مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی
٤٢:١٣ (١٤٠٢) ٥٤-٦١
Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)

جداسازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن اسانسی *Achillea biebersteinii* به روش استخراج با امواج میکروویو و دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیف سنج جرمی(GC/MS)

اعظم وفایی

گروه شیمی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران، ایران

تاریخ ثبت اولیه:۱۴۰۲/۰۵/۲۴، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده:۱۴۰۲/۰۸/۱۷ ، تاریخ پذیرش قطعی:۱۴۰۲/۰۸/۲۱

چکیده

در پژوهش حاضر، روغن‌های اسانسی اندام های هوایی گیاه دارویی *A. biebersteinii* که از مناطق جنوب ایران جمع آوری گردیده، توسط روش استخراج با امواج میکروویو بدون استفاده از حلال (SFME) استحصال و ترکیبات متشکله با تکنیک کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنجی جرمی (GC/MS) مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. از ۳۹ ترکیب شناسایی شده در روغن اسانسی اندام های هوایی گیاه که ۹۱/۶۹ درصد کل اسانس را شامل شده به ترتیب پاراسیمن(۱۲/۱۹٪)، سانتونلینیل استات (۹/۱۷٪)، کارواکرول (۶/۸۷٪)، تیمول (۳/۷۶٪)، بتا کاریوفیلن (۳/۷۰٪) و ۱و۸-سینئول (۳/۳۹٪) به عنوان اصلی ترین و بیشترین ترکیبات موجود در اندام های هوایی گیاه بودند.

واژه های کلیدی : استخراج با امواج میکروویو بدون استفاده از حلال (SFME)، کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی، روغن‌های اسانس، گیاه دارویی Achillea biebersteinii

۱. مقدمه

گیاه *بومادران (Achillea)* از خانواده Compositae بوده و در ایران ۱۹ گونه گیاه علفی چند ساله و غالبا معطر دارد. گونه های انحصاری آن عبارتند از: *A. Aucheri, A. callichroa, A. eriophora, A. talagonica, A. oxyodonta, A. kellalensis A. pachycephala* دیگر گونه های آن علاوه بر ایران در عراق، آناتولی، سوریه، قفقاز، لبنان، فلسطین، روسیه مرکزی، ماورای قفقاز، ترکمنستان، افغانستان، آسیای جنوب غربی و آسیای مرکزی نیز می رویند[۳-۱]. بومادران گیاهی است پایا، به ارتفاع ۲۰ تا ۹۰ سانتیمتر و حتی بیشترکه برگ‌هایی بدون دمبرگ، دراز و پوشیده از کرک دارد که دارای بریدگی‌های زیاد و باریکی است.

***عهده دار مکاتبات:** اعظم وفایی

نشانی: گروه شیمی، واحد گچساران، دانشگاه آزاد اسلامی، گچساران ، ایران

تلفن: ۰۷۴-۳۲۳۳۳۵۳۳ **پست الکترونیک:**E-mail: a.vafaei11@yahoo.com

گل‌های آن به صورت کاپیتول کوچک و مجتمع، گل آذین دیهیم در قسمت انتهایی ساقه قرار گرفته‌اند. کاپیتول‌های کوچک و متعدد آن به طول ۴ تا ۸ میلی متر و به عرض۲ تا ۵ میلی متر می‌باشد و در هر کاپیتول آن، دو نوع گل، یکی زبانه‌ای، واقع در حاشیه گل آذین و دیگری لوله‌ای و واقع در ناحیهٔ وسط، دیده می‌شود. همه قسمت‌های گیاه دارای بوی نافذ و تلخ مزه‌است. *Achillea biebersteinii* گیاهی است پایا با ساقه هایی قائم، ساده و یا منشعب از پایه با ارتفاع ۳۰-۶۰ سانتی متر است. برگ ها بیش از ۱۰ سانتی متر، مستطیل و نوک تیز است. شکل برگ به صورت بخش های متعدد و باریک است که بخش ها به لپ های نوک تیز مستطیلی-خطی کوچک تقسیم می شود. زمان گلدهی اردیبهشت و خرداد ماه می باشد. این گیاه به عنوان درمان سنتی برای درمان شکم درد، زخم و درد معده بکار برده می شود[۴-۷] .

