

استخراج کاروتنوئیدها از *Ulva rigida* توسط امواج اولتراسونیک

مرضیه احمدی سرخونی^a، مهشید جهادی^{b*}

^a دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^b دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۶/۱۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۲/۲۳

۵

چکیده

مقدمه: *Ulva rigida*، یک نوع جلبک سبز از شاخه کلروفیتا است که به واسطه ترکیبات شیمیایی متعدد به عنوان یک منبع از رنگدانه‌های کاروتنوئیدی و کلروفیلی شناخته شده است. در این پژوهش استخراج رنگدانه کاروتنوئیدی به کمک اولتراسونیک با روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: جلبک سبز *Ulva rigida* در اردیبهشت ماه ۱۴۰۱ به صورت تازه از شمال جزیره قشم ساحل دیرستان (خلیج دیرستان)، حذفاصل منطقه شیب‌دراز تا بندرگاه نقاشه و سلخ با مشخصات جغرافیایی $26^{\circ}37'23''N$ و $55^{\circ}14'12''E$ برداشت شد. به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج کاروتنوئید از روش سطح پاسخ با سه متغیر مستقل توان اولتراسونیک (۳۰۰-۵ وات) زمان اولتراسونیک (۱۸/۴۰-۱/۵۹ دقیقه) و نسبت زیست‌توده به حلال (۱/۴۶-۱/۶۳ درصد) استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج حاصل از بهینه‌سازی شرایط استخراج کاروتنوئید به کمک اولتراسونیک نشان داد که کلیه متغیرهای مستقل دارای تأثیر معنادار بر راندمان استخراج کاروتنوئیدها بوده‌اند ($p < 0.05$). در بخش بهینه‌سازی شرایط استخراج کاروتنوئید به کمک اولتراسونیک شرایط بهینه شامل نسبت زیست‌توده به حلال ۵/۵۷ درصد، زمان اولتراسونیک ۹/۹۳ دقیقه با توان اولتراسونیک ۱۷۷/۳۸ وات محتوای کاروتنوئید 0.08 ± 0.099 میکروگرم بر میلی‌لیتر با بازده استخراج ۱۸/۰۳ درصد گزارش گردید.

نتیجه‌گیری: محتوای استخراج رنگدانه کاروتنوئید و بازده استخراج رنگدانه با کمک تکنولوژی اولتراسونیک نسبت به روش استخراج معمول ۴ برابر افزایش داشت لذا می‌توان روش استخراجی معرفی شده را به عنوان یک فرآیند موثر جهت استخراج ترکیبات کاروتنوئیدی از جلبک *Ulva rigida* در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: اولتراسونیک، بهینه‌سازی، کاروتنوئید، *Ulva rigida*

مقدمه

جلبک‌ها، موجودات چندسلولی هستند که در مقایسه با گیاهان زمینی با سرعت بالایی رشد می‌کنند و تنوع بالایی از متابولیت‌ها و ترکیبات زیست‌فعال طبیعی سودمند را ارائه می‌کنند. جلبک‌ها بر حسب میزان رنگدانه به سه گروه؛ سبز (کلروفیتا^۱) قرمز (رودوفیتا^۲) و قهوه‌ای (فائوفیتا^۳) تقسیم می‌شوند (Oliveria et al., 2024). رنگدانه‌های طبیعی به عنوان دسته‌ای از افزودنی‌ها که به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده می‌شوند شناخته شده هستند. مصرف رنگدانه‌های طبیعی، با اثرات مثبت بر سلامت انسان، به بهبود کیفیت زندگی و طول عمر می‌انجامد. به همین علت در مقابل رنگدانه‌های مصنوعی با سمیت بالا در سراسر جهان محبوب شده‌اند. رنگدانه‌های طبیعی می‌توانند به عنوان برجسته‌ترین پارامتر، کیفیت غذا را ارزیابی و اشتها را تحریک یا سرکوب کنند (Kammler et al., 2024). مواد مغذی با ارزش افزوده موجود در جلبک‌ها نشان‌دهنده تعداد زیادی مواد شیمیایی با طیف وسیعی از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدتوموری هستند. از نظر تغذیه‌ای جلبک‌های دریایی به‌عنوان منبع مواد زیست‌فعال مانند؛ پلی‌ساکاریدهای سولفاته، اسیدهای چرب امگا ۳، پلی‌فنل‌ها، رنگدانه‌های طبیعی، پروتئین، پپتید، اسیدهای آمینه و به عنوان ماده‌خام برای مواد شیمیایی جذاب است که می‌تواند تقاضای فعلی مصرف‌کننده را، برای محصولات طبیعی تأمین کنند (Martins et al., 2020). در جلبک‌های سبز، رایج‌ترین انواع رنگدانه کلروفیل و کاروتنوئیدها هستند که در صنایع غذایی به‌عنوان رنگدانه طبیعی در غذا و نوشیدنی‌ها، استفاده می‌شود. همچنین این ترکیبات به سبب فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری، ضد میکروبی و همچنین نقش در درمان سرطان و غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Latique et al., 2021). فرآیند استخراج کاروتنوئیدها از منابع مختلف، به سبب وجود ترکیبات قطبی متنوع، با سطوح متفاوت بسیار مهم است. همچنین ماتریکس‌های مختلف به واسطه دارا بودن موانع فیزیکی و شیمیایی از انتقال جرم کاروتنوئیدها در طول فرآیند استخراج ممانعت می‌کنند. انتخاب حلال یا ترکیب حلال مناسب یکی از

