

## اسانس روغنی پونه: شبیه سازی و بهینه سازی شرایط استخراج و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی آن

سروین محمدی اقدم<sup>۱\*</sup>، امید احمدی<sup>۲\*</sup>، محمدجواد سیفی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

<sup>۳</sup> گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

\* (sarvin.s108@pnu.ac.ir ، o\_ahmadi@sut.ac.ir)

### چکیده

اسانس پونه یکی از اسانس های مهم بوده و دارای خواص متنوعی می باشد که شدت این خواص بستگی به روش استخراج و انتخاب پارامترهای مناسب در زمان استخراج می باشد. به همین دلیل در پژوهش حاضر جهت بهینه سازی شرایط استخراج اسانس روغنی پونه با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب و بخار آب، طراحی آزمایش با روش پاسخ سطح در بازه دمایی ۲۰۰-۳۰۰ درجه سانتی گراد و مدت حرارت دهی ۶۰-۱۸۰ دقیقه انجام گرفت. پس از بهینه سازی انجام گرفته نتایج نشان داد که دمای ۲۱۱ درجه سانتی گراد و مدت زمان ۱۶۴ دقیقه مناسب ترین حالت جهت استخراج اسانس بوده که در این حالت بیشترین میزان حجم استخراج شده معادل ۳/۴ میلی لیتر و بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی از اسانس پونه (۶۳٪) به دست خواهد آمد. خواص اسانس به دست آمده در شرایط بهینه مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج حاصل از آنالیز FTIR نشان داد که گروه های عاملی متفاوتی در اسانس استخراج شده وجود دارد. همچنین اسانس استخراج شده خواص مناسب ضد باکتریایی از مقابل باکتری های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) و گرم منفی (شرشیا کولی) با قطر هاله ۳۲ و ۲۵ میلی متر به ترتیب از خود نشان داد. خاصیت ضد قارچی اسانس استخراج شده بر روی قارچ پنی سیلینیوم دیگیتاتوم مقدار ۸۲٪ به دست آمد. در انتها با شبیه سازی شرایط حرارتی استخراج اسانس با نرم افزار COMSOL، پیش بینی مناسبی جهت اعمال شرایط حرارتی جهت استخراج اسانس صورت گرفت و نتایج ارتباط دقیقی مابین دما و زمان استخراج برقرار نمود.

**واژگان کلیدی:** آنتی اکسیدانی، اسانس پونه، استخراج، بهینه سازی و شبیه سازی، ضد میکروبی

## مقدمه

از دیرباز تاکنون میکروارگانسیم‌ها (از جمله: باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و سایر میکروب‌ها) از جمله عوامل بیماری‌زایی می‌باشند که سالانه خسارت‌های اقتصادی زیادی در مواد غذایی و مصرف آن‌ها به بار می‌آورند، لذا پیشگیری و کنترل این عوامل و دیگر عوامل بیماری‌زا از اهمیت بالایی برخوردار است، یکی از این عوامل پیشگیری، مواد غذایی که مصرف می‌شوند می‌باشد [۱]. با توجه به مطالعات اخیر، بسیاری از مواد خوراکی، مانند میوه‌ها، سبزی‌ها، گیاهان و افزودنی‌های مختلف موجود در صنعت غذا، علاوه بر اینکه از بروز بیماری جلوگیری خواهند کرد، شیوع و گسترش بیماری‌ها را نیز کاهش می‌دهند. به همین خاطر، به دلیل جلب توجه بسیاری از محققان جهت استفاده از داروهای طبیعی و گیاهی، اهمیت این مواد را چند برابر نموده است. داروهای گیاهی و طبیعی دارای سمیت کم، اثربخشی بیشتر، ارزان قیمت، دارای مکانیزم شناخته شده بوده و چون می‌توانند در آب نیز حل شوند، از مسیر دهانی نیز قابل مصرف می‌باشند [۲، ۳].

یکی از این گیاهان دارویی که در طب سنتی ایران و ملل مختلف سابقه مصرف دیرینه‌ای دارد و خواص درمانی چشم‌گیری برای آن ذکر کرده‌اند، گیاه پونه است. گیاه معطر پونه با نام علمی *Mentha pulegium* از خانواده نعناعیان است این گیاه دارویی در نقاط مختلف دنیا دارای ارقام و گونه‌های متعددی است. گیاه پونه دارای ظاهری شبیه به گیاه نعناع؛ اما با برگ‌های روشن‌تر و کشیده‌تر، بویی قوی و تند و بوته‌ای مقاوم‌تر از نعناع است. پونه از محتویات بالای منتول تشکیل شده است و در طی سالیان متمادی به دلیل ویژگی‌های تحریک‌کننده و توانایی آن در تسکین علائم سرماخوردگی یا آنفولانزا مورد استفاده قرار می‌گرفت [۴].

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی از جمله پونه که بیان شد، غذاها و مواد خوراکی امروزی که مصرف خواهند شد، علاوه بر اینکه باید گرسنگی را برطرف نموده و مواد مغذی لازم برای انسان را فراهم آورند، بلکه باید در جلوگیری از بیماری‌های مربوط به تغذیه و همچنین در درمان و بهبود شرایط جسمی نیز مؤثر باشند. به‌عنوان مثال، یکی از رویکردهای جدید در

ارتقا سلامت میکروبی و به دنبال آن افزایش سطح سلامت عمومی، استفاده از اسانس‌های گیاهی می‌باشد [۵]. اسانس‌های گیاهی علاوه بر مصارف و کاربردهای درمانی و بهداشتی، مصرف خوراکی آن‌ها نیز بسیار حائز اهمیت می‌باشد [۶]. با توجه به محدودیت‌های استفاده از اسانس‌ها که شامل حلالیت پایین آن‌ها در آب و اتصال هیدروفوبیک آن‌ها به ترکیبات غذایی از جمله چربی و پروتئین و همچنین حساسیت به اکسیداسیون و دماهای بالا، مشکل اصلی استفاده از آن‌ها در غنی‌سازی و فرمولاسیون مواد غذایی و دارویی بوده و باعث کاهش فعالیت آن‌ها گردیده و منجر به دسترسی زیستی ناکافی آن شده که در ادامه، به راهکارهای رفع و غلبه بر مشکلات استفاده از آن‌ها در صنعت دارو و غذا پرداخته شده است [۷].

اسانس پونه یکی از اسانس‌های مهم بوده که از روش تقطیر با بخار به دست آمده و خواص متنوعی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین خاصیت ضد میکروبی (ضد باکتریایی و ضد قارچی) دارد که شدت این خواص بستگی به روش استخراج و انتخاب پارامترهای مناسب در زمان استخراج می‌باشد.

استخراج اولین قدم برای جدا کردن محصولات طبیعی مورد نظر از مواد اولیه است. روش‌های استخراج شامل استخراج حلال، روش تقطیر، فشار دادن و تصعید طبق اصل استخراج است. استخراج حلال پرکاربردترین روش است [۸]. استخراج محصولات طبیعی طی مراحل انجام می‌شود:

۱. حلال به ماتریس جامد نفوذ می‌کند.
۲. املاح در حلال‌ها حل می‌شوند.
۳. املاح خارج از ماتریس جامد پخش می‌شود.
۴. املاح استخراج شده جمع‌آوری می‌شود.

هر عاملی که باعث افزایش نفوذ و حلالیت در مراحل فوق می‌شود استخراج را تسهیل می‌کند. خواص حلال استخراج، اندازه ذرات مواد اولیه، نسبت حلال به ماده جامد، دمای استخراج و مدت‌زمان استخراج بر بازده استخراج تأثیر می‌گذارد [۹]. در رابطه با اندازه ذرات گیاهان مختلف، هر چه اندازه ذرات باریک‌تر و ریزتر باشد، نتیجه بهتری از

انتخاب را داشته باشد. این کار در عمل تقریباً غیرقابل اجراست، اما با مدل‌سازی و شبیه‌سازی می‌توان با هزینه کم این بررسی‌ها را انجام داده و به بهترین انتخاب رسید [۱۳]. در تحقیق حاضر به‌منظور بهینه‌سازی و کاهش تعداد آزمایش‌ها، از نرم‌افزار Minitab v.21 جهت طراحی آزمایش استفاده شد. روش مورد استفاده طراحی آزمایش سطح پاسخ بوده و جهت بهینه‌سازی زمان و دمای استخراج اسانس استفاده شد. همچنین از نرم‌افزار COMSOL Multiphysics نسخه 5.6 ساخت کشور آمریکا جهت شبیه‌سازی شرایط استخراج و به دست آوردن دمای اعمال‌شده به گیاه پونه استفاده گردید. در انتها خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار اسانس استخراج‌شده به‌عنوان پارامترهای خروجی در نظر گرفته‌شده و خاصیت اسانس استخراج‌شده تحت شرایط مختلف مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها (بخش تجربی و آزمایشگاهی)

