بررسی سازوکار استخراج ترکیبات غذایی و دارویی با کمک فراصوت

مریم علیان نژادی
استادیار
دانشگاه سمنان
m_aliannezhadi@semnan.ac.ir

معصومه فائز *
مربی
دانشگاه سمنان
mfaez@semnan.ac.ir

لیلا نادری
استادیار
دانشگاه سمنان
l_naderi@semnan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۰۸

چکیده

استخراج به کمک فراصوت می‌تواند به عنوان یک فناوری نسبتا نوین، سبز و غیرمخرب در استخراج ترکیبات غذایی و طبیعی از میوه‌ها و سبزی‌ها، گیاهان و ادویه‌ها، دانه‌های روغنی و میکروارگانیسم‌ها به‌کار گرفته شود. در این مقاله سازوکار حاکم بر استخراج با کمک فراصوت مورد بررسی قرار گرفته است. فراصوت با استفاده از سازوکارهای ریزکردن، فرسایش، ایجاد شکاف، تغییر شکل غشاء سلول، ایجاد نیروی برشی و ایجاد دمای بالا می‌تواند بر روی فرایند استخراج تأثیر بگذارد. در واقع اساس تمام این سازوکارها ورود امواج صوتی در داخل حلال، نوسانات سیال، ایجاد حباب، رمبش[1] حباب و ایجاد فشار و حرارت است. شوک ناشی از رمبش حباب می‌تواند باعث برخورد ذرات جامد و ریز شدن آنها و یا ایجاد شکاف در غشا سلولی و ایجاد میکرو جریان شود. با توجه به مطالب فوق استخراج با کمک فراصوت دارای مزایایی مثل افزایش جرم منتقل شده، نفوذ بهتر حلال، نیاز کمتر به حلال، کاهش خطرات شیمیایی و فیزیکی، سازگاری با محیط زیست، استخراج در دمای پایین، زمان استخراج کمتر و بازده بالاتر، کیفیت استخراج بالاتر، نیاز به انرژی کمتر و عدم نیاز به آماده‌سازی نمونه است. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که موفقیت استخراج با کمک فراصوت به مشخصه‌های امواج فراصوت به‌کار رفته (مثل فرکانس، شدت، چرخه‌کاری و تناوبی یا پیوسته بودن امواج)، مشخصه‌های محلول (مثل ویسکوزیته و تنش سطحی)، خصوصیات نمونه (مثل رطوبت نمونه و اندازه ذرات)، شرایط محیطی (مثل دما و فشار) و زمان استخراج بستگی دارد. این کمیت‌ها برای استخراج هر ترکیب خاص باید با استفاده از روش پاسخ سطحی به دقت بهینه‌سازی شوند.

واژگان کلیدی: استخراج سبز، فراصوت، محصولات طبیعی، مکانیسم، کاویتاسیون.

۱. مقدمه

امروزه از فراصوت برای اهداف متعدد مثل تمیز کردن سطوح و یا واکنش‌های سونوشیمیایی مانند واکنش با فلزات استفاده می‌شود [۱]. همچنین در صنایع غذایی، دارویی، لوازم آرایشی، نوشیدنی‌ها و ... نمی‌توان خط تولیدی را یافت که در آن فرایند استخراج به‌کار نرفته باشد [۲]. از جمله موارد استفاده از امواج فراصوت در فرایند استخراج می‌توان به استخراج ساکارز از چغندر قند [۳]،

لیپیدها از روغن‌های گیاهی [۴]، هیدروکلوئیدها از منابع صمغی [۵]، رنگدانه‌های بافت گیاهی [۶] و عصاره‌های گیاهی از گیاهان معطر [۷] اشاره کرد. بازده استخراج به میزان پخش مواد داخل سلول به خارج از غشاهای فسفولیپیدی بستگی دارد. در واقع غشاها میزان انتقال آب و املاح را تنظیم می‌کنند. درهرحال این نفوذپذیری انتخابی با دناتوراسیون حرارتی[۲] یا الکترومکانیکی غیرحرارتی از بین می‌رود و محتویات سلول به محیط اطراف آن منتقل می‌شوند [۸]. استخراج با حلال متداول‌ترین روش استخراج است. از معایب این روش می‌توان به طولانی بودن زمان استخراج و مصرف مقادیر زیاد حلال اشاره کرد که موجب به‌کارگیری مراحل اضافی، صرف هزینه نسبتا زیاد، زمان بیشتر برای بازیافت حلال و تغلیظ عصاره اشاره کرد. همچنین این حلال‌ها موجب آسیب به محیط زیست می‌شوند. علاوه‌براین، استفاده از حرارت منجر به تجزیه گرمایی برخی ترکیبات می‌شود که از مطلوبیت این روش به شدت می‌کاهد. روش‌های نوین با توجه به اهمیت استخراج ترکیبات مختلف پا به عرصه نهادند که از آن جمله می‌توان به استخراج با سیال فوق بحرانی [۹]، استخراج با مایع تحت فشار [۱۰]، استخراج با آب داغ تحت فشار [۱۱]، استخراج به کمک امواج مایکروویو [۱۲]، استخراج به کمک فراصوت [۱۳] و .. اشاره کرد. اگرچه که محدودیت‌ها باعث روی آوردن محققان و کارخانه‌داران صنایع غذایی و صنایع شیمیایی به روش‌های جداسازی سبز مثل استخراج مایکروویو، استخراج مایع فوق بحرانی، استخراج فراصوت، اولترافیلتراسیون[۳]، فرایند کاهش فشار کنترل شده و استخراج آب زیر کریستالی شده است و این فناوری‌ها توانایی تولید محصولات با کیفیت بالا و ایمن را دارند، اما محدودیت‌هایی مثل هزینه‌های سرمایه‌گذاری بالا، عدم توانایی کنترل کامل متغیرهای مربوط به فرایند، عدم تأیید قانونی و مهم‌تر از همه عدم پذیرش مصرف‌کنندگان منجر به تأخیر در به‌کارگیری برخی از این روش‌ها در مقیاس صنعتی شده است. در دهه‌های اخیر به‌کارگیری فراصوت در صنایع غذایی موضوع بسیاری از تحقیقات بوده است [۱۴-۱۶]. در واقع تجهیزات فراصوت قابل اعتماد بوده و این فناوری قابلیت استفاده در صنعت را دارد و با توجه به سازگاری با محیط زیست توجه بسیاری از صاحبان صنعت را به خود جلب کرده است [۱۷]. در این مقاله با توجه به اهمیت این روش به بررسی اصول به‌کارگیری فراصوت، سازوکار تأثیرگذاری، عوامل مؤثر بر موفقیت و افزایش بازده استخراج و موارد کاربرد موفق آن در استخراج ترکیبات مختلف خواهیم پرداخت. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که استخراج با کمک فراصوت جایگزین سبز، اقتصادی و مناسب برای روش‌های سنتی استخراج مواد غذایی و محصولات طبیعی است. اثرات مکانیکی فراصوت باعث نفوذ بیشتر حلال در مواد سلولی و بنابراین بهبود انتقال جرم به علت اثرات میکرو جریان می‌شوند. علاوه‌براین استفاده از فراصوت در فرایندهای استخراج باعث اختلال در دیواره سلول بیولوژیکی و در نتیجه آزاد شدن محتویات سلولی می‌شود.

۲. استخراج با کمک امواج فراصوت

فراصوت امواج مکانیکی هستند که برای انتشار به محیط کشسان نیاز دارند. امواج فراصوت و امواج صوتی‌ای که می‌شنویم، فقط در فرکانس متفاوت هستند. فرکانس امواج صوتی در محدوده شنوایی انسان یعنی ۱۶Hz تا kHz ۲۰-۱۶ و فرکانس امواج فراصوت در فرکانس‌های بالاتر از شنوایی انسان و در محدوده فرکانسی ۲۰ kHz تا MHz ۱۰ قرار دارند. استفاده از امواج فراصوت با شدت‌های کم و زیاد دو روش کاربردی در صنایع غذایی و دارویی هستند [۱۸]. امواج فراصوت با شدت کم (به‌طور معمول کمتر از ($1W/cm^2$) و فرکانس بالا (۱۰۰ kHz تا ۱MHz) در تجزیه و تحلیل غیرمخرب به‌ویژه برای ارزیابی کیفیت مواد به‌کار می‌روند. این روش بیشتر به عنوان یک روش تحلیلی

برای ارائه اطلاعات در مورد خواص فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی (مثلا سفتی، رسیدن، محتوای قند و اسیدیته) کاربرد دارد. فراصوت با شدت زیاد ($10-1000 W/cm^2$) و فرکانس پایین (۱۶-۱۰۰ kHz) دارای این قابلیت است که خواص مواد غذایی را به صورت فیزیکی یا شیمیایی تغییر دهد [۱۹].

