



### بهبودسازی شرایط استخراج اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.)

جلال خورشیدی<sup>۱\*</sup>، سید هیمن امان‌اللهی<sup>۲</sup>، پخشان بایزیدی‌آذر<sup>۳</sup>

- ۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
- ۲- مرکز پژوهشی اصلاح و توسعه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	میزان و کیفیت اسانس استخراج شده از گیاه به شدت تحت تأثیر شرایط استخراج قرار دارد و لذا بهبودسازی شرایط استخراج می‌تواند ما را در دستیابی به بیش‌ترین و با کیفیت‌ترین اسانس کمک نماید. مرزه سهندی ( <i>Satureja sahendica</i> Bornm.) از گیاهان دارویی اندمیک ایران است که به دلیل میزان بالای اسانس و نیز محتوای تیمول بالا در اسانس، از اهمیت بالایی برخوردار است. در این پژوهش، تأثیر اندازه قطعات گیاهی (سایز مش‌های ۱۲، ۱۸ و ۳۵) و نسبت ماده گیاهی به آب (۱ به ۵، ۱ به ۱۰ و ۱ به ۱۵) بر میزان و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه مذکور ارزیابی گردید. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب با کلونجر و آنالیز اسانس‌ها با دستگاه‌های GC/MS و GC/FID انجام گرفت. نتایج نشان داد که با کاهش اندازه قطعات گیاهی، میزان اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مطلوب‌ترین نسبت ماده گیاهی به آب برای حصول اسانس بیش‌تر، بسته به اندازه قطعات گیاهی متفاوت بود. بیش‌ترین میزان اسانس (۲/۱۵ درصد حجمی/وزنی) از مواد گیاهی با سایز مش ۱۲ و نسبت ۱ به ۱۵ مواد گیاهی به آب به‌دست آمد. تعداد، انواع و میزان ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به‌شدت تحت تأثیر تیمارهای اعمال‌شده قرار گرفتند. بیش‌ترین میزان تیمول (۸۱/۷۹ درصد) به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب اسانس مرزه سهندی، از نمونه‌های با سایز مش ۳۵ و نسبت ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب، به‌دست آمد. انتخاب مناسب‌ترین شرایط استخراج، بسته به هدف و ترکیب شیمیایی مورد نظر اسانس، می‌تواند متفاوت باشد.
کلیمات کلیدی:	
مرزه سهندی، اسانس، تیمول، سایز مش، میزان آب.	
DOI: 10.22034/FSCT.21.148.103.	
مسئول مکاتبات: *	
<a href="mailto:j.khorshidi@uok.ac.ir">j.khorshidi@uok.ac.ir</a>	

## ۱- مقدمه

(Lamiaceae) و انحصاری ایران می‌باشد که در شمال غرب و غرب ایران پراکنش دارد [۱۶]. این گیاه حدود ۱ تا ۳ درصد اسانس دارد و از مهم‌ترین ترکیبات اسانس آن می‌توان به تیمول، پاراسیمن و گاماترپین اشاره کرد [۱۷ و ۱۸]. مرزه سهندی دارای خواص ضد میکروبی و ضد اکسایشی بوده [۱۹] و همانند سایر گونه‌های مرزه در درمان بیماری‌های عفونی، دردهای عضلانی، سوء هاضمه، اسهال و چربی خون کاربرد دارد [۲۰ و ۲۱]. همچنین از این گیاه به عنوان ادویه در صنایع غذایی استفاده می‌شود [۱۶].

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- تیمارهای آزمایشی

در این پژوهش، تأثیر اندازه قطعات گیاهی در سه سطح مش سائز ۳۵ (قطر ۰/۵ میلی‌متر)، ۱۸ (قطر ۱ میلی‌متر) و ۱۲ (قطر ۱/۶ میلی‌متر) و نیز نسبت ماده گیاهی به آب (وزنی/حجمی) در سه سطح ۱:۵ (۱۰ گرم ماده گیاهی در ۵۰ میلی‌لیتر آب)، ۱:۱۰ (۱۰ گرم ماده گیاهی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) و ۱:۱۵ (۱۰ گرم ماده گیاهی در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب) بر میزان اسانس و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مرزه سهندی مورد مطالعه قرار گرفت.

### ۲-۲- تهیه نمونه گیاهی و آماده‌سازی آن

مرزه سهندی مورد استفاده در این پژوهش، در بهار سال ۱۴۰۰ از رویشگاه طبیعی آن واقع در شهرستان بوکان با مختصات جغرافیایی  $36^{\circ} 47' 59''$  عرض شمالی و  $46^{\circ} 39' 06''$  طول شرقی و ۱۳۷۱ متر ارتفاع از سطح دریا برداشت گردید. نمونه‌های گیاهی به مدت یک هفته در دمای اتاق و سایه خشک شدند. سپس مواد گیاهی خشک شده توسط آسیاب آزمایشگاهی خرد شده و از الک‌های با مش سائزهای مذکور عبور داده شدند تا جهت استخراج اسانس آماده شوند.

