

بررسی کارایی امواج فراصوت در استخراج اینولین از غده سیب زمینی ترشی و بهینه‌یابی شرایط استخراج به روش سطح پاسخ (RSM)

الناز میلانی^{۱*}، هاشم پورآذرنگ^۲، رسول کدخدایی^۳، حنه وکیلان^۴، شهرزاد وطن خواه^۵

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱

تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲

چکیده

اینولین به علت دارا بودن ویژگی‌های مفید تغذیه‌ای و اثرات پروبیوتیک به طور گسترده‌ای در جهان مورد استفاده می‌باشد. گیاه سیب زمینی ترشی یکی از منابع مهم استخراج صنعتی اینولین می‌باشد. امروزه استفاده از امواج فراصوت با توجه به اثرات مؤثر آن در نگهداری و فرآیند مواد غذایی رو به گسترش می‌باشد. اثرات مکانیکی امواج فراصوت و کاویتاسیون‌های تولید شده در اثر این امواج باعث افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول‌های گیاهی و افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازدهی استخراج در دماهای پایین‌تر می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی کارایی امواج فراصوت در استخراج اینولین از غده سیب زمینی ترشی و بهینه‌یابی شرایط استخراج به روش سطح پاسخ بود. در این بررسی اعمال امواج فراصوت به صورت مستقیم بوده و ترکیب‌های مختلف زمان (۵-۴۰ دقیقه)، دما (۴۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد) و شدت صوت (۲۰-۱۰۰) مورد مطالعه قرار گرفت. طراحی آزمایش شامل استفاده از نرم افزار رویه سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی بود. با توجه به مدل تجربی به دست آمده توسط روش سطح پاسخ، ارتباط میان متغیرهای مورد مطالعه مناسب تشخیص داده شد. بر اساس آزمایش‌های انجام شده شرایط بهینه استخراج اینولین با اعمال امواج فراصوت مستقیم و دستیابی راندمان ۸۵ درصد، دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۷ دقیقه و شدت صوت ۲۰ تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: سبب زمینی ترشی، اینولین، استخراج، امواج فراصوت، روش سطح پاسخ

به کار می‌رود (۷).

تاکنون برای استخراج اینولین از گیاهان روش‌های مختلفی معرفی شده‌است که از جمله این روش‌ها می‌توان به استخراج با آب گرم (۱۷)، ترسیب با حلال‌های مختلف مانند اتانل، پروپانل، استون و استونیتریل (۱۹، ۱۱ و ۴) و استخراج آبی با اعمال امواج فراصوت اشاره نمود (۴، ۱۰ و ۱۱). در ضمن، برای ترسیب و استحصال محلول اینولین استخراج شده نیز روش‌های گوناگونی مانند استفاده از سانتریفیوژ (۲) و روش فراپالایش (۱۲ و ۲۰)، تیمار آنزیمی (۱۳) و جداسازی از طریق ژل کروماتوگرافی (۹) و ستون کربن فعال (۲، ۱۳، ۲۰) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

استفاده از منابع عظیم گیاهی کشور با روش‌های اقتصادی همواره مد نظر بوده است. برای به استفاده درآوردن به فعل و عملی از این امکانات بالقوه، امروزه استخراج باروش فراصوت بدلیل کارایی بالاتر و میزان مصرف انرژی و آب پایین‌تر به صورت جایگزینی مناسب برای روش‌های استخراج قدیمی و به عنوان روشی اثبات شده در فرآوری موادگیاهی، به ویژه ترکیبات با وزن مولکولی پایین تبدیل شده است

مقدمه^۱

اینولین و الیگوفروکتوزها نقش‌ها و فواید زیادی دارند که آنها را برای استفاده در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی مناسب می‌سازد. مطالعات مختلف داده است که رژیم حاوی $B(2-I)$ فروکتان‌ها، رشد بیفیدوباکتریها و لاکتوباسیل‌ها را تحریک نموده، سبب افزایش تولید ویتامین‌های B و K شده و بصورت انتخابی از رشد ارگانیسیم‌های پاتوژن به ویژه، باکتریوئیدس، فوزوباکتريا و کلستروئیدها جلوگیری می‌کنند؛ مصرف اینولین سبب کاهش تری‌گلیسریدها نیز می‌گردد (۱۷). امروزه اینولین به طور موفقیت‌آمیزی برای جایگزینی چربی و قند با مزایایی شامل میزان کالری کم‌تر و غنی‌سازی با فیبر غذایی،

^۱ مربی پژوهشی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد و دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول (Email :e_milani81@yahoo.com)

^۲ استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۳ استادیار، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، پارک علم و فناوری استان خراسان

^۴ و ^۵ دانش‌آموختگان کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

فناوری خراسان رضوی با فرکانس ۳۰ کیلو هرتز و توان ۷۵۰ وات استفاده شد. در این روش ۶ گرم از پودر سیب زمینی ترشی با مقدار مشخصی آب تحت شرایط بهینه نسبت آب به ماده جامد مخلوط گردید و مخلوط حاصله تحت تیمارهای مختلف ذکر شده در جدول ۱ قرار گرفت، در نهایت ۱ میلی لیتر از عصاره حاصل از تیمارهای فراصوت را به حجم ۱۰۰ رسانده و از محلول نهایی جهت اندازه گیری بازده اینولین استخراجی استفاده شد. کنترل دمایی با استفاده از دستگاه سیرکولاتور و چرخش آب گرم در اطراف محفظه حاوی محلول استخراجی انجام پذیرفت.

