



नेपाल सरकार
वन तथा वातावरण मन्त्रालय
वनस्पति विभाग



प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला

Natural Products Research Laboratory (NPRL)

An ISO/IEC 17025:2017 Accredited Laboratory

आ. व. २०७६/०७७ मा सञ्चालित कार्यक्रमको

वार्षिक प्रगति प्रतिवेदन

Annual Report 2076/077



वनस्पति विभाग तथा प्रयोगशाला मित्र खिचिएका सामूहिक तस्वीरहरु



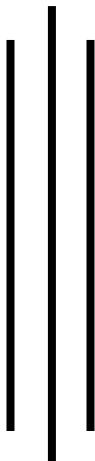


नेपाल सरकार
वन तथा वातावरण मन्त्रालय
वनस्पति विभाग



प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला

An ISO/IEC 17025:2017 ACCREDITED LABORATORY



आ. व. २०७६/०७७ मा सञ्चालित कार्यक्रमको

वार्षिक प्रगति प्रतिवेदन

Annual Report 2076/077

२०७७

सर्वपादक मण्डल

सल्लाहकार

श्री सन्जीव कुमार राई, महानिर्देशक, वनस्पति विभाग
श्री मोहन देव जोशी, उप-महानिर्देशक, वनस्पति विभाग

संयोजक

श्री देवी प्रसाद भण्डारी, कार्यालय प्रमुख

सदस्य

श्री कृष्ण कुमार साह
श्री प्रदीपिका आचार्य
श्री लक्ष्मण भण्डारी
श्री दिपेश उप्रेती खत्री
श्री शान्ता सापकोटा
श्री सरीता पौडेल

सदस्य सचिव

श्री चेतना खगाल

आवरण तस्वीर (अगाढी)

बाँचा बाट दाँचा: *Asparagus filicinus* Buch. Ham ex D.Don & Dried Rhizome of *Paris polyphylla* Sm. (PC: C. Khanal),
Herbal Hand Sanitizer & Rota evaporator (PC: L. Bhandari)

आवरण तस्वीर (एकाढी)

Group photograph at Pharmacognosy Museum of NPRL (PC: K. Pokhrel)

प्रतिवेदन तथारी तथा प्रकाशन

प्राकृतिक सम्पद अनुसन्धानशाला
थापाथली, काठमाडौं ।

संख्या: २०० प्रति

Tel: +977-1-4266856 | +977-1-4268247

Fax: +977-1-4251141

Email: info@nprl.gov.np

www.nprl.gov.np



नेपाल सरकार
बन तथा वातावरण मन्त्रालय

वनस्पति विभाग

(..... वनस्पति विभाग शाखा)

४२६१५६६
४२६१५६७
४२५९९६०
४२५९९६१



फ़्याक्स नं.: ४२५९९८९

पत्र संख्या:- ०१७६|०६८

चलानी नम्बर:-

ईमेल:- info@dpr.gov.np

वनस्पतिमार्ग, थापाथली
काठमाडौं

शुभकामना

वनस्पति विभाग अन्तर्गत रहेको प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालाले आर्थिक वर्ष २०७६/२०७७ को स्वीकृत कार्यक्रममा भएका अध्ययन, अनुसन्धान, प्रमाणिकरण एवं सार्वजनिक विश्लेषण लगायतका क्रियाकलापहरु समाविष्ट गरी वार्षिक प्रगति प्रतिवेदनको पुस्तिका प्रकाशन गर्न लागेकोमा अनुसन्धानशालालाई धन्यवाद दिन चाहन्छु । वनस्पति क्षेत्रमा भएका अध्ययन तथा उपलब्धीहरु यस प्रकाशनले सरोकारवाला समक्ष पुऱ्याउनेमा म विश्वस्त छु ।

नेपालका जडिबुटीहरुमा विशेष औषधीजन्य गुणहरु रहेको तथ्य विभिन्न खोज तथा अनुसन्धानहरुबाट उजागर भएको छ । यस्ता औषधोपयोगी वनस्पतिहरुको रासायनिक तथा जैविक तत्वहरुको अव्येषणमा यस अनुसन्धानशालाको उल्लेखनीय भूमिका रहेदै आएको छ । यस परिप्रेक्षमा सुगम्यत तेलजन्य वनस्पति तथा जडिबुटीहरुको अध्ययन अनुसन्धानलाई तीव्रता दिई तिनमा रहेका औषधीजन्य पदार्थहरु छुट्ट्याई स्तरीकरण गर्नाले नेपालका जडिबुटीहरुको नियात प्रवर्धनमा योगदान पुऱ्याउन सकिन्छ । नेपाली जडिबुटीको उपयोगबाट विभिन्न प्रकारका सामग्री उत्पादन गर्नेतर्फ खोजलाई केन्द्रित गर्ने र प्राप्त नवीनतम ज्ञान तथा प्रविधिको हस्तान्तरण भई व्यवसायीकरण हुन सकेमा विभाग एवं अनुसन्धानशालाको महत्वै थप उजागर हुन्छ । अनुसन्धानशालाले अनुसन्धानको साथसाथै वनस्पतिजन्य पदार्थको प्रमाणीकरण एवं सिफारिस गरी निर्यात प्रवर्धनमा अन्तर्राष्ट्रिय गुणस्तर (ISO/IEC17025: 2017) बमोजिम सेवा प्रवाह गर्दै आएकोमा धन्यवाद ज्ञापन गर्दछु र आगामी दिनहरुमा पनि यसलाई निरन्तरता दिई अझ गुणस्तरीय, समय सारेक तथा प्रभावकारी रूपमा सेवा प्रवाह गर्नेमा आशावादी रहेको छु ।

आर्थिक प्रगति पुस्तकको प्रकाशनबाट अनुसन्धानशालामा वर्षभरी सम्पादित कार्यहरुको अभिलेखीकरण भई अध्ययन, अनुसन्धानमा संलग्न सम्पूर्ण सरोकारहरुलाई उपयोगी हुने विश्वास लिएको छु । अनुसन्धानशालालाई आगामी वर्षहरुमा नवीनतम खोजमा सफलता मिल्नुका साथै सार्वजनिक सेवा प्रवाहमा थप पारामिटरहरुमा गुणस्तर प्राप्त गरी नमूना प्रयोगशालाको रूपमा स्थापित होस् भन्ने शुभकामना व्यक्त गर्दछु ।

अन्त्यमा, सम्पूर्ण वार्षिक कार्यक्रमहरुको प्रगति समावेश गरी पुस्तकको रूपमा प्रकाशन गर्ने अनुसन्धानशालाका कार्यालय प्रमुख लगायत सम्पूर्ण कर्मचारीहरुलाई धन्यवाद दिई आगामी दिनमा उच्च भनोवलका साथ निरन्तर रूपमा वनस्पति स्रोतको अनुसन्धानमा लाग्न र प्रभावकारी सेवा प्रवाह गर्न अपेक्ष समेत गर्दछु ।

सन्तीव कुमार राई
महानिदेशक



नेपाल सरकार

बन तथा जातीवरण मन्त्रालय

बनस्पति बाग्यालय

प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला

बन तथा जातीवरण मन्त्रालय

यापाथल्लक्ष्मी भट्टराई

प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला

यापाथल्लक्ष्मी भट्टराई



पत्र संख्या :-

चलानी नम्बर :-

दुई शब्द

यस अनुसन्धानशालामा वार्षिक रूपमा भएका अध्ययन, अनुसन्धान, प्रमाणीकरण तथा उपलब्धिहरू सरोकारवालाहरू समक्ष पुर्याउने उद्देश्यले यो पुस्तक प्रकाशन गर्ने पाँडा हामी अत्यन्त हर्षित भएका छौं । गत वर्ष यस वर्ष पनि यस अनुसन्धानशालाले विस्तृत प्रगति सहितको पुस्तक प्रकाशन गर्ने लागेको व्यहोरा जानकारी गराउन चाहन्छु ।

जडिबुटीहरूको सारतत्त्व एवं सुगन्धित तेलहरूको पहिचान, प्रमाणीकरण, गुण नियन्त्रण तथा विदेश निकासीमा यस अनुसन्धानशालाले विगत देखी नै विशेष भूमिका निर्वाह गर्दै आइरहेको छ । वनस्पति विभाग अन्तर्गत रही यस अनुसन्धानशालाले अनुसन्धानका माध्यमबाट वनस्पति स्रोतको संरक्षण, संवर्द्धन, सदुपयोग तथा प्रवर्धनका क्षेत्रमा महत्वपूर्ण भूमिका निर्वाह गरि आएको छ । अध्ययन, अनुसन्धानबाट जडिबुटीहरूको औषधोपयोगी गुणको महत्व उजागर हुने र यसको उपयोगबाट देशमा आर्थिक समृद्धि ल्याउन आगामी दिनमा अभ वैज्ञानिक, उपलब्धिमूलक एवं प्रभावकारी रूपमा कार्यक्रमहरू संचालन गर्दै जानुपर्ने आवश्यकता देखिन्छ ।