### ۲-۳- استخراج اسانس

برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر بهره گرفته شد. بدین منظور، حدود ۱۰ گرم نمونه گیاهی توزین و در بالن دستگاه ریخته شد و به آن حجم مشخص آب (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌لیتر به ترتیب در نسبت-

اسانس‌ها یا روغن‌های فرار ترکیباتی هستند که در ساختارهای ترش‌گی گیاهان تولید می‌شوند و دارای خواص ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد باکتری، ضد سرطان، ضد جهش، ضد دیابت، ضد التهاب و ضد اکسایشی بوده و به واسطه همین خواص، کاربردهای متنوعی در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی دارند [۱]. اسانس‌ها به روش‌های گوناگونی از گیاهان استخراج می‌شوند که رایج‌ترین آن، روش تقطیر با آب می‌باشد [۲]. عوامل مختلفی در بازده و کیفیت اسانس استخراج شده از گیاه در روش تقطیر دخیل هستند که از آن جمله می‌توان به اندازه قطعات گیاهی، نسبت ماده گیاهی به آب، مدت زمان استخراج و درجه حرارت مورد استفاده اشاره نمود [۳]. ضمن فرایند تقطیر، ماده گیاهی مدام با آب در تماس بوده و بنابراین فرایندهایی از جمله هیدرولیز، پلیمریزاسیون و حل شدن ترکیبات در آب می‌تواند بر میزان و کیفیت اسانس استحصالی تأثیرگذار باشد [۴]. تغییر در اندازه قطعات گیاهی موجب تغییر سطح تماس مواد گیاهی با آب می‌شود که این مهم می‌تواند بر سرعت جذب و واجذب آب توسط بافت‌های گیاهی و به دنبال آن خروج ترکیبات مؤثره از گیاه تأثیرگذار باشد [۳]. میزان نفوذپذیری بافت‌های گیاهی و نیز نوع و موقعیت ساختارهای ترش‌گی گیاهان با یکدیگر متفاوت بوده و همین امر باعث می‌شود که میزان و سهولت خروج ترکیبات مؤثره ضمن تقطیر در گیاهان مختلف یکسان نباشد [۵]. بنابراین بهینه کردن شرایط استخراج برای دستیابی به بالاترین کمیت و کیفیت ماده مؤثره در مورد هر گیاه، امری ضروری است. در این ارتباط مطالعاتی صورت گرفته است که نتایج همه آن‌ها مؤید تأثیرگذاری شرایط استخراج بر بازده و کیفیت ماده مؤثره استخراجی است [۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴ و ۱۵]. بنا بر اهمیت موضوع مذکور، در این پژوهش تأثیر نسبت ماده گیاهی به آب و نیز اندازه قطعات گیاهی بر درصد و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm) مورد بررسی قرار گرفت. مرزه سهندی گیاهی چند ساله از تیره نعناعیان

اسانس از طریق محاسبه مساحت زیر پیک به دست آمده مربوط به هر ترکیب در کروماتوگرام GC/FID، به دست آمد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- میزان اسانس

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد، در نسبت‌های ۱ به ۵ و ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب، بین میزان اسانس استخراج شده از مواد گیاهی با سایز مش ۱۲ و ۱۸ به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی با ریزتر نمودن مواد گیاهی (سایز مش ۳۵)، بازده اسانس استخراجی به طور معنی‌داری کاهش یافت (۱/۵۵ درصد). در نسبت ۱ به ۱۵ ماده گیاهی به آب، بیش‌ترین میزان اسانس (۲/۱۵ درصد) از مواد گیاهی با بزرگ‌ترین اندازه (سایز مش ۱۲) به دست آمد و بین دو سایز دیگر، تفاوت معنی‌داری به لحاظ میزان اسانس مشاهده نگردید. در مطالعات مختلف محتوای اسانس مرزه سهندی را ۱/۴۵ درصد [۲۲]، ۱/۰۹ تا ۲/۰۲ [۱۸]، ۰/۹۵ تا ۲/۲ درصد [۱۶] و ۰/۴۲ درصد [۲۳] گزارش نموده‌اند که این تفاوت‌ها در محتوای اسانس می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط رویشگاه، نحوه مدیریت مزرعه، زمان برداشت، روش خشک کردن، روش استخراج و مدت زمان استخراج باشد. از آنجائیکه در گونه‌های گیاهی مختلف، اسانس‌ها در ساختارهای ترش‌هی متفاوتی ذخیره شده‌اند، لذا سرعت خروج اسانس ضمن فرایند تقطیر در همه گیاهان و حتی بافت‌های مختلف متعلق به یک گونه گیاهی خاص، یکسان نبوده و بایستی برای دستیابی به بیش‌ترین میزان اسانس، شرایط استخراج برای هر گونه گیاهی و هر بافت گیاهی خاص، بهینه گردد. برخی از اندام‌های گیاهی از جمله برگ‌ها و گلبرگ‌ها به دلیل اینکه ساختارهای ترش‌هی آن‌ها اغلب سطحی هستند، شاید نیازی به ریز نمودن بیش از حد آن‌ها نباشد و خیلی راحت ضمن فرایند تقطیر ساختارهای ترش‌هی آن‌ها پاره شده و اسانس آن‌ها خارج می‌گردد، ولی اندام‌هایی مثل ریشه‌ها، ساقه‌ها، ریزوم‌ها و میوه‌ها هم بافت سفت و سخت‌تری دارند و هم ساختارهای ترش‌هی آن‌ها اغلب به صورت درونی بوده و اسانس آن‌ها به سختی خارج می‌گردد

