

کارآیی دو ستون DB-5 و DB-1 در شناسایی ترکیبهای اسانس

Thymus fedschenkoi Ronniger

مهدی میرزا و لطیفه احمدی^(۱)

خلاصه

گیاه *Thymus fedschenkoi* Ronniger از خانوادهٔ نعناع (*Labiatae*) یکی از گونه‌های معطر آویشن با پراکنش نسبتاً وسیع در ایران است. استفاده از انواع آویشن به عنوان چاشنی همراه غذا، به عنوان دارو در درمان بیماریها در شکل‌های مختلف عرقیات، عصاره و یا دم‌کرده و نیز اسانس استخراج شده از آن مورد توجه می‌باشد. اسانس گیاه مذکور به روش تقطیر با بخار آب با بازده ۱٪ بر حسب وزن خشک گیاه بدست آمد. تجزیه و تحلیل ترکیبهای تشکیل دهندهٔ اسانس روی دو ستون نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین کارایی دو ستون DB-5 و DB-1 در شناسایی ترکیبها وجود ندارد. با توجه به وجود برخی ترکیبهای نیمه قطبی در اسانس، استفاده از ستون DB-5 با ۵٪ فنیل که به ستون، خاصیت نیمه قطبی می‌دهد، در جداسازی ترکیبها مناسبتر است. شناسایی ۲۹ ترکیب شیمیایی با دستگاه GC/MS نشان داد که ترکیبهای عمده شامل Thymol (3%)، α -terpinenyl acetate (66%)، Bornyl acetate (2%)، β -Caryophyllene (4.4%)، trans-Ocimene (5%) است.

مقدمه

آویشن نامی آشنا است که برای گروهی از گیاهان که به خانواده نعناع تعلق دارند بکار برده می‌شود. آویشن به جنس *Thymus* تعلق دارد که شامل گیاهانی چندساله، بوته‌ای یا علفی با قاعده خشبی و چوبی شده هستند. این جنس در منطقه معتدله شمالی از گرینلند تا کامچاتکا پراکنده است، لیکن بیشترین پراکندگی آن در منطقه مدیترانه و غرب آسیا می‌باشد. بیشترین تنوع را از نظر شکل در شبه جزیره بالکان می‌توان دید. تعداد گونه‌های گزارش شده این جنس از کشورهای مجاور و ایران عبارتند از:

در ترکیه ۳۷ گونه، شوروی ۱۳۶ گونه و از محدوده فلورا ایرانیکا ۱۷ گونه که ۱۴ گونه آن به کشور ایران تعلق دارد و بیشترین پراکنش را در نواحی شمالی، غربی، کوه‌های البرز و برخی استانهای جنوبی می‌توان دید. گونه *T. fedschenkoii* Ronniger نیز در استانهای شمالی، غربی، کوه‌های البرز، اطراف تهران و استانهای فارس و کرمان به صورت خودرو رویش دارد (۲).

مصرف آویشن در کشور ایران در طب سنتی سابقه‌ای دیرینه دارد. سرشاخه‌های گیاه به صورت دم کرده جهت برطرف کردن دردهای مفاصل و معده، بخور آن جهت رفع سرماخوردگی، پودر آن به عنوان چاشنی و ضدنفخ و عرق آن مصرفی سنتی دارد (۴).

از نظر ترکیب شیمیایی اغلب گونه‌های جنس تیموس حاوی مقادیر قابل توجهی اسانس هستند که مقدار آن با توجه به نوع گونه و محل رویش متفاوت است. اسانس استخراج شده از سرشاخه‌های گلدار گیاه بویی مطبوع و طعمی گوارا و عطری مطبوع دارد. کارواکرول و تیمول از ترکیبهای شاخص انواع تیموس و منشأ اصلی خواص آویشن به شمار می‌روند. اسانس آویشن اثری ضداسپاسم، ضد نفخ و ضد عفونی کننده قوی دارد. در داروسازی برای تهیه محلولهای غرغره و قطره‌های ضدسرفه، در دندانپزشکی برای تهیه محلولهای شستشوی دهان کاربرد دارد. از این اسانس به صورت محلولهای

الکلی در رفع برخی سوء هاضمه‌ها، اسهالهای ساده و دفع کرم استفاده می‌شود. همچنین اثرات درمانی در بیماریهای روماتیسمی و سیاتیک‌های مقاوم اسانس آویشن قابل توجه است (۳ و ۴).

