

تأثیر اندازه ذرات، روش و مدت زمان اسانس‌گیری بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه *Pimpinella affinis* Ledeb.

محبوب حبیب‌زاده^۱، فاطمه سفیدکن^{۲*} و شهره فاطمی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تهران

۲- نویسنده مسئول، استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست الکترونیک: sefidkon@rifir-ac.ir

۳- دانشیار، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۸

چکیده

ترکیب‌های لیمونن، ترانس-آلفا-برگاموتن، گایجرن، المیسین و جرماکرن B کاربردهای فراوانی در فرمولاسیون فرآورده‌های دارویی، آرایشی و بهداشتی و عطرسازی دارند که در اسانس گیاه *Pimpinella affinis* Ledeb. (گونه بومی ایران و ترکیه) یافت می‌شوند. در این تحقیق، اندام‌های هوایی گیاه در مرحله گلدهی و بذردهی از ایستگاه تحقیقاتی البرز کرج جمع‌آوری گردید و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه، با سه روش: تقطیر با آب و بخار، تقطیر با آب و تقطیر با بخار مستقیم، مطابق آزمون‌های طراحی شده توسط روش آماری تاگوچی با سه عامل روش، زمان و اندازه ذره‌ای در سه سطح اسانس‌گیری گردید تا تأثیر کمی و کیفی عامل‌ها بر روی اسانس مشخص شود. سپس بازده استخراج اسانس برای هر کدام محاسبه شد و ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها توسط کروماتوگرافی گازی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها تعیین شد. بررسی میانگین داده‌ها (بازده اسانس‌ها) نشان داد که اندازه مش ۲۰ در روش‌های تقطیر با بخار و تقطیر با آب مقادیر بیشتری از ترکیب‌های لیمونن، ترانس-آلفا-برگاموتن و گایجرن حاصل می‌شود. برای المیسین و جرماکرن B اندازه مش ۴۰، روش تقطیر با بخار و زمان ۲/۵ ساعت بهترین نتیجه را می‌دهد. بیشترین بازده اسانس در روش تقطیر با آب و بخار با اندازه مش ۲۰ و کمترین نیز در همین روش با مش ۱۴ می‌باشد. بنابراین، با انتخاب شرایط اسانس‌گیری می‌توان به درصد دلخواه از میزان اسانس و ترکیب مورد نظر دست یافت.

واژه‌های کلیدی: *Pimpinella affinis* Ledeb.، اسانس، لیمونن، ترانس-آلفا-برگاموتن.

مقدمه

دارد که در نواحی وسیعی از ایران پراکنش دارند. نواحی پراکنش آن شمال، شمال غرب، مرکز، شرق و شمال شرق ایران است (Askari, 2008). این جنس در ایران ۶ گونه انحصاری دارد و سایر گونه‌های آن علاوه بر ایران در

جنس *Pimpinella* از خانواده چتریان و شامل ۱۵۰ گونه می‌باشد که در اروپا، آسیا و آفریقا پراکنش دارد. ۱۶ گونه از این جنس در اروپا و ۲۲ گونه آن در ایران وجود

و برگ (۶۹/۹٪) و گل آذین (۳۷/۶٪) بود. لیمون ترکیب شاخص دیگر در اسانس گل آذین و بذر به ترتیب ۴۷/۹٪ و ۹۰/۵٪ بود. در اسانس ساقه و برگ، گل آذین و بذر *P. affinis* (جمع آوری شده از چالوس) به ترتیب ۱۲، ۱۳ و ۱۰ ترکیب شناسایی شد. گاما-ترپین-۷-ال ترکیب شاخص اسانس ساقه و برگ (۷۲/۸٪) و گل آذین (۴۹/۱٪) و لیمون ترکیب شاخص اسانس گل آذین (۳۷/۹٪) و بذر (۷۰/۸٪) بود. متیل اوژنول (۹/۷٪) و ترانس-نرولیدول استات (۹/۱٪) دیگر ترکیب‌های شاخص بذر بودند. در اسانس ساقه و برگ، گل آذین و بذر *P. affinis* (جمع آوری شده از نوشهر) به ترتیب ۶، ۱۵ و ۶ ترکیب شناسایی شد. تنها ترکیب شاخص اسانس ساقه و برگ، گل آذین و بذر آلفا-ترانس-برگاموتن به ترتیب ۹۴/۳٪، ۸۴/۹٪ و ۹۵/۵٪ بود (Asgari & sefidkon, 2006).

