وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی

دستورالعمل

عنوان :

دستورالعمل تهیه مکملهای فایتوبیوتیکی از گیاهان داروئی

نویسنده:رودابه روفچایی

پژوهشکده آبزی پروری آبهای داخلی ۱۳۹۹

جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

پژوهشکده آبزی‌پروری آبهای داخلی

دستورالعمل تهیه مکملهای فایتوبیوتیکی از گیاهان داروئی

تهیه و تدوین:

رودابه روفچایی

دستورالعمل فنی- ترویجی، سال ۱۳۹۹

شماره بازنگری	تاریخ بازنگری	شرح مختصر تغییرات	صفحات مورد بازنگری

ردیف		صفحه
۱	هدف	۳
۲	دامنه کاربرد	۳
۳	مسئولیت	۷
۴	روش کار	۸
۴,۱	روشهای عصاره گیری	۱۱
۴,۲	اسانس و روش اسانس گیری	۱۷
۵	مستندات	۱۸

۱ – هدف

تقاضای روزافزون جهانی غذا و پرورش آبزیان و محدودیتهای ذخایر طبیعی آبزیان، رویکرد آبزی پروی را به سمت کشت متراکم و فوق متراکم سوق داده است. میزان آلایندگی آب در این سیستمها بیشتر از سیستمهای نیمه متراکم و باز بوده و میزان آلایندگی آب و احتمال بروز بیماری در آنها بیشتر خواهد بود. با توجه به قوانین بین المللی در زمینه ممنوعیت مصرف و کاربرد آنتی بیوتیکها در آبزی پروری، اهمیت افزودنیهای غذایی و مکملهای ایمنی بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از واکسن نیز به دلیل اختصاصی بودن عوامل بیماریزا و هزینه بالا، با محدودیت مواجه است. بررسی پژوهشهای صورت گرفته نشان میدهد که استفاده از پروبیوتیکها، پربیوتیکها، سین بیوتیکها و داروهای گیاهی(فایتوبیوتیکها) از اقبال و موفقیت خوبی در کنترل عوامل بیماریزای آبزیان برخوردار بوده است. در این میان، گیاهان منابع ارزان تری برای درمان بیماریها و حفظ محیط زیست بوده در مقایسه با مواد شیمیایی عوارض جانبی کمتری دارند. آگاهی از تکنیکهای مرسوم و بروز دنیا میتواند راهگشائی جهت بهره برداری از این منابع ارزشمند باشد. واژه فایتوبیوتیک از دو کلمه یونانی Phyto و Biotic به معنی"گیاهان حیات" گرفته شده است. مواد افزودنی با منشاء گیاهی (فایتوژنیک) همان فایتوبیوتیک یا گیاهان داروئی هستند. که نسل جدیدی از تحریک کنندههای رشد میباشند این ترکیبات مشتقات گیاهی هستندکه از برگ، ریشه، غده یا میوه گیاهان بدست میآیند و بصورت جامد، خشک، و یا به عنوان عصاره روغنهای ضروری جهت بهبود تغذیه مورد استفاده در پرورش دام و طیور و آبزیان قرار میگیرند (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۷) . ایران با داشتن تنوع اقلیمی و قرار گرفتن در موقعیت جغرافیایی خاص و داشتن حدود هشت هزار گونه گیاهی از لحاظ نوع گونه و میزان ماده مؤثره میتواند از این ترکیبات شیمیایی گیاهی بهره برداری بالینی و دامی داشته باشد(روفچائی و همکاران، ۱۳۹۵). این مشتقات گیاهی در آبزی پروری کاربرد گسترده ای دارند، مانند؛ تحریک مصرف خوراک، افزایش رشد، افزایش ترشحات داخلی لوله گوارش، افزایش ایمنی، فعالیت ضد کوکسیدیوزی و انگلی. مواد موثره موجود ازگروههای مواد فعال زیستی شیمیائی یا متابولیت های ثانویه همچون؛ آلکالوئیدها، فنل‌ها، فالونوئیدها، ترپنها و پلی ساکاریدها هستند. جهت استحصال این

مواد موثره روشهای مختلفی مورد بهره برداری قرار میگیرد. انتخاب این روش‌ها حسب گونه‌گیاهی، نوع حلال، استفاده یا عدم استفاده از حرارت، تکنیکهای مختلفی را طلب می کند که با در نظر گرفتن کاربرد فایتوبیوتیکها در آبزی پروری به دستورالعمل های اجرائی با توجه به امکانات موجود در مراکز دانشگاهی و تحقیقاتی پرداخته میشود. از این رو در این گزارش رهکارهای اقتصادی جهت بهره برداری از این مواد موثره می پردازد

۲- دامنه کاربرد:

متابولیتهای ثانویه گیاهی همانطور که در شکل ۱ مشاهده میشوند ، ترکیباتی آلی هستند که مستقیما در رشد، نمو یا تولید مثل گیاه دخیل نیستند. این ترکیبات از متابولیت های اولیه) اسیدهای آمینه، چربی، کربوهیدرات (منشاء میگیرند و دارای ساختار شیمیایی پیچیده تری نسبت به متابولیت های اولیه بوده برای حیات گیاه ضروری نیستند. آلکالوئیدها) مورفین، کدئین، آتروپین،ترپنوئیدها، فالونوئیدها، رنگدانه ها و تانین ها از جمله مهم ترین این ترکیبات هستند (Siddiqui et al.,2016).

