



## بهینه‌سازی فرآیند استخراج فراصوت رنگزای طبیعی میوه ولیک

سولماز اسحق‌لو گلوگاهی<sup>۱</sup>، سیامک صفاپور<sup>۲\*</sup>، موسی صادقی‌کیاخانی<sup>۳</sup>، سیده‌هادی سیدسعادت<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده فرش، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تبریز، ایران، صندوق پستی: ۵۱۳۸۵-۴۵۶۷

۲- استادیار، دانشکده فرش، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تبریز، ایران، صندوق پستی: ۵۱۳۸۵-۴۵۶۷

۳- استادیار، گروه پژوهشی مواد رنگزای آلی، موسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ و پوشش، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۶۷۶۵-۶۵۴

۴- مربی، دانشکده فرش، دانشگاه هنر اسلامی تبریز، تبریز، ایران، صندوق پستی: ۵۱۳۸۵-۴۵۶۷

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۱۰ در دسترس به صورت الکترونیکی از: ۱۳۹۴/۱۲/۲۰

### چکیده

در این مطالعه، مواد رنگزای طبیعی میوه سیاه ولیک با استفاده از انرژی فراصوت استخراج شد. تاثیر عوامل موثر بر استخراج نظیر نوع حلال، زمان، دما، pH و غلظت ماده خام رنگزا بر بازده استخراج به روش یک فاکتوره بهینه‌سازی شد و شرایط بهینه با مقدار رنگزا ۱۰ گرم بر لیتر، نسبت حلال اتانل:آب ۴:۱، دمای ۵۰ °C، زمان ۳۰ دقیقه و pH ۴ به دست آمد. همچنین، مقایسه نتایج استخراج به روش متداول و فراصوت نشان داد که با استفاده از روش فراصوت، زمان و دمای فرآیند استخراج کاهش یافته و مقدار رنگزای استخراج شده افزایش می‌یابد. واژه‌های کلیدی: استخراج، رنگزای طبیعی، میوه ولیک، فراصوت، خصوصیات طیفی.

## Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction Process of Hawthorn Fruit Natural Dye

S. Eshaghloo-Galougahi<sup>1</sup>, S. Safapour<sup>\*1</sup>, M. Sadeghi-Kiakhani<sup>3</sup>, S. H. Seyed-Saadati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Carpet Faculty, Tabriz Islamic Art University, P.O. BOX: 51385-4567, Tabriz, Iran

<sup>2</sup> Department of Organic Colorants, Institute of Color Science and Technology, P.O. Box: 16656118481, Tehran, Iran

Received: 04-06-2015 Accepted: 01-09-2015 Available online: 10-03-2016

### Abstract

In this study, natural colorants of hawthorn fruit, *Crataegus elbursensis* were extracted using ultrasonic energy. The effect of extraction variables such as solvent type, time, temperature, pH, and crude dye concentration was optimized through one-factor at a time method. Optimum extraction conditions of dye concentration 10 g/L, ethanol/water ratio of 4/1 V/V, temperature 50 °C, time 30 minutes, and pH 4 were obtained. Moreover, comparison of extraction data obtained by two conventional and ultrasonic extraction methods demonstrated that using ultrasound, extraction time and temperature were reduced and the amount of natural dye extracted was enhanced. *J. Color Sci. Tech.* 9(2016), 313-320©. Institute for Color Science and Technology.

**Keywords:** Extraction, Natural dye, Hawthorn, *Crataegus elbursensis* fruit, Ultrasonic, Spectral characteristics.

\*Corresponding author: s.safapour@tabriziau.ac.ir

این مقاله مستخرج پایان نامه کارشناسی ارشد فرش (مواد اولیه و رنگرزی) می باشد.

## ۱- مقدمه

و فنلی<sup>۵</sup>، ترپن‌ها<sup>۶</sup>، روغن‌ها<sup>۷</sup>، فنیل پروپانویدها<sup>۸</sup> شامل هیدروکسی سینامیک اسیدها<sup>۹</sup>، لیگنان‌ها<sup>۱۰</sup> و فلاونوئیدها<sup>۱۱</sup> هستند [۷]. تنوع و مقدار فلاونوئیدها به عوامل مختلف نظیر ژنتیک، شرایط اقلیمی و بخشی از گیاه که فلاونوئید در آن تشکیل می‌شود، بستگی دارد. فلاونوئیدها باعث ایجاد رنگ در گیاه ولیک می‌شوند. برخی از مشتقات مهم فلاونوئید شناخته شده در گونه‌های مختلف ولیک لوتولین<sup>۱۲</sup>، آپیجین<sup>۱۳</sup>، کوئرستین<sup>۱۴</sup>، ایزوکوئرستین، اورینتین<sup>۱۵</sup>، ایزواورینتین<sup>۱۶</sup>، کاتچین<sup>۱۷</sup>، اپی کاتچین<sup>۱۸</sup> و پروانثوسیانین‌ها<sup>۱۹</sup> هستند که علاوه بر ایجاد رنگ، باعث ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت زیستی و غیره نیز هستند [۷].

یکی از مهم‌ترین مراحل به دست آوردن ترکیبات با اهمیت موجود در گیاهان، استخراج می‌باشد. اکثر ترکیبات رنگی موجود در گیاهان به طور سنتی، به روش جوشاندن استخراج می‌شوند که این روش بسیار زمان‌بر بوده و انرژی زیادی نیاز دارد و استخراج ماده رنگزا از بین دیواره‌های سلولی و ترکیبات مختلف موجود در گیاه غالباً مشکل می‌باشد [۱۳، ۱۲]. از این رو، در حال حاضر بررسی‌های گسترده‌ای در سراسر جهان بر روی روش‌های مختلف استخراج مواد رنگزای موجود در گیاهان در حال انجام است، که این روش‌ها برای غلبه بر مشکلات ذکر شده به صورت روزافزون در حال توسعه هستند [۱۵، ۱۴، ۱۲]. امروزه محققین از روش‌های مختلفی همچون سیال فوق‌بحرانی، آب فوق‌گرم تحت فشار، فراصوت<sup>۲۰</sup> و مایکروویو برای استخراج مواد رنگزای موجود در گیاهان استفاده می‌کنند [۱۶]. استفاده از روش فراصوت برای استخراج مواد رنگزا، از جمله روش‌های جدید و دوست‌دار محیط زیست می‌باشد که با توجه به مرتبط بودن آن با کار انجام شده در این پژوهش، به تشریح آن پرداخته می‌شود.

