بهینه‌سازی استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان به روش آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت

محمدعلی شب خیز[۱]، محمدحسن ایکانی[۲*]، فرشته گل محمد[۳]، زین العابدین بشیری صدر[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، صنایع غذایی، پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

۲. دانشیار، گروه صنایع غذایی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

۳. استادیار، صنایع شیمیایی آلی و دارویی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

۴. مربی، صنایع شیمیایی آلی و دارویی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران

(تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۴ ، تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۶)

چکیده

در این تحقیق، عصاره ریشه شیرین بیان به روش استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت، استخراج و میزان اسید گلیسیریزیک موجود در آن مورد مطالعه قرار گرفت و تاثیر پارامترهای مختلف از جمله دما و شدت جریان حلال در فشار ثابت بررسی گردید. برای آنالیز از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بهره گرفته شد. هدف از این تحقیق به‌دست آوردن شرایط بهینه استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان با روش استخراج با آب داغ تحت فشار و با بهره‌گیری از روش آماری سطح پاسخ (RSM) بود. بیش‌ترین بازده استخراج اسید گلیسیریزیک از شیرین بیان در فشار ثابت ۱۵ بار و اندازه ذرات ۱ میلی‌متر، در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و شدت جریان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه به‌دست آمد. استخراج با آب داغ تحت فشار با شیوه معمول استخراج با سوکسله مقایسه گردید. نتایج نشان داد استخراج با آب داغ تحت فشار توانایی بیش‌تری را در استخراج اسید گلیسیریزیک، ۵۱/۵۷۰ میلی‌گرم برگرم نمونه خشک، در مقایسه با روش معمول سوکسله (۲۸/۷۶۰ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک) داشت.

واژه‌های کلیدی: استخراج، آب داغ تحت فشار، شیرین بیان، اسید گلیسیریزیک، سطح پاسخ.

* نویسنده مسئول: mheikani@gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

در تمامی فرایندهای استخراج یک یا چند جزء، از یک فاز به فاز دیگری منتقل می‌شوند. روش‌های متداول استخراج مانند استخراج سوکسله[1] معمولا با مصرف مقادیر زیادی از حلال‌های آلی زیان‌آور همراه هستند و در بسیاری موارد به‌کارگیری این گونه مواد، مواد زائد مضری ایجاد می‌کند که باید در سطح جهانی مورد توجه قرار گیرند. امروزه بر استفاده از روش‌هایی تاکید می‌شود که کم‌ترین حلال آلی را مورد استفاده قرار می‌دهند و یا به‌طور کلی از حلال‌های آلی استفاده نمی‌شود. از جمله این روش‌ها، روش استخراج با آب داغ تحت فشار[2] است. این روش استخراج برای استخراج حرارتی ترکیبات قطبی و غیرقطبی در اغلب گیاهان دارویی استفاده شده است [۱].

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra L* و با نام انگلیسی Licorice، گیاهی علفی، درختچه‌ای و چند ساله، یکی از گیاهان دارویی مهم که متعلق به تیره اصلی بقولات[3] و تیره پروانه واران[4] و از راسته گل سرخیان[5] است. گلیسیریزا گلابرا یک نام یونانی است و از دو واژه گلیکیس به معنی شیرین و ریزا به معنی ریشه مشتق شده است و گلابرا به معنای صاف و بدون کرک است که به بدون کرک بودن میوه این گیاه اشاره دارد. این گیاه در طب سنتی، صنایع داروسازی، صنایع دخانیات و در صنایع‌غذایی مانند صنایع نوشابه‌سازی، تولید محصولات غذایی پخته شده، صمغ‌های جویدنی (آدامس) و شیرینی سازی کاربرد دارد [۴-۲] و به علت مصارف گسترده جهانی از ارزش تجاری قابل توجهی در دنیا برخوردار است. ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸درصد)، فلاوونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ، نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها می‌باشد [۵]. عمده‌ترین و مهم‌ترین ساپونین آن اسید گلیسیریزیک[6] با فرمول $C_{۴۲}H_{۶۲}O_{۱۶}$ می‌باشد شکل ۱ که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسیرتنیک (آگلیکون) تشکیل و شیرینی آن ۳۰ تا ۵۰ برابر و در برخی موارد تا ۱۰۰ برابر ساکارز گزارش شده است. اسید گلیسیریزیک دارای این ویژگی است که طعم آن در دهان به مدت طولانی باقی مانده و شیرینی آن به تدریج احساس می‌شود. این ویژگی‌ها موجب شده است که به عنوان شیرین کننده‌ای مجاز با کالری پایین و تشدید کننده طعم[7] بدون مشارکت در ایجاد بیماری‌ها و عوارضی چون دیابت، پوسیدگی دندان، در صنایع غذایی کاربرد یابد [۶]. از طرفی این ترکیب دارای خواص فارماکولوژیک گسترده‌ای می‌باشد که می‌توان به اثرات ضدالتهابی و ضدحساسیتی آن در آسم، ممانعت از ترشح اسید معده، بهبود زخم معده و اثنی عشر، بهبود اختلال عملکرد کبد، رفع اگزما و سایر بیماری‌ها اشاره کرد [۲، ۳، ۴، ۶ و ۷].

