



مقایسه روش HS-SPME و روش نوآورانه نفوذ بخار آب به کمک ریزموج (MSHD) در استخراج ترکیبات فرار و اسانس از گیاهان دارویی و معطر

سیده منصوره معمارزاده^{۱*}، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۲، علی غلامی^۳، سید احمد نوربخش^۴

۱- آزمایشگاه کنترل مواد غذایی، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران (نویسنده مسئول: @memarzadeh8291@gmail.com)

۲- استاد مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشکده شیمی، گروه شیمی تجزیه، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

۴- اداره تغذیه، معاونت دانشجویی و فرهنگی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده	شناسه مقاله
<p>روش استخراج بر بازده و نوع ترکیبات شیمیایی حاصل از گیاهان دارویی و معطر موثر است و مطالعه گیاهان بر اساس پروفایل شیمیایی آنها صورت می‌گیرد، لذا هدف از این تحقیق مقایسه پروفایل شیمیایی ترکیبات فرار و اسانس گیاه مرزه بختیاری به روش Head space solid phase microextraction (HS-SPME) و روش نوآورانه نفوذ بخار آب به کمک ریزموج Microwave assisted steam hydrodiffusion (MSHD) است. گیاه مرزه بختیاری با استفاده از بالن دو طبقه مخصوص (شماره ثبت اختراع ۸۹۰۳۱) به روش نوآورانه MSHD و روش HS-SPME با GC/MS آنالیز شد. آزمون‌های آماری اختلاف معنی‌دار در پروفایل شیمیایی ترکیبات را نشان داد. به طوری که بیشترین میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه با استفاده از روش HS-SPME و بیشترین میزان مونوترپن‌های اکسیژنه با استفاده از روش MSHD حاصل شد. اختلاف معنی‌داری بین میزان تیمول، کارواکرول، پارا-سایمن، گاما-ترپین در دو روش وجود داشت. بیشترین درصد ترکیبات پارا-سایمن و گاما-ترپین مربوط به روش HS-SPME بود و تیمول و کارواکرول کاهش معنی‌داری نشان دادند. بیشترین میزان تیمول و کارواکرول با استفاده از روش MSHD به دست آمد. کاهش زمان استخراج (۳۰ دقیقه)، بازده بالا (۱/۲ درصد)، ذخیره انرژی (انرژی مصرفی ۰/۵۳ کیلو وات ساعت)، افزایش مونوترپن‌های اکسیژنه ($3/75 \pm 68/06$ درصد)، فعالیت ضد اکسیدانی و میزان فنول کل بالا موجب شده است که MSHD روش نوآورانه و بهینه استخراج اسانس از گیاه مرزه بختیاری باشد. در روش استخراج به کمک ریزموج، زمان کوتاه استخراج،</p>	<p>تاریخ دریافت مقاله: بهمن ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: خرداد ۱۴۰۲ نوع مقاله: علمی- پژوهشی موضوع: فیتوشیمی</p>

ذخیره انرژی، بازده بالا و همچنین کیفیت خوب اسانس باعث شده است که این "تکنولوژی سبز و دوست دار طبیعت" به عنوان ابزاری نوید بخش جهت استخراج اسانس از گیاهان دارویی و معطر در صنایع مختلف مورد توجه قرار گیرد. در روش HS-SPME مونوترپن‌های هیدروکربنه ($1/54 \pm 75/73$ درصد) به طور قابل ملاحظه-ای افزایش یافتند. در نهایت می‌توان گفت که روش HS-SPME یک روش ساده و منحصر به فرد جهت شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات فرار و سبک در گیاهان دارویی است.

واژگان کلیدی: اسانس، ترکیبات فرار، ریزموج، مرزه، میکرو استخراج.

۱. مقدمه

گیاهان دارویی به گروهی از گیاهان گفته می‌شود که اندام‌های آن‌ها دارای ترکیب‌های اثر بخش دارویی است، این گیاهان به واسطه داشتن اثرات درمانی بر انسان و دام، نداشتن اثرات تخریبی بر محیط زیست، کم بودن عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی از جایگاه خاصی در درمان برخوردار هستند. گیاهان دارویی از منابع غنی ژنتیکی و یکی از ارزشمندترین سرمایه‌های ملی هر کشور به حساب می‌آیند و ایران جزء ۸ کشور مهم دارای فلور متنوع گیاهان دارویی در دنیا است. بسیاری از ترکیب‌های ثانویه در گیاهان دارویی و معطر، به علت داشتن روغن فرار مستقیماً یا به واسطه تولید دارو از آن‌ها، در پزشکی و دام پزشکی از کاربرد فراوانی دارند. متابولیت‌های ثانویه نقش مهمی در سازگاری گیاهان با محیط بازی می‌کنند، این ترکیبات به گیاهان کمک می‌کنند که آمادگی لازم برای عکس‌العمل در محیط و اکوسیستم را داشته باشند، آن‌ها شبیه آنتی‌بیوتیک‌ها، ضد قارچ‌ها و آنتی‌ویروس‌ها عمل می‌کنند و قادرند از گیاهان در مقابل عوامل پاتوژن حمایت کنند (Memarzadeh et al., 2015).

