

شناسایی ترکیبات موجود در روغن اسانس گل و برگ گیاه *Sambucus ebulus* L. با استفاده از طیف سنجی GC و GC/MS

سید عنایت ا... متقی نژاد^۱، ساره محرابی^{۲*}، فرشته نعمت الهی^۳، کامبیز لاریجانی^۴، آزاده عطوفی^۲

چکیده

این تحقیق برای شناسایی ترکیبات موجود در روغن اسانس اندام‌های هوایی گیاه *Sambucus ebulus* L. انجام گرفت. برگ‌ها و گل‌های گیاه *Sambucus ebulus* L. از شهرستان رامسر واقع در استان مازندران در تابستان سال ۱۳۸۷ در مرحله‌ی گلدهی گیاه جمع‌آوری شد. روغن اسانس هر بخش بوسیله روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر بدست آمد. روغن‌های بدست آمده بوسیله‌ی دستگاه GC و GC/MS آنالیز شد. اجزای شیمیایی روغن هر بخش بوسیله انجام اسپکتروسکوپی MS و مقایسه‌ی شاخص‌ها با منابع قابل اعتماد مشخص شد. بین ۱۵ استخلاف مشخص شده در روغن برگ‌ها که ۹۹/۹۹٪ روغن اسانس را تشکیل می‌داد، به ترتیب α -Pinene (kI=۹۳۹) (۰/۴۶/۵) و β -Pinene (kI=۹۷۹) (۰/۱۰/۲) و Limonene (kI=۱۰۲۹) (۰/۸/۸۴) ترکیبات اصلی بودند. همچنین بین ۱۹ ترکیب مشخص شده در روغن اسانس گل‌ها که ۹۵/۴٪ روغن اسانس را تشکیل می‌داد به ترتیب α -Pinene (kI=۹۳۹) (۰/۲۷/۷) Palmitic acid (kI=۱۸۴۰) (۰/۱۱/۳) و Spathulenol (kI=۱۵۷۸) (۰/۸/۷۴) اجزای اصلی بودند.

کلمه‌های کلیدی: روغن اسانس ترکیبات، *Sambucus ebulus* L. β -Pinene، α -Pinene، Limonene، Palmitic acid.

۱- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری

۳- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق (قیام دشت)

۴- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

* مسئول مکاتبه. Saremehrab@gmail.Com

تاریخ دریافت: بهار ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: تابستان ۱۳۸۸

مقدمه

از دیر باز استفاده از گیاهان برای معالجه انواع بیماری‌ها در نقاط مختلف جهان رایج بوده است تا اندازه‌ای که اساس طب سنتی را تشکیل می‌دهد. اما با توسعه‌ی سریع داروهای سنتزی در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان کم‌تر و یا منسوخ شده بود، ولی به دلیل ظهور عوارض جانبی نامطلوب ترکیبات سنتزی و نبود سازگاری آنها با طبیعت انسان، بار دیگر محققین به گیاهان و مواد مؤثره‌ی موجود در آنها توجه کردند تا حدی که دانش فیتوشیمی (شیمی گیاهی) ایجاد شد. فیتوشیمی شامل بررسی شیمیایی مواد طبیعی موجود در گیاهان است که دارای رابطه‌ی مستقیمی با ساختار شیمیایی این ترکیبات، بیوسنتز، استخراج و آنالیز، متابولیسم، انتشار طبیعی و فعالیت بیولوژیک آنها می‌باشد. در واقع فیتوشیمی پل ارتباطی بین شیمی و علوم زیست‌شناسی و داروسازی است.

