

تأثیر رویشگاه بر بازده و ترکیب‌های شیمیایی اسانس

Eucalyptus camaldulensis Dehn

حسین شاکر^۱، محمد مهدی برازنده^۲ و محمد باقر رضایی^۲

چکیده

به منظور مقایسه ترکیب‌های شیمیایی اسانس اوکالیپتوس کامالدولنسیس از سه منطقه مختلف آب هوایی، این گونه گیاهی در بهمن ماه ۱۳۷۸ از سه منطقه نورآبادممسمی (استان فارس)، بهشهر (استان مازندران) و تهران (استان تهران) جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه شیمی گیاهی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، از برگ تازه آنها به طور مجزا و به روش تقطیر با آب اسانس گیری شد.

از هر یک از این نمونه‌ها روغن اسانسی به رنگ زرد روشن و به ترتیب با بازده ۰/۶۰، ۰/۱۴ و ۰/۵۱ درصد (براساس وزن برگ خشک) بدست آمد. ترکیب‌های شیمیایی این اسانسها به روش‌های کاپیلاری گاز کروماتوگرافی متصل به آشکار ساز یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن (CGC-FID) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیفسنج جرمی (GC/MS) به طور کمی و کیفی شناسایی شدند. در هر یک از این اسانسها تعداد سی و چهار ترکیب شناسایی شدند که در میان آنها به ترتیب سه ترکیب ۱ و ۸-سینتول (٪ ۰/۳/۷)، پاراسیمین (٪ ۰/۲/۵)، پاراسیمین (٪ ۰/۱/۰) و اسپاتولول (٪ ۰/۴/۸) بالاترین میزان را به خود اختصاص می‌دهند.

واژه‌های کلیدی

اسانس، روغن اسانسی، اوکالیپتوس، ۱ و ۸-سینتول و پاراسیمین

۱ - عضو هیئت علمی دانشگاه شهید بهشتی - دانشکده زیست‌شناسی

۲ - عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

مقدمه

اسانس اوکالیپتوس، مایعی بسیار سیال، با تحرک، بی رنگ و یا به رنگ زرد بسیار روشن است. بوی آن قوی با عطر مخصوص و طعم آن ابتدا خنک کننده است، ولی به تدریج سوزاننده می‌شود.

مراکز تجاری تولید این روغن، اسپانیا، پرتغال و استرالیا هستند (زرگری، ۱۳۶۳). روغنهای فرار اوکالیپتوس، براساس نحوه استفاده آنها به سه گروه اساسی دارویی، صنعتی و معطر تقسیم می‌شوند (جوانشیر و مصدق، ۱۳۷۱).

از نظر دارویی روغنهایی که حاوی ۹۰ تا ۷۰ درصد سیتول باشند، اهمیت دارند، ولی بیشتر گونه‌های اوکالیپتوس، حاوی روغنی می‌باشند که کمتر از ۷۰ درصد سیتول دارند که در این مورد می‌توان به وسیله تقطیر مجدد، سیتول را به بیش از ۷۰ درصد رساند (جوانشیر و مصدق، ۱۳۷۱).

مهمترین مصرف روغنهای اوکالیپتوس در صنایع، ضدعفونی کردن و از بین بردن بوی بد است (جوانشیر و مصدق، ۱۳۷۱).

به رغم تنوع ترکیبیهای شیمیابی روغنهای فرار حاصل از اوکالیپتوس، تعداد کمی از اوکالیپتوسها، روغنهای محتوى مواد معطر تولید می‌کنند که در عطرسازی قابل استفاده هستند (جوانشیر و مصدق، ۱۳۷۱).

تمام گونه‌های اوکالیپتوس، حاوی روغن اسانسی هستند که در داروها به شکل استعمال داخلی و خارجی و نیز در حشره‌کشها و داروهای دفع کننده حشرات استفاده می‌شوند. در کشور آرژانتین، از درخت اوکالیپتوس، نوعی شیره استخراج می‌شود و در هندوستان، چوب آن به مصرف سوخت می‌رسد. الوار و تخته چوبهای آن برای ساخت آلونکها، اقامتگاهها، دیوراهای و حفاظها و نیز در نجاری استفاده می‌شود. روغن اسانسی آن که به طور وسیعی در قطره‌های ضد تنگی نفس و سرفه استفاده می‌شود، ماده ضدعفونی کننده و داروی محرك می‌باشد (Duke، ۱۹۸۵).

