

# بهینه یابی فرایند تولید پودر عصاره هل تولیدی با امواج فراصوت به روش سطح پاسخ

مریم ملکی خوشنود<sup>۱</sup>، علی محمدی ثانی<sup>۱\*</sup>، احمد اسماعیل زاده<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

## چکیده

هل، دارای عطر و طعم بسیار مطلوبی بوده و از زمان‌های بسیار دور، بعنوان ادویه‌ای با ارزش مطرح بوده است. عطر مطبوع این دانه به وجود ترکیبات موثره ای مربوط است که تحقیقات نشان داده اند عصاره حاوی این عوامل دارای خواص بازدارندگی میکروبی و همچنین خواص ضد اسپاسم، تسکین درد و ضد التهابی دارد. در این پژوهش، بهینه سازی فرایند تولید پودر عصاره هل سبز با استفاده از امواج فراصوت با تکنیک سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور دو فاکتور درصد حلال (۰، ۴۰، ۸۰٪ اتانول) و زمان فرایند (۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه) در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی گراد به روش مرکب مرکزی مورد بررسی قرار گرفتند. میزان دو ترکیب اصلی هل شامل ۱۸-سینئول و آلفا-ترپنیل استات که ۹۰ درصد آرومای هل را تشکیل می دهند به عنوان شاخص کیفیت پودر هل در نظر گرفته شد و به روش گاز کروماتوگرافی طیفسنجی جرمی (GC-MS) آنالیز گردید. نتایج نشان داد که اتانول در غلظت ۷۲ درصد و زمان صوت دهی ۱۵ دقیقه، منجر به استخراج بیشترین غلظت ۱۸-سینئول و آلفا-ترپنیل استات به ترتیب به میزان ۳۲،۴۳٪ و ۷۹،۳۲٪ گردید. همچنین صوت دهی راندمان استخراج را نسبت به روش سنتی تقطیر آبی به طور قابل ملاحظه ای بهبود داد.

واژه های کلیدی: هل سبز، امواج فراصوت، ۱۸-سینئول، آلفا-ترپنیل استات

**۱- مقدمه**

چاشنی‌ها بعنوان افزودنی غذایی، دارو، عامل نگهدارنده و عطرها اهمیت فراوانی دارند (۶). هل، که به نام "ملکه ادویه‌ها" معروف است، دومین ادویه مهم در دنیا پس از فلفل سیاه (Piper nigrum) که نام "سلطان ادویه‌ها" را در اختیار دارد، می باشد (۴-۲، ۶، ۱۴). این گیاه به جنس *Elettaria* و گونه‌های *Cardamomum* (Maton) متعلق است و گیاهی چندساله، علفی، ریشه‌دار و تک‌لپه است که به خانواده *Zingiberaceae* تعلق دارد (۴، ۶). این جنس دارای حدود ۷ گونه است که در هند، سریلانکا، مالزی و اندونزی پراکنده هستند (۶، ۷). تنها *Elettaria cardamomum* (Maton) در هند می‌روید که از اهمیت اقتصادی برخوردار است (۶). برای استخراج اسانس، هل را تقطیر کرده و برای بدست آوردن اولئوزین از روش استخراج با حلال استفاده می‌شود (۲، ۸). تقطیر با بخار از جمله روش‌های کلاسیک عصاره‌گیری برپایه قرار گرفتن گیاه در حلال مناسب است. از جمله روشهای دیگر میتوان به سوکسله، خیساندن و پرکولاسیون اشاره نمود (۱). روش سوکسله روشی استاندارد است که به عنوان مرجع اصلی ارزیابی دیگر روش‌ها به کار می‌رود (۳). فناوری‌های جدید و مختلفی شامل عصاره‌گیری به کمک امواج فراصوت، امواج مایکروویو و عصاره‌گیری با مایع فوق بحرانی به منظور استخراج ترکیبات از گیاهان گسترش یافته اند (۸). مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به واسطه پدیده کاویتاسیون منجر به تشکیل حباب‌های بسیار ریز و سپس رشد و انفجار در توده مایع می‌شوند، انفجار این حباب‌ها اغلب با آزاد شدن مقدار زیادی انرژی همراه است که به شکل تنش به محیط اطراف اعمال می‌شود (۹). کاربرد امواج فراصوت در فرایندهای غذایی عبارتند از استخراج، تهیه امولسیون، تبلور و انتقال حرارت (13). گوچیو و همکاران (۲۰۱۲) استخراج عصاره گیاه هل را در دمای پایین با استفاده از گازهای مایع بررسی کردند (۷). حمدان و همکاران (۲۰۰۸) شرایط استخراج با CO<sub>2</sub> فوق بحرانی و پروپان زیربحرانی را بر ویژگی‌های کیفی عصاره هل بررسی کردند (۸). آگوگل و همکاران (۲۰۰۵) اثرات ضد میکروبی عصاره دانه هل را روی برخی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بررسی نمودند (۵). سرشتی و همکاران (۲۰۱۲) یک روش استخراج جدید به کمک امواج فراصوت و روش ریزاستخراج امولسیون‌سازی را در استخراج و پیش‌تغلیظ عصاره

