

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

محمدعلی شب خیز^۱، محمدحسن ایکانی^{۲*}، فرشته گل محمد^۳، زین العابدین بشیری صدر^۴

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

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

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

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

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

چکیده

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

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

۱- مقدمه

و در برخی موارد تا ۱۰۰ برابر ساکارز گزارش شده است. اسید گلیسیریزیک دارای این ویژگی است که طعم آن در دهان به مدت طولانی باقی مانده و شیرینی آن به تدریج احساس می‌شود. این ویژگی‌ها موجب شده است که به عنوان شیرین کننده‌ای مجاز با کالری پایین و تشدید کننده طعم^۷ بدون مشارکت در ایجاد بیماری‌ها و عوارضی چون دیابت، پوسیدگی دندان، در صنایع غذایی کاربرد یابد [۶]. از طرفی این ترکیب دارای خواص فارماکولوژیک گسترده‌ای می‌باشد که می‌توان به اثرات ضدالتهابی و ضدحساسیتی آن در آسم، ممانعت از ترشح اسید معده، بهبود زخم معده و اثنی عشر، بهبود اختلال عملکرد کبد، رفع اگزما و سایر بیماری‌ها اشاره کرد [۲، ۳، ۴، ۶ و ۷].

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

در تمامی فرایندهای استخراج یک یا چند جزء، از یک فاز به فاز دیگری منتقل می‌شوند. روش‌های متداول استخراج مانند استخراج سوکسله^۱ معمولاً با مصرف مقادیر زیادی از حلال‌های آلی زبان‌آور همراه هستند و در بسیاری موارد به‌کارگیری این گونه مواد، مواد زائد مضر ایجاد می‌کند که باید در سطح جهانی مورد توجه قرار گیرند. امروزه بر استفاده از روش‌هایی تاکید می‌شود که کم‌ترین حلال آلی را مورد استفاده قرار می‌دهند و یا به‌طور کلی از حلال‌های آلی استفاده نمی‌شود. از جمله این روش‌ها، روش استخراج با آب داغ تحت فشار^۲ است. این روش استخراج برای استخراج حرارتی ترکیبات قطبی و غیرقطبی در اغلب گیاهان دارویی استفاده شده است [۱].

گیاه شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra L* و با نام انگلیسی Licorice، گیاهی علفی، درختچه‌ای و چند ساله، یکی از گیاهان دارویی مهم که متعلق به تیره اصلی بقولات^۳ و تیره پروانه‌واران^۴ و از راسته گل سرخیان^۵ است. گلیسیریزا گلابرا یک نام یونانی است و از دو واژه گلیکیس به معنی شیرین و ریزا به معنی ریشه مشتق شده است و گلابرا به معنای صاف و بدون کرک است که به بدون کرک بودن میوه این گیاه اشاره دارد. این گیاه در طب سنتی، صنایع داروسازی، صنایع دخانیات و در صنایع غذایی مانند صنایع نوشابه‌سازی، تولید محصولات غذایی پخته شده، صمغ‌های جویدنی (آدامس) و شیرینی سازی کاربرد دارد [۴-۲] و به علت مصارف گسترده جهانی از ارزش تجاری قابل توجهی در دنیا برخوردار است. ریشه شیرین بیان دارای ترکیبات متعددی نظیر قندهای مختلف (تا ۱۸ درصد)، فلاونوئیدها، استرول‌ها، اسیدهای آمینه، صمغ، نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها می‌باشد [۵]. عمده‌ترین و مهم‌ترین ساپونین آن اسید گلیسیریزیک^۶ با فرمول $C_{41}H_{64}O_{16}$ می‌باشد شکل ۱ که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسیرتیک (آگلیکون) تشکیل و شیرینی آن ۳۰ تا ۵۰ برابر

