

## بررسی استخراج ترکیبات طبیعی گیاهان با کمک امواج میکروویو و فراصوت

مریم خواجه نوری<sup>۱\*</sup>، علی حقیقی اصل<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی دکتری، دانشکده مهندسی شیمی، نفت و گاز، دانشگاه سمنان

۲. دانشیار، دانشکده مهندسی شیمی، نفت و گاز، دانشگاه سمنان

(تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱۰، تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۴)

### چکیده

روش‌های سنتی دست‌پایی ترکیبات طبیعی گیاهان مثل تقطیر آبی یا بخار آب و استخراج با حلال آلی معایبی مانند اتلاف ترکیبات فرّار، بازده پایین، زمان استخراج طولانی، تخریب ترکیبات غیراشباع و باقی‌ماندن حلال سمّی را به‌دنبال دارد. کاربرد گسترده، قیمت بالا و حساس‌بودن اسانس‌ها نسبت به شرایط استخراج، منجر به پیدایش و گسترش روش‌های نوین استخراج گردیده‌است. این روش‌ها علاوه‌بر حفظ خصوصیات کیفی اسانس، سریع‌تر و ارزان‌تر می‌باشند. در این مطالعه به شناخت بیش‌تر شیوه‌های نوین استخراج به کمک امواج فراصوت، استخراج با حلال کمک شده توسط امواج میکروویو، مزایا و معایب آن‌ها پرداخته شده‌است. مزایای استفاده از این روش‌ها عبارتند از: بیش‌تر بودن سرعت و انرژی موثر استخراج، انتقال جرم بیش‌تر، گرا دیان حرارتی کم‌تر، کاهش اندازه تجهیزات، زمان استخراج کوتاه‌تر و کاهش استفاده از حلال‌های آلی سمّی.

واژه‌های کلیدی: گیاهان، ترکیبات طبیعی، استخراج، امواج میکروویو، امواج فراصوت.

\* مسئول مکاتبات: [m\\_khajenoori@semnan.ac.ir](mailto:m_khajenoori@semnan.ac.ir)

## 1- مقدمه

به‌طور معمول استخراج سوکسله که با نفوذ متقابل نمونه با بخارات دوباره کندانس شده حلال به‌دست‌می‌آید، یکی از پراستفاده‌ترین روش‌های استخراج ترکیبات گیاهی بوده و در حال حاضر این روش، مرجع اصلی است. استخراج سوکسله دارای مزایای غیرقابل‌انکار از قبیل استخراج پیوسته با نفوذهای مکرر حلال تازه، عدم نیاز به مرحله تصفیه و امکان بازگردانی حلال است.

این کاستی‌ها منجر به در نظر گرفتن استفاده از تکنیک‌های «سریع» و دید در آماده‌سازی نمونه شده، که به‌طور معمول، حلال و انرژی کم‌تری استفاده می‌کند، مانند استخراج به کمک امواج میکروویو<sup>1</sup> و فراصوت<sup>2</sup>. در این مقاله تصویری از دانش کنونی روش‌های نوآورانه دستیابی به ترکیبات طبیعی از گیاهان، ارائه می‌شود. این مطالعه زمینه‌های تئوری لازم و بعضی از جزئیات در مورد استخراج با استفاده از تکنیک‌های نوآورانه، سریع مانند میکروویو، فراصوت، روش انجام، کاربردها، مزایا و معایب آن‌ها را فراهم می‌سازد.

## 2- مواد و روش‌ها

2-1 استخراج توسط حلال کمک شده با امواج میکروویو<sup>3</sup> استفاده از انرژی میکروویو برای اولین بار در سال 1986 و به‌طور هم‌زمان توسط گدبای در سنتز آلی [3] و توسط گانزیلر برای استخراج نمونه‌های بیولوژیکی و آنالیز ترکیبات آلی [4] گزارش شده است. از آن زمان به بعد، آزمایشگاه‌های متعددی امکانات ترکیبی و آنالیزی از میکروویو را به‌عنوان منبع غیرکلاسیک از انرژی مورد مطالعه قرار دادند.

استخراج با حلال به کمک میکروویو برای اولین بار در استخراج مواد موثره از مرکبات، گیاهان معطر، غلات مورد استفاده قرار گرفت. این تکنیک در سال 1990 به‌عنوان فرایند استخراج با حلال کمک شده با امواج میکروویو اختراع شد [5]. امواج میکروویو تابش‌های الکترومغناطیسی با فرکانس 0/3-300 گیگاهرتز هستند. استخراج با کمک امواج میکروویو براساس جذب انرژی میکروویو توسط مولکول‌های قطبی ترکیبات شیمیایی است. انرژی جذب شده با ثابت دی‌الکتریک

