

استخراج اسانس از بذر رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) با استفاده از آب فوق داغ و مقایسه آن با تقطیر آبی

سینا صادق موسوی^{۱*}، آرزو دستپاک^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، تهران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۸/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۷/۲۳)

چکیده

استخراج به کمک آب فوق داغ به دلیل داشتن مزایایی از قبیل سرعت و بازدهی بالا، کاهش مقدار حلال‌های آلی مورد استفاده نسبت به روش‌های سنتی و همچنین به دلیل سازگار بودن با محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است.

در این مطالعه استخراج اسانس از بذر گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) با استفاده از روش استخراج با آب فوق داغ انجام شد و با روش تقطیر با آب مقایسه قرار گردید. ترانس آنتول به عنوان ترکیب اصلی، هدف انجام آزمایش‌های بعدی قرار گرفت. جداسازی و تشخیص ترانس آنتول استخراج شده به وسیله GC-FID و GC/MS انجام شد. تاثیر پارامترهای دما، متوسط اندازه ذره و شدت جریان بر روی میزان استخراج در روش آب فوق داغ بررسی شدند. به منظور تسهیل روند آزمایش‌ها و مقایسه پارامترهای موثر از روش طراحی آزمایش ناگوشی استفاده شد. نسبت مساحت ترانس آنتول به استاندارد داخلی حاصل از کروماتوگرافی گازی به عنوان معیار ارزیابی تاثیر پارامترها و روش‌های استخراج اسانس از دانه رازیانه محاسبه شد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که دما و متوسط اندازه ذره تاثیر قابل توجهی بر میزان استخراج ترانس آنتول دارند. بیشترین نسبت سطح ترانس آنتول به استاندارد داخلی در دمای ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد، متوسط اندازه ۰/۳۹۸ میلی‌متر و شدت جریان ۳ میلی‌لیتر در دقیقه به دست آمد. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که استخراج با آب فوق داغ در مقایسه با روش تقطیر با آب یک شیوه سریع با بازدهی بالا به منظور استخراج ترانس آنتول به عنوان یک ترکیب اکسیژن‌دار با ارزش می‌باشد.

کلید واژگان: استخراج با آب فوق داغ، تقطیر با آب، ترانس آنتول، رازیانه.

*مسئول مکاتبات: mousavi3696@gmail.com

۱- مقدمه

تغییرات، دانسیته آب در مقایسه با سایر خواص با کاهش اندک روبرو است. روشن است که ثابت نسبی دانسیته در محدوده تغییرات یاد شده می‌تواند به معنای اثر محدود فشار بر خواص آب تلقی شود [۱].

استخراج به کمک آب فوق داغ به دلیل داشتن مزایایی از قبیل سرعت بالا، بازدهی بالا و کاهش مقدار حلال‌های آلی مورد استفاده نسبت به روش‌های سنتی و همچنین به دلیل سازگار بودن با محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است [۲ و ۵]. در این روش آب فوق داغ به شکل مایع و در محدوده دمایی بین ۱۰۰ تا ۲۷۳ درجه سانتی‌گراد و دمای بحرانی استفاده می‌شود که به آن آب زیر بحرانی نیز گفته می‌شود (شکل ۲). محدوده فشار مورد نیاز برای باقی ماندن آب به حالت مایع ۱۵ بار در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۸۵ بار در ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد است. اگر در دماهای بالاتر شده فشار کمتر از مقدار فوق باشد به عبارتی دیگر اگر فشار به پایین‌تر از فشارهای متناظر با نقطه جوش برسد بخار فوق اشباع تولید می‌شود [۶].

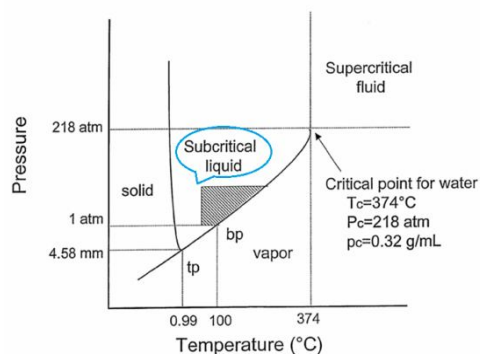


Fig 2 Phase diagram of water as a function of temperature and pressure Cross-hatched area indicates the preferred region (SWE) (7).

اسانس‌های موجود در گیاهان معمولاً با دو روش تقطیر با بخار آب و استخراج به کمک حلال جداسازی می‌شوند. این تکنیک‌ها دارای معایبی از قبیل اتلاف ترکیبات فرار، بازده استخراج پایین، زمان استخراج طولانی، تخریب ترکیبات اشباع نشده و باقی ماندن حلال سمی می‌باشند که زمینه را جهت مطالعه و استفاده از تکنیک‌های جایگزین استخراج فراهم می‌کنند [۸]. استخراج به کمک آب فوق داغ برای اولین بار در سال ۱۹۹۸ میلادی توسط بازیل^۱ و همکارانش به منظور استخراج اسانس از گیاه

آب به دلیل دارا بودن سطح وسیع پیوندهای هیدروژنی، حلالی منحصر به فرد به شمار می‌آید. همچنین بالا بودن نقطه جوش، ثابت دی‌الکتریک و قطبیت شدید از دیگر خصوصیات آب می‌باشد. در عین حال، با گرمادهی آب، به دلیل تضعیف شبکه پیوندهای هیدروژنی و افزایش انرژی جنبشی مولکولی، خصوصیات این حلال به طور قابل توجهی تحت تاثیر قرار می‌گیرد [۱]. اگرچه مقدار ثابت دی‌الکتریک آب در دمای اتاق نزدیک به ۸۰ است ولی این مقدار در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌تواند به ۳۰ کاهش پیدا کند که در این شرایط مقدار ثابت دی‌الکتریک مشابه با مقادیر به دست آمده با برخی از حلال‌های آلی مانند متانول و اتانول خواهد بود (شکل ۱) [۲].