1. Soxhlet
2. Pressurized Hot Water Extraction, (PHWE)
3. leguminosaea
4. Fabaceae
5. Rosales
6. Glycyrrhizic acid

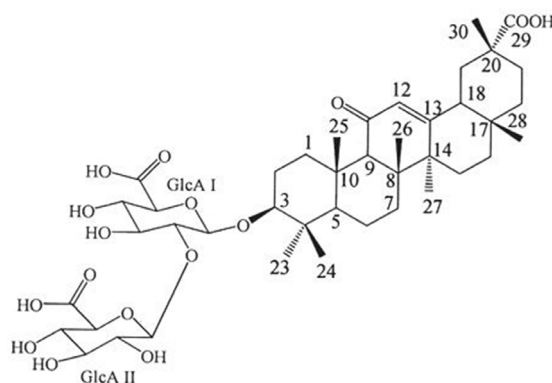
7. Flavour enhancer

8. Microwave-assisted extraction

حل شونده، دما و فرکانس امواج فراصوت که عوامل مؤثر بر بازده اسید گلیسیریزیک هستند، بهینه‌سازی شدند. بیش‌ترین میزان بازده اسید گلیسیریزیک در طی ۱۰ دقیقه، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، فرکانس ۲۵ کیلو هرتز و نسبت حلال به ماده حل شونده ۱:۳۰ حاصل شد. در واقع استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به روش متداول یعنی روش سوکسله، استخراج اسید گلیسیریزیک نه تنها باعث کاهش زمان فرایند شد، بلکه میزان بازده را نیز افزایش داد [۱۰]. لذا در توسعه روش‌های جدید استخراج، مانند استخراج با اولتراسونیک و مایکروویو اهدافی مانند کاهش مدت زمان استخراج، کاهش حلال مورد استفاده و بهبود کارایی استخراج دنبال می‌شود.

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

استخراج توسط مایکروویو مناسب‌تر است [۹]. یک روش جدید برای جداسازی مونوآمونوم گلیسیریزات از ریشه شیرین بیان در سال ۲۰۰۸ ابداع شد. در این فرایند آمونیاک در آب داغ حل شد و با تزریق دی اکسید کربن فشار سیستم بالا برده شد. این روش در واقع یک نوآوری از روش استخراج با آب گرم تحت فشار زیاد بوده که در آن با تغییر متغیرهایی نظیر دما، ۱۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد، فشار، ۱۰-۱ اتمسفر، زمان استخراج، ۱۲۰-۶۰ دقیقه، نسبت آب به جریان ورودی، ۴۰-۲۰ میلی‌لیتر بر گرم، تعداد مراحل، ۳-۱، سرعت هم‌زدن، ۳۵۰-۰ دور در دقیقه، غلظت آمونیاک، ۴-۱٪ و وزنی حجمی و هم‌چنین خرد کردن ریشه، بهترین شرایط برای بیش‌ترین بازیافت مونوآمونوم گلیسیریزات به دست آمد. براساس این مطالعه، بیش‌ترین بازیافت مونوآمونوم گلیسیریزات از ریشه شیرین بیان در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۵ اتمسفر با نسبت ۴۰ میلی‌لیتر بر گرم از محلول آمونیاک یعنی ۰/۰۱٪ وزنی حجمی، به جریان پودر ورودی و پس از ۹۰ دقیقه استخراج حاصل شد [۵]. در سال ۲۰۱۲ استخراج اسید گلیسیریزیک با استفاده از امواج فراصوت از ریشه شیرین بیان استخراج گردید. پارامترهای مختلفی چون زمان استخراج، نسبت حلال به ماده



شکل (۱) ساختار اسید گلیسیریزیک

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

شیرین بیان پس از تمیز شدن و گرفتن گل و لای آن، با فیچی باغبانی به قطعات کوچک‌تری بریده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ هفته خشک شدند. سپس ریشه‌ها با آسیاب چکشی، پودر و در کیسه پلی اتیلنی در فریزر، در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد، نگهداری شدند. میانگین

ریشه شیرین بیان از آزمایشگاه گیاهان دارویی پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به روش نمونه‌برداری ساده تهیه شد. ریشه‌های

برداشته شد و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر با محلول آب آمونیاکی به حجم رسید و سپس با HPLC آنالیز گردید. بازده استخراج ۲۸/۷۶۰ میلی‌گرم بر گرم نمونه خشک بود.

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

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

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

درصد رطوبت (وزنی/وزنی) ریشه‌های شیرین بیان ۵/۴۹٪ بود. مونوآمونیوم گلیسیریزیک اسید با درجه خلوص ۹۹/۵٪ به عنوان استاندارد HPLC شرکت سیگما^۱ و آب، اتانول، متانول، آمونیاک غلیظ مربوط به شرکت مرک^۲ آلمان به کار برده شد. کارتریج‌های تجاری C_{۱۸}، شرکت ماچ ری-ناگل، آلمان، سرنگ ۵۰۰ میلی‌گرم بر ۳ میلی‌لیتر، برای فیلتر کردن نمونه‌های تزریقی به HPLC استفاده شدند.

