



جداسازی و شناسایی اجزاء تشکیل دهنده روغن های اسانسی گیاه *Pervoskia abrotanoides karel* به وسیله تکنیک میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی جفت شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی

مهدی نکویی*^۱، مجید محمدحسینی^۱، بهزاد چهکندی^۱، حسین علی مشایخی^۲، مهدی رحیمی^۱

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، شاهرود، ایران

^۲ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، گروه شیمی، تنکابن، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۰/۹/۱۸، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۰/۱۱/۱۳، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۰/۱۱/۱۷

چکیده

روغن های اسانسی بخش های مختلف از گیاه معطر و وحشی *Pervoskia abrotanoides karel* (گل، برگ و ساقه) از منطقه ی خوش بیلاق، توسط روش ریز استخراج فاز جامد (SPME) استحصال و ترکیبات متشکله به کمک روش کروماتوگرافی گازی توأم با طیف سنجی جرمی (GC/MS) بررسی و شناسایی گردید. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده ی گل ها به ترتیب آلفا پینن (۲۵/۷۷٪)، او۸- سینئول (۲۰/۸۶٪)، میرسن (۱۰/۱۱٪) و کامفن (۸/۵۶٪)، ترکیبات عمده ی ساختار شیمیایی برگ ها به ترتیب او۸- سینئول (۲۵/۵۱٪)، میرسن (۱۹/۰۵٪) و آلفا پینن (۱۲/۶۲٪) و اجزاء اصلی موجود در اسانس فرار ساقه های این گیاه به ترتیب میرسن (۳۱/۲۳٪)، او۸- سینئول (۲۶/۴۳٪) و آلفا پینن (۸/۷۴٪) هستند.

واژه های کلیدی: میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی، کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی، روغن های اسانس، *Pervoskia abrotanoides karel*

۱. مقدمه

گیاهی بوته ای یا نیمه درختچه ای و به ارتفاع حدوداً یک متر با بوئی نافذ است که به روش بذرافشانی تکثیر می یابد. در ایران، رویش و پراکنش این گیاه عمدتاً در مناطق کوهستانی و زمین های سنگلاخی شمال شرق کشور بوده و در برخی از مناطق نیز به عنوان درختچه های زینتی کاشته می شود. در طب سنتی، خیسانده

نعناعیان یا لب گشادگان (Lamiaceae یا Labiatae) یکی از تیره های مشهور گیاهی است که بالغ بر ۲۲۰ جنس و ۳۵۰۰ گونه را در سراسر دنیا در بر می گیرد. گیاه *Pervoskia abrotanoides karel* با نام های محلی گل کبود یا کن کبد متعلق به خانواده ی نعناعیان،

* عهده دار مکاتبات: مهدی نکویی

نشانی: شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه شیمی

تلفن: ۰۲۷۳-۳۳۹۴۵۳۰ پست الکترونیکی: m_nekoei1356@yahoo.com

مرتضی سمنازی در سال 2004 ترکیبات شیمیایی گیاه *P.abrotanoides* را از لحاظ شیمیایی به وسیله GC-MS در استان مازندران مورد بررسی قرار داد. این کاوش، شناسایی کامفور (34/1٪)، 801-سینئول (18٪) و آلفا هومولن (6/5٪) را در پی داشت [13]. سجادی و همکاران در سال 2005 میلادی ترکیبات شیمیایی این گیاه را از لحاظ کیفی و کمی مورد بررسی قرار دادند که عمدتاً شامل 801-سینئول (32/4٪)، میرسن (13٪)، کامفور (2/1٪)، بتا-کاریوفیلن (7/9٪) و آلفا-هومولن (6/4٪) بود [14].

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. امروزه، در مراجع علمی راهکارهای جدیدتر و توانمندتر برای استخراج اسانس‌ها ابداع و ارائه شده‌اند. یکی از این روش‌ها، میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی (HS-SPME) می‌باشد. این روش از جمله روش‌های نوین دستگاهی است که از آن اساساً می‌توان جهت استخراج و تجزیه‌ی مواد فرار خارج شده از نمونه‌های جامد و یا مایع استفاده نمود. از مزایای این روش می‌توان از عدم نیاز به سیستم تقطیر و یا حلال نام برد. هم‌چنین، در این روش اسانس موجود در نمونه کمتر دچار تغییر ماهیت و یا تغییر ساختار ترکیبات موجود در آن می‌گردد. در این روش، ترکیبات فرار در اثر حرارت از بخش غیرفرار جدا شده و مستقیماً بدون نیاز به آماده‌سازی وارد دستگاه GC/MS می‌گردند.