تاکنون، از روش فراصوت در فرآیندهایی نظیر تمیز کردن، همگن‌سازی، صاف کردن، استخراج و گاززدایی استفاده شده است [۱۷]. این روش در مقایسه با روش‌های دیگر ارزان‌تر و ساده‌تر بوده و هزینه‌های فرآیند استخراج کمتر می‌باشد [۱۹، ۱۸]. قدرت فراصوت

به طور کلی مواد رنگزای طبیعی از منابع طبیعی مثل گیاهان، حشرات، حیوانات، مواد معدنی، باکتری‌ها و قارچ‌ها تهیه می‌شوند. قدمت استفاده از رنگزاهای طبیعی توسط انسان به عصر سنگ برمی‌گردد، به طوری که ارزش این رنگزاهای در دوران باستان به اندازه طلا بود [۳-۱]. با کشف رنگزاهای مصنوعی در سال ۱۸۵۶، به دلیل ثبات بهتر رنگزاهای مصنوعی، بازده بالاتر آنها از لحاظ کیفی و کمی، تولید مواد اولیه ارزان‌تر و هزینه بالای تولید رنگزاهای طبیعی، استفاده از رنگزاهای طبیعی کمتر شد [۴، ۳]. در ساخت رنگزاهای مصنوعی از ترکیب‌های متنوعی استفاده می‌شود و بسیاری از آنها مدت زمان بسیار زیادی طول می‌کشد تا در طبیعت تخریب شوند [۵]، بنابراین با گذشت زمان به عنوان منابع وسیع آلاینده‌ی محیط زیست شناخته شدند و امروزه مشخص شده است، استفاده بیش از حد آنها سلامتی انسان را به خطر انداخته و تعادل زیستی طبیعت را بر هم می‌زند. از این رو در چند سال گذشته استفاده از رنگزاهای طبیعی، بدون حساسیت و دوست‌دار محیط‌زیست، توجه زیادی را در سراسر جهان به خود جلب کرده است [۶].

ولیک<sup>۱</sup> گیاه دارویی با ارزش از خانواده گل سرخیان، دسته کرانگوس<sup>۲</sup> و از گونه‌های مختلف زالزالک است. غالب گونه‌های گل سرخیان در نواحی معتدل نیمکره شمالی پراکنده‌اند [۷]. میوه ولیک بر دو نوع سرخ ولیک و سیاه ولیک است. سیاه ولیک<sup>۳</sup> فراوان‌ترین گونه ولیک بومی ایران بوده که به وفور در جنگل‌های نواحی شمال کشور یافت می‌شود. میوه‌های ولیک کروی شکل، با هسته و به رنگ سیاه بوده و طول تقریبی آن‌ها ۸ تا ۱۰ میلی‌متر می‌باشد [۸]. استفاده از این گیاه به عنوان داروی سنتی، به مدت‌ها قبل برمی‌گردد. ولیک در صنایع داروسازی به صورت کپسول مایع یا جامد عرضه می‌شود. این گیاه منبع غنی آنتی‌اکسیدان مختلف طبیعی به ویژه فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها است. این ترکیبات زیست‌فعال اثرات مختلف دارویی و درمانی شامل حفاظت قلبی عروقی، بهبود خون‌رسانی به ماهیچه قلب، افزایش جریان خون، کاهش‌دهنده فشار خون و کلسترول، آنتی‌اکسیدان و مهارکننده رادیکال‌های آزاد، ضدویروس، ضدالتهاب، جلوگیری‌کننده و رفع‌کننده ناراحتی‌های گوارش، جلوگیری‌کننده از اختلالات عصبی است و همچنین دارای اثرات ضد میکروبی در برابر باکتری‌های مختلف است [۱۱-۸].

نتایج مطالعات نشان‌دهنده وجود مواد طبیعی متنوع در قسمت‌های مختلف برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌های ولیک می‌باشد که برخی از عمده‌ترین این مواد، قندها و الکل‌های قندی<sup>۴</sup>، اسیدهای آلی

- 1- Hawthorn
- 2- Crataegus
- 3- Crataegus elbursensis
- 4- Sugars and sugar alcohols

- 5- Organic and phenolic acids
- 6- Terpenes
- 7- Essential oils
- 8- Phenylpropanoids
- 9- Hydroxycinnamic acids
- 10- Lignans
- 11- Flavonoids
- 12- Luteolin
- 13- Apigenin
- 14- Quercetin
- 15- Orientin
- 16- Iso-orientin
- 17- Catechin
- 18- Epicatechin
- 19- Proanthocyanidins
- 20- Ultrasonic

حلال‌ها استخراج می‌شوند، مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۳]. برای انجام فرآیند استخراج، دو روش متداول و فراصوت مورد بررسی قرار گرفت. غلظت رنگزا (نسبت ماده خام رنگزای طبیعی به حجم حلال)، pH محلول، دما و زمان استخراج، مهم‌ترین عوامل موثر بر بازده استخراج هستند [۳]. همچنین عواملی مانند نوع حلال، فرکانس و قدرت فراصوت بر روی استخراج به روش فراصوت نیز تاثیرگذارند [۲۴]. بنابراین در این تحقیق، تاثیر عواملی مانند غلظت رنگزا، دما، زمان، pH و نوع حلال بر روی بازده استخراج ماده رنگزا از میوه سیاه ولیک بررسی شدند.