۲-۲- استخراج با سوکسله

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

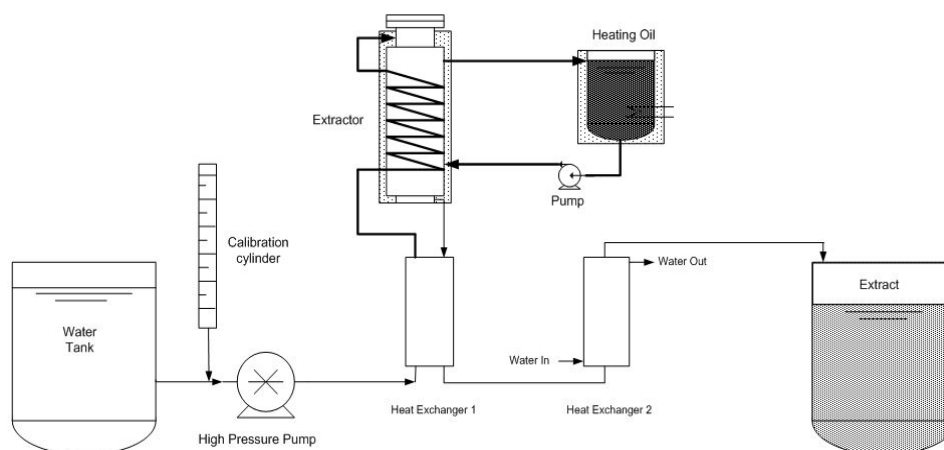


شکل (۲) شماتیک دستگاه استخراج با آب داغ تحت فشار در مقیاس پیلوت

دیگرام دستگاه آب داغ تحت فشار در مقیاس پیلوت در شکل ۳ آمده است. این دستگاه شامل دو مخزن، مخزن خوراک آب و مخزن عصاره استخراجی که از جنس استیل ضد زنگ ۳۰۴ به حجم ۱۴۰ لیتر می‌باشد. پمپ فشار قوی IDEAL Co. (SINGLE PHASE ELECTRIC MOTOR –

TYPE: YL90L-2) برای ایجاد فشار در سیستم و انتقال آب در شدت جریان‌های مورد نیاز استفاده شده است. خروجی پمپ می‌تواند در سرعت‌های جریان مورد نیاز با دکمه ضربان تنظیم شده و با استفاده از استوانه کالیبراسیون (۵ لیتری) تعبیه شده در ورودی خط لوله بررسی شود. سیستم گرمایش از جمله اقتصادی‌ترین روش‌ها برای بالا بردن دمای آب تا

1. Sigma
2. Merck



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

۳۱۶ استفاده شده است. اولین پمپ در مسیر ورودی به پمپ و دومین فیلتر در خروجی مبدل گرمایی و قبل از ورود عصاره به رگلاتور نصب شده است.

۲-۴- روش آنالیز با HPLC

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

۲-۵- روش آماری

تحلیل آماری با نرم افزار Minitab انجام شد روش مورد استفاده، DOE^۲ و روش سطح پاسخ بود. RSM مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرایندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه

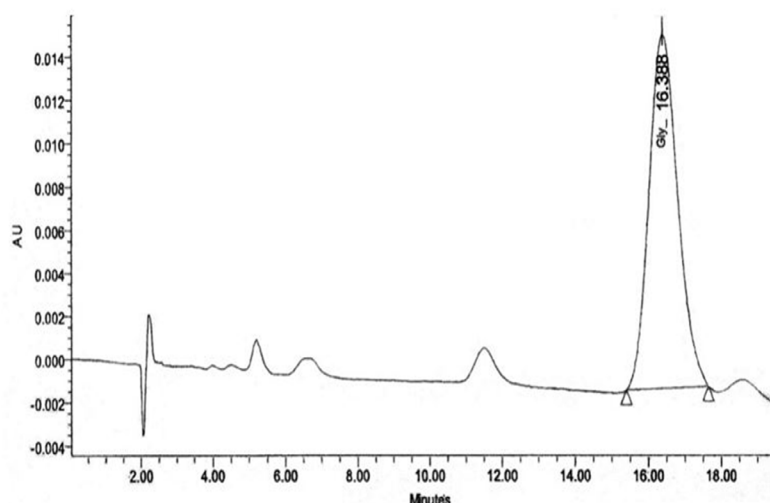
3. μ Bondapak octadecylsilyl silicagel 10 μ m (3.9×300mm)