روشهای نوین به منظور استخراج و شناسایی ترکیبات روغن های اسانس گیاهان با هدف کاهش زمان استخراج، کاهش مصرف حلال و مقدار نمونه، افزایش راندمان و کمیت و کیفیت ترکیبات استخراجی به کار گرفته شد. استخراج بدون حلال به کمک میکروویو(SFME)، یکی از این روشها است. تکنیک SFME ترکیبی از حرارت میکروویو با تقطیر خشک، تحت فشار اتمسفری برای جداسازی و تغلیظ روغن های اسانسی در گیاهان می باشد. در روش SFME اگر گیاه تازه باشد، نیازی به افزایش حلال با آب نیست. اما اگر گیاه خشک باشد، ضرورت دارد تا گیاه برای زمان مشخصی در آب خیس شده، وسپس به منظور اسانس گیری صاف گردد [۸-۱۰]. در تحقیقات بسیاری از روش SFME برای استخراج و شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن های اسانسی گیاهان استفاده شده است. روش SFME به دلیل عدم استفاده از حجم زیاد آب، از ایجاد ترکیباتی که به طور ناخواسته از هیدرولیز ترکیبات اصلی به وجود می آیند جلوگیری کرده و در بهبود کیفیت اسانس تولیدی بسیار مؤثر است[۱۱-۱۳].

با توجه به موارد فوق و ارزش این گیاه دارویی، هدف از تحقیق حاضر، جداسازی و شناسایی ترکیبات روغن‌های اسانسی اندام های هوایی گیاه دارویی *A. biebersteinii* به وسیله‌ی تکنیک استخراج با میکروویو بدون استفاده از حلال (SFME) جفت‌شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی(GC-MS) می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری و شناسایی‌نمونه‌ی گیاهی

در این پژوهش، اندام هوایی گیاه دارویی *A. biebersteinii* از منطقه یاسوج استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شده و شناسایی آن در هرباریم مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهران انجام گرفت. گیاه جمع‌آوری شده در حرارت معمولی و در سایه خشک و سپس با دقت زیاد بخش‌های هوایی آن جداسازی شدند. بدین منظور، قطعات خشک‌شده گیاه به وسیله آسیاب برقی خرد و جهت استحصال اسانس مورد استفاده قرارگرفتند.

۲-۲. استخراج اسانس

جهت استخراج اسانس از یک دستگاه میکروویومدل مایلستون SRL که در ۲۴۵۰ مگاهرتز کار می کند استفاده گردید. بالاترین توان آون دستگاه ۱۰۰۰ وات بوده که توسط یک سنسور از نوع ATC-EO اندازه گیری و تنظیم می شد. در این روش به ۳۰ گرم گیاه تازه و یا گیاه خشک پودر شده ای که به مدت کافی آب جذب کرده است بدون هیچ گونه آب اضافی به مدت ۲۵ دقیقه و تحت تاثیر توان ۸۰۰ وات، گرما داده شد. یک دستگاه کلونجر بیرون از محوطه میکروویو و متصل به آن، بخارات را مرتب خنک و رفلاکس می کند. آب های رفلاکس شده با برگشت به ظرف استخراج که تحت تاثیر انرژی میکروویو است باعث یکنواخت شدن دما و رطوبت محفظه استخراج می شود. اسانس بدست آمده توسط سدیم سولفات بدون آب، رطوبت زدایی و در یک ظرف تیره و در بسته تا زمان آنالیز در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

۲-۳. جداسازی و شناسایی اجزاء

برای تفکیک و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس این گیاه، از دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده گردید. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری ترکیب ها(T_R) و اندیس بازداری کواتس (KI) مندرج در منابع علمی، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه‌ی آنها با طیف‌های مرجع انجام شد[۱۴]. هم‌چنین، بررسی‌های تکمیلی با تطبیق الگوهای شکافتگی طیف‌های جرمی و اندیس‌های کواتس با استانداردهای موجود در کتابخانه دستگاه صورت گرفت.

۲-٤. مشخصات دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی

جهت بررسی کمی و کیفی ساختار اسانس‌ها، از دستگاه کروماتوگراف گازی شیمادزو(Shimadzu) مدل GC-9A با آشکارساز FID و ستون DB-1 ، به طول ۳۰ متر و قطرداخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ °C تا ۱۹۰ °C با سرعت ۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه و از۱۹۰ °C تا ۲۵۰ °C با سرعت ۱۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه افزایش یافته و از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شده است. از طرف دیگر، از دستگاه کروماتوگراف گازی Thermo quest- finnigan مدل متصل به طیف سنج جرمی مجهز به ستون DB-1 ، به طول ۳۰ متر و قطرداخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه ریزی ستون در دستگاهGC بوده و از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده گردید. زمان اسکن برابر یک ثانیه و انرزی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بوده است.

