

بهینه‌سازی استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی *Cynara scolymus L.* با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

جلال احسانی^۱، محمد محسن‌زاده^{۲*}، مرتضی خمیری^۳، عظیم قاسم‌نژاد^۴

^۱دانشجوی دکتری تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۲دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

^۳دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۴استادیار، گروه گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۶

چکیده

اینولین ترکیبی فیبری و غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک می‌باشد که در گیاهان مختلف یافت می‌شود و مقدار آن از یک درصد در موز تا بیش از ۱۵ درصد در ریشه کاسنی متغیر است. از آنجایی که گیاه کنگرفرنگی یکی از منابع مهم اینولین محسوب می‌شود، در این تحقیق استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی و بهینه‌سازی شرایط استخراج جهت رسیدن به بالاترین میزان راندمان استخراج بوده است. ریشه‌های گیاه در شهریور ماه ۱۳۹۴، از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جمع‌آوری و استخراج اینولین از ریشه با استفاده از حلال آب گرم و روش سطح پاسخ (RSM) و طرح مرکب مرکزی (CCD) به انجام رسید. روش سطح پاسخ در مقایسه با روش‌های پرحجم مانند فاکتوریل کامل، ارجحیت دارد. در این تکنیک جهت بهینه‌سازی فرآیند استخراج اینولین، سه متغیر زمان استخراج (۳۵، ۵۰ و ۶۵ min)، دمای استخراج (۷۵ و ۹۵) ۵۵ درجه سانتی‌گراد) و نسبت آب به ریشه (۱:۹ و ۱:۶ و ۱:۳) به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند و تاثیر آنها بر راندمان استخراج اینولین مورد بررسی قرار گرفت. سپس مدل‌های خطی، اثر متقابل و درجه دوم بر راندمان استخراج اینولین مورد ارزیابی قرار گرفتند، همچنین آزمون ضعف برازش (Lack of fit)، ضریب تبیین کلی (R^2) و ضریب تبیین کلی تنظیم شده ($R^2_{adjusted}$) به‌منظور بررسی شایستگی مدل محاسبه شدند. بررسی آزمون Lack of fit و نیز مقادیر $R^2_{adjusted}$ مناسب بودن مدل درجه دوم را نشان داد، که این مدل جهت یافتن بهترین شرایط فرایند با بیشترین بازده استخراج مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد، بالاترین میزان راندمان استخراج اینولین به میزان ۸/۰۱ درصد، مربوط به دمای ۹۵ درجه‌ی سلسیوس، زمان ۳۵/۶۷ دقیقه و نسبت آب به ریشه (۱:۹) با میزان مطلوبیت ۹۲ درصد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اینولین، بهینه‌سازی، روش سطح پاسخ، کنگرفرنگی (*Cynara scolymus L.*)

*نویسنده مسئول:

کنگر فرنگی یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی، که در طول هزاران سال کشت می‌شده است. این گیاه چند ساله، بیشتر در نواحی نیمه بیابانی ارمنستان و آسیای صغیر می‌روید (Askari, et al., 2008; Grieve, 1984). ولی اغلب در مزارع دارویی کشور کشت می‌شود (Jamshidzadeh et al., 2005). پزشکان باستان از کنگر فرنگی به‌عنوان داروی مدر، پایین آورنده کلسترول و محرک کبدی در رفع مشکلات کبدی و گوارشی استفاده می‌کردند (Grieve, 1984). کنگر فرنگی به لحاظ درصد بالای اینولین نسبت به مقدار ماده خشک از مهمترین منابع تولید اینولین به شمار می‌آید (Franck, 2002; Zargari, 2000). اینولین شده به‌عنوان یک کربوهیدرات اصلی در اندام‌های ذخیره‌ای کنگر فرنگی ذخیره می‌گردد (Lattanzio et al., 2009). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که اینولین با وزن مولکولی بالا، از ضایعات کشت - صنعت کنگر فرنگی قابل استخراج است که در آن برگچه‌های خارجی، منبع اصلی اینولین و با میانگین درجه پلیمریزاسیون ۴۶ می‌باشند، این مقدار بالاتر از اینولین موجود در سیب زمینی ترشی، کاسنی و گل کوب می‌باشد (Lopez-Molina et al., 2005). افزایش کاربرد اینولین در صنایع غذایی و اثرات فراسودمند متعدد آن، معرفی منابع گیاهی جدید جهت جداسازی و تولید این ترکیب مهم را می‌طلبد (Mishela et al., 2015). در مقیاس تجاری، استخراج اینولین معمولاً از دو گونه کاسنی و سیب زمینی ترشی انجام می‌شود (Kaur and Gupta, 2002) و تاکنون مطالعات آزمایشگاهی گوناگونی در زمینه استخراج اینولین از منابع مختلف از جمله برگ کاسنی (Berghofer et al., 1993)، ریشه کاسنی (Shweta et al., 2015; Nahardani et al., 2000).

اینولین بیوپلی‌مری ذخیره‌ای از D- فروکتوز است که توسط پیوندهای (۱→۲) β به هم متصل شده‌اند و در انتها یک مولکول D- گلوکز با پیوند (۱→۲) α به D- فروکتوز متصل می‌شود. اینولین به دسته‌ای از کربوهیدرات‌ها به نام فروکتان تعلق دارد. پیکربندی اینولین و آرایش مونومرهای فروکتوز باعث می‌شود اینولین در دستگاه گوارش انسان غیر قابل هضم باشد و سطوح قند خون افزایش پیدا نکند (Li et al., 2014; Dominguez et al., 2015). همچنین از دلایل اصلی توجه به اینولین، انتشار یافته‌هایی است که نشان می‌دهد اینولین اثرات سودمندی بر ترکیب فلور روده، جذب مواد معدنی، ترکیب چربی خون و جلوگیری از سرطان روده بزرگ دارد (Dominguez et al., 2014). به‌علاوه اینولین یک ترکیب فیبری کم کالری می‌باشد و پتانسیل استفاده در تولید غذاهای کاهش دهنده چربی را دارد (Van Loo et al., 1999; Hellwege et al., 2000). اینولین در دسته فیبرهای غذایی محلول در آب قرار گرفته و به دلیل خواص پروبیوتیک و بیفیدوژنیک به‌عنوان یک ماده فراسودمند بکار می‌رود (Vlaseva et Flamm et al., 2001; Gibson, 2004). مقدار اینولین در گیاهان مختلف از ۱ درصد در موز تا بیش از ۱۵ درصد در ریشه کاسنی متغیر است (Kip et al., 2006). اینولین نوع فروکتان به‌طور عمده در انواع گیاهان دو لپه‌ای متعلق به تیره آفتابگردان (Asteraceae) یافت می‌شود، از جمله گونه‌هایی که به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند شامل کاسنی^۱، سیب زمینی ترشی^۲، کنگر فرنگی^۳، قاصدک^۴ و گل کوب^۵ می‌باشند (Hellwege et al., 1998; Hellwege et al., 2000).

