

Optimization of Red Beet Color Extraction

Mahshad Lavarestagh¹, Nafiseh Zamindar², Yasaman Esmaeili³

1 Graduated Master, Department of Food Science and Technology, College Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2 Associate Professor, Department of Food Science and Technology, College Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

3 Graduated Master, Department of Food Science and Technology, College Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Corresponding author: E-mail: n.zamindar@khuisf.ac.ir

1. Introduction

The first quality characteristic received by a food consumer is visual characteristics. The apparent attributes of a product include its shape, color, packaging, size, and uniformity. The consumer considers the product's appearance in the first step before any other information about other characteristics, such as taste or smell, especially in the first purchase. Color is the most crucial indicator of the quality of food that affects consumer acceptance. To replace the color lost during the process, increasing the existing color and minimizing variation during processing; natural colors, synthetic and inorganic colorants are added to the food. Red beet is one of the most important natural sources of color; the essential pigment in this plant is betalain, composed of two sub-subunits, betacyanin, and betaxanthine.

Considering the growing demand to develop more effective methods for extracting active compounds present in vegetable materials, including naturally occurring betalain and other nutritious compounds, this research was conducted to optimize the extraction conditions of this pigment from red beet.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of red beet

The red beets were washed, peeled, and grated to prepare the sample. Then, red beets were dried in an oven at 30 °C for 48 hours and milled. For extraction, 10 grams of red beet pulp was mixed with 200 ml of solvent (water-ethanol with a 1:1 ratio) and subjected to ultrasonic at 37 kHz. Experiments in 27 runs were performed based on a historical data design, randomized subtype and quadratic model. After the implementation with the edition of Design Expert 7 software, the range of variables pH (3- 5), temperature (15- 25 °C), and time (10- 20 min) applied for extraction. The pulp was dried using a Wattman filter paper in an oven at 35 °C and used for subsequent tests.

2.2. Yield measurements

The efficiency of the extraction process was calculated by dividing the weight of the extract obtained by the weight of the beetroot.

2.3. Measurement of pigments

The betacyanin and betaxanthine pigments show maximum absorption in about 522-559 nm and 474-480 nm, respectively. To measure betacyanin and betaxanthine in extracts, a certain amount of powder was dissolved in distilled water, and its absorbance was measured at wavelengths of 530 and 480 nm. The number of pigments obtained from different extraction conditions was compared.

Results and discussion

In this study, the overall results showed that an increase in the extraction pH and time increased the extraction of betacyanine and betaxanthine. It would be better to extract betacyanine at temperatures below 25 °C since this pigment is sensitive to high temperatures, and at a temperature above, 25 °C will be destroyed. The maximum yield was observed when pH value, temperature, and time were 5, 21 °C, and 20 min, respectively. Comparison of experimental and predicted values of the proposed responses at the proposed optimal points by t-test showed no significant difference ($p < 0.05$). A quadratic model was suggested for the answers, and the lack of fit was not significant ($p < 0.05$). The extraction of betalain from red beet using the ultrasonic method causes a reduction in time, temperature, energy, and solvent consumption.

Conclusion

The maximum yield was observed when pH value, temperature, and time were 5, 21 °C, and 20 min, respectively. Comparison of experimental and predicted values of the optimal points showed no significant difference by t-test ($p < 0.05$). According to the results obtained from this research, ultrasonic extraction can be considered an efficient and fast method. Extraction of betalain from red beetroot with ultrasonic method is economical. It can replace the common forms of extraction in the industry due to the reduction of time, temperature, energy consumption, and solvent consumption, thus reducing recovery costs.

Keywords: Red Beet, Betacyanine, Betaxanthin, Response Surface Method

بهینه سازی شرایط استخراج رنگ از چغندر قرمز

مهشاد لوارستاق^۱، نفیسه زمین دار^۲، یاسمن اسمعیلی^۳

۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲ نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۳ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان

(خوراسگان)، اصفهان، ایران

نویسنده مسئول: پست الکترونیکی: n.zamindar@khuisf.ac.ir

چکیده

به تازگی استفاده از رنگدانه‌های طبیعی به عنوان افزودنی غذایی، رنگ‌های خوراکی و دارو بسیار مورد توجه قرار گرفته است. چغندر قرمز سرشار از رنگدانه‌های بتالاین است. در این پژوهش به بررسی تاثیر متغیرهای مستقل دما، زمان و pH بر استخراج رنگدانه‌های بتالاین از چغندر قرمز پرداخته شده است. به منظور آماده سازی نمونه چغندر شست و شو، پوست گیری و رنده شد. سپس چغندره‌های قرمز به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب و آماده عصاره گیری شدند. عصاره گیری با استفاده از آب:اتانول با نسبت ۱:۱ به عنوان حلال انجام شد. تاثیر پارامترهای فرآیند استخراج شامل pH (۳-۵)، دما (۱۵-۲۵) درجه سانتی گراد و زمان (۱۰-۲۰) دقیقه بر بتاسیانین، بتاگزانتین و بازده کل مورد ارزیابی قرار گرفت. امواج فراصوت با فرکانس ۳۷kHz برای تسهیل استخراج به کار برده شد. جهت انتخاب شرایط از الگوریتم بهینه سازی روش سطح پاسخ استفاده شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که افزایش pH و زمان استخراج باعث افزایش در مقادیر بازده، مواد جامد محلول کل، بتاسیانین، بتاگزانتین شد. در این پژوهش در pH برابر ۵، دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه حداکثر بازدهی مشاهده شد. تحت شرایط بهینه استخراج پیشنهاد شده توسط روش بهینه سازی، پارامترهای اندازه‌گیری شده با مقادیر پیش‌بینی شده تفاوت معنی داری نداشت ($p < 0.05$).

واژه‌های کلیدی: چغندر قرمز، بتاسیانین، بتاگزانتین، روش سطح پاسخ.

اولین خصوصیت کیفی که توسط یک مصرف کننده ماده غذایی دریافت می‌شود و مورد توجه قرار می‌گیرد خصوصیات ظاهری محصول می‌باشد. خصوصیات ظاهری یک محصول شامل خصوصیات مانند رنگ، شکل، نوع بسته بندی، اندازه، یکنواختی می‌باشند. در حقیقت مصرف کننده قبل از آن که هیچ گونه اطلاعی از سایر خصوصیات ماده غذایی از قبیل طعم یا بوی آن داشته باشد، در درجه اول ظاهر محصول را مورد توجه قرار می‌دهد. بنابراین خصوصیات ظاهری عامل مهم و تعیین کننده‌ای، مخصوصا در اولین خرید از یک محصول یا عدم خرید آن هستند. در این میان رنگ مهمترین شاخص کیفی مواد غذایی است که پذیرش مصرف کننده را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به منظور جایگزین کردن رنگ از دست رفته در طول فرآیند، افزایش رنگ موجود، به حداقل رساندن تغییرات در حین فرآوری و رنگ کردن غذای بدون رنگ؛ رنگ‌های طبیعی، شبه طبیعی، سنتزی و غیر آلی به مواد غذایی افزوده می‌شوند (Aberoumand, 2011).

