

## بهینه‌سازی شرایط استخراج آبی فروکتان از غده سریش با استفاده از طرح باکس‌بنکن

امیر پورفرزاد<sup>۱</sup>، محمد باقر حبیبی نجفی<sup>۲\*</sup>، محمد حسین حداد خداپرست<sup>۳</sup>، محمد حسن زاده خیاط<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۲/۱/۲۴

تاریخ پذیرش ۱۳۹۲/۵/۲۸

### چکیده

فروکتان‌ها گروهی از الیگو و پلی‌ساکاریدهای تشکیل شده از فروکتوز هستند که به علت دارا بودن ویژگی‌های مفید تغذیه‌ای و عملکردی بطور گسترده‌ای در جهان مورد استفاده می‌باشند. گیاه سریش از جمله گیاهانی می‌باشد که از دیرباز در امور صنعتی و طب سنتی استفاده می‌شده و یکی از منابع ارزشمند فروکتان به شمار می‌رود. اما همچنان اطلاعات کمی در مورد نحوه استخراج فروکتان از این گیاه، موجود است. در این تحقیق از روش رویه پاسخ و طرح باکس بنکن به منظور بررسی تأثیر زمان (۵-۴۰ دقیقه) و دمای استخراج (۴۰-۹۰ درجه سانتی‌گراد) و نسبت آب به ماده جامد (۱:۳۰-۵۰:۱) بر راندمان استخراج فروکتان از سریش، درجه پلیمریزاسیون، درجه خلوص و نیز بهینه‌سازی فرآیند استخراج آبی، استفاده گردید. برای توصیف بازده استخراج، درجه پلیمریزاسیون و درجه خلوص از مدل‌های درجه دوم استفاده و کارایی آن مورد تأیید قرار گرفت. سپس، مدل بدست آمده جهت یافتن بهترین شرایط فرآیند با بیشترین بازده استخراج و درجه خلوص، استفاده گردید. نتایج نشان داد، در صورتی که زمان استخراج ۲۸/۳۸ دقیقه، دمای استخراج ۸۸ درجه سانتی‌گراد و نسبت آب به ماده جامد ۵۰:۱ باشد، بیشترین بازده استخراج (۵۴/۱۰ درصد) و درجه خلوص (۳۲/۵۸ درصد) حاصل می‌گردد.

**واژه‌های کلیدی:** استخراج، روش سطح پاسخ، سریش، فروکتان.

### مقدمه

روند تحقیقات تغذیه‌ای موجب شده است تا عرضه و مصرف غذاهای سلامتی‌زا رشد فزاینده‌ای داشته باشد که به دلیل حضور ترکیبات موثر بر فعالیت‌های بدن، موجب سلامتی و کاهش ابتلا به بیماری‌ها می‌گردند. مصرف‌کنندگان امروزه بیشتر نگران سلامتی خود هستند و تمایل به خرید غذاهایی دارند که علاوه بر طعم خوب، کم کالری و کم چرب بوده و برای سلامتی سودمند باشند. بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان، کلسترول بالا، وزن زیاد، پوکی استخوان و دیابت از بیماری‌های شایع امروزی هستند. اینولین و الیگوفروکتوزها (فروکتان‌ها) در زمره غذاهای سلامتی‌زا بوده و می‌توانند بخشی از نیازهای صنعت غذا برای تولید غذاهای سالم را برآورده سازند (Roberfroid, 2005). فروکتان‌ها بعنوان محصول اصلی صنعت

پریبیوتیک‌ها، می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های مذکور، اهمیت داشته باشد. فروکتان‌ها مخلوطی از بخش‌های فروکتوز هستند که توسط باندهای گلیکوزیدی  $\beta(1\rightarrow2)$  و  $\beta(2\rightarrow6)$  بهم متصل شده‌اند و معمولاً یک گلوکز داخلی یا انتهایی در ساختار خطی یا شاخه‌ای آنها وجود دارد. اینولین‌ها انواعی از فروکتان‌ها هستند که عموماً دارای باندهای  $\beta(1\rightarrow2)$ ، ساختار خطی و یک بخش گلوکز در ابتدای زنجیره (غیرالزامی) هستند. گلوکوپیرانوزیل فروکتوز و فروکتوپیرانوزیل فروکتوز مخلوطی از الیگومرها و پلیمرها هستند که توسط درجه پلیمریزاسیون خود، بهتر مشخص می‌شوند. هر چند نامگذاری در این حوزه می‌تواند گیج‌کننده باشد اما فروکتان‌های با زنجیره کوتاه ۲-۹ واحدی را فروکتوالیگوساکارید یا الیگوفروکتوز می‌نامند در حالی که فروکتان‌های با طول زنجیره بلندتر از ۱۰ واحد، اینولین نامیده می‌شوند. در این پژوهش، واژه فروکتان به مجموع فروکتوالیگوساکارید و اینولین بر می‌گردد (Roberfroid et al., 1998, Roberfroid, 2002, Muir et al., 2007). فروکتان‌ها به علت وجود باندهای گلیکوزیدی  $\beta(1\rightarrow2)$  در ساختارشان، در برابر هضم در بخش بالایی دستگاه گوارش مقاومت می‌کنند اما بمقدار کمی نیز در روده بزرگ تخمیر می‌شوند. بنابراین در دسته

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت.

۲ و ۳- استادن، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۴- استاد، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

(Email: habibi@um.ac.ir

\*) نویسنده مسئول:

و کنگر فرنگی (از جمله گیاهان موجود در تیره ی کاسنی) و استخراج با آب گرم ریشه‌های غده‌ای کوکب و بابا آدم، ترسیب با حلال‌های مختلف مانند اتانل، پروپانل، استون و استونیتریل و استخراج آبی با اعمال امواج فراصوت اشاره نمود (Lingyun et al., 2007, Ku et al., 2003, Saengthongpinit et al., 2005, López-Molina et al., 2004, Baldini et al., 2004, Lorenzo et al., 2004). با توجه به اهمیت تغذیه‌ای فروکتان، تولید و کاربرد روز افزون آن در سطح جهانی، همچنین وجود گیاهان متنوع غنی از فروکتان در سطح وسیعی از کشور، متأسفانه بدلیل صرف هزینه بالا جهت خرید و وارد کردن این ماده در حوزه صنایع غذایی، این ماده در صنعت داخلی کماکان ناشناخته باقی مانده است. در این راستا، این پژوهش با هدف بهینه‌یابی شرایط استخراج آبی فروکتان‌های گیاه سریش با استفاده از روش سطح پاسخ، طراحی گردید.

