



مقاله پژوهشی

اثر دما بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی از ریزوم زنجبل (Zingiber officinale) به کمک حمام فراصوت

*الله مقصود لو^۱، زینب رفتنی امیری^۲

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۹۸/۴/۱۶، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۸/۷/۹، تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۱۵)

چکیده

در پژوهش حاضر تاثیر دمای $40-60^{\circ}\text{C}$ و زمان‌های مختلف ۵-۶۰ min بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی ریزوم زنجبل تحت شرایط حمام فراصوت بررسی و مقادیر IC₅₀ آزمون مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها محاسبه شد. نتایج نشان داد با افزایش دما، بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی افزایش یافت. بیشترین بازده این ترکیبات در ۱۵ دقیقه اول دوره استخراج به دست آمد و بعد از آن شیب استخراج کاهش یافت. همچنین بیشترین مقدار ترکیبات فنولی ($165 \pm 47/69$ μg QE/g of DW of extract) و فلاونوئیدی ($171/13 \pm 36/56$ μg GA/g of DW of extract) در انتهای مرحله استخراج سریع حدود ۱۵ min، در دمای 50 و 60°C بدون تفاوت معنی‌دار به دست آمد. بنابراین، فرایند استخراج را می‌توان به دو مرحله استخراج سریع و استخراج آهسته تقسیم کرد. نتایج نشان داد، با استفاده از نمودارهای سینتیک می‌توان بیشینه استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ریزوم زنجبل را با کمترین زمان و دمای موثر به دست آورد. علاوه بر این نتایج نشان داد روش فراصوت دارای کارایی قابل ملاحظه‌ای در استخراج ترکیبات زیست‌فعال از ریزوم زنجبل و تکنولوژی موثرتری نسبت به روش سنتی است.

واژه‌های کلیدی: حمام فراصوت، دمای استخراج، زمان استخراج، زنجبل، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.



۱. مقدمه

تکیک‌های استخراج حلالی یا نقطیر با بخار استخراج می‌گرددند. روش‌های سنتی هزینه‌بر و زمان بر بوده و نیاز به حجم بالای حلال دارند، بنابراین تکنیک‌های استخراج نوین از جمله استخراج به کمک فراصوت، سیال فوق بحرانی، آب زیر بحرانی و استخراج به کمک مایکروویو امکان استخراج ترکیبات زیست فعال را از منابع طبیعی فراهم کرده‌اند. روش فراصوت به علت راندمان بالا، زمان کوتاه، مصرف حلال کمتر و آسان و ارزان بودن، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. تأثیرات مکانیکی امواج فراصوت طی پدیده کاویتاسیون باعث نفوذ بیشتر حلال به درون سلول‌ها می‌شود و انتقال جرم را بهبود می‌دهد. بنابراین تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم مؤثر، دو فاکتور اصلی افزایش استخراج با فراصوت می‌شوند. عوامل زیادی شامل دما، زمان، شدت امواج و نوع و ترکیب حلال، ماهیت مواد گیاهی و نسبت حلال به نمونه ساز و کار عمل فراصوت را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۵].

در مطالعات گسترده‌ای اثر شرایط مختلف برای بهبود استخراج ترکیبات به کمک فراصوت بررسی شده است، از جمله: استخراج پلی فنول‌ها از میوه کنار هندی، *Zizyphus lotus* [۶]، استخراج ترکیبات فنولی از رزماری [۷] و عصاره انگور قرمز [۸] و استخراج ملاتونین از برنج قرمز [۹]. همچنین تحقیقات مختلفی جهت بررسی محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اجزای مختلف گیاه زنجبیل انجام شده که در آن‌ها استخراج عصاره گیاه به روش سنتی با حلال‌های مختلف صورت می‌گرفته است [۴، ۱۰]. در مطالعه‌ای بارتی و ری [۱۱] به مقایسه دو روش استخراج سنتی و فراصوت در 40°C به مدت 60 min پرداختند که روش سنتی بازده استخراج بالاتری را نشان داد. بنابراین برای بهدست آوردن حداقل راندمان استخراج ترکیبات مؤثره و مقایسه تأثیر روش‌های مختلف نیاز به تعیین بهترین شرایط فرایند است [۶، ۷].

با توجه به زیان‌های حاصل از مصرف ترکیبات ضد اکسایش مصنوعی در صنعت غذا، مطالعه و پژوهش برای یافتن جایگزین سالم و طبیعی افزایش یافته و همچنین مطالعه جهت یافتن بهترین و کارآمدترین روش استخراج، از بین روش‌های مختلف استخراج ضروری است. امروزه یکی از فناوری‌های مورد استفاده در صنایع فراوری مواد غذایی رسیدن به بیشترین بازده با صرف کمترین زمان، هزینه و انرژی است. تاکنون اثر دمای مختلف بر سینتیک استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریزوم زنجبیل بررسی نشده‌است. هدف از تحقیق

آن‌تی‌اکسیدان‌ها به ترکیباتی گفته می‌شود که اکسیداسیون لیپیدها یا دیگر ملکول‌ها را از طریق مهار مرحله آغازی یا انتشار واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون ممانعت کرده یا به تاخیر می‌اندازند. در سال‌های اخیر بسیاری از گیاهان دارویی به عنوان منابع مهم ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شناخته شده‌اند. عصاره‌های این گیاهان بهدلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی بالا، می‌توانند به عنوان جایگزینی برای نگهدارنده‌های سنتزی متداول مواد غذایی در صنعت غذا به کار روند [۱، ۲]. در این منابع گیاهی، سه گروه ترکیب شیمیایی عمده شامل ترپن‌وئیدها، متابولیت‌های فنولی و آلکالوئیدها وجود دارد. که در میان آن‌ها متابولیت‌های فنولی به عنوان مهم‌ترین ترکیبات در رژیم مصرف‌کننده به شمار می‌روند.

ترکیبات فنولی شامل اسیدهای فنولی مانند هیدروکسی بنزوئیک و هیدروکسی سینامیک اسیدها، پلی فنول‌های قابل هیدرولیز شدن و تانن‌های متراکم، فلاونوئیدها و لیگنین می‌باشد. این ترکیبات میوه‌ها و سبزیجات را از صدمات اکسیداتیو محافظت کرده و برای انسان به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند [۲]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی گیاهان به طور عمده بهدلیل خواص کاهنده‌گی و ساختار شیمیایی آن‌ها است که می‌تواند نقش مهمی را در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، چنگالی کردن فلزات انتقالی و خاموش کردن اکسیژن یگانه و سه‌گانه از طریق تخریب پراکسیدها داشته باشند [۳].

