



NAISL

Volume2, Number 1, 2019

Pages: 13-23

Print ISSN: 2588-6401

Online ISSN: 2588-641X

Website: shaajournal.msrt.ir

A review of novel methods of extracting plant extracts

Arefeh Kordjazi^{1*}, Javad Feizy²

Abstract

Herbal extracts are sources of useful chemical compounds that have potential applications in medicine and other cases. Extraction is the first crucial step in preparation of plant formulations. Modern methods of extraction are effective in advancing the development of traditional herbal remedies. The development of modern sample-preparation techniques with significant advantages over conventional methods for the extraction and analysis of medicinal plants is likely to play an important role in the overall effort of ensuring availability of high-quality herbal products to consumers worldwide. In addition to conventional methods, numerous new methods have been devised, but so far no single method has been considered as the standard for extraction of plant extracts. The efficiency of conventional and modern extraction methods largely depends on important input parameters, understanding the nature of the plant matrix, bioactive compound chemistry and scientific expertise. Each method has its own advantages with regard to efficiency, ease of use, time, cost, energy and environmental impact. In this article principle behind operation of various extraction methods, factors influencing method performance, research progress, strength and weakness of different extraction approaches are discussed. Emphasis is put on the methods which are solvent and energy saving, and suitable for thermolabile phytochemicals.

Key Words:

Plant extracts,
Extraction Efficiency,
Microwave Assisted Extraction
(MAE),
Supercritical Fluid Extraction
(SFE),
Ultrasonication Assisted
Extraction (UAE)

(*) Corresponding author

1. Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

E-mail: kordjazi.arefeh@gmail.com

Tel: 05135425366

2. Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

E-mail: j.Feizy@rifst.ac.ir

Tel: 05135425371

مروری بر روش‌های نوین استخراج عصاره‌های گیاهی



نشریه رویکردهای نوین در
آزمایشگاه‌های علمی ایران
سال سوم، شماره ۱، ۱۳۹۸
صفحات ۲۳-۱۳
شاپای چاپی: ۶۴۰۱-۲۵۸۸
شاپای الکترونیکی: ۶۴۱X-۲۵۸۸
وبسایت: shaajournal.msrt.ir

عارفه کردجزی^{۱*}، جواد فیضی^۲

عصاره‌های گیاهی منابعی از ترکیبات شیمیایی مفید را تشکیل می‌دهند که در پزشکی و سایر موارد کاربردهای بالقوه‌ای دارند. استخراج اولین مرحله مهم در تهیه عصاره‌های گیاهی است. روش‌های جدید و مدرن استخراج در توسعه این عصاره‌های گیاهی مؤثر هستند. استفاده از روش‌های آماده‌سازی مدرن با مزایای قابل توجه نسبت به روش‌های متداول برای استخراج، نقش مهمی در تولید عصاره‌های گیاهی و اطمینان از در دسترس بودن محصولات با کیفیت بالا برای مصرف‌کنندگان در سراسر جهان ایفا می‌کند. در کنار روش‌های متداول و مرسوم، روش‌های جدید بی‌شماری ابداع شده، اما تاکنون هیچ روش واحدی به عنوان استاندارد برای استخراج عصاره‌های گیاهی در نظر گرفته نشده است. کارایی روش‌های استخراج معمولی و مدرن عمدتاً به پارامترهای ورودی مهم، درک ماهیت ماتریس گیاهی، شیمی ترکیبات زیست فعال و تخصص علمی بستگی دارد. هر کدام از این روش‌ها با در نظر گرفتن کارایی، سهولت، زمان مورد استفاده، هزینه‌ها، انرژی و تأثیرات زیست محیطی مزایای خاص خود را دارد. در این مقاله، اصول روش‌های مختلف استخراج، عوامل مؤثر بر عملکرد روش، پیشرفت تحقیقات، مزایا و معایب آن‌ها بررسی شده است. در این مقاله تأکید بر روش‌هایی است که در مصرف حلال و انرژی صرفه‌جویی کنند و برای ترکیبات حساس به حرارت مناسب باشند.

چکیده



جواد فیضی



عارفه کردجزی

واژگان کلیدی:

عصاره‌های گیاهی،
راندمان استخراج،
استخراج با امواج ماورای صوت،
استخراج با سیال فوق بحرانی،
استخراج با اولتراسوند

(*) مسئول مکاتبات.

۱. آزمایشگاه فراوری مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

ایمیل: kordjazi.arefeh@gmail.com

تلفن: ۰۵۱۳۵۴۲۵۳۶۶

۲. رئیس آزمایشگاه مرکزی و استادیار گروه ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

ایمیل: j.Feizy@rifst.ac.ir

تلفن: ۰۵۱۳۵۴۲۵۳۷۱

۱ مقدمه

می‌کنند و مواد غیرقطبی نیز توسط حلال‌های غیرقطبی استخراج می‌شوند. استخراج با حلال محبوب‌ترین روش استخراج است. بطور کلی، مخلوط حلال هیدروالکلی (مخلوط الکل و آب در نسبت‌های مختلف) دارای بازده استخراج بالا است که به دلیل محدوده قطبیت گسترده آن است.

آماده‌سازی نمونه اولین قدم مهم در تجزیه گیاهان است، زیرا برای استخراج ترکیبات شیمیایی مورد نظر از مواد گیاهی برای جداسازی و بررسی بیش‌تر ضروری است (۱۵). برای استخراج ترکیبات فعال درمانی، از حلال‌های مختلفی مانند آب، اتانول، کلروفرم، اتیل استات، متانول و غیره استفاده می‌شود. گاهی اوقات برای به دست آوردن بازده بهتر استخراج از مخلوطی از حلال‌ها نیز استفاده می‌شود. توسعه روش‌های نوین تهیه نمونه، مزایای قابل توجهی از نظر کاهش مصرف حلال‌های آلی و به حداقل رساندن تخریب نمونه نسبت به روش‌های مرسوم دارد و باعث از بین رفتن اجزای نامطلوب و نامحلول از عصاره نیز می‌شوند. روش‌های مدرن شامل استخراج میکروویو (MAE)، استخراج با امواج ماورای صوت (UAE)، استخراج با سیال فوق بحرانی (SFE)، استخراج میکرو فاز جامد (SPME) و غیره است. روش‌های کلاسیک نسبتاً ساده و استاندارد بوده و کاربرد گسترده‌ای دارند، اما می‌توانند ناکارآمد و زمان‌بر باشند، مقادیر زیادی از حلال‌های آلی را مصرف کرده و باعث تخریب اجزای حساس به گرما شوند. در حالی که در استفاده از روش‌های متداول، مشکلات مربوط به کیفیت، عدم سازگاری، ایمنی و کارایی آن‌ها وجود دارد. علاوه بر این، از بین بردن مراحل تمیز کردن نمونه اضافی و مراحل تغلیظ قبل از تجزیه و آنالیز کروماتوگرافی، بهبود راندمان استخراج و انتخاب‌پذیری نیز از مزایای روش‌های مدرن هستند (۲۴). اهداف استانداردسازی روش‌های استخراج برای تولید داروهای خام، به دست آوردن بخش مورد نظر درمانی و حذف مواد بی‌اثر با استفاده از حلال‌ها و روش‌های انتخابی است. با افزایش تقاضای محصولات دارویی گیاهی و محصولات طبیعی برای مراقبت‌های بهداشتی در سراسر جهان، تولیدکنندگان گیاهان دارویی استفاده از مناسب‌ترین فناوری‌های استخراج برای تولید عصاره‌هایی باکیفیت تعریف شده را مورد توجه قرار داده‌اند که می‌تواند در مقیاس‌سازی استخراج نیز کمک کنند. استانداردهای روش‌های استخراج، کمک قابل توجهی به کیفیت داروی گیاهی نهایی می‌کند. انتخاب روش جداسازی ترکیبات فعال با بالاترین عملکرد و بالاترین خلوص از منابع طبیعی عمدتاً به ماهیت ترکیبات و مواد اولیه که فرآوری می‌شوند، بستگی دارد (۳۲).

