اندازه‌گیری سالیسیلیک اسید پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن (*Populus deltoides & P. euramerican*) به روش HPLC

جواد ترکمن[1]*، شهره سیام[2]

۱- استادیار، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، گیلان
۲- مربی، دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان، گیلان
*آدرس مکاتبه: گیلان، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه گیلان، تلفن: ۳۲۲۰۸۹۵ (۰۱۸۲)، نمابر: ۳۲۲۳۶۰۰ (۰۱۸۲)
پست الکترونیک: j_torkaman@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۱۴ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۷/۱۳

چکیده

مقدمه: تیره بیدیان[1] شامل جنس بید و صنوبر می‌باشد. گونه‌های مختلف این خانواده به خصوص بید[2] از نظر داشتن ماده سالیسین در پوست آن دارای جایگاه خاصی در کتب طب سنتی است. شناسایی و بررسی خواص دارویی گونه‌های مختلف این تیره گامی در جهت شکوفایی صنایع دارویی و توسعه پایدار گیاهان دارویی کشور می‌باشد.

هدف: این پژوهش جهت اندازه‌گیری ماده سالیسیلیک اسید در پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن انجام شده است.

روش بررسی: بعد از جمع‌آوری و خشک کردن پوست درصد کلی مواد استخراجی پوست هریک از گونه‌ها بر طبق استاندارد TAPPI با استفاده از حلال‌های استن، اتانل و آب اندازه‌گیری شدند و برای اندازه‌گیری میزان سالیسیلیک اسید از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[3] استفاده شده است.

نتایج: نتایج نشان می‌دهد که کل مواد استخراجی پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن به ترتیب ۱۲/۲ و ۱۷/۷ درصد وزن پوست است. کروماتوگرام‌های به دست آمده نشان می‌دهد که مواد محلول در آب هریک از گونه‌ها دارای ۳۲ ترکیب می‌باشد که دو ترکیب بیشترین مقدار را دارد که یکی از آن دو ماده سالیسیلیک اسید است. مقدار سالیسیلیک اسید در مواد استخراجی پوست صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن به ترتیب ppm ۱۴/۷ و ۱۹/۵ می‌باشد.

نتیجه‌گیری: به طور کلی این پژوهش نشان می‌دهد که جنس صنوبرها دارای سالیسیلیک اسید می‌باشند. اما مقدار آن کمتر از جنس بید می‌باشد. مقدار سالیسیلیک اسید در پوست صنوبر اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس است. ترکیب‌های چربی دوست پوست اورامریکن دو برابر دلتوئیدس است. در حالی‌که بین ترکیب‌های آب‌دوست آنها تفاوت زیادی وجود ندارد.

گل‌واژگان: سالیسیلیک اسید، صنوبر اورامریکن، صنوبر دلتوئیدس، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

[1] Salicacea 2 Salix alba [3] HPLC

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]

مقدمه

گیاهان دارویی در طول تاریخ همیشه با انسان قرابت خاصی داشته‌اند و آثار دارویی و موارد استفاده آن بر هیچ‌کس پوشیده نیست. اگرچه علاقه‌مندی و توجه به این گیاهان مفید در سال‌های گذشته ناچیز بود. ولی خوشبختانه اخیراً مورد توجه و عنایت بیشتری قرار گرفته است. گیاهان مواد شیمیایی مختلفی را در دیواره سلولی خود جمع می‌کنند که این مواد را می‌توان به دو دسته کلی تقسیم‌بندی کرد. دسته اول موادی که در نتیجه متابولیسم اولیه گیاه تولید می‌شوند نظیر پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها. دسته دوم موادی که ناشی از متابولیسم ثانویه هستند نظیر ترکیب‌های فنولیک، ترپنوئیدها و آلکالوئیدها این ترکیب‌های به نظر نمی‌رسد که در فعالیت حیاتی گیاهان نقش اساسی بازی کنند. در صورتی که در تشکیل غذا و تغذیه دارای اهمیت می‌باشند و به طور گسترده توسط صنایع کشاورزی و دارویی مورد مصرف قرار می‌گیرند. پوست، برگ و جوانه‌های درختان خانواده بیدیان حاوی گلیکوزیدهای فنلی مشتقات سالیسیلات‌ها همچون سالیسین و پوپولین (بنزیل سالیسین) هستند. پوست درخت بید خاصیت تب بر و ضدروماتیسمی دارد.

