

(Original Research Paper)

Optimization of the Extraction of Curcumin by Maceration Methods and Supercritical Fluid of Carbon Dioxide Using Response Surface Methodology

Zohre Yousefvand¹, Javad Sargolzaei^{1*}, Shadi Bolourian²

1- Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2- Institute of Food Science and Technology, Jahad Daneshgahi of Khorasan Razavi, Mashhad, Iran.

Received:19/12/2023

Accepted: 15/05/2024

Doi: [10.71810/jfst.2024.1004809](https://doi.org/10.71810/jfst.2024.1004809)

Abstract

Curcumin is a pigment extracted from the rhizome of turmeric (*Curcuma longa* L.), which has useful therapeutic properties in addition to its coloring properties. This study was conducted with the aim of investigating the extraction of curcumin by carbon dioxide supercritical fluid and comparing the results with the maceration method. In the supercritical carbon dioxide method, the effect of temperature, pressure and ratio of auxiliary solvent to solid substance on curcumin extraction efficiency was investigated. In the maceration method, the effect of independent parameters, including time, the ratio of acetone and ethanol solvents to each other, and the solvent-to-solid ratio on the optimization of curcumin extraction conditions, was investigated. In this method, curcumin extraction efficiency, extracted curcumin purity, and $L^*a^*b^*$ color parameters of curcumin were evaluated. The RSM and test design software were used in order to optimize extraction conditions in both mentioned methods. According to the results, the solvent-to-solid ratio had a significant effect ($p < 0.01$) on curcumin extraction efficiency in the maceration method, but in the supercritical carbon dioxide method, pressure changes and the auxiliary solvent-to-solid ratio had a significant effect ($p < 0.01$) on curcumin extraction efficiency. Also, the maximum yield of curcumin extraction under optimal conditions in maceration and carbon dioxide supercritical methods was obtained as 5.24 and 8.11%, respectively, which results indicate that the yield of curcumin extraction under optimal conditions in carbon dioxide supercritical method was 2.8% more than the maceration method.

Keywords: Optimization, Maceration, Surface Response, Supercritical, Curcumin.

(مقاله پژوهشی)

بهینه سازی استخراج کورکومین با روش های خیساندن و سیال فوق بحرانی دی اکسید کربن با استفاده از روش سطح پاسخ

زهره یوسف وند^۱، جواد سرگلزایی^{۱*}، شادی بلوریان^۲

۱- گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲- پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۶

Doi: [10.71810/jfst.2024.1004809](https://doi.org/10.71810/jfst.2024.1004809)

چکیده

کورکومین رنگدانه استخراج شده از ریزوم زردچوبه (*Curcuma longa L.*) است که علاوه بر خاصیت رنگ دهنده گی دارای خواص درمانی مفید نیز می باشد. این پژوهش با هدف بررسی استخراج کورکومین توسط سیال فوق بحرانی کربن دی اکسید و مقایسه نتایج حاصل از آن با روش خیساندن انجام شد. در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی اثر دما، فشار و نسبت حلال کمکی به ماده جامد بر بازدهی استخراج کورکومین بررسی شد. در روش خیساندن اثر پارامترهای مستقل شامل زمان، نسبت حلال های استون و اتانول به یکدیگر و نسبت حلال به ماده جامد بر بهینه سازی شرایط استخراج کورکومین بررسی شد و بازدهی استخراج کورکومین، خلوص کورکومین استخراج شده و پارامترهای رنگی $L^*a^*b^*$ کورکومین نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بهینه سازی شرایط استخراج در هر دو روش مذکور از روش سطح پاسخ و نرم افزار طرح آزمایش استفاده شد. نتایج نشان داد که در روش خیساندن نسبت حلال به ماده جامد اثر معنی داری ($p < 0/01$) روی بازدهی استخراج کورکومین داشت اما در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی، تغییرات دما، فشار و نسبت حلال کمکی به ماده جامد بر بازدهی استخراج کورکومین اثر معنی دار ($p < 0/01$) داشته است. همچنین حداکثر بازدهی استخراج کورکومین تحت شرایط بهینه در روش های خیساندن و کربن دی اکسید فوق بحرانی به ترتیب ۵/۲۴ و ۸/۱۱ درصد به دست آمد که این نتایج حاکی از این است که بازدهی استخراج کورکومین در شرایط بهینه در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی ۲/۸ درصد بیشتر از روش خیساندن بوده است.

واژه های کلیدی: بهینه سازی، خیساندن، سطح پاسخ، فوق بحرانی، کورکومین.

* مسئول مکاتبات: sargolzaei@um.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه افزودنی های رنگی در تهیه و تولید فرآورده های غذایی نقش بسزایی ایفا می کنند. در حال حاضر کارخانجات صنایع غذایی از رنگ های مصنوعی استفاده می کنند که برای سلامتی انسان مضر هستند. با توجه به اقلیم های متنوعی که در ایران وجود دارد، در زمینه تولید رنگ های غذایی با منشاء طبیعی می توان فعالیت های زیادی انجام داد (۲،۳). کورکومالانگا یک گیاه پایا متعلق به خانواده زنجبیلیان است که در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می شود. ریزوم خشک کورکومالانگا معمولاً به عنوان زردچوبه شناخته می شود. عامل رنگ زردچوبه از طیف زرد تا نارنجی هستند که به نام کورکومینوئید شناخته می شوند (۷، ۱۳). با توجه به رنگ پایدار و سمیت کم، کورکومینوئید به عنوان افزودنی، رنگ و طعم دهنده غذا مورد استفاده قرار می گیرند (۹، ۱۰). خواص ویژه کورکومین، آن را به یک عامل بالقوه درمانی برای پیشگیری از بیماری های مختلف، تبدیل کرده است (۱۶، ۲۰). فناوری های متعددی مانند روش خیساندن، استخراج به کمک سیال فوق بحرانی^۱، استخراج حلال های آلی معمولی، استخراج محلول قلیایی و استخراج اولتراسونیک برای استخراج کورکومینوئید وجود دارد (۱۴، ۱۸). در روش خیساندن، گیاه خشک و خرد شده در زمان های طولانی در معرض یک حلال (آب یا الکل) قرار داده می شود و حلال تنها بخش مورد نظر را به صورت انتخابی حل می کند. این روش به دلیل عدم نیاز به تجهیزات خاص، سهولت استفاده و هزینه عملیاتی پایین مورد استفاده قرار می گیرد. یکی دیگر از روش های مرسوم در فرآیند جداسازی، استخراج به کمک سیال فوق بحرانی است. در این روش از گاز کربن دی اکسید به عنوان حلال استفاده می شود. این گاز ویژگی های بینظیری مانند سمیت پایین، سازگار با ترکیبات حساس به دما، در دسترس بودن، خنثی، ارزان، بی بو و بی مزه بودن دارد. در این روش به خاطر فشار زیاد و ضریب نفوذ بالای کربن دی-