4. *Taraxacum officinale*
5. *Dahlia variabilis*
6. Agro-industrial wastes

1. *Cichorium intybus* L.
2. *Helianthus tuberosus* L.
3. *Cynara scolymus* L.

منابع طبیعی گرگان انتقال یافت و به صورت ردیفی با فاصله‌ی ۵۰×۵۰ کشت شد. در طول دوره رشد و تا زمان برداشت ریشه، وجین و آبیاری در صورت نیاز انجام شد و در نهایت ریشه گیاه در شهریورماه ۱۳۹۴ برای انجام آزمایشات برداشت گردید.

تهیه عصاره کنگرفرنگی: ریشه‌ها بعد از برداشت، به منظور حذف آلودگی، با آب سرد شسته و بعد از خشک شدن آب از سطح آنها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ریشه‌ها پس از پوست‌گیری به همراه مقادیر مشخصی آب به ازای گرم ریشه در یک مخلوط کن خرد شده و سوسپانسیون حاصل در زمان و دمای مشخص قرار گرفتند. پس از صاف کردن عصاره pH سوسپانسیون عصاره، برای حذف ذرات و مواد کلوئیدی مانند پکتین، پروتئین و مواد دیواره‌ی سلولی، با استفاده از محلول هیدروکسید کلسیم ۵ درصد به حدود ۱۱ رسانده شد، عصاره به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و رسوب کرک مانند حاصل با استفاده از کاغذ صافی جدا گردید. سپس، برای حذف کلسیم اضافی و دیگر مواد آلی موجود، pH عصاره با محلول فسفریک اسید ۱۰ به ۸/۵ درصد رسانده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا رسوب تشکیل گردد. پس از صاف کردن رسوب حاصل با استفاده از کاغذ صافی، عصاره تصفیه شده با افزودن ۲۰ گرم کربن فعال به ازای هر کیلوگرم غده و هم‌زدن شدید در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۳۰ دقیقه رنگ‌بری شد و سپس کربن فعال با کاغذ صافی جدا گردید. عصاره بدست آمده با استفاده از دستگاه تغلیظ کننده تحت خلا تا بریکس ۴۲ تغلیظ شد (Paseephol, et al., 2007; Bloordi, 1999).

تعیین راندمان استخراج اینولین: به‌منظور رسوب مواد قندی و تعیین راندمان اینولین از عصاره تغلیظ

2012; Hoseini Nejad et al., 2012; Darajani et al., 2015)، غده سریش (Pourfarzad et al., 2015)، کنگر بومی ایران (Abbasi and Farzan mehr, 2009)، سیب‌زمینی ترشی (Mishela et al., 2015; Barkhatova et al., 2010; Milani et al., 2010)، شنگ (et al., 2015; Milani et al., 2010)، با روش‌های گوناگونی چون استخراج با آب گرم، ترسیب با حلال‌های مختلف مانند اتانل، پروپانل، استون و استونیتریل و استخراج آبی با اعمال امواج فراصوت انجام شده است (Ku et al., 2003; Lingyun et al., 2007; Saengthongpinit and Sajjaanantakul., 2005; Lopez-Molina et al., 2005; Baldini et al., 2004; Lorenzo et al., 2004). همچنین برخی از پژوهشگران با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)، شرایط استخراج اینولین را بهینه‌سازی کرده و به نتایج مطلوب‌تری دست یافتند (Shweta et al., 2015; Darajani et al., 2015; Pourfarzad et al., 2015; Poor farzad et al., 2013).

نظر به اهمیت تغذیه‌ای اینولین و در راستای کاهش هزینه‌های واردات این محصول و نیز با هدف معرفی گیاه دارویی کنگرفرنگی به عنوان یکی از منابع مهم حاوی اینولین تحقیق حاضر به انجام رسید، همچنین با توجه به اینکه شرایط استخراج بر راندمان و کیفیت اینولین بسیار تاثیرگذار است، شرایط استخراج آبی اینولین از ریشه کنگرفرنگی با استفاده از روش سطح پاسخ جهت رسیدن به بهترین نتیجه بهینه‌سازی گردید و راندمان اینولین استخراجی تعیین شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی: به‌منظور تهیه نشاء، بذر گیاه در بهمن‌ماه ۱۳۹۳ در گلخانه کشت شد. گیاهچه در اسفندماه و در مرحله ۴ برگی به زمین اصلی مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و

1. Response Surface Methodology

مرکزی در قالب مرکز وجهی^۵ برای پارامترهای استخراج شامل دما، زمان و نسبت آب به ریشه، استفاده شد. در حالت مرکز وجهی حدود بیشینه و کمینه با کدهای (+۱) و (-۱) مشخص می‌شوند که در واقع تنها اطلاعاتی است که با توجه به مطالعات و ایده پژوهش، برای سطوح هر متغیر باید در اختیار نرم‌افزار آماری قرار گیرد. به این ترتیب سطح سوم به‌عنوان سطح صفر یا مرکزی (۰)، مقداری بین کمینه و بیشینه است. البته اگر سطوحی خارج از سه سطح تعریف شده و در بین این سطوح قرار گیرند، به راحتی کدگذاری می‌شوند (Montgomery, 2008). بنابراین در تحقیق حاضر، سطوح بالا و پائین متغیرها براساس پیش تیمارهای انجام شده و بررسی منابع موجود (Abbasi and Farzan mehr, 2009; Milani et al, 2011; Azza et al., 2011; Hoseini Nejad et al., 2012) انتخاب گردید که در جدول ۱ ذکر شده‌اند. این طرح شامل سه متغیر مستقل در سه سطح و نقطه مرکزی دارای سه تکرار بود. کلیه آزمایشات نیز با سه تکرار انجام گردید (جدول ۲). به منظور انتخاب مناسبترین مدل تجربی برای پیش بینی پاسخ، رابطه‌های خطی، اثر متقابل و درجه‌ی دوم بر داده‌های بدست آمده از آزمایش‌ها برازش شدند.

