

فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۶، شماره ۲، صفحه ۱۹۵-۱۸۵ (۱۳۸۹)

استخراج تانن از برگهای اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.) و تری میریستین از جوز هندی (*Myristica fragrans* Houtt.) با استفاده از امواج ریزموج

ژیلا اصغری^{۱*} و محسن مظاهری تهرانی^۲

*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، پست الکترونیک: jasghari@yahoo.com

۲- مربی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۸۸

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۸۸

تاریخ دریافت: دی ۱۳۸۷

چکیده

در این بررسی تانن از برگ درخت اکالیپتوس گونه *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. و تری میریستین از جوز هندی (*Myristica fragrans* Houtt.) با استفاده از تابش امواج ریزموج به ترتیب تحت شرایط تقطیر برگشتی به مدت ۳۰ دقیقه، با قدرت ۳۰۰ وات و با استفاده از سل HEF در مدت ۱۰ دقیقه، دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد با قدرت ۷۰۰ وات استخراج شد. بازده خالص استخراج برای تانن ۱۰-۵٪ و برای تری میریستین ۳۳٪ بدست آمد. آنالیز کمی و کیفی با استفاده از FT-IR و HPLC فاز معکوس با ستون C18 و دتکتور فتودیود با حلال گرادیانی آب/متانول در pH پایین انجام شد و آنالیز تری میریستین نیز با روشهای اسپکتروسکوپی FT-IR، ¹H-NMR و ¹³C-NMR انجام گردید. این روش در مقایسه با روشهای حرارتی معمولی سریع و ساده بوده و بازده بالا و خلوص محصولات استخراجی از مزایای این روش می باشد.

واژه‌های کلیدی: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.، *Myristica fragrans* Houtt.، اشعه ریزموج، تانن، تری میریستین.

مقدمه

طبیعت منبع غنی از ترکیب‌های دارویی می باشد که بخشی از آنها در گیاهان نهفته‌اند. به طوری که از هزاران سال پیش این گیاهان کاربرد زیادی به عنوان داروهای سنتی داشته‌اند. اخیراً در کشورهای در حال توسعه به دلیل اثرهای جانبی داروهای سنتزی، استفاده از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماریها و استفاده از آنتی‌اکسیدانهای طبیعی در کارخانه‌های مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیب‌های فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت در حال انجام

می باشد. تکنیک‌های معمول مورد استفاده در استخراج با

استفاده از حلال شامل موارد زیر می باشند:

- استخراج فوق بحرانی (Supercritical Fluid Extraction)

- استخراج با سوکسله (Soxhlet Extraction)

- استخراج با فراصوت (Ultrasound Extraction)

در سالهای اخیر، استفاده از امواج الکترومغناطیس در ناحیه امواج ریزموج کاربرد زیادی را در زمینه‌های مختلف از جمله آون‌های خانگی، دستگاهی و کاربردهای زیست‌پزشکی فراهم نموده است. واکنش‌های شیمیایی

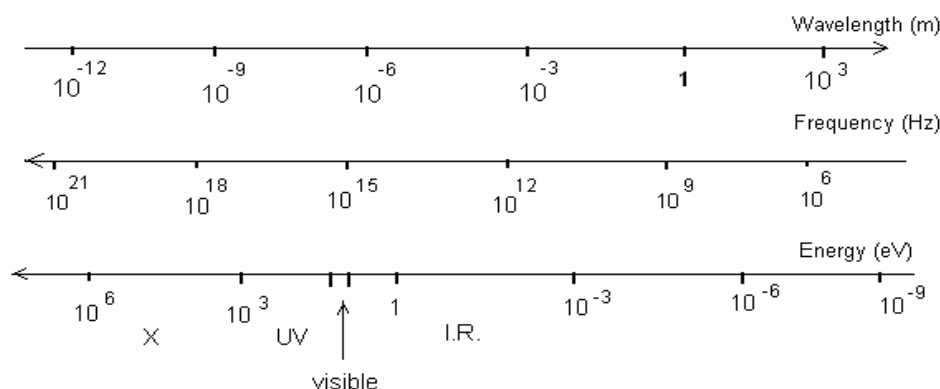
(1986) از جمله کاربردهای اشعه ریزموج می‌باشد و هر روز نیز بر تعداد مقاله‌های منتشر شده در این زمینه افزوده می‌شود.

ریزموج و برهم کنش آنها با مواد

ریزموج ناحیه‌ای از امواج الکترومغناطیسی بوده که محدوده آن (شکل ۱) بین تابش مادون قرمز و فرکانس رادیویی یعنی بین طول موجهای ۱cm تا ۱m و فرکانس‌های ۳۰۰MHz تا ۳۰GHz می‌باشد. جهت اجتناب از تداخل با امواج مخابرات، بیشتر آون‌های خانگی در فرکانس ۲/۴۵GHz فعالیت می‌کنند.

