

## مطالعه‌ی اثر خشک کردن روی اسانس برگ و میوه‌ی ارس

*Juniperus excelsa M.B.*

پروین صالحی<sup>۱</sup>، مهدی میرزا<sup>۱</sup>

### چکیده

نمونه‌های برگ و میوه‌ی ارس (*Juniperus excelsa M.B.*) در فصل تابستان از درختان مستقر در رویشگاه طبیعی این گونه جمع آوری گردیده و پس از خشکانیدن در محیط آزمایشگاه ترکیبات اسانس نمونه‌های مرطوب و خشک با هم مقایسه شدند. استخراج اسانس به وسیله تقطیر با بخار آب (steam distillation) انجام پذیرفت. پس از تزریق اسانس به دستگاه GC-MS و تهییی کروماتوگرام ها و طیف های جرمی مربوطه شناسایی ترکیب های متشكله اسانس با کمک بررسی های کتابخانه ای (Wiley و LiBR-TR) و محاسبه‌ی اندیس کواتس انجام گردید.

اسانس ارس (میزان تولید: ۰/۰۶٪ در برگ‌ها و ۱/۸۵٪ در میوه‌ها) تقریباً از ۲۲ ترکیب تشکیل شده که عبارت اند از: carvacrol methyl .trans-verbenol, .trans-verbenol,  $\gamma$ -elemene,  $\alpha$ -Pinene و  $\gamma$ -elemene است. نتایج نشان داد که خشک کردن بر روی برخی ترکیبات اسانس برگ و میوه های ارس اثر می-گذارد (بر حسب مورد کم یا زیاد می‌شود) در حالی که بر روی برخی دیگر بی اثر است.  $\alpha$ -Pinene به عنوان مهم‌ترین ترکیب اسانس برگ و میوه ارس پس از خشک کردن کاهش می‌یابد. به طوری که به دنبال خشک کردن مقدار آن در برگ از ۴۴٪ به ۸٪ و در میوه از ۷٪ به ۷۵٪ کاهش می‌یابد. مقایسه تغییرات ترکیب های شیمیایی اسانس برگ و مخروط نشان داد اثر خشک کردن بر ترکیبات اسانس برگ و میوه‌ی ارس متفاوت است.

**کلمات کلیدی:** ایران، Cupressaceae، *Juniperus excelsa M.B.*، خشک کردن، GC-MS

## مقدمه

اسانس‌ها یا روغن‌های فرار، اجزای تولید کننده‌ی بو در گیاهان هستند. آن‌ها اغلب در تمام اجزای گیاه موجود بوده و به طور معمول در بخار آب فعال هستند. بسته به نوع تیره گیاهی در اندام‌های ترشحی مانند کرک‌های غده‌ای، سلول‌های پارانشیم تغییر یافته و یا لوله‌های انسانسی وجود دارند و در کل در زمرة دسته فراورده‌های فرعی متابولیسم گیاهی محسوب می‌شوند. در بعضی موارد قسمت‌های مختلف یک گیاه می‌توانند روغن‌هایی را تولید نمایند که به نحو چشم‌گیری در ترکیبات شیمیایی متفاوت هستند. کیفیت یک اسانس به عوامل گوناگونی از جمله شرایط نگهداری و تکنیک‌های تقطیر بستگی دارد (صدری، ۱۳۷۱). برای نگهداری گیاه، محافظت از کپک زدن، جلوگیری نمودن از فعالیت آنزیم‌ها و باکتری‌ها و همچنین جهت آسان خرد کردن، آسیاب نمودن، حمل و مراحل استخراج از روش‌های خشک کردن استفاده می‌شود. خشک کردن، یک فعل و انفعال مرگ آور بوده و در اثر بی‌آب شدن، سیستم بیولوژی سلول‌ها نابود گشته و تغییرات فیزیکو شیمیایی در ساختمان سلولی ایجاد می‌گردد. علاوه بر این، فعل و انفعالات شیمیایی مابین مواد تشکیل دهنده سلول متوقف می‌گردد. اگرچه در منابع ذکر شده است (امیدبیگی ۱۳۷۹؛ آینه چی، ۱۳۷۰ - صمصم شریفی، ۱۳۷۰) که اگر عمل خشک کردن به طریق صحیح انجام گیرد میزان مواد موثر تغییر چندانی نخواهد کرد ولی نتایج تحقیقات گوناگونی نشان داده است که خشک کردن و نیز نحوه خشک کردن اثر مهمی روی میزان اسانس حاصله و ترکیبات مواد مؤثره گیاهان دارد - Britaus & all, ۱۹۹۲ - Blanco & all, ۲۰۰۲ - Basver, ۱۹۹۳ - Baghavan & all, ۱۹۹۷ - Omidbaigi & all, ۲۰۰۴ - Karawya & all, ۱۹۸۰ - Svoboda & Deans, ۱۹۹۲ تأثیر خشک کردن نمونه (از آن جایی که می‌توان میزان ترکیبات اسانس را به صورت هدف دار بالا و پایین برد) از لحاظ کاربردی اهمیت دارد.