گیاه مرزه بختیاری متعلق به خانواده نعنائیان و گونه‌ای از مرزه است که دارای پراکندگی به نسبت وسیعی در ایران بوده و از استان‌های غربی، مرکزی و جنوب غربی ایران جمع‌آوری گردیده است. این گونه دارای برگ‌هایی است که در طول حالت تاخوردگی داشته و به شکل مستطیلی و مجتمع در طول ساقه قرار گرفته‌اند، چرخه‌های گل دارای گل‌های متعدد با اندازه‌ی کوچک حدود ۱.۵ میلی‌متر هستند و با این صفت از سایر گونه‌ها قابل تشخیص می‌باشند. برگ، گل و کاسه‌ی گل دارای غده‌های ترشحی حاوی اسانس است (شکل ۱) (Babadi et al., 2012).



شکل ۱. گیاه مرزه بختیاری در ارتفاعات استان چهارمحال و بختیاری

ترکیبات اصلی اسانس مرزه بختیاری عبارت از کارواکرول ۴۴/۸ درصد، گاما ترپینن ۱۸/۷ درصد، تیمول ۱۴/۹۵ درصد می‌باشند. کارواکرول که ترکیب اصلی اسانس مرزه بختیاری را تشکیل می‌دهد، در تولید محصولات بهداشتی به کار می‌رود، به‌عنوان ضد عفونی‌کننده در اسپری‌های خوش‌بوکننده و نیز به عنوان دافع حشرات به‌طورگسترده‌ای استفاده می‌شود. همچنین از کارواکرول در صابون‌ها به عنوان خوش بوکننده و ضد عفونی‌کننده استفاده می‌شود. در تهیه‌ی برخی اسانس‌های مصنوعی نیز از کارواکرول استفاده می‌شود (Babadi et al., 2012).

روش HS-SPME میکرو استخراج ترکیبات فرارفضای فوقانی نمونه از روی فاز جامد است که این فاز جامد با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی ترکیب شده است. یک روش ساده، سریع و بدون حلال بوده و می‌تواند به عنوان یک تکنیک معتبر برای جداسازی و شناسایی ترکیبات و فراکسیون‌های فرار از گیاهان آروماتیک مورد توجه واقع شود و این تجزیه به ما اجازه می‌دهد که ترکیبات فرار گیاه را به طور کبفی تخمین بزنیم و خصوصیات مختلف شیمیایی گیاهان آروماتیک و فراکسیون‌های فرار منتشر شده در بخش‌های بدون اسانس را نیز بررسی و مطالعه کنیم.

شرایط بهینه استخراج در این روش عبارتند از: دمای استخراج (تنظیم برنامه دمایی)، زمان استخراج (تنظیم برنامه زمانی)، جنس طبیعی فیبر (دی وینیل بنزن کربوکس پلی‌دی متیل سیلوکسان) پوشش داده شده می‌باشد (Silva and Camara, 2013). یکی از روش‌های نوین استخراج اسانس استفاده از انرژی ریزموج به جای حرارت مستقیم (هیتر) است که دستگاه ریزموج متصل به کلونجر است. در این روش زمان استخراج، مدت زمان خشک شدن نمونه، توان ریزموج و نسبت آب به ماده گیاهی در نظر گرفته می‌شود. اشعه ریزموج می‌تواند با حساسیت بیشتری توسط آب جذب شود و با بالا رفتن دما سرعت در هم پاشیدگی و از هم گسیختگی بافت‌ها و دیواره‌های سلولی زیاد می‌شود و میزان ترکیبات فرار اسانس در جرم بخار آب افزایش می‌یابد و لذا از مزایای این روش استخراج می‌توان کیفیت بالای اسانس، با افزایش فراکسیون‌های اکسیژنه، افزایش عملکرد، صرفه جویی در زمان و انرژی و دوست دار طبیعت بودن از جهت کاهش انتشار دی اکسید کربن در محیط زیست را نام برد (Rassem et al., 2016).

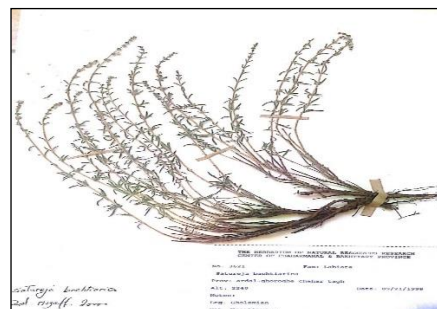
از آنجایی که بر اساس مطالعات، روش میکرو استخراج فاز جامد به عنوان یک روش ساده می‌تواند برای شناسایی گیاهان دارویی بکار برده شود و بررسی گیاهان مختلف بر اساس پروفایل شیمیایی آن‌ها صورت می‌گیرد و همچنین روش استخراج بر بازده، درصد و نوع ترکیبات شیمیایی حاصل از گیاه موثر است، لذا هدف از این تحقیق مقایسه پروفایل شیمیایی ترکیبات فرار و اسانس گیاه مرزه بختیاری به عنوان یک گونه ی گیاهی مهم از خانواده نعنائیان است به روش HS-SPME و MSHD (Microwave-assisted-distillation) است که از جنبه‌های مختلف دارویی، ادویه‌ای، تغذیه‌ای ارزش اقتصادی فراوانی دارد.