### ۲-۲-۱- روش متداول

برای انجام استخراج به روش متداول، مقدار ۰٫۱ گرم از پودر رنگزای خشک‌شده به ۵۰ میلی‌لیتر حلال اضافه شده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ °C قرار گرفت. حلال مورد استفاده در این آزمایش آب در نظر گرفته شد. پس از کامل‌شدن فرآیند استخراج، محلول حاصل توسط کاغذ صافی، صاف‌شده و خصوصیات طیفی حاصل از آن بررسی شد.

### ۲-۲-۲- روش فراصوت

از آنجا که بازده استخراج به روش فراصوت معمولاً بیشتر از روش متداول می‌باشد، لذا به منظور بهینه‌سازی روش استخراج رنگزای ولیک از روش فراصوت استفاده شد. بدین منظور، در این روش، ابتدا حلال مناسب مورد بررسی قرار گرفت. پژوهش‌ها نشان داده که حلال‌هایی مانند آب، اتانل و یا متانل برای استخراج ترکیبات گلیکوزیدی بسیار موثر بوده و باعث افزایش بازده استخراج می‌شوند [۲۵]. به این منظور، حلال‌های اتانل، متانل، آب و استن مورد بررسی قرار گرفتند. مقادیر عوامل موثر بر فرآیند استخراج مواد رنگزای موجود در میوه ولیک مطابق با جدول ۱ انتخاب شدند و فرآیند استخراج صورت گرفت. درنهایت، به منظور دستیابی به شرایط بهینه، محلول‌ها توسط کاغذ صافی صاف‌شده و خصوصیات طیفی رنگزا در شرایط مختلف با استفاده از دستگاه طیف‌سنج جذبی اندازه‌گیری شد.

جدول ۱: مقادیر عوامل موثر بر فرآیند استخراج.

pH	زمان	دما	غلظت (گرم بر لیتر)	نسبت حلال اتانل: آب
۴	۱۵	۳۰	۶	۱:۴
۷	۳۰	۵۰	۱۰	۱:۱
۹	۴۵	۷۰	۱۴	۴:۱

به طور گسترده در محدوده فرکانسی بین ۱۰۰-۲۰ کیلوهرتز و محدوده تشخیصی<sup>۱</sup> ۱-۱۰ مگاهرتز طبقه‌بندی می‌شود. هنگامی که یک مایع به وسیله فراصوت تحت تابش قرار می‌گیرد، حفره‌هایی در محیط به وجود می‌آید که همان انفجارهای میکروسکوپی هستند. وقوع این انفجارها در نزدیکی سطح جامد باعث ایجاد امواج می‌شود. این انفجارها در هر لحظه دمای بالایی حدود ۱۰۰۰ °C و فشار بالایی در حدود ۱۰۰ اتمسفر ایجاد می‌کنند و در نتیجه باعث فروپاشی دیواره سلولی، ایجاد تورم در سلول گیاهی و بهبود آزادسازی ترکیبات رنگی و حمل مواد رنگی از گیاه به داخل محلول می‌شوند [۲۰، ۲۱].

بررسی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که تاکنون بهینه‌کردن فرآیند استخراج مواد رنگزای موجود در میوه ولیک به روش فراصوت صورت نگرفته است، لذا در این تحقیق، شرایط استخراج مواد رنگزای موجود در ولیک بهینه‌سازی می‌شود. همچنین، تاثیر عوامل موثر بر فرآیند استخراج مواد رنگزا مانند حلال‌های مختلف، زمان، دما، pH و غلظت ماده رنگزا بررسی می‌شود. به علاوه، خصوصیات طیفی رنگزاهای استخراج شده به روش طیف‌سنجی جذبی مورد بررسی قرار می‌گیرد و شرایط بهینه تعیین می‌گردد.

### ۲- بخش تجربی

#### ۲-۱- مواد

میوه‌های درخت سیاه ولیک در فصل پاییز از جنگل‌های شمال ایران جمع‌آوری شدند. به منظور سهولت در استفاده و در دسترس بودن این میوه در هر فصلی از سال و تهیه پودر از میوه تازه با اندازه یکسان، این میوه در آون حرارتی، در دمای ۵۰ °C قرار داده شده و به مدت زمان ۲۴ ساعت خشک شد. اندازه ذرات یکی از عوامل مهم برای استخراج مواد رنگزاست [۲۲]، به همین جهت، میوه پس از خشک‌شدن، آسیاب شده و به ذرات ریز تبدیل شد و از الک با اندازه ۸۴۱ میکرون گذرانده شد. برای بررسی طیف‌های محلول تهیه شده، از دستگاه طیف‌سنج جذبی CECIL 9200 دو پرتوی استفاده شد. همچنین برای انجام فرآیند استخراج، دستگاه فراصوت (Sonorex, 35 KHz) مورد استفاده قرار گرفت.

#### ۲-۲- روش کار

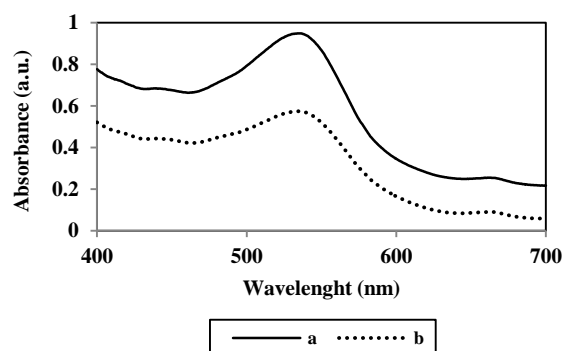
استخراج مواد رنگزای موجود در میوه ولیک به وسیله روش استخراج با حلال مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. این روش استخراج برای رنگزاهایی که حاوی فلاونوئید، آنتراکینون و آگلیکون هستند و قابلیت حل شدن کمی در آب را دارند و به طور کامل در حضور