از مهمترین ترکیب‌های تشکیل دهنده‌ی اسانس این گیاه می‌توان به لیمون، ترانس-آلفا-برگاموتن، گایجرن، المیسلین و جرماکرن B اشاره کرد. لیمون خاصیت ضد سرطانی دارد و در فرمولاسیون فرآورده‌های دارویی نظیر بی‌کربنات سدیم، پمادهای ضد عفونی کننده و در ساخت ویتامین A، در عطر سازی، معطر نمودن مواد آرایشی، ساختن صابون‌های رنگی، خوشبوکننده‌ها، طعم‌دهنده‌ها، به‌عنوان حلال در ساخت رزین‌ها و مرطوب‌کننده‌ها کاربرد دارد (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵). ترانس-آلفا-برگاموتن ترکیب معطری است که به‌عنوان ماده اولیه برای تولید بسیاری از ترکیب‌های معطر بکار می‌رود (Askari et al., 2005). ترکیب‌های دیگر اسانس این گونه نیز کاربردهای فراوانی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارند.

آناتولی، ترکمنستان، ارمنستان، گرجستان، فلسطین، سوریه، عراق، اردن، افغانستان، پاکستان، قفقاز و یونان می‌رویند (مظفریان، ۱۳۷۵).

گونه‌هایی که تا به حال در ایران بررسی شده‌اند عبارتند از: *P. affinis*, *P. aurea*, *P. puberula*, *P. barbata*, *P. anthriscoides*, *P. anisum* و *P. tragioides*, *P. kotschyana*, *P. eriocarpa* که این گونه‌ها از رویشگاه‌های طبیعی نواحی مختلف جمع‌آوری شده‌اند و اسانس اندام‌های مختلف با روش تقطیر با آب استخراج شده و توسط دستگاه‌های GC/MS و GC ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس‌ها شناسایی و درصد هر کدام مشخص گردیده است. عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گونه‌های *P. affinis*, *P. puberula* و *P. tragioides* لیمون، پری‌گایجرن و ترانس-آلفا-برگاموتن بوده‌اند. ترکیب عمده اسانس گونه *P. anisum* ترانس-آنتول و ترکیب‌های عمده اسانس گونه *P. aurea* بتا-بیزابولن و ویریدیفلورول گزارش شده‌اند (Askari & Sefidkon, 2006). ترکیب‌های عمده اسانس گونه *P. barbata* لیمون و متیل اوژنول، ترکیب‌های عمده گونه *P. eriocarpa* لیمون، المیسین و پری‌گایجرن، ترکیب‌های عمده اسانس گونه‌های *P. kotschyana* و *P. tragiium* بتا-کارپوفیلن، بتا-پینن و جرماکرن D بوده‌اند (Askari, 2008).

گونه *Pimpinella affinis* Ledeb یکی از گونه‌های دوساله این جنس در ایران است. اسانس این گونه از چند رویشگاه مختلف قبلاً بررسی شده است. در اسانس ساقه و برگ، گل آذین و بذر *P. affinis* (جمع‌آوری شده از خجیر در شمال تهران) به ترتیب ۸، ۸ و ۹ ترکیب شناسایی شده است. گاما-ترپین-۷-ال ترکیب شاخص اسانس ساقه

تقطیر با آب در شش زمان و نیز کسر اسانس در هفت زمان متوالی بر روی گل محمدی بررسی شد. بازده اسانس با شروع تخمیر از ۰/۰۵۵ تا ۰/۰۲۵٪ کاهش و بازده اسانس و مقدار متیل‌اوزنول با افزایش زمان تقطیر تا زمان ۱۵۰ دقیقه افزایش یافت. مقادیر الکل‌های مونوترپنی کاهش و در مقابل هیدروکربن‌ها تا آخرین کسر تقطیر به‌طور ثابت افزایش یافتند (Baydar et al., 2008).

هدف از انجام آزمایشها در این تحقیق این بود که اثر سه عامل اندازه‌ی ذره‌ای، زمان و روش تقطیر را بر روی بازده اسانس مهم بدست آمده از گیاه *Pimpinella affinis* و میزان ترکیب‌های اصلی آن بررسی کرده و بتوانیم به شرایط بهینه‌ای برای تولید حداکثر کمیّت و کیفیت اسانس دست یابیم.

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه و اسانس‌گیری

در این پروژه سرشاخه گلدار *Pimpinella affinis* از نمونه‌های کاشته شده در ایستگاه تحقیقات البرز (کرج) وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور جمع‌آوری گردید و نمونه هرباریومی آن توسط گیاه‌شناسان هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور مورد تأیید قرار گرفت. گیاهان جمع‌آوری شده پس از برداشت، خشک شده و بعد توسط سه روش تقطیر (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخارآب و تقطیر با بخار مستقیم) مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. اثر عوامل مختلف عملیاتی از جمله مدت زمان اسانس‌گیری و اندازه ذره‌ای در هر روش تقطیر نیز بر روی میزان استخراج بررسی شد.

تحقیقات زیادی نشان داده که عوامل مختلفی مثل روش و مدت زمان تقطیر بر کمیّت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی و معطر اثر می‌گذارد.