4. Design of experiment

حداکثر ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و انجام عمل استخراج در مقیاس پایلوت استفاده از روغن داغ است. در ساخت پایلوت استخراج، مخزنی مجزا با المنت‌های برقی با ظرفیت ۲ کیلووات برای این کار در نظر گرفته شده است. برای ایمنی بالاتر، از روغن سیلیکون به میزان ۲۰ لیتر به عنوان سیال داغ استفاده شده است. مهم‌ترین بخش دستگاه، محفظه استخراج آن است. محفظه استخراج از جنس استیل ضد زنگ ۳۰۴ به حجم ۵ لیتر، قطر داخلی ۱۰۰ میلی‌متر، ضخامت ۸ میلی‌متر، طول ۸۵۰ میلی‌متر، در نظر گرفته شده است و برای استقرار نمونه گیاهی، از یک سبد فلزی که به راحتی در داخل ظرف قرار گیرد، استفاده می‌شود. فشار و دما در قبل و بعد از محفظه استخراج توسط آشکارگرهای دما و فشار نشان داده می‌شود. برای استفاده بهینه از انرژی و به حداقل رساندن اتلاف انرژی، از دو مبدل گرمایی دوجداره^۱ استفاده شده است. در مبدل گرمایی اول در جداره داخلی و بیرونی به ترتیب آب سرد خوراک و عصاره داغ خروجی از ظرف استخراج و در مبدل گرمایی دوم در جداره داخلی عصاره نیمه داغ و در جداره بیرونی آب سرد شهری عبور داده شده است. بدین شکل آب سرد خوراک عصاره داغ را در یک مرحله سرد نموده و خود پیش گرم می‌شود. مبدل دوم یک تجهیز کمکی بوده و برای سردسازی کامل عصاره تا دمای محیط استفاده می‌شود. برای حفاظت از پمپ و رگلاتور کنترل فشار، از دو عدد فیلتر ۱۴۰ میکرون ساخت شرکت ناپرو^۲ آمریکا از جنس استیل ضد زنگ

1. Double pipe

2. Nupro



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

کدبندی شده هستند. متدولوژی رویه پاسخ شده است. با کمک این طرح آماری،

تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. مهم‌ترین مسئله این تحقیق بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود. از این رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب شد. در این مطالعه اثر متغیرهای مستقل شامل X_1 دما و X_2 شدت جریان مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول ۱ نشان داده شده است. ۳ تکرار نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده شد [۱۲].

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

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

که $\beta_0, \beta_1, \beta_2$ و β_{ij} ضرایب رگرسیونی برای به ترتیب عرض از مبدا، خطی، درجه دوم و برهم کنش و X_1 و X_2 متغیرهای

۳- نتایج و بحث
بر اساس جدول آزمایشات طراحی شده توسط نرم افزار آماری مینی تب^۱، ۱۱ مورد استخراج نهایی انجام شد. با توجه به تحقیقات قبلی در بین پارامترهای موثر، فشار کم‌ترین اهمیت دارد لذا فشار در ۱۵ بار در همه آزمایش‌ها ثابت در نظر گرفته شد و تاثیر پارامترهای دما، ۶۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد و شدت جریان، ۱۰۰-۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، بر میزان استخراج اسید گلیسیریزیک مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۲ نتایج به‌دست آمده از آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. به کمک ضرایب رگرسیون اثر شرایط استخراج بر روی متغیرهای وابسته محاسبه شد. جدول‌های ۳ و ۴ نتایج حاصل از تجزیه آماری را نشان می‌دهد.

