



Original Article

Effect of extraction method, solvent type and concentration, and extraction time on total phenolic content, total flavonoids, and antioxidant activity of *Portulaca oleracea* (L.) and *Ziziphus spina-christi* (L.) extracts

Farahnaz Ziaeipour <sup>1\*</sup>, Gholam-Reza Sharifi <sup>2</sup>, Hamid-Reza Akhavan <sup>3</sup>, Reza Hajimohammadi-Farimani <sup>4</sup>

1. MSc. student, Department of Biotechnology Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2. Professor, Department of Biotechnology Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history

Submitted: 2025-5-12

Revised: 2025-11-17

Accepted: 2025-12-7

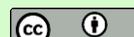
Medicinal plants are recognized as significant sources of natural antioxidants due to their bioactive compounds, particularly phenolics and flavonoids, which have shown potential in the prevention and treatment of various diseases. These compounds are widely studied for their notable antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer properties. The efficiency and profile of extracted phytochemicals are highly influenced by extraction parameters, including solvent type, solvent concentration, and extraction time. This study aimed to evaluate the effects of different extraction methods, namely maceration and ultrasound, along with solvent type and concentration (ethanol and methanol at 50% and 70%), and extraction durations (5 and 10 minutes), on the total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and antioxidant activity of extracts from *Portulaca oleracea* (L.) and the leaves and fruits of *Ziziphus spina-christi* (L.). A factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with two replications for statistical analysis. The results revealed that the highest phenolic content was obtained from *Portulaca oleracea* L. extract using the maceration method with 70% methanol for 5 minutes. Similarly, the highest flavonoid content was observed in *Z. spina-christi* leaf extract under the same conditions. Regarding antioxidant activity, the most potent effect was recorded in the leaf extract of *Z. spina-christi* using 70% ethanol and an extraction time of 10 minutes. These findings highlight the importance of optimizing extraction conditions to enhance the recovery of beneficial bioactive compounds from medicinal plants, thereby improving the antioxidant potential of the resulting extracts.

KEYWORDS

Ultrasound, Extraction yield, Bioactive compounds, Organic solvents, Medicinal plants

\* Corresponding author: *Gholam-Reza Sharifi*

✉ E-mail: *sharifi@uk.ac.ir*





## تأثیر روش استخراج، نوع و غلظت حلال و زمان استخراج بر محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های خرفه و کنار

فرح‌ناز ضیائی پور<sup>۱</sup>، غلامرضا شریفی<sup>۲\*</sup>، حمیدرضا اخوان<sup>۳</sup>، رضا حاجی محمدی فریمانی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۲. استاد، بخش بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۳. استادیار، بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

۴. دانشیار، بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

**اطلاعات مقاله** **چکیده:** گیاهان دارویی به واسطه داشتن ترکیبات زیست فعال مانند فنل‌ها و فلاونوئیدها، به‌عنوان منابع مهم ضداکسایشی شناخته می‌شوند که می‌توانند در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها موثر باشند. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به‌دلیل داشتن خواص ضداکسایشی، ضدالتهابی و ضدسرطانی، توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود جلب کرده‌اند. روش‌های استخراج عصاره گیاهان، به ویژه نوع حلال، درصد حلال و زمان استخراج، تأثیر قابل‌توجهی بر میزان و نوع ترکیبات استخراج شده دارند. در این پژوهش تأثیر روش‌های مختلف استخراج شامل خیساندن و امواج فراصوت، نوع و غلظت حلال (اتانول و متانول در غلظت‌های ۵۰ و ۷۰ درصد) و زمان استخراج (۵ و ۱۰ دقیقه) بر محتوای فنل و فلاونوئید کل و خاصیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاهان خرفه و میوه و برگ کنار مورد بررسی قرار گرفت. برای آنالیز آماری از آزمایش‌های فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشینه محتوای ترکیبات فنلی در عصاره گیاه خرفه با استفاده از روش خیساندن و حلال متانول ۷۰٪ و زمان استخراج پنج دقیقه به‌دست‌آمد. همچنین، بیشترین محتوای فلاونوئید کل در عصاره برگ کنار در شرایط مشابه به دست آمد. در مورد فعالیت ضداکسایشی، بیش‌ترین فعالیت در عصاره برگ کنار با استفاده از حلال اتانول ۷۰٪ و زمان استخراج ۱۰ دقیقه به دست آمد. این مطالعه نشان داد که بهینه‌سازی شرایط استخراج می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی بر کارایی استخراج ترکیبات مفید از گیاهان دارویی تأثیر بگذارد و موجب تولید عصاره‌هایی با خواص ضداکسایشی قوی‌تر شود.

### واژگان کلیدی:

امواج فراصوت، حلال‌های آلی، بازده استخراج، گیاهان دارویی، ترکیبات زیست فعال

\*نویسنده مسئول: غلامرضا شریفی



## مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که برای پیشگیری و یا کمتر کردن آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسایش در بدن به کار می‌روند و به‌عنوان خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده و از این جهت باعث پیشگیری عمل ناشی از این ترکیبات در بدن می‌شوند و با افزایش سرعت روند پیری و مبتلا شدن به بیماری‌های مختلف مقابله می‌کنند (Daneshmandi et al., 2010). در بین ترکیبات ضداکسایشی گیاهان، ترکیبات فنلی بیش‌ترین پراکندگی را در بسیاری از گونه‌های گیاهی دارند. توانایی اکسایشی ترکیبات فنلی عمدتاً به سبب قدرت احیاء‌کنندگی و ساختار شیمیایی آن‌ها است که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق انتقال الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های زنجیری اکسایش لیپیدها را خنثی می‌کنند (Pokorny, 2007). گیاهان منبع غنی از فنل‌ها هستند. ترکیبات فنلی مولکول‌هایی می‌باشند که به‌عنوان ترکیبات ضداکسایشی برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی، کاهش