هزاران سال است که بشر از منابع گیاهی برای کاهش یا درمان بیماری‌ها استفاده می‌کند. گیاهان منبعی از ترکیبات شیمیایی هستند که در پزشکی و سایر موارد کاربرد دارند. گیاهان حاوی بسیاری از ترکیبات فعال مانند آکالوئیدها، استروئیدها، تانن‌ها، گلیکوزیدها، روغن‌های فرار، رزین‌ها، فنل‌ها و فلاونوئیدها هستند که در قسمت‌های خاص گیاه مانند برگ‌ها، گل‌ها، پوسته، دانه‌ها، میوه‌ها، ریشه و ... تجمع می‌یابند. اثرات دارویی مفید مواد گیاهی به طور معمول از ترکیب این محصولات ثانویه حاصل می‌شود (۴۹). در سال ۱۹۸۵، Farnsworth و همکاران، ۱۱۹ متابولیت گیاهی ثانویه را شناسایی کردند که به عنوان دارو مورد استفاده قرار گرفتند. از ۲۵۵ دارویی که توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان داروهای اساسی و ضروری در نظر گرفته می‌شوند، ۱۱ درصد آن‌ها از گیاهان ساخته می‌شوند و تعدادی از داروهای مصنوعی نیز از پیش‌سازهای طبیعی به دست می‌آیند. خواص آنتی‌اکسیدانی (۱۵)، ضدباکتریایی (۴۰)، ضدقارچی (۲۲)، ضد دیابتی (۳۰، ۴۶)، ضد التهابی (۳۰) و فعالیت‌های محافظتی در برابر رادیواکتیو (۱۸) مواد فیتوکمیکال شناسایی شده و به این دلیل از آن‌ها برای مقاصد دارویی استفاده می‌شود. بررسی فیتوشیمیایی یک گیاه ممکن است شامل مراحل زیر باشد: شناسایی و استخراج مواد گیاهی، جداسازی ترکیبات مورد نظر، توصیف ترکیبات جدا شده و ارزیابی کیفی (۹).

محققان تلاش‌های چشمگیری برای یافتن روش‌های استخراج کارآمد به منظور رسیدن به راندمان و اثربخشی بالا انجام داده‌اند. راندمان به عملکرد استخراج اشاره دارد، در حالی که اثربخشی به پتانسیل عصاره (میزان فعالیت زیستی به ظرفیت تولید اثر) اشاره دارد. برای جداسازی اجزای بیولوژیکی، استخراج از گیاه یکی از روش‌های پایدار است (۱۷). برای به دست آوردن کیفیت بهتر و راندمان بالای استخراج از گیاهان، روش استخراج برای بهره‌وری بهتر باید بهینه‌سازی شود (۲۴). روش‌های تحلیلی شامل چندین مرحله مهم مانند نمونه‌گیری، تهیه نمونه، کمیت‌سازی، ارزیابی‌های آماری و غیره می‌باشد (۴۲). نیاز به انتخاب مناسب‌ترین روش استخراج به این دلیل است که وقتی روش‌های مختلف با حلال مشابه روی مواد گیاهی یکسان اعمال می‌شود، راندمان استخراج می‌تواند بسیار متفاوت باشد. علاوه بر این، روش انتخاب شده به عنوان مناسب‌ترین روش نیز باید استانداردسازی شود تا بتواند به درجه تکرارپذیری قابل قبولی برسد.

لازم به ذکر است که انتخاب یک حلال مناسب در کنار استفاده از یک روش استخراج پایدار دارای اهمیت اساسی است. برای انتخاب حلال، اصل «حلالیت خوب» اصل مناسبی است. بنابراین حلال‌های قطبی مواد قطبی را استخراج



۲ فرآیند استخراج

یک فرآیند استخراج معمولی ممکن است مراحل زیر را داشته باشد (۱۱):

- ۱- جمع‌آوری و شناسایی ترکیبات گیاهی و خشک کردن
- ۲- کاهش اندازه ذرات
- ۳- استخراج
- ۴- صاف کردن
- ۵- تغلیظ
- ۶- خشک کردن و بازیابی

کیفیت عصاره استخراجی، تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند اجزای گیاهی مورد استفاده، حلال مورد استفاده برای استخراج، روش استخراج و نسبت مواد گیاهی به حلال و ... قرار می‌گیرد. از مقیاس آزمایشگاهی تا مقیاس پایلوت کلیه پارامترها در حین استخراج بهینه‌سازی و کنترل می‌شوند. تکنیک‌های استخراج متابولیت‌های گیاهی، محلول را از طریق استفاده انتخابی از حلال‌ها جدا می‌کنند.

روش‌های استخراج پیشرفته

۳ استخراج مایکروویو (MAE)

با جذب یک ماده، انرژی الکترومغناطیسی مایکروویو به انرژی گرمایی تبدیل می‌شود. رایج‌ترین فرکانس مورد استفاده در مایکروویو تجاری ۲۴۵۰ مگاهرتز (۲/۴۵ گیگاهرتز) است که دارای خروجی انرژی ۶۰۰-۷۰۰ وات است (۱۹). MAE روشی ساده و اقتصادی برای استخراج ترکیبات بیولوژیکی فعال از مواد گیاهی مختلف است (۱۲). Samra و همکاران برای اولین بار از آن‌های خانگی مایکروویو برای تجزیه فلزات در نمونه‌های بیولوژیکی در سال ۱۹۷۵ استفاده کردند (۳۲). استفاده از MAE برای مواد گیاهی اولین بار در سال ۱۹۸۶ توسط Ganzler و همکاران گزارش شد (۲۱).

