



بهینه‌سازی فرآیند استخراج ترکیبات موثره گیاه رازک (*Humulus lupulus*) با کمک فراصوت

مهدی کامران^۱، احمد پدرام‌نیا^۲، پروین شرایعی^۳، امیرحسین الهامی‌راد^۴، محمدرضا سعیدی اصل^۲

۱- دانشجوی دکترای گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱

کلمات کلیدی:

رازک،

فراصوت،

ترکیبات زیست فعال،

آلفا و بتا اسیدها.

پژوهش حاضر با هدف استفاده بهینه از گیاه دارویی رازک به عنوان عامل طعم دهنده (طعم تلخ) نوشیدنی ماء‌الشعیر و استخراج بهینه ترکیبات زیست فعال آن انجام پذیرفت. به منظور بهینه‌سازی راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنلی، میزان ترکیبات ایجاد کننده طعم تلخ (آلفا و بتا اسیدها) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی آهن) با کمک فرآیند صوت‌دهی از طرح باکس‌بنکن استفاده شد. زمان صوت‌دهی (۵، ۱۵ و ۲۵ دقیقه)، دمای استخراج (۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سلسیوس) و شدت‌های مختلف صوت‌دهی (۲۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد) به عنوان متغیرهای استخراج ترکیبات زیست فعال در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که با افزایش زمان و شدت صوت‌دهی راندمان استخراج، میزان ترکیبات زیست فعال و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره افزایش یافت؛ در حالیکه با افزایش دما میزان استخراج و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها کاهش یافت. بر اساس مدل‌های حاصل، در شرایط بهینه استخراج با کمک فرآیند فراصوت (زمان استخراج ۱۲/۷۳ دقیقه، دمای استخراج ۲۵ درجه سلسیوس و شدت صوت‌دهی ۱۰۰ درصد) راندمان استخراج (۱۶/۵ درصد)، میزان ترکیبات فنلی (۱۱۹۱/۷۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم)، میزان ترکیبات ایجاد کننده طعم تلخ (آلفا و بتا اسیدها به ترتیب ۱/۰۱ و ۳/۰۹ میلی‌گرم بر لیتر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر اساس گیرندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاء کنندگی آهن به ترتیب ۴۰/۷۰ درصد و ۴۰۹/۸۷ میکرومول بر لیتر) بالاتری نسبت به روش استخراج مرسوم (ماسراسیون، شاهد) بدست آمد. استخراج در نقطه بهینه نتایج بدست آمده را تایید نمود.

DOI: 10.22034/FSCT.20.141.75
DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.141.6.4

* مسئول مکاتبات:

ahmadpedram@yahoo.com

۱- مقدمه

امروزه در تهیه بیشتر محصولات غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی از افزودنی‌های شیمیایی متعددی استفاده می‌شود. اهمیت این افزودنی‌ها به‌حدی است که بدون بهره‌گیری از آنها تولید و مصرف بسیاری از اقلام و فرآورده‌های غذایی تقریباً غیرممکن می‌شود. یکی از مهم‌ترین افزودنی‌های غذایی، ترکیبات مولد طعم می‌باشند که نقش مهمی در ایجاد طعم و مزه و پذیرش کلی مصرف‌کنندگان دارند. از سوی دیگر نگرانی‌های ناشی از مصرف ترکیبات سنتزی به لحاظ مسائل مربوط به سلامت و ایمنی و نیز محدودیت در حدود مجاز مصرف، مصرف‌کنندگان مواد غذایی را به استفاده از فرآورده‌های طبیعی در مواد غذایی ترغیب نموده است [۱]. یکی از منابع با ارزش برای تولید طعم طبیعی، ترکیبات موثر عصاره‌های گیاهان دارویی هستند. رازک گیاهی دارویی از راسته گل سرخ^۸ و تیره شاهد/نگان^۸ و جنس هومولوس^۸ است. بیش از ۹۵ درصد از رازک تولید شده در جهان (۱۴۸۶۰۳ تن با سطح زیر کشت ۹۱۸۸۱ هکتار [۲]) در صنایع نوشابه‌سازی به خصوص تولید آبجو (ماء‌الشعیر) به عنوان طعم دهنده کاربرد دارد. این گیاه در ایران به صورت خودرو در نواحی شمال ایران (گرگان، چالوس، تنکابن، رشت، لاهیجان و آستارا) می‌روید که پاسخگوی نیاز صنعت تولید ماء‌الشعیر نبوده و برای تامین آن، کشور وابسته به واردات است. بر اساس آمار گمرک در سال ۱۳۹۹، ۲۲۸۳۵ کیلوگرم عصاره و شیره رازک (به صورت پلت و حبه) به ارزش حدود ۲۴ میلیارد ریال از کشورهای آلمان، روسیه و سوئیس وارد کشور شده است [۳]. با توجه به برنامه توسعه کشور در مورد افزایش مصرف سرانه ماء‌الشعیر (از ۵ لیتر به ۱۰ لیتر و به عنوان جایگزین نوشابه‌های گازدار) و رشد این صنعت و امکان

صادرات محصولات به بازارهای خارجی (ترکیه، عراق، افغانستان، ارمنستان، آذربایجان، ترکمنستان، کویت)، استخراج بهینه عصاره این گیاه دارویی ضروری به نظر می‌رسد.

گیاه رازک حاوی ترکیبات زیست فعال مختلفی همانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و رزینی (رزین‌های نرم و سخت) می‌باشد. در میان مواد مذکور ترکیبات رزینی مهم‌ترین ترکیبات موجود را تشکیل می‌دهند. رزین‌های نرم به دو دسته اسیدهای تلخ آلفا و بتا و ترکیبات نامشخص (بیشتر از اجزای بتا اسیدها هستند) تقسیم می‌شوند. آلفااسیدها و مشتقات‌شان شامل ترکیبات هومولون^۸، کومولون^۸ و آدهومولون^۸، آدپری‌هومولون^۸، پری‌هومولون و پست هومولون^۸ می‌باشند. بتااسیدها و مشتقات‌شان علاوه بر کومولون، آدهومولون و آنالوگها دارای لوپولون^۸ نیز هستند [۴]. مقدار این ترکیبات در ارقام مختلف و همچنین در قسمت‌های مختلف گیاه (گل، ساقه و برگ) متفاوت است و تحت تاثیر شرایط آب و هوایی، شرایط کشت، نوع رقم و همچنین شرایط پس از برداشت (انبارداری و خشک کردن) قرار دارند [۵]. اغلب گل‌های ماده گیاه (مخروط-های ماده) بدلیل دارا بودن مقادیر متنابهی ترکیبات ایجاد طعم تلخ برای تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفته و قسمت‌های هوایی (ساقه و برگ) به عنوان محصولات جانبی محسوب می‌شوند؛ در حالیکه این اندام‌ها نیز دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات زیست فعال بوده که با انتخاب روش مناسب قابل استحصال هستند [۶].

مطالعات کیفی و کمی در مورد ترکیبات فنلی و زیست فعال به میزان زیادی وابسته به روش استخراج مناسب می‌باشد. از این‌رو، تلاش‌های زیادی جهت یافتن فناوری‌های

8-humulone
8-cohumulone
8-dhumulone
8-Adprehumulone
8-Prehumulone
8-Posthumulone

8-Rosales
8-Cannabaceae
8-Humulus

آب، اتانول و دی‌اکسیدکربن افزایش یافته است. اتانول، به عنوان یک حلال قطبی برای استخراج طیف وسیعی از ترکیبات زیست‌فعال مناسب است. آلمیدا و همکاران (۲۰۲۰)، با استفاده از طرح مرکب چرخشی شرایط استخراج ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی را از گل‌های رازک برزیلی بهینه‌سازی نمودند. بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون، نسبت مایع به جامد بیشترین تاثیر را بر استخراج ترکیبات فنلی داشت در حالی‌که دما و غلظت اتانول اثرات کمتری داشتند. تحت شرایط بهینه استخراج (حلال اتانول ۴۹ درصد با دمای ۵۲ درجه سلسیوس و نسبت مایع به جامد ۳۴ میلی لیتر بر گرم) میزان استخراج ترکیبات فنلی کل، ۳۳/۹۳ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم حاصل شد. هم‌چنین نتایج نشان داد که رازک برزیلی میزان بیشتری ترکیبات فنلی با قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر نسبت به رازک آمریکایی دارد [۱۶].

