Archive of SID

بهینه‌سازی فرایند استخراج ترکیبات فنولیی برگ درخت بنه (Pistacia atlantica sub. Sp. mutica) با استفاده از دستگاه اولتراسوند

الهام احمدی[1]، رقیه دلیری[2*]، محمدرضا سعیدی اصل [2]، نرگس رحیمی[3]

1- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان ، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.
2- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی،سبزوار، ایران.
3-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی،بیرجند، ایران.

تاریخ دریافت: 1396/10/19 تاریخ پذیرش:1397/06/12

چکیده

با پیشرفت علوم و صنایع غذایی گرایش به جایگزینی افزودنی‌های طبیعی به جای انواع سنتزی در مواد غذایی رو به افزایش است. با توجه به اثرات سوء آنتی اکسیدان‌های سنتزی استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های منابع طبیعی به عنوان یک راه حل منطقی در نظر گرفته می‌شود. در این تحقیق برای بهینه‌سازی فرآیند سه عامل شدت امواج فراصوت، اندازه ذره، نسبت نمونه به حلال در سه سطح به منظور تعیین نقاط بهینه فرایند استخراج با دستگاه اولتراسوند و حلال متانول 80% استفاده گردید. در این مطالعه از طرح سطح پاسخ با سه متغیر(نسبت نمونه به حلال، شدت صوت دستگاه فراصوت واندازه ذره نمونه) برای بهینه سازی فرایند استخراج ترکیبات فنولیک از برگ درخت بنه، با 5 تکرار در نقطه مرکزی، استفاده شد. شدت صوت 69%، مش20 و نسبت نمونه به حلال0.020 gr/ml بیشترین استخراج را در بین تیمارهای مورد مطالعه داشت. نتایج این مطالعات نشان داد که نسبت نمونه به حلال بیشترین تاثیر رادربازده استخراج ترکیبات فنولیک از برگ درخت بنه داشته درحالی که اندازه ذرات تاثیر زیادی بر روند استخراج نداشت. در این مطالعه بهترین مدل برای سه متغیر ، مدل Quadratic بود که با ضریب تبیین بالایی داده ها را برازش داد. همچنین نتایج مبین این بود با افزایش شدت صوت امواج فراصوت بازده استخراج ترکیبات فنولیک کاهش دارد.

واژه‌های کلیدی: بنه، ترکیبات فنولیک، اولتراسوند، روش سطح پاسخ، بهینه‌سازی

[*]مسوول مکاتبات: r.daliri1371@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

