

مقایسه‌ی سه روش میدان پالس الکتریکی، فراصوت و خیساندن در بررسی میزان ترکیبات فنلی، قدرت آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات رنگی گیاه مفرح

رویا فنایی^۱، وحید حکیم زاده^{۲*}، محمدعلی حصاری نژاد^۳

^۱ دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

^۳ استادیار گروه فراوری مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

چکیده

در این تحقیق میدان پالس الکتریکی و فراصوت به‌عنوان روش‌های نوین در استخراج عصاره‌ی گیاه مفرح به ترتیب با شدت ۳/۵ و ۷ کیلوولت و فرکانس ۳۷ و ۸۰ کیلوهرتز طی خیساندن با سه حلال اتانول ۹۶ درصد، اتانول ۵۰ درصد و آب به کار گرفته شد. میزان ترکیبات فنلی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پارامترهای رنگی عصاره بررسی شدند. نتایج نشان داد که بیش تیمارهای فراصوت و میدان پالس الکتریکی طی خیساندن با اتانول ۵۰ درصد، بیشترین میزان ترکیبات فنلی را نسبت به سایر تیمارها استخراج کرد و کمترین آن مربوط به عصاره‌ی آبی بود. در همین راستا نیز بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در عصاره‌های استخراج شده با بیش تیمار فراصوت و میدان پالس الکتریکی در اتانول ۵۰ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با روش خیساندن آبی داشت. در پارامترهای رنگی، نتایج حاکی از آن بود که بالاترین میزان روشنی در نمونه‌های اتانول ۵۰ درصد و کمترین مقدار روشنایی در عصاره فراصوت با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و اتانول ۹۶ درصد مشاهده شد. بالاترین مقدار پارامتر a* در نمونه استخراج آبی به روش خیساندن و کمترین مقدار a* در نمونه خیساندن با اتانول ۹۶ درصد بود. همچنین بیشترین مقادیر پارامتر b* در عصاره‌ی اتانولی ۹۶ درصد و کمترین مقادیر b* مربوط به عصاره‌ی ماسراسیون اتانول ۵۰ درصد بدست آمد. بطور کلی، نتایج نشان دادند که فراصوت و میدان پالس الکتریکی بیش تیمار مؤثری در استخراج عصاره آنتی‌اکسیدانی مفرح در اتانول ۵۰ درصد نسبت به روش خیساندن به تنهایی بودند.

واژه‌های کلیدی: اتانول، میدان الکتریکی پالسی، فراصوت، خیساندن، مفرح

مقدمه

فرم‌های رادیکال‌های فعال هیدروکسیل، سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن به DNA صدمه بزند و یا اکسیداسیون روغن‌ها و لیپیدهای چرب را باعث شود (صفایی قمی ۱ و همکاران، ۲۰۰۹). از آنجایی که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی همچون BHA، BHT و TBHQ عوارض نامطلوب

اکسیژن علی‌رغم نقش حیاتی در فرآیندهای بیولوژیکی همچون انتقال الکترون و متابولیسم سلولی می‌تواند موجب اکسیدکردن ترکیبات درون سلولی نیز شود و نقش تخریب‌کننده داشته باشد. به‌عنوان مثال اکسیژن می‌تواند در

¹Safaei-Ghomi

تغذیه‌ای، ایجاد بدطعمی و بدبویی در مواد خوراکی و غیره دارد، لذا اخیراً استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی موجود در گیاهان مختلف مانند گیاهان دارویی، میوه و سبزیجات مورد توجه قرار گرفته است (قره‌خانی^۱ و همکاران، ۲۰۱۱؛ امس اولیو^۲ و همکاران، ۲۰۰۹). ترکیبات فنلی مسئول اصلی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بوده که علاوه بر این خصوصیات ضد میکروبی و تغذیه‌ای و شفابخش نیز دارند (مو^۳ و همکاران، ۲۰۰۳). گیاه مفرح با نام علمی *نیپتا کریسیپا*^۴ از خانواده نعناعیان بوده که در غرب ایران بخصوص نواحی کوهستان الوند در استان همدان می‌روید و از جمله گونه‌های انحصاری و در حال انقراض می‌باشد. گونه های مفرح به عنوان آرام بخش، تقویت کننده ی معده، ضد نفخ، ضد عفونی کننده، رفع کننده ی اختلالات تنفسی و گوارشی مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین به دلیل خواص سلامتی بخش آن و استفاده‌ی سنتی به عنوان طعم دهنده در غذاها و نوشیدنی‌ها، عصاره و اسانس این گیاه از نظر ترکیبات تشکیل دهنده و اثرات دارویی توسط محققان مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (سنبلی^۵ و همکاران، ۲۰۰۴، معتقد^۶ و همکاران ۲۰۲۲). در سال‌های اخیر مطالعاتی مبنی بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌ی این گیاه صورت گرفته است (روستایان^۷ و همکاران، ۲۰۰۱؛ سجادی^۸ و همکاران، ۲۰۰۱). خلیقی^۹ و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی بیش از ۲۰ ترکیب عصاره ی گیاه مفرح گزارش کردند که محتوای فنلی عصاره‌ی مفرح