التهاب، کاهش بروز سرطان و دیابت و همچنین کاهش میزان جهش‌زایی در سلول‌های انسانی عمل می‌کنند (Sawadogo et al., 2012). ترکیبات فنلی گیاهی به‌عنوان فنل‌های ساده یا پلی‌فنل‌ها براساس تعداد واحدهای فنلی در مولکول طبقه‌بندی می‌شوند. بنابراین، فنل‌های گیاهی شامل فنل‌های ساده، کومارین‌ها، لیگنین‌ها، تانن‌ها، اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها هستند. فلاونوئیدها برخی از رایج‌ترین فنل‌ها هستند که به‌طور گسترده‌ای در بافت‌های گیاهی توزیع شده‌اند (Ferreira et al., 2016). خرفه (*Portulaca oleracea* L.) یک گیاه دارویی و خوراکی است که برای طیف وسیعی از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Elkhayat et al., 2008). خرفه به‌دلیل داشتن خواص ضداکسایشی بالا، فواید تغذیه‌ای ارزشمندی دارد. همچنین دارای طیف وسیعی از اثرات دارویی از جمله خاصیت ضدباکتریایی، ضدالتهاب و ضداکسیدکننده است (Chen et al., 2012). این گیاه منبعی از ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها است (Kumar et al., 2022). گیاه دارویی کنار با نام علمی *Ziziphus spina-christi*

(L.) متعلق به جنس *Ziziphus* می‌باشد. گیاه کنار حاوی ترکیبات ضد اکسایشی است که در حفاظت از بدن انسان در برابر آسیب‌های اکسیداتیو رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پیری پوست نقش ایفا می‌کند (Ahsan, 2019). میزان مواد موثره در گیاه به هیچ‌وجه ثابت نبوده و عوامل متعددی بر میزان و کیفیت مواد موثره اثرگذار می‌باشد. از جمله این عوامل می‌توان به میزان رشد گیاه، زمان جمع‌آوری گیاه، نوع اندام استفاده شده، سن گیاه، نحوه نگهداری و خشک‌کردن نمونه گیاهی و توجه به عدم حضور آفات اشاره کرد (صمصام شریعت، ۲۰۰۷). در پژوهش براتی و همکاران (۱۴۰۱) اثر مراحل فنولوژی شامل رشد رویشی، گلدهی و بذردهی روی پروفایل شیمیایی و خواص ضد اکسایشی، ضد باکتریایی و ضد التهابی عصاره‌های ریشه و اندام‌های هوایی گیاه افسنطین<sup>۱</sup> مطالعه شد. نتایج نشان داد که بیش‌ترین محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت ضد اکسایشی در ریشه و در مرحله گلدهی گیاه وجود داشت. همچنین در مرحله گلدهی دارای بیش‌ترین فعالیت ضد التهابی و ضد باکتریایی است و

عصاره به دست آمده از ریشه گیاه در تمام مراحل فنولوژی<sup>۲</sup> از فعالیت ضد التهابی بالاتری نسبت به اندام‌های هوایی گیاه برخوردار است و به‌طور خاص مرحله گلدهی آن دارای فعالیت ضد اکسایشی، ضد باکتریایی و ضد التهابی بیشتری است.

بازده استخراج هم‌چنین تحت تاثیر پارامترهای متعددی از جمله نوع و درصد حلال، روش و زمان استخراج می‌باشد. مهم‌ترین عامل در استخراج مواد موثره گیاهی با توجه به قسمت‌های مختلف یک گیاه و ترکیبات آن گیاه انتخاب نوع حلال می‌باشد. در بررسی تأثیر سن گیاه و حلال بر استخراج ترکیبات فنلی و قدرت ضد اکسایشی عصاره *Moringa oleifera* Lam. استفاده از متانول به‌عنوان حلال بالاترین راندمان و عصاره آبی کم‌ترین بازده استخراج ترکیبات موثره را داشت (Norton and Karczub, 2015). به‌طور کلی بهترین حلالی که با آن می‌توان عصاره خام یک گیاه را به دست آورد، متانول یا اتانول ۸۰٪ یا ۸۵٪ می‌باشد. زیرا محققین به این نتیجه رسیده‌اند که این حلال می‌تواند ۸۰٪ مواد موثره گیاه را در خود استخراج نمایند

<sup>2</sup> Phenology stages

<sup>1</sup> Common wormwood

اتانول ۵۰٪ و ۷۰٪ و متانول ۵۰٪ و ۷۰٪ با نسبت (۱ به ۲۰) استفاده گردید. مخلوط گیاه و حلال جهت عصاره‌گیری با روش‌های مختلف درون انکوباتور شیکردار (Thermoshake, Gerhardt) با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار گرفت. پس از مدت زمان ۱۵ ساعت، در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و از کاغذ صافی عبور داده شد. جهت بررسی تاثیر زمان و روش عصاره‌گیری تفاله‌های حاصل از مرحله اول با حلال‌های تازه مخلوط شدند و عصاره‌گیری مجدداً به روش خیساندن درون دستگاه انکوباتور شیکردار و امواج فراصوت با دستگاه فراصوت پروب‌دار انجام شد. در روش خیساندن، مخلوط تفاله عصاره مرحله قبل با حلال‌های تازه مجدداً به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه درون شیکر انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار داده شد. برای عصاره‌گیری با روش امواج فراصوت مخلوط تفاله عصاره مرحله قبل با حلال‌های تازه مجدداً به مدت ۵ و ۱۰ دقیقه، هر دور ۳۰ ثانیه (۲۰/۱۰) دمای ۲۵ درجه سلسیوس، فرکانس ۷۰ کیلوهرتز و توان ۲۰۰

(Lezoul et al., 2020). روش‌های بسیار متنوعی برای استخراج عصاره‌ها وجود دارد که به قسمت‌های مختلف گیاه، اهداف و کاربرد عصاره‌ها بستگی دارد (صمصام‌شریعت، ۲۰۰۷). در پژوهشی که توسط Rodriguez-Rojo و همکاران (۲۰۱۲) برای مقایسه سه روش استخراج سنتی، مایکروویو و فراصوت انجام شد، استخراج با امواج فراصوت به‌عنوان بهترین روش استخراج ترکیبات فنلی از برگ رزماری انتخاب گردید. بنابراین، هدف این پژوهش بررسی تاثیر پارامترهای نوع و درصد حلال، زمان و روش استخراج بر محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاه خرفه، میوه و برگ کنار می‌باشد.

