مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی
٤:١١ (١٣٩٣) ٤٣-٥١
Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)

کاربرد استخراج با امواج میکروویو جهت جداسازی و شناسایی اجزاء تشکیل دهنده روغن های اسانسی گیاه *Pervoskia abrotanoides* karel به روش اسپکترومتری جرمی کوپل شده با کروماتوگرافی گازی

مهدی نکوئی*، مجید محمدحسینی
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه شیمی، شاهرود، ایران

تاریخ ثبت اولیه:۱۳۹۳/۶/۱۳، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده:۱۳۹۳/۷/۱۲، تاریخ پذیرش قطعی:۱۳۹۳/۸/۱

چکیده

روغن‌های اسانسی بخش‌های مختلف از گیاه معطر و وحشی *Pervoskia abrotanoides* karel (گل، برگ و ساقه) از منطقه‌ی خوش ییلاق، توسط روش استخراج با امواج میکروویو بدون استفاده از حلال (SFME) استحصال و ترکیبات متشکله به کمک روش کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنجی جرمی (GC/MS) بررسی و شناسایی گردید. ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده‌ی گل‌ها به ترتیب ۱و۸- سینئول(۱۵/۶۴٪)، بورنئول(۱۵/۱۵٪)، آلفا-کادینول(۷/۶۹٪) و آلفا-پینن (۶/۱۷٪)، ترکیبات عمده‌ی ساختار شیمیائی برگ‌ها به ترتیب ۱و۸- سینئول(۲۰/۴۵٪)، بورنئول (۱۶/۲۲٪) و کامفور(۶/۶۳٪) و اجزاء اصلی موجود در اسانس فرار ساقه‌های این گیاه به ترتیب بورنئول (۱۴/۶۷٪)، ۱و۸-سینئول(۱۳/۵۲٪) و آلفا-کادینول (۸/۴۵٪) هستند.

واژه‌های کلیدی: استخراج با امواج میکروویو بدون استفاده از حلال (SFME)، کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی، روغن‌های اسانس، Pervoskia abrotanoides karel.

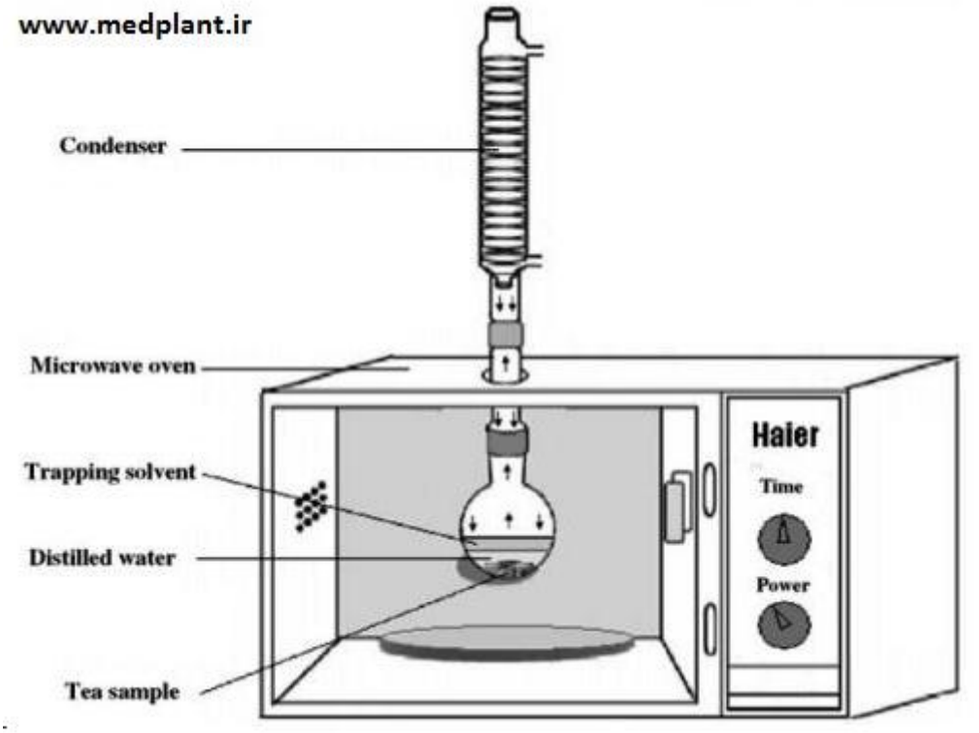
۱. مقدمه

گیاه *Pervoskia abrotanoides karel* با نام‌های محلی گل کبود یا کن کبد متعلق به خانواده‌ی نعناعیان، گیاهی بوته‌ای یا نیمه درختچه‌ای و به ارتفاع حدوداً یک متر با بوئی نافذ است که به روش بذرافشانی تکثیر می‌یابد. در ایران، رویش و پراکنش این گیاه عمدتاً در مناطق کوهستانی

***عهده‌دار مکاتبات:** مهدی نکوئی
نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه شیمی
تلفن:۰۲۳-۳۲۳۹۴۵۳۰ **پست الکترونیک:** E-mail: m_nekoei1356@yahoo.com

و زمین‌های سنگلاخی شمال شرق کشور بوده و در برخی از مناطق نیز به‌عنوان درختچه‌های زینتی کاشته می‌شود. درطب سنتی، خیسانده گل‌های پرووسکیا غالباً به عنوان یک عامل بالقوه‌ی پایین‌آورنده‌ی تب تجویز می‌شود [۳-۱].

