

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه آزاد اسلامی

واحد مرودشت

دانشکده: علوم

عنوان:

جداسازی و شناسایی ترکیبات فرار گیاه نوع خاصی از مریم گلی (نعنایی)

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر محمد مهدی قنبری

نگارش:

فاطمه رنجبر

بهار ۱۳۹۳

تشکر و قدر دانی

ستوده باد، خدایی که می بخشد بی دریغ، و دوست می دارد

بی چشم داشت

ستوده باد، خدایی که دل دانه را می شکافد، دانه را نهال می کند،

نهال را درخت می سازد و درخت را

غرق شکوفه

تقدیم به ...

تقدیم به آنان که این جهان گنجایش محبت، متانت و انسانیت شان را ندارد، تقدیم به پدر عزیزم

تقدیم به تندیس مهر و محبت، به اسطوره صبر و فداکاری به فرشته ی همی خوبی ها و زیبایی ها، تقدیم به

مادر عزیزم

و

تقدیم به همراهان و همدلان هر روزم، به پاس محبت های بی دریغ شان

فهرست مطالب

ح	فهرست شکل ها
ط	فهرست جدول ها
ی	علایم اختصاری
۱	چکیده
۳	۱-۱- مقدمه
۳	۲-۱- طرح موضوع
۳	۳-۱- بیان مسئله
۳	۴-۱- ضرورت انجام تحقیق
۴	۵-۱- اهداف پژوهش
۴	۶-۱- سوالات و فرضیه ها
۷	۱-۲- اصول کلی رده بندی گیاهان
۸	۲-۲- معرفی تیره نعناع
۹	۱-۲-۲- معرفی جایگاه گیاه مریم گلی
۱۰	۱-۱-۲-۲- <i>Salvia virgata Jacq.</i>
۱۰	۲-۱-۲-۲- <i>Salvia verticillata L.</i>
۱۰	۳-۱-۲-۲- <i>Salvia reuterana Boiss</i>
۱۱	۴-۱-۲-۲- <i>Salvia palestina Bth</i>
۱۲	۲-۲-۲- مشخصات گیاه مریم گلی گونه آفیشینال
۱۴	۳-۲-۲- پراکندگی جغرافیایی گیاه مریم گلی در ایران و جهان

- ۳-۲- ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه سالویا ۱۴
- ۱-۳-۲- آلکالوئیدها ۱۴
- ۲-۳-۲- فلاونوئیدها ۱۵
- ۳-۳-۲- تانن ها ۱۶
- ۴-۳-۲- ساپونین ها ۱۷
- ۵-۳-۲- گلیکوزیدهای سیانوژنتیک ۱۷
- ۶-۳-۲- تربنوییدها ۱۸
- ۱-۶-۳-۲- کلیاتی در مورد تربنوییدها ۱۸
- ۲-۶-۳-۲- تقسیم بندی ترپن ها و تربنوییدها ۲۰
- ۴-۲- ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه مریم گلی گونه آفیشینال ۲۸
- ۵-۲- مروری بر تحقیقات انجام شده در زمینه گیاه مریم گلی ۲۹
- ۶-۲- موارد مصرف اسانس مریم گلی ۳۳
- ۷-۲- دسته بندی خواص بیولوژیک ۳۳
- ۱-۷-۲- بی رنگ شدن بتاکاروتن توسط رادیکال لیپید پراکسیل جهت اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی ۳۵
- ۸-۲- روش های خشک کردن گیاهان ۳۶
- ۱-۸-۲- خشک کردن در هوای آزاد ۳۶
- ۲-۸-۲- خشک کردن به وسیله حرارت مصنوعی ۳۶
- ۹-۲- روش های اسانس گیری ۳۷
- ۱-۹-۲- روش تقطیر ۳۷
- ۱-۱-۹-۲- تقطیر ساده ۳۷
- ۲-۱-۹-۲- تقطیر با آب ۳۷
- ۳-۱-۹-۲- تقطیر با آب و بخار ۳۸
- ۴-۱-۹-۲- تقطیر با بخار ۳۸

