

بهینه یابی فرایند استخراج عصاره گل بابونه آلمانی با دی اکسید کربن فوق بحرانی با روش سطح پاسخ

محمد رضا عبد الهی مقدم^{۱*}، قدیر رجب زاده^۲

۱. استادیار، گروه شیمی مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

۲. دانشیار، گروه نانوفناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۱۱/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۱)

چکیده

در این پژوهش بهینه یابی فرایند استخراج عصاره گل بابونه آلمانی با تکنیک دی اکسید کربن فوق بحرانی در سطوح مختلف متغیرهای فرایندی با استفاده از روش سطح پاسخ بر مبنای طرح مرکب مرکزی انجام شد. از این رو اثرات متغیرهای فشار (۲۴۰-۸۰ بار)، دما (۳۵-۵۵ درجه سانتیگراد) و زمان دینامیک استخراج (۱۵۰-۳۰ دقیقه) بر بازده استخراج و محتوای جزء بیسابولول اکسید A در عصاره بدست آمده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که فشار، زمان دینامیک استخراج و دما به ترتیب دارای بیشترین اثر معنی داری ($p < 0.05$) بر بازده استخراج بودند. همچنین اثر خطی دما و اثرات درجه دوم زمان دینامیک استخراج، دما و فشار بر محتوای اکسید بیسابولول A معنی دار بودند ($p < 0.05$). مطابق نتایج بهینه یابی بیشترین مقدار بازده استخراج (۱/۲۹ درصد) و محتوای اکسید بیسابولول A (۴۷/۱۲ درصد) برای فشار، دما و زمان دینامیک استخراج به ترتیب ۲۴۰ بار، 49°C و ۶۶/۴ دقیقه بدست آمد.

کلید واژگان: استخراج، بابونه آلمانی، بهینه یابی، دی اکسید کربن فوق بحرانی، روش سطح پاسخ

*مسئول مکاتبات: abdollahim1344@gmail.com

۱- مقدمه

گیاهان نقش مهمی در حفظ سلامتی و ارتقای کیفیت زندگی انسان دارند. بابونه یکی از متداول ترین گیاهان مورد استفاده برای اهداف دارویی است که چایی استانداردش که از گل های خشک نوع ماتریکاریا^۱ تهیه میشود دارای فواید سلامتی چون اثر آرامبخشی تب و کاهنده اضطراب و کابوس، بیخوابی و دیگر مشکلات مربوط به خواب می باشد [۱]. علاوه بر این روغن اسانسی بابونه در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی، عطر و ادکلن و آروماتراپی استفاده می شود [۲ و ۳].

بابونه که عضوی از خانواده آستراسیا^۲ میباشد با دو واریته معمول با نام های بابونه آلمانی^۳ و بابونه رومی^۴ شناخته می شود [۴]. گل های بابونه دارای انواع مختلف ترکیبات زیست فعال بوده که مواد مذکور پس از جداسازی برای فرمولاسیون های دارویی و آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار گرفته اند [۵]. به طور تقریبی ۱۲۰ متابولیت ثانویه شامل ۲۸ ترپنوئید و ۳۶ فلاونوئید در گل های بابونه شناسایی شده است [۶ و ۷]. همچنین بابونه دارای اثر ضد پر فشاری در انسان [۸ و ۹] و حیوانات آزمایشگاهی [۱۰ و ۱۱] بوده و اکسید بیسابولول A (BSBO) به عنوان یکی از اجزاء اصلی تشکیل دهنده عصاره بابونه آلمانی نقش اساسی در فعالیت ضد پر فشاری [۱۲] و ضد التهابی [۱۳] آن دارد. مطابق یافته های کوبایاشی و همکاران [۱۲] اسانس روغنی بابونه آلمانی (نوع اکسید بیسابولول A) اثر سرکوبگری قابل توجهی بر تحریک حسی داشت.

علاقه مندی به جداسازی روغن های اسانسی و ترکیبات زیست فعال از برخی گیاهان به منظور استفاده های بعدی از آن ها، موجب ارائه روش های جدید و کارآمد برای استخراج و جداسازی ترکیبات مذکور توسط محققان شده است. به طور معمول روغن های اسانسی با روش هایی مانند استخراج حلالی و کشش با بخار آب جداسازی شده اند که برخی معایب استفاده از روش های جداسازی مذکور عبارتند

از: بازده کمتر و زمان بیشتر استخراج، تخریب حرارتی برخی اجزاء اسانس، افت کمی مواد فرار و وجود باقیمانده حلال در روغن های اسانسی استخراج شده [۱۴].

در سال های اخیر استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی به عنوان جایگزین مناسب روش های معمول استخراج روغن ها و دیگر ترکیبات از مواد طبیعی، توجه قابل ملاحظه ای را به خود جلب کرده است [۱۵ و ۱۶]. دی اکسید کربن به عنوان حلال برای فرایند استخراج با سیال فوق بحرانی، دارای دما (31.1°C) و فشار بحرانی (7.38 مگاپاسکال) کم و نیز غیر سمی، خنثی، غیر اکسید کننده و غیر قابل اشتعال بوده و علاوه بر در دسترس بودن با خلوص بالا و قیمت نسبتاً پایین، به سهولت از ماده استخراج شده جداسازی می شود [۱۷ و ۱۸].

