Journal Pre-proofs

Extraction of phenolic compounds and determination of antioxidant activity of the Aerial Parts of Amygdalus Lycioides

Mina Arab zadeh, Akram Sharifi, Maghsod Amiri

DOI: https://doi.org/ 10.22104/ift.2026.8105.2266

To appear in: Innovative Food Technologies (IFT)

Received Date: 31 December 2025
Revised Date: 14 March 2026
Accepted Date: 22 March 2026

Please cite this article as: Mina Arab zadeh, Akram Sharifi, Maghsod Amiri, Extraction of phenolic compounds and determination of antioxidant activity of the Aerial Parts of Amygdalus Lycioides, *Innovative Food Technologies (2026)*, doi: https://doi.org/ 10.22104/ift.2026.8105.2266

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2026 The Author(s). Published by irost.org.

Journal Pre-proofs

استخراج ترکیبات فنلی و تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره اندام‌های هوایی گیاه تنگرس(*Amygdalus Lycioides*)

مینا عرب زاده[۱]، اکرم شریفی*[۲]، مقصود امیری[۳]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲] دانشیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

[۳] استاد، دپارتمان مدیریت صنعتی، دانشکده مدیریت و حسابداری، دانشگاه علامه طباطبائی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: asharifi@iau.ac.ir

چکیده

هدف از این تحقیق، استخراج و بررسی ترکیبات زیست‌فعال عصاره اندام‌های هوایی گیاه تنگرس (*Amygdalus Lycioides*) بود. در این تحقیق از سه روش دکوکشن حلال اتانول- آب و متانول–آب در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، ماسراسیون حلال اتانول- آب و متانول–آب به مدت ۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و فراصوت با اتانول-آب و متانول–آب به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد با فرکانس صوتی مداوم ۴۰ کیلو هرتز برای استخراج عصاره اندام‌های هوایی گیاه تنگرس استفاده شد و بر اساس بازده استخراج، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتویات فنلی کل بهترین شرایط استخراج با استفاده از منطق فازی انتخاب گردید. نتایج نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی مربوط به روش فراصوت حلال اتانول-آب به ترتیب ۸۶/۲۶ ٪ و ۴۲۹/۲۵ mg GAE/100 ml وکمترین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به روش دکوکشن حلال متانول-آب به ترتیب با میزان ۳۲۵/۰۸ mg GAE/100 ml و ۷۶/۸۰ ٪ بود. در رتبه‌بندی فازی بالاترین رتبه مربوط به روش فراصوت اتانول-آب با امتیاز ۸۹/۲ و رتبه دوم را روش فراصوت متانول-آب با امتیاز ۸۸/۵ دارا بود. روش‌های دیگر دارای رتبه برابر و امتیاز ۵۰ بودند. علاوه بر این نتایج آنالیز عصاره گیاه تنگرس با دستگاه HPLC/MS نشان داد که گیاه تنگرس دارای ترکیبات پلی فنلی فراوان مانند کوئرستین (۲۶/۶۶ µg/mg) و اسید کافئیک (۹/۰۶۹ µg/mg) بود. نتایج نشان داد براساس مقادیر بازده، ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی و با در نظر گرفتن ایمنی مصرف، روش فراصوت اتانولی به عنوان گزینه نهایی و روش برتر معرفی شد.

کلمات کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، عصاره تنگرس، استخراج با فراصوت، ترکیبات فنلی کل، ماسراسیون.

۱- مقدمه

یکی از اهداف اصلی داروشناسی سنتی، کشف ترکیبات جدید از منابع گیاهی و حیوانی است که بتوانند به داروهای نوآورانه، به ویژه برای بیماری‌های نوظهور و مقاوم به دارو، تبدیل شوند[۱]. از سال ۲۰۱۵، آگاهی و علاقه عمومی به ترکیبات زیست‌فعال به عنوان راه‌حل‌های طبیعی برای بهبود سلامتی افزایش یافته است و این امر موجب پیشرفت تحقیقات بیشتری در زمینه کاربردهای آن‌ها شده است[۲]. ترکیبات زیست‌فعال، متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند و به طور گسترده در صنایع دارویی، پزشکی و غذایی استفاده می‌شوند[۳]. این ترکیبات به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدباکتری و ضدسرطانی، توجه زیادی را به ویژه در توسعه محصولات غذایی و دارویی طبیعی به خود جلب کرده‌اند [۴].

Journal Pre-proofs

گیاه تنگرس (*Amygdalus lycioides*) حاوی ترکیبات زیست‌فعال مختلفی است که به خواص درمانی و دارویی آن کمک می‌کنند. کوئرستین[1] یک فلاونوئید با اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی است. این ترکیب در بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاهش التهابات مزمن مؤثر است. در گونه *Prunus amygdalus* اسید گالیک[2] و کاتچین[3] ترکیبات اصلی هستند. اسید گالیک آنتی‌اکسیدانی قوی است که رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کند و در کاهش استرس اکسیداتیو مؤثر است. همچنین خواص ضدباکتریایی و ضدسرطانی دارد. کاتچین یک فلاونوئید دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظت‌کننده از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو است. همچنین به کاهش کلسترول بد و پیشگیری از بیماری‌های قلبی کمک می‌کند[۵]. گیاه تنگرس از منابع بومی گیاهی ایران است و پژوهش روی ترکیبات زیست فعال آن به شناسایی کاربردهای غذایی و دارویی این گیاه و گسترش دانش علمی در حوزه گیاهان دارویی کمک میکند.

در سال‌های اخیر، تکنیک‌های پیشرفته استخراج مانند اولتراسوند، فناوری‌های فشار بالا و استخراج با کمک مایکروویو، به دلیل کارایی بالاتر و زمان استخراج کمتر، به تدریج جایگزین روش‌های سنتی شده‌اند[۶]. تکنیک‌هایی مانند اولتراسوند از پدیده‌هایی مانند کاویتاسیون بهره می‌برند که باعث افزایش بازده ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی می‌شود[۷]. کاویتاسیون باعث ایجاد ترک‌های میکروسکوپی در دیواره‌های سلولی گیاهان می‌شود که به نفوذ حلال و بهبود انتقال جرم کمک می‌کند[۸]. روش دکوکشن (جوشاندن)[4] و روش ماسراسیون (خیساندن)[5] از دیگر روش‌های رایج و کارآمد برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال است. از مزایای روش ماسراسیون این است که این روش بدون به کار بردن دستگاه‌ها و ابزارهای پیچیده و در یک محیط کار محدود قابل انجام بوده و با به کار بردن حلال‌های یکنواخت می‌توان به کمک این روش عصاره‌هایی با میزان مواد مؤثره یکنواخت به‌دست آورد [۹]. روش دکوکشن برای گیاهان سخت‌تر مانند ریشه، پوست و دانه ترجیح داده می‌شود[۱۰].

