

نقش توپین زدایی در ترکیب شیمیایی اسانس پوست پرتقال (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)

مهدی میرزا^۱ و زهرا باهر نیک^۱

۱- اعضای هیأت علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، e-mail: mirza@rifr-ac.ir

چکیده

میوه گیاه پرتقال (*Citrus sinensis*) از تیره مرکبات (Rutaceae)، در فصل پاییز از منطقه شمال جمع آوری گردید و پس از جدا سازی پوست از میوه به روش پرس سرد (Cold-press) اسانس گیری انجام شده و بعد با استفاده از دستگاه GC و طیف سنجی جرمی GC/MS، ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس مورد شناسایی دقیق قرار گرفت. در مجموع ۲۱ ترکیب در اسانس پوست پرتقال شناسایی شد که عمده ترین ترکیبهای آن لیمونن (۹۴/۳٪)، میرسن (۱/۵٪)، لینالول (۰/۹٪)، دکانال (۰/۵٪)، آلفا-پینن (۰/۴٪) و اکتانول (۰/۳٪) بود. پس از عمل زدایی که به وسیله تقطیر جزء به جزء و با استفاده از پمپ خلاء انجام پذیرفت تغییرات مختلفی در اسانس پوست پرتقال بوجود آمد. عمده ترین ترکیبها در اسانس حاصل لیمونن (۹۲/۲٪)، لینالول (۱/۵٪)، میرسن (۰/۵٪)، آلفا-پینن (۰/۱٪) و دکانال (۰/۷٪) بودند.

واژه‌های کلیدی: *Citrus sinensis*، مرکبات، اسانس، لیمونن، سیترونلول، آلفا-پینن، اکتانول.

مقدمه

مرکبات گیاهانی به صورت درختچه‌های کوچک و دارای برگهای به ظاهری ساده دارند. گلهای آنها شامل کاسه‌ای مرکب از کاسبرگهای پیوسته به هم، ۴ یا ۵ گلبرگ زرد اغلب معطر و تعداد ۱۵ پرچم (گاه بیشتر) است. به طور عام میوه ای به صورت سته آبدار، اغلب خوش طعم، خوراکی و شامل یک پوسته خارجی نسبتا ضخیم و یک طبقه اسفنجی تقریبا سفید رنگ است. در زیر آن برچه‌های درون میوه نیز از سلولهای دوکی شکل بزرگ و مملو از اندوخته‌های قندی و اسیدی است. برگ، گل و پوست خارجی میوه این گیاهان بر اثر دارا بودن اسانس و میوه برخی از آنها به علت خوراکی بودن مورد استفاده قرار می‌گیرد (زرگری، ۱۳۴۵).

مرکبات تقریبا در ۵۰ کشور در سراسر دنیا بعمل می‌آید و به خاطر طعم و کیفیت خوب میوه شان شناخته شده اند. میوه‌های آنها بر خلاف سایر درختان میوه با

داشتن کیسه‌های کوچک محتوی آب میوه که هر یک بخش‌های درون میوه را پر می‌کنند با سایر درختان میوه فرق دارند، این ویژگی و دیگر خصوصیات مرکبات، آنها را یک محصول مهم تجارتي و با ارزش نموده است. جنس مرکبات شامل حدود ۶۰ گونه است که آنها را بومی اندونزی و چین دانسته‌اند. گونه‌هایی مانند پرتقال *Citrus sinensis* (L.) osbeck، لیمو ترش *Citrus aurantifolia*، گریپ فروت *Citrus paradisi* و نارنج *Citrus aurantium* Link از دیدگاه اقتصادی از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشند، ولی پرتقال در میان این گروه میوه‌ای است که بیشترین بهره‌وری بالقوه را دارا است و از لحاظ طعم مرکبات در صنایع غذایی در ردیف اول قرار دارد. به ویژه روغنهای اسانسی پوست این مرکبات که در نتیجه فرآیند استخراج و افشردن آب میوه بدست می‌آید در صنایع مختلف استفاده فراوان دارد. لازم به ذکر است که امکان جدا سازی پوست از میوه نیز طی