روش‌های کروماتوگرافی مختلفی جهت اندازه‌گیری و شناسایی ترکیب‌ها وجود دارد که یکی از مهم‌ترین آنها کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا است. در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا اغلب از ستون‌های پرشده با ذرات ریز فاز ساکن استفاده می‌شود. به همین علت سطح بیشتری از فاز ساکن در ستون در معرض اجزای نمونه قرار می‌گیرد و در نتیجه بازده جداسازی در این روش از سایر روش‌های کروماتوگرافی بیشتر است.

ترکمن و همکاران (۱۳۸۵) در یک بررسی به روش اسپکتروفتومترمقدار سالیسین پوست و برگ درختان بید واقع در سه منطقه رویشگاهی آق اولر، دیلمان و خشکبیجار استان گیلان را اندازه‌گیری نمودند و نتیجه گرفتند که به طور متوسط مقدار مواد مستخرجه برگ و پوست به ترتیب ۲۹/۷٤ و ۱۳/۰۳ درصد است. میزان متوسط سالیسین برگ و پوست درختان بید به ترتیب ۸/٦٤ و ۷/۳٦ درصد به دست آمد [۱۱].

ایرون و همکاران در سال‌های ۱۹٦۸، ۱۹٦۹، ۱۹۷۱ از برگ و پوست درختان صنوبر[1] از طریق آب داغ مواد استخراجی را خارج و از طریق استخراج مایع به مایع با استفاده از اتیل استات مواد جدا شده را از ستون کروماتوگرافی با پلی‌آمید عبور داده و مواد جذب شده در ستون را با آب خارج نموده و ترکیب‌های کریستالیته شده را جداسازی نمود که عبارتند از: سالیسین، سالیسیل الکل، پیروکاتکول سینامیک اسید و پاراکوماریک اسید بازده تمام ترکیبات معرفی شده در برگ‌های ماه سپتامبر خیلی کمتر از ماه مه به دست آمده است [۲،۳،٤،۵].

فرناندز و همکاران (۲۰۰۱) به روش کروماتوگرافی[2] از مواد استخراجی چوب صنوبر ۷۰ ترکیب به دست آوردند که ٤٤ نوع آن در مقایسه با استانداردها شناسایی شدند [٦].

با توجه به اینکه بیشتر بررسی‌های انجام شده بر روی سالیسین پوست گونه درخت بید می‌باشد و از این خانواده گونه صنوبر نیز دارای کلن‌های مختلفی است که کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. لذا هدف از این بررسی اندازه‌گیری سالیسین پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از پوست گونه صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن در مرکز تحقیقات صفرا بسته گیلان انجام گرفت. این منطقه در ٦ کیلومتری شمال غربی آستانه اشرفیه واقع است، طول جغرافیایی آن ′۵۵ و °٤۵ شمالی و عرض جغرافیایی آن ′۱۷ و °۳۷ شرقی و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۰ متر می‌باشد. با توجه به اینکه قطر درخت و ارتفاع نمونه‌برداری پوست از درخت تاثیر تعیین‌کننده‌ای بر درصد کلی مواد استخراجی ندارد. برای این تحقیق درختانی با گروه قطری ٦۰ ـ ۳۰ سانتی‌متر انتخاب و در فاصله یک متری از سطح زمین

[1] p. balsamifera ،p. tremuloides ،p. trichocarpa
[2] GC-MS

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]

نمونه‌برداری انجام گرفت. ابتدا پوست‌های تهیه شده در هوای آزاد خشک شده و سپس بدون جدا سازی پوست داخلی و خارجی به وسیله دستگاه خرد کن و آسیاب موجود در کارخانه چوب و کاغذ ایران (چوکا) به آرد پوست تبدیل گردید. به منظور جداسازی کرک‌های پوست، آرد پوست از الک ٤٠ مش عبور داده شد.