## مواد و روش‌ها

### مواد

پودر ریشه سریش محصول استان خراسان از یک مغازه عطاری در مشهد تهیه شد. بدین منظور، پودر مورد نیاز برای انجام آزمایشات یکجا تهیه، اندازه ذرات آن با استفاده از الک با مش ۵۰ میکرومتر تنظیم و در مکانی خشک و خنک نگهداری گردید. سایر مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل معرف دی نیترو سالیسیلیک اسید، فنول کریستاله، تارتارات مضاعف سدیم و پتاسیم، دی فروکتوز و اسید سولفوریک ۹۶٪ از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

### روش‌ها

**خصوصیات شیمیایی پودر سریش:** تعیین درصد رطوبت از طریق خشک نمودن توسط آون الکتریکی (Memmert oven, UL 40, Schwabach, Germany) صورت گرفت. خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی (Exciton EX. 12000.21) و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. اندازه‌گیری پروتئین با استفاده از دستگاه کج‌دلال (1030, Tecator Co) و ضریب تبدیل ۶/۲۵ انجام شد. تعیین چربی توسط دستگاه سوکسله صورت پذیرفت. فیبر کل از طریق روش آنزیمی اندازه‌گیری شد. بدین منظور پس از جداسازی چربی نمونه، پروتئین و نشاسته توسط آنزیم‌های مربوطه رسوب داده شدند و از محاسبه و کسر مقدار پروتئین و خاکستر باقیمانده در نمونه، فیبر کل بدست آمد (AOAC, 1995). میزان کربوهیدرات کل نیز از طریق کسر مجموع رطوبت، پروتئین، خاکستر و چربی از صد محاسبه گردید.

**استخراج فروکتان:** جهت استخراج عصاره‌ی سریش، ابتدا مقدار

الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم<sup>۱</sup> و نیز فیبرهای رژیمی محلول در آب قرار دارند. اما به علت خصوصیات تخمیری خاصشان، خصوصیات متفاوتی نسبت به سایر فیبرهای رژیمی نشان می‌دهند. بنابراین، نقش خود را در یک رژیم غذایی متعادل، ممکن است از طریق افزایش مقدار فیبر، بهبود تنوع منابع فیبری، از طریق تاثیر بر عملکردهای گوارشی (ترکیب فلور داخلی، عملکردهای مخاطی، فعالیت‌های غدد ترشحی، جذب مواد معدنی و ...) و حتی نقش‌های سیستمی (مخصوصاً تنظیم لیپیدی و عملکردهای ایمنی) و نیز با کاهش خطر بیماری‌های مختلف ایفا می‌کنند (Roberfroid, 2007, Gibson et al., 1995).

سریش (*Eremurus spectabilis*) متعلق به خانواده لاله<sup>۲</sup> می‌باشد. این گیاه پایا، دارای ریشه‌های فیبری و کلفت، استوانه‌ای، گوشتی و بسیار طویل می‌باشد. ظهور گیاه عموماً اواخر فروردین انجام شده، گل‌های سریش اواخر اردیبهشت و خرداد ظاهر و بلافاصله بذر تشکیل می‌گردد. زمان بهره برداری از گیاهان سریش از نیمه دوم خرداد شروع و تا دو ماه ادامه دارد (Brayan, 1989, Brickell, 1972, Crockett, 1996). پراکندگی جغرافیایی آن بطور عمده در جنوب آسیا تا حداکثر آسیای میانه، شامل کشورهای ترکیه، فلسطین، لبنان، سوریه، عراق، غرب پاکستان، افغانستان، ایران و قفقاز می‌باشد. در ایران نیز در مناطقی مانند خراسان، مریوان، دماوند، خمین، اراک، دشت کرج و کرمانشاه قابل رویش می‌باشد (Dashti et al., 2005). گیاه سریش از جمله گیاهانی می‌باشد که از قدیم‌الایام در امور صنعتی و طب سنتی استفاده می‌شده است. از دانه‌های این گیاه، روغنی گرفته می‌شود که در طب سنتی برای درمان تصلب شرایین مورد استفاده قرار می‌گیرد. از برگ‌های این گیاه بعنوان سبزی خوردنی و از ریشه‌های این گیاه که به صورت غدد پنجه‌ای است به عنوان چسب استفاده می‌شود (Rubin, 2002).

در حال حاضر برای تولید صنعتی اینولین از دو گونه‌ی متعلق به تیره ی کامپوزیتا یعنی کنگر فرنگی اورشلیم و کاسنی استفاده می‌شود (Kaur et al., 2002) و تاکنون مطالعات گوناگونی در زمینه استخراج فروکتان از منابع مختلف از جمله برگ‌های کاسنی (Berghofer et al., 1993)، ریشه کاسنی (Hosseini Nezhad et al., 2013, Leite Toneli et al., 2007)، کنگر فرنگی (Lingyun et al., 2007)، کنگر بومی ایران (Abbasi et al., 2009)، سیب زمینی ترشی (Milani et al., 2010)، شنگ (Milani et al., 2011a) انجام گرفته است. برای استخراج فروکتان از گیاهان، روش‌های مختلفی نیز معرفی شده است که از جمله این روش‌ها می‌توان به استخراج با آب گرم ساقه‌های غده‌ای خرد شده کاسنی، شلغم فرنگی

<sup>1</sup> Non -digestible oligosaccharide

<sup>2</sup> Liliaceae

**اندازه‌گیری درجه خلوص:** درجه خلوص عصاره استخراجی از پودر سریش با استفاده از فرمول زیر محاسبه و ارزیابی گردید (Paseephol *et al.*, 2007, Zhu *et al.*, 2012):

$$(۳) \quad ۱۰۰ \times [\text{مقدار ماده جامد در } ۱۰۰ \text{ گرم عصاره استخراجی} / \text{مقدار فروکتان در } ۱۰۰ \text{ گرم پودر سریش}] = \text{درجه خلوص } (\%)$$

**اندازه‌گیری ماده جامد محلول عصاره:** میزان ماده جامد محلول یا بریکس عصاره استخراج شده از پودر سریش توسط دستگاه رفاکتومتر (RFM340, Bellingham and Stanley, UK) اندازه‌گیری و پس از اعمال اصلاحات مربوط به دما، بریکس عصاره گزارش گردید (Praporscic *et al.*, 2007, Zhu *et al.*, 2012).