## مواد و روش

### جمع آوری و عصاره‌گیری از گیاه

گیاهان خرفه، میوه و برگ کنار از مزارع و باغ‌های شهرستان فاریاب جمع آوری و پس از شست‌وشوی با آب مقطر در دمای اتاق و محیط سایه خشک شدند. گیاهان خشک شده با آسیاب برقی برای عمل عصاره‌گیری پودر شدند. برای تهیه عصاره از اندام هوایی گیاه خرفه، برگ و میوه کنار با حلال‌های

محتوی این ترکیبات براساس روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و بر حسب معادل اسیدگالیک اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه خشک شده عصاره در متانول ۶۰ درصد حل شد. آنگاه از غلظت‌های مختلف گالیک اسید و محلول عصاره، از هر یک ۰/۱ میلی‌لیتر به لوله آزمایش انتقال داده شد و به آن‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر محلول فولین-سیوکالتیو ۱۰ درصد اضافه و پس از گذشت پنج دقیقه به آن‌ها ۰/۴ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک و در دمای اتاق نگهداری شدند. میزان جذب نوری به وسیله دستگاه طیف سنج نوری فرابنفش-مرئی (Epoch, Biotek) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی درجه‌بندی به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید در لیتر عصاره‌گزارش گردید (Slinkard & Singleton., 1977).

#### تعیین محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئیدها با استفاده از معرف آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. به یک میلی‌لیتر از عصاره و محلول‌های استاندارد با غلظت‌های مختلف، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار

وات در دستگاه فراصوت پروب‌دار (Hielscher, Germany) قرار گرفت (Bajerova et al., 2014). عصاره حاصل از دو روش خیساندن و امواج فراصوت، سانتریفیوژ گردید و از کاغذ صافی عبور داده شد و هر کدام از تیمارها با عصاره‌ی مرحله اول ترکیب شدند. عصاره‌ها در دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلاء ( IKA RV10, Germany) با دمای ۶۵ درجه سلسیوس و سرعت ۹۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه تغلیظ شدند. برای حذف کامل حلال ابتدا از سه روش مختلف استفاده شد. در روش اول درون انکوباتور شیکر دار با دمای ۴۰ درجه سلسیوس، در روش دوم درون بن ماری با دمای ۶۰ درجه سلسیوس و در روش سوم درون دستگاه خشک کن انجمادی ( Zibrus/ Vaco5, Germany) انجام شد و روش سوم به‌عنوان بهترین روش انتخاب و برای خشک کردن کامل همه نمونه‌ها از این روش استفاده شد. در نهایت عصاره‌های خشک شده جمع‌آوری و با هاون چینی پودر و در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس تا زمان آنالیز نگهداری شدند.

#### تعیین محتوای فنل کل

(رابطه ۱).

$$AA\% = \left[1 - \frac{AS}{AC}\right] \times 100$$

AA% درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH، AC جذب شاهد و AS جذب نمونه می‌باشد.

### آنالیز آماری

آنالیز آماری با آزمایشات فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در دو تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل نوع و درصد حلال (اتانول و متانول ۵۰ و ۷۰ درصد)، زمان استخراج (۵ و ۱۰ دقیقه) و روش استخراج (خیساندن و امواج فراصوت) بود. میانگین‌های حاصل با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در نرم‌افزار آماری SAS در سطح احتمال ( $P \leq 0.05$ ) مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

سنجش محتوای فنل و فلاونوئید کل و خاصیت ضداکسایشی عصاره خرفه، میوه و برگ کنار با دو روش عصاره‌گیری (روش خیساندن و روش فراصوت)، تاثیر زمان (در دو زمان پنج و ۱۰ دقیقه)، تاثیر درصد و نوع حلال (حلال‌های اتانول و متانول ۵۰٪ و ۷۰٪) بررسی و نتایج نشان داد که انتخاب پارامترهای استخراج تاثیر قابل‌توجهی بر

اضافه شد و پس از مخلوط نمودن به مدت پنج دقیقه در دمای آزمایشگاه، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه گردید و پس از پنج دقیقه در محیط آزمایشگاه ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد و جذب نوری در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت شد. از کوئرستین به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی درجه‌بندی استفاده شد (Chang et al., 2002). محتوای فلاونوئید کل به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین در لیتر عصاره گزارش گردید.

### اندازه‌گیری خاصیت ضداکسایشی

خاصیت ضداکسایشی نمونه‌ها با روش مهار رادیکال آزاد DPPH انجام گرفت. به این صورت که ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱۳۵ میلی مولار از DPPH با ۱/۵ میلی‌لیتر از عصاره در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مخلوط و از محلول متانول به جای عصاره به‌عنوان شاهد استفاده شد. جذب محلول پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه در محیط تاریک در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و فعالیت ضداکسایشی بر اساس (رابطه ۱) محاسبه گردید (Brand et al., 1995).

محتوای فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های گیاه خرفه، میوه و برگ کنار دارد. نتایج حاصل از سنجش محتوای فنل کل نشان می‌دهد که بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). به طوری که بیشترین محتوای فنل کل در گیاه خرفه و عصاره‌گیری به روش خیساندن و همزدن در انکوباتور شیکردار، زمان پنج دقیقه و حلال متانول ۷۰ درصد (۷۷۲/۱۹ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ). نتایج حاصل از سنجش محتوای فلاونوئید کل (جدول ۲) نشان می‌دهد که بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌دار وجود دارد و بیشترین محتوای فلاونوئید کل در برگ کنار با روش عصاره‌گیری خیساندن و همزدن، مدت زمان ۵ دقیقه و حلال متانول ۷۰ درصد (۱۸۴۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر) می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ). درصد حلال، فاکتور تعیین کننده در استخراج ترکیبات فنلی می‌باشد به طوری که حتی نقشی مهم‌تر از نوع حلال ایفا می‌کند. درصد بهینه ۷۰٪ باعث ایجاد تعادل میان قدرت حل‌کنندگی، نفوذپذیری و تعامل با ساختار گیاهی شده و بازده استخراج را به حداکثر می‌رساند. ترکیبات فنلی گیاهی عمدتاً قطبی هستند و

