



استخراج عصاره فنولی از برگ تربچه (*Raphanus sativus* L.) به روش حرارت‌دهی مقاومتی:

بهینه‌سازی عددی و مدل‌سازی سینتیکی

محسن زندی^{۱*}، علی گنجلو^۱، ماندانا بی‌مکر^۱، مینا نصیری^۲

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

این پژوهش با هدف بهینه‌سازی عددی و مدل‌سازی سینتیکی استخراج عصاره فنولی از برگ‌های تربچه (*Raphanus sativus* L.) به روش حرارت‌دهی مقاومتی به منظور درک بهتر و بهینه‌سازی فرآیند استخراج انجام شد. اثر متغیرهای استخراج بر راندمان استخراج، محتوای فنول کل و فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، در ولتاژ گرادیان برابر ۳۰-۱۰ ولت بر سانتی‌متر، دمای ۳۰-۶۰ درجه سلسیوس، نسبت حلال (اتانول به آب) ۳۰٪ و ۱۰۰٪ و زمان استخراج ۱۰-۳۰ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. مدل‌های تجربی مختلف مانند مدل‌های مرتبه اول، جذب و مدل‌های سیگموئید برای پیش‌بینی سینتیک انتقال جرم بدون در نظر گرفتن پدیده‌های زمینه‌ای بررسی شدند. نتایج نشان داد که اثر گرادیان ولتاژ، زمان استخراج و نسبت حلال (اتانول به آب) بر راندمان استخراج، محتوای فنول کل و فعالیت مهار DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$). اگرچه افزایش دمای استخراج به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش محتوای فنول کل و فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH شد ($p < 0.05$)، اما این متغیر تأثیر معنی‌داری بر عملکرد استخراج نداشت ($p > 0.05$). در شرایط بهینه، راندمان استخراج و محتوای فنول کل تجربی نزدیک به مقادیر پیش‌بینی‌شده مدل سطح پاسخ درجه دوم بود. بر اساس مدل‌سازی سینتیکی، می‌توان گفت که مدل سینتیکی سیگموئیدی در مقایسه با مدل‌های سینتیکی مرتبه اول و جذبی، بیشتر می‌تواند نتایج تجربی عصاره برگ تربچه را با روش حرارت‌دهی مقاومتی مدل نمایند.

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۰۵

کلمات کلیدی:

حرارت‌دهی مقاومتی، عصاره برگ تربچه، محتوای فنول کل، راندمان استخراج، مدل‌سازی سینتیکی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.135.141
DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.135.12.8

* مسئول مکاتبات:

Zandi@znu.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه تمایل به استفاده از ترکیبات زیست‌فعال بر پایه منابع گیاهی افزایش یافته است. گیاهان حاوی طیف وسیعی از ترکیبات زیست‌فعال مانند اسانس‌ها، عصاره‌ها، ترکیبات فیتوشیمیایی رنگدانه‌ها هستند [۱]. از این ترکیبات به شکل گسترده‌ای در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی‌وبهداشتی استفاده می‌شود. عصاره‌ها از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و ترکیبات عملگر هستند [۲]. با افزایش تقاضای محصولات دارویی در جهان، تولیدکنندگان گیاهان دارویی استفاده از مناسب‌ترین فناوری‌های استخراج برای تولید عصاره‌هایی باکیفیت را مورد توجه قرار داده‌اند [۳]. روشی که برای بازیابی ترکیبات زیست‌فعال از گیاهان انتخاب می‌شود، باید به گونه‌ای باشد که اجزای طبیعی گیاه را حفظ کند. از طرفی استفاده از روش‌های مختلف با حلال مشابه، می‌تواند سبب تغییر گسترده راندمان استخراج گردد [۴]. روش‌های سنتی عصاره‌گیری برپایه قرارگرفتن گیاه در حلال مناسب می‌باشد که به منظور افزایش سرعت فرآیند از همزدن یا حرارت دادن استفاده می‌شود. از جمله این روش‌ها می‌توان به سوکسله، خیساندن و پرکولاسیون اشاره نمود [۲، ۵]. روش‌های سنتی اگرچه ساده و پرکاربرد هستند ولی عمدتاً زمان‌بر، هزینه‌بر و ناکارآمد هستند و علاوه بر مصرف انرژی و حلال زیاد، راندمان پایینی نیز دارند و عمدتاً باعث آسیب حرارتی به عصاره استخراج شده می‌شوند؛ از این رو محققان به دنبال استفاده از روش‌های نوین جهت کاهش این معایب و محدودیت‌ها می‌باشند. توسعه روش‌های نوین، مزایای قابل توجهی از جمله کاهش مصرف حلال‌های آلی، بهبود راندمان استخراج، انتخاب‌پذیری و به حداقل رساندن تخریب نمونه نسبت به روش‌های سنتی دارد و باعث از بین رفتن اجزای نامطلوب و نامحلول از عصاره نیز می‌شوند. استخراج با کم‌مایکروویو و امواج فراصوت از جمله رایج‌ترین روش‌های نوین هستند [۴، ۶]. فرآیند حرارت‌دهی مقاومتی روشی است که گزارش‌های متعددی از استفاده از آن به صورت تقطیر مقاومتی در استخراج اسانس‌ها ارائه شده است. تاکنون، حرارت‌دهی مقاومتی به عنوان یک روش شتاب‌دهنده برای بهبود عملکرد تقطیر با آب و تقطیر با بخار پیشنهاد شده است که سبب تسریع فرآیند تقطیر شده است [۱، ۷-۱۱].

در فرآیند حرارت‌دهی مقاومتی، غذا به عنوان مقاومت الکتریکی بین دو الکترود قرار می‌گیرد و با عبور جریان الکتریکی از آن و به سبب مقاومت ماده، باعث گرم شدن حجمی آن در مدت زمان کوتاهی می‌شود. این فرآیند، حرارت‌دهی سریع (از چند ثانیه تا چند دقیقه) را امکان‌پذیر می‌کند. رسانایی الکتریکی، متغیر اصلی تعیین کننده نرخ گرمای یک عملیات گرمایش مقاومتی است. فرآیند گرمایش مقاومتی می‌تواند آسیب حرارتی، افت مواد مغذی و رسوب در حین فرآیند حرارتی ذرات معلق و حساس به برش مواد غذایی را کاهش دهد [۱۲]. محققان متعددی کاربردهای صنعتی حرارت‌دهی مقاومتی را از جمله فرآوری آسپتیک^۱ و استریلیزاسیون، پاستوریزاسیون، خشک‌کردن و تقطیر مورد بررسی قرار داده‌اند. با این حال، استفاده از حرارت‌دهی مقاومتی برای استخراج عصاره کاملاً جدید است. ضایعات، مواد موثره با ارزشی دارند و افزایش روز افزون جمعیت استفاده از ضایعات و محصولات جانبی را به منظور تامین امنیت غذایی ضروری می‌باشد. افزایش آگاهی مردم نسبت به ترکیبات طبیعی مورد توجه بسیاری از محققان است. برگ تربچه یکی از محصولات جانبی کشاورزی است که مصرف محدودی به صورت تازه‌خوری به عنوان سالاد و یا به صورت پخته و در ترکیب با سایر مواد غذایی به عنوان پیش‌غذا، سوپ و میان وعده دارد.

تربچه (*Raphanus sativus* L.) گیاهی است که برگ و ریشه آن در سراسر جهان به صورت تازه‌خوری یا پخته مصرف می‌شود [۱۳]. ریشه تربچه مصرف بیشتری دارد و اغلب برگ‌های آن پس از برداشت دور ریخته می‌شود. تربچه منبع غنی از مواد معدنی (پتاسیم و کلسیم)، ویتامین‌ها (B₆ و C) و فیبر است که در جنوب آسیا به دلیل خواص دارویی آن نیز شناخته می‌شود [۱۳-۱۶]. مطالعات فیتوشیمیایی نشان می‌دهند که تربچه حاوی پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، ایزوپراکسیدها، پلی‌فنول‌ها، پراکسیدها، سیناپین، فلاونوئیدها، فنولیک اسید، آنتوسیانین‌ها، رافانوزین‌ها و آلکالوئیدها است. ریشه و برگ تربچه دارای اثرات ضدالتهابی، ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد اکسایند و ضدخونریزی است [۱۳، ۱۷-۱۹]. نتایج پژوهش‌ها ثابت نموده

1. Aseptic

روش حرارت‌دهی مقاومتی و مقایسه آن با روش استاندارد استخراج می‌باشد؛ در ادامه هدف، بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره برگ تربچه با روش حرارت‌دهی مقاومتی است و در نهایت بررسی سینتیک استخراج عصاره از برگ تربچه با مدل‌های سینتیکی تجربی و عوامل موثر بر آن می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

برگ تربچه (*Raphanus sativus L.*) از بازار محلی در شهر زنجان خریداری شد. ۲، ۲-دی فنیل - ۱-پیکریل هیدرازیل و کربنات سدیم شرکت سیگما آلدريج (آمریکا)، معرف فولین-سیکالتیو و گالیکاسید از شرکت مرک (آلمان) و اتانول از شرکت کیمیا الکل تهیه گردید. سایر مواد شیمیایی با درجه خلوص آزمایشگاهی نیز از شرکت سیگما آلدريج (آمریکا) تهیه گردید.