##### مواد

ماده اصلی بکار برده شده در پژوهش حاضر گیاه پونه بوده که از بازارهای محلی مهاباد خریداری شد. با توجه به مطالعات انجام‌گرفته در بخش مقدمه تحقیق حاضر، گیاه پونه علاوه بر در دسترس بودن، دارای خواص مناسبی می‌باشد، به همین علت از آن استفاده گردید. جهت اسانس‌گیری از گیاه پونه، نیاز به آب مقطر بوده که از شرکت بهروان شیمی تهیه گردید. یکی از پاسخ‌های مهم مرتبط در بهینه‌سازی طراحی آزمایش تحقیق حاضر بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که از ماده ۲و۲ دی فنیل-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH<sup>۵</sup>) استفاده گردید. پس از به دست آوردن نقطه بهینه در طراحی آزمایش، جهت بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس حاضر در دو بخش ضد باکتریایی از دو باکتری /استافیلوکوکوس/ اورئوس (PTCC 1112) و /شرشیا کولی (PTCC 1270) و در بخش ضد قارچی از قارچ پنی سیلینیوم دیگیتاتوم (PTCC 5251) که از بانک میکروبی ایران خریداری شد استفاده گردید. محیط کشت‌های

استخراج حاصل می‌شود. راندمان استخراج با توجه به ضریب نفوذ ذرات کوچک و نفوذ محلول‌ها توسط اندازه ذرات کوچک افزایش می‌یابد. با این وجود، اندازه ذرات بسیار ریز باعث جذب بیش از حد املاح در جامد و مشکل در فیلتراسیون بعدی می‌شود. یکی دیگر از عوامل مهم در استخراج درجه حرارت دستگاه‌های مورد استفاده می‌باشد، درجه حرارت بالا باعث افزایش حلالیت و نفوذ می‌شود. با این حال، درجه حرارت بسیار بالا، ممکن است باعث از بین رفتن حلال‌ها شده و منجر به عصاره ناخالص نامطلوب و تجزیه اجزای گرم‌زا می‌شود. عامل مهم دیگر در فرآیند استخراج عصاره‌ها، زمان فرآیند استخراج می‌باشد که با افزایش مدت زمان استخراج در بازه زمانی معینی، بازده استخراج افزایش می‌یابد. پس از رسیدن تعادل مواد جامد در داخل و خارج از مواد جامد، افزایش زمان تأثیری در استخراج نخواهد داشت [۱۰].

همانطور که گفته شد، شرایط استخراج اسانس پونه بسیار مهم بوده و با انتخاب شرایط مناسب استخراج و همچنین بررسی پاسخ‌های در نظر گرفته‌شده با خواص مطلوب محصول به‌دست‌آمده، بهینه‌سازی مقادیر مورد استفاده از آن‌ها بسیار ضروری به نظر می‌رسد. در نرم‌افزارهای طراحی آزمایش روش‌های متعددی از جمله روش‌های فاکتوریل<sup>۱</sup>، تاگوچی<sup>۲</sup>، طراحی مخلوط<sup>۳</sup> و سطح پاسخ<sup>۴</sup> (RSM) برای طراحی آزمایش وجود دارد [۱۱].

یکی از موارد مهمی که بر روی خواص اسانس استخراج‌شده تأثیرگذاری مهم و مستقیمی خواهد داشت، دمای اعمال‌شده به گیاه مورد نظر در محفظه استخراج می‌باشد، اما از آنجایی که در اکثر دستگاه‌های استخراج اسانس این امکان وجود ندارد، بایستی شبیه‌سازی انجام گردد. اصولاً با انجام شبیه‌سازی می‌توان حرکات و واکنش‌های یک سیستم را به‌سادگی در اختیار گرفت [۱۲]. کنترل این حرکات در طبیعت معمولاً امکان‌پذیر نیست و گذشته از این در علوم مهندسی اغلب با مواردی برخورد می‌شود که طراح مایل به جایگزین کردن سیستم جدید به‌جای سیستم اصلی بوده که در نهایت بهترین

<sup>4</sup> Response Surface Methodology

<sup>5</sup> 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

<sup>1</sup> Factorial

<sup>2</sup> Taguchi

<sup>3</sup> Mixture design

تحلیل قرار گرفتند. برای دو متغیر (زمان و دما) تعداد آزمایش‌ها جهت بهینه‌سازی با این روش ۱۳ آزمایش بود که نقطه مرکزی برای تخمین خطای آزمایش استفاده شده ۵ بار تکرار شد و برای طراحی آزمایش از سیستم غیرکد استفاده شد. مزیت ۵ بار تکرار آزمایش نقطه مرکزی، جهت تکرارپذیر بودن و دست‌یافتن به نتیجه قطعی در آزمایش می‌باشد.

برای طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ از روش طرح مرکب مرکزی<sup>۸</sup> (CCD) استفاده شد که در این روش ضرایب به صورت یک رابطه ریاضی نوشته شده و پاسخ پیش‌بینی خواهد شد. معادله کلی که در آن  $Y$  پاسخ یا خروجی همان متغیر وابسته (مقدار حجمی اسانس استخراج‌شده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن) به صورت رابطه (۱) می‌باشد و مقادیر  $X$  مربوط به متغیرهای مستقل ( $X_1$ : زمان استخراج و  $X_2$ : دمای حرارت دهی) می‌باشد.

رابطه (۱)

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

در رابطه (۱)، ضریب  $\beta_0$  ضریب ثابت، ضرایب  $\beta_1$  و  $\beta_2$  اثرات خطی (درجه اول)،  $\beta_{11}$  و  $\beta_{22}$  اثرات مربعی (درجه دوم) و  $\beta_{12}$  اثرات متقابل یا برهمکنش دما و زمان انتخاب شده می‌باشد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس<sup>۹</sup> (ANOVA) و از روش آماری t-test جهت مقایسه داده‌ها استفاده گردید. در این مدل  $P < 0.05$  به عنوان مقادیر آماری معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود و جملاتی که دارای  $P > 0.05$  باشند به عنوان نتایج بی‌معنی و غیر اثرگذار تلقی شدند. مقدار  $P < 0.05$  بدین معناست که مدل ارائه شده و استخراج شده با احتمال ۹۵٪ پذیرفته می‌شود. مقدار  $R^2$  نیز معیار خوبی برای ارزیابی مناسب بودن یک مدل می‌باشد که هرچه مقدار این عدد به یک نزدیک‌تر باشد دلالت بر دقت بودن مدل در پیش‌بینی رفتار متغیرهای مستقل بر روی متغیر وابسته دارد [۱۷].

نتایج حاصل از هر کدام از آزمایش‌ها، تحلیل و همچنین اثر پارامترها و متغیرهای انتخاب شده بر روی خواص و مقدار

PDA<sup>۶</sup> و PCA<sup>۷</sup> جهت بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی از شرکت Oxoid (انگلستان) تهیه گردید.

## روش‌ها

### طراحی آزمایش و آنالیز آماری داده‌ها جهت استخراج اسانس روغنی پونه

بخش مهم و درواقع مهم‌ترین مسئله تحقیق حاضر، بررسی آثار اصلی و اثر متقابل متغیرهای انتخاب شده جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج اسانس پونه می‌باشد. از این رو، طرح آماری سطح پاسخ برای این قسمت انتخاب شد. این روش مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهبود فرآیندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. پژوهشگران مختلفی نیز از این تکنیک جهت بهینه‌سازی مقادیر و کاهش تعداد آزمایش‌ها استفاده کرده‌اند [۱۴]. در تهیه و استخراج اسانس‌های گیاهی با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با بخار و آب، متغیرهایی مانند دمای گرم‌کن و زمان استخراج از مهم‌ترین موارد می‌باشد. در پژوهش حاضر بهینه‌سازی و طراحی آزمایش جهت بهینه‌سازی مقدار اسانس استخراج شده و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن با شرایط زیر انجام گرفت.

با توجه به روش استخراج اسانس‌های روغنی در روش احمدی و جعفری زاده مالمیری [۱۵] [۱۶]، پس از تبدیل گیاه پونه خشک شده به پودر با استفاده از خردکن برقی، مقدار ۱۰۰ گرم از پودر به دست آمده به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر هر کدام به طور مجزا به بخش‌های مختلف دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای کلونجر انتقال یافته و به عنوان متغیرهای انتخاب شده، ۱- دمای حرارت دهی (محدوده ۲۰۰ الی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۲- زمان استخراج (محدوده ۶۰ الی ۱۸۰ دقیقه) اسانس گیری انجام گرفت.

جهت تعیین خصوصیات نهایی اسانس استخراج شده بررسی اثر زمان و دمای اسانس گیری بر روی مقدار حجمی اسانس استخراج شده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد بررسی و

<sup>8</sup> Central Composite Design

<sup>9</sup> Analysis of Variance

<sup>6</sup> Potato Dextrose Agar

<sup>7</sup> Plate Count Agar

پونه می‌باشد که از طریق مکانیسم‌های رسانش و جابجایی انتقال حرارت رخ خواهد داد. پس از انجام شبیه‌سازی و به دست آمدن نتایج، مقدار دمایی که گیاه پونه دریافت می‌کند محاسبه خواهد شد.

