ارزیابی فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه دارویی *Matricaria chamomilla* L. همزمان با امواج فراصوت و تقطیر با آب

سیدرضا رسولی[۱]، حسن رضا دوست[۲]*، صمد نژادابراهیمی[۳]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان ومواداولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[۲]استادیار، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان ومواداولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

[۳]دانشیار، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان ومواداولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/۰۶/۰۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۱۰/۲۶

چکیده

متابولیت‌های ثانویه موجود در اسانس گل‌های بابونه به دلیل اثرات ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی میشود. در این تحقیق به منظور ارزیابی فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی اسانس گلهای گیاه بابونه *Matricaria chamomilla* L.، گل‌های گیاه از مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران برداشت و پس از تطبیق گیاه با نمونه‌های هرباریومی در بخش هرباریوم پژوهشکده کاملاً خشک شدند. اسانس‌گیری به دو روش متفاوت تقطیر با آب و روش فرا صوت انجام گرفت. مهمترین ترکیبات موثره اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MC ارزیابی گردید و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها نیز با استفاده از روش DPPH مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد، با بکارگیری همزمان تکنولوژی امواج فراصوت (درصد ۰,۱) و تقطیر با آب (درصد ۰,۰۵) اسانس این گیاه را با بازده بالاتر میتوان بدست آورد. در روش تقطیر با آب مهمترین ترکیبات ثانوی اسانس شامل: الفا – بیزابولن ٦٦,۰۸ درصد و کامازولن ٦,٤٦ درصد بدست آمد. در حالی که در روش کوپل شده با امواج فراصوت میزان الفا- بیزابولن تا دو برابر و کامازولن تا ۱۷,۲۳ درصد افزایش عملکرد داشت. در هر دو روش ترکیبات اصلی کامازولن و بیزابولول بهینه شناسایی و با استفاده از روش پیشنهادی به‌عنوان یک روش کاربردی کارامد برای جداسازی مهمترین ترکیبات ثانوی دارویی اسانس از نمونه‌های بابونه تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: اسانس، امواج فراصوت، آنتی‌اکسیدان، بابونه، بیزابولول، تقطیر، کامازولن.

*نویسندگان مسئول: s_ebrahimi@sbu.ac.ir; h_rezadoost@sbu.ac.ir

مقدمه

بابونه *Matricaria chamomile* L. یکی از مهمترین گیاهان دارویی بومی جنوب و شرق اروپا است که در روسیه، آلمان، فرانسه، مجارستان و برزیل تا شمال آفریقا یافت می‌شود (Mozaffarian et al., 2008). بابونه هزاران سال است که در داروهای گیاهی مصر باستان، یونان و روم مورد استفاده دارویی قرار می گیرد (Aboukhalid et al., 2017). گلهای گیاه دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی مانند خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است (Aboukhalid et al., 2017). بیش از ۱۲۰ ترکیب در اسانس بابونه شناخته شده است، که ترپنوییدها و مخصوصا سسکویی ترپنهای: آلفا–بیسابولول، کامازولن، β- فارنزن، اکسیدهای بیسابولول A، B و α- بیسابولون اکسید A از مهمترین آنها هستند (Izadi et al., 2013) و همچنین فلاونوئیدهای: لوتئولین، آپیژنین و کوئرستین از مهمترین ترکیبات ضدالتهابی؛ ضدمیکروبی و ضددردی عصاره و اسانس گیاه است که در بررسی‌های مختلف کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گل‌های گیاه را به تنوع رویشگاهی، عوامل اکولوژیکی، زمان برداشت، روش استخراج و زمان ماندگاری اسانس‌ها نسبت داده‌اند و در صنایع مختلف دارویی و بهداشتی مصارف فراوان دارد. (Mozaffarian, 2008; Askin et al., 2005). اسانس‌ها ترکیباتی فرار هستند که از متابولیسم ثانوی گیاه حاصل می‌شوند (Liu et al., 2018). ترکیب‌های گیاهی مختلف حاصل از بابونه شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بوده و دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند (Franze et al., 2011; Izadi et al., 2013). در بررسی ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس و عصاره گیاه بابونه مشخص گردید که بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی به ترپن‌ها و سسکویی ترپنهای اسانس گیاه (کامازولن، بیزابولول و فارنزن) و همچنین فلاونوییدهای ثانوی در اسانس گیاه مرتبط بودند از این رو می‌توان بیان کرد که این عصاره‌ها می‌توانند جایگزین داروهای شیمیایی برای درمان عفونت‌ها شوند (Mazareei and Fahmide, 2019; Mazandarani et al., 2011). همچنین در بررسی فیتوشیمیایی و اثر ضدقارچی اسانس گیاه دارویی بابونه در مقایسه با بورنئول سنتزی علیه قارچ *Aspergillus niger*، نتایج نشان داد که اسانس این گیاه به عنوان یک داروی گیاهی با اثرات ضدقارچی قابل‌توجه است و می‌تواند در صنایع مختلف غذایی، بهداشتی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد (Moghtader et al., 2019). مهمترین عوامل مؤثر بر ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاهان، عوامل ژنتیکی، محیطی و اثرات متقابل آنهاست. از عوامل محیطی و اکولوژیکی مؤثر می‌توان عوامل آب و هوایی، جغرافیایی و خاکی (ادافیکی) را نام برد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد، عوامل متعددی نظیر وضعیت اکولوژیکی محل رویشگاه طبیعی بر میزان کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی مؤثر است (Alimohammadi et al., 2017; Amiri et al., 2018; Mohammadian and Yadegari, 2015; Aboukhalid et al., 2017).

در نتیجه صنعتی شدن کشورها، تولید انبوه و مصرف محصولات غذایی ناسالم، به ویژه در کشورهای در حال توسعه، یکی از بهترین جایگزین ها برای بسیاری از مواد شیمیایی مضر، افزودنی های غذایی و محصولات دارویی، اسانس‌ها هستند (Kaufman et al., 2002). با رشد صنعت اسانس، تقاضا برای اسانس طبیعی به طور چشمگیری افزایش یافته است. روش‌های زیادی برای جداسازی اسانس ها از گیاهان مورد نظر استفاده شده است. همه آنها بر اساس روش‌های تقطیر و استخراج