در گذشته مطالعاتی برای استخراج روغن های اسانسی از گل های بابونه با روش دی اکسید کربن فوق بحرانی انجام شده است. ویورلا و همکاران [۱۹] گزارش کردند که استخراج روغن اسانسی گل های بابونه با روش دی اکسید کربن فوق بحرانی توانست باعث حفظ قابل توجه فرارترین اجزاء شامل اکسید بیسابولول A (BSBO)، اکسید بیسابولول B، آلفا بیسابولول، اکسید بیسابولون، ترانس بتا فارنسن و کامازولن در آن شود در حالی که عصاره بدست آمده از روش های معمول استخراج به طور طبیعی با افت کمی اجزاء مذکور همراه بود. پو و همکاران عصاره شامل روغن اسانسی و اولئورزین را از گل های بابونه آلمانی با روش دی اکسید کربن فوق بحرانی استخراج کردند [۲۰]. آنها برای تعیین بهترین شرایط فرایندی به منظور دستیابی به بیشترین بازده استخراج و نیز بیشترین محتوای آلفا بیسابولول و کامازولن در عصاره، آزمایشاتی را در فشارهای ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ بار، دماهای ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی گراد و دبی جرمی گاز دی اکسید کربن $10^{-5} \times 1.67$ ، $10^{-5} \times 3.33$ و $10^{-5} \times 6.67$ کیلوگرم بر ثانیه انجام دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که اثر فشار و دبی جرمی گاز دی اکسید کربن بر سرعت انتقال جرم و نیز بازده استخراج معنی دار بود اما تاثیر دما بر آنها معنی دار نبود.

1. Matricaria spice
2. Asteraceae
3. German Chamomile (*Matricariarecutita* L.)
4. Roman Chamomile (*Chamaemelumobile*)

از آنجا که متغیرهای اساسی در فرایند استخراج به روش دی اکسید کربن فوق بحرانی شامل فشار، دما، زمان دینامیک استخراج، دبی گاز دی اکسید کربن، درصد وزنی حلال کمکی و اندازه ذرات ماده استخراج شونده می باشند لذا انتخاب مناسب و بهینه یابی متغیرهای مذکور می تواند به دستیابی به بیشترین بازده استخراج و نیز بیشترین محتوای ترکیبات مطلوب در عصاره منجر شود. بنابراین در پژوهش حاضر برای طراحی آزمایشات از روش سطح پاسخ بر مبنای طرح مرکب مرکزی^۵ به منظور انجام آزمایشات استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی برای دستیابی به بیشترین بازده استخراج و نیز بیشترین محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره استفاده شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

گیاه بابونه آلمانی از مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان خریداری شد. گل ها با دقت از سایر قسمت های گیاه جداسازی شده و آنگاه تا رسیدن به محتوای رطوبت ۵٪ بر مبنای خشک در 50°C خشک شده و پس از آسیاب با الک مش ۱۶ الک شدند. گاز دی اکسید کربن مورد استفاده از کپسول حاوی دی اکسید کربن مایع با درجه خلوص ۹۹٪ و فشار ۷۰ بار تامین گردید. حلال اتانول گرید HPLC از شرکت مرک و اکسید بیسبولول A خالص از شرکت سیگما آلد ریچ تهیه شد.

۲-۲- استخراج عصاره

به منظور استخراج عصاره شامل روغن اسانسی و اولئورزین از گیاه بابونه آلمانی با روش دی اکسید کربن فوق بحرانی، از پایلوت موجود در آزمایشگاه موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی استفاده شد. دستگاه مذکور قابلیت تأمین فشار تا ۶۰۰ بار، دمای ۰-۹۸ درجه سانتی گراد و دبی حجمی گاز دی اکسید کربن تا ۶ لیتر بر دقیقه را دارا بوده و دارای مخزن استخراج از جنس استیل ۳۱۶ با حجم ۴۹۰ میلی لیتری

باشد. برای انجام هر آزمایش، مقدار ۲۰ گرم پودر خشک گل بابونه آلمانی را در توری سیمی از جنس استیل قرار داده و سپس توری درون محفظه استخراج جایگذاری شد. شیر گاز ورودی دی اکسید کربن به مخزن را باز کرده تا فشار داخل مخزن به مقدار مورد نظر در آزمایش مربوطه برسد و سپس شیر ورودی بسته شد. همزمان دمای محتویات داخل مخزن با استفاده از ژاکت حمام آب در دمای مورد نظر در آزمایش مربوطه تنظیم گردید. پس از گذشت ۳۰ دقیقه که معادل زمان استاتیک استخراج بود، با باز کردن شیر ورودی گاز دی اکسید کربن به مخزن و شیر خروجی گاز از آن و تنظیم دبی حجمی جریان مداوم گاز دی اکسید کربن توسط فلومتر در مقدار ثابت ۳ لیتر بر دقیقه، عملیات استخراج برای مدت زمان دینامیک مورد نظر در آزمایش مربوطه ادامه یافته و عصاره استخراج شده پس از حذف دی اکسید کربن از آن وزن شد. آنگاه عصاره در ۴۰ میلی لیتر اتانول گرید HPLC حل شده و سپس به ظرف نمونه منتقل گردیده و درصد وزنی اکسید بیسبولول A آن اندازه گیری شد.

۲-۳- اندازه گیری محتوای اکسید بیسبولول

A عصاره با استفاده از کروماتوگراف گازی

با آشکار ساز جرم (GC-MASS)

از دستگاه گاز کروماتوگرافی با آشکار ساز جرمی مدل QP 2010 plus، شرکت Shimadzu ساخت ژاپن برای تعیین محتوای عصاره بابونه از جمله میزان اکسید بیسبولول A عصاره ها استفاده شد. برای این کار ستون Rtx-5MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون مورد استفاده واقع شد. گرادیان حرارتی ستون از ۳۵ تا ۲۳۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد بر دقیقه بود. غلظت نسبی اجزای عصاره بر مبنای در صد مساحت سطح زیر پیک برای هر یک از اجزا به دست آمد. کروماتوگرام عصاره گل بابونه استخراج شده در شرایط فشار ۲۰۰ بار، دمای 50°C و زمان دینامیک ۱۲۰ دقیقه در شکل ۱ نشان داده شده است.