مرکبات یکی از عمده ترین مواد اولیه طعم دهنده خوراکیها و آشامیدنها بشمار می‌رود، اگر چه تولید آن به نوعی است که بدون بهینه سازی (ترین‌زدایی)، امکان استفاده مستقیم در مواد غذایی را نمی‌دهد. جهت استفاده این گونه روغنهای اسانسی بایستی چندین تغییر اساسی در آنها انجام پذیرد. ابتدا بایستی واکسها و سایر ترکیبهای سنگین از اسانس جدا شوند، سپس اسانسهای بدست آمده ترین زدایی شده و مقاومت آنها در مقابل دما و اکسیداسیون بالا رود. روش ترین‌زدایی باعث تقلیل مونوترپن‌هایی نظیر آلفا و بتا-پینن، سابینن و لیمونن می‌شود. از طرفی ترین‌زدایی بایستی به گونه ای انجام پذیرد که ترکیبهای ثانویه بوجود نیامده و در ضمن در صد ترکیبهای الکلی، آلدئیدی و استری نظیر دکانال، اکتانال، لینالول و لینالیل استات که به اسانس طعم و بوی مطلوبی می‌دهند، افزوده شود.

در اصل دو روش شاخص جهت ترین‌زدایی اسانس مرکبات وجود دارد که شامل روش تقطیر و روش استخراج مایع-مایع می‌باشد (Owusu-Yaw, 1986). هر یک از این روشها باعث به مخاطره انداختن و از دست دادن قسمتی از مواد با ارزش که مسئول بو و طعم خوب هستند، می‌شوند. به عنوان مثال در روش تقطیر قسمت عمده ترکیبهای بسیار فرار مواد طعم دار به دلیل تشکیل رادیکال‌های شیمیایی (در اثر حرارت بالا) در مقایسه با روش استخراج مایع-مایع پایداری کمتری دارند، ولی از لحاظ اقتصادی روش تقطیر به طور قابل ملاحظه ای کم هزینه است.

از طرف دیگر ترین‌زدایی با روش مایع-مایع پایدارترند و دارای محتویات طعم دار بیشتری می‌باشد، ولی ترکیبهای آن به نوع حلال انتخاب شده بستگی دارد زیرا تمام حلال بایستی از اسانس جدا شود که این عمل هزینه بسیاری را شامل می‌شود و از لحاظ اقتصادی توجیه ندارد و معمولا مقدار کمی از حلال در آن باقی می‌ماند.

فرآیند خاصی موجود می‌باشد که پس از جدا سازی می‌توان اسانس آنرا جدا گانه استخراج نمود. برای جداسازی پوست و زدودن لایه‌های اسفنجی در صنعت روش معمول عبارت است از اسپری بخار آب داغ به مدت ۵ دقیقه که در نتیجه این گرما، پوست شل شده و به آسانی از میوه جدا می‌شود (Vora, 1984). چون مقادیر کمی از لایه‌های (albedo) در هر صورت به میوه می‌چسبد برای از بین بردن این مقدار کم از تصفیه قلیایی استفاده می‌شود. در این روش یک محلول قلیایی داغ (۸۰ تا ۹۰ درجه سانتیگراد) که دارای سود سوز آور و سدیم کربنات می‌باشد به مدت ۱۲ دقیقه به صورت اسپری بر روی پوست پاشیده می‌شود.

با انجام این عمل لایه‌های اسفنجی حل شده و از پوست جدا می‌شوند. بعد از این زمان آن را بلا فاصله برای مدت ۳۰ تا ۴۵ ثانیه با آب شستشو می‌دهند. پس از طی این مراحل عمل استخراج اسانس از طریق پرس کردن و با استفاده از دو دستگاه اسانس گیر FMS و یا Brown و یا دستگاه‌های جدیدتر انجام می‌گیرد (Reinecius, 1994).

البته روشهای دیگر مانند روش استفاده از آنزیم‌های مخصوص جهت جداسازی و استخراج اسانس از پوست مرکبات نیز وجود دارد، ولی نکته مهم این است که در ایران و در زمان گرفتن آب میوه از مرکبات به دلیل اینکه پوست آن قبلا از میوه جدا نمی‌شود، بنابراین در اثر فشار زیاد اسانس پوست به شکل لایه روغنی روی آب میوه شناور می‌شود که به راحتی از آن جدا می‌شود ولی به دلیل عدم آشنایی با فرایند بهینه سازی و ترین‌زدایی اسانس پوست مرکبات به مصرف نمی‌رسد. البته روغنهای اسانسی مرکبات در نتیجه فرآیند تولید و تغلیظ آب پرتقال به عنوان *by product* بوجود می‌آید. اگر چه این روغنها مقادیر قابل توجهی از صفات ویژه آب میوه را دارا هستند، ولی بسیار ناپایدارند و کمتر مزه واقعی میوه را دارا هستند. لازم به ذکر است که روغن پوست

موجود عمل ترین زدایی و بهینه سازی اسانس فوق انجام گرفت.