مایکروویوها دارای میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی عمود بر یکدیگر هستند. میدان الکتریکی باعث گرم شدن از طریق دو مکانیسم همزمان، یعنی چرخش دوقطبی و انتقال یونی می‌شود. چرخش دوقطبی به دلیل هم تراز در میدان الکتریکی مولکول‌های دارای بخش دو قطبی در حلال و نمونه جامد است. این نوسان باعث ایجاد برخورد با مولکول‌های

اطراف می‌شود که منجر به آزاد شدن انرژی حرارتی به محیط می‌شوند. با فرکانس ۲/۴۵ گیگاهرتز، این پدیده، $10^9 \times 4/9$ برابر سریعتر رخ می‌دهد و در نتیجه حرارت حاصل بسیار سریع است. در واقع هرچه ثابت دی‌الکتریک حلال بیشتر باشد، گرمایش سریع‌تر است. در نتیجه، در روش مایکروویو بر خلاف روش‌های گرمایش رسانای کلاسیک، کل نمونه به طور هم‌زمان گرم می‌شود.

در فرآیند استخراج، مزیت گرمایش مایکروویو اختلال در پیوندهای هیدروژنی ضعیف است که توسط چرخش دو قطبی مولکول‌ها ایجاد می‌شود (۲۱). اجزای نمونه مطابق با ثابت‌های دی‌الکتریک، انرژی مایکروویو را جذب می‌کنند (۱). هنگامی که مواد گیاهی درون یک حلال شفاف در مایکروویو غوطه‌ور می‌شوند، گرمای اشعه مایکروویو به طور مستقیم و بدون اینکه توسط حلال جذب شود، به ماده جامد می‌رسد و منجر به گرمایش سریع رطوبت باقیمانده در بخش جامد می‌شود. گرمایش باعث تبخیر آبی رطوبت شده و فشار بخار زیادی ایجاد می‌کند که دیواره سلولی بستر را شکسته و محتوای آن را در حلال آزاد می‌کند. حلال‌های مورد استفاده در بیشتر فرآیندهای MAE دارای ثابت دی‌الکتریک زیاد و ظرفیت بالای جذب انرژی مایکروویو هستند، با این حال، انتخاب‌پذیری استخراج و توانایی برای تعامل با مایکروویو را می‌توان با استفاده از مخلوط حلال‌ها تعدیل کرد. استفاده از مخلوط دو حلال که تنها یک حلال قادر به جذب مایکروویو باشد، غیرمعمول نیست (۴). اگرچه معمولاً اعتقاد بر این است که حلال‌های قطبی بهتر از حلال‌های غیرقطبی هستند (۱۸، ۲۴، ۴۳)، در «تئوری دیواره سلولی شکسته» حلال‌های شفاف مایکروویو بهتر از حلال‌هایی هستند که جذب مایکروویو می‌شوند (۲۳). افزودن آب به حلال ممکن است منجر به افزایش راندمان شود. ثابت شده که حلال‌های شفاف مایکروویو مانند استون برای استخراج ترکیبات فنلی بهترین هستند (۴۳). در صورت استفاده از مخلوط متانول: کلروفرم، متانول به دلیل بالا بودن ضریب اتلاف، راندمان حرارتی کلی بهتری دارد. کلروفرم به دلیل قطب پایین شفاف باقی می‌ماند (۲۳ و ۴۳). حلال‌های شفاف مایکروویو (به عنوان مثال، هگزان) به ویژه برای استخراج ترکیبات حساس به حرارت مناسب هستند (۳۵).

MAE را می‌توان در دو حالت مختلف استفاده کرد: یکی فرآیند مخازن بسته که تحت فشار و دمای کنترل شده است، و فرآیند دیگر با مخازن باز که در فشار جو انجام می‌شود. این فرآیندها به ترتیب به عنوان استخراج تحت فشار مایکروویو (PMAE) و استخراج با کمک مایکروویو متمرکز (FMAE) نامگذاری شده‌اند (۶). در سیستم مخازن بسته، ممکن است حلال خیلی بالاتر از نقطه جوش اتمسفری خود گرم شود. هم سرعت و هم کارایی استخراج در این روش بهبود یافته است (۲۱).



فعالیت مهارکنندگی را داشت. از نظر راندمان استخراج و به ویژه برای استخراج مقدار فنل و تانن MAE برتر بوده و میزان قابل توجه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۲۰ درصد) نیز پس از استفاده از MAE مشاهده شد. ثابت شده که هم استخراج با کمک مایکروویو و هم امواج ماورای صوت در افزایش عملکرد ترکیبات فنلی و تاننها و افزایش پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر است (۴۸). MAE به عنوان یک جایگزین بالقوه برای روش‌های سنتی استخراج ترکیبات فنلی مانند اسیدهای کلروژنیک از دانه‌های قهوه سبز به اثبات رسیده و عصاره‌های آماده شده نیز فعالیت مهار رادیکال خوبی نشان دادند (۵۰). در استخراج میتراژنین^۲ (ترکیب آلکالوئیدی) از برگ‌های گیاه *Mitragyna speciosa*، MAE بیشترین مقدار آلکالوئید را به خود اختصاص داد و بیشترین مقدار میتراژنین در عصاره تهیه شده توسط MAE وجود داشت (۴۱). عصاره تهیه شده با روش MAE از بذرهای *Manlikara zapota*، *Phoenix sylvestris*، *Tamarindus indica*، *Annona squamosa*، *Citrus limon*، *Carica papaya* و *Tricosanthes doica* فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی با راندمان استخراج در محدوده ۱۵-۲ درصد نشان داده‌اند (۲۴، ۲۵ و ۲۷). راندمان استخراج بذر *A.squamosa* در مخلوط کلروفورم-متانول با روش استخراج مایکروویو در مدت زمان ۵۰ ثانیه، ۱۷ درصد بود (۲۳). همچنین از MAE برای تهیه عصاره‌های گیاهی در ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی (۲۵، ۲۶ و ۲۷) و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها (۲۴، ۲۵ و ۲۶) استفاده شده است.

۴ استخراج با امواج ماورای صوت (UAE)

UAE شامل استفاده از امواج صوتی با شدت و فرکانس بالا و تعامل آن‌ها با مواد است. UAE یک فناوری بالقوه مفید است، زیرا نیازی به ابزارهای پیچیده ندارد و نسبتاً کم هزینه است. این فناوری هم در مقیاس کوچک و هم بزرگ قابل استفاده است (۸). UAE شامل اثرات اولتراسونیک حفره‌های صوتی است. تحت عمل امواج ماورای صوت، ذرات جامد و مایع مرتعش شده و سرعت می‌گیرند و به همین دلیل ماده سریعاً از فاز جامد در حلال پخش می‌شود. چندین مکانیسم احتمالی برای تقویت اولتراسونیک استخراج، مانند اختلال سلول، بهبود نفوذ و افزایش تورم، اثر مویرگی و فرایند هیدراتاسیون پیشنهاد شده است (۱۴).

