

مطالعه آزمایشگاهی استخراج مواد با ارزش از گیاه خرنوب با استفاده از سیال فوق بحرانی با ترکیب امواج فراصوت

حسین اسفندیاری^۱، بیژن هنرور^{۲*}، نادیا اسفندیاری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۲- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

۳- استادیار، گروه مهندسی شیمی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

پیام‌نگار: Honarvar@miau.ac.ir

چکیده

در هرگونه گیاهی صدها ترکیب شیمیایی با ترکیب درصدها و خواص متفاوت موجود است. جداسازی درست ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه و ایجاد ارتباط بین خواص دارویی گیاه با ترکیب مؤثر آن می‌تواند هم زمینه تولید انبوه داروی مفید را فراهم سازد و هم از عوارض ناشی از مصرف مستقیم گیاه دارویی که گاهی از سایر ترکیبات مضر موجود در گیاه ناشی می‌شود، جلوگیری کند. در این تحقیق استخراج مواد مؤثره از گیاه خرنوب با استفاده از دی‌اکسیدکربن فوق بحرانی با ترکیب امواج فراصوت بررسی شد. بازده استخراج با سیال فوق بحرانی با افزایش فشار و کاهش اندازه ذرات افزایش یافت. استفاده از امواج فراصوت باعث افزایش میزان بازده استخراج شد. بهترین شرایط آزمایش در فشار ۲۱۰ بار، دمای ۳۵ درجه سلسیوس و اندازه ذره ۰/۴ میلی متر و اندازه بسامد ۳۷ کیلوهرتز به دست آمد. بازده استخراج در این شرایط مقدار ۳/۷۸۲۵ به دست آمد. عطرمایه به دست آمده از روش کلونجر و استخراج با روش فوق بحرانی با روش کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی طیف‌سنج جرمی تجزیه شد. پس از تجزیه و تحلیل عطرمایه استخراج شده، ماده استامید، نرولیدول، پیرولیدین و استیگمست به عنوان ماده مؤثره انتخاب شد. همچنین بازده استخراج با سیال فوق بحرانی (۳/۷۸۲۵) به مراتب بهتر از روش کلونجر (۱/۰۲) به دست آمد.

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۲۴

شماره صفحات: ۳۷ تا ۴۹

کلیدواژه‌ها: استخراج با سیال

فوق بحرانی، عصاره، گیاه خرنوب،

بسامد امواج

۱. مقدمه

به‌جا نمی‌گذارند. روش‌های سنتی استخراج همانند استخراج با سوکسله و استخراج با امواج فراصوت است. در این روش‌ها میزان مصرف حلال و انرژی بسیار بالاست. استخراج با سیال فوق بحرانی - به‌علت نفوذپذیری بالای این سیال و همچنین خلوص محصول نهایی - بسیار مهم است و در چند دهه گذشته بدان توجه شده است [۱-۴].

سیالات فوق بحرانی^۱ به‌ویژه دی‌اکسید کربن^۲ جایگزین خوبی برای حلال‌های آلی در فرآیند استخراج هستند. بیشتر سیالات فوق بحرانی مثل دی‌اکسیدکربن، پس از فرایند ضایعات مایع

* مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، گروه مهندسی شیمی

1. Supercritical Fluid
2. Carbon Dioxide

Archive of SID

امواج ماکروویو پرداختند. آنها در این پژوهش به مطالعه سازوکارهای استخراج به کمک امواج فراصوت و امواج ماکروویو پرداختند [۱۴]. اسکار بنتیو و همکارانش^۴ در سال ۲۰۱۸ به مطالعه استخراج روغن زیتون با استفاده از دی‌اکسید کربن فوق بحرانی و تأثیر مؤلفه‌های فرایندی در شرایط آزمایشگاهی دما ۴۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس، فشار ۲۰ تا ۴۰ مگاپاسکال و اندازه ذره ۲۵۰ تا ۱۰۰۰ میکرومتر بر بازده استخراج پرداختند و به این نتیجه رسیدند که روغن استخراج شده به وسیله دی‌اکسید کربن فوق بحرانی دارای کیفیت بهتری نسبت به روغن استخراج شده با هگزان است [۱۵].

پریانکا و همکارانش^۵ در سال ۲۰۱۸ به مطالعه تأثیر مؤلفه‌های عملیاتی بر روی استخراج عطرمایه از ریشه زردچوبه به وسیله سیال فوق بحرانی پرداختند، آزمایش در فشار ۲۰ تا ۴۰ مگاپاسکال، دمای ۴۰ تا ۶۰ درجه سلسیوس، بده حلال ۵ تا ۱۵ گرم بر دقیقه با اندازه ذره ۰ تا ۰/۸ میلی‌متر انجام شد و نتیجه نشان داد که استخراج به وسیله سیال فوق بحرانی دارای بازدهی بیشتری نسبت به دیگر روش‌های استخراج است [۱۶].

خرنوب^۶ با نام علمی *سراتونیا سلیکوا*^۷ یک گونه دارو گیاه از خانواده بقولات^۸، از نوع گیاهان گل‌دهنده، به صورت درختچه‌ای و همیشه سبز است. برگ‌های آن ۱۰ تا ۱۲ سانتی‌متر طول دارند. تاج درخت گسترده و نیم‌کروی است؛ تنه آن محکم و رنگ آن قهوه‌ای تیره و جنس آن خشن و زبر است. بخش‌های مورد استفاده این گیاه میوه و دانه است. رنگ میوه‌های آن قهوه‌ای شفاف و سطح خارجی آن مسطح و قوسی شکل و دارای طعم شیرینی است. در داخل آن ۱۲ تا ۱۶ دانه بسیار سخت شبیه به عدس دیده می‌شود. در برابر کم‌آبی و شوری خاک مقاوم است. سرعت رشد بالا و امکان کاشت آن به صورت دیم از ویژگی بارز این گیاه است. گیاهی است که در ۱۵ سال اول زندگی‌اش هیچ میوه‌ای نمی‌دهد. ارتفاع خرنوب به ۸ تا ۱۰ متر می‌رسد و دارای شاخه‌های گره‌دار و برگ‌هایی مرکب از ۸ تا ۱۰ برگچه است. گل‌های آن عاری از گلبرگ و مجتمع به صورت خوشه است؛ میوه‌اش نیم‌م و ناشکوفاً به طول متفاوت ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر به عرض ۲ تا ۳ سانتی‌متر و دارای وضع آویخته و کاملاً مشخص بر روی شاخه‌ها است. رنگ میوه قهوه‌ای شفاف و

استخراج به وسیله سیال فوق بحرانی روشی جدید و قدرتمند در زمینه جداسازی است که اساس آن توانایی بالای حلال فوق بحرانی است [۵۶]. جرم حجمی و گران‌روی سیالات فوق بحرانی بین حالت گاز و مایع است. جرم حجمی سیال فوق بحرانی شبیه به مایعات و گران‌روی و ضریب نفوذ آن شبیه به گازها است [۷۸]. خواص سیالات فوق بحرانی با شرایط عملیاتی دما و فشار قابل تغییر است [۹]. سیال فوق بحرانی که در بیشتر فرایندها استفاده می‌شود دی‌اکسید کربن است. علت استفاده از دی‌اکسید کربن وجود مؤلفه‌های دما و فشار بحرانی پایین، هزینه کم، سمی بودن، قابل اشتعال نبودن و در دسترس بودن است [۱۰].