جنس *Perovskia* دارای چندین گونه است که گونه *P.abrotanoides karel* بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. به رغم انجام مطالعات متعدد بر روی استحصال اسانس این گیاه در مناطق مختلف، تمرکز اکثر این گزارشات عمدتاً بر روش جداسازی مبتنی بر تقطیر با بخار آب می‌باشد. [۱۴-۴]. امروزه، در مراجع علمی راهکارهای جدیدتر و توانمندتر برای استخراج اسانس‌ها ابداع و ارائه شده‌اند. یکی از این روش‌ها، استخراج با میکروویو بدون استفاده از حلال[1] می‌باشد. در این روش که امروزه در سطح وسیع بکار گرفته می شود و از آن به روش تقطیر خشک[2] نیز یاد می شود، از گیاه تازه جهت اسانس گیری استفاده می شود بدون اینکه از هیچ حلال آبی یا آلی، استفاده شده باشد و از رطوبت موجود در بافت خود گیاه جهت جذب امواج میکروویو استفاده می گردد. حرارت درونی ایجاد شده در بافت گیاه منجر به ترکیدن سلولهای دارای اسانس در بافت گیاه می شود و اسانس خروجی توسط یک مبرّد در بیرون آون میکروویو جمع‌آوری می‌گردد. این روش 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. شکل(۱) دستگاه مورد استفاده در روش اخیر را نشان می دهد.



شکل ۱. سیستم مورد استفاده در استخراج با میکروویو.

[1] Solvent-free microwave extraction(SFME)
[2]Dry distillation

چنانچه گیاه تازه در اختیار نباشد، باز هم می توان از این روش استفاده نمود، به این ترتیب که گیاه مورد بررسی را یک ساعت درون آب خیسانده و بعد از آن آب اضافی خارج می شود و نمونه درون آون میکروویو قرار می گیرد.

هدف از تحقیق اخیر، جداسازی و شناسایی اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی روغن‌های اسانسی گیاه *Pervoskia abrotanoides karel* به وسیله‌ی تکنیک استخراج با میکروویو بدون استفاده از حلال (SFME) جفت‌شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی(GC-MS) می‌باشد.

۲. بخش تجربی

۲-۱. جمع‌آوری و شناسایی‌نمونه‌ی گیاهی

گیاه *Pervoskia abrotanoides* در تیرماه سال ۱۳۹۲ در موسم گل‌دهی و از منطقه‌ی خوش ییلاق در استان سمنان جمع‌آوری 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 مختلف آن جداسازی شد. بدین منظور، قطعات خشک‌شده گیاه به وسیله آسیاب برقی خرد شدند. قسمت‌های هوایی گیاه شامل برگ‌ها، ساقه‌ها و گل‌ها 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 می باشد که توسط یک سنسور از نوع ATC-EO اندازه گیری و تنظیم می شود. در این روش 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 می دهیم. 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. عمل آبگیری از روغن های اسانسی حاصل توسط سولفات سدیم بدون آب صورت پذیرفت.

۲-۳. جداسازی و شناسایی اجزاء

برای تفکیک و شناسایی مواد 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 و اندیس بازداری کواتس مندرج در منابع علمی، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه‌ی آنها با طیف‌های مرجع انجام شد[۱۵]. هم‌چنین، بررسی‌های تکمیلی با تطبیق الگوهای شکافتگی طیف‌های جرمی و اندیس‌های کواتس مبتنی بر تجربیات قبلی از مقالات پیشین گروه تحقیقاتی ما صورت گرفت[۲۴-۱۶].

