

مقایسه روش استخراج کلونجر (تقطیر با آب) و استخراج با حلال برای استخراج اسانس روغنی گیاه آدَمک و آنالیز ترکیب مواد با گاز کروماتوگرافی - اسپکتروسکوپی جرمی

پیمان فیضی^{۱*}، حسین کمالی^۲، احمد یزدانی^۳، حمید هاشمی مقدم^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
^۲ کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۳ کارشناس مهندسی کشاورزی صنایع غذایی، عضو مرکز تحقیقات ایمنی فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
^۴ استادیار شیمی، عضو هیئت علمی گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
^{*} نویسنده مسئول: گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
 پست الکترونیک: feyzi.peyman@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: تکنیک های اخیر استخراج اسانس به دنبال افزایش کیفیت مواد استخراج شده جلوگیری از آلودگی و نیز کاهش هزینه های آماده سازی نمونه می باشد. برای به دست آوردن بهترین و موثرترین اسانس، توجه به مواردی از جمله خصوصیات ماده گیاهی، انتخاب حلال مناسب و دقت در مراحل اسانس گیری ضروری بوده و باید در نظر داشت که بازده بالا در اسانس حاصله به معنای بازده بالای ترکیب مورد نظر در اسانس نمی باشد. در این مقاله به مقایسه روش استخراج اسانس گیاه آدَمک با تقطیر با آب و استخراج با حلال نرمال هگزان پرداخته شده است.

مواد و روش کار: گیاه آدَمک با دو روش استخراج با حلال و تقطیر با آب (کلونجر) استخراج شد. آنالیز ترکیب مواد اسانس به دست آمده از دو روش با گاز کروماتوگرافی- اسپکتروسکوپی جرمی و مقایسه بازده استخراج روش استخراج با حلال و تقطیر با آب (کلونجر) یافته ها: در روش تقطیر با آب (کلونجر)، ۳۰ و در روش استخراج با حلال ۱۳ ترکیب شناسایی گردیده اند از طرفی زمان استخراج در روش کلونجر ۳۶۰ دقیقه و در روش استخراج با حلال ۳ روز می باشد. بزرگترین مزیت استخراج تقطیر با آب نسبت به روش استخراج با حلال زمان کوتاه، بازده استخراج بیشتر و عدم استفاده از حلال سمی و دوستار محیط زیست می باشد. **نتیجه گیری:** بنا به ماده ی مطلوب مورد نظر روش انتخاب می کنیم. علاوه بر موارد ذکر شده، بازده استخراج کلونجر ۱/۳۳ برابر روش استخراج با حلال می باشد.

واژه های کلیدی: استخراج باحلال، گیاه آدَمک، کلونجر، تقطیر با آب

مقدمه

شده است. 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، تقریباً بیش از ۳۰ درصد داروهای تهیه شده ی دنیا دارای منشأ گیاهی هستند که یا مستقیماً از گیاهان

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

عصاره‌گیری شده‌اند و یا بر اساس ترکیب گیاهی، تهیه و سنتز شده‌اند [۱]. گیاه دارویی به گیاهی گفته می‌شود که تمام آن یا اجزائی از آن به صورت تازه، خشک شده و یا فراوری شده جهت تشخیص، درمان، پیشگیری، کمک به اعمال فیزیولوژیک و حفظ بهداشت بدن انسان یا حیوانات و دیگر گیاهان بکار می‌روند [۲].