زنجبیل (*Zingiber officinale*) نه تنها یکی از ادویه‌جات پر مصرف برای بهبود طعم و مزه غذاها در بیشتر نقاط جهان است، بلکه همچنین تعداد بی‌شماری ترکیبات زیست‌فعال با اثرات دارویی و بیولوژیکی دارد. ریزوم‌های زنجبیل یکی از گسترده‌ترین ادویه‌جات و چاشنی‌های مورد استفاده هستند. مصرف زنجبیل در بسیاری از استرس‌های اکسیداتیو مرتبط با پزشکی از جمله فشار خون، دیابت پانکراسیک، صدمات کلیوی و بیماری آراییر مفید است. در طب سنتی برای درمان سر درد، حالت تهوع، تب، سرماخوردگی، آرتربیت، اختلالات رماتیسمی و دردهای عضلانی مورد استفاده قرار می‌گرفته است. همچنین زنجبیل دارای اثرات ضد التهاب، ضد سرطان، محافظت کبد و کلیه و نیز اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۴].

ترکیبات فنولی از منابع گیاهی به طور سنتی با استفاده از

۲.۳. اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

محتوای فنول کل به روش رنگ سنجی فولین سیوکالچو طبق روش اسفلان و همکاران [۱۴] اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، $2/5$ ml معرف فولین سیوکالچویی ده برابر رقیق شده با آب مقطر، 2 ml سدیم کربنات $۷/۵\%$ و ۱ ml ۵۰ از عصاره به خوبی مخلوط شدند. پس از 15 min حرارت دهی در ۴۵°C جذب نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفوتومتر دو پرتویی ماوراء بنفس -مرئی مدل اسپکول ۲۰۰۰ شرکت آنالیتیکا جنا ساخت کشور آلمان در طول موج ۷۶۵ nm اندازه‌گیری و مخلوط آب و معرف به عنوان شاهد و اسید گالیک ۷۰۰ mg/ml برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. محتوای فنولی کل نمونه‌ها بر اساس معادله خط به دست آمده از منحنی استاندارد گالیک اسید گالیک - GAE در هر گرم عصاره محاسبه گردید [۱۴].

۲.۴. تعیین محتوای فلاونوئیدی کل

سنجه میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید به روش مقصودلو و همکاران [۱۳] انجام شد. به طور خلاصه، $۰/۵$ ml محلول هر یک از عصاره‌ها 1 mg/ml به طور جداگانه در $۰/۵$ ml متانول، $۰/۱$ ml آلومینیوم کلرید ۱۰% در اتانول، $۰/۱$ ml استات پتاسیم یک مولار و $۲/۸$ ml آب مقطر مخلوط و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شد. جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ nm ۴۱۵ توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر دو پرتویی ماوراء بنفس - مرئی مدل اسپکول ۲۰۰۰ شرکت آنالیتیکا جنا ساخت کشور آلمان خوانده شد. از متانول خالص به عنوان شاهد و از کوئرستین ۱۰۰ mg/ml $۱۲/۵$ برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. محتوای فلاونوئید کل بر اساس معادله خط به دست آمده از منحنی استاندارد کوئرستین $۰/۰۰۶۴x-0/0124$ ، $R^2=0.99$ کوئرستین در هر گرم عصاره محاسبه گردید [۱۳].

۲.۵. اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها

۲.۵.۱. آزمون جذب رادیکال‌های آزاد DPPH

فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره‌ها با استفاده از ۲ و $۲'$ - دی فنیل - پیکریل هیدرازیل - DPPH بر اساس روش توضیح داده شده توسط ابراهیم‌زاده و همکاران [۱۵] مطالعه شد.

حاضر، بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی ریزوم زنجبل تحت شرایط مختلف دما و زمان در معرض قرار گیری فرا صوت و مقایسه با روش استخراج سنتی حلالی می‌باشد. لذا، ضمن مقایسه روش‌های استخراج فراصوت و سنتی از نظر بازده و سرعت استخراج ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی-اکسیدانی، با بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره ریزوم زنجبل، می‌توان به کمترین زمان لازم در مرحله استخراج برای رسیدن به بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی دست یافت.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. مواد اولیه

ریزوم تازه زنجبل در پاییز ۱۳۹۷ از بازار محلی گرگان تهیه شد. ریزوم‌های تازه زنجبل بلا فاصله پس از تمیز کردن و خرد شدن به سرعت تحت شرایط طبیعی محیط در سایه تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردیدند. نمونه‌های خشک شده تا مش ۴۰ آسیاب شده و به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت در بسته‌های دو لایه پلی اتیلنی، در دمای $۱۸-۱۸^{\circ}\text{C}$ نگهداری شدند [۱۲].

۲.۲. آماده سازی عصاره‌ها

برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی ریزوم زنجبل در هر یک از تیمارها، مخلوطی از ۱۰ g نمونه در ۱۰۰ ml اتانول: آب $(۱:۱)$ تهیه و کاملاً به هم زده شد. در این مطالعه حمام فراصوت دستگاه حمام اولتراسونیک مدل S30H شرکت الماسونیک ساخت کشور آلمان با فرکانس ۳۷ KHz و توان ۲۸۰ w استفاده شد. مخلوط نمونه‌ها تحت امواج حمام فراصوت در دمای ۴۰ و ۵۰ و ۶۰°C و زمان ۵ ، ۱۵ ، ۳۰ و ۴۵ و ۶۰ min قرار گرفتند. در این روش دما از طریق سیرکولاسان آب، کنترل و حفظ شد. همچنین برای مقایسه تکنولوژی فراصوت با روش استخراج سنتی در دمای ۳۰°C و زمان ۵ ، ۱۵ ، ۳۰ ، ۴۵ و ۶۰ min استخراج انجام شد. در روش استخراج سنتی برای استخراج بهتر ترکیبات آنتی اکسیدانی، مخلوط‌های نمونه در شرایط تاریکی مخلوط و سپس سوسپانسیون حاصل از استخراج روش فراصوت و حلالی با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و حلال‌ها در دمای ۴۰°C در آون به مدت ۱۸ h تبخیر و عصاره‌های حاصل تا زمان آزمایش در دمای ۱۸°C نگهداری شدند [۱۳].

ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح اطمینان ۹۵٪ توسط نرم افزار SPSS21 صورت گرفت. همچنین نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم شدند.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. سینتیک استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در دماهای مختلف

طبق نتایج آنالیز واریانس در جدول (۱)، اثر تیمارهای مختلف فراصوت بر محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی معنی‌دار بود. اثر دما بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در طول زمان تحت شرایط حمام فراصوت به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. به‌طور کلی، بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با افزایش درجه حرارت از ۴۰ تا ۶۰ °C افزایش یافت. به‌طوری‌که بعد از گذشت ۱۵ min از زمان استخراج به ترتیب در دماهای ۵۰ و ۶۰ °C، بازده ترکیبات فنولی به‌دست آمده $\pm ۳۶/۵۶ \mu\text{g GA/g of DW of extract}$ و $۱۶۵/۷۵ \pm ۴۷/۶۹ \mu\text{g QE/g of DW of extract}$ بود. بازده ترکیبات فلاونوئیدی $۹/۴۳ \pm ۰/۸۰$ و $۱۷۳/۱۳$ و بازده ترکیبات فلاونوئیدی $۱۰/۱۱$ و $۱۱/۱۰$ [۱۱].

بالاترین میزان این ترکیبات در ۱۵ دقیقه اول استخراج بدون تفاوت معنی‌داری در دماهای ۵۰ و ۶۰ °C حاصل شد که با افزایش زمان استخراج به تدریج کاهش یافت. با این حال، روند افزایش بازده ترکیبات زیست فعال زنجیبل در ۴۰ و ۵۰ °C تا حدود زمان ۳۰ min قابل مشاهده است، اما در ۶۰ °C از ۱۵ تا ۶۰ min روند کاهشی نشان داد. در بازه زمانی ۳۰-۶۰ min از زمان استخراج، کمترین بازده ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در دماهای ۴۰ و ۶۰ °C و بیشترین آن در دماهای ۵۰ °C به‌دست آمد. به‌طور کلی، افزایش دما می‌تواند تورم مواد خام و نرم شدن و پارگی بافت گیاهی را تسريع و برهمکنش‌های فنول-پروتئین و فنول-پلی‌ساکارید را تضعیف کند، حلالیت ترکیبات استخراج شده و سرعت انتشار حلال را افزایش دهد و ویسکوزیته و کشش سطحی حلال را کاهش دهد. درنتیجه با افزایش تدریجی دما، انتقال جرم ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از بافت گیاه زنجیبل بهبود یافت. این نتیجه با نتایج سیلوا و همکاران [۱۲] مطابقت دارد.

محلول DPPH از طریق حل کردن mg ۳/۹۴ از DPPH در ۱۰۰ ml متانول تهیه و ۲ ml از محلول DPPH به ۲ ml از هر یک از عصاره‌ها $1000 \mu\text{g/ml}$ اضافه شد. مخلوط به هم زده شد و به‌مدت ۱۵ min در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. جذب محلول‌های واکنش در ۵۱۷ nm اندازه‌گیری و از محلول DPPH به‌عنوان نمونه کنترل استفاده شد. درصد مهارکنندگی رادیکالی عصاره‌ها طبق معادله (۱) محاسبه شد:

$$\% \text{ Inh} = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

که در آن %Inh، درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH، Abs_{sample}، Abs_{control}، میزان جذب نمونه و میزان جذب کنترل می‌باشد. IC₅₀ فعالیت مهارکنندگی رادیکالی عصاره‌ها که به صورت غلظتی از عصاره مورد نیاز برای کاهش ۵۰٪ غلظت اولیه DPPH تعريف می‌شود از طریق درونیابی خطی محاسبه شد [۱۵].

۲.۵. اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن

این آزمون مطابق روش توضیحی آلتیمیمی و همکاران [۱۶] انجام شد. در این روش آنتی‌اسیدان‌ها نقش احیاکنندگی آهن III به آهن II دارند. بسته به قدرت احیاکنندگی عصاره، رنگ زرد محلول آزمایش به رنگ سبز یا آبی تغییر می‌یابد. به‌طور خلاصه، ۲/۵ ml از عصاره‌ها در غلظت‌های $1000 \mu\text{g/ml}$ با $۲/۵ \text{ ml}$ از بافر فسفات سدیم pH: ۶/۶ با $۲/۵ \text{ ml}$ از پتابسیم فری سیانید $K_3Fe(CN)_6$; 10 g/L ترکیب مخلوط و به‌مدت ۲۰ min در 50°C گرمخانه‌گذاری شد. در ادامه $۲/۵ \text{ ml}$ از تری-کلرواستیک اسید 10% وزنی/حجمی اضافه شد و مخلوط برای 10 min در 3000 rpm سانتریفیوژ گردید. در نهایت $۲/۵ \text{ ml}$ محلول رویی با $۲/۵ \text{ ml}$ آب مقطر و $۰/۵ \text{ ml}$ از کلریدفریک 1 g/L مخلوط و جذب نمونه‌ها در طول موج 700 nm اندازه‌گیری گردید. غلظتی از عصاره که جذب $۵/۰$ را فراهم می‌کند با عنوان IC₅₀ از طریق درونیابی خطی نموداری که جذب در 700 nm را در مقابل غلظت عصاره‌ها نشان می‌دهد، محاسبه شد [۱۶].

۲.۶. تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق، کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین-

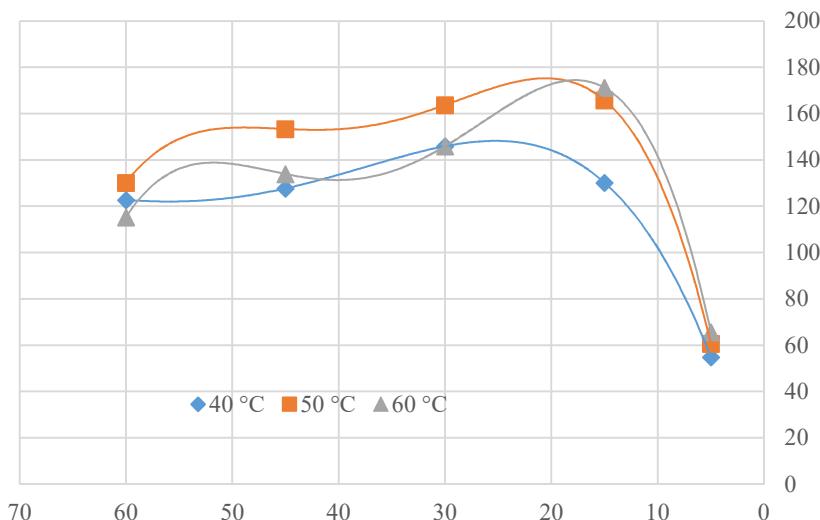
جدول (۱) تجزیه واریانس اثر تیمارهای فراصوت بر محتوای فنولی، فلاونوئیدها و خاصیت آنتیاکسیدانی عصاره ریزوم زنجبل.