सार्वजनिक सेवालाई प्रभावकारी र गुणस्तरीय बनाउन यस अनुसन्धानशाला ISO/IEC 17025:2017 बाट प्रमाणीकरण भएको छ । प्रयोगशालाले हालसम्म आठ वटा पारामिटरमा Accreditation प्राप्त गरिसकेको र आगामी दिनमा यसलाई थप निरन्तरता दिने लक्ष्य रहेको छ । यस वार्षिक प्रतिवेदनमा समावेश गरिएका अध्ययन, अनुसन्धान तथा अन्य क्रियाकलापहरू सम्बन्धीत क्षेत्रमा काम गर्ने वैज्ञानिक, अनुसन्धानकर्ता, उद्योगी व्यापारी एवं सर्वसाधरणलाई उपयोगी हुने विश्वास लिएको छु ।

अन्त्यमा, प्रतिवेदन तयारीको क्रममा मार्गनिर्देशन गर्नुहुने विभागका महानिर्देशक श्री सन्जीव कुमार राई एवं उप महानिर्देशक श्री मोहन देव जोशी प्रति हार्दिक आभार व्यक्त गर्दछु । वार्षिक कार्यक्रम सम्पादनमा सहयोग गर्नुहुने अनुसन्धानशालाका सम्पूर्ण कर्मचारी धन्यवादमा पात्र हुनुहुन्छ र यस प्रतिवेदन तयारीमा सहभागि सहायक अनुसन्धान अधिकृतहरू श्री चेतना खनाल, श्री प्रदीपिका आचार्य, श्री लक्ष्मण भण्डारी, श्री कृष्ण कुमार साह, श्री राजेश्वर रजितकार एवं असिष्टेन्ट केमिष्ट्रिय श्री दिपेश उप्रेती खत्री, श्री शान्ता सापकोटा र सरिता पौडेललाई विषेश धन्यवाद व्यक्त गर्दछु ।

धन्यवाद

राणा

कार्यालय प्रमुख

विषय सूची

क्र.सं.	विषय	पेज नं.
१.	परिचय	८
२.	संगठन संरचना	१०
३.	प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालाको कार्य विवरण	११
४.	Pharmacognostical Study र रस्युजियम व्यवस्थापन	१५
५.	Phytochemical Study	२३
६.	Biochemical Study	२५
७.	Pharmacological Study	२६
८.	Fractional Distillation of Lemongrass	२७
९.	Essential Oil Study	२८
१०.	सार्वजनिक विश्लेषण तथा ट्रेड सपोर्ट कार्यक्रम	३०
११.	Physico-chemical study of some mostly traded Essential oil.....	३१
१२.	Accreditation Support Program	३६
१३.	Proficiency Testing (PT) कार्यक्रम	३८
१४.	Training	३८
१५.	Animal house व्यवस्थापन	४०
१६.	उपकरण खरिद तथा जडान	४२
१७.	वार्षिक प्रगति प्रतिवेदन तथा ब्रोसर प्रकाशन	४३
१८.	Product Formulation	४३
१९.	भौतिक र वित्तीय प्रगति	४८
२०.	अनुसूची	४९

९. प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालाको परिचय

प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला (Natural Products Research Laboratory - NTRL) वनस्पति विभाग अन्तर्गत वि. स. २०१९ सालमा शाही औषधी अनुसन्धानशालाको रूपमा स्थापना भएको हो । वनस्पति श्रोत अन्तर्गत वानस्पतिक रसायन, औषधोपयोगी जडीबुटीको अध्ययन, अनुसन्धान तथा विकासको लागि प्रविधि विकास, जडीबुटी, वनस्पति जन्य उत्पादन औषधीको गुणस्तर अध्ययन तथा नियन्त्रण गर्ने कार्यको लागि स्थापना भएको थिए । वि.स. २०५० को सांगठनिक संरचना परिवर्तनको समयमा यस प्रयोगशालाको नाम परिवर्तन गरी प्राकृतिक सम्पदा विकास महाशाखा र वनस्पति विभागको वि. स. २०५६ मा सांगठनिक संरचनाको पुर्नविकासमा यस प्रयोगशालालाई प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालाको रूपमा राखियो ।

नेपाल सरकारको वि. स. २०७५ को सांगठनिक पुर्नसंरचनामा संघ अन्तर्गत रहेको यस अनुसन्धानशालाले स्थापना काल देखिनै वनस्पति श्रोतको रासायनिक संरचना, जैविक असर एवं औषधोपयोगी वनस्पतिको अध्ययन, अनुसन्धानमा केन्द्रीत भई तत् सम्बन्धी प्रविधि विकासका साथै सार्वजनिक विश्लेषण कार्यमा गुणस्तरीय सेवा प्रवाह गर्दै आएको छ ।

लक्ष्य :

प्राकृतिक श्रोतको समग्र विकासका लागि वनस्पति श्रोतमा आधारित उद्योग तथा व्यापारको प्रवर्द्धन गर्ने हेतुले वानस्पतिक श्रोतको रासायनिक, जैविक अध्ययन, अनुसन्धान तथा श्रोतको उत्पादन विकासको प्रविधि विकास गर्ने गराउने एवं तत् सम्बन्धी सेवा प्रदान गर्ने ।

उद्देश्य :

- वनस्पतिक श्रोतको वायोप्रोस्पेक्टड गर्नु ।
- वनस्पति श्रोतको रासायनिक संरचना एवं जैविक असरको अध्ययन, अनुसन्धान गर्नु ।
- वनस्पति तथा वनस्पतिजन्य उत्पादनको व्यापार प्रवर्द्धनका लागि अध्ययन, अनुसन्धान गर्नु ।
- वनस्पति श्रोतमा आधारित उद्योग तथा उत्पादन विकासमा सहयोग गर्नु ।
- जडीबुटीहरूको मूल्य अभिवृद्धि (Value addition) कार्यमा सहयोग पुऱ्याउनु ।
- वनस्पतिहरूको आपूर्ति शृंखला व्यवस्थापन (Supply chain management) मा सहयोग गर्नु ।
- वनस्पतिजन्य उत्पादनको गुणस्तर तयार गर्नु ।

कार्यक्रम/गतिविधि :

- वनस्पति/जडीबुटीहरूको नमूना संग्रह गरी म्यूजियम व्यवस्थापन गर्ने ।
- वनस्पति/वनस्पतिजन्य उत्पादनको फार्माकोग्नोष्टीक अध्ययन तथा पहिचान कार्य गर्ने ।
- वनस्पतिश्रोतको रासायनिक संरचनाको अध्ययन, अनुसन्धान एवं अभिलेखीकरण गर्ने ।

- ❑ वनस्पतिहरूमा पाईने रासायनिक तत्वको अध्ययन, अनुसन्धान तथा प्रशोधन प्रविधि विकास गर्ने ।
- ❑ वानस्पतिक रसायन तथा वानस्पतिक सारतत्वको फर्माकोलोजिकल तथा जैविक असरको अध्ययन, अनुसन्धान एवं अभिलेखीकरण गर्ने ।
- ❑ सुगन्धित तेलयुक्त वनस्पतिहरूको अध्ययन, अनुसन्धान तथा सूचीकरण गर्ने ।
- ❑ वनस्पति तथा वनस्पतिजन्य उत्पादनहरूको गुणस्तर निर्धारण, गुणस्तर विश्लेषण विधि विकास तथा गुणस्तर विश्लेषण गर्ने ।
- ❑ गुणस्तर निर्धारण संयन्त्र विकास गर्ने ।
- ❑ सरकारी, गैर सरकारी संघ संस्थाहरूलाई सुगन्धित तेल, वानस्पतिक रसायन, विश्लेषण विधि आदि बारे प्राविधिक ज्ञान तथा सीप दिने ।
- ❑ सरकारी एवं गैर सरकारी संघ-संस्थालाई साना अनुसन्धानात्मक जीवहरू मुसा, खरायो र गिनिपिग अनुसन्धान कार्यका लागि सम्भव भएमा उपलब्ध गराउने ।
- ❑ विभिन्न विश्वविद्यालयका विद्यार्थी एवं उद्योगका प्रतिनिधिहरूलाई प्राकृतिक सम्पदा तथा गुणस्तर विश्लेषण सम्बन्धी तालिम उपलब्ध गराउने ।
- ❑ प्राकृतिक श्रोतमा आधारित उद्योग व्यापार प्रवर्द्धन गर्ने हेतुले जडीबुटी तथा तिनका सारतत्वको गुणस्तर विश्लेषण एवं प्रमाणीकरण कार्य गर्ने ।