بالاتر از محتوای فلاوونوئیدی آن است. همچنین طی تحقیقات متعددی نشان داده شده است که دو ترکیب عمده‌ی عصاره‌های استخراج شده از مفرح سینئول^{۱۰} و نپتالاکتون^{۱۱} بوده است (عبدلی^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۶، بهراملو^{۱۳} و همکاران، ۲۰۲۳، مجاب^{۱۴} و همکاران، ۲۰۰۹). در راستای کاربرد عصاره ی مفرح نیز معتقد و همکاران (۲۰۲۲) اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی مفرح را بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که عصاره متانولی گیاه مفرح در کاهش اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک روغن خام آفتابگردان مؤثر بوده است. در روش های مرسوم، استخراج عصاره های گیاهی از طریق خیساندن با حلال صورت می گیرد. در استخراج با حلال معایبی همچون استفاده از دمای بالا می‌تواند به ترکیبات مؤثره آسیب وارد کند. همچنین جداکردن حلال باقی مانده از عصاره استخراج شده گاهی زمان بر و مشکل می باشد (هاندا^{۱۵} و همکاران، ۲۰۰۸). اما روش های نوینی همچون سیال فوق بحرانی، میدان پالس الکتریکی و فراصوت علاوه بر بازدهی بالای استخراج، به دلیل استفاده از دمای پایین تر منجر به حصول عصاره‌هایی با بیشترین میزان ترکیبات مؤثره خواهد شد (تیمرمانس^{۱۶} و همکاران، ۲۰۱۴؛ بوسبیا^{۱۷} و همکاران، ۲۰۱۹). در واقع در شدت های میدان الکتریکی بالاتر از حد بحرانی برای دیواره‌ی سلولی که در حدود ۵-۵/۵ KV/cm² تراوایی و تخریب برگشت ناپذیری در دیواره سلولی با ظهور منافذ درشت اتفاق می‌افتد که

¹⁰Sineol¹¹Neptalactone¹²Abdoli¹³ Bahramlou¹⁴ Mojab¹⁵ Handa¹⁶ Timmermans¹⁷ Bousbia¹ Gharekhani² Oms-oliu³ Mo⁴ Nepta Crispa⁵ Sonboli⁶ Motaghd⁷ Roustaiyan⁸ Sajadi⁹ khalighi

آنتی‌کسیدانی به استخراج عصاره آن با روش‌های نوین میدان پالس الکتریکی و فراصوت پرداخته شد و با روش خیساندن به تنهایی مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها

گیاه مفرح از فروشنده‌های گیاهان دارویی از بازار مشهد خریداری شد. اسیدگالیک، معرف فولین سیوکالچو^۸ و محلول DPPH نیز از شرکت سیگما تهیه گردید.

فرآیند استخراج

روش خیساندن

گیاه مفرح پس از تمیز شدن و شستشو، در سایه خشک گردید. سپس در آسیاب آزمایشگاهی پودر و از الک فریم ۸ اینچ با مش ۲۰۰ عبور داده شد. جهت تهیه عصاره مفرح به روش خیساندن، ۵۰ گرم پودر خشک آسیاب شده به صورت جداگانه در اتانول ۹۶ درصد، اتانول ۵۰ درصد و آب به میزان ۵۰۰ میلی لیتر و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه خیسانده شد. برای جلوگیری از تبخیر الکل، دهانه ارلن با پارافیلیم آزمایشگاهی بسته شد. سپس از کاغذ صافی معمولی عبور داده شد تا بخش جامد آن جدا شود. مایع بدست آمده در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰ در دقیقه جداسازی و توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ فیلتر گردید. ماده فیلتر شده برای خالص‌سازی نهایی و حذف حلال‌های موجود درون دستگاه تبخیرکننده دوار در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و سپس در آن خلاء در دمای حدود ۴۰ درجه تغلیظ گردید (نوری^۹ و همکاران، ۲۰۱۶).

اصطلاحاً تراوایی الکتریکی غشا و یا الکتروپوراسیون^۱ نامیده می‌شود (لبوکا^۲ و همکاران، ۲۰۰۲؛ بوسیا و همکاران، ۲۰۱۹). در این رابطه می‌توان به تحقیقات لوپز^۳ و همکاران در سال ۲۰۰۹ اشاره کرد که استخراج ساکارز از چغندر قند بوسیله میدان پالس الکتریکی را بهبود دادند. صالحی^۴ و امیدواری^۵ (۲۰۱۷) نیز اثر میدان پالس الکتریکی را بر استخراج ساکارز در مقایسه با روش حرارتی را مقایسه کردند که نتایج تجزیه و تحلیل آماری این تحقیق حاکی از کاهش قابل ملاحظه دما و زمان در روش میدان الکتریکی پالسی در مقایسه با تیمار حرارتی با بازده استخراج مشابه بود. مکانیسم اصلی استخراج از بافت مواد به کمک امواج فراصوت نیز به پدیده کاویتاسیون مربوط می‌شود. حباب‌های ایجاد شده طی کاویتاسیون سبب ایجاد جریان‌های بسیار شدیدی در اثر ترکیدن حباب‌های حاصل از پدیده‌ی حفرگی^۶ در سطح ملکولی شده که خود منجر به سایش و تخریب سطح می‌گردد که جذب حلال و استخراج ترکیبات از بافت را بهبود بخشیده و انتقال جرم را تسهیل و تسریع می‌کند (مارتینز و همکاران، ۲۰۱۵؛ پاولیزین و همکاران، ۲۰۱۲). وازوویکز^۷ و همکاران در سال ۲۰۱۴ به بررسی میزان ترکیبات فنلی استخراج شده از بذرکتان به روش اولتراسونیک پرداختند و گزارش کردند عصاره‌های استخراجی با اولتراسونیک نسبت به روش متداول ترکیبات فنلی بیشتری داشت و در نتیجه از قدرت مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاء آهن بالاتری برخوردار بود.

بنابراین در این تحقیق با توجه به خصوصیات ارزشمند گیاه مفرح از نظر وجود ترکیبات فراسودمند مانند ترکیبات

⁶ Cavitation

⁷ Wasowicz

⁸ Folin Ciocaltue

⁹ Nouri

¹ Electroporation

² Lebovka

³ Lopez

⁴ Salehi

⁵ Omidvari

تیمار با میدان پالس الکتریکی

و پارامترهای رنگی بررسی شدند (شهسوار^۲ و همکاران، ۲۰۲؛ ربیعی^۳ و همکاران، ۲۰۱۲).

