در دسترس بصورت الکترونیک @ www.jscw.icrc.ac.ir

نشریه علمی ترویجی مطالعات در دنیای رنگ، جلد ۶، شماره ۱، (۱۳۹۵) ۸۲-۶۳

# مروری بر رنگ‌دانه‌های طبیعی و روش‌های استخراج آن‌ها

محمد غفارزاده [۱*]، مهتاب ادریسی [۲]

۱- استادیار، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، کد پستی: ۱۴۹۶۸۱۳۱۵۱

۲- دانشجوی دکتری، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، کد پستی: ۱۴۹۶۸۱۳۱۵۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۱۱ تاریخ بازبینی نهایی: ۹۵/۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۵ در دسترس به‌صورت الکترونیک: ۹۵/۳/۲۵

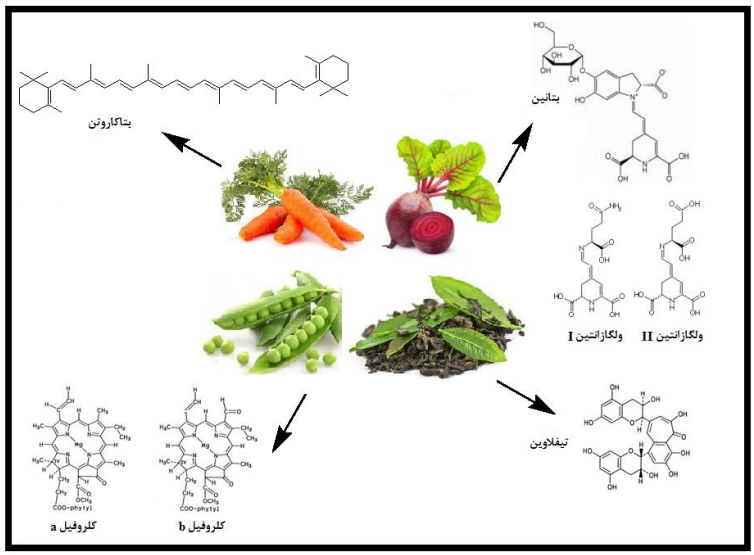
## چکیده

رنگ دانه‌ها در حقیقت ترکیبات شیمیایی هستند که نور خورشید را در گستره طول موج مرئی جذب می‌نمایند. در گیاهان چهار گروه اصلی رنگ دانه شامل کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، فلاونویدها، و آنتوسیانین‌ها وجود دارند و دارای خصوصیات و زیرمجموعه‌های متفاوتی می‌باشند. کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها رنگ دانه های نامحلول در آب بوده و در اندامک‌های سلول‌ها[1] یافت می‌شوند، اما فلاونویدها رنگ دانه‌های محلول در آب می‌باشند و در واکوئل ها و سیتوزول وجود دارند. روش های مختلفی برای استخراج رنگ دانه‌ها، ترکیبات فعال بیولوژیکی و یا دیگر ساختارهای شیمیایی از گیاهان توسعه داده شده‌اند. این روش‌های جدید شامل استخراج به کمک امواج فراصوت، استخراج به کمک امواج مایکرو، استخراج توسط سیال فوق بحرانی، و استخراج تسریع شده با حلال می‌باشند و به کاهش مصرف حلال، افزایش بازده استخراج، و بالا بردن کیفیت عصاره کمک شایانی نموده‌اند.

## واژه‌های کلیدی

رنگ‌دانه، کلروفیل، کارتنوئید، فلاونوید، آنتوسیانین.

## چکیده تصویری




[1] Cell organelles

*نویسنده مسئول: mghaffarzadeh@ccerci.ac.ir :

Ministry of Science, Research and Technology
Institute for Color Science and Technology

Available online @ www.jscw.icrc.ac.ir

Journal of Studies in Color World, Vol. 6, No. 1, (2016) 63-82

نشریه علمی ترویجی مطالعات در دنیای رنگ
Journal of Studies in Color World
www.jscw.icrc.ac.ir

# A Review on Natural Pigments and the Extraction Methods

M. Ghaffarzadeh [1*], M. Edrisi [2,3]

1- Assistant Professor, Science and New Technologies Department, Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Po. Code: 1496813151.

2-, PhD Student, Science and New Technologies Department, Chemistry & Chemical Engineering Research Center of Iran, Po. Code: 1496813151.

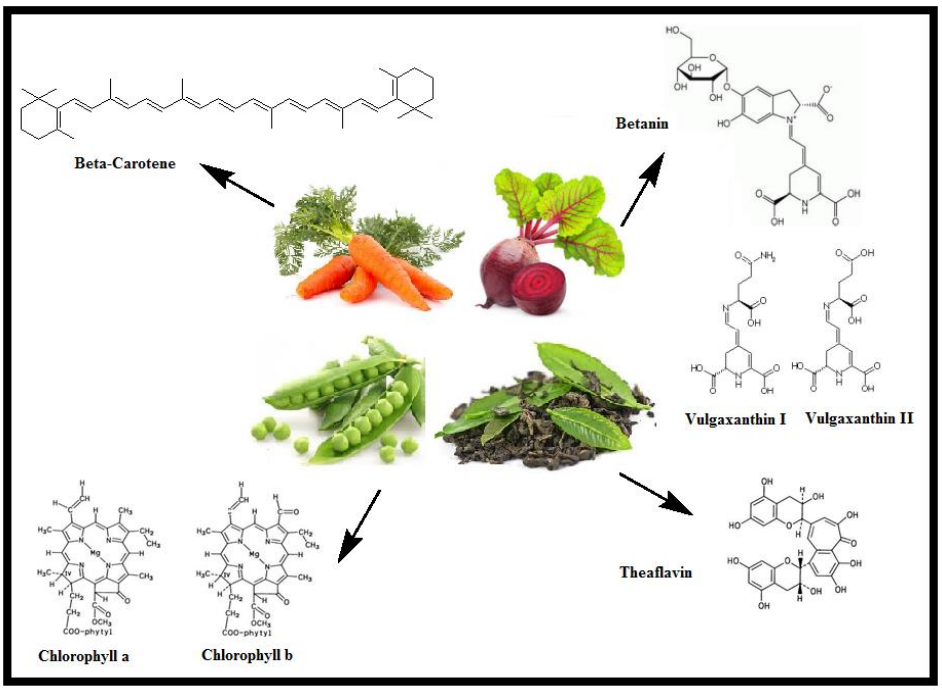
## Abstract

Pigments are chemical compounds that absorb light in the wavelength range of the visible region. There are four main classified groups of plants pigment including Chlorophyll, Carotenoids, Flavonoids, and Anthocyanin which have different characteristics. Chlorophyll and Carotenoids are insoluble in water and are found in organelles of cells, while the Flavonoids are water-soluble pigments present in vacuole and cytosol. Various novel techniques including ultrasound-assisted extraction, microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction, and accelerated solvent extraction have been developed for the extraction of nutraceuticals from plants in order to shorten the extraction time, decrease the solvent consumption, increase the extraction yield, and enhance the quality of extracts.

## Keywords

Pigment; Chlorophyll; Carotenoid; Flavonoid; Anthocyanin.

## Graphical abstract




*Corresponding author: mghaffarzadeh@ccerci.ac.ir

## ۱- مقدمه

رنگ‌دانه‌ها به‌طور گسترده‌ای در تمام طبیعت، در میوه‌ها، سبزی‌ها، دانه‌ها و ریشه‌ها وجود دارند و با ایجاد رنگ‌هایی قابل مشاهده یکی از عامل‌های مهم شناسایی و بررسی کیفیت مواد غذایی و ترکیبات طبیعی به موازات شکل، اندازه، طعم و مزه آن محسوب می‌شوند [۲, ۱]. رنگ‌دانه‌ها در برگ گیاهان، میوه‌ها، گل‌ها، و همچنین، در پوست، چشم، و سایر اندام‌های موجودات زنده، و در باکتری‌ها و قارچ‌ها وجود دارند. رنگ‌دانه‌های طبیعی و مصنوعی در داروسازی، مواد غذایی، لباس، مبلمان، لوازم آرایشی، و سایر محصولات مورد استفاده قرار می‌گیرند. تقریباً ۱۵۰۰ ترکیب رنگی به عنوان رنگ‌دانه خوراکی موجود در مواد غذایی شناسایی شده است. بر اساس ساختار شیمیایی رنگ‌دانه‌ها در ۶ طبقه رنگ‌دانه‌های حاوی آهن[1] (هموگلوبین و میوگلوبین)، کلروفیل‌ها[2]، کاروتنوئیدها[3]، فلاونویدها[4]، آنتوسیانین ها[5] و سایر رنگ‌دانه‌ها طبقه‌بندی می‌شوند [۴, ۳]. با این وجود، رنگ‌دانه‌های طبیعی علاوه بر زیبایی وظائف مهم دیگری نیز ایفا می‌کنند. برای مثال، بدون وجود کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها عمل فوتوسنتز صورت نپذیرفته و حیات موجود زنده متوقف خواهد شد. در حیوانات و انسان‌ها نیز انتقال اکسیژن و دی اکسید کربن از طریق هموگلوبین و میوگلوبین صورت می‌پذیرد. در شرایط تنش گیاهان فلاونوئیدها را سنتز می‌کنند که عامل مهم تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی می‌باشد. بنابراین، درک کافی از منابع اصلی رنگ‌دانه به ویژه رنگ‌دانه‌های موجود در ترکیبات طبیعی به دلیل داشتن سهم عمده و مصرف در محصولات غذایی می‌تواند نسبت به استفاده بهتر از آن‌ها کمک کند. طی سال‌های اخیر، تحقیقات بسیاری بر روی رنگ‌دانه‌های طبیعی صورت پذیرفته و پیشرفت‌های بسیاری نیز در زمینه استخراج، افزایش پایداری، و حلالیت آن‌ها به وجود آمده است [۶, ۵].

روش‌های استخراج رنگ‌دانه‌های گیاهان عموماً به منظور دستیابی به ترکیبات ارزشمند طبیعی از گیاهان و تجاری‌سازی آن‌ها انجام می‌پذیرد [۷]. روش‌های قدیمی از قبیل استخراج توسط سوکسله[6] که ده‌ها سال مورد استفاده قرار می‌گرفت، نه تنها به زمان زیادی نیاز داشت، بلکه مقادیر نسبتاً زیادی از حلال هم مصرف می‌گردید [۸]. در این راستا، تقاضا برای دستیابی به روش‌های جدید استخراج با زمان کوتاه‌تر، کاهش مصرف حلال‌های آلی و افزایش جلوگیری از آلودگی افزایش یافت. روش‌های جدید استخراج شامل استخراج به کمک امواج فراصوت [۹-۱۱]، استخراج به کمک امواج ماکروویو [۱۲، ۱۳]، استخراج توسط مایعات فوق بحرانی [۱۴، ۱۵]، استخراج تسریع شده به کمک حلال‌ها [۱۶، ۱۷] می‌باشند. با استفاده از روش‌های جدید، استخراج ترکیبات شیمیایی از شبکه گیاهی اثربخش‌تر بوده و با سرعت بیشتری نیز به انجام می‌رسد. در این روش‌های استخراجی که در دما و یا فشار افزایش‌یافته به انجام می‌رسد، کاهش قابل‌توجهی در زمان استخراج به وجود آمده است. افزون بر آن، لازم است تا به هنگام انتخاب هر یک از روش‌های استخراج، خصوصیات ساختاری شبکه گیاه، انتخاب حلال، نسبت جامد به مایع، دما، فشار، و زمان استخراج بررسی گردد تا نه تنها شرایط بهینه استخراج بلکه روش مناسب دستیابی به ترکیب شیمیایی مورد نظر بدست آید.

## ۲-تعریف کلی رنگ‌دانه

رنگ‌دانه‌ها در حقیقت ترکیبات شیمیایی هستند که در گستره طول موجی ناحیه مرئی قادر به جذب نور می‌باشند. رنگ ایجادشده به دلیل وجود ساختار ویژه ای به نام کروموفور[7] می‌باشد. این ساختار انرژی را جذب کرده و در اثر این تهییج، یک الکترون از اوربیتال خارجی به اوربیتال بالاتر منتقل می‌شود. انرژی جذب نشده بازتاب داده می‌شود که توسط چشم دریافت شده و پس از انتقال به مغز به عنوان رنگ تفسیر می‌گردد [۱۸]. از مهم‌ترین مزایای رنگ‌دانه‌های طبیعی می‌توان به تنوع و گستردگی رنگی آن‌ها اشاره نمود. بخش‌های مختلف گیاه مانند برگ، میوه، ساقه و ریشه‌ی گیاهانی که از آن‌ها به عنوان رنگ‌دانه استفاده می‌شود به دلایل مختلفی همچون اقلیم، ژن گیاهی، عمر گیاه، تغذیه و ده‌ها عامل طبیعی دیگر دارای قدرت و شید رنگی متفاوتی می‌باشند. افزون بر آن شفافیت رنگی و عدم تأثیرات سو بر محیط زیست از دیگر مزایای استفاده از رنگ‌دانه‌های طبیعی می‌باشد. با این حال رنگ‌دانه‌های طبیعی دارای محدودیت‌هایی نیز از قبیل بازده پایین تولید و عدم پایداری رنگی در اثر قرار گرفتن در معرض pH محیط، نور، حرارت، و سرما می‌باشند. در ادامه مقاله، مروری بر روی انواع رنگ‌دانه‌های گیاهی داشته و روش‌های استخراج آن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

### ۲-۱-کلروفیل

کلروفیل‌ها در واحدهای سلولی ویژه‌ای به نام کلروپلاست که به عنوان عامل فتوسنتز عمل می‌کند، واقع شده‌اند. کلروفیل‌ها که مهم‌ترین رنگ‌دانه جذب‌کننده نور در فرآیند فتوسنتز می‌باشند و نقش اصلی آن‌ها جذب انرژی نور و تبدیل آن به انرژی شیمیایی می‌باشد، عمدتاً به رنگ سبز مایل به آبی و یا سبز مایل به زرد می‌باشند [۱۹]. به عنوان رنگ‌دانه غذا، کلروفیل عامل انتقال رنگ سبز پایدار به برگ اسفناج، کاهو، لوبیا سبز و نخودفرنگی، مارچوبه، و غیره می‌باشد. اتیلن که یک هورمون گیاهی گازی است باعث از بین رفتن کلروفیل شده لذا از آن برای از بین بردن رنگ سبز میوه‌ها استفاده می‌شود. ذخیره‌سازی سبزیجات در حالت انجماد یک روش مؤثر برای حفظ رنگ سبز آن‌ها است.

