



شناسایی و اندازه گیری ترکیبات موجود در اسانس برگ لیموترش توسط طیف سنج GC-MS

و بررسی فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانتی آن

محمد باقر پاشا زانوسی^{۱*}، مهدی رئیسی^۲، سید صابر میرکاظمی مقدم^۳

عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس،^۲ - عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد چالوس

* نویسنده مسئول:

pashazanousii@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق برگ لیموترش از باغات شهرستان چالوس جمع آوری و تحت شرایط سایه خشک گردید. روغن اسانسی ۱۰۰ گرم نمونه خرد شده گیاه به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت، توسط دستگاه کلونجراستخراج گردید و آنالیز مواد آن توسط دستگاه های GC و GC-MS ارزیابی شد. از ۳۶ ترکیب شناسایی شده در روغن اسانسی برگ گیاه که ۹۸/۶ درصد کل اسانس را در بر داشت، به ترتیب بتا-پینن (۲۰/۶٪)، لیمونن (۱۶/۸٪)، نیریل فرمات (۱۴/۸٪) و ژرانیول (۹/۳٪) ترکیبات اصلی روغن اسانسی می باشد. همچنین در بررسی عصاره متانولی و برش کلرفرمی مشخص شد که میزان IC₅₀ برای عصاره متانولی (M) (IC₅₀:۴۸/۱۷)، و برش کلرفرمی (C) (IC₅₀:۲۹/۲) بوده است که در مقایسه با BHT برش کلرفرمی فعالیت آنتی اکسیدانتی متوسطی را نشان داد. همچنین نتایج نشان داد که عصاره ها فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی داشتند. واژگان کلیدی: لیموترش، اسانس، آنتی اکسیدانت، آنتی باکتریال.

مقدمه

روغن های اسانسی، دسته ای از ترکیبات موجود در گیاهان می باشند که نقش مهمی در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی، عطرسازی و ... دارند. همچنین شیوع فراوان ضایعات پوستی در ایران و مقاومت تعدادی از باکتری های مولد این ضایعات به درمانهای آنتی بیوتیکی و با توجه به سمیت و عوارض جانبی داروهای مصرفی، ضرورت نیاز به داروهایی با عوارض جانبی و تداخلات دارویی کمتر و اثرات درمانی بالاتر را ایجاب می کند. از طرفی استفاده از اسانس لیموترش با توجه به ماده اولیه ارزان و روش تهیه آسان آن می تواند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی دیگر باشد. سندرا و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی بر روی لیموترش نشان دادند که از ۳۰ ترکیب شناخته شده در روغن اسانسی گیاه، ۳ منوترپن شامل لیمونن (۳۳/۹۰ درصد)، بتا-پینن (۲۱/۲۱ درصد) و گاما- ترپینن (۱۷/۴۰ درصد) اصلی ترین ترکیبات موجود در روغن اسانسی می باشند. در تحقیقی دیگر مینویی و همکاران (۲۰۰۶) نقش ضد باکتریال اسانس پرتقال را بررسی نمودند. لذا با توجه به موارد فوق ضرورت تحقیق حاضر با عنوان، شناسایی و اندازه گیری ترکیبات موجود در اسانس برگ لیموترش (*Citrus limon*) که از گیاهان بومی ایران بوده و بررسی اثرات آنتی اکسیدانتی و آنتی باکتریایی آن به خوبی حس می شود.