بررسی مراجع علمی نشان می‌دهد که پژوهش‌گران مختلف روش‌های متفاوت استخراج اسید گلیسیریزیک از پودر ریشه شیرین بیان را مورد بررسی قرار داده‌اند که اغلب بر اساس استخراج با آب داغ در فشار محیط و استفاده از اسیدها و قلیاها و یا هر دو و سایر مواد شیمیایی همانند متانول و اتانول و افزودن آن به آب داغ یا بخار برای افزایش بهره استخراج بوده است[۵، ۶، ۸ و ۹]. در روش‌های سنتی استخراج، علاوه‌بر مصرف مقادیر زیاد حلال، مدت زمان استخراج، طولانی و به تبع آن مصرف انرژی نیز بالاست. در سال‌های اخیر روش‌هایی نوینی برای استخراج اسید گلیسیریزیک توسعه پیدا کرده است برای نمونه پن و همکاران در سال ۲۰۰۰ استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان را توسط استخراج با کمک مایکروویو (MAE)[8] ابداع کردند. تحت شرایط مناسب استخراج با کمک مایکروویو، به عنوان مثال زمان استخراج ۵-۴ دقیقه، غلظت اتانول (حجمی/حجمی) ۶۰-۵۰٪، غلظت آمونیاک (حجمی/حجمی) ۲-۱٪ و نسبت مایع به جامد ۱۰ میلی‌لیتر به ۱ گرم، بازیابی اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان توسط این روش همانند روش‌های استخراج متداول بود. این روش‌ها شامل استخراج در دمای اتاق، استخراج به روش سنتی با سوکسله، استخراج با رفلاکس حرارتی و استخراج اولتراسونیک می‌باشد. با توجه به کم‌تر بودن زمان و میزان حلال مورد استفاده نسبت به روش‌های متداول، روش

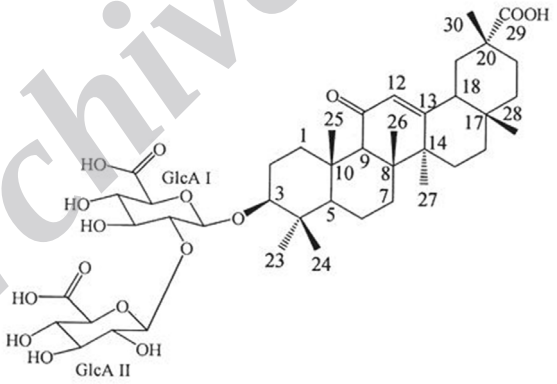
1. Soxhlet
2. Pressurized Hot Water Extraction, (PHWE)
3. leguminoseaa
4. Fabaceae
5. Rosales
6. Glycyrrhizic acid
7. Flavour enhancer
8. Microwave-assisted extraction

Archive of SID

www.SID.ir

استخراج توسط مایکروویو مناسب‌تر است [۹]. یک روش جدید برای جداسازی مونوآمونیوم گلیسیریزات از ریشه شیرین بیان در سال ۲۰۰۸ ابداع شد. در این فرایند آمونیاک در آب داغ حل شد و با تزریق دی اکسید کربن فشار سیستم بالا برده شد. این روش در واقع یک نوآوری از روش استخراج با آب گرم تحت فشار زیاد بوده که در آن با تغییر متغیرهایی نظیر دما، ۱۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد، فشار، ۱۰-۱ اتمسفر، زمان استخراج، ۱۲۰-۶۰ دقیقه، نسبت آب به جریان ورودی، ۴۰-۲۰ میلی‌لیتر بر گرم، تعداد مراحل، ۳-۱، سرعت هم‌زدن، ۳۵۰-۰ دور در دقیقه، غلظت آمونیاک، ٪۴-۰/۰۱ وزنی حجمی و هم‌چنین خرد کردن ریشه، بهترین شرایط برای بیش‌ترین بازیافت مونوآمونیوم گلیسیریزات به‌دست آمد. براساس این مطالعه، بیش‌ترین بازیافت مونوآمونیوم گلیسیریزات از ریشه شیرین بیان در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۵ اتمسفر با نسبت ۴۰ میلی‌لیتر بر گرم از محلول آمونیاک یعنی ٪۰/۰۱ وزنی حجمی، به جریان پودر ورودی و پس از ۹۰ دقیقه استخراج حاصل شد [۵]. در سال ۲۰۱۲ استخراج اسید گلیسیریزیک با استفاده از امواج فراصوت از ریشه شیرین بیان استخراج گردید. پارامترهای مختلفی چون زمان استخراج، نسبت حلال به ماده حل شونده، دما و فرکانس امواج فراصوت که عوامل مؤثر بر بازده اسید گلیسیریزیک هستند، بهینه‌سازی شدند. بیش‌ترین میزان بازده اسید گلیسیریزیک در طی ۱۰ دقیقه، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، فرکانس ۲۵ کیلو هرتز و نسبت حلال به ماده حل شونده ۱:۳۰ حاصل شد. در واقع استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به روش متداول یعنی روش سوکسله، استخراج اسید گلیسیریزیک نه تنها باعث کاهش زمان فرایند شد، بلکه میزان بازده را نیز افزایش داد [۱۰]. لذا در توسعه روش‌های جدید استخراج، مانند استخراج با اولتراسونیک و مایکروویو اهدافی مانند کاهش مدت زمان استخراج، کاهش حلال مورد استفاده و بهبود کارایی استخراج دنبال می‌شود.

