



## مطالعه و بهینه‌سازی فرآیند استخراج مواد رنگزای گیاه اسپرک به کمک امواج فراصوت

فاطمه آئینه‌چی<sup>۱</sup>، مسعود باقرزاده کثیری<sup>۲\*</sup>، کمال‌الدین قرنجیگ<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد، دانشکده فرش، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تبریز، ایران، صندوق پستی: ۵۱۳۸۵-۴۵۶۷

۲- دانشیار، دانشکده هنرهای کاربردی، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تبریز، ایران، صندوق پستی: ۵۱۳۸۵-۴۵۶۷

۳- استاد، الف) گروه پژوهشی مواد رنگزای آلی، ب) قطب علمی رنگ، موسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ و پوشش، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۷۶۵-۶۵۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۷ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۷/۶/۱۲

### چکیده

مواد رنگزای موجود در گیاه اسپرک با استفاده از انرژی فراصوت استخراج و سپس تبدیل به پودر و عصاره تغلیظ شده گردید. عوامل موثر بر بازده استخراج با استفاده از طراحی آزمایش به روش روبه پاسخ بهینه‌سازی شد و تاثیر متغیرهای دما، زمان، توان فراصوت و pH حمام با استفاده از طرح مرکب مرکزی (CCD) مورد بررسی قرار گرفت. میزان ۰.۱ گرم پودر گیاه اسپرک در ۱۰۰ ml آب مقطر استخراج شده و دمای ۳۰°C، زمان ۴۰ دقیقه، توان فراصوت ۷۳٪ و pH= ۱۱ به عنوان شرایط بهینه معین گردید که در این شرایط، بازده استخراج برابر با ۸۷.۱۴٪ بود. ماده رنگزای استخراج شده از گیاه نیز توسط دستگاه GC-MS مورد شناسایی قرار گرفت. علاوه بر آن، مقایسه نتایج استخراج به کمک حلال و روش فراصوت نشان داد که نه تنها استفاده از فراصوت موجب افزایش بازده استخراج می‌گردد بلکه به‌کارگیری این فناوری سبب کاهش زمان استخراج نیز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استخراج با فراصوت، اسپرک، بهینه‌سازی، پودر رنگزا، روبه پاسخ.

## Study and Optimization of Extraction of Dye from Weld with Ultrasonic Waves Assisted Extraction (UAE)

F. Aynehchee<sup>1</sup>, M. B. Kasiri<sup>2\*</sup>, K. Gharanjig<sup>3</sup>

1- Faculty of Carpet, Tabriz Islamic Art University, P.O. Box: 51385-4567, Tabriz, Iran

2- Faculty of Applied Arts, Tabriz Islamic Art University, P.O. Box: 51385-4567, Tabriz, Iran

3- a) Department of Organic Colorants, b) Center of Excellence for Color science and Technology, Institute for Color Science and Technology, P. O. Box: 16765-654, Tehran, Iran.

Received: 23-10-2017

Accepted: 17-01-2018

Available online: 03-09-2018

### Abstract

In this study, weld plant dyes were extracted by ultrasonic waves assisted extraction (UAE) method and then, transformed to the concentrated extracts and powder. The efficiency of the extraction process was optimized with employment of a central composite design (CCD), and the optimum conditions of the influential variables, including temperature, time, power of ultrasound, and the bath pH were investigated with response surface methodology (RSM). In this way, an amount of 0.1 g of weld plant powder was extracted in 100 ml of distilled water as the solvent. The optimized amount of variables was found to be of 30 °C, 40 min, 73% of ultrasonic power and pH= 11 of the dyeing bath, where the extraction efficiency was of 87.14%. Then, the extract was analyzed by GC-MS analytical method and 3, 7-dioxo-6, 6, 10-trimethyl-8,10-undecadien-4-yl was identified as the coloring agent of the plant. Also, comparison of using methanol, as the solvent, in conventional extraction method and in UAE method revealed that the use of ultrasound significantly increases the extraction efficiency. Moreover, this technology needs for shorter time in comparison to that of the conventional method. *J. Color Sci. Tech.* 12(2018), 115-124©. Institute for Color Science and Technology.

**Keywords:** Ultrasonic extraction, Weld, Optimization, Dye powder, RSM.

## ۱- مقدمه

فرمول مولکولی  $C_{15}H_{10}O_6$  و وزن مولکولی ۲۸۶،۲۳ است که در حرارت ۲۲۸ تا ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد تجزیه می‌شود. این ترکیب در محیط قلیایی محلول و در آب به مقدار کم محلول است [۶]. افزون بر آن، ماده رنگزای دیگری با نام آپیجنین<sup>۶</sup> با فرمول مولکولی  $C_{15}H_{10}O_5$  در این گیاه یافت می‌شود که سبب حصول فام رنگی زرد می‌گردد [۹]. علاوه بر دو ماده فوق، مواد رنگزای دیگری همانند کامپفرول<sup>۷</sup> و براسیدین<sup>۸</sup> در گیاه اسپرک وجود دارند که مقادیر آنها بسیار جزئی می‌باشد [۱۰].

در رنگرزی با مواد رنگزای گیاهی، ضروری است تا ابتدا عصاره‌گیری انجام شود و سپس برای رنگرزی کلاف‌های پشمی و ابریشمی مورد استفاده در فرش به کار روند. زیرا در غیر این صورت مشکلات نسبتاً پیچیده‌ای بواسطه حضور بخش‌های زاید گیاه بوجود می‌آید. چراکه کالای نساجی به عنوان یک فیلتر عمل کرده و ذرات مواد رنگزا در آن به دام می‌افتد در نتیجه موجب عدم یکنواختی رنگ و چسبیدن گیاه به کالای مورد رنگرزی می‌گردد. افزون بر آن، گرد حاصل از این مواد برای بافندگان بسیار خطرناک است. همچنین، استفاده مستقیم از پودر گیاه باعث کاهش حجم حمام رنگرزی شده و از مقدار تولید می‌کاهد. مشکل اصلی دیگر، عدم قابلیت تکرار و تولید مجدد رنگرزی‌هایی است که به طور مستقیم با پودر گیاه صورت می‌گیرند. معمولاً در رنگرزی‌های سنتی بدست آوردن یک رنگ خاص در تکرارهای مختلف بسیار دشوار است. کارگاه‌های رنگرزی معمولاً برای سهولت در رنگرزی با گیاه از کیسه‌هایی از جنس پلی‌استر استفاده میکنند و بدین ترتیب جلوی خروج تفاله‌ها از کیسه‌ها و در نهایت تماس مستقیم تفاله‌ها با خامه پشمی مورد نظر گرفته می‌شود. اما استفاده از کیسه می‌تواند خود مشکلات جدیدی را ایجاد نماید. برای مثال حجم حمام رنگرزی کاهش می‌یابد و یا عمل استخراج از پودر گیاه بدلیل فشردگی زیاد گیاه در داخل کیسه بخوبی انجام نمی‌گیرد [۱۱]. در نتیجه برای رفع این مشکلات، استخراج ماده رنگزا یک گام ضروری برای خالص‌سازی مواد رنگزای طبیعی و مورد نیاز برای کاربران مواد خام اولیه گیاهی است. اکثر ترکیبات رنگی موجود در گیاهان به طور سنتی، به روش جوشاندن استخراج می‌شوند اما این روش بسیار زمان بر بوده و نیاز به انرژی زیادی دارد چراکه استخراج ماده رنگزا از بین دیواره‌های سلولی و ترکیبات مختلف موجود در گیاه غالباً مشکل می‌باشد [۱۲، ۱۳]. از این رو در حال حاضر بررسی‌های گسترده‌ای در سراسر جهان بر روی روش‌های مختلف استخراج مواد رنگزای موجود در گیاهان در حال انجام است [۱۴، ۱۵]. از جمله این روش‌ها می‌توان، استخراج آبی،