در روش HS-SPME، به دلیل انجام هم‌زمان فرآیندهای پیش تغلیظ و جداسازی، مرحله‌ی آماده‌سازی نمونه (Sample preparation) حداقل زمان ممکن را به خود اختصاص می‌دهد. فرآیند HS-SPME، شامل دو مرحله است. مرحله اول، شامل تقسیم آنالیت بین پوشش فیبر و بافت نمونه یک فرآیند تعادلی است و در مرحله بعد واجذب آنالیت تغلیظ شده در یک دستگاه تجزیه‌ای صورت می‌گیرد.

در جداسازی‌های مبتنی بر میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی، آنالیت‌ها قبل از رسیدن به پوشش روی فیبر، به فضای گازی بالای

گل‌های پروسکیا غالباً به عنوان یک عامل بالقوه‌ی پایین‌آورنده‌ی تب تجویز می‌شود [3-1].

در تحقیق باباخانلو و همکاران در سال 1377 پیرامون ترکیبات شیمیایی این گیاه در منطقه‌ی گرگان کامفور (23٪)، 801-سینئول (19٪)، دلتا-3-کارن (9٪) و کامفن (5٪)، به عنوان اصلی-ترین ترکیبات شناسایی شدند [4]. حاصل مطالعه‌ی جمعی از محققین در منطقه‌ی درگز در ایران در سال 2009 میلادی در مورد ساختار اسانس جدا شده از این گیاه به وسیله GC-MS شناسایی کامفور، 801-سینئول، آلفا پینن، بتا پینن، اسیمن، کامفن، کاریوفیلن و بورنتول به عنوان ترکیبات عمده‌ی سازنده بود [5]. در بررسی اسانس این گیاه توسط روستائیان و همکاران نیز 801-سینئول (28٪) و کامفور (24٪) بیشترین فراوانی را داشتند [6]. یونس و همکاران در گزارش تحقیقاتی در منطقه‌ی افغانستان ساختار شیمیایی روغن اسانسی این گیاه را تعیین و منتول، کامفور، 801-سینئول، آلفا پینن، بتا پینن، کامفن، لینالول، بتا کاریوفیلن، سدرول و بورنتول را به عنوان ترکیبات اصلی ارائه نمودند [7]. در گزارش مشابه دیگر که توسط صالح انجام شد متیل سیترونالات (25/4٪) و نورول (20/7٪) بیشترین درصد را در پروفیل شیمیایی داشتند [8]. در تحقیقی دیگر که در سال 1984 میلادی در منطقه‌ی آسیای مرکزی و قزاقستان انجام شد، سه گونه *Perovskia* مورد بررسی قرار گرفتند که در گونه *P.abrotanoides karel* بیشترین فراوانی مربوط به کامفور (36-27) درصد بود [9]. در گزارش مشابه در کشور پاکستان این گونه از لحاظ شیمیایی مورد شناسایی قرار گرفت که بیشترین فراوانی را بتا توجن (45/9٪)، سابینن (26/6٪)، 801 سینئول (10/5٪) در میان ترکیبات دیگر به خود اختصاص دادند [10]. گروهی از محققین ژاپنی گیاه *P.abrotanoides karel* را به وسیله GC-MS مورد بررسی قرار دادند که 801-سینئول و آلفا پینن تشکیل دهنده‌های اصلی و بورنتول و بورنیل استات کمترین فراوانی را در بین ترکیبات داشتند [11]. محبوبی و همکارش در سال 2009 میلادی ترکیبات این گیاه را شناسایی کرده که عمده‌ترین ترکیبات شامل آلفا پینن (12٪)، کامفور (23٪)، 801-سینئول (22٪)، بتا پینن (3/1٪) و لیمونن (1/5٪) بود [12].

شد. از یک ظرف شیشه‌ای کوچک به حجم ۱۰ میلی‌لیتر جهت ایجاد فضای فوقانی (HS) استفاده شد. فیبر مورد استفاده از جنس پلی دی متیل سیلوکسان- کاربوکسن (PDMS-CAR) به ضخامت ۱۰۰ میکرومتر به همراه مجموعه کامل SPME از شرکت سوپلکو خریداری شد. در کل مدت آنالیز، از یک هم‌زن با دور زیاد استفاده گردید. ترکیبات جذب شده روی فیبر از طریق واجذب حرارتی، بلافاصله به دستگاه GC/MS تزریق شده تا جداسازی و شناسایی ترکیبات انجام پذیرد. مراحل استخراج مواد مؤثره گیاه به طور خلاصه به شرح زیر است:

الف) بافت گیاهی توسط آسیاب برقی کاملاً خرد و مقدار ۰/۵ گرم از آن به ظرف شیشه‌ای به حجم ۱۰ میلی‌لیتر وارد و درپوش آن محکم بسته شد. دمای ظرف حاوی نمونه گیاهی به منظور تعادل حرارتی لازم، در داخل حمام گردشی آب به وسیله یک دماپای استاندارد به طور کاملاً دقیق تنظیم و به وسیله هم‌زن، در زمان بهینه شده، به تعادل دمایی رسید.