های ۱:۵، ۱:۱۰ و ۱:۱۵ ماده گیاهی به آب) اضافه گردید. فرایند اسانس‌گیری به مدت ۲/۵ ساعت انجام گرفت و سپس حجم اسانس جمع شده در دستگاه قرائت گردید و درصد حجمی/وزنی آن محاسبه شد. در ادامه، اسانس به کمک سرنگ از دستگاه خارج و در ویال‌های شیشه‌ای مخصوص ریخته شد. جهت آبیگری اسانس، مقدار کمی سولفات سدیم خشک به ویال‌های حاوی اسانس اضافه گردید. اسانس‌ها تا زمان آنالیز در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

#### ۴-۲- آنالیز اسانس

از دستگاه‌های GC/MS و GC/FID برای آنالیز کمی و کیفی اسانس‌ها استفاده گردید. مشخصات دستگاه‌ها و شرایط کاری آن‌ها به شرح زیر بود:

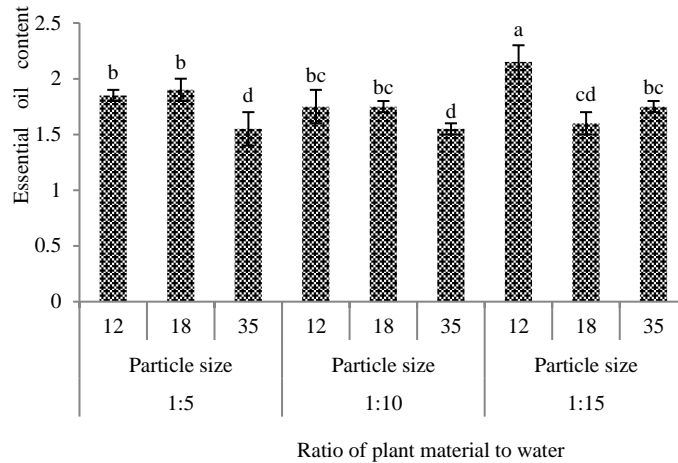
GC/MS: Agilent 7890B/5977A GC/MSD جهت شناسایی ترکیبات اسانس استفاده گردید. ستون دستگاه از نوع HP5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. دمای اولیه ستون ۵۰ درجه سلسیوس بود و پس از یک دقیقه نگهداری در این دما، با سرعت ۱۰ درجه در دقیقه به ۲۶۰ درجه افزایش داده شد. دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سلسیوس، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و طیف جرمی بررسی شده، ۵۰ تا ۵۵۰ m/z بود. هلیوم به عنوان گاز حامل با فشار ۳۴ psi و سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید.

GC/FID: Agilent 7890B GC جهت آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (FID)، مشخصات ستون و نیز برنامه حرارتی ستون مشابه با دستگاه GC/MS بود. دمای محل تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۲۹۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. مشابه با GC/MS از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده گردید.

شناسایی ترکیبات اسانس از طریق مقایسه شاخص بازداري محاسبه شده با شاخص بازداري ترکیبات موجود در پایگاه‌های اطلاعاتی NIST و Wily انجام گرفت و کمیت ترکیبات

و لذا نیاز به خرد کردن بیش‌تری دارند [۵ و ۲۴]. بازده بیش‌تر اسانس استخراج شده از مواد گیاهی با سایز بزرگ‌تر، شاید به این دلیل باشد که مواد گیاهی بزرگ‌تر به دلیل وزن بیش‌تری که دارند، در ته بالن استخراج ته‌نشین شده و به منبع حرارتی نزدیک‌تر بوده و لذا ساختارهای ترش‌گی آن‌ها تحت حرارت بیش‌تر، راحت‌تر پاره شده و اسانس آن‌ها خارج می‌گردد، ولی مواد گیاهی ریزتر به دلیل وزن کمتری که دارند، روی سطح آب داخل بالن معلق شده و از منبع حرارتی دورتر بوده و لذا پاره شدن ساختارهای ترش‌گی آن‌ها نیاز به زمان و انرژی بیش‌تری دارد [۶]. یکی دیگر از دلایلی که برای کاهش بازده استخراج اسانس همراه با کاهش اندازه ذرات گیاهی گزارش نموده‌اند آنست که ذرات گیاهی ریزتر تمایل زیادی به جذب و نگه‌داری ترکیبات گیاهی از جمله اسانس‌ها داشته و لذا میزان خروج این ترکیبات از گیاه کاهش پیدا می‌کند [۹]. نتایج پژوهشی دیگر نشان داده که وقتی اندازه ذرات گیاهی خیلی کاهش یابد، به هم چسبیده و به صورت توده‌ای درآمده و لذا خروج اسانس از آن‌ها به سختی انجام گرفته و نهایتاً بازده استخراج اسانس کاهش پیدا می‌کند [۱۰]. البته در برخی از گزارشات آمده که بازده استخراج اسانس با کاهش اندازه قطعات گیاهی، افزایش پیدا می‌کند و دلیل احتمالی آن را اینگونه عنوان کرده‌اند که با کاهش اندازه قطعات گیاهی، سطح تماس مواد گیاهی با آب بیش‌تر شده و در نتیجه میزان جذب آب و به دنبال آن پاره شدن ساختارهای ترش‌گی و خروج اسانس افزایش پیدا می‌کند [۳، ۴، ۷، ۱۱ و ۱۵]. برخی مطالعات نیز بیش‌ترین بازده استخراج اسانس را با اندازه متوسط قطعات گیاهی (در مقایسه با نمونه

