

# مقایسه روش‌های مختلف استخراج اسید گلیسرینیک از پودر عصاره شیرین بیان

پرگل میرعمادی<sup>a</sup>، حمید عزت پناه<sup>b\*</sup>، کامبیز لاریجانی<sup>c</sup>، رضا عزیزی نژاد<sup>d</sup>  
پرینان متقیان<sup>e</sup>

<sup>a</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران  
<sup>b</sup> استادیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران  
<sup>c</sup> عضو هیات علمی گروه شیمی آلی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران  
<sup>d</sup> عضو هیات علمی گروه اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران  
<sup>e</sup> کارشناس مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، شرکت پارس مینو تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۳۰

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۵/۲۱

۲۱

## چکیده

**مقدمه:** شیرین بیان از گیاهان بومی ایران می‌باشد که دارای اسیدگلیسرینیک یا گلیسرین با شیرینی ۵۰-۳۰ برابر ساکارز است. این پژوهش به منظور مقایسه سه روش مختلف استخراج از پودر عصاره شیرین بیان صورت پذیرفت.

**مواد و روش‌ها:** روش اصلاح شده روسین (روش اول)، حل کردن پودر عصاره شیرین بیان در آب مقطر و افزودن اتانول مطلق و اسید سولفوریک (روش دوم) و استفاده از میکروویو (روش سوم) صورت پذیرفت. از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای جداسازی و تعیین اسیدگلیسرینیک استفاده شد و بهره استخراج روش‌های مختلف محاسبه گردید.

**یافته‌ها:** نتایج نشان دادند که میانگین بهره استخراج روش سوم (۲۸/۸۴٪) از روش دوم (۸/۵٪) و به‌ویژه از روش اول (۴/۶٪)، احتمالاً به علت تاثیر دما و فشار بالاتر در روش میکروویو، بیشتر است. نهایتاً روش میکروویو به عنوان روشی کارآمد برای استخراج اسید گلیسرینیک از پودر عصاره شیرین بیان بسط داده شد.

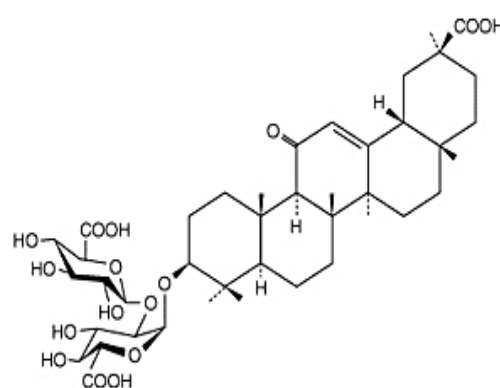
**نتیجه‌گیری:** در مقایسه با روش‌های معمول، روش سریع میکروویو دارای بهره استخراج بیشتر و مقدار حلال مصرفی کم‌تری نسبت به سایر روش‌های مرسوم می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** اسیدگلیسرینیک، بهره استخراج، پودر عصاره شیرین بیان، روش‌های استخراج، میکروویو

## مقدمه

شیرین بیان گیاهی است پایا از خانواده بقولات<sup>۱</sup> و تیره فرعی پروانه داران<sup>۲</sup> که به عنوان یک گیاه صنعتی مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار گرفته است (Amani, 1999; Maskan, 2005; *et al.*, 2005) معروف‌ترین گونه آن گلیسرزیا گلابرا<sup>۳</sup> از وارسته ویولاسه<sup>۴</sup> به نام شیرین بیان ایران شهرت یافته است (AOAC, 2002) که مطابق آمار ارائه شده اداره مراتع و آبخیزداری وزارت جهاد کشاورزی تولید قراردادی آن در سال ۱۳۸۰، به ۴۱۰۹۷۳۵ کیلوگرم رسیده است (آمارنامه اداره مراتع و آبخیزداری وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۵).