در حال حاضر، بسیاری از فرآیندهای تولید تا حد زیادی متکی بر مهارت و تجربه اپراتور و مدیریت است [۱۱]. تلفیق اپراتور و مهارت تخصصی در یک چارچوب کنترلی، به‌ویژه برای فرآیندهای سنتی راه‌گشا خواهد بود. منطق فازی می‌تواند این مسیر را هموار کند. از سیستم منطق فازی برای رتبه‌بندی فرآیندها می‌توان استفاده کرد. منطق فازی قصد دارد که شاخص‌ها را به‌گونه‌ای بیان کند که به تفکر انسان نزدیک باشد[۱۲]؛ بنابراین سیستم فازی می‌تواند یکی از مناسب‌ترین سیستم‌ها برای درجه‌بندی فرآیند مختلف در صنعت باشد.

Taherkhani و همکاران (۲۰۲۴) سه روش استخراج شامل ماسراسیون، التراسوند و مایکروویو را برای جداسازی ترکیبات زیست‌فعال از جلبک قهوه‌ای *Nizimuddinia zanardini* با استفاده از سیستم وزن‌دهی فازی مقایسه کردند. نتایج نشان داد که روش مایکروویو با بالاترین بازده، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، به‌عنوان روش بهینه معرفی شد و می‌تواند در بهبود کارایی استخراج و کاهش هزینه‌ها در تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و پلی‌فنولی مؤثر باشد[۱۳]. در تحقیق انجام شده توسط Shahidi و همکاران (۲۰۲۰) به مقایسه روش‌های اولتراسونیک، دکوکشن، ماسراسیون و اهمیک بر میزان استخراج ترکیبات زیست‌فعال خاکشیر پرداخته و دریافتند که بهترین روش جهت استخراج ترکیبات زیست‌فعال خاکشیر، روش اولتراسونیک بود [۱۴].

Moeini و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی‌های روش‌های استخراج عصاره از گیاه غافث نشان دادند که روش اولتراسونیک در مقایسه با روش مایکروویو در استخراج ترکیبات زیست‌فعال موثرتر بود[۱۵]. Matini و همکاران (۲۰۲۰)، روش اولتراسونیک را کارآمدتر از روش متداول ماسراسیون در استخراج ترکیبات زیست‌فعال باقی‌مانده انگور سیاه سردست گزارش کردند[۱۶]. De Luna (۲۰۲۰) پارامترهای موثر بر استخراج فلانوئیدها از منابع گیاهی مختلف (برگ، ریشه، میوه، گل) را بررسی کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که دمای حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد بهترین دما برای استخراج ترکیبات مورد نظر است و از تخریب این مواد

[1] Quercetin
[2] Gallic Acid
[3] Catechin
[4] Decoction
[5] Maceration

جلوگیری می‌کند[۱۷]. همچنین Antony و Farid (۲۰۲۲) به بررسی تاثیر دماهای مختلف بر استخراج ترکیبات پلی‌فنولی از منابع گیاهی مختلف پرداختند. برای استخراج سنتی، بیشترین محتوای کل فنلی در دمای ۶۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد[۱۸]. Abdulstar و همکاران (۲۰۲۳) از روش فراصوت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و فرکانس kHz ۴۰ به عنوان شرایط بهینه برای استخراج ترکیبات فراسودمند استفاده کردند[۱۹]. هم‌چنین Kumar و Sharma (۲۰۲۳) روش ماسراسیون را برای استخراج ترکیبات فلاونوئیدی انتخاب کردند[۲۰]. نویسندگان این مقاله در جستجوهای خود، پژوهشی مبنی بر بررسی روش های استخراج عصاره اندام های هوایی گیاه تنگرس پیدا نکردند.

در سال‌های اخیر، روش‌های مختلفی برای استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی از منابع گیاهی مختلف گزارش شده است. اغلب پژوهش‌های مرتبط با استخراج فاقد یک رویکرد سیستماتیک برای بهینه‌سازی شرایط استخراج هستند و تصمیم‌گیری در مورد بهترین روش معمولا براساس مقایسه ساده میانگین‌ها انجام می‌شود. در پژوهش حاضر از روش فازی به منظور ارزیابی شرایط استخراج استفاده شد تا بتوان اثر همزمان متغیرها را به طور جامع تحلیل کرد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

ابتدا اندام‌های هوایی گیاه تنگرس (*Amygdalus Lycioides*) از منطقه‌ای به نام چهارباغ در استان قزوین جمع‌آوری شد و سایر مواد شیمیایی از جمله اتانول و متانول از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شدند. گیاه توسط هرباریوم پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تایید شد. برای آماده‌سازی نمونه، برگ‌ها شسته شد و در دمای محیط به مدت ۱۰ روز در سایه خشک شد. بعد از آن برگ‌ها با استفاده از دستگاه آسیاب مولینکس (محفظه استیل ضد زنگ) پودر شد و به اندازه کمتر از ۵۰۰ میکرومتر رسید. براساس مطالعات پیشین، استفاده از محفظه استیل یا سرامیکی به دلیل واکنش‌پذیری پایین و پایداری ترکیبات فنلی توصیه شد [۲۱].

۲-۲- آماده‌سازی عصاره گیاه تنگرس به روش ماسراسیون

برای انجام این روش ۲۰ گرم گیاه خردشده تنگرس در ظرف شیشه‌ای با مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول-آب (۷۰:۳۰ v/v) و اتانول-آب (۷۰:۳۰ v/v) مخلوط شد. برای اینکه از تغییرات شیمیایی در اثر فعل و انفعالات شیمیایی حاصل از تابش نور بر روی مواد متشکله گیاهی، جلوگیری شود، عمل عصاره‌گیری در مکانی دور از تابش مستقیم خورشید در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز انجام شد [۹].

۲-۳- آماده‌سازی عصاره گیاه تنگرس به روش دکوکشن

این روش که در حقیقت روش جوشاندن است برای گیاهان سخت‌تر مانند ریشه، پوست و دانه ترجیح داده می‌شود. قبل از تهیه جوشانده، خرد کردن ریشه، پوست و دانه‌ها به فرآیند استخراج کمک می‌کند[۱۰]. برای انجام این روش۲۰ گرم گیاه خردشده تنگرس را در ظرف شیشه‌ای ریخته و مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول-آب (۷۰:۳۰ v/v) و اتانول-آب (۷۰:۳۰ v/v) به بالن اضافه شد. عصاره‌گیری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. روش‌های معمول جوشاندن فقط با استفاده از آب است و در هنگام استفاده از آب می‌توان درب ظرف را بست، ولی در این تحقیق چون از الکل برای عصاره‌گیری استفاده شد، امکان بستن درب به علت انفجار وجود نداشت، بنابراین از مبرد استفاده شد، که از اتلاف الکل و انفجار جلوگیری شود.

۲-۴- آماده‌سازی عصاره گیاه تنگرس به روش اولتراسوند

میزان ۲۰ گرم از پودر گیاه تنگرس را با ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال متانول-آب (۷۰:۳۰ v/v) و اتانول-آب (۷۰:۳۰ v/v) ترکیب شد[۲۲]. عصاره‌گیری در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با فرکانس صوتی مداوم ۴۰ کیلو هرتز با دستگاه فراصوت (Transsonic 100H, Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Germany) انجام شد.