۲. مواد و روش‌ها

گیاه مرزه بختیاری در اوایل اردیبهشت ماه سال ۱۴۰۰ از ارتفاعات استان چهارمحال و بختیاری تا ۵ سانتی متر بالاتر از سطح زمین جمع‌آوری شد و شماره هرباریومی ۳۶۲۱ در مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری تایید و شناسایی شد (شکل ۲). مقدار ۳۰ گرم از نمونه در پاکت پلاستیکی در مکان خنک و در کنار یخ نگهداری و به آزمایشگاه انتقال داده شد و سپس میزان ۰/۵ گرم گیاه مرزه بختیاری بدون آماده سازی و به طور مستقیم در یک ویال شیشه‌ای ۲۰ میلی‌لیتری به مدت ۲۰ دقیقه در ۸۵ درجه سانتی گراد به روش HS-SPME/GC-MS آنالیز گردید (شکل ۳). زمان آزمون نباید بیش از ۵ روز بعد از جمع‌آوری گیاه باشد.

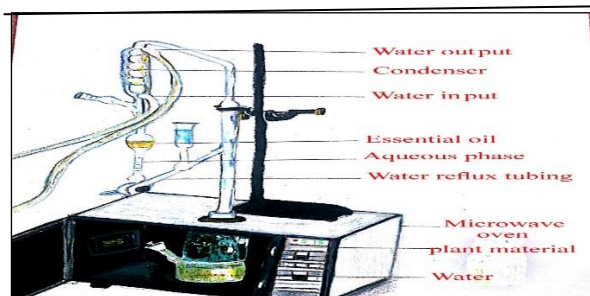


شکل ۳. دستگاه HS-SPME



شکل ۲. گیاه مرزه بختیاری با شماره هر بار یوم ۳۶۲۱

در روش استخراج نفوذ بخار آب به کمک ریزموج، ابتدا ۱۰۰ گرم از گیاه مرزه بختیاری خشک توزین و به مدت ۳۰ دقیقه در یک لیتر آب مقطر خیسانده شد تا رطوبت اولیه جهت استفاده در ریزموج تأمین شود. سپس یک کاغذ صافی به قطر ۱۱ سانتی‌متر بریده شد و در روی صفحه متخلخل بالن شیشه‌ای دو طبقه مخصوص گذاشته شد و گیاه خیسانده شده به دقت به بالن منتقل گردید (شکل ۴، شماره ثبت اختراع ۸۹۰۳۱) و میزان ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر جهت ایجاد بخار به بخش زیرین ظرف اضافه شد. بالن در جایگاه مخصوص در داخل دستگاه ریزموج قرار داده شد و سر سمباده‌ای ظرف از سوراخ تعبیه شده در سقف ریزموج خارج شد و به دستگاه کلونجر وصل گردید (شکل ۵)، پس از باز کردن شیر آب دستگاه خنک کننده راه‌اندازی شد و پس از تنظیم توان ریزموج روی عدد ۸۰۰ دکمه Start فعال گردید و به مدت ۳۰ دقیقه عمل اسانس‌گیری انجام شد (به دلیل اینکه پس از این زمان دیگر بر وزن و یا حجم اسانس اضافه نشد) پس از سرد شدن دستگاه، اسانس جمع شده روی آب را با سرنگ خارج شد و با افزودن کمی سولفات سدیم خشک به اسانس آب آن گرفته شد و بازده اسانس بر حسب میلی‌لیتر بر وزن گیاه خشک v/w بدست آمد. به این ترتیب اسانس برای تزریق به دستگاه‌های GC/MS آماده شد، در این فاصله برای ممانعت از اثر نور و حرارت، اسانس در ویال شیشه‌ای دربسته و مخصوص قرار داده شد و با فویل آلومینیومی پوشانده شد و در یخچال ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد (Chen et al., 2021).



شکل ۵. روش استخراج نوآورانه MSHD



شکل ۴. بالن دو طبقه مخصوص (ثبت اختراع ۸۹۰۳۱)

در این مطالعه میزان انرژی مصرفی با استفاده از دستگاه واتمتر تعیین شد و میزان اتلاف آب جهت خنک کردن کندانسورها در طول زمان استخراج بر اساس دبی آب مصرفی اندازه‌گیری شد و بر اساس میزان اسانس تولید شده در زمان استخراج میزان رهایش CO_2 در محیط زیست تعیین شد.

۳. نتایج و بحث

بر اساس جدول ۱ در روش Head Space تعداد ۱۸ ترکیب معادل ۹۹/۹۹ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمدۀ اصلی بر مبنای درصد عبارت از: آلفا - پینن $۷/۱۹ \pm ۰/۲۸$ ، کامفن $۵/۰۴ \pm ۰/۲۳$ ، میرسن $۱/۸ \pm ۰/۰۴$ ، آلفا-ترپینن $۰/۰۲ \pm ۲/۹۹$ ، پارا-سیمن $۳۲/۷ \pm ۰/۵۳$ ، گاما-ترپینن $۰/۳۸ \pm ۲۳/۵۴$ ، لینالول $۵/۴۹ \pm ۰/۲۳$ ، بورنئول $۳/۷۱ \pm ۰/۰۷$ ، تیمول $۶/۶۹ \pm ۰/۰۵$ ، کارواکرول $۴/۸ \pm ۰/۰۵$ ، بتا - کاریوفیلن $۲/۰۸ \pm ۰/۰۲$ بود (شکل ۶).