روش اندازه گیری قند کل

بدین منظور از روش ارائه شده دوبیوس و همکاران (۱۰) استفاده شد، بدین منظور ۱ میلی لیتر از عصاره سیب زمینی ترشی استخراج شده را تا غلظت ۱ درصد رقیق کرده و سپس ۱ میلی لیتر از عصاره به لوله آزمایش انتقال یافت، سپس ۳ میلی لیتر محلول اسید سولفوریک غلیظ (۹۷٪) به آن افزوده گردید و لوله ها به کمک آب سرد تا رسیدن به دمای اتاق خنک شدند، سپس ۵۰ میکرولیتر محلول فل ۹۰٪ به لوله ها افزوده شد و سرد شدن به مدت ۳۰ دقیقه پیگیری گردید. در نهایت میزان جذب نمونه ها توسط اسپکتروفتومتر مدل Cecil Series CE393 در ۴۸۰ نانومتر خوانده شد. جهت تهیه منحنی استاندارد از اینولین استفاده شد.

روش اندازه گیری قند احیاء

جهت اندازه گیری قند احیاء از روش بالدینی و همکاران (۵)، استفاده شد؛ بدین منظور، ۲۵ گرم تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم، ۱/۶ گرم هیدروکسید سدیم و ۱ گرم دی نیتروسالیسیک اسید مخلوط شده و این مخلوط به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد؛ به منظور یکنواخت شدن مخلوط از همزن مدل مولینکس در دمای اتاق و به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه استفاده شد؛ سپس ۲/۵ میلی لیتر از این محلول را به ۱/۱ میلی لیتر عصاره استخراج شده و رقیق شده تا غلظت ۱ درصد افزوده و این مخلوط در دمای ۹۰°C برای ۱۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد، سپس سرد شدن به کمک آب سرد تا دمای محیط انجام شده و ۲/۴ میلی لیتر آب مقطر به نمونه ها افزوده گردید و در نهایت میزان جذب نمونه ها در ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. جهت تهیه منحنی استاندارد از D فروکتوز استفاده شد.

اندازه گیری میزان اینولین

برای اندازه گیری میزان اینولین در سیب زمینی ترشی میزان قند احیای محاسبه شده از میزان قند کل به دست آمده کسر گردیده و درصد اینولین واقعی به روش زیر محاسبه شد (۱ و ۱۰).

(۱۸) که این اثر افزایشی امواج فراصوت در میزان استخراج مواد گیاهی مربوط به شکستن سلول ها و رهایش محتویات آنها به محیط استخراج است (۱۰). نتایج حاصل از بررسی منابع نشان داد روش حمام فراصوت برای استخراج از نمونه های خشک شده و پودر شده جهت به کار گیری در مقادیر صنعتی و بزرگ کارآمد نمی باشد (۲۲)؛ لذا در این مطالعه از پروب مستقیم فراصوت استفاده شد. با توجه به روند به رشد تمایل صنایع غذایی از اینولین و نبود کارهای پژوهشی مستند در این زمینه، شناخت منابع بالقوه ی و تعیین شرایط بهینه استخراج اینولین، یک ضرورت می باشد بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر فاکتورهای دما، زمان و شدت صوت بر میزان اینولین استخراجی است که برای این منظور از روش سطح پاسخ^۱ برای تعیین ترکیب بهینه متغیرها استفاده شد.

مواد و روش ها

مواد

مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل سیب زمینی ترشی تهیه شده از گروه باغبانی دانشگاه فردوسی، اسید سولفوریک ۹۶٪، تارتارات مضاعف سدیم و پتاسیم، هیدروکسید سدیم و دی فروکتوز از شرکت مرک آلمان (Merck)، دی نیترو سالیسیلیک اسید از شرکت سیگما (SIGMA)، فنول کریستاله تهیه شده از PANREAC و اینولین استاندارد (HP) از Beneo-Oraftir بود.

روش ها

تهیه پودر سیب زمینی ترشی

سیب زمینی ترشی از گروه باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شدند. سپس به خوبی شسته، پوست گیری و ورقه شده و برای رسیدن به رطوبت ۵ درصد، در آون با دمای ۵۵°C به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت نگهداری شدند. در نهایت ورقه های خشک شده را به وسیله آسیاب پودر کرده و ذرات پودر شده را از الک آزمایشگاهی با مش ۵۰ میکرومتر جهت رسیدن به اندازه دانه بندی یکسان عبور داده شد.