۲-۲- آماده‌سازی نمونه

پس از شستشو برگ‌های تربچه در آب سرد، نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تا رسیدن به رطوبت ۵ درصد (بر مبنای وزن تر) سایه خشک شدند. برگ تربچه خشک‌شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی آسیاب گردید و سپس از الک آزمایشگاهی با مش ۱۸ عبور داده شد و تا زمان انجام آزمایشات درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی نفوذناپذیر به هوا و رطوبت نگهداری گردید.

۲-۳- استخراج عصاره

در فرایند استخراج به روش حرارت‌دهی مقاومتی، از سیستم حرارت‌دهی مقاومتی شامل یک منبع تغذیه، محفظه تیمار، الکترودهای از جنس فولاد ضد زنگ، سیستم کنترل ولتاژ و آمپراژ، بن‌ماری، حسگر دمایی و سیستم حفاظت و ایمنی استفاده گردید (شکل ۱). منبع تغذیه یا همان واریاک با ولتاژ متغیر می‌توانست ولتاژ را بین ۰ تا ۳۰۰ ولت با حساسیت ۱ ولت تنظیم نماید. محفظه تیمار یا سلول تقطیر مقاومتی، بالن شیشه‌ای از

است که عصاره تربچه در درمان بیماری‌هایی مانند سرطان، دیابت، عفونت‌های کبدی و التهاب موثر است [۱۳، ۱۹، ۲۰]. بررسی ترکیبات گیاه تربچه نشان می‌دهد که فنولیک‌های آزاد و باند شده که شامل وانیلیک اسید، کوماریک اسید، پیروگالول و اپی‌کاتچین می‌شوند، بیشتر در ریشه و برگ تربچه یافت می‌شوند [۱۹، ۲۰]. تحقیقات در زمینه فعالیت‌های فیتوشیمیایی دارویی برگ تربچه نسبتاً محدود است [۲۱]. برگ تربچه با آن که دارای خصوصیات ضد اکسایشی قوی و خواص ضدسرطانی و ضد فشار خون است ولی معمولاً دور ریخته می‌شود. می‌توان از عصاره برگ تربچه در مواد غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی استفاده نمود و همچنین برگ‌ها دارای خواص ضد سرطانی و ضد فشار خون هستند [۱۴، ۱۹]. روش‌های مختلفی برای استخراج برگ تربچه وجود دارد، ولی حرارت‌دهی مقاومتی یکی از روش‌های نوین استخراج می‌باشد.

عوامل مختلفی مانند گرادیان ولتاژ، نوع حلال، قطبی و غیرقطبی بودن حلال، اندازه ذرات، نسبت ماده به حلال، pH حلال و دما بر راندمان و کیفیت استخراج به روش حرارت‌دهی مقاومتی موثر است؛ لذا می‌توان با انتخاب صحیح عوامل موثر بر فرایند استخراج از لحاظ کمی و کیفی به استخراج کارآمدتری دستیافت و روش بهینه برای استخراج را به دست آورد [۱، ۱۶، ۲۲]. برای طراحی، تجزیه و تحلیل، پیش‌بینی و کنترل فرایند استخراج لازم است تا متغیرهای موثر بر فرایند انتقال جرم شامل راندمان استخراج، مشخص شوند. برای این منظور می‌توان از مدل‌های ریاضی جهت بررسی سینتیک استخراج استفاده نمود. مدل‌های سینتیکی تجربی مختلفی مانند مدل شبه درجه اول، پلگ، و بیال و تئوری فیلم در پژوهش‌های مختلف برای مدل‌سازی سینتیک استخراج عصاره یا اسانس استفاده شده است [۲۲-۲۴]. بررسی منابع مختلف نشان می‌دهد که تا کنون پژوهشی در زمینه استخراج عصاره از برگ تربچه با روش حرارت‌دهی مقاومتی انجام نشده است؛ لذا هدف از پژوهش حاضر در درجه اول بررسی تاثیر عوامل مختلف شامل نسبت حلال، دما، زمان و گرادیان ولتاژ بر راندمان و کیفیت استخراج عصاره برگ تربچه با

تیمار حرارت‌دهی مقاومتی منتقل گردید و بسته به تیمار (جدول ۱) در گرادیان ولتاژ (۱۰ تا ۳۰ ولت برسانتی‌متر)، دمای فرآیند (۳۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس)، زمان فرایند استخراج عصاره (۱۰ تا ۳۰ دقیقه) و نسبت اتانول به آب (۳۰ تا ۱۰۰ درصد (حجمی/حجمی)) مورد نظر داده شد؛ برای این منظور با قرار دادن الکترودها فرایند عصاره‌گیری بسته به تیمار در ولتاژ، دما، نسبت حلال و زمان مشخص انجام پذیرفت.

جنس پیرکس با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر بود که دو ورودی برای الکترودهای دستگاه و یک ورودی برای حسگر دمایی داشت. فاصله بین الکترودها برابر ۴ سانتی‌متر بود. به منظور انجام فرایند استخراج، ۳ گرم پودر برگ تربچه با ۳۰ میلی‌لیتر حلال (نسبت ۱:۱۰ (وزنی/حجمی)) مخلوط گردید و قبل از فرایند استخراج به‌منظور افزایش راندمان و سرعت استخراج در دمای محیط به مدت ۱ ساعت در حلال خیس‌سازنده شد. در ادامه مخلوط به محفظه

Table 1 Design matrix of the response surface methodology.

Solvent ratio (%)	Time(Min)	Temperature (°C)	Voltage gradient(V/cm)	Run
65	20	30	20	1
44.2	25.9	36.1	14	2
65	20	45	20	3
85.8	14	36.1	25.9	4
65	20	45	10	5
65	20	45	20	6
65	20	45	30	7
30	20	45	20	8
65	20	45	20	9
44.2	14	53.9	25.9	10
85.8	25.9	53.9	14	11
65	20	60	20	12
85.8	25.9	36.1	25.9	13
65	30	45	20	14
65	20	45	20	15
65	10	45	20	16
85.8	14	53.9	14	17
100	20	45	20	18
44.2	25.9	53.9	25.9	19
44.2	14	36.1	14	20
65	20	45	20	21

اطمینان از حذف کل حلال، عصاره تا رسیدن به وزن ثابت در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرارداد شد. عصاره حاصل در ظروف شیشه‌ای تیره و نفوذناپذیر در برابر هوا ریخته شد و تا زمان انجام آزمون‌ها در فریزر در دمای 18 ± 1 - درجه سلسیوس نگهداری گردید.

نمونه شاهد در شرایط دمایی، زمان و نسبت حلال مشابه نمونه بهینه تهیه گردید. در نهایت عصاره با استفاده از کاغذ صافی (واتمن، شماره ۱) صاف گردید و برای جداسازی حلال از دستگاه تبخیر کننده دوار تحت خلاء^۲ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و سرعت ۹۵ دور در دقیقه استفاده گردید. برای

2. Rotary evaporator



Fig 1 Ohmic heating system.

محتوای فنول کل به صورت میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن عصاره بیان شد [۱۱، ۲۳]. بررسی فعالیت ضداکسایشی عصاره برگ تربچه از طریق اندازه گیری فعالیت مهار رادیکال های آزاد ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) انجام شد. این روش رایج و سریع است که در آن با احیای رادیکال های آزاد DPPH، رنگ محلول از بنفش به زرد تغییر می کند. میزان رنگبری بیانگر قدرت مهار رادیکال های آزاد توسط ترکیبات ضدرادیکال مربوطه است و توسط دستگاه طیف سنج نور مرئی-ماوراء بنفش در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری می شود. بدین منظور ۲ میلی لیتر از عصاره رقیق شده با آب-اتانول (غلظت نهایی ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) با ۲ میلی لیتر محلول DPPH (۰/۱ میلی مولار) مخلوط شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شد. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه طیف سنج نور مرئی-ماوراء بنفش در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری گردید. درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH از طریق رابطه ۲ محاسبه گردید [۱۱، ۲۳]:

$$DPPH(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100 \quad (2)$$

که A_c و A_s به ترتیب برابر میزان جذب نمونه شاهد و نمونه حاوی عصاره می باشد.