هل به کار گرفتند (۳). نجفی و همکاران (۲۰۱۱) ماندگاری و پایداری میکروکپسول‌های عصاره هل خشک شده به دو روش انجماد و پاشش را مورد بررسی قرار دادند (۱۲). لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر امواج فراصوت و درصد حلال بر راندمان استخراج عوامل موثره عصاره هل بود.

**۲- مواد و روش****۲-۱ مواد**

هل سبز درجه یک (از بازار بجنورد)، استاندارد ۱۸-سینثول و الف-ترپینیل استات (از کمپانی Sigma-aldrich با درجه خلوص ۹۹/۹۹٪)، سولفات سدیم دهیدراته، ان-هگزان و اتانول (از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص ۹۹٪) تهیه گردید.

**۲-۲ وسایل آزمایشگاهی**

آنالیز گاز کروماتوگرافی - طیف سنجی جرمی GC-MS از دستگاه گاز کروماتوگرافی - طیف سنجی جرمی Agilent (USA, CA, Santa Clara) شامل یک سیستم GC ۶۸۹۰ همراه با آشکارساز انتخابی جرم و مجهز به ستون MS-HP۵ استفاده شد. برنامه دمایی شامل دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و از دمای ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با آهنگ ۵ درجه در دقیقه تنظیم شد. گاز حامل هلیوم (۹۹،۹۹٪) با فشار ۷۴ کیلو پاسکال و نرخ جریان یک میلی لیتر در دقیقه تنظیم شد. ضریب شکاف انترکتور در ۲۵۰ درجه سانتیگراد با دمای آشکار ساز ۲۵۰ درجه سانتیگراد، برابر ۱:۳۰ بود.

**۲-۳ تولید عصاره به کمک امواج فراصوت**

پس از جداسازی میوه هل از پوست سبز، آسیاب و عبور از الک ۵۰۰ میکرون، ۵ گرم از پودر حاصل به با ۱۰۰ میلی لیتر اتانول با درصدهای (۰، ۴۰، ۸۰٪) و زمان صوت دهی (۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه) در دستگاه سونیکاتور (Elma model: Trans sonic TI-H- (Germany) 20, در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی گراد به روش مرکب مرکزی فراوری گردید. سپس عصاره حاصل صاف تا عصاره صاف و زلالی به رنگ زرد کهربایی بدست آمد.

**۲-۴ تولید پودر از عصاره تغلیظ شده**

عصاره حاصل را به منظور جداسازی حلال در دستگاه اواپراتور چرخشی تحت خلاء (Heidolph - آلمان) قرار داده شد و در

۱۴). ۱-۳ اثر متغیرهای مستقل بر درصد استخراج ۱۸-

#### سینتول

جدول ۱ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر درصد استخراج ۱۸- سینتول را در پودر عصاره هل نشان می دهد. همانطور که از جدول مشخص است، تاثیر خطی و مربعی درصد حلال بر میزان استخراج ۱۸- سینتول معنی دار می باشد و همچنین زمان تاثیر معنی داری بر میزان استخراج ۱۸- سینتول دارد ( $P < 0,05$ ) ولی اثر متقابل بر روی هم ندارند ( $P > 0,05$ ).

