

## اثر امواج فراصوت بر استخراج ترکیبات کل فنلی و فلاونوئیدی گل گیاه سرخارگل

سعید خدادوست\*، فرشته بازاری و فاطمه زراعت پیشه

گروه شیمی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان، بهبهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۳

### چکیده

خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea Purpurea* (L.) Moench)، به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی این گیاه ارتباط دارد. در این پژوهش، از روش استخراج به کمک امواج فراصوت برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از بخش هوایی گیاه سرخارگل (مخلوط برگ شاخه و گل) استفاده گردید. جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج برای دستیابی به بازده بالاتر مقدار کل فنلی و فلاونوئید از روش طرح مرکب مرکزی (CCD) استفاده گردید. فاکتورهای مورد بررسی در این روش شامل، مقدار پودر گیاه، حجم حلال، مدت زمان و دمای امواج فراصوت بودند، که این فاکتورها با استفاده از طرح مرکب مرکزی و تابع مطلوبیت (DF) بهینه‌سازی شدند. روش استخراج و عصاره‌گیری، به کمک روش امواج فراصوت و با استفاده از محلول اتانول آبی انجام گرفت. نتایج نشان داد که بالاترین مقدار محتوای کلی فنل و فلاونوئید در ۴ گرم نمونه گیاهی، ۳ میلی‌لیتر حلال، ۲۵ دقیقه امواج فراصوت و ۴۰ درجه سانتی‌گراد امواج فراصوت بدست آمد. اندازه‌گیری محتوای کل فنلی و فلاونوئید به ترتیب با استفاده از روش فولین-سیوکالتو و کلرید آلومینیم انجام شد و میزان محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برترتیب ۶۱/۳۹۲ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم نمونه خشک و ۳۰۷/۴۴ میلی‌گرم کوئرستین به گرم نمونه خشک گیاه سرخارگل بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: گل سرخارگل، ترکیبات فنلی، ترکیبات فلاونوئیدی، طرح مرکب مرکزی، روش امواج فراصوت

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: Email: [saeid.kh64@gmail.com](mailto:saeid.kh64@gmail.com)

### مقدمه

در سال‌های اخیر به دلیل توجه و استقبال مردم نسبت به گیاهان دارویی در سطح جهان، کشت و تولید گیاهان دارویی اهمیت بیشتری پیدا کرده است (۱۰ و ۱۶). در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به عنوان مواد اولیه در صنایع آرایشی و بهداشتی و دارویی در حال افزایش است. یکی از گیاهانی که اثر آن به عنوان تعدیل‌کننده و تقویت‌کننده سیستم بدن به طور مسلم و قطعی به اثبات رسیده است، گیاه دارویی «اکنیناسه» با نام علمی (*Echinacea Purpurea* (L.) Moench) است که در ایران با نام «سرخارگل» شناخته می‌شود (۱۰). مهمترین ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی اسانس گیاه سرخارگل، هومولن (Humulene)، کاریوفیلن (Caryophelene)، اکسید کاریوفیلن (Caryophelene Oxide)، جرماکرن D، بورنئول و بورنیل استات هستند (۲ و ۴). مواد مؤثره‌ی نام برده در ریشه و بخش‌های هوایی سرخارگل، خاصیت ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی دارند (۷ و ۱۴). و در حال حاضر نیز فرآورده‌های سرخارگل به عنوان تصفیه‌کننده‌ی خون، ضد عفونی‌کننده و آرام‌بخش به کار گرفته می‌شوند و اخیراً سازمان بهداشت جهانی نیز مصرف موضعی آن را علاوه بر موارد فوق، در درمان التهابات پوستی تأیید کرده است و به عنوان کاندید در درمان بیماری ایدز مطرح

می‌باشد (۱۴). ترکیبات فلاونوئیدی به عنوان دهنده‌ی هیدروژن در تشکیل کمپلکس با فلزات سنگین به کار می‌روند. فلاونوئیدها بر اساس ساختار شیمیایی به آنتوسیانین‌ها، فلاون‌ها، ایزوفلاون‌ها، فلاونون‌ها، فلاونول‌ها و کاتچین طبقه‌بندی می‌شوند. تعداد و موقعیت گروه‌های (OH) فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۵ و ۷). فرایندهای عصاره‌گیری سنتی معمولاً بر پایه‌ی روش سوکسله و شامل: مراحل تقطیر، پرکولاسیون و ماسراسیون (خیساندن) می‌باشند. این روش در عین ساده بودن، به دلیل استفاده از حرارت، ترکیبات کم‌محلول‌تر نیز استخراج می‌شوند. اما در مقابل، روند استخراج بسیار زمان‌بر بوده و مقدار حلال‌های آلی مورد استفاده نسبتاً بالاست. از سوی دیگر، استفاده از حرارت می‌تواند منجر به آسیب رسیدن به ترکیبات حساس به دما و در نتیجه تولید مواد نامطلوب شود. به همین دلیل در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های مختلف برای کاهش زمان استخراج، کاهش مصرف حلال، کاهش آلودگی، تسریع و تسهیل استخراج ترکیب‌های فنلی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. روش‌های جدید عصاره‌گیری مانند: عصاره‌گیری با امواج فراصوت (UAE)، عصاره‌گیری با امواج میکروویو (MAE) و عصاره‌گیری با سیال فوق بحرانی (SFE)، برای استخراج ترکیبات از گیاهان بسیار سریع و مؤثر عمل می‌کنند. دکتر لیو و همکارانش در سال ۲۰۱۳ از امواج فراصوت برای استخراج ترکیبات فنلی از گیاه فلوس استفاده کردند و سپس محتوای کل فنل عصاره گیاه با استفاده از روش فولین-سیوکالتو مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (۱۰). دکتر خدادوست و همکارانش در سال ۲۰۱۷ از امواج فراصوت برای و روش سطوح پاسخ برای بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات مؤثره گیاه گل حسرت استفاده کردند (۹). استخراج به کمک امواج فراصوت یکی از مهمترین روش‌های استحصال ترکیبات ارزشمند از منابع گیاهی است و در مقیاس بزرگ و کوچک (صنعتی و آزمایشگاهی) قابل اجرا می‌باشد. در مقایسه با سایر روش‌های استخراج از جمله استخراج بر پایه‌ی میکروویو، استفاده از امواج فراصوت ارزان‌تر بوده و کاربرد آن ساده‌تر است و با اصول شیمی سبز سازگارتر می‌باشد (۸). در این روش امواج فراصوت با فرکانس بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز، به داخل ماده نفوذ کرده، موجب ایجاد کشیدگی و جمع شدن‌های پی‌درپی شده که در نتیجه‌ی آن حفراتی داخل ماده گیاهی ایجاد می‌شوند، این حفرات به صورت نامتقارن به هم پیوسته و موجب خروج سریع مواد مؤثره از داخل سلول‌ها به خارج از آن می‌شوند. به علاوه این امواج می‌توانند موجب تخریب دیواره‌ی سلول‌های زیستی شده و موجب تسهیل خروج مواد گردند (۱۷). در این روش محتوای رطوبت ماده گیاهی اهمیت فراوانی دارد زیرا حداکثر قدرت امواج در مجاورت منبع تولید موج بوده و با افزایش فاصله از منبع، قدرت امواج کاهش می‌یابد به علاوه هرچه ماده موجود در مسیر تابش، جامد و متراکم‌تر باشد میزان کاهش امواج بیشتر خواهد بود، بنابراین با به کار بردن ماده گیاهی مرطوب از کاهش قدرت امواج جلوگیری می‌شود. کاهش اندازه ذره‌ای در این روش هم موجب افزایش بازده می‌گردد. هدف از انجام این پژوهش، بکارگیری امواج فراصوت برای استخراج مواد فنلی و فلاونوئیدی از گیاه سرخارگل و بهینه‌سازی شرایط استخراج می‌باشد.