اکسید، قابلیت استخراج مواد به شدت افزایش می یابد (۱)، (۱۷). اسکاترو همکاران (۲۰۰۹)، آزمایشات مربوط به استخراج کورکومین و روغن های ضروری آن از ریزوم زردچوبه را به کمک سیال فوق بحرانی دی اکسید کربن و حلال اتانول انجام دادند. نتایج نشان داد بیشترین مقدار تولید کورکومینوئید ۶/۵۸ درصد بوده است (۲۴). پائولوسیو همکاران (۲۰۱۲)، اثر پارامترهای مختلف بر استخراج کورکومین از زردچوبه به کمک روش خیساندن را با استفاده از نرم افزار طرح آزمایش^۲ بررسی کردند (۲۲). مارتینز و همکاران (۲۰۱۷)، به منظور استخراج کورکومین از زردچوبه، فرآیندهای یک مرحله ای (شامل فرآیند دی اکسید کربن فوق بحرانی به کمک حلال اتانول و آب) و دو مرحله ای (شامل استخراج متوالی، در مرحله اول با استفاده از کربن دی اکسید فوق بحرانی و در مرحله دوم به کمک حلال آب یا اتانول) انجام دادند. نتایج نشان داد بالاترین میزان تولید کورکومین در فرآیند دو مرحله ای و در حضور حلال اتانول به میزان ۵۶/۴ درصد به دست آمد (۱۹). کاندا و همکاران (۲۰۲۳)، به منظور بهینه سازی استخراج ترکیبات کورکومینوئیدی از ریزوم زردچوبه به کمک روش فراصوت بر پایه مایع یونی، از روش سطح پاسخ و طرح باکس- بنکن در سه فاکتور و پنج سطح بهره گرفتند و به بازدهی استخراج ۶ درصد رسیدند (۱۵). در این تحقیق بررسی فاکتورهای زمان بهینه، نسبت حلال به وزن ماده خشک، نسبت حلال های استون و اتانول به یکدیگر، بررسی اثر فاکتورهای بیان شده بر بازدهی استخراج کورکومین موجود در زردچوبه، خلوص کورکومین استخراج شده و بررسی پارامترهای رنگی a^* ، b^* و L^* کورکومین در روش ماسراسیون^۳ (خیساندن پویا) صورت گرفت. همچنین اثر پارامترهای دما، فشار و نسبت حلال کمکی به ماده جامد بر روی بازدهی استخراج کورکومین از ریزوم زردچوبه در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی نیز بررسی و مجموعه

2- Design Experimental Version 7.0

3- Maceration

1- Supercritical Fluid Extraction (SFE)

شرایط مطلوب و بهینه برای استخراج کورکومین در هر دو روش با استفاده از روش پاسخ سطح تعیین و نتایج با هم مقایسه شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

ریزوم زردچوبه رقم هندوستان از شهر زاهدان، استان سیستان و بلوچستان و کورکومین با خلوص ۹۷٪ از شرکت یونیکورن^۱ هند خریداری شد. مواد شیمیایی نظیر استون خالص، اتانول خالص و هگزان خالص از شرکت مرک آلمان به منظور انجام آزمایش های علمی در اختیار قرار داده شدند.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- آماده سازی پودر زردچوبه

ریزوم های زردچوبه به کمک آسیاب چکشی صنعتی (Waring, America) خرد شد. برای اینکه نمونه های مورد آزمایش دارای اندازه یکنواخت و یکسانی باشند پس از آسیاب کردن، پودر حاصل از الک با مش ۴۰ عبور داده شد، سپس عملیات استخراج مطابق روش های توضیح داده شده در بخش های بعد، بر روی آن ها انجام خواهد گردید.

۲-۲-۲- جداسازی روغن زردچوبه

مقداری از زردچوبه جهت روغن زدایی در حلال هگزان به نسبت ۱ به ۳ به مدت ۶ ساعت در ۳ مرحله خیسانده شد و روی

شیکر (Gerhardt, Germany) با چرخش ۱۳۰ دور بر دقیقه قرارگرفت و هر دو ساعت پس از صاف کردن، حلال تازه به آن افزوده شد، پس از آن پودرهای صاف شده زیر هود به مدت ۲۴ ساعت خشک شد. پودر روغن گیری شده تا مرحله استخراج در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

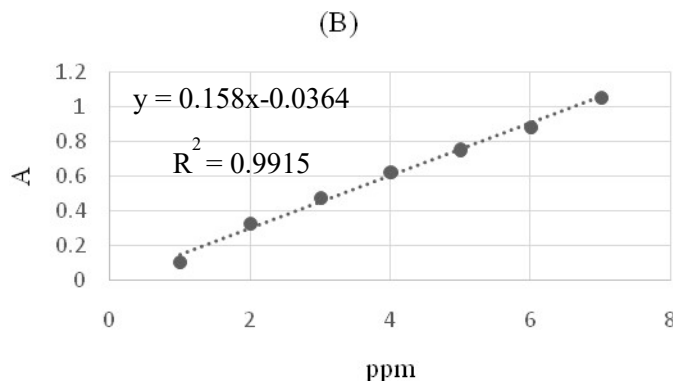
۲-۲-۳- نحوه استخراج کورکومین به کمک حلال

در این پژوهش از روش انحلال در حلال اتانول- استون با نسبت های ۰ تا ۱۰۰ به منظور استخراج استفاده شده است. نسبت حلال به جامد ۱۵ تا ۲۵ (جرمی/حجمی)، همچنین زمان فرآیند استخراج از ۱۲ تا ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. سایر عوامل نظیر سایز ذرات و دما که در فرآیند استخراج تأثیرگذار می باشند به عنوان متغیر مستقل در فرآیند بهینه سازی در نظر گرفته شده اند. برای این منظور از روش های سوگیو همکاران (۲۶) و پائولوچی و همکاران (۲۲) با کمی اصلاحات استفاده شده است. جهت تهیه عصاره، مقدار مشخص از پودر ریزوم زردچوبه را با مقدار مشخص از نسبت حلال ها مخلوط نموده و در دمای محیط توسط شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه مخلوط گشت. جهت استخراج کورکومین به کمک حلال، از سطوح آورده شده برای پارامترهای مختلف در جدول ۱ استفاده شد.

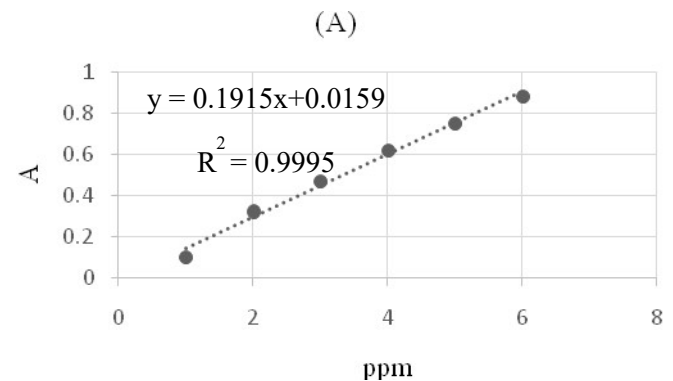
جدول ۱- متغیرهای مستقل فرآیند خیساندن و میزان سطوح آن ها برای طراحی آزمایش

متغیر مستقل	نماد ریاضی	سطوح متغیر		
		+۱	۰	-۱
زمان (ساعت)	A	۲۴	۱۸	۱۲
نسبت استون به اتانول (حجمی - حجمی)	B	۱۰۰	۵۰	۰
نسبت حلال به زردچوبه (حجمی - وزنی)	C	۲۵	۲۰	۱۵

و جذب (A) آن‌ها در طول موج ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۴). مطابق شکل ۱ منحنی استاندارد اتانول نیز، طبق روش ذکر شده برای مخلوط حلال‌های اتانول-استون، رسم می‌شود.



جهت تعیین منحنی استاندارد، ۱۰ میلی‌گرم کورکومین خالص ۹۸ درصد در حلال استون-اتانول حل گردید تا محلول با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شود. از محلول حاصل غلظت‌های ۰/۰۰۱ تا ۰/۰۰۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را تهیه کرده



شکل ۱- منحنی استاندارد (A) اتانول- استن، (B) استون

عصاره غلیظ شده در مجاورت هوا قرار داده شد تا خشک گردد. طبق دستورالعمل سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران خلوص کورکومین محاسبه شد، به این ترتیب که به دقت ۸۰ میلی‌گرم از نمونه را با ترازو (Kerner, Germany) وزن کرده و به داخل بالن با حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر ریخته و مقداری اتانول به آن اضافه کرده و به صورت چرخشی حرکت داده تا کاملاً حل شود. سپس با استفاده از اتانول به حجم ۲۰۰ رسانده شد. یک میلی‌لیتر از این محلول را در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با استفاده از اتانول به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس میزان جذب (A) آن را در محدوده طول موج ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری و از اتانول به عنوان شاهد استفاده شد (۳). محتوای مواد رنگی کل با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

$$\text{درصد مواد رنگی کل} = \frac{A \times 2}{W}$$

در این معادله A عدد جذب محلول نمونه، W وزن نمونه نمونه برداشتی است. همچنین ۱۶۰۷ عدد جذب ویژه محلول استاندارد کورکومین در اتانول در طول موج ۴۲۵ نانومتر است.