زیادی توسط حرارت با امواج ریزموج مطالعه شده است. کاهش حلال مورد استفاده و تشکیل مقدار ناچیز محصول جانبی، کاهش آلودگی، کاهش زمان واکنش، استفاده از واکنش‌گرها در مقیاس میکرو، کاهش انرژی مورد نیاز در مقایسه با روشهای حرارتی معمولی و افزایش انتخاب‌پذیری واکنش از مزایای این تکنیک شیمی سبز (Green Chemistry techniques) می‌باشد.

آماده‌سازی نمونه‌ها برای آنالیز (Mahan et al., 1987)، تکنولوژی پلیمر (Lu et al., 2003)، سرامیک‌ها (Baghurst & Mingos, 1988) و سنتز ترکیب‌های آلی و معدنی (Loupy, 2002; Smith et al.,



شکل ۱- دامنه‌ای از امواج الکترومغناطیسی

مقیاس بالا فراهم می‌سازد. میزان انرژی را می‌توان برای انواع سطوح انرژی تنظیم کرد. امواج ریزموج توسط یونهای موجود در محلول و ترکیب‌های دوقطبی جذب می‌شوند. از آنجا که شیشه و بسیاری از ترکیب‌های پلیمری تقریباً قابلیت عبور امواج ریزموج را دارند می‌توانند به‌عنوان سل‌های واکنش استفاده شوند. این خواص ریزموج، منجر به کاهش زیادی در میزان حلالهای مورد استفاده می‌گردد. از آنجا که انرژی مورد استفاده توسط حلال کنترل می‌شود، دمای مخلوط واکنش به نقطه

شیمی‌دانان آلی به کمک آون‌های خانگی و بهینه‌کردن آن و همچنین توسعه راکتورهای تک‌مده (Mono-mode) استفاده از واکنش‌گرها در مقیاس ۳۰-۴۰ گرم را در دمای کنترل شده همراه با هموژنیتی و بازده بالا فراهم نموده‌اند (Loupy et al., 1998). اخیراً نیز آون‌هایی برای مقیاس کیلوگرم واکنش‌گرها طراحی شده است.

امواج ریزموج توسط مگنترون تولید و از طریق حفره به‌طور مداوم پمپ می‌شود. تشعشع امواج ریزموج به یک قسمت از نمونه، حرارت یکسان را حتی برای سنتزها در

امواج ریزموج، ماهیت ماتریس (اثر فیلتراسیون on-line نمونه، اثر اندازه ذرات نمونه و اثر رطوبت) نقش مهمی را در مواد گیاهی داشته، لذا این عوامل باید در فرایند استخراج توسط ریزموج بهینه شوند.

اخیراً سینتیک در طی استخراج نیز توسط ریزموج به عنوان تابعی از زمان و قدرت مطالعه شده است. براساس نتایج حاصل، این دو عامل بر روی استخراج از گیاهان به کمک ریزموج اثر می‌گذارند. میزان انرژی ریزموج قویاً به خواص فیزیکوشیمیایی حلال و بستر جامد بستگی دارد. معمولاً حلالها دارای محدوده وسیعی از پلاریته می‌باشند. بیشتر مواقع حلال انتخابی دارای ثابت دی‌الکتریک بالا بوده لذا به شدت انرژی امواج ریزموج را جذب می‌کند. در نتیجه انتخاب پذیری استخراج، بستگی به توانایی حد واسط در برهم‌کنش با ریزموج با استفاده از مخلوط حلالها دارد.

نتایج نشان می‌دهد که برای یک ماتریس نظیر گیاه که دارای آب به عنوان یک مؤلفه با ثابت دی‌الکتریک بالا می‌باشد، به واسطه برهم‌کنش مستقیم با ریزموج شکسته شدن بافت گیاه و آزاد شدن ترکیب‌های مؤثره در حلال آبی صورت می‌گیرد. برای سیستم‌هایی که از حلال آلی به عنوان جاذب قوی امواج ریزموج (نظیر اتانول، متانول و ...) استفاده می‌گردد، حلال اتانول در مقایسه با آب موجود در برگها، انرژی ریزموج را بیشتر جذب کرده لذا با افزایش قدرت ریزموج، جذب مؤثر حرارت توسط نمونه منجر به شکسته شدن سریع پیوندهای هیدروژنی ضعیف می‌شود که با چرخش دو قطبی مولکول واکنش‌دهنده همراه می‌گردد.

تانن‌ها که ترکیب‌های پلی فنول بوده و به طور وسیعی در گیاهان، غذا و... توزیع شده‌اند، محلول در آب و

جوش نمی‌رسد. در نتیجه میزان تبخیر پایین نگه داشته شده و نیاز به تقطیر برگشتی نمی‌باشد.