ج- مشخصات دستگاههای مورد استفاده

دستگاه GC - گاز کروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A با ستونهای DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ستون ۰/۲۵ میلیمتر که ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون می باشد، مورد استفاده قرار گرفت. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۵۰ درجه سانتیگراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به دمای ۲۵۰ درجه سانتیگراد رسید. دمای محفظه تزریق ۲۶۰ درجه (یعنی ۱۰ درجه از آخرین دمای ستون بالاتر) تنظیم شد. دکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و از هلیوم با درجه خلوص بالا به عنوان گاز حامل با سرعت ۳۲ سانتیمتر بر ثانیه استفاده شد.

دستگاه GC/MS

گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰ متصل شده به طیف سنجی جرمی با ستون DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلیمتر که لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرون می باشد مورد استفاده قرار گرفت. برنامه ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۷۰ درجه سانتیگراد با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه بود. درجه حرارت محفظه تزریق، ۲۸۰ درجه سانتیگراد و درجه حرارت ترانسفرلین ۲۹۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با درجه خلوص بالا مورد استفاده قرار گرفت. زمان اسکن برابر با یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و محدوده جرمی از ۳۵۰-۴۰ بوده است.

نتایج

بازده اسانس با تعیین درصد رطوبت نمونه پوست پرتقال در زمان اسانس گیری به روش Cold-press نسبت به وزن خشک آنها محاسبه گردید. بازده اسانس پرتقال

بنابر این روش تقطیر از اولویت برخوردار است، لیکن جهت ترین زدایی و بهینه سازی هرچه بهتر لازم است از تقطیر جزء به جزء به جای تقطیر ساده استفاده کرد. همچنین جهت کاهش دمای تقطیر بایستی حتما از پمپ خلاء استفاده کرده و دمای محیط و فشار آن بایستی تحت کنترل باشد. با استفاده از این روش و استفاده از پمپ خلاء موجود در آزمایشگاه و با استفاده از ستون تقطیر جزء به جزء اقدام به ترین زدایی در تحقیق ذیل گردید.

مواد و روشها

الف- جمع آوری، آماده سازی و استخراج اسانس

میوه گیاه *Citrus sinensis osbeck* از شمال جمع آوری گردیده و به طریق Cold-press که شامل چهار مرحله به شرح ذیل می باشد استخراج گردید:

۱- استخراج روغن اسانسی به وسیله فشار مکانیکی حبایچه های روغنی موجود در پوست

۲- جدا سازی روغن از پوست به وسیله اسپری آب

۳- سانتریفوژ امولسیون آب و روغن

۴- جداسازی واکس از روغن به وسیله سانتریفوژ در دمای پایین

در انجام این کار ابتدا لایه های اسفنجی پوست را از مغز میوه و قشر میانی غلاف میوه جدا کرده و توسط مخلوط کن برقی امولسیون آب و روغن را بدست آورده که با صاف کردن آن و بعد عمل سانتریفوژ با شتاب ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد روغن به صورت یک لایه نازک بر روی سطح آب بدست آمد. در مرحله بعدی اسانس از روی آب جدا شده و بعد به شیشه مخصوص نگه داری منتقل گردید.

ب- روش ترین زدایی

از آنجایی که با توجه به بررسیهای انجام شده روش تقطیر از اولویت برخوردار است، بنابراین با روش تقطیر و استفاده از ستون تقطیر جزء به جزء و پمپ خلاء

پرتقال معمولی و خونی در زمانهای مختلف از ماه دسامبر تا ژانویه مورد استخراج و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آنها در گزارش خود به تعداد ۶۲ ترکیب اشاره کرده اند که عمده ترین ترکیبها عبارت از لیمونن (که با توجه به نوع پرتقال بین ۹۳ تا ۹۵ درصد تغییر می‌کند)، میرسن (۱/۸٪)، لینالول (۰/۶٪)، اکتانال (۰/۳٪) و دکانال (۰/۳٪) بودند (Shaw et al., 1977).

در تحقیق حاضر با مطالعه و بررسی دقیق زمانهای بازداری ترکیبها، اندیس بازداری، طیفهای جرمی و مقایسه کلیه این مولفه‌ها با ترکیبهای استاندارد صورت گرفته است. شناسایی ۲۱ ترکیب در اسانس پرتقال استخراج شده به روش Cold-Press در آزمایشگاه انجام شد که در میان آنها ترکیبهای دکانال، میرسن، لیمونن، آلفا-پینن، لینالول و ساینین بیشترین غلظت را داشته و تقریباً ۹۸ درصد را تشکیل می‌دهند.

