

## بهینه سازی شرایط استخراج صمغ دانه بزرک ایرانی به روش صفحه پاسخ

بهنوش ماهرانی<sup>۱</sup>، محسن برزگر<sup>۱</sup>، محمد علی سحری<sup>۱</sup> و حمید دهقانی<sup>۲</sup>

### چکیده

استخراج آبی صمغ دانه بزرک (*Linum usitatissimum*) با استفاده از طرح آماری روش صفحه پاسخ (*response surface methodology*) (RSM) بهینه سازی شد. در این پژوهش درجه حرارت استخراج در دامنه  $45-100^{\circ}C$ ، pH در محدوده ۷-۳ و نسبت آب به دانه در دامنه ۲۴-۴ به عنوان فاکتورهای مؤثر بر درصد بازده استخراج، مقدار پروتئین و ویسکوزیته ظاهری صمغ های استخراج شده، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند.

نتایج نشان داد درجه حرارت و pH دو فاکتور مؤثر بر بازده و کیفیت صمغ استخراجی (خلوص و ویسکوزیته ظاهری) است، در صورتی که فاکتور نسبت آب به دانه، دارای اثر کمتری می باشد. شرایط بهینه استخراج صمغ دانه بزرک به صورت زیر معرفی گردید، درجه حرارت:  $90-85^{\circ}C$ ، نسبت آب به دانه: ۱۴ و pH: ۷-۶/۵. ویسکوزیته ظاهری صمغ های استخراجی نیز اندازه گیری شد و اثر شرایط استخراج بر خصوصیت رئولوژیکی صمغ حاصل مورد بررسی قرار گرفت.

واژه های کلیدی: دانه بزرک ایرانی، صمغ، روش صفحه پاسخ، ویسکوزیته

### مقدمه

جغرافیایی در مناطق گرم و خشک کشور به طور پراکنده کشت می شود، از جمله می توان به شهرستان های اطراف اصفهان (به عنوان مثال شهرضا)، خوزستان، کردستان و مناطقی در شمال کشور از جمله فومن اشاره نمود. دانه بزرک صاف، بیضی شکل و در یک انتها نوک تیز است و دارای ابعاد  $1 \times 2/5 \times 5$  میلی متر می باشد، وزن هزار دانه بزرک بسته به واریته و شرایط رشد بین ۷-۵ گرم است. رنگ دانه بزرک واریته های مختلف از

بزرک یا کتان با نام علمی *Linum usitatissimum* L. گیاهی است یک ساله از تیره کتان (Linaceae) که به صورت بوته ای رشد می کند. ارتفاع بوته معمولاً ۵۰ تا ۱۰۰ سانتی متر و طول دوره رشد محصول  $4/5 - 2/5$  ماه می باشد. بزرک و کتان از نظر گیاه شناسی یک گونه محسوب می شوند ولی از نظر خصوصیات رشد، متفاوت هستند (۱). بزرک از نظر پراکندگی

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. استادیار اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

قهوه‌ای تیره تا زرد متغیر است. دانه با یک پوشش چسبناک پوشیده شده است که آن را براق ساخته و زمانی که مرطوب شود، چسبناک می‌شود (۲۱). کنجاله دانه بزرک (دانه روغن‌گیری شده) حاوی  $9/4 - 3/5$  صمغ است. صمغ دانه بزرک یک مخلوط پلی‌ساکارید ناهمگن است و اختلاف در ترکیب مونوساکاریدها به تنوع واریته‌های آن نسبت داده می‌شود (۶). صمغ دانه بزرک پودر سفید تا کرم رنگی است که رنگ آن نشان دهنده خلوص صمغ است، به آهستگی آب جذب می‌کند و تشکیل محلولی با ویسکوزیته متوسط می‌دهد. ترکیب مونوساکاریدهای صمغ دانه بزرک شامل D-زایلوز، L-آرابینوز، L-رامنوز، L-گالاکتوز، D-گلوکز و L-گالاتورونیک اسید است. صمغ دانه بزرک دارای خواص قوام دهنده می‌باشد و به همین دلیل می‌تواند در فرآورده‌های غذایی به کار برده شود. صمغ دانه بزرک از نظر خواص تکنولوژیکی بسیار شبیه به صمغ عربی است و دارای خواص تثبیت‌کنندگی و سوسپانسیون‌کنندگی بوده و می‌تواند به عنوان عامل امولسیون‌کننده در شیرهای شکلاتی و دسرهای پوشش سالاد به کار برده شود. در مواردی نیز از نظر خصوصیات رئولوژیکی شبیه به صمغ زانتان است، به طور مثال اثر الکترولیت‌ها بر روی محلول‌های صمغ بستگی به غلظت صمغ دارد و گاه با افزودن کمتر از  $0/15\%$  الکترولیتی چون سدیم کلرید، اندکی کاهش در ویسکوزیته محلول حاصل می‌شود.

صمغ دانه بزرک به جهت دارا بودن خاصیت بافری قوی می‌تواند در نوشیدنی‌های میوه‌ای به کار رود و از جهت دیگر در تولید محصولات نانوائی و بستنی مورد استفاده قرارگیرد. هم‌چنین صمغ مزبور، پایدارکننده بسیار خوبی برای سوسپانسیون‌های خوراکی بوده و به علت خاصیت امولسیون‌کنندگی به عنوان جانشین سفیده تخم‌مرغ در محصولات نانوائی به کار برده می‌شود و این صمغ نیز قادر است از حدود  $1/5 - 0/5\%$  به منظور تثبیت امولسیون‌های غذایی به کار برده شود که این خاصیت بستگی به خلوص صمغ دارد. صمغ دانه بزرک تشکیل محلول غیر یونی را می‌دهد که

تیکسوتروپیک (Thixotropic) نیست و دارای درجه بالای ویسکوالاستیسیته در نیروهای برشی مختلف است (۱۰ و ۱۹). این صمغ ارزشمند علاوه بر این که در صنایع غذایی موارد استفاده زیادی دارد، در صنایع داروسازی، نساجی، نقاشی، چاپ و نفت نیز بسیار به کار برده می‌شود (۹). امروزه روغن دانه بزرک و محصولات متنوع حاصل از آن منبع درآمد ارزی برای بسیاری از کشورها از جمله آمریکا، کانادا و اروپا گردیده است. به طوری که تولید جهانی بزرک در طی سال‌های ۹۷-۱۹۹۶ به حدود ۲-۳ میلیون تن در سال رسیده است و فرآورده‌های حاصل از آن هر روز با تقاضای بیشتری در جهان روبه رو می‌شود (۱۵). در ایران، دانه بزرک جزء دسته دانه‌های با روغن خشک شونده قرار گرفته که از روغن آن تنها به منظور کاربرد در صنایع رنگ‌سازی استفاده می‌شود و کنجاله آن که منبع صمغ به شمار می‌آید، دور ریخته می‌شود و می‌توان گفت به نوعی یک منبع درآمد ارزشمند هدر می‌رود.

