



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات فنولیک گیاه کاکوتی (با استفاده از امواج فراصوت)

با روش سطح پاسخ

حسین میرزایی مقدم<sup>۱\*</sup>، احمد رجایی<sup>۱</sup>، نوشین برادران<sup>۲</sup>

۱- استادیار دانشگاه شاهرود، دانشکده کشاورزی، به ترتیب مکانیک بیوسیستم و مهندسی علوم صنایع

غذایی

۲- کارشناسی ارشد، رشته مهندسی شیمی گرایش صنایع غذایی، دانشگاه آزاد شاهرود

ایمیل مکاتبه کننده: Hosseinsg@yahoo.com

### چکیده

در تحقیق حاضر، مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرایند استخراج فراصوتی ترکیبات فنولیک از گیاه کاکوتی از طریق آزمون سطح پاسخ و توسط آزمون فولین سیوکالتو انجام شد. نتایج بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات فنولی نشان داد که فرایند استخراجی در شرایط زمان ۱۸/۲۹ دقیقه، غلظت حلال ۲۲/۱۵٪ و نسبت حلال ۲۵/۹۵v/dm دارای بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنولیک از عصاره ۷/۸۱mg میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک بود. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش نسبت حلال، زمان و درصد غلظت، میزان استخراج ترکیبات فنولیک افزایش یافت و نیز ضریب تبیین در استخراج ترکیبات فنولیک، ۰/۹۶۳۴ حاصل شد.

کلید واژه: بهینه‌سازی، استخراج ترکیبات فنولیک، گیاه کاکوتی، روش سطح پاسخ، امواج فراصوت.

### ۱- مقدمه

گیاه کاکوتی کوهی است که با نام علمی *Ziziphora Clinopodioides* شناخته می‌شود و در کتب طب سنتی ایران به نام "مشک طرامشک" و "صعتر" از آن نام برده شده است. این گیاه متعلق به جنس *Ziziphora* و تیره نعنائیان *Lamiaceae* می‌باشد (مظفریان، ۱۳۷۵) و به حالت وحشی در مناطق وسیعی از ایران می‌روید (Zargari, 1995). این گیاه به دلیل خواص مختلف اسانسش، از نظر ترکیبات تشکیل دهنده و اثرات دارویی متعدد، مورد توجه محققین قرار گرفته است (Naghbi et al., 2005). در استخراج ترکیبات موثره محصولات کشاورزی یا ضایعات آنها، میزان استخراج ترکیبات فعال آنها از جمله ترکیبات فنولیک، بسیار اهمیت دارد و حضور این ترکیبات در هر محصول چه به صورت طبیعی یا افزودنی، نشان دهنده ارزش غذایی آن محصول در حفظ سلامتی بشر می‌باشد. تحقیقات متعددی در زمینه استخراج این ترکیبات از گیاهان مختلف، با روش‌های سنتی مانند سوکسله و غرقابی و نیز روش‌های نوین مانند استفاده از ماکروویو و یا امواج فراصوت صورت گرفته است. از آنجا که در روش‌های سنتی زمان فرآیند، طولانی و مقدار حلال مصرفی زیادی می‌باشد و نیز از لحاظ دمایی ایمن نبوده و باعث تجزیه تعدادی از ترکیبات موجود می‌گردند، بنابراین روش‌های استخراج جدید با زمان استخراج کوتاه‌تر،



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



مصرف حلال آلی کمتر و ایجاد آلودگی کمتر، گسترش یافته است (Wang & Weller, 2006) امروزه استخراج با روش فراصوت به دلیل کارایی بالاتر و میزان مصرف انرژی و آب پایین‌تر به عنوان روشی موثر در فراوری مواد گیاهی، به ویژه ترکیبات با وزن مولکولی پایین تبدیل شده است (Rodrigues & Gustavo, 2007). امواج فراصوت به امواج با فرکانس بیش از ۱۸ کیلوهرتز اطلاق می‌شوند که توسط انسان قابل شناسایی نیستند و در دو محدوده قوی (فرکانس پایین: ۱۸ تا ۱۰۰ کیلوهرتز) و ضعیف (فرکانس بالا: ۱۰۰ کیلوهرتز تا ۱۰ مگاهرتز) طبقه‌بندی می‌شوند. امواج فراصوت با فرکانس پایین در صنایع غذایی دارای کاربردهای متعددی می‌باشند. مهم‌ترین تفاوت امواج فراصوت مورد استفاده در فرآوری یا آنالیز ترکیبات غذایی، شدت آن‌ها می‌باشد (Fellows, 2000). لذا با توجه به مطالب مذکور در این تحقیق فرآیند استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه کاکوتی با استفاده از فناوری امواج فراصوت مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

