

بررسی کارایی فرایند گاز-حلال برای استخراج اسانس پوست دارچین و بذر زیره سبز

محمدحسن ایکانی^{۱*}، ناهید خندان^۲

۱. دانشیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
۲. استادیار، گروه فناوری‌های شیمیایی سبز، پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

(تاریخ دریافت: 94/12/18، تاریخ پذیرش: 95/3/12)

چکیده

با توجه به منابع غنی و تنوع گیاهان دارویی در کشور ما ایران، توسعه فناوری‌های مرتبط از اولویت ویژه‌ای می‌تواند برخوردار باشد. در این پژوهش از فرایند گاز-حلال به کمک حلال هیدروفلوروکربن که یکی از جدیدترین فناوری‌های توسعه داده شده جهت استخراج مواد مؤثره گیاهی است و دستگاه مربوط به آن برای اولین بار در ایران، در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، طراحی و ساخته شده است، برای استخراج اسانس از پوست درخت دارچین و بذر گیاه زیره سبز استفاده شد. برای این منظور استخراج اسانس از پوست درخت دارچین و بذر گیاه زیره سبز با استفاده از حلال هیدروفلوروکربن R134a در شرایط فشار، با اندازه ذرات و زمان‌های مختلف انجام گرفت و نتایج حاصله، بر اساس استخراج اجزاء مؤثر اصلی تشکیل‌دهنده اسانس دارچین و هم‌چنین اسانس بذر زیره سبز، با اسانس استخراج شده به روش متداول تقطیر با آب در دستگاه کلیونجر مقایسه شد. نتایج حاصل از استخراج با حلال R134a نشان داد که شرایط بهینه برای استخراج اسانس از پوست درخت دارچین و هم‌چنین بذر زیره سبز عبارتند از فشار برابر 10 bar، اندازه ذرات برابر 0/3 mm و زمان استخراج برابر 120 min. مقایسه این نتایج با استخراج به روش متداول تقطیر با آب، نشانگر افزایش 13 درصدی میزان ماده مؤثره سینام آلدئید در اسانس پوست درخت دارچین و هم‌چنین افزایش 12 درصدی در میزان ماده مؤثره کومین آلدئید، گاما-ترپینن 7-آل و آلفا-ترپینن 7-آل در اسانس بذر زیره سبز بود که حاکی از کیفیت بهتر اسانس استخراج شده به روش گاز-حلال با استفاده از حلال R134a می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فرایند گاز-حلال، استخراج اسانس، هیدروفلوروکربن، R134a، دارچین، زیره سبز.

1- مقدمه

جایگزین ترکیبات کلروفلوروکربن (CFCها)، در صنایع برودتی توسعه یافت. فشار بخار این حلال در دمای اتاق، بزرگ‌تر از فشار اتمسفر (5/6 bar) است و بنابراین نقطه جوش بسیار پایینی (25 °C-) دارد و این خاصیت، امکان انجام فرایند استخراج را در دمای اتاق و یا حتی کم‌تر فراهم می‌سازد. این حلال به‌طور معمول قبل از ترکیبات فرار مطلوب موجود در اسانس، از جوشش می‌افتد و بنابراین به راحتی و بدون نیاز به بالابردن دما و یا ایجاد خلاء، به‌طور کامل از محصول جدا شده و در نتیجه کیفیت اسانس استخراج شده در اثر افزایش دما و یا کاهش فشار، کاهش نمی‌یابد. مقدار حلال باقی‌مانده در اسانس استخراج شده بعد از فرایند بازیافت حلال بسیار کم و در حد 0/02 ppm یا کم‌تر گزارش شده است که این میزان تقریباً یک صدم سایر حلال‌های آلی هم‌چون دی‌کلرومتان می‌باشد [5, 6]. علاوه بر این از آن‌جایی که این حلال به‌طور کامل خنثی بوده و خاصیت اسیدی یا قلیایی ندارد، لذا اثرات ناشی از واکنش حلال با مواد مؤثره گیاهی، در این روش به حداقل می‌رسد و با توجه به این که فرایند در pH خنثی و در غیاب اکسیژن انجام می‌شود، محصول متحمل صدمات ناشی از هیدرولیز اسیدی و یا اکسیداسیون نیز نخواهد شد. از طرف دیگر با توجه به حلالیت کم روغن‌های معدنی یا تری‌گلیسریدها در این حلال، لذا موم‌های گیاهی در آن حل نشده و بنابراین این حلال می‌تواند به‌عنوان یک حلال‌گزینش‌پذیر به خوبی عمل کند. در کنار تمام این مزایا که منجر به تولید اسانسی با کیفیت بسیار بالاتر نسبت به سایر روش‌های استخراج می‌گردد، حلال مورد استفاده در این روش غیرسمی و غیرقابل اشتعال بوده و به‌طور پیوسته به سیستم بازگردانده می‌شود و حتی در صورت نشت کردن به محیط، به دلیل عدم حضور کلر، تأثیر مخرب بر لایه ازن ندارد. توده زیستی پسماند این روش نیز گیاه خشک است که زیست‌سازگار می‌باشد و مشکلات مربوط به دفع پساب را ندارد. بدین ترتیب، استخراج با این روش، مشکلات زیست محیطی را به حداقل می‌رساند [7-9]. با توجه به مزایای ذکر شده، در این پژوهش روش گاز-حلال با استفاده از حلال هیدروفلوروکربن R134a برای استخراج اسانس از پوست درخت دارچین و هم‌چنین زیره سبز مورد استفاده قرار گرفت. گیاه دارچین با نام علمی (*Cinnamomum zeylanicum Blume*).

