نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد پنجم، شماره اول، ۹۲
۱۱۱-۱۲٤
http://ejfpp.gau.ac.ir

مقایسه استخراج اسانس پوست بکرایی با استفاده از روش های مایکروویو و مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند

رویا شکاری[۱]، کرامت‌اله رضایی[۲*] و سیمین اسدالهی[۳]

[۱]باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، پیشوا، گروه صنایع غذایی، ورامین، ایران، [۲]گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، [۳] گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد ورامین، پیشوا

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۹/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۲/۱۲

چکیده

در این تحقیق، روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو (۲۷۰ وات) با پیش تیمار اولتراسوند (٤٥ و ۹۰ دقیقه) به منظور استخراج اسانس از پوست بکرایی مورد استفاده قرار گرفت و نتایج حاصله با نتایج حاصل از روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو از نظر بازدهی و زمان استخراج، ترکیب شیمیایی و کیفیت اسانس مورد مقایسه قرار گرفت. آزمایش‌ها در سه تکرار با سیستم نرم افزاری SAS و بر اساس روش GLM و با استفاده از آزمون LSD انجام گردید. میزان اسانس پوست بکرایی به‌دست آمده به روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند ٤٥ دقیقه، ۰/۲۰±۲/۰۰ درصد و به روش مذکور با پیش تیمار اولتراسوند ۹۰ دقیقه، ۰/۲۰±۱/۹۷ درصد و به کمک مایکروویو، ۰/۲۰±۲/۰۲ درصد گزارش گردید. ترکیبات اسانس‌های استخراج شده با روش‌های کروماتوگرافی گازی شناساگر طیف سنج جرمی و کروماتوگرافی گازی شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای نیز مورد شناسایی قرار گرفت لیمونن اصلی ترین ترکیب موجود در اسانس پوست بکرایی می‌باشد. نتایج حاصله بیانگر این بود به‌کارگیری اولتراسوند همراه با تقطیر با آب به‌کمک مایکروویو تاثیر بسزایی بر روی زمان آغاز و مدت زمان نهایی استخراج اسانس و میزان نهایی اسانس در مقایسه با روش مذکور بدون پیش تیمار ایجاد نکرد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، بکرایی، مایکروویو، کروماتوگرافی گازی، استخراج اولتراسوند

*مسئول مکاتبه: krezaee@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بکرایی گیاهی است از خانواده مرکبات که بومی جنوب شرق آسیا می‌باشد (ایسلام و همکاران، ۱۹۹۵). بکرایی هیبرید طبیعی از لیمو شیرین و نارنگی می‌باشد که در منطقه جنوب کشورمان بدست آمده و به عنوان پایه در جیرفت، قصر شیرین و برخی مناطق دیگر استفاده می‌شود. این پایه بدلیل حساسیت به سرما و نیز حساسیت در برابر پوسیدگی در شمال ایران مورد استفاده قرار نمی‌گیرد همچنین برای ارقام حساس به ترکیدگی قبل از برداشت میوه توصیه نمی‌شود. بکرائی به خاطر خوب عمل کردن در خاک‌هایی با pH قلیایی به‌عنوان یک پایه خوب برای جنوب ایران توصیه می‌شود (فتوحی قزوینی و فتاحی مقدم، ۱۳۸۵؛ رادنیا، ۱۳۷۵). تمام قسمت‌های گیاه اثرات درمانی داشته و این گیاه سابقه طولانی در طب سنتی دارد (مازومدر و همکاران، ۲۰۰٦). ریشه به‌منظور درمان اسهال، اسهال خونی، سوء هاضمه استفاده می‌شود (مازومدر و همکاران، ۲۰۰٦). برگ به‌عنوان یک داروی سنتی برای درمان ناراحتی‌های چشمی، دیابت و ناراحتی‌های تنفسی به‌کار می‌رود. میوه برای درمان اسهال، اسهال خونی و ناراحتی‌های معده کاربرد دارد (کمالاک کانان و پرینس، ۲۰۰۵). پالپ میوه حاوی ترکیبات مفیدی همچون کاراتنوئید، فنول، آلکالوئید، کومارین، فلاونوئید، ترپن و آنتی‌اکسیدان می‌باشد که ما را در برابر بیماری‌های مزمن محافظت می‌کنند (سرویمول و پرانی، ۲۰۰۸). همچنین محققین نشان دادند اسانس جدا شده از برگ دارای فعالیت ضد قارچی می‌باشد (رانا و همکاران، ۱۹۹۷). در ضمن می‌توان از استخراج ترکیبات متانولی برگ به‌منظور درمان مالاریا استفاده کرد (سحر و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین اسانس برگ بکرائی به‌دلیل دارا بودن خاصیت ضدعفونی‌کنندگی به‌منظور حفاظت غلات در برابر هجوم حشرات مورد استفاده قرار می‌گیرد (کومار و همکاران، ۲۰۰۸). از اسانس میوه بکرایی به‌دلیل دارا بودن عطر و طعم در صنایع آرایشی، بهداشتی و غذائی استفاده می‌شود (سرویمول و پرانی، ۲۰۰۸). اخیراً محققین توانستند در نتیجه آنالیز پالپ بکرائی ٢٤ ترکیب را شناسایی کنند، ترکیبات غالب مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها بودند که مسئول عطر وطعم میوه می‌باشند در بین این ترکیبات اصلی‌ترین ترکیب لیمونن بود (سرویمول و پرانی، ۲۰۰۸). همچنین آنالیز اسانس برگ بکرائی نشان داد که حاوی آلفا پینن (۰/۲۸ درصد)، سابینن (۰/۱٤ درصد)، لیمونن (۸۸/۵۷ درصد)، اسیمن (۲/۲۹ درصد) می‌باشد (کومار و همکاران، ۲۰۰۸). اسانس‌ها را معمولاً از طریق تقطیر گیاهان اسانس‌دار تهیه می‌کنند و طریقه به‌کار برده شده، بستگی به نوع و حالت مواد گیاهی دارد. در صنعت از ۳ روش تقطیر (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخارآب، تقطیر به‌وسیله بخار مستقیم) جهت تهیه اسانس‌ها استفاده می‌شود (آئینه‌چی، ۱۳۷۰). در بین این روش‌ها،