- ۳۹ ۲-۹-۱-۵- استخراج و تقطیر با بخار به طور همزمان با یک حلال آلی
- ۳۹ ۲-۹-۱-۶- تقطیر با آب به روش سنتی
- ۳۹ ۲-۹-۲- روش استخراج با حلال
- ۴۱ ۲-۹-۱-۲- استخراج اسانس با حلال های فرار
- ۴۱ ۲-۹-۲-۲- استخراج اسانس با حلال های غیر فرار
- ۴۲ ۲-۹-۳- استخراج با استفاده از آنزیمهای هیدرولیز کننده
- ۴۲ ۲-۹-۴- استخراج اسانس به روش سیال فوق بحرانی (دی اکسید کربن)
- ۴۳ ۲-۹-۵- استخراج اسانس با استفاده از انرژی فرا صوت
- ۴۴ ۲-۱۰-۱- روش های جداسازی
- ۴۴ ۲-۱۰-۱- روش های کروماتوگرافی
- ۴۶ ۲-۱۰-۱-۱- کروماتوگرافی ستونی
- ۴۹ ۲-۱۰-۱-۲- کروماتوگرافی مسطح
- ۵۱ ۲-۱۱- روش های شناسایی ترکیبات موجود در گیاهان
- ۵۳ ۳-۱- مواد
- ۵۴ ۳-۲- دستگاه ها
- ۵۴ ۳-۳- تهیه و آماده سازی نمونه گیاهی
- ۵۵ ۳-۴- جداسازی ترکیبات فرار در گیاه
- ۵۶ ۳-۵-۵- تست بی رنگ شدن بتاکاروتن
- ۵۶ ۳-۵-۱- تهیه ی محلول بتاکاروتن
- ۵۶ ۳-۵-۲- تهیه ی محلول کنترل
- ۵۶ ۳-۵-۳- تهیه محلول استاندارد
- ۵۶ ۳-۵-۴- تست بی رنگ شدن بتاکاروتن بر روی اسانس
- ۵۸ ۴-۱- جداسازی ترکیبات فرار در گیاه

۶۴	۱-۵- جداسازی ترکیبات فرار در گیاه مریم گلی گونه آفیشینال به روش کلونجر
۶۴	۱-۱-۵- معرفی ترکیبات فرار موجود در گیاه مریم گلی گونه آفیشینال
۷۷	۲-۵- تست بی رنگ شدن بتاکاروتن
۷۹	منابع

فهرست شکل‌ها

فصل دوم

- شکل ۲-۱: جایگاه رده بندی گونه Salvia بر اساس تقسیم بندی CronQuest ۱۱
- شکل ۲-۲: تصویر گیاه مریم گلی گونه آفیشینال. ۱۳
- شکل ۲-۳: نحوه اتصال واحدهای ایزوپرنی در ترپنوییدها. ۱۹
- شکل ۲-۴: ساختار شیمیایی بعضی از انواع مونوترپنوییدها. ۲۱
- شکل ۲-۵: ساختار شیمیایی برخی از انواع سزکویی ترپنوییدها. ۲۲
- شکل ۲-۶: ساختار شیمیایی برخی از انواع دی ترپنوییدها. ۲۳
- شکل ۲-۷: ساختار برخی از استرول های اشباع نشده گیاهی. ۲۵
- شکل ۲-۸: اسکلت های کربنی اصلی در تری ترپنوییدهای پنج حلقه ای. ۲۷
- شکل ۲-۹: بتاکاروتن. ۲۸

فصل سوم

- شکل ۳-۱: دستگاه کلونجر. ۵۵

فصل چهارم

- شکل ۴-۱: کرمتوگرام به دست آمده از اسانس. ۵۸
- شکل ۴-۲: درصد ترکیبات موجود در نمونه بر اساس شماره پیک. ۶۲
- شکل ۴-۳: مجموع درصد ترکیبات موجود در نمونه بر اساس خانواده هر ترکیب. ۶۲
- شکل ۴-۴: نمودار بی رنگ شدن بتا کاروتن با گذشت زمان. ۷۸

فصل پنجم

- شکل ۵-۱: طیف جرمی کامفن. ۶۵
- شکل ۵-۲: طیف جرمی آلفا پینن. ۶۶
- شکل ۵-۳: طیف جرمی بتا پینن. ۶۶
- شکل ۵-۴: طیف جرمی میرسن. ۶۷
- شکل ۵-۵: طیف جرمی پارا سیمن. ۶۷
- شکل ۵-۶: طیف جرمی Eucalyptol. ۶۸
- شکل ۵-۷: طیف جرمی گاما ترپینن. ۶۹

- شکل ۵-۸: طیف جرمی آلفا توجون ۶۹
- شکل ۵-۹: طیف جرمی بتا توجون ۷۰
- شکل ۵-۱۰: طیف جرمی کامفور ۷۱
- شکل ۵-۱۱: طیف جرمی ایزوبورنیول ۷۲
- شکل ۵-۱۲: طیف جرمی ترپینن ۴-ال ۷۲
- شکل ۵-۱۳: طیف جرمی کاریوفیلن ۷۳
- شکل ۵-۱۴: طیف جرمی هومولن ۷۳
- شکل ۵-۱۵: مقایسه درصد ترکیب بین سالویاهای مختلف ۷۵
- شکل ۵-۱۶: مقایسه درصد ترکیب بین سالویا گونه آفیشینال در کشورهای مختلف ۷۷

فهرست جدول‌ها

فصل دوم

جدول ۲-۱: تقسیم بندی ترین ها و ترینویدها ۲۰

جدول ۲-۲: اثر روش خشک کردن بر روی میزان ترکیبات موجود در اسانس مریم گلی ۲۹

جدول ۲-۳: درصد ترکیبات جداشده با دو روش مختلف از گیاه مریم گلی ۳۰

فصل چهارم

جدول ۴-۱: نتایج مربوط به جداسازی ترکیبات موجود در گیاه مریم گلی گونه آفیشینال توسط دستگاه

کروماتوگرافی گازی ۵۸

فصل پنجم

جدول ۵-۱: مقایسه درصد ترکیب بین سالویاهای مختلف ۷۴

جدول ۵-۲: مقایسه درصد ترکیب بین سالویا گونه آفیشینال در کشورهای مختلف ۷۶

علام اختصاری

GC: Gas Chromatography

GC-MS: Gas Chromatography-Mass Spectroscopy

FT-IR: Fourier Transform Infrared

NMR: Nuclear Magnetic Resonance

TLC: Thin Layer Chromatography

چکیده

گیاه مریم گلی (گونه آفیشینال-نعناع) به دلیل مقادیر زیاد اسانس، به عنوان یکی از معروفترین گیاهان دارویی شناخته شده است و کاربردهای وسیعی در طب سنتی دارد. در این پایان نامه، قسمت‌های هوایی گیاه رشد یافته مریم گلی گونه آفیشینال، از گلخانه‌های سطح شهر شیراز جمع آوری شده و به مدت ۱۵ روز در سایه خشک گردید. اسانس آن با روش کلونجر استخراج شده و توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-جرمی آنالیز شد. بیست ترکیب در اسانس گیاه مریم گلی به عنوان ترکیبات اصلی شناسایی شد که شامل سیس توجون (۳۱/۳۵ درصد)، اکالیپتول (۱۳/۱۱ درصد)، گلوبالول (۲/۳۳ درصد)، ترانس توجون (۱۰/۰۵ درصد)، کامفور (۲۱/۰۵ درصد)، ایزو برونول (۱/۶۹ درصد)، آلفا پینن (۴/۵۴ درصد)، بتا پینن (۱/۶۸ درصد) و آلفا هومولون (۲/۷۱ درصد) می‌باشد. حضور غلظت بالایی از ترکیبات دارای اکسیژن مانند توجون، اکالیپول و کامفور در اسانس مریم گلی می‌تواند عامل خواص آنتی باکتری، آنتی اکسیدان، ضد قارچ و ضد التهاب این گیاه باشد. بنابراین گیاه مریم گلی بایستی جهت استفاده‌های درمانی و بیولوژیکی مورد مطالعه قرار گیرد. در اینجا فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مریم گلی از طریق سیستم بتاکاروتن-لینولیک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. این اسانس فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی نشان داد.

فصل اول

کلیات

۱-۱- مقدمه

گیاهان مختلفی وجود دارند که از دیر باز به دلیل داشتن خواص دارویی در طب سنتی استفاده می‌شوند. بسیاری از این کاربردهای درمانی به صورت تجربی و اکتسابی حاصل شده است. از طرفی با توجه به سمیت و اثرات نامطلوب داروهای شیمیایی و سنتزی، توجه بسیاری به سمت گیاهان دارویی جلب شده است. بر همین اساس نیاز به یک روش آسان و تکرارپذیر جهت استخراج و جداسازی مواد موثره در این گیاهان خدادادی به شدت احساس می‌شود. گیاه مریم گلی از جمله‌ی این گیاهان دارویی می‌باشد که دارای خواص دارویی متنوع از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچ، ضد میکروب و غیره می‌باشد. بسیاری از این خواص بستگی شدید به محل رویش و شرایط اقلیمی گیاه دارد. به همین علت در این مطالعه گیاه مریم گلی گونه آفیشینال که در گلخانه‌های شهر شیراز تولید می‌شود به عنوان نمونه انتخاب شد و فرآیند اسانس‌گیری و جداسازی بر روی آن انجام پذیرفت.

۱-۲- طرح موضوع

جداسازی و شناسایی ترکیبات فرار در گیاه مریم گلی گونه آفیشینال به روش کلونجر.

۱-۳- بیان مسئله

امکان جداسازی و شناسایی ترکیبات فرار در گیاه مریم گلی.

۱-۴- ضرورت انجام تحقیق

به طور کلی گیاهان جنس مریم گلی یکی از گیاهان مهم و پر مصرف در بسیاری از کشورهای جهان می‌باشند. در اروپا مردم محلی از گیاهان این جنس برای درمان از دست دادن حافظه استفاده کرده و می‌کنند.

در طب سنتی ایران از مریم گلی جهت درمان دیابت استفاده می‌شود. از خواص درمانی دیگر این گیاه در طب سنتی ایران می‌توان به تسهیل در هضم، مدر، ضد تشنج، تب بر، ضد عفونی کننده و مقوی قلب اشاره نمود. در طب سنتی چین از گیاهان این جنس برای درمان دیابت ملیتوس و آنژین صدری استفاده می‌شود و در طب سنتی ترکیه از اعضای این جنس جهت درمان روماتیسم استفاده می‌گردد. با توجه به گستره مصرف وسیع و کاربردهای متنوع گیاهان این جنس، محققین مختلف به مطالعه اثرات گوناگون گونه‌های مختلف این جنس از جمله اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابتی، آنتی‌کولین استرازی و غیره پرداخته‌اند و توانسته‌اند اثرات مفید گوناگونی از اعضای این جنس را به اثبات برسانند. به همین علت نیاز است که ترکیبات فرار موجود در گونه‌های بومی ایران نیاز به طور کامل شناسایی شود و مقدار هر کدام و اثرات آن‌ها بررسی گردد تا بتوان هر چه بهتر و موثرتر از این گیاه دارویی استفاده کرد.

۱-۵- اهداف پژوهش

الف- شناسایی ترکیبات فرار گیاه مریم گلی با استفاده از کروماتوگرافی گازی^۱.

ب- شناسایی ترکیبات جداشده و آنالیز آن‌ها با دستگاه‌های اسپکتروسکوپی جرمی^۲.

ج- بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مریم گلی با انجام تست بی‌رنگ شدن بتاکاروتن.