گیاه کاکوتی مورد استفاده در این تحقیق، پس از جمع‌آوری از کوه‌های شهرستان شاهرود (اوایل خرداد ۱۳۹۲) و جداسازی خار و خاشاک، در دمای اتاق و دور از نور خورشید، به طور کامل خشک و سپس توسط آسیاب برقی (پارس خزر، ایران) پودر شد، سپس از دو الک با مش ۲۵ و ۶۰ میکرون که روی هم قرار گرفته عبور و مقادیری که بین دو الک باقی مانده بود (از الک ۲۵ عبور کرده ولی از ۶۰ عبور نکرده) جمع‌آوری شد. سپس مقدار ۱ گرم از نمونه الک شده، به دقت توزین شده و در ظروف درب‌دار در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت‌های مرک و سیکما-آلد ریچ تهیه شدند.

### ۲-۲- استخراج غرقابی به کمک امواج فراصوت

پس از آزمایش‌های مقدماتی، برای تعیین تأثیر نسبت حلال از نسبت‌های ۱۰، ۱۴، ۲۰، ۲۶، ۳۰ (حلال به ماده خشک<sup>۱</sup>) در زمان‌های ۲، ۶/۵، ۱۳/۵، ۲۰، ۲۵ (دقیقه) و غلظت‌های ۰، ۲۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰ (درصد اتانول) که توسط رایانه به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شده بود، استفاده و سپس عصاره‌ها در حمام فراصوت قرار داده شد. پس از گذشت زمان مورد نظر عصاره‌ها از یک کاغذ صافی عبور داده شد و آنگاه مقدار دقیق عصاره حاصله با استفاده از مزور اندازه‌گیری شد.



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پرديس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



### ۲-۳ - اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک

در این روش ابتدا ۴۰ میکرولیتر از محلول عصاره را به همراه ۳/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر در لوله آزمایش ریخته سپس ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین برداشته و به آن اضافه می‌کنیم. بعد لوله آزمایش را برای مدت کمی روی شیکر گذاشته و بعد ۵ دقیقه در جای تاریک قرار می‌دهیم. سپس ۶۰۰ میکرولیتر محلول سدیم کربنات به آن اضافه کرده و دوباره برای مدت کمی روی شیکر گذاشته و بعد ۲ ساعت در تاریکی قرار داده و سپس جذب محلول را توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقدار کل ترکیبات فنولی بر اساس معادله به دست آمده از منحنی استاندارد کالیبراسیون اسید گالیک بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد. تمامی مراحل را در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش شد (Lin & Tang, 2007).

### ۲-۴ - طرح آزمایش

به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه کاکوتی از روش سطح پاسخ استفاده گردید. به این منظور طرح مرکب مرکزی<sup>۲</sup> با ۵ سطح و ۴ تکرار در نقطه مرکزی مورد استفاده قرار گرفت (Myers & Montgomery, 2002). متغیرهای مستقل شامل زمان ( $X_1$ )، نسبت حلال به ماده خشک ( $X_2$ ) و غلظت ( $X_3$ ) بودند. تیمارهای آزمایشی به منظور به حداقل رساندن اثرات تغییرات پیش‌بینی نشده در پاسخ‌های مشاهده شده به صورت تصادفی درآمدند. مدل رگرسیونی چندجمله‌ای درجه دوم به منظور پیش‌بینی پاسخ، در نظر گرفته شد. مدل پیشنهادی برای پاسخ به صورت معادله (۱) است.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