سلولهای گیاهی مقادیر متنوعی از این فراورده ها را تولید می کنند. بسیاری از این ترکیبات سمی هستند و اغلب در وزیکولهای خاص یا واکوئول ها ذخیره می شوند. این نوع ذخیره سازی از یک طرف نوعی سمیت زدایی برای گیاه است و از طرف دیگر نوعی مخزن ذخیره برای موادی نظیر مولکولهای غنی نیتروژن است.

اهمیت متابولیت های ثانویه برای گیاهان ازماهیتی اکولوژیک برخورداراست و این ترکیبات نیز دارای کارکردهای متنوعی اند که از آن جمله می توان به عملکرد دفاعی در برابر صیادان، انگلها و عوامل بیماریزا، فیتوالکسینها) سموم گیاهی ترکیبات توان مهار تولید آنیونهای اکسیژن و جمع آوری رادیکالهای آزاد را داشته و از این رو به عنوان مواد موثره محرک ایمنی درآبزیان مورد بررسی هستند (Citarasu, 2010) .

بررسیها حاکی از آنست که روشهای مدرن بدلیل کاهش مصرف مواد شیمیایی آلی و سنتزی و توجه به ایمنی محیط زیست، صرفه جوئی در زمان، کارایی و کیفیت بهتر ماده موثره استخراجی، مورد توجه محققین قرار دارد (روفچائی و همکاران، ۱۳۹۶).

معرفی محصولات گیاهی پرکاربرد

محصولات مختلف مستخرج از گیاهان داروئی شامل آب گیاه، اسانس، روغن، عصاره مایع و عصاره خشک و پودر می باشد. که هر کدام حسب گونه آبز تحت پرورش به جیره غذائی آبزی تحت فرایند غذا سازی اضافه میگردد .

این محصولات شامل:

۱- آب گیاه: با استفاده از فرایند فشار، عصاره آبی موجود در گیاه تازه جمع آوری می شود.

۲- اسانس: ترکیبات ترپنی موجود در گیاه، با استفاده از انواع بخار، استخراج و جمع آوری میشود.

۳- روغن روغن موجود در دانه های گیاهان دارویی، با فرآیند تحت فشار در دمای جمع آوری می شود.

۴- عصاره مایع: با استفاده از انواع حلال های غیر قطبی (روغن، دی کلرومتان و ...) قطبی (آب) بینابین (مخلوط آب و الکل)، انواع عصاره ها با مواد موثره متفاوت به دست می آید.

۵- عصاره خشک، پس از یک فرایند تبخیر و بازیابی حلال، عصاره های مایع به پودر خمی خشک) تبدیل می

۳- مسئولیت

اینجانب رودابه روفچائی که طی انجام رساله دکتری خود روند عصاره گیری از برگ گیاه سنبل آبی را در مرکز تحقیقات گیاهان داروئی انجام دادم حسب مطالعات انجام شده جهت کاربردی کردن روند استحصال فایتوبیوتیکهای گیاهی و کاربرد آن در مصارف آبزی پروری بعنوان مکمل دستورالعمل فوق را ارئه می نمایم.

۴- روش کار:

در اولین اقدام جهت بهره برداری از عصاره و پودر گیاهی خشک کردن آن در شرایط دمای مناسب که ساختار شیمیائی این مواد موثره حفظ شود اولین قدم اساسی میباشد.

روش خشک کردن گیاهان

برای حفظ عصاره و عطر گیاهان، خشک‌سازی نباید در درجه حرارت زیاد انجام شود، چون درجه حرارت پایین، تغییرات احتمالی را در گیاه کاهش می‌دهد و رنگ و عطر آن را ثابت نگه می‌دارد. برای خشک کردن، روش‌های مختلفی وجود دارد، اما به طور کلی باید در محیطی بسته، بدون رطوبت، همراه با نور کم صورت گیرد.

روشهای خشک کردن:

خشک کردن طبیعی گیاهان داروئی

خشک کردن اندام‌های گیاهی در این روش با استفاده از انرژی خورشید (تا تغییر رنگ به قهوه ای) و جریان باد طبیعی صورت می‌گیرد. البته، درجه حرارت خشک کردن گیاهان قابل کنترل نبوده، امکان آلودگی میکربی، افزوده شدن گرد و غبار و فضولات پرندگان و جوندگان به آن‌ها وجود دارد.