آزمون ها

اندازه گیری فنل کل

محتوای فنولی کل با روش رنگ سنجی و با استفاده از معرف فولین سیوکالتو تعیین شد. به این منظور ابتدا یک گرم از هر نمونه با سه میلی لیتر محلول متانول: آب (به نسبت ۹۰ به ۱۰) مخلوط و به مدت ۴ دقیقه همزده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه درون سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت و ۲۰ میکرولیتر از فاز بالای استخراج متانولی با ۸/۲ میلی لیتر آب و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین مخلوط شد و بعد از ۵ دقیقه یک میلی لیتر کربنات سدیم ۱۰ درصد نیز به مخلوط فوق اضافه و به مدت یک ساعت در دمای اتاق و درجای تاریک قرار داده شد. پس از این مدت، جذب نمونه ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش در ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. جهت رسم منحنی استاندارد از اسیدگالیک (صفر تا ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) استفاده شد و محتوای فنولی کل به صورت میلی گرم اسیدگالیک در هر کیلوگرم نمونه گزارش گردید (محسنی^۴ و همکاران، ۲۰۱۹؛ شریفی^۵ و پوراکبر^۶، ۲۰۱۵).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی با مهار رادیکال DPPH

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های حاصل به روش فعالیت به دام اندازی رادیکال ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل تعیین گردید. به این ترتیب که ۷۵۰ میکرولیتر از انواع مختلف عصاره های بدست آمده به ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۰/۳ میلی مولار محلول DPPH رقیق شده با متانول به نسبت ۵:۲ اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای

برای تهیه عصاره به روش میدان پالس الکتریکی، ابتدا پودر گیاه آسیاب شد و سپس تحت تأثیر پیش تیمار میدان الکتریکی پالسی با شدت ۳/۵ و ۷ کیلوولت بر سانتیمتر و تعداد پالس ۳۰ قرار گرفت و سپس به منظور استخراج عصاره به نسبت ۱:۵ به ترتیب با اتانول ۵۰ درصد، اتانول ۹۶ درصد و آب در دمای محیط توسط شیکر ارلن و بالن به مدت ۲۴ ساعت مخلوط و بعد از طی این مدت در دمای اتاق با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ فیلتر گردید. جهت حذف حلال در محلول فیلتر شده از تبخیرکننده تحت خلأ دواردر دمای ۶۰ درجه سانتی گراد استفاده شد و نهایتاً در آون حدود ۴۰ درجه در یک ارلن با دهانه گشاد تا خشک شدن کامل در مدت زمان حدود ۴ ساعت خشک شدند (طیبی راد^۱ و همکاران، ۲۰۲۱).

تیمار با اولتراسونیک

در استخراج عصاره به روش اولتراسونیک، از امواج غیر مستقیم اولتراسونیک با دو فرکانس ۳۷ و ۸۰ کیلوهرتز در دمای ۲۵ درجه به مدت یک ساعت استفاده شد. ۵۰ گرم گیاه آسیاب شده به طور جداگانه در سه حلال آب، اتانول ۵۰ درصد و اتانول ۹۶ درصد در بشر مخلوط شد و هریک به مدت یک ساعت در حمام اولتراسونیک قرار گرفتند. سپس محلول صاف و حلال ها توسط دستگاه تبخیر کننده دوار در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و به مدت ۳۰ دقیقه حذف گردید. عصاره های حاصل تا زمان مصرف در ظروف شیشه ای قهوه ای در یخچال نگهداری شدند

تمامی عصاره های بدست آمده از نظر آزمون های اندازه گیری فنل کل، ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد (DPPH)

⁴ Mohseni

⁵ Sharifi

⁶ Poorakbar

¹ Tiebirad

² Shahsavari

³ Rabiei

اتاق به آرامی هم زده شد و جذب محلول در ۵۱۸ نانومتر نسبت به یک سل شاهد (فاقد نمونه) با اسپکتروفتومتر (UV-160A, Shimadzu) اندازه‌گیری شد. همه اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام شد. در نهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$AA\% = [(AbsControl - AbsSample) / AbsControl] \times 100$$

در این رابطه $AbsControl$ میزان جذب نمونه ی کنترل (که شامل تمام معرفها به جز عصاره می‌باشد) و $AbsSample$ میزان جذب نمونه‌ها می باشد (معتقد و همکاران، ۲۰۲۲).

تجزیه و تحلیل آماری
 آنالیز آماری نمونه‌ها با استفاده از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم افزار Minitab 16 انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

ترکیبات فنلی کل

نتایج حاصل از این پژوهش (جدول ۱) نشان داد که میزان کل ترکیبات فنلی در نمونه های مختلف اختلاف معنی داری داشت ($p < 0.05$). به طوری که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در نمونه استخراج شده با فراصوت و حلال اتانول ۵۰ درصد در فرکانس ۸۰ کیلوهرتز بدست آمد. به‌طورکلی نتایج نشان داد که افزایش فرکانس در روش فراصوت منجر به افزایش در میزان ترکیبات فنلی گردید.

اندازه‌گیری پارامتر رنگی
 عکس برداری از نمونه‌ها با استفاده از تصویربرداری با دوربین کانون (مدل GIX 14.3M، Japan) انجام گرفت و تغییرات رنگ نمونه‌ها در فضای رنگی a^* ، b^* و L^* با نرم‌افزار Image J نسخه ۱.۴۴ بررسی گردید (فریمانی^۱ و همکاران، ۲۰۲۰).

