

استخراج اسانس از پوست نارنج شهر شیراز با سوکسله و دی اکسید کربن فوق

بحرانی

علی زارعی، نادیا اسفندیاری*

گروه مهندسی شیمی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۶/۰۵ تاریخ تصحیح: ۹۹/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۸

چکیده

در این تحقیق جهت استخراج مواد موثر موجود در پوست نارنج از دو روش استخراج با سوکسله و استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی استفاده شد. در استخراج با سیال فوق بحرانی، تاثیر پارامترهای عملیاتی نظیر دما، فشار، زمان دینامیک و اندازه ذرات در سطوح مختلف بر روی بازده استخراج مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی تاثیر دقیق تر پارامترها طراحی آزمایش صورت گرفت و از روش رویه ی پاسخ استفاده شد و مدلی جهت درصد بازده استخراج با تغییر پارامترها به دست آمد. برای شناسایی و تعیین درصد ترکیبات از کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی استفاده شد. مواد استخراج شده با دو روش مقایسه شدند. از جمله مهم ترین مواد استخراج شده می توان اوستول و لیمونن را نام برد. مقدار اوستول در روغن استخراج شده توسط دی اکسید کربن فوق بحرانی به طور قابل ملاحظه ای بیشتر از روش سوکسله است. بهترین شرایط استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی، زمان دینامیک ۸۰ دقیقه، دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، فشار ۱۵۷/۲۶ بار و اندازه ذرات ۰/۴۰۹۹ میلی متر به دست آمده است.

کلمات کلیدی: دی اکسید کربن فوق بحرانی، سوکسله، پوست نارنج، اوستول، لیمونن، طراحی آزمایش.

۱-مقدمه

روش های قدیمی استخراج اسانس از قبیل تقطیر با بخار آب و استخراج با حلال آلی دارای اشکالاتی از قبیل هدر رفتن ترکیبات فرار، بازده پایین، زمان طولانی استخراج، مصرف زیاد انرژی، باقی ماندن حلال سمی و حجم زیاد حلال مورد استفاده را به دنبال دارد. این مشکلات باعث شد تا روش های جدید استخراج با میزان انرژی و حلال، بیشتر مورد توجه قرار گیرد. از جمله روش های جدید و به روز که جهت استخراج مورد استفاده قرار می گیرد، می توان به روش استخراج با سیال فوق بحرانی اشاره کرد. برتری این روش نسبت به روش استخراج با حلال این است که قدرت انحلال سیال فوق بحرانی وابسته به جرم حجمی است و با تغییر دما و فشار قابل تنظیم است. حلال مورد استفاده در روش استخراج با سیال فوق بحرانی در بیشتر مواقع دی اکسید کربن است که غیر سمی، ارزان و قابل دسترس است. دی اکسید کربن فوق بحرانی، دمای بحرانی پایین و فشار بحرانی متوسطی دارد [۱ و ۲].

پوست مرکبات بخش عمده و مهمی از مرکبات را تشکیل می دهند که سالانه حدود ۱۵ میلیون تن زباله تولید می کند. پوست میوه نارنج^۱ منبع بسیاری از مواد فعال مانند لیمونن^۲، کومارین^۳، سینفرین^۴ و زردینه^۵ ها از جمله نئوهسپریدین^۶، نارنجین^۶ و تانگرتین^۷ است [۳]. اوستول^۸ یک کومارین طبیعی است که بیشتر در خانواده گیاهان چتریان یافت می شود، از جمله گیاهان دارویی که اوستول در آن ها یافت می شود می توان به گلپر^۹ و مرکبات^{۱۰} اشاره کرد [۴]. لیمونن را می توان به عنوان اسانس در مواد شوینده به کار برد و همچنین به خاطر خاصیت اشتعال پذیری آن، توانایی بالقوه ای به عنوان یک سوخت زیستی دارد [۵].

در سال های اخیر استخراج مواد موثره دارویی از مواد طبیعی با دی اکسید کربن فوق بحرانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. ترابلسی^{۱۱} و همکارانش مواد موثر را از پوست نارنج با دی اکسید کربن فوق بحرانی و با کمک حلال اتانول استخراج کردند. آن ها تاثیر فشار، زمان استاتیک و دبی دی اکسید کربن را بر استخراج بررسی کردند. ماده اصلی استخراج شده اوستول بود [۳]. میر حیدری و همکارانش روش های متداول استخراج از پوست مرکبات را استخراج با حلال، تقطیر، استخراج با سیال فوق بحرانی و پرس سرد برشمردند. آن ها استخراج از پوست تازه نارنج با دی اکسید کربن فوق بحرانی همراه با کمک حلال متانول را مورد مطالعه قرار دادند. تغییرات دما، زمان استاتیک و فشار بدون طراحی آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. لیمونن به عنوان جزء اصلی استخراج به دست آمد [۶]. گاف^{۱۲} و همکارانش مروری بر اجزاء و ترکیبات استخراج شده از پوست نارنج داشتند. آن ها نقش منطقه جغرافیایی رشد گیاه، گونه، مرحله رسیدن میوه، شرایط نگهداری و روش های استخراج (پرس سرد و تقطیر) را بر روی اجزاء استخراج شده مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه و جمع آوری آن ها نشان داد که استخراج از پوست نارنج در کشورهای آرژانتین، هائیتی، مراکش، پاراگوئه و اوگاندا هرگز مورد مطالعه قرار نکرده است [۷]. جناب و همکارانش استخراج روغن از دانه های کائولا با روش استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی و حلال آلی (AW406) را مورد مطالعه قرار دادند [۸، ۹]. کربلابی و همکارانش بر روی استخراج نیکوتین از برگ تنباکو با سیال فوق بحرانی مطالعه کردند. آن

¹ Bitter Orange Peel

² Limonene

³ Coumarin

⁴ Synephrine

⁵ Neohesperidin

⁶ Naringin

⁷ Tangaretin

⁸ Osthol

⁹ Angelica

¹⁰ Citrus

¹¹ Trabelsi

¹² Gaff

ها تاثیر دما، فشار، زمان استاتیک و کمک حلال را در میزان بازدهی استخراج مورد مطالعه قرار دادند. بهترین شرایط استخراج نیکوتین فشار ۳۵۰ اتمسفر، دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و زمان دینامیک ۵ دقیقه به دست آمد [۱۰].