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

جهت بررسی کمی و کیفی ساختار اسانس‌ها، کروماتوگرافی گازی مدل HP-6890 با آشکارساز FID مجهز به ستون تجاری HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطرداخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه‌ی داخلی ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ی حرارتی به کار رفته، شامل خیز تدریجی دمایی ۵۰ تا۲۶۰درجه‌ی سانتی‌گراد با روند افزایش ۵ °C درهر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۰ °C به مدت۲۰دقیقه صورت پذیرفت. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰°C، دمای رابط در واسط ۲۶۰°Cوگازحامل هلیوم با سرعت۱ میلی‌لیتردردقیقه در طول فاز ساکن جریان داشت. شرایط

کروماتوگرافی در GC-MS مانند شرایط کروماتوگرافی گازی بود. در عین حال، به عنوان آشکارساز از آشکارسازجرمی مدل HP-5973 شامل تجزیه‌گر جرمی از نوع چهارقطبی(کوادرپول) مجهز به یک منبع یون‌ساز برخورد الکترون (EI) با انرژی یونش ۷۰ الکترون ولت و دمای ۲۳۰°C استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

با بررسی و مطالعه‌ی کروماتوگرام و طیف‌های جرمی حاصل از دستگاه GC-MS، ترکیبات موجود در روغن اسانسی گل، برگ و ساقه‌ی گیاه*P.abrotanoides* شناسایی و در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

جدول۱. اجزای تشکیل دهنده موجود در روغن اسانسی گل، برگ و ساقه گیاه *Pervoskia abrotanoides* جدا شده بوسیله روش SFME.

No.	Compound	RI	Flowers oil(%)	Leaves oil(%)	Stems oil(%)
1	α-thujene	930	0.25	0.64	0.30
2	α-pinene	939	6.17	5.54	7.13
3	Camphene	954	3.03	5.40	3.38
4	β-pinene	979	5.14	3.36	5.98
5	Myrcene	991	-	5.55	-
6	α-phellandrene	1003	-	0.17	-
7	α-terpinene	1017	0.40	0.47	0.48
8	p-cymene	1025	0.71	1.53	0.86
9	Limonene	1029	1.85	-	1.94
10	1,8-cineole	1031	15.64	20.45	13.52
11	γ-terpinene	1060	0.64	0.80	0.84
12	Cis-sabinene hydrate	1070	0.30	0.59	0.32
13	α-terpinolene	1089	0.42	0.35	0.45
14	Linalool	1097	0.94	1.01	1.07
15	Camphor	1146	4.06	6.63	3.69
16	Borneol	1169	15.15	16.22	14.67
17	3-cyclohexen-1-ol	1181	0.7	0.69	0.63
18	α-terpineol	1189	1.08	1.10	0.98
19	Linalyl acetate	1257	0.87	1.21	2.07
20	Bornyl acetate	1289	4.41	3.68	6.11
21	α-terpinenyl acetate	1349	2.91	2.68	3.94
22	Eugenol	1359	0.55	0.44	-
23	α-copaene	1377	0.44	0.40	0.38
24	Geranyl acetate	1381	-	-	0.24
25	β-caryophyllene	1419	2.70	2.27	2.41
26	β-gurjunene	1434	1.25	1.20	1.04
27	α-humulene	1455	2.57	1.90	2.31

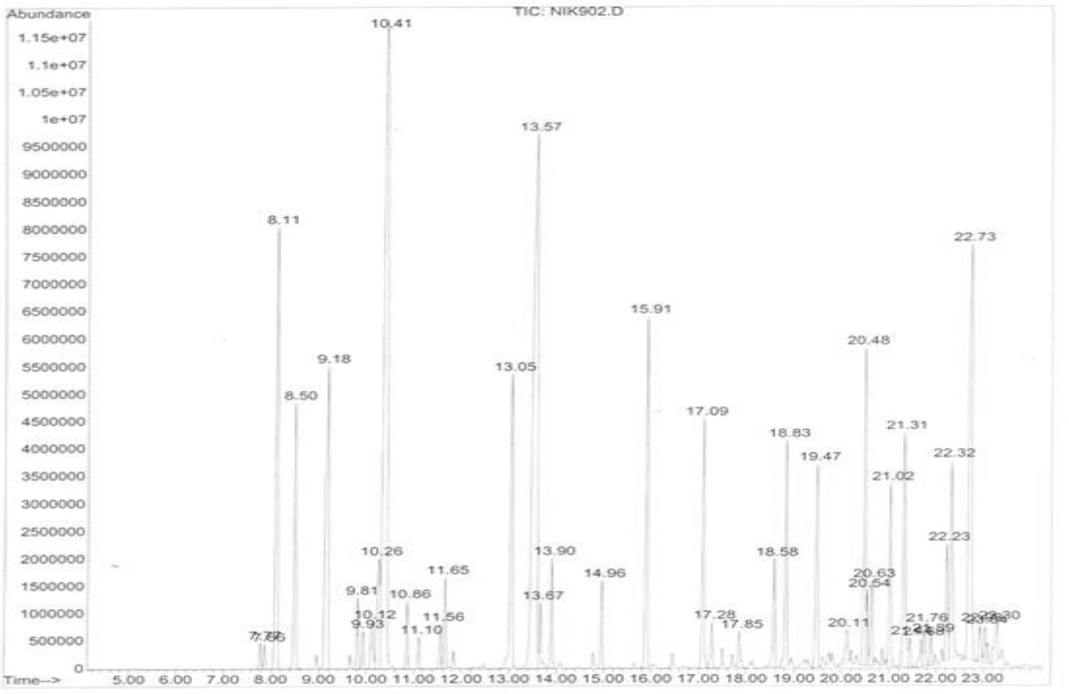
28	Epizonaren	1502	0.57	0.40	0.55
29	γ-cadinene	1514	3.85	2.45	3.19
30	δ-cadinene	1523	0.69	0.37	0.63
31	Cis-calamenene	1540	0.98	0.61	0.73
32	β-calacorene	1566	2.06	1.16	1.49
33	Caryophyllene oxide	1583	0.31	0.17	0.32
34	Trans-isolongifolanone	1627	1.40	0.50	1.59
35	Cubenol	1647	2.87	0.94	2.80
36	α-cadinol	1654	7.69	2.36	8.45
37	α-bisabolol	1686	-	-	0.72
	Total percentage		92.6	93.24	95.21
	Monoterpene (%)		18.61	23.81	21.36
	Sesquiterpene (%)		15.11	10.76	12.73
	Oxygenated compound (%)		58.18	57.98	60.25
	Number of compound		33	34	34

