

## شناسایی و مقایسه ترکیبهای موجود در اسانس پوست میوه بالنگ (*Citrus medica L.*) با دو روش استخراج (تقطیر با آب و پرس سرد)

معصومه حبشی<sup>۱\*</sup>، مهدی میرزا<sup>۲</sup>، یونس مستوفی<sup>۳</sup> و کامکار جایمند<sup>۲</sup>

\*۱- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، پست الکترونیک: fm\_Habashi@yahoo.com

۲- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۸۷

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۶

### چکیده

گیاه بالنگ (*Citrus medica L.*) یکی از گونه‌های خانواده مرکبات می‌باشد. اسانس پوست میوه بالنگ در صنایع غذایی، دارویی و عطرسازی کاربرد فراوان دارد. میوه‌های بالنگ در فصل پاییز از منطقه شمال ایران جمع‌آوری گردید و سپس از پوست میوه به روشهای تقطیر با آب و پرس سرد اسانس‌گیری شد. بازده اسانس تقطیر ۰/۶٪ و بازده اسانس پرس سرد ۰/۵٪ بدست آمد. برای شناسایی ترکیبهای اسانس از دستگاه‌های GC و GC/MS استفاده گردید. در اسانس تقطیری ۲۵ ترکیب شناسایی شد که عمده‌ترین ترکیبهای تشکیل‌دهنده اسانس، لیمونن (۵۸/۳٪)، گاما-تریپنین (۱۶/۸٪)، ژرانیل (۴/۸٪)، نرال (۴/۸٪)، ژرانیل استات (۱/۴٪) ژرانیل (۱/۴٪) بودند. در اسانس پرس سرد، ۲۳ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفت و عمده‌ترین ترکیبهای تشکیل‌دهنده اسانس، لیمونن (۶۳/۷٪)، گاما-تریپنین (۲۱/۷٪) و ژرانیل (۱/۳٪) بودند.

واژه‌های کلیدی: *Citrus medica L.*، اسانس، تقطیر با آب، پرس سرد، لیمونن.

### مقدمه

میوه‌های مرکبات تقریباً جزء گسترده‌ترین میوه‌هایی هستند که در سراسر دنیا تولید می‌شوند. پوست میوه مرکبات حاوی اسانسی است که منبعی غنی از ترکیبهای معطر و دارویی به‌شمار می‌رود و به‌راحتی و با کمترین هزینه‌ها قابل استخراج است (Poiana et al., 1998). مهمترین کاربرد اسانس مرکبات در صنایع غذایی می‌باشد. صنایع تولید نوشابه و نوشیدنیهای ملایم (غیرالکلی)، بزرگترین مصرف‌کنندگان این اسانسها (به‌عنوان

طعم‌دهنده) هستند و بعد از آن صنایع تولید بستنی، بیسکویت، دسرها، صنایع قنادی و آدامس‌سازی به‌طور گسترده از این فرآورده استفاده می‌کنند. تولید جهانی اسانس مرکبات بیش از ۵۰۰۰۰ تن تخمین زده می‌شود که ۸۰۰۰ تن آن در تولید نوشابه‌های ملایم بکار می‌رود (مرتضوی و ضیالحق، ۱۳۸۳). مصارف دارویی اسانس مرکبات نیز در حال افزایش است. زیرا بسیاری از ترکیبهای موجود در این اسانس دارای اثرات درمانی بوده و در صنایع دارویی حایز اهمیت‌اند نظیر سیترونال که