آفریقایی‌ها ساقه آن را به صورت پودر نرم درآورده، به عنوان گرد حشره‌کش به کار می‌برند. مکزیکی‌ها برای تقویت لثه، برگ‌های آن را می‌جوند. گفته می‌شود گیاه خوبی برای تولید عسل می‌باشد. صمغ آن داروی نقرس، تنگی نفس، جوش‌زدگیها، برونشیت، سوختگی، سرطان، کرم و انگل، التهاب و برافروختگی، ورم نای، جذام، مalaria، امراض مسری که از طریق تنفس منتقل می‌شوند، سل، سوزش، زخم، گلودرد، تشنج‌های موضعی و زخم‌های سطحی می‌باشد. در آسیا روغن حاصل از برگ آن، به عنوان ماده بیهوشی، داروی خلط‌آور، داروی ضد تب و ضد کرم بکار می‌رود. همچنین برای درمان آسم، تنگی نفس، آنفلوانزا و سل، مورد استفاده واقع شده است (Duke, 1985).

در مورد انسانس گونه‌های مختلفی از اوکالیپتوس، تحقیقاتی از جمله در موارد زیر صورت گرفته است:

اسانس‌های حاصل از برگ‌های خشک دو گونه اوکالیپتوس، به اسمی *E. citriodora* و *E. camaldulensis* به وسیله دستگاههای GC و GC/MS تجزیه و بیش از ۲۸ ترکیب اصلی در آنها شناسایی شده‌اند که ترکیب اصلی در گونه *E. Citriodora* عبارت از ۱.۸- cineole (حداکثر ۷۵٪) و در گونه *E. camaldulensis* عبارت از *Citronellal* (۴۷-۷۱٪) بوده است (Moudachirou و همکاران, ۱۹۹۹).

روغن انسانسی *E. globulos* به وسیله تقطیر با آب و از برگ آن بدست آمده و ترکیب‌های آن با دستگاههای GC و GC/MS شناسایی شده و تعداد هفده ترکیب اصلی در آن تشخیص داده شده که در میان آنها به ترتیب ۱.۸- cineole (۷۸/۹٪)، *P-cymene* (۴/۷٪)، *-Pinene* (۴/۳٪) و *trans-Pinocarveole* (۳/۹٪) بیشترین میزان را به خود اختصاص داده‌اند (Milhau و همکاران, ۱۹۹۷).

روغن فرار حاصل از برگ‌های دوازده گونه اوکالیپتوس که از مناطق جنوبی و جنوب غربی استرالیا جمع‌آوری شده بودند، به روش تقطیر در خلاء بدست آمده و به وسیله دستگاههای GC و GC/MS شناسایی شده است. بسیاری از این گونه‌ها دارای -

P-_{1.8-} cineole, (٪.۰-۰/۹) β -Pinene, (٪.۱۰-۴۷/۲) α -Pinene
 -۴۷/۶)bicyclogermacrene, (٪.۰-۱۵/۰) aromadendrene, (٪.۰/۲-۲۰/۱) cymene
 . و (٪.۰/۱-۲۹/۰) می باشد (Bignell و همکاران، ۱۹۹۶).

روغن‌های اسانسی حاصل از برگ‌های دو گونه اوکالیپتوس به اسمی E. alba Muell به ترتیب ترکیبیهای α -pinene, GC, GC/MS و دستگاه‌های Dehnardt در گونه E. alba به ترتیب در گونه limonene (٪.۱۶/۸) دارای بالاترین درصد می‌باشد، در حالی که در گونه β -pinene, (٪.۳۱/۰) α -pinene, (٪.۲۰/۱) و δ -phellandrene (٪.۲۴/۸) ترکیبیهای E. camaldulensis (٪.۱۹/۳) ۱.۸- cineole و α -pinene (٪.۱۲/۸) و δ -terpinene (٪.۱۱/۸) بیشترین میزان را به خود اختصاص داده‌اند. از نظر بازده اسانس تولید شده و نیز ترکیبیهای تشکیل دهنده اسانس، این دو گونه از نظر تجاری، برای تولید روغن اسانسی، گونه‌های مورد قبولی نیستند.