## مواد و روشها

**جمع‌آوری و آماده‌سازی و اندازه‌گیری نمونه‌ها:** بخش‌های هوایی گیاه سرخارگل مانند گل و برگ‌های خشک شده پس از تمیز کردن و پودر کردن آنها با آسیاب، به منظور محافظت در برابر نور، در کیسه‌های پلاستیکی در یک محیط تاریک و در دمای اتاق نگهداری شدند. برای انجام آزمایش، ابتدا ۴ گرم از بخش‌های هوایی سرخارگل را وزن کرده و به ارلن‌های آزمایشگاهی اضافه گردید و ۳۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰٪ به آنها اضافه گردید، سپس ارلن‌های حاوی مخلوط را در حمام فراصوت با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۲۵ دقیقه قرار داده شد و بعد از گذشت این مدت زمان، بلافاصله عصاره

با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شدند (۱). سپس برای اندازه‌گیری جذب محتوای ترکیبات فنلی، در یک لوله آزمایش به ۱۳۵ میکرولیتر از عصاره‌های برداشته شده از مرحله‌ی قبل ۱ میلی‌لیتر فولین - سیوکالتو رقیق شده با آب مقطر به نسبت (۱:۱۰) اضافه گردید. در گام بعدی مخلوط بدست آمده به مدت ۵ دقیقه در حمام آب (بن ماری) با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس ۱ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۶٪ به آن اضافه گردید و مجدداً در حمام آب با همان دما به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد. بعد از این مدت زمان، جذب عصاره‌ی گیاه در طول موج ۶۶۸ نانومتر قرائت شد (نمونه شاهد هم به همین روش انجام شد فقط به جای عصاره، ۱۳۵ میکرولیتر حلال اتانول ۷۰٪ اضافه شد). برای اندازه‌گیری جذب محتوای ترکیبات فلاونوئیدی، ابتدا در لوله آزمایش به ۵ / ۰ میلی‌لیتر از عصاره‌ها ۱ / ۵ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰٪ اضافه می‌گردد و سپس ۱ / ۰ میلی‌لیتر آلومینیم کلرید ۱۰٪، ۱ / ۰ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲ / ۸ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط اضافه گردید. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد و بعد از این مدت زمان، جذب عصاره در طول موج ۳۲۸ نانومتر قرائت گردید (نمونه شاهد هم به همین روش انجام گردید فقط به جای عصاره، ۵ / ۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰٪ اضافه شد). سپس با توجه به محلول‌های استاندارد گالیک اسید (۵۰-۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کوئرستین (۵۰-۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، منحنی‌های استاندارد نیز براساس محلول‌های استاندارد و جذب‌های نوری بدست آمده در Excel رسم گردید و معادلات آنها در زیر آورده شده است. با استفاده از منحنی‌های استاندارد و با استفاده از معادله نوشته شده کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های گیاهی تعیین مقدار شد.

$$y = 0.0473x + 0.0161,$$

$$R^2 = 0.9984$$

$$y = 0.0378x + 0.0382,$$

$$R^2 = 0.9975$$

$$\text{مقدار فنل کل} \quad \text{TPC} = \frac{c \times v}{m} \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\text{مقدار فلاونوئید کل} \quad \text{TFC} = \frac{c \times v}{m} \quad \text{معادله (۲)}$$

c: غلظت عصاره‌ی گیاه که از منحنی استاندارد بدست می‌آید (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر).

v: حجم حلال مورد استفاده برای فرایند استخراج (میلی‌لیتر).

m: وزن پودر گیاه خشک شده (گرم).

**طرح آزمایشی:** روش‌های طرح آزمایشی برای کاهش تعداد آزمایش‌ها و تعیین همزمان اثرات متغیرها و برهمکنش بین آنها توسعه داده شده‌اند (۱۳). در این پژوهش متغیرهای مؤثر بر کارایی استخراج با امواج فراصوت توسط طرح مرکب مرکزی بهینه‌سازی خواهند شد و یک مدل درجه دوم ریاضی بین متغیرهای مستقل و وابسته ساخته خواهد شد. طرح مرکب مرکزی یکی از مهمترین طرح‌های رایج مورد استفاده برای برازش مدل‌های درجه دوم است که توسط باکس و ویلسون ارائه گردیده است (۳). طرح مرکب مرکزی از نقاط فاکتوریال دو سطحی و نقاط محوری (نقاط ستاره‌ای) به همراه حداقل یک نقطه مرکزی برای برازش مدل‌های چند جمله‌ای تشکیل شده است. هدف از ارائه نقاط محوری که با مقادیر آلفا تعیین می‌شوند، مطمئن شدن از عمود بر هم بودن و تکرار پذیر بودن مدل می‌باشد (۳). به منظور داشتن یک تخمین مناسب از خطای خالص مدل معمولاً نقطه مرکزی تکرار می‌شود. در مجموع برای بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از بخش هوایی گیاه سرخارگل مانند گل، ۲۶ آزمایش انجام گردید. سطوح متغیرها و ماتریس طرح مرکب مرکزی همراه با نتایج آنها در جدول ۱

نشان داده شده است. هدف نهایی یافتن شرایطی از متغیرها (مقدار مجموعه گل و برگ گیاه سرخارگل، حجم حلال، مدت زمان و دمای حمام فراصوت) می‌باشد که در آن پاسخ متغیر وابسته (درصد استخراج) ماکزیمم شود. در شکل‌های منحنی‌های سطوح پاسخ نشان دهنده ارتباط درصد استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نسبت به متغیرهای مؤثر می‌باشد که وجود انحنا در این منحنی‌ها نشان دهنده برهمکنش بین آنها می‌باشد. گرچه با مشاهده این منحنی‌های سطوح پاسخ می‌توان اطلاعاتی را بدست آورد، اما برای نتیجه‌گیری کلی باید همه منحنی‌ها در نظر گرفته شوند و بر اساس آن تفسیر پاسخ‌های مشاهده شده صورت گیرد. منحنی‌های سطوح پاسخ برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل از گیاه سرخارگل در شکل‌های منحنی‌های سطوح پاسخ نمایش داده شده است.

**تابع مطلوبیت:** در روش‌های آماری از تابع مطلوبیت برای حل معادله‌های چند جمله‌ای بدست آمده از طرح‌های سه سطحی با پارامترهای متفاوت استفاده می‌شود (۶). روش کار تابع مطلوبیت شامل سه مرحله الف) پیش‌بینی کردن پاسخ‌های متغیر وابسته با متناسب کردن پاسخ‌های مشاهده شده با استفاده از یک تابع مبتنی بر سطوح متغیرهای مستقل، ب) یافتن سطوحی از متغیرهای مستقل که بصورت همزمان بهترین پاسخ‌های پیش‌بینی شده متغیر وابسته را تولید می‌کند و ج) حداکثر کردن شرایط مطلوب کلی نسبت با پارامترهای قابل کنترل می‌باشد. بنابراین مزیت اصلی استفاده از تابع مطلوبیت به دست آوردن پاسخ‌های کیفی و کمی بوسیله یک تبدیل سریع و ساده از پاسخ‌ها می‌باشد.