ب) بعد از برقراری تعادل دمایی، فیبر ریز استخراج فاز جامد از طریق سوراخ کردن سیتوم، وارد فضای فوقانی ظرف حاوی نمونه گردید. در این مرحله، جهت اجتناب از هرگونه تماس احتمالی، تنظیم موقعیت مناسب فیبر تا تکمیل روند استخراج ضروری است. ج) پس از اتمام استخراج، با انتقال فیبر به داخل سرنگ SPME، سوزن از داخل ظرف نمونه خارج و مستقیماً در محفظه تزریق دستگاه GC/MS قرار گرفت. سپس با فشار دادن ریز لوله به سمت پایین، فیبر در معرض حرارت ۲۵۰ درجه‌ی سلسیوس (دمای واجذب) واقع شده و بدین ترتیب، ترکیبات جذب شده به وسیله پوشش فیبر در اثر حرارت بالا واجذب و وارد ستون GC می‌شوند.

۲-۳. جداسازی و شناسایی اجزا

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

نمونه انتقال داده شده و از آنجا جذب فیبر می‌شوند. این رویکرد منجر به محافظت فزاینده‌ی پوشش فیبر از آسیب مزاحمت‌های ناشی از ترکیبات دارای وزن مولکولی بالا و گونه‌های غیر فرار دیگر موجود در بافت نمونه مانند پروتئین‌ها و نمک‌ها می‌شود. علاوه بر این، با استفاده از شیوه‌ی فضای فوقانی بهینه سازی شرایط بافت، تسهیل می‌شود. به عنوان مثال، می‌توان pH محلول را بدون اینکه به فیبر آسیب برسد، تغییر داد. آنالیت‌های فرار نظیر اسانس‌ها، به واسطه‌ی بالابودن سرعت انتقال جرم آن‌ها در روش فضای فوقانی، نتایج آزمایشگاهی بسیار خوبی را در پی داشته‌اند.

هدف از تحقیق اخیر، جداسازی و شناسایی اجزاء تشکیل‌دهنده‌ی روغن‌های اسانسی گیاه *Pervoskia abrotanoides karel* به وسیله‌ی تکنیک میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی جفت‌شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. جمع‌آوری و شناسایی گیاه مورد مطالعه

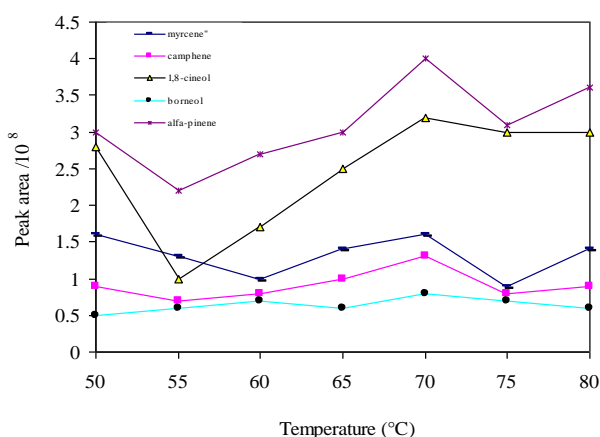
گیاه *Pervoskia abrotanoides* در تیرماه سال ۱۳۹۰ در موسم گل‌دهی و از منطقه‌ی خوش ییلاق در استان سمنان جمع‌آوری و شناسایی آن در هرباریم مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع توسط دکتر ولی‌الله مظفریان انجام گرفت. گیاه جمع‌آوری شده در حرارت معمولی و در سایه خشک و سپس با دقت زیاد بخش‌های مختلف آن جداسازی شد. بدین منظور، قطعات خشک‌شده گیاه به وسیله آسیاب برقی خرد شدند. قسمت‌های هوایی گیاه شامل برگ‌ها، ساقه‌ها و گل‌ها جهت استحصال اسانس مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲. استخراج اسانس

استخراج اسانس به روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی (HS-SPME) با استفاده از حداقل وزن نمونه‌ی جامد خرد شده و بدون استفاده از هرگونه حلال آلی انجام شد. در این روش از یک حمام آب گردشی مدل MLW8 ساخت شرکت MLW UH با توانایی کنترل دما، جهت تثبیت دما حین استخراج استفاده