مواد و روشها

الف- جمع آوری گیاه و اسانس‌گیری

گیاه اوکالیپتوس کامالدولنسیس در بهمن ماه ۱۳۷۸ از سه منطقه نورآباد‌مسنی (استان فارس)، بهشهر (استان مازندران) و تهران (استان تهران)، جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه شیمی گیاهی، از برگ تازه آنها به روش تقطیر با آب^۱ اسانس‌گیری شد. در پایان اسانس‌گیری از هر یک از نمونه‌ها اسانسی به رنگ زرد روشن به صورت لایه مجزا در سطح آب تشکیل شد بازده اسانس‌گیری برای این نمونه‌ها به ترتیب معادل ۰/۶۰ و ۰/۱۴ و ۰/۵۱٪ محاسبه شد

مشخصات اکولوژیکی مناطق

- ایستگاه تلمبه خانه در شمال شرقی نورآباد، دارای ارتفاع ۹۰۰ متر از سطح دریا و متوسط بارندگی سالیانه به میزان ۵۸۷/۸ میلیمتر است. میانگین دمای روزانه در سال ۲۱/۲ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی سالانه آن ۴۷/۵٪ میباشد. وضعیت آب و هوایی نورآباد، نیمه خشک معتدل است و شوری خاک ندارد.

- ایستگاه تحقیفات پاسند در شرق شهرستان بهشهر واقع شده است. ارتفاع آن از سطح دریا ۲۱ متر و متوسط بارندگی سالانه در این منطقه، ۶۰۱/۵ میلیمتر میباشد. حداقل درجه حرارت مطلق آن -۵/۵ و حداکثر درجه حرارت مطلق آن ۴۳ درجه سانتی گراد است. میانگین رطوبت نسبی ۷۵/۵ درصد میباشد. خاک ایستگاه عمیق، سنگین با بافت رسی و اسیدیته آن خنثی تا قلیایی است.

- منطقه اکباتان در غرب تهران واقع شده و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۱۹۰ متر میباشد. متوسط دمای این منطقه در طول سال ۱۷ درجه سانتی گراد و میانگین بارندگی آن به ترتیب ۲۳۰/۲ میلی متر و ۴۲/۶۷٪ بوده که از نظر منطقه کمباران و خشکی بحساب می آید.

ب- تجزیه دستگاهی

ب-۱- تجزیه به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف^۱ (GC)

دستگاه مورد استفاده، گاز کروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) سری ۹A مجهر به آشکارساز^۲ یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن^۳ (FID) و داده پرداز 2000 بوده است.

1- Gas Chromatograph

2- Detector

3- FID, Flame Ionization Detector

ستونهای مورد استفاده DB-1 (با فاز ثابت Dimethylpolysiloxane) و DB-WAX (با فاز ثابت Polyethyleneglycol) هر کدام به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۱/۲۵ میکرون بوده است.

تجزیه اسانسها به روش درجه حرارت برنامه‌ریزی شده خطی^۱ انجام شد که به تفکیک ستونهای مورد استفاده به قرار زیر می‌باشد:

ستون ۱-DB: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتیگراد و دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتیگراد که در هر دقیقه از دمای اولیه تا دمای نهایی ۴ درجه سانتیگراد به آن افزوده می‌شود.

ستون DB-WAX: دمای اولیه ۵۰ درجه سانتیگراد و دمای نهایی ۲۳۰ درجه سانتیگراد که سرعت افزایش دما بین این دو درجه حرارت ۳ درجه سانتیگراد در هر دقیقه می‌باشد.