روش آویزان کردن

می‌توان تعدادی از گیاهان را با دسته بندی به طور جداگانه، با فاصله و به صورت وارونه، آویزان و خشک کرد.

خشک کردن مصنوعی گیاهان داروئی

استفاده از حرارت ایجاد شده به وسیله کوره، اجاق و دیگر منابع حرارتی این امکان را فراهم می آورد که صرف‌نظر از شرایط آب و هوایی، خشک کردن به طور شبانه روزی انجام گیرد و سرعت انجام کار نیز سریع‌تر باشد. در کشورهای اروپایی با توجه به سطح گسترده زیر کشت گیاهان دارویی و معطر و هم‌چنین شرایط آب و هوایی، استفاده از روش خشک کردن مصنوعی ضروری و متداول است.نکته مورد توجه در باره استفاده از دستگاه فور یا خشک کن دیگر به شرط آنکه درجه آن بیشتر از ۴۰ درجه نباشد قسمت مورد نظر گیاه را خشک میکنیم.

آسیاب کردن گیاهان خشک شده

با استفاده از آسیابهای خانگی، نیمه صنعتی حتی المقدور گیاهان خشک شده را آسیاب میکنیم و هر چه ذرات آسیاب شده ریزتر باشند سطح تماس با حلال افزایش یافته و فرایند تهیه فایتوبیوتیک، راحتتر بدست می آید.

استفاده از سرماسیاب:

این دستگاه قادر به حفظ مواد موثره، عطر و رنگ گیاهان بعد از آسیاب است زیرا در روش های قدیمی گرمای ایجاد شده از اصطکاک برخی خواص مواد را از بین می برد.خاصیت دانه های روغنی براثر تماس با نور، اکسیژن و گرما تخریب و از بین می رود که آسیاب این نوع مواد در سیستم سرماسیاب صنعتی خواص آنها به طور کامل حفظ می شود. اتوجه به اینکه مواد در این دستگاه تحت هوای بسیار سرد قرار می گیرد بنابراین می توان صمغ گیاهان را از طریق آن به پودر تبدیل کرد .گیاهان و دانه های روغنی و ادویه ای بعد از ورود به این دستگاه زود سرد می شوند و حالت شیشه ای پیدا می کنند و بلافاصله بعد از طی این مرحله در یک سیستم حلزونی و با چرخش بالا پودر می شوند.

معرفی انواع حلالها جهت عصاره گیری

در صورتیکه مواد موجود در سلولهای گیاهی با استفاده از حلالهای مختلف از جمله آب یا حلال های آلی از گیاهان استخراج شوند به این محصول عصاره گفته می شود. در صورتیکه عصاره باحلال هایی چون اتانل و متانل استخراج شود با توجه به قطبیت های آنها حاوی کلیه مواد موجود در گیاه بوده و به عصاره بدست آمده عصاره تام میگویند.

در صورتیکه عصاره گیری با حلال‌های دیگر انجام شود ممکن است بعضی از مواد موجود در گیاه خارج گردد. اکثر فرآورده های گیاهی امروز با آب و اتانول از گیاهان استخراج می‌شوند.

حلال، مواد موثره گیاهی را از پودر خشک شده جدا نموده و در خود حل میکند. افزودن آب به حلال ممکن است به افزایش بازده با افزایش قطبیت جهت جذب ترکیبات فعال زیستی قطبی کمک کند. همانطور که در جدول ۱ گردآوری شده، استون، متانل، اتانل، آب جزءحلالهای قطبی هستندکه ترکیبات فنلی چون فلاوونوئیدها و اسیدهای پلی فنلی درآنها حل میشوند .کلروفرم، اتیل استات و دی کلرومتان با قطبیت متوسط گروهی از فنلها، فالونوئید ها و ساپونین هائی که گلیکوزیله هستند، را جدا می کنند. تولوئن، بنزن، تتراکلریدکربن و هگزان جزء حلالهای غیر قطبی طبقه بندی میشوند و برای استخراج اسیدهای چرب، روغن وترکیبات استرولی بکار میروند (Mandel et al., 2015).

در کل انواع دیگر عصاره های مستحصلاز میتوان به موارد ذیل اشاره کرد:

۱.عصاره های خشک گیاهان داروئی

عصاره های خشک، فرآورده هایی به صورت پودر سائیده شده اند که ممکن است محتوی توده هایی به هم چسبیده باشند. این عصاره ها به طریق تبخیر عصاره هایی مایع در فشار پایین و دمای کمتر از ۶۰ سانتی متر به دست می آیند و۲ تا ۶ برابر قوی تر از ماده اولیه خام هستند. علت تبخیر عصاره در دما و فشار کم این است که بعضی از مواد موثره دارویی نسبت به حرارت حساسند و تجزیه می شوند، با این روش دارو در برابر تجزیه حرارتی محافظت می گردد. این عصاره‌ها در تهیه اشکال دارویی مانند پودرها، قرص ها و کپسول ها کاربرد دارند. همچنین برای تهیه عصاره های مایع نیز می توان از آنها استفاده نمود.

