

## مقایسه روش استخراج مایکروویو و کلونجر برای استخراج اسانس روغنی گیاه آدمک و آنالیز ترکیب مواد با گاز کروماتوگرافی - اسپکتروسکوپی جرمی و بهینه سازی آن با طراحی آزمایشات به روش Box-Behnken

حمید هاشمی مقدم<sup>۱</sup>، پیمان فیضی<sup>۲</sup>، حسین کمالی<sup>۳\*</sup>، علیرضا نعمت اللهی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دکتری شیمی، عضو هیئت علمی گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران  
<sup>۲</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان، ایران  
<sup>۳</sup>کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران  
<sup>۴</sup>دکتری حرفه ای داروسازی، عضو مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران  
<sup>\*</sup>نویسنده مسئول: بجنورد، مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی  
پست الکترونیک: h.kamali@nkums.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** آدمک با نام علمی *Biebersteinia multifida* DC بعنوان داروی محلی برای درمان اختلالات ماهیچه ای و آسیب های استخوانی استفاده می شود. هدف از این پروژه استخراج اسانس از اندامهای هوایی گیاه آدمک با مایکروویو می باشد و مقایسه آن اسانس گرفته شده بوسیله ی استخراج با آب می باشد، از روش سطوح پاسخ برای انتخاب سطوح پارامترها استفاده شد.  
**مواد و روش کار:** اسانس گیاه آدمک را با دو روش مایکروویو و کلونجر استخراج کرده و اسانس به دست آمده با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی آنالیز شد، در روش مایکروویو ۱۵ آزمایش با سه پارامتر (توان، زمان و اندازه چشمه) و سه سطح که توسط نرم افزار Minitab با روش باکس بنکن طراحی شده، انجام سپس شرایط بهینه بدست آمده با روش کلونجر مقایسه گردید.  
**یافته ها:** شرایط بهینه استخراج از نظر توان، اندازه چشمه ذرات و زمان استخراج با استفاده از طراحی سطوح پاسخ سه سطحی - سه فاکتوری با روش باکس بنکن به ترتیب توان ۶۷۲/۷ وات، اندازه چشمه ۰/۵۳ و زمان ۹۸/۶۰ دقیقه با درصد اسانس استخراجی ۱۱۴/۰۱ درصد نسبت دستگاه کلونجر بدست آمد.  $R^2$  برای درصد اسانس روغنی استخراج شده ۹۶/۵۱ بود، که نشان دهنده اجرای خوبی از مدل می باشد.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج، بازده استخراج با روش مایکروویو بیشتر بوده و در زمان کمتر انجام می شود. روش مطلوب برای انتخاب روش استخراج جدا از هزینه ها و زمان استخراج، ماده استخراجی مدنظر است.

**واژه های کلیدی:** استخراج با مایکروویو، گیاه آدمک، روش باکس بنکن، کلونجر

### مقدمه

رو به کاهش آن در دنیای مدرن امروزی نیست، بلکه امروزه در جوامع صنعتی و در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال توسعه، استفاده از طب سنتی و گیاهان دارویی برای حفظ سلامتی، به دلیل افزایش اعتماد مردم به استفاده از این گیاهان، بسیار چشمگیر است [۱]. اسانس ها ترکیبات معطری هستند که در اندام های مختلف گیاهان یافت می شوند. در واقع اسانس ها

استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان با تاریخ زندگی انسان هم زمان بوده، به طوری که در تمام دوران تاریخی بشر چاره ای جز بهره بردن از گیاهان نداشته است. حتی در کتب قدیمی مانند انجیل و کتاب مقدس باستانی هند (ودا)، استفاده از برخی گیاهان در درمان بیماری ها توصیه شده است. قدمت استفاده از گیاهان دارویی، به معنی روند

مخلوطی از مواد مختلف با ترکیبات شیمیایی بسیار متفاوت از یکدیگر بوده و دارای بوی بسیار نافذی می باشند. در دمای محیط اسانس ها در مجاورت هوا تبخیر می شوند به همین دلیل آنها را روغن های فرار می نامند [۲]. یکی از گیاهان دارویی با ارزش، گیاه آدَمک با نام علمی *Biebersteinia multifida* DC می باشد که در سوریه، ارمنستان، افغانستان، افریقا، لبنان، بخش های مرکزی آسیا و نواحی کناری ایران یافت می شود. در بخش های غربی ایران، از این گیاه بعنوان داروی محلی برای درمان اختلالات ماهیچه ای و آسیب های استخوانی استفاده می شود [۳]. مطالعات بیولوژیک و فارماکولوژیک نشان دهنده ی اثرات آنتی باکتریال، اثرات آنتی اکسیدان و اثرات ضد درد و ضد التهاب در این گیاه می باشد [۴، ۵، ۶، ۷].