هستند. این تکنیک‌ها زمان بر بوده و به زیرساخت‌های زیادی نیاز دارند که بسیاری از محققان را بر آن داشته تا به دنبال روش های معقول تری برای جداسازی اسانس های موردنظر باشند. استخراج با کمک امواج فراصوت یک روش قوی و موثر به عنوان جایگزینی مطلوب برای استراتژی‌های متداول مورد استفاده برای استخراج مواد فعال از قسمت های مختلف گیاهان است (Kawalski et al., 2019). در طی یک روش معمولی HD به همراه امواج فراصوت، یک موج فراصوت از بافت نمونه مورد نظر عبور می کند و باعث می شود که حلال به نمونه نفوذ کرده و مولکول های هدف را به‌طور موثر استخراج کند. هدف اصلی موج فراصوت تسهیل انتقال جرم بین نمونه و حلال استخراج است]. استفاده از امواج فراصوت معمولاً از طریق دو روش متفاوت انجام می‌شود. حمام اولتراسونیک و پروب‌های اولتراسونیک. در هر دو سیستم، مبدلهای پیزوالکتریک به‌عنوان منابع ارتعاش مورد استفاده قرار می‌گیرند همچنین، روشهای مختلف مانند امواج فراصوت به تنهایی و تقطیر به همراه امواج فراصوت به صورت همزمان استفاده شد. داده‌ها نشان دهنده حداکثر بازده در کمترین زمان نسبت به زمانی است که از هر دو سیستم (امواج فراصوت به همراه تقطیر) به صورت همزمان استفاده شود(Hashemi et al., 2018). برخی گزارشها استفاده از پروبهای امواج فراصوت به صورت پیوسته همراه با فرآیند سنتی تقطیر را که منجر به زمان کوتاهتر استخراج و بازده بیشتر در مقایسه با روش‌های بدون امواج فراصوت تأیید می کنند. مطالعات موجود در مورد روش امواج فراصوت در مواد گیاهی برای جداسازی اسانس نشان می دهد که فرکانس های پایین بین ۲۰ تا ۵۰ کیلووات و بین ۲۰ تا ٤٠ دقیقه متغیر است. در نتیجه کاهش زمان تقریباً ۷۰ درصد نسبت به استفاده از روش تقطیرمعمولی به دست آمد (Chemat et al., 2019). این ممکن است با افزایش استخراج ترکیبات فعال زیستی و در نتیجه بهبود فعالیت‌های بیولوژیکی اسانس‌ها همراه باشد. علاوه بر این، ترکیبی از استخراج با کمک امواج فراصوت با سایر فناوری‌های استخراج مانند استخراج فوق بحرانی باعث کاهش زمان و حجم حلال می شود (Liu et al., 2019). از نظر خواص دارویی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ضدمیکروبی بابونه زمینه مناسبی را فراهم می‌کند که از نتا یج این بررسی‌ها جهت جایگزین نمودن داروهایی با منشاء طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های میکروبی استفاده نمود و این امر می‌تواند موجب کاهش مصرف داروهای شیمیایی و عوارض ناشی از آن شود. به همین دلیل است که جداسازی کارآمد اسانس بابونه با خلوص بالا ارزشمند است. یک مکانیسم جدید برای استخراج اسانس‌های گیاهی استفاده همزمان امواج فراصوت به همراه تکنیک تقطیر با آب جداسازی موثر اسانس بابونه می‌باشد. در هر دو روش. دو جزء اصلی اسانس کامازولن و بیزتبولول با موفقیت شناسایی و با استفاده از روش پیشنهادی به‌عنوان یک روش کاربردی برای جداسازی اسانس‌ها از نمونه‌های بابئنه تعیین شد.

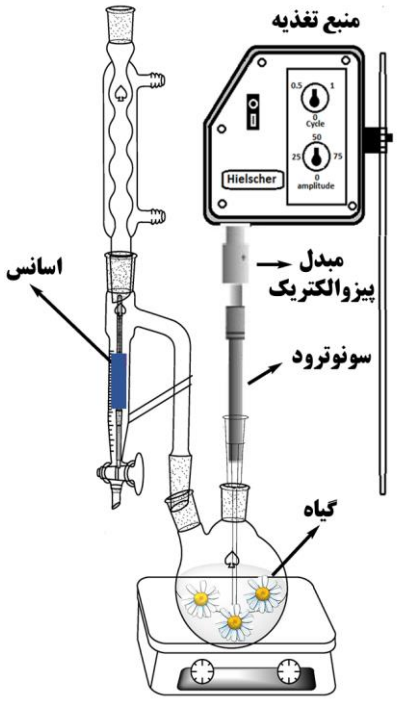
مواد و روش‌ها

گلهای گیاه از مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران در فصل گلدهی برداشت گردید و توسط دکتر علی سنبلی شناسایی و به شماره کد هرباریومی 2131 -MPH) شناسایی گردید. پس از تطبیق گیاهان مورد برداشت با نمونه‌های هرباریومی در بخش هرباریوم پژوهشکده و تأیید محقق گیاه‌شناسی، جهت انجام مراحل بعدی به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از جمع‌آوری نمونه‌ها، گلهای گیاه تمیز شدند. سپس نمونه‌ها به روش هوای

آزاد در سایه با دمای معمولی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد بر روی روزنامه پس از گذشت چندین روز کاملاً خشک شدند. بعد از خشک شدن، اقدام به خرد کردن اندام‌های گیاهی در قطعات ریز گردید. سپس مقدار ۳۰۰ گرم از هر نمونه با ترازوی دیجیتالی مدل Sartorius ساخت کشور آلمان با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. اسانس‌گیری به روشهای تقطیر با آب و روش فرا صوت انجام گرفت.

جداسازی اسانس: اسانس گیاه خشک شده در مجاورت هوا (۵۰ گرم) با استفاده از دستگاه کلونجر (فارماکوپه بریتانیا) با روش تقطیر سه بار جداسازی شد. ترکیبات موجود در اسانس با سه بار تکرار مورد بررسی قرار گرفت و تعیین شد. اسانس‌ها توسط سدیم سولفات بدون آب خشک شده و تا زمان تجزیه و تحلیل و آزمایش در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در ویال‌های تیره نگهداری شدند. دستگاه طراحی شده جهت بهینه سازی استخراج اسانس در مقیاس کم اما با بهره وری بالا با امواج التراسونیک و پیزوالکتیک بشر شکل ذیل می‌باشد.

اتیل استات با خلوص مورد استفاده در کرواتوگرافی گازی از شرکت Sigma-Aldrich (میلواکی، WI، ایالات متحده آمریکا) خریداری شد. آب دو بار تقطیر شده با استفاده از سیستم تصفیه آب Younglin AquaMax بدست آمد (سئول، کره جنوبی). تمام ابزارهای شیشه ای در این روش، شامل سیستم های تقطیر و کندانسور، به صورت دستی در آزمایشگاه ساخته شد. گیاه بابونه توسط شرکت VASHA Herbals، قم، ایران، در سال ۲۰۱۷ تهیه شد. مواد گیاهی توسط دکتر علی سنبلی به شماره هرباریومی (MPH-1414) در پژوهشکده گیاهان مو مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران شناسایی شد.



