

## شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *Ribes spp.* بومی استان گیلان

شهرام صداقت حور

گروه زیست شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

### چکیده

شاخساره گیاه *Ribes biebersteinii* از ارتفاعات داماش رودبار جمع آوری و پس از تایید نام علمی صحیح آن، به روش تقطیر با آب مورد اسانس گیری قرار گرفت. بازده اسانس در این آزمایش معادل ۰/۳۸ درصد بود. ترکیبات متشکله روغن اسانسی بدست آمده به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد شناسایی قرار گرفت. ۱۴ ترکیب در اسانس شاخساره این گیاه شناسایی شد که ترکیبهای اصلی آن Hexadecanoic acid (۵۶/۴٪)، Tetradecanoic acid (۱۰/۵٪)، Dodecanoic acid (۵/۷٪) و B-Ionone (۵/۳٪) بودند.

واژه‌های کلیدی: *Ribes biebersteinii*، اسانس، اسید هگزادکانوئیک، بتا- یونین

### مقدمه

نیاز و توجه بشر به گیاهان و درک اثر آنها قدمتی دیرینه دارد. گیاهان را می‌توان شالوده طب سنتی، اساس فیتوشیمی و داروسازی، پایه طعم دهنده‌های کم نظیر در صنایع غذایی و عامل منحصربفرد خوشبوکنندگی در صنایع بهداشتی دانست.<sup>(۱)</sup> امروزه استفاده از روغنهای اسانسی در صنایع مختلف به قدری وسیع است که در بسیاری از کشورها مقادیر زیادی از این اسانسها به صورت سنتزی تهیه می‌شوند. اسانسهای طبیعی به دلیل عدم وجود خطرات ناشی از آلودگی با مواد شیمیایی بسیار قابل توجه هستند.<sup>(۲)</sup> پنج گونه از جنس *Ribes* در ایران به طور طبیعی رشد می‌کند (جدول ۱). گونه‌ها و ارقام متعددی از این جنس در اروپا و آمریکا در سطح نسبتاً وسیعی پرورش داده می‌شود، این گیاهان به کورانت<sup>۱</sup> معروفند. کورانت‌ها متعلق به جنس *Ribes* و خانواده *Saxifragaceae* است.<sup>(۳،۴)</sup>

## 1- Currant

اکثر میوه‌هایی که بطور محدود و محلی از نباتات وحشی برداشت می‌شوند، قابلیت تبدیل شدن به محصولات اقتصادی را دارا هستند. تا جایی که در ایالات متحده، چندین شرکت برای برداشت میوه‌های وحشی کارگرانی استخدام می‌کنند. اگر گیاه مورد نظر قابلیت انتقال به شرایط زراعی و کشت در مقیاس تجاری را داشته باشد، می‌تواند بعنوان یک گیاه جدید با پتانسیل اقتصادی مناسب معرفی گردد.<sup>(۱)</sup> وجود چندین موسسه علمی و تجاری مربوط به جنس *Ribes* در اقصی نقاط جهان و برگزاری همایش بین‌المللی کشت رایبیس<sup>۱</sup> که هر چند سال یکبار در کشورهای مختلف جهان توسط انجمن بین‌المللی باغبانی برگزار می‌شود، دلیل بر اهمیت زیاد این جنس گیاهی در بین اهالی علم کشاورزی بالاخص باغبانی می‌باشد. با توجه به مطالب فوق الذکر و به خاطر اهمیت چند جانبه‌ای که برای گیاه رایبیس بومی گیلان متصور است موضوع این آزمایش شکل گرفت و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاهان *Ribes spp.* بومی استان گیلان مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به اینکه گونه‌های مشابه رایبیس ایرانی در کشورهای آمریکایی و اروپا بصورت وسیعی کشت و بهره‌برداری می‌شود لذا بررسی امکان کشت و مطالعه بیش از پیش آنها ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روشها