Mericli از ترکیه در مطالعات خود نشان داد که میزان اسانس حاصل از اندامهای هوایی این گیاه ۱/۱٪ بوده است (۸).

همچنین Kasymov از کشور آذربایجان شوروی ۱۹ ترکیب را در اسانس این گونه گزارش نموده است که از میان آنها ۹ ترکیب شناسایی شده است (۷).

مواد و روشها

۱- جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه:

برگهای گیاه *T. fedschenkoi* Ronniger در مرحله قبل از گلدهی (مرحله تولید انشعابهای شاخه‌ای) از ارتفاعات منطقه دیلمان (۱۴۰۰ متر) در استان گیلان در اواخر فصل بهار سال ۱۳۷۵ جمع‌آوری شد. سپس در حرارت آزمایشگاه و دور از نور مستقیم خشک گردید.

شناسایی نمونه توسط همکاران هرباریوم در بخش تحقیقات گیاهشناسی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع صورت گرفت.

۲- استخراج و تعیین بازده اسانس:

میزان ۹۵ گرم از برگ گیاه توزین و اسانس آن به روش تقطیر با بخار آب (Steam distillation) استخراج شد. مدت زمان اسانس‌گیری ۴۵ دقیقه به طول انجامید و پس از طی مدت مذکور افزایش در حجم اسانس استخراج شده مشاهده نگردید. بازده اسانس درصد گرم ماده اولیه خشک ۰/۶٪ تعیین شد. اسانس حاصل پس از آگیری با سولفات سدیم در شیشه‌های غیرقابل نفوذ و تیره تا زمان تجزیه و تحلیل نگهداری شد.

۳- شناسایی ترکیبهای موجود در اسانس:

پس از رقیق سازی، ۱ میکرولیتر از محلول رقیق شده را با استفاده از دو ستون DB-5 و DB-1 به دستگاه GC/MS تزریق شد و مورد بررسی و شناسایی قرار گرفت.

الف- مشخصات دستگاه گاز کروماتوگراف / طیف سنج جرمی

گاز کروماتوگراف Varian 3400، کوپل شده با دستگاه طیف سنج جرمی (Saturn II) varian، ستون (5%-phenyl 95% methylpolysiloxane) DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و ستون (Dimethylpolysiloxane) DB-1 به طول ۶۰ متر، قطر ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، گاز حامل: هلیوم، سرعت گاز حامل 35 ml/min و انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت.

برنامه ریزی حرارتی GC: درجه حرارت ۲۵۰-۴۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتیگراد در هر دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد تعیین شد.

جدول شماره ۱- ترکیبهای شیمیایی موجود در اسانس *Thymus fedschenkoi* با استفاده از دو ستون DB-5 و DB-1

ردیف	نام ترکیب	K.I		٪
۱	α -Thujene	۹۳۱	۹۴۵	۰/۱
۲	α -Pinene	۹۳۸	۹۳۲	۳
۳	Camphene	۹۵۱	۹۴۷	۰/۶
۴	Sabinene	۹۷۲	۹۷۰	۰/۹
۵	β -Pinene	۹۷۷	۹۷۳	۰/۲
۶	Myrcene	۹۸۸	۹۱۶	۲/۸
۷	Terpinene (α)	۱۰۱۱	۱۰۱۳	۰/۱
۸	Cymene (P)	۱۰۱۸	۱۰۲۲	۱
۹	Limonene	۱۰۲۸	۱۰۲۶	۱/۶
۱۰	Ocimene (cis- β)	۱۰۳۲	۱۰۳۷	۰/۵
۱۱	Ocimene (trans- β)	۱۰۱۱	۱۰۱۷	۵
۱۲	Terpinene (γ)	۱۰۵۶	۱۰۵۷	۰/۶
۱۳	Terpinolene	۱۰۸۷	۱۰۸۷	۰/۱
۱۴	Linalool	۱۰۹۰	۱۰۹۸	۱/۴
۱۵	Camphor	۱۱۲۸	۱۱۳۹	۰/۲
۱۶	Borneol	۱۱۵۶	۱۱۶۵	۰/۲
۱۷	Terpineol (α)	۱۱۷۹	۱۱۹۰	۱/۸
۱۸	Sabinene hydrate acetate (cis)	۱۲۱۴	۱۲۵۳	۰/۱
۱۹	Linalyl acetate	۱۲۴۶	۱۲۵۴	۰/۲
۲۰	Thymol	۱۲۷۳	۱۲۹۲	۳
۲۱	Bornyl acetate	۱۲۷۶	۱۲۸۴	۲
۲۲	Carvacrol	۱۲۸۲	۱۲۹۸	۰/۲
۲۳	Terpinenyl acetate (α)	۱۳۳۸	۱۳۴۶	۶۶
۲۴	Bourbonene (β)	۱۳۹۲	۱۳۸۰	۰/۲
۲۵	Caryophyllene (β)	۱۴۲۶	۱۴۱۴	۴/۴
۲۶	Humulene (α)	۱۴۵۹	۱۴۴۹	۰/۱
۲۷	Germacrene D	۱۴۸۶	۱۴۷۸	۲/۲
۲۸	Germacrene B	۱۵۰۱	۱۴۹۵	۱
۲۹	Bisabolene (β)	۱۵۰۹	۱۵۱۱	۰/۷

