

کاربرد امواج فراصوت در استخراج ترکیبات ساپونینی ریشه گیاه چوبک (*Acanthophyllum glandulosum*) بر پایه ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی و کف- زایی آنها

وحید کیهانی^{۱*}، سیدعلی مرتضوی^۲، مهدی کریمی^۳، حجت کاراژیان^۱، زهرا شیخ‌الاسلامی^۲

- ۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تربت حیدریه، دانشگاه آزاد اسلامی، تربت حیدریه، ایران
*نویسنده مسئول (pdf_keyhani@yahoo.com)
- ۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۳- بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۷/۱۲

واژه‌های کلیدی

امواج فراصوت
امولسیون‌کنندگی
چوبک
ساپونین
کف‌زایی

ریشه گیاه چوبک سرشار از ترکیبات ساپونینی است. ساپونین‌ها به‌عنوان عامل امولسیون‌کننده عمل می‌کنند و در آب کف پایدار تشکیل می‌دهند. هدف اصلی این مطالعه دستیابی به نوعی عصاره چوبک با محتوای ساپونینی بالا در مدت زمانی کوتاه‌تر و با صرف حلال کمتر جهت استفاده از آن در فرآوری محصولات غذایی است. در عمل عصاره‌گیری از این ریشه گیاهی به روش سوکسله و با کمک امواج فراصوت انجام و سپس ارزیابی بازده استخراج از طریق تعیین شاخص تشکیل امولسیون و توانایی تشکیل کف صورت پذیرفت. نتایج نشان داد که عصاره‌گیری با امواج فراصوت در مقایسه با عصاره‌گیری به روش سوکسله مدت زمان دستیابی به عصاره بهینه را در حدود ۱۲ مرتبه کوتاه‌تر می‌کند. همچنین در مطالعه تأثیر عوامل مختلف بر بازده استخراج طی عصاره‌گیری با امواج فراصوت شرایط بهینه آنها به صورت زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه، دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد، شدت امواج فراصوت ۸۰ درصد، اندازه ذرات نمونه ۰/۴-۰/۱ میلی‌متر، نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم و غلظت حلال ۶۰ درصد، تعیین گردید. ایجاد این شرایط سبب شد مقدار شاخص تشکیل امولسیون به ۰/۷۶۴ و مقدار توانایی تشکیل کف به ۷/۰۳۳ سانتی‌متر افزایش یابد.

مقدمه

قسمت‌های شرقی ایران (استان خراسان) و نواحی مجاور آن (افغانستان و ترکمنستان) شناسایی شده‌اند (Schiman-Czeika, 1988). ریشه گیاه چوبک منبعی سرشار از ترکیبات ساپونینی^۱ است به‌طوری‌که از مهم-ترین و فعال‌ترین ترکیبات موجود در آن محسوب می‌شوند که بر همین اساس بسیاری از تحقیقات قبلی انجام شده با محوریت این گیاه عمدتاً بر روی

چوبک گیاهی است که به خانواده میخک (*Caryophyllaceae*) و جنس آکانتوفیلوم (*Acanthophyllum*) تعلق دارد. در مجموع ۶۱ گونه از این جنس گیاهی در دنیا وجود دارد که از این تعداد ۳۳ گونه در ایران قابلیت رشد دارند و ۲۳ گونه نیز بومی این منطقه به حساب می‌آیند (Ghaffari, 2004). بر اساس منابع موجود بیشتر این گونه‌ها در

¹ Saponin

فرایند عصاره‌گیری گام مهم ابتدایی در جهت خالص‌سازی ترکیبات فعال موجود در اندام‌های مختلف گیاهی است. روش‌های متداول عصاره‌گیری از قبیل عصاره‌گیری به روش سوکسله^۷ که در دهه‌های زیادی مورد استفاده بوده‌اند، بسیار وقت‌گیر می‌باشند. ضمن اینکه در این روش‌ها نیاز به مصرف میزان بالایی از حلال‌های مختلف می‌باشد (Luque de Castro & Garcia-Ayuso, 1998). به همین دلیل تقاضای زیادی برای روش‌های عصاره‌گیری جدید با زمان کوتاه‌تر، مصرف حلال کمتر، کارایی بیشتر و محافظ محیط زیست وجود دارد (ذوالفقاری و یکانه، ۱۳۸۹). اخیراً گزارشات بیشماری در ارتباط با توانایی بالای امواج فراصوت در استخراج ترکیبات مختلف مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، پلی ساکاریدها، پروتئین‌ها، روغن‌های اساسی، رنگدانه‌ها، ترکیبات آروماتیک، ساپونین‌ها و غیره از منابع گیاهی منتشر شده است (Hromadkova & Ebringerova, 2003; Vilku et al., 2008). مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون^۸ مربوط می‌شود که طی آن حباب‌های بسیار ریزی در توده مایع تشکیل شده و به سرعت تا یک اندازه بحرانی رشد می‌کنند و سپس منفجر می‌گردند. انفجار این حباب‌ها اغلب با آزاد شدن مقدار زیادی انرژی همراه است که به شکل تنش‌برشی به محیط اطراف اعمال می‌شود. انفجار این حباب‌ها همچنین باعث ایجاد اغتشاشات شدید موضعی و تلاطم‌های گرداب‌گونه شده که از این طریق انتقال جرم را افزایش می‌دهد (بصیری و همکاران، ۱۳۹۰). در واقع امواج فراصوت، مراحل فرآیند استخراج یعنی تورم بافت به منظور جذب حلال و نیز خروج ترکیبات از بافت به حلال را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره‌های سلولی و بهبود انتشار و انتقال جرم، تسهیل و تسریع می‌کنند (Vinatoru, 2001). از این رو، استفاده از این امواج در استخراج ترکیبات مختلف از بافت‌های گیاهی، سرعت و بازده استخراج را افزایش داده و مصرف حلال را کاهش می‌دهد (Vilku et al., 2008). افزون بر این عصاره‌گیری با امواج فراصوت می‌تواند در دماهای

شناسایی ساختار و تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی این ترکیبات متمرکز بوده است (سجادی و همکاران، ۱۳۷۹؛ دستخوش و سرافراز، ۱۳۸۰؛ سجادی و همکاران، ۱۳۸۱؛ آزادبخت و همکاران، Lacaille-Dubois et al., 1993; Gaidi et al., ۱۳۸۴; (2000; Gaidi et al., 2004; Aghel et al., 2007). ساپونین‌ها گلیکوزید^۱هایی با وزن مولکولی بالا هستند که دارای گروه قندی (بخش محلول در آب) متصل به آگلیکون^۲ (بخش محلول در چربی) تری-ترین^۳ یا استروئیدی^۴ می‌باشند. این ترکیبات به‌عنوان عامل امولسیون‌کننده عمل می‌کنند و در آب کف پایدار تشکیل می‌دهند که این ویژگی‌ها به طبیعت دوگانه‌دوستی^۵ آنها مربوط می‌شود (Hostettman & Marston, 1995). از این رو، می‌توان خصوصیات امولسیون‌کنندگی و کف‌زایی عصاره چوبک را تابعی از میزان حضور ساپونین‌ها در آن قلمداد کرد. ساپونین‌ها و عصاره‌های ساپونینی با منشأ گیاهی در صنعت مواد غذایی کاربردهای متنوعی دارند (Gucln-Ustundag et al., 2007) از آن جمله در ایران و ترکیه در تهیه برخی حلوای سنتی و صنعتی از عصاره چوبک و عصاره گیاهان ساپونینی مشابه آن مانند عصاره گیاه سوآپورت^۶ (*Gypsophila Arrostii*) جهت سفیدتر شدن رنگ، جلوگیری از جدا شدن روغن از بافت، بهبود ویژگی‌های بافتی، افزایش حجم و به‌عنوان یک امولسیفایر استفاده می‌گردد (Celik et al., 2007; Ceyhun-Sezgin et al., 2010). علاوه بر این فعالیت‌های بیولوژیکی قابل توجهی در مورد ساپونین‌ها گزارش شده است که از مهم‌ترین آنها می‌توان به خصوصیات آنتی‌میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، انگل‌کشی، تسکین‌دهنده درد، خلط‌آوری، کاهنده جذب چربی، تنظیم‌کننده سیستم ایمنی، خواب‌آوری، ضدتب، ضد-سرفه و غیره اشاره کرد (Gucln-Ustundag et al., 2007).

