

استخراج و شناسایی ترکیبهای فرار *Echinophora sibthorpiana* Guss.

فاطمه سفیدکن^۱

چکیده

جنس *Echinophora* در ایران ۴ گونه گیاه علفی چند ساله معطر دارد که دو تای آنها انحصاری ایران هستند و دو تای دیگر علاوه بر ایران در آناتولی، ارمنستان، ترکمنستان، افغانستان، شبه جزیره بالکان، کرت، قبرس و سوریه نیز می‌رویند.

در این تحقیق، اندامهای هوایی گیاه خوشاریزه معطر *Echinophora sibthorpiana* (Guss.) در زمان گلدهی کامل، از رویشگاه طبیعی خود در اطراف تهران، جمع‌آوری گردید و پس از خشک شدن در سایه و دمای محیط به روش تقطیر با بخار آب، اسانس‌گیری شد. پس از رطوبت زدایی از اسانس، بازده اسانس نسبت به وزن گیاه خشک محاسبه گردید. اسانس حاصله با استفاده از دستگاه گازکروماتوگراف (GC) و گازکروماتوگراف متصل شده با طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت.

در اسانس *Echinophora sibthorpiana* هفده ترکیب شناسایی شد که ترکیبهای اصلی دلتا-۳-کارن (۳۱/۸٪)، آلفا-فلاندرن (۳۱/۰٪) و متیل اوژنول بودند. اسانس این گونه به دلیل دارا بودن مقادیر قابل توجهی از دلتا-۳-کارن و آلفا-فلاندرن که هر دو از ترکیبهای بسیار معطر و مورد استفاده در صنایع عطرسازی و آرایشی-بهداشتی هستند می‌تواند مفید و قابل استفاده باشد.

واژه‌های کلیدی: خوشاریزه معطر، *Echinophora sibthorpiana* Guss. اسانس، دلتا-۳-کارن، آلفا-فلاندرن، متیل اوژنول.

۱- عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، پست الکترونیکی: frsef@rifr-ac.ir

مقدمه

جنس خوشاریزه در ایران ۴ گونه گیاه علفی چند ساله معطر دارد دو گونه آن به نامهای *cinerea* و *platyloba* انحصاری ایرانند و دو گونه دیگر به نامهای *sibthorpiana* و *orientalis* علاوه بر ایران در آناتولی، ارمنستان روسیه، ترکمنستان، افغانستان، شبه جزیره بالکان، کرت، قبرس و سوریه نیز می‌رویند (مظفریان، ۱۳۷۵).

E. sibthorpiana گیاهی است پایا یا دو ساله، معطر، به ارتفاع ۲۰ تا ۵۰ سانتیمتر، کرکینه پوش، با کرکهای کوتاه و خوابیده بر هم، ساقه آن ضخیم و سخت است. این گیاه دارای گلهای زرد کم‌رنگ با گلبرگهای کرکدار، غیر شعاعی، مجتمع در چترهای متعدد است. موسم گل این گیاه خرداد و تیر می‌باشد. تصویری از *E. sibthorpiana* در شکل شماره ۱ دیده می‌شود (قهرمان، جلد ۱۴).

انتشار جغرافیایی *E. sibthorpiana* در شمال و غرب ایران، منطقه البرز و بخش مرکزی ایران می‌باشد.

اسانس اندام هوایی *E. sibthorpiana* (جمع‌آوری شده از طالقان) در پاکستان مورد مطالعه قرار گرفته است (Ahmed et al, ۱۹۹۹). دوازده ترکیب در این اسانس شناسایی شده که عمده‌ترین آنها را متیل اوژنول (۰/۵۰/۴)، آلفا-فلاندرن (۰/۱۶/۳)، دلتا-۳-کارن (۰/۱۷/۴)، پارا - سیمن (۰/۸/۳) و بتا فلاندرن (۰/۳/۷) تشکیل می‌دهند.

گونه‌های دیگری از جنس خوشاریزه از نظر کمیت و کیفیت اسانس مورد مطالعه قرار گرفته است که به طور خلاصه در اینجا ذکر می‌شود.