جدول ۱. نتایج تجزیه فیتوشیمیایی گیاه مرزه بختیاری خشک به روش HS-SPME/GC-MS

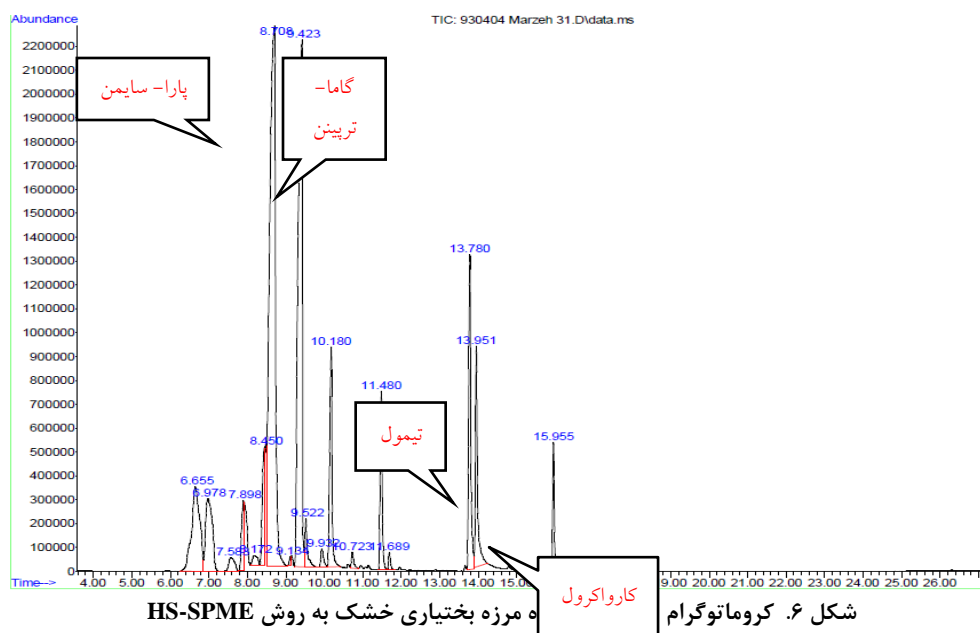
	Component	RI-R	RI-cal	Percent
1	α -Pinene	939	937	7.19± 0.28
2	Camphene	953	951	5.04 ±0.23
3	β - Pinene	980	979	0.85±0.01
4	Myrcene	991	994	1.8±0.04
5	α - Pllandrene	1005	1006	0.5±0.00
6	α - Terpinene	1018	1020	2.99 ± 0.02
7	β -Cymene	1026	1032	32.7± 0.53
8	Trans- β - Ocimene	1050	1053	0.17± 0.01
9	γ -Terpinene	1066	1062	23.54±0.38
10	Trans-Sabinen hydrate	1068	1071	1.16± 0.04
11	α - Terpinolene	1088	1091	0.54± 0.03
12	Linalool	1129	1131	5.49± 0.23
13	Borneol	1098	1103	3.71± 0.22
14	E,Z-allo-OCimene	1165	1170	0.41± 0.01
15	cis-Piperitol	1193	1181	0.35 ± 0.01
16	Thymol	1290	1294	6.69 ± 0.07
17	Carvacrol	1298	1303	4.8 ± 0.05
18	β - Caryophyllene	1418	1426	2.08 ± 0.02
	Total			99.99

RI-R : Kovats Retention Index (Ref: Adams'2007)

RI-cal : Kovats Retention Index calculated to C₅- C₂₄ n-alkanes on HP-5MS column

در روش استخراج با Head Space میانگین مونوترپن‌های هیدروکربن $۷۵/۷۳ \pm ۱/۵۴$ درصد، میانگین مونوترپن‌های اکسیژنه $۲۲/۲ \pm ۰/۶۲$ درصد بود و همچنین میانگین سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربن $۲/۰۸ \pm ۰/۰۲$ درصد بود. مونوترپن‌های هیدروکربن شامل ۱۱ ترکیب که عبارتند از: آلفا - پینن، کامفن، بتا-پینن، میرسن، آلفا فلاندرن، آلفا- ترپینن، پارا-سایمن، ترانس- بتا -سیمن، گاما-ترپینن، آلفا -ترپینولن و E,Z آلو-اسمین. مونوترپن‌های اکسیژنه شامل ۴ ترکیب الکلی: ترانس-سایینن هیدرات، لینالول، بورنئول و سیس-پیپریتول و ۲ ترکیب فنلی: تیمول و کارواکرول، سزکوئی ترین‌های هیدروکربن شامل ۱ ترکیب: بتا- کایوفیلن.

بر اساس جدول ۲ در روش نفوذ بخار آب به کمک ریزموج با توان ۸۰۰ وات تعداد ۳۹ ترکیب معادل ۹۷/۲۷ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمدۀ عبارت از: آلفا - پینن $۰/۱۴ \pm ۰/۵۴$ ، آلفا -ترپینن $۱/۲۹ \pm ۰/۲۷$ ، پارا -سیمن $۲/۶۱ \pm ۱۲/۸۹$ ، گاما-ترپینن $۱/۴۱ \pm ۹/۷۵$ ، لینالول $۰/۲۶ \pm ۳/۳۶$ ، تیمول $۱/۸۸ \pm ۳۰/۹۹$ ، کارواکرول $۲۶/۹۹ \pm ۱/۹۳$ ، بتا -کایوفیلن $۲/۶۲ \pm ۰/۸۵$ درصد بود (شکل ۷).