تأثیر روش تقطیر و مدت زمان اسانس‌گیری بر بازده و ترکیب‌های شیمیایی اسانس *Eucalyptus globules* بررسی شده و نتایج نشان داده که روش تقطیر با آب هم از نظر بازده اسانس‌گیری و هم از نظر تولید اسانس مرغوبتر بر روش تقطیر با بخار آب برتری دارد (برازنده، ۱۳۸۴). همچنین تغییرات کمی و کیفی اسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) در دوره رشد گیاه و با روشهای مختلف تقطیر بررسی شده است. بالاترین بازده اسانس با روش تقطیر با آب و پایین‌ترین مقدار آن در روش تقطیر با بخار آب حاصل شده است (سفیدکن و رحیمی بیدگلی، ۱۳۸۱).

Smallfield و همکاران (۲۰۰۱) اثر درجه خردی دانه گشنیز را بر مقدار اسانس مورد بررسی قرار دادند. خردی دانه گشنیز با سه اندازه: زیاد (۰/۶ mm)، متوسط (۱/۴ mm) و کم (۲/۳۶ mm) بکار گرفته شد. سرعت بازیافت روغن‌های فرار از دانه گشنیز به وضوح، برای دانه‌های با درجه خردی کمتر، بیشتر از دانه‌های متوسط یا بیشتر خرد شده بود. زمان لازم برای رسیدن به ۹۵٪ بازده بیشینه اسانس برای دانه‌های با درجه خردی کمتر ۲۲/۵ دقیقه بود، در حالی که این زمان برای دانه‌های با درجه خردی متوسط و بیشتر به ترتیب ۳۲ و ۳۹ دقیقه بود. با استفاده از نتایج بدست آمده می‌توان دریافت که درجه خردی بر عامل‌های بازده استخراج روغن، سرعت بازیافت روغن و میزان ترکیب‌های روغن فرار بدست آمده اثر می‌گذارد. در تحقیقی دیگر با دستگاه کلونجر اثر زمان تخمیر و زمان

طراحی آزمایش‌های اسانس‌گیری

طراحی آزمایش‌ها براساس روش آماری تاگوچی با ۹ آزمایش انجام و اجرا شد. به طوری که در این آزمایش‌ها از هر سه روش تقطیر بکار رفته، ۳ بار در سه مدت زمان متفاوت (۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ دقیقه) و با ۳ اندازه‌ی ذره‌ای مختلف استفاده شد (جدول ۱). در هر آزمایش از ۲۵ گرم گیاه خشک حاوی برگ، ساقه سبز و گل استفاده شد و گیاهان توسط الک‌های با مش سایز ۱۴، ۲۰ و ۴۰ برای عملیات تقطیر آماده شدند. با توزین ۵ گرم از گیاه در زمان آزمایش و قرار دادن در آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت و توزین مجدد آن درصد رطوبت برای هر نمونه آزمایش بدست آمد. بازده اسانس پس از عملیات اسانس‌گیری و حذف رطوبت برای هر ۹ آزمایش محاسبه شد.

جدول ۱- آزمایش‌های طراحی شده براساس روش

آماری تاگوچی

شماره آزمایش	زمان	اندازه مش	روش آزمایش
۱	۶۰	۲۰	تقطیر با آب
۲	۹۰	۴۰	تقطیر با آب
۳	۱۵۰	۱۴	تقطیر با آب
۴	۶۰	۱۴	تقطیر با بخار
۵	۹۰	۲۰	تقطیر با بخار
۶	۱۵۰	۴۰	تقطیر با بخار
۷	۶۰	۴۰	تقطیر با آب و بخار
۸	۹۰	۱۴	تقطیر با آب و بخار
۹	۱۵۰	۲۰	تقطیر با آب و بخار

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) در آزمایشگاه شیمی گیاهی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شد.

۰/۲ میکرولیتر از هر نمونه اسانس به دستگاه GC تزریق شده و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر اسانس محاسبه گردید. برای محاسبه اندیس‌های بازداری ترکیب‌ها مخلوطی از هیدروکربن‌های نرمال C8-C22 به دستگاه GC مطابق با شرایط تزریق نمونه‌های اسانسی تزریق گردید. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از اندیس بازداری، بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آن با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در کتابخانه‌های کامپیوتری و مراجع معتبر انجام شد (Shibamoto, 1987؛ Davies, 1990؛ Adams, 1995). مشخصات

دستگاه‌های مورد استفاده به شرح زیر بود:

مشخصات دستگاه GC: گاز کروماتوگراف فوق‌سریع (ultra fast) مدل Thermo-UFM ساخت کشور ایتالیا مجهز به ستون Ph-5 (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر) مورد استفاده قرار گرفت. دمای اولیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۳ دقیقه) بود که با ۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز (FID)، ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪) بود که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد.