۲-۵- آزمون‌های عصاره استخراج‌شده از گیاه تنگرس

۲-۵-۱- تعیین درصد بازده استخراج عصاره‌ها

برای تعیین بازده استخراج عصاره‌های تنگرس، ۲۰ گرم گیاه خرد شده در روش‌های مختلف عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل از هر روش در یک آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان تبخیر کامل حلال قرار گرفت و بازده استخراج عصاره‌ها با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید[۲۳].

(۱)

$$\text{بازده استخراج (٪)} = \frac{\text{وزن عصاره خشک شده}}{\text{وزن نمونه اولیه}} \times ۱۰۰$$

۲-۵-۲- اندازه‌گیری محتوای فنول کل عصاره‌ها

برای تعیین محتوای فنول کل عصاره‌های تنگرس، ۳۰ میکرولیتر از هر عصاره با آب دیونیزه (۳ میلی‌لیتر) و واکنشگر فولین-سیوکالتیو (۲۰۰ میکرولیتر) مخلوط شد و مخلوط حاصله در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد. پس از آن به مخلوط ۶۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰درصد) اضافه گردید و مخلوط به‌دست آمده در یک حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شده و سپس سرد گردید. رنگ مخلوط حاصله توسط اسپکتروفتومتر (Lambda 35 UV/VIS spectrometer, America) در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد و از طریق منحنی استاندارد گالیک اسید، محتوای فنول کل عصاره‌ها بدست آمده و برحسب mg GAE/100 ml گزارش گردید[۲۴].

۲-۵-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تنگرس، از روش مهار رادیکال DPPH استفاده گردید. برای این منظور، عصاره (۵ میلی‌لیتر) ابتدا با محلول متانولی DPPH ۱۰۰ میکرومولار (۱ میلی لیتر) مخلوط شد و پس از همزدن شدید، به مدت ۱ ساعت در تاریکی و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداشته شد. در آخر جذب مخلوط حاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومترثبت گردید. محلول استاندارد ۵ میلی‌لیتر اسید آسکوربیک مخلوط شده با ۱ میلی لیتر محلول DPPH بود. در آخر، مقادیر مهار رادیکال DPPH نمونه ها با استفاده از معادله (۲) به دست آمد و برحسب درصد گزارش گردید. در رابطه زیر: Ac و As به ترتیب جذب شاهد و جذب نمونه عصاره بودند[۲۵].

(۲)

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{Ac-As}{Ac} \times 100$$

۲-۵-۴- تعیین ترکیبات فنلی در عصاره با استفاده از دستگاه HPLC/MS

به‌منظور شناسایی ترکیبات فنلی عصاره از کروماتوگرافی مایع با فشار بالا[1] ساخت آلمان به همراه آشکارساز UV(K-1500) و مجهز به سمپلر اتومات[2] استفاده شد و جداسازی با ستون یوروسفر[3] C18, 5*4/6*250, با قطر ذرات ۵ میکرومتر انجام گرفت. عصاره‌ها قبل از تزریق به دستگاه HPLC/MS از میکرو فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر[4] عبور داده شدند. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و دمای ستون در ۲۵ درجه سانتی‌گراد است. شدت جریان فاز متحرک ml/min ۱ بود، فاز متحرک به کار رفته عبارت بود از ۱۰۰ درصد آب به همراه ۲/۵ درصد اسید استیک (حلال B). پروفایل گرادیانت بکار رفته: ۱۰۰ درصد A در دقیقه ۵۵. کروماتوگرام‌ها در چهار طول موج ۵۱۰، ۳۵۰، ۳۲۰، و ۲۸۰ ثبت شدند[۲۸]. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتاب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

[1] HPLC KNAUER
[2] Autosampler
[3] Eurospher
[4] Choromafil

۲-۶- مراحل پیاده‌سازی یک سامانه‌ی فازی برای بخش استخراج

در پژوهش حاضر، قوانین فازی بر اساس دانش عمومی موجود در سامانه‌های مختلف استخراج، درمجموع ۵ قانون فازی بر اساس دسته‌بندی‌های داده‌های میزان ترکیبات فنلی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد بازده استخراج حاصل شد. قوانین فازی شامل اصطلاحات کم (L)، متوسط (M)، زیاد (H) و بسیار زیاد (VG) برای داده‌های ورودی و پنج مؤلفه بسیار بد (VB)، بد (B)؛ متوسط (M)، خوب (G) و بسیار خوب (VG) برای خروجی (روش استخراج) بود. لازم به ذکر است ترتیب قوانین فازی تأثیری بر نتایج خروجی نداشت. قوانین فازی با کمک طبقه‌بندی دانش موجود در داده‌ها و نظر متخصصان صنایع غذایی طراحی شد [۲۶]. قوانین فازی در رابطه زیر گزارش‌شده است.

If (TPC is L) and (Antioxidant activity is L) and (Extraction rate is L) then (Score is VB)
If (TPC is L) and (Antioxidant activity is L) and (Extraction rate is M) then (Score is B)
If (TPC is M) and (Antioxidant activity is M) and (Extraction rate is M) then (Score is M)
If (TPC is H) and (Antioxidant activity is H) and (Extraction rate is L) then (Score is G)
If (TPC is VH) and (Antioxidant activity is VH) and (Extraction rate is VH) then (Score is VG)

(۳) قوانین فازی

رتبه‌بندی فازی سه مرحله اصلی را شامل می‌شود، مرحله اول فازی کردن (تبدیل مقادیری کمی به مؤلفه‌های زبانی) مقادیر عددی جمع‌آوری‌شده برای ورودی‌ها و خروجی هاست، مرحله دوم تعیین قوانین ارتباط بین ورودی و خروجی است و مرحله سوم تبدیل داده های خروجی حاصل از مؤلفه‌های زبانی به یک مقدار کمی و عددی است.

$$S_rP=\frac{n_1(0\ 0\ 25)+n_2(0\ 25\ 50)+n_3(25\ 50\ 70)+n_4(50\ 75\ 100)+n_5(75\ 100\ 100)}{n_1+n_2+n_3+n_4+n_5}$$ معادله (۳) فازی زدایی

تابع مثلثی در این مدل استفاده شده است. مولفه های (۲۵ ۰ ۰)، (۵۰ ۲۵ ۰)، (۷۰ ۵۰ ۲۵)، (۱۰۰ ۷۵ ۵۰) و (۱۰۰ ۱۰۰ ۷۵) مرزبندی روند تغییرات را نشان می دهد. به عنوان مثال (۲۵ ۰ ۰) خیلی بد و (۱۰۰ ۱۰۰ ۷۵) خیلی خوب را نشان میدهد. مخرج کسر ($n_1+n_2+n_3+n_4+n_5$) مجموع ارزیاب ها، p مولفه میزان ترکیبات فنلی (این مثال برای سنجش وضعیت نمونه از نظر میزان ترکیبات فنلی)، r روش استخراج، n_1 تا n_5 تعداد ارزیاب هایی که امتیاز خیلی بد تا خیلی خوب دادند.

$$S_rO=\frac{QAA_r+QPC_r+QY_r}{\sum Q}$$ معادله (۴) رتبه بندی نهایی

S_rO: امتیاز کلی روش استخراج، AA: فعالیت آنتی‌اکسیدانی[1] بر پایه DPPH، PC: محتوای ترکیبات فنلی کل، Y: بازده استخراج و Q: اهمیت هر مولفه می‌باشد. رتبه بندی فازی توسط نرم افزار متلب (MATLAB 2017a) انجام شد[۲۷].

