شناسایی اسیدهای چرب روغن دانه‌ی گیاه بابونه اورآ

(*Matricaria urea* L.) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی

چکیده

بابونه یکی از مهمترین داروهای شناخته شده توسط انسان و یکی از پر مصرف ترین گیاهان دارویی در اروپا، خاورمیانه، آمریکای شمالی، استرالیا و کشورهای آفریقایی است که عمدتا به منظور استفاده از اسانس آبی رنگ آن کشت می شود و با توجه به کاربرد روز افزون آن در صنایع دار و سازی، آرایشی و بهداشتی، عطر سازی و تهیه چاشنی های غذائی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است.

در این مطالعه، دانه‌ی گیاه بابونه(*Matricaria urea* L.) خریداری شده از شرکت پاکان بذر اصفهان خرد شد و توسط دستگاه سوکسله روغن گیری شد و روغن به دست آمده توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد. اسیدهای چرب به دست آمده توسط روش استری کردن به استر تبدیل شد. نمونه به دست آمده رقیق و سپس توسط *GC/MS* آنالیز شد.

از میان ۶۶ ترکیب جداسازی شده ۲۲ ترکیب شناسایی شد، که ۹۱/۷٪ از روغن را تشکیل می‌دادند. ترکیبات اصلی به ترتیب ۵۳/۰ و ۱۵/۸ که به ترتیب 8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester و n-Decane بودند.

لغات کلیدی: "روغن کشی"، "استری کردن"، "بابونه ی اورا"

مقدمه

بابونه گیاهی است دائمی و کوچک به ارتفاع تقریباً ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر دارای بوئی معطر که در چمن‌زارها و اراضی شنی می‌روید(۱و۴). ساقه آن به رنگ سبز مایل به سفید، برگ‌های آن کوچک متناوب و دارای بریدگی‌های باریک و نامنظم برگچه مانند و پوشیده از کرک است. گل‌های آن مجتمع در یک طبق که به‌طور منفرد در انتهای ساقه گل‌دهنده در تابستان ظاهر می‌شود. در هر طبق گل‌های سفید یا زرد و گاه ارغوانی در قسمت وسط قرار دارند. نام لاتین بابونه camomille از کلمات یونانی khamai و malon به معنی گلهای کوچک با بوی سیب گرفته شده است (۲،۳).

مهمترین مواد موثره موجود در گیاه بیزابولول، کامازولن، آپی جنین، لوتئولین هستند. کاپیتول‌های این گیاه دارای اسانس هستند. این اسانس در حالت تازه دارای رنگ آبی تیره‌است که مربوط به وجود ماده‌ای به نام آزولن می‌باشد و تدریجاً با تأثیر هوا و نور رنگ آن سبز و قهوه‌ای می‌شود. این اسانس دارای سزکوئی‌ترپن‌های b و g و همچنین ماتریکارین (Matricarine) می‌باشد (۷-۵). گل‌های بابونه هم دارای اسانس روغنی حاوی آنته مین(Anthemine)، تانن، فیتوسترول و همچنین ماده‌ای تلخ به نام اسید آنته میک اسید Anthemique Acid می‌باشد.

این گیاه معرق، مقوی معده، بادشکن، اشتها آور، هضم کننده غذا، صفرا بر و التیام دهنده است. اثر ضد عفونی کننده ضعیف ولی قاطع دارد. مسکن درد و ضد تشنج می‌باشد(۸).

تحقیقی که در سال ۱۹۹۶ توسط آقای توشی فومی هیراتا و همکارانش در ژاپن انجام شد نشان دهنده این است که ترکیب چربی ساقه بابونه کامومیل شامل ۸۰٪ تری آسیل گلیسرول و ۵٪ دی آسیل گلیسرول و ۶٪ مونوآسیل گلیسرول و ۹٪ اسیدهای چرب می‌باشد. ترکیبات چربی ساقه، کمتر از دانه و گل و برگ این گیاه است. لینولئیک اسید و لینولنیک اسید ترکیبات مهم اسیدهای چرب در روغن ساقه بابونه می‌باشند(۹).

