عنوان طرح:

تدوین دانش فنی تهیه ترکیب فاقد گلیسریزین حاوی فلاونوئید بالا از گیاه شیرین بیان در مقیاس بنچ

کد طرح: 55-2156

واحد سازمانی مجری : سازمان کرمانشاه

گروه پژوهشی : شیمی

مسئول اجرای طرح: معصومه خان احمدی

ماه و سال اختتام طرح:

خرداد ماه 1397

Archive of SID

www.SID.ir

1-کلیات.....

1-1- مقدمه 1

1-2- هدف.....2

1-3-ضرورت اجرای طرح 3

1-4-نوآوری تحقیق 4

1-5- نام گیاه 5

1-5-1- گونه های شیرین‌بیان تولیدکننده گلیسیریزین 5

1-5-2- مشخصات گیاه شناسی 5

1-5-3- پراکنش 5

1-5-4- زراعت گیاه 6

1-5-4-1- نیازهای اکولوژیکی 6

1-5-4-2- مواد وعناصر غذایی مورد نیاز 6

1-5-4-3- آماده سازی خاک.....6

1-5-4-4- تاریخ وفواصل کشت.....7

1-5-4-4- تناوب کشت.....8

1-5-4-5- روش کاشت 8

1-5-4-6- مراقبت و نگهداری 9

1-5-4-7- برداشت محصول.....9

1-5-4-8- آفات وبیماریهای گیاهی.....10

1-6- ترکیبات شیمیایی فعال ازانواع مختلف گونه های گیاه شیرین‌بیان.....10

Archive of SID

www.SID.ir

1-6-1- ساپونین‌ها 10
1-6-2- اسیدگلیسیریزیک 10
1-6-3- فلاونوئیدها 11
1-6-4- گلابریدین(Glabridin) 11
1-6-5- ایزوفلاون‌ها 11
1-6-6- کومارین‌ها 11
1-6-7- استیلبنوئیدها 12
1-6-8- سایر ترکیبات 12
1-6-9- اسیدگلیسیرتینیک(Glycyrrhetinic acid) 12
2- مواد وروش‌ها 13
2-1- مواد 13
2-2- دستگاه‌ها 13
2-3- محاسبهTotal solid 13
2-4- استخراج گلیسیریزین از ریشه شیرین‌بیان 14
2-4-1- بررسی تاثیرنوع جریان ورودی برراندمان استخراج گلیسیریزین ازگیاه شیرین‌بیان 14
2-4-2- جداسازی گلیسیریزین ازشیرین‌بیان به روش اصلاح شده روسین 14
2-4-3- استخراج نمک آمونیومی گلیسیریزین ازشیرین‌بیان به روش استخراج باحلال 15
2-4-4- استفاده ازسورفاکتانت‌های غیریونی دراستخراج گلیسیریزین ازگیاه شیرین‌بیان 16
2-4-5- استخراج گلیسیریزین از شیرین بیان به روش استخراج باحلال 19
2-5- بررسی مشخصات عصاره وترکیبات استخراج شده 21
2-5-1- تعیین مقدار اسیدگلیسیریزیک 21
2-5-2- اندازه‌گیری محتوای فنلی درعصاره 23
2-5-3- اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید نمونه‌ها 23

Archive of SID

www.SID.ir

2-5-4- بررسی مشخصات اسیدگلیسیریزیک حاصل شده 25
2-6- تخلیص نهایی ورنگبریDGL 25
2-7- اصلاح وتوسعه فرآیند تخلیص 26
2-8- بهینه‌سازی شرایط استخراج 26
2-8-1- طراحی آزمایشات 26
2-8-2- انتخاب فاکتورها 27
2-9- ساخت پایلوت تولید عصاره فاقدگلیسیریزین ازگیاه شیرین‌بیان 31
2-9-1- قسمت‌های مختلف دستگاه 32
1-7- کاربردهای شیرین‌بیان 40
1-7-1- کاربرد درطب سنتی 40
1-7-2- مصارف (کاربردهای) صنعتی 40
1-7-3- صنایع بهداشت دهان دندان 41
1-7-4- لوازم آرایشی 41
1-7-5- صنایع غذایی 42
1-7-5-1- افزودنی‌های خوراکی 42
1-7-5-2- صنعت توتون وتنباکو 42
1-7-5-3- شیرینی سازی (قنادی) 43
1-7-5-4- صنایع داروسازی 43
1-7-5-5- عصاره فاقدگلیسیریزین 43
1-8- خواص فارماکولوژیکی 44
1-8-1- فعالیتهای ضدالتهابی 46
1-8-2- فعالیتهای ضد میکروبی وضد ویروس 46
1-8-3- فعالیت‌های تک‌یاختگان 47

Archive of SID

www.SID.ir

1-8-4- فعالیت‌های آنتی اکسیدان 47
1-8-5- اثرات محافظت کبدی 47
1-8-6- فعالیت‌های ضدتوموری 48
1-8-7- تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی 48
1-8-8- مطالعات وبررسی‌های قلبی- عروقی 49
1-8-9- بررسی‌های ایمونولوژیکی 49
1-8-10- بررسی‌های کلیوی 50
1-8-11- فعالیت‌های سمیت سلولی 50
1-8-12- بررسی‌های تنفس 50
1-8-13- بررسی‌های درونریزشناسی 50
1-9- بررسی‌های بالینی 51
1-9-1- اثرات گوارشی 51
1-9-2- بررسی‌های درماتولوژیکی 51
1-9-3- بیماری‌های تنفسی 51
1-9- مسمومیت وعوارض جانبی 52
1-10- روش‌های جداسازی واندازه‌گیری اسیدگلیسیریزیک از گیاه شیرین‌بیان 52
1-10-1- جداسازی اسیدگلیسیریزیک‌ازگیاه شیرین‌بیان به روش اصلاح شده روسین 52
1-10-2- روش استخراج با آب‌داغ تحت فشار(Pressurized Hot water Extraction) 53
1-10-3- روش استخراج با میکروویو(Microwave Extraction) 54
1-10-4- روشاستخراجباسیستم‌هایمایعچندفازی 54
1-10-5- روش استفاده ازرزین‌های ماکرو و متخلخل پلیمری 55
1-10-6- روش استخراج مایع تحت فشار(Pressured Liquid Extraction) 55
1-10-7- روش استفاده ازسورفاکتانت‌های غیریونی‌آبی 56

Archive of SID

www.SID.ir

1-11- روشهای تعیین مقداراسیدگلیسیریزیک 57
1-11-1- روش آنیلین/اسیدسولفوریک 57
1-11-2- روش الکتروفورزموئین 59
1-11-3- روش کروماتوگرافی مایع باکارایی بالا (HPLC) 59
1-12- اهمیت اقتصادی شیرین‌بیان 60
1-12-1- داروهای موجود در بازار ایران 61
1-12-2- آماده سازی وکاربردهای تجاری 62
1-12-3- تجارت وصادرات گیاه شیرین‌بیان 63
1-13- روش‌های طراحی آزمایش 64
1-13-1- تاریخچه طراحی آزمایش 64
1-13-1-1- تعاریف اولیه 64
1-13-1-2- طراحی آمارآزمایشات 65
1-13-1-3- اثرات متقابل بین فاکتورها 65
1-13-1-4- طرح‌های فاکتوریال 66
1-13-1-5- طرح‌های فاکتوریال کامل 66
1-13-1-6- طرح فاکتوریالکسری 67
1-13-1-7- ارزیابیمدل 68
1-13-1-8- طراحی آزمایش‌هابه روش سطح پاسخ برای بهینه‌سازی 68
1-13-1-9- طرح مرکب مرکزی 69
1-13-1-10- طرح فاکتوریال کامل سه‌سطحی 71
1-13-1-11- طرح باکس–بنکن 72
1-13-1-12- روش طراحی فضاپرکن 72
1-13-1-13- طراحی یکنواخت 73

Archive of SID

www.SID.ir

1-14- طراحی واحدپایلوت 74
1-14-1- هدف ازطراحی واحدپایلوت 74
1-14-2- انواع واحدهای پایلوت 75
1-14-3- روش کلی طراحی واحدپایلوت 75
3-نتایج وبحث 79
3-1-نتایج بررسی میزان اسیدگلیسیریزیک دررسوب 79
3-1-1-آنالیزواریانس پاسخ‌هاازنرم‌افزار(Design Expert) 81
3-2-نتایج بررسی اثرتداخلی پارامترهابرGLموجوددررسوب 87
3-2-1- اثرتداخلیpHمحیط وزمان استخراج برمقدارGLموجوددررسوب 87
3-3-نتایج درصد GLدرDGL 89
3-3-1-آنالیزواریانس پاسخ‌هاازنرمافزار(Design Expert) 90
3-4-نتایج بررسی اثرتداخلی پارامترهابرDGL 93
3-4-1-اثرتداخلی زمان استخراج ونسبت جریان ورودی به حلال برمقدارDGL 93
3-4-2-اثرتداخلیpHمحیط وزمان استخراج برمقدارDGL 95
3-5-نتایج بررسی محتوای فنلی موجود در ترکیبات استخراج شده 96
3-6-نتایج بررسی محتوای فلاونوئیدی موجود در ترکیبات استخراج شده 98
3- 7-ارزیابی مدل طراحی درمقیاس پایلوت 99
4- نتیجه‌گیری 101

Archive of SID

www.SID.ir

1- کلیات

1-1- مقدمه

گیاه شیرین‌بیان .*Glycyrrhiza glabra* L یک گیاه چند ساله از خانواده بقولات **Fabaceae** است که به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه دارویی و غذایی مهم در ریشه و ریزوم خود در دنیا حائز اهمیت بوده و مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار گرفته است. این گیاه از گیاهان بومی ایران و گیاهی مرتعی و قابل توجه در امر صادرات در عرصه‌های طبیعی می‌باشد.

G. glabra، یک گیاه چندساله با منشا اروپای جنوبی، آسیا و مدیترانه است و به طور گسترده در روسیه، اسپانیا، ایران و هند کاشته می‌شود. ارتفاع این گیاه 1 تا1/5 متر با برگ های سبز تیره و گل های زرد، آبی یا گل های بنفش و ریزوم‌های شیرین است.

ترکیبات مهم آن فلاونوئیدهای گلیکوزیدی، چالکون‌ها و ایزوفلاونوئیدها هستند. لیکوریتین فلاونوئید مهم این گیاه است. استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها نیز در آن وجود دارند.

عمدتاً 1/5-1 درصد از عصارهٔ محلول در آب را فلاونوئیدها تشکیل می‌دهند.20 درصد ریشه از مواد قابل استخراج محلول در آب است. 25-10 درصد از ریشه ترکیبات گلیسیریزین است.

عمده ترین ساپونین (تری ترپن 5 حلقه‌ای) آن اسید گلیسیریزیک یا گلیسیریزین به فرمول $C_{42}H_{62}O_{16}$می‌باشد که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسرتینیک (آگلیکون) تشکیل شده است. عصاره شیرین‌بیان و اسید گلیسیریزین در ساخت داروهای زیادی استفاده می‌شوند، مشتقات این ترکیب نیز خواص بسیار زیادی دارد به عنوان مثال O-B–اسید هموسیوسینات یا کاربنوکسولون در درمان زخم معده و کابوکسولن به علت خواص ضد التهابی خود در ساخت مواد آرایشی استفاده می‌شوند.

شیرین‌بیان یکی از معروف‌ترین گیاهانی است که به طور گسترده در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در طب سنتی آیوردا برای درمان بیماری چشمی و عفونت گلو، زخم معده، دستگاه گوارش، آرتریت و بیماری کبدی کاربرد دارد. تأثیر آن در درمان این بیماری‌ها به وجود ویژگی های اکسپکتورانت امولینت و خواص ضدتورمی، ضدویروسی، ضدهپاتوتوکسی و ضدباکتری ترکیبات موجود در آن مربوط است. شیرین‌بیان به خاطر ویژگی‌ها و کاربردهای آن در بخش پزشکی و غذایی مورد توجه قرار گرفته است. ریشه ها و ریزوم این گیاه شامل 9-5 درصد گلسیریزین است که به عنوان اسید گلسیریزیک نیز شناخته شده است. گلسیریزین 50 برابر شیرین تر از ساکاروز است. بنابراین به عنوان یک ماده شیرین کننده طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. شیرین‌بیان همچنین در تولید لوازم آرایشی کاربرد دارد،

Archive of SID

www.SID.ir

ویژگی آن در روشن کنندگی پوست، ضد تورم، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن را به یک ماده مفید در کاربردهای گفته‌شده مطرح کرده‌است.

1-2- هدف

مهم‌ترین ترکیب موثر در عصاره ریشه این گیاه ترکیب گلیسیریزین با فرمول ($C_{42}H_{62}O_{16}$) است. دیگر ترکیبات مهم آن فلاونوئیدهای گلیکوزیدی، چالکون‌ها و ایزوفلاونوئیدها هستند. لیکوریتین فلاونوئید مهم این گیاه است. ارزش تجارت شیرین‌بیان در سال 2007، در دنیا 42میلیون دلار برآورد شد. در ایران سالیانه صدها تن از ریشهٔ گیاه شیرین‌بیان با نام لیکوریس (licorice) به صورت پودر، جامد و مایع صادر و فرآورده‌های آنبه کشور واردمیگردد. از عصاره این گیاه در کشورهای پیشرفته دنیا 500 نوع فراورده تولید می‌شود. در حالیکه با توجه به ارزش تجاری این گیاه و وجود مواد اولیه در داخل کشور، فرآوری این گیاه می‌تواند در کشورانجام و فرآورده‌های نیز میتواند عمدتاً در داخل استخراج و صادر گردد.

مصرف عصارهٔ غلیظ اسید گلیسیریزیک(GL) که از شیرین‌بیان استخراج می‌شود، در عین حال که برای درمان زخم های دستگاه گوارش مؤثراست، ولی در اغلب موارد ایجاد ورم مفاصل مچ پا کرده و بعلاوه منجر به افزایش فشار خون می‌شود که برای زنان باردار، کودکان، اشخاص مبتلا به بیماری قند و گلوکومای چشم و بیماران قلبی خطرناک است. مطالعات نشان دادهاست که اگر97 درصد مادهٔ GL از شیرین‌بیان گرفته شود، این عوارض حذف خواهد گردید در حالیکه اثرات درمانی آن برای اولسرها باقی خواهدماند. علیرغم تولید این ماده در اروپا و آمریکا به عنوان دارو و مکمل، متاسفانه درکشور ما تحقیقات بسیارمحدودی در زمینه تهیه DGLصورت گرفته است. نیاز واحدهای عصاره گیری موجود در کشور به دست‌یابی به دانش فنی تهیه بهینه ترکیبات شیرین‌بیان بویژه DGL که مورد پسند بازارهای جهانی است و همچنین تهیه ترکیباتی از آن که با استانداردهای جهانی مطابقت داشته باشند، حائز اهمیت است. این دو موضوع ضرورت تحقیق انجام گرفته را بیشتر می‌سازد. تعریف این پروژه بر مبنای نیازسنجی از واحدهای مختلف عصاره‌گیری شیرین‌بیان بوِیژه شرکت شیرین دارو و ریشمک و دینه بوده است.

اهداف اصلی این پژوهش به شرح ذیل است:

الف: انجام روش‌های مختلف استخراج اسیدگلیسیریزیک شامل روش اصلاح شده روسین، استخراج اسیدگلیسیریزیک بصورت نمک آمونیومی، استخراج با کمک سورفاکتنانت غیر یونی و استخراج به کمک حلال آب (تکنیک های مبتنی بر اسیدشویی) از ریشه و عصاره شیرین‌بیان به منظور جداسازی گلیسیریزین بصورت اسید گلیسیریزیک از عصاره گیاه شیرین‌بیان در مقیاس پایلوت

ب: بهینه سازی بهترین روش استخراج اسید گلیسیریزیک پودر عصاره شیرین‌بیان بر اساس دستیابی به بالاترین بهره استخراج

Archive of SID

www.SID.ir

ج: تهیه عصاره فاقد GL با حداکثر مقدار فلاونوئیدها
ه: تهیه همزمان دو فراورده ارزشمند از گیاه شیرین‌بیان

1 - 3 - ضرورت اجرای طرح

ارزش تجارت شیرین‌بیان در سال 2007، در دنیا 42میلیون دلار برآورد شد. در ایران سالیانه صدها تن از ریشهٔ گیاه شیرین‌بیان با نام لیکوریس (licorice) به صورت پودر، جامد و مایع صادر و فرآورده‌های آنبه کشور واردمی‌گردد. از عصاره این گیاه در کشورهای پیشرفته دنیا 500 نوع فراورده تولید می‌شود.
بر اساس آمار منتشر شده توسط اتحادیه تولیدی صادراتی شیرین‌بیان ایران، سهم صادرات پودر وعصاره شیرین بیان کشور 95 درصد فرآورده تولیدی آن بوده و به عبارت دیگر 14 شرکت موجود در این حوزه عمده محصول خود را به صورت پودر به کشورهای دیگر صادر می‌کنند. همچنین از سال 90 تا امروز صادرات پودر و عصاره شیرین بیان روند کاهشی داشته است. بنابراین افزایش تعداد شرکت در حوزه تولید پودر و عصاره خام در مقایسه با مواد اولیه موجود در کشور نامتناسب بوده و لذا فراوری پودر و عصاره خام شیرین بیان ولزوم انجام تحقیقات به منظور دست یابی به دانش فنی محصولات با ارزش افزوده بالا از این گیاه ضروری به نظر می رسد تا به دنبال آن افزایش صادرات تولید هم صورت بگیرد.
از مهمترین دلایل عدم استخراج ترکیبات بیواکتیو موجود در این گیاه در صنایع مرتبط، علیرغم وجود تعداد قابل‌توجهی واحد صنعتی فعال کشور در زمینه تولید عصاره خام شیرین‌بیان و همچنین وجود روش‌های متنوع بـرای تولید گلیسریزیک اسید این است که اولا غالب ایـن روش‌ها قادر به تولید گلیسریزیک اسید با خلوص مورد نظر استانداردهای مربوطه نمی‌باشند. ثانیا تکنیک‌های متداول آن (مانند استخراج با رفلاکس حرارتی (HRE) و استخراج به روش سوکسله) معایبی نظیر زمان طولانی استخراج، مصرف بالای حلال، استفاده از حلال‌های آلی سمی و خطرناک، راندمان پائین و دمای استخراج بالا دارند، بنابراین نیاز به یک روش مؤثر و اقتصادی و عصاره با کیفیت بالا وجود دارد.
پایین بودن سطح تکنولوژی پاره‌ای از صنایع تولید پودر و عصاره شیرین‌بیان، کمبود منابع مالی برای شروع و تکمیل فعالیت‌های تحقیقاتی پیرامون کشت و فرآوری ریشه شیرین‌بیان، عدم وجودحمایت برای انتقال فناوری روز نیز چالش‌های حوزه شیرین‌بیان ایران است. در حالیکه با توجه به ارزش تجاری این گیاه و وجود مواد اولیه در داخل کشور، فرآوری این گیاه می‌تواند در کشور انجام و فرآورده‌های آن نیز میتواند عمدتاً در داخل استخراج و صادر گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

رویش یکی از بهترین واریته های شیرین‌بیان جهان با توجه به شرایط اقلیمی مناسب در ایران، قدمت صنایع پودر و عصاره شیرین‌بیان ایران و تجارت جهانی آن، ارز آوری صنعت شیرین‌بیان و موقعیت شاخص آن در میان گیاهان دارویی ایران (پس از زعفران)، امکان تولید داروهای گیاهی و استفاده در طب سنتی، وجود متخصصین صنعت شیرین‌بیان، وجود بازار مناسب جهانی برای محصول پودر عصاره شیرین بیان ایران و دیگر فرآورده‌های مرتبط، حمایت و برنامه مناسب از تولید آن از مهمترین فرصت های توسعه صنعت این گیاه و تولید فراورده های مهم از این گیاه است.

1 - 4 - نوآوری تحقیق

فرآیندهای متعددی برای استخراج و خالص‌سازی گلیسیریزین از ریشه‌ی گیاه شیرین‌بیان با مراحل مختلف و نوع و مقادیر مختلف حلال‌ها وجوددارد و هر روزه در جهت بهینه‌سازی استخراج این ماده، فرآیندهای جدیدی در حال گسترش‌است.

مبنای این تحقیق تکنولوژی متداول صنایع کشور برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه‌ی شیرین‌بیان است که همان استفاده از آب داغ در دمای محیط در حضور افزودنی‌هایی نظیر مواد قلیایی، اسیدهای‌معدنی و آمونیاک است اما از مهمترین نوآوری‌های این تحقیق این است که با ارزیابی فرآیندهای مختلف در عملیات استخراج اسید گلیسیریزیک از گیاه شیرین‌بیان، ضمن دستیابی به روش بهینه استخراج، ساده‌سازی فرآیند و کاهش هزینه‌ها نیز صورت خواهد گرفت. در فرایندهای مشابه عموماً جهت تسهیل فرآیناستخراج از ایجاد فشارتوسط سیلندر CO_2استفاده می‌شود. اما در این تحقیق به جهت ساده‌سازی فرآیند، با تغییراتی نظیر حذف کربن‌دی‌اکسید و انجام فرآیند درشرایط اتمسفر، سعی در ساده کردن فرآیند وانجام آن با توجه به امکانات ساده و کم کردن هزینه‌ها شده‌است. همچنین تغییراتی در جهت بهبود عملیات به منظور رسیدن به حداکثر محصول و تهیه فرآورده جانبی (ترکیب فاقد اسید گلیسیریزیک با محتوای فلاونوئیدی قابل قبول) از محلول دور ریز، بصورت همزمان در فرایند استخراج اسیدگلیسیریزیک صورت پذیرفته‌است. کاهش استفاده از مواد شیمیایی در فرایند استخراج با هدف افزایش خلوص محصول نهایی از نکات قابل ملاحظه این تحقیق است.

نوآوری دیگر این تحقیق در طراحی پایلوت صورت گرفته است به طوری که کلیه مراحل استخراج را می توان در دستگاه طراحی شده انجام داد. دستگاه طوری طراحی شده است که مخزن استخراج، همزمان هم اکستراکتور و هم اواپراتور است که یکی از مزایای اصلی این طراحی به شمار می رود.

Archive of SID

www.SID.ir

1-5- نام گیاه

نام علمی گیاه شیرین‌بیان.*Glycyrrhiza glabra* L، نامانگلیسی آن Licorice و Liquorice و نام عربی آن شجره‌السوس و عرق‌سوس می‌باشد. گلیسیریزا گلابرا یک نام یونانی استو از دو واژه گلیکیس به معنی شیرین و ریزا به معنی ریشه مشتق شده‌است. گلابرا به معنای صاف و بدون کرک‌است که اشاره به بدون کرک بودن میوه این گیاه دارد [2و1].

1-5-1- گونه های شیرین‌بیان تولید کننده گلیسیریزین

شیرین‌بیاندارای واریته‌های متفاوتی است که مهمترین واریته‌های آن شامل: تیپیکا(*G. glabra var. typical*)، گلاندولیفرا (*G. glabra var. glandulifera*)، ویولاسه (*G. glabra var. violacca*) و پالیدا (*G. glabra var. pallida*) می‌باشند که در اسپانیا، ایتالیا، ترکیه، عراق، ایران، آسیای مرکزی و بخش شمالی‌غربی چین یافت می‌شود. این گونه‌ها به انواع (واریته) مختلفی مانند واریته*G.glabra* (شیرین‌بیان اسپانیایی) و واریته *G.glabra glandolifera* (شیرین‌بیان روسی) تقسیم می‌شود. *G. uralensis* در آسیای مرکزی، مغولستان و چین یافت می‌شود در حالیکه *G. infelata*در منطقه خود مختار *Xinjbng Uygur* از چین بدست می‌آید. بطور جالب توجهی، هر سه گونه گلیسیریزا در زینجیانگ چین یافت می‌شوند [2و1].

1-5-2- مشخصات گیاه شناسی

شیرین‌بیان، گیاهی چندساله، از طایفه stragaleae، زیر تیره Papilionacea و تیره Fabaceae می‌باشد. ارتفاع شیرین‌بیان متفاوت و بین 100 تا 200 سانتیمتر است. گیاه دارای شاخ و برگ‌های انبوه و فراوان است. برگ‌ها مرکب و دارای چهار تا هفت جفت برگچه و یک برگچه انتهایی است. رنگ برگچه‌ها سبز تیره است. گل‌ها نامنظم و به رنگ زرد، ارغوانی یا بنفش و به صورت مجتمع در انتهای ساقه‌های گل‌دهنده مشاهده می‌شوند. طول گل‌ها به بیش از یک سانتیمتر می‌رسد. گیاه اواخر بهار و اوایل تابستان (خرداد-تیر) به گل می‌رود. میوه به طول دو تا سه سانتیمتر و خرمائی رنگ می‌باشد. طرفین میوه باریک و کم و بیش نوک تیز می‌شود. داخل میوه سه تا پنج دانه لوبیا شکل به رنگ قهوه‌ای وجوددارد. پوسته دانه ضخیم و محکم و وزن هزار دانه آن حدود 10 گرم است. طول ریشه شیرین‌بیان متفاوت است و به نوع گیاه و شرایط اقلیمی محل رویش بستگی‌دارد و بین 30 تا 60 سانتیمتر است. طول ریشه در مناطق خشک و خاک‌های سبک به 200 سانتیمتر هم می‌رسد.ریشه و ریزوم مصارف دارویی دارند [3].

1-5-3- پراکنش

شیرین‌بیان گیاهی مدیترانه‌ای بوده و در جنوب شرق آسیا گسترش زیادی‌دارد. این گیاه از جنوب اروپا تا آسیای مرکزی میان دو عرض جغرافیایی 30 تا 45 درجه نیمکره شمالی رویش‌دارد.شیرین‌بیان در سطوح وسیعیدر کشورهای انگلیس، بلژیک، فرانسه، آلمان، ایتالیا، یونان و ترکیه کشت می‌شود. در ایران نیز

Archive of SID

www.SID.ir

تقریبا در تمام شمال، شرق، غرب و مرکز کشور به وفور یافت می‌شود [4]. اگرچه در بسیاری از کشورها به عنوان یک گیاه دارویی کشت و کارمی‌شود، ولی در دیم‌زارهای استان کرمانشاه، ایلام و فارس و بعضی از مزارع و مناطق مرکزی ایران مانند اصفهان و اراک به عنوان یک علف هرز در مزارع نخود و گندم محسوب می‌شود [5].

1-5-4- زراعت گیاه

1-5-4-1- نیازهای اکولوژیکی

گونه‌های شیرین‌بیان، در خاک با بافت متوسط شنی‌رسی و دارای ترکیب‌های آهکی رشد می‌کنند. منشا این گیاه نواحی مدیترانه‌ای است و در طول رویش به هوای گرم و آفتاب کافی نیازدارد. ریشه این گیاه در خاک‌های شنی با ضخامت زیاد گسترش زیادی یافته و عملکرد آن نیز افزایش می‌یابد. شیرین‌بیان در دمای 6 تا 25 درجه سانتیگراد رشد مناسب‌دارد.شیرین‌بیان گیاهی نورپسند است. نور کافی سبب افزایش مواد موثره ریشه می‌شود. این گیاه به آب و مواد و عناصر غذایی کافی نیازدارد. در مرحله گلدهی آب کافی باید در اختیار گیاه قرارگیرد. شیرین‌بیان معمولاً در مناطقی که مقدار بارندگی سالانه بین 400 تا 1160 میلیمتر می‌باشد رویش دارد [6].
محققان معتقدند برای کاشت این گیاه باید از زمین‌های شنی با لایه‌های ضخیم خاک و غنی از ترکیب کلسیم استفاده کرد.pHخاک برای شیرین‌بیان بین 5/5 تا8/2 مناسب است. جایمند و رضایی با اندازه‌گیری میزان گلیسیریزین در نمونه های شیرین‌بیان استان فارس، مقدار آن را 14/9 درصد تعیین و به نتایج مشابه دست یافتند. با توجه به اینکه منطقه فارس از آب و هوایی گرم و خشک برخوردار است و میزان بارندگی و رطوبت این منطقه نسبت به گرگان (گرم و مرطوب) کمتر می‌باشد لذا در منطقه فارس میزان بیشتری از گلیسیریزین در ریشه‌های شیرین‌بیان گزارش شد [7].

1-5-4-2- مواد و عناصر غذایی مورد نیاز

مواد و عناصر غذایی کافی نقش عمده‌ای در افزایش عملکرد ریشه و مقدار مواد مؤثره آن دارد. در فصل پائیز، افزودن 30 تا 40 تن در هکتار کودهای حیوانی کاملاً پوسیده، به زمین‌هایی که شیرین‌بیان کشت می‌شود، توصیه می‌گردد. همچنین فصل پائیز هنگام آماده‌سازی زمین باید 50 تا 60 کیلوگرم در هکتار اکسید فسفر به خاک اضافه‌کرد[8].

1-5-4-3- آماده سازی خاک

به‌دلیل این‌که شیرین‌بیان ریشه بلندی‌دارد، برای کشت آن از زمین‌هایی که از ضخامت زیادی برخوردارند باید استفاده‌کرد. فصل پائیز پس از افزودن کود حیوانی مورد نیاز گیاهان شخم عمیقی (به

Archive of SID

www.SID.ir

عمق 40 تا 70 سانتیمتر) زده می‌شود. پس از افزودن کود فسفره مورد نیاز زمین را تسطیح کرده و بستر را برای کشت گیاه باید آماده‌نمود [4].

1-5-4-4- تاریخ و فواصل کشت

اوایل بهار(فروردین) زمان مناسبی برای کشت مستقیم بذر در زمین اصلی است. فاصله ردیف‌های کاشت از یکدیگر 60 سانتیمتر و عمق بذر موقع کاشت 2 تا 3 سانتیمتر مناسب می‌باشد. بذر مورد نیاز برای هر هکتار زمین 12 تا 15 کیلو گرم است[9].

اوایل بهار (فروردین-اردیبهشت) نیز زمان مناسبی برای کاشت بذر در خزانه هوای آزاد (کشت غیرمستقیم) می‌باشد. فاصله ردیف‌ها از یکدیگر در خزانه 30تا 40 سانتیمتر مناسب است. عمق بذر شیرین‌بیان موقع کاشت باید 2 سانتیمتر باشد. در کشت غیر مستقیم مقدار بذر مورد نیاز برای هر هکتار زمین 0/5 تا 1 کیلوگرم می‌باشد. اواسط پائیز (آبان) هنگامی که ارتفاع نشاء به 20 تا 25 سانتیمتر رسید آنها را باید در ردیف‌هایی به فاصله 60 تا 80 سانتیمتر در زمین اصلی کشت کرد. فاصله دو بوته روی ردیف کاشت 40 تا 50 سانتیمتر مناسب است[9].

زمان مناسب برای تکثیر رویشی شیرین‌بیان اواسط پاییز (آبان) است. فاصله ردیف‌ها از یکدیگر 60تا 80 سانتیمتر و فاصله دو بوته در طول دو ردیف 30تا 40 سانتیمتر مناسب است [9].

عمق مطلوب برای کاشت قطعات ریشه‌ای متفاوت و به بافت خاک و رطوبت محیط بستگی دارد. به‌طوری که این عمق در خاک‌های سبک 15 تا 20 سانتیمتر و در خاک‌های سنگین 10 تا12 سانتیمتر توصیه می‌شود. تکثیر رویشی شیرین‌بیان اقتصادی‌تر است و اغلب از این روش برای تکثیر این گیاه استفاده می‌شود.

ماسترو و سیرسلا (1993) شیرین‌بیان را در پنج عمق 20، 37، 52، 72 و 89 سانتی‌متر کاشتند و متوجه شدند که در سال اول رشد، سیستم ریشه‌ای و سطح برگ توسعه کمی دارد. با افزایش طول عمر گیاه به تیمارهای عمق کاشت عکس‌العمل خوبی نشان می‌دهد به نحوی که در سال چهارم رشد، بهترین نتایج را مشاهده‌کردند. افزایش عمق کاشت از 20 به 52 سانتی‌متر سبب افزایش سطح برگ و پس از آن کاهش سطح برگ شد. با افزایش عمق کاشت و اندازه ریزوم، سطح برگ و وزن خشک آن افزایش‌یافت. وزن خشک ساقه در عمق‌های پایین کاهش ولی با افزایش اندازه ریزوم وزن خشک آن افزایش‌یافت. بالاترین وزن خشک کل در عمق کاشت 20 سانتی‌متر بدست‌آمد که بسیار نزدیک به وزن خشک عمق 40 سانتی‌متر بود. ریزوم سه جوانه‌ای نسبت به یک و دو جوانه‌ای بالاترین وزن خشک کل را تولیدنمود. به طور کلی چنین به نظر می‌رسد که قرار گرفتن ریزوم سه جوانه‌ای در عمق 20 سانتی‌متری سبب تحریک رشد شیرین‌بیان می‌شود [9].

Archive of SID

www.SID.ir

1-5-4-4- تناوب کشت

با توجه به اینکه شیرین‌بیان برای چند سال (10 تا 15 سال) در یک منطقه باقی می‌ماند و رشد اولیه این گیاه بسیار کند و بطئی است از اینرو آن را باید با گیاهانی به تناوب کشت‌کرد که سبب گسترش علف‌های هرز نشوند. گیاهان وجینی گیاهان مناسبی برای تناوب کشت با شیرین‌بیان هستند[9].

1-5-4-5- روش کاشت

شیرین‌بیان را می‌توان توسط بذر و یا از طریق رویشی تکثیر کرد. از آنجا که بذر شیرین‌بیان پوسته ضخیمی دارد و این پوسته قوه رویشی آن را کاهش می‌دهد، قبل از کاشت باید خراش‌های مناسبی در سطح پوسته ایجادکرد. تکثیر توسط بذر به دو روش مستقیم و غیرمستقیم انجام می‌گیرد[10].

باقرانی و غدیری (1373) دریافتند که وزن خشک اندام‌های هوایی و زیرزمینی، سطح برگ و ضخامت برگ گیاهان حاصل از بذر کمتر از گیاهان حاصل از ریزوم است، اما از این نظر بین ریزوم‌های دو جوانه و سه جوانه شیرین‌بیان اختلاف معنی‌داری وجودندارد [10].

نتایج بررسی‌های نظام‌آبادی و همکاران (1385) نشان‌داد که ریزوم‌ها در دمای پایین‌تر از 6 درجه سانتی‌گراد جوانه‌زنی ندارند و برای جوانه‌زنی به حداقل 154 درجه روز نیاز داشتند، این دما به عنوان دمای پایه به عنوان دمای پایه برای جوانه‌زنی ریزوم‌های شیرین‌بیان در نظر گرفته شده‌است [11]. باقرانی (1995) در بررسی اثر دما روی جوانه‌زنی ریزوم و بذر شیرین‌بیان گزارش نمود که در پنج درجه سانتی‌گراد، بذرها جوانه نزده و در دماهای 25 و 35 درجه سانتی‌گراد، خراش‌دهی مکانیکی درصد جوانه‌زنی را به ترتیب 15و 8 و 7 برابر نسبت به شاهد افزایش داد [12].

بادولوف (2000) تیمار اسید سوکسینیک 0/0025- 0/005 درصد را همراه با خراش‌دهی در بستر شن در آزمایشگاه و مزرعه روی بذر شیرین‌بیان بررسی کرد. طی این بررسی بذور خراش داده شده‌ای که بمدت 24 ساعت در اسید سوکسینیک 0/0025 درصد غوطه‌ور شدند، میزان 98/7درصد جوانه‌زنی را نشان دادند [12].

در خصوص خصوصیات جوانه‌زنی بذور نقاط مختلف ایران نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی در بذور کرمانشاه و فارس به ترتیب در دمای 25 و 20 درجه سانتی‌گراد و درصد نهائی جوانه‌زنی بذور فارس بیشتر از کرمانشاه بود در مطالعه‌ای که خصوصیات جوانه‌زنی این گیاه در بذور کرمانشاه و فارس در دماهای مختلف صورت گرفته‌است، نتایج نشان‌داد که بالاترین درصد جوانه‌زنی در بذور این دو شهر به ترتیب در دماهای 25 و 20 درجه مشاهده شده است و درصد نهایی جوانه‌زنی بذور فارس بیشتر از کرمانشاه بوده است [12].