بنابراین استفاده از انرژی ریزموج و کاربرد این تکنیک در استخراج ترکیب‌های مؤثره از گیاهان نیز وارد شده است، اما تعداد مقالات اندکی در این زمینه به چاپ رسیده است (Sha et al., 2004). استفاده از تکنیک‌های نوین نظیر تقطیر برگشتی به کمک ریزموج (Microwave-assisted hydrodistillation (MWH)) برای تولید روغن‌های اسانسی (Essential oils) (Lucchesi et al., 2004؛ 2007)، استخراج با استفاده از ریزموج تحت شرایط بدون حلال (Solvent-free microwave extraction (SFME)) (Lucchesi et al., 2004) و سیستم ترکیبی استفاده از حرارت توسط ریزموج و عمل تقطیر در شرایط خشک (Microwave heating and dry distillation) در سالهای اخیر توسعه یافته است. استخراج داغ- فیلتراسیون (Hot Extraction- Filtration (HEF)) (Ondruschka & Asghari, 2006) یک روش دیر است که توسط شرکت MLS GmbH نیز به عنوان یک ابزار جدید و مناسب برای استخراج از گیاهان توسعه یافته است. استفاده از تکنیک‌های فوق علاوه بر استخراج، در تمیز کردن (Clean up)، میزان استخراج مواد مؤثره دارویی و یا مواد گیاهی نیز مورد توجه بوده (Hao et al., 2002؛ Kimbaris et al., 2006؛ Pan et al., 2003؛ Zhang et al., 2005؛ Huie, 2002)، به طوری که تکنیک‌های توسعه یافته اخیر نسبت به روشهای متداول برای استخراج و آنالیز گیاهان دارویی در آسیا و کشورهای دیگر دارای مزایای قابل توجهی می‌باشد.

در فرایند استخراج توسط ریزموج عواملی نظیر ترکیب حلال، حجم حلال و دمای استخراج، قدرت تشعشع

درخت، شکلی شبیه به تخم مرغ با طول ۳۰-۲۰ میلی متر و پهنای ۱۸-۱۵ میلی متر دارد که شامل اسانس، الئورزین و Nutmeg butter می باشد. تقریباً ۷۵٪ Nutmeg butter را تری میریستین تشکیل می دهد که به راحتی می تواند به میریستیک اسید که یک اسید ۱۴ کربنه می باشد تبدیل شود و به عنوان جایگزین روغن نارگیل، مخلوط با چربیهای نظیر روغن پنبه دانه، روغن خرما و همچنین به عنوان Lubricant در کارخانه بکار رود.

روش معمول برای استخراج آنها استفاده از تقطیر با بخار می باشد. اما ما از تکنیک استخراج به کمک تابش اشعه ریزموج برای استخراج مواد مؤثره برگهای اکالیپتوس و جوز هندی جهت افزایش بازده و کاهش زمان استخراج استفاده کردیم.

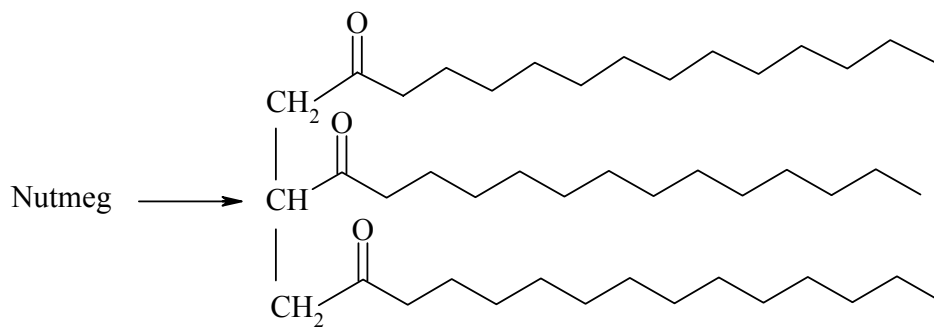
مواد و روشها

جداسازی تانن از برگهای اکالیپتوس

۱۱ گرم برگهای اکالیپتوس (جمع آوری شده از شهر گرگان) با آسیاب پودر شده و با ۲۰۰ میلی لیتر اتانول در یک بالن ته گرد دو دهانه مجهز به حسگر دما و ستون تقطیر، تحت تابش با اشعه ریزموج با دستگاه چند مده Praktica MLS GmbH (Multi-mode) (شکل ۹) به مدت ۳۰ دقیقه با قدرت ۳۰۰ وات قرار داده شد. دمای استخراج ۸۰ درجه سانتی گراد بود. پس از گذشت ۳۰ دقیقه از زمان استخراج، مخلوط صاف شده و حلال آن تحت فشار کاهش یافته خارج شد. مقدار ۱/۸ گرم مخلوط استخراج شده بدست آمد. برای خارج کردن تانن آن مقدار ۳۰ میلی لیتر دی اتیل اتر اضافه نموده تا پودر زرد کمرنگ رسوب نمود. محلول روی آن سر صاف شده، سپس پودر زرد کمرنگ حاصل چند بار با اتانول (هر بار