^۱Reflux Method

^۲Mitragynine

در سیستم بسته، ممکن است با استفاده از فشار صحیح، دما افزایش یابد. سیستم بسته اغلب برای ترکیبات فرار مناسب است. در سیستم باز، حداکثر دما با نقطه جوش حلال مورد استفاده تعیین می‌شود (۴). سلول‌های باز، در مقایسه با انواع بسته، ایمنی بیشتری را برای نمونه‌ها ارائه می‌دهند و علاوه بر این موجب بیشتر شدن راندمان استخراج می‌شوند (۲۱). سلول‌های باز می‌توانند چندین مخزن استخراج را در یک زمان انجام دهند. مزیت انتقال جرم بهبود یافته به دلیل همزدن در هر دو حالت MAE ممکن است (۳۸ و ۴۵). گرچه نشان داده شده که در فرآیندهای مایکروویو، طول مدت گرم شدن بیش از حد است (۶)، MAE احتمالاً دارای مشکل تخریب حرارتی ترکیبات گیاهی بوسیله گرمای بیش از حد نیست، زیرا گزارش شده که گرمایش در سیستم‌های همگن رخ می‌دهد، نه در موارد ناهمگن.

از توانایی اشعه مایکروویو برای گرم کردن مواد جامد می‌توان به طور مؤثر برای به دست آوردن روغن اسانس استفاده کرد. این روش منجر به تولید اسانس با بخش‌های دارای فراریت نسبتاً کم در مقایسه با تقطیر آبی می‌شود (۱۱). MAE برای به دست آوردن عصاره تحت شرایط خفیف بسیار مؤثر است. MAE دارای زمان استخراج کوتاه‌تر، نیاز به حلال کمتر، بهبود خلوص عصاره، هزینه کم و عملکرد بهتر استخراج در مقایسه با استخراج با سوکسله است. بنابراین به عنوان یک جایگزین بالقوه برای روش‌های متعارف در نظر گرفته می‌شود (۱ و ۶). گزارش شده که استفاده از مایکروویو موجب کاهش کیفیت مواد با منشاء گیاهی مانند اسید اسکوربیک نمی‌شود، درحالی که استفاده از گرما در سایر روش‌ها منجر به کاهش کیفیت می‌شود. همچنین نشان داده شده که MAE برای استخراج ترکیبات فنلی نسبت به روش برگشتی^۱ سریع‌تر است. استخراج زردچوبه در زمان کمتر و دقت بهتر از طریق MAE نسبت به روش‌های استخراج معمولی ممکن است (۳۶).

بررسی سینتیک اثر ترکیب حلال، حجم حلال، دمای استخراج و خصوصیات ماتریس روی MAE برگ‌های رزماری و نعناع نشان داد که برای یک ماتریس نمونه که حاوی آب به عنوان یک جزء است، استفاده از مایکروویو خالص با حلال شفاف مانند هگزان می‌تواند منجر به استخراج سریع اجزای اسانس شود. این امر به دلیل تعامل مستقیم مایکروویو با مولکول‌های آب آزاد موجود در سلول است، که باعث پارگی سلول و آزاد شدن اسانس در حلال آلی مورد استفاده (هگزان) می‌شود. با بهینه‌سازی نسبت ماده گیاهی به حلال می‌توان به حرارت‌دهی مؤثرتر مایکروویو برای برگ‌های رزماری و نعناع دست یافت (۱۵). دمای مایکروویو بالاتر و مدت زمان استخراج کوتاه در استخراج ترکیبات فنلی آنتی‌اکسیدانی از گوجه فرنگی با استفاده از MAE مؤثرتر است (۳۳). عصاره تهیه شده توسط MAE بالاترین میزان ترکیبات فنلی و تانن و همچنین بالاترین



پیش‌سازهای عطر گلیکوزیدی مناسب است (۵۳). مطالعات مربوط به تأثیر حلال‌های مختلف و مخلوط آن‌ها، اثر حجم حلال، قدرت موج ماورای صوت و زمان آن نشان می‌دهد که موج ماورای صوت دارای پتانسیل بهبود راندمان استخراج و کاهش زمان فرآیند است، و در طول فرآوری با اولتراسوند ترکیب روغن نیز تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. اولتراسوند موجب بالاترین عملکرد استخراج در برخی از فلاونوئیدها مانند *iristectorin A*, *iristectorin B*, *tectoridin*, *tectorigenin* و *iris-tectorigenin A* و ایزوفلاون‌های کل در زمان کم‌تری نسبت به روش‌های ماسراسیون و سوکسله می‌شود (۴۷). اجزای مهم عملکردی بذر انگور توسط موج ماورای صوت استخراج شد. متغیرهای استخراج، به ویژه زمان و دمای استخراج، به شدت میزان فنل کل، آنتی اکسیدان‌ها و آنتوسیانین‌های دانه‌های انگور را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۰). استخراج با اولتراسوند به عنوان جایگزینی ساده‌تر و مؤثرتر برای روش‌های استخراج معمولی در جداسازی جینسنینوساید (ترکیب ساپونینی) از انواع مختلف جینسنگ گزارش شده است. استخراج ساپونین‌های جینسنگ با اولتراسوند تقریباً سه برابر سریع‌تر از روش استخراج سنتی است. استخراج اولتراسونیک نه تنها کارآمدتر بوده، بلکه همچنین برای بهبود و خالص‌سازی مواد تشکیل دهنده فعال نیز بهتر بود. استخراج به کمک امواج فراصوت می‌تواند در دماهای پایین‌تر انجام شود که برای ترکیبات ناپایدار از نظر حرارتی مطلوب است (۵۲). استفاده از اولتراسوند به طور قابل توجهی موجب تسریع در استخراج آنالیت (نیکوتین از فرمولاسیون دارویی و گیاهی) می‌شود. در روش استخراج سرد معمولی هر مرحله استخراج حداکثر ۲۴ ساعت طول می‌کشد، در حالی که زمان مورد نیاز برای رسیدن به همان راندمان استخراج در این روش کم‌تر از ۲۰ دقیقه است و مصرف حلال‌های ارگانیک مضر برای محیط زیست نیز کاهش می‌یابد. مزیت اصلی روش موج ماورای صوت، زمان واکنش و آماده‌سازی کوتاه‌تر، استفاده از مقادیر اندک مواد، هزینه کارآمد و حداقل برای حلال‌ها و افزایش ظرفیت نمونه است. این روش برای جداسازی و خالص‌سازی اصول زیست فعال بسیار مفید است (۱۶). یکی از نقاط ضعف این روش، اثرات مخرب و گاه شناخته شده انرژی موج ماورای صوت (بیش از ۲۰ کیلوهرتز) بر روی ترکیبات فعال گیاهان دارویی از طریق تشکیل رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییرات نامطلوب در مولکول‌های دارویی است (۱۱).