مهم‌ترین رویداد حرفه رنگرزی طی قرون اخیر، سنتز اولین ماده رنگزای مصنوعی توسط ویلیام پرکین بود [۱]، که در ادامه، اغلب رنگرزان و تولیدکنندگان، به دلیل دسترسی آسان، تنوع و ارزان بودن مواد رنگزای مصنوعی به سمت استفاده از آنها سوق پیدا کردند. مواد رنگزای مصنوعی از منابع پتروشیمی سنتز شده و از طریق فرآیندهای شیمیایی خطرناک به دست می‌آیند که تهدیدی برای محیط‌زیست می‌باشند [۲]. در حقیقت می‌توان استفاده از این مواد رنگزا را یک انحراف موقت و ناشی از الزامات رشد صنعتی در قرون اخیر دانست [۳]. اما با گذشت زمان و افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان از مضرات مواد رنگزای شیمیایی، تمایل به کارگیری مواد طبیعی افزایش یافت. مواد رنگزای طبیعی از گیاهان، حشرات و مواد معدنی استخراج می‌شود [۴]. دلایل افزایش تمایل مصرف‌کنندگان نسبت به مواد رنگزای طبیعی شامل جاذبه ذاتی آنها، توجه به محیط‌زیست، پرهیز نسل کنونی از کاربرد مواد شیمیایی برای کالاهایی که در ارتباط مستقیم با بدن انسان هستند، ایجاد سایه‌های ملایم و تسکین‌دهنده، به دست آمدن از منابع تجدیدپذیر و زیست‌تخریب‌پذیری می‌باشد [۵]. همچنین، در حال حاضر شواهد فراوانی وجود دارد که حاکی از تمایل روزافزون بازارهای جهانی فرش دستبافت به استفاده از مواد رنگزای گیاهی است. تقاضای جهانی برای مواد رنگزای با منشأ طبیعی، بخصوص فام‌های زرد و قرمز به سرعت در حال افزایش است و در سال ۲۰۰۰ بالغ بر ۲۵۰۰ تن تخمین زده شده است [۶].

در این میان، اسپرک<sup>۱</sup> به عنوان یکی از مهم‌ترین مواد رنگزای زرد طبیعی است که در ایران مصرف فراوانی در رنگرزی خامه قالی داشته و مهم‌ترین رنگ زرد مورد استفاده در رنگرزی پشم و ابریشم مورد استفاده در صنعت فرش دستبافت می‌باشد چرا که فام‌هایی که از اسپرک به دست می‌آیند نرمی و لطافت خاصی به الیاف پشمی می‌بخشد [۷]. اسپرک گیاهی از خانواده مالوآسه<sup>۲</sup> (از دسته *Rozee Dacee*) است که دو سال عمر داشته و سپس فاسد می‌شود و از بین می‌رود. بلندی این گیاه به ۱ تا ۱،۵ متر می‌رسد و هر ساله می‌توان دوبار آن را کاشت و برداشت نمود. رنگ این گیاه سبز مایل به زرد است و دارای شاخه‌های باریک می‌باشد [۸]. این ماده رنگزا در شاخص رنگ<sup>۳</sup> با عنوان ماده رنگزای طبیعی زرد ۲ و شماره ۷۵۵۹۰ و ۷۵۵۸۰ شناخته می‌شود [۳]. مواد رنگزای موجود در گیاه اسپرک از نوع فلاونوئیدها<sup>۴</sup> هستند که اصلی‌ترین این مواد شامل لوتئولین<sup>۵</sup> با

- 1- Weld
- 2- Maluacee
- 3- Color index
- 4-Flavonoide
- 5-Luteolin

6-Apigenin  
7-Kaempferol  
8-Brassicidin

(MS) ماده رنگزای موجود در عصاره گیاه نیز شناسایی شد.

## ۲- بخش تجربی

### ۲-۱- مواد

گیاه اسپرک اهلی منطقه اصفهان از منابع تجاری تهیه شد. اسپرک دارای دو گونه اهلی و وحشی است که نوع اهلی و تربیت شده، بیشتر به دلیل بکارگیری رنگ آن کشت می‌شود و نسبت به گونه دیگر دارای شاخه‌های کوتاه‌تر و از نظر رنگی، نسبت به نوع خودرو برتری دارد. در این پژوهش از گل اسپرک، به طور خالص و بدون حضور دیگر بخش‌ها استفاده شد چراکه بیشترین میزان مواد رنگزا در گل‌های این گیاه موجود است [۲۰]. گل‌های گیاه اسپرک اصلاح شده منطقه اصفهان از منابع تجاری تهیه شد. از آنجایی که فرآیند استخراج تا حد زیادی تحت تأثیر ویژگی‌های طبیعی مواد اولیه است قبل از استخراج انجام یکسری عملیات بر روی مواد گیاهی همچون کاهش اندازه ذرات می‌تواند سبب دگرگون شدن مشخصه‌های فیتوشیمیایی<sup>۷</sup> آنها شود [۲۱، ۲۲]. بنابراین، جهت افزایش نرخ استخراج ابتدا گیاه اسپرک با استفاده از آسیاب صنعتی پودر شده و سپس جهت یک‌دست‌سازی پودر، توسط الک شماره ۵۰ غربال گردید. مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل، اسید استیک با خلوص ۱۰۰٪، اسید نیتریک با خلوص ۶۵٪، هیدروکسید سدیم با خلوص ۹۸٪، متانل با خلوص ۹۶٪ و سدیم هیدروژن کربنات می‌باشند که ساخت شرکت مرک آلمان هستند. برای صاف کردن محلول استخراج شده، از کاغذ صافی میس ۴۲ ساخت شرکت واتمن انگلستان استفاده شد.