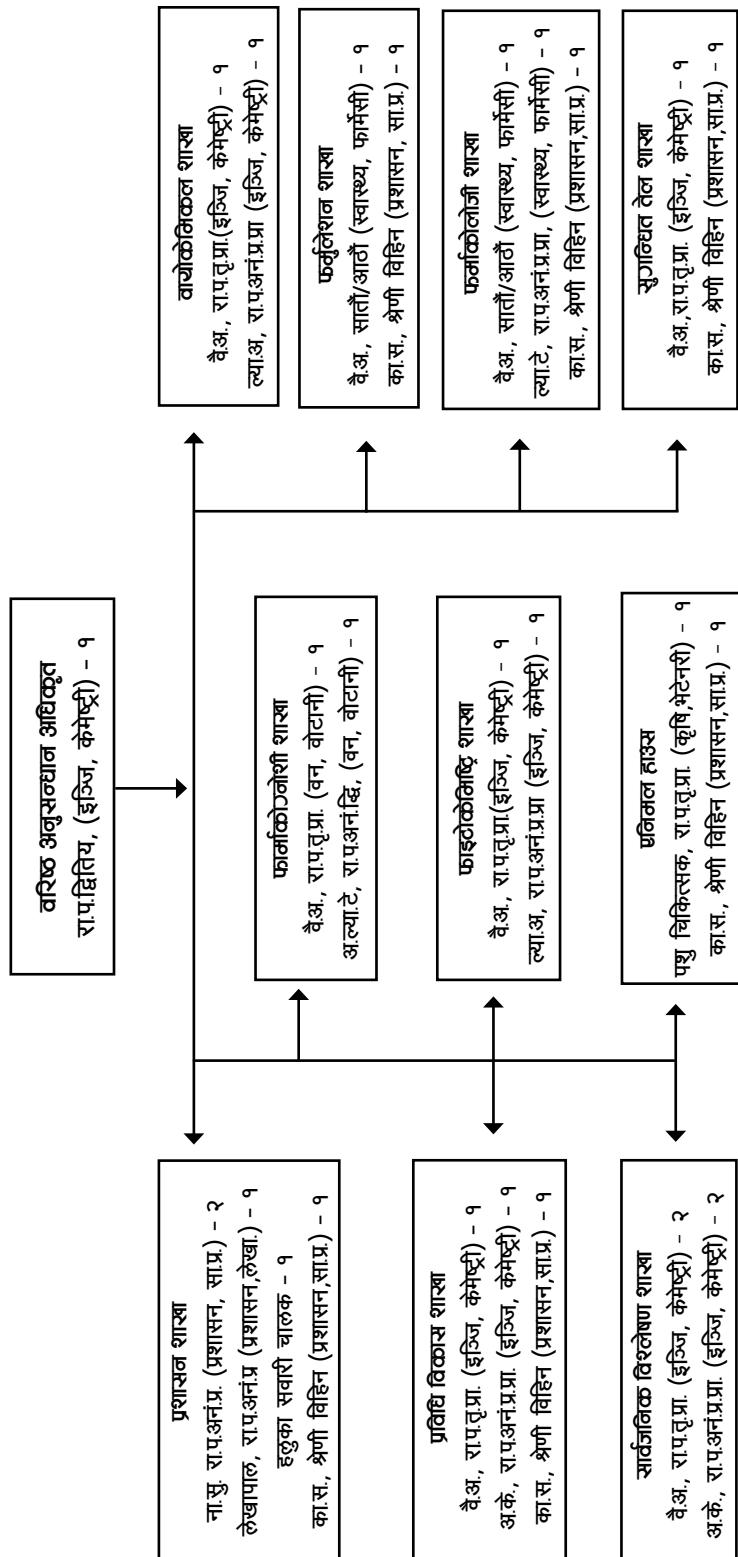
२. संगठन संरचना

नेपाल सरकार

वन तथा वायावरण मंत्रालय

वनस्पति विभाग

प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला



३. प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालाको कार्य विवरण

१. वनस्पति अनुसन्धानको क्षेत्रमा गरिने सम्पूर्ण अनुसन्धानात्मक कार्यहरूको समन्वय कायम गरी कार्य संचालन गर्ने ।
२. दुर्लभ वन्यजन्तु र वनस्पतिहरूको अन्तर्राष्ट्रिय महासम्मिलित (CITES) तथा नेपाल सरकारको विभिन्न ऐन नियमहरूले संरक्षित गरिएका वनस्पतिहरूको परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा उपलब्ध गराई नीति नियमहरूको कार्यान्वयनमा सहयोग गर्ने ।
३. जडीबुटी, वनस्पति आदिबाट औषधोपयोगी र अन्य बहुउपयोगी रासायनिक पदार्थहरू उत्पादन गर्न अनुसन्धान कार्य गर्ने ।
४. उत्पादित रसायनहरूको गुणस्तर परीक्षण तथा नियन्त्रण र प्रविधि विकास सम्बन्धी कार्यहरू गर्ने ।
५. वनस्पतिजन्य पदार्थको गुणस्तर परीक्षण कार्यलाई प्रभावकारी बनाउन आवश्यक कार्यक्रम संचालन गर्ने ।
६. प्रयोगशालालाई अन्तर्राष्ट्रिय गुणस्तर (ISO/IEC 17025:2017) अनुरूप संचालन गर्न आवश्यक कार्यक्रम सञ्चालन गर्ने ।
७. कार्यालयको आगामी वर्षको प्रस्तावित कार्यक्रम बजेट तयार गरी विभागको योजना शाखामा पेश गर्ने र स्वीकृत कार्यक्रमको कार्यान्वयन योजना तयार गरी कार्य संचालन गर्ने र गराउने ।
८. अध्ययन अनुसन्धानका लागि खरायो, गिनीपिग, मुसा तथा माइसहरूको उत्पादन तथा संरक्षण कार्य गर्ने ।
९. विश्वाको अप्रशोधित, अर्ध प्रशोधित भागहरूको पहिचान गरी बाह्य सेवा उपलब्ध गराउने, संकलित विश्वाहरू Museum मा राखी सोको व्यवस्थापन गर्ने ।
१०. सुगन्धित तेलजन्य विश्वाहरू संकलन गरी सुगन्धित तेल Extraction तथा सोको प्रतिशत निर्धारण गरी Physico-chemical गुणहरू अध्ययन गर्ने ।

फाइटोकेमेष्ट्री शाखा

- ◆ जडीबुटीजन्य विश्वाहरू संकलन गरी ती विश्वाहरूको विभिन्न सारतत्व निकाल्ने ।
- ◆ सारतत्वमा रहेका विभिन्न रसायनहरू पत्ता लगाउने ।
- ◆ सारतत्वबाट उपयोगी रसायनहरू छुट्याई परिमाण समेत पत्ता लगाउने, जडीबुटी तथा सारतत्वको औषधीय गुण पत्ता लगाउन अन्य शाखासँग समन्वय गरी अनुसन्धान गर्ने ।
- ◆ नागरिक वडापत्रमा उल्लेख भए अनुसार फाईटोकेमिकल परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा उपलब्ध गराउने ।

सुगन्धित तेल शाखा

- ◆ सुगन्धित तेलजन्य विश्वाहरू संकलन गरी सुगन्धित तेल Extraction गर्ने ।
- ◆ सुगन्धित तेलको प्रतिशत निर्धारण गरी Physico-chemical गुणहरू पत्ता लगाउने ।
- ◆ अध्ययन, अनुसन्धान उपचात उपयुक्त प्रविधि पाईलट स्तरमा सुगन्धित तेल उत्पादन गर्न सिफारिस गर्ने ।
- ◆ नागरिक वडापत्रमा उल्लेख भए अनुसार परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा उपलब्ध गराउने ।

प्रविधि विकास शाखा

- ◆ जडीबुटीजन्य विस्ताहस्त्राट सारतत्व प्रशोधन गर्ने प्रविधि पत्ता लगाउने ।
- ◆ जडीबुटीजन्य विस्ताहस्त्राट उपयोगी (Marker Compound) रसायन छुटाउने प्रविधि पत्ता लगाउने ।
- ◆ अध्ययन, अनुसन्धान पश्चात उपयुक्त प्रविधि पाईलट स्तरमा उत्पादन गर्ने सिफारिस गर्ने ।
- ◆ सरोकारवालालाई प्रचलित ऐन कानूनको अधिनमा रही प्रविधि हस्तान्तरण गर्ने ।

फर्माकोङ्नोशी शाखा

- ◆ अध्ययन, अनुसन्धानका लागि विभिन्न शाखाहरू सँग समन्वय गरी जडीबुटीजन्य विस्ताहरू संकलन गरी ती विस्ताहस्त्रको पहिचान गर्ने ।
- ◆ संकलित विस्ताहस्त्रको फार्माकोग्नोशटीकल (Microscopic, Macroscopic, Powder Analysis etc.) अध्ययन गर्ने ।
- ◆ विस्ताको अप्रशोधित, अर्ध प्रशोधित भागहस्त्रको पहिचान गरी बाह्य सेवा उपलब्ध गराउने, संकलित विस्ताहरू Museum मा व्यवस्थापन गर्ने ।