Archive of SID

www.SID.ir

تقطیر با آب مرسوم‌ترین روش به‌منظور استخراج اسانس از گیاهان دارویی می‌باشد (ایستهال بیسکاپ و سائز، ۲۰۰۲). در دهه‌های اخیر توجه بیشتری به استفاده از انرژی مایکروویو و امواج اولتراسوند در زمینه استخراج شده است (لتلییر و بودزینکی، ۱۹۹۹). به‌عنوان مثال الکساندراکیز و همکاران (۲۰۰۳) روشی جدید به منظور استخراج ترکیبات فرار با استفاده از n-pentane (به‌عنوان حلال آلی) و یک حمام آب به کمک اولتراسوند به‌کار گرفتند. همچنین کراواتو و همکاران (۲۰۰۸) از امواج ما فوق صوت به‌منظور استخراج روغن از منابع گیاهی (جوانه سویا و جلبک های کوچک دریایی) استفاده کردند. در تحقیقی دیگر جرکویک و همکاران (۲۰۰۷). استخراج به کمک اولتراسوند را با مخلوط پنتان/اتر (۱:۲) و تقطیر با آب را به منظور جداسازی ترکیبات فرار از شهد ۲ گونه گیاه (*Robinia pseudoacacia* و *Castane sativa*) به‌کار گرفتند. کیمبریس و همکاران (۲۰۰۶) مقایسه‌ای بین روش‌های مختلف استخراج اسانس سیر تازه انجام دادند. بدین‌منظور روش تقطیر با آب، به‌کارگیری امواج ما فوق صوت و استفاده از امواج مایکروویو به همراه تقطیر با آب جهت استخراج به‌کار گرفته شد. در این تحقیق، روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو (۲۷۰ وات) با پیش تیمار امواج ما فوق صوت (۴۵ و ۹۰ دقیقه) به‌منظور درک اینکه چه اثرات فیزیکی بر روی پوست بکرائی و سینتیک استخراج دارد، مورد آزمون قرار گرفته است. بنابراین انتظار می‌رود استخراج به کمک امواج فوق صوت از طریق حفره سازی به طریق صوتی و جنبه‌های مکانیکی دیگر منجر به شکستگی ذره و تحریک ملکول شود و همچنین سبب افزایش استخراج اسانس گردد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، میوه درخت بکرایی، سولفات سدیم بی آب، خردکن، آون آزمایشگاهی، ترازوی دیجیتال، دستگاه مایکروویو، دستگاه اولتراسوند، دستگاه کروماتوگرافی گازی/ شناساگر طیف جرمی (GC/MS)[1] و دستگاه کروماتوگرافی گازی/ شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای[2] (GC/FID) مورد استفاده قرار گرفت.

مواد گیاهی: میوه درخت بکرایی در فروردین ۱۳۸۹ از باغی در منطقه داراب در استان فارس جمع‌آوری گردید و در آزمایشگاه دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران مورد شناسایی علمی قرار

1- Gas Chromatography-Mass Spectrometry
2- Gas Chromatography-Flame Ionization Detector

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت. پوست میوه بکرایی به روش دستی جدا گردید، سپس به کمک خردکن (Moulinex, France, 700 W) به قطعاتی به ابعاد ۲میلی‌متر خرد شد. میزان رطوبت نمونه‌ها برطبق روش AACC-٤٤-١٩٨٣،١٩ با استفاده از آون آزمایشگاهی در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۳ ساعت بعد از رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد. در ضمن همه آزمایشات بر پایه وزن خشک گزارش گردید.

استخراج اسانس با روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو: در این روش یک مایکروویو خانگی تغییر یافته و کلونجر (بالن، کندانسور، قسمت جمع‌کننده و قسمت برگشت‌دهنده) استفاده می‌شود. مایکروویو مورد استفاده در این تحقیق از نوع AEG مدل MC175، ساخت کشور آلمان، حجم آون ۲۸ لیتر و حداکثر توان خارجی ۹۰۰ وات (با فواصل توانی ۹۰ وات) می‌باشد.

اساس کار دستگاه: در این روش بالن حاوی نمونه و آب (پوست تازه میوه بکرایی ۵۰ گرم و آب مقطر ۲۵۰ سی‌سی) درون محفظه مایکروویو قرار گرفت ولی کلونجر در قسمت بالای مایکروویو تعبیه شد. مایکروویو در سطح قدرت ۲۷۰ وات برای ۲ ساعت تنظیم گردید، این مدت زمان برای استخراج اسانس کافی بود. تعیین درصد وزنی اسانس به‌منظور مشخص کردن سینتیک استخراج در زمان‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠، ۹۰، ۱۲۰ دقیقه انجام گرفت.

