

ارزیابی و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی موجود در مواد استخراجی چوب راش توسط کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی

سیدخلیل حسینی‌هاشمی^{۱*}، لیلا آقازاده^۲، افشین رجبی‌خرمی^۳ و غزاله ارشدی‌نیا^۲

- ۱) گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران. * رایانامه نویسنده مسئول: hashemi@kiauo.ac.ir
۲) گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۳) گروه شیمی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۷/۰۸

چکیده

گونه چوبی راش (*Fagus Orientalis*) متعلق به تیره درختان خزان‌کننده و پهن‌برگ یکی از مهمترین گونه‌های چوبی صنعتی در ایران بوده که به طبقه گونه‌های چوبی بی‌دوام تعلق دارد. به‌منظور ارزیابی نقش مواد استخراجی بر دوام اندک این گونه چوبی در برابر قارچ مولد پوسیدگی سفید رنگین کمان (*Trametes Versicolor*)، استخراج مواد از نمونه‌های چوبی با ابعاد ۲×۲×۲ سانتی‌متر توسط ترکیبی از حلال‌های آلی نظیر n- هگزان/اتانول (۱:۱)، اتانول، کلروفرم، دی‌اتیل اتر و آب به روش سوکسله طبق استانداردهای ASTM 1107- 96 و TAPPI T204 om- 88 انجام شد. میانگین درصد مواد استخراجی کلروفرمی چوب راش برابر ۵/۹۷ درصد تعیین گردید. نتایج حاصل از کاهش وزن نمونه‌ها بعد از ۱۴ هفته نشان داد که تاثیر عصاره کلروفرم بر دوام نمونه‌ها در برابر قارچ مولد پوسیدگی چوب بیشتر بوده و کاهش وزن نمونه‌ها (۳۰/۳۸ درصد) نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. ترکیب‌های فنولی و چربی‌دوست موجود در مواد استخراجی کلروفرمی این گونه چوبی در پایان توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. ۲۸ ترکیب در مجموع با درصد‌های متفاوت در عصاره کلروفرمی چوب راش شناسایی گردید که فراوان‌ترین آنها اسید هگزا دکانوییک، تری متیل سالیلیل استر (۱۳/۲۸ درصد)، ترانس- کاربوفیلین (۱۲/۸۸ درصد)، تری متیل سالیلیل ۴، ۵- دی متوکسی- ۴- (تری متیل سالیلیل اکسی) بنزوات (۱۱/۶۹ درصد)، ایکوزان (۶/۹۶ درصد) و هگزا دکان (۶/۷۹ درصد) بودند. همچنین از ترکیب‌های فنولی (سزکوئی‌ترین‌ها) با فعالیت ضد قارچی، ضد باکتری و لارو کشی، ترانس- کاربوفیلین (۱۲/۸۸ درصد)، بتا- سلینین (۳/۱۰ درصد)، بتا- بیسابولن (۳/۰۱ درصد)، آلفا- سلینین (۲/۱۹ درصد)، آلفا- کاربوفیلین (۱/۸۵ درصد)، کاربوفیلین اکسید (۱/۵۴ درصد)، آلفا- کوپائن (۰/۹۲ درصد)، دلتا- کادینن (۰/۸۵ درصد)، بتا- المن (۰/۷۷ درصد) و ایزواگونول (۰/۱۹ درصد) مورد شناسایی قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: عصاره کلروفرمی، قارچ رنگین‌کمان، ترکیب‌های فنولی و چربی‌دوست، ترانس- کاربوفیلین.

مقدمه

چوب صنعتی با درجه بالا را در کاغذسازی داشته و از رشد سریع، زی‌توده بالا، چگالی متوسط، چکش‌پذیری مناسب و مقاومت خمشی و کششی بالایی برخوردار می‌باشد (Liu et al., 2008).

درختان راش دارای سازگاری بالا نسبت به محیط‌زیست و تغییرات تنش آبی بوده و دارای تاریخچه طولانی در جنگل‌کاری بسیاری از کشورها می‌باشد. علاوه بر این، چوب راش استفاده گسترده جهانی به‌عنوان

دیگر عصاره‌ها بود. عمده ترکیب‌های شیمیایی عصاره کلروفومی شامل کامفور (۱۷/۶ درصد)، آلفا- ترپینئول (۱۱/۸ درصد)، تترادکانال (۵/۶ درصد) و (-) -g- کادینن (۷/۴ درصد) بودند.

Liu و همکاران (۲۰۰۸) ترکیب‌های فعال زیستی با ارزش افزوده بالای حاصل از پساب چوب راش فرآوری شده در کارخانه کاغذسازی را جداسازی کرده و ترکیب‌های شیمیایی مواد استخراجی بنزن/ اتانولی چوب راش را به منظور کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که در مجموع ۱۶ ترکیب با میزان ۸۳/۴ درصد از کل ترکیب‌های استخراجی شناسایی شدند که فراوان‌ترین آنها شامل ۱،۲- بنزن دی‌کربوکسیلیک اسید، ۴- هیدروکسی- (۲۳/۵۳ درصد)، ۶- (۲- فرمیل هیدرازینو)- N، N- بیس (ایزوپروپیل)- (۱،۳،۵- تریازین- ۲،۴- دی آمین (۹/۵۰ درصد)، بنزوفوران، ۲، ۳- دی‌هیدرو- (۶/۰۸)، ۴- مورفولین اتانول (۵/۱۱ درصد)، p- زایلن (۴/۹۴ درصد)، سیکلوهگزان، ۱،۱- اکسی بیس (۳/۳۵ درصد)، فنول، ۴- (۳- هیدروکسی- ۱- پروپنیل)- ۲- متوکسی (۳/۱۵ درصد)، فنول، ۲،۶- دی‌متوکسی (۳/۱۳ درصد)، ۱- هگزانول، ۲- اتیل (۳/۱۳ درصد)، بی‌سیکلو [۴.۱.۰] هپتان- ۲- ان، ۶- متیل (۲ درصد) بودند.

