

## تأثیر روشهای مختلف خشک کردن و اسانس گیری بر کمیت و کیفیت اسانس *Eucalyptus largiflorens*

الهام فتحی<sup>۱</sup>، فاطمه سفیدکن<sup>۲\*</sup>، غلامرضا بخشی خانیکی<sup>۳</sup>، زهرا آبروش<sup>۴</sup> و محمدحسن عصاره<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور مرکز تهران

۲- نویسنده مسئول، استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور،

پست الکترونیک: frsef@rif-ac.ir

۳- دانشیار، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور

۴- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۵- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۸۷

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۶

### چکیده

در این تحقیق برگهای جوان گونه‌ای اکالیپتوس با نام علمی *Eucalyptus largiflorens* در فصل بهار از شهرستان کاشان در استان اصفهان (نواحی مرکزی ایران) جمع‌آوری شد. برگهای جمع‌آوری شده تحت پنج تیمار مختلف شامل آون ۳۰°C، آون ۴۰°C، آون ۵۰°C، آفتاب و سایه خشک شدند. پس از خشک کردن برگها، با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس آنها در مدت دو ساعت استخراج شد و به‌وسیله دستگاههای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. بازده اسانس این گونه در تیمار خشک شده در آون ۵۰°C (۱/۵۹٪) به‌ترتیب بیش از آون ۴۰°C (۱/۵۸٪) و آون ۳۰°C (۱/۳۷٪) بدست آمد. بازده اسانس نمونه خشک شده در آفتاب (۱/۳۱٪) تقریباً برابر با نمونه خشک شده در سایه (۱/۳۲٪) بود. اجزای عمده اسانس شامل ۸۰۱-سینئول (۲۵/۰٪، ۲۶/۲٪، ۴۰/۶٪، ۲۹/۷٪ و ۲۴/۶٪)، پارا-سیمن (۱۷/۲٪، ۱۷/۴٪، ۲۰/۳٪، ۲۰/۵٪ و ۱۷/۱٪) و آلفا-پینن (۱۶/۲٪، ۱۲/۶٪، ۱۴/۴٪، ۷/۲٪ و ۹/۹٪) به‌ترتیب در آون ۳۰°C، آون ۴۰°C، آون ۵۰°C، آفتاب و سایه بودند. با توجه به بالاتر بودن بازده اسانس و بیشتر بودن درصد ۸۰۱-سینئول در آون ۵۰°C می‌توان برای این گونه خشک کردن در آون ۵۰°C را توصیه نمود. در بخش دیگری از تحقیق برگهای خشک شده در سایه، علاوه بر روش تقطیر با آب با استفاده از دو روش تقطیر دیگر یعنی تقطیر با آب و بخار و تقطیر با بخار آب مستقیم، اسانس آنها در مدت دو ساعت استخراج و به‌وسیله دستگاههای GC و GC/MS مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. بازده اسانس در روش تقطیر با آب ۱/۳۲٪، در روش تقطیر با آب و بخار ۰/۹۲٪ و در روش تقطیر با بخار مستقیم ۰/۷۷٪ بود. بالاترین درصد ترکیب عمده اسانس یعنی ۸۰۱-سینئول از روش تقطیر با آب و بخار بدست آمد (۳۱/۴٪). به این ترتیب مشاهده می‌شود که در روش تقطیر با آب بازده اسانس بالاتر می‌باشد و بیشترین درصد ۸۰۱-سینئول از روش تقطیر با آب و بخار بدست می‌آید.

واژه‌های کلیدی: *Eucalyptus largiflorens*، اسانس، ۸۰۱-سینئول، تقطیر.

## مقدمه

جنس اکالیپتوس که بومی استرالیا و برخی جزایر شمال آن است، شامل بیش از ۶۰۰ گونه درختی بوده و به خانواده *Myrtaceae* تعلق دارد. این جنس در همه جهان بویژه آفریقا گسترش دارد که علت آن سازگاری آسان و رشد سریع آن است. بیش از ۳۰۰ گونه این جنس شامل روغن فرار در برگهایشان می‌باشند و کمتر از ۲۰ گونه آنها به‌طور تجاری برای تولید روغن مورد استفاده قرار می‌گیرند (Boland et al., 1991; International Trade Centre, 1986). از برگها و اسانس بسیاری از گونه‌های اکالیپتوس برای درمان التهاب دستگاه تنفسی مثل برونشیت یا خناق استفاده می‌شود (Mahlo, 1990; Juergens et al., 2003; Kaspar et al., 1994; Wittman et al., 1998).

انتشار وسیع اکالیپتوس در جهان بیشتر به علت ارزش و اهمیت چوب آن، یعنی از نظر اقتصادی بوده است. از طرفی، جنس اکالیپتوس برای زنبور عسل منبع بزرگ تولید نوش و گرده است. برخی از گونه‌های اکالیپتوس چه از نظر کمیت و چه از نظر کیفیت تولید عسل، جزء بهترین گیاهان محسوب می‌شوند. بهترین گونه‌های اکالیپتوسی که منبع تولید عسل محسوب می‌شوند عبارتند از: *E. woodwardii* و *E. brockwayii*، *E. stricklandii* (جوانشیر و مصدق، ۱۳۵۱).