اسیدهای آلی موجود در اسانس مربوط می‌شود (Attaway et al., 1996). به‌طور کلی اسانس مرکبات، با در نظر گرفتن لیمون و ترپنهای اکسیژن‌دار بیش از ۹۰ درصد منوترپن دارند (مرتضوی و ضیالحق، ۱۳۸۳). در این تحقیق که برای اولین بار در مورد این گونه از مرکبات در ایران صورت گرفته است، ترکیب شیمیایی اسانس پوست میوه بالنگ منطقه شمال کشور مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقات انجام شده توسط Cappello و همکاران (۱۹۸۲) در اسانس پوست میوه بالنگ که با روش تقطیر با بخار آب بدست آمد ۲۲ ترکیب شناسایی شد که عمده‌ترین ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس لیمون (۶۱-۵۵٪) و گاما-ترپینن (۲۷-۲۳٪) گزارش شد در حالیکه در اسانسی که به‌طور مستقیم و با استفاده از سرنگ، از پوست بالنگ بدست آمد اجزای اصلی اسانس، لیمونن (۵۱٪)، ژرانیال (۱۳٪) و نرال (۱۱٪) بودند. Hute (۱۹۸۶) در اسانس پوست میوه بالنگ که با استفاده از حلال استخراج شده بود، موفق به شناسایی ۴۶ ترکیب شد. ترکیبهای عمده اسانس، لیمونن (۵۹٪) و گاما-ترپینن (۷٪) بودند. در تحقیقی دیگر توسط Cotroneo و همکاران (۱۹۸۶) در اسانس بدست آمده به روش تقطیر با بخار آب، ۲۹ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفت که لیمونن (۵۹-۵۵٪) و گاما-ترپینن (۲۴-۱۱٪) ترکیبهای اصلی تشکیل دهنده اسانس بودند. در یک بررسی دیگر در اسانس بدست آمده به روش تقطیر با آب وجود ۳۳ ترکیب در اسانس گزارش شد و اجزای اصلی اسانس لیمونن (۶۲-۶۰٪) و گاما-ترپینن (۱۲-۱۱٪) عنوان گردید (Lota, 1999). Wen و همکاران (۱۹۸۶) در اسانس استحصالی به روش تقطیر با آب از پوست میوه بالنگ به وجود ۳۴ ترکیب در اسانس اشاره کردند که عمده‌ترین

یک ترکیب آرامش دهنده بوده و در درمان بیماران مبتلا به افسردگی و بیماریهای روانی کاربرد دارد (Wiess, 1997). گروه غالب ترکیبهای شیمیایی موجود در اسانس مرکبات، ترپنها هستند که عمده‌ترین ماده آن هیدروکربن لیمونن است. این ترکیب با فرمول بسته  $C_{10}H_{16}$  و به وزن مولکولی ۱۳۶/۱۲۳ یک منوترپن تک حلقه‌ای است که به فرم‌های راست‌گرد، چپ‌گرد و راسمیک وجود دارد. بیش از ۵۰ سال است که این ماده به‌عنوان فرآورده جانبی حاصل از مرکبات شناخته شده و تولید جهانی آن سالانه بیش از ۵۰۰۰۰ تا ۷۵۰۰۰ میلیون تن تخمین زده می‌شود که بیشتر آن در برزیل و فلوریدا می‌باشد (مرتضوی و ضیالحق، ۱۳۸۳). بخارات لیمونن موجب خشی شدن اثر میکروبیهای مولد بیماری منوکوک (Monococcus)، باسیل ابرت (Abert basilus) (تیفوئید)، پنوموکوک (Penomococcus) (مولد ذات‌الریه)، استافیلوکوک طلائی و استرپتوکوک می‌شود و محلول ۰/۲ درصد آن نیز از تکثیر باسیل سل جلوگیری می‌کند. لیمونن در تولید ویتامین A و فرآورده‌های دارویی نظیر قرص بی‌کربنات سدیم و پمادهای ضد عفونی‌کننده، عطرسازی، معطر نمودن مواد بهداشتی و آرایشی مانند انواع شوینده‌ها، صابونهای رنگی، خوشبوکننده‌ها، به‌عنوان حلال در ساخت رزینها و مرطوب کننده‌ها و نیز در صنعت لاستیک، رنگهای پلاستیک، جوهر سریع‌الخشک چاپ، صنعت چرم و کفش و ... بکار می‌رود (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵). اسانس حاصل از ارقام مختلف مرکبات دارای طعم و عطر مشخصی می‌باشند که ناشی از فرآیندهای متابولیکی میوه‌ای هستند که از آن بدست آمده‌اند. این ویژگی (عطر و طعم) بیشتر به مشتقات اکسیژن‌دار ترین شامل آلدئیدها، کتونها، استرها، الکلها و

