بررسی تاثیر روش استخراج بر کمیت، کیفیت، ترکیبات شیمیایی و ماهیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه دارویی (*Ferulago angulata (Schlechat)* Boiss.)

سیدروح الله جعفرآزاد[۱]، بهاره صادقی[۲*]، محمد حسین مسلمین[۳]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

[۲]دانشیار، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

[۳]استاد، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۰۱

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر دو روش استخراج کلونجر و مایکروویو بر کمیت، کیفیت، ترکیبات شیمیایی و ماهیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه دارویی چویل (*Ferulago angulata* (Schlechat) Boiss.) بود. در روش کلونجر و مایکروویو نسبت گیاه به آب ۱:۱۰ و ۱:۲۰، توان‌های مایکروویو ۳۳۰، ٦٦٠ و ۹۹۰ وات (۳۰، ٦۰ و ۹۰ درصد) به عنوان متغیرهای مستقل و پیش تیمار غیرمستقیم مافوق صوت (در دماهای ۲۰ و ٤٥ درجه سانتی‌گراد) به‌عنوان فاکتور موثر بر استخراج اسانس گیاه چویل استفاده گردید. برای شناسایی ترکیبات شیمیایی از کروماتوگرافی گازی/طیف‌سنجی استفاده شد و سایر پارامترها مانند راندمان، وزن مخصوص، رنگ، ضریب شکست و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس چویل نیز مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از مایکروویو و افزایش توان آن منجر به کاهش زمان آغاز استخراج، کاهش زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و همچنین زمان مورد نیاز جهت تثبیت منحنی استخراج از چهار ساعت به یک ساعت گردید. در هر دو روش مجموعاً ۲۵ ترکیب در روغن اسانسی گیاه چویل شناسایی گردید که بیش‌ترین ترکیب موجود در اسانس چویل ترکیب بتا فلاندرن (۳۵ درصد) بود که مقدار آن نسبت به سایر ترکیبات بسیار بیشتر و در هر دو روش تقریبا یکسان بود. زمان آغاز استخراج در روش مایکروویو به طور معنی داری ($P<۰/۰۵$) کمتر از روش کلونجر بود. پیش تیمار مافوق صوت در دماهای مختلف و استفاده از روش‌های مختلف استخراج به وسیله کلونجر و استخراج به کمک مایکروویو در توان‌های مختلف و همچنین تغییر نسبت گیاه به آب، تأثیر چندانی بر روی ضریب شکست اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی، وزن مخصوص گیاه چویل نداشت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، چویل، کلونجر، مافوق صوت، مایکروویو

*نویسنده مسئول: sadeghibahareh40@gmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی در طول زندگی بشر نقش اساسی داشته‌اند به طوریکه انسان در تمام دوران به ناچار از گیاهان دارویی جهت درمان استفاده می کرده‌اند. با این وجود در نیم قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و سنتزی به شدت رواج یافت، ولی به سرعت آثار زیان‌بار آنها بر زندگی آنها سبب گرایش مجدد به گیاهان دارویی گردید، و این نکته که توسل به گیاهان دارویی همواره در طول تاریخ یکی از روش های موثر درمان بوده است، به خوبی روشن است (Kashfi Bonab, 2010).

میزان کشت گیاهان دارویی در ایران با سطح زیر کشت مشابه در برخی از کشورهای جهان دارای تفاوت‌های زیادی است. شرایط اقلیمی و جغرافیایی ایران به ویژه از حیث تابش نور آفتاب، ویژگی بسیار مثبتی برای کشت اکثر گونه‌های دارویی محسوب می‌شود. میزان مواد موثره گیاهان دارویی تحت تأثیر تابش نور آفتاب افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد. در نتیجه می‌توان با سطح زیر کشت کمتر، به میزان تولید ماده موثره گیاهی بالاتری دست یافت. کشت نمونه‌های شیمیایی گونه‌های بومی مهم‌ترین عاملی است که می‌تواند موقعیت ایران را در مقایسه با سایر کشورها برتر و استراتژیک سازد (Golmakani and Rezaei, 2008).

گیاه چویل یکی از گیاهان با ارزش و بومی غرب ایران می‌باشد که با نام فارسی چویل یکی از گیاهان تیره چتریان می‌باشد که در کشورهای ترکیه، سوریه، لبنان، عراق و ایران پراکنش دارد (Mozzafareian, 2009). این گیاه، در ایران در ارتفاعات شمال شرقی، شمال غربی و با گستره و پراکنش بیشتر در مناطق زاگرس مرکزی می‌روید. در طب سنتی ایران، چویل از گیاهان دارویی شاخص بوده و از زمان‌های قدیم به طور گسترده به عنوان مسکن، هضم‌کننده و در درمان کرم‌های روده و بواسیر استفاده فراوانی داشته است. در سال‌های اخیر برخی محققان، بررسی‌هایی در خصوص مواد موثر اجزای مختلف این گیاه انجام داده‌اند. به‌عنوان نمونه، رضایی و همکاران (Rezazade et al., 2002) اجزای روغن اسانس سر شاخه‌های هوایی گیاه چویل را مورد ارزیابی قرار دارند. در این بررسی تعداد سی و سه ترکیب که ۸۹/۷ درصد اجزاء را تشکیل می‌داد، شناسایی گردید که ۷۷/۱ درصد آن هیدروکربن‌های مونوترپن و ۱۲/٦ درصد هیدروکربن-های سس‌کویی‌ترپن بود. ترکیبات اصلی شناسایی شده آلفا-پینن (۱۷/۳ درصد)، بورنیل استات (١٤/٤٥ درصد) و سیس-اسیمن (١٤/٤ درصد) بودند. خواص آنتی اکسیدانی و اثرات ضدمیکروبی این گیاه نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Javidnia et al., 2006).

ابراهیم و همکاران (Ebrahim et al., 2019) به بررسی مشخصات شیمیایی روغنهای اساسی *Senecio serpens* با استفاده از استخراج مایکروویو (MAE) به‌عنوان روشی کارآمدتر برای استخراج در مقایسه با روش هیدرو تقطیر معمولی (HD) پرداختند. آنها دریافتند که استخراج با کمک مایکروویو چندین مزیت را در مقایسه با روش قدیمی به عنوان یک روش سبز برای استخراج با بازده بالاتر و کاهش زمان استخراج دارد.

دیتا و همکاران (Dita et al., 2019) استخراج اسانس از گل‌های گیاه *Cananga odorata* را با استفاده از روش مایکروویو بررسی نمودند. نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که استفاده از تکنیک مایکروویو برای استخراج اسانس از گلهای تازه این گیاه، روشی مؤثر است که خواص محصول استخراج شده مطابق با استانداردهای اعمال شده است. همچنین نتایج نشان داد که این روش می تواند کاربرد صنعتی داشته باشد.

ازگه و همکاران (Azge et al., 2019) ترکیبات و فعالیت آنتی اکسیدانی روغن های ضروری حاصل از روغن را *Kastamonu garlic* با استفاده از سیستم کمک مایکروویو مورد بررسی قرار دادند. ترکیبات ضروری با استفاده از این روش بخوبی استخراج گردید و فعالیت آنتی اکسیدانی مطلوبی توسط ترکیبات توسط آنها گزارش گردید.

