

شناسایی و مقایسه اجزای شیمیایی مواد استخراجی زرین طبیعی و دست کاشت با استفاده از فنون کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی

رامین ویسی^۱، عمادالدین طاهری‌نیا^۲

چکیده

زرین گونه‌ای با دوام و منحصر به فرد است و در سطح زیادی از جنگل‌های مخروطی و مدیترانه‌ای شمال کشور به صورت طبیعی و دست کاشت وجود دارد. در این تحقیق تعداد سه اصله درخت زرین طبیعی و دست کاشت به صورت کاملاً تصادفی از منطقه حسن‌آباد چالوس انتخاب و قطع گردید. از هر درخت سه دیسک تهیه شد و طبق آزمون‌های استاندارد TAPPI ابتدا آرد چوب تهیه و سپس درصد مواد استخراجی اندازه‌گیری شد. نتایج این تحقیق نشان داد که مواد استخراجی زرین در طی ارتفاع درخت کاهش می‌یابد. میانگین درصد مواد استخراجی در زرین طبیعی و دست کاشت به ترتیب 7/52 و 2/57 درصد است. سپس مواد استخراجی توسط حلال تولوئن - الکل با نسبت 2 به 1 از آرد چوب جداسازی شد و باقی‌مانده مواد استخراجی به داخل یک ویال شیشه‌ای منتقل و به آن واکنش‌گر BSTFA اضافه شد. نمونه‌ها به مدت 1 ساعت در حمام بن‌ماری و دمای 70 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و به منظور آنالیز به دستگاه GC/MS تزریق شدند. شناسایی مواد با توجه به دیاگرام زمان بازداری، محاسبه ضریب کواتز و جدول آدامز انجام شد. از 14 ترکیب شناسایی شده در ماده استخراجی زرین طبیعی و 12 ترکیب شناسایی شده در زرین دست کاشت، پنج ترکیب ایزو فیلو کلادن، 9-1-کتادستامید، بوربونان، سینامالیدید-2-هگزیل و 1-نافتو(2,3-c) پیران-3-استیک اسید، ترکیبات اصلی موجود در هر دو گونه بوده و این ترکیبات در دوام این گونه‌ها نقش بسیار زیادی دارند.

واژه‌های کلیدی: زرین طبیعی و دست کاشت، زمان ماندگاری، BSTFA، طیف‌سنجی جرمی و کروماتوگرافی گازی

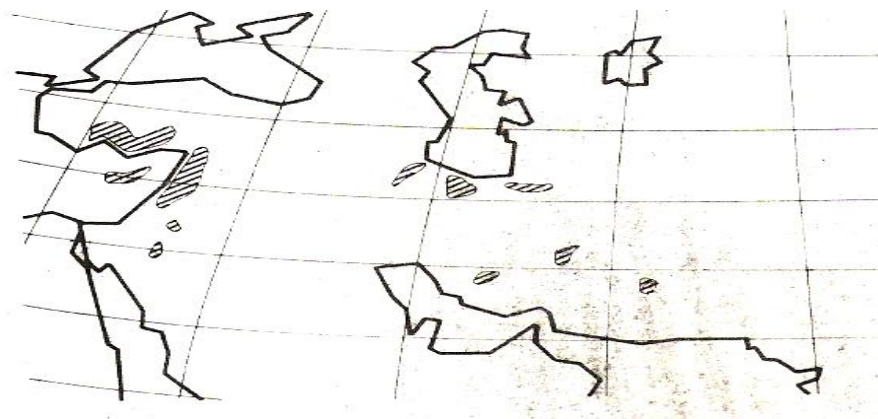
۱- استادیار و عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس. Email : vaysi_r452 @ yahoo.com.

