

مقایسه دو دستگاه تقطیر با بخار و تاثیر آن بر میزان اسانس و نوع ترکیبهای موجود در گونه بابونه کاذب *Tripleurospermum disciforme* (C.A. Mey) Schultz – Bip)

• کامکار جایمند و • محمد باقر رضایی، اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۱ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۲

چکیده

همانطور که عوامل محیطی بر میزان کیفیت اسانس تاثیر دارند، روشهای مختلف تقطیر نیز می تواند بر میزان و کیفیت اسانس تاثیر داشته باشد. در این تحقیق گونه بابونه کاذب *Tripleurospermum disciforme* (که تشابه زیادی با گونه بابونه *Matricaria chamomilla* L. دارد) از باغ گیاهان دارویی همدان جمع آوری گردید و سپس از نمونه توسط دو دستگاه تقطیر با بخار، که در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع توسط جایمند - رضایی طراحی گردیده است، اسانس گیری به عمل آمد، بازده اسانس ها به ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۳۷ درصد می باشند. سپس جهت بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانسها از دستگاههای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. ترکیبهای عمده در طرح شماره یک (دستگاه تقطیر با بخار) شامل: ویریدیفلورن (۴۱/۲ درصد)، ترانس - ترانس ماتریکاریا استر (۳۱/۹ درصد)، بتا - سزکوئی فلاندرن (۸/۸ درصد) و ترانس - ماتریکاریا استر (۴/۹ درصد) و در طرح شماره دو (دستگاه تقطیر با بخار) ترکیبهای عمده شامل: ترانس - ترانس ماتریکاریا استر (۵۱ درصد)، ویریدیفلورن (۱۳ درصد) و ترانس - ماتریکاریا استر (۹/۸ درصد) می باشند. بنابراین از این تحقیق نتیجه گرفته می شود که جهت استخراج بیشترین درصد ترکیب ترانس - ترانس ماتریکاریا استر که یکی از ترکیبهای مهم دارویی محسوب می شود باید از طرح شماره دو دستگاه تقطیر با بخار استفاده نمود. البته به همین صورت امکان انتخاب دستگاه برای ترکیبهای دیگر نیز وجود دارد.

کلمات کلیدی: بابونه کاذب، ترانس - ترانس ماتریکاریا استر، ترکیبهای شیمیایی، روش استخراج، تقطیر با بخار.

Pajouhesh & Sazandegi No: 60 pp: 2-7

Investigation extraction by two different apparatus and effects of essential oils on content and constituents of *Tripleurospermum disciforme* (C.A.Mey) Schultz- Bip.

by: Jaimand, K. ; Rezaee, M.B. Phytochemistry Group, Department of Medicinal plants & By-products, Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, Iran.

Different methods of extraction and environmental factors can effect on essential oils compounds. In this research, flower of *Tripleuropermum disciforme* (C.A.Mey) Bip. Plant were collected during the flowering period from field medicinal plants of botanical garden of Hamedan province. Then essential oils were obtained by different steam distillation desinged apparatus by Jaimand - Rezaee, plan -1 and plan-2. Essential oils content were 0.21% and 0.37% yield respectively. The oil samples were analyzed by capillary GC and GC/MS. The major constituent of the sample (plan-1) were viridiflorene (41.2%), trans- trans- matricaria ester (31.9%), β -se squiphellandrene (8.8%) and trans- matricaria ester (4.9%) and

in plan-2 were trans- trans- matricaria ester (51%) , viridiflorene (13%) and trans-matricaria ester (9.8%) .trans – trans – matricaria ester have medical acitivity. Then we could select best apparatus for extraction of this compound from extracted essential oil.

Key words : *Tripleuropermum disciforme* (C.A.Mey) Bip. , Trans- trans- matricaria ester , Viridiflorene , Essential oil compounds , Steam distillation .

