

ترکیبهای اسانس سرو مردابی (*Taxodium distichum* (L.)

در زمانهای مختلف تقطیر با آب

کامکار جایمند^۱ و محمد باقر رضایی^۱

چکیده

سرو مردابی (*Taxodium distichum* (L.) در مناطق شمالی کشور رویش دارد. بذر این گیاه دارای اسانس فراوان و ترکیب عمده آن، آلفا - پینن می‌باشد. این ترکیب دارای فعالیتهای ضد التهابی و ضد انقباضی بوده و در صنایع عطرسازی کاربرد دارد. در این تحقیق میوه گیاه از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران در مرداد ۱۳۷۹ جمع‌آوری و به روش تقطیر با آب (طرح جایمند - رضایی) اسانسگیری شد. در این طرح امکان برداشت نمونه اسانس در زمانهای مختلف تقطیر وجود دارد. نمونه‌های اسانس (جدا شده در سه زمان) توسط دو دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه قرار گرفت و ترکیبهای آنها شناسایی شد. عمده‌ترین آنها، در برداشت اول آلفا - پینن (۶۱/۸ درصد)، برداشت دوم (۵۷/۱ درصد) و برداشت سوم (۱۴/۸ درصد) می‌باشد که به ترتیب هرچه زمان اسانسگیری افزایش می‌یابد میزان ترکیب کاهش نشان می‌دهد. از آنجا که جداسازی هر ترکیب به تنهایی در اسانسها کار ساده‌ای نیست از این رو، یکی از مزایای این روش به نسبت روشهای دیگر اسانسگیری، برداشت بیشترین میزان یک ترکیب در اسانس در هر مرحله و زمان ممکن است که در این طرح لحاظ گردیده است.

واژه‌های کلیدی: سرو مردابی (*Taxodium distichum* (L.)، ترکیبهای شیمیایی،

استخراج اسانس، تقطیر با آب، آلفا- پینن.

مقدمه

براساس تحقیق El-Tantawy و همکاران، در سال ۱۹۹۹، اسانس گیاه سرو مردابی (*Taxodium distichum* (L.) به روش تقطیر با بخار تهیه شد و ترکیبهای شیمیایی آن به روشهای دستگاهی کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد شناسایی کمی و کیفی قرار می‌گرفت. در این بررسی ۴۶ ترکیب در اسانس اعلام شده است که ترکیب عمده آن آلفا-پینن با ۸۳/۳ درصد است. این ترکیب خاص دارای فعالیتهای ضد التهابی و ضد انقباضی و تشنج می‌باشد. همچنین فعالیت خوبی بر علیه گونه‌ای از باکتریهای اشریشیا (*Escherichia*) پروتئوس (که معمولاً در مواد دفعی و سایر مواد گندیده یافت می‌شود)، استافیلوکوک (میکروب کروی شکلی که اجتماع خوشه‌های انگوری شکل دارد)، و کاندیدا آلبیکانس (گونه‌ای از قارچهای کاندیدا که در انسان عفونت ایجاد می‌کنند) دارد. همچنین Flamini و همکاران از کشور ایتالیا، در سال ۲۰۰۰، طی مقاله‌ای از میوه، برگها و شاخه‌های بالغ درخت سرو مردابی به روش تقطیر با آب اسانسگیری نموده، و از کمیت و کیفیت سه نمونه بدست آمده در میوه گیاه ترکیب غالب کربوهیدراتهای مونوترپنی آلفا - پینن (۷۱/۳ درصد) و لیمونن (۱۸/۷ درصد) بود، و در برگ و شاخه‌های بالغ ترکیب آلفا - پینن (به ترتیب ۷۹/۷ درصد و ۵۳/۷ درصد) بیشترین میزان را نسبت به دیگر ترکیبها داشته است.

مواد و روشها

الف - جمع‌آوری گیاه

در این تحقیق نمونه میوه از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران در اواسط مرداد سال ۱۳۷۹ جمع‌آوری شده است. نمونه گیاه با همکاری بخش تحقیقات گیاه‌شناسی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، مورد شناسایی قرار گرفت.