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** در این پژوهش بمنظور مطالعه فرآیند استخراج فروکتان از سریش، از طرح باکس بنکن<sup>۲</sup> برای پارامترهای استخراج شامل نسبت آب به ماده جامد، دما و زمان استخراج استفاده شد. سطوح بالا و پائین متغیرها بر اساس پیش تیمارهای انجام شده و بررسی منابع موجود انتخاب گردید. این طرح شامل سه متغیر مستقل در سه سطح و نقطه مرکزی دارای پنج تکرار بود. کلیه آزمایشات نیز با سه تکرار انجام گردید. سطوح متغیرهای مستقل و کدهای مربوطه در جدول ۱ ذکر شده‌اند. برای طراحی آزمایش و آنالیز نتایج از نرم افزار دیزاین اکسپرت (نسخه ۶) استفاده گردید.

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل و کدهای مربوطه

متغیر مستقل	نماد	کد و سطح مربوطه		
		-۱	۰	+۱
زمان (دقیقه)	A	۴۰	۲۲/۵	۵
دما (درجه سانتی‌گراد)	B	۹۰	۶۵	۴۰
نسبت آب به ماده جامد (میلی‌لیتر بر گرم)	C	۵۰	۴۰	۳۰

بدین منظور معادلات چند جمله‌ای درجه دوم کامل با استفاده از آنالیز رگرسیون گام به گام پس رونده بر روی متغیرهای وابسته برازش شدند. برای نشان دادن رابطه هر یک از متغیرهای وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل، نمودار سطوح آنها به وسیله نرم افزار دیزاین اکسپرت ترسیم شدند. بمنظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش داده شده، آزمون ضعف برازش، ضریب تغییرات، مقادیر  $R^2$  (adj)،  $R^2$  مدل و  $p$  ضرایب تعیین شدند.

مشخص از پودر سریش را با مقادیر مشخص آب مقطر مخلوط نموده، سپس مخلوط تحت تیمارهای دمایی توسط بن ماری در زمانی مشخص، مطابق با جدول ۱ قرار گرفت. مخلوط تیمار شده را توسط پارچه کتانی صاف نموده و جداسازی ذرات معلق موجود در محلول زیرصافی، توسط دستگاه سانتریفیوژ (Sigma centrifuge, model 4-16KS, Osterede, Germany) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت  $4500 \times g$  به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. پس از محاسبه حجم عصاره استخراجی، به علت غلظت بالای ترکیبات آن، ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و در بالن ژوژه به حجم ۱۰۰ رسانده و از این محلول، جهت ارزیابی خصوصیات شیمیایی آن استفاده نمودیم.

**اندازه‌گیری قند کل:** برای اندازه‌گیری کربوهیدرات کل موجود در نمونه‌ها، از روش فنول- سولفوریک اسید استفاده شد. ابتدا به ۱ میلی‌لیتر نمونه، ۱ میلی‌لیتر محلول فنول ۵ درصد، افزوده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۶ درصد به نمونه‌ها افزوده شد. بعد از قرار دادن مخلوط مذکور در بن ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه، جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر<sup>۱</sup> در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این روش از فروکتوز به عنوان استاندارد استفاده شد. منحنی استاندارد رسم شده و میزان قند کل موجود در نمونه از روی منحنی استاندارد تعیین گردید (Paseephol *et al.*, 2007, Dubois *et al.*, 1956).

**اندازه‌گیری قند احیاکننده:** برای اندازه‌گیری قند احیاکننده موجود در نمونه‌ها، از معرف اسید دی نیتروسالیسیلیک استفاده شد و مقدار قند احیا کننده نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۵ نانومتر و با استفاده از استاندارد فروکتوز بر اساس روش Miller (۱۹۵۹) اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری مقدار و بازده استخراج فروکتان:** برای اندازه‌گیری مقدار فروکتان موجود در نمونه‌های سریش، میزان قند احیای محاسبه شده از میزان قند کل بدست آمده کسر گردید. بازده استخراج فروکتان نیز از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Lingyun *et al.*, 2007):

$$(۱) \quad ۱۰۰ \times [\text{مقدار پودر سریش} / (\text{مقدار فروکتان} \times \text{حجم عصاره استخراجی})] = \text{بازده استخراج فروکتان } (\%)$$

**اندازه‌گیری درجه پلیمریزاسیون:** میانگین طول زنجیره به عنوان معیاری از درجه پلیمریزاسیون از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (Paseephol *et al.*, 2007):

$$(۲) \quad \text{مقدار قند احیا کننده در } ۱۰۰ \text{ گرم پودر سریش} / \text{مقدار قند کل در } ۱۰۰ \text{ گرم پودر سریش} = \text{درجه پلیمریزاسیون}$$

<sup>۱</sup> UV/Vis spectrophotometer WPA Lightwave S2000, England.

<sup>۲</sup> Box-Behnken

## نتایج و بحث

## خصوصیات شیمیایی پودر سریش

مشخصات پودر ریشه سریش مورد استفاده به شرح جدول ۲ می‌باشد. همانطور که این یافته‌ها نشان می‌دهند، پودر سریش حاوی مقادیر متوسطی از پروتئین، چربی و خاکستر است و انجام مطالعات تکمیلی به منظور شناسایی دقیق این ترکیبات ضروری به نظر می‌رسد. همچنین فیبر بالای موجود در این ماده، قابلیت آن را برای استفاده در محصولات غذایی به عنوان منبعی از فیبرهای تغذیه‌ای نشان می‌دهد.

جدول ۲- خصوصیات شیمیایی پودر سریش مورد استفاده در آزمون

خصوصیات شیمیایی	مقدار <sup>a</sup> (گرم در صد گرم)
رطوبت	۶/۲ ± ۰/۳۶
پروتئین	۷/۱۸ ± ۰/۲۴
خاکستر	۶/۰۹ ± ۰/۰۹
چربی	۷/۲۳ ± ۰/۱۷
کربوهیدرات کل	۷۳/۳ ± ۱/۱۲
فیبر کل	۵۷/۷۶ ± ۰/۵۱

<sup>a</sup> مقادیر گزارش شده شامل میانگین ± انحراف معیار سه تکرار از هر خصوصیت و بر اساس وزن خشک نمونه می‌باشد.