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- استخراج به روش متداول

در روش متداول، منابع گیاهی خرد شده و در حلال به مدت چندین ساعت جوشانده می‌شوند و به مرور زمان ترکیبات از گیاه خارج می‌شود. این روش استخراج می‌تواند در شرایط مختلف اسیدی، بازی و خنثی و یا در زمان و دماهای متفاوت به منظور فروپاشی کامل غشای سلولی و انتقال ترکیبات گیاهی به داخل محلول انجام گیرد. بنابراین استخراج به روش متداول در شرایط مختلف ممکن است تاثیرات مختلفی بر خواص فیزیکی ماده رنگزا داشته باشد [۲۶، ۲۷]. در استخراج به روش متداول به دلیل مقاومت مواد موجود در گیاه در مقابل خروج آنها از منابع گیاهی، وجود تعداد بیشتر از یک فاز در سیستم استخراج، استفاده زیاد از حلال‌ها، صرف انرژی بالا و زمان زیاد امری ضروری می‌باشد. نتایج مطالعات نشان داده است که استخراج به روش متداول را می‌توان با روش‌های مدرن مانند فراصوت جایگزین نمود [۲۸-۳۰]. بنابراین، در ادامه آزمایش‌ها عوامل تاثیرگذار بر روی فرآیند استخراج با روش فراصوت بهینه شدند.

به منظور مقایسه بین روش‌های متداول و فراصوت، استخراج مواد رنگزای موجود در میوه ولیک به روش متداول در pH برابر ۴، دمای ۱۰۰ °C و به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد. همچنین استخراج به روش فراصوت در شرایط pH برابر ۴، زمان ۳۰ دقیقه و دمای ۷۰ °C انجام گرفت که نتایج در شکل ۱ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که استفاده از روش فراصوت بازده استخراج بالاتری در مقایسه با روش متداول دارد. بازده بالاتر استخراج فراصوت نسبت به روش متداول می‌تواند به دلیل ایجاد حفره و حباب‌های کوچک در محلول توسط فراصوت و افزایش موضعی و لحظه‌ای حرارت و فشار باشد که نقش مهمی را در فرآیند استخراج ایفا می‌کنند، به طوری که نفوذ حلال به داخل بافت‌های گیاهی را آسان‌تر کرده، خروج ترکیبات از گیاه به داخل محلول را سرعت بخشیده و زمان استخراج را کاهش می‌دهد [۲۲، ۳۱].



شکل ۱: طیف جذبی مرئی استخراج ماده رنگزای میوه سیاه ولیک به روش فراصوت (a) و روش متداول (b). (غلظت رنگزا ۲ گرم بر لیتر، حلال آب) دما و زمان استخراج فراصوت: دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۰ دقیقه، دما و زمان استخراج متداول: دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۴۵ دقیقه.

## ۳-۲- استخراج به روش فراصوت

## ۳-۲-۱- اثر حلال

از جمله عوامل تاثیرگذار بر فرآیند استخراج با فراصوت قطبیت حلال و دیگری حجم حلال مصرفی است. تاثیرگذاری این عوامل به اندازه انتخاب روش مناسب برای استخراج، مهم است [۲۸، ۳۲]. در جدول ۲، بیشینه طول موج جذب ( $\lambda_{max}$ ) این رنگزا در حلال‌های مختلف نشان داده شده است. جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار  $\lambda_{max}$  رنگزا در محیط الکلی در مقایسه با آب و استن بیشتر است و حلال‌های الکلی موثرتر از سایر حلال‌ها برای استخراج این ترکیب هستند که آن را می‌توان به حلالت بیشتر ترکیبات متعدد فنلی موجود در رنگزا مثل روتین، کوئرستین و غیره در این حلال‌ها نسبت داد [۲۸، ۳۲]. این گونه می‌توان تشریح نمود که آب و استن قادرند ترکیبات فلاونوئیدی (معمولاً زرد رنگ) موجود در رنگزا را استخراج نمایند، درحالی که حلال‌های الکلی می‌توانند علاوه بر ترکیبات فلاونوئیدی، ترکیب‌های آنتوسیانین (معمولاً قرمز رنگ) موجود در رنگزا را نیز وارد حمام استخراج نمایند.

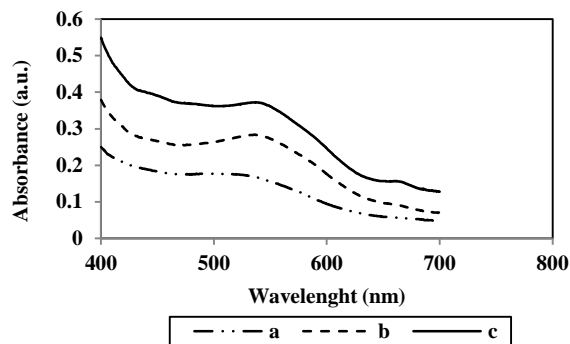
جدول ۲: مقدار  $\lambda_{max}$  ماده رنگزای میوه سیاه ولیک در حلال‌های مختلف.

حلال	اتانل	متانل	آب	استن
$\lambda_{max}$	۵۳۶	۵۳۴	۴۹۷	۴۳۱

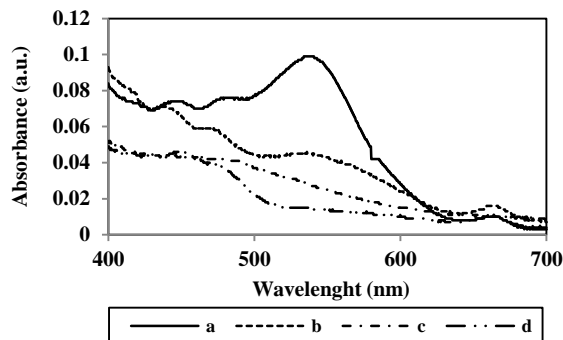
از بین چهار حلال مختلف آب، اتانل، متانل و استن، نمونه استخراج شده با اتانل مقدار جذب بالاتری داشت (شکل ۲). اتانل برای استخراج تانن‌ها، پلی فنول‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و غیره حلالی مناسبی است [۲۱، ۳۲]. با توجه به وجود ترکیبات فلاونوئیدی، آنتوسیانیدینی و فنولی در رنگزای ولیک و قطبی بودن آنها، اتانل حلال مناسبی برای استخراج مواد رنگی موثر در آن است. استفاده از این حلال به دلیل غیرسمی بودن برای محیط‌زیست و سالم بودن و همچنین قابلیت بازیابی و بازیافت آن برای مصرف دوباره، به طور گسترده‌ای افزایش یافته است [۳۳-۳۵]. نتایج به خوبی نشان می‌دهد که حلال مناسب برای استخراج مواد رنگزای موجود در میوه ولیک اتانل می‌باشد.

## ۳-۲-۲- اثر نسبت حلال‌ها

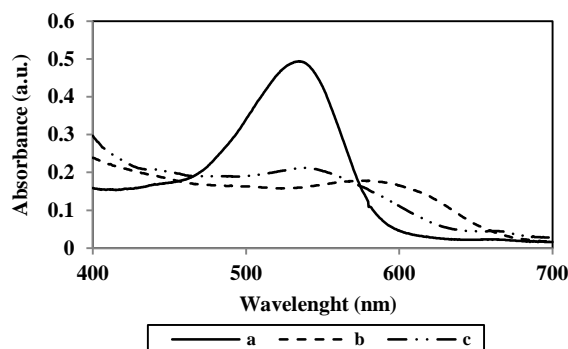
گاهی ترکیب حلال‌ها اثرات بهتری بر روی استخراج ترکیبات فعال موجود در گیاهان دارد. آب یکی از حلال‌های مناسب برای این منظور است [۳۲]. آب ماده‌ای غیرقابل اشتعال، غیرسمی، در دسترس، ارزان و حلالی سازگار با محیط‌زیست است و در ترکیب با هر حلال دیگری در فرآیندهای استخراج کاربرد دارد [۳۶، ۳۷]. ترکیب آب و اتانل به عنوان حلال در شرایط اسیدی در استخراج چندین ترکیب پلی فنولی استفاده شده و بازده بالایی در استخراج ترکیبات آنها به دست آمده است.



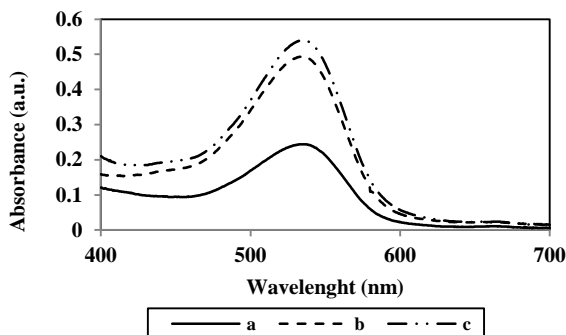
شکل ۳: مقایسه نسبت حلال آب و اتانل برای استخراج ماده رنگزای میوه سیاه ولیک؛ (a) ۴۰ میلی‌لیتر آب و ۱۰ میلی‌لیتر اتانل؛ (b) ۲۵ میلی‌لیتر آب و ۲۵ میلی‌لیتر اتانل؛ (c) ۴۰ میلی‌لیتر اتانل و ۱۰ میلی‌لیتر آب. دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۰ دقیقه، غلظت رنگزا ۲ گرم بر لیتر.



شکل ۴: طیف جذبی مرئی ماده رنگزای میوه سیاه ولیک با حلال‌های (a) اتانل، (b) متانل، (c) آب، (d) استن؛ غلظت رنگزا ۲ گرم بر لیتر، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۰ دقیقه.



شکل ۴: مقایسه تاثیر pH های مختلف بر بازده استخراج ماده رنگزای میوه سیاه ولیک؛ (a) اسیدی (pH ۴)، (b) خنثی (pH ۷)، (c) قلیایی (pH ۹)؛ (حلال: ۴:۱ آب:اتانل؛ غلظت رنگزا: ۲ گرم بر لیتر؛ دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳۰ دقیقه).



شکل ۵: بررسی اثر دما بر روی مقدار استخراج ماده رنگزای میوه سیاه ولیک؛ (a) ۳۰ درجه سانتی‌گراد، (b) ۵۰ درجه سانتی‌گراد، (c) ۷۰ درجه سانتی‌گراد؛ (حلال: ۴:۱ آب:اتانل؛ غلظت رنگزا: ۲ گرم بر لیتر؛ pH ۴؛ زمان ۳۰ دقیقه).

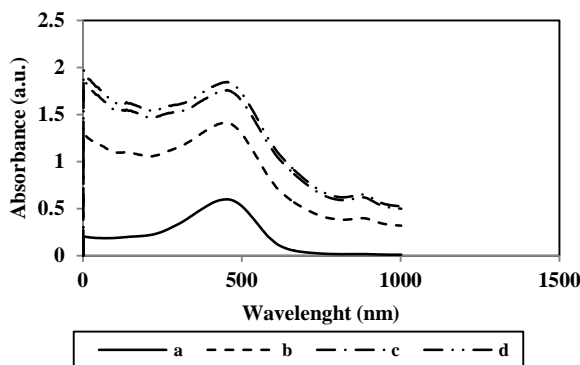
همچنین گزارش شده است که ترکیبات فلاونوئیدی در حلال آب و اتانل بهتر استخراج می‌شوند [۳۳، ۳۸، ۳۹]. با توجه به حلالیت ترکیبات این میوه در آب، اتانل با نسبت های مختلف آب مقطر ترکیب شد و نسبت مناسب حلال بررسی و تعیین شد (شکل ۳). نتایج نشان داد که نسبت ۴:۱ آب:اتانل مناسب‌ترین نسبت حلال برای انجام فرآیند استخراج می‌باشد.

