



مروری بر شرایط بهینه استخراج رنگهای خوراکی از گیاهان دارویی

فاطمه ثابت سروستانی^{۱*}، هومن روشنایی^۲، امید روشنایی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی رشته میکروبیولوژی، موسسه آموزش عالی آپادانا، شیراز، فارس، ایران

۲- استادیار موسسه آموزش عالی آپادانا، شیراز، فارس، ایران

۳- استادیار موسسه آموزش عالی آپادانا، شیراز، فارس، ایران

*fsabet8338@gmail.com

ارسال: خرداد ماه ۱۴۰۳ پذیرش: مرداد ماه ۱۴۰۳

چکیده

رنگ یکی از مهمترین عوامل برای پذیرش مصرف کننده است. از ایمن ترین رنگ ها برای استفاده خوراکی پیگمان ها محسوب می شوند در این روش از ترکیبات رنگ دهنده طبیعی استفاده می شود که استخراج رنگدانه انتوسیانین به رنگهای آبی، قرمز و بنفش از گلبرگ گل گاو زبان به روش خیساندن، رنگدانه های بتالائین به رنگ قرمز از چغندر قرمز و استخراج رنگدانه بتالائین از نوع بتاسیانین ها ماده رنگزای خوراکی از برگ گیاه تاج خروس که بعنوان رنگ دهنده در فرآورده هایی مانند کرم های وسط شیرینی، ماست، بستنی و... نمونه هایی از این روش می باشد.

واژگان کلیدی: پیگمان، انتوسیانین، بتالائین، بتاسیانین، پذیرش مصرف کننده، رنگ دهنده.

۱- مقدمه

یکی از عوامل موثر در جلب نظر و انتخاب مواد غذایی، فام آنها میباشد که از طریق احساس بینایی دریافت میگردد و وجود آن در تشخیص سریع و پذیرش نهایی هر فرآورده غذایی موثر بوده، زیرا رنگ باعث جذابیت مواد غذایی می گردد. بنابراین استفاده از مواد رنگزا جهت ایجاد فام مطلوب در فرآوردههای غذایی از قرنهای پیش رایج بوده است [۱]. مواد رنگزای مورد استفاده در صنایع غذایی از نظر منشا تولید به سه دسته طبیعی، مصنوعی و معدنی تقسیم می شوند. مواد رنگزای معدنی به دلیل ناخالصیهای موجود به ویژه وجود عناصر فلزی سنگین به ندرت در مواد غذایی استفاده می شوند. مواد رنگزای مصنوعی ترکیبات شیمیایی هستند که در طبیعت وجود نداشته و با استفاده از روشهای شیمیایی و سنتز مواد آلی ساخته می شوند مواد رنگزای طبیعی از منابع طبیعی مانند انواع گیاهان استخراج می شوند [۲]. این ترکیبات به لحاظ خواص تغذیه ای و درمانی مطلوبترین گزینه مصرفی در صنعت می باشند. با افزایش مضرات و خطرات مواد رنگزای مصنوعی در مواد غذایی، استخراج و خالصسازی مواد رنگزا از منابع طبیعی ارزان قیمت مورد توجه خاصی قرار گرفته است. از مهمترین مزایای مواد رنگزای طبیعی میتوان به تنوع و گستردگی فام، شفافیت و عدم تاثیرات مخرب بر سلامت انسان و محیط زیست اشاره نمود. از جمله مواد رنگزای طبیعی میتوان به کلروفیل، آنتوسیانین، تانن، فلاونوئید، کاروتنوئید، بتالائین و غیره اشاره کرد. این ترکیبات در گیاهانی مانند زرشک، چغندر قرمز، زعفران، تمشک، وجود دارند. بتالائینها مواد رنگزای قرمز و زرد بوده و محلول در آب هستند، این مواد رنگزا در میخک سانان (مانند کاکتوسها و تاج خروس) یافت می شوند، بتالائین ها عامل ایجاد رنگ قرمز عمیق چغندر قرمز هستند و از نظر تجاری هم به

عنوان عوام رنگ دهنده غذایی استفاده می شوند [۳] با توجه به تحقیقات انجام شده در مورد مواد رنگزای مصنوعی و اثر سوء آن بر سلامت مصرف کننده، استفاده از مواد رنگزای طبیعی در فرآوردهها می تواند سلامت مصرف کننده را همراه داشته باشد. گیاه تاج خروس منبع مناسبی از مواد رنگزای طبیعی غذایی است به شمار آمده و چه بسا استخراج مواد رنگزا و بررسی پایداری و کاربرد آن در فرآورده های غذایی، ما را به سوی ایمن تر شدن مواد غذایی مطلوب هدایت کند. یکی از گیاهان مورد تحقیق و مطالعه که در این مقاله به آن می پردازیم گیاه تاج خروس است.

گیاه تاج خروس در سالهای اخیر به عنوان یک گیاه زراعی جدید مطرح شده است. به لحاظ گیاه شناسی تاج خروس در گروه گیاهان شبه غلات قرار دارد. برگهای گیاه تاج خروس، خوراکی و تا حدودی شبیه برگهای چغندر یا اسفناج است [۴]. بتالائین موجود در برگهای گیاه تاج خروس اگر به درستی استخراج شود منبع بسیار خوبی از یک، ماده رنگزای طبیعی به شمار می آید [۵].