1- مقدمه

ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه از گیاهان به ویژه گیاهان دارویی هستند. این ترکیبات توان آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند و از طرق مختلف در حذف و جلوگیری از ایجاد رادیکال‌های آزاد موثرند. به طوری که این ترکیبات رادیکال‌های آزاد را حذف می‌کنند و همچنین باعث رسوب عناصر اکسیدان مانند آهن می‌شوند(23).تحقیقاتی در سال‌های اخیر روی میزان ترکیبات فنولیک موجود در محصولات کشاورزی و پس‌مانده صنعتی آنها و میزان در دسترس بودن این ترکیبات انجام شده است. عصاره میوه‌ها، سبزیجات و غلات که غنی از ترکیبات فنولی است در صنعت مواد غذایی بسیار قابل توجه شده‌اند به این دلیل که قادرند تغییرات اکسیداتیو چربی‌ها را آهسته کرده و بنابراین کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را بهبود دهند(9).بنه یا پسته‌ی وحشی با نام علمی پستاسیا آتلانتیکا[1] از خانواده‌ی آناکاردیاسه[2] درختی است که در اغلب مناطق ایران و حتی در کشورهای با شرایط آب و هوایی مدیترانه رویش دارد. بنه شامل سه زیر گونه است: پستاسیا آتلانتیکا زیر گونه موتیکا[3]، پستاسیا آتلانتیکا زیر گونه کابولیکا[4]، پستاسیا آتلانتیکا زیرگونه کردیکا[5] (10).برگ بنه به واسطه وجود مواد شیمیایی و دارویی از مدت‌ها قبل به صورت سنتی برای درمان بعضی از امراض از قبیل: جوشانده برگ سبز بنه برای ضدعفونی و درمان بسیاری از غده‌های چرکین، به عنوان قابض (درمان اسهال)، خوشبوکننده دهان، ضدعفونی کننده زخم‌ها و... مورد استفاده قرار می‌گرفته است(4). برگ بنه از فعالیت ضدرادیکالی و درصد بازدانگی بالایی برخوردار است و در مقاسیه با آنتی اکسیدان‌های شناخته شده مانند اسیدآسکوربیک، عصاره برگ بنه از توان آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای برخوردار بود(19). با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک[6] در عصاره‌های برگ بنه ترکیبات فلاونولی[7]، اسیدفنولیکی[8]، فلاونی[9]، آنتوسیانین[10]، اسید گالیک[11] و اسیدپاراکوماریک[12] شناسایی شده و مشخص شد که عصاره این گونه دارای قدرت احیا کنندگی بالایی است(7). از نقطه نظر استخراج ترکیبات مؤثره از محصولات کشاورزی و یا پس‌مانده‌های‌صنعتی، میزان استخراج ترکیبات فعال آنها از جمله ترکیبات فنولیک بسیار مهم است و میزان حضور ترکیبات فنولیک در محصولات غذایی به صورت طبیعی و یا غنی‌شده نشان دهنده ارزش غذایی آن محصول در حفظ سلامتی بشر است به همین جهت در فرایند استخراج عواملی چون نوع حلال، نسبت نمونه به حلال، اندازه ذرات نمونه، مدت زمان استخراج و دما بسیار مهم هستند. همچنین نحوه عمل استخراج می‌تواند به صورت سنتی از طریق روش‌هایی مانند سوکسله و غرقابی و یا از طریق فناوری‌های جدیدی چون مایکروویو و یا امواج مافوق صوت صورت گیرد. بررسی نتایج حاصل از تاثیر فاکتورهای مختلف در میزان استخراج با روش مافوق صوت از طریق روش آماری آزمون سطح پاسخ[13] صورت گیرد چون در این روش آماری با حداقل آزمون انجام شده بیشترین اطلاعات ممکن از روند میزان استخراج به دست خواهدآمد. به همین دلیل تقاضای زیادی برای روش‌های عصاره‌گیری جدید با زمان کوتاه‌تر، میزان حلال کمتر و آسیب کمتر به محیط زیست وجود دارد. روش‌های جدید عصاره گیری برای استخراج ترکیبات زیست فعال از گیاهان بسیار سریع و موثر عمل می‌کنند(9).استخراج به وسیله امواج فراصوت امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم می سازد. در مقایسه با تکنیک‌های استخراج جدید دیگر هم چون استخراج با مایکروویو، دستگاه فراصوت ارزان تر است و اجرای آن راحت تر می باشد. استخراج به کمک فراصوت مشابه استخراج با سوکسله می تواند با هر حلالی بر ای

1- Pistacia atlantica
2- Anacardiaceae
3- Pistacia atlantica sub. sp. mutica
4- Pistacia atlantica sub. sp. cabulica
5- Pistacia atlantica sub. sp. kurdica
6- TLC

7- Flavonol
8- Phenolic Acid
9- Flavone
10- Anthocyanin
11- Gallic Acid
12- Para-Coumaric Acid
13- Response Surface Methology

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود (22). در استخراج عملیات کم تری درگیر آن بوده و در نتیجه آلودگی آن کم تر است. استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج فوق بحرانی[1] (SCF) تجهیزات بسیار ساده‌تری را نیاز دارد(21).تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر همزمان سه فاکتور نسبت نمونه به حلال، شدت صوت دستگاه فراصوت، اندازه ذره نمونه با طرح سطح پاسخ توسط نرم‌افزار Design Expert انجام شد.

2- مواد و روش‌ها

2-1-آماده‌سازی نمونه

برگ درخت بنه در اواخر فروردین از ارتفاعات باقران (شهرستان بیرجند واقع در استان خراسان جنوبی) جمع‌آوری شد، پس از جداکردن قسمت‌های زائد و شاخه‌ها، طی یک روز با خشک‌کن انجمادی در دمای60°C- خشک شد. سپس برگ‌های خشک شده بوسیله آسیاب خانگی پودر وسه اندازه ذره با گذراندن از الک‌های با مش 20، 50 و80 حاصل شد. نمونه‌های پودر شده در بسته‌های نایلونی (هوا کاملا گرفته شده) به منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت بسته‌بندی شده و بسته‌ها در محل تاریک در فریزر خانگی تا زمان استخراج نگهداری شدند.

2-2- مواد و وسایل مورد نیاز

استاندارد اسیدگالیک، معرف فولین سیوکالتو(Folin-Ciocalteu)، بیکربنات سدیم و حلال‌های مورد استفاده همگی از شرکت مرک خریداری شدند.