مایکروویو از روش‌های عصاره‌گیری جدید با زمان کوتاه‌تر، میزان مصرف حلال کمتر و محافظ محیط زیست می‌باشد که برای جداسازی باقی‌مانده قارچ‌کش‌ها از بافت‌های گیاهی چوبی، یک راه آسان و سریع می‌باشد. تکنیک‌های مرسوم استخراج مایع جامد و نیمه‌جامد مواد (سوکسله) دارای دو چالش اصلی هستند: اول، حجم زیادی از حلال‌های آلی مورد نیاز است که می‌تواند منجر به آلودگی نمونه و ضایعات به علت تبخیر در طول مراحل اسانس‌گیری شود. دوم، برای دستیابی به استخراج کامل نیاز به چند ساعت تا چند روز می‌باشد؛ در حالیکه روش ماکروویو تا حدود زیادی مستقل از این محدودیت‌ها می‌باشد (Armstrong, 1999).

استخراج سریع آلاینده‌ها از نمونه‌های زیست محیطی به کمک مایکروویو در مقایسه با روش‌های معمول نشان‌دهنده روشی معتبر و مناسب می‌باشد. این روش با استخراج سریع می‌تواند با صرفه‌جویی در زمان و انرژی جایگزین مناسبی نسبت به روش‌های دیگر باشد (Camel, 2000). هدف این پژوهش مقایسه تأثیر روش‌های استخراج اسانس گیاه چویل به وسیله کلونجر، مایکروویو و پیش تیمار مافوق صوت بر کمیت و کیفیت اسانس و همچنین بررسی اثر روش استخراج بر ترکیبات و کیفیت آنتی اکسیدانی اسانس چویل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و خشک کردن گیاه چویل: برگ و ساقه گیاه چویل (*Ferulago angulata* (Schlechat) Boiss.) در سال ۱۳۹٤و فصل بهار از منطقه کوهستانی و ارتفاعات شهرستان دنا، استان کهگیلویه و بویراحمد به طول جغرافیایی ″٤٣/٤ ′٣٩ °٥٠ و عرض جغرافیایی ″٢٢/٤ ′٠٧ °٣٦ و ارتفاع ٢٢٥٨ متر از سطح دریا و در صبح جمع‌آوری شد. نمونه گیاهی توسط مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه یاسوج شناسایی و مورد تأیید قرار گرفتند. پس از تمیز کردن گیاه و جدا کردن قسمت‌های آسیب‌دیده به وسیله الک کردن، پیکره کامل گیاه در مجاورت هوای آزاد و دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک شد. پس از اینکه خشک شدن کامل نمونه‌های گیاهی نمونه‌برداری شده، فرآیند استحصال اسانس از آنها انجام پذیرفت.

استخراج به روش تقطیر با آب: اسانس‌گیری در آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج به روش تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر صورت پذیرفت.

روش استخراج با دستگاه مایکروویو: استخراج به کمک مایکروویو همانند استخراج به وسیله کلونجر می‌باشد. تنها تفاوت این دو روش منبع تولید حرارت در این دو روش می‌باشد. در استخراج به وسیله کلونجر از گرم کن برقی استفاده می‌شود درحالی‌که در روش استخراج به کمک مایکروویو از انرژی مایکروویو جهت گرم کردن بالن حاوی نمونه و آب استفاده می‌شود (Mohammadhoseini, 2016). در این روش ظرف حاوی نمونه و آب درون مایکروویو قرار دارد ولی کندانسور، قسمت جمع کننده و قسمت برگشت دهنده خارج از محفظه مایکروویو قرار دارند. در این روش نیز مقدار گیاه مورد استفاده در تمام آزمایشات ٦٠ گرم می‌باشد. در این پژوهش نسبت گیاه به آب ۱:۲۰ و ۱:۱۰ در نظر گرفته شد. در این

روش بالن حاوی نمونه و آب را در مجاورت اشعه مایکروویو با قدرت‌های مختلف قرار دادیم. از توان‌های ۳۰ درصد (۳۳۰ وات)، ٦۰ درصد (٦٦۰ وات) و ۹۰ درصد (۹۹۰ وات) برای این منظور استفاده گردید.

بر اساس نتایج آزمایشات اولیه، زمان استخراج به کمک مایکروویو دو ساعت در نظر گرفته شد. تعیین درصد وزنی-وزنی اسانس در نیم ساعت اول استخراج، هر ۱۰ دقیقه یک‌بار و پس از آن هر ۱۵ دقیقه یک‌بار انجام شد. کلیه آزمایشات در دو تکرار انجام گرفت.

استخراج اسانس با استفاده از پیش تیمار غیرمستقیم مافوق صوت: در این روش ٦۰ گرم از گیاه را همراه با ۱/۲ لیتر آب مقطر درون بالن سربسته قرار داده شد و به مدت ۱ ساعت در حمام مافوق صوت قرار گرفت. توان مورد استفاده نصف توان کلی مافوق صوت بود. دمای حمام مافوق صوت نیز ۲۰ و ٤٥ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. در این روش از پیش تیمار شاهد نیز استفاده گردید. پیش تیمار شاهد در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و بدون اعمال مافوق صوت انجام گرفت. بلافاصله بعد از انجام پیش تیمار غیرمستقیم مافوق صوت، استخراج با استفاده از کلونجر و مایکروویو ۳۰، ٦۰ و ۹۰ درصد صورت گرفت. کلیه آزمایشات در دو تکرار انجام پذیرفت.

شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس‌های مورد بررسی: اسانس تهیه شده به دو روش کلونجر و مایکروویو مجدداً با استفاده از سولفات سدیم بدون آب خشک شده و به وسیله یک میلی‌لیتر *n*-هگزان رقیق گردید. پس از مخلوط کردن کامل نمونه با حلال میزان ۱ میکرولیتر آن به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی، تزریق و با استفاده از زمان بازداری ترکیبات در طیف حاصل و شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت. بدین ترتیب، ترکیبات شیمیایی موجود در هر نمونه اسانس، شناسایی شد و با رسم شکل‌های مربوط به مقادیر ترکیبات، بر اساس سطوح زیر پیک آن‌ها، مقایسه انجام گرفت. دستگاه کروماتوگرافی مورد استفاده با مارک Agilent Technologises مدل 7890A، با ستون BP-5 capillary به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت، روش یونش EI و دمای منبع یونش ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن طیف‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ نانومتر تنظیم شد. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود.

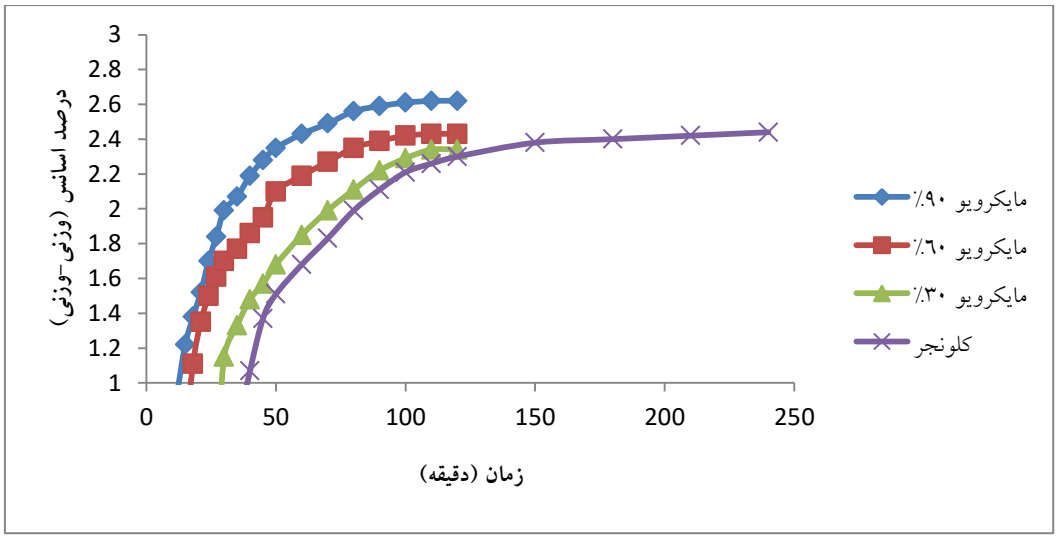
آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی اسانس: در فواصل زمانی ۰/۵، ۱، ۲، ۳ و ٤ ساعت دستگاه را خاموش و اسانس استخراج شده جداسازی شده و با استفاده از سولفات سدیم بدون آب خشک و سپس توزین گردید. مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از اسانس گیاه چویل به وسیله ترازو توزین گردید و از تقسیم وزن اسانس (بر حسب کیلوگرم) بر حجم نمونه (بر حسب مترمکعب) وزن مخصوص اسانس‌ها به دست آمد. بررسی رنگ اسانس طبق روش استاندارد ایزو انجام گرفت (ISIR, 2004). ضریب شکست اسانس گیاه بر طبق استانداردهای داخلی اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران اندازه‌گیری گردید (ISIR, 2004). خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه چویل مطابق با روش بورتیس و بوکار (Btrits and Bukar, 2000) بررسی گردید. کلیه آزمایشات در دو تکرار انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام آنالیز داده‌ها و بررسی اطلاعات از آزمایش‌های مختلف، از طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی استفاده گردید. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (حداقل دو تکرار برای هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس، از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده گردید. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 صورت پذیرفت و شکل‌ها به وسیله نرم‌افزار Excel 2013 رسم گردید.

