بررسی شرایط استخراج اینولین از ریشه های گیاه (Cichorium intybus L.) چیکوری

سهیل توکلی کردلر[1]، یوسف رمضان[2*] ، محمد عبدالهیان نوقابی[3]

۱-کارشناس ارشد علوم وصنایع غذایی،دانشکده علوم وفناوریهای نوین ، واحد علوم دارویی ، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران،ایران
۳- دانشیارموسسه تحقیقات واصلاح بذر چغندرقند کرج ، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۰۶ تاریخ پذیرش:۹۵/۰۹/۲۳

چکیده

اینولین کاربرد گسترده ای در زمینه های تغذیه ای، بهداشتی و صنایع غذایی دارد. پژوهش حاضر با هدف بررسی شرایط استخراج اینولین از ریشه گیاه چیکوری*(Cichorium intybus L.)*انجام شد. برای این منظور ریشه های تازه در دما ی (۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس) و خشک شده در آفتاب دمای (۳۰تا ۳۵ درجه سلسیوس) و همچنین خشک شده در آون (دمای۸۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس) توسط غلظت های مختلف اتانول(۴۰،۲۰و۶۰)درصد، جهت ترسیب اینولین استفاده شد. روش های مختلف جداسازی اینولین با برخی از روش های آماده سازی صنعتی اینولین، تحت تاثیر دما (دمای ۱۵-،۵ و۲۵ درجه سلسیوس) و اسیدیته آب (pH معادل ۶، ۷ و ۹) مورد مقایسه وارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، راندمان جداسازی اینولین از ریشه های خشک شده گیاه چیکوری در آفتاب معادل(۷۱٪) بود که با راندمان جداسازی اینولین از ریشه های تازه (۷۲٪) تفاوت معنی داری نداشت. اینولین حاصل از ریشه های خشک شده در آون که معادل(۵۹٪) بود به طور معنی داری ($p<0/05$)، کمتر از دو روش مذکور بود. علت آن ممکن است هیدرولیز فروکتان ها طی عملیات خشک شدن ریشه ها در دمای بالا، در آون باشد. نتایج نشان داد، برای دست یابی به محصول اینولین با خلوص بالا، ریشه های چیکوری باید با آبی استخراج شوند که pH آن در حدود ۷ تنظیم شده باشد. چنانچه pH آب در حدی باشد که محیط اسیدی شود، میزان بازیابی اینولین کاهش می یابد. بطور کلی بر اساس نتایج این پژوهش پیشنهاد می شود جهت استخراج اینولین از گیاه چیکوری، از ریشه های تازه برداشت شده از مزرعه و در صورت نیاز به خشک کردن ریشه ها، از دمای محیط (حدود ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس) برای خشک کردن استفاده شود.

واژه های کلیدی: استخراج اینولین، اتانول ، ریشه گیاه چیکوری، فروکتان

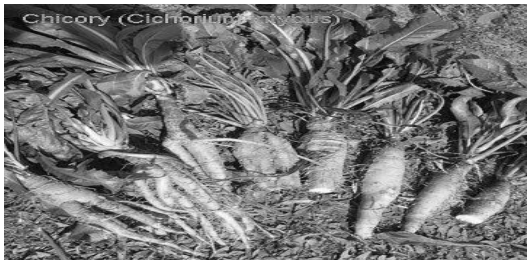
۱-مقدمه

با توجه به بالا بودن ارزش تغذیه ای و خواص تکنولوژیکی اینولین و ترکیبات آن، مصرف کنندگان امروزی نیازمند مواد غذایی هستند که دارای مقادیر کمی چربی و شکر است، و موجب ارتقای وضعیت سلامتی آنها شده و از لحاظ طعم و تغذیه ارزش بالایی دارد(۱و۲).با استناد به تحقیقات صورت گرفته، دلیل اصلی توجه به غذا های کم کالری در جوامع امروزی، میل افراد به کاهش انرژی دریافتی به منظور جلوگیری ازاختلال در متابولیسم کربوهیدرات ها وکاهش چربی می باشد. در جوامع امروزی،که سلامتی افراد در آن مطرح می باشد، بیماری های قلبی وعروقی، سرطان، کلسترول بالا، اضافه وزن، پوکی استخوان و دیابت، ازمسائل مورد بحث می باشند. اکثر کارشناسان تغذیه بر این عقیده هستند، شکر از نظر ارزش تغذیه ای قابل قیاس با بسیاری از غذا های دیگر نمی باشد. در بسیاری از کشورها جایگزین های آن مثل اینولین که شیرینی معادل ۳۰ درصد شیرینی ساکاروز است استفاده می شود(۶). لازم به ذکر است، که به ازای مصرف هر گرم اینولین حدود ۱/۵ کیلوکالری انرژی تولید می شود که این میزان فقط ۳۸ درصد انرژی یک مولکول قند شش کربنی هضم شده است (۱۴). امروزه اینولین به طور موفقیت آمیزی برای جایگزینی چربی و قند با مزایایی شامل میزان کالری کمتر، غنی سازی با فیبر غذایی و دیگر ویژگی های تغذیه ای نیز به کار می رود(۱۵).یکی از مهمترین مسائل مطرح شده در صنایع غذایی،که اخیراً مورد توجه مجامع علمی جهان قرار گرفته غذا های فراسودمند می باشد. با پیشرفت علم تغذیه، غذاهای فراسودمند، بعلت داشتن ترکیبات پری بیوتیک و پروبیوتیک اهمیت بسزائی در سلامتی میزبان دارند. متخصصین تغذیه، اینولین را جزء فیبرهای غذایی محلول در آب طبقه بندی کرده اند. اما تحقیقات حکایت از خواص پری بیوتیکی این ماده دارد که سبب شده از آن بعنوان یک ماده فراویژه نام برده شود. زیرا می توانند فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بدن را تغییر داده، و موجب بهبود وضعیت سلامتی و جلوگیری از بسیاری از بیماری ها می شوند(۸ و۹ و ۱۱ و۱۶).