مهمترین کاربردهای روغنهای اکالیپتوس برای صنعت دارو (آنهایی که از نظر سینتول قوی هستند)، عطرسازی (آنهایی که از نظر سیترونال قوی هستند) و برای کاربرد صنعتی (اسانسهایی که پی‌پریتون و آلفا-فلاندرن ترکیب اصلی آنها می‌باشند) می‌باشد (Copper & Hone, 1992). حدود ۹۰٪ از روغنهای خریداری شده، روغنهایی با پایه

دارویی هستند که در مقادیر صنعتی و تولید روغن معطر دارای اهمیت می‌باشند (Abbott, 1989).

از اسانس اکالیپتوس و ترکیب اصلی آن یعنی ۸،۱-سینتول به‌طور وسیع در تهیه نرم‌کننده‌ها، پمادها، شربتهای ضدسرفه، خمیردندان و به‌عنوان طعم‌دهنده در سایر داروها استفاده می‌شود. همچنین به‌عنوان مواد معطر کننده در صابونها، پودرها و مواد شوینده و به مقدار کم در عطرها بکار می‌روند. اسانس اکالیپتوس اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد التهاب هم دارد (Juergens et al., 2003; Grrassmann et al., 2000).

طبق منوگراف فارماکوپه اروپا اسانس اکالیپتوس با دارا بودن شرایط زیر دارای خاصیت دارویی است:

۱- مقدار ۸،۱-سینتول کمتر از ۷۰٪ نباشد؛ ۲- میزان لیمونین بین ۴ تا ۱۲ درصد باشد؛ ۳- مقدار آلفا-پینین بین ۲ تا ۸٪ باشد؛ ۴- مقدار آلفا-فلاندرن کمتر از ۱/۵٪، مقدار بتا-پینین کمتر از ۰/۵٪ و مقدار کامفور کمتر از ۰/۱٪ باشد (European pharmacopoeia). برای رسیدن به این شرایط و به حداقل رساندن برخی ترکیبها در اسانس (مثل آلدئیدها) برای برخی از گونه‌های اکالیپتوس لازم است که اسانس حاصل از تقطیر اولیه دوباره مورد تیمار قلبایی یا تقطیر مجدد قرار گیرد (Brand, 1993). چنین اسانسهای تیمار شده‌ای شامل حدود ۷۰ تا ۹۰٪ ۸،۱-سینتول هستند (Brand, 1993; Wilson et al., 2001; Harkenthal et al., 1999).

با توجه به اینکه طی تحقیقاتی تأثیر روشهای مختلف خشک کردن و اسانس‌گیری بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان مختلف به اثبات رسیده است، بنابراین در این تحقیق به بررسی تأثیر روشهای مختلف خشک کردن و اسانس‌گیری بر کمیت و کیفیت اسانس این گونه اکالیپتوس می‌پردازیم.

بازده اسانس برگهای گونه *E. largiflorens* جمع‌آوری شده از شوشتر (استان خوزستان)، خشک شده در سایه و روش تقطیر با آب به مدت ۹۰ دقیقه، ۰/۹۷٪ گزارش شده که توسط تجزیه اسانس با GC و GC/MS ۱۵ ترکیب شناسایی شد که ۸،۱-سینئول (۰/۴۱/۳٪)، اسپاتولونول (۰/۱۱/۶٪) و ویریدیفلورول (۰/۷/۰٪) مهمترین ترکیبها بودند (Sefidkon et al., 2007).

مقدار ترکیب ۸،۱-سینئول در اسانس برگهای گونه *E. largiflorens* (از کاشان) ۰/۳۷/۵٪ گزارش شده است (Sefidkon et al., 2006).

#### مواد و روشها

##### الف- جمع‌آوری گیاه، اسانس‌گیری و تجزیه اسانس

برگهای جوان گونه‌ای اکالیپتوس با نام علمی *E. largiflorens*، در اواسط اردیبهشت ۱۳۸۶ از شهرستان کاشان واقع در استان اصفهان جمع‌آوری شد. برگهای جمع‌آوری شده تحت پنج تیمار مختلف (آون ۳۰°C، آون ۴۰°C، آون ۵۰°C، آفتاب و سایه) خشک شدند. مدت زمان لازم خشک شدن برگها برای هر تیمار به ترتیب شش، سه، یک، دو و چهار روز بود. برگهای خشک شده تیمارهای مختلف، به روش تقطیر با آب هر کدام در سه تکرار اسانس‌گیری شدند. علاوه بر این نمونه‌های خشک شده در سایه، به دو روش دیگر تقطیر، یعنی تقطیر با آب و بخار و تقطیر با بخار مستقیم (هر کدام در سه تکرار)، به مدت دو ساعت اسانس‌گیری شدند. دستگاه تقطیر با آب از نوع کلونجر و دستگاه تقطیر با آب و بخار از نوع کیزر و لانگ بود. اسانسها توسط سولفات سدیم بی‌آب، آب‌گیری شد و سپس بازدهی اسانسها محاسبه شد.