شناسایی *Ribes* و رویشگاههای آن

برای شناسایی این گیاه ابتدا مورد مطالعه دقیق قرار گرفت. متاسفانه اکثر گیاه شناسان<sup>(۵، ۶ و ۷)</sup> در معرفی اسم علمی و حتی فارسی آن اتفاق نظر نداشته و عمدتاً دو گیاه از جنس‌های متفاوت *Ribes* و *Vaccinium* را به خاطر تشابه میوه‌هایشان با نام قره‌قاپ معرفی کرده‌اند. براساس گزارش منابع معتبر<sup>(۵ و ۷)</sup> محل‌های رویش جنس *Ribes* در ایران متنوع بوده و چندین گونه از این جنس در مناطق مختلفی از ایران رشد می‌کنند (جدول ۱). چهار گونه از این جنس به طور بومی و خودرو در ارتفاعات رشد می‌کنند که متاسفانه گاهی به اشتباه به برخی از گونه‌های آن قره‌قاپ اطلاق شده است.<sup>(۶)</sup> جدول ۱ رویشگاههای طبیعی گونه‌های مختلف جنس *Ribes* در ایران را نشان می‌دهد. بررسی‌ها مشخص کرد که قره‌قاپ به جنس *Vaccinium* تعلق دارد.<sup>(۸)</sup> در حالی که گیاه مورد مطالعه به جنس *Ribes* متعلق است.

جدول ۱- رویشگاههای طبیعی گونه‌های مختلف *Ribes* در ایران<sup>(۵ و ۷)</sup>

ردیف	نام علمی	اسم فارسی	پراکندگی و محل رویش	محقق یا محققین
۱	<i>Ribes biebersteinii</i> Syn: <i>R. caucasicum</i>	قره قات	شمال و شمال غرب ایران: کوه‌های داماش (گیلان)، مازندران، آذربایجان	اسدی و وندلبو
۲	<i>R. khorasanicum</i> (انحصاری ایران)	-	شمال شرق ایران: خراسان	ثقفی، اسدی و همکاران
۳	<i>R. orientale</i> Syn: <i>R. melananthum</i>	آزاد درخت، خرس انگور	شمال، شمال غرب، مرکز و جنوب شرق ایران: گرگان، مازندران، گیلان، آذربایجان، فارس، بلوچستان، جاده کرج- چالوس	قهرمان و اسدی و همکاران

قهرمان، مظفریان، وندلیو، اسدی و همکاران	شمال ایران: مازندران	گالش انگورک	R. uva-crispa L. Syn: R. grossularia	۴
-	این گونه بومی آمریکاست و بعنوان گیاه زیستی در پارکهای ایران کشت می شود.	-	R. aureum	۵

### جمع آوری گیاه

به منظور انجام این آزمایش ابتدا اقدام به شناسایی دقیق محل رشد این گیاه در منطقه داماش رودبار شد. در زمان میوه بندی (مرداد ماه)، نمونه هایی از اندام هوایی (عمدتا برگهای سالم) جهت استخراج اسانس تهیه و نمونه گیاهی جمع آوری شده در دمای اتاق و به دور از نور مستقیم خورشید خشک شد. حدود دو هفته تا بیست روز طول کشید تا همه اندامهای گیاهی به خوبی خشک شده و قابل انتقال بر روی مقوای مخصوص شدند.<sup>(۹)</sup> بعد از این مرحله شناسایی دقیق آن صورت گرفت.

### استخراج اسانس روغنی اندامهای هوایی

منظور استخراج اسانس این گیاه، ابتدا شاخ و برگ آن از روی شاخه آن یعنی ارتفاعات روبار (کوههای داماش) جمع آوری شد. نمونه گیاهی جمع آوری شده در دمای آزمایشگاه و به دور از نور مستقیم خورشید خشک شد.<sup>(۷ و ۹)</sup> بعد از خشک کردن شاخ و برگ، مقدار ۷۳ گرم از آن در بالن دو لیتری ریخته و مقداری آب مقطر به آن اضافه شد. اسانس گیری با استفاده از کلونجر<sup>۱</sup> انجام شد. مدت زمان لازم برای اسانس گیری این گیاه حدود ۴ ساعت (دو ساعت تا زمان جوش آمدن آب مقطر و حدود ۲ ساعت تا ایجاد فاز تقریباً مشخص اسانس) بود. برای تفکیک کامل فاز اسانس از آب، مقدار ۰/۵ سی سی حلال غیرقطبی هگزان نرمال به قسمتی از سیستم که اسانس در آن قرار گرفته، افزوده شد. اسانس به دست آمده از آزمایش و هگزان اضافه شده، به طریق فیزیکی از آب جدا و توزین گردید تا نهایتاً درصد اسانس موجود در این گیاه به دست آید.<sup>(۱۰ و ۱۱)</sup>

اسانس رقیق شده با هگزان با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد آنالیز قرار گرفت. برای آنالیز اسانس با استفاده از روش کوپل کروماتوگرافی با طیف سنج جرمی، مقدار ۱ تا ۲ میکرولیتر اسانس در دستگاه GC/MS تزریق گردید. شرایط دستگاه به شرح جدول ۲ بود.