کارایی استخراج و ویژگی‌های عصاره‌های تهیه شده با کمک فرآیند صوت‌دهی به روش تهیه نمونه (اندازه ذره و شرایط نگهداری) و عوامل استخراج (دما، زمان و شدت صوت‌دهی) وابسته است. بنابراین، بهینه‌سازی با هدف بالابردن قابلیت اجرایی و بازده استخراج بدون افزایش هزینه‌ها بسیار حائز اهمیت است. روش سطح پاسخ ۸، مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و آماری است که جهت توسعه و بهینه کردن فرآیندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد و در تحقیقات متعددی برای بهینه‌سازی فرآیند استخراج ترکیبات زیست‌فعال از منابع مختلف استفاده شده است. اما برای دستیابی به بهترین شرایط عملیاتی با کمک فرآیند فراصوت برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال از اندام‌های هوایی گیاه رازک نیاز به مطالعه بیشتر و توسعه مدل‌های مناسب‌تر می‌باشد.

جدید و بدون ایجاد آلودگی زیست محیطی صورت گرفته است. فراصوت، آب مادون بحرانی، کربن‌دی‌اکسیدفوق بحرانی، فشار هیدرواستاتیک بالا و میدان‌های الکتریکی پالسی قوی از جدیدترین روش‌های استخراج می‌باشند که امروزه بسته به نوع ماده اولیه و ترکیبات موجود در آن به عنوان عملیات پیش‌فرآوری مورد استفاده قرار می‌گیرند [۷]. از بین روش‌های جدید ذکر شده، استخراج به کمک فراصوت روشی بسیار ساده و کارآمد بوده که سبب بهبود کیفیت عصاره استخراجی نیز می‌شود و در چند سال اخیر مورد توجه بیشتر صنعت غذا قرار گرفته است [۱۱، ۱۲، ۱۰، ۸، ۹].

کارایی استخراج ترکیبات زیست‌فعال با نوع و قطبیت حلال، نسبت ماده به حلال، زمان، درجه حرارت، و تعداد دفعات استخراج متغیر است. حلال‌های اتانول، متانول، متیلن کلراید، اتیل‌استات، استن، هگزان و مخلوط آنها با آب برای استخراج جامد-مایع ترکیبات فعال از گیاه رازک مورد استفاده قرار گرفته است [۱۳]. بارتمانسکا و همکاران (۲۰۱۸)، از حلال‌های اتیلن کلراید، استن، اتیل‌استات و متانول برای بازیابی فلاونوئیدها از قسمت‌های مصرفی گیاه رازک استفاده و گزارش نمودند کارایی استخراج ترکیبات موثره با متانول از بقیه حلالها بیشتر بوده است [۱۴]. موزیکویچ و همکاران (۲۰۱۹)، با حلال‌های مختلف متیل، اتیل و ایزوپروپیل الکل و با کمک فرآیند صوت-دهی، ترکیبات فنلی را از برگ‌های تازه برداشت شده گیاه رازک استخراج نمودند. شرایط آزمون شامل زمان‌های مختلف استخراج (۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) و رقت‌های مختلف حلال (۴۰، ۷۰ و خالص) با قدرت ثابت صوت-دهی (۴۰ کیلوهرتز) در دمای اتاق بود. نتایج نشان داد که حلال متانول بدون رقیق‌سازی بهترین حلال برای استخراج ترکیبات فنلی با کمک فرآیند صوت‌دهی است [۱۵]. اما با توجه به مخاطره انداختن سلامتی انسان توسط باقیمانده حلال در فرآورده نهایی، استفاده از حلال‌های ایمن مانند

شد. سپس محلول تحت خلاء صاف گردید و عملیات استخراج بر روی مواد باقیمانده روی صافی به مدت ۲۴ ساعت دیگر ادامه یافت. محلول‌های صاف شده حاصل از مرحله اول و دوم استخراج با هم مخلوط و با تبخیر کننده دوار تحت خلاء (مدل Laborota 4000 efficient، ساخت کشور آلمان) تحت دمای ۴۵ درجه سلسیوس تا حد آگیری کامل تغلیظ گردید.

۲-۳- استخراج عصاره با کمک فرآیند صوت‌دهی

استخراج ترکیبات موثر با استفاده از حلال اتانول ۸۰ درصد و با کمک فرآیند صوت‌دهی انجام شد. بدین منظور، ابتدا گیاه رازک به نسبت ۱ به ۱۰ وزنی حجمی با حلال مخلوط و در زمان (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه)، دما (۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سلسیوس) و شدت‌های مختلف (۲۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد) صوت‌دهی گردید. شرایط هر آزمون شامل دما، زمان و شدت صوت‌دهی بر اساس سطوح متغیرهای پیش‌بینی شده در طرح باکس بنکن مطابق جدول ۱ در نظر گرفته شد. برای اعمال امواج فراصوت از دستگاه اولتراسونیک ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوپی ۴۰۰ اس^۸ با قدرت ۴۰۰ وات و پروب از نوع H7 از جنس تیتانیوم با قطر ۷ میلی‌متر و طول ۱۰۰ میلی‌متر، استفاده گردید. سپس عملیات استخراج عصاره با هم زدن شدید به مدت ۴۸ ساعت در محیط تاریک ادامه یافت. محلول تحت خلاء صاف گردید و با تبخیر کننده دوار تحت خلاء (مدل Laborota 4000 efficient، ساخت کشور آلمان) تحت دمای ۴۵ درجه سلسیوس تا حد آگیری کامل تغلیظ گردید.

بنابراین با توجه به اهمیت استفاده بهینه از گیاهان دارویی، بومی‌سازی و کاربردی کردن عصاره‌های ارزشمند حاصل از آنها و جلوگیری از خروج ارز و همچنین عدم انجام تحقیق مدون در این خصوص، پژوهش حاضر با هدف بهینه‌سازی استخراج ترکیبات زیست‌فعال از گیاه رازک با کمک فرآیند صوت‌دهی تحت تاثیر دما، زمان و شدت صوت‌دهی انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

گیاه دارویی رازک (شامل اندام‌های هوای ساقه و برگ و بدون گل‌های مخروطی) از بازار محلی در مشهد تهیه شد. سپس توسط آسیاب آزمایشگاهی (IKA، مدل A11 basic Analytical mill ساخت آلمان) پودر و اندازه ذرات آن با استفاده از الک با مش ۵۰ میکرومتر تنظیم و تا زمان انجام آزمون‌ها در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار بسته‌بندی و در شرایط سرد، خشک و دور از نور نگهداری شد. سایر مواد مورد استفاده در این پژوهش شامل اتانول ۹۶ درصد، معرف فولین‌سیوکالچو، ^۸TPTZ، ^۸DPPH، اسیدگالیک، متانول، کربنات سدیم، سولفات آهن ۲ ظرفیتی، کلرید آهن هفت آبه، استات سدیم سه آبه، پتاسیم کلراید، اسیدکلریدریک غلیظ و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت‌های مرک، سیگما-آلدريج، شارلو و کالدون با درجه تجزیه‌ای^۸ خریداری شدند.

۲-۲- استخراج به روش غوطه‌وری (ماسراسیون)

بدین منظور مخلوط پودر گیاه و حلال آبی-الکلی (۸۰ درصد اتانول- ۲۰ درصد آب، نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی/حجمی) ماده خشک به حلال) به مدت ۲۴ ساعت در مکانی تاریک و در دمای اتاق با همزن مغناطیسی (مدل RCT Basic, IKA، ساخت کشور آلمان) همزده

8- 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-s-triazine
8- 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
8 -Analytical grade

Table 1- Box-Behnken design of three variable in the extraction of bioactive compounds by assisting ultrasound

Run	Ultrasonic exposure time (min, X ₁)	Ultrasonic Extraction temperature (°C, X ₂)	Ultrasonic Amplitude (%, X ₃)
1	15	25	60
2	10	25	100
3	15	45	60
4	5	35	20
5	10	25	20
6	10	35	60
7	10	35	60
8	10	45	20
9	10	45	100
10	15	35	100
11	5	35	100
12	5	25	60
13	15	35	20
14	10	35	60
15	5	45	60

۲-۴- راندمان استخراج عصاره

راندمان استخراج با محاسبه وزن عصاره تغلیظ شده بدون حلال (w₂) نسبت به وزن اولیه گیاه (w₁) و با استفاده از رابطه ۱ محاسبه و گزارش شد [۱۷].

$$\text{راندمان استخراج} = Y \frac{w_2}{w_1} \times 100$$

رابطه ۱)

در ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. میزان ترکیبات فنولی کل موجود در نمونه از روی منحنی استاندارد تعیین شد. منحنی استاندارد با ترسیم داده‌های جذب اسید گالیک در طول موج ۷۶۵ نانومتر در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۹۵۰ پی‌پی‌ام بدست آمد. نتایج بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم نمونه خشک با استفاده از معادله برازش داده شده بر منحنی استاندارد گزارش شد [۱۸].