مواد موثره متابولیت‌های ثانویه‌ای که در گیاهان وجود دارند و پس از استخراج وخالص سازی، می‌توانند در فرآورده‌های دارویی، آرایشی بهداشتی، غذایی و صنعتی کاربرد داشته باشند. اسانس‌ها، عصاره‌ها و رنگهای طبیعی مثال‌هایی از مواد موثره هستند [۲]. انجام هرگونه عملیات بر روی گیاهان دارویی پس از برداشت که باعث حفظ ارزش دارویی و یا افزایش میزان اثربخشی آنها شده و یا استفاده از آنها را ساده تر نماید فرآوری نامیده می‌شود. فرآوری گیاهان دارویی شامل اقداماتی از قبیل خشک کردن، بسته بندی، عرق گیری، تهیه پودر اسانس، عصاره و غیره است [۲]. تولید اسانس روغنی گیاهان جهت استفاده در صنایع دارو سازی، بهداشتی و آرایشی از دیر باز در کشورهای توسعه یافته رواج داشته، اما متأسفانه اکثر موارد مورد استفاده اسانس در صنایع داخل کشور با هزینه بالای ارزی تا کنون وارد می‌گردیده است. تاریخچه تولید مواد معطر در جهان به چندین قرن پیش می‌رسد و حدود صد سال است که شرکتهای بزرگ، اسانسها را با کیفیتی که بتوان در صنایع مختلف بهداشتی، آرایشی، غذایی و دارویی از آن استفاده کرد تولید می‌کنند و همزمان پروژه‌های تحقیقاتی بسیاری برای افزایش مرغوبیت محصولات خود انجام می‌دهند، لیکن تا کنون ایران برای تامین اسانس مورد مصرف صنایع خود تنها وارد کننده این مواد با ارزش بوده و ارز قابل توجهی از کشور خارج شده است [۳].

یکی از گیاهان دارویی با ارزش، گیاه آدَمک با نام علمی *Biebersteinia multifida* DC می‌باشد که در سوریه، ارمنستان، افغانستان، افریقا، لبنان، بخش‌های مرکزی آسیا و نواحی کناری ایران یافت می‌شود. در بخش‌های غربی ایران، از این گیاه بعنوان داروی محلی برای درمان اختلالات ماهیچه‌ای و آسیب‌های استخوانی استفاده می‌شود [۴]. مطالعات بیولوژیک و فارماکولوژیک نشان دهنده

ی اثرات آنتی باکتریال، اثرات آنتی اکسیدان و اثرات ضد درد و ضد التهاب در این گیاه می‌باشد [۷، ۶، ۵]. ضرورت استفاده روش‌های کاربردی تر برای بدست آوردن روغن‌های اسانسی با کیفیت بالاتر به دلیل استفاده کلان آنها در صنعت یک امر مهم می‌باشد. امروزه با شیوه‌های جدید استخراج روغن‌های فرار دانشمندان به دنبال افزایش پایداری اسانس‌ها و نیز افزایش حلالیت آنها در حلال‌هایی با در صد الکل پایین در مواد غذایی و آب و همچنین کاهش هزینه‌های ذخیره‌ای و انتقال روغن‌های اسانسی می‌باشند. روش استخراج اسانس‌های گیاهی می‌تواند راندمان استخراج، درصد و نوع ترکیبات شیمیایی، فعالیتهای بیولوژیکی موجود در آن را تغییر دهد [۲]. بنابراین با توجه به اهمیت گیاهان دارویی و متابولیت‌های مشتق شده از آنها در تامین سلامت جوامع بشری و پتانسیل بالای اقتصادی این گیاهان، به عنوان یک منبع درآمد مطمئن لازم است در کشور ما نیز برنامه مدون و جامعی در این زمینه تدوین شود و بخشی از تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی در دانشگاهها و موسسات تحقیقاتی بر روی شناسایی، تولید صنعتی و بهینه سازی روش‌های استخراج متابولیت‌های دارویی از این گیاهان اختصاص یابد [۸]. در این مقاله مقایسه روش استخراج اسانس گیاه آدَمک با استفاده از تقطیر با آب و استخراج با حلال نرمال هگزان می‌باشد [۹].

روش کار

اسانس گیری اندام‌های هوایی گیاه آدَمک از طریق استخراج با حلال هگزان: ابتدا ۱۵۰ گرم از اندام‌های هوایی گیاه که خشک و پودر شده، در ۷۵۰ میلی لیتر از حلال هگزان به مدت ۴۸ ساعت غوطه‌ور و در محل تاریک نگهداری شد. بعد مخلوط گیاه و حلال را توسط قیف و کاغذ صافی از هم جدا نموده و محلول صاف شده در بالن روتاری قرار داده و تحت خلا چرخان در دستگاه روتاری به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد آن را در لوله آزمایش جدا نموده و در ظرف تیره در بسته جمع آوری گردید. نمونه مذکور جهت آنالیز کروماتوگرافی گازی - جرمی به بخش طیف سنجی دانشگاه صنعتی شریف ارسال شد [۹]. اسانس گیری اندام‌های هوایی گیاه آدَمک با کلونجر: ۱۶۰ گرم از پودر گیاه خشک شده، اندام‌های 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 از اسانس استخراج شده به روش تقطیر با آب طیف GC-MS گرفته شد. اسانس شامل ترکیبات جدول ۱ بود.

جدول ۱: ترکیبات موجود در اسانس اندام هوایی آدمک (کلونجر)

Leaf Clevenger		
RI	Compound Name	% in Essential Oil
۹۳۹	α -pinene	۰/۲۹
۱۰۹۶	trans - sabinene hydrate	۱/۵۸
۱۰۹۹	linalool	۰/۵۵
۱۱۴۲	camphor	۰/۴۱
۱۴۲۱	trans-caryophyllene	۰/۳۸
۱۴۵۱	(Z)- β -farnesene	۰/۳۳
۱۴۶۲	allo-aromadendrene	۰/۷۸
۱۵۰۷	α -Farnesene	۰/۵۶
۱۵۲۴	δ -cadinene	۲/۲۶
۱۵۳۶	α -Cadinene	۰/۶۸
۱۵۵۲	elemol	۱/۲۶
۱۵۶۷	E-Nerolidol	۳۱/۴۵
۱۵۸۷	Caryophyllene oxide	۰/۶۴
۱۵۹۴	Viridiflorol	۰/۵۸
۱۶۱۰	humulene epoxide II	۰/۶
۱۶۳۵	τ -Cadinol	۰/۶۳
۱۶۵۶	β -Eudesmol	۰/۷۴
۱۶۵۹	α -Eudesmol	۲/۰۹
۱۶۷۱	bulnesol	۲/۲۴
۱۶۸۵	α -Bisabolol	۳/۸۱
۱۶۹۶	β -farnesol	۲/۸۱
۱۷۱۳	(E)- Nerolidol acetate	۰/۲۸
۱۷۲۰	(2E,6E)-Farnesol	۵/۵
۱۷۵۹	Myristic acid	۱/۲۳
۱۸۴۳	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	۳/۶۶
۱۹۱۷	Farnesyl acetone	۰/۲۹
۱۹۶۲	Palmitic acid	۱۱/۸۴
۲۱۳۰	phytol	۳/۹۶
۲۱۴۳	Linoleic acid	۰/۴
۲۱۴۸	Mandenol	۱/۵۳
	Total Percentage	۸۳/۲۴

از اسانس استخراج شده به روش تقطیر با آب طیف GC-MS گرفته شد. اسانس شامل ترکیبات جدول ۲ بود

جدول ۲: ترکیبات موجود در اسانس اندام هوایی آدمک (استخراج با حلال)

Leaf Solvent extraction		
RI	Compound Name	% in Essential Oil
۱۴۵۲	(Z)- β -farnesene	۰/۹
۱۴۶۳	allo-aromadendrene	۱/۶۴
۱۹۵۶	Palmitic acid	۳/۴۷
۲۱۲۶	Linoleic acid	۳/۴۹
۲۱۳۲	Mandenol	۱۰/۱
۲۱۵۰	ethyl linolenate	۱/۵۹
۲۳۱۲	10-cyclohexylnonadecane	۰/۹۳
۲۵۰۴	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid ethyl ester	۷/۰۷
۲۵۱۷	Pentacosane	۱/۴
۲۶۸۲	n- Heptacosane	۱۰/۲۳
۲۷۹۱	Octacosane	۲/۰۹
۲۸۹۴	Nonacosane	۳۸/۶۲
۳۱۳۸	Vitamin E	۲/۰۷
	Total Percentage	۸۳/۶

جدول ۳: ترکیبات مشابه در دو روش تقطیر با آب و استخراج با حلال

Compound Name	% in Essential Oil Leaf Clevenger	% in Essential Oil Leaf Solvent extraction	SE
(Z)- β -farnesene	۰/۲۳		۰/۹
allo-aromadendrene	۰/۷۸		۱/۶۴
Palmitic acid	۱۱/۸۴		۳/۴۷
Linoleic acid	۰/۴		۳/۴۹
Mandenol	۱/۵۳		۱۰/۱

بحث

گلاب وجود دارد، اما اسید آلی حاصل که بد بو نیز است در روغن وجود دارد. به همین دلیل است که روغن حاصل از این روش ارزان و فاقد ارزش اقتصادی است. این روش بسیار ارزان و نیز کم کیفیت تلقی می شود [۱۱]. در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد، یک سری واکنشهای شیمیایی بین مواد و ترکیبات تشکیل دهنده اسانسها و آب صورت می پذیرد که از مهمترین این نوع واکنشها

با توجه به این روش که بسیاری از مواد آلی نسبت به گرما حساس می باشند و در اثر حرارت تجزیه می شوند، در این روش محصول به دست آمده، بر اثر تجزیه ی بسیاری از مواد آلی موجود در گل، دارای بوی متفاوت نسبت به گل می باشند. ضمن آن که استرهای موجود در گل با بخار آب طی واکنشی بنام هیدرولیز، به الکل و اسید آلی تجزیه می گردد. الکل در آب محلول می باشد که در

جدول ۴: ترکیبات غیرمشابه در دو روش تقطیر با آب و استخراج با حلال

Compound Name	% in Essential Oil Leaf Clevenger	% in Essential Oil Leaf Solvent extraction
ethyl linolenate	-	۱/۵۹
10-cyclohexylnonadecane	-	۰/۹۳
(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid ethyl ester	-	۷/۰۷
Pentacosane	-	۱/۴
Heptacosane	-	۱۰/۲۳
Octacosane	-	۲/۰۹
Nonacosane	-	۳۸/۶۲
Vitamin E	-	۲/۰۷
α -pinene	۰/۲۹	-
trans - sabinene hydrate	۱/۵۸	-
linalool	۰/۵۵	-
camphor	۰/۴۱	-
trans-caryophyllene	۰/۳۸	-
α -Farnesene	۰/۵۶	-
δ -cadinene	۲/۲۴	-
α -Cadinene	۰/۶۸	-
elemol	۱/۲۶	-
E-Nerolidol	۳۱/۴۵	-
Caryophyllene oxide	۰/۶۴	-
Viridiflorol	۰/۵۸	-
humulene epoxide II	۰/۶	-
τ -Cadinol	۰/۶۳	-
β -Eudesmol	۰/۷۴	-
α -Eudesmol	۲/۰۹	-
bulnesol	۲/۲۴	-
α -Bisabolol	۳/۸۱	-
β -farnesol	۲/۸۱	-
(E)- Nerolidol acetate	۰/۲۸	-
(2E,6E)-Farnesol	۵/۵	-
Myristic acid	۱/۲۳	-
6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	۳/۶۶	-
Farnesyl acetone	۰/۲۹	-
phytol	۳/۹۶	-

می توان از هیدرولیز، اکسیداسیون، پلیمریزاسیون و غیره نام برد [۱۰].

