بررسی و مقایسه کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه دارویی *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. با استفاده از روش‌های میکرو استخراج فاز جامد فوقانی و تقطیر با آب

مهدی نکوئی

استادیار، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شاهرود، شاهرود، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۲

چکیده

در چند سال اخیر روند استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی به‌طور قابل توجهی در منابع علمی افزایش یافته است.این امر قویاً به واسطه مزایای اصلی آن نظیر کاهش زمان استخراج، مقدار بسیار کم نمونه و عدم نیاز به حلال در مقایسه با روش‌های استخراج قبلی می‌باشد. در این تحقیق به‌منظور بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج بر کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه دارویی مینای نیشابوری *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. ، سرشاخه‌های هوایی و گلدار گیاه در تیرماه ۱۳۹۴ از ارتفاع ۱۵۳۰ متری روستای افچنگ سبزوار جمع‌آوری گردید. اسانس نمونه با استفاده از روش‌های میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی و تقطیر با آب و سپس کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه نتایج نشان داد که در روش تقطیر با آب اسانس دارای ۲۲ ترکیب بود که به‌ترتیب مواد موثره بتا-پینن (۲۰/۵ درصد)، کامفور (۱۸/۰۵ درصد)، آلفا-پینن (۱۵/۱۶ درصد) و بورنیل استات (۱۲/۱۷ درصد) از ترکیبات غالب اسانس بودند، در صورتی که در روش میکرواستخراج فاز جامد اسانس دارای ۲۹ ترکیب که به‌ترتیب ترکیبات: بتا- پینن (۲۵/۳۳ درصد)، آلفا- پینن (۱۳/۴ درصد)، لیمونن (۹/۷ درصد) و کامفور (۸/۲۰ درصد) از مهمترین ترکیبات موثره اسانس بودند.یافته‌های این بررسی نشان می‌دهد که مونوترپن‌ها و سزکوِیی‌ترپن‌های هیدروکربنی بیشتر توسط روش میکرواستخراج و مونوترپن‌ها و سزکوِیی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار توسط روش تقطیر با آب استخراج شده است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تقطیر با آب، خراسان، میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی، مینایی نیشابوری

*نویسنده مسئول: m_nekoei1356@yahoo.com

مقدمه

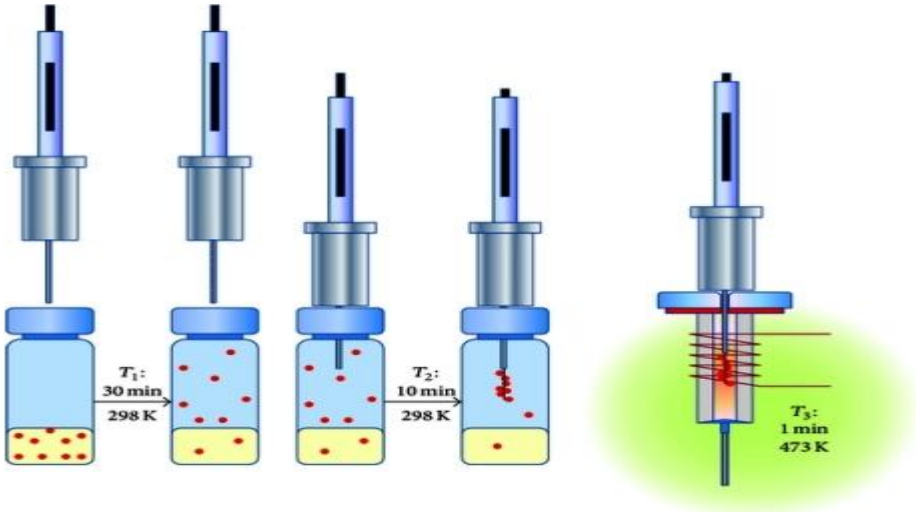
گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی هستند که امروزه مورد توجه بیشتر کشورهای پیشرفته جهان قرار گرفته و به‌عنوان مواد اولیه جهت تبدیل به داروهای بی‌خطر برای انسان تلقی می‌شوند. ایران یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به شمار می‌رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان می‌باشد (Azimzadeh, 2009). یکی از این گیاهان با ارزش، گیاه *Sclerorhachis* با نام فارسی مینایی نیشابوری و متعلق به تیره آفتابگردان بوده و در ایران دو گونه با نام‌های *S. platyrachis* Boiss. و *S. leptoclada* Boiss. دارد که هر دو انحصاری ایران و صرفاً در سرزمین خراسان و در اطراف بیرجند، سبزوار، مشهد، تربت حیدریه و هزار مسجد می‌رویند (Mozaffarian, 1996). گیاه مینای نیشابوری *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. گیاهی چند ساله و راست به ارتفاع ١٠٠-١٥٠ سانتی‌متر، دارای ریزوم عمودی ضخیم، مولد برگ‌های طوقه‌ای بن‌رست و ساقه‌های گل‌دهنده برگ‌دار می‌باشد (Rechinger, 1986). خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچ از خواص دارویی مهم روغن اسانسی فرار این گیاه می‌باشند (Tahmasebi et al., 2012).