مسقطی و قریشی با استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی و متانول، سینمالدهید را از پوست درخت دارچین استخراج کردند و تاثیر پارمترهای دما، فشار، شدت جریان دی اکسید کربن و زمان دینامیک را بر روی بازده استخراج بررسی کردند [۱۱]. استخراج بتاکاروتن از روغن پالم خام با استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی در محدوده ۷/۵ تا ۱۷/۵ مگا پاسکال و محدوده دمایی ۸۰ تا ۱۲۰ درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفت. مقدار ضریب نفوذ و ضریب انتقال جرم تعیین شد [۱۲]. صدیفیان و همکارانش روغن را از بذر گل oleracea با دی اکسید کربن فوق بحرانی استخراج کردند. در فشار ۲۳/۵ مگا پاسکال، دمای ۳۳۳ کلوین، اندازه ذرات ۰/۸ میلیمتر و زمان دینامیک ۲۱۰ دقیقه بهترین بازده استخراج حاصل شد [۱۳]. دارایی و همکارانش استخراج اسید کلروژنیک از دانه آفتابگردان را با استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی مورد مطالعه قرار دادند و شرایط بهینه استخراج را بررسی کردند [۱۴]. بدرخانی و همکارانش استخراج اسانس دانه های زنیان با فرآیند استخراج آب دمای زیر بحرانی را مورد بررسی قرار دادند [۱۵]. تبارکی و قدیمی روش های استخراج آنتی اکسیدانت از پوست پسته را مرد مطالعه قرار دادند [۱۶].

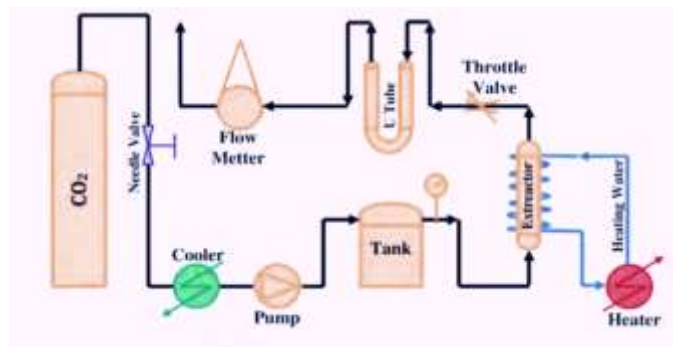
در این پژوهش استخراج مواد موثر موجود در پوست نارنج با روش سوکسله و دی اکسید کربن فوق بحرانی مورد مطالعه قرار گرفت. پارامترهای موثر بر استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی شناسایی گردید و بر این اساس طراحی آزمایش صورت گرفت. با آنالیز کروماتوگرافی مواد موجود در روغن استخراج شده از هر دو روش شناسایی و مقایسه شد. تاثیر پارامترهای مختلف همانند دما، فشار، زمان دینامیک و اندازه ذرات با استفاده از طراحی آزمایش بر بازدهی استخراج مورد بررسی قرار گرفت.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد و دستگاه ها

نارنج از باغ جهاد کشاورزی شیراز در ماه فرودین جمع آوری شد که پوست آن خشک، آسیاب و سایز بندی شد. گاز دی اکسید کربن با خلوص بالاتر از ۹۹ درصد از شرکت گازهای صنعتی ابوقداره تهیه شد. از آسیاب برقی مدل امپریال ساخت کشور آلمان، الک آزمایشگاهی دماوند، ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم مدل Sartorius و برای تعیین و شناسایی میزان مواد موجود در نمونه های استخراج شده از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی که شامل ردیاب جرمی، Agilent 5779 a با منبع یونیزاسیون الکترونی (EI) کوپل شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی، Agilent 7890 b که از ستون DB-225 ms با طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرو متر استفاده شده است. درجه حرارت ابتدایی آون ۶۰ درجه

سانتیگراد برای مدت یک دقیقه ثابت ماند و سپس دما با سرعت ۵ درجه سانتیگراد بر دقیقه به ۲۲۰ درجه سانتیگراد افزایش یافت و این بار دمای آون در بالاترین دما نگه داشته می شود برای مدت یک دقیقه و دمای آشکارساز ۲۸۰ درجه سانتیگراد و مقدار ۱ میکرولیتر از نمونه تزریق می شود و سرعت جریان حامل (هلیوم) ۱ میلی لیتر بر دقیقه بود. اجزای مختلف دستگاه استخراج با سیال فوق بحرانی در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- شماتیک فرآیند استخراج با سیال فوق بحرانی که شامل: کپسول دی اکسید کربن، سیستم سردکننده جهت تبدیل دی اکسید کربن به مایع، پمپ رفت و برگشتی، تانک ذخیره سازی دی اکسید کربن، فشارسنج، مخزن استخراج، گرم کن آب جهت گرم کردن مخزن استخراج، شیر فشار شکن، لوله U شکل، دی سیج.

۲-۲- روش انجام آزمایش با دی اکسید کربن فوق بحرانی

میوه رسیده نارنج انتخاب و پوست آن جدا گردید. سپس پوست نارنج در دمای اتاق خشک شد. بعد از گذشت یک هفته و خشک شدن کامل پوست نارنج، آسیاب شد. برای سایز بندی مواد آسیاب شده از الک لرزان استفاده گردید. بعد از سایزبندی مواد، برای هر بار انجام آزمایش مقدار ۱۴ گرم از آن استفاده شد. از یک توری استوانه ای برای نگهداری مواد در ظرف استخراج استفاده شد. جهت جلوگیری از جوشش و ایجاد حباب های انفجاری همراه مواد خشک شده در توری استوانه ای مقداری سنگ جوش استفاده شد.

مخزن گرم کن آب جهت گرم کردن مخزن استخراج با آب مقطر پر شد. لازم به ذکر است که مخزن استخراج دو جداره بوده که در قسمت داخلی مواد قرار گرفته و آب گرم جهت تنظیم دما در قسمت خارجی مخزن استخراج قرار دارد. سپس سیستم خنک کننده برای تبدیل دی اکسید کربن به مایع را روشن کرده تا به دمای ۲۰- درجه سانتیگراد برسد، بعد از آن شیر کپسول حاوی دی اکسید کربن را باز کرده و تمام شیر های خروجی موجود در مسیر را بسته و چک می شود تا نشتی وجود نداشته باشد تا در حین عملیات افت فشار مشاهده نشود.