Table 1 Variance analysis of ultrasonic treatments on the phenolic content, flavonoids and antioxidant activity of ginger rhizome extract.

IC ₅₀ قدرت احیاکنندگی IC ₅₀ of reducing power	DPPH مهار IC ₅₀ of DPPH scavenging activity	میانگین مربعات Mean square		فناول کل Total flavonoid	فلاؤنوئید کل Total phenol	درجه آزادی df	منابع تغییر Source of variation
		فناول کل Total flavonoid	فلاؤنوئید کل Total phenol				
23670.4*	55483.5*	7.33*	4235.8*	14	تیمار Treatment		
13.05	21.63	0.237	6.46	30	خطا Error		
3.93	6.31	1.41	2.23	-	ضریب تغییرات CV		

* اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد.

* indicates a significant difference at the 0.05 level.

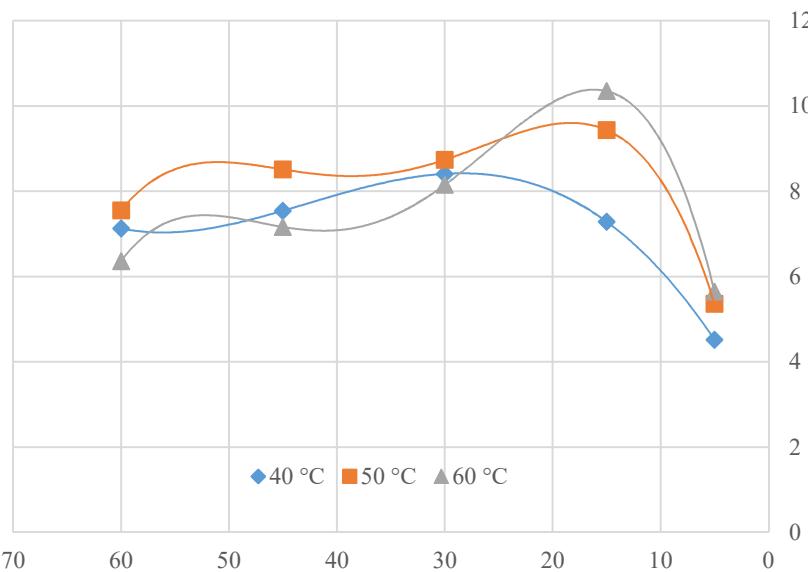


شکل (۱) سینتیک استخراج ترکیبات فنولی عصاره های ریزوم زنجبل به کمک فراصوت

Fig 1. Extraction kinetic of phenolic compounds from ginger rhizome extracts using ultrasound

بالاتر از ۵۰°C پایداری آنها کاهش می یابد که اثر چشمگیری بر کاهش فعالیت آنتیاکسیدانی عصاره خواهد داشت [۱۸]. بنابراین، حرارت دهنده بهبود استخراج آنتیاکسیدان های مشخصی را به همراه دارد، در حالی که بطور همزمان سبب تخریب آنتیاکسیدان هایی می شود که در دماهای پایین تر استخراج شده اند [۱۹]. در تحقیق حاضر، با افزایش زمان استخراج، بیشترین کاهش در بازده ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در دمای ۶۰°C مشاهده شد و دمای ۵۰°C به عنوان بهترین دمای استخراج این ترکیبات زیست فعال از ریزوم زنجبل بود.

اگرچه دماهای بالای فراصوت می تواند استخراج ترکیبات زیست فعال از بافت گیاهی را تسهیل کند، اما اثر منفی آن بر شدت کاویتاسیون را نمی توان نادیده گرفت. در دماهای بالاتر فراصوت، در نتیجه کشش سطحی پایین تر، فشار بخار حلal افزایش می یابد و سبب می شود بخارات حلal بیشتری وارد تعداد زیادی از حباب های کاویتاسیون گردد، که با شدت کمتری متلاشی شده و شدت کاویتاسیون را کاهش می دهد. احتمالاً روند کاهشی بازده ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در دماهای ۵۰ و ۶۰°C به این موضوع مرتبط می باشد. از طرف دیگر، برخی از پلی فنول ها به ویژه فلاونوئیدها حساس به حرارت هستند، بنابراین در دماهای



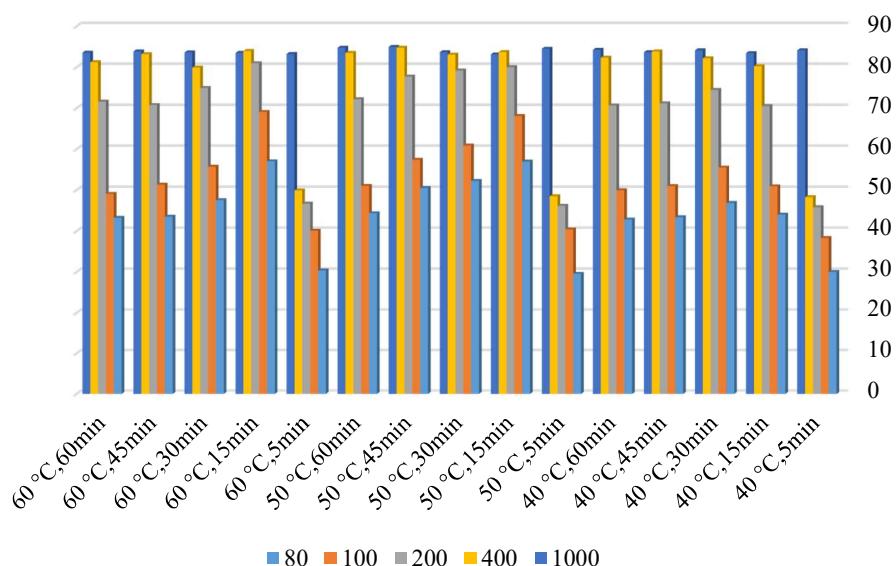
شکل (۲) سینتیک استخراج ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های زنجبیل به کمک فراصوت
Fig 2. Extraction kinetic of flavonoid compounds from ginger rhizome extracts using ultrasound

به دو مرحله تقسیم کرد؛ یک مرحله استخراج سریع است که حدود ۱۵ min طول می‌کشد و حداکثر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی حاصل می‌شود، و یک مرحله استخراج آهسته برای ادامه زمان مورد مطالعه است که مقادیر استخراج شده نه تنها رشد معنی‌داری نداشت، بلکه همچنین در برخی موارد در اثر تخریب حرارتی روند کاهشی مشاهده شد. در مطالعات مختلف از جمله سیلوا و همکاران [۲۰] و تاؤ و همکاران [۱۷] و هرووز و همکاران [۲۱] به طور مشابهی نشان دادند پدیده استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فنولی در دو مرحله سریع و آهسته انجام می‌شود. این محققان نشان دادند انتخاب زمان‌های طولانی‌تر منجر به اثرات غیرمعنی‌دار در متغیر زمان می‌گردد.