مستقیم بازده اسانس در مدت ۹۰ دقیقه با مش ۲۰ بیشتر از بازده اسانس در مدت ۱۵۰ دقیقه با مش ۴۰ بود.

جدول ۲- بازده کل اسانس در هر آزمایش

بازده اسانس (%)	شماره آزمایش
۱/۰۷	۱
۱/۷۸	۲
۱/۳۹	۳
۱/۱۹	۴
۱/۹۵	۵
۰/۹۸	۶
۰/۹۹	۷
۰/۳۱	۸
۲/۰۱	۹

در جدول ۳، ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس‌های حاصل از هر آزمایش آورده شده است. ۱۲ ترکیب در اسانس حاصل از این گیاه در روشهای مختلف تقطیر شناسایی شد که مهمترین ترکیب‌ها براساس کمیت و اهمیت عبارتند از: لیمونن، ترانس-آلفا-پرگاموتن، گایجرن، المیسین و جرماکرن B که می‌توان با توجه به مقادیر درصد این ترکیب‌ها در این ۹ نمونه، با توجه به بازدهی کل اسانس و درصد ترکیب مورد نظر حالت بهینه را برای تولید حداکثر هر ترکیب بدست آورد.

مشخصات دستگاه GC/MS: گازکروماتوگراف

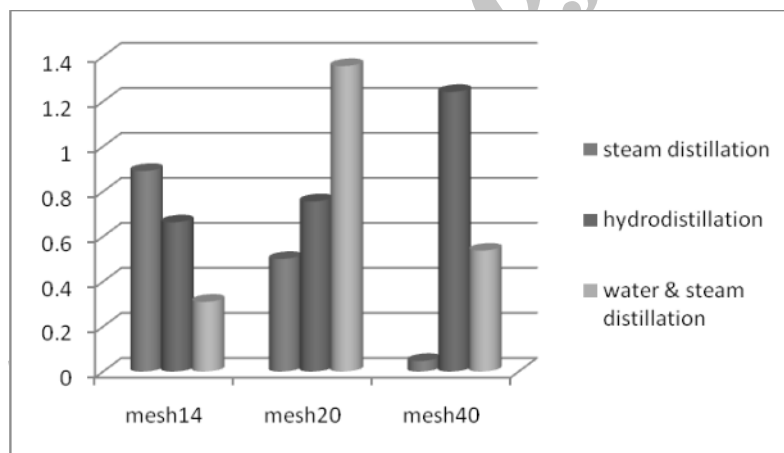
متصل شده به طیف‌سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود، مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود که در هر دقیقه ۴ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده می‌شد. دمای محفظه تزریق، ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

نتایج

بازده اسانس‌ها در ۹ آزمایش طراحی شده به صورت جدول زیر بدست آمد. براساس نتایج نشان داده شده در جدول ۲ بیشترین بازده اسانس در آزمایش ۹ (روش تقطیر با آب و بخار با اندازه مش ۲۰ و زمان ۲/۵ ساعت) حاصل شد. کمترین بازده اسانس نیز در آزمایش ۸ (روش تقطیر با آب و بخار با اندازه مش ۱۴ و زمان ۱/۵ ساعت) بدست آمد. بازده اسانس در روش تقطیر با آب به مدت ۹۰ دقیقه با مش ۴۰ بیشتر از بازده اسانس به مدت ۱۵۰ دقیقه با مش ۱۴ بدست آمد. در روش تقطیر با بخار

جدول ۳- ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس سرشاخه گلدار گیاه *Pimpinella affinis L.*