2011)

اخیرا محدودیت بسیاری از جانب سازمان بین‌المللی و انستیتوهای تحقیقاتی در مورد استفاده از مواد رنگزای مصنوعی خوراکی به ویژه رنگ قرمز مصنوعی بیان شده است (Downham et al., 2000). به همین دلیل تحقیقات وسیعی برای تهیه مواد رنگزای قرمز طبیعی به عنوان افزودنی‌های مجاز آغاز گردیده است و علاقه به مصرف رنگ‌های طبیعی را افزایش داده است زیرا رنگدانه‌های طبیعی معمولا سالم‌تر یا بی‌ضررتر از رنگ‌های مصنوعی هستند (Cardoso-Ugarte et al., 2014). استفاده از رنگ‌های طبیعی علی‌رغم ثبات و قدرت رنگی کم‌تر نسبت به رنگ‌های مصنوعی؛ به دلیل ایمن‌تر بودن و داشتن ارزش غذایی و مواد زیست فعال از جمله ویتامین‌های مختلف و همچنین داشتن خاصیت آنتی‌بیوتیکی و عدم اثرات مسمومیت زایی آن‌ها ترجیح داده می‌شوند. رنگ‌های طبیعی آنتی‌اکسیدان‌های تغذیه‌ای هستند و حضور آن‌ها در رژیم غذایی باعث کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و بیماری‌های مرتبط با پیری می‌شود (ظهوری و همکاران، ۱۳۹۵). رنگ‌های طبیعی همه جا در طبیعت به خصوص در میوه‌ها و سبزیجات موجود هستند. با این حال انواع رنگ‌های طبیعی که به صورت تجاری در دسترس هستند نسبتا کم هستند (Cardoso-Ugarte et al., 2014).

(2014). یکی از مهم‌ترین منابع طبیعی رنگ، چغندر قرمز می‌باشد که می‌توان از آن مواد رنگزای قرمز طبیعی را به منظور استفاده در فرآورده‌های غذایی تهیه کرد. مهم‌ترین رنگدانه موجود در این گیاه بتالاین است. بتالاین‌ها رنگدانه‌های نیتروژن دار محلول در آب هستند که در غلظت‌های بالا در چغندر قرمز یافت می‌شوند. رنگدانه بتالاین از دو زیر واحد بتاسیانین^۱ (رنگدانه قرمز) و بتاگزانتین^۲ (رنگدانه زرد) تشکیل شده است. (Delgado-Vargas et al., 2000). بتالاین رنگ قرمز مطلوبی را به غذا اضافه می‌کند و کاربردهای زیادی در صنعت غذا مانند افزودنی در ژلاتین‌ها، دسرها، قنادی، محصولات نانوائی و غیره دارد. بتالاین به دلیل فعالیت‌های ضد ویروسی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی توجه زیادی را به خود جلب کرده است (رنجبرندامانی، ۱۴۰۰). در مورد ایجاد رنگ زرد متمایل به نارنجی نیز بتاگزانتین می‌تواند جایگزین کاروتنوئیدها شود (چنگیزی آشتیانی و همکاران، ۲۰۱۹). بتاسیانین‌ها نیز یک گروه از ترکیبات هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال آزاد دارند (Escribano et al., 1998). با توجه به ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران، استفاده از آن برای استخراج رنگدانه‌های طبیعی به صرفه است. مهم‌ترین کاربرد ماده رنگزای تهیه شده در محصولات سرد مانند بستنی، ماست، شربت یخی، رنگ کردن مسقطی، پوشش شیرینی‌ها و کرم‌های وسط شیرینی می‌باشد، به دلیل قدرت رنگی زیاد این ماده، میزان افزودن آن در محصولات غذایی بسیار کم است. حد مجاز برای مصرف روزانه بتالاین از ۱۰ تا ۵۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم غذا بیان شده است (Pavlov et al., 2005). استخراج رنگدانه‌های طبیعی از جمله بتالاین‌ها معمولاً به وسیله استخراج جامد-مایع انجام می‌شود در این روش رنگدانه‌ها با آب و همچنین از طریق استفاده از محلول‌های متانول یا اتانول استخراج می‌شوند. با این حال معایب مربوط به این روش مانند زمان استخراج طولانی، آلودگی حلال و تولید نسبی پایین، محققان را به استفاده از تکنیک‌های فرآیند جدید که باعث بهبود کارآمدی فرآیند از طریق افزایش جرم انتقالی، پایداری رنگ طبیعی و سازگاری با محیط زیست می‌شود، تشویق می‌کند. استخراج با استفاده از فراصوت یکی از این روش‌هاست (Cardoso-Ugarte et al., 2014).

¹ Betacyanin

² Betaxanthin

مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون مربوط می‌شود. با توجه به حساسیت رنگدانه‌ها نسبت به دماهای بالا، از مزایای روش فراصوت این است که استخراج در دماهای پایین را امکان‌پذیر می‌سازد (ظهوری و همکاران، ۱۳۹۵). از طرف دیگر، بالابردن کارایی و بازده سیستم‌ها در فرآیند استخراج بدون افزایش هزینه‌ها بسیار حائز اهمیت است. روش اجرایی که بدین منظور استفاده می‌گردد، بهینه‌سازی نامیده می‌شود و این عمل، یکی از مهمترین مراحل در طراحی و تحلیل سیستم‌ها است. روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و آماری است که جهت توسعه، پیشبرد و بهینه‌کردن فرآیندهایی به کار می‌رود که در آنها سطح مورد نظر تحت تأثیر متغیرهای بسیاری قرار داشته و هدف، بهینه‌کردن پاسخ مزبور است. روش سطح پاسخ کاربرد قابل توجهی در طرح‌ریزی، توسعه، فرموله کردن محصولات جدید غذایی و همچنین ارتقای طراحی محصولات موجود دارد (Bas et al., 2007).

لاکوی ویلکا^۱ و همکاران (۲۰۱۸) بتالاین را از پوسته کینوآ رنگی (تیره تاج خروسیان) از طریق استخراج آبی با کمک فراصوت استخراج و به وسیله روش سطح پاسخ بهینه کردند سپس پایداری حرارتی بتالاین‌ها را بررسی کردند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که استخراج بتالاین از پوسته کینوآی رنگی می‌تواند در زمان فرایند بسیار کوتاه ۹/۲ و ۴۰ ثانیه به ترتیب برای نمونه‌های حاوی بتاسیانین و بتاگزانتین انجام شود. عصاره‌های تهیه شده به وسیله فراصوت نیز به همان میزان پایدار یا پایدارتر از نمونه‌های استخراج شده از ریشه چغندر هستند و حاوی مقادیر کمی ساپونین می‌باشند (Laqui-Vilca et al., 2018).