در میان انواع کلروفیل، دو نوع کلروفیل a و کلروفیل b عمدتاً به نسبت ۳ به ۱ در بافت‌های گیاهان سبز وجود داشته و در مواد غذایی مورد

[1] Heme pigments
[2] Chlorophylls
[3] Carotenoid
[4] Flavonoid
[5] Anthocyanin
[6] Soxhlet extraction
[7] Chromophore

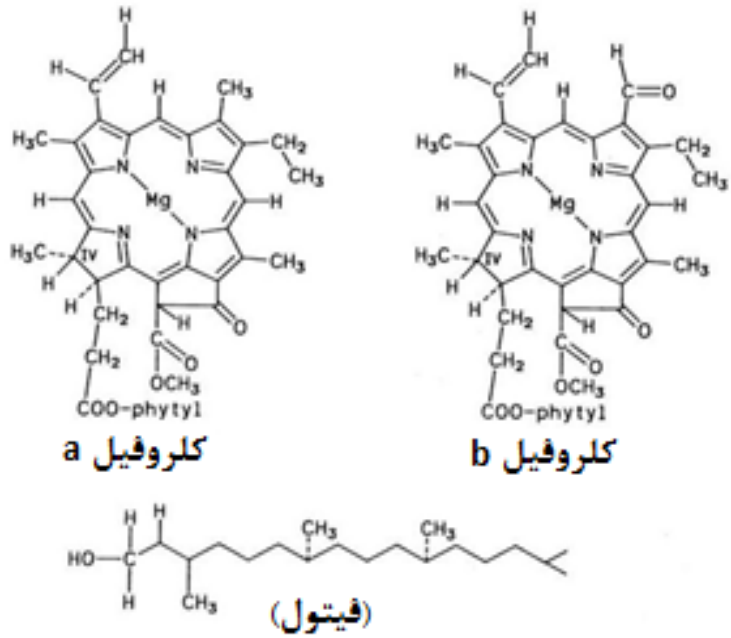
استفاده قرار می‌گیرند [۲۰]. ساختار کلروفیل‌ها تقریباً شبیه به رنگ‌دانه "هم" است چراکه آن‌ها نیز از مشتقات تتراپیرولی[1] می‌باشند. تنها تفاوت مهم بین رنگ‌دانه "هم" و کلروفیل در اتم فلز مرکزی است که در "هم"، آهن و در رنگ‌دانه کلروفیل، منیزیم است [۲۱]. تفاوت دیگر این است که کلروفیل حاوی ۲۰ کربن آب‌گریز در انتها (فیتول[2]) می‌باشد (شکل ۱).

### ۲-۲-کاروتنوئیدها

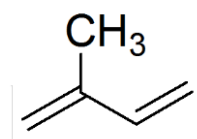
کاروتنوئیدها رنگ‌دانه‌هایی قادر به جذب انرژی نوری هستند و از تجزیه مولکول‌های کلروفیل در کلروپلاست جلوگیری می‌کنند. رنگ‌دانه‌های کاروتنوئید به رنگ‌های قرمز، نارنجی، زرد و قهوه‌ای می‌باشند. بسیاری از رنگ‌های زرد، نارنجی، و قرمز موجود در گیاهان و حیوانات به دلیل وجود رنگ‌دانه کاروتنوئید است [۲۲, ۲۳]. ساختار اساسی کاروتنوئیدها زنجیره‌ای از هشت واحد ایزوپرنوئید[3] است (شکل ۲). بسیاری از تفاوت ساختاری میان کاروتنوئیدها در انتهای زنجیره آن وجود دارد. کارتنوئیدها از نظر ساختاری به دو گروه تقسیم‌بندی می‌شوند. گروهی از کاروتنوئیدها هیدروکربنی هستند و تنها از کربن و هیدروژن تشکیل شده‌اند و تحت عنوان کاروتن[4] شناخته شده‌اند، در حالی که کارتنوئیدهای دیگر علاوه بر اکسیژن و هیدروژن حاوی اکسیژن نیز می‌باشند و به عنوان زانتوفیل‌ها[5] نامیده می‌شوند. ساختار مولکولی دو رنگ‌دانه موجود در گیاهان به نام‌های کریپتوزانتین[6] و اکیننون[7] متعلق به گروه زانتوفیل‌ها در شکل ۳ آورده شده است.

[1] Tetrapyrrole derivatives
[2] Phytol group

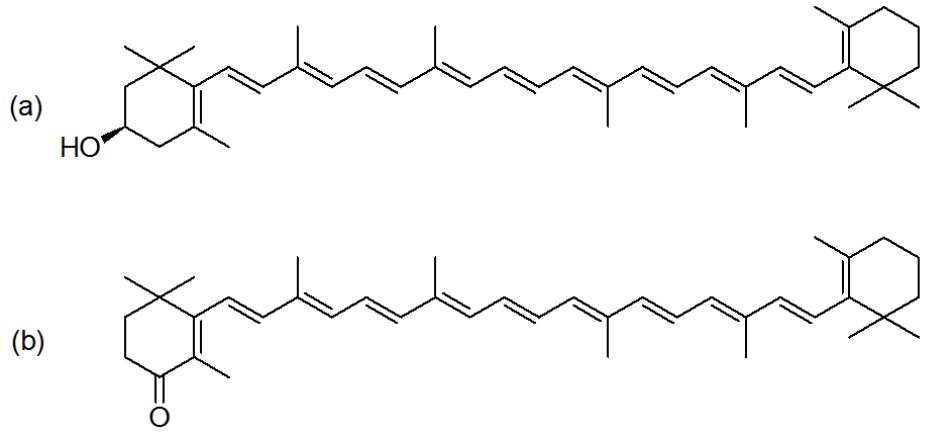
[3] Isoprenoid
[4] Carotene
[5] Xanthophylls
[6] Cryptoxanthin
[7] Echinenone




*شکل ۱- شکل ساختاری کلروفیل a و کلروفیل b [۲۰].*



*شکل ۲- ساختار مولکولی ایزوپرن.*



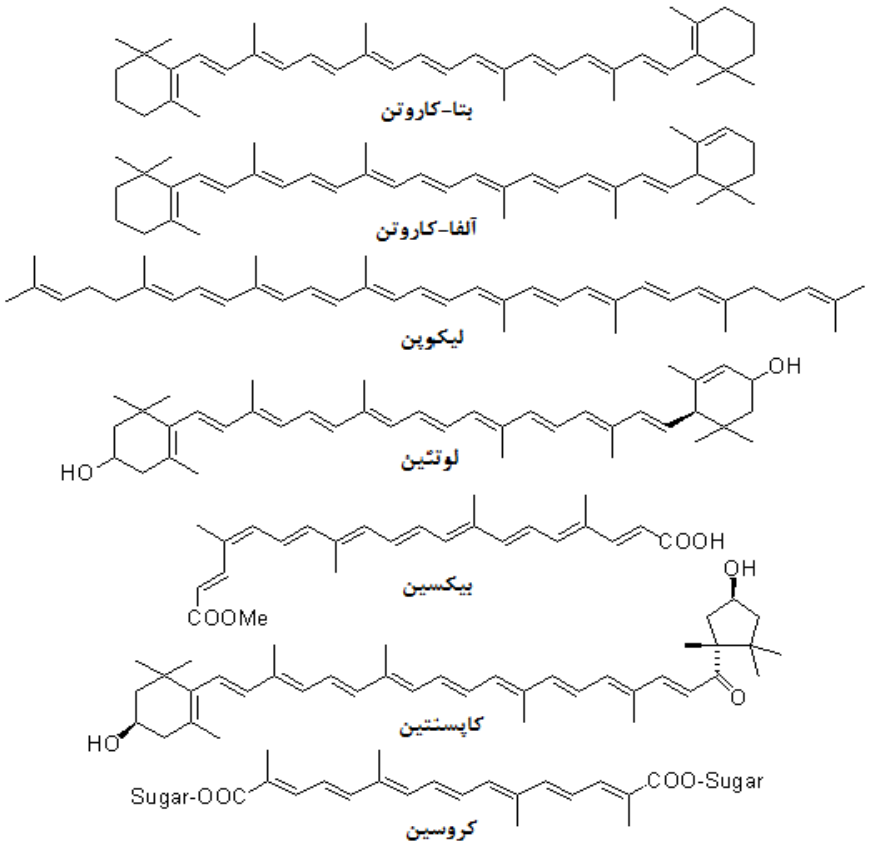

*شکل ۳- ساختار مولکولی رنگ‌دانه‌های کریپتوزانتین، اکینون [۲۵ و۲۴].*

از آن جایی که مولکول کاروتنوئیدی حاوی پیوندهای دوگانه متعددی است، ایزومرهای سیس و ترانس بسیاری از نظر تئوری امکان‌پذیر است. با این حال کاروتنوئیدهای موجود در مواد غذایی معمولاً در ساختار ترانس وجود دارند (شکل ۴). تبدیل ساختار ترانس به سیس محتمل بوده و در اثر حرارت، نور و محیط‌های اسیدی شدت می‌یابد [۲۶] کاروتنوئیدها یا به تنهایی و یا به صورت استرهای اسیدهای چرب و یا به صورت کمپلکس با پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در انواع زیادی از مواد غذایی از قبیل مخمر و قارچ، میوه‌ها و سبزیجات، تخم‌مرغ، روغن‌ها و چربی‌ها، ماهی و صدف و غیره وجود دارند. به عنوان مواد محلول در چربی، کاروتنوئیدها تمایل به تمرکز در بافت دارند و یا این که در محصولات سرشار از چربی‌های مانند زرده تخم‌مرغ، روغن‌های گیاهی و روغن ماهی تجمع می‌یابند.

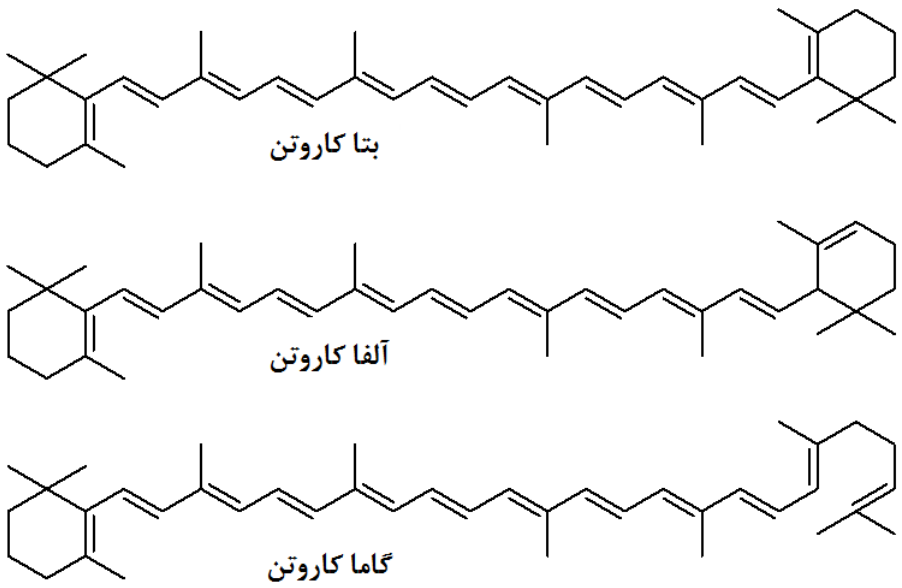
گیاهان و میکروارگانیسم‌ها خود کاروتنوئید تولید می‌کنند در حالی که حیوانات آن را از منابع اولیه بدست می‌آورند. در فرآیند رشد بسیاری از میوه‌ها (به عنوان مثال، مرکبات، زردآلو، گوجه‌فرنگی) رسیدن میوه با تجمع کاروتنوئیدها و از بین رفتن کلروفیل در ارتباط است. شدت رنگ زرد در محصولات خاص حیوانی، مانند زرده تخم‌مرغ، و چربی شیر یا کره، بستگی به محتوای کاروتنوئید مورد مصرف در تغذیه حیوانات دارد. ثبات کاروتنوئیدها در غذاها تا حد بسیار زیادی متفاوت است به طوری که محتوی کارتنوئیدی در مدت ذخیره‌سازی و حمل‌ونقل به مقدار زیادی تغییر می‌کند [۳۰-۲۸]. برای مثال در سبزیجات خشک مانند هویج و سیب‌زمینی که در معرض هوا قرارگرفته‌اند، میزان کاروتنوئید بالغ بر ۲۰ تا ۳۰ درصد کاهش می‌یابد. این میزان کاهش با ذخیره‌سازی در محیط خلأ و یا گاز بی‌اثر (به عنوان مثال، نیتروژن) و در دماهای پایین و دور از نور به حداقل می‌رسد. واکنش اصلی که منجر به تخریب کاروتنوئیدها می‌شود، اکسایش است. اکسیژن می‌تواند به طور مستقیم و یا از طریق هیدروپراکسیدهای تشکیل‌شده بر پیوند دوگانه اثر گذارد. هیدروپراکسیدهای تشکیل‌شده در طول اکسایش آنزیمی‌چربی همچنین می‌توانند از طریق سازوکار اکسایش کاروتنوئید جفت‌شده با چربی باعث از بین رفتن رنگ کارتنوئیدها شوند. از سوی دیگر، برخی سبزیجات مانند کدو و سیب‌زمینی، که در آن بیوسنتز کاروتنوئید پس از برداشت محصول نیز ادامه می‌یابد، ممکن است در طول فرآیند برداشت و ذخیره‌سازی افزایش آشکاری در محتوای کاروتنوئیدی خود داشته باشند.

