

فناوری آب مادون بحرانی برای استخراج ترکیبات شیمیایی گیاهی

سارا خشنودی نیا^۱، مهرداد نیا کوثری^۲، زهرا تحسیری^۳

۱- دانشجوی دکتری تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲- دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* آدرس مکاتبه: شیراز، کیلومتر ۱۲ جاده شیراز - اصفهان، منطقه باجگاه، دانشکده کشاورزی، گروه صنایع غذایی، صندوق پستی: ۳۳۱۱۱ - ۷۱۴۴۱

تلفن و نمابر: ۳۶۲۸۰۹۱۳ (۰۷۱)

پست الکترونیک: Niakosar@shirazu.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۵/۸/۸

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲

چکیده

در راستای کاهش استفاده از حلال‌های آلی در استخراج ترکیبات گیاهی از زیست‌توده‌های مختلف، استخراج با آب مادون بحرانی یکی از مطرح‌ترین فن‌آوری‌های دوست‌دار محیط زیست در چند سال اخیر است. مواد زیست‌فعال گیاهی همچون ترکیبات فنولی، اسانس‌های فرار و کربوهیدرات‌ها، کاربرد بی‌شماری در صنعت دارو، مواد غذایی و سایر صنایع دارند. هدف از این مقاله مروری است بر گزارشاتی که موقعیت کنونی استخراج با آب مادون بحرانی در تولید ترکیبات گیاهی را توصیف می‌کند. این مقاله تلاش می‌کند تا یک دید کلی در مورد جنبه‌های مختلف استخراج با آب مادون بحرانی شامل، ویژگی‌های آب مادون بحرانی، عوامل مؤثر بر استخراج (مانند دما، سرعت جریان، نوع استخراج، ویژگی‌های نمونه، pH، فشار و افزودنی‌ها)، روش بهبود استخراج مواد حساس به حرارت، مطالعه سنتتیک و مدل‌سازی استخراج، کاربرد آب به عنوان حلال و ضد حلال، رسوب‌دهی و تشکیل ذره توسط آب مادون بحرانی و چشم‌انداز آینده این فن‌آوری را ارائه کند.

کل واژگان: استخراج، آب مادون بحرانی، ترکیب زیست فعال، رسوب‌دهی



مقدمه

گیاهان دامنه گسترده‌ای از ترکیبات زیست‌فعال (لیپیدها، مواد شیمیایی گیاهی (Phytochemical)، مواد دارویی (Pharmaceutical)، رنگدانه‌ها، طعم‌دهنده‌ها، مواد معطر) را دارا هستند. اسانس و عصاره‌های گیاهی در صنعت غذا، دارو، آرایشی و بهداشتی کاربرد گسترده‌ای دارد، به همین دلیل استخراج مطلوب این ترکیبات حائز اهمیت است [۱]. یکی از مهم‌ترین چالش‌های شیوه‌های سنتی استخراج (مثلاً روش سوکسله)، صرف زمان و حلال زیاد است، که ضمن تحمیل هزینه، آلودگی‌های زیست‌محیطی را نیز باعث می‌شود. لذا در سال‌های اخیر شیوه‌های استخراجی به صنعت معرفی شده‌اند که مصرف زمان و حلال را کاهش داده‌اند [۲، ۳]. یکی از این روش‌ها، استخراج با آب‌مادون بحرانی است. آب‌مادون بحرانی (فوق‌داغ) واژه‌ای عمومی است که برای آب در دمای بالای نقطه‌ی جوش (100°C) و کم‌تر از دمای بحرانی (374°C) و فشار متناظر با دمای مربوطه (21 تا $0/2$ مگاپاسکال) به کار می‌رود. به طوری که آب در این دما و فشار همچنان ماهیت مایع خود را حفظ می‌کند [۴]. آب در شرایط فوق‌داغ ویژگی‌های متفاوتی نسبت به آب معمولی دارد و حلالی با قابلیت قابل تنظیم است. این ویژگی در کنار ویژگی‌هایی چون عدم سمیت، دوستدار محیط زیست و دسترسی ساده و ارزان به آب، این روش را به روشی مناسب برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال بدل ساخته است [۵، ۳]. هدف از این مقاله بررسی ویژگی‌های آب‌مادون بحرانی، کاربرد آن در استخراج مواد زیست‌فعال گیاهی، سینتیک و مکانسیم استخراج و تأثیر عوامل مختلف بر روند استخراج است.

ویژگی‌های آب مادون بحرانی

در شرایط نزدیک به نقطه‌ی بحرانی بسیاری از ویژگی‌های آب تغییر می‌کند. با افزایش دما، جنبش حرارتی ملکول‌های آب و در نتیجه سرعت نفوذ آب به بافت گیاهی افزایش می‌یابد [۶]. آب در دمای محیط پیوندهای هیدروژنی زیادی دارد که با افزایش دما، به تدریج از هم گسیخته شده و ثابت دی‌الکتریک

(قطبیت) آب را کاهش می‌دهند. بنابراین با تنظیم حرارت، آب می‌تواند به حلالی برای ترکیبات نیمه قطبی یا غیرقطبی بدل شود [۵]. ویژگی خود یونشی (Self- ionization) و ویژگی خود یونشی (Self- ionization) (auto- ionization) آب مادون‌بحرانی با افزایش دما، افزایش می‌یابد [۷]. به عبارتی آب فوق‌داغ ترکیبات یونی بیشتری نسبت به آب معمولی دارد. حضور یون H^+ و OH^- در آب مادون‌بحرانی به معنی واکنش‌های کاتالیز شده اسیدی و بازی بیشتر و در نتیجه تسریع واکنش‌های هیدرولیزی است [۸]. افزایش قدرت هیدرولیزکنندگی آب از یکسو شرایط مناسبی برای جداسازی لیگنین و سلولز ایجاد می‌کند اما از سوی هیدرولیز نامطلوب ترکیبات حاوی چربی‌های غیراشباع را موجب می‌دهد [۹]. بنابراین باید بهینه‌سازی دما و زمان در استخراج توجه شود.

دانسیته و قطبیت بالاتر آب در شرایط مادون‌بحرانی نسبت به حالت فوق‌بحرانی، امکان خوردگی دستگاه‌ها را بالا می‌برد. آلایز نیکل و تیتانیوم بهترین آلایزها برای ساخت تجهیزات استخراج با آب‌مادون‌بحرانی هستند. آلایزهای نیکل در شرایط مادون‌بحرانی به محلول‌های قلیایی و اسیدهایی چون H_3PO_4 و HF مقاوم هستند و آلایزهای تیتانیوم نیز مقاومت خوبی به کلیه اسیدها دارند با این حال سختی مکانیکی تیتانیوم استفاده از آن را با محدودیت مواجه می‌سازد [۸، ۱۰]. جدول شماره ۱ به مقایسه ویژگی‌های آب در دماها و فشارهای مادون‌بحرانی، معمولی و فوق‌بحرانی می‌پردازد.