نمونه‌هایی از تحقیقات انجام شده به صورت زیر است: سه روش خشک‌کردن اکلیل‌کوهی که شامل: خشک کردن در شرایط انجماد، خشک کردن در آون در دمای ۴۵°C تا رسیدن به وزن ثابت و خشک کردن در تبخیرکننده چرخان (Rotary evaporator) در ۳۵°C تا رسیدن به وزن ثابت بود، بررسی شد. روش خشک کردن در شرایط انجماد بالاترین مقدار اسانس را در اکلیل‌کوهی حفظ کرد. بعد از آن خشک کردن در آون ۴۵°C بود و در نهایت خشک کردن با تبخیرکننده چرخان در خلاء، پایین‌ترین مقدار اسانس را ایجاد کرد. با وجود این، به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانها، خشک کردن در دمای محیط و با حضور تهویه مناسب بهترین نتیجه را داد (بهمن‌زادگان جهرمی، ۱۳۸۵).

در مقایسه دو روش خشک کردن در آون و خشک کردن در شرایط طبیعی در انبار (در نعناع) نتایج نشان داد حذف آب در روش خشک کردن طبیعی در انبار روش بهتری است، زیرا مقدار اسانس بیشتری با این روش حفظ می‌شود (Shalaby et al., 1995).

مطالعات نشان داده که مهمترین ترکیب در اسانس گیاه *E. dealbata* بدست آمده به سه روش مختلف تقطیر (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخار، تقطیر با بخار) ۸،۱-سینئول می‌باشد. از لحاظ کمی و کیفی روش تقطیر با آب، باعث بدست آمدن بالاترین میزان ۸،۱-سینئول در گونه *E. dealbata* می‌گردد (بهمن‌زادگان جهرمی، ۱۳۸۵). در بررسی تأثیر روشهای مختلف تقطیر بر روی اسانس *E. camaldullensis* نشان داده شده که روش تقطیر با آب، هم از نظر بازده اسانس‌گیری و هم از نظر تولید اسانس مرغوب‌تر (اسانس با درصد بالاتر ۸،۱-سینئول)، بر روش تقطیر با بخار آب، برتری داشته و از نظر اقتصادی، مقرون به صرفه‌تر است (Simmons & Parsons, 1987).

حرارتی ستون مشابه با برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بوده است. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم شده است. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است.

### نتایج

میانگین بازده اسانس برگهای جوان *Eucalyptus largiflorens* خشک شده در آون ۳۰°C، آون ۴۰°C، آون ۵۰°C، آفتاب و سایه، روش تقطیر با آب به ترتیب ۱/۳۷٪، ۱/۵۸٪، ۱/۵۹٪، ۱/۳۱٪ و ۱/۳۲٪ بدست آمد. بازده اسانسها حاصل از سه تکرار در پنج روش مختلف خشک کردن، با استفاده از برنامه آماری SAS و در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی تجزیه واریانس گردید و با روش آزمون چند دامنه دانکن مورد مقایسه قرار گرفت (جدولهای ۱ و ۲).

همان‌طور که در جدول شماره ۵ آمده است، به ترتیب ۲۱، ۲۳، ۱۷، ۲۲ و ۲۲ ترکیب در اسانس برگهای خشک شده در آون ۳۰°C، ۴۰°C، ۵۰°C، آفتاب و سایه شناسایی شد. عمده‌ترین ترکیبها در اسانس برگهای خشک شده در آون ۳۰°C، ۸،۱-سینئول (۲۵/۰٪)، پارا-سیمن (۱۷/۲٪)، آلفا-پینن (۱۶/۲٪) و اسپاتولنول (۱۲/۵٪) بودند. از بین ۲۳ ترکیب در اسانس برگهای خشک شده در آون ۴۰°C، مهمترین ترکیبها؛ ۸،۱-سینئول (۲۶/۲٪)، پارا-سیمن (۱۷/۴٪) و آلفا-پینن (۱۲/۶٪) تشخیص داده شدند. بیشترین درصد ترکیبها در اسانس برگهای خشک شده در آون ۵۰°C متعلق به ۸،۱-سینئول (۴۰/۶٪)، پارا-سیمن (۲۰/۳٪) و آلفا-پینن (۱۴/۴٪) بود. مهمترین ترکیبها در اسانس برگهای خشک شده در آفتاب را ۸،۱-سینئول

میانگین بازده اسانس گیاه مورد مطالعه حاصل از سه تکرار در پنج تیمار مختلف خشک کردن، با استفاده از برنامه آماری SAS تجزیه واریانس گردید و به روش آزمون چند دامنه دانکن نیز مورد مقایسه قرار گرفت. برای پی بردن به کیفیت اسانسها، آنها توسط GC و GC/MS آنالیز شدند. به این ترتیب اجزای اسانسها همراه با درصد آنها بدست آمد.

