



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

مقایسه خصوصیات کمی و کیفی اسانس رازیانه در روش‌های استخراج سنتی و نوین

حسام میرزایی^۱، علی صائبی^۱، سعید مینایی^{۱*}، علیرضا مهدویان^۱، محمدتقی عبادی^۲

۱- گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	مطالعه روش‌های نوین استخراج اسانس‌های طبیعی و مقایسه آن‌ها با روش‌های متداول
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۷	یکی از نیازهای پژوهشی صنعت فرآوری گیاهان دارویی می‌باشد. اسانس بذر رازیانه با
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۷	دو روش تقطیر با آب و استفاده از دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی (فشار ۲۰۰ بار، دمای ۴۰
کلمات کلیدی:	درجه سلسیوس و مدت زمان یک ساعت) استخراج گردید. سپس اسانس‌های بدست
موادموثره،	آمده با دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی مورد
روش فوق‌بحرانی،	تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بازده کل استخراج اسانس بدست‌آمده در
ترنس آنتول،	دو روش تقطیر با آب و فوق‌بحرانی به ترتیب ۰/۸۳ و ۲/۶۴ درصد بود که افزایشی ۲۱۸/۷
استراگل	درصدی در مقدار اسانس بدست‌آمده را نشان می‌داد. این مهم با در نظر گرفتن استحصال
DOI: 10.48311/fsct.2026.83710.0.	ترکیب هگزادکانیک اسید (۷/۱۹ درصد) که در روش تقطیر با آب تخریب یا تجزیه میشد
* مسئول مکاتبات:	و تعداد ترکیبات بدست‌آمده در روش تقطیر با آب نسبت به فوق‌بحرانی (۱۸ در مقابل
	۳۰ ترکیب) بود، مناسب ارزیابی شد. در این پژوهش نتایج استخراج اسانس بذر رازیانه،
	با استاندارد ISO مقایسه شد و اطمینان‌بخشی نتایج مورد سنجش قرار گرفت بطوری که
	مقایسه استخراج با فرآیند فوق‌بحرانی در برابر استخراج بوسیله تقطیر با بخار آب (استاندارد
	۱۷۴۱۲) بطور معناداری تفاوت در مقدار استراگل استخراجی را تایید نمود. این مطالعه به
	لزوم توجه به توسعه فناوری‌های جدید استخراج در افزایش کمیت و کیفیت اسانس
	بدست‌آمده که خود در نهایت به ایجاد ارزش افزوده بیشتر در مقابل روش‌های سنتی
	می‌انجامد، تاکید دارد.

۱-مقدمه

رازیانه (*Foeniculum vulgare*) گیاهی مدیترانه‌ای است. بنابراین هوای گرم برای رشد و نمو این گیاه مطلوب است. به‌طور کلی کشت این گیاه در کشورهایی با هوای گرم (که تابستان طولانی و زمستان سرد نداشته باشد) موفقیت‌آمیز است [1]. در طب سنتی رازیانه به‌عنوان ضد نفخ، دفع‌کننده سنگ‌های کلیه و مجاری ادراری و افزایش‌دهنده شیر مادران مورد استفاده قرار می‌گیرد [2]. اسانس رازیانه دارای کاربردهایی بالقوه در داروها و علف‌کش‌های طبیعی است [3]. علاوه بر این، اسانس آن حاوی ترکیباتی مانند تیموکینون و کارواکرول است و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتری و ضدالتهابی آن را برای کاربردهای غذایی مناسب می‌کند [4]. عملکرد اسانس به عوامل متعددی از جمله فصل برداشت، رشد گیاه، شرایط نگهداری و آماده‌سازی و همچنین روش استخراج بستگی دارد که همگی از عوامل تاثیرگذار بر کیفیت و مقدار اسانس بدست آمده از گیاه هستند [5].

تقاضا برای گیاهان دارویی و محصولات آن‌ها برای مصارف دارویی و غیر دارویی از ۲ تا ۳ دهه گذشته بسیار افزایش یافته است. افزون بر روش‌های کشت و جمع‌آوری گیاهان دارویی، تغییرات ژنتیکی و غیره، تأکید زیادی بر توسعه فناوری‌های استخراج ایمن و سبزتر برای گیاهان دارویی شده است، زیرا این روش‌ها به‌طور غیرمستقیم با بهبود عملکرد کلی عصاره، میزان ترکیبات گیاهی استخراج‌شده و به حداقل رساندن ضایعات به پایداری آن‌ها کمک می‌کنند [6]. بنابراین یافتن روش استخراج اسانس و بطور دقیق‌تر روش مناسب برای هر ترکیب مهم و پرکاربرد، یکی از مسائل مهم صنعت است. بر اساس مطالعات انجام شده مهمترین ماده تشکیل‌دهنده اسانس رازیانه، ترانس آنتول است (۳۰ تا ۵۰ درصد) است [7]. در سال ۱۹۹۴ ماروتی و همکارانش اثر نحوه رشد و همچنین تاثیر نوع و گونه گیاه رازیانه را بر ترکیب اسانس این گیاه بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان ترانس آنتول به شدت متأثر از گونه گیاه و نحوه

استخراج و فراوری گیاه است [8]. در مطالعه‌ای دیگر پژوهشگران به استخراج اسانس از گیاه رازیانه را با روش‌های مختلفی انجام داده و ۱۲ ترکیب را شناسایی نمودند که در این میان ترانس آنتول با ۵۴/۶۸ درصد به عنوان بیشترین ترکیب موجود مطرح گردید [9].