एनिमल हाउस शाखा

- ◆ खरायो, गिनीपिग, मुसा तथा माइसहस्त्रको उत्पादन तथा संरक्षण कार्य गर्ने ।
- ◆ अध्ययन, अनुसन्धानका लागि शाखाबाट माग भए बमोजिमको साना जनावरहरू उपलब्ध गराउने ।
- ◆ बाह्य संघ, संस्थाहस्त्राट माग भएमा यस कार्यालयको नागरिक वडापत्रमा उल्लेख भए अनुसार साना जनावरहरू उपलब्ध गराउने ।

सार्वजनिक विश्लेषण शाखा

- ◆ वनस्पति वा वनस्पतिबाट उत्पादित वस्तुको परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा दिने ।
- ◆ दुर्लभ वन्यजन्तु र वनस्पतिहस्त्रको अन्तर्राष्ट्रिय महासन्धि (CITES) तथा नेपाल सरकारको विभिन्न ऐन नियमहस्त्रले संरक्षित गरिएका वनस्पतिहस्त्रको परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा उपलब्ध गराई नीति नियमहस्त्रको कार्यान्वयनमा सहयोग गर्ने ।
- ◆ सेवाग्राहीले वनस्पति वा वनस्पतिबाट उत्पादित वस्तुको देश बाहिर पठाउन पर्ने भए त्यस्तो पदार्थको प्रमाणीकरणको लागि यस कार्यालयबाट निम्न लिखित कार्यहरू गरिन्छ ।
- ◆ सेवाग्राहीले सेवा मागेको स्थानमा गई नमूना संकलन गरी सिल गर्ने ।
- ◆ सेवाग्राहीले प्रयोगशालामा आई सेवा मागेमा नमूना संकलन गरी सिल गर्ने ।
- ◆ संकलित नामुनाहस्त्रको विश्लेषण पश्चात रिपोर्ट दिने ।
- ◆ प्रयोगशाला सम्बन्धी अन्तर्राष्ट्रिय गुणस्तर (ISO-17025:2017) बमोजिम सेवा प्रवाहका लागि आवश्यक कार्यक्रम संचालन गर्ने ।

बायोकेमिकल शास्त्र

- ◆ जडीबुटीजन्य विस्वाहरू संकलन गरी ती विस्वाहरूको विभिन्न सारतत्व निकाल्ने ।
- ◆ सारतत्वहरूको साना जनावरमा बायोकेमिकल (Antidiabetic, Hypolipidemic, Anti-cancer etc.) अध्ययन, अनुसन्धान गर्ने ।
- ◆ सेवाग्राहीले माग गरे बमोजिम नागरिक वडापत्रमा उल्लेख भए अनुसार बायोकेमिकल परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा उपलब्ध गराउने ।

फर्मूलेशन शास्त्र

- ◆ परम्परागत तथा आयुर्वेदिक ज्ञानमा आधारित आधुनिक हर्बल औषधी तथा उपयोगी कस्मेटिकको फर्मूला विकास गर्ने ।
- ◆ फर्मूला अनुसारको औषधी तथा उपयोगी कस्मेटिक (Tablet, Capsule, Cream etc.) तयार गर्ने ।
- ◆ तयार भएका औषधीको Clinical trial गर्ने ।
- ◆ सरोकारवालालाई प्रचलित ऐन कानूनको अधिनमा रही फर्मूला उपलब्ध गराउने ।

फर्माकोलोजी शास्त्र

- ◆ जडीबुटीजन्य विस्वाहरू संकलन गरी ती विस्वाहरूको विभिन्न सारतत्व निकाल्ने ।
- ◆ सारतत्वहरू प्रयोगशालामा पालिएका साना जनावरमा विभिन्न फर्माकोलोजीकल (Toxicity, Anti-ulcer, Anti-counvulsion, anti-diarrhoeal etc.) अध्ययन, अनुसन्धान गर्ने ।
- ◆ नागरिक वडापत्रमा उल्लेख भए अनुसार फर्माकोलोजीकल परीक्षण तथा विश्लेषण सेवा उपलब्ध गराउने ।

प्रशासन शास्त्र

- ◆ विभाग अन्तर्गतका सम्पूर्ण कर्मचारीहरूको व्यक्तिगत फाईल लगायतका विवरणहरू सुरक्षित साथ राख्ने ।
- ◆ कर्मचारीहरूको काज, बिदा लगायतका विवरणहरू सुरक्षित राख्नी हाजिर रेकर्ड अद्यावधिक गर्ने ।
- ◆ कार्यालयको प्रशासनिक कार्यको सिलसिलामा आइपर्ने विषयमा शाखा प्रमुख समक्ष राय साथ टिप्पणी पेश गर्ने ।
- ◆ कार्यालयको भौतिक सम्पत्तिको सुरक्षा गर्न नियमित रूपमा पालेहरूलाई पालो पहरामा खटाउने ।
- ◆ कार्य विवरण सँग सम्बन्धीत पत्र बुझी दर्ता गर्ने, पठाउने पत्रहरू चलानी गर्ने, पत्रहरूको फाईलिङ सम्बन्धी कार्य गर्ने ।

स्टोर सञ्चालनी कार्य

- ◆ कार्यालयको लागि आवश्यक सामानहरू खरिद गर्न र अन्य प्रयोजनको लागि समेत आवश्यकतानुसार टेप्डर वा बोलपत्र आव्हानको सूचना प्रकाशित गर्ने र रेकर्ड राख्ने ।
- ◆ खरिद भै दाखिला हुन आएका सामग्रीहरू बिल बमोजिम रुजु गरी स्टोर दाखिला गर्ने र प्रमाणित गरी भुक्तानीको लागि बिल लेखामा पठाउने ।
- ◆ माग र स्वीकृति बमोजिम मालसामानहरू निकासा दिई अभिलेखमा जनाउने ।
- ◆ कार्यालयको चल-अचल सम्पत्तिको अद्यावधिक लगत राख्ने जिन्सीको निरीक्षण गराउने र वेरूजु फछ्यौट गर्न कारवाही गर्ने ।

लेखा सम्बन्धी कार्य

- ◆ आय व्यय र धरौटीको स्रेस्ताको मासिक रूपमा लेखा राख्ने ।
- ◆ आन्तरिक लेखापरीक्षणबाट देखिएका त्रुटीहरू कार्यालय प्रमुख समक्ष प्रतिवेदन पेश गर्ने ।
- ◆ आन्तरिक लेखापरीक्षण गर्दा कुनै गम्भीर प्रकारका आर्थिक अनियमितता र रकम हिनामिना भएको देखिएमा तुरुन्त प्रतिवेदन गरी प्राप्त निर्देशन अनुसार गर्ने ।
- ◆ अन्तिम लेखापरीक्षण गर्नुअघि आन्तरिक लेखापरीक्षणबाट आँत्याएको बेरुजु र तत्सम्बन्धमा भएको कारवाही र शाखाको धारणा कार्यालय प्रमुख समक्ष लिखित रूपमा पेश गर्ने ।
- ◆ अन्तिम लेखापरीक्षणको लागि श्रेस्ता तयारी राख्ने ।
- ◆ राजस्व सम्बन्धीको लेखा राख्ने ।
- ◆ अन्तिम लेखापरीक्षणबाट देखिएका बेरुजुहरू नियमित वा असूल गर्नु पर्ने भए सो सम्बन्धीत काम गर्ने ।

८. Pharmacognostical Study र र्युजियम व्यवस्थापन

महत्वपूर्ण जडिबुटीहरूको सर्वेक्षण, संकलन तथा पहिचान गरी उपयोगी भागहरूको macroscopic र microscopic अध्ययन गर्ने र बाँकी भागहरूलाई preservative हाली म्यूजियममा व्यवस्थित गराई राख्ने कार्य यस शाखाले वार्षिक कार्यक्रम अन्तर्गत गर्दै आइरहेको छ । यस आर्थिक वर्षमा इलाम, झापा, धनुषा, मकवानपुर, पाल्पा, जुम्ला र कीर्तिपुर क्षेत्रहरूको सर्वेक्षण भ्रमण गरी विभिन्न प्रजातिका जडिबुटीहरूका नमूनाहरूको संकलन कार्य गरियो । संकलित नमूनाहरू मध्ये १० वटा नमूनाहरूको विस्तृत Pharmacognostical अध्ययन गरिएको छ र संकलित नमूनाहरूको म्यूजियममा व्यवस्थापन गरी पुराना तथा विग्रेका नमूनाहरूलाई हटाई नयाँ नमूना राखिएको छ ।

यस म्यूजियममा ४५० भन्दा वढी जडिबुटीजन्य वनस्पतिहरूको उपयोगी भागहरूलाई राखिएको छ । नेपालमा पाइने महत्वपूर्ण तथा बहुमुल्य वनस्पतिहरू यार्सागुम्बा, गुच्छी च्याउ, पाँचऔले, जटामसी, ओखर तथा कुट्की जस्ता जडिबुटीहरूको उपयोगी भागको नमूनाहरू राखिएको छ । साथै नेपालबाट निर्यात हुने सुगन्धित तेलहरू क्यामोर्माइल, लेमनग्रास, जटामसी, मेन्धा आदिका नमूनाहरू पनि राखिएको छ ।