۲- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع و کاغذ و عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد

چالوس Email : imadlIdin _ Taherinia 83 @ yahoo.com

مقدمه

زربین گونه‌ای با دوام است و در رده بازدانگان قرار دارد. ارتفاع این درخت به ۲۰ تا ۳۰ متر می‌رسد. پوست تنه نازک بوده و از بیرون به رنگ قهوه‌ای مایل به خاکستری و از درون به رنگ قهوه‌ای مایل به سرخ روشن می‌باشد. زربین درختی است کم نیاز و بردبار، که در شکاف صخره‌ها و اراضی آهکی کوه‌های البرز از گرگان تا رودبار به‌طور منقطع امتداد یافته‌است (شکل ۱). چوب این گونه فاقد مجاری مترشحه‌ی صمغی و بدون چوب‌درون مشخص است. عبور از چوب آغاز به چوب پایان کاملاً تدریجی است [۲]. حد دوایر رویشی سالانه تا حدودی نمایان است و غالباً در آن دوایر نادرست و دوایر دروغی (دوایر مضاعف) دیده می‌شود. اشعه‌چوبی آن از سلول‌های ظریفی تشکیل شده که بلندی آن‌ها از ۱ تا ۳۰ سلول متغیر است. در اشعه این گونه تراکتید عرضی وجود ندارد [۲]. بعضی از مواد استخراجی را هرچند کم و ناچیز می‌توان با استفاده از حلال‌های آلی مثل اتانول، استون، یادی کلرومتان استخراج کرد.



شکل ۱- پراکنش زربین در ایران و جهان [۲]

اجزای عمده زرین سوزنی‌برگان، یعنی اسیدهای رزینی و ترپن‌ها و همچنین اجزای عمده پهن‌برگان با این روش استخراج می‌شود [۳]. با توجه به گستردگی انواع مواد استخراجی موجود در چوب و نقش این مواد بر روی خواص فیزیکی، دوام طبیعی و همچنین فرآیندهای صنایع چوب، شناسایی اجزای شیمیایی مواد استخراجی زربین طبیعی و دست‌کاشت که دارای چوبی بادوام و مقاوم است می‌تواند نقش بسیار مهمی بر پایداری و مصارف مناسب چوب این گونه داشته باشد. همچنین در مورد مواد استخراجی گونه‌های مختلف چوب تحقیقاتی صورت گرفته‌است اما تاکنون تحقیقی در خصوص شناسایی اجزای شیمیایی چوب زربین صورت نگرفته‌است مهمترین این تحقیقات عبارتند از :

ترکمن، (۱۳۷۲)، در بررسی خود بر روی مواد استخراجی پوست ۵ گونه از درختان پهن‌برگ ایران نظیر، گردو، بلوط، توسکا، ممرز و راش دریافت که درصد کل مواد استخراجی پوست این درختان به ترتیب ۲۹/۸، ۲۳/۲۵، ۱۷/۹، و ۱۶/۸۳ و ۱۶/۷ درصد بوده و میزان ترکیبات فنلی گونه‌های مذکور را به

۲۶/۳، ۲۱/۲، ۱۲/۶، ۱۳/۶، ۱۲/۹، ۱۴ درصد گزارش داد. همچنین در این گونه‌ها اسیدهای چرب بنزوئیک اسید، اولئیک اسید و لینگوسریک اسید شناسایی شد [۴].

خضرای و میرشکرایی، (۱۳۸۴)، مواد استخراجی چوب و پوست گونه راش جنگل‌های شمال ایران را مورد آنالیز شیمیایی قرار داده و دریافتند که به‌طور کلی از ۲۴ ترکیب شناسایی شده، ۱۰ ترکیب به‌طور مشترک در چوب و پوست این گونه با درصد‌های متفاوت وجود دارند و فراوان‌ترین ترکیب موجود در مخلوط، پروپیل هیدروسینامات بود که در چوب به میزان ۳۲/۳۸ درصد و در پوست ۱۹/۳۹ درصد مشاهده شد. این ترکیب در بیوستنز سیناپیل الکل که پیش ترکیب اصلی لیگنین پهن‌برگان می‌باشد، نقش مهمی دارد [۵].

بالا بن^۱، (۲۰۰۱)، تحقیقاتی را روی اجزای شیمیایی مواد استخراجی چوب و پوست بلوط محلی ترکیه با استفاده از حلال اتانول - بنزن، اتانول و سیکلوهگزان به روش سوکسله انجام داد و نشان داد که چوب درون گونه مذکور ۵/۶ درصد مواد استخراجی، ۲۵ درصد لیگنین و ۶۲ درصد پلی‌ساکارید دارد که ۱۳ درصد از عصاره به‌دست آمده از پوست، خاکستری می‌باشد [۷]. تونالیر^۲ و همکاران، (۲۰۰۳)، ترکیبات نظیر پنتادکانوئیک اسید، هگزادکانوئیک اسید، اولئیک اسید، لینولئیک اسید، دکانوئیک اسید و p-ایزوپروپیل فنول را به‌عنوان روغن‌های اصلی حاصل از عصاره‌ی چوب‌درون، چوب‌برون، ریشه و ساقه گونه *Juniperus potidissima* در ترکیه گزارش داده‌است [۸].