ترکیبهای فرار اندامهای هوایی *Echinophora cinerea* (Boiss.) Hedge در ایران بوسیله GC و GC/MS مطالعه شده است. ۲۷ ترکیب شناسایی شده که عمده‌ترین آنها آلفا-فلاندرن (۰/۴۰/۶)، آلفا-پینن (۰/۱۶/۵)، بتا-فلاندرن (۰/۹/۸)، پارا - سیمن (۰/۷/۵)، لینالول (۰/۵/۴) و سیترونلول (۰/۴/۸) بوده است (Sajjadi et al, ۲۰۰۲).

در تحقیق دیگری، در اسانس سرشاخه گلدار *Echinophora cinerea* از استان فارس ۱۹ ترکیب شناسایی شده که آلفا-فلاندرن (۰/۶۱/۴)، بتا-فلاندرن (۰/۱۰/۷)، آلفا-پینن (۰/۹/۶) و پارا - سیمن (۰/۶/۱) ترکیبهای عمده اسانس بوده‌اند (Ahmadi et al, ۲۰۰۱).

اسانس سرشاخه *E. tenuifolia* subsp. *Sibthorpiana* در ترکیه در سه زمان برداشت (فروردین، اردیبهشت و خرداد) با بازده ۰/۹، ۱/۳ و ۱/۱ بدست آمده است. ترکیبهای اصلی شناسایی شده در هر سه اسانس که به ترتیب ۰/۸۷/۲۵، ۰/۹۶/۹۱ و ۰/۹۷/۳۸ اسانس را تشکیل داده‌اند شامل دلتا-۳-کارن، متیل اوژنول و آلفا-فلاندرن بوده‌اند (Ozcan et al, ۲۰۰۳).

در اسانس *E. chrysantha* ۱۷ ترکیب شناسایی شده که ترکیب اصلی آلفا-فلاندرن بوده است (Baser et al, ۱۹۹۶).

در اسانس *E. lamondiana* از ترکیه نیز ۴۳ ترکیب تشخیص داده شده است که دلتا-۳-کارن (۰/۴۸)، آلفا-فلاندرن (۰/۲۷/۷) و پارا - سیمن (۰/۷/۴) اجزای عمده اسانس بوده‌اند (Baser et al, ۲۰۰۲).

تحقیقاتی نیز در مورد اثرات ضد میکروبی اسانس *E. tenuifolia* انجام شده است (Akin et al, ۲۰۰۱ و Aridogan et al, ۲۰۰۲) و مشخص شده که اسانس این گونه فعالیت ضد باکتری دارد.

در این تحقیق اندام هوایی *E. sibthorpiana* در فصل گلدهی از ولنجک (شمال تهران) جمع‌آوری گردیده و اسانس آن مورد مطالعه قرار گرفته که نتایج حاصله شباهتها و تفاوت‌هایی را با نتایج کار انجام شده در پاکستان نشان می‌دهد.



شکل شماره ۱- تصویر گیاه *Echinophora sibthorpiana* Guss

روش کار

الف- جمع آوری گیاه و استخراج اسانس

اندامهای هوایی گیاه خوشاریزه معطر (*Echinophora sibthorpiana*) از یکی از رویشگاههای طبیعی آن در ولنجک (شمال تهران)، در مرحله گلدهی کامل جمع آوری گردید. پس از تأیید شناسایی گیاه توسط هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، گیاه در سایه و دمای مناسب برای خشک شدن قرار گرفت. پس از رسیدن رطوبت گیاه به ۵ درصد، آن را مقداری خرد کرده و به روش تقطیر با بخار آب، اسانس استخراج گردید و توسط سولفات سدیم رطوبت زدایی شد. بازده اسانس نسبت به وزن گیاه خشک، ۰/۶۸٪ بدست آمد.

جهت تعیین رطوبت گیاه در زمان اسانس گیری، مقدار ۵ گرم از گیاه در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و پس از رسیدن به وزن ثابت، میزان رطوبت و درصد آن محاسبه گردید.