### ۲-۲- دستگاه‌ها

برای انجام این پژوهش، آسیاب صنعتی ساخت شرکت توس شیکن خراسان به منظور تهیه پودر گیاه اسپرک، ترازوی ساخت شرکت A&D ژاپن با دقت ۰،۰۰۱ g برای سنجش وزن مواد مصرفی، دستگاه pH متر ساخت شرکت Metrohm سوئیس مدل ۸۲۷ برای اندازه‌گیری میزان pH حمام استخراج، دستگاه آب مقطر سازی شرکت فاطر الکترونیک ایران مدل ۶۰۰۴ و حمام فراصوت ساخت شرکت Elmasonic کشور آلمان مدل P30H با گزینه‌های فرکانس ۳۷ kHz و ۸۰ kHz و محدوده توان ۴۰ تا ۱۰۰٪ برای استخراج ماده رنگزا، مورد استفاده قرار گرفتند. برای شناسایی نیز از دستگاه GC-MS مدل ساخت آمریکا مجهز به ستون HP-5 و شناساگر چهارقطبی استفاده شد. برای شناسایی ماده رنگزا، حدود ۱ mg از عصاره با ۳۰ μL واکنش‌گر ۱٪ TMCS + BSTFA و حدود ۱۵ μL حلال اتانل مخلوط شد و ترکیب حاصل بر روی بن ماری و در دمای

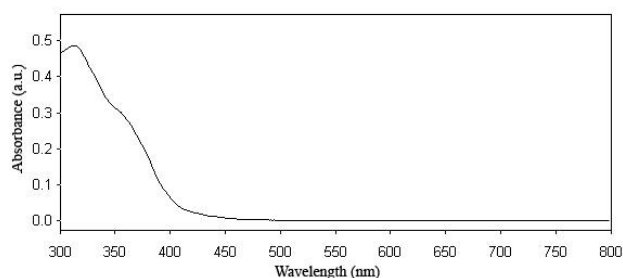
استخراج با اسید یا قلیا، استخراج با استفاده از امواج ماکروویو<sup>۱</sup> و فراصوت<sup>۲</sup>، روش تخمیر، روش آنزیمی، استخراج با حلال، سیال فوق بحرانی<sup>۳</sup> و آب فوق گرم تحت فشار<sup>۴</sup> را ذکر کرد [۱۶].

در این میان، اخیراً استفاده از انرژی امواج فراصوت در صنایع غذایی و فرآیند استخراج جامد-مایع به طور گسترده‌ای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. استفاده از فنون مدرنی همچون فناوری پاک امواج فراصوت در مقایسه با شیوه‌های سنتی گرمایی یک شیوه کارآمد بوده و این دستگاه با ایجاد امواج حفره‌زا در نمونه سبب ایجاد اختلال در سلول گیاه و نفوذ بیشتر حلال در آن می‌شود [۱۷]. هنگامی که امواج فراصوت از محیطی عبور کند باعث می‌شود که متوسط فاصله بین مولکولی در آن ماده تغییر کند و مولکول‌ها در اطراف موقعیت اصلی خودشان دچار نوسان شوند. اگر فشار منفی امواج فراصوتی که از محیط مایع عبور می‌کند، به حد کافی زیاد باشد و فاصله دو مولکول مایع از حداقل فاصله مولکولی مورد نیاز برای نگه داشتن مایع زیادتر شود این حالت سبب ناپایداری، فروپاشی و ایجاد حفره شده و موجب شکل‌گیری حباب‌های حفره‌زایی<sup>۵</sup> می‌گردد [۱۸].

در این پژوهش، با توجه به تأثیر عوامل مختلف در میزان استخراج، از روش طرح آزمایش به روش رویه پاسخ<sup>۶</sup> (RSM) استفاده شده است. زیرا بهینه‌سازی فرآیندها به روش سنتی معایب زیادی دارد. از جمله این عیوب نیاز به تعداد زیاد نمونه، صرف زمان طولانی و هزینه بالای تهیه مواد اولیه می‌باشد. همچنین، در مطالعات تک عاملی فرآیندها، اثرات متقابل متغیرها در نظر گرفته نمی‌شود و نتایج به دست آمده به عنوان نتایج بهینه قابل اعتماد نیستند. در این میان، نشان داده شده است که روش رویه پاسخ به عنوان روشی قابل قبول در مقایسه با شیوه‌های سنتی مدل‌سازی می‌باشد [۱۹]. RSM، مجموعه‌ای از روش‌های آماری و ریاضیات کاربردی برای ساخت مدل‌های تجربی است. از جمله مزیت‌های استفاده از روش طراحی آزمایش به این شیوه شامل، کاهش تعداد آزمایش‌ها، صرفه‌جویی در زمان، افزایش بهره‌وری و در نهایت بهینه‌سازی فرآیند و تفسیر و توجیه ساده‌تر نتایج می‌باشد. در این پژوهش برای اولین بار، ماده رنگزای اسپرک با استفاده از امواج فراصوت استخراج شده و فرآیند استخراج با بکارگیری روش رویه پاسخ بهینه گردید. پس از اتمام فرآیند استخراج، محلول رنگی به دست آمده تبدیل به عصاره تغلیظ شده و پودر گردید و بازده استخراج نیز محاسبه شد. همچنین با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی (GC-

- 1-Microwave assisted extraction
- 2- Ultrasound-assisted extraction
- 3-Supercritical Fluid Extraction
- 4- Pressurized hot water extraction
- 5-Cavitation
- 6-Response surface methodology

7- Phytochemical



شکل ۱: نمودار جذب محلول حاوی ۰.۱ گرم ماده رنگزا در ۱۰۰ ml آب مقطر.

بر اساس پژوهشی که توسط کریستا و همکارانش در مورد شناسایی فلاونوئیدهای اصلی موجود در ماده رنگزای اسپرک توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۳</sup> صورت گرفته است تمامی فلاونوئیدهای موجود در گیاه توسط طیف UV-Vis بررسی شدند که جذب همگی آنها در محدوده طول موج ۳۵۰ نانومتر و قبل از محدوده مرئی رخ می‌دهد [۲۳]. بنابراین و با توجه به طیف جذبی اندازه گیری شده در این پژوهش (شکل ۱) جذب تمامی محلول‌ها در طول موج ۳۲۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید. قبل از انجام طراحی آزمایش، یکسری آزمایش‌های اولیه نیز صورت گرفت و محدوده مؤثر متغیرها شناسایی شدند، به این ترتیب توان فراصوت در محدوده‌ای با فواصل ده درصد (۱۰۰٪، ۴۰، ۵۰)، زمان با فواصل ۱۰ دقیقه (۶۰، ۲۰، ۱۰ دقیقه)، دمای حمام استخراج با فواصل پنج درجه (۶۰، ۳۵، ۳۰ درجه سانتی‌گراد) و pH حمام استخراج از محدوده اسیدی تا بازی (از pH سه تا یازده) تنظیم و میزان استخراج ماده رنگزا اندازه‌گیری شد. پس از انجام آزمایشات اولیه، سطوح متغیرها مطابق آنچه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، مشخص گردید. تعداد سطوح در این آزمایشات شامل ۵ سطح بوده و فاصله این سطوح با هم برابرند.

جدول ۱: محدوده و سطوح تأثیر گذار متغیرها در استخراج ماده رنگزای اسپرک با استفاده از امواج فراصوت.

متغیرهای تأثیرگذار	محدوده و سطوح متغیرهای فرآیند				
	-۲	-۱	۰	+۱	+۲
دما (°C)	۳۰	۳۵	۴۰	۴۵	۵۰
زمان (min)	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰
pH	۳	۵	۷	۹	۱۱
توان فراصوت (%)	۵۰	۶۰	۷۰	۸۰	۹۰

۷۰ °C به مدت یک ساعت حرارت داده شد. پس از سرد شدن، این ترکیب با کمک گاز حامل هلیوم که با سرعت ۱ ml/min به داخل ستون دمیده می‌شد به داخل ستون مورد نظر به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰.۲۵ mm، تزریق گردید. برنامه دمایی گرمایش ستون نیز از ۶۰ تا ۲۶۰ °C درجه سانتی‌گراد بود که به ازای هر دقیقه، ۶ °C گرم می‌شد.