در ایران ۵ گونه از جنس ارس (*Juniperus*) گزارش شده است که همگی بومی می‌باشند (۱۹۹۷). از میان آن‌ها *J. excelsa* (Assadi, ۱۹۹۴) در نواحی عمده‌ای از مناطق کوهستانی ایران پراکنده شده است. صدری و اسدی (Assadi & Sadri, ۱۹۹۴) اولین داده‌ها را از تجزیه‌ی ترکیب‌های معطر اسانس ارس گزارش نمودند. کارهای بعدی بر روی مقایسه اسانس درختان نر و ماده‌ی ارس (صالحی شانجانی و میرزا، ۱۳۸۱) و تغییرات فصلی آن (صالحی شانجانی و میرزا ۱۳۸۴) حاکی از اهمیت نقش عوامل بیرونی (دما، رطوبت، نور، موقعیت جغرافیایی، خاک و ...) و ژنتیکی در میزان اسانس تولیدی و ترکیبات اسانس ارس است. در این پژوهش با مقایسه‌ی اسانس ارس در نمونه‌های تازه و خشک برگ و میوه‌ی درخت ارس، میزان تغییرات مشاهده شده در ترکیبات اسانسی پس از خشک کردن مطالعه می‌شود.

## مواد و روش‌ها

### منابع گیاهی مورد استفاده

منابع گیاهی مورد استفاده (برگ و میوه) در فصل تابستان از درختان ارس *Juniperus excelsa* (درسه تکرار) مستقر در رویشگاه طبیعی ایستگاه تحقیقات سیراچال (جاده چالوس، ۷۵ کیلومتری تهران) جمع آوری گردید و نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به دو قسمت تقسیم شدند (هر قسمت به میزان ۲۰۰ گرم برگ و ۱۰۰ گرم میوه). یک قسمت به طور سریع اسانس گیری شد و قسمت دیگر به مدت یک هفته خشک گردید و سپس اسانس گیری شد.

### استخراج اسانس

برای مقایسه اسانس نمونه‌های گیاهی تازه و خشک شده (۲۰۰ گرم برگ و ۱۰۰ گرم میوه) از روش تقطیر با بخار آب به مدت یک ساعت استفاده گردید. اسانس ارس که روغنی به رنگ زرد کم رنگ و سبک تر از آب بود جمع آوری و توسط سولفات سدیم آبگیری شد و برای محاسبه، بازده اسانس مذبور نسبت به وزن خشک گیاه، توزین گردید و در دمای پایین (۴ درجه سانتی گراد) و تاریکی نگهداری شد.

### جداسازی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس

بهترین شرایط جداسازی ترکیب‌های اسانس به دست آمده به وسیله‌ی دستگاه گاز کروماتوگرافی تجزیه ای (GC) تعیین گردید. سپس با استفاده از دستگاه کوپل گاز کروماتوگرافی کوپل شده با طیف سنجی جرمی (GC-MS) اسانس مذکور مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. شناسایی ترکیب‌های با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان بازداری، اندیس بازداری کواتس، مطالعه‌ی طیف‌های جرمی و مقایسه‌ی این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه‌های رایانه‌ی دستگاه LiBR-TR (GC-MS) و ۵ Wiley صورت گرفته است.

### مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

اسانس در محلول دی کلرومتان رقیق شد و جهت تهیه‌ی کروماتوگرام و طیف‌های جرمی یک میکرولیتر از آن به گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰ تؤمن شده با طیف سنجی جرمی، ستون کاپیلاری DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میکرو متر که ضخامت لایه‌ی فاز در آن ۰/۰۲۵ میکرومتر است تزریق شد. برنامه ریزی حرارتی از ۶۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۴ درجه در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۷۰ درجه سانتی گراد، درجه حرارت

ترانسفرلاین ۲۸۰ درجه سانتی گراد با استفاده از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل است (Bicchi و Sandra) (۱۹۸۷).