### ۲-۲-۱-رنگ‌دانه کاروتن

از مهم‌ترین کارتنوئیدهای موجود در گیاهان، رنگ‌دانه کاروتن است و شامل بسیاری از مواد هیدروکربنی اشباع‌نشده با فرمول مولکولی $C_{40}H_x$ می‌باشد که توسط گیاهان سنتز می‌شود. از نظر ساختار شیمیایی، در کاروتن‌ها به غیر از کربن و هیدروژن عنصر دیگری وجود ندارد. بعضی از کاروتن‌ها در یک و یا هردوطرف مولکول دارای حلقه‌های هیدروکربنی بسته می‌باشند. کاروتن‌ها با جذب پرتو فرابنفش و نور آبی، انتشار دهنده رنگ نارنجی و یا قرمز، و در غلظت‌های کم زرد می‌باشند. این رنگ‌دانه به عنوان ماده اولیه و سازنده ویتامین A تقریباً در تمامی سبزیجات وجود دارد. در سبزیجات سبز رنگ، مقدار این رنگ‌دانه کمتر است اما در سبزیجات زرد رنگ مانند هویج، ذرت و سیب‌زمینی مقادیر زیادی از این رنگ‌دانه وجود دارد. در گیاهان کاروتن‌ها در دو ایزومر کلی آلفا کاروتن و بتا کاروتن (شکل ۵) وجود دارند، همچنین ساختار گاما کاروتن نیز به مقدار کمی‌در گیاهان یافت می‌شود [۳۲-۳۱].



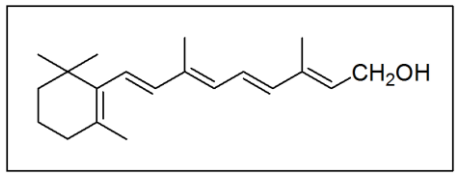

*شکل ۴- ساختار مولکولی تعدادی از رنگ‌دانه‌های کارتنوئیدی [۲۷].*




*شکل ۵- ساختار مولکولی رنگ‌دانه‌های آلفا کاروتن، بتا کاروتن، و گاما کاروتن [۳۲].*

### ۲-۲-۲-رنگ‌دانه بتا-کاروتن

بتاکاروتن رنگ‌دانه‌ای نارنجی رنگ است که اولین بار توسط واکنرودر[1] در سال ۱۸۳۱ از هویج استخراج شد و در سال ۱۹۰۶ تسویت[2] برای اولین بار موفق شد این رنگ‌دانه را به روش کروماتوگرافی بدست آورد [۳۱]. در سالیان بعد مشخص گردید که رابطه‌ای میان ویتامین A و بتاکاروتن وجود دارد [۳۳] و در سال ۱۹۳۰ ساختار شیمیایی بتاکاروتن و ویتامین A مشخص گردید. چهار سال پس از سنتز آزمایشگاهی بتاکاروتن، در سال ۱۹۵۴ این رنگ‌دانه به صورت تجاری سنتز شده و وارد بازار گردید. بتاکاروتن معمولاً در میوه‌ها و یا سبزیجات زرد رنگ و یا نارنجی رنگ به مقدار زیاد و در سبزیجاتی مانند اسفناج و یا کلم نیز به مقدار کم وجود دارد اما در این سبزیجات رنگ زرد بتاکاروتن به علت زیاد بودن رنگ سبز کلروفیل موجود، دیده نمی‌شود. طی عمل گوارش غذا تنها ۳۰٪ از بتاکاروتن موجود در غذا جذب بدن می‌شود [۳۴] و ۳۰٪ از بتاکاروتن جذب شده توسط بدن نیز به ویتامین A تبدیل می‌شود (شکل ۶). یکی از مهم‌ترین اثرات زیستی بتاکاروتن نقش آن بعنوان ماده سازنده ویتامین A در حیوانات می‌باشد. تقریباً تمامی حیوانات قادر هستند توسط یک فرآیند آنزیمی، کاروتن های موجود در گیاهان را به ویتامین A تبدیل کنند. ویتامین A یک الکل نوع اول می‌باشد و و نیمی از ویتامین A مورد نیاز انسان از طریق غذاهای حیوانی و نیم دیگر از طریق غذاهای گیاهی تأمین می‌گردد. مقدار ویتامین A مورد نیاز بدن انسان معادل ۱۰۰۰ واحد رتینول در روز می‌باشد ( هر واحد رتینول معادل ۱ میکروگرم رتینول و یا ۶ میکروگرم بتاکاروتن است).

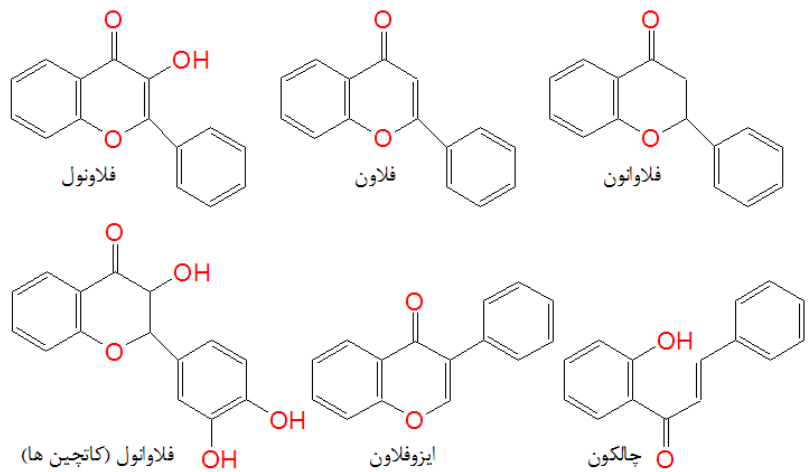



*شکل ۶- شکل ساختاری ویتامین A [۳۲].*

### ۲-۳-فلاونویدها

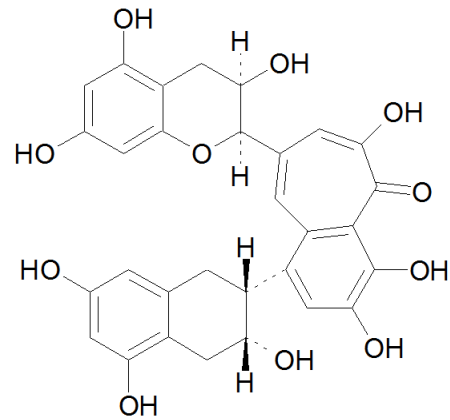
صدها رنگ‌دانه شبیه فلاون به طور گسترده‌ای در میان گیاهان توزیع شده است. فلاونویدها رنگ‌دانه‌هایی به رنگ‌های زرد، نارنجی، قرمز و آبی می‌باشند. رنگ تند بسیاری از سبزیجات، گل ها و میوه‌ها، ناشی از رنگ‌دانه‌های فلاونوید می‌باشد. رنگ‌دانه‌های فلاونوید بواسطه داشتن ساختار ویژه و غلظت‌های گوناگون، باعث ایجاد طیف گسترده‌ای از رنگ‌ها در گیاهان می‌شوند. بر اساس ساختار شیمیایی، این رنگ‌دانه‌ها در طبقه‌بندی‌های مختلفی قرار دارند که مهم‌ترین آن‌ها در شکل ۷ آورده شده‌اند [۳۸-۳۷] . ساختار پایه تمامی‌این ترکیبات شامل دو حلقه بنزن A و B است که توسط یک حلقه هتروسیکل به یکدیگر متصل شده اند. طبقه‌بندی رنگ‌دانه‌های فلاونوئید در حقیقت براساس نوع حلقه هتروسیکل که البته در یک گروه از رنگ‌دانه‌های فلاونویدی به نام چالکون[3] این حلقه باز است؛ می‌باشد.

[1] Wackenroder
[2] Tswett
[3] Chalcone



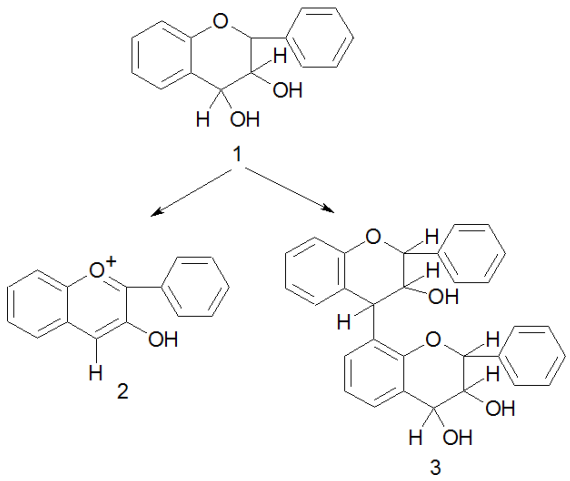

*شکل۷. ساختار مولکولی گروه‌های اصلی رنگ‌دانه‌های فلاونوئید [۳۵].*

رنگ‌دانه‌های فلاونوید به رنگ زرد می‌باشند. فلاونوئیدهای دیگر شامل کاتچین‌ها[1] و فلاونول‌ها[2] و لکوآنتوسیانیدین‌ها[3] هستند [۳۵، ۳۶] که بیشترین توزیع را مواد غذایی دارند. کاتچین، و یا فلاوان-۳-اول، به طور عمده در بافت‌های چوبی وجود دارند. در میان مواد غذایی رایج، برگ چای حداقل شش نوع کاتچین است [۳۷] که حدود ۲۵٪ از وزن خشک برگ چای را تشکیل می‌دهد. ترکیب‌های موجود در چای بستری بسیار عالی برای اکسید نمودن کاتکول موجود در برگ چای و مشارکت در تبدیل چای سبز به چای سیاه است. رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز چای به دلیل وجود ترکیبی از رنگ‌دانه‌هایی است که تحت عنوان تیفلاوین‌ها[4] و تیروبیگین‌ها[5] شناخته شده‌اند. ساختار مولکولی رنگ‌دانه تیفلاوین موجود در چای در شکل ۸ نشان داده شده است.



*شکل ۸- ساختار مولکولی رنگ‌دانه‌های تیفلاوین [۳۸].*

فلاونول‌ها از لحاظ ساختار شیمیایی شبیه به آنتوسیانیدین‌ها بوده و به صورت گلیکوزیدها (قندها) وجود دارند. اما این دو گروه از رنگ‌دانه‌های گیاهی دارای ویژگی بنیادی و متفاوتی می‌باشند به گونه‌ای که فلاونول‌ها برخلاف رنگ‌دانه‌های آنتوسیانین به نور حساس نیستند. گلیکوزیدهای فلاونول عامل انتقال رنگ زرد ضعیف به سیب، زردآلو، گیلاس، زغال‌اخته، انگور، پیاز، آلو، سیب‌زمینی، توت‌فرنگی، چای، گوجه‌فرنگی، و دیگر کالاها می‌باشد. لکوآنتوسیانیدین‌ها ترکیباتی با ساختار کلی ۱ نشان داده شده در شکل ۹ می‌باشند. آنها به تنهایی رنگی ندارند، اما در محیط‌های اسیدی و در دمای بالا به آنتوسیانیدین‌های رنگی (ساختار مولکولی ۲) تبدیل می‌شوند [۳۹-۴۱]. این واکنش با تراکم به دیمر لکوآنتوسیانیدین‌ها در رقابت است. دمای پایین به نفع تشکیل ترکیب دیمر است که می‌تواند به محصولاتی با بازده خوب پلیمریزه شود.



*شکل ۹- ساختارهای پایه لوکوآنتوسیانیدین ۱، آنتوسیانیدین ۲، و دیمر لوکوآنتوسیانیدین ۳ [۴۱].*

### ۲-۴-آنتوسیانین‌ها

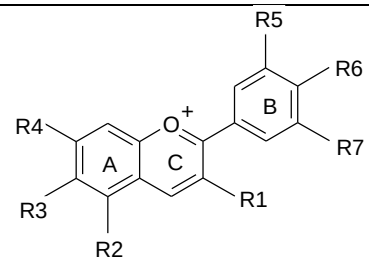
آنتوسیانین‌ها رنگ‌دانه‌های واکوئلی محلول در آب اند که بسته به pH محیط به رنگ‌های قرمز، بنفش یا آبی به نظر می‌رسند [۴۲،۴۳]. رنگ آبی، بنفش، و قرمز بسیاری از گل‌ها، میوه‌ها، برگ، ساقه و ریشه‌های آن‌ها مربوط به حضور این رنگ‌دانه می‌باشد به استثنای گوجه‌فرنگی که رنگ قرمز آن به دلیل حضور لیکوپن و چغندر که رنگ بنفش آن بدلیل وجود رنگ‌دانه بتانین است. آنتوسیانین‌ها گلیکوزیدهای آنتوسیانیدین[6] می‌باشند که در حقیقت از مشتقات پلی هیدروکسیل[7]، متوکسیل[8] و فلاویلیوم[9] هستند [۴۴]. آرایش گروه های هیدروکسیل و متوکسیل[8] در اطراف یون فلاویلیوم[9] در شش آنتوسیانیدین رایج در جدول ۱ نشان داده شده است.

[1] Catechins
[2] Flavonols
[3] Leucoanthocyanidins
[4] Theaflavins
[5] Thearubigins

[6] Anthocyanidin
[7] Polyhydroxyl
[8] Methoxyl
[9] Flavylium

جدول ۱- ساختار مولکولی و آرایش گروه‌های هیدروکسیل و متوکسیل در شش رنگ‌دانه رایج آنتوسیانیدین [۴۵].

| نام | علامت اختصاری | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| سیانیدین (Cyanidin) | Cy | OH | OH | H | OH | OH | OH | H |
| دلفینیدین (Delphinidin) | Dp | OH | OH | H | OH | OH | OH | OH |
| مالویدین (Malvidin) | Mv | OH | OH | H | OH | OMe | OH | OMe |
| پلارگونیدین (Pelargonidin) | Pg | OH | OH | H | OH | H | OH | H |
| پاونیدین (Peonidin) | Pn | OH | OH | H | OH | OMe | OH | H |
| پتونیدین (Petunidin) | Pt | OH | OH | H | OH | OMe | OH | OH |




ساختار آنتوسیانین های معمول

حداقل ۱۰ آنتوسیانیدین دیگر در طبیعت وجود دارد که عملاً در شکل گلیکوزیدها (قندها) ظاهر می‌شوند. تعداد آنتوسیانین‌ها به مراتب بیش از آنتوسانیدین‌ها است. از طرف دیگر رنگ‌های آنتوسیانین نه تنها متأثر از ویژگی‌های ساختاری مانند هیدروکسیل‌دارشدن، متوکسی‌دارشدن، گلیکوزیل‌دارشدن[1]، و آسیل‌داركردن[2] هستند، بلکه تحت تأثیر pH محلول، تجمع رنگ‌دانه، تشکیل کمپلکس فلزی، و خودتجمعی نیز قرار می‌گیرند. pH محیط نه تنها بر رنگ بلکه بر ساختارآنتوسیانین‌ها نیز تأثیر می‌گذارد. در محلول بسیار اسیدی، آنتوسیانین‌ها به رنگ قرمز هستند، اما با افزایش pH محیط قرمزی رنگ‌دانه کاهش می‌یابد. در محیط‌های قلیایی و یا خنثی، آنتوسیانین به رنگ آبی یا بنفش است (به استثنای برخی از آنتوسیانین‌های حاوی چندین گروه آسیل) که در مدت زمان چند ساعت یا چند دقیقه محو می‌شود [۴۲].