استخراج کاروتنوئیدها از *Ulva rigida* توسط امواج اولتراسونیک

مهم‌ترین عوامل جهت استخراج موثر کاروتنوئیدها است. کاروتنوئیدها به طور معمول با حلال‌های آلی مانند اتانول، متانول، استون، استخراج می‌شوند (Singh et al., 2024). در استخراج کاروتنوئیدها محتوای زیاد آب در سلول‌های جلبکی جهت استخراج کارآمد، نامطلوب در نظر گرفته می‌شوند. در این راستا روش‌های آبیگری مبتنی بر حرارت موجب تخریب حرارتی و ایزومریزاسیون^۵ کاروتنوئیدها می‌گردند. که جهت ممانعت از این امر، از لیوفیلیزاسیون^۶ (خشک‌کردن انجمادی) استفاده می‌گردد و همواره زمان و هزینه استخراج را افزایش می‌دهد. اعمال پیش‌تیمار مناسب بر نمونه نیز در استخراج کارآمد کاروتنوئید موثر شناخته شده است (Gab Aboual et al., 2021). در پژوهش‌های مارتین و همکاران در سال ۲۰۲۰ جهت بازیابی رنگدانه کلروفیل و کاروتنوئید از *Ulva rigida*، استخراج جامد-مایع بهینه شد. تیمارهای مکانیکی مختلف (خیساندن، استخراج مایکروویو، استخراج به کمک اولتراسونیک، نوع حلال، تعداد متوالی استخراج و نسبت جامد به مایع) مورد بررسی قرار گرفت. جهت جداسازی رنگدانه‌ها، از ترکیبی از حلال‌ها (اتانول، هگزان و آب) استفاده گردید. یافته‌های این پژوهش نشان داد که؛ تیمارهای مکانیکی امکان بهینه‌سازی و اجرای یک فرآیند ساده، سریع و کارآمد را جهت جداسازی دسته‌های مختلف رنگدانه‌های مشابه فراهم می‌کند (tinsMar et al., 2020). محتوای رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید در طی زمان برداشت تغییر می‌کند (Singh et al., 2024). این پژوهش با هدف بهینه‌سازی شرایط استخراج رنگدانه کاروتنوئید از جلبک سبز *Ulva rigida* با کمک تکنولوژی اولتراسونیک انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

جلبک سبز *Ulva rigida* در اردیبهشت ماه ۱۴۰۱ به صورت تازه از شمال جزیره قشم، ساحل دیرستان (خلیج دیرستان) حداقل منطقه شیب‌دراز تا بندرگاه نقاشه و سلخ با مشخصات جغرافیایی N ۲۳,۲'۷۳۰۲۶" و E ۸۲,۱'۸۴۰۵۵" برداشت شد. به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج کاروتنوئید از روش سطح پاسخ با سه متغیر مستقل توان اولتراسونیک (۳۰۰-۵ وات)، زمان اولتراسونیک

¹ Algae

² Chlorophyta

³ Rhodophyta

⁴ Phaeophyta

⁵ Isomerization

⁶ Lyophilization

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج این پژوهش با استفاده از طرح مرکب مرکزی به صورت میانگین \pm انحراف معیار (SD) بیان شد و آزمایش‌ها حداقل در ۶ تکرار انجام گردید تأثیر شرایط استفاده از توان امواج اولتراسونیک (در محدوده ۳۰۰-۵ وات)، زمان اعمال امواج اولتراسونیک (۱۸/۴۰-۱/۵۹ دقیقه) و نسبت زیست‌توده Ulva به حلال (۸/۶۳-۱/۳۶ درصد) با کمک نرم‌افزار Expert-Design در ۳ سطح و ۲۰ تیمار مطابق جدول (۱) با میزان آلفا برابر ۱/۶۸ در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

تأثیر سه متغیر توان اولتراسونیک، مدت زمان اعمال امواج اولتراسونیک و نسبت زیست توده به حلال، بر محتوای استخراج رنگدانه کاروتنوئید و بازده استخراج در جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) مورد بررسی قرار گرفت. در این جدول تأثیر مدل معنادار می‌باشد ($p < 0.05$)، لیکن عدم برازش، برابر ۰/۵۶ و غیرمعناداری می‌باشد، مقدار ضریب تبیین، در جدول زیر برابر ۰/۹۰ می‌باشد. هر چه این عدد به ۱ نزدیک‌تر باشد تطابق نتایج به دست آمده با نتایج پیش‌بینی شده بیشتر می‌باشد. زیرا نمایانگر انحراف داده‌ها از مدل رگرسیون خطی است. می‌توان این نتیجه را داشت که نتایج به دست آمده با نتایج پیش‌بینی شده به نسبت متناسب هستند. در این جدول مقدار ضریب تطابق یافته ۰/۸۶ و ضریب پیش‌بینی شده ۰/۸۳ می‌باشد. مقدار ضریب تغییرات (CV)، که بیانگر توزیع پراکندگی داده‌های آماری در نمونه است در این مدل ۱۴/۹۴ می‌باشد. در جدول ۲ اثر توان اولتراسونیک، نسبت زیست توده به حلال، اثر برهم‌کنش توان اولتراسونیک و نسبت زیست‌توده به حلال بر متغیر محتوای استخراج کاروتنوئید، به حالت خطی و معنادار، می‌باشد.