ریشه شیرین بیان به طور عمده از قندهای مختلف (تا ۱۸٪)، فلاوونوئیدها، استرولها، اسیدهای آمینه، صمغ و نشاسته، اسانس‌های روغنی و ساپونین‌ها تشکیل شده است که عمده‌ترین (۱۴-۶٪ وزنی) ساپونین (تری‌ترین ۵ حلقه‌ای) آن اسید گلیسرزیک یا گلیسرزین (شکل ۱) به فرمول  $C_{42}H_{62}O_{16}$  می‌باشد که از دو واحد اسید گلوکورونیک و یک مولکول اسید گلیسرتیک (آگلیکون) تشکیل شده است (Hough, 1973; Marrin, 1977; Henry, 1981; Ibanoglues, 2000; Caballero *et al.*, 2003).



شکل ۱- ساختار اسید گلیسرزیک

این ترکیب حدود ۱۴-۶٪ و گاهی تا ۲۰٪ وزن خشک ریشه را شامل می‌شود (Dalton, 1973; Hough, 2002). میزان شیرینی آن ۵۰-۳۰ برابر در برخی موارد تا ۱۰۰ برابر ساکارز گزارش

شده است که علاوه بر آن، دارای این ویژگی است که طعم آن در دهان به مدت طولانی باقی مانده و شیرینی آن به تدریج احساس می‌شود (صداقت، ۱۳۶۹; Hough, 1973; Hartung, 1979). این ویژگی‌ها موجب شده است که به عنوان شیرین کننده‌ای مجاز با کالری زایی پایین و تشدید کننده طعم<sup>۵</sup> بدون مشارکت در ایجاد بیماری‌ها و عوارضی چون دیابت، پوسیدگی دندان، در صنایع غذایی کاربرد یابد (صداقت، ۱۳۶۹).

بررسی مراجع علمی نشان می‌دهد که پژوهشگران مختلف روش‌های متفاوت استخراج اسید گلیسرزیک از پودر ریشه شیرین بیان را مورد بررسی قرار داده اند (Hartung, 1976; Douglas, Kinghorn & Compadre, 1995; Pan *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2004; Kondratenko *et al.*, 2005; Mukhopadhyay & Panja, 2008; Qingging & Ye, 2008) که اغلب بر اساس استخراج با آب داغ در فشار محیط و استفاده از اسیدها و قلیاها و یا هر دو و سایر مواد شیمیایی و افزودن آن‌ها به آب داغ یا بخار برای افزایش بهره استخراج بوده است (Hartung, 1976; Hartung, 1979; Bliznak & Hancarufka, 1981; Wang *et al.*, 2004; Mukhopadhyay & Panja, 2008; Qingging & Ye, 2008).

هدف از این پژوهش مقایسه سه روش استخراج اسید گلیسرزیک از پودر عصاره شیرین بیان بر اساس دستیابی به بالاترین بهره استخراج<sup>۶</sup> است که مطابق نتایج برخی پژوهش‌ها از آب به عنوان حلال مناسب برای استخراج گلیسرزین استفاده شده است (Tian *et al.*, 2008).

## مواد و روش‌ها

پودر عصاره شیرین بیان<sup>۷</sup> (وارسته گلیسرزیا گلابرا ویولاسه) با رطوبت ۶-۵٪ تولید شده توسط کارخانه شیرین داروی شیراز، مونوآمونوم گلیسرزیک اسید با درجه خلوص ۹۹/۵٪ به عنوان استاندارد HPLC تولید شرکت سیگما<sup>۸</sup> و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق دارای خلوص و کیفیت آزمایشگاهی بوده و به‌وسیله شرکت مرک<sup>۹</sup> آلمان تهیه شده بودند.

علاوه بر دستگاه‌ها و لوازم معمولی آزمایشگاهی

1- Leguminose

2- Papilionacea

3- Glycyrrhiza Glabra

4- Violaceae

5- Flavour Enhancer

6- Extraction Yield

7- Licorice Extract Powder

8- Sigma

9 - Merck

شد و محلول به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خنک شدن محلول از طریق نگهداری آن در دمای محیط به مدت نیم ساعت، از فیلتر خلاء عبور داده شده و در تبخیر کننده تحت خلاء گردان در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت گردش ۴۰ دور در دقیقه تغلیظ شد. سپس با هدف جداسازی ناخالصی‌هایی مانند صمغ و نشاسته به آن اتانول مطلق (۲۰ میلی لیتر در گرم) اضافه شد. در مرحله بعد اتانول در تبخیر کننده تحت خلاء گردان<sup>۵</sup> در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و با سرعت گردش ۴۰ دور در دقیقه، جدا شد. سپس با افزودن اسید سولفوریک ۱ به ۱ حجمی حجمی و در pH حدود ۱ تا ۲، گلیسرین ترسیب شده و با آب و اتانول شستشو شد تا باقیمانده اسید و سایر ناخالصی‌ها جدا گردند، ترکیب به دست آمده در آن تحت خلاء ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و برای تعیین خلوص به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق شد ( Mukhopadhyay & Panja, 2008; Tian et al., 2008; AOAC, 2002).

