

بهینه سازی شرایط استخراج رنگ دانه آناتو به روش خیساندن

محمود یلمه^{۱*}، محمد باقر حبیبی نجفی^۲، فرشته حسینی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- مربی پژوهشی، گروه افزودنی‌های غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد

چکیده:

هدف: رنگ آناتو یک رنگ طبیعی ایمن برای کاربردهای خوراکی است که می‌تواند به عنوان جایگزین رنگ‌های سنتزی به کار رود. هدف از انجام این پژوهش، دستیابی به شرایط بهینه استخراج رنگ از دانه آناتو و رسیدن به بالاترین راندمان ممکن بوده است.

مواد و روش‌ها: جهت استخراج رنگ آناتو از روش کاستلو استفاده شد. و جهت بهینه سازی شرایط استخراج از روش آماری رویه ی سطح پاسخ استفاده شد. فاکتورهای دما، زمان، نسبت وزنی دانه آناتو به حلال و نسبت کلروفورم به استون به عنوان متغیرهای آزمایش در نظر گرفته شد. آزمایش در دو تکرار و انجام شد. شدت رنگ را بوسیله اسپکتروفتومتر و جهت تعیین راندمان استحصال رنگ، مقدار پودر رنگی پس از خشک شدن توزین شد.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد فاکتورهای دما و نسبت دانه به حلال بر استخراج رنگ بیشترین اثر را دارند. افزایش دما ابتدا باعث افزایش رنگ شده ولی با افزایش بیشتر موجب تخریب رنگدانه می‌شود. افزایش نسبت دانه به حلال نیز ابتدا باعث افزایش رنگ شده ولی در ادامه به علت اشباع شدن حلال افزایشی در میزان رنگ مشاهده نمی‌شود. حلال کلروفورم نسبت به استون میزان رنگ بیشتری را استخراج می‌کند.

نتیجه گیری کلی: شرایط دمایی ۶۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۲ ساعت، ۱۰۰ درصد کلروفورم و نسبت دانه به حلال ۹/۳۳ درصد، بیشترین میزان رنگ با راندمان ۵/۳ میلی گرم بر گرم دانه استخراج می‌شود.

کلمات کلیدی: راندمان، بهینه، رنگ، آناتو



مقدمه:

افزودنی‌های طبیعی و سنتزی غذایی شامل مواد گوناگونی هستند که به منظور ایمنی، ایجاد ظاهر مطلوب و بهبود عطر و طعم مواد خوراکی استفاده می‌شوند. مصرف کنندگان مواد غذایی نسبت به غذاهایی که عاری از مواد شیمیایی بوده و در آن‌ها مواد طبیعی به کار رفته است تمایل بیشتری از خود نشان می‌دهند و به همین دلیل مطالعات زیادی روی امکان جایگزین کردن افزودنی‌های شیمیایی با ترکیبات طبیعی در غذاهای مختلف صورت گرفته است (سحری و همکاران، ۱۳۸۸). جزء رنگی مهم در عصاره استخراج شده که محلول در روغن است، ۹-سیس-بیکسین و جزء رنگی اصلی در عصاره استخراج شده با محلول قلیایی ۹-سیس-نوربیکسین، محلول در آب است. بخش عمده کاروتنوئیدهای پریکارپ دانه آناتو را بیکسین تشکیل می‌دهد که حدود ۸۰٪ کل کاروتنوئیدهای موجود در آناتو می‌باشد (Preston & Rickard, ۱۹۸۰). عصاره آناتو رنگ نارنجی تا قرمز در مواد غذایی ایجاد می‌کند و علاوه بر ایجاد رنگ در مواد غذایی دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد سرطانی می‌باشد (رامورتی و همکاران، ۲۰۱۱ و تیبودیو و همکاران، ۲۰۱۰). رنگ آناتو در فرآورده‌های غذایی مختلف کاربرد دارد.

در حال حاضر در دنیا استحصال رنگ از منابع طبیعی گیاهی به عنوان یک فناوری رایج وجود دارد اما اطلاعات تکمیلی پیرامون دانش فنی و بهینه‌سازی شرایط استخراج این رنگدانه‌ها با روش‌های نوین جهت حصول بیشترین راندمان ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این پژوهش، دستیابی به شرایط بهینه استخراج رنگ از دانه آناتو با استفاده از روش سطح پاسخ برای تعیین مقادیر بهینه‌ی فاکتورهای مورد بررسی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

دانه‌ی آناتو از کشور هند، حلال‌های هگزان، استون، کلروفرم و اتیل استات و کاغذ صافی واتمن ۱ از شرکت مرک آلمان تهیه شد. تجهیزات مورد استفاده شامل دستگاه اسپکتروفوتومتر شیمادزو مدل UV-۱۶۰A ساخت ژاپن، آون تحت خلا شل لب مدل ۱۴۱۰D-۲E ساخت آمریکا بود.

از روش کاستلو (Castello et al, ۲۰۰۴) جهت استخراج رنگ استفاده شد و طبق آن ابتدا مقداری دانه آناتو را به منظور روغن‌زدایی در هگزان خیسانده شد و دانه‌های روغن‌زدایی شده را برای استخراج رنگ در حلال‌های کلروفرم، اتانول، اتیل استات و استون خیسانده شد. با توجه به پیش تیمارهای انجام شده حلال‌های کلروفرم و استون میزان رنگ بیشتری را جذب کردند و از این دو حلال در تیمارهای خود برای استخراج رنگ استفاده شد. عصاره‌های رنگی بدست آمده بعد از فرایند فیلتراسیون، بوسیله آون تحت خلا در دمای ۴۰ درجه ی سانتی‌گراد خشک شده و به صورت پودر در آمدند.

اندازه‌گیری مقدار رنگ :

پس از رقیق‌سازی تا حد مناسب، شدت رنگ را بوسیله اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۰۲ نانومتر (max) که بیکسین بیشترین جذب را در کلروفرم دارد، انجام شد (واسو و همکاران، ۲۰۱۰).

راندمان استحصال رنگ:

به منظور تعیین راندمان استحصال رنگ مقدار نهایی پودر رنگی بدست آمده با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ توزین شده و نسبت وزنی رنگ بدست آمده در برابر مقدار دانه اولیه به عنوان راندمان استحصال رنگ محاسبه گردید.

طرح آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری :

روش سطح پاسخ (RSM) مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرایندهایی بکار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه‌ی روش سطح پاسخ شده است. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. مهم‌ترین مسئله این تحقیق بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود، از این‌رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب شد (Atkinson ۱۹۹۲, Myers ۲۰۰۲). در این مطالعه اثر متغیرهای مستقل شامل X_1 دما، X_2 زمان، X_3 نسبت



دانه به حلال و X_4 نسبت حلال کلروفورم به استون، هر کدام در پنج سطح مورد ارزیابی قرار گرفت؛ در جدول ۱ متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر سطوح آنها نشان داده شده است. آزمایش در دو تکرار انجام شد.

جدول ۱- نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آنها.

متغیر مستقل	نماد ریاضی	سطوح متغیر
دما	X_1	۵، ۱۸/۷۵، ۳۲/۵، ۴۶/۲۵، ۶۰
زمان	X_2	۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰
نسبت دانه به حلال	X_3	۰/۴، ۰/۸، ۰/۱۲، ۰/۱۶، ۰/۲۰
نسبت کلروفورم به استون	X_4	۰، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵، ۰/۱۰۰

نتایج و بحث :

گزینش مدل مناسب و تجزیه مدل برازش یافته

با توجه به شرایط تعیین شده در مدل، ۲۵ استخراج نهایی انجام گرفت. جدول ۲ نتایج بدست آمده از آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. به کمک ضرایب رگرسیون اثر شرایط استخراج بر روی متغیرهای وابسته محاسبه شد. جداول ۳ و ۴ نتایج حاصل از تجزیه آماری را نشان می‌دهند. برای اینکه مدل توانایی خوبی برای برازش اطلاعات داشته باشد لازم است که R^2 تصحیح شده، (به منظور اطمینان از این مسئله که مدل می‌تواند به خوبی اعداد را تخمین بزند) و R^2 پیش-بینی شده، دارای بالاترین مقدار باشد (محمد امینی، ۱۳۸۶)؛ ضریب تعیین (R^2) به عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می‌شود که معیاری از درجه‌ی تناسب برازش می‌باشد، بنابراین هرچه مقدار R^2 به یک نزدیک تر شود، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد. لازم به ذکر است ضریب تعیین مدل، R^2 پیش‌بینی شده، R^2 تصحیح شده بدست آمده برای Y_1 در این تحقیق به ترتیب ۰/۹۷/۷۸، ۰/۹۵/۶۸ و ۰/۹۷/۱۲ بود که از اعتبار بالایی برخوردار می‌باشد. علاوه بر این پاسخ‌ها با ضرایب اطمینان ۹۵ درصد معنی دار بود که این امر نشان دهنده این است که مدل به خوبی روند تغییر داده‌ها را نشان می‌دهند.

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس مدل راندمان استخراج

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	احتمال F	احتمال P
مدل	۱۴	۳/۶۷۶۰۲	۰/۲۶۲۵۷	۱۴۷/۷۱	۰
دما (X_1)	۱	۰/۱۴۵۸۲	۰/۱۴۵۸۲	۸۲/۰۳	۰
زمان (X_2)	۱	۰/۰۰۰۷۹	۰/۰۰۰۷۹	۰/۴۴	۰/۵۰۹
نسبت دانه به حلال (X_3)	۱	۱/۶۸۹۳۳	۱/۶۸۹۳۳	۹۵۰/۳۴	۰
نسبت حلال کلروفورم به استون (X_4)	۱	۰/۰۴۸۶۴	۰/۰۴۸۶۴	۲۷/۳۶	۰
X_1^2	۱	۰/۰۳۳۹۲	۰/۰۳۳۹۲	۱۹/۰۸	۰
X_2^2	۱	۰/۰۰۰۸۱	۰/۰۰۰۸۱	۰/۴۶	۰/۵۰۲
X_3^2	۱	۱/۹۸۳۴۴	۱/۹۸۳۴۴	۱۱۱۵/۸۰	۰
X_4^2	۱	۰/۰۰۵۶۹	۰/۰۰۵۶۹	۳/۲۰	۰/۰۸۰
X_{12}^2	۱	۰/۰۰۰۹۰	۰/۰۰۰۹۰	۰/۵۱	۰/۴۸۰۰
X_{13}^2	۱	۰/۰۹۵۷۰	۰/۰۹۵۷۰	۵۳/۸۴	۰
X_{14}^2	۱	۰/۰۰۲۶۳	۰/۰۰۲۶۳	۱/۴۸	۰/۲۳۰
X_{23}^2	۱	۰/۰۰۲۶۳	۰/۰۰۲۶۳	۱/۴۸	۰/۲۳۰
X_{24}^2	۱	۰/۰۰۲۲۸	۰/۰۰۲۲۸	۱/۲۸	۰/۲۶۳
X_{34}^2	۱	۰/۰۲۱۵۳	۰/۰۲۱۵۳	۱۲/۱۱	۰/۰۰۱
باقیمانده	۴۷	۰/۰۸۳۵۵	۰/۰۰۱۷۸		



ضریب تعیین مدل، R^2 پیش‌بینی شده، R^2 تعدیل شده بدست آمده برای مقدار جذب نوری در max ، به ترتیب ۸۹/۹۵، ۷۹/۹۷ و ۸۶/۹۶ بود. و پاسخ‌ها با ضرایب اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بود.

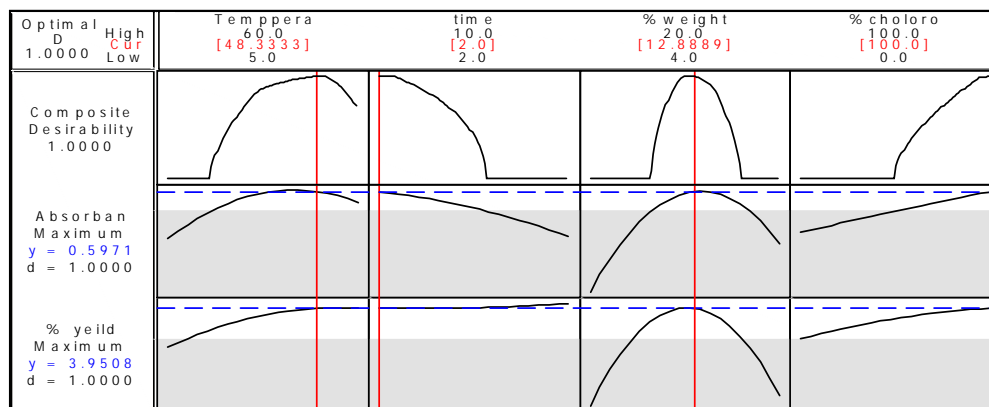
جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس مدل میزان جذب نوری

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F احتمال	P احتمال
مدل	۱۴	۰/۰۴۴۲۸۶	۰/۰۰۳۱۶۳	۳۰/۰۵	۰
دما (X_1)	۱	۰/۰۰۳۱۹۸	۰/۰۰۳۱۹۸	۳۰/۳۸	۰
زمان (X_2)	۱	۰/۰۰۰۴۴۵	۰/۰۰۰۴۴۵	۴/۲۳	۰/۰۴۵
نسبت دانه به حلال (X_3)	۱	۰/۰۱۷۸۲۹	۰/۰۱۷۸۲۹	۱۶۹/۳۷	۰
نسبت حلال کلروفورم به استون (X_4)	۱	۰/۰۰۰۵۳۶	۰/۰۰۰۵۳۶	۵/۰۹	۰/۰۲۹
X_1^2	۱	۰/۰۰۳۳۳۹	۰/۰۰۳۳۳۹	۳۱/۷۲	۰
X_2^2	۱	۰/۰۰۰۱۶۶	۰/۰۰۰۱۶۶	۱/۵۸	۰/۲۱۶
X_3^2	۱	۰/۰۲۴۳۶۶	۰/۰۲۴۳۶۶	۲۳۱/۴۷	۰
X_4^2	۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۱	۰/۹۱۸
X_{12}^2	۱	۰/۰۰۰۳۳۲	۰/۰۰۰۳۳۲	۳/۱۵	۰/۰۸۲
X_{13}^2	۱	۰/۰۰۰۰۵۳	۰/۰۰۰۰۵۳	۰/۵۰	۰/۴۸۳
X_{14}^2	۱	۰/۰۰۰۰۶۳	۰/۰۰۰۰۶۳	۰/۶۰	۰/۴۴۲
X_{23}^2	۱	۰/۰۰۰۰۳۸	۰/۰۰۰۰۳۸	۰/۳۶	۰/۵۴۹
X_{24}^2	۱	۰/۰۰۰۲۳۷	۰/۰۰۰۲۳۷	۲/۲۵	۰/۱۴۱
X_{34}^2	۱	۰/۰۰۰۰۵۳	۰/۰۰۰۰۵۳	۰/۵۰	۰/۴۸۳
باقیمانده	۴۷	۰/۰۰۴۹۴۷	۰/۰۰۰۱۰۵		
خطای خالص	۳۷	۰/۰۰۴۸۶۲	۰/۰۰۰۴۸۶		

بهینه‌سازی

طی بهینه‌سازی اهمیت دو پاسخ با یکدیگر برابر در نظر گرفته شد و بهینه‌سازی با تکنیک بهینه‌سازی عددی انجام شد. شکل زیر روند تاثیر هر یک از فاکتورها را بر استخراج عصاره‌ی رنگی آناتو نشان می‌دهد.

همانطور که در شکل مشخص است با افزایش میزان کلروفورم، میزان جذب نوری و نیز راندمان استخراج افزایش می‌یابد. افزایش دما نیز باعث افزایش هر دو پاسخ می‌شود ولی در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و بالاتر از آن رنگدانه‌های آناتو تجزیه می‌شوند (Smith, ۲۰۰۶). با افزایش نسبت دانه به حلال میزان جذب نوری ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد و راندمان افزایش می‌یابد. در شکل زیر، دمای ۴۸/۳۳ درجه سانتیگراد، زمان ۲ ساعت، نسبت دانه به حلال ۱۲/۸۸ درصد و میزان ۱۰۰ درصد کلروفورم را به عنوان شرایط بهینه نشان می‌دهد. و در این شرایط مقدار جذب نوری ۰/۵۹۷ و مقدار راندمان ۳/۹۵ درصد دانه آناتو است که مطلوبیت برای هر پاسخ ۱۰۰ درصد می‌باشد.