در زمینه بررسی‌های اولیه انجام گرفته بر روی صمغ دانه بزرک، نویل (۱۹۱۳) صمغ دانه بزرک را با آب سرد در طی مدت ۲۴ ساعت استخراج و در حلال خشک نمود و درصد ترکیبات آن را تعیین کرد (۱۴). محققان دیگری استخراج صمغ دانه بزرک را در محیط خنثی به روش نویل به کار بردند و صمغ حاصل را با کمک محلول اتانولی  $90\%$  رسوب دادند، سپس رسوبات حاصل را خشک کرده و به بررسی ترکیب شیمیایی صمغ دانه بزرک پرداختند (۲). در پژوهشی دیگر مورالیکریشنا و همکاران (۱۹۸۷) صمغ دانه بزرک را در آب  $100-25^\circ\text{C}$  با نسبت آب به دانه  $1(V/W):20$  در مدت  $8-0/5$  ساعت استخراج نمودند. صمغ حاصل را با صافی مش  $40$  صاف کرده و با دستگاه تبخیر کننده تحت خلاء در  $40^\circ\text{C}$  تغلیظ نموده و با اتانول  $80\%$  رسوب دادند و سپس به روش تصعیدی، صمغ را خشک نموده و آسیاب کردند. در نهایت صمغ حاصل را از جهت درصد بازده استخراج، حلالیت، پایداری کف، ظرفیت کف‌کنندگی، درصد خاکستر، میزان پروتئین و مواد معدنی بررسی نمودند (۱۱). وارنبرگر و همکاران (۱۹۹۱)، نوع

مطالعه) بر نتایج آزمایش‌هاست. به علاوه آثار متقابل فاکتورهای مزبور را نیز در برمی‌گیرد. محدوده کاربرد طرح آماری RSM بسیار گسترده است و در اغلب زمینه‌ها به منظور بهینه سازی شرایط عمل از آن استفاده می‌شود (۱۳). با کمک طرح آماری RSM می‌توان به اهداف زیر دست یافت:

۱. کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم با کمک این طرح قابل برآورد هستند.
۲. تعداد آزمایش‌ها کاهش می‌یابد.
۳. اثر متقابل فاکتورها بر روی نتایج حاصل از آزمایش‌ها بررسی می‌گردد.
۴. آزمون عدم برازش (Lack of fit) را فراهم می‌سازد.
۵. مقادیر بهینه فاکتورها را می‌توان با کمترین تعداد آزمایش تخمین زد.

در این طرح نخست بر اساس آزمایش‌های مقدماتی، دامنه تغییرات فاکتورها برای دما ۴۵-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، pH: ۳-۷ و نسبت آب به دانه: ۴-۲۴ هر یک در پنج سطح انتخاب گردید. سپس بر اساس تعداد فاکتورها و سطوح آنها جدول طرح آماری (۲۰ استخراج با ۶ تکرار در نقطه مرکزی) معین شد. نقاط مرکزی (Central points) سه فاکتور محاسبه گردید و با در نظر گرفتن گندهای درج شده شرایط ۲۰ استخراج از نظر دما، pH و نسبت آب به دانه معین شد و سپس آزمایش‌ها تصادفی شدند. مقادیر گندهای تعریف شده آزمایش برای مقادیر کمتر از نقطه مرکزی: ۱/۶۸۲- و ۱-، صفر در نقطه مرکزی و برای مقادیر بیشتر از نقطه مرکزی: ۱/۶۸۲+ و ۱+ بودند (۳). در این طرح  $X_1$  (درجه حرارت)،  $X_2$  (pH) و  $X_3$  (نسبت آب به دانه) سه فاکتور مؤثر و درصد بازده استخراجی، پروتئین و ویسکوزیته ظاهری، سه متغیر وابسته بودند. در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می‌نماید. مدل چند متغیره به صورت زیر می‌باشد (۷).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^r \beta_i X_i + \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^r \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^r \sum_{k=1}^r \beta_{ijk} X_i X_j X_k$$

و درصد قندهای اصلی تشکیل دهنده صمغ دانه بزرک را تعیین نموده و با کمک کروماتوگرافی گاز- مایع اطلاعات بیشتری در ارتباط با ساختار صمغ به دست آوردند (۲۰). کویی و همکاران (۱۹۹۴) طرح آماری صفحه پاسخ (RSM)، را برای تعیین شرایط بهینه استخراج صمغ بزرک استفاده نمودند. آنها اثر هم‌زمان فاکتورهای دما، pH و نسبت آب به دانه را بر درصد بازده استخراج، مقدار پروتئین و ویسکوزیته صمغ بررسی نمودند (۵). اومه و همکاران (۱۹۹۵) نیز به مطالعه در ارتباط با اختلافات موجود در پلی ساکاریدهای محلول در آب دانه‌های بزرک واریته‌های مختلف کانادایی پرداختند (۱۷). بعد از آن‌که صمغ دانه بزرک از جهات مختلف فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی به طور کامل مورد بررسی قرار گرفت، محققان دریافتند که در برخی فراآورده‌های غذایی و غیر غذایی، می‌توان آن را جانشین دیگر صمغ‌ها و ترکیبات مشابه نمود (۱۸). در نهایت آخرین بررسی‌های انجام گرفته، بهینه سازی فرایند خشک کردن صمغ دانه بزرک به روش پاششی (Spray drier) و به دنبال آن کاربردهای دارویی صمغ دانه بزرک بوده است (۸ و ۱۶).