برآورد بازده کلی استخراج

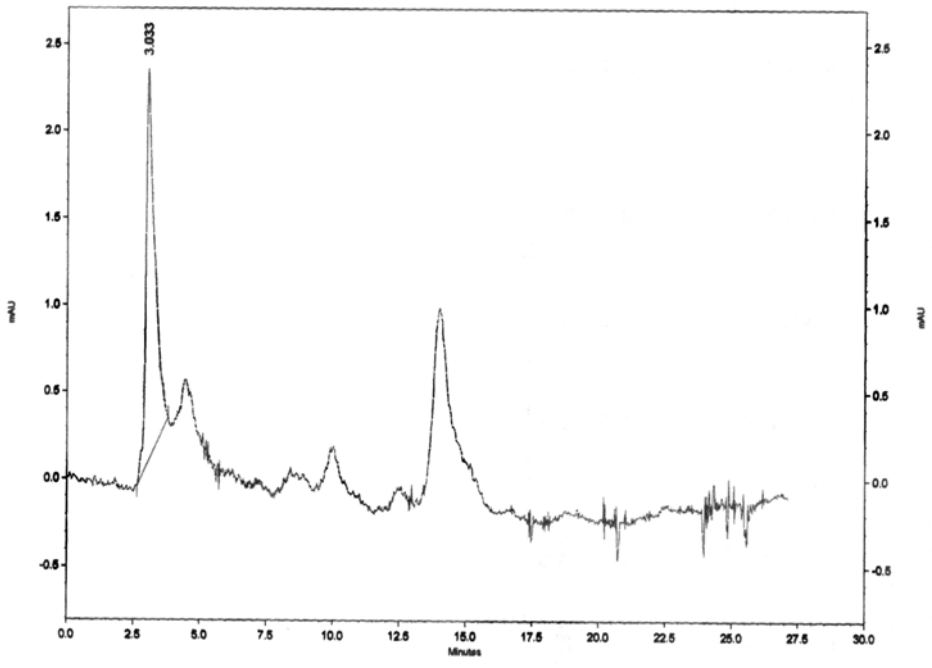
درصد کلی مواد استخراجی پوست بر طبق روش استاندارد TAPPI (T204om-88) که شامل سه مرحله استن، الکل و آب در داخل دستگاه سوکسله است [٧].

برآورد میزان سلیسیلیک اسید

مقدار ٥ گرم نمونه خشک را وزن کرده و به داخل یک بشر ١٥٠ میلی‌لیتر انتقال داده و مقدار ٤٠ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. به مدت ٣ ساعت در حمام آب گرم در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. مخلوط داخل بشر را از طریق کاغذ صافی صاف کرده و دوباره با ٥ میلی‌لیتر آب مقطر گرم شستشو داده ومحلول زیر صافی را داخل یک بالن ٥٠ میلی‌لیتر به حجم رساندیم. ٢٠ میلی‌لیتر از محلول را برداشته و از داخل یک ستون AL_2O_3 (١٠ × ١ سانتی‌متر) به مدت ١٥ ساعت عبور داده شد تا ترکیب‌های کلروفیلی و مشتقات آن حذف شود. پس از عبور کل محلول از ستون و رساندن حجم محلول به ٢٥ میلی‌لیتر مقدار ١ میلی‌لیتر از محلول را از صافی ٤٠ میکرون عبور داده و مقدار ١٠ میکرولیتر را به دستگاه HPLC با شرایط زیر تزریق شد.