در سال ۲۰۱۰ فعالیت ضد قارچی بابونه کامومیل توسط مرضیه طلوعی و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت. همچنین با استفاده از گازکروماتوگرافی و طیف سنج جرمی در مجموع ۲۱۰ ترکیب در روغن گیاهی بابونه مشخص شد که عمده ترین آن، شامل ۵۶/۸۶٪ آلفا بیسابولول و ۱۵/۶۴٪ آن ترانس فارنسول می‌باشد(۱۱).

در سال ۲۰۱۰ توسط آقای ویکاس گاپتا و همکاران، فعالیت ضد التهابی، ضد سرطانی و ضد آلرژی بابونه کامومیل مورد بررسی قرار گرفته است(۱۲).

در سال ۲۰۱۲ فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس و عصاره رازیانه و گل بابونه مورد بررسی قرار گرفت فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های این دو گیاه با استفاده از DPPH در برابر آسپرژیلوس فلاووس، کاندیدا آلبیکنس، باسیلوس سرئوس و استاف اورئوس ثابت شد(۱۳).

در سال ۲۰۰۸ در آزمایش به منظور بررسی اثر شوری و خشکی بر رشد و درصد روغن بابونه انجام شد. آب آبیاری با ۵ سطح شوری مختلف (mmol. L^{-} NaCl ۳۳۶، ۲۵۲، ۱۶۸،۸۴ ، ۰) و۵ رژیم آبیاری پس از ۲ ،۴ ، ۶، ۸ ، ۱۰روز برای سه ماه انجام شد(۱۴).

نتایج نشان داد که افزایش شوری و خشکسالی باعث کاهش تعداد شاخه‌ها در بابونه، گل و کاهش وزن گل تر و خشک و میزان اسانس می‌شود.

در سال ۱۳۹۲ اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر توسط زهرا ایزدی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت (۱۵).

هدف از این پژوهش، شناسایی و تعیین درصد اسیدهای چرب موجود در روغن دانه‌های گیاه.*Matricaria urea* L است. تاآنجا که ما بررسی کرده‌ایم، تاکنون پژوهشی روی آنالیز روغن حاصل از دانه‌های گیاه *M. Urea* صورت نگرفته و پژوهش حاضر برای اولین بار انجام می‌شود.

مواد و روش ها

دانه‌ی بابونه اورا از پاکان بذر اصفهان تهیه شد.آن را خوب آسیاب کرده و داخل کیسه‌ی پارچه‌ای ریختیم و در دستگاه سوکسله قرار دادیم. بعد از گذشت حدود ۶ ساعت کیسه‌ی حاوی دانه را از بالن خارج کرده و حلال همراه روغن را توسط دستگاه روتاری (۵۰ دقیقه)خارج نمودیم.

سپس شیشه ساعتی را برداشته، وزن کرده و روغن را در آن ریخته و حدود ۲ ساعت در آون قرار دادیم تا بقایای حلال نیز تبخیر شود. بعد شیشه ساعت حاوی روغن را وزن نمودیم. تفاضل وزن شیشه ساعت حاوی روغن با شیشه ساعت خالی، وزن روغن را مشخص می‌کند(۱۶).

وزن روغن= ۴۴/۳۸ –۴۳/۰۵ = ۱ /۳۳ g

سپس روغن به دست آمده را داخل ظرف تمیز در دار ریخته و داخل یخچال گذاشتیم.

٪روغن = ٪۱۳/۳

برای عمل استری کردن، ابتدا ۵۰CC پتاس متانولی ۰/۵ مولار تهیه کردیم(gr ۱/۴ پتاسیم هیدروکسید وزن کرده و همراه با کمی متانول در بالن حجمی ریخته و تکان می‌دهیم تا حل شود و سپس متانول اضافه کرده و به حجم می‌رسانیم)

gr۱از روغن استخراج شده را در بالن cc۱۰۰ ریخته و داخل بالن سنگ جوش ریختیم، سپس cc۲۰ پتاس ۰/۵ مولار اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام بخار آب با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم، ۱۲CC تری فلوئور بور (BF_3) از بالای مبرد داخل آن ریخته، ۲ دقیقه بعد cc۵ هپتان اضافه کردیم، ۱ دقیقه حرارت کافی است. بالن را خارج کرده، محلول NaCl

غلیظ به آن اضافه کردیم که بالن تا گردن پر شده و استر تشکیل گردید. پس از آن با پیپت ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی (روغن) را برداشته و داخل ظرف تمیز ریختیم و کمی سولفات سدیم بی‌آب به آن اضافه نموده و ظرف را در یخچال قرار دادیم(۱۷).