۲-۲-۴- تعیین مقدار کورکومین استخراج شده

جهت بررسی و تعیین کورکومین استخراج شده، از دستگاه اسپکتروفوتومتری (Biochrome, England) استفاده شد. برای این منظور کورکومین از زردچوبه با حلال‌های استون، اتانول و مخلوطی از این دو با استفاده از روش مذکور استخراج شد. برای تعیین مقدار کورکومین استخراج شده، به کمک سمپلر (Brand, Germany) ۵۰ میکرولیتر از محلول کورکومین هر نمونه را در بالن ژوژه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و با ورتکس (IKA, Germany) کاملاً مخلوط می‌کنیم، سپس مستقیماً جذب آن در طول موج ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه غلظت کورکومین پس از قراردادی میزان جذب‌های خوانده شده در معادله خط به دست آمده از هر حلال با توجه به شکل ۱ میزان غلظت واقعی نمونه محاسبه می‌شود.

۲-۲-۵- تهیه پودر کورکومین از عصاره کورکومین و اندازه‌گیری خلوص

برای این منظور با استفاده از دستگاه روتاری (Labconco, America) حلال موجود در عصاره کورکومین جدا شد.

۲-۲-۶- تعیین پارامترهای رنگی کورکومین

اندازه گیری پارامترهای رنگی (L^* ، a^* ، b^*) عصاره توسط دستگاه رنگ سنج^۱ (Colorflex, America) انجام شد. بدین ترتیب، مقادیر L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی) و b^* (زردی) هر یک از نمونه ها در ۳ جهت محاسبه و میانگین آنها گزارش شد.

۲-۲-۷- استخراج کورکومین به کمک روش سیال فوق -

بحرانی

مطابق عملکرد دستگاه استخراج فوق بحرانی که در آزمایشگاه پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد است، دی اکسید کربن به عنوان سیال فوق بحرانی با دما و فشار تنظیم شده با نمونه های حاوی کمک حلال اتانول تماس پیدا می کند و فرآیند

استخراج در مدت زمان مشخص انجام می پذیرد. با برقراری جریان پایای سیال فوق بحرانی و سپس استخراج مواد مورد نظر از نمونه های جامد و گذشت زمان مورد نظر، عملیات متوقف می شود و تخلیه کامل دی اکسید کربن انجام می شود. محلول استخراج شده ی حاوی کورکومین از ظرف استخراج خارج می شود و تحت آنالیزهای بعدی قرار می گیرند (۱). تعیین بازدهی وزنی کورکومین استخراج شده در این روش مشابه با روش حلال خواهد بود و از معادله (۱) به دست می آید. همچنین محتوای کورکومین موجود در عصاره های مختلف با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۲ (Ceceil, England) به دست آمد. جهت استخراج کورکومین به کمک کربن دی اکسید فوق بحرانی، از سطوح آورده شده برای پارامترهای مختلف در جدول ۲ استفاده شد.

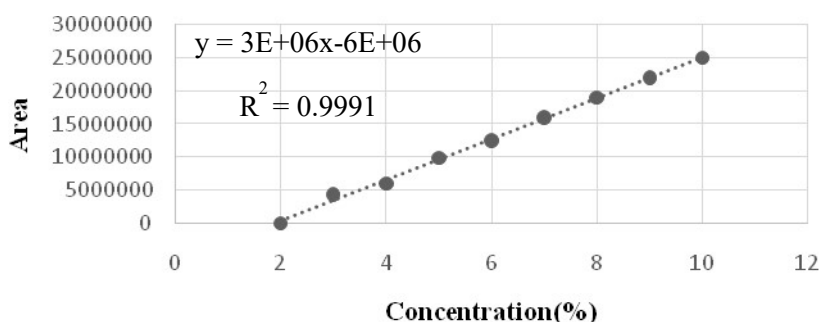
جدول ۲- متغیرهای مستقل فرآیند کربن دی اکسید فوق بحرانی و مقادیر آنها

متغیر مستقل	نماد ریاضی	سطوح متغیر
		+۱ ۰ -۱
دما (درجه سانتی گراد)	A	۷۰ ۵۰ ۳۰
فشار (بار)	B	۳۰۰ ۲۰۰ ۱۰۰
نسبت حلال به زردچوبه (حجمی-وزنی)	C	۲ ۱ ۰

۸-۲-۲- شرایط عملیاتی روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

در پژوهش حاضر، برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون از کورکومین استاندارد با ستون C18 استفاده و این ستون در دمای ۳۳ درجه سانتی گراد نگه داشته شد. فاز متحرک شامل ۲٪ حجمی - حجمی محلول آبی استیک اسید و استونیتریل با نسبت ۴۰:۶۰ حجمی-حجمی (۴۰ به ۶۰) با سرعت جریان

۱ میلی لیتر در دقیقه بود. حجم تزریقی ۱۰ میلی لیتر بود. طول موج کوچکی در ۴۲۵ نانومتر تشخیص داده شد (۸). محلول پایه کورکومینوئیدی برای به دست آوردن غلظت های مشخص شامل ۲۰ تا ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر (۲ تا ۱۰ درصد وزنی-حجمی) با اتانول رقیق شد. منحنی استاندارد کورکومین بر اساس روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در شکل ۲ نشان داده شد.



شکل ۲- منحنی استاندارد روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

۳-۲- طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده ها

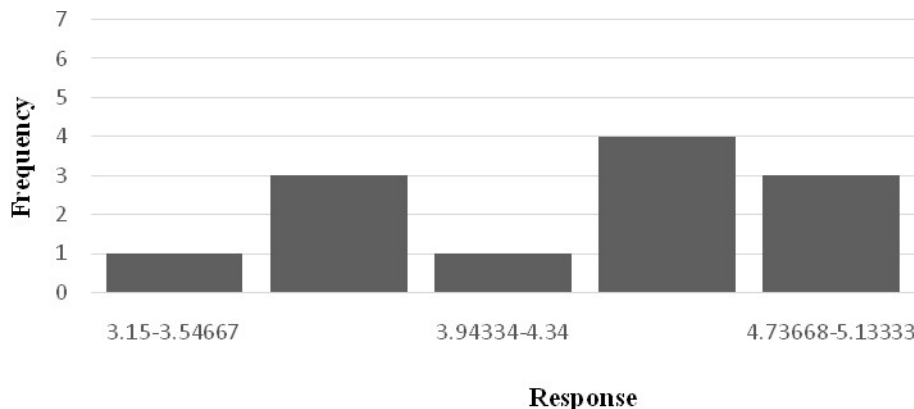
روش سطح پاسخ ماتریس، آزمایش را بر مبنای تعداد متغیرها و حدود بیشینه و کمینه تعیین شده برای هر متغیر طراحی می کند. بدین ترتیب سطوح متغیر در هر آزمون و همچنین تعداد آزمون ها مشخص می شود. در طراحی آزمایش ها، چیدمان به گونه ای است که حتی در صورت عدم تکرار آزمون، می توان به نتایج آماری قابل اعتمادی دست یافت؛ بنابراین این روش سبب تسهیل رویکرد پژوهش، کاهش زمان و سایر هزینه های جانبی می شود. از طرفی توانایی ارزیابی برهم کنش پارامترها بر یکدیگر را نیز دارا می باشد (۲۳، ۲۸). متغیرهای فرآیند براساس آزمایش های اولیه انتخاب و آنالیز واریانس (ANOVA) بر روی داده های تجربی با استفاده از نرم افزار طرح آزمایش انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بهینه سازی استخراج کورکومین از زردچوبه به کمک حلال با استفاده از روش سطح پاسخ
در این مطالعه هجده آزمایش توسط نرم افزار طراحی آزمایش، از طرح مرکب مرکزی به دست آمد. در ابتدا جهت تعیین مناسب ترین مدل، عملیات برازش داده های پژوهش صورت گرفت و به ترتیب فاکتورهای مستقل به مدل افزوده و معنی داری سطوح نمودارها در مدل، مورد آزمون قرار گرفت. با توجه به نتایج آزمون، مدل درجه دوم در برازش داده های بازدهی استخراج کورکومین با $(p < 0.001)$ از نظر آماری معنی دار بوده است. عبارت های مدل که برای پاسخ بازدهی استخراج معنی دار بوده اند شامل نسبت حلال به ماده جامد در سطح ۰/۹۹ $(p < 0.001)$ ، زمان و نسبت حلال ها $(p \leq 0.05)$ ، عبارات تاثیر متقابل نسبت حلال ها با نسبت حلال به جامد $(p \leq 0.05)$ و مقدار درجه دوم نسبت حلال ها $(p < 0.001)$ و نسبت حلال به جامد $(p \leq 0.05)$ بوده است. آزمون ضعف