Archive of SID

www.SID.ir

1-5-4-6- مراقبت و نگهداری

رشد شیرین‌بیان در سال اول رویش کند و بطنی است و علف‌های هرز می‌توانند بدون رقابت و به سرعت توسعه یابد لذا کنترل علف‌های هرز قبل از کاشت و نیز تهیه بستر فاقد علف‌های هرز ضرورت دارد، از اینرو در سال اول رویش علف‌های هرز را به طور مکانیکی با دست یا کولتیواتور باید وجین کرد. در فصل بهار به منظور توسعه ریشه، قبل از ریزش برگ‌ها ساقه‌های شیرین‌بیان را از فاصله 10 سانتیمتری سطح زمین باید قطع و از زمین خارج‌کرد [12].

1-5-4-7- برداشت محصول

چنانچه شیرین‌بیان به روش رویشی تکثیر شده‌باشد 3 تا 4 سال پس از کاشت، ولی اگر تکثیر توسط بذر انجام گرفته‌باشد 5 تا 6 سال پس از کاشت می‌توان ریشه آن را برداشت‌کرد. نتایج مطالعات ماسترو و سیرسلا (1993) نشان‌داد که سال چهارم رشد بهترین نتیجه را می‌دهد [10].

زمان مناسب بهره‌برداری ریشه اوایل پاییز تا اواخر زمستان با توجه به ویژگی منطقه رویش انجام می‌گیرد که در این زمان دارای حداکثر گلیسیریزین است. برای استحصال ریشه زمین را با تراکتور یا بیل و تیشه تا عمق 50 سانتیمتری شیار می‌زنند و توسط کارگر جمع‌آوری می‌شود[10].

از آنجا که مواد مؤثره ریشه شیرین‌بیان در آب حل می‌شود لذا ریشه‌ها را خیلیسریع و با آب جاری باید شست. پس از تمیز کردن پوست ریشه‌ها را باید جداکرد، سپس آنها را به قطعات 10 تا 15 سانتیمتری تقسیمو خشک‌نمود. برای خشک‌کردن ریشه نباید از نور مستقیم یا درجه حرارت بالا استفاده‌کرد چنانچه از خشک‌کن‌های الکتریکی استفاده شود دمای مناسب 40 درجه سانتیگراد می‌باشد. ریشه‌های خشک شده ترک‌خورده و شکاف بر می‌دارند. عملکرد ریشه خشک در گیاهان 3 ساله به 1/5 تا 2 تن در هکتار می‌رسد نسبت ریشه‌های تازه به خشک 3/5 به 1 می‌باشد[4].

به نظر می‌رسد ریشه‌هایباقطرکمتر،سطحجانبیبیشتریبهازایوزنخشکدارندوقادربهجستجویسراسرخاکوجذببهترعناصرغ ذاییبنسبتبهریشه‌هایضخیم‌ترهستند [13]. درریشه‌هایباقطربیشتر،دراثرفعالیتلایه زاینده،پوستوبشرهازبینمی‌رودویکبافت چوب‌پنبهایایجادمی‌شود [14]. محلتولیدگلیسیریزیندربافت‌هایریشهدر درونپارانشیمپوستیمی‌باشد.پارانشیم‌هاازبافت‌هایمهمواساسی گیاهانبهویژهدرگیاهانتازهوجوانمی‌باشند. پارانشیمذخیره‌ایدراندام‌هایزیرزمینیمانندریشهو ریزوموجوددارد،کهفاقدکلروفیلومحتویموادیمثلگلوسیدهایاذراتچربی‌اند [5]. باافزایشقطرریشهازمیزانپارانشیمپوستیکاستهمی‌شودوبهاسکلرانشیمها،فیبرهاو بافت‌هایچوبیکهدارایسلول‌هایطویلوفاقدمادهزندههستند،افزودهمی‌شود. هایاشیو همکاران [15]]ومارزیوهمکاران [16]،بالاترینغلظتگلیسیریزینرادراندام‌هایزیرزمینی قطورترگزارش‌نمودند.

Archive of SID

www.SID.ir

1-5-4-8- آفات و بیماری های گیاهی

تاکنون آفت یا بیماری خاصی بر روی شیرین‌بیان مشاهده نشده‌است.

1-6- ترکیبات شیمیایی فعال از انواع مختلف گونه های گیاه شیرین‌بیان

از آنجایی‌که ریشه های شیرین‌بیان استفاده‌های گوناگون و گسترده دارند، ترکیبات شیمیایی مختلف آن شناسایی و مطالعه شده‌اند.

1-6-1- ساپونین‌ها

ریشه شیرین‌بیان شامل ساپونین‌های تری‌ترپنوئید (20-4درصد) بوده که گلیسیریزین مهمترین آنها است. این ترکیب غالباً مخلوطی از نمک‌های پتاسیم و کلسیم اسیدگلیسیریزیک (که به اسیدگلیسیریزنیک و گلیکوزیداسید گلیسرتنیک معروف است) و 50 برابر شکر شیرین از ساکاروز است می باشد. سایر تری‌ترپن ها، اسید لیکوریتیک، گلیسریتول، گلابرولید، ایزوگلابرولید و اسید لیکوریس (شیرین‌بیان)نیز جز ساپونین‌ها می‌باشند[17و 16].

1-6-2- اسید گلیسیریزیک

اسیدگلیسیریزیک (گلسیریزین)، یک عصاره لیپوفیلی و گلیکوزید ساپونینی است که از عصاره ریشه شیرین‌بیان گرفته می‌شود. این مولکول قرن‌ها است که در پزشکی سنتی بخاطر خاصیت ضدالتهابی خود شناخته شده‌است. گلیسیریزین، یک ساپونین تری‌ترپن با طعم شیرین مجزا شده از گیاه گلیسیریزا، یک پیوند دو مولکولی اسید گلوکرونیک و اسید گلیسیرتنیک (یک تری‌ترپن از نوع اولئانین) می‌باشد[17و 16].

این ترکیب دارای خاصیت ضدویروسی است. گزارش شده‌است که باعث افزایش فعالسازی اینترفرون و متوقف‌شدن رشد چندین ویروس RNA وDNA می‌شود و باعث غیر فعال‌شدن ذرات ویروس هرپس به صورت غیرقابل برگشت می‌شود. فعالیت ضدویروسی آن به خاطر ترکیب با ساختار پروتئین ویروس و تداخل در چرخه آن است و باعث متوقف شدن رشد ستیوپاتیک و فعالیت ویروس می‌شود، بنابراین از تهاجم آن به سلول‌های سالم جلوگیری می‌کند. گلسیریزین در برابر *Candida albicans* در افرادی که دچار صدمات پوستی شده‌اند مقاومت می‌کند که این‌کار احتمالاً با تحریک سلول‌هایCD_4،T انجام می‌شود. که وظیفه آنها متوقف‌سازی سیتوکین نوع 2 است که در زخم‌ها تولید می‌شود[17و16].

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 6 - 3 - فلاونوئیدها

ترکیبات فلاونوئیدی و چالکن (کالکن)ها مسئول رنگ زرد ریشه شیرین‌بیان هستند. Isoliquiritin،Liquirtigenin،Rhamnolin،Neoliqurirtin،Glabridin،Glabreme، Formononetin نیز در این دسته قرار می‌گیرند. اخیراً ۵،۸- فلاون دی‌هیدروکسی، 7-بتا -d گلوکورئید، گلیگونید β از ریشه *G. glabra* نیز جداسازی و معرفی شده‌اند. چالکن های A,B,C,D به تازگی از ریشه های *Glycyrrhiza inflata* و مقادیر جزیی فلاونوئیدهای ایزوترفولیکول و گلیسوفلاونون از بخش زیرزمینی *Glycyrrhiza uralensis* جدا شده‌اند [17و16].

ترکیبات فلاونوئید ریشه شیرین‌بیان دارای فعالیت ضداسپاسم هستند. لیکوریتین، که اصلی‌ترین فلاونوئید است دارای فعالیت ضدالتهابی می‌باشد. این فلاونیدها جزء آنتی‌اکسیدان‌ها بوده و از سلول‌های کبد محافظت می‌کنند. آزمایش‌های کلینیکی نشان داده‌اند که فلاونوئیدها قادر هستند که باکتری هلیکوباکتر پیلوری (*Helicobacter pylori*) را از بین ببرند. این باکتری باعث بروز التهاب معده ای و گوارشی می‌شود[17و 16].

1 - 6 - 4 - گلابریدین *(Glabridin)*

گلابریدین اصلی‌ترین ترکیب هیدروفوبیک موجود در عصاره شیرین‌بیان است و بخاطر تأثیرات مفید بر پوست شامل خاصیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است. به علاوه، گلابریدین متوقف‌کننده ملانوژن‌ها است. بعضی از محققان ثابت کرده‌اند که این تأثیر به دلیل متوقف‌سازی فعالیت تیروزیناز است[17و16].

1 - 6 - 5 - ایزوفلاون‌ها

وجود مشتقات ایزوفلاونوئیدی در لیکوریس یا شیرین‌بیان شامل گلابریدین، گلابرین، گلابرون، لیکوایزوفلاون‌های A و B، فرمونونتین، گلیزارین، کوماتاکنین می‌باشد. اخیراً، هیپاگلابریدین A، هیپاگلابریدین B، اوـ متیل گلابریدین '4 و '3 هیدروکسی و اوـمتیل‌گلابریدین '4 و گلابروایزوفلاونA,B، گلابروزوـفلاون B نیز یافت شده‌اند[17و16].

1 - 6 - 6 - کومارین‌ها

کومارین‌های گزارش شده در *G.glabra* شامل لیکومارین، گلابروکومارین A,B، هولینارین، آمبلیفرون، گلیسیرین، گلیکوکومارین، لیکوفرانوکومارین، لیکوپیرانوکومارین و گلابروکومارین می‌باشد[17و 16].

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 6 - 7 - استیل بنوئیدها

چهار ترکیب دی هیدرواستیل‌بِن جدید، با نام‌های دی‌هیدرو-۵،۳- دی هیدروکسی-'4- استوکسی-'5- ایزو پنتنیل استیل‌بن، دی‌هیدرو -3-'3-'4- تری‌هیدروکسی-5-o– ایزو پنتنیل-6- ایزو پنتنیل استیل‌بن، دی‌هیدرو -۳،۵،'3- تری‌هیدروکسی -'4- متوکسی استیل‌بن و دی‌هیدرو -3,'3- دی‌هیدروکسی -5 بنا -0– d- گلاکوپیرانوسیلوکسی-'4- متوکسی استیل‌بن از برگهای *G.glabra* جداسازی و شناسایی شده‌اند[17و16].

1 - 6 - 8 - سایر ترکیبات

عصاره G.glabra **همچنین شامل اسیدهای‌چرب (C_2-C_{16}) و فنول‌ها (فنول، گانیاکول) همراه با لاکتون‌های خطی اشباع شده γ(C_6-C_{14}) می‌باشد. یک سری از لاکتون‌های جدید γ متیل-4 و لاکتون‌های -γ– اتیل-4 به دنبال آمونات‌ها نیز از عصاره آن بدست آمده‌اند. همچنین آسپاراگین‌ها، گلوکز، ساکاروز، نشاسته، پلی‌ساکاریدها (ارابینوگالاکتان‌ها)، استرول‌ها (ستیواسترول-B، دی‌هیدرواستیگماسترول) نیز در عصاره موجود می‌باشند[17و16].**

1 - 6 - 9 - اسید گلیسیرتینیک *(Glycyrrhetinic acid)*

اسیدگلیسیرتینیک یکی از مشتقات پنج‌حلقه‌ای تری‌ترپنوئید از گونه β–آمرین است و دارای خاصیت اکسپکتورانتی و ضدباکتریایی است. به طور گسترده به عنوان یک عامل طعم‌دهنده مورد استفاده قرارمی‌گیرد و اغلب در داروهای حاوی ترکیبات تلخ از جمله آلوئه و کوئنیین نیز به کار برده‌می‌شود[17و16].

اسیدگلسیرتینیک همچنین دارای خاصیت ضدالتهابی است و درمان کننده زخم معده است[17و16].

Archive of SID

www.SID.ir

2 - مواد و روش‌ها

2 - 1 - مواد

پودر گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) تهیه شده از کارخانه توسعه فناوران صنعت غرب، مونو آمونیوم اسید گلیسیریزیک بادرجه خلوص 99/5% به عنوان استاندارد HPLC تولید شرکت سیگما، اسید سولفوریک، اتانول مطلق، اسید کلریدریک، آمونیاک، امولسیفایر توئین 60 ، اتانول 76 و96 درصد، دی اتیل‌اتر، محلول فهلینگ A، محلول فهلینگ B، محلول متیلن بلو 1% آبی،استات‌سرب، کربنات‌سدیم، هیدروکسیدسدیم، فولین سیوکالتو، اسید گالیک، تهیه شده از شرکت سیگما.

2 - 2 - دستگاه‌ها

هیتر استیرر Knauerساخت کشور آلمان، بن‌ماری ساخت شرکت ایران خودساز از کشور ایران، روتاری اواپراتور متصل به پمپ خلأ Heidolph ساخت کشور آلمان، شیکر Knauer ساخت کشور آلمان، و دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ساخت شرکت Knauerآلمان با مشخصات ستون RPC۱۸، طول ستون 25 سانتی متر و قطر 6/4 میلی‌متر، با سرعت جریان 2 میلی‌متر دردقیقه و مجهز به آشکار ساز UV 254 نانومتر. سانتریفوژ Heidolph، کوره الکتریکی ایران خودساز، آون Ika، ترازو با دقت 001% گرم Ika، دسیکاتور.

2 - 3 - محاسبه *Total solid*

بافت گیاهی حاوی مقادیر متفاوتی از ترکیبات مختلفی‌است که می تواند تجزیه و تحلیل شیمیایی و محاسبات آن را در فرایندهای استحصال تحت تاثیر قراردهد. برای محاسبه Total solid این گیاه، مقدار 50gr از گیاه پودر شده شیرین‌بیان با مش 250 میکرون را وزن‌کرده و داخل بالن ریخته‌شد. سپس 500cc آب مقطر به آن اضافه‌شد. با استفاده از روش رفلاکس 90°c، عصاره گیاه استخراج‌گردید. پس از گذشت زمان30 دقیقه و پس از سه مرحله تکرار، عصاره فیلتر و خشک‌گردید [98].

Archive of SID

www.SID.ir

2-4- استخراج گلیسیریزین از ریشه‌ی شیرین‌بیان

2-4-1- بررسی تاثیر نوع جریان ورودی بر راندمان استخراج گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان

برای انتخاب بهترین جریان ورودی و بررسی تأثیر نوع جریان ورودی، نیز ابتدا از ریشه پودر نشده گیاه، عصاره و پودر گیاه به عنوان جریان ورودی استفاده گردید. برای این منظور از روش استخراج با حلال‌آلی (اتانول ٪96) استفاده‌شد. سپس از محلول آمونیاک/آب با استفاده از روش ذکرشده بند 2-4-2 اندازه‌گیری میزان GAدر ترکیب نهایی حاصل شده نتایج ذیل بدست‌آمد.

جدول 2-1 میزان اسید گلیسیریزیک موجود در اشکال مختلف گیاه شیرین‌بیان

درصد GA	نوع ماده اولیه
2/2	ریشه
4/6	عصاره
6/1	پودر ریشه

با توجه به بالاتر بودن میزان اسید گلیسیریزیکدر پودر ریشه، بنابراین برای ادامه فرآیندها از پودر ریشه گیاه به عنوان ماده اولیه استفاده‌گردید.

در مرحله بعدی به جهت دستیابی به روش مناسب جهت استخراج اسید گلیسیریزیک و همچنین ترکیب فاقد اسید گلیسیرزیک با محتوی فلاونوئیدی قابل قبول بصورت همزمان از ریشه گیاه شیرین بیان، از بین روش های مطالعه شده، چهار روش که اساس همه آنها اسیدشویی است انتخاب و در آزمایشگاه انجام گردید.

2-4-2- جداسازی گلیسیریزین از شیرین‌بیان به روش اصلاح شده روسین

به 5 gr پودر گیاه شیرین‌بیان،250ml آب مقطر اضافه‌گردید و محلول به مدت 60 دقیقه در بن‌ماری با دمای 50◦c قرار گرفت، پس از خشک‌شدن محلول از طریق نگهداری آن به مدت نیم‌ساعت در دمای محیط، از فیلتر خلاء عبور داده شد. سپس مقدار محلول جدا شده در دستگاه روتاری با دمای 100◦c و دور 40 تغلیظ گردید. مقدار۱۰۰ml اتانول (20 میلی لیتر در گرم) مطلق به مواد اضافه گردید و دوباره در مرحله‌ی بعد این محلول در روتاری با دمای 70◦C قرار داده شد تا دوباره تغلیظ‌گردد. پس از غلیظ‌شدن مایع با افزودن چند قطره اسیدسولفوریک 1به 1 حجمی PH محلول به 2-1 رسانیده شد و گلیسیریزین ترسیب شد. برای جداسازی رسوب گلیسیریزین، عملیات سانتریفیوژ انجام‌گردید. به منظور خشک‌کردن، رسوب به آون با دمای 40◦c منتقل شد [68].سپس برای ادامه فرآیند و به منظور تعیین

Archive of SID

www.SID.ir

محتوای اسید گلیسیریزیک آن، از روش HPLC که در ادامه توضیح داده‌خواهدشد استفاده‌گردید [98]. محلول جدا شده طی فرآیند سانتریفیوژ به جهت تعیین باقی‌مانده اسید گلیسیریزیک استخراج نشده مورد بررسی قرارگرفت.

2-4-3- استخراج نمک آمونیومی گلیسیریزین از شیرین‌بیان به روش استخراج باحلال

مهمترین و متداول ترین تکنولوژی برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین‌بیان، استفاده از آب داغ در دمای محیط در حضور افزودنی‌هایی نظیر مواد قلیایی، اسیدهای‌معدنی، اتیل الکل و آمونیاک محلول درآب است. اساس این روش استخراج با آب گرم و تشکیل رسوب به وسیله اسیدی‌نمودن است [99].

گلیکوزیدهای موجود در شیرین‌بیان عموماً در ترکیب با پتاسیم و کلسیم هستند که خاصیت اسیدیته ضعیف دارند. فرم اسیدی گلیسیریزین چندان درآب حل‌نمی‌شود اما نمک آمونیومی آن در آب در pHبیشتر از 4/5 حل‌می‌گردد. بنابراین در این روش برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین‌بیان از تشکیل نمک آمونیومی آن استفاده می‌شود. به علاوه همانطور که در فصل اول بیان گردید، نمک آمونیومی اسید اسید گلیسیریزیک خاصیت دارویی گسترده بویژه اثرات ضد التهاب داشته و عمدتا به عنوان شیرین‌کننده استفاده صنعتی دارد.

برای تشکیل نمک آمونیومی اسید گلیسیریزیک، مخلوط آب و آمونیاک به نسبت 4-0/01% وزنی-حجمی تهیه وبه راکتور استخراج‌کننده افزوده‌می‌شود. عموماً جهت تسهیل فرآیناستخراج از ایجاد فشارتوسط سیلندر CO_2استفاده می‌شود. اما در این تحقیق به جهت ساده‌سازی فرآیند، تغییراتی نظیر حذف کربن‌دی‌اکسید و انجام فرآیند درشرایط اتمسفر سعی در ساده کردن فرآیند وانجام آن با توجه به امکانات ساده و کم کردن هزینه‌ها شده‌است. در شرایط آزمایشگاه، تمام فرآیند استخراج به روش ناپیوسته انجام‌شد.

نمای شماتیک این فرایند در شکل 1 نشان داده شده‌است، در واقع استخراج گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان با استفاده از تشکیل مونو-آمونیوم-گلیسیریزین وبا کنترل مداوم pH در طول فرآیند صورت گرفت.

در این روش استخراج با نسبت‌های (1 به 40) تا (1 به 100) پودر ریشه به آب، pH بین 12-8، دمای 90-30°C و زمان 8-1 ساعت مورد آزمایش قرارگرفت.

فرآیند طوری تنظیم شد که محلول حاصل از مرحله ی اول فیلتراسیون جهت تشکیل ترکیب فاقد گلیسیریزین یا DGL تحت فرآیند خالص‌سازی قرار گرفت. با افزودن HCL وبا رسیدن pH محلول به 5/1-1، رسوب سفید رنگ MGA تشکیل شد درغلظت‌های بالای NH_3، رسوب قهوه‌ایی رنگ از دی و تری‌آمونیوم گلیسیریزین تشکیل میشود. جهت حذف اسید با اتانول شستشوداده شده و رسوب در شرایط خلاء خشک‌گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 2-2. طرح آزمایشات مختلف جهت استخراج گلیسیریزین از ریشه شیرین بیان بصورتMAG

زمان (ساعت)	فشار	pH	دما (°C)	حلال		نوع جریان ورودی
				نوع	نسبت حلال/ جریان ورودی Mg/ml	
1-8	محیط	8-12	30 ،60 ،90	آب	0,01%(w/v)NH_3	پودر
1-8	محیط	8-12	30 ،60 ،90	آب	1%(w/v)NH_3	پودر
1-8	محیط	8-12	30 ،60 ،90	آب	3%(w/v)NH_3	پودر
1-8	محیط	8-12	30 ،60 ،90	آب	4%(w/v)NH_3	پودر

2-4-4- استفاده از سورفاکتانت‌های غیر یونی در استخراج گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان

محلول های سورفاکتانت‌های غیر یونی می‌توانند جایگزین سیستم حلال، در استخراج با مایع تحت فشار باشد.

سورفاکتانت ها، مولکول‌های آمفیلیک هستند که یک سر آن قطبی یا آب‌دوست بوده و دم آن عموماً زنجیره هیدروکربنی با تعداد اتم کربن مختلف و آب‌گریز است . یکی از مهمترین خواص سورفاکتانت‌ها ایجاد خاصیت حل شوندگی برای مواد با خواص مختلف است. در این نوع استخراج که به استخراج نقطه ابری نیز شناخته شده‌است، از مواد فعال سطحی استفاده‌می‌شود که دارای ساختار R-X بوده که R زنجیرهیدروکربن بوده وx یون قطبی و آبدوست می‌باشد.

مولکول‌های دارای سطح فعال، می‌توانند در محلول‌های آبی تجمع یابند و میسل‌ها را ایجادنمایند. کمترین غلظت ماده فعال سطحی مورد نیاز برای تولید میسل، غلظت بحرانی نامیده می‌شود.

هنگامی که محلول شامل غلظت بحرانی از ماده فعال سطحی غیر یونی حرارت داده می‌شود در یک محدوده دمایی شروع به کدر شدن می‌کند که به آن دمای نقطه ابری می‌گویند. در حقیقت محلول به دو فاز تبدیل می‌شود. یک فاز غنی از سورفاکتانت و فاز دوم آبی. دمای نقطه ابری به ساختار سورفاکتانت و غلظت آن بستگی‌دارد [86].

در این آزمایش به منظور افزایش و بهبود فرآیند استخراج، از استخراج با آب داغ به همراه سورفاکتانت جریان ورودیی توئین60 و همچنین آمونیاک استفاده گردید. این ترکیبات همچنین موجب افزایش کارایی استخراج در دمای پایین می شوند.

سورفاکتانت‌ها همچنین به جهت تأثیر در افزایش استخراج فلاونوئیدها، موجب افزایش ترکیبات فنلی در فاز غنی از سورفاکتانت می‌گردند.

به این منظور مقدار مناسبی از گیاه و محلول آمونیاک 3% (با نسبت 1 به 10 ماده خشک به حلال) به ظرف واکنش اضافه گردید. سپس مقدار 3% درصد توئین به آن و سایر مراحل واکنش مطابق با بند 2-4-2

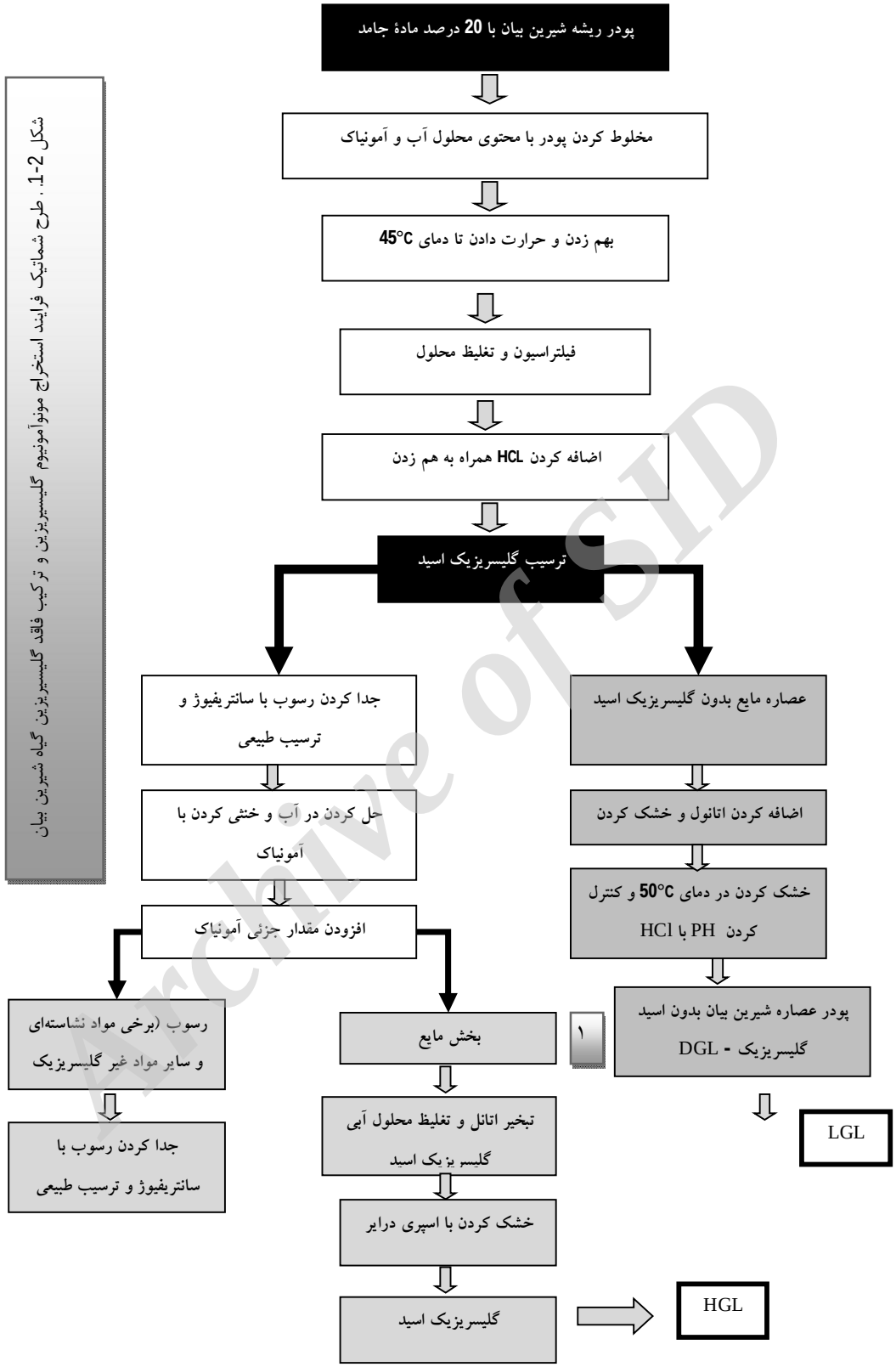
Archive of SID

www.SID.ir

انجام گرفت. محتوای رسوب اسید گلیسیریزیک و ترکیب فاقد اسید گلیسیریزیک و رسوب نهایی به دو روش آزمایش هاوس‌من و HPLC تعیین گردید.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل 2-1- مراحل استخراجاسید گلیسیریزیک از شیرین بیان با استفاده از سورفکتانت های غیر یونی

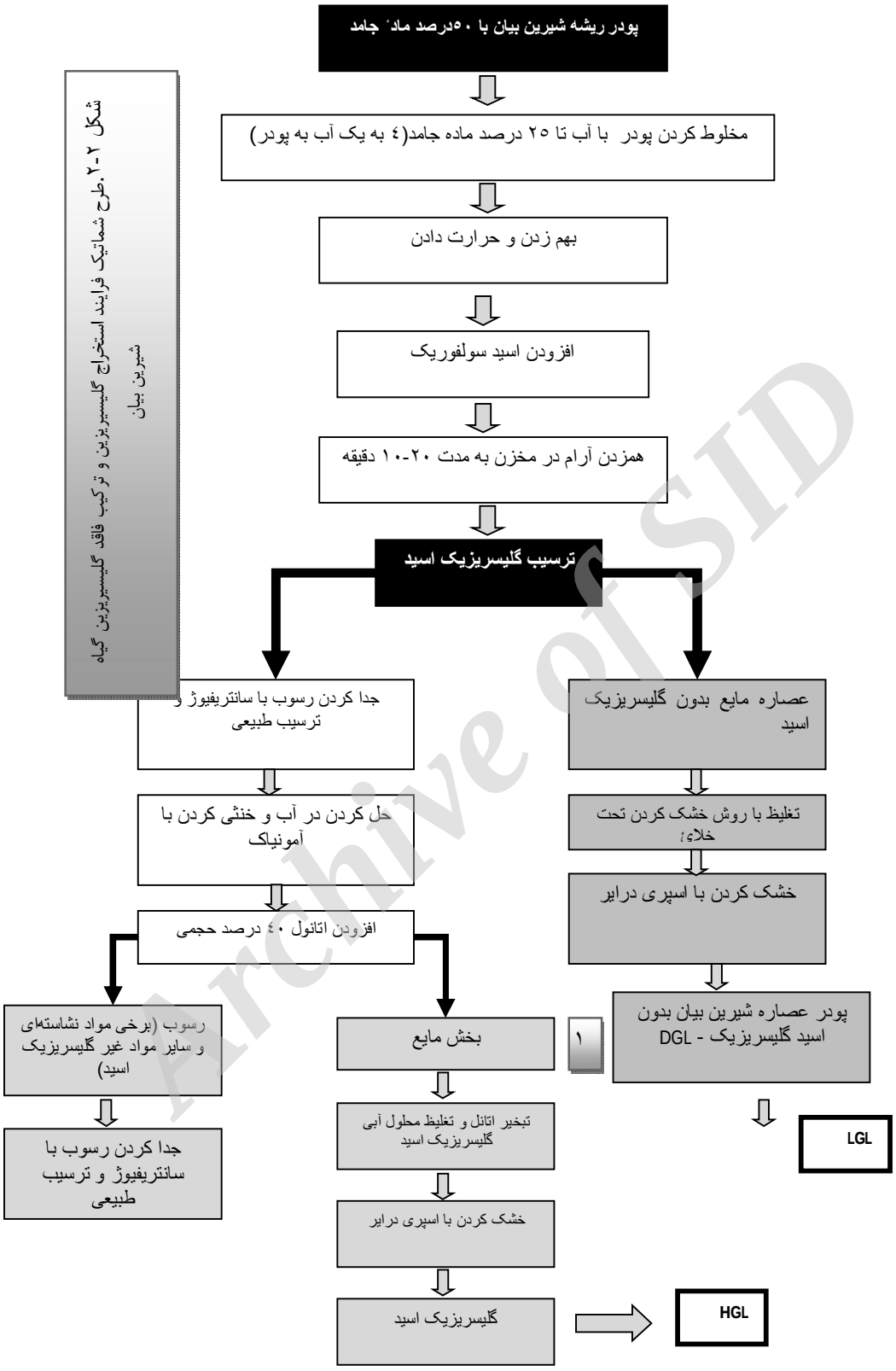
Archive of SID
www.SID.ir

2 - 4 - 5 - استخراج گلیسیریزین از شیرین بیان به روش استخراج با حلال

مزیت اصلی این روش جداسازی اسید گلیسیریزیک بصورت خالص از گیاه است. مطابق واکنش، در ابتدا پودر ریشه شیرین‌بیان به عنوان ماده اولیه اصلی استفاده شد و پس از رقیق‌سازی با آب تا 25 درصد ماده جامد، گرم شده و سپس به میزان 5 درصد از حجم آن، به آن اسید سولفوریک غلیظ افزوده شد، تا pH محیط به 2 تا 3 رسید و به مدت 20 دقیقه به آرامی به هم زده شد. در اثر کاهش pH اسید گلیسیریزیک رسوب کرده و قابل جداسازی می‌گردد که بوسیله سانتریفوژ این عمل انجام‌شد. در مرحله بعدی با استفاده از محلول آمونیاک ، کنترل pH صورت گرفت . رسوب حاصل حاوی اسید گلیسیریزیک و مواد نشاسته‌ای و لیگنین و صمغ‌ها بوده که برای تولید اسید گلیسیریزیک با خلوص بالا نیاز به جداسازی و عملیات خالص‌سازی داشت که با حل نمودن این رسوب در اتانول ناخالصی‌ها جداسازی گردید. در اثر نیروی گریز از مرکز پس از جدا شدن رسوب، عصاره رقیق‌شده بدون اسید گلیسیریزیک نیز جدا شده و پس از تغلیظ تحت خلا و خشک شدن بوسیله خشک‌کن بصورت پودر DGL جمع آوری شد [100].

Archive of SID

www.SID.ir



شکل 2-2- مراحل استخراجاسید گلیسیریزیک از شیرین بیان به روش استخرا ج با حلال

Archive of SID
www.SID.ir

2-5- بررسی مشخصات عصاره و ترکیبات استخراج شده

به‌منظور مقایسه کارایی روش‌های انجام‌شده در دست‌یابی به حداکثر مقدار اسید گلیسیریزیک استخراج شده و همچنین تهیه عصاره فاقد اسید گلیسیریزیک به طور همزمان با محتوای فلاونوییدی قابل‌قبول با هدف انتخاب بهترین روش، رسوب‌های حاصل از هر واکنش جمع‌آوری و خشک‌گردیدند. سپس آزمایشات تعیین محتوای اسید گلیسیریزیک، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به شرح ذیل بر روی آنها انجام شد.

2-5-1- تعیین مقدار اسید گلیسیریزیک

روش‌های شناسایی مورد استفاده برای تعیین پیشرفت هر واکنش وخلوص ماده حاصله در آزمایشات انجام شده عبارتند از کروماتوگرافی لایه نازک (Thin layer chromatography) و کروماتوگرافی ستون با کارایی بالا (HPLC) [101]:

جدول 2-3-کروماتوگرافی لایه نازک(Thin layer chromatography)

مشخصات کروماتوگرافی لایه نازک	
لایه نازک از ماده جاذب(سلیکاژل یا آلومینا) که روی یک صفحه شیشه ای پخش شده و سولفات کلسیم یا یک پلیمر آبی به منظور چسباندن جاذب به سطح صفحه به کار برده می شود.	فاز ساکن
-استفاده از اشعه ماوراء بنفش -با استفاده از بخارات ید	روش مشخص کردن لکه ها برروی کاغذ کروماتوگرافی
فاصله ایی که حلال از مبدأ طی کرده /فاصله ایی که لکه از مبدأ طی کرده =RF	پارامتر شناسایی
-اتیل استات:متانول: آمونیاک غلیظ -اتیل استات	فاز متحرک مورد استفاده برای گلیسیریزیک اسید

Archive of SID

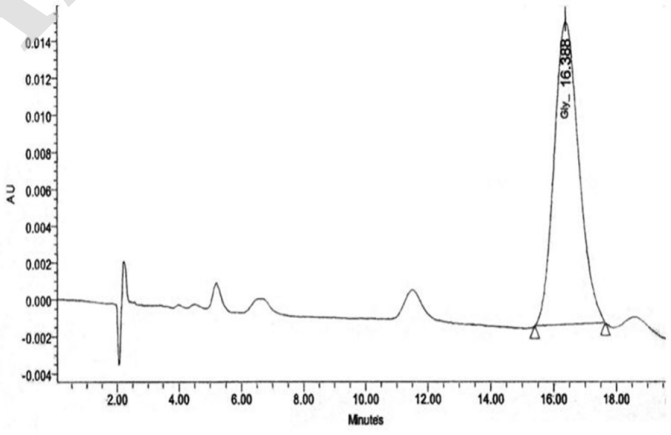
www.SID.ir

جدول 2-4-کروماتوگرافی ستون با کارایی بالا (HPLC)

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا	
ستون های کروماتوگرافی پوشیده شده از سلیکاژل بامش 5 میکرومتر نمونهاز بالای ستون تزریق شده وبا فشار ایجاد شده بوسیله پمپ دستگاه به پایین نفوذ می کند.(ستون سلیکاژل پیوند یافته با اکتا C۱۸)	فاز ساکن
طول ستون:Cm 10-25 قطر ستون :5 میکرومتر	مشخصات ستون مورد استفاده
اسید استیک/ آب/ استونیتریل(38:61:1)	فاز متحرک
اسپکتروفتومتردر 254 نانومتر نمونه های مختلف از روی شاخص شکست متفاوت آنهایا جذب uv ویا فلورسانس متفاوت آنهاتشخیص داده شده و اطلاعات حاصله از دستگاه به وسیله یک دستگاه ثبت کننده اطلاعات ثبت شده و نتایج به صورت یک نمودار چاپ می شود.	شناسایی نمونه ها
دمای مورد نیاز: 30 درجه سانتی گراد سرعت نفوذ: 8/. میلی لیتر بر دقیقه	شرایط نفوذ نمونه

در این طرح از روش دوم یا کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای شناسایی و تعیین مقدار اسید گلیسیریزیک در ترکیبات استخراج‌شده و همچنین روش هاوس‌من [98] استفاده‌گردید.

