

بهینه‌سازی فرایند استخراج آنتوسبانین زرشک در حضور امواج فرا صوت

احمد پدرام نیا^۱، اکرم شریفی^{۲*}، حمید توکلی پور^۳

^۱ عضو هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

^۲ دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

^۳ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار

تاریخ دریافت : ۱۳۸۹/۱/۱۸ تاریخ پذیرش : ۱۳۸۸/۱۱/۲۳

چکیده

زرشک به عنوان یک محصول منحصر به فرد و بومی در مقیاس اقتصادی در ایران پرورش داده می‌شود و در بقیه‌ی نقاط دنیا جزو کیاهان زیستی یا دارویی به شمار می‌آید. میوه‌ی زرشک با دارا بودن رنگ مناسب و طعم دلپذیر می‌تواند علاوه بر استفاده به صورت میوه‌ی خشک در تهیه‌ی فرآورده‌های غذایی مثل ژله، شربت، مارمالاد، نکtar، لواشک و... مورد استفاده قرار گیرد. به همین دلیل شناخت و بررسی روش‌های مناسب استخراج رنگ از زرشک ضروری به نظر می‌رسد. در این پژوهش استخراج آنتوسبانین‌های زرشک در حضور امواج فرا صوت در سه دمای ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه‌ی سانتیگراد و سه زمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه با دو حلal اسید کلریدریک و اتانل انجام شد و سپس غلظت آنتوسبانین‌های عصاره و تفاله‌ی زرشک به روش pH افتراقی و بر حسب آنتوسبانین غالب زرشک (سیانیدین-۳-گلایکوزید) محاسبه گردید. نتایج، بیشترین مقدار آنتوسبانین را در عصاره و تفاله‌ای که با استفاده از امواج فرا صوت در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتیگراد و زمان ۲۰ دقیقه استخراج شده بود به میزان ۱۷۱/۲۶۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر محلول، نشان داد. با کاربرد امواج فرا صوت برای استخراج آنتوسبانین‌ها، زمان فرایند کاهش و سرعت آن افزایش می‌یابد. از عصاره‌ی استخراج شده از زرشک پس از تغليظ تا بریکس ۶۰ می‌توان یک رنگ طبیعی تولید کرد.

واژه‌های کلیدی: زرشک، آنتوسبانین، استخراج، امواج فرا صوت.

۱- مقدمه

آنتوسيانین‌های تمشک قرمز را توسط فراصوت استخراج کردند و شرایط بهینه‌ی این فرایнд را با بررسی تیمارهایی نظری نسبت حلال به مواد، قدرت امواج فراصوت و زمان استخراج تعیین نمودند. نتایج، نشان داد $34/5$ میلی‌گرم آنتوسيانین از 100 گرم میوه‌ی تازه به دست آمد. این مقدار بر پایه‌ی آنتوسيانین اصلی شناسایی شده به نام سیانیدین -3 -گلایکوزید^۳ تعیین شد. این آنتوسيانین $78/13$ درصد از رنگدانه‌های قرمز تمشک را در بر می‌گرفت 12 آنتوسيانین در تمشک قرمز توسط روش HPLC شناسایی و بررسی شد. این روش استخراج در مقایسه با روش‌های دیگر به دلیل تخریب سریع بافت میوه، راندمان بالاتری داشت(۶).

این تحقیق با هدف بهینه‌سازی فرایند استخراج آنتوسيانین‌های زرشک با استفاده از امواج فراصوت و تولیدیک رنگ طبیعی بر پایه‌ی میوه‌ی زرشک برای استفاده در مواد غذایی، انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

برای استخراج عصاره، از زرشک بی‌دانه‌ی گونه‌ی Berberis vulgaris استفاده شد. برای هر بار آزمایش مقداری زرشک از فریزر خارج و با پاشیدن آب مقطیر روی آن شستشو داده می‌شد و سپس به وسیله‌ی آسیاب خرد می‌شد. 10 گرم زرشک خرد شده و 40 میلی‌لیتر حلال (نسبت $1:4$) درون لوله‌ی مخصوص دستگاه تولید امواج فراصوت (Dr.hielscher up 200H) ساخت آلمان) قرار می‌گرفت. حلال مورد استفاده شامل اتانول و اسید کلریدریک به نسبت $15:85$ بود. برای تنظیم دما در طول آزمایش لوله‌ی درون بن‌ماری (LAUDA E 200) ساخت آلمان) در دماهای 30 و 40 و 50 درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت 10 ، 20 و 30 دقیقه در معرض امواج فراصوت قرار می‌گرفت. توان دستگاه ثابت و 24 KHZ بود. درصد توان ورودی نیز 100 درصد در نظر گرفته شد و از پروب tip1 با عمق نفوذ 1 سانتی‌متر با 1 cycle استفاده شد. در مرحله‌ی بعد، تعاله‌ی باقیمانده پس از استخراج عصاره نیز تحت اثر امواج فراصوت قرار گرفت. نمونه‌ای نیز تحت همین شرایط ولی بدون کاربرد امواج فراصوت آماده شد.