استخراج آبی با اعمال فراصوت

پس از به دست آوردن شرایط بهینه استخراج آبی توسط روش سطح پاسخ، نمونه های کنگر فرنگی تحت تیمار فراصوت در زمان، دما و شدت های صوتی مختلف قرار گرفتند. به منظور به دست آوردن شرایط استخراج با اعمال فراصوت و بررسی اثر هر یک از تیمارها از دستگاه فراصوت مدل FRIGOMIX CV33، مستقر در پارک علم و

نرمال، سرعت فاز متحرک، بدون گرادیان، 0.5 ml/min و حجم تزریق، $20 \mu\text{L}$ بود. جهت انجام فرآیند آنالیز، مقدار $6/5$ میلی لیتر از هر نمونه با 4 برابر آب 2 بار مقطر مخلوط گردید؛ سپس فرآیند اندازه گیری اینولین توسط دستگاه HPLC، در دمای 60 درجه سانتی گراد، پی گیری شد. لازم به ذکر است، همراه اینولین، استاندارد گلوکز و فروکتوز نیز بطور همزمان به دستگاه تزریق گردید.

طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری

از آنجا که هدف اصلی پژوهش، بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورهای شدت صوت، دما و زمان استخراج در فرآیند استخراج قند کل، قند احیاء و راندمان اینولین استخراجی بود، طرح آماری رویه سطح پاسخ انتخاب شد (جدول ۱). از این رو نخست بر اساس تعداد فاکتورها و سطوح آنها مطابق جدول ۲، شرایط 20 استخراج معین شد و سپس آزمایش ها تصادفی شدند، 6 تکرار نقطه مرکزی جهت تعیین خطای آزمایش منظور گردید (۱۳ و ۱۴).

جدول ۱- نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آنها

علامت	متغیر مستقل	۰	+۱
X_1	دما	۲۰	۴۰
X_2	زمان	۵	۲۲/۵
X_3	شدت صوت	۲۰	۶۰

میانگین غلظت قند غیر احیاء بدست آمده از دو مرتبه تکرار هر آزمایش به عنوان متغیر وابسته یا پاسخ (Y) در نظر گرفته می شود، در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می نماید، مدل چند متغیره به صورت زیر می باشد.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3$$

در معادله ذکر شده Y پاسخ پیش بینی شده β ضریب ثابت، $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3$ اثرات خطی، $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ اثر مربعیات و $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ اثرات متقابل بوده و به منظور تجزیه و تحلیل و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ از نرم افزار Design-Expert 7.1.6 استفاده گردید.

نتایج و بحث

گزینش مدل مناسب و تجزیه مدل برازش یافته

به منظور حصول مدل های تجربی برای پیش بینی پاسخ، رابطه های خطی و چند جمله ای درجه دوم بر داده های بدست آمده از آزمایش ها برازش شدند. سپس این مدل ها مورد آنالیز آماری قرار گرفته تا مدل مناسب گزینش گردد.

بازده استخراج اینولین (%) = (مقدار اینولین × حجم عصاره استخراجی / مقدار پودر سیب زمینی ترشی) × ۱۰۰

تخلیص محلول اینولین

آزمون مطابق بررسی پاسیفول و همکاران (۱۶)، انجام شد. بدین منظور، پودر سیب زمینی ترشی، تحت تیمارهای بهینه حاصل از آزمون پیشین، قرار گرفت. سپس جهت صاف شدن مقدماتی، محلول از پارچه تنظیف عبور داده شد و توسط اوپراتور تحت خلاء تا حدود 50% تغلیظ گردید. ویژگی اوپراتور شامل 68 kPa خلاء و فشار بخار 128 kPa بود. برای جداسازی پکتین، پروتئین و ترکیبات دیواره سلولی، مخلوط تغلیظ شده با 50% هیدروکسید کلسیم 2 درصد، در دمای 55 C و زمان 30 دقیقه مخلوط شد. جهت کاهش pH دوغاب، پس از فیلتراسیون به کمک کاغذ صافی وات من 4 و قیف بوخنر متصل به پمپ خلاء، محلول 10% اسید فسفریک به موارد فیلتر شده تا حدی افزوده شد که pH به 9 رسید (در این حین، عمل همزدن شدید نیز انجام پذیرفت). فرآیند اخیر سبب ترسیب کلسیم اضافه و کوآگوله شدن ترکیبات آلی گردید. پس از آن، فرآیند شفاف سازی برای 2 مرحله پیگیری شده و سپس پودر کربن فعال در دمای 60 C و با نسبت 1 به 5 به محلول اضافه شد، سپس مجدداً شربت تیمار شده به کمک کاغذ صافی واتمن 1 فیلتر گردید و شربت شفاف مجدداً توسط روتاری اوپراتور تحت خلاء تا رسیدن به بریکس 32 مورد تغلیظ قرار گرفت. در فاصله های زمانی مختلف از عصاره ی تغلیظ شده نمونه برداری صورت گرفته و میزان بریکس آن توسط دستگاه رفاکتومتر اندازه گیری شد. جهت ترسیب اینولین، 2 گرم از شربت تغلیظ شده، همراه 26 سی سی اتانول (99% (به نسبت $13/1$ E_S))، برای مدت 72 ساعت در دمای 42 C مخلوط و نگهداری گردید. پس از سپری شدن مدت زمان نگهداری، محلول رویی توسط مکنده جدا شد و بخش ترسیب یافته با 5 میلی لیتر اتانول 99% مورد شستشوی مجدد قرار گرفت. سپس ظرف محتوی مواد ترسیب یافته جهت حذف کلیه اتانول اضافی به اون با کنترل دمایی 102 C برای 30 دقیقه انتقال یافت. در نهایت مواد ترسیب یافته، در فریزر 40 C نگهداری شدند. سپس نمونه های منجمد شده توسط دستگاه خشک کن انجمادی مدل Alpha Christ 1-4 و فشار مطلق 0.05 میلی بار خشک شدند (۱۶).