نمونه و آب به وسیله حرارت تولید شده توسط امواج مایکروویو گرم شدند. حرارت باعث تخریب غده‌های حاوی اسانس و در نتیجه خروج اسانس از این غده‌ها می‌گردد. بعد از آنکه آب درون بالن به نقطه جوش رسید، آب کم کم بخار شده و به سمت کندانسور حرکت می‌کند. بخار آب به‌دلیل فراریتی که دارد، هنگام خروج از بالن مقداری از مواد فرار (اسانس) موجود در بالن را نیز همراه خود به سمت کندانسور می‌برد. در کندانسور بخار آب و اسانس به‌وسیله برودت غیرمستقیم آب سرد، تقطیر شده و وارد قسمت جمع‌کننده می‌شوند. در قسمت جمع کننده، بر اثر اختلاف چگالی آب و اسانس و با توجه به اینکه این دو غیر قابل حل در هم می‌باشند عمل جداسازی انجام می‌گیرد. از آنجایی که چگالی اسانس پوست بکرایی کمتر از چگالی آب می‌باشد، اسانس در قسمت فوقانی تشکیل یک فاز مجزا را می‌دهد، آب که سنگین‌تراست در پایین قرار گرفته و به‌وسیله قسمت برگشت دهنده مجدداً وارد بالن حاوی نمونه و آب می‌شود و این چرخه مجدداً ادامه پیدا می‌کند.

عمل اسانس‌گیری تا ثابت ماندن سطح اسانس در قسمت جمع کننده (به‌مدت ۲ ساعت) ادامه یافت. اسانس استخراج شده به کمک سولفات سدیم بی آب آبگیری و درون ظروف کهربایی در دمای ٤ درجه

Archive of SID

www.SID.ir

سلسیوس تا انجام آنالیز نگهداری شد. همه نتایج بر مبنای وزن اسانس به ۱۰۰ گرم پوست میوه گزارش گردید.

استخراج اسانس با روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند: اساس استخراج در این مرحله بدین صورت می‌باشد، ابتدا ظرف حاوی نمونه و آب درون دستگاه اولتراسوند (مدل Universal Ultrasonic Cleaner، با توان ۱۰۰ وات و فرکانس ٤٠ کیلوهرتز) قرار گرفته و بدین‌ترتیب نمونه و آب در معرض امواج ما فوق صوت قرار می‌گیرند. در این روش نمونه و آب به‌مدت ۹۰ و ٤٥ دقیقه در معرض امواج قرار گرفته، سپس به داخل بالن انتقال یافته و توسط دستگاه مایکروویو استخراج انجام می‌گیرد. میزان نمونه مصرفی، میزان آب و تعیین درصد وزنی اسانس در زمان‌های مورد استفاده مشابه استخراج به کمک مایکروویو بدون پیش تیمار می‌باشد.

خواص فیزیکی: وزن مخصوص، رنگ و ضریب شکست اسانس حاصله از نمونه‌های پوست بکرایی (تقطیر با آب به کمک مایکروویو و تقطیر با آب به کمک مایکروویو به همراه پیش تیمار اولتراسوند) بر طبق روش پیشنهادی Food Chemical Codex اندازه‌گیری شد (اف‌سی‌سی، ۱۹۹٦). وزن مخصوص در ۲۵ درجه سلسیوس و ضریب شکست در ۲۰ درجه سلسیوس اندازه گیری شد.

تجزیه و شناسایی اسانس به روش GC/MS : تجزیه و شناسایی اسانس پوست میوه بکرایی به روش GC/MS انجام شد، به این ترتیب که حجم ۱ میکرولیتر از اسانس رقیق شده به دستگاه GC/MS مرکز تحقیقات کرج (مدل Agilent Technologies 6890N، ساخت کشور آمریکا و اسپکترومتری جرمی مدل Agilent Technologies 5973N (ساخت کشور آمریکا) تزریق گردید.

قبل از تزریق اسانس آلکان‌های نرمال از C_9 تا C_{24} به دستگاه تزریق شدند. با توجه به الگوی خروج آلکان‌های نرمال محاسبه‌ی اندکس بازداری و مقایسه آن با اندکس بازداری استاندارد مربوط به هر ترکیب و با استفاده از کتاب‌های مرجع، مقالات و طیف‌های جرمی استاندارد، طیف مربوط به هر ترکیب تفسیر و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس شناسایی شدند.

مشخصات اجزای دستگاه کروماتوگرافی گازی / شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای: دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع Younglin Acm 600 و ساخت کشور کره جنوبی با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر و مدل Agilent Technologies Inc HP-5MS و ساخت کشور آمریکا می‌باشد. شناساگر FID مدل Agilent Technologies 5973 و ساخت کشور

Archive of SID

www.SID.ir

آمریکا می‌باشد. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدائی آون ۵۰ درجه سلسیوس و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سلسیوس و سه دقیقه توقف در این دما. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیوم به‌عنوان حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. شناسگر مورد استفاده از نوع یونیزاسیون شعله‌ای می‌باشد.