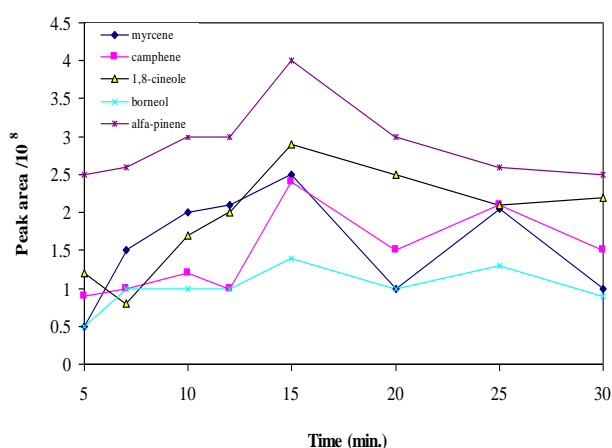
مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور تعیین مناسب‌ترین دمای فضای فوقانی، دما به طور کاملاً دقیق در گستره‌ی ۵۰ تا ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد (با روند افزایش ۱۰ درجه) تغییر و سطوح زیر پیک مربوطه در شکل ۱ نمایش داده شده است. بر اساس این شکل، دمای بهینه ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد جهت جداسازی ترکیبات فرار انتخاب شد.



شکل ۱- تأثیر دمای فضای فوقانی استخراج بر سطوح زیر پیک برخی از ترکیبات فرار در برگ (وزن نمونه خشک ۰/۵ گرم، زمان قرارگیری فیبر در معرض فضای فوقانی ۱۰ دقیقه).

بعلاوه، در دمای بهینه ۷۰ °C فیبر در بازه‌ی ۵ تا ۳۰ دقیقه در معرض فضای فوقانی قرار گرفته (شکل ۲) و با در نظر گرفتن سطوح زیر پیک‌ها، بیشترین سطح، پس از ۱۵ دقیقه قابل حصول است.



شکل ۲- تأثیر زمان قرارگیری فیبر در معرض فضای فوقانی بر سطوح زیر پیک برخی از ترکیبات فرار در برگ (وزن نمونه خشک ۰/۵ گرم، دمای بهینه ۷۰ °C).

بنابراین، برای جدا کردن اسانس بهترین شرایط تجربی شامل دمای فضای فوقانی ۷۰ °C و زمان قرارگیری فیبر ۱۵ دقیقه می‌باشد.

اسانس و مقایسه‌ی آنها با طیف‌های مرجع انجام شد [۱۵]. هم‌چنین، بررسی‌های تکمیلی با تطبیق الگوهای شکافتگی طیف‌های جرمی و اندیس‌های کوتاس مبتنی بر تجربیات قبلی صورت گرفت [۱۸-۱۶].

۲-۴. مشخصات و برنامه‌ی حرارتی 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، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه‌ی داخلی ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ی حرارتی به کار رفته، شامل خیز تدریجی دمایی ۵۰ تا ۲۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با روند افزایش ۵ °C در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه صورت پذیرفت. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ °C، دمای رابط در واسط ۲۶۰ °C و گاز حامل هلیوم با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه در طول فاز ساکن جریان داشت. شرایط کروماتوگرافی در GC-MS مانند شرایط کروماتوگرافی گازی بود. در عین حال، به عنوان آشکارساز از آشکارساز جرمی مدل HP-5973 شامل تجزیه‌گر جرمی از نوع چهارقطبی (کوادرپول) مجهز به یک منبع یون‌ساز برخورد الکترون (EI) با انرژی یونش ۷۰ الکترون‌ولت و دمای ۲۳۰ °C استفاده شد.