۲-۵- بهینه سازی فرایند استخراج و مقایسه با

۲-۴- ارزیابی ویژگی های کمی و کیفی عصاره

برای اندازه گیری راندمان استخراج عصاره (EY، درصد)، ابتدا حلال آن در آون به طور کامل حذف گردید و جرم آن (گرم، m_{ex}) اندازه گیری شد. مقدار راندمان استخراج با کمک وزن گیاه خشک (گرم، m_{dp}) با استفاده از رابطه ۱ به دست آمد:

$$EX(\%) = \frac{m_{ex}}{m_{dp}} \times 100 \quad (1)$$

محتوای فنول کل (TPC) با روش فولین-سیکالتیو اندازه گیری گردید. این روش رنگ سنجی از طریق احیای معرف فولین-سیکالتیو^۳ توسط ترکیبات فنولی در محیط قلبایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ عمل می نماید. برای این منظور ۲۰ میکرو لیتر از عصاره با ۲ میلی لیتر از اتانول مخلوط گردید و سپس ۷۵۰ میکرو لیتر معرف فولین-سیکالتیو (۰/۱ درصد (حجمی/حجمی)) به آن ها اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و محیط تاریک قرار داده شد. در ادامه ۷۵۰ میکرو لیتر کربنات سدیم به آنها اضافه گردید و به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت میزان جذب در طول موج ۷۶۹ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج نور مرئی-ماوراء بنفش اندازه گیری شد. به منظور رسم منحنی استاندارد، محلول گالیک اسید در اتانول (۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) تهیه شد و محتوای فنول کل آن با روش فوق اندازه گیری شد و منحنی استاندارد گالیک اسید رسم گردید.

نمونه شاهد

استفاده شد. برازش مدل‌های سینتیکی بر داده‌های تجربی با کمک رگرسیون غیرخطی و توسط جعبه ابزار برازش داده نرم‌افزار متلب (R2019a، آمریکا) صورت پذیرفت. در این معادلات، C_t ، K_A ، C_{eq} و b به ترتیب برابر راندمان استخراج یا محتوای فنول کل عصاره استخراجی در زمان t (میلی‌گرم بر گرم)، راندمان استخراج تعادلی یا اشباع یا محتوای فنول کل عصاره استخراجی تعادلی یا اشباع زمانی که t به سمت بی‌نهایت میل می‌کند (میلی‌گرم بر گرم)، ثابت سرعت استخراج کلی (در دقیقه) و ثابت استخراج است. t_0 و T_1 نیز به ترتیب برابر زمان لازم برای نیمه‌شدن میزان راندمان استخراج و ثابت زمان انتشار است که همان شیب قسمت تیز منحنی است.

تیماری به عنوان تیمار بهینه انتخاب شد که حداکثر راندمان استخراج، محتوای فنول کل و مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را داشته باشد و برای این منظور درجه اهمیت و وزن هر پاسخ یکسان در نظر گرفته شد و در نهایت نمونه‌ای با حداکثر مطلوبیت انتخاب گردید. در نهایت تیمار بهینه از نظر ویژگی‌های کمی و کیفی با نمونه شاهد مقایسه گردید.

۶-۲- بررسی سینتیک راندمان استخراج

در پژوهش حاضر، به منظور بررسی تاثیر تیمار بر سینتیک راندمان استخراج از برگ گیاه تربچه به روش حرارت‌دهی مقاومتی از مدل‌های سینتیکی درجه اول، جذب و سیگموئید (جدول ۲).

Table 2 Mathematical models used to evaluate the extraction kinetics.

Reference	Equation	Model
[23]	$C_t = C_{eq}(1 - e^{-K_A \times t})$	First order
[25]	$C_t = C_{eq} + \frac{t}{b + t}$	Adsorption
[26]	$C_t = C_{eq} - \frac{C_{eq}}{1 + \exp\left(\frac{t - t_0}{T_1}\right)}$	Sigmoid

۷-۲- تجزیه و تحلیل آماری

برای بهینه‌سازی عوامل موثر بر استخراج عصاره به روش حرارت‌دهی مقاومتی شامل گرادیان ولتاژ، دما، نسبت اتانول به آب و زماناز طرح مرکب مرکزی (CCD)⁶ با کمک نرم‌افزار دیزاین اکسپرت⁷ استفاده شد. انتخاب سطوح عوامل بر اساس پژوهش‌های پیشین انجام شد و از بهینه‌سازی عددی برای تعیین شرایط بهینه استفاده گردید. نمودارها با کمک نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۶، ایالات متحده آمریکا) رسم گردید.

ارزیابی و مقایسه مدل‌ها با کمک ضریب تبیین (R^2)⁴ بین مقدار واقعی با مقدار پیش‌بینی شده و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE)⁵ انجام شد:

$$R^2 = 1 - \left(\frac{\sum_{i=1}^n (O - P)^2}{\sum_{i=1}^n (O - \bar{P})^2} \right) \quad (3)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{(O - P)^2}{n - p}} \quad (4)$$

که O ، P ، n و p به ترتیب داده تجربی، داده پیش‌بینی شده، تعداد مشاهده و تعداد متغیرهای مدل است.

6. Central Composite Design
7. DesignExpert

4. R-squared
5. Root mean squared error

Table 3 ANOVA table showing the extraction variables as linear, quadratic and interaction terms on each response variable

Source	Yield (%)		Total phenolic content (mg GAE/g extract)		DPPH (%)	
	Sum of square	p-value	Sum of square	p-value	Sum of square	p-value
Model	388.35	< 0.0001	1379.60	< 0.0001	394.76	< 0.0001
A-Voltage gradient (V/cm)	49.00	< 0.0001	176.34	< 0.0001	70.54	< 0.0001
B- Extraction temperature	0.0937	0.6698	162.00	< 0.0001	33.05	< 0.0001
C- Extraction time	6.55	0.0095	54.12	0.0019	42.98	< 0.0001
D-Solvent ratio (%)	174.00	< 0.0001	318.40	< 0.0001	22.99	0.0001
AB	58.57	< 0.0001	63.97	0.0012	6.96	0.0033
AC	0.2237	0.5146	6.68	0.1127	1.95	0.0570
AD	0.9462	0.2044	243.39	< 0.0001	41.25	< 0.0001
BC	0.1999	0.5371	0.0055	0.9592	0.0036	0.9181
BD	0.2612	0.4827	0.0630	0.8628	1.17	0.1015
CD	7.94	0.0062	5.93	0.1306	0.4851	0.2602
A ²	6.51	0.0097	0.0179	0.9266	0.9810	0.1275
B ²	3.66	0.0312	173.31	< 0.0001	32.34	< 0.0001
C ²	3.91	0.0276	0.5204	0.6228	34.79	< 0.0001
D ²	58.86	< 0.0001	46.43	0.0027	1.30	0.0878
Residual	2.80		11.62		1.88	
Lack of Fit	1.96	0.0911	6.84	0.1690	1.14	0.1577
Pure Error	0.8454		4.78		0.7481	
Cor Total	391.15		1391.22		396.64	
R²	0.9928		0.9916		0.9953	
CV	2.91		1.13		0.79	

* p -value < 0.05 is significant at α < 0.05 and *lack of fit* is not significant at p -value > 0.05.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- راندمان استخراج

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل تاثیر اثرات اصلی و متقابل عوامل شامل گرادیان ولتاژ، دما، زمان و نسبت اتانول به آب بر راندمان استخراج در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد، مدل درجه دوم توانست با ضریب تبیین بالا نتایج راندمان استخراج را پیش‌بینی نماید. معناداری مدل ($p < 0.05$) و عدم معناداری خطای عدم برازش ($p > 0.05$) نشان‌دهنده موفقیت مدل درجه دوم می‌باشد. همچنین ضریب تغییرات کمتر از ۳ نشان‌دهنده (۲/۹۱) دقت بالای آزمون‌ها است. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که همه اثرات اصلی به‌استثنا دمای فرایند، تمامی اثرات درجه دوم و اثرات متقابل بین زمان فرایند و نسبت اتانول به آب و بین گرادیان ولتاژ و دمای فرایند بر راندمان استخراج عصاره از برگ تربچه معنادار بود ($p < 0.05$).

معادله نهایی برای پیش‌بینی راندمان استخراج عصاره از برگ

تربچه به روش حرارت‌دهی مقاومتی به صورت رابطه ۵ می‌باشد:

$$\text{Yeild (\%)} = 22.41 + 2.94A + 0.6928C - 5.55D + 4.20AB + 0.9946CD + 0.6559A^2 - 0.4949B^2 - 0.5113C^2 + 1.98 D^2$$

که در آن A، C و D به ترتیب برابر اثرات اصلی گرادیان ولتاژ، زمان فرایند و نسبت اتانول به آب و AB، CD، A²، B²، C² و D² نیز به ترتیب برابر اثر متقابل گرادیان ولتاژ و دمای فرایند، اثر متقابل زمان فرایند و نسبت اتانول به آب، اثر درجه دوم گرادیان ولتاژ، اثر درجه دوم دما، اثر درجه دوم زمان و اثر درجه دوم نسبت اتانول به آب می‌باشد.

ضرایب قبل از هر اثر نشان‌دهنده میزان اثرگذاری آن بر راندمان استخراج است و هرچه این ضریب بزرگتر باشد، یعنی حساسیت پاسخ به آن بیشتر است؛ بنابراین اثر اصلی نسبت اتانول به آب بیشترین تاثیر را بر راندمان استخراج دارد و اثر درجه دوم دمای فرایند نیز کمترین تاثیر را بر پاسخ داشت.