در تعیین مقدار اسید گلیسیریزیک دستگاه HPLC (HPLC , Knauer, V۷۶۰۳)با ستون از نوع Agilent RPC-۱۸ (با اندازه منافذ 5میکرومتر، ستون250*4604میلی‌متر ID) مورد استفاده قرارگرفت. تشخیص در طول موج ۲۵٤ نانومتر با آشکارساز uvانجام شد. فاز متحرک شامل مخلوطی از اسیداستیک، آب واستونیتریل (38:61:1)و در سرعت جریان 2 میلی‌متر بر دقیقه تحویل داده‌شد.



Archive of SID

www.SID.ir

شکل 2-3- کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز نمونه عصاره شیرین بیان باHPLC

2-5-2- اندازه‌گیری محتوای فنلی در عصاره

ترکیبات فنلی گیاهان دارای پتانسیل مهار رادیکال های آزاد، ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو و هیدرولیتیک و نیز فعالیت ضدالتهابی هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان اغلب با در نظر گرفتن محتوای ترکیبات فنلی آن‌ها ارزیابی می‌شود و با فعالیت زیستی این ترکیبات در ارتباط است [102]. برای تعیین محتوای فنلی عصاره‌های بدست آمده از دستور العمل GutFinger بهره گرفته‌شد [103].

مقدارکلترکیباتفنولیموجوددرعصارهتوسط رنگ‌سنجیبهروشفولین -سیوکالتهموردبررسیقرارگرفت . دراینروشمقدارکلترکیبات

فنولیبراساسیکترکیبفنولیانتخابشده،بیانمی گرددودراغلبمواقعاینترکیباسیدگالیکبودهونتیجه‌هایآنبه‌صور تاکیوالانتاسیدگالیکبیانمی گردد .

به 0/5 میلی‌لیتر از هر نمونه 2/5 میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتو 0/2 نرمال اضافه گردید. بعد از 5 دقیقه، به این نمونه‌ها 2CC از محلول کربنات سدیم75g/lit اضافه شد. جذب مخلوط 2 ساعت بعد در طول موج 765 nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل محلول شاهد قرائت گردید. از اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد.جذب غلظت های اسید گالیک ($900\mu g.ml^{-1}$-200) در طول موج 765 نانومتر اندازه‌گیری و منحنی آن رسم گردید و معادله خط y=bx-a بدست آمد (نمودار2-1). لازم به ذکر است جذب نمونه‌ها در خصوص محتوای فنلی در 4 برابر رقت اندازه گیری گردید.

2-5-3- اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید نمونه‌ها

برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید عصاره‌ها از روش Krizek و همکاران استفاده شد [103]. به 0/1gr از نمونه، 10ml از محلول اتانول اسیدی (الکل استیک و استیک اسید گلاسیال) به نسبت 99 به 1 اضافه شد. نمونه در دور 8000 سانتریفوژ شده، سپس به حمام آب گرم با دمای 80°C به مدت 10 دقیقه منتقل شدند. جذب این نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول 33، 3000، 270 نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئید از ضریب خاموش ۱-µ-۱cm-33000 استفاده شد. برطبق فرمول زیر غلظت محتوای فلاونوئیدی محاسبه گردید. جذب نمونه ها در خصوص محتوای فلاونوئیدی در 4 برابر رقت اندازه گیری شد.

$C=A/\varepsilon l$

A= جذب نمونه ε= ضریب خاموشی l = حجم نمونه C= غلظت

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 2-5-نتایج مربوط به بازده اسید گلیسیریزیک، میزان ترکیبات فنلی و میزان فلاونوئیدها در نمونه‌های بدست آمده در شرایط مختلف

نوع نمونه		محتوای فنلی (میلی گرم معادل اسید گالیک در هر گرم)	درصد اسید گلیسیریزیک به روش HPLC	درصد اسید گلیسیریزیک به روش هاوس من	محتوای فلاونوئید(mol/ml)	
					(nm)330	(nm)300
عصارهٔ آمونیاکی 3%	محلول فاقدGA	/88.	3/2	19	1/1	1/4
	رسوب	4/17	4/3	20	/8.	1/7
عصارهٔ آمونیاکی 3% + سورفاکتانت توئین	محلول فاقدGA	2/93	4/3	24	1/4	1/2
	رسوب	1/81	3/8	13/8	1/2	1/3
عصارهٔ آمونیاکی 3% + سورفاکتانت Triton X100	محلول فاقدGA	3/22	5/8	31	2/1	1/9
	رسوب	1/36	3/5	12/7	1/9	1/55
عصارهٔ آمونیاکی 3% + سورفاکتانت دودسیل سولفات	محلول فاقدGA	3/35	7/2	34	2/5	2
	رسوب	1/02	1/3	5/7	1/6	2/2
عصارهٔ آمونیاکی 4%	محلول فاقدGA	/8.	2	18	4/2	3/1
	رسوب نهایی	6/40	4/3	20	2/8	3/2
عصارهٔ آمونیاکی 0/1%	محلول فاقدGA	/8.	1/8	15	1/07 2/1	1/4 2
عصارهٔ کروسینی		2/35	2/18	21	/8.	/9.
عصاره آبی	محلول فاقد GAرسوب نهایی	13 2/93	/8. 6/6	12 25	89 92	82 83

Archive of SID

www.SID.ir

2-5-4- بررسی مشخصات اسید گلیسیریزیک حاصل شده

با توجه به نتایج جدول 2-4 ترکیبات حاصل از روش 2-4-5 بهترین نتایج را از نظر میزان فلاونوییدی داشته‌است. سایر پارامترهای این ترکیب مطابق با استاندارد شماره 2343 مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به شرح ذیل بدست آمد [98].

جدول شماره2-6- ویژگی اسید گلیسیریزیک بدست آمده (مطابق با استاندارد شماره 2343)

ردیف	ویژگی	مقدار
1	درصد وزنی رطوبت	8
2	درصد وزنی خاکستر	9
3	PH	5,3
4	درصد وزنی مواد غیرقابل حل در آب گرم مادهٔ خشک	2/3
5	درصد وزنی مواد غیرقابل حل در آب سرد مادهٔ خشک	4/7
6	درصد وزنی اسید گلیسیریزیک در مادهٔ خشک (HPLC)	6/6
7	درصد وزنی قند کل در مادهٔ خشک	22
8	درصد وزنی صمغ و نشاسته در مادهٔ خشک	38
9	درصد وزنی گلیسیریزین روش هاوس من در مادهٔ خشک	20

نتایج نشان دهنده مشخصات قابل قبول برای این عصاره است.

2-6- تخلیص نهایی و رنگبری *DGL*

دراین مرحله محصول فاقد گلیسیریزنیک بدست‌آمده در مجاورت اتانول و کربن اکتیو رنگبری شده و با کریستالیزاسیون ترکیب بی رنگی حاصل می شود. البته این رسوب دارای خلوص قابل قبولی نیست.

Archive of SID

www.SID.ir

2 - 7 - اصلاح و توسعه فرآیند تخلیص

این مرحله از اهمیت خاصی برخوردار است، زیرا باید روشی برای تخلیص استفاده شود که در نتیجه آن بیشترین ناخالصی از رسوب DGL جدا شده و از طرفی کمترین مقدار اتلاف آن را نیز به همراه داشته باشد. کریستالیزاسیون مجدد رسوب حاصله در محیط اتانول موجب از بین رفتن ناخالصی می شود. این فرآیند باید در دمای محیط انجام شود زیرا دما موجب افزایش انحلال آن می گردد. برای این فرآیند از حلال های مختلفی نظیر متانول ، اتیل استات، هگزان، تولوئن وتترا کلرید کربن و اسید استیک و ترکیبی از این حلال ها استفاده می توان نمود. اما از بین این حلال ها به نظر می رسد بهترین حلال اتانول باشد.
محصول حاصل معمولاً دارای رنگ است. برای رنگبری ابتدا در دمای جوش در متانول حل شده و بعد با کربن فعال رنگبری می شود .مایع زیر صافی بی رنگ است که با کریستالیزاسیون رسوب می کند. برای توسعه این محصول روش های ذیل نیز وجود دارد.

رفلاکسDGL در محیط آبی (استخراج ناخالصی درآب)
رفلاکس DGL در محیط آب و الکل
کریستاله کردن مجدد DGLدر متانول یا اتانول
انحلال DGL در الکل و رسوب دادن با آب

2 - 8 - بهینه‌سازی شرایط استخراج

2 - 8 - 1 - طراحی آزمایشات

در این بخش از روش پاسخ سطح مدلBOX_Behnkenبرای رسیدن به بیشترین مقدار GL در رسوب و همچنین ترکیب DGL حاوی کمترین مقدار GL استفاده‌شد. نرم افزار تخصصی طراحی دیزاین اکسپرت (Version۸,۰,۷,۱, statEase, Inc, USA) برای رگراسیون و آنالیزهای گرافیکی داده‌ها استفاده شد.
در این طراحی اثر چهار متغیر زمان استخراج، نسبت ماده اولیه به حلال (پودر شیرین‌بیان به آب) ،pH محیط و دما بررسی‌شد. بازده تغییرات و سطح متغیر در جدول (1) ارایه شده‌اند. هر متغیر در سه سطح پایین(-1)، متوسط(0) و بالا (+1) در نظر گرفته شد. زمان استخراج در سه سطح ۱۷،۳۰،۴ساعت، نسبت ماده اولیه به حلال (آب به پودر شیرین‌بیان)۱۰،۲۵،۴۰(g/ml)، pH محیط در سه سطح ۸،۱۰،۱۲ و دما در سه سطح ۶۰،۹۰،۱۲۰(^{o}c) بررسی شد. این چهار پارامتر مورد بررسی به عنوان پارامترهای کمی انتخاب شده متغیرهایی هستند که مستقیما بر سیستم واکنش (سینتیک واکنش) اثرگذار هستند. طراحی آزمایش‌ها توسط نرم‌افزار دیزاین‌اکسپرت(DesignExpert) به کمک روشResponse Surface - RSM Methods–انجام‌شد که این نرم افزار قادر است متغیرهای تاثیرگذار بر پاسخ را به صورت عددی یا طبقه‌ای در نظربگیرد. این مورد یکی از مزایای این نرم‌افزار بر دیگر نرم افزارهای موجود در زمینه طراحی آزمایش‌ها از جمله مینی‌تب است که باعث شد این نرم‌افزار در بخش طراحی آزمایش‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

تعداد کل آزمایش‌ها برابر **27** تعیین شد. روش کار به این صورت بود که ابتدا با مشخص‌کردن پارامترهای آزمایش و محدوده‌ی عملیاتی هر یک، نرم‌افزار تعدادی آزمایش را طراحی‌کرده (جدول شماره **2-7**)، سپس با انجام آزمایشات، بازده هر کدام را بدست‌آورده (جدول شماره**2-8**)و به نرم افزار داده شد، نرم‌افزار با آنالیز نتایج و بهینه‌سازی بهترین شرایط برای انجام فرایند را گزارش‌داده و نمودار سه‌بعدی تغییرات بازده در مقابل تغییرات پارامترها را رسم نمود. این روش روشی نوین و دارای دقت‌بالا و دارای تحلیل رویه‌هاست و اعتبار قابل قبولی‌دارد.

2 - 8 - 2 - انتخاب فاکتورها

استخراج مواد موجود در نمونه‌های گیاهی جامد بوسیله حلال‌های مختلفی صورت می‌گیرد. در همه حال روش استخراج مواد مؤثره موجود در گیاهان به نوع بافت گیاهی و ترکیبات گیاه وابستگی بسیاری دارد.
پارامترهای زیادی می‌تواند در استخراج مواد موثره از گیاهان تاثیرگذار باشد که می‌توان با توجه به نوع گیاه و روش استخراجی که بکار گرفته شده‌است تعدادی از آنها را بعنوان موثرترین پارامترها در عملیات استخراج مد نظر قرار داد.
پارامترهایی که در ابتدا مد نظر بودند تا مورد بررسی قرارگیرند در ذیل خلاصه شده‌اند:

- زمان استخراج
- نسبت حجم حلال استخراجی به پودر گیاه
- دمای استخراج
- pH حلال
- اندازه ذرات گیاهی
- نوع حلال
- فشار هوا
- تعداد مراحل آزمایش

پس از بررسی‌های لازم از بین این پارامترها، چهار پارامتر اول که بیشترین تاثیر را بر میزان استخراج داشت برای بهینه‌سازی انتخاب‌گردید و بقیه پارامترها بر حسب نیاز و شرایط عملیاتی و محدودیت امکانات در بهترین حالت خود ثابت‌شدند [101]. انتخاب محدوده عملیاتی بر اساس مقالات منتشره و روش‌های متداول کنونی صورت‌پذیرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 2-7– آزمایشات طراحی‌شده توسط نرم افزار بر اساس پارامترهای آزمایش و محدوده عملیاتی هر یک به صورت کدشده

StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	A	B	C	D
۹	۱	۲	۱	-۱	۰	۰	-۱
۲۰	۲	۲	۱	۱	۰	۱	۰
۵	۳	۲	۱	۰	۰	-۱	-۱
۲۲	٤	۲	۱	۰	۱	۰	-۱
۱۰	۵	۲	۱	۱	۰	۰	-۱
۲۳	٦	۲	۱	۰	-۱	۰	۱
٤	۷	۲	۱	۱	۱	۰	۰
۱۹	۸	۲	۱	-۱	۰	۱	۰
۱۱	۹	۲	۱	-۱	۰	۰	۱
۲	۱۰	۲	۱	۱	-۱	۰	۰
۱٤	۱۱	۲	۱	۰	۱	-۱	۰
۲٦	۱۲	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۷	۱۳	۲	۱	۰	۰	-۱	۱
۸	۱٤	۲	۱	۰	۰	۱	۱
۱	۱۵	۲	۱	-۱	-۱	۰	۰
٦	۱٦	۲	۱	۰	۰	۱	-۱
۱۳	۱۷	۲	۱	۰	-۱	-۱	۰
۲۷	۱۸	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۱٦	۱۹	۲	۱	۰	۱	۱	۰
۲٤	۲۰	۲	۱	۰	۱	۰	۱
۱۸	۲۱	۲	۱	۱	۰	-۱	۰
۲۵	۲۲	۰	۱	۰	۰	۰	۰
۲۱	۲۳	۲	۱	۰	-۱	۰	-۱
۳	۲٤	۲	۱	-۱	۱	۰	۰
۱۲	۲۵	۲	۱	۱	۰	۰	۱
۱۷	۲٦	۲	۱	-۱	۰	-۱	۰
۱۵	۲۷	۲	۱	۰	-۱	۱	۰

پارامترهای نشان داده شده در جدول به شرح زیر می‌باشد:

- **زمان استخراج A**
- **نسبت جریان ورودی به حلال (آب به پودر شیرین‌بیان) B**
- **PH محیط C**
- **دما D**

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 2-8- بازده آزمایشات طراحی‌شده بوسیله نرم‌افزار

شماره آزمایش	زمان استخراج (hr) A	نسبت جریان ورودی به حلال (gr/mL) B	pH (12-8) C	دما 0C D	GL% در رسوب	GL% در DGL
1	4	25	10	60	46,8	0,063
2	30	25	12	90	10,8	6,9
3	17	25	8	60	38,7	0,29
4	17	40	10	60	45,9	0
5	30	25	10	60	20,7	3,01
6	17	10	10	120	49,5	0,002
7	30	40	10	90	27	2,83
8	4	25	12	90	52,2	0,058
9	4	25	10	120	52,29	0,051
10	30	10	10	90	47,7	0
11	17	40	8	90	26,1	2,83
12	17	25	10	90	20,7	3
13	17	25	8	120	36,9	0,88
14	17	25	12	120	37,62	0,35
15	4	10	10	90	50,4	0
16	17	25	12	60	37,44	0,8
17	17	10	8	90	52,2	0
18	17	25	10	90	27	1,7
19	17	40	12	90	26,1	1,7
20	17	40	10	120	38,97	0,17
21	30	25	8	90	15,03	5,3
22	17	25	10	90	27,9	2,87

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول شماره2-8- بازده آزمایشات طراحی شده بوسیله نرم افزار

شماره آزمایش	زمان استخراج (hr) A	نسبت جریان ورودی به حلال(gr/mL) B	pH (12-8) C	دما 0C D	GL% در رسوب	GL%در DGL
23	17	10	10	60	54,9	0,01
24	4	40	10	90	38,07	0,16
25	30	25	10	120	27,9	3,24
26	4	25	8	90	8,91	6,28
27	17	10	12	90	43,02	0,6

با توجه به مدل انجام شده، نرم افزار Design Expert می تواند به یک معادله چند جمله‌ای درجه دوم مرتبط با پاسخ به متغیرهای عملیاتی (Eq.۱) منجر شود.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \qquad (۱)$$

که در آن Yپاسخ است ، β۰ضریب ثابت ، ضرایب βi، βii و βijبه ترتیب ضرایب اثر خطی، درجه دوم و تعامل هستند.xi و xj متغیرهای مستقل هستند، ε خطا و kتعداد متغیر است.

علاوه بر این، نرم افزار قادر است تجزیه و تحلیل گرافیکی از داده های تجربی ، که برای تعیین ترکیب بهینه متغیرها مهم است را آماده کند. صحت مدل توسط انطباق معادله چند جمله‌ای از روی مقدار R^2و R^2تنظیم شده ارزیابی می شود.

2 - 9 - ساخت پایلوت تولید عصاره فاقد گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان

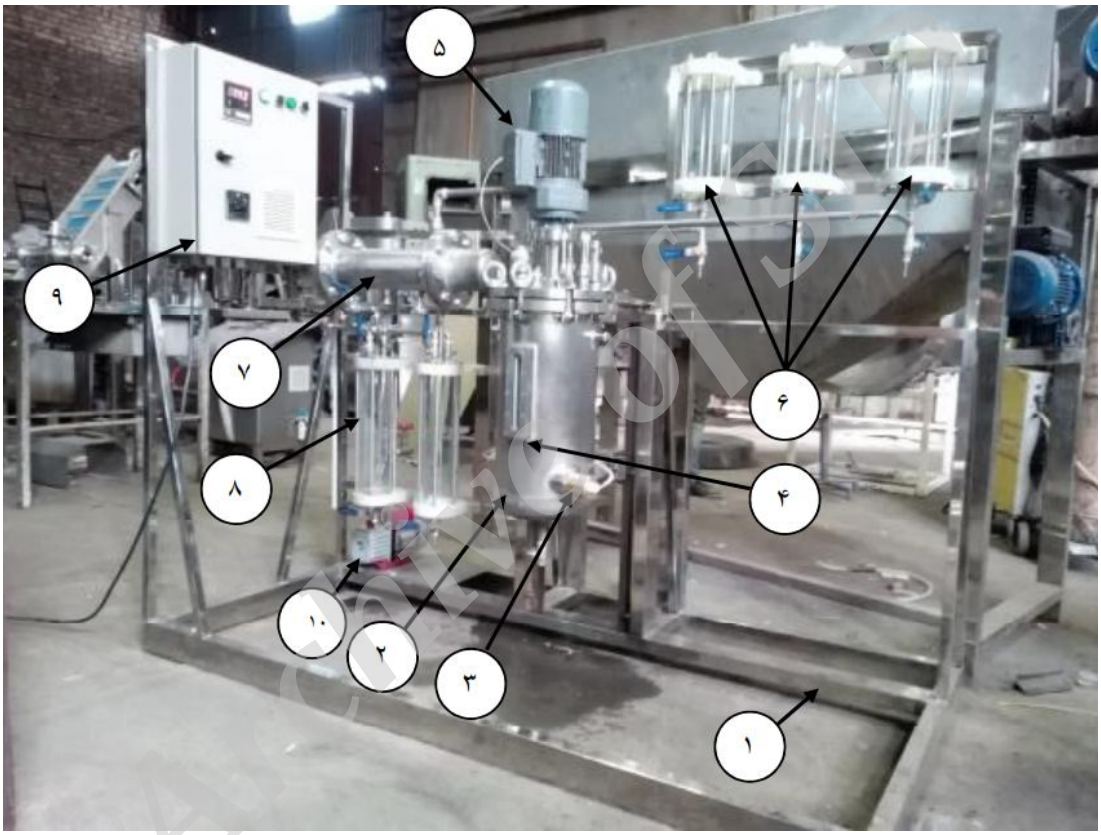
نتایج بدست‌آمده در مرحله آزمایشگاهی نشان‌داد که روش استخراج اسید گلیسیریزیک از شیرین‌بیان به روش استخراج باحلال " در مقایسه با سایر روش‌های آزمایش‌شده در این پژوهش از نقطه‌نظر پارامترهای مورد نظر شامل استخراج اسید گلیسیریزیک و همچنین تهیه همزمان ترکیب فاقد اسید گلیسیریزیک با محتوای فنلی قابل‌قبول مناسب‌بوده، بعلاوه محصول نهایی اسید گلیسیریزیک خالص است در حالیکه در روش استخراج نمک آمونیومی گلیسیریزین، محصول نهایی نمک آمونیوم گلیسیریزینات است. به همین دلایل این روش مبنای طراحی پایلوت قرارگرفت. دستگاه عصاره‌گیری شیرین‌بیان جهت تولید عصاره فاقد گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان با نام DGL طراحی و ساخته‌شد. این دستگاه به صورت نیمه اتوماتیک بوده و طراحی به گونه‌ای انجام‌شد که کلیه مراحل استخراج در

Archive of SID

www.SID.ir

همین دستگاه انجام‌گردد. در ادامه به شرح دستگاه و چگونگی کار با قسمت‌های مختلف آن به صورت مفصل پرداخته شده‌است.

2-9-1- قسمت‌های مختلف دستگاه



شکل 2-4- پایلوت تولید عصاره فاقد گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان

جدول–2-9- قسمت های مختلف پایلوت تولید عصاره فاقد گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان

www.SID.ir

2-9-2-روش کار با دستگاه

دستگاه عصاره گیری شیرین بیان جهت استخراج مواد موثره گیاه شیرین بیان با نامهای LGLو HGL طراحی و ساخته شده است. این دستگاه به صورت نیمه اتوماتیک بوده و طراحی به گونه ای انجام شده است که بتوان کلیه مراحل استخراج را در همین دستگاه انجام داد.

تنظیم دما: کنترل‌کننده این دستگاه از نوع TC٤L شرکت AUTONICS می‌باشد. جهت تنظیم دما با فشار دکمه mode می‌توان مقدار دمای تنظیمی دستگاه راتغییرداد و روی مقدار جدید و دلخواه تنظیم نمود. کنترل کننده از نوع PID بوده و مقادیر پارامترهای مربوط به کنترل شامل Kp ، Ti وTd می باشد که به شکلی تنظیم شده است تا سیستم تنظیم دما بتواند در بهترین حالت و با بیشترین دقت دمای مخزن را کنترل کند، اما در صورت اختلال در عملکرد سیستم کنترل و در صورت نیاز به تنظیم مجدد می‌توان با مراجعه به کاتالوگ عمل تنظیم مجدد را انجام‌داد.

تنظیم دور: جهت تنظیم دور همزن از یک اینورتر مدل iG٥A شرکت LS استفاده شده است. تنظیمات اصلی اینورتر انجام شده است و اپراتور جهت تنظیم دور همزن می‌تواند از صفحه کلید اینورتر در داخل تابلو برق استفاده کند. با فشار کلید Enter و با استفاده از کلید جهتی می‌توان فرکانس را تغییر داد. لازم به ذکر است که در حالت عادی برق شهری دارای فرکانس 60 هرتز است و دور خروجی موتور گیربکس 150 دور در دقیقه می‌باشد. با افزایش فرکانس اینورتر دور خروجی گیربکس به صورت خطی تغییر خواهدکرد. برای کسب اطلاعات دقیق‌تر می‌توانید به کاتالوگ اینورتر مراجعه‌کنید.

تنظیم فشار: جهت تنظیم فشار می‌توان از شیر نصب شده در قبل از پمپ خلا استفاده نمود. این شیر از نوع سوزنی بوده و یک طرف آن به هوا وصل‌می‌باشد. با باز کردن شیر هوا مکش شده و از مقدار خلا داخل مخزن اصلی کم می‌شود. مقدار فشار را می‌توان از روی گیج نصب شده در کنار شیر بررسی‌نمود.

دستگاه استخراج با آب در مقیاس پایلوت که در اسلاید مشاهده می فرمایید، برای این طرح بر اساس اطلاعات مقیاس آزمایشگاهی طراحی و ساخته شد.

جنس کلیه قسمت های درگیر با مواد SS٣١٦ و سایر قسمت ها SS٣٠٩و آهن گالوانیزه می باشد. از دیگر ویژگی های این طراحی به موارد زیر اشاره می توان کرد:

شماره	شرح	شماره	شرح
1	سازه فلزی	6	مخازن ذخیره خوراک
2	مخزن اصلی دستگاه	7	کندانسور
3	المنت گرمایشی	8	ریسیور
4	سایت گلس (Sight Glass)	9	تابلو برق و کنترل
5	موتور گیربکس	10	پمپ خلاء

Archive of SID

www.SID.ir

- قابلیت کار در دمای اتاق تا حداکثر 120 درجه سانتیگراد (دمای کار 40 درجه سانتیگراد)
- قابلیت کار در فشار اتمسفر یک تاحداکثر 2 بار یا 850 میلی بار خلا و فشار طراحی 3/5 بار
- قابلیت بارگیری بر اساس نوع گیاه تا 10 کیلوگرم (ظرفیت کاری 8 لیتر)
- همزن با حداکثر دور 300 دور در دقیقه

پمپ فشار قوی برای ایجاد فشار در سیستم و انتقال آب در شدت جریان های موردنظر استفاده شده است. سه مخزن جانبی از جنس شیشه جهت نگهداری خوراک (شامل آب، اسید و آمونیاک یا اتانول در این فرایند) اضافه شده است. سیستم گرمایش، از جمله اقتصادی ترین روش ها برای بالا بردن دمای آب تا حداکثر 150 درجه سانتیگراد و انجام عمل استخراج در مقیاس پایلوت، استفاده از روغن است. جهت گرم کردن مایع داخل مخزن از سیستم دوجداره استفاده شده است که در جداره دوم روغن ریخته می‌شود. روغن توسط المنت های گرمایشی گرم شده و گرما از طریق روغن به مایع درون مخزن منتقل می‌شود.محفظه استخراج از جنس استیل ضد زنگ 316 به حجم 10 کیلوگرم است که برای استقرار نمونه گیاهی از یک سبد فلزی که به راحتی در داخل ظرف قرار گیرد استفاده می شود. دما و فشار در قبل و بعد از مخزن توسط آشکارگرهای دما و فشار نشان داده می شود. مبدل جهت سردسازی کامل عصاره تا دمای محیط یا جهت گرم کردن بیشتر حلال استفاده می شود. دو عدد ریسیور شیشه ای جهت جمع آوری حلال هنگام بازیابی استفاده می شود.

طراحی طوری انجام شده است که کلیه مراحل استخراج را می توان در همین دستگاه انجام داد. دستگاه طوری طراحی شده است که مخزن استخراج، همزمان هم اکستراکتور و هم اواپراتور است که یکی از مزایای اصلی این طراحی به شمار می رود.

نکات مهم

1- قبل از شروع کار با دستگاه باید از اتصال Earth مطمئن گردید. زیرا احتمال برق گرفتگی خفیف در صورت عدم نصب کابل Earth به بدنه وجود دارد.

2- قبل از شروع به کار با دستگاه باید از وجود روغن در جداره مخزن اصلی مطمئن شد. جهت گرم کردن مایع داخل مخزن از سیستم دو جداره استفاده شده است که در جداره دوم روغن ریخته شده است. روغن توسط المنت‌های گرمایشی گرم شده و گرما از طریق روغن به مایع درون مخزن انتقال می‌یابد. در صورت عدم وجود روغن در جداره دوم به مقدار کافی المنت های حرارتی سوخته و احتمال آتش سوزی وجود دارد.

مشخصات فنی دستگاه

فشار کاری: 2 بار گیج، 850 میلی بار خلاء

فشار طراحی: 3/5 بار گیج، خلاء مطلق

Archive of SID

www.SID.ir

دمای کاری: 40 درجه سانتیگراد

دمای طراحی: 120 درجه سانتیگراد

ظرفیت کاری دستگاه: 8 لیتر

ظرفیت اسمی دستگاه: 10 لیتر

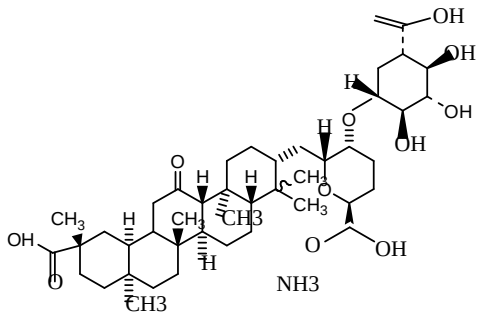
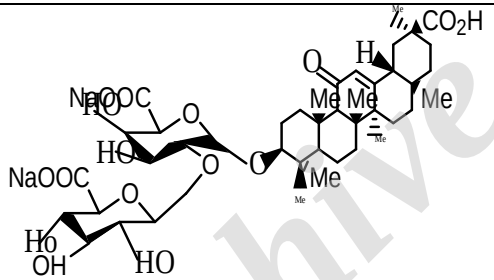
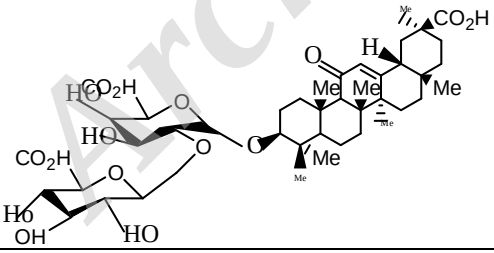
حداکثر دور همزن: 300 دور بر دقیقه

جنس: کلیه قسمت‌های در تماس با مواد از ۳۱۶SSو سایر قسمت ها ۳۰۴SS و آهن گالوانیزه

Archive of SID

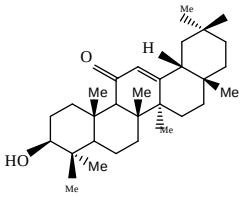
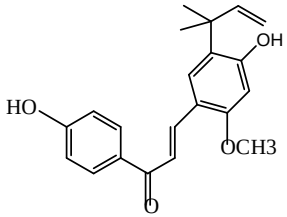
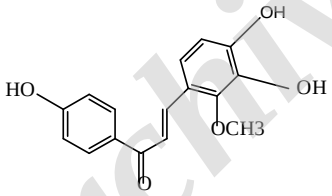
www.SID.ir

جدول 1-1-ترکیبات و مشتقات جدا شده از گیاه شیرین‌بیان، خواص و ساختمان شیمیایی

ردیف	نام ترکیب	خاصیت	ساختمان شیمیایی	ویژگی
1	نمک مونوآمونیوم گلیسیریزات[18]	ضد اسید معده، ضد زخم معده، زخم اثنی عشر، اختلال عملکرد کبد، کهیر و ضایعات پوستی، ضد آلرژیک، ضد التهاب کبد، اگزما، بثورات پوست		در آب سرد به سختی امّا در آب گرم به راحتی حل می شود.
2	دی سدیم گلیسیرتینیک [18]	ضد اسید معده، ضد زخم معده، زخم اثنی عشر، اختلال عملکرد کبد، کهیر و ضایعات پوستی، ضد آلرژیک، ضد التهاب کبد، اگزما، بثورات پوست.		بصورت پودر سفید است در آب به راحتی حل می شود در اتانول به آرامی در کلروفرم و اتر حل نمی‌شود.
3	اسید گلیسیریزیک ترانس[18]	حلالیت بالا در اب، پایداری محلول آبی، خاصیت شیرین کنندگی و خاصیت دارویی ضد زخم مخاطی، ضد آلرژی و آنتی ویروس		پودر کریستالی سفید رنگ، به راحتی در اتانول حل می شود. در آب به سختی حل می شود. در اتر و کلروفرم حل نمی شود.

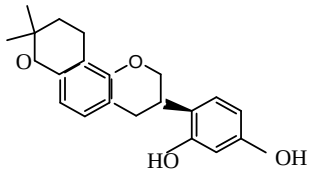
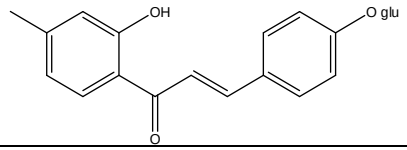
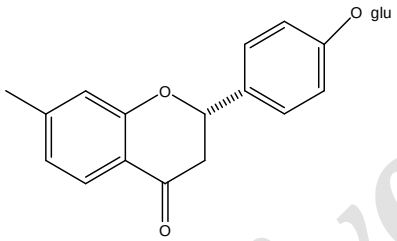
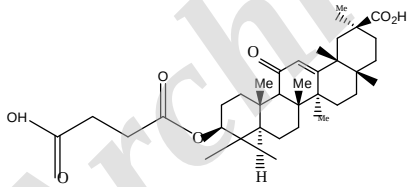
Archive of SID

www.SID.ir

ردیف	نام ترکیب	خاصیت	ساختمان شیمیایی	ویژگی
4	گلیسیرتینیک اسید [18]	این ترکیب خاصیت ضد التهاب دارد. و بنام انکسولون در فارماکوپه ها نام دارد. خاصیت ضد التهاب آن شبیه کورتیزن اما بدون عوارض جانبی است. همچنین نظیر اکسپکتورانت عمل می کند		
5	لیکوچالکون A[20]	خواص ضد التهاب، آنتی اکسیدان و آنتی میکروبیال و ضد تیروزیناز		حاوی 20-15درصد لیکوچالکون A قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، در اتانول حل می شوند، در ۳،۱- بوتیلن گلیکول، پروپیل گلیکول و نامحلول در آب
6	لیکوچالکون B[20]	خواص ضد التهاب، آنتی اکسیدان و آنتی میکروبیال و ضد تیروزیناز		حاوی 20-15درصد لیکوچالکون B قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، در اتانول حل می شوند، در ۳،۱- بوتیلن گلیکول، پروپیل گلیکول و نامحلول در آب

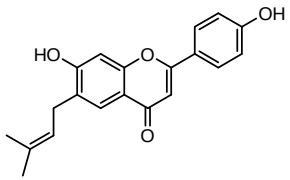
Archive of SID

www.SID.ir

7	گلابریدین [20]	تأثیرات مفید بر پوست و خاصیت ضد التهابی و آنتی اکسیدانی		محتوی درصد0/4 از گلابریدین، محلول قهوه ایی و قهوه ایی زرد، محلول در ۳،۱- بوتیلن گلیکول، محلول در اتانول، محلول در پروپیلن گلیکول
8	ایزولیکورتین [21]	خواص ضد التهاب		
9	لیکورتین [21]	فعالیت ضد التهاب		
10	کاربنوکسولن [21]	خواص ضد التهاب دستگاه گوارش		

Archive of SID

www.SID.ir

11	استئاریل گلیسیریزینات [21]	عامل ضد التهاب و تسکین پوست		پودر سفید تا زرد کریستالی، محلول در اتانول بدون آب، محلول در الکل استاریل، روغن گیاهی یا پارافین مایع، نامحلول در آب
12	گلیسیریزینات استئارات	برای سوختگی های ناشی از آفتاب		مشتق قابل حل در چربی گلیسرزین، غیر قابل حل در آب
13	لیکوفلاوون [21]	خواص ضد التهاب		

Archive of SID

www.SID.ir

1-7- کاربردهای شیرین‌بیان

1-7-1- کاربرد در طب‌سنتی

شیرین‌بیان از کاربرد دارویی طولانی درطب سنتی اروپا و آسیا برخوردار است. بنظر می‌رسد که در درمان بیماری زخم گوارشی، یبوست، سرفه و سایر بیماری‌هایی که در جدول 1-2 به اختصار آمده مؤثر واقع شده است. همانگونه که جدول نشان می‌دهد، بخش‌های مختلفی از این گیاه در درمان برخی بیماری‌ها مفید واقع شده‌اند.