جداسازی و شناسایی مواد موجود در روغن حاصل از گیاه توسط روش کروماتوگرافی گازی صورت پذیرفت. شرایط دستگاه به شرح زیر است:دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع Thermo Finnigan-Trace DSQ با ستون موبینه DB-5MS به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ µm، دمای اولیه آون ۶۰ درجه سانتیگراد که برای مدت ۳ دقیقه در این دما ثابت بود و با گردیان ۵ درجه سانتیگراد بر دقیقه تا دمای ۲۲۰ درجه سانتیگراد (دمای نهایی آون) افزایش پیدا کرد و برای مدت ۵ دقیقه در این دما ثابت نگه‌داشته شد.

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده روغن با استفاده از طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه GC-MS و مقایسه آن‌ها با طیف های جرمی استاندارد موجود در مرجع هشت پیک و کتاب آدامز و بانک اطلاعاتی دستگاه GC-MS انجام گرفت. برای تأیید شناسایی‌های انجام شده، شاخص بازداری کواتس هر ترکیب با توجه به زمان بازداری آن در کروماتوگرام گازی ، و زمان بازداری آلکان‌های نرمال محاسبه گردید و سپس با شاخص‌های بازداری کواتس مواد استاندارد، مورد مقایسه قرار گرفت. (۱۸).

بحث و نتیجه گیری:

کروماتوگرام GC حاصل از آنالیز روغن استری به دست آمده از روغن دانه‌ی بابونه اورا در شکل ۱ آمده است.

از کل ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در روغن دانه بابونه ۳۰/۷٪ را آلکان و ۶۱ ٪ را استر اسیدهای چرب تشکیل می-دهند.

۸و۱۱- اکتا دکا دی انوئیک اسید یک اسید چرب غیر اشباع گیاهی است که در بین اسید های چرب موجود در روغن استخراج شده از دانه های بابونه بیشترین مقدار را دارد.

لینولئیک اسید، اسید چرب اصلی امگا-۶ است.لینولئیک اسید، اسید چرب ضروری برای بدن انسان بوده و وجود آن در رژیم غذایی از نظر نقش عملکرد آن برای بافت ها و حفظ و نگهداری بدن ضروری است که در این روغن کمتر از ۱٪ وجود دارد.

نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ در غذاهای مصرف انسانی برای سنتز پروستاگلاندین بسیار مهم است و در پیشگیری از لخته شدن خون در رگ ها و تورم شریان ها مؤثر است(۱۹).

لینولئیک اسید مؤثرترین اسید چرب برای کاهش سطح کلسترول خون است.

دانه بابونه مقداربالایی اسیدهای چرب ضروری دارد که از نظر دارویی و تغذیه ای مهم می باشد.

به علت فراریت کم و تفاوت ناچیز موجود بین فراریت اسیدهای چرب موجود در روغن ها، این اسیدها باید به مشتق استری مربوط تبدیل شوند.تهیه مشتق استری اسیدهای چرب در مجاورت کاتالیزور و در محلول متانولی صورت می گیرد.کاتالیزورهای اسیدی متداول عبارتند از:H_2SO_4 ,HCl , BF_3 و کاتالیزورهای قلیایی شاملNaOH, KOH, $NaOCH_3$ می باشند.

به دلیل کارایی بیشتر BF_3 در استری کردن، وجود یک مرحله آب کافت قلیایی همراه با استری شدن در مجاورت BF_3 ضروری است(۲۰).