### ب- مشخصات دستگاههای مورد استفاده دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

در این تحقیق از دستگاه گاز کروماتوگرافی Shimadzu مدل 9A و مجهز به ستون DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر که سطح داخلی آن با فاز ساکن از جنس Dimethyl siloxane, phenyl 5% پوشیده شده، استفاده شد. گاز حامل این دستگاه هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪ که فشار ورودی آن به ستون برابر ۱/۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شده بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون به این ترتیب بود که از دمای اولیه ۶۰°C شروع شد تا دمای نهایی ۲۱۰°C که در هر دقیقه ۳°C به آن افزوده شد و سپس از دمای ۲۴۰°C-۲۱۰°C با سرعت ۲۰ درجه در دقیقه و توقف در این دما به مدت ۸/۵ دقیقه صورت گرفت. دمای قسمت تزریق و آشکارساز به ترتیب ۳۰۰°C و ۲۸۰°C بود.

### دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)

گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است. برنامه‌ریزی

اسانسهای حاصل از این سه روش تقطیر نیز توسط GC و GC/MS مورد آنالیز و شناسایی قرار گرفتند. همانطور که در جدول ۶ آمده است به ترتیب ۲۲، ۲۳ و ۲۲ ترکیب در اسانس حاصل از روشهای تقطیر با آب، آب و بخار و بخار مستقیم شناسایی شد.

عمده ترین ترکیبها در اسانس حاصل از تقطیر با آب ۸،۱-سینئول (۰/۲۴/۶)، پارا-سیمن (۰/۱۷/۱) و اسپاتولونول (۰/۱۶/۰) بودند. بیشترین درصد ترکیبها در اسانس حاصل از تقطیر با آب و بخار مربوط به ۸،۱-سینئول (۰/۳۱/۴)، پارا-سیمن (۰/۲۲/۷) و اسپاتولونول (۰/۱۱/۱) بود. از بین ترکیبهای شناسایی شده در اسانس حاصل از تقطیر با بخار مستقیم ۸،۱-سینئول (۰/۲۳/۶)، پارا-سیمن (۰/۲۲/۴) و اسپاتولونول (۰/۱۰/۸) بیشترین درصد را داشتند. سایر ترکیبها در جدول ۶ آمده است.

(۰/۲۹/۷)، پارا-سیمن (۰/۲۰/۵) و اسپاتولونول (۰/۱۲/۹) تشکیل می دادند. از بین ترکیبهای شناسایی شده در اسانس برگهای خشک شده در سایه ۸،۱-سینئول (۰/۲۴/۶)، پارا-سیمن (۰/۱۷/۱) و اسپاتولونول (۰/۱۶/۰) بیشترین درصد را داشتند. کلیه ترکیبهای شناسایی شده در اسانسها در جدول ۵ آورده شده است.

در بخش دیگری از تحقیق، نمونه های خشک شده در سایه علاوه بر روش تقطیر با آب، توسط تقطیر با آب و بخار آب و تقطیر با بخار مستقیم، هر کدام در سه تکرار اسانس گیری شدند. میانگین بازده اسانسها ۱/۳۲٪، ۰/۹۲٪ و ۰/۸۷٪ به ترتیب در روش تقطیر با آب، آب و بخار و بخار مستقیم بدست آمد. بازده اسانسها حاصل از سه تکرار در سه روش مختلف تقطیر، با استفاده از برنامه آماری SAS و در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی تجزیه واریانس گردید و توسط آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفت (جدولهای ۳ و ۴).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف خشک کردن بر میزان اسانس *E. largiflorens*

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات |
|---------------|------------|----------------|
| خشک کردن      | ۴          | ۰/۰۵۱۹*        |
| تکرار         | ۲          | ۰/۰۰۲۸ n.s     |
| خطا           | ۷          | ۰/۰۱۰۶         |
| کل            | ۱۳         | -              |
| C.V.=۷/۲۴۳۳   |            |                |

\*: اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵

n.s: عدم وجود اختلاف معنی دار

جدول ۲- مقایسه میانگین بازده اسانس گونه *E. largiflorens* در تیمارهای مختلف خشک کردن به روش آزمون دانکن

| گروه بندی دانکن | میانگین بازده اسانس | تعداد | روش خشک کردن |
|-----------------|---------------------|-------|--------------|
| A               | ۱/۵۸۰۵              | ۲     | آون ۵۰°C     |
| A               | ۱/۵۸۰۰              | ۳     | آون ۴۰°C     |
| AB              | ۱/۳۶۷۳              | ۳     | آون ۳۰°C     |
| B               | ۱/۳۱۷۷              | ۳     | سایه         |
| B               | ۱/۳۱۲۳              | ۳     | آفتاب        |

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف تقطیر بر میزان اسانس *E. largiflorens*

| میانگین مربعات | درجه آزادی | منابع تغییرات |
|----------------|------------|---------------|
| ۰/۲۸۶۷*        | ۲          | تقطیر         |
| ۰/۰۰۷۸ n.s     | ۲          | تکرار         |
| ۰/۰۱۶۴         | ۴          | خطا           |
| -              | ۸          | کل            |
| C.V.=۱۲/۵۵۰۸   |            |               |