همچنین اثر مربعات توان اولتراسونیک و مربع نسبت زیست‌توده به حلال نیز بر متغیر محتوای استخراج کاروتنوئید معنی‌دار می‌باشد ($p > 0.05$). تأثیر شاخص‌های نسبت زیست‌توده/حلال و توان اولتراسونیک، بر محتوای کاروتنوئید کل استخراج شده از *Ulva rigida* نمایش داده شده‌است. با افزایش نسبت زیست توده Ulva به حلال محتوای کاروتنوئید استخراج شده تا رسیدن به نسبت حدود

(۱۸/۴۰ - ۱/۵۹ دقیقه) و نسبت زیست‌توده به حلال (۸/۴۶ - ۱/۶۳ درصد) استفاده گردید.

استخراج رنگدانه

استخراج رنگدانه از *Ulva rigida*، با استفاده از؛ اولتراسونیک پروب‌دار و حلال متانول ۹۹٪ انجام گردید. در این روش مدت‌زمان استخراج (۱/۵۹، ۱۰، ۱۵ و ۱۸/۴۰ دقیقه)، نسبت زیست‌توده به حلال (۱/۶۳، ۳، ۵، ۷ و ۸/۳۶ درصد) و شدت اولتراسونیک (۵، ۶۴۰/۶۴، ۱۵۲، ۷۹ و ۳۰۰ W)، به عنوان تیمار استفاده شد. دما در حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد جهت ممانعت از تخریب و ایزومریزاسیون رنگدانه‌ها حفظ گردید. سپس نمونه در فالكون محصور شده با فویل آلومینیوم (جهت ممانعت از انتقال نور) تحت سانتریفیوژ قرار گرفت. در انتها مایع رویی در سل اسپکتروفوتومتر Vis-UV آنالیز گردید و جذب‌عصاره در ۳ طول موج (۴۸۰، ۶۴۹، ۶۶۵ nm)، خوانده شد. استخراج به روش معمول از نمونه‌های شاهد نیز بدون اعمال اثر اولتراسونیک و مطابق مراحل فوق انجام گردید. آزمایش با حداقل ۶ تکرار انجام شد محتوای کاروتنوئید و بازده استخراج کاروتنوئید با فرمول‌های زیر محاسبه گردید. (Li et al., 2022).

معادله ۱

$$C = (1000 \times A_{480} - 1.29 \times \text{Chl}_a - 53.78 \times \text{Chl}_b) / 220 \text{ (}\mu\text{g/ml)}$$

Chl_a = محتوای کلروفیل a

Chl_b = محتوای کلروفیل b

W = وزن نمونه

A_{480} = جذب در طول موج ۴۸۰ nm

(مقادیر رنگدانه، برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیان شده‌است).

معادله ۲

$$Y = \frac{C \times V}{W \times 1000 \times 1000} \times 100$$

Y = بازده استخراج کاروتنوئید (%)

C = محتوای کاروتنوئید

V = حجم حلال مصرفی

استخراج کاروتنوئیدها از *Ulva rigida* توسط امواج اولتراسونیک

می‌یابد. تأثیر دو متغیر فوق‌الذکر موجب شده تا شکل به فرم گنبدی باشد (شکل ۱ a).

۶ روندی صعودی و پس از آن روندی کاهشی را طی می‌کند. با افزایش توان اولتراسونیک تا ۱۵۲/۵ وات، محتوای کاروتنوئید استخراجی افزایش و پس از آن کاهش

جدول ۱ - طرح مرکب مرکزی متغیرهای وابسته و مستقل

Table 1. Central composite design with independent and dependent variables

No	Independent variables			Dependent variables	
	Ultrasonic power (X ₁)	Ultrasonic time (X ₂)	<i>Ulva</i> biomass/solvent (X ₃)	Carotenoid content (µg/ml)	Carotenoid extraction yield (%)
1	64.80	5	3	0.23	77.83
2	240.20	5	3	0.48	8.25
3	64.80	15	3	0.46	8.40
4	240.20	15	3	0.38	11.31
5	64.80	5	7	0.57	10.35
6	240.2	5	7	1.02	13.14
7	64.80	15	7	0.53	7.59
8	240.2	15	7	0.86	11.977
9	5	10	7	0.22	8.3
10	300	10	5	0.54	13.28
11	152.5	10	5	0.71	13.07
12	152.5	10	5	0.93	12.7
13	152.5	10	5	0.25	15.99
14	152.5	10	1.64	0.78	9.42
15	152.5	10	5	0.95	18.32
16	152.5	10	5	0.82	20.23
17	152.5	10	5	0.95	19.13
18	152.5	10	5	0.82	19.13
19	152.5	10	5	0.91	17.86
20	152.5	10	5	1.10	16.46