گیاهان حاوی طیف گسترده‌ای از ترکیبات زیست فعال هم‌چون چربی‌ها، مواد شیمیایی گیاهی، مواد مؤثره دارویی، مواد معطر، طعم دهنده‌ها و رنگدانه‌ها هستند. تاکنون دانشمندان برای استحصال این ترکیبات ارزشمند از گیاهان، روش‌های تجاری مختلف استخراج را مورد بررسی قرار داده‌اند و توسعه روش‌های جدید استخراج، با زمان استخراج کم‌تر، مصرف حلال کم‌تر و هم‌چنین آلودگی کم‌تر محیط زیست هم‌چنان مورد توجه پژوهشگران قرار دارد. روش‌های جدید استخراج هم‌چون استخراج با کمک امواج فراصوت¹، استخراج با کمک امواج میکروویو²، استخراج با حلال سریع شده³ و در نهایت استخراج به روش گاز-حلال و یا همان فیتونیک⁴، روش‌هایی سریع و پربازده برای استخراج مواد شیمیایی از گیاه جامد به‌شمار می‌روند که تا حد زیادی زمان استخراج را کاهش می‌دهند [1]. از این میان استخراج به روش گاز-حلال با کاهش هزینه‌های مصرف حلال و انرژی، همراه با کاهش زمان استخراج و کاهش آلاینده‌گی زیست محیطی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در روش گاز-حلال از نسل جدیدی از حلال‌ها بر اساس هیدروفلوروکربن R134a استفاده می‌شود که مزایای زیست محیطی قابل توجه و هم‌چنین فواید بهداشتی و ایمنی بسیار بیش‌تری نسبت به فرایندهای متداول استخراج دارا می‌باشد و عصاره‌های بیولوژیکی، طعم‌دهنده‌ها و اسانس‌ها را با کیفیت بسیار بالاتری تولید می‌کند. شرکت فیتونیک پیشرفته⁵ (واقع در منچستر انگلستان) برای اولین بار این تکنولوژی انحصاری را با عنوان فرایند فیتونیک توسعه داد. محصولاتی که به‌طور عمده با این روش استخراج می‌شوند، ترکیبات معطر اسانس‌ها، مواد بیولوژیکی و مواد مؤثره دارویی گیاهان هستند که پس از استخراج با این روش، می‌توانند به‌طور مستقیم و بدون نیاز به فراوری فیزیکی و شیمیایی بیش‌تر مورد استفاده قرار گیرند [2-4]. هسته اصلی حلال مورد استفاده در این روش، ۱،۱،۱-تترافلورواتان است که با نام هیدروفلوروکربن 134a (HFC134a یا R134a) شناخته می‌شود و به‌عنوان

1. Ultrasound extraction (Sonication)

2. Macrowave extraction

3. Accelerated solvent extraction

4. Phytonics

5. ADVANCED PHYTONICS LIMITED

سبز حاوی تا 5 درصد اسانس، 22 درصد چربی، تعداد زیادی اسید آمینه آزاد، تعدادی فلاونوئیدهای گلوکزیدی از جمله مشتقاتی از آپی ژنین و لوتئولین است. ترکیبات اصلی، اسانس آلدئیدی هستند که تا 60 درصد آن را تشکیل می‌دهند. کومین آلدئید مهم‌ترین سازنده اسانس زیره سبز است. ترکیبات دیگر اسانس هیدروکربن‌های منوترپنی و سزکویی ترپنی است. یکی از بهترین نشانه‌های مرغوبیت و کهنه نبودن دانه‌ها، وجود کومین آلدئید به مقدار قابل توجه در اسانس است [15، 16]. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر استخراج به روش گاز-حلال و با استفاده از حلال هیدروفلوروکربنه بر میزان و کیفیت اسانس‌های استخراج شده از پوست درخت دارچین و بذر گیاه زیره سبز بود که برای این منظور استخراج اسانس با استفاده از حلال هیدروفلوروکربنه R134a و به کمک دستگاه استخراج با حلال‌های هیدروفلوروکربنه که برای اولین بار در ایران و در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران طراحی و ساخته شده است، در شرایط فشار، با اندازه ذرات و زمان‌های مختلف انجام گرفت و نتایج حاصله با اسانس استخراج شده به روش متداول تقطیر با آب در دستگاه کلیونجر مقایسه شد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

پوست درخت دارچین و بذر گیاه زیره سبز از آزمایشگاه استاندارد سازی گیاهان دارویی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. کپسول گاز R134a با وزن 13/5 kg با فشار حدود 12 bar از بازار داخل ایران (Rhodia, China) خریداری شد. از ماده شیمیایی نرمال-نونان (Merck) به عنوان استاندارد داخلی (IS) در آنالیزهای GC بهره‌گیری شد. حلال نرمال-هگزان با درجه خلوص HPLC (Aldrich Chemical Co., USA) برای انجام استخراج‌های مایع-مایع مورد استفاده قرار گرفت.