حلال‌های غیرقطبی نظیر n- هگزان قادر به استخراج مواد موجود در حفره سلولی خواهند بود (Ajuong & Breese, 1998). مطالعه‌ها نشان می‌دهد که چنین موادی شامل اسیدهای چرب زنجیره بلند، چربی‌ها، رزین‌ها، موم‌ها، ترپن‌ها، ترپنوییدها و فیتوسترول‌ها هستند (Laks, 1991؛ Forest Product Laboratory, 1999).

اتانول یک عامل حجم‌کننده مناسب بوده که می‌تواند ساختار چوب را در حدود بیش از ۸۳ درصد بیشتر از آب واکنش‌دهنده کند (Laks, 1991؛ Ajuong &

واژه مواد استخراجی، تعداد زیادی از ترکیب‌های مختلف را در برمی‌گیرد که می‌توان آنها را توسط حلال‌های قطبی و غیرقطبی از چوب استخراج کرد (Hillis, 1971). تشخیص ترکیب‌های اختصاصی در مواد استخراجی به کمک روش‌های کروماتوگرافی انجام می‌گیرد. چون مواد استخراجی به طور عمده از ترکیب‌های با وزن مولکولی پایین تشکیل شده‌اند، از این رو کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) به- عنوان یک روش مناسب برای تشخیص آنها به شمار می‌آید (Sjöström & Alén, 1999).

مشق‌سازی ترکیب‌ها در روش کروماتوگرافی گازی به منظور اطمینان از اندازه‌گیری‌های کمی الزامی است. بدین منظور از واکنش‌گرهای سایلیل‌دارکننده نظیر N، O- بیس (تری متیل سایلیل) تری فلورو استامید (BSTFA) برای سایلیل‌دار کردن کامل الکل‌های ترپنی، استرول‌ها و فنول‌ها استفاده می‌شود (Sjöström & Alén, 1999). اسیدهای رزینی و اسیدهای چرب موجود در مواد استخراجی چوب با سرعت مناسب توسط واکنش‌گرهای مذکور سایلیل‌دار شده و به خوبی به استرهای سایلیل‌دار تبدیل و در دستگاه کروماتوگرافی گازی از هم جدا می‌شوند. بهتر است که عمل سایلیل‌دار کردن به دلیل پایداری اندک ترکیب‌های سایلیل‌دار، در فاصله زمانی کوتاه قبل از تزریق نمونه به دستگاه GC/MS صورت گیرد (Xiao et al., 2001).

Li و همکاران (۲۰۱۴) ترکیب‌های شیمیایی حاصل از عصاره زایلن *Cinnamomum camphora* را توسط حلال‌های مختلف (آب گرم، متانول، استن، اتیل استات و کلروفورم) استخراج کردند. سمیت عصاره زایلن گونه مذکور برابر قارچ‌های مولد پوسیدگی چوب نشان داد که عصاره کلروفومی بهترین اثر ضد قارچی را در مقابل قارچ مولد پوسیدگی سفید رنگین کمان داشته، درحالی‌که بازدارندگی عصاره متانولی بر رشد میسیلیوم قارچ مولد پوسیدگی قهوه‌ای *Gloeophyllum trabeum* بیشتر از

زمان استخراج به‌طور متوالی با استخراج بیشتر مواد از نمونه‌ها افزایش یافت. آزمون‌های اولیه به‌منظور تعیین زمان تقریبی استخراج نشان داد که یک چرخه استخراج ۷۲ ساعته برای این کار کافی است (Nzokou & Kamdem, 2004).

تعداد ۴ نمونه از هر تیمار برای آزمون پوسیدگی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌ها توسط مغار از وسط (عمود بر دواير سالیانه و در جهت اشعه چوبی) به دو نیم با ابعاد ۱۰×۲۰×۲۰ (طولی×مماسی×شعاعی) میلی‌متر تقسیم شدند و نصف نمونه برای آزمون پوسیدگی قارچی مورد استفاده قرار گرفت.

چهار نمونه از هر نوع تیمار استخراج طبق British Standard 838 (۱۹۶۱) و روش Kolleschale در مدت زمان ۱۴ هفته در معرض قارچ مولد پوسیدگی سفید رنگین‌کمان (*Trametes versicolor*) قرار گرفتند. کاهش وزن نمونه‌ها بعد از سپری شدن مدت زمان لازم طبق رابطه (۱) محاسبه و تجزیه و تحلیل آماری روی داده‌ها انجام گرفت.

$$\text{رابطه (۱)} \quad \frac{Ma - Mb}{Ma} \times 100 = \text{کاهش وزن (درصد)}$$

که Ma در آن برابر وزن خشک نمونه قبل از تیمار پوسیدگی قارچی (بعد از تیمار استخراج) و Mb برابر وزن خشک نمونه بعد از تیمار پوسیدگی قارچی بود. مقدار کل مواد استخراجی استخراج شده بر طبق توصیه استاندارد ASTM 1107-96 و TAPPI T204 om-88 از اختلاف وزن نمونه‌های چوب عاری از رطوبت (خشک) قبل و بعد از عمل استخراج محاسبه و تحلیل آماری روی داده‌ها انجام گرفت (Nzokou & Kamdem, 2004).

حدود ۱ میلی‌گرم از عصاره به‌دست آمده برای شناسایی مواد استخراجی حاصل از نمونه‌های چوب راش توسط حلال مورد نظر با ۳۰ میکرولیتر واکشن‌گر

(Breese, 1998). از این رو انتظار می‌رود که اتانول، مواد موجود در ساختار دیواره سلولی شامل تانن‌های متراکم، فلاونوئیدها و فنول‌ها را استخراج کند (Laks, 1991). زمانی که آب گرم برای استخراج به‌کار برده شود، تانن‌های متراکم و کربوهیدرات‌های با وزن مولکولی پایین محلول در آب استخراج می‌گردد (Ajuong & Breese, 1998). هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر مواد استخراجی بر میزان دوام چوب راش و شناسایی ترکیب‌های آن بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش به‌منظور تعیین تاثیر مواد استخراجی بر میزان دوام چوب راش، نمونه‌های چوب ماسیو با ابعاد ۲×۲×۲ سانتی‌متر از دیسک ۵۰ سانتی‌متری ارتفاع برابر سینه چوب راش تهیه و بعد از رسیدن به تعادل رطوبتی با محیط در آن با دمای 10.3 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها از آن خارج شده و داخل دسیکاتور حاوی ماده جاذب رطوبت در مدت زمان ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. بعد از خنک شدن نمونه‌ها، وزن خشک نمونه‌ها توسط ترازو با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. ابعاد خشک نمونه‌ها نیز به وسیله کولیس با دقت ۰/۰۱ تعیین شد. چگالی خشک نمونه‌ها محاسبه و سپس آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه همراه با تست دانکن روی داده‌های آن انجام گرفت (جدول ۱).