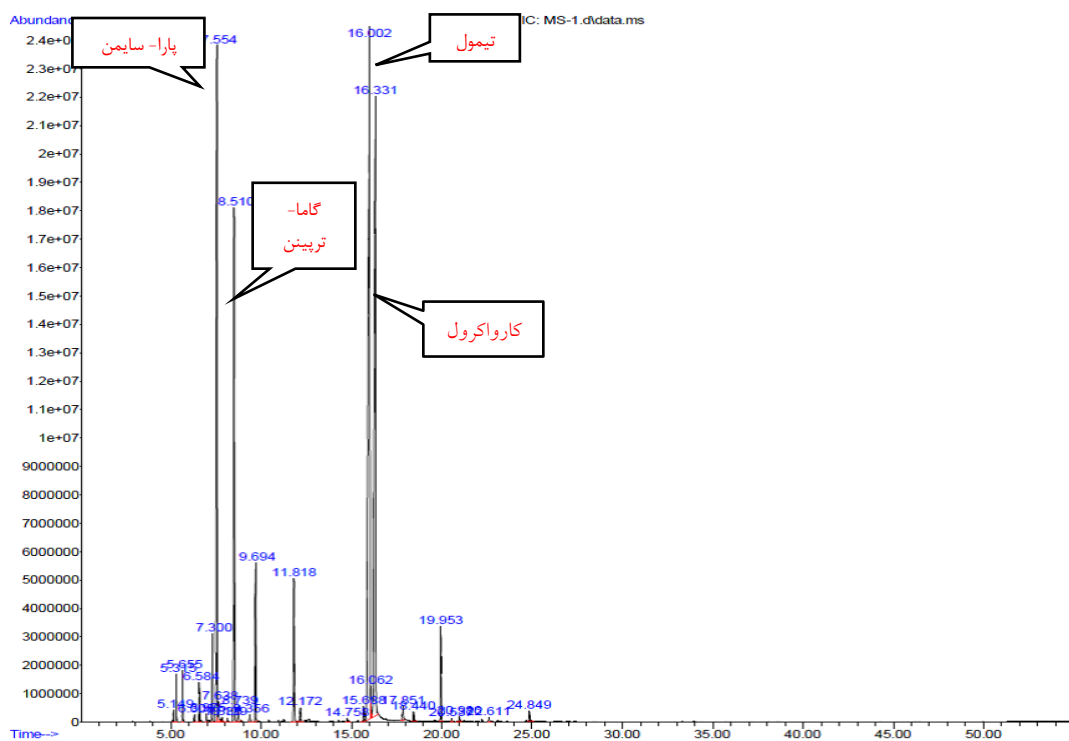
شکل ۶. کروماتوگرام HS-SPME مرزه بختیاری خشک به روش کارواکرول

جدول ۲. نتایج تجزیه فیتوشیمیایی اسانس به روش استخراج نفوذ بخار آب به کمک ریز موج (MSHD)

	Component	RI-R	RI-cal	Percent
1	α - Thujene	931	927	0.09 ± 0.01
2	α -Pinene	936	935	0.42± 0.04
3	Camphene	953	950	0.40± 0.06
4	β - Pinene	980	979	0.06± 0.00
5	Myrcene	991	991	0.34± 0.00
6	α - Pllandrene	1005	1007	0.08 ± 0.00
7	α - Terpinene	1018	1018	0.92± 0.00
8	β -Cymene	1026	1026	9.12± 0.78
9	Limonene	1031	1029	0.27± 0.00
10	<i>Cis</i> - β -Ocimene	1040	1037	0.04± 0.01
11	<i>Trans</i> - β - Ocimene	1050	1047	0.04± 0.01
12	γ -Terpinene	1062	1059	7.21± 0.38
13	<i>Trans</i> -Sabinen hydrate	1068	1068	0.16± 0.00
14	α - Terpinolene	1088	1090	0.11± 0.01
15	Linalool	1098	1101	1.85± 0.16
16	Borneol	1165	1167	2.78± 0.29
17	Terpinene-4-ol	1177	1179	0.27± 0.01
18	α -Terpineol	1189	1193	0.10± 0.00
19	Geraniol	1255	1258	0.08± 0.01
20	Thymol	1290	1296	34.52± 1.48
21	Carvacrol	1298	1306	31.66± 0.61
22	Thymyl acetate	1355	1355	0.50± 0.06
23	Carvacryl acetate	1371	1374	0.41± 0.03
24	α - Gurjunene	1409	1412	0.05± 0.01
25	β - Caryophyllene	1418	1422	3.06± 0.81
26	Aromadendrene	1439	1441	0.10 ± 0.03
27	α - Humulene	1452	1456	0.23± 0.04
28	ledene	-----	1498	0.10 ± 0.03
29	β - bisabolene	1509	1510	0.21± 0.07
30	δ - Cadinene	1524	1526	0.08 ± 0.04
31	(+)-Spathulenol	1576	1581	0.29± 0.11
32	Caryophyllene oxide	1581	1586	1.59± 0.44
	Total			97.20

RI-R : Kovats Retention Index (Ref : Adams'2007)

RI-cal : Kovats Retention Index calculated to C₅- C₂₄ n-alkanes on HP-5MS column



شکل ۷. کروماتوگرام GC/MS اسانس مرزه بختیاری به روش استخراج نفوذ بخار آب به کمک ریزموج (MSHD)

در روش نفوذ بخار آب به کمک ریزموج با توان ۸۰۰ وات میانگین مونوترپن‌های هیدروکربنه $26/65 \pm 3/89$ درصد، میانگین مونوترپن‌های اکسیژنه $68/06 \pm 3/75$ درصد بود و همچنین میانگین سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنه $3/16 \pm 1/07$ درصد و میانگین سزکوئی‌ترین‌های اکسیژنه $0/93 \pm 0/48$ درصد بود.