2-2- آنالیزها

برای تشخیص ترکیبات موجود در هر یک از اسانس‌های استخراج شده از آنالیزهای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی همراه با اسپکترومتری جرمی (GC-MS)

درختی از راسته لورالس تیره برگ بویان سرده دارچینیان است. دارچین درختی است کوچک، همیشه سبز، به ارتفاع 5 تا 7 متر که بومی سری‌لانکا و جنوب هند می‌باشد. برگ این درخت، سبز سیر و دارای گل‌هایی به رنگ سفید است و پوست آن به عنوان ادویه به کار می‌رود. در قرون وسطی دارچین برای درمان سرفه، ورم مفاصل و گلودرد استفاده می‌شد [10]. تحقیقات جدید نیز بر خواص و فواید پزشکی دارچین تاکید دارند. در حال حاضر این گیاه در صنایع غذایی به عنوان طعم‌دهنده و در صنایع دارویی به عنوان آنتی‌اکسیدان، ضد قارچ و ضد باکتری کاربردهای فراوانی دارد. اسانس دارچین که تنها قسمت مهم دارچین است به مقدار یک درصد در پوست درخت مذکور وجود دارد. به طور معمول، برای تهیه اسانس از گیاه دارچین از دو بخش مختلف پوست و برگ استفاده می‌شود. از بین دو بخش یاد شده گیاه، اسانس پوست درخت دارچین از نظر اقتصادی گران‌تر بوده و کاربرد بیش‌تری دارد. مهم‌ترین ماده متشکله پوست درخت دارچین سینام آلدئید¹ می‌باشد که به طور معمول بیش از 80٪ اسانس را تشکیل می‌دهد، در حالی که اسانس به دست آمده از برگ دارچین غنی از اوژنول می‌باشد [11-14]. زیره سبز، گیاهی بوته‌ای و علفی به ارتفاع حداکثر نیم متر است. ساقه این گیاه راست و دارای انشعابات دوتایی است. میوه‌های آن دوکی شکل و به طول حداکثر شش میلی‌متر می‌باشند که سبز کم رنگ مایل به خاکستری هستند و بوی معطری دارند. غیر از میوه، قسمت‌های دیگر گیاه نیز معطر است. قسمت مورد استفاده این گیاه، میوه‌های آن است که سرشار از اسانس است. ایران یکی از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین تولیدکنندگان زیره سبز در دنیا است. زیره سبز در ایران به صورت خودرو یا کشت شده وجود دارد و مهم‌ترین مناطق رشد و تکثیر آن گستره وسیعی از استان خراسان از جمله سبزوار، مشهد و اطراف سرخس، اطراف سمنان، اطراف تهران، اطراف دامغان و بسیاری دیگر از نواحی مستعد ایران می‌باشد. زیره سبز سازنده اصلی پودرهای کاری و چیلی است و به عنوان طعم‌دهنده در محصولات غذایی تجاری متنوعی به کار می‌رود. روغن این گیاه از طریق تقطیر با بخار آب، برای مزه‌دار کردن نوشیدنی‌ها، دسرها و چاشنی‌ها مصرف می‌شود و همچنین سازنده معطر کرم‌ها، لوسیون‌ها و عطریات است. دانه‌های زیره

1. Cinnamaldehyde

استفاده شد. دستگاه گازکروماتوگرافی گازی که در انجام آزمایش‌های مربوط به تشخیص سازنده‌های اسانس‌ها مورد استفاده قرار گرفت، از نوع YL Instrument (Model 6500GC, South Korea) مستقر در پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران بوده است. دتکتور دستگاه از نوع FID بوده و ستون مناسب برای انجام آنالیز از نوع DB-1 (25 m × 0/53 mm) با ضخامت فیلم 1/0 μm در نظر گرفته شد. گاز حامل دستگاه نیتروژن (شرکت رهام گاز) و شدت جریان مورد استفاده 30 mL/min بوده است. دمای دتکتور برابر 250°C، دمای محل تزریق 240°C و دمای ستون تحت برنامه دمایی 60 تا 240°C با سرعت 3 °C/min در نظر گرفته شد. حجم نمونه‌های تزریقی برابر 0/5 μL به روش دستی بوده است. در انجام آنالیزهای GC-MS از دستگاه Varian Saturn 3400 (سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور-آزمایشگاه فیتوشیمی) استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع DB-5 (30 m × 0/25 mm) با ضخامت فیلم 0/25 μm و دتکتور دستگاه Varian ion trap بوده و شرایط GC به این شرح بوده است: دمای آون از 60 تا 240°C با سرعت دمایی 3 °C/min، دمای محل تزریق و دمای خط انتقال به ترتیب 250 و 260 °C، گازحامل: هلیوم با دبی 1 mL/min، نسبت جدایش (splitting ratio) برابر 1:60. دمای دتکتور در 240°C ثابت نگاه‌داشته شد. شرایط اسپکترومتر جرمی عبارت بود از: انرژی یونیزاسیون: 70 eV، دامنه جرمی: 40 تا 400 amu، اسکن مد EI.