جدول ۲ - شرایط دستگاه GC/MS

دمای ستون: ۲۲۰°C (5min) - ۶۰°C (3min)	ستون: HP-5 MS	HP-6890	: GC
طول ستون: ۳۰m	قطر ستون: ۰/۲۵ mm	HP-5973	: MAS
		انرژی MAS: 70ev	دمای تزریق: ۲۵۰ درجه سانتیگراد
			گاز حامل: هلیوم

<sup>۱</sup>. Cleverger

جداسازی، آنالیز و شناسایی مواد متشکله این روغن اسانسی توسط دستگاه GC/MS صورت گرفت. با استفاده از مقایسه طیفهای جرمی هر ترکیب با ترکیبات استاندارد و نیز مقایسه شاخص بازداری کوئین این ترکیبات با نمونه‌های استاندارد، شناسایی ترکیبات امکان‌پذیر گردید.

## نتایج و بحث

### معرفی گیاه

براساس گزارش اسدی<sup>(۶)</sup>، *Ribes biebersteinii* یا *R. caucasicum* تنها گونه‌ای است که در ارتفاعات داماش رودبار می‌روید. لذا تطابق خصوصیات این گیاه با منابع گیاهشناسی موجود و با نمونه تیپیک موجود در موسسه جنگلها و مراتع تهران انجام شد و نتیجه گرفته شد که این گیاه (شال انگور) همان *Ribes biebersteinii* است که دکتر اسدی از آن نام برده است.



شکل ۱- نمونه هرباریومی گیاه *Ribes biebersteinii* جمع آوری شده از ارتفاعات داماش رودبار

اسدی چند گونه از جنس *Ribes* را در مناطق مختلف ایران جمع کرده و یکی از آنها یعنی *Ribes khorasanicum* را انحصاری ایران معرفی می‌نماید. اما درباره گیاه مورد آزمایش، در فلور ایران شماره ۲۳ (خانواده انگور فرنگی<sup>۱</sup>) چنین آورده شده است:<sup>(۶)</sup>

*Ribes biebersteini* یا *Ribes caucasicum* درختچه‌ای به ارتفاع ۱/۵ تا ۳ متر، بدون خار، پهنک برگ به ابعاد ۸×۹ سانتیمتر، ۳ یا ۵ پنجه‌ای، در قاعده قلبی، سطح رو بدون کرک، سطح زیر به خصوص در امتداد رگبرگها و در حاشیه کرکی، خوشه به طول تا ۱۳ سانتیمتر با محور کرکی، آویزان. گلها نر ماده. کاسبرگها به طول حدود ۲ میلیمتر، گلبرگها به طول نصف کاسبرگها، بادبزی. پرچمها بلندتر از گلبرگها، خامه مخروطی باریک، تا نیمه دوشاخه، کمی کوتاهتر از پرچمها. میوه به قطر حدود ۸ میلیمتر، کروی، قرمز و بدون کرک می‌باشد.

<sup>۱</sup>.Grossulariaceae

زمان گلدهی آن نیمه دوم بهار و رسیدن میوه تابستان است. گیاه متعلق به منطقه خزری و اغلب در بین درختچه‌زارهای کوهستانی همراه با راش و بلوط دیده می‌شود. پراکندگی آن از نظر جغرافیایی شامل ترکیه، ایران و قفقاز بوده و در شمال و شمال غرب ایران از جمله کوههای داماش رودبار در ارتفاع ۱۹۰۰ متری یافت می‌شود.<sup>(۶)</sup> اسم محلی این گیاه در داماش "شال انگور" است که در برخی منابع به اشتباه قره‌قات ذکر شده است. قره‌قات نام فارسی گیاه دیگر با نام علمی *Vaccinium arctostaphylos* می‌باشد.<sup>(۷)</sup>

### روغنهای اسانسی شاخساره شال انگور (*Ribes biebersteini*)

روغن اسانسی بدست آمده از شاخساره گیاه مورد آزمایش به وسیله روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به دست آمد. بازده اسانس آن ۰/۳۸ درصد بود. جداسازی، آنالیز و شناسایی مواد متشکله این روغن اسانسی توسط دستگاه GC/MS صورت گرفت. با استفاده از مقایسه طیفهای جرمی هر ترکیب با ترکیبات استاندارد و نیز مقایسه شاخص بازداری کوآتس این ترکیبات با نمونه‌های استاندارد، شناسایی ترکیبات امکان‌پذیر گردید. نتیجه این بررسی تشخیص ۱۴ ترکیب با درصد کل ۹۳/۲۳٪ بود (جدول ۳) که از بین این ترکیبات *Hexadecanoic acid* (۵۶/۳۵٪)، *Tetradecanoic acid* (۱۰/۴۷٪)، *Dodecanoic acid* (۵/۶۸٪) و *B-Ionone* (۵/۳۰٪)، از درصد بالایی برخوردار بودند. شکل ۲، کروماتوگرام GC روغن اسانس حاصل از گیاه شال انگور را نشان می‌دهد.

