

استخراج روغن‌های اساسی با استفاده از تکنولوژی سیال فوق بحرانی: راهنمایی برای طراحی، بهینه‌سازی و ارزیابی فعالیت‌های بیولوژیک

لیلا حیدری^{۱*}، محمد فلاح‌زاده^۲، امیر پناهی^۲

۱- مدرس و مدیر دپارتمان مهندسی صنایع شیمیایی، ایران، تهران، دانشگاه جامع علمی کاربردی، مرکز آموزش شرکت تولیدی و صنعتی آذین خودرو

۲- دانشجوی کارشناسی مهندسی فناوری صنایع شیمیایی، ایران، تهران، دانشگاه جامع علمی کاربردی، مرکز آموزش شرکت تولیدی و صنعتی آذین خودرو

چکیده

هدف اصلی این مطالعه بررسی استخراج روغن‌های ضروری از گیاهان با استفاده از تکنیک استخراج سیال فوق بحرانی است. با این حال، اطلاعات جالب دیگری در مورد بهینه‌سازی فرآیند نیز مورد بحث قرار گرفته است. بنابراین، مراحل منطقی برای توصیف کامل فرآیند شناسایی شدند. این مراحل به سه بخش تقسیم شدند: (۱) توصیف روغن‌های ضروری؛ (۲) خواص متناسب به سیال فوق بحرانی، شامل استخراج سیال فوق بحرانی، پارامترهای مؤثر بر روش مانند دما، فشار، اندازه ذرات، اصلاح‌کننده، سرعت جریان و آب، اهمیت جزء به جزء کردن، انواع روش‌های جمع‌آوری، فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی روغن‌های ضروری استخراج شده با سیال فوق بحرانی، مزایا و معایب این روش در مقایسه با سایر تکنیک‌های استخراج؛ و (۳) استفاده از طرح‌های آزمایشی، شامل غربالگری، بهینه‌سازی و مدل‌سازی، در فرآیند استخراج سیال فوق بحرانی روغن‌های ضروری.

کلمات کلیدی: سیال فوق بحرانی، اسانس، استخراج، طرح‌های آزمایشی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان

مقدمه :

روغن‌های ضروری^۱ (EOs) تنها بخش کوچکی از ساختار گیاهان را تشکیل می‌دهند؛ با این حال، آنها ویژگی‌های مهم گیاهان معطر را تعیین می‌کنند. EOs به دلیل ترکیب پیچیده‌شان، که شامل چند تا چند صد جزء، به ویژه هیدروکربن‌ها (ترپن‌ها و سسکوئنی‌ترپن‌ها) و ترکیبات اکسیژن‌دار (آلدهیدها، اسیدها، الکل‌ها، کتون‌ها، اکسیدها، فنول‌ها، استال‌ها، لاکتون‌ها، اترها و استرها) هستند، شناخته شده‌اند. هر دوی این گروه‌ها، ویژگی‌های بو و طعم EOs را تعیین می‌کنند. EOs علاوه بر ویژگی‌های معطر خود، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی و فواید بی‌شماری برای سلامتی هستند که منجر به کاربردهای زیادی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی و عطرسازی می‌شود. به عنوان مثال، پونه کوهی (*Origanum vulgare*) گیاهی علفی است که در مناطق مدیترانه‌ای رشد می‌کند و به عنوان یک گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد و اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی قدرتمندی دارد.

علاوه بر این، خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزنجوش توسط مچرگویی، کوئلیو، سرا، لامین، بوخچینا و خوجا گزارش شده است. اجزای اصلی این اسانس که توسط این نویسندگان شناسایی شده‌اند، تیمول (۱۸ تا ۳۲ درصد)، پارا-سیمن (۳۶ تا ۴۶ درصد)، گاما-ترپنین (۱۲ تا ۲۴ درصد) و کارواکرول (۲ تا ۱۵ درصد) بودند. آنها همچنین توانایی جذب رادیکال‌های ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) را اندازه‌گیری کردند و مقادیری در محدوده ۵۹ تا ۸۰ میلی‌گرم در لیتر به دست آوردند. همه این خواص، محققان را بر آن داشته است تا تکنیک‌های جدیدی را برای استخراج اسانس‌ها توسعه دهند.

استخراج سیال فوق بحرانی^۲ (SFE) به پرکاربردترین روش برای استخراج و جداسازی اسانس‌ها از گیاهان معطر تبدیل شده است. این تکنیک استخراج مؤثر و سریع را فراهم می‌کند، فقط به دمای متوسط نیاز دارد، مراحل پاکسازی را حذف می‌کند و از استفاده از حلال‌های آلی مضر جلوگیری می‌کند. دی‌اکسید کربن (CO_2) یک حلال ایده‌آل برای استخراج و جداسازی اسانس‌ها از گیاهان است، زیرا غیر انفجاری، غیر سمی، به راحتی در دسترس و به راحتی از محصولات استخراج شده حذف می‌شود. زرمان، منیای و بارت داده‌های تجربی مربوط به استخراج اسانس با CO_2 فوق بحرانی ($SC-CO_2$) از برگ‌های رزماری الجزایری را ارائه کردند. آنها بازده ۰/۹۵ تا ۳/۵۲ گرم اسانس به ازای هر گرم رزماری خشک را به دست آوردند. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) نشان داد که کافور (با ۴۸/۸۹٪ وزنی) ترکیب اصلی موجود در اسانس است.

به طور کلی، کارایی SFE به پارامترهای مختلفی از جمله سرعت جریان، فشار، دما، زمان استخراج و غیره بستگی دارد. در چنین شرایطی، که متغیرهای زیادی ممکن است بر نتیجه تأثیر بگذارند، مدل‌سازی و بهینه‌سازی پارامترهای پردازش با تکنیک‌هایی مانند روش سطح پاسخ^۳ (RSM) روشی موفق برای بهبود کارایی فرآیند است.

هدف از این مطالعه، بررسی جامع ظرفیت دی‌اکسید کربن فوق بحرانی برای استخراج طیف وسیعی از EOها بود. مطالعه‌ای که یک گام فراتر رفته و طرح‌های تجربی اثبات‌شده‌ای را در مورد SFE EOها و همچنین کیفیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی EOهای به‌دست‌آمده با روش SFE نشان داده است.

۲- روغن‌های ضروری^۱ Essential Oils^۲ Supercritical Fluid Extraction^۳ Response Surface Methodology

روغن‌های اسانس (EOs)، که گاهی اوقات روغن‌های اتری نامیده می‌شوند، متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که توسط گیاهان و علف‌های مختلف تولید می‌شوند. آن‌ها به عنوان مواد طبیعی، فرار، پیچیده و مایع با عطر قوی شناخته می‌شوند. روغن‌های اسانس گاهی اوقات روغن‌های فرار نامیده می‌شوند؛ با این وجود، کونلیو، کریستینو، ماتوس، راتر، نوبره، مندس، باروسو، ماینار، یوریتا و فارلیرا روغن به دست آمده از SFE را به عنوان روغن فرار نامگذاری می‌کنند تا آن را از EO که طبق تعریف توسط تقطیر با آب^۱ (HD) و تقطیر با بخار^۲ (SD) تولید می‌شود، متمایز کنند. روغن‌های اسانس عمدتاً از ترکیبات لیپوفیلیک تشکیل شده‌اند که حاوی اجزای معطر فرار ماده گیاهی هستند که در سیستم دفاعی گیاهان نقش دارند. اسانس‌ها بخش کوچکی از ترکیب گیاهان (۵٪) از ماده خشک گیاهی) را تشکیل می‌دهند و شامل هیدروکربن‌های مونوترپن‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها و بخش‌های اکسیژن‌دار آنها مانند آلدئیدها، کتون‌ها، فنول‌ها، اسیدها، الکل‌ها، اترها، استرها و غیره هستند. اسانس‌ها به عنوان طعم‌دهنده‌های غذایی، نگهدارنده‌ها و محصولات آرایشی، بهداشتی، پاک‌کننده، حشره‌کش، علف‌کش و دارویی استفاده می‌شوند. چندین مزیت دیگر اسانس‌ها، از جمله توانایی آنها در تحریک سیستم عصبی مرکزی و همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدقارچی، شناخته شده است. آنها مدت‌هاست که در طب سنتی به عنوان ادرارآور، هضم‌کننده، آرام‌بخش، خلط‌آور و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند. به همین ترتیب، آنها به شکل عصاره‌ها، دمنوش‌ها و قرص‌ها به بازار عرضه می‌شوند. فعالیت بیولوژیکی و خواص ارگانولپتیک اسانس‌ها به ترکیبات مربوطه آنها بستگی دارد. مقدار ماده فعال در یک اسانس از مقادیر زیاد (تقریباً ۸۰ تا ۹۰ درصد وزنی/وزنی دی-لیمونن موجود در اسانس پرتقال) تا مقادیر ناچیز متغیر است. اجزا و ویژگی‌های اسانس‌های زنجبیل، اسطوخودوس و ریحان در مثال‌های زیر آورده شده است.