۳. نتایج و بحث

روغن های اسانسی اندام هوایی گیاه دارویی *A. biebersteinii* ، با روش استخراج بدون حلال به کمک میکروویو (SFME) استحصال و ترکیبات متشکله آنها به کمک روش کروماتوگرافی گازی توام با طیف سنج جرمی (GC/MS) بررسی و شناسایی

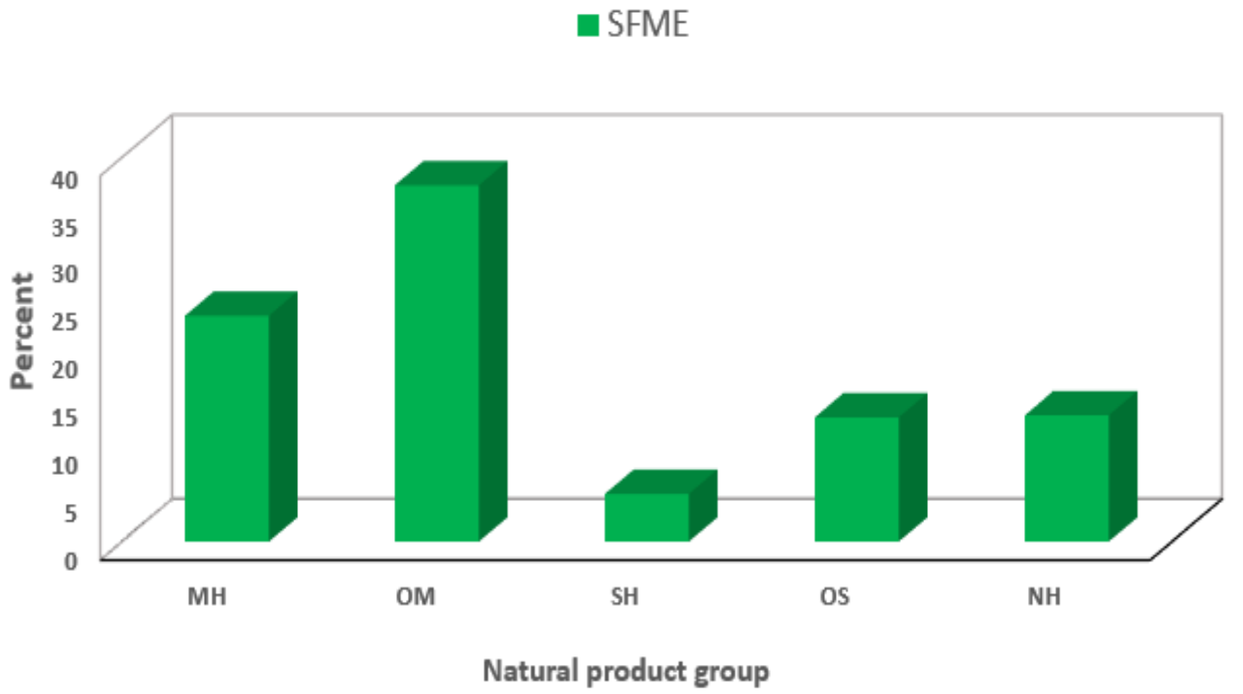
گردید. نتایج به دست آمده در جدول شماره (۱) نشان داده شده است. با بررسی درصد ترکیبات در روغن اسانسی بدست آمده از اندام‌های هوایی مورد مطالعه این گیاه نتایج زیر حاصل گردید. در روغن اسانسی اندام های هوایی گیاه به روش SFME، ۳۹ ترکیب شناسایی شده که ۹۱/۶۹ درصد کل اسانس را شامل شده به ترتیب پاراسیمن(۱۲/۱۹٪)، سانتونلینیل استات (۹/۱۷٪)، کارواکرول (۶/۸۷٪)، تیمول (۳/۷۶٪)، بتا کاریوفیلن (۳/۷۰٪)،۱و۸- سینئول (۳/۳۹٪) مورد شناسایی قرار گرفت.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی موجود در روغن اسانسی اندام های هوایی گیاه *A. biebersteinii* با روش SFME.