با بررسی داده های مندرج در این جدول، می توان دریافت که با اعمال روش SFME:

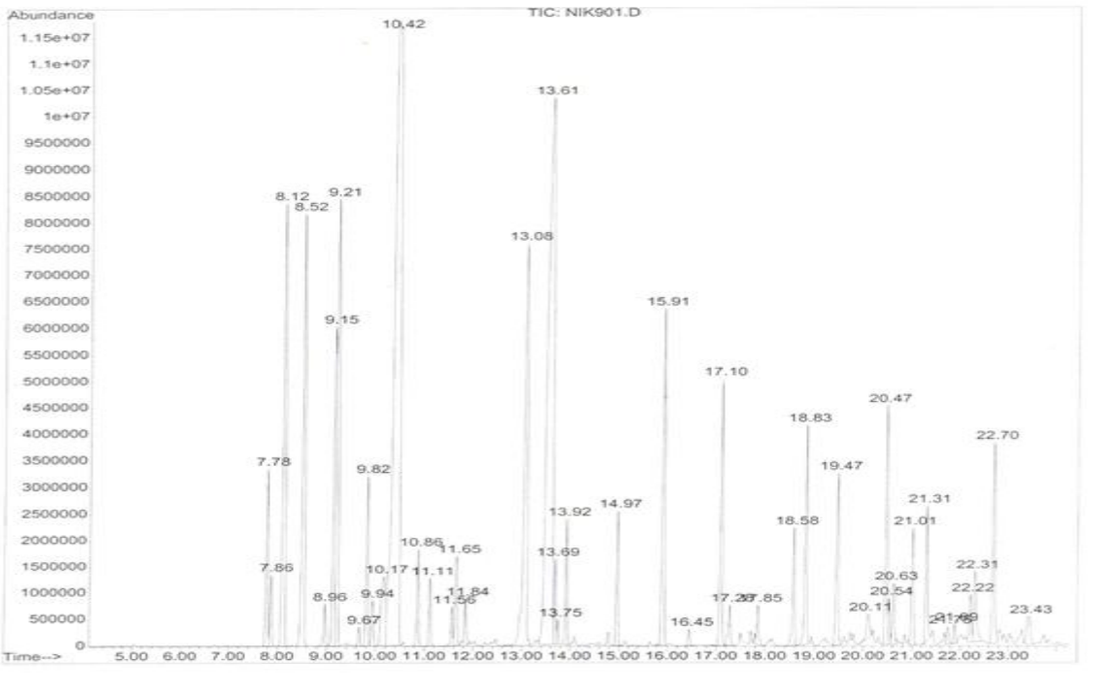
الف) در روغن اسانسی حاصل از گل این گیاه (شکل۲)، ۳۳ ترکیب که در مجموع ۹۲/۶۰% کل اسانس را تشکیل می دادند، شناسایی گردید. این روغن اسانسی حاوی ۱۸/۶۱% منوترپن‌های هیدروکربنی، ۴۵/۹۱% منوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۱۵/۱۱% سزکوِیی‌ترپن‌های هیدروکربنی، ۱۲/۲۷% سزکوِیی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و ۰/۷۰% ترکیبات غیرترپنی از قبیل هیدروکربن‌های آلیفاتیک بود. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده این اسانس عبارت بودند از: ۱و۸- سینئول(۱۵/۶۴%)، بورنئول(۱۵/۱۵%)، آلفا کادینول(۷/۶۹%) و آلفا پینن(۶/۱۷%).