\*: اختلاف معنی دار در سطح ۵٪

n.s: عدم وجود اختلاف معنی دار

جدول ۴- مقایسه میانگین بازده اسانس گونه *E. largiflorens* در تیمارهای مختلف تقطیر به روش

آزمون چند دامنه دانکن

| روش تقطیر   | تعداد | میانگین بازده اسانس | گروه بندی دانکن |
|-------------|-------|---------------------|-----------------|
| آب          | ۳     | ۱/۳۶۷۳              | A               |
| آب و بخار   | ۳     | ۰/۹۱۷۷              | B               |
| بخار مستقیم | ۳     | ۰/۷۷۵۰              | B               |

### بحث

معنی داری را در سطح ۵٪ نشان می دهد. به عبارت دیگر روشهای خشک کردن توانسته اند بر میزان اسانس اثرگذار باشند.

با توجه به جدول ۲، بالاترین بازده اسانسها در اسانس حاصل از برگهای خشک شده در آون ۵۰°C و ۴۰°C بدست آمد که با یکدیگر در سطح ۵٪ اختلاف معنی دار ندارند، ولی میانگین بازده اسانس در آون ۵۰°C به مقدار بسیار اندکی بالاتر می باشد که این نتایج با نتایج بدست آمده در مورد نعنای که در شرایط طبیعی و آون خشک شده بود، تفاوت داشت. بررسیها در نعنای نشان داد که حذف آب در روش خشک کردن طبیعی در انبار روش بهتری است، زیرا مقدار اسانس بیشتری با این روش حفظ می شود (Shalaby et al., 1995).

نتایج نشان داد که ۸،۱-سینئول جزء اصلی کلیه اسانسهای مورد مطالعه است، اما درصد نسبی آن در اسانس برگهای خشک شده در آون ۵۰°C بیشتر است. ۸،۱-سینئول ماده اصلی تشکیل دهنده اسانس بسیاری از گونه های اکالیپتوس معرفی شده است (آبروش و همکاران، ۱۳۸۶).

به طور کلی، کیفیت و کمیت اسانس یک گونه خاص براساس فصل اسانس گیری، موقعیت جغرافیایی، محل کشت گیاه، روشهای مختلف خشک کردن و تقطیر فرق می کند.

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می شود میزان تولید اسانس در روشهای مختلف خشک کردن اختلاف

جدول ۵- ترکیبهای اسانس *E. largiflorens* حاصل از روشهای مختلف خشک کردن (تقطیر با آب)

| ردیف | نام ترکیب                  | شاخص بازداری | آون ۳۰°C (%) | آون ۴۰°C (%) | آون ۵۰°C (%) | آفتاب (%) | سایه (%) |
|------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------|----------|
| ۱    | $\alpha$ -thujene          | ۹۲۸          | ۰/۸          | ۰/۶          | -            | -         | -        |
| ۲    | $\alpha$ -pinene           | ۹۳۶          | ۱۶/۲         | ۱۲/۶         | ۱۴/۴         | ۷/۲       | ۹/۹      |
| ۳    | camphene                   | ۹۵۳          | ۰/۶          | ۰/۵          | ۰/۲          | ۰/۲       | ۰/۴      |
| ۴    | sabinene                   | ۹۷۰          | ۰/۶          | ۰/۳          | ۰/۹          | ۰/۴       | ۰/۳      |
| ۵    | $\beta$ -pinene            | ۹۷۴          | ۱/۱          | ۰/۸          | ۱/۰          | ۰/۶       | ۰/۷      |
| ۶    | myrcene                    | ۹۹۸          | ۰/۷          | ۰/۶          | ۰/۲          | ۰/۲       | ۰/۵      |
| ۷    | $\alpha$ -phellandrene     | ۱۰۰۹         | ۰/۳          | ۰/۳          | -            | ۰/۲       | ۰/۳      |
| ۸    | <i>p</i> -cymene           | ۱۰۱۷         | ۱۷/۲         | ۱۷/۴         | ۲۰/۳         | ۲۰/۵      | ۱۷/۱     |
| ۹    | 1,8-cineole                | ۱۰۲۳         | ۲۵/۰         | ۲۶/۲         | ۴۰/۶         | ۲۹/۷      | ۲۴/۶     |
| ۱۰   | $\alpha$ -campholenal      | ۱۱۱۸         | ۰/۵          | ۰/۹          | ۰/۳          | ۰/۴       | ۰/۹      |
| ۱۱   | <i>trans</i> -pinocarveol  | ۱۱۳۳         | ۱/۳          | ۱/۴          | ۱/۰          | ۱/۱       | ۱/۳      |
| ۱۲   | pinocarvone                | ۱۱۵۵         | ۰/۵          | ۰/۴          | ۰/۳          | ۰/۳       | ۰/۴      |
| ۱۳   | borneol                    | ۱۱۶۳         | -            | ۰/۳          | ۲/۸          | -         | ۰/۵      |
| ۱۴   | terpinen-4-ol              | ۱۱۷۳         | ۲/۷          | ۲/۷          | ۵/۹          | ۳/۴       | ۲/۸      |
| ۱۵   | <i>P</i> -cymen-8-ol       | ۱۱۸۲         | ۵/۷          | ۷/۸          | ۰/۴          | ۹/۶       | ۸/۰      |
| ۱۶   | $\alpha$ -terpineol        | ۱۱۸۶         | ۰/۶          | ۰/۹          | ۰/۱          | ۰/۵       | ۰/۴      |
| ۱۷   | <i>trans</i> -carveol      | ۱۲۱۰         | ۰/۴          | ۱/۷          | ۱/۲          | ۰/۳       | ۰/۴      |
| ۱۸   | $\alpha$ -guaiene          | ۱۴۲۵         | -            | ۰/۲          | -            | ۰/۱       | ۰/۲      |
| ۱۹   | aromadendrene              | ۱۴۴۱         | ۰/۵          | ۰/۴          | -            | ۰/۵       | ۰/۵      |
| ۲۰   | <i>allo</i> -aromadendrene | ۱۴۶۳         | -            | -            | -            | ۰/۲       | -        |
| ۲۱   | spathulenol                | ۱۵۷۳         | ۱۲/۵         | ۹/۹          | ۴/۳          | ۱۲/۹      | ۱۶/۰     |
| ۲۲   | caryophyllene oxide        | ۱۵۷۶         | ۴/۲          | ۴/۵          | ۲/۱          | ۱/۷       | ۴/۱      |
| ۲۳   | viridifloral               | ۱۵۸۹         | ۰/۲          | ۰/۱          | -            | ۰/۲       | ۰/۳      |
| ۲۴   | $\gamma$ -eudesmol         | ۱۶۲۶         | ۰/۵          | ۰/۳          | -            | ۰/۲       | ۰/۴      |
|      | مجموع                      |              | ۹۲/۱         | ۹۰/۸         | ۹۶/۰         | ۹۰/۴      | ۹۰/۰     |