به‌رغم انجام مطالعات نه چندان زیاد بر روی استحصال اسانس این گیاه، تمرکز همه این گزارشات بر روش جداسازی مبتنی بر تقطیر با آب می‌باشد. در روش‌های قدیمی مثل تقطیر با بخار یا آب، با توجه به‌مدت زمان طولانی حرارت دادن برای رسیدن به دمای لازم جهت تبخیر ترکیبات فرار، بسیاری از این ترکیبات از دست می‌روند، ترکیبات غیراشباع و استری تجزیه و انرژی و زمان زیادی تلف خواهد شد. در روش‌هایی نیز که برای استخراج نهایی از حلال‌های شیمیایی استفاده می‌کنند، خطرات زیست‌محیطی و ایجاد مسمومیت توسط باقیمانده حلال بوجود می‌آید. به همین خاطر و با توجه به اینکه تغییر در روش استخراج اسانس‌های گیاهی می‌تواند راندمان استخراج، درصد و نوع ترکیبات شیمیایی موجود در آن را تغییر دهد، امروزه در مراجع علمی راهکارهای جدیدتر برای استخراج اسانس‌ها ابداع و ارائه گردیده است. یکی از این روش‌ها، میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی (HS-SPME) است. این روش از جمله روش‌های نوین دستگاهی است که از آن اساساً می‌توان جهت استخراج و تجزیه‌ی مواد فرار خارج شده از نمونه‌های جامد و یا مایع استفاده نمود (Arthur and Pawliszyn, 1990; Rastakhiz et al., 2015). میکرواستخراج فاز جامد روشی بسیار قدرتمند برای آماده‌سازی آن دسته از نمونه‌هائی است که تغلیظ، استخراج و ورود نمونه به دستگاه کروماتوگرافی را در یک مرحله انجام می‌دهد. مضافاً، این روش استخراج کاملاً عاری از حلال بوده و برای آنالیز توسط آن، تنها مقدار بسیار کمی از نمونه کفایت می‌کند (Ouyang et al., 2007; Nekoei et al., 2015; Dawidowicz et al., 2016).

در ابزار SPME، یک فایبر وجود دارد که روکش پلیمری روی آن (فاز استخراج کننده) به ضخامت چند میکرولیتر پوشش داده شده است. این فایبر در غلافی که می تواند سپتوم محل تزریق دستگاه کروماتوگرافی گازی را سوراخ کند احاطه گردیده و شبیه یک سرنگ به نظر می‌رسد (Silva et al., 2013).

در روش فضای فوقانی، فایبر در معرض ترکیبات فرار موجود در فضای بالای نمونه قرار می‌گیرد. پس از استخراج اجزای مورد نظر بر روی فایبر، آن را به درون غلاف برگردانده و به محل تزریق نمونه در دستگاه کروماتوگرافی گازی وارد می‌سازند. در اثر حرارت، آنالیت‌ها (ترکیبات موجود در بخش‌های فرار) و جذب گردیده و در ادامه به درون ستون جداسازی انتقال می‌یابند (شکل ١). از مزایای مهم این

روش می‌توان به عدم نیاز به حلال، سادگی، نیاز به مقدار بسیار کم نمونه، هزینه کمتر، سازگاری با محیط زیست، زمان استخراج کمتر (در حد چند دقیقه)، سهولت خودکار کردن، امکان نمونه‌برداری میدانی (نمونه‌برداری از یک محل با دستگاه قابل حمل مجهز به کلاهک و سپس انتقال آن به آزمایشگاه اشاره نمود (Stashenko and Martíneza, 2007; Nekoei and Mohammad Hosseini, 2016; Mohammad Hosseini, 2015).



شکل ۱: شمایی از تکنیک میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی (Silv*a* et al., 2013).

مراحل مختصری از روش SPME : ۱) قرار دادن نمونه گیاه در ظرف شیشه ایی درپوش دار ۲) حرارت دادن گیاه در یک حمام آب گرم به منظور خروج اجزاء فرار اسانس ۳) قرار دادن فیبر در فضای فوقانی گیاه و جذب اجزاء فرار ۴) انتقال فیبر به داخل سرنگ SPME و قرار دادن در محفظه تزریق دستگاه GC-MS

هدف از تحقیق اخیر، مقایسه اثر روش‌های مختلف استخراج شامل میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی جفت شده با دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی و روش تقطیر با آب بر ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه دارویی *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گیاه مورد مطالعه: اندام هوایی گیاه مینای نیشابوری *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. در تیرماه سال ۱۳۹۴ در فصل گل‌دهی از روستای افچنگ در شمال شهر سبزوار واقع در استان خراسان رضوی و در ارتفاع ۱۵۳۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری و شناسایی آن در هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهران انجام گرفت. اندام هوایی گیاه در سایه و در معرض جریان ملایمی از هوا خشک گردید. سپس، قطعات خشک‌شده‌ی گیاه جهت استحصال اجزاء فرار مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب[1]: مقدار ۱۰۰ گرم از اندام هوایی گیاه خشک‌شده تحت جریان ملایمی از هوا، خرد و در دستگاه کلونجر به مدت ۳/۵ ساعت اسانس‌گیری گردید. عمل آبگیری از روغن‌های اسانسی حاصل، توسط سدیم سولفات بدون آب (Na_2SO_4) صورت پذیرفت. اسانس بدست

1. HD

آمده تا زمان آنالیز درون ظرف سربسته تاریک و در یخچال نگهداری شد.