که  $Y$  متغیر وابسته می‌باشد،  $\beta_0$  ثابت بوده و  $\beta_i$  و  $\beta_{ii}$  و  $\beta_{ij}$  ثابت‌های برآورد شده توسط مدل هستند.  $X_i$  و  $X_j$  سطح متغیرهای مستقل بوده و آنها به ترتیب نمایانگر اثرات خطی، درجه دوم و متقاطع<sup>۳</sup> متغیرهای  $X_1$ ،  $X_2$  و  $X_3$  روی پاسخ می‌باشند. مدل اثر هر متغیر را روی پاسخ ارزیابی می‌نماید. تجزیه و تحلیل رگرسیونی و واریانس (ANOVA) داده‌های آزمایشی به منظور انطباق مدل رگرسیونی، تعیین ضرایب رگرسیونی و تعیین معنی‌داری آزمون‌های آماری شرایط مدل و نیز ترسیم نمودارها و بهینه‌سازی، توسط نرم افزار<sup>۴</sup> Design Expert صورت پذیرفتند.

<sup>۲</sup> Central Composite Design

<sup>۳</sup> Cross

<sup>۴</sup> Design Expert, 7.0.0 trial, Stat-Ease Inc.



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- نتایج بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولیک با استفاده از روش سطح پاسخ

##### ۳-۱-۱- انتخاب متغیرهای مهم و محدوده آنها

متغیرهای مهم و همچنین دامنه متغیرها با استفاده از آزمایشات مقدماتی تعیین شد و سپس متغیرها مطابق معادله‌ی (۲) کدگذاری شدند:

$$x_i = (X_i - \bar{X}_i) / \Delta X_i \quad (2)$$

در اینجا،  $x_i$  مقدار بدون بعد متغیر مستقل فرآیند،  $X_i$  مقدار واقعی متغیر مستقل فرآیند،  $\bar{X}_i$  مقدار واقعی متغیر مستقل در نقطه‌ی مرکزی و  $\Delta X_i$  تغییر پله‌ای است اعداد حاصل از معادله فوق برای متغیرهای آزمایش در جدول ۳-۱ نشان داده شده است.

جدول ۳-۱: نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آنها

کد و سطح مربوطه					نماد ریاضی	متغیرهای مستقل
-۱/۶۸	-۱	۰	+۱	+۱/۶۸		
۲	۶/۵	۱۳/۵	۲۰	۲۵	$x_1$	زمان (دقیقه) نسبت حلال
۱۰	۱۴	۲۰	۲۶	۳۰	$x_2$	به مواد خشک (V/dm) غلظت
۰	۲۰	۵۰	۸۰	۱۰۰	$x_3$	(درصد آب در اتانول)



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



سپس بر اساس تعداد فاکتورها و سطوح آن‌ها جدول طرح آماری (۱۸ استخراج با ۴ تکرار در نقطه مرکزی برای محاسبه تکرارپذیری فرآیند) معین شد. نقاط مرکزی سه فاکتور محاسبه گردید و با در نظر گرفتن کدهای درج‌شده، ۱۸ استخراج از نظر زمان، نسبت حلال و غلظت معین شد و سپس آزمایش‌ها به صورت تصادفی انجام شد (جدول ۳-۲).

جدول ۳-۲ تیمارهای طراحی شده در آزمون سطح پاسخ بر اساس طرح مرکب مرکزی در ۳ فاکتور و ۵ سطح