زنجبیل (*Zingiber officinale* Roscoe) گیاهی از خانواده زنجبیلیان (*Zingiberaceae*) است که در محصولاتمانند ترشی، مربا، چاتنی و نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود. ریزوم آن یک ماده رایج در طب سنتی چینی است. چندین گونه زنجبیل حاوی مواد فعال زیستی زیادی از جمله شوگاول‌ها و جینجرول‌ها هستند که فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان می‌دهند. مزومو، کورازا، اندپای، دالا سانتا، کاردوزو و د پائولا شیر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد باکتریایی اسانس به دست آمده از ریشه زنجبیل (*Zingiber officinale* R.) را ارزیابی کردند. ترکیبات اصلی یافت شده در اسانس عبارت بودند از α - β -sesquiphellandrene، α -zingiberene، β -bisabolene، α -farnesene و β -eudesmol. آنها همچنین اثر مهاری قوی اسانس زنجبیل را علیه سودوموناس آئروژینوزا و اثر مهاری ضعیف‌تری را علیه سالمونلا تیفی موریوم و شیگلا فلکسنری نشان دادند.

اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) به دلیل ترکیب شیمیایی منحصر به فرد خود، یک اسانس شناخته شده دارد که در صنایع غذایی، عطرسازی، آروماتراپی و داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گزارش شده است که اسانس اسطوخودوس بیش از صد جزء از جمله لینالول، لاواندویل استات، لینالیل استات، کافور و ۱،۸-سینئول دارد. یکی از مهمترین ویژگی‌های اسانس اسطوخودوس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن است که توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. اسانس اسطوخودوس در تولید مواد غذایی به عنوان یک عامل طعم‌دهنده برای نوشیدنی‌ها، آب نبات، بستنی، محصولات پخته شده و آدامس و به عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از محصولات غذایی در برابر از دست دادن ترکیبات ناپایدار، ترشیدگی اکسیداتیو و تشکیل طعم‌های نامطلوب استفاده می‌شود. عطر دلپذیر اسانس اسطوخودوس برای استفاده در عطرها، صابون‌ها، ادکلن‌ها، لوسیون‌های پوست و سایر لوازم آرایشی مناسب است. اخیراً، اثرات مفید این اسانس بر سیستم عصبی مرکزی ثابت شده است. علاوه بر این، اسانس اسطوخودوس به دلیل

^۱ Hydro Distillation^۲ Steam Distillation

خواص درمانی مانند فعالیت ضد عفونی کننده، ضد تشنج، ضد التهاب، ضد ویروس، ضد افسردگی و ضد باکتری، در صنعت داروسازی اهمیت تجاری دارد. خواص چندین اسانس در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱- ویژگی‌های برخی از روغن‌های ضروری استخراج شده از گیاهان

ماده گیاهی	نام گیاه‌شناسی	اجزای اصلی	عملکردها
برگ‌های برگ بو	یک برگ بو نجیب (<i>Laurus nobilis</i>)	Linalool, ۱,۸-cineole, terpineol acetate, methyl eugenol, linalyl acetate, sabinene, eugenol, β -pinene, α -terpineol	قارچ کش گیاهی
درخت ترب	مورینگا اولیفرایا (<i>Moringa oleifera</i>)	۱,۲- Benzenedicarboxylic acid, nonacosane, mono (γ -ethylhexyl) ester, heptacosane, and β -Amyrin,	فعالیت‌های ضد فشار خون، ضد قارچ، ضد زخم، ضد تومور، آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان
گیاه گلدار	لپتوکارفا ریوولاریس (<i>Leptocarpha rivularis</i>)	α -Thujone, β -caryophyllene, caryophyllene oxide, and caryophyllene oxide	اثرات ضد سرطانی، کاهش دهنده قند خون و آنتی‌اکسیدانی
رزماری	رزمارینوس آفیسینالیس (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	Phenolic diterpenes (carnosol, carnosic acid, rosmanol, rosmaridiphenol, and rosmariquinone), flavones (apigenin, genkwanin hesperetin, and cirsimaritin) and phenolic acids (rosmarinic acid and caffeic acid)	فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی
مریم گلی	مریم گلی (<i>Salvia officinalis</i> L.)	Olean-۱۸-ene, manool, carnosol, viridiflorol, and lupeol	خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، کاهش دهنده قند خون، ضد التهاب، قارچ کش، ویروس کش، قابض، ضد آب، ضد التهاب خوش خیم و ضد دیابت

۳- استخراج سیال فوق بحرانی

اگر دما و فشار از نقاط بحرانی تعیین شده برای یک مایع یا گاز خاص بالاتر رود، یک سیال همگن

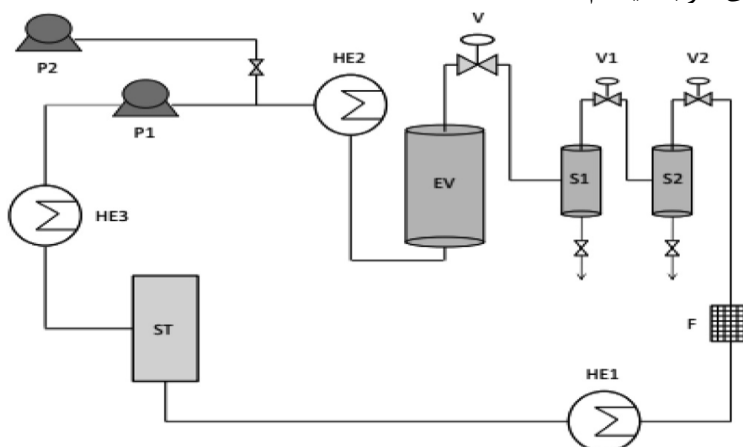
۶ (SF) ظاهر می‌شود. در ناحیه فوق بحرانی، سطح مرزبندی بین مایع و گاز از بین می‌رود و یک سیال همگن ظاهر می‌شود. سیالات فوق بحرانی (SF) نفوذپذیری و چگالی بین مایع و گاز را نشان می‌دهند. چگالی سیالات فوق بحرانی، برخلاف مایعات، با تغییر مقادیر فشار و دما تغییر می‌کند، به طوری که افزایش اندک فشار ممکن است منجر به افزایش بسیار زیاد چگالی سیال و به دنبال آن تغییر در قدرت حلالیت سیال فوق بحرانی شود. این پدیده امکان استخراج اجزای هدف از یک مخلوط چند جزئی را فراهم می‌کند. بنابراین، گزینه‌پذیری مزیت اصلی SFE است. علاوه بر این، شرایط ملایم مورد استفاده برای به دست آوردن عصاره‌های طبیعی می‌تواند مشکلات مرتبط با تجزیه حرارتی اجزا را کاهش دهد. این روش همچنین به دلیل فراریت سیال فوق بحرانی که می‌تواند برای به دست آوردن عصاره‌های فعال استفاده شود، بازیابی حلال را تسهیل می‌کند. این امر دستیابی به بازده استخراج بالا را در زمان‌های کوتاه و بدون تولید زباله‌های سمی امکان‌پذیر می‌سازد. حلالیت بالا، گزینه‌پذیری و سرعت انتقال جرم، استخراج فوق بحرانی (SFE) را به یک فرآیند استخراج جذاب تبدیل می‌کند. در حال حاضر، به دلایل عملی مختلف، بیش از ۹۰٪ از فرآیندهای SFE با استفاده از CO₂ انجام می‌شوند. CO₂ علاوه بر داشتن دمای بحرانی نسبتاً پایین (۳۲ درجه سانتیگراد) و فشار (۷/۴ مگاپاسکال)، نسبتاً غیرقابل اشتعال، غیر انفجاری، غیر سمی، با هزینه کم و خلوص بالا در دسترس است و به راحتی از عصاره‌ها قابل جدا شدن است. علاوه بر این، CO₂ کشش سطحی و ویسکوزیته پایینی دارد، اما دو یا سه برابر نفوذپذیری سایر سیالات را دارد. در ناحیه فوق بحرانی، CO₂ قطبیتی مشابه پنتان از خود نشان می‌دهد و بنابراین برای استخراج مواد لیپوفیلیک مناسب است. عیب اصلی CO₂ این است که فاقد قطبیت لازم برای استخراج مواد قطبی است.