اخیرا در مطالعه ای گیاه آدَمک که به طور وحشی در خراسان رویش داشته است مورد مطالعه با GC and GC-MS قرار گرفته است. در این اسانس (۴۹/۸ درصد  $\alpha$ -pinene (۲۱/۶ درصد 6,1,14-trimethyl-2-pentadecanone (۷) در کشور قزاقستان با استفاده از تکنیک های NMR و Mass و استفاده از ستون های کروماتوگرافی آلکالوئید واکسینون جدا گردید [۸]. در کشور ازبکستان با استفاده از تکنیک های ستون کروماتوگرافی (با سفادکس) و همچنین طیف سنجی انجام گردیده بود. در این مطالعه ذکر شده است که ریشه این گیاه دارای ترکیبات ساپونین و آلکالوئید و تانن و اینولین بوده است، همچنین برای اولین بار ترکیبات فلاوونویدی که لوتولین و مشتقاتش با پیوندی های قندی بدست آمد. این مطالعه نشان داد که ترکیبات دارای لوتولین و مشتقاتش در این گیاه سهم به سزایی را دارا می باشند و میتوان بر روی آثار فارماکولوژیک آنها حساب باز کرد [۹]. ضرورت استفاده روش های کاربردی تر برای بدست آوردن روغن های اسانسی با کیفیت بالاتر به دلیل استفاده کلان آنها در صنعت یک امر مهم میباشد. امروزه با شیوه های جدید استخراج روغن های فرار دانشمندان به دنبال افزایش پایداری اسانس ها و نیز افزایش حلالیت آنها در حلال هایی با در صد الکل پایین در مواد غذایی

و آب و همچنین کاهش هزینه های ذخیره ای و انتقال روغن های اسانسی می باشند [۳، ۲]. روش استخراج اسانس های گیاهی می تواند راندمان استخراج، درصد و نوع ترکیبات شیمیایی، فعالیتهای بیولوژیکی موجود در آن را تغییر دهد. در این تحقیق مقایسه استخراج اسانس بوسیله تقطیر با آب (HD) و استخراج با مایکروویو (MD) و بررسی اثر روش استخراج بر در صد و نوع ترکیب شیمیایی، راندمان استخراج اسانس می باشد [۹].

### روش کار

۱۶۰ گرم از پودر گیاه خشک شده، اندام هوایی، در دستگاه کلونجر قرار داده شد و پس از گذشت ۶ ساعت اسانس آن جدا گردد. توسط نرمال - هگزان اسانس را از آب جدا کرده و جهت آگیری از سولفات سدیم انیدر استفاده شد. اسانس آگیری شده در ظرف تیره در بسته جمع آوری شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. نمونه مذکور جهت آنالیز کروماتوگرافی گازی - جرمی به بخش طیف سنجی دانشگاه صنعتی شریف ارسال شد [۱۰]

ابتدا با استفاده از طراحی آزمایش به روش Box-Behnken شرایط آزمایش تعیین شد. استفاده از روش آماری باکس بنکن به دلیل کاهش تعداد آزمایشات و بررسی اثر همزمان پارامترها می باشد. این دستگاه شامل ماکزیمم قدرت ۹۰۰ وات و مینیمم قدرت ۱۰۰ وات بوده که دستگاه مایکروویو خانگی از شرکت ساسونگ بوده که در قسمت فوقانی آن سوراخی جهت گذر لوله مبدل کلونجر به بالن حاوی گیاه درون مایکروویو ایجاد شده است. ابتدا گیاه آدَمک را که قبلا خشک نمودیم با استفاده از الک به سایز چشمه ۰/۸۵، ۰/۱۵، ۰/۲۵ به جداسازی نمودیم مقدار ۵۰ گرم از اندام های هوایی گیاه با چشمه ی مشخص را در بالن قرار داده و ۳۰۰ میلی لیتر آب در آن ریخته و در مایکروویو گذاشته و زمان و توان را طبق مقادیر که نرم افزار برای ما تعیین نمود (جدول ۱) تنظیم و اسانس گیری نمودیم. از اسانس های تهیه شده به روش بالا GC-MS گرفته شد. از روش باکس بنکن سه فاکتوری-سه سطحی برای انتخاب سطوح آزمایش استفاده شد. فاکتورها و سطوح آنها در جدول ۱ آورده شده است، لازم به ذکر است که بازده استخراج (Y) از رابطه زیر به دست می آید:

جدول ۱: طراحی آزمایش برای سه سطح و سه فاکتور

| NO | توان<br>(وات) | اندازه چشمه<br>(میلی متر) | زمان<br>(دقیقه) | بازده استخراج<br>مشاهده شده % | بازده استخراج<br>پیش بینی شده % |
|----|---------------|---------------------------|-----------------|-------------------------------|---------------------------------|
| ۱  | ۶۰۰           | ۰/۲۵                      | ۲۰              | ۵۷/۱۵۲۹                       | ۵۹/۳۹۲۳                         |
| ۲  | ۶۰۰           | ۰/۱۵                      | ۹۰              | ۵۲/۶۳۷۱                       | ۵۲/۶۳۷۱                         |
| ۳  | ۹۰۰           | ۰/۲۵                      | ۱۶۰             | ۶۴/۲۲۴۳                       | ۶۷/۱۸۸۲                         |
| ۴  | ۶۰۰           | ۰/۸۵                      | ۱۶۰             | ۶۴/۶۲۴۳                       | ۶۷/۴۰۰۰                         |
| ۵  | ۶۰۰           | ۰/۲۵                      | ۲۰              | ۵۸/۱۷۴۳                       | ۵۹/۳۹۲۳                         |
| ۶  | ۳۰۰           | ۰/۸۵                      | ۹۰              | ۴۴/۲۱۲۱                       | ۴۹/۹۸۱۴                         |
| ۷  | ۳۰۰           | ۰/۲۵                      | ۲۰              | ۵۰/۹۲۲۱                       | ۴۲/۲۰۸۸                         |
| ۸  | ۹۰۰           | ۰/۲۵                      | ۹۰              | ۷۲/۲۸۵۷                       | ۷۰/۴۶۰۵                         |
| ۹  | ۳۰۰           | ۰/۱۵                      | ۲۰              | ۱۲/۶۹۷۱                       | ۱۷/۳۰۷۹                         |
| ۱۰ | ۹۰۰           | ۰/۸۵                      | ۲۰              | ۵۳/۱۹۲۹                       | ۵۳/۸۸۸۰                         |
| ۱۱ | ۶۰۰           | ۰/۲۵                      | ۲۰              | ۵۷/۶۰۸۶                       | ۵۹/۳۹۲۳                         |
| ۱۲ | ۶۰۰           | ۰/۸۵                      | ۹۰              | ۷۷/۶۳۶۴                       | ۷۵/۳۹۶۲                         |
| ۱۳ | ۶۰۰           | ۰/۱۵                      | ۱۶۰             | ۴۶/۰۶۷۹                       | ۴۶/۳۲۸۲                         |
| ۱۴ | ۳۰۰           | ۰/۲۵                      | ۹۰              | ۵۶/۳۰۳۴                       | ۵۸/۶۳۷۶                         |
| ۱۵ | ۹۰۰           | ۰/۱۵                      | ۲۰              | ۲۱/۶۶۲۹                       | ۱۹/۸۲۹۰                         |

$$Y = \frac{\text{گرم اسانس استخراج شده توسط مایکروویو}}{\text{گرم اسانس استخراج شده توسط کلونجر}} \times 100$$

**یافته ها:** داده های آزمایشگاهی به وسیله طراحی سطوح پاسخ که با استفاده از برنامه Minitab آنالیز شده اند. نتایج آنالیز آماری شامل ضرایب رگرسیون (t-values test) و p-values در جداول ۲ تخمین زده شده است. آنالیز واریانس مناسب بودن مدل پیشنهاد شده را نشان می دهد.  $R^2$  تنظیم شده ۱ درصد اسانس روغنی استخراج شده ۹۰/۲۴ می باشد، که به این معنی است که، ناپایداری مدل گسترش یافته به مدل های پیش بینی شده برای درصد اسانس روغنی استخراج شده ۹/۷۶ از کل

1 - Adjusted R2

تغییرات می باشد. ضرایب رگرسیون خطی  $R^2$  برای درصد اسانس روغنی استخراج شده ۹۶/۵۱ می باشد، که نشان دهنده اجرای خوبی از مدل می باشد که در شکل ۱ نشان داده شده است [۱۱].

از نقطه نظر نتایج آماری (ANOVA) برای بدست آوردن با سطوح اطمینان ۹۵ درصد بایستی شاخص p-value کوچکتر از ۰/۰۵ باشد در نتیجه اثر ترم های موثر بر بازده استخراج را تعیین کرد، که ترمهای خطی و مربع اثر قوی بر روی بازده استخراج دارند در حالیکه اثر ترم های متقابل ضعیف بوده و می توان صرف نظر کرد [۱۱].

معادلات ۱ مدل پیش بینی شده با برنامه Minitab برای بازده استخراج را نشان می دهد.

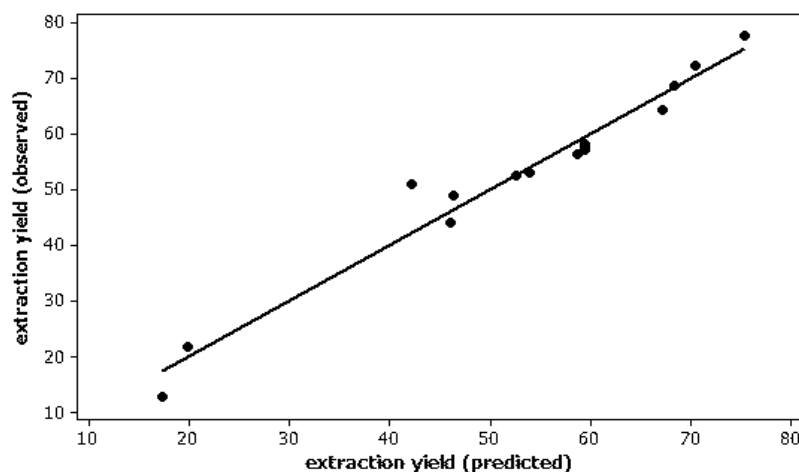
$$Y = -85.306 + 0.186 P + 387.913 M + 0.485 t - 0.0001 P^2 - 384.459 M^2 - 0.003 t^2 \quad (2)$$

شرایط بهینه استخراج به وسیله برنامه Minitab و با استفاده از معادله در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲: مقادیر رگرسیون خطی،  $p$ -value و  $t$ -value در روش CCF

| Term                 | Extraction Yield        |            |            |
|----------------------|-------------------------|------------|------------|
|                      | Regression coefficients | $t$ -value | $p$ -value |
| Constant             | -۸۵/۳۰۶                 | -۴/۴۷۳     | ۰/۰۰۵      |
| P (w)                | ۰/۱۸۶                   | ۴/۴۶۰      | ۰/۰۰۷      |
| M (mm)               | ۳۸۷/۹۱۳                 | ۶/۲۵۰      | ۰/۰۰۲      |
| t (min)              | ۰/۴۸۵                   | ۳/۲۶۳      | ۰/۰۲۲      |
| P <sup>2</sup> (w)   | ۰/۰۰۰                   | -۴/۴۱۹     | ۰/۰۰۵      |
| M <sup>2</sup> (mm)  | -۳۸۴/۴۵۹                | -۶/۷۲۷     | ۰/۰۰۱      |
| t <sup>2</sup> (min) | -۰/۰۰۳                  | -۳/۵۸۱     | ۰/۰۱۶      |
| P (w) × M (mm)       | ۰/۰۵۱                   | ۱/۷۸۴      | ۰/۱۳۴      |
| P (w) × t (min)      | ۰/۰۰۰                   | ۱/۸۳۸      | ۰/۴۴۰      |
| t (min) × M (mm)     | -۰/۰۱۴                  | -۰/۱۱۹     | ۰/۹۱۰      |

که در جدول ۲، P توان بر حسب وات، M اندازه چشمه بر حسب میلی متر، t زمان بر حسب دقیقه.