می دهد. در این شکل فراوانی تعداد آزمایشات بر اساس پاسخ به دست آمده ترسیم شده است و محدوده پاسخ به دست آمده برای استخراج کورکومین از زرد چوبه ۵/۵۳-۳/۱۵ بوده است و ۶ آزمایش دارای بیشترین پاسخ در همین محدوده است.

برازش در مورد این پاسخ معنی دار نبود ($p > 0.05$). نتایج بررسی مدل سطح پاسخ برای بازدهی استخراج در روش حلال نشان داد که مدل مذکور به علت برخورداری از ضریب بالا $R^2 = 0$ از قدرت بالا به منظور بهینه سازی استخراج کورکومین از زردچوبه برخوردار است. شکل ۳ تیمارهای انجام گرفته بر روی استخراج کورکومین از زردچوبه در روش حلال را نشان



شکل ۳- تیمارهای انجام گرفته بر روی استخراج کورکومین از زردچوبه در روش حلال

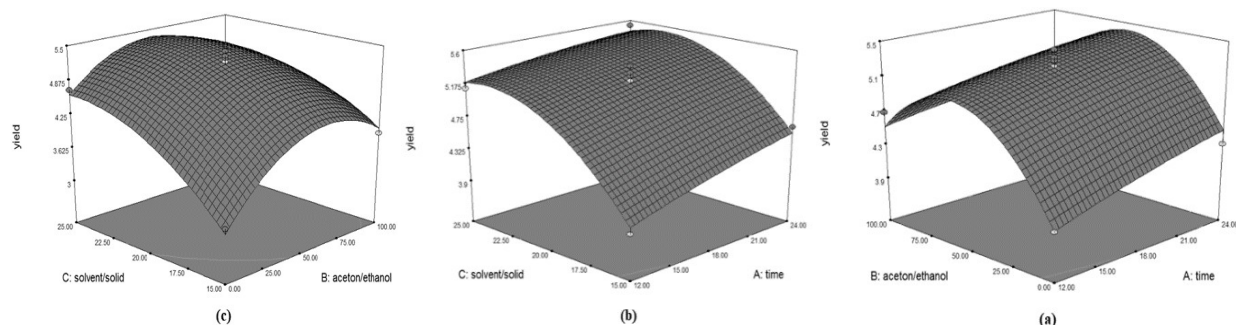
افزایش یافت (۲۱). تأثیر نسبت حلال به ماده جامد و زمان بر بازدهی در شکل های ۴-ب و ۴-ج نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد در تمامی شرایط اعمال شده برای استخراج کورکومین، نسبت حلال به ماده جامد، بیشترین تأثیر را بر غلظت استخراج کورکومین ایفا می کند. همچنین نتایج مشابهی مبنی بر تأثیرپذیری استخراج ترکیبات فنولی از میزان حلال و افزایش راندمان گزارش شده است (۵)، (۶). در استفاده از مقادیر بالای حلال مشاهده شد که اشباع شدن حلال از ترکیبات فنولی خصوصاً در زمان های طولانی- تر باعث کاهش یا ثابت ماندن بازدهی استخراج شده است. شکل های ۴-الف و ۴-ج تأثیر تغییر نسبت حلال ها به یکدیگر بر روی بازدهی را نشان می دهند.

۳-۲- آنالیز سطح پاسخ

شکل های سه بعدی اثر متغیرهای مستقل و اثر متقابل هر متغیر مستقل بر سیستم را نشان می دهد. در این شکل ها متغیر وابسته روی محور Z در مقابل دو متغیر مستقل ترسیم شد.

۳-۲-۱- پاسخ اول: بازدهی استخراج کورکومین

تغییرات بازدهی استخراج کورکومین از زردچوبه بر اساس تغییرات نسبت حلال های استون و اتانول و زمان، در نسبت حلال به جامد ثابت (نسبت ۲۰) در شکل ۴ نشان داده شد. با توجه به شکل های ۴-الف و ۴-ب با افزایش زمان، حلال فرصت پیدا می کند تا با افزایش پدیده اسمز به درون بافت گیاهی نفوذ کرده و ترکیبات پلی فنولی نیز فرصت کافی برای جدا شدن از ماتریکس و ورود به حلال را دارند، لذا بازدهی



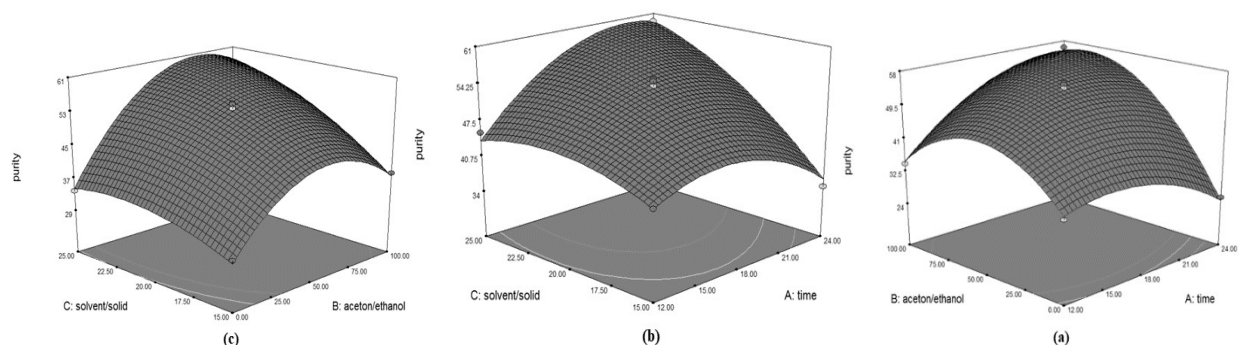
شکل ۴- منحنی پاسخ سطح بازدهی استخراج: (الف) اثر استون و اتانول نسبت حلال به زمان (ب) اثر نسبت زمان به حلال به جامد (ج) اثر نسبت حلال استون و اتانول به نسبت جامد

استخراج کورکومین بوده است (۱۲).

۳-۲-۲- پاسخ دوم: خلوص کورکومین

شکل ۵، تاثیر تغییرات پارامترهای زمان، نسبت حلال ها و نسبت حلال به جامد بر خلوص کورکومین استخراج شده را نشان می دهد. خلوص کورکومین با افزایش زمان به صورت پیوسته با شیب ملایمی افزایش یافت، در حالی که با افزایش نسبت حلال ها افزایش خلوص شیب تندتر و در مقادیر نزدیک به ۱۰۰ به مقدار ناچیزی کاهش یافت.