حلالهای قطبی آلی بوده و قادرند با کربوهیدراتها و پروتئینها کمپلکس هایی را تشکیل دهند. بر همین اساس دارای کاربردهای صنعتی مخصوصاً در فرایند دباغی پوست و در ساخت چسب (Akaranta & Wankasi, 1999) می باشند. آنها می توانند تأثیر زیادی در میزان قوت غذاهای زیادی که توسط انسان و حیوان مصرف می شود، بگذارند. تانن در مکانیسم دفاعی گیاهان بر علیه میکروب و دشمن در شرایط محیطی مختلف نقش مهمی ایفا می کند. تانن در اغلب منابع گیاهی یافت می شود و دارای ساختار پودری آمورف از روشن به قهوه ای رنگ با فرمول $C_{75}H_{52}O_{10}$ می باشد که در دمای ۲۱۵-۲۱۰ درجه سانتی گراد تخریب می شود. دو نوع تانن وجود دارد: ۱- قابل هیدرولیز، ۲- متراکم. تانن های متراکم، محصولات تراکم پلیمری از کاتچین (Catechin) و یا بسترهای شبه کاتچین می باشند. آنها با اسید و یا آنزیم هیدرولیز نمی شوند، اما با راحتی به مولکولهای تانن با وزن مولکولی پایین متراکم می شوند. تانن های قابل هیدرولیز در آب تخریب شده و به شکل گالیک اسید، پیروئوکاتچیک اسید و قند در می آیند. تانن های قابل هیدرولیز به گالوتانن معروف هستند که به راحتی با آب و یا حلالهای آلی استخراج می شوند (Haslam, 1996).

گیاه اکالیپتوس، بومی منطقه استرالیا و تاسمانیا بوده که برگهای آنها دارای خاصیت دارویی می باشد. علیه بسیاری از باکتریها به ویژه استافیکوک نظیر مالاریا، باسیلوس و چندین استرپتوکوس مؤثر می باشد. بیش از هفتصد نوع از این درخت وجود دارد. برگهای اکالیپتوس شامل تانن ها، فلاونوئیدها و روغن های اسانسی و یا فرآر می باشد. درخت جوزای هندی با نام علمی *Nutmeg myristica* بومی جزایر اندونزی می باشد که جوز آن به عنوان بذر

شکل ۲- ساختمان گسترده تری میریستین با فرمول $C_{45}H_{86}O_6$

کردن، به مدت یک شبانه روز در یخچال قرار داده شد تا کریستالهای تری میریستین ظاهر شوند (شکل ۲). سپس مخلوط با قیف بوخنر صاف و خشک شد. اگر کریستالها بی رنگ نباشد، لازم است ماده خام در اتانول کریستالیزه شود. محلول زیر صافی که شامل اسیدهای چرب بود با دستگاه تقطیر چرخان خارج شده و روغن قهوه‌ای روشن بدست آمد که با پتاسیم هیدروکسید متانولی استری شد و اسیدهای چرب آن مورد شناسایی قرار گرفت.

نتایج

آنالیز تانن با HPLC فاز معکوس روی ستون (SC-04 PRONTOSIL 120-5-C18-H 5.0 μ m) (125 \times 4.0 mm) و دکتور ماوراءبنفش (diode array UV)، با استفاده از حلال گرادیانی متانول آبی در pH پایین به صورت زیر انجام شد. حلال A (۲۵ میلی لیتر استیک اسید و ۹۷۵ میلی لیتر آب) و حلال B (متانول) با سرعت ۱ mL/min پمپ شدند. حلال گرادیانی با ۱۰۰٪ محلول A شروع شده و در پایان شستشو به ۱۰۰٪ B در مدت زمان ۳۰ min رسید. سیگنال تانن در $R_f = 5/29$ min ظاهر شد. برای آنالیز کمی تانن منحنی کالیبراسیون با استفاده از

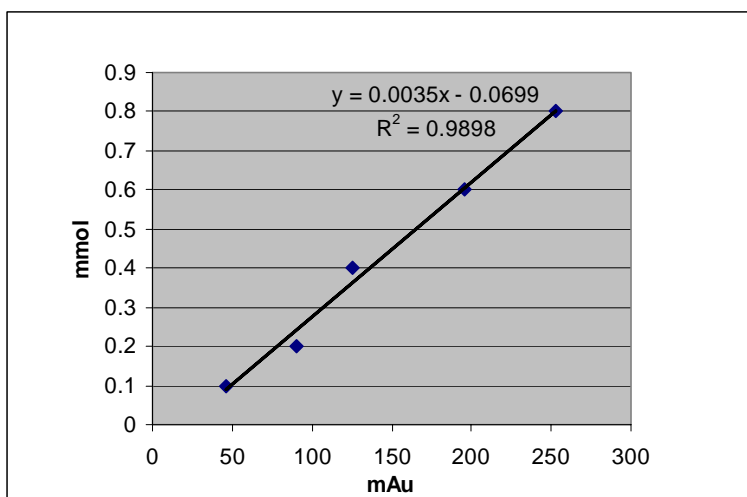
با ۲۰ میلی لیتر) شستشو داده شد. برای تأیید ساختار تانن، آنالیز ترکیب با FT-IR (شکل ۵) و HPLC و مقایسه آن با ترکیب استاندارد انجام گردید.