## نتایج

۲۲ ترکیب ترپنوتئیدی در نمونه‌های تازه و خشک شده‌ی برگ و میوه‌ی درختان ارس شناسایی شد (جدول شماره یک) که عمدت‌ترین آن‌ها عبارت اند از :  $\alpha$ -Pinene, verbenone, trans-verbenol,  $\gamma$ -elemene,  $\beta$ -elemene و methyl-carvacrol, trans-verbenol مشاهده می‌شود اثرات خشک کردن می‌تواند روی بیشتر ترکیبات انسانس تأثیر بگذارد. این نتایج نشان دادند که  $\alpha$ -Pinene به عنوان مهم‌ترین ترکیب انسانس برگ و میوه ارس پس از خشک کردن کاهش می‌یابد. به طوری که به دنبال خشک کردن مقدار آن در برگ از ۴۴٪ به ۱۹٪ و در میوه از ۸۳٪ به ۷۵٪ کاهش می‌یابد. بر عکس، مقدار بسیاری از سایر ترکیبات به ویژه trans-verbenol (٪۷۴۰)، trans-pinocarveol (٪۷۴۰)، cumin alcohol (٪۲۹۰)، bornyle-acetate (٪۳۲۶)، trans-carveol (٪۶۲۵)، verbenone (٪۴۱۳)،  $\gamma$ -elemene (٪۵۱۶)، elemole (٪۵۲۵)،  $\beta$ -caryophyllene (٪۶۵۸)، methyl carvacrol (٪۱۰۱۴)،  $\beta$ -pinene (٪۳۲۰)، limonene (٪۳۸۹) و myrcene (٪۳۶۰) در انسانس برگ و میوه افزایش می‌یابد (جدول و شکل شماره یک).

## بحث

تولید کنندگان و فروشنده‌گان گیاهان و ترکیبات دارویی به علت مزایای عمل خشک کردن از جمله سهولت در نگهداری گیاه، محافظت از کپک زدن، جلوگیری نمودن از فعالیت آنزیم‌ها و باکتری‌ها و نیز آسان خرد کردن، آسیاب نمودن، حمل و مراحل استخراج، ترجیح می‌دهند که نمونه‌های گیاهی را خشک نمایند (امیدبیگی، ۱۳۷۹-آیینه چی، ۱۳۷۰-صمصام شریفی، ۱۳۷۰).

نتایج این پژوهش در تأیید با سایر پژوهش‌ها (Maharaj & Sankat, ۱۹۹۴ - Rao & all, ۱۹۹۸ - Venskutonis, ۱۹۹۷) نشان داد که خشک کردن نمونه‌ی گیاهی می‌تواند اثرات قابل توجهی بر روی میزان ترکیبات تشکیل دهنده انسانس بگذارد. میزان تغییر مشاهده شده در برگ درختان ارس بیش از میوه‌ی آن‌ها است. به طوری که در برگ درختان ارس میزان  $\alpha$ -Pinene به عنوان مهم‌ترین ترکیب انسانس بیش از ۵۰٪ کاهش می‌یابد. افزایش مقدار ترکیباتی مانند trans-verbenol از ۲٪ به ۷٪؛ methyl carvacrol از ۱۵٪ به ۷٪؛  $\beta$ -elemene از ۱۱٪ به ۱٪؛ و  $\gamma$ -elemene از ۳٪ به ۲٪ نشان دهنده‌ی اهمیت مطالعه‌ی اثر خشک کردن بر روی انسانس ارس می‌باشد. اگرچه میزان اثرات ناشی از خشک کردن در میوه‌ها در مقایسه با برگ‌ها نامحسوس‌تر

می‌باید ولی میزان برخی ترکیبات به طور قابل توجهی در اثر خشک کردن افزایش می‌یابد (myrcene از ۰/۹٪ به ۳/۵٪؛  $\gamma$ -elemene از ۰/۷٪ به ۱/۷٪).