هدف در این پژوهش تعیین شرایط بهینه استخراج اسید گلیسیریزیک از پودر ریشه شیرین بیان با استفاده از آب داغ تحت فشار بود. در این تحقیق برای نخستین بار استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت برای استخراج اسید گلیسیریزیک به‌کار گرفته شد و پارامترهای تاثیرگذار در روند استخراج، از جمله دما و شدت جریان حلال مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصله با روش استخراج مرسوم سوکسله مقایسه گردید.



شکل (۱) ساختار اسید گلیسیریزیک

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ریشه شیرین بیان از آزمایشگاه گیاهان دارویی پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به روش نمونه‌برداری ساده تهیه شد. ریشه‌های شیرین بیان پس از تمیز شدن و گرفتن گل و لای آن، با قیچی باغبانی به قطعات کوچک‌تری بریده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ هفته خشک شدند. سپس ریشه‌ها با آسیاب چکشی، پودر و در کیسه پلی اتیلنی در فریزر، در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد، نگه‌داری شدند. میانگین

Archive of SID

www.SID.ir

درصد رطوبت (وزنی/وزنی) ریشه‌های شیرین بیان ۵/۴۹٪ بود. مونوآمونیوم گلیسیریزیک اسید با درجه خلوص ۹۹/۵٪ به عنوان استاندارد HPLC شرکت سیگما[1] و آب، اتانول، متانول، آمونیاک غلیظ مربوط به شرکت مرک[2] آلمان به‌کار برده شد. کارتریج‌های تجاری C_{18}، شرکت ماچ ری-ناگل، آلمان، سرنگ ۵۰۰ میلی‌گرم بر ۳ میلی‌لیتر، برای فیلتر کردن نمونه‌های تزریقی به HPLC استفاده شدند.

۲-۲- استخراج با سوکسله

۵ گرم نمونه پودر شده با نسبت ۲۰ به ۱ با حلال یعنی ۹۸ میلی‌لیتر اتانول ۶۰٪، ۲ میلی‌لیتر آمونیاک غلیظ، مخلوط و در دستگاه سوکسله به مدت ۴ ساعت قرار داده شد [۱۰-۸]. عصاره حاصله در خشک کن فن دار در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آب آمونیاکی (۸ گرم بر لیتر) حل گردید و پس از فیلتر، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول مذکور برداشته شد و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر با محلول آب آمونیاکی به حجم رسید و سپس با HPLC آنالیز گردید. بازده استخراج ۲۸/۷۶۰ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک بود.

۲-۳- استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت

دستگاه استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت که در شکل ۲ نشان داده شده، در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران طراحی و ساخته شده است. دستگاه این قابلیت را دارد که در محدوده دماهای آب فوق داغ نیز به‌کار برده شود. پیش‌بینی بخش‌های مختلف پایلوت به نحوی صورت گرفت که امکان انجام فرایند در شرایط فرایندی زیر مهیا شود:

- قابلیت کار در دمای اتاق تا حداکثر ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد
- قابلیت کار در فشار اتمسفریک تا حداکثر ۳۵ بار
- امکان تامین دبی سیال از ۱۰۰ میلی‌لیتر تا ۸ لیتر بر دقیقه
- قابلیت بارگیری بر اساس نوع گیاه تا ۳ کیلوگرم.

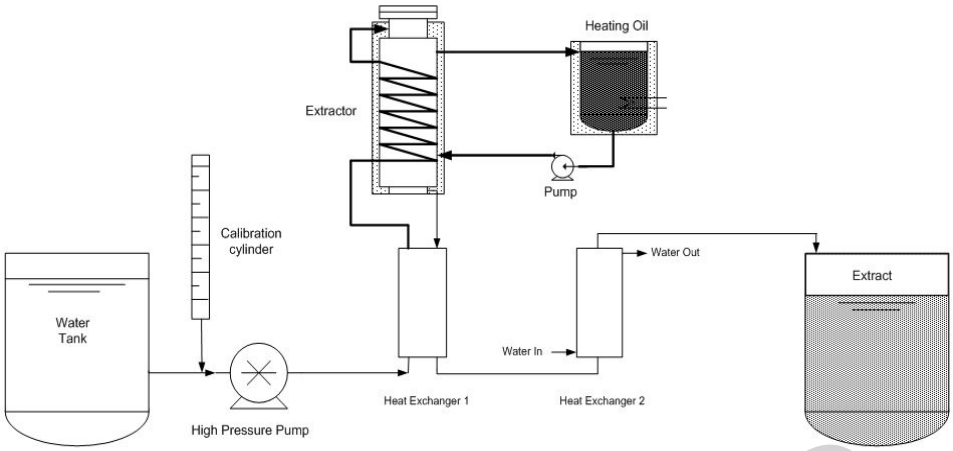
شکل (۲) شماتیک دستگاه استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت

دیاگرام دستگاه آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت در شکل ۳ آمده است. این دستگاه شامل دو مخزن، مخزن خوراک آب و مخزن عصاره استخراجی که از جنس استیل ضد زنگ ۳۰۴ به حجم ۱۴۰ لیتر می‌باشد. پمپ فشار قوی IDEAL Co. (SINGLE PHASE ELECTRIC MOTOR – TYPE: YL90L-2) برای ایجاد فشار در سیستم و انتقال آب در شدت جریان‌های مورد نیاز استفاده شده است. خروجی پمپ می‌تواند در سرعت‌های جریان مورد نیاز با دکمه ضربان تنظیم شده و با استفاده از استوانه کالیبراسیون (۵ لیتری) تعبیه شده در ورودی خط لوله بررسی شود. سیستم گرمایش، از جمله اقتصادی‌ترین روش‌ها برای بالا بردن دمای آب تا

1. Sigma
2. Merck

Archive of SID

www.SID.ir



شکل (۳) دیاگرام سیستم استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت

حداکثر ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و انجام عمل استخراج در مقیاس پایلوت استفاده از روغن داغ است. در ساخت پایلوت استخراج، مخزنی مجزا با المنت‌های برقی با ظرفیت ۲ کیلووات برای این کار در نظر گرفته شده است. برای ایمنی بالاتر، از روغن سیلیکون به میزان ۲۰ لیتر به عنوان سیال داغ استفاده شده است. مهم‌ترین بخش دستگاه، محفظه استخراج آن است. محفظه استخراج از جنس استیل ضد زنگ ۳۰۴ به حجم ۵ لیتر، قطر داخلی ۱۰۰ میلی‌متر، ضخامت ۸ میلی‌متر، طول ۸۵۰ میلی‌متر، در نظر گرفته شده است و برای استقرار نمونه گیاهی، از یک سبد فلزی که به راحتی در داخل ظرف قرار گیرد، استفاده می‌شود. فشار و دما در قبل و بعد از محفظه استخراج توسط آشکارگرهای دما و فشار نشان داده می‌شود. برای استفاده بهینه از انرژی و به حداقل رساندن اتلاف انرژی، از دو مبدل گرمایی دوجداره[1] استفاده شده است. در مبدل گرمایی اول در جداره داخلی و بیرونی به ترتیب آب سرد خوراک و عصاره داغ خروجی از ظرف استخراج و در مبدل گرمایی دوم در جداره داخلی عصاره نیمه داغ و در جداره بیرونی آب سرد شهری عبور داده شده است. بدین شکل آب سرد خوراک عصاره داغ را در یک مرحله سرد نموده و خود پیش‌گرم می‌شود. مبدل دوم یک تجهیز کمکی بوده و برای سردسازی کامل عصاره تا دمای محیط استفاده می‌شود. برای حفاظت از پمپ و رگلاتور کنترل فشار، از دو عدد فیلتر ۱۴۰ میکرون ساخت شرکت ناپرو[2] آمریکا از جنس استیل ضد زنگ ۳۱۶ استفاده شده است. اولین پمپ در مسیر ورودی به پمپ و دومین فیلتر در خروجی مبدل گرمایی و قبل از ورود عصاره به رگلاتور نصب شده است.

۲-۴- روش آنالیز با HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ساخت شرکت Waters آمریکا، شامل دو پمپ Waters 510 HPLC Pump، شیر تزریق Waters U6K، آشکار کننده UV با طول موج ۲۵۴ nm و ستون C_{18}[3] می‌باشد. نوع کروماتوگرافی با توجه به نوع ترکیبات، کروماتوگرافی فاز معکوس انتخاب شد. فاز متحرک شامل مخلوط آب، استیک اسید و متانول با نسبت‌های مشخص و حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر با دبی ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود [۱۱]. پیک مربوط به کروماتوگرام اسید گلیسیریزیک در زمان بازداری ۱۶/۳۸ دقیقه از ستون خارج شد که در شکل ۴ نشان داده شده است. مقدار اسید گلیسیریزیک با استفاده از مساحت سطح زیر پیک محاسبه گردید.

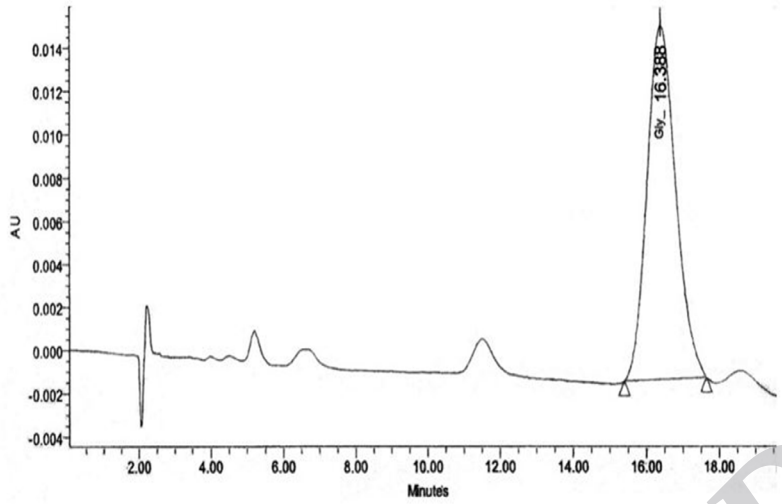
۲-۵- روش آماری

تحلیل آماری با نرم افزار Minitab انجام شد روش مورد استفاده، DOE[4] و روش سطح پاسخ بود. RSM مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرایندهایی به‌کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه

1. Double pipe
2. Nupro
3. µBondapak octadecylsilyl silicagel 10 µm (3.9×300mm)
4. Design of experiment

Archive of SID

www.SID.ir



شکل (۴) کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز نمونه عصاره شیرین بیان با HPLC

متدولوژی رویه پاسخ شده است. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. مهم‌ترین مسئله این تحقیق بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود. از این رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب شد. در این مطالعه اثر متغیرهای مستقل شامل X_i دما و X_j شدت جریان مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول ۱ نشان داده شده است. ۳ تکرار نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده شد [۱۲].

مدل مورد استفاده در روش سطح پاسخ به طور معمول رابطه درجه دوم می‌باشد.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{2} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{2} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i<j} \beta_{ij} X_i X_{ij} \quad (۱)$$

که β_0، β_i، β_i و β_{ij} ضرایب رگرسیونی برای به ترتیب عرض از مبداء، خطی، درجه دوم و بر هم کنش و X_i و X_j متغیرهای کدبندی شده هستند.

۳- نتایج و بحث

بر اساس جدول آزمایشات طراحی شده توسط نرم افزار آماری مینی تب[1]، ۱۱ مورد استخراج نهایی انجام شد. با توجه به تحقیقات قبلی در بین پارامترهای موثر، فشار کم‌ترین اهمیت دارد لذا فشار در ۱۵ بار در همه آزمایش‌ها ثابت در نظر گرفته شد و تاثیر پارامترهای دما، ۹۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد و شدت جریان، ۳۰۰-۱۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، بر میزان استخراج اسید گلیسیریزیک مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۲ نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. به کمک ضرایب رگرسیون اثر شرایط استخراج بر روی متغیرهای وابسته محاسبه شد. جدول‌های ۳ و ۴ نتایج حاصل از تجزیه آماری را نشان می‌دهد.

جدول (۱) نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها

متغیرهای مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		+۱	۰	-۱
دما (درجه سلسیوس)	X_i	۹۰	۷۵	۶۰
شدت جریان (میلی لیتر در ثانیه)	X_j	۳۰۰	۲۰۰	۱۰۰

1. Minitab,Ver.17

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۲) نتایج به‌دست آمده از استخراج اسید گلیسیریزیک به روش آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت

شماره تیمار	دما (درجه سلسیوس)	شدت جریان (میلی‌لیتر بر دقیقه)	درصد استخراج	مقدار اسید گلیسیریزیک بدست آمده (mg/50g)	راندمان پیش بینی شده (mg/50g)
۱	۶۰	۱۰۰	۲/۶۷۴	۱۳۳۷/۴۰۰	۱۳۵۵/۰۵۰
۲	۶۰	۲۰۰	۴/۲۴۹	۲۱۲۴/۹۰۰	۲۱۴۵/۰۲۰
۳	۶۰	۳۰۰	۴/۳۲۰	۲۱۶۰/۰۰۰	۲۱۲۲/۲۳۰
۴	۷۵	۱۰۰	۲/۷۳۵	۱۳۶۷/۵۵۰	۱۴۲۰/۰۸۰
۵	۷۵	۲۰۰	۴/۴۲۸	۲۲۱۴/۰۰	۲۱۱۳/۰۳۰
۶	۷۵	۲۰۰	۴/۵۱۸	۲۲۵۹/۰۰	۲۱۱۳/۰۳۰
۷	۷۵	۲۰۰	۴/۳۲۰	۲۱۶۰/۰۰	۲۱۱۳/۰۳۰
۸	۷۵	۳۰۰	۴/۶۴۰	۲۳۲۰/۲۰۰	۲۲۶۱/۵۸۰
۹	۹۰	۱۰۰	۳/۳۷۶	۱۶۸۷/۹۵۰	۱۶۱۷/۷۷۰
۱۰	۹۰	۲۰۰	۴/۵۹۷	۲۲۹۸/۶۰۰	۲۴۳۶/۴۸۰
۱۱	۹۰	۳۰۰	۵/۱۵۷	۲۵۷۸/۵۰۰	۲۵۱۰/۸۰۰

جدول (۳) تجزیه واریانس تاثیر دما و شدت جریان بر میزان استخراج اسید گلیسیریزیک به روش آب داغ تحت فشار

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F value	P value
مدل	۵	۱۵۹۰۲۹۸	۳۱۸۰۶۰	۵۵/۴۷	۰/۰۰۰ *
خطی	۲	۱۳۳۲۵۴۵	۶۶۶۲۷۲	۱۱۶/۲۰	۰/۰۰۰ *
دما	۱	۱۴۸۱۳۰	۱۴۸۱۳۰	۲۵/۸۴	۰/۰۰۴ *
شدت جریان	۱	۱۱۸۴۴۱۵	۱۱۸۴۴۱۵	۲۰۶/۵۷	۰/۰۰۰ *
دما×دما	۱	۶۷۰۷	۶۷۰۷	۱/۱۷	۰/۳۴۸ *
شدت جریان×شدت جریان	۱	۲۵۳۶۴۳	۲۵۳۶۴۵	۴۴/۲۴	۰/۰۰۱
دما×شدت جریان	۱	۱۱۵۴	۱۱۵۴	۰/۲۰	۰/۶۷۲
خطای آزمایش	۵	۲۸۶۶۸	۵۷۳۴		
کل	۱۰	۱۶۱۸۹۶۷			
آزمون ضعف برازش[1]	۳	۲۳۷۵۴	۷۹۱۸	۳/۲۲	۰/۲۴۶

* تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد (P<۰/۰۵)

ضریب تبیین (R-sq) ٪۸۵/۲۸

ضریب تبیین اصلاح شده (R-sq.ad) ٪۹۸/۲۳

ضریب تبیین پیش بینی شده (R-sq.pred) ٪۷۵/۷۲

1. Lack of fit

Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۴) مقادیر ضرایب مدل رگرسیون برازش شده

ضرایب رگرسیون	درجه آزادی			
	تاثیر	ضریب	خطای استاندارد ضرایب	P value
ثابت (β_0)	۲/۳۱۴	۲۱۹۰/۷	۳۸/۸	* ۰/۰۰۰
دما (β_1)	۶/۸۸۸	۱۵۷/۱	۳۰/۹	* ۰/۰۰۴
شدت جریان(β_2)	۹/۱۰۲	۴۴۴/۳	۳۰/۹	* ۰/۰۰۰
دما×دما (β_{11})	- ۸/۶۳۲	۵۱/۵	۴۷/۶	* ۰/۳۲۹
شدت جریان×شدت جریان (β_2)	۰/۳۴	-۳۱۶/۴	۴۷/۶	۰/۰۰۱
دما×شدت جریان (β_{12})		۱۷/۰	۳۷/۹	۰/۶۷۲

* تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد (P<۰/۰۵)

مدل نهایی برای متغیرهای وابسته

Y = 618.0 - 9.117 Tempreture - 1.26 Flow rate + 0.03376 Tempreture*Tempreture + 0.278 Flow rate*Flow rate + 0.0219 Tempreture*Flow rate

۳-۱- بررسی اثر دما

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار دما در مقیاس پایلوت بر نسبت استخراج اسید گلیسیریزیک در دماهای مختلف در سطح اطیمنان پنج درصد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که با افزایش دما از ۶۰ به ۹۰ درجه سانتی‌گراد مقدار اسید گلیسیریزیک بیش‌تری استخراج شده است؛ چرا که در شرایط دمای بالا، مزایای فیزیکی نظیر نفوذ بالا، ویسکوزیته پایین و کشش سطحی پایین به‌دست می‌آیند و از طرفی افزایش دما باعث می‌شود انتقال جرم بهتری صورت بگیرد و همین امر موجب بهبود کارایی استخراج می‌گردد [۱۳]. بنابراین نظر به این‌که بیش‌ترین مقدار اسید گلیسیریزیک در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمده، لذا این دما به عنوان دمای بهینه استخراج اسید گلیسیریزیک تعیین گردید.

۳-۲- بررسی اثر شدت جریان

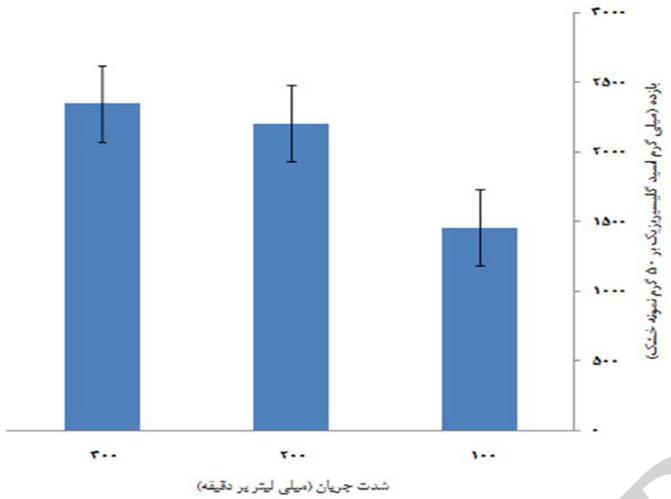
اثر افزایش شدت جریان حلال، در سه سطح دمایی بر میانگین میزان استخراج بررسی گردید. با توجه به این‌که مدت زمان استخراج برای هر نمونه ۹۰ دقیقه در نظر گرفته شده بود، عصاره حاصله در دبی‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، به ترتیب ۹، ۱۸ و ۲۷ لیتر بود. در دبی‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه میانگین میزان استخراج بدون در نظر گرفتن دما، ۱۴۶۴/۳، ۲۲۱۱/۵ و ۲۳۵۹/۹ میلی‌گرم در ۵۰ گرم نمونه خشک بود (شکل ۵). همان‌طور که در نمودار هم مشخص است، مقدار اسید گلیسیریزیک استخراج شده در دبی جریان‌های بالا بیش‌تر می‌شود. لذا افزایش شدت جریان حلال در سطح اطمینان ۵ درصد اثر معنی‌داری بر میزان استخراج اسید گلیسیریزیک دارد. به نظر می‌رسد افزایش دبی جریان باعث افزایش سرعت سطحی و به دنبال آن انتقال جرم سریع‌تر می‌شود [۱۴، ۱۵]. هدف در این مطالعه استخراج بیش‌ترین مقدار اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان بود و بر اساس آزمایشات، این مهم در شدت جریان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه محقق شد. بنابراین این شدت جریان به عنوان شدت جریان بهینه انتخاب گردید. هم‌چنین بالا بودن ضریب رگرسیونی شدت جریان نسبت به ضریب رگرسیونی دما، نشان دهنده تاثیر بیش‌تر این فاکتور نسبت به عامل دما در این محدوده دمایی است.

۳-۳- بهینه‌یابی استخراج اسید گلیسیریزیک به روش آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت

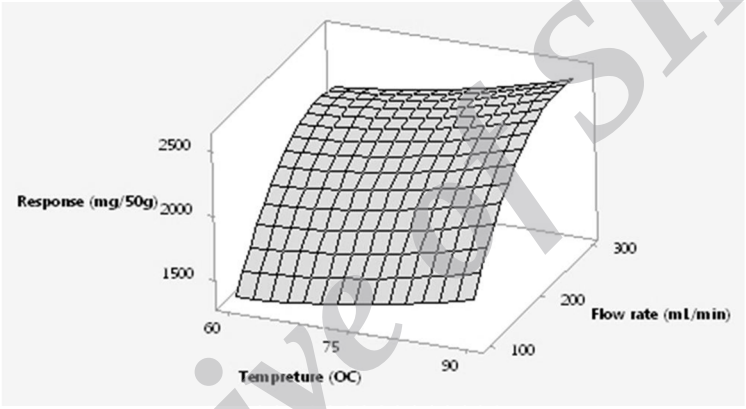
مدل‌سازی و بهینه‌سازی استخراج اسید گلیسیریزیک به روش آب داغ تحت فشار در شکل ۶ آمده است و تاثیرات دما و شدت جریان بر راندمان استخراج را نشان می‌دهد. در این تحقیق هدف

Archive of SID

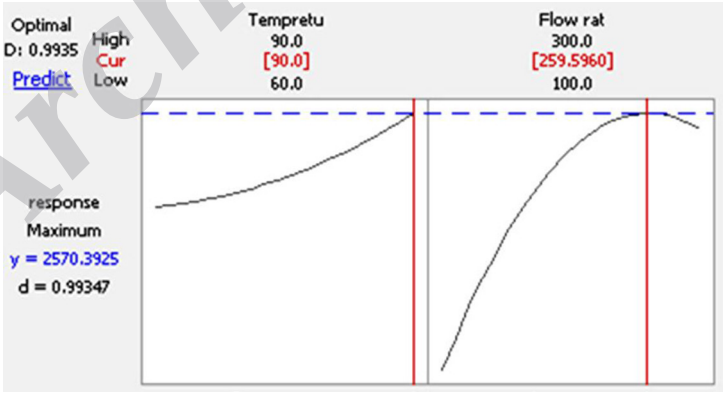
www.SID.ir



شکل (۵) میانگین میزان استخراج در شدت جریان‌های مختلف حلال



شکل (۶) نمایش سه بعدی سطح پاسخ مربوط به تاثیرات دما و شدت جریان بر روی راندمان استخراج در مقیاس پایلوت



شکل (۷) شرایط بهینه استخراج اسید گلیسیریزیک در مقیاس پایلوت

در بهینه‌سازی، بیشینه‌سازی مقدار محتوای اسید گلیسیریزیک در عصاره‌های استخراجی بود. بررسی نتایج آزمایش‌ها مربوط به این روش استخراج نشان داد که بهترین شرایط برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان در فشار ثابت ۱۵ بار و اندازه ذرات ۱ میلی‌متر، دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و شدت جریان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه می‌باشد (شکل ۷).

Archive of SID

www.SID.ir

۳-۴- مقایسه استخراج اسید گلیسیریزیک با روش آب داغ تحت فشار با روش استخراج سوکسله

در جدول ۵ مقدار اسید گلیسیریزیک به‌دست آمده با استخراج به روش آب داغ تحت فشار و استخراج با سوکسله را نشان داده شده است. مقدار اسید گلیسیریزیک استخراج شده با روش آب داغ تحت فشار و سوکسله به ترتیب ۵/۱۵۷ و ۲/۸۷۶ درصد بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصله روش استخراج با روش آب داغ تحت فشار بازده بیش‌تری در مقایسه با استخراج با سوکسله دارد. در روش استخراج با آب داغ تحت فشار از حلال آلی استفاده نشده و زمان استخراج در این روش ۹۰ دقیقه است که نسبت به روش استخراج با سوکسله ۲۴۰ دقیقه، به مراتب کم‌تر است که در وقت و انرژی صرفه‌جویی می‌شود. لذا با نگاهی اجمالی به این دو روش می توان روش استخراج با آب داغ تحت فشار را سرآمد و روشی سبز در استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان دانست.