## مواد و روش‌ها

### مواد

دانه بزرک قهوه‌ای از گونه کتان روغنی از بازار تهیه گردید و کلیه ترکیبات شیمیایی مورد نیاز از نوع تجارتي با خلوص بالا بوده و بدون هیچ گونه خالص سازی مجدد مورد استفاده قرار گرفتند.

### روش‌ها

به دلیل آن که مهم‌ترین مسئله در این پژوهش بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورهای دما، pH و نسبت آب به دانه بر درصد بازده استخراج، پروتئین و ویسکوزیته ظاهری صمغ‌های استخراجی بود، بنابراین طرح آماری RSM انتخاب شد. روش صفحه پاسخ، کمکی مضاعف برای یافتن حالت بهینه فاکتورها می‌باشد و نشان دهنده چگونگی تأثیر فاکتورها (در دامنه مورد

### اثر شرایط استخراج بر درصد راندمان

معنی‌دار بودن اثر خطی فاکتور درجه حرارت نشان داد که درجه حرارت تأثیر عمده‌ای در افزایش راندمان دارد و فاکتور اصلی مؤثر بر درصد راندمان صمغ دانه بزرک می‌باشد، درصد راندمان صمغ حاصل از ۳/۱۰-۳/۶۶٪ متغیر بود و مثبت بودن  $\beta_1$  نشانگر آن است که با افزایش درجه حرارت، راندمان به صورت خطی در محدوده تغییرات X ها افزایش می‌یابد. بیشترین درصد راندمان مربوط به درجه حرارت بالا بود، به عنوان مثال در درجه حرارت  $89^{\circ}\text{C}$ ، درصد راندمان صمغ استخراجی در حدود ۳/۱۰٪ بود و کمترین راندمان (۳/۶۶) در پایین‌ترین درجه حرارت ( $45^{\circ}\text{C}$ ) دیده شد. با ثابت فرض کردن تغییرات pH و نسبت آب به دانه، راندمان با درجه حرارت در سطح احتمال ۱٪ رابطه خطی داشت.

اثر فاکتورهای pH و نسبت آب به دانه بر راندمان استخراج در برابر اثر درجه حرارت معنی‌دار نبود. بالاترین راندمان در pH پایین و درجه حرارت بالا حاصل شد. با توجه به معنی‌دار نبودن ضرایب رگرسیون خطی اثر فاکتورهای pH و نسبت آب به دانه برای صفت راندمان می‌توان نتیجه گرفت که این دو فاکتور اثر معنی‌داری بر درصد راندمان نداشتند.

ولی در مجموع نتایج به دست آمده از رابطه خطی سه فاکتور مورد استفاده برای میزان راندمان در سطح ۵٪ معنی‌دار به دست آمد (جدول ۲). میانگین مربعات عدم برازش خطی نیز غیر معنی‌دار بود و نشان دهنده برازش مدل درجه دو و عدم وجود سایر روابط در تأثیر بر میزان راندمان بود (جدول ۲).

اثر درجه دو برای فاکتورهای مورد بررسی به صورت جمعی در سطح اطمینان ۵ درصد معنی‌دار بود که از بین فاکتورهای مذکور فقط ضریب رگرسیون درجه دو مربوط به فاکتور درجه حرارت در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بوده و اثر دو فاکتور دیگر غیر معنی‌دار به دست آمد (جدول ۲ و ۳).

اثر متقابل فاکتورهای مورد بررسی برای صفت راندمان معنی‌دار نبود (جدول ۲). نتایج به دست آمده از اثر متقابل فاکتورها در جدول ۳ درج گردیده است. اثر متقابل بین دو

در مدل فوق  $\beta_0$  عرض از مبدا،  $\beta_1$  ضریب رگرسیون خطی فاکتور I ام،  $\beta_{ii}$  ضریب رگرسیون درجه دوم فاکتور I ام،  $\beta_{ij}$  اثر متقابل فاکتور I ام و فاکتور J ام و Y متغیر وابسته می‌باشد.

تجزیه آماری معادلات چند متغیره با استفاده از نرم افزار آماری Minitab انجام شد و ضرایب مربوطه و آثار فاکتورها بر متغیرها معین گردید.

برای استخراج صمغ از دانه بزرک، ابتدا دانه‌ها بدون استفاده از آب تمیز شدند، سپس دانه‌ها توزین و به نسبت معین با آب مخلوط شده (آب دو بار تقطیر مصرفی ابتدا از نظر pH و دما تنظیم شد) و در مدت سه ساعت عمل استخراج انجام گردید. در تمام مدت استخراج مخلوط حاصل با مگنت ۲/۵ سانتی‌متر بر روی گرمکن در دمای ثابت هم زده شد. مخلوط آب و دانه‌ها با صافی مش ۴۰ صاف گردید سپس با افزودن اتانول ۹۶٪ به نسبت ۳:۱ رسوب داده شد. رسوبات سفید رنگ حاصل با سانتریفوژ در دور ۶۵۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد. در ادامه رسوبات منجمد و به روش خشک کردن انجمادی (Freeze drying) خشک گردید. رسوبات خشک شده آسیاب و بسته بندی گردید.

درصد بازده استخراج صمغ دانه بزرک بر اساس وزن اولیه دانه محاسبه گردید. میزان پروتئین همراه صمغ با میکروکلدال خودکار Tecator و ویسکوزیته ظاهری صمغ‌های استخراج شده در غلظت ۰/۳۵٪ در دمای محیط ( $25^{\circ}\text{C}$ ) و در pH ۶/۵ با Spindel نوع RV2 دستگاه ویسکومتر Brookfield-DV-II در دور ۲۰۰ rpm اندازه‌گیری شد.

### نتایج

با توجه به شرایط تعیین شده، ۲۰ استخراج نهایی انجام گرفت و تجزیه آماری با نرم افزار آماری Minitab انجام شد. جدول ۱ نتایج به دست آمده از آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. به کمک ضرایب رگرسیون اثر شرایط استخراج بر روی متغیرهای وابسته محاسبه شد. جداول ۲ و ۳ نتایج حاصل از تجزیه آماری را نشان می‌دهد.