در نمونه بهینه سازی نیز ۲۱ ترکیب مختلف شناسایی شد. در میان ترکیبها لیمونن، میرسن، لینالول و دکانال بیشترین غلظت را داشته و ۹۹ درصد اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس نمونه معمولی و بهینه‌سازی شده با شاخص بازداری و درصد نسبی در جدول ۱ آورده شده است. همانگونه که در جدول مشاهده می‌شود درصد ترکیبهای مونو ترپنی مانند آلفا-پینن از ۳۸/۰٪ به ۱۲/۰٪، ساینین از ۲۰/۰٪ به ۰/۸٪ و بتا-پینن از ۱/۰٪ به ۰/۵٪ و میرسن از ۱/۵٪ به ۰/۵٪ و لیمونن از ۹۴٪ به ۹۲٪ کاهش یافته اند. در ضمن ترکیب اکتانول پس از بهینه سازی به مقدار ۰/۱٪ و همچنین لینالول به مقدار ۱/۵٪ و سیترونلول به مقدار ۱/۲٪ و دکانال به ۰/۷٪ و سایر ترکیبهای موجود در جدول پس از لیمونن نیز تا اندازه ای افزایش یافته است. لازم به ذکر است که برای افزایش کیفیت اسانس، بایستی غلظت آلدئیدها، الکلها و استرها افزایش یابند. یکی از روشهای مهم برای تعیین کیفیت اسانس مشخص کردن مقدار کل آلدئید می‌باشد، این مقدار برای اسانسها با کیفیت عالی بین یک تا دو در

۰/۵٪ (w/w) بدست آمد. پس از تزریق نمونه به دستگاه آنالیز و بدست آوردن کروماتوگرامها و طیفهای جرمی، محاسبه اندیس بازداری و درصد کمی ترکیبها با مطالعه آنها اقدام به شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس پرتقال گردید. نتایج حاصل از آنالیز اسانس در جدول ۱ و کروماتوگرامهای مربوط به قبل و بعد از بهینه‌سازی در شکل ۲ و ۱ دیده می‌شود. با مطالعه طیفهای جرمی و محاسبه اندیس بازداری، ۲۱ ترکیب در اسانس پرتقال شناسایی شد که عمده ترین ترکیبهای اسانس معمولی یا ترپن زدایی نشده عبارت بودند از: لیمونن با ۹۴/۳٪، میرسن با ۱/۵٪، لینالول با ۰/۹٪، دکانال با ۰/۵٪، آلفا-پینن با ۴/۰٪ و اکتانول با ۰/۴٪ و پس از عمل ترین زدایی، تعداد ۲۱ ترکیب شناسایی شدند که عمده ترین ترکیبها عبارت از لیمونن (۹۲/۲٪)، لینالول (۱/۵٪) و میرسن (۰/۵٪)، آلفا-پینن (۰/۱٪)، دکانال (۰/۷٪) و اکتانول (۰/۱٪) بودند.

بحث

در مورد اسانس پوست پرتقال تحقیقات گسترده‌ای در کشورهای مختلف از جمله ایتالیا، اسپانیا و امریکا انجام پذیرفته است. پس از اسانس کاج، از لحاظ تولید و فروش اسانس پوست پرتقال در مقام دوم در جهان قرار دارد. طبق تحقیقاتی که در کشور امریکا (فلوریدا) در مورد این گونه انجام پذیرفته در آنالیز این اسانس وجود ۱۷ ترکیب گزارش شده است که با توجه به زمان برداشت میوه ترکیبهای آن متغیر می‌باشد (Shaw, 1979).

ترکیب اصلی لیمونن با ۹۵ درصد، آلدئیدها (به ویژه اکتانول و دکانال) به میزان ۱/۵ درصد و لینالول و استرها زیر ۰/۵ درصد گزارش شده است. مقدار اسانس پرتقال نیز با توجه به نوع، زمان برداشت و مکان بین ۰/۵ تا ۳/۰٪ متغیر است. در تحقیقات دیگری که در دانشگاه Messina ایتالیا توسط گروهی از محققان به سرپرستی دکتر Verzera انجام پذیرفته اسانس پوست گونه‌های مختلف