نتایج

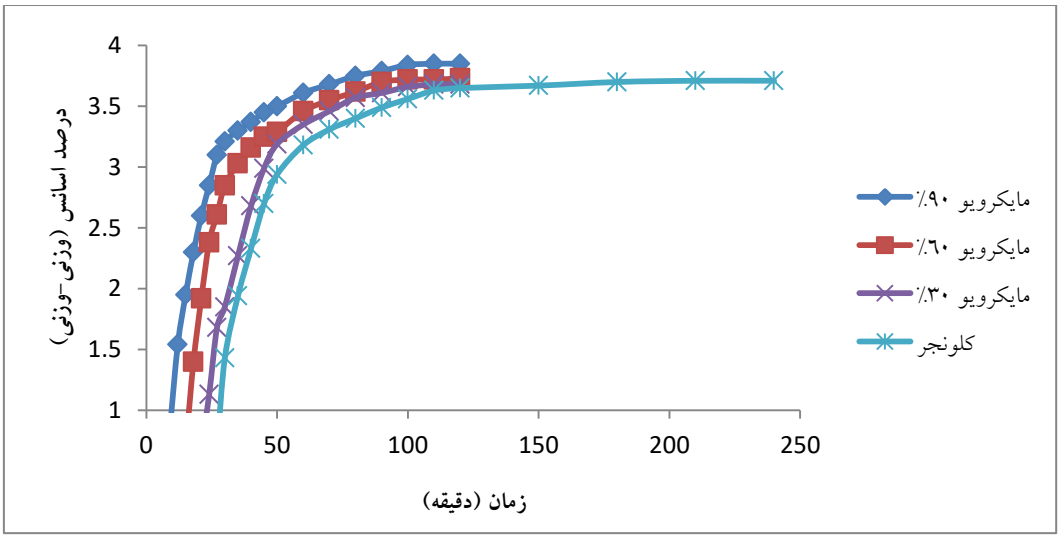
مقایسه راندمان استخراج اسانس با روش‌های مختلف: همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در نسبت استخراج ۱:۲۰ گیاه به آب، سینتیک استخراج به وسیله کلونجر با سینتیک استخراج به کمک مایکروویو متفاوت است. در روش استخراج به کمک مایکروویو در کمتر از ۲ ساعت استخراج به حالت ثابت رسیده است در حالی که در روش استخراج به وسیله کلونجر در حدود ٤ ساعت به حالت ثابت می‌رسد. همچنین نتایج نشان داد که زمان آغاز استخراج در روش کلونجر حدود ۳۰ دقیقه بوده، در حالیکه این زمان به ترتیب برای مایکروویو ۳۰ درصد، ٦۰ درصد و ۹۰ درصد ٢٤، ۱۲ و ٦ دقیقه بوده است. با افزایش توان مایکروویو زمان استخراج برای گیاه چویل کوتاه‌تر شده است بطوریکه با افزایش توان مایکروویو از ۳۰ درصد به ۹۰ درصد زمان آغاز استخراج کوتاه‌تر و همچنین زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و زمان مورد نیاز برای ثابت شدن منحنی استخراج نیز کوتاه‌تر شده است. همچنین نتایج این بررسی نشان داد که درصد استخراج چویل به کمک مایکروویو ۹۰ درصد حدود ۲/٦۲ درصد بوده است.



شکل ۱: استخراج اسانس از گیاه چویل به کمک کلونجر و مایکروویو در توان‌های مختلف و با نسبت ۱:۲۰

بررسی اثر نسبت گیاه به آب در استخراج اسانس: همان‌طور که در شکل ۱ و ۲ مشاهده می‌گردد کاهش نسبت گیاه به آب از ۲۰ برابر به ۱۰ برابر در چویل و در مورد هر دو روش استخراج به وسیله کلونجر و مایکروویو، در تمام توان‌ها باعث کاهش زمان استخراج، کاهش زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و همچنین زمان مورد نیاز جهت ثابت شدن منحنی استخراج گردیده است. همان‌طور که در شکل

۲ مشاهده می‌گردد زمان آغاز استخراج در روش استخراج به وسیله کلونجر ٢٤ دقیقه و همچنین در روش استخراج به کمک مایکروویو در توان‌های ۳۰، ٦٠ و ۹۰ درصد به‌ترتیب ۱۸، ۸ و ٤ دقیقه بوده است که در همه موارد فوق نسبت به نسبت ۱:۲۰ زمان آغاز استخراج کاهش یافته است. همچنین، با کاهش مقدار آب نیز هنوز روش استخراج به کمک مایکروویو بهتر از روش استخراج به کمک کلونجر است. مضافا، با افزایش توان مایکروویو، زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج کاهش یافته است. می‌توان بیان داشت تغییر روش استخراج تأثیر مثبتی بر روی مقدار اسانس استخراجی داشته و باعث کاهش زمان استخراج شده است.



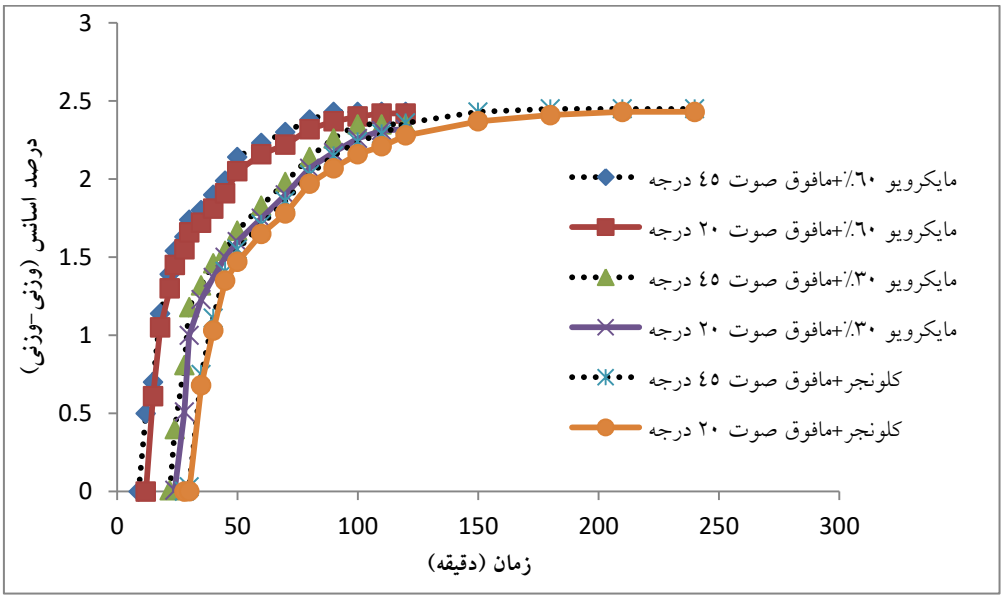
شکل ۲: استخراج اسانس از چویل با دو روش کلونجر و مایکروویو در توان‌های مختلف و با نسبت ۱:۱۰.