ریشه تربچه انجام شده است؛ با این حال منابع محدودی در زمینه استخراج عصاره از برگ تربچه وجود دارد. در پژوهش‌های گوناگون^۸ و همکاران (۲۰۱۸) راندمان استخراج عصاره برگ تربچه را با روش سیال فوق بحرانی (دی‌اکسید کربن) بسته به نوع تیمار در محدود ۳۳-۷ درصد گزارش نمودند [۲۷]. راندمان استخراج کوئرستین^۹ از برگ تربچه با حلال آب و با کمک روش‌های خیساندن، سوکسله، هضم و استخراج با کمک فراصوت کمتر از ۰/۴ درصد بود. در حالی که با حلال اتانول میزان راندمان در روش‌های خیساندن، سوکسله، هضم و استخراج با کمک فراصوت به ترتیب برابر ۱/۲، ۰/۴۵، ۲/۲۵ و ۱۲ درصد بود [۲۸] که نشان‌دهنده تاثیر فراوان روش استخراج و نوع حلال بر راندمان استخراج دارد. نمودارهای سه‌بعدی اثرات اصلی و متقابل عوامل مورد مطالعه بر راندمان استخراج عصاره از برگ تربچه در شکل ۳ نشان داده شده است.

افزایش راندمان استخراج عصاره با افزایش گرادیان ولتاژ را شاید بتوان به اثر غیر حرارتی، فرایند حرارت‌دهی مقاومتی نسبت داد. در فرایند حرارت‌دهی مقاومتی عبور جریان الکتریسیته در کنار تولید گرما به سبب مقاومت درونی مخلوط، با عبور از غدد حاوی عصاره سبب پارگی آنها می‌گردد و از این رو استخراج ماده موثره را از درون آنها تسهیل می‌نماید و در نتیجه راندمان استخراج را افزایش می‌دهد [۱۱، ۲۳]. از این رو هرچه گرادیان ولتاژ افزایش می‌یابد، اثر غیرحرارتی روش حرارت‌دهی مقاومتی نیز افزایش یافته و در نتیجه سبب بیشتر شدن راندمان استخراج می‌گردد. تا کنون پژوهشی در زمینه استخراج عصاره با روش حرارت‌دهی مقاومتی انجام پذیرفته است ولی پژوهش‌های استخراج اسانس با روش تقطیر مقاومتی نیز به نتایج مشابهی دست یافته‌اند [۸-۱۱]. اگرچه اثر اصلی دما تاثیر معنی‌داری بر راندمان استخراج نداشت ($p > 0.05$) اما اثر متقابل آن با گرادیان ولتاژ تاثیر زیادی بر سرعت استخراج عصاره داشت که به نظر می‌رسد به خاطر تاثیر آن بر کاهش ویسکوزیته فاز مایع و تسریع خروج عصاره از غدد آسیب‌دیده باشد.

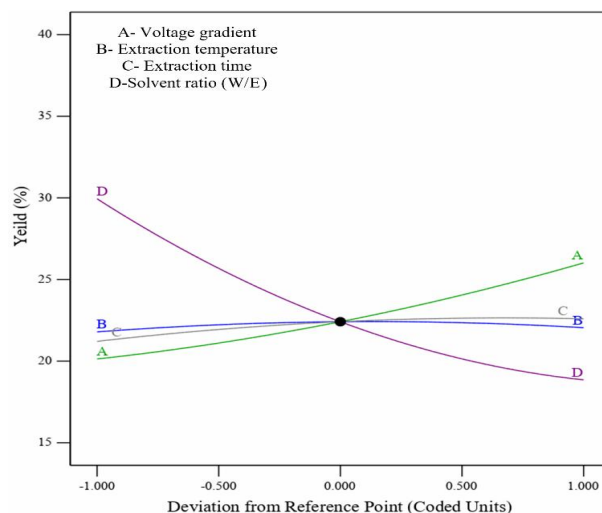


Fig 2 Perturbation plot for extraction yield.

اثر متقابل گرادیان ولتاژ و دمای فرایند نیز پس از نسبت اتانول به آب بیشترین تاثیر را بر راندمان استخراج دارد. علامت مثبت و منفی پیش از هر اثر نیز به ترتیب نشان‌دهنده اثرات افزایشی و کاهش‌دهی آن اثر بر پاسخ می‌باشد. همان‌طور که در نمودار پرشیدگی مشاهده می‌شود (شکل ۲)، بیشترین شیب نمودار بین اثرات اصلی مربوط به نمودار نسبت اتانول به آب است و پس از آن شیب نمودار اثر اصلی گرادیان ولتاژ بیشتر می‌باشد که نشان‌دهنده تاثیر بیشتر آن بر تغییرات راندمان استخراج است. علامت منفی پیش از ضریب اثر اصلی نسبت اتانول به آب در معادله ۵ نیز به صورت روند معکوس نمودار این اثر اصلی نسبت به سایر اثرات اصلی در نمودار پرشیدگی مشاهده می‌گردد. معنی‌دار شدن اثر درجه دوم تمامی عوامل بر راندمان استخراج به وضوح در نمودار پرشیدگی مشخص است، به طوری که شکل تمامی نمودارهای اثرات اصلی به صورت منحنی می‌باشد.

یکی از اهداف در فرایند استخراج، افزایش راندمان استخراج عصاره می‌باشد؛ نتایج نشان داد که بسته به نوع تیمار راندمان استخراج عصاره از برگ تربچه با روش حرارت‌دهی مقاومتی بین ۳۷/۷-۱۹ درصد متغیر بود. مقدار راندمان استخراج عصاره برگ تربچه به عوامل مختلفی مانند نوع و شرایط رشد و زمان برداشت برگ تربچه، روش استخراج، دمای استخراج، نوع حلال و غیره وابسته است. پژوهش‌های زیادی در زمینه استخراج عصاره از

8. Goyeneche
9. Quercetin

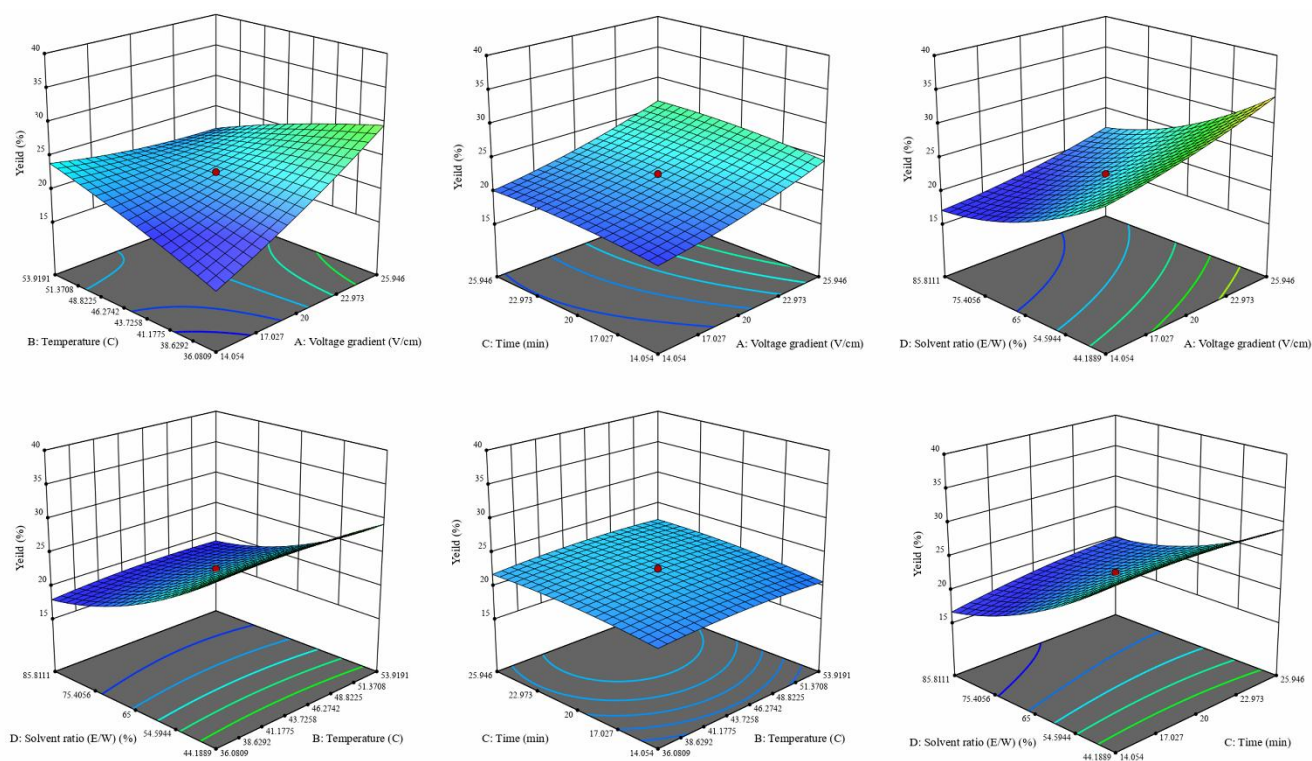


Fig 3 Changes in extraction yield of radish leaf extract vs. independent variables.