۲ .عصاره های نرم گیاهان داریی

این عصارهها فرآورده هایی نیمه جامدند که حد واسط عصاره های مایع و عصاره های خشک می باشند. این عصاره ها به وسیله تبخیر نسبی عصاره های مایع یا با روش های خاصی تهیه می گردند. که نیازمند داشتن دستگاه های صنعتی است که صرفا جهت معرفی ذکر شد.

۳ .عصاره های مایع گیاهان دارویی

این عصارهها فرآورده هایی مایعند که معمولاً یک قسمت وزنی از آنها برابر با یک قسمت وزنی از ماده اولیه خشک است. عصاره های مایع طبق روش های شرح داده شده در فارماکوپه ها یا به وسیله حل کردن یک عصاره خشک یا کشدار، درالکلی با درجه الکلی مناسب و سپس صاف کردن به دست می آیند.

این عصارهها، به خاطر طبیعت غلیظشان، معمولا بسیار قوی هستند و همانطور که در جدول، ۲ میزان کاربردشان یعنوان مکمل نشان داده شده است میزان استفاده از انها بسیار ناچیز است.

روش های عصاره گیری

خیساندن، دم کردن ،هضم کردن (آب یا حلال + حرارت)،جوشاندن، پرکولاسیون، استخراج با حلال توسط دستگاه سوکسله، استخراج اولتراسونیک، استخراج به وسیله گاز کربنیک به ترتیب روشهای اقتصادی قابل استفاده برای رسیدن به مواد موثره گیاهان است که بترتیب اولویت استفاده:

الف) خیساندن گیاهان دارویی(ماسیراسیون)

در این فرآیند، گیاه خرد شده (برگ، ساقه، گل، ریشه)داخل یک ظرف دهان گشاد ریخته شده و حلال به آن اضافه می شود و به طور یکنواخت مخلوط می‌گردد. در ظرف محکم بسته شده و به مدت ۲تا ۱۴روز در محلی قرار می گیرد. در این فاصله، محتویات داخل ظرف گاهگاهی هم زده می شود.روش دیگر به جای هم زدن مداوم، قرار دادن دارو در یک کیسه پارچه ای با منافذ درشت است که آن را به طور معلق درون حلال قرار می دهند. به دلیل افزایش جرم حجمی، مایع اطراف کیسه، تمایل ۲ حرکت به سمت پایین را دارد، لذا حلال تازه به سمت بالا حرکت کرده و این فرآیند همچنان ادامه می یابد. فرو بردن گهگاه کیسه دارو در عمق حلال، سرعت استخراج را افزایش می دهد.

عصاره با فشار دادن کیسه و شستشوی آن با حلال تازه از تفاله ها جدا می شود.در صورتی که عمل خیساندن دارو بدون استفاده از کیسه انجام پذیرد، تفاله را با صاف کردن یا فشردن، خارج نموده و سپس حلال تازه از روی تفاله عبور داده میشود و به عصاره قبلی افزوده می گردد. دمای مناسب جهت استخراج، ۱۵ تا ۲۰درجه سانتی گراد است.پس از جمع آوری عصارهها، آنها را در ظرف در بسته ای قرار داده و به مدت ۲ روز در جای خنکی قرار می دهند. سپس محلول به وسیله یک دکانتور یا یک صافی، صاف و زلال می گردد. در طول عمل صاف کردن باید مراقب بود که حلال تبخیر نشود.

خیس کردن در موارد زیر در عصاره گیری و تمرکز بعنوان مکمل به کار می رود:

۱.هنگامی که مواد مؤثره دارو بدون حرارت در حلال حل شده و یا آنکه حرارت موجب فساد آن گردد مانند نرکیبات آنتی اکسیدانی

۲.در مواردی که حلال در اثر حرارت خواص خود را از دست بدهد.

۳.هنگامی که بخواهند فقط قسمتهایی از مواد گیاهی که بدون حرارت حل میشوند را به صورت محلول در آورند و از انحلال قسمتهای مزاحم گیاه مانند مواد نشاسته ای که در اثر حرارت به صورت محلول در می آیند اجتناب نمایند.

۴. گاهی اوقات خیس کردن عملی است مقدماتی و منظور از آن آماده کردن داروهای گیاهی است برای نوعی دیگر از انحلال.

۵. در بعضی موارد خیس کردن برای خارج کردن بعضی ترکیبات غیر لازم، ضروری می باشد.

