

## تأثیر مدت زمان تقطیر با آب بر کمیت و کیفیت اسانس برگ بو (*Laurus nobilis* L.)

محمود نادری حاجی باقرکندی<sup>۱\*</sup>، فاطمه سفیدکن<sup>۲</sup>، ابراهیم عزیزی<sup>۳</sup> و محمدرضا پورهروری<sup>۴</sup>

۱- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور ابهر، پست الکترونیک: m.nadery@rifir-ac.ir

۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- دانشیار، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- استادیار، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور ابهر

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۸

### چکیده

برگ بو با نام علمی *Laurus nobilis* L. درختی دو پایه و بومی نواحی مختلف اروپای جنوبی و منطقه مدیترانه است. به علت برگهای همیشه سبز و ظاهر زیبایی که دارد، پرورش آن در ایران معمول گشته، به طوری که امروزه در منطقه وسیعی از شمال ایران و اماکن دیگر یافت می شود. این درخت برگهای معطر منفرد، به رنگ سبز تیره دارد. با توجه به رابطه بین مدت زمان تقطیر و بازده و درصد ترکیب های تشکیل دهنده اسانس، تحقیق در مورد مدت زمان بهینه تقطیر که با کمترین مصرف انرژی بتوان بهترین کمیت و کیفیت را از اسانس هر گیاهی بدست آورد، همواره مورد توجه محققان بوده است. بنابراین در این تحقیق، تأثیر هشت زمان مختلف اسانس گیری بر روی بازده و اجزای تشکیل دهنده اسانس برگ بو مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور برگهای این گیاه از باغ گیاه شناسی ملی ایران (تهران) در تیرماه ۱۳۸۸ جمع آوری و پس از خشک کردن در سایه به روش تقطیر با آب اسانس آنها استخراج گردید. اسانس ها به کمک دستگاه های کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز یونش شعله ای و کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. بازده اسانس برگ بو (w/w نسبت به وزن خشک) برای زمان های ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵، ۹۰، ۱۰۵ و ۱۲۰ دقیقه به ترتیب برابر ۱/۳۵، ۱/۹۲، ۱/۹۷، ۱/۲، ۲/۳۱، ۲/۴۹، ۲/۵۸ و ۲/۶۰٪ بدست آمد که بررسی آماری عدم تفاوت معنی دار بازده اسانس در سه مدت زمان ۹۰، ۱۰۵ و ۱۲۰ دقیقه را نشان داد. بنابر نتایج این تحقیق، مدت زمان بهینه از نظر بازده کمی برای استخراج اسانس برگ گیاه برگ بو زمان ۹۰ دقیقه می باشد. همچنین در بررسی آماری میزان ترکیب های عمده اسانس برگ گیاه برگ بو مشخص شد که ترکیب ۸،۱-سینئول در زمان ۱۵ دقیقه بالاترین مقدار را در اسانس دارد، در حالی که ترکیب سابینن در زمان های پس از ۴۵ دقیقه به نهایت مقدار در اسانس می رسد. بنابراین مقدار ترکیب آلفا-تریپنیل استات در اسانس برگ بو در همه مدت زمان های مورد بررسی، ثابت باقی ماند.

واژه های کلیدی: برگ بو، *Laurus nobilis* L.، اسانس، زمان های مختلف تقطیر، ۸،۱-سینئول، آلفا-تریپنیل استات، سابینن.

## مقدمه

درخت برگ‌بو، به فارسی باهستان، به عربی غار و به فرانسوی Laurier commun و Laurier sauce گفته شده و نام علمی آن *Laurus nobilis* L. می‌باشد (زرگری، ۱۳۶۹).

گیاهان تیره برگ‌بو (Lauraceae) به صورت درخت یا درختچه (بندرت علفی) و مخصوص نواحی گرم کره زمین (جنوب اروپا و آسیای صغیر) هستند (Rohwer, 1993). برگ‌بو معمولاً در نواحی گرم و مناطقی با اقلیم گرم و بارندگی زیاد یافت می‌شود (Caneva & Bohuny, 2003). گیاهان این تیره دارای سلول‌های اسانس‌دار (غده‌های تک‌سلولی) پراکنده در اعضای مختلف و سلول‌های موسیلاژدار، مخصوصاً در ناحیه پوست است. از نظر درمانی خواص عده‌ای از این گیاهان مربوط به وجود اسانس‌ها در بخش‌های مختلف آنها می‌باشد (امیدبگی، ۱۳۷۹).

برگ‌بو جزء گیاهان معطر و دارویی می‌باشد و اسانس موجود در برگ‌های آن دارای خواص ضد میکروبی و ضد باکتریایی می‌باشد (Syed et al., 1991; Kivcak et al., 2001). بوی معطر برگ‌های آن نیز بر اثر مالش دادن قویتر می‌شود. برگ این درخت دارای تانن، یک ماده تلخ، مواد رزینی، پکتینی و اسانس است. اسانس آن در پیچ‌خوردگی مفاصل و رفع دردهای رماتیسمی به صورت مالش دادن بر روی عضو کاربرد دارد (زرگری، ۱۳۶۹).