استخراج مواد از نمونه‌های چوبی راش خشک شده به کمک حلال‌های آلی مختلف از جمله n-هگزان/ اتانول (با نسبت ۱:۱)، اتانول، کلروفرم، دی‌اتیل اتر طبق استانداردهای (TAPPI 1993) TAPPI T204 om-88 و (ASTM 1999) ASTM 1107-96 و به کمک آب طبق استانداردهای (ASTM 1999) ASTM 1110-96 و (TAPPI 1993) TAPPI T207 om-88 انجام گرفت. تنها تغییر در فرآیند استخراج، استفاده از نمونه‌های چوب ماسیو با ابعاد ۲×۲×۲ سانتی‌متر به جای پودر چوب بود.

تزریق گاز کروماتوگراف، split ۱:۱۵۰ و برنامه دمایی بین ۴۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با ۴ درجه سانتی‌گراد افزایش دما به ازای هر دقیقه بود. شناسایی طیف‌های جرمی از طریق مقایسه با طیف‌های پایه موجود در بانک اطلاعاتی رایانه دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنج جرمی به صورت الکترونی انجام شد (Kensuke & Miyake, 1987).

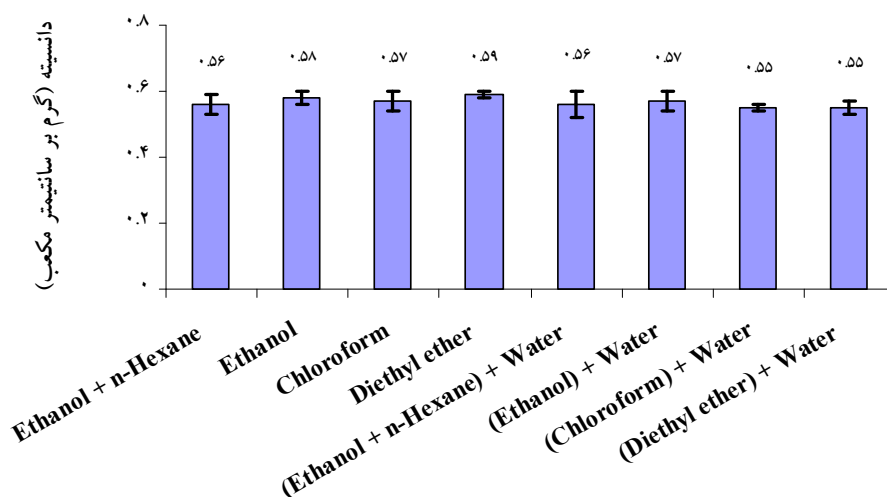
نتایج

یافته‌ها نشان داد که بین چگالی خشک نمونه‌هایی که مواد استخراجی آنها توسط حلال‌های مختلف استخراج شده است، از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار وجود ندارد (شکل ۱).

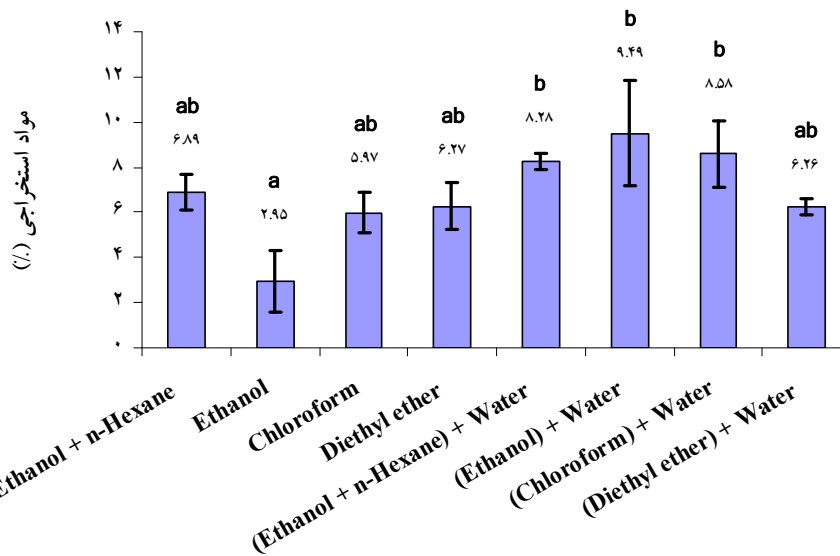
بیشترین میزان مواد استخراجی (۹/۴۹ درصد) مربوط به نمونه‌هایی بوده که مواد آنها توسط حلال‌های آب+ اتانول استخراج گردید (شکل ۲).

۱۰، N,O- bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide میکرولیتر Trimethylchlorosilane یک درصد و حدود ۳۰ میکرولیتر پیریدین مخلوط شده و در لوله آزمایش در بسته به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری با درجه حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Rencoret *et al.*, 2007). با اندکی اصلاحات، لازم به توضیح است که قبل از عمل سایلیل‌دار کردن به منظور حذف هر گونه رطوبت و آب در عصاره کلروفرمی استخراج شده و انجام بهتر عمل سایلیل‌دار کردن، عصاره کلروفرمی توسط ماده سولفات سدیم خشک رطوبت‌گیری شد. نمونه سایلیل‌دار پس از سرد شدن به دستگاه GC/MS با مشخصات مقابل تزریق گردید.