روش‌های زیادی برای تولید امواج فراصوت به صورت مصنوعی وجود دارند. معمولا برای تولید این نوع امواج از خاصیت پیزوالکتریک[۴] استفاده می‌شود. خاصیت پیزوالکتریک توسط برادران کوری[۵] در سال ۱۸۸۰ کشف شد [۲۰]. اعمال فشار به برخی از بلورها مانند کوارتز که مرکز تقارن ندارند، باعث جابه‌جا شدن دو قطبی‌های بلور و ایجاد میدان الکتریکی می‌شود. عکس این فرایند نیز در مواد پیزوالکتریک رخ می‌دهد، یعنی با اعمال جریان الکتریکی به این‌گونه مواد می‌توان شرایطی را ایجاد کرد که تنش و فشار و در نتیجه ارتعاشات مکانیکی ایجاد شود. اجزای اصلی دستگاه تولید امواج فراصوت عبارت است از: منبع تغذیه، مبدل و شیپوره[۶]. نمایی از این ساختار در شکل ۱ نشان داده شده است.

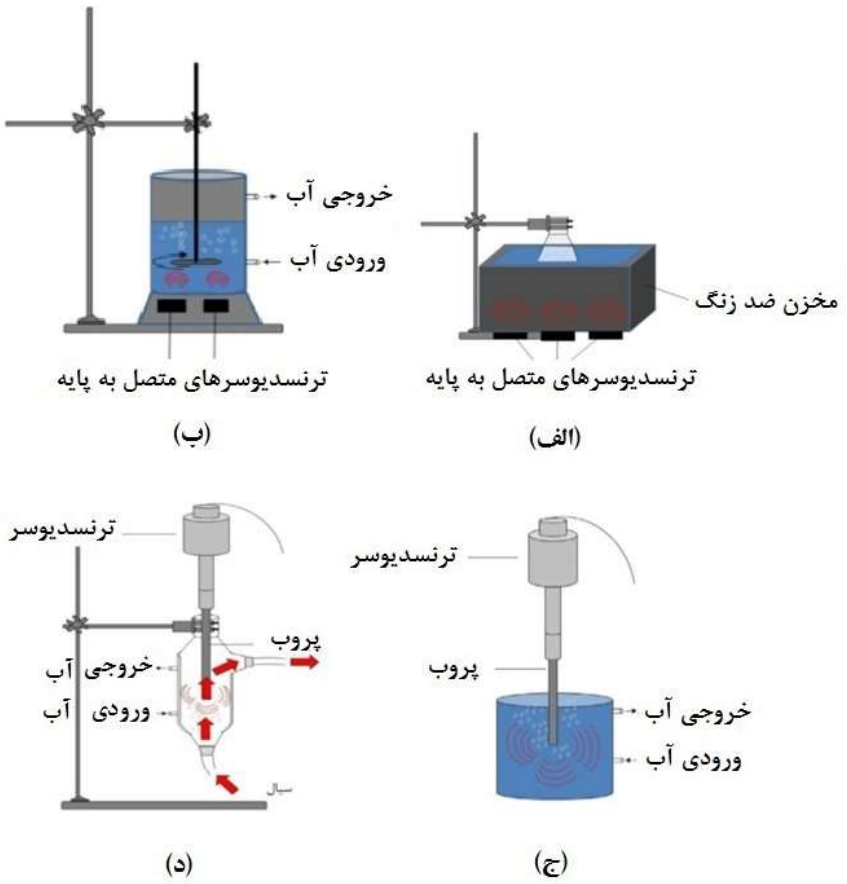
منابع تغذیه در فناوری تولید امواج فراصوت به عنوان مرجع تولید موج با فرکانس بالا شناخته می‌شوند و از نظر ایجاد امواج فراصوت با پایداری بالا و سازگاری با مبدل‌های امواج فراصوت مورد بررسی قرار می‌گیرند. مبدل‌های امواج فراصوت وظیفه تبدیل انرژی الکتریکی، مغناطیسی یا جنبشی به امواج مکانیکی یا به‌عبارتی صوتی را بر عهده دارند. امواج الکتریکی در ماده پیزوالکتریک موجود در مبدل‌ها به امواج صوتی تبدیل می‌شوند. تقویت‌کننده‌ها ابزارهایی هستند که برای افزایش شدت امواج صوتی ایجاد شده به‌کار گرفته می‌شوند و از دو قسمت با سطح مقطع متفاوت تشکیل می‌شوند. جنس این مواد باید به‌گونه‌ای انتخاب شود که مقاومت مناسب در برابر خوردگی و فرسایش ناشی از کاویتاسیون را داشته باشند. همچنین عدم سمی بودن و نیز استحکام کششی بالا از موارد دیگری است که در انتخاب این مواد مورد توجه قرار می‌گیرد.

شکل ۱. نمایی از دستگاه تولید امواج فراصوت الف) مولد فراصوت، ب) پروب دوتایی، ج) هورن‌های فنجانی و د) هورن‌های میکرو صفحه [۲۱].

با توجه به موارد فوق آلیاژ تیتانیم Ti-6Al-4V به عنوان گزینه مناسبی برای این تقویت‌کننده‌ها مطرح و مورد استفاده قرار می‌گیرد. سیستم‌های پروب و حمام دو روش رایج استفاده از امواج فراصوت در فرایند استخراج هستند. به‌کارگیری پروب فراصوت منجر به انتقال انرژی فراصوت بسیار بالاتری به نمونه نسبت به حمام فراصوت می‌شود [۲۲]. امواج در سیستم فراصوت پروبی معمولا در فرکانس حدود ۲۰ کیلوهرتز از مبدل به سطح خیلی کوچک (نوک پروب) و از آنجا با کمترین اتلاف انرژی به محیط استخراج منتقل می‌شوند. انتخاب پروب با توجه به طول، قطر، شکل هندسی نمونه انجام می‌شود. حمام فراصوت معمولا با فرکانس حدود ۴۰ کیلوهرتز کار می‌کند و می‌تواند به کنترل کننده دما مجهز شود. همچنین این حمام ارزان و در دسترس است و تعداد زیادی نمونه را می‌تواند به‌طور

هم‌زمان تیمار کند. علاوه‌براین، دارای راکتور استیل ضد زنگ دو لایه است که با چرخش آب در آن امکان کنترل دما را فراهم می‌کند. از جمله معایب این روش می‌توان به انتقال اندک انرژی از منبع فراصوت به نمونه اشاره کرد [۲]. همچنین برخی تکنیک‌های جدید استخراج با کمک فراصوت مثل استخراج با فراصوت غیرپیوسته و پیوسته نیز گسترش پیدا کردند. پردازنده در مورد استخراج با کمک فراصوت غیرپیوسته به‌طور متناوب امواج را روشن و خاموش می‌کند و این امر منجر به ایجاد گرمای کمتر نسبت به استخراج با کمک فراصوت پیوسته می‌شود.

بنابراین، استخراج با کمک امواج فراصوت تناوبی برای استخراج ترکیبات حساس به دما بسیار مناسب‌تر از حالت پیوسته است. علاوه‌براین، استخراج با کمک فراصوت تناوبی منجر به کاهش خطراتی مثل فرسایش نوک ترنسدیوسر می‌شود [۲۳]. در شکل ۲ چند ساختار متداول برای استخراج با فراصوت نشان داده شده است [۲۴]. در شکل ۲-الف تا ۲-د نمایی از چند دستگاه فراصوت که به‌طور متداول در استخراج به‌کار می‌روند، نشان داده شده است.

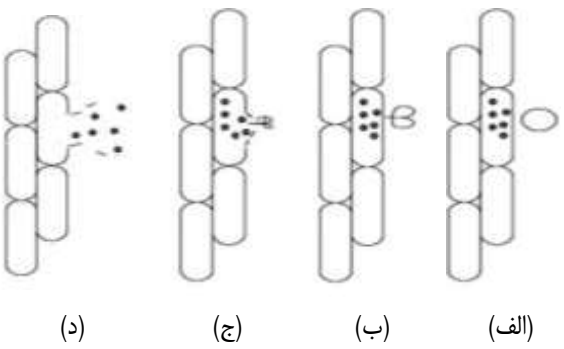


شکل ۲ . چند ساختار متداول به‌کار رفته در استخراج با روش الف) حمام فراصوت، ب) راکتور فراصوت با هم‌زن، ج) پروب فراصوت و د) فراصوت پیوسته با پروب فراصوت.