همچنین در این مطالعه اثر دما و زمان فراصوت بر سینتیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زنجبیل تحت آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH و همچنین قدرت احیاکنندگی اتم آهن بررسی شد. آزمون مهار رادیکال DPPH به طور گستره‌ای برای ارزیابی ترکیباتی که رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کنند یا دهنده هیدروژن هستند، استفاده می‌شود [۲۲] و روش قدرت احیاکنندگی روش حساسی برای تعیین نیمه کمی غلظت پلی‌فنول‌های موجود در واکنش اکسیداسیون-احیاء شناخته شده است [۲۳]. اثر دما بر سینتیک فعالیت مهارکنندگی رادیکالی و قدرت احیاکنندگی عصاره‌های زنجبیل در شکل‌های ۳ و ۴ و مقادیر IC_{50} آن‌ها در

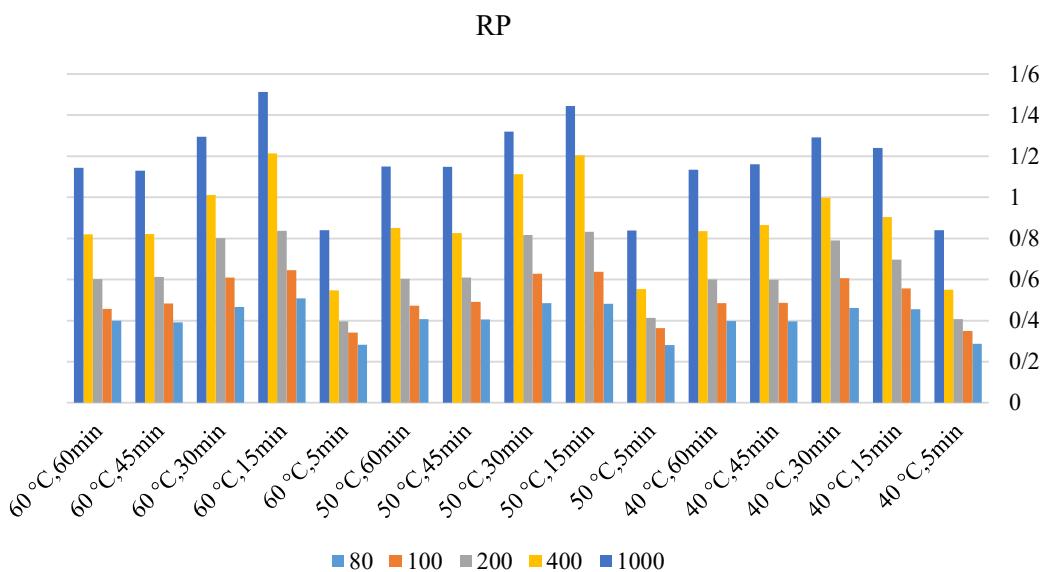
تاؤ و همکاران [۲۰] در هنگام بررسی سینتیک استخراج ترکیبات فنولی و استرهای تارتریک از تفاله انگور نشان دادند که افزایش دما از ۲۰ تا ۵۰ °C منجر به افزایش بازده استخراج به کمک حمام فراصوت شد. این محققان تخریب حرارتی ترکیبات فنولیک در بازه دمایی مورد بررسی گزارش نکردند، زیرا بهترین دمای استخراج ترکیبات فنولی از تفاله انگور ۵۰ °C است. در تحقیقی دیگر، در بررسی اثر واریته بر بازیابی ترکیبات فنولی عصاره اسفناج توسط حمام فراصوت در بازه ۵۰–۳۰ °C، بازده استخراج تا دمای ۴۰ °C افزایش و سپس با افزایش دما کاهش یافت. این محققان توضیح دادند که دماهای بالاتر فراصوت می‌تواند برخی از ترکیبات فنولی که در محیط استخراج پراکنده شده‌اند و پایداری حرارتی کمتری دارند را تخریب کند [۱۶].

سینتیک استخراج پلی‌فنول‌ها به منظور بررسی سرعت استخراج و انتخاب محدوده مناسب تجربی انجام می‌شود. به عبارت دیگر، مهم‌ترین هدف بررسی سینتیک استخراج دستیابی به داده‌هایی است که از کاربرد محدوده‌های زمانی بالا با تفاوت غیرمعنی‌دار نسبت به زمان‌های پایین‌تر جلوگیری می‌کند. در نتیجه صرفه‌جویی در انرژی و زمان و همچنین عدم تخریب حرارتی ترکیبات را به همراه دارد. همان‌طور که در شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود برای هر سه دمای مورد مطالعه، یک ناحیه با شبیه تند بهدست آمد. بنابراین سینتیک استخراج را می‌توان



شکل (۳) درصد مهار و ادیکال DPPH عصاره‌های ریزوم زنجیل در تیمارهای مختلف فرآصوت

Fig 3. DPPH radical scavenging activity of ginger rhizome extracts in various ultrasound treatment



شکل (۴) قدرت احیاکنندگی عصاره‌های ریزوم زنجیبل در تیمارهای مختلف فرآصوت

Fig 4. Reducing power of ginger rhizome extracts in various ultrasound treatment

ری نشان می دهد.