جدول ۱- میزان فنل کل عصاره گیاه مفراح استخراج شده به روش های مختلف

Table 1 – Total phenol in the extract of Mefarah (Nepta Crispa) plant by different methods

Treatment تیمار	Total Phenol (mg Gallic acid/100gr) فنل کل	Treatment تیمار	Total Phenol (mg Gallic acid/100gr) فنل کل
US-37- E96%	335.32±1.15 g	PEF- 3.5- E96%	285.77±0.95 i
US-37- E50%	690.72±0.87 b	PEF- 3.5- E50%	544.176±0.94 d
US-37- W	230.90±1.12 j	PEF- 3.5- W	192.67±1.08 l
US-80- E96%	368.60±1.05 f	PEF- 7- E96%	321.58±1.15 h
US-80- E50%	839.39±0.91 a	PEF- 7- E50%	610.37±0.90 c
US-80- W	233.73±0.79 j	PEF- 7- W	211.78±0.79 k
M- E 96%	282.93±0.89 i	M-W	136.75±0.94 m
M- E50%	439.23±1.01 e	-----	-----

US: فراصوت، E: اتانول، W: آب، PEF: میدان الکتریکی پالسی، M: ماسراسیون

¹ Farimani

حفرگی و در نتیجه ایجاد نیروی بالا طی ترکیبند حبابها حفراتی در دیواره سلول گیاهی ایجاد می کند (اسماعیل زاده کناری^۴ و همکاران، ۲۰۱۴). میدان پالس الکتریکی نیز به دلیل دو مکانیسم حفره زایی و انتشار الکتریکی منجر به استخراج بهتر ترکیبات و نفوذ بهتر حلال در بافت و ساختار سلول گیاهی می شود. هرچند افزایش شدت میدان الکتریکی سبب تخریب بیشتر ساختار سلولی و خروج بیشتر ترکیبات فنلی می گردد اما نشان داده شده است که شدت های بالای میدان پالس الکتریکی (بیشتر از ۱۰۰ کیلووات بر متر) اثر معکوس بر میزان ترکیبات فنلی داشته و آن ها را تخریب می کند (سگویا^۵ و همکاران، ۲۰۱۵ و طیبی راد و همکاران، ۲۰۲۱).

نتایج مطالعه حاضر با نتایج اسماعیل زاده و همکاران (۲۰۱۴) هم خوانی داشت، آنها اعلام نمودند که روش فراصوت توانست تاثیر مثبتی بر روی روش های اتانولی، آب اتانولی و آبی عصاره کنجد داشته باشد و ترکیبات فنلی بیشتری در این روش ها بدست آورد. همچنین آنها اعلام نمودند که کمترین میزان ترکیبات فنلی در روش استخراج آبی بوده است. آنها علت پایین بودن ترکیبات فنلی در روش استخراج آبی را به قطبیت بالای آب نسبت دادند. از طرفی ایشان اعلام نمودند که در عصاره آبی- اتانولی میزان ترکیبات فنلی افزایش یافت که می توان این افزایش را در ارتباط با قطبیت حلال و تورم بافت های گیاهی در این روش دانست. در چارچوب این مشاهدات، باید اشاره نمود که ترکیبات فنلی اغلب با سایر مولکول های بیولوژیک (پلی ساکاریدها، پروتئین ها، ترپن ها، کلروفیل، ترکیبات معدنی) همراه هستند و یک حلال مناسب برای استخراج ترکیبات خاص باید بر

همچنین افزایش شدت پالس از ۳/۵ به ۷ کیلوولت منجر به افزایش ترکیبات فنلی در روش استخراج با میدان پالس الکتریکی گردید. کمترین مقادیر ترکیبات فنلی نیز در روش خیساندن حاصل شد. در ارتباط با نوع حلال مورد استفاده در این تحقیق نیز می توان گفت که حلال اتانول ۵۰ درصد منجر به استخراج بیشترین میزان ترکیبات فنلی گردید. پس از آن حلال اتانول ۹۶ درصد و سپس حلال آب بهترین استخراج را داشتند. مشخص است که تفاوت در قطبیت حلال های مورد استفاده برای استخراج و حلالیت ترکیبات فنلی در آنها، دلیل اصلی تفاوت در مقدار ترکیبات فنلی عصاره های استخراج شده با حلال های مختلف است. بطور کلی ویژگی های آبدوستی و آبگریزی ترکیبات فیتوشیمیایی تاثیر مهمی بر حلالیت آنها در حلال مورد استفاده جهت استخراج دارد. از این رو قطبیت حلال می تواند نقش مهمی در کارایی استخراج این ترکیبات داشته باشد (تاسو و دنگ^۱، ۲۰۰۴). استفاده از آب به عنوان حلال، یک محیط کاملا قطبی ایجاد می کند که در آن برخی از ترکیبات فنلی با درجه قطبیت پایین به میزان کمتری استخراج می شوند. علاوه بر این، عصاره آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین ها و قندهای محلول می باشد که می توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبات فنلی تداخل ایجاد نمایند (چیرینوس^۲ و همکاران، ۲۰۰۷؛ ایلوکی - آسانزا^۳ و همکاران، ۲۰۱۵). با توجه به این موارد، علت میزان بالای استخراج ترکیبات فنلی در عصاره های اتانولی نسبت به انواع آبی توجیه می شود. از طرفی روش فراصوت با تخریب دیواره سلول های گیاهی سبب خروج بیشتر ترکیبات فنلی و زیست فعال می شود. در این روش امواج فراصوت طی فرآیند

⁴ Esmaeilzadeh Kenari

⁵ Segovia

¹ Taso & Deng

² Chirinos

³ Iloki-Assanga

اساس ویژگی‌های ساختاری و سطح حلالیت آن مولکول در حلال مورد نظر انتخاب شود (قاسم زاده^۱ و همکاران، ۲۰۱۴).