۳. سازوکار استخراج با فراصوت

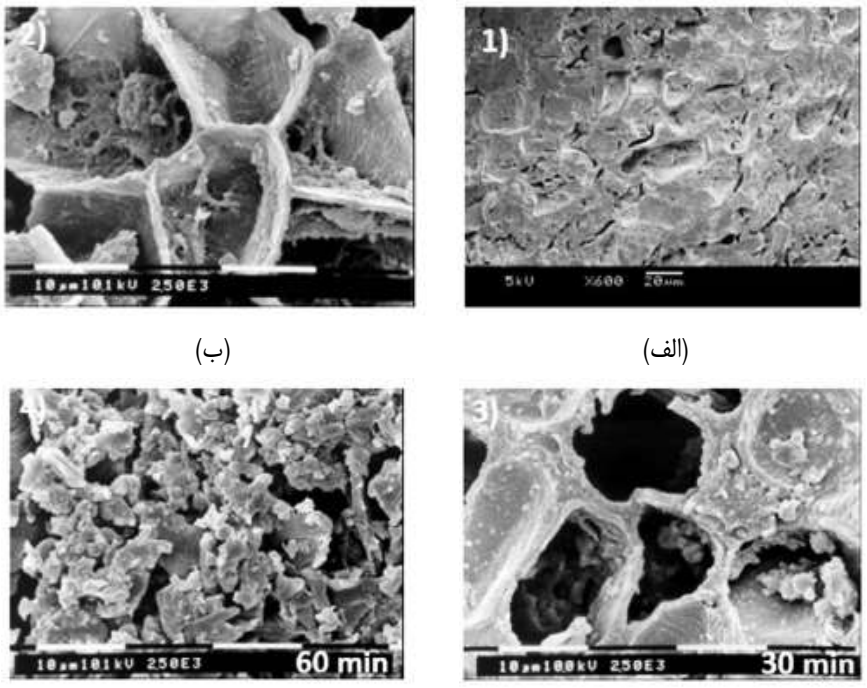
وقتی امواج صوتی به محیط مایع می‌رسند، انقباض و انبساط‌های متناوب در محیط مایع ایجاد می‌شود. در این مناطق با تغییر فشار کاویتاسیون رخ داده و حباب تشکیل می‌شود. این حباب‌ها در طول سیکل انبساط دارای سطح بزرگتری هستند که موجب افزایش انتشار گاز و گسترش

حباب می‌شود. در نهایت در سیکل انقباض به نقطه بحرانی‌ای می‌رسند که در آن انرژی فراصوت برای حفظ فاز بخار در حباب کافی نیست و در نتیجه چگالش سریع رخ داده و مقدار زیادی انرژی آزاد می‌شود [۱۷]. برخورد شدید مولکول‌های متراکم شده باعث ایجاد امواج شوکی می‌شود. این امواج باعث ایجاد نواحی‌ای با درجه حرارت بالا و فشار بالا (بالای $5500^{o}C$ و ۵۰MPa) می‌شود. کاویتاسیون می‌تواند منجر به ایجاد میکرو جریان شود که به‌طور چشم‌گیری سرعت واکنش‌های شیمیایی در محیط را افزایش می‌دهد [۲۵]. میکروجت‌ها در صنایع غذایی و استخراج ترکیبات گیاهی بسیار مؤثرند. زیرا این امر باعث نفوذپذیری حلال در بدنه گیاه شده و همچنین می‌تواند دیواره سلولی را تجزیه کند [۱۸]. این سازوکار در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طورکه در شکل ۳-الف نشان داده شده است، در ابتدا حباب در نزدیکی سطح گیاه ایجاد می‌شود، سپس این حباب مطابق شکل ۳-ب در سیکل فشرده‌سازی به طرف داخل فرو می‌ریزد و یک میکروجت مستقیما به سمت منبع گیاهی ایجاد می‌شود (شکل‌های ۳-ب و ۳-ج). دما و فشار بالایی که در طی این فرایند ایجاد می‌شود، باعث تخریب دیواره سلول گیاه شده و محتویات سلول مطابق شکل ۳-د در محیط رها می‌شود.



شکل ۳. نمایی از الف) کاویتاسیون و ب) فروپاشی حباب، ج) ایجاد میکرو جریان و د) آزادسازی مواد داخل سلول گیاه.

در بعضی موارد پس از استخراج با فراصوت تخریب یا تغییر بافت گیاهی مشاهده شده است. به عنوان مثال این تأثیر در مورد استخراج اسانس از دانه‌های زیره گزارش شده است [۲۶]. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که بازده کل روغن استخراجی با روش متداول و استخراج با کمک فراصوت (فراصوت پروبی، ۲۰ کیلوهرتز) مشابه است [۲۸]. همچنین تغییرات فیزیکی قابل توجهی در دانه‌های زیره در استخراج با کمک فراصوت گزارش شده است [۲۸]. به منظور بررسی تأثیر فراصوت بر روی دانه‌های این گیاه در شکل ۴-الف تا ۴-د تصاویر SEM دانه‌های زیره در شرایط تیمار نشده، پس از استخراج با شیوه متداول، فراصوت‌دهی با پروب ۲۰KHz به مدت ۳۰ دقیقه و فراصوت‌دهی با پروب ۲۰KHz به مدت ۶۰ دقیقه نشان داده شده است [۲۷]. همان‌طورکه مشاهده می‌کنید، تغییرات فیزیکی قابل‌توجهی با توجه به روش استخراج ایجاد می‌شود. دانه‌های کنترلی (فاقد تیمار) دارای ساختاری توپر هستند. همچنین ساختار دانه‌هایی که در استخراج به شیوه متداول به‌کار رفته‌اند، حفظ شده است اما سلول به دلیل انتقال محتوای آن به داخل حلال در حال خالی شدن است. نتیجه بررسی نمونه‌هایی که تحت امواج فراصوت ۲۰KHz به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفته‌اند، نشان می‌دهد که تخریب برخی سلول‌ها در این زمان ایجاد شده است. بررسی نمونه‌های مورد استخراج با پروب فراصوت در زمان ۶۰ دقیقه نشان می‌دهد که دیواره سلولی در جهات مختلف تحت تأثیر امواج فراصوت قرار گرفته و کاملا شکسته و به ساختار نامشخصی تبدیل شده است. انتظار داریم که این تغییر در ساختار سلول باعث دسترسی بهتر حلال به مواد داخل سلول شود. البته لازم به ذکر است که برخی مطالعات و بررسی‌ها حاکی از اثرات مخرب فراصوت بر روی سلول‌های زنده و میکروارگانیسم‌ها یا آنزیم‌ها است [۲۶].



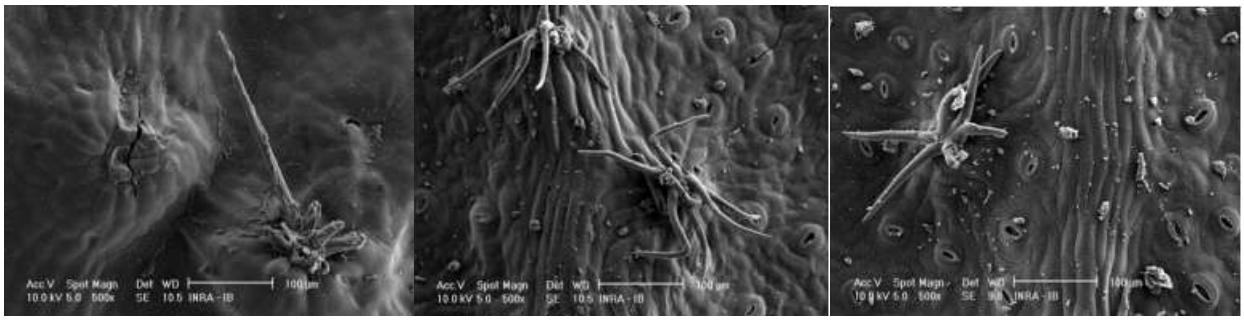
(الف) (ب)

(ج) (د)

شکل۴. تصاویر **SEM** دانه‌های زیره در شرایط الف) تیمار نشده، ب) پس ازاستخراج با شیوه متداول در دمای **۶۰°C** به مدت ۶۰ دقیقه، ج) با استفاده از پروب فراصوت kHz ۲۰ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای بین **۲۰ °C** تا **۳۸°C** و د) با استفاده از پروب فراصوتkHz ۲۰ به مدت ۶۰ دقیقه در دمای بین **۲۰ °C** تا **۳۸°C**.

در شکل‌های ۵-الف تا ۵-د به ترتیب تصاویر SEM برگ‌های بولدو[۷] در شرایط عادی، پس از ۲ ساعت ماکسایش[۸] و تحت استخراج با کمک فراصوت نشان داده شده است [۲۸]. همان‌طورکه مشاهده می‌کنید، پس از ۲ ساعت ماکسایش شکننده‌ترین قسمت‌های برگ شروع به آسیب دیدن کرده است. البته درهرحال بیشتر آنها بدون آسیب باقی مانده‌اند و ساختاری شبیه ساختار بدون فراوری دارند. در مورد استخراج با فراصوت شرایط کاملا متفاوت است و بیشتر قسمت‌های کرک گیاهی بریده شده و اگر کرک گیاهی‌ای وجود دارد نیز به شدت آسیب دیده است. سلول‌های اطراف این زائده‌ها نیز به شدت شکاف برداشته‌اند. این پدیده‌ها به دلیل رمبش ناشی از کاویتاسیون اتفاق افتاده است. همچنین بررسی‌ها نشان داد که بازده استخراج در شرایط وجود فراصوت بیشتر از ماکسایش است. اختلاف بین نتایج این دو شیوه استخراج را می‌توان براساس سطح تماس بین برگ و آب توجیه کرد. در واقع حلال با دو طرف برگ یا به عبارتی با محیط اطراف برگ در ارتباط است.