جداسازی تری میریستین از جوز هندی

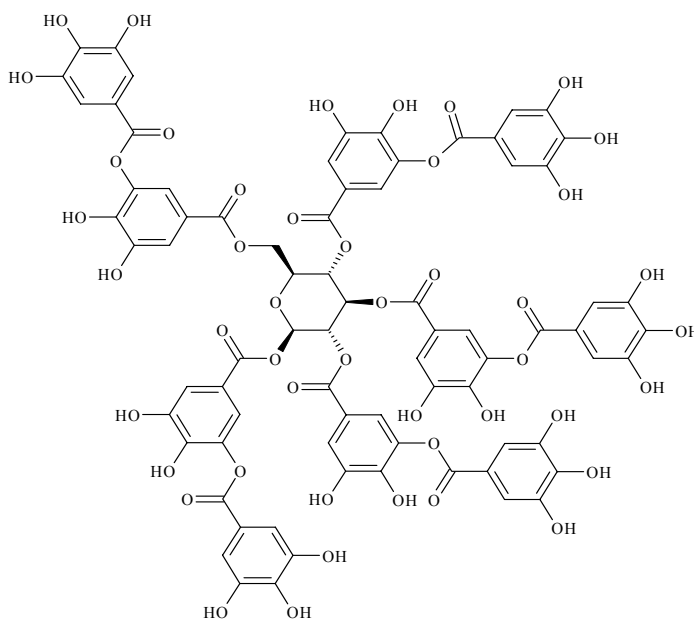
سل (Hot Extraction Filtration) HEF (شکل ۱۰) از یک ظرف شیشه‌ای مجهز به فیلتر که در داخل یک ظرف تفلونی قرار گرفته است و می‌تواند فشار زیاد را تحمل کند، تشکیل شده است. برای استخراج در مقیاس زیاد می‌توان ۳، ۶ و یا ۱۲ سل را همزمان استفاده نمود. در این آزمایش ابتدا جوز را با رنده پودر کرده و ۳ سل را برداشته و در هر ظرف شیشه‌ای سل، ۳ گرم پودر جوز اضافه شد. سپس ۴۰ میلی لیتر اتانول در داخل سل شیشه‌ای و ۴۰ میلی لیتر دیگر در فاصله بین سل شیشه‌ای و تفلونی ریخته شد و بعد از گذاشتن همزن مغناطیسی در داخل هر یک از سل‌ها و بستن در آنها، سه سل در روتور به فاصله یکسان قرار گرفته و بعد با گذاشتن سرپوش اصلی، محکم بسته شدند. بعد از قرار دادن در دستگاه ریزموج Ethos (شکل ۱۱)، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای 120°C تحت تابش با اشعه ریزموج با قدرت ۷۰۰ وات قرار گرفتند. پس از اتمام زمان استخراج، محلول استخراج شده در اتانول پس از فیلتر

استخراج شده به HPLC ۱۰-۵٪ تعیین شد. استخراج با روشهای معمول، معمولاً در ۴۸ ساعت انجام می‌شود که بعد از صاف کردن و خارج کردن حلال آن با تبخیر کردن در دمای اطاق محصول استخراج حاصل می‌شود.

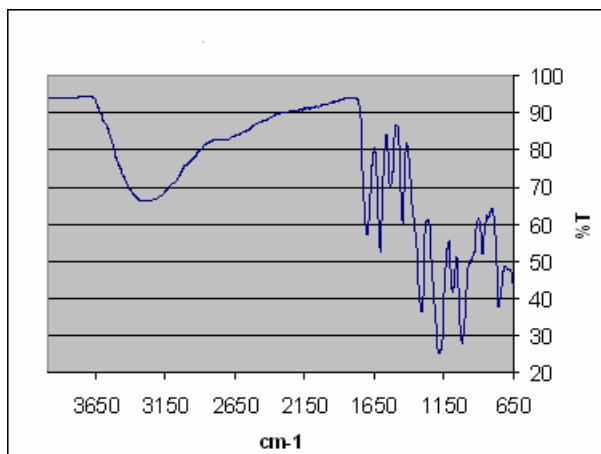
محلولهای ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی‌مول در ۵ میلی‌لیتر متانول تهیه و بعد از فیلتراسیون به HPLC تزریق شد. معادله رگرسیون $R^2 = 0.9898$ بین مقدار جذب در ۲۸۰ nm (شکل ۳) و تانن استاندارد مطابق شکل ۴ بدست آمد. مقدار تانیک اسید پس از تزریق مخلوط