تزریق نمونه‌ها به صورت خالص و به روش شکافتی^۲ و با نسبت شکافت^۳ برابر ۱:۱۰۰ انجام شد.

ب-۲- تجزیه به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنجرمی^۴ (GC/MS) گاز کروماتوگراف واریان مدل ۳۴۰۰ و مجهز به طیف‌سنجرمی با نرم افزار Saturn II و سیستم تله‌یونی^۵ و انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت. ستون و برنامه دمائی مورد استفاده مانند ستون DB-1 در دستگاه GC بوده است.

1- LTPGC, Linear Temperature Programmed Gas Chromatography

2- Split

3- Split Ratio

4- GC/MS, Gas Chromatography/ Mass Spectrometry

5- Ion Trap

محاسبات کمی به کمک داده پرداز Eurochrom 2000 به روش نرمال کردن سطح^۱ نادیده گرفتن ضرایب پاسخ^۲ مربوط به ترکیبها انجام شد. شناسایی ترکیبها به کمک شاخصهای بازداری^۳ آنها روی دو ستون مورد استفاده که با تزریق هیدروکربنهای نرمال C₇-C₂₅ تحت شرایط یکسان با تزریق انسانها و توسط برنامه‌های کامپیوتری نوشته شده به زیان بیسیک محاسبه شدند و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع متظر گردیده (Davies, Jennings ۱۹۸۶ و ۱۹۸۰) انجام و توسط طیفهای جرمی آنها تأیید شدند.

نتایج و بحث

کروماتوگرامهای روغن انسانی اوکالیپتوس کامالدولنسیس مربوط به سه منطقه نورآباد، بهشهر و تهران روی ستون ۱-DB در شکل شماره ۱ و کروماتوگرامهای متناظر آنها روی ستون DB-WAX در شکل شماره ۲ دیده می‌شوند. ترکیبی‌ای شناسایی شده در این انسانها همراه شاخصهای بازداری و غلظت آنها نیز در جدول شماره ۱ درج شده‌اند.

۱- چنانچه در جدول ترکیبها دیده می‌شود، بالاترین میزان سیتول، در انسان گونه جمع‌آوری شده از منطقه نورآباد ممسنی (۴۸/۸٪) می‌باشد. از طرفی همان‌طور که در قسمت مقدمه گفته شد، روغن‌های انسانی که دارای ۷۰ تا ۹۰ درصد از این ماده درمانی باشند، از نظر دارویی حائز اهمیت هستند بنابراین آنچه در مورد این گونه می‌توان گفت این است که با تقطیر مجدد می‌توان میزان این ماده موثر را افزایش

- 1- Area Normalization
- 2- Response Factors
- 3- Retention Indices

داده و به میزان استاندارد آن رساند. لازم به ذکر است که در بعضی از گونه‌های اوکالیپتوس که از مناطق دیگر دنیا جمع‌آوری و ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس آن شناسائی شده‌اند، میزان این ترکیب حتی به ۲۰ درصد هم نمی‌رسد (Bignell, Samat ۱۹۸۸، ۱۹۹۶).

۲- با توجه به تأثیر منطقه رویش بر میزان اسانس و نیز ترکیب‌های تشکیل دهنده، می‌توان همین گونه را از مناطق دیگر کشور جمع‌آوری نمود و میزان سینثول موجود در آنها را اندازه‌گیری کرد تا در صورتی که این میزان در حد استاندارد قرار داشت، تولید انبوه آن از نظر اقتصادی مورد توجه قرار گیرد.

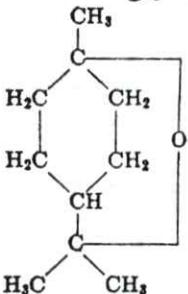
۳- با توجه به آنکه در گونه‌های دیگر اوکالیپتوس، میزان بالاتری از ترکیب ۱ و ۸-سینثول گزارش شده (Moudachirou, Milhau ۱۹۹۷ و ۱۹۹۹) می‌توان گونه‌های دیگری را که در ایران می‌رویند، انتخاب نمود و ترکیب‌های آنها را از نظر میزان این ماده، مورد بررسی قرار داد.