در طول بیش از یکدهه گذشته عصاره بیش از ۳۰۰ گونه گیاهی با استفاده از استخراج سیال فوق بحرانی بررسی شده است. سهم عمده‌ای از تحقیقات استخراج با سیال فوق بحرانی را گونه‌های گیاهی اختصاص می‌دهد. امروزه استخراج با سیال فوق بحرانی یک جایگزین مهم برای روش‌های جداسازی سنتی است؛ زیرا از بسیاری از محدودیت‌ها می‌تواند جلوگیری کند [۱۱]. بایاودیاس و همکارانش^۱ در سال ۲۰۱۶ بر روی تأثیر فراصوت بر استخراج ترکیبات فعال از نوعی فلفل قرمز با دی‌اکسید کربن فوق بحرانی، مطالعه کردند. آزمایش در فشارهای ۱۵، ۲۰، ۲۵ مگاپاسکال، در دمای ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درجه سلسیوس و در حضور امواج فراصوت با توان ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ وات در مدت زمان‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ دقیقه و با دبی دی‌اکسید کربن فوق بحرانی $10^{-4} \times 1/7569$ کیلوگرم بر ثانیه انجام شد و این آزمایش ثابت کرد که استفاده از فراصوت بازده استخراج با سیال فوق بحرانی را تا ۴۵ درصد افزایش می‌دهد [۱۲].

فیلیپه سانتوس و همکارانش^۲ در سال ۲۰۱۶ مطالعه خود را بر روی استخراج کاسپینائیدها از فلفل دلمه با دی‌اکسید کربن فوق بحرانی به کمک فراصوت انجام دادند. آزمایش در شرایط عملیاتی با فشار ۱۵ مگاپاسکال و دمای ۴۰ درجه سلسیوس و در مدت زمان ۶۰ دقیقه انجام شد. بازده استخراج با سیال فوق بحرانی در حضور امواج فراصوت تا ۷۷ درصد افزایش داشته است و بهترین شرایط استخراج در توان ۳۶۰ وات فراصوت بود [۱۳].

ویناتور و همکارانش^۳ در سال ۲۰۱۷ مطالعه خود را بر روی استخراج ترکیبات کاربردی از مواد گیاهی به وسیله امواج فراصوت و وامواج

4. Oscar Benito et al.
5. Priyanka et al.
6. Carob
7. Ceratonia Siliqua
8. Fabaceae

1. Baiao Dias et al.
2. Philippe Santos et al.
3. Vinator et al.

اشاره کرد. از معایب آن می‌توان به درصد استخراج پایین، تأمین فشار بحرانی و نگهداشتن فشار و دمای بحرانی در نقطه بحرانی اشاره کرد. از برتری‌های استخراج با دستگاه کلونجر می‌توان دستگاه ارزان و در دسترس و بازدهی نسبتاً بالای آن را نام برد. از معایب آن می‌توان به استفاده از دمای بالا اشاره کرد که باعث از بین رفتن مواد حساس به دما و ترکیبات دارویی می‌شود. در این مقاله از روش استخراج با دی‌اکسید کربن فوق بحرانی و کلونجر برای استخراج مواد مؤثر گیاه خرنوب استفاده شد. سپس درصد عصاره‌های مؤثر دارویی استخراج شده با این دو روش مقایسه شد.

۲. بخش تجربی

۲-۱ مواد

مخزن دی‌اکسید کربن زیر فشار ۵۵ مگا پاسکال دارای درجه خلوص ۹۹/۹۵ درصد از شرکت گازهای صنعتی ابوقدره واقع در بلوار امیرکبیر شیراز تهیه شد. گیاه خرنوب از استان خوزستان، در فصل پاییز و در ماه آبان جمع‌آوری شد. دی‌کلرومتان به‌عنوان کمک حلال مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲ پیش‌نیازها و روش انجام آزمایش

طرحواره پیش‌نیازهای استفاده شده برای استخراج با سیال فوق بحرانی در شکل (۱) آمده است. ابتدا گاز دی‌اکسید کربن با خلوص ۹۹ درصد وارد سرد کننده شد. دمای آن تا ۲۰- درجه سلسیوس کاهش یافت تا به حالت مایع درآید و با دبی ۶ میلی‌لیتر بر دقیقه وارد سل استخراج شد. در هر بار آزمایش با استفاده از ترازو مقدار ۸ گرم از گیاه خشک شده با استفاده از دستگاه آسیاب شد. توری استخراج از گیاه الک شده پر شد. در ابتدا و انتها توری استخراج و مابین ذره‌های گیاه چند عدد سنگ جوش ریخته‌شد تا از تراکم گیاه درون توری استخراج جلوگیری شود، سپس توری استخراج درون سل استخراج به ارتفاع ۲۳ سانتی‌متر، قطر داخلی ۲/۸ سانتی‌متر و قطر بیرونی ۳/۵ سانتی‌متر قرار گرفت. بعد از این مرحله دما و فشار مورد نظر تنظیم شد. دستگاه فراصوت تا قسمتی مشخص، از آب پر شد و سل استخراج درون آن قرار گرفت. سپس دستگاه فراصوت روشن و اندازه‌بسامد مورد نظر انتخاب شد. هنگامی که دما و فشار به‌اندازه مورد نظر رسید، تمام شیرهای خروجی را بسته، شیر ورودی

سطح خارجی آن مسطح و قوسی شکل است. نزدیک به ۳۵ درصد از مواد موجود در خرنوب، کربوهیدرات‌هایی با ساختار مولکول ساده است و نزدیک به ۴۰ درصد آن از نشاسته با ساختار مولکولی پیچیده تشکیل شده‌است. این گیاه همچنین دارای انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی مانند املاح کلسیم، سدیم، پتاسیم و ویتامین ای و انواع ویتامین‌های گروه ب به‌ویژه ب_۱، اسید گالیک و برخی انواع اسید آمینه است. خرنوب دارای مقادیر زیادی فیبر و سرشار از آنتی‌اکسیدان است. کمتر از یک درصد قند و چربی دارد. فاقد کافئین و گلوتن است. دو برابر کاکائو، کلسیم دارد و استفاده از آن برای بسیاری از بیماری‌ها مفید است. مهمترین خاصیت گیاه خرنوب استفاده از آن به‌منظور تقویت قوای جنسی و حل مشکلات ناباروری به‌ویژه مشکلاتی از قبیل کاهش تعداد و کاهش تحرک اسپرم در مردان است. از دیگر خواص آن خاصیت خلط‌آور بودن است و به‌همین دلیل به درمان سرفه و مشکلات دستگاه تنفسی کمک می‌کند. این گیاه برای درمان تنگی نفس و تورم ریه نیز مفید است. گیاه دارویی خرنوب برای پیشگیری از خطر بیماری‌های قلبی عروقی مفید است، چراکه مصرف آن باعث کاهش کلسترول بد خون و افزایش کلسترول خوب خون می‌شود. استفاده از خرنوب برای درمان اسهال نیز مفید است. مصرف آن با شیر و عسل برای افزایش اشتها نیز مفید است. از موارد دیگر مصرف آن استفاده برای کاهش استرس است [۱۷].

عصاره‌های مؤثر دارویی به‌دست آمده از این گیاه شامل ماده استامید^۱ [۱۸]، نرولیدول^۲ [۱۹]، پیرولیدین^۳ [۲۰] و استیگمست^۴ [۲۱] است که طبق آزمایش‌های انجام‌شده به‌ترتیب استامید به‌عنوان ماده‌ای برای درمان زخم معده، نرولیدول برای فعالیت‌های ضد انگلی، پیرولیدین به‌عنوان عامل قوی شیمی درمانی برای سرطان حنجره و استیگمست به‌عنوان عامل قوی ضد دیابت معرفی شده‌است.

از برتری‌های روش استخراج با دی‌اکسید کربن فوق بحرانی می‌توان به مواردی مانند نداشتن حلال‌های سمی در عصاره، نداشتن تغییر نامطلوب در ترکیب استخراج به‌دلیل درجه حرارت پایین استخراج، صرفه‌جویی در مصرف انرژی، بازیابی حلال، کاهش زمان استخراج

1. Acetamide
2. Nerolidol
3. Pyrrolidine
4. Stigmast



شکل ۱. طرحواره دستگاه استخراج به وسیله دی اکسید کربن فوق بحرانی با ترکیب امواج فراصوت

۱- کپسول دی اکسید کربن ۲- شیر ۳- سرد کننده ۴- پمپ
۵- مخزن دی اکسید کربن ۶- دستگاه فراصوت ۷- لوله یو شکل

۳. نتیجه ها و بحث

در این بخش نتایج آزمایشگاهی استخراج عطرمایه از گیاه خرنوب با استفاده از دستگاه کلونجر و سیال فوق بحرانی دی اکسید کربن با ترکیب امواج فراصوت گزارش شده است.

را باز کرده، در همین حالت به مدت ۳۰ دقیقه سیال فوق بحرانی در تماس با ماده مورد نظر قرار گرفت تا به تعادل برسد. پس از پایان این مرحله لوله یو شکل را که حاوی دی کلرومتان با خلوص ۹۹ درصد و سنگ جوش است درون ظرفی از یخ قرار داده می شود تا از بخار شدن نمونه جلوگیری کند. حلال دی کلرومتان عطرمایه را جذب و سیال را آزاد می کند. بعد از انجام این مراحل به دلیل فرار بودن حلال دی کلرومتان، عطرمایه در ته ظرف باقی می ماند که این عطرمایه در ظرف تیره رنگ در بسته جمع آوری و بعد به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی و طیف سنج جرمی، مواد موجود در آن و همچنین درصد این مواد تجزیه می شود.

۳-۲ طراحی آزمایش

طراحی این آزمایش به روش تاگوچی با استفاده از نرم افزار مینی تب - ۱۶ انجام شد. در این تحقیق به دلیل استخراج با ترکیب امواج فراصوت علاوه بر مؤلفه های مؤثر، دما، فشار و اندازه ذره، مؤلفه دیگری به نام اندازه بسامد اضافه می شود و در آزمایش های تکمیلی زمان ایستایی هم به مؤلفه های موجود اضافه شد. طراحی آزمایش و تغییرات مؤلفه ها در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱. طرح آزمایش برای استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی با ترکیب امواج فراصوت.

بازده	اندازه بسامد (کیلوهرتز)	اندازه ذره (میلی متر)	دما (سلسیوس)	فشار (بار)	شماره آزمایش
۱/۵۲۵۴	۰	۰/۱	۳۵	۱۵۰	۱
۱/۹۵۲۳	۳۷	۰/۲	۴۵	۱۵۰	۲
۱/۳۸۱۱	۸۰	۰/۴	۵۵	۱۵۰	۳
۲/۰۸۱۰	۸۰	۰/۲	۳۵	۱۸۰	۴
۲/۷۳۲۰	۰	۰/۴	۴۵	۱۸۰	۵
۲/۹۱۵۳	۳۷	۰/۱	۵۵	۱۸۰	۶
۳/۷۸۲۵	۳۷	۰/۴	۳۵	۲۱۰	۷
۳/۰۱۸۶	۸۰	۰/۱	۴۵	۲۱۰	۸
۳/۴۵۳۸	۰	۰/۲	۵۵	۲۱۰	۹

منبع حرارت روشن و زمان شروع آزمایش ثبت شد. زمان جوشیدن و نیز خروج اولین قطره عطرمایه یادداشت شد. وزن ظرف دوباره اندازه‌گیری شد و پس از کم کردن ظرف خالی از پر، مقدار عطرمایه به دست آمد. عطرمایه به دست آمده ممکن است دارای آب باشد که از سولفات سدیم برای جذب آب استفاده می‌شود. در انتهای کار با داشتن وزن ماده خشک گیاه و وزن عطرمایه، از راه تناسب بازده عطرمایه به صورت درصد مشخص می‌شود. سپس عطرمایه به دست آمده از این روش به وسیله کروماتوگرافی گازی تجزیه شد. نتایج تجزیه به دست آمده در جدول (۲)، آورده شده است. بازده عطرمایه با استفاده از روش کلونجر ۱/۰۲ درصد به دست آمد.

۱-۳ شناسایی ترکیبات گیاه خرنوب به وسیله کروماتوگرافی

جرمی

برای عطرمایه‌گیری با کلونجر، ابتدا نمونه خشک و آسیاب شد. در بالون ژوزه ریخته و پس از آن تا دو سوم حجم بالون از آب مقطر پر شد. ورودی آب به لوله پایین مبرد متصل و خروجی آب به لوله بالایی وصل و به سینک ظرفشویی هدایت شد. یک لوله کوتاه آزاد نیز بعد از مبرد قرار دارد که برای تنظیم و جلوگیری از افزایش فشار تعبیه شده است، که بهتر است به وسیله چوب‌پنبه پوشانده شود. شیر انتهایی کلونجر بسته است، همچنین مقداری بالاتر از سطح شیر با آب مقطر پر شده است. این کار برای آن است تا عطرمایه جمع‌آوری شده به دیواره کلونجر نچسبد و هدر نرود. در آغاز کار

جدول ۲. ترکیبات موجود در گیاه خرنوب به روش کلونجر تجزیه شده با کروماتوگرافی گازی.

پیک	زمان بازداری	درصد سطح	ترکیب شیمیایی	Qual
۱	۹۶۷/۷	۰/۰۸ D	سیکلوپروپان کربوکسیلیک	۸۵
۲	۷۴۹/۱۱	۰/۰۲ D	اتانول	۸۶
۳	۸۸/۱۳	۰/۰۳ D	۲- هیتانول	۹۱
۴	۶۵۷/۱۶	۰/۰۴ D	بنزالدهید	۸۶
۵	۱۴۰/۱۷	۰/۰۴ D	آستامید	۸۵
۶	۷۱۳/۱۷	۰/۰۵ D	۲- دیون	۸۹
۷	۰۷۵/۱۸	۰/۰۳ D	پیرولیدین	۸۵
۸	۲۳۱/۱۸	۰/۱۳ D	۴، ۲- هیتادینتال	۹۲
۹	۷۵۴/۲۰	۰/۴۸ D	۲- نونانول	۹۱
۱۰	۱۴۱/۲۱	۰/۲۳ D	۲- نونانول	۸۶
۱۱	۲۷۲/۲۲	۰/۱۶ D	دی سولفید متیل	۸۶
۱۲	۴۳۳/۲۳	۰/۱۲ D	اکتانویک اسید	۹۳
۱۳	۸۹۱/۲۶	۰/۰۶ D	۲- آندیکتون	۹۳
۱۴	۷۶۶/۲۷	۰/۲۴ D	۴، ۲- دکادینال	۹۰
۱۵	۴۸۵/۲۷	۰/۰۳ D	پیرولیدین	۸۵
۱۶	۵۳۳/۲۸	۰/۰۳ D	دی- لیمونینی	۸۹
۱۷	۰۷۳/۲۹	۰/۲۳ D	دیکنویک اسید	۹۵
۱۸	۳۶۸/۳۲	۰/۰۷ D	پنتادی کن	۹۴
۱۹	۵۰۶/۳۶	۰/۰۳ D	سیس، سیس، ۷، ۱۰- هگزادی کادینال	۸۹
۲۰	۷۱۰/۳۸	۰/۴۰ D	مایستریک اسید	۹۹
۲۱	۱۴۲/۴۰	۰/۳۳ D	نئوفیتادین	۹۷
۲۲	۷۵۱/۴۱	۰/۱۰ D	نرولیدول	۹۰
۲۳	۴۳۵/۴۶	۳/۱۰ D	۹- اکتادی کنویک اسید	۹۳
۲۴	۷۱۴/۴۸	۰/۵۳ D	سیکلو هگزیل متیل	۸۹
۲۵	۸۶۴/۵۱	۰/۵۴ D	۹، ۱۲- اکتادی کادینویل کلرید	۹۵
۲۶	۱۵۲/۵۷	۳/۷۸ D	استیگمست	۹۱
۲۷	۱۵۲/۵۷	۳/۷۸ D	گاما- سیتوسترول	۹۱
۲۸	۴۰۶/۵۷	۳/۲۸ D	اوراسیل	۹۰

Archive of SID

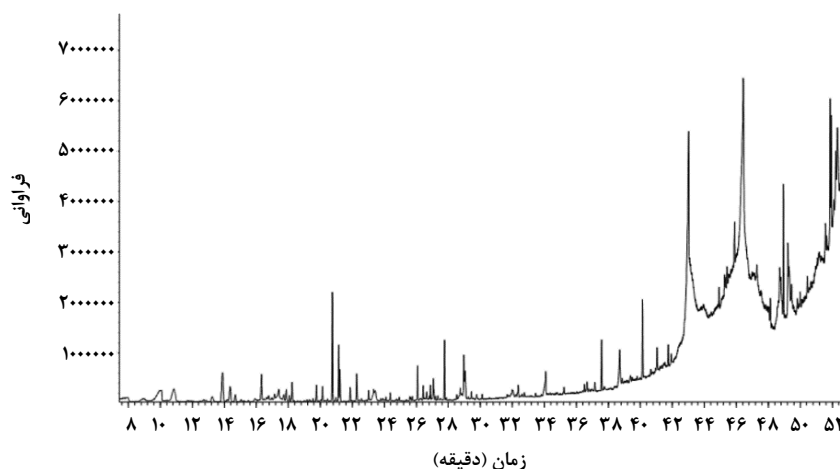
استخراج با سیال فوق بحرانی، درصد ترکیبات به دست آمده به ویژه چهار ماده مؤثر مورد نظر شامل استامید، استیگمست، نرولیدول و پیرولیدین نسبت به روش کلونجر بیشتر است که این امر بیانگر این موضوع است که استخراج با سیال فوق بحرانی نسبت به استخراج با دستگاه کلونجر دارای بازدهی بیشتری است و همچنین نشان می دهد که ممکن است بعضی از ترکیبات حساس به دما در روش استخراج به وسیله کلونجر از بین رفته باشند.

پس از تحقیق و بررسی درباره ترکیبات به دست آمده از نتایج تجزیه، چهار ماده استامید، پیرولیدین، استیگمست و نرولیدول به عنوان مواد مؤثره گیاه خرنوب انتخاب شدند؛ چون فواید این ترکیبات به وسیله بعضی از محققانی که این ترکیبات را آزمایش و بررسی کرده بودند مشخص شده است.

مطابق جدول (۲) و (۳)، ترکیبات به دست آمده از تجزیه عصاره گیاه خرنوب به وسیله کروماتوگرافی گازی حاصل از استخراج فوق بحرانی بیشتر از استخراج با دستگاه کلونجر است. همچنین در روش

جدول ۳. ترکیبات موجود در گیاه خرنوب با استفاده از سیال فوق بحرانی و دستگاه فراصوت تجزیه شده با کروماتوگرافی گازی.

بیک	زمان بازداری	درصد سطح	ترکیب شیمیایی	Qual
۱	۱۵۹/۵	۰/۰۸ D	سیکلوپروپان کربوکسیلیک	۸۶
۲	۶/۴۲۵	۰/۰۵D	دیکنویک اسید	۹۱
۳	۷/۱۷۳	۰/۱۰D	فوران	۸۳
۴	۸/۸۵۲	۰/۳۳D	اکتانال	۸۰
۵	۹/۲۳۸	۰/۲۰D	دیکنویک اسید	۹۴
۶	۵۸۲/۱۰	۰/۰۲ D	اتانول	۸۶
۷	۵۶۰/۱۱	۰/۰۳ D	۲- هپتانول	۹۳
۸	۱۲/۴۸۹	۰/۰۵D	پنتادی کن	۸۵
۹	۱۴/۲۴۵	۰/۰۹D	آزیریدین	۸۰
۱۰	۱۵/۰۴۹	۰/۰۳D	اکسیرین	۸۰
۱۱	۵۰۰/۱۵	۰/۰۴ D	بنزالدید	۸۸
۱۲	۲۵۰/۱۶	۰/۰۴ D	آستامید	۹۱
۱۳	۱۷/۵۸۹	۰/۱۰D	پولیگن	۸۵
۱۴	۵۵۰/۱۸	۰/۰۵ D	۲- دیون	۸۹
۱۵	۴۷۸/۱۹	۰/۰۳ D	پیرولیدین	۹۰
۱۶	۲۳۱/۲۰	۰/۱۳ D	۲، ۴- هپتادینتال	۹۰
۱۷	۲۱/۳۱۲	۰/۰۵D	نوناکوسان	۸۶
۱۸	۴۵۶/۲۲	۰/۴۸ D	۲- نونانول	۸۹
۱۹	۱۵۸/۲۳	۰/۲۳ D	۲- نونانول	۹۰
۲۰	۵۶۹/۲۴	۰/۱۶ D	دی سولفید متیل	۸۸
۲۱	۴۵۶/۲۵	۰/۱۲ D	اکتانویک اسید	۹۴
۲۲	۵۶۰/۳۰	۰/۰۶ D	۲- آندیکتون	۹۵
۲۳	۵۰۰/۳۰	۰/۲۴ D	۲، ۴- دی کادینتال	۹۵
۲۴	۳۵/۴۸۹	۰/۰۳D	نئوفیتادین	۸۵
۲۵	۳۸/۰۴۱	۰/۰۹D	پیرازین	۸۰
۲۶	۴۸۵/۳۹	۰/۰۳ D	پیرولیدین	۹۱
۲۷	۸۵۰/۴۰	۰/۴۰ D	مایستریک اسید	۹۸
۲۸	۵۶۰/۴۲	۰/۳۳ D	نئوفیتادین	۹۹
۲۹	۵۰/۰۵۰	۰/۲۵D	پالمیتیک اسید استر	۸۹
۳۰	۷۸۹/۵۸	۰/۱۰ D	نرولیدول	۹۲
۳۱	۶۵۸/۵۸	۳/۱۰ D	۹- اکتادی کنویک اسید	۹۵
۳۲	۱۲۲/۵۹	۳/۷۸ D	استیگمست	۹۳
۳۳	۸۵۹/۵۹	۳/۷۸ D	گاما-سیتوسترول	۹۳
۳۴	۶۵۲/۵۹	۳/۲۸ D	اوراسیل	۹۵

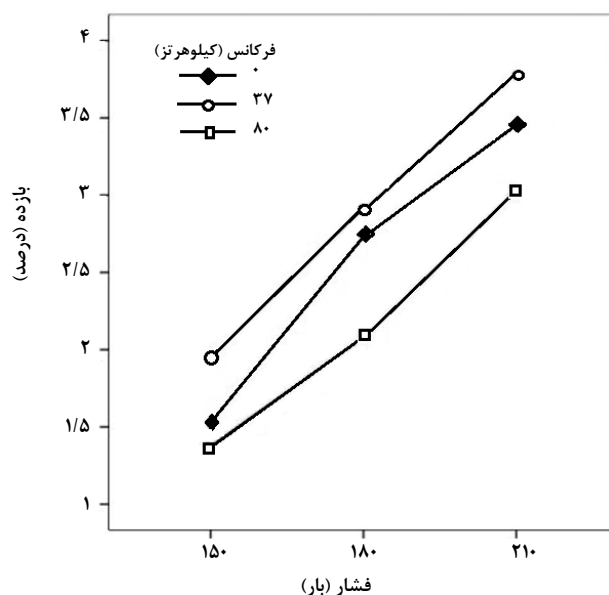


شکل ۲. نتیجه کروماتوگرافی جرمی گیاه خرنوب به روش کلونجر.

۲-۳ بررسی تأثیر فشار

۲۱۰ بار به دلیل افزایش جرم حجمی دی اکسید کربن، کاهش فاصله میان مولکول‌ها و افزایش برهم‌کنش‌های مولکولی میان حلال و عصاره، قدرت حلالیت سیال فوق بحرانی و میزان بازیابی نمونه را افزایش می‌دهد. در آزمایش زمانی که امواج فراصوت هم حضور دارد، با اعمال فشار و عبور سیال فوق بحرانی از روی ماده مورد نظر باعث تشکیل حباب‌های حفره‌زدایی درون گیاه می‌شود. ترکیدن حباب‌ها باعث ایجاد موج ضربتی در حلال می‌شود و سرعت اختلاط را بالا می‌برد که این امر برای فرایندهای استخراج مفید است. در شکل (۳) تأثیر فشار بر روی درصد بازده مشخص شده است.

افزایش فشار می‌تواند باعث افزایش جرم حجمی حلال شود که این امر به نوبه خود باعث افزایش حلالیت دی اکسید کربن می‌شود. در تحقیقی که سالگین و همکارانش بر روی استخراج روغن گل آفتابگردان با استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی انجام دادند به این نتیجه رسیدند که با افزایش فشار از ۲۰ به ۶۰ مگاپاسکال میزان استخراج نیز افزایش یافته است و دلیل این افزایش را افزایش جرم حجمی ذکر کرده‌اند [۲۲]. برای به دست آوردن تأثیر فشار در روند آزمایش‌ها، آزمایش‌ها در سه فشار ۱۵۰، ۱۸۰ و ۲۱۰ بار انجام شد. در آزمایش با افزایش فشار تا



شکل ۳. تأثیر فشار بر روی درصد بازده

Archive of SID

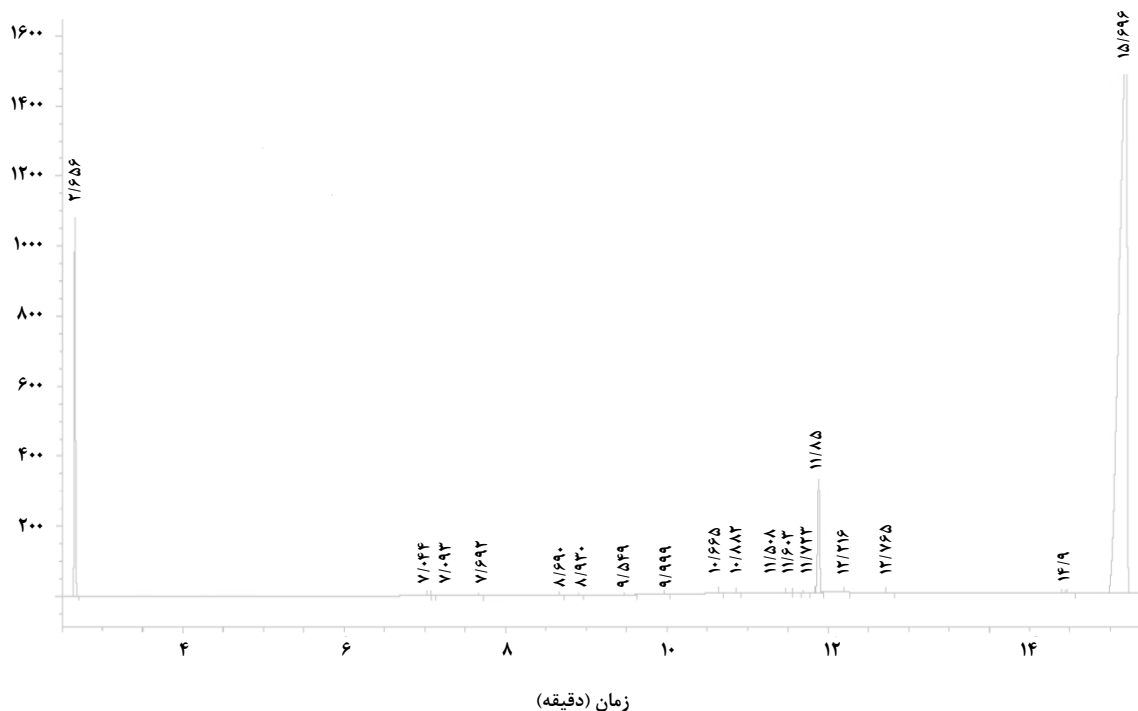
کاهش جرم حجمی در فشار حوالی فشار بحرانی محسوس تر و قابل توجه تر است و موجب کاهش حلالیت می شود. این در حالی است که افزایش دما در فشارهای بالاتر کاهش جرم حجمی کمتری را به همراه دارد که البته این کاهش به وسیله افزایش فشار بخار تعدیل می شود و نتیجه آن افزایش حلالیت است. برای مشخص شدن تأثیر دما در انجام آزمایش ها، دما مقادیر ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد. از مقایسه آزمایش های انجام شده در شرایط دمای ۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سلسیوس مشاهده شد که افزایش دما تا محدوده خاصی، باعث بهبود بازده می شود. در شکل (۵) تأثیر دما بر روی بازده مشخص شده است.

شکل (۶)، کروماتوگرافی به دست آمده از انجام آزمایش در فشار ۱۸۰ بار، دما ۳۵ درجه سلسیوس، اندازه ذره ۰/۲ میلی متر و اندازه بسامد ۸۰ کیلوهرتز است، که جداسازی ترکیبات نشان داده شده است.

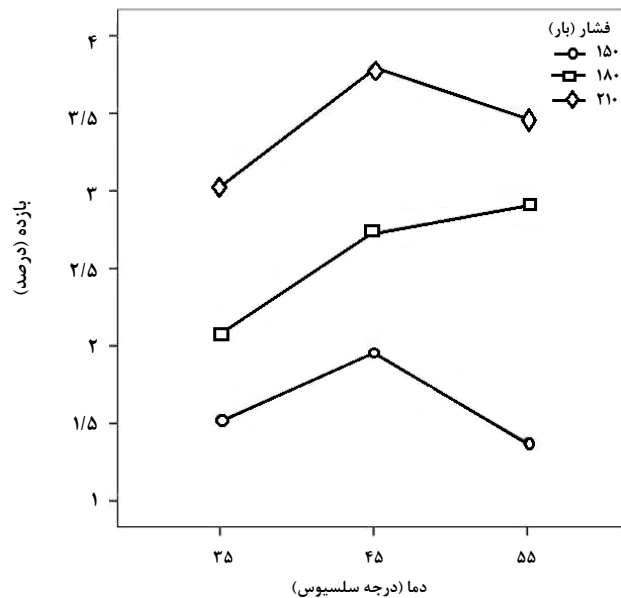
شکل (۴)، کروماتوگرافی به دست آمده از انجام آزمایش در فشار ۱۵۰ بار، دما ۳۵ درجه سلسیوس، اندازه ذره ۰/۱ میلی متر است که جداسازی ترکیبات نشان داده شده است.

۳-۳ بررسی تأثیر دما

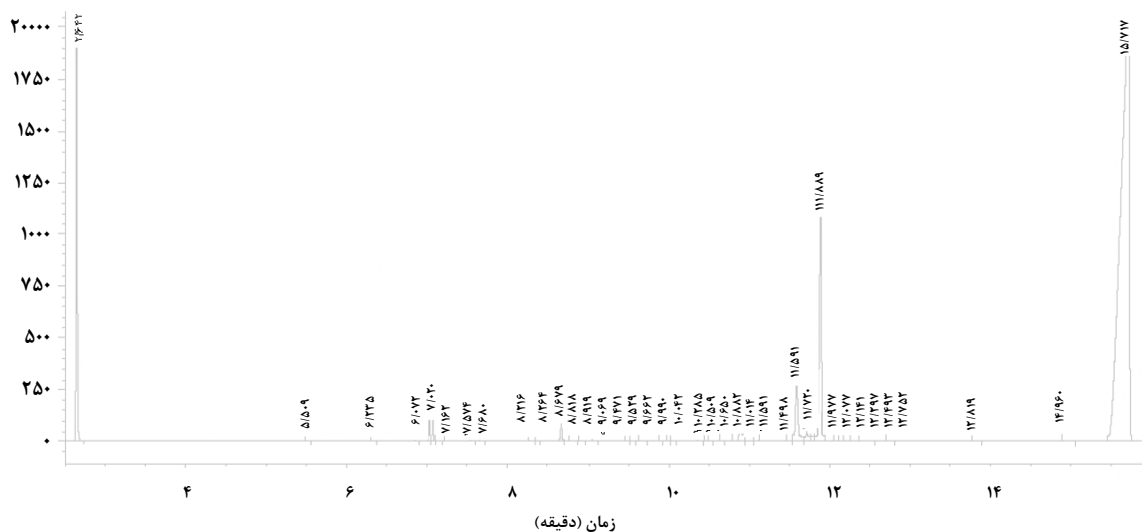
افزایش دما سبب افزایش فشار بخار و کاهش حلالیت می شود؛ به دلیل کاهش جرم حجمی و کاهش قدرت حلالیت سیال فوق بحرانی سبب کاهش میزان بازیابی می شود. در فشار بالا، دما دارای تأثیر نسبتاً کمی بر بازده استخراج است. تغییرات درجه حرارت در فشار بالا به طور چشمگیری بر چگالی مایعات تأثیر نمی گذارد. در بررسی سالکین برای استخراج روغن دانه جوجوبا با استفاده از سیال فوق بحرانی، به این نتیجه رسید که بازده استخراج با افزایش دما در فشارهای پایین کاهش می یابد. افزایش دما در فشار ثابت موجب کاهش جرم حجمی دی اکسید کربن و همچنین افزایش فشار حل شونده می شود [۲۳].



شکل ۴. کروماتوگرافی عطرمایه در فشار ۱۵۰ بار، دما ۳۵ درجه سلسیوس و اندازه ذره ۰/۱ میلی متر.



شکل ۵. تأثیر دما بر روی درصد بازده.



شکل ۶. کروماتوگرافی عطرمایه در فشار ۱۸۰ بار، دما ۳۵ درجه سلسیوس، اندازه ذره ۰/۲ میلی‌متر و اندازه بسامد ۸۰ کیلوهرتز.

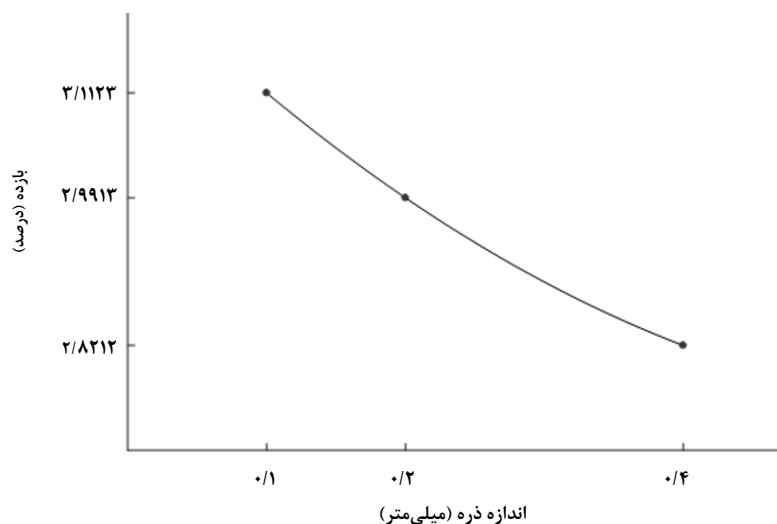
۴-۳ بررسی تأثیر اندازه ذره

ذره نسبت عکس دارد. تعدادی از محققان در مورد افزایش میزان بازده با کاهش اندازه ذره نظرهایی ارائه کرده‌اند. سالگین و همکارانش به این نتیجه رسیدند که اثرات نفوذ درون هسته‌ای در ذرات بزرگتر به مراتب بیشتر از ذرات با اندازه کوچک است و در نتیجه مقاوم‌های موجود در ذرات بزرگتر را به مراتب بزرگتر دانسته‌اند و این را دلیل اصلی کاهش بازده استخراج در ذرات بزرگتر دانسته‌اند [۲۲]. برای مشخص شدن تأثیر اندازه ذره در انجام آزمایش‌ها، از سه اندازه

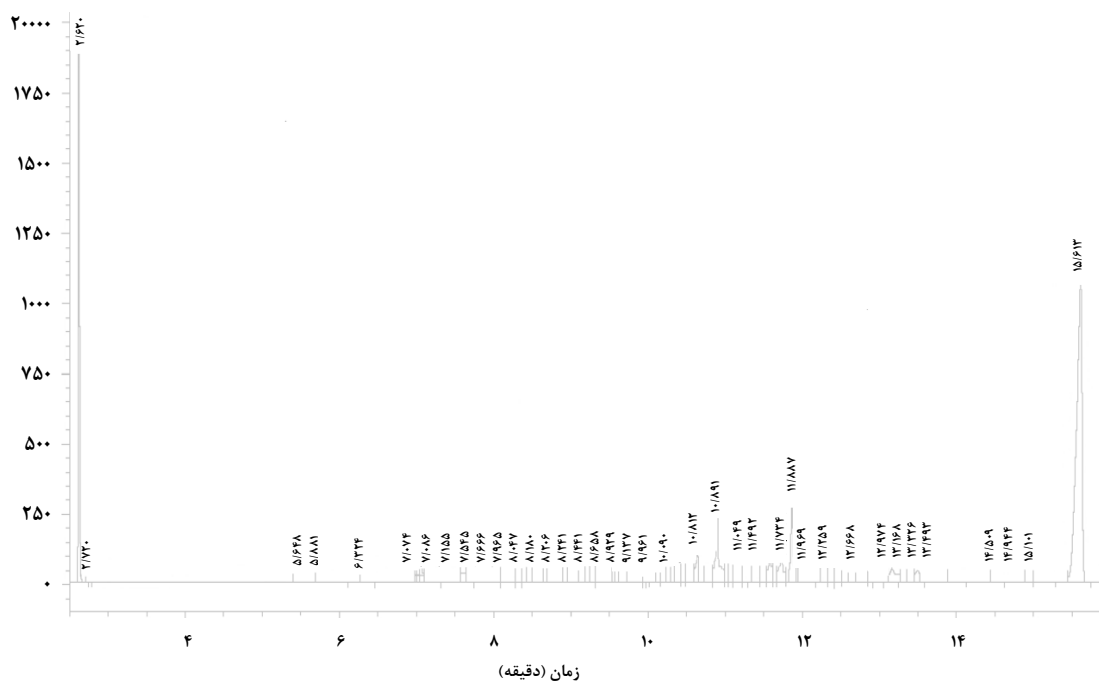
هرچه اندازه ذرات نمونه کوچکتر باشد درصد بازیابی بیشتر می‌شود؛ اما معمولاً باید یک حد بهینه را در نظر گرفت. افزایش اندازه ذره باعث تأثیر معکوس در میزان بازده استخراج می‌شود یا به زبان ساده‌تر کاهش اندازه هسته باعث افزایش میزان بازده استخراج می‌شود. همان‌طور که در شکل (۷) مشاهده می‌شود با افزایش اندازه ذره میزان بازده کاهش می‌یابد یا به عبارتی بازده استخراج با اندازه

قرار بگیرند و دی‌اکسید کربن به‌طور کامل با تمام ذرات تماس پیدا نکند و در نتیجه درصد بازده به‌دست آمده کاهش یابد. شکل (۸)، کروماتوگرافی به‌دست‌آمده از انجام آزمایش در اندازه ذره ۰/۴ میلی‌متر، فشار ۱۸۰ بار، دما ۵۵ درجه سلسیوس و اندازه بسامد ۸۰ کیلوهرتز است.