شکل ۳- معادله رگرسیون تانن استاندارد در جذب ۲۸۰nm



شکل ۴- ساختار تانن



شکل ۵- طیف IR تانن به صورت قرص با KBr

حدود ۵۰٪ افزایش می‌یابد. طیف‌های $^1\text{H-NMR}$ ، $^{13}\text{C-NMR}$ و FT-IR ساختار ترکیب تری‌مریستین را تأیید نمود (شکل‌های ۸-۵).

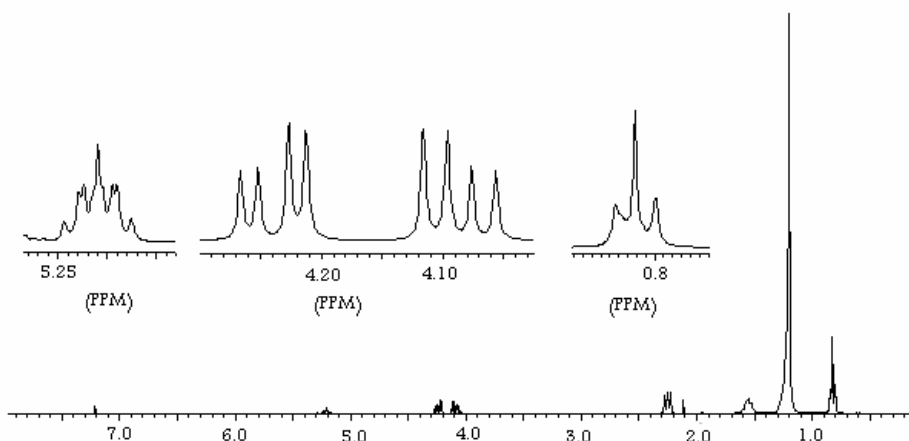
۳ گرم پودر سفید و کریستالی میریستین با بازده ۳۳ درصد حاصل شد که دارای نقطه ذوب $55-54^\circ\text{C}$ بود. بازده واکنش را می‌توان با پودر کردن بیشتر جوز هندی تا ۲۰٪ افزایش داد. بدین ترتیب میزان کل استخراج

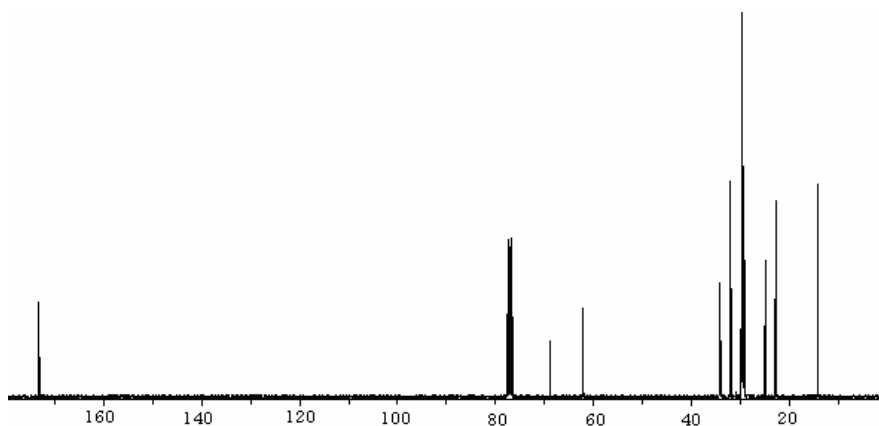
نتایج حاصل از آنالیز اسپکتروسکوپی، به شرح زیر بود:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz): $\delta= 0.9$ (m, 9H), 1.2-1.4 (m, 60H), (1.5-1.7(m, 6H), 2.33 (m, 6H), 4.16 (dd, 2H), 4.31(dd, 2H), 5.25 (m, 1H) ppm.