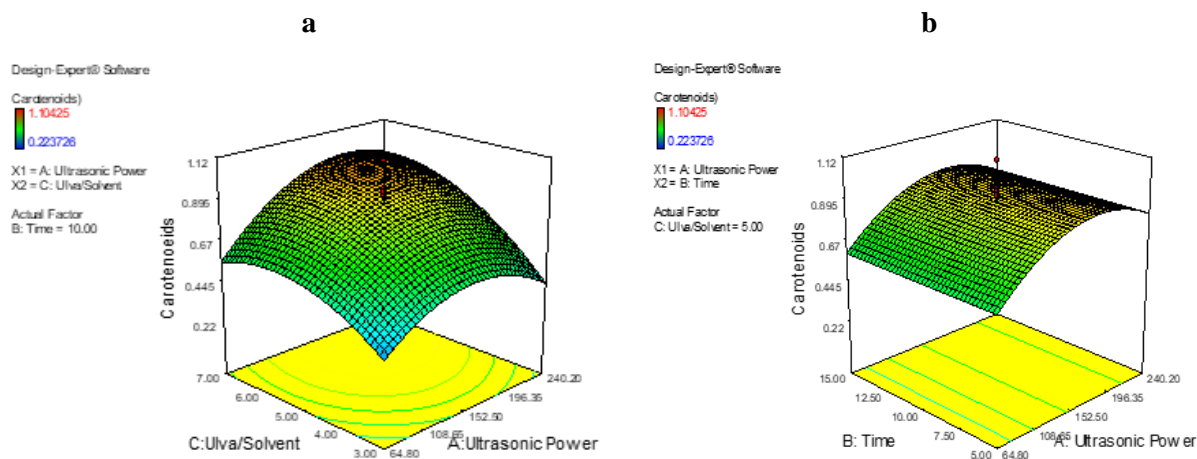


Figure 1- 3D graph the effect of *Ulva* biomass to solvent ratio and ultrasonic power in 10 min (a); ultrasonic power and time in *Ulva rigida* biomass to solvent ratio constant (b) on carotenoid content (µg/ml)

شکل ۱- نمودار سه بعدی تأثیر نسبت زیست توده/ حلال و توان اولتراسونیک؛ در مدت زمان ثابت ۱۰ دقیقه (a) توان اولتراسونیک و زمان در نسبت ثابت زیست توده *Ulva rigida* به حلال (b)، بر محتوای کاروتنوئید (µg/ml)

محتوای استخراج حدود ۴ برابر و بازده استخراج نیز حدود ۴ برابر افزایش یافته است.

بحث

کاروتنوئیدها به عنوان گروهی از مواد زیست فعال در صنایع غذایی به عنوان یک افزودنی رنگی و آنتی اکسیدان، استفاده می شوند. علاوه بر این با خواص ضدسرطانی، ضدپیری و تعدیل کننده سیستم ایمنی شناخته شده هستند. در بررسی حاضر اثر مثبت افزایش توان اولتراسونیک تا محدوده ۱۵۲/۵ وات با ماهیت رفتار امواج اولتراسونیک قابل تفسیر می باشد. امواج اولتراسونیک با فرکانس یافته های مشابهی بر اساس تحقیقات نژادمنصوری^۲ و همکاران، ۲۰۱۸ (iurosanmadNej te al., 2018) گزارش گردیده است. به دنبال افزایش توان اولتراسونیک شکل گیری بیش از حد حبابها مانع از انتشار امواج اولتراسونیک و در نتیجه کاهش عملکرد آن می گردند (iSharaye la et., 2018). خارج از محدوده بهینه توان اولتراسونیک، به سبب تشکیل و تجمع رادیکال های OH و H در طول فرآیند کاویتاسیون منجر به تخریب قابل توجه ترکیبات آنتی اکسیدانی از جمله کاروتنوئیدها شود.

اثر استفاده از تکنولوژی اولتراسونیک نسبت به روش معمول به سبب عملکرد آن در انتقال جرم محلول و همچنین بهبود و افزایش سطح تماس بین زیست توده و حلال استخراج، نسبت داده می شود (Goksen, 2023). ساهین^۲ و ساملی^۳، ۲۰۱۳ (Sahin and Samli, 2013) گزارش کردند که، استخراج ترکیبات موثر توسط مرحله اصلی انجام می گیرد. مرحله اول که "شستشو" نام دارد. در ۱۰ تا ۲۰ دقیقه نخست و با انحلال اجزاء محلول در سطح ترکیب رخ می دهد. در این مرحله ممکن است، تا حدود ۹۰ درصد از ترکیبات موثر، استخراج گردد. در مرحله دوم که به استخراج "آهسته" مرسوم است. انتقال جرم از سطح ترکیب به حلال توسط پدیده "انتشار" رخ می دهد. در نتیجه زمان طولانی اعمال اولتراسونیک نیز مطلوب شمرده نمی شود. وانگ و همکاران، ۲۰۰۰ در مطالعه بر استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با اعمال امواج اولتراسونیک بر میوه *Elaeagnus pungens* گزارش داد که بالاترین بازده استخراج ترکیبات فنلی در زمان اولتراسونیک ۲۰ دقیقه

اثر دو متغیر توان اولتراسونیک و زمان به صورت مستقل از یکدیگر در شکل ۱b نشان داده شده است. به طوری که تغییرات زمان روندی ثابت و خطی بر محتوای استخراج کاروتنوئید داشته و افزایش توان اولتراسونیک تا حدود ۱۵۲/۵ وات روند صعودی و پس از این محدوده روند کاهشی را نشان می دهد. تغییرات یک طرفه اثر توان اولتراسونیک بر محتوای استخراج رنگدانه کاروتنوئید منجر به ایجاد ساختار فوق گردیده است.