ب)دم کردن گیاهان دارویی

مدت زمان کوتاهی دم کرده محلول رقیقی از اجزاء محلول در آب پودر گیاه را توسط آب جوش در مدت زمان کوتاهی دم کرده موارد استعمال چندانی در زمینه استخراج مواد متشکله گیاهان بدست می آید. این روش برای موادی به کار می بردند که معمولاً در آب محلول بودند.حلال مورد مصرف، آب بوده که ممکن است از آب سرد یا آب جوشیده باشد. مشکل این روش حضور احتمالی قارچها در طی مدت زمان طولانی است که باعث آلوده کردن

عصاره و در نتیجه تغییر مواد متشکله گیاه می شود از این رو از۱۲ساعت بیشتر توصیه نمی شود. به همین علت در موارد طولانی شدن کمی از الکل نیز استفاده می‌شود.

ج) هضم کردن گیاهان دارویی

پودر گیاه را در آب یا حلال مورد نظر خیسانده و به آرامی حرارت داده می دهند. این روش همان روش خیساندن به اضافه کمی حرارت (۴۰ تا ۵۰درجه سانتی گراد) می باشد و در حالاتی استفاده می شود که،

اولا: حرارت بالا باعث خراب شدن مواد شده و ثانیاً: حرارت قدرت استخراج حلال را زیاد نماید. اگر در این درجه حرارت حلال قابل تبخیر شدن باشد بهتر است از روش فلاسکهای قابل برگشت استفاده نمود.

د) جوشاندن گیاهان دارویی

پودر گیاه را در آب جوشانده سپس سرد نموده و صاف می نمائیم این روش برای اجزاء محلول در آب و پایدار در حرارت مناسب می باشد نسبت گیاه با آب (۱ : ۱۶) بهتر است جوشاندن را ادامه تا حجم آن به یک چهارم اولیه شود.

هـ) پرکولاسیون کردن گیاهان دارویی

در این روش از پرکولاتور جهت استخراج ماده موثر گیاه استفاده می شود. پرکولاتور همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده ظرف مخروطی باریک می باشد که دو انتهای آن باز است در این روش گیاه پودر شده را با مقدار کافی حلال مرطوب کرده و در یک ظرف در بسته به مدت۴ساعت قرار میدهند سپس مخلوط را در پرکولاتور قرار داده و مقادیر کافی حلال برای اشباع کردن مواد اضافه میکنند بطوری که حلال به صورت یک لایه سطح پودر را بطور کامل بپوشاند. سپس عصاره گیری را آغاز نموده تا زمانی که حلال خروجی از پرکولاتور بی رنگ شود عصاره گیری را ادامه میدهیم، در نهایت عصاره حاصل از پرکولاسیون را جمع آوری کرده و حلال آنرا توسط دستگاه روتاری خارج می نماییم.

و) استخراج با حلال توسط دستگاه سوکسله

برای تفکیک اجزای یک مخلوط جامد به روش استخراج مداوم جامد – مایع دستگاه استخراج سوکسله مناسب است. پودر خشک شده گیاه را در یک ارلن مایر میریزیم کمی حلال اضافه نموده سپس پودر نم زده را در یک کیسه پارچه ای ریخته و آن را در داخل دستگاه سوکسله قرار داده و حلال استخراجی را در طرف جوششی که در قسمت پایین قرار دارد می ریزند.حلال را گرم نموده تا رفلاکس شود و محصول تقطیر، در همان حالی که از خنک کننده می چکد در داخل محفظه جمع شود مایع حاصل در لوله کوتاه با جسم جامد تماس می یابد و استخراج صورت می گیرد.

روش سوکسله گیاهان دارویی

یکی دیگر از روش های متداول عصاره گیری از طریق پر کولاسیون روش سوکسله می باشد که در شکل ۴ نشان داده شده و در موارد زیر از آن استفاده می گردد: جهت گرفتن مواد چربی، موم و مواد رنگی قبل از استخراج مواد موثر گیاه مورد آزمایش.هنگامی که این اطمینان باشد که حرارت در طول زمان، استخراج، مواد موثر گیاه مورد آزمایش را تجزیه و خراب نمی کند.پودر خام مورد نظر را در کار توش کاغذ صافی ضخیم ساخته شده ریخته و سپس حلال مورد نظر را در فلاسک ریخته و درجه حرارت را مطابق نقطه جوش حلال مورد مصرف، تنظیم نمایید. حلال به صورت بخار در آمده و در طول لوله بالا رفته و در قسمتی دیگر توسط آب سرد خنک می گردد، به مایع تبدیل گشته و به صورت قطراتی وارد پودر خام شده و به این ترتیب عمل استخراج شروع می گردد.هنگامی که سطح حلال در به سطح سیفون رسید، به طور اتوماتیک حلال تخلیه شده وارد فلاسک می گردد. این جریان مرتب انجام می شود تا عمل استخراج روی پودر خام مورد آزمایش کامل گردد.