که روش‌های مختلف استخراج و نوع حلال تاثیر معنی‌داری (p<۰/۰۵) بر میزان مهار رادیکال آزاد DPPH داشت. بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در نمونه فراصوت- اتانول ۵۰ درصد-فرکانس ۸۰ بدست آمد. با افزایش فرکانس در روش فراصوت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش یافت. همچنین افزایش شدت پالس از ۳/۵ به ۷ کیلوولت منجر به افزایش ترکیبات فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH در روش میدان پالس الکتریکی گردید. مطابق با نتایج مربوط به میزان ترکیبات فنلی، کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش خیساندن حاصل شد. از نظر نوع حلال نیز اتانول ۵۰

قدرت آنتی‌اکسیدانی بر اساس به دام انداختن رادیکال DPPH

عصاره‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بالایی برای اهدای اتم هیدورژن یا الکترون آزاد به رادیکال DPPH می‌باشند (شون^۲ و همکاران، ۲۰۰۳). نتایج مطالعه حاضر (جدول ۲) نشان داد

جدول ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه مفرح بر اساس مهار رادیکال آزاد DPPH به روش‌های مختلف استخراج

Table 2- Antioxidant Activity based on scavenging of DPPH Radicals of Mefrah (Nepta Crispa) plant extract by different methods

Treatment	Radical Scavenging (%)	Treatment	Radical Scavenging (%)
تیمار	درصد مهار رادیکال	تیمار	درصد مهار رادیکال
US-37- E96	71.00±0.87f	PEF- 3.5- E96	62.22±1.03h
US-37- E50	82.44±0.87b	PEF- 3.5- E50	76.65±0.87cd
US-37- W	55.19±0.95j	PEF- 3.5- W	50.96±0.91k
US-80- E96	73.01±1.02ef	PEF- 7- E96	65.74±0.86g
US-80- E50	86.47±0.97a	PEF- 7- E50	79.52±0.94 bc
US-80- W	58.55±0.90i	PEF- 7- W	52.22±1.03 jk
M- E 96	60.12±0.96hi	M-W	47.11±0.96 l
M- E50	75.21±1.05de	----	----

US: فراصوت، E: اتانول، W: آب، PEF: میدان الکتریکی پالسی، M: ماسراسیون

همکاران، ۲۰۰۶). مطابق با این نتایج، صداقت^۴ و همکاران در سال ۲۰۱۸ بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی توت سفید را در عصاره‌های استخراجی با اولتراسونیک اعلام کردند و کمترین آن را مربوط به عصاره‌های بدست آمده از روش غرقابی دانستند. اسماعیل‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۴ علت تفاوت قدرت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های آبی و عصاره‌های آلی با میدان پالس الکتریکی و اولتراسونیک را

درصد منجر به استخراج عصاره با بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گردید. پس از آن حلال اتانول ۹۶ درصد و سپس حلال آب قرار داشت. قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین تر گروه‌های هیدروکسیل راحت تر در دسترس قرار می‌گیرند (جانگ^۳ و

⁴ Sedaghat

¹ Ghasemzadeh

² Shon

³ Jung

میزان روشنایی نمونه‌ها از نظر قدرت میدان الکتریکی به ترتیب در عصاره‌ی حاصل از میدان پالس الکتریکی ۳/۵ کیلوولت با اتانول ۵۰ درصد، میدان پالس الکتریکی ۷ کیلوولت با اتانول ۵۰ درصد و پیش تیمار فراصوت با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز با اتانول ۵۰ درصد مشاهده شد. کمترین مقدار روشنایی نیز در عصاره فراصوت با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و اتانول ۹۶ درصد مشاهده شد. اسکندری^۱ (۱۳۹۳) در مطالعه تاثیر روش‌های مختلف استخراج بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده از میوه گیاه تاج‌ریزی بیان کرد که بطور کلی عصاره‌های آبی دارای کمترین شفافیت و روشنایی نسبت به عصاره‌های الکلی و هیدروالکلی بودند.

مغایرت ماهیت آبدوستی و آبگریزی ترکیبات عصاره در این روش‌ها اعلام نمودند.

پارامترهای رنگی

فاکتور روشنایی *L

پارامتر *L یا همان اندیس روشنایی نمونه بوده که مقادیر بالای آن نشان دهنده‌ی روشن تر بودن و مقادیر کم آن تیرگی نمونه را نشان می‌دهد. جدول ۳ مقادیر عددی پارامتر روشنایی *L بدست آمده برای عصاره‌های استخراج شده به روش‌های مختلف را باهم مقایسه می‌کند. براساس این نتایج مقایسه میانگین پارامتر روشنایی *L در عصاره‌های مختلف نشان داد که بالاترین میزان روشنی در نمونه‌های استخراج شده با اتانول ۵۰ درصد حاصل شد ($p < 0.05$). بالاترین

جدول ۳- پارامتر رنگی *L در عصاره‌های استخراج شده ی گیاه مفراح به روش های مختلف

Table 3- Color parameter L* in extracts of Mefrah (Nepta Crispa) by different methods

Treatment	L*	Treatment	L*
تیمار	فاکتور روشنایی	تیمار	فاکتور روشنایی
US-37- E96	36.44±0.93 a	PEF- 3.5- E96	45.31±0.80 c
US-37- E50	50.24±0.87 b	PEF- 3.5- E50	52.89±0.67 a
US-37- W	50.81±0.93 b	PEF- 3.5- W	50.20±0.69 b
US-80- E96	44.98±0.85 c	PEF- 7- E96	46.41±0.60 bc
US-80- E50	52.62±0.80 a	PEF- 7- E50	52.57±0.70 a
US-80- W	49.35±0.64 b	PEF- 7- W	49.34±0.75 b
M- E 96	42.75±0.96 d	M-W	42.69±0.72 d
M- E50	51.49±0.86 a	----	-----

US: فراصوت، E: اتانول، W: آب، PEF: میدان الکتریکی پالسی، M: ماسراسیون

داد که بالاترین مقدار *a در نمونه ماسراسیون آبی و کمترین آن در نمونه ماسراسیون با اتانول ۹۶ درصد مشاهده شد. به طور کلی در تیمارهای عصاره‌گیری شده با اتانول مشاهده شد که مقادیر *a منفی بودند که نشان دهنده‌ی سبزر بودن آن‌ها می‌باشد.