تأثیر متقابل زمان - توان اولتراسونیک، نسبت زیست توده به حلال - توان اولتراسونیک و نسبت زیست توده به حلال - زمان بر بازده استخراج کاروتنوئیدها در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش زمان اولتراسونیک تا حدود ۱۰ دقیقه روند افزایش بازده استخراج صعودی است اما این اثر مثبت، پس از ۱۰ دقیقه روند کاهشی را ایجاد کرده است. نسبت زیست توده به حلال نیز، تا حدود ۶ درصد، روند صعودی و متقابلاً افزایش بازده استخراج کاروتنوئید را نمایش می دهد. با افزایش توان اولتراسونیک، تا حدود ۱۵۲/۵ وات، ماکزیمم بازده استخراج حاصل می شود. در حالیکه از این نقطه به بعد؛ حالت کاهشی را طی می کند. بر هم کنش مثبت توان اولتراسونیک با زمان و نسبت زیست توده به حلال، در میزان بازده استخراج کاروتنوئید، موجب ایجاد فرم گنبدی، در شکل ۲a و ۲b و ۲c شد. اثر توان اولتراسونیک تا شرایط بهینه جهت استخراج رنگدانه های کاروتنوئید حاصل از *Ulva rigida* توسط دستگاه اولتراسونیک با توان اولتراسونیک ۱۷۷/۳۷ وات نسبت زیست توده به حلال ۵/۵۷ درصد و زمان ۹/۹۳ دقیقه حاکی از استخراج ۰/۹۹ میکروگرم بر میلی لیتر محتوای کاروتنوئید و ۱۸/۰۳ درصد بازده استخراج بود. می توان نتیجه گرفت که مدل ارائه شده می تواند به عنوان مدل قابل اطمینان و دقیق جهت پیشگویی استخراج کاروتنوئیدها از *Ulva rigida* با اولتراسونیک، استفاده شود. مطابق جدول ۳ خطای حاصل بین اطلاعات حاصل در شرایط آزمایشگاهی و پیش بینی نرم افزار برای محتوای کاروتنوئید و بازده استخراج به ترتیب ۴/۰۴ و ۲/۲۷ درصد، است. با مقایسه میزان استخراج بین نمونه ها در شرایط بهینه و استخراج در شرایط معمول (بدون استفاده از امواج اولتراسونیک) ملاحظه می شود

¹ dmansouriNeja

² hinSa

³ Samli

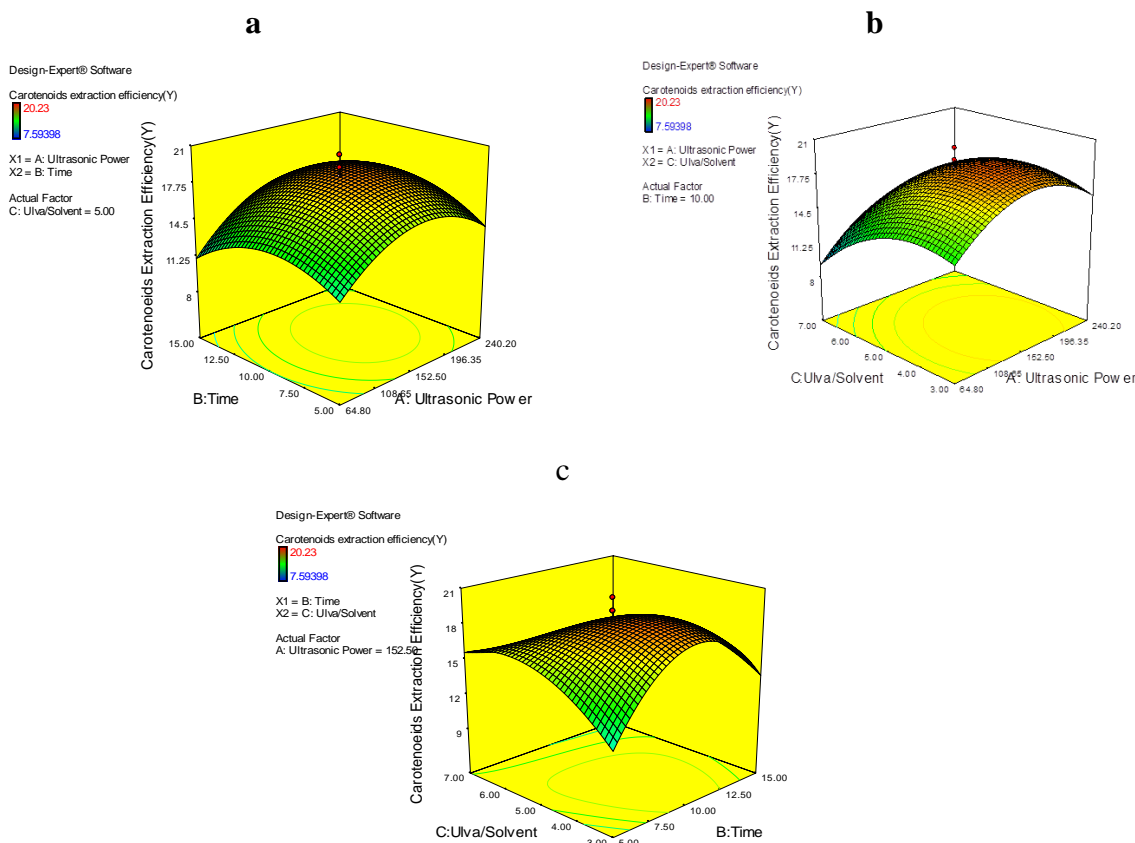


Figure 2- 3D graph the effect of ultrasonic power and time in *Ulva rigida* biomass to solvent ratio and time in *Ulva rigida* biomass to solvent ratio and ultrasonic power in 10 min (b) and *rigida* 152.50 W ultrasonic power on carotenoid extraction yield (%).