اثر نسبت حلال ها به گونه ای است که بیشترین بازدهی استخراج مربوط به نسبت ۵۰:۵۰ استون و اتانول استفاده شده است و پس از آن بیشترین بازدهی مربوط به زمانی است که استون به تنهایی استفاده شده و کمترین بازده استخراج زمانی است که از اتانول به تنهایی استفاده شد. درجه قطبیت حلال های مختلف میزان استخراج ترکیب پلی فنولی کورکومین را تحت تاثیر قرار می دهد (۲۷،۲۵). حیدری و همکاران (۲۰۱۲)، در پژوهش خود در استخراج کورکومین از ریزوم زردچوبه، اظهار نمودند که استون حلال مناسبی برای



شکل ۵- منحنی پاسخ سطح خلوص استخراج کورکومین: (الف) اثر زمان بر نسبت حلال های استون و اتانول (ب) اثر زمان به نسبت حلال به جامد (ج) اثر نسبت حلال های استون و اتانول-نسبت حلال به جامد

مشاهده شد. هر چه نسبت استون به اتانول بیشتر شود خلوص بالاتری به دست می آید که این امر به دلیل انحلال پذیری بهتر کورکومین در استون می باشد. نتایج حاصل از تحقیقات ژو و

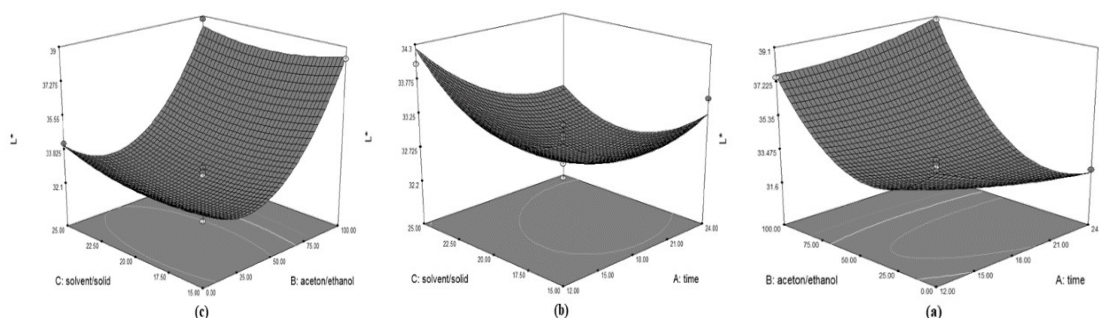
تاثیرگذاری نسبت حلال ها بر روی خلوص به مراتب از تاثیر زمان بیشتر بود. به طور کلی حداکثر میزان خلوص با توجه به شکل رویه سطح خلوص، در زمان های بالا و نسبت حلال بیشتر، به دست آمد که در نزدیکی همان مقادیر بیشینه بازدهی

همکاران (۲۰۱۵)، تاییدی بر صحت نتایج این پژوهش است (۳۰).

۳-۲-۳- پاسخ سوم: پارامتر رنگی L^*

نتایج حاصل از آنالیز واریانس حاکی از آن است که نسبت استون به اتانول اثر معنی داری بر میزان پارامتر رنگی L^* دارد ($p < 0.001$). همان طور که در شکل ۶ مشاهده می شود با افزایش نسبت حلال ها، مقادیر پارامتر رنگی L^* ابتدا مقدار کمی کاهش و سپس افزایش قابل توجهی دارد. یعنی با افزایش زمان از ۱۲ تا ۲۴ ساعت، با افزایش نسبت حلال ها از نسبت صفر تا ۵۰، پارامتر روشنایی کمی کاهش و سپس از نسبت ۵۰ تا ۱۰۰ از حلال ها با شیب تندتری افزایش می یابد. به بیان دیگر، کورکومین استخراج شده در نسبت ۵۰ درصد از

حلال ها، تیره ترین رنگ خود را دارد و بعد از آن در نسبت صفر و سپس نسبت ۱۰۰ روشنایی بالایی دارد. با افزایش زمان استخراج از ۱۲ تا ۲۴ ساعت، L^* کاهش و تنها در زمان ۲۴ ساعت با افزایش نسبت حلال ها از صفر تا ۱۰۰ مقدار این پارامتر به میزان کمی افزایش می یابد. بدون در نظر گرفتن سایر پارامترها با افزایش نسبت حلال به جامد این پارامتر رنگی اندکی افزایش می یابد. در شکل های ۶-الف و ۶-ب روند افزایش L^* که به معنای افزایش روشنایی است، با گذر زمان کاهش می یابد. تاثیر گذاری بالای نسبت حلال ها در مقایسه با تاثیر نسبت حلال به جامد در ۶ج مشاهده می شود. نتایج حاصل از تحقیقات اسکاگر (۲۰۰۹)، تاییدی بر صحت نتایج این پژوهش است (۲۴).

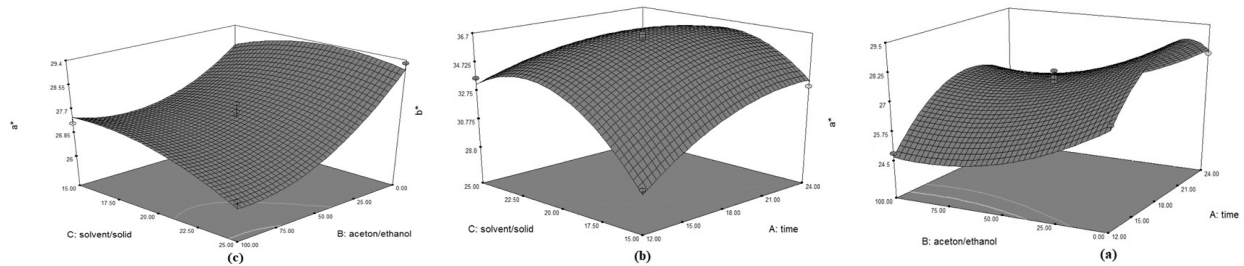


شکل ۶- منحنی پاسخ سطح پارامتر رنگی L^* : (الف) اثر زمان به حلال های استون و اتانول (ب) اثر زمان به نسبت حلال به جامد (ج) اثر نسبت حلال های استون و اتانول- نسبت حلال به جامد

۳-۲-۴- پاسخ چهارم: پارامتر رنگی a^*

نتایج آنالیز واریانس مدل نشان می دهد که نسبت حلال ها به یکدیگر ($p < 0.001$) بر مقادیر پارامتر رنگی a^* ، همچنین اثر متقابل زمان-نسبت حلال به جامد و اثر متقابل نسبت حلال به جامد-نسبت حلال ها ($p < 0.05$)، اثر منفی و معنی داری داشتند که در شکل ۷ نشان داده شد. با توجه به شکل های ۷-الف و ۷-ب با افزایش زمان، a^* ابتدا افزایش و سپس کاهش و با افزایش نسبت حلال ها از صفر تا ۱۰۰، a^* کاهش می یابد. اثر پارامتر نسبت حلال به جامد اثر چندانی بر این پارامتر رنگی

ندارد و افزایش این متغیر مقدار a^* را به میزان ناچیزی افزایش می دهد که در شکل ۷-ب نمایش داده شد. شکل ۷-ج اثر متقابل نسبت حلال ها و نسبت حلال به جامد را بر پارامتر a^* نشان می دهد که با افزایش نسبت حلال به ماده جامد در حضور اتانول خالص، مقدار a^* افزایش می یابد در حالی که در حضور استون خالص با افزایش نسبت حلال به جامد این پارامتر کاهش دارد. نتایج حاصل از تحقیقات حق بخش و همکاران (۲۰۱۳)، تاییدی بر صحت نتایج این پژوهش است (۱۱).