۲-۵- اندازه‌گیری توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

ابتدا محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش دارای یک میلی‌لیتر محلول متانولی نمونه با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد)، یک میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از همزدن به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۲ نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید [۱۹]. درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد طبق رابطه ۲ محاسبه شد.

رابطه ۲)

$$A\% = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

۲-۵- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

محتوای فنل کل عصاره های استخراج شده با معرف فولین سیوکالچو اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل به عنوان معادل اسید گالیک در میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه بیان شد. بدین منظور به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره نمونه (با متانول ۱:۱۰ حجمی / حجمی رقیق شده) ۶ میلی لیتر آب دو بار تقطیر و ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو اضافه گردید، بعد از نگهداری به مدت ۸ دقیقه و ۸ ثانیه در دمای اتاق، ۱/۵ میلی لیتر کربنات سدیم (۲۰ درصد وزنی / حجمی) اضافه شد. عصاره مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در ۴۰ درجه سلسیوس باقی ماند و سپس جذب آن

۲-۸- طرح آزمایش و تحلیل آماری

به منظور بررسی اثرات متغیرها بر استخراج ترکیبات زیست فعال از گیاه رازک با کمک فرآیند صوت‌دهی، از طرح باکس بنکن استفاده گردید. این طرح شامل سه متغیر (زمان صوت‌دهی (X_1)، دمای فرآیند (X_2) و شدت فراصوت (X_3)) در سه سطح و سه تکرار بود. تیمارهای حاصل در جدول ۱ ذکر شده‌اند. از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۸۱۱ برای طراحی آزمایش، تجزیه و تحلیل نتایج، نشان دادن رابطه هر یک از متغیرهای وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل و ترسیم نمودار سطوح آنها و بهینه‌سازی استفاده شد. به منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش داده شده، آزمون ضعیف برازش، ضریب تغییرات، مقادیر ضریب تبیین، ضریب تبیین تعدیل شده و مدل احتمال تعیین شدند. همچنین، بهینه‌سازی با هدف به دست آوردن عصاره با بیشترین مقدار ترکیبات زیست فعال و فعالیت آنتی-اکسیدانی با استفاده از مدل‌های به دست آمده از بررسی رفتار متغیرها بر خصوصیات عصاره‌های استخراج شده (راندمان استخراج عصاره، میزان ترکیبات فنلی کل، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی آهن و میزان آلفا و بتا اسیدها) انجام شد. سپس خصوصیات عصاره‌ها در شرایط بهینه، اندازه‌گیری شد. به منظور تایید صحت مدل‌ها، نتایج پیشگویی شده و تجربی با نمونه شاهد با نرم‌افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد ($p < 0.05$) مقایسه شدند.

که در آن: A% درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_c جذب شاهد و A_s جذب نمونه است.

۲-۶- قدرت احیا کنندگی آهن ($FRAP^{8}$)

ابتدا محلولی شامل ۱۰۰ میلی گرم نمونه در ۲ میلی لیتر متانول تهیه شد و ۳۰ میکرولیتر آن با ۹۰۰ میکرولیتر محلول FRAP و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر در لوله آزمایش مخلوط شد. لوله آزمایش بعد از ورتکس در بن‌ماری قرار گرفت و پس از رسیدن دمای آن به ۳۷ درجه سلسیوس، مقدار جذب در مقابل شاهد و در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. مقدار آهن II با استفاده از معادله برازش داده شده بر منحنی استاندارد (مقدار جذب محلول‌های استاندارد سولفات آهن II با غلظت‌های ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومول در لیتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر) به دست آمد [۲۰].

۲-۷- تعیین میزان آلفا و بتا اسیدها

برای اندازه‌گیری میزان آلفا و بتا اسیدها، ۲۵۰ میلی گرم عصاره با ۵ میلی لیتر متانول به مدت نیم ساعت همزده شد. پس از صاف کردن، ۵۰ میکرولیتر از محلول زیر صافی با سود متانولی ۱ مولار به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. جذب محلول متانولی با اسپکتروفتومتر در سه طول موج ۲۷۵، ۳۲۵ و ۳۵۵ نانومتر در برابر نمونه شاهد قرائت و میزان آلفا و بتا اسیدها و ترکیبات جزئی ایجاد تلخی با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید..

$$A_{355} = 31.8C\alpha + 46.0C\beta + 1.0Cc \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$A_{325} = 38.1C\alpha + 33.1C\beta + 1.5Cc \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$A_{275} = 9.0C\alpha + 3.7C\beta + 3.1Cc \quad \text{رابطه (۵)}$$

که در این روابط A ، $C\alpha$ ، $C\beta$ و Cc به ترتیب میزان جذب، آلفا اسیدها، بتا اسیدها و ترکیبات جزئی تلخ که بر حسب گرم بر لیتر می‌باشند [۲۱].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین مدل مناسب

به منظور تعیین مدل تجربی برای پیش‌بینی پاسخ معادلات چند جمله‌ای شامل خطی، دو فاکتوریلی (تعاملی)، درجه ۲ و درجه ۳ بر داده‌های به‌دست آمده از روش سطح پاسخ برازش شدند. سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند (جدول ۲). لازم به ذکر است که از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برازش^۸ آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده

باشد. از تجزیه و تحلیل واریانس (جدول ۳) و رگرسیون به منظور بررسی همخوانی مدل‌های پیشنهادی و بررسی آماری معنی‌داری متغیرهای مدل استفاده شد. بر اساس شاخص P معنی‌داری مدل‌ها و معادلات مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع، نتایج نشان می‌دهد مدل‌های مورد استفاده می‌توانند برای تخمین شرایط بهینه استخراج عصاره از رازک مورد استفاده قرار گیرند.

Table 2- Model selection for dependent (response) variable

Source	Extraction Yield (%)		TPC (mg/100 g)		DPPH _{sc} (%)		FRAP (μmol/l)		α acids (mg/l)		β acids (mg/l)	
	Sum of squares	Pb> F	Sum of squares	Pb> F	Sum of squares	Pb> F	Sum of squares	Pb> F	Sum of squares	Pb> F	Sum of squares	Pb> F
Mean	3764.85		9916000		17621.36		1806000		228.41		148.00	
Linear	16.77	0.21	133200	0.077	1465.85	0.19	17358.66	0.09	43.45	0.343	11.147	0.19
Polynomial	9.03	0.47	70347.60	0.191	1559.99	0.08	3914.55	0.68	91.31	0.015	17.485	0.00
Quadratic	<u>22.78</u>	<u>0.01</u>	<u>82609.90</u>	<u>0.008</u>	<u>1049.93</u>	<u>0.03</u>	<u>18293.16</u>	<u>0.004</u>	<u>31.67</u>	<u>0.017</u>	<u>4.288</u>	<u>0.00</u>
Cubic	2.93	0.14	10148.05	0.056	170.60	0.39	997.11	0.541	4.49	0.313	0.536	0.034
Residue	0.31		398.60		67.00		680.67		1.28		0.012	
Total	3816.67		1021000		21934.74		1848000		400.60		181.77	