### فیزیک و هندسه مسئله (مدل فیزیکی)

### معادلات حاکم (مدل ریاضی) و روش حل

فیزیک و هندسه مسئله از بخش‌های ابتدایی طرح مسئله بوده که در آن از مجموعه سه جزء (گرم‌کن، بالن حجمی ۵۰۰ میلی‌لیتر حاوی آب مقطر و بالن حجمی دوسویه حاوی ۱۰۰ گرم پودر پونه) می‌باشد که مشخصات کلی این مواد در

جدول (۱) و حالت ظاهری آن‌ها در شکل ۱ (الف و ب)

نشان داده شده است.



شکل ۱- کلونجر (الف) و شماتیک آن (ب) جهت استفاده در

استخراج اسانس روغنی پونه و فیزیک مسئله جهت شبیه‌سازی

گام بعدی در شبیه‌سازی مسائل مربوط به پدیده‌های انتقال، مشخص نمودن معادلات حاکم بر فیزیک مسئله و روابط ریاضی مرتبط با حل آن می‌باشد. در سیستم در نظر گرفته شده مربوط به شکل ۱، معادلات مرتبط و حاکم بر مسئله، معادله کلی انتقال حرارت بوده که هدف کلی در آن به دست آوردن پروفایل دما و میزان حرارت انتقال یافته از سطح گرم‌کن به مواد موجود در محفظه بالن حجمی دوسویه می‌باشد. معادلات حاکم بر انتقال حرارت در این بخش بیان شده است. در معادله ۱ ساختار کلی انتقال حرارت ناپایا

اسانس استخراج شده در بخش بحث و نتایج گزارش شده است.

### آنالیز و بررسی خواص

پس از استخراج اسانس روغنی پونه، با استفاده از استوانه مدرج با حجم ۱۰ میلی‌لیتر، به‌طور دقیق میزان اسانس استخراج شده اندازه‌گیری گردید، آنالیز طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) با جهت مشخص نمودن گروه‌های عاملی اسانس استخراج شده با استفاده از دستگاه UNICAM 800

مدل Shimadzu، به‌وسیله ماده بی‌اثر KBr در محدوده عدد موجی  $4000\text{ cm}^{-1}$  الی  $400$  انجام گرفت. جدول ۱- مشخصات فیزیک مسئله و اندازه‌ها و ابعاد آن‌ها

مؤلفه	سطح جانبی	شعاع
بالن حجمی	۳۰۴/۱۸	۴/۹۲
بالن حجمی دوسویه	۳۰۴/۱۸	۴/۹۲
گرم‌کن جهت حرارت دهی	۵۳/۳۲	۴/۱۲

به‌منظور بررسی خواص اسانس استخراج شده و اثر شرایط نگهداری بر ویژگی‌های آن، خواص آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH و همچنین خاصیت ضد باکتریایی ماده استخراج شده با روش انتشار چاهک با روش شرح داده شده در پژوهش احمدی و جعفری زاده مالگیری انجام گرفت [۱۸، ۱۹].

### شبیه‌سازی

یکی از شرایط انتخاب شده جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج اسانس روغنی پونه، دما بوده که با استفاده از نرم‌افزار COMSOL Multiphysics بر پایه قوانین انتقال حرارت، نتایج به دست آمده از بخش آزمایشگاهی و عملیاتی مورد استفاده قرار خواهد گرفت تا دمای بهینه و زمان استخراج مناسب به دست آورده شود.

### تئوری مسئله

مطالعه انجام گرفته مرتبط با بحث شبیه‌سازی در تحقیق حاضر مربوط به انتقال حرارت از سطح گرم‌کن به محفظه حاوی آب مقطر و سپس به محفظه بالنی حاوی پودر گیاه

۵- ضریب انتقال حرارت رسانشی و جابجایی ثابت در نظر گرفته شده است.

\* ضریب انتقال حرارت جابجایی می‌باشد که مقدار ۱۵ وات بر مترمربع کلوین به صورت ثابت در نظر گرفته شد.

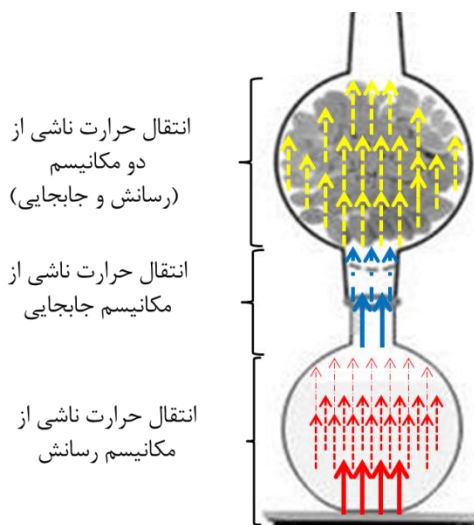
۶- از تلفات، افت و هدر رفت حرارتی با توجه به کوچک بودن سیستم مورد مطالعه و همچنین کم بودن زمان فرآیند صرف نظر شده است [۲۰].

با فرضیات در نظر گرفته شده، رابطه (۴)، به صورت زیر تبدیل شده که محاسبات انجام گرفته در شبیه سازی بر مبنای آن می‌باشد.

رابطه (۴)

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho c_p u \cdot \nabla T = \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{\partial}{\partial \varphi} \left( k \frac{\partial T}{\partial \varphi} \right)$$

پس از اعمال فرضیات انجام گرفته و پیاده سازی آن‌ها بر فیزیک مسئله و معادلات کلی انتقال حرارت، جهت شبیه سازی فرآیند، با توجه به شماتیک نشان داده شده در شکل (۲) مقاومت‌های موجود در بحث انتقال حرارت رسانش و جابجایی مشخص شده و همچنین شرایط مرزی و اولیه باید مشخص شوند که در بخش بعدی توضیح داده شده است.



شکل ۲ - شماتیک کلی فرآیند انتقال جرم (نفوذ) اساس از محفظه نگهداری آن

گره بندی، روش حل شرایط مرزی و اولیه

(متغیر با زمان) که شامل بخش‌های گوناگون است، گزارش شده است:

رابطه (۲)

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho c_p u \cdot \nabla T = \nabla \cdot (k \nabla T) + Q$$

که در رابطه (۱)، Q مرتبط با گرمای تولیدی (وات بر متر معکب)، k ضریب انتقال حرارت رسانش (وات بر کلوین متر)، t زمان انجام فرآیند، ρ چگالی (کیلوگرم بر مترمکعب)، u سرعت سیال (متر بر ثانیه)، c<sub>p</sub> ظرفیت گرمایی ویژه (ژول بر کیلوگرم کلوین) است. اگر رابطه ۲ به صورت گسترده بیان شود معادله کلی انتقال حرارت، به معادله ۳ در سیستم مختصاتی کروی به صورت زیر تبدیل خواهد گشت:

رابطه (۳)

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho c_p u \cdot \nabla T = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( k r^2 \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{\partial}{\partial \varphi} \left( k \frac{\partial T}{\partial \varphi} \right) + \frac{1}{r^2 \sin^2 \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left( k \sin \theta \frac{\partial T}{\partial \theta} \right) + Q$$

در رابطه (۳) بخش‌های مختلفی داشته که برخی از آن‌ها در سامانه مورد مطالعه وجود داشته و حائز اهمیت‌اند، اما برخی از آن‌ها نقش کم‌رنگی داشته و مهم نمی‌باشند، به همین دلیل، با فرضیات زیر معادله کلی انتقال حرارت ناپایا ساده سازی شده و برخی از بخش‌های رابطه (۳) حذف می‌شوند. فرضیات انجام شده در مدل سازی انتقال حرارت کلی به صورت زیر است:

- ۱- در طول فرآیند فشار ثابت در نظر گرفته می‌شود.
- ۲- انتقال حرارت در جهت r و θ وجود نداشته و بیشترین بخش انتقال حرارت مربوط به φ می‌باشد.
- ۳- هیچ گونه تولید حرارتی در سیستم رخ نمی‌دهد.
- ۴- انتقال حرارت از طریق مکانیسم‌های رسانش و جابجایی بوده و از مکانیسم تشعشع صرف نظر شده است.

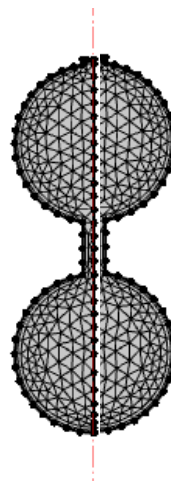
۱- زمان انجام فرآیند مشابه با حالت دمایی، طبق طراحی آزمایش انجام گرفته، مدت ۶۰ الی ۱۸۰ دقیق می‌باشد.

جهت حل رابطه (۴) به صورت عددی در حالتی سامانه که زمان دارای اهمیت می‌باشد، نیاز به ثوابت مختلفی برای سیال مورد استفاده (آب مقطر و بخار آب) بوده که در جدول (۲) گزارش شده است.