۲-۷- روش آنالیز آماری داده‌ها

در این تحقیق عصاره‌های استخراج شده از لحاظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی کل و بازده استخراج مورد بررسی قرار گرفتند. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 21 روش 2 Way Annova و مقایسه میانگین توسط آزمون شفه و در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. روش بهینه با استفاده از منطق فازی و برنامه Matlab 2017a تعیین شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بازده استخراج عصاره گیاه تنگرس

[1] Antioxidant Activity

نتایج مربوط به درصد بازده استخراج در شکل ۱ نشان داده شده است. روش استخراج و نوع حلال بر درصد بازده استخراج عصاره اندام‌های هوایی گیاه تنگرس تاثیر معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد داشت *(p<0.05)*. بیشترین درصد بازده استخراج مربوط به روش دکوکشن حلال اتانول با ۲۴/۴۳ درصد و کمترین میزان بازده استخراج در روش ماسراسیون حلال اتانول (۶/۹۶ درصد) مشاهده شد. تفاوت بین روش‌ها را می‌توان به مکانیسم استخراج و شرایط حرارتی هر روش نسبت داد. در روش دکوکشن، دمای بالا باعث افزایش نفوذ حلال به درون ماتریس گیاهی و تخریب دیواره‌های سلولی می‌شود که در نتیجه ترکیبات قابل حل بیشتری آزاد می‌شوند و بازده افزایش می‌یابد. با این‌حال، حرارت زیاد ممکن است موجب تخریب ترکیبات حساس به حرارت مانند فلاونوئیدها شود و که بسته به نوع ترکیب، اثر مثبت یا منفی بر بازده کلی دارد[۲۹]. Shahidi و همکاران (۲۰۲۰) به بررسی اثرات تکنیک‌های متفاوت (خیساندن، فراصوت، اهمیک و جوشاندن) بر عملکرد استخراج عصاره دانه‌های خاکشیر پرداخته و مشاهده کردند که استخراج به کمک اهمیک و اولتراسوند به ترتیب بیشترین (۱۰ درصد) و کمترین (۲ درصد) راندمان استخراج را نشان داد[۱۴]. Taherkhani و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که بین بازده استخراج جلبک *Nizimuddinia zanardini* تهیه‌شده به سه روش ماسراسیون، فراصوت و مایکروویو اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت و روش مایکروویو بالاترین بازده استخراج را دارا بود[۱۳]. Zhang و همکاران (۲۰۱۴) بیان داشتند که محدودیت‌های روش دکوکشن این است که نمی‌تواند بالاترین بازده را فراهم کند و دارای مقدار زیادی ناخالصی است، بنابراین برای استخراج ترکیبات فرار مناسب نیست[۲۹].

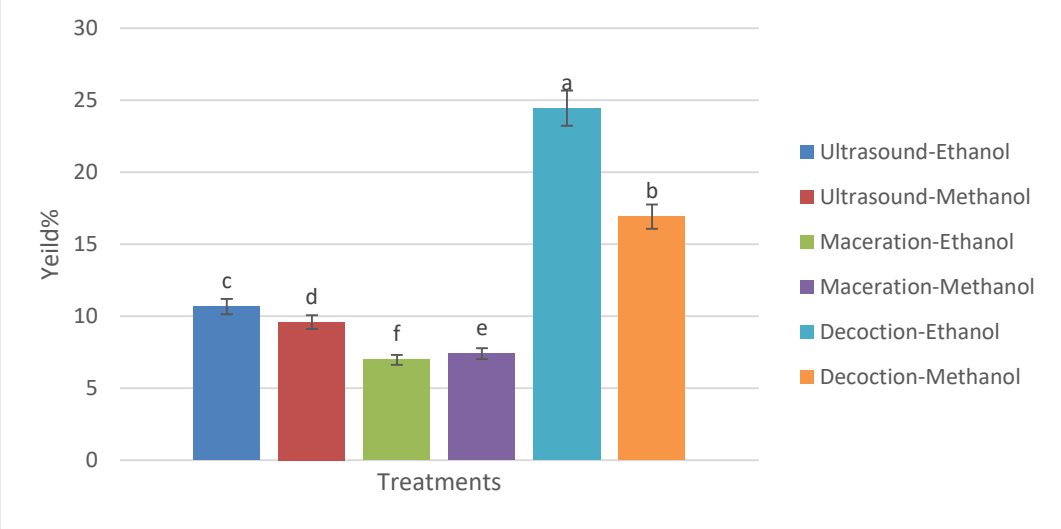

Figure 1: Effect of solvent type and extraction methods on the percentage of extraction efficiency (Yield)
Different letters indicate significant difference among solvent type and extraction methods ($p< 0.05$)

۳-۲- محتوای فنول کل عصاره گیاه تنگرس

شکل ۲ تاثیر معنی‌دار نوع حلال و روش استخراج در سطح اطمینان ۹۵ درصد روی مقدار ترکیبات فنلی عصاره استخراج شده از گیاه تنگرس را نشان می‌دهد. بیشترین میزان ترکیبات فنلی متعلق به روش فراصوت- اتانول (۴۲۹/۲۵ mg GAE/100ml) و کمترین متعلق به روش دکوکشن- متانول (۳۲۵/۰۸ GAE/100ml) است. ترکیبات فنلی به عنوان متابولیت‌های ثانویه توانایی خنثی کردن گونه‌های رادیکال آزاد را دارند و به عنوان ترکیبات زیست‌فعال مطرح هستند [۳۰]. در اثر فرآیند کاویتاسیون در روش استفاده از امواج فراصوت سطح بیشتری از ترکیبات فنلی در ارتباط با حلال قرار گرفته و بیشتر استخراج می‌شوند، در نتیجه قدرت آنتی‌اکسیدانی به دلیل فراوانی ترکیبات زیست‌فعال بیشتر می‌شود. [۳۱]. مطالعه Durovic و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که روش‌های استخراج (ماسراسیون به کمک گرما و اولتراسوند) روی میزان ترکیبات پلی فنل از گیاه Serbiti موثر است[۳۲].