TPC: total polyphenolic compounds

DPPH sc: DPPH radical scavenging power

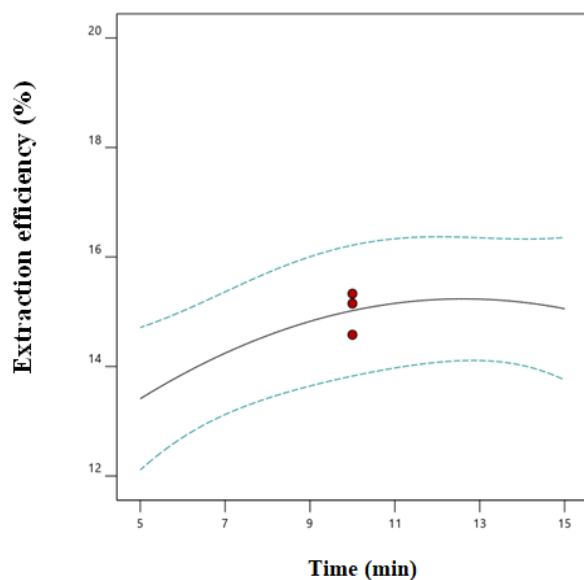
FRAP: ferric reducing/antioxidant power

Table 3- Analysis of variance for Quadratic modelon responses

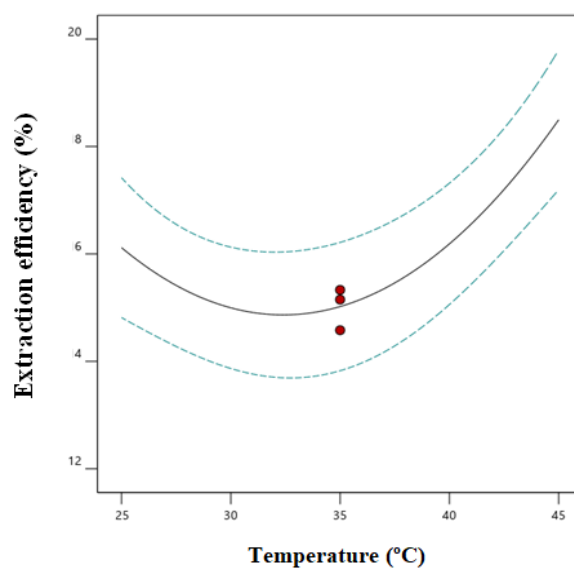
Source	Extraction Yield (%)		TPC (mg/100 g)		FRAP (μmol/l)		DPPH _{sc} (%)		α acids (mg/l)		β acids (mg/l)	
	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F	Sum of squares	Pb>F
Model	33.22	0.0006	166.43	0.003	4075.78	0.011	39566.37	0.005	286200	0.004	48.58	0.02
X₁	1.33	0.017	5.71	0.07	317.93	0.049	8.66	0.88	1874.80	0.389	5.41	0.03
X₂	2.88	0.003	4.14	0.12	1120.20	0.005	14999.90	0.001	113100	0.0007	11.33	0.008
X₃	7.26	0.005	33.59	0.003	27.72	0.48	2350.10	0.045	18221.09	0.0323	0.03	0.85
X₁X₂	1.26	0.019	12.85	0.020	1141.74	0.004	59.70	0.69	11255.72	0.069	3.42	0.07
X₁X₃	16.21	<0.0001	2.29	0.217	397.05	0.034	69.16	0.67	2285.89	0.346	3.20	0.07
X₂X₃	0.005	0.829	76.16	0.0005	21.20	0.54	3785.69	0.02	56806.02	0.003	2.40	0.11
X₁²	0.675	0.056	0.04	0.864	89.76	0.22	2043.31	0.06	19421.25	0.0289	2.29	0.12
X₂²	0.22	0.21	12.11	0.023	722.32	0.01	169.15	0.51	35537.04	0.009	19.32	0.002
X₃²	3.19	0.003	21.25	0.0078	361.42	0.04	14049.45	0.0008	24080.46	0.019	0.001	0.92
Residual	0.548		5.77		237.60		1677.78		10546.66		3.24	
Lack of Fit	0.536	0.034	4.49	0.313	170.60	0.392	997.11	0.54	10148.05	0.056	2.93	0.14
Pure Error	0.012		1.28		67.00		680.67		398.60		0.31	
Cor Total	33.77		172.20		4313.37		41244.15		296700		51.82	

X₁: Ultrasonic exposure time (min.), X₂: Ultrasonic extraction temperature (°C), X₃: Ultrasonic Amplitude (%)

۳)، ($p \leq 0/05$). با افزایش زمان صوت‌دهی، راندمان استخراج عصاره افزایش یافت؛ در حالیکه با افزایش دمای فرآیند در ابتدا میزان راندمان استخراج عصاره کاهش و سپس با شدت بالایی افزایش یافت (شکل ۱).



a)



b)

Fig 1- The effect of a) ultrasound exposure time and b) ultrasonic extraction temperature on the extraction efficiency (%) of hops extract

مطابقت داشت [۲۳]. افزایش دما و زمان صوت‌دهی با افزایش ضریب نفوذ حلال و افزایش مدت زمان انتقال جرم می‌شود، سبب افزایش راندمان استخراج عصاره می‌شوند [۲۴]. اما باید توجه داشت دماهای بالای فرآیند (بیش از ۸۰ درجه سلسیوس) با تخریب ترکیبات زیست فعال سبب کاهش راندمان استخراج می‌شود. مدل نهایی ارائه شده در جدول ۴ (مدل ۱)، حاکی از اثرگذاری بیشتر متغیر درجه دوم دمای فرآیند بر برای میزان راندمان استخراج عصاره بود.

۳-۲- اثر پارامترهای استخراج بر میزان راندمان استخراج عصاره

نتایج حاصل از پژوهش حاضر حاکی از اثر معنی‌دار پارامترهای خطی زمان فراصوت، دمای فرآیند و پارامتر درجه دوم زمان فراصوت بر راندمان استخراج بود (جدول

افزایش استخراج عصاره را می‌توان به اثرات مختلف امواج فراصوت از قبیل پدیده کاویتاسیون، امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت که به استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام کمک می‌کند، نسبت داد [۹]. کاستاندا-والبونا و همکاران (۲۰۲۱) بیان داشتند که استفاده از فراصوت منجر به افزایش استخراج عصاره از پوست و دانه‌های گیاه انبه می‌شود [۲۲]. نتایج این بخش با نتایج ایزدی و همکاران (۲۰۲۲) که بیان داشته بودند با افزایش زمان فراصوت میزان راندمان استخراج عصاره از برگ چغندر قند افزایش می‌یابد،

Table 4- Designed equation models for dependent variables.

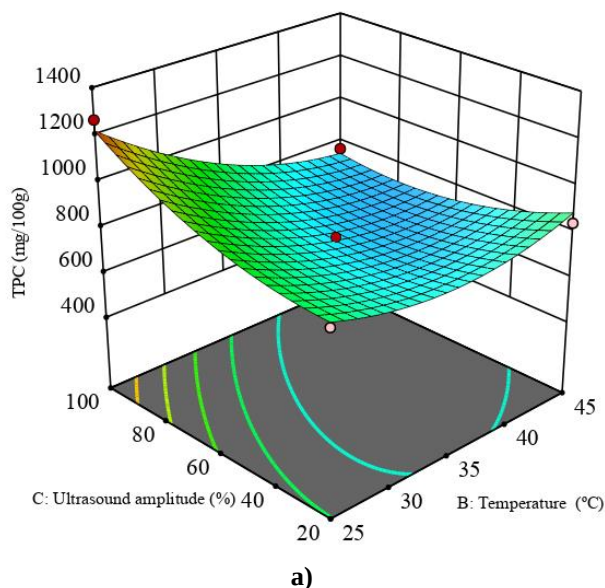
Number	Dependent variable	Equation	R ²	R ² -adj	cv
1	Extraction efficiency (%)	$y = +15.02 + 0.822 X_1 + 1.19 X_2 - 0.057 X_3 - 0.92 X_1^2 + 0.89 X_2^2 + 0.77 X_3^2 - 0.79 X_1 X_2 + 2.29 X_1 X_3 + 0.04 X_2 X_3$	0.937	0.825	5.08
2	TPC (mg/100g)	$y = +756.34 + 15.31 X_1 - 118.91 X_2 - 47.72 X_3 - 72.53 X_1^2 + 98.11 X_2^2 + 80.76 X_3^2 + 53.05 X_1 X_2 + 23.91 X_1 X_3 - 116.17 X_2 X_3$	0.964	0.900	5.65
3	DPPH sc (%)	$y = +18.91 + 6.30 X_1 - 11.83 X_2 - 1.86 X_3 + 4.93 X_1^2 + 13.99 X_2^2 + 9.89 X_3^2 + 16.89 X_1 X_2 - 9.96 X_1 X_3 + 2.30 X_2 X_3$	0.945	0.846	20.11
4	FRAP (μ mol /l)	$y = +294.62 - 1.04 X_1 - 43.30 X_2 + 17.14 X_3 + 23.52 X_1^2 + 6.77 X_2^2 - 67.95 X_3^2 - 3.86 X_1 X_2 + 4.16 X_1 X_3 + 30.76 X_2 X_3$	0.959	0.886	5.28
5	α acids (mg/L)	$y = +1.71 - 0.845 X_1 + 0.719 X_2 + 2.05 X_3 - 0.10 X_1^2 + 1.81 X_2^2 - 2.40 X_3^2 - 1.79 X_1 X_2 - 0.757 X_1 X_3 + 4.36 X_2 X_3$	0.966	0.906	27.53
6	β acids (mg/l)	$y = +2.74 - 0.41 X_1 + 0.60 X_2 + 0.952 X_3 - 0.428 X_1^2 + 0.245 X_2^2 + 0.929 X_3^2 - 0.56 X_1 X_2 - 2.01 X_1 X_3 + 0.038 X_2 X_3$	0.983	0.954	10.55