به‌طورکلی با ریز شدن برگ‌ها عملا سطح تماس حلال و برگ افزایش می‌یابد. رمبش ناشی از کاویتاسیون باعث فرسایش سطح برگ می‌شود و بنابراین سطح تماس برگ و حلال در طی زمان افزایش می‌یابد. از طرفی ایجاد شکاف در برگ باعث نفوذ عمیق‌تر آب در برگ می‌شود. این درحالی است که در روش متداول تنها سازوکار موجود همان پدیده پخش حلال در داخل برگ است.



(ج) (ب) (الف)

شکل ۵. تصاویر SEM برگ‌های بولدو الف) کنترلی، ب) پس از ۲ ساعت ماکسایش و ج) تحت استخراج با کمک فراصوت.

البته لازم به ذکر است که سازوکارهای مختلفی در مورد استخراج با کمک فراصوت مطرح شده است که ریشه تمام آنها در پدیده‌های فوق است. ریز شدن قطعات گیاه یکی از این سازوکارها است. شوک‌های ناشی از فروپاشی حباب‌ها در مایع منجر به ریز شدن ذرات جامد و کاهش اندازه ذرات می‌شود. کاهش اندازه ذرات باعث افزایش سطح تماس جامد با مایع و بنابراین، افزایش انتقال جرم و در نتیجه افزایش استخراج با فراصوت می‌شود [۲۹]. در شکل ۶ تأثیر فراصوت بر روی ریز شدن قطعات برگ با استفاده از روش UAE[۹] و ماکسایش نشان داده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌کنید، قطعات اسفناج در روش UAE بسیار ریزتر از روش ماکسایش است.

(ب) (الف)

شکل۶. ابعاد قطعات اسفناج به‌کار رفته در استخراج کلروفیل از اسفناج با روش الف) ماکسایش و ب) UAE [۲].

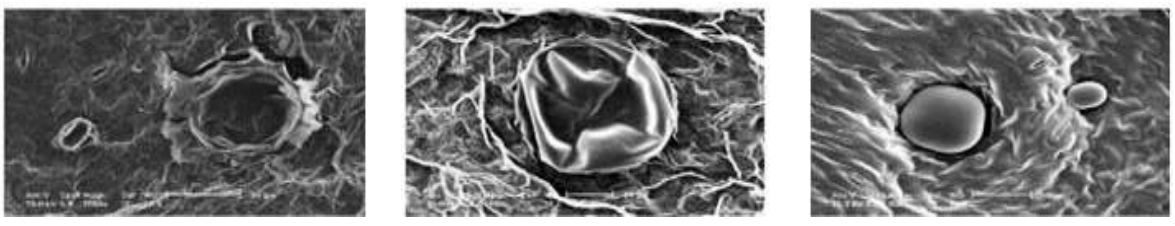
همان‌طورکه گفته شد، در برخی موارد مشاهده شده است که به‌کارگیری فراصوت منجر به ریز شدن قطعات گیاه نمی‌شود، اما با این حال بازده استخراج افزایش می‌یابد. در این موارد مشاهده سطح برگ قبل و بعد از تیمار نشان می‌دهد که فراصوت بر روی آنها اثر موضعی داشته است. در واقع انفجار حباب‌ها در سطح برگ موجب فرسایش بافت گیاهی، افزایش سطح تماس، افزایش حلالیت و در نهایت افزایش بازده استخراج شده است.

همچنین از اثرات مویرگی– شیمیایی فراصوت نیز نمی‌توان صرف نظر کرد. اگر چه مکانیسم UAE به‌طور کامل شناخته نشده است ولی رابطه بین کاویتاسیون و UAE اثبات شده است [۳۰]. اثر مویرگی فراصوت به افزایش عمق و سرعت نفوذ مایع به کانال‌ها و منافذ ساختار مورد عصاره‌گیری کمک می‌کند [۳۱]. پینگرت[۱۰] و همکارانش به مطالعه تأثیر فراصوت بر روی بازده استخراج پلی‌فنل‌ها از سیب پرداختند و بهبود شرایط را گزارش کردند [۳۰].

همچنین اثر سونوپوریشن[11] فراصوت نیز برای افزایش نفوذپذیری در غشاهای سلولی کاربرد دارد.

سونوپوریشن برای تخریب سلول (سونوپوریشن برگشت‌ناپذیر، در حدود ۵۰۰ kHz) یا در آزمایشگاه برای درک جذب سلولی مثلا داروها یا ژن‌ها (سونوپوریشن برگشت‌پذیر، در حدود ۲۰ kHz) کاربرد دارد [۳۲, ۳۳]. در استخراج با کمک فراصوت با توجه به شرایط آزمایشگاهی از اثر سونوپوریشن برگشت‌پذیر یا برگشت‌ناپذیر برای افزایش نفوذپذیری و یا تخریب غشاء سلولی استفاده می‌شود. ریشه هر دو فرایند در پدیده کاویتاسیون است که در مورد اول کاویتاسیون باعث تغییر غشاء سلولی و افزایش نفوذپذیری و در مورد دوم باعث تخریب غشاء سلولی می‌شود. نتایج تحقیق در مورد بازیافت روغن در سلول‌های مخمر با فرکانس فراصوت ۲۰ kHz نشان داد که بازده استخراج در این شرایط بسیار بالاتر از استخراج معمولی و بدون استفاده از فراصوت است. در واقع افزایش بازده در این شرایط ناشی از تغییرات سطح مخمر به دلیل پدیده کاویتاسیون است [۲].

از اثرات دیگر استفاده از فراصوت می‌توان به ایجاد تنش برش موضعی اشاره کرد. وقتی امواج صوتی وارد مخلوط مایع – جامد می‌شوند، در داخل مایع و در مجاورت مواد جامد نیروهای برشی ایجاد می‌شوند. نیروهای برشی ناشی از نوسانات و فروپاشی حباب‌های کاویتاسیون در داخل مایع است. این میکرو جریان‌ها و جریان‌های صوتی در مواردی که از امواج صوتی برای مخلوط کردن و یا امولسیون‌سازی استفاده می‌شود، مورد توجه قرار می‌گیرند [۳۴]. UAE می‌تواند بسیاری از اثرات برشی مشاهده شده را توجیه کند [۳۵]. به منظور درک بهتر این فرایند تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM مربوط به استخراج اسانس از ریحان در سه شرایط کنترلی، ماکسایش و پروب فراصوت ۲۵ kHz به ترتیب در شکل‌های ۷–الف تا ۷–ج نشان داده شده است [۱]. همان‌طورکه مشاهده می‌کنید، ماکسایش بر روی حفاظ خارجی غده روغن تأثیری نداشته است. شکل مربوط به استفاده از فراصوت نشان می‌دهد که ظاهرا غده روغن منفجر شده است. این درحالی است که سایر اثرات استفاده از فراصوت مثل سوراخ شدن یا فرسایش روی تصویر SEM برگ مشاهده نمی‌شود. می‌توان این فرضیه را بیان کرد که احتمالا نیروهای برشی موضعی به دلیل رمبش حباب کاویتاسیون در نزدیکی غده روغن ایجاد شده و این امر باعث پارگی آن شده است. فرضیه دیگر می‌تواند این باشد که پدیده کاویتاسیون در داخل غده روغن ایجاد شده باشد و یا فشار زیادی در داخل غده ایجاد شده باشد و این امر موجب انفجار آن شده است.



(الف) (ب) (ج)

شکل ۷. تصاویر میکروسکوپ الکترونی SEM در نمونه استخراج اسانس از ریحان الف) کنترلی ، ب) بعد از ماکسایش و ج) بعد از فراصوت‌دهی (۲۵ کیلوهرتز) [۱].

با توجه به مطالب فوق انتظار می‌رود که استخراج با کمک فراصوت UAE دارای مزایایی مثل افزایش جرم استخراج شده، نفوذ بهتر حلال، استفاده کمتر از حلال، استخراج در دمای پایین، استخراج سریع‌تر و بازده بالاتر باشد. توانایی فراصوت در کاویتاسیون به مشخصه‌های امواج فراصوت (مثل فرکانس و شدت)، مشخصه‌های محصول (مثل ویسکوزیته و کشش سطحی) و شرایط محیطی (مثل دما و فشار) بستگی دارد [۳۶] که در ادامه به آنها خواهیم پرداخت.