روغن‌های اسانسی (اسانس‌ها)، دسته‌ای از ترکیبات موجود در گیاهان می‌باشند که نقش مهم و اساسی در برخی از صنایع مهم از جمله داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، عطرسازی و موارد دیگر ایفاء می‌کنند که لزوم استفاده صحیح از این مواد طبیعی، شناخت ترکیبات موجود در آنها می‌باشد. با توجه به این نکته که بسیاری از گونه‌های گیاهی موجود در ایران دارای روغن‌های اسانسی هستند، بنابراین تصمیم گرفتیم که در این تحقیق روغن اسانس موجود در گیاه *Sambucus ebulus* L. را که تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است، بررسی و اجزای تشکیل‌دهنده‌ی روغن اسانس را شناسایی کنیم. در مطالعه‌های انجام شده تنها خواص درمانی گیاه *Sambucus ebulus* L. مورد توجه قرار گرفته است. به همین دلیل لزوم مطالعه در این زمینه به خوبی حس می‌شد.

گیاه *Sambucus ebulus* L.، گیاهی علفی، بلند، پایا به ارتفاع ۱-۲/۵ متر و ایستاده می‌باشد که به خانواده‌ی *Caprifoliaceae* تعلق دارد. از نظر زیستگاه در ایران، در استان‌های گیلان، گلستان و مازندران می‌روید و موسم گلدهی آن از اردیبهشت تا شهریور است (پارسا، ۱۳۵۷). گیاه *Sambucus ebulus* L. خواص درمانی قابل ملاحظه‌ای دارد و در درمان انواع بیماری‌ها از آن استفاده می‌شود. از جوشانده‌ی میوه این گیاه در آب یا شیر برای رفع اختلالات عصبی استفاده می‌شوند. همچنین در درمان نارسایی‌های گوارشی و اختلالات تنفسی مانند زکام و برونشیت، اثر درمانی چشمگیری دارد (پارسا، ۱۳۷۸) و همچنین دارای اثرات ضد التهاب و ضد درد نیز می‌باشد (ابراهیم‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵).

جنس *Sambucus* شامل تقریباً بیست گونه است که در مناطق معتدل و نیمه استوایی هر دو نیم کره شرقی و غربی می‌رویند (مظفریان، ۱۳۸۳). چند گونه‌ی آن همچون گیاه زینتی نیز کاشته می‌شوند. ویژگی بارز دو گونه‌ی معروف‌تر و شایع‌تر آن عبارت است از: برگ‌های آن که بر اثر مالش بوی تند یا نامطبوعی بر می‌خیزد، گل آذین دیهیمی پهن آنها مرکب از گل‌های کوچک (سفید اندکی زرد رنگ و در بعضی گونه‌ها، صورتی و ارغوانی) که بر خلاف برگ و ساقه، بوی نسبتاً خوشی دارند و میوه‌های کوچک آبدار (در اصطلاح سته) نخست سرخ و پس از رسیده شدن سیاه، که خوشه مانند، جانشین گل‌ها می‌شوند (مظفریان، ۱۳۸۳). از قدیم دو گونه‌ی پلم معروف‌تر بوده است: یکی (با نام علمی) *Sambucus nigra* و دیگری *Sambucus ebulus* است (مظفریان، ۱۳۷۹). چند گونه‌ی زینتی پلم نیز به ایران وارد شده است از جمله *Sambucus racemosa* (آقطی سرخ) و *Sambucus candensis* که به آن پلم کانادایی گفته می‌شود. گیاهان این جنس از راه جنسی و غیرجنسی تکثیر می‌یابند (کریمی، ۱۳۷۴). از نظر زیستگاه در ایران و بعضی نواحی مجاور، سه گونه‌ی خودرو از این جنس در گستره گیاه شناختی ایران (در معنای جغرافیایی وسیع‌تر تا کوهستان هیمالیا) است. *Sambucus nigra* که در عراق و ایران (در کنگاور کرمانشاه و ارومیه) و نیز در قفقاز و آسیای صغیر می‌روید. *Sambucus ebulus* در ترکمنستان، ایران (طالش، گیلان، مازندران، قزوین) عراق و نیز در اروپا و شمال آفریقا می‌روید (مظفریان، ۱۳۷۹).