جسم متناسب است، که موجب چرخش دوقطبی در میدان الکتریکی می‌شود (معمولاً 2/45 گیگاهرتز). استخراج در دمای بین 150 تا 190 درجه سلسیوس انجام می‌شود. حلال گرم امکان استخراج سریع آنالیت‌های پایدار حرارتی را فراهم می‌سازد. بازده استخراج با کمک امواج میکروویو به خواص و حجم حلال، نسبت حجم حلال به ماده استخراجی، توان امواج میکروویو، مدت زمان پرتودهی، اندازه ذرات وضعیت ماده‌ی گیاهی و به خصوص ثابت دی‌الکتریک نسبی وابسته است [6]. برای MAE، از ظرف شفاف میکروویو و حلال با ثابت دی‌الکتریک بالا استفاده می‌شود که بیش‌ترین امواج میکروویو را جذب می‌کند. در ثابت دی‌الکتریک‌های بالاتر انرژی بیش‌تری توسط مولکول‌ها جذب شده و حلال سریع‌تر به نقطه جوش می‌رسد. بنابراین افزایش دما و فشار، استخراج ترکیبات از گیاهان را آسان می‌سازد. هم‌چنین می‌توان حلال‌هایی با ثابت دی‌الکتریک پایین را در فشار اتمسفریک استفاده نمود. در این صورت، استخراج در ظروف باز انجام می‌شود، به‌همین دلیل حلال مقدار کمی از انرژی را جذب می‌کند. ماتریس نمونه گرم‌شده و آنالیت‌ها به یک حلال خنک‌کننده انتقال می‌یابند. این روش برای استخراج آنالیت‌های ناپایدار حرارتی کم‌قطبی بکار می‌رود [7].

به‌طور معمول، مواد گیاهی در یک حلال میکروویو غیرجاذب مانند هگزان، غوطه‌ور شده و تحت تابش انرژی میکروویو قرار می‌گیرند. هرچند در بیش‌تر موارد از مواد گیاهی خشک برای استخراج استفاده می‌شود، اما هنوز سلول‌های گیاهی با مقادیر میکروسکوپی رطوبت هستند که به‌عنوان هدف برای حرارت‌دهی امواج میکروویو به‌کار برده می‌شوند. رطوبت، زمانی که در معرض تنش‌های حرارتی زیاد، فشار بالای موضعی و گرمایش میکروویو قرار می‌گیرد، درون سلول‌های گیاهی حرارت می‌بیند و تبخیر می‌شود و به دلیل تورم سلول گیاهی روی دیواره سلولی، فشار بسیار زیادی را تولید می‌کند [8]. فشار، دیواره سلولی را از درون تحت فشار قرار داده و سرانجام باعث پارگی آن‌ها با سرعت بیش‌تری نسبت به استخراج مرسوم می‌شود، که تراوش اجزای فعال را از سلول‌های تخریب شده به حلال احاطه‌کننده تسهیل کرده و از این رو بازدهی استخراج اجزای گیاهی را بهبود می‌بخشد. دماهای بالای حاصل شده

1. Microwave extraction

2. Ultrasound-assisted extraction (UAE)

3. Microwave Assisted Extraction (MAE)

میکروویو مداوم عصاره را متراکم می‌سازد. به‌منظور بازگرداندن آب موجود به مواد گیاهی، آب مازاد به سل استخراج برگردانده می‌شود. فراوانی بالاتر ترکیبات اکسیژن‌دار در اسانس مربوط به گرمایش سریع مواد قطبی با میکروویو است و تنها آب موجود استفاده می‌شود، که آن مانع تجزیه ترکیبات اکسیژن‌دار اصلی با واکنش‌های حرارتی و هیدرولیتیک می‌گردد.

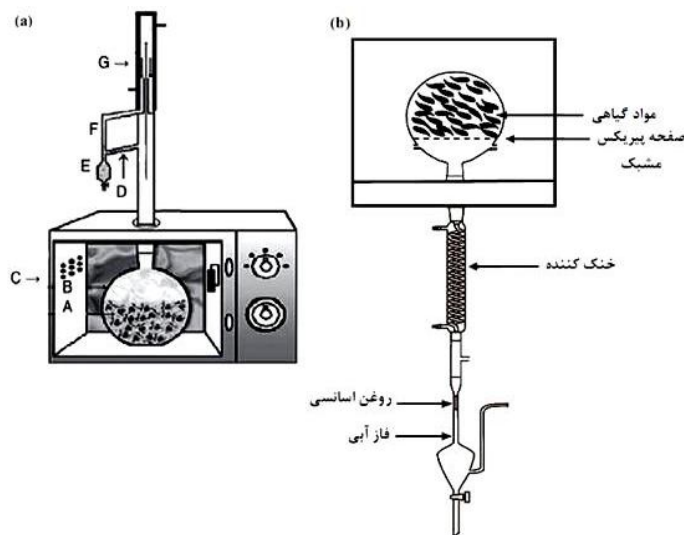
تکنیک جدید هیدرونفوژ میکروویو و جاذبه زمین<sup>1</sup> برای استخراج اسانس‌ها در سال 2008 ابداع شده‌است (شکل b1) [11]. این روش استخراج، ترکیبی از تقطیر میکروویو معکوس اصلی، گرمایش میکروویو و جاذبه زمین در فشار اتمسفر است که شامل قرارگیری مواد گیاهی در یک راکتور میکروویو، بدون افزودن هرگونه حلال یا آب می‌باشد. در نتیجه‌ی عمل حرارت دادن، میکروویو موجب آزادسازی اسانس و آب موجود می‌شود، که از داخل به خارج مواد گیاهی منتقل می‌گردد. این پدیده فیزیکی که هیدرونفوژ شناخته شده، اجازه می‌دهد تا عصاره (آب و اسانس)، در خارج از مواد گیاهی پخش شده، با گرانش به خارج راکتور میکروویو چکیده شود و از طریق روزنه‌های دیسک پیرکس ریزش نماید. یک سیستم خنک‌کننده در خارج از آن میکروویو به‌طور مداوم عصاره را سرد می‌نماید.