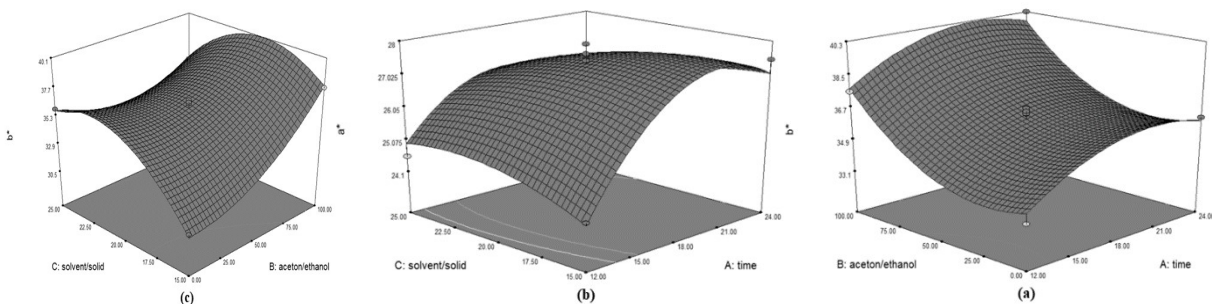


شکل ۷- منحنی پاسخ سطح پارامتر رنگی a^* : (الف) اثر زمان به حلال های استون و اتانول (ب) اثر زمان به نسبت حلال به جامد (ج) اثر نسبت حلال های استون و اتانول- نسبت حلال به جامد

هر چه نسبت حلال به جامد افزایش یابد این پارامتر رنگی ابتدا افزایش و سپس در مقادیر بالای این نسبت، کمی کاهش می یابد. براساس نتایج به دست آمده مشخص شد در تمامی شرایط اعمال شده برای استخراج کورکومین، نسبت حلال ها بیشترین تاثیر را بر کلیه پارامترهای رنگی پودر کورکومین حاصل اعمال می کند. نتایج حاصل از تحقیقات بررسیکی (۲۰۱۸)، تاییدی بر صحت نتایج این پژوهش است (۵).

۳-۲-۵- پاسخ پنجم: پارامتر رنگی b^*

شکل ۸- الف تاثیر متقابل زمان و نسبت حلال ها بر روی پارامتر رنگی b^* را نشان می دهد. همان طور که مشاهده می گردد با افزایش نسبت حلال ها و نیز افزایش زمان، مقادیر پارامتر رنگی b^* افزایش می یابد. با توجه به نتایج آنالیز واریانس، نسبت حلال به جامد تاثیر معنی داری روی این پارامتر ندارد. در شکل های ۸-ب و ۸-ج مشاهده می شود که



شکل ۸- منحنی پاسخ سطح پارامتر رنگی b^* : (الف) اثر زمان به حلال های استون و اتانول (ب) اثر زمان به نسبت حلال به جامد (ج) اثر نسبت حلال های استون و اتانول- نسبت حلال به جامد

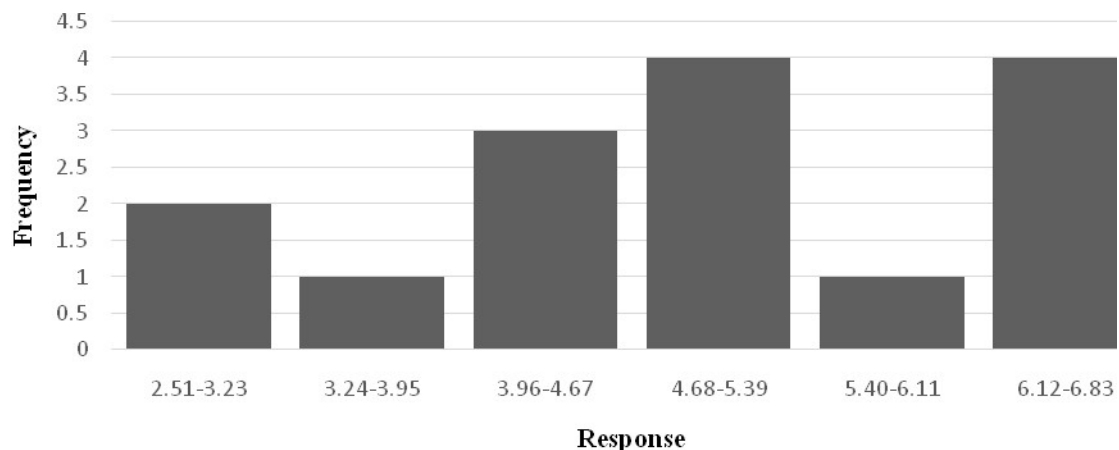
اکسید فوق بحرانی بررسی شد. با توجه به نتایج آزمون، مدل درجه دوم در برازش داده های بازدهی استخراج کورکومین با $(p < 0.0004)$ از نظر آماری معنی دار بوده است که بیانگر این است که مدل مذکور قابلیت پیش بینی مقادیر تابع را دارد. عبارت های مدل که برای پاسخ بازدهی استخراج معنی دار بوده اند شامل پارامترهای دما، فشار و نسبت حلال کمکی به جامد همگی در سطح 0.99 ($p < 0.01$)، معنی دار بوده و

۳-۳- بهینه سازی استخراج کورکومین به کمک کربن -

دی اکسید فوق بحرانی با استفاده از روش سطح پاسخ

جهت تعیین مناسب ترین مدل، عملیات برازش داده های پژوهش صورت گرفت و به ترتیب فاکتورهای مستقل به مدل افزوده و معنی داری سطوح نمودارها در مدل، مورد آزمون قرار گرفت و تاثیر دما، فشار و نسبت حلال کمکی به جامد بر روی افزایش استخراج کورکومین در روش کربن دی

بر روی استخراج کورکومین از زردچوبه در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی را نشان می دهد. در این شکل فراوانی تعداد آزمایشات بر اساس پاسخ به دست آمده ترسیم شده است و محدوده پاسخ به دست آمده برای استخراج کورکومین از زردچوبه ۶/۸۳-۲/۵۱ بوده است و ۴ آزمایش دارای بیشترین پاسخ در همین محدوده است.



شکل ۹- شکل تیمارهای انجام گرفته بر روی استخراج کورکومین از زردچوبه در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی

افزایش و سپس کاهش می یابد. این امر ناشی از تاثیر فشار بر روی حلالیت کورکومین در کربن دی اکسید فوق بحرانی است. به طور کلی در محدوده های متوسط از دما و فشار، هر دو تقریباً تاثیر یکسانی روی چگالی و تراکم می گذارند و در محدوده ای پایین از دما و فشار، فشار حساس تر از دماست اما در محدوده های بالا از دما و فشار، درجه حرارت حساس است. واضح است با افزایش فشار و کاهش دما، میزان تراکم و نفوذپذیری کربن دی اکسید فوق بحرانی افزایش و موجب استخراج هرچه بیشتر کورکومین می شود (۲۹). نتایج حاصل از تحقیقات حق بخش و همکاران (۲۰۱۳)، تاییدی بر صحت نتایج این پژوهش است (۱۱). همان طور که در شکل ۱۰-الف و ۱۰-ب مشاهده می شود در هر دما و نسبتی از حلال کمکی به ماده جامد، با افزایش دما بازدهی ابتدا افزایش سپس کاهش می یابد. شایان ذکر است که مقادیر بالای بازدهی زمانی به

بنابراین دارای اثر درجه دوم بر درصد بازدهی استخراج بوده اند. آزمون ضعیف برازش در مورد این پاسخ معنی دار نبود ($p > 0.05$). نتایج بررسی مدل سطح پاسخ برای بازدهی استخراج در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی نشان داد که مدل مذکور به علت برخورداری از ضریب بالا $R^2 = 0.92$ از کفایت و قدرت بالا به منظور بهینه سازی استخراج کورکومین از زردچوبه برخوردار است. شکل ۹ تیمارهای انجام گرفته