برخی از آنتوسیانین‌ها با فلزات (مانند آهن، آلومینیم، منیزیم) تشکیل کمپلکس می‌دهند و در نتیجه آن رنگ آنتوسیانین تقویت می‌شود. تعداد زیادی از آنتوسیانین‌ها در میوه‌ها و سبزیجات شناسایی شده‌اند. غیر معمول نیست که یک بافت گیاهی حاوی چندین نوع آنتوسیانین (۱۷ نوع در انگور) باشد که تماماً از نظر ژنتیکی کنترل شده‌اند. به طور کلی، رنگ‌دانه آنتوسیانین در فرآورده‌های غذایی پایداری زیادی ندارد [۴۶]. برای مثال در کنسرو گیلاس یا انواع توت‌ها رنگ پریدگی قابل توجهی در محصولات مشاهده می‌شود. توت فرنگی بعد از چند هفته ذخیره‌سازی نیمی‌از محتوای آنتوسیانین خود را از دست می‌دهد هر چند واکنش قهوه‌ای‌شدن ممکن است نشانه‌های ظاهری آن را پنهان کند. آب انگور قرمز به هنگام ذخیره‌سازی در معرض تخریب گسترده رنگ می‌باشد [۴۷].

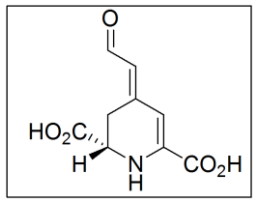
به نظر می‌رسد دو عامل منفی تاثیرگذار بر ثبات آنتوسیانین‌ها قرار گرفتن در معرض دمای بالا و با اکسیژن هوا باشد. اسید اسکوربیک و نور خورشید فرآیند تخریب در آنتوسیانین‌ها را تسریع می‌کنند. برخی آنزیم‌های اکسیدکننده، مانند اکسیداز فنل، و یک آنزیم آب‌کافت‌کننده شناخته شده به عنوان آنتوسیاناز[3] ممکن است به تخریب رنگ‌دانه آنتوسیانین کمک کنند [۴۸، ۴۹]. آنزیم اکسیدکننده در بخش آنتوسیانیدین عمل می‌کنند، در حالی که آنتوسیاناز باقی‌مانده قند را تجزیه می‌نماید. آنتوسیانیدین آزاد بسیار ناپایدار بوده و رنگ آن به صورت خودبه خودی از بین می‌رود. دی اکسید گوگرد، که برای حفظ برخی از محصولات میوه (پالپ‌ها[4]) استفاده می‌شود، رنگ‌دانه آنتوسیانین را کم‌رنگ می‌کند، اما در اثر حرارت دهی به محصول تحت خلاء دی اکسید گوگرد موجود حذف شده، و دوباره رنگ آنتوسیانین ظاهر می‌گردد [۵۰،۴۶] استفاده از غلظت بالای دی اکسید گوگرد، همراه با آهک، به صورت برگشت‌ناپذیری رنگ آنتوسیانین را از بین می‌برد.

[1] Glyco-sylation
[2] Acylation
[3] Anthocyanas
[4] Pulps

آنتوسیانین ها به عنوان واقطبنده[1] آندی و کاتدی عمل می‌کنند و در نتیجه باعث سرعت بخشیدن به خوردگی داخلی قوطی حلبی می‌شوند. بنابراین لازم است تا در بسته‌بندی محصولات حاوی رنگ‌دانه آنتوسیانین از قوطی‌های لعاب داده شده استفاده گردد.

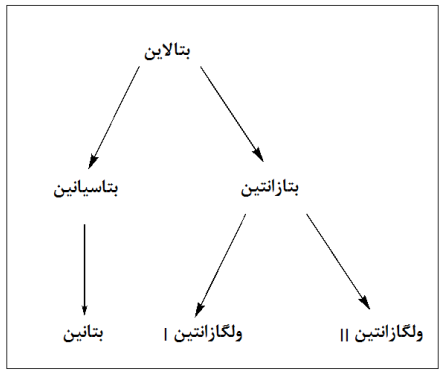
### ۲-۴-۱-بتالاین‌ها

بتالاین‌ها رنگ‌دانه‌های حاوی گروه‌های نیتروژن هستند که در زیر مجموعه آنتوسیانین‌ها قرار گرفته و به رنگ‌های زرد، نارنجی، صورتی، قرمز و زرشکی وجود دارند. بتالاین‌ها بر خلاف رنگ‌دانه‌های دیگر موجود در گیاهان، از توزیع محدودی برخوردار می‌باشند و تنها در گیاهان خانواده میخک سانان و نوعی از قارچ‌های سمی وجود دارند [۵۱]. واژه بتالاین یک اصطلاح نسبتاً جدید است که ابتدا در سال ۱۹۶۶ توسط ولپارت[2] و مابری[3] برای توصیف رنگ‌دانه‌های مشتق از بتالامیک اسید (شکل ۱۰) استفاده شده است. در تمامی رنگ‌دانه‌های خانواده بتالاین گروه کروموفور بتالامیک اسید وجود دارد [۵۱]. این گروه کروموفور شامل یک دی هیدروپیریدین می‌باشد که بوسیله یک گروه وینیل به یک ساختار نیتروژن‌دار متصل شده است. بتالاین‌ها همانند اکثر ترکیبات غذایی عمدتاً در محدوده pH بین ۳ ال ۷ (مناسب‌ترین pH برای این مواد ۵/۵ می‌باشد) پایدار هستند، اما حساسیت آن‌ها به حرارت، اکسایش، و نور نیز زیاد است [۵۲].




*شکل ۱۰- ساختار مولکولی رنگ‌دانه بتالامیک اسید [ ۵۱].*

این گروه از رنگ‌دانه‌های گیاهی محلول در آب می‌باشند و به دو گروه رنگ‌دانه قرمز-بنفش بتاسیانین و رنگ‌دانه زرد بتازانتین تقسیم‌بندی می‌شوند (شکل ۱۱). امروزه بیش از ۵۰ گونه متفاوت از بتالاین‌ها در گیاهان کشف شده است [۵۳]. بتاسیانین‌ها معمولاً به رنگ قرمز و یا قرمز بنفش می‌باشند و طول موج جذبی آن‌ها در محدوده ۵۳۵ الی ۵۵۰ نانومتر است درحالی که بتازانتین‌ها معمولاً به رنگ زرد می‌باشند و طول موج جذبی آنها درمحدوده ۴۷۵ الی ۴۸۰ نانومتر است. رنگ بعضی از گل‌ها، میوه‌ها و سبزیجات نارنجی مربوط به بتازانتین‌ها می‌باشد.



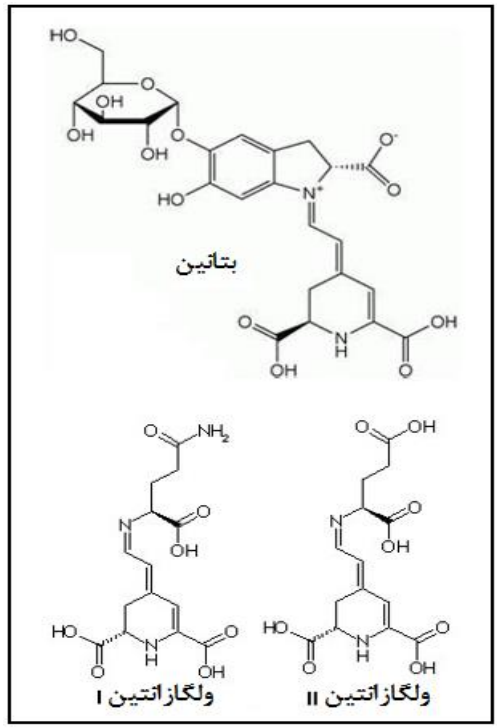

*شکل ۱۱- طبقه‌بندی رنگ‌دانه‌های آلکالوئیدی بتالاین [۵۳].*

بتانین مهم‌ترین رنگ‌دانه موجود در گیاه چغندر، کاکتوس، انجیر، برگ چغندر، بعضی قارچها و برگ‌های گل تاج خروس می‌باشد. در گیاه چغندر رنگ‌دانه بتاسیانین غالب بتانین، و رنگ‌دانه بتازانتین غالب ولگازانتین I و II می‌باشد (شکل ۱۲). به طور معمول در حدود ۲۰۰ میلی گرم از رنگ‌دانه بتانین در یک گیاه چغندر وجود دارد. بعد از بتانین، رنگ‌دانه‌های زرد بتازانتین شامل ولگازانتین I و II از مهم‌ترین رنگ‌دانه‌های موجود در این گیاه می‌باشند [۴۲].

### ۲-۴-۱-۱- رنگ‌دانه بتانین

بتانین به عنوان اصلی‌ترین رنگ‌دانه از خانواده بتالاین در ریشه‌های چغندر حدود ۷۵ الی ۹۵ درصد از کل ماده رنگزای موجود در این گیاه را تشکیل می‌دهد. این رنگ‌دانه محلول در آب با رنگ‌های مختلف از بنفش تا آبی متمایل به قرمز ظاهر می‌گردد. علاوه بر این، در گیاه چغندر بتانین به صورت نمک و یا زوج یون[4] وجود دارد. گروه های کربوکسیل و آمین حاضر در ساختار این رنگ‌دانه عامل اصلی تعیین ثابت اسیدی آن می‌باشند لذا رفتار بتانین به عنوان یک رنگ‌دانه مهم مورد استفاده در صنایع غذایی به مقدار pH محیط بستگی دارد به گونه‌ای که در pH های ۴ الی ۵ به رنگ قرمز مایل به آبی روشن و در pH های بالاتر به رنگ بنفش مایل به آبی وجود دارد [۵۵, ۵۶]. رنگ‌دانه بتانین در مجاورت حرارت بیش از حد به $CO_2$ و CO تجزیه می‌شود. بتانین در محلول‌های اسیدی رسوب می‌کند در محیط قلیایی نیز آبکافت شده و به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای تبدیل می‌شود.

[1] Depolarizers
[2] Wohlpart
[3] Mabry
[4] Zwitterion



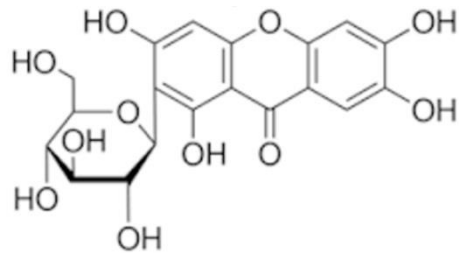

*شکل ۱۲- ساختار مولکولی رنگ‌دانه‌های بتانین و ولگازانتین I و II [۵۴].*

رنگ‌دانه بتانین به صورت تجاری به عنوان ماده رنگزای خوراکی استفاده می‌شود. از آن جایی که این رنگ‌دانه در اثر نور، حرارت و یا اکسیژن هوا تجزیه می‌گردد، معمولاً از آن در محصولات سرد مانند بستنی، محصولاتی با طول عمر کوتاه مانند ماست، محصولات خشک مانند دسر ژلاتین، و سس‌ها استفاده می‌شود [۵۷]. با این که رنگ‌دانه چغندر نسبت به حرارت حساس است اما اگر با مقدار زیادی شکر همراه باشد مقاومت آن نسبت به حرارت بسیار زیاد می‌شود. حساسیت این رنگ‌دانه در برابر اکسیژن، در مجاورت مقدار زیادی آب و یا یون‌های فلزی (مانند مس و آهن) بسیار بیشتر می‌شود. تحت این شرایط آنتی اکسیدان‌هایی مانند اسید اسکوربیک باعث پایداری این رنگ‌دانه می‌شوند. این رنگ‌دانه در حالت خشک در برابر اکسیژن هوا مقاوم می‌باشد. از این رنگ‌دانه برای رنگی‌کردن گوشت، نوشابه، سوسیس، پیتزا، ژامبون، شیرین بیان، انواع مربا، شیرینی، بیسکویت و انواعی از دسرها استفاده می‌شود. این رنگ‌دانه در صنایع غذائی با شماره E162 شناخته می‌شود. این رنگ‌دانه به راحتی در روده جذب بدن شده و به عنوان آنتی اکسیدان در بدن عمل می‌کند و هیچ اثر سمی بر روی بدن انسان ندارد [۵۸].

### ۲-۵-سایر رنگ‌دانه‌های طبیعی

رنگ‌دانه‌های طبیعی بسیار زیاد دیگری نیز وجود دارد (بیش از ۱۰۰ نوع) که به گستردگی رنگ‌دانه‌های بحث شده نمی‌باشند. در میان آن‌ها رنگ‌دانه‌های زرد رنگ کوئینون[1] و زانتون[2] هستند [۵۹]. یک نمونه از رنگ‌دانه کوئینون، جاگلون[3] است که در گردوی آمریکایی وجود دارد. مانگیفرین[4] نیز نمونه ای از رنگ‌دانه زانتون است که در انبه یافت می‌شود (شکل ۱۳) و دارای کاربردهای دارویی است [۶۰]. دونوع تانن[5] زرد کمرنگ تا ترکیبات قهوه ای روشن در تبدیل پوست حیوانات به چرم مشخص شده است. رنگ‌دانه زرد گاسیپول[6] به دلیل داشتن سمیت برای انسان و حیوانات نشخوارکننده از اهمیت زیادی برخوردار شده است. این رنگ‌دانه در دانه پنبه وجود دارد که از آن به عنوان خوراک دام استفاده می‌شود [۶۱] و از آنجایی که دام یک منبع بالقوه از پروتئین برای استفاده انسان می‌باشد نیازمند توجهات بیشتری است. برخی از ترکیبات زیستی بسیار مهم رنگی نیز شامل فیتوکروم[7] (زرد رنگ)، ویتامین B2 ( نارنجی رنگ و زرد رنگ)، و ویتامین B12 (قرمز رنگ)، می‌باشند اگر چه سهم آن‌ها از ایجاد رنگ در مواد غذایی ناچیز است.