جدول ۶- ترکیبهای اسانس *E. largiflorens* (خشک شده در سایه) با روشهای مختلف تقطیر

| ردیف | نام ترکیب                  | شاخص بازداری | تقطیر با آب (%) | تقطیر با آب و بخار (%) | تقطیر با بخار (%) |
|------|----------------------------|--------------|-----------------|------------------------|-------------------|
| ۱    | <i>α</i> -thujene          | ۹۲۸          | -               | ۰/۵                    | ۰/۶               |
| ۲    | <b><i>α</i>-pinene</b>     | ۹۳۶          | ۹/۹             | ۶/۷                    | ۱۰/۱              |
| ۳    | camphene                   | ۹۵۳          | ۰/۴             | ۰/۳                    | ۰/۴               |
| ۴    | sabinene                   | ۹۷۰          | ۰/۳             | ۰/۳                    | ۰/۵               |
| ۵    | <i>β</i> -pinene           | ۹۷۴          | ۰/۷             | ۰/۵                    | ۰/۷               |
| ۶    | myrcene                    | ۹۹۸          | ۰/۵             | ۰/۷                    | ۰/۷               |
| ۷    | <i>α</i> -phellandrene     | ۱۰۰۹         | ۰/۳             | ۰/۴                    | ۰/۴               |
| ۸    | <b><i>p</i>-cymene</b>     | ۱۰۱۷         | ۱۷/۱            | ۲۲/۷                   | ۲۲/۴              |
| ۹    | <b>1,8-cineole</b>         | ۱۰۲۳         | ۲۴/۶            | ۳۱/۴                   | ۲۳/۶              |
| ۱۰   | <i>α</i> -campholenal      | ۱۱۱۸         | ۰/۹             | ۰/۴                    | ۰/۸               |
| ۱۱   | <i>trans</i> -pinocarveol  | ۱۱۳۳         | ۱/۳             | ۱/۰                    | ۰/۹               |
| ۱۲   | pinocarvone                | ۱۱۵۵         | ۰/۴             | ۰/۲                    | ۰/۳               |
| ۱۳   | borneol                    | ۱۱۶۳         | ۰/۵             | -                      | ۰/۳               |
| ۱۴   | <b>terpinen-4-ol</b>       | ۱۱۷۳         | ۲/۸             | ۲/۸                    | ۲/۳               |
| ۱۵   | <b><i>p</i>-cymen-8-ol</b> | ۱۱۸۲         | ۸/۰             | ۵/۹                    | ۵/۳               |
| ۱۶   | <i>α</i> -terpineol        | ۱۱۸۶         | ۰/۴             | ۰/۳                    | ۰/۷               |
| ۱۷   | <i>trans</i> -carveol      | ۱۲۱۰         | ۰/۴             | ۰/۴                    | ۰/۶               |
| ۱۸   | <i>α</i> -guaiene          | ۱۴۲۵         | ۰/۲             | ۰/۲                    | ۰/۳               |
| ۱۹   | aromadendrene              | ۱۴۴۱         | ۰/۵             | ۰/۴                    | ۰/۸               |
| ۲۰   | <i>allo</i> -aromadendrene | ۱۴۶۳         | -               | ۰/۲                    | -                 |
| ۲۱   | spathulenol                | ۱۵۷۳         | ۱۶/۰            | ۱۱/۱                   | ۱۰/۸              |
| ۲۲   | caryophyllene oxide        | ۱۵۷۶         | ۴/۱             | ۲/۹                    | ۴/۶               |
| ۲۳   | viridiflorol               | ۱۵۸۹         | ۰/۳             | ۰/۳                    | ۰/۱               |
| ۲۴   | <i>γ</i> -eudesmol         | ۱۶۲۶         | ۰/۴             | ۰/۳                    | -                 |
|      | مجموع                      |              | ۹۰/۰            | ۸۹/۹                   | ۸۷/۲              |