3-Cyanidin-3-glucoside

زرشک‌ها، گروه بزرگی از درختچه‌های خاردار همیشه سبز هستند که به دلیل مصارف و کاربردهای متعدد از قبیل مصارف خوراکی میوه، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. حصول دانش فنی فرآوری میوه‌ی زرشک می‌تواند به صورت یک تکنولوژی منحصر به‌فرد و بومی و اجرای آن در منطقه، ضمن ارتقای علمی، سبب گسترش و توسعه‌ی اقتصادی و صنعتی در منطقه گردد (۲).

در راستای هدف گسترش تولید و فراوری محصولات متنوع از میوه‌ی زرشک، تولید رنگ بر پایه‌ی زرشک که یک منبع غنی از آنتوسيانین است می‌تواند از جایگاه خاصی برخوردار باشد. پژوهش‌هایی درباره‌ی استخراج آنتوسيانین از میوه‌ها و بررسی پایداری آن در شرایط مختلف انجام شده است(۴).

معمولًاً عصاره‌گیری از زرشک با روش‌های معمول به زمان زیاد، درجه حرارت بالا و حجم زیادی از حلال نیاز دارد. عصاره‌گیری حرارتی باعث افت آنتوسيانین‌ها شده و فعالیت‌های آنتی اکسیدانی عصاره‌ی زرشک را کاهش می‌دهد. مکانیسم اثر امواج فراصوت^۱ با فرکانس پایین به طور کلی به دلیل ایجاد پدیده‌ی حفرگی^۲ یا تشکیل حباب‌های بسیار ریزی است که تحت اثر انقباض و انبساط به صورت لحظه‌ای و نقطه‌ای حرارت و فشار فوق العاده ایجاد می‌کند. این وضعیت باعث اثرات فیزیکی شیمیایی بر مولکول‌های مجاور شده، قابلیت نفوذ سلول‌ها را افزایش می‌دهد. به همین دلیل، این فرایند در مدت زمان کوتاه‌تر و دمای کمتر، عمل استخراج را به انجام می‌رساند(۳).

کاربرد امواج فراصوت نسبت به روش‌های متداول، دارای کارایی بالاتر، کاهش زمان عصاره‌گیری و کاهش مصرف حلال می‌باشد. همچنین هیچ گونه درگیری شیمیایی که سبب افت احتمالی ترکیبات شیمیایی نمونه شود در عصاره‌گیری با امواج فراصوت وجود ندارد(۶).

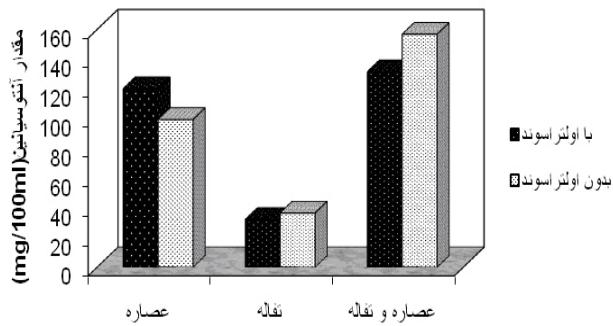
در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی در زمینه‌ی کاربرد امواج فراصوت در فراوری مواد غذایی به انجام رسیده است. در زمینه‌ی استخراج رنگدانه، محققان در سال (۲۰۰۶)

1-Ultrasound

2-Acoustic Cavitation

یافته‌های این محققان، این روش استخراج در مقایسه با روش‌های دیگر به دلیل تخریب سریع بافت میوه، راندمان بالاتری داشت(۶). همچنین، نتایج نشان داد که با استفاده از اموج فراصوت میزان آنتوسبیانین باقیمانده در تفاله بعد از استخراج کمتر از استخراج بدون کاربرد این اموج بود. تفاله‌ی حاصل از استخراج بدون استفاده از اموج فراصوت به میزان $541\text{ mg}/100\text{ ml}$ و با اموج فراصوت $567\text{ mg}/100\text{ ml}$ آنتوسبیانین داشت (شکل ۱).