ز) استخراج اولتراسونیک گیاهان دارویی

در این روش امواج با فرکانسی بین ۲۰ کیلو هرتز تا ۲۰۰۰ کیلو هرتز دیواره سلولی را از بین برده و سبب استخراج ماده موثره می شود ولی این روش گران می باشد از طرفی بیشتر از ۲۰کیلو هرتز اثر مضر روی اجزاء فعال داشته و سبب تولید رادیکال های آزاد می گردد.

ح) استخراج با استفاده از گاز کربنیک گیاهان دارویی

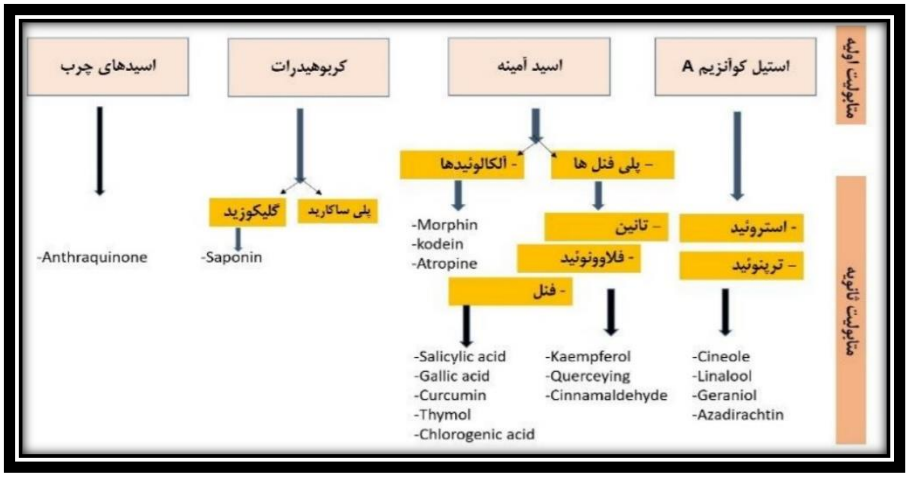
برخی از گازها نظیر دی اکسید کربن و آرگون در فشار زیاد و نقطه بحرانی حلالیت بسیار زیادی دارند که با استفاده از تکنیک های مناسب و در فشار و دماهای مختلف می توان از این خاصیت جهت برخی از مواد موثره استفاده نمود. مزیت این روش در مقایسه با سایر روشها آن است که استخراج در دمای پایین و بدون حلال صورت می گیرد. باقیمانده حلال در آن وجود ندارد و سبب آلودگی محیط زیست نمی شود .

روتاری اواپوریتور

در ادامه جدا سازی مواد موثره بعنوان عصاره به کمک حلال (آبی و الکلی .....) حلال باید جدا شود و این کار توسط دستگاه روتاری اواپوریتور صورت میگیرد. سیتم این دستگاه طوری ساخته شده که در دمای زیر ۴۰ درجه در خلا بر حسب نقطه تبخیر حلال ، حلال تبهیر و مجدادا با سرد شدن بخار توسط لوله های پیچیده اتیلن گلیکول دمای پایین میعان شده و باز یافت میشوند(شکل، ۵).

فریز درایر

فریز درایر ، خشک کن انجمادی، لیوفیلیزاسیون یا Cryodesiccation دستگاه آزمایشگاهی دیگرست که پس از جدا کردن حلال برای نگهداری عصاره در طولانی مدت و استفاده خشک ان بعنوان مکمل غذائی ، مورد استفاده قرار میگیرد. است . این دستگاه یک خشک کن انجمادی است که به واسطه ی منجمد سازی ماده و سپس کاستن فشار محیطی با اجازه دادن به تصعید آب یخ زده در مایع به شکل مستقیم از فاز جامد به فاز گازی ، عمل می کند که عصاره مورد نظر بصورت پودر در امده و قابل نگهداریس (شکل ، ۶) .



شکل ۱ : متابولیت‌های اولیه و ثانویه‌ای (Germano,2016)