شده محلول اتانول ۹۶ درصد به نسبت ۸ به ۱ به آن افزوده شد. سوسپانسیون تشکیل شده برای ته‌نشینی کامل رسوب به مدت ۲ روز در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس الکل آن جدا گردید. رسوب حاصل به مدت ۴ روز در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس رسوب خشک شده آسیاب و وزن نهایی آن نسبت به ریشه اولیه محاسبه گردید (Paseephol et al., 2007; Bloordi, 1999).

طرح آزمایش، تجزیه و تحلیل آماری: در این مطالعه برای طراحی آزمایش و آنالیز نتایج از نرم افزار دیزاین اکسپرت^۱ و روش سطح پاسخ استفاده گردید، این روش با معیار قرار دادن تعداد متغیرها و حدود بیشینه و کمینه‌ی تعیین شده برای هر متغیر، ماتریس آزمایش را طراحی می‌کند. بدین ترتیب تعداد آزمون‌ها و سطوح هر متغیر در هر آزمون مشخص می‌شود. زمانی که تعداد متغیرها زیاد باشد، این روش در مقایسه با روش‌های پر حجمی مانند فاکتوریل کامل ارجحیت دارد. بنابراین این روش باعث تسهیل روند تحقیق، کاهش زمان و هزینه‌ها خواهد شد. روش‌های (طرح‌های) مرکب مرکزی (CCD)^۲، باکس بنکن^۳ و دهلرت^۴ سه روش اصلی طراحی سطح پاسخ می‌باشند. در بین این سه روش، طرح مرکب مرکزی از اعتبار بیشتری برخوردار است (Montgomery, 2008). در این تحقیق، به‌منظور ارزیابی فرآیند استخراج اینولین از ریشه کنگرفرنگی، از طرح مرکب

1. Design Expert
2. Central Composite
3. Box-Behnken
4. Doehlert

5. Face Center

جدول ۱: سطوح متغیرهای مستقل و کدهای مربوطه

کد و سطح مربوطه			نماد	متغیر مستقل
-۱	۰	+۱	A	دما (درجه سلسیوس)
۵۵	۷۵	۹۵	B	
۳۵	۵۰	۶۵	C	
۳	۶	۹		نسبت آب به ریشه (میلی لیتر بر گرم)

جدول ۲: تیمارهای به کار رفته برای استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی

تیمار	دما (درجه سلسیوس)	زمان (دقیقه)	نسبت آب به ریشه (میلی لیتر به گرم)	تیمار	دما (درجه سلسیوس)	زمان (دقیقه)	نسبت آب به ریشه (میلی لیتر به گرم)
۱	۷۵	۵۰	۶	۱۰	۷۵	۳۵	۶
۲	۵۵	۳۵	۹	۱۱	۵۵	۵۰	۶
۳	۹۵	۵۰	۶	۱۲	۹۵	۳۵	۳
۴	۹۵	۶۵	۹	۱۳	۷۵	۵۰	۳
۵	۵۵	۶۵	۹	۱۴	۷۵	۵۰	۹
۶	۹۵	۳۵	۹	۱۵	۹۵	۶۵	۳
۷	۵۵	۳۵	۳	۱۶	۷۵	۶۵	۶
۸	۷۵	۵۰	۶	۱۷	۷۵	۵۰	۶
۹	۵۵	۶۵	۳				

بخش حل^۳ مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

انتخاب مناسبترین مدل به منظور پیشگویی پاسخ: بررسی آزمون ضعف برازش برای رابطه‌های خطی، اثر متقابل و درجه‌ی دوم، به عدم معنی‌داری این آزمون برای هر سه رابطه اشاره دارد ($p > 0.05$) و بیانگر مناسب بودن مدل‌های ارائه شده است (جدول ۳). همچنین بررسی مقادیر R^2 و $R^2_{adjusted}$ مدل-ها، مبین این است که این مقادیر برای رابطه درجه‌ی دوم به ترتیب به میزان 0.950 و 0.887 می‌باشد که نسبت به سایر مدل‌ها دارای مقادیر بالاتری است، بنابراین در برازش داده‌ها توان بیشتری را دارا می‌باشد و برای پیشگویی پیشنهاد می‌گردد (جدول ۴).

سپس این مدل‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند تا مدل مناسب انتخاب شود. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون ضعف برازش^۱ آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین مقدار R^2 و $R^2_{adjusted}$ باشد. قابل ذکر است که هر چه R^2 به عدد ۱ نزدیک تر باشد قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد (Samavati, 2013). همچنین شرایط عملیاتی بهینه برای استخراج اینولین از ریشه‌ی گیاه دارویی کنگرفرنگی با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی^۲ بررسی شد. بدین ترتیب که ابتدا اهداف بهینه‌سازی مشخص شد و در ادامه محدوده‌های هر متغیر را براساس درجه‌ی اهمیت تعیین و نیز درجه وزنی برای هر متغیر اعمال گردید و در پایان بهترین جواب‌ها در

1. Lack of fit
2. Numerical Optimization

جدول ۳: نتایج آزمون ضعیف برازش بر پاسخ (راندمان استخراج اینولین)

مدل	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P	معنی داری
Quadratic	۱/۲۰	۵	۰/۲۴	۱/۳۵	۰/۴۷۸۰	ns*
خطای خالص	۰/۳۶	۲	۰/۱۸			

ns* = عدم معنی داری

در بین متغیرهای مدل درجه دوم، دما تاثیر معنی داری بر راندمان استخراج اینولین داشته است. قابل ذکر است که عبارتهای مربوط به برهم کنش معنی دار نبودند و از مدل حذف شدند.