اندازه گیری کمی اینولین به کمک دستگاه HPLC

دستگاه HPLC مورد استفاده (Knauer) مستقر در بخش فنی-مهندسی دانشگاه تهران، مجهز به اتوسمپلر و آشکارساز مادون قرمز (Waters R40) بود. سایر مشخصات دستگاه شامل موارد زیر می باشد. ستون مورد استفاده یوروکت^۱ و دمای ستون در تیمار حرارتی 60 درجه سانتی گراد بود؛ فاز متحرک شامل اسیدسولفوریک 0.1 .

جدول ۴ تیمارهای به کار گرفته شده در استخراج با اعمال فراصوت

تیمار	شدت صوت (%)	دما (C°)	زمان(دقیقه)	تیمار	شدت صوت (%)	دما (C°)	زمان(دقیقه)
۱	۶۰	۴۰	۲۲/۵	۱۱	۲۰	۲۰	۵
۲	۶۰	۴۰	۲۲/۵	۱۲	۲۰	۲۰	۴۰
۳	۶۰	۴۰	۲۲/۵	۱۳	۱۰۰	۲۰	۵
۴	۶۰	۴۰	۲۲/۵	۱۴	۱۰۰	۲۰	۴۰
۵	۶۰	۴۰	۲۲/۵	۱۵	۶۰	۲۰	۲۲/۵
۶	۲۰	۶۰	۵	۱۶	۶۰	۴۰	۵
۷	۲۰	۶۰	۴۰	۱۷	۶۰	۴۰	۴۰
۸	۱۰۰	۶۰	۵	۱۸	۲۰	۴۰	۲۲/۵
۹	۱۰۰	۶۰	۴۰	۱۹	۱۰۰	۴۰	۲۲/۵
۱۰	۶۰	۶۰	۲۲/۵	۲۰	۶۰	۴۰	۲۲/۵

جدول ۳ نتایج آزمون ضعف برازش یافته بر پاسخ

مدل	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F ارزش	P ارزش
درجه دوم	۳۳۷/۸۰	۵	۶۷/۵۶	۴/۸۲	۰/۰۵۴۶
عدم برازش	۳۳۷/۸۰	۵	۶۷/۵۶	۴/۸۲	۰/۰۵۴۶
خطای خالص	۷۰/۰۲	۵	۱۴		

جدول ۴- نتایج آنالیز آماری مدل برازش یافته بر پاسخ

Source	R-Squared	Adjusted R-Squared	PRESS
درجه دوم	۰/۹۲۹۳	۰/۸۶۵۶	۱۹۵۴/۲۸

جدول ۵ نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ درجه دوم کاسته برای راندمان

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F ارزش	P ارزش
مدل	۵۳۵۷/۱۲	۹	۵۹۵/۲۴	۱۴/۶۰	۰/۰۰۰۱
زمان A	۵۶۴/۷۵	۱	۵۶۴/۷۵	۱۳/۸۵	۰/۰۰۴
شدت صوت B	۱۴۹/۳۸	۱	۱۴۹/۳۸	۳/۶۶	۰/۰۸۴۷
دما C	۱۳۰۷/۵۹	۱	۱۳۰۷/۵۹	۳۲/۰۶	۰/۰۰۰۲
AB	۳۶/۱۳	۱	۳۶/۱۳	۰/۸۹	۰/۳۶۸۸
AC	۳۶/۱۳	۱	۳۶/۱۳	۰/۸۹	۰/۳۶۸۸
BC	۷۳/۲۱	۱	۷۳/۲۱	۱/۸۰	۰/۲۱۰۰
A ₂	۹۵/۷۶	۱	۹۵/۷۶	۲/۳۵	۰/۱۵۶۴
B ₂	۲۱۲/۹۲	۱	۲۱۲/۹۲	۵/۲۲	۰/۰۴۵۴
C ₂	۱۸۶۶/۲۹	۱	۱۸۶۶/۲۹	۴۵/۷۶	۰/۰۰۱
باقی مانده	۴۰۷/۸۲	۱۰	۴۰/۷۸		
خطای خالص	۷۰/۰۲	۵	۱۴	۴/۸۲	۰/۰۵۴۶

جدول ۶ مقادیر ضرایب مدل‌های درجه دوم برای راندمان استخراج اینولین از سیب زمینی ترشی