#### - روش سوم:

در این روش از دستگاه میکروویو با توان ۱۰۰۰ وات استفاده شد. ابتدا به ۰/۵ گرم پودر عصاره شیرین بیان ۳۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و دستگاه طبق شرایط زیر تنظیم شد:  
- حداکثر دما ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۱۵ دقیقه  
- فشار ۱/۵ بار  
پس از خنک شدن محلول سایر مراحل خالص سازی طبق روش دوم صورت گرفت.

#### - تعیین درصد خلوص

درصد خلوص و مقدار اسید گلیسرینیک استحصالی ترکیب به دست آمده از هر سه روش بالا با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین شد. بدین صورت که درصد خلوص با استفاده از روش استاندارد AOAC به شماره ۹۸۲/۱۹ و بهره استخراج بر اساس رابطه‌های زیر تعیین شدند ( Pan et al., 2002; AOAC, 2002):

مانند فیلتر خلاء و بن ماری از تجهیزات زیر در این تحقیق استفاده شد:

- دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا<sup>۱</sup> مدل k2500, ( ساخت شرکت Knauer، آلمان) با مشخصات ستون RP C<sub>18</sub>, طول ستون ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر، با سرعت جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه و مجهز به آشکار ساز<sup>۲</sup> 254UV نانومتر.
- دستگاه میکروویو<sup>۳</sup> (مدل Ethos، ساخت شرکت Milestone، آمریکا) با حداکثر توان ۱۰۰۰ وات
- دستگاه تبخیر کننده تحت خلاء (مدل EW-28705-01، ساخت شرکت Heidolf، آمریکا) پودر عصاره شیرین خریداری شده و تا زمان انجام مراحل عملی استخراج در بسته‌هایی دور از هوا در دمای محیط نگهداری شد مراحل عملی استخراج به شرح زیر صورت گرفتند:

#### - روش اول یا روش اصلاح شده روسین<sup>۴</sup>:

در این روش که بر اساس استخراج اسید گلیسرینیک از ریشه شیرین بیان (روش روسین) در نظر گرفته شده است، به ۵ گرم پودر عصاره شیرین بیان آب مقطر ۸۰ درجه سانتی‌گراد افزوده شد و مخلوط پس از هم زدن کامل و حل کردن پودر، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد تا سرد شود. به این محلول قطره قطره اسید سولفوریک غلیظ ۱ به ۱ حجمی حجمی اضافه شد تا اسید گلیسرینیک به تدریج رسوب نماید. پس از جدا کردن آب بخش فوقانی رسوب و با هدف حذف باقیمانده اسید چند بار شستشوی آن با آب صورت گرفت، در نهایت رسوب به دست آمده در مقدار اندکی اتانول مطلق حل شد و به پلیت منتقل شد و در آن ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و برای تعیین خلوص به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق شد (صداقت، ۱۳۶۹، AOAC, 2002 ;).

#### - روش دوم:

در این روش که اصلاح شده روش اول است به ۵ گرم پودر عصاره شیرین بیان ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر (۵۰ میلی لیتر حلال برای هر گرم پودر) افزوده

1- High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2- Detector

3- Microwave

4- Modified Roussin Technique

5- Vacuum Rotary Evaporator

## مقایسه روش‌های مختلف استخراج اسید گلیسرزیک از پودر عصاره شیرین بیان

$$\text{درصد خلوص اسید گلیسرزیک} = \left(\frac{C'}{C}\right) \times \left(\frac{pH}{pH'}\right) \times \left(\frac{V'}{V}\right) \times 100$$

(AOAC, 2002)

مقایسه میانگین دانکن استفاده شد.