[1] Quinones
[2] Xanthones
[3] Juglone
[4] Mangiferin
[5] Tannins
[6] Gossypol
[7] Phytochrome

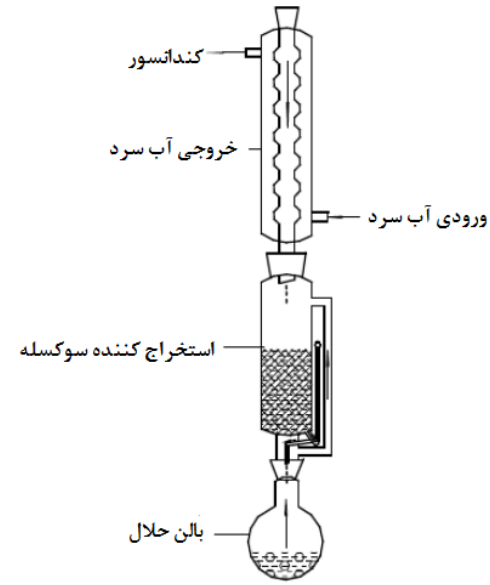



*شکل ۱۳- ساختار مولکولی رنگ‌دانه مانیگفرین در میوه انبه [۶۰].*

## ۳-روش های استخراج رنگ‌دانه گیاهان

### ۳-۱-استخراج توسط سوکسله

روش قدیمی برای استخراج ترکیبات شیمیایی توسط حلال از شبکه‌های گیاهی عموماً بر اساس انتخاب حلال همراه با اعمال از گرما و یا همزدن است. این روش‌ها شامل استفاده از سوکسله، تقطیر با بخار آب، استفاده از مخلوط الکل- آب و غیره می‌باشند [۷]. استفاده از سوکسله، برای مدت زمان طولانی روش استاندارد و مرجع اصلی ارزیابی عملکرد روش‌های استخراج جامد-مایع بوده است. در یک سیستم سوکسله معمولی همانطور که در شکل ۱۴ نشان داده شده است، مواد گیاهی در یک انگشتانه (کارتوش) قرار می‌گیرند، و حلال متراکم شده از بالن تقطیر در مخزن حاوی مواد گیاهی تجمع می‌یابد. زمانی که سطح مایع به حد سرریز می‌رسد، از طریق سیفون کناری به داخل بالن تحتانی حاوی حلال تخلیه می‌گردد و همراه با خود ماده حل شونده را از توده گیاهی خارج می‌سازد [۸]. در بالن حلال، جزء حل شونده توسط عمل تقطیر جدا می‌شود و حلال تازه تقطیر شده دوباره به بستر گیاهی جامد برگشت می‌کند. این فرآیند بارها تکرار می‌گردد تا استخراج به صورت نسبتاً کامل انجام پذیرد.




*شکل ۱۴- دستگاه استخراج سوکسله [۷].*

#### ۳-۱-۱-انتخاب حلال

انتخاب حلال مناسب برای استخراج ماده مورد نظر از ساختار گیاه با استفاده از سوکسله بسیار پر اهمیت است. حلال‌های مختلف بازده متفاوتی نیز دارند [۶۲]. یکی از پرکاربردترین حلال‌های مورد استفاده برای استخراج روغن های خوراکی از منابع گیاهی هگزان است. هگزان دارای نقطه جوش نسبتاً پایین در حدود ۶۹-۶۳ درجه سانتیگراد است و از نظر حلالیت و سهولت بازیافت، انتخاب بسیار خوبی می‌باشد. با این حال، هگزان نرمال[1] که جزء اصلی هگزان تجاری است، به عنوان اولین آلاینده خطرناک هوا می‌باشد که در لیست ۱۸۹ ترکیب پرخطر توسط آژانس حفاظت از محیط‌زیست ذکر شده است. لذا به دلیل ملاحظات زیست‌محیطی استفاده از حلال‌های جایگزین مانند ایزوپروپانل، اتانل، هیدروکربن ها و حتی آب افزایش یافته است. اما استفاده از حلال‌های جایگزین به دلیل کاهش تمایل مولکول بین حلال و حل‌شونده بازده بازیافت را کاهش داده و همچنین هزینه‌های حلال جایگزین می‌تواند بالاتر باشد. گاهی اوقات به منظور افزایش قطبیت فاز مایع از یک کمک حلال استفاده می‌شود. به منظور افزایش بازده و سینتیک (سرعت) استخراج مخلوطی از حلال‌ها مانند ایزوپروپانل و هگزان نیز گزارش شده است [۶۳].

#### ۳-۱-۲-مزایا و معایب استخراج توسط سوکسله

از مزایای استفاده از استخراج معمولی سوکسله می‌توان به جایگزینی و تعادل در انتقال مکرر حلال تازه تقطیر شده با شبکه گیاهی جامد، حفظ درجه حرارت نسبتاً بالا و گرمای حاصل از تقطیر در مدت زمان استخراج، و عدم نیاز به پالایش پس از شستشو را نام برد. افزون برآن، استفاده از روش استخراج سوکسله بسیار ساده و ارزان قیمت است [۸]. از طرف دیگر استفاده از استخراج سوکسله دارای معایبی مانند زمان طولانی استخراج، استفاده از مقادیر زیادی حلال، عدم قابلیت استفاده از همزن برای سرعت بخشیدن به روند استخراج، و نیاز به تبخیر و تغلیظ مقدار زیادی از حلال نیز می‌باشد. همچنین، از آن جایی که معمولاً فرآیند استخراج در نقطه جوش حلال در مدت زمان طولانی رخ می‌دهد؛ امکان تجزیه حرارتی ترکیبات مورد نظر نیز وجود دارد.

### ۳-۲- استخراج به کمک روش فراصوت

امواج صوتی دارای بسامد بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز ارتعاشات مکانیکی در یک جامد، مایع و گاز ایجاد می‌کنند. بر خلاف امواج الکترومغناطیسی، امواج صوتی به داخل ماده نفوذ کرده و در طی یک چرخه فشرده شده و سپس در داخل محیط انتشار می‌یابند. به هنگام انتشار امواج، مولکول‌ها از یکدیگر جدا شده و با فشرده‌سازی امواج نیز به سمت هم تجمع

[1] n-hexane

می‌یابند. با انتشار امواج حباب‌هایی در محلول ایجاد می‌شود و در نتیجه آن فشار منفی تولید می‌گردد. حباب‌ها رشد می‌کنند و در نهایت فرو می‌پاشند. در نزدیکی مرز جامد، تلاشی حفره‌ها نامتقارن بوده و تولید جریان سریع در مایع می‌کند. این جریان سریع تأثیر مهمی‌بر روی سطح جامد دارد [۶۴]. دو روش کلی استخراج به کمک امواج فراصوت، استفاده از یک حمام فراصوت و یا سیستم بسته عصاره‌گیری مجهز به یک مبدل فراصوت است. اثرات مکانیکی فراصوت به نفوذ بیشتر حلال به داخل سلول گیاه کمک کرده و سبب بهبود فرآیند انتقال جرم می‌گردد. امواج فراصوت به هنگام استخراج دیواره‌های سلولی را مختل کرده و انتقال محتوی درونی آن را تسهیل می‌کنند. بنابراین، تخریب سلولی و انتقال جرم دو عامل عمده اندکه منجر به افزایش استخراج با استفاده از امواج فراصوت می‌گردند [۶۵]. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی[1] شواهدی از تأثیرات مکانیکی امواج فراصوت ارائه گردیده که به طور عمده تخریب دیواره‌های سلولی و انتشار محتویات سلولی را نشان داده است. برخلاف روش‌های قدیمی استخراج، با استفاده از امواج فراصوت عصاره‌های گیاهی از سراسر دیواره‌های سلول عبور کرده و در مدت زمان بسیار کوتاه‌تری دیواره سلولی پاره می‌گردد [۶۶، ۶۷].

### ۳-۲-۱- عوامل تأثیرگذار بر استخراج توسط امواج فراصوت

به منظور دستیابی به یک استخراج مؤثر و کارآمد با کمک امواج فراصوت لازم است تا خصوصیات گیاه از قبیل مقدار رطوبت، اندازه ذرات و حلال مورد بررسی قرار گیرد. افزون بر آن، عوامل دیگری از قبیل بسامد القایی، فشار، دما و مدت زمان اعمال امواج نیز تأثیرگذار است. استفاده از امواج فراصوت امکان ایجاد تغییراتی مانند کاهش زمان و فشار نسبت به زمانی که از آن استفاده نمی‌گردد را فراهم می‌کند[۶۸، ۶۹]. در استخراج با فاز جامد رنگ‌دانه پیرترین[2] از گیاه گل گاوزبان با حلال هگزان و بدون اعمال امواج فراصوت، با افزایش دما بازده استخراج افزایش یافته و در دمای ۶۶ درجه سانتی‌گراد در بیشترین مقدار خود بوده است. اما با اعمال امواج فراصوت تأثیر دما در گستره ۴۰ تا ۶۶ درجه سانتیگراد بر بازده استخراج ناچیز بوده است و در تمامی این محدوده دمایی استخراج مطلوب حاصل گردیده است. در نتیجه استفاده از استخراج به کمک امواج فراصوت برای ترکیبات حساس به حرارت که در دماهای بالا و تحت شرایط عملیاتی سوکسله (با توجه به دمای بالای استخراج) تغییر شکل می‌دهند، توصیه می‌شود[۶۸]. با این حال، باید توجه داشت که به هنگام اعمال امواج فراصوت گرما تولید می‌شود، لذا باید کنترل دقیقی بر دمای استخراج صورت پذیرد [۷۰]. مدت زمان اعمال امواج فراصوت نیز باید به دقت در نظر گرفته شود چرا که زمان بیش از حد نیاز می‌تواند برکیفیت عصاره تأثیرگذار باشد.

### ۳-۲-۲- مزایا و معایب استخراج توسط امواج فراصوت

استخراج به کمک امواج فراصوت جایگزین ارزان، ساده و کارآمد نسبت به روش‌های معمولی استخراج است. مزایای اصلی استفاده از امواج فراصوت نسبت به استخراج جامد-مایع شامل افزایش بازده استخراج و سینتیک سریع‌تر آن است. استخراج با استفاده از امواج فراصوت همچنین می‌تواند در درجه حرارت های پایین تری به انجام برسد که برای ترکیبات حساس به حرارت مطوب‌تر است. در مقایسه با دیگر روش‌های نوین استخراج مانند استخراج به کمک امواج مایکرو، دستگاه‌های فراصوت ارزان‌تر بوده و کار کردن با آن‌ها ساده‌تر است [۷]. علاوه بر این، مانند استخراج توسط دستگاه سوکسله، به هنگام اعمال امواج فراصوت می‌توان انواعی از حلال‌ها را برای استخراج طیف گسترده‌ای از ترکیبات طبیعی مورد استفاده قرار داد. با این حال، اثرات امواج فراصوت بر بازده استخراج و سینتیک، با ماهیت شبکه‌ای گیاه مرتبط است. حضور یک فاز پراکنده در آن، به تضعیف امواج فراصوت منجر شده و در واقع استخراج تنها به منطقه‌ای که در مجاورت انتشار دهنده امواج است، محدود می‌شود [۷۱].

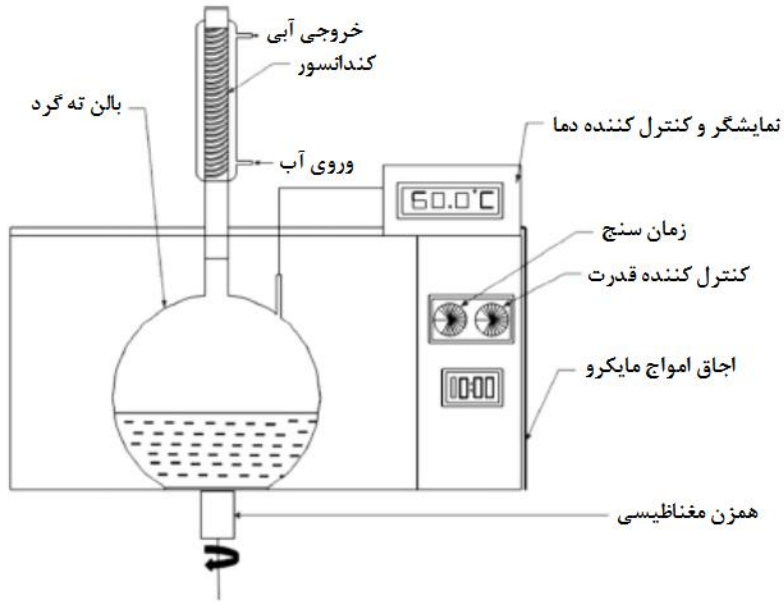
### ۳-۳-استخراج به کمک امواج مایکرو

امواج مایکرو اشعه الکترومغناطیسی با بسامد ۰/۳ تا ۳۰۰ گیگاهرتز می‌باشند. به طور کلی مایکروویوهای خانگی و صنعتی در بسامد ۲/۴۵ گیگاهرتز عمل می‌کنند. امواج مایکرو می‌توانند به داخل مواد زیستی[3] نفوذ کرده و با مولکول‌های قطبی موجود درآن مانند آب برهم‌کنش نمایند تا در اثر این تعامل حرارت ایجاد شود. در نتیجه، امواج مایکرویو می‌توانند همزمان و عمیق به داخل ماده نفوذ کرده و سرتاسر آن را گرم نمایند. شکل ۱۵ شمایی از روش آزمایشگاهی استخراج به کمک امواج مایکرویو را نشان می‌دهد.

استخراج به کمک امواج مایکرویو سبب انتقال سریع انرژی و به دنبال آن گرمایش به داخل حجم کل حلال و شبکه گیاهی می‌شود. از آنجا که آب موجود در شبکه گیاه انرژی امواج مایکرویو را جذب می‌کند، تخریب سلول توسط فوق گرمایش داخلی اتفاق می‌افتد که با تسهیل و جذب ترکیبات شیمیایی از شبکه گیاهی موجب بهبود بازده نهایی استخراج می‌شوند [۷۲].