روش تحقیق

۱- جمع‌آوری گیاه

برگ‌ها و گل‌های گیاه *Sambucus ebulus* L. در تابستان ۱۳۸۷ از شهرستان رامسر واقع در استان مازندران جمع‌آوری شد. این منطقه از نظر جغرافیایی در ۵۰ درجه و ۴۰ دقیقه در طول شرقی و ۳۶ درجه و ۵۴ دقیقه عرض شمالی قرار داشته (بی‌نام، ۱۳۸۵). ارتفاع آن ۲۰ متر از سطح دریای آزاد پایین‌تر، میزان متوسط بارندگی سالانه آن ۱۳۳۰ میلی‌متر و آب و هوای آن نسبتاً معتدل و مرطوب است (بی‌نام، ۱۳۸۷). چند بوته از این گیاه از مناطق مختلف شهرستان رامسر جمع‌آوری شد، سپس با استفاده از روش خشک کردن در هوای آزاد (Air drying)، خشک شد تا مقدار اسانس موجود در آن به بیش‌ترین میزان خود برسد. پس از خشک کردن گیاه در هرباریوم، در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع وابسته به وزارت جهاد کشاورزی، نامگذاری شد.

۲- استخراج روغن اسانس

روغن اسانس برگ‌ها و گل‌های خشک شده گیاه *Sambucus ebulus* L. بوسیله‌ی تقطیر با آب با دستگاه کلونجر در مدت ۴ ساعت استخراج شد. روغن اسانس بدست آمده، بی‌رنگ و دارای راندمانی با درصد حجمی وزنی (۰.۰۲۷/W) بود.

۳- مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی

گاز کروماتوگراف: Packard 439

ستون کروماتوگرافی: [CP-Sil 5.CB (25×0.25 mm. Film Thickness 0.32μm)]

گاز حامل: N₂

سرعت جریان گاز حامل: ۱ mL/min

دمای دریچه تزریق: ۲۵۰°C

برنامه حرارتی ستون: دمای اولیه آون ۶۰°C بود که با گرادیان ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه در ظرف ۱۵ دقیقه به دمای نهایی ۲۲۰°C درجه سانتی‌گراد رسید (شفقت، ۱۳۸۵).

۴- مشخصات دستگاه GC/MS

کروماتوگراف Hewlett-Packard 6890 کوپل شده با MS5973HP

ستون: Hp- 5ms(5%Phenyl.95%dimethylsiloxane 30M×0.25 mm Film thickness 0.32μm)

گاز حامل: هلیوم

سرعت جریان گاز: ۱ mL/min

انرژی یونیزاسیون: ۷۰eV

دمای کوادرپل: ۱۸۰°C

دمای رابط GC و Mass: ۲۸۰°C

۵- چگونگی محاسبه اندیس بازداری کواتس (KI)

اندیس بازداری کواتس هر ترکیب را می‌توان از کروماتوگرام مخلوطی از جسم مورد نظر با کم‌ترین دو آلکان نرمال که زمان بازداری آنها در دو طرف زمان بازداری ماده‌ی مورد نظر قرار دارد، محاسبه کرد. آلکان‌های نرمال

استانداردهایی هستند که درجه بندی اندیس کواتس بر اساس آنها نهاده شده است و بنابر تعریف اندیس کواتس یک آلکان نرمال، ۱۰۰ برابر تعداد کربن‌های موجود در آن است. اندیس کواتس مستقل از دما و ابعاد ستون GC می‌باشد. اندیس کواتس از رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$KI = 100 n + 100 \left(\frac{t_{(x)} - t_{(n)}}{t_{(n+1)} - t_{(n)}} \right)$$

که در رابطه بالا داریم:

$t_{(x)}$: زمان بازداری نمونه مجهول

$t_{(n)}$: زمان بازداری آلکان نرمال قبلی

$t_{(n+1)}$: زمان بازداری آلکان نرمال بعدی

KI: شاخص بازداری کواتس

N: تعداد اتم کربن آلکان نرمال قبلی

برای نمونه، شاخص بازداری کواتس در مورد ترکیب α -Pinene موجود در برگ گیاه رقم ۹۳۳/۹۱ است. با استفاده از عدد بدست آمده و مقایسه‌ی طیف ترکیب مورد نظر با مرجع ایندکس (Adams, 2004) و همچنین مقایسه و بررسی شکست‌های مهم در آن به شاخص کواتس حقیقی ترکیب مورد نظر پی می‌بریم که این رقم در مورد ترکیب α -Pinene ، ۹۳۹ است.

نتایج

شناسایی اجزاء روغن هر بخش بوسیله‌ی انجام اسپکتروسکوپی MS و مقایسه‌ی شاخص‌ها (KI) با منابع قابل اعتماد مشخص شد. بدین ترتیب ۱۹ ترکیب در روغن اسانس موجود در گل‌ها و ۱۵ ترکیب در روغن اسانس موجود در برگ‌های گیاه بدست آمد، که اجزای شناسایی شده به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده‌اند. از مجموع ۹۵/۴٪ کل روغن اسانس موجود در گل‌های گیاه ۷۲/۷۸٪ را ترکیبات منوترپنی، ۱۱/۳۱٪ را ترکیبات سزکوئی‌ترین‌ها و ۱۱/۳۱٪ را خانواده‌ی اسیدهای آلی تشکیل می‌دهند. همچنین از مجموع ۹۹/۹۹٪ کل روغن اسانس موجود در برگ‌های گیاه ۸۱/۷۴٪ را ترکیبات منوترپنی و ۱۳/۹۵٪ را ترکیبات سزکوئی‌ترین و ۴/۳۰٪ را خانواده اسیدهای آلی تشکیل می‌دهند.

Palmitic acid, ($0.8/84-0.7/64$)Limonene, ($0.10/12-0.7/44$) β -Pinene, ($0.46/52-0.27/77$) α -Pinene ($0.4/30-0.11/31$) Spathulenol و ($0.8/74$) به ترتیب از اجزای اصلی روغن اسانسی موجود در گل‌ها و برگ گیاه *Sambucus ebulus L.* هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

اجزای شیمیایی روغن اسانس بعضی از گونه‌های *Sambucus* که از مطالعه‌های قبلی استخراج شده است عبارتند از: تحقیقی که در انجمن شیمی آمریکا در سال ۱۹۸۳ بر روی ترکیبات فرار *Sambucus nigra L.* بوسیله دستگاه GC/MS انجام گرفت، ۷ جزء شناسایی شد که ۱۶ جزء خانواده هیدروکربن‌ها و ۱۱ جزء استرها و اکسیدها و ۷ جزء کتون‌ها و ۷ جزء آلدئیدها، ۱۶ جزء الکل‌ها، ۶ جزء استرها و ۱۶ جزء باقیمانده را اسیدها را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی روغن اسانس بدست آمده شامل ترانس ۳ و ۷-دی‌متیل ۱ و ۳-اکتاترین-۳-اول ($0.11/3$) و پالمیتیک اسید ($0.11/3$) و لینالول ($0.3/7$) و سپس هگزانول ($0.2/5$) می‌باشد (Toulemonde & Richard, 2003). در یک مطالعه که در برزیل بر روی ترکیبات فرار موجود در *Sambucus candensis L.* انجام گرفت مقدار ۲۵ میلی‌لیتر/میکروگرم روغن اسانس از آن بدست آمد و بوسیله دستگاه GC/MS ۱۵ ترکیب شناسایی شد (Barbieri et al., 2002).