مواد و روش‌ها

برگ لیموترش پس از تایید از باغ کشاورزی مزکز تحقیقات جهاد کشاورزی از باغات شهرستان چالوس جمع آوری و تحت شرایط سایه و بدون رطوبت خشک گردید. سپس نمونه‌ها به قطعات کوچک خرد شده و بر روی ۱۰۰ گرم آن به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر طرح فارماکوپه بریتانیا اسانس گیری به عمل آمد. در محل تاریک و بدون رطوبت، خرد شده و به آزمایشگاه انتقال داده شد. اسانس به دست آمده توسط سدیم سولفات رطوبت زدایی و به منظور شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به دستگاه طیف سنج GC-MS تزریق شد. به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدان و آنتی باکتریال از ۳۰ گرم نمونه خشک و پودر شده، عصاره متانولی و سپس برش کلروفرمی تهیه گردید. سپس فعالیت ضد میکروبی بر روی باکتری گرم مثبت *S.aureus* و گرم منفی *E. coli* انجام و اثرات آنتی اکسیدانتی به روش DPPH انجام گرفت و در نهایت جذب توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

نتایج و بحث

با مطالعه و بررسی دقیق اندیس های بازداري، طیف های جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیبات استاندارد، ۳۶ ترکیب در اسانس برگ شناسایی شده که ۹۸/۶ درصد کل اسانس را تشکیل دادند. این روغن اسانسی شامل ۶/۸ درصد منوترپن های هیدروکربنی، ۴۹/۱ درصد منوترپن های اکسیژن دار، ۲/۵ درصد سزکویی ترپن های هیدروکربنی و ۱/۶ درصد ترکیبات غیر ترپنی بوده است. به طوری که ۴ ترکیب بتا-پینن (۲۰/۶٪)، لیمونن (۱۶/۸٪)، نیریل فرمات (۱۴/۸٪) و ژرانیول (۹/۳٪) ترکیبات اصلی روغن اسانسی می باشد (جدول ۱). در بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره های متانولی و کلروفرمی برگ لیمو که نتایج آن در (جدول ۲) آمده است نشان می دهد که برش کلروفرمی (C) نسبت به عصاره متانولی (M) اثر آنتی باکتریال بالاتری داشته به طوری که باکتری گرم منفی *E. coli* حساس تر است. به عبارت دیگر عصاره ها فعالیت ضد میکروبی متوسط تا قوی از خود نشان دادند. همچنین در بررسی فعالیت آنتی اکسیدانتی، که نتایج آن در (جدول ۳) آمده است، نشان داد که میزان IC_{50} برای عصاره متانولی (M) ($IC_{50}: 48/17$)، و برش کلروفرمی (C) ($IC_{50}: 29/2$) بوده است که در مقایسه با BHT برش کلروفرمی فعالیت آنتی اکسیدانتی متوسطی را نشان داد. لاریجانی (۲۰۰۸) در بررسی روغن اسانسی برگ لیمو ترش ۳۴ ترکیب را شناسایی نموده که بتا-پینن، لیمونن و ژرانیول به عنوان ترکیبات اصلی معرفی شدند. (۲۱) همچنین سلیم الرحمان و همکاران (۲۰۰۷) اثرات ضد میکروبی مرکبات و تاثیر آنها به عنوان عامل بازدارنده بر رشد میکروبی مورد بررسی قرار داد.

جدول (۱) - ترکیب درصد مواد موجود در روغن اسانس برگ لیموترش (*Citrus limon*)

نام ترکیب	KI	برگ (%)
nonane	900	0.1
α -thujene	930	0.2
α -pinene	939	1.6
camphene	954	0.1
sabinene	975	0.1
β -pinene	979	20.6
myrcene	991	1.5
α -phellandrene	1003	0.2
iso-sylvestrene	1009	0.5
α -terpinene	1017	0.2
limonene	1029	16.8
Z- β -ocimene	1037	0.4
E- β -ocimene	1050	0.8
γ -terpinene	1060	0.5
terpinolene	1089	0.2
linalool	1099	7.5
citronellal	1153	1.5
Z-chrysanthenol	1164	0.5
terpinene-4-ol	1177	0.2
Z-dihydro carvone	1193	0.8
α -terpineol	1188	0.5
n-decanal	1202	0.1
neral	1238	8.1
geraniol	1253	9.3
geranial	1267	4.4
neryl formate	1282	14.8
undecanal	1307	0.1
citronellyl acetate	1353	0.1
neryl acetate	1362	2.3
geranyl acetate	1381	1.9
β -caryophyllene	1419	1.4
E- α -bergamotene	1435	0.2
α -humulene	1455	0.1
bicyclogermacrene	1500	0.5
β -bisabolene	1506	0.4
δ -cadinene	1523	0.1
Total		98.6 %