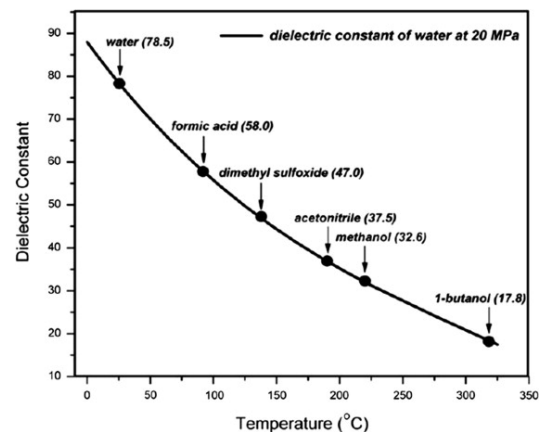


Fig 1 Dielectric constant of water as a function of temperature at 20 MPa. Solid circles superimposed on the plot are the values corresponding to different organic solvent at 25°C and 0.1 MPa (3).

تحت این شرایط آب می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای حل کردن ترکیبات آلی با قطبیت متوسط و حتی ترکیبات غیرقطبی قابل استفاده باشد [۳]. از سوی دیگر افزایش دما باعث افزایش سرعت نفوذ و کاهش ویسکوزیته و همچنین کاهش کشش سطحی آب می‌شود. اگر فشار تا حدی افزایش یابد که آب در حالت مایع باقی بماند، این تغییرات در فراتر از نقطه جوش نرمال آب و تا محدوده‌ی نقطه بحرانی در ۳۷۴ درجه سانتی‌گراد و ۲۱۸ بار و حتی در بیشتر از آن همچنان ادامه خواهد داشت در این حالت قطبیت آب به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته بطوری که می‌توان آن را به عنوان یک حلال استخراج برای طیف گسترده‌ای از آنالیت‌ها استفاده کرد [۴]. در این محدوده وسیع از

1. Basile

سانتی‌گراد نگهداری شدند. میانگین درصد رطوبت (وزن/وزن) دانه‌های رازیانه ۳/۸۴ درصد بود. ترکیب خالص ترانس آنتول (شرکت مرک آلمان با خلوص ۹۹/۹ درصد) به عنوان استاندارد خارجی و حلال نرمال هگزان با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد HPLC (شرکت مرک آلمان) جهت استخراج مایع-مایع مورد استفاده قرار گرفت. نمک طعام (NaCl) برای شکستن محلول کلئیدی (به عنوان دی‌امولسی‌فایر) و سولفات سدیم (Na_2SO_4) جهت آب‌گیری (شرکت مرک آلمان) استفاده شدند. آب مقطر دیونیزه پس از اکسیژن‌زدایی توسط گاز نیتروژن، به عنوان حلال برای استخراج مورد استفاده قرار گرفت. گاز ازت با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد برای خارج کردن حلال هگزان و خشک نمودن اسانس استخراج شده از فاز مایع استفاده گردید.

۲-۱- استخراج به کمک تقطیر با آب

مقدار ۱۰۰ گرم پودر دانه رازیانه به همراه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به منظور استخراج اسانس درون مخزن دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت قرار داده شد.

۲-۲- استخراج با آب در دمای زیر بحرانی

استخراج با آب در دمای زیر بحرانی در پژوهشکده فناوری‌های شیمیایی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران انجام گرفت (شکل ۳). برای استخراج اسانس با آب در دمای زیر بحرانی ابتدا بذرها در اندازه‌های مختلف در محدوده ۰/۳۹ تا ۰/۹۵ میلی‌متر پودر شده و برای جداسازی ذرات براساس اندازه، پودر بذرها از سری مش‌های استیل ضد زنگ عبور داده شدند. در این روش استخراج، از روش طراحی آزمایش تاگوچی^۵ استفاده شد [۱۴]. سه پارامتر فرایندی در سه سطح مختلف برای بررسی تاثیر بر بازده ترانس آنتول مورد مطالعه قرار گرفتند. این پارامترها شامل دما (۱۲۵، ۱۵۰ و ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد)، اندازه ذرات (۰/۳۹۸، ۰/۶۰۳ و ۰/۹۴۸ میلی‌متر) و شدت جریان (۱، ۲ و ۳ میلی‌لیتر بر دقیقه) بودند. با توجه به تحقیقات انجام شده در بین پارامترهای موثر فشار کمترین تاثیر را بر روی راندمان دارد لذا فشار ۲۰ بار برای تمامی آزمایش‌ها در نظر گرفته شد تا از حالت مایع بودن آب اطمینان حاصل گردد [۱۵]. آب دیونیزه در مخزن خوراک ۵ لیتری به مدت ۲ ساعت توسط گاز ازت

اکلیل‌کوهی^۲ مورد استفاده قرار گرفت [۱۰ و ۹].

گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) از خانواده چتریان (Apiaceae) گیاهی معطر و دارویی، علفی و چند ساله با برگ‌های قاعده‌ای است که در اروپا، شمال آفریقا و جنوب غرب آسیا، مشاهده می‌شود. در ایران به علت دارویی بودن در اغلب نقاط کشور کاشته می‌شود. این گیاه به طور سنتی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله مشکلات معده و همچنین چاقی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۱]. بر اساس مطالعات انجام شده مهم‌ترین ماده تشکیل دهنده اسانس، ترانس آنتول است (۷۰ تا ۸۰ درصد) [۱۳]. در سال ۱۹۹۴ ماروتی^۳ و همکارانش اثر نحوه رشد و همچنین تاثیر نوع و گونه گیاه رازیانه را بر ترکیب اسانس این گیاه بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان ترانس آنتول، لیمونن و فنچون به شدت متاثر از گونه گیاه و زمان برداشت گیاه است [۱۲]. گامیزگارسیا^۴ و همکاران استخراج اسانس از گیاه رازیانه را با روش‌های مختلفی انجام داده و ۱۲ ترکیب را شناسایی نمودند که در این میان ترانس آنتول با ۶۸/۰۵۴ درصد به عنوان بیشترین ترکیب موجود مطرح گردید [۸]. رحیم‌ملک و همکاران ترکیبات اسانس ۱۲ نمونه رازیانه متعلق به نواحی مختلف جغرافیایی ایران را مورد بررسی قرار دادند. ترانس آنتول، فنچون و لیمونن ترکیبات اصلی اسانس بودند. در این مطالعه میزان ترانس آنتول از ۴۱/۱۹ درصد تا ۵۶/۶ درصد متغیر بود (۱۳).

در تحقیق حاضر برای نخستین بار از روش استخراج با آب فوق داغ به منظور استخراج ترانس آنتول از بذرها گیاه رازیانه استفاده شد. در این مطالعه بررسی سینتیکی پارامترهای تاثیرگذار در روند استخراج ترانس آنتول صورت گرفت و همچنین نتایج حاصل با نتایج بدست آمده از روش تقطیر با آب مقایسه گردید.

۲- مواد و روش‌ها

گیاه رازیانه در مهرماه ۱۳۹۳ از استان فارس تهیه و بذرها آن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شده و تا زمان انجام فرایند استخراج در کیسه‌های پلی‌اتیلنی و در دمای ۴ درجه

2. Rosemary
3. Marotti
4. Gamiz Garcia

5. Taguchi

در استخراج به روش فوق بحرانی در بررسی هر پارامتر ۲ گرم پودر بذر استفاده شد. در تمامی آزمایش‌ها به منظور جداسازی اسانس، حجم مشخصی از عصاره آبی بدست آمده از استخراج با آب فوق داغ از طریق استخراج مایع-مایع با استفاده از حلال نرمال هگزان (هگزان/عصاره، ۵/۲) مورد استفاده قرار گرفت. فاز آلی بدست آمده برای جداسازی اسانس از هگزان در سانتریفیوژ (۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) قرار گرفت و سپس با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و قرار دادن اسانس در مجاورت گاز ازت، اسانس بطور کامل از هگزان جداسازی گردید. اسانس به دست آمده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲-۳- دستگاه آنالیز کروماتوگرافی گازی (GC)

یک میکرولیتر از اسانس با روش فوق داغ و همچنین تقطیر با آب به دستگاه GC مدل YL-6500 موجود در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران با مشخصات زیر تزریق شد: ستون مورد استفاده TRB-G43 با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۵۳ میکرومتر و ضخامت فیلم ۰/۳ میکرومتر. شرایط عملیاتی دستگاه شامل برنامه دمایی ۲۴۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت دمایی ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، گاز حامل نیتروژن با درجه خلوص (۹۹/۹۹٪) با دبی ۴ میلی‌لیتر بر دقیقه و نسبت جدایش ۱:۲۰.

۲-۴- دستگاه آنالیز کروماتوگرافی گازی- طیف

سنجی جرمی (GC/MS)

برای انجام آنالیزهای GC/MS، یک میکرولیتر از اسانس حاصل از استخراج با روش تقطیر با آب به دستگاه GC/MS مدل MSD: 5973.GC: HP 6890.Chemstation Software ساخت شرکت Agilent Technologies و با مشخصات زیر تزریق شد: ستون مورد استفاده از نوع TRB-5MS با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت دیواره ۰/۲۵ میکرومتر. شرایط عملیاتی دستگاه عبارت بود از: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، دمای ورودی ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد، گاز هلیوم با دبی ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و نسبت جدایش برابر ۱:۱۰

برای حذف اکسیژن حل شده در آب، اکسیژن‌زدایی شد. پمپ فشار بالا برای انتقال آب به داخل سیستم در شدت جریان‌های مورد نیاز استفاده گردید. خروجی پمپ با استفاده از بورت تعبیه شده در ورودی خط لوله که قابلیت تنظیم شدن در شدت جریان‌های مورد نیاز را داشت، تنظیم شد. مارپیچ گرمایش (به طول ۳ متر)، ظرف استخراج کننده (به ابعاد ۱۲ × ۱۲۰ میلی‌متر) و سه شیر سوزنی، درون آونی که تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد قابلیت انجام کار داشت قرار گرفتند. همچنین فشار و دما قبل و بعد از ظرف استخراج قابل اندازه‌گیری بود. پس از فرایند استخراج به منظور جلوگیری از اتلاف حرارتی اسانس خروجی از آن، عصاره خروجی توسط مبدل حرارتی سرد شونده تا دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد خنک شد. پس از تثبیت فشار مطلوب در سیستم، محصول خروجی وارد شیشه جمع‌آوری نمونه گردید.