درواقع اینولین به پلیمرهای فروکتوز با درجه پلیمریزاسیون ۲ تا ۶۰ که توسط پیوندهای فروکتوزیل(۱-۲)β به هم متصل شده اند اطلاق می گردد .اینولین در طبیعت به صورت کربوهیدرات های ذخیره ای در گیاهان و پلی ساکاریدهای خارج سلولی و دربرخی از میکروارگانیسمها یافت شده و می تواند به عنوان جایگزین شکر وچربی بعلت داشتن کالری پایین، در مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد(۷).اینولین کاربرد بسیار وسیع در صنایع غذایی و دارویی داشته،و براساس درجه پلیمریزاسیون موجود مورد استفاده قرار می گیرد. اینولین با درجه پلیمریزاسیون بالای ۱۰ می تواند در تولید فرآورده های گوشتی، شیر و نانوایی بعنوان جایگزین چربی مورد مصرف قرار می گیرد. همچنین این ترکیبات با درجه پلیمریزاسیون کمتر از ۱۰ بعلت دارا بودن مزه شیرین، پایین بودن شاخص گلایسمیک و اثر پوشانندگی پس طعم شیرین کنندهای کم کالری مثل آسپارتام در تولید انواع نوشابه و فرآورده های کم کالری می تواند استفاده شود(۳و ۴ و ۵).

اینولین و فروکتان به صورت گسترده در سطح جهان مورد استفاده قرار می گیرند، و از خواصی برخوردارند که ارتقاء دهنده سطح سلامت انسان است. با توجه به مقدار اینولین موجود در اعضای خانواده چیکوری (۱ تا ۲۰ درصد) و بررسی شرایط اقلیمی ایران و مساعد بودن شرایط جوی در برخی مناطق بخصوص دشت قزوین، جهت کشت این گیاه مطلوب می باشد. بنابر این برای تولید صنعتی اینولین با عملکرد ریشه و اینولین بالا، ترویج و کشت واریته زراعی ، مثل واریته اورچیز نیاز است. ریشه های این گیاه فروکتان ها را به صورت ماده ذخیره ای در خود نگه می دارند، که شامل ۷۰ تا ۸۰ درصد وزن خشک ریشه را تشکیل می دهد. اگر هیچ نوع ضایعاتی در

طی فرآیند استخراج و تصفیه ایجاد نگردد، میزان تولید ریشه حدوداً ۱۱ تا ۱۶ تن بر هکتار برآورد می گردد، که منجر به تولید ۸ تا ۱۲ تن بر هکتار اینولین می شود(۱۲).کنگر فرنگی و چیکوری، از جمله گیاهانی هستند که در حال حاضر، درصنعت برای استخراج اینولین استفاده می شوند(۱۱و۱۶).برای استخراج اینولین از گیاهان روش های مختلفی عنوان گردیده است که از آن جمله میتوان به استخراج با آب گرم، ترسیب با حلال های مختلف مانند اتانول، پروپانول، استون، استونیتریل و استخراج آبی با اعمال فراصوت اشاره نمود(۱۳). مطالعات نشان داد، استخراج اینولین از گیاه چیکوری و بررسی شرایط استخراج و آماده سازی ریشه های این گیاه اطلاعات اندک موجود است. کمبود کارهای پژوهشی مستند موجب گردید، نسبت به بررسی شرایط بهینه استخراج اینولین با استفاده از فرآیند آماده سازی ریشه گیاه چیکوری و معرفی منبع بالقوه غنی اینولین،این مطالعه صورت گرفت. هدف ما در این پژوهش بررسی روش های خشک شدن ریشه و آماده سازی آن به منظور استخراج فروکتان واینولین ومقایسه با برخی از روش های آماده سازی صنعتی می باشد. در این آزمایش خشک شدن ریشه های چیکوری به روش های مختلف، مقادیر کربوهیدراتی متفاوتی را سبب گردید. نتایج آزمایشات نشان داد، در طی عملیات خشک شدن ریشه در آون، با دمایی بین ۸۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس، بخشی از اینولین هیدرولیز می شود، که منجر به محتوی بالاتر فروکتوز می گردد. با این حال، ریشه های خشک شده در آفتاب، از نظر مقدار فروکتان، تقریباً همانند ریشه های تازه و آبدار چیکوری هستند. بنابراین، ریشه های خشک شده در آفتاب را می توان برای استخراج و جداسازی اینولین مورد استفاده قرار داد. این مطالعه به معرفی و توسعه روش مقرون به صرفه برای جداسازی اینولین از ریشه های چیکوری می پردازد.



شکل ۱- ریشه گیاه چیکوری کشت داده شده درمزرعه شرکت قند قزوین

۲- مواد و روش ها

۲-۱-مواد

ریشه های چیکوری (Cichorium intybus.L) مورد استفاده در این تحقیق، یک نوع واریته زراعی بنام اورچیزمی باشد، که بذر آن از کشور فرانسه خریداری و درمزرعه تحقیقاتی شرکت کارخانجات قند قزوین کشت گردید، و از آن مزرعه تهیه شد(شکل۱). سایر مواد شیمیایی استفاده شده در این تحقیق شامل، اتانول ۹۶ درصد از شرکت تقطیر خراسان، اینولین تجاری از شرکت سیگماآلدریچ، اسید سولفوریک ۹۸ درصد، فنول ۵ درصد، فروکتوز استاندارد، آب مقطر، اسید استیک و معرف دی نیتروسالسیلیک اسید از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

۲-۲- آماده سازی ریشه های چیکوری

به منظورحذف آلودگی، ریشه ها بوسیله آب مقطر در آزمایشگاه شست وشو و تمیز شدند. پس از پوست کندن آماده سازی نمونه ها به سه روش انجام شد. در روش اول فروکتان ها از ریشه های تازه استخراج شدند، در روش دوم ریشه ها به قطعات کوچک(ابعاد۴*۴) برش داده شده، و در مقابل آفتاب(دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس) بمدت یک ساعت خشک می شوند. در روش سوم ریشه ها پس از پوست کندن و برش خوردن در یک آون آزمایشگاهی(مدل memmert-un55 ساخت

کشور آلمان) در دمای ۸۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس بمدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند(۱۰و۱۱).

۲-۳- استخراج فروکتان

ریشه های تازه پس از شت وشو با آب سرد وخشک شدن کامل در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.از ریشه های تازه مقدار ۱۰۰ گرم در یک مخلوط کن، خرد کرده و سپس سوسپانسیون حاصل به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفت .پس از صاف کردن عصاره حاصل pH سوسپانسیون عصاره برای حذف ذرات و مواد کلوئیدی مانند پکتین، پروتئین و مواد دیواره سلولی، با استفاده از محلول هیدروکسید کلسیم ۵ درصد(مرک) از۶ به ۷ الی ۹ رسانده شد. عصاره به مدت نیم ساعت در دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و رسوب حاصل با استفاده از کاغذ صافی جدا گردید. در مرحله بعد ریشه های خشک شده در آون و درآفتاب، به صورت دستی و جداگانه در یک هاون آزمایشگاهی پودر وازیک الک آزمایشگاهی با مش شماره۵۰ میکرومتر عبور داده شدند، تا پودری با اندازه ای یکنواخت حاصل شود. در مرحله بعد با اضافه کردن آب به پودر چیکوری، در pH های ۶، ۷ و ۹ به مقدار پنج واحد حجمی، وقرار دادن در حمام آب در دمای ۹۰تا۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت۲۰ دقیقه ترکیبات محلول وارد فاز آبی شدند. سپس محلول بدست آمده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ وقیف بوخنرتحت خلا عبور داده شد، تا مواد نامحلول در آب جدا شوند استخراج سه مرتبه بطور جدا گانه برای هر تیمار تکرار شد(۱۰و۱۱و۱۲و۲۱).

۲-٤-خالص سازی اینولین

به منظور خالص سازی اینولین، ازدرصدهای مختلف اتانول(۲۰، ۴۰ و۶۰)درصد در درجه حرارت های مختلف(دمای ۱۵- ، ۵ و ۲۵ درجه سلسیوس) استفاده شد. مواد رسوب داده شده با محلول اتانول ۹۶ درصد به نسبت ۸ به ۱شت و شو و به مدت دو روز در دمای ۴۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. تا الکل آن کاملاً جدا گردیده و خشک شود(۱۰و۱۹و۲۳).

۲-۵-تعیین مقدار اینولین

برای اندازه گیری مقدار اینولین موجود درنمونه ها، میزان قند احیاء از میزان قندکل به دست آمده کسر گردید. بازده استخراج اینولین نیز از طریق فرمول زیر محاسبه شد(۱۲و۱۳و۲۴).

۱۰۰ × (مقدارپودرچیکوری/حجم عصاره استخراجی × مقدار اینولین) =بازده استخراج اینولین

۲-٦-تعیین مقدار قند کل

به منظور اندازه گیری قند کل موجود در نمونه ها از روش فنول سولفوریک اسید استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا به ۱ میلی لیتر نمونه رقیق شده ۱ میلی لیتر فنول ۵ درصد افزوده شد. سپس ۵ میلی لیتراسیدسولفوریک ۹۸ درصد به نمونه ها اضافه گردید و بعد از ۲۰ دقیقه، جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۹۰ اندازه گیری شد. از فروکتوز به عنوان محلول استاندارد استفاده گردید و بعد از رسم منحنی استاندارد میزان قندکل موجود در نمونه تعیین شد(۲۶).