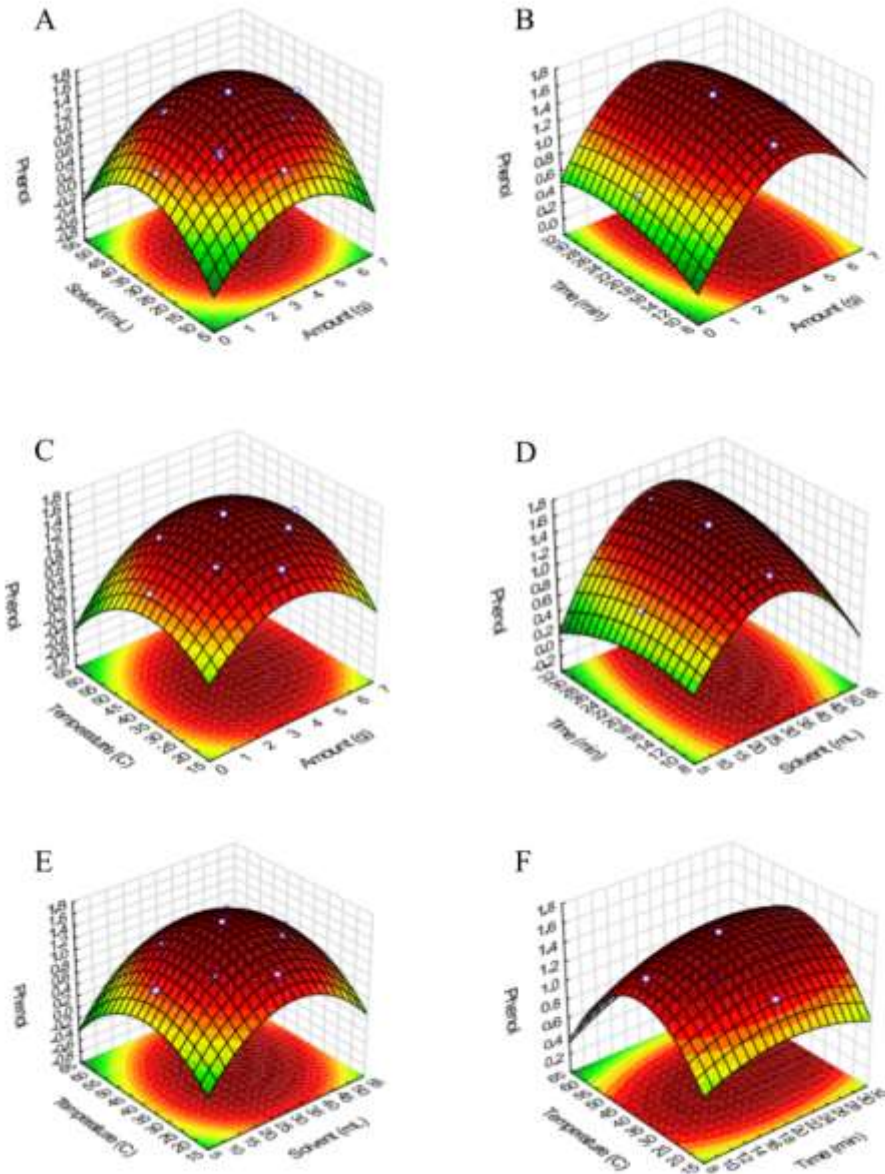
## نتایج

بعد از انجام آزمایش‌های ابتدایی و مشخص شدن پارامترهای اثرگذار بر میزان استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، از طرح آزمایشی مرکب مرکزی برای رسیدن به مقادیر بهینه پارامترها استفاده گردید. آزمایش‌های مربوطه و مقادیر پارامترها در جدول ۱ نشان داده شده است. بدلیل اینکه در این روش همزمان اندازه‌گیری دو محتوای کل فنل و فلاونید از مجموعه برگ شاخه و گل گیاه سرخارگل مد نظر بود، منحنی‌های سطوح پاسخ و جدول‌های آنالیز واریانس آنها جداگانه محاسبه شده است.

جدول (۱): فاکتورها، سطوح فاکتورها و پاسخهای بدست آمده در استخراج از گیاه سرخارگل در طرح مرکب مرکزی

متغیرها	$\alpha=2$ نقاط ستاره‌ای					
	سطوح			$-\alpha$	$+\alpha$	
	پایین (-۱)	مرکز (۰)	بالا (+۱)			
مقدار گیاه (X <sub>1</sub> )	۲	۳/۵	۵	۰/۵	۶/۵	
حجم حلال (X <sub>2</sub> )	۲۰	۳۰	۴۰	۱۰	۵۰	
زمان فراصوت (X <sub>3</sub> )	۱۵	۲۰	۲۵	۱۰	۳۰	
دمای فراصوت (X <sub>4</sub> )	۳۰	۴۰	۵۰	۲۰	۶۰	
آزمایش	(X <sub>1</sub> )	(X <sub>2</sub> )	(X <sub>3</sub> )	(X <sub>4</sub> )	فصل	فلاونوئید
۱	-۱	+۱	-۱	-۱	۱/۱۸	۱/۱۲
۲	-۱	+۱	-۱	+۱	۱/۰۹	۰/۸۵
۳	-۱	+۱	+۱	-۱	۰/۸۵	۱/۰۵
۴	-۱	+۱	+۱	+۱	۰/۹۵	۰/۹۷
۵	-۱	-۱	-۱	-۱	۰/۶۹	۱/۰۲
۶	-۱	-۱	-۱	+۱	۰/۴۵	۰/۹۴
۷	-۱	-۱	+۱	-۱	۰/۷۴	۱/۲۳
۸	-۱	-۱	+۱	+۱	۰/۵۶	۱/۱۶
۹	+۱	+۱	-۱	-۱	۱/۰۳	۱/۱۳
۱۰	+۱	+۱	-۱	+۱	۱/۱۲	۱/۰۸
۱۱	+۱	+۱	+۱	-۱	۱/۰۵	۱/۰۴
۱۲	+۱	+۱	+۱	+۱	۱/۲۲	۱/۱۵
۱۳	+۱	-۱	-۱	-۱	۱/۰۷	۱/۱۵
۱۴	+۱	-۱	-۱	+۱	۱/۰۹	۱/۲۳
۱۵	+۱	-۱	+۱	-۱	۱/۲۲	۱/۳۸
۱۶	+۱	-۱	+۱	+۱	۱/۲۵	۱/۳۴
۱۷	-۲	.	.	.	۰/۳۵	۰/۷۵
۱۸	+۲	.	.	.	۱/۰۵	۱/۱۵
۱۹	.	-۲	.	.	۱/۲۸	۰/۸۷
۲۰	.	+۲	.	.	۱/۱۳	۱/۱۲
۲۱	.	.	-۲	.	۰/۹۸	۱/۳۹
۲۲	.	.	+۲	.	۱/۱۴	۱/۴۷
۲۳	.	.	.	-۲	۱/۱۲	۱/۲۳
۲۴	.	.	.	+۲	۱/۰۳	۰/۹۶
۲۵(C)	.	.	.	.	۱/۲۸	۱/۵۷
۲۶(C)	.	.	.	.	۱/۲۷	۱/۵۸

نتایج حاصل از جدول طرح مرکب مرکزی برای استخراج فنل کل موجود در گل گیاه سرخارگل بصورت منحنی‌های سطوح پاسخ در شکل (۲) نشان داده شده است.



شکل (۲) منحنی‌های سطوح پاسخ طرح مرکب مرکزی برای استخراج فنل کل از گیاه سرخارگل، (A) مقدار گل - حجم حلال، (B) مقدار گل - زمان امواج فراصوت، (C) مقدار گل - دمای امواج فراصوت، (D) حجم حلال - زمان امواج فراصوت، (E) حجم حلال - دمای امواج فراصوت، (F) زمان امواج فراصوت - دمای امواج فراصوت.