از آنجا که وزن مخصوص اسانس‌ها معمولاً از آب کمتر است و به‌ندرت ممکن است وزن مخصوص اسانس حاصل از برخی گیاهان از وزن مخصوص آب بیشتر باشد، استخراج اسانس به‌ویژه در مقیاس صنعتی به روش تقطیر با آب و بخار آب (کلونجر و پرکولاتور) انجام می‌گیرد [1]. اما از طرفی درجه حرارت بالا باعث از بین رفتن یا تبدیل بسیاری ترکیبات ارزشمند می‌شود [10]. از این رو فناوری‌های جدید و پیشرفته‌ای همچون استخراج بوسیله سیالات فوق‌بحرانی، ماکروویو و فراصوت برای این منظور توسعه یافته‌اند.

سیال فوق‌بحرانی از نظر خواص انتقالی، مانند گازها (نفوذپذیری بالا و گرانروی کم) و از نظر قدرت حلالیت شبیه مایع است. با توجه به این خواص، سیالات فوق‌بحرانی برای گستره وسیعی از مواد در خالص‌سازی، استخراج و تفکیک استفاده می‌شوند. یک سیال فوق‌بحرانی، خصوصیات مابین یک گاز و مایع را دارا هست [11]. در مطالعه‌ای با مقایسه روش‌های استخراج بوسیله پرس سرد و فوق‌بحرانی مقدار اسانس استخراجی ۲۴/۵ درصد در روش فوق‌بحرانی افزایش نشان داده است [12]. در مطالعه دیگری به افزایش مقدار عصاره استحصالی در روش فوق‌بحرانی نسبت به روش‌های متداولی مانند سوکسله (۹/۸ گرم در ۱۰۰ گرم) اشاره شده است [13]. این پژوهش در نظر دارد با مقایسه داده‌های بدست‌آمده برای مقادیر مختلف ترکیبات شاخص اسانس رازیانه در دو روش تقطیر با آب و و فوق‌بحرانی بعنوان روش‌های مرسوم و نوین استخراج اسانس‌های گیاهی، کیفیت استخراج ترکیبات موثره را مورد پژوهش قرار دهد.

۲- مواد و روش‌ها

۱/۲ طراحی آزمایش و آماده‌سازی نمونه

استخراج با دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی و متغیرهای وابسته تفاوت در ترکیبات شاخص اسانس این گیاه (رازیانه) بود. بذره‌های مذکور از شرکت گیاهچه، اصفهان، ایران خریداری و در وزن‌های ۱۰۰ گرمی نیم‌کوب و برای اسانس‌گیری به آزمایشگاه منتقل شد (شکل ۱).

این پژوهش در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. متغیرهای مستقل پژوهش، دو روش تقطیر با آب و



Fig1. Particle size distribution of the semi-crushed sample (passing through a 20-mm sieve)

۲/۲. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب

اسانس‌گیری شدند و در پایان اسانس استحصال‌ی بوسیله پیپت جمع‌آوری و پس از آبگیری با سدیم سولفات، به دستگاه‌های کاروماتوگراف گازی و کاروماتوگراف گازی-اسپکترومتر جرمی تزریق شدند [14].

نمونه‌ها داخل بالن کلونجر ریخته شد (شکل ۲) و با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم رسید. نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت



Fig2. Hydro-distillation method

۲/۳. اسانس‌گیری به روش فوق‌بحرانی

(قسمت چرب و رزین مانند عصاره که حاوی اسانس مورد نظر گیاه است) جمع‌آوری شده و حاصل از استخراج، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و بوسیله اضافه کردن هگزان دو

اسانس‌گیری در این روش در فشار ۲۰۰ بار، دمای ۴۰ درجه سلسیوس و به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد [15]. اولتورزین

فاز شد (شکل ۳). فاز رویی بوسیله پیپت جمع‌آوری (اسانس) و پس از آبگیری با سدیم سولفات، کلیه نمونه‌ها به دستگاه‌های کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی-اسپکترومتر جرمی تزریق شد.



Fig3. Supercritical CO₂ extraction method

دقیقه در نسبت تقسیم ۱:۱۰۰ استفاده شد. ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ eV بود. دمای منبع یون و رابط به ترتیب ۲۰۰ و ۲۵۰ درجه سلسیوس بود. شناسایی اجزای اسانس با مقایسه طیف جرمی هر جزء با طیف جرمی داخلی کتابخانه اصلی Wiley 7 و Adams تأیید شد. کمی‌سازی بر اساس درصد سطح نسبی پیک اجزای منفرد بر اساس کروماتوگراف‌های GC-FID انجام شد [16]. ضرایب بازداری با استفاده از زمان‌های بازداری آلکان‌های نرمال که با همان دستگاه و شرایط تزریق شد، تهیه گردید. مقادیر نسبی اجزا از روی سطح کل بالاترین نقطه‌ها (Picks) توسط نرم افزار دستگاه محاسبه شد.

۵/۲. آنالیز داده‌ها

۴/۲. آنالیز کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی-اسپکترومتر جرمی

اسانس‌ها توسط دستگاه کروماتوگراف گازی (Agilent 7890B) مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله و یک ستون موئین HP-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برنامه‌ریزی دما شامل ۲ دقیقه در ۶۰ درجه سلسیوس و افزایش تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با شیب افزایشی ۵ درجه سلسیوس در دقیقه بود. تجزیه و تحلیل طیف‌سنجی GC-Mass توسط کروماتوگرافی گازی Thermoquest-Finnigan مجهز به ستون موئین سیلیس ذوب‌شده HP-5 (۶۰ متر × ۰/۲۵ میلی‌متر در روز؛ ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر) همراه با یک طیف‌سنج جرمی ردیابی انجام شد. گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر در

آنالیز داده‌ها بوسیله آزمون LSD و با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۵) در سطح احتمال پنج درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. ترسیم نمودارها بوسیله نرم افزار Excel انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۱/۳. درصد اسانس

نتایج نشان داد (جدول ۱) استخراج با دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی بدلیل تنظیم دما و فشار دلخواه، انتخابی‌تر از استخراج در روش تقطیر با آب است [20-21]. بازده کل استخراج بدست‌آمده در دو روش تقطیر با آب و فوق‌بحرانی به ترتیب 0.83 ± 0.11 و 2.64 ± 0.41 درصد در ۱۰۰ گرم بود که نشان از برتری روش فوق‌بحرانی بود و با سایر پژوهش‌ها همخوانی داشت [16-17].

