

# روش‌های نوین استخراج ترکیبات مؤثره از گیاهان دارویی: استخراج به کمک فراصوت و ریزموج و استخراج با حلال فشرده

مهدی قره‌خانی<sup>۱</sup>، محمد قربانی<sup>۱\*</sup>، نسرین رسول‌نژاد<sup>۲</sup>، شاهرخ جبرائیلی<sup>۱</sup>

۱- گرگان، دانشگاه علوم و کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه علوم و صنایع غذایی

۲- اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی

پیام نگار: mghorbani@yahoo.com

## چکیده

استخراج اولین مرحله اساسی را در تحقیقات گیاهان دارویی تشکیل می‌دهد و آماده‌سازی عصاره‌ها از گیاهان، نقطه شروعی برای جداسازی و خالص‌سازی اجزای شیمیایی حاضر در گیاهان هستند. روش‌های مختلف استخراج به‌طور وسیعی به منظور به‌دست آوردن چنین ترکیب‌های طبیعی با ارزش بررسی شدند. روش‌های سنتی استخراج، نیاز به صرف زمان طولانی و مقادیر زیادی حلال دارند، بنابراین نیاز به روش‌های استخراج جدید با مدت استخراج کوتاه‌تر، مصرف حلال آلی کمتر و ایجاد آلودگی کمتر، افزایش یافته است. روش‌های استخراج جدید شامل استخراج به کمک فراصوت، استخراج به کمک ریزموج و استخراج با حلال فشرده روش‌های سریع و مؤثر برای استخراج ترکیب‌های مؤثره از بافت‌های گیاهی هستند. همچنین بازدهی و کیفیت ترکیبات مؤثره استخراجی در زمانی که یک روش استخراج انتخاب می‌شود، باید مورد توجه قرار گیرد.

**کلمات کلیدی:** ترکیبات مؤثره، گیاهان دارویی، استخراج، فراصوت، ریزموج، حلال فشرده

## ۱- مقدمه

نقطه شروعی برای جداسازی و خالص‌سازی اجزای شیمیایی حاضر در گیاهان هستند [۱].

گیاهان، حاوی گستره وسیعی از ترکیبات مؤثره نظیر ترکیبات فنولی، مواد فیتوشیمیایی، رنگدانه‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها، ترکیبات ضد میکروبی و مواد مولد عطر و طعم هستند. از عصاره‌های گیاهی به‌طور گسترده در صنایع دارویی، غذایی و (بهداشتی - آرایشی) استفاده می‌شود. برای تولید چنین ترکیبات طبیعی با ارزشی از گیاهان، و به‌منظور تجاری‌سازی آنها، روش‌های مختلفی برای استخراج مورد بررسی قرار گرفته است [۲]. روش‌های سنتی

در سال‌های اخیر به دلیل اثرات نامطلوب داروهای شیمیایی، رشد و توجه زیادی در مورد استفاده از گیاهان دارویی در سراسر جهان صورت گرفته است. بنابراین ضروری است که در مبحث استفاده از گیاهان دارویی و فرآورده‌های آنها، پژوهش‌های نوین و کاملی انجام شود و کیفیت و ایمنی آنها دقیقاً مورد توجه قرار گیرد، زیرا استفاده‌های بی‌رویه از گیاهان دارویی، عوارض جانبی نیز بر سلامت انسان ایجاد می‌کنند. استخراج، اولین مرحله اساسی را در تحقیقات گیاهان دارویی تشکیل می‌دهد و آماده‌سازی عصاره‌ها از گیاهان،

امواج الکترومغناطیسی، امواج صوتی باید در یک ماده پخش شوند و دارای چرخه‌های انبساط و انقباض در طی پخش در محیط می‌باشند. انبساط، باعث افزایش فاصله مولکولی شده و انقباض، آنها را با هم تحت فشار قرار می‌دهد. در حالت انبساط، حباب‌هایی در یک مایع ایجاد می‌شود و فشار منفی تولید می‌کند. حباب‌های تشکیل شده، رشد می‌کنند و در نهایت، متلاشی می‌شوند (پدیده کاویتاسیون<sup>۴</sup>).

دو طرح کلی استخراج کننده‌های همراه با فراصوت، حمام‌های فراصوت و سیستم پروب فراصوت است. تأثیرات مکانیکی فراصوت، باعث نفوذ بیشتر حلال به درون مواد سلولی شده و انتقال جرم را بهبود می‌بخشد. فراصوت در طی استخراج می‌تواند همچنین دیواره‌های سلولی را تخریب کند و باعث تسهیل آزاد سازی محتوای آن شود. بنابراین، تخریب سلولی کارآمد و انتقال جرم مؤثر، دو فاکتور اصلی هستند که باعث افزایش استخراج با فراصوت می‌شوند. برخلاف استخراج کننده‌های معمولی، عصاره‌های گیاهی در اثر فراصوت، از عرض دیواره‌های سلولی انتشار پیدا کرده و باعث پاره شدن دیواره سلولی در مدت‌های کوتاه‌تر می‌شود [۲].

## ۲-۲ جنبه‌های عملی برای استخراج به کمک فراصوت

برای دستیابی به یک استخراج مناسب با فراصوت، در نظر گرفتن بعضی ویژگی‌های گیاهان، همچون مقدار رطوبت، اندازه ذرات و حلال مورد استفاده برای استخراج ضروری می‌باشد. علاوه بر این، فاکتورهای زیادی شامل فرکانس، فشار، دما و زمان، مکانیسم عمل فراصوت را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۲].

فرکانس فراصوت تأثیرات زیادی بر بازدهی و سرعت استخراج دارد. همچنین اثرات فراصوت بر بازدهی و سرعت استخراج فراصوت بسته به ماهیت مواد گیاهی استخراجی فرق می‌کند.

پراکنش امواج فراصوت درون یک استخراج کننده یک پارامتر کلیدی در طراحی استخراج کننده‌های فراصوت است. حداکثر قدرت فراصوت در پیرامون سطح منتشرکننده پروب فراصوت مشاهده می‌شود. شدت فراصوت به‌طور ناگهانی با افزایش فاصله از سطح منتشرکننده و همچنین با افزایش حضور ذرات جامد کاهش می‌یابد. به منظور جلوگیری از توقف امواج یا تشکیل نواحی بدون مواد

استخراج مواد گیاهی با حلال عمدتاً بر اساس انتخاب صحیح حلال‌ها و استفاده از حرارت یا همزدن بوده که انتقال جرم را بهبود می‌بخشند. این روش‌ها به زمان استخراج طولانی‌تری نیاز داشتند که می‌توانند یک خطر جدی برای تجزیه حرارتی بیشتر اجزای گیاهی باشند. نیاز به توسعه روش‌هایی با کارایی بالا و استخراج سریع به دلیل وجود چندین هزار متابولیت‌های ثانویه در گیاهان ضروری است. بنابراین برای گام برداشتن در این راه، رشد و استفاده از روش‌های استخراج جدید با مدت استخراج کوتاه، مصرف حلال کم، افزایش مسائل جلوگیری از آلودگی و با محافظت ویژه برای ترکیبات ناپایدار در برابر حرارت ضروری است. با استفاده از روش‌های نوین استخراج، تحقیقات مهمی در این رابطه در دهه‌های اخیر صورت گرفته است. یکی از نقاط ضعف اصلی روش سنتی استخراج، مدت استخراج طولانی است که می‌تواند ۸، ۱۶ و ۲۴ ساعت و یا بیشتر باشد که باعث اتلاف زمان و مصرف انرژی حرارتی قابل ملاحظه می‌شود. نیاز به زمان طولانی به کار آزمایشگاهی بیشتری نیاز دارد و تعداد نمونه‌های قابل فرایند را محدود می‌کند که از نظر جنبه‌های تجاری قابل پذیرش نیست. استفاده از مقادیر زیاد حلال‌های آلی نیاز به یک مرحله بازیابی اضافی و تبخیر کردن بعدی برای تغلیظ عصاره دارد که منجر به مشکل شدن فرایند می‌شود و برای محیط زیست نیز مضر است. در حالیکه در روش‌های نوین، مدت استخراج کاهش یافته و با کمتر شدن مقدار مصرف حلال‌های آلی، آلودگی‌های زیست محیطی نیز کاهش می‌یابد. از روش‌های نوین استخراج می‌توان به روش استخراج به کمک فراصوت<sup>۱</sup>، استخراج به کمک ریزموج<sup>۲</sup> و استخراج با حلال فشرده<sup>۳</sup> اشاره کرد. این روش‌ها در سال‌های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته اند و اگر از نظر علمی مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گیرند، می‌توانند به‌صورت مؤثر و کارآمد در استخراج ترکیبات مؤثره از گیاهان دارویی به کار روند.

## ۲- روش استخراج به کمک فراصوت

### ۲-۱ اصول و مکانیسم استخراج

امواج صوتی که فرکانس‌های بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز دارند، در یک ماده جامد، مایع و گاز نوسان‌های مکانیکی ایجاد می‌کنند. برخلاف

1. Ultrasound-Assisted Extraction (UAE)
2. Microwave-Assisted Extraction (MAE)
3. Accelerated Solvent Extraction (ASE)

4. Cavitation

## ۲-۴ تحقیقات صورت گرفته در روش استخراج به کمک

### فراصوت

کاربرد روش فراصوت به عنوان یک تکنیک آزمایشگاهی برای استخراج مواد گیاهی به طور وسیعی بررسی شده است. چندین مقاله مروری قبلاً درباره استخراج متابولیت‌های موجود در ریشه گیاهان، استخراج فلاونوئیدها با استفاده از طیفی از حلال‌ها از غذاها و استخراج مواد فعال زیستی از گیاهان منتشر شده اند. دامنه کاربردهای استخراج منتشر شده با این روش، شامل مواد مؤثره گیاهی، روغن، پروتئین و ترکیبات فعال زیستی از مواد گیاهی می‌باشند [۶].

روش فراصوت برای استخراج مواد مؤثره ای همچون اسانس‌ها، روغن‌ها و پلی فنول‌ها از گیاهان استفاده شده است [۳]. فراصوت می‌تواند بازدهی استخراج را افزایش دهد. شارما و گاپتا<sup>۳</sup> (۲۰۰۴) گزارش کردند که اولتراسونیکاسیون یک پیش تیمار حیاتی بوده و باعث افزایش بازدهی استخراج روغن‌ها از بادام، زردآلو و سبوس برنج گردیده است [۷]. برای استخراج ساپونین از جینسنگ<sup>۴</sup> به کمک فراصوت، بازدهی کل و بازدهی ساپونین استخراجی به ترتیب ۱۵ و ۳۰٪ افزایش یافت. فراصوت همچنین می‌تواند سرعت‌های استخراج را افزایش و کیفیت عصاره‌ها را بهبود دهد [۸]. سرعت‌های استخراج کاروون<sup>۵</sup> و لیمونن<sup>۶</sup> با روش استخراج به کمک فراصوت با استفاده از هگزان بسته به دمای به کار رفته، ۱/۳ تا ۲ برابر سریع‌تر از روش‌های سنتی استخراج بود. بنابراین بازدهی و کیفیت کاروون به دست آمده بهتر از روش سنتی بود. استفاده از فراصوت، زمان استخراج را حداقل به نصف زمان مورد نیاز با روش‌های سنتی استخراج بدون هر گونه تغییر در ترکیب روغن‌های استخراجی کاهش داد [۹].

وو و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که استخراج ساپونین‌های جینسینگ با فراصوت تقریباً سه برابر سریعتر از روش سنتی استخراج انجام گرفت [۱۰]. استخراج به کمک فراصوت همچنین به عنوان یک روش مناسب برای استخراج ترکیبات فعال زیستی از گیاه سولویا آفیسینالیس<sup>۸</sup> و گل‌های هیبیکوس تیلیاسئوس<sup>۹</sup>،

جامد<sup>۱</sup> برای عبور بهتر امواج فراصوت، معمولاً از عمل همزدن یا تکان دادن استفاده می‌شود [۴].

با استفاده از فراصوت می‌توان تغییراتی را در شرایط فرایند همچون کاهش دما و فشار در مقایسه با روش معمولی استخراج ایجاد کرد. برای استخراج پایترین از گل‌های پایتروم<sup>۲</sup> با حلال هگزان بدون استفاده از امواج فراصوت، بازدهی استخراج با دمای استخراج افزایش یافت و حداکثر بازدهی در ۶۶ °C به دست آمد. در حالی که با فراصوت، تأثیر دما در محدوده ۴۰-۶۶ °C بر روی بازدهی استخراج قابل اغماض بود، البته با فرض اینکه بهینه‌ترین استخراج در محدوده دمایی ۴۰ تا ۶۶ °C اتفاق بیافتد. بنابراین استفاده از روش استخراج به کمک فراصوت برای ترکیبات حساس به حرارت، مناسب است زیرا ممکن است شرایط عملیاتی سوکسله به دلیل دمای استخراج بالا، تغییر کرده باشد [۵]. با این حال باید ذکر کرد زمانی که فراصوت حرارت تولید می‌کند، باید به دقت دمای استخراج را کنترل کنیم. مدت قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت نیز باید به دقت مورد توجه باشد زیرا مدت طولانی می‌تواند به کیفیت عصاره‌ها آسیب برساند.

## ۲-۳ مزایا و معایب روش استخراج به کمک فراصوت

استخراج به کمک فراصوت یک روش ساده است که جایگزین مناسبی برای روش‌های سنتی استخراج است. فواید اصلی استفاده از فراصوت در استخراج (جامد- مایع) شامل افزایش بازدهی استخراج و سرعت استخراج است. فراصوت می‌تواند دمای عملیاتی را کاهش دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد. در مقایسه با سایر روش‌های نوین استخراج همچون استخراج به کمک ریزموج، دستگاه فراصوت ارزان‌تر است و اجرای آن راحت‌تر می‌باشد. استخراج به کمک فراصوت مشابه استخراج با سوکسله می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود. از معایب این روش می‌توان گفت که حضور یک فاز پخش شده باعث تضعیف امواج فراصوت می‌شود و از طرفی بخش فعال فراصوت درون استخراج‌کننده به یک ناحیه واقع در پیرامون پروب فراصوت محدود می‌شود و بنابراین باید در طراحی استخراج‌کننده‌های فراصوت به دقت مورد ملاحظه قرار گیرند [۲].

3. Sharma and Gupta
4. Ginseng
5. Carvone
6. Limonene
7. Wu
8. Solvia Officinalis
9. Hibiscus Tiliaceus

1. Solid Free Regions
2. Pyrethrum

پالمیتیک در حلال متانول شد [۱۴]. همچنین در مطالعه‌ای که توسط وانگ<sup>۱۰</sup> و همکاران (۲۰۰۸) بر روی بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولی از پوسته گندم با استفاده از حمام فراصوت صورت گرفت، بهترین شرایط استخراج، غلظت اتانول ۶۴٪، دمای ۶۰ درجه سلسیوس و زمان ۲۵ دقیقه گزارش شد که زمان استخراج بیشترین پارامتر معنی دار برای فرایند بود [۱۵].

در تحقیقی که مارتینو<sup>۱۱</sup> و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گیاه شبدر انجام دادند تأثیر روش ریزموج، فراصوت و سوکسله (روش سنتی استخراج) را در مورد استخراج کومارین<sup>۱۲</sup> و ترکیبات مشابه بررسی نمودند. بهترین نتایج برای روش ریزموج (با اتانول آبی ۵۰٪، دو سیکل حرارت دهی ۵ دقیقه ای و دمای ۵۰ درجه سلسیوس با سیستم ریزموج محفظه بسته) به دست آمد. همچنین در بررسی زمان‌های مختلف (۱۰ تا ۱۸۰ دقیقه) و حلال‌های مختلف (اتانول ۵۰٪، متانول ۵۰٪ و آب جوش) بر روی استخراج این ترکیبات با استفاده از حمام فراصوت بهترین حالت برای زمان ۶۰ دقیقه و با حلال اتانول آبی ۵۰٪ بود که در مقایسه با روش سوکسله، بازدهی استخراج بالاتری داشت [۱۶].

شوتیپراک<sup>۱۳</sup> و همکاران (۲۰۰۱) امکان استفاده از فراصوت را برای استخراج منتول از گیاه نعناع و جایگزینی با روش سنتی استخراج مطالعه کردند. نتایج نشان داد که گیاهان فراصوت شده به مدت یک ساعت در دمای ۲۲ °C در یک حمام فراصوت ۴۰ کیلو هرتز، تقریباً ۱۷/۸ میکروگرم منتول در هر گرم بافت برگ آزاد کردند (۲٪ کل محصول). مقدار منتول آزاد شده با زمان تیمار افزایش یافت و به میزان زیادی تحت تأثیر دمای حمام آب فراصوت بود. زمانی که دما از ۲۲ °C به ۳۹ افزایش یافت، میزان منتول استخراجی از ۲٪ کل محصول به ۱۲٪ افزایش یافت. بدون در نظر گرفتن تأثیرات دمایی، معلوم شد که مکانیسم آزادسازی محصول به دلیل کاویتاسیون است [۱۷].

### ۳- روش استخراج به کمک ریزموج

#### ۳-۱ نظریه ریزموج

ریزموج‌ها امواج الکترومغناطیسی غیر یونیزه با فرکانس ما بین ۳۰۰

آنتی‌اکسیدان‌ها از گیاه رزماری و استروئیدها و تری‌ترین‌ها از چرستان<sup>۱</sup> بود [۲].

افزایش بازدهی استخراج با روش فراصوت در مقایسه با روش‌های کلاسیک در آب و اتانول برای رازیانه، رازک‌ها، گل جعفری و نعناع به ترتیب ۳۴٪، ۱۲٪، ۳٪ و ۷٪ بود [۶]. وجود تغییرات در درصد بازدهی استخراج عمدتاً به دلیل ساختار ویژه محصول است.

آلبو<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۴) تأثیر حلال‌های مختلف و فراصوت را بر استخراج اسید کارنوسیک<sup>۳</sup> از رزماری بررسی کردند. استفاده از روش سنتی استخراج با حلال اتانول به طور معنی داری در مقایسه با اتیل استات و بوتانول تأثیر کمتری داشت. کاربرد فراصوت، عملکرد نسبی اتانول را در مقایسه با دو حلال دیگر بهبود داد. بنابراین عمل استفاده از فراصوت ممکن است وابستگی به یک حلال را کاهش داده و قابلیت استفاده از حلال‌های جایگزین را که از نظر اقتصادی، محیطی، سلامتی و ایمنی مناسب اند، فراهم سازد [۱۱].

آنتراکینون‌های حاصل از ریشه موریندا سیتریفولیا<sup>۴</sup> ترکیبات فعالی هستند که تأثیرات درمانی از خود نشان داده و در کاربردهای دارویی ضد سرطانی استفاده می‌شوند. همومول<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۰۶) استفاده از روش استخراج به کمک فراصوت را برای بهبود ضریب استخراج آنتراکینون‌ها از ریشه موریندا سیتریفولیا با حلال تحقیق کردند. استخراج با فراصوت در یک سیستم (آب- اتانول)، ۷۵٪ کاهش را در زمان و بازدهی استخراج در مقایسه با نمونه‌های تیمار نشده با امواج فراصوت ایجاد کرد [۱۲].

راستاقنو<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۰۳) استخراج ایزوفلاون‌ها را از سویا با فراصوت ارزیابی کردند که ضریب استخراج تا ۱۵٪ بهبود یافته بود. اما بازدهی استخراج به حلال آلی مورد استفاده وابسته بود. مخصوصاً، ۴۰ تا ۶۰٪ آب برای بهبود ضریب استخراج لازم بود که به دلیل قطبیت نسبی ایزوفلاون‌ها بود [۱۳].

روسانگلا و همکاران<sup>۷</sup> (۲۰۰۷) درباره ترکیب شیمیایی عصاره‌های چای مت<sup>۸</sup> (برگ‌های ایلکس پاراگاریسیس<sup>۹</sup>) را تحقیق کردند. تأثیر تیمار فراصوت منجر به بهبود بازدهی میزان کافئین و اسید

1. Chresta Spp
2. Albu
3. Carnosic Acid
4. Morinda Citrifolia
5. Hemwimol
6. Rostagno
7. Rosangela
8. Mate
9. Ilex Paraguariensis

10. Wang  
11. Martino  
12. COumarin  
13. Shotipruk

دی الکتریک یا حلال‌هایی با دو قطبی‌های مستمر به تنهایی، تحت ریزموج حرارت می‌بینند. کارایی حلال‌های مختلف که تحت ریزموج حرارت تولید می‌کنند بستگی به فاکتور اتلاف<sup>۲</sup> دارد که به‌طور مسلم میزان توانایی حلال برای جذب انرژی ریزموج و انتقال آن به‌صورت حرارت به مولکول‌های اطراف است [۱]. فاکتور اتلاف از معادله (۱) به‌دست می‌آید که:

$$\tan \zeta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \quad (1)$$

$\varepsilon''$ : اتلاف دی الکتریک که نشان‌دهنده ضریب تبدیل انرژی ریزموج به حرارت است.

$\varepsilon'$ : ثابت دی الکتریک که مقدار توانایی جذب انرژی ریزموج است. جدول (۱) ثابت‌های لکتریک و فاکتورهای اتلاف را برای حلال‌هایی که عمدتاً در روش استخراج به کمک ریزموج مورد استفاده می‌باشند نشان می‌دهد. جدول نشان می‌دهد که هر دو، متانول و اتانول، جذب ریزموج کمتری نسبت به آب دارند که به‌دلیل ثابت دی الکتریک کمتر شان است اما ضریب حرارت دهی کلی برای هر دو حلال بیشتر از آب خواهد بود (که به‌دلیل افزایش مقدار فاکتور اتلاف است). در حالی که هگزان و حلال‌های غیر قطبی مانند کلروفرم در برابر ریزموج حالت گذر<sup>۳</sup> دارند و مانند شیشه عمل کرده و از این رو حرارتی تولید نمی‌کنند.

### جدول ۱- ثابت دی الکتریک و فاکتور اتلاف برای

#### حلال‌های مختلف [۱۸]

حلال	ثابت دی الکتریک	فاکتور اتلاف*
کلروفرم	-	۰/۰۹۱
استون	۲۰/۷	۰/۰۵۴
استونیتریل	۳۷/۵	۰/۰۶۲
هگزان	۱/۸۹	۰/۰۲
اتانول	۲۴/۳	۰/۹۴۱
متانول	۳۲/۶	۰/۶۵۹
(۲- پروپانول)	۱۹/۹	۰/۷۹۹
آب	۷۸/۳	۰/۱۲۳

\* تعیین شده در دمای ۲۰ درجه سلسیوس

مگا هرتز تا ۳۰۰ گیگا هرتز هستند و مابین پرتوهای ایکس و پرتوهای مادون قرمز در طیف الکترومغناطیسی قرار دارند. ریزموج‌ها از دو میدان عمودی نوسانی یعنی میدان الکتریکی و مغناطیسی ساخته می‌شوند که اولی مسئول حرارت دهی می‌باشد. حرارت‌دهی معمولی وابسته به پدیده (هدایت- جابجایی) بوده و سرانجام مقدار زیادی از انرژی حرارتی از طریق محیط از دست می‌رود. در حالی که در مورد روش استخراج به کمک ریزموج، حرارت دهی در یک مسیر مشخص و انتخابی و بدون اتلاف حرارت به محیط اتفاق می‌افتد یعنی همانند حرارت دهی که در یک سیستم بسته صورت می‌گیرد. این مکانیسم حرارت‌دهی می‌تواند زمان استخراج (معمولاً کمتر از ۳۰ دقیقه) را در مقایسه با روش‌های سنتی استخراج کاهش دهد. اصول حرارت دهی با ریزموج، مبتنی بر تأثیر مستقیم امواج با حلال و مواد قطبی بوده و به‌وسیله دو پدیده انتقال یونی و چرخش دو قطبی اثر می‌گذارد که در بیشتر موارد همزمان اتفاق می‌افتد [۱]. انتقال یونی مربوط به مهاجرت الکتروفورتیک<sup>۱</sup> یون‌ها در اثر تغییر میدان الکتریکی است. مقاومت توسط محلول با مهاجرت اجزای تولید شده یون‌ها ایجاد، و سرانجام به محلول حرارت داده می‌شود. چرخش دو قطبی نیز، تغییر مسیر دو قطبی‌های مولکولی سریعاً با تغییر میدان الکتریکی می‌باشد. حرارت دهی به تنهایی در فرکانس ۲۴۵۰ مگاهرتز صورت می‌گیرد. اجزای الکتریکی موج هر ثانیه  $4 \times 10^9 / 9$  بار تغییر می‌کند. هر بار مولکول‌های حلال سعی می‌کنند که با میدان الکتریکی همسو شده و خودشان را در یک فاز یکسان و مشابه نگه دارند اما با اجزای الکتریکی موج در حال تغییر در چنین سرعت سریع، مولکول‌ها نا کام می‌مانند که خودشان دوباره جهت‌گیری کرده و شروع به لرزش می‌کنند که این باعث تولید حرارت از طریق نیروی اصطکاک می‌شود. در فرکانس بزرگتر از ۲۴۵۰ مگا هرتز، اجزای الکتریکی در سرعت‌های بسیار بالا تغییر می‌کنند که در نتیجه مولکول‌ها زمان کافی را برای جهت‌گیری با میدان خارجی ندارند که در نتیجه حرارت‌دهی اتفاق نمی‌افتد. اگر فرکانس کمتر از ۲۴۵۰ مگا هرتز باشد اجزای الکتریکی در سرعت‌های بسیار کمتری تغییر می‌کنند و مولکول‌ها زمان کافی را برای جهت‌گیری با میدان الکتریکی داشته و دوباره حرارت دهی اتفاق نمی‌افتد. مکانیسم‌های بالا نشان می‌دهد که تنها مواد

2. Dissipation (Tan $\zeta$ )  
3. Transparent

1. Electrophoretic

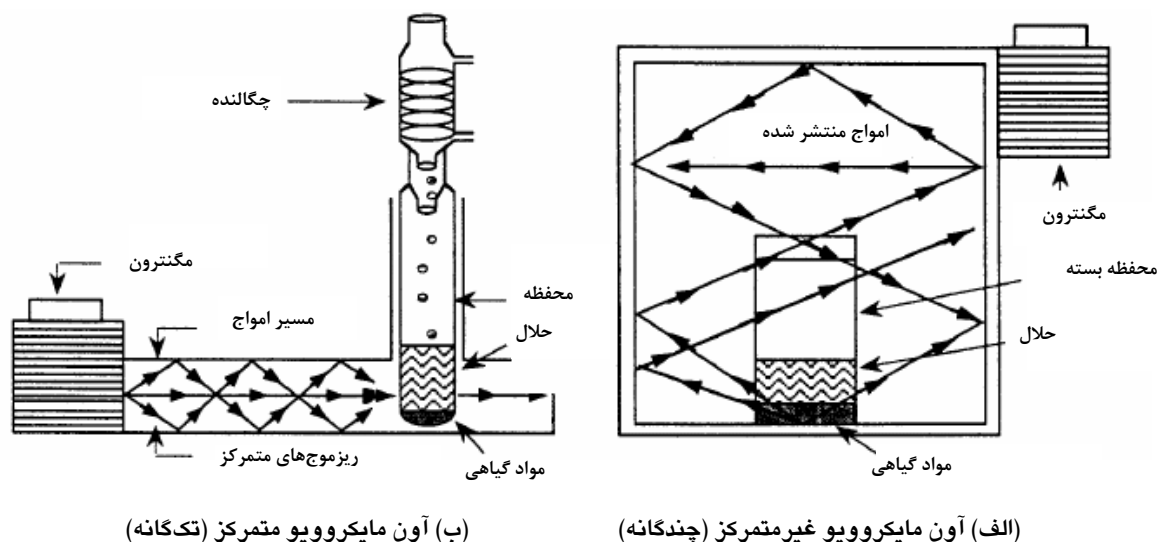
## ۳-۲ اصول استخراج به کمک ریزموج

اگر چه در بیشتر موارد از مواد گیاهی خشک برای استخراج استفاده می‌شود اما هنوز سلول‌های گیاهی دارای مقادیر جزئی میکروسکوپی از رطوبت هستند که به‌عنوان هدف برای حرارت‌دهی ریزموج به‌کار برده می‌شوند. رطوبت در زمانی که در اثر ریزموج، درون سلول‌های گیاهی حرارت می‌بیند، تبخیر می‌شود و فشار بسیار زیادی را به‌دلیل تورم سلول گیاهی روی دیواره سلولی تولید می‌کند [۲]. فشار، دیواره سلولی را از درون تحت فشار قرار داده و سرانجام باعث شکسته و پاره شدن آن می‌شود، که تراوش اجزای فعال را از سلول‌های تخریب شده به حلال احاطه‌کننده تسهیل کرده از این رو بازدهی استخراج اجزای گیاهی را بهبود می‌بخشد. این پدیده می‌تواند در حالتی که مواد گیاهی با حلال‌هایی با ضرایب حرارت‌دهی بالا تحت ریزموج خیس‌انده می‌شوند، بیشتر افزایش یابد. دماهای بالای حاصل شده با پرتوهای ریزموج می‌تواند هر پیوندی از سلولوز را که جزء اصلی دیواره سلولی است هیدرولیز کند و در عوض در چند دقیقه آن را به اجزای محلول تبدیل نماید. دماهای بالایی که در دیواره‌های سلولی در طی استخراج با ریزموج به‌دست می‌آیند، دهیدراسیون سلولوز را افزایش و قدرت مکانیکی آن را

کاهش می‌دهند و این پدیده به‌دسترسی آسان حلال به ترکیبات درون سلول کمک می‌کند [۱۸].

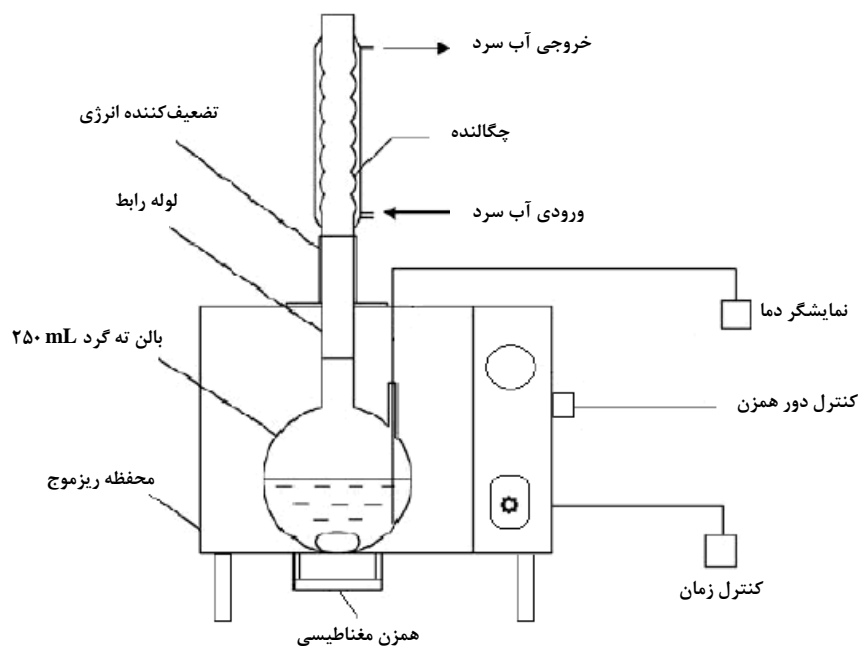
## ۳-۳ سیستم‌های استخراج به کمک ریزموج

دو نوع سیستم ریزموج که به‌طور تجاری در دسترس اند شامل ریزموج با محفظه بسته<sup>۱</sup> و آن‌های ریزموج متمرکز<sup>۲</sup> می‌باشند. در این روش‌ها استخراج، تحت فشار و دمای کنترل شده انجام می‌گیرد. هر دو سیستم ذکر شده به‌صورت متمرکز (تک‌گانه) یا غیرمتمرکز (چندگانه) قابل دسترس‌اند. در سیستم غیر متمرکز پرتوهای ریزموج درون محفظه ریزموج به‌صورت تصادفی پراکنده شده و تمامی نواحی را در محفظه و نمونه به‌طور یکسانی پوشش می‌دهد. ولی در نوع متمرکز، پرتوهای ریزموج به یک ناحیه محدود شده یعنی در جایی که نمونه در معرض یک میدان الکتریکی خیلی قوی نسبت به حالت قبلی قرار می‌گیرد، تابیده می‌شود. (شکل (۱)). همچنین یک آن‌خانگی غیر متمرکز (چندگانه) اصلاح شده به‌عنوان یک سیستم استخراج محفظه باز<sup>۳</sup> به‌کار گرفته می‌شود (شکل (۲)). مزایا و معایب سیستم‌های ریزموج محفظه بسته و محفظه باز در زیر به‌طور کامل بیان شده است.



شکل ۱- (الف) یک سیستم چند گانه (ب) یک سیستم تک گانه [۱]

1. Closed-vessel Microwave
2. FoCoused Microwave Ovens
3. Open-vessel Microwave



شکل ۲- یک ریزموج خانگی اصلاح شده (سیستم ریزموج محفظه باز) [۲۸]

مزایای سیستم‌های محفظه بسته:

(۱) این سیستم‌ها به دلیل فشار بالای درون محفظه، نقطه جوش حلال‌های مورد استفاده را بالا می‌برند بنابراین در طی عملیات به دماهای بالاتری در مقایسه با سیستم‌های محفظه باز می‌رسند و زمان مورد نیاز برای تیمار ریزموج را کاهش می‌دهند. (۲) از کاهش ترکیبات فرار در طی پرتودهی تقریباً به‌طور کامل جلوگیری می‌شود. (۳) حلال اندکی مورد نیاز است. چون هیچ تبخیری اتفاق نمی‌افتد و نیازی به اضافه کردن همیشگی حلال برای نگهداشتن حجم نیست. همچنین از خطر آلودگی جلوگیری می‌شود. (۴) بخارات تولید شده در طی استخراج اسیدی با ریزموج درون محفظه جمع می‌شوند و بنابراین برای جابجایی بخارات خطرناک نیاز به هیچ اقدامی نیست.

معایب سیستم‌های محفظه بسته:

(۱) فشارهای بالای استفاده شده از لحاظ ایمنی خطرناک است. (۲) مقدار نمونه فراوری شده محدود است. (۳) مواد سازنده سیستم‌های محفظه بسته، پلی تترا فلئوئورو اتیلن<sup>۱</sup> است که قادر به تحمل دماهای بالا نیست. (۴) روش، تک مرحله‌ای است و افزودن معرف یا حلال در طی عملیات امکان پذیر نمی‌باشد. (۵) محفظه باید

1. Poly Tetra Flouro Ethylene (PTFE)

قبل از اینکه باز شود به منظور جلوگیری از خروج ترکیبات فرار، سرد شود.

در ریزموج با فشار اتمسفری (محفظة باز)، تهیه نمونه می‌تواند حتی مؤثرتر از روش‌های محفظه بسته باشد.

**مزایای سیستم‌های محفظه باز:**

(۱) افزایش ایمنی که به دلیل اجرای روش محفظه باز در فشار اتمسفری می‌باشد. (۲) توانایی افزودن معرف‌ها در هر زمان در طی تیمار (۳) توانایی استفاده از محفظه‌های ساخته شده از مواد مختلف شامل پلی تترا فلئوئورو اتیلن، شیشه و کوارتز (۴) توانایی فرایند نمونه‌هایی با مقادیر بیشتر (۵) عدم نیاز به سرد کردن و یا کم کردن فشار (۶) هزینه کمتر تجهیزات مورد نیاز (۷) عملیات محفظه باز مناسب برای گونه‌های حساس یا ناپایدار در برابر حرارت می‌باشد چون دماهای پایینی را در مقایسه با سیستم‌های محفظه بسته استفاده می‌کند.

**معایب سیستم‌های محفظه باز:**

(۱) این روش‌ها معمولاً در مقایسه با روش‌های محفظه بسته، دقت کمتری دارند. (۲) ظرفیت نمونه کمتر است. بیشتر سیستم‌های محفظه باز نمی‌توانند به‌طور همزمان نمونه‌های زیادی را فراروش

اندازه ذرات گیاهی و وضعیت ماده گیاهی برای این روش استخراج می‌تواند تأثیر زیادی بر بازیابی ترکیبات داشته باشد. اندازه‌های ذرات مواد استخراجی در محدوده ۱۰۰ میکرومتر تا ۲ میلی متر هستند [۲]. مواد گیاهی ریز می‌توانند استخراج را از طریق بالا بردن مساحت سطح افزایش دهند و تماس بهتری را بین بافت گیاهی و حلال فراهم می‌سازند. همچنین ذرات کوچک‌تر باعث بهبود یا نفوذ عمیق‌تر ریزموج می‌شوند. یکی از معایب مربوط به ذرات ریز، مشکل بودن جداسازی ماده از حلال بعد از پرتو دهی ریزموج است. به‌طور معمول سانتریفوژ کردن یا صاف کردن برای رفع عیب بالا به‌کار برده می‌شود و استفاده از ذرات خیلی ریز بعضی مشکلات تکنیکی را نیز موجب می‌شود.

دما و توان ریزموج نیز بسیار در ارتباط با یکدیگرند و نیاز به توجه ویژه‌ای بخصوص در سیستم‌های محفظه بسته دارند. در سیستم‌های محفظه بسته، دما ممکن است به بالاتر از نقطه جوش حلال‌ها برسد. جدول (۲) دمای به‌دست آمده توسط بعضی حلال‌های ریزموج در شرایط تحت فشار را نشان می‌دهد. دماهای بالا به‌دلیل افزایش خروج آنالیت از مناطق فعال در بافت گیاهی منجر به بهبود ضرایب استخراج می‌شوند. افزایش دما با افزایش فشار در سیستم‌های بسته مرتبط است که این مسئله نگرانی‌های ایمنی را افزایش می‌دهد. دما می‌تواند به‌طور مؤثری در سیستم محفظه باز از طریق ترکیب مناسب حلال‌های استخراجی که بطور متفاوتی گرم می‌شوند، کنترل شود [۱].

جدول ۲- دماهای جوش و دماهای تحت ریزموج در فشار ۱۷۵psi برای حلال‌های مختلف [۱]

حلال	دمای جوش (درجه سلسیوس)	دما در فشار ۱۷۵psi
دی کلرو متان	۳۹/۸	۱۴۰
استون	۵۶/۲	۱۶۴
متانول	۶۴/۷	۱۵۱
هگزان	۶۸/۷	بدون حرارت تحت ریزموج
اتانول	۷۸/۳	۱۶۴

کنند. در حالی که سیستم‌های محفظه بسته می‌توانند ۱۴-۸ نمونه را در یک زمان کنترل کنند. (۳) زمان مورد نیاز برای به‌دست آوردن نتایج مشابه با سیستم‌های محفظه بسته، معمولاً طولانی‌تر است.

### ۳-۴ فاکتورهای مؤثر بر استخراج به کمک ریزموج

ماهیت و حجم حلال، فاکتورهای اصلی در استخراج با ریزموج هستند. انتخاب حلال برای روش استخراج به کمک ریزموج از طریق انحلال‌پذیری آنالیت مورد نظر، واکنش متقابل مابین حلال و ماده گیاهی، و در نهایت خصوصیات جذب ریزموج حلال تعیین می‌شود [۱۸]. ترجیحاً حلال باید یک انتخاب‌پذیری بالایی در جهت آنالیت مورد نظر داشته باشد. این روش استخراج می‌تواند با حلال‌های مشابهی که برای روش‌های سنتی استخراج استفاده می‌شوند اجرا شوند. به هر حال استخراج بهینه از حلال‌ها در این روش همیشه نمی‌تواند مشابه نتیجه روش‌های سنتی باشد.

نسبت حجم حلال به ماده استخراجی نیز عامل مهمی است. یافته‌ها نشان می‌دهند که حجم حلال باید برای تضمین غوطه‌وری بافت گیاهی به‌طور کامل در حلال تا اتمام مدت پرتو دهی کافی باشد. حجم حلال با توجه به مقدار نمونه انتخاب می‌شود. به‌طور کلی، نسبت‌های بالای حجم حلال به ماده جامد ممکن است در روش‌های سنتی استخراج مؤثر باشد اما در روش استخراج به کمک ریزموج، نسبت‌های بالاتر ممکن است به‌دلیل همزنی نامناسب و ناکافی حلال توسط ریزموج بازیابی‌های کمتری داشته باشند [۱].

به‌طور کلی با افزایش زمان استخراج، مقدار آنالیت‌های استخراجی افزایش می‌یابد. اگر چه امکان تجزیه آنها وجود دارد. قرار گرفتن بیشتر در معرض امواج منجر به تجزیه حرارتی ترکیبات مؤثره می‌شود. زمان پرتو دهی همچنین به‌وسیله خصوصیات دی الکتریک حلال تحت تأثیر است. در حلال‌هایی مانند آب، اتانول و متانول ممکن است با افزایش زمان پرتو دهی، حرارت بالا رود از این رو برای اجزای حساس به حرارت خطرناک است [۱۹].

توان ریزموج و مدت پرتو دهی دو فاکتوری هستند که در مقادیر بالا همدیگر را تحت تأثیر قرار می‌دهند. ترکیب توان کم یا متوسط با زمان پرتو دهی طولانی ممکن است روش مناسب و معقولی باشد. توان باید به‌طور صحیحی برای جلوگیری از افزایش دما انتخاب شود که دمای بالا می‌تواند منجر به تجزیه ماده حل شونده و همچنین فشار بالا در درون محفظه شود.



### ۳-۵ مزایای روش استخراج به کمک ریزموج بر روش‌های سنتی استخراج

روش استخراج به کمک ریزموج، جایگزین بهتری برای روش‌های استخراج (جامد- مایع) قدیمی برای استخراج متابولیت‌ها از گیاهان می‌باشد. بعضی از مزایای بالقوه آن نسبت به روش‌های سنتی استخراج در زیر آورده شده است:

۱) کاهش معنی دار در مدت استخراج، مدت استخراج معمولاً از چند ثانیه تا چند دقیقه (۲۰-۱۵ دقیقه) متغیر است. ۲) کاهش میزان حلال مصرفی ۳) بهبود بازدهی استخراج ۴) تنظیم خودکار دستگاه که دقت و صحت بیشتری را فراهم می‌کند. ۵) مناسب بودن برای اجزای حساس به حرارت ۶) قادر به استخراج اجزای خیلی جزئی (کم) مانند فلزات سنگین و باقیمانده آفت کش‌ها از چند میلی گرم نمونه گیاهی. ۷) ایجاد تلاطم در طی استخراج، که پدیده انتقال جرم را بهبود می‌دهد.

از معایب این روش این است که کارایی ریزموج‌ها زمانی که ترکیبات هدف یا حلال غیر قطبی باشند و یا زمانی که آنها فرار باشند، بسیار کم و ضعیف است.

### ۳-۶ تحقیقات صورت گرفته با روش استخراج به کمک ریزموج

روش استخراج به کمک ریزموج می‌تواند با حلال‌های مشابهی که برای روش‌های سنتی استخراج استفاده می‌شود اجرا گردد. استخراج به کمک ریزموج گیاه زنجبیل با استفاده از هگزان بازدهی کمتری در مقایسه با روش استخراج با سوکسله داشت. در حالی که استفاده از اتانول به عنوان حلال استخراجی، بازدهی بالاتری در مقایسه با روش سوکسله به دست داد. این می‌تواند به دلیل تفاوت در خصوصیات دی الکتریک حلال باشد. هگزان یک حلال شفاف و گذرا به ریزموج است و با ریزموج گرم نمی‌شود در حالی که اتانول ظرفیت جذب ریزموج خوبی دارد و از این رو سریعاً حرارت بالا می‌رود و می‌تواند فرایند استخراج را تقویت کند. بنابراین ویژگی‌های دی الکتریکی حلال در طی حرارت دهی با ریزموج نقش مهمی در استخراج به کمک ریزموج دارد [۱]. در بیشتر موارد از مخلوط حلال‌هایی با ضریب حرارت دهی بهتر تحت ریزموج (شاخص اتلاف بالا) استفاده می‌شود و متانول آبی و اتانول برای رسیدن به این

منظور بهترین حلال هستند. طالبی<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که ترکیب مخلوط (آب - متانول) (۱۰: ۹۰) یک فاکتور مهم در استخراج پاکلیتاکسل<sup>۲</sup> از تاکسوس باکاتا<sup>۳</sup> به کمک امواج ریزموج می‌باشد [۲۰]. ما بین غلظت‌های اتانولی مختلف مطالعه شده، استفاده از اتانول ۹۵٪، بهترین نتایج را در استخراج تانشینون‌ها<sup>۴</sup> از سالویا میلیتوریزا<sup>۵</sup> به کمک ریزموج نشان داد [۲۱]. وجود مقدار کمی آب در حلال استخراجی نفوذ حلال را به درون بافت‌های گیاهی تسهیل کرده و باعث حرارت‌دهی بهتر ماده گیاهی می‌شود. این به نوبه خود انتقال جرم اجزای فعال به درون حلال استخراجی را افزایش می‌دهد. متانول ۸۰٪، ترکیب حلال استخراج بهینه برای استخراج کلروژنیک اسید و اسید جینیپوزیدیک<sup>۶</sup> از ایکومیا اولمودیا<sup>۷</sup> در روش استخراج به کمک ریزموج بود [۲۲]. بعضی مواقع مخلوط‌هایی از ترکیب حلال‌هایی با خاصیت جذبی کم و زیاد ریزموج بهترین نتیجه را می‌دهد. اتانول یک جاذب نسبتاً خوب انرژی ریزموج است ولی حلال استخراجی خوبی برای سولانسول<sup>۸</sup> نیست اما هگزان یک حلال استخراجی مناسبی بدین منظور است ولی جاذب خوب انرژی ریزموج نیست. بنابراین، اتانول و هگزان در نسبت‌های مختلف برای فرایند استخراج به کمک ریزموج مخلوط شدند. نسبت هگزان به اتانول ۱:۳ بهترین درصد استخراج سولانسول را از برگ‌های تنباکو در بین نسبت‌های مختلف هگزان با اتانول داشت [۲۳].

استخراج پوئرارین<sup>۹</sup> از گیاه رادیکس پوراریا<sup>۱۰</sup> به کمک ریزموج می‌تواند در یک دقیقه به طور کامل انجام شود [۲۴]. روش استخراج به کمک ریزموج با متانول ۸۰٪ می‌تواند به طور برجسته ای زمان استخراج ساپونین‌های جینسنگ را از ۱۲ ساعت با روش‌های سنتی به چند دقیقه کاهش دهد [۲۵]. برای استخراج تانشینون‌ها از سالویا میلیتوریزا، با روش استخراج به کمک ریزموج تنها به ۲ دقیقه زمان نیاز بود در حالی که برای استخراج همین مقدار و با کیفیت

1. Talebi
2. Paclitaxel
3. Taxus Baccata
4. Tanshinones
5. Salvia Miltiorrhiza
6. Geniposidic Acid
7. Eucommia Ulmodie
8. Solanesol
9. Puerarin
10. Radix Puerariae

#### ۴- استخراج با حلال فشرده

##### ۴-۱ اصول و مکانیسم استخراج

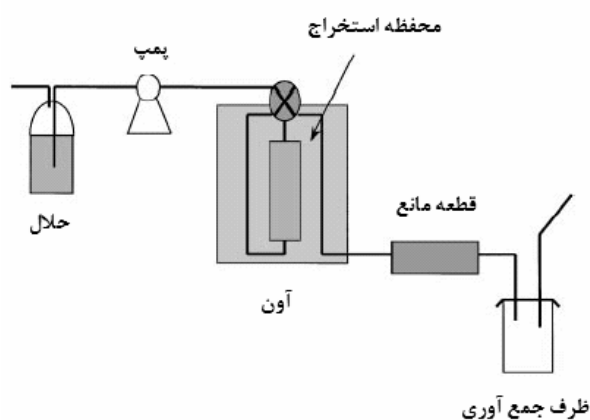
استخراج با حلال فشرده شکلی از استخراج با حلال تحت فشار<sup>۹</sup> است که مشابه روش استخراج با سیال فوق بحرانی<sup>۱۰</sup> می‌باشد. اولین دستگاه برای این منظور توسط شرکت دیونکس<sup>۱۱</sup> در سال ۱۹۹۴ تجاری شد [۳۳]. استخراج با حلال فشرده یک فرایند استخراجی است که در دماهای بالا ما بین ۵۰ °C تا ۲۰۰ °C و در فشار مابین ۱۰ و ۱۵ مگاپاسکال انجام می‌گیرد. استخراج تحت فشار به منظور نگهداری و حفظ حلال در حالت مایع در دمای بالا انجام می‌گیرد. حلال در طی استخراج هنوز زیر شرایط بحرانی اش قرار دارد. افزایش دما، سرعت استخراج را افزایش می‌دهد و فشار بالا، حلال را در حالت مایع نگه می‌دارد، از این رو استخراج، سریع و با ایمنی بیشتر صورت می‌گیرد. همچنین فشار اجازه می‌دهد استخراج سلول سریعتر انجام شود و به خروج مایع از درون ماده جامد کمک می‌کند. دماهای بالا گرانیوی حلال مایع را کاهش می‌دهند و اجازه نفوذ بهتر مواد را موجب می‌شوند و واکنش متقابل مواد حل‌شونده و بافت گیاهی را تضعیف می‌کنند. اگر چه حلال‌های استفاده شده در روش استخراج با حلال فشرده معمولاً حلال‌های آلی هستند، همچنین آب گرم تحت فشار یا آب زیر بحرانی می‌تواند در دستگاه استخراج با حلال فشرده استفاده شود که معمولاً استخراج با آب تحت فشار<sup>۱۲</sup> یا استخراج با آب زیر بحرانی<sup>۱۳</sup> نامیده می‌شود. شکل (۳) طرحی از یک دستگاه استخراج با حلال فشرده را نشان می‌دهد. یک نمونه جامد یا شبه جامد درون یک محفظه استخراج از جنس فولاد ضد زنگ قرار می‌گیرد و با حلال پر می‌شود و در یک آون (۲۰۰-۵۰۰ °C) حرارت می‌بیند. به خاطر اینکه در اثر حرارت‌دهی، انبساط در حلال ایجاد می‌شود فشار در محفظه استخراج معمولاً در دامنه (۳۰۰-۵۰۰) psi است. به‌منظور جلوگیری از افزایش فشار در داخل ظرف، یک شیر ثابت به‌طور خودکار زمانی که فشار ظرف از نقطه تنظیم بیشتر شود، باز و بسته می‌شود و حلالی را که در طی این باز و بسته شدن خارج می‌شود در محفظه‌ای جمع‌آوری می‌کند. یک مرحله استخراج ثابت<sup>۱۴</sup> از

مشابه با روش‌های استخراج در دمای اتاق، استخراج با سوکسله، استخراج به کمک فراصوت و استخراج با روش برگشت حرارت<sup>۱</sup> به ترتیب به ۲۴ ساعت، ۹۰، ۷۵ و ۴۵ دقیقه زمان نیاز بود [۲۶]. استخراج به کمک ریزموج با حلال (اتانول-آب) به مدت ۴ الی ۵ دقیقه برای استخراج اسید گلیسیریزیک از ریشه لیکوریک<sup>۲</sup>، بازدهی استخراج بالاتری را در مقایسه با استخراج (آب- اتانول) در دمای اتاق برای ۲۴-۲۰ ساعت به‌دست داد [۲۷]. برای استخراج پلی فنول‌های چای و کافئین از برگ‌های سبز چای، ۴ دقیقه زمان در روش استخراج به کمک ریزموج، بازدهی بالاتری را در مقایسه با روش سنتی در دمای اتاق، روش فراصوت و روش برگشت حرارت به ترتیب با ۲۰ ساعت، ۹۰ دقیقه و ۴۵ دقیقه زمان نشان داد [۲۸]. شو<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که بازدهی استخراج جینسنوزید<sup>۴</sup> از ریشه جینسنگ به مدت ۱۵ دقیقه با روش استخراج به کمک ریزموج (آب-اتانول) بالاتر از مقدار به‌دست آمده به مدت ۱۰ ساعت به روش سنتی بود [۲۹]. گارسیا و لوکیو<sup>۵</sup> (۱۹۹۹) کاهش در زمان استخراج را برای استخراج اولئوروپین<sup>۶</sup> از برگ‌های زیتون به کمک ریزموج (۸ دقیقه در مقابل ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سلسیوس) در مقایسه با روش‌های سنتی گزارش کردند [۳۰]. در برگ‌های تنباکو، بیشترین درصد استخراج سولاناسول با امواج ریزموج به ۰/۹۱٪ در ۴۰ دقیقه در غلظت سود بهینه رسید در حالی که روش برگشت حرارت، ۰/۸۷٪ استخراج را در ۱۸۰ دقیقه به‌دست داد [۲۳]. در استخراج آرتیمیسینین<sup>۷</sup> یک بازدهی استخراج بالایی حدود ۰/۹۲٪ بعد از ۱۲ دقیقه به‌دست آمده بود [۳۱]. به‌منظور تعیین زمان مورد نیاز برای رسیدن به حداکثر بازدهی، استخراج نمونه‌های فلفل در زمان‌های مختلف ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ دقیقه انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش مدت استخراج افزایش مشخصی از بازیابی کاپسایسینوئید<sup>۸</sup>ها به‌دست نیامد. بنابراین ۵ دقیقه به‌عنوان زمان استخراج مناسب انتخاب شد که این زمان برای استخراج همه کاپسایسینوئیدهای موجود در نمونه‌های تازه فلفل کافی است [۳۲].

1. Heat Reflux Extraction
2. LiCOric
3. Shu
4. Ginsenoside
5. Garcia and Luque
6. Oleuropein
7. Artemisinin
8. Capsaicinoid

9. Pressurized Solvent Extraction
10. Supercritical Fluid Extraction (SFE)
11. Dionex
12. Pressurized Hot Water Extraction
13. Subcritical Water Extraction
14. Static

و آب مزایای اقتصادی و محیطی دارند. استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی روش استخراج جدید با ارزشی برای استخراج ترکیبات مؤثره گیاهی می‌باشد. با این حال، مقدار قابل ملاحظه ای اصلاحگر<sup>۳</sup> قطبی به دی اکسید کربن به منظور استخراج ترکیبات قطبی اضافه شده است. روش استخراج با حلال فشرده به‌عنوان یک روش جایگزین مناسب با روش استخراج با سیال فوق بحرانی برای استخراج ترکیبات قطبی است. در مقایسه با روش‌های سنتی استخراج، کاهش عمده ای در مقدار حلال مصرفی و مدت استخراج برای روش استخراج با حلال فشرده وجود دارد. همچنین باید دمای بالای استخراج با روش حلال فشرده را مد نظر داشت زیرا ممکن است منجر به تجزیه ترکیبات حساس به حرارت شود [۲].

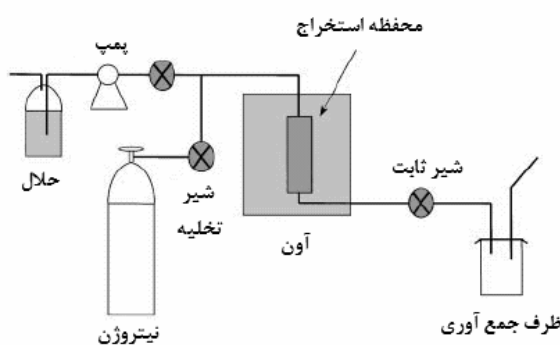


شکل ۴- یک سیستم استخراج با حلال تقویت شده [۳۴]

#### ۴-۴ تحقیقات صورت گرفته به روش استخراج با حلال فشرده

روش استخراج با حلال فشرده معمولاً برای استخراج آلاینده‌های مقاوم به دمای بالا از بافت‌های محیطی استفاده می‌شود. کاربردهای بسیار کمی از روش استخراج با حلال فشرده در زمینه ترکیبات مؤثره گیاهی منتشر شده است. کافمن و چریستن (۲۰۰۲) پیشرفت‌های اخیر در روش استخراج با حلال فشرده را برای ترکیبات طبیعی مرور کرده‌اند [۳۴]. از این روش برای استخراج متابولیت‌های مختلف با دامنه وسیعی از ساختارها و قطبیت‌ها (کورکومینوئیدها، ترپن‌ها، فلاونوئولیگنان‌ها، تگزان‌ها، نفتودیانترن‌ها، آلکالوئیدها و استروئیدها) در بافت‌های گیاهی مختلف همچون

طریق پمپ حلال تازه میان سیستم در حدود ۱۰-۵ دقیقه صورت می‌گیرد که نمونه و لوله را شستشو می‌دهد. همه حلال حاضر در سیستم سپس با یک گاز فشرده به ویژه نیتروژن پاکسازی می‌شود و حجم کل حلال در محفظه‌ای جمع‌آوری می‌گردد [۳۴]. دستگاه دیونکس از امکانات سیستم خودکار برخوردار است و بیش از ۲۴ نمونه را می‌توان به‌طور متوالی استخراج کرد. محفظه‌های استخراج می‌توانند در اندازه‌های مختلفی (۱، ۵، ۱۱، ۲۲، ۳۳ میلی‌متر) باشند [۳۵].



شکل ۳- یک سیستم استخراج با حلال فشرده [۲]

#### ۴-۲ استخراج با حلال تقویت شده<sup>۱</sup>

یک روش جایگزین برای روش بالا، اجرای روش استخراج با حلال فشرده با یک دستگاه استخراج با سیال فوق بحرانی است که فشار به‌وسیله قطعه مانع<sup>۲</sup> کنترل می‌شود (شکل (۴)). در حالت دینامیک حلال تازه به‌طور مداوم از میان نمونه در دما و فشارهای بالا پمپ می‌شود. مطابق قانون نفوذ مولکولی فیک، به‌دلیل اینکه سرعت‌های انتقال شتاب داده می‌شوند، ضرایب استخراج بهبود یافته و زمان استخراج کاهش می‌یابد. دی اکسید کربن می‌تواند برای شستشو و خارج کردن باقیمانده حلال به بیرون از محفظه به‌کار برده شود. در این مورد، محدوده وسیعی از اندازه‌های مختلف محفظه قابل دسترس اند (۰/۲ تا ۱۰۰ میلی‌متر). به علاوه امکان اجرای استخراج با حلال فشرده یا استخراج با سیال فوق بحرانی با استفاده از دستگاه مشابه از نظر اقتصادی نیز ارجحیت دارد [۳۶].

#### ۴-۳ مزایا و معایب استخراج با حلال فشرده

استفاده از حلال‌های استخراجی غیر سمی همچون دی اکسید کربن

1. Enhanced Solvent Extraction (ESE)
2. Restriction Device

- [2] Wang, L. and Weller, C.L. "Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends Food Sci", Technol. 17: 300-12. (2006).
- [3] Vilka, K., Mawson, R., Simons, L. and Bates, D. "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review", Innovative Food Science and Emerging Technologies. 9: 161-169. (2008).
- [4] Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P. I., Lazurca, D. and Mason, T. J. "The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials". Ultrasonics Sonochemistry. 4: 135-139. (1997).
- [5] Romdhane, M., & Gourdon, C. "Investigation in solid-liquid extraction: Influence of ultrasound". Chemical Engineering Journal, 87, 11-19. (2002).
- [6] Vinatoru, M. "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs". Ultrasonics Sonochemistry. 8: 303-313. (2001).
- [7] Sharma, A. and Gupta, M. N. "Oil extraction from almond, apricot and rice bran by three-phase partitioning after ultrasonication". European Journal of Lipid Science and Technology. 106: 183-186. (2004).
- [8] Hui, L., Etsuzo, O. and Masao, I. "Effects of ultrasound on the extraction of saponin from ginseng". Japanese Journal of Applied Physics. 33(5B): 3085-3087. (1994).
- [9] Chemat, S., Lagha, A., AitAmar, H., Bartels, P. V. and Chemat, F. "Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. Flavour and Fragrance Journal". 19: 188-195. (2004).
- [10] Wu, J., Lin, L. and Chau, F. "Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells". Ultrasonics Sonochemistry. 8: 347-352. (2001).
- [11] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, P. & Mason, J. "Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry". Ultrasonics Sonochemistry. 11: 261-265. (2004).
- [12] Hemwimol, S., Pavasant, P. and Shotipruk, A. "Ultrasonic-assisted extraction of anthraquinones from roots of Morinda citrifolia". Ultrasonics Sonochemistry. 13: 543-548. (2006).
- [13] Rostagno, A., Palma, M. and Barroso, C. "Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones". Journal of Chromatography A. 1012: 119-128. (2003).
- [14] Rosângela, J., Lisiane, F., Valéria, P., Cláudio, D., Ana Paula, O. and José, O. "The use of ultrasound in the extraction of Ilex paraguariensis leaves: a comparison with maceration". Ultrasonics Sonochemistry. 14: 6-12. (2007).
- [15] Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. "Optimisation of ultrasound -assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran". Food Chemistry. 106: 804-810. (2008).

برگ‌ها، ریشه‌ها، میوه‌ها و ریزوم‌ها استفاده شده است. روش استخراج با حلال فشرده برای استخراج سریع کوکائین و بنزوئیل‌آگونین<sup>۱</sup> از برگ‌های کوکا با استفاده از حلال متانول به کار برده شده است. فشار، دمای بهینه، مدت استخراج و اندازه ذرات مناسب مشخص شدند که به ترتیب ۲۰ مگا پاسکال، ۸۰ °C، ۱۰ دقیقه و (۹۰-۱۵۰) میکرومتر می‌باشند [۳۷]. نتایج آنها نشان داد که کاهش زیادی در مدت استخراج در مقایسه با روش‌های سنتی استخراج وجود داشت. کافمن و همکاران (۲۰۰۱) استفاده از روش استخراج با حلال فشرده را به روش استخراج سوکسله برای بازیابی استروئیدها از برگ‌های ایوکروما جنسنروئیدیس<sup>۲</sup> مقایسه کردند. آنها دریافتند که روش استخراج با حلال فشرده نتایج مشابهی با سوکسله در میزان بازیافت و قابلیت تکرار پذیری و انتخاب پذیری داشت. با این حال هر دو زمان استخراج و مصرف حلال به‌طور برجسته‌ای با روش استخراج با حلال فشرده کاهش یافته بود [۳۸].

## ۵- نتیجه‌گیری

نیاز مداوم جامعه بشری به استخراج ترکیبات مؤثره گیاهی باعث انجام پژوهش‌های زیادی در زمینه معرفی یک فرایند استخراج کارآمدتر و اقتصادی‌تر شده است. در روش‌های سنتی استخراج، مقدار زیادی حلال مصرف می‌شود و بسیار وقت‌گیر است. زیاد بودن مقدار حلال مصرفی نه تنها هزینه‌ها را افزایش می‌دهد، بلکه از نظر زیست محیطی نیز مشکلاتی دارد. امروزه برای جایگزینی این روش‌ها، روش‌های استخراجی نوینی معرفی شده‌اند که باعث کاهش مقدار حلال مصرفی، کوتاه‌تر شدن زمان فرایند، افزایش بازدهی و بهبود کیفیت ترکیبات استخراجی شده است. اما باید توجه داشت که اکثر این روش‌ها هنوز در مرحله آزمایشگاهی و نیمه صنعتی بوده و برای داشتن درک بیشتر از سازوکار و بهبود طراحی و صنعتی کردن آنها نیاز به انجام پژوهش‌های بیشتر و کامل‌تری می‌باشند.

## مراجع

- [1] Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S. Microwave Assisted Extraction - "An Innovative & Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. Pharmacognosy Reviews", 1: 8-14. (2007).

1. Benzoylcegonine
2. Iochroma Gesnerioides

- [16] Martino, E., Ramaiola, I. and Urbano, M. "Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas Alternative to Soxhlet and ultrasound-assisted extraction". *Journal of Chromatography A*. 1125:147-151. (2006).
- [17] Shotipruk, A., Kaufman, B. and Wang, Y. "Feasibility study of repeated harvesting of menthol from biologically viable *Mentha x piperata* using ultrasonic extraction". *Biotechnology Progress*. 17: 924-928. (2001).
- [18] Letellier, M. and Budzinski, H. "Microwave assisted extraction of organic compounds". *Analisis*. 27: 259-71. (1999).
- [19] Barbero, G.F., Palma, M., and Barroso, C.G. "Determination of capsinoids in peppers by microwave assisted extraction high performance liquid chromatography with fluorescence detection". *Analytica. Chimica. Acta*. 578: 227-33. (2001).
- [20] Talebi, M., Ghassempour, A., Talebpour, Z., Rassouli, A. and Dolatyari, L. "Optimization of the extraction of paclitaxel from *Taxus baccata* L. by the use of microwave energy". *J. Sep. Sci*. 27: 1130-36. (2004).
- [21] Pan, X., Niu, G. and Liu, H. "Microwave assisted extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge* with analysis by high performance liquid chromatography". *Journal of Chromatography A*. 922: 371-75. (2001).
- [22] Chen, H., Li, B., Zhang, Z. and Yao, S. "Focused microwave assisted solvent extraction and HPLC determination of effective constituents in *Eucommia ulmodies Oliv*". *Talanta*. 63: 659-65. (2004).
- [23] Zhou, H. and Liu, C. "Microwave assisted extraction of solanesol from tobacco leaves". *Journal of Chromatography A*. 1129: 135-39. (2006).
- [24] Guo, Z., Jin, Q., Fan, G., Duan, Y., Qin, C. and Wen, M. "Microwave-assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine *Radix puerariae*". *Analytica Chimica Acta*, 436, 41-47. (2001).
- [25] Kwon, J. H., Belanger, J. M. R., Jocelyn Pare, J. R. and Yaylayan, V. A. "Application of microwave-assisted process (MAP TM) to the fast extraction of Ginseng saponins". *Food Research International*, 36: 491-498. (2003).
- [26] Pan, X., Niu, G. and Liu, H. "comparison of microwaveassisted extraction and conventional extraction techniques for the extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge*". *Biochemical Engineering Journal*. 12: 71-77. (2002).
- [27] Pan, X., Liu, H., Jia, G. and Shu, Y.Y. "Microwave assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root". *Biochemical Engineering Journal*. 5: 173-77. (2000).
- [28] Pan, X., Niu, G. and Liu, H. "Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves". *Chemical Engineering and Processing*. 42: 129-133. (2003).
- [29] Shu, Y.Y., Ko, M.Y. and Chang, Y.S. "Microwave assisted extraction of ginsenosides from ginseng root". *Microchemical journal*. 74: 131-139. (2003).
- [30] Garcia-Ayuso, L. E. and Luque de Castro, M. D. "A multivariate study of the performance of a microwave assisted Soxhlet extractor for olive seeds". *Anal. Chim. Acta*. 382: 309-16. (1999).
- [31] Hao, J., Han, W., Huang, S., Xue, D. and Deng, X. "Microwave assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua*" L. *Sep. Purif. Technol*. 28: 191-196. (2002).
- [32] Williams, O., Raghavan, G., Orsat, V. and Dai, J. "Microwave-assisted extraction of Capsaicinoids from *Capsicum fruit*". *Journal of Food Biochemistry*. 28:113-122. (2003).
- [33] Bautz, H., Polzer, J. and Stieglitz, z. "Comparison of pressurized liquid extraction with soxhlet extraction for the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans from fly ash and environmental matrixes". *J Chromatogr A*. 815: 231- 241. (1998).
- [34] Kaufmann, B. and Christen, P. "Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction". *Phytochemical Analysis*. 13: 105-113. (2002).
- [35] Richter, BE. "The extraction of analytes from solid samples using accelerated solvent extraction". *LC- GC* 17: S22-S28. (1999).
- [36] Li, K., Landriault, M., Fingas, M. and L, lompart, MP. "Pressurized solvent extraction of environmental organic compounds in soils using a supercritical fluid extractor". *Analisis*. 26: 365- 369. (1998).
- [37] Da costa, CT., Margolis, SA. and Horton, D. "Comparision of methods for extraction of flavanones and xanthones from the root bark of osage orange tree using liquid chromatography". *J Chromatogr A*. 831: 167- 178. (1999).
- [38] Kaufmann, B., Christen, P. and Veuthey, J. L. "Study of factors influencing pressurized solvent extraction of polar steroids from plant material". *Chromatographia*. 54: 394-398. (2001).