جدول 1-2-کاربردهای مختلف شیرین‌بیان در طب سنتی

قسمت مورد استفاده	نحوه استفاده	استفاده سنتی	مرجع
برگ تازه	استعمال خارجی	درمان زخم	22
ریزوم و ریشه	تزریق، خوراکی	درمان التهاب مثانه	23
ریشه	خوراکی	درمان دیابت	24
ریشه	خوراکی	مورد استفاده در درمان سرفه و شکم	25
عصاره آبی ساقه	خوراکی	درد	26
ساقه	خوراکی	استفاده در درمان سل	27
ریشه	خوراکی	درمان دیابت و مدر	28
عصاره آبی	خوراکی	درمان سنگ کلیه و زخم های مزمن	29
عصاره آبی	خوراکی	درمان زخم معده و بیماری ادیسون	30
عصاره آبی ریشه	خوراکی	برای بهبود گرفتگی صدا	31
عصاره آبی ریزوم	خوراکی	ملین و ضد یبوست	32
عصاره آبی ریزوم و ریشه	خوراکی	ضد بارداری	33
		بهبود عملکرد جنسی مردانه	

1-7-2- مصارف (کاربردهای) صنعتی

از نظر تجاری، شیرین‌بیان به آدامس، شکلات، آبنبات، سیگار، دخانیات، تنباکوی جویدنی، و در کل به عنوان شیرین کننده و یک ماده بی‌رنگ‌کننده در لوازم آرایشی افزوده‌می‌شود. همچنین شیرین‌بیان اغلب برای پنهان‌کردن مزه داروهای تلخ مانند صبرزرد، کنین (گنه‌گنه) و سایر داروها بکارمی‌رود. ویژگی جذب‌سطحیِ فعال ساپونین‌های شیرین‌بیان، ممکن‌است جذب ضعیف داروهای جاذب مانند گلیکوزیدهای آنتراکنیونی راتسهیل‌کند. برخی از محصولاتی که دارای اسیدگلیسیریزیک هستند در جدول 1-3 به اختصار آمده است[34].

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1-3- محصولات حاوی مقادیر قابل توجه از شیرین‌بیان

کاربرد	مصارف
شیرینی سازی	آدامس، شیرینی، مشروب، کیک، پاستیل و ...
فراورده های بهداشتی وسلامتی	آدامس رژیمی، داروی گلو، ترکیب ضد سرفه، چای شیرین‌بیان
انواع ریشه شیرین‌بیان	تنباکو و نوشیدینی های الکلی

شیرین‌بیان در پزشکی بخاطر دارا بودن خواص اکسپکتورانت، دیورتیک، امولنیت، لاکزاتیو و استروژنیک مورد استفاده قرارمی‌گیرد.

1-7-3- صنایع بهداشت دهان دندان

گلیسیریزات‌آمونیوم در ساخت خمیردندان، دهان‌شویه و سایر محصولات کنترلی بیماری‌های دهان و دندان مورد استفاده قرارمی‌گیرد. همچنین عصاره این گیاه در ترکیب با دیگر گیاهان به اشکال مختلف مانند کپسول‌هایImmuno gurard در درمان بیماری‌های دهان و دندان مؤثر است[35].

1-7-4- لوازم آرایشی

ویژگی‌های برخی از ترکیبات موجود در شیرین‌بیان نظیر خاصیت روشن‌کنندگی پوست، توانایی توقف فعالیت ملانوژن‌ها و اثرات ضدالتهابی و .... این گیاه را برای کاربرد در تهیه محصولات آرایشی ویژه پوست مناسب ساخته‌است. به برخی از این خواص در ذیل به تفصیل اشاره شده‌است.

گلابریدین، که ترکیب اصلی ذرات هیدروفوب عصاره شیرین‌بیان است، به علت دارابودن خاصیت ضدالتهابی و مرطوب کنندگی برای پوست مناسب شناخته شده‌است. اسیدگلسیریزیک و اسیدگلسیرتینیک نیز به علت خواص ضدالتهابی خود اهمیت‌دارند. ذرات هیدروفوب حاوی گلابریدین و سایر فلاونیدها دارای تأثیرات متوقف‌کنندگی بر روی ملانوژن‌ها هستند. بعضی از محققان تأئیدکرده‌اند که این تأثیر به دلیل توانایی در متوقف سازی فعالیت تیروسنیاز می‌باشد. مطالعات آزمایشگاهی و برون‌تنی برای بررسی تأثیرات متوقف‌کنندگی گلابریدین بر ملانوژن و اثرات ضدالتهاب آن نیز انجام شده‌اند[36].

اثر رنگدانه‌زدایی پوست بوسیله ترکیبات فعال گلابریدین با استفاده از پوست رنگدانه‌دار تحریک شده با UV_Bدر خوک‌های قهوه‌ای بررسی‌شد. محلول 0/5درصد گلابریدین بر روی پوست به‌کاربرده شد. کاربرد موضعی گلابریدین باعث کاهش تولید رنگدانه بر اثر پرتو UV_Bبر پشت خوک های قهوه‌ای رنگ به میزان قابل‌توجهی شد. بافت تیمار شده با 0/1درصدDOPA رنگی شد و متوقف‌سازی ملانوژنی با محاسبه تعداد ملانوسیت‌ها +DOPA- در میکروسکوپ اپتیکی مورد ارزیابی قرارگرفت. مطالعات اپیدرمی

Archive of SID

www.SID.ir

هسیتولوژیکی انجام شده نشان‌داد که ملانوسیت +-DOPA در زمان استفاده از گلابریدین کاهش‌یافت. درمان با گلابریدین باعث روشن‌تر شدن رنگ پوست به دلیل متوقف سازی ملانوژنی‌شد. مؤلفان به این نتیجه‌رسیدند که گلابریدین حاضر در ریشه شیرین‌بیان باعث متوقف‌شدن تجزیه ملانین و التهاب می‌شود. آنها همچنین مشاهده‌کردند که این ویژگی‌هایی گلابریدین به ساختار آن مرتبط می‌باشد[38و37].

گلابریدین ممکن‌است باعث متوقف شدن ملانوژن با یکی از دو مکانیسم زیر شود:

1) متوقف سازی تولید گونه های اکسیژن فعال (O_2)

2) متوقف‌سازی فعالیت تیوسین تیروسیناز که در انسان یک آنزیم ضروری و تنظیم کننده تولید ملانین است که شامل یک گروه رنگدانه‌های قهوه ای تا سیاه در پوست و چشمان انسان‌ها هستند.

به علاوه ریشه پودرشده گلیسیرزا گلابرا، عصاره آن، اسیدگلیسیرتینیک، استریل‌گلیسیرینات، پیرودوکسین‌گلیسیزینات و اسیدگلیسیرتینیک 3-B-O -هموسینات(کربوکسونل) به علت اثرات ضدالتهابی در وسایل آرایشی کاربرددارند.

کرم‌های موضعی یا لوسیون‌ها با اهداف آرایشی نباید حاوی بیشتر از 0/5درصد عصاره خشک گیاه باشند.

1-7-5- صنایع غذایی

1-7-5-1- افزودنی‌های خوراکی

گلیسیریزین یک مزه شیرین در غذاها ایجادکرده و به علاوه خاصیت نرم‌کننده نمک و افزایش طعم و نیز پایداری گرمایی‌را ایجاد می‌نماید. از آنجایی‌که طعم شیرین گلیسیریزین چندان مطلوب به‌نظر نمی‌رسد، اصلاح آن با استفاده از شکرهای طبیعی یا سایر شیرین‌کننده‌ها صورت می‌پذیرد. همچنین برای کاهش شوری غذاهای شور مانند سُس‌سویا و سایر سس‌ها، اسنک‌های خوش‌طعم و سوسیس در ژاپن مورد استفاده قرار می‌گیرد. [39].

در ژاپن، عصاره شیرین‌بیان هیدرولیزشده آنزیمی (α- گلیکوزیل ـ گلیسیریزین) و (اسیدگلیسیرتینیک 3-o گلوکروتید) نیز به عنوان شیرین‌کننده مورد استفاده قرارمی‌گیرد. به خاطر قابلیت انحلال زیاد آن و طعم بهتر آن نسبت به عصاره شیرین‌بیان غیر درمانی به عنوان یک شیرین‌کننده استعمال‌می‌شود. شیرینی مربوط به اسید گلیسیرتینیک ۳-o-گلوکرونید تقریباً 941 بار از ساکاروز بیشتراست[39].

1-7-5-2- صنعت توتون و تنباکو

مقادیر زیادی از عصاره تولیدی‌شیرین‌بیان در صنعت تنباکو بکارمی‌رود. شیرین‌بیان نه تنها یک مزه شیرینی را ایجاد می نماید بلکه یک ماده معطره ملایم برای تنباکو محسوب می‌شود. همچنین مانع خشک‌سازی تنباکو می‌شود. عصاره های شیرین‌بیان که در صنعت تنباکو مورد استفاده قرار می‌گیرد

Archive of SID

www.SID.ir

توسط یک شرکت امریکایی یعنی MAFCO تأمین می‌شود. ریشه انواع گونه‌های این گیاه در این صنعت کاربرددارند[40].

1-7-5-3- شیرینی سازی (قنادی)

عصاره‌های شیرین‌بیان برای اولین‌بار برای طعم‌دادن به محصولات قنادی در انگلستان طی قرن هیجدهم مورد استفاده قرار گرفت. امروزه در کشورهای غربی به طور گسترده‌ای، مقادیر زیادی از شیرین‌بیان در صنعت شیرینی سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از عصاره این گیاه آبنبات، پاستیل و ... تهیه می‌گردد.همچنین به دلیل اینکه یک نمک نرم است در کاهش شوری غذاهای شور نظیر سس‌سویا، سس و تنقلات استفاده می‌گردد. همچنین به عنوان طعم‌دهنده نیز کاربرد دارد[41].

برخی از مشتقات هیدرولیز آنزیمی آن نظیرglycosyl-glycyrrhizin، glycyrrhetinic 3-o-glucuronide نیز به عنوان شیرین‌کننده کاربرد دارند. این مشتق با استفاده از هیدرولیز عصاره با ترکیب سیکلودکسترین گلیکوزیل ترانسفراز بدست می‌آید و به دلیل طعم و پایداری بهتر، مصرف گسترده‌تری نسبت به عصاره شیرین‌بیان دارد[41].

1-7-5-4- صنایع داروسازی

از گلیسیریزین یک داروی برای درمان بیماری‌های کبد و به شکل ترکیب غیرقابل تزریق به صورت قرص توسط شرکت ژاپنی داروسازی مینوفاژن ساخته می‌شود. نئومینوفاژن حدود 60 سال است که در بازار دارویی ژاپنی در دسترس می‌باشد. به علاوه، در چین، کره، تایوان، اندونزی، هند و مغولستان که شیوع هپاتیت‌های ویروسی زیاد است مصرف گسترده‌دارد[42].

گلیسیریزین، اسیدگلیسیرتنیک و عصاره‌های شیرین‌بیان در داروهای گوناگون دیگر شامل داروهای ضدآلرژی و ضد التهاب مورد استعمال قرارمی‌گیرد. به علاوه، در انگلستان، اسیدگلیسیرتنیک یا 3-β-o (کربنوکسولون) یک داروی تجویزی مورد استفاده در درمان زخم‌های گوارشی می‌باشد[42].

1-7-5-5- عصاره فاقد گلیسیریزین

مصرف عصارهٔ غلیظ اسید گلیسیریزیک(GL) که از شیرین‌بیان استخراج می‌شود در عین حال که برای درمان زخم های دستگاه گوارش مؤثراست، ولی در اغلب موارد ایجاد ورم مفاصل مچ‌پا کرده و بعلاوه منجر به افزایش فشارخون می‌شود که برای زنان باردار، کودکان، اشخاص مبتلا به بیماری‌قند و گلوکومای چشم و بیماران قلبی خطرناک است. مطالعات نشان داده‌است که اگر97درصد مادهٔ GL از شیرین‌بیان گرفته‌شود، این عوارض حذف خواهدگردید در حالیکه اثرات درمانی آن برای اولسرها باقی خواهدماند. این اثرات در چنین عصاره‌ایی ناشی از حضور فلاونوئیدهای مختلف موجود در آن است، لذا عصارهٔ فاقد شیرین‌بیان به نام2 درصد2 ≤GL یاDGLکه در مقایسه با داروی تاگامات موجب درمان سریع اولسرهامی

Archive of SID

www.SID.ir

شود به بازار عرضه شده است. علیرغم تولید این ماده در اروپا و آمریکا به عنوان دارو و مکمل، متاسفانه درکشور ما تحقیقات بسیارمحدودی در زمینه تهیه DGL صورت گرفته‌است. از مهمترین ویژگی‌های این ترکیب حذف یا به حداقل رسانیدن مقدار گلیسیریزین و وجود حداکثر مقدار فلاونوئیدها است[43].

1 - 8 - خواص فارماکولوژیکی

از ریشه شیرین‌بیان در اکثر فارماکوپه‌ها به عنوان دارو یاد شده‌است. ریشه و ریزوم این گیاه حدود 4000 سال است که استفاده دارویی دارند و در فارماکوپه کشورهایی نظیر آمریکا، چین و سایر کشورها ثبت گردیده‌است. از شیرین‌بیان در طب سنتی آسیا و اروپا برای درمان گاستریت، عفونت‌های تنفسی و زخم‌های پپتیک استفاده می‌شود. در طب سنتی چین نیز در درمان هپاتیت[44]، رشد تومور و بیماری های قلبی کاربرددارد. درطب سنتی ایران نیزگیاه شیرین‌بیان به عنوان درمان ورم معده و ضدسرفه استفاده می‌شده است.

اسید گلیسیریزیک با توانایی مهار باکتری هلیکوپیلور [45]، در درمان زخم معده، تسکین فشار مخاطی معده و کاهش اسید معده موثر است. شیرین‌بیان بر سیستم غدد درون‌ریز بدن نیز تأثیرگذار است و مصرف آن ممکن است مقدار تستوسترون خون را کاهش‌دهد. همچنین اثبات شده‌است که لیکوریک یا ریشه خشک شیرین‌بیان اثرات افزایش ترشح سرتونین و پروستاگلاندین در معده را دارد و اثرات ضد تورم معده را از این طریق اعمال می‌نماید [46]. کمیسیون (The Complete German Commission E Monographs) استفاده از این گیاه را درتسکین احتقان بخش فوقانی دستگاه تنفس و زخم های معده و دوازدهه تاییدکرده است. امروزه نیز عصاره شیرین‌بیان یکی از اجزاء ترکیبی شربت‌سرفه به شمار می‌رود.

همچنین بعنوان داروی مسکن در التهاب‌های پوستی و برای درمان اسپاسم، تورم و روماتیسم کاربرددارد. خواص ضدسرطانی نیز برای این گیاه گزارش شده‌است. عصاره این گیاه همچنین مانع همانندسازی ویروس HIV در بیماران مبتلا به ایدز می‌شود[47].

برخی از ترکیبات این گیاه اثرات ضدسرطانی و برخی اثرات مهار آنزیم‌ها را بر عهده دارند. وجود ترکیبات کاهش دهنده چربی و فلاونوئیدها با فعالیت آنتی‌اکسیدان قوی در این گیاه گزارش شده است. اثرات سمیت سلولی عصاره شیرین‌بیان نیز بررسی گردیده است. مطالعات نشان داده‌است که عصاره این گیاه سمیت سلولی بسیار کمتر ولی اثر مهاری ضعیف‌تری نسبت به داروهای استروئیدی و غیر استروئیدی نشان داده‌است.همچنین اثرات مثبت عصاره این گیاه در جلوگیری از پیشرفت بیماری آترواسکلروز در خرگوش اثبات شده است. مطالعات در این خصوص در پیشگیری و درمان این مورد در انسان هنوز گزارش نشده‌است[47].

ترکیبات موجود در ریشه گیاه شیرین‌بیان در مقابله با پوسیدگی دندان نافع است بنابراین امکان استفاده از شیره این گیاه به عنوان مادهضدپوسیدگی در محلول‌های شستشوی دهان و نیز خمیردندان‌ها وجود دارد [47].

Archive of SID

www.SID.ir

مطالب ذیل به مطالعه اثـرات داروشناختـی (دارویـی) شیرین‌بیان و تـرکیبات بیـواکتیو یا زیست‌فعال آن پرداخته و تأثیر آن را در درمان بیماری‌هایی در نمونه‌های درون‌تنی و برون‌تنی مورد بررسی و مطالعه قرار می‌دهد. اثرات دارویی به بررسی‌های آزمایشی و بالینی در این پژوهش تقسیم می شود [47].

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 8 - 1 - فعالیت های ضد التهابی

ویژگی های ضدالتهابی اسیدβ-گلیسیرتینیک در نمونه‌های مختلف اثبات شده‌است. دو مکانیسم برای اثرات ضد التهابی اسیدβ-گلیسیرتینیک پیشنهاد شده‌است: اول مانع سوخت و ساز گلوکوکورتیکوئید شده و اثرات آن را قوی می کند. از آنجائی‌که اسیدگلیسیرتینیک β یک بازدارنده قوی از 11-B-هیدروکسی استروئید هیدروکسی ژناز می‌باشد، تجمعی از گلوکورکورتیکوئیدها را با ویژگی‌های ضدالتهابی موجب می‌شود. دوم اینکه، مانع فعال‌سازی مسیر طبیعی آن شده و فعالیتش به ساختار و ترکیب آن بستگی دارد. بنابراین تجویز آن با هیدروکورتیزون در درمان بیماری التهاب ریوی مفید واقع خواهد شد [49و48].

گلیسیریزین مانع تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن از طریق و با انوتروفیل‌ها می شود که واسطه قوی التهاب بافت در بررسی خارج از آزمایشگاه می‌شوند. همچنین، از تولید گونه‌های اکسیژن فعال نیز از طریق تاثیر گلابریدین در سلول‌های RAW 264,7 ممانعت به‌عملمی‌آید. همچنین خیز یا ورم التهابی میوکاردیال (ماهیچه قلب) را در آسیب میوکاردیال آزمایشی کاهش‌می‌دهد. به علاوه، گلابریدین و لیکوکالکنِ (لیکوچالکن) A یک اثر ضدالتهابی را در مطالعات خارج آزمایشگاهی نشان داده‌اند[49و48].

1 - 8 - 2 - فعالیت های ضد میکروبی و ضد ویروس

عصاره متانولی قسمت های مختلف *G.glabra*، فعالیت ضدباکتریایی را در برابر چندین نوع مختلف از باکتری‌ها را نشان داده‌است. فلاونوئیدهای مختلف به عنوان ترکیبات مؤثر شیرین‌بیان در مقابل*Staphyococcus aureus*مقاوم بوده و اثرات اگزاسیلین و آنتی‌بیوتیک لاکتام β را درمان می‌کند. گلابریدین، گلابرین و لیکوکالکن A، فعالیت ضدمیکروبی بر علیه هیلکوباکتری پبلوری در خارج آزمایشگاه نشان‌دادند. همچنین عصاره‌های اتری ـ آبی از *G.glabra*،اثرات ضدباکتریایی مؤثر در برابر تمام 5 باکتری *E.coli*،*B. subtilis*، *K.pneumoniae*،*E.aeroyeres* و *S.aureus*نشان داده است. گلیسیریزول A-۷،۴' تری هیدروکسی ایزوفلاون جداشده از ریشه *G.uralensis* فعالیت ضد باکتریایی را در برابر باکتری استرپتوکوک با حداقل غلظت‌های بازداری به ترتیب 1µg/ml ,2 µg/ml نشان داده‌است[49].

اسیدگلیسیریزیک مانع تکثیر ویروس‌های مختلف‌می‌شود. در مطالعه‌ای اسیدگلیسیریزیک، ویژگی‌های اولیه سلول‌های برون‌ریز لیمفوما را القاکرده که با ویروس تبخال مرتبط با ساکروما انتقال‌یافته و عفونت نهفته در لنفوسیت‌های B را خاتمه می‌دهد. دوکومارین گلیکوکومارین و لیکوپیرانوکومارین از *G. glabra*، قادر به ممانعت از تشکیل سلول غول پیکر در کشت سلول‌های عفونی HIV بدون بروز هیچ گونه مسمومیتی می‌شود. همچنین، هیتانو و سایرین در سال 1988 نشان دادند که لیکوکالکن A دارای یک فعالیت ضدHIV (ویروس‌ایدز) است [50].

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 8 - 3 - فعالیت‌های تک‌یاختگان

ریشه‌های شیرین‌بیان از سه گونه مختلف*G. glabra* و *G. infelata* بطور بالقوه‌ای از رشد پلاسمودیوم، فلاسیپاروم و شیمانیا در مطالعات خارج آزمایشگاهی ممانعت به‌عمل می‌آورد. کالکن‌هایی مانند کالکن‌های A از ریشه‌های شیرین‌بیان با دارا بودن فعالیت ضدپلاسمودیالی با مقادیر IC_{50} بین 0.6mg/ml و 4,5 شناخته شده‌اند. همچنین کالکن‌ها دارای یک فعالیت قوی بوده و ممکن‌است در یک گروه جدیدی از داروهای سالک قرارگیرند. اثبات شده که کالکن‌هایی مانند لیکوکالکنA، ساختار میتوکندری انگل را تغییرداده و مانع عملکرد آنها از طریق دیاستازی فومارات می شود[51].

1 - 8 - 4 - فعالیت‌های آنتی اکسیدان

ترکیبات*G. infelata*، مانند لیکوکالکن‌های A,B,C,D و اکیناتین در جلوگیری از پرکسیداسیون چربی میکروزومی القا شده با Fe موثر بوده و لیکوکالکن‌های B,D آنتی‌اکسیدان قوی بوده و فعالیت جذب یون اکسنده سوپروکسید را نشان داده است [52]. علاوه بر این، مشتقات ایزوفلاون از*G. glabra* مانند گلابریدین مانع پرکسیداسیون چربی در میکروزوم‌های کبد موش شده و محافظت میتوکندری از تنش‌های اکسنده می‌گردد. هیپوگلابریدین A، فعالیت آنتی‌اکسیدان قوی را در پرکسیداسیون القا شده با اسکوربات -Fe نشان داد. به علاوه، گلابریدین، که یک ایزوفلاون استخراج شده از *G. glabra* است اثر آنتی اکسیدان قوی در ممانعت از اکسیداسیون LDL در مطالعات خارج از آزمایشگاهی نشان داد. مصرف شیرین‌بیان یا گلابریدین در موش‌های تحت بررسی، باعث کاهش چشمگیری را در اکسیداسیون LDL آنها و بهبود تصلب شرائین گردید. به علاوه، دیگر ترکیبات *G. glabra.* مانند فلاون‌های هیپاگلابریدین A، هیپاگلابریدین 4'-o,B متاگلابریدین، دوکالکن، مشتقات اندوپریتیل کالکن و ایزولیکویرمیژنین، اکسنده‌های مناسبی در برابر اکسایش LDL می‌باشند[52].

1 - 8 - 5 - اثرات محافظت کبدی

در مطالعات برون‌تنی، اثبات شده‌است که گلیسیریزین وگلیسیرتنیک اثرات محافظ کبدی را احتمالاً با جلوگیری از تغییراتی در نفوذپذیری غشا سلولی اعمال می‌نمایند. اثرات ایمنی اسیدگلیسیرتینیک در برابر مسمومیت القایی تتراکلریدکربن و آسیب‌کبدی القایی ریتروسین به ترتیب در موش‌ها و موش‌های صحرایی مطالعه شده است. علاوه بر این در یک نمونه هپاتوسیت از آسیب کبدی کولستاتیک گلیسیریزین، ویژگی های نکروز بافت را نشان داد در حالیکه اسیدگلیسیرتینیک یک بازدارنده قوی از اسید کیسه صفرا اپوپتوزس القایی و لکروزیس می باشد [53].

آسی‌اسید گلیسیریریزیک بصورت وریدی برای درمان هپاتیت های مزمنBوC به کار می رود. همچنین این ترکیب دارای اثر محافظتی در توسعه کارسینومای سلول کبدی در بیمارن دارای هپاتیت مزمن مرتبط با HCV می‌باشد. این ترکیب در بیماران آسیب‌کبدی که در دریافت یا پاسخ به درمان اینترفرون

Archive of SID

www.SID.ir

واکنش نشان نمی‌دهند، استفاده می‌شود"استرانگرنئو مینوفاژن" ترکیبی است شامل 2mg/mlاز گلیسیریزین است که از لحاظ بالینی به عنوان عامل ضد هپاتیت استفاده‌می‌شود[54].

1 - 8 - 6 - فعالیت‌های ضدتوموری

عصاره آبی*G.glabra*مانع تکثیر سلول‌های توموری شکمی و غشایی می‌شود. همچنین، عصاره اتانولی از ریشه باعث توقف اپوپتوزیس القایی و چرخه سلولیG_1 در سلول‌های سرطان انسان می‌شود[55]. مطالعات بسیاری درباره اثرات ضدسرطانی مشتقات مختلف از ترکیبات این گیاه هم در برون‌تن و درون‌تنی مورد بررسی قرار گرفته است. که بخشی از خلاصه آن در جدول زیر آورده شده‌است[56].

جدول1- 4-برخی ترکیبات جدا شده از گیاه شیرین‌بیان با اثرات ضدتومور [57].

نوع ترکیب	اثرات
لیکوچالکون A	فعالیت ضدتومور، اثرات متوقف‌کنندگی
گلیسیرتینیک اسید	فعالیت ضدتومور
اسید گلیسیریزیک(عصاره آبی ریشه)	اثرات محافظتی در برابر سرطان‌زایی القا شده با مواد شیمیایی توقف تومور القایی در کولون، فعالیت ضدتکثیری، توقف رشد،کاهش متاستاز تومور ریه خواص ضدتکثیر
ایزولیکورتیجنین، گلابریدین دی‌بنزول متان (DBM)	خواص ضدتکثیر، اثرات ضدسمیت سلولی

اخیراً، اثرات لیکوکالکن E،که یک کالکن جـدید از ریشـه‌های گونه انیفلاتااست اثر سیتوکسیک (سمیت) قویِ نشان داده است و با اثرات ضدتوموری ایزولیکوئیتجین قابل مقایسه عنوان گردیده است.

1 - 8 - 7 - تاثیر بر سیستم عصبی مرکزی

گلابریدین مانع جذب مجدد سرتونین می‌شود. به علاوه، به تازگی، عصاره آبی *G.glabra*، فعالیت ضدافسردگی را در آزمون FST و TST در موش‌ها نشان داده‌است. عصاره اتانولی*G.glabra* اثر ضدتشنج در PTZ و نمونه‌های تشنج القایی پیلوکاپرین داشت. همچنین، عصاره آبی *G.glabra*اثرات تقویت حافظه را نشان داده‌است. در درمان ترکیبی با ریشه شیرین‌بیان، در بخش‌های مختلف مغز، منبع انرژی مغز و اثر لرزش (ارتعاش) را نیز بهبود می‌دهد. به علاوه، لیکوریتیژنین اثرات محافظی در آسیب اسکیمای مغزی در موش‌ها را نشان داده‌است[58].

Archive of SID

www.SID.ir

کربنوکسولون، فعالیت ضد تشنج، مسکن و آرامبخش ماهیچه‌ای را در موش‌ها و در موش‌های مستعد صرع از لحاظ ژنتیکی، را نشان داده‌است. همچنین، قادر به ممانعت از تولید آنیون‌های سوپروکسید و پروکسید هیدروژن در ماکروفاژ بوده و همچنین اثرات محافظی را در عضلات مخطط (اسکلتی) و هیپوکامپوس (دم اسب) را در مقابل اثرات اسکیمایی حاد را در موش‌ها نشان داد. علاوه بر این، اثبات شده است می تواند یادگیری موش‌ها را نیز افزایش دهد[58].

1-8-8- مطالعات و بررسی‌های قلبی - عروقی

در مطالعات مختلف اثبات شده‌است که شیرین‌بیان اثر ضدپلاکت دارد. در سایر آزمایشات، گلیسیریزین به عنوان بندآورنده خون معرفی شده‌است. پیش‌بینی می‌شود که گلیسیریزین بتواند به عنوان مدل تحقیق داروهای آنتی‌ترومبوتیک جدید مورد استفاده واقع شود. *G. glabra* متابولیسم سلول‌ها را در ارتیروئید مغز استخوان تسریع داده و مقاومت حیوان را نسبت به استرس افزایش می‌دهد. ایزولیکورتی‌ژنین، یک ترکیب فعال از شیرین‌بیان است که باعث کاهش فشار رگ می‌شود [53]. همچنین قادر به کاهش تشکیل مجرا و لوله‌ها در سلول‌های رگ می‌باشد. بنابراین، بروز اثرات ضدعروقی خونی از عصاره شیرین‌بیان، به اثر تشکیل ضدلوله ای ایزولیکوریتین بستگی دارد. به عبارتی دیگر، فعالیت‌های استروژنی مانند گلابریدین، در بررسی‌های برون و درون‌تنی به اثبات رسیده که می‌تواند آسیب رگ‌ها و تصلب شرائین را کاهش (تنظیم کند) دهد. بنابراین برای جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی در زنان پس از دوره یائسگی پیشنهاد شده است[53].

1-8-9- بررسی‌های ایمونولوژیکی

فعالیت‌های مختلف بهبود سیستم ایمنی به گلیسیریزین و اسیدگلیسیرتینیک منسوب شده‌است. همان نتایج با لیکوکالکن A و برخی آنالوگ‌هایی که اثرات تعدیل‌کنندگی ایمنی را نشان می‌داد به اثبات رسیده‌است. به عبارتی دیگر، گلیسیریزین به طور انتخابی سلول‌های تیموسی زیاد T در کبد و خطوط سلولی T انسانی و اسید گلیسیریزتیک آپوتپوزی واسطه را بدون تغییر فعالیت افزایش می‌دهد. گلیسیریزین همچنین عفونت ویروس تبخال در موش را بهبود می‌بخشد. علاوه بر این، اسیدگلیسیرتینیک یک القاگر از نوع سلول‌های برطرف‌کننده درد (مسکن) است که مقاومت موش‌های آلوده شده به ویروس سرطان خون را بهبود می‌بخشد. همچنین هر دوی این دو ترکیبات،قادر به القای (تحریک) فعالیت انیتوفرون بوده و حتی تاثیر گلیسیریزین از اسیدگلیسیرتنیک در القای انیترفرون بیشتر می‌باشد. همچنین دارای اثرات بازداشتی در تولید 8-11 القایی ـآلفاـ TNF در سلول‌های اپیتلیال روده‌ای‌می‌باشد[59].

به علاوه، برخی مطالعات در زمینه تأثیرات تعدیل سیستم ایمنی با پلی‌ساکارید بدست‌آمده از جوانه‌های*G.glabra* و ریشه‌های مویی از *G. uralsis* در مطالعات درون‌تنی موجود می‌باشند. GR-2IIb و GR-2IIa، دو پلی‌ساکارید اسیدی مجزا شده از *G. uralsis*، فعالیت آنتی‌مکمل را نشان داده است.

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین GR-IICدارای دو فعالیت ضد مکمل و فعالیت مولد متیوز سلولی بود. اخیراً، فعالیت‌های همولیتیک از ساپونین‌های اورالنیس .G و واکنش‌های کمکی آن در برابر آلبومین سفیده تخم‌مرغ در موش‌ها بوجود آمدند[59].

1 - 8 - 10 - بررسی‌های کلیوی

گلابریدین یک اثر آنتی‌نفریتیس در نمونه بیماری گلومرولی موش را نشان داده‌است. همچنین گلیسیریزین نقص‌های کلیوی را در موش‌ها بهبود می‌دهد. همچنین عصاره ریشه *G.glabra.* می‌توانست از کلیه‌ها در برابر استرس اکسنده القایی پیروکسی‌نیتریت در داخل آزمایشگاه محافظت کند[60].

1 - 8 - 11 - فعالیت‌های سمیت سلولی

شصت و نه ترکیب از فنول‌های گیاه شیرین‌بیان مانند ایزولیکریتیژن، یک فعالیت بازداری را در رشد باسیل H_{17},M_{45}در آزمایشات نشان داده‌است [60].

1 - 8 - 12 - بررسی‌های تنفس

اثرات ضد سرفه‌ای ریشه این گیاه در خوکچه‌هندی اثبات شده‌ست و همچنین این اثر به لیکورتین و لیکوریتیژنین که یک ترکیب ضدسرفه اصلی است، نسبت داده شده‌است[60].

1 - 8 - 13 - بررسی‌های درون ریزشناسی

شیرین‌بیان بر سیستم درون‌ریز در بررسی‌های برون‌تنی و درون‌تنی موثراست. به‌نظرمی‌رسد که این گیاه بر متابولیسم استروئیدها با مکانیسم‌های مختلف تأثیرمی‌گذارد [61]. اثرات کاهش سطح تستوسترون در زنان و مردان، تحریک تخمک‌گذاری منظم در بیماران مولد صفات مردانگی از طریق ترکیباتی نظیر ایزولیکورتیجنین، گلابرین و گلابریدین به عنوان فیتواستروژن‌ها اعمال می‌شود. در طب سنتی چین، ریشه شیرین‌بیان برای درمان علائم مرتبط با درمان یائسگی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما اطلاعات بالینی در مورد درمان گرگرفتگی برای آن وجود ندارد. عصاره شیرین‌بیان و گلیسیرتینیک اسید کاهش توده چربی بدن را نشان داده‌است [62].

Archive of SID

www.SID.ir

1-9- بررسی‌های بالینی

1-9-1- اثرات گوارشی

شیرین‌بیان در التیام زخم‌ها به طور مؤثر عمل می‌نماید. اسیدگلسیریزنیک، یک ترکیب اصلی از شیرین‌بیان دارای ویژگی‌های ضد زخم بوده که بنظر می‌رسد با افزایش غلظت موضعی پروستاگلاندین منجر به التیام و بهبودی زخم‌ها در بررسی‌های آزمایش می‌شود[46]. کربنوکسولون، یک مشتق از اسیدگلیسریتنیک و انوکسولون (دارویی گیاهی) در درمان التهابات پوستی و آفتاب سوختگی‌های مورد استفاده قرار می‌گیرند. انوکسولون، یک آنالوگ کربنوکسولون، برای درمان زخم‌های گوارشی و دیگر اختلالات GIT، اختلالات پوستی و دهانی بکارمی‌روند. کربنوکسولون همچنین برای بیماری سوءهاضمه، رفلاکس مری-معدی و همچنین برای نظارت علائم بیماری ایجاد زخم به عنوان یک ژل یا شستشوی دهانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [46].

