

مقایسه ترکیبهای شیمیایی اسانس گیاه *Rosmarinus officinalis* L. به روش آزمایشگاهی و نیمه صنعتی

کامکار جایمند^۱ و محمد باقر رضایی^۱

چکیده

رومارن یا اکلیل کوهی با نام علمی *Rosmarinus officinalis* L. یکی از گیاهان معطر کشت شده در ایران می‌باشد، نمونه گیاهی از مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی وابسته به مرکز آموزش عالی جهاد کشاورزی استان سمنان جمع‌آوری گردید و در مقیاس آزمایشگاهی و نیمه صنعتی به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. بازده اسانس به ترتیب ۰/۳۱ درصد و ۰/۲۶ درصد تعیین گردید. نمونه‌ها جهت مقایسه ترکیبهای شیمیایی اسانس آن توسط دستگاههای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه قرار گرفتند. ترکیبهای عمده در نمونه آزمایشگاهی عبارتند از: α -pinene (۳۰/۳ درصد)، 1,8-cineole (۱۵/۲ درصد)، terpin-1-ol (۸/۲ درصد) و methyl chavicol (۷/۵ درصد) و ترکیبهای عمده در اسانس پایلوت شامل: α -pinene (۳۰ درصد)، 1,8-cineole (۱۲/۲ درصد)، methyl chavicol (۱۱/۶ درصد) و camphene (۶/۶ درصد) می‌باشند. در ضمن با بررسی نتایج مشاهده می‌گردد که میزان بعضی از ترکیبها، از جمله 1,8-cineole (۱۵/۲ و ۱۲/۲ درصد)، methyl chavicol (۷/۵ و ۱۱/۶ درصد) و terpinen-1-ol (۸/۲ و ۶/۴ درصد) به ترتیب در دو نمونه متفاوت هستند.

واژه‌های کلیدی: رومارن، اکلیل کوهی (*Rosmarinus officinalis*)، ترکیبهای

شیمیایی اسانس، تقطیر با آب، آلفا - پینن

مقدمه

رومارن یا اکلیل کوهی با نام علمی *Rosmarinus officinalis* L. در مدیترانه و شمال آفریقا به صورت خودرو می‌روید. تاکنون تحقیقات وسیعی روی این گونه در کشورهای مختلف انجام گردیده است. مردم کشورهای اسپانیا و ایتالیا برای جلوگیری از فساد غذا از گیاه و یا عصاره آن استفاده می‌کنند (Spiro و Chen، ۱۹۹۴). محققین در تحقیقاتی که در زمینه بررسی اثرات بیولوژیکی و دارویی آن انجام داده‌اند، به نتایج بسیار جالبی رسیده‌اند (۳،۴). اسانس این گونه از لحاظ کیفیت و کمیت مورد بررسی قرار گرفته و میانگین آنرا ۰/۷ درصد گزارش گردید (Arnold و همکاران، ۱۹۹۷). در ایتالیا، ترکیبهای عمده‌ای را در گیاه از جمله cineole - 1,8 (۲۳/۵ درصد)، camphor (۱۷/۷ درصد) و limonene (۹/۵ درصد) و در اسپانیا ترکیبهای عمده camphor (۳۵/۳ درصد)، limonene (۲۴ درصد) و cineole - 1,8 (۱۱ درصد) گزارش نموده‌اند (Granger و همکاران، ۱۹۷۰). در صورتیکه Cioni و همکاران (۱۹۹۳)، ترکیبهای عمده آنرا camphene + (درصد)، α -pinene (۱۸/۲ درصد)، limonene (۴/۴ درصد) و α -thujone (۳/۵ درصد) گزارش کرده‌اند. در گزارش رضایی (۱۳۷۸)، ترکیبهای عمده در این گونه piperitone ۲۳/۰۷ درصد، α -pinene (۱۴/۹ درصد)، linalool (۱۴/۹ درصد) و cineole - 1,8 (۷/۳ درصد) تعیین گردیده است. ترکیبهای عمده در گونه رومارن نسبت به شرایط رویش و نحوه استخراج نیز متفاوت گزارش شده است (Granger و همکاران، ۱۹۷۰). در این تحقیق اسانس در دو مقیاس (آزمایشگاهی و نیمه صنعتی) مورد بررسی قرار گرفته است. در جدول شماره ۱ ترکیبهای عمده در گیاه که مربوط به کشورهای مختلف را مشاهده می‌نمایید.