همچنین، از دستگاه گرمکن مجهز به هم‌زن مغناطیسی ساخت شرکت AKA WORKS آمریکا به منظور استخراج ماده رنگزا به کمک حلال، دستگاه طیف‌سنج مرئی-فرابنفش شرکت Spectronic Thermo انگلستان مدل Helios alpha برای اندازه‌گیری جذب محلول رنگی، دستگاه گرمکن آزمایشگاهی Alpha silver ساخت ایران مدل BL210S برای تنظیم دما، سیستم خلاء DV-42N-25 شرکت JB آمریکا مدل C55JXHRL-4205 برای صاف کردن سریع‌تر محلول ماده رنگزا، دستگاه تبخیر کننده چرخان<sup>۱</sup> ساخت شرکت IKA آلمان مدل RV06-ML به منظور تبخیر و جداسازی حلال از مواد رنگزا و کوره شرکت شیمی فن ساخت ایران مدل E.O 155 با قابلیت تنظیم بازه‌های دمایی بین ۳۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد برای تبخیر حلال باقی‌مانده از عصاره نیز، استفاده گردید.

## ۲-۳- روش انجام آزمایش‌ها

در این تحقیق، مواد رنگزای موجود در گیاه اسپرک ابتدا توسط امواج فراصوت و سپس به کمک حلال استخراج شد و فرآیندها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

## ۲-۳-۱- استخراج به روش امواج فراصوت

در استخراج به روش فراصوت متغیرهای دما، زمان، توان فراصوت و pH به عنوان متغیرهای تأثیرگذار انتخاب شدند که متغیرهای مستقل یا ورودی طراحی آزمایش نامیده می‌شوند و پاسخ آزمایشات یا متغیر وابسته، میزان جذب در طول موج جذبی بیشینه محلول حاوی ماده رنگزا و یا به نوعی، میزان استخراج ماده رنگزا بود. به منظور بهینه‌سازی فرآیند استخراج از روش رویه پاسخ به شیوه طراحی مرکب مرکزی<sup>۲</sup> (CCD) استفاده شد. در تمامی آزمایش‌های انجام شده، غلظت مناسب در فرآیند استخراج، میزان ۰.۱ گرم پودر گیاه در ۱۰۰ ml آب مقطر بود که این مقدار در محدوده خطی طیف جذبی واقع شده است (شکل ۱). تمامی پیک‌های جذبی از استخراج ماده رنگزای اسپرک در محدوده طول موج ۴۰۰ - ۳۰۰ نانومتر، یعنی پایین‌تر از ناحیه نور مرئی طیف الکترومغناطیس قرار داشتند.

3- High-performance liquid chromatography

1-Rotary evaporator  
2-Central composite design

## ۲-۳-۲- استخراج به کمک حلال

سراتو و همکارانش در یک کار تحقیقاتی، فرآیند استخراج ماده رنگزای اسپرک با استفاده از حلال آلی را مورد مطالعه قرار داده‌اند که براساس نتایج حاصل، باده استخراج با استفاده از متانل خالص به عنوان حلال در مقایسه با آب جوش در ۱۰ pH، هفت برابر بیشتر بوده است [۶]. بنابراین، در این پژوهش نیز از روش پیشنهادی مذکور بهره گرفته و از متانل خالص برای انجام فرآیند استخراج به کمک حلال استفاده گردید. برای انجام استخراج به کمک حلال، مقدار ۰٫۱ گرم پودر گیاه اسپرک به ۱۰۰ ml حلال متانل خالص اضافه شد و به مدت ۱۶ ساعت بر روی دستگاه هم‌زن مغناطیسی و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد هم‌زده شد. در انتهای فرآیند استخراج، محلول ماده رنگزا با استفاده از کاغذ صافی شماره ۴۲ فیلتر و سپس به میزان ۱۰ برابر رقیق گردید و جذب محلول صاف شده در طول موج جذب بیشینه ۳۲۷ nm اندازه‌گیری شد.

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- استخراج به روش امواج فراصوت

برای مطالعه فرآیند استخراج ماده رنگزای موجود در گیاه اسپرک با استفاده از امواج مافوق صوت از طراحی آزمایش بهره گرفته شد.

## ۳-۱-۳- طراحی آزمایش با روش CCD

پس از بررسی محدوده تاثیرگذاری هر یک از متغیرها و تعیین سطوح آنها، ۳۱ آزمایش توسط نرم‌افزار طراحی شد. معادله درجه دوم پیشنهادی برای پیش‌بینی مقدار استخراج ماده رنگزا در مقادیر مختلف متغیرهای تاثیرگذار به شکل رابطه ۱ می‌باشد.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{44}X_4^2 \quad (1)$$

در این معادله Y پاسخ فرآیند و یا همان میزان استخراج ماده رنگزا،  $b_i$  ضرایب جملات برای تأثیر خطی متغیرها،  $b_{ik}$  ضریب جملات برای تأثیرات درجه دوم متغیرها و  $x_i$  مقدار بدون بُعد متغیرها می‌باشد [۲۴]. آزمایش‌های پیشنهادی توسط طرح آزمایش (جدول ۲)، اجرا و مقادیر ضرایب ثابت مدل ریاضی پیشنهادی برای پیش‌بینی مقدار پاسخ بدست آمد (رابطه ۲). سپس استخراج ماده رنگزا از روی مقادیر متغیرهای ورودی و بر اساس رابطه ۲ پیش‌بینی گردید که در جدول ۲ آمده است.

$$Y = 0.3726 - 0.0178X_1 - 0.0188X_2 + 0.0223X_3 - 0.0042X_4 + 0.0001X_1X_2 - 0.0378X_1X_3 + 0.0104X_1X_4 + 0.0181X_2X_3 - 0.0141X_2X_4 + 0.0189X_3X_4 - 0.0179X_1^2 - 0.0175X_2^2 + 0.0205X_3^2 - 0.0375X_4^2 \quad (2)$$

جدول ۲: طرح آزمایش ۴ متغیره CCD در ۵ سطح و نتایج آزمایش‌های انجام شده.

شماره آزمایش	دما (°C)	زمان (min)	pH	توان فراصوت (%)	میزان جذب رنگزای استخراج شده
					تجربی
۱	-۱	۱	۱	۱	۰٫۳۸۳
۲	۱	-۱	۱	-۱	۰٫۲۴۷
۳	۲	۰	۰	۰	۰٫۲۶۵
۴	۱	۱	-۱	۱	۰٫۲۵۳
۵	۰	۰	۰	۰	۰٫۳۸۴
۶	۱	۱	-۱	-۱	۰٫۳۰۸
۷	۰	۰	۰	-۲	۰٫۲۳۰
۸	۱	-۱	-۱	-۱	۰٫۳۵۲
۹	-۱	-۱	-۱	۱	۰٫۲۹۶
۱۰	۱	-۱	-۱	۱	۰٫۳۵۶
۱۱	۰	۰	۰	۲	۰٫۲۱۴
۱۲	-۱	۱	۱	-۱	۰٫۳۷۲

جدول ۲: ادامه.