आन्तरिक अध्ययन, अनुसन्धानको साथसाथै विधार्थी, व्यापारीहरूबाट ल्याइएका नमूनाहरूको पहिचान गरी प्रमाण पत्र दिने कार्य यो शाखाले गर्दछ ।

अैरेध रूपमा संकलन गरिएका जडिबुटीहरूको पहिचान गरी मुद्दा मामिलामा पनि सहयोग गर्दै आएको छ ।

(क) आ.व. २०७६/०७७ रा Pharmacognostical अध्ययन गरिएका प्रजातिहरू ।

1. *Etlingera linguisformis* (Roxb.) R.M.Sm.
2. *Heracleum nepalense* D. Don.
3. *Leea macrophylla* Roxb.ex Hornem.
4. *Astilbe rivularis* Buch.-Ham. ex D.Don
5. *Asparagus filicinus* Buch.-Ham. ex D.Don
6. *Polygonatum cirrhifolium* (Wall.) Royle
7. *Urtica dioica* L.
8. *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty
9. *Cannabis sativa* L.
10. *Taxus mairei* (Lemee & Lev.) S.Y. Hu ex T.S. Liu

संकलित नमूनाको Morphological विवरण

***Asparagus filicinus* Buch.-Ham.ex D.Don**

Family: Asparagaceae

Local name: Ban Kurilo

Part used: Root

A perennial tuberous shrub of 0.5-1.5m long, green, flat needle in groups of 2-5 at each node. Tuber spindle shaped. Flowers white, Fruit orange, globose. Seed black.



Asparagus filicinus (PC: C. Khanal)

***Astilbe rivularis* Buch.- Ham. ex D.Don**

Family: Saxifragaceae

Part used: Rhizome

Local name: Thulo okhati

An erect rhizomatous, perennial herb growing under the forest cover, 1-2m tall. Leaves pinnate, 15-45cm long, leaflets ovate, long pointed. Flowers small, greenish yellow in terminal branched pyramidal clusters.



Astilbe rivularis (PC: C. Khanal)

***Cannabis sativa* L.**

Family: Cannabaceae

Local name: Gajha

Part used: Leaf and flowering shoot

An erect, aromatic resinous, annual herb with angular stem, 1.2-4.8m tall. Leaves alternate, stalked, palmately compound, Lower leaves with 5-11 leaflets and upper leaves with 1-3 leaflets, leaflets variable in size, 3-10cm long, linear to lanceolate, long pointed, coarsely toothed. Flower unisexual, male flowers in short drooping penicles, female in short axillary crowded spikes. Fruits 4mm, glandular, hairy. Seeds white, globose, 1-3mm diameter, glabrous.



Cannabis sativa (PC: R. Tamang)

***Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty**

Family: Poaceae

Local name: Khaskhas (Vetiver)

Part used: Root

A perennial grass. Leaves with compressed sheaths, blade narrowly linear, acute, 30-90cm long, 4-10mm broad, erect. Flowers gray, green or purplish in panicle of numerous slender racemes, spikelets sessile, linear, lanceolate, glabrous. Fruit grains, oblong, slightly oblique at the apex. Roots are bitter and acrid. Carpel 8-12mm; stigma bifid.



Chrysopogon zizanioides (PC: K. Shah)



Etlingera linguiformis (PC: GD Bhatta) -Cultivated

***Etlingera linguiformis* (Rox.) R.M.Sm.**

Family: Zingiberaceae

Part used: Rhizomes

It is known as elongated torch ginger is a tall, leafy, perennial herb, up to 2m high, with stout, copiously runners-bearing aromatic rhizome. Leaves are 30-45 cm long, oblong, lanceshaped, hairless. Flowers are borne in red spikes about 8 cm long, oblong, narrowed at both ends, few-flowered, submerged mostly in the soil. Lip of the flower is 5 cm long, oblong, bright red and yellow, deflexed, folded below the middle.

***Heracleum nepalense* D. Don**

Family: Apiaceae

Local Name: Bhote Jeera

A annual herb of 1-1.5m tall. Stems hairy, fistular, hollow. Lower leaves toothed, deeply lobed, upper leaves ternate with leaflets often 3-lobed. Flowers white. Fruit obovate with broad lateral wings, weak ribs and 4 vittate.



Heracleum nepalense (PC: S. Sapkota)

Leea macrophylla Roxb.ex Hornem

Family: Vitaceae

Local name: Galenee

Parts used: Root

A large shrub .Leaves 2-3 pinnate, leaflets elliptic - oblong . Flowers greenish to bluish in corymbose cymes. Fruits berries, depressed globose, black when ripe.



Leea macrophylla (PC: GD Bhatta)



Polygonatum cirrhifolium (PC: C. Khanal)

Polygonatum cirrhifolium (Wall.) Royle

Family: Asparagaceae

Local name: Khiraule

Part used: Rhizome

An erect herb, 60-120cm tall. Leaves simple, sessile, in whorls of 3-6, linear to narrow lanceolate, 6-15cm, usually with coiled tendril like tips. Flowers in clusters of 2-4 arising from the axils of the whorled leaves, white tinged with purple or green. Fruits globose, red before and black when ripe.

Taxus Mairei (Lemee & Lev.) S.Y. Hu ex T.S. Liu

Family: Taxaceae

Local name: Lauth salla

Part used: Leaves

An evergreen much branched coniferous tree. Leaves are slightly curved, somewhat flat, margin slippery and bracts at the joint of branches are not distinct. Flowers unisexual, male flowers in short stalk, globose catkins in axils of leaves, female flowers solitary, axillary, green. Fruits red fleshy, 8mm in diameter. Seeds encircled by a fleshy red aril.



Taxus Mairei (PC: R. Tamang)



Urtica dioica (PC: L. Bhandari)

Urtica dioica L. (Lemee & Lev.) S.Y.Hu ex T.S. Liu

Family: Utricaceae

Local name: Sisnu

Part used: Twigs

An erect herb with stinging hairs, up to 2m tall. Leaves simple, opposite, stalked, ovate or lanceolate, 5-10cm long, acuminate, usually cordate, teeth large, coarse. Flowers small, green in axillary clusters on the terminal part of the stem, male and female on separate plant.

संकलित नमूनाको Microscopic अध्ययन विवरण

S.N	Scientific Name	Vernacular Name	Locality	Part Used	Powder colour	Powder Characteristics
1	<i>Asparagus filicinus</i>	Kurilo	Ilam	Root	Brown	Presence of parenchymatous, collenchymatous cells, pitted vessels and fibers.
2	<i>Astilbe rivularis</i> Buch.-Ham. ex D.Don	Thulo okhati	Ilam	Root	Brown	Presence of starch grains, parenchymatous cells, fibers
3	<i>Cannabis sativa</i>	Bhang	Kirtipur	Twigs	Green	Presence of simple and glandular trichomes, epidermal cells, vessels with pitted and spiral thickening.
4	<i>Chrysopogon zizanioides</i>	Vetiver	Dhanusa	Stem and roots	Gray	Shows starch granules, parenchymatous cells, vessels, fibers etc.
5	<i>Elingeria linguiformis</i>		Jhapa	Rhizome	Brown	Presence of cork cells, Trichome vessels and fibers.
6	<i>Heracleum nepalense</i>	Bhote Jeera	Ilam	Root	Light brown	Presence of cork cells, reticulate vessels and fibers.
7	<i>Leea macrophylla</i> Roxb. ex Hornem.		Jhapa	Root	Brown	Shows cork cells, needle shaped crystals, fiber and starch grains.
8	<i>Polygonatum cirrhifolium</i>	Khiraule	Jumla	Rhizome	Gray	Presence of vessels, needle shaped crystals and mucilage canal
9	<i>Taxus Mairi</i>	Lauthsalla	Makwanpur	Leaves	Light-green	Shows upper epidermis and lower epidermis with sunken stomata, fiber etc
10	<i>Urtica dioica</i>	Sisnu	Palpa	Twigs	Green	Presence of simple and glandular trichome, starch gains, parenchymatous cells etc.

Microscopic अध्ययनका फोटोहरू



a



b



c



d. vessels

1. *Ellingera linguliformis*

a



b. Needle shaped crystals



c. Fiber.