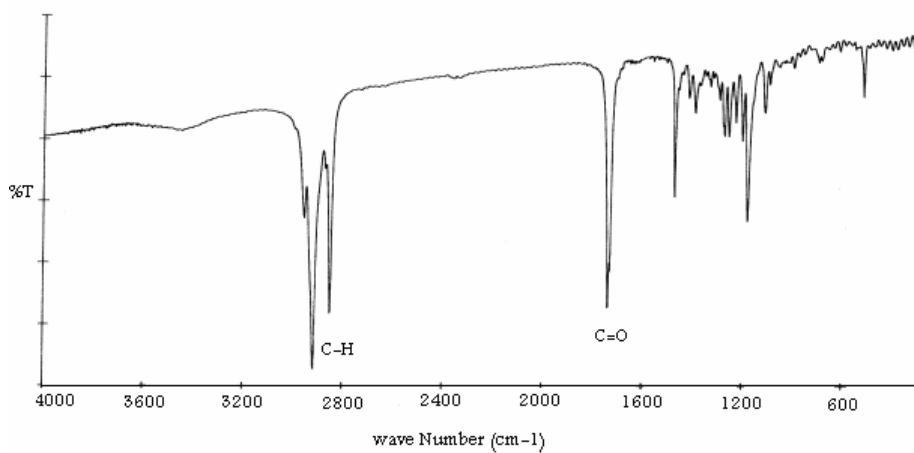
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz): $\delta=14.08$ (C-14, C-28), 22.66 (C-13, C-27), 24.85, 24.89 (C-3, C-17), 29.06-31.90 (C-4 to C-12, C-18 to C-26), 34.04, 34.20 (C-2, C-16), 62.08 (C-30), 68.85 (C-29), 172.85 (C-15), 173.26 (C-1) ppm.

IR (KBr); C-H ($2950-2850\text{ cm}^{-1}$), C=O (1730 cm^{-1}), CH_3 ($1380, 1450\text{ cm}^{-1}$).

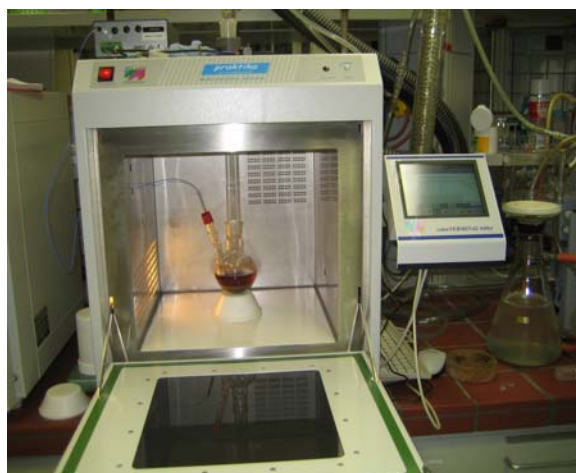
شکل ۶- طیف $^1\text{H-NMR}$ جوز هندی



شکل ۷- طیف $^{13}\text{C-NMR}$ جوز هندی در حلال CDCl_3



شکل ۸- طیف FT-IR جوز هندی



شکل ۹- ریزموج ETHOS

استخراج و ساده بودن آن اشاره نمود. ما دریافتیم که روش استخراج با استفاده از اشعه ریزموج تحت شرایط بهینه در مقایسه با روشهای استخراج متداول با حلال از منابع گیاهی مؤثر بوده و میزان مؤثر بودن آن قویاً به خواص فیزیکوشیمیایی حلال و ماتریکس جامد بستگی دارد. همچنین عواملی نظیر زمان، دما و قدرت ریزموج می تواند در استخراج ترکیبهای فعال بیولوژیکی به کمک ریزموج تأثیر بگذارد.

بنابراین استخراج تانن به کمک اشعه ریزموج تحت شرایط تقطیر برگشتی از برگهای اکالیپتوس و تری میریستین از جوز هندی تحت فشار زیاد این امکان را ایجاد می کند که بتوان استخراج را نه تنها در فشار جو بلکه در فشار زیاد نیز انجام داد. البته انجام استخراج در فشار زیاد نیز می تواند علاوه بر پارامترهایی نظیر دما و قدرت ریزموج در میزان و زمان استخراج نیز تأثیر بگذارد. به عنوان نتیجه گیری نهایی، این تحقیق نشان داد که با استفاده از تکنیک ریزموج در استخراج ترکیبهای فعال بیولوژیکی از گیاه می توان روش مؤثر و سریعی را نسبت به روش حرارتی کلاسیک فراهم آورد. از مزایای این روش میزان استخراج بالا نسبت به روش معمول، کوتاه بودن زمان استخراج و ساده بودن آن است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از اعطای بورس post-doc توسط الکساندر- فون هومبولت تشکر و قدردانی می نمایم. همچنین از مسئولان دانشگاه فریدریک- شیلر شهر ینا کشور آلمان که فرصتی را برای انجام این پروژه فراهم آوردند سپاسگزاری می نمایم.



شکل ۱۰- سل HEF



شکل ۱۱- ریزموج ETHOS با سل HEF

بعد از استریفیکاسیون روغن، اسیدهای چرب شامل کاپرونیک اسید، تری دکانوئیک اسید، میریستین اسید، پنتادکانوئیک اسید، پالمیتیک اسید، سیس-۱۰- هپتا دکانوئیک اسید و اولئیک اسید شناسایی شدند.