۲-۳ اثر متغیرهای مستقل بر درصد استخراج آلفا- ترپنیل

#### استات

جدول ۲ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر درصد استخراج آلفا- ترپنیل استات در پودر عصاره هل را نشان می دهد. همانطور که از جدول مشخص است، تاثیر خطی و مربعی درصد حلال بر میزان استخراج آلفا- ترپنیل استات معنی دار می باشد ( $P < 0,05$ )، ولی زمان تاثیر معنی داری بر میزان استخراج آلفا- ترپنیل استات ندارد ( $P > 0,05$ ) و اثر متقابل بر روی هم ندارند ( $P > 0,05$ ). در جدول آنالیز واریانس Loak of Fit بالاتر از ۰,۰۵ نشان دهنده صحت مدل است.  $R^2$  (ضریب تبیین) و  $R^2$  Adj (ضریب تبیین اصلاح شده) بالاتر از ۹۵ درصد نشان دهنده این است که داده های آزمایش با مدل به خوبی تطبیق داشته است.

مرحله بعد توسط خشک کن انجمادی (Beta 2-8-LD-CHRIST-آلمان) در دمای ۱۰- درجه سانتیگراد و فشار ۰/۱۲ میلی بار خشک گردید. ۰/۵۸۰ گرم از پودر حاصل در n- هگزان حل و ۰/۱ میکرولیتر آن به GC/MS تزریق شد.

#### ۲-۳ تقطیر آبی

۲۵ گرم از پودر هل در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر داخل بالن ته گرد ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته شد و به مدت ۴ ساعت با استفاده از کلونجر استخراج عصاره انجام گرفت و در ظرف شیشه ای تیره در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (۳).

#### ۲-۶ طرح آزمایش

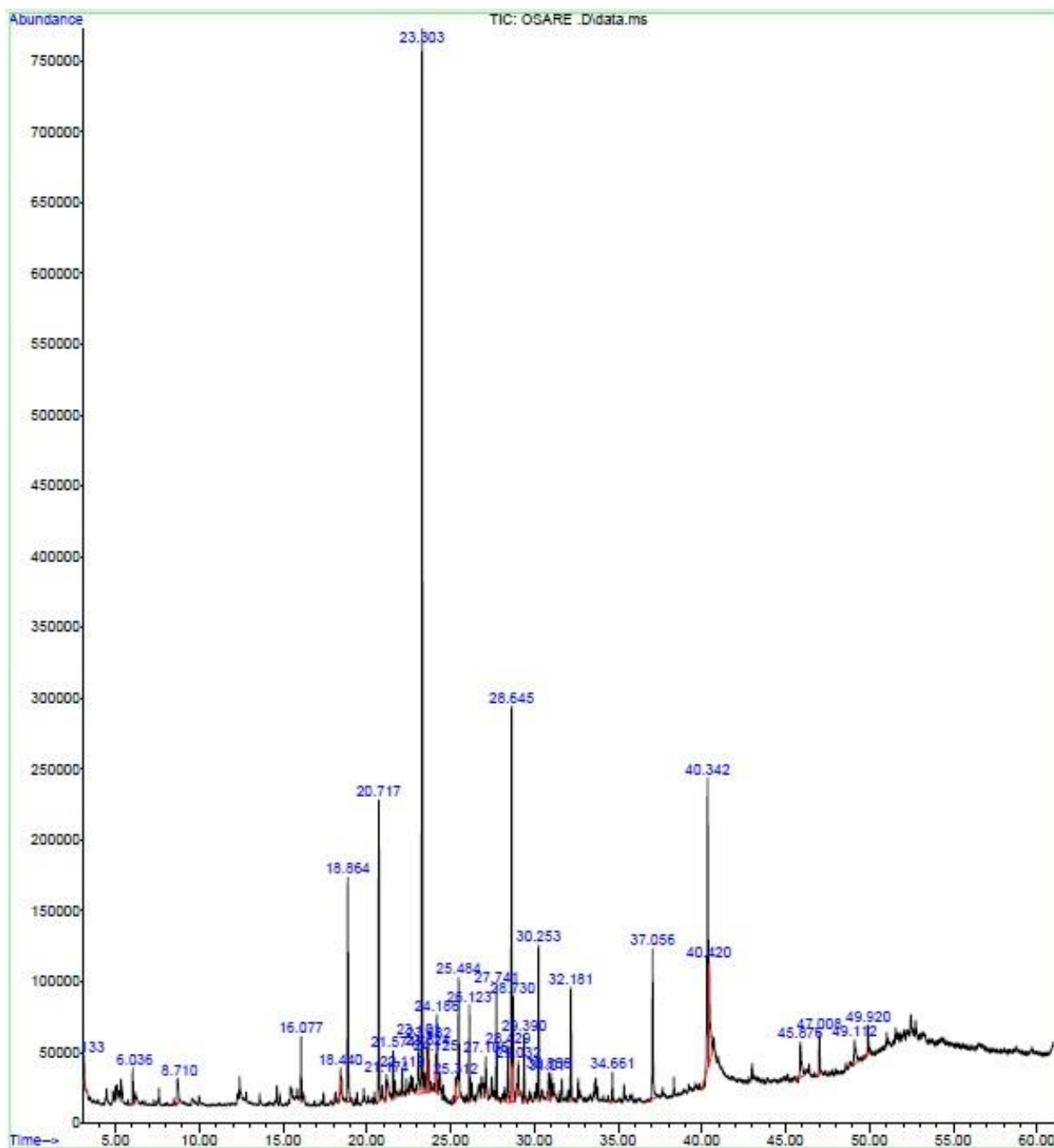
از روش سطح پاسخ (RSM)، طرح مرکب مرکزی (CCD) و با استفاده از نرم افزار Design-Expert استفاده شد (۵).