شکل ۱: طراحی دستگاه تلفیق شده استخراج کننده اسانس با تکنولوژی فراصوت ساطع شده از اجسام با خاصیت پیزو الکتریک و تقطیر با آب

شرایط دستگاهی

جداسازی اسانس به روش تقطیر به همراه امواج فراصوت: جهت انجام این قسمت از آزمایش از دستگاه فراصوت به همراه هموژن کننده امواج (UP200S؛ Hielscher، Teltow، آلمان) مجهز به پروب تیتانیوم به قطر ١٤ میلی متر استفاده شد. امواج فراصووت در روش استفاده از کلونجر به صورتی که در شکل ۱ نمایش داده شده است مورد استفاده قرار گرفت. امواج فراصوت با قدرت (۲۰، ۳۰ و ۵۰ وات در٢٤ کیلوهرتز) برای جداسازی اسانس در روش کلونجر با فاصله ۳۰ ثانیه روشن/خاموش مورد استفاده قرار گرفت. سرعت عبور آب مقطر از اتیل استات (۲۰ میلی لیتر) به عنوان حلال استخراج ا ۱/۵ میلی لیتر در دقیقه می‌باشد. اتیل استات جمع آوری شده تحت خلاء با استفاده از دستگاه روتاری‌هایدولف تبخیر شد و اسانس باقیمانده برای تجزیه و تحلیل بیشتر ذخیره شد.

تجزیه، تحلیل، شناسایی و تعیین کمی اجزای اسانس توسط روش GC-FID و GC-MS: تجزیه و تحلیل بر روی ستون سیلیکا DB-5 (30 m × 0.25mm و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) انجام شد. دمای تزریق کننده و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ درجه و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و نیتروژن به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱/۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. برنامه دمای آون ٦٠ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد (٤ درجه سانتی‌گراد در دقیقه) بود و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه دما ثابت نگه داشته شد. کروماتوگرافی گازی/طیف سنجی جرمی (GC-MS) مجهز به کروماتوگراف گازی – Thermoquest Finnigan مجهز به ستون مویینه سیلیکا DB-5 (٦٠ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر؛ ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) همراه با طیف سنج جرمی TRACE (منچستر، بریتانیا) می‌باشد. از هلیوم به عنوان گاز حامل با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد و درجه حرارت منبع یون و سطح رابط به‌ترتیب ۲۰۰ درجه و ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و محدوده جرم قابل اندازه‌گیری ۳۵-٤٥٦ گرم می‌باشد. برنامه درجه حرارت آون مشابه موارد گفته شده در بالا برای GC-FID می باشد. اسانس رقیق شده در اتیل استات با نسبت ۱:۱۰ و به میزان ۱ میکرولیتر به دستگاه تزریق شد و برای تجزیه و تحلیل GC-MS، از حالت تاخیر حلال استفاده شده است. اجزای تشکیل دهنده اسانس‌ها با محاسبه شاخص‌های نگهداری تحت شرایط برنامه ریزی دمایی برای آلکان‌های نرمال با ٦ تا ٢٤ کربن و اسانس روی یک ستون DB-5 تحت شرایط کروماتوگرافی مشابه شناسایی می‌شوند. هر ترکیب با مقایسه طیف‌های جرمی آنها با کتابخانه طیف‌های جرمی مرجع داخلی (Adams and Wiley 7.0) یا با ترکیبات شناخته شده مشخص شد و با مقایسه شاخص های پایداری آنها با ترکیبات شناخته شده یا مواردی که در ادبیات گزارش شده است (Adams 2017) تأیید شد. برای مقادیر کمی، درصد مساحت نسبی به دست آمده توسط FID بدون استفاده از فاکتورهای تصحیح استفاده شد.

بررسی ظرفیت مهار رادیکالهای آزاد: به منظور بررسی قدرت مهار آنتی اکسیدانی اسانس‌های بدست آمده از روش آزمون DPPH استفاده گردید (Formisanoa et al., 2015). برای انجام این تست، ابتدا محلول‌هایی با غلظت‌های مشخص (۰/۱ ۰/۲، ۰/۵، ۱/۰ و ۵/۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر) از هر نمونه تهیه کرده و مقدار ۵۰ µl از هر یک را در ستون‌های مجزا میکروپلیت به هر ۸ چاهک ستون اضافه شد. در ستونی مجزا نیز همین روند را برای حلال نمونه تکرار شد. در مرحله بعد به چهار ردیف اول هر ستون مقدار ۲۰۰ µl از محلول DPPH ۲۰۰ µl (چاهک نمونه) و به ٤ ردیف دوم مقدار ۲۰۰ µm

متانول (چاهک شاهد) اضافه شد. در پایان، پلیت را با ورق آلومینیوم پوشانده و به مدت نیم ساعت در دستگاه شیکر انکوباتور (Incubator Shaker) قرار گرفت. بعد از نیم ساعت پلیت را در دستگاه الایزا قرار داده و جذب آن را در ۵۱۷ نانومترثبت شد. میزان درصد مهار رادیکال آزاد را برای هر غلظت طبق معادله زیر بدست آمد و سپس منحنی غلظت در برابر درصد مهار رادیکال آزاد رسم کرده و از معادله خط بدست آمده غلظتی که سبب ۵۰ درصد مهار ر رادیکال آزاد میشود محاسبه گردید.

$$\%Inhibition = Abs_{517}(control) - Abs_{517}(sample)/Abs_{517}(control) \times 100$$

$Abs_{517}(Sample)$= میانگین جذب چاهک‌های شاهد – میانگین جذب چاهک‌های نمونه

$Abs_{517}(control)$ = میانگین جذب چاهکهای شاهد (کنترل) – میانگین جذب چاهکهای نمونه (کنترل)

روش امواج فراصوت به همراه روش تقطیر با آب: ابتدا، اسانس نمونه‌های خشک شده بابونه (۲۰ گرم) با استفاده از دستگاه تقطیر با آب یا کلونجر نوع توصیه شده توسط فارماکوپه انگلیسی به مدت ۳ ساعت جدا شد. سپس، این تجهیزات طوری طراحی شده اند که اسانس گیاه را جدا کرده و به همان صورت در سیستم تقطیر باقی می ماند (شکل ۱). قدرت امواج فراصوت در سطح انرژی ۵۰ وات، بر اساس اطلاعات گزارش شده تنظیم شد. وقتی مقدار اسانس به مقدار ثابت رسید، زمان جداسازی اسانس در تمام آزمایشها ۶۰ دقیقه انتخاب شد.. در نتیجه، به طور بازده کلی دستگاه معمولی از نوع کلونجر، ۰,۰۵ میلی لیتر در ۱۰۰ گرم DW در مدت ۱ ساعت بود. از سوی دیگر، بازده اسانس جداسازی شده با سیستم کلونجر به همراه امواج فراصوت ۰,۱ میلی لیتر در ۱۰۰ گرمDW در۵۰ وات، پس از ۶۰ دقیقه بود.