با پرتوهای امواج میکروویو می‌توانند هر پیوندی از سلولز را که جزء اصلی دیواره‌ی سلولی است، هیدرولیز کنند و در عوض، طی چند دقیقه آن را به اجزای محلول تبدیل نمایند. دماهای بالایی که در دیواره‌های سلولی در طی استخراج با امواج میکروویو به‌دست می‌آیند، دهیدراسیون سلولز را افزایش و قدرت مکانیکی آن را کاهش می‌دهند و این پدیده به دسترسی آسان حلال به ترکیبات درون سلول کمک می‌کند [9].

## 1-1-2 سیستم‌های استخراج به کمک امواج میکروویو

هیدروتقطیر میکروویو عاری از حلال<sup>1</sup> روش جدیدی از استخراج است که در سال 2004 با هدف به‌دست آوردن اسانس از گیاه اختراع شد (شکل a1) [10]. دستگاه SFME ترکیب اصلی گرمایش میکروویو و تقطیر در فشار اتمسفر است. بر اساس یک اصل به‌نسبت ساده، این روش شامل قرارگیری مواد گیاهی در یک راکتور میکروویو، بدون افزودن هیچ‌گونه حلال است. حرارت داخلی آب موجود در مواد گیاهی موجب تورم سلول‌های گیاهی و پارگی غدد و آوندهای معطر می‌شود. بنابراین، فرایند آزادسازی اسانس با تبخیر آب موجود در مواد گیاهی انجام می‌شود. یک سیستم خنک‌کننده در خارج از آن

1. Microwave hydrodiffusion and gravity (MHG)



1. Solvent-free microwave hydrodistillation (SFME)

شکل (1) (a) هیدروتقطیر به کمک امواج میکروویو [12]. مواد گیاهی (A) در فلاسک نمونه محتوی آب (B)، داخل آون (C) قرار می‌گیرند. آب (E) از میان لوله برگشت آب (D) عبور کرده و بخارات در کندانسور (G) چگالیده می‌شوند. در نهایت روغن اسانسی (F) جمع‌آوری شده از چگالنده سرریز می‌شود. (b) هیدرونفوژ به کمک امواج میکروویو و جاذبه [13].

آویشن را با SFME استخراج کردند [16]. با استفاده از این روش، جداسازی و تغلیظ ترکیبات فرار تنها در یک مرحله، بدون افزودن حلال یا آب انجام شد. اسانس‌های استخراج شده از لحاظ مقدار ترکیبات اکسیژن‌دار: اوژنول<sup>1</sup> (43/2٪) در ریحان، کارون<sup>2</sup> (64/9٪) در نعنای و تیمول (51٪) در آویشن غنی بودند به طوری که با روش متداول قابل مقایسه بودند. در واقع فراوانی بالاتر ترکیبات اکسیژن‌دار در اسانس، مربوط به گرمایش سریع مواد قطبی توسط میکروویو و استفاده کم‌تر آب می‌شود که مانع تجزیه ترکیبات اصلی اکسیژن‌دار با واکنش‌های حرارتی و هیدرولیکی می‌گردد.

همومول و همکاران (2007) مقایسه‌ای بین استخراج به کمک میکروویو از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آنتراکینون‌ها از ریشه‌های *موریندا سیتریفولیا*<sup>3</sup> و استخراج با روش‌های مرسوم دیگر (خیساندن و سوکسله) و استخراج به کمک فراصوت انجام داده‌اند [17]. بازده استخراج با استفاده از MAE (720 وات، 15 دقیقه، 60 درجه سلسیوس، 10 میلی‌لیتر اتانول: آب (80:20)) بیش‌تر از مقادیر خیساندن (3 روز، 25 درجه سلسیوس، 10 میلی‌لیتر اتانول) و فراصوت (15/7 وات، 60 دقیقه، 4 ساعت، نقطه جوش، 200 میلی‌لیتر اتانول) قابل مقایسه بود. دلیل اصلی، بازیابی آنتراکینون بالاتر با MAE چرخش دوقطبی در حلال‌های قطبی در دامنه میکروویو بود. عصاره به‌دست آمده از MAE فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به فراصوت و خیساندن دارد. قرارگرفتن عصاره در زمان خیساندن، در شرایط نامساعد مانند نور و اکسیژن در زمان استخراج طولانی باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین‌تر بود. از سوی دیگر، فراصوت به زمان استخراج طولانی‌تری نیاز دارد که با توجه به شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد توسط امواج فراصوت، باعث اکسیداسیون و تخریب آنتراکینون‌ها شد.

استخراج سوکسله به کمک میکروویو متمرکز توسط پرز سردیلا (2007) برای تعیین روغن بلوط (روغن عاری از اسید چرب ترانس) به‌کار گرفته شده‌است [18]. زمان مورد نیاز در این شیوه (30 دقیقه) بسیار کم‌تر از زمان مورد نیاز روش‌های مرجع سوکسله (8 ساعت) و هم‌زن (56 ساعت) بود. یکی از

به‌طور معمول آب و اسانس جمع‌آوری شده در ظرف یا فلاسک فلورانس از هم جدا می‌شوند. اسانس، سبک‌تر از آب بوده و می‌تواند به راحتی از هم جدا شوند. توجه به این نکته مهم است که این روش اجازه می‌دهد تا اسانس‌ها بدون تقطیر و تبخیر استخراج شوند، که بیش‌تر فرایندهای مصرف‌کننده انرژی بین عملیات واحد هستند. روش MHG نه استخراج به کمک میکروویو اصلاح شده<sup>1</sup> است، که از حلال‌های آلی استفاده می‌کند، نه SFME است که اسانس با آب موجود تبخیر می‌شود و نه هیدرونفوذ اصلاح شده که مقدار زیادی آب در مصرف انرژی استفاده می‌کند.