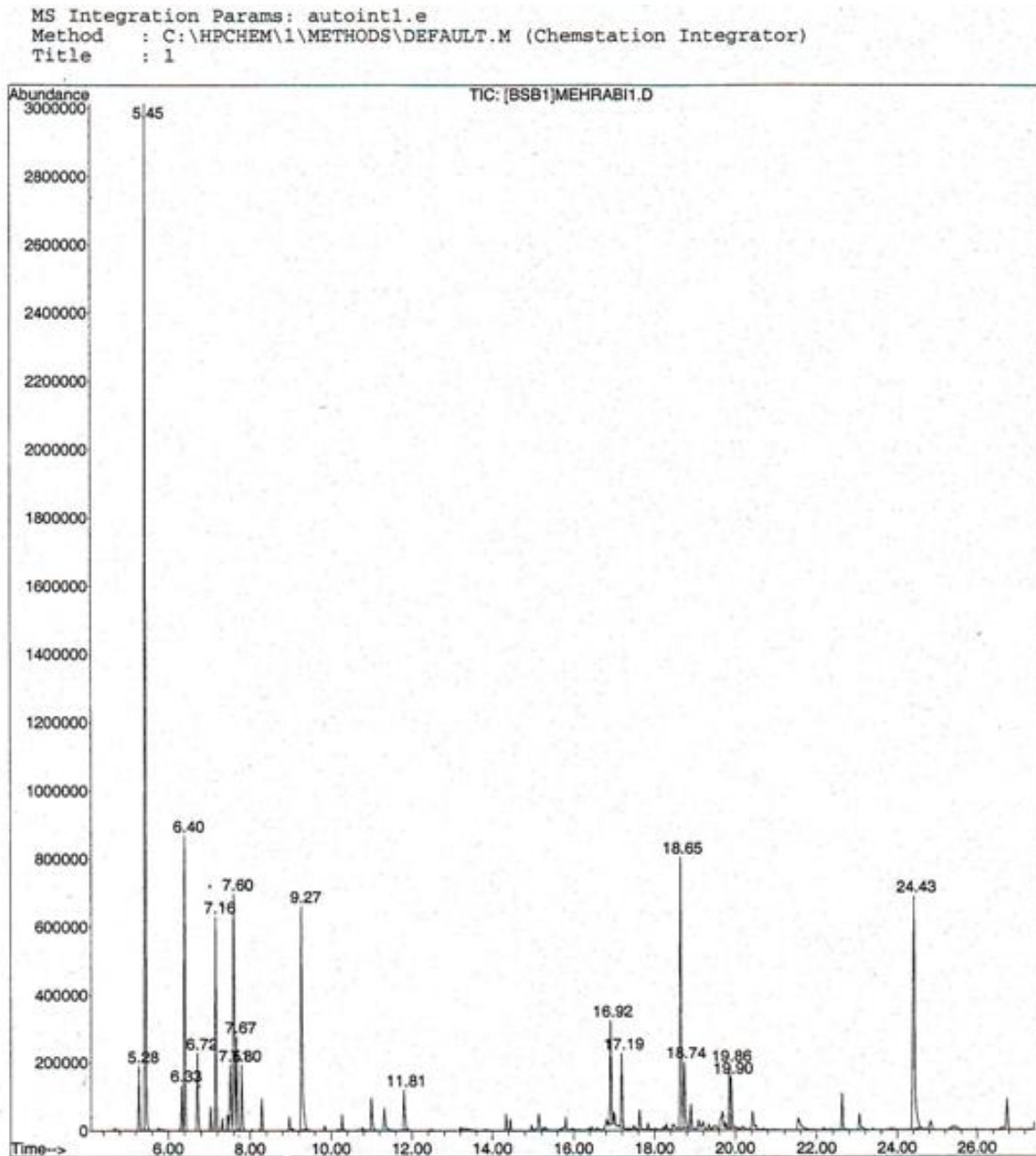
در بررسی دیگری که در دانشگاه هونان بر روی *Sambucus chinensis* انجام شد، ۲۶ جزء در روغن اسانس این ترکیب بوسیله دستگاه GC/MS شناسایی شد (Jiang et al., 2003). در بررسی انجام شده میزان روغن اسانس بدست آمده ۴ میلی‌لیتر/میکروگرم بوده است و ۱۵ ترکیب در روغن اسانس موجود در برگ‌ها، ۱۹ ترکیب در روغن اسانس موجود در گل‌های گیاه شناسایی شد، که با نتایج بدست آمده از تحقیقات قبلی تفاوت‌هایی مشاهده شد. همچنین ترکیب α -Pinene ($0.46/52-0.27/77$) بیش‌ترین مقدار را در روغن اسانس گل‌ها و برگ گیاه داشته است که در تحقیقات قبلی، ترانس ۳ و ۷-دی‌متیل ۱ و ۳-اکتاترین-۳-اول ($0.11/3$) و پالمیتیک اسید ($0.11/3$) بیش‌ترین میزان را داشته‌اند.