به منظور بررسی اهمیت و تأثیر پارامترهای مورد نظر، میزان استخراج آنتول به عنوان هدف یا پاسخ طراحی آزمایش در نظر گرفته شد.

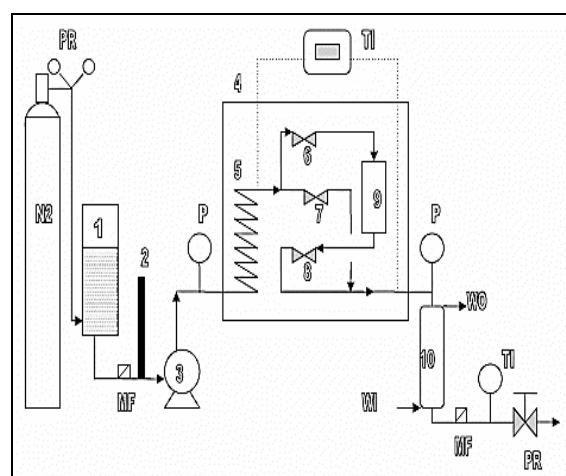


Fig 3 Schematic diagram of subcritical water extraction system: 1, water reservoir; 2, burette; 3, pump; 4, oven; 5, preheater; 6, inlet water; 7, bypass stream; 8, outlet water; 9, extraction cell; 10, heat exchanger; MF, micro filter; P, pressure indicator; PR, pressure regulator; temperature indicator; WI, cooling water in; WO, cooling water out.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از کروماتوگرافی در هر دو روش استخراج با آب فوق بحرانی و تقطیر با آب نشان داد که ترانس آنتول ترکیب عمده اسانس رازیانه می‌باشد. نسبت مساحت ترانس آنتول به استاندارد داخلی حاصل از کروماتوگرافی گازی به عنوان معیار ارزیابی تأثیر پارامترها بر بر بازده استخراج ترانس آنتول قرار گرفت.

۳-۱- تأثیر دما بر روی بازده استخراج ترانس آنتول

در استخراج ترکیبات به کمک آب فوق داغ، دما یک پارامتر کلیدی برای بدست آوردن بازده بالا به شمار می‌رود. با افزایش دما به دلیل افزایش حلالیت، مقادیر زیادی از ترکیبات استخراج شده و در نتیجه بازده استخراج افزایش می‌یابد. اگر چه در دماهای بالا ممکن است ترکیبات ناخواسته مومی و پارافینی موجود در گیاه نیز به اسانس اضافه شوند، همچنین برخی از ترکیبات حساس به دما نیز از بین بروند.

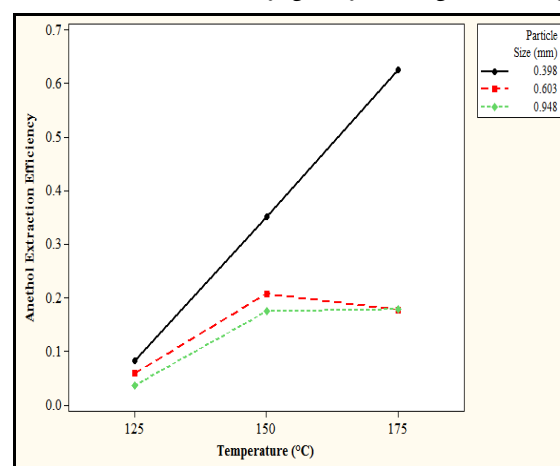


Fig 4 Effect of Temperature on extraction efficiency in different particle size.

با افزایش دما در محدوده ۱۵۰-۱۲۵ درجه سانتی‌گراد، بازده استخراج یک روند افزایشی را با یک شیب تقریباً مساوی برای تمامی اندازه ذرات در شدت جریان‌های مختلف نشان می‌دهد. سینتیک مطلوب انتقال جرم به دلیل کاهش چسبندگی پیوندهای هیدروژنی، کاهش ویسکوزیته آب و همچنین کاهش کشش سطحی آب با افزایش دما، از دلایل افزایش بازده استخراج در اثر

افزایش دما می‌باشند. در محدوده ۱۷۵-۱۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دما روند تغییرات بازده استخراج برای اندازه‌های مختلف ذرات متفاوت است بطوری که در اندازه ذره ۰/۶۰۳ میلی‌متر بازده استخراج ترانس آنتول تا حدودی کاهش می‌یابد. این در حالی است که میزان بازده استخراج در اندازه ذره ۰/۹۴۸ میلی‌متر تقریباً ثابت باقی می‌ماند. اما مشاهده می‌شود که روند افزایش بازده استخراج برای اندازه ذره ۰/۳۹۸ میلی‌متر در این محدوده دمایی ثابت است. با کوچکتر شدن اندازه ذرات، مساحت سطح ویژه تماس افزایش یافته که باعث افزایش میزان انتقال جرم شده و مقدار کل استخراج بیشتر می‌شود [۱۶]. از سوی دیگر افزایش شدت جریان باعث می‌شود تا نمونه مورد نظر همواره با یک سیال تازه در تماس باشد که این امر منجر به افزایش نیروی محرکه انتقال جرم به دلیل افزایش میزان اختلاف غلظت خواهد شد. ولی با توجه به نتایج حاصل از آنالیز واریانس که در آن شدت جریان در مقایسه با دما و اندازه ذره تأثیر محسوسی بر روی میزان استخراج نداشت لذا شیب ثابتی در تغییرات بازده براساس اندازه ذره ۰/۳۹۸ میلی‌متر مشاهده گردید (شکل ۴). از سوی دیگر هر چه اندازه ذرات بزرگتر باشد فرایند انتقال جرم توسط انتقال ترکیبات به سطح کنترل می‌شود، لذا مقاومتی در برابر انتقال جرم ایجاد می‌شود که باعث کاهش مقدار استخراج اسانس می‌گردد [۱۷]. کاهش جزئی بازده استخراج در اندازه ذره ۰/۶۰۳ میلی‌متر از دمای ۱۵۰ به ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد مرتبط با شدت جریان است که میزان آن در دماهای ۱۵۰ و ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۳ و ۱ میلی‌لیتر در دقیقه می‌باشد.

۳-۲- تأثیر اندازه ذره بر روی بازده استخراج ترانس آنتول

براساس تحقیقات انجام شده هر چه اندازه ذرات کوچکتر باشد بازده استخراج افزایش می‌یابد. هر چند امکان تبخیر ترکیبات فرار در طول فرایند خرد کردن نیز وجود دارد. از طرفی هرچه اندازه ذرات بزرگتر باشد فرایند انتقال جرم توسط انتقال ترکیبات به سطح کنترل می‌شود که باعث کاهش مقدار اسانس تولیدی می‌شود [۱۷ و ۱۵]. نمودار تغییرات بازده استخراج بر حسب اندازه ذره در شدت جریان‌های متفاوت در شکل ۵ نشان داده شده است.

به $0/948$ میلی‌متر در شدت جریان 3 میلی‌لیتر در دقیقه (شکل ۵)، دما از 150 به 125 درجه سانتی‌گراد تغییر کرده است و تاثیر همزمان کاهش دما و افزایش اندازه ذره در شدت جریان ثابت باعث شده است که بازده به کمترین مقدار خود برسد. کاهش دما به دلیل افزایش چسبندگی پیوندهای هیدروژنی، افزایش ویسکوزیته آب و همچنین افزایش کشش سطحی آب بازده استخراج را کاهش می‌دهد [۱۵]. همچنین افزایش اندازه ذره باعث افزایش زمان انتقال ترکیبات به سطح ذره می‌شود که به عنوان عامل کنترل کننده در برابر انتقال جرم مطرح می‌شود و بازده استخراج را کاهش می‌دهد [۱۷]. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که در شدت جریان 2 میلی‌لیتر در دقیقه، علی‌رغم افزایش اندازه ذره در محدوده $0/603-0/948$ میلی‌متر بازده استخراج افزایش می‌یابد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس که بیانگر میزان تاثیر زیاد دما نسبت به اندازه ذره بر روی بازده استخراج است، افزایش دما از 125 به 175 درجه سانتی‌گراد در این محدوده باعث افزایش بازده می‌شود.

۳-۳- تاثیر شدت جریان بر روی بازده استخراج ترانس آنتول

شدت جریان آب فوق داغ یکی از عواملی است که می‌تواند بر روی میزان استخراج اسانس تاثیرگذار باشد. به طور کلی افزایش شدت جریان باعث افزایش بازده استخراج در نمونه‌های با غلظت بالا می‌شود که به دلیل افزایش حجم آب و در نتیجه افزایش میزان انتقال جرم (افزایش اختلاف غلظت) آنالیت از ماتریس باعث افزایش بازده استخراج در نمونه‌های با غلظت بالا می‌شود. در شدت جریان‌های کم، سرعت استخراج پایین بوده ولی عصاره آبی به دست آمده نسبت به اجزاء اسانس غلیظتر است. در صورتی‌که در شدت جریان‌های بالا سرعت استخراج بیشتر بوده و عصاره آبی به دست آمده رقیق‌تر است. بنابراین افزایش شدت جریان برای بالا بردن سرعت استخراج باعث رقیق‌تر شدن محصول نهایی خواهد شد. از این رو در روش استخراج با آب فوق داغ لازم است زمان استخراج یا نرخ شدت جریان در مدت ارزیابی فرایند تعیین گردد [۱۸].

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تاثیر شدت جریان در مقایسه با تاثیرات دما و اندازه ذره بر روی بازده استخراج ترانس آنتول کم

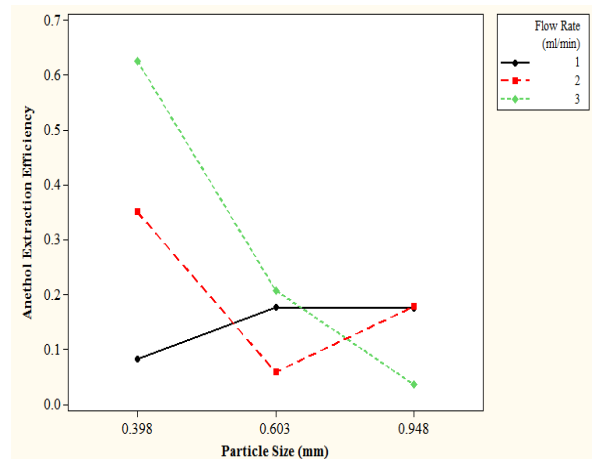


Fig 5 Effect of particle size on extraction efficiency in different flow rate.

در محدوده اندازه ذره $0/398-0/603$ میلی‌متر کاهش محسوسی در میزان استخراج ترانس آنتول در شدت جریان‌های 2 و 3 میلی‌لیتر در دقیقه مشاهده می‌شود. در حالی‌که این مقدار در شدت جریان 1 میلی‌لیتر در دقیقه در محدوده مورد نظر افزایش یافته است. با توجه به نتایج آنالیز واریانس که بیانگر میزان تاثیر زیاد دما نسبت به اندازه ذره بر روی بازده استخراج است، علی‌رغم اینکه اندازه ذره از $0/398$ به $0/603$ میلی‌متر افزایش پیدا می‌کند افزایش دما از 125 به 175 درجه سانتی‌گراد به عنوان فاکتور غالب در محدوده مورد نظر باعث افزایش بازده استخراج می‌شود. علی‌رغم اینکه انتظار می‌رود بازده استخراج با افزایش بیشتر اندازه ذره از $0/603$ به $0/948$ میلی‌متر کاهش یابد ولی به دلیل تاثیر متقابل شدت جریان و اندازه ذره شیب تغییرات ثابت می‌ماند که می‌توان آن را به افزایش زمان تماس بین ذره و سیال استخراج کننده در شدت جریان‌های کوچکتر نسبت داد (شکل ۵). همچنین شیب کاهش بازده استخراج در شدت جریان 3 میلی‌لیتر در دقیقه نسبت به شدت جریان 2 میلی‌لیتر در دقیقه در محدوده $0/398-0/603$ میلی‌متر در شدت جریان 2 میلی‌لیتر در دقیقه به دلیل افزایش زمان تماس آب با ذرات بذر رازیانه، شیب کاهش بازده استخراج با افزایش اندازه ذره کندتر می‌شود. در محدوده اندازه ذره $0/603-0/948$ میلی‌متر و در شدت جریان‌های 2 و 3 میلی‌لیتر در دقیقه روند تغییرات بازده، عکس هم می‌باشند به طوری‌که در شدت جریان 3 میلی‌لیتر در دقیقه همچنان ادامه روند کاهشی بازده با شیب کمتر مشاهده می‌شود. با توجه به نمودار مربوط به افزایش اندازه ذره از $0/603$

نتیجه غلظت کمتر عصاره نهایی است. بنابراین مقدار استفاده از حلال آلی و سمی هگزان بیش تر شده و زمان استخراج نیز طولانی تر می شود.

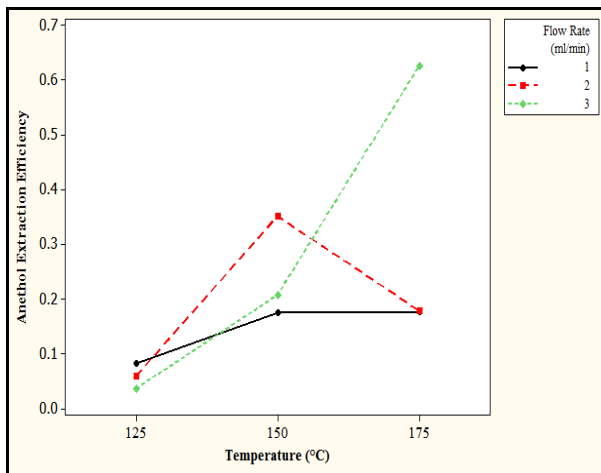


Fig 6 Effect of flow rate on extraction efficiency in different temperature

۳-۴- مقایسه روش استخراج به کمک آب فوق

داغبا روش تقطیر با آب

بذر رازیانه بیشترین مقدار ترانس آنتول را در میان سایر ترکیبات دارد بنابراین آنتول به عنوان یک ترکیب شاخص برای مقایسه کارایی استخراج اسانس رازیانه در آزمایش های مختلف به کمک آب فوق داغ مورد بررسی قرار گرفت. در تمام آزمایش ها تلاش شد تا شرایط استخراج از همه جهات یکسان باشد و فقط پارامترهای دما، شدت جریان و اندازه ذرات تغییر نماید. در مقایسه کارایی استخراج هر آزمایش، نسبت سطح زیر پیک ترانس آنتول به عنوان ترکیب شاخص به سطح زیر پیک استاندارد داخلی (نرمال نونان) حاصل از کروماتوگرافی گازی در نظر گرفته شد. افزایش این نسبت به مفهوم افزایش کارایی استخراج بر اساس آزمایش مورد نظر است [۸، ۱۵]. بر همین اساس شرایط بهینه استخراج انتخاب گردید و اسانس استخراج شده در شرایط بهینه با روش تقطیر با آب مقایسه شد. در شکل ۷ میزان استخراج ترانس آنتول از دانه رازیانه برای ۲ گرم نمونه در روش استخراج با آب فوق داغ و ۱۰۰ گرم نمونه برای روش استخراج با تقطیر باهم مقایسه شده اند.

است. با افزایش شدت جریان بازده استخراج افزایش می یابد. در محدوده دمایی ۱۵۰-۱۲۵ درجه سانتی گراد با افزایش شدت جریان بازده استخراج با شیب های مختلف افزایش می یابد (شکل ۶). تندی شیب نمودار شدت جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه نسبت به شدت جریان ۳ میلی لیتر در دقیقه به میزان کاهش اندازه ذره مربوط می شود. به عبارتی نمودار مربوط به شدت جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه در بازه دمایی ۱۲۵ تا ۱۵۰ درجه سانتی گراد، تغییرات اندازه ذره از مقدار ۰/۶۰۳ به ۰/۳۹۸ میلی متر را نشان می دهد، در حالی که نمودار مربوط به شدت جریان ۳ میلی لیتر در دقیقه در بازه دمایی ۱۲۵ تا ۱۵۰ درجه سانتی گراد، تغییرات اندازه ذره از مقدار ۰/۹۴۸ به ۰/۶۰۳ میلی متر را نشان می دهد و شیب کاهش مقدار بازده با افزایش اندازه ذره کاهش می یابد (شکل ۲). در محدوده دمایی ۱۵۰ تا ۱۷۵ درجه سانتی گراد نمودار مربوط به شدت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه علی رغم اینکه انتظار می رود بازده استخراج با افزایش دما و کاهش اندازه ذره از ۰/۹۴۸ به ۰/۶۰۳ میلی متر افزایش یابد ولی مقدار آن ثابت مانده است. با توجه به اینکه در شدت جریان های کوچکتر زمان تماس بین نمونه و آب افزایش می یابد احتمال سوختگی برخی از ترکیبات حساس به دما وجود دارد و در نتیجه باعث کاهش بازده فرایند استخراج می شود که این عقیده در مطالعات سایر محققین در استخراج با آب در دمای زیر بحرانی نیز دیده می شود [۷، ۱۹]. که در آزمایشات انجام شده در این دما و شدت جریان، بوی سوختگی در سیستم تولید شد.