ب - روش استخراج

۵۰۰ گرم میوه تازه درخت سرو مردابی *Taxodium distichum* (L.) با دستگاه مولینکس خرد و بعد به روش تقطیر با آب (طرح جایمند - رضایی) اسانسگیری شد. این دستگاه دارای یک مسیر انحرافی می باشد که در زمانهای مورد نیاز امکان برداشت اسانس فراهم است. در این تحقیق برداشت در زمانهای مختلف، بلافاصله بعد از مشاهده سطح مناسب عرق و اسانس که در قسمت جمع آوری اسانس در دستگاه مشاهده شد، (برداشت اول ده دقیقه ۳/۲۶ گرم، برداشت دوم ۶۰ دقیقه ۱ گرم، و برداشت سوم ۱۲۰ دقیقه ۰/۱۱ گرم اسانس) صورت گرفت.

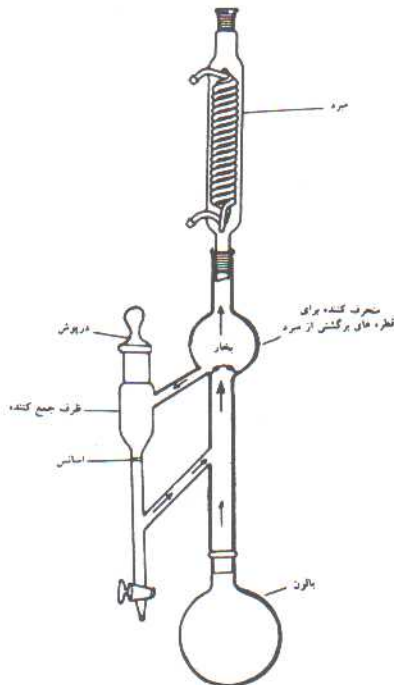
ج - تشریح دستگاه تقطیر با آب (طرح جایمند - رضایی)

هدف از این بررسی آشنایی محققان و دانش پژوهان با روشهای مختلف تقطیر با آب در مقیاس آزمایشگاهی می باشد. معمولاً اکثر محققان متذکر می شوند که روش اسانسگیری، تقطیر با آب و یا از نوع کلونجر (Clevenger) می باشد. از این رو، با توجه به کارکردی که دستگاه برحسب گونه و یا اندام گیاه دارد، بهتر است دقیقاً نام دستگاه مورد استفاده جهت تحقیقات بعدی اعلام شود. در حال حاضر طبق منابع موجود چهار نوع کلونجر برای استفاده وجود دارد: دستگاه کلونجر براساس دارونامه بریتانیا (BP)، دستگاه کلونجر براساس دیدگاه انجمن رسمی شیمی تجزیه (A.O.A.C.)، دستگاه کلونجر به نام Miquel و در آخر دستگاه کلونجر براساس طرح جایمند - رضایی از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع که اخیراً طراحی و معرفی می شود. این دستگاه براساس مشاهدات طراحان از سه دستگاه قبلی و با هدف بهینه کردن روشهای استخراج و امکان برداشت زمانی نمونه اسانس صورت گرفته است. در این طرح قادر هستیم بر اساس فاصله زمانی مورد دلخواه اسانس را برداشت نماییم در ضمن در این طرح بخار به راحتی وارد مبرد و به سرعت سرد می شود. زمان سرد شدن

بخار نسبت به دستگاههای دیگر کاهش داشته است. همان طوری که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌نمایید، در این طرح، مبرد دستگاه به طور عمودی در بالای ظرف تقطیر قرار دارد و بخار به‌طور مستقیم به طرف بالا هدایت می‌شود. پس از ورود بخار به مبرد، قطره‌ها برگشت کرده وارد منحرف کننده و از آنجا وارد بازوی کناری می‌شود. بنابراین، درپوشی در قسمت مناسبی از قطعه جمع کننده اسانس قرار دارد که از این طریق، می‌توان در زمانهای مختلف اسانس را با سرنگ برداشت (فراکسیون زمانی) نمود.