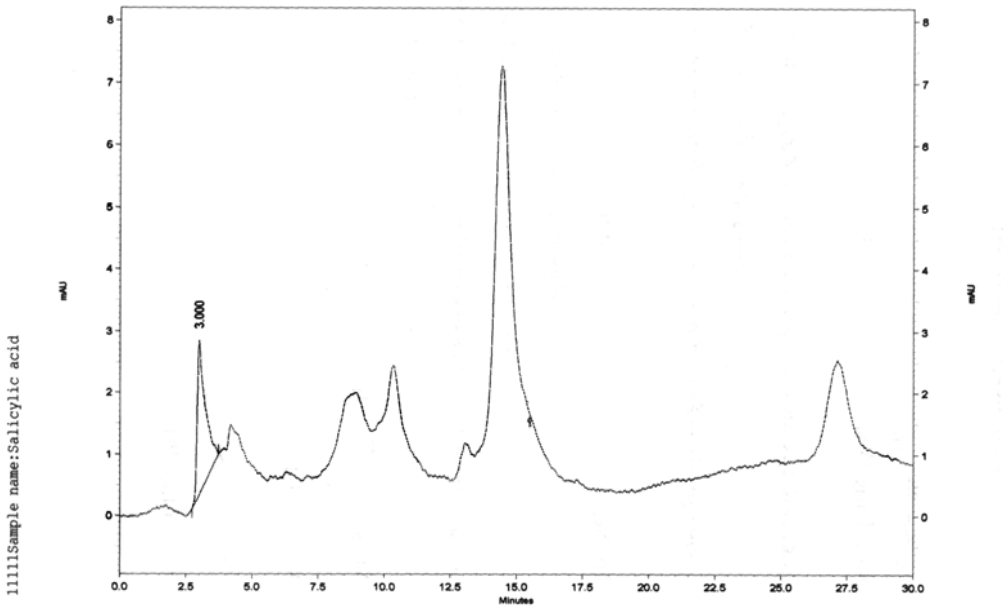
ستون C / 8، سرعت فاز حامل ($^{ml}/_{min}$ ٠/٨)، فاز حلال (H_2O, CH_3CN, H_3PO_4) به نسبت ٩٥:٤:١)، λ=254 nm

با توجه به زمان بازداری طیف استاندارد سالیسیلیک اسید(شکل شماره ٣) و منحنی کالیبراسیون (شکل شماره ٤) مقدار کمی سالیسیلیک اسید پوست درختان دلتوئیدس و اورامریکن محاسبه شد.

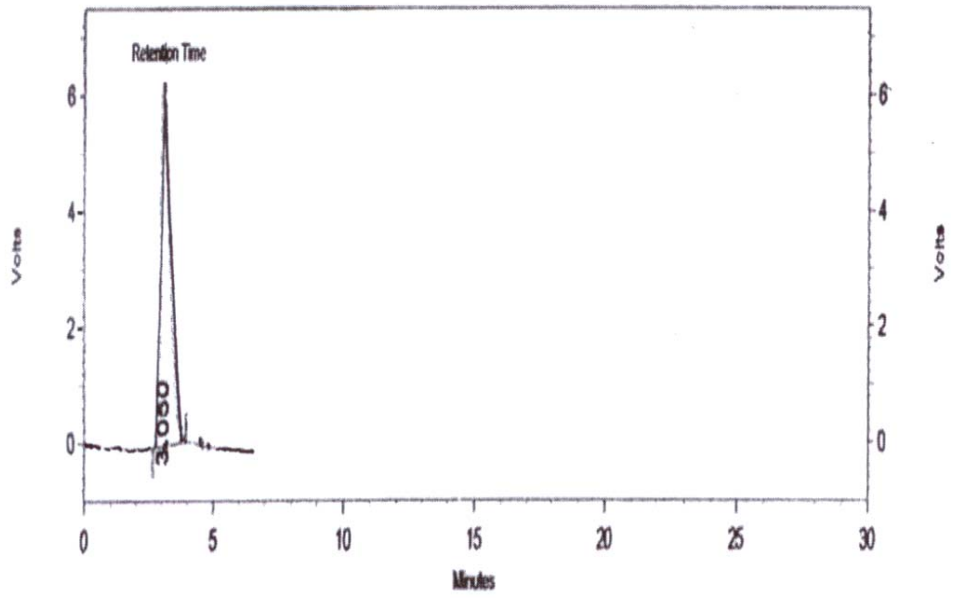


شکل شماره ١- پیک‌های حاصل از تزریق مواد استخراجی محلول درآب پوست صنوبر دلتوئیدس در دستگاه HPLC

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]