SFE شامل تکنیک‌های آفلاین و آنلاین است. فرآیند کامل SFE آفلاین در شکل ۱ شرح داده شده است. ماده خام در یک سبد قرار داده می‌شود و درون یک ظرف استخراج (EV) قرار می‌گیرد. SF به طور مداوم از پایین EV بارگیری می‌شود. در انتهای EV، SF حاوی املاح استخراج شده از طریق یک شیر کاهش فشار (V) به جداکننده (S¹) جریان می‌یابد، جایی که عصاره‌ها به دلیل فشار کمتر از سیال گازی جدا شده و در یک جمع‌کننده جمع‌آوری می‌شوند. سپس عصاره‌های جمع‌آوری شده را می‌توان برای اندازه‌گیری بازده استخراج به یک دستگاه تحلیلی وارد کرد. برخی از دستگاه‌های SFE حاوی بیش از یک جداکننده هستند. هدف این است که عصاره را با تنظیم فشارها و دماهای مختلف در جداکننده‌ها، تجزیه کنیم. در آخرین جداکننده، سیال به فشار سیستم گردش مجدد (معمولاً حدود ۴ تا ۶ مگاپاسکال) می‌رسد. پس از عبور از فیلتر (F)، سیال گازی به مایع تبدیل می‌شود (HE¹) و در مخزن تأمین‌کننده (ST) نگهداری می‌شود. هنگامی که سیال از این مخزن خارج می‌شود، پمپ می‌شود (P¹) و تا دمای و فشار استخراج مورد نظر گرم می‌شود (HE²). معمولاً قبل از پمپاژ، پیش‌سرمایش سیال مورد نیاز است (HE³) تا از کاویتاسیون پمپ جلوگیری شود. اگر از یک کمک حلال مانند متانول استفاده شود، به یک پمپ تکمیلی نیاز است (P²). به طور کلی، کمک حلال قبل از ورود به HE² با سیال مخلوط می‌شود. کل سیستم پیچیده‌تر از روش‌های مورد استفاده در روش‌های کلاسیک است. زیرا برخلاف بسیاری از تکنیک‌های استخراج سنتی که عمدتاً مبتنی بر دو عامل دما و زمان هستند، در روش SFE باید ضریب فشار نیز تنظیم شود. در واقع، می‌توان گفت که تنظیم فشار منجر به پیچیدگی SFE شده است، زیرا فشار CO₂ نه تنها باید در مخزن استخراج، بلکه در بسیاری از بخش‌های سیستم نیز تنظیم شود تا سیستم بتواند CO₂ را در نزدیکی حالت فوق بحرانی خود حفظ کند. در روش آفلاین، عصاره می‌تواند با روش‌های کروماتوگرافی مستقل، بیشتر مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. اگرچه جداسازی

^۱ Supercritical Fluid

بخش‌های استخراج و آنالیز منجر به افزایش کمی در زمان می‌شود، اما به دلیل استقلال مرحله آنالیز از استخراج، یافتن شرایط بهینه برای استخراج در حالت آفلاین آسان‌تر است.

تکنیک آنالیز، مستقیماً یک دستگاه SFE را با دستگاه‌های تحلیلی مانند ستون‌های کروماتوگرافی مایع (LC) یا کروماتوگرافی گازی (GC) ترکیب می‌کند. اتصال آفلاین، اتلاف و جابجایی نمونه را از بین می‌برد و زمان تجزیه و تحلیل را کاهش می‌دهد. همچنین امکان جریان مقدار زیادی عصاره از طریق ظرف استخراج را فراهم می‌کند و می‌تواند نمونه‌ها را از هوا و نور محافظت کند. مشکل اصلی، نیاز به متخصصان برای کار با سیستم است.



شکل ۱- نمودار شماتیک استخراج آفلاین با سیال فوق بحرانی

۲- تفاوت‌های بین استخراج با سیال فوق بحرانی و سایر روش‌های استخراج

سه تکنیک رایج برای استخراج اسانس‌ها عبارتند از: سوکسله، HD و SFE. سوکسله یکی از قدیمی‌ترین روش‌های استخراج است. این روش بیش از ۱۰۰ سال است که فرآیند استخراج استاندارد بوده است، حتی پس از اینکه نتوانسته بسیاری از خواص ایده‌آل استخراج را نشان دهد. روش سوکسله دارای معایب مختلفی است. به عنوان مثال، میانگین زمان استخراج سوکسله از ۱ تا ۷۲ ساعت است. مواد حل‌شده استخراج‌شده با این روش معمولاً در حجم بالا و به صورت رقیق‌شده به دست می‌آیند و بنابراین باید قبل از تجزیه و تحلیل تغلیظ شوند. و در بسیاری از موارد، استخراج به دلیل وجود همزمان ترکیبات مزاحم، انتخابی نیست که ممکن است تجزیه و تحلیل آنالیت‌های مورد نظر را پیچیده‌تر کند. شاید بزرگترین عیب این روش، نیاز به حلال‌های آلی گران‌قیمت، سمی و با خلوص بالا مانند متیلن کلراید، استون، استونیتریل و غیره باشد. همچنین، دمای بالای مورد استفاده در روش سوکسله ممکن است باعث تجزیه ترکیبات حساس به حرارت و فرار شود. طیف آنالیت‌های قابل استخراج توسط سوکسله به نوع حلال بستگی دارد. به عنوان مثال، هگزان حلالی با وزن مولکولی بالا (بیشتر از CO_2) است؛ بنابراین می‌تواند اجزای مولکولی سنگین یا آلکان‌های زنجیره بلند (اسیدهای چرب، استرول‌های اسید چرب، متیل استرها و غیره) را راحت‌تر از $SC-CO_2$ حل کند، اما بدیهی است که محتوای ترکیبات فرار کمتری خواهد داشت. تکنیک سوکسله به سرمایه‌گذاری زیادی نیاز ندارد و در بسیاری از موارد، بازده استخراج EO بالاتری نسبت به SFE یا HD تولید می‌کند. با این حال، این روش انتخابی نیست و یک روش ایده‌آل برای استخراج آنالیت‌هایی از این نوع محسوب نمی‌شود.