میانگین آنتوسبیانین موجود در تفاله و عصاره در استخراج با اموج فراصوت مجموعاً $156\text{ mg}/100\text{ ml}$ و بدون این اموج $131\text{ mg}/100\text{ ml}$ میلی گرم در 100 ml لیتر محلول بود. به نظر می‌رسد فرکانس‌های فرماصوتی به خروج بهتر آنتوسبیانین از سلول کمک کرده است(۶).



شکل ۱- اثر استفاده از اموج فراصوت روی مقدار آنتوسبیانین استخراج شده از عصاره و تفاله

۲-۳- اثر دما روی مقدار آنتوسبیانین موجود در عصاره و تفاله نتایج نشان داد اثر دما بر میانگین مقدار آنتوسبیانین موجود در عصاره و تفاله کاملاً معنی دار است ($P<0.01$). بیشترین مقدار آنتوسبیانین در استخراج با دمای 50°C $118\text{ mg}/100\text{ ml}$ مشاهده شد. افزایش دما در اکثر روش‌های استخراج آنتوسبیانینها منجر به افزایش مقدار استخراج آنتوسبیانین می‌شود. البته دمای بالای 80°C باعث تخریب شدید آنتوسبیانینها خواهد شد. هم‌چنین در بعضی دمایا پدیده‌ی ژله‌ای شدن عصاره در حین استخراج اتفاق می‌افتد که منجر به کاهش راندمان استخراج می‌شود(۱). همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است بیشترین مقدار آنتوسبیانین موجود در تفاله در دمای 50°C و کمترین مقدار آن در دمای 30°C حاصل شد.

بعد از صاف کردن تحت خلا، عصاره‌ی زرشک به دست آمد (۱۰۶).

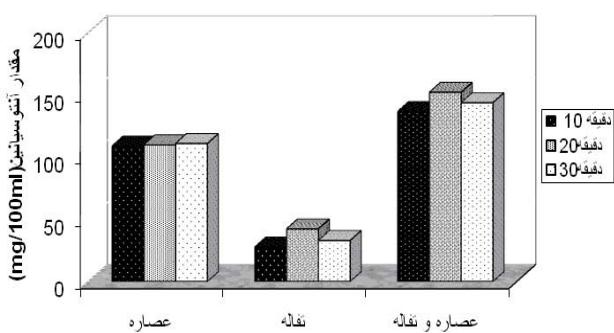
جذب آنتوسبیانین عصاره و تفاله به دست آمده در $\text{pH} = 4/5$ در طول موج 510 nm به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتری (Shimadzu UV-120-02، ساخت ژاپن) اندازه‌گیری و به روش pH افتراقی^۱ غلظت آنتوسبیانین‌ها در عصاره محاسبه گردید(۱۴). در آخرین مرحله، عصاره‌ی استخراج شده از زرشک توسط دستگاه روتاری اوپراتور (Buchi waterbath B-480) در دمای 50°C و به مدت ۲ ساعت تا بریکس ۶۰ تغليظ شد(۱). این بررسی در قالب طرح فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. آزمایش فاکتوریل با سه فاکتور که فاکتور اول درجه حرارت استخراج در سه سطح 30°C و 40°C و 50°C درجه‌ی سانتی‌گراد و فاکتور دوم زمان ۵ در سه سطح 10 min و 20 min و 30 min دقيقه و فاکتور سوم در دو سطح استفاده و عدم استفاده از اموج اولتراسوند بود. کلیه آزمایشات به منظور مشاهده میزان آنتوسبیانین انجام گرفت. داده‌ها توسط نرم افزار SAS آنالیز و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD محافظت شده مورد بررسی قرار گرفت و نمودارها به وسیله‌ی نرم افزار Excel رسم شد.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- مقدار آنتوسبیانین موجود در عصاره و تفاله‌ی زرشک نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که اثر استفاده از اموج فراصوت بر میانگین مقدار آنتوسبیانین موجود در عصاره و آنتوسبیانین باقیمانده در تفاله‌ی زرشک بی‌دانه، تحت دمای و زمان‌های مختلف کاملاً معنی دار است ($p<0.01$) (۱). میانگین بیشترین آنتوسبیانین در عصاره‌ی استخراج شده با استفاده از اموج فراصوت ($120\text{ mg}/100\text{ ml}$) مشاهده شد. در شرایط مشابه و بدون استفاده از اموج فراصوت برای استخراج آنتوسبیانین میانگین $99/465\text{ mg}/100\text{ ml}$ میلی گرم آنتوسبیانین در 100 ml لیتر محلول به دست آمد. نتایج، کارایی استفاده از اموج فراصوت را در استخراج آنتوسبیانین اثبات می‌کند. در تحقیقی که در سال ۲۰۰۶ توسط Fang chen و همکاران روش استخراج آنتوسبیانین تمشک انجام شد، نتایج مشابهی به دست آمد. طبق