-در روغن اسانسی حاصل از برگ این گیاه (شکل۳)، ۳۴ ترکیب که در مجموع ۹۳/۲۴%کل اسانس را تشکیل می دادند، شناسایی گردید. این روغن اسانسی حاوی ۲۳/۸۱% منوترپن‌های هیدروکربنی، ۵۴/۰۱% منوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۱۰/۷۶% سزکوِیی‌ترپن‌های هیدروکربنی، ۳/۹۷٪ سزکوِیی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و ۰/۶۹% ترکیبات غیرترپنی از قبیل هیدروکربن‌های آلیفاتیک بود. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده این اسانس عبارت بودند از: ۱و۸- سینئول(۲۰/۴۵%)، بورنئول(۱۶/۲۲%) و کامفور(۶/۶۳%).

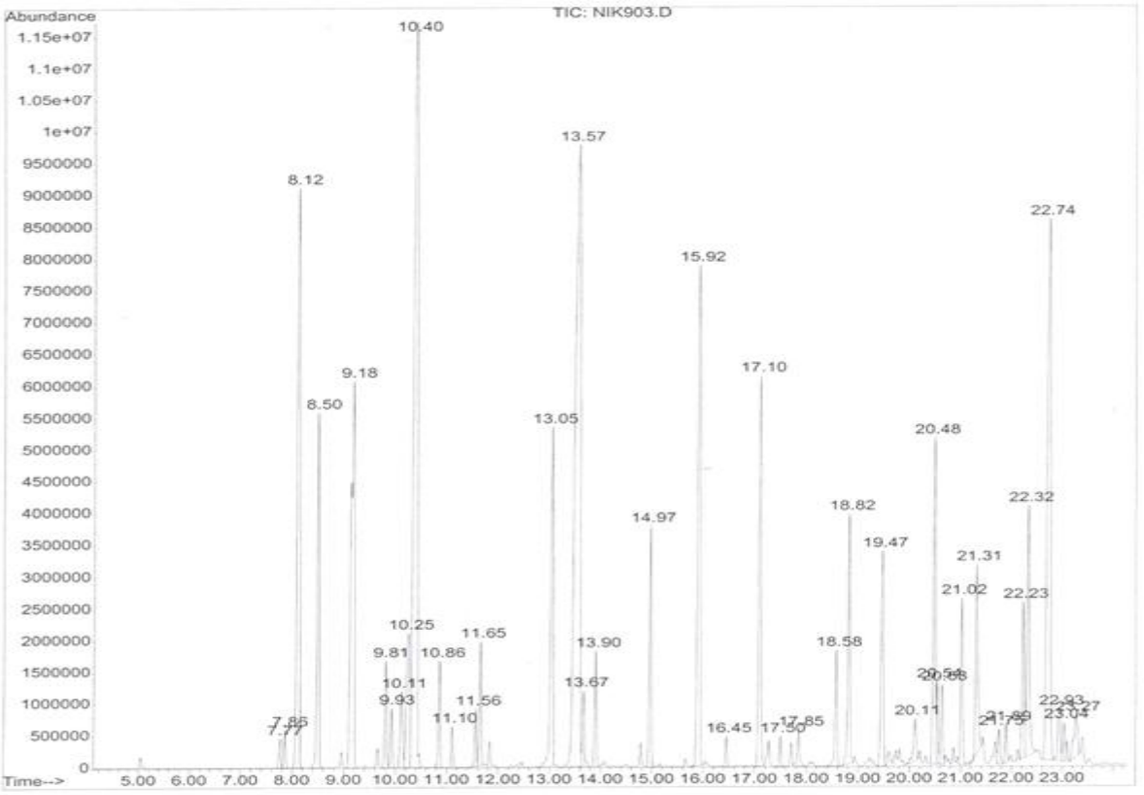
-در روغن اسانسی حاصل از ساقه این گیاه (شکل۴)، ۳۴ ترکیب که در مجموع ۹۵/۲۱%کل اسانس را تشکیل می دادند، شناسایی گردید. این روغن اسانسی حاوی ۲۱/۳۶% منوترپن‌های هیدروکربنی، ۴۶/۳۷% منوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۱۲/۷۳% سزکوِیی‌ترپن‌های هیدروکربنی، ۱۳/۸۸% سزکوِیی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و ۰/۶۳% ترکیبات غیرترپنی از قبیل هیدروکربن‌های آلیفاتیک بود. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده این اسانس عبارت بودند از: بورنئول(۱۴/۶۷%)،۱و۸- سینئول(۱۳/۵۲%)، آلفا کادینول(۸/۴۵%) و آلفا پینن(۷/۱۳%).