مقدمه

بابونه، به تعدادی از گونه های خانواده کمپوزیته گفته می شوند. گونه های بابونه از نظر شکل ظاهری تا حدودی شبیه به هم هستند، ضمن اینکه اختلافاتی کم و بیش در آنها وجود دارد. بعضی از جنسها عبارتند از *Tripelurospemum* ، *Anthemis* و *Matricaria* که در کتب مختلف به عنوان بابونه نام برده شده اند. از آنجائیکه در میان این گونه ها بابونه دارویی را با نام علمی *Matricaria chamomilla* ذکر می کنند، و بابونه کاذب شباهت زیادی به این گونه دارد. بنابراین در بازار آنرا به جای بابونه دارویی به فروش می رسانند. در صورتی که دارای ترکیبهای متفاوتی در مقایسه با بابونه دارویی است. در بابونه دارویی ترکیبهای عمده را می توان: آلفا - بیسابولول و کامازولین ذکر کرد در حالیکه رنگ اسانس آن نیز آبی پر رنگ می باشد، ولی در بابونه کاذب ترکیبهای عمده شامل: ترانس - ترانس - ماتریکاریا استر، ژرماکریل دی

و بتا - سزکوئی فلاندرن هستند رنگ اسانس آن نیز زرد می باشد. از اینرو این اختلاف خود گواه بر متفاوت بودن گونه است. ترکیب ماتریکاریا استر با فرمول ملکولی $C_{11}H_{16}O_2$ ، و جرم ملکولی ۱۷۴ که در این گونه شناسایی شده است به عنوان حشره کش بکار گرفته می شود (۳). همچنین دارای خاصیت سایتوتوکسیک بر روی سلولهای سرطانی (۴) و کشنده لارو سیب زمینی *Colorado potato beetle* می باشد (۵). اسانس گونه *M. inodora* شامل ماتریکاریا استر است که به عنوان قارچ کش (۳)، و نماتود کش (که در بیشتر از ۵۰ درصد نمونه ها با دوز کمتر از ۳ mg/lit موثر بوده است. مصرف می شود (۶). همچنین این ترکیب به عنوان ماده کشنده *Pink bolloworm Larvae* و *Tabacco bud worm larve* در دوزهای ۰/۰۱ درصد و ۰/۰۵ درصد است (۷).

دارای سطح صاف و سه دنده یا زائده برجسته در سطح شکمی و فاقد جقه. موسم گل آن در خرداد و تیر می باشد (۲،۱).

مواد و روش ها

الف - جمع آوری و شناسایی

نمونه مورد آزمایش در اوایل مرداد ۱۳۷۹ از باغ گیاهان دارویی بوعلی سینا، در استان همدان جمع آوری شد. نمونه توسط دکتر ولی... مظفریان از بخش تحقیقات گیاه شناسی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع مورد شناسایی قرار گرفت.

ب - روش استخراج

نمونه مورد آزمایش به دو روش کلاسیک تقطیر با بخار (طرح شماره ۱ و طرح شماره ۲، جایمند - رضایی) اسانس گیری شد. معمولاً از روش تقطیر با بخار مستقیم جهت استخراج اسانس از اندام تازه گیاهان استفاده می کنند. بنابراین سرشاخه های گلدار گیاه را، پس از جمع آوری و آماده سازی داخل محفظه مخصوص گیاه در دستگاه تقطیر قرار دادیم. اسانس بدین وسیله همراه با بخار آب در قسمت سرد کننده جمع می شود. روش تقطیر (برای جمع آوری اسانسها) روشی است که فشار بخار با شدت زیاد به داخل بافتها و سلولهای گیاهی نفوذ می کند در این روش تجزیه ترکیبهای اسانس به حداقل ممکن می رسد. سرعت جریان آب در داخل مبرد بایستی کافی