۲-۷- اندازه گیری pH

pH محلول ۱۰٪ اینولین با استفاده از دستگاه pH متر الکترونیکی مدلWTW آلمان اندازه گیری شد.

۲-۸- درصد ماده خشک

برای اندازه گیری درصد ماده ی خشک نمونه ازروش (AOAC, 2000a) استفاده شد بدین منظورنمونه در دمای ۱۰۰ درجه خشک شده وسپس درصد ماده خشک از فرمول زیر محاسبه گردید(۲۳).

100*(جرم نمونه اولیه/جرم نمونه)=درصد ماده خشک

۲-۹-اندازه گیری قنداحیاکننده

جهت اندازه گیری قند احیاء از روش بالدینی و همکاران استفاده شد. بدین منظور، ۲۵ گرم تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم۱/۶ گرم هیدروکسید سدیم و ۱گرم دی نیتروسالیسیک اسید مخلوط شده و این مخلوط به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. به منظوریکنواخت شدن مخلوط از همزن مدل مولینکس در دمای اتاق وبه مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه استفاده شد. سپس ۲/۵میلی لیتراز این محلول رابه۱/. میلی لیتر عصاره استخراج شده و رقیق شده تا غلظت ۱درصدافزوده واین مخلوط رادر دمای۹۰ درجه سلسیوسْ برای ۱۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. سپس سرد شدن به کمک آب سرد تا دمای محیط انجام شده و ۲/۴ میلی لیتر آب مقطر به نمونه ها افزوده گردید و در نهایت میزان جذب نمونه ها در ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. جهت تهیه منحنی استاندارد ازD فروکتوز استفاده شد(۲۴).

۲-۱۰-تجزیه وتحلیل آماری

کلیه آزمایشات فوق در قالب سه تکرار صورت گرفت ونتایج در قالب طرح کاملا تصادفی تجزیه واریانس گردید. مرتب سازی داده ها ورسم نمودارها توسط نرم افزارExcel ۲۰۰۷ انجام شد. تجزیه وتحلیل اطلاعات بدست آمده و میانگین داده ها با نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال خطای کوچکتر از ۵٪ مقایسه شدند.

۳-نتایج وبحث

خشک شدن ریشه های چیکوری به روش های مختلف، مقادیر کربوهیدراتی متفاوتی را در آنها ایجاد نمود(جدول ۱). بر اساس ترکیب ریشه های تازه، خشک شده در آفتاب ودر آون مشاهده شد، که در طول عملیات خشک شدن در آون، در دمایی ۸۰ تا ۹۰ درجه سلسیوس، بخشی از اینولین هیدرولیز شده، وباعث بالا رفتن میزان فروکتوز می گردد. با این حال، ریشه های خشک شده در آفتاب، از نظر محتوی فروکتان، تقریباً همانند ریشه های تازه و آبدار چیکوری هستند. بنابراین، ریشه های خشک شده در آفتاب را می توان برای استخراج و جداسازی اینولین مورد استفاده قرار داد. جدول۱ مقادیر میانگین تاثیر روش خشک کردن ریشه های چیکوری تازه و خشک شده در آفتاب و آون که روی غلظت فروکتان وفروکتوز با تست دانکن در سطح احتمال خطای کوچکتر از۵ درصد آنالیز شده اند خلاصه شده است. با توجه به نتایج بدست آمده، بالاترین میزان فروکتان در ریشه های چیکوری تازه مشاهده شد، و پس از آن ریشه های چیکوری خشک شده در آفتاب حائز بالاترین مقدار فروکتان بودند، هرچند از این نظر تفاوت آماری معناداری بین ریشه های چیکوری تازه و خشک شده در آفتاب وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). ریشه های چیکوری خشک شده در آون کمترین میزان فروکتان را دارا بودند (۵۸/۵) و از این نظر با ریشه های چیکوری تازه و ریشه های چیکوری خشک شده در آفتاب اختلاف آماری معناداری را نشان دادند ($p<۰/۰۵$). ریشه های چیکوری خشک شده در آفتاب حائز میزان بسیار کمتری فروکتوز(۱/۸)گرم بودند، و بالاترین مقدار فروکتوز(۱۲/۴)گرم درریشه های خشک شده درآون حاصل شد، که از این نظر با ریشه های چیکوری تازه(۱/۴)گرم اختلاف آماری معناداری نشان ندادند ($p>۰/۰۵$). هرچند خشک نمودن ریشه های چیکوری در آفتاب، میزان فروکتوز نسبتا بالاتری را نسبت به ریشه های تازه کاسنی یعنی(۱/۴) گرم در آنها سبب شد.

جدول۱ مقایسه ترکیب کربوهیدراتی ریشه های تازه چیکوری و ریشه های خشک شده در آفتاب و در آون

نوع ریشه	فروکتان	فروکتوز
ریشه تازه	۷۲/٤±۲/۳[a]	۱/٤±۰/۲[d]
ریشه خشک شده در آفتاب	۷۰/۸±۱[a]	۱/۸±۰/۲[d]
ریشه خشک شده در آون	۵۸/۵±۰/۸[b]	۱۲/٤±۰/۸[c]

جدول براساس میانگین ± انحراف معیار استاندارد تنظیم شده است حروف غیر یکسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد میباشند.

۳-۱-تاثیر pH در ترسیب اینولین

اثر pH میدان استخراج، بر جداسازی اینولین درجدول ۲ گزارش شده است. افزایش اندکی pH به سمت قلیایی اثری بر ترسیب اینولین ندارد. اما با کاهش pH به سمت ۶، رسوب (بازیابی) اینولین تا ۳۵ درصد کاهش می یابد. نتایج بررسی و مقایسه میانگین میزان ترسیب اینولین تحت تاثیر pH نشان داد، که رسوب اینولین در pH های ۷ و ۹، اختلاف معناداری را به لحاظ آماری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). در حالیکه میزان ترسیب اینولین در این pH ها با pH برابر ۶، اختلاف آماری معناداری داشت ($p<۰/۰۵$). علت افزایش بازیافت اینولین در pH های بالاتر آب احتمالا به دلیل نفوذ بیشتر آب و افزایش پدیده اسمزمی باشد، که قابلیت حل شدن اینولین افزایش یافته و در نتیجه میزان اینولین بیشتری خارج می گردد (۱۷).در مطالعه میلانی و همکاران (۱۳۸۹) جهت بررسی اثر pH بر راندمان استخراج اینولین، اندازه گیری راندمان در pH ۸ و ۹ پیگیری شد. نتایج حاکی از عدم تاثیر این فاکتور بر راندمان بود. دربررسی نتایج لینگیون و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیانگر عدم معنی داری فاکتور pH بر راندمان استخراج بود.

جدول ۲اثر pH بر جداسازی اینولین در۱۰۰گرم ریشه خشک شده در آفتاب

	pH=۶	pH=۷	pH=۹
مقدار اینولین(برحسب گرم)	۲۱/٦±۰/۷[b]	۳۳/٤±۰/۷[a]	۳۲±۰/۵[a]

جدول براساس میانگین ± انحراف معیار استاندارد تنظیم شده است حروف غیر یکسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد میباشند.

۳-۲-اثر دما بر میزان فروکتان ،قند احیاء واینولین

اثردما بر میزان فروکتان، قند احیاء واینولین در دما های متفاوت بررسی شده است(جدول۳). آزمایشات نشان داد، وزن خشک اینولین، فروکتان و قند احیاء درهریک از دماها متغیراست. میزان ترسیب اینولین با افزایش دمای استخراج از۱۵- درجه سلسیوس تا ۲۵درجه سلسیوس، اختلاف آماری معناداری را نشان داد ($p<۰/۰۵$). همچنین با توجه به نتایج بدست آمده، میزان فروکتان استخراج شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بالاترین مقدار بود، که این امر نشان دهنده این است که افزایش دما می تواند در بازده استخراج

فروکتان تاثیر گذار باشد، هر چند این تاثیربه لحاظ آماری معنادار است (p<۰/۰۵). همچنین افزایش دما سبب کاهش معناداری به لحاظ آماری در میزان قند احیاء گردید (p<۰/۰۵). کیم و همکاران (۲۰۰۱) گزارش نمودند، که اینولین در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تقریبا در آب نامحلول است، اما حلالیت آن بطور معناداری با افزایش دما بیشتر می شود. به دلیل حلالیت کم اینولین در دماهای پائین، محلول اینولین در دماهای یخچالی یا فریزر دو فاز می شود. برگوفر و همکاران (۱۹۹۳) درمطالعات خود به این نتیجه رسیدند،که کاهش دما از ۹۵ درجه سلسیوس تا ۴ درجه سلسیوس باعث می شود، قسمتی از محلول اینولین ترسیب یا کریستاله شده، و به روش فیلتراسیون قابل جداسازی است. لینگیون و همکاران (۲۰۰۷) نیز در پژوهش خود به این نکته اشاره کردند، که نسبت حلال به کنگر فرنگی و دما دارای بیشترین تاثیر بر بازده استخراج بودند.در نتایج تحقیقات میلانی و همکارانش (۱۳۹۰) گزارش شده است افزایش دما تا ۷۷/۵ درجه سلسیوس راندمان استخراج اینولین را افزایش داده و پس از آن بازده استخراج کاهش می یابد. افزایش بازده با افزایش دما احتمالا به دلیل بهبود انتقال جرم در نتیجه افزایش حلالیت اینولین و کاهش ویسکوزیته حلال است. و روند کاهشی راندمان پس از دمای ۷۷/۵ درجه سلسیوس می تواند در اثر افزایش دپلیمریزاسیون اینولین به قندهای آزاد در اثر افزایش دما باشد. بیتریز و همکاران(۲۰۰۵)و کمپوس و همکاران(۲۰۰۹) به این نتیجه رسیدند که افزایش دمای استخراج می تواند منجر به تبخیر حلال و افزایش هزینه های تامین انرژی و تقویت استخراج ناخالصی ها شود. در مطالعه ویلی و همکاران (۲۰۰۷)گزارش شده، نتایج بهینه سازی استخراج پلی ساکارید نشان داد، افزایش دما تا ۶۰ درجه سلسیوس منجر به افزایش بازده استخراج می شود، اما بکارگیری دماهای بالاتر به دلیل احتمال تجزیه پلی ساکاریدها به قندهای آزاد باعث کاهش بازده می شود.در مطالعه بکر و همکاران (۲۰۰۷) ، میزان اینولین به دست آمده از سیب زمینی ترشی در سه دمای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درجه سلسیوس و چهار زمان ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه گزارش شد. آزمایشات نشان داد، دمای پایین موجب افزایش رسوب اینولین نمی شود. بنابراین اینولین را می توان در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، جداسازی کرد.

جدول ۳ تاثیر دما بر ترسیب اینولین

نوع	۲۵ درجه سلسیوس	۵درجه سلسیوس	۱۵- درجه سلسیوس
اینولین(گرم)	۲۲±۰/۵[a]	۲۱/۷±۰/۵[b]	۲۱/٦±۰/٤[b]
فروکتان (گرم)	٤۹/۵±۰/٦[a]	٤۵/۹±۰/٦[b]	٤٦/۲±۰/۸[b]
قند احیاء (گرم)	۳/۸±۰/۲[b]	٤/۷±۰/۲[a]	٤/۸±۰/۱[a]

جدول براساس میانگین ± انحراف معیار استاندارد تنظیم شده است حروف غیر یکسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد است.

۳-۳-اثر غلظت اتانول بر میزان فروکتان ، قند احیاء واینولین

در این پژوهش از غلظت های اتانول ۲۰،۴۰ و ۶۰ درصد برای ترسیب اینولین استفاده شد(جدول ۴). براساس نتایج آزمایشات، غلظت اتانول ۴۰ درصد بالاترین میزان ترسیب اینولین(۲۰/۵)گرم را سبب شد، به طوریکه میزان ترسیب اینولین در غلظت ۴۰ درصد اتانول با غلظت های اتانولی ۲۰ درصد و ۶۰ درصد تفاوت آماری معناداری را نشان

داد(p<۰/۰۵).نتایج نشان داد،کاهش یا افزایش غلظت در مقداراینولین ترسیب شده اهمیت بسزایی دارد. با افزایش غلظت از ۴۰ به ۶۰ درصد اتانول درمیزان ترسیب اینولین اختلاف آماری معناداری را نشان داد (p<۰/۰۵). براساس نتایج بدست آمده، میزان فروکتان استخراجی در حضور اتانول ۲۰ و ۴۰ درصد بالاترین مقدار می باشد. افزایش غلظت اتانول از ۲۰ به ۴۰ درصد می تواند در افزایش استخراج فروکتان تاثیر گذار باشد، هر چند این تاثیرهم معنادار نبود (p>۰/۰۵). اما افزایش غلظت اتانول تا ۶۰ درصد سبب کاهش معناداری به لحاظ آماری در میزان فروکتان شد. از نتایج چنین مشخص شد، که غلظت اتانول ۲۰درصد کمترین میزان استخراج قند احیاء ، و غلظت ۴۰ و۶۰ درصدی اتانول بالاترین مقدار قند احیاء را سبب شد. ضمن اینکه افزایش غلظت اتانول از۲۰ تا ۴۰ درصد در مقدار قند احیاء تفاوت معنادار آماری را نشان نداد (p>۰/۰۵). اما افزایش غلظت از ۴۰ به ۶۰ درصد، میزان قند احیاء را بطور معنادار افزایش داد (p<۰/۰۵).

جدول٤ اثر غلظت اتانول بر میزان فروکتان ، قند احیاء واینولین در ۱۰۰ گرم ریشه خشک شده در آفتاب.

	اتانول ۲۰ درصد	اتانول ٤۰ درصد	اتانول ٦۰ درصد
اینولین (بر گرم)	۱۵/۸±۱/۲^{b}	۲۰/۵±۱/۱^{a}	۱۲/۱±۱/٤^{b}
فروکتان	۹۱/۸۵±۰/۸^{a}	۹٦±۱/۱^{a}	۸۸/۳±۰/۷^{b}
قند احیاء	۳/٤±۰/۲^{b}	۳/۷±۰/۱^{b}	۵/۳±۰/۲^{a}

جدول بر اساس میانگین ± انحراف معیار استاندارد تنظیم شده است حروف غیر یکسان در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد میباشند.

۳-٤-بررسی استخراج اینولین والیگو ساکارید باقی مانده در اتانول ٤۰درصد

اندازه گیری درصد فروکتان و قند احیاء در اینولین و الیگوساکارید مستخرج از اتانول حاکی از آن بود که درصد استخراج اینولین باقیمانده در۴۰ درصداتانول(۸۷/۴)گرم، که بالاتر از الیگوساکارید باقیمانده در۴۰ درصد اتانول (۸۱/۱)گرم می باشد، همچنین در این آزمایش میزان استخراج قند احیاء در الیگوساکارید باقیمانده در اتانول(۱۲) گرم که بالاتر از اینولین باقیمانده در اتانول(۴/۳) گرم شد.با توجه به نتایج اختلاف معنادار به لحاظ آماری در سطح ۵ درصد داشتند (p<۰/۰۵). تفاوت اینولین های استخراجی به روش های مختلف، منجر به تفاوت های مشخص در ویژگی های کیفیتی و عملکردی آنها می شود، راندمان استخراج الیگوساکارید باقیمانده در۴۰ درصداتانول در ۱۰۰ گرم ریشه، بالاتر از میزان استخراج اینولین آن بود هرچند این دو به لحاظ آماری تفاوت معناداری نداشتند (p>۰/۰۵).

جدول۵ استخراج الیگو ساکارید و اینولین باقیمانده در اتانول

	راندمان ۱۰۰ گرم ریشه	فروکتان(گرم)	قند احیاء(گرم)
استخراج الیگو ساکا رید باقی مانده در ٤٠ درصد اتانول	٤٣/٢±١^{a}	٨١/١±٠/٨^{b}	١٢/٩±٠/٦^{a}
استخراج اینولین باقی مانده در ٤٠ درصد اتانول	٤٢/٥±١^{a}	٨٧/٤±٠/٦^{a}	٤/٣±٠/٣^{b}

جدول بر اساس میانگین ± انحراف معیار استاندارد تنظیم شده است حروف غیر یکسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد میباشند.

دراین آزمایش خشک نمودن ریشه های چیکوری در آفتاب و آون، مقادیر اینولین و فروکتوالیگوساکاریدی متفاوتی را به لحاظ آماری در آنها سبب شد (جدول ۶).بر اساس نتایج آزمایشات میزان اینولین در ریشه های چیکوری خشک شده در آفتاب بالاترین مقدار بود که به لحاظ آماری تفاوت معنادار با میزان اینولین استخراج شده در آون در سطح ۵ درصد داشتند($p<۰/۰۵$). همچنین ریشه های چیکوری خشک شده در آون حاوی مقادیر بالاتری فروکتوالیگوساکارید بودند که اختلاف معناداردرسطح ۵ درصد با ریشه خشک شده در آفتاب داشتند($p<۰/۰۵$).

جدول٦ مقادیر اینولین و فروکتوالیگوساکارید ریشه های خشک شده در آفتاب وآون

نوع ریشه	اینولین	فروکتوالیگوساکارید
ریشه خشک شده در آون(گرم)	١٨/١±١/٢^{b}	٥٦/١±١/٦^{a}
ریشه خشک شده در آفتاب(گرم)	٣٥/٥±٠/٤^{a}	٣٦/١±٠/٨ ^{b}

جدول بر اساس میانگین ± انحراف معیار استاندارد تنظیم شده است حروف غیر یکسان در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد میباشند.

در پژوهش کمالی و همکاران (۱۳۹۳) بازده استخراج اینولین از سیب زمینی ترشی از غده های تازه پس از تصفیه و خالص سازی حدود ۱۰/۲۱ درصد تخمین زده شد. بازده اینولین استخراجی از کنگر فرنگی توسط عباسی و فرزان مهر (۱۳۸۸) در بهترین حالت در استخراج آبی ۲/۳ گرم در ۱۰۰ گرم و در استخراج آبی با اعمال فراصوت مستقیم ۲/۶ گرم در ۱۰۰ گرم کنگر فرنگی محاسبه شد. همچنین در پژوهش میلانی و همکاران (۱۳۹۰)، ۱۳/۲۳ درصد اینولین از پودر خشک گیاه شنگ در شرایط بهینه استخراج آبی به دست آمد که بازده اینولین از ریشه چیکوری در این پژوهش بالاتر از این دو مورد بوده است.

٤-نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد، که روش خشک کردن تاثیر قابل ملاحظه ای بر درصد فروکتان استخراج شده دارد. خشک شدن ریشه های چیکوری به روش های مختلف، مقادیر کربوهیدراتی متفاوتی را سبب می شود. بر اساس داده های بدست آمده در این آزمایش می توان گفت، ریشه های چیکوری خشک شده در آون کمترین میزان فروکتان را دارا بودند (۵۸/۵) و از این نظر با ریشه های چیکوری تازه و ریشه های خشک شده در آفتاب اختلاف آماری معناداری را نشان دادند ($p<$ ۰/۰۵)، و همچنین آزمایشات نشان داد، خشک شدن ریشه های کاسنی در آون، بالاترین مقدار فروکتوز را در آنها سبب شد و ریشه های کاسنی خشک شده در آفتاب حائز میزان بسیار کمتری فروکتوز بودند. در این آزمایش نتیجه گرفته شد که وزن خشک اینولین، فروکتان و قند احیاء در دماهای مختلف، متفاوت است،کاهش دما از۲۵ درجه سلسیوس به ۱۵-درجه سلسیوس سبب افزایش رسوب اینولین نمی شود. در این تحقیق با لاترین میزان استخراج اینولین دمای ۲۵ درجه سلسیوس تعیین شد. که میزان آن دردمای ۲۵درجه سلسیوس، ۲۲ گرم و مقدار اینولین در دمای ۵ و ۱۵- درجه سلسیوس به ترتیب ۲۱/۷ و ۲۱/۶ گرم بود. در پژوهش حاضر، افزایشpH از ۷ تا ۹ اثری بر رسوب اینولین ندارد. اما کاهش pH به سمت ۶رسوب اینولین را تا ۳۵ درصد کاهش داد. همچنین در این پژوهش از غلظت های اتانول ۲۰،۴۰،۶۰ درصد برای ترسیب اینولین استفاده شد و مشاهده شد که غلظت اتانول ۴۰ درصد بالاترین میزان ترسیب اینولین را بهمراه داشت. اندازه گیری درصد فروکتان و درصد قند احیاء دراستخراج اینولین و الیگوساکارید باقی مانده در۴۰٪ اتانول حاکی از آن بود که درصد استخراج فروکتان از اینولین باقیمانده در اتانول ۸۷/۴ گرم، و بالاتر از الیگوساکارید باقی مانده در اتانول ۸۱/۱ گرم می باشد. وهمچنین درصد استخراج قند احیاء در الیگوساکارید باقیمانده در اتانول ۱۲ گرم که بالاتر ازمیزان اینولین باقیمانده در۴۰٪ اتانول ۴/۳ گرم بوده است.