شماره آزمایش	دما (°C)	زمان (min)	pH	توان فراصوت (%)	تجربی	پیش‌بینی شده
۱۳	-۲	۰	۰	۰	۰,۳۳۸	۰,۳۳۶
۱۴	۰	۰	۰	۰	۰,۳۶۵	۰,۳۷۲
۱۵	-۱	۱	-۱	-۱	۰,۲۸۶	۰,۲۸۹
۱۶	-۱	-۱	۱	۱	۰,۴۱۱	۰,۴۱۷
۱۷	۰	-۲	۰	۰	۰,۳۲۸	۰,۳۴۰
۱۸	۰	۰	۰	۰	۰,۳۶۹	۰,۳۷۲
۱۹	۰	۰	۰	۰	۰,۳۸۷	۰,۳۷۲
۲۰	۰	۰	۰	۰	۰,۳۷۰	۰,۳۷۲
۲۱	-۱	۱	-۱	۱	۰,۱۹۳	۰,۱۹۲
۲۲	۰	۰	-۲	۰	۰,۴۱۱	۰,۴۰۹
۲۳	۱	۱	۱	۱	۰,۲۸۲	۰,۲۹۶
۲۴	۱	۱	۱	-۱	۰,۲۵۳	۰,۲۵۳
۲۵	۰	۲	۰	۰	۰,۲۶۷	۰,۲۶۴
۲۶	۰	۰	۰	۰	۰,۳۸۷	۰,۳۸۲
۲۷	-۱	-۱	-۱	-۱	۰,۳۲۴	۰,۳۳۳
۲۸	-۱	-۱	۱	-۱	۰,۳۸۷	۰,۳۷۹
۲۹	۰	۰	۲	۰	۰,۵۲۸	۰,۴۹۹
۳۰	۱	-۱	۱	۱	۰,۳۳۴	۰,۳۲۷
۳۱	۰	۰	۰	۰	۰,۳۸۱	۰,۳۷۲

جدول ۳: آنالیز واریانس معادله پیشنهادی برای پیش‌بینی میزان استخراج ماده رنگزا (Y1 پاسخ: جذب).

منبع متغیرها	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	معناداری
رگرسیون	۰,۱۳۹۱	۱۴	۰,۰۰۹۹	۲۶,۹۷۳۷	۰,۰۲۹۹
باقی‌مانده	۰,۰۷۲۴	۱۶	۰,۰۰۴۵	-	-
مجموع	۰,۲۱۱۵	۳۰	-	-	-

## ۳-۱-۲- تجزیه و تحلیل

نتایج به دست آمده از پیش‌بینی مقادیر جذب محلول‌ها با استفاده از نرم افزار NemrodW مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳). آنالیز واریانس (ANOVA) انحراف کلی را به دو زیر مجموعه تقسیم می‌کند: انحراف ناشی از مدل پیشنهادی و انحراف ناشی از خطای آزمایش که در نتیجه مشخص می‌کند که انحراف موجود در مقایسه با خطای باقی‌مانده قابل اغماض می‌باشد یا خیر. این مقایسه براساس مقدار F انجام می‌گیرد که

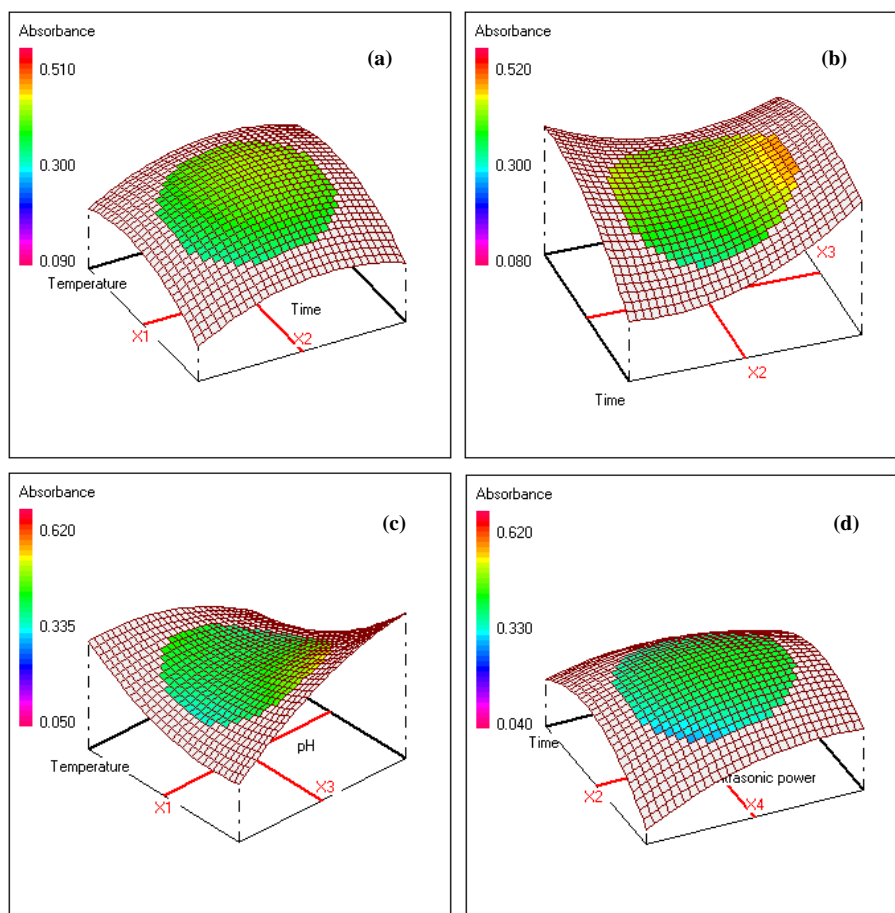
شامل نسبت بین متوسط مربع مدل به خطای باقی‌مانده است. اگر مدل پیشنهادی قادر به پیشگویی درست مقادیر استخراج باشد در نتیجه مقدار F محاسبه شده باید بزرگ‌تر از مقدار F نمایه شده در جدول به ازاء مقدار مشخصی از درجه آزادی در سطح اهمیت  $\alpha$  باشد [۲۵]. نسبت F به دست آمده برای استخراج ماده رنگزا (۲۶,۹۷۳۷) به طور مشخصی بیشتر از مقدار F نمایه شده در جدول (۲,۴۸۳۷) است که بخوبی مدل پیشنهادی را تأیید می‌کند.

دقیقه و pH برابر با ۱۱ دارای بیشترین بازده استخراج می‌باشد. ناحیه‌ای که دارای رنگ نارنجی است، بیشترین مقدار جذب یعنی در حدود ۰,۵۰۰ را نمایش می‌دهد. در توجیه این روند بایستی گفت که استفاده از محلول‌های قلیایی می‌تواند سبب استخراج مناسب مواد رنگزای موجود در گیاه اسپرک شود که این افزایش، بدلیل خاصیت اسیدی ضعیف فلاونوئیدهای موجود در این گیاه است. فلاونوئیدها در محیط‌های قلیایی به یک ترکیب محلول در آب تبدیل می‌شوند.