#### ۳- نتایج و بحث

در این پژوهش، تاثیر صوت دهی بر راندمان استخراج پودر عصاره هل بررسی شد. از آنجاییکه اصلی ترین ترکیبات تشکیل دهنده عطر و طعم هل مربوط به ۱۸- سینتول و آلفا- ترپنیل استات که ۹۰ درصد آرومای هل را تشکیل می دهند می باشد، لذا سنجش این دو ترکیب مورد ارزیابی قرار گرفت (۲، ۳، ۵، ۶،

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر درصد استخراج ۱۸- سینتول در پودر عصاره هل

Source	df	Sum of Square	Mean Square	F Value	p-Value Prob>F
Model	۵	۷۵,۴۲	۱۵,۰۸	۰,۸۳	۰,۵۶۹۱
A-solvent	۱	۱۱,۹۶	۱۱,۹۶	۰,۶۵	۰,۴۴۵۲
B-time	۱	۱,۸۶	۱,۸۶	۰,۱۰	۰,۷۵۸۹
AB	۱	۱,۰۳	۱,۰۳	۰,۰۵۶	۰,۸۱۹۵
A2	۱	۶۰,۱۲	۶۰,۱۲	۳,۲۹	۰,۱۱۲۶
B2	۱	۵,۴۳	۵,۴۳	۰,۳۰	۰,۶۰۲۶
Residual	۷	۱۲۷,۹۵	۱۸,۲۸		
Lack of Fit	۳	۳,۲۳	۱,۰۸	۰,۰۳۵	۰,۹۹۰۱
Pure Error	۴	۱۲۴,۷۱	۳۱,۱۸		
Cor Total	۱۲	۲۰۳,۷۳			
R-Squared	-	۰,۳۷۰۹			
Adj R-Squared	-	۰,۰۷۸۵			
Pred R-Squared	-	۰,۰۵۶۹			