راندمان استخراج اینولین: بررسی جدول آنالیز واریانس (جدول ۵) نشان می دهد که متغیرهای دمای استخراج و نسبت آب به ریشه، در مدل خطی، تاثیر معنی داری بر راندمان استخراج اینولین دارند. همچنین

جدول ۴: نتایج آنالیز آماری مدل برازش یافته بر پاسخ (راندمان استخراج اینولین)

Source	R-Squared	Adjusted R-Squared	PRESS
Quadratic	۰/۹۵۰۹	۰/۸۸۷۸	۱۴/۰۳
2FI	۰/۹۱۶۰	۰/۸۶۵۷	۱۲/۵۴
Linear	۰/۸۶۱۸	۰/۸۲۹۹	۸/۵۲

جدول ۵: نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ بر راندمان استخراج اینولین

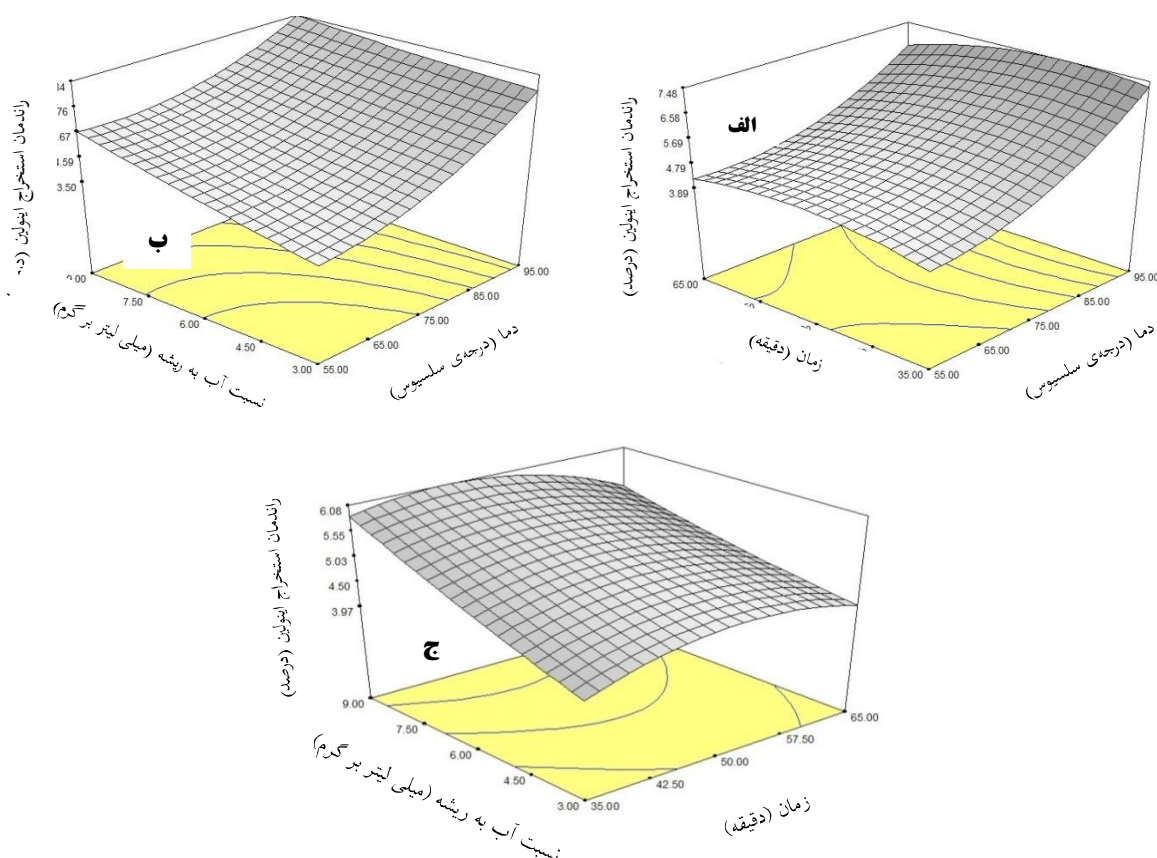
منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	ارزش F	ارزش P
مدل	۳۰/۰۳	۹	۳/۳۴	۱۵/۰۶	۰/۰۰۰۹
دما (A)	۲۱/۵۵	۱	۲۱/۵۵	۹۷/۲۵	۰/۰۰۰۱
زمان (B)	۰/۱۶	۱	۰/۱۶	۰/۷۴	۰/۴۱۸۳
نسبت آب به ریشه (C)	۵/۵۱	۱	۵/۵۱	۲۴/۸۵	۰/۰۰۱۶
A2	۱/۰۲	۱	۱/۰۲	۴/۶۱	۰/۰۶۸۸
B2	۰/۱۸	۱	۰/۱۸	۰/۸۳	۰/۳۹۲۱
C2	۰/۰۱۴	۱	۰/۰۱۴	۰/۰۳۳	۰/۸۶۱۰
AB	۰/۳۹	۱	۰/۳۹	۱/۷۵	۰/۲۲۷۸
AC	۱/۰۲	۱	۱/۰۲	۴/۶۱	۰/۰۶۸۸
BC	۰/۳۰	۱	۰/۳۰	۱/۳۷	۰/۳۳۴۶
باقی مانده	۱/۵۵	۷	۰/۲۲		
عدم برازش	۱/۲۰	۵	۰/۲۴	۱/۳۵	۰/۴۷۸۰
خطای خالص	۰/۳۶	۲	۰/۱۸		

افزایش راندمان استخراج به میزان کم مشاهده می شود و سپس به حالت ثابت و بعد آن نزولی می رسد. همچنین در شکل ۱ (ب) تاثیر مثبت افزایش دما، و افزایش نسبت آب به ریشه گیاه دارویی کنگر فرنگی

با توجه به شکل ۱- (الف)، مشخص می گردد که راندمان استخراج اینولین با افزایش دما، افزایش قابل توجهی داشته است، که معنی دار بودن اثر خطی دما موید آن است، همچنین با افزایش زمان استخراج،

را بر راندمان استخراج اینولین نشان می‌دهد، که در این نمودار نیز با افزایش نسبت آب به ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی راندمان استخراج اینولین افزایش می‌یابد و نیز متغیر زمان تا دقیقه‌ی ۵۰ موجب افزایش میزان استخراج اینولین می‌شود.