همانطور که در شکل (۲) قابل مشاهده است، در شکل (A) با افزایش مقدار گیاه و حجم حلال، مقدار ترکیبات فنلی استخراج شده تا یک سطحی افزایش یافته و بعد از آن کاهش می‌یابد. چون در مقادیر کم حلال، حلال نمی‌تواند به داخل سلول‌ها و بافت‌های گیاهی نفوذ کند، بنابراین درصد استخراج ترکیبات فنلی کاهش می‌یابد. از طرفی دیگر با افزایش مقدار گیاه، بدلیل کم بودن مقدار حلال، کارایی استخراج کاهش می‌یابد. در شکل (B) نیز مشخص است که با افزایش مقدار گیاه و زمان تماس حلال با گیاه در معرض امواج فراصوت، درصد استخراج ترکیبات فنلی تا یک سطحی (۲/۱) افزایش پیدا کرده و سپس کاهش می‌یابد. در واقع علت کاهش به این پدیده برمی‌گردد که با افزایش مقدار گیاه در حجم ثابت حلال، امواج فراصوت توانایی کافی برای انتقال جرم از گیاه به حلال را نخواهد داشت. از طرفی دیگر در مدت زمان‌های کم نیز، مقدار سلول‌های کمتری از نمونه در معرض امواج فراصوت قرار خواهند گرفت و بنابراین دیواره سلولی آنها کمتر دچار تخریب خواهند شد و بنابراین بازدهی فرایند استخراج کاهش پیدا می‌کند.

در شکل (C) با افزایش مقدار گیاه و کاهش دما، درصد استخراج ترکیبات فنلی تا یک سطحی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. در واقع علت کاهش به این پدیده برمی‌گردد که با افزایش مقدار گیاه در زمان ثابت، تعداد سلول‌های کمتری از نمونه در معرض امواج فراصوت قرار خواهند گرفت و بنابراین دیواره‌ی سلولی آنها کمتر دچار تخریب خواهند شد بنابراین بازدهی فرایند استخراج کاهش پیدا می‌کند. در شکل (D) با کاهش حلال و افزایش زمان تماس حلال با گیاه در معرض امواج فراصوت، درصد استخراج ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد. در مدت زمان‌های بالا تعداد سلول‌های بیشتری از نمونه در معرض امواج فراصوت قرار خواهند گرفت و بنابراین دیواره‌ی سلولی آنها بیشتر دچار تخریب خواهند شد و بازدهی استخراج ترکیبات فنل افزایش می‌یابد.

در شکل (E) با کاهش حلال و افزایش دما درصد استخراج ترکیبات فنل کاهش می‌یابد. چون با مقدار ثابت گیاه در مقادیر کم حلال، حلال نمی‌تواند به داخل سلول‌ها و بافت‌های گیاهی نفوذ کند و بنابراین درصد استخراج ترکیبات فنل کاهش پیدا می‌کند. افزایش دما باعث تخریب بیشتر دیواره‌ی سلولی و بافت‌های گیاهی می‌شود به همین دلیل باعث کاهش درصد استخراج ترکیبات فنل می‌شود. در شکل (F) با افزایش زمان و دما درصد استخراج ترکیبات فنل کاهش می‌یابد. چون در مدت زمان‌های بالا تعداد سلول‌های بیشتری در معرض امواج فراصوت قرار خواهند گرفت به طوری که در مدت زمان‌های بالاتر ممکن است بدلیل وقوع اکسیداسیون (به علت قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت) میزان استخراج کاهش یابد. در طرح مرکزی برای جلوگیری از اثر متغیرهای کنترل نشده، آزمایشات بصورت تصادفی انجام شدند و نتایج حاصله در جدول (۱) نشان داده شده است. یک طرح ۴ متغیره ۵ سطحی برای تعیین سطوح پاسخ و ساختن یک مدل چند جمله‌ای درجه دوم مناسب می‌باشد. در این طراحی اثرات اصلی، اثرات برهمکنش‌ها و اثرات درجه دوم ارزیابی و بهینه سازی شدند. مهمترین اثرات و برهمکنش‌های متغیرها در اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و

فلانوییدی گیاه سرخارگل توسط آنالیز واریانس انجام گردید. آنالیز واریانس برای ترکیبات فنلی گل گیاه سرخارگل در جدول (۲) انجام گردید.

جدول (۲) نتایج آنالیز واریانس طرح مرکب مرکزی برای استخراج فنل.

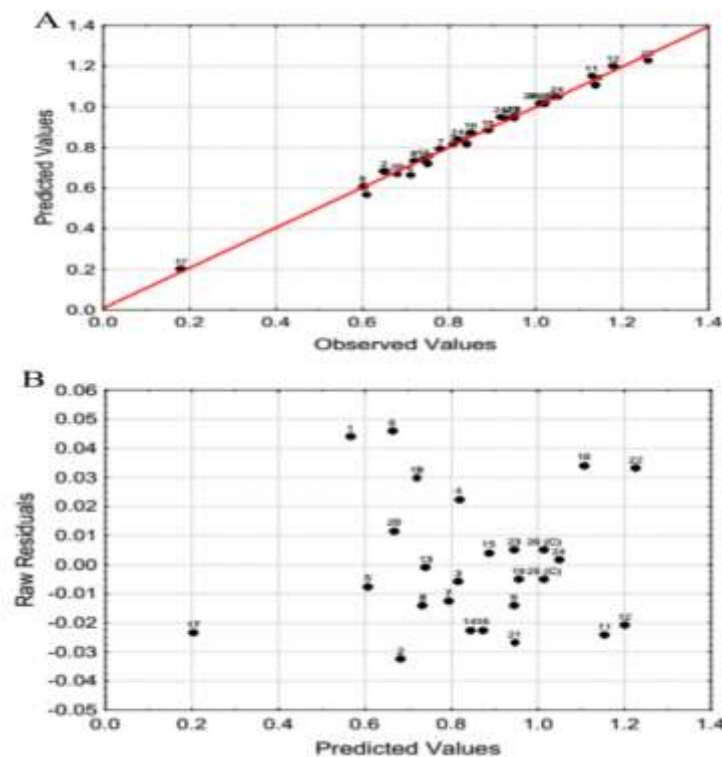
منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجات آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P
X <sub>1</sub>	۰/۱۶۰۰۶۷	۱	۰/۱۶۰۰۶۷	۳۲۰/۳۳۳	۰/۰۱۱۲۵۰
X <sub>2</sub>	۰/۱۰۱۴۰۰	۱	۰/۱۰۱۴۰۰	۲۰۲۸/۰۰۰	۰/۰۱۴۱۳۴
X <sub>3</sub>	۰/۰۳۸۴۰۰	۱	۰/۰۳۸۴۰۰	۷۶۸/۰۰۰	۰/۰۲۲۹۶۲
X <sub>4</sub>	۰/۰۳۶۸۱۷	۱	۰/۰۳۶۸۱۷	۷۳۶/۳۳۳	۰/۰۲۳۴۵۰
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	۰/۴۲۸۴۱۲	۱	۰/۴۲۸۴۱۲	۸۵۶۸/۲۴۲	۰/۰۰۶۸۷۷
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	۰/۳۶۹۰۹۴	۱	۰/۳۶۹۰۹۴	۷۳۸۱/۸۷۹	۰/۰۰۷۴۰۹
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	۰/۰۲۳۴۶۷	۱	۰/۰۲۳۴۶۷	۴۶۹/۳۳۳	۰/۰۲۹۳۶۵
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	۰/۲۵۳۰۹۴	۱	۰/۲۵۳۰۹۴	۵۰۶۱/۸۷۹	۰/۰۰۸۹۴۷
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	۰/۰۰۷۲۲۵	۱	۰/۰۰۷۲۲۵	۱۴۴/۵۰۰	۰/۰۵۲۸۳۸
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	۰/۰۰۱۶۰۰	۱	۰/۰۰۱۶۰۰	۳۲/۰۰۰	۰/۱۱۱۳۸۹
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	۰/۰۲۲۵۰۰	۱	۰/۰۲۲۵۰۰	۴۵۰/۰۰۰	۰/۰۲۹۹۸۸
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	۰/۰۳۴۲۲۵	۱	۰/۰۳۴۲۲۵	۶۸۴/۵۰۰	۰/۰۲۴۳۳۱
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	۰/۰۰۲۰۲۵	۱	۰/۰۰۲۰۲۵	۴۰/۵۰۰	۰/۰۹۹۲۲۴
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	۰/۰۰۳۶۰۰	۱	۰/۰۰۳۶۰۰	۷۲/۰۰۰	۰/۰۷۴۶۸۲
نقص در برازش	۰/۰۳۷۰۷۵	۱۰	۰/۰۰۳۷۰۸	۷۴/۱۵۰	۰/۰۹۰۱۵۱
خطای خالص	۰/۰۰۰۰۵۰	۱	۰/۰۰۰۰۵۰		
کل مجموع مربعات	۱/۱۱۶۶۶۵	۲۵			