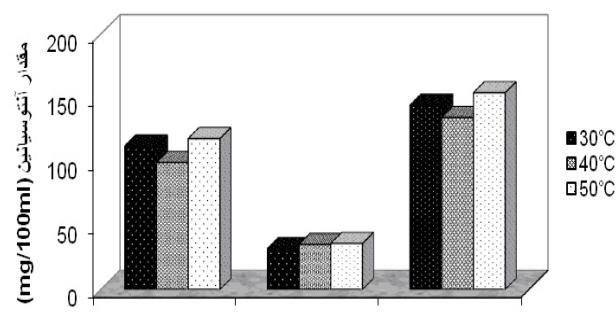
طی ۲۰ دقیقه به میزان $152/73 \text{ mg}/100\text{ml}$ را نشان داد (شکل ۳).

استفاده از امواج فرا صوت، زمان انجام فرایند را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. Fang chen و همکاران زمان بهینه استخراج آنتو سیانین‌های تمشك با استفاده از امواج فراصوت را ۲۰۰ ثانیه تحت شدت فراصوتی 400 وات تعیین کردند (۶). استفاده از امواج فراصوت، باعث شکستن فیزیکی دیواره و غشاء سلول می‌شود. این پدیده، فرایند نفوذ حلال به داخل سلول‌ها را سرعت می‌بخشد و جریان انتقال جرم بین بافت و انتقال ذرات از داخل سلول به داخل حلال را آسان می‌کند. در نتیجه فرایند استخراج در زمان کوتاه‌تری نسبت به روش‌های دیگر به انجام می‌رسد (۶). در روش‌های دیگر استخراج، مثل روش برگشت حلال^۱ و روش مخلوط و تهشینی^۲ در دماهای بالای 50°C ، حداقل ۲ ساعت زمان برای کامل شدن فرایند استخراج، لازم است (۱). علاوه بر آنتو سیانین‌های، ترکیبات دیگری مثل پلی فنل‌ها، پلی ساکاریدها، ترکیبات آروماتیک و سایر رنگدانه‌ها را با استفاده از امواج فراصوت در مدت زمانی کوتاه با کارایی بالا می‌توان استخراج نمود (۷). نکته‌ی قابل توجه این است که در طول فرایند استخراج آنتو سیانین در حضور امواج فراصوت ترکیب و موقعیت آنتو سیانین‌های نمونه، ثابت و هیچ گونه تغییری نمی‌کند. این امر را با روش‌های پیشرفته مثل HPLC می‌توان تشخیص داد در حالی که در سایر روش‌ها ترکیب آنتو سیانین‌ها مقداری تغییر خواهد کرد (۶).



شکل ۳- اثر زمان روی مقدار آنتو سیانین استخراج شده از عصاره و تفاله

ممکن است در فرایند استخراج استفاده از دماهای 40°C یا 50°C باعث تخریب دیواره‌ی سلولی و خروج پکتین از میوه شده و در نتیجه در مرحله‌ی فیلتراسیون در اثر تشکیل ژله، اختلال به وجود آید. وجود محیط اسیدی عصاره‌ی زرشک از نقطه نظر خشی کردن بارهای منفی و آماده نمودن زمینه برای تشکیل پیوندهای هیدروژنی میان مولکول‌های پکتین به تشکیل ژله کمک می‌کند. در تشکیل ژله نقش ترکیبات مومی نیز حائز اهمیت است. این عوامل، باعث افزایش مقدار آنتو سیانین تفاله در این دماها شده است (۱). بیشترین مقدار آنتو سیانین عصاره و تفاله در دمای 50°C و به میزان $153/861 \text{ میلی گرم}$ در $100 \text{ میلی لیتر محلول}$ به دست آمد.