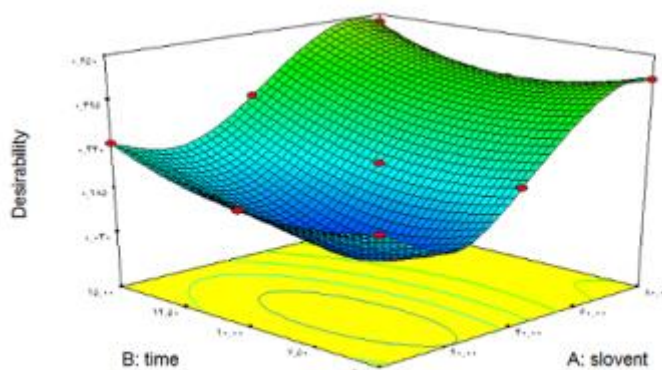


شکل ۱- کروماتوگرام GC/MS پودر هل سبز

(16.077min: Linalool; 18.862min: Terpinen-4-ol; 18.862min: alpha-Terpineol; 20.717min: 1,8-cineole , 23.098min: Linalyl acetate; 23.303min: alpha-Terpinyl acetate; 24.185min: Geraniol , 28.644min: Trans-nerolidol; 28.644 min: Nerol)

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر متغیر های مستقل بر درصد استخراج آلفا- ترینیل استات در پودر عصاره هل

Source	Df	Sum of Square	Mean Square	F Value	p-Value Prob>F
Model	۵	۱۵۷۹,۸۸	۳۱۵,۹۸	۶۰,۳۳	<۰,۰۰۰۱
A-slovent	۱	۹۸۰,۹۲	۹۸۰,۹۲	۱۸۷,۲۹	<۰,۰۰۰۱
B-time	۱	۱۵,۷۵	۱۵,۷۵	۳,۰۱	۰,۱۲۶۵
AB	۱	۲,۶۴	۲,۶۴	۰,۵۰	۰,۵۰۱۰
A <sup>2</sup>	۱	۴۳۸,۴۶	۴۳۸,۴۶	۸۳,۲۷	<۰,۰۰۰۱
B <sup>2</sup>	۱	۹,۲۷	۹,۲۷	۱,۷۷	۰,۲۲۵۰
Residual	۷	۳۶,۶۶	۵,۲۴		
Lack of Fit	۳	۹,۵۴	۳,۱۸	۰,۴۷	۰,۷۲۰۰
Pure Error	۴	۲۷,۱۲	۶,۷۸		
Cor Total	۱۲	۱۶۱۶,۵۴			
R-Squared	-	۰,۹۷۷۳			
Adj R-Squared	-	۰,۹۶۱۱			
Pred R-Squared	-	۰,۹۱۹۰			



شکل ۲- نمودار سطح پاسخ ، نقطه مناسب پارامتر ۷۲ درصد غلظت حلال و ۱۵ دقیقه زمان صوت دهی است

### ۳-۳ بهینه سازی

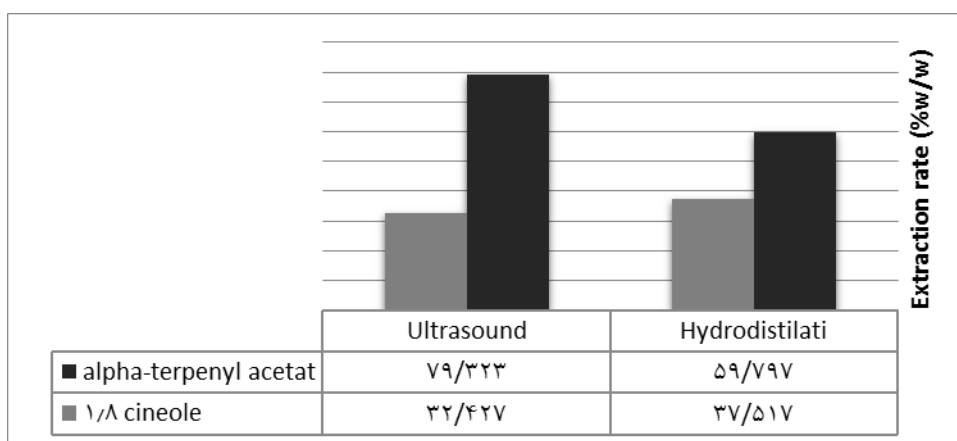
به منظور رسیدن به وضعیت مطلوب و نقطه بهینه از روش پاسخ سطحی استفاده شد که از طریق ۹ نقطه شروع و ۵ نقطه مرکزی نقطه مناسب تعیین شد. لذا طرحی با ۱۳ آزمایش تعریف شد و نهایتاً نقطه مناسب در ۷۲ درصد اتانول و زمان ۱۵ دقیقه صوت دهی تعیین شد. برای مشاهده تاثیر اثر فاکتورها از نمودار سه بعدی و نمای برجسته استفاده شد. شکل ۳ سطح واکنش و نمای

برجسته تاثیر درصد حلال اتانول (Solvent) و زمان صوت دهی (Time) را نشان می‌دهد.