۳-۴- گزینش مدل مناسب

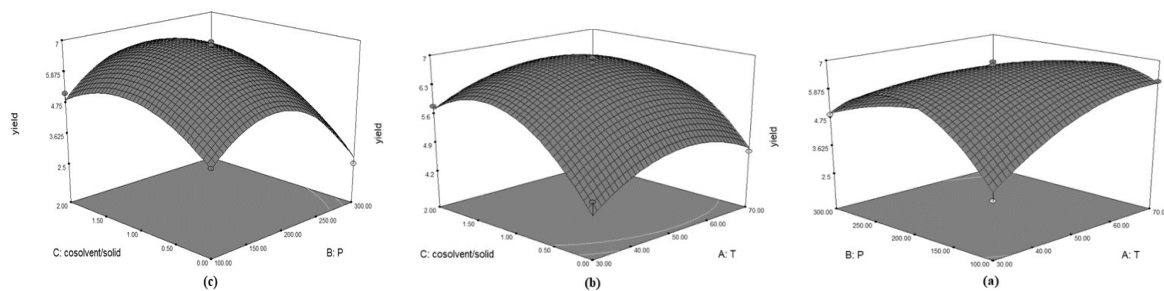
نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ برای بازدهی استخراج کورکومین به کمک روش های خیساندن و کربن دی اکسید فوق بحرانی نشان داد مدل درجه دوم بهترین مدل برای بررسی اثر متغیرهای مستقل بر استخراج کورکومین از زردچوبه می باشد. همچنین نتایج آنالیز آماری مدل برازش یافته (درجه دوم) نشان داد که روش کربن دی اکسید فوق بحرانی به علت برخورداری از ضریب بالاتر از قدرت بالاتری به منظور بهینه سازی استخراج کورکومین از زردچوبه برخوردار می باشد.

۳-۵- آنالیز سطح پاسخ

همان طور که قبلاً بحث شد فشار و اثر متقابل دما-فشار تاثیر معنی داری روی بازدهی استخراج کورکومین دارند. در دمای ثابت با افزایش فشار، بازدهی استخراج کورکومین ابتدا

دی اکسید فوق بحرانی می شود، حال آن که اگر در این شرایط از حلال کمکی در نسبت های بالا استفاده شود تاثیر منفی روی سطح تماس و در نهایت نفوذ پذیری کربن دی اکسید می گذارد. ضمناً ترکیبات پلی فنولی حساس هستند و ممکن است در فشارهای بالا تجزیه شوند. زمانی هم که از حلال کمکی استفاده نشد با افزایش فشار بازدهی ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت که این امر می تواند ناشی از ترکیبات حساس در فشارهای بالا باشد. نتایج حاصل از تحقیقات مورائس و همکاران (۲۰۱۳)، تاییدی بر صحت نتایج این پژوهش است (۲۱).

دست آمد که نسبت حلال کمکی به ماده جامد بالا بود که این امر می تواند ناشی از تاثیر حلال کمکی به افزایش حلالیت کورکومین در حلال کربن دی اکسید فوق بحرانی باشد. باتوجه به شکل ۱۰-ج در هر فشاری با افزایش میزان حلال کمکی بازدهی استخراج ابتدا افزایش و سپس کاهش می یابد. همچنین در نسبت های ثابت از حلال کمکی با افزایش فشار بازدهی استخراج ابتدا افزایش سپس کاهش می یابد. این روند می تواند ناشی از تاثیر هر دو پارامتر بر روی حلالیت کورکومین باشد. در فشارهای بالا تراکم کربن دی اکسید فوق بحرانی افزایش می یابد که باعث افزایش نفوذ پذیری کربن



شکل ۱۰- شکل پاسخ سطح بازدهی استخراج کورکومین: (الف) تأثیر فشار- دما (ب) تأثیر دما- نسبت حلال کمکی به جامد (ج) تأثیر فشار- نسبت حلال کمکی به جامد

در روش کربن دی اکسید فوق بحرانی، نقاط بهینه شامل دمای ۵۴ درجه سانتی گراد، فشار ۱۸۰ بار و نسبت حلال کمکی به ماده جامد ۱/۲ به دست آمد. همان طور که در بهینه یابی به کمک متدلوژی رویه سطح مشاهده شد، در روش استخراج به کمک کربن دی اکسید فوق بحرانی بازدهی استخراج کورکومین از روش خیساندن بیشتر بود که مقادیر آن در جدول ۳ آورده شده است.

۳-۶- مقایسه مقادیر بهینه روش های استخراج به کمک حلال و کربن دی اکسید فوق بحرانی به کمک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

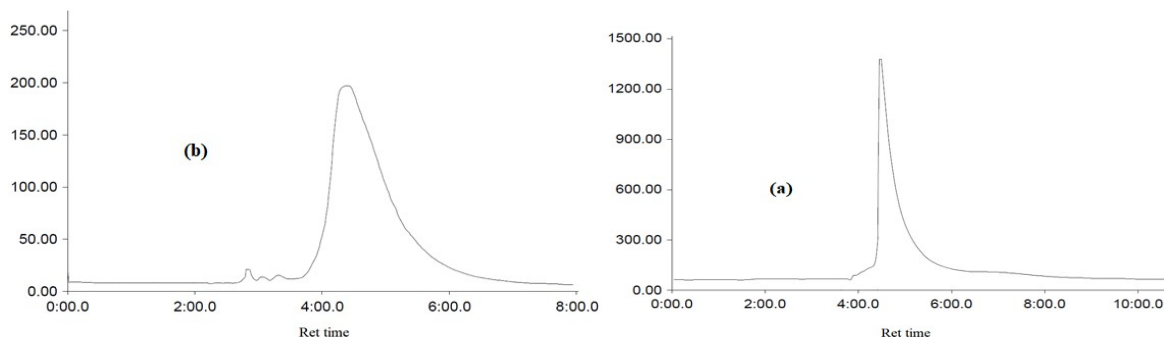
بر اساس نتایج حاصل از بهینه سازی، حداکثر درصد پاسخ های بازدهی که در استخراج کورکومین و خلوص کورکومین در روش خیساندن استخراج شده بود شامل زمان ۲۴ ساعت، نسبت حلال های ۵۷ درصد و نسبت حلال به جامد ۲/۳ به دست آمد. همچنین بر اساس نتایج حاصل از بهینه سازی

جدول ۳- مقایسه میزان بازدهی استخراج کورکومین در نقطه بهینه دو روش خیساندن و کربن دی اکسید فوق بحرانی

روش استخراج	میزان بازدهی استخراج (درصد)
کربن دی اکسید فوق بحرانی	۸/۱۰۷۲
خیساندن	۵/۲۴۴۴

بهینه روش کربن دی اکسید فوق بحرانی از روش خیساندن بیشتر است که در شکل ۱۱ نشان داده شد.

بر اساس نتایج به دست آمده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نیز مشاهده می شود میزان استخراج کورکومین در شرایط



شکل ۱۱- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا از نقطه بهینه استخراج کورکومین به روش (a) سیال فوق بحرانی و (b) خیساندن

داد مدل درجه دوم بهترین مدل برای بررسی اثر متغیرهای مستقل بر استخراج کورکومین از زردچوبه می باشد.

۴- نتیجه گیری

به طور کلی با مقایسه مقادیر حاصله، مشاهده گردید روش استخراج به کمک سیال فوق بحرانی با وجود کم بودن زمان فرآیند و میزان کم حلال آلی مصرفی، موفق تر عمل کرده و بازدهی استخراج بالاتری نسبت به روش خیساندن دارد. بازدهی استخراج کورکومین در نقطه بهینه در روش خیساندن ۵/۲۴ درصد و در روش سیال فوق بحرانی ۸/۱۱ درصد به دست آمد. مقادیر بالای بازدهی زمانی به دست آمد که نسبت حلال کمکی به ماده جامد بالا بود که این امر می تواند ناشی از تاثیر حلال کمکی به افزایش حلالیت کورکومین در حلال کربن دی اکسید فوق بحرانی باشد به طوری که ابتدا حلال کمکی به استخراج اولیه کورکومین کمک می کند و باعث می شود کربن دی اکسید راحت تر به خلل و فرج زردچوبه نفوذ کند. با افزایش نفوذپذیری کربن دی اکسید فوق بحرانی میزان کورکومین بیشتری استخراج و در نتیجه بازدهی افزایش می یابد. نتایج آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ نیز برای بازدهی استخراج کورکومین به کمک دستگاه سیال فوق بحرانی نشان

۵- منابع

- کرانی فاطمه، سرگلزایی جواد. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی موسیلاژ بامیه و مقایسه کارایی استخراج دو روش حلال و فوق بحرانی. نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۴۰۰؛ ۱۷ (۲): ۳۹۲-۳۹۷. doi:10.22067/IFSTRJ.379.2020.39267
- مرتضوی، ع.، عزتی، ر.، فدوی، ا.، دزیابی، م.، عزیزی، ر. ۱۳۸۴. کاربرد سیال فوق بحرانی در صنایع غذایی. انتشارات پریور، تبریز، ص: ۲۵-۱۰
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۳. استاندارد زردچوبه ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره ۲۵۲، چاپ اول.