¹ Glycoside

² Aglycone

³ Triterpene

⁴ Steroidal

⁵ Amphiphilic

⁶ Soapwort

⁷ Soxhlet extraction

⁸ Cavitation

زدایی و سپس جهت مقایسه بازده استخراج فرایند عصاره‌گیری به روش متداول با عصاره‌گیری با امواج فراصوت، تحت شرایط یکسان از نظر دما (۶۵ درجه سانتی‌گراد)، اندازه ذرات نمونه (۰/۴ - ۰/۷ میلی‌متر)، نسبت حلال به نمونه (۲۵ میلی‌لیتر بر گرم) و نوع حلال (متانول ۸۰ درصد)، عصاره‌گیری به دو روش فوق در دامنه‌های زمانی مختلف بر روی پودر چربی-زدایی شده صورت پذیرفت. لازم به ذکر است که در مورد روش عصاره‌گیری با امواج فراصوت نسبت پالس^۱ ۱۰۰ درصد و شدت (دامنه)^۲ امواج فراصوت ۶۰ درصد در نظر گرفته شد. عصاره متانولی حاصل از هر روش طی مراحل تغلیظ و در نهایت ساپونین‌تام آن استخراج شد. در ادامه جهت بهینه‌سازی شرایط عصاره‌گیری با امواج فراصوت، به ترتیب تأثیر عوامل زمان سونیکاسیون^۳ در ۶ سطح (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه)، دما در ۵ سطح (۳۵، ۴۵، ۵۵، ۶۵ و ۷۵ سانتی‌گراد)، شدت امواج فراصوت در ۴ سطح (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد)، اندازه ذرات نمونه در ۴ سطح (۰/۱، ۰/۱ - ۰/۴، ۰/۴ - ۰/۷ و ۰/۷ - ۱ میلی‌متر)، نسبت حلال به نمونه در ۴ سطح (۱۰، ۲۵، ۴۰ و ۵۵ میلی‌لیتر بر گرم) و غلظت حلال در ۴ سطح (۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد حجمی/حجمی متانول در آب) بر روی بازده استخراج مورد مطالعه و حالت بهینه آنها تعیین شد. در تمام مراحل، ارزیابی بازده استخراج از طریق تعیین شاخص تشکیل امولسیون (E₂₄)^۴ و توانایی تشکیل کف (F_h)^۵ به عنوان دو شاخص که تابعی از میزان استخراج ساپونین‌ها در طی فرایند عصاره‌گیری می‌باشند، اندازه‌گیری و نتایج مورد مقایسه قرار گرفت.

چربی‌زدایی

با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال پترولیوم اتر در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت عمل چربی‌زدایی از پودر ریشه چوبک انجام پذیرفت. سپس پودر از دستگاه خارج شد و در دمای اتاق برای مدت

پایین‌تر به انجام رسد که در نتیجه از آسیب حرارتی ترکیبات حساس به حرارت و اتلاف ترکیبات فرار اجتناب می‌شود (Wu *et al.*, 2001). این مزایا سبب شده است که فرصت‌ها و کاربردهای متنوعی در صنعت مواد غذایی برای این روش عصاره‌گیری وجود داشته باشد (Vilkhu *et al.*, 2008).

این تحقیق با هدف دستیابی به عصاره گونه‌ای چوبک با محتوای ساپونینی بالا در مدت زمانی کوتاه-تر و با صرف حلال کمتر با بکارگیری روش عصاره-گیری با امواج فراصوت جهت استفاده‌های بعدی از آن در فرآوری مواد غذایی مد نظر، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

ریشه گیاه چوبک از نواحی کوهپایه‌ای واقع در ۲۰ کیلومتری غرب شهرستان تربت حیدریه جمع‌آوری و توسط بخش هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد مشخصات اصلی آن بدین ترتیب شناسایی گردید: خانواده میخک، جنس *آکانتافیوم*، گونه *گلندولوزوم (Glandulosum)*. مواد شیمیایی اصلی مورد استفاده شامل پترولیوم‌اتر، متانول، ان-بوتانول، دی‌اتیل اتر و پارافین مایع مرک آلمان بودند.

روش‌ها

آماده‌سازی ریشه چوبک برای عصاره‌گیری

ریشه چوبک پس از جمع‌آوری ابتدا تمیز و پوسته چوبی رویی آن جداسازی شد. سپس بوسیله یک چکش به قطعات کوچک‌تر تبدیل و توسط یک آسیاب خانگی (پارس خزر، مدل P320، ساخت ایران) به حالت پودری در آمد. در ادامه پودر بدست آمده بسته به اندازه ذرات مورد نظر توسط الک‌هایی با مش معین غربال و تا زمان انجام عصاره‌گیری در مکانی مناسب نگهداری گردید.

عصاره‌گیری

فرایند عصاره‌گیری و به دنبال آن جداسازی ساپونین‌ها بر اساس روش Aghel و همکاران (۲۰۰۷) و مقیمی‌پور و خلیلی (۱۳۸۶) انجام گرفت. به‌طور خلاصه ابتدا پودر تهیه شده از ریشه چوبک چربی-

¹ Pulse ratio (burst rate)

² Amplitude

³ Sonication

⁴ Emulsification index (E₂₄)

⁵ Foam formation ability (F_h)

میلی‌متر، قطر ۳ میلی‌متر و با حداکثر عمق نفوذ ۹۰ میلی‌متر استفاده شد (Wu et al., 2001; Zhao et al., 2010; Firdaus et al., 2007). در پایان عصاره‌گیری ساپونین موجود در عصاره متانولی حاصل، مشابه مراحل که در روش عصاره‌گیری متداول شرح داده شد، جداسازی گردید.

بازده استخراج

شاخص تشکیل امولسیون (E₂₄)

در مورد تمامی تیمارها جهت اندازه‌گیری این شاخص ابتدا تمام ساپونین تام بدست آمده در ۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل و سپس محلول ساپونینی حاصل به لوله آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر پارافین مایع اضافه و برای مدت ۲ دقیقه بر روی دستگاه همزن لوله آزمایش (VELP مدل RX3، ساخت ایتالیا) با دور بالا قرار گرفت تا امولسیون حاصل شود. در خاتمه پس از نگهداری لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در حالت سکون و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ضخامت لایه امولسیون که در بین لایه روغن و محلول ساپونینی قرار می‌گیرد، خوانده شد. نتایج به صورت میانگین نسبت ارتفاع لایه امولسیون به ارتفاع کل که همان شاخص تشکیل امولسیون پس از ۲۴ ساعت یا E₂₄ می‌باشد و از ۳ تکرار متوالی بدست آمده بود، ثبت شد (Dehghan Noudeh et al., 2010).

توانایی تشکیل کف (F_{II})

در مورد تمامی تیمارها جهت اندازه‌گیری این شاخص ابتدا تمام ساپونین تام بدست آمده در ۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل و سپس محلول ساپونینی حاصل به لوله آزمایش منتقل و برای مدت ۵ ثانیه توسط دستگاه همزن لوله آزمایش در دور بالا تکان داده شد و پس از آن به مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در حالت سکون قرار گرفت. بعد از اتمام این زمان ارتفاع کف تشکیل شده اندازه‌گیری شد. نتایج به صورت میانگین ارتفاع کف که از ۳ تکرار متوالی بدست آمده بود، ثبت شد (مقیمی‌پور و خلیلی، ۱۳۸۶).