روش تقطیر با بخار آب، وجود ۱۷ ترکیب را گزارش کرد. عمده‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس لیمون ( $2/89/$ )، نرال ( $8/7/$ ) و ژرانیال ( $2/$ ) بودند (Tanaka, 2002). Njoroge و Sawamora (۲۰۰۵) در تحقیقی دیگر موفق به شناسایی ۳۴ ترکیب در اسانس پرس شده پوست میوه بالنگ شدند. براساس این تحقیق اجزای اصلی اسانس، لیمون ( $2/43/$ )، ژرانیال ( $4/23/$ )، نرال ( $3/16/$ ) و ژرانیول ( $8/6/$ ) بود (Njoroge & Sawamora, 2005).

*C. medica* درختی است کوچک یا درختچه‌ای بزرگ با خارهای کوتاه، برگها معطر، به طول ۱۸-۱۰ سانتی‌متر، مستطیلی شکل، گل‌آذین خوشه‌ای یا دسته‌ای محوری، گلها معطر، گلبرگها در سطح درونی سفید و در سطح بیرونی مایل به ارغوانی، میوه بیضوی تا مستطیل شکل و در انتها دارای نوک برجسته، کم گوشت و ترش مزه، پوست میوه ضخیم، ناهموار، بسیار معطر و در زمان رسیدن زرد کم رنگ است (قهرمان، ۱۳۸۳). پوست میوه از یک لایه خارجی رنگی (فلوئید) که حاوی کیسه‌های ترش‌هی اسانس است و یک لایه داخلی ضخیم سفید رنگ (آلبیدو) تشکیل می‌شود (Wiess, 1997). پراکنش جغرافیایی آن در شمال (مازندران، گیلان) و در جنوب (فارس، جیرفت) است (قهرمان، ۱۳۸۳).

### مواد و روشها

#### الف) جمع‌آوری و استخراج اسانس

میوه‌های بالنگ (*Citrus medica* L.) در اواخر پاییز ۱۳۸۵ در مرحله رسیدگی و به هنگام صبح از باغ مؤسسه تحقیقات مرکبات رامسر (شمال) جمع‌آوری گردیده و برای اسانس‌گیری به مؤسسه تحقیقات