※ درصدهای محاسبه شده با استفاده از ستون DB-5 است.

بحث و نتایج

حاصل تجزیه و تحلیل اسانس گیاه مورد آزمایش شناسایی ۲۹ ترکیب شیمیایی بود. این شناسایی براساس شاخصهای بازداری کواتس، زمان بازداری ترکیبها، مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیبهای استاندارد و مقایسه ترکیبهای مجهول با آن انجام شد (۸، ۹).

اجزای شناسایی شده ۹۸٪ ترکیبهای اسانس را شامل می‌شوند، ۲٪ باقی مانده را ترکیبهای در حد بسیار جزئی تشکیل می‌دهد. ترکیبهای شناسایی شده روی دو ستون همراه شاخص کواتس و درصد نسبی هر ترکیب که براساس سطح زیر منحنی بدست آمده است، در جدول شماره ۱ ملاحظه می‌گردد. همچنین طیف کروماتوگرام اسانس روی دو ستون DB-5، DB-1 در شکل‌های شماره ۱ و ۲ دیده می‌شود.

تجزیه و تحلیل ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس روی دو ستون، در این تحقیق نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین کارایی دو ستون DB-5، DB-1 در جداسازی ترکیبها دیده نمی‌شود. با توجه به وجود برخی ترکیبهای نیمه قطبی در اسانس، استفاده از ستون DB-5 با ۵٪ فنیل که به ستون خاصیت نیمه قطبی می‌دهد، در این موارد مناسب تر است. اگرچه پیشنهاد می‌شود که از ستونهای کاملاً قطبی در شرایطی که اسانس حاوی ترکیبهای قطبی است، استفاده شود. همچنین کاربرد هر دو ستون غیرقطبی و قطبی در تجزیه و تحلیل اسانس، به ویژه زمانی که دو ترکیب همپوشانی کرده‌اند، لازم به نظر می‌رسد و بهتر است که یک نمونه اسانس با دو ستون قطبی و غیرقطبی مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد.

بخش عمده اسانس را ترکیبهای (66%) α Terpinenyl acetate، (4.4%) Caryophyllene (beta)، (5%) Ocimene (trans-beta)، Bornyl acetate، (3%) Thymol تشکیل می‌دهد. مقدار کارواکرول محاسبه شده در این تحقیق ۲/۰٪ است که سایر محققان آن را ۶/۷ گزارش کرده‌اند. البته باید به زمان برداشت گیاه