3- روش کار

3-1- استخراج با اولتراسوند

جهت تهیه عصاره از برگ درخت بنه از روش استخراج با دستگاه اولتراسوند و حلال متانول 80% استفاده شد. مقدار مورد نظر از نمونه را وزن کرده و در داخل بشری می‌ریزیم با استوانه مدرج 25میلی لیتر از حلال متانول 80% در آن می‌ریزیم و آن را در دستگاه فراصوت به مدت 40 دقیقه قرار می‌دهیم. پس از آن عصاره را با کاغذ صافی صاف می‌کنیم و در بالون ژوژه 25 میلی لیتر به حجم می‌رسانیم. در انتها با روش اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی میزان فنول کل اندازه می‌گیریم (6).

3-2- روش اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی (روش فولین سیوکالتو)

500 میکرولیتر از عصاره درون لوله آزمایش درب‌دار ریخته شده و پس از افزودن 2.5 میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب به نسبت 10:1) بعد از 5 دقیقه به آن 2 میلی لیتر محلول بیکربنات سدیم 7.5% افزوده و در دمای اتاق به مدت 1 ساعت قرار داده شد. پس از گذشت زمان یک ساعت جذب نمونه در طول موج765 نانومتر در مقابل بلانک اندازه‌گیری شد (13). جهت تهیه بلانک 500 میکرولیتر عصاره را در لوله آزمایش می ریزیم بجای 2.5 میلی لیتر فولین سیوکالتو و 2 میلی لیتر محلول بیکربنات سدیم 7.5% به عصاره 4.5 میلی‌لیتر حلال مورد نظر اضافه می‌کنیم. داده‌ها بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک گزارش شد.

3-3- رسم منحنی استاندارد برای رابطه جذب و غلظت اسید گالیک

محلول‌های استاندارد در غلظت‌های مختلف اسید گالیک منوهیدراته (0، 5، 10، 15، 20، 25 میلی‌گرم در میلی‌لیتر در متانول 80 درصد) تهیه شد. 500 میکرولیتر از هر محلول درون لوله آزمایش درب دار ریخته شده و سایر مراحل مانند آزمایش قبل انجام شد. آزمون جذب برای هر یک از محلول‌های استاندارد در سه تکرار انجام شد، بر اساس نتایج جذب خوانده شده، منحنی استاندارد اسید گالیک رسم شد و سپس مقدار کل ترکیبات فنولیک برای هر یک از عصاره‌ها، بر اساس معادله خط منحنی جذب اسیدگالیک محاسبه شد(5).

4- روش آماری

برای بررسی اثرمتغیرهای شدت صوت امواج فراصوت، اندازه ذره، نسبت نمونه به حلال بر روی بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولیک آزمون بر اساس طرح RSM در

1- Subcritical Fluid

www.SID.ir

Archive of SID

سه عامل و سه سطح طراحی و بر اساس طرح Box-Behnken در نرم‌افزار Design Expert 7.1.5 آزمون انجام شد.

5- بحث و نتیجه‌گیری

5-1- بررسی سه متغیر شدت امواج فراصوت، نسبت نمونه به حلال و اندازه ذرات نمونه با استفاده از روش آماری سطح پاسخ

در این پژوهش روش سطح پاسخ (RSM) به منظور تعیین نقاط بهینه فرایند استخراج با روش امواج فراصوت جهت دست‌یابی به بیشینه ترکیبات فنولیک و بازدهی عصاره مورد استفاده قرار گرفت و تاثیرفاکتورهادر سه سطح، شدت امواج فراصوت (AMPL) (40%، 69%، 98%)، مش(20، 50، 80) نسبت نمونه به حلال (0/020gr/ml، 0/011gr/m، 0/002gr/m) بر روی بازده استخراج ترکیبات فنولیک مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول4-10). معنادار بودن آماری عبارت‌ها در معادله رگرسیونی در سطح اطمینان 95 درصد ($p<05$) مورد بررسی قرار گرفت. میزان فنول کل به دست آمده از استخراج با روش امواج فراصوت و حلال متانول80% برحسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک در جدول نشان داده شده است (جدول1).