از زمانی که عملیات به دما و فشار مورد نظر رسید و تمام شیر های خروجی سیستم بسته شد و حلال در تماس با نمونه قرار گرفت زمان استاتیک شروع شد و پس از ۵۰ دقیقه و اتمام زمان استاتیک با باز شدن شیر خروجی و عبور حلال تازه از روی

نمونه زمان دینامیک شروع شد. با شروع زمان دینامیک و باز شدن شیر خروجی دی اکسید کربن به همراه مواد موثره استخراج شده وارد لوله U شکل که در یخ قرار دارد می شود. در این مرحله دی اکسید کربن از سایر مواد جدا می شود. اسانس جمع آوری شده توسط پاستول، پنبه و سدیم سولفات صاف شده و آب زدایی انجام شد. در انتها اسانس در یک ظرف نمونه تیره و در جای خنک نگهداری می شود تا به اسانس آسیبی وارد نشود. جهت به دست آوردن درصد بازده هر کدام از آزمایش های انجام شده توسط سیال فوق بحرانی، میزان مواد استخراج شده بر میزان گیاه خشک تقسیم می شود.

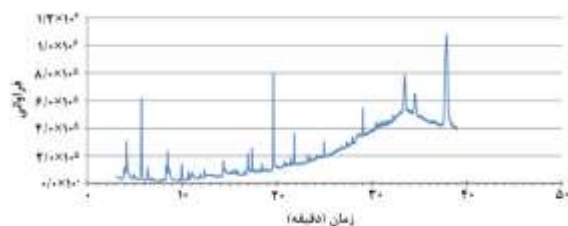
۲-۳- طراحی آزمایش

مهمترین دلیل طراحی آزمایش، پایین آوردن هزینه های انجام آزمایش است. به طور کلی اهدافی که در طراحی آزمایش مورد بررسی قرار می گیرند: در مرحله اول شامل مشخص کردن پارامترهایی است که در انجام آزمایش تأثیر می گذارند، بعد از آن باید سطوح پارامترها را مشخص کرد. جهت مشخص کردن سطوح پارامترها از پژوهش های انجام شده در زمینه استخراج فوق بحرانی و شرایط فوق بحرانی دی اکسید کربن استفاده شد. برای مشخص شدن اهمیت و تأثیر هر پارامتر سطوح به گونه ای انتخاب شد تا تأثیر افزایش یا کاهش مقدار هر پارامتر بر روی نتایج به صورت واضح مشخص شود. گام بعدی در طراحی آزمایش، کم کردن تأثیر عوامل کنترل نشده بر روی نتایج آزمایش ها می باشد. پس از اجرای آزمایش، برای تفکیک اثر عوامل مختلفی که در آزمایش ها در نتایج حاصل از آن ها مداخله می کنند، از تحلیل آماری استفاده می شود. طراحی آزمایش با نرم افزار مینی تب هجده با روش رویه ی پاسخ و شیوه ی مرکب مرکزی در پنج سطح (۲+ و ۱+ و ۰ و ۱- و ۲-) برای چهار فاکتور دما (۳۵ تا ۵۵ درجه سانتیگراد)، فشار (۹۰ تا ۲۱۰ بار)، اندازه ذرات (۰/۱ تا ۰/۵ میلی متر) و زمان دینامیک (۰ تا ۸۰ دقیقه) بررسی شد.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- آنالیز مواد موجود در اسانس

همان طور که در شکل ۲ مشخص است طیف های کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی نمونه استخراج شده به روش سوکسله نشان داده شده است. در شکل ۳ طیف های کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی نمونه استخراج شده به روش استخراج با سیال فوق بحرانی دیده می شود، که در این کروماتوگرام محور افقی زمان بر حسب دقیقه است و محور عمودی فراوانی است که پاسخ های آشکارساز به اجزاء نمونه (سیگنالهای الکتریکی) بر حسب زمان خروج اجزاء از ستون رسم شده است.

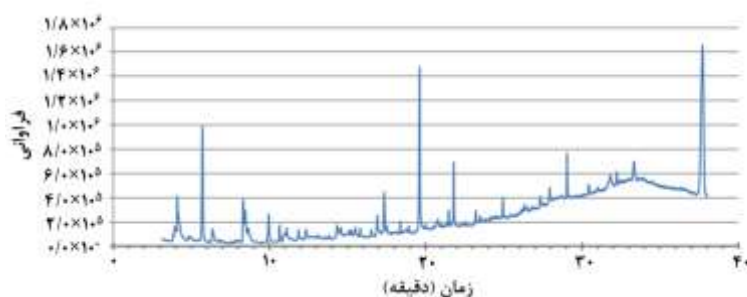


شکل ۲- کروماتوگرافی جرمی نمونه استخراج شده به وسیله سوکسله

با بررسی و مطالعه قله های به دست آمده از نمونه استخراج شده توسط سوکسله تعداد ۱۸ ماده شناسایی شد که مهم ترین و شناخته ترین آن ها عبارت است از برگاپتن، لیمونن، لینالول اکسید و یک آنتی اکسیدان قوی به نام 4H-Pyran-4-one, 2,3- dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl می باشند.

جدول ۱- ترکیبات شناسایی شده در پوست نارنج توسط سوکسله

درصد ترکیب %	ترکیب شیمیایی	زمان بازداری (دقیقه)	قله
۲/۳۵۱	Oxalic acid	۳/۹۶۴	۱
۵/۵۸	Acetic acid	۴/۱۴۱	۲
۸/۸۹۵	D-Limonene	۵/۷۲۴	۳
۱/۸۲۷	Vinyl acrylate	۶/۳۷۶	۴
۰/۴۳۳	Furfural	۸/۳۳۹	۵
۱/۷۲	2-Propanone, 1-hydroxy	۸/۴۸۴	۶
۲/۰۴۳	Linalool oxide cis	۹/۹۷۱	۷
۱/۷۴۵	Dimethylamine, n-(neopentyloxy)	۱۴/۳۴۶	۸
۲/۲۶۲	N-methyl-d3-aziridin	۱۶/۹۱۸	۹
۲/۰۹۲	Piperitenone	۱۷/۳۵۷	۱۰
۷/۵۱۲	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl	۱۹/۶۱۴	۱۱
۲/۲۷	2-Methoxy-4-vinylphenol	۲۱/۸۱۲	۱۲
۱/۲۷	Butanoic acid, 2,3-dimethyl-, ethyl ester	۲۴/۹۵۷	۱۳
۵/۴۱	2,6-Dimethyl-3-(methoxymethyl)-p-benzoquinone	۲۹/۰۶	۱۴
۰/۱۲۴	Octadec-9Z-enol TMS ether	۳۰/۴۴	۱۵
۱۳/۵۵۱	Bergapten	۳۰/۴۵۱	۱۶
۵/۰۱	2-Methyl-1-(cyclohexylamino)-1-cyano-1-butene	۳۴/۵۲۶	۱۷
۳۶/۷۷	[(Propylthio)methyl]-1,2-1-dicarbododecaborane(12)	۳۷/۸۶۹	۱۸



شکل ۳- کروماتوگرافی جرمی نمونه استخراج شده به روش سیال فوق بحرانی

با بررسی و مطالعه قله های به دست آمده از نمونه استخراج شده با دی اکسید کربن فوق بحرانی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی مواد مؤثره ی و با ارزش موجود در پوست خشک شده نارنج مشخص شد. تعداد ۴۰ ماده شناسایی شد. بیشترین مقدار مربوط به اوستول، پیپریتنون، لیمونن، لینالول، لینالول اکسید و یک آنتی اکسیدان قوی به نام (4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl) است. از بین ترکیبات شناسایی شده اوستول به دلیل داشتن خواص دارویی و درمانی از همه مهم تر و برجسته است.