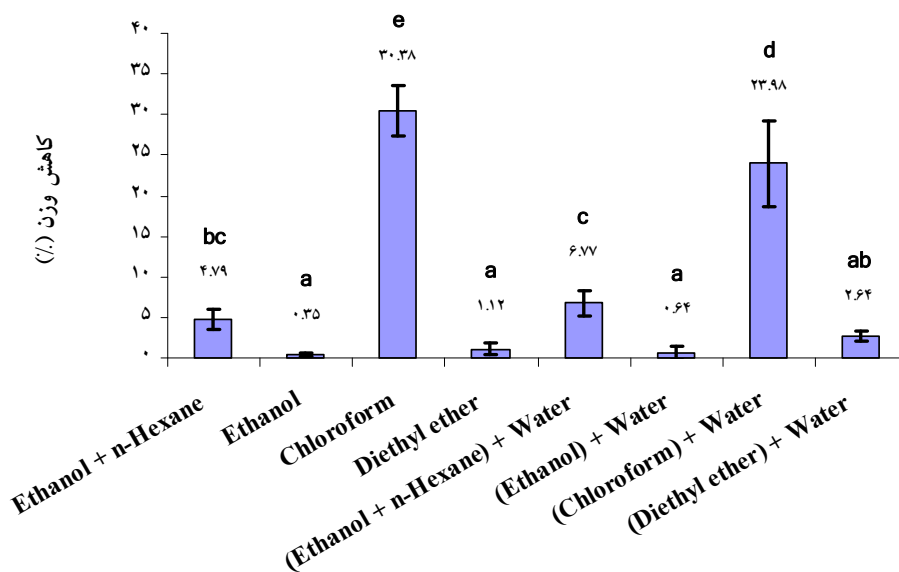
کروماتوگراف گازی Agilent 7890A کوپل شده با طیف‌سنج جرمی Agilent 5975C VL MSD with Triple- Axis، ستون DB-1 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فیلم مایع ۵ میلی‌متر، گاز حامل هلیوم با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه با سیستم



شکل ۱. چگالی خشک نمونه‌های چوبی راش قبل از انجام تیمار استخراج توسط حلال‌های آلی و آب



شکل ۲. درصد مواد استخراجی استخراج شده از نمونه‌های چوبی راش توسط حلال‌های آلی و آب



شکل ۳. درصد کاهش وزن نمونه‌های چوبی راش بعد از تیمار استخراج توسط حلال‌های آلی و آب

تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها نشان نداد ($p > 0.05$). تفاوت معنی‌داری بین میزان مواد استخراجی در تیمار کلروفرم با سایر تیمارها به دست آمد ($p < 0.05$)، در حالی - که اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای اتانول، دی‌اتیل‌اتر، آب + اتانول و آب + دی‌اتیل‌اتر از لحاظ آماری وجود نداشت ($p > 0.05$).

کمترین میزان مواد استخراجی (۲/۹۵ درصد) در مقابل مربوط به نمونه‌هایی بوده که توسط حلال اتانول استخراج شده‌اند. همچنین بین درصد مواد استخراجی استخراج شده توسط حلال‌های مختلف از لحاظ آماری در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد، به طوری که درصد مواد استخراجی در تیمار آب و اتانول به شکل معنی‌داری ($p < 0.05$) از تیمار اتانول بیشتر بود، ولی

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) ویژگی‌های جرم ویژه، مواد استخراجی و کاهش وزن نمونه‌های چوب راش

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی‌داری
بین گروه‌ها	۰/۰۰۵	۷	۰/۰۰۱	۱/۱۴۲	۰/۳۷۱
درون گروه‌ها	۰/۰۱۴	۲۴	۰/۰۰۱	-	-
کل	۰/۰۱۹	۳۱	-	-	-
بین گروه‌ها	۱۱۴/۶۹۹	۷	۱۶/۳۸۶	۱/۷۰۲	۰/۱۵۶
درون گروه‌ها	۲۳۱/۱۱۸	۲۴	۹/۶۳۰	-	-
کل	۳۴۵/۸۱۷	۳۱	-	-	-
بین گروه‌ها	۳۸۰۴/۹۰۲	۷	۵۴۳/۵۵۷	۹۹/۷۹۹	۰/۰۰۰
درون گروه‌ها	۱۳۰/۷۱۶	۲۴	۵/۴۴۷	-	-
کل	۳۹۳۵/۶۱۸	۳۱	-	-	-

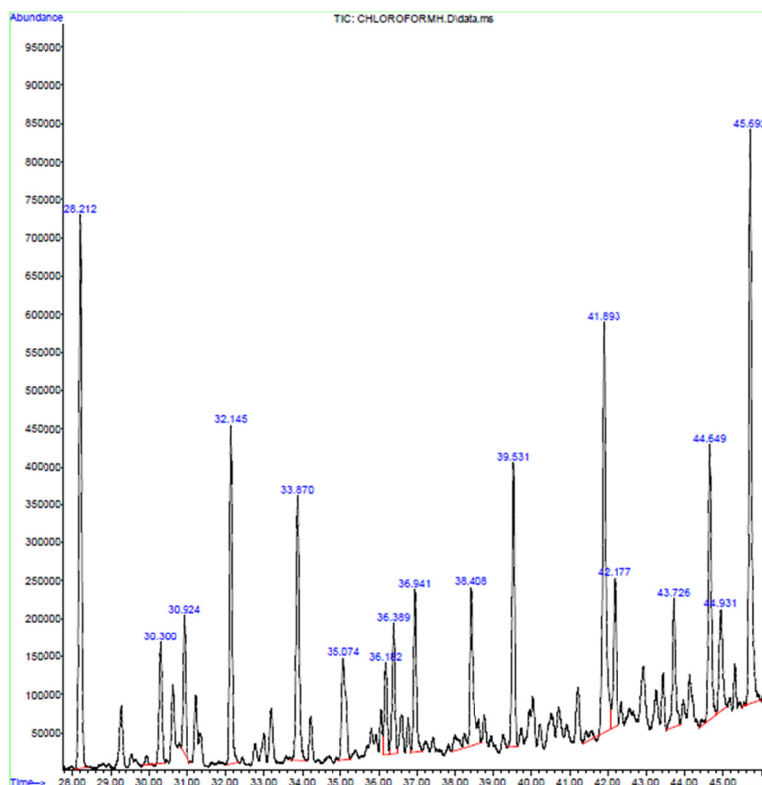
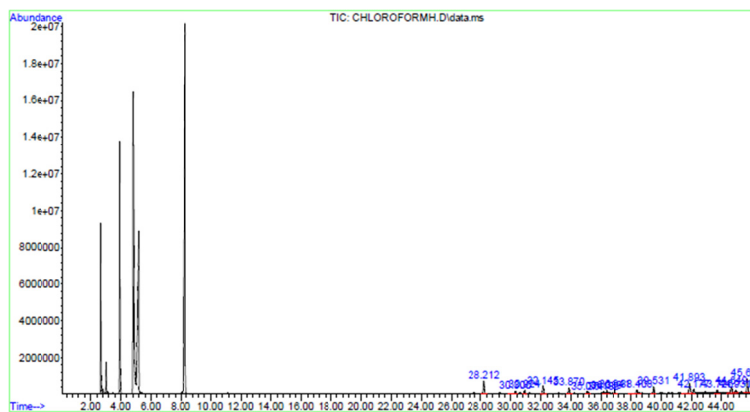