برای استخراج موثر نیاز به حلالی با قطبیت متوسط دارند. مخلوط متانول ۷۰٪ دارای قطبیتی است که بیشترین انطباق را با قطبیت ترکیبات فنلی دارد. در مقابل، متانول ۵۰٪ حاوی آب بیشتر بوده و قطبیت بالاتر از حد بهینه دارد، که می‌تواند سبب کاهش حل‌شدن برخی فنل‌ها شود (Dai & Mumper, 2010). سلطیانان و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که در ترکیب متانول ۷۰٪ نسبت مناسب آب به کاهش ویسکوزیته، افزایش نفوذ به بافت‌های گیاهی و در نهایت استخراج موثرتر کمک می‌کند در حالی که در غلظت‌های پایین‌تر ویسکوزیته افزایش یافته و عملکرد حلال در استخراج کاهش می‌یابد (Sultana et al., 2009). در پژوهشی که توسط عسگری کفرانی و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی اثر حلال و روش استخراج بر محتوای فیتوشیمیایی و فعالیت ضداکسایشی عصاره برگ *Moringa oleifera Lam.* مشاهده شد که متانول بیشترین تاثیر را در استخراج محتوای فنل کل (۱/۳۵ ± ۲۴/۷۹ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره خشک) و فلاونوئید کل (۱/۴۵ ± ۸۱/۱۴ میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره خشک) داشت (عسگری کفرانی و همکاران،

حلال اتانول ۷۰٪ و مدت زمان ۱۰ دقیقه  
 (۵/۰۵۹۷ میلی‌گرم بر لیتر) به دست آمد  
 ( $P \leq 0/05$ ). مطالعه ژو و همکاران (۲۰۱۱) در  
 بررسی خواص ضداکسایشی عصاره جوانه  
 گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*)  
 (Moench.) نشان داد که روش استخراج و  
 نوع حلال تاثیر مهمی بر میزان فعالیت  
 ضداکسایشی عصاره دارد (Zhu et al.,  
 2011).

(۲۰۲۱). در مقایسه بین تاثیر حلال اتانول و  
 متانول بر استخراج ترکیبات فنلی و  
 فلاونوئیدی برگ و ریشه گیاه *Moringa*  
*oleifera Lam.* مشخص شد که حلال  
 متانول برای استخراج ترکیبات فنلی و  
 فلاونوئیدی بهتر می‌باشد (Sultana et al.,  
 2009). به علاوه، بیش‌ترین فعالیت  
 ضداکسایشی (جدول ۳) در نمونه برگ کنار،  
 با روش عصاره‌گیری خیساندن و همزدن،

جدول ۱. تاثیر تیمارهای روش عصاره‌گیری (خیساندن و امواج فراصوت)، زمان استخراج (۵ و ۱۰ دقیقه)، نوع حلال  
 (اتانول و متانول) در غلظت‌های (۵۰ و ۷۰ درصد) بر محتوای فنل کل نمونه‌های خرفه، میوه کنار و برگ

ردیف	گیاه	روش عصاره گیری	زمان	حلال	درصد حلال	میانگین	انحراف معیار	مقایسه دانکن
1	P	U	5	E	50	324.76	0.70	D
2	P	U	5	E	70	207.26	2.14	H
3	P	U	5	M	50	167.22	2.09	I
4	P	U	5	M	70	265.01	0.01	F
5	P	U	10	E	50	178.45	0.69	I
6	P	U	10	E	70	386.22	1.41	B
7	P	U	10	M	50	353.86	0.02	C
8	P	U	10	M	70	299.16	1.43	E
9	P	S	5	E	50	165.71	1.61	I
10	P	S	5	E	70	238.58	0.69	G
11	P	S	5	M	50	113.20	2.69	K
12	P	S	5	M	70	772.19	9.10	A
13	P	S	10	E	50	107.49	2.76	K
14	P	S	10	E	70	141.43	0.72	J
15	P	S	10	M	50	177.27	3.5	I
16	P	S	10	M	70	136.21	1.42	J
17	ZF	U	5	E	50	317.39	7.08	B
18	ZF	U	5	E	70	251.66	0.52	EF
19	ZF	U	5	M	50	231.10	0.79	G
20	ZF	U	5	M	70	192.24	0.74	I
21	ZF	U	10	E	50	265.70	4.23	D

22	ZF	U	10	E	70	264.51	0.69	D
23	ZF	U	10	M	50	306.56	1.45	C
24	ZF	U	10	M	70	177.80	2.83	K
25	ZF	S	5	E	50	183.01	0.71	J
26	ZF	S	5	E	70	248.32	0.01	F
27	ZF	S	5	M	50	183.00	0.72	J
28	ZF	S	5	M	70	255.23	0.71	E
29	ZF	S	10	E	50	383.00	0.72	A
30	ZF	S	10	E	70	229.31	0.71	G
31	ZF	S	10	M	50	188.21	1.40	I
32	ZF	S	10	M	70	198.32	0.009	H
33	ZF	U	5	E	50	86.716	0.71	N
34	ZL	U	5	E	70	120.04	0.71	KL
35	ZL	U	5	M	50	312.64	0.70	D
36	ZL	U	5	M	70	108.10	0.72	M
37	ZL	U	10	E	50	238.21	1.40	G
38	ZL	U	10	E	70	286.52	4.25	F
39	ZL	U	10	M	50	576.62	0.72	B
40	ZL	U	10	M	70	134.01	0.70	J
41	ZL	S	5	E	50	121.05	0.71	K
42	ZL	S	5	E	70	294.6	0.01	E
43	ZL	S	5	M	50	187.72	0.71	H
44	ZL	S	5	M	70	185.87	0.71	H
45	ZL	S	10	E	50	117.02	0.73	L
46	ZL	S	10	E	70	593.02	0.35	A
47	ZL	S	10	M	50	163.30	2.83	I
48	ZL	S	10	M	70	323.92	2.15	C