جدول 1- مقادیر مختلف غلظت فنول کل بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک در هر تیمار

Run	X1 Ratio	X2 Amplitude	X3 Mesh	Acid galic
1	0/011	40	20	60/59
2	0/011	69	50	60/35
3	0/020	69	80	49/46
4	0/011	98	80	57/85
5	0/002	40	50	50/03
6	0/002	98	50	36/64
7	0/002	69	20	37/69
8	0/011	69	50	60/59
9	0/011	40	80	58/66
10	0/011	69	50	60/91
11	0/011	69	50	59/46
12	0/011	69	50	60/27
13	0/002	69	80	47/93
14	0/020	98	50	51/16
15	0/020	40	50	58.17
16	0/020	69	20	62.61
17	0/011	98	20	58/5

5-2- انتخاب بهترین مدل

پس از آنالیز داده‌ها توسط برنامه Design Export جهت تعیین بهترین مدل پیشنهادی از میان پنج مدل موجود Linear, 2FI, Quadratic, cubic, Mean با توجه به جداول (4-10)(4-11) تجزیه واریانس، مدلی که مقدار Sum of squar آن دارای اختلاف معنی‌دار بوده و مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

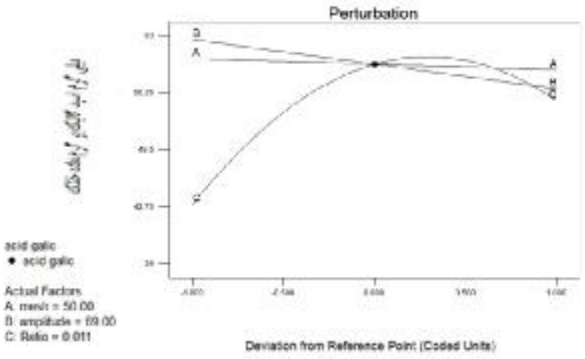
Lack of fit آن معنی‌دار نشود به عنوان بهترین مدل انتخاب می‌شود.با توجه به این موضوع و پس از بررسی نتایج بدست آمده و مقایسه میان مدل‌های رگرسیونی و پس از تحلیل واریانس داده‌ها و بر اساس مقادیر P و F مدل نتایج حاکی از آن بود که مدل Quadratic برای تمامی آزمون‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی‌دار با سایر مدل‌ها و مدل مناسب جهت برازش داده‌ها به دست آمد بود.

جدول 2- **Sum of squar** (مجموع مربعات)

Source	Sum of Squares	Value F	Prob > F P -Value	
Mean vs Total	50971/70			
Linear vs Mean	373/10	2/46	0/1093	
2FI vs Linear	147/36	0/96	0/4482	
Quadratic vs 2FI	469/57	26/56	0/0003	Suggested
Cubic vs Quadrati	40/09	45/93	0/0015	Aliased
Residual	1/16			
Total	52002/99			

3-5- بررسی معادله مدل

معادله مدل ارائه شده عبارت از معادله درجه دو چند جمله‌ای (رگرسیونی) است که پس از حذف ضرایب بی‌معنی و در سطح اطمینان 95 درصد ارائه شده است. عدد ثابت داده شده، ضریب ثابت مدل می‌باشد. y نشانگر میزان فنول کل بر حسب میلی گرم اسید گالیک بر گرم ماده خشک است. بزرگی ضرایب متغیرها در این چندجمله‌ای صرف نظر از مثبت یا منفی بودنشان بیانگر اهمیت ضرایب مربوطه در تغییرات پاسخ (میزان فنول کل) می باشند. همان طور که در معادلهٔ (1) دیده می شود، از بین سه متغیر مستقل، به طور کلی تنها نسبت نمونه به حلال بکار رفته دارای اثر مثبت و دیگر متغیرهای مستقل دارای اثر عکس بر میزان استخراج ترکیبات فنولی استخراج شده در شرایط آزمون بودند. همچنین در بین فاکتورهای مذکور نسبت نمونه به حلال و مش به ترتیب دارای بالاترین و پایین ترین اثر بر راندمان استخراج بودند.همچنین شکل (1) بامطالب بالا هم‌خوانی دارد. با توجه به نمودار بیشترین تاثیر در استخراج ترکیبات فنولی نمودار C دارد چون شیب تندتری نسبت به دو معادله دیگر دارد و نسبت نمونه به حلال رابطه غیر خطی با استخراج ترکیبات فنولی دارد. نمودار B چون شیب تندتری از A دارد تاثیر بیشتری بر روی استخراج دارد، هر دو نمودار تاثیر خطی بر استخراج دارند.