زمان کافی قرار گرفت تا کاملاً خشک و برای مرحله بعدی عصاره‌گیری آماده گردد (Aghel et al., 2007).

عصاره‌گیری به روش متداول

مطابق با شرایطی که قبلاً به آن اشاره گردید از پودر ریشه چوبک چربی‌زدایی شده توسط دستگاه سوکسله در دامنه‌های زمانی ۳۰، ۱۲۰، ۲۴۰، ۳۶۰، ۴۸۰ و ۶۰۰ دقیقه‌ای عصاره‌گیری شد. عصاره متانولی حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و در ادامه با استفاده از یک تغلیظ‌کننده چرخان^۱ تحت خلأ (Heidolph مدل G1B، ساخت آلمان) عمل حذف حلال و تغلیظ عصاره در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به مایعی نسبتاً ویسکوز و به رنگ قهوه‌ای تیره انجام گرفت. در خاتمه عصاره متانولی تغلیظ‌شده در مقدار کمی آب دو بار تقطیر حل و طی چند مرحله با ان- بوتانول در قیف دکانتاسیون^۲ استخراج گردید. عصاره بوتانولی بدست آمده تا حد خشک شدن تغلیظ و در نهایت ساپونین موجود در آن با بکارگیری ۵ برابر حجم دی‌اتیل اتر رسوب و جداسازی شد (مقیمی‌پور و خلیلی، ۱۳۸۶؛ Aghel et al., 2007).

عصاره‌گیری با امواج فراصوت

مطابق با شرایطی که قبلاً به آن اشاره گردید از ریشه چوبک چربی‌زدایی شده توسط یک سونیکاتور^۳ آزمایشگاهی (Dr. hielscher، مدل UP 200 H، ساخت آلمان) دارای فرکانس ثابت ۲۴ کیلوهرتز و سطوح متفاوتی از توان خروجی (۲۰ تا ۱۰۰ درصد) و نسبت پالس (۱۰ تا ۱۰۰ درصد) در دامنه‌های زمانی ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه‌ای عصاره‌گیری شد. برای تنظیم دما در طول آزمایش، بشر حاوی نمونه و حلال درون بن‌ماری (Lauda مدل E200، ساخت آلمان) در معرض امواج فراصوت قرار می‌گرفت. برای انتقال امواج از دستگاه به نمونه از سونوتروود^۴ سوزنی شکل نوع S₃ از جنس آلیاژ تیتانیوم^۵ به طول ۱۰۰

¹ Rotary Evaporator

² Decantation

³ Sonicator

⁴ Sonotrode

⁵ Titanium

طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

در مرحله اول برای مقایسه بازده استخراج دو روش عصاره‌گیری از طرح آماری کاملاً تصادفی تک‌متغیره با ۳ تکرار استفاده شد. بدین صورت که روش عصاره‌گیری متداول که حاوی ۶ تیمار بود به‌عنوان گروه اول و روش عصاره‌گیری با امواج فراصوت که آن نیز حاوی ۶ تیمار بود به‌عنوان گروه دوم در نظر گرفته شد و به دنبال آنالیز واریانس، مقایسات گروهی مستقل (اورتوگونال^۱) انجام گرفت. در مرحله دوم به منظور بهینه‌سازی شرایط عصاره‌گیری با امواج فراصوت، طرح آماری کاملاً تصادفی تک‌متغیره با ۳ تکرار بکار گرفته شد. در عمل نتایج حاصل در معرض آنالیز واریانس قرار گرفتند و سپس آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی‌دار ($P < 0/05$) انجام شد. از نرم افزار Mstat-C (نسخه ۱/۴۲، دانشگاه میشیگان) برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و از نرم افزار Excell 2007 جهت رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج و بحث

مقایسه بازده استخراج عصاره‌گیری به روش متداول با عصاره‌گیری با امواج فراصوت

آنالیز واریانس نشان داد اثر نوع روش عصاره‌گیری بر روی توانایی امولسیون‌کنندگی و کف‌زایی ساپونین تام بدست آمده، از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). مقایسات اورتوگونال نیز ثابت کرد که بین روش عصاره‌گیری به روش متداول و عصاره‌گیری با امواج فراصوت از نظر توانایی امولسیون‌کنندگی و کف‌زایی ساپونین تام بدست آمده، اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/05$) و در نهایت با مقایسه میانگین دو گروه مشخص شد که ساپونین تام بدست آمده به روش عصاره‌گیری با امواج فراصوت نسبت به ساپونین تام بدست آمده به روش عصاره‌گیری متداول از توانایی امولسیون‌کنندگی و کف‌زایی بیشتری برخوردار است ($P < 0/05$).

نکته مهم در نتایج حاصل از این بخش این بود که بیشترین مقادیر E_{24} و F_{11} در طی عصاره‌گیری به روش متداول پس از ۴۸۰ دقیقه حاصل شد که نزدیک به

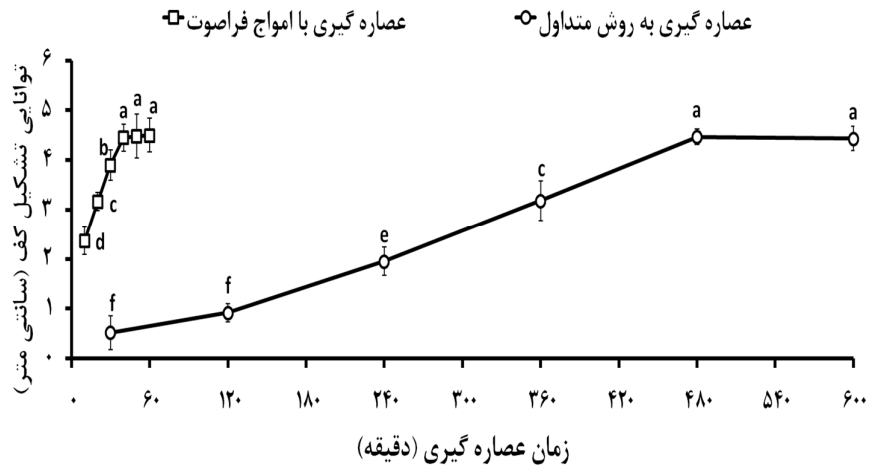
مقادیر E_{24} و F_{11} پس از ۴۰ دقیقه عصاره‌گیری با امواج فراصوت بود به‌طوری‌که اختلاف آماری معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد ($P > 0/05$). بر این اساس می‌توان بیان داشت که عصاره‌گیری با امواج فراصوت در مقایسه با روش متداول، دستیابی به عصاره چوبک با محتوای ساپونینی بالا و در نتیجه با ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی و کف‌زایی مناسب را در حدود ۱۲ مرتبه کوتاه‌تر می‌کند (شکل ۱). این یافته می‌تواند تأییدی بر این مطلب باشد که در طی عصاره‌گیری از ریشه چوبک با امواج فراصوت، استخراج ترکیبات هدف (ساپونین‌ها) سریع‌تر به وقوع می‌پیوندد. در این ارتباط می‌توان گفت که به‌طور کلی استفاده از امواج فراصوت، باعث شکستن فیزیکی دیواره و غشاء سلول می‌شود. این پدیده، فرایند نفوذ حلال به داخل سلول‌ها را سرعت می‌بخشد و جریان انتقال جرم بین بافت و انتقال ذرات از داخل سلول به داخل حلال را آسان می‌کند که در نتیجه فرایند استخراج در زمان کوتاه‌تری به انجام می‌رسد (Chen et al., 2006). در همین راستا عنوان شده است که امواج فراصوت نسبت به سایر روش‌ها مانند سوکسله، مایکروویو و سیال فوق-بحرانی از کارایی و سرعت بالاتری در استخراج ترکیبات گیاهی گوناگون برخوردار است (ذوالفقاری و یكدانه، ۱۳۸۹). قابلیت امواج فراصوت در افزایش سرعت استخراج ساپونین‌ها از ریشه گیاه چوبک و در نتیجه کوتاه‌نمودن زمان فرایند عصاره‌گیری که در این بخش از تحقیق به اثبات رسید، در نتایج سایر محققین نیز که تأثیر این امواج را در استخراج ساپونین‌ها از اندام‌های گیاهی دیگر مورد مطالعه قرار داده بودند، قابل مشاهده است (Hui et al., 1994; Wu et al., 2001; Zhao et al., 2007; Cares et al., 2010; Firdaus et al., 2010; Hashim, 2014). وضعیت تشکیل امولسیون و کف توسط ساپونین تام بدست آمده پس از ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری به روش متداول و با امواج فراصوت در شکل ۲ نمایان است.