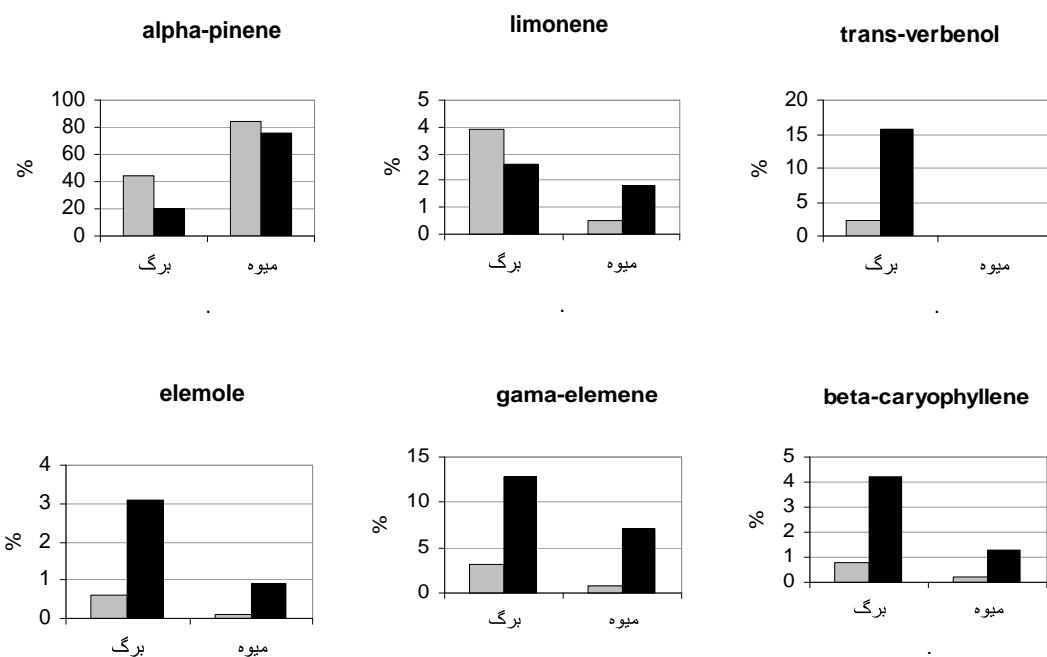
از مشاهده‌ی حاضر می‌توان نتیجه را گرفت که بر اساس اهمیت استخراج نوع خاصی از ترکیب انسانسی می‌توان نمونه‌های برگ یا میوه، و یا نمونه‌های خشک شده یا تازه، استفاده نمود. از آن جایی که خشک کردن می‌تواند باعث کاهش یا افزایش ترکیبات خاصی شود، بنابراین تولید کنندگان و فروشنندگان گیاهان یا ترکیبات انسانس می‌توانند با استخراج انسانس از نمونه‌های تازه یا خشک شده به طور انتخابی و هدفمند میزان ترکیبات خاصی را افزایش یا کاهش دهند.

جدول شماره‌ی ۱- مقایسه‌ی درصد نسبی ترکیب‌های انسانس برگ و مخروط‌های ماده‌ی تازه و خشک شده درخت ارس.

| ترکیبات               | RI   | خشک شده |      | تازه    |      | میوه    |
|-----------------------|------|---------|------|---------|------|---------|
|                       |      | خشک شده | تازه | خشک شده | تازه |         |
| $\alpha$ -pinene      | ۹۲۵  | ۱۹/۸    | ۸۳/۷ | ۴۴      | ۷۵/۸ | خشک شده |
| $\beta$ -pinene       | ۹۴۷  | n       | ۰/۵  | ۱/۱     | ۱/۶  | تازه    |
| myrcene               | ۹۸۶  | ۱/۵     | ۰/۹  | ۲/۸     | ۳/۵  | خشک شده |
| limonene              | ۱۰۲۵ | ۲/۶     | ۰/۵  | ۳/۹     | ۱/۸  | تازه    |
| $\gamma$ -terpinene   | ۱۰۵۷ | n       | ۰/۱  | n       | ۰/۴  | خشک شده |
| terpinolene           | ۱۰۸۷ | n       | ۰/۴  | n       | ۱/۶  | تازه    |
| linalool              | ۱۰۹۹ | ۲/۸     | n    | ۲/۱     | n    | خشک شده |
| $\alpha$ -campholenal | ۱۱۲۵ | ۱/۲     | n    | n       | n    | تازه    |
| trans-pinocarveol     | ۱۱۳۹ | ۳/۷     | n    | ۰/۵     | n    | خشک شده |
| cis-verbenol          | ۱۱۴۰ | n       | n    | n       | ۰/۷  | تازه    |
| trans-verbenol        | ۱۱۴۴ | ۱۵/۷    | n    | ۲/۲     | n    | خشک شده |
| verbenone             | ۱۲۰۸ | ۵       | n    | ۰/۸     | n    | تازه    |
| trans-carveol         | ۱۲۱۹ | ۲/۹     | n    | n       | n    | خشک شده |
| bornyle-acetate       | ۱۲۸۵ | ۳/۳     | ۰/۲  | ۰/۹     | ۰/۸  | تازه    |
| cumin alcohol         | ۱۳۰۳ | ۲/۹     | n    | n       | n    | خشک شده |