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

خیساندن (S)، امواج فراصوت (U)، اتانول (E)، متانول (M)، خرفه (P)، میوه کنار (ZF)، برگ کنار (ZL)

جدول ۲. تاثیر تیمارهای روش عصاره‌گیری (خیساندن و امواج فراصوت)، زمان استخراج (۵ و ۱۰ دقیقه)، نوع حلال (اتانول و متانول) در غلظت‌های (۵۰ و ۷۰ درصد) بر محتوای فلاونوئید کل نمونه‌های خرفه، میوه کنار و برگ کنار

ردیف	گیاه	روش		حلال	درصد حلال	میانگین	انحراف معیار	مقایسه دانکن
		عصاره‌گیر	زمان					
1	P	U	5	E	50	331.2	32.52	CD
2	P	U	5	E	70	307.2	9.89	DE
3	P	U	5	M	50	375.2	4.24	BCD
4	P	U	5	M	70	324.2	2.82	DE
5	P	U	10	E	50	422.2	5.65	AB

6	P	U	10	E	70	433.2	21.21	AB
7	P	U	10	M	50	453.2	63.63	AB
8	P	U	10	M	70	412.2	11.31	ABC
9	P	S	5	E	50	466.2	5.65	A
10	P	S	5	E	70	460.2	28.28	AB
11	P	S	5	M	50	242.2	31.11	E
12	P	S	5	M	70	303.2	134.35	DE
13	P	S	10	E	50	425.2	12.72	AB
14	P	S	10	E	70	314.2	5.65	DE
15	P	S	10	M	50	439.2	18.38	AB
16	P	S	10	M	70	470.2	25.45	A
17	ZF	U	5	E	50	79.2	15.55	C
18	ZF	U	5	E	70	129.2	42.42	AB
19	ZF	U	5	M	50	78.2	8.48	C
20	ZF	U	5	M	70	80.2	5.65	C
21	ZF	U	10	E	50	93.2	26.87	C
22	ZF	U	10	E	70	100.2	28.28	BC
23	ZF	U	10	M	50	54.2	2.82	C
24	ZF	U	10	M	70	62.2	25.45	C
25	ZF	S	5	E	50	75.2	12.72	C
26	ZF	S	5	E	70	67.2	7.07	C
27	ZF	S	5	M	50	58.2	36.76	C
28	ZF	S	5	M	70	101.2	26.87	ABC
29			10		50	74.2	22.62	C
30	ZF	S	10	E	70	129.2	21.21	AB
31	ZF	S	10	E	50	74.2	16.97	C
32	ZF	S	10	M	70	80.2	25.45	C
33	ZF	S	5	M	50	1063.2	66.46	DE
34	ZF	U	5	E	70	1413.2	43.84	A-D
35	ZL	U	5	E	50	1406.2	93.81	A-D
36	ZL	U	5	M	70	1063.2	69.29	DE
37	ZL	U	10	M	50	814.2	56.56	E
38	ZL	U	10	E	70	1585.2	685.89	A-C
39	ZL	U	10	E	50	1727.2	69.29	AB
40	ZL	U	10	M	70	1713.2	52.32	AB
41	ZL	U	5	M	50	1701.2	72.12	AB
42	ZL	S	5	E	70	1780.2	50.91	AB
43	ZL	S	5	E	50	1738.2	166.72	AB
44	ZL	S	5	M	70	1840.2	141.42	A
45	ZL	S	10	M	50	1331.2	193.74	B-D
46	ZL	S	10	E	70	1174.2	144.24	C-E
47	ZL	S	10	E	50	1572.2	282.84	A-C
48	ZL	S	10	M	70	1393.2	343.65	A-D

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است.

خیساندن (S)، امواج فراصوت (U)، اتانول (E)، متانول (M)، خرفه (P)، میوه کنار (ZF)، برگ کنار (ZL)

جدول ۳. تاثیر تیمارهای روش عصاره‌گیری (خیساندن و امواج فراصوت)، زمان استخراج (۵ و ۱۰ دقیقه)، نوع حلال (اتانول

و متانول) در غلظت‌های (۵۰ و ۷۰ درصد) بر فعالیت ضداکسایشی نمونه‌های خرفه، میوه کنار و برگ کنار

ردیف	روش گیاه	عصاره‌گیر ی	زمان	حلال	درصد حلال	میانگین	انحراف معیار	مقایسه دانکن
1	P	U	5	E	50	334.75	14.84	D
ادامه جدول ۳-								
2	P	U	5	E	70	215.24	13.43	H
3	P	U	5	M	50	179.70	15.55	I
4	P	U	5	M	70	275	14.14	F
5	P	U	10	E	50	188.46	14.84	I
6	P	U	10	E	70	389.27	2.89	B
7	P	U	10	M	50	360.86	9.87	C
8	P	U	10	M	70	305.7	7.79	E
9	P	S	5	E	50	172.58	8.10	I
10	P	S	5	E	70	239.07	0.00	G
11	P	S	5	M	50	118.81	10.62	K
12	P	S	5	M	70	495.51	3.87	A
13	P	S	10	E	50	110.52	1.53	K
14	P	S	10	E	70	149.27	11.80	J
15	P	S	10	M	50	183.56	5.30	I
16	P	S	10	M	70	141.23	5.67	J
17	ZF	U	5	E	50	332.46	14.22	B
18	ZF	U	5	E	70	260.04	11.31	DE
19	ZF	U	5	M	50	238.60	9.818	F
20	ZF	U	5	M	70	202.05	13.11	G
21	ZF	U	10	E	50	279.29	14.97	D
22	ZF	U	10	E	70	267.12	2.99	DE
23	ZF	U	10	M	50	304.57	4.26	C
24	ZF	U	10	M	70	179.54	0.38	H
25	ZF	S	5	E	50	191.01	10.60	GH
26	ZF	S	5	E	70	252.94	6.51	EF
27	ZF	S	5	M	50	189.37	8.28	GH
28	ZF	S	5	M	70	252.05	5.21	EF
29	ZF	S	10		50	391.08	10.70	A
30	ZF	S	10	E	70	239.50	13.70	F
31	ZF	S	10	E	50	188.27	1.48	GH
32	ZF	S	10	M	70	193.84	6.34	GH