با توجه به تقاضای رو به رشد برای توسعه روش‌های کارآمدتر و موثرتر برای استخراج ترکیبات فعال موجود در مواد گیاهی همچنین ارزان قیمت بودن کشت چغندر قرمز در ایران و اینکه عصاره چغندر قرمز غنی از رنگدانه طبیعی بتالاین و سایر ترکیبات مغذی است، استخراج بتالاین از چغندر قرمز با استفاده از روش فراصوت، به حداکثر رساندن بازده و بهینه سازی شرایط استخراج این رنگدانه ارزشمند به روش سطح پاسخ بسیار مهم و هدف از این پژوهش می‌باشد.

^۱ Laqui-Vilca

مواد و روش‌ها

آماده سازی چغندر قرمز

به منظور آماده سازی نمونه؛ ابتدا شست و شو، جداسازی آلودگی‌ها، پوست گیری و رنده کردن چغندر قرمز انجام شد سپس چغندره‌های قرمز به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب و آماده عصاره گیری شدند. جهت عصاره گیری ۱۰ گرم پودر چغندر قرمز به همراه ۲۰۰ میلی لیتر از حلال آب:اتانول با نسبت ۱:۱ مخلوط و سپس به مدت ۲۰ دقیقه بدون اعمال حرارت در معرض فراصوت (مدل Parsonic30s، ساخت کشور ایران) با فرکانس ۳۷ کیلوهرتز قرار داده شد. تیمارها در ۲۷ آزمایش به روش سطح محدوده متغیرهای pH، دما و زمان به صورت جدول ۱ برای استخراج مورد بررسی قرار گرفت. تفاله چغندر بدست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد و در آون با دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک شد و برای آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت (De Sotillo et al., 1994).

اندازه گیری بازده

بازده فرآیند استخراج از طریق تقسیم وزن عصاره بدست آمده بر وزن ریشه چغندر استفاده شده محاسبه گردید (Lee et al., 2006).

$$\text{بازده} = \frac{\text{وزن عصاره}}{\text{وزن ریشه چغندر}} \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

اندازه گیری میزان رنگدانه‌ها

رنگدانه بتاسیانین در حدود ۵۳۴-۵۲۲ نانومتر و رنگدانه بتاگزانتین در محدوده ۴۸۰-۴۷۴ نانومتر دارای حداکثر جذب می‌باشند. برای اندازه گیری میزان بتاسیانین و بتاگزانتین در عصاره‌ها مقدار مشخصی از پودر حاصل در آب دوبار تقطیر حل شد و جذب آن در طول موج‌های ۵۳۰ و ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان رنگدانه‌های بدست آمده از شرایط مختلف با هم مقایسه شد. در این معادله برای اندازه گیری بتاسیانین از طول موج ۵۳۰ نانومتر و

ضریب جذب مولکولی و برای بتاگزانترین از طول موج ۴۸۰ نانومتر و و ضریب جذب مولکولی استفاده شده است.

(Hendry et al., 1996).

$$C = \frac{A}{ab} \quad \text{معادله (۲)}$$

C: میزان رنگدانه ($\mu\text{g/g}$)

A: جذب نمونه

a: ضریب جذب مولکولی

b = 1 cm

جامعه آماری و روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

در این مطالعه روش سطح پاسخ در قالب طرح هیستوریکال دیتا از نوع تصادفی برای پیش‌بینی تاثیر متغیرهای فرآیند بر استخراج رنگدانه‌های بتالاین از چغندر قرمز به روش فراصوت به کار برده شد. تیمارها در ۲۷ آزمایش بر اساس طرح مورد مطالعه چیده شدند و نوع مدل مورد بررسی درجه دو (کوآدراتیک) در نظر گرفته شد. متغیرهای مستقل مورد استفاده شامل pH (۳-۵)، دما (۱۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد) و زمان (۱۰-۲۰ دقیقه) و پاسخ‌های اندازه‌گیری شده شامل بتاسیانین، بتاگزانترین و بازده کل بودند. آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نسخه ۷ نرم‌افزار Design Expert صورت پذیرفت. تجزیه واریانس برای ارزیابی اثرات معنی‌دار متغیرهای فرآیند بر هر یک از پاسخ‌ها انجام شد. با انجام آنالیز رگرسیون چند متغیره، مدل‌های مختلف بر اساس R^2 پیش‌بینی شده و R^2 اصلاح شده مقایسه شد، به صورتی که مدلی که دارای بیشترین مقادیر این فاکتورها باشد دارای دقت بیشتری خواهد بود. آنالیز واریانس برای تعیین عدم برازش و معنی دار بودن اثرات خطی، درجه دوم و برهمکنش متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته نیز صورت گرفت اگر مقدار P برای آزمون عدم برازش بزرگتر مساوی ۰/۰۵ بود به معنای کافی بودن مدل برای پیش‌بینی پاسخ مورد نظر بود. سطوح متغیرهای مورد بررسی و تیمارهای مورد استفاده در آزمایش به ترتیب در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده

است. پس از بهینه سازی شرایط برای بیشترین میزان بتاگزانترین و بتاسیانین و بازده (با درجه اهمیت یکسان) در محدوده آزمون برای متغیرهای مستقل با توجه به نقاط بهینه بدست آمده برای استخراج، مجدداً استخراج انجام شد و فاکتورهای مورد بررسی برای فرمولاسیون بهینه پیشنهادی با مطلوبیت ۰/۹۷ طبق جدول ۴ تعیین شد. مقایسه بین پاسخهای آزمایشگاهی بدست آمده برای نقاط بهینه با پاسخ پیش بینی شده نرم افزار با آزمون تی استیودنت^۱ ($p < 0/05$) انجام شد. به منظور کاهش خطا کلیه آزمایش ها برای هر نقطه در ۳ تکرار انجام شد.