مشخصات اجزای دستگاه کروماتوگرافی گازی/ شناساگر طیف جرمی: محل تزریق نمونه: دمای این قسمت ۲۹۰ درجه سلسیوس و گاز مورد استفاده هلیوم (۹۹/۹۹ درصد) و سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه می‌باشد. سیستم در حالت تقسیم با نسبت تقسیم ۱:۱۰ می‌باشد. ستون: ستون دستگاه از نوع موئینه با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر و مدل HP-5MS Agilent Technologies Inc. و ساخت کشور آمریکا می‌باشد. این ستون بر روی فاز با جریان ثابت برابر با ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه و سرعت متوسط ۳۳ سانتی‌متر بر ثانیه تنظیم گردید. دمای ستون در ابتدا بر روی ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه تنظیم گردید سپس با سرعت ۳ درجه سلسیوس بر دقیقه به ۲٤۰ درجه سلسیوس رسانده شد. بلافاصله پس از آن با سرعت ۱۵ درجه سلسیوس بر دقیقه به دمای ۳۰۰ درجه سلسیوس رسانده شد و به مدت ۳ دقیقه در این دما نگهداری شد. به این صورت کل زمان اجرائی دستگاه ۷۵ دقیقه بود. شناساگر طیف جرمی: شرایط تنظیم این قسمت از دستگاه بدین صورت می‌باشد: زمان تاخیر حلال: ۳۰ ثانیه، دامنه جرم: amu ۳۸–٤۵۰، آستانه: ۱۰۰، دمای منبع طیف جرمی: ۲۳۰ درجه سلسیوس، دمای کواد طیف جرمی: ۱۵۰ درجه سلسیوس، دمای خط انتقال: ۲۸۰ درجه سلسیوس.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش‌ها در شرایط ثابت بر روی ۵۰ گرم نمونه و ۲۵۰ میلی‌لیتر آب و مایکروویو به مدت ۳ ساعت و همچنین در شرایط متغیر اولتراسوند ۹۰ و ٤۵ دقیقه انجام شد. داده‌های نمایش داده شده به شکل میانگین ± انحراف استاندارد با حداقل سه تکرار هستند. از آنالیز واریانس استفاده شد تا تفاوت بین میانگین‌های مختلف مشخص گردد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹,۱ و بر اساس روش GLM[1] و با آزمون مقایسه آماری LSD[2] در سطح ۹۵ درصد انجام گرفت. نمودارهای مربوطه نیز با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2007 نسخه ۱٤ ترسیم گردید.

1- General Linear Model
2- Least Significant Difference

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

مقایسه سینتیک استخراج و بازدهی استخراج: سینتیک استخراج اسانس از پوست بکرایی با استفاده از تقطیر با آب به کمک مایکروویو بهمراه پیش تیمار اولتراسوند (۹۰ و ٤٥ دقیقه) در مقایسه با تقطیر با آب به کمک مایکروویو ساده در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. با توجه به نمودار زمان آغاز استخراج در روش استخراج به‌وسیله مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند (۹۰ و٤٥ دقیقه)، ۱۱,۲۰دقیقه و در روش استخراج به وسیله مایکروویو بدون پیش تیمار اولتراسوند هم ۱۱,۲۰ دقیقه می‌باشد. نتایج حاکی از آن است زمان نخستین استخراج به‌دلیل به‌کارگیری منبع حرارتی یکسان مشابه روش استخراج بدون پیش تیمار می‌باشد. با توجه به شکل شماره ۱ مقدار اسانس تولیدی به روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند در زمان ۳۰ دقیقه در مقایسه با روش مایکروویو بدون استفاده از پیش تیمار کمتر می‌باشد ولی میان مقدار نهایی اسانس بدست آمده به روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار امواج ما فوق صوت و مایکروویو بدون استفاده از پیش تیمار از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. میزان اسانس پوست بکرایی به‌دست آمده به روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند ٤٥ دقیقه، ۰/۲۰±۲/۰۰ درصد و به روش مذکور با پیش تیمار اولتراسوند ۹۰ دقیقه، ٪۰/۲۰±۱/۹۷ و به کمک مایکروویو، ۰/۲۰±۲/۰۲ درصد (وزن اسانس به ازای ۱۰۰ گرم پوست تازه میوه) گزارش گردید (پوست بکرایی مورد آزمایش، دارای ۸۲/٤۱ درصد رطوبت بود).

از آنجائی که انتظار داشتیم به کمک امواج ما فوق صوت از طریق حفره‌سازی بیشتر بتوانیم سبب افزایش استخراج اسانس و کاهش زمان استخراج گردیم ولی با توجه به نتایج مذکور و خطاهای آزمایش پیش تیمار اولتراسوند سبب کاهش زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و افزایش استحصال اسانس نگردید.گلمکانی در سال ۱۳۸٦ از مایکروویو و اولتراسوند به‌عنوان تکنیک‌های مکمل یکدیگر استفاده کرد، تا ترکیبات فرار دو گونه آویشن شیرازی و باغی را استخراج کند. در این مطالعه مشخص شد که استفاده از امواج مایکروویو و امواج ما فوق صوت (در ترکیب با یکدیگر) جهت استخراج اسانس از منابع فوق، سبب کاهش زمان استخراج و افزایش استخراج اسانس نگردید. زانک و همکاران در سال ۲۰۰۸، از امواج ما فوق صوت به منظور استخراج روغن موجود در بزرک استفاده کردند. نتایج حاکی از آن بود که کیفیت روغن استخراج شده در نتیجه کاربرد روش مورد بررسی، تغییر چندان مهمی نکرده است. در تحقیق دیگری جرکویک و همکاران در سال ۲۰۰۷، استخراج به کمک اولتراسوند را با مخلوط پنتان/ اتر (۱:۲) و تقطیر با آب به منظور جداسازی ترکیبات فرار از شهد ۲ گونه گیاه (*Robinia Pseudoacacia*

