



استخراج عصاره گیاه کاکوتی با حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از امواج

فراصوت

حسین میرزایی مقدم^{۱*}، احمد رجایی^۱، نوشین برادران^۲

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

Hosseinsg@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش با استفاده از طرح مرکب مرکزی، اثر سه فاکتور مستقل زمان (۲، ۶/۵، ۱۳/۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه)، نسبت حلال به مواد جامد (۱۰، ۱۴، ۲۰، ۲۶ و ۳۰ حلال بر ماده خشک) و غلظت (۰، ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد آب در اتانول) در آزمون‌ها (۱۸ آزمون) با ۴ تکرار در نقطه مرکزی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فرآیند استخراجی در شرایط زمان ۶/۶۶ دقیقه، غلظت حلال ۲۳/۳۷٪ و نسبت حلال ۱۴/۷۷ (حجم حلال به ماده خشک) دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۴/۲۵ درصد به ازای میلی گرم فنولیک حاصل شد. همچنین نتایج نشان داد روند افزایش درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایطی است که درصد غلظت رو به افزایش، نسبت حلال و زمان هر دو رو به کاهش می‌باشد و نیز ضریب تبیین مدل، ۰/۹۳ حاصل شد. کلید واژه: امواج فراصوت، گیاه کاکوتی، استخراج عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

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، مصرف حلال آلی کمتر و ایجاد آلودگی کمتر، گسترش یافته است (Wang & Weller, 2006) امروزه استخراج با روش



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



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 فراوری یا آنالیز ترکیبات غذایی، شدت آن‌ها می‌باشد (Fellows, 2000).

لذا با توجه به مطالب مذکور در این تحقیق فرآیند بهینه‌سازی شرایط استخراج به منظور دستیابی به ترکیبات با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا 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^۱) 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.

۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



ارزیابی مهار رادیکال‌های DPPH که در واقع اندازه‌گیری توانایی ترکیبات احیاکننده مانند فنول‌ها جهت انتقال اتم هیدروژن به رادیکال می‌باشد، معمول‌ترین روش برای محاسبه فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. اساس این روش بر پایه بی‌رنگ شدن محلول DPPH است که توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره انجام می‌شود. برای تعیین فعالیت آنتی‌رادیکالی از طریق آزمون DPPH از معرف ۲۰۲-دی فنیل پیکریل هیدرازین انجام می‌شود. شرایط کار به این صورت بود که ۳۰ میکرولیتر از عصاره در غلظت‌های مختلف را به ۴ سی سی از ۰,۰۰۰۰۹ مولار رادیکال آزاد DPPH اضافه و ۱۲۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد و سپس جذب آن در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از طیف سنج خوانده شد. به همراه آن یک نمونه حاوی ۳۰ میکرولیتر متانول به همراه ۴ میلی‌لیتر محلول DPPH به عنوان نمونه کنترلی استفاده شد. همه نمونه‌ها را در ۳ تکرار انجام شد (Oliveira et al., 2009).

در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول (۱) محاسبه گردید.

$$(1) \quad 100 \times (\text{جذب کنترل} / (\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})) = \text{به دام اندازی رادیکال آزاد (\%)}$$

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^۲ 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 (۲) است.

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

که Y متغیر وابسته می‌باشد، β_0 ثابت بوده و β_i و β_{ii} و β_{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^۳ 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

^۲ Central Composite Design

^۳ Cross



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



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 Design Expert^۴ صورت پذیرفتند.

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 (۳) کدگذاری شدند:

$$x_i = (X_i - \bar{X}_i) / \Delta X_i \quad (3)$$

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 ΔX_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)
۱۰	۱۴	۲۰	۲۶	۳۰	x_2	نسبت حلال به مواد خشک (V/dm)
۰	۲۰	۵۰	۸۰	۱۰۰	x_3	غلظت (درصد آب در اتانول)

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).

^۴ 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



جدول ۲-۳: 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 ^۵ (درصد)	نسبت حلال ^۶ (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
۵۰	۲۰	۱۳/۵	۱۸

۵. Concentration

۶. Ratio



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



۳-۱-۲- برازش مدل

پس از آنالیز داده‌ها توسط برنامه دیزاین اکسپرت جهت تعیین بهترین مدل پیشنهادی از میان پنج مدل موجود 2FI، Linear، Quadratic، cubic، Mean با توجه به جدول تجزیه واریانس، مدلی که مقدار مجموع مربعات^v آن دارای اختلاف معنی‌دار بوده و مقدار Lack of fit آن معنی‌دار نشود به عنوان بهترین مدل انتخاب می‌شود.