¹ Orthogonal

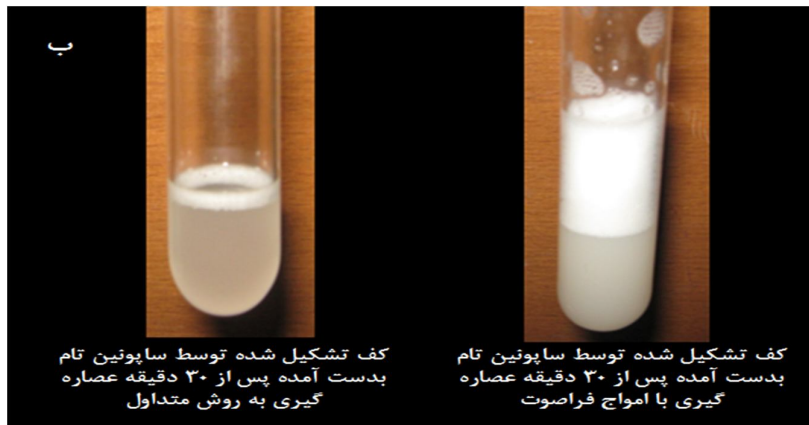
(الف)



(ب)



شکل ۱- مقایسه ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام بدست آمده طی عصاره‌گیری به روش متداول و با امواج فراصوت در دامنه‌های زمانی مختلف. حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$).



شکل ۲- مقایسه وضعیت تشکیل امولسیون (الف) و تشکیل کف (ب) توسط ساپونین تام بدست آمده پس از ۳۰ دقیقه عصاره-گیری به روش متداول و با امواج فراصوت

استخراج می‌گردند و با افزایش مدت زمان فرایند بخش کمی از این ترکیبات باقیمانده وارد حلال می‌شوند. در این ارتباط می‌توان گفت که به‌طور کلی در عصاره‌گیری با امواج فراصوت آزاد شدن ترکیبات هدف موجود در سلول‌های گیاهی به درون حلال خارجی تسهیل می‌شود و در نتیجه دستیابی به بازدهی بیشتر در مراحل ابتدایی عصاره‌گیری امکان پذیر می‌شود. با ادامه فرایند عصاره‌گیری و همچنان که پدیده انتشار به بخش‌های درونی‌تر بافت گیاه پیش می‌رود، با طولانی و سخت‌تر شدن مسیر انتشار و در نتیجه کاهش سطح انتشار و نیز افت گرادیان غلظت در محیط پیرامونی نمونه، سرعت انتشار کاهش پیدا می‌-

تأثیر عوامل مختلف بر بازده استخراج طی عصاره-گیری با امواج فراصوت

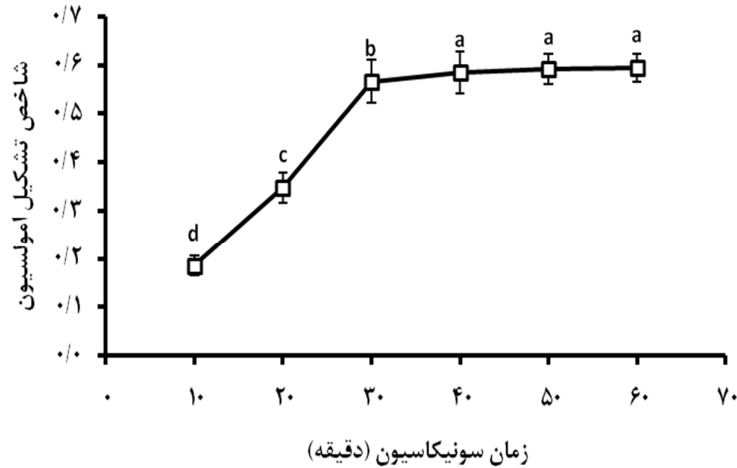
زمان سونیکاسیون

همان گونه که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد با افزایش زمان سونیکاسیون از ۱۰ به ۴۰ دقیقه مقادیر E_{24} و F_{11} به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کردند ($P < 0.05$) ولی با ادامه فرایند عصاره‌گیری و در محدوده زمانی ۴۰ تا ۶۰ دقیقه این افزایش حالت بسیار آهسته‌تری به خود گرفت و معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). بر اساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت که در طی عصاره-گیری از ریشه چوبک با امواج فراصوت بخش عمده ترکیبات ساپونینی در همان ۴۰ دقیقه ابتدایی،

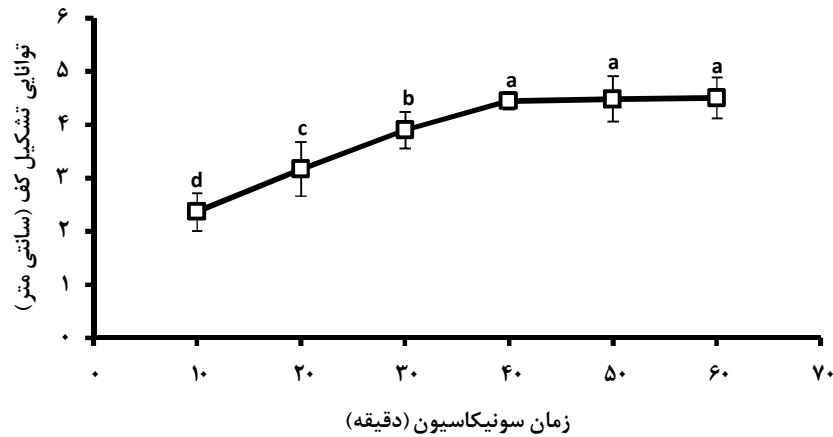
دارد (بصیری و همکاران، ۱۳۹۰). بر پایه نتایج بدست آمده زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه حالت بهینه تشخیص داده شد و در بررسی اثر سایر عوامل ثابت در نظر گرفته شد.

کند و در نهایت تغییر آشکاری در میزان استخراج مشاهده نمی‌گردد (بصیری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Zhao *et al.*, 2007). وقوع این وضعیت در فرایندهای استخراج امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد اما زمان و سرعت رسیدن به آن از جنبه اقتصادی اهمیت زیادی

(الف)