ب- شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده

پس از تزریق اسانسها به دستگاه گازکروماتوگراف (GC) و یافتن مناسبترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانسهای حاصله با دی کلرو متان رقیق شده و به دستگاه گازکروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شده و طیفهای جرمی و کروماتوگرامهای مربوطه بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، اندیس بازداری کوتاه، مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با ترکیبهای استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیبهای تشکیل دهنده اسانسها، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت. برای محاسبه اندیسهای بازداری از تزریق هیدروکربنهای نرمال ۹ تا ۲۲ کربنه، در شرایط برنامه‌ریزی حرارتی ستون (مشابه با تزریق نمونه) استفاده گردید.

ج- مشخصات دستگاههای مورد استفاده

دستگاه GC

گازکروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر می‌باشد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۴۰ درجه سانتیگراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۴ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۵۰ درجه سانتیگراد رسیده است. دمای محفظه تزریق و دتکتور ۲۶۰ درجه (یعنی ۱۰ درجه از آخرین دمای ستون بالاتر) تنظیم شده است. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و از گاز

هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شده است. که با سرعت ۳۲ سانتیمتر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است.

دستگاه GC-MS

گاز کروماتوگراف واریان ۳۴۰۰ کوپل شده با طیف سنج جرمی از نوع تله یونی. ستون DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است. برنامه ریزی حرارتی ستون شبیه به برنامه ریزی ستون در دستگاه GC بوده است. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بالاتر از دمای نهایی ستون (۲۶۰ درجه سانتیگراد) تنظیم شده است. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتیمتر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است.

نتایج

راندمان اسانس با تعیین درصد رطوبت هر نمونه در زمان اسانس گیری، نسبت به وزن خشک گیاه محاسبه گردید. بازده اسانس خوشاریزه معطر ۰/۶۸٪ بدست آمد. پس از بدست آوردن کروماتوگرامها و طیفهای جرمی، با محاسبه اندیس کواتس و درصد کمی ترکیبهای و نیز با مطالعه طیفهای جرمی و با استفاده از اندیسهای کواتس ذکر شده در منابع بر روی ستون DB-1 در منابع (Davies, ۱۹۹۰ و Shibamoto, ۱۹۸۷)، اقدام به شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس گردید. نتایج حاصل از آنالیز اسانس در جدول ۱ و کروماتوگرام مربوط به آن در شکل شماره ۲ دیده می شود.

با مطالعه طیفهای جرمی و محاسبه اندیسهای بازداری کواتس، ۱۷ ترکیب در اسانس سرشاخه گلدار خوشاریزه معطر، شناسایی شد.

عمده‌ترین ترکیبهای شناسایی شده در این اسانس، دلتا-۳-کارن (۳۱/۹٪)، آلفا-فلاندرن (۳۱/۰٪)، متیل اوژنول (۱۶/۹٪) و بتا-فلاندرن (۵/۳٪) بودند. میرسن به میزان ۲٪ و گاما-ترپینن به میزان ۱/۲٪ در اسانس وجود داشت.

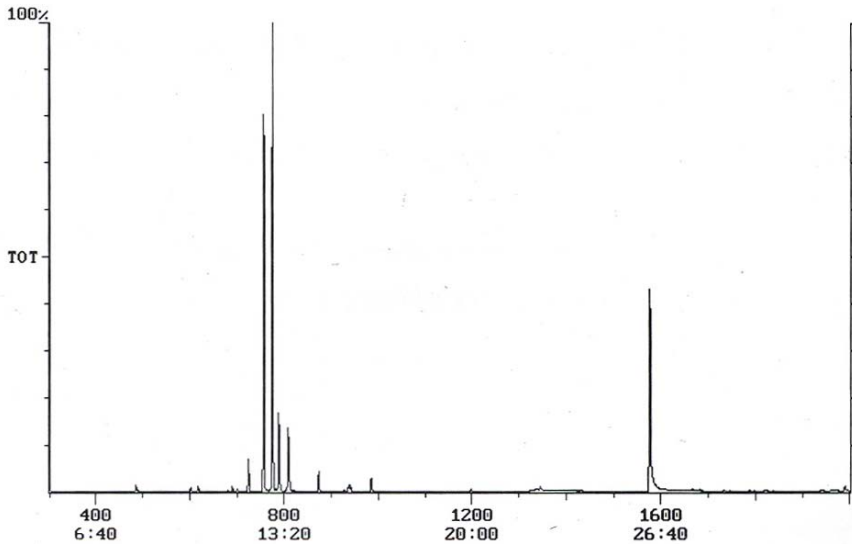
جدول شماره ۱- ترکیبهای موجود در اسانس اندام هوایی