۴- در هر حال رسیدن به یک نتیجه دقیق و مطمئن، نیازمند کار تحقیقاتی گسترده و همه جانبه‌ای در این زمینه می‌باشد.

توضیح مختصری در مورد ترکیب ۱ و ۸-سینثول:

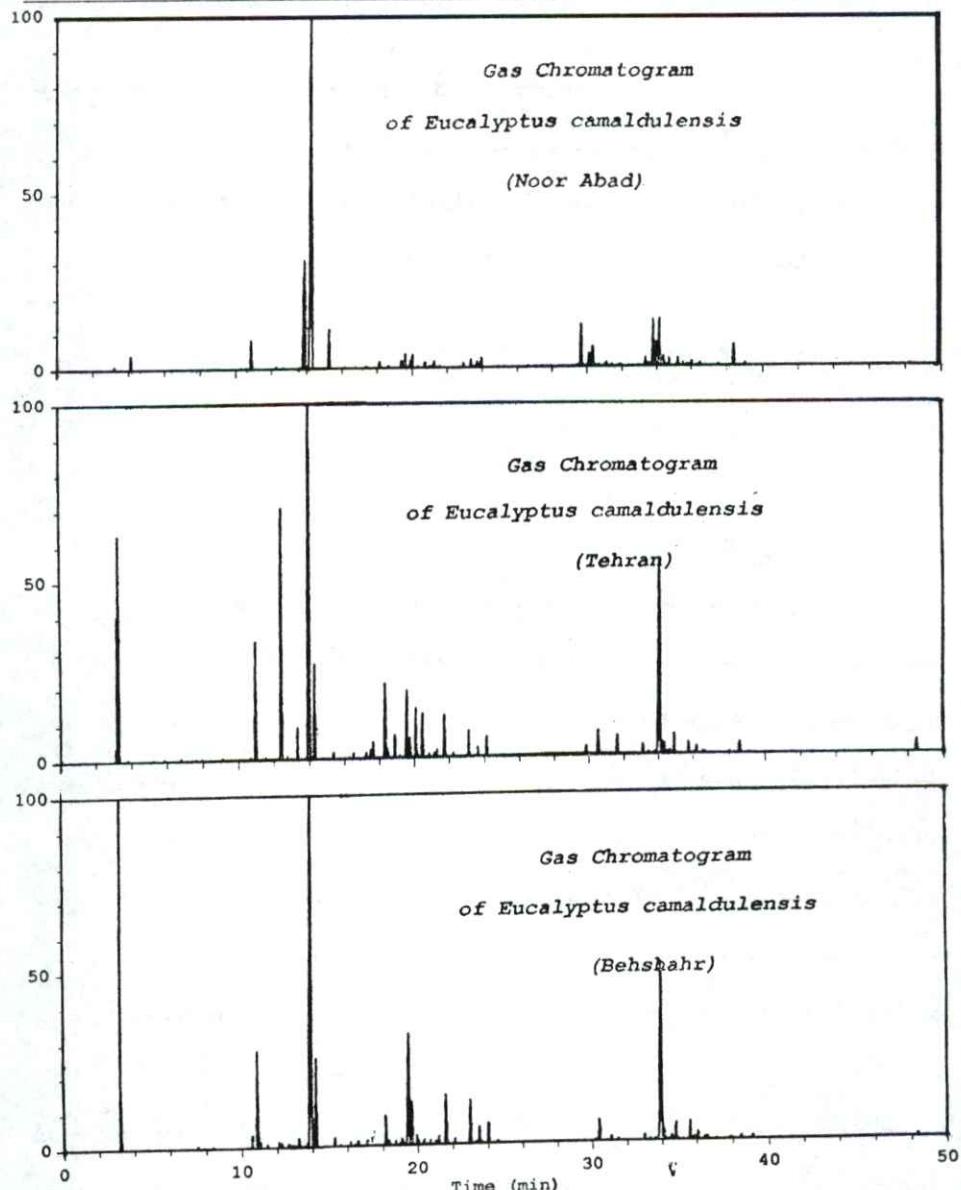
۱ و ۸-سینثول که با نام اوکالیپتوول نیز خوانده می‌شود و اسامی دیگر آن ۱.۸- Epoxy- P- Menthone و ۱.۸- Oxido- p- menthane می‌باشد.