1-9-2- بررسی‌های درماتولوژیکی

گیاه شیرین‌بیان در دسته‌داروهای گیاهی برای درمان جوش‌های پوستی شامل التهاب پوست، اگزما، خارش و کیست‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این قسمت، بررسی‌های گوناگون از شیرین‌بیان بر پوست در جدول 6 به اختصار بیان شده‌است. اخیراً گلیسیریزین اثرات محافظتی در برابر سلول‌های سرطان پوست انسانی در معرض تابش UV_B را نشان داده‌است. علاوه بر این همانطورکه پیش‌تر گفته شد عصاره شیرین‌بیان و ترکیب فعال آن، اسیدگلیسریزیک به عنوان عوامل سفیدکننده مؤثر پوست توصیف شده‌است. علاوه بر گلابریدین، اثرات زوال رنگ‌دانه برای لیکورتین نیز اثبات شده‌است[67-64].

جدول 1-5- ترکیبات مختلف شیرین‌بیان در درمان امراض پوستی

ترکیبات	عملکرد	رفرنس
گلیسیریزین(پماد جلدی 2درصد)	آتوپیک درماتیت	[63و64]
گلیسیرتینیک‌اسید	ضدالتهاب	[65و66]
عصاره فاقد گلیسیریزین و کاربنوکسلن(جلدی)	کاهش آفت‌دهان، لکه بر	[67]
و لیکورتین(موضعی 2درصد)	ضدالتهاب، لکه‌بر	[67]
گلابریدین		

1-9-3- بیماری‌های تنفسی

شیرین‌بیان به عنوان یک گیاه دارویی تسکین‌دهنده سرفه، از زمان‌های باستان مورد استفاده قرار گرفته‌است. بنظر می‌رسد که وجود لعاب (ساپونین) در آن با ایجاد ترشح موجب بهبود تحریک‌پذیری آن و جلوگیری از بروز این اثر را می نماید.

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 9 - مسمومیت و عوارض جانبی

مقادیر زیاد شیرین‌بیان ممکن است منجر به افزایش فشار خون، کمبود پتاسیم خون و دیگر علائم افزایش منیترالوکورتیکوئید (نوعی ماده مترشحه از قسمت قشری غده فوق‌کلیوی که در احتباس سدیم و دفع پتاسیم مؤثر است) شود. این افزایش فشارخون باعث کاهش فعالیت 11β-HSD2 می‌شود. این آنزیم مسئول تبدیل کلیویِ کورتیزول به کورتیزون می‌باشد. بنابراین شیرین‌بیان منجر به فعال‌سازی گیرنده‌های متیرالوکورتیکوئید کلیوی بوسیله کورتیرول می‌شود که منجر به یک حالت افزایش ظاهری متیرالوکورتیکوئید و بازداری سیستم آنژیوتنسیس (ماده تنگ‌کننده رگ که در خون یافت می‌شود) رنین می‌شود[64-67].

مصرف بی‌رویه شیرین‌بیان یا سایر فرآورده‌های آن به سبب تحریک غدد فوق‌کلیوی و ترشح بیش از اندازه هورمون آلدسترون ممنوع اعلام گردیده‌است. این حالت سبب عوارضی چون اختلال در فعالیت‌های متابولیسمی و بالا رفتن فشارخون می‌گردد. در صورت مصرف بیش از 20گرم در روز، بروز عوارض نامطلوب بعید نیست. استفاده زیاد از شیرین‌بیان برای طحال نیز مضر است. مصرف بسیار بالای شیرین‌بیان ممکن‌است به بروز فشارخون بالا و حتی سکته قلبی منجر شود.برخی از افراد با مصرف زیاد شیرین‌بیان دچار درد عضله و عده‌ای دیگر با کرخت شدن دست و پا مواجه می‌شوند.مصرف زیاد این ماده سبب افزایش وزن نیز می‌شود [64-67].

1 - 10 - روش‌های جداسازی و اندازه‌گیری اسید گلیسیریزیک از گیاه شیرین‌بیان

1 - 10 - 1 - جداسازی اسید گلیسیریزیک از گیاه شیرین‌بیان به روش اصلاح شده روسین

(Modified Roussin Technique)

مهم‌ترین و متداول‌ترین تکنولوژی برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین‌بیان، استفاده از آب‌داغ در دمای محیط در حضور افزودنی‌هایی نظیر موادقلیائی، اسیدهای‌معدنی، اتیل‌الکل، آمونیاک محلول در متانول یا اتانول و ... است. اساس این روش استخراج با آب‌گرم و تشکیل رسوب بوسیله اسیدی‌نمودن است. بدین‌صورت که ابتدا استخراج عصاره بوسیله آب‌گرم 80°C صورت‌گرفته و سپس با اسیدیفیکاسیون عصاره بوسیله اضافه‌نمودن اسیدهای HCl و H_2SO_4 غلیظ به نسبت حجمی 1:1برای تشکیل ترکیبات جامد نمک اسید گلیسیریزیک در pH=1-2انجام می‌شود جهت حذف‌اسید از رسوب

Archive of SID

www.SID.ir

جداسازی‌شده، چندین‌بار شستشو انجام می‌شود. تخلیص نهایی رسوب با استفاده از اتانول صورت‌می‌گیرد [71و69].

1 - 10 - 2 - روش استخراج با آب‌داغ تحت فشار(Pressurized Hot water Extraction)

سیستم آزمایشگاهی Pressurized Hot Water Extraction یا PHWE برای استخراج حرارتی ترکیبات قطبی و غیرقطبی در اغلب گیاهان‌دارویی بویژه برای استخراج گلیسیریزین از شیرین‌بیان، بربرین از زرشک و ... استفاده شده است. آب یک حلال ویژه است که خصوصیات فیزیکی آن با افزایش دما تغییرمی‌کند و در دماهای بالا شبیه یک حلال آلی عمل‌می‌کند. اخیراً محققین برای کاهش خطرات ناشی از آلودگی حلال‌های‌آلی مورد استفاده در این روش، به استفاده از واسطه‌های میسل (micello) به عنوان جایگزین حلال‌های‌آلی در فرایندهای‌استخراج پرداخته‌اند[72]. در این روش، ریشه‌ها به قطعات کوچک 1-1/5 سانتی‌متری خرد شده و در آب سرد به مدت 24 ساعت غوطه‌ورمی‌شوند. این امر، موجب سهولت استخراج و حذف ترکیبات مزاحم موجود در پودر خشک می‌گردد. در این سیستم محفظه تحت‌فشار قرارمی‌گیرد تا آب به صورت مایع باقی‌بماند. دستگاه آزمایشگاهی شامل اتوکلاوی‌است که می‌تواند در فشار 200 بار و دمای تا 250 درجه سانتی‌گراد عمل نماید. این فشار توسط گاز CO_2 ایجاد می‌شود. آب تحت‌فشار (PHWE) در این روش در یک اتوکلاو گرم‌می‌شود. گلیکوزیدهای موجود در شیرین‌بیان عموماً در ترکیب با پتاسیم و کلسیم هستند که خاصیت اسیدیته ضعیف دارند. فرم اسیدی گلیسیریزین چندان در آب حل نمی‌شود اما نمک‌آمونیومی آن در آب در pH بیشتر از 4/5 حل‌می‌گردد و خواص ضدالتهابی دارد. برای تشکیل نمک آمونیومی اسیدگلیسیرزیک، مخلوط آب و آمونیاک به نسبت 4-0/01 درصد وزنی- حجمی تهیه و به راکتور استخراج‌کننده افزوده‌می‌شود. جهت ایجاد فشار از سلیندر CO_2استفاده‌شده و محلول بدست‌آمده پس از صاف‌شدن جهت تصفیه وارد مرحله بعدی می‌گردد[72].

بالا بودن مقدار آمونیاک در آب موجب افزایش گروه‌های آمونیاک در نمک بدست‌آمدهمی‌شود. غلظت بهینه آمونیاک 0/01 درصد می‌باشد. در غیر اینصورت فرایند خالص‌سازی می‌بایست انجام‌گیرد. به اینصورت که به محصول نهایی اتانول70 درصد با نسبت 3:1 اضافه می‌گردد. محلول تشکیل شده جداسازی و تغلیظ شده و با اضافه نمودن تدریجی اسیدسولفوریک، pH محلول کنترل‌می‌گردد. رسوب سفید مونوآمونیوم‌گلیسیرزات (MAG)در pH=1-2 تشکیل می‌شود. در این روش اضافه کردن NH_3 بیشتر، موجب تشکیل نمک دی‌وتری‌ـگلیسیرزات‌آمونیوم خواهدشد. در

نهایت رسوب از محلول جداسازی‌شده و بوسیله اتانول مطلق شسته‌می‌شود. رسوب سفید بدست آمده مونوآمونیوم گلیسیرزات (MAG) است که یک شیرین‌کننده طبیعی محسوب‌می‌شود. در این فرایند راندمان مونوآمونیوم‌گلیسیرزات بدست آمده که با روش رنگ‌سنجی تعیین شده 3/5 درصد گزارش شده‌است [72].

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 10 - 3 - روش استخراج با میکروویو(Microwave Extraction)

در این روش عصارهٔ شیرین‌بیان با استفاده از آب‌گرم و دستگاه میکروویو استخراج می‌شود. ابتدا به 5گرم از پودر گیاه، 30 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه‌می‌شود. دما حدود 110 درجه و فشار 1/5 بار با سلیندر CO_2 تنظیم‌می‌شود. زمان این فرایند 15 دقیقه است. با اضافه‌نمودن اسیدسولفوریک و رساندن pH به حدود 2-1، اسید گلیسیریزیک ترسیب‌می‌شود. به نمونه خنک‌شده جهت خالص‌سازی نهایی، اتانول مطلق اضافه‌می‌شود [73].

در این روش، حلال مصرفی به ازای هر گرم نمونه در دمای 80 درجه‌سانتی‌گراد و طول مدت 4-3 دقیقه، 10میلی‌لیتر و درصد خلوص اسید گلیسیریزیک 16/44درصدمی‌باشد. با افزایش دمای‌واکنش به 110 درجه سانتی‌گراد و زمان واکنش به 15 دقیقه، حلال مصرفی به ازای هر گرم نمونه، 60 میلی‌لیتر و درصد خلوص به 96/5 درصد افزایش می‌یابد. بهترین حلال در این روش آب گزارش شده‌است[74].

از مهمترین دلایل افزایش درصد بهرهٔ استخراج و خلوص در روش دوم می‌توان به کاهش چگالی گرانروی، کشش سطحی و قطبیت آب با افزایش دما اشاره‌نمود. این فرآیند موجب استخراج بیشتر اسید گلیسیریزیک از بافت‌گیاهی می‌شود. همچنین ساختار بسیار قطبی اسید گلیسیریزیک به دلیل حضور سه گروه کربوکسیل و 5 گروه هیدروکسیل تحت تأثیر اشعه مایکروویو، به استخراج آن از عصاره گیاه به داخل آب کمک می‌نماید [75].

1 - 10 - 4 - روش استخراج با سیستم‌های مایع چندفازی

از سیستم دوفازی حلال شامل اتانول/ فسفات نیز برای جداسازی گلیسیریزین از گیاه شیرین‌بیان استفاده شده‌است. امّا بازده بسیار پائین، از معایب این‌روش می‌باشد [76]. به منظور افزایش راندمان، جایگزینی سیستم سه‌فازی مایع پیشنهاد گردیده‌است [76]. در این سیستم‌های سه‌فازی، استفاده از پلی‌اتیلین گلیکول، پلی‌پروپیل‌گلیکول و تری‌بوتیل‌فسفات (TBP) بسیار مرسوم می‌باشد [77].

در این روش از گیاه، با استفاده از محلول آمونیاک 0/5 درصد حجمی-حجمی و دستگاه ماوراءصوت، عصاره گیاه استخراج‌می‌گردد. محلول بدست آمده صاف شده و بوسیله آب مقطر شسته‌می‌شود. در مرحله بعد جهت جداسازی اسید گلیسیریزیک از عصاره از سیستم سه‌فازی مایع شامل: حلال‌های‌آلی نظیر 2- اتیل‌هگزان یا تری‌بوتیل‌فسفات، نمک‌های‌معدنی مانند سولفات‌آمونیوم و پلی‌اتیلن‌گلیکول 2000، 4000 و 6000 به عنوان پلیمر بکار برده می‌شود [80-78].

این سیستم مخلوط شده و در دمای $25\ ^0C$ بهم‌زده می‌شود. با استفاده از اسیدسولفوریک 2 مولار یا هیدروکسید سدیم 1 مولار pH آن تنظیم می‌گردد. پس از سانتریفوژ محلول به مدت 5 دقیقه، سه‌فاز در آن شامل: فازبالایی مربوط به فاز آلی، فاز میانی غنی از کوپلیمر و فاز آبی پائینی تشکیل‌می‌گردد. نتایج آنالیز سه‌فاز تشکیل شده نشان می‌دهد که 90 درصد از لیکورتین(فلانوئید اصلی گیاه شیرین‌بیان) در فاز میانی جداسازی گردیده‌است. در pH=2 مقدار اسید گلیسیریزیک در فاز آلی و میانی یکسان و 50

Archive of SID

www.SID.ir

درصد گزارش شده‌است. اما با افزایش اسیدیته محیط به 4، اسید گلیسیریزیک تشکیل شده از فاز آلی به فاز میانی مهاجرت می‌نماید [78-80].

1 - 10 - 5 - روش استفاده از رزین‌های ماکرو و متخلخل پلیمری

در این روش عصاره گیاه شیرین‌بیان بوسیلهٔ مخلوط حلال‌های اتانول/ آب به نسبت 70:30 حجمی - حجمی و دستگاه فراصوت استخراج‌می‌شود. سپس محلول سانتریفوژ شده و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء 10 برابر تغلیظ می‌گردد. این محلول از رزین‌های مختلف عبور داده‌می‌شود [81].

در مطالعات مختلف عملکرد 4 نوع رزین متداول با تخلخل‌بالا برای جداسازی عصارهٔ فاقدگلیسرزین حاوی فلاونوئید ارزیابی شده‌است. خواص جذب و واجذب فلاونوئیدهای شیرین‌بیان واسید گلیسیریزیک روی چهار رزین xDA-1، LSA-10، D101 و LSA-20مقایسه شده است. ظرفیت جذب به شدت به pH محلول تغذیه و نوع محلول تغذیه بستگی دارد. در این مطالعه رزین xDA-1 ظرفیت جذب بالایی برای فلاونوئیدهای شیرین‌بیان و اسید گلیسیریزیک بر اساس منحنی ایزوترم جذبی خود نشان‌داد. یک عصاره روغنی غنی از فلاونوئید(LFO)(با خلوص حدود درصد21/9) عاری از اسید گلیسیریزیک و یک عصارهٔ اسید گلیسیریزیک با درصد خلوص درصد66 از عصارهٔ خام جداسازی‌شد [82]. باید توجه‌داشت که، این روش برای جداسازی اسید گلیسیریزیک از فلاونوئیدهای کل استفاده شده‌است و به تنهایی برای جداسازی یک فلاونوئید بکار برده نشده‌است. این روش برای جداسازی آنتوسیانین از انگور و ... نیز به کاررفته است [83].

رزین‌های ADS یک سری از رزین‌های جذب ماکروپروس هستند که بوسیله Nankaiمعرفی شده‌اند. این رزین‌ها بویژه برای جذب انتخابی فلاونوئید از محلول‌های‌آبی و غیرآبی به‌کاررفته‌اند. در این روش ذرات با الک مش60-20 جدا می‌گردند. فرایند جذب سه مرحله‌ای است. در هشت نوع رزین مورد مطالعه ظرفیت جذب با افزایش زمان جذب افزایش می‌یابد. در بین رزین‌های مطالعه شده، رزین ADS-F8 قدرت بالایی در استخراج داشته‌است. در محدوده دمایی مطالعه‌شده (20 تا 45 درجه سانتی‌گراد)، دمای پایین باعث قدرت جداسازی بهتر ایزولیکورتین (ISL) روی رزین ADS-F8 گشته‌است. در شرایط بهینه، راندمان درصد80/1 به دست‌آمده‌است [84].

1 - 10 - 6 - روش استخراج مایع تحت فشار *(Pressured Liquid Extraction)*

این روش شامل استفاده از مایع در دما و فشار بالا است که در مقایسه با روش‌هایی که در دمای محیط انجام می‌شوند، کارایی بیشتری دارد. اصول این روش شبیه روش PHWE است با این تفاوت که در سیستم PHWEاز آب به عنوان حلال استفاده‌می‌شود. همچنین افزایش دما موجب افزایش حلالیت و افزایش انتقال جرم می‌شود. استخراج مایع تحت فشار به عنوان یک روش سبز در استخراج ترکیبات‌گیاهی و غذایی کاربرددارد. از مزایای این روش قابلیت استفاده مجدد از حلال

Archive of SID

www.SID.ir

مورداستفاده‌می‌باشد[85].دو نوع تجهیزات شامل تجهیزات دینامیکی و استاتیکی برای این روش وجوددارد. در نوع دینامیکی، حلال مورداستفاده برای استخراج، بصورت پیوسته روی گیاه پمپ می‌شود و نیاز به پمپ فشار بالادارد. سیستم‌های جدید هر دو قسمت دینامیکی و استاتیکی را باهم‌داشته و توانایی تولید حلال تازه در طول فرایند را دارند.در تجهیزات استاتیکی، ضمن فرایند استخراج، یک یا چندین بارحلال تازه اضافه‌می‌شود. در حالیکه در سیستم دینامیکی سرعت جریان در طول زمان تنظیم و پمپ با سرعت ثابت جریان حلال اولیه را ایجادمی‌نماید. در این روش محدوده‌های مختلف دما و فشار، از دمای محیط تا 200 درجه سانتی‌گراد و فشار 200-35 بار به کار برده‌می‌شود. با توجه به اینکه حضور رطوبت در ماتریکس نمونه، کارایی استخراج را تحت تأثیر قرارمی‌دهد، بنابراین هیدروماتریکس جهت جذب رطوبت از بافت نمونه استفاده می‌شود. انتخاب نوع هیدروماتریکس بر اساس ماهیت نمونه و میزان رطوبت موجود در آن صورت‌می‌گیرد. در استخراج استاتیکی، دما و زمان استخراج دو پارامتر بحرانی هستند. کارایی استخراج بستگی به حلالیت ترکیب مورد استخراج، حلال استخراج کننده و فراکسیون کردن جزء مورد استخراج بین آب و حلال دارد. برای غلبه بر محدودیت حجم استخراجی، افزایش تعداد سیکل ها پیشنهادمی گردد[86].

1 - 10 - 7 - روش استفاده از سورفاکتانت‌های غیریونی‌آبی

جهت استخراج اسید گلیسیریزیک، روش‌های گوناگونی نظیر استخراج باحلال، جذب، کروماتوگرافی، کریستاله‌کردن و ترکیبی از این روش‌ها به کار برده‌می‌شود. غالب این روش‌ها زمان‌بر، کم‌بازده و هزینه‌بر هستند. اخیراً گزارش شده‌است که محلول‌های سورفاکتانت غیریونی می‌توانند به عنوان جایگزین سیستم حلال در PLE باشد [87].

سورفاکتانت‌ها، مولکول‌های آمفیلیک هستند، که یک سر آن قطبی یا آب‌دوست بوده و دم آن عموماً زنجیرهٔ هیدروکربنی با تعداد اتم‌های‌کربن مختلف و آب‌گریز است. یکی از مهمترین خواص سورفاکتانت‌ها ایجاد خاصیت حل‌شوندگی برای مواد باخواص مختلف‌است. در این نوع استخراج که به استخراج نقطه ابری نیز شناخته شده‌است، از مواد فعال سطحی استفاده‌می‌شود که دارای ساختار R-X بوده که R زنجیر هیدروکربنی بوده وX یون قطبی و آب دوست‌می‌باشد. طبقه‌بندی رایج این مواد بر اساس طبیعت گروه آبدوست آنها می‌باشد که به چهار گروه غیر یونی، کاتیونی، آنیونی و یون دوقطبی تقسیم‌می‌شوند. مولکول‌های فعال‌سطحی می‌توانند در محلول‌های آبی تجمع یابند و میسل‌ها را ایجادنمایند. کمترین غلظت ماده فعال سطحی مورد نیاز برای تولید میسل، غلظت بحرانی نامیده می‌شود. هنگامی که محلول شامل غلظت بحرانی از ماده فعال سطحی غیریونی حرارت داده‌می‌شود در یک محدوده دمایی شروع به کدرشدن می‌کند که به آن دمای نقطه‌ابری می‌گویند. در حقیقت محلول به دو فاز تبدیل می‌شود .یک فاز غنی از سورفاکتانت و فازآبی .دمای نقطه ابری به ساختار سورفاکتانت و غلظت آن بستگی‌دارد. در خصوص استخراج اسید گلیسیریزیک از عصاره شیرین‌بیان، استفاده از ترکیباتی نظیر سدیم دودسیل سولفات SDS و تریتون 100-6 نسبت به حلال‌های‌آلی کارایی بهتری را

Archive of SID

www.SID.ir

نشان‌داده‌اند. استفاده از سورفاکتانت‌ها باعث کاهش تجزیه ترکیبات گیاهی در مقایسه با روش PHWE می‌شوند. در این روش، به منظور حذف یا کاهش استفاده از حلال‌های ارگانیک و بهبود فرایند استخراج، از استخراج با آب داغ تحت فشار PHWE نیز استفاده می‌شود [87و86].

برای استخراج استاتیکـدینامیک با آب، استفاده‌ازSDS در فشار 150 و دمای °C 225- 150 پیشنهاد شده‌است. اگرچه SDS بطور موفق در استخراج ترکیبات غیرقطبی نظیر پلی‌آروماتیک‌های هیدروکربنی در خاک استفاده‌می‌شود، سورفاکتانت غیریونی نظیر تریتون x-100 نیز موجب افزایش کارایی استخراج ترکیبات آب‌گریز حتی در دمای پائین در گیاه می‌شود. در فرایند استخراج با این نوع سورفاکتانت، نیازی به استفاده از آب وجود ندارد مگر اینکه قطبیت ترکیب گیاهی مورد استخراج خیلی پائین باشد [87].

کارایی روش استخراج با استفاده از سورفاکتانت مانند SDSو ترتیون x-100با روش استفاده از حلال آلی مقایسه شده‌است. افزایش دما در این روش از °C 180-125 موجب افزایش بازده بازیابی استخراج ترکیبات فعال مورد نظر گیاهی می‌شود. جهت جریان آب و شکل هندسی ظرف استخراج حداقل تأثیر در این روش را داشته‌است [87].

مطالعات نشان داده است که SDS به نسبت تریتون باعث افزایش بیشتر راندمان استخراج گلیسیریزین شده‌است. حضور سورفاکتانت آنیونی مانند SDS نسبت به تریتون 100 در جریان استخراج، موجب افزایش حلالیت استخراج شونده مورد هدف از ماتریکس نمونه به فاز متحرک و در نتیجه افزایش کارایی استخراج می‌گردد. همچنین عملکرد این روش با روش ماوراءصوت همراه با حلال آلی مقایسه شده‌است. این مدل استخراج به جهت سادگی سیستم طراحی، عدم استفاده از حرارت و فشار منظم قابل‌توجه است [87].

1-11- روش های تعیین مقدار اسید گلیسیریزیک

روش‌های مختلفی نظیر رنگ‌سنجی، کروماتوگرافی مایع‌باکارایی‌بالا (High Performance LiquidChromatography یا HPLC)، الکتروفورز لوله موئین (Capillary Zone Electrophoresis یاCZE) و کروماتوگرافی لوله موئین الکتروسنیتیکی میسل Micelle Electrokinetic Capillary (Chromatography یا MECC) برای تعیین مقدار اسید گلیسیریزیک در گیاه شیرین‌بیان استفاده شده‌اند. این مطالعات نشان‌داده‌اند که نتایج بدست‌آمده در دو روش HPLC و MECC بسیار به‌یکدیگر نزدیک بوده و دارای دقت بیشتری نسبت به سایر روش‌ها می‌باشند [89و88].

1-11-1- روش آنیلین/اسیدسولفوریک

در این روش برای تعیین راندمان محصول نهایی از روش رنگ‌سنجی استفاده‌می‌شود. ابتدا نمونه با آب مقطر با نسبت 1:100 رقیق می‌شود. 1ml از نمونه رقیق شده به محلولی شامل1mlمحلول وانیلین 8 درصد در اتیل الکل مطلق و 5ml اسیدسولفوریک 72درصد در حمام یخ اضافه و جهت یکنواخت‌نمودن، هم‌زده

Archive of SID

www.SID.ir

می‌شود. سپس لوله آزمایش روی حمام بخار 60±0/5 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه به هم‌زده شده و 2-5 دقیقه در حمام یخ سرد می‌گردد. محلول بلانک نیز به روش مشابه آماده‌می‌شود. باید توجه‌داشت در تهیه محلول بلانک به جای 1mlمحلول رقیق‌شده، 1ml آب مقطر به لوله اضافه می‌گردد. جذب محلول رنگی (قهوه‌ایی‌ـسبز) بوسیله اسپکتروفتومتر در طول‌موج 470 نانومتر اندازه‌گیری‌می‌شود. غلظت مادهٔ شیرین‌کننده با ترسیم منحنی کالیبراسیون بر حسب غلظت ماده معلوم محاسبه‌می‌شود[91و90].

Archive of SID

www.SID.ir

1-11-2- روش الکتروفورز موئین

در این روش از ستون موئینه سیلیکای ذوب‌شده و آشکارساز ماوراء بنفش استفاده‌می‌شود. جذب در طول موج 254 نانومتر خوانده‌می‌شود. بافر مورد استفاده در این روش محلول 0/02 مول بر لیتر از دی‌پتاسیم‌هیدروژن‌فسفات و بوراکس (pH=9) است. عصارهٔ گیاه در محلول متانول-آب به نسبت 1:1 در 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 25 دقیقه به هم‌زده‌می‌شود. سپس به مدت 10 دقیقه در 3000 دور سانتریفوژمی‌گردد. محلول بدست آمده بوسیله فیلتر سلولز استاتی صاف‌می‌شود. سپس آنالیز گلیسیریزین انجام‌می‌گردد[92].

1-11-3- روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (*HPLC*)

در استاندارد ملی ایران و فارماکوپه از روش کروماتوگرافی مایع
باکارایی‌بالا برای تعیین مقدار اسید گلیسیریزیک استفاده شده‌است [93-91].
در این روش محلول منوآمونیوم‌گلیسیرزات به عنوان ماده استاندارد مرجع بکارمی‌رود. فاز متحرک شامل: اسید استیک، استونیتریل و آب می‌باشد. سه غلظت 0/5، 0/75 و 0/1 میلی گرم در لیتر از ماده استاندارد و سه غلظت 1، 0/5 و 0/25 میلی‌گرم از عصاره حل‌شده در آب مقطر با درجه خلوص مناسب تهیه و به دستگاه HPLCتزریق می‌گردد. سپس غلظت اسیدگلیسیرزیک موجود در نمونه مورد آزمایش از روی ترسیم منحنی کالیبراسیون و مقایسه با سطح زیر منحنی نمونه محاسبه‌می‌گردد[95-93]
بطور کلی این روش‌ها را به شرح ذیل می توان خلاصه نمود:
1- جداسازی با حلال‌های‌آلی: این روش‌ها شامل مراحل زیاد و همچنین مصرف حلال‌های زیادی هستند. به منظور غلبه بر این مشکلات، روش‌های‌جدید ارائه و توسعه یافته‌اند.
2- جداسازی باآب: در این روش‌ها از آب در فشارمحیط، فشاربالا و یا گاهی از دستگاه‌های کمک‌کننده به امر استخراج مانند ماوراءصوت استفاده‌می‌گردد. راندمان محصول بدست‌آمده با استفاده از آب در فشار محیط چندان قابل قبول نمی‌باشد. در روش‌های بافشار بالا راندمان بهتربوده و با افزایش دما، راندمان استخراج نیز افزایش می‌یابد. همچنین افزایش فشار نیزموجب افزایش حلالیت NH_3 در آب شده بنابراین سرعت واکنش افزایش خواهدیافت. از مزایای بکارگیری امواج ماوراء صوت می‌توان به سرعت بالا و مصرف نسبتاً قابل‌قبول حلال اشاره‌نمود. در این‌روش هم با افزایش دما و زمان استخراج، افزایش راندمان مشاهده‌می‌گردد [95-93].
3- جداسازی با استفاده از روش‌های ترکیبی: در این روش‌ها از مخلوط حلال‌های‌آلی و آب استفاده می‌شود. همچنین ممکن است فشار بالا نیز بکار برده‌شود. مزیت اصلی این روش‌ها، کاهش استفاده از حلال‌های آلی مضر و توسعه تکنیک‌های جدید استخراج سازگار با محیط‌زیست است. این روش‌ها بویژه به دلیل استفاده از حلال آب بسیار قابل رقابت با تکنیک‌های متداول استخراج است [95-93].
4- جداسازی با رزین‌های‌ماکرو و متخلخل پلیمری: رزین‌های پرتخلخل، پلیمرهای هیدروفیل قطبی یا غیرقطبی با ظرفیت جذب‌بالا و قدرت احیای مناسب هستند. خالص‌سازی در طول جذب بر اساس تفاوت

Archive of SID

www.SID.ir

وزن‌مولکولی و قطبیت محلول که منجر به تفاوت در تمایل به جذب‌می‌شوند، اتفاق می‌افتد. از مزایای این روش سهولت فرایند، هزینه پایین، کارایی بالا می‌باشد [95-93].

5- جداسازی با سورفاکتانت‌های غیریونی‌آبی: سورفاکتانت‌ها با داشتن هر دو بخش آب‌دوست و آب‌گریز به تشکیل ذراتی به نام میسل کمک‌می‌نمایند. محلول آلی سورفاکتانت‌های غیریونی به دلیل خواص ویژه خود می‌توانند جایگزین حلال‌های آلی فرا گردند. از مزایای این روش عدم استفاده از حلال‌های‌آلی و جایگزینی آنها با محلول سورفاکتانت می‌باشد. استفاده از سورفاکتانت‌ها باعث کاهش تجزیه ترکیبات گیاهی بویژه در مقایسه با برخی روش های استخراج‌می‌شود. استفاده از سیستم میسلی باعث افزایش فاکتور تغلیظ و در نتیجه افزایش بازیابی می‌گردد. همچنین این روش آسان، ارزان، ایمن، غیرسمی و دارای کاربرد گسترده‌می‌باشد. از نقطه نظر تجزیه‌ای یکی از مهمترین خواص مواد فعال‌سطحی (سورفاکتانت‌ها) ظرفیت بالای آنها برای حل‌کردن گونه های مختلف‌می‌باشد که اجازه‌می‌دهد در حضور مقادیر پائینی از آنها، مواد با حلالیت پائین و نامحلول در آب، به راحتی در آب حل‌شوند.

با توجه به ارزش تجاری این گیاه و وجود مواد اولیه در داخل، فراوری آن نیز می‌تواند عمدتاً در داخل انجام شده و فرآورده‌های حاصل از آن صادرگردند. از مهمترین دلایل عدم انجام فراوری در این‌گیاه، علی‌رغم وجود تعداد قابل توجه واحد صنعتی فعال کشور در زمینه تولید عصاره خام شیرین‌بیان می‌توان به موارد ذیل اشاره نمود [95-93]:

1- غالب روش‌های مرسوم در تولید و فراوری عصاره شیرین‌بیان قادر به تولید اسید گلیسیریزیک با خلوص مورد نظر استانداردهای مربوطه نمی‌باشند.

2- تکنیک‌های متداول آن معایبی نظیر زمان طولانی استخراج، مصرف بالای حلال، استفاده از حلال‌های آلی سمی و خطرناک، راندمان پائین و دمای استخراج بالادارند. بنابراین نیاز به یک روش مؤثر و اقتصادی جهت تهیه عصاره با کیفیت بالا، فراوری آن و تولید متابولیت‌های خالص مطابق با استانداردهای مربوطه وجوددارد.

1-12- اهمیت اقتصادی شیرین‌بیان

شیرین‌بیان ریشه و ساقه گیاه گلیسیریزین گلابرا می‌باشد که متعلق به خانواده نخودمی‌باشد. گیاه شیرین‌بیان یک گیاه دارویی مهم بوده و گلیسیریزین ترکیبی بطور گسترده‌ای به عنوان یک شیرین‌کننده طبیعی و همچنین به عنوان یک عامل دارویی به خاطر ویژگی‌های ضدالتهابی و محافظ‌کبدی مورد استفاده قرارمی‌گیرد. علاوه بر این، عصاره‌های شیرین‌بیان به عنوان لوازم آرایشی، افزودنی‌های خوراکی، طعم‌دهنده تنباکو و خوراک قنادی مورد استفاده واقع می‌شود.

این گیاه از زمان‌های قدیم در سرتاسر جهان به عنوان یک گیاه دارویی به شمار می‌رود. ارزش تجاری شیرین‌بیان در سال 2007 با 42 میلیون دلار امریکا تخمین زده می‌شد.

در حال حاضر، از آنجائی‌که تولید تجاری گلیسیریزین بوسیله کشت‌سلولی گیاه دشواراست، گلیسیریزین از شیرین‌بیان وحشی یا گیاه کشت شده بدست‌می‌آید، استعمال زیاد اخیر از گیاهان

Archive of SID

www.SID.ir

گلیسیریزا منجر به یک کاهش در ذخایر طبیعی و کویرزایی زیستگاه‌های این گیاهان بویژه در چین شده‌است. بنابراین در سال 2000، دولت چین محدودیت‌هایی را در زمینه مجموعه شیرین‌بیان وحشی اجرا کرد که منجر به یک کمبود شیرین‌بیان در بازار شد. کشت شیرین‌بیان برای جبران کاهش در ذخایر طبیعی این‌گیاه صورت‌می‌پذیرد، هر چند محتوای گلیسیریزین شیرین‌بیان بدست‌آمده از این گیاهان اغلب پایین‌است. اخیراً، محققان امکان استفاده مهندسی متابولیک برای ایجاد گیاهان تولید کننده گلیسیریزین یا میکروارگانیسم‌ها را نوید داده‌اند.

1-12-1- داروهای موجود در بازار ایران

در ایران، چندین فرآورده دارویی از گیاه شیرین‌بیان وجوددارد که به اختصار در جدول ذیل ذکر شده‌اند:

جدول 1-6-فراورده های دارویی گیاه شیرین‌بیان در بازار ایران

ردیف	نام دارو	شکل دارویی	خواص دارویی	نام شرکت سازنده
1	رگلیس	قرص	درمان نفخ معده و اثنی‌عشر، ترشح زیاد اسید و نفخ معده	ایران داروک
2	د-رگلیس	قرص	پیشگیری از ایجاد زخم پپتیک در مصرف همزمان با داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی	ایران داروک
3	لیکوفار	قرص	ضدالتهاب گلو، خلط‌آور و ضدسرفه	گل‌دارو
4	گاسترین	قرص	ضدالتهاب و مسکن دردمعده، تسریع در التیام ورم و زخم‌های معده و اثنی‌عشر	گل‌دارو
5	منتازین	قرص	بهبود دردهای گوارشی، درمان زخم‌معده و ضد نفخ و ملین	ابن‌ماسویه
6	آلتادین	قرص	درمان التهاب و تحریک مخاط گلو،	دینه

Archive of SID

www.SID.ir

			خلط‌آور در سرفه‌های تحریکی	
7	شیرینوش	شربت	درمان زخم‌معده، اثنی‌عشر، گاستریت و گاسترالوژی	گل‌دارو
8	رگلیسیدین	قرص	درمان نفخ‌معده، اثنی‌عشر، گاستریت و گاسترالوژی	دینه

1-12-2- آماده‌سازی و کاربردهای تجاری

آماده‌سازی تجاری از ریشه این گیاه و بصورت تهیه پودر، استخراج عصاره‌خشک و مایع صورت‌می‌گیرد. عصاره ریشه شیرین‌بیان دارای مقادیری گلوکز، ساکاروز، آسپاراژین، مواد آلبومیدی، رزین واسانس است. مواد موثره این گیاه در صنایع داروسازی، نوشابه‌سازی، شیرینی‌سازی و دخانیات مصارف متعدددارد[96]. عصاره شیرین‌بیان تقریباً دارای انرژی به میزان 100 کالری در هر اونس (28/35 گرم)است. با جوشاندن ریشهگیاه و تبخیر بخش عمده آب آن، ماده‌ای سیاه‌رنگ (مایل به قهوه‌ای) به‌دست‌می‌آید. این ماده به دو صورت جامد و شیره عرضه‌می‌گردد. لیکوریک، ریشه خشک‌شده گیاه شیرین‌بیان است. ریشهٔ گیاه شیرین‌بیان دارای مواد شیمیایی باارزشی است. مهمترین شاخص در تعیین کیفیت ریشه شیرین‌بیان درصد اسیدگلیسیریزیک و میزان عصاره محلول در آب آن است. به طوری که برطبق فارماکوپه USP درصد اسیدگلیسیریزیک باید حداقل 2/5 درصد [96] و بر طبق فارماکوپه BP باید حداقل 4 درصد[97] در ریشه خشک شده گیاه باشد. میزان عصاره محلول در آب نیز باید حداقل 20 درصد در ریشه‌های خشک‌شده پوست نکنده گیاه باشد.

