

پیشگفتار

در جلد ۱ و ۲ مجموعه مقالات گیاهان معطر و دارویی، بخشی از نتایج حاصله از طرح تحقیقاتی مشترک مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و سازمان فائو به نام «گسترش توان تحقیقاتی در زمینه گیاهان معطر» آمده است این طرح همانگونه که از عنوانش برمی آید به منظور راه اندازی تحقیقات جهت استخراج و شناسایی کمی و کیفی اسانسها و عصاره ها از تعدادی از گیاهان مهم و بومی ایران صورت گرفت و در حین اجرای طرح آزمایشگاه شیمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع از نظر تجهیزات مورد نیاز و نیروی متخصص تکمیل گردید.

به منظور جلوگیری از نوشتن برخی مطالب تکراری مثل روشهای مشابه استخراج عصاره یا اسانس برای بعضی از گیاهان ابتدا به صورت کلی روش کار توضیح داده شده است و سپس برای هر گیاه به ذکر کلیاتی از جمله محل و زمان جمع آوری نمونه، روش اسانسگیری یا عصاره گیری و راندمان وزنی اشاره شده؛ و ضمن ارائه مشخصات گیاهشناسی و نقشه پراکنش هر گیاه در ایران، نتایج نهایی بدست آمده شامل نام ترکیبات شناسایی شده و درصد آنها، طیف کروماتوگرام، طیفهای جرمی ترکیبهای عمده هر اسانس یا عصاره و خواص این ترکیبها آورده شده است.

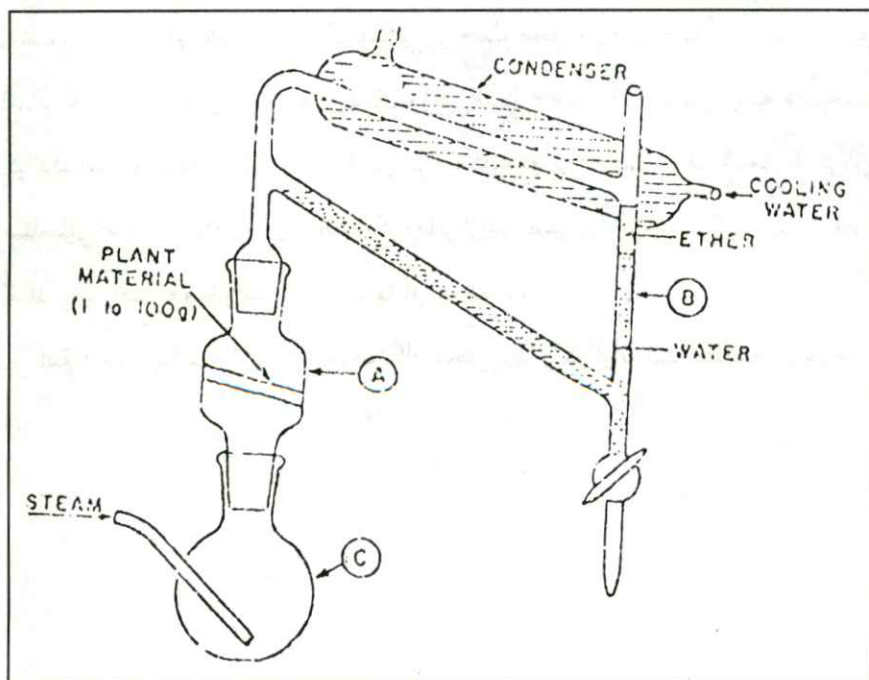
انتقادات و پیشنهادات شما خوانندگان محترم، ما را در ارائه بهتر مطالب یاری خواهد

داد.