نتایج

کروماتوگرام‌های حاصل از تجزیه شیمیایی اسانس گیاه مورد مطالعه قرار گرفت و درصد نسبی ترکیبات با توجه به سطح زیر منحنی هر ترکیب در طیف کروماتوگراف گازی محاسبه گردید. شناسایی این ترکیبات به کمک پارامتر اندیس R.T (زمان بازداری) (جدول و شکل شماره ۱). اثر روش‌های مختلف استخراج اسانس بر کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثره اسانس مخصوصا کامازولن و بیزابولون کاملا معنی‌دار بود (جدول ۳). همبستگی مستقیم و معنی‌داری بین درصد اسانس، کاهش زمان استخراج با ترکیبات مؤثره اسانس شامل کامازولن و آلفا بیزابولن اکسید وجود داشت که در روش فراصوت نشان داد هم حجم بیشتری از اسانس در زمان کمتر قابل استحصال است و هم اینکه از میزان بیشتر کامازولن تا حدود ۱۷ درصد قابل استحصال است ولی در روش تقطیر با آب بالعکس میزان استحصال بیزابولول تا ٦٦ درصد افزایش پیدا کرد پس بسته به اینکه بدنبال کاهش زمان استخراج و یا بهینه سازی میزان استحصال اسانس و یا بدنبال ترکیب خاصی از سسکویی ترپن‌های اسانس هستیم، میتوان از روشهای مختلف ببه جهت بهینه سازی کمیت و کیفیت اسانس‌ها بهره کاربردی برد.

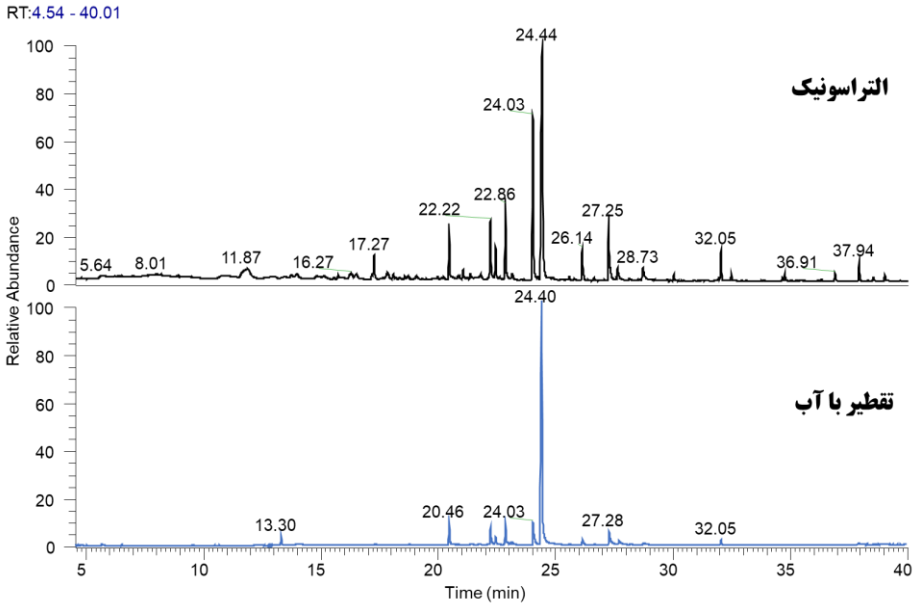
تجزیه ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بابونه به روش کروماتوگرافی گازی منجر به شناسایی ۲۱ ترکیب گردید مقایسه کروماتوگرام اسانس‌هاس بدست آمده در شکل ۲ قابل رویت می‌باشد. مواد اصلی تشکیل دهنده اسانس به روش تقطیر با آب آلفا- بیزابولن اکسید (٦٦,۰۸ درصد)، کامازولن (رصد ٦,٤٦)، اسپاتلونول (درصد٤,۹۱) و بیزابولن اکساید (درصد٤,۷۱) بدست آمد. مواد اصلی تشکیل‌دهنده اسانس به روش تقطیر با آب کوپل شده

ولی در مقایسه با با امواج فراصوت میزان آلفا-بیزابولن (درصد۳۸,۲۷)، کامازولن (درصد۱۷,۲۳)، اسپاتلونول (درصد٤,۰۱) و بیزابولن اکساید (درصد ٦,۳۸) بدست آمد. یکی از ملاک‌های اصلی در تعیین کیفیت اسانس بایونه میزان کامازولن آن می‌باشد که نتایج بدست آمده در این روش نشان داد در حالی که روش تقطیر با آب به همراه امواج فراصوت بسیار سریعتر بوده و در مدت زمان ٦۰ دقیقه بالاترین سطح به دست آمده است، همچنین مقدار کامازولن تا ۳ برابر افزایش پیدا کرده است که نشاندهنده کارآیی بسیار بالای این تکنیک در استحصال اسانس این گیاه می باشد. نتایج نشان می دهد که استفاده از امواج فراصوت زمان لازم برای دستیابی به این بازده را تا ۳ برابر کاهش می دهد. این به دلیل افزایش انتقال جرم است که توسط پدیده‌های حفره‌سازی مربوط به امواج فراصوت افزایش پیدا می‌کند.

در ارزیابی آنتی‌اکسیدانی اسانسها در مهار رادیکالهای آزاد جدول ۲ مشخص شد که اسانس اتحصالی از روش مافوق صوت از بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکالهای آزاد برخوردار است (۰/٤۷ میلی گرم/ میلی‌لیتر) در مقایسه با استاندارد اسکوربیک اسید (۰/۰۹ میلی گرم/ میلی لیتر).

جدول ۱: ارزیابی مقایسه‌ای مهمترین ترکیبات ثانوی اسانس گیاه بابونه در دو روش تقطیر با آب و روش امواج مافوق صوت

شماره	ترکیبات شناسایی شده	زمان بازداری	شاخص بازداری	روش امواج مافوق صورت (٪)	روش تقطیر با آب (٪)
1	perilla ketone	11.87	1245	2.8	-
2	tridecane	13.33	1300	-	1.59
3	Z,E-α-Farnesene	13.99	1325	1.05	1.35
4	cedr-8 ene	16.26	1413	1.62	-
5	β-cedrene	16.51	1423	1.48	-
6	β-farnesene	17.27	1454	2.29	0.31
7	ledenoxide-II	17.83	1476	0.78	-
9	spathulenol	20.47	1586	4.01	4.91
10	α-bisabololoxide B	22.22	1662	4.85	4.38
11	nerolidol epoxy acetate	22.45	1672	2.5	1.76
12	bisabolene oxide	22.86	1690	6.38	4.71
13	chamazulene	24.03	1745	**17.23**	**6.46**
14	α-bisabololoxide A	24.44	1764	**38.27**	**66.08**
15	hexahydrofarnesylacetone	26.14	1845	2.84	1.28
16	Z-spiroether	27.25	1899	6.17	4.10
17	E-spiroether	27.64	1919	1.05	1.38
19	palmitic acid	28.73	1974	1.7	0.47
20	(Z,Z)-9,12-octadecanoicenoic acid	32.05	2152	2.48	0.93
21	pentacosane	37.94	2499	1.47	0.28
	Total			**98.9**	**99.7**