با توجه به این موضوع و 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.

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 فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان می‌دهد.

جدول ۴-۴: ضرایب همبستگی مربوط به میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدار	ضرایب	
11.22	β_0	
	خطی	
***-1.32	β_1	Time
***-1.24	β_2	Ratio
ns0.47	β_3	Con
	درجه دوم	
ns-0.15	β_{11}	Time*Time
***-2.12	β_{22}	Ratio*Ratio
** -1.27	β_{33}	Con*Con
	اثر متقابل	
*** 1.61	β_{12}	Time*Ratio
*** 1.87	β_{13}	Time*Con
ns0.99	β_{23}	Ratio*Con
۰/۹۳۰۴	R ²	ضریب تبیین
۰/۸۴۱۷	Adj R ²	R ² تصحیح‌شده

ns، **، *** به ترتیب نشان‌دهنده‌ی غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۰.۱٪ می‌باشند.



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج

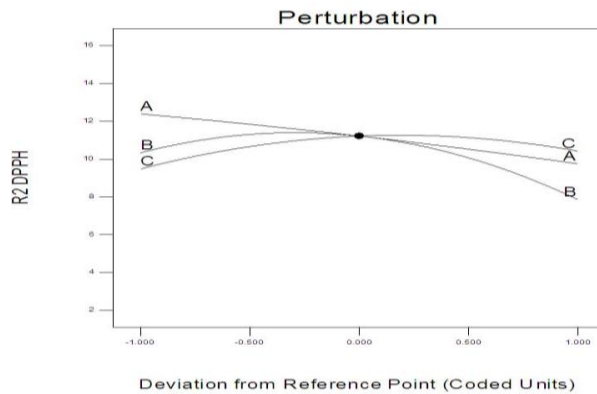


ضریب تبیین مدل R^2 از مقدار بالای ۰/۹۳ درصد برخوردار می‌باشد که نشان می‌دهد مدل ارائه‌شده از نظر آماری مناسب داده‌ها می‌باشد و نسبت بالایی از تغییرپذیری به وسیله‌ی مدل سطح پاسخ به دست آمده با فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نیز نشان می‌دهد. بنابراین هرچه مقدار R^2 به یک نزدیک‌تر شود، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد. با توجه به جدول ۴-۳، کلیدهای پارامترهای درجه دوم، دارای اثر معنی‌داری بودند ($p < 0.01$). بنابراین می‌توان با توجه به پارامترهای معنی‌دار شده و حذف پارامتر اثرات متقابل معادلی کلی مدل Quadratic را به صورت زیر گزارش کرد:

$$Y = 11.22 - 1.32X_1 - 1.24X_2 + 1.61X_1X_2 + 1.87X_1X_3 - 2.12X_2^2 - 1.27X_3^2 \quad (4)$$

۳-۱-۳- تجزیه سطوح پاسخ و اثر فاکتورهای مختلف بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

منحنی آشفتگی به منظور بررسی روند پارامترهای مختلف بر روی میزان پاسخ می‌باشد. در شکل ۳-۱ منحنی آشفتگی اثر زمان نسبت حلال و غلظت اتانول روی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کاکوتی نشان داده شده است.



شکل ۳-۱: منحنی آشفتگی اثر زمان (A)، نسبت حلال (B) و غلظت اتانول (C) روی میزان استخراج (زمان بر حسب دقیقه، نسبت حلال بر حسب V/dm، غلظت بر حسب درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد)

با توجه به افزایش غلظت که باعث کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود این‌طور می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش یافته است (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999).



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



همچنین نتایج تحقیقات کرمی و همکاران در استخراج ترکیبات فنولیک از ریشه شیرین‌بیان، بیانگر آن بود که توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش می‌یابد (کرمی و همکاران، ۱۳۸۹).

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.

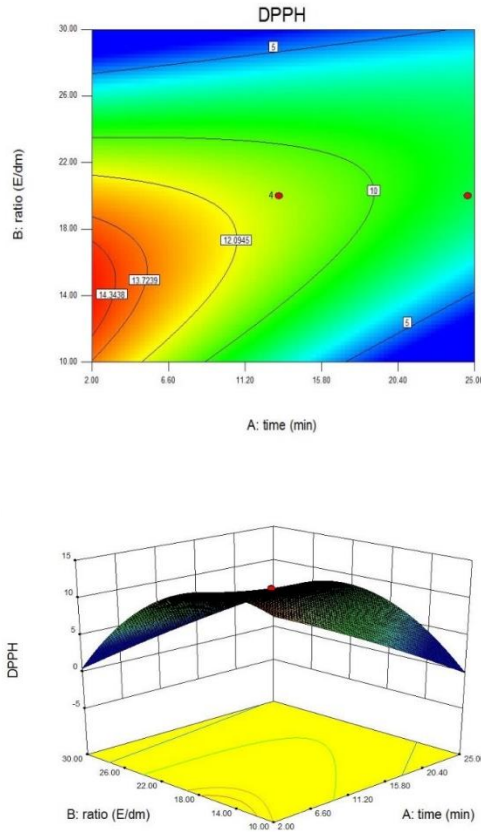
با توجه به شکل ۲-۳ با کاهش نسبت حلال درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا می‌کند و هرچه به سمت نسبت حلال پایین‌تر (۲۱ V/dm) و زمان پایین‌تر (۹ دقیقه) توأمان پیش می‌رویم به این شدت افزایش اضافه می‌گردد.

۱-۳-۱- اثر همزمان زمان و غلظت

مطابق شکل ۳-۳ با کاهش غلظت حلال و زمان مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش پیدا می‌کند. بطوریکه در زمان کمتر از ۸ دقیقه و غلظت کمتر از ۵۵٪ درصد بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد.



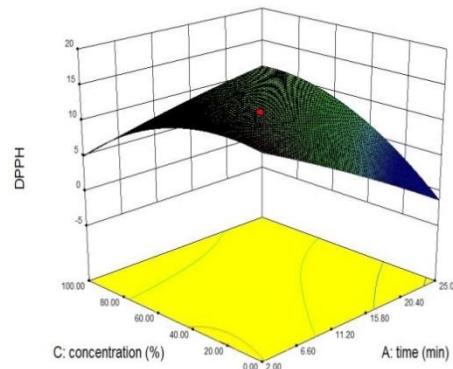
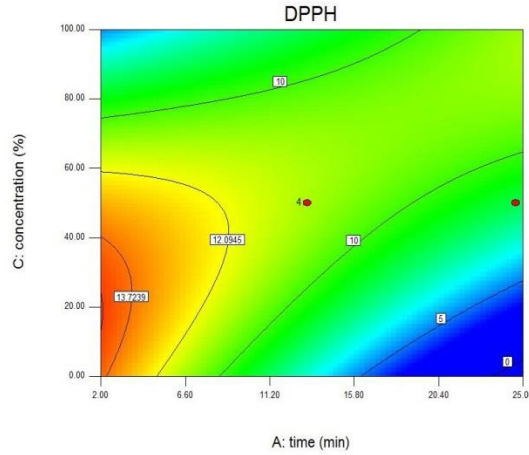
نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی
(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون
پرديس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



شکل ۲-۳: منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل زمان و نسبت حلال روی میزان استخراج (زمان بر حسب دقیقه و نسبت حلال بر حسب V/dm و فعالیت آنتی اکسیدانی بر حسب درصد)



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



شکل ۳-۳: منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل زمان و غلظت روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (زمان بر حسب دقیقه و غلظت بر حسب درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد)

۳-۱-۳-۱- اثر همزمان غلظت و نسبت حلال

با توجه به شکل ۳-۴ با کاهش نسبت حلال و غلظت مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد افزایش پیدا کرده است.

۳-۱-۴- تعیین شرایط بهینه

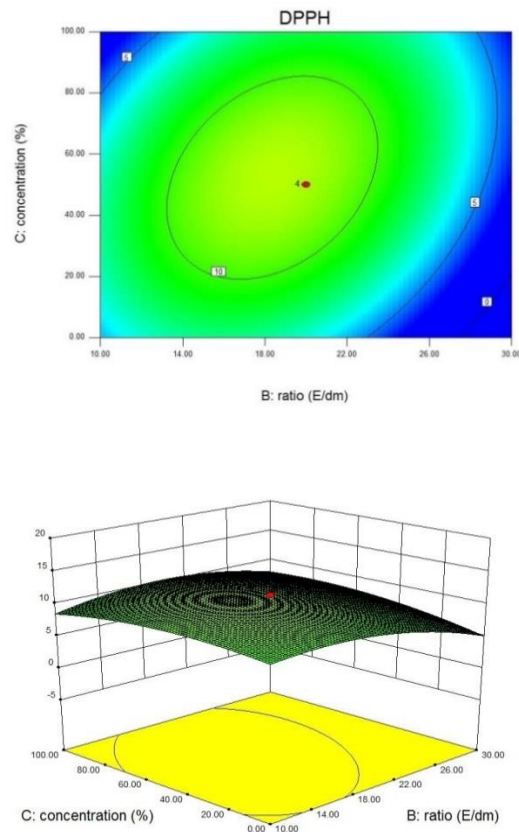
به منظور تأیید ظرفیت پیش‌بینی مدل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط بهینه‌ی ارائه‌شده توسط مدل اندازه‌گیری شد که شرایط بهینه برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نسبت حلال ۱۴/۷۷ حجم حلال به ماده خشک، زمان ۶۶/۶ دقیقه و غلظت حلال ۲۳/۳۷٪ بود که تحت این شرایط میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۴/۲۵ درصد به ازای میلی‌گرم فنولیک اسید به دست



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



آمد. علاوه بر این، نمودارها نشان دادند روند افزایش درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایطی است که درصد غلظت، نسبت حلال و زمان رو به کاهش می‌باشد.



شکل ۳-۴: منحنی سطح پاسخ و کانتور اثر متقابل غلظت و خلوص حلال روی میزان استخراج (خلوص حلال بر حسب V/dm و غلظت بر حسب درصد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد)

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 آنتی‌اکسیدانی در دماهای بالا وجود دارد، حائز اهمیت است که در این شرایط می‌توان از شرایطی که نزدیک به شرایط بهینه است استفاده کرد (جدول ۳-۴).



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

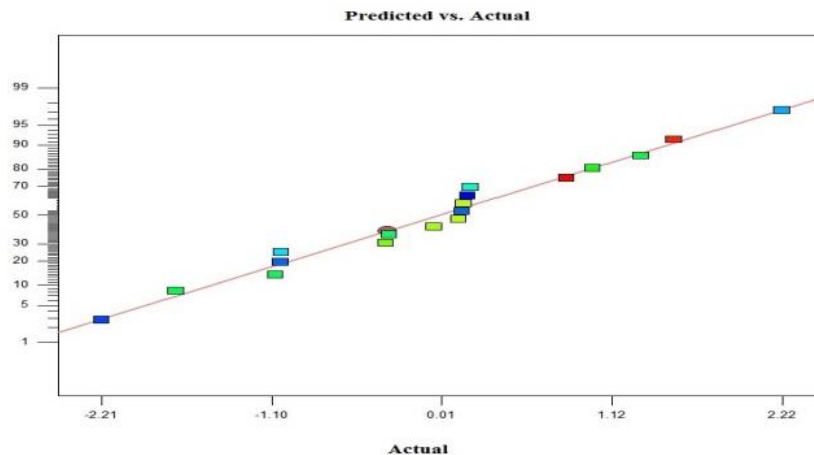


جدول ۴-۷: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر حسب درصد) پیش‌بینی شده توسط مدل در شرایط بهینه

میزان مطلوبیت	DPPH (درصد)	غلظت حلال (درصد)	زمان (دقیقه)	نسبت حلال (V/dm)
۰/۹۳۲	۱۴/۲۵۱	۲۳/۴۱	۶/۶۶	۱۴/۷۸
۰/۹۳۲	۱۴/۲۵۱	۲۳/۱۳	۶/۶۶	۱۴/۷۹
۰/۹۳۲	۱۴/۲۵۱	۲۳/۹	۶/۶۶	۱۴/۷۳
۰/۹۳۲	۱۴/۲۵	۲۴/۲۴	۶/۶۶	۱۴/۸۵

۴-۱- اعتبارسنجی آزمایش

در روش سطح پاسخ مرحله‌ای به نام اعتبارسنجی^۸ وجود دارد، در این مرحله می‌بایست درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مرحله آزمایش با مقدار پیشگویی شده توسط مدل به طریق آماری مقایسه نمود.



شکل ۴-۱۰: مقایسه مقادیر مشاهده‌شده با مقادیر پیش‌بینی شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقایسه مقادیر مشاهده‌شده (Y_0) با مقادیر پیش‌بینی شده (Y) در شکل ۳-۵ آمده است؛ مشاهدات، بیانگر همبستگی بسیار خوب بین نتایج به دست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده با روش آماری است.

۸.Verification



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



۴- نتیجه‌گیری

بهترین مدل تجزیه و تحلیل آماری در روش سطح پاسخ برای هر دو متغیر وابسته، مدل درجه دوم بود که با ضریب تبیین بالایی داده‌ها را برازش داد. 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. شرایط بهینه بر حسب درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نسبت حلال ۱۴/۷۷ حجم به ماده خشک، زمان ۶۶/۶ دقیقه و غلظت حلال ۲۳/۳۷٪ بود که تحت این شرایط میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۴/۲۵ درصد به ازای یک گرم از پودر اولیه به دست آمد. ضریب تبیین در این آزمون ۰/۹۳۰۴ بود. روند افزایش درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایطی است که درصد غلظت، نسبت حلال و زمان رو به کاهش باشد. در بررسی نتایج آزمون‌های انجام‌شده با استفاده از روش سطح پاسخ در استخراج ترکیبات فنولیک فاکتور نسبت حلال (V/dm) به عنوان تأثیرگذارترین فاکتور شناسایی شد. در بررسی نتایج آزمون‌های انجام‌شده با استفاده از روش سطح پاسخ فاکتور زمان (دقیقه) به عنوان تأثیرگذارترین فاکتور شناسایی شد.

منابع:

۱. کرمی ز، میرزایی ح ا، امام جمعه ز، صادقی ماهونک ع ر، خمیری م، آیدانی ع. ۱۳۸۹. مدلسازی و بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولیک از ریشه شیرین بیان به کمک امواج مایکروویو. فرآوری و نگهداری مواد غذایی. جلد دوم، شماره چهارم، ص ۵۵-۳۳.
۲. مظفریان، و. ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر تهران، صفحه ۲۲.
3. Fellows, p. 2000. Food processing technology. 2 edn. CRC press. Boca raton Boston new York Washington, DC.
4. Myers, R. H. and Montgomery, D. C. 2002. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Design Experiment s. 2nd Edition. John Wiley & Sons, New York. PP. 235-377.
5. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to phamacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2: 63-79.
6. Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J.A. 2009. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food Chem. Toxicol. 46, 2326-2331.
7. Rodrigues, S. P. and A. S. Gustavo. 2007. Ultrasound extraction of compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. Journal of Food Engineering, 80: 869-872.
8. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32:407-412.



نهمین کنگره ملی مهندسی ماشین‌های کشاورزی

(مکانیک بیوسیستم) و مکانیزاسیون

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۲ و ۳ اردیبهشت ۱۳۹۴ - کرج



9. Wang, L., & Weller, C.L. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends Food Science & Technology, 17, 300-312.
10. Zargari A. 1995. Iranian medicinal plants. Tehran university press. Tehran. Iran; 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



Extraction of extract from *Ziziphora tenuior* with maximum antioxidant activity using ultrasound waves

Abstract

In this study, using a central composite design, the three independent factor of time (2, 5.6, 13.5, 20 and 25 min), the ratio of solvent to solids (10, 14, 20, 26 and 30 solven to dry matter) and concentrations (0, 20, 50, 80 and 100% water in ethanol) in tests (18 tests) were evaluated with 4 replications at the center point. The results showed that the extraction process in 6.66 minutes, the solvent concentration of 23.37%, ratio of solvent 14.77 (solvent volume to dry matter), had the highest antioxidant activity of phenolic 14.25% per mg was obtained. Also, the results showed that the increase of antioxidant activity occurs when the concentration increased, and the ratio of solvent and time each one decreased. Moreover, the coefficient of determination of model, 0.93 was obtained.

Keywords: Ultrasound waves, *Ziziphora tenuior*, extraction of extract, antioxidant activity.