شکل ۲- نمودار سه بعدی اثر زمان و توان اولتراسونیک در نسبت ثابت زیست توده *Ulva rigida* به حلال (a)، توان اولتراسونیک و نسبت زیست توده به حلال، در زمان ثابت ۱۰ دقیقه (b)، زمان اولتراسونیک و نسبت زیست توده به حلال، در توان ثابت اولتراسونیک ۱۵۲/۵۰ وات (c) بر بازده استخراج کاروتنوئید

جدول ۲- نتایج آنالیز واریانس محتوای کاروتنوئید و بازده استخراج کاروتنوئید طرح مرکب مرکزی

Table 2- ANOVA for carotenoid content and carotenoid extraction yield results of the central composite design

Sources	Carotenoid content (ml / μ)				Carotenoid extraction yield(%)			
	Df	Mean square	F-Value	P-Value	Df	Mean square	F-Value	P-Value
Model	5	0.26	25.43	0.00	6	47.88	10.69	0.00
Ultrasonic power (X_1)	1	0.16	15.81	0.00	1	26.11	5.83	0.03
Ultrasonic time (X_2)	-	-	-	-	1	0.06	0.01	-
<i>Ulva</i> biomass/solvent (X_3)	1	0.39	37.73	0.00	1	1.05	0.23	-
X_1X_3	1	0.04	4.78	0.04	-	-	-	-
$(X_1)^2$	1	0.5	4.61	0.00	1	141.13	31.52	-
$(X_2)^2$	-	-	-	-	1	2.34	18.39	-
$(X_3)^2$	1	0.27	26.10	0.00	1	6.63	19.35	-
Residue	14	0.01	-	-	3	4.48	-	-
Lack of fit	9	0.01	0.93	0.65	8	6.23	3.71	-
Pure error	5	0.01	-	-	5	1.68	-	-
Total	19	-	-	-	19	-	-	-
R^2			0.90				0.83	
Adjusted- R^2			0.86				0.75	
CV			14.94				16.1	

جدول ۳- شرایط بهینه پیش‌بینی شده توسط نرم افزار

Table 3- Optimized characterization using software

Treatment	Ultrasonic time (min)	<i>Ulva</i> biomass/solvent (%)	Ultrasonic power (W)	Carotenoid content ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Carotenoid extraction yield (%)
Optimized predicted by software	9.93	5.57	177.38	0.95	18.44
Optimized point	9.93	5.57	177.388	0.99	18.03
Control	9.93	5.57	-	0.24	4.58
% Error	-	-	-	4.04	2.27

افزایش می‌دهد (Liu *et al.*, 2019). اما مقادیر بالای حلال هزینه عملیاتی را نیز افزایش می‌دهد. با این وجود می‌توان اظهار کرد که تناسب مناسب مابین زیست توده و حلال تاثیر مثبت بر بازده استخراج کاروتنوئید خواهد داشت. همچنین در طول فرآیند استخراج زمان بسیار کوتاه فرآیند منجر به واکنش ناکافی و در نتیجه کاهش راندمان استخراج، می‌گردد. از سوی دیگر طولانی شدن زمان واکنش یک استخراج ناکارآمد ممکن است منجر به تخریب اکسیداتیو ترکیبات هدف گردد. که مطابق مطلب فوق الذکر از لحاظ اقتصادی برای فرآوری صنعتی، ناکارآمد است. مطالعه اثر اولتراسونیک بر عملکرد استخراج کاروتنوئید از *Dunaliella salina* نیز نتایج مشابهی حاصل گردید. طی این بررسی بالاترین عملکرد اولتراسونیک زمان ۱۰ دقیقه اعمال اولتراسونیک گزارش گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که این عملکرد می‌تواند به سبب انتقال سریع ترکیب هدف از سطح جامد و سلول‌های تجزیه شده به حلال توسط امواج اولتراسونیک باشد. که نفوذ حلال متانول را به غشاء سلول *Dunaliella salina* را افزایش می‌دهد (Nej *et al.*, 2018). نتایج بدست آمده از بررسی ما نشان می‌دهد اثر توان اولتراسونیک در شرایط بهینه (توان اولتراسونیک ۱۷۷/۳۸ وات، نسبت زیست توده به حلال ۵/۵۷ درصد و زمان ۹/۹۳ دقیقه) نسبت به شرایط استخراج معمول (نسبت زیست توده به حلال ۵/۵۷ درصد و زمان استخراج ۹/۹۳ دقیقه) افزایش قابل ملاحظه‌ای را در مقدار کاروتنوئید استخراج شده (۴ برابر) و بازده استخراج کاروتنوئید (۴ برابر) به همراه داشته‌است. به طور کلی مشخص شده است که استفاده از محدوده بهینه توان اولتراسونیک به عنوان یک پارامتر حیاتی برای حصول بالاترین بازده استخراج کاروتنوئیدها باشد به نحوی که ۱۵۲/۵ وات و زمان ۱۰ دقیقه، جهت دستیابی به بازده