اولین خصوصیت کیفی که توسط یک مصرف کننده ماده غذایی دریافت می شود و مورد توجه قرار می گیرد خصوصیات ظاهری محصول می باشد. خصوصیات ظاهری یک محصول شامل خصوصیات ماند رنگ، شکل، نوع بسته بندی، اندازه، یکنواختی می باشند. در حقیقت مصرف کننده قبل از آن که هیچ گونه اطلاعی از سایر خصوصیات ماده غذایی از قبیل طعم یا بوی آن داشته باشد، در درجه اول ظاهر محصول را مورد توجه قرار می دهد. بنابراین خصوصیات ظاهری عامل مهم و تعیین کننده های، مخصوصا در اولین خرید از یک محصول یا عدم خرید آن هستند. در این میان رنگ مهمترین شاخص کیفی مواد غذایی است که پذیرش مصرف کننده را تحت تاثیر قرار می دهد [۶].

اخیرا محدودیت بسیاری از جانب سازمان بین المللی و انستیتوهای تحقیقاتی در مورد استفاده از مواد رنگزای مصنوعی خوراکی به ویژه رنگ قرمز مصنوعی بیان شده است [۷] به همین دلیل تحقیقات وسیعی برای تهیه مواد رنگزای قرمز طبیعی به عنوان افزودنیهای مجاز آغاز گردیده است و عاقله به مصرف رنگهای طبیعی را افزایش داده است [۸] زیرا رنگدانه های طبیعی معمول سالتر یا بی ضررتر از رنگهای مصنوعی هستند. استفاده از رنگهای طبیعی علی رغم ثبات و قدرت رنگی کمتر نسبت به رنگهای مصنوعی؛ به دلیل ایمن تر بودن و داشتن ارزش غذایی و مواد زیست فعال از جمله ویتامینهای مختلف و همچنین داشتن خاصیت آنتی بیوتیکی و عدم اثرات مسمومیت زایی آنها ترجیح داده میشوند. رنگهای طبیعی آنتی اکسیدانهای تغذیهای هستند و حضور آنها در رژیم غذایی باعث کاهش خطر بیماریهای قلبی عروقی، سرطان و بیماریهای مرتبط با پیری می شود [۹].

چغندر قرمز منبع خوبی برای پیگمانهای قرمز بوده و به طور فزایندهای برای تولید رنگ قرمز غذایی استفاده می شود. پیگمانهای قرمز و زرد چغندر در مجموع تحت عنوان بتالائین شناخته شده و شامل بتاسیانین های قرمز و بتازانتینهای زرد میباشد. پیگمانهای چغندر قرمز تحت عنوان بتالائین به خوبی در آب حل می شوند و در الکل نامحلول هستند. پیگمان اصلی در چغندر قرمز بتالائین می باشد و به صورت گلوکید بتانیدین است. وزن مولکولی آن ۵۵۰/۴۸ می باشد. رنگدانه بتالائین از دو زیر واحد بتاسیانین {رنگدانه قرمز} و بتاگرانین {رنگدانه زرد} تشکیل شده است [۱۰].

بتالائین رنگ قرمز مطلوبی را به غذا اضافه می کند و کاربردهای زیادی در صنعت غذا مانند افزودنی در ژلاتین ها، دسر ها، قنادی، محصولات نانوائی و غیره دارد. بتالائین به دلیل فعالیتهای ضد ویروسی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۱۱]، در مورد ایجاد رنگ زرد متمایل به نارنجی نیز بتاگرانین می تواند جایگزین کاروتنوئیدها شود. با توجه به ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران، استفاده از آن برای استخراج رنگدانه های طبیعی به صرفه است. مهمترین کاربرد ماده رنگزای تهیه شده در محصولات سرد مانند بستنی، ماست، شربت یخی، رنگ کردن مسقطی، پوشش شیرینیها و کرمهای وسط شیرینی میباشد، به دلیل قدرت رنگی زیاد این ماده، میزان افزودن آن در محصولات غذایی بسیار کم است. حد مجاز برای مصرف روزانه بتالائین از ۱۰ تا ۵۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم غذا بیان شده است [۱۲].

رنگ در مواد غذایی از اهمیت ویژه ای برخوردار است و در واقع اولین ویژگی غذاست که توسط مصرف کننده مورد توجه قرار میگیرد. ترکیبات رنگی بر کیفیت، مزه و طعم غذا تاثیر می گذارند بطوری که ویژگیهای حسی اشاره شده ابتدا بر اساس رنگ

تشخیص داده می شود. امروزه یکی از مهمترین بحث ها در صنایع غذایی افزایش تقاضا برای رنگهای غذایی طبیعی برای جایگزین رنگهای مصنوعی است [۱۳].