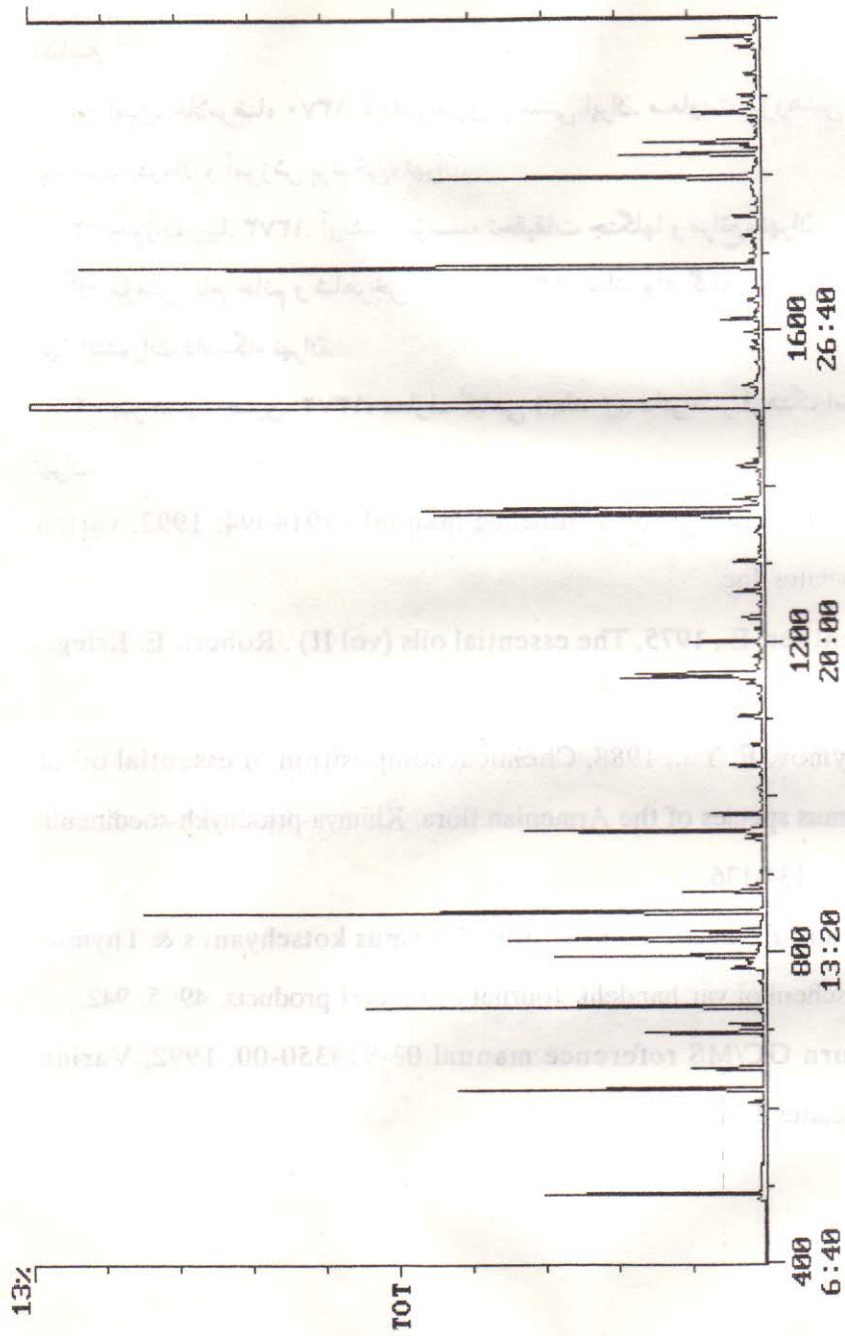
و اندام مورد آزمایش نیز توجه نمود (۵). طیف جرمی ترکیب Terpinenyl acetate (alpha)، Ocimene (trans-beta) در شکل‌های شماره ۳ و ۴ نشان داده شده است. Terpinenyl acetate (alpha) یک ترکیبی استری با فرمول بسته $\text{CH}_3.\text{CO}.\text{O}.\text{C}_{10}\text{H}_{17}$ است که به طریق تقطیر مرحله‌ای در خلاء قابل جداسازی است. برای شناسایی این ترکیب از خاصیت صابونی شدن آن و در نهایت مشخص نمودن دو ترکیب Terpineol (alpha) و اسیداستیک استفاده می‌شود. ترکیب مذکور روغنی بی‌رنگ با بویی قوی است که رایحهٔ روغن لاواند و برگاموت را تداعی می‌کند. از Terpinyl acetate به عنوان تعدیل‌کننده بو در عطر لاواند و انواع ادکلن استفاده می‌شود. ترکیب فوق به دلیل بوی شدید و قیمت پایین به طور گسترده‌ای برای ایجاد رایحه در انواع صابون و سایر فراورده‌های بهداشتی استفاده می‌شود.