جدول (۱) نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها

کد و سطح مربوطه			نماد ریاضی	متغیرهای مستقل
-۱	۰	+۱		
۶۰	۷۵	۹۰	X_1	دما (درجه سلسیوس)
۱۰۰	۲۰۰	۳۰۰	X_2	شدت جریان (میلی لیتر در ثانیه)

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

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

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

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

* تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد ($P < 0.05$)

ضریب تبیین (R-sq) ۸۵/۲۸٪

ضریب تبیین اصلاح شده (R-sq.ad) ۹۸/۲۳٪

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

1. Lack of fit

جدول (۴) مقادیر ضرایب مدل رگرسیون برازش شده

درجه آزادی				ضرایب رگرسیون
P value	خطای استاندارد ضرایب	ضریب	تأثیر	
* ۰/۰۰۰	۳۸/۸	۲۱۹۰/۷	۲/۳۱۴	ثابت (β_0)
* ۰/۰۰۴	۳۰/۹	۱۵۷/۱	۶/۸۸۸	دما (β_1)
* ۰/۰۰۰	۳۰/۹	۴۴۴/۳	۹/۱۰۲	شدت جریان (β_2)
* ۰/۳۲۹	۴۷/۶	۵۱/۵	- ۸/۶۳۲	دما×دما (β_{11})
۰/۰۰۱	۴۷/۶	-۳۱۶/۴	۰/۳۴	شدت جریان×شدت جریان (β_2)
۰/۶۷۲	۳۷/۹	۱۷/۰		دما×شدت جریان (β_{12})
* تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد ($P < ۰/۰۵$)				
مدل نهایی برای متغیرهای وابسته				
$Y = 618.0 - 9.117 \text{ Temperature} - 1.26 \text{ Flow rate} + 0.03376 \text{ Temperature} * \text{Temperature} + 0.278 \text{ Flow rate} * \text{Flow rate} + 0.0219 \text{ Temperature} * \text{Flow rate}$				

۳-۱- بررسی اثر دما

در نظر گرفتن دما، ۱۴۶۴/۳، ۲۲۱۱/۵ و ۲۳۵۹/۹ میلی گرم در ۵۰ گرم نمونه خشک بود (شکل ۵). همان طور که در نمودار هم مشخص است، مقدار اسید گلیسیریزیک استخراج شده در دبی جریان‌های بالا بیش تر می‌شود. لذا افزایش شدت جریان حلال در سطح اطمینان ۵ درصد اثر معنی‌داری بر میزان استخراج اسید گلیسیریزیک دارد. به نظر می‌رسد افزایش دبی جریان باعث افزایش سرعت سطحی و به دنبال آن انتقال جرم سریع تر می‌شود [۱۴، ۱۵]. هدف در این مطالعه استخراج بیش‌ترین مقدار اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان بود و بر اساس آزمایشات، این مهم در شدت جریان ۳۰۰ میلی لیتر بر دقیقه محقق شد. بنابراین این شدت جریان به عنوان شدت جریان بهینه انتخاب گردید. هم‌چنین بالا بودن ضریب رگرسیونی شدت جریان نسبت به ضریب رگرسیونی دما، نشان دهنده تأثیر بیش‌تر این فاکتور نسبت به عامل دما در این محدوده دمایی است.

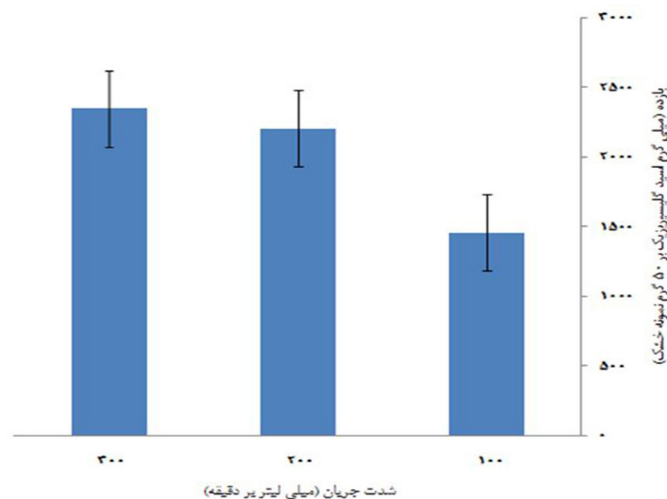
تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار دما در مقیاس پایلوت بر نسبت استخراج اسید گلیسیریزیک در دماهای مختلف در سطح اطمینان پنج درصد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که با افزایش دما از ۶۰ به ۹۰ درجه سانتی‌گراد مقدار اسید گلیسیریزیک بیش‌تری استخراج شده است؛ چرا که در شرایط دمای بالا، مزایای فیزیکی نظیر نفوذ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