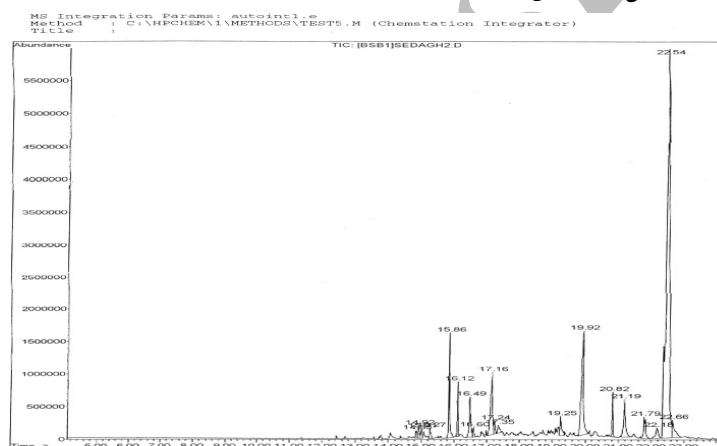
جدول ۳ - نوع و درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس اندام هوایی *Ribes*

ردیف	نام ترکیب	زمان بازداری	شاخص بازداری کوآتس	درصد
۱	2,4,6(1H,3H,5H)-Pyrimidinetrione,5-ethyl-5-isopropyl-	۱۴/۸۵	۱۲۹۳	۰/۴۵
۲	Anilinium-4-oxide,N,N-trimethyl-	۱۵/۲۷	۱۳۰۹	۰/۷۶
۳	Beta-Ionone	۱۵/۸۶	۱۳۳۲	۵/۳۰
۴	5-Decen-3-yne,2,2-dimethyl-,(z)-	۱۶/۱۲	۱۳۴۱۲	۲
۵	2-Pyrazinoic,1,2,dihydro-3-dihydro-3-isopropyl-1-methyl-	۱۶/۴۹	۱۳۵۶	۲/۸۵
۶	Methyl-ethyl-Naphthalene	۱۶/۵۹	۱۳۶۰	۰/۶۴
۷	Dodecanoic acid	۱۷/۱۶	۱۳۸۲	۵/۶۸
۸	Carbamic acid, benzoylmethyldithio-,methyl ester	۱۷/۲۳	۱۳۸۵	۰/۸۰
۹	$\alpha$ - Bisabolene	۱۹/۲۵	۱۴۶۵	۱/۵۴
۱۰	Tetradecanoic acid	۱۹/۹۲	۱۴۹۲	۱۰/۴۷

ادامه جدول ۳ ...

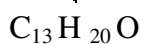
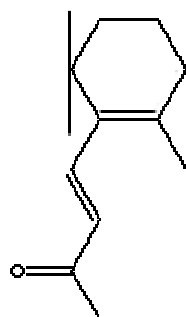
۱/۸۴	۱۵۳۰	۲۰/۸۲	Silane, ethyl-	۱۱
۲/۱۹	۱۵۷۲	۲۱/۷۹	Banzaldehyde,5-hydroxy-2-methyl-	۱۲
۵۶/۳۵	۱۶۰۵	۲۲/۵۵	Hexadecanoic acid	۱۳
۲/۳۶	۱۶۱۰	۲۲/۶۶	Heptanoic acid	۱۴

برخی از خویشاوندان اهلی گیاه شال انگور بخصوص کورانت سیاه (*Ribes nigrum*) به صورت اهلی تولید شده و به مصارف مختلف می‌رسد. <sup>(۴)</sup> مهمترین قسمت درختچه کورانت برای طعم دهنده‌گی، جوانه راکد آن است که دارای بوی نافذ و تند است. برخی از محققین ترکیبات گوگرد دار و برخی دیگر بعضی سزکویی ترین‌ها را عامل این بوی تند می‌دانند. طی آزمایشی بر روی جوانه‌های راکد کورانت سیاه ۱۹ مونوترپن، ۲۰ سزکویی ترپن، ۱۲ کربونیل، ۱۱ استر و ۳۴ الکل تشخیص داده شده است. <sup>(۱۲)</sup>