مونوترپن‌های هیدروکربنه شامل ۱۴ ترکیب بود که عبارتند از: آلفا-توجن، آلفا-پینن، کامفن، بتا-پینن، میرسن، آلفا-فلاندرن، ۳-کارن، آلفا-ترپینن، پارا-سایمن، لیمونن، سیس-بتا-اسیمن، ترانس-بتا-اسیمن، گاما-ترپینن و آلفا-ترپینولن و مونوترپن‌های اکسیژنه شامل ۸ ترکیب الکلی: اکتان ۳-ال، ترانس-سابینن هیدرات، لینالول، بورنئول، ترپینن-۴ ال، پارا-سایمن-۸-ال، آلفا-ترپینول و ژرانئول.

۲ ترکیب فنلی: تیمول و کارواکرویل، ۱ ترکیب آلدئیدی: ژرانئال، ۲ ترکیب استری: تیمیل استات و کارواکریل استات، ۲ ترکیب اتری: تیمیل متیل اتر و ۸-۱ سینئول، ۱ ترکیب اپوکسیدی: سیس-لینالول اکساید.

سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنه شامل ۶ ترکیب: آلفا-جورجونن، بتا-کایوفیلن، آرومادندرن، آلفا-هومولن، بتا-بیسابولن و دلتا-کادینن و سزکوئی‌ترین‌های اکسیژنه شامل یک ترکیب الکلی: (+) اسپاتولنول. یک ترکیب اپوکسید: کاریوفیلن اکساید.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری وجود دارد بین میزان کل ترکیبات شیمیایی مانند: مونوترپن‌های هیدروکربنه (HM)، مونوترپن‌های اکسیژنه (OM)، سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنه (SO) و سزکوئی‌ترین‌های اکسیژنه (SO) در ترکیبات فرار حاصل از روش HS و اسانس حاصل از روش MSMD ($p \leq 0/05$). بر اساس (جدول ۱ و جدول ۲)، بیش‌ترین میزان ترکیبات مونوترپنه اکسیژنه برای روش MSMD در ۳۰ دقیقه (۶۸ درصد) به حاصل شده است، این ترکیبات آزاد شده، ترکیبات آروماتیک فنلی فعال مانند تیمول و کارواکرویل بودند. اسانس گیاه مرزه بختیاری استخراج شده به وسیله دو تکنیک

MSHD شامل دو ترکیب مونوترپنه اکسیژنه با میزان نسبی: کارواکرول (۳۱/۶۶ درصد) و تیمول (۳۴/۵۲ درصد) بوده است. همچنین بیش‌ترین میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه در روش (HS) (۷۵/۷۳ درصد) در زمان ۲۰ دقیقه به‌دست آمده است در حالی‌که بیش‌ترین میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه در روش MSHD (۲۶/۶۵ درصد) در زمان ۱۰ دقیقه حاصل شده است. پار-سایمن، یک ترکیب فعال متعلق به خانواده مونوترپن‌های هیدروکربنه است که به میزان (۹/۱۲ درصد) در روش MSHD و به میزان (۳۲/۷ درصد) در روش (HS) حاصل شده است و این ماکزیمم میزان ترکیبات آروماتیک هیدروکربنه در همان دقایق اولیه استخراج به‌دست آمده است.

مطابق پژوهشی در استان چهارمحال و بختیاری گیاه مرزه بختیاری به روش تقطیر ساده اسانس‌گیری شد و میزان آلفا-تریپنین ۲/۲۲ درصد گزارش شد (Babadi et al., 2012). همچنین در تحقیقی در سمیرم گیاه مرزه بختیاری به روش فراصوت اسانس‌گیری شد و میزان پارا-سایمن ۳/۵ درصد بود (Hashemi et al., 2011) و نیز در تحقیقی بر روی گیاه مرزه بختیاری، این گیاه به روش‌های مختلف خشک شد، بیش‌ترین میزان گاما-تریپنین به روش فریز کردن و تقطیر ساده حاصل شد که برابر ۱۸/۳۲ درصد بود (Pirbalouti et al., 2013).