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده در پوست نارنج توسط سیال فوق بحرانی

درصد ترکیب %	ترکیب شیمیایی	زمان	قله
۱/۸۲۱	Ethene, fluoro- (CAS)	۳/۹۶۴	۱
۶/۴۶	Acetic acid	۴/۱۰۹	۲
۸/۸۴۱	D-Limonene	۵/۷۱۳	۳
۱/۶۶۸	2-Propenoic acid, 2-hydroxyethyl ester	۶/۳۳۵	۴
۳/۸۰۶	Furfural	۸/۳۲۳	۵
۲/۷۵۹	Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester (CAS)	۸/۴۶۲	۶
۲/۳۳۳	5-Nonanol, 5-methyl	۸/۶۵	۷
۲/۴۱۷	Linalool oxide cis	۹/۹۵۵	۸
۱/۰۶۸	Trans-linalool oxide	۱۰/۶۵	۹
۰/۸۳۵	3-Methyl-3-butenic acid	۱۰/۹۶	۱۰
۱/۱۲۸	Linalool	۱۰/۹۴	۱۱
۰/۷۴۶	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl	۱۸/۶۴	۱۲
۰/۸۵۹	1,2-Cyclopentanedione	۱۳/۳۳۵	۱۳
۱/۲۹۱	Dimethylamine, N-(neopentyloxy)	۱۴/۳۲۴	۱۴
۰/۵۹۲	Isosorbide Dinitrate	۱۵/۵۸۱	۱۵
۰/۹۳۹	5-Azatricyclo[7.2.0.01,4]undeca-2,5,7,10-tetraene, 6-methoxy	۱۶/۵۰۶	۱۶
۰/۴۹۳	2H-Pyran-2,6(3H)-dione (CAS)	۱۷/۸۱۱	۱۷
۰/۵۰۲	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	۱۸/۵۱۷	۱۸
۱/۹۴۵	N-Methyl-d3-aziridine	۱۹/۹۰۸	۱۹
۳/۳۸	Piperitenone	۲۰/۳۴۱	۲۰
۰/۴۵۳	Furancarboxylic acid, methyl ester	۲۱/۵۱۸	۲۱

۰/۶۲۱	3,5-Dimethyl-1,2-dioxolane	۳۷۹	۲۲
۰/۳۳۷	3,5-Dihydroxytoluene	۹۰۸	۲۳
۱۰/۱۶۵	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl	۶۰۹	۲۴
۰/۹۴۶	2H-Pyran-2-one-6-d, tetrahydro-6-d-4-hydroxy-4-methyl- (CAS)	۷۷۵	۲۵
۰/۸۳۸	Thymol	۲۱/۴۷	۲۶
۳/۵۰۱	2-Methoxy-4-vinylphenol	۷۹۱	۲۷
۰/۴۸	4-vinylphenol	۲۰۳	۲۸
۱/۰۹۶	Ethyl N-(2-methoxyethyl)alanine	۹۳۶	۲۹
۰/۳۶۹	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)	۳۲۷	۳۰
۰/۹۰۱	Thiophene, 2-ethyl-5-[(1-methylpropyl)thio]	۳۱۶	۳۱
۱/۷۳۱	Megastigmatrienone	۹۲۶	۳۲
۲/۷۳۷	4,11-Dioxa-3,5-dimethyltetracycloundecane cage compound	۰۳۹	۳۳
۰/۸۸	Heptanedioic acid, 4-methyl-, dimethyl ester	۴۲۹	۳۴
۰/۶۹۹	Bis(1,2-Dimethylbutyl)ester of adipic acid	۰۱۲	۳۵
۲/۳۴۹	Isoquinoline	۸۰۴	۳۶
۰/۷۵۷	(E)-4-Hydroxy-5-iodo-2-pentenoic acid	۲۱۶	۳۷
۰/۲۴	3-Ethylthiolane	۴۵۱	۳۸
۲/۲۰۸	Benzene, 2-(2-methoxy-1-propenyl)-1,4-dimethyl	۳۱۷	۳۹
۲۴/۸۰۸	Osthole	۷۰۳	۴۰

با مقایسه دو جدول ۱ و جدول ۲ دیده می شود که تعدادی از ترکیبات شناسایی شده در هر دو روش یکسان است. به عنوان مثال دی لیمونن، پیپریتنون، اکسید لینالول و 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl ترکیباتی هستند که در هر دو روش استخراج شناسایی شده است. دی لیمونن و اکسید لینالول شناسایی شده در روش استخراج با سوکسله و سیال فوق بحرانی تقریباً دارای شماره قله و درصد بازده یکسان می باشند. اما مشاهده می شود که پیپریتنون و 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6- شناسایی شده هم شماره قله و هم درصد بازده متفاوتی دارند. دلیل افزایش درصد بازده و بیشتر شدن شماره قله این دو ترکیب در روش استخراج با سیال فوق بحرانی نسبت به روش استخراج با سوکسله می تواند این مورد باشد که در روش استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج بهتر انجام شده و به ترکیبات آسیب وارد نمی شود و ترکیبات بیشتری شناسایی شده است. نکته آخر که در دو جدول مشهود است که تمام ترکیبات شناسایی شده، تقریباً دارای زمان بازداری مشابهی هستند. اکثر محققین دریافته اند که لیمونن مهمترین ترکیب در پوست نارنج است [۶ و ۷]. درصد لینالول با افزایش لیمونن کاهش می یابد. بنابراین این امکان وجود دارد که لیمونن در اثر تخریب لینالول به وجود آید. مقدار pinene- β در طول رشد میوه نارنج کاهش می یابد. در صورتیکه مقادیر α -terpineol و geraniol و nerul در طول رسیدن میوه تغییر نمی کند [۷].