متغیر مستقل			
$X_3$	$X_2$	$X_1$	آزمایش
غلظت اتانول <sup>۵</sup> (درصد)	خلوص حلال <sup>۶</sup> (حجم بر ماده خشک)	زمان (دقیقه)	
۲۰	۱۴	۶/۵	۱
۲۰	۱۴	۲۰	۲
۲۰	۲۶	۶/۵	۳
۲۰	۲۶	۲۰	۴
۸۰	۱۴	۶/۵	۵
۸۰	۱۴	۲۰	۶
۸۰	۲۶	۶/۵	۷
۸۰	۲۶	۲۰	۸
۵۰	۲۰	۲	۹
۵۰	۲۰	۲۵	۱۰
۵۰	۱۰	۱۳/۵	۱۱
۵۰	۳۰	۱۳/۵	۱۲
۰	۲۰	۱۳/۵	۱۳
۱۰۰	۲۰	۱۳/۵	۱۴
۵۰	۲۰	۱۳/۵	۱۵
۵۰	۲۰	۱۳/۵	۱۶
۵۰	۲۰	۱۳/۵	۱۷

۵. Concentration

۶. Ratio



۳-۱-۲-برازش مدل

پس از بررسی نتایج به دست آمده و مقایسه میان مدل‌های رگرسیونی نتایج حاکی از آن بود که مدل Quadratic برای تمامی آزمون‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی‌دار با سایر مدل‌ها بود؛ و این مدل تنها مدلی بود که Lack of fit برای آن معنی‌دار نشده بود. در نتیجه مدل Quadratic برای بررسی روند تغییرات پارامترهای اندازه‌گیری شده در این مطالعه انتخاب شد.

به طور متداول جهت بررسی صحت مدل از ضریب تبیین ( $R^2$ ) و آزمون عدم برازش استفاده می‌شود. معنی‌دار بودن آزمون Lack of fit برای یک مدل بیانگر این است که نقاط به خوبی اطراف مدل قرار نگرفته‌اند و نمی‌توان از مدل برای پیش‌گویی مقادیر متغیرهای تابع استفاده نمود؛ بنابراین با عدم معنی‌داری آزمون عدم برازش، می‌توان دریافت؛ مدل، به خوبی می‌تواند بر داده‌های مورد بررسی برازش شود. در میان پارامترهای مختلف، پارامتری که بیشترین مجموع مربعات را داشته باشد به عنوان اثرگذارترین پارامتر و برعکس انتخاب می‌شود. جدول ۳-۴ ضرایب همبستگی مربوط به میزان استخراج ترکیبات فنولیک را نشان می‌دهد.

جدول ۳-۴: ضرایب همبستگی مربوط به میزان استخراج ترکیبات فنولیک

مقدار	ضرایب	
6.05	$\beta_0$	
	خطی	
***0.59	$\beta_1$	Time
***1.05	$\beta_2$	Ratio
-0.57***	$\beta_3$	Concentration
	درجه دوم	
** -0.49	$\beta_{11}$	Time*Time
0.086 <sup>ns</sup>	$\beta_{22}$	Ratio*Ratio
** -0.47	$\beta_{33}$	Con*Con
	اثر متقابل	
0.071 <sup>ns</sup>	$\beta_{12}$	Time*Ratio



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



-0.025 <sup>ns</sup>	$\beta_{13}$	Time*Con
-0.29 <sup>ns</sup>	$\beta_{23}$	Ratio*Con
۰/۹۸۲۸	R <sup>2</sup>	ضریب تبیین
۰/۹۲۱۰	Adj R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> تصحیح شده

ns, \*\*, \*\*\* به ترتیب نشان‌دهنده‌ی غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۱٪ و ۰.۰۱٪ می‌باشند.

ضریب تبیین مدل R<sup>2</sup> از مقدار بالای ۰/۹۸۲۸ درصد برخوردار می‌باشد که نشان می‌دهد مدل ارائه‌شده از نظر آماری مناسب داده‌ها می‌باشد و نسبت بالایی از تغییرپذیری به وسیله‌ی مدل سطح پاسخ به دست آمده با فنولیک کل را نیز نشان می‌دهد. بنابراین هرچه مقدار R<sup>2</sup> به یک نزدیک‌تر شود، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد. عبارتهای معنی‌دار مدل شامل زمان، خلوص حلال و غلظت بود. عبارتهای مربوط به برهم‌کنش معنی‌دار نبودند. مقدار بالای R<sup>2</sup> و R<sup>2</sup><sub>adjusted</sub> نیز بیانگر قدرت بالای مدل درجه دوم در پیش‌بینی بود. معادله ۱-۳ مدل رگرسیون را برای روش‌های استخراج به کمک امواج فراصوتی، بر اساس کد پس از تجزیه و تحلیل نتایج توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نشان می‌دهد.