### ۳-۲-۳ اثر pH

pH محلول، یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار بر فرآیند استخراج است. تغییر pH می‌تواند باعث تغییر حلالیت ترکیبات رنگی موجود در رنگزاهای طبیعی شود [۴۰]. در برخی موارد نیز تغییر pH از تخریب رنگزا در طول فرآیند استخراج بر اثر حرارت در زمان‌های طولانی جلوگیری می‌کند [۴۱]. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است از بین سه pH مختلف اسیدی (pH ۴)، خنثی (pH ۷) و بازی (pH ۹)، این رنگزا در pH اسیدی مقدار جذب رنگ بالاتری دارد که  $\lambda_{max}$  آن در ۵۳۵ نانومتر می‌باشد. به نظر می‌رسد، اسید از تخریب و تغییر در ساختار رنگزا در فرآیند استخراج جلوگیری کرده و همچنین می‌تواند آبکافت گلیکوزیدها و آزادسازی مواد رنگی به محلول استخراج را بهبود دهد [۳۸]. بنابراین می‌توان pH ۴ را به عنوان pH بهینه برای فرآیند استخراج رنگزا در نظر گرفت.

### ۳-۲-۴ اثر دما

دما نیز به طور قابل توجهی فرآیند استخراج را تحت تاثیر قرار می‌دهد و انرژی فعال‌سازی را افزایش می‌دهد [۴۲]. همان‌طوری که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش دما از ۳۰ به ۵۰ °C مقدار جذب به طور چشمگیری افزایش یافته و انحلال‌پذیری رنگزا بهبود یافته است. اما با افزایش دما تا ۷۰ °C تغییر چندانی در مقدار جذب مشاهده نمی‌شود [۴۳].



شکل ۷: بررسی اثر غلظت رنگزا بر فرآیند استخراج ماده رنگزای میوه سیاه ولیک؛ (a) ۲ گرم بر لیتر، (b) ۶ گرم بر لیتر، (c) ۱۰ گرم بر لیتر، (d) ۱۴ گرم بر لیتر؛ (حلال: ۱:۴ آب:اتانل؛ pH ۴؛ دما: ۵۰ °C، زمان: ۳۰ دقیقه).

نتایج شکل ۷ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت رنگزا، مقدار رنگزای استخراج شده نیز افزایش یافته است. به طور کلی با افزایش مقدار رنگزا، حلال وارد مقدار زیادتری از بافت‌های گیاهی می‌شود و رنگزاهای بیشتری را به داخل حلال می‌کشاند و در نتیجه حجم بالاتری از رنگ خارج می‌شود [۴۱]. نتایج نشان می‌دهد که غلظت ۱۰ گرم بر لیتر از ماده رنگزا بهترین غلظت برای استخراج رنگزا می‌باشد.

#### ۴- نتیجه‌گیری

استخراج مواد رنگزای موجود در میوه سیاه ولیک بومی ایران در شرایط مختلف انجام شد و شرایط بهینه استخراج تعیین شد. نتایج نشان داد که استخراج با روش فراصوت در مقایسه با روش متداول، نه تنها در دما و زمان کمتر قابل انجام است، بلکه باعث افزایش بازده استخراج (مقدار رنگزای طبیعی استخراج شده) نیز می‌شود. همچنین شرایط بهینه استخراج به روش فراصوت با  $pH = 4$ ، نسبت ۴:۱ آب: اتانل، دمای ۵۰ °C و زمان ۳۰ دقیقه به دست آمد. در این شرایط بیشترین مقدار جذب که نشان‌دهنده بیشترین غلظت رنگزای طبیعی می‌باشد، حاصل شد. کاهش دما و زمان با استفاده از روش استخراج فراصوت در مقایسه با روش متداول باعث کاهش مصرف انرژی و صرف هزینه‌های پایین تر شده و همچنین بازده استخراج را بالاتر می‌برد. این نکته قابل ذکر است که با توجه به فراوانی و وسعت مناطق تحت پوشش درختچه‌های ولیک در شمال ایران و همچنین هدر رفتن هر ساله مقادیر زیادی از این میوه، رنگزای بدست آمده از این میوه ظرفیت استفاده در صنایع مختلف دارویی، غذایی و نساجی و رنگرزی را دارد.

#### تشکر و قدردانی

از تمامی حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه هنر اسلامی تبریز و موسسه پژوهشی علوم و فناوری رنگ و پوشش در طول انجام این پروژه صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

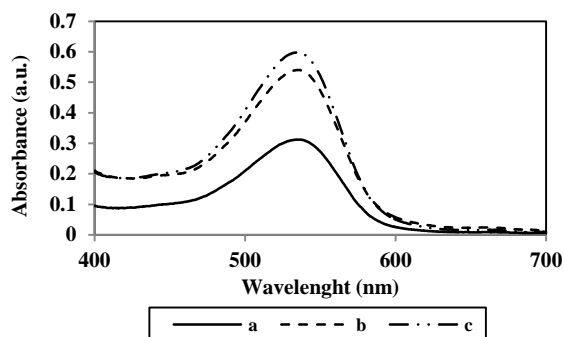
نتایج برخی از مطالعات نشان داده است که افزایش بیش از حد دما ممکن است باعث کاهش استخراج و نامحلول شدن رنگزا در حلال و همچنین تخریب رنگزاها شود [۴۳]. درصد استخراج رنگزاهای قطبی مانند فلاونوئیدها و تانن‌ها تنها به دما وابسته نیستند و میزان حل شدن آنها در محلول به عوامل دیگری جز دما نیز بستگی دارند [۴۴، ۴۵]. بنابراین می‌توان دمای ۵۰ °C را به عنوان دمای بهینه فرآیند استخراج در نظر گرفت.

#### ۳-۲-۵- اثر زمان

زمان نیز تاثیر به سزایی در بازده فرآیند استخراج دارد. افزایش زمان باعث برهم‌کنش بیشتر ماده رنگزا با حلال و در نتیجه افزایش نفوذ ترکیبات رنگی به داخل حلال شده و مقدار جذب افزایش می‌یابد [۴۶]. گزارش شده است که بالاترین میزان استخراج مواد فلاونوئیدی در دستگاه فراصوت در زمان بین ۴۵ تا ۹۰ دقیقه به دست آمده است و افزایش بیش از حد زمان، باعث کاهش بازده استخراج می‌شود و ممکن است ترکیبات مهم موجود در رنگزا را تجزیه و تخریب کند [۴۷، ۴۸]. با توجه به شکل ۶ افزایش زمان از ۱۵ دقیقه تا ۳۰ دقیقه افزایش قابل توجهی را در فرآیند استخراج داشت اما از زمان ۳۰ تا ۴۵ دقیقه بهبود در مقدار استخراج رنگزا جزئی و ناچیز می‌باشد. بنابراین می‌توان زمان ۳۰ دقیقه را به عنوان زمان بهینه برای فرآیند استخراج در نظر گرفت.