جدول ۳ فعالیت آنتی اکسیدانتی عصاره های *C.limon*

IC ₅₀ (μ g/ml)	عصاره
48.17238	متانولی (M)
29.19759	برش کلروفومی (C)
8	BHT

جدول شماره ۲- بررسی اثر آنتی باکتریال

		M	C
		mg/ml	
<i>S. aureus</i>	MIC	32	128
	MBC	128	>256
<i>E. Coli</i>	MIC	128	>256
	MBC	256	>256

نتیجه گیری کلی

شناسایی ترکیبات موجود در روغن اسانس گیاهان دارویی به ویژه گونه لیمو ترش و همچنین بررسی اثرات آنتی باکتریال و آنتی اکسیدانتی آند بسیار حائز اهمیت است. به طوری که از ۳۶ ترکیب شناسایی شده که ۹۸/۶ درصد کل اسانس را شامل می شود. بتا-پینن، لیمونن، نیریل فرمات و ژرانیول اصلی ترین ترکیبات می باشند. از طرف دیگر عصاره های متانولی و برش کلروفومی برگ لیموترش دارای خاصیت آنتی اکسیدانتی و ضد میکروبی می باشند. به طوری که برش کلروفومی دارای اثر آنتی باکتریال بالاتر و



خاصیت آنتی اکسیدانتي بیشتری دارد. لذا ضروری است با توجه به اثبات خواص دارویی لیموترش، انگیزه لازم برای حفظ و حراست آن به یک فرهنگ تبدیل گردد.

منابع

۱. مینویی س و همکاران. ۱۳۸۶. بررسی نقش ضد باکتریال اسانس پرتقال بر روی باکتری های هوازی و بی هوازی در بیماران مبتلا به ضایعات پوستی. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۰. شماره ۳. صفحه ۱۹۰ تا ۱۹۵.
۲. لاریجانی ک. ۱۳۸۷. عصاره گیری، خالص سازی و شناسایی ترکیبات طبیعی به همراه آنالیز روغن اسانسی برخی از گیاهان بومی ایران. پ، دو ماهنامه مهر و آبان، صفحه ۷۵ تا ایان نامه دوره دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
3. S. R. Fuselli., S.B. Garsa., 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of citrus essences on honeybee bacterial pathogen paenibacillus larvae, world journal of microbiology and biotechnology, 10(4): 40-52
4. S. U. Rehman., S. Hussain., H. Navaz. 2007. Inhibitory effect of citrus peel essential oils on the microbial growth of bread. Pakistan journal of nutrition, 6(6):558-561.

Identification and determination of components of *Citrus limon* essential oil by GC-MS spectrophotometry and study of its antibacterial and antioxidant activity

M.B. Pasha Zanousi^{1*}, M. Raeesi², S.S. Mirkazemi moghadam³

1 Faculty Member of Islamic Azad University, Ghaemshahr Branch, 2 member of young researchers club of Islamic Azad University chalous branch

* Corresponding pashazanousii@yahoo.com

Abstract

In this research, samples of *citrus limons* leaves were. Collected in ereus of chalous gardens. 100 gr samples were air-dried in the shade. Extraction carried out by hydro-distillation technic by modified clevenger trap for three hours. Analysis was evaluated by GC and GC-MS apparatus. Among 36 identified compounds of the essential oils of herb leaves, beta- pinene (20/6%), limonene(16/8%) and geraniol(9/3%) were the major compounds.

Keywords: minimum, *citrus limons* essential oils.