کاربرد آب مادون بحرانی در استخراج ترکیبات زیست‌فعال گیاهی

اولین بار استفاده از آب‌مادون‌بحرانی در استخراج اسانس رزماری گزارش شد [۱۱]. از آن تاریخ مواد زیست‌فعال زیادی با این شیوه استخراج و مورد پژوهش واقع شدند. محصولات استخراج‌شده از بافت گیاهی توسط آب‌مادون‌بحرانی در چند دسته‌ی کلی قابل بررسی است. اولین دسته ترکیبات فنلی غیرقطبی مانند توکوفرول‌ها، کارتنوئیدها، استرول‌ها، ترپنوئیدها هستند که استخراج آن‌ها با دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی موفقیت‌آمیزتر است [۱۲]. اما استخراج ترکیباتی با قطبیت متوسط یا ترکیبات فنولی قطبی مانند کاتکین، فلاونوئیدها،



جدول شماره ۱ - مقایسه ویژگی‌های آب در شرایط معمول، زیر بحرانی و فوق بحرانی [۸]

آب فوق بحرانی		آب زیر بحرانی		آب معمولی	
۴۵۰	۴۰۰	۳۵۰	۲۵۰	۲۵	دما (°C)
۵۰	۲۵	۲۵	۵	۰/۱	فشار (MPa)
۰/۵۸	۰/۱۷	۰/۶	۰/۸	۱	دانشیه (g cm ⁻³)
۱۰/۵	۵/۹	۱۴/۰۷	۲۷/۱	۷۸/۵	ضریب دی الکتریک (Fm ⁻¹)
۱۱/۹	۱۹/۴	۱۲	۱۱/۲	۱۴/۰	ترکیبات یونی pK _w =log 10 K _w (pK _w)
۶/۸	۱۳/۰	۱۰/۱	۴/۸۶	۴/۲۲	ظرفیت حرارتی، C _p (Kj Kg ⁻¹ K ⁻¹)
۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۶۴	۰/۱۱	۰/۸۹	ویسکوزیته دینامیک (mPa s)

زرشک را استخراج کردند، نتایج نشان داد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده با آب مادون‌بحرانی بالاتر از سه روش دیگر است [۶]. نمونه‌های استخراج موفق ترکیبات زیست فعال گیاهی به کمک آب مادون‌بحرانی در جدول شماره ۲ گردآوری شده است.

جداسازی پکتین از منابع مختلف (گوشت سیب، پوست مرکبات، تفاله چغندر قند) و هیدرولیز جزیه‌جز ترکیبات لیگنوسولوزی و ضایعات فیبری (پوست نارگیل، کاه و کلش غلات و بقولات مختلف، فیبرهای گیاهی، باگاس نیشکر) از برجسته‌ترین موضوع‌های تحقیقاتی سال‌های اخیر بوده است. دیواره‌ی لیگنوسولوزی گیاهان طی فرایند استخراج به دو جزء همی‌سلولز و لیگنین تبدیل می‌شود. از همی‌سلولز، گلوکز (جهت تهیه اسید سیتریک- هیدروکسی متیل فورفورال، سوربیتول، پلی‌لاکتیک اسید)، زایلوز (جهت تولید زایلیتول، هیدروکسی متیل فورفورال، پلی‌لاکتیک اسید) و سلولز (جهت تهیه رزین زیست تخریب‌پذیر، پلاستیک و فیبر) تولید می‌شود. از لیگنین نیز، رزین ترموست و ترموپلاستیک، چسب و فیبر کربنی تهیه می‌شود [۱۶]. قند تولید شده از ضایعات فیبری عموماً در تولید الکل و زیست‌سوخت‌ها کاربرد دارد [۲]. اگر ضایعات فیبری حاوی مواد زیست فعال باشند، به منظور توجیه اقتصادی تولید زیست‌سوخت، ابتدا ترکیبات زیست فعال جدا و سپس از تفاله باقی‌مانده سوخت تهیه می‌شود [۱۸-۱۶]. حذف لیگنین از مواد لیگنوسولوزی توسط آب مادون بحرانی، نیاز به مواد شیمیایی در فرایند هیدرولیز را مرتفع نموده و نگرانی باقی

ایزوفلاون‌ها، آلکالوئیدها و اسیدهای فنولیک به خوبی در شرایط مادون بحرانی با آب یا مخلوط آب و اتانول قابل انجام است [۲]. ترکیب زیست‌فعال دیگر قابل استخراج از بافت‌های گیاهی، اسانس‌های فرار یا ترپن‌ها (هیدروکربن‌هایی با وزن ملکولی پایین (C₁₀-C₁₅)) هستند. بخش غیرقطبی این اسانس‌ها به خوبی با CO₂ فوق بحرانی قابل استخراج است [۱۳]. اسانس‌های فرار علاوه بر هیدروکربن‌های سبک‌وزن، ترکیبات قطبی چون الکل‌ها، آلدئیدها، اترها، کتون‌ها و فنول‌ها را شامل می‌شوند که آب مادون‌بحرانی ترکیب مناسبی برای استخراج آنهاست. همچنین آب فوق‌داغ انتخاب‌پذیری بالاتری برای استخراج هیدروکربن‌های اکسیژنه (مونوترپن‌ها، سزکویی‌ترین‌ها) نسبت به CO₂ فوق‌بحرانی دارد [۱۴].

قبل از تصمیم‌گیری در مورد استخراج اسانس فرار توسط آب مادون بحرانی، باید پایداری حرارتی اسانس مورد تحقیق قرار گیرد. در بسیاری از گزارشات ترکیبات زیست‌فعال توانسته‌اند ویژگی‌های خود را تا حدود قابل قبولی با تنظیم مدت زمان فرایند حفظ کنند. برای مثال بررسی تخریب حرارتی اسیدکافنیک در دمای ۲۴۰-۱۶۰°C و فشار ۵ MPa نشان داد، که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدکافنیک در طول فرایند، تغییر چندانی نمی‌کند. حتی گاهی به دلیل تجزیه‌ی ترکیبات فنولی و آزادی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی که در شرایط معمولی در آب قابل حل نیستند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد [۱۵]. مسکوکو و همکاران (۲۰۱۴) با چهار روش؛ تقطیر، آب مادون بحرانی، CO₂ فوق‌بحرانی و پرس سرد ترکیبات زیست‌فعال

جدول شماره ۲- استخراج مواد گیاهی مختلف توسط آب مادون بحرانی

منبع	شرایط واکنش	ترکیب استخراج شده	ماده گیاهی
[۲۳]	۲۵-۲۷۰°C, ۵/۳ MPa, ۱۰ دقیقه	فنول- قند- قند کاهنده- پروتئین	پوسته نقره‌ای قهوه
[۲۴]	۱۳۰-۱۹۰°C, اتانول: ۵۰٪, ۴۰ دقیقه	فنول کل	پوست میوه انبه
[۲۵]	۱۰۰°C, ۴ MPa, ۱۸۰ دقیقه	فنول کل	برگ انبه
[۲۶]	۱۱۰-۱۶۵°C, ۳/۵ MPa, ۱۵ دقیقه	ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی	پوست پیاز
[۲۷]	۲۵۰-۵۰°C, ۲ MPa, ۹۰-۱۰ دقیقه	۴-آلیل رزورسینول و چاویبتول	برگ نخل فوفل
[۲۸]	۱۶۰-۱۸۰°C, ۱/۳ MPa, ۶۰-۵ دقیقه	فنول و فلاونوئید و لیگنین SDG	آرد دانه کتان
[۲۹]	۱۸۰-۱۲۰°C, اتانول: ۲۰-۲۰٪, ۲۰ دقیقه	فنول- کربوهیدرات	سیوس جو
[۴]	۱۱۰-۱۷۰°C, ۵/۳ MPa, ۱۰-۵۰ دقیقه	آنتوسیانین و ترکیبات فنولی کل	زرشک بی‌دانه
[۳۰]	۱۰۰-۲۲۰°C, ۶ MPa, ۳۰ دقیقه	فنل	تفاله آب انار
[۳۱]	۷۰-۱۹۰°C, ۱۰ MPa, ۵-۱۴ دقیقه	آکالوئیدها	ریشه تلخ بیان
[۳۲]	۱۸۰°C, ۶,۶ MPa, ۶۰ دقیقه	اسید فنولیک	پوست سیب‌زمینی
[۳۳]	۱۲۰-۱۹۰°C, ۱/۵ MPa, ۳۰-۹۰ دقیقه	تیموکوئینون و کارواکرول	پونه یونانی
[۳۴]	۱۲۰-۸۰°C, ۱۰ MPa	فنول کل	تفاله‌ی آب‌انگور
[۳۵]	۱۰۰-۲۰۰°C, ۲ MPa	اسانس فرار (اوگنول)	برگ و چوب دارچین
[۳۶]	۱۰۰-۱۵۰°C, ۲ MPa, ۱۲۰ دقیقه	اسانس فرار (کومین آلدهید)	دانه‌ی زیره‌ی سیاه
[۳۷]	۱۶۰°C, ۵ MPa, ۲۵ دقیقه	اسانس فرار	برگ چمن بنفش
[۳۸]	۲۵-۲۰۰°C, ۵-۵۰ دقیقه	مریستین، کوئرستین و کامپفرول و فنل کل	برگ گز روغن
[۳۹]	۱۶۵°C, ۱۱ MPa, ۶۰ دقیقه	لیگنین- همی سلولز	کاه و کلش تریتیکاله
[۴۰]	۱۹۰°C, ۳۰ دقیقه	قندهای کاهنده	کاه و کلش گندم
[۴۱]	۱۱۰-۱۷۵°C, ۲ MPa, ۱۰۵ دقیقه	بتاگلوکان	سیوس گندم و جو
[۴۲]	۱۴۰°C, ۵ دقیقه	پکتین	گوشت سیب
[۴۳]	۱۲۰°C, ۱۱ MPa, ۳۱ دقیقه	پکتین	تفاله چغندر قند
[۴۴]	۱۶۰-۳۲۰°C, ۲۰ MPa, ۷۰ دقیقه	سلولز	پوست مرکبات
[۱۸]	۲۰۸-۲۵۷°C, ۲۰ MPa, ۳۰ دقیقه	قند کاهنده	پوست نارگیل- فیبر پالم- هسته انگور
[۴۵]	۱۸۰-۲۳۰°C, ۵ دقیقه	همی سلولز	ساقه آفتابگردان
[۴۶]	۱۵-۳۰ MPa, ۴۵-۵۵°C: SFE	کارتونوئید (استخراج: SFE)	فیبر پالم
	۱۵-۲۵ MPa, ۱۵-۵-۱/۵ دقیقه	سلولز و همی سلولز	