۳-۳- اثر پارامترهای استخراج بر میزان ترکیبات فنلی کل

نتایج نشان داد که همانند راندمان استخراج عصاره، بهترین مدل برای برازش میزان ترکیبات فنلی، مدل چند جمله‌ای درجه دوم بود (جدول ۲). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد پارامترهای خطی زمان صوت‌دهی، اثر متقابل زمان و دمای صوت‌دهی و همچنین اثر متقابل زمان با شدت صوت‌دهی بر میزان ترکیبات فنلی کل عصاره تاثیر معنی‌دار نداشت ولی سایر پارامترها بر این ویژگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بودند. با افزایش دمای فرآیند، میزان ترکیبات فنلی کل نمونه‌ها کاهش یافت؛ اما با افزایش شدت صوت‌دهی در هر دمایی میزان این ترکیبات افزایش پیدا نمودند. همچنین با افزایش زمان صوت‌دهی در ابتدا میزان این ترکیبات به

مقدار جزئی افزایش و سپس کاهش یافت (شکل b ۲). دلیل افزایش میزان ترکیبات فنلی کل، تشدید انتقال جرم ناشی از فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیکی دیوار سلولی است که سبب تماس بهتر بین حلال و مواد گیاهی می‌شود. همچنین، در زمان فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون، جریان سریعی از امواج فراصوت تولید می‌شود که به‌عنوان یک میکروپمپ عمل کرده و با ورود اجباری حلال به درون سلول سبب حل شدن ترکیبات موثره می‌شود [۲۵]. در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد- مایع، چرخه انقباض و انبساط در محیط ایجاد می‌شود که موجب تشکیل حباب‌ها شده و این حباب‌ها رشد نموده و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل سبب نوسان ذرات جامد و مایع

فعالیت آنتی‌اکسیدانی از میوه ولیک، بیان داشتند که استفاده از فراصوت منجر به افزایش ترکیبات فنلی کل عصاره می‌شود [۲۷]. علت کاهش ترکیبات فنولی با افزایش دما را نیز می‌توان به تخریب این ترکیبات در اثر دماهای بالا نسبت داد. از اعداد F و همچنین مدل شماره ۲ (جدول ۴)، می‌توان بیان داشت که بیشترین تاثیر بر میزان فنول کل عصاره‌ها مربوط به پارامتر خطی درجه حرارت فرآیند بود.



شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند در نتیجه مواد حل شونده سریع از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این، اثرات دیگری مثل امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام کمک می‌کنند. همچنین اثر حلال در زمان تماس طولانی سبب استخراج ترکیبات ناخالص می‌شود [۲۶ و ۱۵]. نجاتی‌راد و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی تأثیر پیش تیمارهای مختلف بر استخراج ترکیبات زیست فعال با

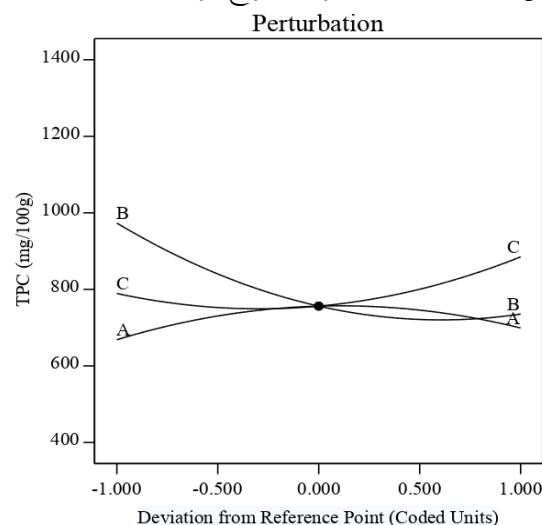


Fig 2- Response surfaces of the total phenolic compound (TPC, mg/100g) of ultrasound- assisted hops extracts as a function of (a) ultrasonic extraction temperature with ultrasonic amplitude and b) perturbation graph

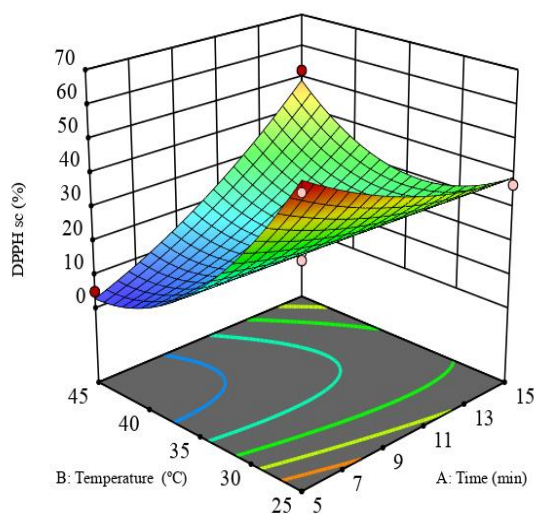
داد که با افزایش زمان فراصوت میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافته است در حالی‌که با افزایش درجه حرارت فرآیند این ویژگی کاهش یافت و شکل ۳b نیز مشخص نمود که در زمان‌های ابتدایی فرآیند با افزایش شدت صوت‌دهی میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت ولی در زمان‌های بیشتر فرآیند با افزایش شدت فراصوت احتمالاً به علت تخریب ترکیبات زیست فعال (ترکیبات فنلی و ترکیبات رزینی) میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH کاهش یافت. علت افزایش فعالیت رادیکال گیرندگی با افزایش زمان فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر

۳-۳- اثر پارامترهای استخراج بر توانایی مهار

رادیکال‌های آزاد DPPH

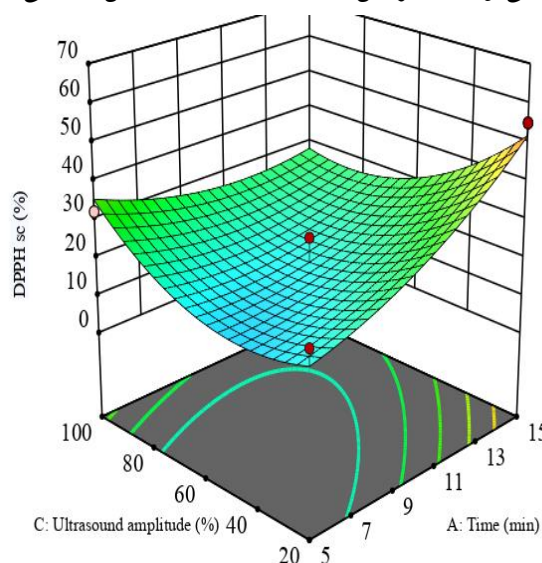
برای برازش داده‌های حاصل از توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، مدل چند جمله‌ای درجه دوم به عنوان بهترین مدل انتخاب گردید (جدول ۲). همچنین نتایج نشان داد که پارامتر خطی زمان فراصوت، درجه حرارت فرآیند و اثر متقابل زمان فراصوت با درجه حرارت فرآیند، زمان فراصوت با شدت فراصوت و پارامترهای درجه دوم درجه حرارت فرآیند و شدت فراصوت بر میزان این ویژگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). شکل ۳a نشان

حلال، کاهش پدیده کاویتاسیون و همچنین تخریب ترکیبات فنلی عصاره نسبت داد [۲۹]. نتایج این بخش با یافته‌های مقصودلو و اسماعیل زاده کناری (۲۰۲۰) که اثر تیمار فراصوت (حمام دار و پروپ دار) را بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره پونه کوهی مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت [۳۰]. از اعداد F و همچنین مدل شماره ۳ (جدول ۴)، می‌توان بیان داشت که بیشترین تاثیر بر میزان توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مربوط به پارامتر اثر متقابل زمان صوت‌دهی با دمای فرآیند بود.