شکل 1- منحنی آشفتگی سه متغیر

www.SID.ir

Archive of SID

X1 = نسبت نمونه به حلال

X2= شدت صوت امواج فراصوت

X3 = اندازه ذرات نمونه معادله درجه دو مدل

$$\text{acid gallic} = -1048X1^2 - 5.86X3X1 + 6.14X1 - 2.91X2 - 0.69X3 + 89.69$$

5-4- بررسی پارامترهای اثرگذار در مطالعه

پس از انتخاب بهترین مدل در سطح آماری مورد نظر (95%)، جهت بررسی پارامترهای اثرگذار در مطالعه با توجه به جدول Anova، پارامتری که آزمون F برای آن معنی‌دار نباشد از مدل حذف می‌شود و سایر پارامترها که دارای اختلاف معنی‌دار در سطح (95%) بودند در مدل نگهداری شد (جدول 3). همچنین، داده‌های حاصل از تحلیل واریانس نشان داد دو متغیر شدت صوت و نسبت نمونه به حلال دارای اثر معنی‌دار در مدل بودند. عبارات درجه دو نسبت نمونه به حلال و اثر متقابل دو متغیر، شدت صوت و مش با ضریب اطمینان 95 درصد معنی‌دار بودند (جدول 3).

جدول 3- جدول واریانس نتایج حاصل از تاثیر متغیرها بر استخراج ترکیبات فنولی

Source	Sum of Squares	Value F	P –Value Prob > F	
Model	990/03	18/67	0/0004	Significant
A-mesh	3/77	0/64	0/4503	
B-amplitude	67/86	11/51	0/0115	
C-Ratio	301/47	51/15	0/0002	
AB	0/41	0/070	0/7997	
AC	136/77	23/21	0/0019	
BC	10/18	1/73	0/2303	
A2	1/04	0/18	0/6872	
B2	3/56	0/60	0/4626	
C2	455.13	77.23	<0/0001	
R-Squared	0/9600			
Adj R-Squared	0/9086			
C.V. %	4/43			

5-4-1- آنالیز جداول

با توجه به جدول (3) نزدیکی Adj R-Squared و Pred R-Squared نشان‌دهنده مناسب بودن و صحت مدل است. ضریب تبیین برابر 0/96، نزدیک شدن ضریب تبیین به مقدار واحد به معنی برازش مناسب مدل تجربی با داده‌های واقعی است و صحت مدل می‌باشد (14). بنابراین صحت مدل پیش بینی شده بر مبنای این دو فاکتور تأیید می‌شود. CV یا ضریب تغییرات مدل 4.43 شده که نشان دهنده صحت مدل است اگر از 10% بالاتر می‌رفت طرح نیاز به بازنگری دارد.

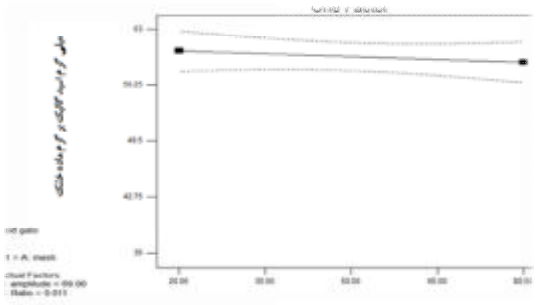
5-5- تاثیر متغیر مش (اندازه ذره نمونه) بر استخراج ترکیبات فنولی کل (mg GAE/g dw)

بر اساس شکل (2) اندازه ذره تاثیر زیادی بر استخراج ترکیبات فنولی با روش فراصوت ندارد و بیانگر این موضوع است که مش نسبت به متغیرهای دیگر بر استخراج ترکیبات فنولی تاثیر کمتری دارد. چون استخراج در زمان 40 دقیقه انجام شد، لذا باعث نفوذ خوب حلال در نمونه شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

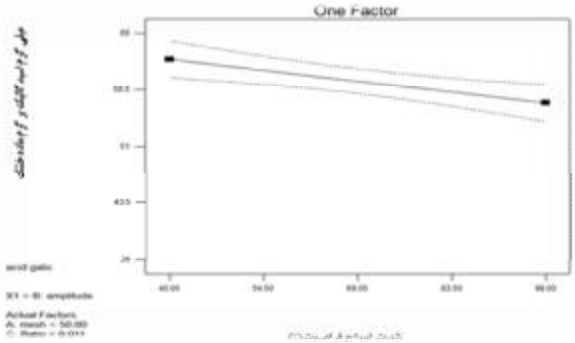
زمان دارای اثر معنی دار بر استخراج ترکیبات فنولی است (3). در این روش به دلیل نیروی برشی ایجاد شده توسط امواج فراصوت و محتوای انرژی بالای این امواج و تأثیر آنها درشکستن و متلاشی کردن دیواره‌های سلولی و احتمال رهایش محتویات آنها به محیط، استخراج افزایش می‌یابد. همچنین نیروی برشی ایجاد شده توسط امواج فراصوت، سبب کاهش اندازه ذرات می‌شوند که سطح تماس را افزایش داده و در نتیجه انتشار حلال افزایش می‌یابد(14).