پاولوا[4] و همکارانش [۷۳] با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی بر روی پوست پرتقال تازه قبل و بعد از اعمال امواج مایکرو مشاهده نمودند که این امواج منجر به تغییرات مخرب در بافت گیاه می‌شوند. این تغییرات که در اثر ایجاد گرمایش در بافت گیاه اتفاق می‌افتد، افزایش قابل توجهی در استخراج پکتین نشان می‌دهد. علاوه بر این، مهاجرت یون های محلول نفوذ حلال در شبکه گیاه را افزایش داده و در نتیجه انتشار مواد شیمیایی را تسهیل می‌کند.

[1] Scanning electron microscope
[2] Pyrethrines
[3] Biomaterials
[4] Pavlova




*شکل ۱۵- شمایی از یک دستگاه آزمایشگاهی امواج مایکرویو برای استخراج رنگ‌دانه و سایر ترکیبات شیمیایی از ساختار گیاه [۱۲].*

در نتیجه، اثر انرژی امواج مایکرویو به شدت وابسته به حساسیت دی الکتریک حلال و هم شبکه جامد گیاهی می‌باشد. دو نوع از سیستم استخراج به کمک امواج مایکرو شامل مخزن بسته استخراج تحت فشار و دمای کنترل شده، و اجاق‌های مایکروویو متمرکز در فشار اتمسفر به صورت تجاری در دسترس است [۷۴]. به طور کلی سیستم بسته استخراج به کمک امواج مایکرو، برای استخراج تحت شرایط شدیدی مانند دمای بالا استفاده می‌شود. فشار موجود در مخزن اساساً به حجم و نقطه‌جوش حلال بستگی دارد. سیستم متمرکز استخراج به کمک امواج مایکرو نیز می‌تواند در بیشینه درجه حرارت تعیین شده برای نقطه‌جوش حلال و در فشار اتمسفر به انجام برسد. اریکسون[1] و همکارانش [۷۵] یک سیستم دینامیک استخراج به کمک امواج مایکرو معرفی نمودند که بازده استخراج آن برابر با استخراج به روش سوکسله اما در زمانی بسیارکوتاه‌تر بود.

### ۳-۳-۱-عوامل تأثیرگذار بر استخراج توسط امواج مایکرو

از آن جایی که استخراج به کمک امواج مایکرو به حساست دی‌الکتریک حلال و شبکه گیاه وابسته است، بازیافت بهتر هنگامی حاصل می‌گردد که نمونه با ماده‌ای که دارای ثابت دی‌الکتریک نسبتاً بالایی باشد (مانند آب) مرطوب باشد. در این حالت شبکه گیاه با امواج مایکرو برهم‌کنش داشته و انتقال حرارت در آن تسهیل می‌گردد. در اثر آن دیواره سلولی گسیخته‌شده و ترکیب شیمیایی به داخل حلال آزاد می‌شود [۷۶] در این حالت حلال احاطه‌کننده می‌تواند ثابت دی‌الکتریک پایینی داشته باشد و بنابراین در مدت فرآیند استخراج سرد باقی بماند. این روش می‌تواند برای استخراج ترکیبات حساس به حرارت مانند روغن‌های ضروری موءثر باشد [۷۷]. اندازه ذرات گیاه و پخش اندازه ذرات نیز تأثیر بسزایی در کارایی استخراج به کمک امواج مایکرو دارد. اندازه ذرات ماده استخراج شده معمولاً در گستره ۱۰۰ میکرومتر تا ۲ میلی‌متر می‌باشد. ذرات بسیار ریز می‌توانند بازده استخراج را افزایش دهند چراکه عامل محدود کننده استخراج نفوذ ترکیبات شیمیایی از شبکه گیاه به داخل حلال است و مساحت سطح بزرگ‌تر در ذرات کوچک‌تر برهم‌کنش بین شبکه جامد و حلال را افزایش می‌دهد.

انتخاب حلال برای استخراج به کمک امواج مایکرویو نیز با حلالیت ترکیب مورد نظر در آن و برهم‌کنش بین شبکه گیاه و حلال، خصوصیات جذبی امواج مایکرو توسط حلال، و همچنین ثابت دی‌الکتریک آن ارتباط مستقیم دارد. حلال‌هایی از قبیل اتانل، متانل، و آب ثابت دی‌الکتریک بالایی دارند و می‌توانند برای استخراج به کمک امواج مایکرو مورد استفاده قرار گیرند [۷۷]. حلال‌های غیرقطبی با ثابت دی‌الکتریک پایین مانند هگزان و تولوئن حلال‌های کاربردی برای استخراج به کمک امواج مایکرو نیستند. مخلوط هگزان-استن یکی از معمول‌ترین حلال‌های مورد استفاده است[۷۸]. مقدار بسیار کم آب (برای مثال ۱۰٪) همراه با حلال‌های غیرقطبی از قبیل هگزان، زایلن، یا تولوئن نیز می‌تواند سرعت انتقال حرارت را بهبود بخشد [۷۶]. دما عامل مهم دیگری است که در بازده نهایی استخراج تاثیرگذار است. عموماً در دماهای بالا بازده بیشتر است اما در خصوص ترکیبات حساس به حرارت دماهای بالا می‌تواند منجر به تخریب ساختار شیمیایی شود. در این شرایط قدرت اعمالی امواج مایکرو به درستی تعیین می‌شود تا از ایجاد حرارت اضافی جلوگیری شود.

[1] Ericsson

### ۳-۳-۲-مزایا و معایب استخراج توسط امواج مایکرو

استخراج به کمک امواج مایکرو به عنوان جایگزین بالقوه روش‌های قدیمی‌استخراج جامد-مایع گیاهان درنظر گرفته شود. با استفاده از این روش زمان استخراج کاهش می‌یابد، مقادیر کمتری حلال مورد نیاز است، و همچنین بازده استخراج بهبود یافته است. استخراج به کمک امواج مایکرو با سایر روش‌های جدید استخراج مانند استخراج با مایع فوق بحرانی، به دلیل سادگی فرآیند و هزینه کمتر قابل مقایسه است [۷۲]. با در نظر گرفتن جنبه‌های اقتصادی و عملی، استخراج به کمک امواج مایکرو روشی قوی و اثربخش برای استخراج مواد فعال بیولوژیکی است. با این حال، در مقایسه با استخراج با مایع فوق بحرانی یک مرحله جداسازی با صافی و یا سانتریفوژ برای حذف باقی‌مانده جامد در طول فرآیند استخراج به کمک امواج مایکرو لازم است[۷۹]. علاوه بر این، بازده استخراج به کمک امواج مایکرو هنگامی‌که ترکیب هدف و یا حلال غیرقطبی و یا هر دو فرار باشند، بسیار ضعیف است.

### ۳-۴-استخراج توسط مایعات فوق بحرانی

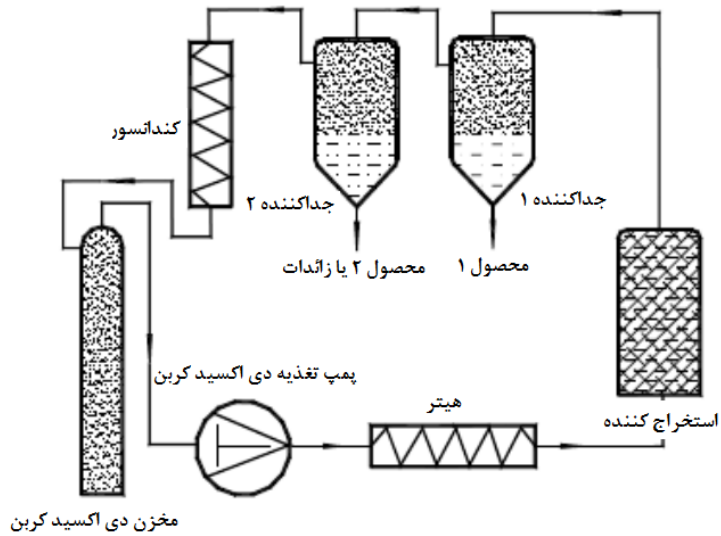
حالت فوق بحرانی هنگامی‌که درجه حرارت و فشار یک ماده بیشتر از مقدار بحرانی آن باشد، ایجاد می‌گردد. مایعات فوق بحرانی ویژگی های هردو حالت گاز و مایع را نشان می‌دهد. در مقایسه با حلال‌های مایع، مایعات فوق بحرانی چند مزیت مهم دارند. اول این که قدرت حلالیت سیال فوق بحرانی بستگی به چگالی آن دارد، که به خوبی با تغییر فشار و یا درجه حرارت قابل تنظیم است. افزون بر آن، سیال‌های فوق بحرانی ضریب نفوذ بالاتر و گرانروی و کشش سطحی پایین‌تری از حلال‌های مایع دارند که منجر به انتقال جرم مطلوب‌تری می‌شود. سیستم استخراج توسط مایعات فوق بحرانی در شکل ۱۶ نشان داده شده است.

در طول استخراج توسط مایعات فوق بحرانی، مواد گیاهی خام به داخل مخزن استخراج وارد می‌شوند. این مخزن مجهز به کنترل دما و دریچه‌های کنترل فشار در هر دو بخش ورودی و خروجی است تا شرایط مطلوب استخراج حفظ شود. این مخزن با ورود سیال توسط پمپ تحت فشار قرار می‌گیرد. سیال و ترکیبات محلول به طرف جداکننده انتقال می‌یابند و در آن جا قابلیت حلالیت سیال با کاهش فشار و یا افزایش دمای سیال کاهش می‌یابد. سپس محصول از طریق یک شیر واقع در بخش پایین‌تر جمع آوری شده و در ادامه سیال دوباره بازسازی شده و به چرخه باز می‌گردد [۷۶].

### ۳-۴-۱- عوامل تاثیرگذار بر استخراج توسط مایعات فوق بحرانی

به منظور انجام موفقیت‌آمیز استخراج توسط مایعات فوق بحرانی، عوامل متعددی از قبیل انتخاب سیال فوق بحرانی، آماده سازی مواد گیاهی، تعدیل‌کننده‌ها، و شرایط استخراج باید در نظر گرفته شود. دی اکسید کربن به عنوان سیال اصلی برای استخراج توسط مایعات فوق بحرانی استفاده می‌شود [۸۰]. حد بحرانی سیال دی اکسید کربن در ۳۰۴ درجه کلوین و فشار ۷/۳ مگاپاسکال است.

همچنین، دی اکسید کربن غیرقابل اشتعال و غیرسمی است. دی اکسید کربن فوق بحرانی حلال خوبی برای استخراج ترکیبات غیرقطبی مانند هیدروکربن‌ها است. برای استخراج ترکیبات قطبی برخی از سیال‌های فوق بحرانی مانند فرون-۲۲، نیتروز اکساید، و هگزان در نظر گرفته شده‌اند. با این حال، کاربردهای آن‌ها به دلیل ملاحظات زیست محیطی و عدم ایمنی محدود است [۸۱]. اگر چه آب فوق‌بحرانی و آب فوق‌گرم دارای مزایای خاصی مانند توانایی استخراج بالاتر برای ترکیبات قطبی می‌باشد، اما برای ترکیبات حساس به حرارت مناسب نیست.




*شکل ۱۶-* دیاگرام مربوط به سیستم استخراج یک سیال فوق بحرانی *[۷].*

ترکیبات بسیاری مانند ساختارهای فنولی، آلکالوئیدی، و گلیکوزیدی در دی اکسید کربن حلالیت ناچیزی دارند و در نتیجه قابل استخراج نیستند. لذا روش‌های دیگر از قبیل افزایش کمک حلال قطبی (تعدیل‌کننده) مورد استفاده قرار می‌گیرد تا حلالیت ترکیبات قطبی درآن افزایش یابد. در میان تمام تعدیل‌کننده‌ها که شامل متانل، اتانل، استونیتریل، استن، آب، دی اتیل اتر، و دی کلرومتان است، اغلب متانل به دلیل این که یک تعدیل‌کننده قطبی موثر بوده و تا ۲۰٪ قابلیت امتزاج با $CO_2$ را دارد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در هر حال، اتانل به دلیل داشتن سمیت کمتر برای استخراج به کمک سیال فوق‌بحرانی رنگ‌دانه‌های گیاهی بهتر است [۸۲]. افزون برآن، استفاده از متانول به عنوان تعدیل‌کننده نیاز به کمی‌افزایش دما دارد تا به حالت فوق بحرانی برسد که این امر برای ترکیبات حساس به حرارت مناسب نیست.

آماده‌سازی ماده گیاهی نیز یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار بر استخراج توسط مایعات فوق بحرانی است. عموماً در این روش استخراج ترکیب شیمیایی از گیاه تازه به انجام می‌رسد اما در این حالت به دلیل وجود محتوی رطوبت بسیار زیاد مشکلات فیزیکی مانند گرفتگی توده جامد ایجاد می‌شود. با این که آب تنها ۰/۳ درصد در دی اکسید کربن حلالیت دارد، ترکیبات با حلالیت بالا در آب تمایل به انحلال در فاز آبی دارند که در نتیجه آن بازده کلی استخراج کاهش می‌یابد. برخی از ترکیبات شیمیایی مانند سولفات سدیم و سیلیکاژل با ماده گیاهی مخلوط می‌شوند تا رطوبت را در طول فرآیند استخراج توسط مایع فوق‌بحرانی حفظ نمایند [۸۱].

اندازه ذرات نیز عامل تأثیرگذار دیگری است. ذرات بزرگ زمان فرآیند استخراج را افزایش می‌دهند چراکه فرآیند استخراج با ضریب نفوذ داخلی[1] ارتباط مستقیم دارد. ذرات ریز هم می‌توانند زمان استخراج را کاهش دهند اما در نگهداری سرعت جریان ایجاد مشکل می‌کنند. کمات[2] و همکارانش [۶۶] از مایع فوق بحرانی دی اکسید کربن برای استخراج روغن رازیانه از میوه رازیانه با میانگین مختلف اندازه ذرات ۰/۳۵، ۰/۵۵، و ۰/۷۵ میلی متر استفاده نمودند. آن ها متوجه شدند که کوچک‌ترشدن اندازه ذرات کاهش اندکی در بازده کلی روغن استخراج شده دارد. بنابراین، در این مورد برخی از مواد بی‌اثر مانند دانه‌های شیشه و یا ماسه با پودر خردشده گیاه ترکیب شدند تا امتزاج‌پذیری بستر جامد به حد مطلوبی برسد.