Jin (۲۰۱۱) تاثیر روش‌های استخراج مایکروویو و خیساندن را بر روی محتویات پلی فنلی (لوتئولین، فلاونوئید و اورینتوزید) مقایسه کردند و نشان دادند که روش خیساندن کمترین مقدار را داشت[۳۳]. در همین زمینه، یک مطالعه بر روی استخراج ترکیبات زیست‌فعال از میوه *Arbutus unedo(L)* با استفاده از روش مایکروویو و ماسراسیون انجام شد. تحقیقات نشان داد که روش ماسراسیون موثرتر از روش مایکروویو بود[۳۴].

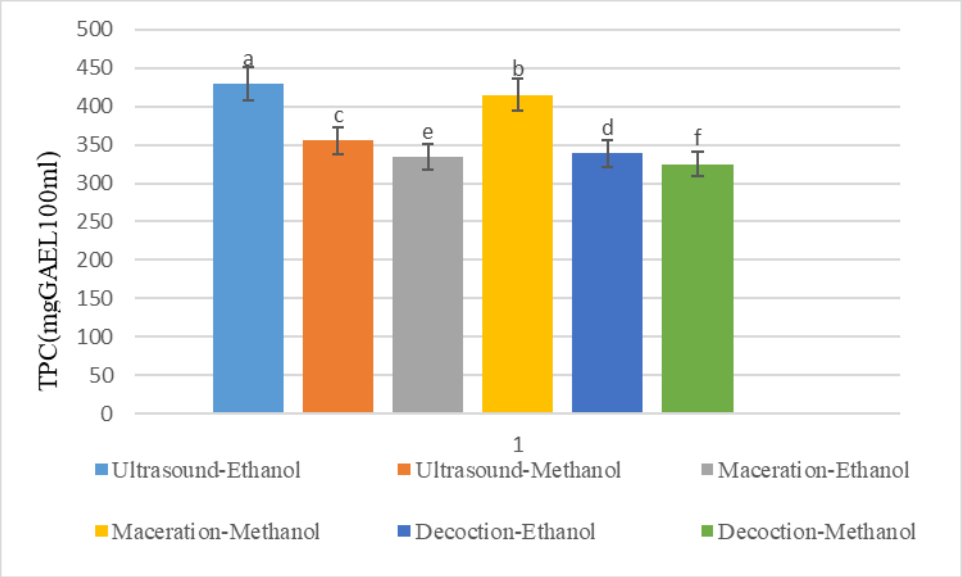

Figure 2*:* The effect of solvent and extraction method on the content of total phenolic compounds
Different letters indicate significant difference among solvent type and extraction methods ($p< 0.05$)

۳-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه تنگرس

بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی متعلق به روش فراصوت –اتانول با میزان ۸۶/۲۶ درصد و پایین‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی مربوط به روش دکوکشن –متانول با میزان ۷۶/۸۰ درصدگزارش شد. شکل (۳) نشان داد که اثر معنی‌داری بین نوع حلال و روش استخراج بر میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد در سطح اطمینان ۹۵ درصد وجود داشت ($p<0.05$). حلال اتانول تاثیر بیشتری در استخراج ترکیبات مرتبط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشت. Da Silva وهمکاران (۲۰۲۰) دریافتند که روش اولتراسوند یک روش بهینه برای استخراج ترکیبات پلی فنلی از گیاهان است[۳۵]. در مطالعه Taherkhani و همکاران (۲۰۲۴) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده از جلبک *Nizimuddinia zanardini* با روش‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان مهار رادیکال DPPH به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر دما، زمان و نوع فناوری استخراج قرار دارد. به‌طور کلی، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش مایکروویو با توان ۳۰۰ وات و مدت‌زمان ۲۰ دقیقه مشاهده شد[۱۳]. طبق تحقیقاتی که توسط Albuquerque و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد، استفاده از امواج فراصوت سبب تسهیل استخراج ترکیبات آلی از مواد و دانه‌های گیاهی می‌شود. تأثیرات مکانیکی کاربرد این امواج منجر به انتشار بیشتر حلال به درون سلول‌ها و افزایش میزان انتقال جرم می شود. یکی از اثرات شناخته شده فراصوت بهبود انتقال جرم ناشی از تخریب حباب‌های کاویتاسیون در محل و یا نزدیکی دیواره‌ها و سطوح تماس است که این مسئله منجر به تشکیل ذرات بسیار ریز و یا امولسیفیکاسیون شده و سطح تماس بین حلال و ماده موردنظر را افزایش داده که در نتیجه منجر به انتشار بیشتر مواد به درون حلال می‌گردد[۳۶].

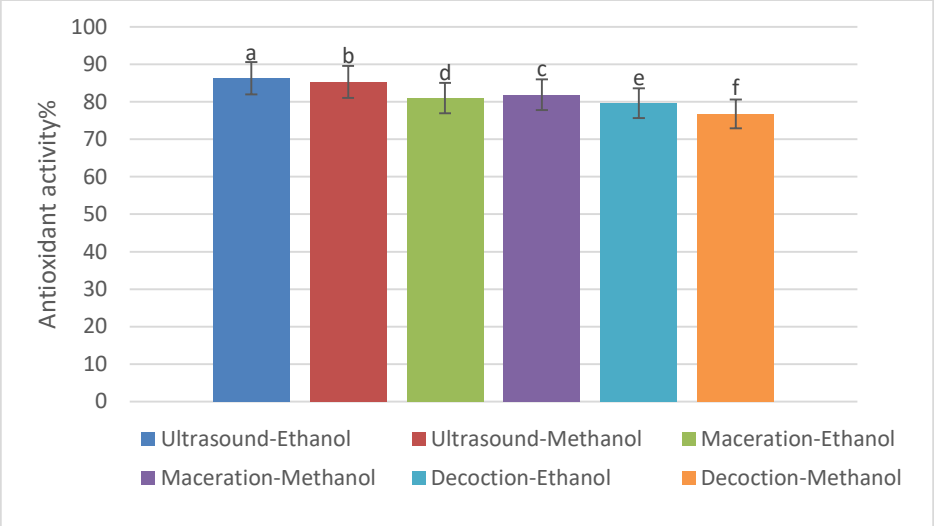

Figure 3: The effect of solvent and extraction method on the amount of antioxidant activity
Different letters indicate significant difference among solvent type and extraction methods ($p< 0.05$)

۳-٤- نتایج انتخاب بهترین روش استخراج با استفاده از منطق فازی

مراحل بهینه‌سازی به روش فازی مدل منطق فازی (Fuzzy Inference System,FIS) از نوع ممدانی (Mamdani) مطابق در نرم‌افزار Matlab 2017a به اجرا درآمد. تاثیر مراحل گفته‌شده و ایجاد امتیاز برای هر یک از روش‌های استخراج به عنوان تابعی از سه ورودی مختلف می‌باشد [۳۷]. رتبه‌بندی روش‌های استخراج بر پایه‌ی هر یک از مولفه‌ها تا حدود زیادی متفاوت بود. ضمن اینکه روش استخراج تاثیر بسزایی در میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی کل و بازده استخراج داشت. لذا از روش دلفی فازی که به خوبی قادر به مدیریت چنین پیچیدگی‌هایی است به منظور رتبه‌بندی روش‌های مختلف استخراج عصاره گیاه تنگرس استفاده شد. در مرحله اول که در جدول (۱) آمده است هر روش براساس میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی کل و بازده استخراج رتبه‌بندی شد. بالاترین رتبه مربوط به روش فراصوت –اتانول ٪ ۷۰ با عدد ۸۹/۲ و رتبه ۱ بود. روش فراصوت –متانول٪ ۷۰ رتبه ۲ و عدد ۸۸/۵ را نشان داد. مابقی روش‌ها دارای رتبه ۳ با امتیاز ۵۰ بودند؛ بنابراین روش فراصوت-اتانول ٪ ۷۰ به عنوان بهترین روش استخراج در این تحقیق انتخاب شد.