سالم و یا پودر شده) گزارش نموده‌اند [۹ و ۱۰]. به نظر می‌رسد این تناقض در نتایج به نوع گونه گیاهی و ساختار ترش‌گی آن بستگی داشته باشد. نسبت آب به ماده گیاهی ضمن فرایند تقطیر، بایستی در حدی باشد که تمام مواد گیاهی در آب غوطه‌ور شده و به راحتی در داخل آب بالا و پایین شده (چرخ بخورند) تا فرایند استخراج به خوبی صورت گیرد. همچنین حجم آب باید در حدی باشد که بتواند به راحتی غشاهای سلولی را پاره کرده و اسانس را بیرون بکشد [۱۵]. در نسبت‌های پایین آب به ماده گیاهی، مواد گیاهی اصطلاحاً نیم‌سوز شده و بازده استخراج پایین می‌آید [۴]. از دلایل دیگر کاهش بازده استخراج اسانس با افزایش نسبت ماده گیاهی به آب آنست که به ازای میزان مشخصی ماده گیاهی، حجم کمتری آب جهت نفوذ به بافت‌های گیاهی و استخراج ترکیبات وجود داشته و در نتیجه بازده استخراج پایین‌تر خواهد بود [۲۵]. در نسبت ۱ به ۵ ماده گیاهی به آب، ۵ میلی‌لیتر آب جهت استخراج ماده مؤثره از ۱ گرم ماده گیاهی وجود دارد، ولی در نسبت ۱ به ۱۵، به ازای هر ۱ گرم ماده گیاهی، ۱۵ میلی‌لیتر آب وجود دارد و طبیعی است که در نسبت ۱ به ۱۵ استخراج بهتر انجام گیرد. از طرفی دیگر، گزارش شده که در نسبت‌های بالای آب به ماده گیاهی، میزان حل شدن ترکیبات مؤثره در آب و نیز هیدرولیز آن‌ها افزایش یافته و نهایتاً بازده استخراج پایین می‌آید [۴ و ۲۶]. به نظر می‌رسد نسبت بهینه آب به ماده گیاهی جهت دستیابی به بهترین نتیجه، تا حدودی به نوع ماده گیاهی و ترکیبات مؤثره آن بستگی داشته باشد.



**Fig 1** Essential oil content of *Satureja sahendica* Bormn. affected by plant particle size and ratio of plant material to water

تیمول متفاوت بود، طوریکه در سایز مش ۱۲، با کاهش نسبت ماده گیاهی به آب از ۱:۵ به ۱:۱۰، تیمول کاهش یافت ولی با کاهش بیش تر نسبت ماده گیاهی به آب از ۱:۱۰ به ۱:۱۵، تیمول افزایش نشان داد. در سایز مش ۱۸، با کاهش نسبت ماده گیاهی به آب، تیمول نیز کاهش یافت و در سایز مش ۳۵، ابتدا افزایش و سپس کاهش مشاهده گردید (جدول ۱).

تیمول، پ-سیمن و گاما-تریپنین به عنوان اجزای غالب اسانس مرزه سهندی در مطالعات پیشین گزارش شده اند [۱۶]، [۱۸ و ۲۲]. تیمول جزء غالب اسانس مرزه سهندی، به گروه مونوترپن های اکسیژن دار تعلق دارد و مقدار بالای آن در اسانس، بیانگر کیفیت بهتر اسانس می باشد. میزان تیمول بسته به ژنتیک و نیز شرایط قبل و بعد از برداشت می تواند متفاوت باشد، طوریکه میزان آن از ۳۴/۷-۴۵/۳ درصد [۱۶]، ۴۶-۷/۵۲/۳۷ درصد [۱۸]، و ۳۰/۶-۴۱/۳ درصد [۲۲] گزارش شده است. در مطالعه حاضر میزان تیمول بین ۵۲/۳۱-۸۱/۷۹ درصد بود که بیانگر ژنتیک برتر و نیز شرایط رویشگاهی مطلوب تر جمعیت گیاهی مورد استفاده می باشد.