مقدار p کمتر از ۰/۰۰۵ در جدول آنالیز واریانس نشان دهنده معنادار بودن متغیرها در سطح اطمینان ۹۵ درصد است. بنابراین در جدول آنالیز واریانس پارامترهایی که مقدار p آنها کمتر از ۰/۰۰۵ است اثر معناداری بر پاسخ آزمایش داشته و ضرایب اثرگذاری آنها وارد معادله چند جمله‌ای می‌گردد. مقدار p مربوط به عبارت نقص در برازش (LOF)<sup>۱</sup> برای مقدار فنل موجود در گیاه ۰/۰۹ می‌باشد، نشان‌دهنده این است که خطای خالص مدل معنادار نیست و مدل از انحنای کافی و توان دوم برخوردار است. کیفیت برازش مدل چند جمله‌ای با عبارت ضرایب همبستگی برای فنل  $R^2 = ۰/۹۶۶$  و  $Adjust R^2 = ۰/۹۲۴$  بیان می‌گردد.  $R^2$  معیاری برای مقدار تغییرات پیرامون میانگین بدست آمده توسط مدل می‌باشد.  $Adj R^2$  بالا و نزدیک به  $R^2$  نشان دهنده ارتباط خوب داده‌های تجربی با مدل برازش شده است. آنالیز داده‌های تجربی برای درصد استخراج ترکیبات فنلی موجود در گل توسط معادله زیر بیان می‌شوند که بیان‌کننده رفتار تجربی سیستم است.

$$\text{کل فنل} = ۱/۵۷۵ + ۰/۰۸۱۶X_1 + ۰/۰۶۵X_2 + ۰/۰۴۰X_3 - ۰/۰۳۹X_4 - ۰/۱۵۶X_1^2 - ۰/۱۴۵X_2^2 - ۰/۰۳۶X_3^2 - ۰/۱۲۰X_4^2 + ۰/۰۳۷X_1X_4 + ۰/۰۴۶X_2X_3$$

<sup>۱</sup>. Lack of fit (LOF)

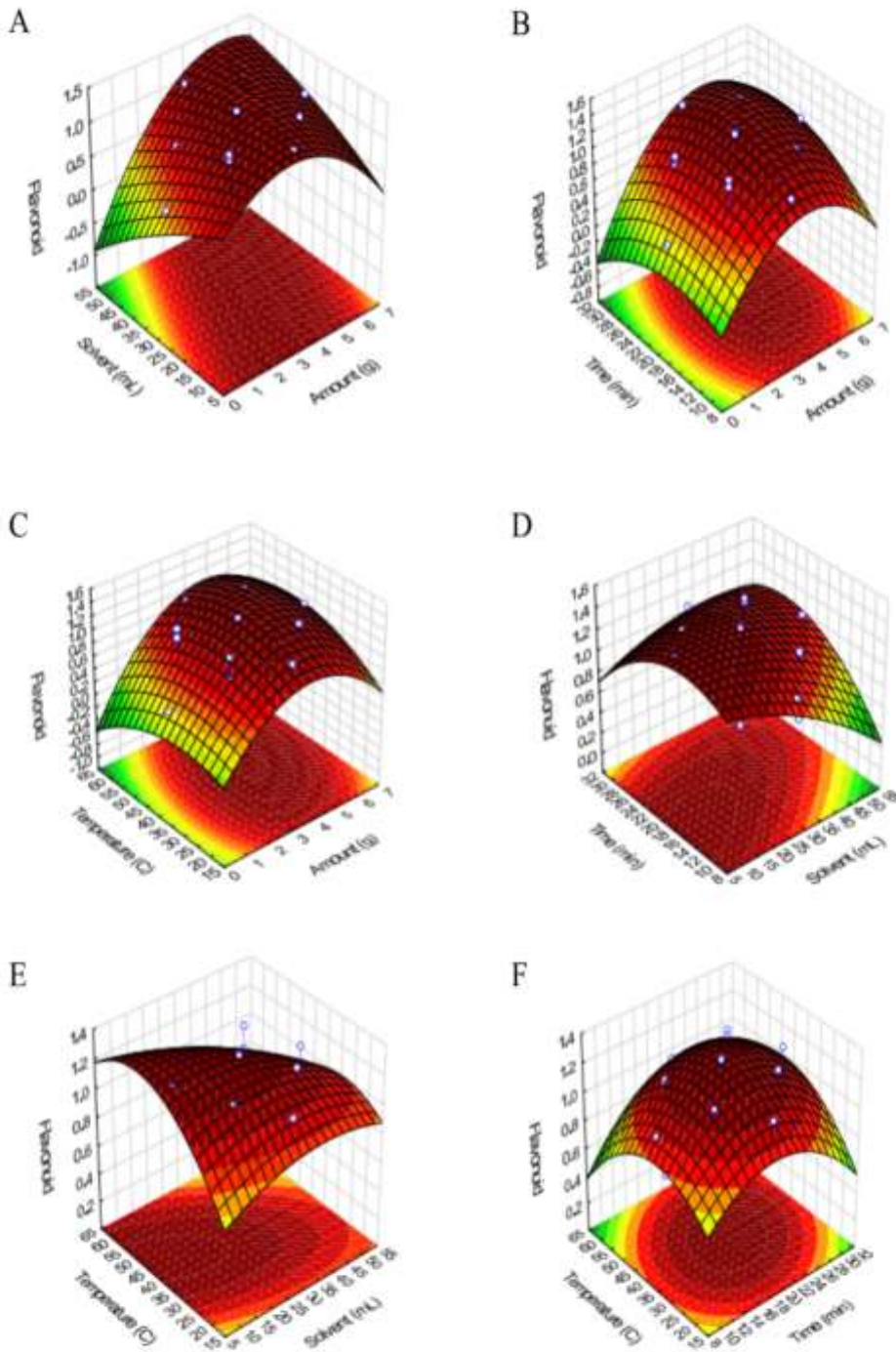
با حل کردن این معادله برای متغیرهای وارد شده در آن می‌توان شرایط استخراج ترکیبات فنلی را بهینه کرد که این کار با استفاده از تابع مطلوبیت انجام گردید. منحنی نرمال بودن داده‌های بدست آمده از طرح مرکب مرکزی در شکل‌های منحنی‌های نرمال (۳ الف و ب) نشان داده شده است. منحنی مقادیر پیش بینی شده نسبت به پاسخ‌های بدست آمده (درصد استخراج) در شکل (۳ الف) نشان داده شده است. واقع شدن داده‌ها بر خط راست ترسیم شده حاکی از عدم پراکندگی معنادار داده‌ها می‌باشد (خطاها بصورت نرمال توزیع شده و مدل برای برازش داده‌های تجربی مناسب است). در شکل (۳ ب) واضح است که هیچ الگوی مشخصی در پراکندگی داده‌ها وجود ندارد و خطای سیستماتیک در داده‌ها دیده نمی‌شود. در این شکل پراکندگی داده‌ها در بالا و پایین محور X تقریباً یکسان بوده و بیان‌کننده مناسب بودن مدل می‌باشد.