$$Y = 6.05 + 0.59X_1 + 1.05X_2 - 0.57X_3 - 0.49X_1^2 - 0.47X_2^2 \quad (3)$$

۱-۳- تجزیه سطوح پاسخ و اثر فاکتورهای مختلف بر میزان ترکیبات فنولیک

۱-۳-۱- اثر همزمان زمان و نسبت حلال

در شکل زیر اثر همزمان دو متغیر زمان و نسبت حلال بر راندمان استخراج ترکیبات فنولی از گیاه کاکوتی نشان داده شده است.

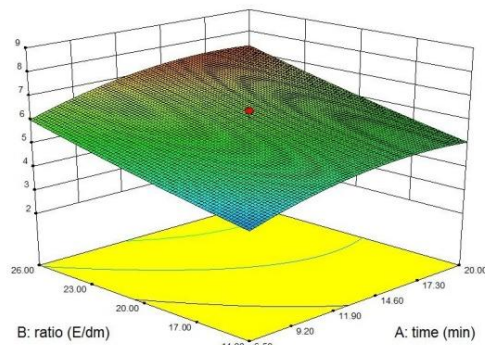
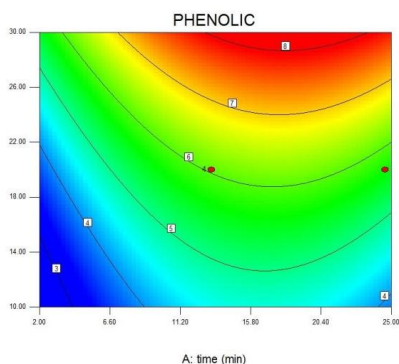


نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

مکانیک بیوسیستم و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



شکل ۲-۳: منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل میزان درصد خلوص حلال و زمان روی میزان استخراج (خلوص حلال بر حسب حجم به ماده خشک و زمان بر حسب دقیقه و ترکیبات فنولیک بر حسب میلی‌گرم بر یک گرم ماده خشک می‌باشند)

با توجه به نمودار ۲-۳ از دقیقه ۷ استخراج ترکیبات فنولی آغاز و در زمان ۱۶ دقیقه بیشترین استخراج را شاهد هستیم. با افزایش نسبت حلال از ۲۳ (حجم به ماده خشک) بیشترین استخراج ترکیبات فنولی را شاهد هستیم. پینلو و همکاران (۲۰۰۵) بیان داشتند که افزایش زمان استخراج به طور معنی‌داری بر روی میزان استخراج ترکیبات فنولیک به ترتیب بر روی توت آسیاب شده و تفاله انگور موثر است (Pinelo et al., 2005). یاکین و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که با افزایش دما و زمان استخراج (تا حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد) افزایش در میزان استخراج ترکیبات از پوست نوعی از مرکبات (*citrus*) فنولیک مشاهده شد اما یک روند کاهشی در مقدار استخراج ترکیبات فنولیک در زمان‌ها و دماهای بالاتر (دمای بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد این محققان دلیل این امر را تجزیه حرارتی یا واکنش‌های پلیمریزاسیون ترکیبات فنولیک با خودشان بیان نمودند (Ya-Qin & Jian-Chu, 2009).



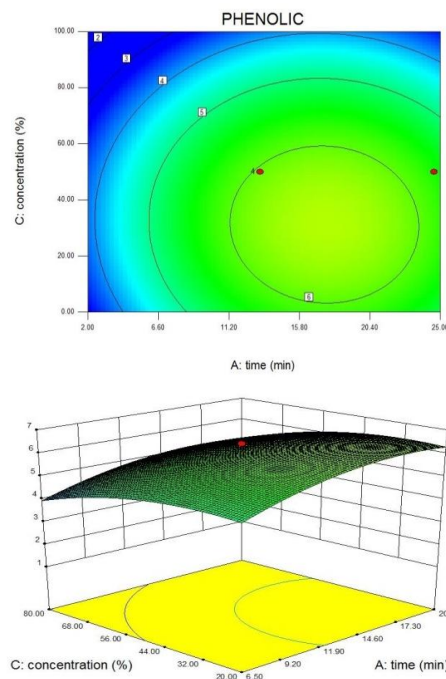


نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی  
مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون  
پرديس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران  
۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