۳-۲- بررسی اثر شدت جریان

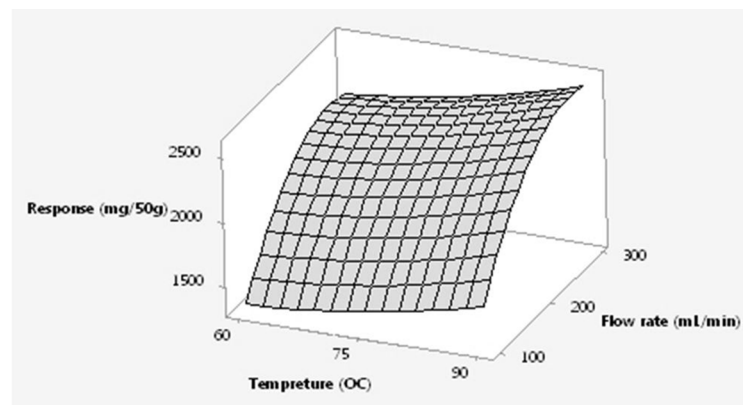
اثر افزایش شدت جریان حلال، در سه سطح دمایی بر میانگین میزان استخراج بررسی گردید. با توجه به این‌که مدت زمان استخراج برای هر نمونه ۹۰ دقیقه در نظر گرفته شده بود، عصاره حاصله در دبی‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی لیتر بر دقیقه، به ترتیب ۹، ۱۸ و ۲۷ لیتر بود. در دبی‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی لیتر بر دقیقه میانگین میزان استخراج بدون

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

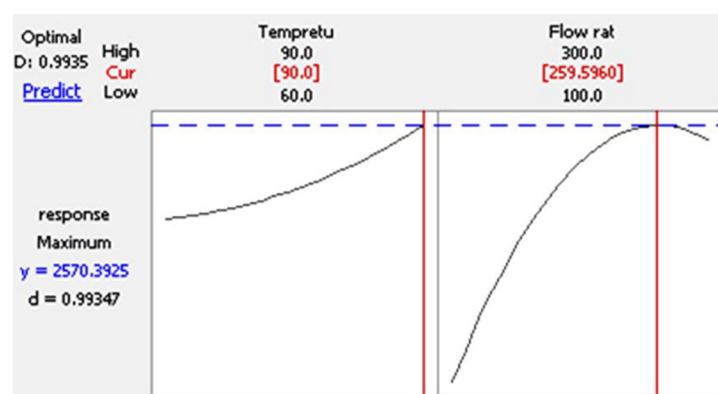
مدل‌سازی و بهینه‌سازی استخراج اسید گلیسیریزیک به روش آب داغ تحت فشار در شکل ۶ آمده است و تأثیرات دما و شدت جریان بر راندمان استخراج را نشان می‌دهد. در این تحقیق هدف



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



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



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

در بهینه‌سازی، بیشینه‌سازی مقدار محتوای اسید گلیسیریزیک اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان در فشار ثابت ۱۵ بار و عصاره‌های استخراجی بود. بررسی نتایج آزمایش‌ها مربوط به این روش استخراج نشان داد که بهترین شرایط برای استخراج جریان ۳۰۰ میلی لیتر بر دقیقه می‌باشد (شکل ۷).



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

مقایسه با استخراج با سوکسله دارد. در روش استخراج با آب داغ تحت فشار از حلال آلی استفاده نشده و زمان استخراج در این روش ۹۰ دقیقه است که نسبت به روش استخراج با سوکسله ۲۴۰ دقیقه، به مراتب کمتر است که در وقت و انرژی صرفه‌جویی می‌شود. لذا با نگاهی اجمالی به این دو روش می‌توان روش استخراج با آب داغ تحت فشار را سرآمد و روشی سبز در استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان دانست.