جدول ۱- نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آنها

Table 1- Levels of independent variables in different treatments

سطح Levels			
متغیرهای مستقل	-۱	۰	+۱
independent variables			
pH	۳	۴	۵
دما	۱۵	۲۰	۲۵
Temperature			
زمان	۱۰	۱۵	۲۰
Time			

جدول ۲- تیمارهای مربوط به استخراج عصاره از چغندر قرمز

Table 2- Treatments for red beetroot extraction

زمان (min)	دما (°C)	pH	تیمار	زمان (min)	دما (°C)	pH	تیمار
------------	----------	----	-------	------------	----------	----	-------

^۱.T student

Time	Temperature	Treatment	Time	Temperature	Treatment
۲۰	۲۰	۴	۱۵	۱۰	۳
۱۰	۲۵	۴	۱۶	۱۵	۳
۱۵	۲۵	۴	۱۷	۲۰	۳
۲۰	۲۵	۴	۱۸	۱۰	۳
۱۰	۱۵	۵	۱۹	۱۵	۳
۱۵	۱۵	۵	۲۰	۲۰	۳
۲۰	۱۵	۵	۲۱	۱۰	۳
۱۰	۲۰	۵	۲۲	۱۵	۳
۱۵	۲۰	۵	۲۳	۲۰	۳
۲۰	۲۰	۵	۲۴	۱۰	۴
۱۰	۲۵	۵	۲۵	۱۵	۴
۱۵	۲۵	۵	۲۶	۲۰	۴
۲۰	۲۵	۵	۲۷	۱۰	۴
			۱۵	۲۰	۴

نتایج و بحث

پس از آنالیز داده‌ها توسط برنامه Design expert جهت تعیین بهترین مدل پیشنهادی از میان پنج مدل موجود با توجه به جدول تجزیه واریانس، مدلی که مقدار میانگین مربعات^۱ آن دارای اختلاف معنی‌دار بوده و مقدار عدم برازش^۱ آن معنی

^۱ Sum of squar

دار نشود به عنوان بهترین مدل انتخاب می‌شود. با توجه به این موضوع و پس از بررسی نتایج بدست آمده و مقایسه میان مدل‌های رگرسیونی نتایج حاکی از آن بود که مدل کوآدراتیک (درجه دو)^۲ برای تمامی آزمون‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی دار با سایر مدل‌ها بود.

بازده

مقدار بازده بدست آمده در مرحله آزمایشگاهی با مقدار پیشگویی شده توسط مدل به طریق آماری مقایسه شد در این بررسی مقادیر مشاهده شده (Y_0) با مقادیر پیش بینی شده (Y) مقایسه گردید و نتایج بیانگر همبستگی بسیار خوب بین نتایج بدست آمده با روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده با روش آماری بود. با توجه به اینکه کلیه پارامترها دارای اثر معنی داری در مدل بودند ($p < 0/05$) بنابراین با توجه به پارامترهای معنی دار شده، معادله ۳ مدل پیشنهادی برای این پاسخ به صورت چند جمله‌ای درجه دوم است.

معادله (۳)

$$Yield = 254/17 + 12/09A + 6/01B + 24/38C + 0/032AB + 0/58AC + 7/70 \times 10^{-3}BC - 2/03A^2 - 0/15B^2 - 0/68C^2$$

در این معادله متغیرهای (A) pH، (B) دما و (C) زمان می‌باشند.

¹ Lack of fit

² Quadratic

جدول ۳- آنالیز واریانس پاسخ بازده، استخراج رنگدانه بتاسیانین و بتاگزانتین

Table 3- Variance analysis of yield, β - Cyanine and β -Xanthine Extraction

Source of changes منبع تغییرات	بازده Yield	بتاسیانین β - Cyanine	بتاگزانتین β -Xanthine
	Degree of Freedom درجه آزادی	Mean squares میانگین مربعات	Degree of Freedom درجه آزادی
		Mean squares میانگین مربعات	Degree of Freedom درجه آزادی
		Mean squares میانگین مربعات	Degree of Freedom درجه آزادی
مدل	۹	۲۱۹۳/۹۹****	۹
A-pH	۱	۴۸۱/۳۳****	۱
B-دما	۱	۱۰/۸۷ ^{ns}	۱
C-زمان	۱	۱۷۲۵۷/۱۰****	۱
AB	۱	۰/۳۰۷۲ ^{ns}	۱
AC	۱	۱۰۱/۹۱****	۱
BC	۱	۰/۴۴ ^{ns}	۱
A²	۱	۲۴/۹۴*	۱
B²	۱	۸۷/۲۷**	۱
C²	۱	۱۷۸۱/۷۰***	۱
Residual باقی مانده	۱۷	۳/۹۱	۱۷
Total مجموع	۲۶		۲۶

***: اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۰۰۱ درصد ***: اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۰۱ درصد، **: اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد، *: اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی دار

***: significant difference at the 0.1%, **: significant difference at the 1% level, *: Significant difference at the 5%.

ns: no significant difference

جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پارامتر پاسخ بازده چغندر قرمز در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل نشان می دهد. چنانچه مشاهده می گردد مقدار ضریب تبیین (R^2) برابر با ۰/۹۹۶۶ بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است. R^2 متعادل شده در این مدل ۰/۹۹۴۹ می باشد که نشان می دهد تنها ۰/۵۱ درصد از متغیرهای کل به وسیله مدل توجیه نشده اند. R^2 پیش بینی شده در این مدل برابر ۰/۹۸۹۵ است که متناسب با R^2 متعادل شده می باشد. همچنین عدم برازش در این مدل ۴/۱۵ است و بیانگر آن است که عدم برازش مدل معنادار نیست ($P > ۰/۰۵$). به عبارت دیگر مدل، داده های تجربی را برازش می کند. پارامترهای pH و زمان دارای اثر معنی داری بر پاسخ بازده چغندر هستند اما اثر دما اثر معنی داری بر پاسخ بازده ندارد. مقدار P-value مربوط به آثار متقابل جمله AC کمتر از ۰/۰۵ است ($< ۰/۰۰۱$) بنابراین تاثیر معنا داری بر مدل دارد. در مورد جمله درجه دوم C^2 (درجه دوم پارامتر زمان) B^2 (درجه دوم پارامتر دما) مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ است و تاثیر معناداری بر مدل دارد.

در فرآیند استخراج از ماتریس گیاهی، با گذشت زمان همواره میزان ترکیبات استخراج شده (بازدهی کل) که شاخص کمی است، افزایش می یابد علت آن است که باید برای ایجاد حفره در غشای سلول های چغندر زمان کافی داده شود تا با ایجاد حفره در غشا استخراج راحت تر صورت گیرد به همین دلیل در این پژوهش هر چه زمان افزایش پیدا کرد استخراج بیشتری صورت گرفت همچنین افزایش دما تا ۲۰ درجه باعث افزایش استخراج رنگدانه ها شد و در دمای بالاتر از ۲۰ درجه کاهش استخراج مشاهده شد زیرا رنگدانه ها به حرارت حساس هستند و حرارت بالا باعث تخریب

رنگدانه ها می شود. این در حالی است که، اگر چه میزان ترکیبات زیست فعال که شاخص کیفی است، در ابتدای استخراج افزایش می یابد اما پس از آن ممکن است به دلیل تخریب حرارتی کاهش ترکیبات زیست فعال و در نتیجه خاصیت آنتی اکسیدانی رخ دهد. در این پژوهش، حداکثر بازدهی در pH برابر ۵، دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و زمان ۲۰ دقیقه حاصل شده است. سیلوا و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند شرایط بهینه برای استخراج بتاسیانین ها و بتازانتین ها در دماهای ۵۲ و ۳۷ درجه سانتی گراد، با زمان استخراج ۹۰ دقیقه، با استفاده از ۲۵ درصد اتانول در آب به عنوان حلال می باشد. تحت این شرایط، غلظت بتاسیانین (۲/۴ میلی گرم در گرم) و بتاگزانتین (۲/۸۰ میلی گرم در گرم) همچنین غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر از غلظت های موجود در عصاره گیری های معمولی بود.