a)

انتشار امواج صوتی در فاز جامد-مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که باعث تشکیل حباب‌هایی شده که این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند. در نتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار می‌یابند. این امر سبب استخراج بیشتر ترکیبات موثره و در نهایت باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۲۸]. دلیل کاهش توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش دما را نیز می‌توان به افزایش فشار بخار حلال، کشش سطحی



b)

Fig 2- Response surfaces of the DPPH radical scavenging power (DPPH sc, %) of ultrasound- assisted hops extracts as a function of (a) ultrasonic extraction temperature with ultrasonic exposure time and b) ultrasonic amplitude with ultrasonic exposure time

احیاکنندگی عصاره‌های مورد آزمایش، رنگ زرد محلول به درجات مختلفی از رنگ سبز و آبی تغییر می‌کند [۳۱]. بر طبق نتایج آورده شده در جدول ۲، می‌توان بیان نمود که بهترین مدل برای برازش داده‌های حاصل از قدرت احیاکنندگی آهن مدل چندجمله‌ای درجه دوم بود ($R^2 = 0.904$). جدول آنالیز واریانس داده‌ها (جدول ۳)، نیز حاکی از آن بود که تمامی پارامترهای خطی مورد مطالعه به‌جز پارامتر خطی زمان صوت‌دهی بر قدرت احیاکنندگی آهن تاثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشت و در بین پارامترهای اثر

۳-۴- اثر پارامترهای استخراج بر قدرت احیاکنندگی آهن

قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها، توانایی آنها را برای احیای آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی نشان می‌دهد. حضور آنتی‌اکسیدان‌ها (احیاکننده‌ها) در عصاره که دهنده الکترون هستند سبب احیای کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فروس می‌شود که بسته به

همانطور که قبلا در مقدمه نیز بیان شد، گیاه دارویی رازک دارای ترکیبات رزینی نرم ایجاد کننده طعم تلخ (الفا و بتا اسیدها) است که اثرات آرام بخش، آنتی اکسیدانی، القا کننده آپوپتوز، مهار تومور، کاهش التهاب و ضد میکروبی دارند [۳۴]. همانطور که از جدول ۱ مشاهده می شود، بهترین مدل برای برازش داده های حاصل از میزان آلفا اسیدهای عصاره رازک مدل چند جمله ای درجه دوم بود. نتایج آنالیز واریانس نیز مشخص نمود که از میان پارامترهای خطی مورد مطالعه فقط شدت فراصوت بر میزان آلفا اسیدهای عصاره در سطح ۵ درصد معنی دار بود و پارامترهای اثر متقابل زمان فراصوت با شدت فراصوت و همچنین پارامتر درجه دوم زمان فراصوت بر این ویژگی در سطح ۵ درصد معنی دار نبودند. یافته ها نشان داد که در زمان و دماهای بالای مورد مطالعه با افزایش شدت صوت دهی و دمای فرآیند میزان آلفا اسیدها افزایش یافت اما با افزایش زمان صوت دهی میزان این ترکیبات کاهش یافتند (شکل ۵). کاربون و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که استفاده از فرآیند فراصوت منجر به افزایش ترکیبات تلخ موجود در عصاره می گردد که همراستا با نتایج این بخش بود [۳۵]. آنیول و همکاران (۲۰۰۸) علت افزایش آلفا اسیدها (لوپولون) عصاره رازک در هنگام استفاده از فراصوت را به افزایش قطبیت حلال نسبت دادند که این ترکیبات را بیشتر استخراج نمود [۳۶]. با توجه ضرایب مدل های آورده شده (مدل شماره ۵) در جدول ۳، می توان بیان داشت که بیشترین تاثیر بر میزان آلفا اسیدها مربوط به پارامتر اثر متقابل دمای فرآیند با شدت صوت دهی بود.

متقابل نیز فقط اثر متقابل درجه حرارت فرآیند با شدت فراصوت بر قدرت احیا کنندگی عصاره ها در سطح ۵ درصد معنی دار بود. همانطور که از شکل ۴ مشاهده می شود با افزایش دمای فرآیند میزان قدرت احیا کنندگی عصاره ها کاهش یافت؛ اما با افزایش شدت صوت دهی در ابتدا میزان قدرت احیا کنندگی عصاره ها کاهش و سپس افزایش یافت. افزایش و کاهش قدرت احیا کنندگی آهن با افزایش یا کاهش ترکیبات فنلی عصاره ها مرتبط است [۳۲]. ایلگامی و همکاران (۲۰۱۵) نیز با بررسی تاثیر فراصوت بر استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از چغندر قند بیان داشتند که با افزایش شدت فراصوت میزان قدرت احیا کنندگی آهن عصاره افزایش می یابد [۳۳]. با توجه به اعداد و همچنین ضرایب مدل های آورده شده (مدل شماره ۴) در جدول ۳، می توان بیان داشت که بیشترین تاثیر بر قدرت احیا کنندگی آهن مربوط به پارامتر درجه دوم شدت صوت دهی بود.

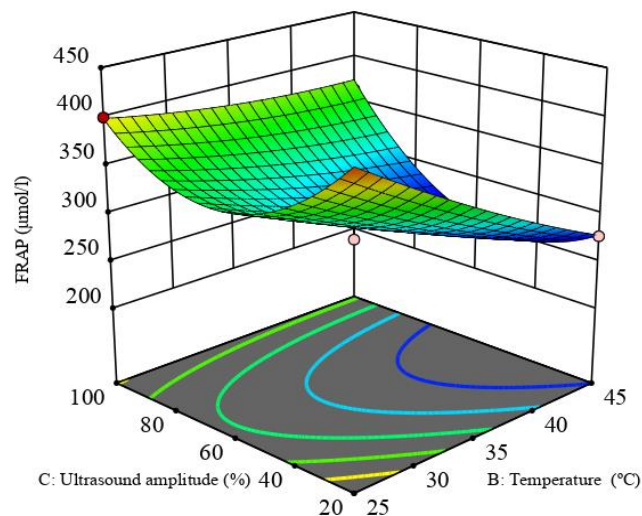


Fig 4- Response surfaces of the ferric reducing/antioxidant power (FRAP, $\mu\text{mol/l}$) of ultrasound- assisted hops extracts as a function of ultrasonic amplitude with ultrasonic extraction temperature

۳-۵- اثر پارامترهای استخراج بر میزان آلفا اسیدها

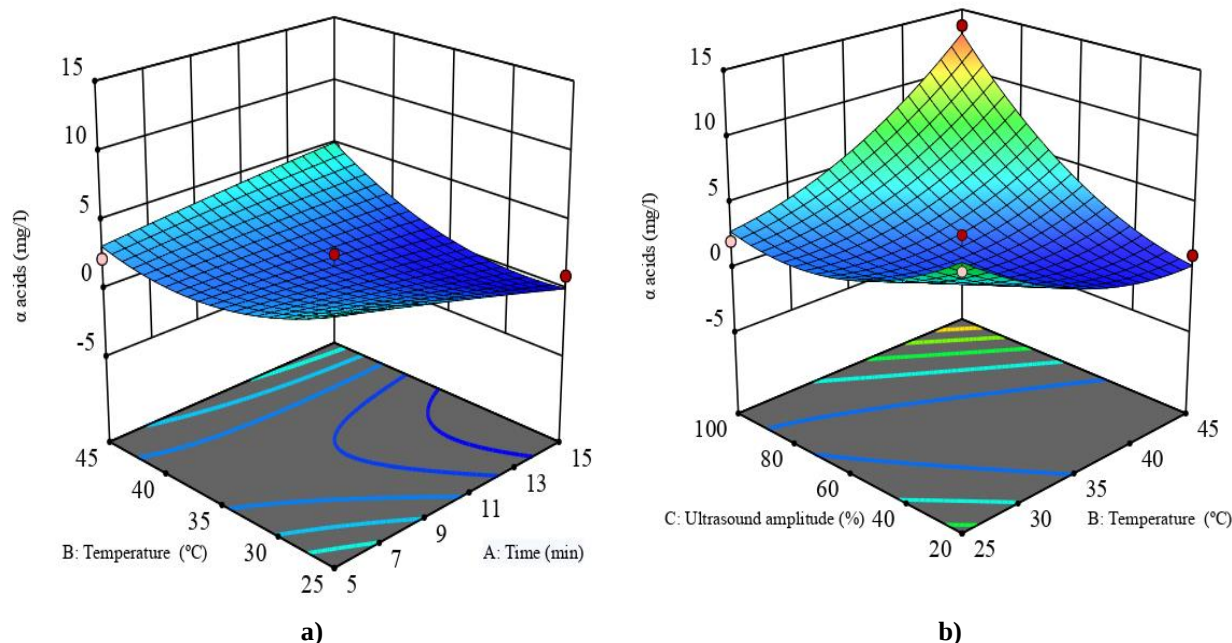


Fig 5- Response surfaces of the α - acids (mg/l) of ultrasound- assisted hops extracts as a function of (a) ultrasonic extraction temperature with ultrasonic exposure time and b) ultrasonic amplitude with ultrasonic extraction temperature