بر افزایش راندمان استخراج اینولین نشان داده شده است، که با توجه به جدول آنالیز واریانس معنی‌دار بودن اثر متغیر نسبت آب به ریشه بر راندمان استخراج اینولین کاملاً مشهود است. شکل ۱ (ج)، اثر هم‌زمان زمان و نسبت آب به ریشه‌ی گیاه دارویی کنگرفرنگی



شکل ۱: نمودار سطح پاسخ راندمان استخراج اینولین از ریشه‌ی گیاه دارویی کنگرفرنگی

شکل الف: اثر هم‌زمان دما - زمان

شکل ب: اثر هم‌زمان دما - نسبت آب به ریشه

شکل ج: اثر هم‌زمان زمان - نسبت آب به ریشه

بواسطه‌ی استفاده از روش سطح پاسخ به شرح ذیل می‌باشد:

$$\text{راندمان استخراج اینولین} = 5.31 + 1.47A - 0.13B + 0.74C + 0.62A^2 - 0.26B^2 + 0.052C^2 - 0.22AB - 0.36AC - 0.20BC$$

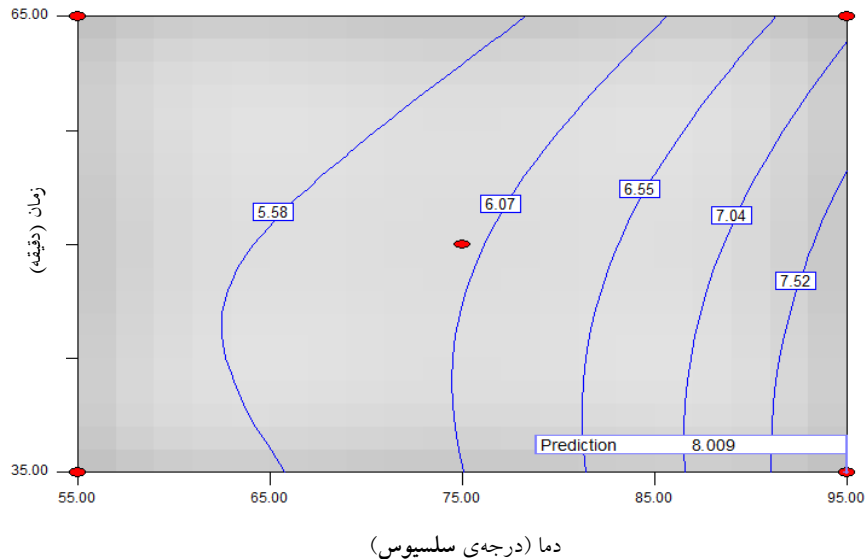
گیاه دارویی کنگرفرنگی است.

همچنین رابطه تجربی بین متغیرهای آزمایش و درصد استخراج اینولین به صورت کد گذاری،

که حرف A بیانگر دمای استخراج، حرف B بیانگر زمان استخراج و حرف C بیانگر نسبت آب به ریشه

دمای 95°C ، زمان $35/67\text{min}$ و نسبت آب به ریشه ۹ با میزان مطلوبیت ۹۲ درصد می‌باشد، که این نتایج در نمودار کانتر (شکل ۲) قابل مشاهده است.

بهینه‌سازی شرایط استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که شرایط بهینه‌ی استخراج با بیشترین میزان راندمان اینولین استخراجی به میزان 8.009% ، مربوط به



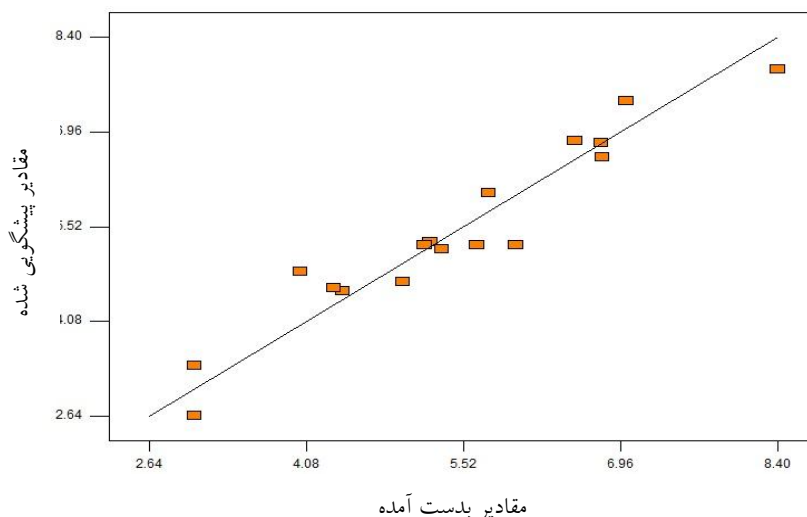
شکل ۲: نمودار کانتر بهینه‌سازی راندمان استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی

شرایط پیشنهادی و مشاهدات تجربی دیده نشد که این مساله صحت فرایند را به اثبات می‌رساند. جدول ۶ و شکل ۲، مقادیر بدست آمده را در مقابل مقادیر پیشگویی شده نشان می‌دهد که جدول و شکل به خوبی بیانگر همبستگی بین نتایج حاصل از آزمایش با مقادیر پیشگویی شده می‌باشد.