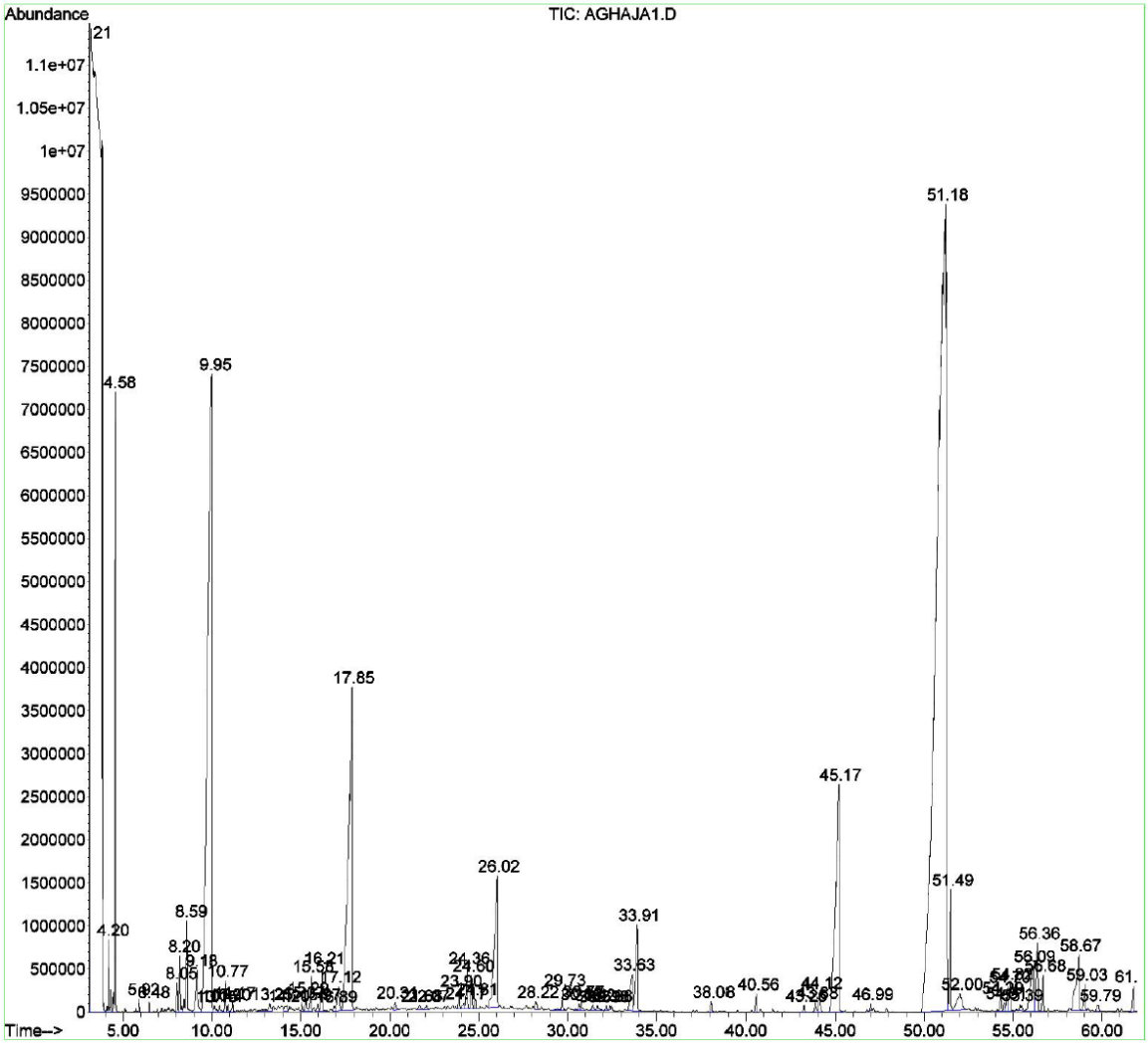
گستره غلظتی BF_3 ، ۶ تا ۱۴ درصد و دمای واکنش ۸۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد است.از مزایای استفاده از BF_3 ، عدم تولید آب در طی انجام واکنش و حساسیت پایین آن نسبت به وجود آب در محیط است.

به دلیل این که در خصوص نمونه دانه بابونه اورا به دست آوردن تجزیه دقیقی از اسیدهای چرب مد نظر بوده، مشتق سازی در مجاورت BF_3 متانولی که فرایندی با کارایی بالا و مزاحمت های محیطی حداقل می باشد در نظر گرفته شده است.