همان طور که مشاهده می شود در صد مهار رادیکال DPPH در شکل (۳) و قدرت احیا کنندگی اتم آهن در شکل ۴ در اکثر موارد با افزایش دما از 40°C تا 60°C افزایش و مقادیر IC_{50} در هر دو روش کاهش یافت. بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های ریزوم زنجبلی در غلظت های مختلف $80\text{ تا }100\text{ }\mu\text{g/ml}$ نشان

جدول (۲) گزارش شده است. مقادیر IC₅₀ در آزمون مهار رادیکال DPPH به غلظتی از عصاره آنتی اکسیدانی اطلاق می شود که می تواند ۵٪ از رادیکال های آزاد اولیه را مهار کند و در روش قدرت احیا کنندگی غلظتی از عصاره آنتی اکسیدانی است که در طول موج ۷۰۰ nm ۷ جذب /۵ داشته باشد. بنابراین در هر دو روش مقادیر IC₅₀ پایین تر در نمونه ها، فعالیت آنتی اکسیدانی

دماهای ۴۰ و ۵۰ °C ثابت ماند یا به میزان جزئی کاهش یافت و در دمای ۶۰ °C افزایش قابل ملاحظه‌ای در مقادیر IC₅₀ و درنتیجه کاهش توانایی مهار رادیکالی و قدرت احیاکنندگی عصاره‌های زنجبل مشاهده شد. دو پدیده مهم و موثر در فرآصنوت اثر کاویتاسیون و اثر حرارت هستند. اثر کاویتاسیون از طریق انفجار حباب‌ها یا حفره‌های کاویتاسیون عمل می‌کند و اثر حرارت توسط تورم و تخرب ساختار سلولی عمل می‌کند و در نتیجه سبب افزایش انتقال جرم مواد داخل سلولی به حلال می‌گردد. در این مطالعه در ۱۵ دقیقه اول در دماهای پایین‌تر، اثر حرارت ناچیز و در نتیجه عملکرد استخراج کمتر بود. به تدریج با افزایش دما هر دو اثر به طور مساوی غالب و اثر ترکیبی مفید آن‌ها سبب عملکرد نسبتاً بالاتر استخراج شد. اما با افزایش زمان استخراج به ویژه در حرارت بالاتر نه تنها عملکرد استخراج افزایش نیافت، بلکه به دلیل حرارت بالا برخی از ترکیبات استخراج شده حساس به حرارت تخرب شدند [۲۴].

داد با افزایش غلظت عصاره، درصد مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی اتم آهن افزایش یافت. در غلظت‌های بالای ۲۰۰ µg/ml عصاره‌های حاصل از تیمارهای مختلف فرآصنوت تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($p > 0.05$). اما در سایر غلظت‌ها اثر دما بر سینتیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شکل‌های ۳ و ۴ معنی‌دار بود. به طور کلی، در ۱۵ دقیقه اولیه استخراج در هر یک از دماهای مورد مطالعه، درصد مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی اتم آهن با شبیه تندی افزایش و مقادیر IC₅₀ در هر دو روش کاهش یافت. به طوری که کمترین مقدار IC₅₀ و درنتیجه بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به ترتیب در دماهای ۴۰ و ۵۰ °C در آزمون فعالیت مهارکنندگی رادیکالی DPPH آزمون‌قدر احیاکنندگی اتم آهن $4/16 \pm 2/16$ ، $8/9/05 \pm 2/83$ و $2/8/06 \pm 3/06$ و $8/0/42$ تا $6/0$ min فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های زنجبل در

جدول (۲) مقادیر IC₅₀ عصاره‌های ریزوم زنجبل آزمون مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن.

Table 2 IC₅₀ values of ginger rhizome extracts of DPPH scavenging activity and reducing power tests.

قدرت احیاکنندگی IC ₅₀	DPPH مهار رادیکال‌های IC ₅₀	تیمار
IC ₅₀ of reducing power (µg/ml)	IC ₅₀ of DPPH scavenging activity (µg/ml)	Treatment
° 10.75 ± 313.29	° 27.46 ± 528.92	40 °C,5min
ª 4.16 ± 89.05	ª 4.36 ± 94.92	40 °C,15min
ª 5.61 ± 84.43	ª 2.57 ± 87.96	40 °C,30min
º 23.91 ± 127.83	ª 20.21 ± 104.80	40 °C,45min
º 25.39 ± 128.55	ª 21.01 ± 106.75	40 °C,60min
º 17.45 ± 310.88	º 29.94 ± 339.19	50 °C,5min
ª 2.83 ± 80.42	ª 6.09 ± 68.01	50 °C,15min
ª 4.55 ± 80.95	ª 4.12 ± 73.55	50 °C,30min
º 21.26 ± 124.17	ª 5.26 ± 78.26	50 °C,45min
º 4.03 ± 139.48	ª 18.31 ± 103.87	50 °C,60min
° 16.72 ± 318.14	º 28.34 ± 337.12	60 °C,5min
ª 3.06 ± 78.06	ª 2.79 ± 66.60	60 °C,15min
ª 5.07 ± 83.79	ª 1.52 ± 87.17	60 °C,30min
º 23.73 ± 123.38	ª 22.64 ± 106.12	60 °C,45min
1.81 º ± 141.61	ª 19.30 ± 115.02	60 °C,60min

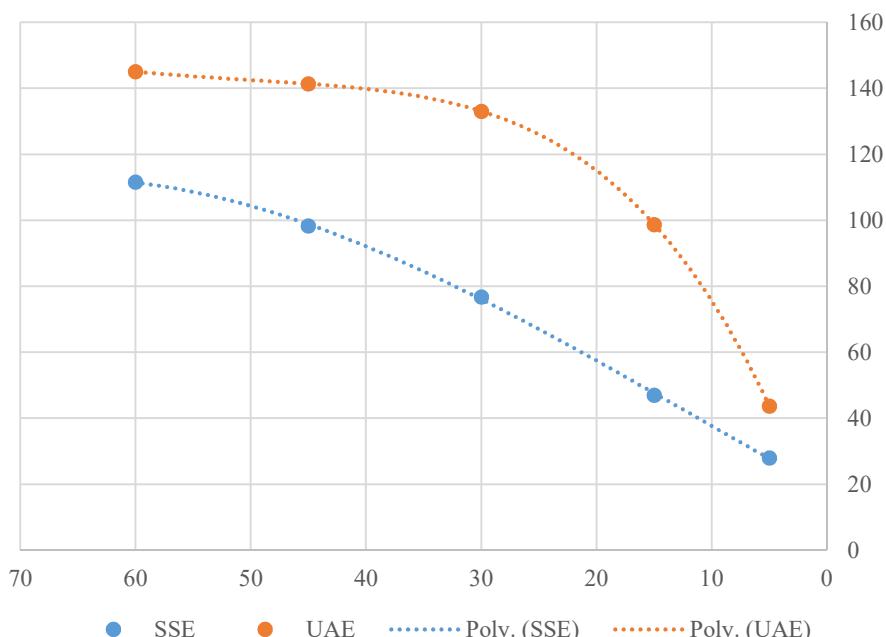
حرروف مشابه در هر ستون بانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ است.