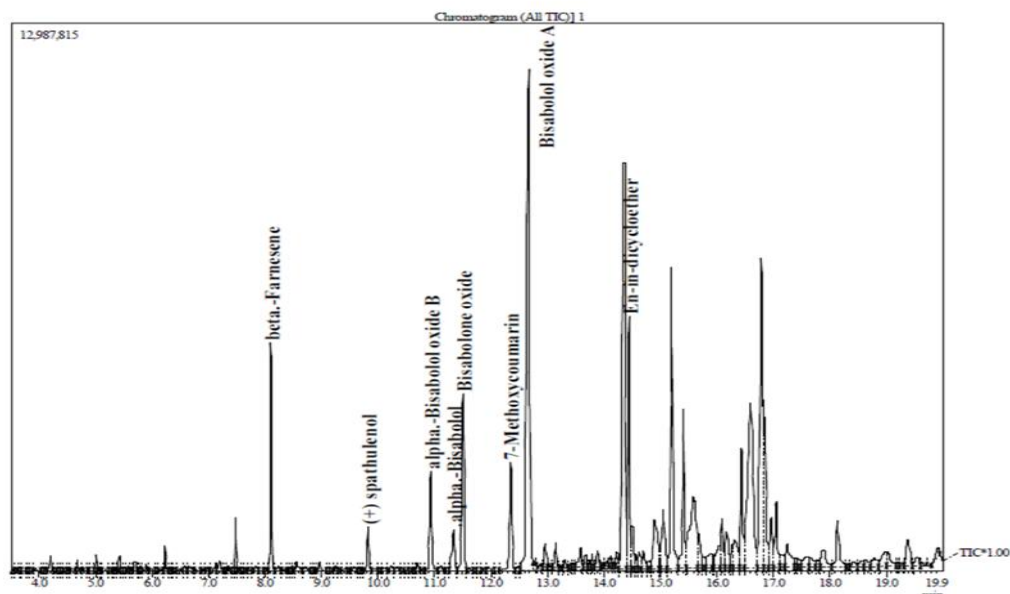


Fig 1 GC chromatogram for the chamomile flowerhead extract extracted at 200bar, 50°C and dynamic time of 120min

۲-۴- اندازه گیری بازده استخراج

عصاره استخراج شده و بدست آمده از هر آزمایش با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد (Extract weight) و با توجه به این که مقدار ۲۰ گرم پودر خشک گل بابونه در هر آزمایش مورد استخراج قرار گرفت بنابراین بازده استخراج (Extraction yield) از رابطه ۱ محاسبه شد.

(۱)

$$\text{Extraction yield} = (\text{Extract weight} / 20) \times 100$$

۲-۵- طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل

آماري داده ها

به منظور بررسی اثر متغیرهای مستقل فرایند استخراج بر متغیرهای وابسته یا پاسخ ها (بازده استخراج و محتوای اکسید بیسابولول A در عصاره) و نیز بهینه یابی متغیرهای مستقل، از روش آماری سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی استفاده شد. سطوح کددار و بدون کد متغیرهای مستقل شامل فشار (X1)، دما (X2) و زمان دینامیک استخراج (X3) در جدول ۱ آورده شده است.

Table 1 Coded and uncoded levels of independent variables

Independent variable	Symbol	Coded and uncoded levels				
		-2	-1	0	+1	+2
Pressure	X1	80	120	160	200	240
Temperature	X2	35	40	45	50	55
Time	X3	30	60	90	120	150

شامل بازده استخراج (Extraction yield) و درصد وزنی اکسید بیسابولول A در عصاره (BSBOcontent) به همراه سطوح متغیرهای مستقل برای آزمایش ها در جدول ۲ آورده شده است.

دامنه متغیرهای مستقل بر اساس نتایج آزمایشات اولیه و نیز پژوهش های پیشین انتخاب شدند. همچنین شرایط تعیین شده توسط طرح آزمایشی، تعداد ۲۰ آزمایش استخراج انجام شد که نتایج بدست آمده

Table 2 The selected factors at different levels based on the CCD and the related responses

Runno.	Independent variables			Measured response	
	Pressure/X1 (bar)	Temperature/X2 (°C)	Time/X3 (min)	Extraction yield (%)	BSBO content (%)
1	160	45	90	1.02	47.6
2	160	55	90	0.82	47.3
3	160	45	90	0.98	47.0
4	240	45	90	1.46	44.9
5	80	45	90	0.62	45.2
6	160	45	90	0.90	46.3
7	200	50	60	1.04	48.8
8	160	45	90	0.94	47.0
9	160	45	150	1.12	40.7
10	200	40	120	1.35	40.8
11	160	35	90	1.07	41.1
12	200	40	60	1.12	44.7
13	160	45	30	0.91	47.0
14	120	50	120	0.78	45.7
15	120	50	60	0.73	48.5
16	160	45	90	0.95	45.6
17	160	45	90	0.93	45.3
18	120	40	120	0.92	40.6
19	120	40	60	0.80	44.2
20	200	50	120	1.27	45.5

سطوح بهینه برای متغیرهای مستقل باتوجه به مقادیر مطلوب و هدف متغیرهای وابسته (بیشترین بازده استخراج و نیز بیشترین محتوای اکسید بیسابولول A در عصاره) با استفاده از نرم افزار مذکور تعیین شدند و نمودار بهینه یابی ترسیم شد. همچنین آزمایش استخراج عصاره از گل های بابونه با دی اکسید کربن فوق بحرانی با شرایط سطوح بهینه تعیین شده توسط نرم افزار مذکور برای متغیرهای مستقل انجام شد و مقادیر بازده استخراج و محتوای اکسید بیسابولول A در عصاره اندازه گیری شدند. انحراف نسبی^۸ (RD) داده های آزمایشگاهی و مقادیر پیش بینی شده توسط مدل برای متغیرهای وابسته با رابطه ۳ محاسبه شد.