تاآنجا که بررسی کرده‌ایم، تاکنون پژوهشی روی آنالیز روغن حاصل از دانه‌های گیاه *M. urea* صورت نگرفته و پژوهش حاضر برای اولین بار انجام می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم تشکر می‌نمایند.



شکل ۱: کروماتوگرام GC حاصل از آنالیز روغن استری دانه گیاه *Matricaria urea*

جدول ۱- اسیدهای چرب موجود دردانه گیاه بابونه اورا که به صورت متیل استر آنالیز شده اند

No	Compound	KI	KI_{ref}	%	Group compound
۱	3-methyl- Heptane	۷۶۰	۷۶۴	۰/۳	Alkane
۲	n-Octane	۷۹۶	۸۰۰	۲/۹	Alkane
۳	4-Ethyl octane	۹۵۷	۹۵۶	۰/۲	Alkane
۴	3-methyl nonane	۹۷۰	۹۶۸	۰/۶	Alkane
۵	n-Decane	۱۲۰۰	۱۲۰۲	۱۵/۸	Alkane
۶	5-methyl undecane	۱۱۵۸	۱۱۵۶	۰/۳	Alkane
۷	Dodecane	۱۱۹۶	۱۲۰۰	۷/۳	Alkane
۸	Tetradecane	۱۳۹۹	۱۴۰۰	۲/۴	Alkane
۹	Pentadecane	۱۳۹۹	۱۴۰۰	۰/۲	Alkane
۱۰	Dodecanoic acid, methyl ester	۱۵۰۰	۱۵۲۶	۰/۲	Fatty ester
۱۱	n-Hexadecane	۱۵۹۷	۱۶۰۰	۰/۵	Alkane
۱۲	Tetradecanoic acid, methyl ester	۱۷۲۵	۱۷۲۷	۰/۲	Fatty ester
۱۳	n-Octadecane	۱۸۰۰	۱۸۰۵	۰/۲	Alkane
۱۴	9-Hexadecenoic acid, methyl ester	۱۹۳۵	۱۹۳۲	۰/۲	Fatty ester
۱۵	Hexadecanoic acid, methyl ester	۱۹۲۰	۱۹۲۸	۵/۰	Fatty ester
۱۶	n-Eicosane	۱۹۸۹	۲۰۰۰	۰/۲	Alkane
۱۷	8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester	۲۰۹۰	۲۰۹۳	۵۳/۰	Fatty ester
۱۸	Octadecanoic acid, methyl ester	۲۱۲۸	۲۱۲۸	۱/۰	Fatty ester

۱۹	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	۲۰۷۷	۲۰۸۸	۰/۵	Fatty ester
۲۰	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester	۲۰۹۸	۲۱۰۰	۰/۲	Fatty ester
۲۱	Eicosanoic acid, methyl ester	۲۲۳۹	۲۳۳۹	۰/۳	Fatty ester
۲۲	Docosanoic acid, methyl ester	۲۵۰۰	۲۵۱۰	۰/۲	Fatty ester
	Total			٪۹۱/۷	

منابع و مآخذ

۱- مظفریان، و،۱۳۹۱، شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران، انتشارات فرهنگ معاصر

2-Ghanavati, M., 2007, Study of salinity effect on some growth characters of two *matricaria* spices, A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of Science, department of plant breeding, Shahrekord University, 25-68

3-Salamon, I.,1992, *Chamomile*, A Medicinal plant, Herb, spice, and Medicinal plant Digest, 1-4

4- Homok , L.,1978, Gyogynovenyek termesztese es feldolgozasa , Mezo, kido , budapest, 356

۵- امید بیگی، ر، ۱۳۷۸، بررسی تیپ‌های شیمیایی بابونه‌های خودروی ایران و مقایسه با نوع اصلاح شده، مجله علوم کشاورزی تربیت مدرس شماره ۱

6-Hoelzi, J., Demuth, G., 1975, Influence of ecological factors on the composition of the essential oil and the flavones in *Matricaria chamomilla* of different origin planta Medica 77, 46-52

7-Grgesina, D., Mandic, ML., Karuza, L., 1995, Chemical composition of different parts of *Matricaria chamomilla*,Prehrambeno-technol Biotechnol, Rev, 33,111-113