ضرایب	۱	۲	۳	۱۱	۲۲	۳۳	۱۲	۱۳	۲۳
•	اثر خطی	اثر خطی	اثر خطی	اثر درجه ۲	اثر درجه ۲	اثر درجه ۲	اثر متقابل	اثر متقابل	اثر متقابل
	فاکتور دما	فاکتور زمان	فاکتور شدت صوت	فاکتور دما	فاکتور زمان	فاکتور رشدت صوت	فاکتور دما و زمان	فاکتور شدت صوت و دما	فاکتور شدت صوت و زمان
پاسخ (راندمان)	۷/۵۲	۳/۸۶	۱۱/۴۴	۴/۱۲	۲/۱۲	۳/۰۳	۵/۹۰	۸/۸۰	۴۶/۰۵

مربعات محاسبه گردیدند، ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود مدل مربوط به راندمان دارای عبارت درجه دوم است.

اثر همزمان زمان و شدت صوت بر راندمان استخراج در شکل ۴ الف، نشان داده شده است. بر این اساس، زمان تأثیر محسوسی بر راندمان داشت (۰/۰۱ < P). چنانکه با افزایش زمان، راندمان به صورت خطی افزایش یافت. کانگ سان و همکاران (۸)، شرایط بهینه استخراج همی سلولز از سیوس برنج را مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند استفاده از زمان فراصوت ۳۰ تا ۳۵ دقیقه بیشترین بازده را در راندمان استخراج داشت، این مسئله به دلیل تخریب دیواره سلولی و قابلیت خروج و در دسترس بودن بیشتر این ترکیبات می‌باشد. در مقابل زمان‌های ۴۰ تا ۵ دقیقه افزایش معنی داری در روند استخراج در مقایسه با استخراج معمولی نداشته و لذا مستلزم به کارگیری شدت‌های صوتی بالاتر می‌باشد. در پژوهشی از پروب مستقیم فراصوت در استخراج ایمیدین استفاده گردید؛ نتایج نشان داد، افزایش زمان فراصوت تا ۲۰ دقیقه منجر به افزایش بازده استخراج شد اما به کارگیری زمان‌های بیشتر از ۴۰ دقیقه منجر به ظهور روند کاهشی در پروسه استخراج گردید (۲۳)؛ با این حال، استفاده از زمان‌های بیش از ۳۰ دقیقه در به کارگیری امواج فراصوت توصیه نمی‌شود (۱۹).

بهینه یابی شرایط استخراج اینولین از غده سیب

زمینی ترشی

با به کارگیری روش آماری سطح پاسخ، معادله ی زیر که نشان دهنده ی ارتباط تجربی میان راندمان استخراج قندکل و متغیرهای آزمایش به صورت کدگذاری شده است به دست آمد.

$$Y = 74.95 + 7.52X_1 + 3.86X_2 + 11.44X_3 - 2.12 X_1X_2 + 2.12X_1X_3 + 3.03X_2X_3 - 5.90X_1X_1 + 8.80 X_2X_2 - 26.05X_3X_3$$

مقایسه مقادیر مشاهده شده (Y₀) با مقادیر پیش بینی شده (Y) در جدول ۷ آمده است؛ مشاهدات این جدول بیانگر همبستگی بسیار خوب بین نتایج بدست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش بینی شده با روش آماری است.

اندازه گیری کمی اینولین

در شکل ۲، کروماتوگرام‌های مربوط به اینولین استاندارد همراه غلظت مربوطه براساس سطح زیر منحنی، قابل مشاهده است. بر اساس منحنی مربوطه و معادله بدست آمده، براحتی می‌توان با محاسبه سطح زیر نمودار و حل معادله بدست آمده غلظت اینولین را در کلیه نمونه ها محاسبه نمود. لازم به ذکر است ضریب رگرسیون بالای بدست آمده بیانگر دقت بالای عملکرد می‌باشد (R² = ۰/۹۹۱).

از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون ضعف برازش آن معنی دار نبوده و دارای بالاترین مقدار R² adjusted و R² predicted باشد. نتایج آزمون ضعف برازش و ارزیابی صحت مدل‌های برازش شده به ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ خلاصه شده اند. مطابق جدول ۳، آزمون ضعف برازش مربوط به مدل برازش یافته (چند جمله ای درجه دوم) بر پاسخ معنی دار نبود. همچنین در جدول ۴، مدل چند جمله ای درجه دوم بدلیل دارا بودن مقادیر بالای R² adjusted، R² predicted در برابرش داده ها توان بیشتری را دارا بود. همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، مدل درجه دوم کاسته برای راندمان از نظر آماری معنی دار بود (P < ۰/۰۰۱)؛ سایر عبارت‌های معنی دار مدل نیز شامل زمان، دما، عبارت درجه دوم شدت صوت و عبارت درجه دوم دما بودند. همچنین عبارت‌های مربوط به برهم کنش معنی دار نبودند و از مدل حذف شدند. مقدار بالای R² و متناسب بودن مقدار R² adjusted و R² Predicted بیانگر قدرت بالای مدل در پیش بینی می‌باشد.