شکل ۲: مقایسه کروماتوگرام اسانس‌های بدست آمده به دو روش امواج التراسونیک (الف) تقطیر با آب (ب)

جدول ۲: مقایسه عملکرد آنتی اکسیدانی اسانس گیاه در دو روش تقطیر و فراصوت

نمونه	DPPH IC_{50} (mg/ml)
اسانس حاصل از تقطیر با آب	۲/۲
اسانس حاصل از امواج فراصوت تلفیق شده با تقطیر با آب	۰/٤٧
اسکوربیک اسید	۰/۰۹

بحث

همانطور که از یافته‌های جدول ۱ و ۲ قابل استنباط است، همبستگی مستقیم و معنی‌داری بین درصد اسانس، کاهش زمان استخراج با ترکیبات مؤثره اسانس شامل کامازولن و آلفا بیزابولن اکسید وجود داشت که در روش فراصوت نشان داد هم حجم بیشتری از اسانس در زمان کمتر قابل استحصال است و هم اینکه از میزان بیشتر کامازولن تا حدود ۱۷ درصد قابل استحصال است ولی در روش تقطیر با آب بالعکس میزان استحصال بیزابولول تا ٦٦ درصد افزایش پیدا کرد پس بسته به اینکه بدنبال کاهش زمان استخراج و یا بهینه سازی میزان استحصال اسانس و یا بدنبال ترکیب خاصی از سسکویی ترپن‌های اسانس هستیم، می‌توان از روش‌های مختلف ببه جهت بهینه‌سازی کمیت و کیفیت اسانس‌ها بهره کاربردی برد. در بررسی‌های مشابه نیز مشخص گردید، اسانس گلها ی گیاه بابونه بدلیل ترکیبات ثانوی ترپنوییدی: بیزابولول، کامازولن و فارنزن دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی مانند خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است (Aboukhalid et al., 2017). بیش از ۱۲۰ ترکیب در اسانس بابونه شناخته شده است که ترپنوییدها و مخصوصا سسکویی ترپنهای : آلفا- بیسابولول، کامازولن، β- فارنزن، اکسیدهای بیسابولول A و B و α- بیسابولون اکسید A از مهمترین آنها هستند (Izadi et al., 2013) و همچنین فلاونوئیدهای: لوتئولین، آپیژنین و کوئرستین از مهمترین ترکیبات ضدالتهابی ؛ ضدمیکروبی و ضد دردی عصاره و

اسانس گیاه است. در بررسی‌های مختلف کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گلهای گیاه را به تنوع رویشگاهی، عوامل اکولوژیکی، زمان برداشت، روش استخراج و زمان ماندگاری اسانس‌ها نسبت داده‌اند (Mozaffarian, 2008, Askin et al., 2005). (Liu et al., 2018). بنابراین ترکیب‌های ثانوی بابونه مثل کامازولن و بیزابولول و فارنزن دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی بعنوان ضد التهاب، آنتی اکسیدان، ضد باکتری و ضد قارچ هستند (Liu et al., 2018; Franze et al., 2011; Izadi et al., , 2013). در بررسی دیگر مشابه مشخص گردید که بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی به ترپن‌ها و سسکویی ترپن‌های اسانس گیاه (کامازولن، بیزابولول و فارنزن) و همچنین فلاونوییدهای ثانوی در اسانس گیاه مرتبط بودند از این رو می‌توان بیان کرد که این عصاره‌ها می‌توانند جایگزین داروهای شیمیایی برای درمان عفونت‌ها شوند (Mazareei and Fahmide, 2019; Mazandarani et al., 2011). همچنین در بررسی فیتوشیمیایی و اثر ضدقارچی اسانس گیاه دارویی بابونه در مقایسه با بورنئول سنتزی علیه قارچ *Aspergillus niger*، نتایج نشان داد که اسانس این گیاه به‌عنوان یک داروی گیاهی با اثرات ضدقارچی قابل‌توجه است و می‌تواند در صنایع مختلف غذایی، بهداشتی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد (Moghtader et al., 2019).

مهمترین عوامل مؤثر بر ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاهان، عوامل ژنتیکی، محیطی و اثرات متقابل آنهاست. از عوامل محیطی و اکولوژیکی مؤثر می‌توان عوامل آب و هوایی، جغرافیایی و خاکی (ادافیکی) را نام برد. مطالعات مختلف نشان می‌دهد، عوامل متعددی نظیر وضعیت اکولوژیکی محل رویشگاه طبیعی بر میزان کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی مؤثر است (Alimohammadi et al., 2017; Amiri et al., 2018; Mohammadian and Yadegari, 2015; Aboukhalid et al., 2017).

در قرن اخیر نتیجه صنعتی شدن کشورها، تولید انبوه و مصرف محصولات غذایی ناسالم، به ویژه در کشورهای در حال توسعه، یکی از بهترین جایگزین ها برای بسیاری از مواد شیمیایی مضر، افزودنی های غذایی و محصولات دارویی، اسانس‌ها هستند (Kaufman et al., 2002). لذا با رشد صنعت اسانس، تقاضا برای اسانس طبیعی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است. روشهای زیادی برای جداسازی اسانس ها از گیاهان مورد نظر استفاده شده است. همه آنها براساس روشهای تقطیر و استخراج هستند. این تکنیک ها زمان بر بوده و به زیرساخت های زیادی نیاز دارند که بسیاری از محققان را بر آن داشته تا به دنبال روش‌های معقول تری برای جداسازی اسانس‌های موردنظر باشند. استخراج با کمک امواج فراصوت یک روش قوی و موثر به عنوان جایگزینی مطلوب برای استراتژی های متداول مورد استفاده برای استخراج مواد فعال از قسمت‌های مختلف گیاهان است (Kawalski et al., 2019). در تایید این موضوع نتایج این تحقیق حاکی از آن است که اثر روشهای مختلف استخراج اسانس بر کمیت و کیفیت ترکیبات مؤثره اسانس مخصوصا کامازولن و بیزابولون کاملاً معنی‌دار بود (جدول ۱). همبستگی مستقیم و معنی‌داری بین درصد اسانس، کاهش زمان استخراج با ترکیبات مؤثره اسانس شامل کامازولن و آلفا بیزابولن اکسید وجود داشت که در روش فراصوت نشان داد هم حجم بیشتری از اسانس در زمان کمتر قابل استحصال است و هم اینکه از میزان بیشتر کامازولن تا حدود ۱۸ درصد قابل استحصال است ولی در روش تقطیر با آب بالعکس میزان استحصال بیزابولول تا ٦٦ درصد افزایش پیدا کرد. پس بسته به اینکه بدنبال