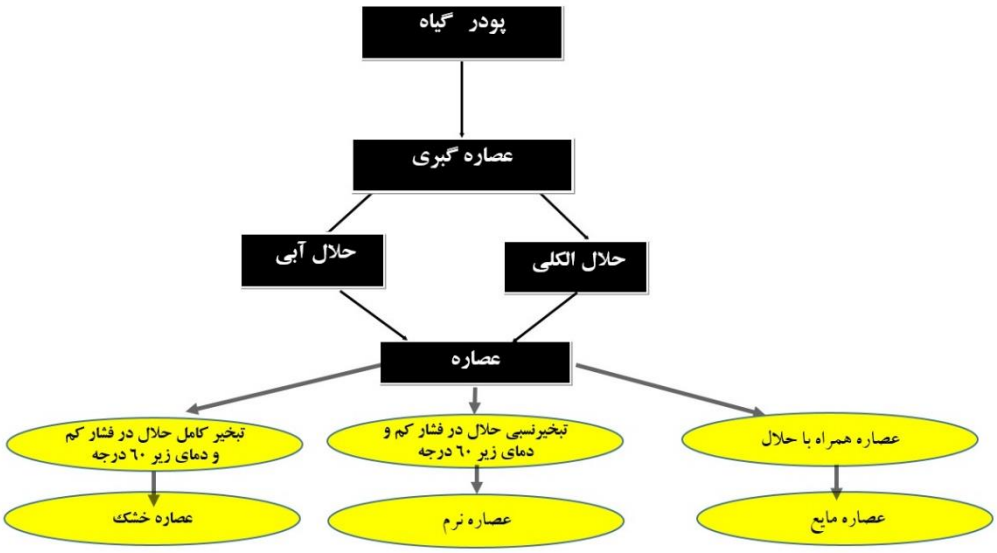
جدول ۱: نقطه جوش وقطبیت حلال‌های پرکاربرد درعصاره گیری

حلال	آب	استیک اسید	اتانل	متانل	استن	اتیل استات	کلروفرم	دی کلرومتان	بنزن	تولوئن	تتراکلرید کربن	هگزان
نقطه جوش	۱۰۰	۱۱۸	۷۸/۳۷	۶۴/۷	۵۶	۷۷	۶۱	۳۹/۶	۸۰	۱۱۱	۷۷	۶۸
پلارینه	۹	۶/۲	۵/۲	۵/۱	۵/۱	۴/۴	۴/۱	۳/۱	۲/۷	۲/۴	۱/۶	۰/۲

جدول ۲: نمونه بررسیهای محصولات گیاهی(عصاره، پودر روغن در پروش ماهی قزل آلا)

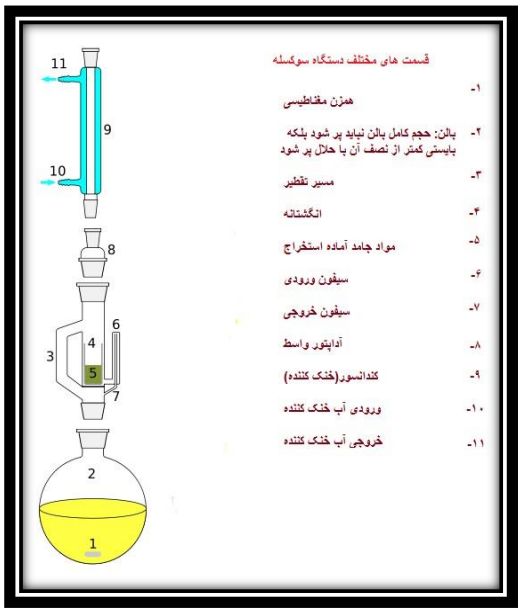
منبع	چالش باکتریائی	نوع مصرف	مدت بررسی	دوزمورد بررسی	پارامتر		فایتوبیوتیک مورد بررسی
Sheikhzadeh *et al.*, 2011	*Y.ruckeri*	عصاره آبی بدون کافئین	۳۰روز	۰/۰۰۲ ۰/۰۱ ۰/۰۵	IR.serum BC Hp	چای سبز	*Camellia sinensis*
Sheikhzadeh *et al.*, 2012[1]	*Y.ruckeri*	پودر	۴۵ و ۵۰ روز	/%۵	IR.mocus GP Bc	جلبک قهوه‌ای	*Ergosan (Brown algea)*
Sheikhzadeh *et al.*, 2012[2]	*Y.ruckeri*	پودر	۴۵ و۵۰ روز	۰/%۵	IR.mocus GP Bc	مخمر نان	*Saccharomysis cervicia*
Asadi *et al.*, 2012	-	عصاره الکلی	۲۱ روز	۰/%۱ ۱	IR.Serum Hp GP	گل لادنی	*Nasrturium nasturium*
Oskoii *et al.*, 2012	-	عصاره الکلی	۵۶ روز	۰/%۲۵ ۰/۵ ۱ ۲	IR.Serum Hp GP	سرخار گل	*Echinacea purpuria*
Haghighi *et al.*, 2013	-	پودر	۱۲ هفته	%۱	IR.Serum Hp	زنجبیل	*Zingiber officinale*
Awad *et al.*, 2013		Oil	۱۴ روز	%۱ ۲ ۳	IR.Serum	سیاه دانه	*Nigella Sativa*
Awad *et al.*, 2013		عصاره الکلی	۱۴ روز	۰/%۵ ۱	IR.Serum Hp	گزنه	*Urtica diodica*
Pourmoghim *et al.*, 2015	-	عصاره الکلی	۲، ۴، ۶ و ۸ هفته	%۱	IR.Serum	مرزنگوش	*Origanum vulgare*
Baba *et al.*, 2015	*L.garivie*	عصاره آبی	۷۰ روز	%۱ ۲	IR.Serum DR	سیتاکه	*Lentinula edodes*