## درجه پلیمریزاسیون

میانگین طول زنجیره یا درجه پلیمریزاسیون بعنوان یک شاخص کیفی از فرآیند استخراج تلقی می‌گردد زیرا در صورتی که در موارد غذایی استفاده گردد، ارتباط زیادی با خواص عملکردی دارد. همچنین، میانگین طول زنجیره، توانایی فرآیند تولید را در جلوگیری از هیدرولیز اضافی پلی‌ساکاریدها یا کربوهیدرات‌های با وزن مولکولی کمتر نشان می‌دهد. میانگین طول زنجیره بالاتر، حضور درصد بالاتری از زنجیره‌های بلند فروکتان را نشان می‌دهد (Paseephol *et al.*, 2007).

همانطور که جدول آنالیز واریانس نشان می‌دهد، شرایط استخراج بصورت معادله درجه اول بر درجه پلیمریزاسیون فروکتان استخراجی موثر هستند و در میان شرایط مورد بررسی، دما بیشترین اثر را بر افزایش این شاخص دارد (جدول ۳). بررسی تغییرات درجه پلیمریزاسیون فروکتان استخراج شده از طریق مدل ارائه شده در جدول ۴ و نیز مشاهده نمودار سطح پاسخ آن در شکل ۲، نشان می‌دهد که افزایش هر سه پارامتر زمان، دمای استخراج و نیز نسبت آب به ماده جامد موجب افزایش معنی‌دار آن شده‌اند که احتمالاً به علت تشدید استخراج کربوهیدرات کل در اثر این پارامترها بوده است. همچنین نتایج نشان می‌دهد که درجه پلیمریزاسیون فروکتان بدست آمده از سریش، کمتر از ۱۰ می‌باشد. این پدیده را می‌توان به هیدرولیز پلی‌ساکاریدها در شرایط استخراج و یا کوتاه زنجیر بودن فروکتان‌های این گیاه نسبت داد. لذا از فروکتو الیگوساکاریدهای تشکیل شده

## راندمان استخراج

در جدول ۳، آنالیز واریانس متغیرهای وابسته در استخراج فروکتان ملاحظه می‌گردد. جدول ۴ نیز معادلات مناسب برای پیشگویی این خصوصیات را نشان می‌دهد. روند تغییر بازده استخراج فروکتان با توجه به شرایط استخراج و به صورت نمودار رویه پاسخ در شکل ۱ مشاهده می‌گردد.

بررسی جدول آنالیز واریانس نشان می‌دهد که دمای استخراج در مقایسه با سایر پارامترهای استخراج، تاثیر بیشتری بر راندمان استخراج فروکتان دارد. بطور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که زمان، دمای استخراج و نیز نسبت آب به ماده جامد موجب افزایش معنی‌دار ( $p \leq 0/001$ ) راندمان استخراج تیمارها شده‌اند. همچنین با در نظر گرفتن معنی‌داری عبارت درجه دوم پارامتر زمان مشخص می‌گردد که با افزایش زمان استخراج تا دقیقه ۲۲، بازده استخراج فروکتان‌های سریش افزایش و پس از آن، کاهش می‌یابد. بررسی تغییرات بازده استخراج، نشان می‌دهد که معادله حاصل از  $R^2$  و ( $adj R^2$ ) متناسب، بالا و بسیار معنی‌داری ( $p \leq 0/001$ ) برای پیشگویی آن برخوردار است (جدول ۴). آزمون ضعف برآزش آن بی‌معنی ( $p > 0/05$ ) و ضریب تغییرات آن نیز پائین می‌باشد که نشان‌دهنده مناسب بودن مدل ارائه شده است.

آزمون ضعف برازش آن بی معنی ( $p > 0.05$ ) و ضریب تغییرات آن نیز پائین می باشد که تأییدکننده قدرت این مدل است.

### درجه خلوص

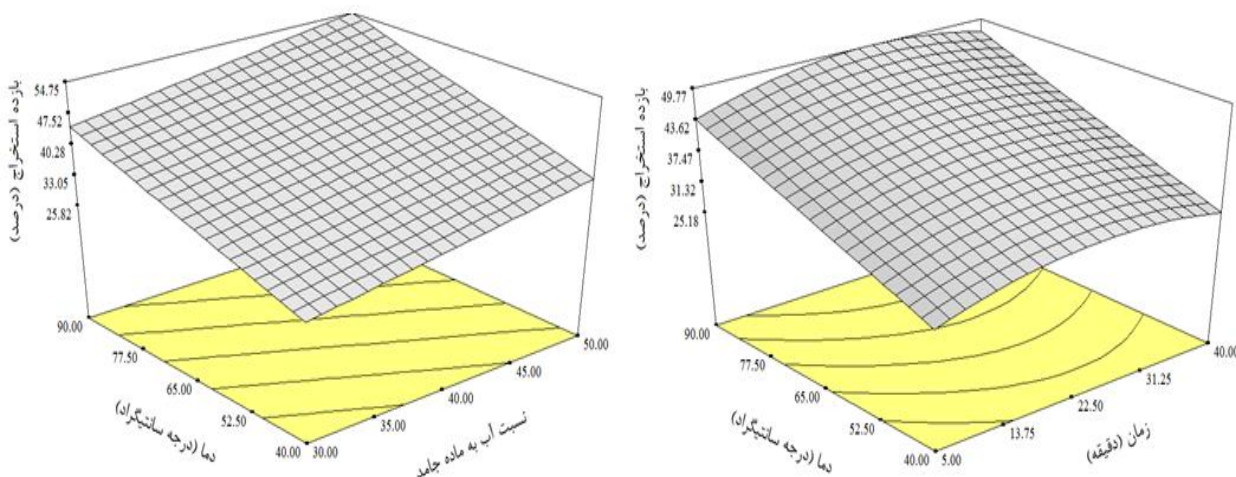
درجه خلوص شاخص کمی فروکتان های استخراج شده است. مقادیر بالای این شاخص نشان می دهد که فروکتان، جزء اصلی عصاره استخراج شده است. از سوی دیگر، مقادیر پائین درجه خلوص بیانگر حضور مقادیر بالای الیگوساکاریدها و یا مواد غیرقندی محتوی خاکستر در عصاره است (Pasephol et al., 2007).