مونوترپن های اکسیژن دار، گروه اصلی ترکیبات شناسایی شده اسانس در همه تیمارها بودند و بیش ترین مقدار آن ها، متعلق به ریزترین مواد گیاهی (سایز مش ۳۵) بود. در مقابل، ریزترین مواد گیاهی، دارای کم ترین میزان هیدروکربن های مونوترپنی بودند. همچنین کم ترین میزان مجموع ترکیبات مونوترپنی (هیدروکربن های مونوترپنی و مونوترپن های

### ۳-۲- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

تعداد، نوع و میزان ترکیبات شناسایی شده در اسانس مرزه سهندی در تیمارهای مختلف اعمال شده، متفاوت بود. کم ترین تعداد ترکیبات شناسایی شده (۵ ترکیب) که در مجموع ۹۱/۴۸ درصد مجموع ترکیبات اسانس را تشکیل می دادند، مربوط به تیمار سایز مش ۳۵ و نسبت ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب بود. بیش ترین تعداد ترکیبات شناسایی شده (۲۲ ترکیب) متعلق به سایز مش ۱۸ در نسبت های ۱ به ۱۰ و ۱ به ۱۵ ماده گیاهی به آب بود که به ترتیب ۹۷/۶۴ و ۹۶/۴۶ درصد مجموع ترکیبات اسانس را شامل می شدند. ترکیبات غالب اسانس در نسبت های ۱ به ۵ و ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب، تیمول و پ-سیمن بودند، در حالیکه در نسبت ۱ به ۱۵ ماده گیاهی به آب، بسته به سایز مش ماده گیاهی، ترکیبات غالب تا حدودی متفاوت بودند. طوریکه در سایز مش ۱۲، تیمول و آلفا-تریپنین؛ در سایز مش ۱۸، تیمول و پ-سیمن؛ و در سایز مش ۳۵، تیمول و کارواکرول به عنوان اجزای غالب اسانس شناسایی شدند. تیمول جزء غالب اسانس در همه تیمارها بود و بیش ترین مقدار آن (۸۱/۷۹ درصد) در اسانس نمونه های سایز مش ۳۵ و نسبت ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب مشاهده گردید. میزان تیمول با کاهش سایز نمونه های گیاهی از سایز مش ۱۲ به ۱۸، کاهش جزئی داشت و سپس با کاهش بیش تر سایز از ۱۸ به ۳۵، افزایش یافت. در سایز مش یکسان ولی نسبت های مختلف ماده گیاهی به آب، روند تغییرات

مشاهده گردید که با افزایش سایز مش، میزان کورکومین استخراج شده بیش تر شد [۳]. افزایش نسبت حلال به ماده گیاهی موجب افزایش میزان استخراج سزکوئی‌ترین‌های کورکومون، کورکومنول، کوردیون، کورزرنون و فورانودینون در گیاه زردچوبه شده است [۶]. در گیاه دارویی رازیانه، گزارش شده که با افزایش سایز مش، میزان آنتول استخراجی کاهش نشان داد [۱۱]. افزایش میزان استخراج ترکیبات فنولی همسو با کاهش اندازه قطعات گیاهی و افزایش نسبت حلال به ماده گیاهی در گیاه دارویی همیشه-بهار گزارش شده است [۲۸]. میزان لیمونن استخراجی به روش تقطیر با آب از گیاه *Pimpinella affinis* Ledeb با افزایش سایز مش، افزایش نشان داده است [۲۹]. کاهش یا افزایش میزان استخراج یک ترکیب دارویی خاص از یک گیاه تحت تأثیر اندازه قطعات گیاهی و نیز نسبت حلال به ماده گیاهی، تا حدود زیادی به ماهیت آن ترکیب بستگی دارد. سبک یا سنگین بودن، فرار یا غیر فرار بودن، دارای نقطه جوش پایین یا بالا و قطبی یا غیر قطبی بودن، از مواردی هستند که میزان استخراج ترکیبات دارویی را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

اکسیژن‌دار)، در ریزترین مواد گیاهی شناسایی گردید. میزان مونوترپن‌ها چندان تحت تأثیر نسبت ماده گیاهی به آب قرار نگرفت. در نسبت‌های ۱ به ۵ و ۱ به ۱۵ ماده گیاهی به آب، بیش‌ترین میزان سزکوئی‌ترین‌ها، در اسانس ریزترین مواد گیاهی مشاهده گردید، ولی در نسبت ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب، بیش‌ترین مقدار این ترکیبات، در نمونه‌های با سایز متوسط شناسایی شد (جدول ۱).