## یافته‌ها

شرایط مراحل استخراج از جمله دما، زمان و مقدار حلال مصرفی سه روش به کار رفته در جدول ۱ با یکدیگر مقایسه شده‌اند.

همچنان که نتایج این جدول نشان می‌دهد شرایط استخراج سه روش از نظر دما، زمان و مقدار حلال مصرفی با یکدیگر تفاوت دارند و بیشترین دما به روش ۳ (میکروویو) و کم‌ترین آن به روش ۲ اختصاص دارد، در حالی که کم‌ترین زمان استخراج به روش ۱ (اصلاح شده روسین) و بیشترین آن به روش ۲ مربوط می‌شود و به نظر می‌رسد با اعمال فشار بیشتر در روش سوم می‌توان تا حدودی زمان استخراج را کاهش داد. البته در روش سوم مقدار حلال مصرفی (آب) به مراتب از سایر روش‌ها، به‌ویژه روش اول بیشتر است.

نتایج حاصل از استخراج اسید گلیسرزیک از پودر عصاره شیرین بیان و خلوص به دست آمده از هر روش در جدول ۲ و بهره استخراج آن‌ها در نمودار ۱ نشان داده شده است.

$C'$  = غلظت محلول استاندارد برحسب میلی گرم در لیتر

$C$  = غلظت محلول نمونه

$pH$  = ارتفاع پیک نمونه

$pH'$  = ارتفاع پیک استاندارد

$V'$  = حجم استاندارد تزریق شده در میکرولیتر

$V$  = حجم نمونه تزریق شده در میکرولیتر

درصد خلوص × وزن خشک ترکیب استحصال شده = درصد بهره استخراج (وزنی/وزنی)

پودر عصاره شیرین بیان

(Pan et al., 2002)

هر یک از مراحل عملی استخراج و تعیین درصد خلوص در دو تکرار صورت پذیرفت.

## - روش آماری مورد استفاده

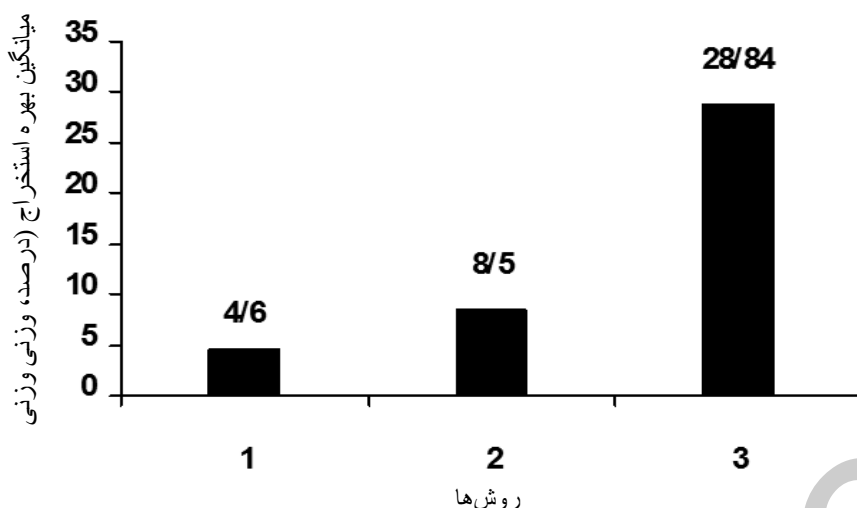
تجزیه و تحلیل داده‌های این تحقیق با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) صورت گرفت و برای مقایسه درصد بهره استخراج هر سه روش و درصد خلوص گلیسرزین به دست آمده از آزمون

جدول ۱- شرایط روش‌های مختلف استخراج اسید گلیسرزیک از پودر عصاره شیرین بیان

شرایط استخراج	روش‌ها		
	۱	۲	۳
دما (درجه سانتی‌گراد)	۸۰	۵۰	۱۱۰
زمان (دقیقه)	۳-۴	۶۰	۱۵
حلال مصرفی (میلی لیتر به ازای هر گرم نمونه)	۱۰	۵۰	۶۰