Table 1 Ranking of extraction methods using fuzzy logic

Method	Rank	Defuzzification	Yield	AA	TPC
Ultrasound-Ethanol	1	89.2	10.65	86.26	429.25
Ultrasound-Methanol	2	88.5	9.59	85.35	355.36
Maceration-Ethanol	3	50	6.96	80.97	333.69
Maceration-Methanol	3	50	7.39	81.87	415.08
Decoction-Ethanol	3	50	24.43	79.62	338.69
Decoction-Methanol	3	50	16.9	76.8	325.08

TPC: total phenolic compound, AA: antioxidant activity, Yield: extraction efficiency.

۳-۵- نتایج آنالیز عصاره بهینه با دستگاه HPLC/MS

نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره بهینه با دستگاه HPLC/MS نشان داد که گیاه تنگرس دارای ترکیبات زیست‌فعال فراوانی مانند کوئرستین، روتین و کافئیک اسید می‌باشد. کوئرستین، یک فلاونوئید است که در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود، به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی خود توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این ترکیب می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش دهد، التهاب را کنترل کرده و به سلامت قلب و عروق کمک کند. توانایی کورستین در تثبیت سلول‌های ماست[1] و کاهش آزادسازی هیستامین، آن را به ترکیبی مؤثر برای مدیریت آلرژی‌ها و تقویت سیستم ایمنی تبدیل کرده است. روتین، گلیکوزیدی از کوئرستین، اثرات مشابهی دارد و با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محافظت از عروق خونی، به سلامت کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که روتین می‌تواند دیواره عروق را تقویت کرده، شکنندگی مویرگ‌ها را کاهش داده و از تشکیل لخته‌های خونی جلوگیری کند. این ویژگی‌ها، روتین را به ترکیبی ارزشمند برای پیشگیری از بیماری‌های مزمن مانند فشار خون بالا و واریس تبدیل کرده است. پیشرفت‌های اخیر همچنین خواص ضدویروسی این ترکیبات را بررسی کرده‌اند[۳۸].

Table 2: The results of the best extract analysis by HPLC/MS

Peak IDs	RT (min)	Peak area (%)	Recovery (%)	Concentration (µg/mg)
Rutin	7.21	15.22	95	13.511
Quercitrin	9.67	10.67	98	10.028
P-Coumaric acid	10.18	8.86	91	7.509
Quercetin	13.71	28.56	96	26.659
Caffeic acid	14.22	9.27	99	9.069
Luteolin	14.45	17.46	97	19.697
Kaempferol	18.11	9.94	93	9.903

٤-نتیجه‌گیری

دراین تحقیق روش‌های استخراج ترکیبات زیست فعال اندام‌های هوایی گیاه تنگرس (*Amygdalus Lycioides*) با استفاده از روش فازی بررسی و رتبه‌بندی شد. بیشترین میزان ترکیبات فنلی مربوط به روش فراصوت –اتانول با میزان mg GAE/100 ml ۴۲۹/۲۵ و کمترین مربوط به روش دکوکشن –متانول با میزان mg GAE/100 ml ۳۲۵/۰۸ بود. بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی متعلق به روش روش فراصوت –اتانول با میزان ۸۶/۲۶ درصد و پایین‌ترین قدرت آنتی‌اکسیدانی مربوط به روش دکوکشن –متانول با میزان ۷۶/۸۰ درصدگزارش شد. بالاترین رتبه مربوط به روش فراصوت –اتانول با امتیاز ۸۹/۲ با رتبه ۱ و روش فراصوت –متانول رتبه ۲ و امتیاز ۸۸/۵ بود. مابقی روش‌ها دارای رتبه برابر با امتیاز ۵۰ بودند. نتایج آنالیز با دستگاه HPLC/MS نشان داد که گیاه تنگرس دارای ترکیبات زیست‌فعال فراوانی مانند کورستین و روتین می‌باشد.

۵- منابع

[1] Mast Cell

[1] A. Waldstein, "Mexican migrant ethnopharmacology: pharmacopoeia, classification of medicines and explanations of efficacy," *Journal of ethnopharmacology,* vol. 108, no. 2, pp. 299-310, 2006.

[2] A. A. Galkin, B. G. Kostyuk, V. V. Lunin, and M. Poliakoff, "Continuous reactions in supercritical water: A new route to La2CuO4 with a high surface area and enhanced oxygen mobility," *Angewandte Chemie International Edition,* vol. 39, no. 15, pp. 2738-2740, 2000.

[3] H. B. Nayaka, R. L. Londonkar, M. K. Umesh, and A. Tukappa, "Antibacterial attributes of apigenin, isolated from Portulaca oleracea L," *International journal of bacteriology,* vol. 2014, no. 1, p. 175851, 2014.

[4] M. Setorki, M. Doudi, and M. Zia, "Investigating a Number of Iranian Herbal Medicine, In the form of Capsule Regarding the Product Components, Active Ingredients, Pharmacological Effects and Antimicrobial Properties," *Journal of Pure & Applied Microbiology,* vol. 10, no. 1, 2016.

[5] A. VALDÉS, M. C. GARRIGÓS, and A. JIMÉNEZ, *Extraction and characterization of antioxidant compounds in almond (Prunus amygdalus) shell residues for food packaging applications. Membranes,* vol. 12, 2022.

[6] X. Fu, T. Belwal, G. Cravotto, and Z. Luo, "Sono-physical and sono-chemical effects of ultrasound: Primary applications in extraction and freezing operations and influence on food components," *Ultrasonics Sonochemistry,* vol. 60, p. 104726, 2020.

[7] M. L. Rojas, M. T. Kubo, M. E. Caetano-Silva, and P. E. Augusto, "Ultrasound processing of fruits and vegetables, structural modification and impact on nutrient and bioactive compounds: a review," *International Journal of Food Science & Technology,* vol. 56, no. 9, pp. 4376-4395, 2021.

[8] M. Vinatoru, "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs," *Ultrasonics sonochemistry,* vol. 8, no. 3, pp. 303-313, 2001.