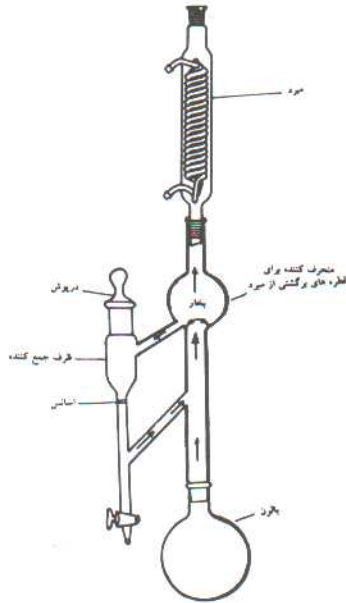
British Pharmacopoeia = (B.P.)

Association of Official Analytical Chemists = (A.O.A.C.)

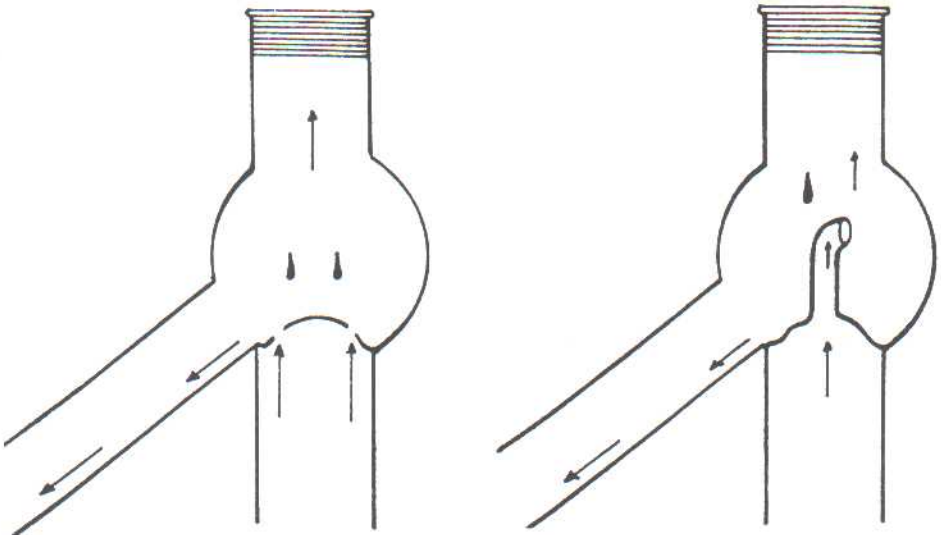


شکل شماره ۱ - دستگاه تقطیر با آب از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، (طرح

جایمند - رضایی)

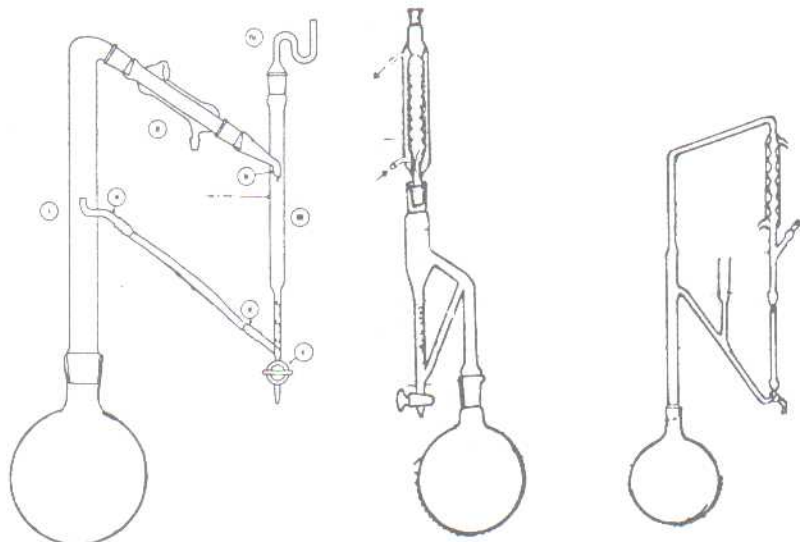


شکل شماره ۲ - منحرف کننده لوله‌ای شکل



شکل شماره ۳ - منحرف کننده منحنی شکل با چهار منفذ

در شکل‌های شماره ۴، ۵، ۶، سه نوع دستگاه تقطیر با آب، جهت مقایسه با یکدیگر:



شکل شماره ۴ - کلونجر B.P. شکل شماره ۵ - کلونجر A.O.A.C. شکل شماره ۶ - کلونجر Miquel

د - شناسایی ترکیبها

۱ - 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 از شرکت Knauer آلمان، ستون DB-1 که ستونی غیر قطبی است به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون 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 و فشار گاز حامل در سر ستون ۳ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع می‌باشد.

۲- 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. ستون مورد استفاده مانند ستون مورد استفاده در دستگاه GC می باشد. 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 گردید و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده (Sandra و Bicchi، ۱۹۸۷ و Davies، ۱۹۹۸) و نیز با استفاده از طیفهای جرمی ترکیبهای استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنویدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تأیید گردید. محاسبه های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز Chromatopac C-R3A به روش نرمال کردن سطح^۲ و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ^۳ مربوط به طیفها انجام شده است.

نتایج

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می نمایید ترکیبهای عمده در برداشت اول، به ترتیب آلفا - پینن از ۶۱/۸ درصد، به ۵۷/۱ درصد و در آخر به ۱۴/۸ درصد که با افزایش زمان مقدار آن کاهش می یابد. همچنین ترکیب 1-Terpineol از ۳۱/۵ درصد به ۳۲/۵ درصد افزایش و در آخر به ۲۴ درصد کاهش می یابد. در صورتی که ترکیب β - caryophyllene در فراکسیون اول از ۱/۲ درصد، به ۷/۲ درصد و آخر به ۲۴/۶ درصد افزایش پیدا می کند.

1- Ion trap

1- Area normalization method

2- Response factors

جدول شماره ۱: شناسایی ترکیبهای شیمیایی گونه سرو مردابی

Taxodium distichum (L.)

برداشت سوم	برداشت دوم	برداشت اول	شاخص بازداری	نام ترکیب	ردیف
۱۴/۸	۵۷/۱	۶۱/۸	۹۳۰	α - pinene	۱
---	---	۰/۶	۹۴۲	camphene	۲
---	---	۱/۰	۹۶۹	β - pinene	۳
۱/۹	۳/۲	۳/۹	۹۸۰	myrcene	۴
۲۴/۰	۳۲/۵	۳۱/۵	۱۰۲۳	1 - terpineol	۵
۰/۶	---	---	۱۱۶۳	α - terpineol	۶
۰/۹	---	---	۱۱۷۳	dihydrocarveol	۷
۴/۶	---	---	۱۲۷۲	bornyl acetate	۸
۲۴/۶	۷/۲	۱/۲	۱۴۲۳	β - caryophyllene	۹
۰/۵	---	---	۱۴۴۶	trans - α - bergamotene	۱۰
۳/۷	---	---	۱۴۵۳	α - humulene	۱۱
۰/۷	---	---	۱۵۴۰	elemol	۱۲
۱/۶	---	---	۱۵۶۹	cubebol	۱۳
۱۰/۰	---	---	۱۵۷۶	caryophyllene oxide	۱۴
۱/۴	---	---	۱۵۹۹	guaiol	۱۵
۱/۰	---	---	۱۶۲۶	β - eudesmol	۱۶
۱/۸	---	---	۱۶۴۷	acorenone	۱۷
۱/۱	---	---	۱۶۵۹	β - bisabolol	۱۸
۳/۰	---	---	۱۹۷۴	manoyl oxide	۱۹
۱/۶	---	---	۲۰۴۷	abietatriene	۲۰
۱/۴	---	---	۲۰۸۵	abietadiene	۲۱
گرم ۰/۱۱	گرم ۱	گرم ۳/۲۶		میزان برداشت اسانس	

بحث

در این تحقیق از میوه درخت سرو مردابی (*Taxodium distichum* (L.)) به روش تقطیر با آب اسانسگیری، و سه برداشت زمانی از نمونه گیاه در حین آزمایش تقطیر انجام گردید. نمونه‌های برداشت شده به منظور بررسی میزان و شناسایی نوع ترکیبهای اسانس با دستگاههای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی مورد استفاده قرار گرفت. ترکیب عمده در برداشت اول آلفا - پینن (۶۱/۸ درصد)، برداشت دوم (۵۷/۱ درصد)، و برداشت سوم (۱۴/۸ درصد) می‌باشد که به ترتیب هر چه زمان اسانسگیری افزایش می‌یابد میزان ترکیب کاهش نشان می‌دهد. El-Tantawy و همکاران، ۱۹۹۹، ۴۶ ترکیب را شناسایی و مقدار ترکیب آلفا - پینن را با ۸۳/۳ درصد گزارش نمودند. همچنین Flamini و همکاران، ۲۰۰۰، نیز طی مقاله‌ای از میوه، برگها و شاخه‌های بالغ درخت سرو مردابی ترکیب غالب را در میوه کربوهیدراتهای مونوترپنی آلفا - پینن (۷۱/۳ درصد) و لیمونن (۱۸/۷ درصد)، و در برگ و شاخه‌های بالغ ترکیب آلفا - پینن (به ترتیب ۷۹/۷ درصد و ۵۳/۷ درصد) بیشترین میزان را نسبت به دیگر ترکیبها اعلام نمودند. ترکیب آلفا - پینن در اسانس درخت *Pinus caribaea* دارای ۷۰ الی ۸۰ درصد می‌باشد که با گونه مورد آزمایش ما برابری می‌کند (Bauer و همکاران، ۱۹۹۰). در اسانس گیاه *Pinus palustris* Mill ترکیب آلفا پینن در حدود ۶۵ درصد است و در اسانس *Pinus pinaster* Soland دارای ۷۰ الی ۸۰ درصد می‌باشد (Bauer و همکاران، ۱۹۹۰). در مورد گونه دیگری که دارای درصد بالایی از ترکیب آلفا - پینن می‌باشد می‌توان از خانواده پسته گونه *Pistacia vera* L. را نام برد که درباره پوست میوه آن توسط آقای Kusmenoglu و همکاران، ۱۹۹۵، تحقیقاتی در ترکیه انجام دادند، مقدار ترکیب آلفا - پینن را ۵۴/۴ درصد گزارش نموده‌اند.

ترکیبهای پینن‌ها در اکثر گیاهان یافت می‌شود، شکلهای آلفا و بتا به نسبت‌های مختلف در اسانسها وجود دارد. از ترکیب آلفا-پینن در صنایع عطرسازی برای صابون، تولیدات استحمام و خوشبو کننده‌های هوا و مواد دارویی استفاده می‌شود. در خیلی از واکنشهای شیمیایی با هیدروژن دهی، آلفا-پینن به Pinane تبدیل می‌شود و این ترکیب خود ماده‌ای مهم در شروع مراحل تهیه مواد، در صنایع عطرسازی است و به عنوان ماده‌ای خوشبو کننده بکار می‌رود (Dictionary of Natural Products, ۱۹۹۴). تجزیه ترکیب آلفا-پینن در اثر حرارت مخلوطی از ترکیبهای Ocimene و Allo-ocimene می‌دهد و با تقطیر روغن ترابانتین (Turpentine) نیز بدست می‌آید. در حال حاضر، صنایع از ترکیب آلفا-پینن به نسبت، مواد دیگر برای مثال Terpineol، Borneol و Camphor استفاده می‌کنند (Kaiser, ۱۹۷۶).

از آنجا که مناطق شمال ایران مستعد رشد و نمو این گیاه با ارزش می‌باشد، می‌توان از میوه درخت سرو مردابی جهت استخراج ترکیب آلفا-پینن در صنایع عطرسازی به عنوان ماده خوشبوکننده استفاده نمود و از آنجا که روش این گونه و یا تولید آن در مناطق شمالی کشور بسیار ساده و مقرون به صرفه می‌باشد، از این رو، با توجه به اهمیت گیاه جهت مصارف مختلف به خصوص صنایع دارویی و یا بهداشتی، پیشنهاد می‌شود که با بررسیهای لازم در منطقه کشت آن ترویج شود و از این طریق امکان اشتغال و درآمد زایی برای افراد منطقه نیز فراهم گردد. همچنین ماده اولیه بسیاری از محصولات برای تولید کننده‌ها، در کشور امکان پذیر می‌شود.

سپاسگزاری

لازم می‌دانیم تا از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع که در اجرای این طرح ما را یاری نموده‌اند، همچنین از آقای دکتر میرزا و آقای مهندس برازنده جهت تهیه طیفهای GC/MS و GC و آقای گلی پور جهت جمع‌آوری گیاه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع

- British Pharmacopoeia , (1988) ,vol. 2 , pp A137-A138 , HMSO, London.
 - Kernik,K.; Reineccius,G.A. and Scire,J.P. 1985. An evaluation of methods for the analysis of encapsulated flavors in progress in flavour Research , 1984 , ed. J.Adda. Amsterdam :Elsevier .
 - Anandarman ,S. and Reineccius,G.A. 1987. Analysis of encapsulated orange peel oil . Perf.Flav. 12 (2):33-39.
 - A.O.A.C. 30.020 – 30.027.
 - Miquel,J.D.; Richard,H.M.J.; and Sandret,F.G. 1976. Volatile constituents of Moroccan Thyme Oil., J.Agric. Food Chem.,Vol.24,No. 4,pp. 833-835.
 - El- Tantawy, M.E.; F.S. El-Sakhawy,; M.A. El-Sohly, and S.A. Ross., 1999. “
- Chemical composition and biological activity of the essential oil of the fruit of *Taxodium distichum* L. Rich growing in Egypt”, J.Essent. Oil Res., vol. 11, No. 3, 386-392. Sandra, P.; Bicchi,C. 1987. Chromatographic method, capillary gas Chromatography in essential oil analysis .,Chapter 8, Retention indices in essential oil analysis, p.259-274.
- Davies, N.W. 1998. Gas Chromatographic retention index of monoterpenes and quiterpenes on methyl and carbowax 20 M phases ., J.Chromatography, 503, 1-24.
 - Kusmenoglu,S.; Baser,K.H.C. and Ozek,T. 1995 . Constituents of the essential oil from the hulls of *Pistacia vera* L. , J.Essent. Oil Res. ,7,441-442.
 - Bauer,K.; Garbe,D.;Surburg,H. 1990. Common Fragrance and Flavor Materials. Pub. VCH-Germany.
 - Kaiser,G.L. 1976 . SCM crop., US 4000 207 .
 - Dictionary of Natural products , 1994 .vol. 4,pp.4685, Published by Chapman & Hall.

Time lag collection of Essential oil by hydrodistillation and identification of chemical constituents on *Taxodium distichum* (L.) .

Jaimand, K. & Rezaee, M.B.

Research Institute of Forest and Ranglands , P.O.Box 13185, Tehran, Iran.

Abstract

The chemical constituents of the oil from *Taxodium distichum* (L.) were collected in mide of summer , essential oils were extracted from fruit by hydrodistillation method (clevenger – type apparatus) which apparatus planed to take oil in runing time without stoping of process. In this extraction we collected three fraction and then oils analyzed by GC and GC/MS . The major constituents in fraction – 1 were α - pinene (61.8%) which decrease in fraction – 2 (57.1%) and in fraction – 3 (14.8%) , and another compound 1- terpineol in fraction – 1 were (31.5%) and in fraction – 2 increased (32.5%) but in fraction – 3 again decreased (24%) and for β - caryophyllene in fraction – 1 with (1.2%) in fraction – 2 are increased (7.2%) and in fraction – 3 again increased (24.6%) .

Key Word: *Taxodium distichum* (L.), essential oil composition, α - pinene, 1- terpineol, β - caryophyllene.