2. *Leea macrophylla*

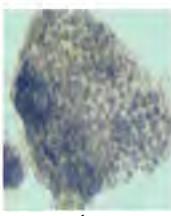
a



b



c

d. Lower epidermis
e. simple trichome3. *Cannabis sativa*

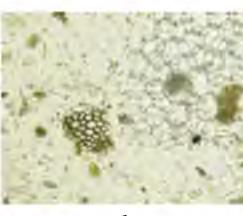
a



b. and c. vessels.



d. Fibers

4. *Heracleum nepalense*

a



b



c



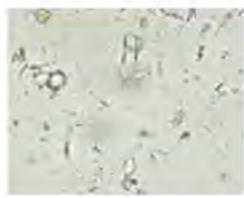
d. Fibers

5. *Asparagus filicinus*

a



b



c



d

6. *Polygonatum cirrhifolium*



a



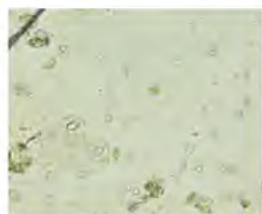
b



a



c



d

7. *Utrica dioica* a. Glandular trichome b. Stellatetrichome c. Simple trichome d. Cells with stoma

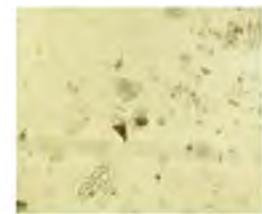
b



c

8. *Taxus mairei* a. Upper epidermis with sunken stomata b. Lower epidermis c. Fiber

a



b



a



b



c



d

9. *Chrysopogon zizanioides* a. Vessels b. Stomata c. Fiber d. Parenchymatous cells.

c



d

10. *Astilbe rivularis* a. Cork cells b. Vessel c. Fibers d. Vessel

Public Sample Identified in Pharmacognosy Section (2076/2077)

तालिका: १

Case samples			
1. <i>Ophiocordyceps sinensis</i>	7. <i>Pterocarpus santalinus</i>	13. <i>Ferula</i> sp.	
2. <i>Allium</i> sp.	8. <i>Ophiocordyceps sinensis</i>	14. <i>Swertia</i> sp.	
3. <i>Dactylorhiza hatagirea</i>	9. <i>Aconitum</i> sp	15. <i>Quercus</i> sp.	
4. <i>Paris polyphylla</i>	10. <i>Rohdea nepalensis</i>	16. <i>Silajit</i>	
5. <i>Allium</i> sp.	11. <i>Glycyrrhiza glabra</i>	17. <i>Ophiocordyceps sinensis</i>	
6. <i>Curcuma</i> sp.	12. <i>Bergenia</i> sp		
Other public samples			
18. <i>Ariseama</i> sp.	25. <i>Fritillaria</i> sp.	32. <i>Neopicrorhiza scrophulariiflora</i>	
19. <i>Polygonatum</i> sp.	26. <i>Paris polyphylla</i>	33. <i>Neopicrorhiza scrophulariiflora</i>	
20. <i>Aconitum spicatum</i>	27. <i>Aconitum</i> sp.	34. <i>Neopicrorhiza scrophulariiflora</i>	
21. <i>Cinnamomum tenuifolium</i>	28. <i>Aconitum</i> sp.	35. <i>Neopicrorhiza scrophulariiflora</i>	
22. <i>Valeriana jatamansi</i>	29. <i>Oroxylum indicum</i>	36. <i>Neopicrorhiza scrophulariiflora</i>	
23. <i>Ophiocordyceps sinensis</i>	30. <i>Crocus sativum</i>	37. <i>Taxus mairei</i>	
24. <i>Zanthoxylum</i> sp.	31. <i>Ganoderma lucidum</i>		
Other public samples			
38. <i>Nardostachys jatamansi</i>			
39. <i>Nardostachys jatamansi</i>			
40. <i>Taxus</i> sp.			
41. <i>Neopicrorhiza scrophulariiflora</i>			
42. <i>Cinnamomum tenuipile</i>			
43. <i>Nardostachys jatamansi</i>			

४. Phytochemical study

यस अनुसन्धानशालामा देशका विभिन्न स्थानहरूबाट संकलित कुल जम्मा १० वटा औषधीजन्य जडिबुटीहरूको फाइटोकेमिकल अध्ययन सम्पन्न गरिएको छ ।

Phytochemical Screening of Medicinal plants in 50% ethanol

Table 2

Chemical constituents	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volatile oil	-	+++		+++	+	-	+++	-	-	-
Alkaloid	+++	-	++		++	+	+	+	+	++
Steroid	++	++	+	++	+++	++	+	++	++	++
Triterpenoid	+++	+++	+++	-	++	++	+	+	+	-
Carbohydrate	+	++		-	-	+	+	+	++	++
Flavonoid	+++	+++	++	+++	++	+	++	-	+++	+
Protein	-	-		+	-	+	-	-	+	+
Saponins	+	-	++	+	-	-	-	-	-	+
Tannins	++	+++	++	++	+++	++	++	+	++	+
Glycosides	+++	-	++	-	++	+++	++	+	+	++
Anthocyanin	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Reducing sugar	++	+++	++	++	-	+	+	+	+	+
Penolic	+++	++	+++	+++	++	++	++	+	++	++

Where Solvent System = 50 % ethanol

1. *Etlingera linguiformis* Rhizome (भापा)
2. *Leea macrophylla* Root (भापा)
3. *Astilbe rivularis* Root (इलाम)
4. *Urtica dioica* Leaves (पाल्पा)
5. *Cannabis sativa* Aerial part (किर्तिपुर)
6. *Taxus mairei* Leaves (ललितपुर)
7. *Chrysopogon zizanioides* Stem and roots (धनुषा)
8. *Heracleum nepalense* Root (इलाम)
9. *Asparagus filicinus* Tuber (इलाम)
10. *Polygonatum cirrhifolium* (जुम्ला)

Note:

+means presence in trace amount.

++ means presence in moderate amount.

+++ means presence in adequate amount
- means absences

Cannabis sativa को फाइटोकेमिकल अध्ययन

1. Preliminary phytochemical screening:

प्रारम्भिक फाइटोकेमिकल अध्ययन गर्दा निम्नानुसारको नतिजा प्राप्त भएको ।

Phyto-constituents	Hexane	Ethanol (70%)	H2O
Steriod	+	-	+
Terpenoids	-	-	+
Saponin	+	-	-
Flavonoids	-	-	-
Tannin	-	+	+
Alkaloids	+	-	-
Glycosides	-	+	+
Carbohydrate	+	-	+
protein	-	-	-
Volatile oils	-	+	-



2. Polyphenol Content in Methanolic extracts

TPC (Mg GAE/ g)	TFC (Mg QE/g)
9.12	4.07 in MEOH extracts

3. Scavenging activity of Cannabis sativain methanol extracts by DPPH assay.

Extracts	DPPH scavenging
Methanolic	56.98

4. Physiochemical properties

Foreign matter	0.10%
Loss on drying	10.45%
Total Ash	9.98%
Alcohol soluble extractive value	12.50%
Water soluble extractive value	41%

नेपालमा पाइने गाजामा Cannabenoids/Terpenoids को मात्रा सम्बन्धी विस्तृत अध्ययन, अनुसन्धान समेत गर्न आवश्यक रहेको छ ।

६. Biochemical Study

सितलचिनी (*Moringa oleifera*-seed) बायोकेमिकल अध्ययन



Anti-diabetic test on normal mice

Test	Initial glucose level at	Glucose level mg/dl after			antidiabetic effect % at 3 hrs
Time	0hr	1hr	2hr	3hr	
blank	65.00	64.00	63.00	61.00	
glipizide	66.00	63.00	51.00	45.00	26.23
<i>Moringa oleifera</i> seed	64.00	60.00	54.00	52.00	14.75



उपरोक्त वनस्पतिमा अध्ययन, अनुसन्धान गरी *Moringa oleifera* seed मा Significant मात्रामा Anti-diabetic गुण रहेको पाइयो तसर्थ यो विस्त्रिता थप अध्ययन एवं अनुसन्धान गरी प्रभावकारी यौगिक छुट्याउने प्रविधि विकास एवं तत्वको पहिचान गर्न आवश्यक देखिन्छ ।

६. Pharmacological study

यस अनुसन्धानशालाबाट निम्नानुसारका वनस्पति नमूना तथा सारतत्वको Toxicity परीक्षण एवं अध्ययन गरिएको छ ।

S.N.	Essential oil	LD50 Value	Category	Lable
1	Abies	non toxic	5	May be harmful if swallowed
2	Cedarwood	non toxic	5	May be harmful if swallowed
3	Rose marry	1920 mg/kg	4	Harmful if swallowed
4	Large Cardamom	1950mg/kg	4	Harmful if swallowed
5	Siltimur	1750 mg/kg	4	Harmful if swallowed
6	Turmeric leaf	non toxic	5	May be harmful if swallowed
7	Holybasil	non toxic	5	May be harmful if swallowed
8	Ginger root oil	non toxic	5	May be harmful if swallowed
9	Turmeric root oil	non toxic	5	May be harmful if swallowed
10	Cypresswood oil	non toxic	5	May be harmful if swallowed
11	Curryleaf oil	non toxic	5	May be harmful if swallowed

उपरोक्त वनस्पतिमा अध्ययन, अनुसन्धान गरी Rosemary, Large cardamom, Siltimur मा माथि उल्लेख भए बमोजिमको मात्रामा विषालु गुण रहेको पाइयो । तसर्थ यी विस्तारमा थप अध्ययन एवं अनुसन्धान गरी प्रभावकारी यौगिक छुट्याउने प्रविधि विकास एवं तत्वको पहिचान गर्न आवश्यक देखिन्छ ।