شکل ۲. کروماتوگرام روش SFME برای روغن های اسانسی گل گیاه *Pervoskia abrotanoides*

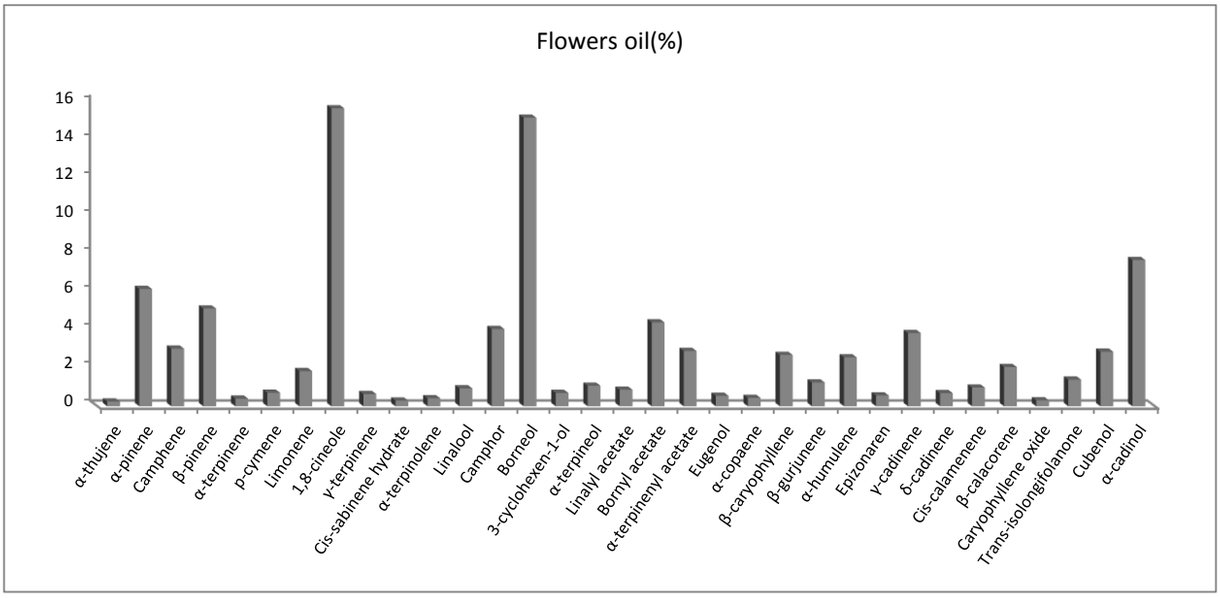


شکل ۳. کروماتوگرام روش SFME برای روغن های اسانسی برگ گیاه *Pervoskia abrotanoides*

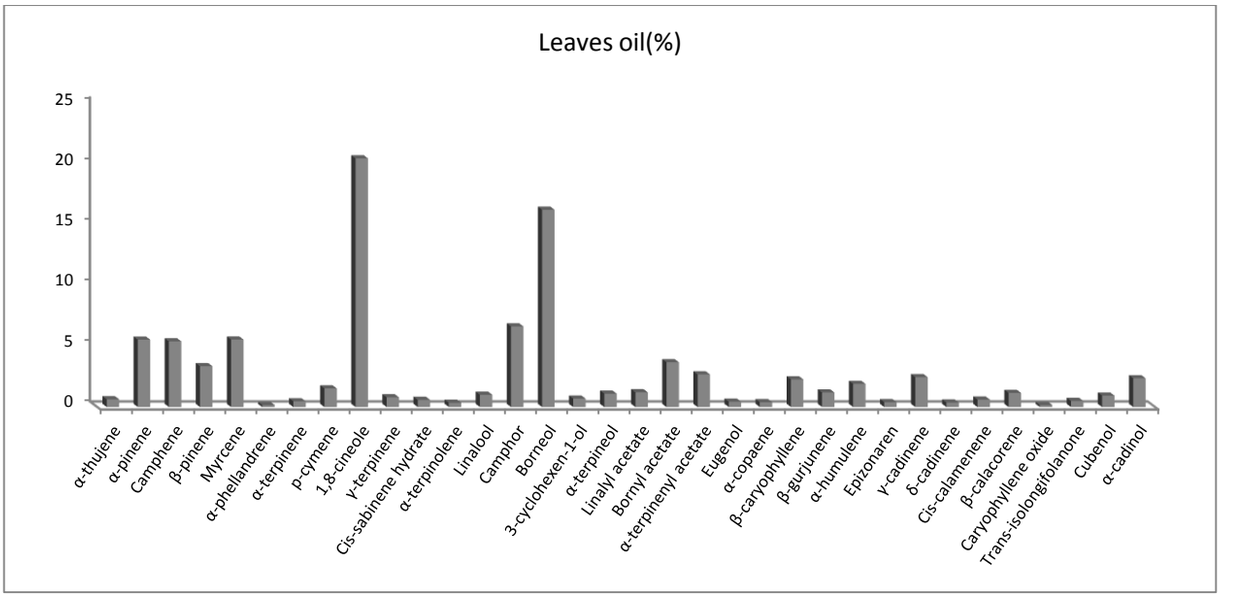


شکل٤. کروماتوگرام روش SFME برای روغن های اسانسی ساقه گیاه *Pervoskia abrotanoides*