بتاسیانین

معادله ۴ مدل پیشنهادی برای این پاسخ به صورت چند جمله ای درجه دوم است.

معادله (۴)

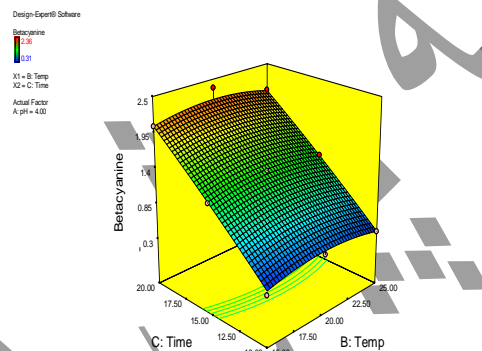
$$Betacyanin = 3/73 + 0/32A + 0/18B + 0/15C + 4/66 \times 10^{-3}AB + 0/014AC - 6/66 \times 10^{-5}BC - 0/66A^2 - 5/17 \times 10^{-3}B^2 - 1/51 \times 10^{-3}C^2$$

در این معادله متغیر های (A) pH، (B) دما و (C) زمان می باشند.

جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پارامتر پاسخ استخراج رنگدانه بتاسیانین چغندر قرمز در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل نشان می دهد. چنانچه مشاهده می گردد پارامتر های pH و زمان اثر معنی داری بر پاسخ استخراج رنگدانه بتاسیانین از چغندر قرمز دارند اما دما اثر معنی داری بر پاسخ استخراج رنگدانه بتاسیانین ندارد. جمله درجه دوم B^2 (درجه دوم پارامتر دما) دارای مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ است ($P < ۰/۰۰۳۱$) و تاثیر معناداری بر مدل دارد. عدم برآزش مدل با مقدار ۴/۳۹، معنادار نیست ($P > ۰/۰۵$) و به عبارت دیگر مدل داده های تجربی را برآزش می کند. مقدار ضریب تبیین (R^2) برابر با ۰/۹۸۸۶ است و بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است. R^2 متعادل شده در این

مدل ۰/۹۸۲۶ می باشد که نشان می دهد تنها ۱/۷۴ درصد از متغیرهای کل به وسیله مدل توجیه نشده اند. R^2 پیش بینی شده در این مدل برابر ۰/۹۶۶۶ است که متناسب با R^2 متعادل شده می باشد.

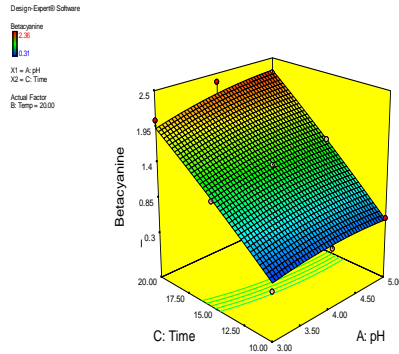
در شکل (۱) اثر متقابل دما و زمان در pH ثابت ۴ بر روی استخراج بتاسیانین مشاهده می شود. نمودار از دمای ۲۰ درجه به بعد حالت نزولی پیدا کرده و کاهش میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین را نشان می دهد. بیشترین میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و زمان ۲۰ دقیقه می باشد.



شکل ۱- اثر متقابل دما و زمان بر استخراج رنگدانه بتاسیانین در pH ثابت ۴

Fig 1- The interaction of independent variables on extraction of β -cyanin at pH=4

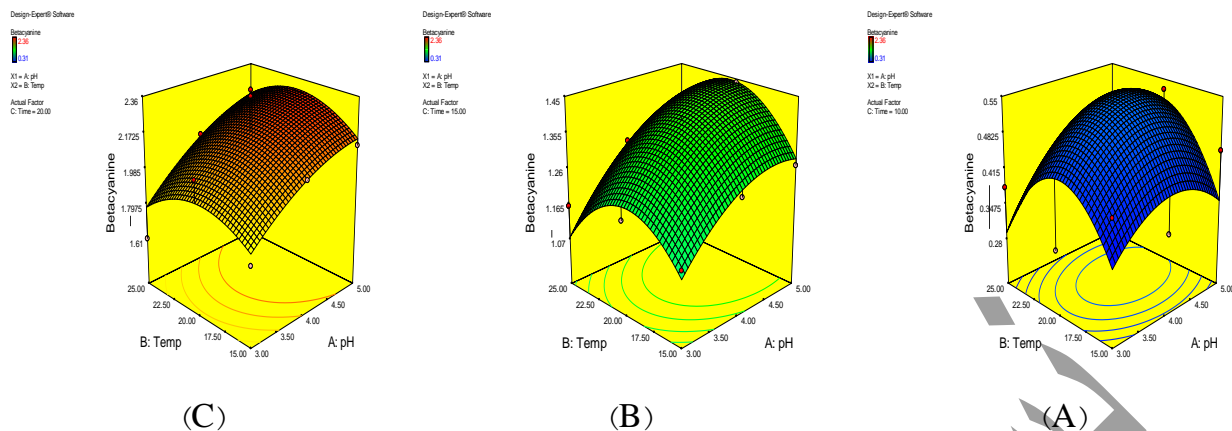
شکل (۲) اثر متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی گراد نشان می دهد. افزایش pH از ۳ به ۵ سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاسیانین شده است و افزایش زمان از ۱۰ به ۲۰ همین نتیجه را به دنبال داشته و سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاسیانین از چغندر قرمز شده است. طبق نتایج به دست آمده بیشترین استخراج رنگدانه در pH برابر ۵ و زمان ۲۰ دقیقه بوده است.



شکل ۲- اثرات متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاسیانین در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی گراد

Fig 2- The interaction of independent variables on extraction of β -cyanin at 20 °C

شکل (۳ الف) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در زمان ثابت ۱۰ دقیقه نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که افزایش pH سبب افزایش میزان استخراج رنگدانه می‌شود. در افزایش pH از ۳ به ۵ بیشترین میزان استخراج رنگدانه مشاهده گردید. با افزایش دما از ۱۵ درجه به ۲۰ درجه بیشترین استخراج رنگدانه و از ۲۰ درجه به بعد کاهش استخراج رنگدانه مشاهده گردید. شکل (۳ ب) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در زمان ثابت ۱۵ دقیقه نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که هرچه pH افزایش می‌یابد (از ۳ به ۵) میزان استخراج رنگدانه بیشتر می‌شود. در زمان ثابت ۱۵ دقیقه هرچه دما افزایش یافته است میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین بیشتر شده است. شکل (۳ ج) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین را در زمان ثابت ۲۰ دقیقه نشان می‌دهد. هرچه pH افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بیشتر می‌شود و بیشترین استخراج در pH برابر ۵ مشاهده گردید. در زمان ثابت ۲۰ دقیقه هرچه دما افزایش می‌یابد میزان استخراج رنگدانه بتاسیانین بیشتر می‌شود.