گیاه گل گاو زبان یکی از گیاهان مهم دارویی کشورما است که حاوی ترکیبات آنتوسیانین است. این گیاه با رنگ گل‌های آبی و به ندرت سفید یا گلی می باشد. روش استخراج رنگدانه ها بطور کلی شامل استخراج به روش غرقابی، سوکسله، امواج فراصوت، ریز موج، استخراج توسط سیال فوق بحرانی و استخراج سریع به روش حلال می باشد. با توجه به اینکه آنتوسیانین ها در دمای بالاتر از ۸۰ درجه سانتیگراد تخریب می شوند بنابراین برای استخراج آنها عموماً از دمای پایین استفاده می شود. با توجه به تحقیقات انجام شده توسط زهرا توکلی و همکاران در سال ۱۳۹۹ [۱۴] برای استخراج عصاره رنگدانه طبیعی از دو روش استفاده می شود:

۲- استخراج جامد-مایع

استخراج رنگدانه های طبیعی از جمله بتالانینها معمولاً به وسیله استخراج جامد-مایع انجام می شود در این روش رنگدانه ها با آب و همچنین از طریق استفاده از محلولهای متانول یا اتانول استخراج میشوند. به این صورت که ۱۳۳ گرم از گیاه یا چغندر کامل خرد شده در ۱۰۰۰ میلی لیتر مخلوط حلال {۸۰ درصد متانول-۲۰ درصد آب} بر روی یک همزن به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد همزده و پس از صاف شدن، مایع زیر صافی با استفاده از تبخیرکننده گردان در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد تغلیظ شد. عصاره به دست آمده خشک گردید و جذب نمونه ها اندازه گیری می شود، برای استخراج متانول - اسید مواد رنگزا از محلول متانول - آب اسیدی شده با اسید استیک، ۱٪ استفاده می شود و تمام مراحل استخراج مانند روش متانول - آب تکرار می گردد با این حال مایع مربوط به این روش مانند زمان استخراج طولانی، آلودگی هوا و تولید نسبی پایین، محققان را به استفاده از تکنیکهای فرآیند جدید که باعث بهبود کارآمدی فرآیند از طریق افزایش جرم انتقالی، پایداری رنگ طبیعی و سازگاری با محیط زیست میشود، تشویق می کند [۱۵].

۳- استخراج به روش آبگیری

یکی از روشهای استخراج مواد رنگزا از گیاهان، فرآیند آبگیری است. در این روش برای دستیابی به محصول بیشتر، از فرآیند خرد کردن استفاده می شود ۱۰۰ گرم نمونه گیاه به همراه ۲۰۰ میلی لیتر حلال داخل ارلن مایر ریخته و به مدت ۱۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده می شود. سپس نمونه ها صاف و مایع زیرین پس از جمع آوری به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیو می گردند، جذب نمونه ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری می شود. مایع بالایی جدا و با استفاده از تبخیرکننده گردان در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد حلال جدا می گردد [۱۶].

همانطور که گفتیم هر کدام از این روشها نیز با توجه مدت زمان، PH، دما و... نیز نقش دارد که در ادامه بعضی از آنها را نام برده و بررسی می کنیم:

۴- بررسی اثر زمان بر فرآیند استخراج

برای انتخاب زمان استخراج، ۲۰ گرم گیاه خرد شده در ۲۵ میلی لیتر متانول، در حال همزدن بر روی یک هم زن مغناطیسی در زمانهای ۳۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۲۴۰، ۳۶۰، ۴۸۰، ۵۴۰ دقیقه خیسانده شد. جداسازی گیاهان خرد شده مطابق با روش انتخاب حلال انجام شد که ۰٫۴ میلی لیتر عصاره استخراج شده با متانول به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد، سپس ۲۵ میکرولیتر از آن برداشته و پس از رقیق سازی ۳ میلی لیتر آب جذب آنها در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری گردید [۱۷].

۵- بررسی اثر pH بر پایداری عصاره استخراج شده

عصاره به دست آمده از ۱۰۰ گرم گیاه با آب به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. ۰٫۴ میلی لیتر از عصاره استخراج شده توسط محلول بافر فسفات ۰٫۲ مولار در محدوده pH=۲-۸ به حجم ۲۵ میلی لیتری رسانده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلولهای تهیه شده برداشته و پس از رقیق سازی با ۳ میلی لیتر آب جذب آنها در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری گردید [۱۸].

۶- بررسی اثر حلال پرانی در میزان استخراج مواد رنگزا

عصاره به دست آمده از ۱۰۰ گرم گیاه با آب به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. ۰٫۴ میلی لیتر از عصاره استخراج شده توسط محلول بافر فسفات ۰٫۲ مولار در pH بهینه به دست آمده به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول تهیه شده با ۳ میلی لیتر آب رقیق سازی شده و جذب اولیه آن در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری گردید. ۰٫۴ میلی لیتر دیگر از عصاره استخراج شده پس از رقیق شدن با بافر فسفات تا حجم ۲۵ میلی لیتر در دمای محیط به مدت ۳ روز قرار داده شد تا حلال آن تبخیر شود. پس از تبخیر حلال عصاره خشک شده با آب به حجم رسانده شده و جذب آن توسط طیف سنج اندازه گیری گردید [۱۸].