شکل ۴. میزان پوشش میسیلیوم قارچ مولد پوسیدگی سفید رنگین کمان بر روی نمونه‌های با تیمار استخراج مواد استخراجی توسط حلال کلروفرم (ردیف بالا) و حلال‌های کلروفرم + آب (ردیف پایین)

به‌منظور بررسی علت کاهش وزن بیشتر در نمونه‌هایی که مواد استخراجی آنها توسط حلال کلروفرم استخراج شده، ترکیب‌های شیمیایی موجود در عصاره کلروفرمی چوب راش به کمک دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی (GC/MS) مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند. شکل ۵، کروماتوگرام GC/MS نمونه استخراج شده از چوب درخت راش را نشان می‌دهد که طیف حلال در ۱۰ دقیقه اول زمان ماندگاری حذف گردید. عصاره چوب مورد مطالعه پس از استخراج توسط حلال کلروفرم با استفاده از برنامه دمایی به دستگاه GC-MS تزریق گردید که ترکیب‌های شناسایی شده در عصاره کلروفرمی چوب راش در جدول ۲ آورده شده است.

بیشترین میزان کاهش وزن (۳۰/۳۸ و ۲۳/۹۸ درصد) به‌ترتیب مربوط به نمونه‌هایی بود که مواد استخراجی آنها توسط حلال‌های کلروفرم و آب + کلروفرم استخراج شده و کمترین میزان کاهش وزن (۰/۳۵ درصد) در نمونه‌هایی به‌دست آمد که مواد استخراجی آنها با حلال اتانول استخراج گردید (شکل ۳ و جدول ۱). همچنین اختلاف معنی‌داری بین درصد کاهش وزن نمونه‌های تحت تاثیر استخراج با حلال‌های مختلف از لحاظ آماری وجود داشت.

همچنین درصد پوشش میسیلیوم در اطراف نمونه‌های آلوده شده با قارچ مولد پوسیدگی سفید رنگین کمان برابر ۱۰۰ درصد بوده و نمونه‌ها کاملاً توسط میسیلیوم قارچ احاطه شدند (شکل ۴).



شکل ۵. کروماتوگرام گازی نمونه استخراج شده از چوب راش، دارای طیف حلال (بالا) و حذف طیف حلال (پایین)

آلکان‌های سبک تا نسبتاً سنگین هستند و مهم‌ترین آنها شامل تری‌دکان (۰/۲۳ درصد)، تترا‌دکان (۰/۲۳ درصد)، پنتا‌دکان (۰/۶۲ درصد)، هگزا‌دکان (۶/۷۹ درصد)، اکتا‌دکان (۶/۲۹ درصد)، ایکوزان (۶/۹۶ درصد) بودند. به‌طور کلی در حدود ۹۹/۵۹ درصد از ترکیب‌های شیمیایی موجود در مواد استخراجی راش مورد شناسایی قرار گرفتند.

بخشی از ترکیب‌های شناسایی شده چوب راش در این پژوهش جزء اسیدهای چرب اشباع شده، بخشی جزء اسیدهای چرب اشباع نشده، بخشی جزء آلکان‌های سبک و سنگین، بخشی جزء استرول‌ها، بخشی جزء الکل‌های چرب، بخشی جزء ترکیب‌های فنولی (سزکویی‌ترین‌ها) و مقدار ناچیزی نیز از قند گلوکز (۱/۷۰ درصد) بودند. بعضی از این ترکیب‌ها شامل

جدول ۲. ترکیب‌های شناسایی شده در عصاره کلروفومی چوب راش (به صورت مشتقات سایلیل‌دار)

زمان بازداری (دقیقه)	نام ترکیب	سطح زیر پیک (درصد)
۱۳/۲۴۳°	-3,6- Dioxo- 2,7- disilaoctane, 2,2,4,7,7- pentamethyl	۰/۵۷
۲۳/۸۰۸°	Trimethylsilyl ether of glycerol	۰/۳۰
۲۴/۱۱۴°	Tridecane	۰/۲۳
۲۶/۷۷۹°	alpha- Copaene	۰/۹۲
۲۷/۲۰۴°	beta- Elemene	۰/۷۷
۲۷/۵۵۸°	Tetradecane	۰/۲۳
۲۸/۲۱۲	trans- Caryophyllene	۱۲/۸۸
۲۹/۲۷۳	alpha.- Caryophyllene	۱/۸۵
۲۹/۵۳۹	Isoeugenol- monoTMS	۰/۱۹
۳۰/۳۰۰	beta.- Selinene	۳/۱۰
۳۰/۶۱۴	alpha.- Selinene	۲/۱۹
۳۰/۷۹۲	Pentadecane	۰/۶۲
۳۰/۹۲۱	beta.- Bisabolene	۳/۰۱
۳۱/۲۳۱	-Benzaldehyde, 3- methoxy- 4- [(trimethylsilyl)oxy]	۱/۷۷
۳۱/۳۵۷	delta.- Cadinene	۰/۸۵
۳۳/۱۹۴	Caryophyllene oxide	۱/۵۴
۳۳/۸۷۰	Hexadecane	۶/۷۹
۳۶/۱۸۳	3,5- dimethoxy- 4- trimethylsilyloxybenzaldehyde	۲/۱۴
۳۶/۳۹۰	-Silane, trimethyl(1- methylethoxy)	۳/۱۹
۳۶/۹۴۱	Homovanillyl alcohol 2TMS	۳/۷۷
۳۸/۴۰۸	Isovanillic acid 2TMS	۵/۷۵
۳۹/۵۳۱	Octadecane	۶/۲۹
۴۱/۸۹۲	Trimethylsilyl 3,5- dimethoxy- 4- (trimethylsilyloxy)benzoate	۱۱/۶۹
۴۲/۱۷۷	-Benzene, (1- methyl)dodecyl)	۳/۷۰
۴۳/۷۲۵	-Silane, (hexadecyloxy)trimethyl	۳/۳۱
۴۴/۶۴۹	Eicosane	۶/۹۶
۴۵/۲۹۶	Glucose 5TMS	۱/۷۰
۴۵/۶۹۱	Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester	۱۳/۲۸
کل		۹۹/۵۹