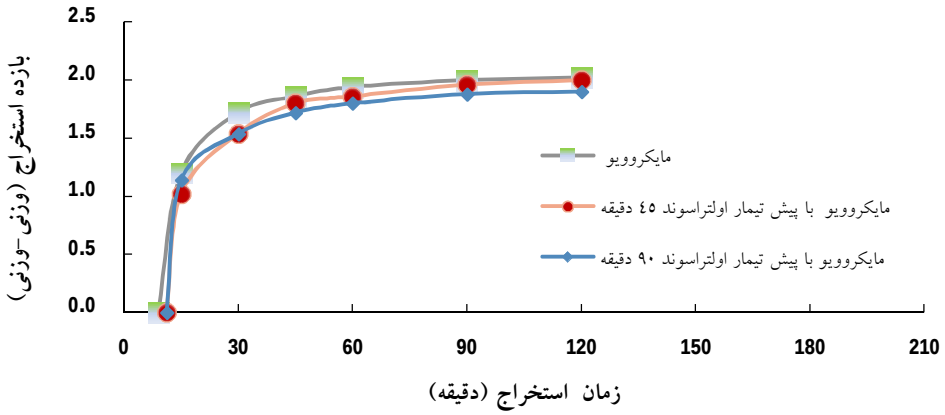
Archive of SID

www.SID.ir

و *Castanea Sativa*) به‌کار گرفتند. ترکیبات فرار جدا شده به کمک تقطیر با آب شامل ترکیبات مشتق شده وابسته به حرارت (Phenyl acetat aldehyde, furfurul, cis, transe-linalool oxides) بودند. در حالی‌که تکنیک اولتراسوند، پروفیل آشکاری از همه ترکیبات فرار شهد (بدون ترکیبات فوق) را نشان داد. رولدان-گوتیرز و همکاران در سال ۲۰۰۸، مقایسه‌ای میان روش‌های مختلف استخراج ترکیبات موثره از گیاهان و گل‌ها (برگ بو، آویشن، رزماری و پونه کوهی) انجام دادند. برای این منظور، امواج ما فوق صوت و تقطیر با بخارآب و استفاده از سیال فوق بحرانی به‌کارگرفته شد. نتایج نشان داد استخراج به کمک امواج ما فوق صوت، باعث حفظ کیفیت اسانس‌های استخراج شده نسبت به روش‌های مقایسه‌ای گردید. کراواتو و همکاران در سال ۲۰۰۸، از مایکروویو و اولتراسوند به‌عنوان تکنیک‌های مکمل یکدیگر استفاده کردند، تا روغن را از منابع گیاهی (جوانه سویا و جلبک‌های کوچک دریایی) استخراج کنند. در این مطالعه مشخص شد که استفاده از امواج مایکروویو و امواج ما فوق صوت (در ترکیب با یکدیگر و یا هر یک به تنهایی) جهت استخراج روغن از منابع فوق، به میزان قابل توجهی باعث بهبود کیفیت مواد استخراجی و دستیابی به کارایی بالاتر گردید. کیمبریس و همکاران در سال ۲۰۰۶، مقایسه‌ای بین روش‌های مختلف استخراج اسانس سیر تازه انجام دادند. بدین‌منظور سه روش تقطیر به کمک آب، به کارگیری امواج ما فوق صوت و استفاده از امواج مایکروویو به همراه تقطیر با آب جهت استخراج به‌کار گرفته شد. نتیجه این پژوهش نشان داد که استفاده از امواج ما فوق صوت بدون به‌کارگیری حرارت، در حفظ ترکیبات حساس به حرارت، بسیار موثر است. پورتو و همکاران در سال ۲۰۰۹، ترکیبات فرار گونه‌های مختلف نعناع را به کمک اولتراسوند همراه با تقطیر تحت شرایط خلاء استخراج کردند. نتایج نشان داد که استخراج به کمک روش فوق، ترکیباتی با توانایی معطر کردن بالاتر (به‌دلیل افزایش غلظت ترکیبات اکسیژن‌دار) تولید می‌کند، همچنین میزان اسانس جمع‌آوری شده از طریق اولتراسوند، ۰/۱۳-۰/۰٤ درصد و به کمک تقطیر با آب، ۰/۰۲-۰/۰۱ درصد گزارش گردید.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- بازده استخراج اسانس بکرایی مورد استفاده در این مطالعه به روش تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند (۹۰ و ٤٥ دقیقه) و تقطیر با آب به وسیله مایکروویو.