روغنی بی‌رنگ با فرمول مولکولی $C_{10}H_{18}O$ و وزن مولکولی ۱۵۴/۲۴ است.



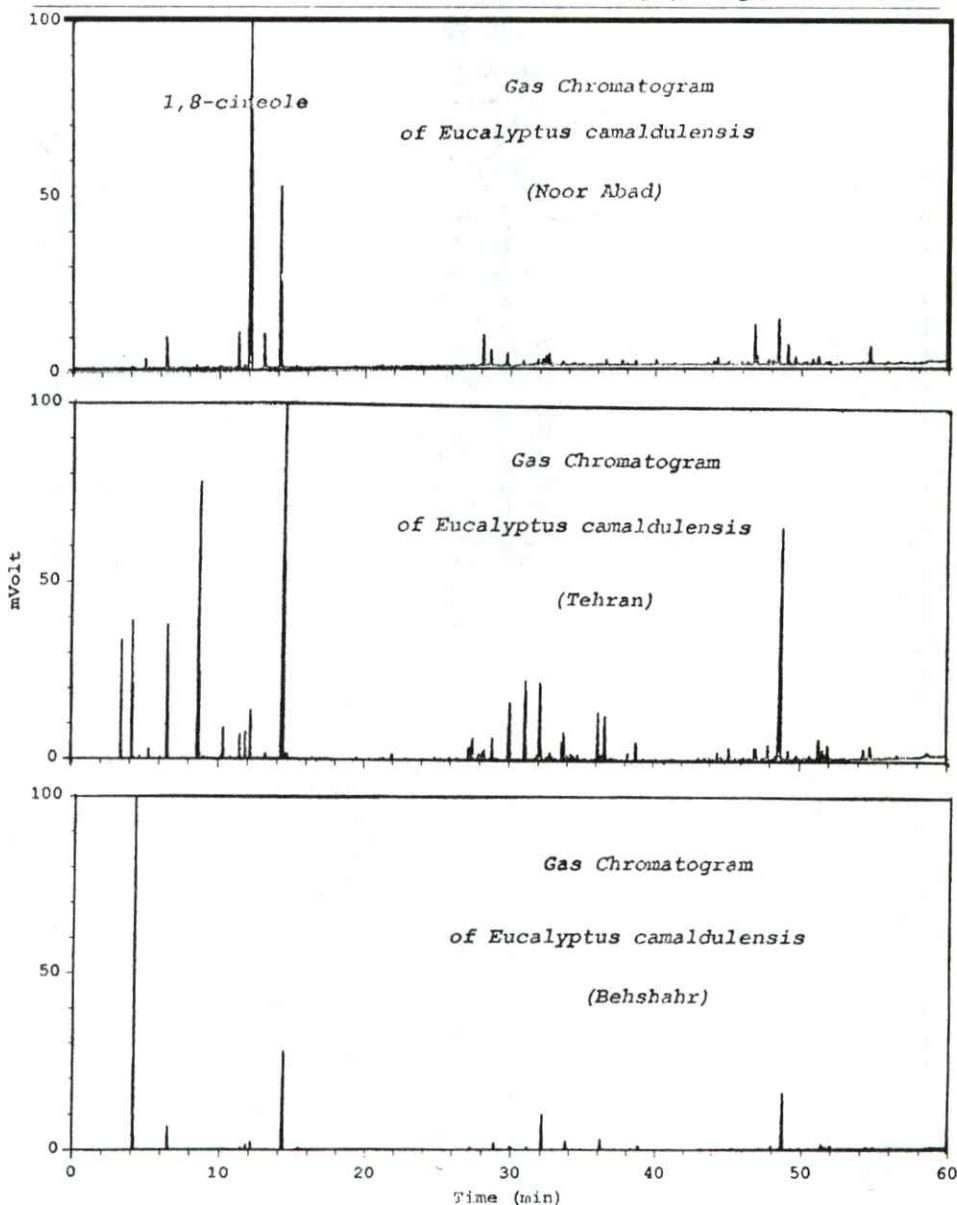
این ترکیب در تعداد زیادی از روغن‌های انسانی یافت می‌شود و طبق گزارشی که Ganapathi در تحقیقات خود در زمینه فرآورده‌های طبیعی ارائه نموده، سینثول از نظر وفور در روغن‌های انسانی بعد از pinene-در رتبه دوم قرار دارد. در بسیاری از روغن‌های انسانی از جمله گونه‌های مختلف اوکالیپتوس، ترکیب اصلی را تشکیل می‌دهد. به عنوان مثال در گونه‌ای از اوکالیپتوس با نام علمی *Eucalyptus polybractea* بیش از ۹۲ درصد از وزن انسانس را به خود اختصاص می‌دهد. این ترکیب در روغن انسانی برگ بو (Laurel Leaf) به میزانی در حدود ۵۰ درصد یافت می‌شود. ۱ و ۸-سینثول همچنین در اسانس‌های هل (Cardamon)، ریشه زنجبیل (Ginger Root)، لاوند (Ocimum)، اکلیل کوهی (Rosemary)، انواع خاصی از ریحان (Lavender Spike) درمنه (Artemisia) و نیز بسیاری از روغن‌های انسانی دیگر یافت می‌شود. برای جداسازی آن از روغن‌های انسانی، ابتدا روغن انسانی را که حاوی مقدار قابل توجهی از این ترکیب است، به برشهای مختلف تقسیم کرده و بعد برشی را که در فاصله دمایی ۱۷۰-۱۸۰ درجه سانتیگراد بدست آمده سرد می‌کنند و در نهایت این ترکیب را به شکل کریستال و تقریباً خالص بدست می‌آورند. (Guenther, ۱۹۴۹ و ۱۹۸۴).