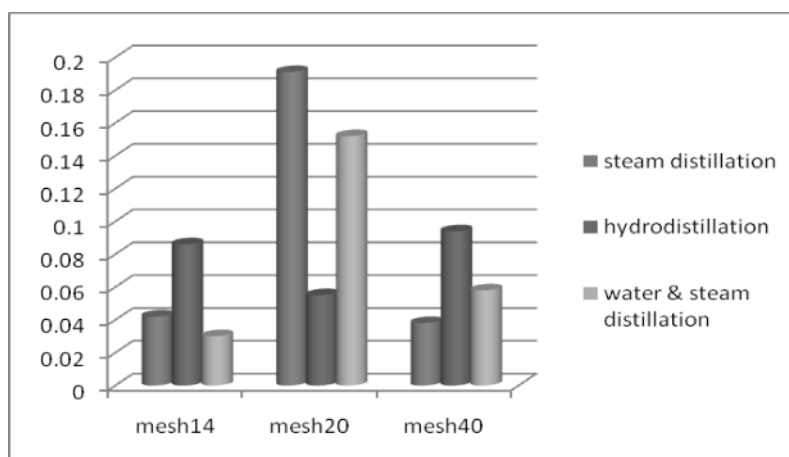
نام ترکیب	شاخص بازداری	نمونه ۱	نمونه ۲	نمونه ۳	نمونه ۴	نمونه ۵	نمونه ۶	نمونه ۷	نمونه ۸	نمونه ۹
sabinene	۹۷۵	۲/۸	۲/۲	-	۵/۷	۲/۰	۱/۵	۳/۶	۲/۳	-
limonene	۱۰۳۰	۷۴/۹	۲۵/۶	۴/۸	۵۴/۴	۶۹/۸	۶۱/۹	۵۴/۲	۵۸/۰	۶۷/۵
pregeijerene	۱۱۳۸	-	-	-	۰/۳	-	۰/۳	۰/۲	۰/۳	-
Geijerene	۱۱۴۲	۹/۵	۳۷/۱	۲/۹	۱۸/۶	۷/۲	۱۱/۴	۱۲/۶	۹/۹	۹/۶
Methyl eugenol	۱۴۰۱	۲/۴	۲/۸	۲/۱	۰/۷	۰/۵	۰/۹	۰/۷	۰/۷	۰/۵
Trans- α -bergamotene	۱۴۳۲	۳/۵	۹/۸	۳/۹	۳/۹	۵/۳	۸/۱	۵/۹	۹/۶	۷/۶
E-caryophyllene	۱۴۲۰	۰/۳	۰/۶	-	۰/۲	۰/۳	-	۰/۵	۰/۷	۰/۵
Trans dictamnol	۱۴۳۰	۱/۲	۲/۰	۸/۷	۱/۱	۰/۸	-	۰/۹	۰/۷	-
Bicyclogermacrene	۱۵۰۲	۰/۵	-	-	-	-	-	-	-	-
β -bisabolene	۱۵۰۸	۱/۰	۱/۴	۰/۹	۰/۴	۱/۸	۳/۱	۲/۹	۳/۰	۲/۹
elemicine	۱۵۵۵	۱/۷	۹/۱	۳۵/۵	۸/۲	۸/۸	۷/۶	۱۱/۶	۸/۳	۶/۱
Germacrene B	۱۵۶۱	۰/۳	۲/۹	۳۳/۲	۳/۳	۲/۴	۲/۰	۴/۳	۳/۸	۲/۴



شکل ۱- مقدار لیمونن در اسانس‌ها بر حسب اندازه ذره‌ای

تولید شده‌اند. البته کمترین مقدار لیمونن نیز به ترتیب در روش‌های فوق با مش‌های ۱۴، ۱۶ و ۴۰ تولید شده‌است.

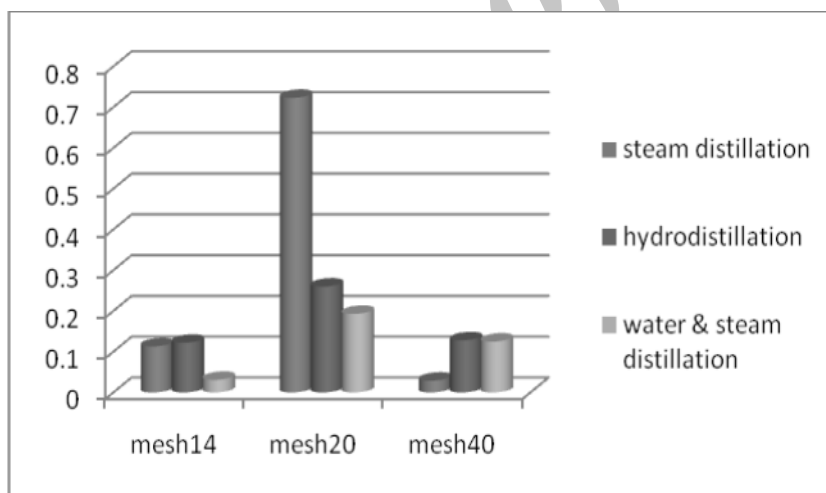
با توجه به شکل ۱ بیشترین مقدار لیمونن به ترتیب در اسانس‌های حاصل از روش‌های تقطیر با آب و بخار با مش ۲۰، تقطیر با آب با مش ۴۰ و تقطیر با بخار با مش ۱۴



شکل ۲- مقدار ترانس-آلفا-برگاموتن در اسانس بر حسب اندازه ذره‌ای

۲۰ و ۴۰ بیشترین مقدار و در مش‌های ۱۴، ۴۰ و ۲۰ کمترین مقدار خود را دارد.