ارزیابی خواص فیزیکی: خواص فیزیکی (ضریب شکست، وزن مخصوص، رنگ) اسانس پوست بکرایی استخراج شده تقطیر با آب به کمک مایکروویو با پیش تیمار اولتراسوند (۹۰ و ٤٥ دقیقه) و تقطیر با آب به وسیله مایکروویو در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. رنگ اسانس پوست بکرائی در روش تقطیر با آب به وسیله مایکروویو، کرم روشن می‌باشد. رنگ اسانس حاصله از روش مذکور به همراه پیش تیمار تفاوت آشکاری با رنگ اسانس بدست آمده از روش فوق نداشته است. مقدار ضریب شکست بدست آمده در روش‌های مختلف استخراج ۱/٤۷۱ می‌باشد که بیانگر این است در روش‌های مختلف استخراج مثل استفاده از روش استخراج به‌وسیله مایکروویو و استفاده از روش مذکور به همراه پیش تیمار اولتراسوند تاثیری بر روی ضریب شکست اسانس استخراج شده از پوست بکرائی مورد مطالعه نداشته است. بنابراین کیفیت (نوع و درصد ترکیبات تشکیل دهنده) اسانس تحت تاثیر روش استخراج نمی‌باشد. تاثیر روش‌های به کارگرفته در استخراج اسانس پوست بکرایی بر روی وزن مخصوص اسانس پوست بکرائی در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به جدول استفاده از روش‌های مختلف استخراج مثل استفاده از روش استخراج به‌وسیله مایکروویو و استفاده از روش مذکور به کمک پیش تیمار تاثیری بر روی وزن مخصوص اسانس پوست بکرائی نداشته است. گلمکانی در سال ۱۳۸٦، مایکروویو و اولتراسوند را به‌عنوان تکنیک‌های مکمل یکدیگر به‌کار گرفت تا ترکیبات فرار دو گونه آویشن شیرازی

Archive of SID

www.SID.ir

و باغی را مورد استخراج قرار دهد. در این مطالعه، استفاده از امواج مایکروویو و امواج ما فوق صوت (در ترکیب با یکدیگر) سبب تغییر خواص فیزیکی اسانس‌های حاصله نگردید.

جدول ۲- تاثیر روش‌های مختلف استخراج بر روی وزن مخصوص، ضریب شکست و رنگ اسانس پوست بکرائی

روش استخراج	ضریب شکست	وزن مخصوص	رنگ
تقطیر با آب به کمک مایکروویو ۲۷۰ وات با پیش تیمار اولتراسوند (به مدت ۹۰ دقیقه)	۱/٤۷۱[a*]	۰/۷۹۰[a]	کرم روشن
تقطیر با آب به کمک مایکروویو ۲۷۰ وات با پیش تیمار اولتراسوند (به مدت ٤٥ دقیقه)	۱/٤۷۱[a*]	۰/۷۹۰[a]	کرم روشن
تقطیر با آب به وسیله مایکرویو به همراه پیش تیمار اولتراسوند	۱/٤۷۱[a]	۰/۸۱۰[a]	کرم روشن

*مقادیر مشخص شده با حروف یکسان (a) در سطح اطمینان ۹۵ درصد با هم تفاوتی ندارند.

تعیین کمی و کیفی ترکیبات موجود در اسانس پوست بکرایی: اسانس پوست بکرائی استخراج شده به روش استخراج به وسیله مایکرویو و به کمک روش مذکور به همراه پیش تیمار اولتراسوند (۹۰ و ٤٥ دقیقه) به‌وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی شناساگر طیف سنجی جرمی و کروماتوگرافی گازی/ شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳). مجموعاً ۲۱ ترکیب در اسانس پوست بکرائی شناسایی شد.

با توجه به جدول ۳، ۱۱ ترکیب آلفا پینن، سابینن، بتا مایرسین، لیمونن، زد-بتا-اسیمن، گاما ترپینن، ترپینولن، لینالول، ترپین-٤-ال، تیمول متیل اتر، ۹-ای پی ای-کاریوفیلن قسمت اعظم ترکیبات اسانس بدست آمده به روش تقطیر با آب به کمک روش‌های مورد استفاده در تحقیق را تشکیل می‌دهند.

در میان ترکیبات فوق حدود ۸۰ درصد از ترکیبات اسانس پوست بکرایی استخراج شده به وسیله تقطیر با آب به کمک مایکرویو با پیش تیمار اولتراسوند و به وسیله مایکرویو شامل، لیمونن (۷۸/۰۸-۷۳/٥٤ درصد)، گاما ترپینن (۹/٦۹-۸/۸۸ درصد)، تیمول متیل اتر (۲/۳۹- ۲/۰٤درصد)، سابینن (۱/۳۰-۲/۱٤ درصد) می‌باشد. بر اساس نتایج آماری بدست آمده در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنی‌داری میان ترکیبات فوق حاصله از روشهای مذکور مشاهده نگردید. کومار و همکاران در سال ۲۰۰۸، ترکیبات فرار برگ بکرایی را به کمک تقطیر با آب به وسیله کلونجر استخراج کردند. نتایج حاصل از GC/MS نشان داد لیمونن با غلظت ۸۸/۵۷ درصد اصلی‌ترین ترکیب موجود در اسانس پوست بکرایی بود،

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین آلفا پینن (۰/۲۸ درصد)، سابینن (۰/۱٤ درصد)، اسیمن (۲/۲۹ درصد) و پی کاریوفیلن (۰/۰٦ درصد) قسمت اعظم ترکیبات اسانس پوست بکرایی را تشکیل می‌دادند.

جدول ۳- تعیین کمی و کیفی ترکیبات موجود در اسانس پوست بکرایی حاصل از روش‌های مختلف مورد استفاده در تحقیق.