۵-سپاسگزاری

در پایان نویسندگان این مقاله از مدیریت محترم شرکت کارخانجات قند قزوین و پرسنل زحمت کش واحد کنترل کیفیت و تحقیق و توسعه که در انجام این تحقیق کمال همکاری را داشتند سپاسگزاری می نمایند.

٦- منابع

1. Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, *31*(3), pp.426-428.
2. Zargari A. Medicinal Plant. Tehran University Publication. Fifth edition, 1993, Volume 5: 890 -894.
3. Roberfroid, M., 1993. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *33*(2), pp.103-148.
4. Summerfield, A.L., Hortin, G.L., Smith, C.H., Wilhite, T.R. and Landt, M., 1993. Automated enzymatic analysis of inulin. *Clinical chemistry*, *39*(11), pp.2333-2337.
5. Kruse, H.P., Kleessen, B. and Blaut, M., 1999. Effects of inulin on faecal bifidobacteria in human subjects. *British Journal of Nutrition*, *82*, pp.375-382.
6. Franck, A., 2002. Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, *87*(2), pp. 287-291.
7. Kaur, N. and Gupta, A.K., 2002. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of biosciences*, *27*(7), pp.703-714.
8. Brunner, G., 2005. Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering*, *67*(1), pp.21-33.
9. Gibson, G. R., 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept).*Clinical Nutrition Supplements*, *1*(2), 25-31.
10. Roberfroid, M.B., 2005. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, *93*(1), pp. 13-25.
11. Paseephol, T., Small, D. and Sherkat, F., 2007. Process optimisation for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol us-

ing response surface methodology. *Food Chemistry*, *104*(1), pp.73-80.
12. Frouzanmehr H, Abbasi S., 2007. Optimization of inulin extraction from Helianthus tuberous with or without ultrasonic technique by using Response surface methodology. 17 th Conference of Food Science. Iran., 310 - 311.
13. Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin, Y., Chenggang, C., Tianhua, F. and Fan, Z., 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering*, *79*(3), pp.1087-1093.
14. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. New York: John Wiley. 1996, 45 - 93.
15. Myers RH, Montgomery DC. Response surface methodology: process and product optimization
using designed experiments. 2nd Edition. Wiley,New York. 2002, 115 - 24.

16. Milani, E., Poorazarang, H., Khah, S.V. and Vakilian, H., 2010. Optimization of inulin extraction from Helianthus tuberosus using response surface methodology (RSM). *Iranian Food Science & Technology Research Journal*, *6*(3), pp.176-183.
17. Li, J.W., Ding, S.D. and Ding, X.L., 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from Zizyphus jujuba cv. jinsixiaozao. *Journal of food engineering*, *80*(1), pp.176-183.
18. Toneli, J.T.C.L., Mürr, F.E.X., Martinelli, P., Dal Fabbro, I.M. and Park, K.J., 2007. ptimization of a physical concentration process for inulin. *Journal of food engineering*, *80*(3), pp.832-838.
19. Apolinario, A.C., de Lima Damasceno, B.P.G., de Macêdo Beltrão, N.E., Pessoa, A., Converti, A. and da Silva, J.A., 2014. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate polymers*, *101*, pp.368-378.
20. Toneli, J.T.C.L., Park, K.J., Ramalho, J.R.P., Murr, F.E.X. and Fabbro, I.M.D., 2008. Rheological characterization of chicory root (Cichorium intybus L.) inulin solution. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *25*(3), pp.461-471.
21. De Oliveira, R.A., Park, K.J. and Park, K.J.B.,2014. Optimization of inulin extraction from chicory roots.
22. Paseephol, T. and Sherkat, F., 2009. Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *Journal of Functional Foods*, *1*(3), pp.311-318.
23. AOAC. 2000a. Official Methods of Analysis. Method 990.20. Determination of solids by direct forced air oven drying method. 17th ed. Washington DC: AOAC.
24. Baldini M, Danuso F, Turi M and Vannozzi GP. Evaluation of new clones of Jerusalem
artichoke (Helianthus tuberosus L.) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. *Industrial*
Crops and Products 2004; 19: 25 – 40.
25. Dewulf, E.M., Cani, P.D., Claus, S.P., Fuentes, S., Puylaert, P.G., Neyrinck, A.M., Bindels, L.B., de Vos, W.M., Gibson, G.R., Thissen, J.P. and Delzenne, N.M., 2012. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut*, pp.gutjnl-2012.
[26. Southgate, DAT. 1991. Determination of food carbohydrates. 2nd ed. New York: Elsevier Science Publishers Ltd. 232 p.