33	ZF	S	5	M	50	91.29	5.75	J
34	ZF	U	5	E	70	128.08	10.64	HI
35	ZL	U	5	E	50	320.88	10.93	C
36	ZL	U	5	M	70	112.77	7.32	I
37	ZL	U	10	M	50	243.21	8.47	E
38	ZL	U	10	E	70	288.27	6.71	D
39	ZL	U	10	E	50	580.37	6.02	B
40	ZL	U	10	M	70	138.36	6.84	HI
41	ZL	U	5	M	50	126.53	8.46	HI
42	ZL	S	5	E	70	297.91	4.64	D
43	ZL	S	5	E	50	191.21	5.64	F
44	ZL	S	5	M	70	187.34	2.79	F
45	ZL	S	10	M	50	116.65	0.21	I
46	ZL	S	10	E	70	597.05	6.04	A
47	ZL	S	10	E	50	169.81	12.04	G
48	ZL	S	10	M	70	327.26	6.87	C

حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد است.

خیساندن (S)، امواج فراصوت (U)، اتانول (E)، متانول (M)، خرفه (P)، میوه کنار (ZF)، برگ کنار (ZL)

شدن ترکیبات هدف، انتشار متابولیت‌ها از ماتریس جامد به درون حلال و جداسازی محلول استخراج شده از تفاله‌های گیاهی می‌باشد. سازوکار عمل نوع حلال و روش استخراج می‌تواند تاثیر قابل توجهی بر باشد. انتخاب حلال بستگی به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی متابولیت‌های ثانویه مانند قطبیت، حلالیت در آب، حلالیت در چربی و ساختار شیمیایی دارد. در انتخاب روش استخراج باید عواملی مانند هزینه، زمان، پایداری ترکیبات و اثرات محیطی مدنظر قرار گیرد (Sultana et al., 2009, Azmir et al., 2013, Belwal et al.,

فرآیند استخراج شامل نفوذ حلال به ساختار گیاهی، عبور از دیواره سلولی، نقش آفرینی در تخریب یا نفوذپذیری غشای پلاسمایی به‌عنوان سد اصلی برای آزادسازی متابولیت‌های درون سلولی، حل کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه استخراج شده داشته باشد. انتخاب حلال مناسب و روش استخراج بستگی به نوع و ویژگی‌های شیمیایی ترکیبات هدف دارد (Vinatoru et al., 2017). حلال مناسب باید قادر به حل کردن ترکیبات هدف در غلظت بالا باشد، بدون آن‌که اثر منفی بر ویژگی‌های زیستی یا شیمیایی آن‌ها داشته

دقیقه و حلال متانول ۷۰٪ و بیشترین فعالیت ضداکسایشی در برگ کنار و حلال‌های ۷۰٪ بود. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی غالباً قطبی هستند و برای استخراج موثر به حلالی با قطبیت متوسط نیاز دارند. در این محدوده، هم قابلیت انحلال ترکیبات افزایش می‌یابد و هم امکان نفوذ حلال به ساختار گیاهی بیشتر می‌شود. در مقابل، درصد‌های پایین‌تر متانول باعث افزایش بیش از حد قطبیت و کاهش حلالیت برخی از ترکیبات نیمه قطبی فلاونوئیدی و فنلی می‌شود (Dai & Mumper, 2010; Sultana et al., 2009). در گیاهان مورد مطالعه خرفه و کنار، ممکن است ساختار دیواره و غشای سلولی به گونه‌ای باشد که درصد بهینه حلال اثر بیشتری بر آزادسازی ترکیبات ثانویه داشته باشد. این مسئله در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است، به گونه‌ای که در برخی گیاهان، درصد حلال حتی بیش از نوع حلال یا نوع استخراج کننده اهمیت دارد (Do et al., 2014; Sultana et al., 2009). در همین راستا باقری و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه گیاه ماهور، اثر حلال‌های اتانول و متانول و با دو روش عصاره‌گیری شامل خیساندن و استفاده از

مطالعه آنوکورو و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که متانول نسبت به آب برای استخراج ترکیبات فنولی از گونه‌های مختلف گیاهی موثرتر بود (Anokwuru et al., 2011). حسینی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که مخلوط‌های اتانول و آب مقادیر بیشتری از فلاونوئیدها را نسبت به اتانول یا آب خالص به تنهایی تولید می‌کند (Hossaini et al., 2023). تحقیق انجام شده توسط لی و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که استخراج با امواج فراصوت بازده آلکالوئیدها را از گیاهان دارویی نسبت به روش‌های سنتی افزایش می‌دهد (Li et al., 2020). نتایج بررسی محتوای فنل کل، فلاونوئیدکل و فعالیت ضداکسایشی گیاه خرفه، میوه و برگ کنار با دو روش عصاره‌گیری (روش خیساندن و همزدن در و روش فراصوت)، تاثیر زمان (در دو زمان پنج و ۱۰ دقیقه)، تاثیر درصد و نوع حلال (حلال‌های اتانول و متانول ۵۰٪ و ۷۰٪) نشان داد که بیشترین محتوای فنل کل در گیاه خرفه، روش عصاره‌گیری شیکرانکوباتور، مدت زمان پنج دقیقه و حلال متانول ۷۰٪، بیشترین محتوای فلاونوئید کل در برگ کنار، روش عصاره‌گیری شیکرانکوباتور مدت زمان ۱۰

بین فعالیت ضداکسایشی با محتوای فنل کل تیمارها مشاهده شد. به‌طورکلی نتایج نشان داده که نوع گیاه، حلال و روش استخراج مهم‌ترین فاکتورها جهت تعیین محتوای ترکیبات فنلی، ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت ضداکسایشی در انار می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که بهینه‌سازی شرایط استخراج نه‌تنها می‌تواند بازده استخراج ترکیبات فعال را افزایش دهد، بلکه به حفظ کیفیت این ترکیبات نیز کمک می‌کند. به‌طور کلی، استفاده از روش‌های ساده و موثری مانند خیساندن و همزدن همراه با انتخاب دقیق حلال و زمان مناسب می‌تواند نقش مهمی در استخراج ترکیبات زیست فعال با خواص ضداکسایشی از گیاهان دارویی داشته باشد. با توجه به تاثیر بیشتر حلال متانول بر میزان ترکیبات فنل کل و فلاونوئید کل پیشنهاد می‌شود از این حلال در استخراج محتوای فنلی و فلاونوئیدی با توجه به نوع گیاه و مدت زمان عصاره‌گیری استفاده شود. درصد حلال به‌ویژه در محدوده‌ی بهینه (۰.۷۰)،