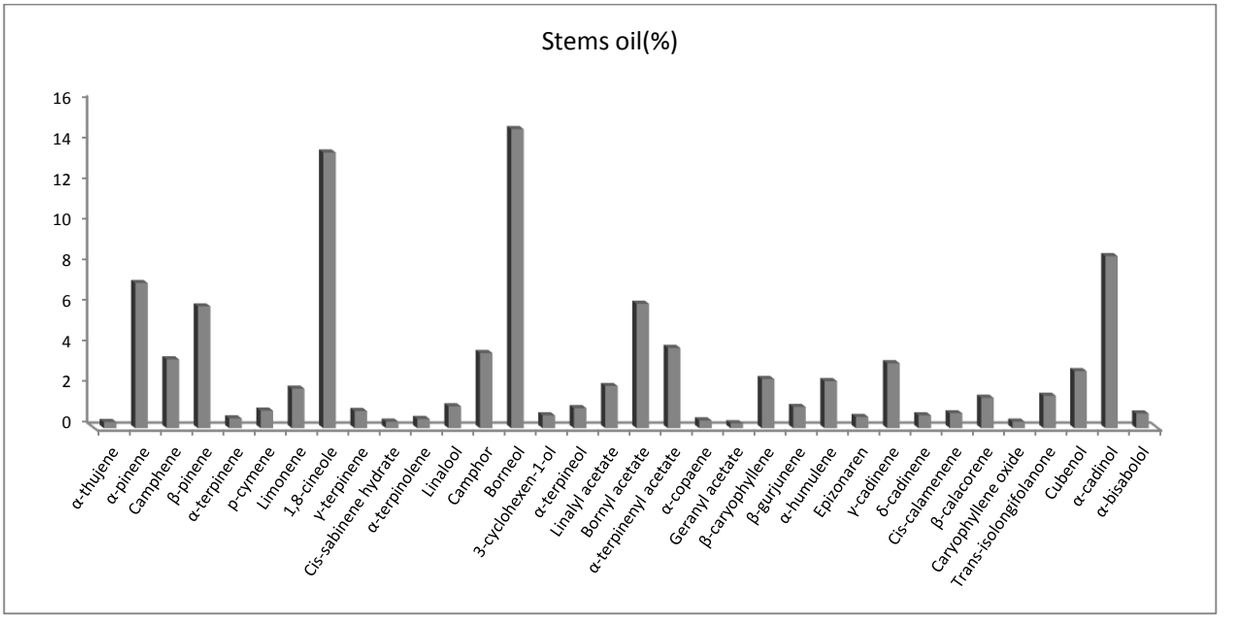
از طرف دیگر، جهت درک تصویری بهتر و مقایسه کمی درصد نسبی اجزای تشکیل دهنده روغن های اسانسی از اندام های گل، برگ و ساقه، نمودارستونی هر پروفایل، ترسیم و نتایج به ترتیب در شکل‌های ۵، ۶ و ۷ آورده شده است.



شکل۵. نمودار ستونی درصد ترکیبات موجود در گل گیاه *Pervoskia abrotanoides* استخراج شده به روشSFME



شکل٦. نمودار ستونی درصد ترکیبات موجود در برگ گیاه *Pervoskia abrotanoides* استخراج شده به روش SFME



شکل۷. نمودار ستونی درصد ترکیبات موجود در ساقه گیاه *Pervoskia abrotanoides* استخراج شده به روش SFME

٤. نتیجه گیری

گیاهان به عنوان منبع عظیم ترکیبات فعال زیستی بوده و فارغ از هر نوع چالش در زمینه گیاهان دارویی، عقیده جمعی پژوهشگران و دانشمندان بر اهمیت آنها در تهیه ترکیبات دارویی و بهداشتی تأکید دارد. استقبال مردم از گیاهان دارویی نیز بر مفید بودن طب سنتی بر پایه گیاه درمانی صحه می‌گذارد. گرایش و توجه ویژه به سمت گیاهان دارویی بیشتر به دلیل اثرات امیدبخش گیاهان در پیشگیری یا درمان بیماریهای قلبی-عروقی، التهابی و سرطان‌های مختلف بوده است. امروزه ثابت شده است که اغلب داروهای قوی و مؤثر در درمان بیماریها، دارای منشاء گیاهی

هستند. تحقیقات در زمینه گیاهان دارویی به حدی مورد توجه بوده است که در سال ۱۹۹۳ میلادی در انستیتو بین‌المللی سلامت (NIH) شاخه جدیدی بنام دفتر طب جایگزین تأسیس شد تا از محققانی که در زمینه طب گیاهی فعالیت می‌کنند حمایت کند.