۸- قنواتی، م، هوشمند، س، زینلی، ح، ابراهیم پور، ف،۱۳۸۹، بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس بابونه درمناطق مرکزی و جنوب ایران، فصل نامه گیاهان دارویی، دوره دوم،(*Matricaria recutita L.*) شماره سی وچهارم، صفحه ۱۰۸-۱۰۲

9-Hirata, T., Izumi, Sh., Akita, k., 1996, Lipid Constituents of oil bodies in the cultured shoot primordia of *matricaria chamomilla*, Phytochemistry, 1275-1279

۱۰-میرشکاری، ب، ۱۳۸۹ اثر رژیم آبیاری و نیتروژن بر فنولوژی، عملکرد دانه و اسانس روغن بابونه، فصل نامه دانش نوین کشاورزی پایدار، شماره ۲۰، صفحه ۸۴-۷۶

11-Tolouee, M., Alinezhad, S., Suberi, R., Eslami far, A., 2010, Effect of *matricaria chamomilla L* Flower essentioal oil on the growth and ultrastructure of aspergillus nige Van trie ghem, International journal of food microbiology 139, 127-133

12-Gupta, V., Mittal, P., Bansol, P., 2010, Pharmacological potential of *matricaria recutita*, International journal of pharmaceutical sciences and Drag research, 12-16

13-Hamdy Roby, M., H., Sarhan , M., A., Abdel , KH., Selim, H. , Khalel ,K. ,I., 2012, Antioxidant and Antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel and *chamomile*, Journal home, 1-9

14-Razmjoo , KH., Heydarizadeh, P., Sabzalian, M., R., 2008, effect of salinity and Drought stresses on growth parameters and essential oil content of *matricaria chamomila*, International Journal of Agriculture & Biology, 451-454

۱۵-ایزدی، ز، مدرسی ثانوی، س، ع ، م، داودی، پ، سروش زاده، ع، اثنی عشری، م، ۱۳۹۲، اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان دارویی بابونه آلمانی و بابونه کبیر، ارمغان دانش مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دوره ۱۸، شماره ۱، صفحه ۴۳-۳۱

16- Kirsten, G., Andreas, H., Wali, H., Andrea, D., Joachim, K., 2011, Institute of Pharmaceutical Biology and Phytochemistry.

17- Mojab, F., Behfar, A.,Kobarfard, F., Nickavar, B., Ja'fari, B. 2009, Journal of Medicinal Plants, Vol. 8 No. 29 pp. 80-86.

18- Adams R P, Identification of EO components by gas chromatography/mass spectroscopy, Carol Stream IL: Allured Publishing Co; 2001.

19-Hamazak, T., Okuyama, H., 2004, The Japan society for lipid Nutrition recommends to reduce the intake of linoleeic acid.omega-6/omega-3 Essential fatty acid Ratio:the scientific Evidence.world Review of Nutrition and dietetics.Basel, karger,2003,109-132

۲۰-وصولی پور، م، مدرس، ح،۱۳۸۳، تعیین مقدار روغن و انواع اسیدهای چرب موجود در روغن شاهدانه مناطق مختلف ایران، نشریه شیمی و مهندس شیمی ایران، دوره۲۳، شماره۲، صفحه ۸۸-۸۱

Extraction and Identification Composition of seed oil Matericaria urea L. Using Gas Chromatography/Mass spectrometry

Abstract

Chamomile is one of the most important drugs known to man and one of the most widely used as medicinal plants in Europe, the Middle East, North America, Australia and African.

It is cultivated mainly in order to use its blue essential oils.

Due to its increasing use in Pharmaceutical industry, cosmetics, perfumery and flavoring food preparation is very important.

In this study, the seed oil of *Matricaria urea* L. were purchased from the company of Pakan Bazr Isfahan, ground and then were extracted by soxhlet apparatus. The obtained sample oil was concentrated by rotary device and then, the fatty acids of obtained oil were changed into ester by esterification method. Then the sample diluted and analyzed by GC / MS qualitatively and quantitatively. Of the 66 isolated compounds 22 compounds containing 91.7% of oil were identified. The main components were 8, 11-Octadecadienoic acid, methyl ester (53%) and n-Decane (15.8%).

Keywords: “Oil extraction”, “Esterification”, “*Matricaria urea* L.”