استخراج به روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی[1] (Nekoei et al., 2012): استخراج اسانس به روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی با استفاده از حداقل وزن نمونه جامد خرد شده (۰/۵ گرم) و بدون استفاده از هرگونه حلال آلی انجام شد. در این روش، از یک حمام آب گردشی مدل MLW8 ساخت شرکت MLW UH با توانایی کنترل دما، جهت تثبیت دما حین استخراج استفاده شد. از یک ظرف شیشه‌ای کوچک به حجم ۱۰ میلی‌لیتر جهت ایجاد فضای فوقانی (HS) استفاده گردید. فیبر مورد استفاده از جنس پلی‌دی متیل سیلوکسان به ضخامت ۱۰۰ میکرومتر به همراه مجموعه کامل SPME از شرکت سوپلکو خریداری شد. در کل مدت آنالیز، از یک هم‌زن با دور بالا استفاده گردید. ترکیبات جذب شده روی فیبر از طریق واجذب حرارتی، بلافاصله به دستگاه GC/MS تزریق شده تا جداسازی و شناسایی ترکیبات انجام پذیرد. مراحل استخراج مواد مؤثره گیاه به‌طور خلاصه به شرح زیر است:

الف) بافت گیاهی توسط آسیاب برقی کاملاً خرد و مقدار ۰/۵ گرم از آن به ظرف شیشه‌ای به حجم ۱۰ میلی‌لیتر وارد و درپوش آن محکم بسته شد. دمای ظرف حاوی نمونه گیاهی به‌منظور تعادل حرارتی لازم، در داخل حمام گردشی آب به‌وسیله یک دماپای استاندارد به‌طور کاملاً دقیق تنظیم و به‌وسیله هم‌زن، در زمان بهینه شده، به تعادل حرارتی رسید.

ب) بعد از برقراری تعادل حرارتی، فیبر ریز استخراج فاز جامد از طریق سوراخ‌کردن سپتوم، وارد فضای فوقانی ظرف حاوی نمونه گردید. در این مرحله، جهت اجتناب از هرگونه تماس احتمالی، تنظیم موقعیت مناسب فیبر تا تکمیل روند استخراج، ضروری است.

ج) پس از اتمام استخراج، با انتقال فیبر به داخل سرنگ SPME، سوزن از داخل ظرف نمونه خارج و مستقیماً در محفظه تزریق دستگاه GC/MS قرار گرفت. سپس با فشار دادن ریز لوله به سمت پایین، فیبر در معرض حرارت ۲۵۰ درجه سلسیوس (دمای واجذب) واقع شده و بدین‌ترتیب، ترکیبات جذب‌شده به‌وسیله پوشش فیبر در اثر حرارت بالا واجذب و وارد ستون GC می‌شوند.

جداسازی و شناسایی اجزا: برای تفکیک و شناسایی مواد موجود در اسانس این گیاه، از دستگاه کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده گردید. شناسایی اجزاء اسانس با استفاده از بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری و اندیس بازداری کواتس مندرج در منابع علمی، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه آنها با طیف‌های مرجع انجام شد (Adams, 1995) هم‌چنین، بررسی‌های تکمیلی با تطبیق الگوهای شکافتگی طیف‌های جرمی و اندیس‌های کواتس مبتنی بر تجربیات قبلی صورت گرفت (Nekoei et al., 2012).

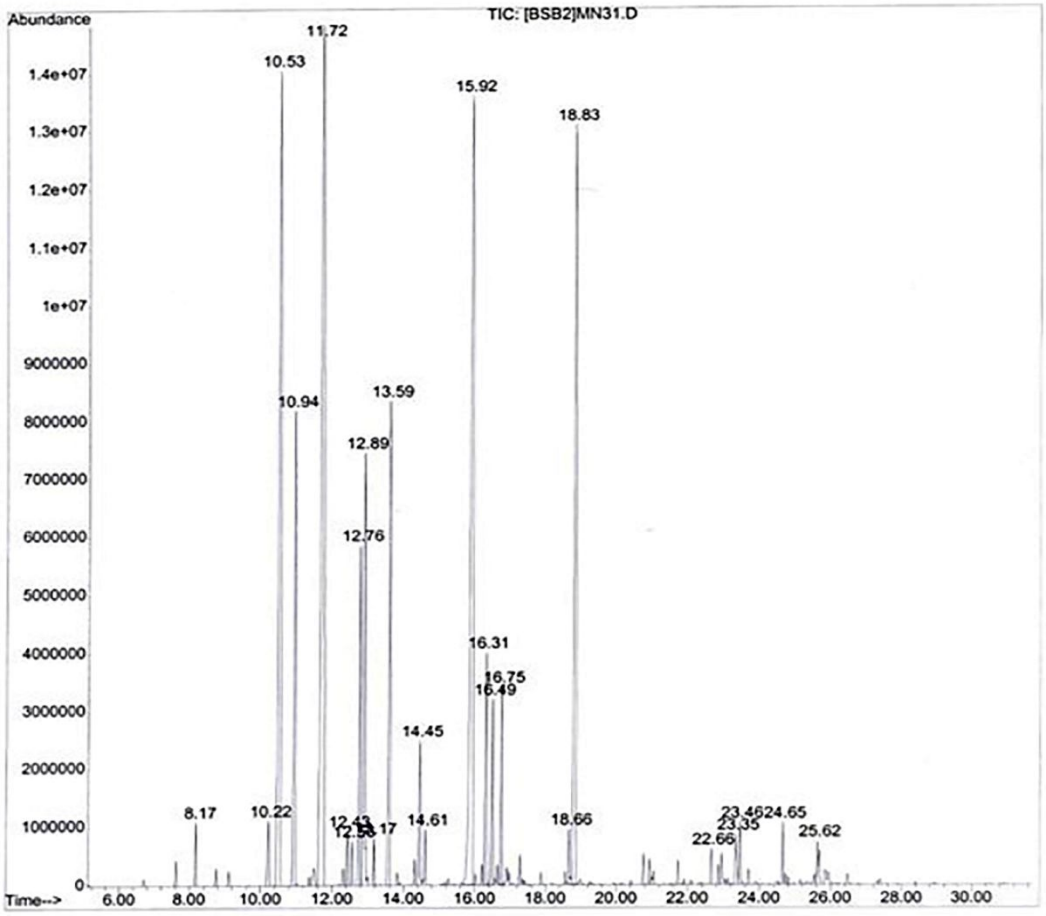
مشخصات و برنامه‌حرارتی دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی: جهت بررسی کمی و کیفی ساختار اسانس‌ها، کروماتوگرافی گازی مدل HP-6890 با آشکارساز FID مجهز به ستون تجاری HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه حرارتی به کار رفته، شامل خیز تدریجی دمایی ۵۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با روند افزایش ۵ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه صورت پذیرفت. دمای