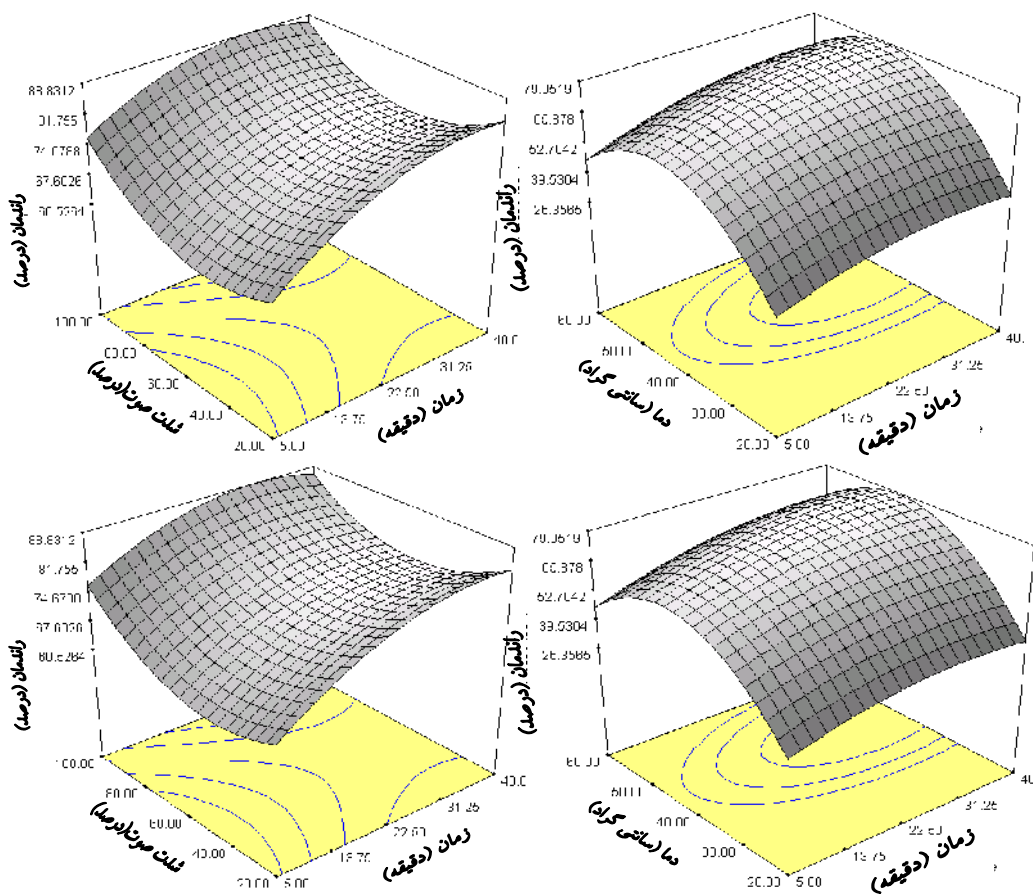
و همچنین افزایش دیلیمیزاسیون اینولین به قندهای آزاد در اثر افزایش دما می‌باشد علاوه بر آن افزایش دمای استخراج می‌تواند منجر به شتابدهی تبخیر حلال و افزایش هزینه‌های تامین انرژی و تقویت استخراج ناخالصی ها و مواد زاید گردد (۲۱). در مطالعه جین و همکاران (۶) نتایج بهینه سازی استخراج پلی ساکارید نتایج نشان داد که افزایش دما تا ۶۰ درجه سانتی گراد منجر به افزایش بازده استخراج می‌شود؛ اما به کارگیری دماهای بالاتر به دلیل احتمال تجزیه پلی ساکاریدها به قندهای آزاد باعث کاهش راندمان می‌گردد. با توجه به عدم معنی داری تأثیر شدت صوت بر راندمان (۰/۰۵ < P)

و تأثیر معنی دار عبارت درجه دوم شدت صوت بر راندمان، چنین نتیجه می‌شود که بازده استخراج اینولین از سیب زمینی ترشی به تغییرات شدت صوت اعمال شده حساسیت کمی داشت. بر این اساس، کاربرد شدت‌های صوتی بالا به علت ایجاد فشار و هزینه‌های اضافی بر دستگاه توصیه نمی‌شود. داده‌های حاصل با نتایج حاصل از مطالعات لی (۹)، در استخراج پلی ساکارید از دانه کتان و گیاه ژوژوبا هم خوانی داشت.

اثر همزمان دما و زمان استخراج بر راندمان استخراج در شکل ۴ ب، نشان داده شده است. بر این اساس افزایش دما تا ۴۵°C راندمان استخراج را افزایش داده و پس از آن، راندمان استخراج کاهش می‌یابد. با توجه به معنی داری اثرات خطی و درجه دوم دما (۰/۰۱ < P) می‌توان وجود انحناء در شکل رویه و کنتور را انتظار داشت (جدول ۵). افزایش راندمان با افزایش دما تا ۴۵°C احتمالاً به دلیل بهبود انتقال جرم در نتیجه افزایش حلالیت اینولین و کاهش ویسکوزیته حلال است و روند کاهشی راندمان بعد از دمای ۴۵°C می‌تواند در اثر کاهش تعداد حباب‌های کابیتاسیون تولید شده توسط امواج فراصوت باشد.