فاکتور قرمزی - سبزی *a

پارامتر *a پارامتر قرمزی-سبزی نامیده می‌شود که مقادیر بالای آن نشان دهنده قرمزی و مقادیر کم آن سبزی را نشان می‌دهد. جدول ۴ مقادیر عددی پارامتر روشنایی *a بدست آمده برای عصاره‌های استخراج شده به روش‌های مختلف در این تحقیق را باهم مقایسه می‌کند. نتایج نشان

¹ Eskandari

جدول ۴- پارامتر رنگی a* در عصاره های استخراج شده به روش های مختلف

Table 4- Color parameter a* in extracts of Mefrah (Nepta Crispa) by different methods

Treatment	a*	Treatment	a*
تیمار	فاکتور قرمزی	تیمار	فاکتور قرمزی
US-37- E96	-5.85±0.45 f	PEF- 3.5- E96	-4.75±0.38 f
US-37- E50	1.50±0.40 cd	PEF- 3.5- E50	0.84±0.22 d
US-37- W	2.07±0.23 b	PEF- 3.5- W	1.75±0.58 c
US-80- E96	-10.46±0.59 g	PEF- 7- E96	-4.99±0.60 f
US-80- E50	1.52±0.56 cd	PEF- 7- E50	0.95±0.12 cd
US-80- W	1.49±0.62 cd	PEF- 7- W	0.64±0.45 e
M- E 96	-11.31±0.43 g	M-W	4.85±0.39 a
M- E50	0.92±0.30 cd	----	-----

US: فراصوت، E: اتانول، W: آب، PEF: میدان الکتریکی پالسی، M: ماسراسیون

مقایسه میانگین پارامتر a* در عصاره‌های مختلف نشان داد که بیشترین مقادیر پارامتر a* در نمونه‌های اتانولی ۹۶ درصد حاصل شد. ترتیب این پارامتر بدین صورت بود که تیمار فراصوت ۸۰ کیلوهرتز اتانولی ۹۶ درصد کمتر از تیمار فراصوت ۳۷ کیلوهرتز اتانولی ۹۶ درصد کمتر از تیمار ماسراسیون اتانولی ۹۶ درصد قرار داشت. در واقع زردترین رنگ عصاره مربوط به تیمار خیساندن اتانولی ۹۶ درصد بود. کمترین مقادیر b* نیز مربوط به عصاره ماسراسیون اتانول ۵۰ درصد، عصاره میدان الکتریکی پالسی با شدت ۷ کیلوولت و اتانول ۵۰ درصد و عصاره میدان الکتریکی پالسی با شدت ۳/۵ کیلوولت و اتانول ۵۰ درصد بود که آبی ترین رنگ‌ها را داشتند.

بلوریان^۱ و همکاران (۱۳۹۷) عنوان کردند که میزان و نوع حلال‌های مورد استفاده به دلیل ماهیت‌های شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکی متفاوت تغییر می‌کند، لذا بدیهی به نظر می‌رسد که نوع حلال بر میزان و نوع فلاونوئیدهای استخراج شده و در نتیجه میزان زردی یا نارنجی بودن رنگ عصاره نیز تاثیرگذار باشد. وانگ^۲ و همکاران (۲۰۰۸) خصوصياتی از

اسکندری (۱۳۹۳) در مطالعه تأثیر روش‌های مختلف استخراج بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده از میوه گیاه تاج‌ریزی بیان کردند که بیشترین مقدار عددی پارامتر سبزی-قرمزی که نشان دهنده کدورت و قرمزتر بودن عصاره بود، مربوط به روش‌هایی بود که از حلال آب برای عصاره‌گیری استفاده شد. در تمامی تیمارهای عصاره‌گیری، کمترین مقدار عددی در رابطه با پارامتر سبزی-قرمزی مربوط به روش‌هایی بود که از حلال اتانول برای استخراج عصاره استفاده شد. به عبارت دیگر، کمترین مقدار عددی پارامتر a* مربوط به روش های دم کردن و دم کردن الکلی با بیشترین تیمار فراصوت بود.

فاکتور زردی - آبی *b

پارامتر b* یا همان پارامتر زردی-آبی که مقادیر مثبت آن نشان دهنده زردی و مقادیر منفی آن نشان دهنده‌ی آبی بودن است، در جدول ۵ برای عصاره‌های استخراج شده به روش‌های مختلف را باهم مقایسه شدند. براساس این نتایج

² Wang

¹ Bolourian

جدول ۵- پارامتر رنگی b^* در عصاره های استخراج شده به روش های مختلف

Table 5- Color parameter b^* in extracts of Mefrah (Nepta Crispa) by different methods

Treatment	b^*	Treatment	b^*
تیمار	فاکتور زردی	تیمار	فاکتور زردی
US-37- E96	34.30±1.28 b	PEF- 3.5- E96	16.77±0.73 ef
US-37- E50	7.46±0.50 i	PEF- 3.5- E50	3.90±0.26 j
US-37- W	9.77±0.55 gh	PEF- 3.5- W	9.01±0.68 h
US-80- E96	31.55±1.57 c	PEF- 7- E96	18.74±1.03 e
US-80- E50	8.94±0.80 h	PEF- 7- E50	2.19±0.14 j
US-80- W	14.12±0.60 f	PEF- 7- W	11.01±0.48 g
M- E 96	38.56±1.33 a	M-W	22.11±0.84 d
M- E50	-0.11±0.45 k	----	-----