4. Abtahi MS, Hosseini H, Fadavi A, Mirzaei H, Rahbari M. The optimization of the deep-fat frying process of coated zucchini pieces by response surface methodology. *Journal of*

- evaluation. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2024;32(1):19-30.
doi:10.1016/j.jsps.2023.101912.
14. Insuan W, Hansupalak A, Chahomchuen T. Extraction of curcumin from turmeric by ultrasonic-assisted extraction, identification, and evaluation of the biological activity. *Journal of HerbmmedPharmacol*. 2022; 11(2):188-96.
doi:10.34172/jhp.2022.23.
15. Kanda H, Zhu L, Zhu W, Wang T. Ethanol-free extraction of curcumin and antioxidant activity of components from wet curcuma longa L. by liquefied dimethyl ether. *Arabian Journal of Chemistry*. 2022;16(4):104-14.
doi:10.1016/j.arabjc.2023.104585.
16. Manasa PSL, Kamble AD, Chilakamarthi U. Various extraction techniques of curcumin-a comprehensive review. *ACS OMEGA*. 2023;8(38):34868–78.
doi:10.1021/acsomega.3c04205.
17. Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave assisted extraction of curcumin by sample-solvent dual heating mechanism using taguchi L9 orthogonal design. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008;46(2):322-27.
doi:10.1016/j.jpba.2008.10.020.
18. Marczylo TH, Steward WP, Gescher A. Rapid analysis of curcumin and curcumin metabolites in biomatrices using a novel ultraperformance liquid chromatography (uplc) method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009;57(3):793-99.
doi:10.1021/jf803038f.
19. Martinez HA, Paula JT, Kaano ACAV, Queiroga CL, Costa FTM, Cabral FA. Composition and antimalarial activity of extract of curcuma longa L. obtained by a combination of extraction processes using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017;119(8):122-29.
doi:10.1016/j.supflu.2016.08.017.
20. Mohajeri M, Sahebkar AH. Protective effects of curcumin against doxorubicin-induced toxicity and resistance: A review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2018;122(5):30-51.
doi:10.1016/j.critrevonc.2018.12.005.
21. Moraes MN, Zabot GL, Prado JM, Angela M, Meireles A. Obtaining antioxidants from botanic matrices applying novel extraction *Culinary Science & Technology*. 2016;14(2):176–89.
doi:10.1080/15428052.2015.1111181.
5. Briske D, Sax A, Mallard AR, Rao A. Increased bioavailability of curcumin using a novel dispersion technology system. *European Journal of Nutrition*. 2018; 58(5):1-11.
doi:10.1007/s00394-018-1766-2.
6. Chen K, Go L, Li Q, Li HR, Zhang Y. Effects of CO₂ pretreatment on the volatile compounds of dried Chinese jujube (Zizyphus jujuba miller). *Food Science and Technology (Campinas)*. 2017;37(4):105-12.
doi:10.1590/1678-457X.20016.
7. Cuica MD, Racovita RC. Curcumin: Overview of extraction methods, health benefits, and encapsulation and delivery using microemulsions and nano emulsions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(10):88-101.
doi:10.3390/ijms24108874.
8. Gugulothu DB, Desai P, Patravale VB. A versatile liquid chromatographic technique for pharmacokinetic estimation of curcumin in human plasma. *Journal of Chromatographic Science*. 2014;52(8):872–80.
doi:10.1093/chromsci/bmt131.
9. Gyers, R. H. and Montgomery, D.C. 1996. Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. Wiley, London, pp.18-30.
10. Haaland, P.D. 1989. Experimental design in biotechnology. CRC Press, Sheffield, pp.45-58.
11. Haghbakhsh R, Hayer H, Saidi M, Keshtkari S, Esmaeilzadeh F. Density estimation of pure carbon dioxide at supercritical region and estimation of solubility of solid compounds in supercritical carbon dioxide: Correlation approach based on sensitivity analysis. *Fluid Phase Equilibria*. 2013; 42(7):31-41.
doi:10.1016/j.fluid.2012.12.029.
12. Haydari M, Mortazvi SA, Asili J, Bolorian S, Mohammadi A, Abdolshahi A. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from flomidoschema parviflora. *Journal of Herbal Drugs*. 2013;3(1):7-13.
doi:10.1016/j.jsamd.2012.01.006.
13. Hosary R, Teaima MH, Nabarawi M, Yousry Y, Eltahan M, Nassif R M. Topical delivery of extracted curcumin as curcumin loaded spanlastics anti-aging gel: Optimization using experimental design and ex-vivo

26. Sogi DS, Sharma S, Oberoi DPS, Wani IA. Effect of extraction parameters on curcumin yield from turmeric. *Food Science and Technology*. 2010;47(3):310-15. doi:10.1007/s13197-010-0047-8.
27. Spigno G, Tramelli L, Faveri DMD. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food engineering*. 2007;81(1):211-18. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021.
28. Wang Z, Mei X, Chen X, Rao S, Li J, Yang Z. Extraction and recovery of bioactive soluble phenolic compounds from brocade orange (*Citrus sinensis*) peels: effect of different extraction methods thereon. *LWT*. 2023;173(3):114337-45. doi:10.1016/j.lwt.2022.114337.
29. Widmann AK, Wahl MA, Kammerer DR, Daniels R. Supercritical fluid extraction with CO₂ of *Curcuma longa* L. in comparison to conventional solvent extraction. *Pharmaceutics*. 2022;14(9):1943-49. doi:10.3390/pharmaceutics14091943.
30. Xu JL, Wang WC, Liang H, Zhang Q, Li QY. Optimization of ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of antioxidant compounds from *Curcuma longa* L. using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*. 2015;76(5):487-93. doi:10.1016/j.indcrop.2015.07.025.
- techniques. *Food and Public Health*. 2013;3(4):195-214. doi:10.5923/j.fph.20130304.04.
22. Paulucci VP, Couto RO, Teixeira CCC, Freitas LAP. Optimization of the extraction of curcumin from *Curcuma longa* rhizomes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2013;23(1):93-9. doi:10.1590/S0102695X2012005000117.
23. Rogers NM, Kireta S, Coates PTH. Curcumin induces maturation-arrested dendritic cells that expand regulatory T cells in vitro and in vivo. *Clinical & Experimental Immunology*. 2010;162(3):460-73. doi:10.1111/j.1365-2249.2010.04232.x.
24. Scotter MJ. Synthesis and chemical characterization of curcuminoid coloring principles for their potential use as HPLC standards for the determination of curcumin color in foods. *LWT- Food Science and Technology*. 2009;42(8):1345-51. doi:10.1016/j.lwt.2009.03.014.
25. Shirsath SR, Sable SS, Gaikwad SG, Sonawane SH, Saini DR, Gogate PR. Intensification of extraction of curcumin from *Curcuma amada* using ultrasound assisted approach: effect of different operating parameters. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017;38(6):437-45. doi:10.1016/j.ultsonch.201.03.040.