۳-۲- محتوای فنول کل عصاره

نتایج تجزیه و تحلیل آماری (جدول ۳) نشان داد که مدل درجه دوم بر نتایج محتوای فنول کل معنی دار بود ($p < 0.05$)؛ همچنین خطای عدم برازش مدل غیر معنی دار ($p > 0.05$) بود و بالا بودن ضریب تبیین و پایین بودن ضریب تغییرات نیز نشان دهنده عملکرد صحیح مدل درجه دوم می باشد. همان طور که در جدول ۳ مشاهده می گردد، تاثیر تمامی اثرات اصلی گرادیان ولتاژ، زمان و دمای فرایند و نسبت اتانول به آب بر محتوای فنول کل معنی دار بود ($p < 0.05$). از بین اثرات متقابل تنها اثرات متقابل بین گرادیان ولتاژ و دمای فرایند و نیز بین گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب معنی دار بود ($p < 0.05$). در نهایت بین اثرات درجه دوم نیز اثر درجه دوم دمای فرایند و نسبت اتانول به آب بر محتوای فنول کل معنی دار بود ($p < 0.05$). معادله ایجاد شده برای پیش بینی محتوای فنول کل عصاره به صورت رابطه ۶ می باشد:

(۶)

$$\text{TPC} = 124 + 5.58A - 5.35B + 1.99C + 7.50D -$$

همچنین اثر غیرخطی دما بر راندمان استخراج موثر بود که احتمالاً به ارتباط دما با ویسکوزیته فاز مایع مرتبط است. نتایج نشان داد که افزایش زمان استخراج باعث افزایش راندمان استخراج است که این امر به واسطه این است که زمان در دسترس برای عصاره افزایش پیدا می کند و عصاره بیشتری استخراج می گردد؛ نتایج مشابهی از تاثیر زمان بر استخراج عصاره از برگ تربچه با روش های مانند خیساندن، سوکسله، هضم، استخراج با کمک فراصوت و سیال فوق بحرانی توسط سایر محققان گزارش شده است [۲۷، ۲۸]. اثر اصلی نسبت اتانول به آب بیشترین تاثیر را بر راندمان استخراج دارد، به طوری که با افزایش قطبیت حلال (افزایش سهم اتانول) راندمان استخراج به شدت کاهش پیدا می نماید که این امر نشان دهنده سهم بیشتر ترکیبات قطبی در عصاره برگ تربچه می باشد. در نهایت مشخص گردید که هم اثرات خطی و هم اثرات غیرخطی گرادیان ولتاژ، زمان فرایند و نسبت اتانول به آب بر راندمان استخراج عصاره برگ تربچه موثر بود.

همچنین خان و همکاران (۲۰۲۲) نیز محتوای فنول کل عصاره حاصل از برگ تربچه را ۱۲۵/۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره گزارش نمودند [۲۹].

اثرات اصلی و متقابل دوگانه متغیرهای موثر بر محتوای فنول کل در فرایند حرارت‌دهی مقاومتی در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌گردد، با افزایش گرادیان ولتاژ میزان محتوای فنول کل افزایش می‌یابد که احتمالاً به سبب افزایش اثر غیر حرارتی فرایند حرارت‌دهی مقاومتی است که باعث می‌گردد آسیب حرارتی کمتری به عصاره وارد شود. از طرف دیگر ترکیبات فنولی در دیواره سلولی گیاهان، پیوندهای قوی با لیگنین ایجاد می‌کنند که استخراج آنها را پیچیده‌تر می‌نماید. تجزیه این پیوندهای قوی ترکیبات فنولی سخت است و تنها روش‌هایی مانند حرارت‌دهی مقاومتی می‌توانند دیواره‌های سلولی گیاه را از بین ببرند و آزادسازی متابولیت‌های ثانویه سلولی را تسهیل کنند [۲۸]. از این‌رو با افزایش گرادیان ولتاژ جداسازی ترکیبات فنولی تسهیل می‌گردد. البته باید توجه داشت که افزایش بیش از حد گرادیان ولتاژ هم می‌تواند سبب وارد آوردن آسیب به ترکیبات فنولی گردد. تا کنون پژوهشی در زمینه استخراج عصاره با روش حرارت‌دهی مقاومتی انجام نشده است گزارش شده است [۱، ۷، ۱۱]. اثر متقابل گرادیان ولتاژ و دما باعث کاهش معنی‌دار محتوای فنول کل گردید ($p < 0.05$) که احتمالاً به سبب تشدید اثر حرارتی روش حرارت‌دهی مقاومتی با افزایش دما می‌باشد. از طرف دیگر، اثر متقابل گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب نیز سبب افزایش محتوای فنول کل عصاره گردید که احتمالاً به این دلیل است که با افزایش گرادیان ولتاژ اثر غیر حرارتی این روش تشدید می‌شود و باعث آسیب بیشتر به غدد حاوی عصاره می‌گردد و همزمان ترکیبات فنولی بیشتر به سبب حلالیت بیشتر آنها در اتانول خارج می‌گردد. همان‌طور که در نتایج مشخص است، افزایش دما به‌طور معنی‌داری سبب کاهش محتوای فنول کل گردید ($p < 0.05$).

این امر به سبب آسیب حرارتی وارده به ترکیبات فنولی در دمای بالا می‌باشد. نتایج مشابهی در استخراج عصاره برگ تربچه با روش سیال فوق بحرانی بدست آمد [۲۷].

$$4.39AB + 8.57AD - 3.341B^2 + 1.76D^2$$

که در آن A، B، C و D به ترتیب برابر اثرات اصلی گرادیان ولتاژ، دمای فرایند، زمان فرایند و نسبت اتانول به آب و AB، AD، B² و D² نیز به ترتیب برابر اثر متقابل گرادیان ولتاژ و دمای فرایند، اثر متقابل گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب، اثر درجه دوم دما و اثر درجه دوم نسبت اتانول به آب می‌باشد. با توجه به ضرایب، محتوای فنول کل بیشترین حساسیت را به تغییرات اثر متقابل گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب دارد و در بین اثرات اصلی، اثر اصلی نسبت اتانول به آب و اثر اصلی دمای فرایند بیشترین تاثیر افزایشدهنده و کاهشدهنده بر محتوای فنول کل دارد. اثر درجه دوم دما هم سبب کاهش محتوای فنول کل گردید. میزان حساسیت محتوای فنول کل به اثرات اصلی گرادیان ولتاژ، دمای فرایند، زمان فرایند و نسبت اتانول به آب در نمودار پرتیبدگی (شکل ۴) نشان داده شده است.

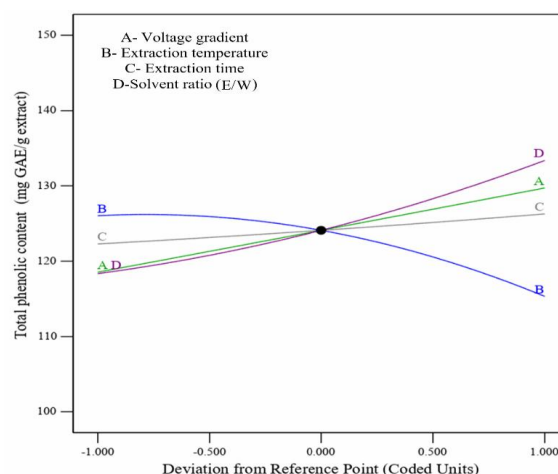


Fig 4 Perturbation plot for total phenolic content.

همان‌طور که در نمودار پرتیبدگی مشاهده می‌شود، تغییرات دمای فرایند بیشترین تاثیر را بر محتوای فنول کل دارد که این اثر به‌صورت اثر تضعیف‌کنندگی بر پاسخ می‌باشد. در نمودار اثرات غیرخطی دمای فرایند و نسبت اتانول به آب به وضوح مشخص می‌باشد. نتایج محتوای فنول کل برای تیمارهای مختلف فرایند حرارت‌دهی مقاومتی بین ۱۰۶/۱-۱۴۲/۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم عصاره متغیر بود. در پژوهشی مقدار محتوای فنول عصاره برگ تربچه استخراج‌شده توسط روش سیال فوق بحرانی بین ۹/۹۷-۱۳/۶۱ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم گیاه خشک گزارش گردید که با توجه راندمان استخراج عصاره با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد [۲۷].