Fractional Distillation of Lemongrass:

अनुसन्धानशालाले Lemongrass तेलमा रेहका विभिन्न Constituents लाई छुट्याउने र आवश्यकता अनुसार सोको मात्रामा घटबढी गर्नका लागि Fractional distillation को प्रयोग गरेको छ । विभिन्न Fraction हल्काको GC Mass Profiling गरी मात्रा याकीन गरिएको छ । यस अध्ययन अनुसार Nerol र Geraniol लगायत विभिन्न constituents को मात्रा घटिबढी गरिएको छ । यस पहिलीको सहायताले सुगम्भित तेलको Value addition गर्न सकिन्च । Fractional distillation गरी प्राप्त Fractions को GC Profiling सहितको नितिजा निम्नानुसार रहेको छ ।

Figure 3. Fractional Distillation Unit of NPRI



Major 5 compounds found in Lemongrass

	Fractions Volume ml		Fraction 1 lemongrass oil	Fraction 2 10	Fraction 3 20	Fraction 4 25	Fraction 5 30	Fraction 6 90	Fraction 7 180	Fraction 8 2500	Fraction 9	Fraction 10 Remaining 500
Peak	Name	R time Area %										
	Camphene	14.066	0.47	15.52	20.32	10	3.62					
	Hept-5-en-2-one-6-methyl->	15.631	2.14	20.61	21.63	30.67	32.48	18.49				
	Limonene	17.72	2.12	39.19	41.08	38.65	32.12	13.35	2.84			
	2,5-Octanedione	19.694	1.12	4.99	3.18	5.04	9.44	10.97	4.71			
1	Linabool	21.023	3.2			2.46	6.4	15.95	12.34	2.28		
	Citronellal	23.611						10.12	8.82	1.6		
2	Nerol	27.874	10.58				1.34	5.25	10.43	9.51	8.93	
3	Geraniol	28.487	48.2				2.94	11.05	32.89	56.68	58.7	52.51
4	Geranal	29.238	13.86				1.18	3.98	10.26	14.5	15.05	1.99
5	Lavandulyl isobutyrate	34.153	7.38						1.99	6.31	8.24	21.56
	Total	89.07	80.31	86.21	86.82	89.52	89.16	89.6	90.88	90.92	76.06	

Q. Essential Oil Study

Nardostachys jatamansi (D. Don) DC.

Introduction:

Nardostachys jatamansi is a flowering plant of the valerian family that grows in the Himalayas of Nepal, China, Bhutan and India. The plant grows to about 1 meter (3 ft) in height and has pink, bell-shaped flowers. It is found at an altitude of about 3,000 to 5,000 m (9,800 to 16,400 ft). Rhizomes (underground stems) can be crushed and distilled into an intensely aromatic amber-colored essential oil, which is very thick in consistency. Nard oil is used as a perfume, an incense, a sedative, and an herbal medicine said to fight insomnia, birth difficulties, and other minor ailments and mild, dry winters.

Physico-Chemical Analysis oil:

Place of collection: Ramechhap and Dailekh
Color: Amber/ Dark green

Parameter	Ramchhap	Dailekh
Oil% (v/w)	1.2	0.9
Refractive index@20°C	1.51649	1.51647

Chemical composition:

Major chemical constituents are: Pinene <beta>, Terpineol <alpha>, Calarene, beta-Humulene, Spathulenol, Viridiflorol, Valerenol, Cedrenyl acetate etc.

GCMS Chromatogram:



Vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) (L.) Roberty

Introduction:

Vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) also called khus-khus is perennial bunchgrass of the family Poaceae. It is native to the tropical regions in Asia. It grows upto 1.5 metres (5 feet) in height and forms clumps as wide. The stems are tall, erect and stiff and the leaves are long, thin, and rather rigid. Its root system is finely structured, very strong and can grow upto 4 metres (13 ft) in depth.

Vetiver is mainly cultivated for the fragrant essential oil steam distilled from its roots. The oil is amber brown or golden brown and viscous. Its odor is described as deep, sweet, woody, smoky, earthy, amber and balsam. The best quality oil is obtained from 18- to 24-month-old roots. Oil is mainly used for cosmetics, aromatherapy, herbal skincare and ayurvedic soap.

Physico-chemical analysis of vetiver oil:

Place of sample collection: Dhanusha Dham, Dhanusha

Color: Viscous amber brown

Odor: pleasant characteristics

Oil % : 0.6 (v/w)

Refractive Index: 1.51755 @ 20 C

1.50976 @ 40 C



Chemical Composition:

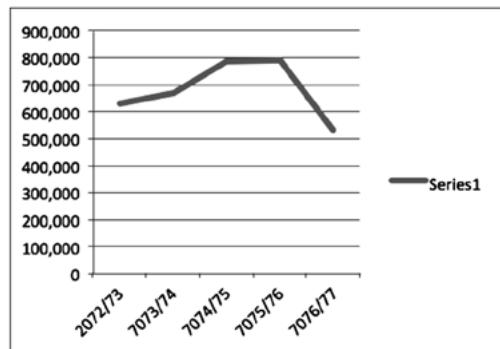
Vetiver oil or khus khus oil is a complex oil, containing over 50 identified components, typically: Muurolene <alpha>, cadinene <gamma>, Cadinene <delta>, Eudesma-4(15), 7-diene-1. beta.-ol, Muurolol <alpha>, 4,5,5,7- tetrahydroindazole-3-spirocyclohexa, valerenic acid, methyl ester, lanceol cis, 2,3- Dimethyl-4-biphenylamine, benzoic acid, furfural, vetivone, vetivenyl vetivenate, terpinen-4-ol, 5-epiprezizane, khusimene, α-muurolene, khusimone, Calacorene, β-humulene, α-longipinene, γ-selinene, δ-selinene, δ-cadinene, valencene, calarene-gurjunene, α-amorphene, epizizanal, 3-epizizanol, khusimol, Iso-khusimol, valerenol, β-vetivone, α-vetivone.

GCMS Chromatogram:

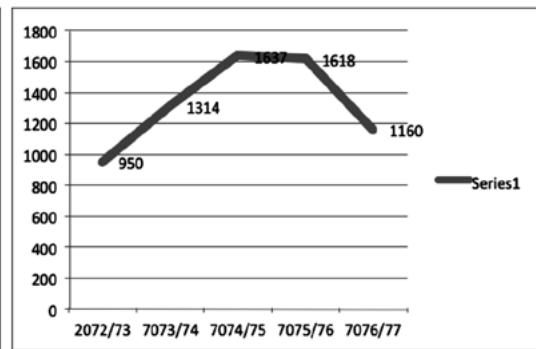


१०. सार्वजनिक विश्लेषण तथा ट्रेड सपोर्ट कार्यक्रम

अनुसन्धानशालाको कार्यक्रमहरू मध्ये जडिबुटीको व्यापार प्रवर्द्धन महत्वपूर्ण रहेको छ । यस आ.व. २०७६/७७ मा १९६० वटा नमूनाहरूको विश्लेषण, प्रमाणीकरण, गुण नियन्त्रण तथा सिफारिस कार्य गरिएको छ । अन्य वर्षको तुलनामा यस आ.व. मा कम मात्रामा नमूना प्राप्त हुन आएको छ । विश्व बजारमा सुगन्धित तेलको व्यापारमा आएको कमी र कोमिड-१९ को प्रभावका कारणले नमूनाको संख्यामा गिरावट आएको हो ।



अ. विगत ५ आर्थिक वर्ष देखि हाल सम्पर्को राजश्व सङ्कलन



आ. विगत ५ आर्थिक वर्षको सार्वजनिक नमूना परीक्षणको तथ्याङ्क

यस अनुसन्धानशाला बाट आ.व. २०७६/०७७ मा विदेश निर्यातका लागि सिफारिस गरिएका सुगन्धित तेलको परिमाणात्मक विवरण:

क्र.सं.	सुगन्धित तेल	परिमाण (के.जी.)
१	Wintergreen	७०६२
२	Palmarosa	१५०६
३	Dhatelo	९५४
४	Lemongrass	९३०
५	Chiuri butter	९३०
६	Chamomile	६६५
७	Citronella	५७१
८	Juniper	२८४
९	Ecalyptus	२६१
१०	Cedarwood	२५४
११	Zanthoxylum	१४६

क्र.सं.	सुगन्धित तेल	परिमाण (के.जी.)
१२	Apricot	१४६
१३	Valerian	७५
१४	Artemisia	७१
१५	Cinnamon	६२
१६	Mentha	५६
१७	Anthopogon	४५
१८	Calamus	३८
१९	Zeodary	३२
२०	Basil	३१
२१	Sugandhakokila	३०

99. Physico-chemical study of some Mostly Trades Essential Oils

The study of different properties of essential oil like solubility, density, specific gravity, refractive index, optical rotation, specific rotation, acid value, saponification value, ester value colour, state etc is known as physico-chemical parameters.

There are some different parameters of mostly traded essential oils under study which are mentioned below.