شکل 2- روند تغییرات محتوای فنول کل با تغییر میزان مش

5-6- تاثیر متغیرشدت صوت بر استخراج ترکیبات فنولی کل (mg GAE/g dw)

با توجه به نمودار (3) با افزایش شدت صوت مقدار استخراج ترکیبات فنولی نمونه کاهش می یابد، شدت صوت با میزان استخراج ترکیبات فنولی رابطه خطی دارد که در طی استخراج با افزایش شدت صوت میزان ترکیبات فنولی با شیب ملایمی کاهش می‌یابد. که دلیل آن را می‌توان چنین بیان کرد که با افزایش شدت امواج فراصوت دمای محلول شروع به افزایش قابل توجهی می‌کند در نتیجه با افزایش دما محتوای فنول کل محلول کاهش یافته که آن را مرتبط با شکسته شدن ترکیبات فنولی بسیاری دانسته‌اند (17، 11). سازوکار اساسی که کاهش محتوای فنول کل را شرح می دهد آزاد شدن ترکیبات فنولی پیوند شده، تجزیه جزئی لیگنین و آزاد شدن مشتقات فنولیک اسید و شروع تجزیه حرارتی ترکیبات فنولی می باشد، که تجزیه لیگنین در اثر حرارت و آزاد شدن ترکیبات فنولی، مرحله آغازی تجزیه ترکیبات فنولی می باشد(18، 16).به علاوه شدت و زمان بر هم اثر هم‌افزایی دارند و با افزایش شدت امواج، اثر زمان جهت کاهش دادن مقدار ترکیبات فنول کل، افزایش می یابد(1). لذا زمان زیاد فرآیند باعث شده میزان استخراج ترکیبات فنولی با افزایش شدت شدت سیر نزولی داشت داشته باشد.



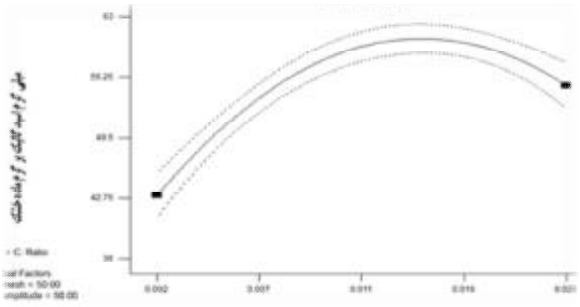
شکل 3- روند تغییرات محتوای فنول کل با تغییر میزان شدت صوت دستگاه فراصوت

www.SID.ir

Archive of SID

5-7- تاثیر متغیرنسبت نمونه به حلال بر استخراج ترکیبات فنولی کل (mg GAE/g dw)

بر اساس شکل (4) تغییرات نسبت نمونه به حلال بر استخراج ترکیبات فنولی (mg GAE/g dw) تا نسبت نمونه به حلال 0/013 gr/ml روند صعودی دارد ولی بعد از آن میزان استخراج ترکیبات فنولی روند نزولی پیدا کرده است.در واقع شانس حضورترکیبات زیست فعال در حلال با افزوده شدن حلال به سبب افزایش تراوش بالاتر می‌رود. با افزایش میزان نمونه به حلال، میزان نمونه بالاتر از توان حلال می‌رود و تا اندازه‌ای اثر منفی بر عملکرد استخراج گذاشته و لذا میزان کمتری از ترکیبات فنولی از ماده خشک به سمت حلال حرکت می‌کنند. نسبت ماده خشک به حلال یک نسبت مهم در بهینه‌سازی استخراج محسوب می‌شود. افزایش نسبت حلال به ماده خشک در استخراج ترکیبات فنولی تفاله انگور باعث افزایش میزان عصاره استخراج شده است(20). در استخراج عصاره‌های اتانولی برگ بالم نیز با افزایش میزان حلال ترکیبات فنولی بیشتری استخراج شد(12). محققین دیگر نیز نسبت ماده خشک بر حلال را در میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استخراج شده در توت موثر دانستن (8) در مطالعه‌ای که روی بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولی دانه انگور با استفاده از مایکروویو انجام شد، نسبت ماده خشک به حلال از مهم‌ترین فاکتورهایی تاثیرگذار در میزان ترکیبات فنولی بودند(15). حاجی مهدی‌پور (1388) نیز روند مشابهی گزارش کرده است.