^۳Carnosic acid^۴Resveratrol^۵Ginsenosides

اگر شدت موج ماورای صوت در مایع افزایش یابد، آنگاه به جایی می‌رسد که نیروهای درون مولکولی قادر به نگه داشتن ساختار مولکولی نیستند، بنابراین ساختار مولکولی تجزیه شده و حباب‌هایی ایجاد می‌شوند که این فرایند را کاویتاسیون می‌نامند (۳). سقوط حباب‌ها می‌تواند اثرات فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی ایجاد کند که منجر به اختلال در غشاهای بیولوژیکی برای تسهیل رهاسازی ترکیبات قابل استخراج و بهبود نفوذ حلال درون مواد سلولی و بهبود انتقال جرم می‌شود (۵ و ۷۳). اثرات مفید امواج صوتی بر استخراج به شکل‌گیری و فروپاشی نامتقارن اثر ریزگردها در مجاورت دیواره‌های سلولی نسبت داده می‌شود که منجر به تولید ریزگردها در پاره شدن سلول‌ها می‌شود. تصور می‌شود که نوسان حباب‌ها باعث ایجاد جریان صوتی شده که باعث افزایش سرعت انتقال جرم از طریق جلوگیری از اشباع شدن لایه حلال در اطراف بافت گیاه و بنابراین تقویت انتقال همرفت می‌شود (۲۰). پوست غدد خارجی دیواره سلول‌های گیاهی بسیار نازک است و به راحتی توسط موج ماورای صوت از بین می‌رود. این امر باعث تسهیل در آزاد شدن اسانس به داخل حلال استخراجی و در نتیجه کاهش زمان استخراج و افزایش راندمان استخراج می‌شود (۱۵). استخراج مواد جامد چای از برگ‌های خشک شده با آب با استفاده از موج ماورای صوت، موجب ۲۰ درصد بهبود در عملکرد استخراج شد. همچنین ثابت شده که استفاده از امواج ماورای صوت برای استخراج اسید کارنوسیک^۳ با حلال‌های مختلف اتانول، اتیل استات و بوتانول بهتر است و همچنین باعث کاهش زمان استخراج می‌شود (۳). به طور کلی، نوع حلال هم در میزان استخراج و هم عملکرد نهایی ایزوفلاون‌های کل تأثیر معنی‌داری دارد، اما در یک مطالعه زمانی که از موج ماورای صوت برای استخراج ایزوفلاون‌ها از ساقه *lobata* Pueraria استفاده شد، افزایش میزان استخراج و عملکرد برای همه نوع حلال‌ها بدست آمد. هرچه ورودی انرژی الکتریکی در دامنه ۶۵۰-۰ وات بالاتر باشد، عملکرد استخراج نیز بالاتر است (۱۴).

استفاده از موج ماورای صوت موجب استخراج بهتر وانیلین در دوره زمانی کوتاه‌تر برای حلال‌های مختلف نسبت به روش سوکسله گردید (۱۷). استخراج رسوراترول^۴ از انگور به وسیله اولتراسوند بسیار تأثیر گذار در نظر گرفته شده است. تجزیه رسوراترول از انگور ممکن است در مدت زمانی خاص با استفاده از اولتراسوند ناچیز باشد (۷). اولتراسوند اثر حفاظتی در استخراج پروتئین و پکتین دارد، که باعث بهبود کیفیت حسی چای می‌شود. اولتراسوند برای استخراج ترکیبات عطری و



و ۷۳/۸ اتمسفر است. از برخی حلال‌ها مانند هگزان^۶، پنتان^۷، بوتان^۸، اکسید نیتروژن^۹، گوگرد هگزا فلوراید^{۱۰} و هیدروکربن‌های فلوئوره شده برای SFE استفاده می‌شود (۴۴).

دی اکسید کربن متداول‌ترین حلال در روش استخراج SFE است (۱۱). دی اکسید کربن به تنهایی انتخاب‌گر نیست، اما ظرفیت و انتخاب‌پذیری آن برای استخراج با استفاده از یک حلال دیگر یا اصلاح‌کننده می‌تواند بهبود یابد. پس از استخراج، حلال دیگر به سادگی قابل حذف است. بطور کلی دی اکسید کربن مطلوب‌ترین حلال در SFE است، زیرا دمای بحرانی آن تنها ۳۰.۴ درجه کلوین است، که باعث می‌شود برای استخراج ترکیبات حساس به گرما مناسب باشد. علاوه بر این، دی اکسید کربن حلالی بی‌اثر، بی‌خطر (غیر قابل اشتعال، غیر انفجاری)، ارزان، بدون خوردگی، بدون بو و بی‌رنگ است که هیچ باقی مانده حلالی در محصول باقی نمی‌گذارد. همچنین غیر سمی است و به طور کلی به عنوان یک ماده بی‌ضرر در داروسازی و مواد غذایی پذیرفته شده و با استخراج ساده به راحتی از روغن جدا می‌شود. علاوه بر این، دی اکسید کربن دارای کشش سطحی و ویسکوزیته پایین و انتشار زیاد است که آن را به عنوان یک حلال فوق بحرانی جذاب می‌کند (۱۱ و ۴۹).

دی اکسید کربن ارزان و سازگار با محیط زیست بوده و به طور کلی توسط مقامات نظارتی به عنوان حلالی ایمن شناخته شده است. طراحی فرآیند با استفاده از حلال‌های فوق بحرانی کاملاً به بحث تعادل فاز بستگی دارد که نسبت به تغییرات در شرایط فرآیند بسیار حساس است. بنابراین، مهندسی تعادل فاز نقش مهمی در سنتز و طراحی این فرآیندها دارد (۱۳). گاهی اوقات به جای دی اکسید کربن از آرگون استفاده می‌شود، زیرا نسبت به دی اکسید کربن ارزان و بی‌اثرتر است. میزان بازیابی ترکیبات معمولاً با افزایش فشار یا دما افزایش می‌یابد. بالاترین میزان بازیابی در مورد آرگون در فشار ۵۰۰ اتمسفر و ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد بدست آمد.

به دلیل واکنش بین اصلاح‌کننده‌ها (کمک حلال‌ها) و ماتریس، تورم ماتریس گیاهی رخ می‌دهد که یک عامل مهم در بهبود بازیافت استخراج است. مزایای SFE نسبت به روش‌های معمولی را می‌توان به طور خلاصه بصورت زیر بیان کرد: (۱۱ و ۱):

^۶Hexane

^۷Pentane

^۸Butane

^۹Nitrous oxide

^{۱۰}Sulfor hexafluoride

۵ سیال فوق بحرانی (SFE)