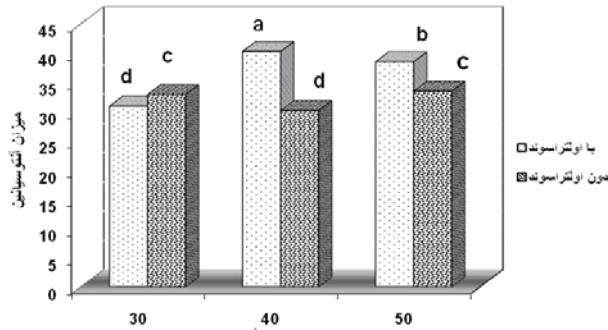


شکل ۲- اثر دما روی مقدار آنتو سیانین استخراج شده از عصاره و تفاله

۳-۳- اثر زمان استخراج روی مقدار آنتو سیانین موجود در عصاره و تفاله

اثر سه زمان استخراج روی مقدار آنتو سیانین موجود در عصاره، معنی‌دار نبود. یافته‌ها نشان داد در استخراج آنتو سیانین با امواج فراصوت، زمان، نقش تعیین کننده‌ای ندارد و میزان آنتو سیانین استخراج شده در سه زمان 10 ، 20 و 30 دقیقه تقریباً با هم مساوی است. ولی اختلاف کاملاً معنی‌داری بین میزان آنتو سیانین باقیمانده در تفاله و سه زمان استخراج در سطح یک درصد وجود داشت. کم ترین مقدار آنتو سیانین باقیمانده در تفاله مربوط به زمان استخراج 10 دقیقه بود ($27/742 \text{ mg}/100\text{ml}$) (شکل ۳).

با بررسی مجموع مقدار آنتو سیانین موجود در عصاره و تفاله، نتایج میانگین بیشترین مقدار آنتو سیانین در استخراج در

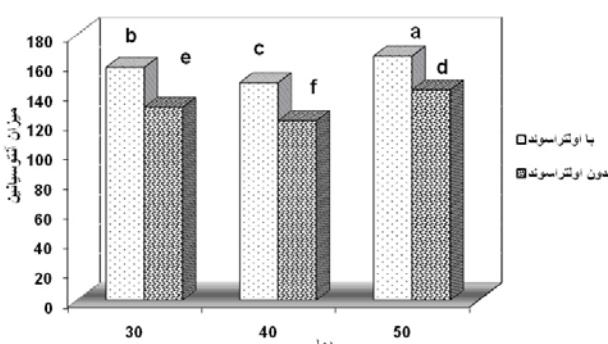


شکل ۵- اثرات متقابل دما و فراصوت در میزان آنتوسيانین باقیمانده در تفاله

۴-۳- اثرات متقابل دما و امواج فراصوت در میزان آنتوسيانین استخراج شده از عصاره و تفاله

نتایج، اثر دما و استفاده از امواج فراصوت را در میزان آنتوسيانین عصاره در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار نشان داد. البته با استفاده از امواج فراصوت بین دمای های استخراج ۵۰ و ۳۰ درجه هی سانتی گراد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد. استخراج در دمای 50°C و با استفاده از امواج فراصوت بالا $126/843 \text{ mg}/100\text{ml}$ حاوی بیشترین میزان آنتوسيانین بود. کمترین میزان آنتوسيانین در دمای 40°C و بدون استفاده از امواج فراصوت مشاهده شد (شکل ۴).

در بررسی میزان آنتوسيانین باقیمانده در تفاله، اثر دما و استفاده از امواج فراصوت در مقدار آنتوسيانین موجود در تفاله کاملاً معنی دار بود ($p<0.01$). کمترین میزان آنتوسيانین در دمای 40°C و بدون استفاده از امواج فراصوت ثبت شد (شکل ۵). در مجموع میزان کل آنتوسيانین استخراج شده از عصاره و تفاله در دمای 50°C و با استفاده از امواج فراصوت بالاترین مقدار را داشت ($165/327 \text{ mg}/100\text{ml}$) و کمترین میزان آنتوسيانین در دمای 40°C و بدون امواج فراصوت به دست آمد. طبق اطلاعات موجود در جدول تجزیه واریانس می توان نتیجه گرفت که اثر دما و استفاده از امواج فراصوت روی کل آنتوسيانین استخراج شده از عصاره و تفاله در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بوده است (شکل ۶).

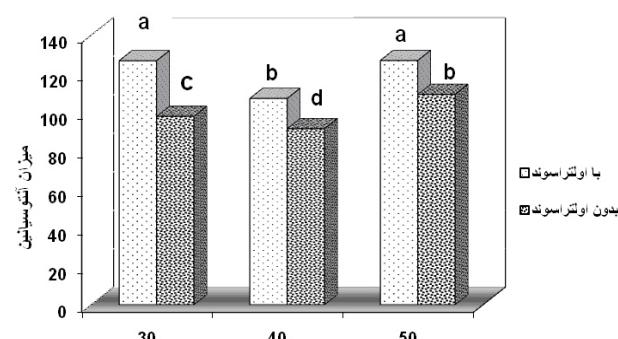


شکل ۶- اثرات متقابل دما و فراصوت در میزان کل آنتوسيانین موجود در عصاره و تفاله

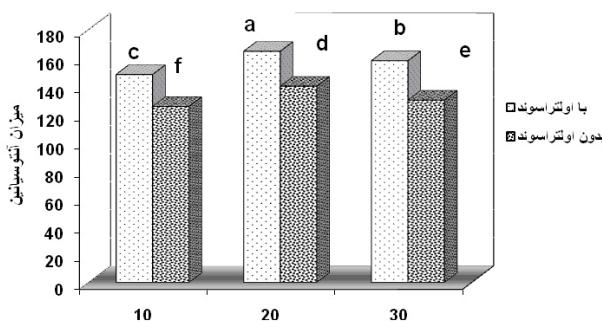
۴-۵- اثرات متقابل زمان و امواج فراصوت در میزان آنتوسيانین استخراج شده از عصاره و تفاله