میزان آلفا-تریپنین، پارا-سایمن، لینالول و گاما-تریپنین در گیاه مرزه بختیاری در روش استخراج Head Space بالاتر از روش استخراج ریزموج است که این امر می‌تواند به فرار بودن و جرم مولکولی پایین‌ترین ترکیب‌ها نسبت داده شود. به‌طور معمول تکنیک نوآورانه ریزموج، تسریع‌کننده فراوان پروسه استخراج اسانس است که بدون ایجاد تغییرات قابل توجه در ترکیبات فرار اسانس و ترکیبات فعال فنلی مانند (تیمول و کارواکرول) در مقایسه با روش سنتی تقطیر با آب میزان بازده یا عملکرد یکسانی دارد. به‌طور مشابه، نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که اسانس استخراج شده از گیاه نعناع باغی، گیاه پونه (*Mentha pulegium* L.) (Vian et al., 2008)، گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) (Bousbia et al., 2009; Akhbari et al., 2009) و گیاه زیره (*Cuminum cyminum* L.) (Enmoussa et al., 2018) به‌کمک ریزموج با کاهش زمان استخراج همراه بوده و کیفیت خوب اسانس (پروفاایل آروماتیک) مشابه با اسانس استخراج شده از روش سنتی تقطیر با آب بوده است.

ترکیبات آلی قطبی شبیه مونوترپن‌های اکسیژنه برهم‌کنش بیش‌تری با اشعه ریزموج نشان می‌دهند و می‌توانند با سرعت بیش‌تر و به‌طور ساده‌تر در مقابل ترکیبات معطری که قطبیت کم‌تری دارند مانند مونوترپن‌های هیدروکربنه استخراج شوند. نتایج مطالعات (Wei et al., 2018) نشان داده است که اسانس مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) استخراج شده با تکنیک ریزموج بدون حلال شامل بیش‌ترین میزان مونوترپن‌های اکسیژنه ۶۷/۰۶ درصد و کم‌ترین میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه ۱۰/۳۶ درصد در مقایسه با روش سنتی تقطیر با آب بود.

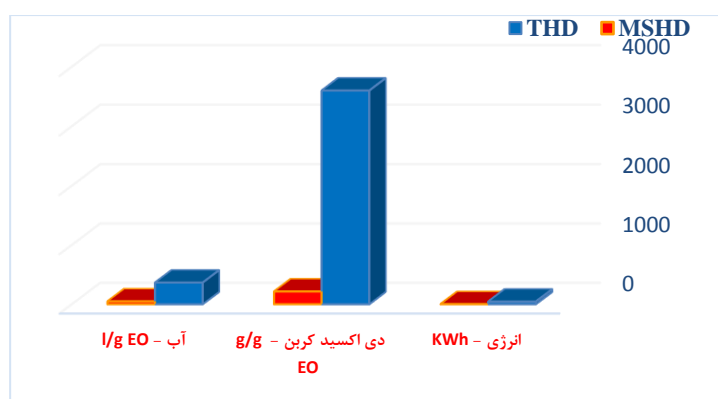
به‌طور کلی، در استخراج اسانس با تکنیک نوآورانه نفوذ بخار آب به کمک ریزموج MSHD، حرارت یکنواخت، زمان کوتاه استخراج، میزان آب کم و غوطه‌ور نبودن گیاه در آب سبب شده است که ترکیبات فنلی کمتر تغییر و تبدیل پیدا کنند و به‌صورت دست‌نخورده باقی بمانند. تحقیقات (Lucchesi et al., 2007; Fardhyanti et al., 2019) تایید‌کننده این نتایج هستند. با توجه به اینکه در این تحقیق میزان مونوترپن‌های هیدروکربنه به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته اند می‌توان نتیجه گرفت که روش HS-SPME یک روش معتبر و منحصر به فرد جهت شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات فرار و سبک در گیاهان دارویی و ادویه‌ای و معطر است.

- مقایسه انرژی مصرفی، میزان انتشار CO₂ و میزان اتلاف آب در روش نوآورانه استخراج (MSHD) و روش سنتی اسانس گیری (THD)

در تحقیق حاضر، میزان مصرف انرژی، میزان انتشار CO₂ در محیط زیست و میزان اتلاف آب در روش نوآورانه استخراج (MSHD) و روش سنتی اسانس گیری (THD: Traditional Hydro Distillation) مقایسه شدند (شکل ۸). اختلاف معنی‌دار بین دو روش استخراج اسانس از نظر ترم‌های مصرف انرژی، میزان انتشار CO₂ و میزان اتلاف یا هدر رفتن آب وجود داشت. میزان مصرف انرژی برای انجام روش‌های استخراج MSHD و سنتی THD به ترتیب ۰/۲۶ و ۴/۵ کیلووات ساعت بود. این نتایج با نتایج تحقیقی در استخراج اسانس از گیاه رزماری شباهت بسیاری داشتند (Bousbia et al., 2009). همچنین موافق با این یافته‌ها، در مطالعه‌ای گزارش کردند که انرژی مورد نیاز برای استخراج اسانس به روش‌های استخراج ریزموج بدون حلال و روش سنتی تقطیر با آب از گیاهان آروماتیک به ترتیب ۰/۲۵ و ۴/۵ کیلووات ساعت بود (Lucchesi et al., 2004).

از نظر تأثیر آلودگی بر محیط زیست، میزان انتشار CO₂ در اتمسفر در تکنیک MSHD (۰/۲۱۶ کیلوگرم بر گرم اسانس) کمتر از روش سنتی (۳/۶ کیلوگرم بر گرم اسانس) بود (شکل ۸). نتایج این مطالعه موافق با نتایج تحقیق (Ferhat et al., 2006) بود و هر دو تحقیق شباهت نسبی در کاهش میزان انتشار CO₂ در اتمسفر به روش ریزموج MAHD (۰/۹۹ کیلوگرم بر گرم اسانس) در مقایسه با روش سنتی (۱/۶ کیلوگرم بر گرم اسانس) داشتند.