شکل ۳- اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاسیانین در (الف) زمان ثابت ۱۰ دقیقه (ب) زمان ثابت ۱۵ دقیقه و (ج)

زمان ثابت ۲۰ دقیقه

Fig3- The interaction of independent variables on extraction of β -cyanin in A) 10 min B) 15 min and C) 20 min

در میان فاکتورهای مختلف دما بحرانی‌ترین فاکتور است که روی تجزیه بتالائین‌ها اثر می‌گذارد. نتایج نشان می‌دهد بهترین دما برای استخراج دمای ۲۰ درجه است از این رو در دماهای پایین‌تر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین پایداری مشاهده می‌شود زیرا رنگدانه موجود در چغندر به حرارت حساس بوده و تجزیه می‌گردد. بنابراین می‌توان بیان کرد که افزایش میزان بتاسیانین که با افزایش دما در ابتدا شاهد آن هستیم می‌تواند به دلیل نرم شدن بافت گیاه، ترشح موثرتر ترکیبات زیست فعال از اجزای ماتریکس و افزایش نفوذپذیری دیواره سلولی در سلول‌ها باشد. پس افزایش دما به افزایش حلالیت رنگدانه و افزایش ضریب انتشار کمک می‌کند که به افزایش سرعت استخراج نیز منجر می‌شود (Maran et al., 2013). اما کاهش میزان بتاسیانین که در دماهای بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود می‌تواند به دلیل تجزیه رنگدانه‌ها باشد. دما به طور اغلب باعث اکسیداسیون (مانند دهیدروژنه شدن در حضور اکسیژن)، هیدرولیز پیوند آلدیمین و دکربوکسیله شدن بتالائین‌ها می‌شود که در نتیجه رنگ آن‌ها به نارنجی-زرد تغییر می‌کند.

نتایج نشان داد که بالاترین پایداری عصاره استخراج شده در pH برابر ۵ بدست می‌آید زیرا این رنگدانه‌ها در pH ۳ تا ۷ بیش‌ترین پایداری را نشان می‌دهند. بتاسیانین‌ها در شرایط اسیدی بیش‌ترین پایداری را دارند. در pH ۳ تا ۷ رنگ

بتالائین‌ها تغییر نمی‌کند. وقتی که pH به زیر ۳ می‌رسد ساختار بتالائین‌ها از رنگ قرمز آنیونی به بنفش کاتیونی تبدیل می‌شود. شرایط قلیایی (pH بالاتر از ۷) موجب هیدرولیز پیوند آلدیمین می‌شود که نتیجه تخریب سریع بتالائین‌ها به بتالامیک اسید و سیکلودوپا-۵-۵-گلوکوزید و تغییر رنگ به زرد-قهوه‌ای است. نتایج به دست آمده در مورد اثر pH و دما روی رنگدانه با نتایج فخاری زواره و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت داشت. آن‌ها در مورد اثر pH بر رنگ بتانین مشاهده کردند که در pH کمتر از ۴ رنگ قرمز بتانین به بنفش تبدیل می‌شود و در pH بالاتر از ۶ رنگ محلول‌های حاوی بتانین آبی می‌شود. بیش‌ترین اثر آبی شدن در pH برابر ۸ رخ می‌دهد، تحت شرایط قلیایی قوی‌تر به سرعت به رنگ قهوه‌ای تغییر کرده و بتانین از بین می‌رود. زمان همواره میزان ترکیبات استخراج شده را افزایش می‌دهد علت آن است که باید برای ایجاد حفره در غشای سلول‌های چغندر زمان کافی داده شود تا با ایجاد حفره در غشا استخراج راحت‌تر صورت گیرد به همین دلیل در این پژوهش هرچه زمان افزایش پیدا کرد استخراج بیشتری صورت گرفت. لاکسی ویلکا و همکاران (۲۰۱۸) در ارتباط با اثر زمان روی استخراج بتالائین از میوه کینوا بیان کردند که با افزایش زمان استخراج میزان بتالائین استخراج شده نیز افزایش می‌یابد.

بتاگزانتین

معادله ۵ مدل پیشنهادی برای این پاسخ به صورت چند جمله‌ای درجه دوم است.

معادله (۵)

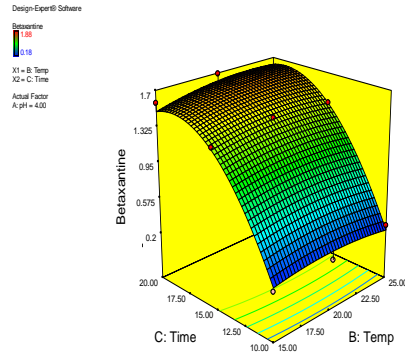
$$Betaxantine = -4/63 - 0/13A + 0/07B + 0/56C + 1/66 \times 10^{-3}AB + 0/016AC + 1/6 \times 10^{-3}BC - 2/77 \times 10^{-3}A^2 - 2/51 \times 10^{-3}B^2 - 0/017C^2$$

در این معادله متغیرهای (A) pH، (B) دما و (C) زمان می‌باشند.

جدول ۳ نتایج آنالیز واریانس را برای ارزیابی پارامتر پاسخ استخراج رنگدانه بتاگزانتین چغندر قرمز در مورد مدل درجه دوم با آثار متقابل نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌گردد پارامترهای pH و زمان اثر معنی‌داری بر پاسخ استخراج بتاگزانتین از چغندر قرمز دارند اما دما اثر معنی‌داری بر این پاسخ ندارد. مقدار P-value مربوط به آثار متقابل

جمله AC کمتر از ۰/۰۵ است ($p < ۰/۰۰۰۳$). بنابراین تاثیر معنا داری بر مدل دارد. جمله درجه دوم C^2 (درجه دوم پارامتر زمان) دارای مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ است ($p < ۰/۰۰۱$) و تاثیر معناداری بر مدل دارد. عدم برازش در این مدل با مقدار ۴/۲۵ معنادار نیست ($P > ۰/۰۵$) و به عبارت دیگر مدل داده های تجربی را برازش می کند. مقدار ضریب تبیین (R^2) برابر با ۰/۹۹۲۶ است و بیانگر تطبیق زیاد نتایج مدل با نتایج تجربی است. R^2 متعادل شده در این مدل ۰/۹۸۸۷ می باشد که نشان می دهد تنها ۱/۱۳ درصد از متغیرهای کل به وسیله مدل توجیه نشده اند. R^2 پیش بینی شده در این مدل برابر ۰/۹۷۹۲ است که متناسب با R^2 متعادل شده می باشد.