میزان بیش‌تر مونوترپن‌ها در نمونه‌های گیاهی درشت‌تر می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد. مواد گیاهی ریزتر، سطح تماس بیش‌تری دارند و لذا حین خرد کردن و آماده‌سازی نمونه‌ها جهت اسانس‌گیری، احتمال خروج مونوترپن‌ها که ترکیباتی سبک با فراریت بالا هستند [۲۷]، با ریزتر شدن قطعات گیاهی، افزایش پیدا می‌کند. در حالیکه این اتفاق به آسانی برای سزکوئی‌ترین‌ها رخ نمی‌دهد، چراکه این ترکیبات سنگین‌تر بوده، فراریت پایین‌تری داشته و به راحتی از بافت-های گیاهی خارج نمی‌شوند. همچنین احتمال اکسیداسیون و هیدرولیز بیش‌تر مونوترپن‌ها در مواد گیاهی ریزتر به دلیل سطح تماس بیش‌تر نیز وجود دارد. تأثیر اندازه قطعات گیاهی و نیز نسبت آب به ماده گیاهی بر میزان و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی در مطالعات دیگری نیز به اثبات رسیده است. در پژوهشی روی گیاه زردچوبه

**Table 1** Essential oil components (%) of *Satureja sahendica* Bornm. affected by plant particle size and ratio of plant material to water

Components	R.T. (min)	Ratio of plant material to water (w/v)								
		1:5			1:10			1:15		
		Plant particle size (mesh)			Plant particle size (mesh)			Plant particle size (mesh)		
	12	18	35	12	18	35	12	18	35	
$\alpha$ -Thujene	5.95	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0.48	tr	tr
$\alpha$ -Pinene	6.12	0.25	0.21	tr	0.31	0.35	tr	tr	0.38	tr
Camphene	6.25	0.65	0.53	0.23	0.68	0.59	tr	tr	0.64	tr
$\beta$ -Pinene	6.53	0.12	tr	tr	0.14	0.12	tr	tr	0.12	tr
$\beta$ -Myrcene	7.10	0.15	tr	tr	tr	0.14	tr	tr	0.16	tr
$\alpha$ -Phellandrene	7.45	0.42	0.37	tr	0.57	0.58	tr	tr	0.66	tr
$\alpha$ -Terpinene	7.96	0.15	0.18	tr	0.22	0.24	tr	9.96	0.27	tr
<i>p</i> -Cymene	8.22	21.44	21.0	9.58	28.08	27.21	4.73	tr	30.58	0.98
$\gamma$ -Terpinene	8.87	0.15	0.23	tr	0.51	0.96	tr	tr	0.87	tr
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	9.07	tr	tr	tr	0.17	0.23	tr	tr	0.23	tr
Linalool	9.79	2.63	2.17	1.71	2.19	2.18	2.18	2.26	2.16	2.43
Borneol	11.1	0.38	0.34	0.29	0.32	0.33	tr	tr	0.31	0.32
Terpineol	11.3	1.05	0.92	1.12	0.81	0.78	1.59	0.4	0.73	1.75
<i>p</i> -Cymen-8-ol	11.6	0.73	0.65	0.84	0.62	0.67	tr	0.44	0.35	1.35
Thymol	13.7	61.16	59.16	69.63	53.49	53.22	81.79	75.1	52.31	71.63
Carvacrol	14.0	2.19	5.50	3.99	4.54	4.29	tr	2.01	2.43	7.22
Thymyl acetate	14.8	0.33	0.30	0.31	0.26	0.32	tr	0.37	0.28	0.40
<i>trans</i> -Caryophyllene	16.0	0.45	0.59	1.23	0.50	0.57	1.19	0.41	0.51	0.76
<i>p</i> -Cymen-7-ol	16.3	tr	tr	0.23	0.14	0.14	tr	tr	0.10	tr
Ledene	17.5	tr	tr	0.2	tr	0.11	tr	tr	tr	tr
(+)Spathulenol	18.8	1.14	3.32	4.08	2.75	4.13	tr	3.55	2.77	5.14
Caryophyllene oxide	19.2	3.13	tr	0.2	0.13	0.13	tr	tr	0.13	tr
(-)Spathulenol	20.0	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0.27	0.11	tr

<i>cis-Z-<math>\alpha</math>-Bisabolene epoxide</i>	20.3	0.33	0.36	0.45	0.31	0.35	tr	0.55	0.36	0.63
Monoterpene hydrocarbons	23.33	22.52	9.81	30.68	30.42	4.73	10.44	33.91	0.98	
Oxygenated monoterpenes	68.47	69.04	78.12	62.37	61.93	85.56	80.58	58.67	85.1	
Total monoterpenes	91.8	91.56	87.93	93.05	92.35	90.29	91.02	92.58	86.08	
Sesquiterpene hydrocarbons	0.45	0.59	1.43	0.5	0.68	1.19	0.41	0.51	0.76	
Oxygenated sesquiterpenes	4.6	3.68	4.73	3.19	4.61	tr	4.37	3.37	5.77	
Total sesquiterpenes	5.05	4.27	6.16	3.69	5.29	1.19	4.78	3.88	6.53	
Total identified compounds	96.85	95.83	94.09	96.74	97.64	91.48	95.8	96.46	92.61	

R.T.: Retention time

tr: Values less than 0.1%

۳۵) و خیلی درشت (سایز مش ۱۲)، نسبت ۱ به ۱۵ ماده

گیاهی به آب، مناسب‌ترین بود و در مورد نمونه‌های گیاهی با سایز متوسط، نسبت ۱ به ۵ ماده گیاهی به آب، نتیجه بهتری داد. تعداد، نوع و میزان ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به شدت تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده قرار گرفتند و انتخاب مناسب‌ترین تیمار، بسته به نوع ترکیب هدف می‌تواند متفاوت باشد. چنانچه ترکیب هدف، تیمول باشد، سایز مش ۳۵ و نسبت ۱ به ۱۰ ماده گیاهی به آب، بهترین تیمار بود.