1. HS-SPME

اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای رابط در واسط ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هلیوم با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه در طول فاز ساکن جریان داشت. شرایط کروماتوگرافی در C-MS مانند شرایط کروماتوگرافی گازی بود. در عین حال، به‌عنوان آشکارساز از آشکارسازجرمی مدل HP-5973 شامل تجزیه‌گر جرمی از نوع چهارقطبی (کوادرپول) مجهز به یک منبع یون‌ساز برخورد الکترون (EI) با انرژی یونش ۷۰ الکترون ولت و دمای ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

نتایج

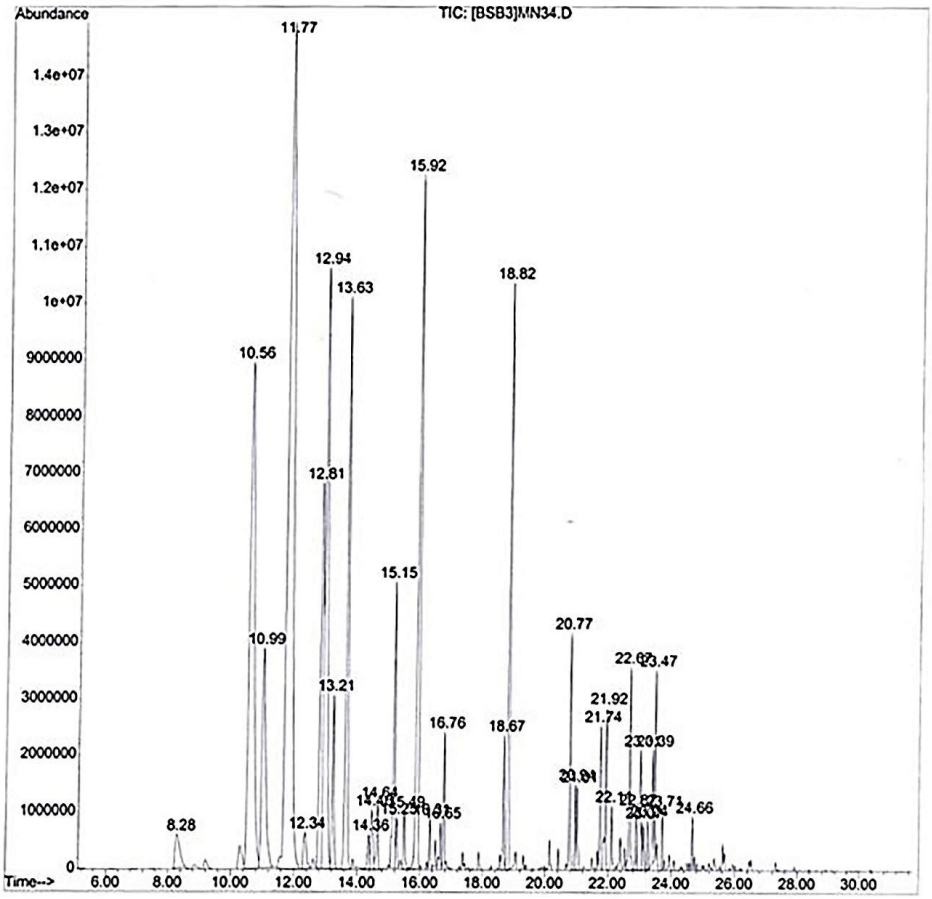
طیف کروماتوگرام حاصل از روش تقطیر با آب در شکل ۲ و ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده آن همراه با درصد فراوانی هر جزء در جدول ۱ ارائه گردیده است. در روش تقطیر با آب، تعداد ۲۲ ترکیب که در مجموع ۹۸/۹۱ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دادند، استخراج و شناسایی شدند. عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس شامل: بتا-پینن (۲۰/۵۲ درصد)، کامفور (۱۸/۰۵ درصد)، آلفا-پینن (۱۵/۱۶ درصد) و بورنیل استات (۱۲/۱۷ درصد) گزارش شدند.