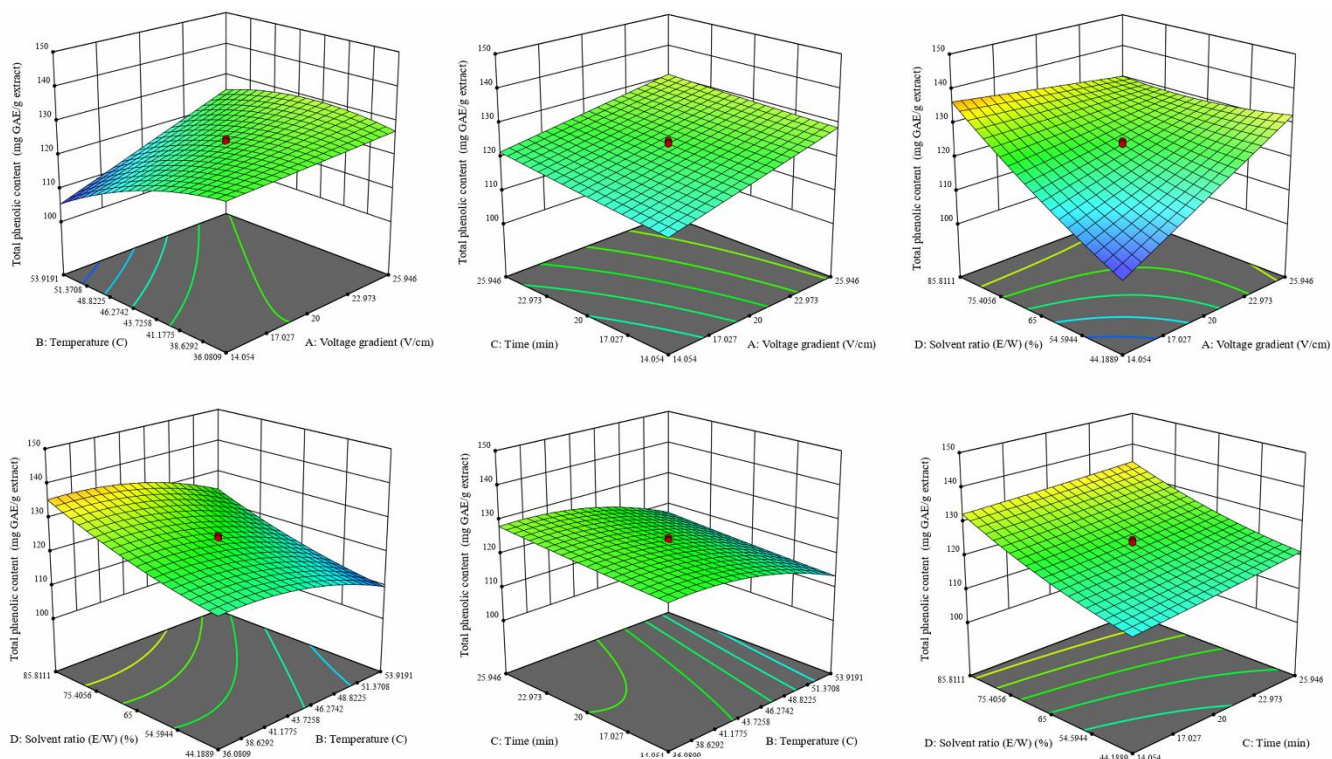


Fig 5 Change in total phenolic content of radish leaf extract vs. independent variables.

اتانول به آب و نیز اثرات متقابل بین گرادیان ولتاژ و دما و بین گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب و اثرات درجه دوم دما و زمان فرایند بر فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار گردید ($p < 0.05$). معادله نهایی برای پیش‌بینی فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در رابطه ۷ ارائه شده است:

$$\text{DPPH scavenging activity (V)} = 71.59 + 3.53A - 2.42B + 1.77C + 2.02D - 1.45AB + 3.53AD - 1.47B^2 + 1.53C^2$$

که در آن A، B، C، D به ترتیب برابر اثرات اصلی گرادیان ولتاژ، دمای فرایند، زمان فرایند و نسبت اتانول به آب و AB، AD، B² و C² نیز به ترتیب برابر اثر متقابل گرادیان ولتاژ و دمای فرایند، اثر متقابل گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب، اثر درجه دوم دمای فرایند و اثر درجه دوم زمان فرایند می‌باشد. همان‌طور که در رابطه فوق مشاهده می‌گردد، اثر اصلی گرادیان ولتاژ و اثر متقابل گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب بیشترین تاثیر را بر تغییر فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH داشت. با بررسی نمودار پرشیدگی (شکل ۶) مشخص می‌گردد که بیشترین حساسیت پاسخ بعد از اثر اصلی گرادیان ولتاژ، به اثر اصلی دما

افزایش زمان استخراج تاثیر اندکی در افزایش محتوای فنول کل داشت که شاید به این دلیل است که زمان لازم برای خروج ترکیبات فنولی فراهم می‌گردد. از سوی دیگر با افزایش نسبت اتانول به آب میزان استخراج ترکیبات فنولی افزایش یافت که نشان دهنده حلالیت بیشتر این ترکیبات در اتانول است. نتایج مشابهی توسط شریفی و همکاران (۲۰۱۶) در استخراج کورسین به‌عنوان ترکیب فنولی از برگ تربچه با روش و حلال‌های مختلفی بدست آمد [۲۸]. در نهایت دمای فرایند و نسبت اتانول به آب دارای اثرات غیرخطی بر محتوای فنول کل داشت.

۳-۳- فعالیت ضد اکسایشی

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، مدل درجه دوم با ضریب تبیین برابر ۰/۹۹۵۳ و ضریب تغییرات برابر ۰/۷۹ در تجزیه و تحلیل داده‌های اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار گردید ($p < 0.05$) و از آنجائی که خطای عدم برازش نیز معنی‌دار نگردید ($p > 0.05$) در نتیجه به‌خوبی می‌توان از این مدل برای تجزیه و تحلیل نتایج استفاده نمود. نتایج نشان داد که تمامی اثرات اصلی گرادیان ولتاژ، دما و زمان فرایند و نسبت

رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره برگ تربچه استخراج شده توسط روش سیال فوق بحرانی را بین $0.274-0.403$ درصد بر مبنای گیاه خشک گزارش نمودند که با توجه به راندمان استخراج عصاره با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد [27].

نمودار سه بعدی تغییرات فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره برگ تربچه که نشان‌دهنده اثرات اصلی و متقابل است در شکل 7 نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود با افزایش گرادیان ولتاژ به سبب افزایش اثرات غیر حرارتی، آسیب حرارتی کمتری به عصاره وارد می‌گردد و از طرفی افزایش زمان استخراج امکان خروج بیشتر ترکیبات ضد اکسایشی را فراهم می‌نماید. همچنین افزایش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش نسبت اتانول به آب نشان‌دهنده حل‌پذیری بیشتر ترکیبات ضد اکسایشی در اتانول است. همان‌طور که انتظار می‌رفت افزایش دما سبب کاهش فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH گردید. نتایج مشابهی از اثر دما بر فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره در استخراج عصاره برگ تربچه با روش سیال فوق بحرانی به دست آمد [27].

می‌باشد، البته رابطه بین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و اثر دما رابطه معکوس می‌باشد. انحنای نمودارهای اثرات اصلی زمان و دمای فرایند همچنین نشان‌دهنده اثر درجه دوم آنها بر پاسخ می‌باشد. فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره برگ تربچه حاصل از تیمارهای مختلف حرارت‌دهی مقاومتی بین $63/45-78/43$ درصد متغیر بود.

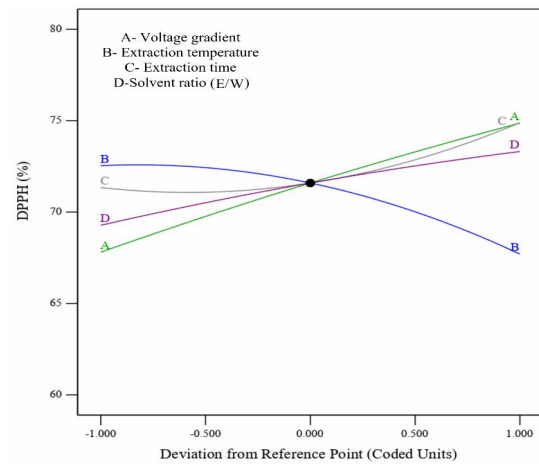


Fig 6 Perturbation plot for DPPH scavenging activity.