## 2-1-2 مزایا و معایب روش استخراج به کمک امواج میکروویو

بعضی از مزایای اصلی استخراج با کمک امواج میکروویو برای استخراج محصول از مواد گیاهی نسبت به روش‌های سنتی شامل زمان استخراج کوتاه‌تر، کاهش اندازه دستگاه استخراج، انتقال انرژی سریع‌تر، کاهش گرادیان حرارتی، کنترل آسان گرمایش نمونه، کاهش میزان حلال مصرفی، بهبود بازدهی استخراج، انجام فرایند به‌صورت اتوماتیک، ایجاد تلاطم در طی استخراج، سادگی انجام فرایند و هزینه کم می‌باشد. از معایب این روش، این است که کارایی امواج میکروویو زمانی که ترکیبات هدف و حلال غیرقطبی باشند و یا زمانی که آن‌ها فرار باشند، بسیار کم و ضعیف است. بنابراین، هنگام بکارگیری برای استخراج آنالیت‌های غیر قطبی از مواد غیر قطبی، به استفاده از حلال‌هایی با گشتاور دو قطبی بزرگ‌تر از صفر نیاز دارد (n-هگزان یا ایزواکتان می‌تواند با دی‌کلرومتان یا مخلوط استن و n-هگزان جایگزین شود). هم‌چنین، استفاده از انرژی‌های میکروویو بالا ممکن است منجر به ایزومریزاسیون یا تخریب ترکیب شود و به فیلتر یا قوه‌گریز از مرکز برای حذف جامد باقی‌مانده در طول فرایند نیاز است [۷،۱۴،۱۵].

## 2-1-3 تحقیقات انجام شده با روش استخراج به کمک امواج

### میکروویو

امکان‌پذیری فرایند میکروویو در آماده‌سازی نمونه‌ها از ماتریس‌های مختلف بررسی شده‌است. لوکیزی و همکاران (2004) اسانس‌های سه گیاه معطر: ریحان، نعنای باغی و

1. Eugenol

2. Carvone

3. *Morindacitrifolia*

1. Modified microwave-assisted extraction (MAE)

اشکالات مشترک تمام این تکنیک‌ها علاوه بر آلودگی محیط زیست به علت استفاده از حلال n-هگزان، طولانی بودن زمان استخراج است. با این حال، این مشکل نیز با توسعه روش جدید استخراج سوکسله ترکیب شده با میکروویو با استفاده از دی-لیمونن به عنوان حلال زیستی به دست آمده از پوست لیموترش، که جایگزین جدیدی برای حلال‌های آلی می‌باشد، برطرف شده است. این روش همراه با کاهش فشار زیست محیطی، بهترین عملکرد را در زمان کم‌تر، با بازیابی حلال بیش‌تر ارائه می‌دهد [19].

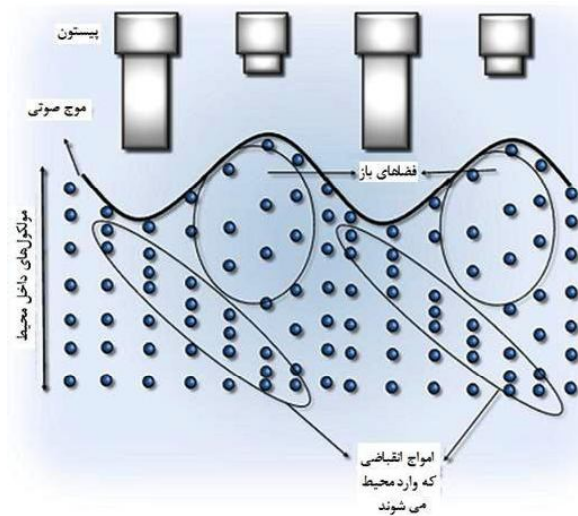
لیانفیو و زیلانگ (2008) استخراج لیکوپن از گوجه‌فرنگی را با ترکیب دو تکنیک نوآورانه استخراج به کمک میکروویو و فراصوت در مقایسه با استخراج به کمک فراصوت انجام دادند [20]. نتایج به دست آمده با UAE، افزایش بازدهی استخراج لیکوپن (89/4٪) را در زمان کوتاه‌تر نتیجه نمی‌دهد. دلیل آن تولید رادیکال‌های هیدروکسیل با کاپیتاسیون صوتی فراصوت در عصاره، به دلیل حضور مقدار کمی آب در عصاره و در نتیجه تجزیه لیکوپن بود. اما هنگامی که استخراج با میکروویو و فراصوت انجام شد، بازده (97/4٪) با کمک کاپیتاسیون صوتی و گرمایش سریع میکروویو در زمان کوتاه‌تر و مصرف حلال کم‌تر افزایش یافت. بوسبیا و همکاران (2009) بازدهی استخراج اسانس از برگ‌های رزماری را به دو روش تقطیر آب سنتی و هیدرونفوذ به کمک امواج میکروویو و جاذبه مقایسه کردند [13]. روش استخراج تقطیر به کمک امواج میکروویو و جاذبه زمان استخراج کوتاه‌تر و اسانس با ارزش‌تری (با مقدار زیادی از ترکیبات اکسیژن‌دار) نسبت به روش استخراج تقطیر آبی داشت. گوجار و همکاران (2010) روش استخراج به کمک امواج میکروویو را برای استخراج تیمول از دانه‌های زنیان به کار بردند [21]. حداکثر درصد استخراج تیمول در زمان 45 دقیقه و شرایط بهینه MAE، 45 درجه سلسیوس و نسبت وزن نمونه به حجم حلال 1:30، 99٪ به دست آورند.