به منظور دستیابی به بالاترین میزان استخراج رنگدانه آنتوسیانین از گلبرگ گل گاوزبان اثر سه متغیر دما (۶۰ و ۵۰ و ۴۰) درجه سانتی گراد، زمان (۳، ۴، ۵ ساعت) و نسبت وزنی گلبرگ گل گاو زبان به حلال (۳ و ۵ گرم) مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس تحقیقات نفیسه زمین دار و همکاران در سال ۱۴۰۳ [۱۹] استخراج رنگدانه های طبیعی از جمله بتالائین ها معمولاً به وسیله استخراج جامد-مایع انجام می شود در این روش رنگدانه ها با آب و همچنین از طریق استفاده از محلولهای متانول یا اتانول استخراج می شوند. با این حال معایب مربوط به این روش مانند زمان استخراج طولانی، آلودگی حلال و تولید نسبی پایین، محققان را به استفاده از تکنیکهای فرآیند جدید که باعث بهبود کارآمدی فرآیند از طریق افزایش جرم انتقالی، پایداری رنگ طبیعی و سازگاری با محیط زیست می شود، تشویق می کند. استخراج با استفاده از فراصوت یکی از این روشهاست [۲۰].

مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون مربوط می شود. با توجه به حساسیت رنگدانه ها نسبت به دماهای بالا، از مزایای روش فراصوت این است که استخراج در دماهای پایین را امکانپذیر می سازد. از طرف دیگر، بالا بردن کارایی و بازده سیستم ها در فرآیند استخراج بدون افزایش هزینه ها بسیار حائز اهمیت است. روش اجرایی که بدین منظور استفاده می گردد، بهینه سازی نامیده می شود و این عمل، یکی از مهمترین مراحل در طراحی و تحلیل سیستم ها است. روش سطح پاسخ مجموعه ای از تکنیک های ریاضی و آماری است که جهت توسعه، پیشبرد و بهینه کردن فرآیندهایی به کار می رود که در آنها سطح مورد نظر تحت تأثیر متغیرهای بسیاری قرار داشته و هدف، بهینه کردن پاسخ مزبور است. روش سطح پاسخ کاربرد قابل توجهی در طرح ریزی، توسعه، فرموله کردن محصولات جدید غذایی و همچنین ارتقای طراحی محصولات موجود دارد [۲۱].

الکوی و یلکا و همکاران بتالائین را از طریق استخراج آبی با کمک فراصوت استخراج و به وسیله روش سطح پاسخ بهینه کردند سپس پایداری حرارتی بتالائینها را بررسی کردند. آنها به این نتیجه رسیدند که استخراج بتالائین از پوسته کینوآی رنگی می تواند در زمان فرایند بسیار کوتاه ۹/۲ و ۴۰ ثانیه به ترتیب برای نمونه های حاوی بتاسیانین و بتاگرانترین انجام شود. عصاره های تهیه شده به وسیله فراصوت نیز به همان میزان پایدار یا پایدا تر از نمونه های استخراج شده از ریشه چغندر هستند و حاوی مقادیر کمی ساپونین می باشند [۲۲].

با توجه به تقاضای رو به رشد برای توسعه روشهای کارآمدتر و موثرتر برای استخراج ترکیبات فعال موجود در مواد گیاهی همچنین ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران و اینکه عصاره چغندر قرمز غنی از رنگدانه طبیعی بتالائین و سایر ترکیبات مغذی است، استخراج بتالائین از چغندر قرمز با استفاده از روش فراصوت، به حداکثر رساندن بازده و بهینه سازی شرایط استخراج این رنگدانه ارزشمند به روش سطح پاسخ بسیار مهم و هدف از این پژوهش می باشد.

مواد و روشها آماده سازی چغندر قرمز به منظور آماده سازی نمونه؛ ابتدا شست و شو، جداسازی آلودگیها، پوست گیری و رنده کردن چغندر قرمز انجام شد سپس چغندرهای قرمز به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب

و آماده عصاره گیری شدند. جهت عصاره گیری ۱۰ گرم پودر چغندر قرمز به همراه ۲۰۰ میلی لیتر از حلال آب: اتانول با نسبت ۱:۱ مخلوط و سپس به مدت ۲۰ دقیقه بدون اعمال حرارت در معرض فراصوت با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز قرار داده شد. تیمارها در ۲۷ آزمایش به روش سطح محدوده متغیرهای pH، دما و زمان به صورت جدول ۱ برای استخراج مورد بررسی قرار گرفت. تفاله چغندر بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد و در آون با دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک شد و برای آزمون های بعدی مورد استفاده قرار گرفت [۲۳]. سپس بازده فرآیند استخراج از طریق تقسیم وزن عصاره بدست آمده بر وزن ریشه چغندر استفاده شده محاسبه گردید [۲۴]. و در نهایت متوجه شدند که رنگدانه بتاسیانین در حدود ۵۲۲-۵۳۴ نانومتر و رنگدانه بتاگراتین در محدوده ۴۷۴-۴۸۰ نانومتر دارای حداکثر جذب می باشند. برای اندازه گیری میزان بتاسیانین و بتاگراتین در عصاره ها مقدار مشخصی از پودر حاصل در آب دوبار تقطیر حل شد و جذب آن در طول موج های ۵۳۰ و ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان رنگدانه های بدست آمده از شرایط مختلف با هم مقایسه شد.