۲/۳. ترکیبات شناسایی شده در اسانس

با توجه به مطالعه طیف‌های جرمی حاصل از کروماتوگراف گازی-اسپکترومتر جرمی و اعداد کوتاس

محاسبه‌شده و مقایسه این مشخصات با ترکیبات استاندارد و مراجعه به منابع مختلف، ۱۸ ترکیب حاصل از استخراج به روش تقطیر با آب (برخی از مواد ناپایدار حرارتی ممکن است در طول استخراج با این روش به دلیل دمای بالا تخریب شوند) و ۳۰ ترکیب حاصل از استخراج با CO_2 فوق‌بحرانی شناسایی گردید (جدول ۱) که $85/87$ تا $97/09$ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در شرایط مختلف اسانس‌گیری در دو روش تقطیر با آب و فوق‌بحرانی به ترتیب عبارت بودند از: ترنس-آنتول ($32/58 \pm 4/37$ و $40/56 \pm 6/11$)، استراگل ($25/22 \pm 2/92$ و $29/97 \pm 4/81$) و هگزادکانیک‌اسید (صفر و $7/19 \pm 2/54$). میزان و درصد ترنس-آنتول که از ترکیبات شاخص در اسانس رازیانه بوده و مقدار آن‌ها در روش‌های مختلف اسانس‌گیری متفاوت است [17]. همان‌گونه که از جدول ۱ مشاهده می‌گردد، بیشترین میزان این ترکیب با $40/56$ درصد مربوط به استخراج با دستگاه فوق‌بحرانی است.

Table1. Composition profile of fennel seed essential oil obtained by hydro distillation and super-critical extraction (%)^a

Component Name ^b	RI ^c	RI ^d	SC-CO ₂ (%)	HD (%)
α -pinene	1027	1028	0.15 ± 0.01	2.61 ± 0.92
camphene	1075	1074	-	0.25 ± 0.07
β -pinene	1118	1118	-	0.82 ± 0.34
Sabinene	1129	1240	0.1 ± 0.01	0.72 ± 0.21
β -myrcene	1164	1168	0.05 ± 0.01	0.86 ± 0.19
α -phellandrene	1174	1176	0.02 ± 0.01	2.13 ± 1.08
limonene	1207	1207	2.63 ± 0.17	6.03 ± 1.75
eucalyptol	1221	1220	0.36 ± 0.04	-
cis- β -Ocimene	1235	1235	0.41 ± 0.07	0.63 ± 0.14
γ -terpinene	1255	1255	0.62 ± 0.05	2.6 ± 4.41
o-cymene	1282	1285	0.19 ± 0.02	0.46 ± 0.16
terpinolen	1293	1290	-	3.19 ± 1.58
thujone	1430	1430	2.51 ± 0.29	5.01 ± 2.62
trans-limonene oxide	1475	1470	0.03 ± 0.01	0.81 ± 0.24
epi- β -caryophyllene	1571	1572	0.11 ± 0.04	-
4-terpinenol	1629	1611	-	0.57 ± 0.29
estragole	1707	1680	29.97 ± 4.81	25.22 ± 2.92
γ -cadinene	1763	1765	0.51 ± 0.17	0.63 ± 0.41
perilla aldehyde	1786	1790	1.01 ± 0.09	-
trans-anethole	1865	1822	40.56 ± 6.11	32.58 ± 4.37
eugenol	2193	2185	0.24 ± 0.02	-
methyl Hexadecanoate	2225	2218	0.41 ± 0.23	-
dill apiol	2392	2384	1.03 ± 0.18	0.75 ± 0.28
methyl stearate	2433	2428	0.09 ± 0.02	-
ethyl oleate	2459	2459	4.16 ± 1.27	-

linoleic acid methyl ester	2491	2490	1.06±0.35	-
linoleic acid ethyl ester	2511	2511	1.58±0.71	-
ethyl 9α-linolenate	2542	2545	0.27±0.13	-
linoleic acid methyl ester	2579	2583	1.1±0.06	-
3-methoxycinnamaldehyde	2602	2565	0.39±0.69	-
tetradecanoic acid	2697	2694	0.15±0.03	-
heptacosane	2702	2700	0.17±0.07	-
nonacosane	2904	2900	0.41±0.12	-
n-hexadecanoic acid	2913	2914	7.19±2.54	-
Total			97.09	85.87

a Percentage obtained by FID peak-area normalization

b Results are compound percentages in essential oil expressed as means ± standard errors (n=3)

c Linear retention indices (DB-5 column) using normal n-alkanes series (C6-C24)

d Retention indices from literature.