روند کاهش بازده استخراج برای شدت جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه از بازه ۱۵۰ تا ۱۷۵ درجه سانتی گراد به افزایش اندازه ذره مربوط می شود. همانطور که قبلا نیز گفته شد افزایش اندازه ذره باعث افزایش زمان انتقال ترکیبات به سطح ذره می شود که به عنوان عامل کنترل کننده در برابر انتقال جرم مطرح می شود و بازده استخراج را کاهش می دهد افزایش شیب مربوط به نمودار شدت جریان ۳ میلی لیتر در دقیقه در بازه دمایی ۱۵۰ تا ۱۷۵ درجه سانتی گراد به دلیل افزایش دما و کاهش اندازه ذره می باشد. در شدت جریان های بالا، سرعت سطحی افزایش می یابد که باعث افزایش سرعت انتقال جرم می شود و در نتیجه بازده استخراج افزایش می یابد [۲۰]. از مهم ترین معایب بکارگیری شدت جریان بالای آب، افزایش حجم عصاره استخراج شده و در

استخراج، کارایی، گزینش پذیری نسبت به روش تقطیر با آب برتری دارد. مدت زمان مورد نیاز جهت استخراج به کمک تقطیر ۲۴۰ دقیقه است در حالی که در استخراج با آب فوق داغ این زمان به ۱۲۰ دقیقه کاهش مییابد. در روش تقطیر مرحله جداسازی اسانس از آب منجر به از دست رفتن مقادیری از اسانس می شود در صورتی که در روش استخراج با آب فوق داغ این اتلاف اسانس وجود ندارد. از سوی دیگر روش استخراج با آب فوق داغ این امکان را می دهد که با تغییر شرایط عملیاتی، کیفیت اسانس استخراج شده را به نحو دلخواه تغییر داد. در صورتی که این امر در تقطیر با آب امکان پذیر نیست. همچنین روش استخراج با آب فوق داغ به دمای بالا نیاز نداشته و این ویژگی باعث می شود که انرژی و به دنبال آن هزینه مورد نیاز برای استخراج به شدت کاهش یابد.

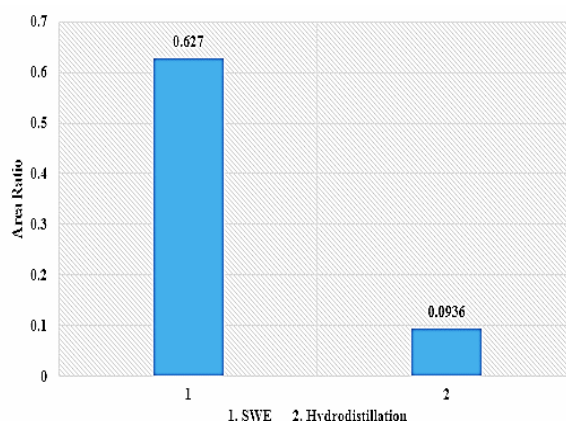


Fig 7 Comparison of Trans Anethol Extraction Based on (TA / IS) by Different Methods

مقایسه دو روش استخراج به کمک آب فوق داغ و روش تقطیر با آب به عنوان یک روش سنتی، نشان داد که روش استخراج به کمک آب فوق داغ به عنوان یک روش نوین از نظر سرعت

Table 1 Comparison of Trans-Anethol Extracted by Subcritical Water and Water Distillation

Compound	Subcritical water	Hydrodistillation
Trans-Anethol	0.627	0.0936

1. Sample: 2 gr Fennel, Average particle size: 0.398 mm, Flow rate: 3 ml/min, Temperature: 175°C, Extraction time: 120 min
2. Extraction time: 240 min

The numbers are area ratio of each component/IS

حمایت های مالی و سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران به جهت همکاری های لازم سپاسگزاری نمایند.

۵- نتیجه گیری

این تحقیق با هدف استخراج اسانس از بذر گیاه رازیانه با استفاده از روش آب فوق داغ به عنوان یکی از روش های نوین انجام گردید. پارامترهای موثر بر روی راندمان استخراج ترانس آنتول به عنوان ترکیب شاخص اسانس رازیانه مورد بررسی قرار گرفت. این شیوه با روش استخراج به کمک تقطیر با آب مقایسه شد. بررسی ها با توجه به نتایج بدست آمده نشان می دهد که روش استخراج با آب فوق داغ یک روش سریع با بازدهی بالا به منظور استخراج ترانس آنتول به عنوان یک ترکیب اکسیژن دار با ارزش می باشد.

۶- تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب به خاطر

۷- منابع

- [1] Eikani, M., Golmohammad, F., Shokrollahzadeh, M. (2008). Review on Extraction of Medicinal Plants Constituents by Superheated Water. *Journal of Medicinal Plants*. 3(27): 1-24
- [2] Gil-Chavez, G., Villa, J., Fernando Ayala-Zavala, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., Yahia, E., Gonzalez-Aguilar, G. (2013). Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 12: 5-19
- [3] Herrero, M., Castro-Puyana, M., Mendiola,

- Sabzalian, M.R., Ghasemi Pirbalouti, A. (2014). Variability of Essential Oil Content and Composition of Different Iranian Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Accessions in Relation to Some Morphological and Climatic Factors, Journal of agricultural science and technology. 16: 1365-1374.
- [14] Roy, R.K. (2001). Design of Experiments Using The Taguchi Approach: 16 Steps to Product and Process Improvement, publisher. Wiley, J & Sons. 538.
- [15] Eikani, M., Golmohammad, F., Rowshanzamir, S. (2007). Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.), Journal of Food Engineering. 80: 735-740.
- [16] Kubatova, A., Lagadec, A. J. M., Miller, D. J., Hawthorne, S. B. (2001). Selective extraction of oxygenates from savory and peppermint using subcritical water. Flavour and Fragrance Journal. 16(1): 64-73.
- [17] Guclu-Ustundag, O., Mazza, G. (2007). Extraction of saponins and cyclopeptides from cow cockle seed with pressurized low polarity water, LWT – Food Science and Technology. 80 (2): 1028.
- [18] Cacace, J.E., Mazza, G. (2006). Pressurized low polarity water extraction of lignans from whole flaxseed. Journal of Food Engineering. 77(4): 1087-1095.
- [19] Mukhopadhyay, M., Panja, P. (2008). A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (*Glycyrrhiza glabra*) roots, Separation and Purification Technology. 63: 539-545.
- [20] Kubatova, A., Jansen, B., Vaudoisot, J. F., Hawthorne, S. B. (2002). Thermodynamic and kinetic models for the extraction of essential oil from savory and polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with hot (subcritical) water and supercritical CO₂. Journal of Chromatography A. 975(1): 175-188.
- J., Ibanez, E. (2013). Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. Trends in Analytical Chemistry. 43: 67-83
- [4] Smith, M. (2002). Extractions with superheated water, Review. Journal of Chromatography A. 975: 31-46.
- [5] He, L., Zhang, X., Xu, H., Xu, C., Yuan, F., Knez, K., Novak, Z., Gao, Y. (2012). Subcritical Water Extraction of Phenolic Compounds from Pomegranate (*Punica granatum* L.) Seed Residues and Investigation into Their Antioxidant Activities with HPLC-ABTS. Food.Bioprod.Process. 90: 215-223.
- [6] Plaza, M., Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bio-actives. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 71: 39-54
- [7] Haghghi Asl, A., Khajenoori, M. (2013). Subcritical Water Extraction, Additional information is available at the end of the chapter.
- [8] Gamiz Garcia, L., Luqu de Castro, M.D. (2000). Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. Talanta 51: 1179-1185.
- [9] Basile, A., Jimenez-Carmona, MM., Clifford, AA. (1998). Extraction of rosemary by superheated water. Journal of agricultural and food chemistry 46: 5205 -5209.
- [10] Clifford, AA., Basile, A., Jimenez-Carmona, MM., Al-Saidi, SHR. (1999). Extraction of natural products with superheated water. High Pressure Chemical Engineering. 6271: 189 - 192.
- [11] Mozaffarian, V. (2012). Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Tehran, Farhang Moaser Publishers. 1189-1191
- [12] Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E., Deans, S.G., Eaglesham, E. (1994). Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel. Journal of essential oil research. 6: 57-62.
- [13] Rahimmalek, M., Maghsoudi, H.,

Subcritical water extraction of fennel seeds (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oil and comparison with hydrodistillation

Sadeghmousavi, S.^{1*}, Dastpak, A.²

1. M.Sc. graduated, Department of Chemical Engineering, Islamic Azad University South Tehran branch, Tehran

2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University Central Tehran Branch, Tehran

(Received: 2018/11/13 Accepted:2019/10/15)

Subcritical water extraction has been considered due to advantages such as high speed, high efficiency and reduced amount of organic solvents used in the traditional way as well as due to its compatibility with the environment. In this study, the essences extraction from fennel seeds was performed by using subcritical water extraction and was compared with hydrodistillation method. Trans-anethole as the main combination has been carried out as a main goal of next experiments. Separating and diagnosis of the extracted trans-anethole were performed by GC-FID and GC / MS. The effect of temperature parameters, Average of particle size and flow intensity was studied on the extraction rate in subcritical water method. Taguchi experimental design was used to facilitate the process of testing and comparing the effective parameters. The ratio of the area of trans-anethole to the obtained internal standard from gas chromatography was calculated as evaluated criteria of parameters and extraction methods of essence from fennel seeds.

The results of Analysis of variance showed that the temperature and, Average of particle size have a significant effect on the amount of trans-anethole extraction. The highest ratio of trans-anethole to internal standard was obtained at 175 ° C, an average value of 0.398 mm, and a flow rate of 3 ml /min.

The results of this study showed that the extraction by subcritical water in compare with hydro distillation method is a fast-high-efficiency method for extraction of trans-anethole as a valuable oxygen-containing compound.

Keywords: Subcritical water extraction, Hydrodistillation, Trans-anethole, *Foeniculum vulgare* .

*Corresponding Author E-mail Address: mousavi3696@gmail.com