۲-۳- بررسی صحت مدل و پارامتر های آن

با انجام آزمایش های طراحی شده طبق نرم افزار مینی تب هجده و با وارد کردن مقدار درصد استخراج در نرم افزار، نتایج مدل بدست می آید که در جدول ۳ آورده شده است. جهت اعتبارسنجی مدل از تجزیه و تحلیل واریانس استفاده شد. ضریب تشخیص (R^2) در مدل برابر با ۹۵/۶ درصد و ضریب تشخیص اصلاح شده ($Adj-R^2$) برابر با ۹۱/۷۵ درصد است که این مقادیر نشان دهنده دقت کافی مدل پیشنهادی برای برازش داده های به دست آمده از آزمایش ها است. در این پژوهش برای بررسی تأثیر پارامتر ها مقدار P-value به این صورت در نظر گرفته شده است که P-value بزرگ تر از ۰/۰۵ به عنوان پارامتر بی اثر و P-value کوچکتر از ۰/۰۵ پارامتر موثر و P-value کوچک تر از ۰/۰۰۱ پارامتر بسیار موثر است. ضرایب رگرسیون هم نشان دهنده تأثیر هر فاکتور بر مقدار درصد استخراج است که علامت منفی نشان دهنده تأثیر کاهشی و علامت مثبت نشان دهنده تأثیر افزایشی هر فاکتور است.

جدول ۳- ضرایب رگرسیون مدل مرتبه دوم برای درصد بازده استخراج

t-value	p-value	ضریب	ترم
۱۰۳/۳۹	۰/۰۰۰	۶/۹۷۲۹	عرض از مبدأ
۷/۷۷	۰/۰۰۰	۰/۲۸۲۹	زمان دینامیک
-۸/۲۹	۰/۰۰۰	-۰/۳۰۲۱	دما
۱۲/۰۹	۰/۰۰۰	۰/۴۴۰۴	فشار
-۱/۵۹	۰/۱۳۱	-۰/۰۵۷۹	سایز ذرات
۰/۳۹	۰/۷۰۳	۰/۰۱۲۹	زمان × زمان
۲/۵۲	۰/۰۲۳	۰/۰۸۴۲	دما × دما
-۵/۱۹	۰/۰۰۰	-۰/۱۷۳۳	فشار × فشار
-۳/۱۳	۰/۰۰۶	-۰/۱۰۴۶	سایز ذرات × سایز ذرات
۲/۴۲	۰/۰۲۸	۰/۱۰۸۱	زمان × دما
-۲/۲۰	۰/۰۴۳	-۰/۰۹۸۱	زمان × فشار
۰/۴۱	۰/۶۹۰	۰/۰۱۸۱	زمان × سایز ذرات
۱/۱۳	۰/۲۷۳	۰/۰۵۰۶	دما × فشار
-۲/۹۸	۰/۰۰۹	-۰/۱۳۳۱	دما × سایز ذرات
-۱/۶۷	۰/۱۱۵	-۰/۰۷۴۴	فشار × سایز ذرات

بر اساس متغیر های کدگذاری شده و مقدار P-value در جدول ۳ رابطه درجه دوم بین درصد استخراج و متغیر های عملیات ارائه شده که در رابطه (۱)، Y درصد استخراج است که از تقسیم مواد استخراج شده بر میزان گیاه خشک به دست می آید. T دما، d متوسط اندازه ذرات، P فشار و t زمان دینامیک را نشان می دهد.

$$Y = 6.9729 + 0.2829 t - 0.3021 T + 0.4404 P + 0.0842 T^2 - 0.1733 P^2 - 0.1046 d^2 + 0.1081 t \times T - 0.0981 t \times P - 0.1331 T \times d$$

(۱)

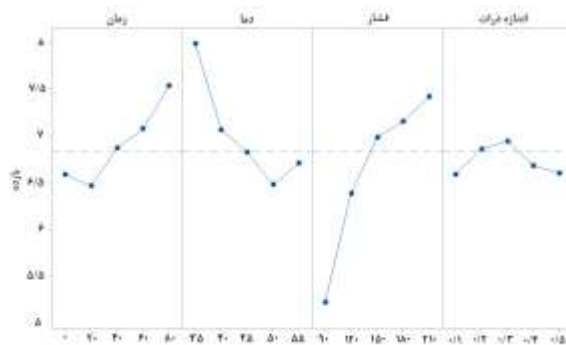
مقادیر P-value مدل رگرسیونی و پارامترهای خطی، مربعی و متقابل همگی کمتر از ۰/۰۵ هستند. مقدار P-value که نشان دهنده ی عدم برازش می باشد، بزرگتر از ۰/۰۵ است. این داده ها در جدول ۴ آمده است و نشان دهنده صحت مدل است.

جدول ۴- مقدار P-value برای آنالیز واریانس داده ها

منبع تغییر	مدل رگرسیون	پارامترهای خطی	پارامترهای	پارامترهای متقابل	عدم برازش
p-value	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۳	۰/۳۰۲

۳-۳- تأثیر پارامترها بر بازدهی استخراج با سیال فوق بحرانی

در شکل ۴ تأثیر فاکتورهای اصلی بر مقدار درصد بازده مشاهده می شود. اندازه ذرات در واقع میزان مقاومت داخلی در برابر انتقال جرم را تعیین می کند و هر چه این اندازه کوچکتر باشد، مسافتی که انتقال جرم باید صورت گیرد کمتر می شود. اگر ذرات خیلی کوچک باشند ممکن است پدیده کانالیزه شدن درون بستر استخراج صورت گیرد، یعنی بخشی از حلال بدون این که با مواد خام در تماس باشد از کانال هایی خاص درون بستر عبور می کند و این موجب کاهش حساسیت فرآیند و همچنین کاهش راندمان کلی فرآیند می شود. به طور کلی ذرات با اندازه ۰/۲۵ تا ۲ میلی متر معمولا برای فرآیند استخراج مناسب هستند و این اندازه ذرات بسته به میزان آب درون مواد اولیه و خصوصیات ماده ای که باید استخراج شود، می تواند تغییر کند. همچنین نباید فراموش کرد که خرد کردن زیاد مواد با استفاده از آسیاب ممکن است خود باعث کاهش ترکیبات فرار ماده اولیه شود [۱۷]. افزایش دما اثر منفی بر میزان درصد بازده استخراج دارد زیرا با افزایش دما، جرم حجمی و قدرت حلالیت سیال فوق بحرانی کاهش یافته و درصد بازده عملیات کم می شود [۱۸]. افزایش فشار اثر مثبت بر درصد بازده عملیات استخراج دارد. به دلیل اینکه با افزایش فشار جرم حجمی و قدرت حلالیت دی اکسید کربن افزایش می یابد و این عامل مثبت تا زمانی که باعث کاهش نفوذپذیری و ضریب انتقال جرم نشود، دلیل افزایش درصد بازده عملیات استخراج می شود. زمان نیز اثر مثبت بر درصد بازده داشته زیرا در طول زمان دینامیک عبور حلال تازه از روی نمونه باعث افزایش انتقال جرم می شود. تا زمانی که نیروی محرکه موثری بین سیال تازه و نمونه وجود داشته باشد، افزایش زمان باعث افزایش بازده می شود [۱۹].