شکل ۴-۸- بهینه‌سازی شرایط استخراج رنگ آناتو

نتیجه گیری:

نتایج حاصل از تحقیق بیانگر کارایی مفید متدولوژی رویه پاسخ در بهینه سازی فرایند استخراج رنگ از دانه‌ی آناتو بود. از میان شرایطی که برای استخراج رنگ از دانه آناتو اعمال شد، مشخص گردید که مقدار استخراج پودر رنگی از دما و نسبت دانه به حلال تأثیر بیشتر و از دو فاکتور زمان و درصد کلروفورم تأثیر کمتری می‌پذیرد.

منابع:

- ۱- سحری، م.ع. و زرین قلمی، س. ۱۳۹۱. بررسی ویژگی ضدباکتریایی عصاره آناتو (نوربیکسین) در برابر برخی از باکتری‌های بیماریزا. فصل‌نامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۳۵، دوره ۹، ۲۳-۱۷.
- ۲- محمد امینی، ا. ۱۳۸۶. بهینه سازی شرایط استخراج ترکیبات هیدروکلوئیدی دانه‌ی بالنگو شیرازی و بررسی تأثیر افزودن آن بر خواص رئولوژیکی و کیفیت نان حجیم در مقایسه با صمغ گزاتان. دانشگاه فردوسی مشهد، گروه علوم و صنایع غذایی.
- ۳- میلانی، ا.، پورآذرنک، ه.، وطن خواه، ش.، و کیلیان، ح. ۱۳۸۹، بهینه سازی استخراج اینولین از غده‌ی سیب زمینی ترشی به کمک روش سطح پاسخ، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹، ص ۱۸۳-۱۷۶.
- ۴- Castello, M., Chandra, N., PHatak, A., Madhuri, S., ۲۰۰۴. Estimation of bixin in seeds of *Bixa orellana* L. from different locations in Western Maharashtra. *Indian J. Plant Physiol.* ۹ (۲), ۱۸۵-۱۸۸.
- ۵- Cardarelli, C.R., Toledo Benassi, M., Mercadante, A. Z., ۲۰۰۷. Characterization of different annatto extracts based on antioxidant and colour properties. *Food Science and Technology* ۴۱.
- ۶- Henry, B.S. ۱۹۹۶. Natural food colours. In *Natural Food colours*. ۳rd ed.; Hendry G.A.F., Houghton, J.D., Eds; Blackie Academic and Professional: Glasgow U.K., P. ۴۰-۷۹, ۱۲۲.
- ۷- Kiokias, S., Gordon, M. H., ۲۰۰۳, Antioxidant properties of annatto carotenoids, *Food Chemistry* ۸۳ ۵۲۳-۵۲۹.
- ۸- Lauro, G.J. ۱۹۹۱. A primer on natural Colors. *Cereal Foods World*, ۳۶: ۹۴۹-۹۵۳.

- ۹- McKeown, G.G. ۱۹۶۵. Composition of oil-soluble annatto food colors. Structure of the yellow pigment formed by thermal degradation of bixin. *J.Ass. Offic. Agric.Chem*, ۴۸:۸۳۵-۸۳۷.
- ۱۰- Myers, R.H., Montgomery, D.C., ۲۰۰۲. Response surface methodology: process and product
- ۱۱- Preston, H.D.; Rickard, M.D. ۱۹۸۰. Extraction and chemistry of Annatto. In *Food Chemistry*. Birch, G., Green, L., Eds. Applied Science Publishers LTD: London U.K., ۵: ۴۷-۵۶.
- ۱۲- Ramamoorthy, S., Doss, F.P., Kundu, K., Satyanarayana, V.S.V., Kumar, V., ۲۰۱۰, Molecular characterization of bixin an important industrial product, *Industrial Crops and Products* ۳۲ , ۴۸-۵۳.