نتایج، نشان داد اثر زمان و استفاده از امواج فراصوت در میزان آنتوسيانین عصاره در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود. بیشترین و کمترین مقدار آنتوسيانین به ترتیب در زمان های ۲۰ دقیقه با فراصوت ($127/047 \text{ mg}/100\text{ml}$) و در زمان ۲۰ دقیقه بدون فراصوت ($92/493 \text{ mg}/100\text{ml}$) به دست آمد (شکل ۷). در ادامه، اثر زمان و استفاده از فراصوت روی مقدار آنتوسيانین موجود در تفاله، بررسی شد. میانگین بیشترین مقدار آنتوسيانین در زمان ۲۰ دقیقه و بدون استفاده از امواج فراصوت ($47/140 \text{ mg}/100\text{ml}$) و کمترین آن در زمان ۱۰ دقیقه بدون استفاده از امواج فراصوت ($19/083 \text{ mg}/100\text{ml}$) مشاهده شد (شکل ۸).

با توجه به شکل ۹، اثر متقابل زمان و امواج فراصوت در میزان کل آنتوسيانین استخراج شده از عصاره و تفاله در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود. بیشترین میزان آنتوسيانین کل در



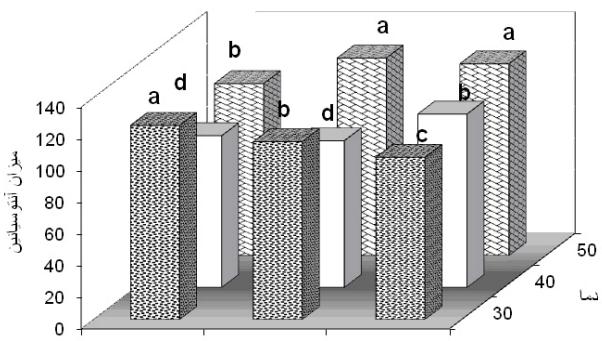
شکل ۷- اثرات متقابل دما و فراصوت در میزان آنتوسيانین استخراج شده از عصاره



شکل ۹- اثر متقابل زمان و امواج فراصوت در میزان کل آنتوسبینین موجود در عصاره و تفاله

۶-۳ اثرات متقابل زمان و دما در میزان آنتوسبینین استخراج شده از عصاره و تفاله

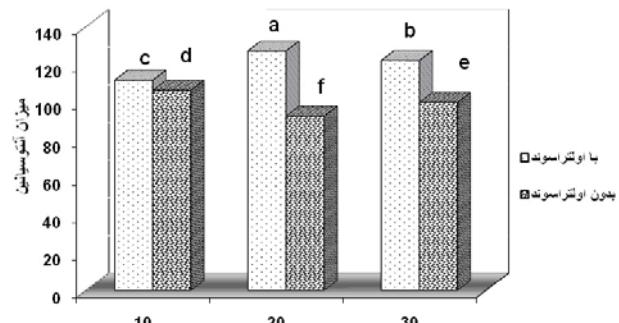
میانگین بیشترین مقدار آنتوسبینین عصاره در زمان و دمای استخراج ۲۰ دقیقه و 50°C ($124/599\text{mg}/100\text{ml}$) به دست آمد که اختلاف معنی داری با مقدار آنتوسبینین در زمان ۳۰ دقیقه و دمای 50°C ($120/99\text{mg}/100\text{ml}$) و زمان ۱۰ دقیقه و دمای 30°C ($122/435\text{mg}/100\text{ml}$) نداشت. کمترین مقدار آنتوسبینین عصاره در زمان و دمای استخراج ۲۰ دقیقه و 40°C به میزان $92/600\text{mg}/100\text{ml}$ مشاهده شد که اختلاف معنی داری با زمان ۱۰ دقیقه و دمای ۴۰ درجه سانتیگراد آنتوسبینین استخراج شده در زمان ۳۰ دقیقه و دمای 40°C ، زمان ۱۰ دقیقه و دمای 50°C و زمان ۲۰ دقیقه و دمای 30°C اختلاف معنی داری دیده نشد (شکل ۱۰).