اثر پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم بر روی راندمان استخراج اسانس: اثر پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در ۲۰ و ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت بر روی استخراج به وسیله کلونجر و مایکروویو در توان‌های ۳۰ و ٦٠ درصد بر روی گیاه چویل مورد بررسی قرار گرفت. در ضمن نمونه‌ای نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نمونه شاهد گیاه چویل نیز پس از یک ساعت قرار گرفتن در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به روش استخراج به وسیله کلونجر و استخراج به کمک مایکروویو در توان‌های ۳۰ و ٦٠ درصد مورد استخراج قرار گرفت.

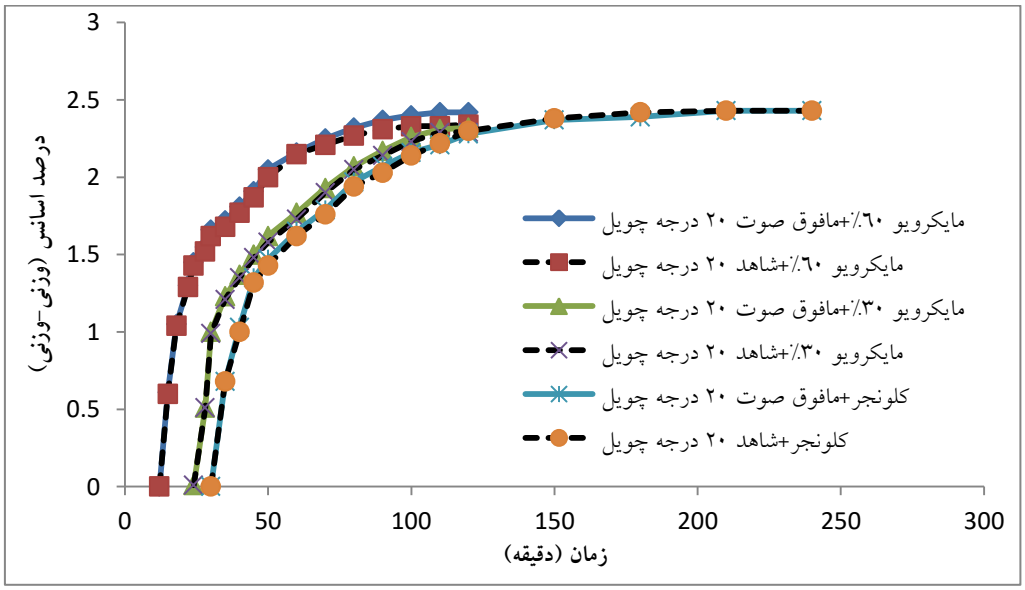
همان‌طور که در شکل ۳ و شکل ٤ مشاهده می‌شود استفاده از پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در دمای ۲۰ و ٤٥ درجه سانتی‌گراد برای استخراج اسانس چویل تأثیر چندانی بر روی زمان آغاز استخراج و زمان تکمیل استخراج نداشته است. تنها در مورد پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در ٤٥ درجه سانتی‌گراد، زمان آغاز و تکمیل استخراج اندکی کاهش یافته است که علت این مسئله نیز بالاتر بودن دما می‌باشد. حتی با استفاده از پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم نیز روش استخراج به کمک مایکروویو نسبت به روش استخراج به وسیله کلونجر باعث کاهش زمان آغاز استخراج، کاهش زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و همچنین زمان مورد نیاز جهت ثابت شدن منحنی استخراج گردیده است. در

ضمن با افزایش توان مایکروویو از ۳۰ به ۶۰ درصد، زمان آغاز و تکمیل استخراج کاهش پیدا کرده است.

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود استفاده از پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم حتی در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد نیز تأثیر چندانی بر روی کاهش زمان استخراج ندارد؛ بنابراین استفاده از حمام مافوق صوت تنها باعث افزایش هزینه‌ها گردیده و در کاهش زمان کلی استخراج موثر نمی‌باشد. شکل ٤ نیز نشان می‌دهد که تفاوت چندانی بین نمونه شاهد (خیساندن) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد وجود ندارد.



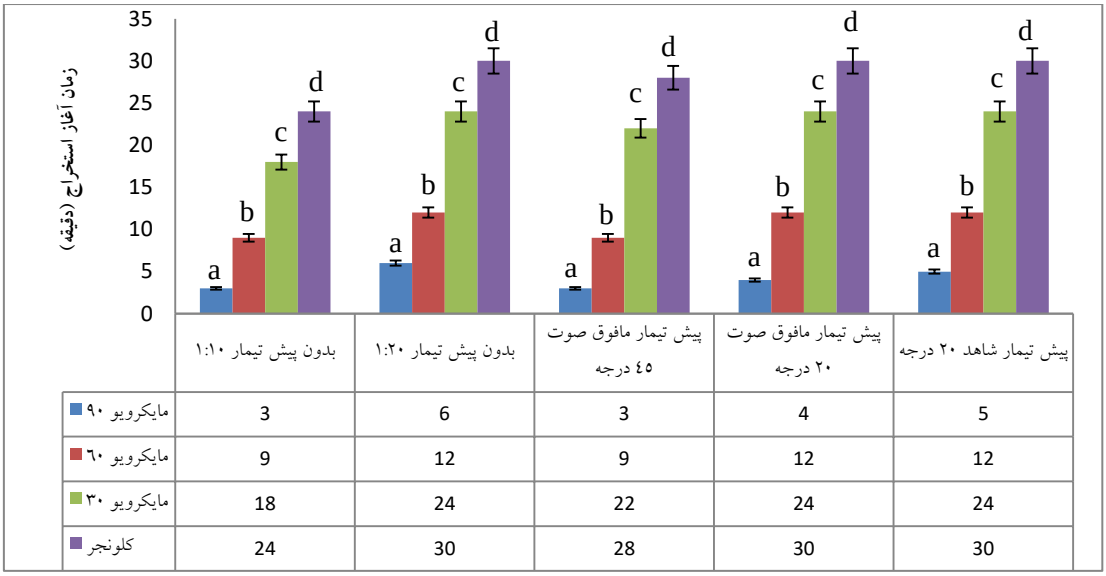
شکل ۳: اثر پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در دماهای مختلف بر روی استخراج اسانس چویل با روش‌های کلونجر و مایکروویو



شکل ٤: اثر پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم و نمونه شاهد (خیساندن) در بر روی استخراج اسانس

چویل با روش‌های کلونجر و مایکروویو

اثر روش‌های مختلف استخراج بر روی زمان آغاز استخراج: همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود زمان آغاز استخراج در روش استخراج به وسیله کلونجر همواره به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از زمان آغاز استخراج در روش استخراج به کمک مایکروویو می‌باشد. در ضمن با افزایش توان مایکروویو، زمان مورد نیاز جهت آغاز استخراج کاهش می‌یابد. در تمام روش‌های استخراج هنگامی که نسبت گیاه به آب ۱:۱۰ می‌گردد، زمان آغاز استخراج کاهش می‌یابد. در این حالت نیز با افزایش توان مایکروویو، زمان مورد نیاز جهت آغاز استخراج به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش می‌یابد. در روش استفاده از پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم نیز زمان آغاز استخراج در روش استخراج به وسیله کلونجر همواره به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیشتر از زمان آغاز استخراج به کمک مایکروویو می‌باشد. در ضمن با افزایش توان مایکروویو، زمان مورد نیاز جهت آغاز استخراج کاهش می‌یابد.