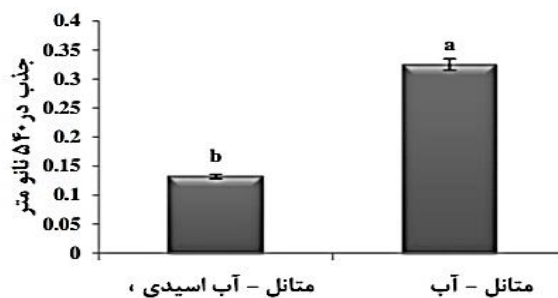
با توجه به تحقیقات لیلاناظقی و همکاران که در سال ۱۳۹۸ منتشر شد [۲۵] مواد و روش:

مواد مورد نیاز: گلبرگ گل گاو زبان، کلرید پتاسیم، اسید کلردیک، استات سدیم، متانول

استخراج رنگدانه از برگ گل گاو زبان که پس از انجام آزمون های اولیه لازم جهت بدست آوردن سطوح متغیرهای مستقل انجام گرفت که طراحی آن با توجه به متغیر زمان، دما و گرم آن با توجه به مقادیر گفته شده صورت گرفت که در ادامه مقایسه آن را بررسی می کنیم گلبرگ های خورد شده گیاه رانیز در آب خیس کردیم. سپس برای استخراج رنگدانه آنتوسیانین از گلبرگ گل گاو زبان از روش خیساندن و حلال (متانول/آب) استفاده شد که در این روش متانول و آب به نسبت ۵:۵، به ۵۰ برای استخراج رنگدانه باهم مخلوط گردیدند و سپس ۵۰ میلی لیتر از حلال آماده شده به ارلن مخروطی آزمایشگاه ۲۵۰ میلی لیتری منتقل و در نهایت گلبرگهای گل گاو زبان مطابق مقادیر ذکر شده در جدول تیمارها به آن اضافه شد و برای جلوگیری از تبخیر حلال درب ارلن توسط پوشش پلی اتیلنی محکم بسته شد و سپس در لرزاننده با درجه حرارت و زمان ذکر شده برای استخراج کامل رنگدانه نگه داشته شد [۲۶].

۷- نتایج و بحث

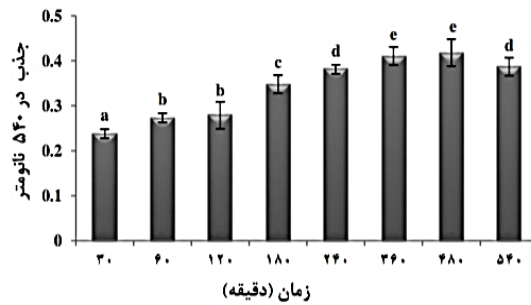
با توجه به تحقیقات انجام شده توسط زهرا توکلی و همکاران [۱۴] در سال ۱۳۹۹- حلال مناسب در روش استخراج جامد- مایع توانایی استخراج ترکیبات موثر بیشتری را دارد به همین جهت قبل از بررسی سایر عوامل باید حلال مناسب انتخاب شود. شکل ۱ نشان می دهد که از بین حلالهای متانول - آب و متانول- آب اسیدی شده به کار رفته در روش استخراج جامد- مایع، متانول - آب دارای بازده استخراج بیشتری است.



شکل ۱- اثر حلال بر استخراج ماده رنگزای بتالائین از گیاه تاج خروس در روش استخراج جامد - مایع (حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح اطمینان ۵ درصد است)

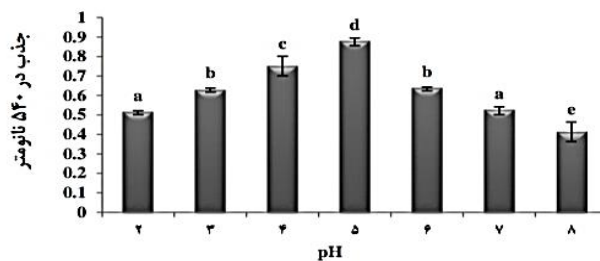
بعد از انتخاب حلال مناسب، برای دستیابی به مقدار بیشینه، عمل استخراج در مدت زمانهای متفاوت انجام گرفت. همان طور که در شکل ۲ مشاهده می شود، میزان جذب در زمانهای متفاوت اندازه گیری شد و بیشترین میزان جذب در محدوده ۳۶۰ تا ۴۸۰ دقیقه (۸ تا ۶ ساعت) بدست آمد که برای اطمینان از کامل شدن فرآیند استخراج زمان ۸ ساعت به عنوان زمان بهینه استخراج انتخاب گردید. با افزایش بیشتر زمان به علت تجزیه شدن بتالائین ها مقدار جذب کاهش می یابد. مواد رنگزای بتالائین به شرایطی مانند

دما، نور، رطوبت، اکسیژن، دی اکسید گوگرد و pH حساس هستند به خصوص در سیستم هایی با فعالیت آبی بالا که اثرات متقابلی دارند و این مواد رنگزا به سرعت در چنین محیط هایی تغییر فام می دهند. با توجه به حساسیت بتالائین ها میتوان نتیجه گرفت که با افزایش زمان فرآیند استخراج، اثر این عوامل افزایش یافته و باعث کاهش جذب نمونه ها می شود.