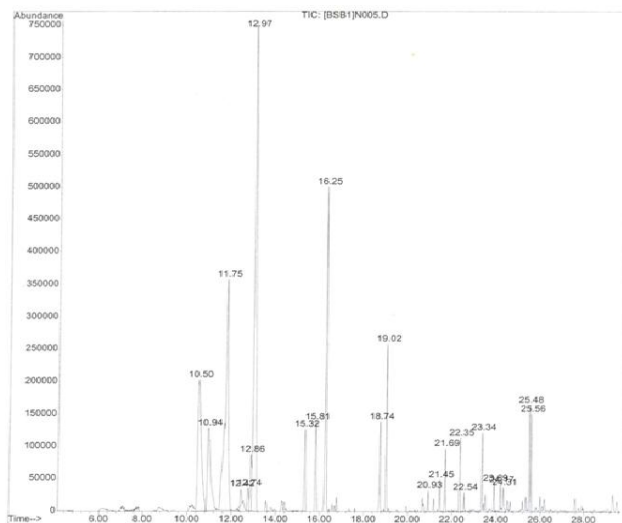
۳. نتایج و بحث

۳-۱. بهینه‌سازی شرایط استخراج فضای فوقانی SPME

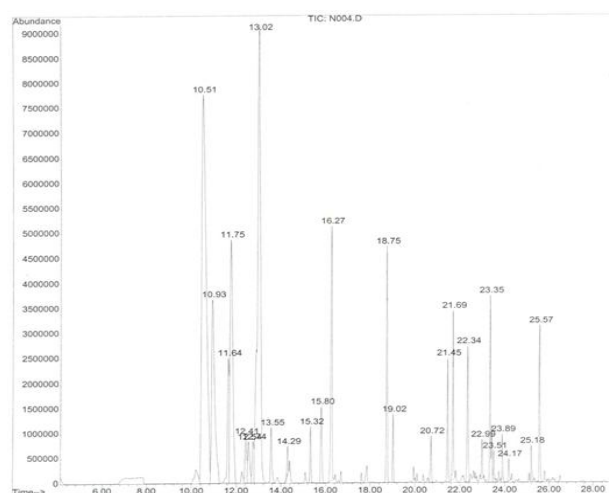
دو پارامتر تأثیرگذار بر روند استخراج و استحصال روغن‌های فرار اسانس با استفاده از HS-SPME، عبارتند از:
الف) دمای فضای فوقانی
ب) زمان قرارگیری فیبر

جهت نیل به شرایط بهینه‌ی جداسازی، اثر دو پارامتر فوق بر تغییر کمی درصد پنج جزء عمده‌ی سازنده‌ی ترکیب شیمیایی اسانس در کلیه‌ی بخش‌ها (گل، برگ و ساقه) آلفا پینن، کامفن، میرسن، ۸۱-سینئول و بورنئول بررسی شد. هم‌چنین، نظر به این‌که الگوی ساختاری اسانس‌ها دارای شباهت زیادی با یکدیگر بود ۰/۵ گرم از برگ خشک‌شده گیاه *P. abrotanoides* در بهینه‌سازی مورد

(شکل ۵)، ۱۱ ترکیب که در مجموع ۹۳/۸۲٪ کل اسانس را تشکیل می‌دادند، شناسایی گردید. نام و درصد نسبی ترکیبات موجود در این اسانس در شکل ۸ مقایسه و نشان داده شده است. بر اساس این شکل، بیشترین فراوانی به میرسن (۳۱/۲۳٪)، او۱-سینئول (۲۶/۴۳٪) و آلفا پینن (۸/۷۴٪) نسبت داده می‌شود. از نظر گروه ترکیبات طبیعی، این روغن اسانسی اساساً متشکل از ۴۶/۶۳٪ مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۴۳/۴۷٪ از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۱/۸۵٪ از سزکویی‌ترین‌های هیدروکربنی و ۱/۸۷٪ از سزکویی‌ترین‌های اکسیژن‌دار می‌باشد.



شکل ۳- کروماتوگرام روش SPME برای روغن‌های اسانسی برگ گیاه *P. abrotanoides*



شکل ۴- کروماتوگرام روش SPME برای روغن‌های اسانسی گل گیاه *P. abrotanoides*

۲-۳. پروفیل شیمیایی اسانس‌های گل، برگ و ساقه‌ی گیاه *P. Abrotanoides* به روش HS-SPME-GC-MS

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. با بررسی این جدول، درصد ترکیبات در روغن‌های اسانسی به دست آمده از اندام‌های مختلف گیاه به روش SPME، به صورت زیر است:

الف) در روغن اسانسی حاصل از گل این گیاه به روش SPME (شکل ۳)، ۲۱ ترکیب که در مجموع ۹۶/۲۹٪ کل اسانس را تشکیل می‌دادند، شناسایی گردید. این روغن اسانسی، حاوی ۵۲/۲۵٪ مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۳۱/۰۵٪ مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۱۱/۸۱٪ سزکویی‌ترین‌های هیدروکربنی و ۲/۳۹٪ سزکویی‌ترین‌های اکسیژن‌دار بود. ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده، آلفا پینن (۲۵/۷۷٪)، او۱-سینئول (۲۰/۸۶٪)، میرسن (۱۰/۱۱٪) و کامفن (۸/۵۶٪) می‌باشند. نمایش تصویری درصد نسبی کلیه اجزاء تشکیل‌دهنده-ی این روغن اسانسی در شکل ۶ نمایش داده شده است. مطابق این شکل، کمترین و بیشترین فراوانی به ترتیب در نیمه‌های سمت راست و چپ متعلق به گروه سزکویی‌ترین‌ها و مونوترپن‌ها می‌باشد.