جدول ۲- ضرایب و ثوابت لازم برای حل مسئله

مؤلفه	آب مقطر	بخار آب
چگالی ( $\text{kg/m}^3$ )	۹۹۷	۰/۶
ظرفیت گرمایی ویژه ( $\text{J/kg.K}$ )	۴۱۸۲	۱۹۹۶
ضریب انتقال گرمای هدایت ( $\text{W/m.K}$ )	۰/۵۹۸	۰/۰۲۵

در تمامی مسائل مربوط به شبیه‌سازی، جهت حل از روش‌های عددی استفاده خواهد شد، در نرم‌افزار COMSOL نیز در مسئله حاضر از روش حل عددی المان محدود استفاده خواهد شد که تمامی بخش‌های مورد مطالعه به گره یا المان‌های کوچک تبدیل شده و هر کدام به عنوان یک معادله در نظر گرفته می‌شوند [۲۱]. مطابق با شکل (۳) که مربوط به فیزیک مسئله می‌باشد، فیزیک مسئله به گره‌های مختلف تقسیم شده است.



شکل ۳ - گره بندی کل سامانه مورد مطالعه

با توجه به اینکه رابطه (۴) به صورت یک معادله دیفرانسیل جزئی می‌باشد، جهت حل نیاز به شرایط مرزی و اولیه می‌باشد که در تحقیق حاضر جهت حل مسئله بر اساس فرضیات و تئوری و تعریف مسئله شرایط به صورت زیر در نظر گرفته شد:

۱- دمای دو محفظه در ابتدای شبیه‌سازی دمای یکسان و معادل با دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) دارند.

۲- دمای سطح زیرین محفظه حاوی آب مقطر (بالن حجمی پایین)، برابر با دمای سطح گرم کن بوده و به صورت متغیر طبق طراحی آزمایش انجام گرفته از ۲۰۰ الی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد متغیر می‌باشد.

نتایج به دست آمده از شبیه‌سازی سیستم مورد مطالعه پس از بخش گزارش نتایج آزمایشگاهی و تجربی ارائه شده است.

#### بحث و نتایج (تجربی و آزمایشگاهی)

جهت بهینه‌سازی شرایط استخراج اسانس روغنی پونه و همچنین بررسی خواص آن در نقطه بهینه، نتایج حاصل از طراحی آزمایش، پاسخ‌های مربوط به هر کدام، تأثیرگذاری متغیرهای انتخاب شده در بخش‌های زیر گزارش شده است. پس از بهینه‌سازی انجام گرفته و به دست آوردن نقطه مناسب جهت استخراج اسانس، خواص مختلف اسانس شامل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، خاصیت ضد میکروبی (ضد باکتریایی و ضد قارچی) و آنالیز FTIR انجام گرفت.

#### مدل پاسخ سطح



جدول ۴- مقادیر p-value مربوط به اسانس روغنی پونه استخراج شده (اثرات خطی، درجه دوم و برهم‌کنش)

اثرات	مقدار اسانس		متغیرهای مستقل
	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	
اثرات درجه اول (خطی)	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	زمان استخراج (X <sub>1</sub> )
اثرات درجه دوم	۰/۰۰۰	۰/۶۲۵	درجه حرارت دهی (X <sub>2</sub> )
اثرات متقابل (برهمکنش)	۰/۰۱۸	۱/۰۰۰	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>
	۰/۰۰۶	۰/۰۰۰	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>

یکی از اهداف کلی در بهینه‌سازی انجام گرفته، به دست آوردن

با توجه به توضیحات ارائه شده در بخش طراحی آزمایش و بر اساس روش طرح مرکب مرکزی (CCD) و پاسخ سطح (RSM) تعداد آزمایش‌های در نظر گرفته شده ۱۳ آزمایش بوده که دو پاسخ مقدار حجمی اسانس استخراج شده و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر نمونه در نظر گرفته شد که در **جدول (۳)** آزمایش‌ها و نتایج مربوط به هر کدام گزارش شده است. در بخش‌های بعدی تأثیر هر متغیر مستقل (زمان استخراج و درجه حرارت دهی) بر روی متغیرهای وابسته (مقدار حجمی اسانس و خاصیت آنتی‌اکسیدانی) به‌طور کامل شرح داده خواهد شد.

جدول ۳- طراحی آزمایش انجام گرفته و نتایج مربوط به هر کدام از متغیرهای مستقل در نظر گرفته به همراه نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل

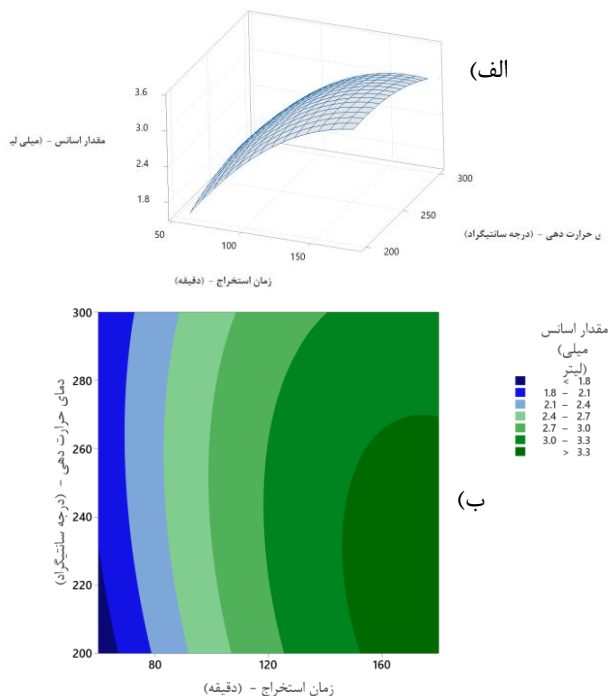
مدل	متغیرهای وابسته		متغیرهای مستقل		زمان استخراج (دقیقه)	درجه حرارت دهی (درجه سانتی‌گراد)
	خاصیت آنتی‌اکسیدانی (%)	مقدار اسانس (میلی‌لیتر)	آزمایش گاهی	درجه حرارت		
۱	۶۲/۹۴	۳/۴۰	۳۳	۲۱۴	۱۶۲	۲۱۴
۲	۶۰/۰۸	۱/۸۵	۱/۸	۲۵۰	۶۰	۲۵۰
۳	۶۵/۷۰	۲/۱۵	۲/۲	۲۱۴	۵۷	۲۱۴
۴	۵۸/۴۰	۳/۰۲	۳/۰	۲۵۰	۱۲۰	۲۵۰
۵	۵۸/۴۰	۳/۰۲	۳/۱	۲۵۰	۱۲۰	۲۵۰
۶	۵۸/۴۰	۳/۰۲	۳/۰	۲۵۰	۱۲۰	۲۵۰
۷	۵۸/۴۰	۳/۰۲	۳/۰	۲۵۰	۱۲۰	۲۵۰
۸	۴۳/۰۴	۳/۱۹	۳/۲	۲۸۵	۱۶۲	۲۸۵
۹	۴۵/۸۰	۲/۲۴	۲/۳	۲۸۵	۷۷	۲۸۵
۱۰	۳۶/۵۵	۲/۸۳	۲/۸	۳۰۰	۱۲۰	۳۰۰
۱۱	۶۴/۶۹	۲/۹۱	۳/۲	۲۰۰	۱۲۰	۲۰۰
۱۲	۵۶/۱۶	۳/۳۹	۳/۴	۲۵۰	۱۸۰	۲۵۰
۱۳	۵۸/۴۰	۳/۰۲	۳/۰	۲۵۰	۱۲۰	۲۵۰

رابطه کلی جهت ارتباط پاسخ در نظر گرفته شده (متغیر وابسته) با متغیرهای مستقل در نظر گرفته می‌باشد. که تحت ثوابت معادله کلی درجه دوم به دست خواهد آمد که نتایج آن در **جدول (۵)** گزارش شده است.

جهت اعتبارسنجی متغیرهای مستقل در نظر گرفته شده مورد استفاده در طراحی آزمایش از اصطلاح p-value استفاده خواهد شد که مطابق با توضیحات ارائه شده در بخش طراحی آزمایش، این مقدار ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است، که نتایج نشان داده شده در **جدول (۴)** نشان می‌دهد، برای زمان استخراج این عبارت به خوبی با اعداد ۰/۰۰۰ و ۰/۰۰۱ گزارش شده و این متغیر به درستی انتخاب شده است، برای متغیر مستقل دیگر (حرارت دهی)، اثر آن بر مقدار اسانس استخراج شده کم بوده و برابر با ۰/۱۲۲ می‌باشد، اما چون اثرات درجه دوم آن معنی دار می‌باشد (۰/۰۰۶) می‌توان نشان داد که میزان حرارت دهی بر روی مقدار اسانس استخراج شده می‌تواند اثرگذار باشد، میزان حرارت دهی اما تأثیر بسزایی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراج شده خواهد داشت. اثرات متقابل دو متغیر مستقل نیز در پاسخ مقدار اسانس استخراج شده کاملاً مشهود بوده و p-value معنی دار می‌باشد و برابر ۰/۰۱۸ است. اما این اثر در خاصیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نمی‌شود، به عبارتی مقدار p-value بیشتر از ۰/۰۵ بوده و معنی دار نیست، و زمان استخراج اسانس به همراه حرارت دهی هیچ اثر متقابلی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی ندارند.