جدول ۲- درصد خلوص اسید گلیسرزیک از پودر عصاره شیرین بیان

روش	ویژگی‌ها		
	وزن خشک نمونه پودر عصاره (گرم)	وزن خشک ترکیب حاصله (گرم)	میانگین درصد خلوص (%)
۱	۴/۷۵۰	۱/۳۵۰	۱۶/۴۴
۲	۴/۷۵۰	۱/۱۴۰	۳۵/۷۵
۳	۰/۴۷۵	۰/۱۴۲	۹۶/۵۰



نمودار ۱- بهره استخراج اسید گلیسریدیک از پودر عصاره شیرین بیان به روش‌های مختلف بر حسب درصد، وزنی وزنی

بهره استخراج اسید گلیسریدیک می‌شود (Mukhopadhyay & Panja, 2008) و روش میکروویو حتی در روش معمولی، روشی سریع با حلال مصرفی بالا و نسبتاً قابل قبول بوده (Pan et al., 2002) و مشخص شده است که بهترین حلال برای استخراج این ترکیب آب (Tian et al., 2008) و میزان استخراج با افزایش دما و زمان نیز افزایش می‌یابد (Wang et al., 2004).

از مهم‌ترین دلایل افزایش درصد بهره استخراج و خلوص روش سوم می‌توان به این موارد اشاره کرد:

افزایش دما (به ویژه همراه با اعمال فشار) می‌تواند سبب کاهش ویژگی‌هایی چون چگالی<sup>۱</sup>، گرانروی<sup>۲</sup>، کشش سطحی<sup>۳</sup> و قطبیت آب<sup>۴</sup> شده در نتیجه مقاومت به انتقال جرم کاهش یافته و اسید گلیسریدیک بیشتری را از ماده مورد استفاده بیرون کشیده و وارد حلال کند.

از سویی دیگر ساختار اسید گلیسریدیک به دلیل داشتن ۳ گروه کربوکسیل (COOH) و ۵ گروه هیدروکسیل (OH) بسیار قطبی بوده و این موضوع سبب جذب بیشتر و آسان‌تر آن در میکروویو می‌شود. در نتیجه اسید گلیسریدیک موجود در پودر عصاره سریع‌تر گرم شده و از پودر وارد آب می‌گردد. بنابراین میکروویو می‌تواند سبب افزایش درصد بهره

نتایج حاصل از تجزیه واریانس روش‌های مختلف از نظر درصد بهره استخراج و درصد خلوص نشان داد که بین این سه روش از نظر آماری (سطح  $p < 0.01$ ) تفاوت معنی داری وجود دارد. مقایسه میانگین آن‌ها نشان داد که روش سوم از نظر درصد خلوص و درصد بهره استخراج بالاتر از روش دوم و به طور قابل توجهی بالاتر از روش اول می‌باشد. رنگ نمونه ترکیب استخراج شده از طریق روش میکروویو بسیار روشنتر از دو روش دیگر بود که موید خلوص بالاتر ترکیب استخراجی می‌باشد. نقش میکروویو بر افزایش درصد بهره استخراج توسط محققین پیشین نیز به اثبات رسیده است (Pan et al., 2002).

## بحث

لازم به تذکر است که در تمامی مراجع بین‌المللی ماده اولیه مصرفی قطعات خرد شده ریشه یا پودر ریشه شیرین بیان مطرح شده است اما در این پژوهش از پودر عصاره شیرین بیان استفاده شد و توسعه و بهبود روش‌های استخراج اسید گلیسریدیک از پودر عصاره موضوع محور این پژوهش قرار گرفت.

بهر حال نتایج برخی پژوهش‌های دیگر نیز حاکی از آن است که به کارگیری دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در مدت حداکثر ۷۵ دقیقه موجب افزایش

1-Density

3-Surface Tension

2-Viscosity

4-Water Polarity

## مقایسه روش‌های مختلف استخراج اسید گلیسرزیک از پودر عصاره شیرین بیان

پرفشار<sup>۱</sup> و یا استخراج دردمای اتاق می‌شود و از سوی دیگر به دلیل ساختار قطبی اسید گلیسرزیک این ترکیب به سرعت میکروویو را جذب کرده و در نتیجه سبب افزایش بهره استخراج و درصد خلوص رسوب حاصله می‌شود که خود منجر به ایجاد رنگ روشن‌تر (متمایل به سفید) و مطلوب‌تر آن برای استفاده در صنایع غذایی به عنوان طعم‌دهنده می‌شود.