(۳)

$$RD = \left| \frac{E - P}{E} \right| \times 100$$

در رابطه (۳)، E داده آزمایشگاهی و P مقدار پیش بینی شده برای متغیر وابسته می باشند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مدل سازی فرایند

ضرایب رگرسیون و آنالیز واریانس مدل خطی برای بازده استخراج در جدول ۳ و ضرایب رگرسیون و آنالیز واریانس

به منظور پیش بینی رفتار متغیرهای وابسته فرایند استخراج در مقابل تغییرات متغیرهای مستقل، برازش داده های متغیرها برای بازده استخراج توسط معادله خطی و برای محتوای اکسید بیسابولول A در عصاره توسط معادله رگرسیونی چندجمله ای درجه دوم^۶ (رابطه ۲) انجام شد.

(۲)

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^k \beta_{ij} X_i X_j$$

در رابطه (۲)، $\beta_0, \beta_i, \beta_{ij}$ به ترتیب عرض از مبدا (ضریب ثابت)، ضریب رگرسیون خطی فاکتور (تیمار) i ام، ضریب رگرسیون درجه دوم فاکتور i ام و ضریب رگرسیون خطی اثر متقابل فاکتور i ام و فاکتور j ام و Y_i متغیر وابسته و X_i و X_j متغیرهای مستقل می باشند. توانایی مدل برای توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل با آماره های ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین تطبیق یافته ($Adj.R^2$) و معنی داری عدم برازش^۷ ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل داده ها، رسم نمودارهای سطح پاسخ و بهینه یابی تیمارهای یاد شده، با نرم افزار مینی تب نسخه ۱۶ صورت گرفت.

۲-۶- بهینه یابی فرایند استخراج

6. Full quadratic model

7. Lack of fit

8. Relative deviation

نشان دهنده توانایی خوب مدل در برازش داده ها می باشد. برای یک مدل با برازش خوب، لازم است که مقدار R^2 حداقل ۰/۸ باشد [۲۱].

مدل رگرسیونی درجه دوم برای محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره در جدول ۴ آورده شده است. بالا بودن آماره های R^2 و $Adj. R^2$ ، نزدیک بودن آن ها به یک و اختلاف کم آن ها با یکدیگر و نیز معنی دار نبودن آماره عدم برازش

Table 3 Regression coefficients and analysis of variance of the linear model for Extraction yield

Source	Coefficient	F value	P value
Model		91.49	< 0.0001
Constant	0.4715		0.003
Linear			
X1-Pressure	0.0050	232.95	< 0.0001
X2-Temperature	-0.0109	16.90	0.001
X3-Dynamic time	0.0022	24.62	< 0.001
R^2 model	0.94		
$Adj. R^2$	0.93		
Lack of fit		1.88	0.252

مدل به دست آمده برای پیش بینی اثرات متغیرهای مستقل بر محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره داشت. مدل مذکور با رابطه ۵ بیان می شود.

(۵)

$$BSBO \text{ content } (\%) = -22.9216 + 0.0963X_1 + 2.3911X_2 + 0.0378X_3 - 0.0002X_1^2 - 0.0228X_2^2 - 0.0007X_3^2 - 0.0004X_1X_2 - 0.0001X_1X_3 + 0.0012X_2X_3$$

مطابق نتایج جدول ۴ اثر خطی دما و نیز اثرات درجه دوم زمان دینامیک استخراج، دما و فشار بر محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره، در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بودند ($P < 0.05$) در حالی که اثر خطی فشار و زمان دینامیک استخراج و نیز اثر خطی متقابل متغیرهای مستقل بر محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره، با اطمینان ۹۵ درصد معنی دار نبودند ($P > 0.05$).

مطابق نتایج جدول ۳ مقادیر R^2 ، $Adj. R^2$ و معنی داری عدم برازش مدل برای بازده استخراج به ترتیب ۰/۹۴، ۰/۹۳ و ۰/۲۵۲ بودند که نشان دهنده آن است که مدل یاد شده به خوبی قادر به توصیف تغییرات بازده استخراج به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل فرایند بود. مدل مذکور با رابطه ۴ بیان می شود.

(۴)

$$Extraction \text{ yield } (\%) = 0.4715 + 0.0050X_1 - 0.0109X_2 + 0.0022X_3$$

همچنین نتایج جدول ۳ نشان می دهد که اثرات خطی فشار، زمان دینامیک استخراج و دما بر بازده استخراج در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بودند ($P < 0.05$).

مطابق نتایج جدول ۴ مقادیر R^2 ، $Adj. R^2$ و معنی داری عدم برازش مدل برای محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره به ترتیب ۰/۹۵، ۰/۹۰ و ۰/۷۲۰ بودند که نشان از مناسب بودن

Table 4 Regression coefficients and analysis of variance of the full quadratic model for BSBO content

Source	Coefficient	F value	P value
Model		20.85	< 0.001
Constant	-22.9216		0.258
Linear			
X1-Pressure	0.0963	1.7	0.221
X2-Temperature	2.3911	14.13	0.004
X3-Dynamic time	0.0378	0.15	0.706
Quadratic			
X_1^2	-0.0002	5.12	0.047
X_2^2	-0.0228	13.00	0.005
X_3^2	-0.0007	17.29	0.002
Interaction			
$X_1 * X_2$	-0.0004	0.07	0.795
$X_1 * X_3$	-0.0001	0.13	0.729
$X_2 * X_3$	0.0012	0.39	0.547
R^2 model	0.95		
$Adj. R^2$	0.90		
Lack of fit		0.58	0.720

استخراج عصاره به روش گاز دی اکسید کربن فوق بحرانی گزارش کرده اند [۲۰، ۲۲ و ۲۴-۲۶].