سپاسگزاری

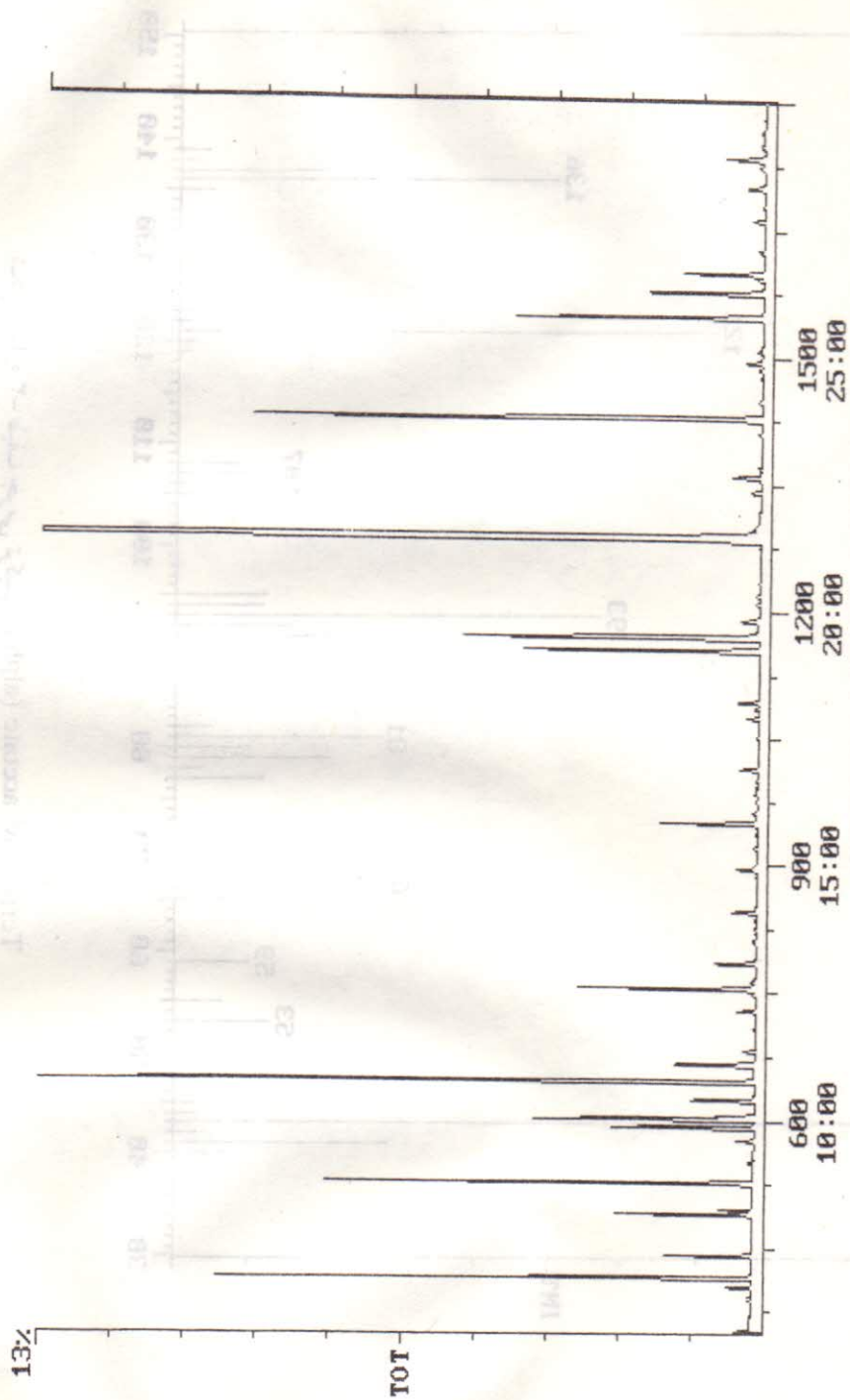
نویسندگان مقاله لازم می‌دانند از کلیه مسؤولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع به جهت فراهم نمودن امکانات لازم جهت تحقیق و نیز سرکار خانم مهندس جم‌زاد در بخش هرباریوم مؤسسه برای شناسایی نمونه گیاهی تشکر و قدردانی به عمل آورند.