3-2- سیستم استخراج

برای استخراج اسانس به روش متداول تقطیر با آب، از دستگاه کلیونجر استفاده گردید و برای انجام فرایند استخراج با استفاده از حلال R134a، از سیستم استخراج به روش گاز-حلال برای حلال‌های هیدروفلوروکربنه که برای اولین بار در ایران در پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران طراحی و ساخته شده است، استفاده شد. دستگاه استخراج طراحی شده برای استخراج با حلال R134a از بخش‌های ساده‌ای تشکیل شده است و در عین حال، با فرایندهای پیچیده‌تری چون استخراج با سیال فوق بحرانی

رقابت می‌کند. این دستگاه به‌طور عمده شامل یک بخش فشار بالا برای انجام عمل استخراج و یک بخش فشار پایین با دمای پایین‌تر، برای جداسازی اسانس استخراج می‌باشد. چنان‌که در شکل (1) نشان داده شده، انجام فرایند بین دو بخش اصلی به صورت چرخه‌ای و توسط کمپرسور رخ می‌دهد. گاز R134a پس از فشار گرفتن توسط کمپرسور به شکل گاز داغ از مبدل گرمایی HX1 عبور کرده و به مایع سرد تبدیل می‌شود. پس از این مرحله، حلال مایع برای انجام عمل استخراج مورد استفاده قرار می‌گیرد. پس از استخراج اسانس، با عبور از یک شیر سوزنی، حلال وارد بخش فشار پایین شده و در ظرف جداساز، با کاهش فشار و ایجاد سرما، محصول جمع‌آوری می‌شود. گاز کم فشار با عبور از یک فیلتر دوباره به سمت کمپرسور روانه می‌شود و این فرایند می‌تواند به صورت چرخه‌ای به شکل پیوسته ادامه یابد. اندازه‌گیری دما و فشار در دو بخش ظرف استخراج و ظرف جداسازی به تفکیک صورت می‌گیرد. نمای دستگاه ساخته شده و دیگرام فرایندی دستگاه در شکل (1) نشان داده شده است. برای انجام آزمایش‌ها، از طراحی آزمایش‌ها و تحلیل آماری نتایج از روش تاگوچی استفاده شد. در انجام طراحی نرم افزار Minitab Version 15.1.30 مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس روش تاگوچی در نرم‌افزار Minitab به صورت L9 با سه سطح فاکتور و هر یک با سه سطح، در مجموع 9 آزمایش برای هر یک از گیاهان صورت گرفت. آنچه از محدود مقالات منتشر شده در زمینه استخراج از گیاهان با استفاده از حلال‌های هیدروفلوروکربنه برمی‌آید، از جمله مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر فرایند استخراج، فشار، اندازه ذرات و زمان می‌باشند. لذا در پژوهش حاضر نیز مهم‌ترین عوامل شامل فشار، اندازه ذرات و زمان در نظر گرفته شدند و با بررسی این عوامل، بهترین شرایط فرایندی با روش تاگوچی به عنوان یک روش تحلیل آماری مناسب، تعیین گردید.

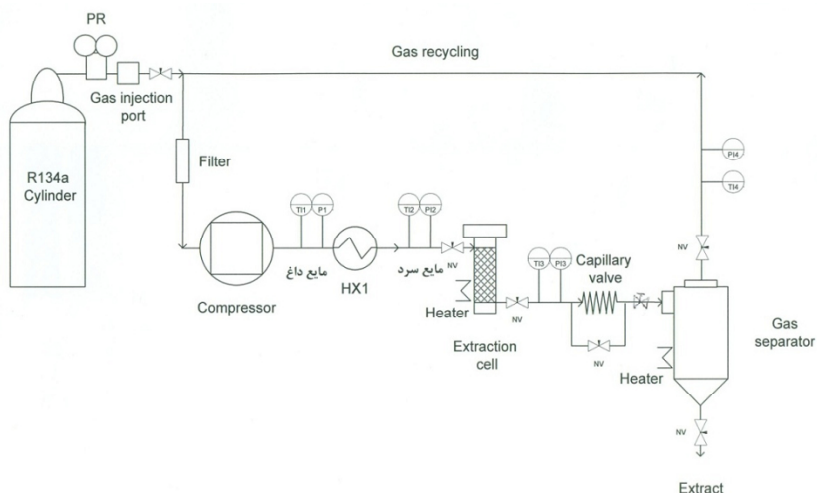
3- نتایج و بحث

3-1- استخراج اسانس از پوست دارچین

برای تشخیص اجزای اسانس پوست دارچین، از ده گرم گیاه آسیاب شده به روش تقطیر با آب اسانس تهیه گردیده و مورد آنالیز GC-MS قرار گرفت. در جدول (1) اجزاء شناسایی شده اسانس



(الف)



(ب)

شکل (1) (الف) نمای دستگاه ساخته شده استخراج به روش گاز-حلال، (ب) نمودار فرایندی دستگاه استخراج به روش گاز-حلال با استفاده از حلال‌های هیدروفلوروکربنه

پوست دارچین با دستگاه GC-MS آورده شده است. میزان شند و محدوده متغیرهای انتخابی در جدول (2) درج شده عمل استخراج پس از آسیاب کردن نمونه‌ها صورت گرفت. در کلیه آزمایش‌های صورت گرفته بر پوست دارچین، ده گرم نمونه آسیاب شده مورد عمل قرار گرفت. همان‌طور که در بخش قبل ذکر گردید، برای انجام آزمایش‌ها از روش تاگوچی در نرم‌افزار Minitab به صورت L9 با سه سطح فاکتور و هر یک با سه سطح، در مجموع 9 آزمایش صورت گرفت که در آن پارامترهای فشار، اندازه ذرات و زمان به‌عنوان متغیرهای فرایند در نظر گرفته شدند و محدودده متغیرهای انتخابی در جدول (2) درج شده است در این نرم افزار، نوع محاسبات تابع هدف بر مبنای بیش‌تر/بهرتر گذاشته شد. این امر بدین معنی است که رسیدن به بالاترین مقدار بازده اسانس هدف و مطلوب نظر می‌باشد. میزان بازده استخراج بر اساس حجم اسانس به وزن خشک گیاه گزارش شد. مهم‌ترین سازنده اسانس دارچین، سینام آلدئید است و لذا تاثیر استخراج بر میزان بازده این ماده،