تأثیر رویشگاه بر بازده و ترکیبیات شیمیایی اسانس اوکالپتوس کامالدولنسیس



شکل شماره ۱ - کروماتوگرامهای گازی اسانس اوکالپتوس کامالدولنسیس از سه منطقه نورآباد- تهران و بهشهر

زمان برداشت گیاه: بهمن ماه، روش اسانس گیری: تقطیر با آب، ستون مورد استفاده: DB-1



شکل شماره ۱ - کروماتوگرامهای گازی اسانس اوکالیپتوس کامالدولنسیس از سه منطقه نورآباد- تهران و بهشهر

زمان برداشت گیاه: بهمن ماه، روش اسانس‌گیری: تقطیر با آب، ستون مورد استفاده: DB-WAX

جدول شماره ۱- ترکیب‌های اسانس اوکالیپتوس کامالدولنسیس از سه منطقه نورآباد، تهران و بهشهر

شاخص بازداری		در صد			نام ترکیب	شماره ترکیب
DB-WAX	DB-1	بهشهر	تهران	نورآباد		
۱۰۲۵	۹۲۳	۰/۰	-	-	α -Pinene	۱
۱۱۰۲	۹۷۱	۰/۲	-	-	B-Pinene	۲
۱۱۵۳	۹۸۶	-	۱۲/۳	-	Myrcene	۳
۱۱۶۶	۱۰۰۵	۰/۰	۱/۳	-	α -phellandrene	۴
۱۲۶۶	۱۰۱۴	۳۵/۰	۲۳/۹	۱۶/۳	p-cymene	۵
۱۲۰۷	۱۰۲۶	۰/۸	۱/۰	۲/۸	Limoene	۶
۱۲۱۶	۱۰۲۶	۱/۴	۱/۰	۰/۶	β -phellandrene	۷
۱۲۲۸	۱۰۲۶	۲/۰	۱/۰	۴۸/۸	1,8-cineole	۸
۱۲۴۳	۱۰۴۶	۰/۴	۰/۳	۲/۳	γ -terpinene	۹
۱۰۳۵	۱۰۸۲	۰/۳	۰/۲	-	linallol	۱۰
--	۱۰۹۶	۰/۳	-	-	α -thujone	۱۱
--	۱۱۰۱	۰/۴	۱/۱	-	α -pinene oxide	۱۲
--	۱۱۱۲	۰/۷	۰/۹	-	α -campholenal	۱۳
--	۱۱۱۸	۱/۴	-	۰/۴	trans- pinocarveole	۱۴
--	۱۱۲۷	-	۴/۵	-	trans- verbenol	۱۵
۱۰۷۰	۱۱۳۷	۱/۰	۰/۴	-	pinocarvone	۱۶
--	۱۱۵۸	۱۰/۴	-	۰/۴	δ -terpineole	۱۷
۱۶۰۰	۱۱۶۷	۱/۱	۳/۴	۰/۷	terpinen-4- ol	۱۸
۱۶۳۵	۱۱۷۲	۱/۲	۱/۶	۱/۴	myrtenal	۱۹