|     |     |      |     |      |                        |
|-----|-----|------|-----|------|------------------------|
| n   | n   | ۱۱/۲ | ۱/۷ | ۱۳۴۴ | methyl carvacrol       |
| ۱/۳ | ۰/۲ | ۴/۲  | ۰/۸ | ۱۴۱۴ | $\beta$ -caryophyllene |
| ۱/۵ | ۰/۳ | ۲/۶  | ۰/۸ | ۱۴۷۸ | germacrene D           |
| n   | n   | n    | n   | ۱۵۱۶ | $\gamma$ -cadinene     |
| ۰/۸ | ۰/۱ | n    | ۱/۱ | ۱۵۲۶ | $\Delta$ -cadinene     |
| ۰/۹ | ۰/۱ | ۳/۱  | ۰/۶ | ۱۵۵۵ | Elemole                |
| ۷/۱ | ۰/۷ | ۱۲/۸ | ۳/۱ | ۱۵۶۵ | $\gamma$ -elemene      |

Retention Index :RI      n: مقادیر کمتر از ۱٪



شکل شماره‌ی ۱- مقایسه‌ی درصد نسبی برشی ترکیبات اسانس در نمونه‌های  
تازه و خشک برگ و میوه درخت ارس.

منابع

۱. امید بیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. طراحان نشر. ایران. صفحه ۱۹۰.
۲. آیینه چی، ی. ۱۳۷۰. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. شماره ۱۸۷۹، انتشارات دانشگاه تهران. ایران. صفحه ۱۶.
۳. صالحی شانجانی، پ. و میرزا، م. ۱۳۸۱ مطالعه اسانس ارس. فصلنامه گیاهان دارویی ایران. ۱۷: ۵۱-۶۱.
۴. صالحی شانجانی، پ. و میرزا، م. ۱۳۸۴ تغییرات فصلی اسانس برگ و میوه ارس. مجله گیاهان دارویی. ۵۸-۵۰(۱۷)۵
۵. صدری، ح. ۱۳۷۱. اسانس‌ها. فصلنامه پژوهش و سازندگی. ۱۶: ۱۰-۱۶.
۶. صمصام شریف، ه. و معطر، ف. ۱۳۷۰ داروپزشکی سنتی (مفردات پزشکی). انتشارات روزبهان. ایران. صفحه ۲۲.
7. Assadi M. 1997. Flora of Iran. Technical Publication of Research Institute of Forests and Rangelands, Iran. No. 19-22.
8. Baghavan B, Rao LJ, Singh M, Abraham KO. 1997. Effect of drying methods on the flavour quality of marjoram (*Origanum majorana* L.). Nahrung. 41(3): 159-161.
9. Basver D. 1993. Saffron, the costliest species: drying and quality, supply and price. Acta Hort. 344: 89-95.
10. Blanco M, Ming L, Marques M and Bovi O. 2002. Drying temperature effects in Rosemary essential oil content and composition. I Latin-American Symposium on the Production of Medicinal, Aromatic and Condiments Plant., Brazil. Pp: 53.
11. Britaus O, Richard H, Touche J, and Derbesy M. 1992. Effects of drying and storage of herbs and species on the essential oil. Flavour and Fragrance Journal. 7(5): 267-271.
12. Deans SG and Svoboda DP. 1992. Effect of drying regime on volatile oil and microflora of aromatic plants. Acta Hort. 306: 450-452.
13. Karawya M, E-Wakeil F, Hinfnwy M, Ismail F and Khalifa M. 1980. Study of certain factors affecting yield and composition of herbs parsley essential oil (effect of

stage of growth, successive cutting, and time of day of harvesting, method of drying, storage of herb oil). Egypt. J. Pharm. Sci. 21(1-2): 69-75.

14. Omidbaigi R, Sefidkon F and Kazemi F. 2004. Influence of drying methods on the essential oil content and composition of Roman chamomile. Flavour and Fragrance Journal. 19: 196-198.

15. Rao LJ, Singh M, Rahavan B, Abraham KO. 1998. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). Impact of drying on its flavour quality. J. Food Qual. 21(2): 107-115.

16. Sadri HA and Assadi M. 1994. Preliminary studies on monoterpenes composition of *Juniperus polycarpos*. Iran Journ. Bot. 6: 2.

17. Sandra, P. and Bicchi, C. 1987. Capillary chromatography in essential oil analysis. Haething Verlag, Heidelberg.

18. Sankat CK, Maharaj V. 1994. Drying the green herb shadow being (*Eryngium foetidum* L.) in natural convection cabinet and solar driers. ASFAN Food J. 91(1): 17-23.

19. Venskutonis P.R. 1997. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). Food Chem. 59(2): 219-227.