* لازم به توضیح است که ترکیب‌هایی که زمان بازداری آنها با ستاره مشخص شده، از کروماتوگرام با طیف حلال بعد از ۱۰ دقیقه اول شناسایی شده‌اند. از آنجایی که درصد این ترکیب‌ها بسیار کم است، در کروماتوگرام حاوی طیف حلال مشخص نبوده، ولی در گزارش ترکیب‌ها آورده شده‌اند.

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از مهمترین عوامل موثر بر دوام طبیعی گونه‌های مختلف چوبی در برابر موجودات مخرب چوب، مواد استخراجی و ترکیب‌های شیمیایی موجود در آن می‌باشد. در این پژوهش ترکیب‌های شیمیایی عصاره حاصل از چوب ماسیو راش توسط حلال‌های استخراج-کننده مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های چوب ماسیو که مواد استخراجی آنها با حلال‌های مختلف استخراج گردید، در برابر قارچ مولد پوسیدگی سفید

به دلیل استفاده BSTFA، از ترکیب‌های مهم شناسایی شده با درصد بالا در عصاره کلروفومی چوب راش می‌توان به اسید هگزا دکانوییک به صورت مشتق تری متیل سایلیل استر (۱۳/۲۸ درصد) از دسته اسیدهای چرب اشباع شده و ترانس- کاریوفیلین (۱۲/۸۸ درصد) که از دسته سزکویی‌ترین‌ها و جز ترکیب‌های فنولی می‌باشد، اشاره کرد.

رنگین‌کمان قرار گرفتند. بررسی‌ها نشان داد که عصاره کلروفرمی دارای بیشترین اثر ضد قارچی در برابر قارچ رنگین‌کمان نسبت به بقیه عصاره‌ها بوده است. فن‌آوری GC/MS به منظور آنالیز ترکیب‌های شیمیایی چوب راش مورد استفاده قرار گرفت.

بیشتر ترکیب‌های قندی مورد نیاز برای رشد قارچ بر اساس یافته‌های این پژوهش توسط حلال اتانول و آب از چوب راش خارج شده و یا اینکه ممکن است بیشتر حلال‌ها به جز حلال کلروفرم به خوبی نتوانسته باشند به دیواره سلولی چوب راش نفوذ نمایند تا اینکه ترکیب‌های فنولی مضر برای رشد قارچ را خارج کنند. از این رو قارچ دیگر تمایلی برای حمله به چوب از خود نشان نداده و یا اینکه توانایی حمله به چوبی را که ترکیب‌های فنولی آن خارج نشده، ندارند.

بررسی‌ها نشان داد که تعدادی از مواد غیرقطبی شامل ترکیب‌های آلی آلکان‌ها و اسیدهای چرب در مواد شناسایی شده عصاره کلروفرمی چوب راش وجود داشت که در آب نامحلول هستند. این ترکیب‌ها بسته به نوع مصرف چوب می‌توانند اثرات منفی یا مثبتی روی کاربردهای صنعتی چوب داشته باشند. اسیدهای چرب به‌عنوان قارچ‌کش‌های کشاورزی دارای فعالیت ضد قارچی در برابر آسکومیست‌ها، دوتیرومیست‌ها و بازیدیومیست‌ها می‌باشند (Clausen & Green, 2009). آلکان‌ها درصد کمی از کل ترکیب‌های غیرقطبی محلول در عصاره کلروفرمی چوب راش را شامل می‌شوند.

بیشتر ترکیب‌های شناسایی شده در عصاره کلروفرمی چوب راش جز مواد چربی‌دوست (لیپوفیلیک) غیرقطبی و ترکیب‌های فنولی بودند. مطالعه‌های قبلی محققان نشان داده است که حلال‌های غیرقطبی صرفاً مواد استخراجی موجود در حفره سلولی را خارج می‌سازند (Ajuong & Breese, 1998) که شامل اسیدهای چرب با زنجیر طولی، چربی‌ها، رزین‌ها، موم‌ها، ترپن‌ها و فیتوسترول‌ها هستند (Forest Product Laboratory,)

(1999; Laks, 1991).

ترانس کاربوفیلن یکی از روغن‌های ضروری مهم شناخته شده در چندین گونه مختلف گیاهان پزشکی مورد استفاده در جوامع پزشکی برزیل است که اثرات داروشناسی زیادی دارد (Pinho-da-Silva et al., 2012). به‌عنوان مثال این ترکیب اثر ضد میکروبی (Astani et al., 2011)، مسکن یا بی‌حس‌کننده موضعی (Chavan et al., 2010) و ضد التهاب (Fernandes et al., 2007; Medeiros et al., 2007) دارد. همچنین روی عضله صاف روده‌ای برای ایجاد بلوک‌های اتصال الکترومکانیکی و مکانیکی دارو اثرگذار می‌باشد (Leonhardt et al., 2010). اکسید کاربوفیلن نیز یکی دیگر از روغن‌های ضروری مهم به‌عنوان مسکن یا بی‌حس‌کننده موضعی (Chavan et al., 2010) می‌باشد.