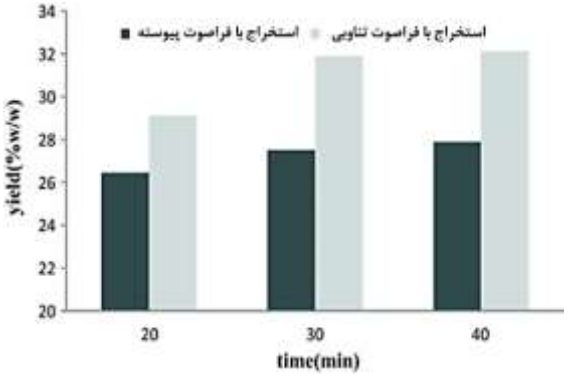
٤. بررسی عوامل مؤثر بر استخراج با فراصوت

فرکانس، شدت امواج فراصوت، فضای گاز یا فشار هیدرواستاتیک، نوع و دمای حلال و طراحی آزمایش از جمله عواملی هستند که فرایند کاویتاسیون را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نوع حلال، زمان استخراج، نسبت جامد به حلال، چرخه کار، قدرت فراصوت و دما عوامل مؤثر بر بهره‌وری استخراج هستند. طبیعتا انتخاب مناسب‌ترین حلال برای استخراج یکی از مهم‌ترین عوامل موجود بر فرایند استخراج در هر روش استخراج است. همچنین شاخص پلیمری، ویسکوزیته، تنش سطحی و فشار بخار حلال از جمله عواملی هستند که باید در انتخاب حلال مناسب مورد توجه قرار گیرند. فشار بخار کم حلال باعث ایجاد حباب کمتر می‌شود اما رمبش این حباب‌ها باعث ایجاد نیروی بیشتر شده و احتمالا مقدار بیشتری از ترکیبات مورد نظر را از ماده نمونه استخراج می‌کند. علاوه‌براین، حلال‌ها براساس ماهیت شیمیایی و قطبیت ترکیبات آنتی اکسیدانی که باید استخراج شوند، انتخاب می‌شوند.

بیشتر فنول‌ها، فلاوانوئیدها و آنتوسیانین‌ها در واقع آنتی اکسیدان‌های محلول در آب هستند. حلال‌های قطبی و تقریبا قطبی مانند آب، اتانول، متانول، پروپانول، استون و مخلوط‌های آبی آنها به‌طور گسترده برای استخراج مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۷]. کاروتنوئیدها آنتی اکسیدان‌های محلول در چربی هستند و برای استخراج آنها غالبا از حلال‌های آلی معمولی مانند مخلوط‌های هگزان با استون، اتانول، متانول یا مخلوط استیل اتیل با استون، اتانول و متانول استفاده می‌شود [۳۸-۴۰]. با توجه به اینکه احتمالا استفاده مداوم از فراصوت منجر به تخریب مواد می‌شود، بنابراین توصیه می‌شود از فراصوت به صورت پیوسته استفاده نشود و یک چرخه کاری برای سیستم انتخاب و زمان روشن و خاموش شدن دستگاه فراصوت تعیین شود. دما بر حلالیت، سرعت انتقال ترکیبات هدف به حلال و نیز پدیده کاویتاسیون تأثیر می‌گذارد. هم کاویتاسیون و هم اثرات حرارتی تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد استخراج دارند. کاویتاسیون موجب آشفتگی زیاد می‌شود. اثرات حرارتی نیز مسئول حلالیت بیشتر ترکیبات در حلال و بهبود انتقال جرم به دلیل کاهش ویسکوزیته حلال است [۱۷].

دامنه امواج با افزایش توان فراصوت افزایش می‌یابد و بنابراین رمبش حباب‌ها منجر به انفجار قوی‌تر خواهد شد [۴۱]. فرکانس فراصوت، شدت، دما و زمان می‌تواند به‌طور مستقیم بر راندمان استخراج تأثیر بگذارد. علاوه‌براین، ویژگی‌های نمونه مانند رطوبت نمونه و اندازه ذرات نیز از عوامل مهم در استخراج هستند [۴۲].

در شکل ۸ تأثیر دو شیوه استخراج پیوسته و تناوبی پکتین از گریپ‌فروت در زمان‌های مختلف نشان داده شده است [۱۹]. همان‌طورکه ملاحظه می‌کنید روش استخراج و نیز زمان استخراج بسیار مهم هستند.



شکل ۸. تأثیر روش و زمان فراصوت‌دهی بر بازده استخراج پکتین از گریپ‌فروت.

معمولا بهینه‌سازی پارامترهای مختلف استخراج به روش پاسخ‌دهی سطحی[۱۲] یا RSM انجام می‌شود. این روش در سال ۲۰۱۱ برای اولین بار توسط وونگ[۱۳] و همکارانش مطرح شد [۴۳]. آنها تابعی به صورت زیر تعریف کردند.

$$\gamma = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i X_i + \sum_{\substack{i=1 \\ i<j}}^{k-1} \sum_{j=2}^{k} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} X_i^2 \qquad (۱)$$

که در اینجا Y تابع پاسخ و X_i ها کمیت‌های مستقل و تأثیرگذار بر تابع پاسخ هستند. همچنین β_0، β_i، β_{ii} و β_{ij} نیز به ترتیب ضرایب رگرسیون مربوط به جملات خطی، مرتبه دوم و برهم‌کنشی هستند. k نیز تعداد کمیت‌های مستقل مسئله است. با توجه به اینکه هدف پیدا کردن بیشترین بازده استخراج با امواج فراصوت است، بنابراین بازده فرایند استخراج Y باید بهینه‌سازی شود. کارهای تجربی نشان داده است که سه فرایند دمای ناشی از امواج فراصوت، زمان تابش و توان امواج فراصوت بر بازده استخراج هر ماده دارویی بسیار تأثیرگذار هستند، بنابراین می‌توان k را با توجه به انتخاب پارامترهای مؤثر ۳ درنظر گرفت. متغیرهای مستقل در این شرایط عبارتند از:

X_1 دمای ناشی از امواج فراصوت (T)

X_2 زمان تابش (t)

X_3 توان امواج فراصوت (P)

بنابراین رابطه ۱ به صورت زیر بازنویسی می‌شود.

$$\gamma = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 t + \beta_3 P + \beta_{12} T t + \beta_{13} T T_1 P + \beta_{23} t P + \beta_{11} T^2 + \beta_{22} t^2 + \beta_{33} P^2 \qquad (۲)$$

برای بررسی تأثیر سه پارامتر تأثیرگذار بر استخراج هر ماده زیست فعال می‌توان از رابطه فوق استفاده کرد و مقدار بیشینه این Y در واقع شرایط بهینه برای فرایند استخراج ماده مورد نظر با امواج فراصوت است. البته لازم به ذکر است که با توجه به ترکیبات قابل استخراج می‌توان متغیرهای متفاوت و k بزرگتر را انتخاب کرد.

بهینه‌سازی استخراج مواد مختلف با استفاده از این شیوه گزارش شده است. به عنوان مثال بهینه‌سازی استخراج آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی از پالپ توت[۱۴] با کمک فراصوت با توجه به متغیرهای غلظت متانول (در بازه ۵۰٪ تا ۱۰۰٪)، دما (در بازه ۱۰°C تا ۷۰°C)، دامنه امواج فراصوت (۳۰٪ تا ۷۰٪)، دوره تناوب روشن و خاموش شدن (۰/۲ تا ۰/۷ ثانیه)، pH حلال (۳ تا ۷) و نسبت حلال به جامد (۱۰:۱/۵ تا ۲۰:۱/۵) انجام و نتایج مورد بررسی قرار گرفته است تا مقادیر کمیت‌ها برای دستیابی به بیشترین بازده بهینه‌سازی شود. نتایج این تحقیق نشان داد که دمای استخراج و غلظت حلال مهم‌ترین پارامترهای استخراج آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی هستند [۴۴].

همچنین باقریان و همکارانش نیز زمان حرارت‌دهی و دمای حمام فراصوت را به عنوان مهم‌ترین فاکتورهای

استخراج پکتین از گریپ‌فروت به روش فراصوت گزارش کردند. آنها دریافتند که استخراج به کمک فراصوت نسبت به روش مرسوم بیش از سه برابر سریع‌تر اتفاق می‌افتد [۱۹].