دهی میزان بتااسیدها افزایش یافت؛ اما در زمان‌های انتهایی فرآیند با افزایش این دو پارامتر میزان این ترکیبات کاهش یافتند (شکل ۶). علت افزایش این ترکیب را می‌توان به تشکیل حباب‌ها متلاشی آنها نسبت داد که باعث خروج بیشتر این ترکیب به درون عصاره می‌شود، نسبت داد [۲۶]. نتایج این بخش با نتایج کاربون و همکاران (۲۰۲۰) در تطابق بود [۳۵]. با توجه ضرایب مدل‌های آورده شده (مدل شماره ۶) در جدول ۳، می‌توان بیان داشت که بیشترین تاثیر بر میزان همولون مربوط به پارامتر اثر متقابل زمان با شدت صوت‌دهی بود.

۳-۶- تاثیر پارامترهای مستقل مورد مطالعه بر بتااسیدها

همانطور که از جدول ۲ مشاهده می‌شود، بهترین مدل برای برازش داده‌های حاصل از میزان بتااسیدهای عصاره رازک مدل چند جمله‌ای درجه دوم بود. از طرفی جدول ۳، نیز مشخص نمود که تمامی پارامترهای خطی مورد مطالعه بر میزان بتا اسیدهای عصاره در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود و از میان پارامترهای اثر متقابل دمای فرآیند با شدت صوت‌دهی بر این ویژگی در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که در زمان‌های ابتدایی فرآیند استخراج با فراصوت با افزایش دمای فرآیند و همچنین شدت صوت-

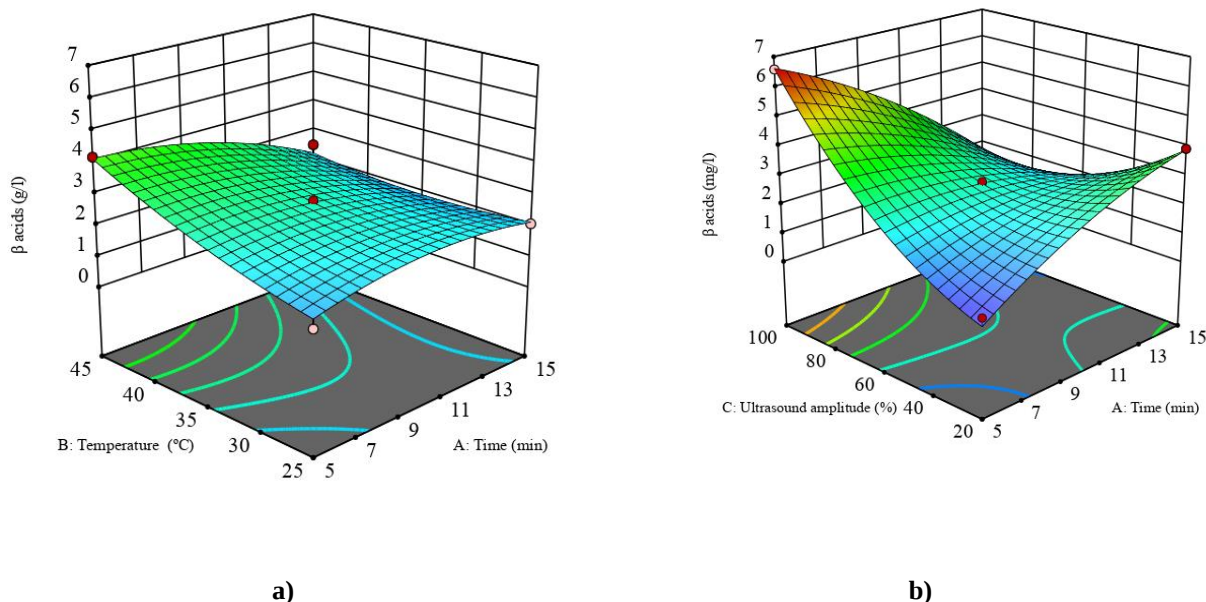


Fig 6- Response surfaces of the β -acids (mg/l) of ultrasound- assisted hops extracts as a function of (a) ultrasonic extraction temperature with ultrasonic exposure time and b) ultrasonic amplitude with ultrasonic exposure time

است، به دست آمد. نتایج نشان داد که فرآیند استخراج عصاره از گیاه رازک در نقطه‌ای با زمان ۱۲/۷۳ دقیقه، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شدت فراصوت ۱۰۰ درصد با ضریب مطلوبیت ۰/۷۷۸ موجب استخراج عصاره با بالاترین بازده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد. برای اطمینان از صحت شرایط، آزمایش در شرایط بهینه تکرار گردید و پاسخ‌های به دست آمده در جدول ۵ نشان داده شد. عدم وجود تفاوت معنی‌دار مدل‌ها و مشاهدات تجربی، کارایی مدل‌ها را به خوبی اثبات می‌کند (۰/۰۵ > P).

۳-۷- بهینه‌سازی فرآیند استخراج عصاره از گیاه رازک
شرایط بهینه استخراج عصاره رازک با استفاده از فرآیند صوت‌دهی بر پاسخ‌ها از طریق بهینه‌یابی عددی و نموداری نرم‌افزار تعیین شد. پیشنهاد نمودن راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنلی کل، ترکیبات مولد طعم تلخ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان اهداف مورد نظر آزمایش‌ها در تجزیه و تحلیل‌های آماری مورد نظر قرار گرفت و بدین‌گونه شرایط برای انجام فرآیند بهینه که از روش سطح پاسخ با استفاده از تابع مطلوبیت حاصل شده

Table 5- Predicted and experimental values of the responses at optimum conditions for ultrasound- assisted and conventional extraction methods.

Extraction method	Extraction efficiency (%)	TPC (mg/100 g)	DPPH _{Sc} (%)	FRAP (μmol/l)	α acids (mg/l)	β acids (mg/l)
Solvent extraction						
Experimental values ¹	13.67±0.76b	790.64±45.41b	24.90±2.19b	340.300±14.09 b	0.78±0.05b	2.11±0.15b
Ultrasound-assisted extraction (UAE)						
Optimized values ²	16.54a	1191.75a	40.69a		1.01a	3.09a
Experimental values ¹	15.78±0.15a	1147.49±50.48 a	39.90±0.185a	409.87a 400.58±12.18a	0.89±0.042 a	3.01±0.18a

¹ Mean $\pm$ standard deviation of triplicate determinations from experiments

² Predicted using response surface quadratic model

* The data within a column with the same letters are not significantly different at $p < 0.05$.

کارایی مدل‌های ارائه شده در پیش‌بینی پارامترهای مورد ارزیابی بود. در شرایط بهینه استخراج با کمک فرآیند فراصوت عصاره با بازده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالاتری نسبت به روش مرسوم (ماسراسیون) حاصل گردید. با استفاده از این مدل‌ها علاوه بر تنظیم نمودن شرایط استخراج می‌توان با توجه به شرایط مورد استفاده در استخراج، خصوصیات مورد نظر را پیش‌بینی و اصلاح نمود.