US: فراصوت، E: اتانول، W: آب، PEF: میدان الکتریکی پالسی، M: ماسراسیون

سلول های گیاهی هستند. همچنین براساس نتایج حاصل، حلال اتانول ۵۰ درصد نسبت به حلال های اتانول ۹۶ درصد و آب، نقش مؤثرتری در استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد. در پارامترهای رنگی نیز بالاترین میزان روشنی در نمونه های اتانول ۵۰ درصد و کمترین مقدار روشنایی در عصاره فراصوت با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز و اتانول ۹۶ درصد مشاهده شد. مقایسه میانگین پارامتر a^* در عصاره های مختلف نشان داد که بالاترین مقدار a^* در نمونه خیساندن آبی و کمترین مقدار a^* در نمونه خیساندن با اتانول ۹۶ درصد مشاهده شد. مقایسه میانگین پارامتر روشنایی a^* در عصاره های مختلف نیز نشان داد که بیشترین مقادیر پارامتر a^* در نمونه های اتانولی ۹۶ درصد و کمترین مقادیر آن مربوط به عصاره ماسراسیون اتانول ۵۰ درصد، عصاره میدان الکتریکی پالسی با شدت ۷ کیلوولت و اتانول ۵۰ درصد و عصاره میدان الکتریکی پالسی با شدت ۳/۵ کیلوولت و اتانول ۵۰ درصد بود که آبی ترین رنگ ها را داشتند.

حلال همچون ویسکوزیته، کشش سطحی و فشار بخار را عوامل مؤثری بر میزان استخراج و رنگ عصاره ها دانستند. بر این اساس حلال اتانول و استن میزان استخراج کارتنوئیدها و فلاونوئیدها را نسبت به سایر حلال ها افزایش داد.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که قدرت آنتی اکسیدانی بر اساس روش DPPH در عصاره های استخراج شده از گیاه مفرح به کمک میدان های الکتریکی پالسی، با افزایش قدرت میدان افزایش یافت. به عبارت دیگر استخراج به روش میدان های الکتریکی پالسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره و افزایش مقدار ترکیبات فنلی کل را بهبود داد بود. در این پژوهش میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های حاصل با روش فراصوت افزایش معنی داری نسبت به روش خیساندن از خود نشان داد. اگرچه مقادیر در فراصوت با فرکانس ۸۰ کیلوهرتز بیشتر از ۳۷ کیلوهرتز بود. در واقع می توان گفت فرکانس بیشتر در روش فراصوت و شدت میدان الکتریکی در تیمار میدان الکتریکی پالسی از عوامل مؤثر بر استخراج ترکیبات از

منابع

- Abdoli, P., Moradkhani, S., & Dastan, D. (2016). Comparative analysis of *Nepeta crispa* essential oil composition in flowering and vegetative stages. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, 4(4), 106-12.
- Bahramloo, M., Moradkhani, S., & Sedaghat Hamedani, M. (2023). Phytochemical evaluation and antioxidant effects of the essential oil and distillates of *Nepeta crispa* Willd. *Journal of Medicinal Plants*, 22(86), 27-43.
- Bolourian, S., Khalilian, S., Sedaghat, N., Hoseini, F., & Afshari, M. (2018). Study of extraction conditions on the color parameters of curcumin powder, turmeric rhizome (*Curcuma longa*) using response surface methodology. *Journal of Food Research*, 28(1), 197-206.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food chemistry*, 114(1), 355-362.
- Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R., & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2), 217-225.
- Eskandari, M. (2014). Study of different methods extraction effect on physicochemical, microbial and antioxidant of Black nightshade extract. Ms.c thesis [in Persia].
- Esmailzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F., & Amiri, Z. R. (2014). Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Food science & nutrition*, 2(4), 426-435.
- Farimani, T. Y., Hesarinejad, M. A., & Tat, M. (2020). Research Full Papers A new study on the quality, physical and sensory characteristics of cupcakes with *Althaea officinalis* mucilage. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16, 25-35.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Karimi, E., & Rahmat, A. (2014). Optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoid compounds and their pharmaceutical activity from curry leaf (*Murraya koenigii* L.) using response surface methodology. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 1-10.
- Handa, S. S. (2008). An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1(1), 21-40.
- Iloki-Assanga, S. B., Lewis-Luján, L. M., Lara-Espinoza, C. L., Gil-Salido, A. A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J. L., & Haines, D. D. (2015). Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceras* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC research notes*, 8, 1-14.
- 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(3), 266-274.
- Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Ebrahimzadeh, H., & Rahimifard, N. (2013). Chemical composition of the essential oil and antioxidant activities, total phenol and flavonoid content of the extract of *Nepeta pogonosperma*. *Journal of Medicinal Plants*, 12(48), 185-198.
- Lebovka, N. I., Bazhal, M. I., & Vorobiev, E. (2002). Estimation of characteristic damage time of food materials in pulsed-electric fields. *Journal of Food Engineering*, 54(4), 337-346.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Silva, S., Henriques, M., & Ferreira, I. C. (2015). Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterisation. *Food chemistry*, 167, 131-137.
- Mo, S., He, W., Yang, Y. C., & Shi, J. G. (2003). Two benzyl dihydroflavones from *phellinus igniarius*. *Chinese Chemical Letters*, 14(8), 810-813.