برای استخراج روغن‌ها، احتمال هیدرولیز چربی به اسیدهای چرب و گلیسرول را بالا برده و نیاز به فرآیندهای اضافی برای تصفیه روغن را افزایش می‌دهد. همچنین تجزیه‌ی هیدروترمال ویتامین‌های محلول در چربی و آنتی‌اکسیدان‌ها نیز در این فرایند قابل انتظار است. بنابراین در استخراج روغن با این روش، تنظیم زمان و دمای استخراج مهم است. با این حال گزارشات

ماندن مواد شیمیایی در عصاره و بافت گیاهی را برطرف می‌سازد. ضمن این‌که اتانول تولیدی با اتانول حاصل از هیدرولیز اسیدی و آنزیمی قابل رقابت است [۸].

چربی‌ها و روغن‌ها ترکیباتی غیرقطبی با ویژگی‌های آلیفاتیک و نامحلول در آب هستند. اما در آب مادون‌بحرانی تا حد زیادی قابل اختلاط هستند. استفاده از آب مادون‌بحرانی



استفاده از آب مادون‌بحرانی به کمک صنعت بسته‌بندی و بازیافت مواد پلاستیکی نیز آمده است. برای مثال منومر ارزشمندی از نایلون ۶ (monomer casting nylon) با موفقیت توسط این شیوه از مواد پلاستیکی قابل استخراج است. در حالی که استفاده از حرارت، تشعشع یا مواد شیمیایی برای استخراج این ماده زمان‌بر بوده و شرایط بازیابی مناسب این منومر را فراهم نمی‌کند [۲۱]. همچنین رزین ترموست پلی‌استر توسط آب مادون‌بحرانی هیدرولیز و از فیبر پلاستیکی قابل بازیابی است [۲۲].

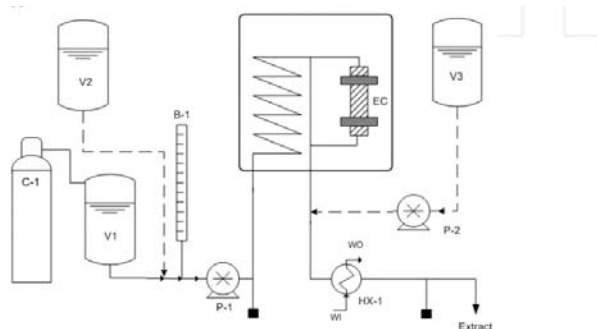
تجهیزات و شیوه استخراج با آب مادون بحرانی

استخراج با آب مادون‌بحرانی در دستگاهی از جنس استیل ضد زنگ و تحت فشار و دمای بالا صورت می‌گیرد. در این دستگاه فشار آب توسط پمپ HPLC افزایش یافته و به سمت آون که محفظه استخراج را در خود جای داده است، هدایت می‌شود [۴، ۴۷]. معمولاً قبل استخراج بافت گیاه خشک، پودر و به منظور جلوگیری از تراکم ذرات با مواد بی‌اثر ترکیب می‌شوند [۴، ۱۳، ۴۸]. ماده گیاهی به همراه مقدار معینی آب در مخزن استخراج جای گرفته و تحت فشار و حرارت مشخص قرار می‌گیرد [۴۸]. بعد از سپری شدن زمان مورد نظر، عصاره توسط مبدل به دمای محیط می‌رسد [۱۳، ۱۷، ۴۹]. شمایی از سیستم استخراج به کمک آب مادون‌بحرانی در شکل شماره ۱ آمده است [۴۷].

موفقیت‌آمیزی در استخراج روغن با آب مادون‌بحرانی ثبت شده است. مثلاً، تفکیک فاز آبی و روغنی دانه‌ی آفتابگردان در دمای ۱۳۰°C و زمان ۳۰ دقیقه توسط آب مادون‌بحرانی قابل انجام است [۷].

استخراج با حلال فوق بحرانی (دی‌اکسیدکربن)

امروزه ساخت بیودیزل‌ها از فرآورده‌های روغنی دارای اهمیت ویژه‌ای است. میکروجلبک‌ها گزینه‌ی خوبی برای تولید بیودیزل هستند، جلبک‌ها غنی از چربی بوده، رشد سریعی داشته، در فاضلاب و آب‌های شور قابل پرورش هستند و تحت شرایط هضم بی‌هوایی، متان، هیدروژن زیستی و بیواتانول تولید می‌کنند. با این حال هزینه تولید سوخت از این منابع توجیه‌پذیر نیست. بنابراین برای افزایش توجیه اقتصادی فرایند، علاوه بر استخراج روغن، منابع ارزشمند دیگری همچون اسیدچرب غیراشباع، کربوهیدرات، ویتامین و فیبر رژیمی نیز از جلبک استخراج می‌شود [۱۹، ۲۰]. بیشتر شیوه‌های استخراج چربی از جلبک (همچون استفاده از حلال فوق بحرانی و شیوه پرسی (expeller press)) نیازمند خشک کردن ماده اولیه است که فرایندی هزینه‌بر و زمان‌بر است. اما آب مادون‌بحرانی، مستقیماً جلبک مرطوب را به بیودیزل تبدیل می‌کند. دانس و همکاران (۲۰۱۴) با مقایسه استخراج سنتی روغن از جلبک و استخراج با آب مادون‌بحرانی دریافتند، استخراج با آب مادون‌بحرانی ۵-۳ برابر در مصرف انرژی صرفه‌جویی می‌کند [۱۹]. همچنین تفاله این جلبک می‌تواند محیط کشتی بذای مخمر روغنی (oleaginous yeast) باشد [۲۰].



شکل شماره ۱- شمای فرایند استخراج با آب مادون‌بحرانی. B-1: بورت. C-1: تانک نگهداری نیتروژن (به منظور اکسیژن‌زدایی از آب). EC: محفظه استخراج، HX1: مبدل حرارتی. OV-1: آون. P-1,2: پمپ. V1: تانک نگهداری آب. V2: تانک نگهداری حلال کمی. V3: تانک حلال شستشو، W1: آب ورودی؛ WO: آب خروجی

فناوری آب مادون بحرانی...

عصاره به متلاشی شدن بافت گیاه و پراکندگی آن در عصاره نسبت داده می‌شود [۱۳]. بنابراین دما باید آنقدر بالا باشد که استخراج ترکیب هدف را تسهیل کرده، اما مانع استخراج ترکیبات ناخواسته شود [۵۱].