سپاسگزاری

از همکاری جناب آقای دکتر ولی‌الله مظفریان در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، برای نامگذاری و شناسایی گیاه مورد نظر کمال تشکر و قدردانی را داریم.

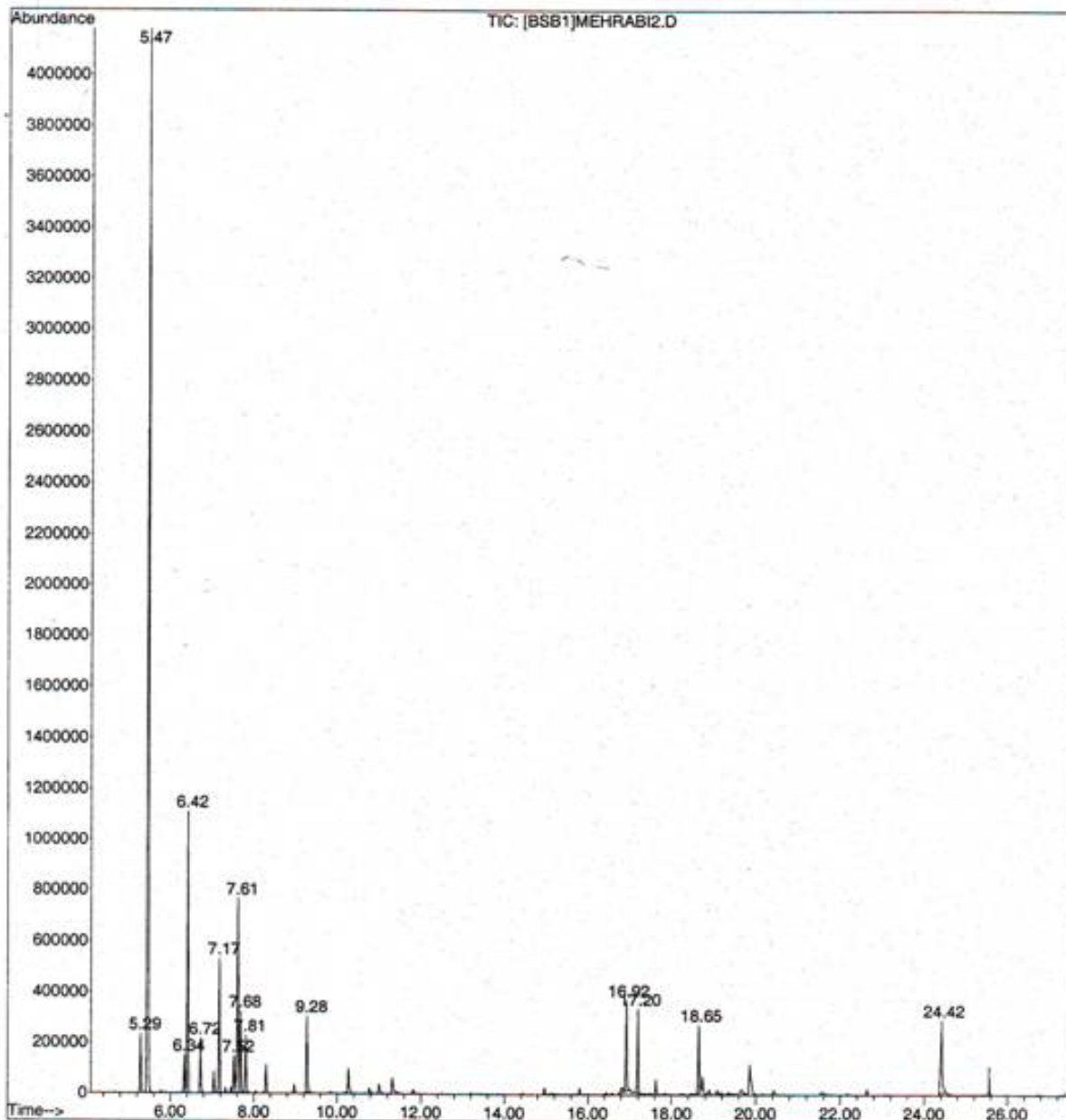


شکل ۱- گیاه *Sambucus ebulus* L.



شکل ۲- کروماتوگرافی گازی روغن اسانسی گل گیاه *Sambucus ebulus* L.

MS Integration Params: autoint1.e
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DEFAULT.M (Chemstation Integrator)
Title : 1



شکل ۳- کروماتوگرام گازی روغن اسانسی برگ گیاه *Sambucus ebulus* L.

جدول ۱- مواد متشکله موجود در روغن اسانسی گل گیاه *Sambucus ebulus L.*