که ۸،۱-سیثول (۴۱/۳٪)، اسپاتولنول (۱۱/۶٪) و ویردیفلورول (۷/۰٪) مهمترین ترکیبها بوده‌اند (Sefidkon *et al.*, 2007). در حالی که در این تحقیق بازده اسانس این گونه (از کاشان) ۱/۳۲٪ و عمده‌ترین ترکیبهای آن

در یک تحقیق دیگر، بازده اسانس *E. largiflorens* از شوشتر (استان خوزستان)، خشک شده در سایه و روش تقطیر با آب به مدت ۹۰ دقیقه، ۰/۹۷٪ گزارش شده است. تجزیه اسانس با GC و GC/MS ۱۵ ترکیب شناسایی شد



که ملاحظه شد در مورد روشهای مختلف تقطیر بالاترین بازده اسانس توسط روش تقطیر با آب و بیشترین درصد ۸۱-سینثول توسط روش تقطیر با آب و بخار بدست آمد.

### منابع مورد استفاده

- آبروش، ز، سفیدکن، ف. و عصاره، م.ح.، ۱۳۸۶. استخراج و تعیین ترکیبهای شیمیایی اسانس پنج گونه اکالیپتوس کشت شده در مناطق گرمسیری ایران. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، (۳): ۲۳-۳۳۰-۳۳۰.
- بهمن‌زادگان جهرمی، ع.، ۱۳۸۵. بررسی تغییرات فصلی اسانس چهار گونه اکالیپتوس و تأثیر روش تقطیر بر کمیت و کیفیت اسانس *Eucalyptus dealbata*، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، رشته فیتوشیمی، دانشگاه شهید بهشتی.
- جوانشیر، ک. و مصدق، ا.، ۱۳۵۱. اکالیپتوس. انتشارات دانشگاه تهران، ۴۳۵ صفحه.
- Abbott, P.S., 1989. Commercial Eucalyptus oil production. Proceedings of the Eucalyptus oil production Seminar, Gnowangerup, 14 February: 29-48.
- Boland, D.J., Brophy, J.J. and House, A.D., 1991. Eucalyptus Oils Use: Chemistry, Distillation and Marketing. Inkata Melbourne, Australia, 252p.
- Brand, N., 1993. Eucalyptus, In: Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Vol. 5, 5<sup>th</sup> ed. Springer-Verlag, Berlin, 970p.
- Copper, J.J. and Hone, G.A., 1992. Eucalyptus Oils: A review of Production and Markets. Natural Resources Institute Bulletin 56. Overseas Development Administration.
- Grrassmann, J., Hippeli, S., Dornisch, K., Rohnert, U., Beuscher, N. and Elstner, E.F., 2000. Antioxidant properties of essential oils. Possible explanations for their anti-inflammatory effects. *Arzneim Forsch/Drug Research*, 50: 135-139.
- Harkenthal, M., Reichling, J., Geiss, H.K. and Saller, R., 1999. Comparative study on the in vitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajuput oil, niaouli oil, manuka oil and Eucalyptus oil. *Pharmazie*, 54: 460-463.
- International Trade Centre, 1986. Essential Oils and Oleoresins. A study of Selected Producers and Major Markets. International Trade Centre, United Nations Conference on Trade and Development, Geneva, 208p.

۸۱-سینثول (۶/۲۴٪)، پارا-سیمن (۱/۱۷٪) و اسپاتونول (۰/۱۶٪) بودند و همان‌طور که اشاره شد این تفاوت ناشی از تفاوت در موقعیت جغرافیایی محل‌های جمع‌آوری می‌باشد.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، میزان تولید اسانس در روشهای مختلف تقطیر دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشد که این امر نشان‌دهنده این است که روشهای تقطیر توانسته‌اند بر میزان اسانس اثرگذار باشند. جدول ۴ نشان‌دهنده این است که روش تقطیر با آب دارای بالاترین میانگین بازده اسانس بوده و دارای اختلاف معنی‌دار با روش تقطیر با آب و بخار و روش تقطیر با بخار مستقیم می‌باشد که این نتایج با نتایج تحقیق بر روی *E. camaldulensis* مطابقت دارد زیرا تحقیقات بر روی این گونه نیز نشان داد که روش تقطیر با آب هم از نظر بازده اسانس‌گیری و هم از نظر تولید اسانس مرغوب‌تر (اسانس با درصد بالاتر ۸۱-سینثول) بر روش تقطیر با بخار آب برتری داشته و از نظر اقتصادی، مقرون به صرفه‌تر است (Simmons & Parsons, 1987).