می توان بعنوان شیرین کننده استفاده نمود. در پژوهش های مختلفی تاثیر این پارامترها بر درجه پلیمریزاسیون فروکتان بررسی شده است. Saengthongpinit و همکاران (۲۰۰۵) افزایش فروکتان های زنجیره کوتاه را در اثر افزایش دمای نگهداری گزارش نمودند. عباسی و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که زمان و نسبت حلال به ماده جامد موجب افزایش میانگین طول زنجیره اینولین استخراجی از کنگر گردید.

با توجه به ارزیابی مدل ارائه شده برای این شاخص، مشخص می گردد که معادله حاصل، از  $R^2$  و  $R^2$  (adj) متناسب، بالا و بسیار معنی داری ( $p \leq 0.001$ ) برای پیشگویی برخوردار است (جدول ۴).

جدول ۳- آنالیز واریانس متغیرهای وابسته در استخراج فروکتان

درجه خلوص		درجه پلیمریزاسیون		بازده استخراج		درجه آزادی	منبع
احتمال $p$	مجموع مربعات	احتمال $p$	مجموع مربعات	احتمال $P$	مجموع مربعات		
<0.0001	۵۸۴/۴۴	<0.0001	۵/۱۶	<0.0001	۱۰۰۱/۳۹	۹	مدل
0.0285	۵/۰۸	0.043	0/۳۳	0.0225	۲۲/۳۴	۱	A(زمان)
<0.0001	۱۶۱/۳۶	<0.0001	۳/۳۸	<0.0001	۶۹۳/۷۰	۱	B(دما)
<0.0001	۳۸۰/۳۰	<0.0001	۱/۳۶	<0.0001	۲۱۲/۳۷	۱	(نسبت آب به ماده جامد) C
0.0008	۲۱/۳۴	0.1175	0/۰۶	0.013	۷۰/۶۳	۱	A <sup>2</sup>
0.3209	0/۷۷	0.4413	0/۰۱	0.6062	0/۷۷	۱	B <sup>2</sup>
0.6487	0/۱۵	0.3928	0/۰۲	0.1891	0/۰۷۷	۱	C <sup>2</sup>
0.9820	۰	0.9108	۰	۱	۰	۱	AB
0.6562	0/۱۵	0.1898	۰	۱	۰	۱	AC
0.0022	۱۴/۹۵	0.1853	0/۰۰۱	۱	۰	۱	BC
	۴/۷۱		0/۱۴		۱۸/۴۲	۷	خطای باقیمانده
	۵۸۹/۱۵		۵/۲۹		۱۰۱۹/۸۱	۱۶	کل

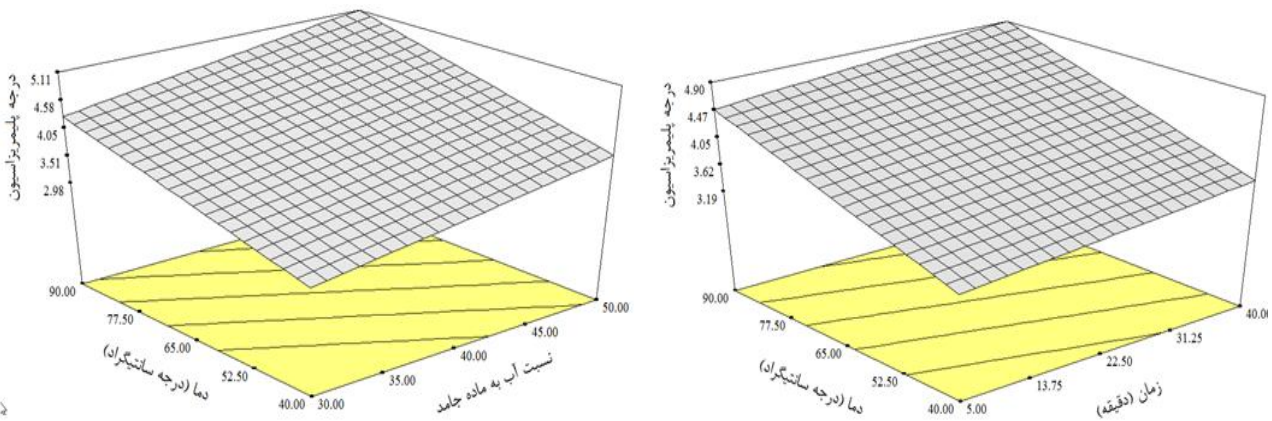


شکل ۱، نمودار رویه پاسخ بازده استخراج فروکتان از پودر سریش.

جدول ۴- مدل‌های پیشگو برای خصوصیات فروکتان استخراج شده از سریش<sup>a</sup>

پاسخ	ثابت معادله	ضرایب <sup>b</sup>									R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> (adj)	احتمال ضعف برآزش	ضریب تغییرات
		A	B	C	A <sup>2</sup>	B <sup>2</sup>	C <sup>2</sup>	AB	AC	BC				
Y=	-۱۳/۵۰۵**	۰/۷۰۲*	۰/۳۷۲**	۰/۵۱۵**	-۰/۰۱۳**	ns	ns	ns	ns	ns	۰/۹۸۱	۰/۹۷۵	۰/۹۹۸	۳/۳۱
DP=	-۰/۴۴۸**	۰/۰۱۲**	۰/۰۲۶**	۰/۰۴۱**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	۰/۹۵۷	۰/۹۴۸	۰/۹۲۹	۳/۲۵
P=	-۴/۱۵۹**	۰/۳۷۸*	-۰/۱۳۰**	۰/۱۸۷**	-۰/۰۰۷**	ns	ns	ns	ns	ns	۰/۹۹۰	۰/۹۸۶	۰/۸۷۸	۳/۸۶

<sup>a</sup> زمان (A)، دما (B) و نسبت آب به ماده جامد (C)؛ Y؛ (بازده استخراج)، DP (درجه پلیمریزاسیون) و P (درجه خلوص)؛ <sup>b</sup> بدون ستاره (p ≤ ۰/۰۵)، یک ستاره (p ≤ ۰/۰۱)، دو ستاره (p ≤ ۰/۰۰۱)، ns در سطح ۹۵ درصد معنی دار نمی باشد.



شکل ۲- نمودار رویه پاسخ بازده استخراج فروکتان از پودر سریش.