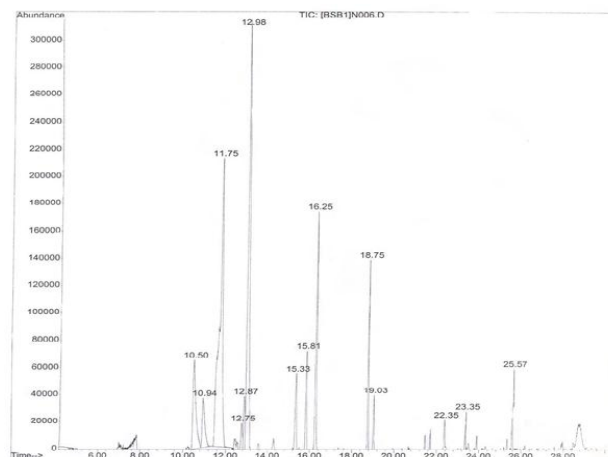
ب) در روغن اسانسی حاصل از برگ این گیاه به روش SPME (شکل ۴)، ۱۵ ترکیب که در مجموع ۸۸/۰۰٪ کل اسانس را تشکیل می‌دادند، شناسایی گردید. تصویر شمائی ستونی پروفیل شیمیایی این اسانس در شکل ۷ آورده شده و ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده شامل او۱-سینئول (۲۵/۵۱٪)، میرسن (۱۹/۰۵٪) و آلفا پینن (۱۲/۶۲٪) می‌باشند.

بعلاوه، ساختار این روغن اسانسی مشتمل بر ۴۱/۹۶٪ مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۴۰/۰۷٪ مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۳/۹۱٪ سزکویی-ترین‌های هیدروکربنی، ۲/۱۱٪ سزکویی‌ترین‌های اکسیژن‌دار و ۰/۳۴٪ ترکیبات غیرترپنی (هیدروکربن‌های آلیفاتیک و...) شناسائی می‌شود.

ج) در روغن اسانسی حاصل از ساقه‌ی این گیاه به روش SPME

جدول ۱- اجزای تشکیل دهنده موجود در روغن اسانسی گل، برگ و ساقه گیاه *P. abrotanoides* جدا شده به وسیله روش HS-SPME.

شماره	نام ترکیب	اندیس کوانتس	گل (%)	برگ (%)	ساقه (%)
۱	α -pinene	۹۳۹	۲۵/۷۷	۱۲/۶۲	۸/۷۴
۲	Camphene	۹۵۴	۸/۵۶	۷/۰۹	۴/۲۹
۳	β -pinene	۹۷۹	۲/۸۰		
۴	Myrcene	۹۹۱	۱۰/۱۱	۱۹/۰۵	۳۱/۲۳
۵	α -terpinene	۱۰۱۷	۱/۲۵		
۶	p-cymene	۱۰۲۵	۱/۰۱	۰/۸۴	
۷	Limonene	۱۰۲۹		۱/۹۷	۲/۳۷
۸	1,8-cineole	۱۰۳۱	۲۰/۸۶	۲۵/۵۱	۲۶/۴۳
۹	γ -terpinene	۱۰۶۰	۱/۱۹		
۱۰	α -terpinolene	۱۰۸۹	۰/۳۵		
۱۱	Camphor	۱۱۴۶	۱/۵۲	۲/۷۱	۳/۶۵
۱۲	Borneol	۱۱۶۹	۵/۲۰	۹/۸۷	۸/۴۹
۱۳	bornyl acetate	۱۲۸۹	۳/۴۷	۱/۹۸	۴/۹۰
۱۴	α -copaene	۱۳۷۷	۰/۷۳		
۱۵	Dodecanal	۱۴۰۹		۰/۳۴	
۱۶	β -caryophyllene	۱۴۱۹	۲/۳۸	۱/۲۹	
۱۷	β -gurjunene	۱۴۳۴	۱/۶۴	۰/۶۵	
۱۸	α -humulene	۱۴۵۵	۲/۲۳		۱/۰۲
۱۹	Epizonaren	۱۵۰۲	۰/۵۶		
۲۰	γ -cadinene	۱۵۱۴	۳/۱۶	۱/۴۳	۰/۸۳
۲۱	cis-calamenene	۱۵۴۰	۰/۴۹		
۲۲	β -calacorene	۱۵۶۶	۰/۶۲	۰/۵۴	
۲۳	α -cadinol	۱۶۵۴	۲/۳۹	۲/۱۱	۱/۸۷
Total percentage			۹۶/۲۹	۸۸	۹۳/۸۲
Monoterpene (%)			۵۲/۲۵	۴۱/۹۶	۴۶/۶۳
Sesquiterpene (%)			۱۱/۸۱	۳/۹۱	۱/۸۵
Oxygenated compound (%)			۳۳/۴۴	۴۲/۱۸	۴۵/۳۴
Number of compound			۲۱	۱۵	۱۱