مشاهده بود. بررسی نتایج این پژوهش با سایر نویسندگان نشان داد مونوترپن‌های اکسیژن‌دار به عنوان گروه شیمیایی اصلی اسانس رازیانه است که با یافته‌های Maitusong و همکاران (۲۰۲۰) منطبق بود [20]. تغییرات هر گروه و همچنین مقادیر هر گروه در شکل ۴ قابل مشاهده است. آن‌ها همچنین در مطالعه‌شان بر اجزای اسانس بذر رازیانه گزارش دادند که به ترتیب در روش‌های تقطیر با آب و فوق‌بحرانی، هیدروکربن‌ها ۲۱/۹۶ و ۶/۶۷ درصد و ترکیبات اکسیژن‌دار ۷۵/۶۲ و ۷۰/۱۶ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اکسیژن‌دار در این مطالعه بدلیل وجود ترنس-آنتول و استراگل به عنوان ترکیبات غالب این اسانس شناخته شدند که با مطالعات قبلی همخوانی داشت [18-21] [22]. تجزیه و تحلیل خواص گروه‌های شیمیایی نشان داد که ترکیبات حاوی مونوترپن، ترپنوئیدهای فراری هستند که با افزایش دمای بیشتر استخراج‌شان کاهش میابد. مطالعات بسیاری بر اثرگذار بودن روش‌های استخراج، منابع جغرافیایی، خاک و روش برداشت بر کیفیت و کمیت اسانس تاکید کرده‌اند [22-23]. بطورکلی گزارش شده است، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار دارای خواص ضد میکروبی بهتری نسبت به مونوترپن‌های هیدروکربنی هستند [23].

استخراج با دستگاه فوق‌بحرانی یک فناوری سبز و سازگار با محیط زیست است. در این فناوری استخراج در دمای پایین انجام می‌شود که از تخریب، اکسیداسیون، هیدرولیز شدن، ایزومراسیون و تغییر ترکیبات حساس به حرارت جلوگیری نموده و اسانس خالص‌تری حاصل خواهد شد [18]. استخراج با دستگاه فوق‌بحرانی بهترین تکنولوژی استخراج برای بدست آوردن ماده موثره‌هایی با عملکرد بالا از نظر کیفی و کمی است [17]. بیشتر مطالعات انجام‌شده بر روی اسانس رازیانه [19] بر بازده استخراج تمرکز کردند. با این حال هدف این پژوهش بررسی کیفی دو ترکیب شاخص این اسانس (ترنس-آنتول & استراگل) بود. روش فوق‌بحرانی نسبت به روش‌های سنتی استخراج مزایایی مانند زمان و دمای استخراج کمتر و امکان بهینه‌سازی پارامترهای عملیاتی استخراج را دارد.

۳/۳. مقایسه گروه‌های شیمیایی اسانس

مقدار گروه‌های شیمیایی در دو تیمار روش استخراجی در محدوده ۸۷/۸۵-۹۷/۰۹ درصد بود. این را می‌توان در مونوترپن‌های هیدروکربنی (M-H) با ۴/۱۷-۲۰/۳٪، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (O-M) با ۶۴/۹۴-۷۵/۹۸٪ و سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربن‌دار (S-H) با ۰/۶۲-۰/۶۳٪ قابل

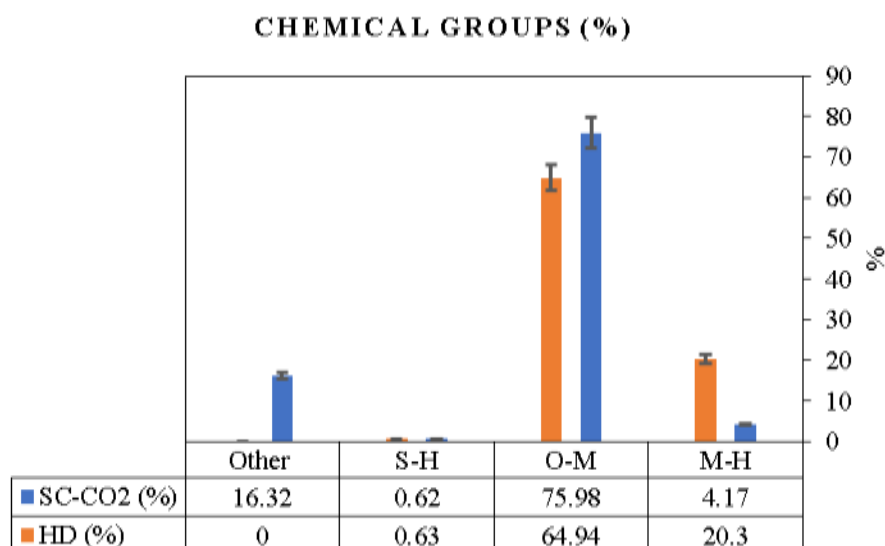


Fig4. Average values for the percentages of all groups of chemical constituents of *Foeniculum vulgare* oil as affected by extraction method. (O-M) Oxygenated monoterpenes, (M-H) Monoterpene hydrocarbons, (S-H) Sesquiterpene hydrocarbons

۴/۳. مقایسه میانگین ترکیبات شاخص

میانگین‌ها برای دو ترکیب شاخص دیگر در هر دو روش بررسی شود. بررسی نرمال بودن داده برای این دو شاخص نشان داد چون احتمال معناداری برای هر دو ترکیب بیشتر از ۰/۰۵ شد، لذا هر دو جامعه دارای توزیع نرمال هستند (جدول ۲).

ترکیبات شاخص (بیشتر از ۵ درصد) اسانس این گیاه، به ترتیب ترنس-آنتول، استراگل و هگزادکانیک اسید بود که از میان آن‌ها هگزادکانیک اسید در روش استخراجی بوسیله تقطیر با آب مشاهده نشد. در نظر بود تا معناداری مقایسه

Table2. Normality Test

Variables	Factor	Statistic	df	Sig.
<i>trans</i> -anethole	SC-CO ₂	0.987	3	0.78
analyse	HD	0.925	3	0.471
estragole analyse	SC-CO ₂	0.960	3	0.614
	HD	0.957	3	0.6

و پایینی مقدار اطمینان از تفاوت ۹۵ درصدی). این نتایج آماری به وضوح تفاوت در کیفیت در روش استخراج را برای ترکیبات برجسته این گیاه نشان داد [18-17].