شکل۲: کروماتوگرام مربوط به استخراج مواد موثره اسانس گیاه *Sclerorhachis platyrachis* Boiss در روش HD

طیف کروماتوگرام حاصل از روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی در شکل ۳ و ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن همراه با درصد فراوانی هر جزء نیز در جدول ۱ ارائه گردیده است.

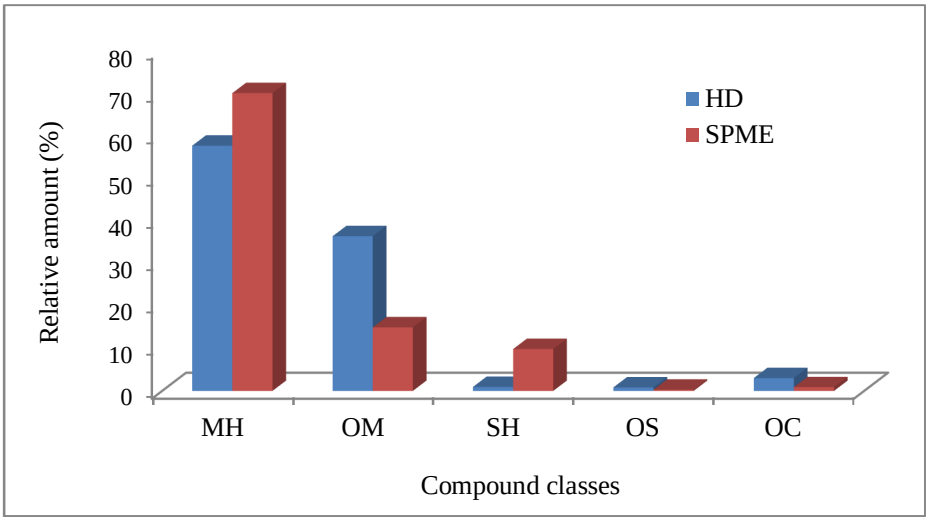
در این روش، ۲۹ ترکیب، استخراج و شناسایی شد که ۹۶/۵۱ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن نیز تقریباً همان ترکیبات موجود در روش قبلی هستند. اما مقادیر نسبی آنها نسبتاً تفاوت قابل توجهی با هم دارند. بر این اساس، بتا-پینن(۲۵/۳۳ درصد)، آلفا-پینن (۱۳/۳۸ درصد)، لیمونن (۹/۶۹ درصد) و کامفور (۸/۲۰ درصد) به عنوان ترکیبات با بیشترین فراوانی در پروفایل فرار حاصل از اندام‌های هوائی گیاه *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. گزارش شدند. در این روش، در مجموع هفت ترکیب بیشتر از روش قبلی استخراج و شناسایی شده است.



شکل۳: کروماتوگرام مربوط به استخراج مواد موثره اسانس گیاه *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. در روشSPME

نتایج این تحقیق نشان داد که مواد موثره اسانس به روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی شامل ۷۰/۰۷ درصد مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۱۴/۹۵ درصد مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۹/۸۵ درصد سزکوِیی‌ترپن‌های هیدروکربنی، ۰/۲۸ درصد سزکوِیی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و ۱/۳۶ درصد ترکیبات غیرترپنی بود درحالیکه اسانس گیاه مورد مطالعه به روش تقطیر با آب[1] شامل ۵۷/۷۰ درصد مونوترپن‌های هیدروکربنی، ۳۶/۴۰ درصد مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، ۰/۹۵ درصد سزکوِیی-ترپن‌های هیدروکربنی، ۰/۸۳ درصد سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و ۳/۰۳ درصد ترکیبات غیرترپنی از قبیل هیدروکربن‌های آلیفاتیک می‌باشد (شکل ۴).

1. HD



شکل ٤: اثر روش‌های HD و SPME در استخراج گروه‌های مختلف ترپنی، غیرترپنی و ترکیبات اکسیژن‌دار
OC: ترکیبات غیرترپنی، OS: سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار، SH: سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی،
OM: مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و MH: مونوترپن‌های هیدروکربنی

جدول ۱: مقایسه ترکیب‌های متشکله اسانس گیاه *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. در دو روش HD و SPME