سرعت جریان

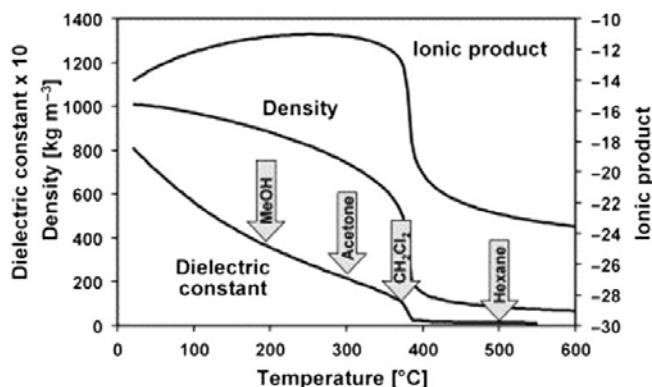
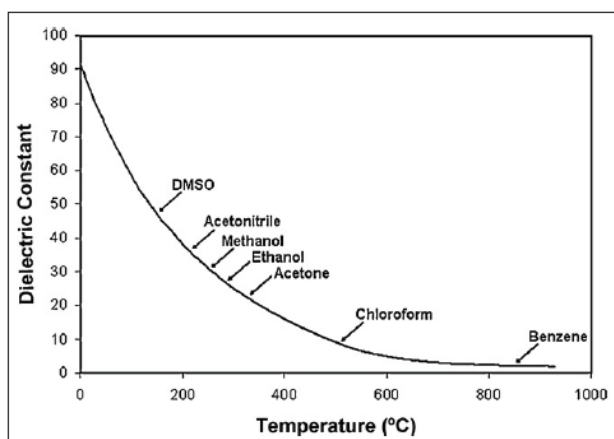
با افزایش سرعت جریان در دمای ثابت، استخراج تسریع شده و نیاز به حلال کاهش می‌یابد [۵۱]. هم‌چنین سرعت جریان بر بازدهی و ترکیب عصاره نیز مؤثر است. دوبا و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی اثر سرعت جریان بر بازدهی ترکیبات فنولی حاصل از پسماند آب انگور دریافتند، با افزایش سرعت جریان، بازدهی فنول کاهش می‌یابد. سرعت جریان ایده‌آل، باید بسته به نوع ترکیب هدف بهینه‌سازی شود [۳۴].

اثر پارامترهای مختلف بر استخراج با آب مادون بحرانی

دما

در مورد اثر حرارت بر واکنش استخراج پیشتر در بخش ویژگی‌های آب مادون بحرانی بحث شد. تغییر قطبیت آب مهم‌ترین تأثیر حرارت بر فرآیند استخراج است [۳]. آب در دمای بالای 200°C می‌تواند حلالی برای ترکیبات غیرقطبی باشد (شکل شماره ۲).

افزایش حرارت انرژی فعال‌سازی مورد نیاز فرایند واجدبی را کاهش داده، پیوستگی (حل‌شونده- حل‌شونده) و چسبندگی (بافت گیاه- ماده‌ی حل‌شونده) بین ذرات را کم کرده و با کاهش ویسکوزیته نفوذ بهتر حلال به بافت گیاه را موجب می‌شود [۴۸]. با این حال افزایش دما باعث تخریب ترکیبات زیست‌فعال می‌شود و عصاره را تیره و کدر می‌سازد [۵۰]. عدم شفافیت



شکل شماره ۲- الف) مقایسه‌ی ثابت دی‌الکتریک آب در دماهای مختلف با حلال‌های آلی، ب) تأثیر دما بر میزان ترکیبات یونی، دانسیته و ثابت

دی‌الکتریک آب [۳]



نوع استخراج (پویا یا ایستا)

در استخراج پویا، زمان استخراج از طریق دما، سرعت جریان آب و قطبیت ترکیب هدف مشخص می‌شود. اما در استخراج ایستا میزان انحلال‌پذیری ترکیب هدف در آب مادون‌بحرانی و ضریب تعادل نسبی (partition-equilibrium constant) عامل تعیین‌کننده کارایی استخراج هستند، بنابراین غلظت بالای نمونه یا حلالیت پایین آنالیت به دلیل استفاده از حجم کم‌تر حلال در روش ایستا منجر به استخراج ناقص ترکیب هدف می‌شود. بهینه‌سازی حجم حلال و زمان را می‌توان به کمک مدل‌های مختلف ریاضی و تجربی انجام داد [۱۳].

در استخراج پویا به علت استفاده از حلال تازه و با حجم زیاد انتقال جرم تسریع می‌شود، اما عصاره تولیدی رقیق‌تر است. هر دو روش مزایای ارزشمندی دارند که بسته به ماهیت ماده گیاهی و عصاره مورد نظر روش مناسب قابل انتخاب است. برای مثال اگر ترکیب هدف حساس به دمای بالا باشد، استخراج ایستا باعث تخریب ترکیب هدف می‌شود و به دلیل استفاده از حجم حلال پایین، احتمال استخراج ناقص وجود دارد. از سویی در روش استخراج پویا به دلیل استفاده از حجم حلال بالا تولید عصاره تغلیظ‌شده هزینه‌بر است [۸، ۱۳]. بنابراین برای بهره‌مندی از مزایای هر دو روش، می‌توان تلفیقی از دو شیوه‌ی ایستا و پویا را در به کار برد. به این ترتیب ضمن کاهش زمان استخراج، از تخریب عصاره جلوگیری و عصاره‌ی غلیظ‌تری تولید می‌شود [۵۱].

افزودنی‌ها و تعدیل‌کننده‌ها در استخراج به روش آب مادون‌بحرانی

حلال‌های کمکی اولین گزینه مطرح شده برای بهبود استخراج با حلال مادون‌بحرانی هستند. برای مثال در استخراج کاتکین برگ چای و ترکیبات فنولی انگور مشاهده شد آب کم‌ترین بازدهی را در مقایسه با حلال‌های آلی چون اتانول، متانول و اتیل‌استات دارد. بنابراین افزودن اتانول (تا ۲۰ درصد) به آب ظرفیت حلال برای انحلال ترکیبات هدف را افزایش می‌دهد [۴۸].

آنزیم نیز می‌تواند به عنوان افزودنی با تخریب ترکیبات دیواره سلولی فرایند استخراج را تسریع و بهبود بخشد [۵۳، ۵۲، ۸۳]. بهینه‌سازی این مرحله شامل؛ انتخاب آنزیم مناسب و

توجه به شرایط بهینه‌ی فرایند (دما، نوع ترکیب، pH و قدرت یونی) به منظور حفظ فعالیت آنزیم است. آنزیم‌های مورد استفاده عموماً، پکتیناز، سلولاز، گلوکوزیداز، گالاکتوزیداز، زایلوزیداز و سلوبیوهیدرولازها و ترکیبی از آنها هستند. یانگ و همکاران دریافتند استفاده از نوعی آنزیم سلولاز در استخراج فلاونوئیدها از برگ‌های درخت چهل سکه نه تنها با تخریب دیواره سلولی فرایند استخراج را تسریع می‌کند، بلکه حلالیت ترکیب هدف را در آب/اتانول/محلول آنزیم بهبود می‌بخشد و بازدهی استخراج فلاونوئیدها را دو برابر می‌سازد [۳].