گیاه شناسی

بابونه کاذب، گیاهی علفی، یکساله یا دو ساله، از خانواده کمپوزیته، با نام علمی (*Tripleurospermum disciforme* C.A.Mey Schultz - Bip مترادفهای آن *Chrysanthemum disciforme* C.A.Mey. ، *Matricaria disciforme* (C.A.Mey) Dc. ، *Chamaemelum disciforme* (C.A.Mey) و DC. *Chrysanthemum disciforme* var. *quadrilobum* Boiss هستند (۱، ۲). این گونه را به نام بابونه معمولی و یا بابونه ایرانی نیز می نامند، گیاهی است بدون کرک، ایستاده، به ارتفاع ۷۰ - ۱۰ سانتیمتر، غالباً بسیار منشعب، ساقه آن کمی متعدد، ساده یا از قاعده منشعب، با شاخه های طویل، متقابل و ایستاده، و برگ پوش. برگ آن تقریباً بدون دمبرگ، متناوب، سبز تیره، پهن دراز، دارای ۳ - ۲ بار تقسیمات شانه ای عمیق، باریک و موئین و نوک تیز. گل آن سفید، مجتمع در کپه های شعاعی، با گلهای نا همجنس، دارای دمگل بلند، در مجموع به صورت گل آذین پانیکولی - دپهیمی شکل، گریبان تقریباً واژ مخروطی به عرض ۱۰ - ۴ میلیمتر، شامل ۲ ردیف براکته تقریباً هم اندازه، براکته های خارجی سر نیزه ای یا تخم مرغی - مثلثی، داخلها پهن دراز - سز، در حاشیه قهوه ای - رگه دار، شفاف - فلسی، نهنج تخم مرغی - پهن دراز، گلهای حاشیه ای کپه ماده، دارای جام مسطح یا لوله ای و دارای ۲ دندانه، گلهای مرکزی نهنج نر ماده، لوله ای و منتهی به ۵ دندانه غده پوش. میوه آن فندقه ها خطی، به طول ۱/۴ - ۱ میلیمتر و عرض ۰/۵ میلیمتر، لعابدار،

دستگاه تقطیر با بخار (طرح شماره ۱)**جایمند-رضایی**

طراحی دو دستگاه تقطیر با بخار (شکل ۳ و ۲) در آزمایشگاه شیمی گیاهی بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع طراحی شده است. دستگاه طرح-۱، بر اساس (شکل شماره ۱) طراحی شده است. در فصل سرما می توان توسط ژاکت (پشم شیشه) محفظه گیاه و مسیر عبور بخار را پوشاند. بنابراین بخار به راحتی تا مبرد جریان پیدا خواهد کرد.

دستگاه طرح ۲، این طرح همانند طرح ۱ می باشد. ولی اختلاف در وضعیت سوار نمودن مبرد (بصورت عمودی)، قسمت منحرف کننده و خروج اسانس می باشد. در این روش نصب مبرد تغییر کرده و اسانس نیز در قسمت بازوی (کناری) جمع آوری و عرق از طریق لوله به شکل U خارج می شود پس از اتمام زمان اسانس گیری می توان با باز نمودن شیر انتهایی اسانس را برداشت نمود. همچنین با برداشت درپوش بازوی کناری می توان اسانس را در فواصل زمانی معین با سرنگ برداشت نمود.

ج - روش تشخیص:

با استفاده از دستگاههای GC و GC/MS

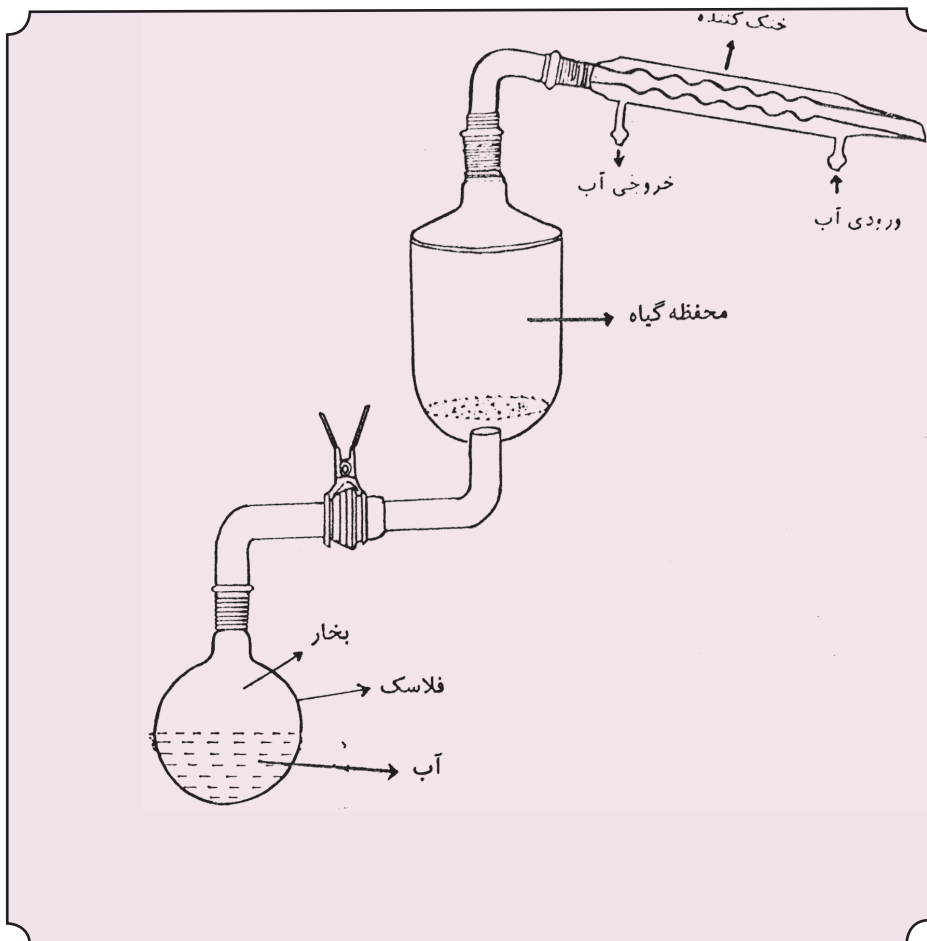
به شرح زیر است:

۱- دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC):

کروماتوگراف گازی مدل GC-9A Shimadzu مجهز به دکتور F.I.D. (یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن) و داده پرداز EuroChrom ۲۰۰۰ از شرکت Knauer آلمان، ستون DB-۱ که ستون غیر قطبی است به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون است. برنامه ریزی حرارتی ستون DB-۱، از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش دمای ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه انجام گردید. گاز حامل هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۲/۵ کیلو گرم بر سانتیمتر مربع تنظیم شده است. نسبت شکافت برابر ۱ : ۱۰۰، برای رقیق کردن نمونه استفاده گردید. دمای قسمت تزریق ۲۲۰ درجه سانتیگراد و دمای آشکار ساز ۲۵۰ درجه سانتیگراد محاسبه گردیده است.

۲- تجزیه با دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج**جرمی (GC/MS):**

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی ۳۴۰۰ Varian متصل به



شکل شماره ۱: دستگاه تقطیر با بخار (به طور غیر مستقیم) آقای توش (J. Touche)

برای سرد نگهداشتن آن باشد. میزان دما در دستگاه حرارتی (هیتر) بایستی تنظیم شده باشد تا از جوشیدن زیاد جلوگیری شود و مایع با سرعتی یکنواخت و آرام تقطیر گردد.

Touche یکی از کارشناسان UNDP طی سفری که در سال ۱۹۹۵ به ایران (موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع) داشتند، دستگاه تقطیر با بخار را (بالن شیشه ای یک لیتری که ۷۵ تا ۱۰۰ گرم گیاه خشک گنجایش دارد) به ایران آوردند. این دستگاه به سیم مولد گرمایی (Heating cord) جهت انتقال گرما مجهز بود (شکل ۱). گرچه این دستگاه جهت اسانس گیری ساخته شده بود ولی برای انتقال بخار و نصب آن، زمان استخراج اسانس با مشکلاتی روبرو بودیم، از اینرو اقدام به طراحی و ساخت دستگاه تقطیر با بخار بطور مستقیم نمودیم، نصب این دستگاه به راحتی انجام می گیرد و مسیری را که بخار باید طی نماید کوتاه شده است و طی آزمایشات انجام شده در بعضی موارد قابلیت بالاتری جهت تهیه اسانس به همراه دارد.

درصد اسانس گیاه را ترکیب پلی استیلینی به نام ماتریکاریا استر تشکیل می دهد. این مقدار در سایر گونه های بابونه، از جمله ایران و نیز با توجه به خصوصیات ضد قارچی، ضد میکروبی، ضد التهابی، نematod کش و ضد لارو این ترکیبها این گونه، می تواند برای صنایع دارویی کشورمان بیشتر مورد توجه باشد. در ضمن با بررسی و مقایسه روشهای عنوان شده در بالا تاثیر نحوه استخراج بر میزان و نوع ترکیبهای موجود در گونه بابونه کاذب مشخص گردید.