همچنین به منظور بررسی صحت فرآیند بهینه‌سازی شده، شرایط بهینه پیشگویی شده با انجام آزمایش مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از راندمان اینولین استخراج شده با نتایج پیشگویی شده توسط مدل مقایسه گردید که تفاوت معنی‌داری بین

جدول ۶: مقایسه مقادیر بدست آمده از راندمان استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی با مقادیر پیشگویی شده

تیمار	نتایج آزمایش (درصد)	نتایج پیشگویی شده (درصد)	تیمار	نتایج آزمایش (درصد)	نتایج پیشگویی شده (درصد)
۱	۳/۰۵	۲/۷۶	۱۰	۷/۰۱	۷/۴۰
۲	۶/۷۸	۶/۸۵	۱۱	۴/۷۰	۵/۱۸
۳	۳/۰۵	۳/۳۳	۱۲	۴/۹۶	۴/۹۲
۴	۶/۷۹	۶/۵۴	۱۳	۴/۳۳	۴/۵۲
۵	۵/۲۱	۵/۳۵	۱۴	۵/۷۵	۶/۰۰
۶	۸/۴۰	۸/۰۱	۱۵	۶	۵/۳۱
۷	۵/۳۲	۵/۱۴	۱۶	۵/۱۶	۵/۳۱
۸	۶/۷۴	۶/۹۲	۱۷	۵/۶۴	۵/۳۱
۹	۴/۴۱	۴/۴۶			



شکل ۳: مقایسه مقادیر بدست آمده از راندمان استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگر فرنگی با مقادیر پیشگویی شده

بحث

پژوهش نشان داد که با افزایش دما راندمان استخراج فروکتان افزایش پیدا کرده است. همچنین تأثیر نسبت آب به ماده جامد در افزایش راندمان استخراج نسبت به زمان بیشتر بود. پورفرزاد و همکاران (Pourfarzad et al., 2013) کارایی امواج فراصوت را در استخراج فروکتان از غده سریش با استفاده از طرح باکس بنکن بررسی کردند، نتایج آنها بیانگر این بود که دمای استخراج در مقایسه با سایر پارامترهای استخراج، تأثیر بیشتری بر راندمان استخراج فروکتان دارد و به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که دمای استخراج و نیز شدت صوت موجب افزایش معنی دار راندمان استخراج تیمارها شده است. در پژوهشی دیگر پورفرزاد و همکاران (Pourfarzad et al., 2015) بهینه سازی شرایط استخراج آبی فروکتان از غده سریش با استفاده از طرح باکس بنکن را مورد مطالعه قرار دادند که با بررسی جدول آنالیز واریانس مشخص شد که دمای استخراج در مقایسه با سایر پارامترهای استخراج، تأثیر بیشتری بر راندمان استخراج فروکتان داشته است.

نتایج حاصل از پژوهش انجام شده توسط میلانی و همکاران (Milani et al., 2011) در مورد استخراج

نتایج این تحقیق نشان می دهد که راندمان استخراج اینولین با افزایش دما، افزایش قابل توجهی داشته است که این افزایش راندمان استخراج اینولین، احتمالاً به دلیل بهبود انتقال جرم در نتیجه افزایش حلالیت اینولین و کاهش ویسکوزیته حلال است؛ بعلاوه افزایش دمای استخراج می تواند سبب شتاب دهی تبخیر حلال و تقویت استخراج ناخالصی ها و مواد زاید گردد (Tungland and Meyer, 2002; Li et al., 2007). همچنین با افزایش نسبت آب به ریشه گیاه راندمان استخراج اینولین افزایش می یابد که آن مربوط به افزایش نفوذ آب، فشار اسمزی و نیز حلالیت پلی ساکاریدها و در نتیجه خروج بیشتر این مواد بوده است (Lingyun et al., 2007; Milani et al., 2011). پورفرزاد و همکاران (Pourfarzad et al., 2014) در پژوهش خود دما و نسبت حلال به غده سریش را موثرترین فاکتورها در راندمان استخراج اینولین معرفی کردند. همچنین درجانی و همکاران (Darajani et al., 2015) عملکرد فروکتان های ارقام خارجی و توده های بومی کاسنی را مقایسه کرده و بهینه سازی روش استخراج را بررسی کردند، نتایج این

دادند که دماهای بالا (۹۰ درجه سانتی‌گراد)، نسبت آب به ریشه بالا (۱:۴۰) و زمان‌های کوتاه (۳۰ دقیقه) موجب می‌شود که بالاترین میزان راندمان استخراج اینولین از ریشه کاسنی حاصل شود. در رابطه با متغیر زمان، پورفرزاد و همکاران (Poorfarzad et al., 2015) استخراج فروکتان از غده سریش را بررسی کردند که نتایج آنها بر این موضوع دلالت داشت که بالاترین راندمان استخراج اینولین در زمان‌های پایین و متوسط حاصل می‌شود و زمان‌های بالا بر خلوص استخراج اثر منفی خواهد داشت.

نتیجه‌گیری نهایی

امروزه در سرتاسر جهان گرایش به تولید و مصرف مواد غذایی فراسودمند، افزایش چشمگیری پیدا کرده است. این گروه از مواد غذایی از خواص سلامت بخش بالایی برخوردار هستند. مواد غذایی فراسودمند، حاوی ترکیباتی با فعالیت بیولوژیکی هستند که توانایی ارتقای سلامتی و کاهش خطر ابتلا به امراض را دارا می‌باشند. یکی از این ترکیبات موثر اینولین است، که اثرات سودمند فراوانی بر ترکیب فلور روده، جذب مواد معدنی، ترکیب چربی خون و جلوگیری از سرطان روده بزرگ دارد. اینولین به‌عنوان یک ترکیب فیبری محلول در آب با کالری کم، پتانسیل استفاده در تولید غذاهای کاهش دهنده‌ی چربی را دارد و نیز ترکیبی پری بیوتیک و بیفیدوژنیک می‌باشد. اینولین در صنایع غذایی موجب بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی، بافتی و حسی محصولات مختلف می‌شود. با توجه به ویژگی‌های ارزشمند تغذیه‌ای و تکنولوژیکی این ترکیب و نیز با هدف کاهش هزینه‌های واردات آن، معرفی منابع جدید گیاهی جهت استخراج و بهره‌برداری ضروری به نظر می‌رسد. در مقیاس تجاری، استخراج اینولین معمولاً از کاسنی و سیب زمینی ترشی انجام می‌شود. با توجه به کشت گیاه دارویی کنگرفرنگی در مزارع دارویی کشور و اقبال بسیار