جدول شماره ۱- ترکیب‌های اسانس اوکالیپتوس کامالدولنسیس از سه منطقه نورآباد، تهران و بهشهر

شاخص بازداری		درصد			نام ترکیب	شماره ترکیب
DB-WAX	DB-1	بهشهر	تهران	نورآباد		
۱۶۸۴	۱۱۷۵	۰/۵	-	۰/۵	α -terpineole	۲۰
۱۷۳۰	۱۱۸۳	۰/۲	۲/۲	۰/۹	verbenone	۲۱
--	۱۱۹۲	۰/۶	۳/۹	-	cis- piperitol	۲۲
۱۷۸۰	۱۱۹۸	۰/۲	-	۰/۴	trans- carveole	۲۳
۱۷۸۲	۱۲۱۴	۳/۳	۰/۳	۰/۴	cumin aldehyde	۲۴
--	۱۲۳۱	-	۱/۹	-	piperitone	۲۵
۲۱۹۰	۱۲۶۸	۰/۸	۱/۰	۰/۰	thymol	۲۶
۲۲۰۸	۱۲۸۲	۱/۱	۰/۹	۰/۶	carvacrol	۲۷
۱۶۴۳	۱۴۰۱	۱/۱	۱/۱	۱/۴	allo- aromadendrene	۲۸
۱۶۸۴	۱۴۸۶	-	۰/۹	-	viridiflorene	۲۹
--	۱۵۷۶	۲۰/۷	۱۵/۴	۳/۷	spathulenol	۳۰
۲۰۶۱	۱۵۸۲	-	۰/۴	۱/۲	globulol	۳۱
--	۱۰۹۷	۱/۰	۱/۰	۰/۶	Humulene oxide	۳۲
--	۱۶۲۷	۰/۹	۰/۶	-	γ -eudesmol	۳۳
۲۲۰۰	۱۶۴۳	۰/۴	۰/۴	۰/۵	β -eudesmol	۳۴

The Effect of Collection Region on the Essential Oil Yield and Composition of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn.

Shaker, H.¹, Barazandeh, M.M² and Rezaei, M.B.²

Abstract

In order to compare essential oils composition of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from there locations, it was collected from Noor Abad (Fars province), Behshahr (Mazandaran province) and Tehran (Tehran province) in Feb. 1999 and hydrodistilled in the phytochemistry lab of Research Institute of Forests and Rangelands.

The oils were produced in light-yellow colors at the yields of 060%, 0.14% and 0.50%, respectively (based on fresh weights).

The oils were analyzed by CGC-FID and GC/MS. Thirty-four compounds were identified in each one among which 1.8-cineole (48.8%, 1.0% abd 2.5%) p-cymene (16.3%, 35.5% and 23.9%) and spathulenol (3.7%, 2.7% and 15.4%) were the major constituents, respectively.

1- University of Shahid Beheshti, Faculty of Biology

2- Research Institute of Forests and Rangelands, Theran, Iran, P.O.Box: 13185-116