تخریب آن می‌گردد [23].

امواج فراصوت، مراحل فرایند استخراج ترکیبات گیاهی، یعنی تورم بافت به منظور جذب حلال و نیز خروج ترکیبات از بافت به حلال را از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلول‌ها بهبود می‌بخشد و انتقال جرم را تسهیل و تسریع

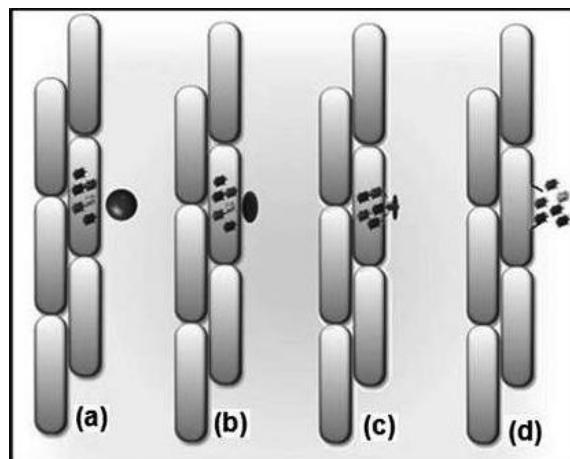
## 2-2 استخراج به کمک امواج فراصوت

فراصوت امواج مکانیکی است که برای پراکندگی به محیط الاستیک نیاز و صداهایی با فرکانس موجی متفاوت دارد. صداهای در فرکانس شنوایی انسان (از 16 هرتز تا 20-



شکل (2) سیکل‌های فشرده و باز ایجادشده با امواج صوتی [1].

می‌کند [24]. حباب کائوچو تولید شده نزدیک به سطح مواد گیاهی (a) در طول چرخه انقباض (b) متلاشی می‌شود و میکروجت را به‌طور مستقیم به سطح وارد می‌کند (b و c). فشار و دمای بالای به‌کار گرفته شده در این فرایند، دیواره‌های سلولی ماتریس گیاهی را پاره کرده و محتوای آن‌ها را در محیط (d) آزاد خواهد کرد (شکل 3). برخلاف شیوه‌های مرسوم، امواج صوتی باعث تخریب دیواره سلولی در یک مدت زمان کوتاه شده و عصاره‌ی گیاهی در طول دیواره سلولی انتشار می‌یابد. مشخصات گیاهی مثل میزان رطوبت، اندازه‌ی ذرات و نوع حلال مورد استفاده، به‌منظور به‌دست آوردن استخراج کارآمد و موثر مهم هستند. به‌علاوه فاکتورهای زیادی شامل فرکانس، فشار، دما و زمان، کارکرد امواج صوتی را تحت تاثیر قرار می‌دهند [8].



شکل (3) فروپاشی حباب کائوچو و آزادسازی مواد گیاهی [1].

در نتیجه آلودگی آن کم‌تر است. در جذب اسید، روش فراصوت نسبت به میکروویو ایمن‌تر است، به طوری که به دماها و فشارهای بالا نیاز ندارد. استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج سیال فوق بحرانی تجهیزات بسیار ساده‌تری را نیاز دارد. بنابراین هزینه کل فرایند استخراج بسیار پایین‌تر است. استخراج با کمک فراصوت می‌تواند با هر حلالی برای استخراج دامنه وسیعی از ترکیبات طبیعی استفاده شود. از طرف دیگر، استخراج با سیال فوق بحرانی به طور انحصاری از  $CO_2$  برای استخراج استفاده می‌کند، بنابراین دامنه آن به آنالیت‌های غیرقطبی محدود است [24].

از معایب استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به روش سوکسله، عدم تجدیدپذیری حلال در سیستم‌های ناپیوسته در طول فرایند است. بنابراین بازده آن تابعی از ضریب توزیع است. از طرف دیگر شستشو و صاف کردن بعد از استخراج نسبت به زمان کل فرایند طولانی است و مصرف حلال را افزایش داده و احتمال اتلاف و یا آلودگی عصاره در طول جابه‌جایی وجود دارد. استخراج سوکسله تکرار پذیرتر است [24]. به طور معمول، استخراج به کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج توسط امواج میکروویو ضعیف‌تر بوده، به طوری که کهنگی سطح پروب فراصوت می‌تواند بازده استخراج را تغییر دهد. اندازه ذرات، یک فاکتور مهم در کاربردها به کمک فراصوت است. روش استخراج با سیال فوق بحرانی ساده‌تر و سریع‌تر نسبت به برخی روش‌های فراصوت حلال مایع است. برخلاف برخی از حلال‌های استفاده شده برای فراصوت (مانند سیکلوهگزان، تتراهیدروفوران<sup>1</sup> و مخلوط‌های دوتایی مانند دی‌کلرومتان و استون)،  $CO_2$  فوق بحرانی برای محیط خطرناک نیست. به طور معمول روش‌های SFE نسبت به استخراج با کمک فراصوت دقت بیشتری دارند که احتمالاً به دلیل استفاده‌ی آن‌ها از حمام به جای سیستم نوع پروب است [24].