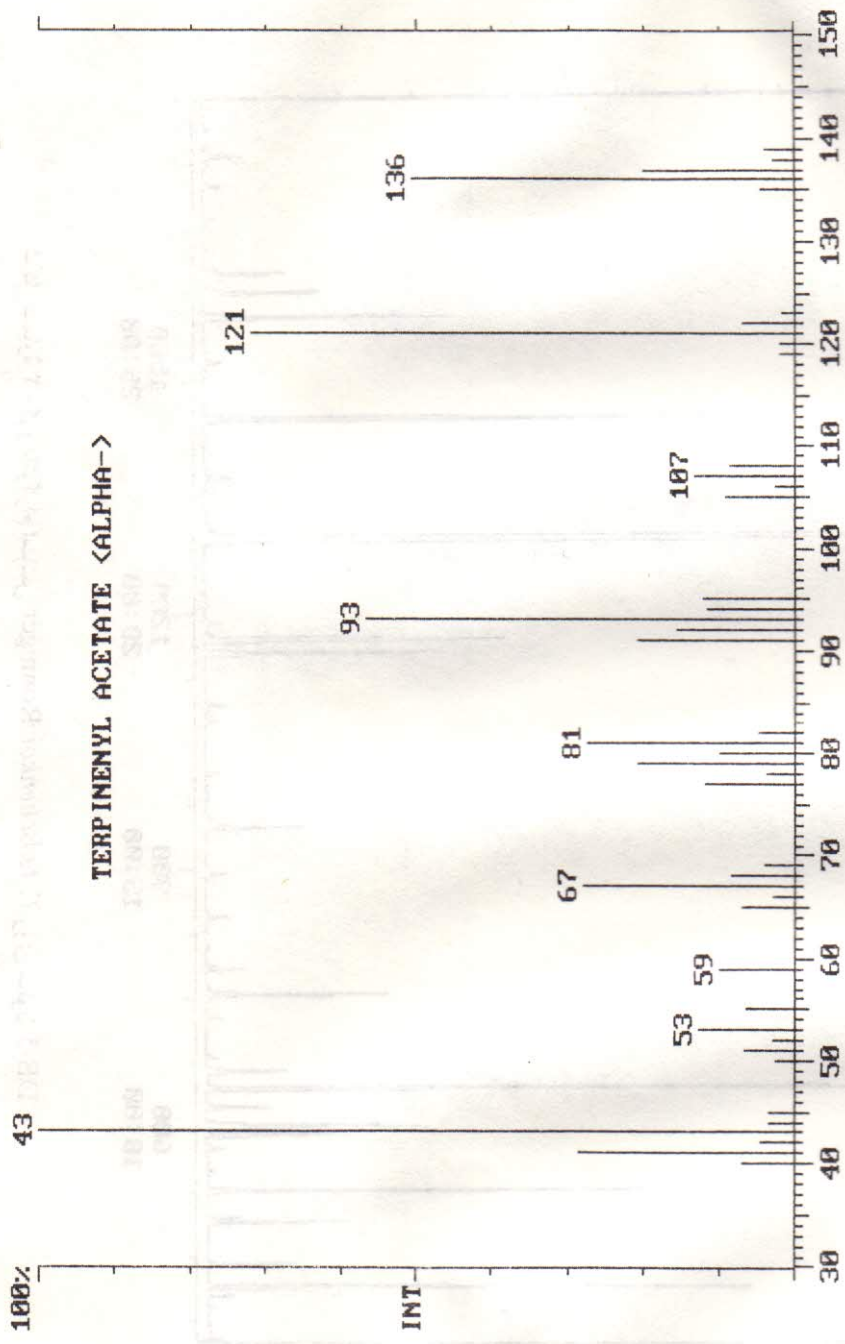
منابع

- ۱- امین، غلامرضا، ۱۳۷۰. گیاهان دارویی سنتی ایران. معاونت پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران.
- ۲- جمزاد، زیبا. ۱۳۷۳. آویشن. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران.
- ۳- مؤمنی، تاج خانم و شاهرخی، نوبهار. ۱۳۷۰. اسانسهای گیاهی و اثرات درمانی آنها. انتشارات دانشگاه تهران.
- ۴- میرحیدر، حسین. ۱۳۷۲، معارف گیاهی (جلد ۲). دفتر نشر فرهنگ اسلامی، تهران.
- 5- Gas chromatograph reference manual 03914094, 1992, varian associates Inc.
- 6- Guenther, E., 1975, The essential oils (vol II) . Robert. E. Kriegr, Pub. Florida, USA, 852.
- 7- Kasymov, F. Yu., 1988, Chemical composition of essential oil of Thymus species of the Armenian flora. Khimya-priodnykh-soedinenii. No. 1, 134-136.
- 8- Mericli, F., 1986, Volatile oils of thymus kotschyanus & Thymus fedtschenkoi var handelii. Journal of natural products. 49: 5, 942.
- 9- Saturn GC/MS reference manual 03-914350-00, 1992, Varian associates Inc.