ترین‌ها متداول‌ترین ریزعناصر مورد استفاده به‌عنوان طعم‌دهنده غذا، لوازم بهداشتی و عطرها هستند (Craveiro et al., 1981). ترپن‌یویدها نیز ترکیب‌های فنولی هستند که فعالیت ضد میکروبی از خود نشان داده و مونوترپن‌ها و سزکویی‌ترین‌ها در بین آنها در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها فعال هستند (Manimaran et al., 2007; Bhagavathy et al., 2011; Prasad & Elumalai, 2011; Nain et al., 2011). مطالعه اخیر نشان می‌دهد که همین مقدار دوام اندک چوب راش در برابر قارچ مولد پوسیدگی سفید رنگین‌کمان ممکن است ناشی از وجود ترکیب‌های فنولی از دسته سزکویی‌ترین‌هایی مانند آلفا-کوپائن، ترانس-کاربوفیلن، آلفا-کاربوفیلن، کاربوفیلن-اکسید، دلتا-کادینن، آلفا-سلینن، بتا-سلینن، بتا-المن و بتا-بیسابولن یافته شده در عصاره کلروفرمی چوب راش باشد. بعضی از این ترکیب‌ها در عصاره اتیل استاتی میوه و بذر گیاه *Illiciumgriffithii* از خانواده Schisandraceae نیز از خود فعالیت ضد باکتریایی نشان داده‌اند (Vijayakumar et al., 2012).

بنزآلدهیدها از جمله ترکیب‌های فنولی دیگری

- Bhagavathy, S., Sumathi, P. and Bell, I.J.S. (2011) Green algae *Chlorococcumhumicola*- a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(1): S1- S7.
- British Standard 838. (1961) Method of test for toxicity of wood preservatives to fungi. BSI, London.
- Chavan, M.J., Wakte, P.S. and Shinde, D.B. (2010) Analgesic and anti- inflammatory activity of Caryophyllene oxide from *Annonasquamosa* L. bark. *Phytomedicine*, 17(2): 149-151.
- Clausen, C.A. and Green, F. (2009) New approaches to wood protection. Wood and Fiber Product Seminar: VTT and USDA Joint Activity, September 22-23. A. Harlin and M. Vikman. (Ed.). (VTT Symposium 263). Helsinki, Finland. pp. 165-176.
- Craveiro, A.A., Fernandes, A.G., Andrade, C.H.S., Matos, F.J.A., Alencar, J.W. and Machado, M.I.L. (1981) Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste; Fortaleza, Brazil: 150p.
- Fernandes, E.S., Passos, G.F., Medeiros, R., da-Cunha, F.M., Ferreira, J., Campos, M.M., Pianowski, L.F. and Calixto, J.B. (2007) Anti- inflammatory effects of compounds alpha- humulene and (-)-trans- caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordiaverbenacea*. *European Journal of Pharmacology*, 569(3): 228- 236.
- Forest Product Laboratory. (1999) Wood handbook. Wood as an engineering material. Gen. Tech. Rep. FPL- GTR- 113. Madison, WI: Department of Agriculture, Forest Service, Forest Product Laboratory: 436p.
- Hillis, W.E. (1971) Distribution, properties and formation of some wood extractives. *Wood Science and Technology*, 5(4): 272- 289.
- Kensuke, N. and Miyake, Y. (1987) Phenolic compounds from the heartwood of European oak and brandy. *Mokuzai Gakkaishi*, 33(5): 408-415.
- Kim, J.H., Chan, K.L., Mahoney, N. and Campbell, B.C. (2011) Antifungal activity of redox- active benzaldehydes that target cellular antioxidation. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. doi: 10.1186/1476-0711-10-23/
- Laks, P.E. (1991) The chemistry of wood bark. In: D.N.S. Hon and N. Shiraishi (Eds.). هستند که پتانسیل فعالیت ضد قارچی طبیعی را در برابر قارچ‌های *Aspergillusfumigatus*, *A. terreus* و *Penicilliumexpansum* از خود نشان داده‌اند (Kim et al., 2011). در مواد استخراجی کلروفرمی چوب راش، دو ترکیب بنزآلدئید، ۳- متوکسی- ۴- [تری متیل سایلیل (اکسی)- و ۳، ۵- دی متوکسی- ۴- تری متیل سایلیل اکسی بنزآلدئید به‌عنوان مشتقات بنزآلدئیدها شناسایی شدند.
- فراوان‌ترین سطح ترکیب‌ها، شامل اسید هگزا دکانوییک، تری متیل سایلیل استر، ترانس- کاریوفیلن، تری متیل سایلیل ۳، ۵- دی متوکسی- ۴- (تری متیل سایلیل اکسی) بنزوات، ایکوزان و هگزا دکان بودند. همچنین ترکیب‌های فنولی از دسته سزکوئی‌ترین‌ها با فعالیت ضد قارچی، ضد باکتری و لارو کشی نیز در عصاره وجود داشته است. عصاره‌های گیاهی تقاضای مصرف‌کنندگان را برای فرآورده‌های چوبی ایمن به دنبال دارد و بازار بالقوه‌ای را برای مصرف عصاره‌های گیاهی به‌عنوان مواد حفاظتی چوب دربر خواهد داشت. در این بررسی مولفان دریافته‌اند که کلروفرم می‌تواند به‌طور موثری آفت‌کش طبیعی را از چوب راش استخراج کند و با این عصاره می‌توان چوب بی‌دوام را اشباع کرد و مقاومت در برابر قارچ‌های مولد پوسیدگی چوب را فراهم کرد. چوب راش یک منبع زیستی می‌باشد که می‌تواند منبع تجدیدشونده مواد حفاظتی را فراهم نماید.