بررسی معناداری یا غیرمعناداری میانگین دو ترکیب نیز (جدول ۳) نشان از نابرابری یا به عبارتی تفاوت در میانگین‌های آن‌ها وجود دارد (شامل صفر نبودن مقدار بالایی

Table3. Mean Significance of Index Compounds

Components	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence of the Difference	
<i>trans</i> -anethole	5.97667	0.20819	5.39863	6.5547
estragole	5.75333	0.19143	5.22185	6.28482

استخراج با دی اکسیدکربن فوق بحرانی، ترکیب هگزادکانیک اسید نیز که تا قبل از این در روش استخراجی

مقایسه نتایج حاصل از استخراج دو روش مذکور نشان داد علاوه بر بیشتر بودن دو ترکیب ترنس-آنتول و استراگل در

سزکوئی‌ترین‌ها بیشترین تنوع کلاسی‌ترین‌ها هستند [33]، آن‌ها در فرآورده‌های گیاهی نسبت به روغن بیشتر هستند و بطور موثری در آروماتراپی استفاده می‌شوند [34]. افزایش ترکیبات معطر، بطور عمده فنول‌ها، و محتوای پایین‌تر ترکیبات هیدروکربن می‌تواند ناشی از شرایط عملیاتی، مثل روش استخراج باشد [23]. بطور کلی، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار اثرات ضد میکروبی بهتری نسبت به مونوترپن‌های هیدروکربن‌دار دارند.

مطالعات صورت‌گرفته در مورد غالب‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در کشورهای شناخته شده‌تر در کشت این گیاه، تاییدی بر نتایج این پژوهش بود (جدول ۴).

بوسیله تقطیر با آب شناسایی نمی‌شد، قابلیت استخراج پیدا کرد [26]. از سویی، در بین گروه‌های اجزایی اسانس در روش استخراجی با CO_2 فوق‌بحرانی، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (۷۵/۰۴ در مقابل ۶۴/۱۹) و سزکوئی‌ترین‌های اکسیژن‌دار (۲/۶۱ در مقابل ۰/۷۵) مقادیری بیشتری نسبت به استخراج به روش تقطیر با آب داشتند که با پژوهش Maitusong و همکاران همخوانی داشت [20]. دلیل این بیشتری، بطور عمده مربوط به ترنس-آنتول و استراگل که از گروه مونوترپن‌های اکسیژن‌دار بودند می‌شد که در پژوهش‌های مختلفی به آن اشاره شده بود [23-24]. در بررسی مهمترین خصوصیات چهار گروه اجزایی اسانس می‌توان اضافه کرد که ترکیبات مونوترپن‌دار، ترپن‌های فراری هستند که با دمای $>20^{\circ}C$ منتشر می‌شوند [20-21]. از طرفی

Table4. Percentage of Major Components in Fennel Seed Essential Oil

Country	<i>trans</i> -Anethole	Estragole	references
Iran	30-40%	20-30%	[35]
India	30-40%	20-30%	[31-32]
China	20-30%	15-25%	[33-34]
Egypt	20-30%	15-25%	[40]

یکی از روش‌های مقایسه و اطمینان از عملکرد اسانس استخراجی از گیاهان و محصولات مختلف استانداردهای ISO است. استفاده از استانداردهای معتبر در هر فرآیند، اطمینان‌بخشی کار و خروجی‌نهایی را مورد تایید قرار می‌دهد [41]. مقایسه مقدار اسانس دو ترکیب ترنس-آنتول و استراگل گیاه رازیانه با استاندارد ISO ۱۷۴۱۲ به ترتیب با داشتن بیشینه و کمینه ۷۸-۵۰ و ۶-۱ درصد (نواحی پررنگ شکل ۵) برای روش تقطیر با بخار آب^۱ (SD) به وضوح خبر از تفاوت در مقدار روش‌های مختلف اسانس‌گیری داد. مطابق شکل ۵ می‌توان مشاهده کرد استفاده از روش تقطیر با بخار آب، آب و دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی تفاوت‌هایی در درصد اجزا موثره با یکدیگر دارند بصورتی که استفاده از روش تقطیر با آب و فوق‌بحرانی توانستند به ترتیب با اتخاذ ۴۰/۵۶ و ۳۲/۵۸ درصد، مقدار استخراج استراگل را بطور

همانطور که از سایر پژوهش‌ها استنباط می‌شود، مقادیر این چهار گروه شیمیایی ترکیبات اسانس رازیانه در چهار کشور مذکور تقریباً مشابه است. ترانس آنتول، یک ترکیب مونوترپن، ترکیب اصلی اسانس رازیانه است و در همه چهار کشور بیشترین مقدار را دارد. استراگل، یک ترکیب مونوترپن، نیز در همه چهار کشور مقدار قابل توجهی دارد. با این حال، برخی از تفاوت‌های جزئی بین ترکیب اسانس رازیانه در چهار کشور وجود دارد. به عنوان مثال، اسانس رازیانه تولید شده در ایران و هند دارای مقدار بیشتری سزکوئی‌ترین‌های اکسیژن‌دار نسبت به اسانس رازیانه تولید شده در چین و مصر است.

۵/۳. مقایسه درصد ترکیبات شاخص استخراجی با استاندارد ISO

1 Steam distillation (SD)

دی‌اکسیدکربن خارج شود. در نتیجه، حتی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس نیز امکان تجزیه این ترکیب وجود دارد. اما در روش استخراجی تقطیر با بخار آب بدلیل عدم تماس مستقیم با حرارت ۱۰۰ درجه سلسیوس نسبت به روش تقطیر با آب، این ترکیب از پایداری بیشتری برخوردار بوده و لذا مقدار آن در اسانس استحصالی بیشتر گزارش شد [42].

بسیار معناداری افزایش دهند ($p \leq 5\%$). اما در مورد ترنس-آنتول می‌توان چنین استباط کرد که چون دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی یک حلال غیرقطبی، اما آب یک حلال قطبی است و ترانس آنتول نیز یک ترکیب قطبی است و در حلال‌های قطبی بهتر حل می‌شود، لذا مقدار آن بیشتر است. همچنین با اینکه در فشار ۲۰۰ بار نفوذپذیری به درون بافت گیاه بسیار بیشتر می‌شود و از آنجا که ترنس-آنتول یک ترکیب بسیار فرار است و می‌تواند به راحتی از

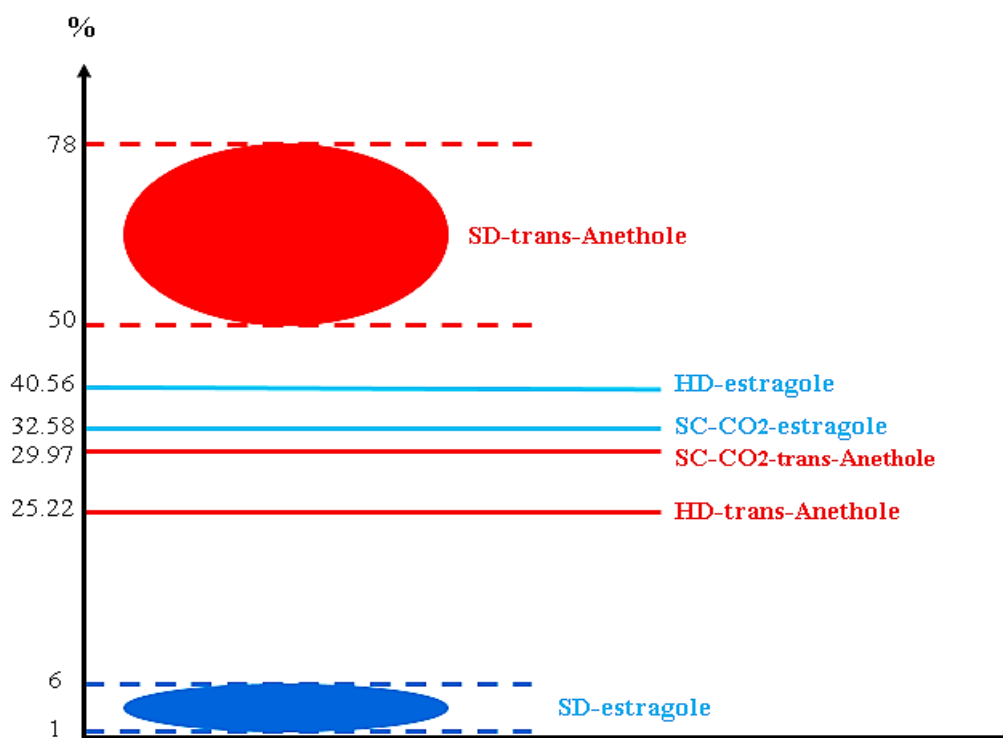


Fig5. Comparison of estragole and *trans*-anethole extraction yields in three methods of steam distillation (SD), hydro-distillation (HD), and supercritical extraction (SC-CO₂)

در این مطالعه تفاوت کمی و کیفی اسانس استحصالی رازیانه در دو روش تقطیر با آب و فوق‌بحرانی مورد ارزیابی قرار گرفت. استخراج ترکیب استراگل به روش فوق‌بحرانی افزایشی ۱۸/۸۳ نسبت به روش تقطیر با آب نشان داد. هر چند ترکیب هگزادکانیک‌اسید که استخراج در روش تقطیر با آب بدست نمی‌آمد در روش فوق‌بحرانی مشاهده شد. آنچه مشخص بود اینکه تعداد و مقدار ترکیبات بدست‌آمده از روش فوق‌بحرانی نسبت به روش تقطیر با آب بیشتر است که خود موید اثرگذاری این روش هم در حفظ ترکیبات بیشتر از خطر مواجهه با حرارت بالا (۳۰ در مقابل ۱۸ ترکیب)

با در نظر گرفتن نتایج بدست‌آمده در پژوهش حاضر به وضوح لزوم توجه به مسئله استخراج با وجود پتانسیل‌های بالای موجود در کشور، متذکر می‌شود و می‌توان عنوان کرد که استخراج با دستگاه فوق‌بحرانی علاوه بر انتخاب‌پذیری بدلیل امکان استفاده از کمک حلال‌های ثانویه در کنار دی‌اکسیدکربن، توانایی بسیاری قدرتمندی در جداسازی و خالص‌سازی عصاره و اسانس‌های استحصالی از مواد گیاهی دارد.

۴- نتیجه‌گیری

روش استخراج با دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی را با تنظیم پارمترهای موثر در استخراج استفاده، و بهره‌وری را افزایش داد.