جدول (1) اجزاء شناسایی شده اسانس پوست درخت دارچین توسط کروماتوگرام GC-MS

شماره	ترکیب	*RI	سطح زیر پیک
1	Z-cinnamaldehyde	1216	0/385
2	E-cinnamaldehyde	1278	75/486
3	α -Copaene	1379	9/601
4	E-Caryophyllene	1421	0/439
5	Germacrene D	1482	0/940
6	α -Muurelene	1501	3/472
7	δ -Cadinene	1524	8/326
8	Cubenene	1535	1/355

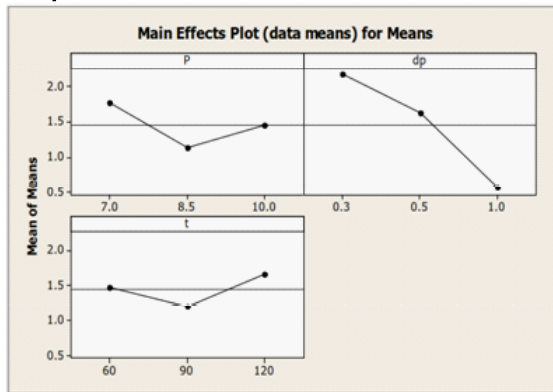
*RI: اندیس ماند برای ستون DB-5

ارتقاء می‌یابد. بنابراین با وجود این که طبق جدول (2)، بالاترین میزان S/N در شرایط ردیف یک به دست آمد، شرایط بهینه برای استخراج، فشار 10 bar، اندازه ذرات 0/3 mm و زمان استخراج 120 min در نظر گرفته شد.

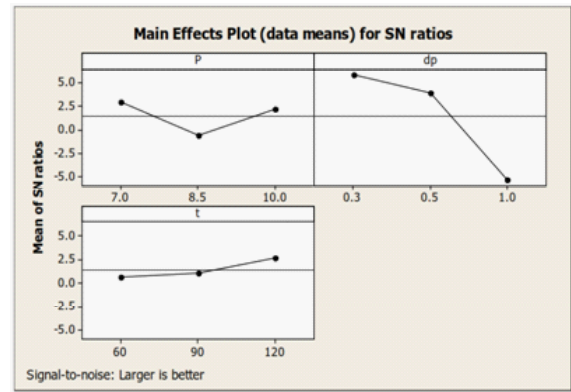
برای مقایسه روش استخراج با حلال R134a در شرایط بهینه حاصل از پیش بینی مدل و روش متداول تقطیر با آب، استخراج اسانس از پوست دارچین به روش تقطیر با آب نیز توسط کلیونجر صورت گرفت و اسانس‌های به دست آمده از هر دو روش مورد آنالیز GC قرار گرفته و از نظر میزان ماده مؤثره اصلی یعنی E-سینام آلدئید مورد مقایسه قرار گرفتند. برای انجام آنالیز GC، از محلول 60 میکرولیتر ماده نرمال-نونان در 5 mL حلال هگزان، 500 میکرولیتر برداشته و به نمونه اسانس اضافه گردید. از محلول حاصله، مقدار یک میکرولیتر توسط سرنگ به دستگاه GC تزریق شد. در جدول (3) ترکیب اجزاء موجود در اسانس تهیه شده به این دو روش مقایسه شده است. بر طبق این اطلاعات میزان استخراج ماده اصلی در گیاه دارچین یعنی E-سینام آلدئید با روش استفاده از حلال هیدروفلوروکربن مقدار بیش تری نشان داد. این نتیجه برای سایر مواد موجود نیز کم و بیش صادق است. از مقایسه مقادیر به دست آمده برای میزان سینام آلدئید استخراج شده با این دو روش مشاهده می‌شود که میزان این ترکیب در اسانس استخراج شده با استفاده از حلال R134a به میزان 13٪ بیش تر از اسانس استخراج شده به روش متداول تقطیر با آب می‌باشد، لذا کیفیت این اسانس از لحاظ بو و حضور ماده مؤثره اصلی بهتر از اسانس استخراج شده

مد نظر قرار گرفت. مقدار بازده به صورت حاصل تقسیم سطح زیر پیک سینام آلدئید به سطح زیر پیک استاندارد داخلی (نرمال نونان) محاسبه شد. در جدول (2) نتایج بازده و نسبت سیگنال به نویز آورده شده است. عامل اصلی در بررسی آماری به روش تاگوچی، نسبت سیگنال به نویز S/N است. بر اساس تحلیل این روش، هر آزمایش که دارای بالاترین مقدار S/N باشد شرایط بهینه را نشان خواهد داد. بر طبق نتایج ارائه شده در جدول (2)، در آزمایش‌های صورت گرفته، ردیف یک و سپس ردیف هفت بالاترین میزان S/N را نشان می‌دهند.