برای افزایش بهره‌وری استخراج با آب مادون‌بحرانی، سورفاکتانت‌ها (surfactants) و یا هیدروتروپ‌ها (hydrotropes) نیز افزودنی‌های مؤثری هستند. سورفاکتانت‌ها (سدیم دودسیل سولفات (sodium dodecyl sulfate)، تریتون ایکس ۱۰۰ (Triton X-100) و غیره) ترکیباتی با سرهای آب‌گریز/آبدوست هستند که با تجمع در محیط استخراج ترکیبات آب‌گریز را افزایش می‌دهند [۵۱، ۳]. هیدروتروپ‌ها، نمک‌های آلی با وزن مولکولی پایین و حلالیت بالا در آب (شامل نمک‌های آروماتیک، الکل‌های آروماتیک، صابون‌های کوتاه زنجیر و آلکیل پلی‌گلیکوزیدهای کوتاه زنجیر) هستند. این ملکول‌ها همانند سورفاکتانت‌ها دو بخش آب‌دوست و آب‌گریز دارند، با این تفاوت که بخش آب‌گریز بسیار کوچک‌تر از آن است که باعث تجمع خود به خود و تشکیل میسل شود، بنابراین باعث تولید تدریجی توده ملکولی‌های هیدروتروپ می‌شود. فرایند خود انبوهش (self-aggregation) هیدروتروپ‌ها توسط قسمت آب‌گریز مدیریت می‌شود و با دفع الکترواستاتیک بین گروه‌های هم‌بار، قابل تغییر است. بنابراین ظرفیت انحلال‌پذیری هیدروتروپ‌ها به طبیعت بخش آب‌گریز (طول زنجیر اصلی و تعداد و طول شاخه‌ها) آنها وابسته است. مهم‌ترین مزیت استفاده از این افزودنی‌ها افزایش انتخاب‌پذیری، کاهش نیاز به امولسیون‌سازی و بازیابی راحت‌تر ماده هدف است [۵۴، ۵۵].

تأثیر نوع نمونه

بافت‌های مختلف گیاهی از نظر ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی، نوع ترکیب یا قطر ذرات متفاوت هستند. این عوامل



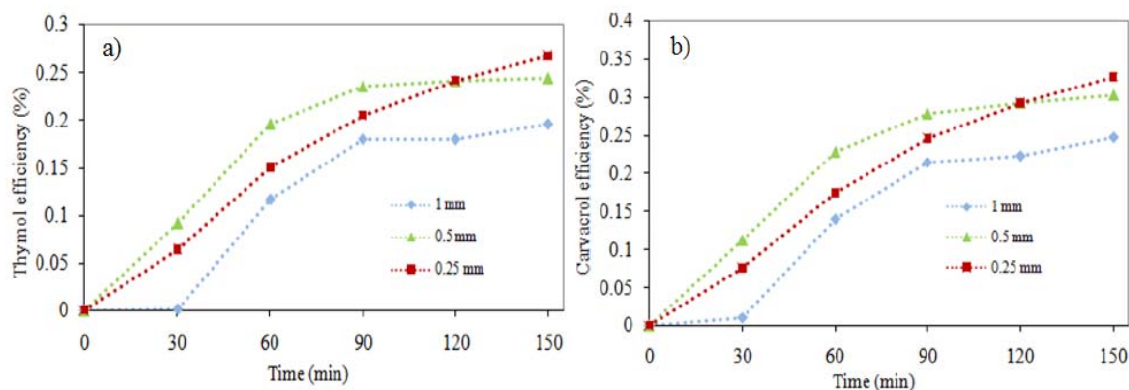
سایر عوامل

جداسازی برخی ترکیبات با تغییر pH تسریع می‌شود [۵۷]. شرایط قلیایی استخراج ترکیباتی چون آلکالوئیدها و آنتوسیانین‌ها و شرایط اسیدی بازیابی ترکیبات فنولی را بهبود می‌بخشد. تغییر pH بر روند استخراج هیدروکلئیدها و ویسکوزیته‌ی صمغ‌ها نیز اثرگذار است. صمغ‌ها ترکیباتی پلی‌الکترولیت هستند و رفتار انحلال آنها به pH و قدرت یونی وابسته است. استخراج هیدروکلئیدها از دانه‌ی قهوه سودانی (durian seeds) در pHهای متفاوت نشان داد، بهترین شرایط استخراج در pH بازی حاصل می‌شود. زیرا شکستن پیوند هیدروژنی پروتئین در این pH منجر به افزایش آزادسازی پلی‌ساکاریدها می‌شود. همچنین در استخراج مواد لیگنوسولزی کاهش pH، شکستن پیوندهای اتری لیگنین را تسریع می‌کند. با این حال احتمال خوردگی تجهیزات اجازه کاهش pH به زیر ۳ را نمی‌دهد [۳].

فشار عامل مؤثر بعدی در فرایند استخراج با آب مادون‌بحرانی است. در این فرایند عموماً استفاده از فشار بالا برای حفظ حالت مایع آب است. اما این فشار می‌تواند دسترسی حلال به ترکیب هدف را بهبود بخشد [۱۳]. باید توجه داشت در فشار کم‌تر از ۱۰ مگاپاسکال (در استخراج ترکیبات گیاهی به ندرت فشار بالاتر کاربرد دارد) تاثیر فشار بر ثابت دی‌الکتریک قابل اغماض است. هندسه لوله، محفظه‌ی استخراج و مسیر جریان آب نیز تا حدودی بر میزان بازیابی ترکیب هدف مؤثر است [۴۸].

ویژگی‌های نگهداری (retention) و جذب سطحی (sorption) ماده هدف را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۳]. برای مثال با کاهش اندازه ذره، کارایی استخراج به دلیل انتقال بهتر جرم بهبود می‌یابد. اما اگر اندازه ذره بیش از حد کوچک باشد، چسبیدن ذرات به هم از کارایی استخراج می‌کاهد (شکل شماره ۳). همچنین کاهش اندازه ذره زمان‌بر بوده و احتمال نابودی ترکیبات فرار در حین خرد کردن وجود دارد [۵].

دما و زمان مطلوب برای بازیابی عصاره به قطبیت ترکیب هدف بستگی دارد [۵]. برای مثال در استخراج فلاونول‌ها (مریستین، کنورستین و کامپفرول) هر چه تعداد گروه هیدروکسیل کم‌تر و در نتیجه قطبیت کم‌تر باشد برای استخراج مطلوب به دمای بالاتری نیاز است. بنابراین مریستین و کوئرستین (به ترتیب با ۶ و ۵ گروه هیدروکسیلی) بهترین بازدهی را در دمای ۱۷۰°C و کامپفرول (با ۴ گروه هیدروکسیل) بهترین نتیجه را در دمای ۲۰۰°C نشان داد. همچنین آب در شرایط مادون‌بحرانی ضریب یونش بیشتری داشته و شرایط بهتری را برای استخراج فلاونول‌ها ایجاد می‌کند [۴۹]. کار و همکاران (۲۰۱۰) پیشنهاد کردند، افزودن گروه‌های چند هیدروکسیله به زنجیره هیدروکربنی ترکیبات آروماتیک ساده، حلالیت آنها در آب مادون‌بحرانی را افزایش می‌دهد [۵۶]. نوع بافت گیاهی نیز بر روند فرایند تأثیرگذار است [۱۷]. برای مثال دمای موردنیاز برای استخراج ترکیبات فنولی از برگ زیتون ۱۴۰°C و برای استخراج این ترکیبات از میوه ۲۰۰°C است [۳].



شکل شماره ۴- تأثیر اندازه ذره بر کارایی استخراج الف) تیمول و ب) کارواکرول از گیاه زیتون توسط آب مادون‌بحرانی. شرایط فرایند: مقدار نمونه ۴ گرم،

اندازه ذره: ۰/۵ میلی‌متر، دما: ۱۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، زمان: ۱۵۰ دقیقه و فشار: ۲۰ بار [۵]



آب مادون‌بحرانی به عنوان ضدحلال (Anti-solvent)

دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی ترکیب و تشکیل امولسیون می‌دهد که بعد از برداشتن فشار و انبساط دی‌اکسیدکربن، عصاره به قطرات ریزی شکسته می‌شود و توسط جریان نیتروژن داغ خشک می‌شوند [۶۲]. این فرایند می‌تواند ترکیبات زیست‌فعالی با اندازه کوچک و توزیع اندازه‌ی ذرات باریک را تنها در یک مرحله تولید کند [۶۳]. از این فرایند برای تولید پودر عصاره رزماری، پونه کوهی [۶۴] و پوست پیاز زرد استفاده شده است [۶۳].