از برگ‌بو در قدیم به‌عنوان چاشنی غذا و ماده معطر استفاده می‌شده ولی در حال حاضر در صنعت داروسازی و فرمولاسیون دارو مورد استفاده قرار می‌گیرد (Santos et al., 2004). از پودر برگ‌بو به‌عنوان داروی ضد نفخ، درمان رگ‌به‌رگ‌شدگی و کبودشدگی، رماتیسم و به‌عنوان دافع

حشرات استفاده می‌شود (Simic et al., 2003). له‌شده تازه برگ‌بو برای درمان بواسیر (Tuzlaci & Erol, 1999) و زخم معده استفاده می‌شود (Tuzlaci & Tolon, 2000). از برگ‌بو در صنعت صابون‌سازی برای معطر کردن صابون‌ها و خواص ضد شوره سر و ضد جوش‌های پوستی استفاده می‌شود (Hafizoglu & Reunanen, 1993).

مطالعات اخیر نشان داده است که برگ‌بو و اسانس موجود در آن دارای اثر ضد میکروبی (Bouzouita et al., 2003؛ Simic et al., 2004) و همچنین اثر آنتی‌کسیدانی (Simic et al., 2003؛ Skerget et al., 2005) می‌باشند. در تحقیقی اثرهای ضد درد و ضد سوزش ترکیب‌های اسانس برگ گیاه برگ‌بو مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که این اثرها با داروهای ضد درد و ضد سوزش هورمونی همچون مورفین و پیروکسی‌کام قابل مقایسه می‌باشد (Sayyah et al., 2003). از برگ و میوه برگ‌بو سابقاً نوعی پماد بنام روغن لوریه (P. de Laurier) تهیه می‌کردند که برای دامپزشکی کاربرد داشت (زرگری، ۱۳۶۹).

در دانه این گیاه ۳۴-۲۰ درصد چربی معطر وجود دارد که شامل اسید لوریک، اسید پالمیتیک، اسید اولئیک و اسید لینولئیک می‌باشد (Martindale, 1996). بررسی اسانس موجود در برگ‌های گیاه برگ‌بو در مراحل مختلف رشد (رویشی، شکوفه، گلدهی و بذر)، نشان داده که بیشترین مقدار اسانس در مرحله گلدهی بدست می‌آید (Verdian-rizi, 2008). موارد استفاده این اسانس صنایع غذایی، صنایع آرایشی و عطرسازی می‌باشد (Özcan & Chalchat, 2005؛ Sekeroglu et al., 2007).

در تحقیقی اسانس برگ گیاه *Laurus nobilis* L. پس از جمع‌آوری در فصل گلدهی به روش تقطیر با آب (به

### روش اسانس‌گیری

از گیاهان جمع‌آوری شده، اسانس‌گیری در مدت زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵، ۹۰، ۱۰۵ و ۱۲۰ دقیقه در سه تکرار صورت گرفت. استخراج به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر، طراحی شده براساس دارونامه بریتانیا انجام شد.

برای هر اسانس‌گیری، ابتدا مقدار ۵ گرم نمونه گیاهی به‌دقت وزن شده و برای اندازه‌گیری درصد رطوبت، در آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مقدار ۸۰ گرم نمونه گیاهی خشک پس از پودر کردن کامل، مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. اسانس‌ها با سولفات سدیم رطوبت‌گیری شدند و بازده آنها، پس از تعیین درصد رطوبت گیاه، براساس وزن خشک گیاه محاسبه شد.

### جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس

نمونه‌های آماده شده ابتدا به دستگاه کروماتوگراف گازی تزریق شد و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر اسانس و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) و یافتن مناسبترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌های بدست آمده با دی‌کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل شده با طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوطه بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت (Adams, 1995; Davies, 1990; Shibamoto, 1987).

مدت ۳ ساعت) استخراج گردید. بازده اسانس ۲/۱٪ وزنی/وزنی با اجزاء اصلی ۸،۱-سینئول (۵۵/۸٪)، آلفا-تریپنیل استات (۱۵/۱٪)، ترپینن-۴-اول (۵/۳٪)، آلفا-پینن (۵/۲٪)، بتا-پینن (۴٪) و پارا-سیمن (۲/۷٪) گزارش شده است (Verdian-Rizi, 2009).

ترکیب‌های موجود در اسانس برگ، ساقه و میوه برگ‌بو قبلاً مطالعه شده و ۸،۱-سینئول (۵۸/۲٪)، آلفا-تریپنیل استات (۱۰/۰٪) و ساینین (۷/۲٪) در اسانس برگ، ۸،۱-سینئول (۴۲/۹٪)، آلفا-تریپنیل استات (۱۶/۸٪) و ساینین (۴/۷٪) در اسانس ساقه و ترانس-بتا-اوسیمین (۲۰/۸٪)، ۸،۱-سینئول (۱۴/۴٪)، آلفا-تریپنیل استات (۸/۵٪)، جرماکرن B (۷/۸٪)، آلفا-پینن (۶/۶٪)، جرماکرن D (۶٪)، ساینین (۵/۴٪) و بتا-پینن (۵/۱٪)، در اسانس میوه به‌عنوان اجزای اصلی گزارش شده‌اند (نادری حاجی باقرکندی و همکاران، ۱۳۸۸).

با توجه به کاربرد فراوان اسانس برگ‌بو در صنایع دارویی، آرایشی-بهداشتی و غذایی و همچنین با توجه به رابطه بین بازده اسانس و درصد مواد تشکیل‌دهنده آن با مدت زمان تقطیر، یافتن مدت زمان بهینه برای استخراج اسانس از این گیاه، هدف این تحقیق بوده است، به‌نحوی که با تنظیم مناسبترین مدت زمان تقطیر با صرف کمترین مقدار انرژی و هزینه، بتوان اسانس برگ‌بو را با بازده و کیفیت مناسب بدست آورد.