ریزموچ فراصوت را بر محتوای فنل کل، فلاونوئیدکل و فعالیت ضداکسایشی بررسی کردند. بر اساس نتایج، بیش‌ترین محتوای فنل کل (۱۱۹/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در اندام گل، ارتفاع ۲۱۰۰ متر از سطح دریا، حلال اتانول و روش عصاره‌گیری با ریزموچ فراصوت، بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل (۳۱/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در اندام برگ، ارتفاع ۲۱۰۰ متر از سطح دریا، حلال متانول و روش عصاره‌گیری با ریزموچ فراصوت و بیش‌ترین میزان فعالیت ضداکسایشی (۸۱/۴۹ درصد) در اندام گل، ارتفاع ۲۱۰۰ متری، حلال اتانول و عصاره‌گیری به روش خیساندن مشاهده شد ( Bagheri et al., 2021). در پژوهش عزیززی و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر نوع حلال و روش عصاره‌گیری بر ویژگی‌های ضداکسایشی عصاره پوست انار بررسی شد. نتایج نشان داد که روش عصاره‌گیری و نوع حلال در همه فاکتورهای اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری ایجاد کردند. به‌طوری‌که بین محتوای فنل کل، ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت ضداکسایشی، در حالت‌های متفاوت عصاره‌گیری تفاوت‌های معنی‌داری وجود داشت. هم‌چنین همبستگی مثبتی

یافته‌های این تحقیق می‌توانند کاربردهای گسترده‌ای در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی‌بهداشتی داشته باشند. عصاره‌هایی که از طریق شرایط بهینه استخراج شده‌اند، می‌توانند به‌عنوان مواد موثره طبیعی در تولید مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی، داروهای گیاهی، نگهدارنده‌های طبیعی مواد غذایی و همچنین فرمولاسیون محصولات مراقبت از پوست مورد استفاده قرار گیرند. به‌طور خاص، عصاره‌های غنی شده با متانول ۷۰٪ از خرفه و کنار می‌توانند گزینه‌ای مناسب برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنایع مختلف باشند، به شرط آن که مطالعات بیشتری در زمینه پایداری، سمیت، زیست‌فراهمی و کارایی آن‌ها در محیط‌های واقعی انجام گیرد. باوجود نتایج مفید، این مطالعه دارای محدودیت‌هایی نیز بود. احتمال بروز خطاهای آزمایشگاهی در مراحل آماده‌سازی عصاره‌ها، تعیین محتوای فنل و فلاونوئید و سنجش فعالیت ضداکسایشی وجود دارد. ترکیب فیتوشیمیایی گیاهان دارویی تحت تاثیر عواملی چون منطقه جغرافیایی، شرایط رشد، سن گیاه و زمان برداشت است به‌همین دلیل ممکن است نتایج برای نمونه‌های دیگر قابل تعمیم نباشد.

عامل بسیار مهم‌تری نسبت به سایر فاکتورها از جمله نوع حلال و روش استخراج در افزایش بازده استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است. استخراج هفت برابری فنل‌ها در متانول ۷۰٪ نسبت به متانول ۵۰٪ را می‌توان ناشی از انطباق بهتر قطبیت حلال با ترکیبات هدف، افزایش نفوذپذیری، کاهش کشش سطحی و پایداری بیشتر ترکیبات دانست. یافته‌های این پژوهش با مطالعات پیشین هماهنگ بوده و نشان می‌دهد که تنظیم دقیق درصد حلال، کلید موفقیت در استخراج بهینه ترکیبات زیست‌فعال از منابع گیاهی است. میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت ضداکسایشی در گیاه خرفه و برگ کنار نسبت به میوه کنار بیشتر بود در نتیجه در گیاه کنار در قسمت برگ نسبت به میوه حاوی خواص ضداکسایشی بیشتر می‌باشد. با توجه به اهمیت ترکیبات ضداکسایشی در پیشگیری از بیماری‌های مزمن و نقش حیاتی گیاهان دارویی در طب سنتی، این یافته‌ها می‌توانند راهکارهای جدیدی برای بهینه‌سازی فرآیند استخراج عصاره‌های گیاهی با خواص درمانی ارائه دهند. باتوجه به نقش مهم ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی،

اختلاف در پاسخ گیاه به درصدهای متفاوت حلال و روش استخراج باشد. به‌ویژه در تیمارهایی با کارایی استخراج پایین‌تر، میزان ترکیبات زیست‌فعال نزدیک به حد تشخیص روش اندازه‌گیری بوده و بنابراین نوسان بیشتری در نتایج مشاهده شده است. این موضوع هم‌چنین می‌تواند به تفاوت در همگنی نمونه‌ها، دقت ترازو، دمای محلول یا سرعت واکنش بستگی داشته باشد (Do et al., 2014).

های آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار ارقام نجف آباد و شهرضا، نخستین همایش بین‌المللی صنایع غذایی ایران،

<https://civilica.com/doc/479902>  
عسگری کفرانی، ع، فضیلتی، م، ناظم، ح. بررسی اثر حلال و روش استخراج بر محتوی فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ مورینگا الیفرا (Moringa oleifera). ۱۴۰۰، ۱۸ (۱۱۴): ۱۳۳-۱۴۵.

Ahsan, H. (2019). The biomolecules of beauty: Biochemical pharmacology and immunotoxicology of cosmeceuticals. Journal of Immunoassay and Immunochemistry, 40(1), 91-108.