سیتیک استخراج

فرایند استخراج با آب مادون‌بحرانی در شش مرحله انجام می‌شود: (۱) ورود سریع سیال به بافت گیاه، (۲) واتراوش ترکیب هدف از مکان‌های فعال بافت گیاه، (۳) توزیع ماده هدف در ساختار بافت (۴) انتشار ماده هدف در مایع استاتیکی موجود در منافذ، (۵) انتشار ماده هدف در لایه‌ی سیال راکد خارج از ذره و (۶) رسیدن ماده هدف به توده‌ی سیال. تأثیر مرحله اول عموماً بر سرعت استخراج قابل چشم‌پوشی است. با این حال با افزایش دما، گرانیوی و کشش سطحی آب کاهش و نفوذ آب به بافت گیاه افزایش می‌یابد [۵]. انتشار مواد هدف در ماده جامد و جزبندی (partitioning) این ترکیب بین بافت گیاه و حلال، یکی از مهم‌ترین مراحل محدودکننده‌ی استخراج است.

در دما و فشار بالا فرایند استخراج نسبت به شرایط معمول به دو دلیل مهم تسریع می‌شود؛ (۱) افزایش حلالیت و انتقال جرم و (۲) کاهش تنش سطحی [۴۸]. تعیین تأثیر هر یک از متغیرهای فرایند استخراج، بر سرعت و کارایی استخراج تنها بر اساس داده‌های فرآیند کار دشواری است. بنابراین طراحی و توسعه فرآیند استخراج با آب مادون‌بحرانی وابسته به توانایی مدل‌سازی انحلال و انتقال جرم ماده هدف در حلال است. میزان انحلال‌پذیری یک ترکیب به قطبیت آن ترکیب و میزان قطبیت حلال وابسته است که باید مدنظر قرار گیرد. میزان حلالیت یکی از عوامل مهم بهینه‌سازی استخراج در شرایط عملیاتی است. با توجه به محدودیت‌های انجام آزمایش‌های اندازه‌گیری حلالیت در آب مادون‌بحرانی، امروزه ارائه مدل و اصلاح مدل‌های موجود برای حصول بهترین الگوی حلالیت به طور وسیعی مورد توجه است. اولین مدل پیشنهادی برای استخراج با آب

حلالیت ترکیبات زیست‌فعال در آب زمانی که دما از ۲۵°C به ۲۰۰°C می‌رسد، ۷ برابر می‌شود. لذا بعد از استخراج با آب مادون‌بحرانی و زمانی که دما به دمای محیط می‌رسد، عصاره به حالت فوق اشباع در آمده و ترکیبات آب‌گریز حلالیت خود را از دست داده و رسوب می‌کنند [۵۸-۶۰]. استفاده از آب به عنوان حلال و در عین حال ضدحلال (با تغییر دما) روش رسوب‌دهی سریعی است که نیاز به حلال آلی را کاهش می‌دهد. همچنین این روش کریستال‌های ریزی با توزیع اندازه ذرات باریک ایجاد می‌کند که مزیت بزرگی بویژه در مورد مواد دارویی است. آب به عنوان ضدحلال در مقایسه با ضدحلال‌های فوق‌بحرانی (برای مثال دی‌اکسیدکربن) می‌تواند ذرات ریزتری ایجاد کند.

برخی پژوهشگران با بررسی اثر حرارت بر مورفولوژی ذرات رسوب کرده دریافتند، حرارت تأثیر مهمی بر ساختار کریستال‌ها ندارد. اما چن و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند مورفولوژی ذرات با افزایش دما از میله‌ای به حالت گرد تغییر کرده و زمانی که دمای ضدحلال صفر درجه‌ی سانتی‌گراد باشد ذرات بسیار یک‌دستی ایجاد می‌شود [۵۸]. حضور برخی تعدیل‌کننده‌ها که در داروسازی برای رقیق‌سازی نمونه به کار می‌رود می‌تواند مورفولوژی ذرات را تغییر دهند [۵۸، ۵۶]. بنابراین بسته به هدف می‌توان نوع رقیق‌ساز و تعدیل‌کننده را انتخاب کرد.

کار و همکاران (۲۰۱۱) فرایند رسوب با آب مادون‌بحرانی را با خشک‌کن پاششی ترکیب کردند تا بتوانند ذرات ریزی از بودزونید (budesonide) را تهیه کنند [۶۱]. گزارش جدیدی در مورد توسعه‌ی فرایند درون‌خطی به منظور تهیه پودر خشک‌شده عصاره‌های مختلف گیاهی در یک "تک فرایند" وجود دارد. این فرایند با عنوان استخراج آبی و تشکیل ذره درون‌خطی (water extraction and particle formation on-line (WEPO)) شناخته می‌شود. در این فرایند آب مادون‌بحرانی نقش حلال استخراج، دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی نقش محیط پاشش (dispersion medium) و جریان نیتروژن داغ نقش عامل خشک‌کننده را بازی می‌کند. به این ترتیب عصاره استخراج شده توسط آب مادون‌بحرانی با



فاز آب رخ نمی‌دهد، مصرف انرژی پایینی دارد. اما این روش نسبت به تقطیر، آب بیشتری مصرف کرده و عصاره رقیق‌تری تولید می‌کند و بر خلاف روش استخراج با سیال فوق‌بحرانی نیاز به مراحل اضافی برای حذف آب دارد. همچنین عصاره تولید شده در دمای اتاق، یک سوسپانسیون از مواد آب‌گریز در آب است [۵۱] که نیاز به خالص‌سازی دارد. اکثر ترکیبات فعال در عصاره کم‌مقدار هستند و از سویی به حرارت نیز حساس‌اند و جداسازی آنها مشکل و هزینه‌بر است. به همین دلایل، انتخاب شیوه مناسب برای جداسازی و تخلیص بسیار مهم است و به نظر می‌رسد بخشی از آینده تحقیقاتی این صنعت باشد [۶۸، ۳]. به کار بردن افزودنی‌های مختلفی چون تعدیل‌کننده‌های pH، حلال‌های کمکی، سورفاکتانت‌ها و آنزیم‌ها می‌تواند عصاره‌گیری را در زمان و دمای کم‌تر پیش برده و ترکیبات حساس به حرارت را محفوظ نگاه دارد. همچنین آب در مرحله تغلیظ و جداسازی می‌تواند نقش ضدحلال را بازی کرده و ترکیب هدف را از عصاره تخلیص سازد. کارایی استخراج و ویژگی‌های عصاره‌های تهیه شده به روش تهیه نمونه (اندازه ذره و شرایط نگهداری) و عوامل استخراج (دما، سرعت جریان آب، زمان، استفاده از افزودنی‌های مختلف) وابسته است. برای دستیابی به بهترین شرایط عملیاتی و استفاده تجاری از این روش نیاز به مطالعه بیشتر و توسعه مدل‌های مناسب احساس می‌شود که با توجه به پارامترهای زیادی که روند فرایند را تحت تأثیر قرار می‌دهند مدل‌سازی آن کار ساده‌ای نیست.

فرایندهای جفت‌شده برای استخراج ترکیبات زیست‌فعال به صورت درون‌خطی موضوع جدیدی است که گزارشات محدودی در مورد آن ارائه شده است. در این فرایند می‌توان از آب تحت فشار در هر دو واحد عملیاتی (استخراج و تشکیل ذره) بهره برد. در این روش‌ها امکان استخراج و تخلیص عصاره در یک مرحله و به صورت مستقیم وجود دارد. ادغام درون‌خطی استخراج و تخلیص با جاذب و/یا جداسازی غشایی قبل از تشکیل ذره بسیار مفید خواهد بود و همچنان مورد مطالعه است.

مادون‌بحرانی مدل ترمودینامیکی ساده‌ای است که بر اساس ضریب توزیع ترمودینامیکی بنیان گذاشته شده است [۵]. مدل‌های انحلال‌پذیری باید به درستی نحوه حلالیت یک ماده در حلال را پیش‌بینی و قبل از انجام آزمایش، مناسب بودن فرایند را تعیین کنند. مطرح‌ترین مدل‌های انحلال‌پذیری ترکیب‌های آلی در آب مادون‌بحرانی عبارتند از: معادلات تجربی و نیم‌تجربی، نظریه محلول منظم، مدل ثابت دی‌الکتریک و معادلات حالت [۶۰].