۵- منابع

- [1] Gokoglu, N. 2019. Novel natural food preservatives and applications in seafood preservation: A review. J. Sci. Food Agric. 99(5): 2068-2077.
- [2] FAOSTAT, 2020. <http://faostat.fao.org>.
- [3] Anonymous, 2019, industry, mining and trade according to statistics and information. Budget and Planning. Bureau of statistics and data processing. (In Persian)
- [4] Sanz, V., Torres, M.D., López Vilariño, J.M., Domínguez, H. 2019. What is new on the hop extraction?. Trends Food Sci. Technol. 93: 12–22.
- [5] Spreng, S.; Hofmann, T. 2018. Activity Guided Identification of in Vitro Antioxidants in Beer. J. Agric. Food Chem. 66: 720–731.
- [6] Alonso Esteban, J.I.; Pinela, J.; Barros, L.; Ćirić, A.; Soković, M.; Calhelha, R.C.; Torija Isasa, E.; de Cortes Sánchez Mata, M.; Ferreira, I.C.F.R. 2019. Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. Ind. Crops Prod. 134: 154–159.
- [7] Gullón, B.; LúChau, T.A.; Moreira, M.T.; Lema, J.M.; Eibes, G. Rutin. 2017. A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. Trends Food Sci. Technol. 67: 220–235
- [8] Prommajak, T., Surawang, Sand Rattanapanone, N. 2014. Ultrasonic-assisted extraction of phenolic and antioxidative compounds from lizard tail (*Houttuynia cordata* Thunb.). Songklanakarin Journal of science and technology. 36(9): 65-72.
- [9] Moghimi, M., Farzaneh, V. and Bakhshabadi, H. 2018. The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (*Nigella Sativa*). Nutrire. 4(18): 2-8.
- [10] Oroian, M., Ursachi, F. and Dranca, F. 2020. Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. Ultrasonics sonochemistry. 64: 105021.
- [11] Dzah, C.S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G. and Ma, H. 2020. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. Food Bioscience. 35: 100547.
- [12] Quiroz-Reyes, C. N. and Aguilar-Méndez, M. Á. 2022. Continuous ultrasound and pulsed ultrasound: Selective extraction tools to obtain enriched antioxidants extracts from cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). Innovative Food Science & Emerging Technologies. 80: 103095.
- [13] Alirezalu, K.; Pateiro, M.; Yaghoubi, M.; Alirezalu, A.; Peighambaroust, S.H.; Lorenzo, J.M. 2020. Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. Trends Food Sci. Technol. 100: 292–306.
- [14] Bartmańska, A.; Walecka-Zacharska, E.; Tronina, T.; Popłoński, J.; Sordon, S.; Brzezowska, E.; Bania, J.; Huszcza, E. 2018. Antimicrobial properties of spent hops extracts, flavonoids isolated therefrom, and their derivatives. Molecules. 23: 2059.

- [15] Muzykiewicz, A.; Nowak, A.; Zielonka-Brzezicka, J.; Florkowska, K.; Duchnik, W.; Klimowicz, A. 2019. Comparison of antioxidant activity of extracts of hop leaves harvested in different years. *Herba Pol.*, 65, 1–
- [16] Almeida, A.D.R.; Maciel, M.V.D.O.B.; Machado, M.H.; Bazzo, G.C.; de Armas, R.D.; Vitorino, V.B.; Vitali, L.; Block, J.M.; Barreto, P.L.M. 2020. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 55, 340–347.
- [17] Hosseini, S.M., Bojmehrani, A., Zare, E., Zare, Z., Hosseini, S.M. and Bakhshabadi, H. 2021. Optimization of antioxidant extraction process from corn meal using pulsed electric field-subcritical water. *Journal of food processing and preservation*. 1-10.
- [18] Usenik, V., Fabcic, J., & Stampar, F. 2008. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* 107: 185–192.
- [19] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. 1995. Use of a freeradical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol.* 28:25–30.
- 20- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239(1): 70-76.
- [21] Egts, H., Durben, D.J., Dixon, J.A. and Zehfus, M.H. 2012. A multicomponent UV analysis of α - and β -acids in hops. *Journal of Chemical Education*. 89 117–120.
- [22] Castañeda-Valbuena, D., Ayora-Talavera, T., Luján-Hidalgo, C., Álvarez-Gutiérrez, P., Martínez-Galero, N. and Meza-Gordillo, R. 2021. Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. *Food and Bioproducts Processing*. 127: 212-224.
- [23] Izadi, S., Honarvar, M. and Mirzaei, H. 2021. Investigation of adding antioxidant compounds extracted from sugar beet leaves by ultrasonic method on oxidative stability of soybean oil. *Iranian journal of food science and technology*. 18 (118):285-296. (In Persian)
- [24] Che Sulaiman, I.S., Basri, M., Fard Masoumi, H.R., Chee, W.J., Ashari, S.E. and Ismail, M. 2017. Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*. 11: 54: 1-11.
- [25] Proestos, C. and Komaitis, M. 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*. 41: 652–659.
- [26] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P. and Mason, T. J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics sonochemistry*. 11(3): 261-265.
- [27] Nejati-Rad, A., Moghimi, M., Rezaei, R. and Bakhshabadi, H. 2020. Effect of different pre-treatments on antioxidant and some chemical compounds of extract of hawthorn fruit. *Iranian journal of food science and technology*. 17 (105): 113-122. (In Persian).
- [28] Rostagno, A., Palma, M. and Barroso, C. 2003. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*. 1012: 119-128.
- [29] Altemimi, A., Choudhary, R., Watson, D.G. and Lightfoot, D.A. 2015. Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrasonics Sonochemistry*. 24: 247–255.
- [30] Maghsoudlou, E. and Esmaeilzadeh Kenari, R. 2020. Effects of the bath and probe ultrasound treatment on the antioxidant activity of phenolic extract from oregano (*Origanum vulgare* L.) leaves. *Iranian Food Science and Technology*. 15(6): 89-101.
- [31] Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., and Ju, Y.-H. 2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*. 22: 296-302.
- [32] Esmaeelian, M., Jahani, M., Einafshar, S., and Feizy, J. 2020. Optimization of experimental parameters in subcritical water extraction of bioactive constituents from the saffron (*Crocus sativus* L.) corm based on response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*: 1-11.
- [33] Ilghami, A., Ghanbarzadeh, S. and Hamishehkar, H. 2015. Optimization of the ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, ferric reducing activity and antioxidant activity of the *Beta vulgaris* using

- response surface methodology. *Pharmaceutical Sciences*. 21: 46-50.
- [34] Rezaie M. 2000. Study of *Humulus lupulus* components. Investigation of medical and fragrant Plant. 3: 1 - 13.
- [35] Carbone, K., Macchioni, V., Petrella, G. and Cicero, D.O. 2020. Exploring the potential of microwaves and ultrasounds in the green extraction of bioactive compounds from *Humulus lupulus* for the food and pharmaceutical industry. *Industrial Crops and Products*. 156: 1-14.
- [36] Anioł, M., Zońmierczyk, A., Anioł, M. and Anna, Z. 2008. Extraction of spent hops using organic solvents. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 66: 208–214.



Optimization of ultrasonic-assisted extraction of the effective compounds from hops (*Humulus lupulus*)

Kamelan M¹, PedramNia A², Sharayei P³, Elhamirad A.H², Saieedi Asl M.R²

1- Ph.D of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

2- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

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

ABSTRACT

The objective of this study was to make optimum use of hops medicinal plant as a flavoring compounds (bitter taste) and extract bioactive compounds. To optimize the extraction efficiency, total phenolic compounds (TPC), bitter taste compounds (α and β acids) and antioxidant activity (inhibition of DPPH free radicals, ferric reducing/antioxidant power) with ultrasound – assisted methods, the Box-Behnken design was used. Sonication exposure time (5, 15 and 25 min), extraction temperature (25, 35 and 45 C) and ultrasound amplitude (20, 60 and 100%) were considered as variables for the extraction of bioactive compounds. The results showed that with increasing the time and intensity of sonication, the extraction efficiency, the amount of bioactive compounds and the antioxidant power of the extract increased; while the extraction rate and antioxidant activity of the extracts decreased with increasing temperature. According to the resulting models, in the optimal conditions of extraction with ultrasound- assisted process (extraction time 12.73 min, extraction temperature 25 C and sonication amplitude 100 %), the extraction efficiency (16.5 %), TPC (75. 1191 mg/100 g), bitter taste compounds (α and β acids 1.01 and 3.09 mg/l respectively) and antioxidant activity (based on DPPH free radical scavenging and reducing power Iron was obtained 40.70% and 409.87 μ mol/liter, respectively), higher than the conventional extraction method (maceration, control). Extraction at the optimal point confirmed the obtained results.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/1/12

Accepted: 2023/2/20

Keywords:

hops,
ultrasound,
bioactive compounds,
 α and β acids.

DOI: 10.22034/FSCT.20.141.75

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.141.6.4

*Corresponding Author E-Mail:
ahmadpedram@yahoo.com