#### ۴- نتیجه گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که کاهش اندازه قطعات گیاهی، موجب کاهش اسانس استخراجی مرزه سهندی گردید. مناسب‌ترین نسبت ماده گیاهی به آب برای حصول اسانس بیش‌تر، بسته به اندازه قطعات گیاهی متفاوت بود، طوریکه در مورد قطعات گیاهی خیلی ریز (سایز مش

#### ۵- منابع

- [1] Raut, J.S. and Karuppayil, S.M. 2014. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62: 250-264.
- [2] Omidbaigi, R. 2015. *Production and Processing of Medicinal Plants*. Astan Quds Razavi Press, 348p.[Persian]
- [3] Daulay, A.S., Taufik, M., Ridwanto, R. and Astriliana, A. 2018. Effect of particle size on fresh turmeric (*Curcuma longa* L.) and simplicia toward content of curcumin compound. *Proceedings of the 5th Annual International Seminar on Trends in Science and Science Education*, 18-19 October, Medan, Indonesia.
- [4] Kusuma, H.S. and Mahfud, M. 2017. Microwave hydrodistillation for extraction of essential oil from *Pogostemon cablin* Benth: Analysis and modeling of extraction kinetics. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4: 46-54.
- [5] Ali, E., Mahmoudi, R., Kazemina, M., Hazrati, R. and Azarpey, F. 2017. Essential oils as natural medicinal substances: Review article. *Tehran University Medical Journal*, 75(7): 480-489. [Persian]
- [6] Wei, D., Cheng, G., Huang, K., Fang, J. and Yan, B. 2017. Hydrodistillation condition adjustment for different material particle sizes: a method to increase batch-to-batch quality consistency. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(5): 1140-1148.
- [7] Akuso, S.A., Kabiru, M., Victor, O., Abubakar, G., Nwobi, B.E., Apugo-Nwosu, T.U. and Batari, M.L. 2019. Effects of particle size on the yield of essential oil extracted from eucalyptus (*Citriodora*). *Nigerian Research Journal of Chemical Sciences*, 7: 115-123.
- [8] Jiang, G., Wu, Zh., Ameer, K., Li, Sh. and Ramachandraiah, K. 2020. Particle size of ginseng (*Panax ginseng* Meyer) insoluble dietary fiber and its effect on physicochemical properties and antioxidant activities. *Applied Biological Chemistry*, 63(70): 1-10.
- [9] Zhao, Ch., He, X., Li, Ch., Yang, L., Fu, Y., Wang, K., Zhang, Y. and Ni, Y. 2016. A microwave-assisted simultaneous distillation and extraction method for the separation of polysaccharides and essential oil from the leaves of *Taxus chinensis* var. *mairei*. *Applied Sciences*, 6(19): 1-15.
- [10] Hou, H., Bonku, E.M., Zhai, R., Zeng, R., Hou, Y., Yang, Zh. and Quan, C. 2019. Extraction of essential oil from *Citrus reticulata* Blanco peel and its antibacterial activity against *Cutibacterium acnes* (formerly *Propionibacterium acnes*). *Heliyon*, 5: e02947.
- [11] Tavakolizadeh, M., Hadian, Gh., Khoshayand, M.R. and Mojab, F. 2018. Effect of powder sizes, pH of water, ultrasound and method of distillation on extraction of fennel essential oil and anethole content. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1): 35-44.
- [12] Lainez-Cerón, E., Jiménez-Munguía, M.T., López-Malo, A. and Ramírez-Corona, N. 2021. Effect of process variables on heating profiles and extraction mechanisms during hydrodistillation of eucalyptus essential oil. *Heliyon*, 7: e08234.
- [13] Chaouche, F.S.A., Mouhouche, F., Hazzit, M. and Ferradji, A. 2017. Optimization of extraction yield of Algerian *Mentha pulegium* L. essential oil by ultrasound-assisted hydrodistillation using response surface methodology. *Research Journal of Phytochemistry*, 11: 142-149.
- [14] Larkeche, O., Zermanea, A., Meniai, A.H., Boubadja, H., Boulbai, S. and Kouis, H. 2017.

Experimental study of hydrodistillation extraction essential oil from rosemary leaves: optimization of process variables using box-behnken experimental design. The 8th International Renewable Energy Congress, 21-23 March, Jordan.

[15] Anh, T.T., Duyen, L.T., Hang, L.M., Lam, T.D., Bach, L.G., Nguyen, D.Ch. and Toan, T.Q. 2019. Effect of drying temperature and storage time on *Ocimum gratissimum* Linn. leaf essential oil from Central Highlands, Vietnam. *Materials Today: Proceedings*, 18: 4648-4658.