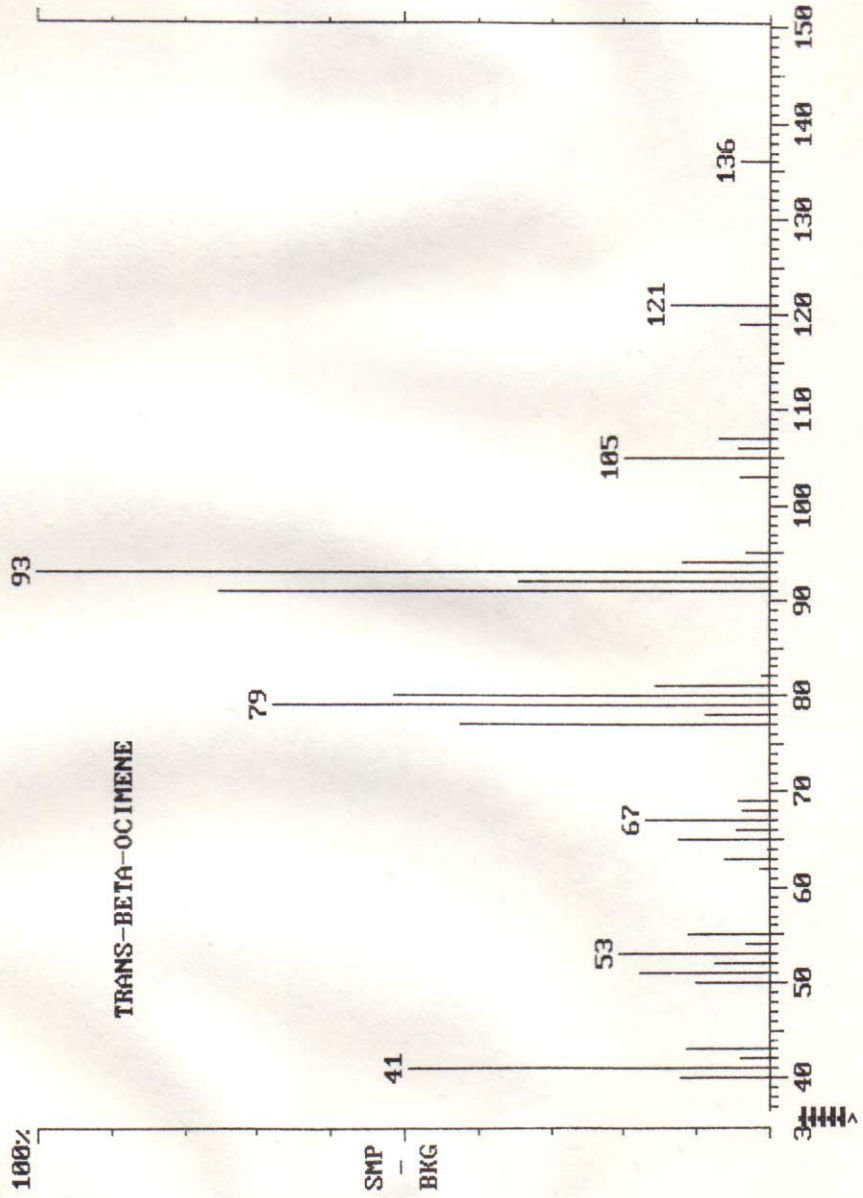


شکل شماره ۱ - کروماتوگرام اساس کروماتوگرام *T. fedschenkoi* روی ستون DB-1





شکل شماره ۳- طیف جرمی ترکیب Terpinenyl acetate (alpha)



شکل شماره ۴- طیف جرمی ترکیب Ocimene (trans-beta)