No.	Compound	RI	Oil (%)
1	2-Methyl butyl acetate	881	0.36
2	Alpha thujene	930	1.51
3	Alpha pinene	939	2.92
4	Camphene	954	0.04
5	Benzaldehyde	960	0.66
6	Beta pinene	979	1.15
7	Myrcene	991	1.51
8	Para cymene	1025	12.19
9	1,8-Cineole	1031	3.39
10	Gamma terpinene	1060	1.11
11	Sabinene hydrate	1070	2.62
12	Menthe-3,8-diene(para)	1073	3.09
13	Linalool oxide	1087	0.16
14	Linalool	1097	7.21
15	Pinene hydrate (trans)	1123	2.79
16	Camphor	1146	1.53
17	Pinene oxide	1159	2.07
18	Borneol	1169	2.07
19	Menthol	1172	3.37
20	Santonlinyl acetate	1175	9.17
21	Alpha terpineol	1189	1.27
22	Thymol	1290	3.76
23	Carvacrol	1299	6.87
24	Acetophenone (4-methoxy)	1350	0.48
25	Carvacryl acetate	1373	1.34
26	Jasmone (E)	1391	1.14
27	Beta caryophyllene	1419	3.7
28	Aromadendrene	1441	0.25
29	Alpha humulene	1455	0.39

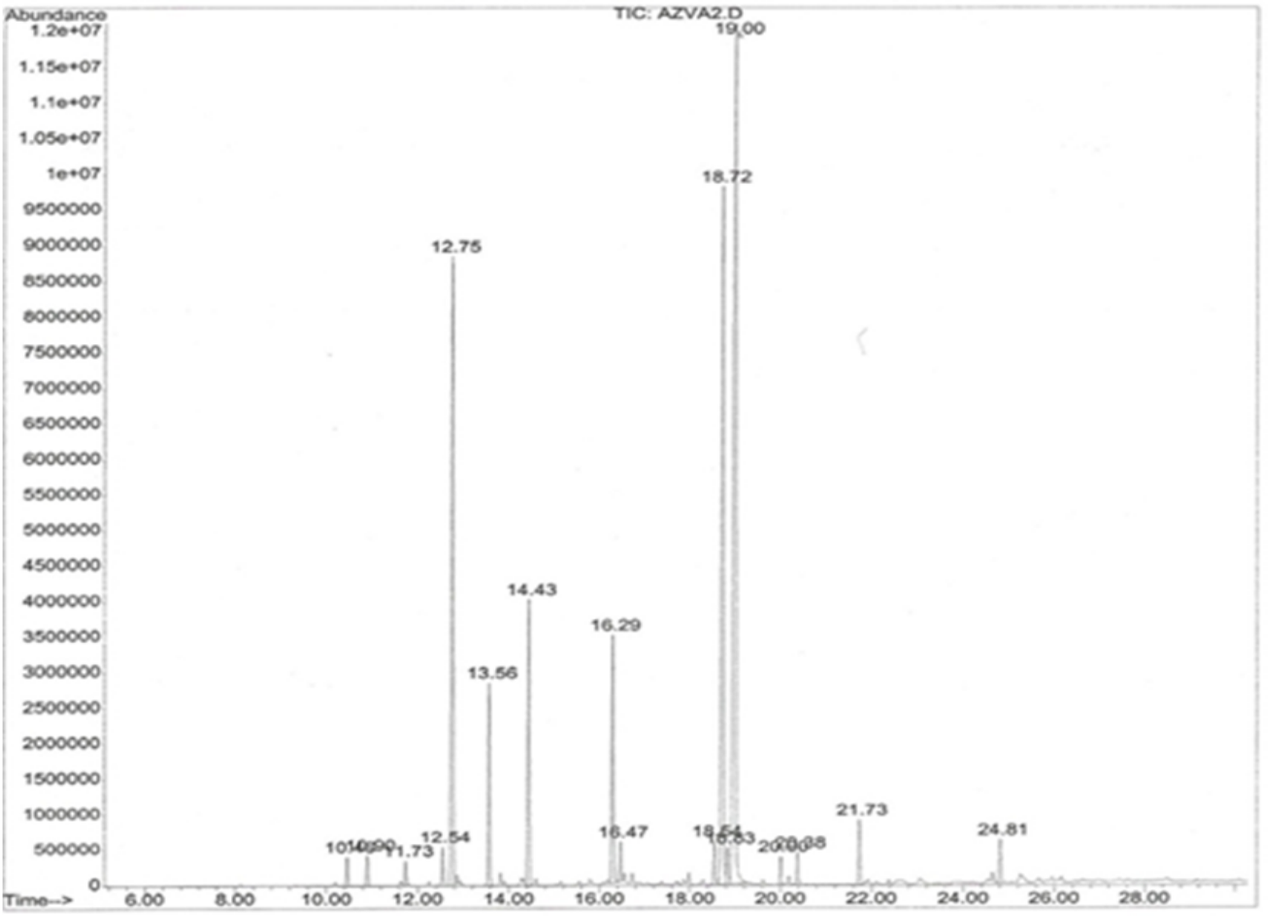
30	Beta bisabolene	1506	0.53
31	Delta cadinene	1523	0.10
32	Z-Nerolidol	1533	1.90
33	Spathulenol	1578	2.03
34	Caryophyllene oxide	1583	3.03
35	Humulene epoxide	1608	0.43
36	Caryophylla-4(14),8(15)-diene-5-alpha-ol	1641	1.57
37	Thurmerone (ar)	1669	1.49
38	Caryophyllene(14-hydroxy-9-epi-E)	1670	1.54
39	Helifolenol c	1682	1.95
Total percentage			91.69
Number of compounds			39
Extraction time (min)			25