جدول (۵) مقایسه میزان اسید گلیسیریزیک استخراج شده با روش‌های آب داغ تحت فشار و سوکسله

ترکیب	استخراج با آب داغ تحت فشار * (mg/50g)	استخراج با سوکسله** (mg/g)
اسید گلیسیریزیک	۲۵۷۸/۵۰۰	۲۸/۷۶۰
	٪۵/۱۵۷	٪۲/۸۷۶

* مدت زمان استخراج ۹۰ دقیقه، دما ۹۰ درجه سانتیگراد، شدت جریان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، اندازه ذرات ۱ میلی‌متر

** مدت زمان استخراج ۲۴۰ دقیقه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال (۹۸ میلی‌لیتر اتانول ٪۶۰+ ۲ میلی‌لیتر آمونیاک غلیظ)

۴- نتیجه گیری

استخراج با روش آب داغ تحت فشار به‌طور موفقیت آمیزی برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان به‌کار گرفته شد. میزان استخراج اسید گلیسیریزیک در روش استخراج با آب داغ تحت فشار به میزان ۵۱/۵۷۰ میلی‌گرم بر گرم، در مقایسه با روش استخراج با سوکسله به میزان ۲۸/۷۶۰ میلی‌گرم بر گرم، بازده بالاتری دارد. شرایط بهینه استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان به روش آب داغ تحت فشار در مقیاس پایلوت در فشار ثابت ۱۵ بار و اندازه ذرات ۱ میلی‌متر، دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و شدت جریان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه تعیین گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

[۱] عبداللهی گوار، آ.؛ گودرزنیا، ا. (۱۳۸۷) استخراج با آب فوق داغ و کاربرد آن در استخراج ترکیبات مفید از گیاهان. *مجله مهندسی شیمی ایران*، شماره ۳۷، ص ۶۳-۴۷.

[2] Kitagawa, I. (2002). Licorice root A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine. *J. Pure Appl. Chem*., 74 (7), 1189–1198.

[3] Fenwick, G.R., Lutomski, J., Nieman, C. (1990). Liquorice, Glycyrrhiza glabra L. composition, usese and analysis. *J. Food Chem*., 38, 119–143.

[۴] رضایی، م.؛ جایمند، ک. (۱۳۷۹) *ترکیب‌های شیمیایی در گیاهان دارویی*، جلد دوم، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، ص ۲۵-۱۸.

[5] Mukhopadhyay, M., Panja, P. (2008). A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (Glycyrrhiza glabra) roots. *J. Sep. Purif. Techno*., 63, 539–545.

[6] Hough, C.A.M. (1973). Developments in sweeteners-1, edited by Hough C.A.M ., parker, K.J., Vlitos, *A.J*, LTD London, pp 140-143.

[۷] خان احمدی، م.؛ نقدی بادی، ح.؛ آخوندزاده، ش.؛ خلیقی سیگارودی، ف.؛ مهرآفرین، ع.؛ شهریاری، س.؛ حاجی آقایی، ر. (۱۳۹۲) مروری بر گیاه شیرین بیان. *فصلنامه گیاهان دارویی*، شماره۴۶، ص ۱-۱۲.

[8] Wang, Q., Ma, Sh., Fu, B., Lee, F.S.C., Wang, X. (2004). Development of multi–stage countercurrent extraction technology for the extraction of glycyrrhizic acid (GA) from licorice (Glycyrrhizia uralensis Fisch). *Biochem. Eng. J*., 21, 285–292.

[9] Pan, X., Liu, H., Jia, G., Shu, Y.Y. (2000). Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root, *Biochem. Eng. J*., 5, 173–177.

[10] Charpe, T.W., Rathod, V.K. (2012). Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root using ultrasound: Process intensification studies. *Chem. Eng. Process*., 54, 37–41.

[11] The British Pharmacopoeia. (2009). London: British Pharmacopoeial Commission, 2, pp: 1-3.

[12] Sin, H.N., Yusof, S., Sheikh Abdul Hamid, N., Abd. Rahman, R. (2006). Optimization of hot water extraction for sapodilla juice using response surface methodology. *J. Food Eng*., 74, 352-357.

[13] Goto, M., Sato, M., Hiroshe, T. (1993). Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide, *J. Chem. Eng*. JPN., 26, 474-481.

[14] Eikani M.H., Golmohammad, F., Rowshanzamir, S., (2007). Subcritical Water extraction of essential oils from coriander seeds. *J. Food Eng*., 80, 735-740.

[15] Cacace, J.E., Mazza, G. (2006). Pressurized low polarity water extraction of lignans from whole flaxseed. *J. Food Eng*., 77, 1087-1095.

Archive of SID

www.SID.ir