- Atal, C.D. and Kapur, B.M., 1989. Essential oils, isolation in cultivation and utilization of aromatic Plants, Regional research laboratory, Jammu-tawi, India, 748p.
- Castle, W. S., 2003. Citrus Industry Magazin, 84(9): 16-20
- Klemme, D., 1987. Contact 55, Haarman & Reimer GmbH, Holzminden, Germany.
- Guenther, E., 1952. The Essential Oils, Vol: 6, Robert E. Krieger Publishing Company. Malabar, Florida, 164-180.
- Reinecius, G. 1994. Source Book of Flavours. Chapman & Hall, New York, London, p 223.
- Shaw, P.E. and Coleman, R.L., 1977. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 22: 785-787.
- Vora, J.D. and Mathews, R.F. 1983. Preparation and chemical composition of organic oil, Journal of Food Science, 48-50.
- Owusu-Yaw, J., Mathews, R.F. and West, P.F., 1986. Alcohol deterpenation of orange oil, Journal of Food Science, 51-56.

صد گزارش شده است (Vora, 1983) که در نمونه بهینه سازی شده این مقدار به حدود ۱/۹ در صد رسیده است. کروماتوگرام مربوطه به هر نمونه اسانس در گزارش آورده شده است.

منابع مورد استفاده

- زرگری، ع.، ۱۳۴۵. گیاهان دارویی، جلد اول، چاپ دوم، انتشارات امیر کبیر، ۹۴۷ صفحه.
- ثابتی، ح.، ۱۳۵۵. جنگلها، درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، ۸۱۰ صفحه.
- صدری، ح.، ۱۳۷۴. روغنهای اسانسی مرکبات. مجله پژوهش و سازندگی، ۲۶: ۲۸-۳۳.

جدول ۱: مقایسه بین ترکیبهای اسانس پوست پرتقال قبل و بعد از ترین زدایی

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	در صد قبل از ترین زدایی	در صد بعد از ترین زدایی
۱	α -pinene	۹۴۲	۰/۴	۰/۱
۲	sabinene	۹۷۸	۰/۲	۰/۱
۳	β -pinene	۹۸۳	۰/۱	۰/۱
۴	myrcene	۹۹۴	۱/۵	۰/۵
۵	octanal	۱۰۰۳	۰/۳	۰/۶
۶	δ -3-carene	۱۰۱۵	۰/۲	۰/۳
۷	limonene	۱۰۳۲	۹۴/۳	۹۲/۲
۸	octanol	۱۰۷۲	۰/۰۴	۰/۱
۹	linalool	۱۰۹۸	۰/۹	۱/۵
۱۰	nonanal	۱۱۰۳	۰/۱	۰/۳
۱۱	citronellal	۱۱۵۶	۰/۱	۱/۴
۱۲	α -terpineol	۱۱۹۲	۰/۱	۰/۲
۱۳	decanal	۱۲۰۵	۰/۵	۰/۷
۱۴	neral	۱۲۴۳	۰/۱	۰/۳
۱۵	geraniol	۱۲۵۷	۰/۲	۰/۳
۱۶	dodecanol	۱۲۷۵	۰/۲	۰/۳
۱۷	valencene	۱۴۹۴	۰/۱	۰/۲
۱۸	δ -cadinene	۱۵۲۷	۰/۱	۰/۱
۱۹	β -sinensal	۱۶۹۸	۰/۰۳	۰/۱
۲۰	α -sinensal	۱۷۵۶	۰/۰۲	۰/۰۴
۲۱	nootkatone	۱۸۰۳	۰/۰۱	۰/۱

The Role of Deterpination on the Essential Oil Composition of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck

M. Mirza¹ and Z. Baher Nik¹

1-Research Institute of Forests and Rangelands, e-mail: mirza@rifr-ac.ir

Abstract

The fruits of *Citrus sinensis* (L.) from Rutacea family were collected from North of Iran and after pilling, the essential oil of the cover was obtained by the methods of cold-press and examined by GC and GC/MS. Twenty-one compounds were characterized representing about 98% of the oil. The yield of total oil was 1.5% (w/w). The oil was characterized by a high content of limonene which composed 94.3% of the oil. The other components were myrcene (1.5%), linalool (0.9%), decanal (0.5%), α -pinene (0.4%) and octanol (0.3%). After deterpination, the percentage of different componenets changed. The main constitute were limonene (92.2%), linalole (1.5%), myrcene (0.5%), α -pinene (0.1%) and decanal (0.7%).

Key Words: *Citrus sinensis* (L.), Rutaceae, limonene, linalool, decanal, α -pinene, octanol.