### مواد و روشها

#### جمع‌آوری گیاه

برگهای این گیاه از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران (تهران) در تیرماه ۱۳۸۸ جمع‌آوری و بعد در سایه و دمای محیط خشک شدند.

**مشخصات دستگاه GC**

شد و به روش آزمون چند دامنه دانکن نیز مورد مقایسه قرار گرفت.

**اندازه‌گیری چرخش نوری و ضریب شکست**

برای اندازه‌گیری چرخش نوری از دستگاه پلاریمتر مارک ATAGO مدل POLAX-2L و برای اندازه‌گیری ضریب شکست از دستگاه رفاکتومتر مدل DR-A1 استفاده شد.

**نتایج**

در جدول ۱ میانگین بازده اسانس حاصل از سه تکرار در مدت زمان‌های مختلف تقطیر و در جدول ۲ تجزیه واریانس این داده‌ها آورده شده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود افزایش مدت زمان اسانس‌گیری پس از ۹۰ دقیقه تأثیر معنی‌داری بر بازده اسانس ندارد.

در جدول ۳ مقایسه آماری تأثیر زمان‌های مختلف استخراج بر درصد ترکیب‌های مهم اسانس برگ‌بو و در جدول ۴ تجزیه واریانس این داده‌ها آورده شده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که مقدار ترکیب ۸،۱-سینئول پس از ۱۵ دقیقه تقطیر، بیشترین درصد را در اسانس دارا بوده و بتدریج در مدت زمان‌های طولانی‌تر تقطیر، مقدار نسبی آن کاهش یافته است. میزان ترکیب آلفا-تریپنیل استات تفاوت معنی‌داری را در زمان‌های مختلف اسانس‌گیری نشان نداد و ترکیب سابینن کمترین مقدار خود را در اسانس این گیاه در زمان ۱۵ دقیقه و بیشترین مقدار را در زمان ۶۰ دقیقه داشته است. البته در زمان‌های بالاتر از ۶۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری با افزایش زمان استخراج مشاهده نشد.

از گاز کروماتوگراف فوق‌سریع Thermo مدل UFM با ستون DB-5 پر شده با سیلیکای گداخته به طول ۱۰ متر، قطر ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۲۸۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۸۰ درجه در دقیقه و توقف به مدت ۳ دقیقه در دمای نهایی بود. نوع آشکارساز FID با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هلیوم با فشار ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه و نسبت شکاف ۱ به ۱۰۰۰ بود.

**مشخصات دستگاه GC/MS**

از گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی Varian مدل ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش دمای ۴ درجه در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است.

**تجزیه و تحلیل آماری**

در هر کدام از آزمایش‌ها، تیمارهای مورد بررسی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار آزمون شدند. میانگین بازده اسانس‌ها و ترکیب‌های عمده آنها با استفاده از برنامه MSTATC در سطح اطمینان ۰/۵٪ تجزیه واریانس

در جدول ۵ همه ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس برگ‌بو در زمان‌های مختلف تقطیر و در جدول ۶ ضریب شکست و چرخش نوری اسانس‌ها ارائه شده است.

جدول ۱- مقایسه آماری تأثیر زمان‌های مختلف استخراج بر بازده اسانس برگ‌بو

مدت زمان تقطیر	میانگین بازده اسانس (w/w)
۱۵ دقیقه	۱/۳۵۳ e
۳۰ دقیقه	۱/۹۱۷ c
۴۵ دقیقه	۱/۹۷ d
۶۰ دقیقه	۲/۰۰۳ c
۷۵ دقیقه	۲/۳۱۳ b
۹۰ دقیقه	۲/۴۸۷ a
۱۰۵ دقیقه	۲/۵۷۳ a
۱۲۰ دقیقه	۲/۶۰۳ a

جدول ۲- تجزیه واریانس بازده اسانس برگ‌بو در زمان‌های مختلف تقطیر

منابع واریانس	درجه آزادی	میانگین مربعات
فرکشن‌گیری	۷	۰/۶۳۲
خطا	۱۶	۰/۰۰۷
کل	۲۳	

۴/۰۲ = C.V.

تأثیر مدت زمان تقطیر با آب ...

جدول ۳- مقایسه آماری تأثیر زمان‌های مختلف استخراج بر درصد ترکیب‌های مهم اسانس برگ بو