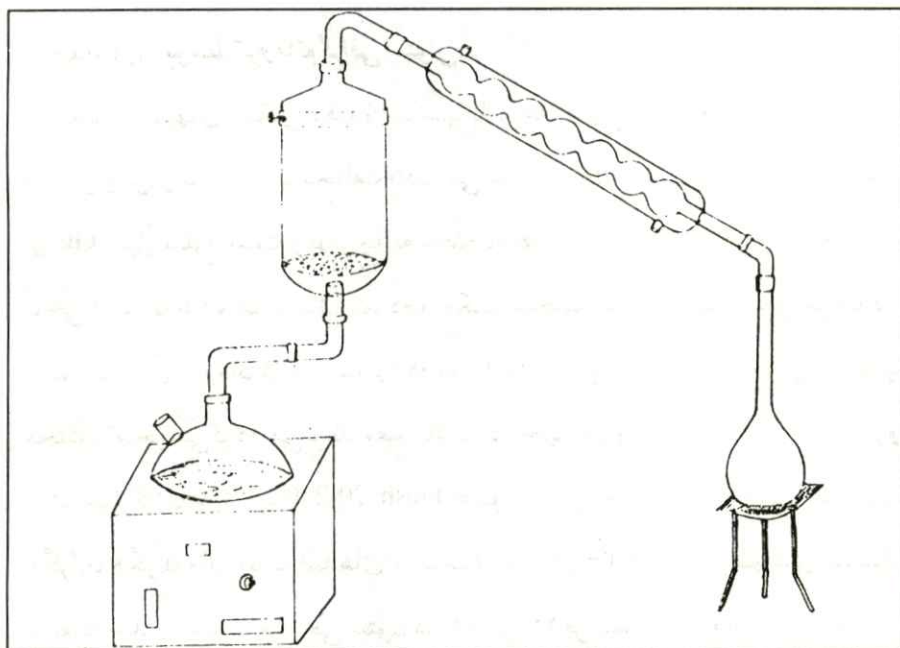
روش کار

استخراج اسانس و عصاره:

پس از جمع آوری گیاه در فصل مناسب، اندام مورد نظر مانند گل، برگها، بذر و... جدا می گردد و در محیط آزمایشگاه خشک شده و با یکی از دستگاههای Kaiser & Lang (شکل الف) و یا دستگاه تقطیر با بخار آب (شکل ب) اسانس گیری می شود و بعد اسانس مزبور در دستگاه اول در لایه اتری جمع آوری و تحت جریان آرام ازت، حلال زدایی می شود و در دستگاه دوم پس از اتمام اسانس گیری، اسانس به صورت لایه روغنی روی آب قرار می گیرد که با سرنگ از آب جدا گردیده و توسط مواد جاذب رطوبت خشک می گردد. در نهایت بازده کمی اسانس روغنی نسبت به وزن گیاه خشک بدست می آید.



الف - دستگاه اسانس گیری Kaiser & Lang (تقطیر با آب و بخار آب)



ب - دستگاه اسانس‌گیری به روش تقطیر با بخار آب

استخراج عصاره‌های گیاهی به کمک حلالهای آلی نظیر هگزان، پترولیوم اتر و... صورت گرفته است. نحوه عمل بدین ترتیب است که گل‌های تازه گیاه را پس از جمع‌آوری به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در حلال خیسانده و بعد با صاف کردن و تبخیر حلال با دستگاه Rotavapour ماده به نسبت غلیظی بدست می‌آید که در اصطلاح به آن Concrete می‌گویند. این ماده حاوی هیدروکربنهای سنگین موم مانند است که در صنعت به آن واکس می‌گویند. برای جدا کردن این مومها به Concrete بدست آمده متانول یا اتانول مطلق می‌افزاییم و پس از بهم زدن شدید، آن را به مدت یک ساعت در دمای 15°C نگهداری می‌کنیم. هیدروکربنهای سنگین رسوب می‌کنند و با صاف کردن، می‌توان آنها را جدا کرد و با تبخیر باقیمانده الکل، عصاره خالص (Absolute) بدست می‌آید.

- جداسازی توسط کروماتوگرافی ستونی:

تعداد ترکیبهای تشکیل دهنده اسانسها با توجه به نوع گیاه متغیر است. گاه در یک اسانس بیش از صد ترکیب مختلف یافت می شود. در چنین مواردی کروماتوگرام حاصل از GC بسیار شلوغ است و با توجه به محدوده قطبیت ترکیبهای تشکیل دهنده اسانسها برخی از پیکها با هم همپوشانی نموده و امکان تشخیص درست آنها مشکل می شود. در چنین مواردی کروماتوگرافی ستونی که به تبدیل اسانس به فراکسیونهای با قطبیت مختلف منجر می گردد می تواند مفید باشد. در چنین مواردی کروماتوگرافی بر روی بستر سیلیکاژل با اندازه mesh 70-230 صورت گرفته به عنوان حلال شوینده از هگزان، هگزان واتر (با درصدهای مختلف) اتر و اتر - الکل (با درصدهای مختلف) استفاده شد و محلول خروجی ستون در ۱۸ الی ۲۴ فراکسیون جمع آوری گردید.

- جداسازی و شناسایی با دستگاههای GC و GC/MS:

پس از تبدیل اسانس به فراکسیونهای مختلف و تزریق به GC و GC/MS با استفاده از زمان بازداری ترکیبها (t_R)، اندیس بازداری کواتس (K.I) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیبهای استاندارد به شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمی این ترکیبها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگرامهای مورد نیاز محاسبه گردید.