شماره	نام ترکیبات	دسته ترکیبات	شاخص بازداری	درصد اجزا به روش HD	درصد اجزا به روش SPME
۱	2-hexenal	NH[a]	۸۵۵	۰/۵۳	۰/۸۸
۲	α-thujene	MH[b]	۹۳۰	۰/۸۸	-
۳	α-pinene	MH	۹۳۹	۱۵/۱۶	۱۳/۳۸
۴	camphene	MH	۹۵۴	۵/۶۴	۴/۶۳
۵	β-pinene	MH	۹۷۹	۲۰/۵۲	۲۵/۳۳
۶	α-phellandrene	MH	۱۰۰۳	۰/۴۵	-
۷	α-terpinene	MH	۱۰۱۷	۰/۳۵	-
۸	p-cymene	MH	۱۰۲۵	۳/۵۴	۵/۲۵
۹	limonene	MH	۱۰۲۹	۵/۲۱	۹/۶۹
۱۰	*trans*-β-ocimene	MH	۱۰۳۷	۰/۳۶	۱/۷۶
۱۱	γ-terpinene	MH	۱۰۶۰	۵/۵۹	۶/۴۱
۱۲	p-cymenene	MH	۱۰۹۱	-	۰/۳۷
۱۳	linalool	OM[c]	۱۰۹۷	۱/۶۸	۰/۶۶
۱۴	*allo*-ocimene	MH	۱۱۳۲	-	۰/۵۳
۱۵	*neo-allo*-ocimene	MH	۱۱۴۱	-	۲/۷۲
۱۶	camphor	OM	۱۱۴۶	۱۸/۰۵	۸/۲۰
۱۷	borneol	OM	۱۱۶۹	۲/۴۷	۰/۳۴
۱۸	α-terpineol	OM	۱۱۸۹	۲/۰۳	۰/۹۴
۱۹	hexeayl butanoate	NH	۱۱۹۴	۱/۸۴	-
۲۰	bornyl acetate	OM	۱۲۸۹	۱۲/۱۷	۴/۸۱

٢١	α-copaene	SH[d]	١٣٧٧	-	١/٥۴
٢٢	β-bourbonene	SH	١٣٨٨	-	٠/۶٨
٢٣	methyl eugenol	NH	١۴٠۴	-	٠/۴٨
٢۴	β-caryophyllene	SH	١۴١٩	-	٠/٨٩
٢٥	*trans*-β-farnesene	SH	١۴٥٧	-	٠/٩۴
٢۶	*Allo*-aromadendrene	SH	١۴۶٠	-	٠/۴١
٢٧	α-amorphene	SH	١۴٨٥	٠/٣٣	١/۴٨
٢٨	β-selinene	SH	١۴٩٠	-	١/١٥
٢٩	α-muurolene	SH	١٥٠٠	-	٠/٢٨
٣٠	β-bisabolene	SH	١٥٠۶	-	٠/۴٠
٣١	γ-cadinene	SH	١٥١۴	-	٠/٩٥
٣٢	myristicin	NH	١٥١٩	٠/۶۶	-
٣٣	δ-cadinene	SH	١٥٢٣	٠/۶٢	١/١٣
٣۴	spathulenol	OS[e]	١٥٧٨	٠/٥٩	٠/٢٨
٣٥	α-cadinol	OS	١۶۴٠	٠/٢۴	-
	Total percentage			٩٨/٩١	٩۶/٥١
	MH (%)			٥٧/٧٠	٧٠/٠٧
	OM (%)			٣۶/۴٠	١۴/٩٥
	SH (%)			٠/٩٥	٩/٨٥
	OS (%)			٠/٨٣	٠/٢٨
	NH (%)			٣/٠٣	١/٣۶
	Number of compound			٢٢	٢٩

[a]NH: هیدروکربن‌های غیرترپنی؛ [b]MH: مونوترپن‌های هیدروکربنی؛ [c]OM: مونوترپن‌های اکسیژن دار؛ [d]SH: سزکوئی ترپن‌های هیدروکربنی
[e]OS: سزکوئی ترپن‌های اکسیژن‌دار

بحث

ضرورت استانداردسازی و استفاده از روش‌های جدیدتر و علمی‌تر جهت بررسی ترکیبات روغن‌های اسانسی و اجزاء فرار، یک امر مهم و اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. میکرو استخراج فاز جامد فضای فوقانی[1] یک یک روش توانمند، سریع و آسان جهت تغلیظ و جداسازی هم‌زمان طیف وسیعی از ترکیبات آلی، داروئی و فرآورده‌های غذایی و زیست‌شناختی می‌باشد (Nekoei et al., 2012; Akhlaghi et al., 2012).

مروری بر منابع علمی نشان داد که تنها تعداد معدودی گزارش علمی پیرامون ساختار شیمیایی روغن‌های اسانسی جنس *Sclerorhachis* در نقاط مختلف ایران وجود دارد که همگی صرفا با روش تقطیر با آب انجام شده است. در تحقیق آقاجانی و همکاران (Aghajani et al., 2005) روغن اسانسی استحصال شده به روش تقطیر با آب عمدتا شامل هیدروکربن‌های مونوترپنی و مقدار کمی هیدروکربن‌های سزکوئی‌ترپنی بود. در این تحقیق ترکیبات اصلی تشکیل دهنده پروفایل روغن اسانسی *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. شامل ٣١/٢

1. HS-SPME

درصد آلفا-پینن، ۲۴/۸ درصد کامفور و ۱۴/۷ درصد بتا-پینن بودند که دلالت بر ترتیب کلی زیر داشتند.

سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی< مونوترپن‌های اکسیژن‌دار<مونوترپن‌های هیدروکربنی

از طرف دیگر در گزارش اخلاقی و همکاران (Akhlaghi et al., 2015) در مجموع تعداد ۶۳ ترکیب طبیعی شناسایی شد که در برگیرنده ۸۹/۲ درصد کل ساختار اسانس فرار حاصل از اندام هوایی *Sclerorhachis platyrachis* Boiss. بودند. در ارتباط با این تحقیق می‌توان گفت که اجزای اصلی شامل بتا-پینن (۱۷/۵ درصد) و گاما-ترپینن(۱۵/۴ درصد) بودند. به‌علاوه سایر ترکیبات با درصد نسبتا بالا پی-سایمن (۴/۹ درصد)، هگزا-دکانوئیک اسید (۴/۸ درصد)، لیمونن (۴/۴ درصد)، کامفور (۳/۹ درصد) و ای-بتا-اسیمن (۳/۴ درصد) بودند. بر اساس نتایج گزارش شده در این تحقیق، ۱۱ مونوترپن هیدروکربنی، ۱۲ مونوترپن اکسیژن‌دار، ۱۵ سزکوئی‌ترپن هیدروکربنی، ۵ سزکوئی‌ترپن اکسیژن دار، ۱۹ هیدروکربن غیرترپنی و تنها یک دی ترپن اکسیژن دار شناسایی شدند که به‌ترتیب ۴۸/۷ درصد، ۱۱/۸ درصد، ۹/۹ درصد، ۶/۰ درصد، ۱۲/۴ درصد و ۰/۴ درصد داشتند که بر روند کلی زیر دلالت داشت.

دی ترپن‌های اکسیژن دار<سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن دار < سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی< مونوترپن‌های اکسیژن-دار<هیدروکربن‌های غیرترپنی<مونوترپن‌های هیدروکربنی

در تحقیق سنبلی و همکاران (Sonboli et al., 2014) پیرامون فعالیت‌های زیست‌شناختی همراه با پروفایل شیمیایی روغن اسانسی *Sclerorhachis leptoclada* Boiss. از منطقه شمال شرق ایران که از اندام‌های هوایی گیاه حاصل شده بود ترکیبات عمده‌ای - نرولیدول (۱۴/۵ درصد)، ترپینن۴- ال (۱۳/۳ درصد)، کامفور (۶/۱ درصد)، ۱و۸-سینئول (۴/۸ درصد) و پی- سایمن (۴/۵ درصد) را نشان داد.

در نهایت در گزارش طهماسبی و همکاران (Tahmasebi et al., 2012) پیرامون ساختار روغن‌های اسانسی دو گونه *Sclerorhachis* در منطقه بیرجند (خراسان جنوبی) به وجود مقادیر زیاد کامفور (۳۵/۵ درصد)، بورنیل استات (۱۱/۷ درصد) و ۱و۸-سینئول (۸/۰ درصد) در *S. leptoclada* Boiss. و بورنیل استات (۱۸/۸ درصد)، کامفور (۱۷/۷ درصد) و دلتا-کادینن (۶/۹ درصد) در *S. platyrachis* Boiss. اشاره شده است.

در این تحقیق در هر دو روش استخراج، ترکیبات غالب اسانس‌ها از نوع مونوترپن‌های هیدروکربنی و مونوترپن‌های اکسیژن‌دار هستند، ولی مقدار مونوترپن‌های هیدروکربنی در روش میکرواستخراج فاز جامد فضای فوقانی بیشتر و مقدار مونوترپن‌های اکسیژن‌دار در روش تقطیر با آب خیلی بیشتر است. از طرف دیگر، درصد سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی نیز در روش HS-SPME به‌مراتب بیشتر از روش HD است، در حالی که مقدار سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار در آن از سایر ترکیبات طبیعی، بسیار کمتر است. مقدار بیشتر مونوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی و مقدار کمتر ترکیبات اکسیژن‌دار در روش HS-SPME بدین دلیل است که فیبر مورد استفاده در میکرواستخراج فاز جامد از نوع غیرقطبی بوده و بنابراین استخراج ترکیباتی که قطبیت کمتری داشته‌اند، بیشتر صورت گرفته و ترکیبات اکسیژن‌دار با قطبیت بیشتر کمتر جذب فیبر شده و درصد استخراج آنها نیز کمتر بوده است. از طرف دیگر، چون در روش HS-SPME استخراج اسانس از فضای فوقانی نمونه صورت می‌گیرد، ترکیبات سبک‌تر و فرارتر از قبیل مونوترپن‌های هیدروکربنی بیشتر استخراج شده

و نتایج بدست آمده (۷۰/۰۷ درصد) این امر را نشان می‌دهد. بنابراین می‌توان دریافت که با تغییر روش استخراج می‌توان میزان و نوع ترکیبات استخراج‌شده را نیز تغییر داد. بطوریکه در این تحقیق، تعداد ۱۳ ترکیب جدید توسط روش SPME جداسازی و شناسایی شدند که توسط روش HD قابل شناسایی نبودند از طرف دیگر ۶ ترکیب نیز توسط روش HD جداسازی و شناسایی شده‌اند که توسط روش SPME قابل شناسایی نبودند. بنابراین این دو روش در شناسایی مواد موثره گیاه، مکمل یکدیگر بوده و مجموعاً می‌توانند ترکیبات بیشتری را جداسازی و شناسایی کنند. بنابراین توسعه این روش‌ها به ما کمک می کند که بتوانیم مواد موثره یک گیاه را به‌طور کاملتر، جداسازی و شناسایی نماییم.