اینولین از گیاه شنگ ۱ (Salsify) نشان می‌دهد که دما نسبت به زمان تاثیر بیشتری بر راندمان اینولین استخراج شده از ریشه گیاه داشته است. همچنین همانند نتایج این پژوهش، لینگیون و همکاران (Lingyun et al., 2007) گزارش دادند که دما و نسبت آب به غده‌ی سیب زمینی ترشی بیشترین تاثیر را بر راندمان اینولین استخراجی داشته است. در مورد تاثیر متغیر زمان بر راندمان استخراج، افزایش زمان در ابتدا به خروج اینولین منجر شد اما با عبور از یک زمان خاص، کاهش راندمان مشاهده گردید، که این روند نزولی در راندمان استخراج را می‌توان به تخریب ساختار و نیز ورود سایر مواد ساختاری به ترکیب استخراجی نسبت داد، لذا همانند سایر تحقیقات انجام گرفته، زمان‌های متوسط پیشنهاد می‌گردد (Rezzoug et al., 2007; Sepúlveda et al., 2008; Rezzoug et al., 2008). در پژوهش خود همکاران (Rezzoug et al., 2008)، در پژوهش خود در ارتباط با استخراج پکتین از پوست پرتقال، اظهار نمودند که افزایش زمان استخراج سبب کاهش راندمان می‌شود چراکه زمان‌های طولانی سبب تخریب مولکول پکتین می‌شود بنابراین زمان‌های کوتاه‌تر را مناسب دانستند. این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق پورفرزاد و همکاران (Poorfarzad et al., 2013) مطابقت دارد. سپولودا و همکاران (Sepulveda et al., 2007)، نیز استفاده از زمان‌های کوتاه را جهت استخراج صمغ گزارش نمودند. براین اساس، نسبت آب به ریشه تاثیر عمده بر راندمان داشته است. تاثیر مستقل نسبت آب به ریشه بر راندمان، بدون لحاظ نمودن سایر متغیرها، به صورت خطی است به طوری که با افزایش نسبت آب به ماده جامد، میزان راندمان افزایش پیدا می‌کند. مطابق نتایج حاصل از این تحقیق، شواتا و همکاران (Shweta et al., 2015) گزارش

1. *Tragopogon pratensis* L.

- 112-119.
3. Azza, A.A., Hala, A.T., Ferial, M.A. 2011. Physico-chemical properties of inulin produced from jerusalem artichoke tubers on bench and pilot plant scale. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5: 1297-1309.
 4. Baldini, M., Danuso, F., Turi, M., Vannozzi, G. P. 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.
 5. Barkhatova, T. V., Nazarenko, M.N., Kozhukhova, M.A., Khripko, I. A. 2015. Obtaining and identification of inulin from jerusalem artichoke tubers. *Foods and Raw Materials*. 3(2): 13-22.
 6. Berghofer, E., Cramer, A., Schmidt, V., Veigl, M. 1993. Pilot-scale production of inulin from chicory roots and its use in foodstuffs. Inulin and inulin containing crops. *Studies in Plant Science*, 3: 77-84.
 7. Bloordi, M. 1999. Production of kambojia using plant extract containing inulin. MS.c Thesis. Faculty of agriculture biosystem. University of Tehran. (In Persian).
 8. Darajani, P., Hosseini Nezhad, M., Shorideh, H., Abdollahian-Noghabi, M., Kadkhodae, R., Balandari, A., Milani, E. 2015. Comparison of fructan yield of foreign cultivars and indigenous landrace of chicory and optimizing its extraction by response surface method (RSM). *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(4): 343-354. (In Persian).
 9. Dominguez, A. L., Rodrigues, L. R., Lima, N.M., Teixeira, J. A. 2014. An overview of the recent developments on fructooligosaccharide production and applications. *Food Bioprocess Technol*, 7: 324-337.
 10. Franck, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British journal of Nutrition*, 87: 287-292.
 11. Gibson, G.R. 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept).

زیاد آن توسط کارخانجات داروسازی و نظر به میزان بالای اینولین در ریشه این گیاه، این تحقیق به انجام رسید. در این تحقیق عمل استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ بهینه‌سازی گردید و مشخص شد که بهینه‌سازی فرایند استخراج اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی، روشی موثر و کارآمد بوده است و بر اساس نتایج حاصل از بهینه‌سازی، در میان فاکتورهای مورد بررسی، متغیرهای دما و نسبت آب به ریشه گیاه مؤثرترین فاکتورها بر راندمان استخراج اینولین هستند و تاثیر فاکتور زمان نسبت به دو فاکتور دیگر کمتر بوده است. با توجه به نتایج این تحقیق، به نظر می‌رسد تولید صنعتی اینولین از ریشه گیاه دارویی کنگرفرنگی همراه با بهینه‌سازی روش‌های استخراج بتواند زمینه مناسبی برای سودآوری و دستیابی به یک محصول نوین پرکاربرد در صنایع غذایی با ویژگی‌های سلامت بخشی و تکنولوژیکی را فراهم سازد.

سپاسگزاری

نویسندگان از کارشناسان محترم آزمایشگاه معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی گلستان به دلیل همکاری صمیمانه در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند. همچنین از دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر تصویب این طرح با کد ۳۶۷۲۵ قدردانی می‌شود.

References

1. Abbasi, S. and Farzan Mehr, H. 2009. Optimization of inulin extraction from *Cirsium vulgare* with and without ultrasound using response surface methodology. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 47: 423-435. (In Persian)
2. Askari, S.A., Attar Movahedian, Gh., A., Naderi, A., Amini, F. 2008. The effect of artichoke (*Guandelia tournefortii*) on some biochemical factors contributing to atherosclerosis in an animal model. *Quarterly Herb*, 28(4):