[16] Mohammadi, H., Pourmohammad, P. and Hazrati, S. 2021. Phytochemical and physiological study of *Satureja sahendica* Bornm. essential oil and extract to water-deficit stress. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 9(1): 1-19. [Persian]

[17] Zarezadeh, A., Sefidkon, F., Tabaei Oghdaei, S.R., Mirhosseini, A. and Azizzadeh, M.R. 2016. Essential oil composition in cultivated accessions of *Satureja sahendica* Bornm. from Yazd province. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 4(1): 47-55. [Persian]

[18] Sefidkon, F., Tabayi Aghdayi, S.R., Ansari, M., Behrad, Z. and Asgari, F. 2015. Comparison of essential oil content and composition of seven populations of *Satureja sahendica* Bornm. in farm condition. *Journal of Crop Improvement*, 16(4): 779-794. [Persian]

[19] Dadashpour, M., Rasooli, I., Sefidkon, F., Zaad Hosseingholi, E. and Darvish Alipour Astaneh, Sh. 2013. Antimicrobial, antioxidative, superoxide anion radical scavenging and anti tyrosinase properties of *Satureja sahendica* Bornm. and *Satureja hortensis* L. essential oils. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28(4): 616-627. [Persian]

[20] Tepe, B. and Cilkiz, M. 2016. A pharmacological and phytochemical overview on *Satureja*. *Pharmaceutical Biology*, 54(3): 375-412.

[21] Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Ağar, G., Ozkan, H., Kartal, N., Polissiou, M., Sökmen, A. and Sahin, F. 2003. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14): 3958-3965.

[22] Kayhani, A., Sefidkon, F. and Monfared, A. 2014. The effect of drying and distillation methods on essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(2): 239-249. [Persian]

[23] Ghamari, H., Saidi, M., Ghaasemnejaad, A. and Ghanbari, A.R. 2016. Evaluation of phytochemical composition of Sahandian savory (*Satureja sahendica* Bornm.) essential oils at different phenological stages. *Journal of Agroecology*, 8(1): 1-16. [Persian]

[24] Pourmortazavi, S.M. and Hajimirsadeghi, S.S. 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*, 1163(1-2): 2-24.

[25] Ballard, T.S., Mallikarjunan, P., Zhou, K. and O'Keefe, S. 2010. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry*, 120 (4): 1185-1192.

[26] Jalili Safaryan, M., Ganjloo, A., Bimakr, M. and Zarringhalami, S. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from green pea pods. *Foods*, 5(4): 1-15.

[27] Esfahanizadeh, M., Ayatollahi, S.A., Goodarzi, A., Bayat, M., Ata, A. and Kobarfard, F. 2018. Development and validation of a GC/MS method for simultaneous determination of 7 monoterpenes in two commercial pharmaceutical dosage forms. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(2): 24-32.

[28] Besharati, N.Z., Bimakr, M. and Ganjloo, A. 2019. Effect of solvent type and extraction conditions on extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of extract containing bioactive compounds from aerial part of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 16(92): 11-21. [Persian]

[29] Habibzadeh, M., Sefidkon, F. and Fatemi, Sh. 2012. The effects of different mesh sizes, methods and periods of distillation on essential oil content and composition of *Pimpinella affinis* Ledeb. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28(2): 224-234. [Persian]





## Scientific Research

Optimization of essential oil extraction from *Satureja sahendica* Bornm.Jalal Khorshidi<sup>1,2\*</sup>, Seyed Hemn Amanollahi<sup>3</sup>, Pakhshan Bayazidi Azar<sup>3</sup>

1- Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

2- Research Center of Medicinal Plants Breeding and Development, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

3- M.Sc. student, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b> Received: 2023/9/7 Accepted: 2023/12/28</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b> <i>Satureja sahendica</i> Bornm, Essential Oil, Thymol, Mesh Size, Water Content</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.22034/FSCT.21.148.103. *Corresponding Author E-Mail: <a href="mailto:j.khorshidi@uok.ac.ir">j.khorshidi@uok.ac.ir</a></p>	<p>The quantity and quality of essential oil extracted from the plant is strongly influenced by the extraction conditions, so optimizing the extraction conditions can help us to achieve the most essential oil content with the best quality. <i>Satureja sahendica</i> Bornm. is an endemic medicinal plant of Iran, which is of great importance due to its high essential oil and thymol content. In this research, the effect of plant particle size (mesh sizes of 12, 18 and 35) and the ratio of plant material to water (1:5, 1:10 and 1:15 w/v) on essential oil content and compositions of this plant were evaluated. The essential oils were extracted based on hydro-distillation method by Clevenger's apparatus and then analyzed using GC/MS and GC/FID. The results indicated that the extracted essential oil decreased with the decrease in the plant particle size. The optimal ratio of plant material to water in order to obtain more essential oil was different depending on the plant particle size. The highest of essential oil content (2.15% v/w) was obtained from plant material with mesh size of 12 in the ratio of 1:15 plant material to water. The number, type and amount of essential oil compounds were strongly affected by different treatments. The highest amount of thymol (81.79%) as the most important component of the <i>Satureja sahendica</i> essential oil was obtained from samples with mesh size of 35 and in the ratio of 1:10 plant material to water. Determining the most appropriate extraction conditions can be different depending on the purpose and desired chemical composition of the essential oil.</p>