روفچائی و همکاران، ۱۳۹۷

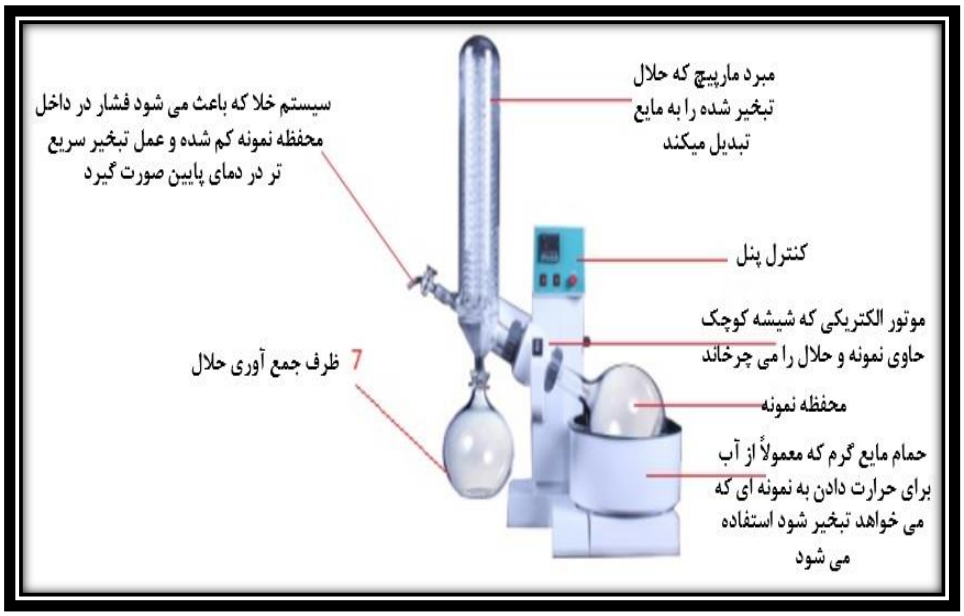


شکل ۲ : فلوچارت کلی عصاره گیری

شکل ۳: نمائی از پرکولاسیون



شکل ۴: نمائی از دستگاه سوکسله



شکل ۵: نمائی از دستگاه روتاری اواپوریتور

شکل ۶: فریز درایر

مستندات :

روفچائی ، ر.، میرواقفی ع.ر.، ولی پور، ع.ر.،حسینی‌فر، ح.، پروانه مقدم، د.۱۳۹۷. مروری بر فایتوبیوتیکهای مطالعه شده بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان. فصلنامه علوم آبزی پروری پیشرفته، سال دوم، شماره ۴، صفحات: ۴۱-۵۳.

روفچائی، ر.، صادقی، ز.، امیری سندسی، ا.، حسنی مقدم، م .۱۳۹۶.معرفی روش های مختلف استحصال فایتوبیوتیکهای مورد استفاده در آبزی پروری. فصلنامه علوم آبزی پروری پیشرفته،سال اول، شماره سوم، صفحات:۵۹-۷۳ .

روفچائی ، ر.، میرواقفی، ع.، عبداللهی، و.، ۱۳۹۵. بررسی اثر فایتوبیوتیک های بومی بر پاسخ ایمنی ماهی ها و سخت پوستان. بهره برداری و پرورش آبزیان، جلد پنجم، شماره دوم، صفحات: ۱-۱۳.

قازجهانیان، م. ع.، جعفری زاده، ه. استفاده از دی اکسید کربن فوق اشباع بعنوان حلال جایگزین در استخراج اسانس های گیاهی. همایش ملی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، همایش ملی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی بجنورد، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، ۵ لغایت ۱ مهرماه۱۳۳۱صفحه ۱

Siddiqui, M. W., Prasad, K. and Bansal, V, 2016. Plant secondary metabolites stimulation extraction and utilization.P:375.

Taiz, L. and Zeiger, E.2013. plant physiology.2013. Sinauer associates Lin., Publishers Sunderland, Massachusetts U. S. A. PP:778.

Citarasu,T., 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquacutue International,18: 403-414 .

Mandal, V., Y. Mohan. and S. emalatha.2007. Microwave-assisted extraction- an innovative and promising extraction tool for medicinal plant search. Pharmacognosy reviews, 1:7-18.

Mandal, S. C. Mandal, V. and Kumar Das, A, 2015. Essentials of botanical extraction: principles and application. Elsevier, medical, 5: 207.

Siddiqui, M. W., Prasad, K. and Bansal, V, 2016. Plant secondary metabolites stimulation extraction and utilization.P:375.

Germano, A. Biotechnology of plant secondary metabolism: Methods and Springer New York, 2016.P: 180.protocols