### 2-2-3 تحقیقات انجام شده با روش استخراج به کمک امواج فراصوت

کاربرد روش فراصوت به‌عنوان یک روش آزمایشگاهی برای استخراج مواد گیاهی به‌طور گسترده بررسی شده است. دامنه کاربردهای استخراج منتشر شده با این روش، شامل مواد موثره

1. Tetrahydrofuran

### 2-2-1 سیستم‌های استخراج به کمک امواج فراصوت

متداول‌ترین تجهیزات فراصوت برای مقاصد استخراج از منابع گیاهی حمام خالص‌سازی اولتراسونیک و سیستم پروب است که در مقیاس صنعتی و آزمایشگاهی قابل اجرا می‌باشند (شکل 4). در حالی که بسیاری از تلاش‌های تحقیقاتی در UAE بر روی خود فراصوت متمرکز شده‌اند، برخی مطالعات، اتصال بین فراصوت و روش‌های دیگر را نیز مورد بررسی قرار داده‌اند. به‌عنوان مثال UAE در ترکیب با انرژی میکروویو [26]، استخراج سیال فوق بحرانی [27] و یا با روش‌های مرسوم از قبیل استخراج سوکسله [28] به‌کار گرفته شده است. هنگامی که با استخراج سیال فوق بحرانی ترکیب می‌شود، UAE انتقال جرم گونه‌های با ارزش را از فاز جامد به حلال مورد استفاده برای استخراج افزایش می‌دهد. استخراج سوکسله، هم‌چنین می‌تواند با فراصوت اصلاح شود. هنگامی که در منطقه کارتریج قبل از مسیر سیفون اعمال گردد، در نتیجه امکان حذف بخش‌های چربی را از ماتریس‌های بسیار فشرده فراهم می‌سازد. بازدهی ترکیب میکروویو و فراصوت به وضوح در کاربردهایی مانند استخراج مس و روش کجلدال<sup>1</sup> برای تعیین نیتروژن کل در مواد غذایی نشان داده شده است [29].

### 2-2-2 مزایا و معایب روش استخراج به کمک امواج فراصوت

از مزایای استخراج به کمک امواج فراصوت، افزایش قطبیت سیستم (شامل استخراج کننده، آنالیت‌ها و ماتریس) و افزایش بازدهی استخراج با حفره‌زایی است که می‌تواند مشابه یا بزرگ‌تر نسبت به استخراج سوکسله باشد. استخراج با کمک امواج فراصوت امکان افزودن یک استخراج کننده کمکی را فراهم می‌سازد و موجب افزایش قطبیت فاز مایع می‌شود. فراصوت می‌تواند دمای عملیاتی را کاهش دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد که تحت شرایط عملیاتی استخراج سوکسله تغییر می‌کند. زمان استخراج نسبت به استخراج سوکسله کوتاه‌تر است [24]. از مزایای استخراج با کمک امواج فراصوت نسبت به استخراج با کمک امواج میکروویو می‌توان به سریع‌تر و ساده‌تر بودن این روش اشاره کرد. به طوری که عملیات کم‌تری درگیر آن بوده و

1. Kjeldahl method

مطالعه‌ای بر روی تاثیر استفاده از امواج فراصوت با قدرت بالا بر استخراج روغن از دانه‌های آسیاب شده زیتون انجام شد. مشخص گردید که در حضور این امواج، دیواره سلول‌ها و بافت‌های گیاهی تخریب شده و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (پلی فنل‌ها و توکوفرول‌ها) و رنگدانه‌های (کلروفیل و کارتنوئید) بیش‌تری به داخل روغن راه یافتند و باعث افزایش ارزش تغذیه‌ای گردیدند [32].

روسانگلا و همکاران (2007) ترکیب شیمیایی عصاره‌های چای میت<sup>1</sup> (برگ‌های *ایلیکس پاراگوارنسیس*<sup>2</sup>) را با روش استخراج با کمک فراصوت بررسی کردند. تاثیر به‌کارگیری امواج فراصوت منجر به بهبود بازدهی میزان کافئین و اسید پالمیتیک در حلال متانول شد [33]. هم‌چنین در مطالعه‌ای که توسط وانگ و همکاران (2008) بر روی بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنولی از پوسته گندم با استفاده از حمام فراصوت صورت گرفت، بهترین شرایط استخراج، غلظت اتانول 64٪، دمای 60 درجه سلسیوس و زمان 25 دقیقه گزارش شد که زمان استخراج، مهم‌ترین پارامتر برای فرایند بود [34].