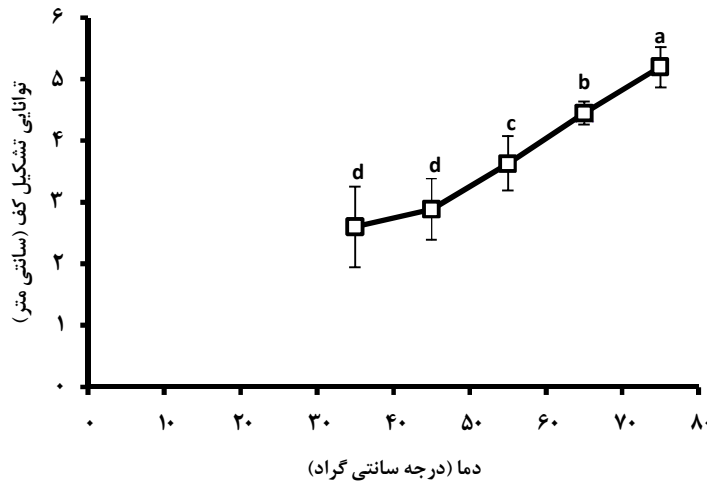
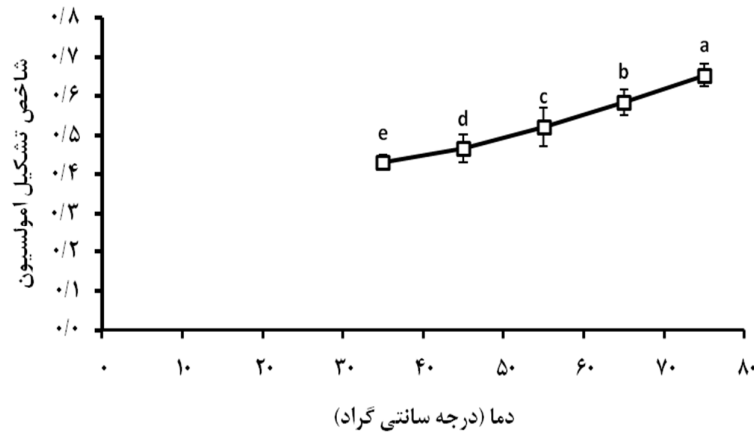


(ب)



شکل ۳- تأثیر زمان سونیکاسیون بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام حاصل در طی عصاره‌گیری با امواج فراصوت (شرایط سایر عوامل بدین صورت ثابت گردید: دما ۶۵ درجه سانتی‌گراد، شدت امواج فراصوت ۶۰ درصد، اندازه ذرات نمونه ۰/۴-۰/۷ میلی‌متر، نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم و غلظت حلال ۸۰ درصد). حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

(الف)



شکل ۴- تأثیر دما بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام حاصل در طی عصاره‌گیری با امواج فرا-صوت (شرایط سایر عوامل بدین صورت ثابت گردید: زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه، شدت امواج فراصوت ۶۰ درصد، اندازه ذرات نمونه ۰/۴ - ۰/۷ میلی‌متر، نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم و غلظت حلال ۸۰ درصد). حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/05$).

سعی شد دمای مخلوط حلال و نمونه زیر نقطه جوش آن نگه داشته شود. در عمل محدوده دمایی ۳۵ تا ۷۵ درجه سانتی‌گراد مناسب تشخیص داده شد. همان گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌گردد با افزایش دما، مقادیر F_{11} و E_{24} روند صعودی معنی‌داری به خود گرفتند ($P < 0/05$). بر اساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت که در طی عصاره‌گیری از ریشه چوبک با امواج فراصوت در یک محدوده زمانی ثابت، با افزایش دما بازده استخراج ساپونین‌ها افزایش یافت. در این ارتباط می‌توان گفت که به‌طور کلی افزایش دما با کاهش ویسکوزیته حلال و افزایش انرژی جنبشی،

دما در تحقیقات مشابه قبلی مشخص شده بود که در طی عصاره‌گیری با امواج فراصوت نزدیک بودن دمای محلول به نقطه جوش آن سبب بوجود آمدن حباب‌های بسیار ریز و در نتیجه کاهش کشش سطحی و افزایش فشار بخار می‌گردد که در نهایت باعث خفگی^۱ امواج فراصوت و بی‌اثر شدن فرایند سونیکاسیون می‌شود (Zhao et al., 2007). به همین دلیل به منظور بررسی دقیق‌تر اثر سونیکاسیون بر فرایند عصاره‌گیری

¹ Damping

سونیکاسیون که باید به نمونه وارد آید را کاهش داده و در نتیجه افزایش بازده استخراج را به همراه نداشته باشد (Filgueiras *et al.*, 2000). بر پایه نتایج بدست آمده شدت ۸۰ درصد حالت بهینه تشخیص داده شد و در بررسی اثر سایر عوامل ثابت در نظر گرفته شد.

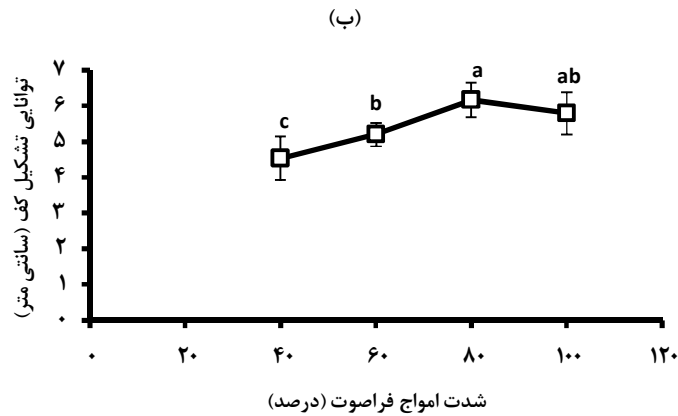
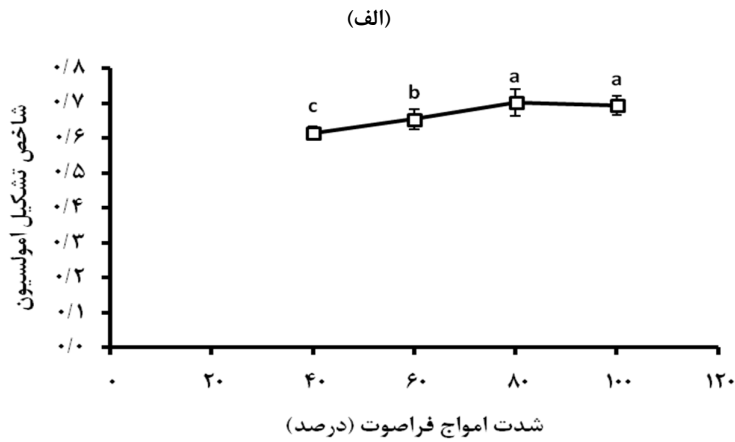
اندازه ذرات نمونه

همان گونه که در شکل ۶ مشاهده می‌گردد با کاهش اندازه ذرات نمونه تا حد ۰/۱-۰/۴ میلی‌متر، مقادیر E_{24} و F_h افزایش معنی‌داری یافت ($P < 0/05$) ولی با کاهش بیشتر آن تا حد ۰/۱ < میلی‌متر، افزایشی در این مقادیر مشاهده نشد. بر اساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت که در اندازه ذرات ۰/۱-۰/۴ میلی‌متر، استخراج ساپونین‌ها از ریشه چوبک به گونه مناسب-تری به وقوع پیوسته است. در این ارتباط می‌توان گفت که به‌طور کلی در مورد وزن ثابتی از مواد جامد همچنان که اندازه ذرات کاهش پیدا می‌کند، فضای سطحی افزایش می‌یابد و پدیده انتشار به‌طور مؤثری رخ می‌دهد که در نتیجه بازده استخراج نیز افزایش می‌یابد اما هنگامی که اندازه ذرات نمونه بیش از حد کوچک شود در این حالت کاربرد امواج فراصوت باعث از هم‌گسیختگی شدید سلولی می‌گردد که در نتیجه پدیده انتشار به‌خوبی صورت نمی‌پذیرد و در نهایت افزایش قابل توجهی در بازده استخراج به وقوع نمی‌پیوندد (Zhao *et al.*, 2007). بر پایه نتایج بدست آمده اندازه ذرات ۰/۱-۰/۴ میلی‌متر حالت بهینه تشخیص داده شد و در بررسی اثر سایر عوامل ثابت در نظر گرفته شد.