در شکل (c) نیز بیشترین میزان جذب ماده رنگزا در دمای حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۱۱ و جذبی برابر با ۰,۵۰۰ بود. همچنین، در شکل (d) در دمای حدود ۳۵ درجه و توان ۷۵٪ بیشترین میزان استخراج وجود دارد در حالی که با زمان کمتر از این مقدار و یا توان بیشتر با کاهش میزان استخراج مواجه خواهیم بود. با افزایش توان فراصوت نیز پدیده حفره‌زایی که تاثیر قابل توجهی در افزایش بازده استخراج ماده رنگزا دارد بطور موثرتری رخ می‌دهد. در حالی که افزایش آن بیش از مقدار بهینه (۷۵٪)، باعث متلاشی شدن سریع حباب‌های کوچک هوا شده و بازده فرآیند کاهش خواهد یافت.

### ۳-۱-۳- نمودارهای سه‌بعدی پیش‌بینی شده

شکل ۲ نمودارهای دوبعدی و سه‌بعدی تغییرات جذب محلول را در اثر تغییر مقدار دو متغیر تاثیرگذار بر بازده استخراج نشان می‌دهد در حالی که میزان دو متغیر دیگر در مقدار متوسط آنها ثابت نگه داشته شده است. شکل (a) نشان می‌دهد که در صورت ادامه فرآیند استخراج، تا زمان ۳۰ دقیقه و دمای حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد، جذب در محدوده ۰,۳۴۰ می‌باشد و افزایش دما تا ۵۰ درجه و زمان تا حدود ۴۵ دقیقه تأثیری بر افزایش بازده استخراج یا میزان جذب ندارد و حتی با افزایش زمان و دما بیش از این مقدار، میزان استخراج ماده رنگزا، کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد افزایش دما بیش از مقدار بهینه آن باعث افزایش اغتشاش‌های ملکولی شده و در نتیجه، فرآیند استخراج ماده رنگزا از ذرات گیاه حاوی آن دچار اختلال می‌گردد. همچنین، در مدت زمان ۳۰ دقیقه نیز حداکثر میزان ماده ی رنگزا از ذرات گیاه به درون محلول نشت کرده و ادامه فرآیند استخراج بیش از این مدت، تاثیری در افزایش بازده استخراج نخواهد داشت. شکل (b) نشان می‌دهد افزایش زمان تا حدود ۴۵



شکل ۲: (a) نمودار سه‌بعدی زمان و دما، با متغیرهای ثابت pH برابر با ۷ و توان فراصوت ۷۰٪، (b) نمودار سه‌بعدی pH و زمان، با متغیرهای ثابت دمای ۴۰ °C و توان فراصوت ۷۰٪، (c) نمودار سه‌بعدی pH و دما، با متغیرهای ثابت زمان برابر با ۴۰ دقیقه و توان فراصوت ۷۰٪، (d) نمودار سه‌بعدی توان فراصوت و زمان که با متغیرهای ثابت، دمای ۴۰ °C و pH برابر با ۷ می‌باشد.

(۰,۵۵۵), (۰,۵۴۶) و (۰,۵۴۶) نزدیک به هم بود که نشان دهنده قابلیت تکرار آنها و توان بالای مدل در پیش بینی شرایط بهینه می باشد.

در ادامه، فرآیند استخراج به کمک حلال متانل انجام و میزان جذب محلول رنگی در طول موج ۳۲۷ nm اندازه گیری شد که برابر با ۰,۴۳۷ بود. سپس نتایج حاصل از دو روش با هم مقایسه گردید. نتایج مطالعات در این پژوهش، نشان داده است که استخراج ماده رنگزای موجود در گیاه اسپرک به کمک حلال را می توان با روش مدرنی همچون فراصوت جایگزین نمود. تحت شرایط بهینه شده در روش فراصوت، میزان جذب محلول رنگی در ۳۲۷ nm، برابر با ۰,۵۵۰ بود. بنابراین استخراج با امواج فراصوت در مقایسه با استخراج به کمک حلال با بازده بالاتری همراه است. در روش فراصوت، فروپاشی حباب های ناشی از حفره زایی می تواند به عنوان یک میکرو راکتور عمل کرده و دمایی برابر با چند هزار درجه سانتی گراد و فشاری برابر با یک هزار اتمسفر ایجاد کند که موجب تخریب دیواره سلولی گیاه و افزایش میزان استخراج می گردد [۲۶]. فروپاشی این حباب ها بر سطح ماده جامد، سبب ایجاد دما، فشار زیاد و امواج شوک مانند می شود که هدایت آن به سطح جامد، موجب آزادسازی ماده می گردد [۲۷]. این فشار که همچون یک پیستون عمل می کند سبب ایجاد انقباض و انبساط در فاز مایع خواهد بود [۱۸]. مزیت های دیگر به کارگیری این فناوری، صرف زمان بسیار کوتاه تر و عدم نیاز به مصرف بالای انرژی گرمایی و عدم بکارگیری حلال های سمی می باشند.

### ۳-۱-۴- توانایی پیش بینی مدل پیشنهادی

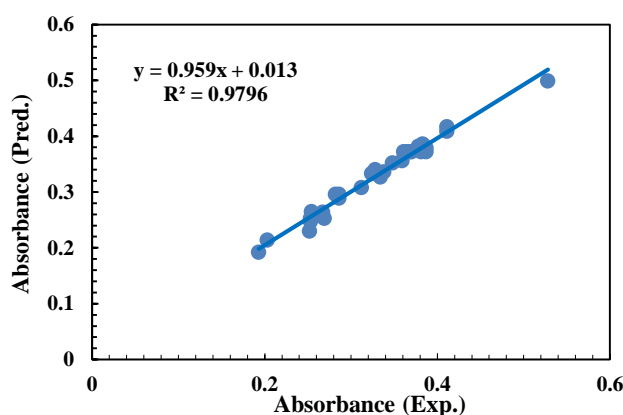
در ادامه، نمودار رگرسیون بین مقادیر تجربی و پیش بینی شده مقادیر جذب محلول حاصل از فرآیند استخراج رسم شده و ضریب رگرسیون تعیین گردید. مقدار ضریب رگرسیون ( $R^2$ ) بطور کمی همبستگی بین نتایج بدست آمده و مقادیر پیش بینی شده میزان بازده فرآیند را بیان می کند. نتایج تجربی و پیش بینی شده میزان استخراج در جدول ۲ ارائه شده است. نمودار، خطی وجود دارد که نشان دهنده حالت ایده آل می باشد که در این حالت داده های پیش بینی شده با مقادیر تجربی برابر هستند و نقطه های اطراف این خط، مقادیر پیش بینی شده و عملی می باشند. نزدیکی این نقاط در اطراف خط نشان دهنده موفقیت مدل پیشنهادی در پیش بینی میزان استخراج مواد رنگزای اسپرک است. مقدار ضریب رگرسیون ( $R^2$ ) برای استخراج ماده رنگزای اسپرک برابر با ۰,۹۷۹۶ می باشد که نشان دهنده موفقیت مدل پیشنهادی و قابلیت پیش بینی آن در محدوده تعیین شده متغیرهای عملیاتی می باشد.