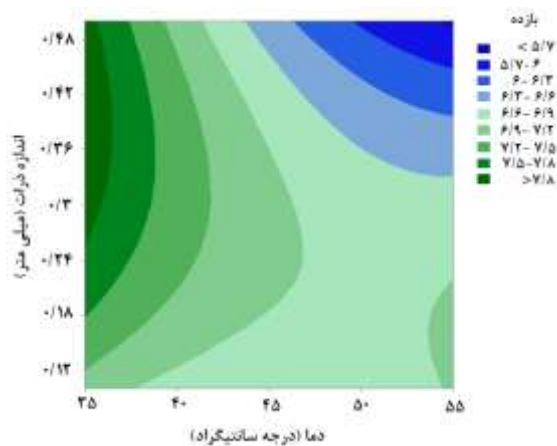


شکل ۴- نمودار تأثیر فاکتورهای اصلی بر میزان درصد بازده عملیات

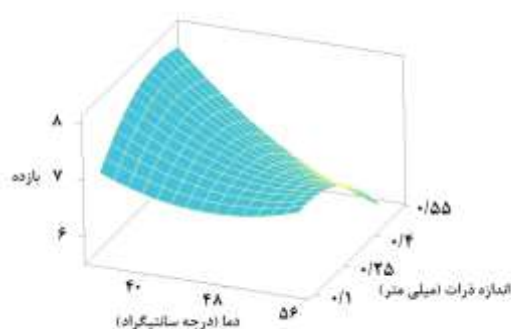
۴-۳- اثر متقابل دما و اندازه ذرات بر درصد بازده عملیات

در شکل ۵ نمودار هم ترازوی دو متغیر دما و اندازه ذرات مشاهده می شود. هر زمان دما در پایین ترین مقدار خود (۳۵ درجه سانتیگراد) قرار دارد و متغیر اندازه ذرات در مقدار ۰/۳ تا ۰/۵ میلی متر قرار دارد، میزان درصد بازده عملیات به بیشترین مقدار خود می رسد. در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و اندازه ذرات ۰/۱ میلی متر نیز درصد بازده عملیات افزایش می یابد. بایستی به این نکته اشاره کرد که با افزایش دما در فشار ثابت (۱۵۰ بار) به دلیل کاهش در جرم حجمی دی اکسید کربن فوق بحرانی، توان حلال فوق بحرانی جهت عملیات استخراج کاهش می یابد. از طرفی افزایش دما در فشار ثابت نیز باعث افزایش فشار بخار جزئی شده و این موجب افزایش میزان ماده استخراج شده در ترکیب فاز متحرک (فوق بحرانی) می شود و در نتیجه میزان ماده استخراج شده، افزایش می یابد [۲۰]. اثر منفی افزایش دما (کاهش جرم حجمی سیال فوق بحرانی) بیشتر از اثر مثبت آن (افزایش فشار بخار) است. در نتیجه افزایش دما با شیب بیشتری بر کاهش استخراج اثر می گذارد [۲۱].

در شکل ۶ نمودار سطح متغیر دما و اندازه ذرات نمایش داده شده است. بیشترین مقدار درصد بازده در دو ناحیه دیده می شود، یکی در دمای بالا و اندازه ذرات کوچک و دیگری در دمای پایین و اندازه ذرات بین ۰/۳ تا ۰/۵ میلی متر است. اندازه ذرات در حقیقت میزان مقاومت داخلی در برابر انتقال جرم را مشخص می کند و هر چه این اندازه ذرات میزانش کمتر باشد، مقاومت در مقابل انتقال جرم کمتر می شود. ماهیت ماده در تعیین اندازه ذرات جهت فرآیند استخراج موثر است [۲۰ و ۲۲]. از آنجایی که این دو پارامتر دارای اثر متقابل موثر بر بازده عملیات هستند، می توان در دمای بالا و اندازه ذرات کوچکتر یا دمای پایین و اندازه ذرات بزرگتر بازده فرآیند را افزایش داد. در جدول ۳ مقدار P-value دما در اندازه ذرات برابر ۰/۰۰۹ است که با توجه به مطالب گفته شده قابل انتظار بود که اثر متقابل اندازه ذرات و دما دارای اثر مثبت بر میزان درصد بازده استخراج باشد و درصد استخراج افزایش می یابد.



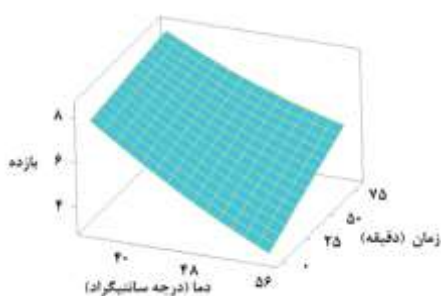
شکل ۵- نمودار هم ترازوی بازده بر حسب دما و اندازه ذرات



شکل ۶- نمودار بازده ماده استخراج شده بر حسب دما و اندازه ذرات

۵-۳- اثر متقابل دما و زمان بر درصد بازده عملیات

افزایش زمان دینامیک بازده استخراج را بهبود می بخشد، زیرا حلال تازه از طریق بستر ثابت از پوست نارنج عبور می کند تا زمانی که انتقال جرم موثر باشد [۲۱]. افزایش دما منجر به کاهش جرم حجمی دی اکسید کربن فوق بحرانی می شود و در نتیجه باعث کاهش حلالیت و کاهش بازده استخراج می شود [۱۴ و ۲۱]. همانطور که اشاره شد به دلیل انتقال جرم بهتر در این شرایط در شکل ۷ در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و زمان دینامیک ۸۰ دقیقه درصد بازده به بالاترین مقدار خود می رسد و در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد و زمان دینامیک ۵ دقیقه درصد بازده به کمترین مقدار خود می رسد. در جدول ۳ p-value برای اثر متقابل دما و زمان دینامیک مقدار ۰/۰۲۸ به دست آمد که دارای اثر مثبت بر درصد بازده است و موجب افزایش بازده استخراج می شود.