میانگین درصد ترکیب‌ها (w/w)						
$\alpha$ -ylangen	$\alpha$ -terpinyl acetate	$\delta$ -terpineol	terpinolene	1,8-cineole	<i>p</i> -cymene	$\beta$ -pinene
۲/۳۰ d	۱۰/۴۳ a	۲/۳۰ a	۳/۰۰ a	۶۲/۰۳ a	۱/۱۰ d	۲/۱۳ c
۲/۶۰ cd	۱۱/۰۰ a	۲/۵۶۷ a	۳/۰۰ a	۵۹/۵۳ a	۱/۵۳ cd	۲/۴۳ bc
۳/۱۰ bc	۱۲/۹۰ a	۲/۵۰ a	۲/۸۷ ab	۵۳/۲۳ b	۱/۸۰ bc	۳/۰۷ abc
۳/۲۰ abc	۱۳/۰۳ a	۲/۴۷ a	۲/۷۰ b	۵۰/۲۳ bc	۲/۰۷ abc	۳/۶۰ a
۳/۶۷ ab	۱۳/۱۰ a	۲/۵۷ a	۲/۷۳ ab	۵۰/۱۰ bc	۲/۰۳ abc	۳/۰۷ abc
۳/۴۷ ab	۹/۳۷۰ a	۲/۶۳ a	۲/۶۰ ab	۴۷/۵۰ c	۱/۹۳ abc	۳/۸۳ a
۳/۹۳ a	۱۴/۳۷ a	۲/۴۳ a	۲/۵۷ ab	۴۴/۷۰ c	۲/۳۷ a	۳/۹۴ a
۳/۵۷ ab	۱۴/۸۰ a	۲/۴۷ a	۲/۳۷ ab	۴۵/۴۷ c	۲/۱۳ ab	۳/۴۷ ab

جدول ۴- تجزیه واریانس میانگین درصد ترکیب‌های اسانس برگ بو در زمان‌های مختلف استخراج

میانگین مربعات							
$\alpha$ -ylangen	$\alpha$ - terpinyl acetate	$\delta$ -terpineol	terpinolene	1,8-cineole	<i>p</i> -cymene	$\beta$ -pinene	sabinene
۰/۹۱۵ ns	۱۱/۰۴۵ ns	۰/۰۳۵ ns	۰/۳۱۴ ns	۰/۲۶۴ ns	۰/۴۷۰ ns	۱/۲۶۰ ns	۵/۱۰۶ ns
۰/۱۷۵	۹/۱۸۲	۰/۰۷۰	۰/۲۲۴	۸/۸۵۰	۰/۰۸۱	۰/۳۲۲	۰/۸۰۱
-	-	-	-	-	-	-	-
۱۲/۹۷	۲۴/۴۹	۱۰/۵۲	۱۷/۸۵	۵/۷۷	۱۵/۲۴	۱۷/۷۸	۹/۹۵

جدول ۵- مقایسه میزان ترکیب‌های موجود در اسانس برگ گیاه *Laurus nobilis*  
در زمان‌های مختلف استخراج

ردیف	نام ترکیب	RI	زمان‌های مختلف استخراج (دقیقه)								
			۱۲۰	۱۰۵	۹۰	۷۵	۶۰	۴۵	۳۰	۱۵	
۱	$\alpha$ -thujene	۹۲۸	۰/۲	-	۰/۲	-	۰/۲	-	۰/۱	-	۹۲۸
۲	$\alpha$ -pinene	۹۳۶	۳/۴	۳/۱	۳	۲/۹	۲/۶	۲/۱	۱/۶	۱/۳	۹۳۶
۳	sabinene	۹۷۱	۱۰	۱۰/۱	۹/۸	۹/۳	۹/۸	۸/۷	۷/۴	۷/۶	۹۷۱
۴	$\beta$ -pinene	۹۷۶	۳/۵	۳/۹	۳/۸	۳/۱	۳/۶	۳/۱	۲/۴	۲/۱	۹۷۶
۵	myrcene	۹۸۸	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۹۸۸
۶	<i>p</i> -cymene	۱۰۲۱	۲/۱	۲/۴	۱/۹	۲	۲/۱	۱/۸	۱/۵	۱/۱	۱۰۲۱
۷	1,8-cineole	۱۰۲۸	۴۵/۵	۴۴/۷	۴۷/۵	۵۰/۱	۵۰/۲	۵۳/۲	۵۹/۵	۶۲	۱۰۲۸
۸	$\gamma$ -terpinene	۱۰۵۸	۰/۵	۰/۴	۰/۵	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۲	۱۰۵۸
۹	cis sabinene hydrate	۱۰۶۷	۰/۴	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۶	۱۰۶۷
۱۰	terpinolene	۱۰۸۶	۲/۴	۲/۶	۲/۶	۲/۷	۲/۷	۲/۹	۳	۳	۱۰۸۶
۱۱	trans sabinene hydrate	۱۰۹۵	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۱۰۹۵
۱۲	endo-fenchol	۱۱۱۴	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲	۱۱۱۴
۱۳	terpinen-4-ol	۱۱۷۵	۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۳	۰/۴	۰/۳	۱۱۷۵
۱۴	$\alpha$ -terpineol	۱۱۸۵	۱/۵	۱/۴	۱/۶	۱/۶	۱/۵	۱/۴	۱/۶	۱/۳	۱۱۸۵
۱۵	$\gamma$ -terpineol	۱۱۹۶	۲/۶	۲/۴	۲/۶	۲/۶	۲/۵	۲/۵	۲/۶	۲/۳	۱۱۹۶
۱۶	linalool acetate	۱۲۴۰	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۰/۱	۰/۱	۱۲۴۰
۱۷	bornyl acetate	۱۲۶۸	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۲	۱۲۶۸
۱۸	carvacrol	۱۲۹۷	۰/۵	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۶	۰/۷	۰/۴	۰/۳	۱۲۹۷
۱۹	$\alpha$ -terpinyl acetate	۱۳۴۶	۱۴/۸	۱۴/۴	۹/۴	۱۳/۱	۱۳	۱۲/۹	۱۱	۱۰/۴	۱۳۴۶
۲۰	eugenol	۱۳۵۶	۲	۲/۱	۱/۸	۱/۵	۱/۷	۱/۴	۱	۰/۸	۱۳۵۶
۲۱	$\alpha$ -ylangene	۱۳۷۲	۳/۶	۳/۹	۳/۵	۳/۷	۳/۲	۳/۱	۲/۶	۲/۳	۱۳۷۲
۲۲	E-caryophyllene	۱۴۱۶	۰/۵	۰/۶	۰/۴	۰/۷	۰/۴	۰/۵	۰/۳	۰/۴	۱۴۱۶
۲۳	germacrene D	۱۴۸۱	۰/۹	۰/۹	۰/۷	۰/۹	۰/۷	۰/۶	۰/۴	۰/۴	۱۴۸۱
۲۴	$\gamma$ -cadinene	۱۵۱۱	۰/۳	۰/۴	۰/۲	۰/۳	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۱۵۱۱
۲۵	germacrene B	۱۵۵۸	۰/۵	۰/۶	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۱۵۵۸
	جمع کل		۹۶/۸	۹۶/۲	۹۲/۶	۹۸	۹۸	۹۷/۹	۹۸/۴	۹۸	

جدول ۶- ضریب شکست و چرخش نوری نمونه‌های اسانس برگ‌بو در زمان‌های مختلف استخراج

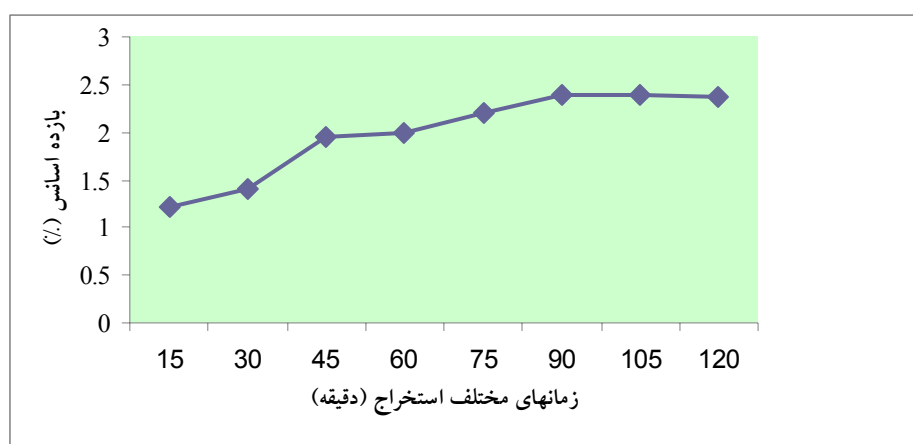
ردیف	مدت زمان تقطیر	چرخش نوری	ضریب شکست
۱	۱۵ دقیقه	-۱۴/۵۰	۱/۴۶۷۰
۲	۳۰ دقیقه	-۱۴/۵۰	۱/۴۶۷۰
۳	۴۵ دقیقه	-۱۴/۵۰	۱/۴۶۷۰
۴	۶۰ دقیقه	-۱۶/۴۵	۱/۴۶۵۹
۵	۷۵ دقیقه	-۱۷/۴۵	۱/۴۶۸۳
۶	۹۰ دقیقه	-۱۷/۷۵	۱/۴۶۸۰
۷	۱۰۵ دقیقه	-۱۷/۸۵	۱/۴۷۲۰
۸	۱۲۰ دقیقه	-۱۷/۹۵	۱/۴۶۹۶

همانگونه که جدول ۶ نشان می‌دهد ضریب شکست و چرخش نوری اسانس برگ‌بو در زمان‌های تقطیر ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه ثابت است. ضریب شکست اسانس تا زمان ۷۵ دقیقه تقطیر افزایش یافته و سپس بتدریج کاهش یافته است. مقدار چرخش نوری منفی اسانس نیز با افزایش زمان اسانس‌گیری یک افزایش تدریجی را نشان داده است.

### بحث

بررسی آماری تقریباً ثابت ماندن بازده اسانس در سه مدت زمان ۹۰، ۱۰۵ و ۱۲۰ را نشان می‌دهد. شکل ۱

بازده اسانس برگ‌بو در ۸ زمان مختلف اسانس‌گیری را نشان می‌دهد که با افزایش زمان استخراج (از ۱۵ دقیقه تا ۹۰ دقیقه) افزایش معنی‌داری در مقدار بازده اسانس از لحاظ آماری وجود دارد، در حالی که بعد از زمان ۹۰ دقیقه تا ۱۲۰ دقیقه با افزایش زمان استخراج اختلاف معنی‌داری در مقدار بازده اسانس بدست نیامد. بنابراین بهترین مدت زمان اسانس‌گیری برای بدست آوردن بازده مناسب (با در نظر گرفتن صرفه‌جویی در مصرف انرژی و هزینه) از اسانس برگ گیاه برگ‌بو ۹۰ دقیقه می‌باشد.

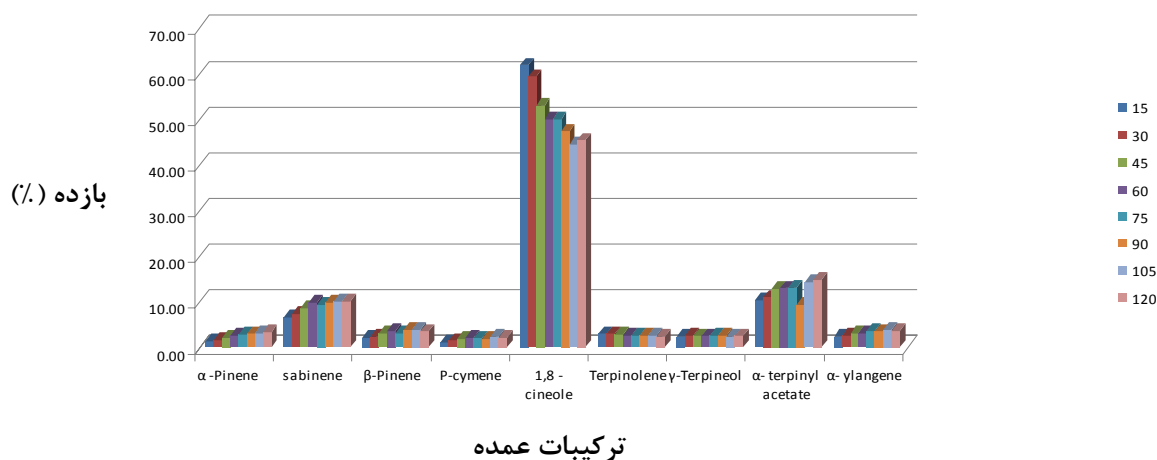


شکل ۱- تغییرات بازده اسانس برگ‌بو در زمان‌های مختلف استخراج



مختلف اسانس‌گیری از لحاظ مقدار در اسانس این گیاه نداشت و ترکیب ساینین کمترین مقدار خود را در اسانس این گیاه در زمان ۱۵ دقیقه و بیشترین مقدار را در زمان ۶۰ دقیقه داشته است. البته در زمان‌های بالاتر از ۶۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری با افزایش زمان استخراج مشاهده نشد.

در شکل ۲ ترکیب‌های عمده اسانس برگ‌بو در زمان‌های مختلف استخراج با روش تقطیر با آب مورد مقایسه قرار گرفته که مقدار ترکیب ۸،۱-سینئول در بین ۸ زمان مختلف تقطیر پس از ۱۵ دقیقه بیشترین درصد را در اسانس برگ گیاه برگ‌بو داشته است. ترکیب آلفا-ترپینیل استات تفاوت معنی‌داری را در زمان‌های

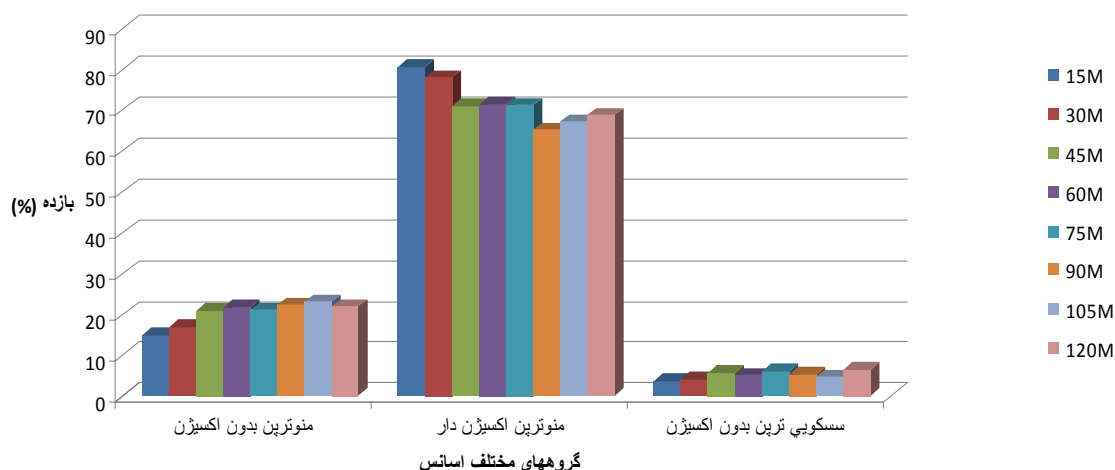


شکل ۲- مقایسه تأثیر زمان‌های مختلف استخراج بر درصد ترکیب‌های عمده اسانس برگ‌بو

سینئول در اولین دوره استخراج (۱۵ دقیقه) دارای بیشترین درصد برابر ۶۲٪ و در مدت زمان بهینه معرفی شده (۹۰ دقیقه) ۴۷/۵٪ بود که از نظر کمی و کیفی به اسانس برگ‌بو موجود در فرانسه برتری دارد.

همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در مجموع میزان منوترپن‌ها و سزکوئی‌ترین‌های بدون اکسیژن در اسانس با افزایش مدت زمان تقطیر به صورت نسبی افزایش یافته، حال آنکه مقدار منوترپن‌های اکسیژن‌دار به‌طور نسبی کاهش یافته است.

اسانس برگ گیاه برگ‌بو در فرانسه به روش تقطیر با آب استخراج و مورد بررسی قرار گرفته است. بازده اسانس پس از ۲ ساعت اسانس‌گیری ۰/۵۷٪ و درصد برخی از عمده‌ترین ترکیب‌های آن همچون ۸،۱-سینئول، آلفا-ترپینیل استات و ساینین به‌ترتیب برابر ۳۹/۱٪، ۱۸/۲٪ و ۴/۴٪ گزارش شده است (Fiorini et al., 1997). بازده اسانس در تحقیق حاضر در هشت زمان مختلف استخراج (۱۵ تا ۱۲۰ دقیقه) بین ۲/۶-۱/۳۵ درصد بدست آمد و همچنین مقدار ترکیب ۸،۱-



شکل ۳- تأثیر زمان‌های مختلف استخراج بر درصد گروه‌های مختلف اسانس برگ‌بو

انرژی، برای دستیابی به میزان مناسبی از اسانس و ۱۸- سینئول از برگ‌های گیاه برگ‌بو پیشنهاد نمود.

### منابع مورد استفاده

- امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۹. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات طراحان نشر، ۲۸۳ صفحه.

- نادری حاجی باقرکندی، م.، سفیدکن، ف.، پورهرروی، م. و میرزا، م.، ۱۳۸۸. استخراج، شناسایی و مقایسه ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس برگ، ساقه و میوه برگ‌بو (*Laurus nobilis* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۵(۲): ۲۱۶-۲۲۷.

- Adams, R.P., 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream; Illinois, USA, 804p.
- Boland, D.J., Brophy, J.J. and House, A.P.N., 1991. Eucalyptus leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing. Inkata Press, Melburn, 252p.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Hamdi, M. and Chaabouni, M.M., 2003. Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants. Flavour and Fragrance Journal, 18(5): 380-383.
- Caneva, G. and Bohuny, L., 2003. Botanic analysis of Livia's villa painted flora (Prima Porta, Roma). Journal of Cultural Heritage, 4(2): 149-155.
- Davies, N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on

۸،۱-سینئول با فرمول مولکولی  $C_{10}H_{18}O$  دارای نام‌های دیگری از جمله اکالیپتول و 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octane (نام IUPAC) نیز می‌باشد. این ترکیب در بیش از ۹۰٪ اسانس گونه‌های گیاهی اکالیپتوس موجود می‌باشد (Boland *et al.*, 1991). ۸،۱-سینئول را علاوه بر اکالیپتوس در اسانس بسیاری از گیاهان از جمله برگ‌بو، درخت چای، ریحان شیرین، افسنتین و اکلیل کوهی می‌توان یافت. از این ترکیب به‌عنوان چاشنی، معطر و خوش‌بوکننده مواد غذایی و در صنایع شیرینی‌پزی و تولیدات گوشت و همچنین صنعت دارویی در مقادیر کم (۰/۰۰۲٪) استفاده می‌شود (Harborne & Baxter, 2001). از جمله کاربردهای دارویی ۸،۱-سینئول فرونشاندن سرفه در مبتلایان به آسم (Juergens *et al.*, 2003; Juergens *et al.*, 2004) و درمان چرک‌های حنجره (Kehrl *et al.*, 2004)، کاهنده التهاب و درد در صورت استفاده صحیح (Santos & Moteki *et al.*, 2000) و از بین برنده سلول‌های سرطان (Rao, 2002) و از بین بردن و دافع حشرات می‌باشد (Klocke *et al.*, 2002). بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق و اهمیت کاربردی ترکیب ۸،۱-سینئول، می‌توان مدت زمان ۹۰ دقیقه تقطیر را با صرف کمترین مدت زمان و

- (eucalyptol), a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis. *Food Chemical Toxicology*, 42(4): 579-584.
- Sayyah, M., Saroukhani, G., Peirovi, A. and Kamalinejad, M., 2003. Analgesic and Anti-inflammatory activity of the leaf Essential oil of *Laurus nobilis* L. *Phytotherapy Research*, 17(7): 733-736.
  - Sekeroglu, N., Ozguven, M. and Erden, U., 2007. Effects of The Drying Temperature on Essential oil Content of bay Leaf (*Laurus nobilis* L.) Harvested at Different Times. *International Symposium on Medicinal and Nutraceutical Plants*. Macon, Georgia, USA, 8 November: 756.
  - Sfara, V., Zerba, E.N. and Alzogaray, R.A., 2009. Fumigant Insecticidal Activity and Repellent Effect of Five Essential Oils and Seven Monoterpenes on First-Instar Nymphs of *Rhodnius prolixus*. *Journal of Medical Entomology*, 46(3): 511-515.
  - Shibamoto, T., 1987. Retention Indices in Essential Oil Analysis: 259-274. In: Sandra, P. and Bicchi, C., (Eds.). *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Huethig, Verlag, New York, 435p.
  - Simic, A., Sokovic, D., Ristic, M., Grujic-Jovanovic, S., Vukojevic, J. and Marin, P.D., 2004. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. *Phytotherapy Research*, 18(9): 713-717
  - Simić, M., Kundaković, T. and Kovačević, N., 2003. Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*, 74(6): 613-616.
  - Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M. and Knez, Z., 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 89(2): 191-198.
  - Skoog, D.A., 1985. *Principle of Instrumental Analysis*. Saunders College Publishing, 960p.
  - Syed, M., Riaz, M. and Chaudhari, F.M., 1991. The Antibacterial Activity of the Essential Oils of the Pakistani Acorus Calamus Callistemon Lanceolatus and *Laurus nobilis*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 34(11): 456-458.
  - Tuzlaci, E. and Erol, M.K. 1999. Turkish Folk Medicinal Plants. Part II: Egirdir (Isparta). *Fitoterapia*, 70(3): 593-610.
  - Tuzlaci, E. and Tolon, E., 2000. Turkish Folk Medicinal Plants, Part III: Sile (Istanbul). *Fitoterapia*, 71(6): 673-685.
  - Verdian-Rizi, M., 2009. Chemical Composition and Larvicidal Activity of the Essential Oil of *Laurus nobilis* L. from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1): 47-50.
  - Verdian-rizi, M., 2008. Phenological variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Iran. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(11): 3321-3325.
  - Methyl silicone and Carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*, 503: 1-24.
  - Fiorini, C., Fourasté, I., David, B. and Bessière, J.M., 1997. Composition of the Flower, Leaf and Stem Essential Oils from *Laurus nobilis*. *Flavour and Fragrance Journal*, 12(2): 91-93
  - Hafizoglu, H. and Reunanen, M., 1993. Studies on the Components of *Laurus nobilis* from Turkey with Special References to Laurel Berry Fat. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 95(8): 304-308.
  - Harborne, J.B. and Baxter, H., 2001. *Chemical Dictionary of Economic Plants*. John Wiley & Sons, 236p.
  - Juergens, U.R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R. and Vetter, H., 2003. Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory Medicine*, 97(3): 250-256.
  - Juergens, U., Engelen, T., Racké, K., Stöber, M., Gillissen, A. and Vetter, H., 2004. Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 17(5): 281-287.
  - Kehrl, W., Sonnemann, U. and Dethlefsen U., 2004. Therapy for acute nonpurulent rhinosinusitis with cineole: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Laryngoscope*, 114(4): 738-742.
  - Klocke, J.A., Darlington, M.V. and Balandrin, M.F., 1987. 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *Journal of Chemical Ecology*, 13(12): 2131-2141.
  - Martindale, W., 1996. *Martindale: The Extra Pharmacopoeia*. Rittenhouse Book Distributors, 2739P.
  - Moteki, H., Hibasami, H., Yamada, Y., Katsuzaki, H., Imai, K. and Komiya, T., 2002. Specific induction of apoptosis by 1,8-cineole in two human leukemia cell lines, but not in a human stomach cancer cell line. *Oncology Reports*, 9(4): 757-760.
  - Özcan, M. and Chalchat, J.C. 2005. Effect of Different Locations on the Chemical Composition of Essential Oils of Laurel (*Laurus nobilis* L.) Leaves Growing Wild in Turkey. *Journal of Medicinal Food*, 8(3): 408-411.
  - Rohwer, J., 1993. Lauraceae: 366-390. In: Kubitzki, K., Rohwer, J.G. and Bittrich, V., (Eds.). *The Families and Genera of Vascular Plants (vol 2)*. Springer, Berlin, 653p.
  - Kivcak, B., Mert, T. and Denizci, A.A., 2001. Antimicrobial activities of *Laurus nobilis* L. leaf extracts. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 18: 149-53.
  - Santos, F.A. and Rao V.S.N., 2000. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytotherapy research*, 14(4): 240-244.
  - Santos, F.A., Silva, R.M., Campos, A.R., De Araujo, R.P., Lima Junior, R.C.P. and Rao, V.S.N., 2004. 1,8-cineole

## The influence of different distillation times on essential oil content and composition of *Laurus nobilis* L.

M. Naderi Hajibagher kandi<sup>1\*</sup>, F. Sefidkon<sup>2</sup>, A. Azizi<sup>3</sup> and M.R. Pourheravi<sup>4</sup>

1\*- Corresponding author, MSc. Student of Payame-e-Noor University, Abhar, Iran, E-mail: m.nadery@rifr-ac.ir

2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

3-Molecular Research Lab, Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran

4- Payame Noor University, Abhar, Iran

Received: November 2009

Revised: January 2011

Accepted: March 2011

### Abstract

*Laurus nobilis* L. (Lauraceae) is an evergreen shrub widely distributed in the Mediterranean area and Southern Europe. *Laurus nobilis* is widely found in north of Iran and other places and its cultivation has been common due to evergreen leaves and beautiful appearance. Due to the relationship between distillation time and oil yield and composition, doing research on optimum distillation time to obtain the best quality and quantity of essential oils with the lowest energy consumption has been always considered by scientists. In this study, the effect of different extraction times including 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 and 120 minutes on the essential oils content and composition of *Laurus nobilis* leaves was investigated. The leaves of *laurus nobilis* were collected in July 2009 from National Botanical Garden of Iran in Tehran, and dried in shade. The essential oil of leaves was extracted by hydro-distillation and analyzed by capillary gas chromatography (GC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). The leaf oil yield based on dry weight in 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 and 120 minutes were respectively 1.35%, 1.92%, 1.97%, 2%, 2.37%, 2.49%, 2.58% and 2.60%. Statistical analysis showed no significant differences in oil yield of 90, 105 and 120 minutes extraction times. According to the results, with a view to quantity, 90 minutes was identified as the best extraction time for essential oil extraction in *laurus nobilis*. 1, 8-cineole and sabinene were identified as the major components of the leaf oil respectively within 15 minutes and after 45 minutes.  $\alpha$ -terpinyl acetate remained constant in all extraction times.

**Key words:** *Laurus nobilis* L., essential oil, different extraction times, 1,8-cineole,  $\alpha$ -terpinyl acetate, sabinene.