

مقایسه عملکرد فروکتان‌های ارقام خارجی و توده‌های بومی کاسنی و بهینه‌سازی روش استخراج به روش سطح پاسخ (RSM)

پگاه درجانی^{1*}، مرضیه حسینی‌نژاد²، هادی شوریده³، محمد عبدالهیان‌نوقابی⁴، رسول کدخدایی⁵، احمد بالندری²، الناز میلانی⁶

1- دانشجوی دکتری گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد
*نویسنده مسئول (pegahdargany@yahoo.com)

2- استادیار گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

3- دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

4- دانشیار گروه تکنولوژی قند، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، کرج

5- دانشیار گروه نانوفناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

6- استادیار گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد

چکیده

تاریخ دریافت: 93/10/16

تاریخ پذیرش: 94/08/09

واژه‌های کلیدی

استخراج

اینولین

کاسنی

متدولوژی رویه سطح پاسخ

گیاه کاسنی به‌عنوان یکی از منابع اصلی تولید اینولین در سطح صنعتی - تجاری شناخته شده است. میزان اینولین گیاه و ویژگی‌های عملکردی آن به ژنتیک گیاه، مبدأ، شرایط اکولوژیکی رشد، زمان برداشت، روش استخراج و فرآیندهای پس از استخراج بستگی دارد. در این تحقیق میزان عملکرد اینولین توده‌های بومی ایران و ارقام خارجی کاسنی که در منطقه کرج کشت شدند، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که عملکرد اینولین توده‌های بومی ایران نسبتاً پایین بوده و ارقام خارجی بیشترین مقدار اینولین و وزن ریشه (وزن تر) در واحد سطح را نشان دادند. با توجه به اختلاف معنی‌دار وزن ریشه و میزان اینولین در ارقام مورد آزمایش، رقم خارجی/ارکیس، به منظور دستیابی به شرایط بهینه استخراج فروکتان‌های نوع اینولین، انتخاب گردید و با استفاده از متدولوژی رویه سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی تأثیر متغیرهای مستقل زمان (20-60 دقیقه)، دما (50-80 درجه سانتی‌گراد) و نسبت آب به ماده جامد (1:5-12) بر راندمان استخراج بررسی شد. بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش مؤثرترین فاکتورها بر راندمان استخراج اینولین، دما و نسبت آب به ماده جامد بودند و زمان اثر کمتری بر راندمان استخراج داشت.

مقدمه

در طول دو دهه گذشته افزایش قابل توجهی در شمار تحقیقات و گزارشات منتشر شده در مورد اثرات تغذیه‌ای، پری‌بیوتیکی و عملگرایی اینولین به عنوان ترکیب پری‌بیوتیک بر سلامت انسان ملاحظه گردیده است. اخیراً اینولین و مشتقات آن توجه صنایع غذایی را نیز به خود معطوف داشته است. فروکتان‌های نوع اینولین (اینولین و اولیگوفروکتوزها) از جمله بیشترین

پری‌بیوتیک‌های مطالعه شده هستند که نسبت به هیدرولیز در معده و روده کوچک مقاوم می‌باشند. امروزه اینولین به‌طور موفقیت‌آمیزی برای جایگزینی چربی و قند با مزایایی مانند غنی‌سازی با فیبر رژیمی، میزان کالری کمتر و سایر ویژگی‌های تغذیه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gibson et al., 1995; Roberfroid, 2002; Roberfroid, 2004).

منجر به دستیابی فرآورده‌ای با ارزش، گرانتیمنت و کاربردی در صنعت غذا به منظور تأمین نیاز صنایع غذایی داخل و صادرات محصول به کشورهای منطقه خواهد گردید. عملکرد اینولین در کاسنی (*Cichorium intybus*)، به عملکرد ریشه این گیاه و درصد اینولین موجود در ریشه گیاه وابسته است. کربوهیدرات‌های ریشه کاسنی قابلیت استحصال کمتری نسبت به ارقام مدرن چغندر قند و دیگر گونه‌های گیاهی دارند. لذا جدا از بحث نیاز به بومی‌سازی صنعت استخراج و فرآوری اینولین از ریشه کاسنی که با به‌کارگیری خطوط صنعتی استخراج قند از چغندر قند در کارخانجات قند میسر است، کشت این محصول در سطح وسیع و با استفاده از بذر توده‌های برتر کاسنی و برخورداری از راندمان بالا نیز ضروری است (Shoorideh et al., 2013). هم‌اکنون در کشور هیچ‌گونه رقم و یا توده بومی مناسب جهت استخراج اینولین معرفی نشده است. از طرفی با توجه به قیمت بالای بذور خارجی در بازارهای جهانی، انجام تحقیقات در راستای معرفی رقم کاسنی صنعتی جهت استخراج اینولین در راستای رفع وابستگی صنایع غذایی و دارویی کشور و جلوگیری از خروج سرمایه ضروری است. با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات قبلی صورت گرفته توسط حسینی‌نژاد و همکاران (1391) روی کاسنی خارجی (گونه‌های کاسنی یک‌ساله و چند-ساله‌ای که بذر آن از مجارستان تهیه شده و در مشهد کشت گردیده بود)، مشخص شد گونه‌های مورد استفاده از وزن ریشه و راندمان استخراج پایینی برخوردار هستند، لذا در این پژوهش به منظور انتخاب و معرفی رقم مناسب جهت استخراج اینولین، چندین توده کاسنی بومی از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و همراه با ارقام تجاری خارجی کشت شده در داخل کشور مورد مطالعه قرار گرفتند. با توجه به اینکه در تحقیقات قبلی انجام شده بر کاسنی بومی و غیربومی ایران، در مورد بهینه‌سازی شرایط استخراج آبی، که روش مرسوم استخراج اینولین از کاسنی است، کاری انجام نگرفته و همچنین نظر به اهمیت شرایط استخراج بر راندمان و کیفیت اینولین استحصالی، در این تحقیق بهینه‌سازی شرایط استخراج آبی و تأثیر آن بر بازده تولید بررسی گردید.