روغن اسانسی اندام های هوایی گیاه حاوی ۲۳/۵۲٪ منوترپن‌های هیدروکربنی، ۳۷/۱۱٪ منوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۴/۹۷٪ سزکویی-ترپن‌های هیدروکربنی، ۱۲/۹۴٪ سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و ۱۳/۱۵٪ ترکیبات غیرترپنی بوده است (شکل ۱).



شکل ۱. نمودار درصد ترکیبات مختلف اندام هوایی گیاه دارویی A. biebersteinii به روش SFME

کروماتوگرام بدست آمده برای اندام هوایی گیاه دارویی A. biebersteinii ، در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲. کروماتوگرام روش SFME برای اندام هوایی گیاه دارویی A. biebersteinii

٤. نتیجه‌گیری

گیاهان به عنوان منبع عظیم ترکیبات فعال زیستی بوده و فارغ از هر نوع چالش در زمینه گیاهان دارویی، عقیده جمعی پژوهشگران و دانشمندان براهمیت آنها در تهیه ترکیبات دارویی و بهداشتی تأکید دارد. گیاه *A. biebersteinii* دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشد. در این پژوهش، از روش توانمند SFME جهت جداسازی روغن‌های اسانسی اندام هوایی گیاه دارویی A. biebersteinii که از مناطق شهرستان یاسوج استان کهگیلویه و بویداحمد جمع آوری شده، انجام و ترکیبات متشکله به کمک روش GC/MS بررسی و شناسایی گردید. بر این اساس، پاراسیمن(۱۲/۱۹٪)، سانتونلینیل استات (۹/۱۷٪)، کارواکرول (۶/۸۷٪)، تیمول (۳/۷۶٪)، بتا کاریوفیلن (۳/۷۰٪) و ۱و۸ – سینئول (۳/۳۹٪) به عنوان ترکیبات اصلی در اندام ها هوایی گیاه تعیین گردید و مونوترپن ها و ترکیبات اکسیژن دار فراوانترین ترکیبات بوده که کاربرد های وسیعی در صنایع مختلف دارند.

۵. مراجع

[۱] امید بیگی، ر، (۱۳۸۶). تولید و فرآوری گیاهان دارویی، مشهد، شرکت به نشر (انتشارات آستان قدس رضوی)۳۴

[۲] غنی، ع.، عزیزی، م.، حسن زاده خیاط، م. و جهرمی، ع.، (۱۳۸۷)، مقایسه درصد و اجزای اسانس دو توده وحشی بومادران، فصلنامه علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲ (۴۵): ۵۸۹-۵۸۱.

[3] Toplan, G. G., Taşkın, T., İşcan, G., Göger, F., Kürkçüoğlu, M., Civaş, A., ... & Başer, K. H. C. (2022). comparative studies on essential oil and phenolic content with in vitro antioxidant, anticholinesterase, antimicrobial activities of Achillea biebersteinii Afan. and A. millefolium subsp. millefolium Afan. L. growing in Eastern Turkey. *Molecules*, 27(6), 1956.