## منابع

- بی‌نام. (۱۳۸۵). اطلاعات آماری اداره مراعات و آبخیزداری، وزارت جهاد کشاورزی.
- صداقت، ن. (۱۳۶۹). بررسی خواص شیرین‌کنندگی و طعم‌دهندگی گلیسرزین و عصاره شیرین بیان در شکلات. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی- صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحه ۴۵
- AOAC. (2002). Association of Official Analytical Chemists, Official method 982.19 .
- Amani, M., Sotudeh- Gharebagh , R., Mostaoufi, N. & Kashani, H. (2005). Optimal Exteraction of Glycyrrhetic Acid From Licorice Root, J. of Technology, 3 (4), 376-580.
- Bliznak, J. B. & Harcarufka, R. E. (1981) Sweetener And Flavoiing compositions and Method Producing Same, V.S. Patent 4, 277, 511.
- Caballero, B., Trugo, L. C. & Finglas, P. M. (2003). Encyclopedia of Food Science & Nutrition, 2nd ed, Vol. 9, PP.5700.
- Dalton, L. (2002). Licorice, 80 (32).
- Douglas kinghorn, A. & Compadre, M. (1995). Alternative sweeteners, edited by Lyn O' Brien Nabors, 3th Ed, Atlanta Calovie control council, chapter 12, 99, 209-211.
- Hartung, H. A. (1979). Potassium-Magnesium-Calcium Glycyrrhizin, U.S. Patent 27, 1979.
- Hartungs, H. A. (1976). Glycyrrhizin-Free Fractions From Licorice Root And Process for obtaining such fraction, U.S. Patent 4, 163, 067.
- Henry, B. H. (1981). Source Book of Flavors, 321.
- Hough, C. A. M. (1973). Developments in sweeteners-1, edited by Hough C.A.M ., parker, K.J., Vlitos, A.J, LTD London, pp140-143.
- Ibanoglu, E., I banoglu, s. (2000). Foaming Behavior of Licorice (Glycyrrhiza Glabra) extract, Food chemistry, 70, 333-336.
- Isbrucker, R. A. & Burdock, G. A.

استخراج و درصد خلوص رسوب حاصله و صرفه‌جویی در زمان استخراج گردد (Pan et al., 2002).

بررسی منابع علمی نشان می‌دهد که گلیسرزیک اسید در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد (با اعمال فشار) تجزیه می‌شود (Ong & Len, 2003)، در سایر منابع نیز نقطه نرم شدن ۱۷۰ درجه سانتی‌گراد و نقطه ذوب ۲۰۵ درجه سانتی‌گراد برای آن ذکر شده است و در برخی موارد به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد نیز اشاره گردیده است (صداقت، Nieman, 1957 : ۱۳۶۹).

لازم به یادآوری است که هرگز فرآیندهای به کار رفته از حدود مورد نظر فراتر نرفته‌اند.

بهره استخراج بالاتر روش دوم نسبت به روش اول می‌تواند به علت اعمال زمان بیشتر و حرارت مداوم‌تر برای استخراج باشد. از طرف دیگر استفاده از اتانول، به منظور ترسیب و جداسازی صمغ و نشاسته و سایر ناخالصی‌ها در مراحل خالص‌سازی روش دوم سبب ایجاد تفاوت در بهره استخراج و خلوص گلیسرزیک اسید حاصله شده است. این نتایج با یافته‌های سایر محققین پیشین مطابقت دارد (Mukhopadhyay & Panja, 2008).

از آن‌جا که تنها در روش میکروویو از فشار ۱/۵ بار که توسط بخار حلال مصرفی بر روی نمونه پدید می‌آید، استفاده شد و سایر روش‌ها در فشار اتمسفری صورت پذیرفت، نقش فشار (به همراه دما) بر خصوصیات آب و افزایش میزان استخراج اسید گلیسرزیک به وسیله آن که در سایر منابع علمی گزارش شده بود را تایید کرد.

اثر میزان بالاتر حلال مصرفی در روش سوم را نیز می‌توان از عوامل موثر دانست.