هم‌چنین استفاده از تنها دو گونه گیاهی و تعداد محدودی از درصدهای حلال، گسترده مطالعاتی را محدود ساخته است. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده از طیف وسیع‌تری از گیاهان، غلظت‌های متنوع حلال و روش‌های استخراج پیشرفته مانند استخراج تحت فشار، مایکروویو و اولتراسوند استفاده گردد. هم‌چنین تفاوت زیادی بین انحراف معیارهای تیمارهای مختلف وجود دارد که می‌تواند به دلیل

## منابع

براتی، م، شریفی راد، م، و سعیدی، س. (۱۴۰۱). اثر مراحل مختلف فنولوژی بر پروفایل شیمیایی و خواص ضد‌اکسایشی، ضد باکتریایی و ضد التهابی عصاره های ریشه و اندام های هوایی. *Artemisia absinthium L.*، ۳۸ (۳) (پیاپی ۱۱۳)، ۳۹۰-۴۰۸.  
صمصام شریعت، س. (۱۳۸۶). عصاره گیری و استخراج موادموثر گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن. (چاپ دوم). مانی.  
عزیزی، غ، قاسمی پیربلوطی، ع، جعفری ولدانی، م و رحیمی، ا، ۱۳۹۴، تاثیر نوع حلال و روش عصاره‌گیری بر ویژگی

- A., Devkota, H.P., Orhan, I.E., Patra, J.K., Das, G., Anandharamkrishnan, C., Gomez-Gomez, L., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Atanasov, A.G., 2018. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *Trends in Analytical Chemistry* 100, 82–102. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.02.011>
- Brand-Williams, Wendy, Marie-Elisabeth Cuvelier, and CLWT Berset. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food science and Technology* 28(1): 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3). DOI:N/A
- Chen, B., Zhou, H., Zhao, W., Zhou, W., Yuan, Q., & Yang, G. (2012). Effects of aqueous extract of *Portulaca oleracea* L. on oxidative stress and liver, spleen leptin, PAR $\alpha$  and FAS mRNA expression in high-fat diet induced mice. *Molecular biology reports*, 39, 7981-7988. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1675-6>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, <https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1555766>
- Anokwuru, C. P., Anyasor, G. N., Ajibaye, O., Fakoya, O., & Okebugwu, P. (2011). Effect of extraction solvents on phenolic, flavonoid and antioxidant activities of three nigerian medicinal plants. *Nature and Science*, 9(7), 53-61. DOI:N/A
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering* 117, 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bagheri, Z., Foroozeh, M., Mazandarani, M., Shahieri, H., & Atashi, S. (2021). The effect of height, solvent, plant organs and extraction method on some phytochemical properties of *Verbascum speciosum* schard. In *Chaharbagh rangelands, Golestan province. Rangeland*, 15(1), 84-97. . DOI:N/A
- Bajerová, P., Adam, M., Bajer, T., & Ventura, K. (2014). Comparison of various techniques for the extraction and determination of antioxidants in plants. *Journal of separation science*, 37(7), 835-844. <https://doi.org/10.1002/jssc.201301139>
- Belwal, T., Ezzat, S.M., Rastrelli, L., Bhatt, I.D., Daglia, M., Baldi,

monoterpene biosynthesis genes in Lavender (*Lavandula angustifolia*) in response to salicylic acid and methyl jasmonate. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 36(1), 29-45.

Kumar, A., Sreedharan, S., Kashyap, A. K., Singh, P., & Ramchiary, N. (2022). A review on bioactive phytochemicals and ethnopharmacological potential of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Heliyon*, 8.(<sup>1</sup>).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08651>

Lezoul, N. E. H., Belkadi, M., Habibi, F., & Guillén, F. (2020). Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. *Molecules*, 25(20), 4672.

<https://doi.org/10.3390/molecules25204672>

Li, Y., Pan, Z., Wang, B., Yu, W., Song, S., Feng, H., & Zhang, J. (2020).

Ultrasound-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Phellodendri amurensis* cortex using deep eutectic solvent aqueous solutions. *New Journal of Chemistry*, 44(22), 9172-9178.

<https://doi.org/10.1039/D0NJ01179F>

Norton, M. P., & Karczub, D. G. (2015). Appendix4: secondary metabolites. *Plant Physiol. Dev*, 605-606.

Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants *European journal of lipid science and*

*analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules*, 15(10), 7313–7352.

<https://doi.org/10.3390/molecules15107313>

Daneshmandi, S., Soleimani, N., Sattari, M., & Pourfathollah, A. A. (2010). Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. *Arak Medical University Journal*, 13(2).

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.

<https://doi/10.1016/j.jfda.2013.11.001>

Elkhayat, E. S., Ibrahim, S. R., & Aziz, M. A. (2008). Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L. *Journal of Asian natural products research*, 10(11), 1039-1043.

Ferreira, V., Fernandes, F., Pinto-Carnide, O., Valentão, P., Falco, V., Martín, J. P., & Castro, I. (2016). Identification of *Vitis vinifera* L. grape berry skin color mutants and polyphenolic profile. *Food Chemistry*, 194, 117-127.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.153>

Hosseini, S., Maroufi, A., & Hassani, S. H. (2023). Relative expression analysis of the

- from Plant Materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.02.008>
- Zhu, K. X., Lian, C. X., Guo, X. N., Peng, W., & Zhou, H. M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126(3), 1122-1126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.027>
- technology, 109(6), 629-642. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700050>
- Rodriguez-Rojo, S., Visentin, A., Maestri, D., Cocero, M. J. (2012). Assisted extraction of rosemary antioxidants with green solvents. *J. Food Eng.*, 109, 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.012>
- Sawadogo, W. R., Le Douaron, G., Maciuk, A., Bories, C., Loiseau, P. M., Figadère, B., & Nacoulma, O. G. (2012). In vitro antileishmanial and antitrypanosomal activities of five medicinal plants from Burkina Faso. *Parasitology research*, 110, 1779-1783. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2748-4>
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55. <https://doi.org/10.5344/ajev.28.1.49>
- Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>
- Vinatoru, M., Mason, T.J. & Calinescu, I., 2017. Ultrasonically Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) of Functional Compounds