تأثیر متغیرهای مستقل بر پاسخ ها

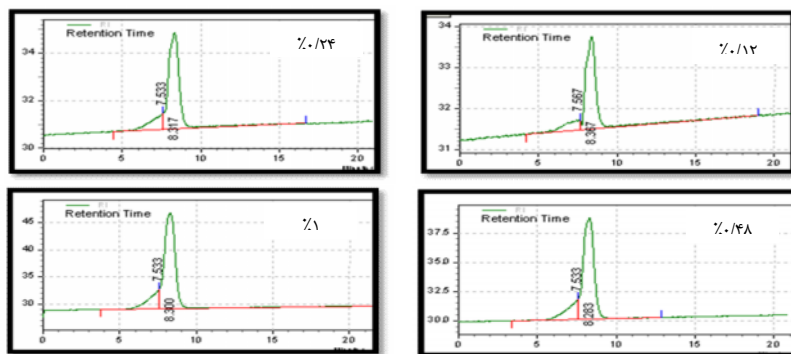
در جدول ۶، ضرایب مدل درجه دوم کاسته که بیانگر تأثیر شرایط مختلف استخراج بر راندمان بوده و با استفاده از تکنیک حداقل



شکل ۴ اثر همزمان دو متغیر زمان و شدت صوت (الف) و زمان و دما (ب) بر راندمان استخراج اینولین

جدول ۷- مقایسه مقادیر مشاهده شده با مقادیر پیش بینی شده حاصل از هر تیمار

تیمار	نتایج آزمایش	نتایج پیش بینی شده	تیمار	نتایج آزمایش	نتایج پیش بینی شده
۱	۳۰/۶۰	۳۲/۰۰	۱۱	۷۰/۲۱	۷۴/۹۵
۲	۴۶/۷۵	۴۷/۰۳	۱۲	۶۷/۱۰	۷۴/۹۵
۳	۳۵/۷۰	۳۷/۹۳	۱۳	۶۸/۴۳	۷۴/۹۵
۴	۳۹/۹۵	۴۴/۴۶	۱۴	۷۲/۳۴	۷۴/۹۵
۵	۴۵/۹۰	۳۷/۴۶	۱۵	۷۴/۱۴	۷۴/۹۵
۶	۶۵/۴۵	۶۱/۵۳	۱۶	۴۶/۵۵	۴۴/۵۷
۷	۸۲/۸۰	۷۶/۵۶	۱۷	۶۷/۸۰	۶۸/۱۰
۸	۷۹/۹۰	۷۹/۸۸	۱۸	۶۰/۳۵	۶۲/۶۰
۹	۹۷/۷۵	۸۷/۶۱	۱۹	۷۶/۵۰	۷۷/۶۳
۱۰	۷۷/۱۵	۷۴/۹۵	۲۰	۶۲/۱۰۵	۶۰/۳۳



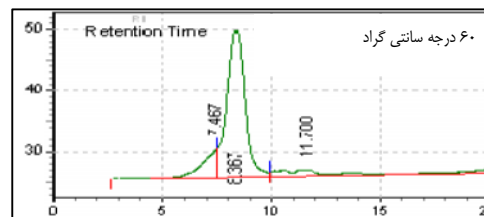
شکل ۲- کروماتوگرام‌های مربوط به اینولین استاندارد همراه غلظت مربوطه

نتیجه گیری

در این تحقیق، هدف از بهینه سازی به حداکثر رساندن مقدار راندمان بود. برای این اساس شرایط بهینه استخراج اینولین با اعمال امواج فراصوت و دستیابی ۹۱/۱ درصد راندمان استخراج، دمای ۴۶ درجه سانتی گراد، زمان ۳۱/۴۵ دقیقه و شدت صوت ۱۰۰ تعیین گردید. اما چنانچه دستیابی به بیشینه راندمان در کنار کاربرد شدت صوت‌های پایین و کاهش هزینه مصرفی مدنظر باشد؛ شرایط بهینه استخراج اینولین با راندمان ۸۴/۸ درصد؛ شامل دمای ۴۴ درجه سانتی گراد، زمان ۳۸ دقیقه و شدت صوت ۲۰ می‌باشد.

بر اساس گزارش وانگ و فاک (۲۰۰۱)، اینولین در ۲۵°C تقریباً در آب نامحلول است اما حلالیت آن بطور معنی‌دار با افزایش دما افزایش می‌یابد. حلالیت کم در دماهای پایین یک ویژگی مطلوب است تا بتوان از محلول آبی اینولین رسوب آن را جداسازی کرد. بر این اساس کلیه عملیات آماده سازی نمونه، تزریق و کلیه عملیات HPLC در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد پی گیری شد. نتایج حاصل از کروماتوگرام‌های بدست آمده، مطابق نتایج وانگ و همکاران بود؛ زیرا میزان سطح زیر نمودار حاصل از تیمار ۶۰ درجه بطور محسوسی

بیشتر از تیمار ۲۵ درجه سانتی گراد بود.