در تحقیق اخیر، از روش توانمند SFME جهت جداسازی روغن‌های اسانسی بخش‌های مختلف از گیاه معطر و وحشی *Pervoskia abrotanoides karel* (گل، برگ و ساقه) از منطقه‌ی خوش ییلاق، استفاده و ترکیبات متشکله به کمک روش GC/MS بررسی و شناسایی گردید. بر این اساس، اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده‌ی اسانس حاصل از گل‌ها به ترتیب ۱و۸- سینئول(۱۵/۶۴٪)، بورنئول(۱۵/۱۵٪)، آلفا-کادینول(۷/۶۹٪) و آلفا-پینن (۶/۱۷٪)، ترکیبات عمده‌ی ساختار شیمیائی برگ‌ها به ترتیب ۱و۸- سینئول(۲۰/۴۵٪)، بورنئول (۱۶/۲۲٪) و کامفور(۶/۶۳٪) و اجزاء اصلی موجود در اسانس فرار ساقه‌های این گیاه به ترتیب بورنئول (۱۴/۶۷٪)، ۱و۸- سینئول(۱۳/۵۲٪) و آلفا-کادینول (۸/۴۵٪) بودند.

۵. مراجع

[۱] و. مظفریان، *فرهنگ نام‌های گیاهان ایران*، انتشارات فرهنگ معاصر، (**۱۳۷۵**).

[۲] م. آزادبخت، *رده‌بندی گیاهان دارویی*، انتشارات طیب، (**۱۳۷۸**).

[۳] ا. قهرمان، *فلورزنگی ایران*، انتشارات موسسه جنگل‌ها و مراتع بخش گیاه‌شناسی، (**۱۳۷۵**).

[۴] پ. باباخانلو، ف. سفیدکن، ل. احمدی، م. برازنده، ف. عسگری، *فصلنامه پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، جلد ۲، (**۱۳۷۷**).

[5] A. Nezhadali, M. Masrorniab, A. Solati, M. Akbarpour andM. Nakai-Moghaddam, *Der Pharma Chem.*, 1(**2009**)146.

[6] A. Rustaiyan, S.Masoudi, N. Ameri, K. Samiee and A. Monfared, *J. Essent. Oil Res.*, 9 (**2006**) 145.

[7] C. Younos, M. Lorrian and J.M. Pelt, *Plant. Med. Phytother.*, 6 (**1972**) 178.

[8] M.M. Saleh and H. Kating, *Planta. Med.*, 33 (**1978**) 85.

[9] A.D. Dembitskii, *Ser. Khim.*, 4 (**1984**) 4.

[10] M.C. Nigam, P.R. Rao and C.K. Atal, *Parfum. Kosmet.*, 50(1969) 221.

[11] S. Inouye, K. Uchida, H. Yamaguchi, T. Miyara, S. Gomi and M. Amano, *J. Essent. Oil Res.*, 13 (**2001**) 68.

[12] M. Mahboubi and N. Kazempour, *Indian. J. Pharm. Sci*., 71 (**2009**) 343.

[13] K.M. Semnani, *Pharm. Biol*., 42 (**2004**) 158.

[14] S. Sajjadi, I. Mehregan, M. Khatamsaz and Gh. Asgari, *Flav. Fragr. J.*, 48(**2005**) 445.

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

[16] M. Mohammadhosseini, A. Pazoki, H.A. Zamani, H. Akhlaghi and M. Nekoei, *J. Essent. Oil Bear Plant*,13 (**2010**) 704.

[17] M. Mohammadhosseini, H.A. Zamani, H. Akhlaghi and M. Nekoei, *J. Essent. Oil Bear. Plant*, 14, (**2011**) 559.

[18] H. Akhlaghi, M. Nekoei, M. Mohammadhosseini and A.Motavalizadehkakhky, *J. Essent. Oil Bear. Plant*, 15 (**2012**) 328.

[19] M. Shahnama, S. Azami and M. Mohammadhosseini, *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 4 (**2015**) 275.

[20] H. Hashemi-Moghaddam, M. Mohammadhosseini and M. Basiri, *J. Essent. Oil-Bear.Plants*, 18 (**2015**) 884.

[21] M. Mohammadhosseini, *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 18 (**2015**) 464.

[22] M. Mohammadhosseini, *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 18 (**2015**) 1360.

[23] M. Mohammadhosseini, B. Mahdavi and M. Shahnama, *J. Essent. Oil-Bear.Plants*, 18 (**2015**) 1321.

[24] M. Nekoei and M. Mohammadhosseini, *Anal. Chem. Lett.*, 4 (**2014**) 93.