شماره	ترکیب	درصد (%)	kI	روش شناسایی
۱	α -Thujene	۱,۵۶	۹۳۰	GC/MS
۲	α -Pinene	۲۷,۷۷	۹۳۹	GC/MS
۳	Sabinene	۱,۰۸	۹۷۵	GC/MS
۴	β -Pinene	۷,۴۴	۹۷۹	GC/MS
۵	Myrcene	۲,۳۲	۹۹۱	GC/MS
۶	2- δ Carene	۵,۵۸	۱۰۰۲	GC/MS
۷	Para-Cymene	۲,۱۴	۱۰۲۵	GC/MS
۸	Limonene	۷,۶۴	۱۰۲۹	GC/MS
۹	1,8-Cineole	۲,۴۲	۱۰۳۱	GC/MS
۱۰	z- β -Ocimene	۱,۸۷	۱۰۳۷	GC/MS
۱۱	Linalool	۷,۵۶	۱۰۳۹	GC/MS
۱۲	fragranol	۱,۴	۱۲۱۶	GC/MS
۱۳	<gamma>Muurolene	۳,۱	۱۴۸۰	GC/MS
۱۴	Bicyclogermacrene	۲,۱۳	۱۵۰۰	GC/MS
۱۵	SpathulenoL	۸,۷۴	۱۵۷۸	GC/MS
۱۶	Caryophyllene oxide	۲,۴۴	۱۵۸۳	GC/MS
۱۷	β -Eudesmol	۱,۹۷	۱۶۵۱	GC/MS
۱۸	α -Eudesmol	۱,۵۶	۱۶۵۴	GC/MS
۱۹	Palmitic acid	۱۱,۳۱	۱۸۴۰	GC/MS