هولمبوم^۳، (۱۹۷۷)، در مطالعه‌های خود روی مواد استخراجی چوب سوزنی‌برگان نشان داده‌است که اختلاف‌های عمودی مواد استخراجی را می‌توان در ساقه‌ی درختان یافت، به‌طوری‌که در درختان کاج، بالاترین درصد اسیدهای رزینی فقط در بخش چوب‌درون بالا و پایین زمین یافته شده‌است [۹].

مواد و روش‌ها

۱- تهیه نمونه‌های آزمونی

جهت انجام این تحقیق تعداد سه اصله درخت زربین طبیعی به‌صورت تصادفی از منطقه‌ی حسن‌آباد چالوس و ارتفاع ۵۰۰ متری از سطح دریا انتخاب و از هر اصله درخت سه دیسک تهیه شد.

۲- اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی

برای اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی چوب زربین، ابتدا طبق آزمون شماره ۸۵-OM - ۲۵۷ T استاندارد TAPPI آرد چوب تهیه شد. سپس درصد مواد استخراجی از مجموع مواد استخراجی محلول در الکل - تولوئن، الکل و محلول در آب به‌دست آمد. اندازه‌گیری مقدار سلولز طبق روش اسید نیتریک انجام گرفت.

1- Balaban
2-Tunalire
3-Holmbom

برای تعیین مقدار لیگنین از آزمون شماره ۸۸-om - T ۲۲۲ استاندارد TAPPI استفاده شد. اندازه‌گیری مقدار خاکستر طبق آزمون شماره ۸۵-om - T ۲۱۱ استاندارد TAPPI انجام گرفت [۱].

به منظور جداسازی اجزای شیمیایی مواد استخراجی آرد حاصل مربوط به هر ارتفاع با هم مخلوط شدند. حاصل این اختلاط در واقع تهیه یک نمونه همگن از درخت زربین بود. به طوری که آرد تهیه شده ابتدا الک شد و نمونه‌های باقی مانده بر روی الک مش ۸۰ جمع‌آوری گردید. سپس با استفاده از روش سوکسله و حلال تولوئن - الکل (با نسبت ۲ به ۱) مواد عصاره‌ای زربین طبیعی و دست‌کاشت به صورت جداگانه استخراج گردید.

۳- جداسازی و شناسایی اجزای شیمیایی مواد استخراجی زربین

بعد از استخراج مواد عصاره‌ای زربین، حلال حاوی مواد استخراجی را از طریق عبور دادن گاز بی‌اثر ازت از سطح ظرف تبخیر و از باقی‌مانده که در واقع همان مواد استخراجی درخت می‌باشند جهت انجام آزمایش استفاده شد. گام بعدی سایلنل‌دار کردن ترکیبات استخراجی جهت بررسی در دستگاه گاز کروماتوگرافی بود. برای این منظور میزان ۰/۰۳ گرم از باقی‌مانده مواد استخراجی توزین و درون یک ویال شیشه‌ای منتقل گردید. سپس به میزان ۹۰ میکرو لیتر واکنشگر بیس (تری متیل سایلنل) تری فلور استامید (BSTFA) به نمونه تهیه شده اضافه شد. درب ویال شیشه‌ای بسته و دور آن با فویل آلومینیمی پیچیده شد و داخل یونولیت قرار گرفت، تا از فرو رفتن ویال در آب جلوگیری شود. سپس جهت انجام واکنش بین مواد استخراجی و BSTFA ویال درون حمام بن‌ماری با آب ۷۰^{oc} و به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. بعد از گذشت این مدت، نمونه‌ها جهت آنالیز توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنجی جرمی - GC/MS آماده گردید. نمونه‌ها توسط سرنگ همپلتون به بخش Injetion دستگاه GC/MS تزریق شد. پس از تزریق نمونه‌ها، با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (T_R)، شاخص بازداری کوآتس (k_I)، طیف جرمی و مقایسه این مولفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه (جدول آدامز)، نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده مواد استخراجی زربین اقدام شد. جهت ثبت کروماتوگرام و طیف جرمی مدت ۳۰ دقیقه وقت مورد نیاز بود. جهت محاسبه ضریب کوآتس از جدول زمان‌بندی بازداری آلکان‌های نرمال و فرمول محاسبه‌ی آن استفاده شد.