حاصل گردیده‌است (Wong *et al.*, 2000). در بررسی دیگر با هدف استخراج پلی‌فنل‌ها از سبوس گندم توسط اولتراسونیک دریافتند که سرعت استخراج این ترکیبات به طور قابل توجهی از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه افزایش یافته‌است اما از ۳۰ تا ۵۰ دقیقه تقریباً روند ثابتی را نشان داده‌است. در بررسی پژوهش حاضر همانطور که شکل ۵ نشان می‌دهد اثر متغیر زمان اولتراسونیک و نسبت زیست توده به حلال بر بازده استخراج کاروتنوئید اثر مثبت و تقویت‌شونده‌ای در زمان حدود ۱۰ دقیقه و نسبت زیست توده به حلال ۶ درصد مشاهده گردید. این اثر مثبت نشان می‌دهد که زمان ۱۰ دقیقه زمان مناسب و بهینه جهت حصول حداکثر میزان بازده استخراج کاروتنوئید در نسبت زیست توده به حلال حدود ۶ درصد، است. زیرا افزایش مدت زمان اعمال امواج اولتراسونیک تا محدوده نامبرده با اثر بر سطح مشترک دو فاز، بازده استخراج رنگدانه را افزایش می‌دهد و بر اساس اصل انتقال جرم بالا بودن مقدار حلال منجر به افزایش گرادیان غلظتی مابین نمونه مورد نظر و حلال، می‌گردد. که به عنوان نیرو محرکه جهت افزایش انتقال جرم و بازده استخراج تا محدوده ۱۰ دقیقه از اعمال امواج اولتراسونیک می‌گردد. پس از افزایش بیشتر هر دو پارامتر زمان اولتراسونیک و نسبت زیست توده به حلال روند کاهش در میزان بازده استخراج مشهود می‌باشد. که این روند نزولی را می‌توان به افزایش میزان زیست توده به حلال و کاهش حجم حلال نسبت داد. در حالی که در زمان بهینه اعمال امواج اولتراسونیک (۱۰ دقیقه) و نسبت زیست توده به حلال ۶ درصد بهترین بازده استخراج حاصل گردیده‌است. زمانی که مقدار حلال افزایش می‌یابد ترکیبات هدف در تماس کامل با حلال قرار می‌گیرند و این امر استخراج ترکیبات هدف را به حداکثر میزان می‌رساند. همچنین افزایش نسبت زیست توده به حلال اختلاف غلظت را

استخراج کاروتنوئیدها از *Ulva rigida* توسط امواج اولتراسونیک

properties and sugar levels of ultrasound assisted extraction, aroma compositions and amino acids profiles of macroalgae, *Laurencia papillosa*. *JyaualhehtsirS sJirasautls ao anruaJ*, 98, 106527. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106527>.

Kammler, S., Romero, A. M., Burkhardt, C., Baruth, L., Antranikian, G., Liese, A. & Kaltschmitt, M. (2024). Macroale valorization for the production of polymers chemicals and energy. *Journal of Biomass and Bioenergy*, 183, 107105. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107105>.

Latique, S., Mrid, R.B., Kabach, I., Kchikich, A., Sammama, H., Yasri, A., ihtrt, M., Jsaana, D. A. & yeJhaant, K. (2021). Foliar application of *Ulva rigida* water extracts improves salinity tolerance in wheat (*Triticum durum* L). *Journal of Agronomy*, 11(2), 265. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020265>.

Li, Y., Huang, X., Luo, L. & Shang, C. (2022). Optimization of extraction conditions of carotenoids from *Dunaliella parva* by response surface methodology. *ao lanruaJ Molecules*, 27(4), 1436. <https://doi.org/10.3390/molecules27041444>.

Liu, Y., Li, J., Fu, R., Zhang, L., Wang, D. & Wang, S. (2019). Enhanced extraction of natural pigments from *Juncus glaberrima* L. using natural deep eutectic solvents. *Journal of Industrial Crops and Product*, 140, 162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111620>.

Martins, M., Oliveira, R., Coutinho, J.A., Faustino, M.A.F., Neves, M.G.P., Pinto, D.C., Meunira, Y.P.M. (2020). Recovery of pigments from *Ulva rigida*. *Journal of Separation and Purification Technology*, 255, 117723. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117723>

Nejadmansouri, M., Golmakani, M.T. & Famouri, M. (2018). Comparison of different methods for carotenoid extraction from *Dunaliella salina*. *Journal of Nutrition Science*, 6 (4), 208-215. <https://doi.org/10.30476/IJNS.2021.93230.1162>

Oliver, J. M., Pardal, M. A., Pereira, L., Matos, A. M. & Rodrigues, E. T. (2024). Portuguese macroalgae and halophytes for human consumption: minimal risk of norovirus and salmonella infection. *Journal of Food Control* 110600, 164. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110600>.

Sahin, S. & Samli, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound assisted extraction with response surface methodology, ultrason. *Journal of Ultrasonics Sonochemistry*, 20 (1), 592-602. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>.

Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., Einafshar, S. & Ramaswamu, H.S. (2021). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of astaxanthin from green tiger (*Penaeus semisulcatus*) shrimp shell. *Journal of Ultrasonics Sonochemistry*, 105666, 76. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105666>.

Singh K. Sing A. & Pal, B. (2024). Carbohydrate and pigment composition of macroalgae in a kelp-

استخراج کاروتنوئید بهینه می‌باشد. به نحوی که با افزایش بیشتر زمان استخراج عملکرد بازده استخراج کاروتنوئیدها، به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد.

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر بهینه‌سازی استخراج رنگدانه کاروتنوئیدی از جلبک سبز *Ulva rigida* به کمک اولتراسونیک به عنوان تکنولوژی سبز، اثر معنی‌دار این روش در استخراج را نسبت به روش استخراج معمول بازگو می‌کند. در شرایط بهینه استخراج کاروتنوئید (توان اولتراسونیک ۱۷۷/۳۸ وات، نسبت زیست‌توده به حلال ۵/۵۷ درصد و زمان ۹/۹۳ دقیقه) محتوای کاروتنوئید با مقدار ۰/۹۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بازده استخراج ۱۸/۰۳ درصد، نسبت به شرایط استخراج معمول (نسبت زیست‌توده به حلال ۵/۵۷ درصد و زمان استخراج ۹/۹۳ دقیقه) با مقدار کاروتنوئید استخراج شده ۰/۲۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بازده استخراج ۴/۵۸ درصد، افزایش چهار برابری را در شرایط اعمال شده فوق‌الذکر گزارش کرده‌است که اثر قابل توجه توان اولتراسونیک به عنوان یک تکنولوژی استخراج سبز با قابلیت‌های بالا از جمله کاهش زمان استخراج همچنین کاهش تخریب رنگدانه‌های حساس به دما و نور به دنبال آن بازده استخراج بالاتر را در بستری کنترل شده فراهم می‌کند. یافته‌ها در پژوهش حاضر می‌تواند جلبک سبز *Ulva rigida* را به عنوان منبعی جایگزین در سبده غذایی انسان قرار دهد و یا در صنایع غذایی به عنوان افزودنی، بهبوددهنده کیفیت و ساختار، یا به عنوان مکمل مورد استفاده قرار دهد. همچنین نتایج پژوهش حاضر استفاده از تکنولوژی سبز اولتراسونیک را به عنوان یک سیستم اقتصادی و مستعد در مقایسه با روش‌های سنتی استخراج با حلال جهت کاربرد در فرآیندهای مختلف از جمله استخراج ترکیبات حساس به دما تأیید می‌کند.

منابع

Abou-Gabal, A., Khaled, A., Aboul-Ela, H., Aly, H. & Shalaby, O. (2021). Variation of photosynthetic pigments and biochemical screening in some seaweeds from eastern harbor, alexandria, egypt. *ao lanruaJ Egyptian and Fisheries*, 25(1), 213-226. <http://dx.doi.org/10.21608/ejaf.2021.141011>

nasseeu, n. (2023). Elucidation and quantification health-promoting phenolic compounds, antioxidant

acid profiles and some physico-chemical properties. Journal of Food Chemistry, 71, 475-482. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00175-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00175-8).

dominated Arctic fjord. Journal of Regional Studies in Marine Science, 103644, 77. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2024.103644>.

Wong, K.H. & Cheung, P.C.K. (2000). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds part I-proximate composition, amino

Extraction of Carotenoids from *Ulva rigida* by Ultrasound-assisted Method

M. Ahmadi -Sarkhuni^a, M. Jahadi^{b*}

Msc Student of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

^b Associate Professor of the Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Isfahan Branch (Khorasgan), Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Received: 12 May 2024

Accepted: 6 September 2024

Abstract

Introduction: *Ulva rigida* is a type of green algae belonging to the *chlorophyta*; which is known as a source of carotenoid pigments and chlorophyll due to its numerous chemical compounds. In this research the extraction of carotenoid pigment was optimized using ultrasound-assisted method by response surface methodology.

Materials and Methods: Fresh green algae *Ulva rigida* from the north of Qeshm Island Direstan coast (Deirestan Gulf) the boundary of the region the long slope up to Nakhzah and Salakh harbors (26°73'23.2"N and 55°84'82.1"E) was taken in May 2022. In order to optimizing the conditions of carotenoid extraction using the response surface methodology with three independent variables; ultrasonic power (5-300 W) ultrasonic time (1.59-18.40 minutes) and biomass-to-solvent ratio (1.63-8.46%).

Results: Optimize carotenoid extraction conditions using ultrasound-assisted method showed that all independent variables had a significant effect on the efficiency of carotenoids extraction ($p < 0.05$). In the optimum condition of carotenoid extraction using ultrasound-assisted method (ratio of biomass to solvent is 5.57% ultrasonic power 177.38 W and ultrasonic time 9.93 min) carotenoid content and extraction efficiency were $0.99 \pm 0.08 \mu\text{g/ml}$ and 18.03% respectively.

Conclusion: The content and the extraction efficiency of carotenoid using ultrasound-assisted technology increased 4 time as compared to the conventional extraction method. Therefore, using ultrasound-assisted method for extraction of carotenoids from *Ulva rigida* were considered as an effective process.

Keywords: Carotenoid, Optimization, Ultrasonic, *Ulva rigida*.

* Corresponding Author: