

غربالگری حلال و بهینه‌سازی شرایط عملیاتی استخراج ماده شیرین‌کننده استویول گلیکوزید از گیاه استویا با روش پاسخ سطح

سارا نصراللهی^۱، امید احمدی^{۲*}، فرهاد رحمانی چیانه^۳

^۱کارشناسی مهندسی شیمی، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

^{۲*}استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

^۳دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ ارسال: ۱۴۰۴/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۱

چکیده

استخراج ماده شیرین‌کننده استویول گلیکوزید از گیاهان طبیعی مانند استویا روشی پایدار و اقتصادی شناخته می‌شود. این فرآیند به دلیل طبیعی بودن و اینکه مواد شیمیایی زیان‌آور ندارد، روشی ایمن و سازگار با محیط‌زیست محسوب می‌شود. استخراج استویول گلیکوزید از منابع گیاهی مانند استویا فرصت‌های قابل توجهی برای تولید مواد شیرین‌کننده با خلوص بالا و هزینه مناسب فراهم می‌آورد. در تحقیق حاضر از گیاه استویا به‌عنوان ماده اولیه و منبع استویول گلیکوزید استفاده گردید. با غربالگری حلال‌های مختلف مانند آب، اتانول و متانول سرانجام حلال اتانول با ۷۴/۶۴ درصد استخراج ماده شیرین‌کننده، در مقایسه با دو حلال متانول و آب به ترتیب با ۷۱/۰۳ درصد و ۴۲/۸۰ درصد، انتخاب گردید. با طراحی آزمایش اجرا شده با روش پاسخ سطح در بازه دمای فرآیند ۳۵ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد، زمان فرآیند ۳۰ تا ۹۰ دقیقه و سرعت همزن ۱۰۰ تا ۵۰۰ دور در دقیقه فرآیند استخراج صورت گرفت. پس از بهینه‌سازی، نتایج نشان داد دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، مدت‌زمان ۸۰ دقیقه و سرعت همزن ۳۲۵ دور در دقیقه مناسب‌ترین حالت برای فرآیند استخراج است که در این حالت بیشترین درصد ماده شیرین‌کننده استخراج‌شده با ۸۲/۷۹ درصد به دست آمد. با اجرای فرآیند تغلیظ و خشک کردن محصول نهایی، غلظت بیشتر از ۸۵ درصد استویول گلیکوزید حاصل گردید.

واژه‌های کلیدی: فرآیند استخراج، بهینه‌سازی، پاسخ سطح، استویول گلیکوزید، شیرین‌کننده طبیعی، استویا

مقدمه

بی‌ضرر بودن در مصرف‌های طولانی‌مدت، به‌عنوان یکی از بهترین گزینه‌ها در صنعت غذایی مطرح شده است (Muñoz-Labrador et al., 2024).

گیاه استویا^۱ به دلیل تولید مواد شیرین‌کننده طبیعی با طعمی بسیار شیرین و سالم منبعی ارزشمند برای استخراج مواد شیرین‌کننده طبیعی شناخته می‌شود (Sharma et al., 2023). ترکیبات فعال این گیاه، موسوم به استویول گلیکوزیدها بیش از ۲۰۰ برابر شیرین‌تر از شکر است و در عین حال کالری قابل توجهی ندارند. این امر باعث شده است تا در تولید نوشیدنی‌ها، فرآورده‌های لبنی، شیرینی و

در دهه‌های اخیر، با افزایش نگرانی‌های مربوط به سلامت و بهداشت جهانی، تمایل به استفاده از جایگزین‌های سالم و کم‌کالری برای قندهای سنتی به شدت افزایش یافته است (Sievenpiper et al., 2025). از این‌رو، پژوهش‌ها و توسعه‌های علمی به‌منظور یافتن و بهبود فرآورده‌های طبیعی جایگزین قند، اهمیت ویژه‌ای یافته است (Qin et al., 2025). یکی از این جایگزین‌های طبیعی، مواد شیرین‌کننده طبیعی استویا است که به دلایل متعدد از جمله کم‌کالری بودن، نداشتن تأثیر منفی بر سطح قند خون و

¹ *Stevia rebaudiana*

تمرکز بر غربالگری حلال‌های مختلف و بهبود شرایط عملیاتی می‌تواند چه از نظر صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌ها، و چه از نظر افزایش کیفیت محصول، گامی مؤثر در این مسیر باشد (Djéssica Tatiane Raspe *et al.*, 2021). شناخت کامل فرآیند استخراج و شناخت پارامترهای مؤثر زمینه‌ساز توسعه فناوری‌های نوین و بهبود فرآیندهای موجود در تولید مواد شیرین‌کننده طبیعی است و می‌تواند راه را برای توسعه فرآورده‌های باکیفیت، سالم و سازگار با محیط‌زیست هموار سازد (Iwuozor *et al.*, 2024). با توجه به نیاز روزافزون به مواد قندی سالم و طبیعی و اهمیت تولید صنعتی این مواد بدون وابستگی به روش‌های پرمصرف و ناسازگار با محیط‌زیست، می‌توان با استفاده از روش‌های نوین و علمی، فرآیند استخراج استویول گلیکوزیدها را کارآمدتر و اقتصادی‌تر کرد (Ko *et al.*, 2021).

در مطالعه حاضر با ارزیابی دقیق فرآیند استخراج، بدست آوردن پارامترهای بهینه و ارائه راهکارهای کاربردی، می‌تواند انگیزه‌ای برای تحقیقات بیشتر در حوزه استخراج و کاربرد مواد طبیعی از منابع گیاهی باشد. تحقیق حاضر نه تنها از لحاظ علمی امکان شناخت بهتر فرآیند استخراج و ویژگی‌های مواد فعال گیاه استویا را فراهم می‌آورد، بلکه می‌تواند الگویی کارا و اقتصادی برای تولید صنعتی مواد شیرین‌کننده طبیعی در صنایع غذایی و نوشیدنی‌ها نیز باشد. استفاده از روش‌های بهینه‌سازی در فرآیندهای غذایی و کشف مواد طبیعی باعث کاهش ضایعات و مصرف مواد انرژی می‌شود و به توسعه پایدار صنعتی کمک می‌کند.

مواد و روش‌ها

مواد

در این پژوهش گیاه استویا، به‌عنوان منبع غنی از مواد شیرین‌کننده، از بازارهای محلی سنجیدگی خریداری و به قطعات ریزتر تبدیل گردید و تا زمان استفاده در ظرف دربسته نگهداری شد. استویول گلیکوزید استویا ۹۵ درصد از شرکت گیاه کالا بیهق به‌منظور صحت سنجی استخراج ماده

دیگر محصولات غذایی کم‌کالری و سالم کاربرد فراوان داشته باشند (Okonkwo *et al.*, 2024).

باوجود پتانسیل بالای گیاه استویا در صنعت غذا، فرآیند استخراج و تصفیه این مواد همچنان چالش‌های متعددی را پیش رو دارد. روش‌های سنتی استخراج اغلب نیازمند مصرف مقادیر زیادی حلال و انرژی‌اند و زمان‌بر هستند که منجر به افزایش هزینه‌ها و کاهش بهره‌وری می‌شود (Djéssica T Raspe *et al.*, 2021)؛ بنابراین، توسعه روش‌های بهینه، کارآمد و سازگار با محیط‌زیست برای استخراج استویول گلیکوزیدها اهمیت ویژه‌ای دارد. در این راستا، روش‌های نوینی مانند بهینه‌سازی شرایط عملیاتی با بهره‌گیری از تکنیک‌های پاسخ سطح، می‌تواند نقش مؤثری در بهبود فرآیندهای صنعتی داشته باشد (Mahdi *et al.*, 2021).

روش پاسخ سطح (RSM^1) به دلیل قابلیت‌های منحصربه‌فرد خود در مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرآیندهای چند متغیره، در پژوهش‌های مربوط به بهبود فرآیندهای کشف مواد موثر بسیار مورد توجه است. این روش امکان برآورد اثرهای متقابل متغیرهای کلیدی، یافتن شرایط بهینه و کاهش مصرف مواد و انرژی را فراهم می‌آورد که این ویژگی‌ها در تولید صنعتی مواد شیرین‌کننده از گیاه استویا بسیار مؤثر و اقتصادی است.

با توجه به تنوع حلال‌های مختلف مورد استفاده در استخراج مواد شیرین‌کننده موجود در استویا، غربالگری حلال‌های مختلف و بهینه‌سازی شرایط عملیاتی استخراج استویول گلیکوزیدها از گیاه استویا بسیار مهم است (Suresh *et al.*, 2023). از این‌رو، با استفاده از رویکردهای مدرن و سیستماتیک باید پارامترهای مؤثر بر استخراج بهینه مانند نوع حلال، نسبت حلال به ماده خشک، دما، زمان و غلظت حلال را شناخت و مدل‌سازی کرد. به همین دلیل بهره‌گیری از روش پاسخ سطح، شرایط عملیاتی بهینه برای حداکثر استخراج و کیفیت مواد شیرین‌کننده تعیین و ارائه می‌شود (Stramarkou *et al.*, 2021).

¹ Response Surface Methodology

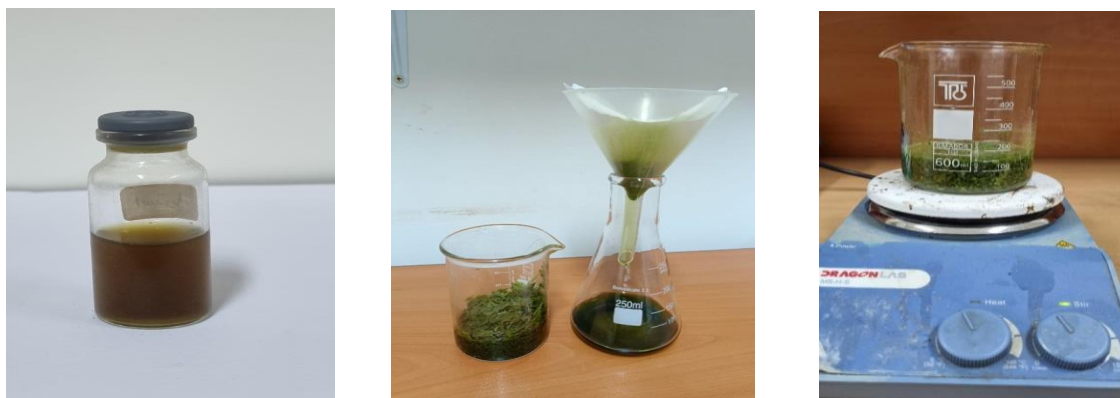
یکسان به‌طور جداگانه ۱۰ گرم گیاه استویای خردشده به نسبت ۱۰ درصد وزنی-حجمی (Ahmad et al., 2020) (۱۰ گرم گیاه خردشده استویا در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال) مخلوط گردیده و نمونه‌های حاضر روی گرم‌کن همزن‌دار در شرایط ۵۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ ساعت قرار گرفتند. پس از اتمام فرآیند، با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰، هر سه نمونه فیلتر شدند و برای غربالگری حلال‌های مورد استفاده تحت بررسی، تحلیل و ارزیابی گردیدند (شکل ۱ الف-ج)

شیرین‌کننده تحقیق حاضر تهیه گردید. حلال‌های متانول و اتانول از شرکت مجلی خریداری شد. آب تقطیر شده نیز به‌عنوان یکی دیگر از حلال‌های مورد استفاده، از دستگاه آب مقطرگیری آزمایشگاه تحقیقاتی نانوبیوتکنولوژی غذایی تهیه شد.

روش‌ها

غربالگری حلال و استخراج با حلال‌های مختلف

در بخش اول پژوهش، مواد شیرین‌کننده استویول گلیکوزیدها از گیاه استویا با سه حلال آب، متانول و اتانول استخراج گردید. برای اجرای این کار، در سه ظرف کاملاً



ج) - C

ب) - B

الف) - A

شکل ۱- الف استخراج استویول گلیکوزید توسط حلال تحت دما، زمان و سرعت همزن ثابت ب) فرآیند فیلتراسیون و محلول ماده شیرین‌کننده استخراجی ج) نمونه نهایی به دست آمده

Figure 1- A) Extraction of steviol glycoside by solvent under constant temperature, time and stirring speed. B) Filtration process and extracted sweetener solution. C) Final sample obtained.

تحقیق حاضر شامل غلظت و مقدار حجمی حلال اتانول به ترتیب ۹۰ درصد و ۱۰۰ میلی‌لیتر، وزن گیاه استویا به‌عنوان ماده پایه ۱۰ گرم در نظر گرفته شد. برای بهینه‌سازی شرایط عملیاتی که شامل، دما، زمان و سرعت همزن در فرآیند استخراج ماده شیرین‌کننده استویا است با شرایط زیر طراحی آزمایش صورت گرفت.

با در نظر گرفتن سه متغیر عملیاتی، دمای فرآیند (محدوده ۳۵ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد) و زمان فرآیند استخراج (محدوده ۳۰ تا ۹۰ دقیقه)، و سرعت همزن (محدوده ۱۰۰ تا ۵۰۰ دور در دقیقه) تعداد ۲۰ آزمایش به اجرا در آمد که در هر ظرف به میزان یکسانی گیاه استویا و حلال اتانول مطابق مقادیر بیان شده اضافه گردید. برای

طراحی آزمایش و آنالیز آماری داده‌ها برای استخراج استویول گلیکوزید از استویا

در این تحقیق، از گیاه استویا به‌عنوان ماده اولیه در استخراج مواد شیرین‌کننده استفاده گردید، که پارامترهای مختلف و متنوعی از جمله متغیرهای عملیاتی و غیرعملیاتی در تولید محصول نهایی تأثیرگذار هستند. با توجه به بخش قبل که مربوط به غربالگری حلال مورد استفاده است، پس از استفاده از سه حلال مختلف، نتایج بررسی‌ها نشان داد که اتانول بهترین حلال است که در بخش نتایج به‌طور مفصل به آن پرداخته می‌شود. به همین دلیل برخی از پارامترهای حاضر ثابت در نظر گرفته شده‌اند و برخی دیگر به‌عنوان متغیر در طراحی آزمایش هستند. مقادیر ثابت مورد استفاده در

R2 نیز معیار خوبی برای ارزیابی مناسب بودن مدل است که هرچه مقدار این عدد به یک نزدیکتر باشد دلالت خواهد داشت بر دقت بودن مدل در پیش‌بینی رفتار متغیرهای مستقل روی متغیر وابسته (Mohammadi-Aghdam & Ahmadi, 2023; Mohammadi & Ahmadi, 2023). نتایج حاصل از هر یک از آزمایش‌ها، تحلیل و اثر پارامترها و متغیرهای انتخاب‌شده روی استخراج استویول گلیکوزید در بخش بحث و نتایج گزارش شده است.

اندازه‌گیری درصد استویول گلیکوزید استخراج‌شده

برای ارزیابی و اندازه‌گیری غلظت استویول گلیکوزید استخراج‌شده از استویول گلیکوزید ۹۵ درصد استاندارد خریداری‌شده بدین صورت استفاده گردید که ۱ گرم از پودر خریداری‌شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و سریال رقیق‌سازی‌ها اجرا گردید و با قرائت جذب هر نمونه با دستگاه UV-Vis میزان جذب به دست آمد و با رسم منحنی کالیبراسیون و مقایسه نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان به غلظت نمونه‌های استخراج‌شده پی برد.

خالص‌سازی و تولید پودر استویول گلیکوزید

پس از استخراج مواد شیرین‌کننده از گیاه استویا به وسیله فرآیند حرارت دهی با گرم‌کن همزن‌دار، به خالص‌سازی نهایی آن نیاز خواهد بود. به همین دلیل محلول به‌دست آمده در دمای پایین (در حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد) تبخیر شد تا اتانول تبخیر و مایع به دست آمده غلیظ‌تر شود. ماده غلیظ تولیدشده روی پلیت قرار داده شد و در آن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید تا پودر استویول گلیکوزید به‌دست آید.

آنالیزها

میزان جذب نمونه‌های استخراج‌شده با روش طیف‌سنجی نور مرئی-فرابنفش^۳ UV-Vis با دستگاه (-UV Vis T80+ شرکت PG) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای شناسایی گروه‌های عاملی و پیوندهای

تعیین خصوصیات نهایی مواد شیرین‌کننده استخراج‌شده، اثر دما، زمان فرآیند و سرعت همزن بر فرآیند استخراج بررسی و تحلیل گردید. برای سه متغیر (دما، زمان فرآیند و سرعت همزن در فرآیند استخراج) تعداد آزمایش‌ها به‌منظور بهینه‌سازی با این روش ۲۰ آزمایش در نظر گرفته شد که نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده‌شده ۶ بار تکرار شد و برای طراحی آزمایش از سیستم غیرکد استفاده شد. مزیت ۶ بار تکرار آزمایش نقطه مرکزی تکرار پذیر بودن و دست‌یافتن به نتیجه قطعی در آزمایش است. برای طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ از روش طرح مرکب مرکزی ۱ (CCD) استفاده شد که در این روش ضریب‌ها به صورت یک رابطه ریاضی نوشته می‌شود و پاسخ پیش‌بینی خواهد شد. معادله کلی که در آن Y پاسخ یا خروجی همان متغیرهای وابسته (درصد استخراج استویول گلیکوزید) به صورت معادله (۱) است و مقادیر X مربوط به متغیرهای مستقل (X1: دمای فرآیند و X2: زمان فرآیند و X3: سرعت همزن) است.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$

در معادله (۱)، ضریب β_0 ضریب ثابت، ضریب‌های β_1 ، β_2 و β_3 اثرهای خطی (درجه اول)، β_{11} ، β_{22} و β_{33} اثرهای مربعی (درجه دوم) و در انتها β_{12} ، β_{13} و β_{23} اثرهای متقابل یا برهمکنش دما و زمان، دما و سرعت همزن و زمان و سرعت همزن انتخاب‌شده است. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس ۲ (ANOVA) و از روش آماری متداول t-test برای مقایسه داده‌ها استفاده گردید. در این مدل، $P < 0.05$ به‌عنوان مقادیر آماری معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود و جملات دارای $P > 0.05$ به‌عنوان نتایج بی‌معنی و غیر اثرگذار تلقی شدند. مقدار $P < 0.05$ بدین معناست که مدل ارائه‌شده و استخراج‌شده با احتمال ۹۵ درصد پذیرفته می‌شود. مقدار

³ Ultraviolet-Visible

¹ Central Composite Design

² Analysis of Variance

غربالگری و انتخاب حلال مناسب به منظور استخراج

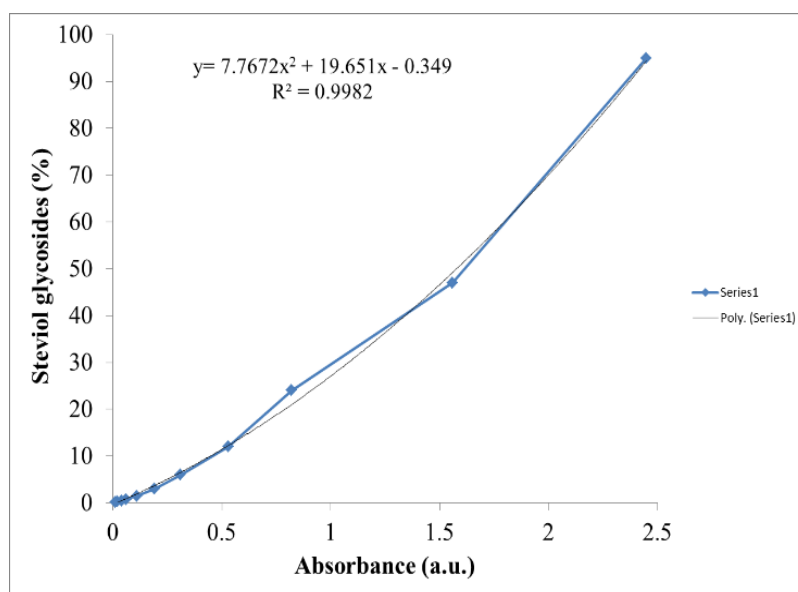
همانطور که پیشتر اشاره گردید، در تحقیق حاضر از سه حلال آب، اتانول و متانول استفاده شد که پس از ارزیابی میزان جذب هر یک از نمونه‌ها توسط آنالیز UV-Vis و استفاده از منحنی کالیبراسیون (شکل ۲) به دست آمد که در معادله (۲) به دست آمده، y درصد استویول گلیکوزید و x عدد جذب قرائت‌شده از آنالیز طیف‌سنجی UV-Vis است.

$$y = 7.7672x^2 + 19.651x - 0.349 \quad (2)$$

شیمیایی از آنالیز طیف‌سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR1) دستگاه Bruker ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

بحث و نتایج

پژوهش حاضر با دو هدف اصلی غربالگری و انتخاب حلال مناسب و بهینه‌سازی شرایط عملیاتی استخراج استویول گلیکوزید از گیاه استویا به اجرا در آمد که در دو بخش زیر به بررسی هر یک پرداخته شده است.



شکل ۲- منحنی کالیبراسیون و استاندارد استویول گلیکوزید ۹۵ درصد و رقیق‌سازی آن مربوط به درصد ماده شیرین‌کننده در مقابل عدد جذبی

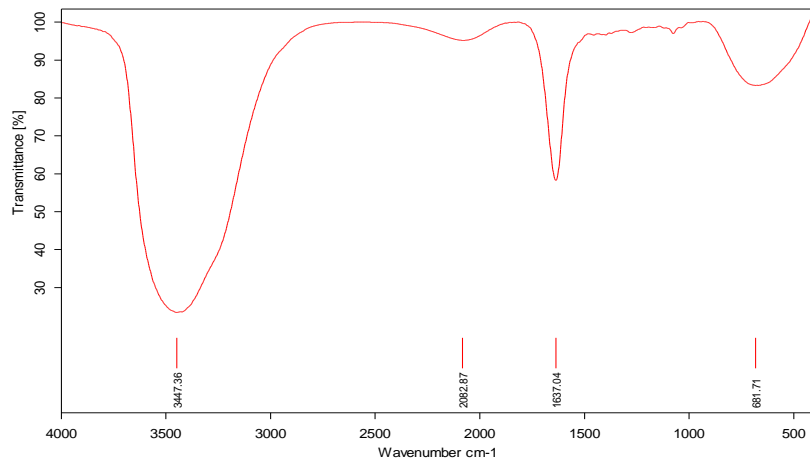
Figure 2 - Calibration curve and standard of 95% steviol glycoside and its dilution related to the percentage of sweetener versus absorbance number

بیشترین درصد ماده شیرین‌کننده استخراجی را داراست. خو و همکاران در سال ۲۰۱۹ نیز از حلال اتانول کارایی بالایی در استخراج ماده شیرین‌کننده استویول گلیکوزید به دست آوردند (Xu et al., 2019).

یکی دیگر از روش‌های ارزیابی و غربالگری نوع حلال به‌منظور استخراج ماده شیرین‌کننده استویول گلیکوزید از طریق طیف‌سنجی FTIR است که در شکل ۳ و ۴ به ترتیب مربوط به استفاده از حلال آب و اتانول دیده می‌شود.

عدد جذب مربوط به استویول گلیکوزید ۹۵ درصد خریداری‌شده ۲/۴۵ به دست آمد و با رقیق‌سازی تا حد ممکن (۱ درصد) کمترین مقدار جذب معادل ۰/۱۲۵ به دست آمد، با کمک نمونه استاندارد استویول گلیکوزید ۹۵ درصد، عدد جذب ماده شیرین‌کننده موجود در استویا با حلال آب ۱/۴۱، با حلال متانول ۲/۰۲ و با حلال اتانول ۲/۰۹ واحد جذب به دست آمد که با تبدیل آن به غلظت ماده شیرین‌کننده توسط معادله (۲) به ترتیب ۴۲/۸۰ درصد، ۷۱/۰۳ درصد و ۷۴/۶۴ درصد به دست آمد که حلال اتانول

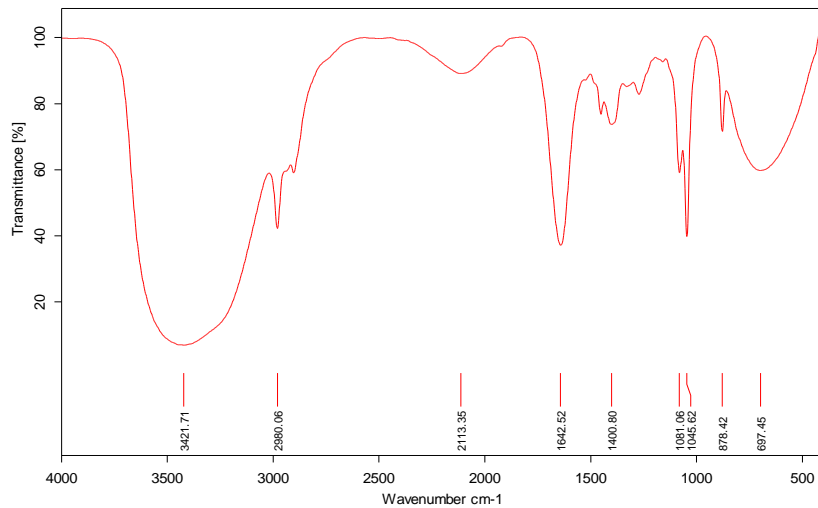
¹ Fourier Transform Infrared Spectroscopy



شکل ۳- آنالیز طیف‌سنجی فروسرخ استویول گلیکوزید استخراج شده با استفاده از حلال آب
Figure 3 - FTIR analysis of steviol glycoside extracted using water solvent

در شکل ۳ به طور کلی ۳ اوج (پیک) شاخص مشاهده می‌گردد که سه گروه عاملی هیدروکسیل، کربونیل و آروماتیک‌ها به ترتیب در طول موج های 3447 cm^{-1} ، 1637 cm^{-1} و 681 cm^{-1} است که فقط گروه عاملی 1637 cm^{-1} مربوط به استویول گلیکوزیدها است و به نظر می‌رسد میزان

ماده شیرین‌کننده به طور کامل صورت‌نگرفته است. اما در شکل ۴ که مربوط به نتیجه طیف FTIR استفاده از حلال اتانول برای استخراج است، پیک‌های شاخص بیشتری مشاهده می‌شود.



شکل ۴- آنالیز طیف‌سنجی فروسرخ استویول گلیکوزید استخراج شده با استفاده از حلال اتانول
Figure 4 - FTIR analysis of steviol glycoside extracted using ethanol solvent

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، در تحلیل طیف FTIR نمونه استویا استخراج شده در حلال اتانول، اوج‌هایی در طول موج‌های مختلف مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده حضور گروه‌های عاملی متعددی در ساختار ترکیبات فعال این گیاه است. به طور خاص، باندهای 1642 cm^{-1} در این اوج دیگری مشاهده می‌شود که اشاره به وجود پیوند کربنیل (C=O) دارد، و این گروه‌های کربنیل

گروه‌های هیدروکسیل (OH) است، که معمولاً در پلی‌ساکاریدها، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات پلی‌فنولی موجود است. این گروه‌های هیدروکسیل در طیف، نشانگر خاصیت قطبی و قابلیت‌های آبی‌آمیزی مواد گیاهی است. علاوه بر این، در 1642 cm^{-1} اوج دیگری مشاهده می‌شود که اشاره به وجود پیوند کربنیل (C=O) دارد، و این گروه‌های کربنیل

معمولاً در استویول گلیکوزیدها و دیگر ترکیبات استویایی یافت می‌شوند. حضور این گروه‌ها، تاییدی بر وجود ترکیبات استروئیدی و استویول‌های گلیکوزیدی در نمونه است. اوج‌هایی در حدود 1045 cm^{-1} و 1081 cm^{-1} نشان‌دهنده وجود گروه‌های C-O است، که این گروه‌ها عموماً در ساختارهای گلیکوزیدی، پلی‌ساکاریدها و دیگر ترکیبات آلی طبیعی دیده می‌شوند. بنابراین، تفسیر این اوج‌ها در طیف FTIR نشان‌دهنده حضور گروه‌های هیدروکسیل، کربنیل و C-O است، که همگی در ترکیبات فعال گیاهی استویا نقش کلیدی دارند و بیانگر ساختار پیچیده و چندگانه این ترکیبات هستند. این نتایج، تایید می‌کند که نمونه استخراج‌شده حاوی ترکیبات عمدتاً استویول گلیکوزیدها و پلی‌ساکاریدهای طبیعی است.

ترتیب $0/001$ و $0/029$ به ترتیب برای متغیرهای دما، زمان و سرعت همزن به دست آمد، نتایج به دست آمده نشان می‌دهد متغیرهای در نظر گرفته شده به درستی انتخاب شده‌اند که همه آنها اثرگذاری خود را بر متغیر وابسته نشان دادند، اثرهای درجه دوم بر متغیر وابسته استویول گلیکوزید استخراج‌شده برای دما و سرعت همزن معنی‌دار است و به ترتیب برابر با $0/000$ و $0/045$ به دست آمد.

اثرهای متقابل با مقدار p-value بیشتر از $0/05$ برای تمامی متغیرهای مستقل بی‌تاثیر بود. این اثرها بر متغیرهای وابسته در نمودارهای مختلف دو بعدی به تفصیل توضیح داده شده است.

پس از به دست آمدن ضریب‌های به دست آمده β (ضرایب ثابت، درجه اول، دوم و اثرهای متقابل) و قرار دادن آنها در معادله ۱، به راحتی می‌توان ارتباط بین متغیرهای مستقل و وابسته را ایجاد کرد و از طریق معادلات به دست آمده به پیش‌بینی خروجی و اعداد مربوط به متغیر وابسته دست یافت، اما اطمینان از نتایج به دست آمده وابسته به عبارت R^2 دارد که هرچه قدر این عبارت نزدیک به ۱ و یا به بیانی دیگر نزدیک به ۱۰۰ باشد، نتیجه حاصل شده اطمینان بیشتری خواهد داشت (Ahmadi, 2025; Beigzadeh & Ahmadi, 2025; Shayan et al., 2024). عبارت مربوط به R^2 نیز در جدول ۳ گزارش شده است که برای مدل به دست آمده این عبارت عدد مناسبی است و برای متغیر وابسته غلظت ماده شیرین‌کننده (استویول گلیکوزید) برابر با $96/49$ درصد به دست آمد است که نشان می‌دهد مدل به دست آمده پیش‌بینی نسبتاً دقیقی از خروجی خواهد داشت.

یکی از اهداف کلی در بهینه‌سازی به دست آوردن رابطه کلی برای ارتباط پاسخ‌های در نظر گرفته شده متغیر وابسته با متغیرهای مستقل در نظر گرفته است که تحت ثوابت معادله کلی درجه دوم به دست خواهد آمد که نتایج آن در جدول ۳ گزارش شده است.

در بخش نتایج به دست آمده از طراحی آزمایش، پاسخ‌های مربوط به هر کدام، تأثیرگذاری متغیرهای انتخاب‌شده گزارش شده است. با در نظر گرفتن سه متغیر مستقل در طراحی آزمایش بر اساس طرح مرکب مرکزی و پاسخ سطح شامل دما، زمان و سرعت همزن، ۲۰ آزمایش به‌اجا در آمد که به همراه نتایج آن به صورت عملی و مقایسه آن با نتایج به دست آمده از مدل پیش‌بینی‌شده در جدول ۱ گزارش شده است. اثر هر یک از متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده بر متغیر وابسته که درصد ماده شیرین‌کننده استخراج‌شده است، به طور کامل شرح داده خواهد شد. جهت اعتبارسنجی متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده مورد استفاده در طراحی آزمایش از اصطلاح p-value استفاده خواهد شد که مطابق با توضیحات ارائه شده در بخش طراحی آزمایش، این مقدار $0/05$ در نظر گرفته شده است که نتایج نشان داده شده در جدول ۲ نشان می‌دهد، برای متغیرهای مستقل (دما و زمان و سرعت همزن) در نظر گرفته شده اثرهای درجه اول برای متغیر وابسته درصد ماده شیرین‌کننده استخراج‌شده معنی‌دار است و برابر با $0/000$ ،

مدل پاسخ سطح و بهینه‌سازی شرایط عملیاتی

در بخش نتایج به دست آمده از طراحی آزمایش، پاسخ‌های مربوط به هر کدام، تأثیرگذاری متغیرهای انتخاب‌شده گزارش شده است. با در نظر گرفتن سه متغیر مستقل در طراحی آزمایش بر اساس طرح مرکب مرکزی و پاسخ سطح شامل دما، زمان و سرعت همزن، ۲۰ آزمایش به‌اجا در آمد که به همراه نتایج آن به صورت عملی و مقایسه آن با نتایج به دست آمده از مدل پیش‌بینی‌شده در جدول ۱ گزارش شده است. اثر هر یک از متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده بر متغیر وابسته که درصد ماده شیرین‌کننده استخراج‌شده است، به طور کامل شرح داده خواهد شد. جهت اعتبارسنجی متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده مورد استفاده در طراحی آزمایش از اصطلاح p-value استفاده خواهد شد که مطابق با توضیحات ارائه شده در بخش طراحی آزمایش، این مقدار $0/05$ در نظر گرفته شده است که نتایج نشان داده شده در جدول ۲ نشان می‌دهد، برای متغیرهای مستقل (دما و زمان و سرعت همزن) در نظر گرفته شده اثرهای درجه اول برای متغیر وابسته درصد ماده شیرین‌کننده استخراج‌شده معنی‌دار است و برابر با $0/000$ ،

جدول ۱- نتایج مربوط به هر یک از متغیرهای مستقل به همراه نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل

Table 1 - Results for each of the independent variables along with the results predicted by the model

متغیرهای وابسته Dependent variables		متغیرهای مستقل Independent variables			ردیف
غلظت استیویول گلیکوزید (%) Steviol glycoside concentration (%)		دور همزن (دور بر دقیقه) Agitator speed (rpm)	زمان فرآیند (دقیقه) Process time (min)	دمای فرآیند (درجه سانتی‌گراد) Process temperature	
مدل Model	آزمایشگاهی Laboratory				
70.690	70.26	300	60	50	1
42.733	45.64	300	60	35	2
70.690	71.05	300	60	50	3
53.141	52.66	181	78	41	4
70.690	70.64	300	60	50	5
63.511	64.68	100	60	50	6
76.465	77.98	181	78	59	7
49.189	46.15	181	42	41	8
61.990	63.81	300	30	50	9
70.690	70.61	300	60	50	10
71.959	69.45	300	90	50	11
77.884	81.41	419	78	59	12
59.256	59.31	419	78	41	13
70.690	70.55	300	60	50	14
54.688	53.66	419	42	41	15
70.690	71.15	300	60	50	16
69.177	69.61	181	42	59	17
75.206	71.61	300	60	65	18
69.329	67.47	500	60	50	19
69.982	70.95	419	42	59	20

جدول ۲- مقادیر p-value مربوط به استخراج استیویول گلیکوزید (%) (اثرهای خطی، درجه دوم و برهم‌کنش)

Table 2- p-values related to steviol glycoside extraction (%) (linear, quadratic and interaction effects)

غلظت استیویول گلیکوزید (%) (%) Steviol glycoside concentration	متغیرهای مستقل Independent variables	اثرها Effects
Y		
p-value		
0.000	دما (X_1)	اثرهای درجه اول (خطی) First-order (linear) effects
0.001	زمان (X_2)	
0.029	دور همزن (X_3)	
0.000	X_1^2	اثرهای درجه دوم Second-order effects
0.074	X_2^2	
0.045	X_3^2	
0.369	X_1X_2	اثرهای متقابل (برهم‌کنش) Interaction effects
0.215	X_1X_3	
0.866	X_2X_3	

جدول ۳- ضریب‌های چندجمله‌ای درجه دوم همراه با ضریب‌های برازشی برای هر متغیر وابسته در استخراج استیویول گلیکوزید

Table 3 - Quadratic polynomial coefficients along with fitting coefficients for each dependent variable in steviol glycoside extraction

غلظت استیویول گلیکوزید (%) (%) Steviol glycoside concentration	ضریب‌ها Coefficients
Y	
69.20	ثابت (β_0) Constant
14.24	اثرهای درجه اول خطی ($\beta_1, \beta_2, \beta_3$) Linear first-order effects
4.37	
2.55	
-6.28	درجه دوم ($\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$) Second-order
-1.99	
-2.29	
0.94	اثرهای متقابل (برهم‌کنش) ($\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$) Interaction effects
-1.33	
0.17	
96.49%	R-square

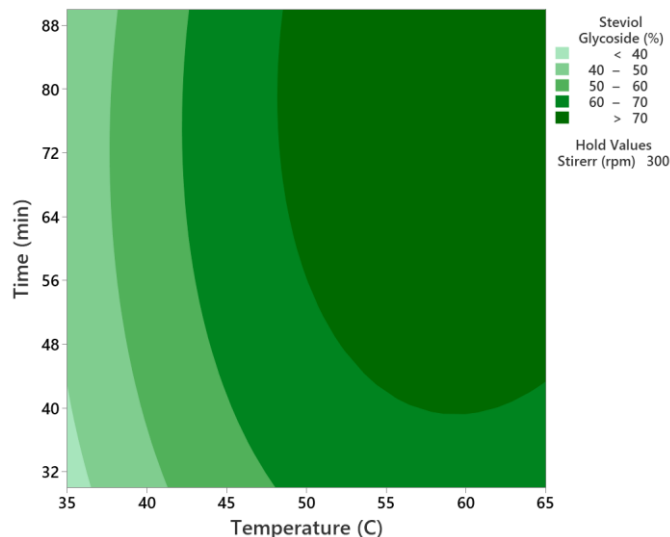
تأثیر دوتایی پارامترهای موثر و اثرگذار

پس از به دست آمدن نقاط و بازه های تأثیرگذار و یافتن ضریب تأثیر هر یک به صورت جداگانه، نمودارهای خروجی مختلف شامل متغیرهای تعیین شده در طراحی آزمایش به صورت جداگانه رسم شد و در ادامه به توضیحات آن‌ها پرداخته می‌شود.

اثرهای دما و زمان فرآیند بر غلظت استویول گلیکوزید استخراج شده

با توجه به انتخاب متغیرهای مستقل دما و زمان فرآیند و اثر آن‌ها بر متغیر وابسته غلظت یا درصد استخراج شده، هر

یک از متغیرهای مستقل به طور جداگانه اثرگذاری مختلفی دارد و در افزایش درصد استخراج شده یا کاهش آن نقش خواهند داشت. با توجه به اینکه محصول استخراج شده هرچقدر درصد بیشتری داشته باشد، بهتر و مناسب‌تر است، به همین دلیل در تحقیق حاضر متغیر وابسته اصلی در نظر گرفته به درصد ماده استخراج اختصاص داده شده است. در بخش حاضر اثرهای دو متغیر مستقل دما و زمان فرآیند در سرعت متوسط همزن و میانگین ۳۰۰ دور بر دقیقه به صورت همزمان بر متغیر وابسته گزارش شده است که نتایج آن در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵ - نمودار سطح پاسخ غلظت استویول گلیکوزید استخراج شده بر اساس تغییرات دما و زمان فرآیند

Figure 5 - Response surface diagram of extracted steviol glycoside concentration based on changes in temperature and process time

در درصد استخراج مشاهده نمی‌شود. این پدیده به دلیل رسیدن به حالت اشباع حلال است. در دماهای بالا، حلال دیگر نمی‌تواند مواد بیشتری را حل کند و تمام مواد قابل استخراج در حلال حل شده‌اند، بنابراین دلیل توقف روند افزایش درصد استخراج، اشباع بودن حلال است. علاوه بر این، در دماهای بسیار بالا، ممکن است میزان تجزیه یا تخریب استویول گلیکوزیدها تحت تاثیر دما قرار گیرد، اما اگر فرض کنیم که دما در محدوده ایمنی و مناسب برای حفظ مواد است، اصلی‌ترین دلیل توقف روند، اشباع حلال است. همچنین، افزایش دما در سطح‌های بالاتر ممکن است باعث تداخل در ساختارهای بیولوژیکی یا تغییرات فیزیکی در ماده شود که مانع از آزادسازی بیشتر می‌شود، اما اغلب

با توجه به نتایج حاصل از شکل ۵ در زمان‌های پایین و ثابت فرآیند، با افزایش دما درصد ماده استخراج شده افزایش خواهد یافت که روند حاضر در زمان‌های بالا و ثابت هم مشاهده می‌شود اما در بازه ای به بعد این روند متوقف شده با افزایش دما درصد ماده استخراج شده ثابت است. در فرآیند استخراج استویول گلیکوزیدها از استویا، زمانی که دما افزوده می‌شود، ابتدا افزایش دما باعث تسهیل و بهبود فرآیند استخراج می‌گردد، زیرا افزایش دما می‌تواند نفوذپذیری ساختار سلولی گیاه را افزایش دهد و قابلیت حل شدن مواد در حلال را بهبود بخشد، و در نتیجه درصد استخراج شده نیز افزایش می‌یابد. اما پس از یک دمای خاص، روند استخراج به حالت تثبیت شده می‌رسد و دیگر افزایشی

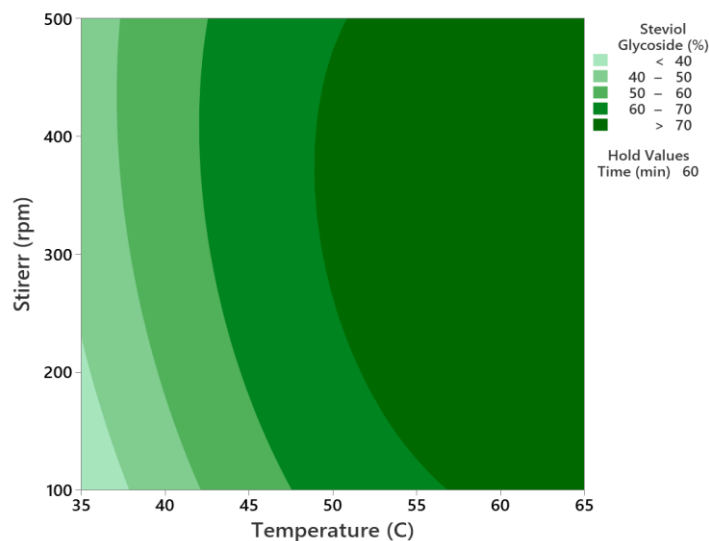
بیشتری در حال آزاد شدن و حل شدن در حلال هستند. اما پس از مدتی میزان استخراج به یک حد معین می‌رسد یعنی زمانی که مواد داخل سلول‌ها کامل آزاد شده و حلال به نقطه اشباع می‌رسد یا دیگر تغییر قابل توجهی در غلظت مواد صورت نمی‌گیرد، در نتیجه درصد استخراج ثابت می‌شود. این حالت نشانگر رسیدن فرآیند به نزدیکی حالت تعادل است، یعنی نیروهای پس‌زمینه همچون گرادیان غلظت و نفوذ، دیگر تاثیر قابل توجهی ندارند و تفاوتی در میزان مواد حل شده و مواد درون سلول‌ها باقی نیست. بنابراین، در دماهای بالا، افزایش زمان فرآیند ابتدا موجب افزایش درصد استخراج می‌شود، چون مواد در حال تخریب و آزادسازی هستند، اما پس از رسیدن به نقطه اشباع و حالت تعادل، فرآیند دیگر اثر قابل توجهی ندارد و درصد ماده استخراج شده ثابت می‌ماند. این رفتار، نشان‌دهنده توازن بین گرادیان غلظت، میزان انتقال و شکستگی ساختارهای سلولی است که در نهایت منجر به توقف روند استخراج می‌شود.

اثرهای دما و سرعت همزن بر غلظت استویول گلیکوزید استخراج شده

در بخش حاضر اثرهای دو متغیر مستقل دما و سرعت همزن در زمان فرآیند استخراج متوسط و میانگین ۶۰ دقیقه به صورت همزمان بر متغیر وابسته گزارش شده است که نتایج آن در شکل ۶ نشان داده شده است.

دلیل اصلی توقف فرایند، اشباع بودن حلال و کاهش شدت گرادیان غلظت است که باعث می‌شود تفاوت غلظت مواد در حلال و ساختار سلولی کاهش یابد و فرآیند استخراج به وضعیت تعادل برسد. پس در دماهای بالاتر، فرآیند استخراج به حالت تعادل می‌رسد و دیگر درصد ماده استخراج شده افزایش نمی‌یابد که این پدیده همزیستی بین اثرهای فیزیکی و شیمیایی و حالت تعادل ترمودینامیکی است. در مقابل با بررسی اثر زمان فرآیند استخراج، در دمای پایین و ثابت، با افزایش زمان فرآیند استخراج درصد ماده استخراج شده تغییر آنچنانی نداشته زیرا فرآیند در حالت نزدیک به تعادل است و سرعت انتقال مواد به مقدار حدی رسیده است. در این حالت، به دلیل کاهش ناپایداری و قدرت حل شدن مواد در حلال در دماهای پایین، میزان ماده موجود در محلول در زمان‌های مختلف تقریباً یکسان باقی می‌ماند و کاهش غلظت مواد درون سلول پس از مدتی اتفاق نمی‌افتد، در نتیجه افزایش زمان تأثیر زیادی ندارد و فرآیند به حالت تعادل رسیده است.