جدول ۱. مقادیر سطوح فاکتورها و نتایج حاصل از آزمایش‌ها بر روی صمغ‌های استخراجی

| نمونه | دما  | کُد    | pH  | کُد    | W/S <sup>۳</sup> | کُد    | راندمان <sup>۱</sup> | پروتئین <sup>۱</sup> | ویسکوزیته <sup>۲</sup> |
|-------|------|--------|-----|--------|------------------|--------|----------------------|----------------------|------------------------|
| ۱     | ۶۱/۵ | -۱     | ۴/۲ | -۱     | ۱۰               | -۱     | ۷/۲۲                 | ۴/۵۰                 | ۵۶/۶                   |
| ۲     | ۸۹   | +۱     | ۴/۲ | -۱     | ۱۰               | -۱     | ۹/۱۵                 | ۱۰/۰۳                | ۴۵/۸                   |
| ۳     | ۶۱/۵ | -۱     | ۶/۲ | +۱     | ۱۰               | +۱     | ۷/۳۱                 | ۹/۰۴                 | ۵۹/۰                   |
| ۴     | ۸۹   | +۱     | ۶/۲ | +۱     | ۱۰               | +۱     | ۶/۲۰                 | ۸/۳۲                 | ۵۷/۰                   |
| ۵     | ۶۱/۵ | -۱     | ۴/۲ | -۱     | ۱۸               | -۱     | ۵/۴۸                 | ۳/۰۴                 | ۵۴/۶                   |
| ۶     | ۸۹   | +۱     | ۴/۲ | +۱     | ۱۸               | -۱     | ۱۰/۳۳                | ۸/۳۲                 | ۵۶/۶                   |
| ۷     | ۶۱/۵ | -۱     | ۶/۲ | +۱     | ۱۸               | +۱     | ۶/۸۲                 | ۶/۲۱                 | ۵۴/۰                   |
| ۸     | ۸۹   | +۱     | ۶/۲ | +۱     | ۱۸               | +۱     | ۹/۱۴                 | ۸/۰۷                 | ۶۰/۲                   |
| ۹     | ۴۵   | -۱/۶۸۲ | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۳/۶۶                 | ۰/۵۱                 | ۷۶/۲                   |
| ۱۰    | ۱۰۰  | +۱/۶۸۲ | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۷/۱۷                 | ۶/۸۸                 | ۵۱/۴                   |
| ۱۱    | ۷۲/۵ | ۰      | ۳   | -۱/۶۸۲ | ۱۴               | ۰      | ۵/۸۰                 | ۳/۶۲                 | ۵۴/۸                   |
| ۱۲    | ۷۲/۵ | ۰      | ۷   | +۱/۶۸۲ | ۱۴               | ۰      | ۷/۶۹                 | ۸/۳۶                 | ۶۴/۸                   |
| ۱۳    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۴                | -۱/۶۸۲ | ۷/۷۸                 | ۸/۳۲                 | ۶۶/۶                   |
| ۱۴    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۲۴               | +۱/۶۸۲ | ۸/۲۱                 | ۸/۴۰                 | ۵۵/۴                   |
| ۱۵    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۷/۳۰                 | ۱۱/۰۰                | ۶۵/۶                   |
| ۱۶    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۷/۴۹                 | ۷/۹۸                 | ۶۱/۸                   |
| ۱۷    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۸/۱۱                 | ۸/۵۸                 | ۶۳/۸                   |
| ۱۸    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۷/۵۰                 | ۸/۶۰                 | ۶۲/۴                   |
| ۱۹    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۸/۹۰                 | ۹/۱۷                 | ۶۳/۴                   |
| ۲۰    | ۷۲/۵ | ۰      | ۵   | ۰      | ۱۴               | ۰      | ۷/۸۱                 | ۸/۹۶                 | ۶۳/۴                   |

۱. درصد راندمان و درصد پروتئین بر حسب (W/W) %، ۲. ویسکوزیته محلول‌های صمغ بر حسب mPa.s ۳. W/S : نسبت آب به دانه.

جدول ۲. نتایج حاصل از تجزیه واریانس برآزش مدل درجه دو رگرسیون بر صفات مورد مطالعه

| منابع تغییرات  | درجه آزادی | میانگین مربعات صفت   |                      |                        |
|----------------|------------|----------------------|----------------------|------------------------|
|                |            | راندمان <sup>۲</sup> | پروتئین <sup>۲</sup> | ویسکوزیته <sup>۱</sup> |
| رگرسیون        | ۹          | ۳/۴۹۶۴*              | ۱۲/۲۸۷۶*             | ۷۰/۵۴**                |
| خطی            | ۳          | ۶/۷۳۶۶*              | ۱۷/۸۴۲۹*             | ۵۱/۹۵ <sup>ns</sup>    |
| درجه دوم       | ۳          | ۲/۵۳۴۵*              | ۱۵/۶۱۴۰**            | ۷۶/۳۰*                 |
| برهم کنش       | ۳          | ۱/۲۱۸۲ <sup>ns</sup> | ۳/۴۰۵۸*              | ۸۳/۳۸**                |
| خطای باقیمانده | ۱۰         | ۰/۶۴۱۵ <sup>ns</sup> | ۰/۳۵۱۰ <sup>ns</sup> | ۱۹/۲۰ <sup>ns</sup>    |
| عدم برازش      | ۵          | ۱/۰۰۰۳ <sup>ns</sup> | ۰/۵۲۹۶*              | ۲۴/۸۳ <sup>ns</sup>    |
| خطای خالص      | ۵          | ۰/۲۸۲۸               | ۰/۱۷۲۴               | ۱۳/۵۷                  |
| کل             | ۱۹         |                      |                      |                        |

ns. \* و \*\*: به ترتیب نشان دهنده غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشند.

۱. واحد ویسکوزیته mPa.s

۲. پروتئین و راندمان بر حسب درصد W/W گزارش شده است.

جدول ۳. مقادیر ضرایب مدل رگرسیون برازش شده برای صفات مورد مطالعه

| ضریب         | صفت                   |                      |                      |
|--------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
|              | راندمان               | پروتئین              | ویسکوزیته            |
| $\beta_0$    | ۷/۸۸۳ *               | ۸/۶۱۶ *              | ۵۸/۴۷ *              |
| $\beta_1$    | ۱/۲۰۶ **              | ۱/۷۱۷ **             | ۲/۸۸ **              |
| $\beta_2$    | ۰/۱۴۱۴ <sup>ns</sup>  | ۰/۵۲۴ **             | -۱/۷۳ <sup>ns</sup>  |
| $\beta_3$    | -۰/۰۶۹۸ <sup>ns</sup> | -۰/۸۳۶ **            | -۰/۳۴۵ <sup>ns</sup> |
| $\beta_{11}$ | -۰/۶۴۵۷ *             | -۱/۷۰۳ **            | ۰/۴۲۹ <sup>ns</sup>  |
| $\beta_{22}$ | -۰/۰۵۱۷ <sup>ns</sup> | -۰/۱۱۷ <sup>ns</sup> | -۱/۹۴ <sup>ns</sup>  |
| $\beta_{33}$ | ۰/۲۶۶۵ <sup>ns</sup>  | ۰/۴۲ *               | ۳/۲۵۸ *              |
| $\beta_{12}$ | -۰/۴۸۸ <sup>ns</sup>  | -۱/۱۱ **             | -۴/۱۵ *              |
| $\beta_{13}$ | ۰/۴۶۳۷ <sup>ns</sup>  | ۰/۱۹۴ <sup>ns</sup>  | -۰/۸۵ <sup>ns</sup>  |
| $\beta_{23}$ | ۰/۰۵۳۷ <sup>ns</sup>  | -۰/۰۸۹ <sup>ns</sup> | ۳/۶۵ *               |
| $R^2$        | ۰/۸۳۱                 | ۰/۹۶۹                | ۰/۷۶۸                |

ns، \* و \*\*: به ترتیب نشان دهنده غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می باشند.

موضوع می باشد. در واقع با افزایش درجه حرارت، استخراج پروتئین تسهیل می گردد و این مسئله با توجه به خواص پروتئین ها قابل انتظار است. کمترین درصد پروتئین (۰/۵۱٪) مربوط به کمترین درجه حرارت (۴۵ °C) بود.

ضریب رگرسیون خطی مربوط به pH ( $\beta_1$ ) در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان پروتئین در بالاترین درجه حرارت و کمترین pH به دست می آید. نتایج تجربی نشان داد که مقدار پروتئین صمغ دانه بزرک با افزایش pH، کاهش می یابد. شاید این مسئله را بتوان به انعقاد پروتئین ها در محدوده pH کمی اسیدی تا خنثی و حلالیت بیشتر پروتئین ها در محدوده اسیدی نسبت داد (۵).

میزان پروتئین استخراج شده با افزایش نسبت آب به دانه در صورت ثابت فرض کردن اثر دما و pH تا قبل از نقطه بهینه (نسبت آب به دانه ۱۴) روند نزولی دارد. معنی دار بودن ضریب معادله اثر نسبت آب به دانه بر درصد پروتئین ( $\beta_3 = -۰/۸۳۶$ )

فاکتور pH و نسبت آب به دانه، pH و درجه حرارت، درجه حرارت و نسبت آب به دانه از نظر آماری معنی دار نبود که نشان دهنده عدم وجود رابطه خطی توأم بین فاکتورهای مورد بررسی بر میزان راندمان می باشد.

#### اثر شرایط استخراج بر میزان پروتئین

نتایج به دست آمده از برازش مدل رگرسیون درجه دو بر صفت میزان پروتئین به همراه ضرایب رگرسیون مدل در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. رگرسیون خطی مربوط به سه فاکتور مورد بررسی بر میزان پروتئین استخراج شده در سطح ۵٪ معنی دار بود به این معنا که سه فاکتور مذکور با میزان پروتئین رابطه خطی دارند. در نسبت آب به دانه و pH ثابت، بالاترین میزان پروتئین در بیشترین درجه حرارت به دست آمد، نتایج نشان داد که با افزایش درجه حرارت، میزان پروتئین صمغ استخراج شده، به صورت خطی افزایش می یابد که مثبت بودن ضریب رگرسیون خطی اثر درجه حرارت بر میزان پروتئین مؤید این

ویسکوزیته ظاهری برای نمونه‌های استخراج شده در pH پایین (کمی اسیدی) تا خنثی و در درجه حرارت  $50-80^{\circ}\text{C}$  زمانی که نسبت آب به دانه ثابت در نظر گرفته شود (در نقطه مرکزی)، دیده شد. تغییرات ویسکوزیته ظاهری در مقابل نسبت آب به دانه در مقایسه با درجه حرارت کمتر بود و معنی‌دار نبود  $\beta_2$  مؤید آن است.

اثر درجه دو برای فاکتورهای مورد مطالعه به صورت جمعی در سطح اطمینان ۵ درصد معنی دار بود که از بین فاکتورهای مذکور فقط ضریب رگرسیون درجه دو مربوط به فاکتور pH در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بوده و اثر دو فاکتور دیگر غیر معنی دار به دست آمد (جدول ۲ و ۳).

آثار توأم فاکتورها بر ویسکوزیته ظاهری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). اثر متقابل بین pH با نسبت آب به دانه و pH با دما در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود و علامت ضرایب مذکور نشان دهنده نوع رابطه بین فاکتورها می‌باشد. با افزایش دما و کاهش pH، ویسکوزیته ظاهری کاهش می‌یابد و با افزایش نسبت آب به دانه و افزایش pH به صورت توأم میزان ویسکوزیته ظاهری صمغ‌های استخراجی افزایش می‌یابد.

### تعیین شرایط بهینه استخراج

تعیین شرایط بهینه استخراج به سه روش امکان پذیر است:

(الف) بررسی صفحات پاسخ

(ب) تجزیه استاندارد (با کمک حل ماتریس)

(ج) روش عددی (با کمک حل کننده نرم افزار اکسل)

به کمک نمودارهای سه بعدی (صفحات پاسخ) حاصل از معادلات چند متغیره و همچنین خطوط کنتور حاصل از آنها (که تنها به عنوان نمونه در شکل ۳ نشان داده شده است) می‌توان شرایط بهینه استخراج را تعیین نمود. خطوط کنتور در واقع انعکاس تصویر سه بعدی بر روی صفحه مسطح است (۱۲). بهترین شرایط استخراج باید درصد راندمان بالای استخراج، میزان پروتئین استخراج شده بسیار کم و ویسکوزیته بالای محلول صمغ را به همراه داشته باشد. از آن جایی که همراه بودن

در سطح ۱٪، نشان دهنده صحت نتیجه فوق است. ولی با افزایش بیشتر نسبت آب به دانه (بیشتر از ۱۴) میزان پروتئین استخراج شده همان‌طور که در شکل ۴ دیده می‌شود، افزایش می‌یابد. معنی‌دار بودن ضریب رگرسیون درجه دو اثر نسبت آب به دانه بر درصد پروتئین ( $\beta_{22} = 0.42$ ) در سطح احتمال ۱٪، نشان دهنده روند افزایشی درجه دو میزان پروتئین استخراج شده در دما و pH ثابت می‌باشد.