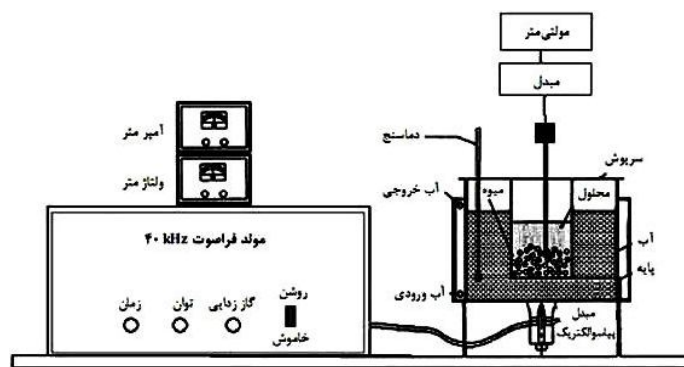
در سال (2012)، کونگ کیات پایون و همکارش استخراج آفت‌کش‌های آلکالوئید دایدیدروستموپولاین<sup>3</sup> را از عصاره ریشه *ستموننا کولینسیا*<sup>4</sup> به پنج روش استخراج مختلف (فراصوت،

گیاهی، روغن، پروتئین و ترکیبات فعال زیستی از مواد گیاهی می‌باشند [24]. آنتراکینون‌ها ترکیبات فعالی هستند که تاثیرات درمانی از خود نشان داده و در کاربردهای دارویی ضد سرطانی استفاده می‌شوند. همومول و همکاران (2006) استفاده از روش استخراج با کمک امواج فراصوت را برای بهبود استخراج آنتراکینون‌ها از ریشه *موریندا سیتریفولیا*<sup>1</sup> با حلال بررسی کردند [30]. استخراج با کمک امواج فراصوت در یک سیستم (آب-متانول)، 75٪ کاهش را در زمان و بازدهی استخراج در مقایسه با نمونه‌های تیمارنشده با امواج فراصوت ایجاد کرد.

مارتینو و همکاران (2006) بر روی گیاه شبدر تحقیقی انجام دادند و تاثیر روش میکروویو، فراصوت و سوکسله را در مورد استخراج کومارین<sup>2</sup> و ترکیبات مشابه بررسی نمودند [31]. بهترین نتایج برای روش میکروویو (با اتانول آبی 50٪، دو سیکل حرارتی 5 دقیقه‌ای و دمای 50 درجه سلسیوس با سیستم میکروویو محفظه بسته) به‌دست آمد. هم‌چنین در بررسی زمان‌های مختلف (10 تا 180 دقیقه) و حلال‌های مختلف (اتانول 50٪، متانول 50٪ و آب جوش) بر روی استخراج این ترکیبات با استفاده از حمام فراصوت، بهترین حالت برای زمان 60 دقیقه و با حلال اتانول آبی 50٪ بود که در مقایسه با روش سوکسله، بازدهی استخراج بالاتری داشت.

1. Mate
2. *Ilex paraguariensis*
3. Didehydrostemofoline
4. *Stemona collinsiae* root

1. *Morinda Citrifolia*
2. Coumarin



شکل (4) سیستم استخراج فراصوت آزمایشگاهی [25].



معتبر ایجاد کند و هم‌چنین سریع، با حداقل دخالت اپراتور و مقرون به‌صرفه باشد و ملاحظات ایمنی را برای اپراتور و دیگر کارکنان در محیط عملیاتی تأمین سازد. تکنیک‌های نوآورانه و سازگار با محیط زیست در استخراج مواد مختلف، که به‌طور معمول، حلال و انرژی کم‌تری مصرف می‌کنند، مانند استخراج به کمک فراصوت و استخراج میکروویو، در حال حاضر یک موضوع در حال توسعه‌ی پویا در تحقیقات و صنایع کاربردی هستند. هرچند، تا به حال، تنها چند گزارش وجود دارد که به شتاب‌گیری فرایند استخراج با ترکیب این تکنیک‌ها اشاره کرده‌است. مزیت اصلی استفاده از تکنیک‌های ترکیبی برای استخراج، افزایش بازدهی تولید و کمک به حفاظت محیط زیست با کاهش استفاده از حلال، انرژی‌های فسیلی و تولید مواد خطرناک است.

رفلاکس، سوکسله، خیساندن و نفوذ) با اتانول 70٪ مطالعه کردند [35]. نتایج نشان داد که فراصوت و رفلاکس بالاترین مقدار بازده را در استخراج دایدهیدروستموپولاین دارند. افزایش گرما یا انرژی فراصوت در طول فرایند استخراج می‌تواند زمان استخراج را کاهش داده و به افزایش بازده کمک کند.

#### 4- نتیجه‌گیری

با مشاهده افزایش مداوم در تقاضای جهان برای بهبود مراحل فنی دستیابی و آنالیز مواد با استفاده از روش‌های پایدار، ایمن و آسان، می‌توان احتیاجات آزمایشگاه‌ها در آینده را پیش‌بینی کرد. برحسب استفاده از حلال، باید کاهش مصرف و حذف، هم‌چنین امکان جایگزینی حلال‌های آلی و یا سمی در نظر گرفته شود. هر روش استخراجی باید که داده‌هایی