شکل ۳- کروماتوگرام اینولین حاصل از سیب زمینی ترشی

لازم به ذکر است؛ زمان بازداری^۱ و سطح زیر منحنی نمونه سیب

زمینی ترشی به ترتیب ۸/۱۶۷ و ۱۳۳۴۵۲۲ بود.

بر اساس نتایج بدست آمده، کلیه نمونه‌های مورد بررسی فاقد گلوکز و فروکتوز بودند. میزان کمی اینولین سیب زمینی ترشی نیز پس از رسم منحنی استاندارد اینولین، محاسبه سطح زیر نمودار، احتساب درجه رقت تزریق شده و همچنین محاسبه میزان بریکس ۱۵، معادل ۳۸/۶۱۸ درصد تعیین گردید.

منابع

- ۴ فروزان مهر، ح. و س. عباسی، ۱۳۸۶. بهینه سازی استخراج اینولین از کنگر فرنگی با و بدون اعمال فراصوت به کمک روش سطح پاسخ. هفدهمین کنگره ملی صنایع غذایی، (ارومیه).
- ۴ کوثری، الف. ۱۳۷۳. استخراج و خالص سازی تبائین و اینولین از گیاهان بومی ایران. مرکز تحقیقات دارویی.
- 3- Baldini, M., F., Danuso, M., Turi, & G. P. Vannozzi, 2004. Evaluation of new clones of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. *Industrial Crops and Products*, 19: 25–40.
 - 4- Beatriz, H. Bernal, Jario Calle, Elcy Q. Duarte, Roberto Pinzon, Mario Velasquez. 2005. Inulin from tubers of *Dahlia imperialis* Roetz. *Rev. Col. Cienc. Quim. Farm.* 34(2): 122-125.
 - 5- Dubois, M., K. A., Gilles, J. K., Hamilton, P. A., Rebers, & F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350–356.
 - 6- Jin-wei Li a, Shao-dong Ding b, Xiao-lin Ding. 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. *Jinsixiaozao*. *Journal of Food Engineering* 80:176–183
 - 7- Kaur, N. and A. K. Gupta. 2002. Application of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Bioscience*, 27: 703–714
 - 8- Kong, Q., G. Q., He, Q. H., Chen, & F. Chen. 2004. Optimization of medium composition for cultivating *Clostridium butyricum* with response surface methodology. *Journal of Food Science*, 69(7): 163–168.
 - 9- Li, J.; S. Ding and X. Ding. 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. *Jinsixiaozao*. *Journal of Food Engineering* (80) 1: 176-183.
 - 10- Lingyun, W. Jianhua, W. Xiaodong, Zh. Da, T. Yalin, Y. Chenggang, C. Tianhua, F. Fan, Zh. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin From Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering* 79: 1087–1093.
 - 11- López-Molina, Dorotea, María Dolores Navarro-Martínez, Francisco Rojas-Melgarejo, Alexander N.P. Hiner, Soledad Chazarra and José Neptuno. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.)
 - 12- Laurenzo, Kathleen, S., Navia, Juan, L., Neiditch, & David, S. 1999. Preparation of inulin products US. Patent no. 5,968,365.
 - 13- Moerman, F. T.; M. B. Van Leeuwen and J. A. Delcour. 2004. Enrichment of higher molecular weight fraction in inulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3780–3783.
 - 14- Montgomery, D. C. 1996. *Design and analysis of experiments*. New York: John Wiley.
 - 15- Myers, R.H., and D.C. Montgomery, 2002. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. 2nd Edition. Wiley, New York.
 - 16- Paseephol. Tatdao, Small. Darry, Sherkat. Frank. 2007. Process optimisation for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol using response surface methodology. *Food Chemistry* 104:73–80
 - 17- Roberfroid, M. 2005. *Inulin-type fructans: Functional food ingredients*. New York: CRC Press.
 - 18- Rodrigues, S. P. and A. S. Gustavo. 2007. Ultrasound extraction of compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder. *Journal of Food Engineering*, 80: 869-872.
 - 19- Saengthongpinit, W. and T. Sajjaanantakul. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. *Post Harvest Biology and Technology*, 37: 93–100.
 - 20- To'fano C, Juliana. Leite Toneli, Fernanda Elisabeth X. Mu'rr, Paula Martinelli, Ina'cio Maria Dal Fabbro, Kil Jin Park. 2007. Optimization of a physical concentration process for inulin *Journal of Food Engineering* 80: 832–838
 - 21- Vilkhua, Kamaljit, Mawsona, Raymond, Lloyd Simonsa and Darren Bates. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2): 161-169. *Food Innovation: Emerging Science, Technologies and Applications (FIESTA) Conference*
 - 22- Wu, Y. Steve W. Cui, Tang, J. Gu X. 2007. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited *sterculia* seeds by response surface methodology *Food Chemistry* 105: 1599–1605.
 - 23- Zhang, L. F., & Z. L. Liu. 2008. Optimization and comparison of ultrasound/ microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 731–737.