نتیجه‌گیری نهایی

علیرغم وجود گزارش‌هایی در مورد بررسی اجزاء مواد موثره گیاه توسط روشHD، تاکنون گزارشی از بررسی ترکیبات این گیاه توسط روش‌های دیگر در منابع علمی ارائه نشده است. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که روش SPME می‌تواند جهت شناسایی ترکیبات جدیدی از گیاه بکار رود. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که روش HS-SPME در مقایسه با روش تقطیر با آب، تعداد ترکیبات استحصال شده افزایش یافته، مونوترپن‌های هیدروکربنی بیشتر و ترکیبات اکسیژن‌دار کمتر استخراج شده‌اند. در یک جمع‌بندی، مهمترین مزایای این روش، عدم نیاز به حلال، سادگی، نیاز به مقدار بسیار کم نمونه، هزینه کمتر، سازگار با محیط زیست و کوتاه‌تر شدن زمان استخراج می‌باشد.

References

1. Adams, R.P. 1995. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass Spectroscopy, Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL USA.
2. Aghajani, Z., Masoudi, S., Rustaiyan, A., 2005. Volatile oils of *Anthemis talyshensis* A. Fedor. and *Sclerorhachis platyrachis* (Boiss.) Podlech ex Rech. f. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 17(4): 355-357.
3. Akhlaghi, H., Akhlaghi, S.S., Mahdavi, B., Rezaei, H. 2015. *Sclerorhachis Platyrachis* (Boiss.) Podlech Ex Rech. F.: an indigenous medicinal plant from northeastern iran; essential oil composition, total flavonoid content and antioxidant activity. Journal of Chemical Health Risks, 5(2): 129-135.
4. Akhlaghi, H., Nekoei, M., Mohammad hosseini, M., Motavalizadehkakhky, A. 2012. Chemical composition of the volatile oils from the flowers, stems and leaves of *Prangos latiloba* Korov. using the head space solid phase microextraction method prior to analysis by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15(2), pp.328-335.
5. Arthur, C.L., Pawliszyn, J. 1990. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. Analytical Chemistry, 62(19): 2145-2148.
6. Azimzadeh, M. 2009. Genetic assessment of Iranian *Bunium persicum* Boiss using ITS. Tehran: University of Tehran; p: 81. (In Persian)
7. Dawidowicz, A.L., Szewczyk, J., Dybowski, M.P. 2016. Modified application of HS-SPME for quality evaluation of essential oil plant materials. Talanta, 146: 195-202.
8. MohammadHosseini, M. 2015. Chemical composition of the volatile fractions from flowers, leaves and stems of *Salvia mirzayanii* by HS-SPME-GC-MS. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18: 464-476.
9. Mozaffarian, V. 1996. A Dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publischer, Tehran, 1st Edit., p 491.
10. Nekoei, M. and Mohammad Hosseini, M. 2016. Chemical Compositions of the Essential Oils from the Aerial Parts of *Achillea wilhelmsii* Using Traditional

Hydrodistillation, Microwave Assisted Hydro-distillation and Solvent-Free Microwave Extraction Methods: Comparison with the Volatile Compounds Obtained by Headspace Solid-Phase Micro extraction. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 19(1): 59-75.

11. Nekoei, M., MohammadHosseini, M., Akhlaghi, H. 2015. Chemical composition of essential oils of Salvia leriifolia by three different extraction methods prior to gas chromatographic-mass spectrometric determination: comparison of HD with SFME and HS-SPME. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18 (In Press).
12. Nekoei, M., MohammadHosseini, M., Akhlaghi, H. 2012. Chemical Composition of the Volatile Oils from the Aerial Parts of *Artemisia annua* L. (Asteraceae) by Using Head Space Solid Phase Microextraction and Hydrodistillation Methods Prior to Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination: A Comparative Investigation. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15: 926-933.
13. Ouyang, G., Zhao, W., Alaee, M., Pawliszyn, J. 2007. Time-weighted average water sampling with a diffusion-based solid-phase microextraction device. Journal of Chromatography A, 1138(1): 42-46.
14. Rastakhiz, N., Azar, P.A., Tehrani, M.S., Moradalizadeh, M., Larijani, K. 2015. Chemical constituents comparison of essential oils of aerial parts of *Conium maculatum* L. growing wild in Iran by hydrodistillation, microwave assisted hydrodistillation and solid phase microextraction methods. International Journal of Life Sciences, 9(2): 48-50.
15. Rechinger, K.H. 1986. *Sclerorhachis*, in: Flora Iranica, Compositae No. 158. Edits., K.H. Rechinger and I.C. Hedge, Akademische Druck and Verlagsanstalt, Graz, Austria, P 47.
16. Silva, E.A.S., Risticevic, S., Pawliszyn, J. 2013. Recent trends in SPME concerning sorbent materials, configurations and in vivo applications. Trends in Analytical Chemistry, 43: 24-36.
17. Sonboli, A., Mirjalili, M.H., Hadian, J., Yousefzadi, M. 2014. The biological activity and composition of the essential oil of *Sclerorhachis leptoclada* (Asteraceae-Anthemideae) from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 13(3): 1097-1103.
18. Stashenko, E.E., Martínez, J.R. 2007. Sampling volatile compounds from natural products with headspace / solidphase micro-extraction. Journal of biochemical and biophysical methods, 70(2): 235-242.
19. Tahmasebi, A., Andi, S.A., Ahmadi, M.R., Alavi, B.G. 2012. Inhibitory effect of essential oils of *Sclerorhachis platyrachis* and *Sclerorhachis leptoclada* on phytopathogenic fungi. International Journal of Agri. Science, 2(1): 48-53.