در پژوهشی گویچه و همکاران (2018) فعالیت مهار

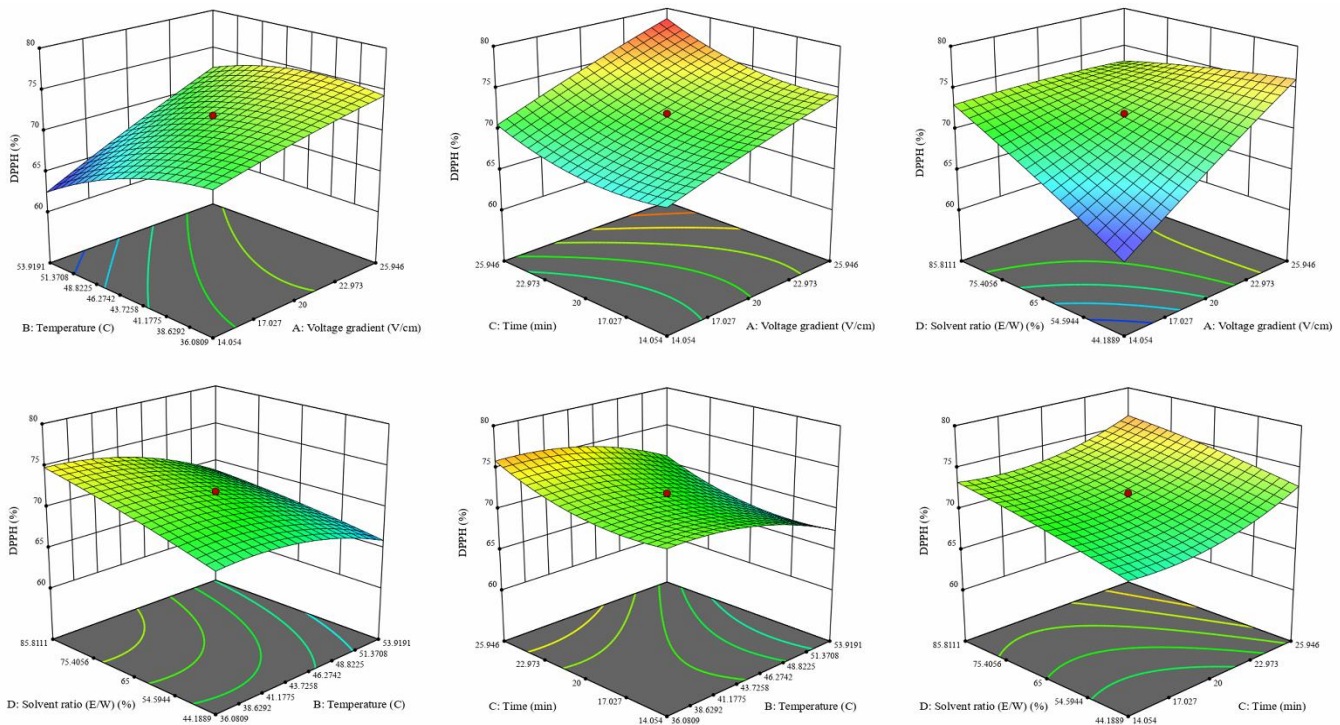


Fig 7 Change in DPPH scavenging activity of radish leaf extract vs. independent variables.

۳-۴- بهینه‌سازی فرایند و مقایسه آن با روش

خیساندن

به‌منظور بدست آوردن تیمار بهینه، بهینه‌سازی عددی با هدف یافتن فرایندی با حداکثر میزان راندمان استخراج عصاره، حداکثر محتوای فنول کل و فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره انجام پذیرفت. نتایج حاصل از بهینه‌سازی، فرایندی با گرادیان ولتاژ برابر ۲۵/۹ ولت بر سانتی‌متر، دمای ۳۷ درجه سلسیوس، زمان فرایند ۲۶ دقیقه و نسبت اتانول به آب ۴۴/۲

درصد را به‌عنوان فرایند بهینه تعیین نمود. نتایج حاصل از پیش‌بینی برای تیمار بهینه با نتایج تجربی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌گردد، تفاوت معنی‌داری بین نتایج پیش‌بینی و تجربی برای تیمار بهینه حرارت‌دهی مقاومتی وجود ندارد ($p > 0.05$) که نشان‌دهنده پیش‌بینی دقیق مدل است. این امر پیشتر با ضریب تبیین بالا، معنی‌داری ($p < 0.05$) مدل درجه دوم و عدم معنی‌داری ($p > 0.05$) خطای عدم برازش پیش‌بینی شده بود.

Table 4 Multi-response numerical prediction results.

	Predicted values	Experimental values
Extraction yield (% w/w)	36.80	37.18±0.59
Total phenolic content (mg GAE/g extract)	132.69	130.95±2.13
DPPH (%)	79.29	80.32±1.21

برابر ۰/۹۹۴۳ و ۰/۹۹۸۶ بود. از مدل سیگموئیدی زمانی که سینتیک استخراج اسانس از الگوی نمایی تبعیت نکند، برای توصیف آن استفاده می‌شود [۲۳]. در مدل سیگموئیدی t_0 معادل زمانی است که میزان پاسخ (راندمان استخراج یا محتوای فنول کل) به ۵۰ درصد خود رسیده است و T_1 نیز برابر شیب ابتدای منحنی (قسمت تیز آن) است و در حقیقت همان ثابت زمان انتشار است. هرچه t_0 کوچکتر و T_1 بزرگتر باشد، نشان‌دهنده سرعت تغییرات بیشتر پاسخ است.

۳-۵- مدل‌سازی سینتیک راندمان استخراج و

محتوای فنول کل

همان‌طور که پیش‌تر گفته شد، مدل‌سازی سینتیک با سه مدل درجه اول، جذب و سیگموئیدی انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که هر سه مدل توانستند تغییرات هر دو پاسخ راندمان استخراج و محتوای فنول کل را با ضریب تبیین بالای ۰/۹۳ مدل‌سازی نمایند (جدول ۵). در این بین مدل سیگموئیدی عملکرد موفق‌تری در مدل‌سازی سینتیک پاسخ‌ها داشت؛ به‌طوری که ضریب تبیین برای برازش منحنی‌های راندمان استخراج و محتوای فنول کل به‌ترتیب

Table 5 Kinetic parameters and statistical values of first-order, adsorption and sigmoid models.

	Extraction yield	Total phenolic content
First-order model		
K_A	0.2011	0.2147
C_{eq}	23.11	114.07
R^2	0.9847	0.9830
MSE	2.8682	45.49
Adsorption model		
b	2.2964	2.1510
C_{eq}	23.11	114.07
R^2	0.9470	0.9348
RMSE	9.7732	169.90
Sigmoid model		
t_0	3.1549	3.9427
T_1	4.3919	5.3743
R^2	0.9943	0.9986
RMSE	1.0750	2.7359

عدم برازش نیز نشان‌دهنده عملکرد صحیح مدل است. نتایج نشان داد که همه اثرات اصلی به‌استثنا دمای فرایند، تمامی اثرات درجه دوم و اثرات متقابل بین زمان فرایند و نسبت اتانول به آب و بین گرادیان ولتاژ و دمای فرایند بر راندمان استخراج عصاره از برگ تربچه معنادار بود ($p < 0.05$). که البته رابطه بین میزان راندمان استخراج با نسبت اتانول به آب معکوس بود. همچنین تاثیر تمامی اثرات اصلی و اثرات متقابل بین گرادیان ولتاژ و دمای فرایند و نیز بین گرادیان ولتاژ و نسبت اتانول به آب بر محتوای فنول کل و فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در نهایت بین اثرات درجه دوم نیز اثر درجه دوم دمای فرایند و نسبت اتانول به آب بر محتوای فنول کل و اثرات درجه دوم دما و زمان فرایند بر فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در هر دو پاسخ محتوای فنول کل و فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH رابطه بین اثر اصلی دما و پاسخ رابطه معکوس بود. نتایج حاصل از بهینه‌سازی، فرایندی با گرادیان ولتاژ برابر ۲۵/۹ ولت بر سانتی‌متر، دمای ۳۷ درجه سلسیوس، زمان فرایند ۲۶ دقیقه و نسبت اتانول به آب ۴۴/۲ درصد را به‌عنوان فرایند بهینه تعیین نمود. از بین مدل‌های سینتیکی درجه اول، جذب و سیگموئیدی، مدل سیگموئیدی عملکرد موفق‌تری در مدل‌سازی سینتیک پاسخ‌ها داشت؛ به‌طوری که ضریب تبیین برای برازش منحنی‌های راندمان استخراج و محتوای فنول کل به ترتیب برابر ۰/۹۹۴۳ و ۰/۹۹۸۶ بود.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل از سمینار کارشناسی مصوب گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه زنجان با عنوان " استخراج ترکیبات زیست فعال به روش اهمیک از برگ تربچه " مورخ ۱۳۹۷/۱۲/۲۰ می‌باشد. از دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان که با فراهم آوردن امکانات تحقیق ما را یاری کردند، سپاسگزاری می‌نمایم.

۶- منابع

[1] Karami, P., M. Zandi, and A. Ganjloo, Evaluation of key parameters during ohmic-assisted hydro-distillation of essential oil from

نمودار داده‌های تجربی راندمان استخراج و محتوای فنول کل نسبت به داده‌های حاصل از پیش‌بینی توسط مدل‌های سینتیکی درجه اول، جذب و سیگموئیدی در شکل ۸ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد، مدل سیگموئیدی توانست دقیق‌تر از سایر مدل‌ها تغییرات راندمان استخراج و محتوای فنول کل را برازش نماید و از این‌رو خروجی آن بسیار نزدیک به داده‌های تجربی است.

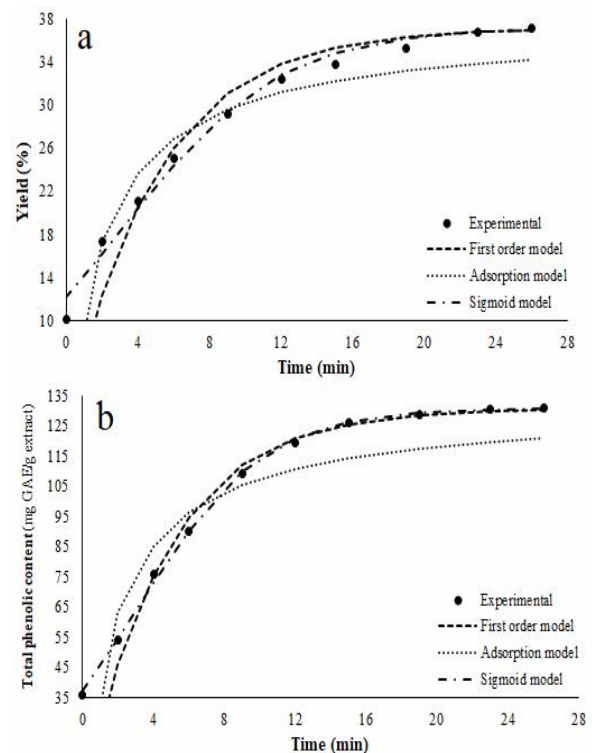


Fig 8 Comparison of the First order, Adsorption and Sigmoid models with the experimental data.