می‌توان از SFE برای استخراج برخی ترکیبات خاص از گیاهان در دمای نزدیک به محیط استفاده کرد، بنابراین از تخریب ماده در دنا تورا سیون حرارتی جلوگیری می‌کنند. SFE یک تکنیک قدیمی استخراج با حلال است، اما کاربرد تجاری آن به دلیل سطح پیشرفته و گران قیمت تجهیزات فشار بالا و فناوری مورد نیاز بسیار کند صورت گرفته است (۴۹). در حال حاضر SFE یکی از روش‌های شناخته شده استخراج و جداسازی است، زیرا معیارهای طراحی و عملیاتی آن اکنون کاملاً درک شده است (۳۴). خواص مطلوب انتقال سیالات در نزدیکی نقاط بحرانی آن‌ها منجر به نفوذ عمیق‌تر به ماتریس گیاهان جامد و استخراج کارآمدتر و سریع‌تر نمونه نسبت به حلال‌های آلی معمولی می‌شود. استخراج در تجهیزات فشار قوی به صورت غیرمداوم یا مداوم انجام می‌شود. در هر دو حالت، حلال فوق بحرانی با موادی در تماس است که محصول مورد نظر از آن جدا می‌شود. معمولاً از مخازن استخراج استوانه‌ای برای آماده‌سازی نمونه استفاده می‌شود (۱۱). در فرآیند غیرمداوم، ماده جامد درون ظرف استخراج قرار می‌گیرد و حلال فوق بحرانی تا رسیدن به شرایط استخراج هدف در آن تغذیه می‌شود. در فرآیند نیمه مداوم، حلال فوق بحرانی بطور مداوم از طریق یک پمپ فشار بالا با سرعت ثابت تغذیه می‌شود و برای ته‌نشینی املاح از سیال فوق بحرانی یک یا چند مرحله جداسازی استفاده می‌شود. در حال حاضر فناوری سیال فوق بحرانی به عنوان یک روش مؤثر با کارایی قابل مقایسه با روش‌های شیمیایی موجود شناخته شده است. این فناوری برای شناسایی کیفی و کمی اجزای سازنده محصولات طبیعی، از جمله ترکیبات حساس به گرما کاربرد دارد (۳۹). SFE برای استخراج ترکیبات فرار یا مواد عطری مانند اسانس‌ها و کافئین از مواد گیاهی استفاده می‌شود. فاکتورهای زیادی از قبیل دما، فشار، حجم نمونه، شرایط حلال و کنترل جریان و فشار در حین استخراج توسط SFE مهم هستند. در شرایط عملی تا حدودی معمولاً شرایط بالاتر از دما و فشار بحرانی برای مواد خاصی اعمال می‌شود و سیالات فوق بحرانی خاصیت واسطه‌ای بین فازهای مایع و گازی نشان می‌دهند (۹). سیال دارای خواصی است که با قسمت‌های گاز و مایع محصور است و این خصوصیات ممکن است با تغییر فشار و دمای اعمال شده تنظیم شود (۲۹). در شرایط مناسب، هر سیالی می‌تواند به حالت فوق بحرانی خود برسد. احتمال استفاده از سیال فوق بحرانی به عنوان حلال استخراج، بطور مستقیم با چگالی آن در ارتباط است. یک سیال فوق بحرانی در واقع یک گاز متراکم، یک مایع بالاتر از دما و فشار بحرانی تا یک مقدار خاص است. برای اینکه سیال فوق بحرانی باشد، کاهش دما نباید از ۱/۲ یا ۱/۳ درجه سانتی‌گراد تجاوز کند، در حالی که ممکن است کاهش فشار زیاد در محدودیت‌های فنی مجاز باشد (۱۱). برای آب، شرایط بحرانی برای دما و فشار به ترتیب ۳۷۴ درجه سانتی‌گراد و ۲۲۰ اتمسفر و برای دی اکسید کربن ۳۰/۹ درجه سانتی‌گراد



ماتریس گیاه بود، در حالی که افزایش درجه حرارت تأثیر کمی بر راندمان استخراج داشت (۱۵). استخراج روغن دانه انگور توسط SFE با دی‌اکسیدکربن مزایای خاصی در رابطه با کیفیت روغن استخراج شده و راندمان فرایند دارد. روغن حاصل از استخراج فوق بحرانی با دی‌اکسیدکربن عاری از حلال آلی بوده و زمان فرآیند نیز کمتر از زمان استخراج معمولی بود. حذف کامل حلال‌های آلی از عصاره، فرآیندی زمان‌بر و با مصرف انرژی در فن‌آوری امروزی است (۲). استخراج فوق بحرانی دی‌اکسیدکربن برای استخراج روغن از دانه رازیانه نیز استفاده شده است (۴۴). نشان داده شده که SFE نسبت به سایر روش‌های معمولی در استخراج ترکیبات ضد میکروبی مؤثرتر است. Kothari و همکاران در سال ۲۰۱۲ یک مطالعه مقایسه‌ای از روش‌های مختلف برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی از دانه‌های گیاهی انجام دادند (۲۸). عصاره‌ها از دانه‌های پنج گیاه مختلف *Annona squamosa* (Annonaceae), *Manilkara zapota* (Sapotaceae), *Phoenix slyvestris* (Palmae), *Tamarindus indica* (Cesalpiniaceae) و *Syzygium eumini* (Myrtaceae) در حلال‌های آب، متانول و اتانول با استفاده از پنج روش مختلف استخراج یعنی سوکسله، موج ماورای صوت، استخراج با همزدن مداوم در دمای اتاق و روش مایکروویو با و بدون سرد کردن متناوب تهیه شدند. همه این عصاره‌ها با توجه به راندمان استخراج، محتوای فنل کل، محتوای کل فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد باکتریایی مقایسه شدند. روش سوکسله از نظر راندمان استخراج بالا و استخراج ترکیبات فنولیک بهترین نتیجه را نشان داد. استخراج مایکروویو با خنک‌کننده متناوب (MAE)، استخراج در دمای اتاق با همزدن (ERT) و استخراج به کمک اولتراسوند (UAE) در استخراج ترکیبات ضد باکتریایی از دانه‌های گیاه خوب بودند. همچنین روش موج ماورای صوت در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثر بود. متانول مناسب‌ترین حلال برای استخراج فلاونوئیدها بود.

6 نتیجه‌گیری

گیاهان دارویی برای کشف و شناسایی ترکیبات جدید درمانی مهم هستند. روش‌های استخراج نقش مهمی در جداسازی و شناسایی ترکیبات فیتوشیمیایی از گیاهان و غربالگری عصاره‌های گیاهی برای پیشرفت‌های جدید ایفا می‌کنند. روش‌های متعارف جامع بوده و به زمان، قدرت، نمونه و مصرف حلال بیشتر نسبت به انواع روش‌های مدرن نیاز دارند. بازیابی، پایداری و کیفیت کلی عصاره نیز می‌تواند با انتخاب روش بهتر بهبود یابد. روش‌های در میان روش‌های مدرن،

۱. استخراج مواد تشکیل دهنده در دمای پایین، که از آسیب حرارتی جلوگیری می‌کند
۲. باقی نماندن حلال
۳. سازگاری با محیط زیست
۴. نفوذپذیری بهتر
۵. ویسکوزیته کم سیالات فوق بحرانی که امکان استخراج انتخابی بیش‌تری را فراهم می‌کنند.
۶. استخراج سریع