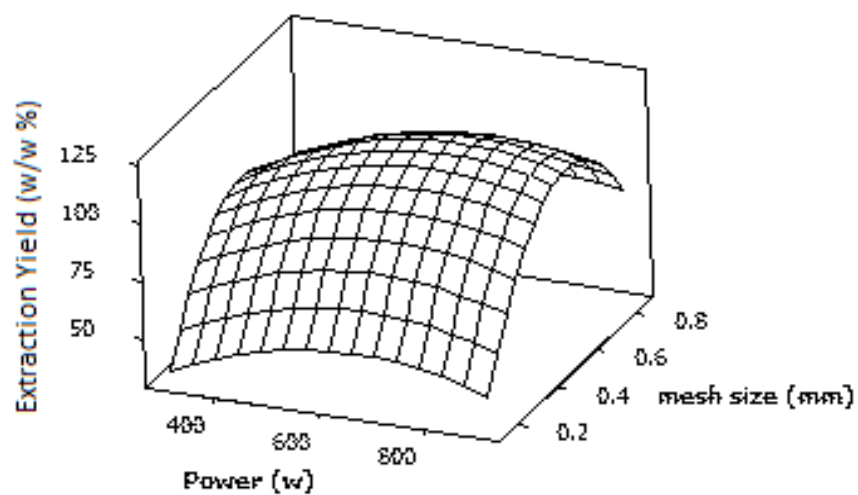


شکل ۱: بازده استخراج پیش بینی شده بر حسب بازده استخراج مشاهده شده

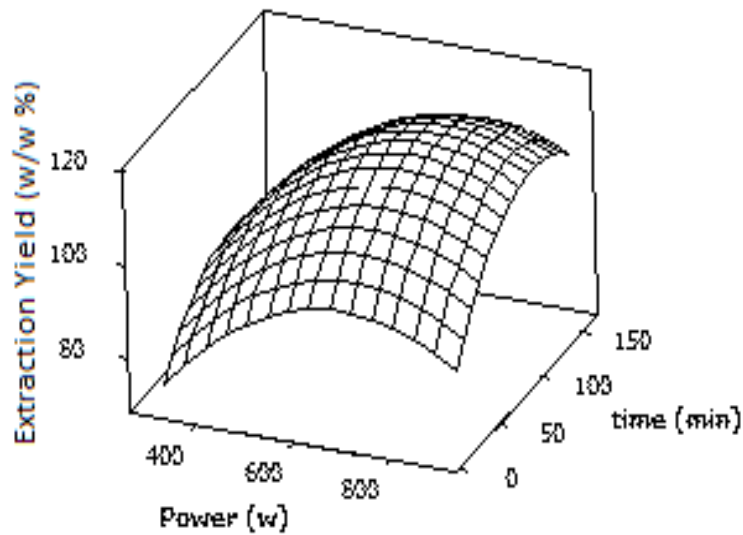
جدول ۳: شرایط بهینه محاسبه شده

| درصد بهینه استخراج | توان (وات) | اندازه چشمه (میلی متر) | زمان (دقیقه) |
|--------------------|------------|------------------------|--------------|
| ۱۱۴/۰۱             | ۶۷۲/۷      | ۰/۵۳                   | ۹۸/۶۰        |

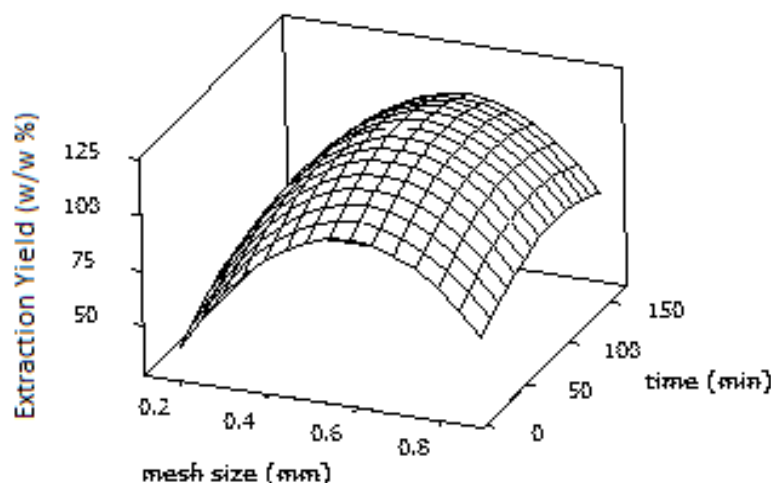
درصد استخراج روغن استخراجی



شکل ۲: سطوح پاسخ بازده استخراج بر حسب توان- اندازه چشمه در زمان ۹۸/۶۰ دقیقه



شکل ۳: سطوح پاسخ بازده استخراج بر حسب توان- زمان در اندازه چشمه ۰/۵۳ میلی متر



شکل ۴: سطوح پاسخ بازده استخراج بر حسب اندازه چشمه - زمان در توان ۶۷۲/۷

افزایش اندازه چشمه از ۰/۱۵ تا ۰/۵۳ میلی متر، باعث افزایش بازده استخراج می شود در حالیکه افزایش بیش از ۰/۵۳ باعث کاهش بازده استخراج می شود. روند تاثیر اندازه چشمه بر بازده استخراج در اشکال سطوح پاسخ ۲ و ۴ نشان داده شده است. برای سرعت بخشی در استخراج اسانس، اندامهای گیاه را به قطعات مناسبی تقسیم و یا به طور مناسبی کوبیده شوند، ولی به طور کلی تبدیل اندامها به قطعات بسیار کوچک، کار صحیحی نیست. زیرا این کار اولاً باعث تشدید تبخیر اسانس از اندامها خواهد شد، ثانیاً با زیاد شدن سطح تماس ترکیبات اسانس با هوا، میزان اکسیداسیون آنها یا میزان تبدیل آنها به مواد رزینی بالا می رود و در این صورت بر کمیت و کیفیت اسانس اثرهای نامطلوب بر جای می گذارد. قطعات بزرگتر از حد نیز مفید نیست زیرا، اگرچه بخار می تواند به سهولت از لایه لای این قطعات عبور کند، ولی قادر به پاره کردن دیواره های تمام سلولهای محتوی اسانس نخواهد بود و عمل خروج اسانس از آنها به کندی صورت خواهد گرفت و در نتیجه برای حصول حداکثر اسانس، به زمان طولانی نیاز خواهد بود که این امر نیز بر کیفیت و کمیت اسانس تاثیر

همچنین رویه پاسخ و نمودارهای کانتور برای نشان دادن اثر پارامترها بر پاسخ و برهمکنش بین پارامترها در نقطه بهینه رسم شده که در اشکال ۲ تا ۴ نشان داده شده است.

#### بحث

اثر توان: انرژی مایکروویو به احتمال زیاد آزاد شدن ترکیبات فرار را از ماتریکس های گیاهی و گل را بهبود می بخشد و افزایش دائمی انرژی ممکن است باعث افزایش تقطیر شود. تصویرهای اخیر از اسکن میکروسکوپی الکترونی فیتوشیمیایی از غده های گیاه اسطوخودوس نشان می دهد [۹] که مایکروویو باعث شکسته شدن سریع دیواره های غده ها شده و در نتیجه بازده استخراج افزایش و زمان استخراج کاهش می یابد. بازده استخراج از توان ۳۰۰ تا ۶۷۲/۷ وات، افزایش می یابد و بعد از ۶۷۲/۷ وات کاهش می یابد، کاهش بازده استخراج بعد از این توان به دلیل تخریب اجزای تشکیل دهنده اسانس در توانهای بالاتر از ۶۷۲/۷ وات می باشد، در نتیجه ۶۷۲/۷ وات به عنوان نقطه بهینه استخراج اسانس محسوب می شود. شکل سطوح پاسخ (۲) این روند را نشان می دهد.

جدول ۴: ترکیبات مشابه در دو روش مایکروویو و کلونجر

| Compound Name                     | % in Essential Oil<br>Leaf Cleverger | % in Essential Oil<br>Leaf Microwave |
|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| (Z)- $\beta$ -farnesene           | ۰/۲۳                                 | ۰/۶۶                                 |
| alpha.-farnesene                  | ۰/۵۶                                 | ۰/۶۱                                 |
| E-Nerolidol                       | ۳۱/۴۵                                | ۲۸/۴                                 |
| Viridiflorol                      | ۰/۵۸                                 | ۰/۳۷                                 |
| (E)- Nerolidol acetate            | ۰/۲۸                                 | ۱/۲۹                                 |
| (2E,6E)-Farnesol                  | ۵/۵                                  | ۲/۳۶                                 |
| Myristic acid                     | ۱/۲۳                                 | ۰/۴۸                                 |
| 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone | ۳/۶۶                                 | ۱۰/۳۸                                |
| Palmitic acid                     | ۱۱/۸۴                                | ۱/۹۲                                 |
| Phytol                            | ۳/۹۶                                 | ۴/۳۹                                 |

نامطلوب برجا خواهد گذاشت [۲]. در این تحقیق نقطه بهینه ۰/۵۳ میلی متر می باشد.

اثر زمان: افزایش زمان استخراج از ۲۰ تا ۹۸/۶ دقیقه، باعث افزایش بازده استخراج می شود در حالیکه افزایش بیش از ۹۸/۶ دقیقه باعث کاهش جزیی بازده استخراج می شود. افزایش بازده استخراج از ۲۰ تا ۹۸/۶ دقیقه یک امر بدیهی است به این دلیل که نیروی محرکه انتقال جرم (غلظت اسانس) تا جایی که به اتمام رسد، بازده استخراج افزایش می یابد. اما کاهش جزیی بازده استخراج بعد از این نقطه به خاطر اثر متقابل سایر پارامترها (توان و اندازه چشمه) می باشد. روند تاثیر زمان بر بازده استخراج در اشکال سطوح پاسخ ۳ و ۴ نشان داده شده است.

در روش کلونجر، ۳۰ ترکیب و در روش مایکروویو، ۱۵ ترکیب شناسایی گردیده اند. بزرگترین مزیت استخراج مایکروویو نسبت به کلونجر علاوه بر اینکه درصد بازده استخراج بیشتری را داراست دارای یک استخراج انتخابی است و می توان از این روش برای جداسازی اسانس

استخراجی استفاده نمود. در جدول ۴ ترکیبات مشابه روش مایکروویو و کلونجر و در جدول ۵ ترکیبات غیر مشابه روش مایکروویو و استخراج با کلونجر آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود ترکیب درصد برخی از اجزاء افزایش و برخی کاهش یافته است. از طرفی زمان استخراج در روش مایکروویو ۹۸/۶۰ دقیقه، در روش کلونجر ۳۶۰ دقیقه در نتیجه روش مایکروویو زمان کمتری نسبت به روش دیگر داراست. از نظر مصرف انرژی روش مایکروویو نسبت به کلونجر مقدار کمتری را مصرف می کند. از طرفی در دو روش استخراج با مایکروویو و کلونجر از حلال آب استفاده می شود که سازگار با محیط زیست است. علاوه بر موارد ذکر شده، بازده استخراج مایکروویو ۱/۱۴ برابر روش کلونجر می باشد. شایان ذکر است که در کل در انتخاب روش استخراج مواد موجود در گیاه بایستی بدانیم استخراج چه ترکیبی در گیاه مورد نظر می باشد و یا کدام ترکیب خاص از یک گیاه مورد نیاز است.

جدول ۵: ترکیبات غیر مشابه دردو روش مایکروویو و کلونجر

| Compound Name            | % in Essential Oil<br>Leaf Clevenger | % in Essential Oil<br>Leaf Microwave |
|--------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Germacrene-D             | -                                    | ۲/۴۴                                 |
| iso-geraniol             | -                                    | ۱/۰۱                                 |
| Epizonaren               | -                                    | ۷/۲۳                                 |
| n-Heptacosane            | -                                    | ۱۷/۳۶                                |
| n-Docosane               | -                                    | ۱۲/۹۷                                |
| $\alpha$ -pinene         | ۰/۲۹                                 | -                                    |
| trans - sabinene hydrate | ۱/۵۸                                 | -                                    |
| linalool                 | ۰/۵۵                                 | -                                    |
| camphor                  | ۰/۴۱                                 | -                                    |
| trans-caryophyllene      | ۰/۳۸                                 | -                                    |
| $\delta$ -cadinene       | ۲/۲۴                                 | -                                    |
| $\alpha$ -Cadinene       | ۰/۶۸                                 | -                                    |
| elemol                   | ۱/۲۶                                 | -                                    |
| Caryophyllene oxide      | ۰/۶۴                                 | -                                    |
| humulene epoxide II      | ۰/۶                                  | -                                    |
| $\tau$ -Cadinol          | ۰/۶۳                                 | -                                    |
| $\beta$ -Eudesmol        | ۰/۷۴                                 | -                                    |
| $\alpha$ -Eudesmol       | ۲/۰۹                                 | -                                    |
| bulnesol                 | ۲/۲۴                                 | -                                    |
| $\alpha$ -Bisabolol      | ۳/۸۱                                 | -                                    |
| $\beta$ -farnesol        | ۲/۸۱                                 | -                                    |
| Farnesyl acetone         | ۰/۲۹                                 | -                                    |
| allo-aromadendrene       | ۰/۷۸                                 | -                                    |
| Linoleic acid            | ۰/۴                                  | -                                    |
| Mandenol                 | ۱/۵۳                                 | -                                    |

## نتیجه گیری

انتخاب روش استخراج جدا از هزینه ها و زمان استخراج، ماده استخراجی مدنظر است. روش بهینه سازی باکس بنکن با حداقل آزمایشات بهترین نتیجه را ارایه داده است.

با توجه به نتایج، بازده استخراج با روش مایکروویو بیشتر بوده و در زمان کمتر انجام می شود. روش مطلوب برای

## References

1. Khosroshahi S, Guide to medicinal plants, Mashhad, 2008 [Persian].
2. Omidbeigi R , Production and processing of medicinal plants, Mashhad, 2006[Persian].
3. Akhlaghi H, Shafaghat A, Mohammadhosseini M, Chemical composition of the essential oil from leaves of *Biebersteiniamultifida*DC, growing wild in Iran, J. Essent. Oil Bear. Plants, 2009, 12 ( 3 ): 365-368[Persian].
4. Naji T, Kazemipour M, Bagheri F, Antibacterial effects of methanolic extract of root of *Biebersteinia multifida* DC , First regionalist congress of food and Biotechnology, Kermanshah, 2010, 71(3):443-447[Persian].
5. Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Eslami B, Dehpour A, Antihemolytic and antioxidant activities of *Biebersteiniamultifida*, Eur. Rev. Med. PharmacolSci., 2010; 14 (10): 823-830[Persian].
6. Farsam H, Amanlou M, Dehpour AH, Jahaniani F, Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteiniamultifida* DC Root extract, J. Ethnopharmacol , 2000, 71(3): 443-447[Persian].
7. Kurbanov D, Zharekeev Kh, Investigation of the alkaloids of *Biebersteinia multifida* and *Peganumharmala* from Karakalpakia, Chem. Nat. Compd., 1976, 10(5): 715.
8. Omurkamzinova VB, Maurel ND, Bikbulatova TN, Flavonoids of *Biebersteiniamultifida*- DC, Chem. Nat. Compd ,1991, 27( 5):636-637.
9. Wang H , Liu Y, Wei S, Yan Z , Lu K, Comparison of Microwave-Assisted and Conventional Hydrodistillation in the Extraction of Essential Oils from Mango (*Mangifera indica* L.) Flowers, J. molecules, 2010, 15:7715-7723.
10. Jalilvand M., Vakili A, Amini Moghaddam Faroj N, Nematollahi A, Kamali H, Sodmand M, Attitude of applied research in natural products and of medicinal plants, North Khorasan, 2011[Persian].
11. Cochran WG, Cox GM, "Experimental Design", John Wiley, New York, 1992.

## Comparison of Microwave extraction and hydrodistillation of essential oil from *Biebersteinia multifida* DC. Conjunction with gas chromatography – mass spectroscopy: Optimization via Box-Behnken

Hashemimoghadam H<sup>1</sup>, Feyzi P<sup>2</sup>, Kamali H<sup>3\*</sup>, Nematollahi A<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Assistant professor of chemistry, Department of chemistry, Azad University of Damghan, Damghan, Iran.

<sup>2</sup> MS of chemistry, Department of chemistry, Azad University of Damghan, Damghan, Iran.

<sup>3</sup> Ms of chemistry, Research center of natural products safety and medicinal plants, North Khorasan university of medical sciences, Bojnurd, Iran.

<sup>4</sup> Doctor of pharmacy, Research center of natural products safety and medicinal plants, North Khorasan university of medical sciences, Bojnurd, Iran.

**\*Corresponding Author:**  
Research center of natural products safety and medicinal plants, North Khorasan university of medical sciences  
Email: h.kamali@nkums.ac.ir

---

### Abstract

**Background & Objectives:** *Biebersteinia multifida* DC., also known as the “Adamak plant” has been used as a folk medicine for treating muscle disorders and bone damages. The general aim of this project is to extract the aerial parts of the mentioned plant via the microwave method and later comparing this obtained essence with the one produced via water extraction method.

**Material and Methods:** *Biebersteinia multifida* DC essence was gained using two different methods, the microwave and the Clevenger procedure. These samples were afterwards analyzed for their components by using GC device. In microwave method, 15 tests were successfully conducted with Box–Behnken minitab parameters, showing three various levels designed by the software. Later the optimum condition was compared with the Clevenger procedure.

**Results:** The optimum extraction parameters, such as power, Particle source size and the extraction duration were precisely determined via Box–Behnken method to be, 672.7(vat), 0.53and 98.60(minute) respectively. The percentage of the essence exhibited 114.01 % in comparison with the Clevenger method. The R<sup>2</sup> parameter belonging to the essential oil percentage was measured to be 96.51, which proves it to be the suitable model.

**Conclusion:** Based on the obtained results it has been confirmed that, although extraction depends on the target compound still the microwave procedure showed to be time-saving with the appropriate extraction yield.

**Key words:** Microwave extraction, *Biebersteinia multifida* DC, Box–Behnken Design, Clevenger.

---