کاهش زمان استخراج و یا بهینه سازی میزان استحصال اسانس و یا بدنبال ترکیب خاصی از سسکویی ترپن‌های اسانس هستیم، می‌توان از روش‌های مختلف به جهت بهینه‌سازی کمیت و کیفیت اسانس‌ها بهره کاربردی برد. همچنین در ارزیابی و مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها در مهار رادیکالهای آزاد نیز در جدول ۲ مشخص شد که اسانس استحصالی از روش مافوق صوت، از بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در مهار رادیکالهای آزاد برخوردار است (۰/٤۷ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) در مقایسه با روش تقطیر با آب (جدول ۲)- استاندارد اسکوربیک اسید (۰/۰۹ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر). در بررسی‌های مشابه این تحقیق گروه افشاری و همکاران در طی سال‌های مختلف کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه در مراحل مختلف بررسی و مقایسه کردند و مشخص شد که در طی زمان‌های اولیه برداشت میزان بیزابولول اسانس بابونه افزایش داشت (٤۷,۲ درصد) و در طی زمان ماندگاری میزان آن به ۲,۷ درصد کاهش یافت در صورتیکه برای ماده موثره کامازولن با افزایش زمان ماندگاری و انبارداری در طی دو سال از ۲۷,٤ درصد به ۷۵,۸ درصد افزایش پیدا کرد و این موضوع لزوم ارزیابی و مقایسه کمی و کیفی مواد موثره اسانسها را به منظور اینکه در کدام مرحله به دنبال کدام ماده موثره گیاه و اثرات درمانی آن هستیم، را بیشتر پیش توجیه می‌سازد (Mazandarani et al., 2011; Afshar et al., 2015).

در همین رابطه آریانفر و همکاران از سزکویی ترپن‌های بیزابولن وکامازولن بعنوان مهمترین مواد موثره دارویی گیاه به همراه فارنزن و فلاونوییدهای آپی ژنین، لوتوولین و کویرستین نام برده اند که به گیاه خواص ضدالتهابی، ضدویروسی، ضدقارچی، ضد باکتریایی و ضد اگزما و مسکن داده است (Arianfar et al., 2018). در تحقیق دیگر مشابه از ترکیبات کامازولن و آلفا- بیسابولول و بتا- فارنزن موجود در اسانس گیاه بابونه که بسته به نوع استحصال و روش‌های مختلف اسانس‌گیری متفاوت است به‌عنوان ضد قارچی برای مهار رشد قارچ‌ها در مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵ و، ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر استفاده شد و و از مهمترین مواد موثره آن به ترکیبات شیمیایی تا ۲۷ درصد، بتا- فارنزن تا حدود ۲۷ درصد، لیمونن تا ۱۵ درصد، و بیسابولئول اکسید تا ١٤ درصد و کامازولن تا ۱۸ درصد متغیر گزارش شد و اسانس گیاه در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر در برابر رشد *F. culmorum*، فعالیت خوبی داشتند. نتایج نشان می‌دهد استفاده بالقوه از اسانس گیاه و استحصال بهینه ترکیبات اصلی اسانس مثل بیسابولول، کامازولن و بتا فارنزن میتواند در بهینه سازی اثرات دارویی ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی گیاه موثر باشد (EL-Hefny et al., 2019; Moghtader et al., 2019).

در بررسیهای دیگر نیز از ترکیبات شیمیایی ترپنوییدی، سسکویی ترپنی، فلاونوئیدی اسانس گیاه در مهار میسلیوم، تولید کنیدال و اسپوراسیون قارچ‌ها از رشد قارچ‌ها و عوامل بیماری زای قارچی *Rhizoctonia solani*، *F. oxysporum*، *F. moniliforme* و *A. solani* و *Aspergillus sp* را مهار کند.(Hiremath et al., 2020). که همچنین به اقتضای همان ترکیبات دارای اثرات ضد التهابی و ضد میکروبی، ضد سرطان و تسکین دهندگی نیز گزارش شده است (Marjanovic et al., 2016).

کامازولن یک ترکیب سسکویترپن در عصاره آبی و اتانولی و اسانس بابونه است که ارزش فراوان در صنایع دارویی و آرایشی استفاده می‌شود مقدار کامازولن در بابونه‌های مختلف بستگی به اصل و سن ماده دارد و در طول نگهداری گلها کاهش یافته است که در بررسی‌های فراوان به اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدقارچی و ضدباکتریایی آن در ترمیم