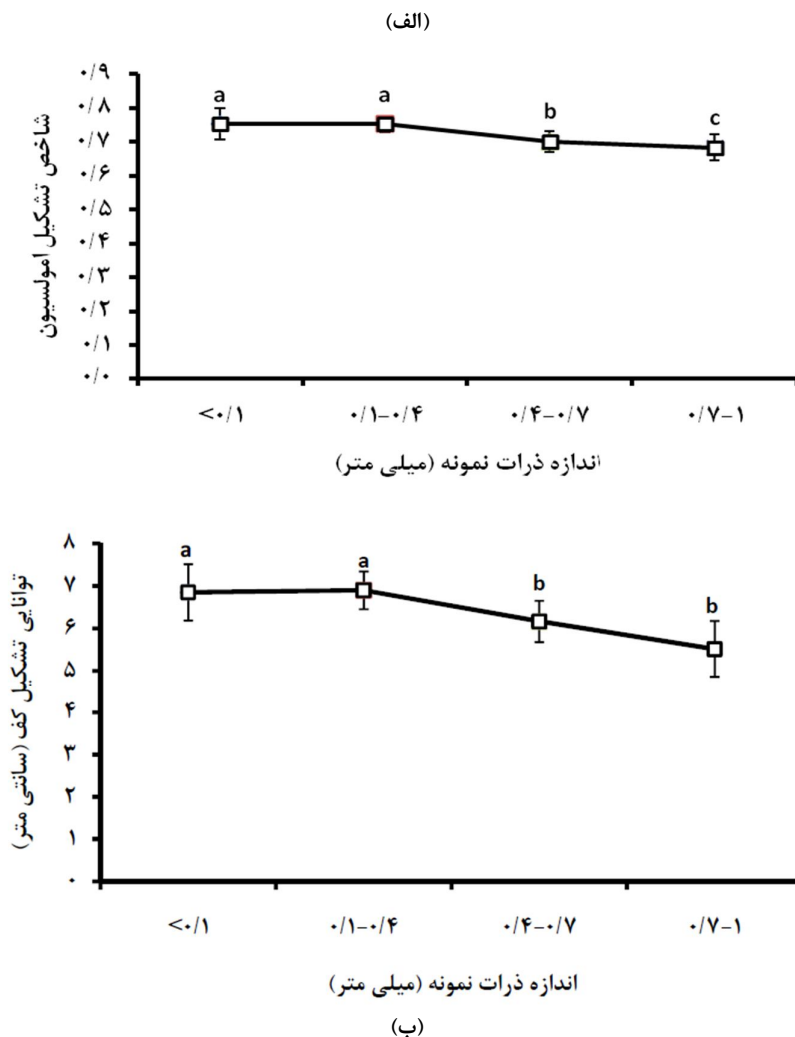
نفوذ آن را به داخل بافت گیاهی افزایش می‌دهد و سرعت استخراج را بالا می‌برد. افزایش دما همچنین می‌تواند سبب بازشدن دیواره‌های سلولی شود که نتیجه آن در دسترس قرار گرفتن ترکیبات هدف باشد. علاوه بر این در دمای بالا ویسکوزیته حلال کاهش و ضریب انتشار افزایش می‌یابد بنابراین کارایی استخراج افزایش می‌یابد (pan *et al.*, 2000). بر پایه نتایج بدست آمده دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد حالت بهینه تشخیص داده شد و در بررسی اثر سایر عوامل ثابت در نظر گرفته شد.

شدت امواج فراصوت

همان گونه که در شکل ۵ مشاهده می‌گردد با افزایش شدت امواج فراصوت تا حد ۸۰ درصد افزایش معنی‌داری در مقادیر E_{24} و F_h پدیدار گردید ($P < 0/05$) ولی با افزایش این عامل از ۸۰ به ۱۰۰ درصد نه تنها چنین افزایشی مشاهده نشد بلکه تا حدی از این مقادیر کاسته شد. بر اساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت که در شدت ۸۰ درصد، ساپونین بیشتری از ریشه چوبک استخراج شده است. در این ارتباط می‌توان گفت که به‌طور کلی در عصاره‌گیری با امواج فرا-صوت میزان انرژی که از سونیکاتور به محیط انتقال می‌یابد در رابطه مستقیم با شدت صوت دستگاه می‌باشد بنابراین با افزایش شدت صوت انرژی بیشتری به محیط وارد و منجر به افزایش بازده استخراج می‌گردد. اما چنانچه این توان خروجی بیش از حد بالا باشد، منجر به افزایش بیش از حد تعداد حباب‌ها در حلال خارجی در طی کاویتاسیون می‌شود که بروز چنین حالتی می‌تواند میزان انرژی ناشی از اعمال



شکل ۵- تأثیر شدت امواج فراصوت بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام حاصل در طی عصاره-گیری با امواج فراصوت (شرایط سایر عوامل بدین صورت ثابت گردید: زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه، دما ۷۵ درجه سانتی‌گراد، اندازه ذرات نمونه ۰/۷-۰/۴ میلی‌متر، نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم و غلظت حلال ۸۰ درصد) (حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$)).



شکل ۶- تأثیر اندازه ذرات نمونه بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام حاصل در طی عصاره‌گیری با امواج فراصوت (شرایط سایر عوامل بدین صورت ثابت گردید: زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه، دما ۷۵ درجه سانتی‌گراد، شدت امواج فراصوت ۸۰ درصد، نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم و غلظت حلال ۸۰ درصد) (حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$)).

نسبت حلال به نمونه همان گونه که در شکل ۷ مشاهده می‌گردد افزایش نسبت حلال به نمونه از ۱۰ به ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم سبب افزایش معنی‌داری در مقادیر F_{11} و E_{24} گردید ($P < 0.05$) ولی افزایش آن تا حد ۵۵ میلی‌لیتر بر گرم نه تنها باعث افزایش در این مقادیر نشد بلکه کاهش آنها را به همراه داشت. بر اساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت که نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم، بهترین حالت جهت استخراج ساپونین‌ها از ریشه چوبک بوده است. در این ارتباط می‌توان گفت

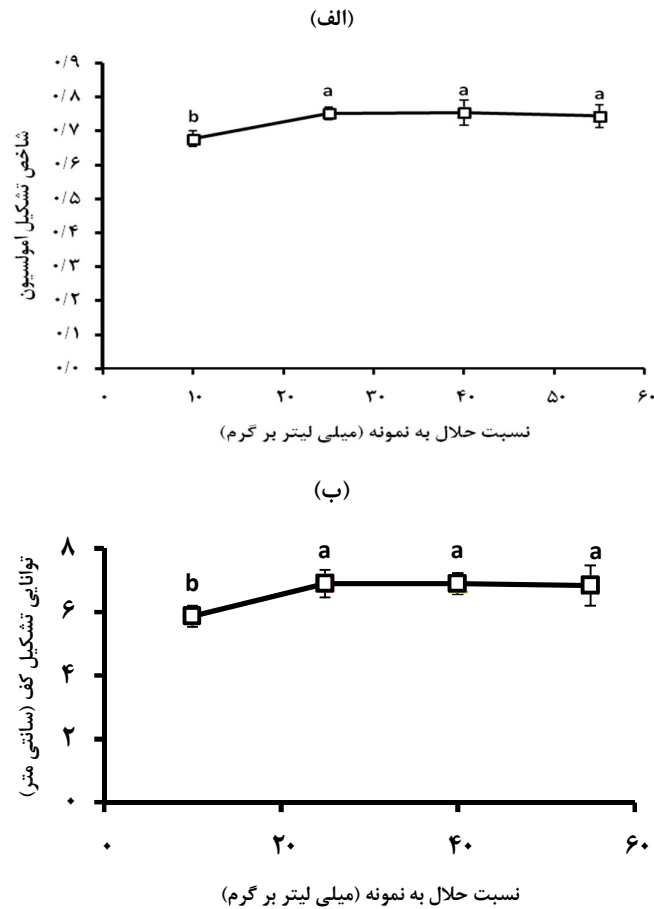
که به‌طور کلی در نسبت حلال به نمونه پایین، اشباع- شدن حلال سریع‌تر رخ می‌دهد و در نتیجه بازده استخراج کاهش می‌یابد. با افزایش این نسبت تفاوت غلظت بیشتری بین درون سلول‌های گیاهی و حلال خارجی ایجاد می‌شود و استخراج ترکیبات هدف به شکل بهتری انجام می‌گیرد ولی اگر استفاده از حلال بیش از حد باشد و محلول خیلی رقیق شود، این حلال اضافی سبب افزایش مناسبی در تفاوت غلظت بوجود آمده نمی‌شود و حتی امکان دارد افزایش بازده استخراج محدود شود (Zhao et al., 2007). بر پایه