### ۳-۱-۵- بهینه سازی فرآیند استخراج

پس از انجام آزمایش ها، نرم افزار شرایط بهینه شده چهار متغیر، دما، زمان، pH و توان فراصوت را برای حصول حداکثر میزان استخراج، مطابق مقادیر جدول ۴، پیش بینی و ارائه نمود. پس از مشخص شدن شرایط بهینه، سه آزمایش تکمیلی جهت تأیید پاسخگویی فرآیند در شرایط بهینه و در محدوده تعیین شده صورت گرفت. میزان جذب محلول ماده رنگزای هر سه آزمایش

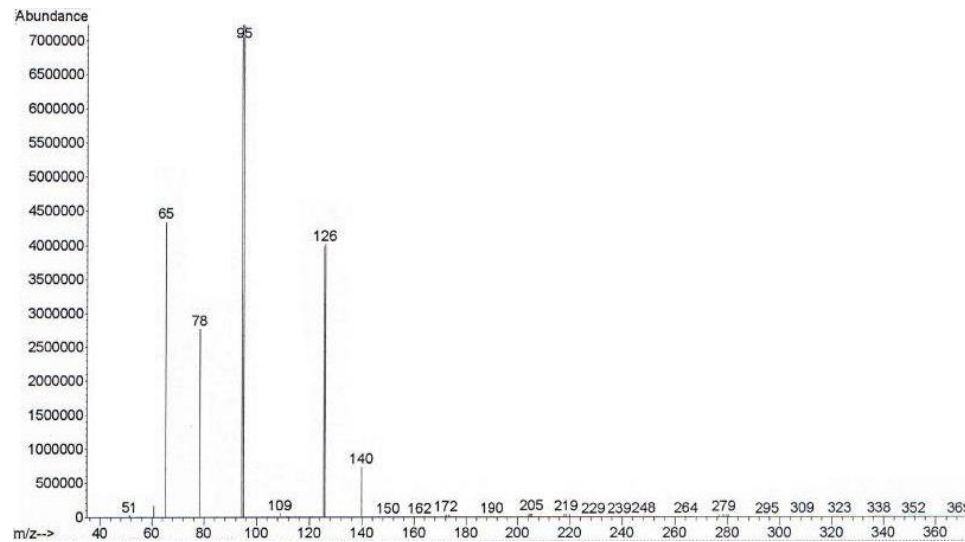
جدول ۴: مقدار بهینه متغیرهای مستقل جهت حصول حداکثر میزان استخراج.

متغیر	واحد	مقدار بدون بعد	مقدار عددی
دما	°C	-	۳۰
زمان	min	-	۴۰
pH	-	-	۱۱
توان فراصوت	%	-	۷۳



شکل ۳: نمودار مربوط به میزان همبستگی مقادیر تجربی و پیش بینی شده میزان جذب.





شکل ۴: کروماتوگرام حاصل از آنالیز عصاره گیاه اسپرک توسط دستگاه GC-MS.

### ۳-۳- شناسایی ماده رنگزای موجود در گیاه اسپرک

در نهایت و برای شناسایی ماده رنگزای موجود در گیاه اسپرک، از دستگاه آنالیز GC-MS استفاده شد. برای این کار ابتدا عصاره مورد نظر در حلال اتانل حل شد و به داخل ستون دستگاه تزریق گردید. در کروماتوگرام حاصل که در شکل ۴ نشان داده شده است یون ملکولی با  $m/z = 95$  دارای بیشترین فراوانی است که با جستجو در کتابخانه الکترونیکی دستگاه آنالیزور، این یون مولکولی مربوط به ترکیب ۳، ۷-دی اُکسو-۶، ۶، ۱۰-تری متیل-۸، ۱۰-آن دکادی ان-۴-ایل (با عنوان غیرآیوپاک لوتئولین-۳، ۷-دی گلوکوزید) شناسایی شد. از طرف دیگر، کریستی و همکارانش با مطالعه و بررسی عصاره گیاه اسپرک نشان داده‌اند که مواد رنگزای موجود در این گیاه عمدتاً از نوع لوتئولین، لوتئولین-۷-گلکوزید و لوتئولین-۳، ۷-دی گلوکوزید می‌باشند [۲۳]. با مقایسه نتایج حاصل از آنالیز صورت گرفته معلوم می‌شود که ترکیب مواد رنگزای اصلی موجود در گیاه اسپرک به کار رفته در این مطالعه نیز لوتئولین-۳، ۷-دی گلوکوزید می‌باشد.

### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش برای اولین بار، ماده رنگزای اسپرک با استفاده از امواج فراصوت استخراج شد و فرآیند استخراج با بکارگیری روش رویه پاسخ بهینه گردید. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که شرایط بهینه در استخراج ماده رنگزای اسپرک با امواج فراصوت، برای متغیر دما ( $X_1$ )  $30^\circ\text{C}$ ، زمان ( $X_2$ ) ۴۰ دقیقه، pH ( $X_3$ ) برابر با ۱۱ و توان فراصوت ( $X_4$ ) ۷۳٪ است که در این شرایط میزان جذب محلول حاوی ماده رنگزا  $0.550$  و بازده جداسازی برابر با ۸۷،۱۴٪ بود. همچنین، عصاره به دست آمده از استخراج با استفاده از هاون عقیق تبدیل به پودر گردید و از ۱،۴ گرم پودر گیاه اسپرک، میزان ۱،۲۲ گرم عصاره و از این میزان عصاره، ۱،۰۳

### ۳-۲- تهیه عصاره از محلول حاوی ماده رنگزا، تعیین بازده استخراج و تبدیل عصاره به پودر

در انتهای این تحقیق، محلول ماده رنگزای استخراج شده با استفاده از کاغذ صافی شماره ۴۲، قیف بوختر و پمپ خلاء فیلتر شد. بدین صورت که در ابتدا ماده مخلوط با حلال در داخل فلاسک شیشه‌ای دستگاه تبخیرکننده چرخان ریخته شد و تحت خلاء قرار گرفت. سپس در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و فشار کمتر از یک اتمسفر، پس از یک ساعت جداسازی حلال از عصاره صورت گرفت. عصاره به دست آمده درون شیشه ساعت تمیز، خشک و از پیش وزن شده ریخته شد. سپس شیشه ساعت حاوی عصاره اسپرک به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۵۰ درجه، درون کوره آزمایشگاهی قرار گرفته و خشک گردید و بازده استخراج با امواج فراصوت توسط روش وزن‌سنجی مورد محاسبه قرار گرفت (رابطه ۳).

$$(3) \quad \text{بازده استخراج} = \frac{\text{میزان ماده رنگزای استخراج شده (g)}}{\text{میزان گیاه حاوی ماده رنگزا (g)}} \times 100$$

از استخراج ۱،۴ گرم پودر گیاه اسپرک میزان ۱،۲۲ گرم عصاره به دست آمد که بازده استخراج بر اساس رابطه ۳ برابر با ۸۷،۱۴٪ می‌باشد.

$$\text{بازده استخراج} = \frac{1,22}{1,4} \times 100 = 87,14\%$$

برای تبدیل به پودر، عصاره خشک شده با استفاده از یک کاتر از سطح شیشه ساعت به دقت خراشیده و جدا شد. سپس توسط یک هاون عقیق سائیده و تبدیل به پودر گردید و در نهایت، با استفاده از ترازو وزن شد.