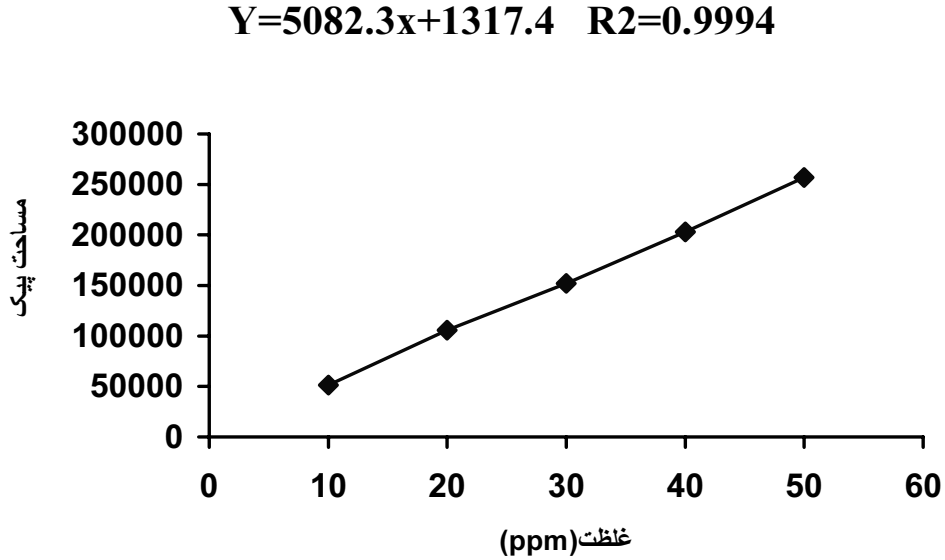
شکل شماره ۲- پیک‌های حاصل از تزریق مواد استخراجی محلول درآب پوست صنوبر اورامریکن در دستگاه HPLC



شکل شماره ۳- پیک مربوط به تزریق سالیسیلیک اسید در دستگاه HPLC

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]



شکل شماره ٤- منحنی کالیبراسیون سالیسیلیک اسید

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری درصد کلی مواد استخراجی پوست هر یک از گونه‌های مورد بررسی بر طبق روش استاندارد Tappi مطابق آئین نامه T204om-88 در جدول شماره ۱ مندرج است.

بحث

با توجه به جدول شماره ۱ بازده کلی مواد استخراجی پوست صنوبر اورامریکن (۱۷/۷ درصد) بیشتر از صنوبر دلتوئیدس (۱۲/۲ درصد) است. میزان مواد محلول در حلال استن پوست اورامریکن دو برابر دلتوئیدس است که نشان‌دهنده بیشتر بودن ترکیب‌های چربی نظیر استرها و استروئیدهای اورامریکن نسبت به دلتوئیدس می‌باشد.

ترکمن و همکاران (۱۳۸۷) بازده کلی مواد استخراجی پوست درختان گردو، بلوط، توسکا، ممرز و راش را به ترتیب ۲۹/۸، ۲۳/۲، ۱۷/۹ و ۱٦/۸ درصد وزن پوست گزارش کردند [۸]. به طور متوسط درصد مواد استخراجی پوست درختان سوزنی برگ ۲۵ درصد و پوست درختان پهن برگ ۱۷ درصد گزارش شده است [۹] که از بین دو گونه صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن بازده مواد استخراجی صنوبر اورامریکن در حد بازده درختان پهن برگ و گونه‌های جنگلی است.

طبق جدول شماره ۲ مقدار سالیسیلیک اسید پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن که به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به دست آمده به ترتیب ppm ١٤/٧ و ۱۹/۵ به دست آمده که نشان می‌دهد مقدار سالیسیلیک اسید پوست اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس می‌باشد. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهند که مقدار سالیسین موجود در جنس صنوبر کمتر از جنس بید می‌باشد. ترکمن و همکاران (۱۳۸۵) به روش اسپکتروفتومتری میزان بازده مواد استخراجی و سالیسین پوست درخت بید را به ترتیب ۱۳/۰۳ و ۷/۳٦ درصد عنوان کردند و نشان دادند که منطقه رویشگاهی بر دو فاکتور بازده مواد استخراجی و مقدار سالیسین موثر است [۱].

