



ORIGINAL RESEARCH PAPER

## Teaching various methods of extracting mountain thymus essential oil and studying the antioxidant properties of the extracted essences

Jafar Hemati <sup>1,\*</sup>, Mohammad Hadi Givianrad <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Official employee of the General Department of Education of Alborz province

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Tehran Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\* Corresponding author: (✉) [j\\_hemati@yahoo.com](mailto:j_hemati@yahoo.com)

### ABSTRACT

#### Keywords:

Essential oils,  
thyme,  
oil extraction  
methods,  
properties,  
antioxidant.

Essential oil of a species of mountain thymus, extracted by three methods. In the first method through distillation, the extracted essential oil and its compounds were analyzed and identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), showing that the main compounds of the plant are linalool 75.24%, alpha-terpinol 45.11%, limonene 13.9%, and trans-beta-ocimene 52.7%. In the second method, the essential oil was extracted without solvent using a microwave device, and the main compounds of the plant were analyzed and identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), showing that the main compounds of the plant are linalool 32.30%, alpha-terpinol 12.14%, limonene 38.11%, and nerolidol 85.9%. In the third method, a combination of ultrasound and water distillation was used for extracting the essential oil, and the main compounds of the plant were analyzed and identified using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), showing that the main compounds of the plant are linalool 45.23%, 1,8-cineole 98.13%, alpha-terpinol 49.12%, and trans-beta-ocimene 26.6%. In all three methods, the highest percentage corresponds to oxygenated monoterpenes, which are 42% in distillation, 59.87% in microwave, and 50.38% in ultrasound treatment. Then, based on the extraction of the essential oil in each method and their abundance percentage, the antioxidant property of the obtained essences was evaluated using the DPPH free radical scavenging test. The method was chosen based on its non-toxic solvent and its inhibitory time, and the best inhibitory percentage belongs to the microwave extraction method with 5.54% and the distillation method with 40% at a concentration of 5 ppm.

Received: 20 January 2024

Revised: 24 February 2024

Accepted: 16 March 2024

Published online: 16 March 2024

PP: 59-68

ISSN (Online): [2717-2279](https://doi.org/10.48310/CHEMEDU.2024.15662.1182)

**Citation:** Hemati, J, Givian Rad, MH. (2024). Teaching various methods of extracting mountain thymus essential oil and studying the antioxidant properties of the extracted essences. *Research in Chemistry Education*, 6(1), 59-68.

 <https://doi.org/10.48310/CHEMEDU.2024.15662.1182>



پژوهش در آموزش شیمی، سال ششم، شماره اول، صفحات ۶۸-۵۹



## پژوهش در آموزش شیمی

<https://chemedu.cfu.ac.ir>



مقاله پژوهشی

### آموزش روش‌های مختلف استخراج اسانس حاصل از گیاه آویشن کوهی و مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های حاصله

جعفر همتی<sup>۱\*</sup>، محمد هادی گیویان راد<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی دکتری، گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول: ([j\\_hemati@yahoo.com](mailto:j_hemati@yahoo.com))

#### چکیده

روغن اسانسی گونه‌ای از آویشن کوهی، که به سه روش اسانس‌گیری شده است، در روش اول با تقطیر آب اسانس‌گیری شده و ترکیبات متشکله به کمک کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنج جرمی GC/MS بررسی و شناسایی گردید که ترکیبات اصلی گیاه لینالول ۲۴/۷۵٪، آلفا ترپینول ۱۱/۴۵٪، لیمونن ۹/۱۳٪ و ترنس - بتا-آسیمین ۷/۵۲٪ می‌باشد که بیشترین سطح زیر پیک‌ها را نشان می‌دهد. در روش دوم با دستگاه ماکروویو بدون حلال اسانس‌گیری شده و ترکیبات متشکله به کمک کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنج جرمی GC/MS بررسی و شناسایی گردید که ترکیبات اصلی گیاه لینالول ۳۰/۳۲٪، آلفا ترپینول ۱۴/۱۲٪، لیمونن ۱۱/۳۸٪ و نرولیدول ۹/۸۵٪ می‌باشد در روش سوم از روش ترکیبی فراصوت و تقطیر با آب اسانس‌گیری شده و ترکیبات متشکله به کمک کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنج جرمی GC/MS بررسی و شناسایی گردید که ترکیبات اصلی گیاه لینالول ۲۳/۴۵٪، ۸۱ سینئول ۱۳/۹۸٪، آلفا-ترپینول ۱۲/۴۹٪ و ترنس-بتا-آسیمین ۶/۲۶٪ می‌باشد. در هر سه روش بیشترین درصد مربوط به منوترین اکسیژن‌دار می‌باشد که در کلیونجر ۴۲٪، در ماکروویو ۸۷/۵۹٪ و در تیمار با فراصوت ۳۸/۵۰٪ است. سپس با توجه به استخراج اسانس در هر یک از روش‌ها و درصد فراوانی آن‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های بدست آمده با روش رادیکال آزاد با آزمون DPPH سنجیده شد که این روش با توجه به حلال غیرسمی آن و زمان بازدارندگی آن انتخاب گردید و بهترین درصد بازدارندگی مربوط به روش استخراج ماکروویو با ۵۴/۵٪ و روش کلیونجر با ۴۰٪ در غلظت ۵ ppm می‌باشد.

#### واژه‌های کلیدی:

اسانس‌گیری، آویشن کوهی، روش‌های استخراج اسانس، خواص آنتی‌اکسیدانی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۱۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۶

تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۱۲/۲۶

شماره صفحات: ۵۹-۶۸

شاپا الکترونیکی: ۲۷۱۷-۲۲۷۹



ارجاع: همتی، جعفر؛ گیویان راد، محمد هادی (۱۴۰۳). آموزش روش‌های مختلف استخراج اسانس حاصل از گیاه آویشن کوهی و مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های حاصله. پژوهش در آموزش شیمی، (۱)۶، ۵۹-۶۸.

doi <https://doi.org/10.48310/CHEMEDU.2024.15662.1182>

## مقدمه

اسانس‌ها از گیاهان معطر تولید می‌شوند و از زمان باستان از آنها علاوه بر طعم‌دهنده و نگهدارنده‌ی مواد غذایی و هم‌چنین به‌عنوان دارو برای درمان امراض استفاده می‌شد. اسانس‌ها باعث افزایش زمان ذخیره و نگهداری مواد غذایی بر اساس به تعویق اندازی اکسیداسیون چربی‌ها، با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. روغن‌های حاصل از اسانس گیاهان به دلیل مؤثر بودن در پیشگیری و علاج بسیاری از امراض برای قرن‌های متمادی، هم‌چنین با توجه به مسمومیت و عوارض جانبی محدود به‌عنوان یک ماده سالم کم‌خطر محسوب می‌شوند.

## پیشینه پژوهش

ترکیبات طبیعی، به موادی اطلاق می‌شوند که بوسیله‌ی جانداران زنده اعم از گیاه، حیوان و... تولید می‌گردند. این ترکیبات نقش به‌سزایی در پیشرفت و گسترش شیمی ایفا کرده‌اند. بطوری که بسیاری از روش‌های شیمیایی و فیزیکی شناسایی و تعیین ساختار مواد در حین مطالعه بر روی چنین ترکیباتی توسعه یافتند. منشاء بسیاری از واکنش‌های مهم از نظر مطالعه مکانیسمی در محدوده‌ی شیمی ترکیبات طبیعی می‌باشد. با توجه به اینکه اسانس حاصل از گیاهان معطر، ترکیباتی هستند که در صنعت دارویی و غذایی کاربرد ملموسی دارند. این مسئله لزوم آموزش چگونگی استخراج و استفاده‌ی بجا و مناسب از این مواد طبیعی و پی بردن به ترکیبات موجود در آن‌ها را بیان می‌دارد. پاره‌ای از تاثیرات روغن‌های اسانسی این گونه گیاهان عبارتند از:

۱) اثرات گوارشی: استفاده این روغن‌ها بعنوان خوراکی باعث تحریک مخاط دستگاه گوارشی شده و به نوعی بعنوان از بین برنده نفخ، عدم اسپاسم گوارشی، درمان زخم معده، جلوگیری از تهوع، اشتها آور، استفاده می‌شوند.

۲) اثرات تنفسی: اسانسی‌ترین تاثیرات تنفسی شامل: درمان برونشیت ورنیت، کاهش سرفه، رفع گرفتگی بینی، خلط آور و جلوگیری از اسپاسم ریوی می‌باشد.

۳) اثرات باکتریایی: یکی از متداول‌ترین کاربردهای روغن‌های اسانسی اثرات ضدباکتریایی آن‌ها می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان داده که حساسیت باکتری‌های نوع گرم مثبت در برابر اسانس‌ها از باکتری‌های نوع گرم منفی بیشتر می‌باشد.

۴) اثرات پوستی: از بارزترین این اثرات می‌توان به تاثیر ضدتحریکی و التهایی، عدم خارش موضعی، درمان جوش‌های چرکی و آکنه، درمان لک‌های حاملگی و سوختگی حاصل از نور خورشید اشاره نمود. (صمصام شریعت، ۱۳۷۱).

مضاف بر ۴ مورد از تاثیرات مهم روغن‌های اسانس گیاهان معطر می‌توان از آنها بعنوان کاهنده‌ی چربی خون، افزایش شیردهی در زنان باردار، جلوگیری از افسردگی، درمان آفت و تبخال، پایین آورنده‌ی قند خون استفاده نمود. در تحقیقی بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس میخک، ریحان، علف لیمو، دارچین و فلفل سیاه (برخی از گیاهان دارویی هند) با استفاده از روش DPPH<sup>1</sup>، مورد بررسی قرار گرفت. در پژوهش دیگری توسط آبرومند آذر و همکاران اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان (*carum copticum*) مورد بررسی قرار گرفت (آبرومند آذر، ۱۳۸۹). طالب پور و همکاران در پژوهشی به بررسی و مقایسه روش‌های مختلف استخراج اسانس از قسمت‌های مختلف گیاه *Tanacetum sonbolii* پرداختند (طالب پور، ۱۳۹۲).

<sup>1</sup> 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate

## روش کار

۱- جمع آوری و تعیین نام علمی گیاه مورد نظر:

گیاه جمع‌آوری شده جهت بررسی و شناسایی ترکیبات موجود در روغن اسانسی، (نمونه‌ی کاملی از گیاهان که شامل ریشه، ساقه، برگ و گل و بطور کلی اندام اصلی خشک گیاه) و تعیین نام علمی در هر بار یوم ساختمان شیخ بهایی واحد علوم تحقیقات مورد بررسی قرار گرفت.

۲- استخراج روغن‌های اسانسی:

برای استخراج روغن اسانسی گیاه آویشن کوهی از سه روش استخراج استفاده شد. براساس روش‌های آموزشی در مباحث شیمی دبیرستان اولین روش، استفاده از مفهوم تقطیر و روش تقطیر با آب<sup>۱</sup> و به کار گیری دستگاه کلیونجر<sup>۲</sup> بود، بدین ترتیب که ابتدا قسمت‌هایی از گیاه با جریان ملایمی از هوا خشک و مقدار صد گرم از آن خرد و در دستگاه کلیونجر به مدت ۳ ساعت اسانس گیری گردید. روش دوم، روش اسانس گیری با دستگاه ماکروبو بدون حلال بود که مانند روش قبلی ۵۰ گرم اندام خشک شده تحت جریان ملایم هوا، خرد و با آب به عنوان حلال در دستگاه ماکروبو به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه قرارداداده و اسانس گیری شد. روش سوم، روش تیمار در حمام فراصوت و اسانس گیری با کلیونجر بود، بدین صورت که ۳۰ گرم از اندام گیاهی خشک شده تحت جریان ملایم هوا، خرد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام فراصوت قرارداداده و سپس بادستگاه کلیونجر اسانس گیری شد. عمل آبگیری از روغن‌های اسانسی حاصل شده توسط سولفات سدیم بدون آب (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)، صورت پذیرفت.

۳- روش تفکیک و تعیین ترکیبات اسانسی:

باتوجه به اینکه ترکیبات موجود در روغن‌های اسانسی از نظر وزن مولکولی و قطبیت جز مواد فرار دسته‌بندی می‌شوند از این رو عمل تفکیک و تعیین ترکیبات روغن‌های اسانسی بدست آمده از گیاه آویشن کوهی بوسیله روش کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنج جرمی (GC-MS) استفاده گردید. و سپس طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه GC-MS با طیف‌های جرمی استاندارد موجود در منابع (Adams R.P., 2008) مورد قیاس قرار گرفت. برای تایید شناسایی‌های صورت گرفته توسط طیف‌های جرمی، از شاخصی بنام شاخص بازداری کوآنس استفاده شد (میر خاور، ۱۳۸۶). بعد از آبگیری روغن‌های اسانسی حاصله، برای تجزیه کیفی و کمی، رقیق سازی روغن‌های اسانسی مورد نظر توسط حلال هگزان نرمال (merck) انجام شد (نسبت ۱ به ۱۰). نمونه‌های آماده شده بوسیله‌ی دستگاه کروماتوگرافی گازی توام با طیف سنجی جرمی (GC-MS) موجود در آزمایشگاه مورد تحقیق تزریق گردید.

۴- بررسی و شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن اسانس گیاه *Thymus pubescens & Kotschyanus*

مشخصات گیاهی: گیاه *Thymus pubescens & Kotschyanus*: نوعی آویشن کوهی پایا با بوته‌های کوچک که در بن چوبی است، می‌باشد. برگ‌های این گیاه در شاخه‌های گلدار تا زیر گل آذین در حدود ۶-۴ زوج می‌باشد که تماماً هم اندازه به ابعاد ۷-۱/۵ × ۱۳-۹ میلی‌متر می‌باشند. این برگ‌ها دارای تیغه یا پهنک کم و بیش تخم مرغی که در قاعده کنجی و در راس مدور هستند. ساقه این گیاه بسیار منشعب و کرکدار می‌باشد. گل این گیاه صورتی و یا صورتی مایل به سفید که بصورت مجتمع در کاپیتول‌های مترکم قرار دارند. موسم گل این گیاه اردیبهشت- خرداد می‌باشد. این گیاه در مناطق و نواحی البرزی از قبیل فیروزکوه، اوشان، دره آهار، زرگنده، دره لار، پلور و یا در استان آذربایجان شرقی در مناطقی همچون میانه، خوی، بین تبریز و اردبیل و خلخال و دامنه رشته کوه‌های البرز و بین سلماس و ارومیه یافت می‌گردد (شکل ۱).

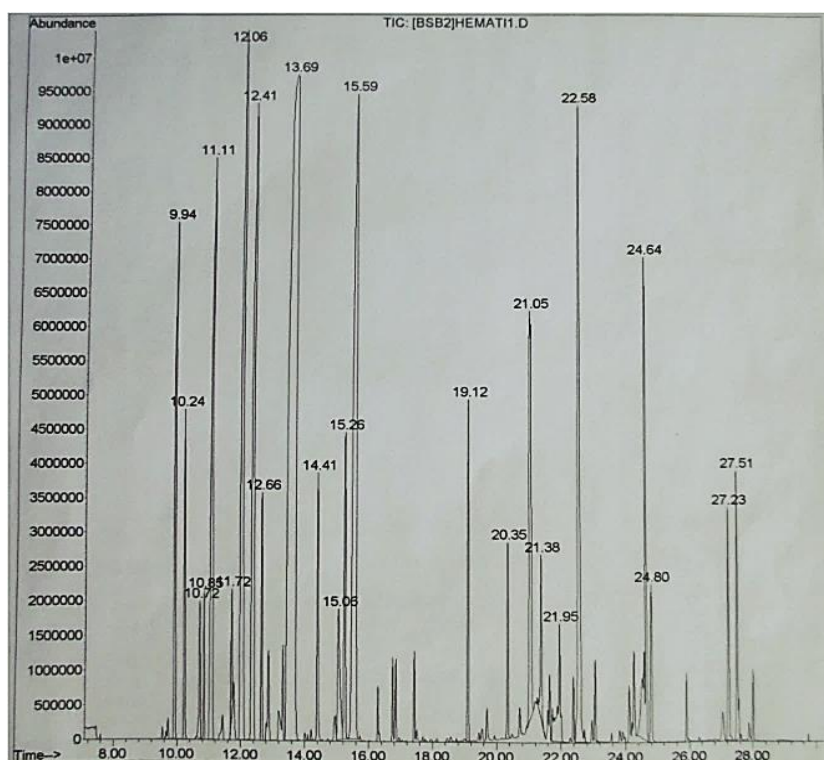
<sup>1</sup> Hydrodistillation

<sup>2</sup> Clevenger

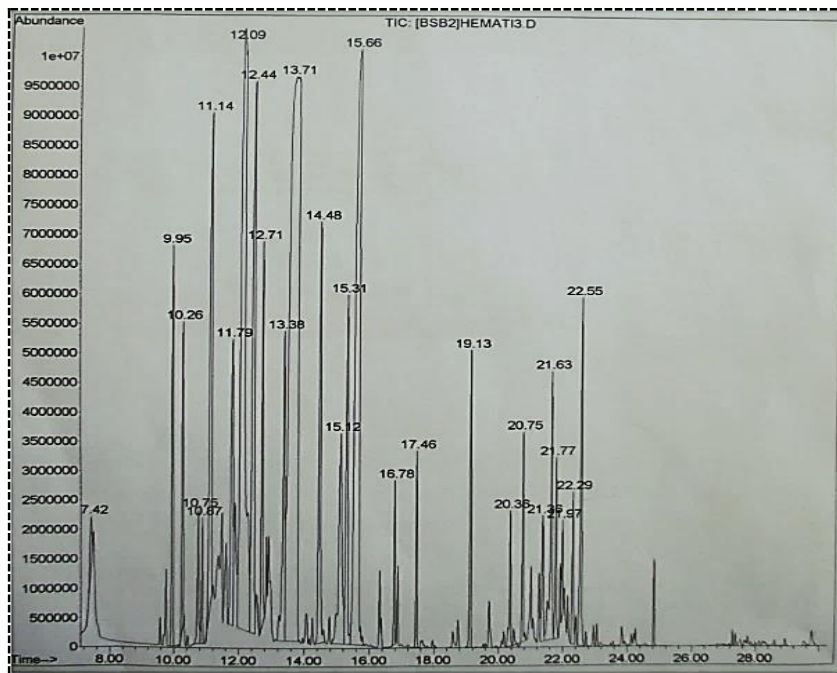


شکل ۱- گیاه *Thymus pubescens & Kotschyanus*

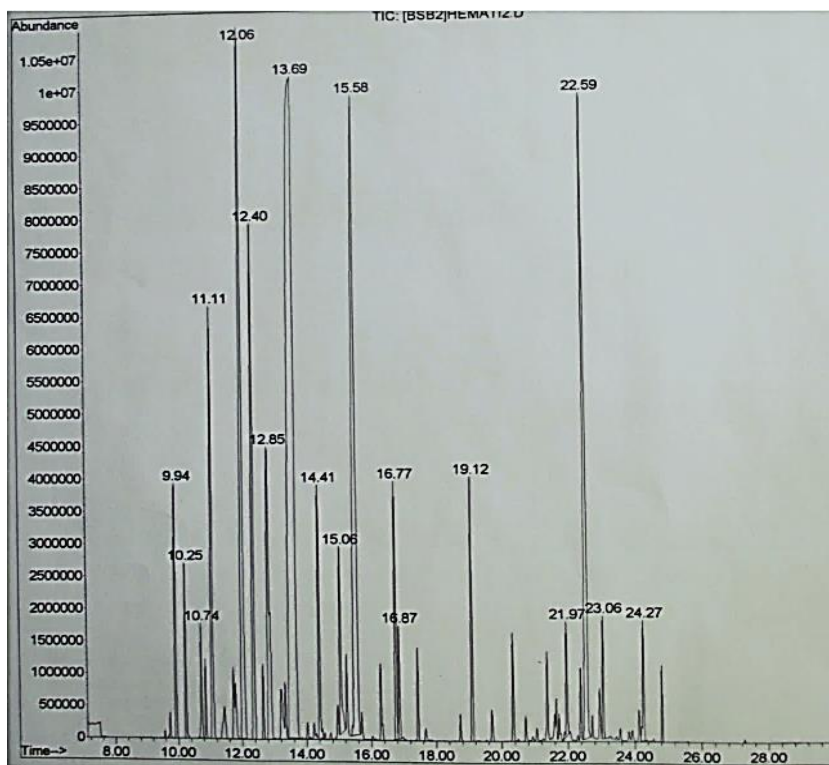
اندام هوایی گیاه *Thymus Pubescens & Kotschyanus* در اواسط خرداد ماه (موسم گلدهی) از منطقه شاهرود (کلور) شهرستان خلخال واقع در استان اردبیل جمع آوری گردید و نمونه‌ی هرباریومی آن در ساختمان شیخ بهایی واحد علوم و تحقیقات تهران مورد شناسایی و نامگذاری قرار گرفت. برگ، ساقه و گل گیاه از یکدیگر تفکیک و اندام‌های تفکیک شده در سایه و در معرض جریان ملایمی از هوا خشک گردیدند. اسانس‌های حاصل بدون آب توسط نرمال هگزان رقیق و یک میکرولیتر از هر اسانس بطور جداگانه به دستگاه GC-MS تزریق گردید. کروماتوگرام‌های بدست آمده برای هر روش اسانس‌گیری در شکل‌های ۲ تا ۴ نشان داده شده است.



شکل ۲- کروماتوگرام روغن‌های اسانسی حاصل از روش کلیونجر

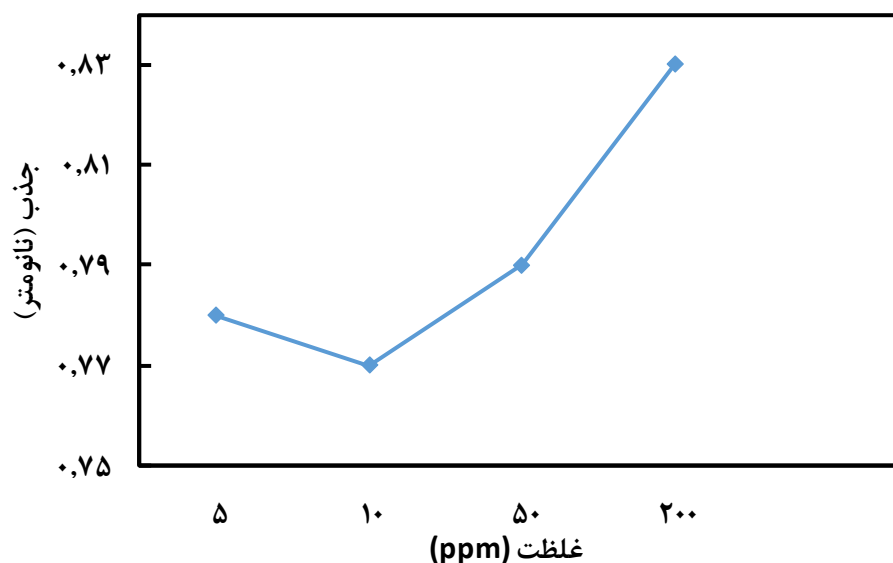


شکل ۳- کروماتوگرام روغن های اسانسی حاصل از روش تیمار فراصوت

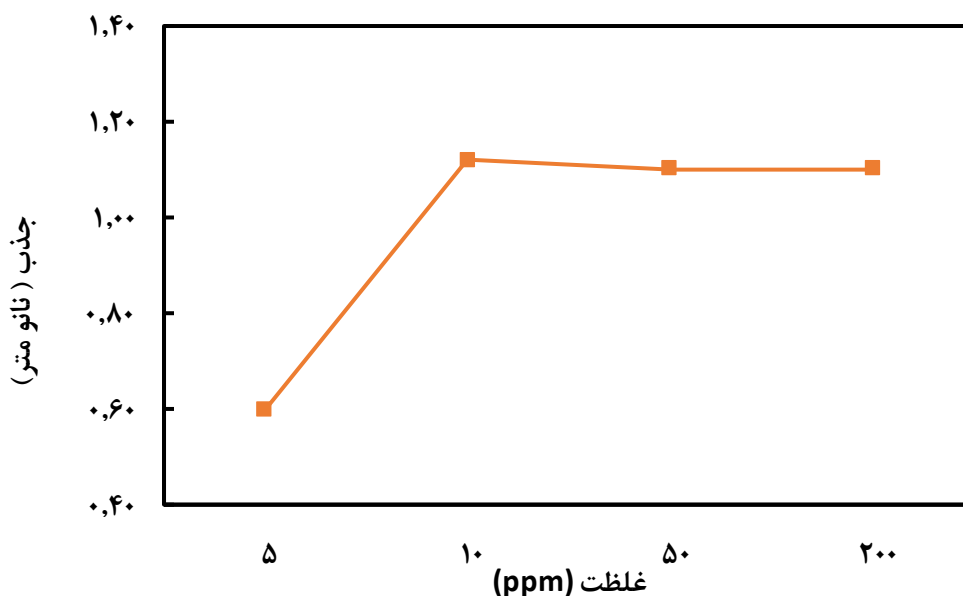


شکل ۴- کروماتوگرام روغن های اسانسی حاصل از روش ماکروبیو

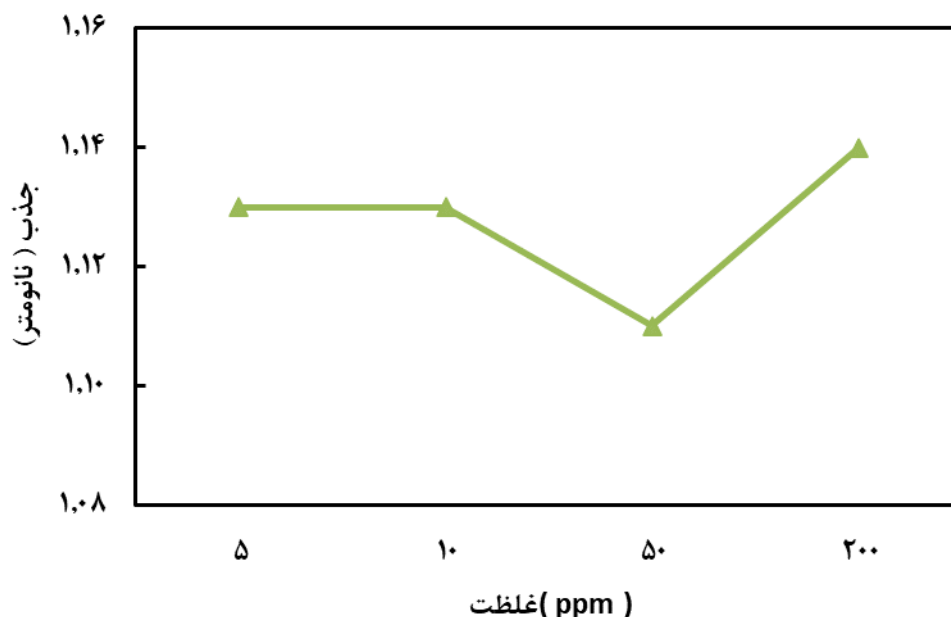
بعد از آنالیز اسانس‌های بدست آمده در هر روش، حجم‌هایی در غلظت ۱۰۰۰ ppm تهیه گردید. برای این کار ۵۰ میکروگرم از اسانس هر روش با متانول در بالن ۵۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد. دوباره در بالن ۲۵ میلی‌لیتری حجم‌های ۵، ۱۰، ۵۰، ۲۰۰ ppm تهیه شد و آماده‌ی آزمون DPPH گردید. برای تهیه معرف DPPH محلولی از ۰/۰۰۱ گرم از گرد ماده ۲-۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (سیگما آلدریج) در بالن ۵۰ میلی‌لیتری با متانول به حجم رسانده شد. و به سرعت از محلول بدست آمده توسط دستگاه جذب اتمی جذب گرفته شد که عدد ۱/۳۲ را در ۵۱۷ نانومتر نشان داد. به نسبت ۴ میلی‌لیتر از محلول معرف و ۱ میلی‌لیتر از هر یک از غلظت‌های درست شده از اسانس‌ها، باهم مخلوط و بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در جای تاریک، بدلیل اینکه معرف به نور حساس بوده و همچنین با توجه به اینکه رادیکال آزاد با ترکیبات موجود در اسانس به خوبی واکنش دهد، قرار داده شد. بعد از مدت مذکور از تک‌تک محلول‌ها در همان محدوده با متانول به عنوان شاهد جذب گرفته شد که در شکل‌های ۵ تا ۷ نشان داده شده است.



شکل ۵- نمودار جذب اسانس حاصل از روش کلیونجر



شکل ۶- نمودار جذب اسانس حاصل از روش ماکروبو



شکل ۷- نمودار جذب اسانس حاصل از روش تیمار با فراصوت

### بحث و نتیجه گیری

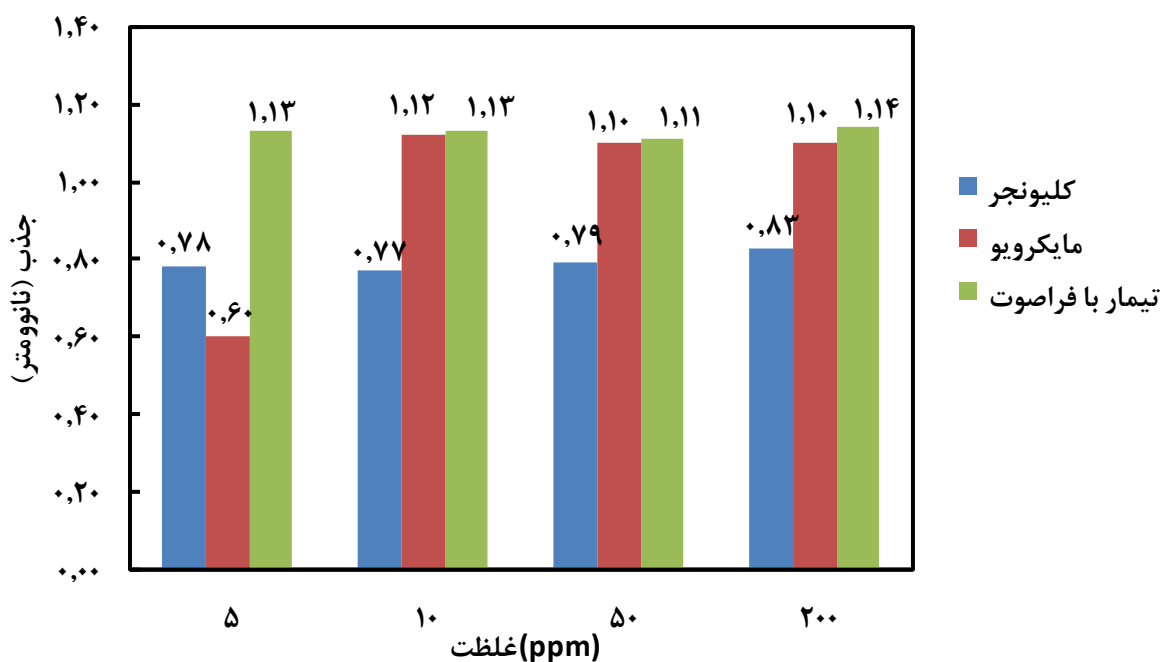
با توجه به ترکیبات شناسایی شده در روغن اسانسی گیاه *pubescens & Kotschyanus Thymus* که در سه روش مختلف ترکیبات تقریباً مشابه می‌باشند اما درصد وجود ترکیبات متفاوت بوده که در روش اول بیشترین درصد را به ترتیب لینالول، آلفا-ترپینول، لیمونن و ترنس-بتا-اسمین با ۵۲/۸۵٪ از کل ترکیب را به خود اختصاص داده‌اند. در روش ماکرو ویو بیشترین ترکیبات موجود در اسانس به ترتیب مربوط به لینالول، آلفا-ترپینول، لیمونن و نرولیدول با ۶۵/۶۷٪ از کل ترکیبات می‌باشد. در روش تیمار با فراصوت بدلیل شکسته شدن دیواره سلولی در حمام آب تعداد ترکیبات شناسایی شده نسبت به دو روش قبلی بیشتر بوده و به ترتیب درصد بالای ترکیبات مربوط به لینالول، ۱-ا-سینئول، آلفا-ترپینول و ترنس-بتا-اسمین با ۵۶/۱۸٪ از کل ترکیبات می‌باشد.

درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\%I = \frac{(A_{blank} - A_{sample})}{(A_{blank})} \times 100$$

در این فرمول  $A_{blank}$  میزان جذب نوری نمونه شاهد (که بیانگر محلول متانول و DPPH است) و  $A_{sample}$  بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس آویشن که با نسبت ۱ به ۴ با محول اول مخلوط گردیده می‌باشد. با توجه به نمودارهای جذب سه روش که نمایانگر میزان واکنش معرف DPPH با ترکیبات موجود در اسانس در غلظت‌های مختلف و به عبارتی محاسبه درصد بازدارندگی می‌توان غلظت ۵ ppm را مناسب در نظر گرفت (شکل ۸).





شکل ۸- نمودار ستونی مقایسه جذب سه روش

در روغن اسانسی حاصل از این گیاه در روش کلیونجر ۲۴ ترکیب که در مجموع ۹۹/۹۷٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند، در روش ماکروویو ۱۸ ترکیب که در مجموع ۱۰۰٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند، در روش تیمار فراصوت ۲۷ ترکیب که در مجموع ۹۶/۹۹٪ از کل اسانس را تشکیل می‌دادند، شناسایی گردید. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده این اسانس به طور متوسط در سه روش عبارت بود از: لینالول (۲۴/۶٪)، لیمونن (۱۳/۴۵٪)، آلفا-ترپینئول (۹/۹۸٪) و ترنس-بتا-اسمین (۸/۹۸٪) و نرولیدول (۸/۷٪). با توجه به غیرسمی بودن معرف DPPH و عدم نیاز به زمان طولانی جهت سنجش خواص آنتی اکسیدانی، درصد مهارکنندگی معرف برای غلظت ۵ ppm و بیشترین درصد مربوط به روش ماکروویو ۵۴/۵٪ و روش کلیونجر ۴۰٪ بود که نشان دهنده‌ی خواص آنتی اکسیدانی خوب گیاه آویشن کوهی می‌باشد.

## تعارض منافع

«هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.»

### COPYRIGHTS



©2021 The author(s). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, as long as the original authors and source are cited. No permission is required from the authors or the publishers.

## منابع

- آبرومندآذر، پرویز؛ متقیان پور، زهرا (۱۳۸۹). بررسی اثر روش استخراج بر ترکیب شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان. علوم غذایی و تغذیه، ۷(۲)، ۱۸-۱۰.
- صمصام شریعت، سپه (۱۳۷۱). عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آنها. انتشارات مانی.
- طالب پور، زهرا؛ نجفی، سیما (۱۳۹۲). مقایسه ترکیبات استخراج شده اسانس گیاه *Tanacetum sonbolii* با روش‌های استخراج جذبی از فضای فوقانی و تقطیر با آب. گیاهان دارویی، ۱۲(۴۸)، ۱۵۹-۱۵۰.
- میرخاور، زهرا (۱۳۸۶). اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی پوست دانه انار بر تالو و روغن سویا. پایانامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.