برخی از واکنش های مذکور مفیدند و باعث بهبود و کیفیت کلی اسانس یا برخی مواد تشکیل دهنده آن می شوند. در برخی از گیاهان، مواد شیمیایی اولیه ای (مواد پیش ساز) وجود دارد که تحت تاثیر حرارت تغییر شکل می دهند و به مواد مفیدی تبدیل می شوند. آنزیم هایی که باعث تغییر شکل برخی مواد شیمیایی موجود در اسانسها می شوند، در اسانس سیر، پیاز، خردل، بادام و غیره قابل شناسایی اند. درجه حرارت مناسب برای فعالیت آنزیم های مذکور ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی گراد است. آزولن موجود در اسانس بابونه و بومادران، از تغییر ماده شیمیایی اولیه (پیش ساز) پروکامازولن، حاصل می شود.

تعدادی دیگر از واکنش های شیمیایی، باعث کاهش کیفیت اسانس می گردد و می تواند تاثیر هایی منفی بر اسانس حاصل از گیاهان در حین تقطیر داشته باشد. از واکنشهای مذکور، می توان به پلیمریزاسیون، اکسیداسیون و هیدرولیز اشاره کرد. واکنشهای مذکور نه تنها باعث کاهش مقدار اسانس می گردد، بلکه سبب تبدیل آنها به مولکولهای بزرگ می گردد و از میزان حلالیت آن می کاهد. استرهای موجود در اسانس ها در مجاورت آب و دمای مناسب هیدرولیز شده و به الکل و اسید تجزیه می گردند.

الکل+اسید→آب+استر

به طور کلی، با انتخاب بهترین دما، مناسب ترین فشار بخار و همچنین، تعیین مناسب ترین زمان برای تقطیر، می توان اقدام به استخراج اسانسها با بهترین کمیت و کیفیت نمود [۱۱].

معایب روش استخراج با حلال به شرح زیر است:

الف) واکنش با بعضی مواد درون روغن

ب) وجود باقی مانده مواد روغنی که در فرایند های اسانس گیری و نیز در محصولات دارویی که از روغن استفاده می شود مهم است.

ج) بخارات ناشی از این حلالها نیز آلاینده محسوب می شود.

د) وجود باقی مانده حلال شیمیایی که خطر ایجاد مسمومیت می کند [۹].

در روش کلونجر، ۳۰ ترکیب و در روش استخراج با حلال ۱۳ ترکیب شناسایی گردیده اند. بزرگترین مزیت استخراج کلونجر نسبت به حلال علاوه بر اینکه درصد بازده استخراج بیشتری را داراست. در جدول ۳ ترکیبات مشابه روش حلال و کلونجر و در جدول ۴ ترکیبات غیر مشابه روش کلونجر و استخراج با حلال آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود ترکیب درصد برخی از اجزاء افزایش و برخی کاهش یافته است. [۹].

نتیجه گیری

زمان استخراج در روش کلونجر ۳۶۰ دقیقه و در روش استخراج با حلال ۳ روز می باشد، در نتیجه روش تقطیر با آب زمان کمتری نسبت به دو روش دیگر داراست. از نظر مصرف انرژی روش حلال نسبت به کلونجر چون اصلا مصرف انرژی نداریم مرقوم به صرفه است. از طرفی در روش استخراج با کلونجر از حلال آب استفاده می شود که سازگار با محیط زیست است در حالیکه در روش استخراج با حلال که از حلال نرمال هگزان استفاده شده است، حلالی سمی، آتش گیر، و مخرب محیط زیست بوده و همچنین باعث باقی ماندن این حلال سمی در اسانس استخراج شده بعد از فراوری می شود. علاوه بر موارد ذکر شده، بازده استخراج کلونجر ۱/۳۳ برابر روش استخراج با حلال می باشد.

شایان ذکر است که در کل درانتخاب 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؟ مثلا اگر Mandenol ترکیب مطلوب مورد نظر ما باشد بایستی از روش استخراج با حلال استفاده کرد زیرا در روش تقطیر با آب درصد این ترکیب ۱/۵۳ درصد اما در استخراج با حلال درصد آن ۱۰/۱ درصد می باشد و در روش مایکروویو صفر درصد است.

References

1. Faknaz M, Heydari P, Mehrabi A, The effects of biotechnology to increase the productivity of medicinal plants, Regional conference food and biotechnology, Islamic Azad University, Kermanshah Branch, 2010[Persian]
2. Jalilvand M, Vakili A, Amini Moghaddam Faraj N, Nematollahi A, Kamali H, Sodmand M, Attitude of applied research in natural products and of medicinal plants, North Khorasan, 2011[Persian]
3. Khosroshahi S, Guide to medicinal plants, Mashhad, 2008[Persian]
4. Akhlaghi H, Shafaghat A, Mohammadhosseini M, Chemical composition of the essential oil from leaves of *Biebersteinia multifida* DC., Growing wild in Iran, J. Essent. Oil Bear. Plants 2009, 12 (3): 365-368[Persian]
5. 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]
6. Nabavi SF, Ebrahimzadeh MA, Nabavi SM, Eslami B, Dehpour A, Antihemolytic and antioxidant activities of *Biebersteinia multifida*, Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci., 2010; 14 (10): 823-830. [Persian]
7. Farsam H, Amanlou M, Dehpour AH, Jahaniani F, Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC Root extract, J. Ethnopharmacol 2000, 71(3): 443-447[Persian]
8. Mirdarbkovand M, The importance of plant biotechnology and various applications, Iran, Technology Analysts Network, 2003.
9. Nadaf M, Halimi M, Mortazavi M, Identification of Nonpolar Chemical Composite *Spartium Janceum* flower growing in Iran by GC-MS, Middle-East J. Sci. Res., 2012, 11 (2): 221-224[Persian]
10. Kazemi F, Effect of different drying methods and Essential method of obtaining on the essential qualitative and essential oil components Roman chamomile flowers, MS.c thesis of Horticultural Sciences, tarbiat Modares University, Faculty of Agriculture, 2002[Persian]
11. Omidbeigi R, Production and processing of medicinal plants, Mashhad, 2006[Persian]

Comparison of solvent extraction and hydrodistillation of essential oil from *Biebersteinia multifida* DC. Conjunction with gas chromatography – mass spectroscopy

Feyzi P^{1*}, Kamali H², Yazdani A³, Hashemimoghadam H⁴

¹ MS of chemistry, Department of chemistry, Azad University of Damghan, Damghan, Iran.

² MS of chemistry, Research center of natural products safety and medicinal plants, North Khorasan university of medical sciences, Bojnurd, Iran.

³ Agricultural engineering, Research center of natural products safety and medicinal plants, North Khorasan university of medical sciences, Bojnurd, Iran

⁴ Assistant professor of chemistry, Department of chemistry, Azad University of Damghan, Damghan, Iran.

***Corresponding Author:**
Azad University of Damghan
Email:
feyzi.peyman@yahoo.com

Abstract

Background & Objectives: The modern essence extraction methods are following special patterns in order to increase the quality, prevent the contamination, and decrease the sample preparation costs. In order to get the best essence possible, subjects like the herbal components properties, suitable solvent and precision should be put into serious consideration. In this current study we have compared the *Biebersteinia multifida* DC essential oils obtained with two different solvents and methods, hydro distillation and normal hexane extraction.

Material and Methods: After collecting the plant sample, and conducting the drying procedure, the essential oils were obtained using two various methods, solvent extraction and the hydro distillation (Clevenger). Later the essential oil components were analyzed using GC, MASS SPECTROSCOPY devices. Furthermore the yield of extraction was also studied for both of the mentioned methods.

Results: In hydro distillation protocol and solvent extraction method 30 and 13 compounds were recognized respectively. On the other hand the optimum time for the Clevenger method was calculated to be 360 minutes; however it was 3 days for solvent extraction method. The most profound advantages about the hydro distillation method can be its short duration, high extraction yield and using the non toxic-environmental friendly solvent.

Conclusion: Selecting the most proper method should be based on the desired compound. The extraction yield for the Clevenger method was 1.33 times more than the solvent extraction method.

Key words: Solvent extraction, *Biebersteinia multifida*, Clevenger, Hydro distillation.