۳-۱-۲- اثر همزمان غلظت و زمان

شکل (۳-۳) منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل غلظت و زمان روی میزان استخراج ترکیبات فنولیک گیاه کاکوتی نشان داده شده است.



شکل ۳-۴: منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل غلظت و زمان روی میزان استخراج (غلظت بر حسب درصد و زمان بر حسب دقیقه و ترکیبات فنولیک بر حسب میلی‌گرم بر یک گرم ماده خشک می‌باشند)

با توجه به شکل ۳-۴ افزایش همزمان زمان و نسبت حلال تأثیر ناچیزی بر خروج ترکیبات فنولی داشت. در تحقیقی که توسط سیلوا به منظور بهینه‌سازی اثر متقابل سه فاکتور غلظت حلال، دما و زمان استخراج به منظور استخراج ترکیبات فنولیک از برگ گیاه *inga edulis* (گیاهی در شمال آمریکا) به وسیله طرح سطح پاسخ داشتند مشخص شد که با افزایش غلظت و دمای استخراج مقدار استخراج ترکیبات فنولیک افزایش می‌یابد. (Silva et al., 2007).

۳-۱-۳- اثر همزمان نسبت حلال و غلظت



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

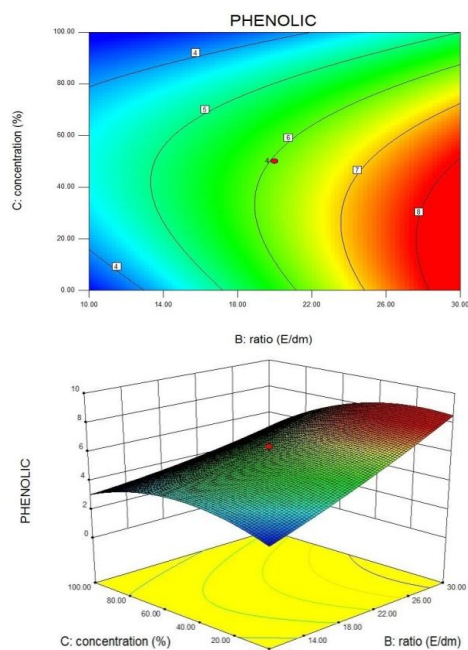
(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



شکل (۳-۴) منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل نسبت حلال و غلظت روی میزان استخراج ترکیبات فنولیک گیاه کاکوتی نشان داده شده است.



شکل ۳-۴: منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر همزمان نسبت حلال و غلظت روی میزان استخراج (نسبت حلال بر حسب حجم حلال به ماده خشک و غلظت بر حسب درصد و ترکیبات فنولیک بر حسب میلی‌گرم بر یک گرم ماده خشک می‌باشند)

با توجه به شکل ۳-۴ در نسبت‌های حلال بیشتر از ۲۳ حجم حلال به ماده خشک و غلظت‌های کمتر از ۶۶٪ بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنولی را شاهد هستیم.

نتایج حاصل از تحقیقات رحیمی پناه و همکاران در ارزیابی برخی عوامل مؤثر بر میزان عصاره و ترکیب‌های فنولی پوست سبز گردو نشان داد که افزایش زمان استخراج منجر به افزایش میزان استخراج ترکیب‌های فنولی و در بررسی اثر غلظت حلال، مشخص شد که با کاهش غلظت متانول از ۱۰۰٪ به ۶۰٪ میزان ترکیب‌های فنولی استخراجی افزایش می‌یابد (رحیمی پناه، ۱۳۹۱).



## نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



### ۳-۱-۴- تعیین شرایط بهینه

به منظور تأیید ظرفیت پیش‌بینی مدل، میزان فنولیک در شرایط بهینه‌ی ارائه‌شده توسط مدل اندازه‌گیری شد. از نظر فن‌آوری، شرایط دیگری که نتایج نزدیک به شرایط بهینه را ارائه می‌کند، می‌تواند مطلوب باشند. این مسئله وقتی که برخی اشکالات مربوط به فرآیند همانند استفاده از مقدار زیاد حلال یا مشکل تخریب ترکیبات فنولیک در دماهای بالا وجود دارد، حائز اهمیت است که در این شرایط می‌توان از شرایطی که نزدیک به شرایط بهینه است استفاده کرد. در طی آزمون‌های مربوط به بهینه‌سازی فرآیند استخراج ترکیبات فنولی، فرآیند استخراجی که در شرایط (زمان ۱۸/۲۹ دقیقه، غلظت حلال ۲۲/۱۵٪ و نسبت حلال ۲۵/۹۵ حجم به ماده خشک) صورت گرفت، دارای بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنولیک از عصاره ۷/۸۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک بود.

جدول ۳-۴: میزان استخراج ترکیبات فنولیک (بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید/گرم ماده خشک) پیش‌بینی شده توسط

مدل در شرایط بهینه

میزان مطلوبیت	فنول (mg GAE/g) (DM)	غلظت حلال (درصد)	زمان (دقیقه)	نسبت حلال (V/dm)
۰/۹۸۲	۷/۸۱۷۸	۲۲/۰۹	۱۸/۳۱	۲۵/۹۵
۰/۹۸۲	۷/۸۱۷۸	۲۲/۳۵	۱۸/۳۰	۲۵/۹۵
۰/۹۸۲	۷/۸۱۷۱	۲۰/۸۰	۱۸/۲۸	۲۵/۹۵

### ۳-۱-۵- اعتبارسنجی آزمایش

در روش سطح پاسخ مرحله‌ای به نام اعتبارسنجی وجود دارد، در این مرحله می‌بایست مقدار استخراج ترکیبات فنولی کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مرحله آزمایش با مقدار پیشگویی شده توسط مدل به طریق آماری مقایسه نمود. مقایسه مقادیر مشاهده‌شده ( $Y_0$ ) با مقادیر پیش‌بینی شده ( $Y$ ) در شکل ۴-۹ و ۴-۱۰ آمده است؛ مشاهدات، بیانگر همبستگی بسیار خوب بین نتایج به دست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده با روش آماری است.

### ۴- نتیجه‌گیری

بهترین مدل تجزیه و تحلیل آماری در روش سطح پاسخ برای متغییر وابسته ترکیبات فنولیک، مدل درجه دوم بود که با ضریب تبیین بالایی داده‌ها را برازش داد. در طی آزمون‌های مربوط به بهینه‌سازی فرآیند استخراج ترکیبات فنولی، فرآیند استخراجی که در شرایط زمان ۱۸/۲۹ دقیقه، غلظت حلال ۲۲/۱۵٪ و نسبت حلال به ماده خشک ۲۵/۹۵ صورت گرفت،



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

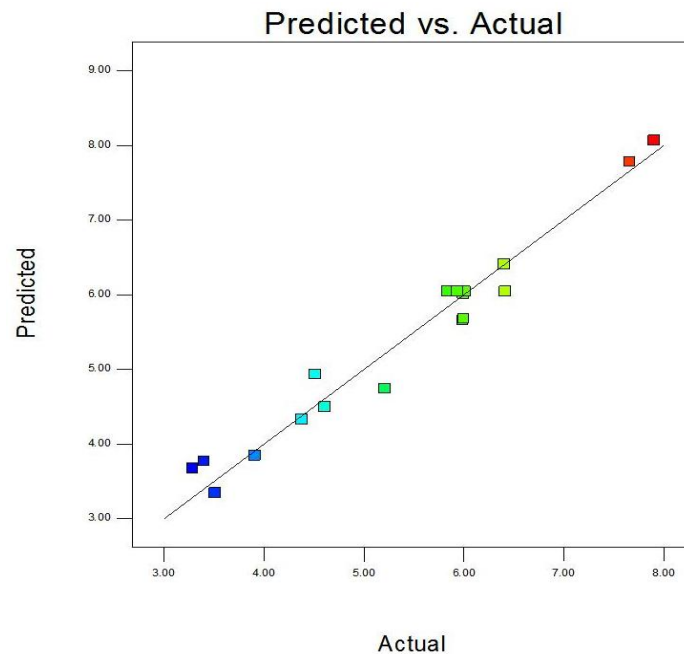
(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