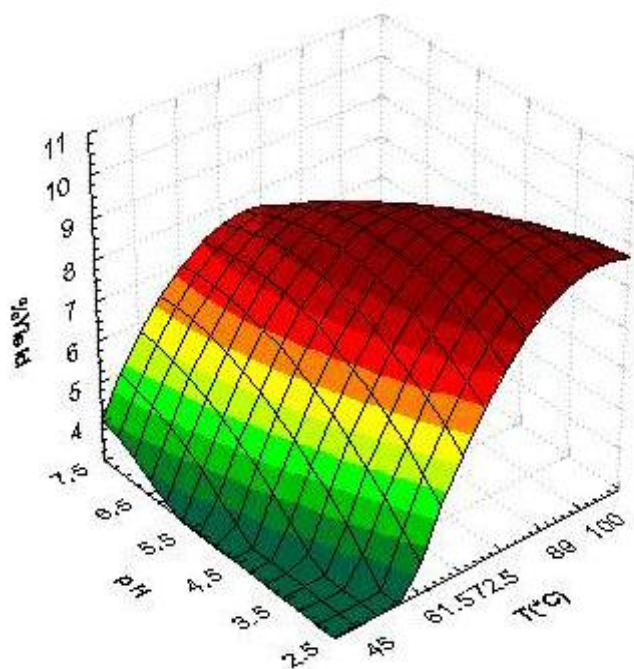
اثر درجه دو برای فاکتورهای مورد بررسی به صورت جمعی در سطح اطمینان ۱٪ معنی دار بود که از بین فاکتورهای مذکور ضریب رگرسیون درجه دو مربوط به فاکتورهای درجه حرارت و pH به ترتیب در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار بوده و اثر فاکتور دیگر غیر معنی‌دار به دست آمد (جدول ۲ و ۳).

اثر متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر میزان پروتئین استخراج شده در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود و نشان دهنده تأثیر توأم فاکتورها بر میزان پروتئین استخراجی می‌باشد. با افزایش درجه حرارت، در صد پروتئین همراه صمغ افزایش می‌یابد، در صورتی که شواهد عملی نشان داد که اثر درجه حرارت بر مقدار پروتئین به pH اولیه بستگی دارد. به عنوان مثال، در محدوده pH اسیدی، محتوی پروتئین با افزایش درجه حرارت، افزایش می‌یافت. در صورتی که در محدوده pH خنثی، روند افزایش پروتئین بسیار کمتر بود. معنی‌دار بودن  $\beta_{12}$  در سطح احتمال ۱٪، این مطلب را تأیید می‌نماید.

### اثر شرایط استخراج بر ویسکوزیته ظاهری

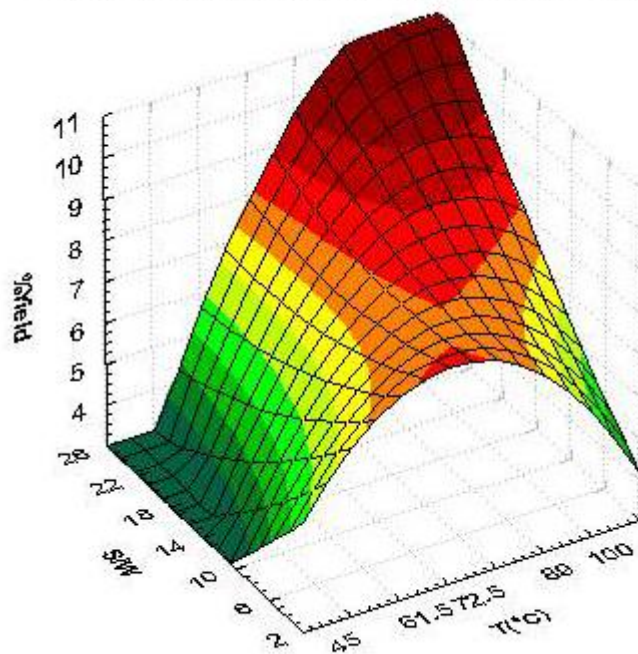
اثر فاکتورهای مورد بررسی بر ویسکوزیته ظاهری صمغ‌های استخراج شده در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود و نشان دهنده وجود اثر جمعی رابطه خطی فاکتورهای مذکور با میزان ویسکوزیته صمغ‌های استخراجی بود. معنی‌دار بودن ضریب رگرسیون خطی دما ( $\beta_1$ ) بر ویسکوزیته در سطح احتمال ۱٪ صحت این مطلب را تأیید می‌نماید. ولی رابطه خطی pH و نسبت آب به دانه بر ویسکوزیته معنی‌دار نبود. بالاترین