در مقابل، در دماهای بالا با افزایش زمان فرآیند، ابتدا درصد ماده استخراج شده افزایش می‌یابد، چون در شروع کار سطح غشایی سلول‌ها و دیواره‌های آن‌ها هنوز به اندازه کافی تخریب نشده است و مواد درون سلول‌ها به صورت محدود آزاد شده‌اند. این افزایش زمان سبب می‌شود میزان استخراج بیشتر شود چون فرآیند در حالت غیرتوازن است و مواد



شکل ۶ - نمودار سطح پاسخ غلظت استویول گلیکوزید استخراج شده بر اساس تغییرات دما و سرعت همزن

Figure 6 - Response surface diagram of extracted steviol glycoside concentration based on changes in temperature and stirring speed

هرگونه تلاش برای افزایش هم‌زدن دیگر تاثیر قابل توجهی ندارد، چون فرآیند به حالت تعادل حرارتی و شیمیایی رسیده است، جایی که میزان حل شدن و فرآیندهای زیستی یا بیوشیمیایی دیگر محدودکننده هستند.

با بررسی اثر دما در دو حالت سرعت پایین و ثابت و سرعت بالا و ثابت، هرچه دمای فرآیند استخراج افزایش یافته است، درصد ماده استخراج شده دستخوش تغییرات مثبت شده و افزایش چشمگیری داشته است. افزایش دما در ه زمان ثابت و با سرعت هم‌زن ثابت، باعث بهبود نسبی و در برخی موارد چشمگیر درصد ماده استخراج شده می‌شود، زیرا اثرهای فیزیکی و شیمیایی دما بر قابلیت حل شدن و آزادسازی مواد از ساختار سلولی گیاه به طور هم‌زمان عمل می‌کنند. به طور علمی، افزایش دما منجر به کاهش ویسکوزیته حلال و افزایش قدرت حل شدن استویول گلیکوزیدها در حلال می‌شود، در نتیجه، حل شدن کاهش می‌یابد و مواد بیشتری آزاد و وارد حلال می‌شود. این کم شدن ویسکوزیته هم‌زمان با افزایش دما، فرآیند نفوذپذیری غشای سلولی و شکستن دیواره‌های سلولی را تسهیل می‌کند، که این امر باعث آزادسازی مواد گیاهی و ترشح آن‌ها در حلال می‌شود. همچنین، اتم‌های حرارتی و انرژی موجود در دماهای بالاتر، میزان تحرک و پایداری ساختارهای مولکولی را تغییر می‌دهد، و این تغییرات منجر به شکستن پیوندهای نیمه‌پایدار و آزادسازی استویول گلیکوزیدها می‌گردد. این فرآیندها در مجموع سبب می‌شود در دماهای بالا، نسبت به دماهای پایین، مقدار بیشتری از ماده شیرین‌کننده در حلال حل شود و در نتیجه درصد استخراج افزایش یابد.

علاوه بر این، هرچند ممکن است فرآیندهای تخریب یا تجزیه در دماهای بسیار بالا رخ دهند، اما در دامنه بهینه دما، اثر مستقیم و مفیدی بر افزایش حل شدن و آزادسازی مواد موجود دارد. با افزایش دما، قابلیت حل شدن و درجه انحلال می‌تواند تا حد غلظت اشباع بالا رود، و بنابراین، در کوتاه‌مدت، درصد استخراج بیشتری به دست می‌آید. این

در شکل ۶ در دمای پایین و ثابت فرآیند استخراج با افزایش سرعت هم‌زن، به طور جزئی درصد ماده استخراج شده افزایش خواهد یافت که این روند در دمای بالا و ثابت فرآیند با افزایش دور هم‌زن مشاهده نشده و کاملاً ثابت است به طوری که هرچه سرعت هم‌زن افزایش می‌یابد، درصد ماده استخراج شده بدون تغییر باقی می‌ماند. تاثیر سرعت هم‌زن بر درصد استخراج به طور علمی و فیزیکی به چند عامل مربوط است. در دماهای پایین، با افزایش سرعت هم‌زن، درصد مواد استخراج شده به دلیل بهبود هم‌پیمانی و توزیع یکنواخت تر حلال و ساختار گیاهی، کمی افزایش می‌یابد چون در این شرایط سرعت انتقال جرم و نفوذپذیری ساختار سلولی محدود است و با افزایش هم‌زدن، این محدودیت‌ها کاهش می‌یابد و مواد راحت تر آزاد می‌شوند. اما در دماهای بالا، فرآیند استخراج سرعت بیشتر و بهبود بیشتری نمی‌پذیرد زیرا در این دماها، فرآیندها و عوامل محدودکننده تغییر می‌کنند. از جمله، با افزایش سرعت هم‌زن در دماهای بالا، ممکن است ساختارهای سلولی و غشای سلولی به طور کامل تخریب شده باشد و دیگر تفاوت قابل توجهی در میزان انتقال جرم ایجاد نگردد، یا مواد اولیه قبلاً به حداکثر میزان ممکن حل شده باشند. علاوه بر این، در این شرایط، هم‌پیمانی و یکنواختی توزیع مواد در حلال به صورت نسبی بهینه شده است و افزودن بیشتر سرعت هم‌زن تنها منجر به افزایش هم‌پیمانی نمی‌شود، چون فرآیند به حالت تعادل رسیده است و دیگر افزایش سرعت هم‌زن اثر قابل توجهی بر درصد استخراج ندارد.

به طور کلی، در دماهای بالا فرآیند بیشتر محدود به حالت ترمودینامیکی تعادلی است که تحت آن، اثرهای فیزیکی مانند هم‌پیمانی و نفوذپذیری دیگر نقش مهمی ندارند. بنابراین، افزایش سرعت هم‌زن تنها تلاشی برای بهبود میزان انتقال جرم است که در این مرحله دیگر اثری ندارد و اختلاف غلظت در مواد درون سلول‌ها و برون سلولی کاهش یافته است تا نقطه تعادل حاصل شود. در نتیجه، درصد استخراج در دماهای بالا تقریباً ثابت باقی می‌ماند و

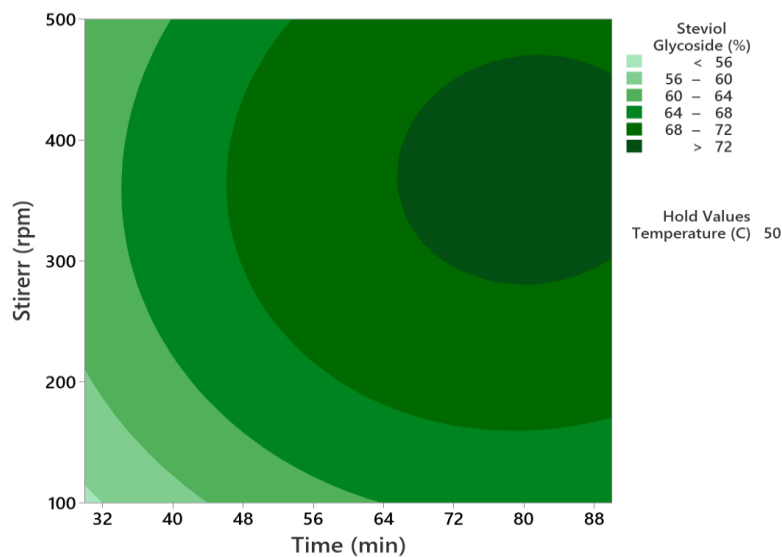
درصد ماده استخراج شده نیز افزایش یافته است. اما در زمان‌های ثابت و بالا، افزایش سرعت همزن ابتدا باعث افزایش درصد استخراج شیرین کننده استویول گلیکوزید گردیده اما در سرعت‌های بسیار بالا باعث کاهش گردیده است. اثر افزایش سرعت همزن بر درصد استخراج دارای رفتار چندگانه است و بستگی به سرعت همزن دارد. در سرعت‌های پایین و در زمان‌های ثابت، افزایش سرعت همزن موجب بهبود یکنواختی توزیع حلال، افزایش نفوذپذیری و تسهیل انتقال جرم می‌شود که در نتیجه، میزان استویول گلیکوزیدهای آزاد شده و حل شده در حلال بیشتر می‌گردد. این نتیجه‌گیری بر اساس این است که هم‌پیمانی مکانیکی و افزایش حرکت ذرات، فرآیند استخراج را تسهیل می‌کند و درصد ماده شیرین کننده افزایش می‌یابد.

روند تا رسیدن به نقطه‌ای از تعادل است، جایی که دیگر تأثیر قابل توجهی از افزایش دما بر درصد مواد حل شده مشاهده نمی‌شود، ولی در دماهای پایین‌تر، دمای بالا نقش بنیادی در بهبود و تسهیل فرآیند استخراج دارد.

اثرهای زمان فرآیند و سرعت همزن بر غلظت استویول گلیکوزید استخراج شده

بخش حاضر مربوط به اثر دو متغیر مستقل زمان فرآیند استخراج و سرعت همزن در دمای متوسط و میانگین ۵۰ درجه سانتی‌گراد به صورت همزمان بر متغیر وابسته گزارش شده است که نتایج آن در شکل ۷ نشان داده شده است.

با بررسی اثر سرعت همزن در زمان‌های ثابت و پایین فرآیند استخراج، هرچه سرعت همزن افزایش یافته است،



شکل ۷ - نمودار سطح پاسخ غلظت استویول گلیکوزید استخراج شده بر اساس تغییرات زمان فرآیند و سرعت همزن

Figure 7 - Response surface diagram of extracted steviol glycoside concentration based on changes in process time and stirring speed

اما در سرعت‌های بسیار بالا و در زمان‌های ثابت، پس از یک نقطه بحرانی، افزایش سرعت همزن باعث کاهش درصد استخراج می‌شود. این رفتار به چندین عامل علمی و فیزیکی مربوط است که یکی از این‌ها بروز اختلال در ساختارها و فرآیندهای طبیعی استخراج حین افزایش سرعت همزن است. در این حالت، نیروی گریز از مرکز و شوک‌های مکانیکی می‌تواند منجر به تخریب ساختارهای سلولی درون گیاهی در حلال گردد. این نوع تخریب زمانی رخ می‌دهد که

نیروهای فیزیکی بیش از حد به مواد وارد شود و منجر به شکستگی نابهنجار، پراکندگی غیر یکنواخت و افزایش تداخل در فرآیندهای انتقال جرم شود. در نتیجه، در این حالت، ممکن است موجبات پراکندگی ذرات و تشکیل ذرات بزرگ یا تداخل در توزیع یکنواخت حلال و مواد حل شده فراهم آید که به کاهش درصد استخراج منتهی می‌گردد. علاوه بر این، افزایش شدید سرعت همزن ممکن است باعث بالا رفتن سرعت اصطکاک و ایجاد حرارت اضافی در سیستم

پس از آن به تدریج فرآیند بیشتر به حالت اشباع و تعادل نزدیک می‌شود، لذا اثر افزایش زمان در این حالت نسبتاً کمتر است. در نتیجه، اثر افزایش زمان بر درصد استخراج در سرعت‌های پایین بیشتر دیده می‌شود، چون در این حالت، هر مقدار زمان اضافی امکان تحقق کامل فرآیندهای نفوذ، تخریب دیواره سلولی، و حل شدن مواد بیشتر را فراهم می‌کند، در حالی که در سرعت‌های بالا این روند در مراحل اولیه صورت گرفته است و پس از آن دیگر تغییر قابل توجهی در مقدار مواد حل شده رخ نمی‌دهد و روند به سمت حالت تعادل و اشباع پیش می‌رود. این پدیده نشان می‌دهد که در هر حالت، مسیر دستیابی به حالت تعادل و حداکثر بهره‌وری، در بازه‌های زمانی متفاوت رخ می‌دهد و کنترل زمان در میزان استخراج موثر است، به خصوص در سرعت‌های پایین همزن که نیاز بیشتری به زمان دارد تا فرآیند کامل و بهینه صورت گیرد.

بهینه‌سازی پارامترهای انتخاب‌شده جهت استخراج استویول گلیکوزید

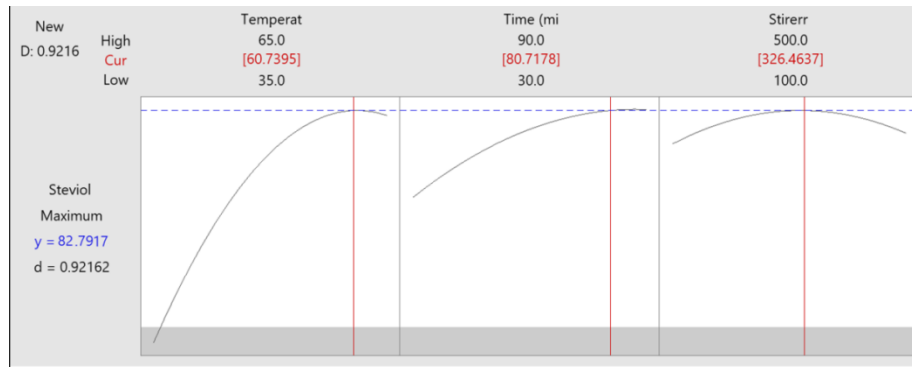
پس از طراحی آزمایش، بررسی آماری و تحلیل‌ها از اثر متغیرهای مستقل (دما و زمان فرآیند و سرعت همزن) بر متغیر وابسته درصد استویول گلیکوزید استخراج‌شده، بهینه‌سازی عددی صورت گرفت که در شکل ۸ نشان داده شده است.

همانطور که در شکل ۸ نشان داده شده است، نقطه بهینه به دست آمده از طراحی آزمایش مذکور مربوط به دمای تقریبی ۶۰ درجه سانتی‌گراد با زمان فرآیند ۸۰ دقیقه و سرعت همزن برابر با ۳۲۶ دور بر دقیقه است که در این حالت اگر فرآیند استخراج استویول گلیکوزید از گیاه استویا طی شود منجر به درصد استخراجی نهایی ۸۲/۷۹ درصد خواهد شد که باید این نتایج راستی‌آزمایی و صحت‌سنجی شوند. با یافتن نقاط بهینه به دست آمده از بهینه‌سازی عددی، فرآیند استخراج ماده شیرین‌کننده اجرا و مقادیر مربوط به متغیر وابسته مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفت. پس از اجرای آزمایش‌های مربوط به صحت‌سنجی طراحی

شود که می‌تواند منجر به تغییر در ساختار مواد، تجزیه یا تغییر در ترکیبات و در نتیجه کاهش بهره‌وری استخراج شود. در همین حال، انرژی مکانیکی بیش از حد ممکن است سبب تولید ذرات بسیار کوچک‌تر و پراکنده یا پدید آمدن حالت‌های نامطلوب مانند شکل‌گیری تداخل در فرآیندهای نفوذ و انتقال جرم شود؛ این حالت‌ها، روند استخراج را مختل می‌کند و در نتیجه درصد ماده استخراج‌شده کاهش می‌یابد. بنابراین، در نقطه بحرانی که افزایش سرعت همزن به کاهش درصد استخراج منتهی می‌شود، این پدیده نتیجه تداخل‌های مکانیکی و فیزیکی شدید است که اثرهای مثبت ابتدایی افزایش سرعت را خنثی می‌سازد یا حتی معکوس می‌کند. این رفتار نشان از وجود حد بهینه در سرعت همزن دارد که در آن میزان یکنواختی و انتقال جرم حداکثر باشد و هرگونه فراتر رفتن از این حد، روند استخراج را تضعیف کند.

اما در دو حالت سرعت‌های پایین و ثابت و سرعت‌های بالا و ثابت، افزایش زمان فرآیند استخراج باعث افزایش درصد ماده شریک‌کننده استخراجی می‌گردد که در دوره‌های پایین این اثرگذاری به طور اندکی بیشتر است. مدت زمان بیشتر فرآیند استخراج فرصت بیشتری برای کامل شدن واکنش‌های لازم، نفوذ حلال به ساختارهای سلولی، و آزادسازی مواد مؤثر وجود دارد. دلیل این امر بر اساس مفاهیم انتقال جرم و تئوری تعادل است که در آن هر چه زمان بیشتری صرف شود، میزان مواد حل‌شده در حلال به آرامی به سمت مقدار نهایی و حالت تعادل حرکت می‌کند. در سرعت‌های پایین اثر زمان بر استخراج، نسبت به حالت دوره‌های بالا، بیشتر محسوس است؛ زیرا در سرعت‌های پایین میزان انتقال جرم و نفوذپذیری محدود است و نیاز به زمان بیشتری دارد تا به حالت تعادل برسد. به علاوه در این شرایط، فرآیند آزادسازی و حل شدن مواد کمی کندتر است، بنابراین هر افزایش زمانی اثرها مهم‌تر و قابل توجه‌تر است. در مقابل، در سرعت‌های بالا، فوریت و شدت فرآیند باعث شده است که بخش عمده مواد در زمان‌های اولیه آزاد و حل شوند و

آزمایش، نتایج حاکی از آن بود که با مقایسه نتایج پیش‌بینی شده و نتایج به دست آمده از این آزمایش‌ها، اختلاف معناداری بین داده‌های مدل پیش‌بینی با نتایج آزمایشگاهی وجود نداشت، به طوری که درصد غلظت ماده استخراج شده ۸۲/۰۱ درصد به دست آمد که دارای خطای کمتر از ۱ درصد (معادل ۰/۹۴ درصد) با مقدار پیش‌بینی شده از طراحی آزمایش داشت. بنابراین مدل‌های به دست آمده تأیید شده‌اند و به درستی توانسته‌اند اثر متغیرهای مستقل را بر متغیر وابسته در محدوده مورد نظر مشخص کنند.



شکل ۸- مقادیر بهینه (بهینه‌سازی عددی) شرایط استخراج استویول گلیکوزید

Figure 8- Optimal values (numerical optimization) of steviol glycoside extraction conditions

درصد استویول گلیکوزید تغلیظ شده

استخراج و سرعت همزن به منظور دستیابی به محصول نهایی با سطح خلوص بالا شکل گرفت. با کاربرد روش سطح پاسخ و تحلیل آماری، از کاهش تعداد آزمایش‌ها و یافتن نقاط بهینه در فرآیند استخراج بهره گرفته شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که متانول نسبت به دیگر حلال‌های مورد استفاده توانایی بهتری در استخراج دارد و این امر در تحلیل‌های عاملی و میزان جذب به خوبی نمایان است. فرآیند تغلیظ و خشک کردن نهایی مایع استخراج شده منجر به تولید محصولی با خلوص بالاتر نسبت به نمونه اولیه گردید. پیشنهاد برای پژوهشگران این است که با بررسی ترکیبات دیگر دارای پتانسیل استخراج استویول گلیکوزید و همچنین آزمایش حلال‌های جایگزین، این مطالعه را تکرار و نتایج را با داده‌های این تحقیق مقایسه کنند تا دامنه کاربرد و کارایی فرآیند به طور گسترده‌تری ارزیابی شود.

تعارض منافع

نویسندگان در خصوص مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه پرهیز نموده‌اند و منافعی در این راستا وجود ندارد.

پس از مرحله استخراج استویول گلیکوزید از گیاه استویا، محلول حاوی ماده شیرین کننده وارد فرآیند تغلیظ و خشک‌سازی شد. در این مرحله، با استفاده از حرارت ملایم، حجم حلال اتانول کاهش یافت و مواد حل شده در محلول به حالت غلیظتری منتقل گردید تا در نهایت در امر خشک‌سازی و تولید پودر نهایی استفاده شوند. در نتیجه، وزن پودر حاصل به عنوان معرف غلظت نهایی ماده استخراج شده پس از فرآیند تغلیظ در نظر گرفته می‌شود زیرا در اثر خشک‌سازی، تمام حلال اتانول تبخیر می‌شود و تنها ماده فعال، یعنی استویول گلیکوزید، باقی می‌ماند. بنابراین، غلظت این پودر نسبت به ماده اولیه بیشتر است زیرا پودر به دست آمده شامل ماده فعال است و مواد دیگر به طور محدود در آن وجود دارد. پودر به دست آمده با غلظت بیشتر از ۸۵ درصد به دست آمد.

نتیجه گیری

در این پژوهش غربالگری سه حلال آب، متانول و اتانول برای استخراج استویول گلیکوزید از استویا اجرا شد و طراحی آزمایش و بهینه‌سازی متغیرهای عملیاتی مانند دما، زمان

مراجع

- Ahmad, M. A., Javed, R., Adeel, M., Rizwan, M., & Yang, Y. (2020). PEG 6000-stimulated drought stress improves the attributes of in vitro growth, steviol glycosides production, and antioxidant activities in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plants*, 9(11), 1552.
- Ahmadi, O. (2025). Optimizing the operating conditions of temperature and time of whey desalination process using cationic resins by response surface method. *Food Engineering Research*, 24(1), 1-14.
- Beigzadeh, R., & Ahmadi, O. (2025). Comparison of modeling with fuzzy logic method and mixture design in predicting the formulation of ziziphora essential oil nanoemulsion production. *Innovative Food Technologies*, 12(2), 114-135.
- Iwuozor, K. O., Emmanuel, S. S., Ahmed, M. O., Idris, A. M., Emenike, E. C., Saliu, O. D., . . . Adeniyi, A. G. (2024). Technologies for the extraction and post-extraction of *Stevia rebaudiana* leaves. *Chemistry Africa*, 7(2), 539-563.
- Ko, J.-A., Ryu, Y.-B., Lee, W.-S., Ameer, K., & Kim, Y.-M. (2021). Optimization of microwave-assisted green method for enhanced solubilization of water-soluble curcuminoids prepared using steviol glycosides. *Foods*, 10(11), 2803.
- Mahdi, A. A., Gabr, M. F., Abo El-Fadl, R., Hassan, A. H., Abdelhamid, A., & El-Saber, M. M. (2021). Green biosynthesis of magnetite nanoparticles via neem extracts effect on molecular and biochemical *Stevia rebaudiana* callus. *IOSR J. Biotech. Biochem*, 7(5), 40-58.
- Mohammadi-Aghdam, S., & Ahmadi, O. (2023). Optimizing the green synthesis formulation of silver nanoparticles using Cherry tree leaf extract and evaluation its stability. *Nanoscale*, 10(2), 54-69.
- Mohammadi, A. S., & Ahmadi, O. (2023). Optimization of operating conditions and the role of ultrasound waves in the green synthesis of silver nanoparticles using apple tree leaf extract.
- Muñoz-Labrador, A., Hernandez-Hernandez, O., & Moreno, F. J. (2024). A review of the state of sweeteners science: the natural versus artificial non-caloric sweeteners debate. *Stevia rebaudiana* and *Siraitia grosvenorii* into the spotlight. *J Critical Reviews in Biotechnology*, 44(6), 1080-1102.
- Okonkwo, C. E., Adeyanju, A. A., Onyeaka, H., Nwonuma, C. O., Olaniran, A. F., Alejolowo, O. O., . . . Zhou, C. (2024). A review on rebaudioside M: The next generation steviol glycoside and noncaloric sweetener. *Journal of Food Science*, 89(11), 6946-6965.
- Qin, D., Qi, J., Shi, F., Guo, Z., & Li, H. (2025). Sugar Addiction: Neural Mechanisms and Health Implications. *J Brain Behavior*, 15(7), e70338.
- Raspe, D. T., Ciotta, S. R., Mello, B. T., Milani, P., Silva, C., & Costa, S. C. (2021). Pressurized liquid extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Chemical Engineering Transactions*, 87, 301-306.
- Raspe, D. T., Ciotta, S. R., Zorzenon, M. R. T., Dacome, A. S., da Silva, C., Milani, P. G., & da Costa, S. C. (2021). Ultrasound-assisted extraction of compounds from *Stevia* leaf pretreated with ethanol. *Industrial Crops Products*, 172, 114035.
- Sharma, S., Gupta, S., Kumari, D., Kothari, S. L., Jain, R., & Kachhwaha, S. (2023). Exploring plant tissue culture and steviol glycosides production in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: A review. *Agriculture*, 13(2), 475.
- Shayan, S., Hajihajikolai, D., Ghazale, F., Gharahdaghigharahtappeh, F., Faghieh, A., Ahmadi, O., & Behbudi, G. (2024). Optimization of green synthesis formulation of selenium nanoparticles (SeNPs) using Peach tree leaf extract and investigating its properties and stability. *Iranian Journal of Biotechnology*, 22(3), e3786.
- Sievenpiper, J. L., Purkayastha, S., Grotz, V. L., Mora, M., Zhou, J., Hennings, K., . . . Germana, K. (2025). Dietary guidance, sensory, health and safety considerations when choosing low and no-calorie sweeteners. *Nutrients*, 17(5), 793.
- Stramarkou, M., Oikonomopoulou, V., Karagianni, E., Stamatis, C., Nana, K., Krystalli, E., . . . Krokida, M. (2021). Optimization of green extraction methods for the recovery of *Stevia* glycosides. *Chemical Engineering Transactions*, 87, 43-48.
- Suresh, P. S., Singh, P. P., Sharma, M., & Sharma, U. (2023). Multicomponent natural deep eutectic solvents: Super solvents for the efficient extraction of steviol glycosides (rebaudioside A) from *Stevia rebaudiana*. *Journal of Cleaner Production*, 385, 135639.
- Xu, S., Wang, G., Guo, R., Wei, Z., & Zhang, J. (2019). Extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves by high-speed shear homogenization extraction. *Journal of Food Processing Preservation*, 43(12), e14250.

Original Research

Solvent screening and optimization of operating conditions for extraction of steviol glycoside sweetener from stevia plant using response surface methodology

Sara Nasrolahi, Omid Ahmadi*, Farhad Rahmani-Chiyane

*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Email: o.ahmadi@uok.ac.ir

Received: 8 November 2025 Accepted: 10 February 2026

[http://doi: 10.22092/fooder.2026.371342.1436](https://doi.org/10.22092/fooder.2026.371342.1436)

Abstract

The extraction of the sweetener steviol glycoside from natural plants such as stevia is recognized as a sustainable and economical method. This process is considered safe and environmentally friendly due to its natural origin and absence of harmful chemicals. Additionally, the extraction of steviol glycoside from plant sources like stevia provides significant opportunities for producing high-purity sweeteners at a reasonable cost. In the present study, the plant stevia was used as the raw material and source of steviol glycoside. Through screening various solvents—water, ethanol, and methanol—the ethanol solvent was ultimately selected, yielding 74.64% extraction of the sweetener, compared with 71.03% and 42.80% for methanol and water, respectively. An experimental design based on Response Surface Methodology (RSM) was applied within a processing temperature range of 35–65 °C, a processing time range of 30–90 minutes, and an agitator speed range of 100–500 rpm to perform the extraction process. After optimization, results indicated that a temperature of 60 °C, a duration of 80 minutes, and an agitator speed of 325 rpm were the most suitable conditions for the extraction process, achieving the highest percentage of extracted sweetener at 82.79%. Following concentration and drying of the final product, a steviol glycoside concentration exceeding 85% was obtained.

Keywords: Extraction process, Optimization, Response surface, Steviol glycoside, Natural sweetener, Stevia