۰/۲، ۰/۱ و ۰/۴ میلی‌متر استفاده شد. از مقایسه سه آزمایش انجام شده در اندازه ذره‌های ۰/۲، ۰/۱ و ۰/۴ میلی‌متر در فشار ثابت ۱۵۰ بار، در شکل (۷) مشاهده می‌شود که افزایش اندازه ذره باعث می‌شود که ذرات کمتر شکسته شده، مواد مؤثر گیاه به سختی روی سطح بیابند و ذرات به‌صورت نامناسب در توری استخراج



شکل ۷. تأثیر اندازه ذره بر میزان استخراج



شکل ۸. کروماتوگرافی عطرمایه در فشار ۱۵۰ بار، دما ۵۵ درجه سلسیوس، اندازه ذره ۰/۴ میلی‌متر و اندازه بسامد ۸۰ کیلوهرتز.

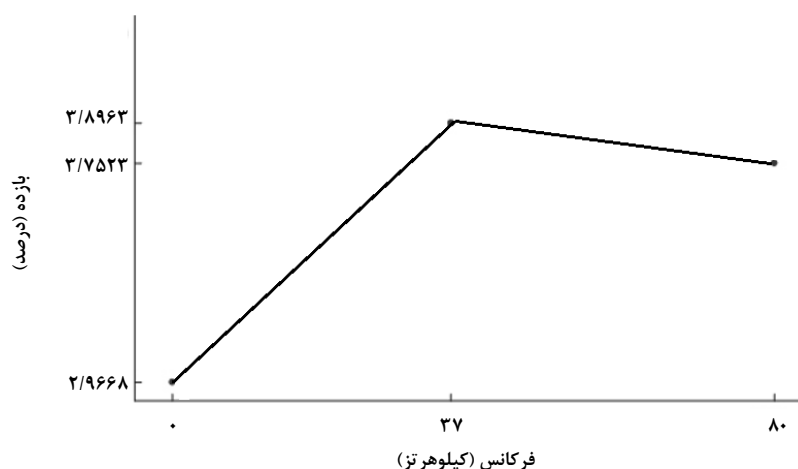
۳-۵ بررسی تأثیر اندازه بسامد

چشمگیری با ترکیدن حبابها منجر به آزاد شدن ترکیب از درون سلول به حلال می شود. استفاده از دمای بالاتر در روش فراصوت منجر به افزایش تعداد ترکیدگی حبابها و افزایش بازده استخراج می شود. از طرفی هرچه توان فراصوت بالاتر باشد، ارتعاشات قوی تری به وجود خواهند آمد. بنابراین بازده نیز افزایش خواهد یافت. در شرایط فوق بحرانی، فشار ایستایی در بالای نوک ردیاب فراصوت، معمولاً بسیار بالاست. در چنین سامانه ای، بخشی از توان فراصوت برای غلبه بر فشار ایستایی مصرف می شود. فقط در زمانی که توان فراصوت به اندازه کافی بالا باشد، ارتعاشات آشفته که یکی از پدیده های فراصوت به خوبی شناخته شده است، به وجود می آیند.

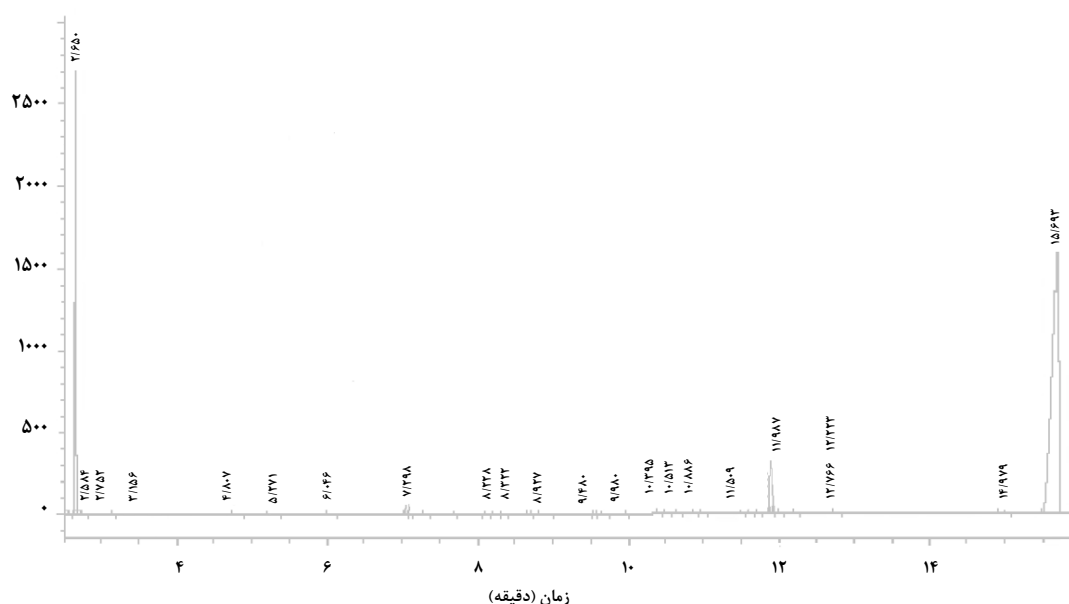
برای مشخص شدن تأثیر اندازه بسامد در آزمایش ها، از بسامدهای ۳۷ و ۸۰ کیلوهرتز و یک آزمایش بدون بسامد امواج استفاده شد. از مقایسه سه آزمایش انجام شده در بسامدهای ۰، ۳۷ و ۸۰ کیلوهرتز در اندازه ذره و دمای ثابت و فشار ثابت ۱۵۰ بار در شکل (۹) مشاهده می شود که اندازه بسامد ۳۷ کیلوهرتز در مقایسه با بسامد ۸۰ کیلوهرتز و زمانی که اندازه بسامد دخیل نیست، دارای بیشترین بازده است. شکل (۱۰)، کروماتوگرافی به دست آمده از انجام آزمایش در فشار ۱۵۰ بار، دما ۵۵ درجه سلسیوس و اندازه ذره ۰/۱ میلی متر و اندازه بسامد ۳۷ کیلوهرتز است.

بیاوودیاس و همکارانش به مطالعه تأثیر فراصوت بر استخراج ترکیبات فعال از نوعی فلفل قرمز به وسیله دی اکسید کربن فوق بحرانی پرداختند. در این مقاله استفاده از فراصوت بازده استخراج را تا ۴۵ درصد افزایش داده است [۲۴].

افزایش بازده استخراج ترکیبات آلی به وسیله امواج فراصوت به پدیده تشکیل حباب که با عبور موج فراصوت از میان حلال ایجاد شده است، نسبت داده می شود. در طی به کارگیری امواج فراصوت، حبابهایی ایجاد و فشرده می شوند. افزایش فشار و دما منجر به ترکیدن و متلاشی شدن حبابها می شود. ترکیدن حبابها که باعث ایجاد موج ضربتی در حلال می شود سرعت اختلاط را افزایش می دهد. هرچه بسامد پایین تر باشد، حبابها بزرگ تر خواهند بود. بنابراین در بسامدهای پایین تر، امواج قدرتمند فراصوت (در حدود ۳۷ کیلوهرتز) به شدت بیشتری، به ترکیدگی حباب می انجامد و در نتیجه برای فرایندهای استخراج کارآمدتر هستند. تا زمانی که سامانه استخراجی دارای محیطی ناهمگن و پیچیده پرخلل و فرج باشد، تأثیر اندازه حبابها که بر کارایی استخراج وجود دارد، باید مد نظر قرار گیرد. تأثیر بسامد ممکن است نه تنها در ارتباط با اندازه حبابهای حفره زایی باشد، بلکه همچنین ممکن است در ارتباط با تأثیر آن بر مقاومت داخلی و خارجی انتقال توده باشد. با این که این مسأله در مطالعات مرتبط با استخراج بررسی نشده است، در زمینه های مرتبط با خشک سازی این کار انجام شده است. در آن فرایند، ساختار جامد نقش اصلی را در اثرات به دست آمده از بهره گیری از امواج فراصوت ایفا می کند. فراصوت همچنین یک اثر مکانیکی را اعمال می کند و اجازه می دهد تا حلال به مقدار بیشتری در بافت نمونه نفوذ کند و باعث افزایش سطح تماس بین فاز جامد و مایع شود. این عمل همراه با افزایش انتقال جرم و تخریب سلولی



شکل ۹. تأثیر اندازه بسامد بر درصد بازده.



شکل ۱۰. کروماتوگرافی عطرمایه در فشار ۱۵۰ بار، اندازه ذره ۰/۱ میلی متر، دما ۵۵ درجه سلسیوس و اندازه بسامد ۳۷ کیلوهرتز.

۴. نتیجه گیری کلی

در این تحقیقات استخراج با دستگاه کلونجر و استخراج دی اکسید کربن فوق بحرانی به همراه دستگاه فراصوت در شرایط مختلف بررسی شد و نتایج نشان داد که افزایش فشار باعث بهبود فرایند استخراج شده و تأثیر مثبت و قابل توجهی بر روی بازده استخراج دارد و تا ۳۰ درصد بازده را بهبود می بخشد. نتایج افزایش دما سبب افزایش بخار عطرمایه و همچنین سبب کاهش گرانروی می شود، که این دو مؤلفه باعث بهبود بازده استخراج می شود و آن را تا ۱۵ درصد افزایش می دهد و همچنین در مورد تأثیر اندازه ذرات؛ نتایج نشان داد که کاهش اندازه ذرات باعث بهبود بازده استخراج می شود و بازده را به اندازه ۱۰ درصد بهبود می بخشد. استفاده از بسامد امواج فراصوت نیز بر بازده استخراج تأثیر چشمگیری داشت و تا ۴۵ درصد باعث بهبود بازده شده است.

مراجع

- (rosemarinus officinalis)", Journal of Supercritical Fluids, 35(3), pp. 197-204 (2005).
- [3] Ghasemi, E., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkoh, F., "Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of Artemisia siberi", Journal of Food Engineering, 79(1), pp. 306-311 (2005).
- [4] Zhiyi, L., Xuewu, L., Shuhua, C., Xiaodong, Zh., Yuanjing, X., Yong, W., Feng, X., "An experimental and simulating study of supercritical CO₂ extraction for pepper oil", Journal of Chemical Engineering and processing: Process Intensification, 45(4), pp. 264-267 (2006).
- [5] Goodarznia, I., Eikani, M. H., "Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils: Modeling and simulation," Journal of Chemical Engineering Science, 53, pp. 87-95 (2012).
- [6] Ghasemi, E., Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkoh, F., "Comparative analysis of the oil and supercritical CO₂ extract of Artemisia siberi", Journal of Food Engineering, pp. 306-311 (2007).
- [7] Hasan, N., Bakhtier, F., "Mass transfer enhancement in supercritical fluid extraction by acoustic waves", Journal of Supercritical Fluids, 80, pp. 60-70 (2013).
- [8] Wengiang, G., Shufen, Li., Ruixiang, Y., Shaokun, T., "comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical Carbon dioxide and other three traditional extraction methods", Journal of Food Chemistry, 101(4), pp. 1558-1564 (2007).
- [9] Berna, A., Tarrega, A., Blasco, M., Subirats, S., "Supercritical extraction of essential oil from orange peel: effect of the height of the bed", Journal of Supercritical Fluids, 18, pp. 227-237 (2000).
- [1] اسفندیاری، ن.، قریشی، س. م.، "استخراج و تولید نانوذرات با استفاده از سیال فوق بحرانی"، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، چاپ اول، (۱۳۹۴)
- [2] Raul, N. C., Lucinewton, S. M., Paulo, T. V., Angela, A. M., "Supercritical fluid extraction from rosemary

- [10] Esfandiari, N., "Production of micro and nano particles of pharmaceutical by supercritical carbon dioxide", *Journal of Supercritical Fluid*, 100, pp. 129-141 (2015).
- [11] Sampatrao, D. M., Kabir, D., "Supercritical fluids in separation and purification: A review", *Materials for Energy Technologies*, 2, pp. 463-484 (2019).
- [12] Baiao Dias, A., Scarelli Arroio Sergio, C., Santos, Ph., Fernandez, G., Rezende, C., Martinez, J., "Effect of ultrasound on the supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from dedo de moca pepper (*Capsicum baccatum* L. Var. pendulum)", *Journal of Ultrasonic Sonochemistry*, 31, pp. 284-294 (2016).
- [13] Santos, Ph., Aguiar, A., Barbero, G., Rezende, C., Martinez, J., "Supercritical Carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) Assisted by ultrasound", *Journal of Ultrasonic Sonochemistry*, 22, pp. 78-88 (2016).
- [14] Minatory, M., Mason, T. J., Calinescu, I., "Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assiste extraction (MAE) of functional compounds from plant materials", *Journal of Ultrasonic Sonochemistry*, 97, pp. 159-178 (2017).
- [15] Benito, O., Rodríguez, M., Teresa, M., Beltrán, S., "Supercritical carbon dioxide extraction of quinoa oil: Study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality", *Journal of Supercritical Fluids*, 139, pp. 62-71 (2018).
- [16] Priyanka Shabina, Kh. , " Influence of operating parameters on supercritical fluid extraction of essential oil from turmeric root", *Journal of Cleaner Production*, 188, pp. 816-824 (2018).
- [17] ثابتی، ح.، "جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران"، تهران، دانشنامه رشد، مدخل خرنوب، (۱۳۵۵).
- [18] Fatmah, A. S., Amani, S., Awaad Ahmed, M., "Novel quinazoline and Acetamide derivatives as safe anti-ulcerogenic agent and anti-ulcerative coalitis activity", *Journal of Saudi Pharmaceutical*, 26(1), pp. 138-143 (2018).
- [19] Marcos, P. S., Rosimeive, N., Deoliveria, A., Mengarda, C., Daniel, B., "Anti-parasitic activity of nerolidol in mouse model of schistosomiasis", *Journal of Antimicrobial*, 48(6), pp. 641-646 (2017).
- [20] Hany, A., Dana, Z., Srinivasulu, V., Hersi, F., "Design, Synthesis and biological evaluation of new pyrrolidine carboxamide analogus as potential chemotherapeutic agents for hepatocellular carcinoma", *Journal of Medicinal Chemistry*, 139, pp. 804 - 814 (2017).
- [21] Sujatha, S., Anand, S., Sangeetha, K. N., Balakrishnan, A., Lakshmi, B. S., "Biological evaluation of 3β-STIGMAST-5-EN-3-OL as potent anti-diabetic agent in regulating glucose transport using in vitro model", *International Journal of Diabetes Mellitus*, 2, pp. 101-109 (2010).
- [22] Salgin, U., Doker, O., Calimi, A., "Extraction of sunflower oil with supercritical CO₂: experiments and modeling", *Journal of Supercritical Fluids*, 38(3), pp. 326-331 (2006).
- [23] Salgin, U., "Effect of jojoba seed oil using supercritical CO₂ + ethanol mixture in green and high - tech separation process", *Journal of Supercritical Fluids*, 39(3), pp. 330-337 (2007).
- [24] Baiao Dias, A., Scarelli Arroio Sergio, C., Santos, Ph., Fernandez, G., Rezende, C., Martinez, J., "Effect of ultrasound on the supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from dedo de moca pepper (*Capsicum baccatum* L. Var. pendulum)", *Journal of Ultrasonic Sonochemistry*, 31, pp. 284-294 (2016).