	بدون پیش تیمار ۱:۱۰	بدون پیش تیمار ۱:۲۰	پیش تیمار مافوق صوت ٤٥ درجه	پیش تیمار مافوق صوت ۲۰ درجه	پیش تیمار شاهد ۲۰ درجه
مایکروویو ۹۰	3	6	3	4	5
مایکروویو ٦۰	9	12	9	12	12
مایکروویو ۳۰	18	24	22	24	24
کلونجر	24	30	28	30	30

شکل ۵: تأثیر گونه، پیش تیمار و روش‌های مختلف استخراج بر زمان آغاز استخراج گیاه چویل

*حروف یکسان در ستون‌ها نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است و حروف غیر یکسان ستون‌ها نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

جدول ۱: تأثیر نوع گیاه، پیش تیمار و روش‌های مختلف استخراج بر وزن مخصوص اسانس چویل

گونه	شرایط استخراج	روش استخراج			
		مایکروویو ۹۰ ٪	مایکروویو ٦۰٪	مایکروویو ۳۰٪	کلونجر
چویل	بدون پیش تیمار ۱:۲۰	۰/۹۲۱	۰/۹۲۵	۰/۹۲۸	۰/۹۱۹
	بدون پیش تیمار ۱:۱۰	۰/۹۲٦	۰/۹۱۸	۰/۹۲٦	۰/۹۱۷
	پیش تیمار مافوق صوت ٤٥ درجه	۰/۹۲۳	۰/۹۲۲	۰/۹۲۷	۰/۹۱۸
	پیش تیمار مافوق صوت ۲۰ درجه	۰/۹۱۷	۰/۹۲۵	۰/۹۲۱	۰/۹۲۰
	پیش تیمار شاهد ۲۰ درجه	۰/۹۱٤	۰/۹۱۹	۰/۹۲۳	۰/۹۲۷

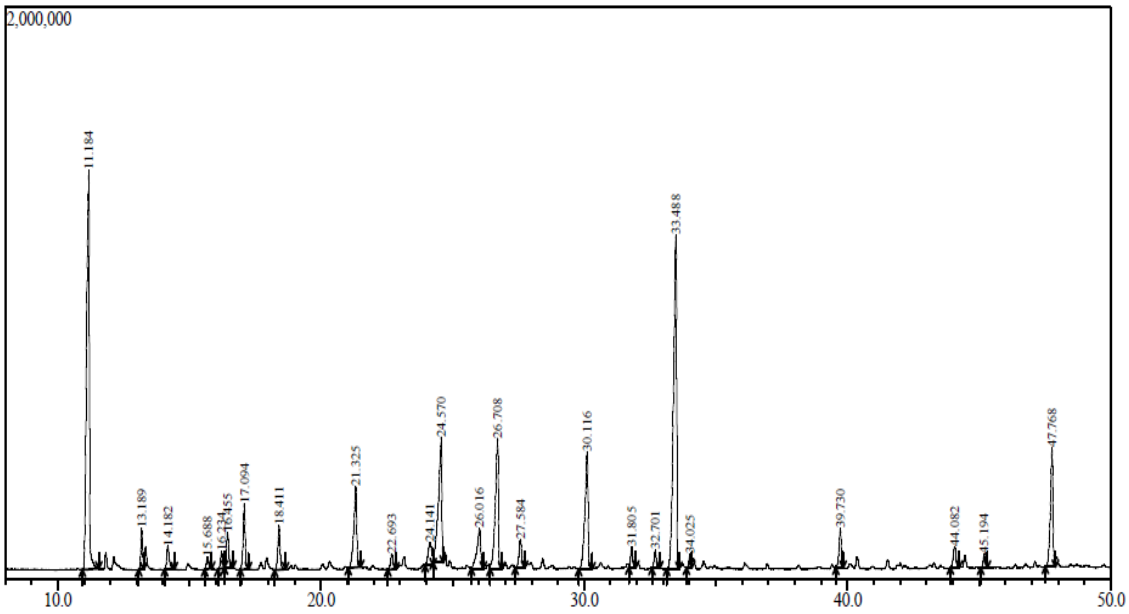
تأثیر گونه و روش‌های مختلف استخراج بر روی وزن مخصوص اسانس‌ها: نتایج بررسی وزن مخصوص اسانس چویل مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس نتایج مندرج در این جدول استفاده از روش‌های مختلف استخراج مانند استفاده از روش استخراج به وسیله کلونجر و استخراج به کمک مایکروویو در توان‌های مختلف و همچنین تغییر نسبت گیاه به آب تاثیر چندانی بر روی وزن مخصوص اسانس نداشت.

تأثیر نوع گیاه و روش‌های مختلف استخراج بر روی رنگ اسانس: استفاده از مایکروویو و همچنین افزایش توان آن، باعث تغییر رنگ اسانس گردید، بطوری‌که اسانس چویل از رنگ زرد طلایی در روش استخراج به روش کلونجر به رنگ زرد کم رنگ در روش مایکروویو تغییر کرد. از سوی دیگر نتایج ارزیابی ظاهری نشان داد که پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در دماهای مختلف و تغییر نسبت گیاه به آب تأثیر چندانی بر روی رنگ اسانس چویل ندارد.

تأثیر گونه و روش مختلف استخراج بر روی ضریب شکست اسانس چویل: همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌گردد پیش تیمار مافوق صوت در دماهای مختلف، استفاده از روش‌های مختلف استخراج به وسیله کلونجر و استخراج به کمک مایکروویو در توان‌های مختلف و همچنین تغییر نسبت گیاه به آب، تأثیر چندانی بر روی ضریب شکست اسانس گیاه چویل نداشته است.

جدول ۲: تأثیر نوع گیاه، پیش‌تیمار و روش‌های مختلف استخراج بر ضریب شکست چویل

گونه	شرایط استخراج	روش استخراج			
		مایکروویو ۹۰٪	مایکروویو ۶۰٪	مایکروویو ۳۰٪	کلونجر
چویل	بدون پیش تیمار ۱:۲۰	۱/۵۰۳	۱/۵۰۳	۱/۵۰۳	۱/۵۰۲
	بدون پیش تیمار ۱:۱۰	۱/۵۰۳	۱/۵۰۲	۱/۵۰۶	۱/۵۰۳
	پیش تیمار مافوق صوت ۴۵ درجه	۱/۵۰۳	۱/۵۰۳	۱/۵۰۶	۱/۵۰۳
	پیش تیمار مافوق صوت ۲۰ درجه	۱/۵۰۲	۱/۵۰۳	۱/۵۰۶	۱/۵۰۳
	پیش تیمار شاهد ۲۰ درجه	۱/۵۰۳	۱/۵۰۲	۱/۵۰۶	۱/۵۰۲