بیشتری از ریشه چوبک استخراج و وارد حلال خارجی شده است. در این ارتباط می‌توان گفت که به‌طور کلی ساپونین‌ها ترکیباتی هستند که در الکل خالص و یا در الکل رقیق حل می‌شوند (Hostettman & Marston, 1995). به نظر می‌رسد ساپونین‌های موجود در ریشه چوبک در الکی که تا حدی رقیق شده باشد بهتر حل می‌شوند و در نتیجه استخراج آنها با استفاده از چنین حلالی بهتر انجام می‌گیرد. بر پایه نتایج بدست آمده غلظت حلال ۶۰ درصد حالت بهینه تشخیص داده شد.

نتایج بدست آمده نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم حالت بهینه تشخیص داده شد و در بررسی اثر سایر عوامل ثابت در نظر گرفته شد.

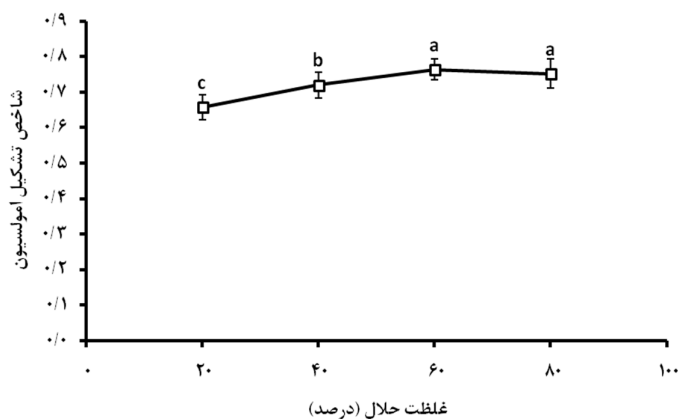
غلظت حلال

همان گونه که در شکل ۸ مشاهده می‌گردد افزایش غلظت حلال از ۲۰ به ۶۰ درصد در مقادیر F_{11} و E_{24} افزایش معنی‌داری بوجود آورد ($P < 0.05$). ولی افزایش آن تا حد ۸۰ درصد سبب کاهش در این مقادیر گردید. بر اساس این یافته می‌توان نتیجه گرفت که در غلظت حلال ۶۰ درصد، میزان ساپونین

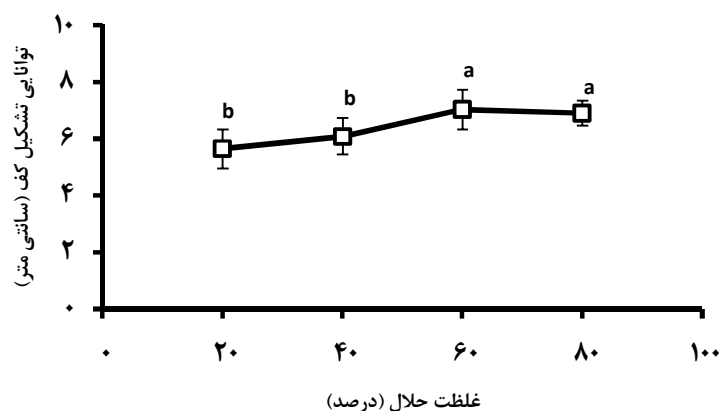


شکل ۷- تأثیر نسبت حلال به نمونه بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام حاصل در طی عصاره-گیری با امواج فراصوت (شرایط سایر عوامل بدین صورت ثابت گردید: زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه، دما ۷۵ درجه سانتی‌گراد، شدت امواج فراصوت ۸۰ درصد، اندازه ذرات نمونه ۱/۰ - ۰/۴ میلی‌متر و غلظت حلال ۸۰ درصد) (حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$)).

(الف)



(ب)



شکل ۸- تأثیر غلظت حلال بر ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی (الف) و کف‌زایی (ب) ساپونین تام حاصل در طی عصاره‌گیری با امواج فراصوت (شرایط سایر عوامل بدین صورت ثابت گردید: زمان سونیکاسیون ۴۰ دقیقه، دما ۷۵ درجه سانتی‌گراد، شدت امواج فراصوت ۸۰ درصد، اندازه ذرات نمونه ۱/۰ - ۴/۰ میلی‌متر و نسبت حلال به نمونه ۲۵ میلی‌لیتر بر گرم) (حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$)).

امواج فراصوت در مقایسه با روش متداول، طی استخراج ساپونین‌ها از برگ درخت مانگرو^۲ (Firdaus *et al.*, 2010)، ریشه گیاه *Radix Bupleuri* (Zhao *et al.*, 2007) و ریشه انواع مختلف گیاه جینسینگ (Wu *et al.*, 2001) نیز مشاهده شد.

در حالی که طی عصاره‌گیری به روش متداول بیشترین مقدار مشاهده شده برای E_{24} ۵۸۱/۰ و در مورد F_h ۴۴۶۷/۴ سانتی‌متر بود، ایجاد شرایط بهینه برای عوامل مؤثر بر عصاره‌گیری با امواج فراصوت سبب شد که مقدار E_{24} به ۷۶۴/۰ و مقدار F_h به ۷۰۳۳/۰ سانتی‌متر افزایش یابد که این نتایج در واقع حاکی از افزایش بازده استخراج ساپونین‌ها بود. کاربرد امواج فراصوت جهت استخراج ساپونین‌ها از گیاه جینسینگ^۱ نیز سبب شد که بازده استخراج نسبت به روش‌های کلاسیک تا ۳۰ درصد افزایش یابد (Hui *et al.*, 1994). این بهبود بازده استخراج در اثر استفاده از

²Mangrove¹Ginseng

نتیجه گیری

فراصوت، اندازه ذرات نمونه، نسبت حلال به نمونه و غلظت حلال، افزایش بازده استخراج را به همراه داشت. نکته مهم دیگر اینکه عصاره گیری با امواج فرا-صوت با عملی کردن امکان تهیه عصاره چوبک در زمان و دمای پایین تر، از آسیب حرارتی ساپونین ها و در نتیجه از بین رفتن ویژگی های عملکردی آنها به ویژه امولسیون کنندگی و کفزایی که در فرآوری برخی مواد غذایی مورد نیاز است، جلوگیری می نماید.