بررسی حاضر در مقایسه با تحقیقات صورت گرفته روی این گونه با در نظر گرفتن شرایط مناطق مختلف، نشان می دهد که بعضی از ترکیبها (هرچند جزئی) از جمله *guaiol*، *bulnesol*، و *spathulenol* در گونه های خارجی موجود نمی باشد در صورتیکه در همین گونه ایرانی با شرایط مختلفی که برای استخراج اسانس در نظر گرفته شده است، می توان ترکیبها را با درصد های مختلف ملاحظه نمود. از آنجا که میزان اسانس و درصد ترکیبها از جمله ترکیب ترانس - ترانس ماتریکاریا استر در طرح شماره یک و دو به ترتیب (۳۱/۹)

طیف سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله یونی^۱ و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت. ستون مورد استفاده مانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC می باشد. درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردیده است.

شناسایی طیفها به کمک شاخص های بازداری آنها که با تزریق هیدروکربن های نرمال (C۲۵ - CV) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس ها و توسط برنامه کامپیوتری نوشته شده به زبان بیسیک محاسبه گردیدند و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده (۸ و ۹) و نیز با استفاده کتابخانه ترپنوییدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تایید گردیدند. محاسبه های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز ۲۰۰۰ FuroChrom به روش نرمال کردن سطح^۲ و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ^۳ مربوط به طیفها انجام شده است.

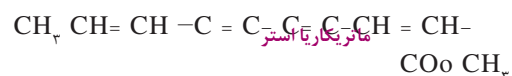
نتایج

نمونه مورد آزمایش به دو روش کلاسیک تقطیر با بخار (طرح شماره ۱ و طرح شماره ۲، جایمند - رضایی) اسانسگیری شد. بازده اسانس به روش تقطیر با بخار به ترتیب ۰/۳۷ و ۰/۲۱ درصد بدست آمده است، و جدول (شماره ۱)، اختلاف نتایج بر روی یک گونه گیاهی به طور همزمان با دو مدل دستگاه تقطیر با بخار را نشان می دهد.

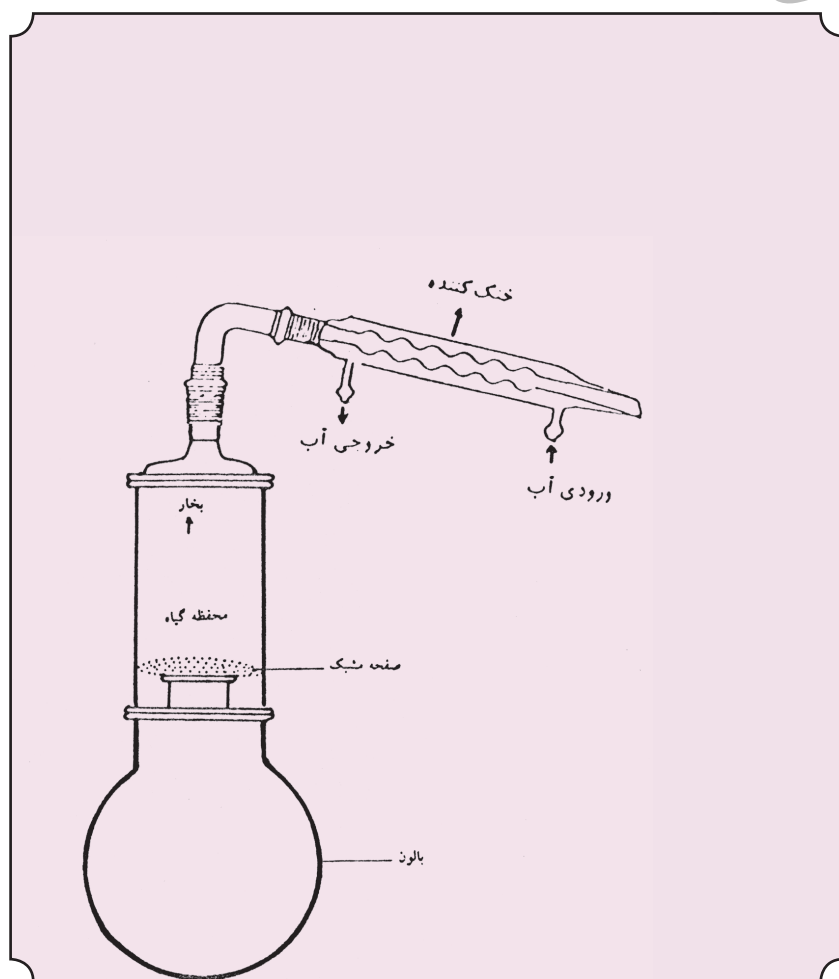
بحث

شایان ذکر است که امروزه در سطح دنیا توجه خاصی به گیاهان دارویی جهت تهیه داروهای گیاهی شده است. از جمله گیاهانی که از زمانهای بسیار قدیم مورد توجه بوده، گیاه بابونه دارویی است.

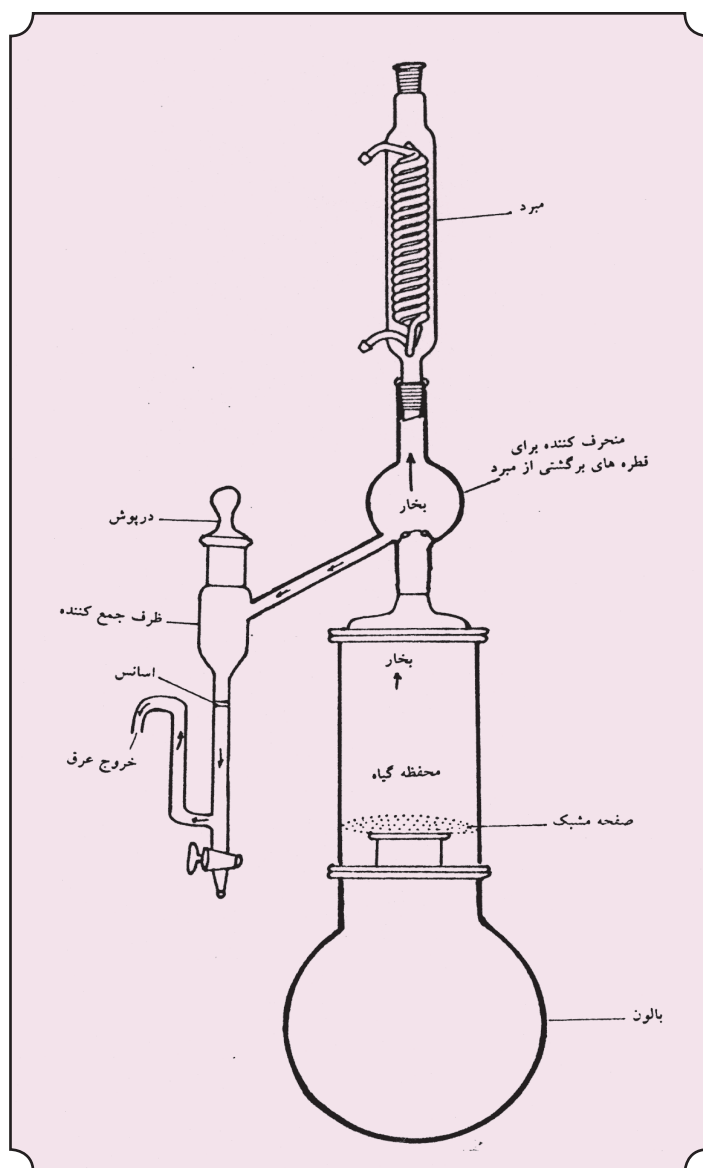
در این تحقیق به بررسی اسانس بابونه کاذب پرداخته ایم، البته بررسیهایی در سال ۱۹۷۰ و ۱۹۶۹ توسط دو دانشمند روسی بر روی ترکیبهای این گیاه انجام شده است (۱۰، ۱۱). Bohlmann گزارش نموده است که بخش اسیدی فرمول ترانس - ماتریکاریا قبلاً شناسایی شده بود.



استرها و کتونهایی از این اسید استیلینی در گیاهان مختلف، مخصوصاً در خانواده Asterae و Anthemideae گزارش شده است. ولی این ترکیب در بابونه کاذب شناخته شده است (۱۲). همچنین در تحقیق انجام شده، از پانزده ترکیب شناسایی شده فقط ۶۱



شکل شماره ۲ : دستگاه تقطیر با بخار (طرح شماره ۱) جایمند



درصد) و (۵۱ درصد)، ولی ترکیب viridiflorene به ترتیب با (۴۱/۲ درصد) و (۱۳ درصد) می باشد. بنابراین برحسب نیاز صنایع مختلف می توان روش مناسب جهت استحصال ماده مورد نظر را انتخاب و عمل نمائیم.