در این مطالعه، میزان اتلاف آب منتج از روش ریزموج MSHD (۴۸/۷۸ لیتر بر گرم اسانس) بود که خیلی کمتر از نتایج اتلاف آب در روش سنتی (۳۶۵/۸۵ لیتر بر گرم اسانس) می‌باشد. بر اساس تحقیقی که بر روی گیاه زیره انجام شده میزان اتلاف آب در پروسه‌ی استخراج اسانس به روش ریزموج و جاذبه زمین و روش سنتی به ترتیب ۲، ۲۰، ۰/۳۹ لیتر بر گرم اسانس) بود (Benmoussa et al., 2018). به‌طورکلی، با در نظر گرفتن یافته‌های این تحقیق و محققان دیگر، روش MSHD می‌تواند به‌عنوان یک تکنیک "اقتصادی و مقرون‌به‌صرفه" و "دوست‌دار طبیعت" جهت استخراج سبز اسانس از گیاهان دارویی و آروماتیک پیشنهاد گردد.



شکل ۸. مقایسه روش نوآورانه MSHD و روش سنتی (THD) اسانس‌گیری از نظر مصرف انرژی، میزان اتلاف آب، رهائش CO₂ در محیط زیست

۴. نتیجه‌گیری

در این مطالعه استخراج اسانس و ترکیبات فرار از گیاه مرزه بختیاری به روش نوآورانه نفوذ بخار آب به کمک ریزموج (MSHD) و روش میکرو استخراج فاز جامد (HS-SPME) مقایسه شد و نتایج پژوهش اختلاف معنی‌دار در پروفایل شیمیایی

ترکیبات عمده و اصلی حاصل از گیاه را نشان داد، لذا اگر در مطالعه هدف دسترسی به ماکزیمم میزان ترکیبات هیدروکربنه باشد، روش HS-SPME پیشنهاد می‌شود و اگر هدف دسترسی به اسانس با کیفیت همراه با ماکزیمم فراکسیون‌های اکسیژنه با خاصیت ضد اکسیدانی بالا باشد روش استخراج نوآورانه، سبز و مقرون به صرفه پیشنهاد می‌گردد.

۵. منابع

- Akhbari, M., Masoum, S., Aghababaei, F. and Hamed, S. 2018. Optimization of microwave assisted extraction of essential oils from Iranian *Rosmarinus officinalis* L. using RSM. *Journal of food science and technology*, 55: 2197-2207.
- Babadi, E.S., Ghasemi Pirbalouti, A., Nourafcan, H. and Hamed, B. 2012. Bioactivity of essential oil of Bakhtiari savory (Lamiaceae). *Electronic Journal of Biology*, 8(4): 73-78.
- Bousbia, N., Vian, M.A., Ferhat, M.A., Meklati, B.Y. and Chemat, F. 2009. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of food Engineering*, 90(3): 409-413.
- Chen, G., Sun, F., Wang, S., Wang, W., Dong, J. and Gao, F. 2021. Enhanced extraction of essential oil from *Cinnamomum cassia* bark by ultrasound assisted hydrodistillation. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 36: 38-46.
- Fardhyanti, D.S., Sediawan, W.B. and Hisyam, A. 2019. Kinetics of mace (*Myristicae arillus*) essential oil extraction using microwave assisted hydrodistillation: Effect of microwave power. *Industrial Crops and Products*, 131: 315-322.
- Ferhat, M.A., Meklati, B.Y., Smadja, J. and Chemat, F. 2006. An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2): 121-126.
- Hashemi, M.B., Niakousari, M. and Saharkhiz, M.J. 2011. Antioxidant activity of *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in rapeseed oil irradiated with UV rays. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(9): 1132-1137.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F. and Smadja, J. 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography a*, 1043(2): 323-327.
- Lucchesi, M.E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W. and Chemat, F. 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79(3): 1079-1086.
- Memarzadeh, S.M., Pirbalouti, A.G. and AdibNejad, M. 2015. Chemical composition and yield of essential oils from Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.) under different extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 76: 809-816.
- Pirbalouti, A.G., Oraie, M., Pouriamehr, M. and Babadi, E.S. 2013. Effects of drying methods on qualitative and quantitative of the essential oil of Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.). *Industrial crops and products*, 46: 324-327.
- Rassem, H.H., Nour, A.H. and Yunus, R.M. 2016. Techniques for extraction of essential oils from plants: a review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16): 117-127.
- Silva, C.L. and Câmara, J.S. 2013. Profiling of volatiles in the leaves of Lamiaceae species based on headspace solid phase microextraction and mass spectrometry. *Food Research International*, 51(1): 378-387.
- Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F. and Chemat, F. 2008. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of chromatography a*, 1190(1-2): 14-17.
- Wei, Z.F., Zhao, R.N., Dong, L.J., Zhao, X.Y., Su, J.X., Zhao, M., Li, L., Bian, Y.J. and Zhang, L.J. 2018. Dual-cooled solvent-free microwave extraction of *Salvia officinalis* L. essential oil and evaluation of its antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 120: 71-76.