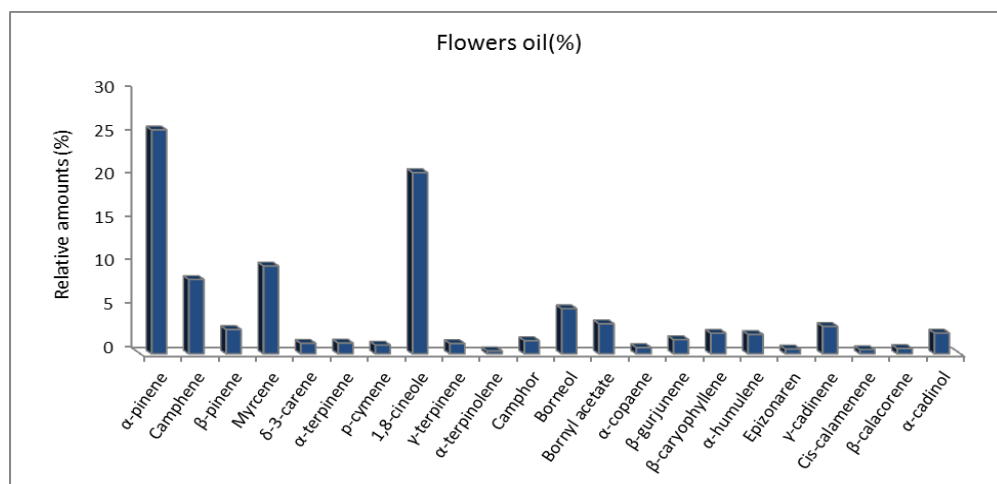
شکل ۵- کروماتوگرام روش SPME برای روغن های اسانسی ساقه گیاه *P. abrotanoides*

۴. نتیجه گیری

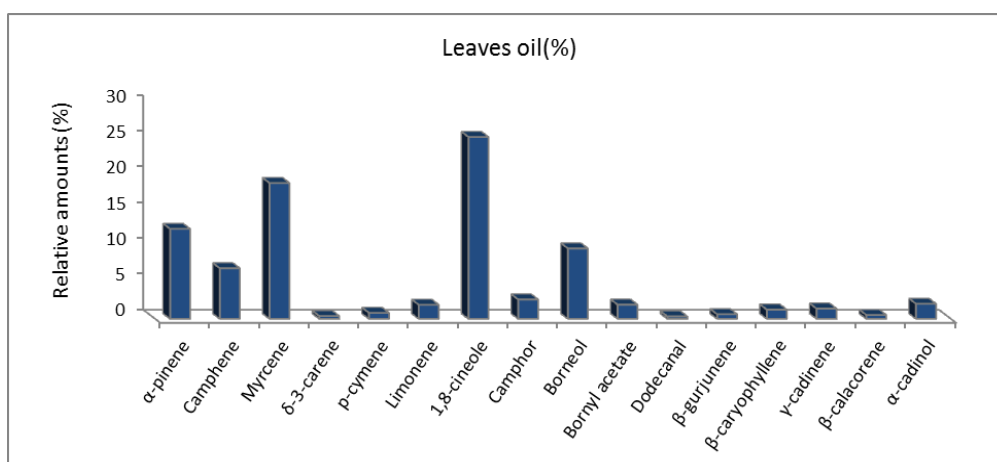
میکرو استخراج فاز جامد از طریق فضای فوقانی (HS-SPME) یک روش توانمند و آسان جهت تغلیظ و جداسازی همزمان طیف وسیعی از ترکیبات آلی در روغن های اسانس و گستره ی وسیعی از ترکیبات داروئی و فرآورده های غذایی و زیست شناختی است. در این تحقیق، ساختار شیمیائی روغن های فرار اسانسی استحصال شده از گل، برگ و ساقه ی گیاه به روش HS-SPME جداسازی و پس از تزریق به ستون های GC و GC-MS با استناد به شاخص های کوانتس و طیف های جرمی شناسائی شدند. بعلاوه، متغیرهای تجربی مؤثر بر روند انجام استخراج نیز بهینه شدند. بر اساس نتایج حاصل (شکل ۹)، الگوی پراکندگی ترکیبات طبیعی، صرف نظر از نوع و درصد نسبی اجزاء تشکیل دهنده، در برگ و گل دقیقاً یکسان و به صورت:

سزکویی ترین های اکسیژن دار > سزکویی ترین های هیدروکربنی > مونوترپن های اکسیژن دار > مونوترپن های هیدروکربنی