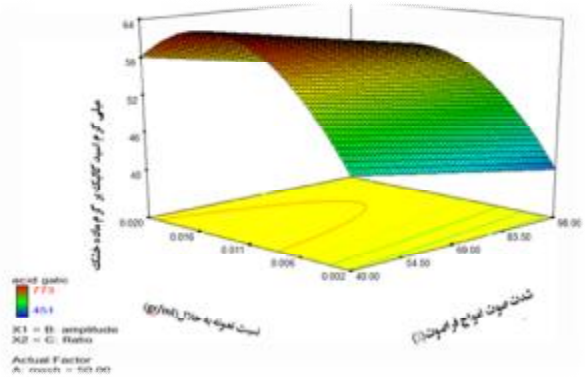
شکل 4- روند تغییرات محتوای فنول کل با تغییر میزان نسبت نمونه به حلال(gr/ml)

5-8- نمودار سه‌بعدی اثر دو متغیر نسبت نمونه به حلال و شدت صوت امواج فراصوت بر روی استخراج ترکیبات فنولیک

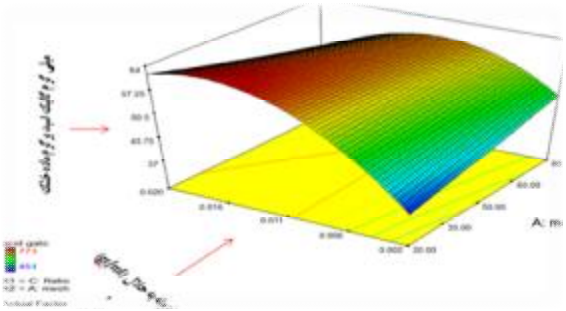
اثر متقابل دو فاکتورنسبت نمونه به حلال به شدت صوت درنمودار(4-9) نشان داده شده است. همان طور که در شکل مشخص است افزایش نسبت نمونه به حلال تا حدود 0/013 باعث افزایش در مقدار استخراج ترکیبات فنولی شده است ولی بعد از آن روند نزولی با افزایش نسبت نمونه به حلال داریم. با افزایش میزان شدت صوت استخراج ترکیبات فنولی روند نزولی داشته و کاهش پیدا کرده است. نقاط قرمز نشان دهنده بیشینه استخراج و نقاط آبی بیانگر کمترین استخراج ترکیبات فنولی هستند. شکل (5) نیز اثر دو متغیر نسبت نمونه به حلال و مش را نشان داده است (در تمام شکل‌ها متغیر مستقل سوم در نقطه‌ی مرکزی خود قرار دارد).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل 5- اثرات متقابل نسبت نمونه به حلال و شدت صوت بر استخراج ترکیبات فنولی کل در نمای سه بعدی



شکل 6- اثرات متقابل نسبت نمونه به حلال و مش بر استخراج ترکیبات فنولی کل در نمای سه بعدی

6- نتیجه‌گیری

در این مطالعه برگ بنه به عنوان یک منبع طبیعی ترکیبات فنولیک مورد ارزیابی قرار گرفت. بر این اساس انتخاب نوع حلال و روش استخراج تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر راندمان عصاره‌گیری و میزان ترکیبات فنولیک استخراج شده دارد. در این نمونه نسبت نمونه به حلال به عنوان تاثیرگذارترین متغیر انتخاب شد و شدت صوت 69%، مش 20 و نسبت نمونه به حلال 0.020 gr/ml بیشترین استخراج را در بین تیمارهای روش سطح پاسخ داشت. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش نسبت نمونه به حلال تا حدود 0.013 میزان استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد ولی بعد از آن روند نزولی داشت و با افزایش شدت صوت امواج فراصوت روند استخراج ترکیبات فنولیک کاهش یافته ولی مش در این پژوهش تاثیری زیادی نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که می‌توان از عصاره برگه بنه به عنوان یک منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی استفاده نمود.