حلالیت ترکیب شیمیایی مورد نظر در سیال فوق بحرانی نیز عامل مهم دیگری است که در بازده استخراج تأثیرگذار است. دما و چگالی سیال کنترل‌کننده حلالیت است. انتخاب چگالی مناسب سیال فوق بحرانی (مانند دی اکسید کربن) نکته مهمی‌است که بر قدرت حلال در انتخاب‌پذیری تأثیرگذار بوده و عامل اصلی در تعیین ترکیب ماده استخراجی می‌باشد [۸۳]. بهتر این است که ماده مورد نظر در سیال فوق بحرانی حلالیت خوبی داشته باشد که در این صورت میزان استخراج ترکیبات ناخواسته دیگر به حداقل می‌رسد. با کنترل چگالی سیال و دمای آن جداسازی عصاره نیز امکان پذیر است.

مدت زمان استخراج عامل دیگری است که تعیین‌کننده ترکیب عصاره است. ترکیبات با جرم مولکولی کمتر و قطبیت پایین‌تر در مدت استخراج با سیال فوق بحرانی دی اکسید کربن سریع‌تر جداسازی می‌شوند چرا که سازوکار استخراج آن‌ها عموماً توسط میزان نفوذ داخلی[1] کنترل می‌شود [۸۴]. لذا انتظار می‌رود که ترکیب عصاره نسبت به مدت زمان استخراج متفاوت باشد که البته آن را نمی‌توان به عنوان یک قاعده کلی در نظر گرفت.

### ۳-۴-۲- مزایا و معایب استخراج توسط سیال فوق بحرانی

حلالیت یک ماده شیمیایی در یک سیال فوق بحرانی را می‌توان با تغییر فشار و یا درجه حرارت آن دست‌کاری نمود. لذا، استخراج توسط سیال فوق بحرانی می‌تواند به صورت انتخابی انجام پذیرد. علاوه بر این، سیال فوق بحرانی دارای چگالی مایع است و می‌تواند ترکیبات جامد را مانند یک حلال مایع درخود حل کند. حلالیت جامد در سیال فوق بحرانی چگالی آن را افزایش می‌دهد، که در ادامه آن فشار نیز افزایش یافته و به حلالیت بیشتر کمک می‌کند. ترکیبات مغذی محلول را می‌توان با کاهش چگالی سیال فوق بحرانی، که معمولاً با کاهش فشار توام است بازیافت کرد. بنابراین در فرآیند استخراج توسط سیال فوق بحرانی فرآیند تغلیظ که معمولاً وقت‌گیر است حذف می‌شود. همچنین، نفوذ از یک سیال فوق بحرانی بیشتر از دیگر مایعات است که در اثر آن انتقال جرم سریع‌تر بوده و در نتیجه بازده استخراج بیشتر از استخراج با حلال معمولی است [۱۵]. در استخراج با مایع فوق‌بحرانی دی اکسید کربن دمای استخراج پایین و درحدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که برای استخراج ترکیبات حساس به حرارت بسیار مناسب است. از آن جایی که در استخراج با سیال فوق بحرانی یا از حلال استفاده نمی‌شود و یا این که از حداقل حلال آلی (به عنوان تعدیل کننده) استفاده می‌شود، این روش نسبت به فرآیندهای قدیمی‌استخراج جامد-مایع دوست‌دار محیط زیست است. استخراج توسط مایعات فوق بحرانی می‌تواند همزمان با استفاده از روش کروماتوگرافی به انجام برسد تا مقدار کمی‌ترکیبات استخراجی با فراریت بالا تعیین گردد. با این حال، هزینه بالا و شرایط عملیاتی سخت انجام این فرآیند را با محدودیت‌هایی روبرو کرده است و در این راستا حوزه‌های تخصصی و تحقیقاتی نیز برای کاربردی‌تر ساختن آن ایجاد گردیده است.

### ۳-۵- استخراج تسریع شده به کمک حلال

استخراج تسریع‌شده به کمک حلال یک فرآیند استخراج جامد-مایع است که در دمای بالا، معمولاً بین ۵۰ تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۰ تا ۱۵ مگاپاسکال انجام می‌پذیرد. بنابراین، استخراج تسریع شده به کمک حلال نوعی از استخراج با حلال تحت فشار و شبیه به استخراج به کمک سیال بحرانی است. هنگامی‌که استخراج تحت فشار به انجام می‌رسد، حلال حتی در دمای بالا نیز حالت مایع خود را حفظ می‌کند و

[1] Internal diffusion
[2] Chemat

در این حالت حلال هنوز هم پایین‌تر از شرایط بحرانی خود قرار دارد. دمای بالا سرعت استخراج را افزایش می‌دهد و فشار بالا نیز حلال را در حالت مایع نگه می‌دارد که در نتیجه آن استخراجی ایمن و سریع حاصل می‌گردد. همچنین، فشار بالا باعث می‌شود تا مایع با نیروی بیشتری به داخل شبکه گیاهی وارد شده و سریع‌تر پر شود [۷۴]. طرح شمایی یک سیستم معمولی استخراج تسریع‌شده با حلال در شکل ۱۷ داده شده است.

اگر چه حلال‌های مورد استفاده در استخراج تسریع شده به کمک حلال معمولاً آلی هستند، آب داغ تحت فشار، و یا انواع دیگر آب فوق بحرانی نیز در دستگاه‌های استخراج تسریع‌شده به کمک حلال مورد استفاده قرار می‌گیرند که عموماً به آن استخراج توسط آب فوق‌بحرانی و یا استخراج توسط آب داغ تحت فشار می‌گویند [۸۵].

### ۳-۵-۱- مزایا و معایب استخراج تسریع‌شده به کمک حلال

استفاده از حلال غیر سمی مانند دی اکسید کربن و آب در فرآیند استخراج دارای مزایا اقتصادی و زیست‌محیطی است. استخراج با دی اکسید کربن فوق‌بحرانی به عنوان یک روش ارزشمند برای استخراج مواد افزودنی زیستی فعال گزارش شده است. با این حال، به هنگام استخراج ترکیبات قطبی مقادیر قابل توجهی از تعدیل‌کننده‌های قطبی نیز لازم است تا به دی اکسید کربن اضافه شود. استخراج تسریع‌شده با حلال به عنوان یک روش جایگزین بالقوه برای استخراج توسط مایعات فوق بحرانی برای استخراج ترکیبات قطبی در نظر گرفته شده است [۸۶]. این روش در مقایسه با روش سنتی استخراج سوکسله، کاهش چشمگیر در میزان حلال مصرفی و مدت زمان استخراج دارد. به هنگام استخراج تسریع شده با حلال در دمای بالا ممکن است ترکیبات دارای حساسیت حرارتی تخریب شوند.

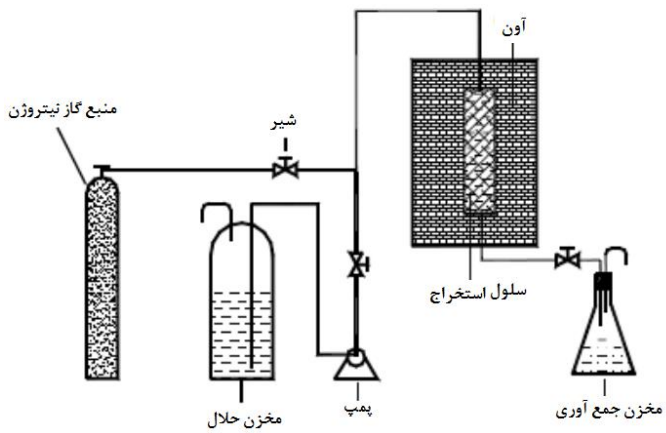
### ۳-۵-۲- کاربردهای بلقوه استخراج تسریع‌شده به کمک حلال

فرآیند استخراج تسریع‌شده با استفاده از حلال عموماً برای استخراج آلاینده‌های آلی پایدار در دماهای بالا، از محیط استفاده می‌شود. کاربردهای بسیار اندکی از این روش استخراجی در خصوص جداسازی ترکیبات شیمیایی از شبکه گیاهی عنوان شده است. کافمن و کریستن مقاله [۷۴] مروری در خصوص استخراج تسریع شده ترکیبات طبیعی با استفاده حلال ارائه نموده‌اند. همچنین مقاله مروری دیگری نیز برای استفاده‌های کاربردی و عملیاتی استخراج با آب داغ تحت فشار در سال ۲۰۰۲ توسط اسمیت ارائه گردیده است [۸۷].

استخراج تسریع‌شده به کمک حلال برای استخراج سریع کوکائین[1] و بنزوئیل اکگونین[2] از برگ های کوکا با استفاده از متانول به عنوان حلال گزارش گردیده است. فشار بهینه ۲۰ مگا پاسکال، دمای بهینه ۸۰ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان استخراج ۱۰ دقیقه، و اندازه ذرات ۹۰ تا ۱۵۰ میکرومتر در نظر گرفته شد [۸۶].

نتایج حاصله نشان داد که در این روش در مقایسه با روش‌های قدیمی و مرسوم استخراج توسط متانل کاهش چشمگیری در زمان استخراج حاصل می‌گردد. کافمن و همکارانش [۸۸] استخراج تسریع‌شده به کمک حلال را با روش قدیمی‌سوکسله برای استخراج استروئید از گیاه نیلوفری مورد مقایسه قرار دادند. آن‌ها دریافتند روش استخراج تسریع‌شده به کمک حلال نتایج مشابهی از نظر بازده نهایی، تکرارپذیری، و انتخاب‌پذیری با روش استخراج توسط سوکسیله دارد اما زمان استخراج و مقدار حلال مصرفی کاهش بسیار زیادی یافته است.

[1] Cocaine
[2] Benzoylecgonine




*شکل ۱۷- طرح شماتیکی از یک سیستم استخراج تسریع‌شده با حلال [۷].*

## ۴- نتیجه گیری

ایجاد رنگ در گیاهان در اثر برهم‌کنش میان ساختار الکترونی رنگ‌دانه در تعامل با نور خورشید است و از این طریق طول موج نور تغییر می‌یابد که یا توسط بافت گیاه عبور داده شده و یا منعکس می‌گردد و در نتیجه آن رنگی خاص مشاهده می‌شود. طبقه‌بندی‌های متعددی برای رنگ‌دانه‌های طبیعی وجود دارد که معمول‌ترین آن بر اساس ساختار شیمیایی رنگ‌دانه است. رنگ‌دانه‌ی طبیعی به دلیل مغذی بودن در سال‌های اخیر توجهات بسیار زیادی را به خود جلب نموده‌اند. در این میان تحقیقات بسیاری در زمینه استخراج، جداسازی، و افزایش پایداری رنگ‌دانه‌های طبیعی و جایگزینی آن‌ها با رنگ‌دانه‌های سنتزی و مصنوعی انجام پذیرفته است. گروه‌های تحقیقاتی بسیاری به دنبال منابع جدید رنگ‌دانه‌های طبیعی و بررسی کاربردهای آن‌ها در صنایع دارویی و پزشکی می‌باشند. در نتیجه آن، انتظار می‌رود تا با ظهور روش‌ها و فرآیندهای جدید، مدل‌های سیستمی نوینی برای تهیه و تولید و استخراج رنگ‌دانه‌های طبیعی در مقیاس صنعتی بکار گرفته شود. از طرف دیگر، روش‌های قدیمی استخراج جامد-مایع نیاز به مقادیر بالای حلال داشته و زمان بر هستند. حجم بالای حلال مصرفی نه تنها هزینه‌های عملیاتی را بالا می‌برد، بلکه ایجاد مشکلات زیست محیطی نیز می‌نماید. روش‌های استخراجی جدید به عنوان جایگزین این روش، مزایایی از قبیل کاهش زمان استخراج، کاهش مصرف حلال، بازده استخراج، و همچنین تکثیرپذیری دارند. با این حال تحقیقات بیشتر به منظور بهبود درک سازوکار استخراج، حذف موانع فنی، و بهبود طراحی سیستم‌های استخراج در مقیاس بالا برای استفاده‌های صنعتی مورد نیاز است.