### ۳-۴ مقایسه کارایی استخراج عصاره هل با دو روش تقطیر ایبی و صوت دهی

اندازه گیری میزان دو ترکیب اصلی موثر در عطر و طعم عصاره هل نشان داد که روش استخراج تاثیر به سزایی بر میزان خروج این عوامل داشته است. امواج فراصوت با فرکانس بالاتر از ۲۰





شکل ۳- مقایسه نرخ استخراج ترکیبات موثره در دو روش تقطیر ابی و صوت دهی در حلال اتانول

- Gochev, V. Girova, T. Stoilova, I. Atanasova, T. Nenov, N. Stanchev, V. Soyanova, A. BioSci, J. Biotech. 2012 . Low temperature extraction of essential oil bearing plants by liquefied gases. 7. Seeds from cardamom (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton), 1(2):135-13
- Hmdan, S. Daood, H. G. Toth-Markus, M. Illes, V. 2008 . Extraction of cardamom oil by supercritical carbon dioxide and sub-critical propan, of *Supercritical Fluids*. 44 25-30
- Li, H. Pordesimo, I.& Weiss, J. 2006. High in tensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeuuxs. *Food Research International*, 37:731-738
- Luque de Castro, M.D. Garcia-Ayuso, L.E. 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Analytical Chemical*, 369: 1-10
- Luque-Garcia, J.L. Luque de Castro, M.D. 2003. Ultrasound: A powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, 22:41-47
- Najafi, M. N. Kadkhodae, R. Mortazavi, S.A. 2011 . Effect of drying process and wall material on the properties of encapsulated cardamom oil. *Food Biophysics*, 6:68-76
- Chemat, F. Grondin, I. Costes, P. Moutoussamy, L. Shum Cheong Sing, A. Smadja, J. 2004. *Ultrasound Sonochem*, 11,281
- Prabhakaran Nair, K. P. 2006. The agronomy and economy of cardamom (*eletria cardamomumm.*): the "Queen of Spices" *Advances in Agronomy*, Volume 91 Copyright, Elsevier. 10.1016/S0065-2113(06)91004-9

کیلو هرتز، موجب ایجاد کشیدگی و جمع شدن های پی در پی شده که در نتیجه آن حفراتی داخل ماده گیاهی ایجاد می شوند. این حفرات به صورت نامتقارن به هم پیوسته و موجب خروج سریع مواد از داخل سلول ها به خارج از آن می شوند.

#### ۴- منابع

- ذوالفقاری، ب و همکاران. ۱۳۸۹. پیشرفت های اخیر در زمینه روش های استخراج ترکیب های گیاهی. داروهای گیاهی، پیش شماره ۱ / بهار ۱۳۸۹ ، صفحات ۵۱ تا ۵۵.
- Sardar Bikash, R. Tarad Kavita, M. Singhal Rekha, S. 2013. Stability of active components of oleoresin in co-crystallized sugar cube during storage. *Journal of Food Engineering* 117 530-53 7 .
- Sereshti, H. Rohanifar, A. Bakhtiari, B. Samadi, S. 2012. Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *journal of chromatography A*, 1238, Pages 46–53.
- Agaoglu, S. Dostbil, N. Alemidr, S. 2005. Antimicrobial Effect of Seed Extract of Cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). *YYÜ Vet Fak Derg*, 16 (2):99-1.
- D.C Montgomery. 1991. "Design and Analysis of Experimental" . 3rd de, john wiley, New York .
- George, T. N, Beevi. S. Xavier, G. Kumar, N. P. George, J. 2012. Dissipation kinetics and assessment of processing factor for chlopyrifos and lambda-cyhalothrin in cardamom, *Springer science*.