شکل ٦: طیف GC اسانس گیاه چویل

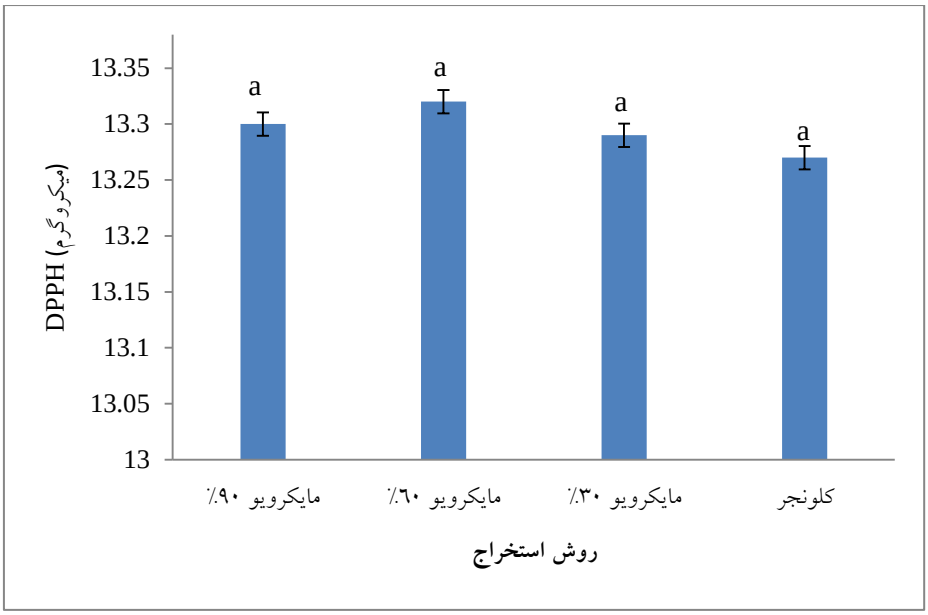
تعیین کمی و کیفی ترکیبات موجود در اسانس چویل: اسانس چویل استخراج شده به روش استخراج به وسیله کلونجر و استخراج به کمک مایکروویو ۹۰ درصد به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی–طیف سنجی جرمی مورد ارزیابی قرار گرفت. همان‌طور که در جدول ۳ مشخص است نتایج بررسی اسانس گیاه چویل نشان داد که فراوان‌ترن ترکیبات موجود در اسانس چویل، به ترتیب آلفا پینن (حدود ۲۲ درصد) و بورنیل استات هستند.

جدول ۳: مقایسه ترکیبات موجود در اسانس چویل استخراج شده به دو روش مایکروویو و کلونجر

ردیف	ترکیب	زمان بازداری	کلونجر	مایکروویو ۹۰ درصد
			درصد	درصد
۱	alpha-Pinene	۱۱/۱۸٤	۲۲/۱٤±۰/۰۲^{a}	۲۲/۱٤±۰/۰۳^{a}
۲	Sabinene	۱۳/۱۸۹	۱/٤۳±۰/۰۱^{a}	۱/٤۳±۰/۰۱^{a}
۳	Myrcene	۱٤/۱۸۲	۱/۱٥±۰/۰۱^{a}	۱/۱٥±۰/۰۱^{a}
٤	Ocimene	۱٥/٦۸۸	۰/٥۲±۰/۰۲^{a}	۰/٥۳±۰/۰۱^{a}
٥	Para-Cymene	۱٦/۲۳٤	۰/۷۰±۰/۲۹^{a}	۰/۸۳±۰/۲٤^{a}
٦	Limonene	۱٦/٤٥٥	۱/٥٥±۰/۱۲^{a}	۱/٦٦±۰/۱۱^{a}
۷	Bete-Ocimen	۱۷/۰۹٤	۲/٥۹±۰/۰۳^{a}	۲/٥۰±۰/۰۳^{a}
۸	gamma-Terpinene	۱۸/٤۱۱	۱/۹۲±۰/٤۱^{a}	۱/۹۰±۰/۰٥^{a}
۹	Linalool	۲۱/۳۲٥	٤/٥۷±۱/۰۱^{a}	٤/٥٥±۰/۱۷^{a}
۱۰	Trans-Ocimene	۲۲/٦۹۳	۰/۸۰±۰/۰۹^{a}	۰/۷٥±۰/۱۲^{a}
۱۱	beta-Pinene	۲٤/۱٤۱	۱/٦۱±۰/۲۱^{a}	۱/٦۳±۰/۱۹^{a}
۱۲	Verbenol	۲٤/٥۷۰	۸/٦٤±۰/۲۸^{a}	۸/٥۲±۰/۳۳^{a}
۱۳	alpha-Phellandren-8-ol	۲٦/۰۱٦	۲/۸۸±۰/۳۱^{a}	۲/۷۳±۰/۳٤^{a}
۱٤	Terpinen-4-ol	۲٦/۷۰۸	۷/٦۱±۰/۲٦^{a}	۷/٦۱±۰/۱۹^{a}
۱٥	alpha-Terpineol	۲۷/٥۸٤	۱/٥٥±۰/۰۷^{a}	۱/٥٤±۰/۰۸^{a}
۱٦	Citronellol	۳۰/۱۱٦	۷/۰٦±۰/۳۲^{a}	۷/۱۰±۰/۲۱^{a}
۱۷	Cic-3-Decen-1-ol	۳۱/۸۰٥	۰/۹۰±۰/۰۷^{a}	۰/۹۰±۰/۰٦^{a}
۱۸	1-Decanol	۳۲/۷۰۱	۰/۷۸±۰/۰٥^{a}	۰/۷۷±۰/۰٦^{a}
۱۹	Bornyl Acetate	۳۳/٤۸۸	۲۰/۷٦±۱/۱۱^{a}	۲۰/۷۳±۱/۱٤^{a}
۲۰	2-Caren-10-Al	۳٤/۰۲٥	۰/٦۰±۰/۰۳^{a}	۰/٥۸±۰/۰۲^{a}
۲۱	Methyl eugenol	۳۹/۷۳۰	۱/٦٦±۰/۰٦^{a}	۱/٥۸±۰/۰۷^{a}
۲۲	3-Caren-10-Al	٤٤/۰۸۲	۱/۲۱±۰/۱۱^{a}	۱/۲٥±۰/۱۳^{a}
۲۳	Germacrene d	٤٥/۱۹٤	۰/٥۹±۰/۱۰^{a}	۰/٥٥±۰/۰۹^{a}
۲٤	Spathulenol	٤۷/۷٦۸	٥/۹٥±۰/۳٤^{a}	٥/۹٤±۰/۳۲^{a}
۲٥	Beta-Eudesmol	٥۰/۷۲٥	۰/۸۲±۰/۰۹^{a}	۰/۸۰±۰/۰۷^{a}
	جمع درصد ترکیبات		۱۰۰	

*حروف یکسان در ردیف‌ها نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است و حروف غیر یکسان ردیف‌ها نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

تأثیر روش استخراج بر قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های استخراج شده: مقایسه تأثیر روش‌های مختلف استخراج اسانس چویل بر قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس چویل نشان داد (شکل ٦) که روش استخراج اسانس تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۵) بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس چویل نداشت و نشان‌دهنده این موضوع بود که روش استخراج اسانس بر کمیت و کیفیت ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در اسانس چویل تأثیر منفی نداشت.



شکل ۷: بررسی و مقایسه روش استخراج بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه چویل

*حروف یکسان در ستون‌ها نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است و حروف غیر یکسان ستون‌ها نشانگر وجود اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) است.