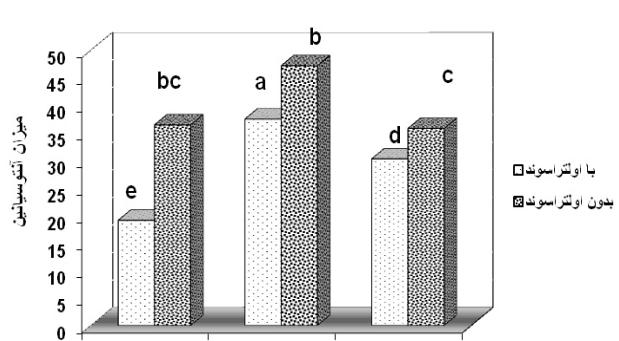
شکل ۱۰- اثر متقابل زمان و دما در میزان کل آنتوسبینین موجود در عصاره

زمان استخراج ۲۰ دقیقه با فراصوت و کمترین میزان آنتوسبینین کل در زمان استخراج ۱۰ دقیقه و بدون کاربرد امواج فراصوت به ترتیب $164/512$ و $125/240$ میلی گرم در 100 میلی لیتر محلول حاصل شد. مشاهده می شود که حتی در شرایط مساوی از نظر نوع و نسبت حلال، شدت و دامنه ای امواج و دمای استخراج، میزان آنتوسبینین بیشتری با کاربرد فراصوت به دست می آید.

کارایی بالاتر کاربرد امواج فراصوت در فراوری مواد غذایی نسبت به دیگر روش ها در بخش های گوناگون این صنعت به اثبات رسیده است. مهماندوسن و همکاران در تحقیقی امکان استفاده از امواج فراصوت در غیر فعال کردن آنزیم پکتین متیل استراز در آب پرتقال را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که امواج فراصوت به طور قابل ملاحظه ای این آنزیم را غیر فعال می کنند (۶).



شکل ۷- اثر متقابل زمان و امواج فراصوت در میزان آنتوسبینین موجود در عصاره



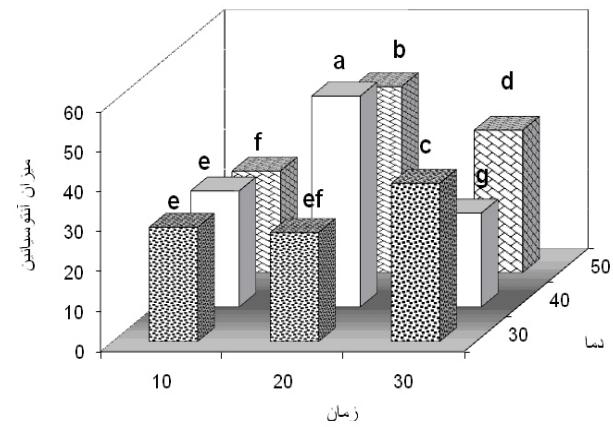
شکل ۸- اثر متقابل زمان و امواج فراصوت در میزان آنتوسبینین موجود در تفاله

بیشترین مقدار کل آنتوسيانین‌هایی که از عصاره و تفاله استخراج شد مربوط به زمان ۲۰ دقیقه و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. در این تیمار مقدار آنتوسيانین استخراج شده از عصاره و تفاله به $171/260$ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی لیتر محلول رسید. این مقدار، اختلاف کاملاً معنی‌داری در سطح ۱ درصد با کلیه تیمارها داشت و کمترین مقدار آنتوسيانین عصاره و تفاله در زمان ۱۰ دقیقه و دمای 40°C به میزان $124/840$ mg/100ml دیده شد که با بقیه تیمارها اختلاف کاملاً معنی‌دار داشت. (شکل ۱۲).