- ویژگیهای دستگاههای مورد استفاده:

الف - دستگاه گاز کروماتوگراف (GC)

گاز کروماتوگراف شیمادزو الگوی 9A

ستونها:

۱- CBP-5 (به طول ۲۵ متر و قطر ۰/۳۲ میلیمتر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۵

میکرون)

۲- DB-1 [(دی متیل سیلوکسان، ۱۰۰٪ متیل) به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلیمتر

و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون]

۳- ستون DB-WAX [(پلی اتیلن گلیکول، PEG) به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵

میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون)

داده پرداز مورد استفاده: Chromatopac-CR3A

روش محاسبه غلظت: Area Normalization

برنامه ریزی حرارتی:

- برای ستون CBP5 - ۴۰°C تا ۲۵۰°C با سرعت ۴°C در دقیقه

- برای ستون DB-1 از ۷۰°C تا ۱۰۰°C با سرعت ۱/۵ درجه در دقیقه و از ۱۰۰°C تا

۱۸۰°C با سرعت ۲°C در دقیقه

- برای ستون DB-WAX - از ۵۵°C تا ۱۸۰°C با سرعت ۲ درجه در دقیقه

گاز حامل: هلیوم و نیتروژن

ب - دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC/MS)

دستگاه GC/MS مدل 3400 - Varian

دارای ستونهای:

۱- DB-5 به طول ۲۵ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۵

میکرون

۲- DB-1 (دی متیل سیلوکسان، ۱۰۰٪ متیل) به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵

میلیمتر

۳- DB-WAX (پلی اتیلن گلیکول، PEG) به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵

میلی متر

به عنوان نمونه‌ای از برنامه‌ریزی حرارتی و مشخصات طیف‌سنج جرمی به صفحات

بعد مراجعه شود.

Control 100% = 10000
 Adjustments Setup Status Ranges Exit
 TIC 77 Ioniz. 10000 usec EI

N
 ↑
 ↓

Z
 +
 ←
 →
 N

15 20 25

AUTO SETUP
 MASS CALIB
 SCAN RANGE

Lo mass. Hi mass

Automatic Setup

Saturn tunes for maximum sensitivity!

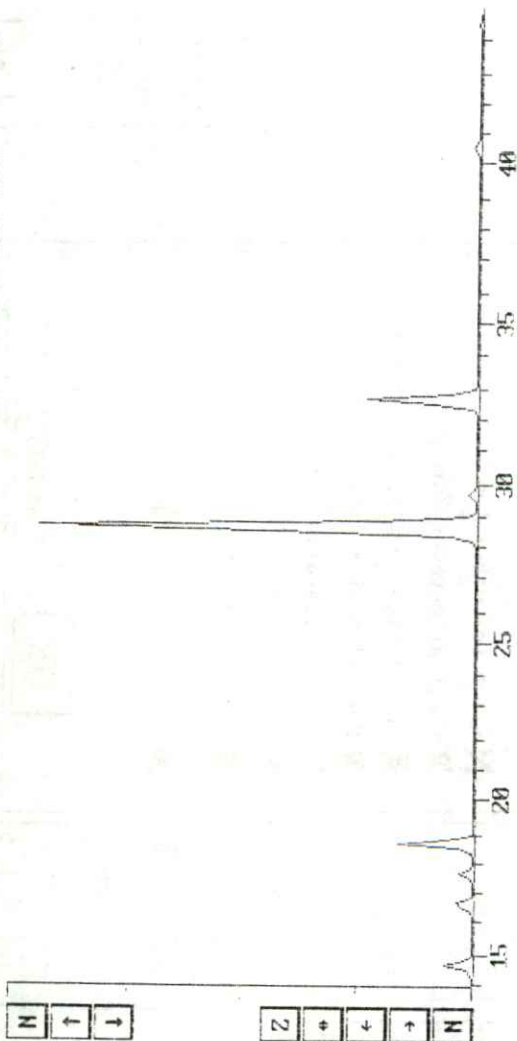
- Check for Air/Water
- Check Integrator Zero
- Set Electron Multiplier Voltage
- Set Filament Emission Current
- Check Calibration Gas Pressure
- Set AGC Target
- Perform Mass Calibration
- Run all tests Quick setup

80 85 90 95



MULT
 ION TIME

■ Control 100% = ^1769 Adjustments Setup Status Ranges Exit
 100% = ^1769 19/18 ratio TIC 4888 Ioniz. 305 usec EI



Check Air/Water

28 width 0.5 AMU

19/18 ratio 2 %

OK

Low Air High

OK

Low Water High

OK

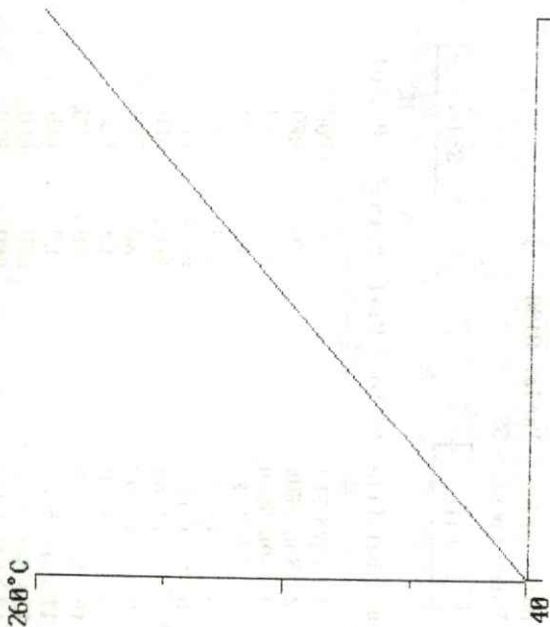
Cancel

Path E:\DATA\N
 Sample SALVIA REUTERANA BOISS
 Operator DR.MIRZA
 Comments SALVIA REUTERANA DR-1 (INST.SPES.DR.MIRZA & M.SC.AHMADI
 Datafile SAL-REU#

Analysis List E:\DATA\NDB-1
 Autosampler Varian 8100
 Entry Count 39

#	Datafile	AS Method	Vial	GC Method	MS Method	Procedure	Mult	Div	IS Factor
1	THYM-F#1			ROM	ROM		1.000	1.000	1.000
2	SAL-REU#			REU	REU		1.000	1.000	1.000
3	SAL-SCLA			REU	REU		1.000	1.000	1.000
4	S-SCL-EX			REU	REU		1.000	1.000	1.000
5	S-SC-CZH			REU3	REU3		1.000	1.000	1.000
6	S-SC-ABS			REU4	REU4		1.000	1.000	1.000
7	S-SCL-AB			REU2	REU		1.000	1.000	1.000
8	S-SCL-AR			REU	REU		1.000	1.000	1.000
9	S-SCL-SH			REU	REU		1.000	1.000	1.000
10	S-SC-STM			REU3	REU3		1.000	1.000	1.000
11	SAL-NEM			REU	REU		1.000	1.000	1.000
12	SAL-OFFI			REU	REU		1.000	1.000	1.000
13	SAL-HYPO			REU	REU		1.000	1.000	1.000

■ File Control Segment Parameters Configuration Exit
 GC Method: F:\DATA\NELEGANUS



Seg	Temp	Rate	Time	Total
1	260	4.0	55.00	55.00

Start	40 °C	Event 1	Column	Injector	Xfer Line
End	260 °C	Event 2	Set	40 °C	270 °C
Rate	4.0 °C/min	Event 3	Actual	50 °C	55 °C
Time	55.00 min	Event 4			

Acquisition Method: F:\DATA\NELEGANUS

Current Segment: 1 of 1

Mass range	<input type="text" value="40"/> to <input type="text" value="350"/> amu	Ioniz. mode	<input type="text" value="EI"/>
Seconds/scan	<input type="text" value="1.000"/> (4 uScans)	Auto ion control	<input type="text" value="ON"/> <input type="text" value="OFF"/>
Acquire time	<input type="text" value="55"/> minutes	Cal gas	<input type="text" value="ON"/> <input type="text" value="OFF"/>
Fil/Mul delay	<input type="text" value="240"/> seconds		
Peak threshold	<input type="text" value="10"/> count(s)		
Mass defect	<input type="text" value="100"/> mmu/100amu		
Background mass	<input type="text" value="39"/> amu		

<Ctrl-T> - Toggle ion control
<Ctrl-C> - Cal gas toggle

PREVIOUS
SEGMENT

NEXT
SEGMENT

?

Log Information
Sample MENTHA
Operator DR. MIRZA
Comment

E:\SATURN\MENTHA

Date: 09/17/94 09:49:38

Mass Spectrometer Method Table

Instrument set points
Multiplier set voltage 2200 volts
Manifold set temperature 170 °C
Emission set current 20 micro amps
A/M amplitude set voltage 4.0 volts
User cancelled acquisition no
End instrument set points

Acquire segment # 1
Target value 36700
Low mass 40 amu
High mass 250 amu
Scan rate 1000 milli seconds
Segment acquire time 40 minutes
Threshold 10 counts
Filament delay 180 seconds
Mass defect 100 milli mass/100 amu
Background mass 39 amu
Calibration gas no
Scan mode EI
Ionization control automatic
End Acquire segment # 1

↑-Prev seg ↓-Next seg Esc or click to close