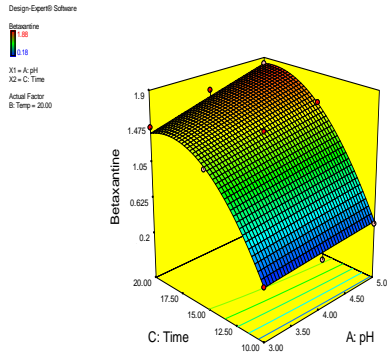
در شکل (۴) اثر متقابل دما و زمان در pH ثابت ۴ بر روی استخراج بتاگزانتین مشاهده می شود. افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی گراد اثر معناداری بر میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین دارد و از دمای ۲۰ درجه به بعد، افزایش دما باعث کاهش استخراج بتاگزانتین می شود. همچنین افزایش زمان اثر معناداری بر میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین دارد. بیشترین میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین در زمان ۲۰ دقیقه می باشد. بیشترین میزان استخراج رنگدانه در دمای ۲۰ درجه می باشد.



شکل ۴- اثر متقابل دما و زمان بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین در pH ثابت ۴

Fig 4- The interaction of independent variables on extraction of β -Xanthine at pH=4

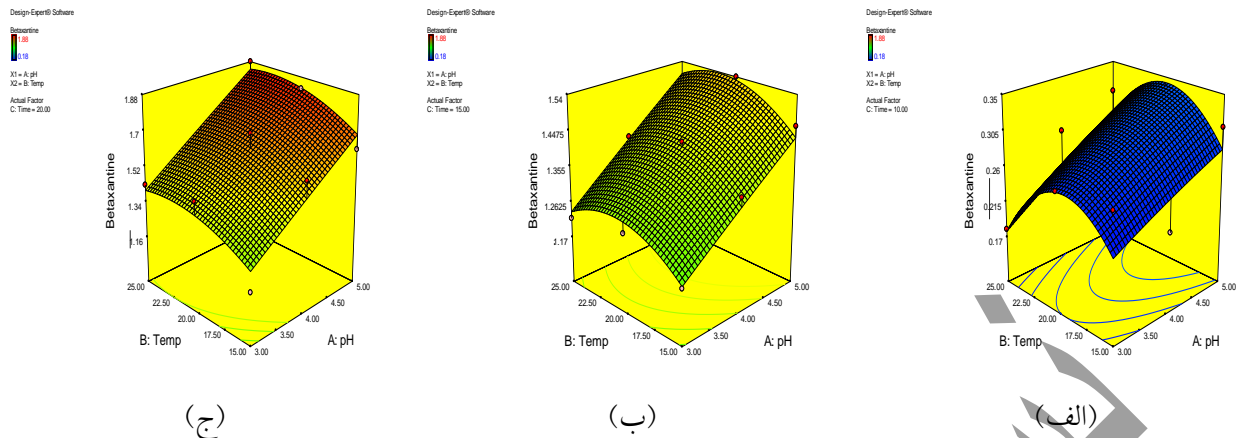
شکل (۵) اثر متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی گراد نشان می‌دهد. در نتایج آنالیز واریانس نیز مشاهده گردید افزایش pH اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر مدل و میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین دارد. افزایش pH از ۳ به ۵ سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاگزانتین شده است و افزایش زمان از ۱۰ به ۲۰ همین نتیجه را به دنبال داشته و سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاگزانتین از چغندر قرمز شده است. چنانچه مشاهده می‌شود افزایش pH و افزایش زمان سبب افزایش استخراج رنگدانه بتاگزانتین شده است و بیشترین استخراج این رنگدانه در pH برابر ۵ و زمان برابر ۲۰ دقیقه مشاهده شد.



شکل ۵- اثرات متقابل pH و زمان بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین در دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی گراد

Fig5- The interaction of independent variables on extraction of β -Xanthine at 20 °C

شکل (۶ الف) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در زمان ثابت ۱۰ دقیقه نشان می دهد. مشاهده می شود که افزایش pH سبب افزایش میزان استخراج رنگدانه می شود و بیشترین میزان استخراج رنگدانه در افزایش pH از ۳ به ۵ مشاهده گردید. با افزایش دما از ۱۵ درجه به ۲۰ درجه بیشترین استخراج رنگدانه و از ۲۰ درجه به بعد کاهش استخراج رنگدانه مشاهده گردید. شکل (۶ ب) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در زمان ثابت ۱۵ دقیقه نشان می دهد. مشاهده می شود که هرچه pH و دما افزایش می یابد میزان استخراج رنگدانه بیشتر می شود. شکل (۶ ج) اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین را در زمان ثابت ۲۰ دقیقه نشان می دهد. هرچه pH افزایش می یابد میزان استخراج رنگدانه بیشتر می شود و بیشترین استخراج در pH برابر ۵ مشاهده گردید. در زمان ثابت ۲۰ دقیقه هرچه دما افزایش می یابد میزان استخراج رنگدانه بتاگزانتین بیشتر می شود.



شکل ۶- اثرات متقابل pH و دما بر استخراج رنگدانه بتاگزانتین در (الف) زمان ثابت ۱۰ دقیقه (ب) زمان ثابت ۱۵ دقیقه و (ج) زمان ثابت ۲۰ دقیقه

Fig6- The interaction of independent variables on extraction of β -Xanthine in A) 10 min B) 15 min and C) 20 min

در بررسی اثر متغیرهای فرآیند روی میزان استخراج بتاگزانتین دما تاثیر معنی داری روی استخراج بتاگزانتین ندارد، با این حال با افزایش دما محتوای بتاگزانتین افزایش می یابد زیرا مقدار رنگدانه استخراج شده به وسیله فراصوت با دما تغییر پیدا می کند. این به دلیل اثر حفره سازی روی تورم و بزرگ شدن خلل و فرج در مواد است که کارایی استخراج را افزایش می دهد. افزایش دما، کشش سطحی و ویسکوزیته حلال را کاهش می دهد. بنابراین نه تنها روی حفره سازی فراصوت بلکه همچنین روی سرعت انتقال جرم نیز اثر می گذارد. نتایج بدست آمده از پژوهش نشان داد که زمان استخراج بسیار مهم است به دلیل اینکه اگر بیش از حد کوتاه یا بیش از حد طولانی باشد احتمالاً باعث عدم استخراج شایسته ترکیبات یا تجزیه آنها می گردد و بهترین دما برای استخراج دمای ۲۰ درجه نشان داده شده است. همچنین افزایش pH باعث افزایش رنگدانه بتاگزانتین می شود زیرا بتاگزانتین ها در شرایط خنثی بیشترین بازدهی را دارند.