- Clinical Nutrition Supplements, 1: 25-31.
12. Grieve, M. 1984. A modern herbal, the medicinal, culinary, cosmetic and economic properties, cultivation and folklore of herbs, grasses, fungi, shrubs and trees with all their modern scientific uses. Savvas Publishing, Suffolk.
 13. Hellwege, E. M., RAAP, M., Gritscher, D., Willmitzer, L., Heyer, A.G. 1998. Differences in chain length distribution of inulin from *Cynara scolymus* and *Helianthus tuberosus* are reflected in a transient plant expression system using the respective 1-FFT cDNAs. Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Letters, 427: 25-28.
 14. Hellwege, E. M., Czaplá, S., Jahnke, A., Willmitzer, L., Heyer, A.G. 2000. Transgenic potato (*Solanum tuberosum*) tubers synthesize the full spectrum of inulin molecules naturally occurring in globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) roots. Proceedings of the National Academy of Sciences, 97: 86-99.
 15. Hoseini nejad, M., Nahardani, M., Elhami rad, A.H. 2012. Characterization of inulin extract from iranian native chicory in comparison with some other sources. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, 1(1): 39-46. (In Persian)
 16. Jamishdzadeh, A., Fereidooni, F., Salehi, Z., Niknahad, H. 2005. Hepatoprotective activity of *Gundelia tourenfortii*. Journal of Ethnopharmacology, 101(1): 233-237.
 17. Kip, P., Meyer, D., Jellema, R. 2006. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. International Dairy Journal, 16: 1098-1103.
 18. Kaur, N., Gupta, A. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. Journal of Biosciences, 27: 703-714.
 19. Ku, Y., Jansen, O., Oles, C.J., Lazar, E.Z., Rader, J.I. 2003. Precipitation of inulins and oligoglucoses by ethanol and other solvents. Food Chemistry, 81: 125-132.
 20. Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V., Cardinali, A. 2009. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. Journal of Functional Foods, 1: 131-144.
 21. Laurenzo, K.S., Navia, J.L. and Neiditch, D.S. 2004. Preparation of inulin products. EP Patent 0: 787-745.
 22. Li, J.W., Ding, S.D., Ding, X.L. 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. jinsixiaozao. Journal of Food Engineering, 80: 176-183.
 23. Li, W., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Gu, G., Guo, Z. 2015. Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke. Carbohydrate Polymers, 121: 315-319.
 24. Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Yalin, F. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. Journal of Food Engineering, 79: 1087-1093.
 25. Lopez-Molina, D., Navarro-Martínez, M. D., Rojas-Melgarejo, F., Hiner, A. N. P., Chazarra, S., Rodríguez-López, J.N. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). Phytochemistry, 66: 1476-1484.
 26. Milani, E., Koocheki, A., Golimovahhed, Q. A. 2011. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. International Journal of Food Science and Technology, 46: 1699-1704.
 27. Milani, A., Poor Azarang, H., Vatankhah, Sh., Vakilian, H. 2010. Optimization of inulin extraction from *Helianthus* tubers using response surface methodology. Iranian Journal of Food Science and Technology Research, 6(3): 176-183. (In Persian)
 28. Milani, A., Goli movahhed, Gh., Hoseini, F. 2011. Application of response surface methodology for optimization of inulin extraction from Salsify Plant. Journal of Food Research, 21 (1): 35-43. (In Persian)
 29. Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31: 420-428.
 30. Mishela, T., Nadezhda, P., Panteley, D., Albert., K. 2015. Characterization of inulin from *Helianthus tuberosus* L.

- obtained by different extraction methods – Comparative study. Scientific works of university of food technologies. 62: 461-464.
31. Montgomery, D.C. 2008. Design and Analysis of Experiments, 7th edn. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ.
 32. Nahardani, M., Hoseini Nejad, M., Elhami Rad, A.H. 2012. Evaluation of prebiotic effects and quality properties of inulin extracted chicory. Journal of Innovation in Food Science and Technology. 4(4): 87-96. (In Persian)
 33. Panchev, I., Delchev, N., Kovacheva, D., Slavov, A. 2011. Physicochemical characteristics of inulins obtained from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Eur Food Res Technol, 233: 889–896.
 34. Paseephol, T., Small, D., Sherkat, F. 2007. Process optimisation for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol using response surface methodology. Food Chemistry, 104: 73-80.
 35. Pourfarzad, A., Habibi Najafi, M.B., Haddad Khodaparast, M. H., Hassanzadeh Khayyat, M. 2015. Optimization of aqueous extraction of fructan from tubers of *Eremurus spectabilis* using box-behnken design. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 11(5): 535-545. (In Persian)
 36. Pourfarzad, A., Habibi Najafi, M.B., Haddad Khodaparast, M.H., Hassanzadeh Khayyat, M. 2014. Characterization of fructan extracted from *Eremurus spectabilis* tubers: a comparative study on different technical conditions. Journal of Food Science and Technology, 33: 10-20.
 37. Pourfarzad, A., Haddad Khodaparast, M.H., Habibi Najafi, M.B., Hassanzadeh Khayyat, M. 2013. Efficacy of ultrasound in the extraction of fructan from tubers of *Eremurus spectabilis* using Box-Behnken design. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, 2(3): 219-228. (In Persian)
 38. Rezzoug, S.A., Maache-Rezzoug, Z., Sannier, F., Allaf, K. 2008. A Thermomechanical Preprocessing for Pectin Isolation from Orange Peel with Optimisation by Response Surface Methodology. International Journal of Food Engineering, 4, [online].
 39. Saengthongpinit, W., Sajjaanantakul, T. 2005. Influence of harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers. Postharvest Biology and Technology, 37: 93-100.
 40. Samavati, V. 2013. Polysaccharide extraction from *Abelmoschus*: Optimization by response surface methodology. Journal of Carbohydrate Polymers, 95: 588-597.
 41. Sepulveda, E., Saenz, C., Aliaga, E., Aceituno, C. 2007. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. Journal of Arid Environments, 68: 534-545.
 42. Shweta, T., Kulathooran, R., Laxmi, M., Lingamallu, J. 2015. Microwave-assisted extraction of inulin from chicory roots using response surface methodology. Journal of Nutrition and Food Sciences, 5(1): 1-7.
 43. Tunglund, B., Meyer, D. 2002. Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 1: 90-109.
 44. Van Loo, J., Cummings, J., Delzenne, N., Englyst, H., Franck, A., Hopkins, M., Kok, N., Macfarlane, G., Newton, D., Quigley, M. 1999. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT-94-1095). British journal of Nutrition, 81: 121-132.
 45. Vlaseva, R., Ivanova, N., Petkova, M., Todorova, M., Denev, P. 2014. Analysis of fermented lactic acid dairy products enriched with inulin-type fructans. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, 18: 145-149.
 46. Zargari, A. 2000. Medical Plants. Tehran university publications, 3: 27-200.