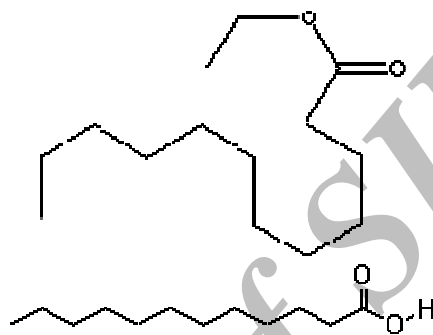
SEDAGH2.D TEST5.M Sun Sep 07 13:44:33 2003 GC Page 1

شکل ۲- کروماتوگرام GC روغنهای اسانس حاصل از گیاه شال انگور



شکل ۳- Beta-Ionone

از ترکیبات موجود در اسانس شال انگور، Beta-Ionone (شکل ۳) که بیش از پنج درصد اسانس را تشکیل می‌دهد، در عطر سازی، مواد آرایشی و طعم دهنده‌ها کاربرد دارد.<sup>(۱۰)</sup> از این مواد  $\alpha$ -Bisabolene در اسانس روغنی برخی از ارقام ریحان<sup>(۱۳)</sup> و  $\beta$ -bisabolene در Teucrium marum (از تیره Lamiaceae) گزارش شده است.<sup>(۱۴)</sup> این ترکیب یک سزکویی‌ترین است. دودکانوئیک اسید<sup>۲</sup> ( $C_{12}H_{24}O_2$ ) یکی از ترکیباتی است که تقریباً به مقدار نسبتاً زیادی در اسانس شال انگور تشخیص داده شده است. شکل ۴ ساختار شیمیایی دودکانوئیک اسید را نشان می‌دهد. این ماده از اسیدهای چربی است که در صنایع مختلف از جمله به عنوان حامل روغن در صنایع کشاورزی کاربرد دارد.



شکل ۴- ساختار مولکولی Lauric acid

تترادکانوئیک اسید<sup>۳</sup> نیز اسید چرب اشباع شده‌ای است که در اسانس مطالعه شده تشخیص داده شده است.

#### تقدیر و تشکر

از مساعدت و همکاری آقایان مهندس عرفت پور و مهندس لاریجانی که در اجرای این آزمایش بنده را یاری کرده‌اند قدردانی می‌نمایم.

1. Beta-Ionone or 4-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one; Irisone;
2. dodecanoic acid, dodecoic acid, hydrofol acid, hydrofol acid, Lauric acid
3. Tetradecanoic acid; myristic acid; n-tetradecan-1-oic acid; n-tetradecanoic acid

**References:**

1. Mirza, M., and ahmadi, L., *Pajohesh & Sazandegi.*, **35**, 31 (1997).
2. Mirza, M., Sefidcon, F. and ahmadi, L., *Natural Essence Extracting, Identification and Applications.*, Research Institute of Forests and Rangelands of Tehran (1996).
3. Finn, C., *Temprate Berry Crops. in: Perspectives on New Crops and New Uses. Edited by Janick, J.*, ASHS Press, New York ( 1999).
4. Sharma, S.D. and Sharma, H.S., *Currants. in: Temperate fruits.*, Edited by: Mitra, S.K., Bose, T.K., and Rathore, D. S., India (1991).
5. Azadbakht, M., *Medicinal Plants Classification.*, Taymorzadeh Press, Tehran (1999).
6. Asadi, M., *Iran's Flora 23*, Jihad Sazandegi press, Tehran (1997).
7. Sabeti, H., *Forests, Trees and Shrubs of Iran*, Yazd University Press, Yazd (1994).
8. Sedaghatoor, S., *Study of Botanical, Chemical and Horticultural Characteristics of Medicinal plant Qare-Qat (Vaccinium arctostaphylos L.)*, PhD Dissertation, Islamic Azad University, Science & Research Branch, Tehran (2004).
9. Rahiminejad, M.R., *Plant Systematic (classification principles and procedures)*, Academic press centre, Tehran (1990).
10. Baghalian, K., and Naghdibadi, H. A., *Volatile Oil Crops*, Andarz press, Tehran (2000).
11. Dadkhah, M., *Study and Identification of Stakis Plant in Alborz Area*, M.S. Thesis, Guilan University, Rasht (2003).
12. Piry, J., Pribela, A., durcanska, J., and Farkas, P., *Food Chem.*, **54**, 73 (1995).
13. Viña, A., and Murillo, E., *J. Braz. Chem. Soc.*, **14**, 744 (2003).
14. Ricci, D., Fraternali, D., Giamperi, L., Bucchini, N., Epifano, F., Burini, G., and Curini, M., *Journal of Ethnopharmacology*, **98**, 195 (2005).

Archive