$$I = 100n + 100 (t_{rx} - t_{rn}) / (t_{rn+1} - t_{rn}) \quad [9]$$

$$I = \text{ضریب کوآتس} \quad , \quad T_{rn} = \text{زمان بازداری آلکان نرمال}$$

$$n = \text{تعداد کربن‌های آلکان نرمال} \quad , \quad T_{rx} = \text{زمان بازداری ماده‌ی مجهول}$$

همچنین شاخص‌های کوآتس استخراج شده با جدول آدامز تطبیق داده‌شد، که به دو صورت الفبایی و صعودی - نزولی بودن ضرایب کوآتس تنظیم شده‌است.

ع- مشخصات دستگاه GC :

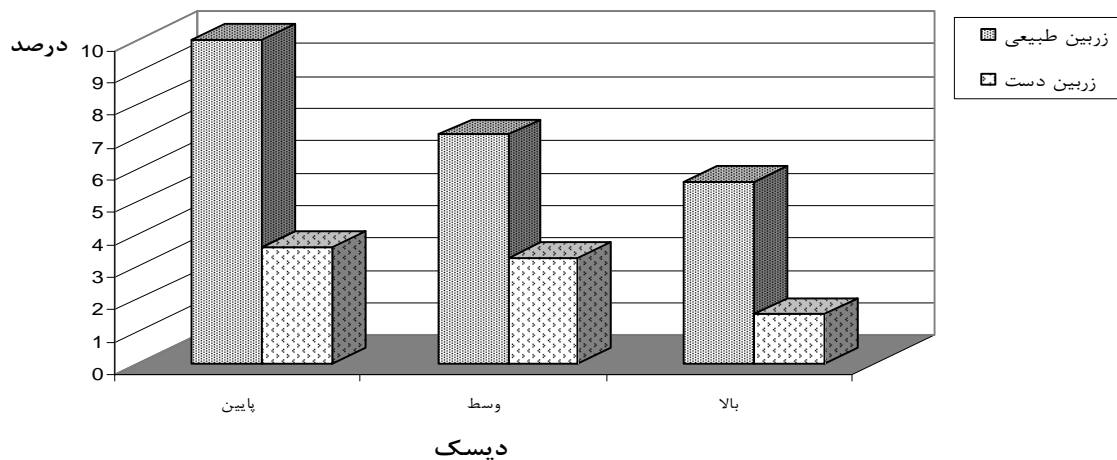
- نوع ستون: HP – 5 MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر
- نوع گاز حامل: هلیوم با سرعت ۱ mm در دقیقه
- مدل دستگاه GC: HP6890 Series
- مدل دستگاه MS: Hp 5973 Mass selective Detector
- برنامه‌ی دمایی: بین ۲۶۰^oC - ۶۰ به ازای هر دقیقه ۶^oC افزایش دما
- انرژی ذراتی که در دستگاه MS به نمونه برخورد می‌کنند ۷۰ الکترون ولت می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

این تحقیق با هدف شناسایی و مقایسه اجزای شیمیایی مواد استخراجی زرین طبیعی و دست‌کاشت انجام شد، به همین منظور، ابتدا مقادیر ترکیبات شیمیایی زرین طبیعی و دست‌کاشت اندازه‌گیری شد، به طوری که میانگین مواد استخراجی و خاکستر در زرین طبیعی بیشتر و سلولز و لیگنین آن کمتر از زرین دست‌کاشت است (جدول ۱). همچنین تغییرات مواد استخراجی در طی ارتفاع درخت در هر دو گونه نزولی است و با توجه به این که در پایین تنه چوب بالغ بیشتر می‌باشد بیشترین مواد استخراجی در پایین تنه و کمترین آن در بالای ساقه درخت مشاهده شد (شکل ۱). سپس ۱۴ ترکیب در مواد استخراجی درخت زرین طبیعی شناسایی گردید. که از جمله مهمترین آنها می‌توان به: ایزوفیلوکلاذن، ۴- ایزوتیازول کربوکسیلیک اسید، ۹- اکتادستامید، بوربونانول به ترتیب به میزان ۲۸/۸۳٪، ۲۱/۰۴٪، ۱۹/۶۱٪، ۹/۷۹٪ اشاره کرد که دارای بیشترین مقادیر ایزو کارن وان-اتیل-۱، ۷، ۱، ۱-تری متیل به ترتیب به میزان ۱۰/۹۸ درصد دارای کمترین مقادیر هستند (جدول ۲ و نمودار ۲). همچنین ۱۲ ترکیب در مواد استخراجی درخت زرین دست-کاشت شناسایی شد که از بین ترکیبات شناسایی شده، اکتادستامید، ایزوفیلوکلاذن، ۳، ۷، ۱۱، ۱۵ - تترامتیل - ۲ - هگزیل (سیلان)، دی اتیل متیل به ترتیب با ۴۵/۳۰، ۱۷/۸۲، ۶/۸۷، ۵/۴۷ درصد دارای بیشترین مقادیر و سیکلو هگزانون ۳- متیل و ۱- نفتو [۲، ۳، C] پیران ۳- استیک اسید با ۱/۵۰ و ۱/۸۰ درصد دارای کمترین مقادیر هستند (جدول ۳ و شکل ۳). نتایج نشان داد که پنج ترکیب ایزو فیلو کلاذن و ۹- اکتادستامید، بوربونانول، سینامالدئید-۲- هگزیل و ۱- نفتو (۲، ۳ و C) پیران-۳- استیک اسید که در هر دو گونه و به مقدار زیاد وجود دارد و این ترکیبات به نوبه‌ی می‌توانند در دوام زرین طبیعی و دست‌کاشت نقش بسیار داشته باشند.

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار ترکیبات شیمیایی زرین طبیعی و دست‌کاشت

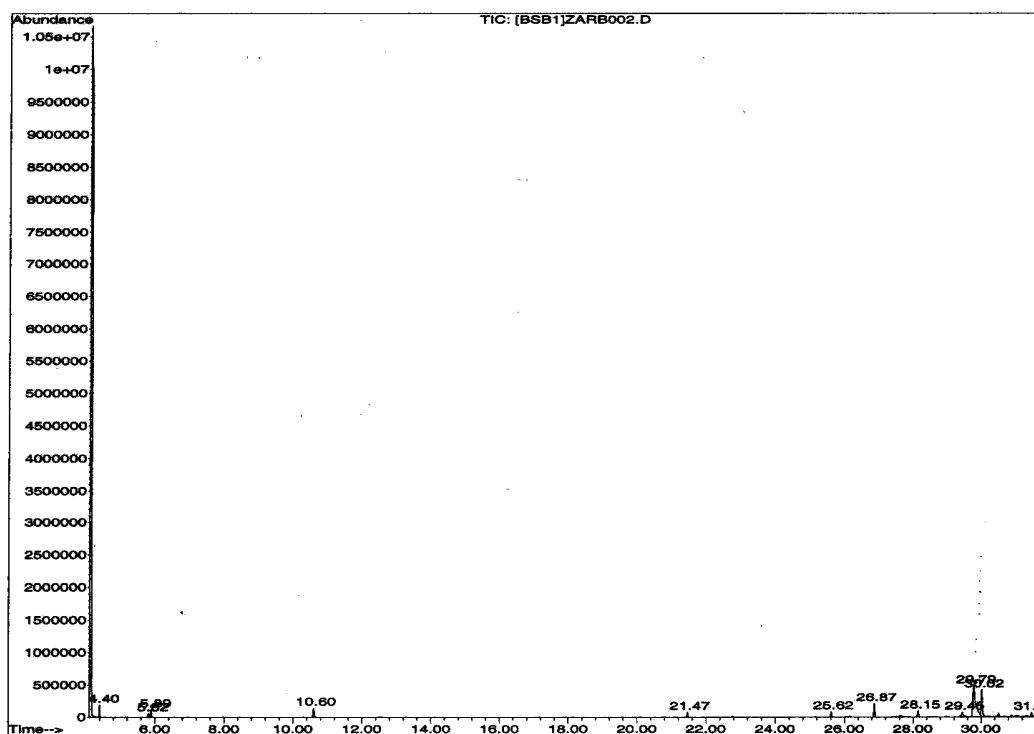
مشخصه متغیر	مواد استخراجی (%)		سلولز (%)		لیگنین (%)		خاکستر (%)	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
زرین طبیعی	۷/۵۲	۲/۲۲۹	۴۸	۳/۶۱	۲۸	۰/۵	۰/۵۳۳	۰/۱۱۶
زرین دست کاشت	۲/۷۵	۱/۱۱۳	۵۳/۵	۱/۵	۲۹/۱۷	۰/۷۶۴	۰/۴۶۷	۰/۱۱۷