جدول شماره ۱- میزان ترکیبهای عمده در گونه *Rosmarinus officinalis* L.

در کشورهای مختلف

ردیف	نام ترکیب	اسپانیا	ایتالیا	مجارستان
۱	piperitone	---	---	۱۷
۲	α -pinene	۰/۹	۱۲/۸	۲۰
۳	linalool	جزئی	۱۰/۱	جزئی
۴	1,8-cineole	۲۴	۲۳/۵	۱۵/۳
۵	camphor	۳۵/۳	۱۷/۷	۱۳/۴
۶	borneol	۱/۳	۱/۳	۱۲
۷	camphene	۰/۹	۳/۷	---

بنابراین، از آنجا که شناسایی ترکیبهای مهم در این گیاه جهت صنایع مختلف از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد به خصوص که به‌علت خواص متعدد آن از جمله عطر و بوی مناسب و خوبی که از آن متساعد می‌شود به‌عنوان عطر دهنده غذا، آرامبخش، نگهدارنده رنگ و طعم غذا و آنتی‌اکسیدان قوی (ترکیبهای *rosmarinic acid*, *camosic acid*, *phenolic* و *carosol*) مصرف فراوان دارد.

مواد و روشها

الف- جمع‌آوری و استخراج

نمونه‌های مورد آزمایش در اواخر خرداد ماه ۱۳۸۲ از مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی سمنان جمع‌آوری شده است. مقدار ۳۰۰ گرم از سرشاخه گلدار به روش تقطیر با آب، دستگاه توسط جایمند و رضایی (شکل شماره ۱) در آزمایشگاه شیمی گیاهی بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع طراحی گردیده، برای مدت ۳ ساعت و نمونه دوم توسط دستگاه نیمه صنعتی مرکز

آموزش عالی جهاد کشاورزی استان سمنان (شکل شماره ۲) به روش تقطیر با آب مورد اسانس‌گیری قرار گرفتند، بازده اسانس به ترتیب ۰/۴ درصد و ۰/۵ درصد بدست آمده است.

ب- تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

کروماتوگراف گازی الگوی GC-9A Shimadzu مجهز به دکتور FID (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و داده پرداز EuroChrom 2000، ستون DB-5 که ستونی غیر قطبی است به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون استفاده شده است. برنامه حرارتی ستون: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتیگراد، دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت افزایش دما برابر ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، دمای محفظه تزریق و آشکار ساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۶۵ درجه سانتیگراد تنظیم شده، فشار گاز حامل در سر ستون ۳ کیلو گرم بر سانتیمتر مربع می‌باشد.

ج - تجزیه با دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

دستگاه کروماتوگراف گازی الگوی Varian 3400 متصل به طیف سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله یونی^۱ و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، و ستون مورد استفاده مانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC می‌باشد. درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ۴ درجه سانتیگراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفرلاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم گردیده است.

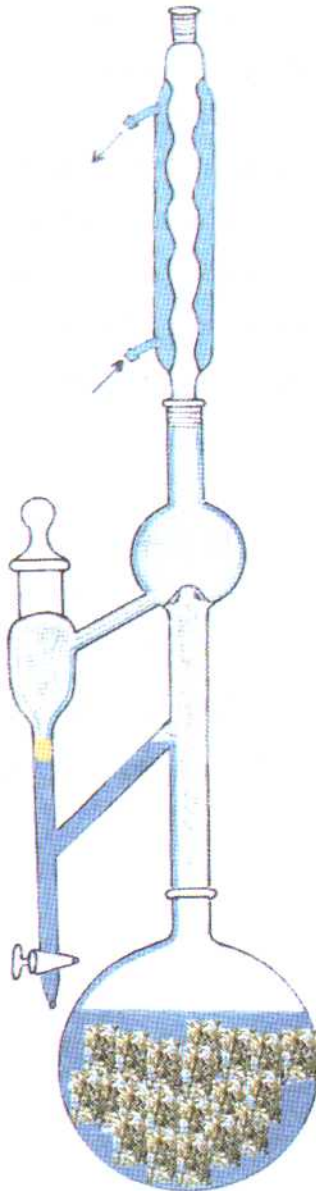
شناسایی طیفها به کمک شاخصهای بازداری آنها که با تزریق هیدروکربنهای نرمال (C₇ - C₂₅) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانسها و توسط برنامه کامپیوتری نوشته شده به زبان بیسیک محاسبه گردیدند و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده (Shibamoto, ۱۹۸۷, Adams, ۱۹۸۹, Davies, ۱۹۹۰) و نیز با استفاده از طیفهای جرمی ترکیبهای استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوییدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تایید گردیدند. محاسبه‌های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز EuroChrom 2000 به روش نرمال کردن سطح^۲ و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ^۳ مربوط به طیفها انجام شده است.

نتایج

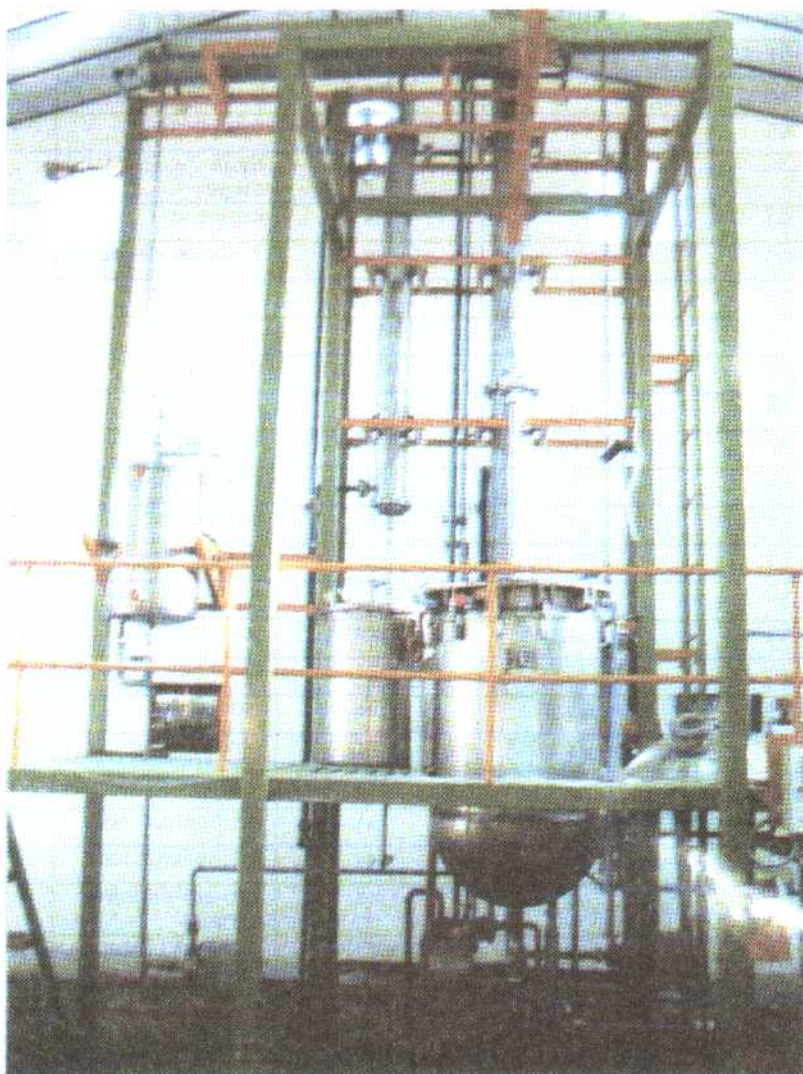
همانطوریکه در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، ترکیبهای عمده در مقیاس آزمایشگاهی عبارتند از: α - pinene (۳۰/۳ درصد)، 1,8- cineole (۱۵/۲ درصد)، terpin-1-ol (۸/۲ درصد) و methyl chavicol (۷/۵ درصد) و ترکیبهای عمده در نمونه نیمه صنعتی شامل: α - pinene (۳۰ درصد)، 1,8- cineole (۱۲/۲ درصد)، methyl chavicol (۱۱/۶ درصد) و camphene (۶/۶ درصد) بوده است.

2- Area normalization method

3- Response factors



شکل شماره ۱- دستگاه تقطیر با آب (طرح جایمند - رضایی)



شکل شماره ۲- دستگاه نیمه صنعتی تقطیر با آب مرکز آموزش عالی

جهاد کشاورزی استان سمنان

جدول شماره ۲- شناسایی ترکیبهای اسانس رومارن *Rosmarinus officinalis* L

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری*	نمونه آزمایشگاهی	نمونه نیمه صنعتی
۱	tricyclene	۹۱۷	۰/۱	۰/۴
۲	α - pinene	۹۲۸	۳۰/۳	۳۰/۰
۳	camphene	۹۴۰	۶/۲	۶/۶
۴	thuja - 2,4(10)-diene	۹۴۷	۰/۴	---
۵	sabinene	۹۶۸	۲/۶	۲/۲
۶	1 -octen -3- ol	۹۷۷	۵/۳	۳/۶
۷	3 -octanone	۹۸۶	۴/۲	۳/۶
۸	3 -octanol	۹۹۷	---	۰/۶
۹	p-cymene	۱۰۱۰	۰/۴	۰/۴
۱۰	limonene	۱۰۱۷	۰/۵	۰/۸
۱۱	1,8-cineole	۱۰۲۱	۱۵/۲	۱۲/۲
۱۲	(E)- β -ocimene	۱۰۵۰	۰/۶	۰/۶
۱۳	terpinolene	۱۰۸۰	۰/۹	۰/۹
۱۴	linalool	۱۰۹۴	۳/۰	۲/۴
۱۵	trans- thujone	۱۱۱۷	۰/۸	۱/۰
۱۶	terpinen-1-ol	۱۱۳۳	۸/۲	۶/۴
۱۷	camphor	۱۱۴۴	---	۰/۷
۱۸	isoborneol	۱۱۵۵	۴/۱	۴/۹
۱۹	pinocarvone	۱۱۶۲	۱/۴	۱/۲
۲۰	borneol	۱۱۶۸	۰/۹	۰/۹
۲۱	cis-pinocarveol	۱۱۸۱	۱/۲	۱/۲
۲۲	methyl chavicol	۱۱۹۷	۷/۵	۱۱/۶
۲۳	neo-iso-dihydrocarveol	۱۲۲۶	۰/۴	۰/۵
۲۴	isobornyl formate	۱۲۳۲	۰/۷	۰/۸
۲۵	trans - carvone oxide	۱۲۷۷	۳/۵	۲/۶
۲۶	β -caryophyllene	۱۴۰۴	۰/۷	۳/۰
۲۷	(Z)- β - farnesene	۱۴۴۱	---	۰/۴
۲۸	ledol	۱۵۶۷	---	۰/۴
۲۹	n- nonadecane	۱۸۹۲	۰/۷	---

*زمان بازداری بر روی ستون DB-5

بحث

طبق بررسی صورت گرفته روی روشهای استخراج می‌توان اختلاف مهم را در ترکیبهای α -pinene، 1,8-cineole و camphor دید که از نظر اقتصادی بیشتر منابع روی این دو ترکیب (α -pinene و 1,8-cineole) به علت داشتن خواص متعدد ذکر کرد. ترکیب 1,8-cineole دارای خواص بیهوش‌کنندگی، کرم‌کش، ضد آلرژی، باکتری‌کش، خلط‌آور، مسکن، پایین آورنده فشار خون، عامل درمان التهاب حنجره، سرفه و برونشیت می‌باشد، و ترکیب α -pinene دارای خواص ضد آلرژی، ضد آنفلوآنزا، ضد التهاب، ضد ویروس، باکتری‌کش، خلط‌آور، مسکن و جلوگیری‌کننده از سرطان می‌باشد.

بر روی اسانس گونه رومارن از نظر کمی و کیفی که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده، و از آنجا که میزان و نوع ترکیب به محل جمع‌آوری بستگی دارد، در تحقیقی که به همین منظور در نمونه‌هایی که از کشورهای اسپانیا و ایتالیا، در زمان گلدهی گیاه (خرداد) صورت گرفته است، میزان و نوع متفاوتی از ترکیبهای آن مشاهده شده است (Granger و همکاران، ۱۹۷۰). در همین رابطه Perez-Alonso و همکاران، (۱۹۹۵) از ترکیه ترکیبهای عمده در اسانس را 1,8-cineole (۳۶/۹ درصد)، borneol (۱۷/۵ درصد) و p-cymene (۱۰/۵ درصد) گزارش نموده‌اند. در تحقیقی دیگر از کشور کوبا Pino و همکاران، (۱۹۹۸) ۲۹ ترکیب را در نمونه اسانس شناسایی نموده‌اند که ترکیبهای عمده شامل camphor (۳۴/۸ درصد)، 1,8-cineole (۱۱ درصد) و borneol (۱۱/۶ درصد) می‌باشد. میزان کم α -pinene گزارش شده توسط Domohos و همکاران، (۱۹۹۸) از کشور مجارستان، احتمالاً به علت هوای سرد این کشور بوده است، ولی دو ترکیب 3-octanone و verbenone به نسبت نمونه‌های دیگر کشورها افزایش یافته است. مقدار ترکیب verbenone از ۲/۵ تا ۱۱ درصد گزارش شده، در صورتیکه در اسانس کشور یوگسلاوی این ترکیب وجود ندارد، در ضمن این

ترکیب دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشد. طبق بررسی که روی ترکیبهای اسانس رومارن در جنوب برزیل و اوروگوئه توسط Dellacassa و همکاران، (۱۹۹۷) انجام گرفت ترکیبهای عمده اسانس این کشور دارای درصد زیادی از ترکیب α -pinene (۳۷/۸ تا ۴۶/۲ درصد)، 1,8-cineole (۱۳/۴ تا ۱۳/۸ درصد) می‌باشد، ترکیبهای عمده اسانس نمونه رومارن جنوب برزیل نیز شامل ترکیب α -pinene (۳۲/۲ درصد)، 1,8-cineole (۱۴/۷ درصد) می‌باشد. در صورتیکه در نمونه‌های وحشی این گیاه ترکیبهای α -pinene (۱۲/۴ درصد)، myrcene (۲۲/۷ درصد)، و 1,8-cineole (۱۵/۳ درصد) دارا می‌باشند. Lawrence (۱۹۷۷)، در بررسی از یک نمونه اسانس فرانسوی سه ترکیب 3-hexanone، 1-octen-3-ol و 3-octanol را مشاهده نموده است و ترکیب 3-octanone نیز در گیاه تازه موجود بوده است. بنابراین با بررسی به عمل آمده، عمده ترین ترکیبها α -pinene و 1,8-cineole در گونه‌های خارجی و ایرانی می‌باشند. در مقایسه با نمونه‌های داخلی پیشنهاد می‌گردد به علت اختلاف زیاد در ترکیب α -pinene (گزارش رضایی ۱۴/۹ درصد و نمونه‌های آزمایشگاهی و نیمه صنعتی به ترتیب ۳۰/۳ و ۳۰ درصد) که از اهمیت بیشتری در این گونه برخوردار می‌باشد، تحقیقات بیشتری صورت پذیرد.

منابع

- رضایی، محمد باقر. ۱۳۷۸، " بررسی ترکیبهای شیمیایی اسانس اکلیل کوهی - *Rosmarinus officinalis* L. "، تحقیقات گیاهان دارویی و معطر، جلد ۴، ۷۰-۵۳.
- Spiro, M. and Chen, S.S., 1994, Flavour and Fragrance, vol. 9, pp187-200.
- Schneider, K.; Pulver, G. and Kubelka, W., 1992, "Infusions of rosmariny leaves: Dissolution rate and kinetics of the main volatile compounds", *Planta Med*, supplement issue 1, 58, A678.
- Narashima, R. and Nigam, S., 1978, "In vitro antimicrobial efficiency of essential oils", *Indian J. Med. Res.*, 58, 627-633.
- Arnold, n.; valentini, G. and Bellomaria, B., 1997, "Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan. Fourr. From Algeria of *R. officinalis* L. from other countries", *J. Essen. Oils Res.*, 9, 167-175.
- Granger, R.; Passet, J. and Arboussect, G., 1970, "Activite optique de L, essence de *Rosmarinus officinalis* L.", *La France Parfums*, 67, 62-65.
- Cioni, P.L.; Flamini, G. and Morelli, I., 1993, "Indagine preliminare su una coltivazione di *Rosmarinus officinalis* L. in Provincia dipisa: studio della variabilita della resaca della composizione chimica dell'olio essenziale", *Rivista ital. EPPOS*, 9, 31-33.
- Perez-Alonso, M.J. ; Velasco-Negueruela, A. ; Duru, M.E. ; Harmandar, M. and Esteban, J.L. 1995, Composition of the essential oils of *ocimum balsilicum* var. *glabratum* and *Rosmarinus officinalis* from Turkey., *J. Essent. Oil Res.*, 7, 73-75.
- Pino, J.A. ; Estarron, M. and Fuentes, V. 1998, Essential oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Cuba., *J. Essent. Oil Res.*, 10, 111-112.
- Domohos, J. ; Hethelyi, E. ; palinkas, J. ; Szirmai, S. and Tulok, M.H. 1997, Essential oil of Rosemary (*Rosmarinus officinlis* L.) of Hungarian origin., *J. Essent. Oil Res.*, 9, 41-45.
- Dellacassa, E.; Loerenz, D. ; moyna, P.; frizzo, C.D. and Serafini, L.A. 1999, *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) Essential oils from the south of Brazil and Uruguay., *J. Essent. Oil Res.*, 11, 27-30.
- Lawrence, B.M. 1977, Progres in essential ils., *Perfum. Flavor.*, 2(4), 34-35.
- Shibamoto, T., 1987, "Retention Indices in Essential Oil Analysis. In: Capillary Gas Chromatography in Essential oils analysis. Edits., Sandra, P. and Bicchi, C. p. 259-274, Dr. Alfred Huethig Verlag, New York.
- Davies, N.W., 1990, Gas Chromatographic Retention Index of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl silicone and Carbowax 20 M phases. *J. Chromatogr.*, 503, 1-24.
- Adams, R.P., 1989, Identification of essential oils by Ion trap Mass Spectroscopy. Academic Press, San Diego, CA .

Extraction and Investigation of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L. by Hydrodistillation in Laboratory and Pilot Scale

K.Jaimand¹ and M.B. Rezaee¹

Abstract

Rosmarinus officinalis L. which is cultivated in Research farm of medicinal plants in Cemnan city were collected on 29 May 2003 , and fresh plants materials essential oils extracted by hydrodistillation method in laboratory and pilot scale. Essential oils yield in laboratory and pilot scale were 0.4%, and 0.5%, respectively. Both samples were analysed by GC and GC/MS. The main constituents were identified in laboratory sample were α - pinene (30.3%), 1,8-cineole (15.2%), terpin-1-ol (8.2%) and methyl chavicol (7.5%) and for pilot sample were α - pinene (30%), 1,8-cineole (12.2%), methyl chavicol (11.6%) and camphene (6.6%).

Key words :*Rosmarinus officinalis* L, α - pinene, 1,8-cineole, essential oils composition