میزان  $7/81$  میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم ماده خشک ترکیبات فنولیک به دست آمد. ضریب تبیین در استخراج ترکیبات فنولیک  $0/9828$  بود. نمودارها نشان دادند که روند رو به افزایش استخراج ترکیبات فنولیک در شرایطی است که نسبت حلال رو به افزایش و زمان و درصد غلظت تا مقادیر معلوم افزایش یابد. در بررسی نتایج آزمون‌های انجام شده با استفاده از روش سطح پاسخ در استخراج ترکیبات فنولیک فاکتور نسبت حلال (V/dm) به عنوان تأثیرگذارترین فاکتور شناسایی شد.



شکل ۴-۹: مقایسه مقادیر مشاهده شده با مقادیر پیش‌بینی شده ترکیبات فنولیک

منابع:

۱. رحیمی پناه، م. حامدی، م. میرزاپور، م. ۱۳۹۱. ارزیابی برخی عوامل مؤثر بر میزان عصاره و ترکیب‌های فنولی پوست سبزرگدو. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۷، شماره ۳، صفحه: ۴۳۰-۴۱۹.
۲. مظفریان، و. ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر تهران، صفحه ۲۲.
3. Fellows, p. Food processing technology. 2 edn. CRC press. Boca raton Boston new York Washington, DC. 2000.
4. Lin, J.Y., & Tang, C.Y. Determination of total phenolic & flavonoid contents in selected fruits & vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry*, 101, 140-147. 2007.
5. Myers, R. H. and Montgomery, D. C. *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Design Experiment s*. 2nd Edition. John Wiley & Sons, New York. PP. 235-377. 2002.



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



6. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to phamacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79. 2005.
7. Pinelo, M. Rubilar. M. Jerez. M. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 53:2111-2117. 2005.
8. Rodrigues, S. P. and A. S. Gustavo. Ultrasound extraction of compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. *Journal of Food Engineering*, 80: 869-872. 2007.
9. Silva, E.M., Roges, H and Larondelle, Y. Optimization of extraction of phenolics from *inga edulis* leaves using response surface methodology. *Journal of Separation and Purification Technology* 55, 381-387. 2007
10. Wang, L., & Weller, C.L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Science & Technology*, 17, 300-312. 2006.
11. Ya-Qin, M. Jian-Chu, C. Simultaneous extraction of phenolic compound of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Journal of Ultrasonics Sonochemistry*, 16:57-62. 2009.
12. Zargari A. *Iranian medicinal plants*. Tehran university press. Tehran. Iran. 1995; vol. (4): pp.103- 105.



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



## Optimization of extraction process of phenolic compounds from *Ziziphora tenuior* (using ultrasound) with response surface method

### Abstract

In the present study, Modeling and optimization of ultrasonic extraction process of phenolic compounds from *Ziziphora tenuior* with response surface analysis, was performed by using the Folin-Ciocalteu. Process optimization results showed that the extraction process of phenolic compounds in the 18.29 min, the solvent concentration of 22.15% and solvent ratio 95/25 v/dm highest extraction of phenolic compounds from the extract 81.7 mg of gallic acid per g of dry matter. Also the results showed that with the increase of solvent, time and concentration, extraction of phenolic compounds, increased and the determination coefficient of extraction of phenolic compounds, 0.9634 was obtained.

**Keywords:** Optimization, extraction of phenolic compounds, *Ziziphora tenuior*, response surface method, ultrasonic waves.