مقدار حجمی اسانس استخراج‌شده بسیار حائز اهمیت بوده و طبیعتاً این مقدار هرچه بیشتر باشد، بازده کل فرآیند افزایش خواهد یافت. اثر متغیرهای مستقل زمان استخراج و دمای حرارت دهی بر روی میزان حجم اسانس استخراج‌شده در شکل ۴ (الف و ب) نشان داده شده است.



شکل ۴- نمودار سه‌بعدی (ب) نمودار دوبعدی سطح پاسخ برای تغییرات مقدار حجمی اسانس پونه استخراج‌شده با دما و زمان فرآیند اسانس‌گیری

همان‌طور که در شکل ۴الف نشان داده شده است، در مدت‌زمان‌های پایین، هرچقدر میزان حرارت دهی بالا هم باشد، تأثیر آن‌چنانی در مقدار حجمی اسانس استخراج‌شده نخواهد داشت، به نظر می‌رسد در مدت زمان کم، حلال تبخیر شده آب فرصت کافی جهت تبادل با گیاه پونه را نداشته و حرارت اعمال‌شده نیز تأثیر نخواهد داشت، اما این تأثیر در مقادیر بالای بالا و ثابت زمان استخراج با افزایش دما، ثابت نبوده و تأثیرگذار می‌باشد، به عبارتی با افزایش میزان حرارت دهی و دمای اعمال‌شده در مدت زمان بالای استخراج تأثیر نامطلوبی داشته و مقدار حجمی اسانس کاهش پیدا خواهد کرد، به نظر می‌رسد میزان دمای اعمال‌شده در مقادیر بالا به دلیل آسیب زدن به بافت گیاه پونه، مطلوب نبوده و این میزان دما و حرارت اعمال‌شده بایستی در محدوده بهینه‌ای باشد.

جدول ۵- ضرایب چندجمله‌ای درجه دوم همراه با ضرایب برازشی برای هر متغیر وابسته در استخراج اسانس روغنی پونه

ضرایب	مقدار اسانس	خاصیت آنتی‌اکسیدانی
	$Y_1$	$Y_2$
ثابت ( $\beta_0$ )	۳/۰۲۰	۵۸/۴۰۰
اثرات درجه اول	۰/۵۴۵	-۱/۳۸۴
خطی ( $\beta_1$ و $\beta_2$ )	-۰/۰۳۰	-۹/۹۵۰
درجه دوم ( $\beta_{11}$ و $\beta_{22}$ )	-۰/۱۹۷	۰/۱۳۷
اثرات متقابل (برهمکنش) ( $\beta_{12}$ )	-۰/۰۷۲	-۳/۸۸۷
	-۰/۰۷۵	۰/۰۰۰
<b>R-square</b>	۹۹٪/۳۹	۹۹٪/۶۲

پس از به دست آمدن ضرایب به‌دست‌آمده  $\beta$  (ضرایب ثابت، درجه اول، دوم و اثرات متقابل) و قرار دادن آن‌ها در رابطه (۱)، به راحتی می‌توان ارتباط بین متغیرهای مستقل و وابسته را ایجاد کرد و از طریق معادلات به‌دست‌آمده به پیش‌بینی خروجی و اعداد مربوط به متغیر وابسته دست‌یافت، اما اطمینان از نتایج به‌دست‌آمده وابسته به عبارت  $R^2$  داشته که هرچقدر این عبارت نزدیک به ۱ و یا به بیانی دیگر نزدیک به ۱۰۰٪ باشد، نتیجه حاصل‌شده اطمینان بیشتری خواهد داشت. عبارت مربوط به  $R^2$  نیز در جدول ۵ گزارش شده است که برای هر دو مدل به‌دست‌آمده مقدار اسانس و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، این عبارت عدد مناسبی بوده و به ترتیب ۹۹٪/۳۹ و ۹۹٪/۶۲ به‌دست‌آمده است که نشان می‌دهد مدل‌های به‌دست‌آمده پیش‌بینی نسبتاً دقیقی از خروجی خواهند داشت.

#### تأثیر پارامترهای استخراج اسانس روغنی پونه بر پاسخ مقدار و خواص اسانس استخراج‌شده

پس از به دست آمدن نقاط و بازه‌های تأثیرگذار و یافتن ضریب تأثیر هرکدام به‌صورت جداگانه، نمودارهای خروجی مختلف که شامل متغیرهای تعیین‌شده در طراحی آزمایش به‌صورت جداگانه و دوبه‌دو رسم شد و در ادامه به توضیحات آن‌ها پرداخته شد.

- اثرات دمای حرارت دهی و زمان استخراج بر روی مقدار حجمی اسانس استخراج‌شده

شکل ۵- نمودار سه‌بعدی (ب) نمودار دوبعدی سطح پاسخ برای تغییرات خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه استخراج‌شده با دما و زمان فرآیند اسانس گیری

با توجه به شکل ۵الف که در حالات مختلف دما و زمان استخراج میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده شده است، در مدت‌زمان‌های ثابت و پایین و یا مدت زمان بالا و ثابت اسانس گیری، با افزایش میزان دما و حرارت اعمال‌شده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراج‌شده کاهش‌یافته و به طوری که در بیشترین دمای اعمال‌شده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی کمترین مقدار را خواهد داشت. به نظر می‌رسد با افزایش دما، میزان حرارت اعمال‌شده بر روی گیاه پونه افزایش چشمگیری داشته و خواص آن را دستخوش تغییرات کرده و به بافت آن آسیب می‌رساند. در حرارت دهی ثابت و بالا، با افزایش زمان اسانس گیری، تأثیر آن‌چنانی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی نداشته و تقریباً میزان ثابتی خواهد داشت. به نظر می‌رسد در میزان حرارت دهی بالای اعمال‌شده، خاصیت اسانس بشدت کاهش پیدا کرده و میزان زمان اسانس گیری تأثیرگذار نخواهد بود.

در شکل ۵ب مقادیر بیشینه و کمینه خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراج‌شده قابل مشاهده بوده که بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراج‌شده در محدوده دمایی ۲۰۰ الی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان اسانس گیری ۶۰ الی ۱۲۰ دقیقه می‌باشد که با رنگ سبز پررنگ نشان داده شده است. هرچقدر زمان استخراج اسانس افزایش پیدا می‌کند، این خاصیت کاهش پیدا خواهد کرد که به دلیل در معرض بیشتر بودن گیاه با حرارت اعمال‌شده می‌باشد. همچنین کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به دمای اعمال‌شده بیشینه می‌باشد که در محدوده دمای نزدیک به ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

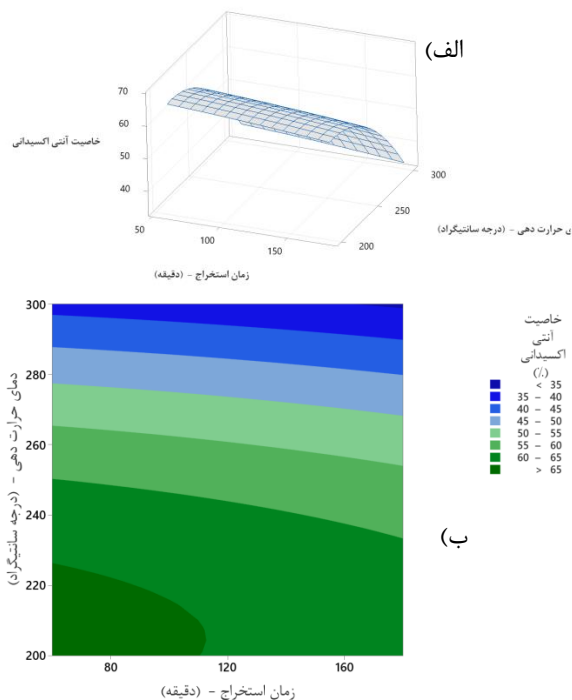
### بهینه‌سازی پارامترهای انتخاب‌شده جهت استخراج اسانس

پس از انجام طراحی آزمایش، بررسی آماری و تحلیل‌های انجام‌گرفته از اثرات متغیرهای مستقل (دما و زمان اسانس گیری) بر روی متغیرهای وابسته (مقدار حجمی اسانس و خاصیت آنتی‌اکسیدانی)، بهینه‌سازی در دو حالت گرافیکی و

همچنین در شکل ۴ب، میزان کمترین و بیشترین حجم اسانس استخراج‌شده با رنگ‌های مختلف نشان داده شده است. به عبارتی در مدت زمان کمتر از ۸۰ دقیقه، مقدار حرارت دهی هرچقدر که اعمال شود، میزان حجمی اسانس استخراج‌شده در کمترین حالت ممکن خواهد بود که با رنگ آبی نشان داده شده است. در حالتی که میزان زمان فرآیند استخراج اسانس در بیشترین زمان ممکن بوده و دمای اعمال‌شده در محدوده ۲۰۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد باشد، حجم اسانس استخراج‌شده بیشترین حالت را خواهد داشت که با رنگ سبز نشان داده شده است.