افزون بر آن استخراج با فراصوت موجب کاهش زمان استخراج از ۱۶ ساعت به ۴۰ دقیقه و افزایش بازده استخراج گردید.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از مسئولین محترم دانشگاه هنر اسلامی تبریز و مرکز ملی فرش ایران به خاطر همه همکاری‌های صورت گرفته در به سرانجام رسیدن این پژوهش، قدردانی می‌نمایند.

گرم پودر حاوی ماده رنگزا به دست آمد. در ادامه، با استفاده از آنالیز GC-MS نیز ماده لوتئولین-۳ و ۷-دی گلوکوزید به عنوان ماده رنگزای موجود در گیاه اسپرک شناسایی شد. در نهایت، میزان بازده استخراج ماده رنگزا به روش فراصوت با روش سنتی مقایسه گردید. در استخراج با امواج فراصوت به منظور کاهش هزینه‌های استخراج، از آب به عنوان حلال استفاده شد که حلالی ارزان، غیرسمی و قابل دسترس است و در مقیاس صنعتی موجب کاهش چشمگیر هزینه‌ها خواهد بود.

### ۵- مراجع

1. W. Ingamells, Colour for textiles. Society of Dyers and Colourists. 1993, 2-5.
2. K. Samanta, A. Konar, Dyeing of textiles with natural dyes. Department of Jute and Fiber Technology. 2011, 30-54.
3. M. Montazer, M. Vaysian, M. A. Haydari, Naturalism in dyeing protein fiber. *National Center of Iran Carpet*. 2009, 73-75.
4. M. B. Kasiri, S. Safapour, Exploring and exploiting plants extracts as the natural dyes/antimicrobials in textiles processing. *Prog. Color Colorants Coat*. 8(2015), 87-114.
5. S. Afshar, Dyeing with natural dyes, PNUP Publishers of Tehran. 2006, 3-8.
6. A. Cerrato, D. Santis, D. M. Moresi, Production of Luteolin extracts from Reseda Luteola and assessment of their dyeing properties. *J. Sci. Food Agric*. 82(2002), 1189-1199.
۷. ل. مهرپرور، س. صفاپور، م. صادقی کیاخانی، ک. قرنجیگ. بهبود رنگ‌پذیری خامه پشمی مصرفی در فرش دستباف با مشتق زیست‌سازگار کیتوسان: مطالعه خواص رنگرزی و ثبات رنگی با ماده رنگزای طبیعی اسپرک. *نشریه علمی پژوهشی علوم و فناوری رنگ*. (۱۳۹۵)، ۱۰، ۸۹-۹۶
8. M. Sohizade, Finishing and dyeing of textile products, Islamic Azad University of Tehran. M.Sc. Thesis, 2005, 144-145.
9. E. S. B. Ferreira, A. N. Hulme, H. McNab, A. Quye, The natural constituents of historical textile dyes. *R. Soc. Chem*. 33(2004), 329-336.
10. C. Moiterio, H. Gasper, A. T. Rodrigues, J. F. Lopes, V. Carnide, HPLC quantification on dye flavonoids in reseda luteola. *Dyes Pigm*. 57(2003), 267-272.
11. K. Gharangig, Identify and presentation of best the best way in the extract of madder dye to dyeing wool carpet with an emphasis on Alizarin and Purpurin. *National Center of Iran Carpet*. 2011, 1-4.
12. W. Ahmad, R. Rahim, M. Ahmad, K. Abdul, I. Muhammad, M. I. Misnon, The application of gluta aptera wood (*rengas*) as natural dye on silk and cotton fabrics. *Universal J. Environ. Res. Technol*. 1(2011), 545-551.
13. M. Dabiri, S. Salimi, A. Ghassempour, A. Rassouli, M. Talebi, Optimization of microwave-assisted extraction for alizarin and purpurin in *rubiaceae* plants and its comparison with conventional extraction methods. *J. Sep. Sci*. 28(2005), 387-396.
14. K. Sinha, P. D. Saha, S. Datta, Extraction of natural dye from petals of flame of forest (*Butea Monosperma*) flower: process optimization using response surface methodology (RSM). *Dyes Pigm*. 94(2012), 212-216.
15. M. E. Borges, R. L. Tejera, L. Diaz, P. Esparza, E. Ibanez, Natural dyes extraction from cochineal (*Dactylopius Coccus*): New extraction methods. *Food Chem*. 132(2012), 1855-1860.
16. S. Sujata, A. S. M. Raja, Natural Dyes: Sources, chemistry, application and sustainability issues. *Text. Sci. Clothing Technol*. (2014), 50-57.
۱۷. س. اسحاق‌لو گلوگاهی، س. صفاپور، م. صادقی کیاخانی، س. سیدسعادت. بهینه‌سازی فرآیند استخراج فراصوت رنگزای طبیعی میوه ولیک. *نشریه علمی پژوهشی علوم و فناوری رنگ*. (۱۳۹۴)، ۹، ۳۲۰-۳۱۳.
18. T. J. Mason, J. P. Lorimer, Sonochemistry: theory, applications and uses of ultrasound in chemistry. Wiley-Interscience, 1989, 26-68.
19. A. Aleboye, N. Daneshvar, M. B. Kasiri, Optimization of C.I. Acid Red 14 azo dye removal by electrocoagulation batch process with response surface methodology. *Chem. Eng. Process*. 47(2007), 827-832.
20. M. Hayati, Fiber dyeing with natural dyes, ITVHE publishing, Tehran, 2005.
21. C. A. D. Gonzalez, D. J. C. Curzons, V. L. Cunningham, Expanding GSK's solvent selection guide-application of life cycle assessment to enhance solvent selections. *Clean Technol. Environ*. 7(2004), 42.
22. M. P. Delgado-Torre, F. C. Ferreiro-Vera, P. Priego-Capote, M. D. Perez-Juan, L. D. J. Castro, Comparison of accelerated methods for the extraction of phenolic compounds from different vine-shoot cultivars. *J. Agric. Food Chem*. 60(2012), 3051.
23. D. Cristea, I. Bareau, G. Vilarem, Identification and quantitative HPLC analysis of the main flavonoids present in weld (*Reseda luteola* L.). *Dyes Pigm*. 57(2003), 267-272.
24. A. R. Khataee, G. Dehghan, E. Ebadi, Pourhassan, Central composite design optimization of biological dye removal in presence of macroalgae chara sp. *Clean-Soil, Air, Water*. 38(2010), 750-757.
۲۵. ج. مهرعلی‌پور، ع. ر. دیاری، ه. رضایی وحیدیان، م. ر. سمرقندی، ف. عزیز. بهینه‌سازی فرآیند الکتروپراکسون با بهره‌گیری از مدل آماری رویه پاسخ در رنگبری ماده رنگزای اسید نارنجی ۷ از پساب ساختگی. *نشریه علمی پژوهشی علوم و فناوری رنگ*. (۱۳۹۵)، ۱۰، ۲۴۷-۲۵۸.
26. K. S. Suslick, R. E. Cline, D. A. Hammerton, Sonochemical hot spot. *J. Amer. Chem. Soc*. 108(1986), 5641.
27. K. S. Suslick, Y. Didenko, M. M. Fang, Acoustic cavitation and its chemical consequences. *Phil. Trans. R. Soc. A*, 357(1999), 357-355.