منابع

- [1] Omidbeigi, R. (2009). Production and processing of medicinal plants, sixth edition, *Astan Quds Razavi Publications*, pp. 1-350.
- [2] Bicchi, C., Liberto, E., Matteodo, M., Sgorbini, B., Mondello, L., Zellner, B.D.A., Costa, R. & Rubiolo, P. (2008). Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(6), pp.382-391.
- [3] Sabzi Nojadedh, M., Pouresmaeil, M., Younessi-Hamzekhanlu, M. & Venditti, A. (2021). Phytochemical profile of fennel essential oils and possible applications for natural antioxidant and controlling *Convolvulus arvensis* L. *Natural Product Research*, 35(21), pp.4164-4168.
- [4] Liao, W., Badri, W., Alhibshi, A.H., Dumas, E., Ghnimi, S., Gharsallaoui, A., Errachid, A. & Elaïssari, A. (2021). Food applications of Nigella sativa essential oil. *Black cumin (Nigella sativa) seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications*, pp.433-455.
- [5] Zutic, I., Putievsky, E. & Dudai, N. (2004). Influence of harvest dynamics and cut height on yield components of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 10(4), pp.49-61.
- [6] Malik, J. & Mandal, S.C. (2022). Extraction of herbal biomolecules. In *Herbal Biomolecules in Healthcare Applications* (pp. 21-46). Academic Press.
- [7] Rahimmalek, M., Maghsoudi, H., Sabzalian, M.R. & Ghasemi Pirbalouti, A. (2018). Variability of essential oil content and composition of different Iranian fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) accessions in relation to some morphological and climatic factors. *JAST*, 16 (6) :1365-3174.
- [8] Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E., Deans, S.G. & Eaglesham, E. (1994). Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Essential Oil Research*, 6(1), pp.57-62.
- [9] Gamiz-Gracia, L. & De Castro, M.L. (2000). Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*, 51(6), pp.1179-1185.
- [10] Zhao, L., Zhang, J., Jiao, S., Zheng, T., Li, J. & Zhao, T. (2022). Ground surface detection method using ground penetrating radar signal for sugarcane harvester base-cutter control. *Biosystems Engineering*, 219, pp.103-123.
- [11] Williams, J.R., Clifford, A.A. & Al-Saidi, S.H. (2002). Supercritical fluids and their applications in biotechnology and related areas. *Molecular Biotechnology*, 22, pp.263-286.
- [12] Hatami, T., Johner, J.C.F., Kurdian, A.R. & Meireles, M.A.A. (2020). A step-by-step finite element method for solving the external mass transfer control model of the supercritical fluid extraction process: A case study of extraction from fennel. *The Journal of Supercritical Fluids*, 160, p.104797.
- [13] Nikolayevich, U.V. & Vasilyevich, K.G. (2019). Researching the connatural monoterpenic hydrocarbons biosynthesis dynamics applying the kinetic model and the state space model. *Биология растений и садоводство: теория, инновации*, (151), pp.94-108.
- [14] Fathi, S., Bolandnazar, S., Alizadeh-Salteh, S., & Zaare-Nahandi, F. (2023). Effects of biological fertilizers on some physiological traits of sweet basil under water deficit stress. *Journal of Medicinal plants and By-Products*, 12(4), 365-374.
- [15] Yamini, Y., Sefidkon, F. & Pourmortazavi, S.M. (2002). Comparison of essential oil composition of Iranian fennel (*Foeniculum vulgare*) obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(5), pp.345-348.
- [16] Adams, R. P. (2001). Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy (pp. 1-456).
- [17] Kanmaz, E.Ö. (2014). Subcritical water extraction of phenolic compounds from flaxseed meal sticks using accelerated solvent extractor (ASE). *European Food Research and Technology*, 238(1), pp.85-91.
- [18] Piras, A., Falconieri, D., Porcedda, S., Marongiu, B., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C. & Salgueiro, L. (2014). Supercritical CO₂ extraction of volatile oils from Sardinian *Foeniculum vulgare* ssp. *vulgare* (Apiaceae): Chemical composition and biological activity. *Natural Product Research*, 28(21), pp.1819-1825.
- [19] Mokhtari, L. & Ghoreishi, S.M. (2019). Supercritical carbon dioxide extraction of *trans*-anethole from *Foeniculum vulgare* (fennel) seeds: Optimization of operating conditions through response surface methodology and genetic algorithm. *Journal of CO₂ Utilization*, 30, pp.1-10.
- [20] Maitusong, J., Aimila, A., Zhang, J., Mahinur, B., Maiwulanjiang, M. & Aisa, H.A. (2021). Process optimization for the supercritical carbon dioxide extraction of *Foeniculum vulgare* Mill. seeds aromatic extract with respect to yield and *trans*-anethole contents using Box-Behnken design. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(2), pp.280-291.
- [21] Anubhuti, P., Rahul, S. & Kant, K.C. (2011). Standardization of fennel (*Foeniculum vulgare*), its oleoresin and marketed ayurvedic dosage forms. *International Journal of Pharm Sci and Drug Res*, 3(3), pp.265-269.
- [22] Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), pp.223-253.
- [23] Giuliani, R., Koteyeva, N., Voznesenskaya, E., Evans, M.A., Cousins, A.B. & Edwards, G.E. (2013). Coordination of leaf photosynthesis, transpiration, and structural traits in rice and wild relatives (genus *Oryza*). *Plant Physiology*, 162(3), pp.1632-1651.
- [24] Cvetkovic, D., Stanojevic, J., Djordjevic, N., Karabegović, I., Stanojevic, L., Pavlic, B. & Danilović, B. (2023). Effect of different extraction techniques on the composition of essential oil isolated from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) rhizome. *Journal of Essential Oil Research*, 35(1), pp.24-34.
- [25] Verma, A. K., Sharma, S., Kakani, R. K., Meena, R. D., & Choudhary, S. (2017). Gamma radiation effects seed germination, plant growth and yield attributing characters of

- fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 2448-2458.
- [26] Lim, T. K. (2012). Edible medicinal and non-medicinal plants (Vol. 1, pp. 285-292). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- [27] Coelho, J.A.P., Pereira, A.P., Mendes, R.L. & Palavra, A.M.F. (2003). Supercritical carbon dioxide extraction of *Foeniculum vulgare* volatile oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(4), pp.316-319.
- [28] Hammouda, F.M., Saleh, M.A., Abdel-Azim, N.S., Shams, K.A., Ismail, S.I., Shahat, A.A. & Saleh, I.A. (2014). Evaluation of the essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill (fennel) fruits extracted by three different extraction methods by GC/MS. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(2), pp.277-279.
- [29] He, W. & Huang, B. (2011). A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(16), pp.3595-3600.
- [30] Diao, W.R., Hu, Q.P., Zhang, H. & Xu, J.G. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*, 35(1), pp.109-116.
- [31] Demasi, S., Caser, M., Lonati, M., Cioni, P.L., Pistelli, L., Najar, B. & Scariot, V. (2018). Latitude and altitude influence secondary metabolite production in peripheral alpine populations of the Mediterranean species *Lavandula angustifolia* Mill. *Frontiers in Plant Science*, p.983.
- [32] Aprotosoia, A.C., Spac, A., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V.F., Dorneanu, V. & Stanescu, U. (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacia*, 58(1), pp.46-53.
- [33] Holopainen, J.K. & Blande, J.D. (2013). Where do herbivore-induced plant volatiles go?. *Frontiers in Plant Science*, 4, p.185.
- [34] Cavanagh, H.M.A. & Wilkinson, J.M. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), pp.301-308.
- [35] Pouryousef, M. (2014). Variation in the essential oil constituents in indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* from different locations of Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 26(6), pp.441-445.
- [36] Mehra, N., Tamta, G. & Nand, V. (2021). A review on nutritional value, phytochemical and pharmacological attributes of *Foeniculum vulgare* Mill. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(2), pp.1255-1263.
- [37] Rather, M.A., Dar, B.A., Sofi, S.N., Bhat, B.A. & Qurishi, M.A. (2016). *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, pp.S1574-S1583.
- [38] Zhao, N.N., Zhou, L., Liu, Z.L., Du, S.S. & Deng, Z.W. (2012). Evaluation of the toxicity of the essential oils of some common Chinese spices against *Liposcelis bostrychophila*. *Food Control*, 26(2), pp.486-490.
- [39] Nam, J.H., & Lee, D.U. (2016). *Foeniculum vulgare* extract and its constituent, *trans*-anethole, inhibit UV-induced melanogenesis via ORAI1 channel inhibition. *Journal of Dermatological Science*, 84(3), pp.305-313.
- [40] Ahmed, A.F., Shi, M., Liu, C. & Kang, W. (2019). Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Egypt and China. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), pp.67-72.
- [41] Mishra, A.P., Devkota, H.P., Nigam, M., Adetunji, C.O., Srivastava, N., Saklani, S., Shukla, I., Azmi, L., Shariati, M.A., Coutinho, H.D.M. & Khaneghah, A.M. (2020). Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. *Lwt*, 133, p.110116.
- [42] Sadeghmousavi, S. (2019). Subcritical water extraction of fennel seeds essential oil and comparison with hydrodistillation. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 16(91), pp.119-128.



Scientific Research

Comparison of Quantitative and Qualitative Characteristics of Fennel (*Foeniculum vulgare*) Essential Oil in Traditional and Modern Extraction Methods

Hesam mirzaei¹, Ali Saebi¹, Saeid Minaei^{*1}, Alireza Mahdavian¹, Mohammad-Taghi Ebadi²

1- Biosystems Engineering Department, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Department of Horticulture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/2/16 Accepted:2024/8/28 Keywords: <i>Active Components,</i> <i>SuperCritical Method,</i> <i>trans-Anethole,</i> <i>Estragole</i> DOI: 10.48311/fsct.2026.83710.0. *Corresponding Author E-	<i>Foeniculum vulgare</i> (fennel) is a medicinal and aromatic plant with wide applications in pharmaceutical, food, and cosmetic industries. This study aimed to compare the quantitative and qualitative characteristics of fennel seed essential oil (EO) obtained by hydro-distillation (HD) as well as utilizing supercritical carbon dioxide extraction (SC-CO₂). The experiments were conducted using a completely randomized design with three replications. The chemical composition of the EOs was analyzed using GC-FID and GC-MS techniques. Results showed that the total EO yield in the SC-CO₂ method ($2.64 \pm 0.41\%$) was significantly higher than that obtained by hydro-distillation ($0.83 \pm 0.11\%$), representing an increase of approximately 218%. Overall, 30 compounds were identified in the SC-CO₂ extract compared to 18 compounds in hydro-distillation, indicating better preservation of thermolabile constituents under lower extraction temperatures. The main components of fennel EO were trans-anethole, estragole, and hexadecanoic acid. The content of trans-anethole increased from 32.37% (HD) to 40.56% (SC-CO₂), and estragole rose from 25.92% to 29.97%. Hexadecanoic acid, which was absent in hydro-distillation, appeared in the SC-CO₂ extract at 7.19%. Analysis of chemical groups showed that oxygenated monoterpenes were dominant, accounting for 75.04% in SC-CO₂ and 64.19% in HD samples. Comparison with the ISO 17412 international standard (specifying 50–78% <i>trans</i>-anethole and 1–6% estragole) revealed that both extraction methods produced oils within the acceptable range, though estragole content in the SC-CO₂ extract slightly exceeded the upper limit. In conclusion, supercritical CO₂ extraction, owing to its lower temperature, higher selectivity, and reduced thermal degradation, proved to be an efficient, green, and high-yield technology for obtaining high-quality fennel EO and represents a superior alternative to conventional methods.