استخراج همواره شامل انتقال شیمیایی جرم از یک فاز به فاز دیگر است انتقال جرم در طول بستر گیاه تحت تأثیر شیب (گردیان) غلظت تا برقراری تعادل شیمیایی ادامه می‌یابد. پروفایل غلظت را می‌توان توسط مدل‌های استخراج مادون‌بحرانی که پارامترهای آن با داده‌های تجربی منطبق شده‌اند، به دست آورد. برخی از مهم‌ترین مدل‌های ارائه شده در این زمینه عبارتند از: مدل انتشار بر اساس قانون فیک، مدل واجذبی کتیکتی تک مکانی (One-site kinetic desorption model) و دو مکانی (Two-site kinetic desorption model) [۶۵]. مدل جزبندی ترمودینامیک به همراه مدل مقاومت انتقال جرم خارجی (Thermodynamic partition with external mass transfer resistance model) [۵]، مدل پاسخ به انتقال جرم دینامیک (dynamic mass transfer-reaction model) [۴۷]، مدل دو فازی (Two-phase model) [۵، ۶۶]، مدل سلول‌های شکسته و سالم (Broken and Intact Cells (BIC) Model) [۶۷] و مدل دینامیک سیالات محاسباتی (Computational fluid dynamics (CFD)) [۵].

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

در بسیاری پژوهش‌ها، از استخراج با آب مادون‌بحرانی به عنوان روشی ساده یاد می‌شود. این روش نیاز به تجهیزات پیچیده ندارد، از حلال ارزان، در دسترس و دوست‌دار محیط زیست بهره می‌برد، به راحتی با سایر روش‌های استخراج و خالص‌سازی ترکیب می‌شود، از انتخاب‌پذیری بالایی بویژه برای ترکیبات اکسیژنه برخوردار است، واکنش را در شرایط بسته و به دور از اکسیژن پیش می‌برد و از آنجایی که در این روش تغییر



منابع

1. Wang L and Weller CL. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technol.* 2006; 17: 300 - 312.
2. Niakousari M and Zandi M. Principles of waste management in the food industry. Iran-Tehran, Aij, 2012, pp: 113-132.
3. Rostagno MA and Prado JM. Natural product extraction: principles and applications. Royal Society of Chemistry, 2013, p.p: 157-190.
4. Sharifi A, Mortazavi S, Maskooki A, Niakousari M and Elhamirad A. Optimization of Subcritical Water Extraction of Bioactive Compounds from Barberry Fruit (*Berberis vulgaris*) by Using Response Surface Methodology. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 2013; 6: 89-96.
5. Haghghi-Asl A and Khajenoori M. Subcritical Water Extraction In: Nakajima H. Mass Transfer - Advances in Sustainable Energy and Environment Oriented Numerical Modeling. InTech. Croatia. 2013, pp: 459 - 487.
6. Maskooki A, Mortazavi S, Sharifi A, Eghtedari S and Rahimi N. Extraction and identification of bioactive compounds of seedless barberry using supercritical fluid CO₂ and subcritical water methods *Reserch Institute of Food Science and Technol.* 2014; <http://fa.projects.sid.ir/ViewPaper.aspx?ID=84104>.
7. Ravber M, Knez Ž and Škerget M. Simultaneous extraction of oil- and water-soluble phase from sunflower seeds with subcritical water. *Food Chem.* 2015; 166: 316 - 323.
8. Toor SS, Rosendahl L and Rudolf A. Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies. *Energy* 2011; 36: 2328-2342.
9. Kruse A and Dinjus E. Hot compressed water as reaction medium and reactant: properties and synthesis reactions. *The Journal of Supercritical Fluids* 2007; 39: 362 - 380.
10. Kritzer P. Corrosion in high-temperature and supercritical water and aqueous solutions: a review. *The Journal of Supercritical Fluids* 2004; 29: 1 - 29.
11. Basile A, Jiménez-Carmona MM and Clifford AA. Extraction of rosemary by superheated water. *Journal of Agricultural and Food Chem.* 1998; 46: 5205 - 5209.
12. De Melo MMR, Silvestre AJD and Silva CM. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. *The Journal of Supercritical Fluids* 2014; 9 (2): 115-176.
13. Sun H, Ge X, Lv Y and Wang A. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *Journal of Chromatography A.* 2012; 1237: 1-23.
14. Kubátová A, Lagadec AJ, Miller DJ and Hawthorne SB. Selective extraction of oxygenates from savory and peppermint using subcritical water. *Flavour and Fragrance J.* 2001; 16: 64-73.
15. Mota FL, Queimada AJ, Pinho SP and Macedo EA. Aqueous solubility of some natural phenolic compounds. *Industrial & Engineering Chemistry Research.* 2008; 47: 5182 - 5189.
16. Kaur S, Dhillon GS, Sarma SJ, Brar SK, Misra K and Oberoi HS. Waste Biomass: A Prospective Renewable Resource for Development of Bio-Based Economy/Processes. *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals.* Springer. 2014.
17. Niakousari M and Hoseinpur S. technology and management to ensure sustainable agriculture, agro systems, forestry and safety - extraction of antioxidant components from olive solid waste (osw) dried by different techniques, Italy, distafa 2009, pp: 24-25
18. Prado JM, Forster-Carneiro T, Rostagno MA,



Follegatti-Romero LA, Maugeri Filho F and Meireles MaA. Obtaining sugars from coconut husk, defatted grape seed, and pressed palm fiber by hydrolysis with subcritical water. *The Journal of Supercritical Fluids* 2014; 89: 89-98.

19. Reddy HK, Muppaneni T, Sun Y, Li Y, Ponnusamy S, Patil PD, Dailey P, Schaub T, Holguin FO, Dungan B, Cooke P, Lammers P, Voorhies W, Lu X and Deng S. Subcritical water extraction of lipids from wet algae for biodiesel production. *Fuel*. 2014; 133: 73-81.

20. Seo YH, Sung M and Han J-I. Recycle of algal residue suspension from acid-catalyzed hot-water extraction (AHE) as substrate of oleaginous yeast *Cryptococcus* sp. *Fuel*. 2015; 141: 222-225.

21. Wang W, Meng L and Huang Y. Hydrolytic degradation of monomer casting nylon in subcritical water. *Polymer Degradation and Stability* 2014; 110: 312 - 317.

22. Nakagawa T and Goto M. Recycling thermosetting polyester resin into functional polymer using subcritical water. *Polymer Degradation and Stability* 2015; 115: 16-23.

23. Narita Y and Inouye K. High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chem*. 2012; 135: 943 - 949.

24. Tunchaiyaphum S, Eshtiaghi M and Yoswathana N. Extraction of bioactive compounds from mango peels using green technology. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 2013; 4: 194 - 98.

25. Fernández-Ponce MT, Casas L, Mantell C, Rodríguez M and De La Ossa EM. Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2012; 72: 168-175.

26. Lee KA, Kim K-T, Kim HJ, Chung M-S, Chang P-S, Park H and Pai H-D. Antioxidant activities of onion (*Allium cepa* L.) peel extracts produced by ethanol, hot water, and subcritical

water extraction. *Food Science and Biotechnol*. 2014; 23: 615-621.

27. Musa TA, Sanagi MM, Ibrahim WaW, Ahmad F and Aboul-Enein HY. Determination of 4-Allyl Resorcinol and Chavibetol from Piper betle Leaves by Subcritical Water Extraction Combined with High-Performance Liquid Chromatography. *Food Analytical Methods* 2014; 7: 893-901.

28. Kanmaz EÖ. Subcritical water extraction of phenolic compounds from flaxseed meal sticks using accelerated solvent extractor (ASE). *European Food Research and Technol*. 2014; 238: 85-91.

29. Sarkar S, Alvarez VH and Saldaña MDA. Relevance of ions in pressurized fluid extraction of carbohydrates and phenolics from barley hull. *The Journal of Supercritical Fluids* 2014; 93: 27-37.

30. He L, Zhang X, Xu H, Xu C, Yuan F, Knez Ž, Novak Z and Gao Y. Subcritical water extraction of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) seed residues and investigation into their antioxidant activities with HPLC-ABTS+ assay. *Food and Bioproducts Processing*. 2012; 90: 215 - 223.