با توجه به جدول ۶ مشخص است که درصد نسبی ۸۱-سینثول در اسانس حاصل از تقطیر با آب و بخار بیشتر از دو روش دیگر تقطیر می‌باشد، در صورتی که تحقیقات نشان داده اسانس گیاه *E. dealbata* در روش تقطیر با آب دارای بالاترین درصد از ۸۱-سینثول بوده است (بهمن‌زادگان جهرمی، ۱۳۸۵).

پس با توجه به تمام اطلاعات بدست آمده می‌توان روش خشک کردن در آون ۵۰°C را بهترین روش خشک کردن برای *E. largiflorens* دانست (چون گیاه را می‌توان در کوتاهترین زمان ممکن خشک کرد)، از طرفی اسانس آن را با بالاترین کمیت و کیفیت بدست آورد. همان‌طور

- Sefidkon, F., Assareh, M.H., Abravesh, Z. and Mirza M., 2006
- Shalaby, A.S., El-Gengaihi, S. and Khattab, M., 1995. Oil of *Mellisa officinalis* L., as affected by storage and herb drying. *Journal of Essential Oil Research*, 8: 667-669.
- Simmons, D. and Parsons, R.F., 1987. Seasonal variation in the volatile leaf oils of two *Eucalyptus* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15(2): 209-215.
- Wilson, N.D., Watt, R.A. and Moffat, A.C., 2001. A near-infrared method for the assay of cineole in *Eucalyptus* oil as an alternative to the official. BP method. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 33: 95-102.
- Wittman, M., Petro, W., Kaspar, P., Regges, R., and Dethlestenm U., 1998. Zur Therapie chronisch obstruktiver Atemwegser-Krankungen mit Sekretolytika. Doppelblinder, randomisierter Cross-over-Vergleich zwischen Cineole und Ambroxol. *Atemw-Lungenkrkh*, 24: 67-74.
- Juergens, U.R., Dethlefsen, U., Stein, G., Gillissen, A., Regges, R. and Vetter, H., 2003. Anti-inflammatory activity of 1,8-Cineole (eucalyptol) in bronchial asthma: a double blind placebo-controlled trial. *Respiratory Medicine*, 97; 250-256.
- Kaspar, P., Regges, R., Dethlefsen, U. and Petro, W., 1994. Sekretolytika im Vergleich. Anderung der Ziliarfrequenz und lungen function nach Thrapie mit Cineole und Ambroxol. *Atemw-Lungenkrkh*, 20: 605-614.
- Mahlo, D.H., 1990. Obstruktive Atemwegserkrankungen. Mit Cineole die Lungenfunktionsparameter verbessern. *Therapiewoche*, 40: 3157-3162.
- Sefidkon, F., Assareh, M.H., Abravesh, Z. and Barazandeh, M.M., 2007. Chemical composition of the essential oils of four Cultivated *Eucalyptus* species in Iran as medicinal plants (*E. microtheca*, *E. spatulata*, *E. largiflorense* and *E. trquata*). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 6(2), 135-140.

Archive of SID

## The effects of drying and distillation methods on essential oil content and composition of *Eucalyptus largiflorens*

E. Fathi<sup>1</sup>, F. Sefidkon<sup>2\*</sup>, Gh. Bakhshi Khaniki<sup>1</sup>, Z. Abravesh<sup>2</sup> and M.H. Assareh<sup>2</sup>

1- Biology Department, Faculty of Science, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

2\*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, E-mail: frsef@rifr-ac.ir

Received: March 2008

Revised: June 2008

Accepted: July 2008

### Abstract

In this research, the fresh leaves of *Eucalyptus largiflorens* were collected in the middle of spring from Kashan in Isfahan province. After drying the plant materials in oven 30°C, 40°C, 50°C, sun and shade, their essential oils were obtained by hydro-distillation. In addition, the essential oil of shade-dried sample was obtained by two other distillation methods (water and steam distillation and direct steam distillation). The oils were analyzed by GC and GC/MS. Oil yields (w/w) of the oven-dried 30°C, 40°C, 50°C, sun-dried and shade-dried sample were 1.37%, 1.58%, 1.59%, 1.31% and 1.32% respectively. 1,8-cineole (25.0%, 26.2%, 40.6%, 29.7% and 24.6%), *P*-cymene (17.2%, 17.4%, 20.3%, 20.5% and 17.1%) and  $\alpha$ -pinene (16.2%, 12.6%, 14.4%, 7.2% and 9.9%) were identified as the main components in oven-dried 30°C, 40°C, 50°C, sun-dried and shade-dried sample, respectively. On the other hand, the oil yields were 0.92% and 0.77% in water and steam distillation and direct steam distillation. In different drying methods the result showed the oil yield and 1,8-cineole percentage were higher in oven-dried 50°C sample and in different distillation the oil yield in hydro-distillation was higher and the highest percentage of 1,8-cineole was obtained by water and steam distillation.

**Key words:** *Eucalyptus largiflorens*, essential oil, 1,8-cineole, distillation.