اینولین استخراجی از گیاهان حاوی مولکول‌های فروکتان خطی است که از واحدهای فروکتوزیل-فروکتوز با پیوندهای $\beta(2\rightarrow1)$ تشکیل می‌شود و اغلب شامل یک سری از اولیگومرها و پلیمرهای با درجه پلیمریزاسیون 2-60 (میانگین 10-12) می‌باشد (Meyer et al., 2011; Tungland & Meyer, 2002). در بین منابع عمده اینولین، گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) به دلیل دارا بودن مقادیر بالای اینولین (بیشتر از 70 درصد از وزن خشک ریشه) و تشابه روش‌های استخراج و تخلیص آن با چغندر قند مورد توجه بوده و جهت تولید تجاری اینولین مورد کشت قرار می‌گیرد (Franck, 2002). کاسنی، گیاهی دیپلوئید با 18 کروموزوم از تیره آستراسه (*Asteraceae*) است و جنس سیکوریوم (*Cichorium*) شامل گونه‌های مختلفی است که دو گونه سیکوریوم اینتیبوس (*C. Intybus*) و سیکوریوم ایندیوا (*C. endivia*) زراعی هستند (Muir et al., 2007). کاسنی (*Cichorium intybus*) به‌عنوان یک گیاه دارویی خودرو، از گذشته‌های دور موارد استفاده فراوانی داشته است (بالندری و همکاران، 1390). در طی اوایل دهه 1990 مطالعات زیادی روی جداسازی و خالص‌سازی اینولین و اولیگوفروکتوزها صورت گرفت. فرایند تولید شامل استخراج اینولین موجود در ریشه‌های کاسنی (*Cichorium intybus*) توسط انتشار در آب داغ، که بسیار مشابه روش استخراج ساکارز از چغندر قند می‌باشد. سپس عصاره خام حاصل با استفاده از روش‌های تصفیه صنایع قند یا نشاسته (مانند تبادل کننده‌های یونی) تصفیه شده و در نهایت تبخیر و خشک می‌شود. اولیگوفروکتوز کاسنی توسط هیدرولیز جزئی اینولین با آنزیم به دست می‌آید که در نهایت خشک می‌شود. با توجه به امکان استخراج، تخلیص و تولید صنعتی اینولین از ریشه گیاه کاسنی در واحدهای صنعتی استخراج قند از چغندر قند، مشابه آنچه در کشورهای تولیدکننده و صادرکننده این محصول صورت می‌پذیرد، در صورت کشت این گیاه در سطح وسیع می‌توان به تولید صنعتی اینولین در داخل کشور با بهره‌گیری از ظرفیت‌های خالی واحدهای صنعتی تولید قند دست یافت. توسعه کشت این گیاه ضمن درآمدزایی برای کشاورزان و صنعتگران

مواد و روش‌ها

در بخش اول پژوهش 23 رقم شامل، یک رقم آندیو فری (*Tres fine maraichere*)، 4 رقم کاسنی خارجی به همراه یک جمعیت مجاری (*Hungarian population*)، 4 رقم کاسنی سالادی از گروه ویتلوف و سیزده توده بومی در اوایل اردیبهشت سال زراعی 92-1391 در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران با تراکم 8 بوته در متر-مربع در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. در بخش بعدی، از میان انواع کاسنی بررسی شده، کاسنی ریشه‌ای رقم *ارکیس (Orchies)* انتخاب و بهینه‌سازی شرایط استخراج آبی و تأثیر آن بر بازده تولید مورد بررسی قرار گرفت. سایر مواد استفاده شده عبارت بودند از: اینولین استاندارد (HP) از شرکت Beneo-Orafti R، اسید سولفوریک 96 درصد، هیدروکسید سدیم، فنل کریستاله، دی‌فروکتوز استاندارد، تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم، دی‌نیترو-سالیسیلیک اسید از شرکت مرک آلمان.

آماده‌سازی نمونه‌های کاسنی جهت استخراج اینولین
نمونه‌های کاسنی پس از پاک و شسته شدن در بسته‌های نایلونی بسته‌بندی و تا زمان استخراج در شرایط انجماد (70- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. در زمان انجام آزمایشات نمونه‌های منجمد پس از رفع انجماد به منظور افزایش سطح تماس با حلال و بهبود فرایند استخراج توسط خردکن به قطعات ریز تبدیل شدند.

اندازه‌گیری خصوصیات کیفی کاسنی

برای اندازه‌گیری درصد ماده خشک نمونه‌ها از روش (AOAC, 2000) استفاده شد. محتوای پروتئینی کاسنی با استفاده از روش میکروکلدال خودکار و محاسبه ضریب تبدیل 6/25، محتوای چربی توسط دستگاه سوکسله و میزان خاکستر به کمک کوره الکتریکی (دمای 550 درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد.

استخراج آبی عصاره کاسنی

ابتدا مقدار 10 گرم از نمونه‌های کاسنی خرد شده را در ارلن ریخته و با استفاده از بن‌ماری تحت ترکیب دمایی، زمانی و نسبت‌های مختلف آب به ماده جامد مطابق جدول 1 قرار داده شد. نمونه‌ها پس از استخراج توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره 40 صاف و پس از محاسبه حجم استخراجی توسط دستگاه سانتی‌فیوژ در دمای 30 درجه سانتی-گراد، به مدت 10 دقیقه و با دور 4500 سانتی‌فیوژ شدند.

اندازه‌گیری کربوهیدرات کل

برای اندازه‌گیری قند کل موجود در نمونه‌ها از روش Dubois و همکاران (1956) و Pasephol و همکاران (2007) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا به 1 میلی‌لیتر نمونه رقیق شده (1:500)، 1 میلی‌لیتر محلول فنل 5 درصد افزوده شد، سپس 5 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 98 درصد به نمونه‌ها اضافه شد. بعد از قرار دادن مخلوط مذکور در بن‌ماری با دمای 30 درجه سانتی‌گراد، به مدت 20 دقیقه، جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش-مرئی در طول موج 480 نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این روش جهت تهیه منحنی استاندارد قند کل از اینولین (HP) از شرکت Beneo-Orafti، به‌عنوان استاندارد استفاده شد. منحنی استاندارد رسم شده و قند کل نمونه‌ها از طریق میزان جذب خوانده شده، در معادله خط نمونه‌های استاندارد تعیین شد.

اندازه‌گیری قند احیاکننده

برای اندازه‌گیری قند احیاکننده موجود در نمونه‌ها از معرف اسید دی‌نیتروسالیسیلیک استفاده شد. بدین صورت که 3 میلی‌لیتر از عصاره رقیق شده (5 درصد) را به لوله آزمایش منتقل کرده و 3 میلی‌لیتر معرف اسید دی‌نیتروسالیسیلیک به آن افزوده شد. پس از مخلوط شدن، نمونه‌ها در حمام آب گرم 90 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از گذشت زمان 10-15 دقیقه به هر یک از نمونه‌ها، 1 میلی‌لیتر محلول تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم 40 درصد افزوده و پس از سرد شدن، مقدار قند احیا کننده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 575 نانومتر

به منظور یافتن بهترین شرایطی که اهداف بهینه‌سازی مورد نظر را برآورده کند جستجو شد. بدین‌منظور در ابتدا اهداف بهینه‌سازی مشخص شده و سپس سطوح پاسخ و متغیرهای مستقل را تنظیم و با استفاده از تکنیک فاین تیونینگ³ بهترین جواب‌ها به دست آمد. از نرم افزار Desine Expert 7.1.6 جهت تجزیه تحلیل اطلاعات و رسم نمودارها به روش سطح پاسخ استفاده گردید.

نتایج و بحث

خصوصیات کیفی کاسنی

نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی نمونه‌های ریشه کاسنی رقم/ارکیس در جدول 2 نشان داده شده است. نتایج آزمایشات بر اساس مقدار گرم در 100 گرم ریشه گیاه (وزن تر) گزارش شده است.

نتایج تجزیه واریانس اثر ارقام مورد آزمایش بر عملکرد اینولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌های اندازه‌گیری شده (جدول 3) نشان داد که اثر ارقام مورد آزمایش بر روی درصد اینولین، عملکرد ریشه و عملکرد اینولین در سطح 1 درصد معنی‌دار می‌باشد. عملکرد ریشه یکی از فاکتورهای مهم عملکرد اینولین در کاسنی می‌باشد. اگرچه دامنه تغییرات عملکرد ریشه نسبت به تغییرات درصد اینولین در طیف وسیع ارقام موجود در این مطالعه کمتر است ولی اهمیت عملکرد ریشه برای حصول به عملکرد بالاتر اینولین غیرقابل انکار است. بیشترین عملکرد ریشه از گروه‌های کاسنی ریشه‌ای و ویتلوف بدست آمد.

اندازه‌گیری شد. در این روش جهت تهیه منحنی استاندارد قند احیاء از فروکتوز به‌عنوان استاندارد استفاده شد. منحنی استاندارد رسم گردید و قند احیاء نمونه‌ها از طریق میزان جذب خوانده شده در معادله خط نمونه‌های استاندارد از رابطه 1 تعیین شد (Paseephol *et al.*, 2007; Miller, 1959).

اندازه‌گیری درصد پلی‌فروکتان

برای اندازه‌گیری مقدار پلی‌فروکتان موجود در کاسنی میزان قند احیاء محاسبه شده از میزان قند کل به‌دست آمده کسر گردید و درصد پلی‌فروکتان به روش زیر محاسبه شد (Lingyun *et al.*, 2007).