مقدار سالیسیلات‌های پوست درختان Salix fragilis، S. purpurea و White Willow بین ۱/۵ - ۱۱ درصد گزارش شد که شامل سالیسین و مشتقات آن سالیکورتین، پوپولین، فراگلین و تریمولاسین می‌باشد [۱۰،۱۱].

مطابق شکل‌های شماره ۱ و ۲ در اثر تزریق مواد استخراجی محلول در آب پوست هریک از گونه‌های دلتوئیدس و اورامریکن ۳۲ ترکیب با مساحت و زمان بازداری متفاوت به دست آمد که دو ترکیب آن بیشتر از بقیه است که در مقایسه با پیک استاندارد (شکل شماره ۳) یکی از آن دو سالیسیلیک اسید می‌باشد.

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]

جدول شماره ۱- بازده استخراج مواد استخراجی پوست صنوبردلتوئیدس و اورامریکن

آردپوست خشک (٪)	استن (٪)	الکل (٪)	آب داغ (٪)	بازده استخراج (٪)
صنوبر دلتوئیدس	۳	۲	۷/۲	۱۲/۲
صنوبر اورامریکن	٦/٤	۳	۸/۳	۱۷/۷

جدول شماره ۲- بازده سالیسیلیک اسید پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن

آردپوست خشک	صنوبر دلتوئیدس	صنوبر اورامریکن
سالیسیلیک اسید (ppm)	١٤/٧	١٩/٥

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج گویای این واقعیت است که در خانواده بیدیان علاوه بر جنس بید دوکلن جنس صنوبر در ایران دارای ماده سالیسیلیک اسید می‌باشند که مقدار آن در این کلن‌ها متفاوت است. علاوه بر سالیسیلیک اسید ترکیب‌های دیگری نیز در پوست آنها وجود دارد به طوری که ترکیب‌های چربی دوست اورامریکن دو برابر دلتوئیدس است در حالی که بین ترکیب‌های آب دوست آنها تفاوت چندانی دیده نمی‌شود.

منابع

1. Torkaman J, Porbabai H. Measurement of Salicin in bark and leaf of white willow (salix alba) with Spectrophotometric method in Guilan province. *Pajouhesh & Sazandegi* 2006; NO: 72: 97 - 102.

2. Irwin A. Pearl, Stephen F. Darling. Studies on the leaves of the family Salicaceae-XI the hot water extractives of the leaves of populus Balsamifera. *J. Phytochem*. 1968; Vol. 7: 1845 - 9.

3. Irwin A. Pearl, Stephen. F. Darling. Studies on the barks of the family Salicaceae-XVII Trichoside, A New Glucoside from the bark of populus trichocarpa. *J. Phytochem*. 1968; Vol. 7: 825 - 9.

4. Irwin. A. Pearl, Stephen. F. Darling. Investigation of the hot water extractives of populus Balsamifera Bark. *J. Phytochem*. 1969; Vol. 8: 2393 - 6.

5. Irwin. A. Pearl, Stephen. F. Darling. Hot water phenolic extractives of the Bark and leaves of Diploid populus Tremuloides. *J.Phytochemistry*. 1971, Vol. 10 pp: 483 - 4.

6. Fernandez MP, Watson PA, Breuil C. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method for the simultaneous determination of wood extractive compounds in quaking aspen. *J. Chromatography A*. 2001; 922: 223 - 33.

7. TAPPI (Technical Association of the pulp and paper industry) test methods. 1992 - 1993. *Tappi Press.*

8. Torkaman J, Seyam SH. Measurment of tannin in treebarks of Oak, Beech, Alder, Hornbeam and Black Walnut. *J. Medicinal Plant* 2009; 8 (29): 58 - 63.

9. http//www.chem.vt.edu/chem.dept/helm3434wood/notes1/extract.htm1-16k

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]

10. McGuffin M. Hobbs C, Upton R, Goldberg. A.American Herbal Products Associations Botanical Safety Handbook. BocaRaton. Newyork: CRC press. 1997, 231.

11. Meier B, Sticher O, Julkunen-Titto R. Pharmaceutical Aspects of the use of willows in Herbal Remedies. *Planta Medica* 1988; 559 - 60.

[Downloaded from mail.jmp.ir on 2026-10-01]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2010.9.36.13.5]