari, MA., Zarringhalami, S. and Sattari, M. 2012. Evaluation of antibacterial effect of annatto (norbixin) against several pathogenic bacteria. JFST, 35 (9), 17–23 [In persian].
- [15] Zuk, M., Dorotkiewicz-Jach, A., Drulis-Kawa, Z., Arendt, M., Kulma, A. and Szopa, J. 2014. Bactericidal activities of GM flax seedcake extract on pathogenic bacteria clinical strains. BMC Biotechnology, 14 (70), 1–15.
- phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices. Food chemistry, 185, 284–288.
- [10] 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 Sono Chemistry, 15, 227–232.
- [11] Rostagno, A., Palma, M. and Barroso, C. 2003. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. Journal of Chromatography, 1012, 119–128.
- [12] Galvan d'Alessandro, L., Kriaa, K., Nikov, I. and Dimitrov, K. 2012. Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. Separation and Purification Technology, 93, 42–47.

Effect of extraction method and ultrasound on extraction efficiency and bioactive compounds of ethanolic flaxseed powder extract

Shirmohammadi, M. ^{1*}, Zarringhalami, S. ²

1. MS.c graduated, Dept. of Food Science and Technology, College of agriculture, University Tabriz, Tabriz, Iran
2. Assistant prof, Dept. of Food Science and Technology, College of agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 2016/04/24 Accepted: 2016/08/15)

The aim of the present research was evaluation the effect of traditional soaking extraction and Soxhlet methods and ultrasound-assisted extraction (0, 10, 20 and 30 min) on extraction efficiency, total phenol content (TPC), antioxidant and antibacterial activities of flaxseed powder ethanolic extract. Results obtained showed that efficiency of Soxhlet extraction was significantly ($P < 0.05$) higher than soaking method. The results of ultrasound treatment showed significant effect ($P < 0.05$) of different used times from 0 to 20 min on efficiency of extraction in two extraction methods. Furthermore, TPC in Soxhlet was higher in comparison with soaking method ($P < 0.05$), and different ultrasound times had significant effect on increasing extraction of TPC. Furthermore, there times showed significant increasing effect on radical scavenging from 50-150 ppm extract concentration. According to the results emerged from inhibition zone diameter evaluation, the extract obtained from Soxhlet method with 30 min exercising ultrasound (had highest antioxidant activity) showed inhibitory effect on *S. aureus* and *E. coli* with 9 and 6 mm inhibition zone diameter, respectively.

Key words: Flaxseed, Ethanolic extract, Extraction method, Ultrasound, Bioactive compounds

* Corresponding Author E-Mail Address: zarringhalami@znu.ac.ir