جدول ۲- مواد متشکله موجود در روغن اسانسی برگ گیاه *Sambucus ebulus L.*

شماره	ترکیب	درصد (%)	kI	روش شناسایی
۱	α -Thujene	۲,۰۸	۹۳۰	GC/MS
۲	α -Pinene	۴۶,۵۲	۹۳۹	GC/MS
۳	Sabinene	۱,۳۴	۹۷۵	GC/MS
۴	β -Pinene	۱۰,۱۲	۹۷۹	GC/MS
۵	Myrcene	۱,۹۶	۹۹۱	GC/MS
۶	2- δ Carene	۴,۹۵	۱۰۰۲	GC/MS
۷	α -Terpinen	۱,۷۲	۱۰۱۷	GC/MS
۸	Limonene	۸,۸۴	۱۰۲۱	GC/MS
۹	1,8-Cineole	۲,۸۶	۱۰۳۱	GC/MS
۱۰	z- β -Ocimene	۲,۳۷	۱۰۳۷	GC/MS
۱۱	Linalool	۲,۹۶	۱۰۹۷	GC/MS
۱۲	<gamma>Muurolene	۴,۰۲	۱۴۸۰	GC/MS
۱۳	Bicyclogermacrene	۳,۱۱	۱۵۰۰	GC/MS
۱۴	GlobuloL	۲,۹۴	۱۵۸۵	GC/MS
۱۵	Palmitic acid	۴,۳	۱۸۴۰	GC/MS

منابع

ابراهیم‌زاده، م.ع.، م. محمودی، س. سعیدنیا، ف. پورمراد، و ا. سلیمی. ۱۳۸۵. بررسی اثر ضد درد و ضد التهاب عصاره‌های هگزان، اتیل‌استات و متانولی بخش‌های مختلف گیاه پلم *Sambucus ebulus* L ، مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، شماره ۵۴، صفحه ۳۵-۴۲

بی‌نام. آمار و اطلاعات اقلیمی ایستگاه‌های سینوپتیک ایران. ۱۳۸۸. سازمان هواشناسی کشور، استان مازندران، ایستگاه رامسر

بی‌نام. آمار سالیانه ایستگاه‌های سینوپتیک اداره کل هواشناسی استان مازندران. ۱۳۸۷. اداره کل هواشناسی استان مازندران، ایستگاه رامسر

پارسا، ا. ۱۳۵۷. فلور ایران، انتشارات وزارت فرهنگ و آموزش عالی، جلد چهارم: ۱۴

پارسا، م. ۱۳۷۸. کتاب پزشک در خانواده، انتشارات اردیبهشت

شفقت، ع. ۱۳۸۵. بررسی و شناسایی مواد متشکله موجود در اسانس بخش‌های مختلف (گل، برگ، ساقه و ریشه) چند گونه از گیاهان بومی ایران و فلاونوئیدهای موجود در عصاره یک گونه گیاهی، پایان‌نامه دکتری شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

کریمی، ه. ۱۳۷۴. گیاهان هرز ایران - تهران مرکز نشر دانشگاهی

مظفریان، و. ا. ۱۳۷۹. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر

مظفریان، و. ۱۳۸۳. رده‌بندی گیاهان ایران، انتشارات مرکز نشر دانشگاهی

Adams, R.P. 2004. Identification of Essential oil Components by Gas chromatography. QuadruPOLE Mass spectroscopy, Allared Publishing Corporation, USA: 63

Barbieri H, T Uedo-Nakamura, B.P. Dias Filho, D.A. Garcia Cortez, J.C. Palazzo Mello and C. Vataru Nakamura. 2002. Effect of plant extracts used in folk medicine on cell growth and differentiation

of *Herpetomonas samuelpessoai* (kinetoplastida, trypanosomatidae) cultivated in defined medium. *Acta scientiarum-Biological and Health sciences*, 24(3):657-662

Jiang,D., G.Pei, P.Zhou, and X.Peng. 2003. Analysis of the constituents of essential oils from *Sambucus chinsis*. *Zhong yao cai = Zhong yaocai = Journal of Chinese medicinal materials*, 26(2):102-103

Toulemonde,B., and H.M.J.Richard. 1983. Volatile constituents of dry elder (*Sambucus nigra L.*) Flowers. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 31(2):365-370

Archive of SID