۵. کاربردهای استخراج با فراصوت

مواد غذایی مانند میوه‌ها و سبزیجات، چربی و روغن، شکر، لبنیات، گوشت‌ها، قهوه و کاکائو، غذاها و آردها ترکیبات پیچیده‌ای از ویتامین‌ها، قندها، پروتئین‌ها و چربی‌ها، فیبرها، مواد معطر، رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌ها و مواد آلی و ترکیبات معدنی دیگر هستند. قبل از اینکه این محصولات قابل فروش باشند، باید فراوری شوند. برای این منظور می‌توان از روش‌های مختلفی مثل سرخ کردن، خشک کردن و ... استفاده کرد. برخی از مواد غذایی و اجزاء آن به حرارت حساس بوده و نسبت به تغییرات فیزیکی و شیمیایی و میکروبیولوژیکی آسیب‌پذیرند. لذا استفاده از تکنیک‌های جدید و سازگار با محیط مثل فراصوت که به زمان، آب و انرژی کمتری نیاز دارند، مناسب است. از جمله کاربردهای این تکنیک می‌توان به تعیین کیفیت محصولات طبیعی، افزودنی‌های مواد غذایی و میزان آلاینده‌ها در نمونه‌های مواد غذایی و یا حتی استخراج آلاینده‌ها از منابع طبیعی اشاره کرد. همچنین استخراج با کمک فراصوت گزینه خوبی برای استخراج ترکیبات آلی از منابع مختلف است، زیرا این امر باعث تماس مؤثرتر بین جامد و حلال به دلیل افزایش فشار (منجر به نفوذ و انتقال ترکیبات) و درجه حرارت (منجر به افزایش حلالیت و نفوذ) می‌شود. علاوه‌براین چندین فرایند استخراج می‌تواند به‌طور هم‌زمان انجام شود و هیچ وسیله آزمایشگاهی خاصی لازم نیست. گروه‌های مختلف مواد غذایی مثل مواد معطر، رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌ها و سایر ترکیبات آلی و معدنی، افزودنی‌ها و آلاینده‌های محیطی منابع مختلف که عمدتا بافت‌های حیوانی، مواد غذایی، مواد گیاهی، آب، خاک و رسوب هستند، به‌طور مؤثر با کمک فراصوت استخراج و تجزیه و تحلیل شده‌اند [۴۵]. در ادامه به نمونه‌هایی از استخراج با کمک فراصوت از میوه‌ها و سبزی‌ها، گیاهان و ادویه‌ها، دانه‌های روغنی و میکروارگانیسم‌ها خواهیم پرداخت.

میوه‌ها و سبزی‌ها برای استخراج مولکول‌های متفاوتی مثل آنتی اکسیدان‌ها، رنگدانه‌ها، چربی‌ها، رایحه‌ها و غیره و نیز برای استفاده مستقیم یا غیرمستقیم در صنایع غذایی، دارویی و لوازم آرایشی استفاده می‌شوند. آنتی اکسیدان‌ها با واکنش با عامل اکسیدکننده به جای سلول‌های معرف یا مولکول‌های مورد نظر امکان جلوگیری از فرایند اکسیداسیون را فراهم می‌کنند [۴۶]. امروزه در صنایع آرایشی، دارویی و صنایع غذایی از مواد جایگزین مصنوعی مانند هیدروکسی آنیول باتیل (BHA)، هیدروکسی متولید بوتیل (BHT) استفاده می‌شود که برای سلامتی انسان مضر است [۴۷]. بنابراین بهتر است که استخراج این ترکیبات از میوه‌ها و سبزی‌ها انجام شود. روش‌های مرسوم برای استخراج آنتی اکسیدان‌ها عبارتند از روش استخراج سوکسله[۱۵] و ماکسایش. همان‌طورکه گفته شد این روش‌ها وقت‌گیر و به حجم زیاد حلال نیاز دارند [۴۸]. پن[۱۶] و همکارانش مقایسه‌ای بین روش‌های UAE و روش‌های مرسوم در استخراج آنتی اکسیدان‌ها از پوست انار انجام داده‌اند. نتایج آنها نشان داد که به‌طورکلی استفاده از فراصوت باعث افزایش بیشینه مقدار استخراج آنتی اکسیدان‌ها می‌شود و فعالیت آنتی اکسیدانی را بهبود می‌بخشد. این بهبود شرایط درحالی اتفاق می‌افتد که میزان مصرف انرژی و نیز زمان استخراج کاهش می‌یابد [۴۹]. همچنین استفاده از فراصوت برای استخراج کاروتنوئیدها از محصولات جانبی مثل پوست، دانه و بخش‌هایی از گوشت تکنولوژی امیدوارکننده‌ای است. در این شیوه بازده استخراج کاروتنوئیدها تا ۱۴۳٪ درصد نسبت به شرایط متداول افزایش یافت [۵۰].

معمولا برای غذا، لوازم آرایشی یا برخی داروها از ترکیبات مختلف مثل آنتی اکسیدان‌ها، کپسئینوئیدها، مواد معطر، طعم دهنده‌ها، رایحه‌ها یا ترکیبات فرار استفاده می‌شود که می‌توانند از گیاهان و ادویه‌های مختلف مثل فلفل، رزماری یا زیره سیاه استخراج شوند [۲]. این ترکیبات معمولا با غلظت کم در انواع گیاهان معطر، ریشه‌ها، ساقه‌ها، دانه‌ها، برگ‌ها، گل‌ها یا میوه‌ها وجود دارند و در صورت استخراج می‌توانند در صنایع غذایی، پزشکی و یا عطرها مورد استفاده قرار بگیرند. موفقیت استفاده از فراصوت در استخراج این ترکیبات گزارش شده است [۲].

چربی‌ها و روغن‌ها منبع اصلی انرژی مورد استفاده در بدن هستند و علاوه‌بر مشارکت در انتقال پالس‌های عصبی در حفظ یکپارچگی غشاء سلولی نیز نقش داشته و ماده تشکیل‌دهنده بسیاری از هورمون‌ها هستند [۵۱]. سویا به تنهایی بیش از ۷۰ درصد سهم روغن تولید شده جهانی را تشکیل می‌دهد. آفتابگردان و کلزا نیز هر کدام سهم ۱۵ درصدی دارند. روغن‌ها همچنین در میوه‌ها مثل مغزها، بادام، دانه‌های پاپایا، هسته میوه‌ها یافت می‌شوند. دانه‌های روغنی منابع چربی‌ای هستند که ماتریس‌های پیچیده‌ای دارند و امکان استخراج عصاره مونو آسیلیک گلیسیرین (MAG) و یا زیل گلیسیرین (DAG)، تریاسیل گلیسیرین (TAG) و اسیدهای چرب آزاد (FFA) متصل به ترکیبات ریز (معروف به ریز مغذی) مثل رنگدانه‌ها، استرول‌ها، آنتی اکسیدان‌ها، آلکالوئیدها از آنها وجود دارد [۵۱]. به‌طورکلی استخراج روغن‌ها با استفاده از مقادیر زیادی هگزان به عنوان حلال انجام می‌شود [۵۲]. نتایج تحقیقات در این مورد نشان داده است که استخراج با روش سوکسله با کمک فراصوت موفقیت‌آمیز است [۵۳]. UAE یک روش تمیز و مناسب برای استخراج چربی‌ها است که با استفاده از آن نیازی به استفاده از مقدار زیادی حلال و وسایل حجیم استخراج مانند سوکسله و ماکسایش وجود ندارد و به دلیل کاهش زمان و مصرف انرژی و زیست‌سازگار بودن برای استخراج چربی‌ها توصیه می‌شود.

متابولیت‌های اولیه مستقیما در مراحل رشد و نمو یا تولید مثل یک ارگانیسم زنده شرکت می‌کنند. متابولیت‌های ثانویه ترکیبات آلی‌ای هستند که مستقیما در مراحل رشد شرکت ندارند و غیبت متابولیت‌های ثانویه به مرگ فوری یاخته منجر نمی‌شود، اما ممکن است در دراز مدت سبب اختلال در بقای موجود زنده، باروری یا ویژگی‌های ظاهری آن شود. میکروارگانیسم‌ها مثل باکتری‌ها، مخمرها، قارچ‌ها و میکروجلبک‌ها[۱۷] قادر به تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه به عنوان رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌ها، پلی ساکاریدها، اسیدها و لیپیدها هستند که در لوازم آرایشی و بهداشتی، غذا، دارو و سوخت‌های زیست‌سازگار کاربرد دارند. چربی‌ها در میکروارگانیسم‌های روغنی[۱۸] عمدتا به صورت لیپیدهای طبیعی، گلیکولیپیدها[۱۹]، فسفولیپیدها[۲۰] و اسیدهای چرب آزاد (FFA) یافت می‌شوند [۵۴]. استخراج با حلال آلی غیرقطبی یا قطبی مانند کلروفرم[۲۱] یا هگزان روش متداول استخراج چربی از این میکروارگانیسم‌ها است [۵۵]. نتایج بررسی دو روش استخراج به کمک فراصوت بدون حلال و روش استخراج متداول در بازیابی چربی از توده نوع خاصی جلبک نشان داده است که با استفاده از فراصوت بازده بالاتر در زمان کوتاه‌تر نسبت به شرایط متداول به‌دست می‌آید و این شیوه استخراج بسیار ساده‌تر است [۵۶]. استفاده هم‌زمان حلال‌های متداول مثل کلروفرم یا متانول در استخراج چربی از میکروارگانیسم‌های روغنی با کمک فراصوت نشان داده است که در این شرایط زمان استخراج از ۱۲ ساعت به ۱۵ دقیقه کاهش می‌یابد [۵۷].

٦. جمع‌بندی و نتیجه‌گیری

در این مقاله سازوکار تأثیر امواج فراصوت در استخراج ترکیبات مختلف از میوه‌ها و سبزی‌ها، گیاهان و ادویه‌ها، دانه‌های روغنی و میکروارگانیسم‌ها مورد بررسی قرار

گرفته است. وقتی امواج فراصوت وارد محیط حلال می‌شوند، نوسانات شاره اتفاق افتاده و با تغییر فشار، کاویتاسیون ایجاد می‌شود. در طی انبساط و انقباض حباب شرایط بحرانی‌ای محقق می‌شود که منجر به فرو ریزش حباب و آزاد شدن مقدار زیادی انرژی می‌شود. فروپاشی این حباب‌ها باعث ایجاد فشار بالا (بالای ۵۰ MPa) و درجه حرارت بالا (بالای ۵۵۰۰ ^{o}C) می‌شود که منجر به اثرات فیزیکی جالب توجه زیادی می‌شود. این اثرات مکانیکی و حرارتی می‌توانند باعث ریز شدن قطعات برگ یا فرسایش سطح برگ و افزایش سطح تماس برگ و حلال، گردش مایع، شکستن دیواره سلولی، کاهش اندازه ذرات و افزایش انتقال جرم از طریق غشاء سلولی شوند. در نتیجه نفوذ حلال به بدنه گیاه افزایش می‌یابد. بنابراین، بازده استخراج با UAE افزایش خواهد یافت. UAE دارای مزایایی مانند نفوذ بهتر حلال، افزایش جرم منتقل شده، وابستگی کمتر به استفاده از حلال، استخراج در دمای پائین‌تر و زمان کوتاه‌تر با بازده بالاتر است. همچنین این روش نسبت به روش‌های استخراج متداول که بسیار وقت‌گیر هستند و نیاز به انرژی زیاد و آماده‌سازی نمونه دارند دارای مزایایی مثل عدم نیاز به آماده‌سازی نمونه، مصرف انرژی کمتر، کاهش خطرات شیمیایی و فیزیکی و سازگاری با محیط زیست است. این روش در مورد ترکیبات حساس به دما بسیار مناسب است. موفقیت استخراج با کمک فراصوت به مشخصه‌های امواج فراصوت به‌کار رفته (مثل فرکانس، شدت، چرخه کاری و تناوبی یا پیوسته بودن امواج)، مشخصه‌های محلول (مثل ویسکوزیته و تنش سطحی) و شرایط محیطی (مثل دما و فشار) و زمان استخراج بستگی دارد و این کمیت‌ها باید برای استخراج هر ترکیب خاص از ماده مورد نظر بهینه‌سازی شوند. همچنین برخی خصوصیات نمونه مثل رطوبت نمونه و اندازه ذرات نیز از عوامل مؤثر بر فرایند استخراج هستند. معمولا در ابتدا عوامل مؤثر بر فرایند استخراج شناسایی و با استفاده از روش پاسخ سطحی بهینه‌سازی انجام می‌شود. استخراج آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی از میوه‌ها و سبزی‌ها، کلروفیل و اسانس از گیاهان و ادویه‌ها، روغن از دانه‌های روغنی و چربی از میکروارگانیسم‌های روغنی با کمک فراصوت نشان داده است که به‌کارگیری این فناوری با توجه به سازوکار بیان شده منجر به بهبود قابل توجه شرایط استخراج و حتی کاهش زمان استخراج از ۱۲ ساعت به ۱۵ دقیقه می‌شود.

۷. مآخذ

[1] Chemat, Farid, Natacha Rombaut, Anne-Sylvie Fabiano-Tixier, Jean T. Pierson, and Antoine Bily, "Green extraction: from concepts to research, education, and economical opportunities", *Green extraction of natural products*, 2015, pp.1-36.

[2] Chemat, Farid, Natacha Rombaut, Anne-Gaëlle Sicaire, Alice Meullemiestre, Anne-Sylvie Fabiano-Tixier, and Maryline Abert-Vian, "Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review", *Ultrasonics sonochemistry*, 2017, Vol.34, pp.540-560.

[3] Fu, Xiong, ZhenGang Zhao, Shujuan Yu, Wenjiang Chen, and Jianguo Wang, "The ultrasonic-assisted extraction of sugar from sugar beet cossettes", *International Sugar Journal*, 2013, Vol.115, no.1378, pp.692-696.

[4] Hassan, Sadia, Muhammad Imran, Nazir Ahmad, and Muhammad Kamran Khan, "Lipids characterization of ultrasound and microwave processed germinated sorghum", *Lipids in health and disease*, 2017, Vol.16, no.1, p.125.

[5] Bostan, Aram, Seyed MA Razavi, and Reza Farhoosh, "Optimization of hydrocolloid extraction from wild sage seed (Salvia macrosiphon) using response surface", *International Journal of Food Properties*, 2010, Vol.13, no.6, pp.1380-1392.

[6] Wang, Haitang, Lin Shi, Xiaoyu Yang, Rui Hong, and Liang Li, "Ultrasonic-Assisted Extraction of Natural Yellow Pigment from Physalis pubescens L. and Its Antioxidant Activities", *Journal of Chemistry*, 2018.

[7] Oreopoulou, Antigoni, Dimitrios Tsimogiannis, and Vassiliki Oreopoulou, "Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters", In *Polyphenols in Plants*, Academic Press, 2019, pp. 243-259.

[8] Gavahian, Mohsen, Yan- Hwa Chu, and Sudhir Sastry, "Extraction from food and natural products by moderate electric field: Mechanisms, benefits, and potential industrial applications", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2018, Vol.17, no.4, pp.1040-1052.

[9] Capuzzo, Andrea, Massimo E. Maffei, and Andrea Occhipinti, "Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances," *Molecules*, 2013, Vol.18, no.6, pp.7194-7238.

[10] P. Otero, S. Quintana, G. Reglero, T. Fornari, and M. García-Risco, "Pressurized liquid extraction (PLE) as an innovative green technology for the effective enrichment of galician algae extracts with high quality fatty acids and antimicrobial and antioxidant properties", *Marine drugs*, 2018, Vol.16, no.5, p.156.

[11] Plaza, Merichel, and Charlotta Turner, "Pressurized hot water extraction of bioactives", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2015, Vol.71, pp.39-54.

[12] Kaderides, Kyriakos, Lygeri Papaoikonomou, Melania Serafim, and Athanasia M. Goula, "Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction", *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 2019, Vol.137, pp.1-11.

[13] Karachun, Volodimir, Ludmila Ruzhinska, and Zhanna Ostapenko, "Research of influence of ultrasound on the extraction process of vegetable oil", *Technology audit and production reserves*, 2019, Vol.1, no.3, Issue.45.

[14] Palanisamy, Nandhini, Brent Seale, Adrian Turner, and Yacine Hemar, "Low frequency ultrasound inactivation of thermophilic bacilli (Geobacillus spp. and Anoxybacillus flavithermus) in the presence of sodium hydroxide and hydrogen peroxide", *Ultrasonics sonochemistry*, 2019, Vol.51, pp.325-331.

[15] Temizkan, Riza, Mustafa Atan, Mehmet Burak Büyükcan, and Cengiz Caner, "Efficacy evaluation of ultrasound treatment on the postharvest storability of white nectarine by both physicochemical and image processing analyses", *Postharvest Biology and Technology*, 2019, Vol.154, pp.41-51.

[16] Ran, Xin-li, Min Zhang, Yuchuan Wang, and Bhesh Bhandari "Dielectric properties of carrots affected by ultrasound treatment in water and oil medium simulated systems", *Ultrasonics sonochemistry*, 2019, Vol.56, pp.150-159.

[17] Chemat, Farid, and Muhammed Kamran Khan, "Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction", *Ultrasonics sonochemistry*, 2011, Vol.18, no.4, pp.813-835.

[18] Soria, Ana Cristina, and Mar Villamiel, "Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review", *Trends in food science & technology*, 2010, Vol.21, no.7, pp.323-331.

[19] Bagherian, Homa, Farzin Zokaee Ashtiani, Amir Fouladitajar, and Mahdy Mohtashamy, "Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit", *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2011*, Vol.50, no.11-12, pp.1237-1243.

[20] Katzir, Shaul. "The discovery of the piezoelectric effect, "In *the Beginnings of Piezoelectricity*, Springer, Dordrecht, 2006, pp.15-64.

[21] Pico, Yolanda, "Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2013, Vol.43, pp.84-99.

[22] Wu, Jianyong, Lidong Lin, and Foo-tim Chau, "Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells", *Ultrasonics sonochemistry*, 2001, Vol.8, no.4, pp.347-352.

[23] Kazemi, Milad, Roselina Karim, Hamed Mirhosseini, and Azizah Abdul Hamid, "Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids", *Food chemistry, 2016*, Vol.206, pp.156-166.

[24] Picó, Yolanda, ed., "*Chemical analysis of food: Techniques and applications",* Academic Press, 2012.

[25] Awad, T. S., H. A. Moharram, O. E. Shaltout, D. Asker, and M. M. Youssef, "Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review", *Food research international*, 2012, Vol.48, no.2, pp.410-427.

[26] Chemat, Smain, Ahcène Lagha, Hamid AitAmar, Paul V. Bartels, and Farid Chemat, "Comparison of conventional and ultrasound- assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds", *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, Vol.19, no.3, pp.188-195.

[27] Mason, Timothy J., Larysa Paniwnyk, and J. P. Lorimer, "The uses of ultrasound in food technology", *Ultrasonics sonochemistry*, 1996, Vol.3, no.3, pp.S253-S260.