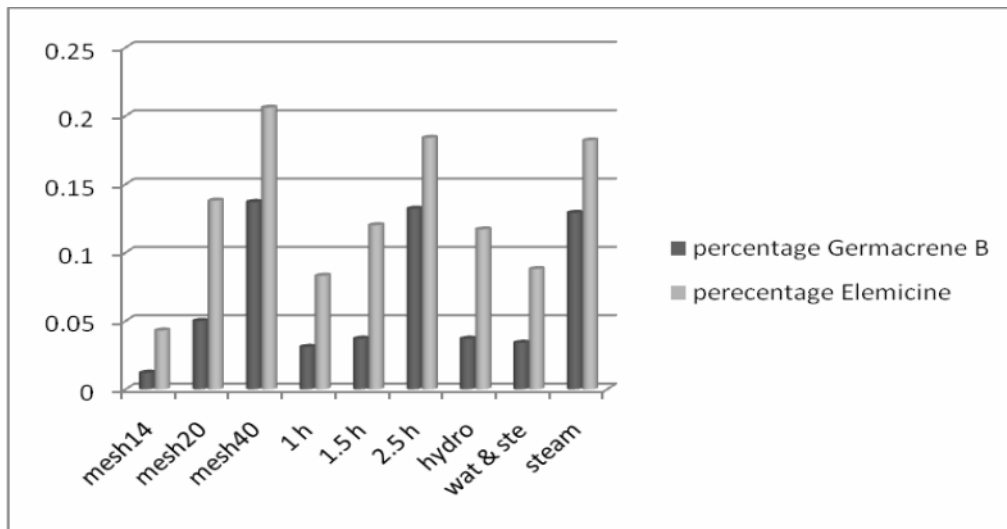
همان‌گونه که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود، ترکیب ترانس-آلفا-برگاموتن به ترتیب در روش‌های تقطیر با آب و بخار، تقطیر با بخار مستقیم و تقطیر با آب در مش ۲۰،



شکل ۳- مقدار گایجرن در اسانس بر حسب اندازه ذره‌ای

تقطیر با بخار با اندازه مش ۴۰، برای روش‌های تقطیر با آب و تقطیر با آب و بخار مش ۱۴ است.

با توجه به شکل ۳ بیشترین مقدار گایجرن در هر سه روش مربوط به اندازه مش ۲۰ و کمترین آن برای روش



شکل ۴- درصد المسین و جرماکرن B بر حسب میانگین روش، زمان و اندازه ذره‌ای

در بین سه روش بکاررفته بیشترین و کمترین مقدار بازده اسانس از تقطیر با آب و بخار به ترتیب با اندازه مش‌های ۲۰ و ۱۴ بدست آمد، پس می‌توان گفت:

۱- روش تقطیر با آب و بخار آب برای این گونه می‌تواند بیشترین بازده اسانس را تولید کند.

۲- با در نظر گرفتن مدت زمان استخراج، بهینه اندازه ذرات برای این روش باید در بازه بین مش ۲۰ تا ۴۰ باشد.

در روش تقطیر با آب بیشترین و کمترین مقدار بازده اسانس به ترتیب در مش‌های ۴۰ و ۱۴ بدست آمد، پس برای این روش هر چه اندازه ذرات گیاهی ریزتر باشد (ریزتر از مش ۴۰) بهتر است. مدت زمان تقطیر برای هر دو روش مذکور بین ۱/۵ تا ۲/۵ ساعت تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای در مقدار اسانس نشان نداد، پس می‌توان برای این گونه در روش تقطیر با آب، برای صرفه‌جویی در مصرف انرژی مدت زمان ۱/۵ ساعت عملیات استخراج را پیشنهاد نمود. این نتایج نشان می‌دهد که در

شکل ۴ نشان می‌دهد که برای استخراج المسین و جرماکرن B روش اول که همان روش تقطیر با بخار است بهترین روش و مدت زمان ۲/۵ ساعت بهترین زمان عملیات تقطیر و گیاه با اندازه مش ۴۰ بالاترین بازده را دارد. هر دو ترکیب فوق در مش ۱۴، زمان یک ساعت و روش تقطیر با آب و بخار کمترین مقدار را دارند. اگر هدف بدست آوردن بیشترین مقدار این ترکیب‌ها باشد، لازم است از اندازه مش ریز و زمان بیشتر از ۲/۵ ساعت و از روش تقطیر با بخار استفاده کرد و هرچه اندازه ذره‌ای بزرگتر و زمان استخراج کمتر باشد بازدهی کاهش خواهد یافت.

بحث

عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس *Pimpinella affinis* در هر سه روش تقطیر در سه مدت زمان و اندازه ذره‌ای مختلف لیمونن، ترانس-آلفا-برگاموتن، گایجرن، المسین و جرماکرن B بودند. این نتایج با تحقیقات Askari (۲۰۰۸) مطابقت دارد.