۴- نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر با هدف بهینه‌سازی، تاثیرات گرادیان ولتاژ، دمای فرایند، زمان فرایند و نسبت اتانول به آب در روش حرارت‌دهی مقاومتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مدل درجه دوم توانست با ضریب تبیین بالای ۰/۹۹ تمامی پاسخ‌ها را پیش‌بینی نماید. پایین بودن ضریب تغییرات، معنی‌داری ($p < 0.05$) مدل و عدم معنی‌داری ($p > 0.05$) خطای

- essential oil by ohmic-assisted hydrodistillation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2022. 31: p. 100418.
- [12] Brochier, B., G.D. Mercali, and L.D.F. Marczak, Effect of ohmic heating parameters on peroxidase inactivation, phenolic compounds degradation and color changes of sugarcane juice. *Food and Bioproducts Processing*, 2018. 111: p. 62-71.
- [13] Son, S.-U., et al., Evaluation of antitumor metastasis via immunostimulating activities of pectic polysaccharides isolated from radish leaves. *Journal of Functional Foods*, 2021. 85: p. 104639.
- [14] Zandi, M., et al., Effect of active coating containing radish leaf extract with or without vacuum packaging on the postharvest changes of sweet lemon during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021. 45(3): p. e15252.
- [15] Sung, N.-Y., et al., Increase in anti-oxidant components and reduction of off-flavors on radish leaf extracts by extrusion process. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2016. 45(12): p. 1769-1775.
- [16] Zandi, M., et al., Application of fuzzy logic and neural-fuzzy inference system (ANFIS) for prediction of physicochemical changes and quality classification of coated sweet lemon during storage. 2021.
- [17] Kim, H., Anti-oxidant activity and anti-proliferativity effect of cancer cell using heated radish extract. *J Adv Eng Technol*, 2018. 11: p. 137-144.
- [18] Banihani, S.A., Radish (*Raphanus sativus*) and diabetes. *Nutrients*, 2017. 9(9): p. 1014.
- [19] Rani, A., et al., Enzymatically assisted extraction of antioxidant and anti-mutagenic compounds from radish (*Raphanus sativus*). *Environmental Technology & Innovation*, 2021. 23: p. 101620.
- [20] Kobayashi, W., et al., Metabolism of glutamic acid to alanine, proline, and γ -aminobutyric acid during takuan-zuke processing of radish root. *Journal of Food Science*, 2021. 86(2): p. 563-570.
- [21] Ajami, M.R., A. Ganjloo, and M. Bimakr, Continuous fast microwave-assisted extraction of radish leaves polysaccharides: optimization, preliminary characterization, biological, and aerial part of yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2022. 31: p. 100425.
- [2] Takó, M., et al., Plant phenolics and phenolic-enriched extracts as antimicrobial agents against food-contaminating microorganisms. *Antioxidants*, 2020. 9(2): p. 165.
- [3] Manzoor, M.F., et al., Novel extraction techniques and pharmaceutical activities of luteolin and its derivatives. *Journal of Food Biochemistry*, 2019. 43(9): p. e12974.
- [4] Efenberger-Szmechtyk, M., A. Nowak, and A. Cyzowska, Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2021. 61(1): p. 149-178.
- [5] Boukhatem, M.N. and W.N. Setzer, Aromatic herbs, medicinal plant-derived essential oils, and phytochemical extracts as potential therapies for coronaviruses: future perspectives. *Plants*, 2020. 9(6): p. 800.
- [6] Vinatoru, M., T. Mason, and I. Calinescu, Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2017. 97: p. 159-178.
- [7] Gavahian, M., et al., Ohmic heating as a promising technique for extraction of herbal essential oils: Understanding mechanisms, recent findings, and associated challenges. *Advances in food and nutrition research*, 2020. 91: p. 227-273.
- [8] Gavahian, M. and A. Farahnaky, Ohmic-assisted hydrodistillation technology: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 2018. 72: p. 153-161.
- [9] Asl, R.M.Z., et al., Study of two-stage ohmic hydro-extraction of essential oil from *Artemisia aucheri* Boiss.: Antioxidant and antimicrobial characteristics. *Food Research International*, 2018. 107: p. 462-469.
- [10] Tunç, M.T. and I. Koca, Ohmic heating assisted hydrodistillation of clove essential oil. *Industrial Crops and Products*, 2019. 141: p. 111763.
- [11] Jafari, R., M. Zandi, and A. Ganjloo, Effect of ultrasound and microwave pretreatments on extraction of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed

- Biochemical Engineering Journal, 2009. 44(2-3): p. 226-231.
- [26] Stanković, M.Z., et al., The effect of hydrodistillation technique on the yield and composition of essential oil from the seed of *Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. ex. AW Hill. *Hemijaska industrija*, 2004. 58(9): p. 409-412.
- [27] Goyeneche, R., et al., Supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from radish leaves: Yield, antioxidant capacity and cytotoxicity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2018. 135: p. 78-83.
- [28] Sharifi, N., S. Mahernia, and M. Amanlou, Comparison of different methods in quercetin extraction from leaves of *Raphanus sativus* L. *Pharmaceutical Sciences*, 2016. 23(1): p. 59-65.
- [29] Khan, R.S., S.S. Khan, and R. Siddique, Radish (*Raphanus Sativus*): Potential antioxidant role of bioactive compounds extracted from radish leaves-Areview. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, 2022. 16(09): p. 2-2.
- techno-functional properties. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2022: p. 1-14.
- [22] Ganjloo, A., M. Bimakr, and M. Ghorbani, Study the effect of different drying methods and solvent type on kinetics of phenolic compounds extraction from green pea pod and evaluation of its antiradical activity. *Journal of Food Research*, 2019. 29(2): p. 29-45.
- [23] Karami, P., M. Zandi, and A. Ganjloo, Mathematical, fuzzy logic and artificial neural network modeling of extraction kinetics of essential oil from aerial parts of yarrow (*Achillea millefolium* L.) using ohmic-assisted hydrodistillation. *Journal of food science and technology (Iran)*, 2022. 19(123): p. 341-354.
- [24] Zandi, M., A. Ganjloo, and M. Bimakr, Kinetic modeling and optimization of musk willow (*Salix aegyptiaca* L.) essential oil extraction process of using ultrasound assisted hydrodistillation. *Journal of food science and technology (Iran)*, 2022. 18(121): p. 93-106.
- [25] Babu, G.D.K. and B. Singh, Simulation of *Eucalyptus cinerea* oil distillation: A study on optimization of 1, 8-cineole production.



Scientific Research

Ohmic heating extraction of radish (*Raphanus sativus* L.) leaf phenolic extract: Numerical optimization and kinetic modeling

Zandi, M. ^{1*}, Ganjloo, A. ¹, Bimakr, M. ¹, Nasiri, M. ²

1. Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2. Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

ABSTRACT

This research aimed to model the kinetic of ohmic heating extraction method of radish (*Raphanus sativus* L.) leaf extract in order to understand and optimize the extraction process. The effect of extraction parameters on extraction yield, total phenol content and DPPH scavenging activity was discussed, at a gradient voltage of 10-30 V/cm, temperature of 30-60°C, solvent ration (Ethanol to water) of 30-100% and extraction time of 10-30 min. Different empirical models such as first order, adsorption and sigmoid models presented to predict the kinetics of mass transfer without taking into account the underlying phenomena. Results indicated that the effect of gradient voltage, extraction time and solvent ratio (ethanol to water) on the extraction yield, total phenolic content and DPPH scavenging activity were significant ($p < 0.05$). Although increasing extraction temperature significantly resulted in a lower total phenolic content and DPPH scavenging activity of extract ($p < 0.05$), however, this parameter no significant effect the extraction yield ($p > 0.05$). Under optimum conditions, the experimental extraction yield and total phenol content were close to the predicted values calculated from the quadratic response surface model. Based on kinetics modeling that has been done, it can be said that the sigmoid kinetic model more can represent well the experimental results of radish leaf extract by the ohmic heating method when compared with the first-order and adsorption kinetic models.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2023/ 02/ 21
Accepted 2023/ 04/ 25

Keywords:

Ohmic heating,
Radish leaf extract,
Total phenolic content,
Extraction yield,
Kinetics modelling.

DOI: 10.22034/FSCT.19.135.141
DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.135.12.8

*Corresponding Author E-Mail:
Zandi@znu.ac.ir