ردیف	اسامی ترکیبات[۲]	زمان ماند	تقطیر با آب به وسیله مایکروویو	تقطیر با آب به وسیله مایکروویو به همراه پیش تیمار اولتراسوند ٤٥ دقیقه	تقطیر با آب به وسیله مایکروویو به همراه پیش تیمار اولتراسوند ۹۰ دقیقه
۱	α-Thujene	۹۲٦	۰/۱٦ ± ۰/۲۳[a,1]	۰/۱۲ ± ۰/۱۸[a]	۰/۰۰ ± ۰/۰۰[a]
۲	α-Pinene	۹۳۲	۱/۲۸ ± ۰/۱۵[a]	۱/۲٦ ± ۰/۲۸[a]	۱/۲۸ ± ۰/۰۵[a]
۳	Sabinene	۹۷۲	۲/۰۵ ± ۰/۰۹[a]	۱/۹۱ ± ۰/٤۳[a]	۱/٦۵ ± ۰/۳۵[a]
٤	β-Myrcene	۹۹۱	۱/۷۱ ± ۰/۰۱[a]	۱/٦۵ ± ۰/۰۳[a,b]	۱/٦۱ ± ۰/۰۳[a,b]
۵	α-Terpinene	۱۰۱۵	۰/۱۸ ± ۰/۲٦[a]	۰/۲٤ ± ۰/۰۱[a]	۰/۱۸ ± ۰/۰۲۵[a]
٦	Limonene	۱۰۳۳	۷٦/۳٤ ± ۱/۷۱[a]	۷۵/۷۵ ± ۲/۲۱[a]	۷٦/٦۵ ± ۱/٤۳[a]
۷	(z)-β-Ocimen	۱۰٤۰	۰/۹۰ ± ۱/۲۸[a]	۱/۰۳ ± ۰/۱۰[a]	۰/۰۰ ± ۰/۰۰[a]
۸	γ-Terpinene	۱۰٦۱	۹/۰۹ ± ۱/۱۵[a]	۹/۲۵ ± ۰/٤٤[a]	۹/۰٤ ± ۰/۱٦[a]
۹	Terpinolene	۱۰۸۷	۱/۲٦ ± ۰/٦۱[a]	۱/۵۰ ± ۰/۱٦[a]	۱/۳۰ ± ۰/۱۳[a]
۱۰	Linalool	۱۰۹۹	۰/۸۸ ± ۰/۷۱[a]	۰/۹٦ ± ۰/۱٦[a]	۰/۸۱ ± ۰/٤۰[a]
۱۱	trans-Pinocarveol	۱۱۳۸	۰/۱۵ ± ۰/۰۵[a]	۰/۲۱ ± ۰/۰۳[a]	۰/۱۸ ± ۰/۰٦[a]
۱۲	Citronella	۱۱۵۲	۰/۱۱ ± ۰/۱۵[a]	۰/۰۷ ± ۰/۱۰[a]	۰/۲۵ ± ۰/۱۵[a]
۱۳	Terpin-4-ol	۱۱۷٦	۰/٤۱ ± ۰/۰۹[b,c]	۰/٤۵ ±۰/۲۹[a,b,c]	۰/٦۲ ±۰/٤۳[a,b,c]
۱٤	α-Terpineol	۱۱۸۹	۰/۱۳ ± ۰/۰۲[a]	۰/۱۰ ± ۰/۱٤[a]	۰/۱۰ ± ۰/۱٤[a]
۱۵	Citronellol	۱۲۲۹	۰/۰۸ ± ۰/۱۱[b]	۰/۰۱ ± ۰/۰۰[a]	۰/۰۱ ± ۰/۰۰[a]
۱٦	Thymol methyl ether	۱۲۳۵	۲/۱٦ ± ۰/۱۲[a]	۲/۳۱ ± ۰/۰۵[a]	۲/۳٤ ± ۰/۰۵[a]
۱۷	Terpinenyl-4-ol-Acetat	۱۳٤۸	۰/۱٦ ± ۰/۰۳[a]	۰/۱٦ ±۰/۰۰[a]	۰/۲۲ ±۰/۰۰[a]
۱۸	(E)-Caryophyllene	۱٤۲۰	۰/۱۸ ± ۰/۰۱[a]	۰/۲۰ ± ۰/۰۱[a]	۰/۲۰ ± ۰/۰۵[a]
۱۹	cis-Thujopsene	۱٤۳٦	۰/۲۷ ± ۰/۰۱[a]	۰/۳۰ ± ۰/۰۰[a,b]	۰/۳۲ ± ۰/۰٤[a,b]
۲۰	α-neo-Clovene	۱٤۸۲	۰/۱٦ ± ۰/۰۲[a]	۰/۱۷ ± ۰/۰۳[a]	۰/۱۹ ± ۰/۰۳[a]
۲۱	9-epi-(e)-Cariophyllene	۱۵۰۹	[a,b]۰/٤۱ ± ۰/۰۰	[b,c]۰/٤۷ ± ۰/۰۵	[b,c]۰/٤۸ ± ۰/۰۳

[۱]در هر ردیف مقادیر مشخص شده با حروف مختلف در سطح اطمینان ۹۵ درصد متفاوت می‌باشد. [۲]شناسایی ترکیبات به کمک مقایسه طیف‌های جرمی آنها با طیف‌های مرجع و همچنین مقایسه شاخص‌های بازداری آنها با شاخص‌های بازداری این ترکیبات انجام گرفته است.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

Aeinechi, Y. 1370. Medicine and Materia Herb Iran. Tehran Univ. Press, 810p.

Alissandrakis, E., Daferera, D., Tarantilis, P.A., Polissiou, M. and Harizanis, P.C.2003. Ultrasonic-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chemistry*. 83: 575-580.

Cravotto, G., Boffa, L., Mantegna, S., Perego, P., Avogadro, M. and Cintas, P. 2008. Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves. Ultrasonics Sonochemistry. 15: 202-898.