[28] Petigny, Loïc, Sandrine Périno-Issartier, Joël Wajsman, and Farid Chemat, "Batch and continuous ultrasound assisted extraction of boldo leaves (Peumus boldus Mol.)", *International journal of molecular sciences*, 2013, Vol.14, no.3, pp.5750-5764.

[29] Suslick, K. S., M. M. Fang, T. Hyeon, and M. M. Mdleleni, "Applications of sonochemistry to materials synthesis", In *Sonochemistry and sonoluminescence*, Springer, Dordrecht, 1999, pp. 291-320.

[30] Pingret, Daniella, Anne-Sylvie Fabiano-Tixier, Carine Le Bourvellec, Catherine MGC Renard, and Farid Chemat "Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace", *Journal of Food Engineering*, 2012, Vol.111, no.1, pp.73-81.

[31] Mason, Timothy J., "Some neglected or rejected paths in sonochemistry–a very personal view", *Ultrasonics sonochemistry*, 2015, Vol.25, pp.89-93.

[32] Karshafian, Raffi, Peter D. Bevan, Ross Williams, Sanya Samac, and Peter N. Burns, "Sonoporation by ultrasound-activated microbubble contrast agents: effect of acoustic exposure parameters on cell membrane permeability and cell viability", *Ultrasound in medicine & biology*, 2009, Vol.35, no.5, pp.847-860.

[33] Ohta, Sho, Kentaro Suzuki, Shinichi Miyagawa, Yukiko Ogino, Mylah Villacorte, Yoshihiro Wada, and Gen Yamada, "Sonoporation in developmental biology", In *Electroporation and Sonoporation in Developmental Biology*, Springer, Tokyo, 2009, pp.317-326.

[34] Vilkhu, Kamaljit, Richard Manasseh, Raymond Mawson, and Muthupandian Ashokkumar, "Ultrasonic recovery and modification of food ingredients", In *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*, Springer, New York, NY, 2011, pp. 345-368.

[35] Veillet, Sébastien, Valérie Tomao, and Farid Chemat, "Ultrasound assisted maceration: An original procedure for direct aromatisation of olive oil with basil", *Food Chemistry*, 2010, Vol.123, no.3, pp.905-911.
[36] Boateng, E. F. and M. M. Nasiru, "Applications of Ultrasound in Meat Processing Technology: A Review," *Food Science and Technology*, 2019, vol.7, no.2, pp.11-15.
[37] Gianulis, Elena C., Maura Casciola, Shu Xiao, Olga N. Pakhomova, and Andrei G. Pakhomov, "Electropermeabilization by uni-or bipolar nanosecond electric pulses: The impact of extracellular conductivity", *Bioelectrochemistry*, 2018, Vol.119 pp.10-19.
[38] Yodsuwan, Natthawut, Pitiya Kamonpatana, Yusuf Chisti, and Sarote Sirisansaneeyakul, "Ohmic heating pretreatment of algal slurry for production of biodiesel", *Journal of biotechnology*, 2018, Vol.267, pp.71-78.
[39] Saberian, Hamed, Zohreh Hamidi- Esfahani, Hassan Ahmadi Gavlighi, Ahmad Banakar, and Mohsen Barzegar, "The potential of ohmic heating for pectin extraction from orange waste", *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, Vol.42, no.2, p.e13458.
[40] Saberian, Hamed, Zohreh Hamidi-Esfahani, Hassan Ahmadi Gavlighi, and Mohsen Barzegar, "Optimization of pectin extraction from orange juice waste assisted by ohmic heating", *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2017, Vol.117, pp.154-161.
[41] Yang, Yu-Chiao, Ming-Chi Wei, Ting-Chia Huang, Suen-Zone Lee, and Shiow-Shyung Lin, "Comparison of modified ultrasound-assisted and traditional extraction methods for the extraction of baicalin and baicalein from Radix Scutellariae", *Industrial Crops and Products*, 2013, Vol.45, pp.182-190.
[42] Sakharam, Kautkar Sheshrao, Jai Prakash Pandey, Anupama Singh, Anil Kumar, Anil Kumar Shukla, Kautkar Sheshrao Sakharam, Jai Prakash Pandey, Anupama Singh, Anil Kumar, and Anil Kumar Shukla, "Development of ohmic heating apparatus for extraction of rapeseed oil", *International Journal*, 2016, Vol.2, no.11, pp.211-215.
[43] Vuong, Quan V., John B. Golding, Costas E. Stathopoulos, Minh H. Nguyen, and Paul D. Roach, "Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water", *Journal of separation science*, 2011, Vol.34, no.21, pp.3099-3106.
[44] Xu, Dong-Ping, Ya Li, Xiao Meng, Tong Zhou, Yue Zhou, Jie Zheng, Jiao-Jiao Zhang, and Hua-Bin Li, "Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources", *International journal of molecular sciences*, 2017, Vol.18, no.1, p.96.
[45] Tao, Yanfei, Huan Yu, Dongmei Chen, Zhao-Ying Liu, Ding Yang, Yuanhu Pan, Yulian Wang, Lingli Huang, and Zonghui Yuan, "Determination of sodium nifurstyrenate and nitrovin residues in edible food by liquid chromatography–tandem mass spectrometry after ultrasound-assisted extraction", *Journal of Chromatography B*, 2010, Vol.878, no.32, pp.3415-3420.
[46] Mothana, Ramzi AA., "Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of the endemic Soqotraen Boswellia elongata Balf. f. and Jatropha unicostata Balf. f. in different experimental models", *Food and Chemical Toxicology*, 2011, Vol.49, no.10, pp.2594-2599.
[47] Sarikurkcu, Cengiz, Bektas Tepe, Dimitra Daferera, Moschos Polissiou, and Mansur Harmandar, "Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of Marrubium globosum subsp. globosum (lamiaceae) by three different chemical assays", *Bioresource Technology*, 2008, Vol.99, no.10, pp.4239-4246.
[48] Wang, C. Y., and B. H. Chen, "Tomato pulp as source for the production of lycopene powder containing high proportion of cis-isomers", *European Food Research and Technology*, 2006, Vol.222, no.3-4, pp.347-353.

[49] Pan, Zhongli, Wenjuan Qu, Haile Ma, Griffiths G. Atungulu, and Tara H. McHugh, "Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel", *Ultrasonics sonochemistry*, 2012, Vol.19, no.2, pp.365-372.
[50] Luengo, Elisa, Santiago Condón-Abanto, Santiago Condón, Ignacio Álvarez, and Javier Raso, "Improving the extraction of carotenoids from tomato waste by application of ultrasound under pressure", *Separation and Purification Technology*, 2014, Vol.136, pp.130-136.
[51] Meireles, M. Angela A., "*Extracting bioactive compounds for food products: theory and applications",* CRC press, 2008.
[52] Soxhlet, Franz von, "Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes", *Polytechnisches J*, 1879, Vol.232, pp.461-465.
[53] Djenni, Zoubida, Daniella Pingret, Timothy J. Mason, and Farid Chemat, "Sono–Soxhlet: In situ ultrasound-assisted extraction of food products", *Food analytical methods*, 2013, Vol.6, no.4, pp.1229-1233.
[54] Dey, P., and M. K. Maiti, "Molecular characterization of a novel isolate of C andida tropicalis for enhanced lipid production", *Journal of applied microbiology*, 2013, Vol.114, no.5, pp.1357-1368.
[55] Aranda-Burgos, Jose Andrés, Fiz da Costa, Susana Nóvoa, Justa Ojea, and Dorotea Martínez-Patiño, "Effects of microalgal diet on growth, survival, biochemical and fatty acid composition of Ruditapes decussatus larvae", *Aquaculture*, 2014, Vol.420, pp.38-48.
[56] Piasecka, Agata, Izabela Krzemińska, and Jerzy Tys, "Physical methods of microalgal biomass pretreatment", *International Agrophysics*, 2014, Vol.28, no.3, pp.341-348.
[57] Parniakov, O., E. Apicella, M. Koubaa, F. J. Barba, N. Grimi, N. Lebovka, G. Pataro, G. Ferrari, and E. Vorobiev, "Ultrasound-assisted green solvent extraction of high-added value compounds from microalgae Nannochloropsis spp", *Bioresource technology*, 2015, Vol.198, pp.262-267.

پی‌نوشت

1. Collapse
2. Thermal denaturation
3. Ultrafiltration
4. Piezoelectric property
5. Curie Brothers
6. Horn
7. Boldo
8. Maceration (در واقع فرایند استخراجی است که در آن گیاه موررد نظر برای مدت زمان معینی در تماس با حلال مناسب قرار می‌گیرد)
9. Ultrasound-assisted Extraction
10. Pingret
11. Sonoporation
12. Response Surface Methodology
13. Vuong
14. Morus nigra
15. Soxhlet
16. Pan
17. Microalgae
18. Oleaginous
19. Glycolipids
20. Phospholipids
21. Chloroform