## نتیجه‌گیری

با مقایسه سه روش استخراج این‌گونه نتیجه‌گیری شد که درصد بهره استخراج وزنی وزنی در روش میکروویو بیشتر از روش دوم و به طور قابل توجهی بیشتر از روش اول می‌باشد. به علاوه روش مذکور روشی سریع می‌باشد که باعث صرفه‌جویی در زمان نسبت به سایر روش‌های دستگاهی مانند سوکسله و یا استفاده از آب داغ

(2006). Risk and safety assessment on the consumption of Licorice Root (Glycyrrhizin SP.), Its extract and powder as a food Ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of Glycyrrhizin Regulatory, Toxicology and pharmacology, 46, 167-192.

Kondratenko, R. M., Baltina, L. A., Mikhailova, L. R., Danilov, V. T., Gabbasov, T. M. & Tolstikov, G. A. (2005). Obtaining Glycyrrhizic Acid and Its Practically useful salts from commercial Licorice Root Extract, Pharmaceutical chemistry Journal, 39 (2), 30-32.

Marrin, C. K. (1977). Sweetening Compositionm U.S. Patent 4, 176, 201.

Maskan, M. (1999). Rheological Behavior of Liquorice (Glycyrrhiza Glabra) extract, J. of Food Engineering, 39, 389-393.

Mukhopadhyay, M. & Panja, P. (2008). A Novel Process for Extractoion of Natural sweetener from licorice (Glycyrrhiza Glabra) roots, international J. of sepration and purification Technology, 9281, 7.

Nieman, C. (1957). Licorice-advances in food research, Academic press, newyork, 7

Ong, E. S. & Len, S. M. (2003). Pressurized hot water extraction of berberine and baicalein and glycyrrhizin in medicinal plants, Analytica Chimica Acta, 482, 81-89.

Pan, X., Liu, H., Jia, G. & shu, Y. Y. (2002). Microwave- assisted extraction of Glychyrrhizic Acid from Licorice Root, Biochemical Engineering Journal, 5, 173-171.

Qingging, Zh., Ye, M. (2008). Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan - Cao (Licorice), J. of chromatography A, Chroma, 348988, 16.

Tian, M., Yan, I. & Row, K. H. (2008). Extraction of Glycyrrhizic Acid and Glabridin from licorice, International J. of Molecular science, 9, 571-577.

Wang, Q-e., shaomei, M., Boqiang, F., Lee, F. S. C., & Wang, X. (2004). Development of multi-stage countercurrent extraction technology for the exetration of glycyrrhizic acid from Licorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch), Biochemical Engineering Journal, 21, 285-299.

## Comparison of Different Methods of Obtaining Glycyrrhizic Acid from Licorice Extract Powder

P. Miremadi<sup>a</sup>, H. Ezzatpanah<sup>b\*</sup>, K. Larijani<sup>c</sup>, R. Azizinezhad<sup>d</sup>  
P. Motaghian<sup>e</sup>

<sup>a</sup> M. Sc. Graduate of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>b</sup> Assistant Professor of the Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>c</sup> Academic Member of the Department of Organic Chemistry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>d</sup> Academic Member of the Department of Plant breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>e</sup> Agriculture Engineering-Food Science and Technology Expert, Tehran Pars Minoos Factory.

Received: 12 August 2009

Accepted: 21 January 2010

7

### Abstract

**Introduction:** Licorice as a native and traditional plant of Iran contains Glycyrrhizic acid (GA) or Glycyrrhizin, a substance claimed to be up to 30-50 times sweeter than sucrose. Three different techniques of glycyrrhizic acid extraction from licorice extract powder have been compared.

**Materials and Methods:** Modified Roussin technique (Method 1), Dissolving the licorice extract powder in distilled water and treatment with ethanol and sulphuric acid (method 2). Application of microwave (Method 3). High performance liquid chromatography was used to separate and determine GA and find the yield of extraction by various techniques.

**Results:** The results showed that the yield by the third method of extraction was higher (28.84%) than the second (8.5%) and the first method (4.6%), which might be due to the effect of higher temperature and pressure applied in microwave technique.

**Conclusion:** Microwave extraction method proved to be a quicker method and provided higher extraction yield as compared to other conventional methods.

**Keywords:** *Extraction Techniques, Extraction Yield, Glycyrrhizic Acid, Licorice Extract Powder, Microwave.*