تحلیل پاسخ با استفاده از نرم افزار Minitab برای دو مقدار S/N و میانگین بازده صورت گرفت. چنان که مشاهده می‌شود، در شکل (2-الف) تغییر مقدار S/N نسبت به تغییر مقدار فشار، اندازه ذرات و زمان آورده شده و همچنین در بخش (ب) همان شکل، تغییر میانگین نسبت به تغییر این سه فاکتور نشان داده شده است. همان گونه که در شکل (2) مشاهده می‌شود، رفتار نسبت به افزایش قطر ذرات روند کاهشی و نسبت به افزایش زمان، روند افزایشی از خود نشان می‌دهد. در حالی که رفتار نسبت به فشار متفاوت بوده و ابتدا به صورت کاهشی و سپس با روند افزایشی تغییر می‌کند، به طوری که دارای یک مقدار کمینه در فشار 8/5 bar است. بر طبق این نتایج هر چه زمان استخراج افزایش و قطر ذرات کاهش یابد، بازده استخراج نیز افزایش می‌یابد. مطابق شکل (2)، با افزایش فشار و زمان، میزان حجم اسانس به وزن خشک گیاه و همچنین کیفیت اسانس استخراج شده از نظر میزان ماده مؤثره اصلی در آن



(ب)



(الف)

شکل (2) ترسیم نسبت S/N (الف) و میانگین (ب) برای بازده (Y) دارچین نسبت به فاکتورها

جدول (2) نتایج تجربی و نسبت S/N بر اساس روش تاگوچی برای بازده دارچین

شماره آزمایش	X_1 (P, bar)	X_2 (dp, mm)	X_3 (t, min)	بازده (%v/w) مبنای خشک	نسبت S/N
1	7	0/3	60	3/0	9/542
2	7	0/5	90	1/8	5/106
3	7	1	120	0/5	-6/021
4	8/5	0/3	90	1/0	0/000
5	8/5	0/5	120	2/0	6/021
6	8/5	1	60	0/4	-7/959
7	10	0/3	120	2/5	7/959
8	10	0/5	60	1/05	0/424
9	10	1	90	0/8	-1/938

جدول (3) مقایسه ترکیب درصد اسانس دارچین به دست آمده از حلال R134a در شرایط بهینه و تقطیر با آب

شماره	ترکیب	استفاده از حلال ^a R134a	تقطیر با آب ^b
1	Z-cinnamaldehyde	t*	-
2	E-cinnamaldehyde	7/918	7/008
3	α -Copaene	0/260	0/054
4	E-Caryophyllene	t	-
5	Germacrene D	t	-
6	α -Muurelene	0/195	0/062
7	δ -Cadinene	0/260	0/075
8	Cubenene	t	0/060

a فشار = 10 bar، اندازه ذرات = 0/30 mm، زمان = 120 min

b زمان استخراج = 3 h

* t = trace < 0.01

به روش تقطیر با آب می‌باشد.

3-2- استخراج اسانس از بذر زیره سبز

استخراج بر مبنای این مواد تعریف گردید. در شرایط کلی می‌توان تمامی اجزای اسانس را نیز ملاک عمل قرار داد. در این آزمایش‌ها نیز همانند استخراج از پوست دارچین، پارامترهای فشار، اندازه ذرات و زمان به عنوان متغیرهای فرایند در نظر گرفته شد و بر اساس روش تاگوچی به صورت L9 با سه سطح فاکتور و هر یک با سه سطح، در مجموع 9 آزمایش صورت گرفت. در جدول (5) نتایج تجربی برای بازده و نسبت سیگنال به نویز بر اساس پیش بینی مدل آورده شده است. با توجه به این که بر اساس تحلیل روش تاگوچی، هر آزمایش که دارای بالاترین مقدار S/N باشد شرایط بهینه را نشان خواهد داد، در آزمایشات صورت گرفته، ردیف هفت به‌عنوان بهترین شرایط انتخاب شد. بر اساس اطلاعات این ردیف، بهترین شرایط کاری در بالاترین فشار برابر 10 bar، کوچک‌ترین اندازه ذرات برابر 0/3 mm و بالاترین زمان استخراج برابر 120 min حاصل می‌شود.

مطابق قبل، تحلیل پاسخ با استفاده از نرم افزار Minitab برای دو مقدار S/N و میانگین بازده صورت گرفت. چنان‌که مشاهده می‌شود، در شکل (3-الف) تغییر مقدار S/N نسبت به

دومین گیاهی که مورد بررسی قرار گرفت زیره سبز بود و عمل استخراج پس از آسیاب نمودن بذرها، بر روی 10 g نمونه آسیاب شده صورت گرفت. برای تشخیص اجزای اسانس بذر گیاه زیره سبز، مطابق قبل، نمونه‌ای از اسانس آن از 10 g گیاه آسیاب شده به روش تقطیر با آب تهیه گردیده و مورد آنالیز GC-MS قرار گرفت. در جدول (4) اجزای شناسایی شده توسط کروماتوگرام GC-MS به‌دست آمده از اسانس بذر گیاه زیره سبز آورده شده است. بر طبق جدول (4)، از جمله مواد مهم موجود در زیره سبز، کومین آلدئید، گاما-ترپینن 7-آل و آلفا-ترپینن 7-آل هستند، از همین رو اثر استخراج بر این سه ماده در برآورد میزان بازده، مد نظر قرار گرفت. بدین صورت که میزان بازده بر اساس حاصل جمع سطح زیر پیک این سه ماده تقسیم بر سطح زیر پیک استاندارد داخلی (نرمال نونان) محاسبه شد. در واقع برای سهولت دستیابی سریع‌تر به نتیجه، میزان بازده