#### منابع

- [6] Khajenoori, M., Haghighi Asl, A., Hormozi, F. (1990). Review of extraction methods of natural essential oils from plants. In Proceeding of the 7th National Conference of Chemical Engineering Students., Shiraz University, Shiraz, 124-129.
- [7] Romanik, G., Gilgenast, E., Przyjazny, A., Kaminiski, M. (2007). Review Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 70, 253-261.
- [8] Wang, L. and Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci. Technol.*, 17, 300-312.
- [9] Leteller, M., Budzinski, H. (1999) Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analisis.*, 27, 259-271,
- [10] Chemat, F., Lucchesi, M., Smadja J. Solvent-free microwave extraction of volatile natural substances. *United States Patent*, 0187340 A1, 2004.
- [11] Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F., Chemat, [1] Pawliszyn, J. (2012). Comprehensive Sampling and Sample Preparation, in: Pingret, D., Fabiano-Tixier A.S., Chemat F., Accelerated Methods for Sample Preparation in Food, Academic Press, University of Waterloo, Ontario, 441-455.
- [2] Chemat, F., Abert Vian, M., Cravotto, G. (2012). Review Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *Int. J. Mol. Sci.*, 13, 8615-8627.
- [3] Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L., Rousell J. (1986). The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Letters*, 27, 279-282.
- [4] Ganzler, K., Salgo, A., Valko, K. (1986). Microwave Extraction: A Novel Sample Preparation Method for Chromatography, *J. Chromatogr. A.*, 371, 299-306.
- [5] Pare, J., Sigouin, M., Lapointe, J. (1990). Extraction of natural products assisted by microwaves. *European Patent EP.*, 398798, 11-22.

- Soxhlet using limonene followed by microwave Clevenger distillation. *J. Chromatogr. A.*, 1196-1197, 147-152.
- [20] Lianfu, Z., Zelong, L. (2008) Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15, 731-737.
- [21] Gujara, J.G., Wagha, S.J., Gaikar, V.G. (2010). Experimental and modeling studies on microwave-assisted extraction of thymol from seeds of *Trachyspermum ammi* (TA). *Separation and Purification Technology*, 70: 257-264.
- [22] McClements DJ. (1995). Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 293-299.
- [23] Shotipruk, A., Kaufman, P.B. (2001). Feasibility study of repeated harvesting of menthol from biologically viable *Mentha piperata* using ultrasonic extraction. *Biotechnol Prog.*, 17(5), 924-928.
- [24] Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 303-313.
- [25] Ji, J.b., Lu X, H. (2006). Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(5), 455-462.
- [26] Lagha, A., Chemat, S., Bartels, P., Chemat, F. (1999). Microwave-ultrasound combined reactor suitable for atmospheric sample preparation procedure of biological and chemical products, *Analysis*, 27, 452-457.
- [27] Hu A, J., Zhao, S., Liang, H., Qiu, T., Chen, G. (2007). Ultrasound assisted supercritical fluid extraction of oil and coixenolide from adlay seed. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 219-224.
- [28] Luque-García, J.L., Luque de Castro, M.D. (2004). F. (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *J. Chromatogr. A.*, 1190, 14-17.
- [12] Ormeno, E., Goldstein, A., Niinemets, U. (2011). Extracting and trapping biogenic volatile organic compounds stored in plant species. *Trends Anal. Chem.*, 30(7), 978-989.
- [13] Bousbia, N.M., Vian, A., Ferhat, M.A., Petitcolas, E., Meklati, B.Y., Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114, 355-362.
- [14] Khajenoori, M., Haghighi Asl, A. (2010). Review of new extraction methods from solid matrix, 1st *Conference of Separation Science and Engineering*, Sistan and Baluchesta University.
- [15] بدرخانی، ن؛ خواجه نوری، م؛ حقیقی اصل، ع. (1391). بررسی شیوه‌های میکرو استخراج جامد و مایع برای آنالیز مواد دارویی، سومین کنفرانس علوم و مهندسی جداسازی، دانشگاه سیستان و بلوچستان.
- [16] Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydrodistillation. *J. Chromatogr. A.*, 1043, 323-327.
- [17] Hemwimon, S., Pavasant, P., Shotipruk, A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Sep. Purif. Technol*, 54, 44-50.
- [18] Perez-Serradilla, J., Ortiz, M., Sarabia, L., de Castro, M. (2007). Focused microwave-assisted Soxhlet extraction of acorn oil for determination of the fatty acid profile by GC-MS. Comparison with conventional and standard methods. *Anal. Bioanal. Chem.*, 388, 451-462.
- [19] Viro, M., Tomao, V., Ginies, C., Visinoni, F., Chemat, F. (2008). Green procedure with a green solvent for fats and oils' determination: Microwave-integrated

Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *J. Chromatogr. A.*, 1034, 237-242.

[29] Chemat, S., Lagha, A., Ait Amar, H., Chemat, F. (2004). Ultrasound assisted microwave digestion. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 5-8.

[30] Hemwimol, S., Pavasant, P., Shotipruk, A. (2006). Ultrasonic-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, 543-548.

[31] Martino, E., Ramaiola, I., Urbano, M. (2006). Microwave-assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas Alternative to Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *J. Chromatograph. A.*, 1125, 147-151.

[32] Jimenez, A., Beltran, G. (2007). High-power ultrasound in olive paste pretreatment. Effect on process yield and virgin olive oil characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(6), 725-731.

[33] Rosangela, J., Lisiane, F., Valeria, P., Claudio, D., Ana Paula, O., Jose, O. (2007). The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves: a comparison with maceration. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 6-12.

[34] Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106, 804-810.

[35] Kongkiatpaiboon, S., Gritsanapan, W. (2013). Optimized extraction for high yield of insecticidal didehydrostemofoline alkaloid in *Stemona collinsiae* root extracts. *Industrial Crops and Products*, 41, 371-374.