Values with different letters within column indicate significance difference at $P < 0.05$.

۳.۲. اثر زمان استخراج به کمک فracasot

مانده در قسمت‌های داخلی و عمیق ذرات قرار داشته و کمتر در دسترس حلال قرار می‌گیرند. در آزمون توانایی مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی اتم آهن نیز کمترین IC_{50} و در نتیجه بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دقیقه پانزدهم دوره استخراج و در ادامه با افزایش زمان استخراج، کاهش ناچیزی مشاهده شد یا ثابت باقی‌ماند. در سیستم فرا صوت حباب‌های تشکیل شده ناشی از کاویتاسیون متلاشی شده و مقدار زیادی انرژی در محیط اطراف ایجاد کرده که سبب اختلال دیواره سلولی می‌گردد. همان‌طور که توضیح داده شد روند افزایشی در زمان‌های اولیه استخراج به دلیل شبیه غلظت زیاد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بین حلال و دیواره سلول است که سبب سهولت عمل استخراج می‌گردد. در زمان خاصی بیشترین رهاسازی ترکیبات زیست‌فعال اتفاق می‌افتد و پس از آن در زمان‌های بالاتر به دلیل حضور این ترکیبات در قسمت‌های کمتر در دسترس سلول گیاهی و نیز کاهش شبیه غلظت این مواد، میزان خروج ترکیبات کاهش می‌یابد. برخی مطالعات پیشین این روند افزایشی اولیه و سپس کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی را گزارش کردند [۲۶].

زمان استخراج، فاکتور مهمی است که بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و بنابراین فعایت آنتی‌اکسیدانی عصاره زنجبل را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در این تحقیق، محتوای فنول و فلاونوئیدها در همه دماهای مورد بررسی با افزایش زمان به طور تقریبی تا ۱۵ min به حداقل بازده رسید. اما با افزایش زمان استخراج از ۱۵ min تا ۶۰ min در دماهای 40°C و 50°C بازده استخراج ترکیبات کاهش اندکی یافت و در دمای 60°C کاهش چشمگیری در میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی مشاهده شد. یافته‌های وگی و همکاران [۲۵] و تائو و همکاران [۲۰] این نتایج را تایید می‌کنند. وگی و همکاران [۲۵] با بررسی استخراج پلی‌فنول‌ها از پوست درخت *Jatoba Bark* (*Jatoba Bark*) به کمک فracasot در دمای ثابت 50°C نشان دادند در ۱۵ دقیقه اول فرایند استخراج به دلیل اثر شبیه غلظت پلی‌فنول‌ها بین حلال و مواد گیاهی، محتوای فنولی بالا در سطح ذرات در تماس در شروع استخراج، محتوای فنولی بالا در سطح ذرات در تماس با حلال قرار گرفته و سبب تسریع آزاد شدن این ترکیبات می‌گردد. در حالی که پس از طی این زمان، رهاسازی به دلیل شبیه غلظت کمتر، کاهش یافته و همچنین پلی‌فنول‌های باقی-



شکل (۵) سینتیک استخراج ترکیبات فنولی عصاره‌های ریزوم زنجبل تحت استخراج به کمک فracasot (UAE) و استخراج سنتی (SSE) در دمای 30°C

Fig 5. Extraction kinetic of phenolic compounds from ginger rhizome extracts using ultrasound assisted extraction (UAE) and shaker solvent extraction (SSE) at 30°C

۴.۳. مقایسه عملکرد استخراج به کمک فراصوت و استخراج سنتی

نتایج نشان داد افزایش دما اثر مثبتی بر بازده استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و نیز فعالیت مهار رادیکال DPPH و قدرت احیاکنندگی عصاره زنجبلی دارد. محدوده زمانی مناسب برای استخراج بالاترین بازده پلیفنول‌ها و فلاونوئیدهای ریزوم زنجبلی تعیین شد. به این ترتیب که بیشترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و بالاترین فعالیت آنتیاکسیدانی در ۱۵ دقیقه اول دوره استخراج در مرحله استخراج سریع بدست آمد که مقدار آن با افزایش زمان استخراج بدون تغییر قابل ملاحظه‌ای ثابت ماند یا در معرض تخریب حرارتی در مرحله استخراج آهسته قرار گرفت. نتایج این مطالعه کارایی بالای روش فراصوت را نسبت به روش سنتی برای استخراج عصاره‌های غنی از پلیفنول با فعالیت آنتیاکسیدانی بالا تایید می‌کند. همچنین تحقیق حاضر به خوبی نشان داد عصاره زنجبلی می‌تواند به عنوان منبع غنی از آنتیاکسیدان طبیعی برای بهبود پایداری اکسیداتیو مواد غذایی مصرفی روزانه و نیز حفظ سلامت مصرف کنندگان مورد استفاده قرار گیرد.

برای درک بهتر سینتیک استخراج به کمک فراصوت، عملکرد آن با روش حالی سنتی در دمای نزدیک به دمای محیط حدود 30°C به مدت ۶۰ min مقایسه شد. همان‌طور که در شکل (۵) نشان داده شده است، در روش فراصوت در ۳۰ دقیقه اول فرایند، استخراج ترکیبات فنولی با شبیه تندتری انجام شد بهطوری که مرحله استخراج سریع به خوبی مشخص است و در ادامه فرایند تا ۶۰ min افزایش معنی‌داری در میزان ترکیبات فنولی مشاهده نشد. در حالی که، در روش سنتی روند افزایشی خطی با شبیه کمتر از روش فراصوت تا ۴۵ min مشاهده شد و احتمالاً پس از آن وارد مرحله دوم استخراج یعنی استخراج آهسته می‌شود. در ضمن، روش فراصوت در طول ۶۰ min استخراج همواره بازده ترکیبات فنولی بالاتری داشت. این نتایج به وضوح نشان می‌دهد روش فراصوت از نظر بازده و سرعت استخراج نسبت به روش سنتی کارایی بیشتری دارد. این نتایج با مطالعات نتایج تائو و همکاران [۲۰] مطابقت دارد.