جدول (4) اجزاء شناسایی شده اسانس بذر زیره سبز توسط کروماتوگرام GC-MS

شماره	ترکیب	*RI	سطح زیر پیک
1	Tricyclene	926	0/277
2	α -Thujene	928	0/979
3	Sabinene	975	0/810
4	β -Pinene	980	19/493
5	Myrcene	993	1/204
6	α -phellandrene	1008	0/342
7	p-cymene	1028	11/866
8	Limonene	1031	0/695
9	1,8-cineole	1035	0/156
10	γ -Terpinene	1065	18/968
11	Unknown	-	0/477
12	Cumin aldehyde	1242	17/775
13	α -Terpinen-7-al	1286	7/772
14	γ -Terpinen-7-al	1291	18/728
15	Daurcene	1388	0/235
16	(E,E)- α -Farnesene	1512	0/231

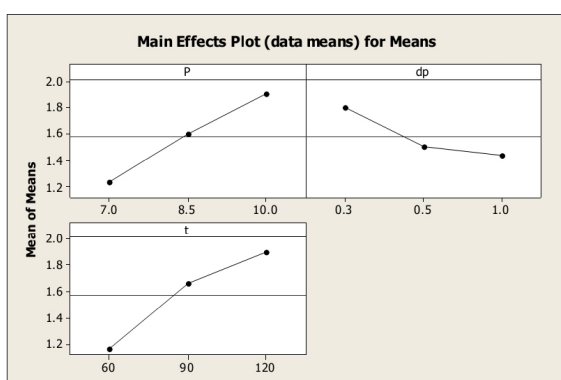
*RI: اندیس ماند برای ستون DB-5

جدول (5) نتایج تجربی و نسبت S/N بر اساس روش تاگوچی برای بازده زیره سبز

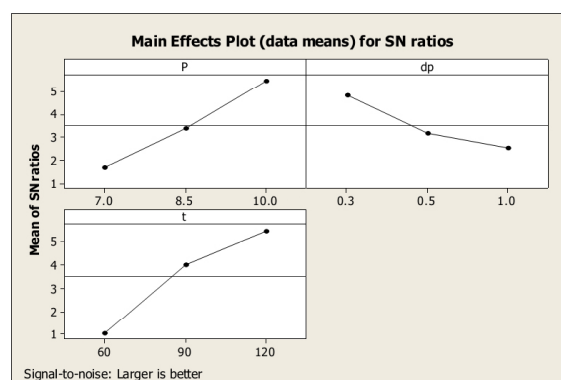
شماره آزمایش	X_1 (P, bar)	X_2 (dp, mm)	X_3 (t, min)	بازده (%v/w) مبنای خشک	نسبت S/N
1	7	0/3	60	1/2	1/584
2	7	0/5	90	1/0	0/000
3	7	1	120	1/5	3/522
4	8/5	0/3	90	2/0	6/021
5	8/5	0/5	120	2/0	6/021
6	8/5	1	60	0/8	1/938-
7	10	0/3	120	2/2	6/848
8	10	0/5	60	1/5	3/522
9	10	1	90	2/0	6/021

نیز مطابق قبل انجام شد. در جدول (6) مقایسه دو روش دیده می‌شود. بر طبق این اطلاعات، در مجموع میزان استخراج مواد غالب اسانس بذر گیاه زیره سبز، یعنی کومین آلدئید، گاما-ترپینن 7-آل و آلفا-ترپینن 7-آل با روش گاز-حلال مقدار بیش‌تری دارد. از مقایسه مجموع مقادیر به‌دست آمده کومین آلدئید، گاما-ترپینن 7-آل و آلفا-ترپینن 7-آل استخراج شده با این دو روش مشاهده می‌شود که میزان این ترکیبات در اسانس استخراج شده با استفاده از حلال R134a به میزان 12٪ بیش‌تر از اسانس استخراج شده به روش متداول تقطیر با آب می‌باشد، لذا کیفیت این اسانس از لحاظ عطر و حضور ماده مؤثره اصلی به‌طور قابل توجهی بهتر از اسانس استخراج شده به روش تقطیر با آب می‌باشد.

تغییر مقدار فشار، اندازه ذرات و زمان آورده شده و هم‌چنین در بخش (ب) همان شکل، تغییر میانگین نسبت به تغییر این سه فاکتور نشان داده شده است. همان‌طور که پیش از این در تحلیل جدول (5) اشاره شد، بالاترین فشار عملیاتی استخراج یعنی 10 bar، کم‌ترین اندازه ذرات به‌کار برده شده برابر 0/3 mm و بیش‌ترین زمان استخراج یعنی 120 min مناسب‌ترین شرایط را به دست داده است. آنالیز واریانس نشان داد که در مقایسه سه فاکتور استفاده شده، زمان استخراج، فشار و اندازه ذرات به ترتیب دارای بالاترین اثر بر میزان بازده بوده‌اند. در مورد زیره سبز نیز برای مقایسه روش استخراج گاز-حلال در شرایط بهینه حاصل از پیش‌بینی مدل، با روش متداول تقطیر با آب آزمایشی موازی صورت گرفت و آنالیز GC



(ب)



(الف)

شکل (3) ترسیم نسبت S/N (الف) و میانگین (ب) برای بازده (Y) زیره سبز نسبت به فاکتورها

جدول (6) مقایسه ترکیب درصد اسانس گیاه زیره سبز به دست آمده از حلال R134a در شرایط بهینه و تقطیر با آب