#### ۳-۲-۶- بررسی تاثیر غلظت رنگزا

برای بهینه‌کردن غلظت رنگزا (نسبت وزن ماده جامد خشک رنگزا به حجم حلال) در فرآیند استخراج، بررسی در محدوده غلظت‌های ۲، ۶، ۱۰ و ۱۴ گرم بر لیتر رنگزا در شرایط بهینه حلال، دما، زمان و pH ذکر شده در قسمت‌های قبل برای استخراج انجام شد که نتایج در شکل ۷ آورده شده است.



شکل ۶: مقایسه تاثیر زمان‌های مختلف بر بازده استخراج ماده رنگزای میوه سیاه ولیک؛ (a) ۱۵ دقیقه، (b) ۳۰ دقیقه، (c) ۴۵ دقیقه؛ (حلال: ۱:۴ آب: اتانل؛ غلظت رنگزا: ۲ گرم بر لیتر؛ pH ۴؛ دما: ۵۰ درجه سانتی‌گراد).

## ۵- مراجع

1. A. R. Fakhari, S. Baghipour, Extraction of a food colorant from red beet and evaluation of its stability. *J. Color Sci. Tech.* 3(2010), 243-250.
2. N. Alizadeh, Sh. Rouhani, H. Zarabadi, H. Haddadi, Extraction and purification of betacyanin food colorant from amaranthus plant. *J. Color Sci. Tech.* 5(2011), 145-151.
3. M. B. Kasiri, S. Safapour, Natural dyes and antimicrobials for green treatments of textiles. *Environ. Chem. Lett.* 12(2014), 1-13.
4. M. B. Kasiri, S. Safapour, Exploring and exploiting plants extracts as the natural dyes/antimicrobials in textiles processing. *Prog. Color, Colorants Coat.* 8(2015), 87-114.
5. A. Çalis, G. Çelik, H. Katircioglu, Antimicrobial effect of natural dyes on some pathogenic bacteria. *Afr. J. Biotechnol.* 8(2009), 291-293.
6. B. Ansari, M. Khajeh Mehrizi, A. Haji, Dyeing of oxygen plasma treated wool fibers with *Rhuem Ribes L.* flowers. *J. Color Sci. Tech.* 9(2015), 135-143.
7. J. E. Edwards, P. N. Brown, N. Talent, T. A. Dickinson, P. R. Shipley, A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochem.* 79(2012), 5-26.
8. S. Salmanian, A. R. S. Mahoonak, M. Alami, M. Ghorbani, Determination of antiradical and antioxidant activities and flavonoid content in hawthorn fruit (*Crataegus bursensis*). *Iran. J. Nutr. Sci. Food Technol.* 8(2013), 177-185.
9. R. García-Mateos, E. Barra-Estrada, R. Nieto-Angel, Antioxidant compounds in hawthorn fruits (*Crataegus* spp.) of Mexico. *Rev. Mex. de Biodiversidad.* 84(2013), 1298-1304.
10. D. Kumar, V. Arya, Z. A. Bhat, N. A. Khan, N. Prasad, The genus *Crataegus*: chemical and pharmacological perspectives. *Braz. J. Pharmacogn.* 22(2012), 1187-1200.
11. Z. Zhang, Q. Chang, M. Zhu, Y. Huang, W. K. K. Ho, Z. Chen, Characterization of antioxidants present in hawthorn fruits. *J. Nutr. Biochem.* 12(2001), 144-152.
12. J. Wu, L. Lin, F. Chau, Ultrasound- assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrason. Sonochem.* 8(2001), 347-352.
13. W. Ahmad, R. Rahim, M. Ahmad, K. Abdul, I. Muhammad, M. I. Misnon, The application of gluta aptera wood (rengas) as natural dye on silk and cotton fabrics. *Universal J. Environ. Res. Technol.* 1(2011), 545-551.
14. M. Dabiri, S. Salimi, A. Ghassempour, A. Rassouli, M. Talebi, Optimization of microwave-assisted extraction for alizarin and purpurin in Rubiaceae plants and its comparison with conventional extraction methods. *J. Sep. Sci.* 28(2005), 387-396.
15. M. E. Borges, R. L. Tejera, L. Diaz, P. Esparza, E. Ibanez, Natural dyes extraction from cochineal (*Dactylopius coccus*). New extraction methods. *Food Chem.* 132(2012), 1855-1860.
16. K. Sinha, P. D. Saha, S. Datta, Extraction of natural dye from petals of Flame of forest (*Butea monosperma*) flower: Process optimization using response surface methodology (RSM). *Dyes Pigm.* 94, 212-216.
17. V. Sivakumar, V. R. Verma, P. G. Rao, G. Swaminathan, Studies on the use of power ultrasound in solid-liquid myrobalan extraction process. *J. Cleaner Prod.* 15(2007), 1813-1818.
18. G. Cuoco, C. Mathe, P. Archier, F. Chemat, C. Vieillescazes, A multivariate study of the performance of an ultrasound-assisted madder dyes extraction and characterization by liquid chromatography-photodiode array detection. *Ultrason. Sonochem.* 16(2009), 75-82.
19. L. Wang, C. Weller, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci. Technol.* 17(2006), 300-312.
20. H. Tiwari, P. Singh, P. Mishra, P. Srivastava, Evaluation of various techniques for extraction of natural colorants from pomegranate rind- Ultrasound and enzyme assisted extraction. *Indian J. Fiber Text. Res.* 35(2010), 272-276.
21. V. Sivakumar, L. Anna, J. Vijayeeswarri, G. Swaminathan, Ultrasound assisted enhancement in natural dye extraction from beetroot for industrial applications and natural dyeing of leather. *Ultrason. Sonochem.* 16(2009), 782-789.
22. Y. Chavan, R. S. Singhal, Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (*Areca catechu L.*) and optimization study using response surface methodology. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 17(2013), 106-113.
23. Ch. Swami, S. Saini, V. B. Gupta, A study on green dyeing of cotton with ethanolic extract of *Sesbania aculeate*. *Universal J. Environ. Res. Technol.* 2(2012), 38-47.
24. T. Bechtold, R. Mussak, Handbook of natural colorants, John Wiley and Sons, United Kingdom, 2009, 261-267.
25. D. De Santis, M. Moresi, Production of alizarin extracts from *Rubia tinctorum* and assessment of their dyeing properties. *Ind. Crops Prod.* 26(2007), 151-162.
26. P. Boonsong, N. Laohakunjit, O. Kerdchoechuen, Natural pigments from six species of Thai plants extracted by water for hair dyeing product application. *J. Cleaner Prod.* 37(2012), 93-106.
27. D. Jothi, Extraction of natural dyes from african marigold flower (*Tagetes erecta L.*) for textile coloration. *Autex Res. J.* 8(2008), 49-53.
28. B. Jurado-Sánchez, E. Ballesteros, M. Gallego, Comparison of microwave assisted, ultrasonic assisted and soxhlet extractions of N-nitrosamines and aromatic amines in sewage sludge, soils and sediments. *Sci. Total Environ.* 463-464(2013), 293-301.
29. D. Jadhav, B. N. Rekha, P. R. Gogate, V. K. Rathod, Extraction of vanillin from vanilla pods: a comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *J. Food Eng.* 93(2009), 421-426.
30. S. R. Shirsath, S. H. Sonawane, P. R. Gogate, Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. *Chem. Eng. Process.* 53(2012), 10-23.
31. P. K. Mishra, P. Singh, K. K. Gupta, H. Tiwari, P. Srivastava, Extraction of natural dye from *dahlia variabilis* using ultrasound. *Indian J. Fiber Text. Res.* 37(2012), 83-86.
32. Gupta, M. Naraniwal, V. Kothari, Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *Int. J. Appl. Natural Sci.* 1(2012), 8-26.
33. Amyrgialaki, D. P. Makris, A. Mauromoustakos, P. Kefalas, Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. *Ind. Crops Prod.* 59(2014), 216-222.
34. M. Ranic, M. Nikolic, M. Pavlovic, A. Buntic, S. Siler-Marinkovic, S. Dimitrijevic-Brankovic, Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface

- methodology. *J. Cleaner Prod.* 50(2014), 69-79.
35. S. Baliarsingh, A. K. Panda, J. Jena, T. Das, N. B. Das, Exploring sustainable technique on natural dye extraction from native plants for textile: identification of colourants, colourimetric analysis of dyed yarns and their antimicrobial evaluation. *J. Cleaner Prod.* 37(2012), 257-264.
  36. Q. D. Do, A. E. Angkawijaya, P. L. Tran-Nguyen, L. H. Huynh, F. E. Soetaredjo, S. Ismadji, Y. Ju, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *J. Food Drug Anal.* 22(2014), 269-302.
  37. M. Eikani, F. Golmohammad, M. Mirza, S. Rowshanzamir, Extraction of volatile oil from cumin (*cuminumcyminum* L.) with superheated water. *J. Food Process Eng.* 30(2007), 255-266.
  38. K. Stamatopoulos, A. Chatzilazarou, E. Katsoyannos, Optimization of multistage extraction of olive leaves for recovery of phenolic compounds at moderated temperatures and short extraction times. *Foods.* 3(2014), 66-81.
  39. P. Guinot, A. Gargadennec, F. G. Valette, C. Andary, Primary flavonoids in marigold dye: extraction, structure and involvement in the dyeing process. *Phytochem. Anal.* 19(2008), 46-51.
  40. L. M. Harwood, C. J. Moody, Experimental organic chemistry: Principles and practice, Blackwell Publishing, Hoboken, New Jersey, 1989.
  41. J. P. Maran, S. Manikandan, V. Mekala, Modeling and optimization of betalain extraction from *Opuntia ficus-indica* using Box-Behnken design with desirability function. *Ind. Crops Prod.* 49(2013), 304-311.
  42. K. Farizadeh, M. Montazer, M. E. Yazdanshenas, A. Rashidi, R. M. A. Malek, Extraction, identification and sorption studies of dyes from madder on wool. *J. Appl. Polym. Sci.* 113(2009), 3799-3808.
  43. S. Oancea, M. Stoia, D. Coman, Effect of extraction conditions on bioactive anthocyanin content of *Vaccinium corymbosum* in the perspective of food applications. *Procedia Eng.* 42(2012), 489-495.
  44. S. Adeel, Influence of UV radiation on the extraction and dyeing of cotton fabric with curcuma longa L. *Indian J. Fiber Text. Res.* 37(2012), 87-90.
  45. Y. Yang, M. Wei, T. Huang, S. Lee, S. Lin, Comparison of modified ultrasound-assisted and traditional extraction methods for the extraction of baicalin and baicalein from *Radix Scutellariae*. *Ind. Crops Prod.* 45(2013), 182-190.
  46. M. B. Hossain, N. P. Brunton, A. Patras, B. Tiwari, C. P. O'Donnell, A. B. Martin-Diana, C. Barry-Ryan, Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* 19(2012), 582-590.
  47. W. Huang, A. Xue, H. Niu, J. Zhen, J. Wang, Optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. *Food Chem.* 114(2009), 1147-1154.
  48. L. Wang, D. Li, C. Bao, J. You, Z. Wang, Y. Shi, Ultrasonic extraction and separation of anthraquinones from *Rheum palmatum* L. *Ultrason. Sonochem.* 15(2008), 738-746.