بحث

با توجه به شکل ۱ و ۲ دریافتیم که استخراج به شیوه مایکروویو بسیار سریعتر از استخراج به وسیله کلونجر به ثبات رسیده و با افزایش توان مایکروویو زمان استخراج برای گیاه چویل کوتاه‌تر شده است. از سوی دیگر کاهش نسبت گیاه به آب از ۲۰ برابر به ۱۰ برابر در هر دو روش استخراج و در تمام توان‌ها باعث کاهش زمان استخراج، کاهش زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و همچنین زمان مورد نیاز جهت ثابت شدن منحنی استخراج گردیده است. مایکروویو باعث شکسته‌شدن سریع دیواره‌های غدد ترشحی شامل اسانس و در نتیجه افزایش بازده در یک زمان کوتاه می گردد. این عملکرد بالا از اسانس به دلیل قدرت نفوذ امواج مایکروویو به داخل سلول‌های اسانس بوده و باعث تشدید روند استخراج اسانس از آن‌ها می‌شود. همچنین این روش باعث کاهش مصرف آب، زمان، انرژی و در نتیجه کاهش هزینه‌ها و افزایش بازده استخراج می‌شود. از دلایل پایین بودن بازده اسانس در توان‌های پایین می‌توان با از دست دادن مقدار زیادی از ترکیبات فرار در زمان‌های

طولانی مرتبط باشد (Bayramoglu et al., 2008). دیتا و همکاران (Dita et al., 2019) استخراج اسانس از گل های گیاه *Cananga odorata* را با استفاده از روش مایکروویو بررسی نمودند. نتایج پژوهش آنها نیز نشان داد که با توجه به تاثیری که امواج مایکروویو بر ساختار سلولی گیاه مورد نظر دارد، بر تسهیل استخراج اسانس تاثیر بسزایی دارد که این مورد دلیلی عمده بر کیفیت روش مذکور است و باعث شده بتوان از آن صنعت بهره برد.

یانگ و همکاران (Yang et al., 2011) نیز در تحقیقی مشابه نشان دادند عملکرد اسانس لیسته آ[1] در روش تقطیر با بخار به مراتب کمتر از روش مایکروویو بود. افزایش عملکرد اسانس می تواند به دلیل قدرت نفوذ امواج مایکروویو به داخل سلول‌های اسانس بوده و باعث استخراج بیشتر اسانس از آن‌ها گردد. درآزمایش‌های دیگری که چمات و همکاران (Chemat et al., 2006)، برای استخراج اسانس گیاه اسطوخودوس با روش مایکروویو در مقایسه با تقطیر با آب انجام دادند مشخص شد، روش مایکروویو از لحاظ صرفه‌جویی در انرژی، سرعت (۱۰ دقیقه در مقابل ۹۰ دقیقه)، بازده محصول، تمیزی و کیفیت محصول بهتر از روش تقطیر با بخار بود. کلاتیجاری (Kalatejari, 2012) و صفایی قمی و همکاران (Safaei-ghomi et al., 2009) نیز با تحقیقات روی گیاه اکالیپتوس نشان دادند که بیشترین درصد بازده اسانس مربوط به روش استخراج با مایکروویو می‌باشد. به‌علاوه، بر اساس یافته‌های این تحقیق نشان دادند که استفاده از توان‌های بالا و زمان کوتاه‌تر بر سرعت استخراج اسانس می‌افزاید.

همان طور که در شکل ۳ و ٤ مشاهده می‌شود استفاده از پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم تأثیر چندانی بر روی کاهش زمان استخراج نداشت و تفاوت چندانی بین نمونه شاهد (خیسانده شده) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد وجود نداشت؛ به همین علت استفاده از حمام مافوق صوت تنها باعث افزایش هزینه‌ها شده و در کاهش زمان کلی استخراج موثر نبوه است. آثار مکانیکی مافوق صوت شامل نفوذ بیشتر حلال به درون سلول‌های نمونه‌های گیاهی و بهبود روند انتقال جرم می‌باشد. در واقع مافوق صوت در استخراج باعث تخریب دیواره سلول‌های زیستی و تسهیل آزاد شدن محتویات سلول نیز می‌شود؛ بنابراین تخریب کارآمد سلول و انتقال جرم موثر از عوامل اصلی تشدید استخراج به کمک مافوق صوت می‌باشند (Mason et al., 1996). ازگه و همکاران (Azge et al., 2019) نیز در نتایجی نشان دادند تکنیک مایکروویو وقتی در کنار مافوق صوت استفاده میگردد، علاوه بر اینکه کارایی روش مذکور را بالا میبرد، میتواند بر کیفیت و کمیت اسانس استخراجی از سلول گیاهی تاثیرگذار باشد و دلیل اصلی این موضوع را به تخریب سازمان یافته دیواره سلولی مرتبط می‌دانند.

شارما و گوپتا (Sharma and Gupta, 2004) بیان داشتند که مافوق صوت پیش تیمار مناسبی جهت افزایش راندمان استخراج روغن از بادام، زردآلو و سبوس برنج می‌باشد. مافوق صوت باعث افزایش سینتیک و بهبود کیفیت عصاره می‌شود. نرخ استخراج لیمونن با هگزان به کمک مافوق صوت، دو برابر سریع‌تر از روش‌های سنتی می‌باشد (Chemat et al., 2004).

با توجه به بررسی شکل ۵ مشاهده گردید که زمان آغاز استخراج در روش کلونجر در همه شرایط مورد بررسی به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از مایکروویو بوده و از سوی دیگر با تغییر نسبت گیاه به

1. *Cubeba Litsea*

آب (۱:۱۰) زمان آغاز استخراج کاهش یافت که علت این مسئله کاهش مقدار آب موجود و در نتیجه کاهش زمان مورد نیاز جهت گرم کردن می‌باشد.

به جز در روش استفاده از پیش تیمار مافوق صوت غیرمستقیم در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد، در تمام تیمارها زمان مورد نیاز آغاز استخراج اندکی کمتر بود که علت این مسئله نیز بالاتر بودن دمای مخلوط گیاه و آب هنگام قرار دادن آن‌ها در محفظه مایکروویو بوده است.

مقایسه تأثیر روش استخراج بر روی درصد ترکیبات مختلف اسانس چویل نشان داد (جدول ۳) که روش استخراج تأثیر معنی‌داری بر روی درصد ترکیبات استخراج شده نداشت و میزان این تغییرات کاملاً غیر معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود. نتایج تحقیقات بر روی اسانس گیاهان، نعناع، ریحان و آویشن نشان داد که اسانس استخراج شده با روش مایکروویو و بدون حلال در مدت زمان ۳۰ دقیقه از نظر کمیت و کیفیت مشابه نتایج بدست آمده بوسیله تقطیر با آب در مدت ٤/٥ ساعت بوده است (Luccheci et al., 2004). تحقیق روی دو گونه گیاه مرزه نشان داد که عملکرد اسانس در روش استخراج به کمک مایکروویو با روش تقطیر با آب در یک سطح قرار داشته و در توان‌های بالاتر مایکروویو اسانس از عملکرد بالاتری برخوردار بوده است (Rezvanpanah et al., 2008). در بررسی روش‌های اسانس‌گیری، مرحله رشد، بازده و ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه، تفاوت در کیفیت و کمیت اسانس گزارش نشد (Chemat et al., 2004). نتایج تحقیق روی گیاه مرزنگوش نشان داد که ترکیبات حاصل از هر دو روش مشابه هم بودند، ولی راندمان استخراج در روش مایکروویو بیشتر بوده است (Bendahou et al., 2008).