منابع

- Ajuong, E.M.A. and Breese, C.M. (1998) The role of extractives on short term creep in compression parallel to grain of Pai wood (*Azelia Africana* Smith). *Wood Fiber Science*, 29(2): 161-170.
- Astani, A., Reichling, J. and Schnitzler, P. (2011) Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine. doi:10.1093/ecam/nep187/

- and antioxidant activities of methanolic extract of *Jasminum humile* Leaves. Asian Journal of Complementary and Alternative Medicine, 4(10): 804-807.
- Nzokou, P. and Kamdem, D.P. (2004) Influence of wood extractives on moisture sorption and wettability of red oak (*Quercus rubra*), black cherry (*Prunus serotina*), and red pine (*Pinus resinosa*). Wood and Fiber Science, 6(4): 483-492.
- Pinho-da-Silva, L., Mendes-Maia, P.V., Nascimento Garcia Teófilo, T.M.D., Barbosa, R., Ceccatto, V.M., Coelho-de-Souza, A.N., Cruz, J.S. and José Henrique Leal- Cardoso, J.H. (2012) trans Caryophyllene, a natural sesquiterpene, causes tracheal smooth muscle relaxation through blockade of voltage- dependent Ca^{2+} . Molecules, 17(10): 11965-11977.
- Prasad, T.N.V.K.V. and Elumalai, E.K. (2011) Biofabrication of Ag nanoparticles using *Moringa oleifera* leaf extract and their antimicrobial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(6): 439-442.
- Rencoret, J., Gutiérrez, A. and del-Río, J.C. (2007) Lipid and lignin composition of woods from different eucalypt species. Holzforschung, 61(2):165-174.
- Vijayakumar, A., Duraipandiyar, V., Jeyaraj, B., Agastian, P., Karunai Raj, M. and Ignacimuthu, S. (2012) Phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activity of *Illicium griffithii* Hook. F. and Thoms extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2(3): 190-199.
- Xiao, B., Sun, X.F. and Sun, R.C. (2001) Extraction and characterization of lipophilic extractives from rice straw chemical composition. Journal of Wood Chemistry and Technology, 21(4): 397-411.
- Wood and cellulosic chemistry. Marcel Decker Inc. New York. pp. 275- 330.
- Leonhardt, V., Leal-Cardoso, J.H., Lahlou, S., Albuquerque, A.A., Porto, R.S., Celedônio, N.R., Oliveira, A.C., Pereira, R.F., Silva, L.P. and Garcia- Teófilo, T.M. (2010) Antispasmodic effects of essential oil of *Pterodon polygalaeflorus* and its main constituent beta- caryophyllene on rat isolated ileum. Fundamental and Clinical Pharmacology, 24(6): 749-758.
- Li, Q., Wang, X.X., Lin, J.G., Liu, J., Jiang, M.S. and Chu, L.X. (2014) Chemical and antifungal activity of extracts from the xylem of *Cinnamomumcamphora*. Bio Resources, 9(2): 2560-2571.
- Liu, Q.M., Luo, Y.S., Wang, H., Peng, W.X., Wu, Y.Q., Zhang, D.Q. and MA, Q-Z. (2008) Determination of chemical components of benzene/ethanol extractive of beech wood by GC/MS. Bioinformatics and Biomedical Engineering ICBBE. The 2nd International Conference, Shanghai. pp. 2776- 2779.
- Manimaran, S., Dhanabal, P., Nanjan, J. and Suresh, B. (2007) Chemical composition and antimicrobial activity of the volatile oil of the cones of *Cupressus torulosa* D. DON from Nilgiris, India. Asian Journal of Complementary and Alternative Medicine, 2(6): 206-211.
- Medeiros, R., Passos, G.F., Vitor, C.E., Koepf, J., Mazzuco, T.L., Pianowski, L.F., Campos, M.M. and Calixto, J.B. (2007) Effect of two active compounds obtained from the essential oil of *Cordia verbenacea* on the acute inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw. British Journal of Pharmacology, 151(5): 618-627.
- Nain, P., Kumar, A., Sharma, S. and Nain, J. (2011) In vitro evaluation of antimicrobial

Evaluation and Identification of Chemical Compounds in the Beech Wood Extractives by GC/MS

Seyyed Khalil Hosseini Hashemi^{1*}, Leila Aghazadeh², Afshin Rajabi Khorrani³ and Ghazaleh Arshadinia²

- 1) Department of Wood Science and Paper Technology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
*Corresponding Author Email Address: hashemi@kiaau.ac.ir.
- 2) Department of Wood Science and Paper Technology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
- 3) Department of Chemistry, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Date of Submission: 2014/09/30 Date of Acceptance: 2015/01/05

Abstract

Beech (*Fagusorientalis* L.) is a wood species from genera of deciduous and hardwood trees. It has been one of the most important industrial wood species in Iran which belongs to the non- durable wood species class. In order to evaluate the wood extractives role on little durability of this wood species against white- rot, *Trametes versicolor* fungus, wood extractives of wood samples in dimension of 2×2×2 cm were soxhlet(?) extracted with various combinations of organic solvents including n- hexane: ethanol (1:1), ethanol, chloroform, diethyl ether, and water, according to TAPPI T204 om- 88 and ASTM 1107- 96. Average percentage of chloroform wood extractives of beech wood equal 5.97% was determined. Results from weight loss of specimens after 14 weeks duration indicated that the effect of chloroform extracts was more on durability of specimens against wood- rotting fungus and weight loss of specimens (30.38%) was higher than the other treatments. Finally, phenolic and lipophilic compounds in the chloroform extractives of this wood species were identified by GC/MS. Generally, 28 compounds were identified with different percentages in the beech wood. The most abundant compounds identified were hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester (13.28%), trans- Caryophyllene (12.88%), trimethylsilyl 3,5- dimethoxy- 4- (trimethylsilyloxy) benzoate (11.69%), eicosane (6.96%), and hexadecane (6.79%). Also, from phenolic compounds (sesquiterpenes) with antifungal, antibacterial, and larvicidal activity, trans- Caryophyllene (12.88%), beta.- Selinene (3.10%), beta.- Bisabolene (3.01%), alpha.- Selinene (2.19%), alpha.- Caryophyllene (1.85%), Caryophyllene oxide (1.54%), alpha- Copaene (0.92%), delta.- Cadinene (0.85%), beta.- Elemene (0.77%), and isoeugenol (0.19%) were identified.

Keywords: Chloroform extracts, Rainbow fungus, Phenolic and lipophilic compounds, Trans-Caryophyllene.