[9] R. Hidayat and P. Wulandari, "Methods of extraction: Maceration, percolation and decoction," *Eureka Herba Indonesia,* vol. 2, no. 1, pp. 68-74, 2021.

[10] A. K. Jha and N. Sit, "Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review," *Trends in Food Science & Technology,* vol. 119, pp. 579-591, 2022.

[11] N. Perrot *et al.*, "A decision support system coupling fuzzy logic and probabilistic graphical approaches for the agri-food industry: prediction of grape berry maturity," *PloS one,* vol. 10, no. 7, p. e0134373, 2015.

[12] C.-T. Chen, "A fuzzy approach to select the location of the distribution center," *Fuzzy sets and systems,* vol. 118, no. 1, pp. --73, 2001.

[13] A. Taherkhani, A. Sharifi, and M. Koubaa, "Optimization of Bioactive Compound Extraction from Iranian Brown Macroalgae Nizimuddinia zanardini with Ultrasound and Microwave Methods Using Fuzzy Logic," *Foods,* vol. 13, no. 23, p. 3837, 2024.

[14] B. Shahidi, A. Sharifi, L. R. Nasiraie, M. Niakousari, and M. Ahmadi, "Phenolic content and antioxidant activity of flixweed (Descurainia sophia) seeds extracts: Ranking extraction systems based on fuzzy logic method," *Sustainable Chemistry and Pharmacy,* vol. 16, p. 100245, 2020.

[15] A. Moeini, P. Pedram, E. Fattahi, P. Cerruti, and G. Santagata, "Edible polymers and secondary bioactive compounds for food packaging applications: Antimicrobial, mechanical, and gas barrier properties," *Polymers,* vol. 14, no. 12, p. 2395, 2022.

[16] S. Matini, S. A. Mortazavi, A. R. Sadeghian, and A. Sharifi, "Optimization of ultrasound assisted and maceration extraction of bioactive compounds of sardasht black grape residue by using response surface methodology," *Journal of food science and technology (Iran),* vol. 17, no. 98, pp. 147-158, 2020.

[17] S. L. R. De Luna, "Enviromentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction: A Review"," *Journal of Cleaner Production,* 2020.

[18] A. Antony and M. Farid, "Effect of temperatures on polyphenols during extraction," *Applied Sciences,* vol. 12, no. 4, p. 2107, 2022.

Journal Pre-proofs

[19] A. R. Abdulstar, A. B. Altemimi, and A. R. Al-Hilphy, "Exploring the power of thermosonication: a comprehensive review of its applications and impact in the food industry," *Foods*, vol. 12, no. 7, p. 1459, 2023.

[20] A. Kumar and P. Sharma, "Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Methods," no. Plants(MDPI), 2023.

[21] M. Tzanova, V. Atanasov, Z. Yaneva, D. Ivanova, and T. Dinev, "Selectivity of current extraction techniques for flavonoids from plant materials," *Processes*, vol. 8, no. 10, p. 1222, 2020.

[22] W. Wu, S. Jiang, M. Liu, and S. Tian, "Simultaneous process optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols and ellagic acid from pomegranate (Punica granatum L.) flowers and its biological activities," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 80, p. 105833, 2021.

[23] M. Oroian, F. Dranca, and F. Ursachi, "Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis," *Journal of food science and technology*, vol. 57, pp. 70-78, 2020.

[24] M. Á. Sánchez-Madrigal, A. Quintero-Ramos, F. Martínez-Bustos, C. O. Meléndez-Pizarro, and M. G. Ruiz-Gutiérrez, "Effect of different calcium sources on the antioxidant stability of tortilla chips from extruded and nixtamalized blue corn (Zea mays L.) flours," *Food Science and Technology*, vol. 34, pp. 143-149, 2014.

[25] T. N. Le, H. Q. Luong, H.-P. Li, C.-H. Chiu, and P.-C. Hsieh, "Broccoli (Brassica oleracea L. var. italica) sprouts as the potential food source for bioactive properties: A comprehensive study on in vitro disease models," *Foods*, vol. 8, no. 11, p. 532, 2019.

[26] L. A. Zadeh, "A computational theory of dispositions," in *Computer Integrated Manufacturing: Current Status and Challenges*: Springer, 1988, pp. 215-241.

[27] Z. TAHSIRI, M. NIAKOUSARI, S. KHOSHNOUDI-NIA, and S. M. H. HOSSEINI, "Sensory evaluation of selected formulated milk barberry drinks using the fuzzy approach," *Food science & nutrition, ,* vol. 5, pp. 739-749., 2017.

[28] I. Thabti, W. Elfalleh, H. Hannachi, A. Ferchichi, and M. D. G. Campos, "Identification and quantification of phenolic acids and flavonol glycosides in Tunisian Morus species by HPLC-DAD and HPLC–MS," *Journal of Functional Foods*, vol. 4, no. 1, pp. 367-374, 2012.

[29] W. L. Zhang *et al.*, "Hydrolysis of glycosidic flavonoids during the preparation of Danggui Buxue Tang: an outcome of moderate boiling of chinese herbal mixture," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2014, no. 1, p. 608721, 2014.

[30] A. Faller and E. Fialho, "Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 23, no. 6, pp. 561-568, 2010.

[31] S. Hemwimon, P. Pavasant, and A. Shotipruk, "Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Morinda citrifolia," *Separation and purification technology*, vol. 54, no. 1, pp. 44-50, 2007.

[32] S. Durovic *et al.*, "The impact of high-power ultrasound and microwave on the phenolic acid profile and antioxidant activity of the extract from yellow soybean seeds," *Industrial Crops and Products*, vol. 122, pp. 223-231, 2018.

[33] S. JIN, "Microwave-assisted extraction of flavonoids from Cajanus cajan leaves," *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, pp. 2235-2239, 2011.

[34] B. R. Albuquerque *et al.*, "Catechin-based extract optimization obtained from Arbutus unedo L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques," *Industrial Crops and Products*, vol. 95, pp. 404-415, 2017.

[35] B. V. da Silva, J. C. Barreira, and M. B. P. Oliveira, "Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 50, pp. 144-158, 2016.

[36] B. R. Albuquerque, M. Prieto, M. F. Barreiro, A. Rodrigues, T. P. Curran, L. Barros, et al. Catechin-based extract optimization obtained from Arbutus unedo L. fruits using

maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. Industrial Crops and Products. 2017;95:404-15.

[37] N. Rubens, "The application of fuzzy logic to the construction of the ranking function of information retrieval systems," *arXiv preprint cs/0610039*, 2006.

[38] F. Tavakol, H. Amini-Khoei, A. Sureda, E. Zarean, and Z. Lorigooini, "Exploring the anti-depressant effects and nitric oxide modulation of quercetin: A preclinical study in Socially Isolated mice," *The World Journal of Biological Psychiatry*, pp. 1-12, 2024.