مطالعه آزمایشگاهی با DPPH نشان داد که این اسانس قدرت قابل ملاحظه‌ای برای پیشگیری از اکسایش لیپیدها دارد و می‌تواند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در مواد غذایی که حاوی روغن هستند به کار رود اما تحقیقات نشان می‌دهد که این‌گونه روش‌های سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ارتباط ضعیفی با توانایی این ترکیبات در پیشگیری از اکسیداسیون لیپیدها دارد زیرا این‌گونه روش‌ها فاکتور هایی چون موقعیت فیزیکی آنتی اکسیدان و شرایط محیطی را در نظر نمی‌گیرند (Decker et al., 2005). روش استخراج اسانس بر کمیت و کیفیت ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در اسانس چویل تأثیر منفی نداشت که دلیلی برای نشان دادن این موضوع بود که اسانس تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۵) بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس چویل نداشت (شکل ٦).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که استفاده از مایکروویو و افزایش توان آن منجر به کاهش زمان آغاز استخراج، کاهش زمان مورد نیاز جهت تکمیل استخراج و همچنین زمان مورد نیاز جهت ثابت شدن منحنی استخراج گردید؛ اما با این وجود استفاده از آن تأثیر معنی‌داری بر پارامترهایی مانند وزن مخصوص، ضریب شکست اسانس، ترکیبات و خصوصیات آنتی اکسیدانی اسانس نداشت. استفاده از پیش تیمار مافوق صوت نیز برای استخراج اسانس نیز بر خصوصیات کمی و کیفی اسانس گیاه چویل تأثیر چندانی نداشت. به‌طورکلی می‌توان بیان داشت با توجه به اهمیت انرژی و حجم استفاده و استخراج گیاهان دارویی روش مایکروویو می‌تواند تأثیر بسزایی در کاهش مصرف انرژی و کاهش زمان استخراج اسانس گیاهان دارویی باشد.

References

1. Armstrong, S.D. 1999. Microwave-assisted extraction for the isolation of trace systemic Fungicides from woody plant material, Dissertation submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy In Chemistry. Ph.D. Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University.
2. Bayramoglu, B., Sahin, S. and Sumnu, G. 2008. Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. Journal of Food Engineering, 88(4):535-540.
3. Bendahou, M., Muselli, A., Grignondubois, M., Benyoucef, M., and Desjobert, J.M. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydro distillation. Food Chemistry, 106(11): 132-139.
4. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotheraphy Research, 14(2): 323-328.
5. Camel, V. 2000. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. Institut National Agronomique Paris-Grignon, 19(4): 229-248.
6. Chemat, F., Lucchesi, M.E., Smadja, J., Favretto, L., Colnaghi, G. and Visinoni, F. 2006. Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. Analytica Chimica Acta, 35(3): 157–160.
7. Chemat, S., Lagha, A., Aitamar H., Bartels, P.V. and Chemat, F. 2004. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. Flavour and Fragrance Journal, 41(19): 188-195.
8. Decker, E.A., Warner, K., Richards, M.P. and Shahidi, B. 2005. Measuring antioxidant effectiveness in food. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53(1): 4303-4310.
9. Golmakani, M.T. and Rezaei, K. 2008. Microwave assisted hydrodistillation of essential oils from Zataria Multi flora Boiss. European Journal of Lipid Science and Technology, 110(3): 448-454.
10. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2004. NO. 13575. Oil of thyme containing thymol, Spanish type [*Thymus zygis* (Loefl.) L.] specifications and test methods.
11. Javidnia, K., Miri, R., Edraki, N., Khoshneviszadeh, M. and Javidnia, A. 2006. Constituents of the volatile oil of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. From Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(5): 548-50.
12. Kalatejari, A. 2012. Investigation of effect microwave on extraction essence and chemical component in some plant samples. MSc Thesis, Islamic Azad University, Damghan Branch. 73-92.
13. Kashfi Bonab, A. 2010. Economic comparative advantage of cultivation and trade of medicinal plants in iran and Its value on world markets. Agriculture and Animal Husbandry, 5(6): 36-39.
14. Luccheci, 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 Food Engineering, 56(5):323-327.
15. Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J. and P. 1996. The uses of ultrasound in food technology, Ultrasonics Sonochemistry, 3(2): 253-260.
16. Mohammadhosseini, M. 2016. A Comprehensive Review on new methods for processing, separation and identification of the essential oils. Islamic Azad University of Shahrood Press, Shahrood, Iran. 61-73.

17. Mozzafarian, V. 2009. Encyclopedia of Plants. Farhange Moaser Public. p.740.
18. Putri, Y., Kharisma, D., Dewi, P., Ekawati, I., Kusuma, H.S. and Mahfud, M. 2019. Extraction of an essential oil from fresh cananga flowers (*Cananga odorata*) using solvent-free microwave method. Journal of Chemical Technology & Metallurgy, 54(4): 161-173.
19. Rezazade, Sh., Yazdani, D. and Shahbazi, S. 2002. Identification of active ingredients of branches of *Ferulago angulata* collected from West Iran. Journal of Herbal Drugs, 7(3): 35-38.
20. Rezvanpanah, SH., Razaei, K., Razavi, S.H. and Moini, S. 2008. Use of microwave- assisted Hydrodistillation to Extract the Essential Oils from *Satureja hortensis* and *Satureja Montana*. Food Science and Technology Research, 14(3):311-314.
21. Safaei-ghomi, J., Shahroodi, F. and Batooli, H. 2009. Volatile constituents of the flowers and leaves of *Eucalyptus oleosa* Cultivated in central Iran. Chemistry of Natural Compound. 45(1):106-109.
22. Saleh, I.A., El Gendy, A.N.G., Afifi, M. A. and El-Seedi, H.R. 2019. Microwave extraction of essential oils from *senecio serpens* GD rowly and comparison with conventional hydro-distillation method. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 11(3): 28-34.
23. Sharma, A. and Gupta, M.N. 2004. Oil extraction from almond, apricot and rice bran by three-phase partitioning after ultrasonication. European Journal of Lipid Science and Technology, 106(3):183-186.
24. Süfer, O. and Bozok, F. 2019. Determination of volatile components and antioxidant activity of essential oil obtained from kastamonu garlic by microwave-assisted clevenger syetem. GIDA, 44(1): 22-30.
25. Yang, G., Wang, G., Li, X. and Zhang, M. 2011. Study on new extraction technology and chemical composition of *Litsea cubeba* essential oil. The Open Materials Science Journal, 11(5): 93-99.

Study on the effect of extraction method on the quantity, quality, chemical composition and antioxidant nature of *Ferulago angulata* (Schlechat) Boiss. essential oil

Rohollah Jafar Azad, S.[1], Sadeghi, B.[2*], Moslemin, M.H.[3]

[1]Ph.D Student, Dept. of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Yazd Branch, Islamic Azad University, Iran

[2]Associate Professor, Dept. of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Yazd Branch, Islamic Azad University, Iran

[3]Professor, Dept. of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Yazd Branch, Islamic Azad University, Iran

Received: 2017-2-26 ; Accepted: 2017-9-23

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of Clevenger-microwave and ultrasound extraction methods on the quantity, quality, chemical composition and antioxidant nature of the essential oil of *Ferulago angulata* (Schlechat) Boiss. In the Clevenger-microwave method, the plant to water ratios of 1:10 and 1:20 and the microwave power of 330, 660 and 990 w (30, 60 and 90%) were taken into account as the independent variables, while the indirect ultrasound pretreatment (at 20 and 45°C) was considered as the affecting factors for the extraction of the essential oil of *Ferulago angulate*. To identify the chemical compounds, gas chromatography-mass spectrometry was employed and the impact of other parameters, including the efficiency, specific gravity, color, refractive index and antioxidant property of the essential oil were also evaluated. We found that application of microwave and increasing the power density led to decrease in the extraction initial time as well as a reduction in the extraction completion time and the time needed for the extraction curve to get constant from 4h to 1h. In both methods 25 constituents totally were identified in *Ferulago angulate* essential oil, among which β-phellandrene had the largest content (approximately 35%). Extraction time in the microwave method was significantly lower than clevenger method ($p<0.05$). Ultrasound pretreatment at various temperatures, extraction by clevenger method, different power density in microwave method and the plant to water ratio did not have considerable effects on the essential oil refractive index, antioxidant activity and specific gravity.

***Keywords*:** Antioxidant activity, Clevenger, *Ferulago angulata* (Schlechat) Boiss., Microwave, Ultrasound.

[*]Corresponding author; sadeghibahareh40@gmail.com