Paseephol و همکاران (۲۰۰۷) در مورد فراکسیونه کردن اینولین مورد ارزیابی قرار گرفت و رفتارهای مشابهی گزارش گردید. معادله حاصل از مدل سازی نتایج بدست آمده برای درجه خلوص از R<sup>2</sup> و R<sup>2</sup> (adj) متناسب، بالا و بسیار معنی داری (p ≤ ۰/۰۰۱) برای پیشگویی آن برخوردار است. آزمون ضعف برآزش آن بی معنی (p > ۰/۰۵) و ضریب تغییرات آن نیز پائین می باشد که نشان دهنده قدرت مدل ارائه شده است (جدول ۴).

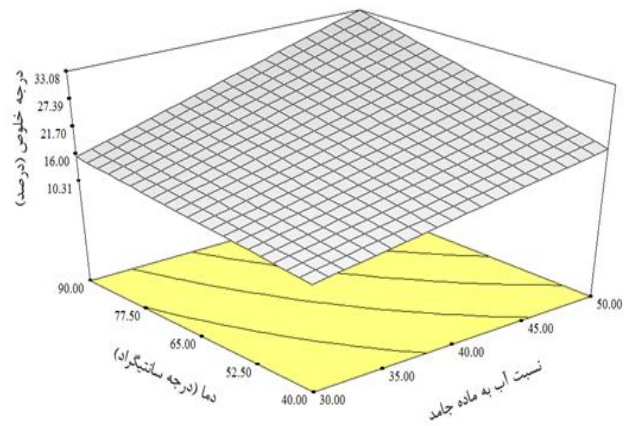
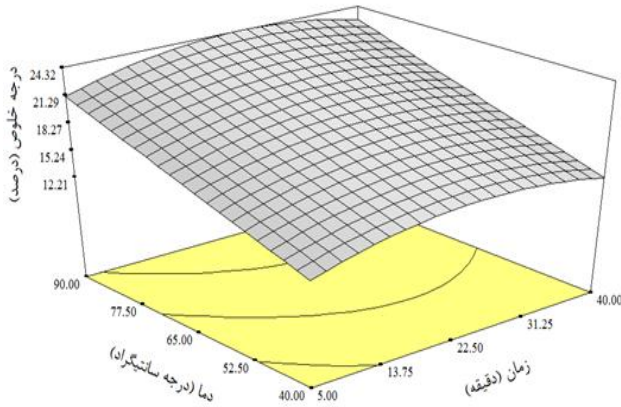
### بهینه سازی

بمنظور بهینه سازی فرآیند استخراج فروکتان از پودر ریشه گیاه سریش برای بهبود بازده و درجه خلوص فروکتان استخراج شده، حد بالا، پائین و مطلوب هر یک از صفات تعیین شد. نتایج نشان داد، در صورتی که زمان استخراج ۲۸/۳۸ دقیقه، دمای استخراج ۸۸ درجه سانتی گراد و نسبت آب به ماده جامد ۵۰ باشد، بیشترین بازده استخراج حاصل می گردد. در این شرایط قند کل، ۶۷/۶۴ درصد؛ قند احیاکننده، ۱۲/۹۹؛ بازده استخراج، ۵۴/۱۰ درصد؛ درجه پلیمریزاسیون، ۵/۱۲ و درجه خلوص، ۳۲/۵۸ درصد خواهد بود. بمنظور بررسی صحت فرآیند بهینه سازی شده، تیمار پیشنهادی با شرایط یکسان همانند بقیه تیمارها تولید و نتایج حاصل از بازده استخراج، درجه

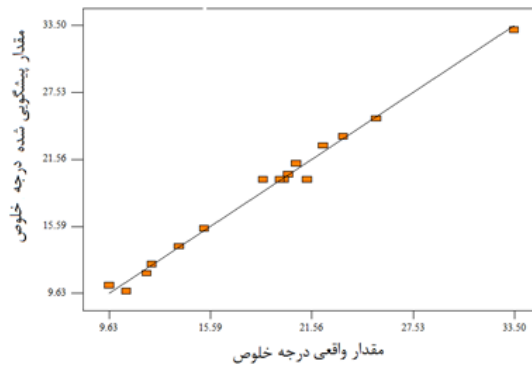
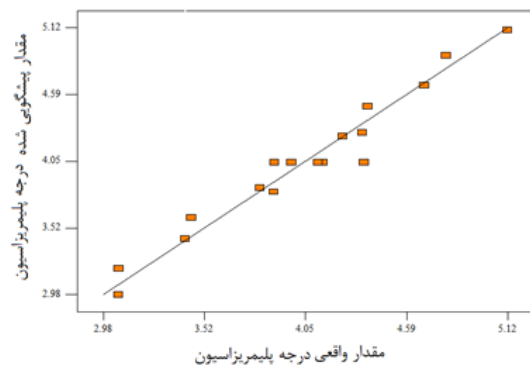
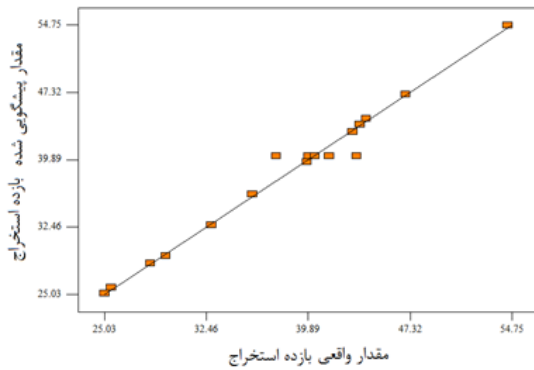
بررسی جدول آنالیز واریانس نشان می دهد که نسبت آب به ماده جامد در مقایسه با سایر پارامترهای استخراج، تاثیر بیشتری بر درجه خلوص فروکتان استخراج شده دارد (جدول ۳). با توجه به نمودارهای رویه پاسخ مربوط به درجه خلوص که در شکل ۳ نشان داده شده اند، هر سه پارامتر زمان، دمای استخراج و نیز نسبت آب به ماده جامد موجب افزایش معنی دار (p ≤ ۰/۰۵) راندمان استخراج تیمارها شده اند که احتمالاً علت افزایش استخراج مجموع کربوهیدراتها است. همچنین با در نظر گرفتن معنی داری عبارت درجه دوم پارامتر زمان مشخص می گردد که با افزایش زمان استخراج تا دقیقه ۲۲، درجه خلوص فروکتانهای استخراج شده از سریش افزایش و پس از آن، کاهش می یابد. این رفتار را می توان به افزایش ورود قندهای احیاکننده و نیز سایر ترکیبات غیرقندی به آب در صورت طولانی شدن زمان استخراج، نسبت داد. نتایج ارائه شده توسط سایر محققان، نشان می دهد که درجه خلوص عصاره فروکتان استخراجی در این پژوهش، نسبتاً پائین است که می توان آن را بحضور مقادیر بالای قندهای احیاکننده، پلی ساکاریدهای پکتیکی، مواد غیرآلی غیرقندی و یا مواد غیرقندی محتوی خاکستر در عصاره نسبت داد (Bubnik et al., 1997). پارامترهای مورد بررسی در این پژوهش توسط Wu و همکاران (۲۰۰۷) در مورد استخراج پلی ساکاریدهای گیاهی و نیز

مشاهدات تجربی کارایی مدل‌ها را بخوبی اثبات می‌کند که در تولید صنعتی می‌توان از آنها استفاده کرد (شکل ۲).