## ۵- مراجع


1. N. A. Araújo Dias, S. B. Lara, L. S. Miranda, I. S. Cazelli Piers, C. V. Piers, N. V. Alboth, “Influence of color on acceptance and identification of flavor of foods by adults” Ciênc. Tecnol. Aliment., 32, 296-301, **2012**.
2. F. M. Clydesdale, “Color as a factor in food choice”, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 331, 83-101, **1993**.
3. Davies, “Annual Plant Reviews, Plant Pigments and their Manipulation”, Black Well Publishing, Crop & Food Research Palmerston North New Zealand, 14, **2009**.
4. G. Hendry, J. Houghton, “Natural food colorants”, Springer, **1996**.
5. C. Santo-Buelga, M. T. Escribano-Bailon, V. Lattanzio, “Recent advances in polyphenol research”, Wiley, Vol. 2, **2010**.
6. B. Neelwarne “Red Beet Biotechnology - Food and Pharmaceutical”, Springer, **2012**.
7. *L*. Wang, C. L. Weller, **“**Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants**”**, Trends Food Sci Technol., 17, 300-312, **2006**.
8. M. D. Luque de Castro, L. E. Garcia-Ayuso, “Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future”, Anal. Chim. Acta, 369, 1–10, **1998**.
9. R. Minjares-Fuentes, A. Femenia,M. C. Garau, M.G. Candelas-Cadillo, S. Simal, C. Rosselló, “Ultrasound-assisted extraction of hemicelluloses from grape pomace using response surface methodology”, Carbohydr. Polym., 138, 180-191, **2016**.
10. E. M. Garcia-Castello, A. D. Rodriguez-Lopez, L. Mayor, R. Ballesteros, C. Conidi, A. Cassano, “Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes”, LWT - Food Science and Technology, 64, 1114-1122, **2015**.
11. C. Carrera, A. Ruiz-Rodríguez, M. Palma, C. G. Barroso, “Ultrasound-assisted extraction of amino acids from grapes”, Ultrason. Sonochem., 22, 499-505, **2015**.
12. R. Yedhu Krishnan, K. S. Rajan, “Microwave assisted extraction of flavonoids from Terminalia bellerica: Study of kinetics and thermodynamics”, Sep. Purif. Technol., 157, 169-178, **2016**.
13. S. Tewari, K. Ramalakshmi, L. Methre, L. J. Mohan Rao, “Microwave-Assisted Extraction of Inulin from Chicory Roots Using Response Surface Methodology”, J Nutr Food Sci, 5, 1-7, **2015**.
14. E. Arranz, L. Jaime, M.C. López de las Hazas, G. Reglero, S. Santoyo, “Supercritical fluid extraction as an alternative process to obtain essential oils with anti-inflammatory properties from marjoram and sweet basil”, Ind. Crop. Prod., 67, 121-129, **2015**.
15. S. Kumar, “Supercritical fluid extraction”, Analytical techniques for natural product research, 46-67, **2016**.
16. Z. Cai, Z. Qu, Y. Lan, S. Zhao, X. Ma, Q. Wan, P. Jing, P. Li, “Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes”, Food Chem., 197, 266-272, **2016**.
17. K. Zaghdoudi, S. Pontvianne, X. Framboisier, M. Achardb, R. Kudaibergenovaa, M. Ayadi-Trabelsic, J. Kalthoum-cherif , R. Vanderesseb, C. Frochot, Y. Guiavarc’h, “Accelerated solvent extraction of carotenoids from: Tunisian Kaki (Diospyros kaki L.), peach (Prunus persica L.) and apricot (Prunus armeniaca L.)”, Food Chem., 184, 131-139, **2015**.
18. Hari, R. K., Patel, T. R., and Martin, A. M., “An overview of pigment production in biological systems:functions, biosynthesis, and applications in food industry”, Food Rev. Int., 10, 49-70, **1994.**
19. W. M. Urbain, L. B. Jensen, “The heme pigments of the cured meats”, J. Food Sci., 5, 593-606, **1990**.
20. R. B. Woodward, W. A. Ayer, J. M. Beaton, F. Bickelhaupt, R. Bonnett, P. Buchschacher, G. L. Closs, H. Dutler, J. Hannah, "The total synthesis of chlorophyll a", Tetrahedron 46, 7599-7659, **1990.**
21. S. Padalia, S. Drabu, I. Raheja, A. Gupta, M. Dhamija, “Multitude potential of wheatgrass juice (Green Blood): An overview”,1, 23-28, **2010.**

22. D. P. Dean, “Carotenoid synthesis and function in plants: Insights from mutant studies in Arabidopsis”, Pure Appl. Chem. 71, 2205-2212, **1999**.
23. C. I. Cazzonelli, “Carotenoids in nature: insights from plants and beyond”, Funct. Plant Biol. 38, 833–847, **2011**.
24. Merck Index, 11th Edition, 2612, **2008**.
25. E. H. Schwartzel, J. J. Cooney, "Isolation and identification of echinenone from Micrococcus roseus".J. Bacterio., 104, 272–274, **1970**.
26. H. E. Khoo, K. N. Prasad, K.W. Kong, Y. Jiang, A. Ismail, “Carotenoids and Their Isomers: Color Pigments in Fruits and Vegetables”, Molecules, 16, 1710-1738, **2011.**
27. A. Mortensen, “Carotenoids and other pigments as natural colorants” Pure Appl. Chem., 78, 1477-1491, **2006.**
28. CS. Boon, DJ. McClements, J. Weiss, FA. Decker, “Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods”, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 50, 515-32, 2010.
29. MG. Dias , MF. Camões , L. Oliveira L, “Carotenoid stability in fruits, vegetables and working standards - effect of storage temperature and time” Food Chem. 156, 37-41, 2014.
30. J.G. Provesi, C.O. Dias, E.R. Amante “Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree”, Food Chem., 128, 195–202, 2011.
31. T. L. Sourkes, “The discovery and early history of carotene”, Bull. Hist. Chem., 34, 32-38, **2009**.
32. M. Barbosa-Filho, A. A. Alencar, X. P. Nunes, A. C. de Andrade Tomaz, J. G. Sena-Filho, P. F. Athayde-Filho, M. S. Silva, M. F. Vanderlei de Souza, E. V. Leitão da-Cunha, “Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: a twentieth century review”, Rev. bras. Farmacogn., 18, **2008**.
33. S. D. Van Arnum, “Vitamin A”, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, **2000.**
34. XD. Wang, "Aabsorption and metabolism of beta-carotene", J. Am. Coll. Nutr., 3, 314-25, **1994**
35. P. Lakhanpal, D.K. Rai, “Quercetin: A Versatile Flavonoid”, Int. J. Med. Update,2, 22-37, **2007**.
36. S. Kumar, A.K. Pandey, “Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview”, Scientific World J. 2013, 1-16, **2013**.
37. LK. Leung, Y. Su, R. Chen, Z. Zhang, Y. Huang, ZY. Chen, “Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants”, J Nutr., 131, 2248-2251, **2001.**
38. Y.L. Sua, L.K .Leunga, Y .Huangb, Z.Y. Chen, “Stability of tea theaflavins and catechins”, Food Chem., 83, 189–195, **2003.**
39. S. Abrahams, E. Lee, AR, Walker, GJ. Tanner, PJ. Larkin, AR. Ashton, “The Arabidopsis TDS4 gene encodes leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX) and is essential for proanthocyanidin synthesis and vacuole development”, Plant J., 35, 624-36, **2003**.
40. GJ. Tanner, KT. Francki, S. Abrahams, JM. Watson, PJ. Larkin, AR. Ashton **“**Proanthocyanidin biosynthesis in plants: purification of legume leucoanthocyanidin reductase and molecular cloning of its cDNA”, J. Biol. Chem., 278**,** 31647–31656, **2003**.
41. J. Bogs, M. O. Downey, J. S. Harvey, A. R. Ashton, G. J. Tanner, S. P. Robinson, “Proanthocyanidin Synthesis and Expression of Genes Encoding Leucoanthocyanidin Reductase and Anthocyanidin Reductase in Developing Grape Berries and Grapevine Leaves”, Plant Physiol., 139, 652–663, **2005**.
42. T. Fossen, L. Cabrita, O.M. Andersen, “Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region”, Food Chem., 63, 435–440, 1998.
43. Raghvendra, V, Sharma, A. Shakya, MD. Hedaytullah, G. S. Arya, A. Mishra, A. D. Gupta, A. P. Pachpute, D. Pate, “Chemical and potential aspects of Anthocyanins-A water soluble vacuolare flavonoid pigments: A Review”, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 6, 28-33, 2011.
44. Ø.M. Andersen. “Anthocyanins”, John Wiley & Sons, Ltd., 2001.
45. Stabilized anthocyanin compositions, EP 2124637, WO2009031051, 2009.
46. P. Markakis, “Anthocyanins as food colors”, Academic Press, New York, US., 1982.
47. R. G. V. Bramley, M. LE Moigne, S. Evain, J. Ouzman, L. Florin, E. M. Fadaili, C. J. Hinze, Z. G. Cerovic, “On-the-go sensing of grape berry anthocyanins during commercial harvest: development and prospects”, Aust. J. Grape Wine. Res., 17,316–326, 2011.
48. G. Danisman, E. ArslaN, A.K. Toklucu, “Kinetic Analysis of Anthocyanin Degradation and Polymeric Colour Formation in Grape Juice during Heating”, Czech J. Food Sci., 33, 103–108, 2015.
49. C. Ma, L. Yang, F. Yang, W. Wang, C. Zhao, Y. Zu, “Blueberries and Their Anthocyanins: Factors Affecting Biosynthesis and Properties” Compr. rev. food sci. food saf., 10, 303-320, 2011.
50. J. Bakker, C. F. Timberlake, “Isolation, Identification, and Characterization of New Color-Stable Anthocyanins Occurring in Some Red Wines”, J. Agric. Food Chem., 45, 35-43, 1997.
51. D. Strack,T. Vogt, W. Schliemann, “Recent advances in betalain research”, Phytochemistry, 62, 247–269, **2003**.
52. F. H. Bartoloni, L. C. P. Gonçalves, A. C. B. Rodrigues, F. A. Dörr, E. Pinto, E. L. Bastos, "Photophysics and hydrolytic stability of betalains in aqueous trifluoroethanol", Monatsh. Chem., 144, 567–571, **2013**.
53. F. Delgado-Vargas, A. R. Jiménez, O. Paredes-López, “Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains- Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability”, Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 40, 173–289, **2000**.
54. H. A. Stafford, “Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways”**,** Plant Sci., 101, 91–98, **1994**.
55. R. A. Harmer, “Occurrence, chemistry and application of betanin”, Food Chem., 5, 81-90, **1980.**
56. S. J. Schwartz, J. H. von Elbe, “Identification of betanin degradation products”, Eur. Food Res. Technol., 176, 448-453, **1983**.
57. S. S. Kadian, A. Sharma, “Stability and application of crude beetroot extracts in different food products”, IJBPAS, 2, 693-698, **2013**
58. Attia, Y. Gamila, M. E. M. Moussa, E. R. Sheshea, “Characterization of red pigments extracted from red beet (beta vulgaris) and its potential uses as antioxidant and natural food colorants”, J. Agric. Res., 91, 1095-1109, **2013**
59. G. A. Kraus, J. Mengwasser, “Quinones as Key Intermediates in Natural Products Synthesis. Syntheses of Bioactive Xanthones from *Hypericum perforatum”,* Molecules. 14, 2857–2861, **2009.**

60. A. Vyas, K. Syeda, A. Ahmad, S. Padhye, FH. Sarkar, "Perspectives on medicinal properties of mangiferin", Mini Rev Med Chem.,12, 412-425, **2012.**
61. I. C. N. Gadelha, N. B. S. Fonseca, S. C. S. Oloris, M. M. Melo, B. Soto-Blanco, "Gossypol Toxicity from Cottonseed Products", The Scientific World Journal 2014, 1-11, **2014**.
62. R. Zarnowski, Y. Suzuki, "Expedient Soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains", J. Food Comp. Anal., 17, 649–664, **2004**.
63. H. Li, L. Pordesimo, J. Weiss, "High intensity ultrasoundassisted extraction of oil from soybeans". Food Res. Int., 37, 731–738, **2004**.
64. J. L. Luque-Garcia, M. D. Luque de Castro,"Ultrasound: A powerful tool for leaching", TrAC, Trends Anal. Chem., 22, 41–47, **2003.**
65. T. J. Mason, L. Paniwnyk, J. P. Lorimer, "The uses of ultrasound in food technology", Ultrason. Sonochem., 3, 253–260. **1996.**
66. S. Chemat, A. Lagha, H. AitAmar. P.V. Bartels, F. Chemat, "Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds", Flavour Frag. J., 19, 188–195, **2004.**
67. M. Vinatoru,"An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs", Ultrason. Sonochem., 8, 303–313, **2001**.
68. M. Romdhane, C. Gourdon, "Investigation in solid–liquid extraction: Influence of ultrasound", Chem. Eng. J., 87, 11–19, **2002.**
69. J. Wu, L. Lin, F. Chau, "Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells" Ultrason. Sonochem., 8, 347–352, **2001**.
70. M. Salisova, S. Toma, T.J. Mason, "Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from Salvia officinalis", Ultrason. Sonochem., 4, 131–134, **1997.**
71. Y. Picó, "Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples", TrAC, Trends Anal. Chem., 43, 84–99, **2013**.
72. Kaufmann, B., Christen, P., & Veuthey, J. L. (2001a). Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides. Phytochem. Anal., 12, 327–331
73. M. Kratchanova, E. Pavlova, I. Panchev, "The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin", Carbohydr. Polym., 56, 181– 186, **2004**.
74. B. Kaufma, P. Christen, "Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction", Phytochem. Anal., 13, 105–113, **2002**.
75. M. Ericsson, A. Colmsjo, "Dynamic microwave-assisted extraction", J. Chromatogr. A,, 877, 141–151, **2000**.
76. S. Spar Eskilsson, E. Bjorklund, "Analytical-scale microwave-assisted extraction" J. Chromatogr. A, 902, 227–250, **2000**.
77. A. Brachet, P. Christen, J.L. Veuthey, "Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves" Phytochem. Anal., 13, 162–169, **2002**.
78. S. Spar Eskilsson, E. Bjorklund, L. Mathiasson, L. Karlsson, A. Torstensson, "Microwave-assisted extraction of felodipine tablets" J. Chromatogr. A, 840, 59–70, **1999**.
79. M. Sihvonen, E. Jarvenpaa, V. Hietaniemi, R. Huopalahti "Advances in supercritical carbon dioxide technologies", Trends Food Sci. Technol., 10, 217–222, **1999**.
80. D. Hurren, "Supercritical fluid extraction with $CO_2$", Filtr. Sep., 36, 25–27. **1999**.
81. Q. Lang, C.M. Wai, "Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—A practical review", Talanta, 53, 771–782, **2001**.
82. M. Hamburger, D. Baumann, S. Adler, "Supercritical carbon dioxide extraction of selected medicinal plants—Effects of high pressure and added ethanol on yield of extracted substances", Phytochem. Anal., 15, 46–54, **2004**.
83. G. Cherchi, D. Deidda, B. De Gioannis, B. Marongiu, R. Pompei, S. Porcedda, "Extraction of Santolina insularis essential oil by supercritical carbon dioxide: Influence of some process parameters and biological activity", Flavour Frag. J., 16, 35–43, **2001**.
84. J.A.P. Coelho, A.P Pereira, R.L. Mendes, A.M.F. Palavra, "Supercritical carbon dioxide extraction of Foeniculum vulgare volatile oil", Flavour Frag. J., 18, 316–31, **2003**.
85. C. S. Eskilsson, K. Hartonen, L. Mathiasson, M.L. Riekkola, "Pressurized hot water extraction of insecticides from process dust—Comparison with supercritical fluid extraction", J Sep Sci., 27, 59–64, **2004**.
86. A. Brachet, S. Rudaz, L. Mateus, P. Christen, J. Veuthey, "Optimisation of accelerated solvent extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves", J Sep Sci., 24, 865–873, **2001**.
87. R.M. Smith, "Extractions with superheated water", J. Chromatogr. A, 975, 31–46, **2002**.
88. B. Kaufmann, P. Christen, J.L. Veuthey, "Study of factors influencing pressurized solvent extraction of polar steroids from plant material", Chromatographia, 54, 394–398, **2001**.