با توجه به مطالعاتی که بر روی اندام‌های مختلف این گیاه از رویشگاه‌های گوناگون و در زمان‌های خاصی از مرحله رشد گیاه صورت گرفته‌است (Asgari & Sefidkon, 2006) و همچنین توجه به اهمیت ترکیب‌ها و مقدار اسانس گیاه مورد نظر باید بهترین روش اسانس‌گیری انتخاب و با در نظر گرفتن عامل‌های بهینه عملیات استخراج را انجام داد. مقایسه روش‌های استخراج با توجه به بازده اسانس از رویشگاه‌های مختلف کار نادرستی است، چون‌که هر کدام از این رویشگاه‌ها، خاک، ارتفاع، عوامل اقلیمی و رطوبت خاصی دارند که این عوامل بر بازده و نوع ترکیب‌ها اسانس تأثیر می‌گذارند (جایمند و رضایی، ۱۳۸۵). از طرفی با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات Asgari و Sefidkon (۲۰۰۶) به‌نظر می‌رسد این گونه تشکیل کموتایپ می‌دهد. بنابراین در صورتی می‌توانیم اسانس‌ها را باهم مقایسه کنیم که این اسانس‌ها از یک رویشگاه بوده و در شرایط یکسانی رشد کرده و در زمان یکسانی برداشت و در شرایط یکسانی خشک شوند. در این صورت می‌توانیم تأثیر عامل‌ها و روش‌های مختلف را بر روی کمیت و کیفیت اسانس بررسی کنیم و از این قیاس به نتیجه مطلوبی برسیم و برای اینکه به بهترین نتایج دست پیدا کنیم باید هر روش را به‌طور جداگانه بهینه کنیم و اثر عامل‌های مختلف را بر روی تک‌تک بخش‌های گیاه بررسی کنیم و برای روش‌های تقطیر با آب و تقطیر با آب و بخار علاوه بر عامل‌های اندازه ذره‌ای و زمان اثر دبی جریان را نیز لحاظ کنیم و در روش تقطیر با بخار عامل‌های دما، دبی جریان، ارتفاع بستر، زمان و اندازه ذره‌ای را در نظر بگیریم (سفیدکن، Hancl et al., Aleksovski & Sovova, 2006؛ ۱۳۸۶). (2003).

روش تقطیر با آب ریز بودن ذرات نقش مهمتری از مدت زمان تقطیر دارد.

در روش تقطیر با بخار مستقیم بیشترین و کمترین مقدار اسانس به‌ترتیب در مش‌های ۲۰ و ۴۰ بود و با در نظر گرفتن زمان صرف شده برای هر سه اندازه ذره‌ای، می‌توان گفت که بهینه اندازه ذره‌ای برای این روش بین مش ۱۴ تا ۲۰ است. مفهوم این نتیجه این است که در روش تقطیر با بخار مستقیم باید از پودر کردن گیاه اجتناب کرد. به‌نظر می‌رسد که در این حالت بخار امکان حرکت در کل طول توده گیاهی را ندارد و به این دلیل بازده اسانس کمتر می‌شود.

بیشترین مقدار لیمونن و ترانس-آلفا-برگاموتن در روش‌های تقطیر با آب و بخار با مش ۲۰ و تقطیر با آب با مش ۴۰ و تقطیر با بخار به‌ترتیب با مش ۱۴ و ۲۰ تولید شده‌اند. با توجه به مقدار کل اسانس‌ها و مدت زمان‌های صرف شده برای هر کدام از آزمایش‌ها به این نتیجه می‌رسیم که ترکیب‌های لیمونن و ترانس-آلفا-برگاموتن برای هر سه روش در بازه اندازه‌ای ۲۰ تا ۴۰ بیشترین مقدار خود را داشته‌اند.

گایجرون در هر سه روش در مش ۲۰ بیشترین مقدار و کمترین مقدار را برای روش تقطیر با بخار در مش ۴۰ و برای دو روش دیگر در مش ۱۴ داشت.

استخراج المسین و جرماکرن B در روش تقطیر با بخار در مدت زمان ۲/۵ ساعت و در اندازه مش ۴۰ بهترین بازده را داشت. بنابراین در همه روش‌های تقطیر، به‌ویژه در روش تقطیر با بخار مستقیم، هرچه اندازه مش ریزتر و زمان اسانس‌گیری طولانی‌تر باشد مقدار بیشتری از دو ترکیب سنگین و سسکوئی‌ترپنی المسین و جرماکرن B تولید می‌شود.

سپاسگزاری

لازم می‌دانیم از کلیه اشخاصی که ما را در انجام این طرح یاری نمودند، به‌ویژه از کارشناسان و اعضای هیئت علمی آزمایشگاه‌های فیتوشیمی و اسانس‌گیری بخش گیاهان دارویی و محصولات فرعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که نهایت همکاری را با ما داشتند، تشکر و قدردانی نماییم.