31. Wang H, Lu Y, Chen J, Li J and Liu S. Subcritical water extraction of alkaloids in *Sophora flavescens* Ait. and determination by capillary electrophoresis with field-amplified sample stacking. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2012; 58: 146 - 151.

32. Singh PP and Saldaña MD. Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Research International*. 2011; 44: 2452 - 2458.

33. Missopolinou D, Tsiptsias C, Lambrou C and Panayiotou C. Selective extraction of oxygenated compounds from oregano with sub-critical water. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2012; 92: 814-820.

34. Duba KS, Casazza AA, Mohamed HB, Perego P and Fiori L. Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using



- subcritical water: Experiments and modeling. *Food and Bioproducts Processing* 2015; 94: 29-38.
- 35.** Jayawardena B and Smith RM. Superheated water extraction of essential oils from *Cinnamomum zeylanicum* (L.). *Phytochemical Analysis* 2010; 21: 470-472.
- 36.** Mortazavi SV, Eikani MH, Mirzaei H, Jafari M and Golmohammad F. Extraction of essential oils from *Bunium persicum* Boiss. using superheated water. *Food and Bioproducts Processing* 2010; 88: 222 - 226.
- 37.** Huang P-P, Yang R-F, Qiu T-Q, Zhang W and Li C-M. Ultrasound-enhanced subcritical water extraction of volatile oil from *Lithospermum erythrorhizon*. *Separation Science and Technol.* 2010; 45: 1433 - 1439.
- 38.** Matshediso PG, Cukrowska E and Chimuka L. Development of pressurised hot water extraction (PHWE) for essential compounds from *Moringa oleifera* leaf extracts. *Food Chemistry* 2015; 172: 423-427.
- 39.** Pronyk C and Mazza G. Optimization of processing conditions for the fractionation of triticale straw using pressurized low polarity water. *Bioresource Technol.* 2011; 102: 2016 - 2025.
- 40.** Abdelmoez W, Nage SM, Bastawess A, Ihab A and Yoshida H. Subcritical water technology for wheat straw hydrolysis to produce value added products. *Journal of Cleaner Production* 2014; 70: 68-77.
- 41.** Benito-Román Ó, Alonso E, Gairola K and Cocero M. Fixed-bed extraction of β -glucan from cereals by means of pressurized hot water. *The Journal of Supercritical Fluids* 2013; 82: 122-128.
- 42.** Wang X, Chen Q and Lü X. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water. *Food Hydrocolloids* 2014; 38: 129-137.
- 43.** Chen H-M, Fu X and Luo Z-G. Properties and extraction of pectin-enriched materials from sugar beet pulp by ultrasonic-assisted treatment combined with subcritical water. *Food Chem.* 2015; 168: 302-310.
- 44.** Tanaka M, Takamizu A, Hoshino M, Sasaki M and Goto M. Extraction of dietary fiber from *Citrus junos* peel with subcritical water. *Food and Bioproducts Processing* 2012; 90: 180-186.
- 45.** Díaz MJ, Cara C, Ruiz E, Pérez-Bonilla M and Castro E. Hydrothermal pre-treatment and enzymatic hydrolysis of sunflower stalks. *Fuel.* 2011; 90: 3225-3229.
- 46.** Cardenas-Toro FP, Forster-Carneiro T, Rostagno MA, Petenate AJ, Maugeri Filho F and Meireles MaA. Integrated supercritical fluid extraction and subcritical water hydrolysis for the recovery of bioactive compounds from pressed palm fiber. *The Journal of Supercritical Fluids* 2014; 93: 42-48.
- 47.** Alvarez VH, Cahyadi J, Xu D and Saldaña MD. Optimization of phytochemicals production from potato peel using subcritical water: Experimental and dynamic modeling. *The Journal of Supercritical Fluids* 2014; 90: 8-17.
- 48.** Ong ES, Cheong JSH and Goh D. Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *Journal of Chromatography A.* 2006; 1112: 92-102.
- 49.** Cheigh C-I, Yoo S-Y, Ko M-J, Chang P-S and Chung M-S. Extraction characteristics of subcritical water depending on the number of hydroxyl group in flavonols. *Food Chem.* 2015; 168: 21-26.
- 50.** Khajenoori M, Asl AH, Hormozi F, Eikani M and Bidgoli HN. Subcritical water extraction of essential oils from *Zataria multiflora* Boiss. *Journal of Food Process Engineering* 2009; 32: 804-816.
- 51.** Carro AM, González P and Lorenzo RA. Applications of derivatization reactions to trace organic compounds during sample preparation based on pressurized liquid extraction. *Journal of Chromatography A.* 2013; 1296: 214-225.
- 52.** Puri M, Sharma D and Barrow CJ. Enzyme-



assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnol.* 2012; 30: 37-44.

53. Lenucci MS, De Caroli M, Marrese PP, Iurlaro A, Rescio L, Böhm V, Dalessandro G and Piro G. Enzyme-aided extraction of lycopene from high-pigment tomato cultivars by supercritical carbon dioxide. *Food Chem.* 2015; 170: 193-202.

54. Dandekar DV, Jayaprakasha G and Patil BS. Hydrotropic extraction of bioactive limonin from sour orange (*Citrus aurantium* L.) seeds. *Food Chem.* 2008; 109: 515-520.

55. Shukla T, Khare P and P PS. Role of hydrotropic salt solutions in pharmaceutical research: past present and future. *international Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014; 6: 3-6.

56. Carr AG, Branch A, Mammucari R and Foster NR. The solubility and solubility modelling of budesonide in pure and modified subcritical water solutions. *The Journal of Supercritical Fluids* 2010; 55: 37- 42.

57. Astello D, Kruse A and Fiori L. Biomass gasification in supercritical and subcritical water: The effect of the reactor material. *Chemical Engineering J.* 2013; 228: 535-544.

58. Chen X-Y, Shang Y-L, Li Y-H, Wang J-X, Maimouna AG, Li Y-X, Zou D, Foster NR, Yun J and Pu Y. Green preparation of uniform prednisolone nanoparticles using subcritical water. *Chemical Engineering J.* 2015; 263: 20-26.

59. Carr A, Mammucari R and Foster N. Controlled precipitation of hydrophobic pharmaceuticals in subcritical water. *International Symposium of Supercritical Fluids, France, Arcachon, 2009*, pp: 18-19.

60. Carr AG, Mammucari R and Foster N. A review of subcritical water as a solvent and its utilisation for the processing of hydrophobic organic compounds. *Chemical Engineering J.* 2011; 172: 1-17.

61. Carr AG, Mammucari R and Foster NR. Particle formation of budesonide from alcohol-modified subcritical water solutions. *International Journal of Pharmaceutics* 2011; 405: 169-180.

62. Ibanez I, Cifuentes A, Rodriguez-Meizoso I, Mendiola J, Reglero G, Señorans F and Turner C. Device and process for the on-line extraction and drying of complex extracts. *Spanish Patent.* 2009 (P200900164).

63. Andersson J, Lindahl S, Turner C and Rodriguez-Meizoso I. Pressurised hot water extraction with on-line particle formation by supercritical fluid technology. *Food Chem.* 2012; 134: 1724-1731.

64. Herrero M, Plaza M, Cifuentes A and Ibáñez E. Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and in-vitro assays. *Journal of Chromatography A.* 2010; 1217: 2512-2520.

65. Valle JMD and De La Fuente JC. Supercritical CO₂ extraction of oilseeds: review of kinetic and equilibrium models. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2006; 46: 131-160.

66. Khajenoori, Haghighi Asl and Eikani. modeling of subcritical water extraction process of medicinal plants. *Journal of Modeling in Engineering* 2013; 11: 83-91.

67. Sovová H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. *The Journal of Supercritical Fluids* 2005; 33: 35-52.

68. Salgueiro-González N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P and Prada-Rodríguez D. Pressurized hot water extraction followed by miniaturized membrane assisted solvent extraction for the green analysis of alkylphenols in sediments. *Journal of Chromatography A.* 2015; 1383: 8-17.