امکان استحصال گلیسیریزین آزاد 60-58 درصد و بصورت نمک های آن تا 98 درصد نیز گزارش شده است. کاربرد اصلی این ماده (در کشورهای غربی) شیرین کردن فرآورده‌های غذایی است؛ چون پنجاه برابر از قند (Sucrose)شیرین‌تر است و علاوه بر این، خواص دارویی دارد. ریشه خشکیده شیرین‌بیان را می‌توان به عنوان چاشنی جوید.عصاره شیرین‌بیان در انواع گسترده‌ای از تنقلات شیرین (همچون آب‌نبات)(در کشورهای غربی)استفاده می‌شود.محبوب‌ترین این شیرینی‌جات در انگلستان Liqourice allsortsاست[97]

برخی از عصاره‌های ریشهٔ گیاه شیرین‌بیان(Licorice) عاری از گلیسیریزین هستند و به آن DGL گفته می‌شود. این نوع عصاره به غدد فوق‌کلیوی آسیب نمی‌رساند و برای افرادی که از زخم‌های معده و اثنی‌عشر رنج می‌برند بی‌ضرر است. به‌نظر می‌رسد تولید عصاره‌های فاقد گلیسیریزین DGL از نظر اقتصادی و دارویی بسیار حائز اهمیت باشد. این نوع عصاره به عنوان ماده پایه ای در ساخت نوشیدنی کاربرد دارد [97].

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 12 - 3 - تجارت و صادرات گیاه شیرین‌بیان

سطح زیرکشت گیاهان‌دارویی در کشور 66 هزار هکتار است که از این مقدار سهم شیرین‌بیان صفر است. در حالیکه بالاترین حجم صادرات گیاهان‌دارویی مربوط به گیاه شیرین‌بیان است. سالیانه صدها تن از ریشهٔ گیاه شیرین‌بیان جهت استخراجمواد باارزش شیمیایی و دارویی به صورت خام از کشور خارج‌می‌شود و فرآورده‌های آنبه کشور واردمی‌گردد. از آن در کشورهای پیشرفته دنیا 500 نوع فراورده تولیدمی‌شود. تنها بخش بسیار اندکی از عصاره تولید شده در داخل کشور، در صنعت داروسازی استفاده می‌شود. عصاره شیرین‌بیان با نام لیکوریس (licorice) به صورت پودر، جامد و مایع به کشورهای حوزه خلیج‌فارس، ژاپن، آلمان، ایتالیا، هندوستان، فرانسه، بلژیک و استرالیا صادر می‌شود. سهم کارخانه‌های ایران در حوزه پودرو عصاره شیرین‌بیان، صادرات 95 درصدی آنها است. در سال 1314 ریشه خام گیاه شیرین بیان به میزان 161 تن به کشور هند صادر شد. این روند تاسال 1351ادامه داشت .در سال 1344 اولین کارخانه تولید وصادرات پودر وعصاره شیرین بیان ایران به نام شیرین‌بیان زرقان در فارس تاسیس شد. سال 1350 تأسیس شرکت شیرین دارو و سال 1351 بهره برداری از شرکت ریشمک صورت گرفت. این سه شرکت را می توان شرکت‌های پیشرو در تولید پودر و عصاره شیرین‌بیان ایران دانست. به دلیل خاستگاه ریشه شیرین‌بیان این شرکت‌ها در استان فارس شکل گرفته‌اند. چرا که ریشه شیرین‌بیان حجیم است و حمل و نقل آن هزینه بالایی دارد. در نتیجه ترجیحا در نزدیکی مبادی تولید، کارخانه های آن احداث می‌شود. آخرین وضعیت کارخانه‌های مربوط در حوزه شیرین‌بیان را 14 کارخانه در کل کشور می توان عنوان کرد که 18 هزار و 350 تن ظرفیت تولید سالانه پودر و عصاره شیرین‌بیان توسط این کارخانه ها است. تعداد معدودی نیز در یکی دو سال گذشته به بهره‌برداری رسیده اند. اما رقم فوق الذکر کف ظرفیت تولید فعلی محسوب می‌شود.

چهاراستان فارس، کرمان، کهگیلویه و بویراحمد و کرمانشاه تولیدکننده این محصول هستند. همانطور که اشاره شد از این‌میان استان فارس قطب تولید شیرین‌بیان درکشور است و به طور متوسط سالانه 6 هزار تن عصاره شیرین‌بیان در 7 کارخانه استان فارس تولید می‌شود. در استان کرمانشاه نیز بطور کلی سالیانه 10 -15 تن در هکتار از مزارع برداشت می‌شود. بطور کلی ایران 15-12 درصد از کل بازار جهانی عصاره شیرین‌بیان را در اختیار دارد و بیش از 80 درصد صادرات شیرین‌بیان از استان فارس صورت می‌گیرد. نزدیک 70 درصد ظرفیت پودروعصاره شیرین‌بیان ایران در استان فارس واقع شده است و باقی در استان‌های کرمانشاه، اصفهان، کهکیلویه و بویراحمد و کرمان هستند. وضعیت صادرات کل عصاره شیرین بیان ایران در ده سال 84 تا 93 به این صورت اعلام گردیده است: در 4سال اخیر مقدارصادرات میانگین شش هزار و ششصد تن بوده است اما هرساله با کاهش صادرات مواجه بوده ودرسال93 به رقم 5900تن رسیده است. ارزش مالی این معاملات هم از 44 میلیون دلار در سال 90 به 33 میلیون دلاردرسال 93 رسیده است. بر اساس آمار منتشر شده اتحادیه تولیدی صادراتی شیرین‌بیان ایران، سهم صادرات پودر وعصاره شیرین بیان کشور 95 درصد فرآورده تولیدیآن بوده و به عبارت دیگر 14 شرکت

Archive of SID

www.SID.ir

موجود در این حوزه عمده محصول خود را به صورت پودر به کشورهای دیگر صادر می‌کنند. جایگاه ایران را در حوزه شیرین‌بیان مناسبت بوده و این گیاه بعد از زعفران، بین کل گیاهان دارویی ایران در رتبه دوم قرار دارد. البته در بخش گیاهان خودرو گیاه شیرین‌بیان رتبه اول رابه خوداختصاص داده است.

1-13- روش‌های طراحی آزمایش

1-13-1- تاریخچه طراحی آزمایش

طراحی آماری آزمایش‌ها یک روش قدرتمند است که اولین بار در دهه 1920 توسط رونالدفیشر به منظور مطالعه اثر همزمان چندین فاکتور بر روی یک پاسخ ابداع‌گردید. در نخستین کاربردهای این روش، فیشر قصد داشت تا مشخص‌کند که برای کشت بهینه یک محصول، چه میزان کود، نور آفتاب و غیره مورد نیاز است. این روش‌ها را می‌توان برای تمام فرایندهایی که دارای ورودی‌ها و خروجی‌های قابل اندازه‌گیری باشند، بکار برد. مهمترین اهداف این روش‌ها عبارت‌است از:

*فهم چگونگی ارتباط بین متغیرمتغیرها و پاسخ‌ها

*کدام یک از متغیرمتغیرها تاثیر معنی‌دار از لحاظ آماری بر روی پاسخ فرایندها دارند و کدامیک بی‌تاثیر هستند.

بررسی و فهم اثرات متقابل بین متغیرها، نسبت به پاسخ فرایند

*تلاش در بهینه‌سازی فرایند یعنی جواب این سوال که مقدار هر یک از متغیرها را چگونه انتخاب کنیم تا میانگین پاسخ فرایند مطلوب‌ترشود.

*تلاش در استوارسازی فرایند، یعنی پاسخ فرایند را در مقابل تغییرات غیر قابل‌کنترل، بی‌تفاوت ساخت.

1-13-1-1- تعاریف اولیه

در این بخش تعدادی از اساسی‌ترین واژه‌ها و اصطلاحات مورد استفاده در مبحث طراحی آماری آزمایشات، تعریف می‌گردند.

فاکتور

متغیر قابل کنترلی (مستقلی) است که ممکن است باعث ایجاد تغییر در پاسخ (متغیر وابسته) گردد. فاکتورها را می توان به دو دسته زیر تقسیم‌بندی نمود:

- فاکتورهای کمی(پیوسته): (فاکتورهایی که دارای مقدار هستند) مانند زمان، دما، فشار و PH و ...
- فاکتور کیفی (ناپیوسته): (این فاکتورهای فاقد مقدار هستند بلکه نوع دارند) مانند نوع روش، نوع یک افزونی، کنترل و یا عدم کنترل یک فاکتور.

از نقطه نظر عملیاتی، سه نوع فاکتور وجود دارند:

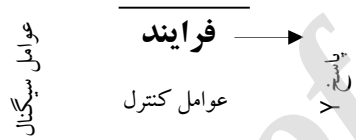
Archive of SID

www.SID.ir

- فاکتورهای سیگنال: فاکتورهایی هستند که توسط مصرف‌کننده یا کاربر به منظور دستیابی به مقدار مورد نظر در پاسخ فرایند تنظیم‌می‌شوند.
- فاکتورهای اغتشاش: برخی فاکتورها قابل‌کنترل توسط طرح نیستند و از این رو فاکتورهای اغتشاش نامیده می‌شوند. همچنین فاکتورهایی که تنظیم و کنترل آنها بسیار دشوار و پرهزینه است نیز به عنوان فاکتورهای اغتشاش در نظر گرفته‌می‌شوند.
- فاکتورهای کنترل: مجموعه فاکتورهایی‌هستند که توسط طراح انتخاب‌می‌شوند و در طول آزمایشات ثابت نگه داشته‌می‌شوند.

شکل زیر نمای شماتیک و کلی از فرایند و فاکتورهای موثر بر آن و همچنین پاسخ فرایند را نشان‌می‌دهد.

شکل 1-2--فاکتورهای موثر بر فرآیند



سطح:

- در طراحی آزمایشات، به منظور بررسی اثر فاکتور روی پاسخ فرایند، مجموعه آزمایش‌هایی طراحی می‌شوند که در آنها هر فاکتور در دو یا چند مقدار یا نوع خود قرارداده می‌شوند. هر یک از این مقادیر یا انواع یک سطح برای آن فاکتور نامیده‌می‌شود.

پاسخ:

پاسخ یا متغیر وابسته، خروجی یک محصول یا فرآیند است که قابل اندازه‌گیری است و می تواند در قالب یک یا ترکیبی از چند شاخص فنی و یا اقتصادی انتخاب شود.

1-13-1-2- طراحی آمار آزمایشات

طراحی آماری آزمایشات یک راهکار علمی‌است که در طی آن به ایجاد تغییرات هدفمند و سیستماتیک در فاکتورهای موثر در یک فرایند یا محصول و سپس تغییرات حاصله در خروجی، اطلاعات و درک وسیعی از فرایند و محصول راجع به چگونگی اثر این فاکتورها بر پاسخ بدست‌می‌آید.

1-13-1-3- اثرات متقابل بین فاکتورها

اثرات متقابل می‌توانند برای همه اثرات پارامترها ساخته‌شوند. تقابل اثر اصلی برای یک پارامتر کنترل‌کننده از تفاوت پاسخ در سطح‌بالا و پاسخ در سطح‌پایین یعنی (سطح‌پایین- سطح‌بالا)

Archive of SID

www.SID.ir

حاصل‌می‌شود. تقابل برای یک برهم‌کنش دو پارامتری نیز از تفاوت پاسخ‌ها وقتی هر دو پارامتر در سطح یکسانی قرارمی‌گیرند و زمانی که در سطوح مخالف قرارمی‌گیرند یعنی (مخالف-یکسان) بدست‌می‌آید چنین تعریف‌های کلی به سهولت برای برهم کنش‌های بالا نیز بسط داده‌می‌شود. با استفاه از چنین تعریف‌هایی برای پاسخ، عبارت‌های کلی تقابل برای همه اثرات ممکن در یک طرح 2^3 به سادگی بدست‌می‌آید. این نتایج در جدول (1-7) نشان داده شده‌است.

جدول1-7- تقابل ها برای یک طرح فاکتوریال دو سطحی با سه پارامتر

اثر	تقابل ها
A	a + ab+ac+abc-(1)-b-c-bc
B	b+ab+bc+abc-(1)-a-c-ac
AB	(1)+ab+c+abc-a-b-ac-bc
C	c+ac+bc+abc-(1)-a-b-ab
AC	(1)+b+ac+abc-a-ab-c-bc
BC	(1)+a+bc+abc-b-ab-c-ac
ABC	a+b+c+abc-(1)-ab-ac-bc

1-13-1-4- طرح‌های فاکتوریال

این طرح‌ها به عنوان اولین مرحله از طراحی آزمایش به منظور شناسایی بر همکنش‌ها و متغیرهای مهم استفاده می‌شوند و شامل طرح‌های دوسطحی بوده که برای شناسایی برهم‌کنش‌ها و متغیرهای مهم استفاده‌می‌شود. دراین طرح‌ها مقادیر فاکتور در دو سطح، حدپایین (1-) و حدبالا (1+) تعیین می‌شود که در صورت انتخاب صحیح سطوح و دقت لازم در انجام آزمایش‌ها می توان به راحتی پارامترهای مهم را شناسایی‌کرد.

نتایج حاصل ازا ین طرح ها:

الف: تعیین پارامترهای موثر بر نتیجه آزمایش

ب: تعیین برهمکنش‌های مهم

طرح های غربالی به دو طرح فاکتوریال کسری و کامل طبقه بندی می‌شود:

1-13-1-5- طرح‌های فاکتوریال کامل

در این طرح تمام پارامترها و برهم کنش‌ها بررسی می‌شوند. تعداد آزمایش‌های لازم برابر 2^f خواهد بود (f تعداد فاکتورها) که با استفاده از این طرح فاکتورهای غیرموثر به راحتی شناسایی‌می‌شوند. برای آزمایش‌هایی با تعداد ۳،۲ و 4 فاکتور به ترتیب 4، 8و 16 آزمایش لازم‌است.

جدول زیر طرح های فاکتوریال کامل کد شده برای آزمایش‌های با 3 و 4 فاکتور نشان داده شده‌است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1-8طرح فاکتورهای فاکتوریال کامل برای چهار فاکتور

شماره آزمایش	فاکتورها			
	F1	F2	F3	F4
1	-	-	-	-
2	-	-	-	+
3	-	-	+	-
4	-	-	+	+
5	-	+	-	-
6	-	+	-	+
7	-	+	+	-
8	-	+	+	+
9	+	-	-	-
10	+	-	-	+
11	+	-	+	-
12	+	-	+	+
13	+	+	-	-
14	+	+	-	+
15	+	+	+	-
16	+	+	+	+

جدول 1-9طرح های فاکتوریال کامل برای سه فاکتور

شماره آزمایش	فاکتورها		
	F1	F2	F3
1	+	+	+
2	+	+	-
3	+	-	+
4	+	-	-
5	-	+	+
6	-	+	-
7	-	-	-
8	-	-	+

در جدول بالا برای یک آزمایش 3 فاکتوری چگونگی تغییر هر فاکتور در هر آزمایش مشاهده‌می‌شود. این آزمایش‌ها را می توان به شکل ساده در گوه های مکعب به وضوح نشان‌داد.

1-13-1-6- طرح فاکتوریال کسری

یکی از مشکلات طرح‌های فاکتوریال کامل این است که با افزایش تعداد فاکتورها تعداد آزمایش‌ها به صورت تصاعدی افزایش‌می‌یابد. به عنوان مثال برای آزمایش با 10 و 15 فاکتور به ترتیب 1024 و 32768 آزمایش باید انجام‌پذیرد که نیازمند صرف‌وقت و هزینه زیادی می‌باشد و عملا انجام این تعداد آزمایش‌ها غیر ممکن می‌باشد. لذا برای رفع این مشکل طرح‌های فاکتوریال کسری برای کاهش تعداد آزمایش‌ها معرفی‌شده‌اند. تعداد آزمایش‌ها در این طرح از رابطه 2^{f-p} به دست‌می‌آید که در آن f تعداد متغیرها و p اندازه کسر می‌باشد. در جدول زیر طرح فاکتوریال کسری 2^{3-1} برای سه متغیر نشان داده شده‌است. همانطور که مشاهده‌می‌شود تعداد آزمایش‌های تعریف شده برابر 4 می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1-10- طرح های فاکتوریال کامل برای سه متغیر

شماره آزمایش	فاکتورها		
	F1	F2	F3
1	+	+	+
2	+	-	-
3	-	-	+
4	-	+	-

ویژگی مهم طرح فاکتوریال کسری این‌است که حجم بالایی از ناحیه آزمایشی را با تعداد محدودی از آزمایش‌ها پوشش می‌دهد.

1-13-1-7- ارزیابی مدل

در طرح های فاکتوریال کامل یا کسری، تعداد تمام متغیرها نرمالیزه می‌شوند بطوریکه بین 1- و 1+ تغییر می‌نمایند.

در صورتیکه پارامترهای مدل مقدار منفی یا مثبت بزرگ داشته‌باشند، اثر بزرگی را بر روی پاسخ خواهندداشت. اگر مدل شامل عبارات برهم کنش نظیر $x_i x_i \beta_{ij}$ باشد، ارزیابی اثر متغیرهای متفاوت برروی پاسخ،با استفاده از تصاویر سطح پاسخ بر روی صفحه ($x_j x_i$) ساده می‌شود. این به معنای محاسبه مقادیر پاسخ برای $x1 = \pm 1$ و $x2 = \pm 1$ می باشد، در حالی که متغیرهای دیگر در داخل ناحیه آزمایشی ثابت می‌مانند.

1-13-1-8- طراحی آزمایش‌ها به روش سطح پاسخ برای بهینه‌سازی

همانطورکه قبلا نیز اشاره‌شد، یکی از روش‌های طراحی آزمایشات، بهینه‌سازی فرآیند و رسیدن به شرایط مطلوب می‌باشد که برای نیل به این هدف از روش‌های سطح‌پاسخ (RSM) یا (Response surface (methodology در طراحی آماری آزمایشات استفاده می‌شود. البته قبل از طراحی آزمایشات به روش سطح‌پاسخ، بهتر است که یک سری از آزمایشات انجام‌شود ازجمله:

طراحی فاکتوریل دو سطحی ناقص (تعداد آزمایشات کمتر) برای پیداکردن فاکتورهای موثر، نسبت به فاکتورهای کم‌اهمیت‌تر در فرآیند.

انجام آزمایشات فاکتوریل کامل برای بررسی عمیق‌تر و تعریف ناحیه مورد علاقه برای مطالعات بیشتر در روش‌های سطح‌پاسخ نقشه‌های پاسخی بدست‌می‌آید که به صورت خطوط هم‌تراز (کنتور) یا نمای سه‌بعدی می‌باشد، همانند آنچه که زمین‌شناسان برای تپوگرافی بکارمی‌برند بااین‌تفاوت که در روش‌های سطح پاسخ خطوط همتراز به جای ارتفاع ، نشان‌دهنده پاسخ آزمایشات‌می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

طرح های سطح پاسخ

1-13-1-9- طرح مرکب مرکزی

این طرح باافزودن تعداد تکرار در مقادیر مرکزی پارامترها و انجام آزمایش در قسمت محوری نسبت به طراحی آزمایش فاکتوریال انجام‌می‌گیرد که امروزه یکی از پرکاربردترین و روش مورد استفاده برای مدل‌سازی سطح پاسخ مرتبه دوم است. به‌طور کلی این طرح از سه قسمت تشکیل شده‌است: نقاط فاکتوریال: که تعداد نقاط با N_f و مختصات(1+ و1-) نشان داده می‌شوند و تعداد آزمایش‌ها که با استفاده از رابطه زیر محاسبه‌می‌شود.

(11-3)

$$N_f = 2^f$$

نقاط مرکزی: با N_e نشان داده‌می‌شود و تعداد آزمایش‌های آن برابر با تعداد تکرار در نقطه مرکزی است.

(12-3)

$$N_e = C_p$$

نقاط محوری: تعداد آزمایش‌های آن با N_{ax} نشان داده‌می‌شود. این نقاط در طراحی آزمایش به نقاط ستاره معروف هستند.

(13-3)

$$N_{ax} = 2f$$

تعداد کل آزمایش ها در یک طرح مرکب مرکزی به صورت زیر محاسبه‌می‌شود:

(14-3)

$$N_c lN_{tot} = N_f \ lN_{ax} = l2f \ \ l\,C_p 2^f$$

در سال 1957 باکس و هالتر مفهوم چرخش‌پذیری و اورتوگونالینی را برای انتخاب سطوح پارامترها در روش طراحی مرکب مرکزی بیان‌کردند.مفهوم چرخش‌پذیری به‌این دلالت‌دارد که واریانس پاسخ‌های پیش‌بینی‌شده فقط به فاصله نقاط محوری از نقطه یا نقاط مرکزی بستگی داشته‌باشد. در مقابل مفهوم اوتوگونالیتی، ویژگی است که بر اساس آن ضریب همبستگی بین اثرات تخمین زده شده صفراست. به این‌صورت ضرایب پارامترها می‌توانندبه طور جداگانه تخمین‌زده شوند. برای اینکه طراحی چرخش‌پذیر باشد باید فاصله‌های نقاط محوری با استفاده از رابطه (5-3) محاسبه‌گردد و همچنین برای تامین اوتوگونالیتی طرح مرکب‌مرکزی، تعداد تکرار در نقطه مرکزی پارامترها از رابطه (6-3) به‌دست می‌آید. بنابراین با انتخاب صحیح فاصله نقاط محوری از نقطه مرکزی و انجام تکرار مناسب در نقطه مرکزی می‌توان این دو ویژگی را در طرح مورد نظر قرارداد.

$$\alpha = \sqrt[4]{N_k} \quad (15-3)$$

Archive of SID

www.SID.ir

$$\alpha = \sqrt{\frac{\sqrt{(N_f+N_{ax}+N_c)\,N_{f-}N_f}}{2}} \qquad \textbf{(16-3)}$$

بدین ترتیب برای هر پارامتر 5 سطح(α+، 1+ ،0 ،1- ،α-) مورد مطالعه قرارمی‌گیرد. در جدول (3-4) و (3-5) مقادیر کدبندی شده برای طراحی آزمایش با 2 و 3 پارامتر آورده شده‌است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1-11- ماتریس طرح مرکزی برای دو متغیر

X1	X2	
-1	-1	نقاط فاکتوریال
+1	-1	
-1	+1	
+1	+1	
0	0	نقطه مرکزی
-a	0	نقاط محوری
0	-a	

جدول 1-12-ماتریس طرح مرکز مرکزی برای سه متغیر

X1	X2	X3	
-1	-1	-1	نقاط فاکتوریال
+1	-1	-1	
-1	+1	-1	
+1	+1	-1	
+1	-1	+1	
-1	+1	+1	
+1	+1	+1	
0	0	0	نقطه مرکزی
-a	0	0	نقاط محوری
a	0	0	
0	-a	0	
0	A	0	
0	0	-a	
0	0	a	

کاربردهای زیادی از طرح مرکب مرکزی در بهینه‌سازی استخراج مواد دارویی از گیاهان گزارش شده‌است.

1 - 13 - 1 - 10 - طرح فاکتوریال کامل سه‌سطحی

این طرح به صورت 3^f نشان داده‌می‌شود که **3**، تعداد سطوح پارامتر و f تعداد پارامترها می‌باشد. برای طرح‌های دارای ۳،۲ و **4** پارامتر به ترتیب ۲۷،۹ و **81** آزمایش انجام‌می‌شود. هنگامی که تعداد پارامترها از دو بیشتر شود نسبت به روش‌های سطح پاسخ کاربرد محدودتری دارند زیرا تعداد آزمایش‌ها بسیار زیادمی‌شود. به همین دلیل کاربرد عمده این طرح‌ها در آزمایش‌هایی است که تعداد **2** پارامتر و یا پارامترهای آن دارای چندین محدوده باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

1 - 13 - 1 - 11 - طرح باکس-بنکن

این طرح در ردیف روش‌های طرح دو بعدی چرخش‌پذیر و نیمه چرخش‌پذیر می‌باشد . در این طرح فاکتورها در سه سطح (1+، ۰،۱-) مورد بررسی قرارمی‌گیرند. محدوده این طرح نسبت به طرح‌های فاکتوریال کروی‌تر از شکل مکعب می‌باشد. همانطور که در شکل 1-3مشاهده‌می‌شودمختصات این طرح در مرکز وجوه مکعب قرار دارد. جدول1-13ماتریس طرح آزمایشی را برای بهینه‌سازی دو متغیر ، با استفاده از این طرح نشان‌می‌دهد.

تعداد آزمایش ها از رابطه زیر به دست‌می‌آید.

$N= 2f(f-1)+ C_p$ **(17-3)**

C_p**=تعداد تکرار در نقطه مرکز**f**= تعداد پارامترها**

جدول 1-13- ماتریس، طرح باکس بنکن برای سه متغیر

X_1	X_2	X_3
-1	-1	0
1	-1	0
-1	1	0
1	1	0
-1	0	-1
1	0	-1
-1	0	1
1	0	1
0	-1	-1
0	1	-1
0	-1	1
0	1	1
0	0	0

کاربردهای زیادی از طرح باکس-بنکن در بهینه‌سازی استخراج مواد دارویی از گیاهان گزارش شده‌است.

1 - 13 - 1 - 12 - روش طراحی فضاپرکن

طراحی فضاپرکن برای سیستم‌هایی کاربرددارد که اطلاعات ما درباره اثرات فاکتورها روی پاسخ مدنظر بسیار کم‌است و حدس‌زده‌می‌شود که به احتمال زیاد مدل واقعی آن به شدت غیر خطی‌است. این نوع طرحی برای مدلسازی سیستم‌هایی که جبری یا نزدیک به حالت جبری دارند کاربرد بسیار

Archive of SID

www.SID.ir

مناسبی‌دارد برای مدلسازی یک چنین شرایط،اعتقاد بر این‌است که تغییرپذیری ناگهانی وجودندارد و یا اینکه بسیار کم‌است و لذا نگرانی از بابت تغییرپذیری ناگهانی وجودندارد.

طراحی یکنواخت یکی از انواع طراحی فضاپرکن است این طراحی زمانی کاربرددارد که ما هیچ اطلاع قبلی از فضای طراحی نداریم و نیز نقاط طراحی بطور منظم روی فضای طراحی پراکنده شده‌اند. این طراحی زمانی استفاده می‌شودکه رگرسیون ما شبیه به حالت غیر پارامتری و یا شبه پارامتری باشد و بطور وسیعی در صنایعی مانند صنایع دارویی، بیوتکنولوژی، شیمیایی و مهندسی فرایند کاربرد فرایند کاربرد فراوانی‌دارد و در آزمایشات کامپیوتری که مدل‌های فرضی بسیار پیچیده‌اند نیز بسیار مفیداست.

1 - 13 - 1 - 13 - طراحی یکنواخت

طراحی یکنواخت در سال 1980 برای اولین‌بار توسط آقایان فانگ ووانگ پیشنهادشد که اساس این روش شبه‌مونته‌کارلو و یا از روش تئوری اعداد است.انگیزه توسعه این‌روش به صنعت، برای اولین‌بار در سال 1987 توسط آژانس صنعتی چینی در سیستم‌های مهندسی برای طراحی آزمایشی پیشنهادشد که در 6فاکتور با حداقل 12 سطح برای هر فاکتور باید در نظر گرفته‌می‌شد. اما مشکل اینجا بود که نباید تعداد آزمایشات از 50 تجاوز می‌کرد زیرا آزمایشات گرانی‌بودند.

برای طراحی آزمایش فاکتوریل ناقص ارائه یک طرح علمی اینچنینی غیرممکن بود. زمانی که طراحی یکنواخت برای این‌روش بکار گرفته‌شد، تنها 31 آزمایش برای آن پیشنهاد و مرتب‌شد که هر یک از این فاکتورها می‌توانستند 31 سطح نیز داشته‌باشند و نتایج بدست‌آمده نیز کاملا رضایت‌بخش بود. از آن‌زمان به بعد طراحی یکنواخت بعنوان یک طراحی آزمایش کارا بتدریج در کشور چین و در دنیا محبوبیت‌یافت و در بخش‌های مختلف مثل کشاورزی، صنعت نساجی، علوم‌نظامی، بخشهای تحقیقاتی علوم مختلف و بخصوص شیمی و مهندسی شیمی بکار گرفته‌شد. امروزه این روش جایگاه مناسبی را برای خود در طراحی آماری آزمایش‌ها پیدا کرده است. این روش دارای مزایای زیراست:

مدلی فضاپرکن است و بنابراین قادر به ایجاد مدل‌هایی با تعداد نماینده زیاد(فاکتور) در دامنه ازمایشات مورد مطالعه‌است.

قدرت روش: در این روش هیچ فرض قوی خارجی روی مدل اعمال نمی‌شود و حساسیت خاصی بر روی تغییرات مدل از خود نشان‌می‌دهد.

چند سطحی‌است و این امکان را ایجاد می‌کند که بیشترین تعداد سطح ممکن را برای هر فاکتور در میان همه طراحی های آزمایش داشته‌باشد.

از آنجایی که تقریبا همه مدلهای تئوریکی در تحقیقات شیمیایی ناشناخته هستند و تقریبا همه متغیرهایی (یا فاکتورهایی)که در آزمایشات شیمیایی استفاده می‌شوند بصورت پیوسته تغییر می‌کنند، دو مزیت آخری ذکر شده در بالا مهمترین وضعیت‌هایی هستند که در تحقیقات شیمی و

Archive of SID

www.SID.ir

مهندسی شیمی در نظرگرفته می‌شوند. به این دلایل مهم است که روش طراحی یکنواخت برای کمومتریکس معرفی می‌شود.
طراحی یکنواخت جداولی تجربی را برای کاربران ارائه می‌کند تا از آنها براحتی استفاده‌کنند. جداول طراحی یکنواخت بشکل($n^s U_n$) است که به تقلید از جداول طراحی متعامد($L_n (q^s)$ و به عمد به این شکل‌ها انتخاب شده‌است. تفاوت این دو در این است که در طراحی یکنواخت تعداد سطوح با تعداد آزمایشات برابر است.

برای طراحی آزمایش‌ها در این تحقیق از نرم‌افزار دیزاین‌اکسپرت(DesignExpert) و روشRSM - Response Surface Methods– استفاده شد. این نرم افزار قادر است متغیرهای تاثیرگذار بر پاسخ را به صورت عددی یا طبقه‌ای در نظربگیرد. این مورد یکی از مزایای این نرم‌افزار بر دیگر نرم افزارهای موجود در زمینه طراحی آزمایش‌ها از جمله مینی‌تب است که باعث شد در بخش طراحی آزمایش‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌ها به کار گرفته‌شود.

1 - 14 - طراحی واحد پایلوت

1 - 14 - 1 - هدف از طراحی واحد پایلوت

جهت پی‌بردن به مسائلی که در مقیاس‌های کوچک آزمایشگاهی آشکار نمی‌شوند و یا بررسی آن مقدورنمی‌باشد، غالبا نیاز به احداث واحدهای‌پایلوت احساس‌می‌شود. بررسی‌های انجام‌شده روی واحد پایلوت، می‌توانند از بروز اشتباهات و خطرات احتمالی در واحد صنعتی جلوگیری بعمل‌آورده و همچنین هزینه های طراحی ساخت آن به میزان قابل توجهی کاهش‌دهند.
علاوه بر پیش‌بینی مسائل در واحدهای بزرگ تولیدی، اهداف دیگری نیز می‌تواند در طراحی پایلوت مدنظر باشد. به عنوان مثال در تولید برخی مواد شیمیایی در حجم‌های کم یا برخی محصولات فصلی، واحد پایلوت می‌تواند در کاهش هزینه ها و نیز صرفه‌جویی در زمان بسیار مفیدباشد.
همچنین موارد زیر نیز از اهداف مهم طراحی و ساخت واحد پایلوت به‌شمار می‌رود.
دستیابی به اطلاعات مربوط به قسمت‌هایی از طراحی که با استفاده از آزمایش و شبیه‌سازی و یا مطالعات تئوری می‌توان بدست‌آورد و یا اطلاعات بدست‌آمده از این طریق چندان دقیق نبوده یا در تغییر مقیاس تحولات زیادی از خود نشان می‌دهد. به عنوان مثال در واحدهای آزمایشگاهی، عموما از همزن ها با سرعت بالا استفاده می‌شود لذا هرگز نمی توان اثر همزن را در سیستم نادیده‌گرفت، ولی در سیستم‌های با مقیاس بزرگ این اثر کاهش می‌یابد. با طراحی یک واحد پایلوت می‌توان همزن‌های با سرعت‌های متفاوت و نیز با اشکال گوناگون را مورد آزمایش قرار داد و بهترین آن را انتخاب نمود.

Archive of SID

www.SID.ir

گاهی اوقات از واحد پایلوت در جهت بدست‌آوردن اطلاعات مربوط به تعیین فاکتورهای اقتصادی استفاده می‌شود بدین ترتیب که در واحد پایلوت محصولات جدید برای سنجش بازار تولید می‌شود. در اینجا با تخمین هزینه‌های ساخت و تولید میزان سرمایه لازم را محاسبه می‌نمایند که در این صورت باید اطلاعات دقیق و جزیی مربوط به کلیه مواد و تجهیزات لحاظ گردد.

از طراحی واحد پایلوت می توان جهت تعیین نوع سیستم فرایند استفاده نمود. یک طراحی خوب به ما نشان می‌دهد که سیستم ناپیوسته از عملکرد و بازدهی بهتری برخوردار است یا سیستم پیوسته.

در برخی موارد نیز از فرایندهای در مقیاس پایلوت برای تعیین پارامترها در دستگاه‌های کنترلی سیستم استفاده می‌شود.

معمولا طراحی واحد پایلوت شامل کلیه مراحل ساخت محصول می‌باشد، ولی در برخی مواقع نیز طراحی پایلوت برای بخشی از فرایند صورت‌گرفته و ممکن‌است برای دیگر بخش‌های فرایند طراحی امکان‌پذیر نبوده و یا مقرون به صرفه‌نباشد.

1 - 14 - 2 - انواع واحدهای پایلوت

واحد پایلوت به دو دسته کلی تقسیم می‌شوند که به شرح زیر می‌باشد:

- واحد پایلوت تک منظوره

طراحی واحدهای پایلوت تک منظوره به طوری است که تنها قادر به ساخت یک نوع ماده حد واسط می‌باشد این نوع طراحی معمولا در مواردی مورد استفاده قرار می‌گیرد که تولید یک محصول نسبتا با ارزش و یا دارای ارزش افزوده بالا برای مدت طولانی مدنظر باشد. همچنین در اینگونه موارد حجم تولید کم ولی مداوم می‌باشد، چراکه در غیر اینصورت به جای آن طراحی واحدهای صنعتی مقرون به صرفه خواهدبود.

- واحد پایلوت چند منظوره

محصولاتی که از لحاظ عملیاتی فرایند مشابه هم می‌باشند را می توان با استفاده از یک واحد پایلوت تهیه‌نمود. طراحی این واحد به صورتی‌است که قادر به ساخت چندین محصول مشابه بدون ایجاد تغییرات اساسی در آن، می‌باشد از این واحدها معمولا برای تولید محصولاتی که در یک دوره زمانی نسبتا کوتاه بهره‌برداری می‌شود، استفاده می‌گردد. استفاده از این پایلوت‌ها در صنایع دارویی مرسوم می‌باشد.