ترکیبها عبارت بودند از: لیمون ( $2/68/$ )، ژرانیال ( $5/9/$ ) و نرال ( $4/5/$ ). Cotroneo و همکاران (۱۹۸۶) در اسانس پرس شده پوست میوه بالنگ ۲۷ ترکیب را شناسایی نمودند. لیمون ( $68-59/$ )، گاما-ترپینن ( $24-9/$ ) و بتا-پینن ( $15-2/$ ) به‌عنوان اجزای اصلی اسانس گزارش شدند (Dung, 1996). در اسانس بدست آمده از پوست میوه بالنگ به روش تقطیر با بخار آب ۲۸ ترکیب گزارش شد که لیمون ( $8/47/$ )، ژرانیال ( $5/2/$ ) و نرال ( $6/1/$ ) به‌عنوان ترکیبهای عمده اسانس معرفی شدند (Shiato, 1990). Flisher و Flisher (۱۹۹۱) در اسانس پرس شده پوست میوه بالنگ ۱۹ ترکیب شناسایی کردند. لیمون ( $4/81/$ )، ژرانیال ( $2/4/$ ) و نرال ( $6/2/$ ) ترکیبهای اصلی تشکیل دهنده اسانس عنوان شدند. Poiana و همکاران (۱۹۹۸) از پوست بالنگ به روشهای تقطیر با بخار آب، حلال و گاز  $CO_2$  اسانس‌گیری کردند. بیش از ۵۰ ترکیب در اسانس شناسایی شد و در هر سه نمونه اسانس استخراج شده، لیمون ( $68-59/$ ) و گاما-ترپینن ( $24-9/$ ) به‌عنوان ترکیبهای عمده اسانس گزارش شدند. در تحقیقات انجام شده توسط Lota (۱۹۹۹) از پوست میوه ۵ نمونه بالنگ به روش Cold-press اسانس‌گیری شد که ۳۶ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفت. لیمون ( $6/93-6/9-46/$ ) همیشه ترکیب اصلی اسانسها بود. در یکی از نمونه‌ها ترکیب عمده اسانس لیمون با میزان  $93/6/$  بود در حالی که میزان سایر ترکیبها کمتر یا مساوی  $1/5/$  بدست آمد. در یک نمونه دیگر لیمون ( $4/70/$ )، ژرانیال ( $4/14/$ ) و نرال ( $6/7/$ ) اجزای اصلی اسانس بودند و در سه نمونه دیگر لیمون ( $9/51-5/46/$ ) و گاما-ترپینن ( $3/31-2/26/$ ) ترکیبهای اصلی اسانس را تشکیل می‌دادند (Lota, 1999). Tanaka (۲۰۰۲) در اسانس بدست آمده از پوست میوه بالنگ به

**ج) مشخصات دستگاههای مورد استفاده**

**دستگاه GC-** گاز کروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A با ستون موئینه DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، به ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر مورد استفاده قرار گرفت. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۱۲۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۴ درجه در دقیقه و سپس از دمای ۲۴۰-۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۲۰ درجه در دقیقه و توقف این دما به مدت ۸/۵ دقیقه تنظیم شد. نوع آشکارساز FID با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هلیوم با فشار ۱/۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بود.

**دستگاه GC-MS-** گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع واریان، مدل ۳۴۰۰، ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون مانند GC تنظیم گردید. دمای محفظه تزریق ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد بود.

**نتایج****۱) مقادیر کمی اسانسها**

بازده اسانس تقطیری ۰/۶٪ و بازده اسانس حاصل از پرس سرد ۰/۵٪ بدست آمد. این بازده براساس وزن خشک (w/w) محاسبه گردید. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر روش استخراج بر مقادیر کمی اسانس استحصالی معنی‌دار نبود. همچنین مقایسه میانگین مقادیر کمی اسانسها براساس آزمون دانکن (جدول ۲)، نشان داد که بین مقادیر کمی اسانس تقطیری و اسانس حاصل از پرس سرد پوست میوه بالنگ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

جنگلها و مراتع کشور منتقل شد. پس از جداسازی پوست میوه (لایه خارجی) به وسیله رنده زدن، با دو روش تقطیر با آب و پرس سرد، در سه تکرار عمل استخراج اسانس انجام گرفت. در روش تقطیر با استفاده از دستگاه کلونجر از ۳۰۰ گرم پوست تازه میوه به همراه آب مقطر در طی ۳ ساعت جوشیدن اسانس‌گیری شد. در روش پرس سرد نیز طی سه مرحله به شرح ذیل اسانس استخراج گردید:

- ۱- استخراج روغن اسانسی با استفاده از دستگاه پرس دستی و با اعمال فشار زیاد بر پوست
- ۲- جداسازی موم از امولسیون روغنی با نگهداری آن در فریزر به مدت ۴ روز و بعد صاف کردن
- ۳- سانتریفوژ امولسیون آب و روغن با شتاب ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و بعد جمع‌آوری اسانس

**ب) جداسازی و شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس**

برای جداسازی و شناسایی ترکیبهای موجود در اسانس، از دستگاههای کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) آزمایشگاه شیمی گیاهی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور استفاده شد. پس از تزریق اسانس به دستگاههای فوق با استفاده از زمان بازداری (tr)، شاخص بازداری (RI)، طیفهای جرمی ترکیبها و مقایسه این پارامترها با ترکیبهای استاندارد و یا با اطلاعات کتابخانه کامپیوتری دستگاه (GC/MS) ترکیبهای تشکیل دهنده هر اسانس مورد شناسایی قرار گرفت.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر روش استخراج بر مقادیر کمی اسانس

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات مقادیر اسانس
روش استخراج	۱	۰/۵۶۹ n.s
خطا	۸	۰/۱۸۱
کل	۹	
ضریب تغییرات (%)		۵۸/۱۳

n.s. نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین مقادیر کمی اسانس بر اساس آزمون دانکن

تیمارها	مقادیر کمی اسانس (گرم)
استخراج با روش تقطیر با آب	۰/۲۷۷۰ a
استخراج با روش پرس سرد	۰/۵۰۰ a

a. حرف مشابه در ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

## ۲) ترکیبهای تشکیل‌دهنده اسانسها

کلیه ترکیبهای شناسایی شده در هر اسانس به همراه درصد نسبی و شاخص بازداري آنها در جدول ۳ آورده شده است. براساس آنالیز صورت گرفته ۲۵ ترکیب در اسانس تقطیری شناسایی گردید که در مجموع ۹۹/۶٪ از اسانس را تشکیل می‌دهند و عمده‌ترین ترکیبهای تشکیل‌دهنده اسانس عبارتند از: لیمونن (۵۸/۳٪)، گاما-تریپنین (۱۶/۸٪)، ژرانیال (۶٪) و نرال (۴/۸٪). در اسانس حاصل از پرس سرد پوست میوه نیز ۲۳ ترکیب مورد شناسایی قرار گرفت که در مجموع ۹۹/۴٪ از اسانس را تشکیل داده‌اند و عمده‌ترین ترکیبهای تشکیل‌دهنده این اسانس نیز لیمونن (۶۳/۷٪) و گاما-تریپنین (۲۱/۷٪) می‌باشند.

## بحث

بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین مقادیر کمی اسانسهای بدست آمده از روشهای تقطیر و پرس سرد نشان داد که روش استخراج تأثیری بر

کمیت اسانس استحصالی نداشته است. اما نتایج حاصل از آنالیز اسانسها نشان می‌دهد که روش استخراج بر کیفیت اسانس تأثیر دارد به طوری که بین تعداد، نوع و درصد ترکیبهای موجود در اسانسها تفاوتی مشهود است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که لیمونن و گاما-تریپنین اصلی‌ترین ترکیبهای تشکیل‌دهنده هر دو نمونه اسانس هستند و ۷۵-۸۵ درصد از کل اسانسها را تشکیل می‌دهند که از این نظر نتیجه بدست آمده با نتیجه تحقیقات Cotroneo و همکاران (۱۹۸۲)، Hute (۱۹۸۶)، Poiana و همکاران (۱۹۹۸) و Lota (۱۹۹۹) مطابقت دارد اما با نتیجه تحقیقات Wen و همکاران (۱۹۸۶)، Shiato (۱۹۹۰) و Flisher (۱۹۹۱)، Njoroge و Sawamora (۲۰۰۲) و (۲۰۰۵) متفاوت است. نتایج نشان می‌دهد که مقدار لیمونن در اسانس تقطیری (۵۸/۳٪) در مقایسه با اسانس پرس سرد (۶۳/۷٪) کمتر می‌باشد اما میزان مواد معطر موجود در

جدول ۳- ترکیبهای شناسایی شده در اسانس پوست میوه بالنگ (*Citrus medica* L.)

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد در اسانس تقطیری	درصد در اسانس پرس سرد
۱	$\alpha$ -thujene	۹۳۵	-	۰/۵
۲	$\alpha$ -pinene	۹۴۲	۰/۵	۱/۳
۳	sabinene	۹۸۰	۰/۱	۰/۲
۴	$\beta$ -pinene	۹۸۴	۰/۶	۱
۵	myrcene	۹۹۲	۰/۹	۱
۶	$\alpha$ -terpinene	۱۰۱۸	۰/۴	۰/۵
۷	p-cymene	۱۰۲۶	۰/۲	۰/۱
۸	limonene	۱۰۳۲	۵۸/۳	۶۳/۷
۹	(Z)- $\beta$ -ocimene	۱۰۴۲	۱	۱
۱۰	(E)- $\beta$ -ocimene	۱۰۵۰	۱/۳	۱/۴
۱۱	$\gamma$ -terpinene	۱۰۶۴	۱۶/۸	۲۱/۷
۱۲	terpinolene	۱۰۹۲	۰/۸	۰/۱
۱۳	linalool	۱۱۰۲	۰/۴	-
۱۴	citronellal	۱۱۵۶	۰/۳	جزیی
۱۵	terpinen- 4-ol	۱۱۷۹	۰/۳	-
۱۶	$\alpha$ -terpineol	۱۱۹۱	۰/۸	۰/۳
۱۷	nerol	۱۲۳۲	۱/۲	-
۱۸	neral	۱۲۴۰	۴/۸	۰/۹
۱۹	geraniol	۱۲۵۵	۱/۳	۰/۵
۲۰	geranial	۱۲۷۲	۶	۱/۳
۲۱	neryl acetate	۱۳۶۷	۱	۰/۶
۲۲	geranyl acetate	۱۳۸۶	۱/۴	۰/۹
۲۳	$\beta$ -caryophyllene	۱۴۲۰	۱/۳	۰/۳
۲۴	$\alpha$ -trans-bergamotene	۱۴۳۷	۰/۴	۰/۴
۲۵	germacrene D	۱۴۸۳	۰/۱	۰/۲
۲۶	$\beta$ -bisabolene	۱۵۱۲	۰/۴	۰/۶
	مجموع		۹۹/۶	۹۹/۴

جزیی=کمتر از ۰/۰۱٪

دیده نشد. همچنین مقایسه بعضی از ترکیبهای اکسیژن‌دار (ترکیبهای اکسیژن‌دار مسئول عطر و طعم اسانسهای پوست میوه هستند) مانند منوترپنهای آلدئیدی نشان می‌دهد که میزان آنها در اسانس تقطیری به مقدار ۱۱/۲٪ و ۵ برابر بیشتر از مقدار این ترکیبها در اسانس حاصل از پرس سرد (۲/۲٪) است و منوترپنهای الکلی نیز در اسانس تقطیری به میزان ۴٪ وجود داشت که در مقایسه با میزان آنها در اسانس حاصل از پرس سرد (۰/۸٪)، ۵ برابر بیشتر می‌باشد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش با دیگر نتایجی که توسط محققین کشورهای مختلف بدست آمده است تفاوتهایی را از نظر درصد ترکیبهای مختلف و عدم وجود بعضی از ترکیبها در تحقیق حاضر نشان می‌دهد که این تفاوتها مشاهده شده در مورد اسانس گیاه مورد مطالعه ممکن است ناشی از متفاوت بودن شرایط اکولوژیکی محل پرورش نمونه‌ها و روشهای متفاوت استخراج اسانس (Cold-press، Distillation و Solvent extraction) باشد. لازم به ذکر است که اسانس مرکبات یکی از عمده‌ترین مواد اولیه طعم دهنده خوراکیها و آشامیدنیها به شمار می‌رود و وجود درصد بالایی از ترکیبهای الکلی، آلدئیدی و استری در اسانس نشان‌دهنده برخورداری اسانس از کیفیت بالاتر می‌باشد (میرزا و باهرنیک، ۱۳۸۵) لذا از نتایج بدست آمده می‌توان استنباط نمود که اسانس تقطیری پوست میوه بالنگ شمال ایران به سبب داشتن مواد معطر بیشتر (۵ برابر) در مقایسه با اسانس پرس سرد آن از کیفیت بالاتری برخوردار است و همچنین از نظر استحصال مواد معطر نیز روش تقطیر با آب در مقایسه با روش پرس سرد نتیجه بهتری داشته است.

اسانس تقطیری ۱۷/۸٪ بود که در مقایسه با اسانس پرس سرد (۴/۷٪)، ۳/۸ برابر بیشتر می‌باشد. براساس تحقیقات Cappello و همکاران (۱۹۸۲) در ایتالیا میزان مواد معطر موجود در اسانس بالنگ ۲۶٪، Hute (۱۹۸۶) در فرانسه ۲۰/۷٪، Wen و همکاران (۱۹۸۶) در ویتنام ۱۴/۹٪، Shiato (۱۹۹۰) در ژاپن ۴/۱٪، Flisher و Flisher (۱۹۹۱) در اسرائیل ۷/۲٪، Dung (۱۹۹۶) در Tanaka و ویتنام ۶٪، Poiana و همکاران (۱۹۹۸) در ایتالیا ۲-۰/۸/۱٪، Lota (۱۹۹۹) در فرانسه ۲۴/۶-۲٪، Tanaka (۲۰۰۲) در ژاپن ۸٪ و Njoroge و Sawamora (۲۰۰۵) در ایتالیا ۴۶/۵٪ گزارش شد که مشاهده می‌گردد بین نتایج حاصل از این تحقیق و پژوهشهای محققین کشورهای مختلف تفاوتهایی وجود دارد که این امر می‌تواند به سبب استفاده از روشهای مختلف اسانس‌گیری و تفاوتهای اقلیمی محل جمع‌آوری نمونه‌های مورد آزمایش باشد. همچنین نتایج نشان داد که بخش اعظم هر دو نمونه اسانس (حدود ۹۹٪) را ترکیبهای منوترپنی تشکیل داده‌اند و ترکیبهای سزکویی‌ترپنی بخش اندکی از اسانسها را شامل می‌شوند. مقایسه این ترکیبها در دو نمونه اسانس استحصالی نشان می‌دهد که میزان آنها به‌ترتیب در اسانس تقطیری (۹۸/۷٪ و ۱/۳٪) و در اسانس پرس سرد (۹۸/۳٪ و ۱/۶٪) می‌باشد که نشان از تفاوت بسیار جزیی بین دو اسانس دارد. مقایسه ترکیبهای تشکیل دهنده اسانسها نشان می‌دهد که برخی از ترکیبها مانند لینالول و ترپینن-۴-ال فقط در اسانس تقطیری مشاهده شدند و در اسانس پرس سرد وجود نداشتند و برخی دیگر از ترکیبها مانند آلفا-توجن نیز فقط در اسانس حاصل از پرس سرد وجود داشت و در اسانس تقطیری

## سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت خانم دکتر سفیدکن، آقای دکتر شریفی عاشورآبادی و دیگر همکاران محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