توانایی بالای امواج فراصوت در استخراج ترکیبات فعال گوناگون از منابع گیاهی، طی استخراج ساپونین ها از ریشه چوبک نیز به اثبات رسید به طوری که در مقایسه با روش متداول فرایند عصاره گیری ۱۲ مرتبه سریع تر و در نتیجه میزان مصرف انرژی و حلال به طور قابل توجهی کاهش یافت. افزون بر این فراهم آوردن شرایط بهینه برای عوامل مؤثر بر این روش عصاره گیری مانند زمان سونیکاسیون، دما، شدت امواج

منابع

- ۱- آزادبخت، م.، ضیایی، ه.، یوسفی، ذ.، شعبان خانی، ب. و مهرعلیان، ع.ا. ۱۳۸۴. بررسی میزان تأثیر عصاره آبی چوبک در انگل زدایی از سبزی جعفری و مقایسه آن با ماده ضد عفونی کننده و پاک کننده تجاری در شهر ساری. فصلنامه گیاهان دارویی، ۱۵: ۵۸-۵۱.
- ۲- بصیری، ش.، شهیدی، ف.، کدخدایی، ر. و فرهوش، ر. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر امواج فراصوت و روش های پیش فراوری بر استخراج روغن از هسته انار. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۸ (۳۱): ۱۱۵-۱۲۲.
- ۳- دستخوش، ز. و سرافراز، س. ۱۳۸۰. استخراج و خالص سازی ساپونین گونه ای چوبک و تعیین ویژگی های فیزیکی- شیمیایی و همولیتیک آن. خلاصه مقالات هشتمین سمینار سراسری دانشجویان داروسازی کشور، کرمان، ۲۲-۲۴ اسفند، صفحات ۱۰۷-۱۰۸.
- ۴- ذوالفقاری، ب. و یکدانه، ا. ۱۳۸۹. پیشرفت های اخیر در زمینه روش های استخراج ترکیب های گیاهی. فصلنامه داروهای گیاهی، ۱: ۵۱-۵۵.
- ۵- سجادی، ا.، حسین زاده، ح. و مهاجری، ا. ۱۳۸۱. اثر جذب افزایشی ساپونین تام چوبک بر جذب انسولین از راه بینی و تأثیر آن بر قند خون در رت. مجله دیابت و لیپید ایران، ۲ (۱): ۱۷-۲۴.
- ۶- سجادی، ا.، رضائی، م. و مقیمی پور، ا. ۱۳۷۹. استخراج و بررسی فعالیت بین سطحی ساپونین گیاه آکانتافیلوم اسکواروزوم. خلاصه مقالات هفتمین همایش علوم دارویی ایران، مشهد، ۵-۷ شهریور، صفحه ۳۳.
- ۷- مقیمی پور، ا. و خلیلی، س. ۱۳۸۶. استخراج ساپونین های تام ریشه شیرین بیان و مقایسه فعالیت کاهش دهنده کشتش سطحی آن با ساپونین های کیلایا در حضور کلسترول. فصلنامه علوم دارویی، ۳ (۳۳): ۴۷-۵۵.
- 8- Aghel, N., Moghimipour, E., & Raiesdana, A. 2007. Formulation of a herbal shampoo using total saponins of *Acanthophyllum squarrosum*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 6 (3): 167-172.
- 9- Cares, M.G., Vargas, Y., Gaete, L., Sainz, J., & Alarcon, J. 2010. Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from Quillaja Saponaria Molina. Physics Procedia, 3: 169-178.
- 10- Celik, I., Yilmaz, Y., Isik, F., & Ustun, O. 2007. Effect of soapwort extract on physical and sensory properties of sponge cakes and rheological properties of sponge cake batters. Food Chemistry, 101: 907-911.
- 11- Ceyhun-Sezgin, A.E., & Artik, N. 2010. Determination of saponin content in turkish tahini halvah by using HPLC. Advance Journal of Food Science and Technology, 2 (2): 109-115.

- 12- Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., & Wang, Z. 2006. Optimization of ultrasound – assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using HPLC–MS. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 767–778.
- 13- Dehghan Noudeh, GH., Sharififar, F., Khatib, M., Behravan, E., & Ahmadi Afzadi, M. 2010. Study of aqueous extract of three medicinal plants on cell membrane-permeabilizing and their surface properties. *African Journal of Biotechnology*, 9 (1): 110-116.
- 14- Filgueiras, A.V., Capelo, J.L., Lavilla, I., & Bendicho, C. 2000. Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 53: 433-441.
- 15- Firdaus, M.T., Izam, A., Parsad, R., & Rosli. 2010. Ultrasonic-assisted extraction of triterpenoid saponins from mangrove leaves. P. 1-8. The 13rd Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress, 5-8 October. 2010. Taipei, Taiwan.
- 16- Gaidi, G., Miyamoto, T., Ramezani, M., & Lacaille-Dubois, M.A. 2004. Glandulosides A-D, triterpene saponins from *Acanthophyllum Glandulosum*. *Natural Products*, 67: 1114-1118.
- 17- Gaidi, G., Miyamoto, T., Ramezani, M., & Lacaille-Dubois, M.A. 2000. Two new biologically active triterpene saponins from *Acanthophyllum Squarrosom*. *Natural Products*, 63 (11): 1497-1502.
- 18- Ghaffari, S.M. 2004. Cytotaxonomy of some species of *Acanthophyllum (Caryophyllaceae)* from Iran. *Biologia Bratislava*, 59: 53-60.
- 19- Gucln-Ustundag, O., & Mazza, G. 2007. Saponins: Properties, Applications and Processing. *Food Science and Nutrition*, 47: 231-258.
- 20- Hashim, F.J. 2014. Hemolytic activity of *Cicer arietinum L.* extracts by two extraction techniques. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7 (1): 141-145.
- 21- Hostettman, K., & Marston, A. 1995. Chemistry and pharmacology of natural products: Saponins. University press, UK, pp: 234-237.
- 22- Hromadkova, Z., & Ebringerova, A. 2003. Ultrasonic extraction of plant materials- investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls. *Ultrasonics Sonochemistry*, 10: 127-133.
- 23- Hui, L., Etsuzo, O., & Masao, I. 1994. Effects of ultrasound on the extraction of saponin from ginseng. *Japanese Journal of Applied Physics*, 33 (5B): 3085–3087.
- 24- Lacaille-Dubois, M.A., Hanquet, B., Rustaiyan, A., & Wagner, H. 1993. Squarroside A, a biologically active triterpene saponin from *Acanthophyllum Squarrosom*. *Phytochemistry*, 34: 489-495.
- 25- Luque de Castro, M.D., & Garcia-Ayuso, L.E. 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*, 369:1-10.
- 26- Pan, X.J., Liu, H.Z., Jia, G.H., & Shu, Y.Y. 2000. Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Journal of Biochemical Engineering*, 5: 173–177.
- 27- Schiman-Czeika, H. 1988. *Acanthophyllum*. In: Rechinger KH. (ed.) *Flora Iranica*. Vol 2, Graz, Wien.
- 28- Vilkhū, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 161-169.
- 29- Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8 (3): 303-313.

-
- 30- Wu, J., Lin, L., & Chau, F. 2001. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 347-352.
- 31- Zhao, S., Kwok, K.C., & Liang, H. 2007. Investigation on ultrasound assisted extraction of saikosaponins from *Radix Bupleuri*. *Separation and Purification Technology*, 55: 307-312.

Ultrasound-assisted extraction of saponins from chubak plant (*Acanthophyllum Glandulosum*) root based on their emulsification and foaming properties

Vahid Keyhani^{1*}, Seyed Ali Mortazavi², Mehdi Karimi³, Hojat Karazhiyan¹,
Zahra Sheikholeslami³

1- Young Researchers and Elite Club, Torbat-e-Heydarieh Branch, Islamic Azad University, Torbat-e-Heydarieh, Iran

*Corresponding author (pdf_keyhani@yahoo.com)

2- Professor, Department of Food Science & Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3- Department of Agricultural Engineering Research, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

Abstract

Chubak plant root has abundant amount of saponin. Saponins act as emulsifier agents and produce stable foam in water. The main purpose of the present research is to achieve a kind of extract with high saponin content in shorter time with lower solvent consumption for use in food processing. For this purpose extraction was done with soxhlet method using ultrasound and then extraction yield was evaluated through determination of the index of emulsification and foam formation ability. Results showed that ultrasound-assisted extraction reduced achievement time for optimum extract about 12 times in comparison with soxhlet method. Also effect of different parameters on extraction yield during ultrasound-assisted extraction studied and the optimum conditions were determined: Time 40min, Temperature 75°C, ultrasound waves intensity 80%, particle size 0.1-0.4mm, solvent to sample ratio 25 ml/g and solvent concentration 60%. The creation of such conditions led to increases in index of emulsification to 0.764 and foam formation ability to 7.033 cm.

Keywords: Chubak; Emulsification; Foaming; Saponin; Ultrasound waves