7- منابع

1. توکلی دخرآبادی، م.، حمیدی اصفهانی، ز. عباسی، س. تاثیر امواج فراصوت بر برخی خواص کیفی آب هویج با استفاده از روش سطح پاسخ، فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، سال دوم، شماره 5، پاییز 1393
2. حاجی مهدی‌پور، ه.، خانوی، م.، شکرچی، م. عابدی، ز.، پیرعلی همدانی، م. بررسی بهترین روش استخراج ترکیبات فنولی موجود در گیاه سرخارگل، فصلنامه گیاهان دارویی، سال هشتم، دوره چهارم، شماره مسلسل سی و دوم، پاییز 1388
3. روحانی، ر.، عین افشار، س.، احمدزاده، ر. استخراج ترکیبات آنتوسیانینی و آنتی‌اکسیدانی پرچم گل زعفران به کمک فناوری امواج، 1393

www.SID.ir

Archive of SID

4. زرگری، ع. 1368، گیاهان داروئی، ج 1، تهران: انتشارات دانشگاه تهران، ص 572 ـ573

5. محمدی، م.، مسکوکی، ع.، مرتضوی، س.، کوچکی، آ. بررسی ترکیبات فنولی عصاره‌های استخراج شده از میوه زرشک بی‌دانه (Berberis vulgaris) با استفاده از دو روش خیساندن و سیال مادون بحرانی آب، مجلّه‌ی نوآوری در علوم و فنّاوری غذایی، سال ششم، شماره‌ی اول، بهار1393

6. Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P., and Mason, J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry, 11, 261-265.

7. Benhammou, N., Bekkara, F.A., and Anovska, P. 2008. Antioxidant and antimicrobial of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2: 22-28.

8. Cacace, J.E., Mazza, G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. Journal of Food Engineering, 59, 379-389

9. Fang,CH. ,Sun,Y.,Zhao,G. ,Liao,X. ,Hu,X. , Wu,J. ,and Wang,ZH. ,2007,Optimization of ultrasound – assisted extraction of anthocyanins an red respberries and identification of anthocyanin in extract using HPLC-mass spectrometry, ultrasonics sonochemistry,vol.14-16:767-778

10. Ghasemi pirbalouti. A, Jahanbakhsh.P, Enteshari.SH, Malekpoor.F, Hamedi.B (2010), Antimicrobial activity of some Iranian medical plants, Arch. Biol. Sci., Belgrade, 62 (3), 633-642.

11. Hager, A., Howard, L. R., Prior, R. L., and Brownmiller, C. (2008). Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, anda ntioxidant capacity of processed black raspberry products. Journal of Food Science, 73(6): H134-H140.

12. Herodez, S.S., Hadolinb, M., Skergeta, M., Kneza, Z., 2003. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (Melissa officinalis L.) leaves. Food Chemistry, 80, 275-282.

13. Jaradat, N. Hussen,F., Al Ali,A. Preliminary Phytochemical Screening, Quantitative Estimation of Total Flavonoids, Total Phenols and Antioxidant Activity of Ephedra alata Decne. J. Mater. Environ. Sci. 6 (6) (2015) 1771-1778

14. Lee, E., Wylie, E., Metcalf, C. 2007. Ultrasound imaging features of radial scars of the breast, J Australasian Radiology, 51(3): 240–245.

15. Li, Y., Skouroumounis, G.K., Elsey, G.M. and Taylor, D. 2011. Microwave-assistance provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols. Food Chemistry 129: 570-576.

16. Maillard, M.-N., and Berset, C. (1995). Evolution of antioxidant activity during kilning: role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43(7): 1789-1793.

17. Mena, P., Martí, N., Saura, D., Valero, M., and García-Viguera, C. (2012). Combinatory effect of thermal treatment and blending on the quality of pomegranate juices. Food and Bioprocess Technology, 8: 10-14.

18. Paul, M. (2009). Effects of supercritical carbon dioxide and thermal processing conditions on phenolics, antioxidant activity, and yeast inactivation in muscadine and pomegranate juice, M. Sc. Thesis. University of Georgia, Athens, Georgia.

19. Peksel, A. 2008. Antioxidative properties of decoction of Pistacia atlantica Desf. Leaves. Asian Journal of Chemistry, 20: 681-693.

20. Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sinerio, J., Josea, N.M., 2005. Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 2111-2117.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principlws from herbs. Ultrasonics Sonochemistry, 8, 303-313.
22. Wang, L., Weller, CL. Recent advance in extraction of nutaceuticals from Plants.Trends in Food Sci and Technol 2006; 17(6):300-312.
23. Wong, C., Li, H., Cheng, K and Chen, F. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay, Food Chem.97: 705-711

www.SID.ir