- Mojab, F., Nikavar, B., & HOUSHDAR, T. M. (2009). Essential oil analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran.
- Mohseni, N. M., Mirzaee, H., & Moghimi, M. (2019). The influence of pulsed electric field and microwave pre-treatments on some characteristics of oil and meal obtained from Niger seed. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 15(4), 485-496.
- Motaghd, M., Nili-Ahmadabadi, A., & Moradkhani, S. (2022). Assessment of the anti-oxidative potential of *Nepeta crispa* Willd.(Lamiaceae) and its effects on oxidative stability of virgin sunflower oil under accelerated storage conditions. *Journal of Medicinal Plants*, 21(82), 13-27.
- Nouri, S., Kiasat, A., Kolahi, M., Mirzajani, R and Seyednejad S.M. (2016). Phytochemical, antioxidant investigation and optimization of different extraction methods in order to determine the best method of extracting curcumin from ethanolic extracts *L.Longa Curcuma* plant. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*. 3(4): 1-15. [in Persia].
- Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2009). Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. *Food chemistry*, 115(4), 1312-1319.
- Pawliszyn, J. (2012). *Comprehensive sampling and sample preparation: analytical techniques for scientists*. Academic Press. - Pawliszyn, J. 2012. *Comprehensive sampling and sample preparation: Analytical techniques for scientists*, Academic Press
- Rabiei, K., Bekhradnia, S., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., & Ebrahimzadeh, M. A. (2012). Antioxidant activity of polyphenol and ultrasonic extracts from fruits of *Crataegus pentagyna* subsp. *elburensis*. *Natural product research*, 26(24), 2353-2357.
- Rustaiyan, A., Monfared, A., & Masoudi, S. (1999). Composition of the essential oil of *Nepeta asterotrichus* Rech. F. et Aell. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 11(2), 229-230.
- Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A. H., Djafari-Bidgoli, Z., & Batooli, H. (2009). GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food chemistry*, 115(4), 1524-1528.
- Sajjadi, S. E., & Khatamsaz, M. (2001). Volatile constituents of *Nepeta heliotropifolia* Lam. *Journal of Essential Oil Research*, 13(3), 204-205.
- Sedaghat, B., & Najafian, L. (2018). Effect of different extraction methods on phenolic compounds and antioxidant properties of white mulberry (*Morus alba* L.) leaf extract.
- Segovia, F. J., Luengo, E., Corral-Pérez, J. J., Raso, J., & Almajano, M. P. (2015). Improvements in the aqueous extraction of polyphenols from borage (*Borago officinalis* L.) leaves by pulsed electric fields: Pulsed electric fields (PEF) applications. *Industrial Crops and Products*, 65, 390-396.
- Shahsavari, H., Bolandi, M., & Baghaei, H. (2020). Interaction of antimicrobial properties of hydro-alcoholic extracts of Basil (*Ocimum basilicum*), Salvia (*Salvia officinalis*) and Cinnamon in Iranian yoghurt drink (doogh). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16(1), 43-56.
- Sharifi, F., & Poorakbar, L. (2015). The survey of antioxidant properties of phenolic compounds in fresh and dry hybrid Barberry fruits (*Berberis integerrima* × *vulgaris*). *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 36(3), 1609-1617.
- Sonboli, A., Salehi, P., & Yousefzadi, M. (2004). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(9-10), 653-656.
- Taiebirad, F., Bakhshabadi, H., & Rashidzadeh, S. H. (2021). Optimization of extraction of bioactive compounds from seedless barberry fruit using pulsed electric field pretreatment.
- Timmermans, R. A. H., Groot, M. N., Nederhoff, A. L., Van Boekel, M. A. J. S., Matser, A. M., & Mastwijk, H. C. (2014). Pulsed electric field processing of different fruit juices: Impact of pH and temperature on

- inactivation of spoilage and pathogenic micro-organisms. *International journal of food microbiology*, 173, 105-111.
- Wasowicz, E., Gramza, A., Hes, M., Jelen, H., Korczak, J., Malecka, M., ... & Zawirska-Wojtasiak, R. (2004). Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13(Spec. Issue 1).
- Tsao, R., & Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of chromatography B*, 812(1-2), 85-99.- Tsao, R., and Deng, Z. 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals, *Journal of Chromatography*, 812, 85-99
- Wang, L., Li, D., Bao, C., You, J., Wang, Z., Shi, Y., & Zhang, H. (2008). Ultrasonic extraction and separation of anthraquinones from *Rheum palmatum* L. *Ultrasonics sonochemistry*, 15(5), 738-746.

Original Research

Comparison of Electric Pulse Field, Ultrasound and Maceration Methods in Investigating the Number of Phenolic Compounds, Antioxidant Power and Color Characteristics of Mefarah (*Nepta Crispa*) plant

R. Fanaei, V. Hakimzadeh*, M. A. Hesarinejad

*Corresponding Author: Associate Professor, Department of food science and technology, Quchan Branch, Islamic azad University, Quchan, Iran

Email: v.hakimzadeh@yahoo.com

Received: 11 March 2024 Accepted: 19 June 2024

[http://doi: 10.22092/fooder.2024.365247.1384](http://doi.org/10.22092/fooder.2024.365247.1384)

Abstract

In this research, pulsed electric field (PEF) and ultrasound are used as new methods in extraction of Mefarah plant extract with intensity of 3.5 and 7 kV and frequency of 37 and 80 kHz, respectively, during maceration with three solvents: 96% ethanol, 50% ethanol and water. Parameters such as the amount of total phenolic compounds, antioxidant activity and color parameters of the extracts were investigated. The results showed that ultrasound and PEF pretreatments during maceration with 50% ethanol extracted the highest number of phenolic compounds compared to other treatments and the lowest amount was related to aqueous maceration. In this regard, the highest antioxidant power by the DPPH method was found in samples with ultrasound pretreatment and PEF in 50% ethanol, which had a significant difference with the aqueous maceration method. Due to of color parameters, the results indicated that the highest amount of brightness was observed in 50% ethanol samples and the lowest amount of brightness in the ultrasound extract with a frequency of 37 kHz and 96% ethanol. The highest value of a^* parameter was observed in the aqueous extraction sample and the lowest a^* value was observed in the maceration with 96% ethanol. Also, the highest values of b^* parameter were obtained in 96% ethanolic extract and the lowest values of b^* corresponding to 50% ethanol maceration extract were obtained. In general, the results showed that ultrasound and PEF were an effective pretreatment in extraction of Mefarah in 50% ethanol extract compared to the soaking method alone.

Keywords: Ethanol, pulsed electric field, ultrasound, maceration, Mefarah.

[http://doi: 10.22092/fooder.2024.365247.1384](http://doi.org/10.22092/fooder.2024.365247.1384)

Email: v.hakimzadeh@yahoo.com نگارنده مسئول:



© 2023, The Author(s). Published by [Agricultural Engineering Research Institute](https://www.aeri.ac.ir/). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>