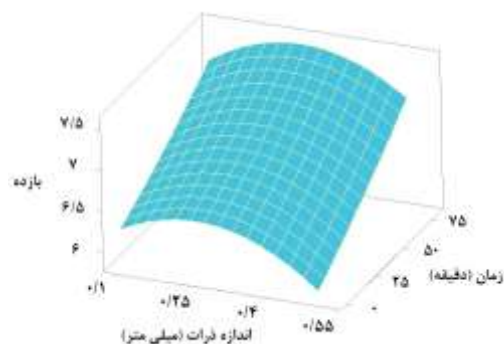


شکل ۷- نمودار سطح اثر متقابل دما و زمان دینامیک بر بازده استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی

۶-۳- اثر متقابل زمان دینامیک و اندازه ذرات بر درصد بازده عملیات

متوسط اندازه ذرات، در واقع میزان مقاومت داخلی در برابر انتقال جرم را مشخص می کند. هر چه این اندازه ذرات کمتر باشد، استخراج راحت تر انجام می شود [۲۰]. در شکل ۸ نمودار هم ترازوی مشخص است در زمان دینامیک ۷۰ تا ۸۰ دقیقه و اندازه ذرات بین ۰/۳ تا ۰/۴ میلی متر حداکثر میزان درصد بازده عملیات حاصل می شود. روش دیگر برای بررسی اثر متقابل اندازه

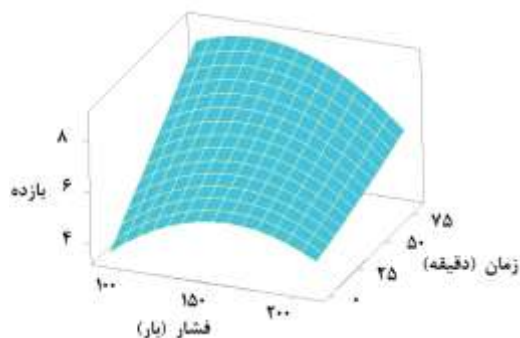
ذرات و زمان دینامیک همان طور که در جدول ۳ گفته شد مقدار p-value اثر متقابل زمان دینامیک و اندازه ذرات است که برابر با ۰/۶۹ است که دارای اثر منفی بر میزان درصد بازده عملیات است و بازده استخراج کاهش می یابد.



شکل ۸- نمودار سطح اندازه ذرات و زمان دینامیک بر بازده استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی

۷-۳- اثر متقابل فشار و زمان دینامیک بر درصد بازده عملیات

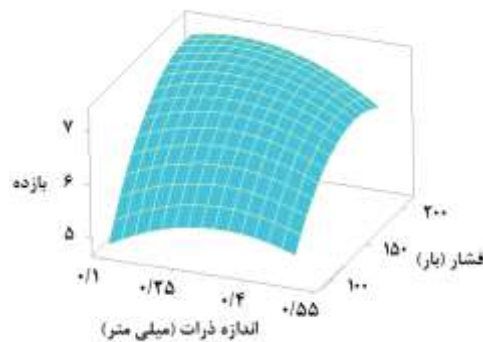
با توجه به شکل ۹ مشخص است که بیشترین مقدار درصد بازده در فشار بین ۱۲۰ تا ۱۸۰ بار و زمان دینامیک ۷۰ تا ۸۰ دقیقه اتفاق می افتد. افزایش فشار منجر به افزایش جرم حجمی و در نتیجه موجب افزایش حلالیت دی اکسید کربن فوق بحرانی می شود و باعث بهبود فرآیند استخراج می گردد. اما همین تابع صعودی یعنی افزایش فشار پس از مدتی باعث کاهش ضریب نفوذ و انتقال جرم دی اکسید کربن فوق بحرانی شده و در نتیجه موجب می شود بازده فرآیند استخراج کاهش یابد. همان طور که در شکل ۹ مشخص است افزایش فشار عملیاتی از سطح ۲- تا سطح ۱+ در جهت بهبود فرآیند استخراج بوده که به دلیل غالب بودن اثر مثبت فشار یعنی افزایش جرم حجمی دی اکسید کربن فوق بحرانی است. اما با افزایش فشار بالاتر از سطح ۱+ همان طور که انتظار می رفت باعث کاهش نفوذپذیری و ضریب انتقال جرم شده دی اکسید کربن فوق بحرانی شده و درصد بازده عملیات استخراج را کاهش داده است [۱۴ و ۲۱]. از روی مقدار p-value در جدول ۳ که مقدار ۰/۰۴۳ را نشان می دهد می توان متوجه شد که اثر متقابل زمان دینامیک و فشار بر میزان درصد بازده استخراج اثر مثبت دارد و موجب افزایش درصد استخراج می شود.



شکل ۹- نمودار سطح زمان دینامیک و فشار بر بازده استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی

۸-۳- اثر متقابل اندازه ذرات و فشار بر درصد بازده عملیات

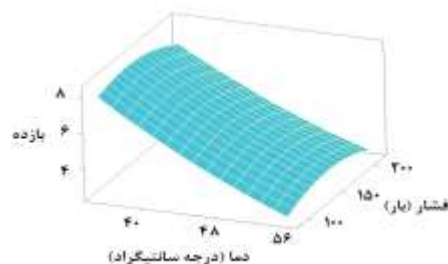
با توجه به نمودار سطح فشار و اندازه ذرات بر بازده استخراج (شکل ۱۰)، بالاترین بازده در فشار بین ۱۸۰ تا ۲۱۰ بار و سایز ذرات بین ۰/۱ تا ۰/۳ میلی متر به دست می آید. در فشار زیر ۱۲۰ بار در تمام سایز ذرات میزان درصد بازده کاهش یافته است. اثر غالب افزایش فشار که باعث افزایش جرم حجمی سیال فوق بحرانی گردیده سبب افزایش درصد استخراج شده است. البته همانطور که گفته شد، افزایش فشار اثر دوگانه بر روی درصد بازده استخراج دارد و پس از مدتی افزایش فشار موجب کاهش نفوذ و ضریب انتقال سیال فوق بحرانی می گردد [۱۴ و ۲۱ و ۲۳].