FCC.1996. Food Chemical Codex (4thed.). Washington DC: National Academic Press. pp. 413-414.

Fotouhi Ghazvini, R. and Fattahi Moghaddam, J. 1385. Citrus cultivation in Iran. Gilan University Press, 322p.

Golmakani, M. 1386. Effect of different extraction methods (hydro distillation, microwave-assisted hydro distillation and ultrasound-assisted hydro distillation) on the extraction efficiency and composition of essential oils from *Thymus vulgaris L* and *Zataria multiflora Boiss*. in: Thesis, Tehran Univ.

Islam, R., Hossain, M., Karim, M.R. and Joarder, O.I. 1995. Regeneration of *Aegle marmelos* (L.) Corr., plantlets in vitro from callus cultures of embryonic tissues, Curr Sci. 69: 444-500.

Jerkovic, I., Mastelic, J., Marijanovic, Z., Klein, Z. and Jelic, M. 2007. Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *Robinia pseudoacacia* L. & *Castanea sativa* L., Ultrasonics Sonochemistry, 14: 750-756.

Kamalakkannan, N. and Prince, P.S. 2005. The effect of *Aegle marmelos* fruit extract in streptozotocin diabetes: a histopathological study. *Journal of Herb Pharmacother*. 5: 87-96.

Kumar, R., Kumar, A., Prasa1, C.S., Dubey, N.K. and Samant, R. 2008. Insecticidal activity (*Aegle marmelos* L.*)* Correa essential oil against four stored grain insect pests, *Journal of Food Safety*, 10: 39-49.

Kimbaris, A.C., Siatis, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., Pappas, C.S. and Polissiou, M.G. 2006. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*), Ultrasonics Sonochemistry, 13: 54-60.

Letellier, M. and Budzinski, H. 1999. Microwave-assisted extraction of organic compounds *Analusis*. 27: 259-270.

Mazumder, R., Bhattacharya, S., Mazumder, A., Pattnaik, A.K., Tiwary, P.M. and Chaudhary, S. 2006. Antidiarrhoeal evaluation of *Aegle marmelos* (Correa) Linn, root extract, *Phytotherapy Research*, 20: 82-84.

Porto, C.D. and Decorti, D. 2009. Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of flavour compounds from spearmint (carvone-rich) plants:

Archive of SID

www.SID.ir

Comparison with conventional hydrodistillation. Ultrasonics Sonochemistry. 16: 795-799.

Radnia, H. 1375. Rootstalks for fruit trees in temperate zones. Agriculture Jihad. Press, 637p.

Rana, B.K., Sing, U.P. and Taneja, V. 1997. Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos* (L.) Corr, *Journal of Ethnopharmacal*, 57: 29-34.

Roldan-Gutierrez, J.M., Ruiz-jimenez, J. and Luque de Castro, M.D. 2008. Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction. Talanta. 75: 1369-1375.

Stahl-Biskup, E., and Saez, F. 2002. Thyme the genus thymus. NY, NJ: Taylor & Francis.

Sahare, K.N., Anandharaman, V., Meshram, V.G., Meshram, S.U. and Gajalakshmi, D. 2008. In vitro effect of four herbal plants on the motility of *Brugia* malayi microfilariae, Indian. *Journal of Medical Research*, 127: 467-471.

Singh, R. N., and Roy, S. K. 1984. The *Bael*: Cultivation and Processing. New Delhi: ICAR.

Survimol, C. and pranee, A. 2008. Bioactive compounds and volatile compounds of Thai bael fruit (*Aegle marmelos* (L.) Correa) as a valuable source for functional food ingredients. *Journal of International Food Research*. 15: 1-9.

Zhang, Z.S., Wang, L.J., Li, D., Jiao, S.S., Chen, X.D. and Mao, Z.H. 2008. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. *Separation and Purification Technology*, 62: 198-192.

Archive of SID

www.SID.ir

EJFPP, Vol. 4 (1): 111-124
http://ejfpp.gau.ac.ir

Comparison of essential oil from Aegle marmelos peel extracted by Microwave assisted hydrodistillation and Microwave assisted with pre treatment ultrasound

R. Shekari[1], K. Rezaei[2*] and S. Asadollahi[3]

[1] Young Researchers Club, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin,
[2] Dept. of Food Science, Engineering and Technology Tehran, University of Tehran,
[3] Dept. of Food Science, Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch, Varamin

Abstract

In this research, microwave-assisted hydrodistillation (MD) with pretreatment ultrasound (US) 45 and 90 min of essential oils from fresh *Aegle marmelos* peel were used and the results were compared with those obtained by hydrodistillation technique (HD) in terms of extraction yield/efficiency, extraction time, chemical composition and quality of the essential oil. All experiments were performed with at least three replicates. They were done according to GLM method and LSD Test in the SAS software system. The values obtained for essential oil from *Aegle marmelos* were achieved 2.00±0.2% and 1.97±0.2% by MD with pretreatment US (45 and 90 min) and 2.02±0.2% by MW. By using GC-MS system the composition of extracted essential oils were identified. The major component of essential oils obtained by both methods was limonene. There is no significant effect on the yield of essential oil and quality of essential oils extracted by MD with pretreatment US as compared to MW method.

Keywords: Essential oil, *Aegle marmelos*, Microwave, Gas Chromatography, Ultrasound Extraction

[*]Corresponding author; krezaee@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir