

## تجزیه و شناسایی اسانس بهار نارنج *Citrus bigardia* Duh

دکتر محمد آزادبخت\*، دکتر نصرالله قاسمی دهکردی\*\* و دکتر شهرزاد سبزواری\*  
\* دانشکده داروسازی شیراز، \*\* دانشکده داروسازی اصفهان

خلاصه:

روغن اسانسی گیاه *Citrus bigardia* جمع آوری شده در شیراز توسط روش تقطیر با آب (Hydrodistillation) استخراج و میزان اسانس استخراج شده از بهار تازه آن ۹/۱۴۴ درصد تعیین گردید. سپس با استفاده از گاز کروماتوگرافی تجزیه ای (Analytical GC) و مزدوج شدن آن با طیف نگار جرمی (GC Mass) مواد متشکله اسانس مورد شناسایی قرار گرفت.

حاصل این مطالعه و بررسی که برای اولین بار بر روی گیاه *Citrus bigardia* موجود در شیراز انجام گرفته تعیین دوازده ماده متشکله اسانس بوده که ده ترکیب آن منوترین و دو ترکیب دیگر سزکوئی ترین میباشند.

در میان ترکیب های شناسایی شده دوماهه زیر بالاترین درصد وزن اسانس گیاه فوق را تشکیل داده اند:  
Linalool (38.3%), Linalyl acetate (10.24%)

باتوجه به اهمیت این دو ترکیب، وجود آنها به روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) نیز شناسایی گردید و نتایج حاصله از طریق Analytical GC مورد تأیید قرار گرفت.

مقدمه:

سده و علاوه بر مصرف صنعتی در صنایع عطرسازی دارای مصارف دارویی نیز میباشد. در صنایع داروسازی اسانس بهار نارنج باعث اثرات گوناگونی که اهم آنها در زیر آمده است مورد استفاده قرار گرفته و میگیرد.

۱- اثرات ضد میکروبی اسانس که تاکنون بر روی نه سوش میکربی بررسی شده است. این سوش ها عبارتند از استافیلوکوک اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، پسودومونا آئروژینوزا، کلسیلا، پنومونیه، کاندیدا آلبیکانس استافیلوکوکوس اپیدرمیس، اشیریشیاکلی،

گیاه *Citrus bigardia* یکی از گونه های جنس *Citrus* از خانواده Rutaceae و از گیاهان بومی ایران است و به طور عمده در استانهای گیلان، مازندران و فارس پرورش داده می شود. طبق بررسی های بعمل آمده این خانواده گیاهی دارای ۲۰۰۰ گونه گیاه می باشد که در ۱۵۰ جنس مختلف دسته بندی شده و از دیر باز مصارف خوراکی، دارویی و صنعتی داشته اند.

اسانس بهار نارنج (Neroli Oil) از تقطیر سرشاخه های گلدار گیاه *Citrus bigardia* تهیه

پروتئوس ولگاریس ، سالمونلا، پاراتیفی B.  
 ۲- اثرات ضد قارچی اسانس عمدتا " بعلت  
 ترکیب لینالول موجود در اسانس بوده (۵ و ۷)  
 و در درمان Tinea of Scalp،  
 Epidermophit، Herpes  
 Pityriasis Versicolor مورد استفاده قرار میگیرد.

### ب) جداسازی و شناسایی ترکیبات روغن اسانسی

روغن اسانسی استخراجی به روش فوق الذکر  
 توسط دستگاه اسانس گیری Clevenger، برای  
 جداسازی به سیستم کروماتوگرافی گازی  
 تجزیه ای تزریق شده و مورد تجزیه قرار گرفت .  
 حاصل این عمل ارائه طیفی (شکل ۱) از کلیه  
 مواد قابل شناسایی توسط دستگاه بود. با تزریق  
 مجدد روغن اسانسی به دستگاه  
 کروماتوگرافی گازی متصل شده به دستگاه طیف  
 نگار جرمی ، طیف های مربوطه به طریقه  
 شکست هر کدام از مواد متشکله اسانس توسط  
 طیف نگار ترسیم گردید. سپس با توجه به  
 اطلاعات GC و طیف های جرمی بدست آمده  
 ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شناسایی گردید.  
 از بین ترکیبات شناسایی شده لینالول  
 (Linalool) و لینالیل استات (Linalyl  
 acetate) بالاترین درصد وزنی را دارا بودند. نظریه  
 اهمیت این دو ترکیب وجود هردو نیز به روش  
 کروماتوگرافی لایه نازک

TLC (Thin Layer Chromatography) شناسایی  
 گردید و نتایج حاصله در مورد این دو ترکیب از  
 طریق GC تجزیه ای مورد تایید قرار گرفت .

### ج) مشخصات دستگاههای مورد استفاده در این پژوهش

دستگاههای بکار گرفته شده در این  
 کار و مشخصات آنها عبارتند از: گاز کروماتوگراف  
 متصل شده به طیف نگار جرمی

۳- اثرات سداتیو روی ماهی طلائی  
 ۴- اثرات Tubercolo-static اسانس  
 ترکیبات شیمیائی و درصد وزن در اسانس  
 بهار نارنج در کلیه مناطق جهان یکسان نبوده  
 و برای هر منطقه تحقیق و بررسی محلی ضرورت  
 دارد.

با توجه به اهمیتی که اسانس بهار نارنج  
 در صنعت گیاهان داروئی دارد شناسایی ترکیبات  
 اسانس و بخصوص وضعیت ماده لینالول در آن  
 برای مناطق مختلف ایران یک انگیزه پژوهشی  
 هدف دار ملی بوده و در این مقاله بخشی  
 از نتایج حاصله بر روی بهار نارنج شیراز گزارش  
 می گردد.

### بخش تجربی:

#### الف) استخراج روغن اسانسی

مقدار ۱۰۰ گرم از گل گیاه Citrus  
 bigardia جمع آوری شده از نواحی با غناری و باغ  
 ارم شهر شیراز به روش تقطیر با آب  
 (Hydrodistillation) مورد عمل استخراج اسانس  
 قرار گرفت که طی آن ۱۶۵/۰ سانتیمتر مکعب  
 (cm<sup>3</sup>) با وزن مخصوص ۰/۸۷ گرم برسی سی  
 (g/me) بدست آمد. عبارت دیگر راندمان اسانس  
 استخراجی ۱۴۲/۰ درصد نسبت به وزن گل گیاه  
 مزبور می باشد.

ترکیبات قابل شناسائی اسانس عبارتند از:  
 $\beta$ -Pinen, limonen, terpinenyl acetate,  
 linalool, terpinyl acetate, geraniol, linalyl  
 acetate, myrcene, neryl acetate, farnesyl  
 acetate.

کروماتوگرام اسانس *Citrus bigardia* در  
 شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل بر  
 روی هر پیک شماره آن ذکر گردیده است.  
 هر کدام از این پیک ها معرف یکی از مواد متشکله  
 اسانس میباشند. بر همین اساس جدول شماره ۱  
 تدوین گردید که در آن ترکیب، شماره پیک،  
 زمان بازداری، روش شناسائی و مراجع استناده  
 شده در شناسائی آن ترکیب درج گردیده است.

Finningan, 25m, CP- Sil, 5 CB column

دستگاه طیف نگار جرمی

Finningan MAT, TSQ 70 Quadropole

(د) شرایط کروماتوگرافی گاز - مایع (GLC)

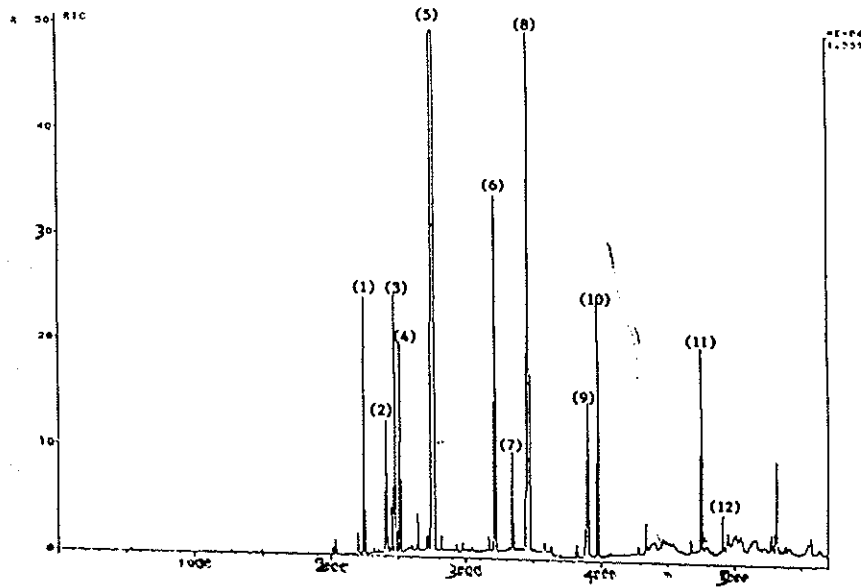
ستون: ستون لوله‌ای بازار جنس فولاد ضد زنگ  
 با ارتفاع ۲۵ سانتیمتر  
 فاز ثابت: CP-Sil 5CB  
 دمای تزریق: ۱۸۰ درجه سانتیگراد  
 برنامه ریزی دمائی: دماهای ابتدائی و انتهائی به  
 ترتیب ۶۰ و ۲۲۰ درجه سانتیگراد و با افزایش ۴  
 درجه سانتیگراد در هر دقیقه برنامه ریزی گردید.  
 گاز حامل: هیدروژن ( $H_2$ )

(ه) شرایط کار با تانک TLC

فاز متحرک: تولوئن - اتیل استات به نسبت ۶ به ۱  
 فاز ثابت: Silica gel 60 Pf254  
 معرف: وانیلین

## نتایج و بحث

حاصل این کار پژوهشی پی بردن به وجود ده  
 مونوترپن و دوسزکوئیترین در روغن اسانسی  
 گیاه *Citrus bigardia* و درصد جرمی هریک از  
 ترکیبات آن میباشد. این نتیجه گیری با استفاده از  
 اندیس های باز داری حاصل از دستگاه  
 کروماتوگرافی گازی، طیف های جرمی تثبیت  
 شده برای هر ترکیب و مقایسه آنها با آنچه در  
 Manual GC/MS Equipment و مراجع مربوط به  
 ترکیبات استاندارد ثبت شده آمده حاصل  
 گردیده است.



شکل ۱: کروماتوگرام GC روغن اسانس گیاه *Citrus bigardia*

جدول شماره ۱: ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه *Citrus bigardia*

| peak No. | compound                     | %     | -Retention time | روش شناسایی | مراجع            |
|----------|------------------------------|-------|-----------------|-------------|------------------|
| ۱        | $\beta$ -pinene              | ۴٫۴۶  | ۱۹:۴۴           | GC/Mass     | ۵،۵۶،۵۷،۵۸،۵۹،۶  |
| ۲        | Limonene                     | ۰٫۷۷  | ۲۱:۲۳           | GC/Mass     | ۵،۵۱،۵۶،۶۰       |
| ۳        | Terpinenyl acetate           | ۵٫۳۹  | ۲۱:۴۶           | GC/Mass     | ۵،۵۶             |
| ۴        | Linalool                     | ۴۱٫۹۸ | ۲۴:۲۱           | GC/Mass     | ۵،۵۶،۵۷،۶۰،۶۱،۶۲ |
| ۵        | $\alpha$ -terpinyl-acetate   | ۸٫۹۳  | ۲۸:۱۸           | GC/Mass     | ۵،۵۶،۶۰          |
| ۶        | Geraniol                     | ۴٫۸۱  | ۳۰:۱۵           | GC/Mass     | ۵،۵۶،۶۳          |
| ۷        | Linalyl acetate              | ۱۱٫۲۳ | ۳۰:۲۹           | GC/Mass     | ۵،۵۶،۶۰،۶۳       |
| ۸        | Myrcene                      | ۴٫۴۷  | ۳۴:۱۷           | GC/Mass     | ۵،۵۶،۶۱،۶۲       |
| ۹        | Neryl acetate                | ۵٫۱۸  | ۳۴:۵۶           | GC/Mass     | ۵،۵۶             |
| ۱۰       | Farnesyl acetate (cis trans) | ۴٫۷۷  | ۴۱:۴۳           | GC/Mass     | ۵،۶،۶۰           |

## References

- ۱) آئینه چی ، یعقوب : مفردات پزشکی و گیاهان داروئی ایران ، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۰ ، صفحه ۲۸۶-۲۷۲ .
- ۲) ثابتی ، حبیب الله : جنگلها، درختان و درخچه های ایران ، چاپخانه دانشگاه علم و صنعت ایران " ناشر دانشگاه یزد " ، ۱۳۷۳ ، صفحه ۲۳۴ .
- 3) Alvarez, M; Barturen, B; Regulea, P; asterria-R citrus Fruits microbiology, Jouranal Article, Vol. 8 (4): Page 1990, 231-3.
- 4) Gravasselli, J.G., Ritchey, W.M. Atlas of spectral data and Physical Constant for Organic Compounds, CRC press, 1992, P. 106-130.
- 5) Manual of GC mass equipment, Finigan MAT , TSO 70 Quadroppl.
- 6) MERCK INDEX, Eleventh Edition, published By MERCK and CO INC, RAH Way, N.J.U.S.A., 1989, 1738, 4298, 5386,9105, 6247, 7414.
- 7). Adams; R.P. Adams, Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy, Harcourt, Brace Javanovich, publishers, 1991, 62, 177, 179, 180, 195, 203, 227, 232, 261, 285.
- 8) Willhalm, B., Thomas, A. F., Acta Chem Scand 1964, 17, 2505.

**Title: Phytochemical Analysis of Essential Oil of Citrus bigardia  
L. Growing in Shiraz**

**Authors: N. Ghassemi , \*M. Azadbakht, \*\*Sh Sabzevari**

**Address: \*School of Pharmacy, Isfahan University of  
Medical Sciences, Isfahan, Iran**

**\*\*School of Pharmacy, Shiraz Univeristy of  
Medical Sciences, Shiraz, Iran**

**Abstract:**

The composition of the essential oil from the blossoms of citrus bigardia growing in shiraz region of Iran was investigated by GC and GC/MS. Ten monoterpenes and two sesquiterpenes were among the main constituents in the oil.

The main components of the volatile oil were  $\beta$  - pinene (4.07%), limonene (0.70%), terpinenyl acetate (4.92%), linalool (38.3%), - terpinyl acetate (8.15%), graninol (4.39%), linalyl acetate (10.24%), myrcene (4.08%), neryl acetate (4.72%) and farnesyl acetate (4.35%). Among these components the predominant ones were linalool and linalyl acetate. The presence of both predominant components were confirmed by TLC and GC.