عفونت‌ها و مسکن اشاذه شده است (Mazraee et al., 2019). بیسابولول اکسید A، β-farnesene- (Z)، ٤-isopropenyl-1-methyl-cyclohexene و chamazulene به‌عنوان ترکیبات اصلی در عصاره n-hexane گلهای خشک شده *M. recutita* گزارش شده است که در مهار رادیکالهای آزاد و خاصیت ضدسرطانی، فعالیت ضدقارچی، ضدمیکروبی خوبی نشان داده است (Marjanovic- Balaban et al., 2016). در تحقیقات مشابه دیگر بیش از ۱۲۰ ماده تشکیل‌دهنده در گلهای بابونه شناسایی شده است که عبارتند از: ترپنوئیدهای α-بیسابولول و اکسیدهای آن (≥ ۷۸٪) و آزولن‌ها، از جمله کامازولن، فارنزن و بیسابولول و فلاونوییدهای: اسید کلروژنیک، کافئیک اسید؛ apigenin، quercetin، patuletin، luteolin است که در گلهای گیاه اجزای اصلی اسانس ترپنوئیدهای آلفا بیسابولول از گلها استخراج می‌شوند که در بررسی‌های مختلف کمیت و کیفیت این ترکیبات بسته به شرایط رویشگاهی، زمان برداشت و نحوه استحصال و ماندگاری نمئونه‌ها متغیر گزارش شدند و اثرات دارویی آنها نیز بسته به شرایط تغییر کرد (Apodaca et al., 2017; Alimohammad et al., 2017; Ghasemi et al., 2019). استفاده از امواج فراصوت معمولاً از طریق دو روش متفاوت انجام می شود. حمام اولتراسونیک و پروب های اولتراسونیک. در هر دو سیستم، مبدل‌های پیزوالکتریک به‌عنوان منابع ارتعاش مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین روش‌های مختلف مانند امواج فراصوت به تنهایی و تقطیر به همراه امواج فراصوت به صورت همزمان استفاده شد. داده‌ها نشان‌دهنده حداکثر بازده در کمترین زمان نسبت به زمانی است که از هر دو سیستم (امواج فراصوت به همراه تقطیر) به‌صورت همزمان استفاده شود (Hashemi et al., 2018; Smigiclsk et al., 2014). برخی گزارش‌ها استفاده از پروبهای امواج فراصوت به‌صورت پیوسته همراه با فرآیند سنتی تقطیر را که منجر به زمان کوتاهتر استخراج و بازده بیشتر در مقایسه با روش‌های بدون امواج فراصوت تأیید می‌کنند. مطالعات موجود در مورد روش امواج فراصوت در مواد گیاهی برای جداسازی اسانس نشان می‌دهد که فرکانس‌های پایین بین ۲۰ تا ۵۰ کیلو وات و بین ۲۰ تا ٤٠ دقیقه متغیر است. در نتیجه کاهش زمان تقریباً ۷۰ درصد نسبت به استفاده از روش تقطیرمعمولی به دست آمد (Chemat et al., 2019; Yang et al., 2014). این ممکن است با افزایش استخراج ترکیبات فعال زیستی و در نتیجه بهبود فعالیت‌های بیولوژیکی اسانس‌ها همراه باشد. علاوه بر این، ترکیبی از استخراج با کمک امواج فراصوت با سایر فناوری‌های استخراج مانند استخراج فوق بحرانی باعث کاهش زمان و حجم حلال می‌شود (Liu et al., 2019; Santos et al., 2019; Perera et al., 2021). در بررسی‌های مشابه دیگر و در مطالعات بالینی از مواد بیسابولول و کامازولن و بتا فارنزن و لیمونن در اسانس گیاه بابونه به‌عنوان ضدالتهاب قوی، ضدسرطان ضدانگل، و رفع التهاب و عفونت‌های پوستی و عفونت‌های باکتریایی ; *S.aureus; S.epidermidis; Shigella E.coli* گزارش شده است و از ترپنوییدهای گیاه به‌عنوان ضدحساسیت و آنتی‌آلرژن و ضدموتاژن نام برده شده است (Liu et al., 2018; Mazraee et al., 2019; Marjanovic – Balaban et al., 2016; Hamdy et al., 2013). در تحقیقی دیگر از کامازولن و بیزابولو.ل بعنوان آنتی موتاژن در القای آپوپتوزیس و جلوگیری از تکثیر غیرطبیعی سلول‌ها در درمان سرطان پوست گزارش شد در تحقیقی دیگر گزارش شد که با افزایش میزان کامازولن در روش استحصال فراصوت باعث شد میزان اثر ضدقارچی آن تا دو برابر افزایش یافت سسکویی‌ترپن‌ها ترپنوییدها و

فلاونوییدهای اسانس و عصاره گیاه بابونه به‌عنوان ضدالتهاب در درمان التهابات گوارشی، زخم، زخم معده، اسهال، شکم درد و دردهای روماتیسمی گزارش شده است (Moghtaderi et al., 2019).

نتیجه‌گیری نهایی

گیاه دارویی بابونه .*M.chammomil* L با خواص متنوع دارویی از جمله آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد میکروبی به مقتضای ترکیبات فعال ثانوی آن (بیزابولول و کامازولن) زمینه مناسبی را به جهت جایگزین نمودن داروهایی با منشاء طبیعی برای کنترل و درمان عفونتهای میکروبی ایجاد میکند و این امر می تواند موجب کاهش مصرف داروها ی شیمیایی و عوارض ناشی از آن شود. نتایج نشان داد که عملکرد استخراج اسانس بابونه، کمیت و کیفیت مواد موثره آن زمان استحصال اسانس و عملکرد آنتی اکسیدانی آن اسانس در روش فراصوت بسیار بهینه تر از روش تقطیر با آب میباشد بطوریکه استفاده از امواج فراصوت زمان لازم برای دستیابی به این بازده را تا ۳ برابر کاهش می دهد و میزان ماده موثره شاخص کیفیت را بسیار افزایش می دهد همچنین اثرات آنتی اکسدانتی اسانس بدست آمده به روش تلفیقی با امواج فراصوت بهبود قابل ملاحظه ای داشتند. بنابراین یک مکانیسم جدید برای استخراج اسانس‌های گیاهی استفاده همزمان امواج فراصوت به همراه تکنیک تقطیر با آب جداسازی موثر اسانس بابونه می‌باشد. در هر دو روش . دو جزء اصلی اسانس کامازولن و بیزابولول با موفقیت شناسایی و با استفاده از روش پیشنهادی به عنوان یک روش کاربردی کارامد برای جداسازی مهمترین ترکیبات ثانوی دارویی اسانس‌ها از نمونه‌های بابونه تعیین شد.

References

1. Aboukhalid, K., Al Faiz, C., Douaik, A., Bakha, M., Kursa, K., Agacka-Mołdoch, M., Machon, N., Tomi, F. and Lamiri, A. 2017. Influence of environmental factors on essential oil variability in *Origanum compactum* benth. growing wild in Morocco. Chemistry & Biodiversity, 14(9): 158-164.
2. Alimohammadi, M., Yadegari, M. and Shirmardi, H.A. 2017. Effect of elevation and phonological stages on essential oil composition of *Stachys*. Turkish Journal of Biochemistry, 42: 647–656.
3. Amiri, N., Yadegari, M. and Hamedi, B. 2018. Essential oil composition of *Cirsium arvense* L. produced in different climate and soil properties. Records of Natural Products, 12: 251-262.
4. Askin H, Tepe B, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M. Composition of the essential oils of *Tanacetum argyrophyllum* and *Matricaria chamomile* from Turkey. Biochem Syst Ecol 2005; 33: 511-6.
5. Arianfar, M., Akbari Nodehi, D., Khodayar, H. and Rostampour, M. 2018. Effect of height and aspect on essential oil yield and some phytochemical properties of medicinal plants. *Artemisia aucheri* Bois., and *Matricaria chamomile* .Besser in South Khorasan rangelands. Journal of Rangeland, 11(3): 281-294.
6. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G. , Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S. , 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review, Ultrasonics sonochemistry 34 ; 540-560.
7. Formisanoa, C., Sebastiano, F.O, Gian Carlo ,. Daniela , R., Senatorea, F. 2015. Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise

(South-central Italy). ,. Volume 63, January, Pages 256-263

8. Franze C, Hoelzel J, Voemel A. Preliminary morphological and chemical characterization of some population and varieties of *Matricaria chamomila* L. Acta Hortic 2011 2: 379-85.
9. Ghasemi Arian, A., Fazeli Kakhki, S.F. and Rohani, H. 2019. Investigation of some ecological characteristics of *Artemisia sieberi* Besser. and estimation of its density by neural networks in Roodab section of Sabzevar. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 7(4): 97-109.
10. Ghasemi Pirbalouti, A., Firoznezhad, M., Craker, L. and Akbarzadeh, M. 2013. Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. Revista Brasileira de Farmacognosia, 23: 861-869.
11. Hiremath, C., Yadav, M. K., Swamy Gowda, M. R., Kumar, A. N. and Srinivas, K.V.N. 2020. Influence of growth stage on essential oil content and major chemical constituents of *Artemisia pallens* Bess. Trends in Phytochemical Research, 4: 85-92.
12. Hamdy, M. H . Robyab, M. A ; Khaled, S., SelimaKhalel, A.H., Khalela , I. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Industrial Crops and Products Volume 44, January, Pages 437-445
13. Hashemi, S.M.B., Khaneghah, A.M., Koubaa, M., F.J. Barba, E. Abedi, M. Niakousari, J. Tavakoli, 2018. Extraction of essential oil from *Aloysia citriodora* Palau leaves using continuous and pulsed ultrasound: Kinetics, antioxidant activity and antimicrobial properties, Process Biochemistry 65 , 197-204.
14. Izadi Z, Modares sanavi AM, Sorooshzadeh A, Esna-Ashari M, Davoodi P. 2013. Antimicrobial activity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). Armaghane Danesh.;18(1):31-43. [In Persian[
15. Kaufmann, B.., Christen, P. , 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave assisted extraction and pressurised solvent extraction, Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques 13(2) ; 105-113.
16. Kowalski, R., M. Gagoś, G. Kowalska, U. Pankiewicz, M. Sujka, A. Mazurek, A. Nawrocka, 2019. Effects of ultrasound technique on the composition of different essential oils, Journal of analytical methods in chemistry .
17. Liu, X.-Y., H. Ou, Z.-B. Xiang, H. 2019. Gregersen, Optimization, chemical constituents and bioactivity of essential oil from Iberis amara seeds extracted by ultrasound-assisted hydrodistillation compared to conventional techniques, Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 13 ; 100204.
18. Liu, T., Linb, P., Bao, T., Ding, Y., Lha, O., Nan, P., Huang, Y., Gu, Zh. and Zhong, Y. 2018. Essential oil composition and antimicrobial activity of *M.chammomile* L. (Asteraceae) from Qinghai-Tibet Plateau. Industrial Crops and Products, 125: 1-4.
19. Mazandarani, M., Makari, S. and Bajian, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* Rech. in Golestan province, North of Iran. Journal of Plant Physiology, 2: 381-388.
20. Mazareei, A. and Fahmideh, L. 2019. Evaluation of phenolic compounds, anti-oxidant and anti bacteria function of metanolic extraction of *Artemisia annua* L., *Thymus vulgaris* L., *Matricaria chamomilla* L., *Salvia officinalis* L. and *Pistacia atlantica* var mutica. Online Journal of Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, January.
21. Marjanovic-Balaban . Zeljka R. , Vesna D. Kalaba ; , Jelena S. Stanojevic ; & Dragan J. Cvetkovic 2016. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of Chamomile

flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.)
Journal of Essential Oil Bearing Plants, Volume 19- Issue 8

22. Moghtader, M., Salari, H., Mozafari, H. and Farahmand, A. 2019. Evaluation of phytochemical and antifungal effect of essential oil of *Artemisia persica* Boiss. in comparion with borneol against of *Aspergillus niger*. Online Journal of Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, January.
23. Mozaffarian, V. 2008. A pictorial dictionary of botanical taxonomy latin-english - french - Germany - Persian. Germany: Koeltz Scientific Books.
24. Morsy, NF.A. 2015. short extraction time of high quality hydrodistilled cardamom (*Elettaria cardamomum* L. Maton) essential oil using ultrasound as a pre-treatment, Industrial Crops and Products. 65. 287-292.
25. Nora, FMD. C.D. Borges, 2017. Ultrasound pre-treatment as an alternative to improve essential oils extraction, Ciência Rural 47(9).
26. Perera, C.O. M.A.J. 2021. Alzahrani, Ultrasound as a pre-treatment for extraction of bioactivecompounds and food safety: A review, LWT 142 ; 111114.
27. Smigielski, K.B.M. Majewska, A. Kunicka-Styczyñska, R. Gruska, 2014. The effect of ultrasound assisted maceration on the bioactivity, chemical composition and yield of essential oil from waste carrot seeds (*Daucus carota*), Journal of Essential Oil Bearing Plants 17(6) ; 1075-1086.
28. Santos, K.A. E.J. Klein, C. da Silva, E.A. da Silva, L. Cardozo-Filho, 2019. Extraction of vetiver(*Chrysopogon zizanioides*) root oil by supercritical CO2, pressurized-liquid, and ultrasound assisted methods and modeling of supercritical extraction kinetics, The Journal of Supercritical Fluids 150 ; 30-39.
29. Yang, M.-C. Wei, S.-J. Hong, 2014. Ultrasound-assisted extraction and quantitation of oils from *Syzygium aromaticum* flower bud (clove) with supercritical carbon dioxide, Journal of Chromatography A 1323 ; 18-27.

Evaluation of phytochemical and antioxidant properties of *Matricaria chamomilla* L. essential oil with ultrasound and water distillation

Rasouli, SR.[1], Rezadoost, H.[*2], Nejad Ebrahimi, S. [3]

[1]Ph.D Student, Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran

[2]Asistant Professor, Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran

[3]Associate Professor, Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran

Received: 25-8-2021; Accepted: 16-1-2022

Abstract

Secondary metabolites in chamomile flower essential oil are widely used in pharmaceutical, cosmetic and health industries due to their anti-inflammatory, antioxidant and anti-bacterial effects. In this study, for comparative evaluation of phytochemical and antioxidant properties of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil, plant flowers were harvested from the research farm of Shahid Beheshti University of Tehran and after matching the plant with herbarium samples in the herbarium section of the institute were completely dried. Essential oil extraction was performed by two different methods of distillation with water and ultrasonic method.. The most important effective compounds of essential oils were evaluated using GC and GC / MC devices. The antioxidant activity of the extracts was also evaluated using the DPPH method. The results showed that by simultaneously application of ultrasound (0.1%) and water distillation methods (0.05%), the essential oil of this plant was obtained with higher efficiency. In the water distillation method, the most important secondary components of the essential oil including: alpha-bisabolone 66.08% and camazoline 6.46% were obtained, while in the method coupled with ultrasound, the amount of alpha-bisabolone the amount of alpha-bisaboline increased up to twice and camazoline up to 17.23%. In both methods, the main compounds: camazoline and bisabolol were optimally identified and determined using the proposed method as an efficient application method to separate the most important secondary pharmaceutical compounds of essential oil from chamomile samples.

***Keywords*:** Antioxidant, Bisabolol, Chamaezolene, Essential oil, *Matricaria chamomile* L., Ultrasound

*Corresponding author; h_rezadoost@sbu.ac.ir