- Dung, N.X., 1996. Chemical investigation of the fruit peels oil of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Noot). Swingle from Vietnam. *Journal of Essential Oil Research*, 8: 15-18.
- Fleisher, Z. and Fleisher, A., 1991. The essential oils of etrog (*C. medica* L. var. *ethrog*). *Journal of Essential Oil Research*, 3: 377-379.
- Hute, H., 1986. Components in the peel oil of *Citrus medica* (L.). *Flavour and Fragrance Journal*, 41: 113-119.
- Lota, M., 1999. Chemical composition of peel and leaf essential oils of *Citrus medica* L. and *Citrus Limonimedica* Lush. *Flavour and Fragrance Journal*, 14: 161-166.
- Njoroge, S.M. and Sawamora, M., 2005. The Volatile ethrog. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 15: 240-244.
- Poiana, M., Sicari, V. and Minicone, B., 1998. A comparison between the chemical composition of the oil, solvent extract and supercritical carbon dioxide extract of *C. medica*. cv. *diamante*. *Journal of Essential Oil Research*, 10: 145-152.
- Shiato, H., 1990. Volatile components in the peel oil from fingered citron (*C. medica*. L. var. *sarcodactylis*). *Flavour and Fragrance Journal*, 5: 33-37.
- Tanaka, T., 2002. The volatile components in the peel oil of *Citrus medica* (L.). *Perfumer and Flavourist*, 2: 36-41.
- Wen, M., Hung, Y., Xiato, S., Ren, W., Zaho, H. and Yiang, S., 1986. Chemical components of the essential oil from peel of *Citrus medica* var. *muliensis*. *Journal of Acta Botany Sinica*, 28: 511-516.
- Wiess, E.A., 1997. *Essential Oil Crops*. CAB International. Printed and bound in the UK. University Press, Cambridge. London. 600p.
- قهرمان، ا.، ۱۳۸۳. فلور رنگی ایران. جلد ۱۹، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ش ۲۲۹۳.
- مرتضوی، ع. و ضیالاحق، ح.ر.، ۱۳۸۳. فناوری فرآوری فرآورده‌های جانبی مرکبات. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۳۲۲ صفحه.
- میرزا، م. و باهرنیک، ز.، ۱۳۸۵. نقش ترپن‌زدایی در ترکیب شیمیایی اسانس پوست پرتقال. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۲ (۳): ۲۵۰-۲۵۵.
- میرزا، م. سفیدکن، ف. و احمدی، ل.، ۱۳۷۵. اسانسهای طبیعی، استخراج، شناسایی کمی و کیفی، کاربرد. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۲۵۰ صفحه.
- Attaway, J.A., Pierieenger, A.P. and Barabas, L.J., 1996. The origin of Citrus flavor components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5: 141-151.
- Cappello, M., Calvareno, A., Giacomo, D. and Gioffre, D., 1982. Volatile constituents of the fruit peel of *Citrus medica* (L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 6: 130-134.
- Cotroneo, A., Verzera, A., Alfa, M. and Dugo, G., 1986. On the authenticity of Citrus essential oils. XIV. Citron Essential Oil, 56: 105-120.
- Dugo, L., Cogliandro, E., Verzera, A. and Dugo, G., 1996. On the genuineness of Citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 544-549.



## Identification and comparison of the essential oil components from the peel of Citron (*Citrus medica* L.) by using two extraction methods (hydrodistillation and cold press)

M. Habashi<sup>1\*</sup>, M. Mirza<sup>2</sup>, Y. Mostofi<sup>3</sup> and K. Jaimand<sup>2</sup>

1\*- Corresponding author, PhD student of Horticulture, Science and Research Campus, Islamic Azad University, Tehran, Iran, E-mail: fm\_Habashi@yahoo.com

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

3- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran

Received: September 2007

Revised: October 2008

Accepted: October 2008

### Abstract

The citron (*Citrus medica* L.) belongs to Rutaceae family. Citron peel oil is widely used in perfume industry, medicine, and food products. In this research the fruits of citron were collected from North of Iran in the fall and peel oil obtained by hydrodistillation and cold-press methods with the extraction efficacy of 0.6% and 0.5% (w/w), respectively. The oils were analyzed by GC and GC-MS. Twenty-five components were identified in the hydrodistilled oil. The main components were limonene (58.3%),  $\gamma$ -terpinene (16.8%), geranial (6%) neral (4.8%), geranyl acetate (1.4%) and geraniol (1.36%). Twenty-three components were characterized in cold-pressed oil with limonene (63.7%),  $\gamma$ -terpinene (21.7%) and geranial (1.3%) as the main components.

**Key words:** *Citrus medica* L., essential oil, hydrodistillation, cold-press, limonene.