شرایط SFE می‌تواند برای استخراج انتخابی یک بخش آنتی‌اکسیدانی و تقریباً بدون باقیماندن هیچ بویی از گیاه زماری مطلوب باشد. همچنین با انجام فرآیند تحت دما و فشار بحرانی مشخص شده که می‌توان از دی‌اکسیدکربن به عنوان حلال برای استخراج انتخابی اسانس و دی‌ترین‌های گلیکوزیدی از گیاهان دارویی استفاده کرد (۱۵). دی‌اکسیدکربن فوق بحرانی مانند یک حلال لیپوفیلی رفتار می‌کند، اما نسبت به حلال‌های مایع دارای مزایایی است، از جمله اینکه قدرت انتخابی دارد، قدرت حلال قابل تنظیم است و می‌تواند در شرایط مختلف از گاز تا مایع تنظیم شود. SFE می‌تواند محصولاتی با کیفیت برتر بدون هیچ‌گونه مواد مصنوعی و حفظ بهتر طعم و عطر اصلی تولید کند. برای استخراج اسانس، دی‌اکسیدکربن با چگالی پایین (۰/۵- g/cm^3) ۲۵/۰ گرم بر سانتی‌متر مکعب) ترجیح داده شده است. اما برای استخراج ترکیبات غیر روغنی از دی‌اکسیدکربن با چگالی بالا استفاده می‌شود (۵۴). استفاده از دی‌اکسیدکربن (متانول به عنوان کمک حلال) برای استخراج نیمبین^{۱۱} در عصاره‌گیر ساخته شده از قطعه‌ای از لوله‌های فشار قوی HPLC گزارش شده است. اثر شرایط فرآیند در هنگام استخراج و میزان جریان دی‌اکسیدکربن، فشار دی‌اکسیدکربن، دمای استخراج‌کننده و وزن نمونه مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از استخراج فوق بحرانی با دی‌اکسیدکربن، راندمان استخراج نیمبین تقریباً ۰/۳۵ کیلوگرم نیمبین در کیلوگرم در دانه به دست آمد. بهترین شرایط استخراج در دمای ۳۰۸ کلوین، فشار ۲۳ مگاپاسکال، و سرعت جریان ۱/۲۴ میلی‌لیتر در دقیقه بدست آمد. میزان استخراج برای طیف وسیعی از نمونه‌های مورد مطالعه تابعی از اندازه نمونه‌ها نبود (۴۹). شرایط SFE برای استخراج اجزای فعال از *zedoaria* *Curcuma* بهینه‌سازی شد و مشخص شد که مهم‌ترین عوامل در افزایش راندمان استخراج، دانسیته دی‌اکسیدکربن و میزان سیال عبوری از

^{۱۱}Nimbin



<http://www.mdpi.org/ecsoc-5.htm>. (last accessed Jan 2, 2012)

- [7]. Cho YJ, Hong JY, Chun HS, Lee SK, Min HY. 2006. Ultrasound assisted extraction of resveratrol from grapes. *J. Food. Eng.* 77: 725-730.
- [8]. Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules.* 15: 7313-7352.
- [9]. Evans, W.C. 2002. General methods associated with the phytochemical investigation of herbal products. In *Trease and Evans Pharmacognosy* (15 ed.), New Delhi: Saunders (Elsevier), pp.137-148.
- [10]. Ghafoor K, Choi YH, Jeon JY, Jo IH. 2009. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis Vinifera*) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 57: 4988–4994. doi :10.1021/jf9001439.
- [11]. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, and Rakesh DD. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Trieste: ICS UNIDO.
- [12]. Hemwimon S, Pavasant P, Shotipruk A. 2007. Microwave assisted extraction of antioxidative arthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Sep. Purif. Technol.* 54: 44-50.
- [13]. Herrero M, Mendiola JA, Cifuentes A, Ibanez E. 2009. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *J. Chromatogr A.* doi:10.1016/j.chroma.2009.12.019.
- [14]. Huaneng X, Yingxin Z, Chaohong H. 2007. Ultrasonically assisted extraction of isoflavones from stem of *Pueraria Lobata* (Willd.) Ohwi and its mathematical model. *Chin J. Chem. Eng.* 15: 861-867.
- [15]. Huie CW. 2002. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal. Bioanal. Chem.* 373: 23-30.
- [16]. Ishtiaq F, Farooq R, Farooq A, Siddique M, Shah H, Hassan MU, Shaheen MA. 2009. Application of ultrasound in pharmaceutics world. *Appl. Sci. J.* 6: 886 893.

MAE در همراهی با عملیات جداسازی و توصیفات بعدی بیشتر پیشنهاد شده است. مشخص شده که MAE در مقایسه با روش‌های معمول، به دلیل کارایی و سرعت آن جایگزین بهتری برای جداسازی ترکیبات فنلی از برگ‌های زیتون است. روش‌های مدرن تا حد بالایی از اتوماسیون قابل تغییر بوده و می‌توانند پارامترهای مختلفی را در یک زمان کنترل کنند. مصرف نمونه و حلال نیز با انتخاب مناسب‌ترین روش کاهش می‌یابد. در مدت زمان کوتاه‌تر، استخراج خوبی انجام می‌شود و عصاره حاصل نیز می‌تواند عملکرد و کیفیت بهتری نسبت به انواع استخراج شده با روش معمولی داشته باشد. روش‌هایی مانند SFE، MAE و UAE برای استخراج ترکیبات حساس به گرما و فرار مناسب هستند که استخراج آن‌ها با روش‌های معمول مناسب نیست. روش سیال فوق بحرانی به دلیل افزایش بهره‌وری، ویژگی‌ها و انتخاب‌پذیری در کاربردهای صنعتی مناسب‌تر هستند. در حال حاضر، به نظر می‌رسد MAE با مخازن باز مناسب‌ترین، ساده‌ترین و سریع‌ترین روش برای استخراج ترکیبات گیاهی حساس به حرارت باشد، چون برخلاف روش‌های موج ماورای صوت یا سیال فوق بحرانی نیاز به تجهیزات پیشرفته‌ای (به جز یک مایکروویو ساده) ندارد.

منابع

- [1]. Ahuja, S., and Diehl, D. 2006. Sampling and Sample preparation. In: *Comprehensive Analytical Chemistry*, Vol. 47 (Eds.), S Ahuja, and N Jespersen, Oxford, UK: Elsevier (Wilson & Wilson) Chap-2, pp.15-40.
- [2]. Aleksovski S, Sovova H, Urapova B, Poposka F. 1998. Supercritical CO₂ extraction and Soxhlet extraction of grape seeds oil. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia*, 17: 129–134.
- [3]. Baig S, Farooq R, Rehman F. 2010. Sonochemistry and its industrial applications. *World Appl. Sci. J.* 10: 936-944.
- [4]. Camel V. 2001. Recent extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *The Royal Soc. Chem. Analyst.* 126:1182-1193.
- [5]. Cares MG, Vargas Y, Gaete L, Sainz J, Alarcon J. 2009. Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from *Quillaja Saponaria Molina*. *Physics. Procedia.* 3: 169-178.
- [6]. Chemat F, Esveld E. 2001. Microwave assisted heterogeneous and homogeneous reactions. Fifth international electronic conference on synthetic organic chemistry (ECSOC-5).