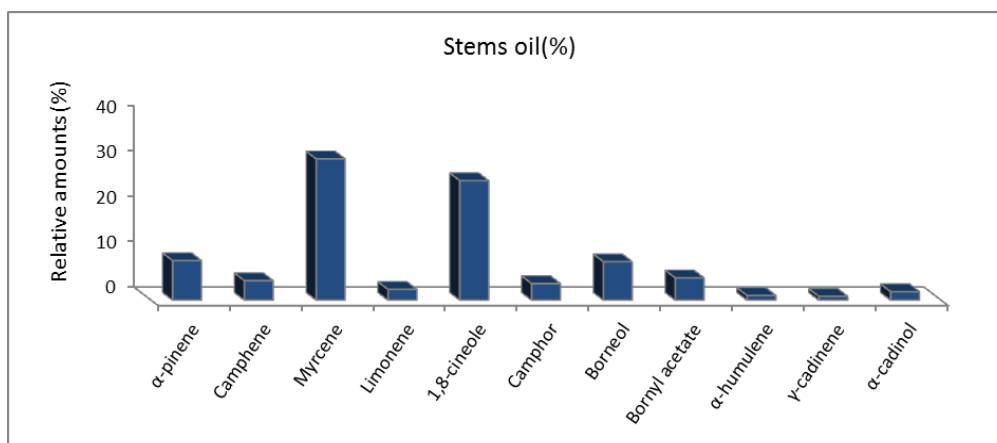
می باشد. در عین حال، یک تغییر جزئی در درصد تشکیل دهنده های ساقه ظاهر شده و میزان فراوانی سزکویی ترین های اکسیژن دار به میزان ناچیز بیشتر از سزکویی ترین های هیدروکربنی مشاهده شده است. در عین حال، رتبه های اول و دوم کماکان متعلق به مونوترپن های هیدروکربنی و مونوترپن های اکسیژن دار می باشد.



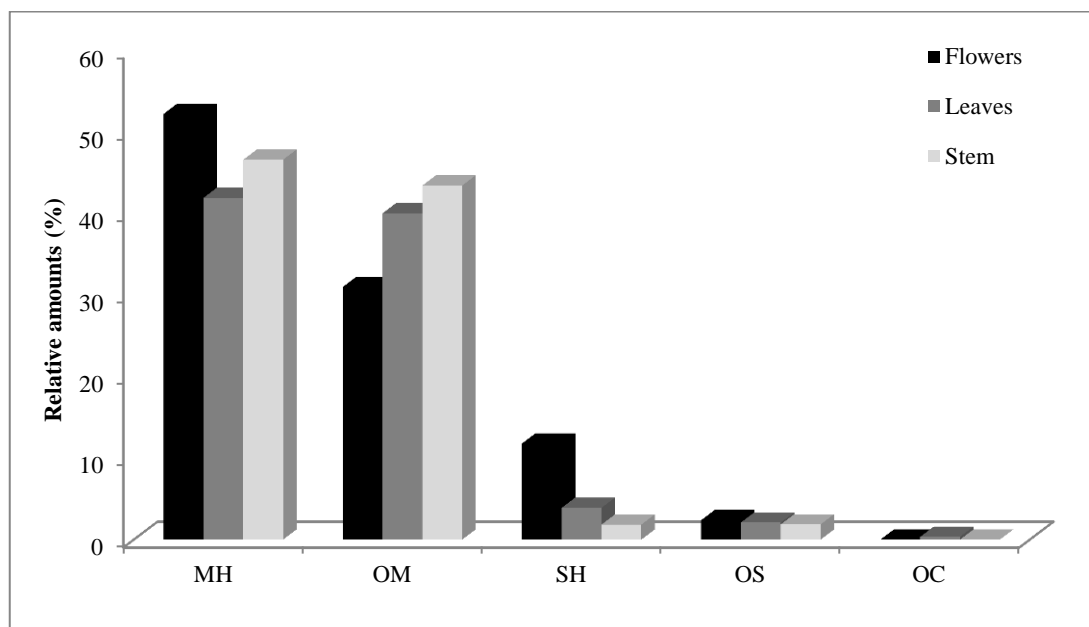
شکل ۶- نمودار ستونی درصد ترکیبات موجود در گل گیاه *P. Abrotanoides* استخراج شده به روش SPME.



شکل ۷- نمودار ستونی درصد ترکیبات موجود در برگ گیاه *P. abrotanoides* استخراج شده به روش SPME.



شکل ۸- نمودار ستونی درصد ترکیبات موجود در ساقه گیاه *P. abrotanoides* استخراج شده به روش HS-SPME.



شکل ۹- اثر روش SPME در استخراج گروه‌های مختلف ترپنی، غیر ترپنی و ترکیبات اکسیژن‌دار از گل، برگ و ساقه گیاه *P. abrotanoides*.

۵. مراجع

- [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) 524.
- [14] S. Sajjadi, I. Mehregan, M. Khatamsaz, and Gh. Asgari, *Flav. Fragr. J.*, 23 (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.

- [۱] و. مظفریان، فرهنگ نام‌های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، (۱۳۷۵).
- [۲] م. آزادبخت، رده‌بندی گیاهان دارویی، انتشارات طب، (۱۳۷۸).
- [۳] ا. قهرمان، فلوررنگی 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 and M. Nakai-Moghaddam, *Der Pharma Chem.*, 1 (2009) 146.
- [6] A. Rustaiyan, S. Masoudi, N. Ameri, K. Samiee and A. Monfared, *J. Essent. Oil Res.*, 7 (2006) 56.
- [7] C. Younos, M. Lorrian, and J.M. Pelt, *Plant. Med. Phytother.*, 6 (1972) 178.