۱-۶- سوالات و فرضیه‌ها

ترکیبات فرار در این گیاه کدامند و از هر یک به چه اندازه وجود دارد؟

امکان تشخیص کدام یک از مواد موثره گیاه مریم گلی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی وجود دارد؟

^۱ Gas Chromatography (GC)

^۲ Mass Spectroscopy

موانع و مشکلات موجود بر سر راه این جداسازی چیست؟

آیا اسانس مریم گلی خاصیت آنتی اکسیدانی دارد؟ به چه میزان؟

فصل دوم

سابقه و پیشینه تحقیق

۲-۱- اصول کلی رده بندی گیاهان

به طور کلی گیاهان روی زمین به ۴ گروه بزرگ که به اصطلاح شاخه‌های گیاهی نام گرفته‌اند، تقسیم می‌شوند، که عبارتند از:

۱- ریشه داران^۱

۲- خزه ای ها^۲

۳- نهانزادان آوندی^۳

۴- پیدازادان^۴

شاخه پیدازادان خود شامل دو زیرشاخه می‌باشد، به نام‌های بازدانگان و نهاندانگان. در زیر شاخه نهاندانگان تخمک و دانه درون محفظه ای قرار دارد. این زیرشاخه خود به دو رده تک لپه‌ای‌ها و دو لپه‌ای‌ها تقسیم می‌شود. رده دو لپه‌ای‌ها که در آن‌ها گیاهک شامل ۲ لپ است، خود شامل سه زیر رده می‌باشد:

۱- بی گلبرگ‌ها

۲- جدا گلبرگ‌ها

۳- پیوسته گلبرگ‌ها

هر رده شامل راسته‌های زیادی است و هر راسته، از تعداد زیادی تیره و هر تیره از تعداد زیادی جنس و گونه گیاهی تشکیل یافته است (صادق م.، ۱۳۵۴).

^۱ Thallophyta
^۲ Bryophyta
^۳ Pteridophyta
^۴ Spermatophyta

۲-۲- معرفی تیره نعناع^۱

بر طبق بررسی‌های به عمل آمده در حدود ۴۰۰۰ گونه گیاهی در تیره نعناع وجود دارد که تقریباً در ۲۰۰ جنس جای داده شده‌اند. این گیاهان به وضعی در کره زمین پراکندگی دارند که در غالب نواحی یافت می‌شوند ولی بیشینه آن‌ها در منطقه مدیترانه می‌باشد.

این گیاهان عموماً علفی یک ساله یا پایا و دارای ساقه‌های راست یا خزیده‌اند. بعضی از آن‌ها مانند تیموس^۲ ظاهر بوته مانند و ساقه‌های متعدد و حبوبی شده دارند و در بین آن‌ها به ندرت نمونه‌های پیچیده یا درختچه مانند، ممکن است یافت شود.

از مشخصات این گیاهان آن است که ساقه‌های چهارگوش دارند. از قاعده ساقه آن‌ها نیز غالباً ساقه‌های فرعی منشا می‌گیرد که حالت خزنده در سطح زمین پیدا می‌کنند و یا درون خاک وارد گردیده و به صورت ساقه زیرزمینی در می‌آیند. در انواع چند ساله این گیاهان، ساقه‌های مسن ظاهر مدور دارند و این نیز بر اثر پیدایش لایه زاینده‌ای در ناحیه پوست ساقه‌های جوان است که با ایجاد بافت‌های جدید، موجب ریزش مجدد و از بین رفتن لایه‌های بیرونی، از خارج می‌گردد و با این عمل، ظاهر چهارگوش ساقه را از بین می‌برد. گیاهان تیره نعناع، عموماً برگ‌های متقابل، گاهی ساقه آغوش و به ندرت فراهم دارند. برگ‌های آن‌ها عموماً ساده است به طوری که وجود برگ‌های مرکب در آن‌ها دیده نشده است. گل‌های آن‌ها کامل، نامنظم، نرماده و مجتمع به صورت دسته‌هایی واقع در محور ساقه یا در قسمت انتهایی آن است.

در برخی از آن‌ها وضع اجتماع گل‌ها در قسمت انتهایی ساقه به نحوی است که به علت فشرده بودن ظاهری کاپیتول مانند پیدا می‌کنند. در انواع نادری از این گیاهان نیز گل‌ها به صورت منفرد بر روی ساقه ظاهر می‌گردد. گیاهان این تیره از نظر کلی دارای کاسه منتهی به ۵ قسمت و جام منتهی به ۵ لوپ اند، ۴ پرچم دارند

^۱ Labiatae

^۲ Thymus