بحث

در این گزارش با استفاده از تکنیک ریزموج در استخراج ترکیبهای فعال بیولوژیکی از گیاه، یک روش مؤثر و سریع نسبت به روش حرارتی کلاسیک فراهم شد. به طوری که از مزایای این روش می توان به میزان استخراج بالا نسبت به روش معمول، کوتاه بودن زمان

منابع مورد استفاده

- Lucchesi, M.E., Chemat, F. and Smadja, J., 2004. Solvent free microwave of essential oils from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2): 323-327.
- Lucchesi, M.E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W. and Chemat, F., 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardomum* L.; A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79(3): 1079-1086.
- Mahan, K.I., Foderaro T.A., Garza, T.L., Martinez, R.M., Maroney, G.A., Trivisonno, M.R. and Willging E.M., 1987. Microwave digestion techniques in the sequential extraction of calcium, iron, chromium, manganese, lead and zinc in sediments. *Analytical Chemistry*, 59(7): 938-945.
- Ondruschka, B. and Asghari, J., 2006. Microwave-assisted extraction- a state of the art overview of varieties. *Chimia*, 60(2): 321-325.
- Pan, X., Niu, G. and Liu, H., 2003. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tee leaves. *Chemical Engineering Processing*, 42(2): 129-133.
- Sha, Y.F., Huang, T.M., Shen, S. and Duan, G.L., 2004. Determination of volatile compounds in magnolia Bark by microwave- assisted extraction coupled to head space solid- phase micro extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Sciences*, 20(5): 857-859.
- Smith, R., Gedye, R., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L. and Rousell, J., 1986. The use of microwave ovens for rapid organic synthesis. *Tetrahedron Letters*, 27(3): 279-282.
- Zhang, F., Chen, B., Xiao, S. and Yao, S., 2005. Optimization and Comparison of different extraction techniques for Sanguinarine and Chelerythrine in fruits of *Macleaya cordata* (willd) R. B. Separation and Purification Technology, 42(3): 283-290.
- Akaranta, O. and Wankasi, D., 1999. Wood adhesives from peanut skin tannin- formaldehyde resins modified with phenols. *Pigment & Resin Technology*, 28(5): 293-296.
- Baghurst, D.R. and Mingos, D.M.P., 1988. Application of microwave heating techniques for the synthesis of solid inorganic compounds. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 12(1): 829-830.
- Hao, J., Han, W., Huang, S., Xue, B. and Deng, X., 2002. Microwave- assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. *Separation and Purification Technology*, 28(6): 191-196.
- Haslam, E., 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drug and medicines: possible modes of action. *Journal of Natural Products*, 59(2): 205-215.
- Huie, C.W., 2002. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 373(1-2): 23-30.
- Kimbaris, A.C., Siatis, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A., Pappas, C.S. and Polissiou, M.G., 2006. Comparison of distillation and ultrasound- assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from Garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics Sonochem*, 13(1): 54-60.
- Loupy, A., Petiet, A., Hamelin, J., Texier- Boulet, F., Jacquault, P. and Mathe, D., 1998. New Solvent-free organic synthesis using focused microwave. *Synthesis*, 28: 1213-1233.
- Loupy, A., 2002. *Microwaves in organic synthesis*. Wiley, VCH, Weinheim, 499p.
- Lu, J.M., Ji, S.J., Chen, N.Y., Zhang, Z.B., Sun, Z.R., Zhu, X.L. and Shi, W.P., 2003. Novel synthesis of polyimides of the third-order optical nonlinearities by Microwave assistance. *Journal of Applied Polymer Science*, 87(11): 1739-1747.

Extraction of tannin from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. and trimyrustin from *Myristica fragrans* Houtt. by using microwave irradiation

J. Asghari^{1*} and M. Mazaheritehrani²

1*- Corresponding author, Department of Chemistry, Science Faculty, Golestan University, Gorgan, Iran,
E-mail: jasghari@yahoo.com

2- Department of Chemistry, Science Faculty, Golestan University, Gorgan, Iran

Received: January 2009

Revised: October 2009

Accepted: October 2009

Abstract

Here in reported the application of Hot Extraction Filtration (HEF) apparatus by Microwave system and combination of Microwave- heating and steam distillation as a new technique under the optimal condition in the extraction of trimyrustin from *Myristica fragrans* Houtt. and tannin from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. leaves. Microwave irradiation-HEF were at 700 w for 10 min at 120 °C in order to extract trimyrustin and steam distillation- microwave irradiation at 300 w for 30 min for extraction of tannin were evaluated. The extracted products were isolated and identified by FT-IR, HPLC, ¹H-NMR and ¹³C-NMR. This method compared to the conventional heating method provided a fast and easy procedure. Also high yield and increasing the purity of crude extract products is the advantages of this procedure.

Key words: *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Myristica fragrans* Houtt., microwave irradiation, tannin, trimyrustin.