رابطه (1)

$$\text{درصد پلی فروکتان} = \frac{\text{حجم عصاره استخراجی} \times \text{مقدار پلی فروکتان}}{\text{مقدار نمونه کاسنی}} \times 100$$

طراحی آزمایش و تجزیه تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بررسی توده‌های مختلف کاسنی با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد. برای فرآیند بهینه‌سازی از متدولوژی رویه سطح پاسخ (RSM)¹ و طرح مرکب مرکزی استفاده شد. RSM مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرایندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به منظور بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها در این مطالعه طرح آماری سطح پاسخ انتخاب شد. در این مطالعه اثر متغیرهای مستقل X1 دما، X2 زمان و X3 نسبت حلال به ماده جامد در سه سطح مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول 1 نشان داده شده است. ارائه گرافیکی رابطه مدل و تعیین شرایط عملیاتی بهینه به وسیله نمودار رویه پاسخ و کنترل انجام پذیرفت و شرایط عملیاتی بهینه برای استخراج اینولین از کاسنی با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی² جستجو شد. در تکنیک مذکور فضای پاسخ با استفاده از مدل‌های ایجاد شده و

¹ Response Surface Methodology

² Numerical optimization

³ Fine tuning

جدول 1- نمایش متغیرهای مستقل فرایند بهینه‌سازی و مقادیر آنها

متغیرهای مستقل			نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه
-1	0	+1		
50	65	80	X1	دما (درجه سانتی‌گراد)
20	40	60	X2	زمان (دقیقه)
5	8/5	12	X3	آب به ریشه کاسنی (حجمی/وزنی)

جدول 2- خصوصیات کیفی کاسنی

ماده خشک (درصد)	پروتئین (گرم/100گرم)	چربی (گرم/100گرم)	خاکستر (گرم/100گرم)
30±1/24	5/2±0/1	1/2±0/2	3/8±0/12

انحراف معیار میانگین (سه تکرار)±

جدول 3- نتایج جدول تجزیه واریانس

منبع	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات	عملکرد اینولین	میانگین مربعات صفات	عملکرد اینولین
بلوک	2	درصد اینولین	29/53**	عملکرد ریشه (وزن تر)	228972/6**
ارقام	22	درصد اینولین	129/56**	عملکرد ریشه (وزن تر)	5369338/5**
خطا	44	درصد اینولین	5/204	عملکرد ریشه (وزن تر)	15209/9
cv %		درصد اینولین	31/8	عملکرد ریشه (وزن تر)	11/4

*, ** اختلاف معنی‌دار در سطح 5٪ و 1٪ را نشان می‌دهد.

مترمربع و سایر ارقام کاسنی از عملکرد ریشه ناچیزی برخوردار بودند (Shoorideh et al., 2013). مقایسه میانگین عملکرد اینولین ارقام مورد مطالعه نشان داد که بیشترین مقدار اینولین در واحد سطح از ارقام خارجی کاسنی ریشه‌ای به‌دست می‌آید. عملکرد اینولین توده‌های بومی ایران با توجه به درصد کم اینولین آنها و عملکرد ضعیف ریشه آنها حداقل می‌باشد. لذا با توجه به عملکرد بالای ریشه رقم /ارکیس نسبت به سایر ارقام و با توجه به این که رقم شپنز از ارقام کاسنی سالادی است که نسبت به ارقامی خارجی (تجاری) عملکرد ریشه پایین‌تری دارد، گیاه کاسنی ریشه‌ای رقم /ارکیس برای انجام آزمایشات بعدی انتخاب شد.

با آزمون مقایسه میانگین‌ها برای صفات اندازه-گیری شده (جدول 4) مشخص شد که درصد اینولین در رقم شپنز از گروه کاسنی‌های ویتلوف به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر ارقام معادل 26/5 درصد وزن تر ریشه است. ارقام خارجی کاسنی که منبع اصلی استخراج اینولین هستند درصد اینولین متوسط حدود 14 درصد را دارا هستند. نتایج نشان داد که ارقام ویتلوف از گروه کاسنی‌های سالادی درصد اینولین بالایی در حدود 10 درصد دارا هستند و درصد اینولین سایر ارقام خصوصاً گونه‌های آندیو و پومیوم حداقل می‌باشد. در مجموع توده‌های بومی ایران از درصد اینولین کمتری در حدود 5 درصد برخوردار بودند. عملکرد ریشه رقم /ارکیس (معادل 4453 گرم در مترمربع) از گروه ارقام خارجی (تجاری) نسبت به سایر ارقام بیشتر بود. در مجموع به‌طور متوسط عملکرد 3000 گرمی در مترمربع ریشه‌تر را در این گروه می‌توان انتظار داشت. گروه کاسنی‌های ویتلوف به‌طور متوسط از عملکرد ریشه 2000 گرم در

جدول 4- آزمون مقایسه میانگین‌ها برای صفات اندازه‌گیری شده

میانگین صفات		درصد اینولین	رقم	منبع
عملکرد اینولین (گرم / مترمربع)	عملکرد ریشه (وزن تر) (گرم / مترمربع)			
1/446 ^e	106/88 ^k	1/30 ^{gh}	Tres fine maraichere	آندیوفری
424/25 ^c	2968/88 ^d	14/29 ^b	Hera	
419/32 ^c	3562/66 ^b	11/77 ^{bc}	Tilda	ارقام خارجی
241/59 ^d	1855/54 ^f	13/02 ^b	Melci	کاسنی ریشه‌ای
606/50 ^b	4453/33 ^a	13/49 ^b	Orchies	
0/938 ^e	267/20 ^{jk}	0/34 ^h	Hungarian population	
219/09 ^d	1603/20 ^g	13/64 ^b	Yellowstar	ارقام کاسنی سالادی
208/87 ^d	2493/86 ^e	8/33 ^{cd}	Belgian endive	گروه ویتلوف
876/10 ^a	3340/00 ^c	26/52 ^a	Schepens	
52/72 ^e	356/26 ^{ij}	14/80 ^b	Novipia	
0/74 ^e	160/32 ^{jk}	0/45 ^h	Pumilum A	
0/27 ^e	222/66 ^{jk}	0/12 ^h	Khorassan 1	کاسنی پاکوتاه یکساله بومی پومیلوم
1/94 ^e	200/40 ^{jk}	0/94 ^{gh}	Khorassan 2	
15/84 ^e	587/84 ^h	2/63 ^{fgh}	Kazeron 2	
10/80 ^e	346/38 ^{ijk}	3/03 ^{fgh}	Khorrām abad	
14/09 ^e	235/05 ^{jk}	5/76 ^{def}	Isfahan	
10/24 ^e	195/94 ^{jk}	5/11 ^{defg}	Semnan	توده‌های بومی
18/34 ^e	534/40 ^{hi}	3/30 ^{fgh}	Kazeron 1	
25/05 ^e	279/92 ^{jk}	5/72 ^{def}	Ramin	
19/84 ^e	385/94 ^{hij}	5 ^{defg}	Bushehr	
24/57 ^e	326/58 ^{ijk}	7/36 ^{de}	Frizi, Chenaran	
3/11 ^e	163/28 ^{jk}	1/84 ^{fgh}	Zanjan	
7/12 ^e	247/40 ^{jk}	2/79 ^{fgh}	Ardestan	

حروف غیر مشترک در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن است ($P < 0/05$).

نتایج بهینه‌سازی استخراج

تنظیمات اعمال شده برای فرایند بهینه‌سازی در جدول 5 ارائه شده است. تعداد کل آزمایشات با دو تکرار برابر 40 بوده و شش تکرار نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده شد. متغیر وابسته (پاسخ) درصد بازده استخراج اینولین بود.

نتایج تجزیه واریانس بهینه‌سازی استخراج

ضریب تعیین (R^2) به‌عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می‌شود که معیاری از درجه تناسب برازش می‌باشد. بنابراین هرچه R^2 به یک نزدیک‌تر باشد قدرت برازش‌یافته در توصیف تغییرات پاسخ به‌عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد. برای یک مدل با برازش خوب مقدار R^2 بایستی حداقل 0/8 باشد (Bekers *et al.*, 2007). لازم به ذکر است که ضریب تعیین مدل به دست آمده در این پژوهش 0/94 بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد آزمون عدم برازش برای صفات مورد اندازه‌گیری معنی‌دار نبود که نمایانگر این است که تمام مدل‌ها به خوبی روند داده‌ها را نشان می‌دهند. همان‌طور که در جدول 6 مشاهده می‌شود جمله‌های مدل که معنی‌دار بوده‌اند شامل جملات خطی دما (در سطح 99 درصد)، نسبت حلال به ماده جامد (در سطح 99 درصد)، زمان (در سطح 95 درصد) و جملات درجه‌دوم دما (در سطح 95 درصد) بودند. جملات مربوط به اثرات درجه‌دوم باعث ایجاد حالت انحنا در شکل مدل می‌شوند. از میان آثار متقابل فاکتورهای مورد بررسی تنها اثر متقابل بین دو فاکتور دما و نسبت حلال به ماده جامد (در سطح 95 درصد) برای بازده از نظر آماری معنی‌دار بود که نشان‌دهنده رابطه خطی توأم بین دو فاکتور مورد بررسی بر میزان بازده بود. مقدار بالا R^2 (0/94) و R^2 تصحیح شده (0/88) نیز بیانگر قدرت بالای مدل درجه‌دوم در پیش‌بینی بود.

تأثیر متغیرهای مستقل بر پاسخ

در شکل 1- الف، اثر هم‌زمان نسبت آب به ماده جامد و دما در مدت زمان ثابت 40 درجه سانتی‌گراد بر راندمان استخراج نشان داده شده است. بر این اساس با افزایش دما تا یک میزان مشخص راندمان استخراج افزایش و پس از آن کاهش یافت. با توجه به معنی‌داری اثرات خطی و درجه‌دوم دما می‌توان وجود انحنا در شکل رویه و کنتور را انتظار داشت. افزایش راندمان با افزایش دما احتمالاً به دلیل بهبود انتقال جرم در نتیجه افزایش حلالیت فروکتان‌ها و کاهش ویسکوزیته حلال است و روند کاهشی راندمان در دماهای بالا در اثر افزایش دپلمیریزاسیون فروکتان‌ها به قندهای آزاد می‌باشد. بعلاوه افزایش دمای استخراج می‌تواند سبب افزایش استخراج ناخالصی‌ها و مواد زائد گردد. این پدیده در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش شده است (میلانی و همکاران 1389، Tungland & Meyer 2002، Li *et al.*, 2007، Pourfarzad و همکاران 2014) نیز در پژوهش خود نسبت حلال به غده سریش و دما را مؤثرترین فاکتورها در بازده استخراج معرفی نمودند. Lingyun و همکاران (2007) نیز در پژوهش خود نسبت حلال به کنگرفرنگی و دما را مؤثرترین فاکتورها در بازده استخراج معرفی نمودند.

در شکل 1- ب، اثر هم‌زمان نسبت آب به ماده جامد و زمان در دمای ثابت 65 درجه سانتی‌گراد بر راندمان استخراج نشان داده شده است. با توجه به شکل تأثیر نسبت آب به ماده جامد در افزایش راندمان نسبت به زمان بیشتر بود و با افزایش زمان راندمان به صورت خطی در محدوده محور xها افزایش یافت. افزایش راندمان با افزایش نسبت آب به ماده جامد و زمان احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش حلالیت و زمان در دسترس بودن حلال با ماده جامد و نفوذ بیشتر آب و پدیده اسمز باشد که باعث افزایش قابلیت حل‌شدن فروکتان‌ها و در نتیجه خروج بیشتر آنها می‌شود. نتایج مشابهی توسط فرزانه مهر و همکاران (1389) نشان داد که در میان اثرات خطی نسبت حلال به ماده جامد و پس از آن زمان استخراج بیشترین تأثیر معنی‌دار را بر میزان استخراج اینولین

¹ Adjusted

جدول 5- تأثیر تیمارهای مربوط به استخراج آبی بر راندمان استخراج کاسنی

تیمار	زمان (دقیقه)	دما (درجه سانتی‌گراد)	آب به ماده جامد	راندمان (درصد)	تیمار	زمان (دقیقه)	دما (درجه سانتی‌گراد)	آب به ماده جامد	راندمان (درصد)
1	20	50	5	5/87	11	40	65	8/5	19/9
2	20	50	12	15/87	12	40	65	8/5	20/11
3	20	65	8/5	19/32	13	40	65	8/5	21/23
4	20	80	5	19/34	14	40	65	12	26/31
5	20	80	12	23/41	15	40	80	8/5	24/85
6	40	50	8/5	14/95	16	60	50	5	11/77
7	40	65	5	15/78	17	60	50	12	18/82
8	40	65	8/5	22/37	18	60	65	8/5	24/15
9	40	65	8/5	23/56	19	60	80	5	19/86
10	40	65	8/5	22/12	20	60	80	12	21/74

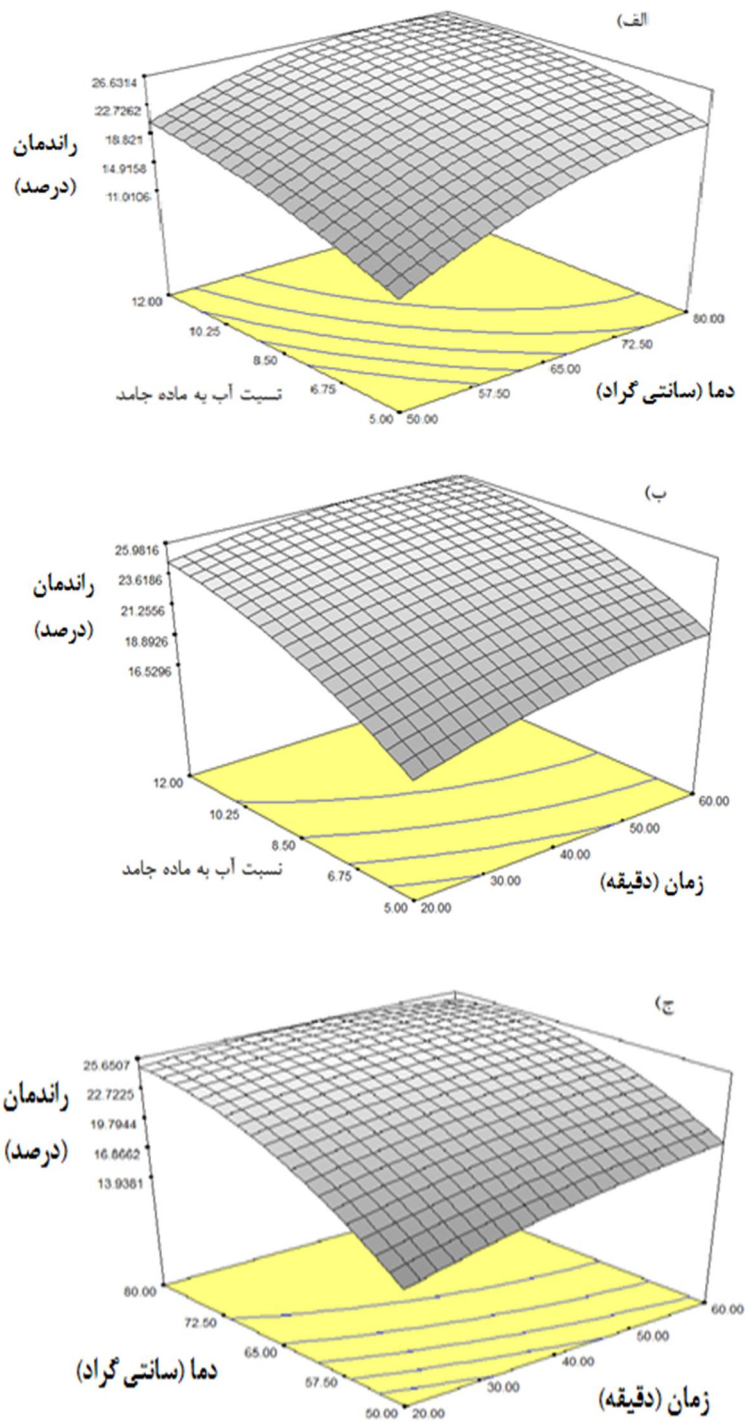
جدول 6- نتایج جدول تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ درجه دوم برای فرایند بهینه‌سازی

منبع	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار P
مدل	9	46/57	<0/0001
A زمان	1	15/70	0/0357
B دما	1	175/73	<0/0001
C نسبت آب به ماده جامد	1	112/43	<0/0001
AB	1	12/50	0/0557
AC	1	3/30	0/2920
BC	1	15/40	0/0372
A2	1	1/43	0/4805
B2	1	17/98	0/0267
C2	1	5/48	0/1823

از کنگرفرنگی داشتند به طوری که با افزایش آنها میزان استخراج به طور خطی افزایش یافت. براساس نتایج میلانی و همکاران (1389) نسبت حلال به ماده جامد، دما و زمان به ترتیب مؤثرترین فاکتورها بر استخراج اینولین از سیب‌زمینی ترشی بودند.

در شکل 1- ج، اثر هم‌زمان دما و زمان در نسبت آب به ماده جامد ثابت 8/5 بر راندمان استخراج نشان داده شده است. بر این اساس با افزایش دما تا یک میزان مشخص راندمان استخراج افزایش و پس از آن کاهش یافت. با توجه به معنی‌داری اثرات خطی و درجه دوم دما می‌توان وجود انحناء در شکل رویه و

کنترل را انتظار داشت. با افزایش زمان، راندمان به صورت خطی در محدوده محور xها افزایش یافت. در میان اثرات متقابل تنها اثر معنی‌دار (در سطح 95 درصد)، مربوط به ترکیب نسبت آب به ماده جامد و دما بود. اثر متقابل بین دو فاکتور زمان و دما، زمان و نسبت آب به ماده جامد از نظر آماری معنی‌دار نبود که نشان‌دهنده عدم وجود رابطه خطی توأم بین فاکتورهای مورد بررسی بر میزان راندمان می‌باشد. بر اساس نتایج Millani و همکاران (2011) اثرات دما و زمان بر استخراج اینولین از گیاه شنگ معنی‌دار بود.



شکل 1- نمایش نمودار سه‌بعدی اثر هم‌زمان دو متغیر نسبت آب به ماده جامد و دما (الف)، نسبت آب به ماده جامد و زمان (ب)، دما و زمان (ج) بر راندمان استخراج.

تکنیک بهینه‌سازی عددی جستجو شد. بدین منظور در ابتدا اهداف بهینه‌سازی را مشخص کرده و سپس سطوح پاسخ و متغیرهای مستقل را تنظیم کرده و با استفاده از تکنیک فاین تیونینگ بهترین جواب‌ها به

تعیین شرایط بهینه استخراج

تعیین شرایط عملیاتی بهینه به وسیله نمودار رویه پاسخ و کنترل انجام پذیرفت و شرایط عملیاتی بهینه برای استخراج پلی‌فروکتان از کاسنی با استفاده از

به اینکه کلیه عملیات زراعی کاسنی ریشه‌ای (رقم /رکیس) و چغندر قند مشابه می‌باشد و حتی فرایند فراوری آنها مشابه (با کمی تغییرات جزئی) می‌باشد، به نظر می‌رسد تولید صنعتی این گیاه همراه با بهینه‌سازی روش‌های استخراج با بهره‌گیری از ظرفیت‌های خالی برخی از کارخانجات تولید شکر بتواند زمینه مناسبی برای سودآوری و دستیابی به یک محصول نوین پرکاربرد در صنایع غذایی با ویژگی سلامت‌افزا را فراهم سازد. در این تحقیق مشخص شد متدولوژی رویه سطح پاسخ در بهینه‌سازی فرایند استخراج فروکتان‌ها از کاسنی مؤثر بوده و بر اساس نتایج حاصل از بهینه‌سازی، در میان فاکتورهای مورد بررسی، نسبت آب به ماده جامد و دما مؤثرترین فاکتورها بر راندمان استخراج اینولین هستند و اثر زمان نسبت به دو فاکتور دیگر کمتر بود. نتایج فرایند بهینه‌سازی نشان داد شرایط بهینه استخراج آبی فروکتان‌ها با راندمان 24/63 درصد (بر اساس وزن تر) شامل دمای 73/73 درجه سانتی‌گراد، زمان 39/18 دقیقه و نسبت آب به ماده جامد 12:1 وزنی/حجمی می‌باشد.

دست آمد (Atkinson & Donev, 1992). تنظیمات اعمال شده برای فرایند بهینه‌سازی شامل بیشترین راندمان و سایر متغیرها در دامنه متغیرهای مورد بررسی بود. ارائه گرافیکی رابطه مدل و تعیین شرایط عملیاتی بهینه به وسیله نمودار رویه پاسخ و کنتور انجام پذیرفت. بر اساس نتایج فرایند بهینه‌سازی، شرایط بهینه استخراج آبی اینولین با راندمان 24/63 درصد (بر اساس وزن تر)، دمای 73/73 درجه سانتی‌گراد، زمان 39/18 دقیقه و نسبت آب به ماده جامد 12:1 وزنی/حجمی تعیین شد.

نتیجه‌گیری

در حال حاضر در ایران جمعیت بومی مناسبی به منظور ایجاد رقم کاسنی ریشه‌ای جهت استخراج اینولین با راندمان قابل قیاس با ارقام اصلاح شده خارجی وجود ندارد و با استفاده از ارقام خارجی بایستی در جهت کشت و بومی‌سازی آن و بهینه‌سازی شرایط استخراج اقدام نمود. البته ضرورت دارد هم-زمان متخصصین اصلاح نباتات در زمینه اصلاح ارقام جدید مخصوصاً با استفاده از منابع ژنتیکی که در کشور وجود دارد تحقیقات لازم را انجام دهند. با توجه