$$z = -30.828 + 0.669x + 4.244y - 0.003x^2 - 0.031xy - 0.173y^2$$

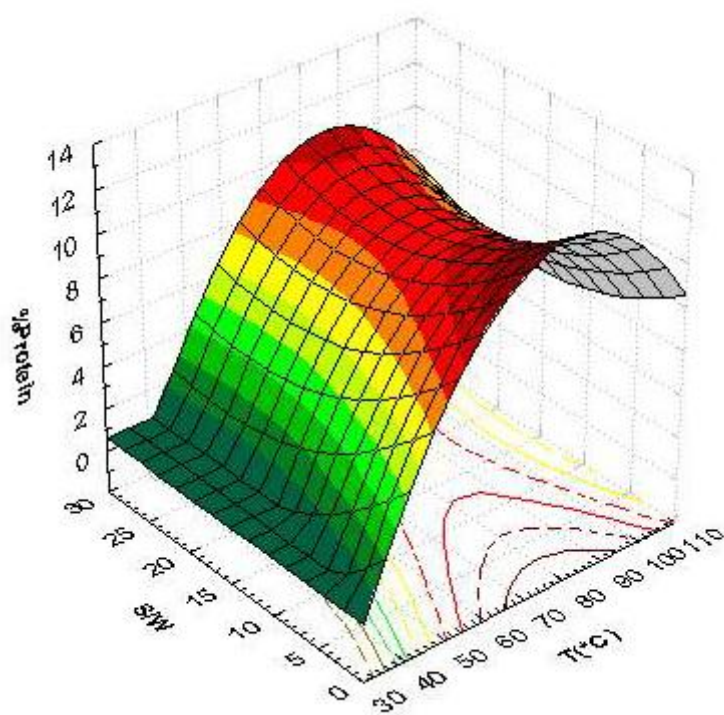


شکل ۱. اثر هم‌زمان دما و pH بر درصد راندمان استخراج

$$z = -3.905 + 0.363x - 0.672y - 0.003x^2 + 0.008xy + 0.003y^2$$

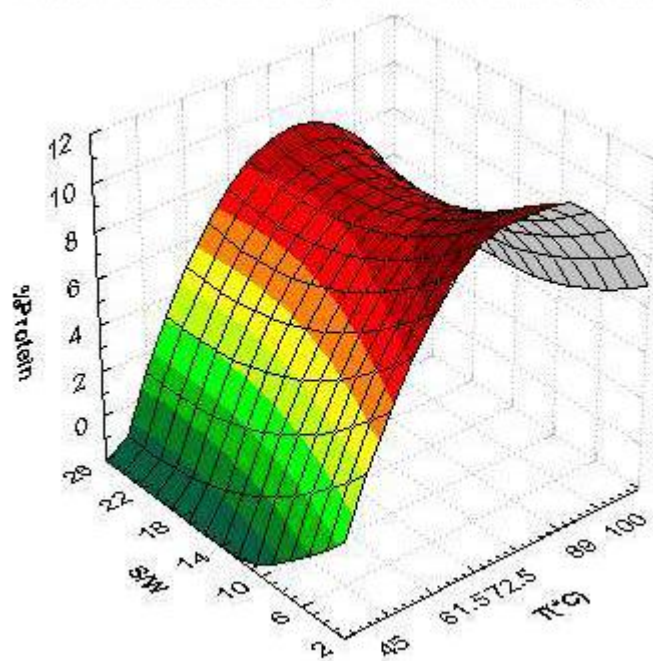


شکل ۲. اثر هم‌زمان دما و نسبت آب به دانه بر درصد راندمان



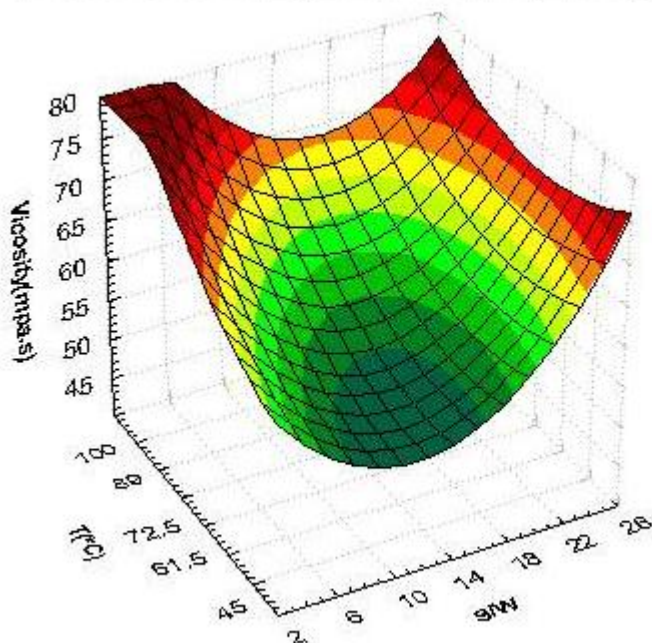
شکل ۳. اثر همزمان دما و نسبت آب به دانه بر درصد پروتئین همراه با خطوط کتور

$$z = -27.328 + 1.019 \cdot x - 0.696 \cdot y - 0.006 \cdot x^2 + 0.003 \cdot x \cdot y + 0.012 \cdot y^2$$



شکل ۴. اثر همزمان دما و نسبت آب به دانه بر درصد پروتئین بدون خطوط کتور

$$z = 67.256 - 1.784 * x - 0.146 * y + 0.107 * x * x - 0.017 * x * y + 0.004 * y * y$$



شکل ۵. اثر هم‌زمان نسبت آب به دانه و دما بر ویسکوزیته

ایرانی دارای ۱۰/۳ درصد صمغ بوده در حالی که نمونه بزرگ کانادایی دارای راندمان استخراج ۸/۰ درصد بوده است (۵). با کاهش pH، به دلیل افزایش حلالیت پروتئین، میزان پروتئین همراه با صمغ افزایش می‌یابد و این مسئله مطلوب نیست (۵) و باید شرایط استخراج در محدوده pH اسیدی کم تا ایزوالکتریک که پروتئین کمتر محلول است، تعریف گردد. از نظر میزان پروتئین همراه صمغ استخراجی، نمونه ایرانی دارای حدود ۸/۰ درصد پروتئین و نمونه کانادایی دارای ۹/۱ درصد پروتئین می‌باشد (۴) و از این جهت صمغ استخراجی بزرگ ایرانی کیفیت بالاتری نسبت به بزرگ کانادایی دارد (۵). بالاترین ویسکوزیته برای نمونه‌های استخراج شده در pH پایین (کمی اسیدی) تا خنثی و در درجه حرارت ۵۰-۸۰°C زمانی که نسبت آب به دانه ثابت در نظر گرفته شود (در نقطه مرکزی)، دیده می‌شود. متوسط ویسکوزیته محلول صمغ بزرگ ایرانی در نقطه مرکزی (جدول ۱ نمونه‌های ۱۵ تا ۲۰) در غلظت ۰/۳۵ درصد، دمای ۲۵°C و pH= ۶/۵ تا ۶۳/۴ مگا پاسکال بوده در صورتی که متوسط ویسکوزیته محلول

پروتئین با صمغ یک امر منفی در فرآیند استخراج محسوب می‌شود، باید محدوده‌ای را تعیین نمود که باعث خروج مقدار بسیار کمی پروتئین همراه صمغ شود. شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ اثر هم‌زمان دو به دو فاکتورهای دما، pH و نسبت آب به دانه را به ترتیب بر درصد راندمان و مقدار پروتئین استخراج شده همراه صمغ نشان می‌دهد. شکل ۵ اثر هم‌زمان pH نسبت آب به دانه و دما را بر ویسکوزیته نشان می‌دهد.