خلوص و درجه پلیمریزاسیون با نتایج پیشگویی شده توسط مدل مقایسه گردید. عدم وجود تفاوت معنی‌دار ( $p \leq 0.05$ ) بین مدل‌ها و



شکل ۳- نمودار رویه پاسخ درجه خلوص فروکتان استخراج شده از پودر سریش.



شکل ۴- مقایسه مقادیر واقعی و پیش بینی شده فروکتان استخراج شده از پودر سریش.

برد. هر سه پارامتر زمان، دمای استخراج و نیز نسبت آب به ماده جامد تأثیر معنی‌داری بر راندمان استخراج، درجه پلیمریزاسیون و درجه خلوص تیمارها داشتند. همچنین، مشخص گردید که از میان این پارامترها، عبارت درجه دوم و نیز بر همکنش آنها در برخی موارد تأثیرگذار بوده است. مدل‌های پیشنهادی در این پژوهش، دارای مقادیر  $R^2$  (adj)،  $R^2$  بالایی هستند که ضعف برازش بی‌معنی و نیز ضریب تغییرات پائین آنها نشان‌دهنده کارایی مدل‌های ارائه شده در

## نتیجه گیری

آنالیز رویه پاسخ مربوط به طرح باکس بنکن با سه متغیر مستقل شامل زمان و دمای استخراج و نسبت آب به ماده جامد بعنوان پارامترهای موثر بر استخراج فروکتان‌های پودر ریشه گیاه سریش به انجام رسید. نتایج بدست آمده حاکی از آن بودند که متدولوژی رویه پاسخ را می‌توان به خوبی در ارزیابی بازده این فرآیند استخراج، به کار

پیش‌بینی پارامترهای مورد ارزیابی است. با استفاده از این مدل‌ها از سوی می‌توان شرایط استخراج را تنظیم نمود و از طرفی می‌توان با توجه به شرایط مورد استفاده در استخراج، خصوصیات مورد نظر را پیش‌بینی و اصلاح نمود.

## منابع

- Abbasi, A. & Farzanmehr, H. 2009. Optimization of Extracting Conditions of Inulin from Iranian Artichoke With/without Ultrasound Using Response Surface Methodology. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science*, 13, 423-435.
- AOAC 1995. *Official methods of analysis of AOAC International*, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Baldini, M., Danuso, F., Turi, M. & Vannozi, 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.
- 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*. Amsterdam: Elsevier Science, 77-84.
- Brayan, C. 1989. *Bulbs*, Timber press, Portland, Oregon., 101-107.
- Brickell, C. 1996. *Encyclopedia of garden plants*, Dorling Kindersley limited, London.
- Bubnik, Z., Korcakova, I., Kadlec, P., Starhova, H., Pour, V. & Uherek, M. 1997. Isolation of inulin from chicory root. *Potravinarske Vedy-UZPI*, 15.
- Crockett, J. U. 1972. *The Time-Life encyclopedia of gardening*, Time-Life Books, USA.
- Dashti, M., Tavakoli, H., Zarif Ketabi, H. & Paryab, A. 2005. Ecological requirements of plant of *Eremurus spectabilis* M.B.) in Khorasan province. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, 12, 153-165.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
- Gibson, G. R., Beatty, E. R., Wang, X. & Cummings, J. H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108, 975-982.
- Hosseini Nezhad, M., Nahardani, M. & Elhami Rad, A. H. 2013. Characterization of inulin extract from iranian native chicory in comparison with some other sources *Iranian Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 1, 37-44.
- Kaur, N. & Gupta, A. 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, 27, 703-714.
- 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.
- Laurenzo, K. S., Navia, J. L. & Neiditch, D. S. 2004. Preparation of inulin products. EP Patent 0,787,745.
- Leite Tonesi, J. T. C., Mürr, F. E. X., Martinelli, P., Dal Fabbro, I. M. & Park, K. J. 2007. Optimization of a physical concentration process for inulin. *Journal of Food Engineering*, 80, 832-838.
- 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.
- Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin, Y., Chenggang, C., Tianhua, F. & Fan, Z. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering*, 79, 1087-1093.
- López-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.
- Milani, E., Golimovahhed, Q. & Hosseini, F. 2011a. Application of Response Surface Methodology for Optimization of Inulin Extraction from Salsify Plant. *Food Research (Agricultural Science)*, 21, 35-43.
- Milani, E., Koocheki, A. & Golimovahhed, Q. A. 2011b. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 1699-1704.
- Milani, E., Poorazarang, H., Vatan Khah, S. & Vakilian, H. 2010. Optimization of Inulin Extraction from *Helianthus tuberosus* Using Response Surface Methodology (RSM). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6, 176-183.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 420-428.
- Muir, J. G., Shepherd, S. J., Rosella, O., Rose, R., Barrett, J. S. & Gibson, P. R. 2007. Fructan and free fructose content of common Australian vegetables and fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6619-6627.
- 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.
- Praporscic, I., Shynkaryk, M. V., Lebovka, N. I. & Vorobiev, E. 2007. Analysis of juice colour and dry matter content during pulsed electric field enhanced expression of soft plant tissues. *Journal of Food Engineering*, 79, 662-670.