منابع مورد استفاده

- Adams, P.R., 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, New York, 469p.
- Aleksovski, S.A. and Sovova, H., 2006. Mathematical model for hydrodistillation of essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 21(6): 881-889.
- Askari, F., 2008. Essential oil of *Pimpinella* species in Iran: 165-184. In: Kharazipour, A.R., Schupper, C. and Muller, C., (Eds.). Review of Forests, Wood Products and Wood Biotechnology of Iran and Germany. Part II, Universitätsverlag Göttingen, 194p.
- Askari, F., Sefidkon, F. and Mozafarian, V., 2005. Essential oil composition of *Pimpinella aurea* D.C. from Iran. Flavour and Fragrance Journal, 20(2): 115-117.
- Askari, F. and Sefidkon, F., 2006. Essential oil composition of *Pimpinella affinis* Ledeb. from two localities in Iran. Flavour and Fragrance Journal, 21(5): 754-756.
- Baydar, H., Schulz, H., Krüger, H., Erbas, S. and Kineci, S., 2008. Influences of fermentation time, hydro-distillation time and fractions on essential oil composition of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.). Journal of Essential Oil, Bearing Plants, 11(3): 224-232.
- Davies, N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. Journal of Chromatography, 503: 1-24.
- Hancl, S., Sahin, S. and Yilmaz, L., 2003. Isolation of volatile oil from thyme (*Thymbra spicata*) by steam distillation. Molecular Nutrition Food Research, 47(4), 252-255.
- Shibamoto, T., 1987. Retention Indices in Essential Oil Analysis: 259-274. In: Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds.). Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Dr Alfred Huethig Verlag, New York, USA, 730p.
- Smallfield, B.M., van Klink, J.W., Perry, N.B. and Dodds, K.G., 2001. Coriander spice oil: Effect of fruit crushing and distillation time on yield and composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 118-123.
- برازنده، م.م.، ۱۳۸۴. تأثیر روشهای تقطیر و مدت زمان اسانس‌گیری بر بازده و ترکیب شیمیایی اسانس *Eucalyptus globulus*. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۱(۱): ۹۳-۷۵.
- جابمندی، ک. و رضایی، م.، ۱۳۸۵. اسانس، دستگاه‌های تقطیر، روشهای آزمون و شاخص‌های بازداری در تجزیه اسانس. انتشارات انجمن گیاهان دارویی، تهران، ۳۵۴ صفحه.
- سفیدکن، ف.، ۱۳۸۶. شیمی و تهیه صنعتی روغنهای اسانسی. نشر زاوش، تهران، ۲۵۶ صفحه.
- سفیدکن، ف. و رحیمی بیدگلی، ع.، ۱۳۸۱. بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) در دوره رشد گیاه و با روشهای مختلف تقطیر. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۵: ۱-۲۲.
- مظفریان، و.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، ۷۴۰ صفحه.
- میرزا، م.، سفیدکن، ف. و احمدی، ل.، ۱۳۷۵. اسانس‌های طبیعی، استخراج، شناسایی کمی و کیفی و کاربرد. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۲۰۵ صفحه.

The effects of different mesh sizes, methods and periods of distillation on essential oil content and composition of *Pimpinella affinis* Ledeb.

M. Habibzadeh¹, F. Sefidkon^{2*} and Sh. Fatemi³

1- MSc. Student, Faculty of Chemical Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

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

3- Faculty of Chemical Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: March 2010

Revised: September 2010

Accepted: September 2010

Abstract

Limonene, trans- α -bergamoten, geijeren, elemicine and germacrene B are being used widely in the formulation of pharmaceutical products, cosmetics, hygienic applications, and aromatization. These compounds are found in essential oils of *Pimpinella affinis* Ledeb. (a species native to Iran and Turkey). In the present study, aerial parts of the plant were collected in flowering and maturity stages from Alborz Research Station of Karaj, and dried in room temperature. Three methods of oil extraction including hydro distillation, water & steam distillation and direct steam distillation were applied based upon Taguchi statistical method in three levels to determine the quantitative and qualitative effects of the parameters namely method, time and mesh on essential oil. Essential oil yields were calculated based on dry weight. Identification of the compounds and determination of compounds percentage were done by GC and GC/MS. Mean comparisons of essential oil yield showed that more content of limonene, trans- α -bergamoten and geijeren was obtained by mesh size 20 in hydro-distillation and steam distillation methods. Mesh size 40 and time 2.5 h gave the best result for elemicine and germacren B in steam distillation method. The maximum and minimum essential oil yield was respectively obtained by mesh size 20 and 14 in water & steam distillation method. Therefore, deseirable percentage and compounds of the essential oil could be achieved from *Pimpinella affinis* Ledeb. by selection of the condition of essential oil extraction.

Key words: *Pimpinella affinis* Ledeb., essential oil, limonene, trans- α -bergamoten.