شکل ۲- اثر زمان بر استخراج ماده رنگزای بتالائین از گیاه تاج خروس با حلال متانل - آب در روش استخراج جامد - مایع (حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح اطمینان ۵ درصد است)

نتایج اثر pH بر پایداری عصاره استخراج شده در شکل ۳ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می شود بیشترین جذب مربوط به pH= ۵ و کمترین آن مربوط به pH= ۸ است. با افزایش میزان pH از ۲ به ۵ میزان جذب به طور معناداری افزایش و بعد از آن با افزایش pH میزان جذب کاهش پیدا کرد، شدت رنگ قرمز محلولهای حاوی بتالائین در pH ۴ تا ۶ تغییر می کند اما در pH کمتر از ۴ رنگ آن به بنفش تبدیل می شود.



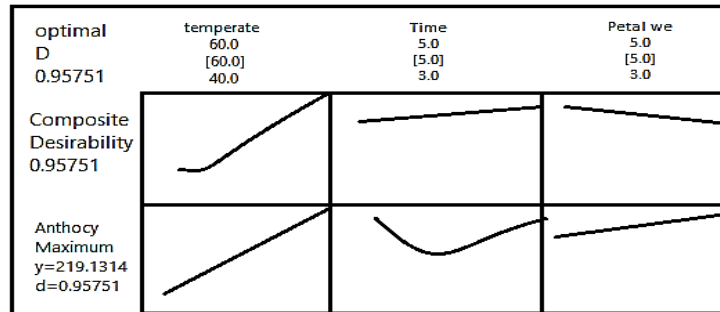
شکل ۳- اثر PH بر پایداری ماده رنگزای بتالائین استخراج شده از گیاه تاج خروس با حلال متانل - آب در روش جامد - مایع (حروف کوچک نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح اطمینان ۵ درصد است)

باتوجه به جدول ۱ و براساس تحقیقات نفیسه زمین دار و همکاران در سال ۱۴۰۳ [۱۹] نتایج به طور کلی نشان داد هر چه میزان pH و زمان فرآیند استخراج افزایش یابد، استخراج بتاسیانین و بتاگزانتین نیز افزایش می یابد همچنین برای استخراج رنگدانه های بتاسیانین بهتر است از دماهای کمتر از ۲۵ درجه سانتیگراد استفاده شود زیرا رنگدانه های بتاسیانین به حرارت بالا حساس هستند و در دماهای بالاتر از ۲۵ درجه سانتیگراد تخریب می شوند. در این پژوهش در pH برابر ۵، دمای ۲۱ درجه سانتیگراد و زمان ۲۰ دقیقه حداکثر بازدهی مشاهده شد.

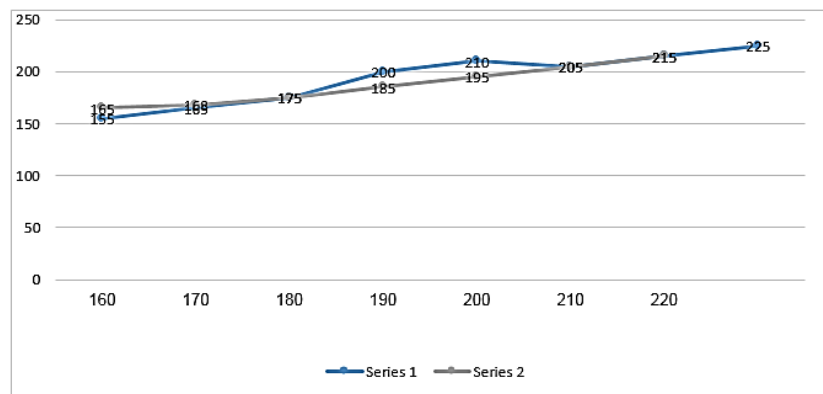
جدول ۱- بررسی شرایط بهینه در زمان و دما و pH

time	temperture	treatment	time	temperture	treatment
20	20	4	15	3	1
10	25	4	16	3	2
15	25	4	17	3	3
20	25	4	18	3	4
10	15	5	19	3	5
15	15	5	20	3	6
20	15	5	21	3	7
10	20	5	22	3	8
15	20	5	23	3	9
20	20	5	24	4	10
10	25	5	25	4	11
15	25	5	26	4	12
20	25	5	27	4	13
			15	20	14

نتایج بهینه سازی شرایط استخراج آنتوسیانین گلبرگ گل گاو زبان با توجه به تحقیقات لیلا ناطقی و همکاران در سال ۱۳۹۸ [۲۵] در شکل ۴ و ۵ و جدول ۲ نشان داده شده است. به منظور دستیابی به شرایط بهینه برای به حداکثر رساندن میزان رنگدانه آنتوسیانین استخراج شده از گلبرگ گل گاو زبان دمای استخراج ۶۰ درجه سانتی گراد، زمان استخراج ۵ ساعت و نسبت وزنی گلبرگ گل گاو زبان به حلال ۵ گرم به عنوان شرایط بهینه تعیین گردید. تحت شرایط مذکور میزان رنگدانه آنتوسیانین معادل ۲۱۹/۱۳۱ میلی گرم بر لیتر با ۹۵/۷۵ درصد مطلوبیت پیش بینی گردید.