منابع

- antioxidant activity in multi-test systems in vitro. *Food Chem.*, 114(3), 1147-1154.
- [6] Hammi, K.M., Jdey, A., Abdelly, C., Majdoub, H. and Ksouri, R. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Ziziphus lotus* fruits using response surface methodology. *Food Chem.*, 184, 80-89.
- [7] Hossain, M., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B. and Brunton, N. (2011). Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chem.*, 126, 339-346.
- [8] Morelli, L.L.L. and Prado, M.A. (2012). Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology. *Ultrason Sonochem.*, 19, 1144-1149.
- [9] Setyaningsih, W., Duros, E., Palma, M. and Barroso, C. (2015). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of melatonin from red rice (*Oryza sativa*) grains through a response surface methodology. *Applied Acoustics*.
- [1] Chen, X., Wang, W., Li, S., Xue, J., Fan, L., Sheng, Z. and Chen, Y. (2010). Optimization of ultrasound-assisted extraction of Lingzhi polysaccharides using response surface methodology and its inhibitory effect on cervical cancer cells. *Carbohydr. Polym.*, 80(3), 944-948.
- [2] Diem Do, Q., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. and Ju, Y.H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *J. Food Drug Anal.*, 22, 296-302.
- [3] Chun, S.S., Vattem, D.A., Lin, Y.T. and Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochem.*, 40(2), 809-816.
- [4] Tohma, H., Gülcin, İ., Bursal, E., Gören, A.C., Alwasel, S.H. and Köksal, E. (2017). Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *J. Food Meas Charact.*, 11(2), 556-566.
- [5] Huang, W., Xue, A., Niu, H., Jia, Z. and Wang, J. (2009). Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of

- Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves, *Food Chem.*, 80, 275–282.
- [22] Bidchol, A.M., Wilfred, A., Abhijna, P. and Harish, R. (2011). Free radical scavenging activity of aqueous and ethanolic extract of *Brassica oleracea L. var. italicica*. *Food Bioprocess Tech.*, 4(7), 1137-1143.
- [23] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chem.*, 84(4), 551-562.
- [24] Dey, S. and Rathod, V.K. (2013). Ultrasound assisted extraction of β-carotene from *Spirulinaplatensis*. *Ultrason Sonochem* 20(1), 271-276.
- [25] Veggi, P.C., Santos, D.T., Fabiano-Tixier, A.S., Le Bourvellec, C., Meireles, M.A.A. and Chemat, F. (2013). Ultrasound-assisted Extraction of Polyphenols from Jatoba (*Hymenaea courbaril L. var stilbocarpa*) Bark. *Food and Public Health*, 3(3), 119-129.
- [26] Portto, C.D., Porretto, E. and Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera L.*) seeds. *Ultrason Sonochem.*, 20, 1076–1080.
- [10] Ali, A.M.A., El-Nour, M.E.M., and Yagi, S.M. (2018). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale Rosc.*) rhizome, callus and callus treated with some elicitors. *Genet Eng Biotechn N.*, 16(2), 677-682.
- [11] Bharti, I. and Ray, A. (2014). Effect of extraction techniques on total flavonoids, phenolics, and antioxidant activity of different plants extract. *Int. J. Res. Appl.*, 2(1), 41-48.
- [12] Rezaie, M., Farhoosh R., Iranshahi M., Sharif, A. and Golmohamadzadeh, S. (2015). Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from *Bene* (*Pistacia atlantica subsp. mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food Chem.*, 173, 577-583.
- [13] Maghsoudlou, E., Esmaeilzadeh Kenari, R., and Raftani Amiri, Z. (2016). Evaluation of Antioxidant Activity of Fig (*Ficus carica*) Pulp and Skin Extract and its Application in Enhancing Oxidative Stability of Canola Oil. *J. Food Process Pres.*, 41(4), 1-11
- [14] Sfahanl, A.J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R. and Jamei, R. (2009). Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis L.*) as a function of genotype. *Food Chem.*, 115, 529-533.
- [15] Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F., Bahramian, F. and Bekhradnia, A.R. (2010). Antioxidant and free radical scavenging activity of *H. officinalis L. var. angustifolius*, *V. odorata*, *B. hyrcana* and *C. speciosum*. *Pak J. Pharm Sci.*, 23(1), 29-34.
- [16] Altemimi,A., Choudhary, R., Watson,D.G. and Lightfoot, D.A. (2015). Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts, *Ultrason Sonochem.*, 24, 247–255.
- [17] Silva, E.M., Rogez, H. and Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Sep Purif Technol.*, 55(3), 381-387.
- [18] Bey, M.B., Louailleche, H. and Zemouri, S. (2013). Optimization of phenolic compound recovery and antioxidant activity of light and dark dried fig (*Ficus carica L.*) varieties. *Food Sci. Biotechnol.*, 22(6), 1613-1619.
- [19] Liyana-Pathirana, C. and Shahidi, F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chem.*, 93(1), 47-56.
- [20] Tao, Y., Zhang, Z. and Sun, D.W. (2014). Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: influence of acoustic energy density and temperature *Ultrason Sonochem.*, 21(4), 1461-1469.
- [21] Herodez, S.S., Hadolin, M., Skerget, M. and Knez, Z. (2003). Solvent extraction study of antioxidants from

Research Article**Effect of temperature on the kinetics of phenolic compounds extraction from ginger (*Zingiber officinale*) rhizome using ultrasound bath****Elahe Maghsoudlou¹, Zeynab Raftani Amiri^{2*}**

1. Ph.D Student, Dept. of Food science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
2. Associate Prof., Dept. of Food science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran.

Abstract

In the present study, the effects of temperatures 40-60 °C and different times 5-60 min on polyphenols and flavonoids extraction kinetics using ultrasound bath were investigated, and The IC₅₀ values of DPPH free radical scavenging activity and reducing power of the extracts were calculated. The results showed that the extraction efficiency of phenolic and flavonoid compounds increased with temperature. Also, the highest yields of these compounds were obtained during the first 15 min of extraction, and after that the slope of the extraction decreased. The highest value of phenolic compounds 165.35± 47.69 and 171.13± 36.56 µg GA/g of DW of extract and flavonoid 9.43± 0.80 and 10.35± 0.93 µg QE/g of DW of extract were obtained at 15 min, and 50 and 60 °C, respectively, without significant difference. Therefore, the extraction process can be divided into two stages of rapid extraction and slow extraction. Using the kinetic curves, the maximum efficiency of the antioxidant compounds of ginger rhizome can be found with the least effective time and temperature. In addition, the results showed that ultrasound has a significant effect on the extraction of bioactive compounds from ginger rhizome compared to the traditional method.

Keywords: Ultrasound bath, Extraction temperature, Extraction time, Ginger, Phenolic compounds, Antioxidant activity.

* Corresponding author: z.raftani@sanru.ac.ir