شکل (۳) الف منحنی مقادیر پیش بینی شده در مقابل مقادیر تجربی در فرایند استخراج ترکیب فنل از گیاه سرخارگل، ب) منحنی باقیمانده‌ها نسبت به مقادیر پیش بینی شده در فرایند استخراج ترکیب فنل از گیاه سرخارگل.

نتایج حاصل از جدول طرح مرکب مرکزی برای استخراج ترکیبات کلی فلاونوئید موجود در گیاه سرخارگل بصورت منحنی‌های سطوح پاسخ در شکل‌های (۴) نشان داده شده است. در شکل (A) با افزایش مقدار گیاه و حجم حلال، مقدار ترکیبات فلاونوئیدی استخراج شده تا یک سطحی افزایش می‌یابد. چون در مقادیر زیاد حلال، حلال برآحتی می‌تواند به داخل سلول‌ها و بافت‌های گیاهی نفوذ کند بنابراین درصد استخراج ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می‌یابد.

در شکل (B) نیز مشخص است که با افزایش مقدار گیاه و زمان تماس حلال با گیاه در معرض امواج فراصوت، درصد استخراج ترکیبات فلاونوئیدی نسبت به شکل (A) کاهش می‌یابد. در واقع علت کاهش به این پدیده برمی‌گردد که با افزایش مقدار گیاه در حجم ثابت حلال، امواج فراصوت توانایی کافی برای انتقال جرم از گیاه به حلال را نخواهد داشت در نتیجه باعث کاهش درصد استخراج می‌شود. در شکل (C) با افزایش مقدار گیاه و افزایش دما، درصد استخراج ترکیبات فلاونوئیدی تا یک سطحی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. در واقع علت کاهش به این پدیده برمی‌گردد که با افزایش مقدار گیاه در زمان ثابت، تعداد سلول‌های کمتری از نمونه در معرض امواج فراصوت قرار خواهند گرفت و با افزایش دما میزان استخراج ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می‌یابد ولی یک روند کاهشی در مقدار استخراج ترکیبات فلاونوئیدی در دماهای بالاتر مشاهده می‌شود که بدلیل تجزیه حرارتی یا واکنش‌های پلیمریزاسیون ترکیبات فلاونوئیدی با خودشان می‌باشد. در شکل (D) با کاهش حلال و افزایش زمان تماس حلال با گیاه در معرض امواج فراصوت، درصد استخراج ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می‌یابد. در مدت زمان‌های بالا تعداد سلول‌های بیشتری از نمونه در معرض امواج فراصوت قرار خواهند گرفت و بنابراین دیواره‌ی سلولی آنها بیشتر دچار تخریب خواهند شد و بازدهی استخراج ترکیبات فلاونوئید افزایش می‌یابد. در شکل (E) با کاهش حلال و افزایش دما درصد استخراج ترکیبات فلاونوئید نسبت به شکل D کاهش می‌یابد. چون با مقادیر کم حلال، حلال نمی‌تواند به داخل سلول‌ها و بافت‌های گیاهی نفوذ کند بنابراین درصد استخراج ترکیبات فلاونوئید کاهش پیدا می‌کند و افزایش دما باعث تخریب بیش از حد دیواره‌ی سلولی و بافت‌های گیاهی می‌شود به همین دلیل باعث کاهش درصد استخراج ترکیبات فلاونوئید می‌شود. در شکل (F) با افزایش زمان و دما درصد استخراج ترکیبات فلاونوئید گیاه کاهش می‌یابد. با افزایش دما و مدت زمان استخراج، میزان استخراج ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد ولی یک روند کاهشی در مقدار استخراج ترکیبات فلاونوئیدی در مدت زمان‌ها و دماهای بالاتر مشاهده می‌شود که بدلیل واکنش‌های پلیمریزاسیون ترکیبات فلاونوئیدی با خودشان می‌باشد.



شکل (۴) منحنی‌های سطوح پاسخ طرح مرکب مرکزی برای استخراج فلاونوئید گل از گیاه سرخارگل، (A) مقدار گل گیاه - حجم حلال، (B) مقدار گل گیاه - زمان امواج فراصوت، (C) مقدار گل گیاه - دمای امواج فراصوت، (D) حجم حلال - زمان امواج فراصوت، (E) حجم حلال - دمای امواج فراصوت، (F) زمان امواج فراصوت - دمای امواج فراصوت.

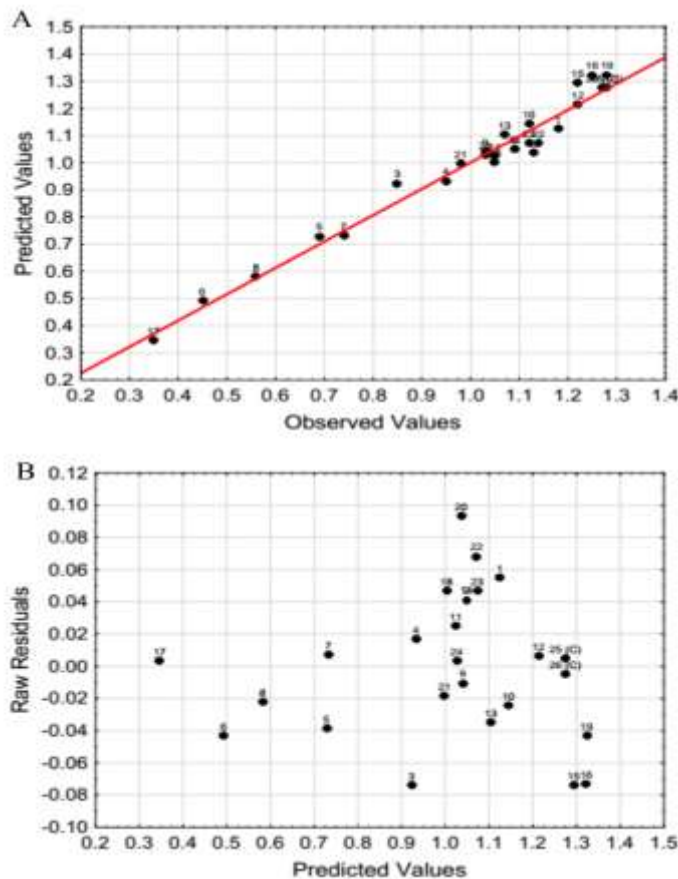
مقدار  $p$  مربوط به عبارت نقص در برازش (LOF) برای مقدار فلاونوئید موجود در  $0/078$  می‌باشد، نشان‌دهنده این است که خطای خالص مدل معنادار نیست و مدل از انحنای کافی و توان دوم برخوردار است. کیفیت برازش مدل چند جمله‌ای با عبارت ضرایب همبستگی برای فلاونوئید موجود در گل  $R^2 = 0/969$  و  $Adjusted R^2 = 0/930$  بیان می‌گردد. آنالیز داده‌های تجربی برای درصد استخراج ترکیبات فلاونوئیدی موجود در توسط معادله زیر بیان می‌شوند که بیان‌کننده رفتار تجربی سیستم است.

$$\text{درصد بازیابی فلاونوئید} = 1/275 + 0/164X_1 - 0/071X_2 - 0/150X_1^2 - 0/023X_2^2 - 0/056X_4^2 + 0/115X_1X_2 + 0/046X_1X_3 + 0/045X_1X_4 + 0/051X_2X_3 - 0/040X_2X_4$$

با حل کردن این معادله برای متغیرهای وارد شده در آن می‌توان شرایط استخراج ترکیبات فلاونوئیدی را بهینه کرد که این کار با استفاده از تابع مطلوبیت انجام گردید. منحنی نرمال بودن داده‌های بدست آمده از طرح مرکب مرکزی در شکل‌های منحنی‌های نرمال (۵-الف و ب) نشان داده شده است.