[4] TAŞKIN, T. (2022). Comparative Studies on Essential Oil and Phenolic Content with In Vitro Antioxidant, Anticholinesterase, Antimicrobial Activities of Achillea biebersteinii Afan. and A. millefolium subsp. millefolium Afan. L. Growing in Eastern Turkey.

[5] Akbar, A., Gul, Z., Chein, S. H., & Sadiq, M. B. (2023). Investigation of Anti-Inflammatory Properties, Phytochemical Constituents, Antioxidant, and Antimicrobial Potentials of the Whole Plant Ethanolic Extract of Achillea santolinoides subsp. wilhelmsii (K. Koch) Greuter of Balochistan. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2023.

[6] Yılmaz, E. (2022). Achillea biebersteinii Afan. In Novel Drug Targets With Traditional Herbal Medicines: Scientific and Clinical Evidence (pp. 1-21). Cham: Springer International Publishing..

[7] Elkiran, O., Avsar, C., & Bagci, E. (2023). Biological activities and chemical composition of essential oil of Achillea maritima (L.) Ehrend. & YP Guo. Journal of Essential Oil Research, 35(2), 168-176.

[8] Wei, L., Yu, X., Li, H., Zhu, M., Pu, D., Lu, Q., ... & Zu, Y. (2023). Optimization of solvent-free microwave extraction of essential oil from the fresh peel of Citrus medica L. var. arcodactylis Swingle by response surface methodology, chemical composition and activity characterization. Scientia Horticulturae, 309, 111663.

[9] Ali Muzakhar, S. S., Fauzi, L. R., & Yollanda Putri, D. K. (2023). Comparison process of solvent-free microwave extraction and microwave hydro-distillation methods in essential oil production from cabbage roses flower (Rose× centifolia). Jurnal Kimia Riset, 8(1).

[10] Kusuma, H. S., Lestari, F. W., Sari, T. A., Mukhlisin, F., Mahfud, M., Sharma, S. K., & Darmokoesoemo, H. (2023). Extraction of essential oil from fresh basil leaves (Ocimum basilicum L.) using solvent-free microwave extraction method: Extraction parameter optimization, electric consumption, and CO2 emission study. Food and Humanity, 1, 1055-1063.

[11] Bayramoglu, B., Sahin, S., Sumnu, G. (2008). Solvent- free microwave extraction of essential oil from Oregano. *J. Food Engineering. 88*, 535-540.

[12] Bellomaria, N., Valentini, G., Biondi, E. (2001). Chemotaxonometry of Artemisia variabilis ten. And A. eampestris L. ssp.glutinosa(Ten)Bric. Et Cavill.(Asteraceae) from Italy. *J. Essent. Oil Res. 13*, 90-94.

[13] Ziming,W., Ding, L., Li,T., Zhou, X.,Wang, l., Zhang, H., Liu, L., Li,Y.(2006). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried Cuminum cyminum L. and Zanthoxylum bungeanum Maxim. *J. Chromatography A. 1102*,11-17.

[14] R.P. Adams, *Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass Spectroscopy*, Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL USA (1995).

Isolation and identification of chemical constituents of *Achillea biebersteinii* essential oil by microwave extraction and gas chromatography-mass spectrometry (GC / MS)

Azam Vafaei

Department of Chemistry, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran

Submited: 15 August 2023, Revised: 08 November 2023, Accepted: 12 November 2023

Abstract

In the present study, the essential oils of aerial organs of the medicinal plant of A. biebersteinii, which were collected from the southern regions of Iran, were extracted by solvent free microwave extraction method (SFME) and compounds composed of gas chromatography combined with mass spectrometry (GC / MS) was analyzed and identified. Of the 39 compounds identified in the essential oil of the aerial organs of medicinal plants, which comprised 91.69% of the total essential oil, para cymene (12.19%), santonlinyl acetate (9.17%), carvacrol (6.87%), thymol (3.76%), beta caryophyllene (3.70%) and 1-8-cinnamol (3.39%), respectively were the main and most common compounds in aerial organs of the plant.

Keywords: *Solvent-free microwave extraction (SFME), gas chromatography-mass spectrometry, essential oils, A. biebersteinii*

***Corresponding author :** Azam Vafaei

Address: Department of Chemistry, Gachsaran Branch, Islamic Azad University, Gachsaran, Iran

Tel: 074-32333533 **E-mail:** a.vafaei11@yahoo.com