### • اثرات دمای حرارت دهی و زمان استخراج بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراج‌شده

اسانس استخراج‌شده دارای خواص مختلفی بوده که یکی از آن‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که هر چقدر این مقدار بیشتر باشد، بهتر بوده و طبیعتاً نشان‌دهنده محصول باکیفیت تر و مناسب‌تر می‌باشد. مشابه با حالت قبل، اثر متغیرهای مستقل زمان استخراج و دمای حرارت دهی بر روی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس استخراج‌شده در شکل ۵ (الف و ب) نشان داده شده است.



همان‌طور که در شکل (۷) نشان داده شده است، نقطه بهینه به‌دست‌آمده از طراحی آزمایش مذکور مربوط به زمان ۱۶۴ دقیقه و دمای حرارت دهی ۲۱۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که در این حالت اگر اسانس پونه استخراج شود منجر به میزان حجمی ۳/۴ میلی‌لیتر با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۶۳٪ خواهد شد که بایستی این نتایج راستی آزمایی شده و صحت سنجی شوند، در بخش بعد این موارد به تفصیل گزارش شده است.

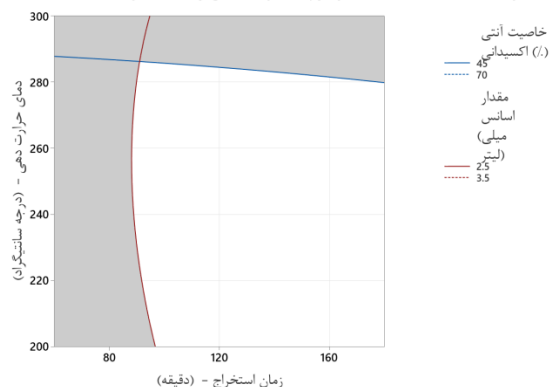
### بررسی خواص اسانس استخراج‌شده در شرایط بهینه

با یافتن نقاط بهینه به‌دست‌آمده از بهینه‌سازی عددی، در شرایط به‌دست‌آمده از طراحی آزمایش صحت سنجی نتایج به‌دست‌آمده انجام شود که در بخش حاضر، استخراج اسانس روغنی پونه انجام شده و مقدار حجمی استخراج‌شده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد تحلیل و ارزیابی قرار گرفت. پس از انجام آزمایشات مربوط به صحت سنجی طراحی آزمایش، نتایج حاکی از آن بود که با مقایسه نتایج پیش‌بینی شده و نتایج به‌دست‌آمده از انجام آزمایشات، اختلاف معناداری بین داده‌های مدل پیش‌بینی با نتایج آزمایشگاهی وجود نداشت (مقدار حجمی اسانس استخراج‌شده ۳/۳ میلی‌لیتر با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۶۵٪) و مدل‌های به‌دست‌آمده تأیید شده و به‌درستی توانسته‌اند اثرات متغیرهای مستقل را بر روی متغیرهای وابسته در محدوده موردنظر مشخص نمایند. در بخش‌های زیر نتایج آنالیزهای انجام‌شده و خاصیت اسانس استخراج‌شده در نقطه بهینه گزارش شده است.

### طیف‌سنجی FTIR اسانس روغنی پونه

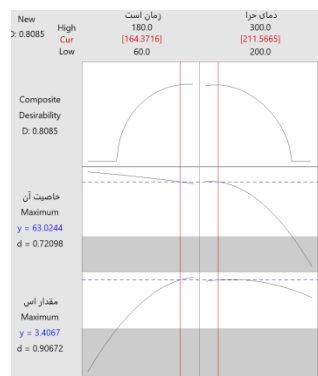
جهت مشخص نمودن گروه‌های عاملی موجود در اسانس روغنی پونه از تجزیه طیف عبوری FTIR استفاده گردید که نتایج آن در شکل (۸) نشان داده شده است. اسانس‌های گیاهی حاوی گروه‌های عاملی مختلف و متنوعی بوده که عصاره پونه استخراج‌شده در نقطه بهینه به‌دست‌آمده حاکی از آن می‌باشد. در شکل حاضر چند پیک شاخص در طول موج‌های  $2955$ ،  $2871$  و  $1682$   $\text{cm}^{-1}$  مشاهده می‌گردد که به ترتیب مربوط به گروه‌های عاملی آلکان، کربوکسیلیک اسید و آلدهید می‌باشد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالای اسانس روغنی پونه متأثر از وجود گروه‌های عاملی مختلف و متنوع می‌باشد.

عددی انجام گرفت که به ترتیب در شکل (۶) و (۷) نشان داده شده است.



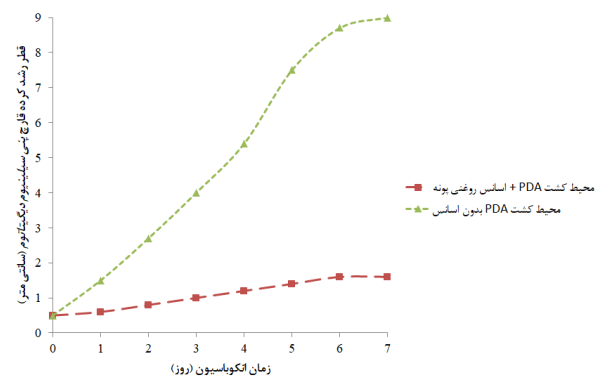
شکل ۶- بهینه‌سازی گرافیکی اسانس روغنی پونه استخراج‌شده

در شکل (۶) محدوده بهینه برای استخراج اسانس پونه با بیشترین حجم و بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی نشان داده شده است که با رنگ سفید مشخص شده است، همچنین در محدوده‌هایی که یکی از پاسخ‌های در نظر گرفته شده کمترین مقدار را خواهند داشت نیز مشخص شده است که با رنگ خاکستری مشخص شده است، اما با توجه به اینکه محدوده مشخص شده بازه بسیار زیادی را در بر گرفته است، بایستی بهینه‌سازی به‌صورت ریزتر بررسی شده و منجر به نقطه خاصی شود که در آن نقطه اسانس استخراج‌شده دارای بیشترین حجم استخراج‌شده و همچنین بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی باشد، که در این صورت بایستی از بهینه‌سازی عددی استفاده نمود که در شکل (۷) این بهینه‌سازی گزارش شده است.



شکل ۷- مقادیر بهینه (بهینه‌سازی عددی) اسانس روغنی پونه استخراج‌شده

خاصیت ضد قارچی اسانس استخراج شده در نقطه بهینه مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن در شکل (۹) گزارش شده است. جهت مقایسه اثر و خاصیت اسانس استخراج شده نسبت به نمونه محیط کشت بدون اسانس، نتایج در یک نمودار رسم گردید. بررسی و ارزیابی خاصیت اسانس روغنی پونه استخراج شده به مدت ۷ روز به طور دقیق اندازه گیری گردید.

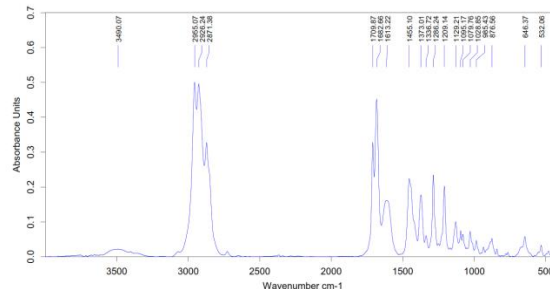


شکل ۹- میزان رشد قارچ پنی سیلینیم دیگیتاتوم در دو حالت، حضور اسانس پونه و عدم حضور آن

همان طور که در شکل (۹) نشان داده شده است، نمونه محیط کشت حاوی اسانس روغنی پونه پس از ۷ روز رشد آن چنانی نداشته و به خوبی از رشد قارچ پنی سیلینیم دیگیتاتوم جلوگیری کرده است، درحالی که نمونه محیط کشت PDA بدون اسانس پس از ۷ روز، تمامی سطح پلیت را پر کرده و کاملاً رشد نمود. با در نظر گرفتن کل قطر پلیت حاوی محیط کشت به اندازه ۹ سانتیمتر و بیشترین رشد قارچ بر روی محیط کشت حاوی اسانس پونه به اندازه قطر ۱/۶۲ سانتیمتر، بازده خاصیت ضد قارچی اسانس حاضر، ۸۲/۲۲٪ می باشد. مشابه با خاصیت ضدباکتریایی، اسانس استخراج شده با آسیب به دیواره سلولی قارچ در نظر گرفته شده باعث جلوگیری از رشد آن خواهد شد [۲۳].

### بررسی نتایج به دست آمده در نقطه بهینه با استفاده از نتایج شبیه سازی

به منظور بررسی میزان حرارت دریافتی و دمای لحظه‌ای بخش‌های مختلف مخازن آب مقطر و گیاه پونه، با اعمال



شکل ۸- طیف عبوری FTIR اسانس روغنی پونه

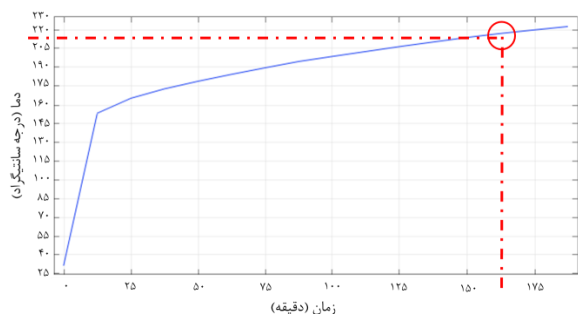
### خاصیت ضد باکتریایی

یکی از کاربردهای اصلی اسانس‌های گیاهی، خاصیت ضد باکتریایی آن در برابر طیف‌های مختلف باکتریایی بوده که از دو گونه باکتریایی گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اشرشیا کولی*) جهت بررسی خاصیت ضد باکتریایی اسانس روغنی پونه استفاده شده و اثر این اسانس بر قطر هاله تشکیل شده در اطراف چاهک ایجاد شده تفسیر و تحلیل گردید، اسانس روغنی پونه مانع از رشد باکتری گرم مثبت و گرم منفی گردید اما این اثر در باکتری گرم مثبت بیشتر بوده و ممانعت بهتری در برابر رشد این نوع باکتری از خود نشان داد، به نحوی که قطر هاله ایجاد شده در اطراف چاهک در باکتری گرم مثبت برابر با ۳۲ میلی متر بوده و این پارامتر در برابر باکتری گرم منفی ۲۵ میلی متر بود، مکانیسم اصلی خاصیت ضدباکتریایی اسانس استخراج شده، بنظر می رسد آسیب به دیواره سلولی باکتری‌ها بوده و با تخریب این دیواره از رشد آن جلوگیری به عمل خواهد آورد و دلیل این تفاوت در ممانعت از رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، مربوط به ساختار فیزیکی این نوع باکتری‌ها می باشد، به طوری که تقریباً ۹۵-۹۰٪ دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت از پپتیدوگلیکان تشکیل شده است [۲۲]. در حالی که دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی از یک لایه نازک پپتیدوگلیکان و یک غشای بیرونی و یک لایه مستحکم لیپوپلی ساکارید<sup>۱۰</sup> تشکیل شده است.

### خاصیت ضد قارچی

<sup>10</sup> LPS: Lipo Poly Saccharide

به‌عنوان نقطه مورد مطالعه به‌عنوان میانگین تمامی نقاط مخزن در نظر گرفته شد و دمای اعمال شده (۲۵۰) درجه سانتی‌گراد) در مدت ۱۸۰ دقیقه بررسی گردید که نتایج به‌صورت منحنی در شکل (۱۱) نشان داده شده است.



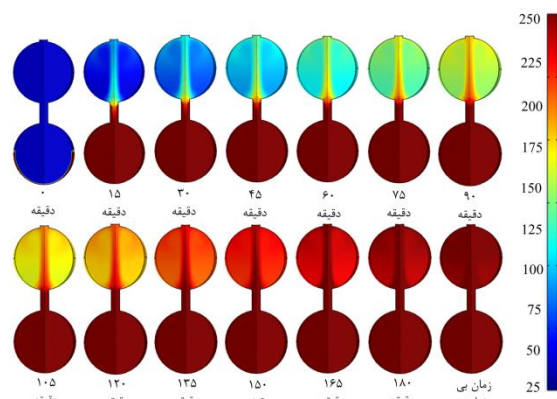
شکل ۱۱- منحنی تغییرات دمای اسانس گیری در برابر زمان مشخص شده در شکل (۱۱) که مربوط به دمای ۲۱۲ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان تقریبی ۱۶۲ دقیقه می‌باشد، تقریباً نقطه بهینه به‌دست آمده از طراحی آزمایش انجام گرفته است. بدین ترتیب با شبیه‌سازی انجام گرفته به راحتی می‌توان مدت زمان و میزان حرارت اعمال شده را به هم ارتباط داد و به‌صورت انتخابی موارد مختلف را جهت اسانس گیری در نظر گرفت که باهدف کلی در نظر گرفته شده در شبیه‌سازی حاضر، هم‌راستا می‌باشد و نتیجه به‌دست آمده مطابق با نتایج آزمایش‌های تجربی است.

### بررسی استقلال حل از تعداد شبکه و حجم کنترل‌ها

در نرم‌افزارهای شبیه‌سازی دقت حل وابستگی خاصی به میزان گره بندی و معادله‌های در نظر گرفته شده دارد، به طوری که هر چقدر تعداد گره‌ها بیشتر بوده، تعداد معادلات نیز افزایش پیدا کرده و حل انجام گرفته دقیق تر خواهد شد، اما به تناسب دقت بیشتر به دست آمده، زمان حل نیز افزایش پیدا کرده و در نهایت منجر به صرف زمان بیشتر خواهد گردید. در مسئله حاضر برای بررسی استقلال حل از تعداد گره‌ها و معادلات در نظر گرفته

شده، شبکه‌بندی‌های مختلفی در شکل ۱۲ (الف-ج) انجام گرفت. پس از شبکه‌بندی جدید، شبیه‌سازی با شبکه‌بندی‌های جدید ۱۲ ب و ۱۲ ج نیز انجام گرفت که نتایج به دست آمده تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشته و نتیجه به دست آمده نشان از استقلال حل معادلات از تعداد شبکه‌های موجود است، به همین خاطر جهت صرفه‌جویی در وقت و

شرایط مرزی و اولیه بر روی معادلات دیفرانسیل بیان شده در بخش‌های قبلی، شبیه‌سازی انجام شده و دمای لحظه‌ای برای مخازن به دست آمد که در شکل (۱۰) نشان داده شده است.



شکل ۱۰- شماتیک گرافیکی تغییرات دمای گیاه پونه موجود در محفظه اسانس گیری در برابر زمان

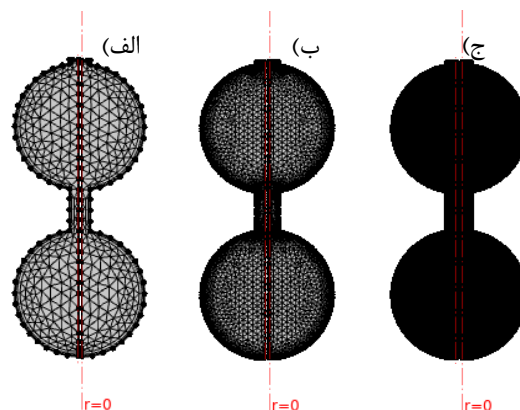
دمای اعمال شده گرم‌کن جهت حرارت دهی و عملیات اسانس گیری در بازه ۲۰۰ الی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۰ الی ۱۸۰ دقیقه در نظر گرفته شد که در شبیه‌سازی حاضر دمای میانگین (۲۵۰) درجه سانتی‌گراد) اعمال گردید. همان گونه که مشاهده می‌گردد در لحظه اولیه، دمای محیط، سیال آب موجود در مخزن نگهداری آب و مخزن حاوی گیاه پونه، یکسان بوده و ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. سپس در ۱۵ دقیقه ابتدایی، مخزن حاوی آب مقطر کاملاً با دمای اعمال شده هم‌دم گردیده و دمای مخزن حاوی گیاه پونه به تدریج افزایش پیدا خواهد کرد، افزایش دمای حاضر تحت مکانیسم جابجایی توسط بخار آب تشکیل شده و مکانیسم رسانش تبادل سیال بخار آب و گیاه پونه انجام گرفت. پس از اتمام شبیه‌سازی در ۱۸۰ دقیقه، مخزن حاوی گیاه پونه کمتر از ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بوده که با توجه به افت حرارت ایجاد شده در مسیر اسانس گیری، طبیعی می‌باشد، با اعمال زمان بی‌نهایت دمای مخزن حاوی گیاه پونه تقریباً برابر با دمای گرم‌کن بوده و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد خواهد شد.

### حل مسئله و تفسیر نتایج

پس از به دست آوردن تغییرات دما با زمان فرآیند اسانس گیری که شماتیک گرافیکی آن در شکل (۱۱) نشان داده شد. به منظور بررسی دقیق‌تر و مقایسه نتایج به دست آمده حاصل از شبیه‌سازی، دمای مرکز مخزن نگهداری حاوی گیاه پونه

حرارت پایین می‌توان به استخراج مناسب‌تری از اسانس‌های گیاهی می‌توان دست‌یافت.

همچنین انجام شبیه‌سازی با حالت ساده‌تر از ساده‌ترین شبکه‌بندی استفاده گردید.



شکل ۱۲- شبکه‌بندی‌های مختلف برای حل معادلات انتقال حرارت

#### منابع:

1. Walentowska J., Foksowicz-Flaczyk J., Thyme essential oil for antimicrobial protection of natural textiles, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **2013**, 84, 407-411.
2. Agatonovic-Kustrin S., Kustrin E., Morton D.W., Essential oils and functional herbs for healthy aging, *Neural Regen. Res.*, **2019**, 14, 441-445.
3. Sundararajan B., Moola A.K., Vivek K., Kumari B.D.R., Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*), *Microb. Pathog.*, **2018**, 125, 475-485.
4. Khezri K., Farahpour M.R., Mounesi Rad Sh., Efficacy of *Mentha pulegium* essential oil encapsulated into nanostructured lipid carriers as an in vitro antibacterial and infected wound healing agent, *Colloids Surf. A Physicochem.* **2020**, 589, 124414.
5. Bernardi D.S., Pereira T.A., Maciel N.R., Bortoloto J., Viera G.S., Oliveira G.C., Rocha-Filho P.A., Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: In vitro and in vivo assessments, *J. Nanobiotechnology*, **2011**, 9, 101-108.
6. Hernández-Ochoa L., Aguirre-Prieto Y., Nevárez-Moorillón G., Gutierrez-Mendez N., Salas-Muñoz E., Use of essential oils and extracts from spices in meat protection, *J. Food Sci. Technol.*, **2014**, 51, 957-963.
7. Siva S., Li C., Cui H., Meenatchi V., Lin L., Encapsulation of essential oil

#### نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر در سه بخش مختلف انجام گرفت که شامل مطالعات آزمایشگاهی، بهینه‌سازی و شبیه‌سازی می‌باشد که هر کدام از گام‌های مختلف باهدف خاصی انجام گرفت که اسانس پونه کوهی با روش تقطیر با استفاده از دستگاه کلونجر تحت شرایط مختلف و متنوع دمایی با مدت زمان متغیر انجام گرفت که جهت بهینه‌سازی مقدار حجمی و خاصیت اسانس استخراج‌شده بهینه‌سازی و شبیه‌سازی انجام گرفت. مقدار حجمی اسانس استخراج‌شده تحت تأثیر مستقیم زمان اسانس‌گیری بوده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن با میزان حرارت اعمال‌شده رابطه عکس دارد، که با بهینه‌سازی انجام‌گرفته نقطه‌ای که مقدار حجمی بیشینه و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن بالا باشد به دست آمد، با استفاده از بهینه‌سازی می‌توان به معادلاتی جهت پیش‌بینی شرایط مختلف پرداخت که در مقاله حاضر نتیجه حاصل گردید. در ادامه با شبیه‌سازی انجام‌گرفته نیز نتایج به‌دست‌آمده از بهینه‌سازی تأیید گردید و با انجام این کار در جهت صرفه‌جویی در وقت، هزینه و ایمنی می‌توان گام برداشت و از انجام آزمایش‌هایی که منجر به صرف هزینه و وقت اضافه خواهد شد جلوگیری می‌شود. با بهینه‌سازی و شبیه‌سازی انجام‌گرفته اسانس به‌دست‌آمده در بالاترین خواص ضد میکروبی استخراج گردیده و می‌توان در مصارف مختلف از آن بهره برد. برآیند کلی نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر بدین صورت می‌باشد که در مدت زمان بالا و



15. Ahmadi O., Jafarizadeh-Malmiri H., Intensification process in thyme essential oil nanoemulsion preparation based on subcritical water as green solvent and six different emulsifiers, *Green Process. Synth.*, **2021**, 10, 430-439.
16. Eskandari-Nojedehi M., Jafarizadeh-Malmiri H., Rahbar-Shahrouzi J., Hydrothermal green synthesis of gold nanoparticles using mushroom (*Agaricus bisporus*) extract: physico-chemical characteristics and antifungal activity studies, *Green Process. Synth.*, **2018**, 7, 38-47.
17. Eshghi M., Kamali-Shojaei A., Vaghari H., Najian Y., Mohebian Z., Ahmadi O., Jafarizadeh-Malmiri H., *Corylus avellana* leaf extract-mediated green synthesis of antifungal silver nanoparticles using microwave irradiation and assessment of their properties, *Green Process. Synth.* **2021**, 10, 606-613.
18. Ahmadi O., Jafarizadeh-Malmiri H., Effectiveness of Soluble Oxygen in Preparation of Thyme Oil Nanoemulsion-Simulation and Characterization, *Iran. J. Chem. Eng.*, **2020**, 19, 42-53.
19. Ahmadi O., Jafarizadeh-Malmiri H., Mass Transfer Modeling in the Process of Thyme Essential Oil Extraction and Evaluation of Physico-Chemical Properties, *Iran. J. Chem. Eng.*, **2020**, 19, 27-36.
20. Katiyar R., Modeling and simulation of *Mentha arvensis* L. essential oil extraction by watersteam distillation process, *Int. Res. J. Eng. Technol.*, **2017**, 4, 2793-2798.
21. Ahmadi O., Jafarizadeh-Malmiri H., Simulation of the Preparation of Thyme Essential Oil Nanoemulsion Process Using Sub-critical Water and Evaluation of Its Properties, *Iran. J. Biosyst. Eng.*, **2021**, 51, 705-714.
8. Bubalo M.C., Vidović S., Redovniković I.R., Jokić S., New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents, *Food Bioprod. Process.*, **2018**, 109, 52-73.
9. Zhang Q.-W., Lin L.-G., Ye W.-C., Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review, *Chin. Med.*, **2018**, 13, 1-26.
10. Oreopoulou A., Tsimogiannis D., and Oreopoulou V., Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters, *Polyphenols in plants*, **2019**, 243-259.
11. Guo P., Cao Z., Chen S., Chen C., Liu J., Meng J. ,Application of design-expert response surface methodology for the optimization of recycled asphalt mixture with waste engine oil, *J. Mater. Civ. Eng.* **2021**, 33, 04021075.
12. Gartner III T.E., Jayaraman A., Modeling and simulations of polymers: a roadmap, *Macromolecules*, **2019**, 52, 755-786.
13. Liu Z.W., Dong L., and Li K., *Heat transfer characteristics analysis of intermediate rotating ring in mechanical seal based on COMSOL*, in *Advanced Materials Research*. 2014. p. 339-342.
14. Ahmadi O., Jafarizadeh-Malmiri H., Intensification and optimization of the process for thyme oil in water nanoemulsions preparation using subcritical water and xanthan gum, *Z.Phys.Chem.*, **2021**, 235, 629-648.



22. Anwer M.K., Jamil S., Ibnouf E.O., Shakeel F., Enhanced., antibacterial effects of clove essential oil by nanoemulsion, *J. Oleo Sci*, **2014**, 63, 347-354.
23. Nazzaro F., Fratianni F., Coppola R., and De Feo V., Essential oils and antifungal activity, *Pharma.*, **2017**, 10, 86.

## Oregano essential oil: Simulating and Optimizing Conditions for its Antioxidant and Antimicrobial Properties

Sarvin Mohammadi-Aghdam<sup>1\*</sup>, Omid Ahmadi<sup>2\*</sup>, MohammadJavad Seifi<sup>3</sup>

1- Department of Chemistry, Payam Noor University Tehran, Iran

2- Department of Food Engineering, Faculty of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

3- Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Maragheh University, Maragheh, Iran

\*Corresponding authors ([sarvin.s108@pnu.ac.ir](mailto:sarvin.s108@pnu.ac.ir)) ([o\\_ahmadi@sut.ac.ir](mailto:o_ahmadi@sut.ac.ir))

### Abstract

Oregano essential oil is one of the important essential oils and has various properties; the intensity of these properties depends on the extraction method and selection of suitable parameters during extraction. For this reason, in the current research, in order to optimize the conditions for extracting oregano essential oil using a Clevenger device and the method of distillation, the design of the experiment was carried out with the response surface methodology in the temperature range of 200-300 °C and the heating time was 60-180 minutes. After the optimization, the results showed that the temperature of 211 °C and the duration of 164 minutes was the most suitable mode for extracting essential oil, and in this case, the maximum amount of extracted volume was equal to 3.4 mL and the highest antioxidant property of oregano essential oil 63% will be obtained. The properties of the obtained essential oil were evaluated under optimal conditions and the results of FTIR analysis showed that there are different functional groups in the extracted oil. Also, the extracted essential oil showed suitable antibacterial properties against Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*) bacteria with halo diameters of 32 and 25 mm, respectively. The antifungal property of the extracted essential oil was also found to be 82%. In the end, by simulating the thermal conditions of essential oil extraction with COMSOL software, a suitable prediction was made for the application of thermal conditions for essential oil extraction, and the results established a precise relationship between temperature and extraction time.

**Keywords:** Antioxidant, Antimicrobial, Extraction, Optimization and Simulation, Oregano essential oil