جدول (۳) نتایج آنالیز واریانس طرح مرکب مرکزی برای استخراج فلاونوئید

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجات آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P
X <sub>1</sub>	0/646817	1	0/646817	12936/33	0/005597
X <sub>2</sub>	0/123267	1	0/123267	2465/33	0/012820
X <sub>3</sub>	0/008067	1	0/008067	161/33	0/050018
X <sub>4</sub>	0/003267	1	0/003267	65/33	0/078363
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0/392727	1	0/392727	7854/55	0/007183
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0/009845	1	0/009845	196/91	0/045291
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0/062836	1	0/062836	1256/73	0/017950
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	0/055227	1	0/055227	1104/55	0/019149
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0/211600	1	0/211600	4232/00	0/009785
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0/034225	1	0/034225	684/50	0/024321
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	0/032400	1	0/032400	648/00	0/024996
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0/042025	1	0/042025	840/50	0/021950
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	0/025600	1	0/025600	512/00	0/028117
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0/007225	1	0/007225	144/50	0/052838
نقص در برازش	0/49408	10	0/04941	98/82	0/078141
خطای خالص	0/000050	1	0/000050		
کل مجموع مربعات	1/620912	25			

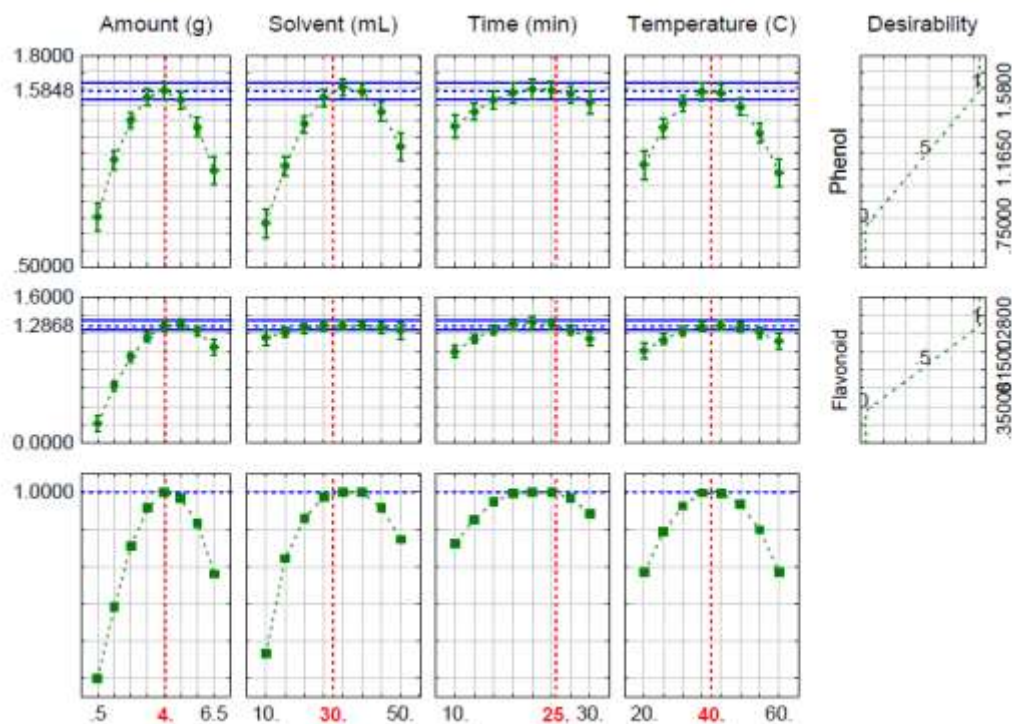


شکل (۵-الف) منحنی مقادیر پیش بینی شده در مقابل مقادیر تجربی در فرایند استخراج ترکیب فلاونوئید از گیاه سرخارگل، (ب) منحنی باقیمانده‌ها نسبت به مقادیر پیش بینی شده در فرایند استخراج ترکیب فلاونوئید از گیاه سرخارگل.

منحنی مقادیر پیش بینی شده نسبت به پاسخ‌های بدست آمده (درصد استخراج) در شکل (۵-الف) نشان داده شده است. واقع شدن داده‌ها بر خط راست ترسیم شده حاکی از عدم پراکندگی معنادار داده‌ها می‌باشد (خطاها بصورت نرمال توزیع شده و مدل برای برازش داده‌های تجربی مناسب است). در شکل (۵-ب) واضح است که هیچ الگوی مشخصی در پراکندگی داده‌ها وجود ندارد و خطای سیستماتیک در داده‌ها دیده نمی‌شود. در این شکل پراکندگی داده‌ها در بالا و پایین محور X تقریباً یکسان بوده و بیان‌کننده مناسب بودن مدل می‌باشد.

پروفایل مطلوبیت پاسخ‌ها شامل ویژه کردن تابع مطلوبیت (۱۱) برای هر متغیر با تعیین مقادیر بهینه در دامنه ۰/۰ (نامطلوب) تا یک (خیلی مطلوب) می‌باشد. نتایج طرح مرکب مرکزی در جدول (۱) نشان می‌دهد که ماکزیمم و مینیمم فنل و فلاونوئید گیاه سرخارگل به ترتیب ۱/۲۸، ۰/۳۵ درصد و ۱/۵۸، ۰/۷۵ درصد است. بر طبق این نتایج، تابع مطلوبیت برای هر متغیر تنظیم می‌شود (سمت راست شکل (۶)).

در قسمت پایین شکل (۶) مطلوبیت برای هر کدام از متغیرها نشان داده شده است (مقدار مطلوبیت یک بعنوان مقدار هدف). پاسخ کلی چنین منحنی‌هایی با سطوح مشاهده شده برای هر متغیر در قسمت بالای این شکل نشان داده شده است. این منحنی‌ها به محقق اجازه بررسی تغییرات متغیرها بصورت همزمان بر پاسخ فرایند را فراهم می‌کنند. همانطور که در شکل دیده می‌شود مقدار گیاه در ۴ گرم به مطلوبیت یک (خط چین عمودی) رسیده است. مطلوبیت یک برای حجم حلال ۳۰ میلی‌لیتر بدست آمد. مطلوبیت مدت زمان امواج فراصوت برای ۲۵ دقیقه بدست آمد و مطلوبیت دمای امواج فراصوت برای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. بر اساس چنین محاسباتی و معیار مطلوبیت یک، مقدار درصد فنل و فلاونوئید بترتیب ۱/۵۸ درصد و ۱/۲۸ پیش بینی شده است (قسمت بالا سمت چپ شکل ۶).



شکل (۶) پروفایل مقادیر بهینه متغیرهای استخراج ترکیبات فنل و فلاونوئید از گیاه سرخارگل بر اساس تابع مطلوبیت.

## بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بخش هوایی گیاه سرخارگل به میزان قابل توجهی تحت تأثیر فاکتورهایی مانند مقدار گیاه، حجم حلال، مدت زمان و دمای امواج فراصوت می‌باشند. با این حال این فاکتورها مهمترین عوامل برای اندازه‌گیری محتوای کل فنل و فلاونوئید گیاه سرخارگل می‌باشند. روش‌های سنتی استخراج مانند ماسراسیون و سوکسله نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیادی دارند، همچنین از لحاظ دمایی ایمن نیستند و باعث تجزیه تعدادی از ترکیبات می‌شوند. به همین دلایل در این پژوهش از روش امواج فراصوت برای استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی استفاده گردید تا ضمن کاهش زمان استخراج، از مصرف حلال‌های آلی جلوگیری شود و یک روش استخراج سبز ارائه گردد.