(Echinophora sibthorpiana)

ردیف	نام ترکیب	اندیس کواتس	(٪)
۱	α -thujene	۹۲۱	۰/۱
۲	α -pinene	۹۲۹	۰/۳
۳	sabinene	۹۶۴	۰/۳
۴	β -pinene	۹۷۰	۰/۱
۵	myrcene	۹۸۱	۲/۰
۶	α -phellandrene	۱۰۰۰	۳۱/۰
۷	δ -3-carene	۱۰۰۸	۳۱/۹
۸	p-cymene	۱۰۱۳	۴/۷
۹	limonene	۱۰۱۸	ناچیز
۱۰	β -phellandrene	۱۰۲۱	۵/۳
۱۱	(Z)- β -ocimene	۱۰۳۷	۰/۱
۱۲	(E)- β -ocimene	۱۰۴۱	ناچیز
۱۳	γ -terpinene	۱۰۴۹	۱/۲
۱۴	terpinolene	۱۰۷۷	۰/۵
۱۵	1,3,8-p-menthatriene	۱۰۹۹	۱/۱
۱۶	trans-anethole	۱۲۶۹	۰/۲
۱۷	methyl eugenol	۱۳۷۷	۱۶/۹

اندیس‌های کواتس بر حسب ستون DB-1 محاسبه گردیده‌اند.

ناچیز - کمتر از ۰/۰۵٪



شکل شماره ۲- کروماتوگرام اسانس *Echinophora sibthorpiana*

بحث

مقایسه این نتایج با تحقیق انجام شده در پاکستان بر روی اسانس همین گونه (Ahmed *et al*، ۱۹۹۹) نشان داد که گرچه ترکیبهای عمده مشابه هستند اما میزان آنها بسیار متفاوت است. به طوری که دلتا-۳-کارن که با میزانی حدود ۳۲٪ ترکیب اصلی اسانس مورد بررسی را تشکیل می دهد در نمونه مورد تحقیق در پاکستان به عنوان ترکیب دوم و به میزان ۱۷/۴٪ وجود داشته است. از طرفی متیل اوژنول که در اسانس این نمونه به عنوان ترکیب اصلی بیش از ۵۰٪ اسانس را به خود اختصاص داده است در اسانس مورد بررسی ما ۱۷٪ بوده است. این تفاوتها در ترکیب اسانس می تواند مربوط به زمان برداشت گیاه یا محل رویش و شرایط اقلیمی منطقه برداشت آن باشد.

مقایسه ترکیب اسانس *E. sibthorpiana* با دیگر گونه های این جنس نشان می دهد که آلفا-فلاندرون که یکی دیگر از ترکیبهای عمده این اسانس است در اسانس

E. chrysantha, (۲۰۰۱), Ahmadi et al و ۲۰۰۲, Sajjadi et al) *E. cinerea* (Baser et al, ۱۹۹۶) و همچنین *E. lamondiana* (Baser et al, ۲۰۰۲) نیز به عنوان یکی از ترکیبهای اصلی حضور دارد. در حالیکه متیل اوژنول در اسانس *E. tenuifolia* subsp. *Sibthorpiana* از اجزای اصلی است (Ozcan et al, ۲۰۰۳). دلتا-۳-کارن نیز در اسانس *E. lamondiana* عمده ترین ترکیب است.