Journal Pre-proofs

Extraction of phenolic compounds and determination of antioxidant activity of the Aerial Parts of *Amygdalus Lycioides*

Mina Arab zadeh[1], Akram Sharifi[2*], Maghsod Amiri[3]
[1]Master, Department of Food Science and Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Iran.
[2*]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Qa.C., Islamic Azad University, Qazvin, Iran. Corresponding author e-mail: asharifi@iau.ac.ir
[3] Professor, Department of Industrial Management, Faculty of Management and Accounting, Allameh Tabataba'i University, Tehran, Iran

Abstract
The objective of this study was to extraction and evaluation of bioactive compounds from the aerial parts of *Amygdalus lycioides*. Three extraction methods were evaluated. Decoction using ethanol–water and methanol–water solvents at 70 °C for 30 min; Maceration using ethanol–water and methanol–water solvents at 25 °C for 3 days; and Ultrasonic-assisted extraction with ethanol–water and methanol–water solvents at 50 °C for 15 min under a continuous frequency of 40 kHz. The best extraction conditions were selected based on extraction yield, antioxidant activity, and total phenolic content (TPC) using a fuzzy inference system. The results indicated that the ultrasound-assisted extraction with ethanol–water solvent exhibited the highest antioxidant activity (86.26%) and total phenolic content (429.25 mg GAE/100 mL), while the decoction method with methanol–water showed the lowest values (76.80% and 325.08 mg GAE/100 mL, respectively). According to the fuzzy ranking, the ultrasound-assisted ethanol–water method obtained the highest score (89.2), followed by the ultrasound-assisted methanol–water method (88.5), whereas the other extraction methods had equal scores of 50. Furthermore, HPLC–MS analysis of the *Amygdalus lycioides* extract revealed the presence of abundant polyphenolic compounds such as Quercetin (26.66 µg/mg) and Caffeic acid (9.069 µg/mg). Considering the actual values of extraction yield, phenolic content, antioxidant activity, and solvent safety, the ultrasound-assisted ethanolic extraction was identified as the most suitable and best method.
Keywords: Antioxidant activity, *Amygdalus lycioides* extract, ultrasound-assisted extraction, total phenolic compounds, maceration

Journal Pre-proofs

Extraction of phenolic compounds and determination of antioxidant activity of the Aerial Parts of *Amygdalus Lycioides*

Mina Arab zadeh[1], Akram Sharifi[2*], Maghsod Amiri[3]
[1]Master, Department of Food Science and Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Iran.
[2*]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Qa.C., Islamic Azad University, Qazvin, Iran. Corresponding author e-mail: asharifi@iau.ac.ir
[3] Professor, Department of Industrial Management, Faculty of Management and Accounting, Allameh Tabataba'i University, Tehran, Iran

Introduction

Medicinal plants are regarded as valuable sources for the development of safe pharmaceuticals and have attracted significant attention in developed countries. Iran is recognized as one of the richest reservoirs of these plants. *Amygdalus* lycioides is rich in diverse bioactive compounds that contribute to its therapeutic and pharmacological properties. Quercetin, a flavonoid with strong anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer effects, plays a crucial role in enhancing immune system function and alleviating chronic inflammation. In *Prunus amygdalus* Gallic acid and Catechin are the main compounds. Gallic acid, a potent antioxidant, effectively neutralizes free radicals and mitigates oxidative stress, while also exhibiting antibacterial and anticancer activities. Catechin, another flavonoid, demonstrates antioxidant and cytoprotective activities, helping to lower LDL cholesterol and prevent cardiovascular diseases.

In recent years, advanced extraction techniques such as ultrasound-assisted extraction, high-pressure technologies, and microwave-assisted extraction have gradually replaced conventional methods due to their higher efficiency and reduced processing time. These techniques enable the recovery of plant-derived bioactive compounds with minimal degradation. To obtain the best extraction procedures, various approaches are employed, among which fuzzy logic systems have been recognized as highly suitable tools for ranking and evaluating processes in the industry.

This study aimed to investigate and find the best extraction methods of bioactive compounds from the aerial parts of *Amygdalus lycioides* using a fuzzy logic approach.

Materials and methods

The extraction methods evaluated included decoction, maceration, and ultrasound-assisted extraction, employing ethanol–water and methanol–water solvent systems. Decoction was conducted at 70 °C for 30 min, maceration at 25 °C for 3 days, and ultrasound extraction at 50 °C for 15 min with a continuous frequency of 40 kHz. After the extraction process, the extraction yield, total phenolic content, and antioxidant activity were determined. A fuzzy logic system was then employed for ranking and identifying the best treatment. Finally, the major phenolic compounds in the best extract were characterized using HPLC/MS analysis.

Results and discussion

The results indicated that the type of solvent had significant effect on extraction yield ($p \geq 0.05$). However, analysis of variance (ANOVA) revealed a significant effect of the extraction method on extraction yield ($p \leq 0.05$). The highest extraction yield was obtained using the decoction method, whereas the lowest yield was observed with maceration.

At a 95% confidence level, a significant effect of the extraction method on total phenolic content was observed ($p \leq 0.05$). The results indicated that the ultrasound-assisted extraction with ethanol–water solvent exhibited the highest antioxidant activity (86.26%) and total phenolic content (429.25 mg GAE/100 mL), while the decoction method with methanol–water showed the lowest values (76.80% and 325.08 mg GAE/100 mL, respectively). A significant interaction between solvent type and extraction method on free radical scavenging activity was also observed at the 95% confidence level.

During fuzzy logic approach, each method was ranked based on antioxidant activity, total phenolic content, and extraction yield. The highest rank was assigned to the 70% ethanol–ultrasound method (score: 89.2, rank 1), followed by the 70% methanol–ultrasound method (score: 88.5, rank 2). All other methods received a rank of 3 with a score of 50. Accordingly, the 70% ethanol–ultrasound method was selected as the best extraction technique. HPLC/MS

analysis of the best extract further revealed that *Amygdalus lycioides* contains abundant bioactive compounds, including quercetin, rutin, and caffeic acid.

Conclusions

In this study, extraction methods for bioactive compounds from the aerial parts of *Amygdalus lycioides* were evaluated and ranked using a fuzzy logic approach. The highest total phenolic content was observed in the ultrasound–ethanol extract, reaching 429.25 mg GAE/100 mL, while the lowest was obtained from the decoction–methanol extract, at 325.08 mg GAE/100 mL. The strongest antioxidant activity was reported for the ultrasound–ethanol method (86.26%), whereas the lowest activity was observed for the decoction–methanol method (76.80%). Fuzzy ranking indicated that the ultrasound–ethanol method achieved the highest score (89.2) and ranked first, followed by the ultrasound–methanol method with a score of 88.5 and second rank. The remaining methods received equal scores of 50. Therefore, the ultrasound–ethanol method was selected as the best extraction technique. HPLC/MS analysis further revealed that *A. lycioides* contains abundant bioactive compounds, including quercetin and rutin

Keywords: Antioxidant activity, *Amygdalus lycioides* extract, ultrasound-assisted extraction, total phenolic compounds, maceration

Journal Pre-proofs