امواج فراصوت منجر به ایجاد نوسانات مکانیکی در یک مایع می‌گردند و به همین دلیل باعث نفوذ حلال به درون مواد سلولی شده و انتقال جرم را بهبود می‌دهد. در این پژوهش از روش‌های بهینه‌سازی چند متغیره برای بهینه‌سازی شرایط روش استخراج با کمک امواج فراصوت جهت استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه سرخارگل استفاده گردید. روش‌های بهینه‌سازی چند متغیره نسبت به روش‌های بهینه‌سازی تک متغیره از کارآمدی بالاتری برخوردار است و ضمن کاهش تعداد آزمایش‌های مربوطه، قادر به شناسایی برهمکنش‌های توان دوم فاکتورها و همچنین برهمکنش موثر بین فاکتورهای اثرگذار بر پاسخ آزمایش‌ها می‌باشد. عوامل و فاکتورهای مورد بررسی در این روش استخراج ترکیبات شامل مقدار گیاه، حجم حلال، مدت زمان و دمای امواج فراصوت بود. پس از انجام آزمایش‌ها طبق طرح مرکب مرکزی و با استفاده از منحنی‌های سطوح پاسخ و در نهایت با استفاده از تابع مطلوبیت در نرم افزار STATISTICA برای استخراج همزمان ترکیبات فنل و فلاونوئید کل گیاه سرخارگل مقدار ۴ گرم گیاه، ۳۰ میلی لیتر حلال، زمان ۲۵ دقیقه و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد بعنوان مقادیر بهینه بدست آمدند. این شرایط بهینه در آزمایشگاه پیاده‌سازی گردید و با استفاده از نتایج بدست آمده مشخص گردید که روش بهینه‌سازی انجام شده از کارایی بالایی برخوردار است. برای اطمینان یافتن از عدم وجود خطای سیستماتیک در مدل ریاضی ارائه شده، نتایج مورد بررسی قرار گرفت و منحنی‌های بدست آمده از مقادیر پیش‌بینی شده در مقابل مقادیر تجربی و همچنین منحنی باقیمانده‌ها نسبت به مقادیر پیش‌بینی شده نشان دادند که نتایج از منحنی نرمال پیروی نموده و مدل ریاضی ارائه شده همخوانی بسیار خوبی با نتایج تجربی دارد. در نهایت برای بررسی میزان ترکیبات فنل و فلاونوئید کل در گیاه سرخارگل از منحنی‌های استاندارد گالیک اسید و کوئرستین استفاده گردید و میزان محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بترتیب ۶۱/۳۹۲ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم نمونه خشک و ۳۰۷/۴۴ میلی‌گرم کوئرستین به گرم نمونه خشک گیاه سرخارگل بدست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد روش‌های جدید مانند روش امواج فراصوت می‌تواند بازدهی استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌ی بخش هوایی را بهبود بخشد. نتایج حاصل از تحقیق، بیانگر کارایی مفید روش طرح مرکب مرکزی در بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به روش امواج فراصوت می‌باشد.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیا بهبهان صمیمانه تشکر می‌نمایند.

### منابع

- 1- Alkowni R., Jaradat N., Fares S., 2023. Total antimicrobial, antioxidant, vital digestion phenol, flavonoids, and tannin contents, enzymes inhibitory and cytotoxic activities of

- Verbasum fruticosum, *European Journal of Integrative Medicine*, 60: 102256.
- 2- Bauer, R. Remiger, P., 1989. TLC and HPLC Analysis of Alkamides in Echinacea Drugs<sup>1,2</sup>. *Planta Medica*, 55: 367- 371.
  - 3- B ox, G.E.P., Wilson, K.B., 1951. On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*. 13: 1-45.
  - 4- Dalby- Brown, L., Barsett, H., Landbo, A.K., Meyer, A.S., Mølgaard, P., 2005. Synergistic antioxidative effects of alkamides, caffeic acid derivatives, and polysaccharide fractions from *Echinacea purpurea* on in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9413-9423.
  - 5- Dousti, D, Samiei, K, Zarinzadeh, S., 2021. The study of antibacterial and antioxidant effects and determination of phenolic and flavonoid contents of *Physalis peruviana* L. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of biology)*, 34: 71-78.
  - 6- Harrington, E.C., 1965. The Desirability Function. *Industrial Quality Control, Industrial Quality Control*, 21: 494-498.
  - 7- Jiang, L., Hu, F., Tai, Y., Yang, X., Yu, D., Li, D., Yung, Y., 2012. Study on the extraction process and tyrosinase inhibition property of cichoric acid in *Echinacea purpurea* L. *Jornal of Medicinal Plants Research*, 6: 5317- 5321.
  - 8- Kaviarasan, S., Naik, G.H., Gangabhairathi, R.G., Anuradha, C.V., Priyadarsini, K.I., 2007. In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds, *Food Chemistry*, 103: 31- 37.
  - 9- Khodadoust, S., Sadeghi, H., Amiri Pebdani, A., Mohammadi, J., Salehi, A., 2017. Optimization of ultrasound-assisted extraction of colchicine compound from *Colchicum haussknechtii* by using response surface methodology, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16,2: 163-170.
  - 10- Koocheki, A., Tabrizi, L., Ghorbani, R., 2008. Effect of biofertilizers on agronomic and quality criteria of Hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 6: 127-137.
  - 11- Liu, Y., Wei, S., Liao, M., 2013. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Euryale ferox* seed shells using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 49, 837-843.
  - 12- Morgan, E., 1999. *Chemometrics: Experimental Design*, Wiley, London. 11, 616-621.
  - 13- Panagiotou, A. N., Sakkas, V. A., Albanis, T.A., 2009. Application of chemometric assisted dispersive liquid-liquid microextraction to the determination of personal care products in natural waters, *Analytica Chimica Acta*, 64, 135-140.
  - 14- Percival, S.S., 2000. Use of Echinacea in medicine, *Biochemical Pharmacology*, 60, 155-158.
  - 15- Repollés, C., Herrero-Martínez, J. M., Ràfols, C., 2006. Analysis of prominent flavonoid aglycones by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column. *Journal of Chromatography A*, 1131, 51- 57.
  - 16- Sayyari, M, Hamidi, M, Azizi, A, Ahmadvand, G, 2023. Evaluation of some bioactive compounds and phenolic acids of *Amaranthus blitoides* at different phenological stage, *Journal of Plant Research (Iranian Journal of biology)*, 36: 210-223.

17-Vinatoru, M., 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303-313.

## Abstract

### Effect of ultrasound waves on the extraction of total phenols and flavonoids from flower of *Echinacea Purpurea* (L.)

Saeid Khodadoust<sup>\*1</sup>, Fershteh Bazarnovi<sup>1</sup> and Fatemeh Zerratpisheh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

## Abstract

The antioxidant properties of *Echinacea Purpurea* (L.) Moench are related to the phenolic and flavonoid compounds of this plant. In this research, the extraction method with the help of ultrasound waves was used to extract phenolic and flavonoid compounds from the aerial part (leaves and flowers) of *Echinacea Purpurea* (L.). In order to optimize the extraction conditions to achieve a higher yield of total phenolic and flavonoid content, the Central Composite Design (CCD) method was used. The factors examined in this method included the amount of plant powder, volume of solvent, duration and temperature of ultrasonic waves, which were optimized using central composite design and utility function (DF). The method of extraction was done with the help of ultrasonic wave method and using aqueous ethanol solution. In the optimal conditions, the values of the variables were set as the amount of the powdered plant (4 g), the volume of the solvent (30 mL), the duration of the ultrasound waves (25 minutes) and the temperature of the ultrasound waves (40 °C). Measurement of total phenolic and flavonoid content was done using Folin-Ciocalto and aluminum chloride method, respectively, and the content of phenolic and flavonoid compounds was 392/61 mg of gallic acid per gram of dry sample and 44/307 mg of quercetin per gram of dry sample of plant, respectively, was obtained.

**Key words:** *Echinacea Purpurea* (L.) Moench, Phenolic compounds, Flavonoid compounds, Central composite design, Ultrasound method