1 - 14 - 3 - روش کلی طراحی واحد پایلوت

برای طراحی یک واحد پایلوت، ابتدا باید شیمی فرایند کاملا واضح و روشن‌باشد. با استفاده از کارهای آزمایشگاهی و شبیه‌سازی‌های کامپیوتری، حداکثر اطلاعات قابل دستیابی را تهیه‌نموده و نقاط غیرقابل

Archive of SID

www.SID.ir

دسترسی فرایند را معین می‌سازند. سپس طراحی واحد پایلوت انجام‌می‌شود. عموما برای طراحی یک واحد نیمه صنعتی به ترتیب زیر عمل‌می‌شود.

1- جمع‌آوری اطلاعات کلی مربوط به بخش‌های مختلف فرایند و کنار هم قراردادن و ترکیب آنها.
2- تعیین یک فرایند بهینه با درجه خلوص و کیفیت بالای محصول و قیمت تمام‌شده و حداقل میزان ناخالصی.
3- طراحی مدل کلی فرایند.
4- تعیین اطلاعات و پارامترهای لازم برای بررسی مدل کلی طرح‌ریزی شده.
5- بررسی اطلاعات تعیین‌شده در مرحله قبل با استفاده از آزمایش.
6- اصلاح مدل کلی طرح‌ریزی شده و تطبیق داده‌های بدست آمده با مقیاس نیمه‌صنعتی.
7- بررسی دقیق جهت تعیین مشخصات و ساخت تجهیزات و دستگاه‌های فرایند.
8- انتقال اطلاعات و محاسبات انجام‌شده برای ساخت واحدهای‌صنعتی.

روش طراحی فوق به روش ترکیب متغیرها معروف است. این روش طراحی را در زمان کوتاهتر و با دقت بیشتر به انجام می‌رساند. از مزایای آن به موارد زیر می توان اشاره‌نمود:

- کاهش زمان لازم برای طراحی
- جلوگیری و کاهش فرایند زیانبار برای محیط‌زیست
- کاهش میزان هزینه‌های سربار و مازاد
- تهیه یک روش ساده و مناسب برای تغییر مقیاس
- افزایش و بهبود میزان ارتباط و هماهنگی بین مهندسی شیمی با دیگر اعضا و تیم طراحی
- تعیین ساختارهای مربوط به بازیابی مواد و جریانات درون فرایند و چرخه های بازگشتی حلال‌ها
- تعیین و مشخص نمودن نقاط حساس فرایند جهت توسعه‌های بعدی آن

با استفاده از شبیه‌سازی کامپیوتری و با بهره‌گیری از آخرین روش‌های جمع‌آوری و ترکیب اطلاعات، می‌توان به یک طراحی مطمئن و کارآمد دست‌یافت و در این راستا نکات زیر باید در نظر گرفته‌شود.

1- ارزیابی شیمیایی کلیه مراحل طراحی
2- در دست‌داشتن خواص فیزیکی مربوط به مولکول‌های پیچیده
3- ارزیابی سریع قسمت‌های مختلف فرایند از جهت خصوصیات فنی
4- انتخاب یک فرایند بهینه با استفاده از شبیه‌سازی کامپیوتری
5- تجزیه و آنالیز دقیق مدل‌های طراحی و نتیجه‌گیری از آنها
6- جمع‌آوری اطلاعات و تعیین روش مناسب برای تغییر مقیاس طراحی

طراحی واحدهای پایلوت شیمیایی از اهمیت زیادی برخوردار بوده و باید با دقت تمام و با در نظر گرفتن کلیه جوانب آن انجام‌بگیرد تا در حین ساخت واحد، با مشکلات کمتری مواجه‌گردد.

همچنین باید توجه‌داشت که در صورت در نظرنگرفتن برخی مسائل کلیدی در طراحی پایلوت، پس از تغییر مقیاس به واحدهای بزرگ صنعتی مسائل و مشکلات بزرگی بوجود خواهدآمد.

Archive of SID

www.SID.ir

واحد پایلوت موادشیمیایی، علاوه بر وجود حساسیت‌ها و دستورالعمل‌های مربوط به فرایندهای آن، دارای یک سری محدودیت‌هایی نیز می‌باشد که باید آن را برطرف‌ساخت. بنابراین نیاز به مطالعات جامعی در این زمینه احساس می‌شود تا با تسلط بر اطلاعات و داده‌ها بتوان با درنظر گرفتن کلیه مسائل جنبی کار و ارائه راهکارهای مناسب از بروز مشکلات احتمالی جلوگیری به‌عمل‌آورد. لذا در طراحی واحدهای نیمه‌صنعتی و صنعتی همواره باید مسائل زیادی را در نظرگرفت که موارد زیر از مهم‌ترین آنها به شمار می‌رود:

1- مسئله مهمی که همواره در کلیه واحدهای صنعتی، نیمه‌صنعتی و یا آزمایشگاهی مطرح می‌باشد، مسئله ایمنی فرایند است که از جهات‌صنعتی، نیمه‌صنعتی و یا آزمایشگاهی مطرح می‌باشد. مسئله ایمنی فرایند از جهات مختلف مورد بررسی قرار می‌گیرد و موارد زیر از آن جملهمی‌باشد:

1-1 مسائل مربوط به ایمنی اعضا و کارکنان واحدهای تولید مواد شیمیایی همواره مورد توجه بسیاری بوده است در این واحدها از مواد اولیه یا حلال‌های آلی و غیر آلی گوناگونی استفاده می‌شود . تعداد زیادی از این مواد ترکیبات سمی و خطرناکی می‌باشندکه قرار گرفتن در معرض آنها برای مدت طولانی می‌تواند خطرساز و مشکل‌آفرین باشد. برخی از ترکیبات متداول مورد استفاده در صنایع تولید مواد شیمیایی به شرح زیر می‌باشد:

- در فرایند واکنش‌های ساخت مواد شیمیایی، غالبا موادی همچون بنزن، کلروفرم، متیلن‌کلراید، تولوئن، متانول، اتیلن گلیکول، متیل ایزوبوتیل کتون، زایلن و اسید هیدروکلریدریک استفاده می‌شود.
- در هنگام جداسازی محصولات از مواداولیه معمولا از موادی چون متانول، تولوئن و هگزان استفاده می‌کنند.
- در خالص‌سازی، استون، هگزان و تلوئن و ... به کار می‌رود.
- در فرایندهای تخمیر نیز عمدتا از موادی مانند اتانول، متانول، متیل ایزوبوتیل کتون و استون و ... استفاده می‌کنند.

1-2 یکی از مسائل مهم مربوط به ایمنی افراد و دستگاه‌ها، مسئله خطرات احتمالی حاصل از حضور مواد اشتعال‌زا در صنایع شیمیایی است. بسیاری از مواد اولیه و حلال‌های مورد استفاده در این صنایع دارای قدرت اشتعال بسیار بالایی‌هستند. لذا در طراحی واحد پایلوت این مسئله باید دقیقا مورد بررسی قرارگیرد.

1-3 مورد بعدی مربوط به آلودگی‌های احتمالی مواد اولیه و محصولات در حین جریان تولید و یا بسته‌بندی است. این مورد به ویژه در صنایع غذایی و دارویی از حساسیت بیشتری برخوردار می‌باشد.

2- در برخی صنایع مانند صنایع‌غذایی و صنایع‌داروسازی به دلیل حساسیت بسیار زیاد کیفیت محصولات آن از لحاظ خلوص، استانداردهای بسیار زیادی از طرف ادارات و سازمان‌های جهانی و یا داخلی تهیه و تدوین گشته‌است. در طراحی این واحدها همواره باید اهداف را طوری در

Archive of SID

www.SID.ir

نظرگرفت که کلیه استانداردهای موجود رعایت شده و محصولات تولیدی از کیفیت مطلوب برخورداراباشد.

3- در فرایندهای تولید مواد شیمیایی، غالبا مواد آلاینده و ضایعات بسیاری تولید می‌شود که باید به نحوی آن را از بین برد و یا بازیابی نمود. نوع و مقدار این آلاینده‌ها بیشتر به مواد اولیه و محصول، فرایند تولید و همچنین نوع دستگاه و تجهیزات مورد استفاده در فرایند بستگی خواهدداشت. برای کاهش میزان مواد آلاینده و ضایعات تولیدی در هر فرایند، اقدامات زیادی صورت می‌گیرد که مهمترین آنها به شرح زیر می‌باشد:

- بهینه‌سازی فرایند
- زمان‌بندی مناسب برای مراحل مختلف فرایند
- ردیابی مواد اولیه و کنترل خروجی‌ها
- روش‌های استاندارد و بهینه برای بسته‌بندی، حمل و نقل، ذخیره‌سازی مواد اولیه و محصولات
- برنامه‌های حفاظتی و پیشگیرانه
- استخراج و دسته‌بندی مواد آلاینده و ضایعات حاصل از فرایند

کلیه اقدامات فوق را می‌توان در اعمال دستورالعملهای مربوط به آیین نامه‌های تضمین کیفیت مورد اجرا قرارداد. در پایان یادآور می‌شود که موضع آلاینده‌های محیط زیست و سیستم‌های کنترل آنها از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. بنابراین لازم است که قبل از هر طراحی، در این باره بررسی‌های لازم بعمل آید تا در اجرای آن با مشکل مواجه نگردند.

Archive of SID

www.SID.ir

3 - نتایج و بحث

3 - 1 - نتایج بررسی میزان اسید گلیسیریزیک در رسوب

نتایج انجام آزمایش‌های طراحی‌شده توسط نرم‌افزار در آزمایشگاه، (نتایج آزمایش‌های پاسخ دوم R_1) در جدول **3-1** ارایه شده‌است. همان طور که از جدول **3-1**برمی‌آید، آزمایش شماره **14** با زمان استخراج **17hr**، نسبت جریان ورودی به حلال(پودر شیرین بیان به آب)**۱۰g/ml**، مقدار **pH** محیط**10** و دمای **60°c** بهترین نمونه با پاسخ**54/9** درصد اسید گلیسیریزیک می‌باشد. این مقدار بیشترین مقداری است که بهینه‌سازی اولیه آزمایش‌ها نشان‌می‌دهد. با مدل‌سازی نتایج و بدست‌آوردن معادله حاکم بر سیستم مقدار بهینه نهایی تعیین‌می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 3-1- نتایج آزمایشات به روش عملیاتی

Std	Run	Block	Factor1 A:A	Factor2 B:B	Factor3 C:C	Factor4 D:D	Response1 R1	Response 2 R2
2	1	Block1	30	10	10	90	49/5	./002
14	2	Block1	17	40	8	90	26/1	2/83
3	3	Block1	4	40	10	90	38/07	0/16
17	4	Block1	4	25	8	90	8/91	6/28
7	5	Block1	17	25	8	120	36/9	0/88
12	6	Block1	30	25	10	120	27/9	3/24
19	7	Block1	4	25	12	90	52/2	0/058
4	8	Block1	30	40	10	90	27	2/83
26	9	Block1	17	25	10	90	20/7	3
27	10	Block1	17	25	10	90	27	1/7
6	11	Block1	17	25	12	60	37/44	0/8
1	12	Block1	4	10	10	90	50/4	0
10	13	Block1	30	25	10	60	20/7	3/01
21	14	Block1	17	10	10	60	54/9	0/01
24	15	Block1	17	40	10	120	38/97	0/17
15	16	Block1	17	10	12	90	43/02	0/6
5	17	Block1	17	25	8	60	38/7	0/29
22	18	Block1	17	40	10	60	45/9	0
11	19	Block1	4	25	10	120	52/29	0/051
13	20	Block1	17	10	8	90	52/2	0
20	21	Block1	30	25	12	90	10/8	6/9
18	22	Block1	30	25	8	90	15/03	5/3
23	23	Block1	17	10	10	120	49/5	0/002
8	24	Block1	17	25	12	120	37/62	0/35
16	25	Block1	17	40	12	90	26/1	1/7
25	26	Block1	17	25	10	90	27/9	2/87
9	27	Block1	4	25	10	60	46/8	0/063

- زمان استخراج:A (min)
- نسبت نمونه به حلال(پودر شیرین‌بیان به آب)B (gr/mL)
- pH محیط C
- دما (˚C)D
- درصداسید گلیسیریزیکR_1

Archive of SID

www.SID.ir

- درصد اسید گلیسیریزیک در عصاره فاقد آن R_2

3 - 1 - 1 - آنالیز واریانس پاسخ‌ها از نرم‌افزار *(Design Expert)*

بر اساس روش Box-Behnkenو نتایج آزمایش‌ها(جدول **3-1**)، مدل رگرسیون درجه دوم(بر اساس پارامترهای کدشده) برای داده‌های تجربی به صورت زیر بدست‌آمد.

$$R_1 = +۲۴,۴۶ - ۸,۲۹*A - ۷,۹۶*B + ۲,۴۴*C - ۰,۱۱*D - ۱۱,۸۸*A*C + ۱۳,۲۸*B^۲ + ۱۱,۷۵*D^۲$$

که در آن A زمان استخراج، B نسبت جریان ورودی به حلال(پودر شیرین بیان به آب)، C مقدار pH محیط و D دما و R_1درصداسید گلیسیریزیکمی‌باشند. منفی بودن ضریب D،B،A در معادله که به ترتیب زمان استخراج، نسبت جریان ورودی به حلال (پودر شیرین‌بیان به آب) و دما می‌باشد، حاکی از آن است که با کاهش آنها، درصد GL در رسوب افزایش می‌یابد که منطقی می‌باشد و اما مثبت بودن ضریب C در معادله که همان pHمحیط می‌باشد، حاکی از آن است که با افزایش pHمحیط، درصدGL افزایش می‌یابد. اهمیت معادله مدل شده از نظر آماری توسط آزمون F برای تحلیل واریانس ارزیابی می‌شود. نتیجه نشان از مناسب بودن مدل رگراسیون از نظر آماری در سطح اطمینان **95%** دارد. مقدار F مدل که برابر با ۱۲,۸۹ محاسبه شد، بیانگر آن است که مدل از نظر آماری مناسب است (جدول **3-2**).

جدول**3-2**-جدول آنالیز واریانس برای مدل درجه دوم کاهش یافته سطح پاسخ

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	متوسط مربعات	F مقدار	P-مقدار Prop>F	ملاحظات
مدل	86/70	10	8/67	6/84	0/0004	قابلتوجه
A-A	17/93	1	17/93	14/13	0/0017	
B-B	4/17	1	4/17	3/29	0/0884	
C-C	2/23	1	2/23	1/76	0/2036	
D-D	0/023	1	0/023	0/018	0/8956	
AB	1/78	1	1/78	1/41	0/2532	
AC	15/30	1	15/30	12/06	0/0031	
A^2	2/96	1	2/96	2/33	0/1463	
B^2	15/49	1	15/49	12/21	0/0030	
C^2	1/37	1	1/37	1/08	0/3143	
D^2	14/23	1	14/23	11/22	0/0041	
باقی مانده	20/30	16	1/27			
عدم انطباق	19/27	14	1/38	2/68	0/3043	غیرقابلتوجه
خطای مطلق	1/03	2	0/51			

Archive of SID

www.SID.ir

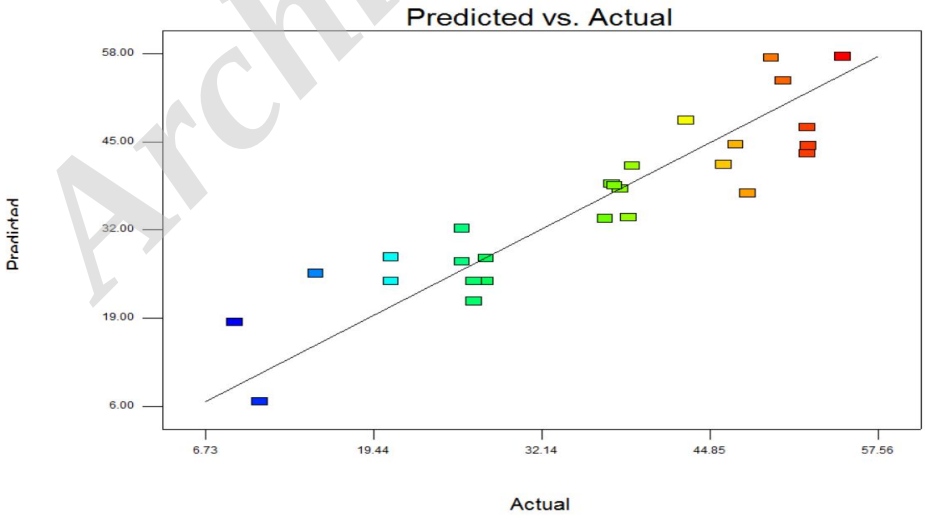
					26	107/00	کل

مقدار احتمال پایین مدل(۰،۰۰۰۱>) نیز نشان دهنده‌ی مناسب بودن مدل است. مقادیر ضریب هم‌بستگی R^2 برابر 0،8260، R^2 تعدیل شده برابر ۰،۷۶۱۹ و R^2پیش بینی شده برابر 0،5382 که معیاری از برازش خوب مدل بر داده‌های آزمایشگاهی هستند.

آنالیز واریانس مدل رگراسیون ودرجه دوم نشان می‌دهد که مدل تطبیق داده شده مناسب بوده که این مطلب از مقدار بسیار پایین (P(P<۰،۰۰۱ آزمون و نیز F مشهود می‌باشد.

مقدار F آزمون عدم تطبیق برابر 2/68 بیانگر آن است که عدم تطبیق نسبت به خطای خالص دارای تفاوت معنی داری نیست. در واقع آزمون عدم تطبیق به منظور تعیین این که آیا مدل برای توصیف داده‌های آزمایشی مناسب است و یا مدل پیچیده تری نیاز هست که استفاده شود، طراحی شده‌است. مقادیر P ضریب رگراسیون نشان می‌دهد که از میان متغیرهای آزمایشی A,B,AC,B^2,D^2 پارامترهای مهمی هستند. از این رو، آنالیز آماری تمام داده‌های آزمایشی نشان‌داد که زمان استخراج، نسبت جریان ورودی به حلال(آب به پودر شیرین بیان)، مقدار pH محیط و دما، اثر قابل ملاحظه‌ای بر درصد GL در رسوب در این مطالعه دارند. همچنین مشاهده‌شد زمان استخراج بیشترین تاثیر را بر میزانGL موجود در رسوب دارد.

در شکل 3-1 مقادیر پیش بینی شده درصد GL در رسوب در مخلوط واکنش در مقابل مقادیر واقعی آن ارایه شده است. همان گونه که نمودار نشان می دهد مقادیر پیش بینی شده توسط مدل بسیار نزدیک به مقادیر آزمایشگاهی می باشد و بنابراین مدل ارایه شده برای درصد GL در رسوب بر حسب متغیرهای فرآیندی از اعتبار مطلوبی بر خوردارمی‌باشد.



شکل3-1- مقایسه مقادیر پیش بینی شده درصد اسید گلیسیریزیک در رسوب در مخلوط واکنش در شرایط تعیین شده و محاسبه توسط نرم افزار و مقادیر واقعی آن پس از انجام در مقیاس پایلوت

Archive of SID

www.SID.ir

در خصوص بررسیاثرفاکتورهایمختلفرویبازدهاستخراج همانگونه که از آنالیزANOVA مشخص شد، در استخراج GL از شیرین بیان فاکتورهای مختلف اثر قابل توجهی روی بازده استخراج دارند. استخراج این ترکیب از پودر شیرین بیان بر پایه انتقال جرم نفوذ استوار است. استخراج شامل نفوذ پیوستهحلال به داخل ماتریس سلولیگیاه (شامل سلولها، فضای بین سلولی، فضای مویین و تخلخل) و خروج GL به درون محیط حلال می باشد. برایتحلیلوفهمبیشتراینننتایجمراحلاستخراجرامیتوانبهترتیبزیرشرحداد:

- نفوذحلالبهداخلماتریسسلولی
- حلشدنترکیباتمختلفگیاهداخلحلال
- نفوذداخلی؛شاملانتقالاجزاءحلشوندهازداخلماتریسسلولیبهسطح (بهدلیلگرادیانغلظتموجود)
- نفوذخارجی؛شاملانتقالحلشوندهازسطحماتریسولایهمرزیبهداخلتودهحلالموجود (به دلیلاختلافغلظت)
- جابجاییوخروجحلالازذراتاجزایجامداستخراجشده.

استخراج تا زمانی ادامه دارد که به تعادل برسیم و در این حالت تعادلبینتوزیعجزءحلشوندهدرحلالداخلماتریسسلولیوخارجازآنوجوددارد وبعدازآناستخراجیصورتنمیگ یرد. زمانرسیدنبهحالتتعادلتحتتأثیرهریکازمراحلذکرشدهبراياستخراجمیباشد. نرخانتقالجرم حل شونده (در این مطالعه GL) ازیکفاز (داخل ماتریسسلولی) بهفازدیگر (تودهحلال) رامیتوانبرطبقمعادلهانتقالجرمبهصورتزیرنوشت:

$$N = K(C_m - C_s) \quad (2\text{-}3)$$

که در آن N نرخ انتقال جرم جزء استخراجی بر واحد سطح مشترک دوفاز، k ضریب انتقال جرم (که برای مواد مختلف و در دماهای مختلف متفاوت است)، و عبارتC_m-C_s) بیانگر اختلاف غلظت جزء حل شونده در حلال در داخل و خارج ماتریس سلولی می باشد که این اختلاف غلظت، نیروی محرکه و عامل اصلی تعیین کننده انتقال جرم می باشد.

اثر متغیرهای مختلف روی بازده استخراج را می توان از معادله (1-3) استنباط نمود. با توجه به این که ضرایب در این معادله بر اساس پارامترهای کد شده می باشند از روی مثبت یا منفی بودن این ضرایب می توان به اثر افزایشی

یا کاهشی آن پارامتر روی بازده استخراج پی برد. همان گونه که در معادله مشخص است با افزایش زمان استخراج بازده استخراج کاهش می یابد. در زمان های اولیه استخراج، استخراج GL با سرعت بیشتری صورت می گیرد اما هرچه در زمان پیش میرویم سرعت استخراج و تغییرات درصد GL در رسوب با نرخ ملایم تری مشاهده می شود. مطابق معادله انتقال جرم ذکر شده، انتقال جرم و بازده استخراج نسبت مستقیمی با اختلاف غلظت حل شونده در داخل ماتریس سلولی و توده حلال دارد. در زمان های اولیه استخراج، اختلاف غلظت GL در نمونه جامد و در فاز مایع (حلال) بیشترین مقدار خود را داراست و این اختلاف غلظت بالا باعث افزایش انتقال جرم و بالا بودن نرخ انتقال جرم در اثر بالا بودن نیرومحرکه

Archive of SID

www.SID.ir

انتقال جرم (گرادیان غلظت) می باشد. هرچه در زمان پیش می رویم این اختلاف غلظت کاهش می یابد و نرخ انتقال جرم در اثرکاهش تدریجی نیروی محرکه کاهش می یابد تا این که به تعادل برسد و نرخ انتقال جرم ثابت بماند. این نتایج به صورت کامل با نتایج بدست آمده توسط Sun و همکاران [106] در سال 2012 مطابقت دارد و روند تغییر بازده با افزایش زمان استخراج در هردو مطالعه مشابه است. البته لازم به ذکر است که در دماهای بالا و نسبت های بالای حلال به پودر جامد، طولانی شدن زمان استخراج از یک حد مشخص باعث استخراج ترکیبات جانبی و ناخواسته می شود و از این جهت سودمند نخواهد بود.

همچنین مشاهده می شود که هرچه نسبت جریان ورودی به حلال (پودر شیرین بیان به آب) کاهش یابد درصد GL در رسوب افزایش می یابد. این نسبت نقش مهمی در فرآیند استخراج دارد. با افزایش نسبت آب به پودر شیرین بیان (کاهش نسبت پودر به حلال) طبق معادله (2-3) اختلاف غلظت GL در داخل و خارج ماتریس سلولی افزایش و به تبع آن نیروی محرکه انتقال جرم افزایش و مقاومت در برابر انتقال جرم کاهش می یابد. به علاوه استفاده از نسبت های پایین، به دلیل ویسکوزیته بالای محلول، مقاومت در برابر انتقال جرم بالاست و این باعث کاهش استخراج شده و درصدGL در رسوب کاهش می یابد. این نتایج و این روند تغییر بازده استخراج با تغییر نسبت نمونه به حلال با نتایج تحقیقات Trupti W. Charpe و همکاران [101] در سال 2012، که استخراج گلیسیریزیک اسید از شیرین بیان را به کمک امواج فراصوت انجام دادند، مطابقت دارد. البته این محققین در یک مطالعه مجزا ،که در سال 2014 انجام دادند، نشان دادند که افزایش نسبت حلال به پودر شیرین بیان تا یک مقدار مشخص باعث افزایش بازده می شود و افزایش بیش از اندازه آن باعث رقت بالای محلول شده و بازده را کاهش می‌دهد. بنابراین لازم است در مقدار این نسبت دقت شود و بهینه سازی انجام شود تا نسبت ایده آل به دست آید[102].

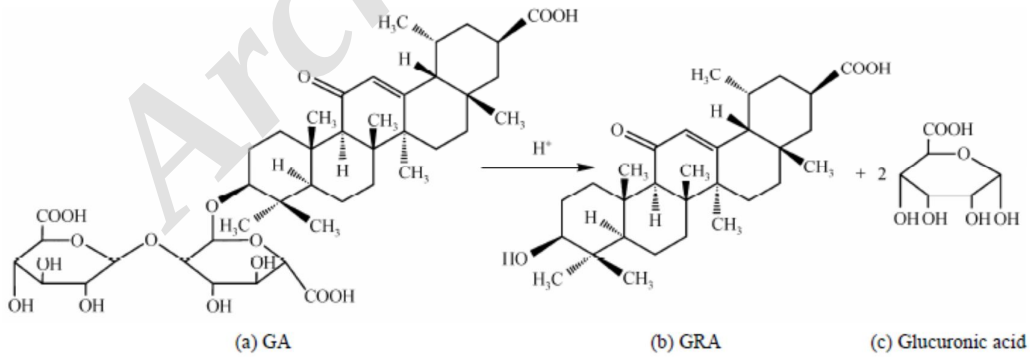
از نتایج معادله همچنین می توان اینگونه استنباط کرد که با افزایش pH بازده استخراج افزایش می یابد. برای یافتن دلیل این رفتار باید به ساختار GL توجه نمود. اسید گلیسیریزیک یک اسید ضعیف است ($pKa_1 = 2,76 \pm 0,70$, $pKa_2 = 2,81 \pm 0,70$)$pKa_3 = 4,71 \pm 0,70$,(با سه گروه کربوکسیل و پنج گروه هیدروکسیل، که در pH های اسیدی (pH< 3) ساختار آن فرم مولکولی دارد ولی در pH های بالاتر (pH>6) تفکیک می شود. لازم به ذکر است که فرم مولکولی آن آب گریز تر از فرم تجزیه شده می باشد[103] و[104]. در pH های بالا گلیسریزیک اسید دپروتونه شده و تجزیه آن باعث می شود شبیه یک مولکول آب دوست عمل کند و حلالیت آن در آب افزایش می یابد. بنابراین در pHهای بالا مولکول‌های آن به راحتی در آب حل شده و اسید بیشتری استخراج می شود و هرچه مقدار pH بالاتر رود مقدار GL بیشتری وارد حلال می شود. با کاهش pH در مرحله بعد می توان اسید استخراج شده را از آب جدا کرد چرا که در این pH ها مولکول اسید به صورت آب گریز می باشد.Sohrabi و همکاران [104] نیز اثر pH را روی استخراج و جداسازی ترکیبات مختلف شیرین بیان مورد بررسی قرار دادند و مشاهده شد که درصد GL جداشده از گیاه شیرین بیان با افزایش pH افزایش یافت. دلیل دیگر این رفتار را می توان به تغییرات ویسکوزیته محلول شیرین بیان با تغییر pH نسبت داد. بر اساس نتایج به دست آمده در مطالعات، با افزایش pH محلول، ویسکوزیته آن کاهش می یابد[104] ،[105] و[106]. بر

Archive of SID

www.SID.ir

طبق معادله Darcy در ویسکوزیته های بالاتر نرخ انتقال جرم کاهش می یابد [104]. این در حالی است که Hashemi و همکاران [109]در سال 2009 نتیجه ای متفاوت برای اثر pH روی بازده استخراج گرفتند. آنها استخراج GA را به روش استخراج مایع-مایع به کمک حلال آلی سبک تر از آب (n-Hexane و استون) پیش گرفتند. در محدوده pH های پایین تا pH برابر با 6، مشاهده شد که افزایش pH باعث کاهش بازده استخراج می گردد. دلیل این کاهش را به پروتون دار شدن گروه کربوکسیلیک در pHهای اسیدی نسبت دادند. با توجه به این که حلال آنها حلال آلی بوده، در pH های اسیدی این امر باعث می شود GL بدون بار سطحی باشد و همین باعث افزایش نفوذ آن به داخل حلال و افزایش استخراج می شود.با توجه به خواص ذاتی GL و رفتار متفاوت آن در pH های مختلف ، تجزیه و یونیزه شدن آن در pH های بالاتر، اینگونه به نظر می رسد که افزایش یا کاهش بازده استخراج با افزایش pH بستگی به نوع حلال مورد استفاده دارد. فرم مولکولی آن در حلال های آبی حلالیت کمتری دارد. این در حالیست که در اغلب حلال های آلی مختلف با قطبیت پایین، فرم مولکولی راحت تر حل میشود و افزایش pH می تواند منجر به کاهش بازده شود. این نتیجه و رفتار متفاوت را به وضوح می توان در مطالعه صورت گرفته توسط Sun و همکاران ، که از دو فاز آبی و غیرآبی استفاده کردند، مشاهده کرد[102].

یکی دیگر از فاکتورهای اثر گذار روی بازده استخراج GL دما می باشد. همانطور که از معادله مشخص است با افزایش دما درصد GL در رسوب کاهش می یابد. این نتیجه به صورت کامل با نتایج بدست آمده توسط Shabkhiz و همکاران در سال 2016 مطابقت داشت. در تحقیق انجام شده توسط ایشان استخراج GL از ریشه شیرین بیان با افزایش دما کاهش یافت. دلیل این کاهش این است که در دماهای بالاتر امکان هیدرولیز GL بسیار بیشتر است و پیوند اتری بین glycon و aglycon در ساختار GL شکسته شده و این اسید به یک مولکولglycyrrhetinic acid و دو مولکولglucuronic acid تجزیه می شود. مکانیسم واکنش هیدرولیز GL به glycyrrhetinic acid و glucuronic acid در شکل2-3 مشاهده می شود[108].



شکل 2-3. مکانیسم واکنش هیدرولیز GL به glycyrrhetinic acid و glucuronic acid

Archive of SID

www.SID.ir

Wang و همکاران نشان دادند که در دمای بالاتر این تجزیه بسیار سریعتر صورت میگیرد و تولید glycyrrhetinic acid چه در محیط اسیدی و چه در محیط غیر اسیدی به سرعت افزایش می یابد. این در حالیست که Trupti W. Charpe و همکاران در سال 2014 با بررسی اثر دما روی بازده استخراج تغییر چندانی در بازده استخراج مشاهده نکردند. افزایش دما اثرات متفاوتی روی میزان بازده دارد؛ افزایش دما باعث افزایش حلالیت GL شده ، میزان تنش سطحی و ویسکوزیته را کاهش می دهد و در دماهای بالا هیدرولیز GL نیز اتفاق می افتد. اثر متقابل و معکوس این پارامترها روی بازده استخراج باعث می شود که دما اثر متفاوتی روی بازده داشته باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط Wang و همکاران [109] برای استخراج GL از شیرین بیان با استفاده از حلال آب، دما اثر مثبتی روی بازده استخراج داشت. دلیل این امر به افزایش حلالیت GL در دماهای بالاتر نسبت داده شد و حلالیت اثر غالب روی بازده استخراج داشت. افزایش دما (به ویژه همراه با فشار) می تواند منجر به کاهش ویژگی هایی همچون چگالی، گرانروی، کشش سطحی و قطبیت آب شده و در نتیجه مقاومت انتقال جرم کاهش یافته و GL بیشتری را از ماده مورد استفاده بیرون کشیده و وارد حلال کند. از سوی دیگر همانطور که ذکر شد، ساختار گلیسریزیک اسید به دلیل داشتن سه گروه کربوکسیل و پنج گروه هیدروکسیل بسیار قطبی بوده و این موضوع سبب جذب بیشتر و آسانتر آن می شود[110]. بررسی ها نشان میدهد اسید گلیسریزیک در دمای 120 درجه سانتی گراد با اعمال فشار نرم میشود [111] .در سایر منابع نقطه نرم شدن آن 170 درجه سانتی گراد و نقطه ذوب آن 205 درجه سانتی گراد ذکر شده است[112].

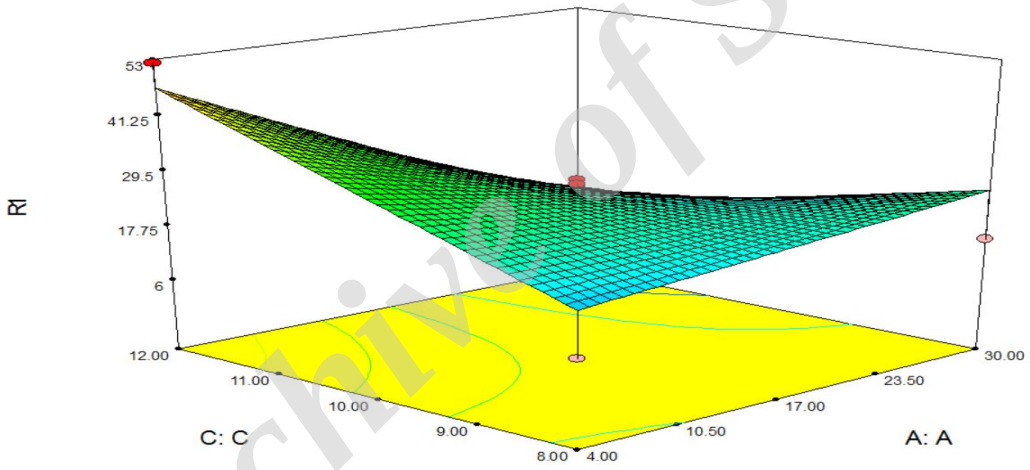
Archive of SID

www.SID.ir

3 - 2 - نتایج بررسی اثر تداخلی پارامترها بر GL موجود در رسوب

3 - 2 - 1 - اثر تداخلی pH محیط و زمان استخراج بر مقدار GL موجود در رسوب

اثر تداخلی pH محیط و زمان استخراج درنسبت جریان ورودی به حلال ۲۵g/ml و دما90°C در شکل **3-3** نمایش داده شده‌است. این شکل نشان می‌دهد که به طور همزمان در pH های بالا و زمان استخراج پایین تر بازده استخراج به بیشتربن مقدار خود می رسد. دلیل این رفتار اثر مثبت افزایش pH و اثر منفی زمان استخراج روی بازده استخراج می باشد که دلایل آن در قسمت های قبلی ذکر شدند. مطابق شکل بیشترین بازده درنسبت جریان ورودی به حلال ۲۵g/ml و دما90°C زمانی به دست می آید که pH محیط بالاترین مقدار(12) را داشته و زمان استخراج 4 ساعت باشد.هر چه pH محیط بالاتر رود، زمان استخراج کمتری لازم است تا مقدار GL در رسوب افزایش‌یابدکه این مطلب با معادله‌ی به دست‌آمده در بالا مطابقت‌دارد به عبارت دیگر منفی بودن ضریب پارامتر A و مثبت بودن ضریب پارامتر C با روند تغییرات موجود در نمودار سه بعدی هم خوانی‌دارد.



شکل**3-3**- اثر تداخلی pH محیط(C) و زمان استخراج(A) بر مقدار GL موجود در رسوب

بهینه سازی و تأیید صحت مدل ارائه شده(Validation):

بیشترین بازده استخراج در شرایط آزمایشگاهی مقدار **54/9%** به دست آمد که این مقدار بیشینه در شرایط زمان استخراج17ساعت،نسبتنمونه به حلال 10g/ml،مقدارpHمحیط10 ودمای 60 درجهسانتیگرادبهدستآمد.