استخراج، کاهش تلفات نمونه، صرفه‌جویی در انرژی و زمان و دستیابی به نتایج دقیق در آنالیزهای بعدی دارد. در چند پاراگراف بعدی، نقش این پارامترها مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

۱-۱-۵- اثرات دما

چگالی CO_2 با افزایش دما - وقتی فشار ثابت است - کاهش می‌یابد و در نتیجه، قدرت حلالیت SF کاهش می‌یابد. برعکس، فشار بخار حل‌شونده (فراریت) - با افزایش دما افزایش می‌یابد و حلالیت آن را در $SC-CO_2$ افزایش می‌دهد. به عبارت دیگر، دماهای بالاتر تأثیر دوگانه و متناقضی بر استخراج EO دارند. بنابراین، پیش‌بینی تأثیر دما در مورد EOهای خاص دشوار است. به عنوان مثال، ژائو و ژانگ نشان دادند که افزایش دما از ۴۰ به ۶۰ درجه سانتیگراد باعث افزایش قابل توجه در بازده استخراج از برگ‌های مورینگا اولیفر می‌شود، در حالی که افزایش بیشتر از ۶۰ درجه سانتیگراد به ۸۰ درجه سانتیگراد تنها منجر به افزایش کمی در بازده می‌شود. این اثر را می‌توان با این واقعیت توضیح داد که در دمای بالاتر، اگرچه چگالی سیال کاهش می‌یابد، اما حلالیت EO ممکن است همچنان افزایش یابد. از این رو، بازده استخراج در دماهای مختلف به تعادل پیچیده‌ای بین چگالی $SC-CO_2$ و فراریت EOها در شرایط داده شده بستگی دارد.

همچنین، موادی مانند EOها به عنوان ترکیبات حساس به حرارت در نظر گرفته می‌شوند، بنابراین دماهای بالاتر ممکن است اجزای آنها را تخریب کنند.

در نتیجه، ترجیح داده می‌شود از مقادیر دما در محدوده ۳۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد استفاده شود. از سوی دیگر، دما باید نزدیک به نقطه بحرانی CO_2 و تا حد امکان پایین باشد بدون اینکه تخریب شود.

اوکیچ، سیرانو و میلانو از محدوده دمایی ۳۸ تا ۵۲ درجه سانتیگراد برای استخراج EO از *Leptocarpha rivularis* استفاده کردند. آنها دریافتند که بازده استخراج با افزایش دما در فشار ثابت ۱۵ مگاپاسکال از ۳/۲۷ به ۵/۰۵ گرم EO/۱۰۰ گرم ماده خشک افزایش می‌یابد.

۲-۱-۵- اثرات فشار

برای درک رفتار حل‌شونده در SF و متعاقباً برای اجرای یک SFE تحلیلی موفق، چهار پارامتر باید در نظر گرفته شوند: (۱) فشار آستانه، که به معنای فشاری است که در آن حل‌شونده در SF تقسیم می‌شود؛ (۲) فشاری که در آن حل‌شونده حداکثر حلالیت را نشان می‌دهد؛ (۳) فشار جزء به جزء کردن، که مربوط به ناحیه فشار بین فشار آستانه و حداکثر فشار حلالیت است؛ و (۴) آگاهی از ویژگی‌های فیزیکی حل‌شونده، به ویژه نقطه ذوب (اکثر حل‌شونده‌ها به خوبی در شکل مایع خود، یعنی بالاتر از نقطه ذوب خود، حل می‌شوند).

یکی از دلایل استفاده از SFE برای استخراج EOها این است که می‌توان در محدوده فشار پایین (۹ تا ۱۲ مگاپاسکال) بازده بالایی به دست آورد. با این وجود، فشارهای بالاتر برای بهره‌گیری از تأثیر فشرده‌سازی بر ماده گیاهی اعمال می‌شوند که انتقال جرم و آزادسازی EOها را از ماتریس گیاه بهبود می‌بخشد. برای مثال، گلیشیچ، ایوانوویچ، ریستیک و اسکالا نشان دادند که در دماهای ۴۰ و ۵۰ درجه سانتیگراد، بازده استخراج EO از مریم گلی (*Salvia officinalis*) توسط فرآیند SFE می‌تواند با افزایش فشار افزایش یابد. با این حال، فشارهای بالا باعث استخراج همزمان ترکیبات همراه با EO می‌شوند. به عنوان یک قاعده کلی، هرچه فشار بالاتر باشد، قدرت حلال بیشتر و گزینش پذیری استخراج کمتر است. از این رو، هنگامی که فشارهای بالا به کار گرفته می‌شوند، یک سیستم جداسازی حاوی حداقل دو جداکننده برای جداسازی EO از سایر مواد استخراج شده همزمان مورد نیاز است.

۳-۱-۵- اثرات اندازه نمونه و آسیاب کردن

ماتریس گیاهان تأثیر قابل توجهی بر کیفیت عصاره‌ها دارد. عوامل متعددی مرتبط با ماتریس گیاهی، از جمله اندازه ذرات، مساحت سطح، شکل، تخلخل و غیره، بر نتایج SFE تأثیر می‌گذارند. تأثیر ماتریس نمونه بر یک فرآیند SFE را می‌توان در سه مرحله تفسیر کرد: (۱) واجذب EO از ماتریس؛ (۲) انتشار سیال در ماتریس گیاه؛ و (۳) انحلال آنالیت توسط SF. EO ها معمولاً در فضاهای درون سلولی به میزان بیشتری نسبت به سطح سلول گیاهی یافت می‌شوند. بنابراین، برای دستیابی به تماس کافی با سیال، پیش تیمار برای از هم گسیختن سلول‌ها (آسیاب کردن، خرد کردن) ضروری است. به طوری که با کاهش مقاومت انتقال جرم، کارایی SFE افزایش می‌یابد. مطمئناً، اندازه ذرات به طور قابل توجهی بر زمان فرآیند تأثیر می‌گذارد. به طور کلی، کاهش اندازه ذرات یک ماتریس جامد منجر به مساحت سطح بالاتر، مقاومت انتقال جرم کمتر و استخراج کارآمدتر می‌شود. با این حال، آسیاب بیش از حد ممکن است به دلیل جذب مجدد املاح روی سطح ماتریس و افت فشار در محفظه استخراج، استخراج را به تأخیر بیندازد. به عنوان مثال، الکسوفسکی و سوووا نشان دادند که در استخراج با فشار بالا EO (SFE) از ذرات کوچک برگ مریم گلی، EO حتی در شرایط متوسط (۲۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد و ۹ تا ۱۳ مگاپاسکال) به راحتی در دسترس SC-CO₂ قرار می‌گیرد.

۴-۱-۵- اثرات اصلاح کننده

اصلاح‌کننده‌ها، کمک حلال‌هایی هستند که با افزایش حلالیت املاح و گسترش تنوع ترکیبات قابل استخراج، کارایی SFE را افزایش می‌دهند. برخی از اصلاح‌کننده‌های رایج عبارتند از متانول، اتانول، ۲-پروپانول، دی‌کلرومتان و استونیتریل. از آنجایی که SC-CO₂ نسبتاً غیرقطبی است، افزودن اصلاح‌کننده‌های قطبی برای بهبود حلالیت مولکول‌های با وزن بالاتر و قطبی‌تر ضروری است. علاوه بر این، استفاده از اصلاح‌کننده‌ها دمای مورد نیاز برای فرآیند را کاهش می‌دهد. با این حال، اصلاح‌کننده‌ها CO₂ را از حالت فوق بحرانی به حالت زیر بحرانی تبدیل می‌کنند و مشکلاتی مانند نیاز به جداسازی اصلاح‌کننده‌ها از SF پس از استخراج را ایجاد می‌کنند. اجزای اصلی EO ها را می‌توان به دو خانواده از هیدروکربن‌ها نسبت داد: فنیل پروپانوئیدها و ترپنوئیدها که از دو واحد ایزوپرن (مونوترپن)، سه واحد ایزوپرن (سزکوئی‌ترپن) یا چهار واحد ایزوپرن (دی‌ترپن) تشکیل شده‌اند. هر دو خانواده فنیل پروپانوئید و ترپنوئید شامل ترکیبات فنلی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند. بنابراین، در صورت افزودن اصلاح‌کننده‌ها، مواد مورد نظر آنتی‌اکسیدان هستند.

۵-۱-۵- اثرات نرخ جریان

سرعت سیال SF که از سلول‌های گیاهی عبور می‌کند، تأثیر مستقیمی بر راندمان استخراج دارد. سرعت سیال به شدت به هندسه سلول و سرعت جریان وابسته است. کاهش سرعت جریان منجر به کاهش سرعت خطی می‌شود. سرعت جریان را می‌توان به راحتی با استفاده از یک محدودکننده جدید با قطر داخلی متفاوت تنظیم کرد. یک محدودکننده یا یک تنظیم‌کننده فشار برگشتی^۷ (BPR) پس از ظرف استخراج قرار می‌گیرد. این امر امکان کاهش فشار سیال SF و جداسازی فشار و جریان را فراهم می‌کند تا فشار مستقل از سرعت جریان سیال SF کنترل شود. در مورد تأثیر سرعت جریان بر بازده استخراج اسانس‌ها و اجزای آنها، کاهش سرعت جریان به افزایش بازده کمک می‌کند. با این حال، تأثیر سرعت جریان پیچیده‌تر از این است.

۶-۱-۵- اثرات آب و رطوبت گیاهان

آب مورد استفاده به عنوان اصلاح‌کننده، یا رطوبت ماده گیاهی، نقش دو جانبه‌ای در SFE دارد. آب می‌تواند با باز کردن منافذ، متورم کردن ماتریس و فراهم کردن دسترسی بهتر SF به آنالیت‌ها، به استخراج کمک کند. به عنوان مثال، در مورد *Origanum vulgare*

^۷ Backpressure Regulator

L. گزارش شده است که افزودن آب منجر به بهبود درجه استخراج EOها و کاهش بازده مواد مومی شده است. در کار دیگری، ایوانوویچ، ریستیک و اسکالا از SC-CO₂ برای استخراج EO از گل‌های *Helichrysum italicum* با رطوبت‌های مختلف ۱۰/۵٪ و ۲۸۴/۴٪ استفاده کردند (شرایط اعمال شده ۱۰ تا ۲۰ مگاپاسکال، ۴۰ درجه سانتیگراد و ۶۰ درجه سانتیگراد بود). یافته‌های آنها نشان داد که رطوبت بالاتر منجر به افزایش بازده استخراج سسکوئی‌ترین‌ها می‌شود. آب، علیرغم اینکه تنها ۰/۳ تا ۰/۳۵ درصد در SC-CO₂ محلول است، بازیابی بیشتری از گونه‌های نسبتاً قطبی را امکان‌پذیر می‌کند. با این حال، مقدار اضافی، چه به عنوان اصلاح‌کننده و چه به عنوان رطوبت ماتریس گیاه، ممکن است بازیابی SFE مواد قطبی پایین‌تر را کاهش دهد. همچنین، مواد نامحلول در آب روی سطح ماتریس رسوب می‌کنند، زیرا آب به عنوان مانعی در انتقال آنالیت‌ها به SF عمل می‌کند. آب همچنین می‌تواند به دلیل کاهش فشار سیال، باعث گرفتگی محدودکننده شود. حذف آب معمولاً با خشک کردن در فر، خشک کردن انجمادی یا افزودن عوامل خشک‌کننده انجام می‌شود.

۶- عملکرد ضد میکروبی روغن‌های ضروری استخراج شده از طریق استخراج سیال فوق بحرانی

مواد ضد میکروبی گیاهی از آنجایی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی به یک نگرانی جدی برای عموم تبدیل شده است، به ویژه از نظر عفونت‌های بیمارستانی و بیماری‌های منتقله از غذا، مورد توجه هستند. خواص ضد میکروبی از جمله ویژگی‌های ذاتی اسانس‌ها (EOs) است. وجود طیف گسترده‌ای از ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی، مانند بورنتول، سینامالدئید، کارواکرول، اوژنول، تیمول، لینالول، منتول، وانیلین و غیره، باعث شده است که از اسانس‌ها به عنوان نگهدارنده در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده شود. بنابراین، کیفیت استخراج یکی از مهمترین عوامل مؤثر بر خواص ضد میکروبی اسانس‌ها است. در بسیاری از مطالعات، استخراج با عصاره (SFE) به عنوان یک تکنیک پیشگام برای به دست آوردن اسانس با کیفیت بالا با حداقل تلفات ترکیبات آن معرفی شده است. بنابراین، خواص ضد میکروبی اسانس‌ها به خوبی حفظ می‌شود. د کوراتو، ماچیونی، تروپو و دی سانزو عملکرد ضد قارچی اسانس برگ بو (*Laurus nobilis*) به دست آمده از SC-CO₂ را در برابر قارچ‌های عامل فساد پس از برداشت در شرایط درون تنی (*in vivo*) و برون تنی (*in vitro*) بررسی کردند. ابتدا، آنها اسانس را با روش SFE در فشار ۱۱ مگاپاسکال، ۴۰ درجه سانتیگراد و سرعت جریان ۲۴ کیلوگرم بر ساعت CO₂ استخراج کردند. سپس تحت آنالیز GC قرار گرفت. نتایج نشان داد که روغن برگ بو دارای مقادیر بالای (≥۱۰٪) ۱۰۸-سینئول، متیل اوژنول، لینالول و ترپینئول استات و مقادیر کم (کمتر از ۱۰٪) اوژنول، لینالیل استات، بتا-پینن، سابینن و آلفا-ترپینئول است. آنها از این اسانس در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) در غلظت‌هایی در محدوده ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر علیه *Botrytis*، *Monilinia laxa*، *cinerea* و *Penicillium digitatum* استفاده کردند. *M. laxa* و *B. cinerea* با استفاده از اسانس در هر دو غلظت پایین و بالا به طور کامل مهار شدند. *P. digitatum* حتی در بالاترین غلظت نیز فقط تا حدی مهار شد. برای آزمایش‌های درون تنی (*in vivo*)، اسانس در غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی پوست هلو، پرتقال، کیوی و لیمو که به طور مصنوعی با ارگانیسم‌های فوق‌الذکر تلقیح شده بودند، اسپری شد. فعالیت ضد قارچی قوی روی هلو و کیوی هنگامی که اسانس قبل از تلقیح با غلظت ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسپری شد، ثبت شد. همین فعالیت نیز روی هلو هنگامی که اسانس پس از تلقیح اسپری شد (۷۶٪ مهار پوسیدگی) مشاهده شد.

بی، دای و هو مطالعه‌ای را برای ارزیابی اثربخشی اسانس *Allium cepa* در برابر پاتوژن‌های منتقله از غذا و عامل فساد مواد غذایی، از جمله باسیلوس سوبتیلیس، اشیریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، ساکارومایسس سرویزیه، رودتورولا گلوآتینیس، کاندیدا تروپیکالیس، موناسکوس پورپورئوس، اسپرژیلوس نیجر و اسپرژیلوس ترئوس، طراحی کردند. آنها با موفقیت اسانس را با SC-CO₂

در فشار ۲۰/۶ مگاپاسکال و دمای ۴۰/۶ درجه سانتیگراد، در مدت زمان ۲۶۰ دقیقه و با سرعت جریان CO₂، ۲۲ لیتر در ساعت استخراج کردند. نتایج سنجش‌های آزمایشگاهی، مقادیر MIC و MBC را به ترتیب ۰.۱۸ تا ۱.۸۰ میلی گرم در میلی لیتر و ۰/۵۴ تا ۳/۶ میلی گرم در میلی لیتر نشان داد.

۷- بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های استخراج شده با روش استخراج سیال فوق بحرانی

به دلیل خواص سرطان‌زای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، علاقه فزاینده‌ای به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی وجود دارد. این علاقه، محققان را به استخراج چنین ترکیبات زیست‌فعال از مواد گیاهی خام سوق داده است. از نظر بیولوژیکی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به عنوان موادی توصیف می‌شوند که می‌توانند توسعه اکسیداسیون را در غلظت‌های پایین‌تر از آنالیت اکسیداسیون به تأخیر بیندازند یا مهار کنند. هیچ تعریفی وجود ندارد که عملکرد آنتی‌اکسیدانی را به گروه خاصی از مواد یا به یک مکانیسم مشخص محدود کند. مدت‌هاست که مشخص شده است که روغن‌های اسانسی (EOs) به دلیل اجزای ترپنوئیدی و فنلی خود، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهند. با این حال، کیفیت این ترکیبات تا حد زیادی تحت تأثیر روش‌های استخراج آنها قرار دارد. SC-CO₂ به دلیل دو ویژگی به عنوان یک جایگزین امیدوارکننده برای استخراج روغن‌های اسانسی (EOs) پیشنهاد شده است: (۱) ماهیت آبگریز CO₂ که با روغن‌های اسانسی سازگار است؛ و (۲) دمای پایین مورد استفاده در روش SFE که برای استخراج بسیاری از اجزا، به ویژه آنتی‌اکسیدان‌های حساس به حرارت، مناسب است. با این حال، صحبت در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی EO حاصل از SFE زمانی امکان‌پذیر است که جداسازی انجام نشود. زیرا، همانطور که توسط ویسنته، گارسیا-ریسکو، فورناری و رگلو و ایوانوی سی، بیلاس، جادرانین، واجس، بابوویچ، پترووی سی و زی زوویک ذکر شده است، جداسازی عصاره‌ها امکان داشتن یک بخش آنتی‌اکسیدانی EO را فراهم می‌کند.

دان، تریت، ژائو، ماموکاری و فاستر از SFE در شرایط ۵۳/۴ درجه سانتیگراد، ۲۰/۷۲ مگاپاسکال و ۵۶/۳ دقیقه برای دستیابی به بازده استخراج ۱۳/۲٪ برای EO از *Lavandula angustifolia* استفاده کردند. چهار ترکیب اصلی، یعنی لینالول، لینالیل استات، بورنئول و کافور، حدود ۸۰٪ از کل ترکیبات تعیین شده را تشکیل می‌دادند. سنجش DPPH از EO نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به طور قابل توجهی تحت تأثیر زمان و فشار قرار می‌گیرد، اما تحت تأثیر دما قرار نمی‌گیرد. در مقابل، ظرفیت مهار [۲،۲۰-azino bis-(۳-ethylbenzothiazoline-۶-sulphonic acid)] روغن به دست آمده توسط SFE تحت شرایط مختلف، هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. نتایج نشان داد که SFE انجام شده در فشار بالا و با زمان استخراج طولانی می‌تواند روغن اسطوخودوس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و بازده بالا تولید کند. مشخص شد که استخراج با مقادیر پارامتر پایین‌تر (۳۶/۶ درجه سانتیگراد، ۱۰ مگاپاسکال و ۷۳/۶ دقیقه) نیز می‌تواند بازده بالایی از EO تولید کند، اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) در آن زمان کم است.

چن، می، جین، کیم، یانگ و تو با موفقیت اسانس را از گل‌های چای (*Camellia sinensis*) استخراج کردند. شرایط بهینه استخراج ۵۰ درجه سانتیگراد، ۳۰ مگاپاسکال و ۱۰۰ دقیقه بود. بر اساس نتایج GC-MS، ۵۹ ترکیب به عنوان آلکان‌ها (۴۵/۴٪)، استرها (۱۰/۵٪)، کتون‌ها (۷/۱٪)، تریپن‌ها (۳/۷٪)، آلدهیدها (۳/۷٪)، اسیدها (۲۱/۱٪)، الکل‌ها (۱/۶٪)، اترها (۱/۳٪) و سایر (۱۰/۳٪) در اسانس گل‌های چای شناسایی شدند. علاوه بر این، روغن گل‌های چای فعالیت DPPH تا حدودی قوی‌تری نسبت به اسانس‌های نعنای فلفلی و شمعدانی نشان داد، اگرچه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن از اسانس میخک، ترت-بوتیل هیدروکینون، بوتیل هیدروکسی آنیزول یا اسید اسکوربیک قوی‌تر نبود.

۸- طرح‌های آزمایشی برای استخراج سیال فوق بحرانی

طرح‌های آزمایشی علاوه بر دستیابی به راندمان استخراج بالا، برای بهینه‌سازی شرایط عملیاتی روش‌های مختلف و بهبود عملکرد جداسازی کروماتوگرافی نیز استفاده می‌شوند. بنابراین، طرح آزمایشی را می‌توان به عنوان رویکردی برای حل سیستماتیک مسائل در نظر گرفت. همچنین، از آن برای جمع‌آوری و تجزیه و تحلیل داده‌ها برای دستیابی به نتایج غنی از اطلاعات استفاده می‌شود. نتایج بهینه و معتبر با زمان، تلاش و منابع کمتر، اهداف اولیه به‌کارگیری طرح‌های آزمایشی در فرآیندهای تحلیلی هستند. استخراج با استفاده از سیال پایه سیال پایه به برخی از خواص ذاتی سیال پایه، مانند فشار و دما، و برخی از خواص بیرونی مانند ماتریس نمونه، عوامل محیطی مختلف و تعاملات با آنالیزورها بستگی دارد. به عبارت دیگر، تعداد زیادی از متغیرها باید در یک فرآیند SFE به دقت شناسایی و بررسی شوند. بنابراین، انتخاب یک طرح آزمایشی مناسب بسیار مهم است. به طور کلی، یک فرآیند طراحی آزمایشی موفق شامل غربالگری، بهینه‌سازی و مدل‌سازی است.

۸-۱-۱- غربالگری

SFE می‌تواند تحت تأثیر تعداد زیادی از پارامترها قرار گیرد، اما برخی از آنها تأثیرات غالبی بر استخراج دارند. بررسی این عوامل اصلی در مرحله غربالگری، اولین مرحله اساسی در فرآیند طراحی آزمایش SFE، برجسته شده است، که در آن اغلب از طرح‌های فاکتوریل کامل دو سطحی، فاکتوریل کسری دو سطحی و پلاکت برمن استفاده می‌شود.

۸-۲-۲- بهینه‌سازی

پس از غربالگری و شناسایی مهم‌ترین عوامل در یک فرآیند، این عوامل باید بهینه شوند. بهینه‌سازی، عملی از طراحی آزمایش است که برای تأیید شرایط بهینه به کار می‌رود. سه نوع طرح طراحی شده - طرح‌های تاگوچی، طرح‌های کامپوزیت مرکزی^۸ (CCD) و طرح‌های باکس-بنکن^۹ (BBD) معمولاً برای بهینه‌سازی روش SFE به کار می‌روند.

۸-۲-۱- طرح تاگوچی

هدف اصلی طراحی تاگوچی، تولید خروجی قوی‌تر یا بهینه‌تر است. رویکرد تاگوچی از یک آرایه متعامد برای تعیین اجراهای آزمایشی استفاده می‌کند. طراحی آرایه متعامد تاگوچی نوعی طراحی فاکتوریل کسری است. به عنوان مثال، اگر ۴ عامل در ۳ سطح داشته باشیم، طراحی تاگوچی ۹ اجرا (L_۹) را پیشنهاد می‌دهد.

آرایه‌های متعامد متعادل می‌شوند تا اطمینان حاصل شود که همه سطوح عامل به طور مساوی در نظر گرفته می‌شوند. بنابراین، عوامل می‌توانند مستقل از یکدیگر، علیرغم کسری بودن طرح، ارزیابی شوند. در این طرح، اثرات اصلی به همراه تعاملات دو عاملی در نظر گرفته می‌شوند، اما فرض می‌شود که تعاملات مرتبه بالاتر وجود ندارند.

تحلیل واریانس (ANOVA)، تحلیل سیگنال به نویز و نسبت تحلیل برد، تکنیک‌های اصلی تحلیل برای تفسیر نتایج طرح‌ها هستند.

۸-۲-۲-۱- طرح کامپوزیت مرکزی (CCD)

یک CCD معمولاً شامل یک طرح فاکتوریل کامل یا فاکتوریل کسری با دو سطح، حداقل یک نقطه مرکزی و نقاط محوری یا ستاره‌ای اضافی است. در این طرح می‌توان از هر دو مدل خطی و چهارگانه استفاده کرد. سه نوع طرح CCD وجود دارد: کامپوزیت مرکزی محاطی (CCI)، کامپوزیت مرکزی وجه-مرکز (CCF) و کامپوزیت مرکزی محاطی (CCC). طرح‌های CCI و CCC

^۸ Central Composite Designs

^۹ Boxe Behnken Designs

ویژگی‌های خاصی دارند و قابل چرخش هستند. یک طرح در صورتی قابل چرخش در نظر گرفته می‌شود که پس از چرخش نقاط حول نقطه مرکزی، گشتاورهای توزیع طرح بدون تغییر باقی بمانند.

۸-۲-۳- طرح‌های باکس-بنکن (BBD)

این طرح شامل یک طرح فاکتوریل کسری است که با ترکیب فاکتوریل‌ها با طرح بلوک ناقص به گونه‌ای تشکیل شده است که به عنوان یک طرح قابل چرخش یا تقریباً قابل چرخش به نظر برسد. طرح BoxeBehnken هیچ نقطه‌ای در رئوس تشکیل شده توسط حد پایین و بالای هر متغیر ندارد. BBD نیاز به تعدادی آزمایش دارد که با $N = 2k(k-1) + C_0$ داده می‌شود، که در آن k تعداد فاکتورها و C_0 تعداد نقاط مرکزی است. تأثیر قابل توجه BBD بر پاسخ معمولاً توسط ANOVA آزمایش می‌شود. همچنین می‌توان پاسخ بهینه را با استفاده از یک مدل رگرسیون همراه با محاسبه مشتقات مدل یافت. در مقایسه با CCD، طرح BBD وقتی تعداد فاکتورها به بیش از ۴ افزایش می‌یابد، تعداد اجراهای کمتری می‌دهد.

۸-۳-۳- بهینه سازی

اهمیت مدل‌سازی در SFE به دلیل دشواری پیش‌بینی پروفایل‌های غلظت تجربی آنالیت‌ها در فازهای جامد و سیال در یک فرآیند استخراج است. با این وجود، پروفایل‌های غلظت با استفاده از مدل‌های SFE، زمانی که پارامترهای آنها به درستی با داده‌های تجربی برازش داده شده باشند، به راحتی قابل پیش‌بینی هستند. بنابراین، یک مدل معتبر زمان را کاهش می‌دهد و امکان پیش‌بینی رفتار SFE را قبل از انجام آزمایش فراهم می‌کند. مدل‌های موجود برای توصیف SFE مواد حل‌شده مانند EOها از ماتریس‌های جامد به سه گروه طبقه‌بندی می‌شوند: (۱) مدل‌های تجربی؛ (۲) مدل‌های مبتنی بر قیاس انتقال حرارت؛ و (۳) مدل‌های مبتنی بر معادلات تعادل جرم دیفرانسیلی.

۸-۳-۱- مدل‌های تجربی

مدل‌های تجربی SFE معمولاً وابستگی مستقیم بازده استخراج یا حلالیت آنالیت‌ها در $SC-CO_2$ را به پارامترهای SFE بدون ارائه یک معادله کامل نشان می‌دهند. با این حال، آنها هیچ معنای فیزیکی ندارند. انتقاد عمده به چنین مدل‌سازی، ماهیت "جعبه سیاه" این روش (ارائه جزئیات کمی از خروجی آن)، عدم قابلیت تعمیم به نسخه‌های جدید یک سناریو و نیاز سیری‌ناپذیر به داده‌های توسعه است. در نتیجه، بهتر است از آن به عنوان یک راه حل مصالحه در شرایطی استفاده شود که یک چارچوب مدل‌سازی نظری در دسترس نباشد. در مطالعات مربوط به غربالگری، بهینه‌سازی و مدل‌سازی استخراج EO توسط SFها، معمولاً از RSM برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده می‌شود. به طور کلی، RSM شامل مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که داده‌های تجربی را با مدل‌های تجربی مطابقت می‌دهند [۵۷]. RSM ابزاری ارزشمند برای تجزیه و تحلیل روابط بین عوامل (متغیرهای مستقل) و پاسخ‌های اندازه‌گیری شده است.

۸-۳-۲- مدل‌های مبتنی بر قیاس انتقال حرارت و معادلات دیفرانسیل موازنه جرم

مدل‌های مبتنی بر قیاس انتقال حرارت، یک پارامتر متغیر، یعنی ضریب نفوذ مؤثر در منافذ فاز جامد را فرض می‌کنند. در مقابل، مدل‌های معادلات تعادل جرم دیفرانسیلی، توصیف تمام جنبه‌های اصلی فرآیند، از جمله مقاومت‌های انتقال جرم، تعادل فاز (برابر با حلالیت آنالیت در فاز جامد) و الگوی جریان (جهت عبور فاز جامد از ماتریس) را امکان‌پذیر می‌سازند. همچنین، مدل‌های مبتنی بر معادلات تعادل جرم و مدل‌های مبتنی بر قیاس انتقال حرارت را می‌توان به عنوان مدل‌های پدیدارشناختی در نظر گرفت. در مدل مبتنی بر قیاس انتقال حرارت، SFE به عنوان یک پدیده انتقال حرارت در نظر گرفته می‌شود. تمام ذرات گیاه کروی فرض می‌شوند، از این رو معادلات مربوط به خنک‌سازی کره‌های داغ در یک محیط خنک برای توصیف پروفیل غلظت در ذرات به عنوان تابعی از

زمان اعمال می‌شوند. در این مدل، ممکن است از برهمکنش‌های بین ذرات صرف نظر شود. به طور کلی، مدل‌های مبتنی بر معادلات دیفرانسیلی موازنه جرم، منحنی‌های استخراج بهتری نسبت به مدل‌های مبتنی بر قیاس انتقال حرارت تولید می‌کنند، شاید به این دلیل که اثر مقاومت انتقال جرم در فاز سیال به طور رضایت‌بخشی توسط معادلات موازنه جرم از طریق ضرایب انتقال جرم یا پارامترهای قابل تنظیم توصیف می‌شود. مقاومت انتقال جرم (انتقال جرم داخلی) توسط سه مدل، شامل مدل‌های انتشار، هسته در حال انقباض و سلول‌های سالم و شکسته (IBC) نشان داده می‌شود. مدل موسوم به انتشار، فرضیه واجذب-انحلال-انتشار (DDD) را بیان می‌کند.

این فرضیه فرض می‌کند که بخشی از حل‌شونده روی ماتریس جذب می‌شود و بقیه در فاز سیال پایه (SF) در منافذ داخلی ماتریس حل می‌شود. مدل واجذب شامل سه مرحله است: انتقال جرم خارجی توسط همرفت از طریق یک لایه ثابت از سیال پایه در کنار ذره، پراکندگی محوری آنالیت‌های حل‌شده در فاز سیال پایه و انتقال جرم داخلی توسط انتشار در داخل ذره جامد. نشان داده شده است که این مدل در توصیف SFE اسانس‌های گیاهی *Calendula officinalis* برازش خوبی دارد. در مقابل فرضیه DDD، مدل هسته کوچک شونده فرض می‌کند که یک حل‌شونده در منافذ ماتریس توسط نیروهای مویرگی یا مکانیکی حفظ می‌شود، به طوری که فضای منافذ به یک هسته داخلی که کاملاً با حل‌شونده متراکم پر شده است و یک ناحیه بیرونی حاوی حل‌شونده در سیال پایه که توسط مرز متحرک تقسیم شده است، تقسیم می‌شود. این مدل همچنین به دلیل فرض عدم پراکندگی محوری در یک بستر ثابت، به عنوان یک مدل شبه‌پایدار شناخته می‌شود. این فرض که منافذ ماتریس جامد باید با حل‌شونده پر شوند، کاربرد این مدل را برای استخراج EO محدود کرده است، زیرا محتوای EOها در ماده گیاهی معمولاً برای پر کردن منافذ کافی نیست. برخی مطالعات از این مدل برای نشان دادن مکانیسم استخراج EOها از *Cinnamomum camphora* و *linaloolifera fujita* و جوز هندی توسط SC-CO₂ استفاده کرده‌اند.

فرضیه IBC فرض می‌کند که پیش‌تیمار ملایم مانند آسیاب کردن باعث شکسته شدن سطح ذرات می‌شود، در حالی که سلول‌های سالم در داخل وجود دارند. ضریب انتقال جرم خارجی، انتقال املاح را از سلول‌های شکسته به SF کنترل می‌کند، در حالی که ضریب انتقال جرم داخلی (پخشی) انتقال املاح را در داخل سلول‌های سالم کنترل می‌کند. این مدل بیشتر در مطالعات مربوط به SFE EOها به کار رفته است. مدل IBC با موفقیت برای استخراج EOها از *Persea indica* استفاده شده است.

۹- نتیجه گیری

امروزه، استخراج اسانس‌ها، به دلیل مزایای بی‌شمارشان، بیش از هر زمان دیگری مورد توجه قرار گرفته است. با این حال، حساسیت بسیاری از اجزای اسانس‌ها، امکان استخراج در شرایط سخت را محدود می‌کند. استخراج اسانس‌ها با فشار بالا (SFE)، که امکان استفاده از دماهای ملایم‌تر و زمان‌های کوتاه‌تر را فراهم می‌کند، به عنوان یک تکنیک پیشرفته برای استخراج اسانس‌ها با کیفیت بالا و حداقل اتلاف اجزای آنها معرفی شده است. حفظ اجزای اصلی اسانس‌ها، مزیت کلیدی استخراج اسانس‌ها با فشار بالا (SFE) نسبت به سایر روش‌های استخراج سنتی است. بسیاری از خواص اسانس‌ها، مانند فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آنها، به اجزای آنها وابسته است. بنابراین، طراحی یک فرآیند استخراج اسانس مناسب و دقیق ضروری است. به همین دلیل، تلاش‌های زیادی برای غربالگری و بهینه‌سازی شرایط استخراج اسانس‌ها انجام شده است. انواع مختلفی از طرح‌ها، از جمله فاکتوریل کسری، پلاکت برمن، CCD، BBD و غیره، با هدف به حداکثر رساندن بازده استخراج اسانس‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

۹- منابع

- [۱] M. Sokovi_c, O. Tzakou, D. Pitarokili, M. Couladis, Food/Nahrung ۴۶ (۲۰۰۲) ۳۱۷.
- [۲] K. Mechergui, J.A. Coelho, M.C. Serra, S.B. Lamine, S. Boukhchina, M.L. Khouja, J. Sci. Food Agric. ۹۰ (۲۰۱۰) ۱۷۴۵.
- [۳] S.M. Pourmortazavi, Z. Saghafi, A. Ehsani, M. Yousefi, J. Food. Sci. Technol. ۵۵ (۲۰۱۸) ۲۸۱۳.
- [۴] A. Zermame, A.H. Meniai, D. Barth, Chem. Eng. Technol. ۳۳ (۲۰۱۰) ۴۸۹.
- [۵] T. Fornari, G. Vicente, E. V_azquez, M.R. García-Risco, G. Reglero, J. Chromatogr. A ۱۲۵۰ (۲۰۱۲) ۳۴.
- [۶] J.P. Coelho, A.F. Cristino, P.G. Matos, A.P. Rauter, B.P. Nobre, R.L. Mendes, J.G. Barroso, A. Mainar, J.S. Urieta, J.M. Fareleira, Molecules ۱۷ (۲۰۱۲) ۱۰۵۵۰.
- [۷] X. Zhao, Z. Yang, G. Gai, Y. Yang, J. Food Eng. ۹۱ (۲۰۰۹) ۲۱۷.
- [۸] M.C. Mesomo, M.L. Corazza, P.M. Ndiaye, O.R. Dalla Santa, L. Cardozo, A. de Paula Scheer, J. Supercrit. Fluids ۸۰ (۲۰۱۳) ۴۴.
- [۹] U. Topal, M. Sasaki, M. Goto, S. Otlis, Int. J. Food Sci. Nutr. ۵۹ (۲۰۰۸) ۶۱۹.
- [۱۰] V. L_opez, B. Nielsen, M. Solas, M.J. Ramirez, A.K. Jéager, Front. Pharmacol. ۸ (۲۰۱۷) ۲۸۰.
- [۱۱] A. Srivastava, R. Lall, A. Sinha, R.C. Gupta, Nutraceuticals in Veterinary Medicine, Springer, ۲۰۱۹, pp. ۱۰۷e۱۷۳.
- [۱۲] M. McHugh, V. Krukoni, Supercritical Fluid Extraction: Principles and Practice, ۲ ed., Elsevier, Butterworth-Heinemann ۸۰ Montvale Avenue Stoneham, ۲۰۱۳.
- [۱۳] E. Reverchon, I. De Marco, J. Supercrit. Fluids ۳۸ (۲۰۰۶) ۱۴۶.
- [۱۴] M.D.L. de Castro, M. Valcarcel, M.T. Tena, Analytical Supercritical Fluid Extraction, Springer Berlin Heidelberg, ۲۰۱۲.
- [۱۵] C. Mantell, L. Casas, M. Rodríguez, E.M. de la Ossa, Separation and Purification Technologies in Biorefineries, ۲۰۱۳, p. ۷۹.
- [۱۶] Y. Yamini, M. Khajeh, E. Ghasemi, M. Mirza, K. Javidnia, Food Chem. ۱۰۸ (۲۰۰۸) ۳۴۱.
- [۱۷] H. Nejia, C. S_everine, B. Jalloul, R. Mehrez, C.J. St_ephane, Nat. Prod. Res. ۲۷ (۲۰۱۳) ۱۷۹۵.
- [۱۸] C. Bauer, D.-J. Steinberger, G. Schlauer, T. Gamse, R. Marr, J. Supercrit. Fluids ۱۹ (۲۰۰۰) ۷۹.
- [۱۹] B.P. McGrail, H.T. Schaefer, V.-A. Glezakou, L.X. Dang, A.T. Owen, Energy Procedia ۱ (۲۰۰۹) ۳۴۱۵.
- [۲۰] B. Oyejola, J. Nwanya, Int. J. Stat. Appl. ۵ (۲۰۱۵) ۲۱.
- [۲۱] Z. Huang, X.-H. Shi, W.-J. Jiang, J. Chromatogr. A ۱۲۵۰ (۲۰۱۲) ۲.
- [۲۲] Z. Ahmed, M. Abdeslam-Hassan, L. Ouassila, B. Danielle, Energy Procedia ۱۸ (۲۰۱۲) ۱۰۳۸.
- [۲۳] L.A. Conde-Hern_andez, J.R. Espinosa-Victoria, A. Trejo, J._A. Guerrero-Beltr_an, J. Food Eng. ۲۰۰ (۲۰۱۷) ۸۱.
- [۲۴] S. Zarrinashne, S. Gorji Kandi, Separ. Sci. Technol. (۲۰۱۸) ۱.
- [۲۵] M.A. Ayub, M.A. Hanif, R.A. Sarfraz, M. Shahid, Int. J. Food Prop. ۲۱ (۲۰۱۸) ۸۰۸.
- [۲۶] P.C. Frohlich, K.A. Santos, F. Palú, L. Cardozo-Filho, C. da Silva, E.A. da Silva, J. Supercrit. Fluids ۱۴۳ (۲۰۱۹) ۳۱۳.
- [۲۷] G. Sodefian, S.A. Sajadian, N.S. Ardestani, J. Supercrit. Fluids ۱۰۷ (۲۰۱۶) ۱۳۷.
- [۲۸] K.M. Ara, M. Jowkarderis, F. Raofie, J. Food Sci. Technol. ۵۲ (۲۰۱۵) ۴۴۵۰.
- [۲۹] H. Kamali, N. Aminimoghadamfarouj, E. Golmakani, A. Nematollahi, Pharmacogn. Res. ۷ (۲۰۱۵) ۵۷.