شکل ۱۰- نمودار سطح فشار و اندازه ذرات بر بازده استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی

۹-۳- اثر متقابل فشار و دما بر درصد بازده عملیات

با توجه به شکل ۱۱، در دو ناحیه که فشار بالا و دما بالا (۵۵ درجه سانتیگراد و ۲۱۰ بار)، فشار پایین و دمای پایین (۵۵ درجه سانتیگراد و ۹۰ بار) درصد بازده عملیات کاهش می یابد. دلیل آن این است که با افزایش دما، جرم حجمی و قدرت حلالیت دی اکسید کربن فوق بحرانی کاهش یافته و افزایش فشار باعث کاهش نفوذپذیری و ضریب انتقال جرم می شود که به عنوان اثر غالب نسبت به افزایش فشار که منجر به کاهش چگالی در سطح +۲ شده است. در دمای بین ۳۵ تا ۴۵ درجه سانتیگراد و فشار بین کد (-۲ تا +۲) افزایش درصد بازده عملیات مشاهده می شود که حداکثر در فشار ۱۵۰ بار (کد صفر) اتفاق می افتد. افزایش فشار باعث افزایش جرم حجمی و حلالیت دی اکسید کربن فوق بحرانی می شود. از طرفی دمای پایین اثر مثبت خود را بر استخراج گذاشته است [۲۱]. در جدول ۳ مقدار p-value نیز این مطلب را تایید می کند.



شکل ۱۱- نمودار سطح دما و فشار بر بازده استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی

۱۰-۳- تعیین نقطه بهینه

شرایط بهینه‌ی آزمایش زمانی اتفاق می‌افتد که میزان بازده بیشینه باشد. جهت محاسبه‌ی شرایط بهینه‌ی هر فاکتور، در معادله‌ی ۱ مقادیر سه پارامتر در سطح میانی جایگذاری شده و از یک فاکتور مشتق گرفته می‌شود و با مساوی صفر قرار دادن معادله‌ی ۱ مقدار بهینه‌ی پارامتر مورد نظر محاسبه می‌گردد. این فرآیند برای هر چهار متغیر وابسته انجام می‌گیرد. بهترین بازده استخراج در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، زمان دینامیک ۸۰ دقیقه، فشار ۱۵۷/۲۶ بار و اندازه ذرات ۰/۴۰۹۹ میلی متر به دست آمد.

۴- نتیجه گیری

در این پژوهش هدف استخراج از پوست نارنج است که با دو روش استخراج با سوکسله و استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی انجام شد. بیشترین ترکیبات استخراج شده اوستول، پیپریتون، لیمونن، لینالول، لینالول اکسید و یک آنتی اکسیدان قوی به نام (4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl) است. تأثیر متغیرها و شرایط عملیاتی بر راندمان استخراج مورد مطالعه قرار گرفت. چهار پارامتر دما، فشار، اندازه ذرات و زمان دینامیک به عنوان پارامترهای موثر در استخراج با دی اکسید کربن فوق بحرانی در نظر گرفته شد. طراحی آزمایش با روش رویه‌ی پاسخ انجام شد و تأثیر هر کدام از متغیرها و تأثیر متقابل متغیر بر میزان درصد بازده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش زمان دینامیک و افزایش فشار، میزان بازده استخراج افزایش یافت، درحالی‌که کاهش اندازه ذرات و دما باعث افزایش بازده استخراج شد. بهترین بازده استخراج در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد، زمان دینامیک ۸۰ دقیقه، فشار ۱۵۷/۲۶ بار و اندازه ذرات ۰/۴۰۹۹ میلی متر به دست آمد.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، برای پشتیبانی مالی و سایر حمایت‌ها تشکر می‌کنند.

۶- مراجع

- [1] N. Esfandiari and S. M. Ghoreishi, *Production of Nanoparticles using Supercritical Fluid*, Marvdasht Islamic Azad University (2015), in Persian.
- [2] L. Santos-Zea, J. A. Gotierrez-Urbe and J. Benedito, *Journal of Supercritical Fluids* **144** (2019) 98.
- [3] D. Trabelsi, A. Aydi, A. Wust Zibetti, G. Della Porta, M. Sconagmiglio, V. Cricchio, E. Langa, M. Abderrabba and A. M. Mainar, *Journal of Supercritical Fluids* **117** (2016) 33.
- [4] Z. Zhang, W. N. Leung, H. Y. Cheung and C. W. Chan, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (2015) 1.
- [5] N. Carslaw, *Atmospheric Environment* **80** (2013) 507.

- [6] S.M. Mirheydari, Z. Emam Jomeh, S.A.R. Ebrahimzadeh and Y.A. Yamini, *Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran* **25** (2006) 79, in Persian.
- [7] M. Gaff, M. Esteban-Decloux and P. Giampaoli, *Flavour and Fragrance Journal* **35** (2020) 247.
- [8] E. Jenab, R. Karamatollah and Z. Emam-Djomeh, *European Journal of Lipid Science and Technology* **108** (2006) 488.
- [9] E. Jenab, K. Rezaei and Z. Emam Jome, *Iranian Food Science and Technology Research Journal* **1** (2006) 41, in Persian.
- [10] N. S. Karbalaei, C. Ghotbi, V. Taghikhani, Y. Yamini, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* **28** (2009) 51.
- [11] Sh. Masghati and S. M. Ghoreishi, *Nashrieh Shimi va Mohandesi Shimi Iran* **36** (2017) 209, in Persian.
- [12] R. Davarnejad, N. M. Niza, S. Arpanahzadeh and M. Zakeri, *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* **33** (2014) 79.
- [13] G. Sodeifian, N. S. Ardestani, S. A. Sajadian and K. Moghadamian, *Journal of Supercritical Fluids* **135** (2018) 34.
- [14] A. Daraee, S. M. Ghoreishi and A. Hedayati, *Journal of Supercritical Fluids* **144** (2019) 19.
- [15] N. Badrkhani, M. Khajenoori and A. Haghighi Asl, *Journal of Applied Chemistry* **7** (2013) 51.
- [16] R. Tabaraki and F. Ghadiri, *Journal of Applied Chemistry* **10** (2016) 19.
- [17] M. Khajevari and A. Haghighi Asl, *Innovative Food Technology* **1** (2013) 3, in Persian.
- [18] A. Hedayati and S. M. Ghoreishi, *Journal of Supercritical Fluids* **100** (2015) 209.
- [19] S. M. Ghoreishi, E. Bataghva and A. A. Dadkhah, *Journal of Chemical Engineering Technology* **34** (2011) 1.
- [20] M. Kashaninejad and H. Rashidi, 3th National Congress of Food Science (2014), in Persian.
- [21] S. M. Ghoreishi, A. Hedayati and S. Mohammadi, *Journal of Supercritical Fluids* **113** (2016) 53.
- [22] H. Jahongir, Z. Miansong, I. Amankeldi, Z. Yu and L. Changheng, *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, **31** (2019) 140.
- [23] R. B. Sartori, M. L. Higino, L. H. P. Bastos and M.F. Mendes, *Journal of Supercritical Fluids* **128** (2017) 149.