شکل ۲- مقایسه و تغییرات در صد مواد استخراجی زربین طبیعی و دست‌کاشت در طی ارتفاع درخت

شماره یک	ترکیب	زمان ماندگاری (min)	درصد فراوانی
۱	اکتا متیل	۴/۳۸۵	۲/۲۴
۲	ان - اتیل - ۱،۱،۷ - تری متیل	۵/۸۸۸	۱
۳	هگزیل بوتیرات	۱۲/۰۹۹	۱/۲۲
۴	بوربونانول	۲۱/۴۶۹	۹/۷۹
۵	سینامالدهید - ۲ - هگزیل	۲۵/۶۲۱	۱/۰۲
۶	۲ - (۱ - متیل پروپیل) - ۵،۶ - دی متیل پیران	۲۶/۱۵۰	۲/۲۰
۷	۴ - ایزوتیازول کربوکسیلیک اسید	۲۶/۸۸۵	۲۱/۰۴
۸	اپاپالوئانونیک استات	۲۸/۴۳۱	۱/۱۸
۹	۱ - (تری متیل سیلوکسی) - ۱ - سیلاسیلوات	۲۹/۴۵۶	۴/۹۷
۱۰	۹ - اکتادستامید	۲۹/۷۸۱	۱۹/۶۱
۱۱	ایزوفیلوکلاذن	۳۰/۰۳۷	۲۸/۸۳
۱۲	ایزوکارن	۳۰/۵۱۵	۰/۹۸
۱۳	۴ - متوکسی - ۲،۳ - دی فنیل	۳۰/۹۰۰	۲/۸۹
۱۴	۱H - نفتو (C،۲،۳) پیران - ۳ - استیک اسید	۳۱/۴۸۹	۳/۰۳

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده مواد استخراجی حاصل از زربین طبیعی

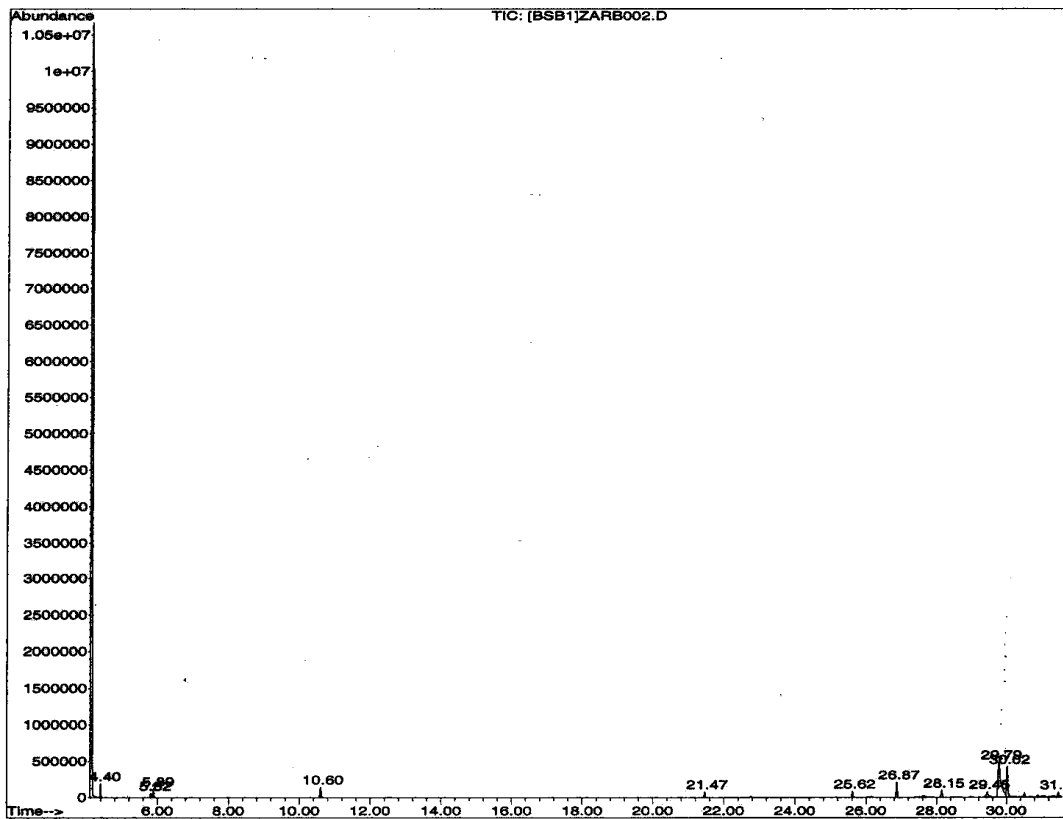


شکل ۳- کروماتوگرام GC مواد استخراجی حاصل از زرین طبیعی

جدول ۳- ترکیبات شناسایی شده مواد استخراجی حاصل از زرین دست کاشت

شماره یک	ترکیب	زمان ماندگاری (min)	درصد فراوانی
۱	استیل فوران	۴/۴۰۱	۴/۳۸
۲	سایکلو هگزانون -۳- متیل	۵/۸۱۹	۱/۵
۳	اتیل امین	۵/۸۹۶	۳/۳۶
۴	نوپینون	۱۰/۶۰۲	۵
۵	پوربونان	۲۱/۴۶۸	۲/۴۱
۶	سینامالدهید -۲- هگزیل	۲۵/۶۲	۲/۸۵
۷	۱۵،۷،۳- ترا متیل -۲- هگزیل	۲۶/۸۷۵	۶/۸۷
۸	تری متیل سایلیل	۲۸/۱۴۸	۳/۲۴
۹	دی اتیل متیل	۲۹/۴۵۵	۵/۴۷
۱۰	۹- اکتادستامد	۲۹/۷۸۸	۴۵/۳۰
۱۱	ایزوفیلوکلادن	۳۰/۰۳۷	۱۷/۸۲
۱۲	۱- نفتو (۳،۲،C) پیران -۱-۳- استیک اسید	۳۱/۴۸۸	۱/۸

شکل ۴- کروماتوگرام GC مواد استخراجی حاصل از زربین دست کاشت



منابع:

- ۱- یوسفی زیرآبی، ر.، ۱۳۸۵، مقایسه مواد استخراجی زربین طبیعی و دست کاشت - پایان‌نامه‌ی کارشناسی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نوشهر و چالوس.
- ۲- پارسا پژوه، د. شواین گروبر، ف. ح.، ۱۳۸۰، اطلس چوب‌های شمال ایران (تالیف)، انتشارات دانشگاه تهران.
- ۳- شوستروم، ارو، ۱۳۷۱، مبانی و کاربردهای شیمی چوب، ترجمه سید احمد میرشکرایی، انتشارات نشر دانشگاهی.
- ۴- ترکمن، ج.، ۱۳۷۲، آنالیز مواد استخراجی پوست پنج‌گونه از درختان پهن‌برگ ایران، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه تربیت مدرس.
- ۵- خضرای، ل.، میرشکرایی، س.ا.، ۱۳۸۴، جداسازی و شناسایی ترکیبات لیپوفیلیک موجود در عصاره چوب و پوست‌راش با استفاده از فنون کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی. پایان‌نامه‌ی کارشناسی‌ارشد، دانشکده فنی، دانشگاه پیام نور
- ۶- استوک، ر. رایس، س.ب.ف.، ۱۳۷۱، روش‌های کروماتوگرافی، ترجمه سید واقف حسینی، جمشید منظوری لشکر، مرکز نشر دانشگاهی.
- 7- Balaban, Mualla, 2001, Extracvesand structural in wood and bark of endemic oak *Quercus Vulcanica* Boiss, *Holz forshung* 55 (478-486).
- 8- Tunalier, zeynep, kirimer, 2003, wood essential oils of *Junipers foetidissima* willd, *forshung*, 57 (140-144).
- 9- Holmbom, B , 1977 , Improve gas chromatographic analysis of fatty and resin acid mixtures with special reference to tall oil , *JAM oil chem soc* 54:284-243 .