- [27]. Kothari V. 2011. In vitro antibacterial activity in seed extracts of *Phoenix sylvestris* Roxb (Palmae), and *Tricosanthes dioica* L (Cucurbitaceae). *Curr. Trends Biotechnol. Pharm.* 4: 993-997.
- [28]. Kothari V, Gupta A, Naraniwal M. 2012. Comparative study of various methods for extraction of antioxidant and antibacterial compounds from plant seeds. *J. Nat Remedies* 12(2):162-173.
- [29]. Kroon, J.J., Raynie, D.E. 2010. Supercritical fluid extraction. *Handbook of Sample Prepration*, (Eds) Janusz Pawliszyn, New Jersey: John Wiley & Sons Inc. pp.191.
- [30]. Kumar A, Krishan MRV, Aravindan P, Jayachandran T, Deecaraman M, Ilavarasan R, Padmanabhan A. 2008. Anti diabetic activity of *Syzygium cumini* seed and its isolate compounds against streptozotocin induced diabetic rats. *J. Med. Plants. Res.* 2: 246-249.
- [31]. Kumar A, Krishan MRV, Aravindan P, Jayachandran T, Deecaraman M, Ilavarasan R, Kumar RM, Padmanabhn A. 2008. Anti inflammatory activity of *Syzygium cumini* seed. *Afr. J. Biotechnol.* 7: 941-943.
- [32]. Letellier M, Budzinski H. 1999. Microwave assisted extraction of organic compounds. *EDP Sciences, Wiley-VCH, Analysis.* 27: 251-271.
- [33]. Li H, Deng Z, Wu T, Liu R, Loewen S, Tsao R. 2012. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes, *J. Food Chem.* 130: 928-936.
- [34]. Li H, Wu J, Rempel CB, Thiyam U. 2010. Effect of operating parameter on oil and phenolic extraction using supercritical CO₂. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87: 1081-1089.
- [35]. Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. 2008. Microwave assisted extraction of curcumin by sample solvent dual heating mechanism using Taguchi L9 orthogonal design. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 46: 322-327.
- [36]. Mandal V, Mohan Y, Hemeletha S. 2007. Microwave assisted extraction: An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacog. Rev.* 1:7-18.
- [17]. Jadhav D, Rekha BN, Gogate PR, Rathod VK. 2009. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional Soxhlet and ultrasound assisted extraction. *J. Food Eng.* 93:421-426.
- [18]. Jagetia GC, Venkatesh P, Baliga MS. 2005. Influence of seed extracts of *S. cumini* on mice exposed to different doses of γ radiation. *J. Radiat. Res.* 46: 59-65.
- [19]. Jain T, Jain V, Panday R, Vyas A, Shukla SS. 2009. Microwave assisted extraction for phytoconstituents - An overview. *Asian J. Res. Chem.* 2: 19-25.
- [20]. Kadkhodae, R., Kakhki, A.H. Ultrasonic extraction of active compounds from saffron. http://confbank.um.ac.ir/modules/conf_display/saffron/pdf/p55.pdf.
- [21]. Kaufmann BA, Christen P. 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwaveassisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochem. Anal.* 13: 105-113.
- [22]. Khan, M., Wassilew, S.W. 1987. Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. (Eds) Schmitterer, H. and Asher, K. R. S., Germany: Digitalverlag GmbH, pp.645-650.
- [23]. Kothari V, Punjabi A, Gupta S. 2009. Optimization of microwave assisted extraction of *Annona squamosa* seeds. *The Icfai J. Life sci.* 3: 55-60.
- [24]. Kothari V, Pathan S, Seshadri S. 2010. Antioxidant activity of *M. zapota* and *C. limon* seeds. *J. Nat. Remedies.* 10[2]: 175-180.
- [25]. Kothari V, Seshadri S. 2010. Antioxidant activity of seed extract of *Annona squamosa* and *Carica papaya*. *Nutri. Food Sci.* 40: 403-408.
- [26]. Kothari, V. 2010. Screening of various plant products/ extracts for antimicrobial and antioxidant properties and to investigate correlation of the latter with phenolic content of sample. Ph.D. thesis, Nirma University, pp.59.



- [48]. Thomas R, Tripathi R, Kamat SD, Kamat DV. 2012. Comparative study of phenolics and antioxidant activity of phytochemicals of *T. chebula* extracted using microwave and ultrasonication. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 3(1): 194-197.
- [49]. Tonthubthimthong P, Chuaprasert S, Douglas P, Luewisutthichat W. 2001. Supercritical CO₂ extraction of nimbin from neem seeds an experimental study. *J. Food Eng.* 47: 289-293.
- [50]. Upadhyay R, Ramalakshmi K, Rao LJM. 2012. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans. *Food Chem.* 130:184-188.
- [51]. Wong SK, Lim YY, Chan EW. 2009. Antioxidant properties of Hibiscus species variation, altitudinal change costal influence and floral colour change. *J. Tro. For. Sci.* 21: 307-315.
- [52]. Wu J, Lin L, Chau F. 2001. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics Sonochem.* 8: 347-352.
- [53]. Xia T, Shi S, Wan X. 2006. Impact of ultrasonic-assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. *J. Food Eng.* 74: 557-560.
- [37]. Metherel AH, Taha AY, Izadi H, Stark KD. 2009. The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples [flaxseed]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 81: 417-23.
- [38]. Mitra, S. 2003. *Sample Preparation Techniques In Analytical Chemistry.* Wiley-IEEE. pp.142-173.
- [39]. Mohameda, R.S., Mansoor, G.A. 2002. The use of supercritical fluid extraction technology in food processing. *Food Technol Magazine.* The World Markets Research Centre, London, UK.
- [40]. Nair R, Kalariya T, Chanda S. 2005. Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora. *Turk. J. Biol.*, 29: 41-47.
- [41]. Orio L, Alexanderu L, Cravotto G, Mantegna S, Barge A. 2012. UAE, MAE, SFE-CO₂ and classical methods for the extraction of *Mitragyna speciosa* leaves. *Ultrason Sonochem.* 19: 591-595.
- [42]. Pawliszyn, J. 1997. *Solid Phase Micro Extraction: Theory and practice.* Wiley-VCH, New York, pp.1-9.
- [43]. Proestos C, Komaitis M. 2007. Application of microwave assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT - Food Sci. Technol.* doi:10.1016/j.lwt.2007.04.013.
- [44]. Reverchon E, Marco I. 2006. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *J. Supercrit Fluids.* 38: 146-166.
- [45]. Sarker, S., Latif, Z., and Gray, A. 2006. *Natural Products Isolation.* 2nd ed., USA: Humana press. pp. 33-37.
- [46]. Singh N, Gupta M. 2007. Effect of ethanolic extract of *Syzygium cumuni* seed powder on pancreatic islets of alloxan diabetic rats. *Indian J. Exp. Biol.* 45: 861-867.
- [47]. Sun Y, Liu Z, Wang J. 2011. Ultrasound-assisted extraction of five isoflavones from *Iris tectorum Maxim.* *Sep. Purif. Technol.* doi:10.1016/j.seppur.2011.01.017.