شماره	ترکیب	استفاده از حلال R134a ^a	تقطیر با آب ^b
1	Tricyclene	0/011	0/018
2	α -Thujene	0/036	0/009
3	Sabinene	t*	t
4	β -Pinene	0/875	0/089
5	Myrcene	0/087	0/022
6	α -phellandrene	t	-
7	p-cymene	0/351	0/047
8	Limonene	t	t
9	1,8-cineole	t	t
10	γ -Terpinene	1/591	0/140
11	Unknown	0/046	0/077
12	Cumin aldehyde	0/870	1/154
13	α -Terpinen-7-al	-	t
14	γ -Terpinen-7-al	2/560	1/867
15	Daucene	0/132	0/070
16	(E,E)- α -Farnesene	t	t

a فشار = 10 bar، اندازه ذرات = 0/30 mm، زمان = 120 min

b زمان استخراج = 3 h

* t = trace < 0.01

4- نتیجه‌گیری

اسانس دارچین و کومین آلدئید، گاما-ترپینن 7-آل و آلفا-ترپینن 7-آل به عنوان اصلی‌ترین اجزاء سازنده اسانس زیره سبز، نشان داد که استفاده از روش گاز-حلال، با افزایش 13% میزان استخراج سینام آلدئید و در مجموع افزایش 12% میزان استخراج کومین آلدئید، گاما-ترپینن 7-آل و آلفا-ترپینن 7-آل، نسبت به روش تقطیر با آب، اسانسی با کیفیت بهتر تولید می‌کند. بر طبق این نتایج، فرایند گاز-حلال با استفاده از حلال هیدروفلوروکربنه R134a، با توجه به ویژگی‌های منحصر به فردی که دارد، می‌تواند جایگزینی مناسب برای روش متداول تقطیر با آب جهت استخراج اسانس از گیاهان باشد.

اسانس پوست درخت دارچین و هم‌چنین بذر گیاه زیره سبز به روش گاز-حلال و با استفاده از حلال R134a، استخراج گردید. سیستم استخراج گاز-حلال مورد استفاده برای این انجام این فرایند، برای اولین بار در ایران در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران طراحی و ساخته شد. بهینه سازی شرایط استخراج به روش گاز-حلال، با استفاده از روش تاگوچی برای استخراج اسانس با تغییر عوامل فشار، اندازه ذرات و زمان صورت گرفت و نتایج حاصله از شرایط بهینه با روش متداول تقطیر با آب مقایسه شد. بازده استخراج بر اساس میزان استخراج سینام آلدئید به عنوان مهم‌ترین ترکیب

stituents from herbal plants, *Am. J. Phytomed. and Clinical Therapeutics*, 3, 338-350.

[2] Wilde, P.F. Fragrance extraction. U.S. Patent

منابع

[1] Shah Megha, V., Rohit Minal, C. (2013). Novel techniques for isolation and extraction of phyto-con-

- and their antifungal activities. *Phytother. Res.*, 18, 713-717.
- [13] Gopu, C.L., Aher, S., Mehta, H., Paradkar, A.R., Mahadik, K.R. (2008). Simultaneous determination of cinnamaldehyde, eugenol and piperine by HPTLC densitometric method. *Phytochemical Analysis*, 19, 116-121.
- [14] Wang, R., Wang, R., Yang, B. (2011). Comparison of volatile compound composition of cinnamon (*Cinnamomum cassia* Presl) bark prepared by hydrodistillation and headspace solid phase microextraction. *J. Food Process Eng.*, 34, 175-185.
- [15] Wikipedia, the free encyclopedia, Cumin, 2008. URL <https://en.wikipedia.org/wiki/Cumin>.
- [16] Derakhshan, S., Sattari, M., Bigdeli, M. (2010). Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacognosy magazine*, 6, 57-61.
- [3] Wilde, P. F. Process for extracting fixed and mineral oils. U.S. Patent 6,890,424, May 10, 2005.
- [4] Nicola, M. Solvent extraction. U.S. Patent 6,649,205, November 18, 2003.
- [5] Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakesh, D.D. (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 1th ed., INT. Centre for sci. and high technology (ICS- UNIDO), Trieste, Italy, pp 26-28.
- [6] Khambay, B.P.S. *Extraction and isolation of Artemisinin with HFC-134a*. In: Artemisinin Forum, Guilin, China, 2008. URL <https://goo.gl/v2Bst8>. Accessed 01.08.01.
- [7] Khambay, B.P.S. *Purification of Artemisinin with HFC-134a*. In: Artemisinin Conference, Hanoi, 2011. URL <http://goo.gl/j10TCV>. Accessed 02.11.11.
- [8] Stuart, C. (2005). 1,1,1,2-Tetrafluoroethane (R-134a): A selective solvent for the generation of flavor and fragrance ingredients. Natural flavors and fragrances. In: ACS Symposium Series, 908, 41.
- [9] Lapkin, A., Plucinski, P.K., Cutler, M. Comparative assessment of feasibility and environmental performance of different solvents for extraction of the natural antimalarial compound Artemisinin. In: Artemisinin Conference, 2007. <https://goo.gl/Z2zyxo>. Accessed 01.07.01.
- [10] Wikipedia, the free encyclopedia, *Cinnamomum verum*, 2008. URL <https://goo.gl/iOVdWv>.
- [11] Kaul, P.N., Bhattacharya, A.K., Rao, B.R.R., Syamasundar, K.V., Ramesh, S. (2003). Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *J. Sci. Food Agr.*, 83, 53-55.
- [12] Simic, A., Sokovic, M.D., Ristic, M., Grujic, Jovanovic, S., Vukojevic, J., Marin, P.D. (2004). The chemical composition of some Lauraceae essential oils