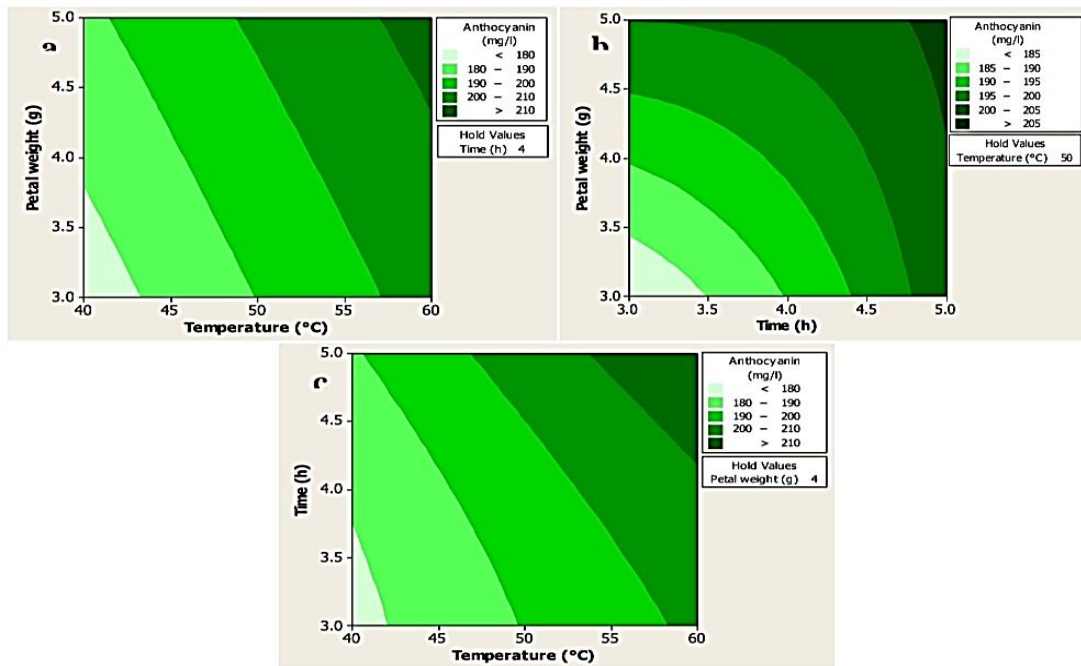
شکل ۴- نقطه بهینه استخراج آنتوسیانین گلبرگ گل گاو زبان



شکل ۵- تطابق نتایج حاصل از مدل و داده های تجربی

جدول ۲- مقایسه بین میزان آنتوسیانین گلبرگ گل گاو زبان به روش آزمایشی با پیش بینی در شرایط مختلف

باقی مانده residual	راندمان استخراج شده (میلی گرم بر لیتر)	میزان استخراج (میلی گرم بر لیتر)	وزن (گرم) weight	زمان (ساعت) Time	دما (درجه سانتی گراد) temperture	تیمار treatment
4.480	157.354	161.38	3	3	40	1
2.400	165.700	168.10	5	4	40	2
-2.459	177.292	174.83	3	5	40	3
-4.786	196.703	191.92	5	3	40	4
-0.264	197.064	196.80	3	4	40	5
0.629	200.671	201.30	5	5	40	6
-6.962	172.712	165.75	3	3	50	7
1.451	182.216	183.67	5	4	50	8
-3.332	194.965	191.63	3	5	50	9
7.026	208.107	215.13	5	3	50	10
-4.626	209.626	205.00	3	4	50	11
4.443	214.390	220.83	5	5	50	12
-0.042	186.009	185.97	3	3	60	13
1.197	196.670	197.87	5	4	60	14
3.266	210.577	213.84	3	5	60	15
0.284	217.449	217.73	5	3	60	16
-0.159	220.125	219.97	3	4	60	17
-4.547	226.047	221.50	5	5	60	18



شکل ۶- تاثیرات متقابل متغیرهای مستقل فرایند استخراج توکیبات آنتوسیانین از گلبرگ گل گاو زبان

۸- نتیجه گیری

در سالهای اخیر تعداد زیادی از مواد رنگزای مصنوعی بدلیل ناسالم بودن از رده مصرف خارج شده و تحقیقات پیرامون استخراج رنگدانه ها از منابع طبیعی افزایش یافته است. آنتوسیانین ها جایگزین های فعالی برای رنگهای سنتزی می باشند زیرا علاوه بر رنگ جذاب و درخشان بواسطه ویژگیهای آنتی اکسیدانی، ضدسرطانی، ضد ویروسی برای سلامت انسان مفید هستند. براساس نتایج میزان استخراج این رنگدانه به میزان قابل توجهی تحت تاثیر متغیرهای مستقل فرایند استخراج می باشند؛ بطوری که با افزایش دمای استخراج، زمان استخراج و نسبت وزنی گلبرگ گل گاوزبان به حلال میزان آنتوسیانین استخراجی در عصاره افزایش می یابد همچنین با توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش ها می توان استخراج به کمک دستگاه فراصوت را روشی کارآمد و سریع دانست. استخراج بتالاین از چغندر قرمز و تاج خروس به کمک دستگاه فراصوت به دلیل کاهش زمان، دما، انرژی مصرفی، کاهش مصرف حلال و به طبع آن کاهش هزینه بازیابی روشی اقتصادی است که می تواند جایگزین روشهای متداول استخراج در صنعت گردد

۹- منابع

۱. م. زورمند، بررسی استخراج بتالائینها از چغندر قرمز و جداسازی آنها از آب چغندر قرمز توسط غشا اولترافیلتراسیون، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، رشته مهندسی شیمی، ایران، ۱۰۱۳.
۲. م. و. رضانی پور، س. اقبالی اص، افزودن رن های خوراکی طبیعی یا مصنوعی در صنایع غذایی. معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی گیلان. ۱۰۳۳.
۳. س. ع. ر. حسینیان، رن های مزاز مصرفی در صنایع غذایی، فصلنامه تازههای علمی دانشگاه پزشکی مشهد
۴. ا. آینه بند، و. آقاسی زاده، م. مسکرباشی، بررسی اثر تاریخهای مختلف کاشت بر عملکرد کمی و کیفی ارقام گیاه زراعی جدید تاج خروس علوفه ای.

5. J. S. Yaacob, L. C. Hwei, R. M. Taha, Pigment analysis and tissue culture of *Amaranthus cruentus* L. ,6 Institute of Biological Sciences, University of Malaya, Department of Physics, 2012. .1

6. Aberoumand, A., 2011, A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. World J Dairy Food Sci, 6(1), 71-78.4

7. Downham, A., & Collins, P., 2000, Colouring our foods in the last and next millennium. *International journal of food science & technology*, 35(1), 5-22
8. Righi Pessoa da Silva, H., da Silva, C. and Bolanho, B.C., 2018. Ultrasonic- assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of food process engineering*, 41(6), p.e12833.
۹. ظهوری، آ.، طباطبایی یزدی، ف.، مرتضوی، س.ع. و شهیدی، ف.، ۱۳۹۵، بررسی و مقایسه میزان بازدهی و استخراج ترکیبات رنگی و طبیعی چغندر قرمز با استفاده از روشهای عصاره گیری خیساندن و فراصوت، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۱۳، ۵۲، ۴۷-۵۴
10. Delgado-Vargas, F., Jiménez, A., & Paredes-López, O., 2000, Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(3), 173-289.
۱۱. رنجبر ندامانی، آ. (۱۴۰۰). افزایش پایداری رنگدانههای طبیعی مواد غذایی- مقاله مروری، پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی.
12. Pavlov, A., Georgiev, V., & Ilieva, M., 2005, Betalain biosynthesis by red beet (*Beta vulgaris* L.) hairy root culture. *Process Biochemistry*, 40(5), 1531-1533.
13. 615-623. 4. Dziezak, J. D. 1987. Applications of food colorants. *Food Technol.* 41:4. 78- 88.
۱۴. زهرا توکلی، سعیده عربشاهی دلویی. ۱۳۹۸. استخراج ماده رنگزای خوراکی از برگ گیاه تاج خروس. نشریه علم و فناوری رنگ. ۱۴(۱۳۹۹).
۱۵. ن. علیزاده مطلق، ش. روحانی، ه. زرآبادی، ه. حدادی، استخراج و خالص سازی ماده رنگزای غذایی بتاسیانین از گیاه آمارنتوس. نشریه علمی علوم و فناوری.
16. M. R. Castellar, J. M. Obon, M. Alacid, J. A. FernandezLopez, Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *J. Agric. Food Chem.* 51(2003), 2772-2776.
۱۷. ع. فخاری زواره، س. باقیپور، استخراج ماده رنگزای غذایی از چغندر قرمز و بررسی شرایط پایداری آن. نشریه علمی علوم و فناوری.
۱۸. س. باقی پور، س. فالچی، ع. اسالمی میاندهی، ع، استخراج بتالین از چغندر قرمز و استفاده آن در صنایع لبنی اولین همایش ملی میان وعده های غذایی، مشهد.
۱۹. نفیسه زمین دار، مهشاد لوارستاق، یاسمن اسمعیلی. بهینه سازی شرایط استخراج رنگ از چغندر قرمز. ۱۴۰۳.
20. Cardoso-Ugarte, G., Sosa-Morales, M., Ballard, T., Liceaga, A., & San Martín-González, M., 2014, Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 276-282 .
21. Bas, D., & Boyac, I., 2007, Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. *Journal of Food Engineering*, 78, 846-854.
22. Laqui-Vilca, C., Aguilar-Tuesta, S., Mamani-Navarro, W., Montañó-Bustamante, J., & Condezo-Hoyos, L., 2018, Ultrasound-assisted optimal extraction and thermal stability of betalains from colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) hulls. *Industrial Crops and Products*, 111, 606-614.
23. De Sotillo, D. R., Hadley, M., & Holm, E., 1994, Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, 59(3), 649-651.
24. Lee, W., Yusof, S., Hamid, N., & Baharin, B., 2006, Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of food engineering*, 75(4), 473- 479.
۲۵. لیلا ناطقی، عماد یوسفی، نازنین زند. بهینه سازی استخراج رنگدانه آنتوسیانین از گلبرگ گل گاو زبان. نشریه فراوری و نگهداری مواد غذایی. جلد سیزدهم. شماره اول. ۱۴۰۰. ۱۱۴-۱۰۳
26. Kumar, S.N.A., Kumar Ritesh, S., Sharmila, G., and Muthukumaran, C. 2017. Extraction optimization and characterization of water soluble red purple pigment from floral bracts of *Bougainvillea glabra*. *Arab. J. Chem.*