- 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].
- Roberfroid, M. & Delzenne, N. 1998. Dietary fructans. *Annual review of nutrition*, 18, 117-143.
- Roberfroid, M. B. 2002. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87, 139-144.
- Roberfroid, M. B. 2005. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93, 13-26.
- Roberfroid, M. B. 2007. Inulin-type fructans: functional food ingredients. *The Journal of nutrition*, 137, 2493S-2502S.
- Rubin, R. 2002. The Melagria: on anchorites and edible roots in Judaeen Desert. *Liber Annuus*, 52, 347-352.
- 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.
- Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E. & Aceituno, C. 2007. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*, 68, 534-545.
- Tungland, 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.
- Wu, Y., Cui, S. W., Tang, J. & Gu, X. 2007. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology. *Food Chemistry*, 105, 1599-1605.
- Zhu, Z., Bals, O., Grimi, N. & Vorobiev, E. 2012. Pilot scale inulin extraction from chicory roots assisted by pulsed electric fields. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 1361-1368.

## Optimization of aqueous extraction of fructan from tubers of *Eremurus spectabilis* using box-behnken design

A. Pourfarzad<sup>1</sup>, M. B. Habibi Najafi<sup>\*2</sup>, M. H. Haddad Khodaparast<sup>3</sup>, M. Hassanzadeh Khayyat<sup>4</sup>

Received: 2013.04.13

Accepted: 2013.08.19

**Introduction:** Fructans are an important product of the industry of prebiotics. In addition to their interesting nutritional and health benefit properties, fructans are also used in food formulations for their techno-functional properties such as fat substitute, bulk agent, water retention. Serish (*Eremurus spectabilis*) belongs to the family of Liliaceae and geographically distributed in the region of South Asia and Central Asia. Their roots accumulate high levels of fructans during their growth and are traditionally used to cure jaundice, liver disorders, stomach irritation, pimples and bone fractures and even as a glue for industrial application. Recently fructan extraction from numerous plants and fungus has drawn the attention of researchers. Also, several methods for fructan extraction have been developed such as hot-water extraction, precipitation by alcohol and ultrasound-assisted extraction. To the best of our knowledge, there are no reports on the fructan extraction from Serish. The present study is considered the first attempt aiming to determine the optimal conditions for water extraction of Serish fructans.

**Materials and methods:** The Serish root powders were obtained from the local medical plant market, Mashhad, Iran. Moisture, ash, fat, protein, Carbohydrate and total dietary fiber were determined according to standard AOAC methods. All variables were examined in triplicate. Conventional extraction was carried out in a water bath. Total carbohydrate was assayed colorimetrically using the phenol-sulphuric acid method. The concentrations of soluble reducing sugars were measured using a 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method. The fructan content was measured by the difference between total carbohydrate and reducing sugars. The percentage of fructan yield (%) was evaluated based on equation of Lingyun, Jianhua, Xiaodong & Yalin (2007). The purity was evaluated according to the method of Paseephol, Small & Sherkat (2007). As an index of degree of polymerization, the average chain length, was calculated according to Lingyun, Jianhua, Xiaodong & Yalin (2007). A Box-Behnken design was constructed using the software Design Expert Version 6.0.10 and was used for estimating the effect of independent variables on the extraction parameters. Three extraction variables considered for this research were  $x_1$  (extraction time),  $x_2$  (extraction temperature) and  $x_3$  (water: solid) for conventional extraction method. Lack of fit, coefficients of determination ( $R^2$ ),  $adj-R^2$ , coefficient of variation (CV) and significant probabilities were calculated to check the model adequacy. Optimization was based on generation of the best results for fructan extraction. In order to determine the validity of the model, the experimental and predicted values were compared by paired t-test.

**Results & discussion:** It has a marked amount of protein and fats. The ash value is relatively high, suggesting an important mineral content. The composition of total fiber suggests its possible use as a source of dietary fiber for enrichment of foods. In addition, results show that Serish root powder is a polysaccharide-rich material. The results indicated that extraction temperature has the most effect on the extraction yield. Increase of time, temperature and water to solid ratio led to significantly increase in extraction yield. Considering the significant quadratic term of extraction time, it becomes clear that yield rises as extraction time increase from 0 to 22.5 min but it decreases at higher times. The yield increase between 0 to 22.5 min might be due to the time requirement for contact of fructan to the release medium where the liquid penetrated into the Serish powder, dissolved the fructan and subsequently diffused out from the root. On the other hand, the yield decrease after 22.5 min may be ascribed to degradation of fructan to free sugar and enhancement of impurities extraction at higher times. When extraction time goes by certain threshold, the yield started to decrease. The yield showed a

1- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, Guilan University, Rasht, Iran.

2 and 3 - Professors, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Khorasan Razavi, Iran.

4- Pharmaceutical Research Center, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

(\*-Corresponding Author Email: habibi@um.ac.ir)

large tendency to increase when the extraction temperature was increased. This is maybe due to the enhancement of the mass transfer resulting from the increased solubility of fructan and the decreased viscosity of the solvent. Yield was increased by portion of water to solid. This might be attributed to the availability of liquid that increases the driving force of fructan out of the root. Based on the sum of squares, temperature had the most effect on degree of polymerization. The results indicated that increase of time, temperature and W/S ratio resulted in increase of the degree of polymerization which might be due to the enhancement of overall carbohydrates extraction. On the other hand, the degree of polymerization of extracted fructan was lower than 10. This is probably because the disruption of fructan branch to reducing sugars with increasing temperature that leads to chain length decrease. Thus, the produced oligosaccharides could be used as sweetener. W/S ratio had the most effect on purity. The results showed that increase of time, temperature and W/S ratio resulted in increase of the purity which might be due to the enhancement of overall carbohydrates extraction. With the increase in extraction time, the purity of extract increased gradually, but decreased after the purity reached a maximum at 22.5 min. This decrease may be ascribed to degradation of fructan to free sugar and enhancement of impurities extraction at higher times. Multiple response optimizations were performed to measure the optimum levels of independent variables to achieve the desired response goals. Extraction yield and purity were desired maximal.

**Conclusion:** The final results for this optimization was found to be extraction time of 28.38 min, extraction temperature of 88°C and water to solid ratio of 50:1 v/w. Response surface methodology was an efficient statistical tool to model the influence of extraction conditions of fructan from Serish root powder on the extraction yield. These results also suggested that by modifying the proportion of these components, a large range of variations may be obtained. There was a good agreement between the experimental data and their predicted counterparts, showing the effectiveness of the proposed conditions and reliability of Box–Behnken analysis on fructan precipitation.

**Keywords:** Extraction, Response Surface Methodology, *Eremurus spectabilis*, Fructan.