امابهینهسازیمیزانGLاستخراجشدهتوسطنرمافزارانجامشدوشرایطبهینهتوسطنرمافزارپیشنهادشد.

باتوجهبهنتایجبهدستآمدهدرجدول**3-1**متوسط شرایطبهینهبرایبالاترینبازدهاستخراجGLبهترتیب : زماناستخراج**8/92**ساعت،نسبتنمونه به حلال 10/65g/ml،مقدارpHمحیط**10/69**ودمای**93°c**بهدستآمد.

برایبررسیصحتمدلارائهشده،نتایجحالتبهینهکهتوسطنرمافزاربهدستآمد،بهصورتآزمایشگاهیسهبارتکرارشد

Archive of SID

www.SID.ir

د. درصدبازدهآزمایشگاهیازمتوسطاینسهآزمایش،مقدار **58/73%** بهدستآمددرحالیکهمقدارپیشبینیشدهتوسطمدلدراینحالت **57/57%** بود. میزاندرصدخطاییپیشبینیمدلنشاندهندهصحتیاعدمصحتاینمدلاستوبرایPمقادیرپیشبینیغیرقابل توجه(P<۰,۰۵)مدلتطبیققابلقبولیبانتایجآزمایشگاهیدارد.

برایمدلارائهشدههدراینمطالعهمقدارPمربوطبهمعادلهکمتراز **5%** استواینشاندهندهصحتاینمدلمیباشد.

نتایج بهینه سازی به دست آمده در برخی مطالعات حاکی از آن است که به کار گیری دمای **60** درجه سانتی گراد در مدت حداکثر **75** دقیقه موجب افزایش بهره استخراج GL می شود [**113**]. همچنین مشخص شدهاست که بهترین حلال برای استخراج این ترکیب آب است[**114**]. استفاده ازاتانول بمنظور ترسیب و جداسازی صمغ، نشاسته، و سایر ناخالصی ها سبب افزایش خلوص GL شده است[**114**].

جدول شماره 3-3- شرایطبهینهپیشنهاد شده توسطنرمافزار

Solutions Number	*A*	*B*	*C*	*D*	*R*	*Desirability*	
۱	۱۰,۱۲	۱۰,۷۱	۹,۸۰	۱۱۹,۷۰	۵۹,۰۳۹۸	۱,۰۰۰	***Selected***
۲	۱۰,۸۰	۱۰,۸۵	۱۰,۷٤	۷۰,۰۱	۵٦,۰۱٤۳	۱,۰۰۰	
۳	۵,۸٤	۱۰,۳۹	۱۱,۵٤	۸۹,۰۹	۵۷,٦۸۲۷	۱,۰۰۰	

که در این جدول فاکتورهای A،B،C، و D به ترتیبزمان استخراج، نسبت جریان ورودی به حلال(پودر شیرین بیان به آب)، مقدار pH محیط و دما و R_1درصداسیدگلیسیریزیکمیباشند.

میزانمطلوبیتپیشبینیوصحتآنبافاکتورDesirabilitySسنجیده میشود که هرچه این میزان به عدد یک نزدیک باشد مطلوبیت آن بیشتر است.

Archive of SID

www.SID.ir

3 - 3 - نتایج درصد GL در DGL

نتایج بدست آمده از انجام آزمایش‌های انجام شده در جدول **3-4**(R_2)ارایه شده‌است.

جدول شماره **3-4-** نتایج آزمایشات به روش عملیاتی

Std	Run	Block	Factor1 A:A	Factor2 B:B	Factor3 C:C	Factor4 D:D	Response1 R1	Response 2 R2
2	1	Block1	30	10	10	90	49/5	./002
14	2	Block1	17	40	8	90	26/1	2/83
3	3	Block1	4	40	10	90	38/07	0/16
17	4	Block1	4	25	8	90	8/91	6/28
7	5	Block1	17	25	8	120	36/9	0/88
12	6	Block1	30	25	10	120	27/9	3/24
19	7	Block1	4	25	12	90	52/2	0/058
4	8	Block1	30	40	10	90	27	2/83
26	9	Block1	17	25	10	90	20/7	3
27	10	Block1	17	25	10	90	27	1/7
6	11	Block1	17	25	12	60	37/44	0/8
1	12	Block1	4	10	10	90	50/4	0
10	13	Block1	30	25	10	60	20/7	3/01
21	14	Block1	17	10	10	60	54/9	0/01
24	15	Block1	17	40	10	120	38/97	0/17
15	16	Block1	17	10	12	90	43/02	0/6
5	17	Block1	17	25	8	60	38/7	0/29
22	18	Block1	17	40	10	60	45/9	0
11	19	Block1	4	25	10	120	52/29	0/051
13	20	Block1	17	10	8	90	52/2	0
20	21	Block1	30	25	12	90	10/8	6/9
18	22	Block1	30	25	8	90	15/03	5/3
23	23	Block1	17	10	10	120	49/5	0/002
8	24	Block1	17	25	12	120	37/62	0/35
16	25	Block1	17	40	12	90	26/1	1/7
25	26	Block1	17	25	10	90	27/9	2/87
9	27	Block1	4	25	10	60	46/8	0/063

- زمان استخراج:A (min)
- نسبت نمونه به حلال (پودر شیرین بیان به آب)B (gr/mL)
- pH محیط C
- دما D(˚C)
- درصد گلیسیریزیک اسید R_1
- درصد گلیسیریزیک اسید در عصاره فاقد آن R_2

Archive of SID

www.SID.ir

3 - 3 - 1 - آنالیز واریانس پاسخ‌ها از نرم افزار *(Design Expert)*

بر اساس روش Box-Behnken و نتایج آزمایش‌ها(جدول **3-4**)، مدل رگراسیون درجه دوم(بر اساس پارامترهای کد شده) برای داده‌های تجربی به صورت زیر بدست‌آمد.

$$R_2 = +2,52 + 1,22*A + 0,59*B - 0,43C + 0,043*D + 0,67*A*B + 1,96*A*C + 0,74*A^2 - 1,70*B^2 + 0,51*C^2 - 1,63*D^2$$

که در آن A زمان استخراج، B نسبت جریان ورودی به حلال(پودر شیرین بیان به آب)، C مقدار pHمحیط و D دما و R_2درصد گلیسیریزیک اسید در عصاره فاقد آن می‌باشند. مثبت بودن ضریب D،B،A در معادله که به ترتیب زمان استخراج، نسبت جریان ورودی به حلال(پودر شیرین بیان به آب) و دما می‌باشد، حاکی از آن است که با کاهش آنها، درصد DGL در رسوب افزایش می‌یابد که منطقی می‌باشد و اما منفی بودن ضریب C در معادله که همان pH محیط می‌باشد، حاکی از آن است که با افزایش pH محیط، درصد DGL کاهش می‌یابد.

اهمیت معادله‌ی مدل شده از نظر آماری توسط آزمون F برای تحلیل واریانس ارزیابی می‌شود. نتیجه نشان از مناسب بودن مدل رگراسیون از نظر آماری در سطح اطمینان **95%** دارد. مقدار F مدل که برابر با **6,84** محاسبه شد، بیانگر آن‌است که مدل از نظر آماری مناسب‌است (جدول **3-5**).

جدول**3-5-** آنالیز واریانس برای مدل درجه دوم کاهش یافته سطح پاسخ

منبع	مجموع مربعات	df	متوسط مربعات	F مقدار	P-مقدار Prop>F	
مدل	3903/08	7	557/58	12/89	<0/0001	تفاوت معنادار
A-A	825/68	1	825/68	19/08	0/0003	
B-B	761/29	1	761/29	17/60	0/0005	
C-C	71/74	1	71/74	1/66	0/2133	
D-D	0/13	1	0/13	3/058E-003	0/9565	
AC	564/54	1	564/54	13/05	0/0019	
B^2	1128/48	1	1128/48	26/08	<0/0001	
D^2	883/41	1	883/41	20/42	0/0002	
باقی مانده	822/09	19	43/27			
عدم تطبیق	791/31	17	46/55	3/02	0/2770	بی معنا بودن عدم تطبیق
خطای مطلق	30/78	2	15/39			
کل	4725/17	26				

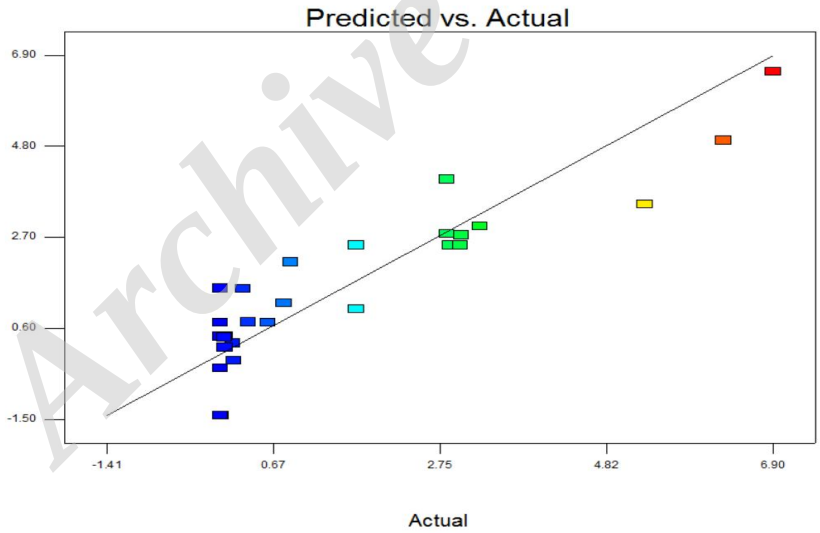
Archive of SID

www.SID.ir

مقدار احتمال پایین مدل (۰،۰۰۰۱>)نیز نشان دهنده‌ی مناسب بودن مدل‌است. مقادیر ضریب هم‌بستگی R^2 برابر 0/8103، R^2 تعدیل شده برابر 0/6918 و R^2 پیش بینی شده برابر 0/2684 که معیاری از برازش خوب مدل بر داده‌های آزمایشگاهی هستند.

آنالیز واریانس مدل رگراسیون درجه دوم نشان می‌دهد که مدل تطبیق داده شده مناسب بوده که این مطلب از مقدار بسیار پایین (P(P<۰،۰۰۰۱ آزمون F نیز مشهود می‌باشد. مقدار F آزمون عدم تطبیق برابر 3/02، بیانگر آن است که عدم تطبیق نسبت به خطای خالص دارای تفاوت معنی‌داری نیست. در واقع آزمون عدم تطبیق به منظور تعیین این که آیا مدل برای توصیف داده های آزمایشی مناسب‌است و یا مدل پیچیده تری نیاز هست که استفاده شود. مقادیر Pضریب رگراسیون نشان می‌دهدکه از میان متغیرهای آزمایشی A,AC,B^2,D^2 پارامترهای مهمی هستند. از این رو، آنالیز آماری تمام داده‌های آزمایشی نشان داد که زمان استخراج، نسبت جریان نمونه به حلال(پودر شیرین بیان به آب)، مقدار pHمحیط و دما، اثر قابل ملاحظه‌ای بر درصد DGL در رسوب در این مطالعه‌دارند. همچنین مشاهده شد زمان استخراج بیشترین تاثیر را بر میزانDGL موجود در رسوب‌دارد.

در شکل 3-4 مقادیر پیش بینی‌شده درصد DGL در رسوب در مخلوط واکنش در مقابل مقادیر واقعی آن ارایه شده‌است. همان گونه که نمودار نشان می‌دهد مقادیر پیش بینی شده توسط مدل بسیار نزدیک به مقادیر آزمایشگاهی می‌باشد و بنابراین مدل ارایه شده برای درصدDGLدر رسوب بر حسب متغیرهای فرآیندی از اعتبار مطلوبی برخوردار می‌باشد.



شکل3-4- مقایسهمقادیر پیش بینی شده درصد اسید گلیسیریزیک در رسوب در مخلوط واکنش در شرایط تعیین شده و محاسبه توسط نرم افزار و مقادیر واقعی آن پس از انجام در مقیاس پایلوت

اثر هریک از پارمترها روی میزان GL موجود در عصاره فاقد GL توسط معادله قابل تفسیر است. همانطور که در معادله مشخص است افزایش زمان باعث کاهش مقدار اسید در فاز فاقد اسید DGL می

Archive of SID

www.SID.ir

شود. دلیل این تغییر به خاطر این است که با افزایش زمان گرادیان غلظت و نرخ استخراج GL کاهش می یابد و GL کمتری وارد فاز استخراج شده می شود و به تبع آن درصد آن در DGL کاهش می یابد. همچنین با افزایش نسبت نمونه به حلال به علت بالا رفتن نرخ انتقال جرم و افزایش مقدار GL در رسوب، مقدار این اسید در عصاره DGL کاهش می یابد. افزایش pH محیط راه دیگری برای کاهش اسید در عصاره DGLمی باشد. همانطور که ذکر شد با افزایش pHحلالیتGLدر آب افزایش می یابد و این باعث می شود که GLکمتری وارد فاز DGL شود. با افزایش دما به دلیل هیدرولیزGL و کاهش نرخ استخراج آن در فاز آبی، مقدار GL بیشتری وارد فاز عصاره DGL می شود.

Archive of SID

www.SID.ir

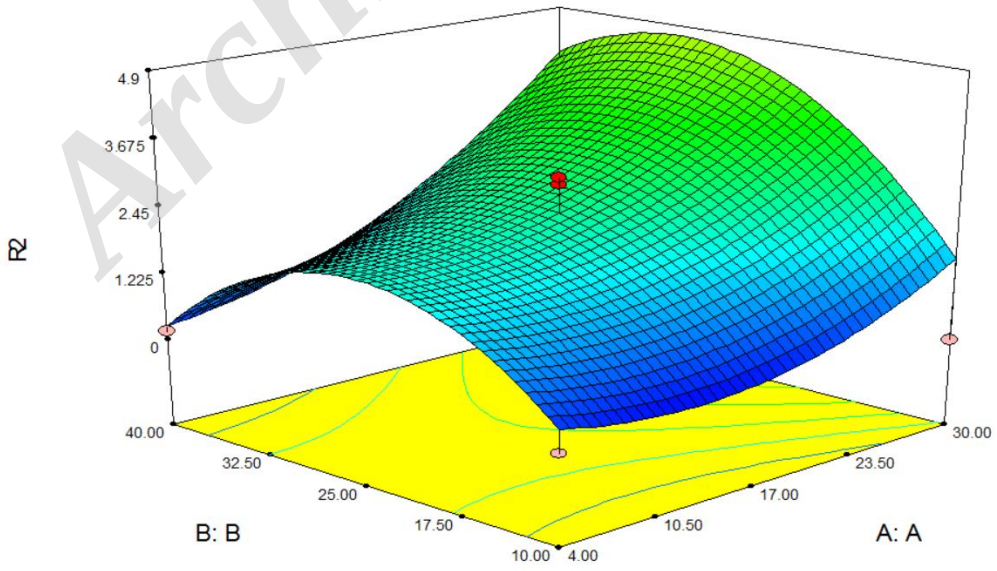
3 - 4 - نتایج بررسی اثر تداخلی پارامترها بر DGL

3 - 4 - 1 - اثر تداخلی زمان استخراج و نسبت جریان ورودی به حلال بر مقدار DGL

اثر تداخلی که زمان استخراج و نسبت جریان ورودی به حلال در pH=۱۰و دمای 90 در شکل 3-6 نمایش داده شده‌است. این شکل نشان می‌دهدکه هر چه در طول زمان پیش می رویم، در تمامی نسبت های خوراک به حلال

مقدار GL موجود در DGL افزایش می یابد. دلیل آن را می توان به این صورت بیان کرد که به مرور زمان، به علت کاهش نیروی محرکه انتقال جرم، سرعت استخراج GL کاهش می یابد و GL کمتری وارد رسوب شده و به تبع آن درصد GL وارد شده به فاز DGLبیشتر می شود. طبق این شکل، بیشترین میزان GL در فاز DGL مربوط به حالتی است که زمان استخراج بالاترین مقدار خودراداراست (30ساعت) و نسبت نمونه به حلال (پودر شیرین بیان به آب) نیز در مقادیر میانه قرار دارد (تقریباً 25). با افزایش نسبت آب به پودر شیرین بیان از یک سو نرخ انتقال جرم افزایش می یابد و از سوی دیگر رقت محلول باقی مانده (محلول DGL) نیز افزایش می یابد. این امر باعث می شود که از یک سو مقدار GL در محلول رویی (محلول DGL) کاهش یابد از یک سمت در نسبت های بالا (میزان بالای حلال مورد استفاده) رقت محلول DGL افزایش یابد. بنابراین این دو اثر متقابل و در خلاف جهت هم عمل کرده و این دلیل بر تغییر غیر یکنواخت درصد GL در فاز DGL با تغییر نسبت حلال به نمونه می باشد. از آنجا که حالت مطلوب زمانی است که درصد GL در فاز DGL کمترین مقدار خود را داشته باشد، طبق این نمودار مشهود است که در اوایل استخراج و زمانهای استخراج پایین و نیز در نسبت بالای حلال به نمونه کمترین میزان GL وارد فاز DGL شده است

..



شکل 3-5- اثر تداخلی زمان استخراج و نسبت نمونه به حلال بر مقدارGL موجود درDGL

Archive of SID

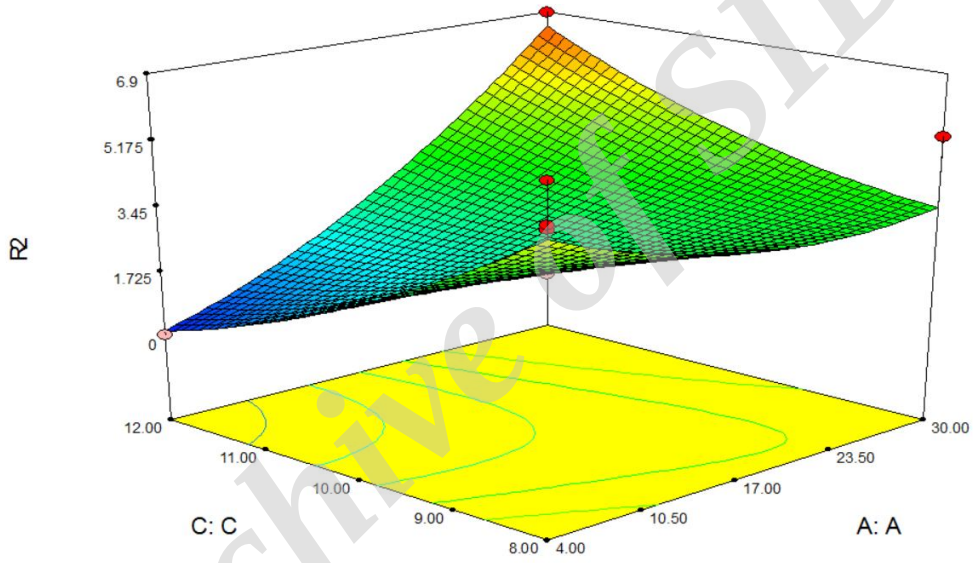
www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

3 - 4 - 2 - اثر تداخلی pH محیط و زمان استخراج بر مقدار DGL

اثر تداخلی pH محیط و زمان استخراج درنسبتجریان ورودی به حلال 25 و دمای 90 در شکل 3-6 نمایش داده شده‌است. همان گونه که مشخص‌است با کاهش pH و افزایش همزمان زمان استخراج، مقدارGL در عصارهDGLافزایش می یابد. از آنجا که در pH های بالا حلالیتGL در آب افزایش یافته و مقدار GL بیشتری استخراج می شود، به تبع آن مقدار GL در عصاره فاقد اسید کاهش می یابد. بنابراین کمترین میزان GL در عصاره فاقد اسید زمانی به دست می آید که هم در زمان های اولیه استخراج هستیم و هم pH محیط بالاست. کمترین مقدار GL در عصاره DGL در این تصویر در pH برابر با 12 و زمان استخراج 4 ساعت به دست آمده است.به عبارت دیگر مقدار DGL موجود در رسوب درpHهای پایین محیط وزمانهای کمتر استخراج کمتر است که این مطلب با معادله‌ی(1)ارایه شده صدق می‌کند.



شکل3-6- اثر تداخلی(C)pHمحیط و زمان استخراج(A) بر مقدار DGL

با توجه به این که در این آزمایش کاهش مقداراسیدگلیسیریزیک درDGLو افزایش مقدار مطلوب ما می‌باشد، از تحلیل نمودارهای 3D و Contourبالا و همچنین جدول آنالیز واریانس میتوان نتیجه گرفت که کاهش پارامترهای D،B،A که به ترتیب زمان استخراج، نسبت جریان ورودی به حلال و دما می باشند، باعث کاهش مقدار DGL در رسوب میشوند و از طرف دیگر افزایشpH محیط نیز باعث کاهش مقدار DGL موجود در رسوب میشود و در این واکنش زمان استخراج بیشترین تاثیر را بر مقدار DGL موجود در رسوب دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

3 - 5 - نتایج بررسی محتوای فنلی موجود در ترکیبات استخراج شده

ترکیبات فنولی از فعال ترین ترکیبات آنتی اکسیدانت موجود درگیاه می باشند.[113].بالا بودن محتوای فنلی در رسوب فاقد GL یکی از دیگر از معیارهایی است که می تواند عملکرد مناسب فرآیند مورد استفاده برای استخراج رابه اثبات برساند. دو جزء اصلی تشکیل دهنده گیاه شیرین بیان GL و فلاونوییدها می باشند. فاز عاری از GLکه به عنوان DGLشناخته می شود، به دلیل این که بخش اصلی و اعظم آن را ترکیبات فلاونوییدی تشکیل می دهد، برای کاهش عفونت، درمان زخم معده و زخم اثنی عشر مناسب است و جداسازی آن از شیرین بیان مورد توجه بوده است[115]. بنابراین با توجه به مصارف و خواص متفاوت این دو ترکیب، جداسازی این دوترکیب به گونه ای صورت میگیرد که در رسوب، GL و در فاز عاری از GL، فلاونوییدها باید دارای مقدار قابل قبولی باشند. در بسیاری از روش های جداسازی GL از شیرین بیان این نقص مشاهده می شود که این روش ها با رسوب دادن GL به طرق مختلف، بیشتر در استخراج و جداسازی GL موفق بوده و در جداسازی همزمان فلاونوییدها که بسیار کاربردی می باشند ضعیف عمل کرده اند[117]و [116].سنجش محتوای فنلی که به روش فولین–سیوکالتیوبه صورت میلی گرم اسید گالیک در گرم نمونه بر اساس معادله خط منحنی استاندارد ($y=۰/۰۶۶۹x+۰/۰۱۱۶$ و $R^۲=۰/۹۹۸۷$) محاسبه شد.

میزان تام ترکیبات فنولی عصاره‌های مختلف کروسینی، آمونیاکی و آبی و ... گیاه شیرین بیان برمبنای مقادیر جذب ناشی از واکنش این عصاره‌ها با معرف فولین سیوکالتو وبر اساس مقایسه آن با محلول‌های استانداردگالیک اسیدکه برطبق معادله فوق از منحنی استاندارد اسیدگالیک محاسبه شد نشان داد میزان ترکیبات فنولی در رسوب DGL عصاره آبی بدست آمده با روش استخراج به روش حلال معادل 13 میلی گرم اسیدگالیک در هر گرم عصاره بود که بیشترین مقدار نسبت به سایر عصاره های بدست آمده با سایر روش ها را دارا بود مقدار بالای ترکیبات فنلی در عصاره فاقد DGLنشان دهنده مطلوب بودن عملکرد روش مورد استفاده می باشد. این میزان بالا می تواند ناشی از این باشد که ترکیبات فنلی موجود در شیرین بیان در دماهای بالا از حالت نامحلول در آب به حالت محلول در آب تبدیل می شوند[113]. با توجه به اینکه در آزمایشات انجام شده در این مطالعه دما بالا بود، ترکیبات در آب حل میشوند و این باعث می شود که میزان آنها در رسوب تشکیل شده (فاز غنی از GL) کم بوده و سهم عظیمی از این ترکیبات وارد آب شده و در فاز عاری از GL مقدار آنها بالا می باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط Baek و همکاران نیز ثابت شد که با افزایش دمای استخراج میزان ترکیبات فنلی بیشتری استخراج می شود. در مطالعه ایشان که با استفاده ازآب زیر اشباع فرآیند استخراج صورت گرفته است، ترکیبات فنلی به میزان قابل توجهی استخراج شده و میزان آن در دمای استخراج 50 درجه سانتیگراد برابر 20 میلی گرم بر گرم عصاره بود[113].

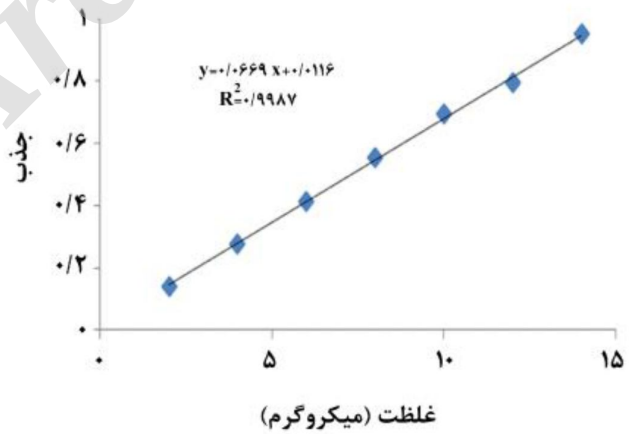
در تحقیقی که توسط ژند و همکاران بر روی عصاره اتانولی ریشه این گیاه جمعآوری شده ازعلفزارهایطبیعیشمالگرگانانجام گرفت میزانفنولوفلاونوئیدکلبااستفادهازروشاسپکتروفتومتری به ترتیب برابر 32/01 mgGAE/gDW کل و 13/03 mg QUE g-۱بدست آمد. [117].

Archive of SID

www.SID.ir

جدول **3-6**-میزان جذب گالیک اسید در طول موج **765** نانومتر جهت اندازه گیری ترکیبات فنلی

غلظت اسید گالیک (میکروگرم/میلی لیتر)	میزان جذب اسید گالیک
200	0/345
300	0/399
400	0/489
700	0/789
800	0/987
900	1/45



شکل **3-7**- منحنی استاندارد اسید گالیک جهت اندازه‌گیری مقدار تام ترکیبات فنلی

Archive of SID

www.SID.ir

3 - 6 - نتایج بررسی محتوای فلاونوئیدی موجود در ترکیبات استخراج شده

محاسبه غلظت فلاونوئیدی به روش ضریب خاموشی انجام گرفت که در طول موج 330و 300 نانومتر، در بین عصاره های آمونیاکی بیشترین جذب مربوط به عصاره آمونیاکی 4/. درصد با مقدار 13 در طول موج 300 نانومتر با غلظت 0/393 بود و کمترین جذب با مقدار 0/8 در طول موج 330 نانومتر مربوط به عصاره آمونیاکی 3 درصد با غلظت 0/024 بود و برای عصاره آبی در طول موج 330 مقدار جذب 89 با غلظت و برای عصاره فاقد گلیسیریزین در این طول موج جذب 92 با غلظت 31 مشاهده گردید.در تمامی نمونه ها میزان ترکیبات فلاونوییدی در عصاره فاقد GL بیشتر از رسوب GL می باشد. اما در حالتی که از آمونیاک استفاده شده است، محتوای فلاونوییدی مقدار چشمگیر و قابل قبولی نداشته و استخراج به نحو مطلوبی صورت نگرفته است. برای پی بردن به دلیل این رفتار باید به ساختار ترکیبات فلاونوییدی موجود در شیرین بیان توجه کرد. همانطور که ذکر شد بیشترین ترکیب فلاونوییدی موجود در شیرین بیان liquiritin می باشد[115] و [116]. این ترکیب در pH های مختلف رفتار متفاوتی نشان می دهد. در pHهای اسیدی این ترکیب به فرم مولکولی موجود می باشد ولی در pH های بالاتر گروه های فنلی هیدروکسیل و یون مثبت هیدروژن موجود در آن تجزیه شده و از فرم مولکولی خارج میشود. فرم مولکولی این ترکیب آب گریز است. به همین دلیل در حضور آمونیاک ازآنجا که liquiritin به فرم مولکولی موجود می باشد حلالیت آن در آب کم شده و میزان استخراج آن کاهش می یابد و محتوای فلاونوییدی کاهش می یابد. همانطور که مشاهده می شود، بیشترین میزان استخراج ترکیبات فلاونوییدی موجود در DGL مربوط به حالتی است که از آب به عنوان حلال استخراج استفاده شده است و این نشان دهنده عملکرد مناسب فرآیند استخراج مورد استفاده، هم در استخراج GL و هم در جداسازی فاز DGLغنی از فلاونوییدهاست. دلیل آن مطابق بحث ذکرشده دربخش قبل مربوط به بالا رفتن حلالیت ترکیبات درآب به دلیل بالابودن دما دراین فرآیند میباشد. Bi و همکاران برای استخراج این دو فاز از شیرین بیان از جاذب پلیمری استفاده کردند و در مطالعه ایشان بیشترین مقدار فلاونویید موجود در فاز فاقد GL 2/47 میلی گرم بر گرم عصاره به دست آمد[117] و این مقدار پایین تر از محتوای فلاونوییدی فاز DGLدر این مطالعه می باشد.

در تحقیقی که توسط ژند و همکاران بر روی عصاره اتانولی ریشه این گیاه جمعآوری شده ازعلفزارهایطبیعیشمالگرگانانجام گرفت میزانفنولوفلاونوئیدکلبااستفادهازروشاسپکتروفتومتری به ترتیب برابر با mgGAE/gDW 32/01 کل و mg QUE g-۱ 13/03بدست آمد. [117].

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره3-7- میزان غلظت فلاونوئید در عصاره‌های مختلف

	نوع عصاره	جذب در 330 نانومتر	جذب در 300 نانومتر
1	عصاره آمونیاکی 03/. درصد فاقدGL	1/1	1/4
2	رسوب آمونیاکی 03/. درصد HGL	/8.	1/7
3	عصاره آمونیاکی 03/. درصد فاقدGL+ توئین	1/4	1/2
4	رسوب آمونیاکی 03/. درصد HGL+ توئین	1/2	13
5	عصاره04/. درصد آمونیاکی فاقدGL	4/2	3/1
6	رسوب 04/. درصد آمونیاکی HGL	2/8	3/2
7	عصاره1/. درصد آمونیاکی فاقدGL	1/07	1/4
8	رسوب 1/.درصد آمونیاکیHGL	2/1	2
9	عصاره آبی فاقدGL	89	83
10	رسوب آبیHGL	92	82

3 - 7 - ارزیابی مدل طراحی در مقیاس پایلوت

به منظور بررسی شرایط بهینه و مدل ایجادشده در مقیاس پایلوت موارد ذیل در دستگاه تولید عصاره فاقد گلیسیریزیک اسید انجام‌گردید:

در ابتدا ۵۰۰gاز ریشه گیاه شیرین‌بیان آسیاب‌گردید. سپس به نسبت 1 به 10 (معادل 5 لیتر آب مقطر) به آن اضافه شد و در داخل مخزن قرارگرفت. درب مخزن کامل بسته‌گردید.. دمای دستگاه در 60 درجه سانتی گراد، دور همزن 60rpmتنظیم گردید. بر اساس نقطه بهینه که در طراحی آزمایش انجام‌گرفت زمان استخراج بر روی 17 ساعت تنظیم گردید. پس از گذشت زمان مورد نظر شیر خروجی مخزن اصلی بازشده و عصاره مایع خارج شده صاف می گردد. در مرحله بعد داخل مخزن از هرگونه گیاه کاملا تمیزشده و عصاره مایع به مخزن انتقال می یابد. جهت تغییر pH اسید سولفوریک از مخزن نگهداری وارد مخزن اصلی شده و تا تنظیم pH= 1,5 ادامه می‌یابد. سپس به مدت 20 دقیقه همزن با دور 60 rpm

Archive of SID

www.SID.ir

ترکیب حاصل را هم می‌زند. درمرحله بعدی مخلوط حاصل خارج شده و صاف می‌گردد. بخش صاف شده در واقع LGL خواهدبود. برای خالص سازی گلیسیزیک‌اسید رسوب روی صافی در آب مقطر حل گردیده و مقداری آمونیاک به آن اضافه می‌گردد. سپس اتانول 40درصد به آن اضافه شده و رسوبی در آن مشاهده می‌گردد. رسوب ها توسط صافی جمع آوری می‌گردد (HGL).

نتایج انجام آزمایش تعیین مقدار گلسیریزیک اسید در رسوب جمع آوری شده با شرایط اعمال شده فوق نشان داد تحت این شرایط مقدار اسید گلیسیریزیک 5/8 به دست آمده‌است.

Archive of SID

www.SID.ir

4 - نتیجه‌گیری

به منظور دستیابی به روش مناسب استخراج اسیدگلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان و تهیه عصاره فاقد گلیسیریزین با محتوی فلاونوئیدی، ابتدا از چهار روش روسین اصلاح شده، استخراج نمک آمونیومی، استفاده از سورفاکتانت غیریونی و استخراج با حلال در مقیاس آزمایشگاهی استفاده شد. نتایج بدست‌آمده در مرحله آزمایشگاهی نشان‌داد که روش استخراج اسید گلیسیریزیک از شیرین‌بیان به روش استخراج باحلال " در مقایسه با سایر روش‌های آزمایش‌شده در این پژوهش از نقطه‌نظر پارامترهای مورد نظر شامل استخراج اسید گلیسیریزیک و همچنین تهیه همزمان ترکیب فاقد اسید گلیسیریزیک با محتوای فنلی قابل‌قبول مناسب‌بوده، بعلاوه محصول نهایی اسید گلیسیریزیک خالص است در حالیکه در روش استخراج نمک آمونیومی گلیسیریزین، محصول نهایی نمک آمونیوم گلیسیریزینات است. به همین دلیل به عنوان روش با کارایی مناسب در این تحقیق انتخاب و به منظور بهینه سازی این روش، پارامترهای مختلف موثر در فرآیند شامل محدوده دمایی 120-60 درجه سانتیگراد، محدوده زمانی فرآیند استخراج 30-4 ساعت، نسبت حلال به جریان ورودی gr/mL 40-10و تغییرات pH 12-8 به کار گرفته شد. با استفاده از نرم افزار RSM جمعا 27 آزمایش با تغییر پارامترهای مورد مطالعه طراحی و در آزمایشگاه انجام گردید. مقدار اسید گلیسیریزیک موجود در رسوب‌های جداسازی شده و عصاره‌های فاقد آن با استفاده از دو روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و هاوس‌من اندازه گیری شد. محتوی فنلی این عصاره‌ها که با روش Gutfinger و میزان فلاونوئید آنها به روش Krizekاندازه‌گیری گردید، نسبت به عصاره بدست آمده با سایر روش ها بالاتر گزارش گردید. پس از ساخت پایلوت نیمه اتوماتیک، شرایط بهینه و مدل ایجاد شده در مقیاس پایلوت بررسی گردید. در نهایت روش بهینه پیشنهادی توسط نرم‌افزار نیز مجددا تکرار گردید. از نرم‌افزار تخصصی طراحی(Version8,0,7,1, statEase,Inc, USA) برای رگراسیون و آنالیزهای گرافیکی داده‌ها استفاده شد.

آنالیز ANOVA در بررسی اثر پارامترهای انتخاب شده حاکی از آن بود که هرچهار پارامتر موثر بوده و کنترل آنها اثر چشمگیری در افزایش بازده استخراج دارند. بالاترین راندمان در شرایط آزمایشگاهی 54/9درصد به دست آمد که این بازده در شرایط زمان استخراج 17 ساعت، pH برابر 10،نسبت خوراک به حلال 10گرم بر میلی لیتر، و دمای 60درجه سانتی گراد مشاهده گردید. در شرایط بهینه تعیین شده

Archive of SID

www.SID.ir

توسط مدل نیز بالاترین راندمان58/73درصد به دست آمد که این بازده در شرایط زمان استخراج 8/92ساعت، pH برابر 10/69، نسبت خوراک به حلال 10/65g/ml، و دمای 93درجه سانتی گراد مشاهده گردیدکه با شرایط آزمایشگاهی شباهت زیادی داشت.

Archive of SID

www.SID.ir