معتبرسازی مدل

برای تایید صحت شرایط بهینه شده، مقایسه نتایج آزمایشگاهی و مقادیر پیش‌بینی شده پاسخ‌های مورد بررسی بر اساس نقطه بهینه پیشنهادی توسط الگوریتم بهینه سازی روش سطح پاسخ از طریق آزمون تی استیودنت؛ بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۵٪ بود. جدول ۴، مقادیر میانگین بازده، بتاسیانین و بتاگزانتین آزمایشگاهی و پیش‌بینی شده بدست آمده در نقاط بهینه را نشان می‌دهد.

جدول ۴- مقادیر بتاگزانتین، بتاسیانین و بازده پیش‌بینی شده و آزمایشگاهی به دست آمده در نقطه بهینه

Table 4- Experimental and predicted values of yield, β -Cyanine and β -Xanthine in optimum points

مقادیر آزمایشگاهی	مقادیر پیش‌بینی	مقادیر	مقادیر پیش-بینی شده	مقادیر آزمایشگاهی	مقادیر پیش-بینی شده	سطوح بهینه پارامترهای فرآیند	
						زمان (min)	دما (°C)
بازده (وزن ریشه چغندر/ وزن عصاره)	بازده (وزن ریشه چغندر/ وزن عصاره)	آزمایشگاهی	بینی شده	بتاگزانتین	بتاگزانتین	زمان (min)	دما (°C)
Experimental Yield	Predicted Yield	Experimented β -Cyanine	Predicted β -Cyanine	Experimented β -Xanthine	Predicted β -Xanthine	Time	Temperature
(%)	(%)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)		
$\pm 3/26^a$	$91/26^a$	$\pm 0/21^a$	$2/298^a$	$1/0 \pm 72/14^a$	$1/837^a$	۲۰	۲۱
۸۹/۲۰		۲/۱۱۲					

حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون T-Test در سطح احتمال ۵ درصد است.

Different letters in each row indicate significant difference at 5% level of the T test.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق نتایج به طور کلی نشان داد هر چه میزان pH و زمان فرآیند استخراج افزایش یابد، استخراج بتاسیانین و بتاگزانتین نیز افزایش می‌یابد همچنین برای استخراج رنگدانه‌های بتاسیانین بهتر است از دماهای کمتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شود زیرا رنگدانه‌های بتاسیانین به حرارت بالا حساس هستند و در دماهای بالاتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد تخریب می‌شوند. در این پژوهش در pH برابر ۵، دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه حداکثر بازدهی مشاهده شد. مقایسه مقادیر بدست آمده آزمایشگاهی و مقادیر پیش‌بینی شده پاسخ مورد بررسی در نقطه بهینه پیشنهادی الگوریتم بهینه سازی از طریق آزمون تی استیودنت، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۵٪ بود. با

توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش می‌توان استخراج به کمک دستگاه فراصوت را روشی کارآمد و سریع دانست. استخراج بتالائین از چغندر قرمز به کمک دستگاه فراصوت به دلیل کاهش زمان، دما، انرژی مصرفی، کاهش مصرف حلال و به طبع آن کاهش هزینه بازیابی روشی اقتصادی است که می‌تواند جایگزین روش‌های متداول استخراج در صنعت گردد.

منابع

- چنگیزی آشتیانی، رمضانی، پورچراغی، افضلی، پیروزی، پرنده، آتشی، سینا زارعی، ۲۰۱۹. بررسی اثربخشی گیاه نسترن کوهی (*Rosa Canina L*) در برخی از بیماری‌ها (یک مطالعه مروری). مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک، 22(5), pp.6-17.
- رنجبر ندامانی، آ. (۱۴۰۰). افزایش پایداری رنگدانه‌های طبیعی مواد غذایی - مقاله مروری، پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، 10(4), pp. 369-388. doi: 10.22101/JRIFST.2022.277772.1235
- ظهوری، آ.، طباطبایی یزدی، ف.، مرتضوی، س. ع. و شهیدی، ف.، ۱۳۹۵، بررسی و مقایسه میزان بازدهی و استخراج ترکیبات رنگی و طبیعی چغندر قرمز با استفاده از روش‌های عصاره‌گیری خیساندن و فراصوت، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۵۲، ۱۳، ۵۴-۴۷.
- فخاری زواره، ع. و باقی پور، س.، ۱۳۸۸، استخراج ماده رنگزای غذایی از چغندر قرمز و بررسی شرایط پایداری آن، نشریه علمی - پژوهشی علوم و فناوری رنگ، ۳، ۲۵۰-۲۴۳.
- کوشش، س. و گل‌مکانی، م. ت.، ۱۳۹۴، بهینه‌سازی شرایط استخراج بتالائین از چغندر قرمز به کمک مایکروویو و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل، نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۷، ۲، ۳۹-۶۰.

Aberoumand, A., 2011, A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. *World J Dairy Food Sci*, 6(1), 71-78.

Bas, D., & Boyac, I., 2007, Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. *Journal of Food Engineering*, 78, 846-854.

- Cardoso-Ugarte, G., Sosa-Morales, M., Ballard, T., Liceaga, A., & San Martín-González, M., 2014, Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 276-282 .
- De Sotillo, D. R., Hadley, M., & Holm, E., 1994, Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *Journal of Food Science*, 59(3), 649-651.
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A., & Paredes-López, O., 2000, Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(3), 173-289.
- Downham, A., & Collins, P., 2000, Colouring our foods in the last and next millennium. *International journal of food science & technology*, 35(1), 5-22.
- Escribano, J., Pedreño, M.A., García-Carmona, F., & Muñoz, R., 1998, Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 9(3), 124-127.
- Hendry, G.A.F., & Houghton, J., 1996, *Natural food colorants*: Springer Science & Business Media.
- Laqui-Vilca, C., Aguilar-Tuesta, S., Mamani-Navarro, W., Montaña-Bustamante, J., & Condezo-Hoyos, L., 2018, Ultrasound-assisted optimal extraction and thermal stability of betalains from colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) hulls. *Industrial Crops and Products*, 111, 606-614.
- Lee, W., Yusof, S., Hamid, N., & Baharin, B., 2006, Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (RSM). *Journal of food engineering*, 75(4), 473-479.
- Maran, J.P., Manikandan, S., & Mekala, V., 2013, Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box–Behnken design with desirability function. *Industrial Crops and Products*, 49, 304-311.
- Pavlov, A., Georgiev, V., & Ilieva, M., 2005, Betalain biosynthesis by red beet (*Beta vulgaris* L.) hairy root culture. *Process Biochemistry*, 40(5), 1531-1533.
- Righi Pessoa da Silva, H., da Silva, C. and Bolanho, B.C., 2018. Ultrasonic- assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of food process engineering*, 41(6), p.e12833.
- Stintzing, F.C., & Carle, R., 2004, Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 15(1), 19-38.