منابع

- 1- بالندری، الف.، و رضوانی‌مقدم، پ. 1390. اثر تاریخ کاشت و تراکم بر مراحل نمو و وزن خشک اندام‌های هوایی کاسنی پاکوتاه (*Cichorium pumilum Jacq*). پژوهش‌های زراعی ایران، 9 (3): 438-446.
- 2- حسینی‌نژاد، م.، نهاردانی، م.، و الهامی‌راد، الف. 1391. ارزیابی و مقایسه کیفی اینولین استخراجی از کاسنی بومی ایران با اینولین حاصل از سایر منابع. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، 1 (1): 37-44.
- 3- فرزانه‌مهر، ح.، و عباسی، س. 1388. بهینه‌سازی استخراج اینولین از کنگر فرنگی با و بدون اعمال فراصوت به کمک روش سطح پاسخ. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، 13 (47): 423-435.
- 4- میلانی، الف.، و پورآذرنگ، ه. 1389. بهینه‌سازی استخراج اینولین از غده سیب‌زمینی ترشی به کمک روش سطح پاسخ. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، 6 (3): 176-183.
- 5- میلانی، الف.، گلی‌موحد، غ.، و حسینی، ف. 1390. کارایی روش سطح پاسخ در بهینه‌سازی شرایط استخراج اینولین از گیاه شنگ. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی، 21 (1): 35-41.
- 6- نهاردانی، م.، حسینی‌نژاد، م.، و الهامی‌راد، الف. 1391. ارزیابی اثرات پری‌بیوتیکی و ویژگی‌های کیفی اینولین استخراج‌شده از کاسنی غیربومی ایران. مجله علمی-پژوهشی علوم و فناوری غذایی، 4 (14): 87-96.
- 7- AOAC, 2000. Official methods of analysis of AOAC International, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

- 8- Atkinson, A.C., & Donev, A.N. 1992. Optimum experimental design. Oxford University Press, 5: 132-189.
- 9- Bekers, M., Grube, M., Upite, D., Kaminska, E., & Linde, R. 2007. Carbohydrates in Jerusalem artichoke powder suspension. *Nutrition & Food Science*, 37: 42-49.
- 10- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., & Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- 11- Franck, A. 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87: 287-291.
- 12- Gibson, G.R., Beatty, E., Wang, X., & Cummings, J.H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108: 975-982.
- 13- Li, J., Ding, S., & Ding, X. 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. Jinsixiaozao. *Journal of Food Engineering*, 80: 176-183.
- 14- Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Zh., & Yalin F. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering*, 79: 1087-1093.
- 15- Meyer, D., Vermulst, J., Tromp, R.H., & Hoog, E.H.A. 2011. The effect of inulin on tribology and sensory profiles of skimmed milk. *Journal of Texture Studies*, 42: 387-393.
- 16- Milani, E., Koocheki, A., & Golimovahhed, Q.A. 2011. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. *International Journal of Food Science & Technology*, 46: 1699-1704.
- 17- Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31: 426-428.
- 18- 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.
- 19- 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.
- 20- Pourfarzad, A., Habibi Najafi, M.B., Haddad Khodaparast, M.H., & Hassanzadeh Khayyat, M. 2014. Characterization of fructan extracted from *Eremurus spectabilis* tubers: a comparative study on different technical conditions. *Journal of Food Science & Technology*, 33: 10-20.
- 21- Roberfroid, M.B. 2002. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87: 139-144.
- 22- Roberfroid, M.B. 2007. Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, 137: 2493-2502.
- 23- Shoorideh H., Balandari A., Peyghambari S.A., Omid M., & Naghavi, M.R. 2013. Investigation on morphology and root yield of chicory (*C. intybus*) landraces for inulin production. 2nd National Congress Of medicinal Plants. 15-16 May.
- 24- Tunland, B., & Meyer, D. 2002. Non digestible and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. *Food Science and Food Safety*, 1: 73-77.

Comparison of fructan yield of foreign cultivars and indigenous landrace of chicory and optimizing its extraction by response surface method (RSM)

Pegah Darjani^{1*}, Marzieh Hosseini Nezhad², Hadi Shorideh³, Mohammad Abdollahian-Noghabi⁴, Rassoul Kadkhodae⁵, Ahmad Balandari², Elnaz Milani⁶

1- PhD. Student, Department of Food Processing, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

*Corresponding author (pegahdargany@yahoo.com)

2- Assistant Professor, Department of Food Biotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

3- PhD. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agricultural Sciences and Engineering, University of Tehran, Iran

4- Associate Professor, Department of Sugar Technology, Sugar Beet Seed Institute, Karaj, Iran

5- Associated Professor, Department of Food Nanotechnology, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

6- Assistant Professor, Department of Food Processing, Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Mashhad, Iran

Abstract

Chicory plant is known as one of the main sources of industrial and commercial production of inulin. Inulin composition and its functional features depend on various parameters, including genetic characteristics and plant origin, growth environmental conditions and harvesting time, and also extraction method as well as the post extraction methods. The aim of this study was to evaluate native and exotic cultivars of chicory in terms of inulin production efficiency. The Results showed that the efficiency of inulin in indigenous landrace was relatively low while foreign cultivars revealed higher inulin content. By considering the significant difference between root weight and inulin content, foreign genotype (*Orchies*) was chosen to achieve optimal conditions for extracting inulin-type fructans. Response Surface Methodology and Central Composite Design were employed to investigate the effect of independent variables of time (20 to 60 min), temperature (50 to 80° C) and water to solids ratio (5:1-12:1) on the extraction efficiency. The Results demonstrated that the most effective factors in the efficiency of inulin extraction were temperature and the ratio of water to solids, while, the time had less effect on the extraction process.

Keywords: Chicory, Extraction, Inulin, Response Surface Methodology.