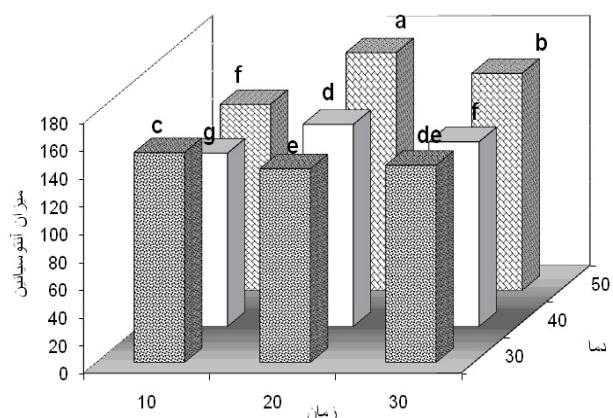
۴- نتیجه‌گیری

عصاره‌گیری و استخراج آنتوسيانین به روش‌های معمول، طولانی است و کارایی کمی دارد. در حالی که بیشترین زمانی که برای استخراج در این تحقیق به کار برد شد ۳۰ دقیقه بود. علاوه بر این، در روش‌های متداول از دماهای بالا برای استخراج استفاده می‌شود که در نهایت به افت کمی آنتوسيانین‌ها منجر خواهد شد و کاهش فعالیت‌های آنتی اکسیدانی عصاره را به همراه خواهد داشت. بیشترین مقدار آنتوسيانین استخراج شده در عصاره با کاربرد امواج فراصوت به دست آمد. همچنان کمترین مقدار آنتوسيانین موجود در تفاله نیز در همین روش، مشاهده شد. جمع‌بندی نتایج فوق بیانگر کارایی امواج فراصوت در فرایند استخراج آنتوسيانین زرشک می‌باشد. بیشترین مقدار آنتوسيانین در عصاره و تفاله‌ای که با استفاده از امواج فراصوت در دمای 50°C سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه استخراج شده بود به میزان $188/58$ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی لیتر محلول مشاهده شد. و بیشترین مقدار آنتوسيانین موجود در تفاله در زمان ۲۰ دقیقه، دمای 50°C درجه سانتی‌گراد و بدون کاربرد امواج فراصوت حاصل شد. بنابراین، شرایط بهینه‌ی استخراج آنتوسيانین در حضور امواج فراصوت در دمای 50°C درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۰ دقیقه تعیین می‌شود. میزان آنتوسيانین استخراج شده به عواملی چون دما، زمان، نوع حلال و شدت و دامنه امواج فراصوت بستگی دارد.

در ادامه مقدار آنتوسيانین موجود در تفاله با توجه به زمان و دمای اعمال شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج، نشان داد بیشترین مقدار آنتوسيانین باقیمانده در تفاله در زمان ۲۰ دقیقه و دمای 40°C درجه سانتی‌گراد ($52/915$ mg/100ml) حاصل شد. همان طور که در شکل ۱۱ مشخص شده این تیمار اختلاف کاملاً معنی‌داری با کلیه تیمارها در این بخش داشت. کمترین مقدار آنتوسيانین تفاله در زمان 30°C دقیقه و دمای 40°C به میزان $23/570$ mg/100ml به دست آمد.



شکل ۱۱- اثر متقابل زمان و دما در میزان کل آنتوسيانین موجود در تفاله



شکل ۱۲- اثر متقابل زمان و دما در میزان کل آنتوسيانین موجود در عصاره و تفاله

۵- سپاسگزاری

بدین وسیله از کمک‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر مهرداد نیاکوثری عضو هیات علمی دانشگاه شیراز که در اجرای این طرح پژوهشی خدمات زیادی را متقابل شدند، تشکر و قدردانی می‌شود.

۶- منابع

- ۱- شریفی، ا. توکلی پور، ح. مسکوکی، ع. م. و الهامی راد، ا.ح. ۱۳۸۷. بررسی روش‌های استخراج و ارزیابی پایداری رنگ زرشک. پایان نامه‌ی کارشناسی ارشاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار.
- ۲- مسکوکی، ع. م. ۱۳۷۷. طرح جامع(راهبردی) مطالعاتی اصلاح، بهبود و توسعه‌ی فناوری فرآیند فرآوری زرشک و بسته بندی آن. سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی خراسان.
- ۳- مسکوکی، ع. م. و مرتضوی، ع. مسکوکی، آ. ۱۳۸۶. بررسی توان فراصوت و قلیا در کاهش زمان خشک کردن انگور و تولید کشمکش. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. بهار ۱۳۸۶.
- ۴- مسکوکی، ع. م. و مرتضوی، ع. ۱۳۸۰. طرح جامع استراتژیک تولید، تبدیل و توزیع زرشکبی دانه، وزارت صنایع، معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۵- مهماندوست، ن. کدخدایی، ر. و حامد موسویان، م.ت. ۱۳۸۷. بررسی اثر امواج فراصوت بر روی آنزیم پکتین متیل استراز از آب پرتقال. هجدهمین کنگره ملی صنایع غذایی. مشهد.
- 6- Chen , F., sun , Y., Zhao , G., Liao , X., Hu , X., Wu, J. and Wang, Z. 2006. Optimization of ultrasound – assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using HPLC–MS, *Ultrasonics Sonochemistry*. 14 (2007)767 – 778.
- 7-Vilkhu,K., Mawson,R., Simons, L. and Bates, D. 2007. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2008)161–169