همچنین می توان از این بررسی نتیجه گرفت که با توجه به اینکه اسانس *E. tenuifolia* دارای خاصیت ضد باکتری است و اجزای اصلی آن مشابه با اسانس *E. sibthorpiana* هستند اسانس حاضر نیز می تواند خواص ضد باکتری داشته باشد. دلتا-۳-کارن و ایزومرهای آلفا- و بتا-فلاندرن همگی از ترکیبهای مهم مورد استفاده در عطرسازی و صنایع آرایشی - بهداشتی هستند. بنابراین به نظر می رسد از اسانس این گیاه که رایحه دلپذیر گیاه را به همراه دارد می توان در این گونه صنایع استفاده کرد.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع که امکانات لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند سپاسگزارم. همچنین از همکاران محترم گروه شیمی گیاهی بخش تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، بویژه آقایان محمد مهدی برازنده و مهدی میرزا که در طول اجرای تحقیق نهایت همکاری را داشته اند تشکر می کنم.

منابع مورد استفاده

- مظفریان، و. ا.، ۱۳۷۵. فرهنگ نامهای گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.
- قهرمان، ع.، فلور رنگی، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، جلد ۱۴.
- Ahmad, V.U., Jassbi A.R., 1999. Analysis of the essential oil of *Echinophora sibthorpiana* Guss. By means of GC, GC/MS and C-NMR techniques, *J. Essent. Oil Res.*, 11; 107-108.
- Ahmadi, L., Mirza, M., Khorram, M.T., 2001. Essential oil of *Echinophora cinerea* (Boiss) Hedge and Lamond from Iran, *J. Essent. Oil Res.*, 13; 82-83.
- Akin, M., Aktumsek, A., Okur O., 2001. Investigation of antimicrobial activities of some essential oils against some animal pathogens, *Veterinarium*, 12; 83-85.
- Aridogan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasar D., Mumcu E., 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils, *Archives of Pharmacal Research*, 25; 860-864.
- Baser, K.H.C., Bicakci, A., Malyer, H., 2000. Composition of the essential oil of *Echinophora lamondiana*, *J. Essent. Oil Res.*, 12; 147-148.
- Baser, K.H.C., Ozek, T., Demircakmak, B., Bicakci, A., Malyer, H., 1996. Essential oil of *Echinophora chrysantha*, *J. Essent. Oil Res.*, 8; 433-434.
- Davies B. W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. *J. Chromatogr*, 503: 1-24.
- Ozcan M., Akgul A., 2003. Essential oil composition of Turkish pickling herb (*Echinophora tenuifolia*), *Acta Botanica Hungarica*, 45; 163-167.
- Sajjadi, S.E., Ghannadi A., 2002. Composition of the essential oil of *Echinophora cinerea* (Boiss) Hedge et Lamond, *J. Essent. Oil Res.*, 14; 114-115.
- Shibamoto T., 1987. Retention Indices in Essential Oil Analysis, In: *Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis*. Edits., P. Sandra and C. Bicchi, p 259-274, Huethig, Verlag, New York.

Vol. 20 No. (2), 149-158 (2004)

Extraction and Identification of Volatile Components of *Echinophora sibthorpiana* Guss.

F. Sefidkon¹

Abstract

The genus of *Echinophora* presents 4 aromatic species in Iran, two of them are endemic.

In this research, the aerial parts of *E. sibthorpiana* were collected in full flowering stage, from Tehran Provinc (north of Tehran). The plant materials were dried in room temprature and the essential oil isolated by steam distillation. The oil was analyzed by capillary GC and GC/MS. Among 17 compounds identified, the major components were delta-3-carene (31.8%), alpha-phellandrene (31.0%), methyl eugenol (16.9%), beta-phellandrene (5.3%) and p-cymene (4.7%).

This oil could be used in cosmetic-hygenic industries because of the high amounts of delta-3-carene and alpha-phellandrene. These compounds have very good smells and used in perfumes.

Key Words: *Echinophora sibthorpiana* Guss., Umbelliferae, essential oil, delta-3-carene, alpha-phellandrene, methyl eugenol.

1- Research Institute of Forests and Rangelands, P. O. Box :13185-116, Tehran.
E-mail : frsef@rifr-ac.ir