در جدول ۵ مقدار اسید گلیسیریزیک به‌دست آمده با استخراج به روش آب داغ تحت فشار و استخراج با سوکسله را نشان داده شده است. مقدار اسید گلیسیریزیک استخراج شده با روش آب داغ تحت فشار و سوکسله به ترتیب ۵/۱۵۷ و ۲/۸۷۶ درصد بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصله روش استخراج با روش آب داغ تحت فشار بازده بیشتری در

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

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

* مدت زمان استخراج ۹۰ دقیقه، دما ۹۰ درجه سانتیگراد، شدت جریان ۳۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه، اندازه ذرات ۱ میلی‌متر
 ** مدت زمان استخراج ۲۴۰ دقیقه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال (۹۸ میلی‌لیتر اتانول ۶۰٪ + ۲ میلی‌لیتر آمونیاک غلیظ)

۴- نتیجه گیری

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

استخراج با روش آب داغ تحت فشار به‌طور موفقیت آمیزی برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه شیرین بیان به‌کار گرفته شد. میزان استخراج اسید گلیسیریزیک در روش استخراج با آب داغ تحت فشار به میزان ۵۱/۵۷۰ میلی‌گرم بر گرم، در مقایسه با روش استخراج

54, 37-41.

منابع

- [1] عبداللہی گوار، آ؛ گودرزنی، ا. (۱۳۸۷). استخراج با آب فوق داغ و کاربرد آن در استخراج ترکیبات مفید از گیاهان. *مجله مهندسی شیمی/ایران*، شماره ۳۷، ص ۶۳-۴۷.
- [2] Kitagawa, I. (2002). Licorice root A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine. *J. Pure Appl. Chem.*, 74 (7), 1189-1198.
- [3] Fenwick, G.R., Lutonski, J., Nieman, C. (1990). Liquorice, *Glycyrrhiza glabra* L. composition, use and analysis. *J. Food Chem.*, 38, 119-143.
- [4] رضایی، م؛ جایمند، ک. (۱۳۷۹). ترکیب‌های شیمیایی در گیاهان دارویی، جلد دوم، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، ص ۲۵-۱۸.
- [5] Mukhopadhyay, M., Panja, P. (2008). A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots. *J. Sep. Purif. Technol.*, 63, 539-545.
- [6] Hough, C.A.M. (1973). Developments in sweeteners-1, edited by Hough C.A.M., Parker, K.J., Vlitos, A.J, LTD London, pp 140-143.
- [7] خان احمدی، م؛ نقدی بادی، ح؛ آخوندزاده، ش؛ خلیقی سیگارودی، ف؛ مهرآفرین، ع؛ شهریاری، س؛ حاجی آقایی، ر. (۱۳۹۲). مروری بر گیاه شیرین بیان. *فصلنامه گیاهان دارویی*، شماره ۴۶، ص ۱-۱۲.
- [8] Wang, Q., Ma, Sh., Fu, B., Lee, F.S.C., Wang, X. (2004). Development of multi-stage countercurrent extraction technology for the extraction of glycyrrhizic acid (GA) from licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Biochem. Eng. J.*, 21, 285-292.
- [9] Pan, X., Liu, H., Jia, G., Shu, Y.Y. (2000). Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root, *Biochem. Eng. J.*, 5, 173-177.
- [10] Charpe, T.W., Rathod, V.K. (2012). Extraction of glycyrrhizic acid from licorice root using ultrasound: Process intensification studies. *Chem. Eng. Process.*,
- [11] The British Pharmacopoeia. (2009). London: British Pharmacopoeial Commission, 2, pp: 1-3.
- [12] Sin, H.N., Yusof, S., Sheikh Abdul Hamid, N., Abd. Rahman, R. (2006). Optimization of hot water extraction for sapodilla juice using response surface methodology. *J. Food Eng.*, 74, 352-357.
- [13] Goto, M., Sato, M., Hirose, T. (1993). Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide, *J. Chem. Eng. JPN.*, 26, 474-481.
- [14] Eikani M.H., Golmohammad, F., Rowshanzamir, S., (2007). Subcritical Water extraction of essential oils from coriander seeds. *J. Food Eng.*, 80, 735-740.
- [15] Cacace, J.E., Mazza, G. (2006). Pressurized low polarity water extraction of lignans from whole flaxseed. *J. Food Eng.*, 77, 1087-1095.