## بحث

با کمک طرح آماری روش صفحه پاسخ می‌توان آثار اصلی و برهمکنش فاکتورها را بر متغیرهای وابسته، با حداقل آزمایش، تعیین نمود. با توجه به جدول تجزیه واریانس مشخص شد که درجه حرارت فاکتور مؤثر بر راندمان استخراج است. تاثیر pH و نسبت آب به دانه بر راندمان استخراج در برابر اثر درجه حرارت کمتر است. بالاترین راندمان در pH پایین و درجه حرارت بالا حاصل شده است. این نتایج با مشاهدات کوبی و همکاران مطابقت دارد. از نظر راندمان استخراج، نمونه بزرگ

شرایط استخراج صمغ بزرک ایرانی بوده ولی نسبت آب به دانه در نمونه کانادایی ۱۳ گزارش شده است (۵). در شرایط تعریف شده فوق درصد راندمان استخراج بالاتر و میزان پروتئین همراه صمغ کمتر بوده است.

### سپاسگزاری

در پایان لازم است از هم‌فکری و زحمات آقای دکتر مهدی کدیور کمال تشکر و قدردانی گردد.

صمغ بزرک کانادایی در غلظت ۱/۰ درصد، دمای °C ۲۵ و pH= ۶/۵ تا ۱۰/۶۷۶ مگا پاسکال بوده است (۵). به نظر می‌رسد که اختلاف غلظت صمغ برداشته شده (حدود سه برابر) موجب اختلاف در ویسکوزیته گردیده است. بنابراین با تلفیق نتایج به دست آمده از نمودارها و استفاده از حل ماتریس (طبق روش دوم تعیین شرایط بهینه) بهترین شرایط استخراج صمغ از دانه بزرک عبارت است از:

دما: °C ۸۵-۹۰، نسبت آب به دانه: ۱۴ و pH: ۶/۵-۷/۰. شرایط بهینه استخراج صمغ کانادایی از نظر دما و pH مشابه

### منابع مورد استفاده

۱. سعیدی، ق. ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی عملکرد دانه و دیگر ویژگی‌های زراعی در ژنوتیپ‌های بزرک با کیفیت روغن خوراکی و صنعتی در اصفهان. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۵: ۱۰۷-۱۱۹.
2. BeMiller, J. N. 1973. Quince Seed, Psyllium Seed, Flaxseed and Okra Gums. In: R. L. Whistler and J. N. BeMiller. (Ed.), Industrial Gum. 2<sup>nd</sup> ed., Academic Press, New York.
3. Box, G. E. P. and K. B. Wilson. 1951. On the experimental attainments of optimum conditions. J. R. Statistical Soc. (B), 13: 1-45.
4. Cui, W., G. Mazza and C. G. Biliaderis. 1994. Chemical structure, molecular size distributions and rheological properties of flaxseed gum. J. Agric. Food Chem. 42: 1891-1895.
5. Cui, W., G. Mazza, B. D. Oomah and C. G. Biliaderis. 1994. Optimization of aqueous extraction process for flaxseed gum by response surface methodology. J. Food Sci. Technol. 27: 363-369.
6. Erskine, A. J. and K. N. Jones. 1957. The structure of linseed mucilage. PART I. Can. J. Chem. 35: 1174-1182.
7. Gardiner, W. P. and G. Gettinby. 1998. Experimental Design Techniques in Statistical Practice: A Practical Software-Based Approach, Harwood. England.
8. Lucas, A. E., D. R. Wild, J. L. Hammond, A. D. Khalil, Sh. Juma, P. B. Daggy, J. B. Stoecker and H. B. Arjmandi. 2002. Flaxseed improves lipid profile without altering biomarkers of bone metabolism in postmenopausal women. J. Clin. Endo. and Metab. 87: 1527-1532.
9. Mazza, G. and C. G. Biliaderis. 1989. Functional properties of flaxseed mucilage. J. Food Sci. 54: 1302-1306.
10. Mazza, G., C. G. Biliaderis and B. D. Oomah. 1992. Extraction and functional properties of flaxseed gum. Proceeding of the 54<sup>th</sup> Flaxseed Institute of the U.S. America. 84-92.
11. Muralikrishna, G., P. V. Salimath and R. N. Tharanathan. 1987. Structural features of an arabinoxylan and rhamnogalacturan derived from linseed mucilage. Carbohydrate Res. 161: 256-271.
12. Myers, R. H. 1991. Response Surface Methodology in quality improvement. Commun. Statistics- Theory and Methods 20: 457-476.
13. Myers, R. H., A. L. Khuri and G. Vining. 1992. Response surface alternatives to the taguchi robust parameter design approach. Am. Statistician 46: 131-136.
14. Neville, A. 1913. Linseed mucilage. J. Sci. Food Agric. 5: 113-128.
15. Oomah, B. D. 2001. Flaxseed as a functional source. J. Sci. Food Agric. 81: 889-994.
16. Oomah, B. D. and G. Mazza. 2001. Optimization of spray process for gum. Int. J. Food Sci. Technol. 36: 135-143.
17. Oomah, B. D., E. O. Kenaschuk, W. Cui and G. Mazza. 1995. Variation in the composition of water-soluble polysaccharides in flaxseed. J. Agric. Food Chem. 43: 1484-1488.
18. Rapport, L. and B. Lockwood. 2001. Flaxseed and flaxseed oil. Pharm. J. 266: 286-288.
19. Stewart, S. and G. Mazza. 2000. Effect of flaxseed gum on quality and stability of a model salad dressing. J. Food Quality 23: 373-390.
20. Wanneberger, K., T. Nylander and N. Nyman. 1991. Rheological and chemical properties of mucilages in different varieties from linseed (*linum usitatissimum*). Acta Agric. Scand., Section C, 41: 311-319.
21. Whistler, R. L. and J. N. BeMiller. 1993. Industrial Gums, Polysaccharides and Their Derivatives. 3<sup>rd</sup> ed., Academic Press, New York.