نمودار سطح پاسخ اثر ترکیبی فشار و زمان دینامیک بر بازده استخراج عصاره در شکل ۲ (ب) نشان داده شده است. مشاهده می شود که با افزایش زمان دینامیک به ویژه در فشارهای بالا، بازده استخراج عصاره به طور چشمگیری افزایش یافت به طوری که بازده استخراج برای زمان دینامیک ۳۰ دقیقه، فشار ۱۶۰ بار و دمای 45°C برابر ۰/۹۱ درصد و برای زمان دینامیک ۱۲۰ دقیقه، فشار ۲۰۰ بار و دمای 50°C برابر ۱/۲۷ درصد بود. از آنجا که با افزایش زمان استخراج، غلظت کلیه مواد قابل استخراج شامل اسانس و اولئورزین ها در عصاره زیاد می شود بنابراین افزایش بازده استخراج عصاره با زمان امری طبیعی است که با نتایج بدست آمده توسط سایر محققان همخوانی دارد [۱۹، ۲۰، ۲۲ و ۲۵].

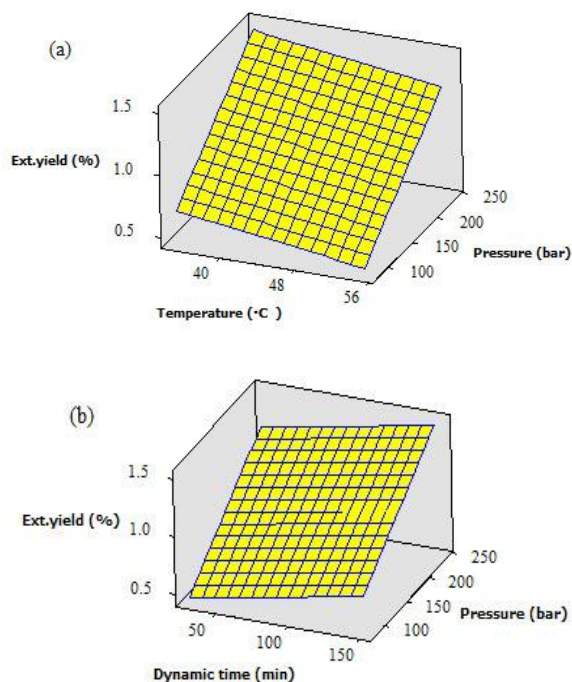


Fig 2 Combined effect of (a) pressure and temperature, and (b) dynamic time and pressure on the extraction yield.

۳-۳- اثر متغیرهای مستقل بر محتوای اکسید

بیسابولول A در عصاره

اثر ترکیبی فشار و دما بر محتوای اکسید بیسابولول A در عصاره در نمودار سطح پاسخ شکل ۳ (الف) نشان داده شده است. مشاهده می شود که افزایش دما باعث افزایش قابل

۳-۲- اثر متغیرهای مستقل بر بازده استخراج

نمودار سطح پاسخ اثر ترکیبی فشار و دما بر بازده استخراج عصاره از گل های بابونه در شکل ۲ (الف) نشان داده شده است. مشاهده می شود که با افزایش فشار به ویژه در دماهای پایین، بازده استخراج عصاره به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافت به طوری که بازده استخراج برای فشار ۸۰ بار، دمای 45°C و زمان دینامیک ۹۰ دقیقه برابر ۰/۶۲ درصد و برای فشار ۲۴۰ بار، دمای 45°C و زمان دینامیک ۹۰ دقیقه برابر بیشترین مقدار در دامنه متغیرهای مستقل مورد بررسی یعنی ۱/۴۶ درصد بود. افزایش فشار به ویژه در دماهای پایین موجب افزایش دانسیته گاز دی اکسید کربن می شود و در نتیجه میزان نفوذ ماده استخراج شونده در گاز و حلالیت آن در گاز افزایش پیدا کرده که این خود موجب افزایش بازده استخراج عصاره می شود [۲۲]. السود و همکاران [۲۳] بیان کردند که حلالیت حل شونده در سیال فوق بحرانی غالباً وابسته به دانسیته سیال بوده و دانسیته نیز متأثر از فشار و دمای محیط می باشد. قابل ذکر است که در دامنه فشارهای مورد استفاده در این پژوهش، افزایش تدریجی فشار با افزایش تدریجی بازده استخراج همراه بود اما نتایج تحقیقات برخی پژوهشگران نشان می دهد که افزایش فشار از حد مشخصی باعث کاهش بازده استخراج شد [۲۲ و ۲۴] که علت آن را به کم شدن نفوذ و سرعت انتقال جرم گاز دی اکسید کربن به دلیل دانسیته بالای آن در فشارهای بالا نسبت دادند [۲۴]. پو و همکاران [۲۰] نشان دادند که افزایش فشار موجب افزایش بازده استخراج روغن اسانسی و اولئورزین از گل های بابونه در روش استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی شد به طوری که بازده کلی استخراج برای فشار ۱۰۰ بار، دمای 40°C ، دبی جرمی گاز $6/67 \times 10^{-5}$ کیلوگرم بر ثانیه و زمان دینامیک ۶۰ دقیقه برابر ۰/۵۱ درصد و برای فشار ۲۰۰ بار، دمای 40°C ، دبی جرمی گاز $6/67 \times 10^{-5}$ کیلوگرم بر ثانیه و زمان دینامیک ۶۰ دقیقه برابر ۱/۸۵ درصد بود. همچنین شکل ۲ (الف) نشان می دهد که افزایش دما موجب کاهش بازده استخراج عصاره شد. افزایش دما موجب کاهش دانسیته گاز دی اکسید کربن و در نتیجه کاهش حلالیت عصاره در گاز می شود که این به نوبه خود می تواند کاهش در بازده استخراج عصاره را در پی داشته باشد. سایر پژوهشگران نتایج مشابهی را برای تاثیر دما بر بازده کلی

که این امر کاهش غلظت اکسید بیسابلول A را در عصاره بدنبال خواهد داشت. شریگاد و همکاران [۲۴] گزارش کردند که با افزایش زمان دینامیک، محتوای کارون اسانس برگ نعنای کاهش پیدا کرد که علت آن را به احتمال افزایش غلظت ترکیبات چربی دوست در اسانس استخراجی نسبت دادند.

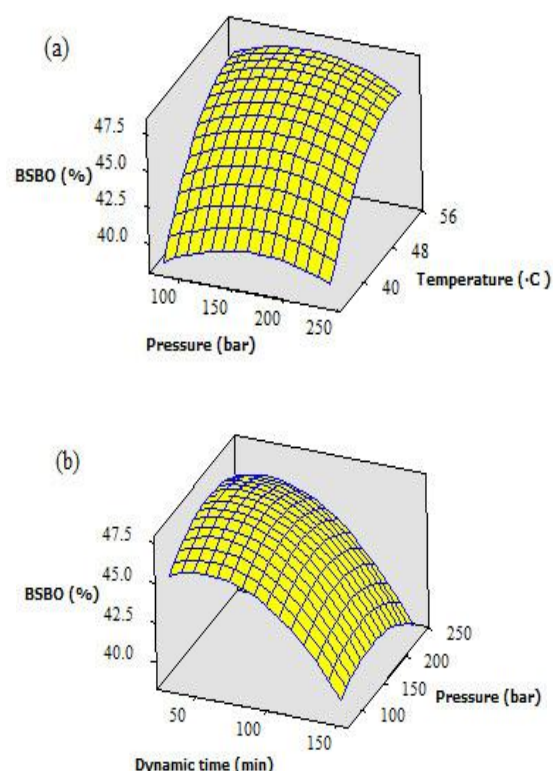


Fig 3 Combined effect of (a) pressure and temperature , and (b) pressure and dynamic time on the BSBO content of extract

۴- بهینه یابی فرایند استخراج

نمودار بهینه یابی فرایند استخراج در شکل ۴ آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود سطوح بهینه برای متغیرهای مستقل فشار، دما و زمان دینامیک استخراج به ترتیب برابر ۲۴۰ بار، $49/7^{\circ}\text{C}$ و $66/4$ دقیقه و مقادیر متغیرهای وابسته مربوطه برای بازده استخراج و محتوای اکسید بیسابلول A به ترتیب $1/29$ درصد و $47/12$ درصد بود. همچنین مطلوبیت^۹ کل برابر $0/79$ و مطلوبیت بازده استخراج و محتوای اکسید بیسابلول A به ترتیب برابر $0/79$ و $0/80$ بود. به منظور اعتبارسنجی مقادیر بهینه پیش بینی

ملاحظه محتوای اکسید بیسابلول A شد به طوری که محتوای اکسید بیسابلول A برای دمای 40°C ، فشار ۲۰۰ بار و زمان دینامیک ۱۲۰ دقیقه برابر $40/8$ درصد و برای دمای 55°C ، فشار ۱۶۰ بار و زمان دینامیک ۹۰ دقیقه برابر $47/3$ درصد بود. افزایش دما موجب کاهش دانسیته گاز دی اکسید کربن و کاهش توان استخراج آن و کاهش بازده عصاره می شود اما از این جنبه تاثیر قابل ملاحظه ای بر محتوای اکسید بیسابلول A نمی گذارد زیرا عصاره متشکل از اسانس و اولئورزین می باشد. از طرفی افزایش دما باعث افزایش فشار بخار و در نتیجه فراریت بیشتر برخی اجزاء عصاره و افزایش غلظت آن ها در عصاره می شود [۲۳] ضمن آن که با افزایش دما ضریب نفوذ اجزاء فرارتر عصاره افزایش بیشتری یافته و باعث افزایش محتوای اکسید بیسابلول A می شود [۲۲]. شریگاد و همکاران [۲۴] گزارش کردند که افزایش دما موجب افزایش محتوای کارون در اسانس استخراج شده از برگ های نعنای (*menthaspicata*) با روش استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی شد که آن را به افزایش حلالیت کارون در گاز دی اکسید کربن نسبت دادند. همچنین شکل ۳ (الف) نشان می دهد که تغییرات فشار، چندان محتوای اکسید بیسابلول A را تحت تاثیر قرار نمی دهد زیرا تاثیر این متغیر بیشتر بر روی بازده کلی استخراج می باشد.

نمودار سطح پاسخ اثر ترکیبی زمان دینامیک و فشار بر محتوای اکسید بیسابلول A در عصاره در شکل ۳ (ب) نشان داده شده است. مشاهده می شود که با افزایش زمان دینامیک به ویژه در زمان های طولانی استخراج، محتوای اکسید بیسابلول A به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت به طوری که محتوای اکسید بیسابلول A برای زمان دینامیک ۳۰ دقیقه، فشار ۱۶۰ بار و دمای 45°C برابر $47/3$ و برای زمان دینامیک ۱۵۰ دقیقه، فشار ۱۶۰ بار و دمای 45°C برابر $40/7$ درصد بود. همچنین شکل ۳ (ب) نشان می دهد که در زمان های کم استخراج (کمتر از ۶۰ دقیقه) افزایش زمان دینامیک با افزایش محتوای اکسید بیسابلول A در عصاره همراه بود که این را می توان به فراریت بیشتر جزء مذکور و افزایش غلظت آن در عصاره، در زمان های ابتدایی فرایند استخراج نسبت داد. با افزایش زمان دینامیک، همانطور که قبلاً ذکر شد بازده کلی استخراج زیاد میشود ضمن آن که غلظت ترکیبات سنگین تر مانند اولئورزین ها نیز در عصاره افزایش می یابد

شده برای متغیرهای مستقل و پاسخ های مربوطه، آزمایش استخراج عصاره با شرایط مقادیر بهینه متغیرهای مستقل انجام شد و مقادیر متغیرهای وابسته اندازه گیری شدند. مقادیر پیش بینی شده و آزمایشگاهی متغیرهای مستقل و وابسته و انحراف نسبی محاسبه شده مطابق رابطه (۲) در جدول ۵ آورده شده است. همان طور که از نتایج جدول ۵ مشاهده می شود داده های آزمایشگاهی و مقادیر پیش بینی شده متغیرهای وابسته اختلاف زیادی با هم نداشتند که این امر مؤید قابل قبول بودن نتایج بهینه یابی می باشد.

افزایش فشار و زمان دینامیک استخراج موجب افزایش بازده استخراج عصاره اما با شدت های متفاوت و افزایش دما موجب کاهش آن شد. افزایش دما باعث افزایش محتوای اکسید بیسبولول A در عصاره و افزایش زمان دینامیک باعث کاهش آن شد ضمن آن که محتوای اکسید بیسبولول A چندان تحت تاثیر فشار نبود. مدل های خطی و رگرسیونی درجه دوم به ترتیب به خوبی قادر به توصیف تغییرات بازده استخراج و محتوای اکسید بیسبولول A به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل فرایند بودند. وجود اختلاف کم میان داده های آزمایشگاهی و مقادیر پیش بینی شده متغیرهای وابسته بیانگر قابل قبول بودن نتایج بهینه یابی بود.

۵- نتیجه گیری

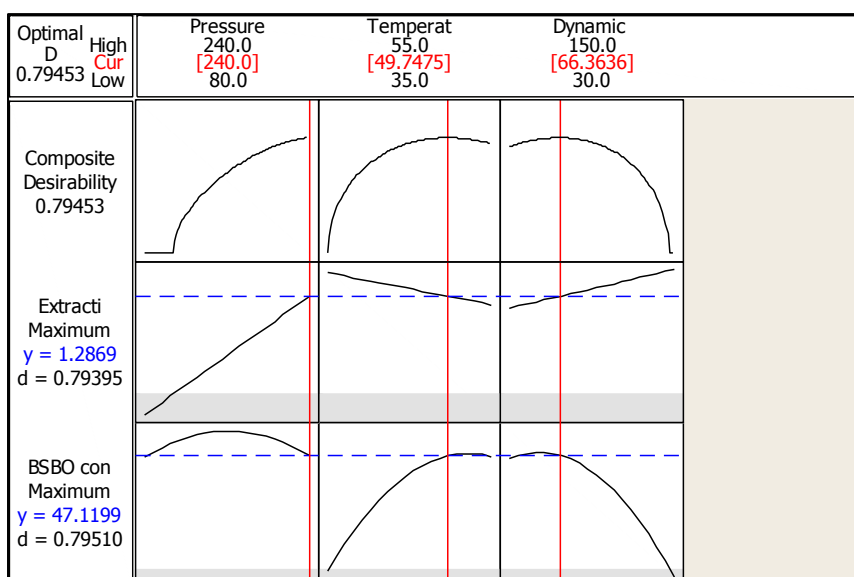


Fig 4 Optimization plot and optimized levels of independent variables and their related responses

Table 5 The predicted and experimental values for independent and dependent variables and the calculated relative deviations for responses

Factors and responses	Predicted	Experimental	RD (%)
Pressure (bar)	240	240	
Temperature (°C)	49.7	49.7	
Dynamic time (min)	66.4	66.4	
Extraction yield (%)	1.29	1.19	0.08
BSBO content (%)	47.12	45.37	0.04

۶- منابع

[2] Wilkinson, S., Aldridge, J., Salmon, I., Cain, F., Wilson, B. 1999. An evaluation of aromatherapy massage in palliative care. *Palliative Medicine*, 13(5): 409–417.

[1] Forster, H. B., Niklas, H., and Lutz, S. 1980. Antispasmodic effects of some medicinal plants. *Planta Medica*, 40(12): 309–319.

2015. Optimization of super- critical fluid extraction of essential oils and fatty acids from flaxweed (*Descurainia Sophia* L.) seed using response surface methodology and central composite design. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 4450–4458.
- [15] Danh, L.T., Truong, P., Mammucari, R., Foster, N. 2010. Extraction of vetiver essential oil by ethanol-modified supercritical carbon dioxide. *Chemical Engineering Journal*, 165(1): 26–34.
- [16] Nimet, G., E.A.D., Silva, Palú, F., Dariva, C., Freitas, L.S., Neto, A.M., Filho, L.C. 2011. Extraction of sunflower (*Heliantus annuus*, L.) oil with supercritical CO₂ and subcritical propane: Experimental and modeling. *Chemical Engineering Journal*, 168(1): 262–268.
- [17] Pourmortazavi, S.M., and Hajimirsadeghi, S.S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant es- sential and volatile oil analysis, *Journal of chromatography A*, 1163(1-2): 2–24.
- [18] Sargolzaei, J., and Moghaddam, A.H. (2013). Predicting the yield of pomegranate oil from super- critical extraction using artificial neural networks and an adaptive-network-based fuzzy inference system. *Front. Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 7(3):357–365.
- [19] Vuorela, H., Holm, Y., Hiltunen, R., Harvala, T., and Laitinen, A. 1990. Extraction of the volatile oil in chamomile flowerheads using supercritical carbon dioxide. *Flavour and fragrance journal*, 5(2): 81–84.
- [20] Povh, N.P., Marques, M.O. and Meireles, M.A.A., 2001. Supercritical CO₂ extraction of essential oil and oleoresin from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *The Journal of Supercritical Fluids*, 21(3): 245–256.
- [21] Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X., and Liu, D. 2015. Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method. *Food chemistry*, 178: 106–114.
- [22] Xiong, K., Chen, Y. and Shen, S. 2019. Experimental optimization and mathematical modeling of supercritical carbon dioxide extraction of essential oil from *Pogostemon cablin*. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2019.04.011>.
- [3] Sarkic, A., and Stappen, I. 2018. Essential oils and their single compounds in cosmetics—A critical review. *Cosmetics*, 5: 1–21.
- [4] Srivastava, J. K., Shankar, E., and Gupta, S. 2010. Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future. *Molecular medicine reports*, 3(6): 895–901.
- [5] Der, M.A., and Liberti, L. 1988. Natural product medicine: A scientific guide to foods, drugs, cosmetics. George, Philadelphia: F. Stickley Co.
- [6] Mann, C., and Staba, E.J. 1986. In herbs, spices and medicinal plants: recent advances in botany. In: Craker, L.E.; Simon, J.E., editors. *Horticulture and Pharmacology*. Phoenix, Arizona: Oryx Press, 235–280.
- [7] McKay, D.L., and Blumberg, J.B. 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, 20:519–530.
- [8] Graf, J. 2000. Herbal anti-inflammatory agents for skin disease. *Skin Therapy Letter*, 5(4): 3–5.
- [9] Patzelt-Wenczler, R., and Ponce-Pöschl, E. 2000. Proof of efficacy of Kamillosan R cream in atopic eczema. *European journal of medical research*, 5(4): 171–175.
- [10] Kobayashi, Y., Nakano, Y., Inayama, K., Sakai, A., Kamiya, T. 2003. Dietary intake of the flower extracts of German chamomile (*Matricaria recutita* L.) inhibited compound 48/80-induced itch-scratch responses in mice. *Phytomedicine*, 10(8): 657–664.
- [11] Kobayashi, Y., Takahashi, R., Ogino, F. 2005. Antipruritic effect of the single oral administration of German chamomile flower extract and its combined effect with antiallergic agents in ddY mice. *Journal of ethnopharmacology*, 101(1-3): 308–312.
- [12] Kobayashi Y., Suzuki A., Kobayashi, A., et al. 2007. Suppression of sensory irritation by chamomile essential oil and its active component – Bisabolol oxide A. In / *International Symposium on Chamomile Research, Development and Production*, 749: 163–174.
- [13] Ogata, I., Kawanai, T., Hashimoto, E., Nishimura, Y., Oyama, Y., Seo, H. 2010. Bisabolol oxide A, one of the main constituents in German chamomile extract, induces apoptosis in rat thymocytes. *Archives of toxicology*, 84(1): 45.
- [14] Ara, K.M., Jowkarderis, M., Raofie, F.

- [25] Sodeifian, G., Sajadian, S.A. and Ardestani, N.S. 2016. Extraction of *Dracocephalum kotschyi* Boiss using supercritical carbon dioxide: experimental and optimization. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107:137-144.
- [26] Herzi, N., Camy, S., Bouajila, J., Destrac, P., Romdhane, M. and Condoret, J.S. 2013. Supercritical CO₂ extraction of *Tetralinis articulata*: chemical composition, antioxidant activity and mathematical modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 82:72-82.
- 019.03.004
- [23] Al - Suod, H., Ratiu, I.A., Krakowska - Sieprawaska, A., Lahuta, L., Górecki, R. and Buszewski, B. 2019. Supercritical fluid extraction in isolation of cyclitols and sugars from chamomile flowers. *Journal of separation science*, 42(20): 3243-3252.
- [24] Shrigod, N.M., Swami Hulle, N.R. and Prasad, R.V. 2017. Supercritical fluid extraction of essential oil from mint leaves (*Mentha spicata*): Process optimization and its quality evaluation. *Journal of food process engineering*, 40(3): p.e12488. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12488>.

Extraction process optimization of chamomile flowerhead extract by supercritical CO₂ by Response Surface Methodology

Abdollahi Moghaddam, M. R.^{1*}, Rajabzadeh, G.²

1. Assistant Professor, Department of food chemistry, Research institute of food science and technology, Mashhad

2. Associate Professor, Department of food nanotechnology, Research institute of food science and technology, Mashhad

(Received: 2020/01/24 Accepted: 2020/03/11)

In this research extraction process optimization of chamomile (*Matricaria recutita*) flower head extract by supercritical CO₂ technique was carried out at different levels of process variables using response surface methodology based on central composite design. Hence, the effects of pressure (80–240 bar), temperature (35–55 °C), and dynamic extraction time (30–150 min) were evaluated with respect to extraction yield and bisabololoxide A content in the obtained extract. According to the results, the pressure had the most significant effect ($p < 0.05$) on the extraction yield followed by dynamic extraction time and temperature. Also the linear effect of temperature and the quadratic effects of dynamic extraction time, temperature and pressure on the bisabololoxide A content were significant ($p < 0.05$). As a result of the optimization process, it found that the highest amount of extraction yield (1.29%) and bisabololoxide A content (47.12%) was obtained by applying pressure, temperature and dynamic extraction time at 240 bar, 49.7°C and 66.4 minute, respectively.

Keywords: Extraction, Chamomile, Optimization, Supercritical carbon dioxide, Response surface methodology.

* Corresponding Author E-Mail Address: abdollahim1344@gmail.com