در جائیکه کیفیت طبیعی اسانس بستگی به عوامل ذاتی (ژنتیک یا قابلیت وراثت از ساقه ، وضعیت بلوغ گیاه ، و غیره) و عوامل بیرونی (نور خورشید ، آب ، حرارت ، فشار ، بلندی ، عرض جغرافیایی ، خاک و غیره) دارد. بعلاوه شرایط استخراج اسانس در گیاه و نوع دستگاه تقطیر نیز از اهمیت خاصی برخوردار است. بنابراین با شناخت درست از منطقه رویش و روش استخراج می توان بیشترین بازده و بهترین کیفیت طبیعی اسانس را بدست آورد .

شکل شماره ۳- دستگاه تقطیر با بخار روش
جایمند- رضایی (طرح شماره دو)

پاورقی

- 1 - Ion trap
- 2 - Area normalization method
- 3 - Response factors

منابع منابع مورد استفاده

- ۱- قهرمان ، احمد . ۱۳۷۵ . فلور رنگی ایران ، جلد ۱۵ ، شماره ۱۸۷۱ ، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع .
- ۲- مظفریان ، ولی ۱۳۷۷ فرهنگ نامهای گیاهان ایران ، صفحه ۵۶۰ ، شماره ۷۸۱۶ ، انتشارات فرهنگ معاصر .

8-P.Sandra and C.Bicchi, "Chromatographic method, Capillary Gas Chromatography in Essential oil analysis", Chapter 8, Retention Indices in Essential Oil analysis ,259-274.

9-N.W.Davies, Gas Chromatographic retention Index of monoterpenes and Sesquiterpenes on methyl silicon and carbowax 20 M phases. J. Chromatogr.,503, 1-24, (1990).

10-Harald,G. 1969. Natur Wissenschaften, 56(9), 467-8.

11- Zittel – Eglsser,K. ; Jurrenitsch,J. ; Franz,C. 1991. Planta Med. 57(5),444-6.

12- Bohlmann, F. and Jastrow, H. 1962. Chem. Ber., 95,1742.

3-Farrel,IW. ; Jones,H.C.A. ; Thaller,E.R.H. ; Vikto,J. 1987. J. Chem. Res. Synop. (7),2345.

4-Proksa,B. ; Uhrin,D. ; Fuska,J. 1991 . J. Chem. Pap.,45 (6), 837-844.

5-Rose,A.F. ; Butt,B.A. ; Tibor,J . 1980 . Phytochemistry , 19 (4), 563-566.

6-Yasuo, K. ; Masaaki, M. ; Akinori, S. ; Akio, K. 1981. Agric. Biol. Chem. ,45(12), 2415-7.

7- Binder, R.G. ; Ghan,B.G. ; Ellige,C.A. 1979. Agric. Biol. Chem.,43(12),2476-81.

جدول شماره ۱- شناسایی ترکیبهای اسانس بابونه کاذب توسط دو دستگاه تقطیر با بخار بر روی ستون ۱-DB.

ردیف	نام ترکیب	R.I	طرح ۱-	طرح ۲-
۱	bornyl acetate	۱۲۸۴	---	۱/۲
۲	(E)- cinnamyl acetate	۱۴۳۳	۲/۹	۳/۹
۳	(E)-ethyl cinnamate	۱۴۶۳	۴/۹	۱/۶
۴	germacrene D	۱۴۷۵	۲/۱	۵/۸
۵	viridiflorene	۱۴۸۶	۴۱/۲	۱۳/۰
۶	trans -trans- matricaria ester	۱۵۰۲	۳۱/۹	۵۱/۰
۷	β - sesquiphellandrene	۱۵۰۶	۸/۸	۵/۹
۸	trans- calamenene	۱۵۰۹	۰/۹	---
۹	trans - matricaria ester	۱۵۲۷	۴/۹	۹/۸
۱۰	spathulenol	۱۵۶۸	---	۱/۴
۱۱	viridiflorol	۱۵۷۹	---	۰/۸
۱۲	guaiol	۱۵۸۷	---	۱/۸
۱۳	bulnesol	۱۶۵۸	۰/۸	۱/۴
۱۴	hydroxy ۴- coumarin	۱۷۲۴	۱/۴	۱/۶
۱۵	(E , E) - farenstyl acetate	۱۸۲۲	---	۰/۷

RI* = شاخصهای بازداری روی ستون ۱-DB.