1. Acid Values:

Acid Value (A.V.) is the number of milligrams of potassium hydroxide required to neutralize the free fatty acid in one gram of a fat, oil, resin, etc.. The low acidity of oils is considered as neutralized and safe for making skin care products though high acidity of oils may be harmful for skin.

Calculation:

$$\text{Strength of KOH} = \frac{\text{Weight of Potassium Hydrogen Phthalate} \times 1000}{\text{Volume of KOH Consumed} \times \text{Molecular Weight of PHP}}$$

$$\text{Acid Value} = \frac{56.11 \times (\text{Volume} \times \text{Strength}) \text{ of KOH}}{\text{Weight of sample taken (in grams)}}$$

List of Acid Values of different Essential Oils and their Range

S.N.	Name of Oil	Temp (°c)	Humidity (%)	Sample Provider	Acid Values	Range
1	Eucalyptus	25.4	79	EA (H1)	1.3942	1.3178 to 1.5802
				HCo (H2)	1.5802	
				HPL (H4)	1.3178	
2	Lemongrass	25.8	80	EA (H1)	4.7905	3.0992 to 4.7905
				HCo (H2)	3.0992	
				HPL (H4)	3.8041	
3	Mentha	25.9	80	EA (H1)	0.2820	0.2185 to 0.2820
				HCo (H2)	0.2571	
				NPRL (H3)	0.2581	
				HPL (H4)	0.2185	

4	Juniper	26.3	79	EA (H1)	0.4403	0.3235 to 0.4403
				HCo (H2)	0.3235	
				HPL (H4)	0.3298	
5	Xanthoxylum	26.4	79	EA (H1)	3.7127	1.6320 to 3.7127
				HCo (H2)	2.1903	
				HPL (H4)	1.6320	
6	Citronella	26.4	79	EA (H1)	3.4371	1.4479 to 3.4371
				HCo (H2)	2.8134	
				HPL (H4)	1.4479	
7	Cinnamon	26.4	79	EA (H1)	2.5881	2.5881 to 2.9165
				HCo (H2)	2.8080	
				HPL (H4)	2.9165	

2. Specific Gravity:

Specific Gravity (relative density) is the ratio of the mass of a given volume of the oil at 20°C to the mass of an equal volume of distilled water at 20°C. Specific gravity is an important physical constant and is specific for each liquid. It is a criterion which indicates about the quality and purity of oil.

Calculation:

$$\begin{aligned} \text{Specific Gravity} &= \frac{(\text{Weight of Pyknometer} + \text{oil}) - (\text{Weight of empty Pyknometer})}{(\text{Weight of Pyknometer} + \text{Water}) - (\text{Weight of empty Pyknometer})} \\ &= \frac{\text{Weight of Oil}}{\text{Weight of Water}} \end{aligned}$$

List of Specific Gravity Values of different Essential Oils and their Range

S.N.	Name of Oil	Temp (°c)	Humidity (%)	Sample Provider	Acid Values	Range
1	Eucalyptus	26.6	79	EA (H1)	0.9044	0.9036 to 0.9438
				HCo (H2)	0.9036	
				NPRL (H3)	0.9438	
				HPL (H4)	0.9045	
2	Lemongrass	26.5	78	EA (H1)	0.8945	0.8933 to 0.9537
				HCo (H2)	0.8933	
				NPRL (H3)	0.9537	
				HPL (H4)	0.9016	

3	Mentha	26.2	77	EA (H1)	0.8980	0.8967 to 0.9036
				HCo (H2)	0.8982	
				NPRL (H3)	0.8967	
				HPL (H4)	0.9036	
4	Juniper	26.5	79	EA (H1)	0.8813	0.8694 to 0.8813
				HCo (H2)	0.8743	
				HPL (H4)	0.8694	
5	Xanthoxylum	26.5	80	EA (H1)	0.8884	0.8831 to 0.8884
				HCo (H2)	0.8831	
				HPL (H4)	0.8786	
6	Citronella	26.6	79	EA (H1)	0.9048	0.8922 to 0.9048
				HCo (H2)	0.8922	
				HPL (H4)	0.8941	
7	Cinnamon	26.4	79	EA (H1)	0.8894	0.8856 to 0.8915
				HCo (H2)	0.8856	
				HPL (H4)	0.8915	

3. Optical Rotation (O.R.)

The optical rotation is the angle, expressed in milliradians and/or degrees of angle, described by the polarization plane of luminous radiation whose wavelength is 589.3 nm±0.3 nm, corresponding to the D lines of Sodium, when such light travels through a thickness of 100 mm of essential oil under given conditions of temperature. The optical rotation value also signifies the purity of essential oil.

Calculation:

$$\text{Optical Rotation } (\alpha_D^t) = \frac{A \times 100}{l}$$

Where,

A= value of angle of rotation in milliradians and/ or degree of angle,
l= length of the tube used, in millimeters

List of Optical Rotation Values of different Essential Oils and their Range

S.N.	Name of Oil	Temp (°c)	Sample Provider	Acid Values	Range
1	Eucalyptus	25.6	EA (H1)	-5.16	-6.31 to 0.52
			HCo (H2)	-5.48	
			NPRL (H3)	0.52	
			HPL (H4)	-6.31	
2	Lemongrass	26.5	EA (H1)	-1.34	-3.37 to -1.34
			HCo (H2)	-1.48	
			NPRL (H3)	-2.92	
			HPL (H4)	-3.37	
3	Mentha	25.9	EA (H1)	-34.03	-37.44 to -34.03
			HCo (H2)	-37.44	
			NPRL (H3)	-36.14	
			HPL (H4)	-37.34	
4	Juniper	26.3	EA (H1)	5.33	5.33 to 13.96
			HCo (H2)	5.67	
			HPL (H4)	13.96	
5	Xanthoxylum	26.4	EA (H1)	5.21	5.21 to 7.01
			HCo (H2)	5.79	
			HPL (H4)	7.01	
6	Citronella	26.6	EA (H1)	-1.34	-2.38 to -1.34
			HCo (H2)	-1.38	
			HPL (H4)	-2.38	
			HCo (H2)	6.61	
			HPL (H4)	6.43	

4. Thin Layer Chromatography:

Thin Layer Chromatography is a technique used to isolate non-volatile mixtures. The experiment is conducted on a sheet of aluminium foil, plastic, or glass which is coated with a thin layer of adsorbent material. The material usually used is aluminium oxide, cellulose, or silica gel.

On completion of the separation, each component appears as spots separated vertically. Each spot has a retention factor (R_f) expressed as:

R_f = dist. travelled by sample / dist. travelled by solvent

The factors affecting retardation factor are the solvent system, amount of material spotted, absorbent and temperature. **TLC is one of the fastest, least expensive, simplest and easiest chromatography technique.**

The compounds in the mobile phase move over the surface of the stationary phase. The movement occurs in such a way that the compounds which have a higher affinity to the stationary phase move slowly while the other compounds travel fast. Therefore, the separation of the mixture is attained. On completion of the separation process, the individual components from the mixture appear as spots at respective levels on the plates. Their character and nature are identified by suitable detection techniques.

The TLC spots and their Rf Values of some essential oils



Fig: TLC spots of Lemongrass oil

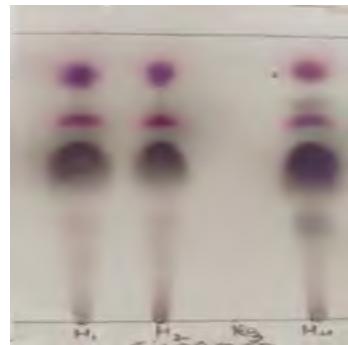


Fig: TLC spots of Cinnamon Oil

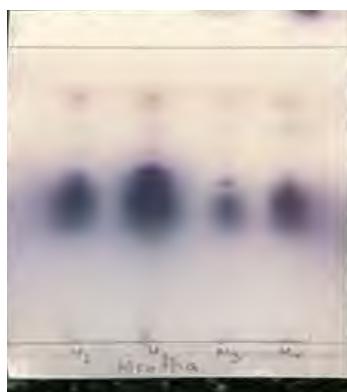


Fig: TLC spots of Mentha oil

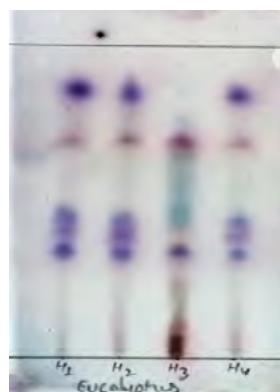


Fig: TLC spots of Eucalyptus oil

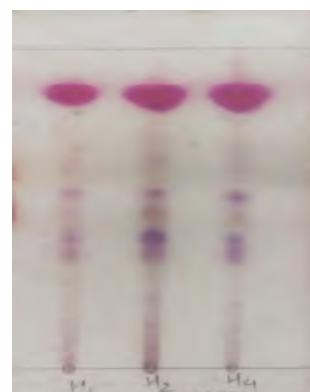


Fig: TLC spots of Juniper oil

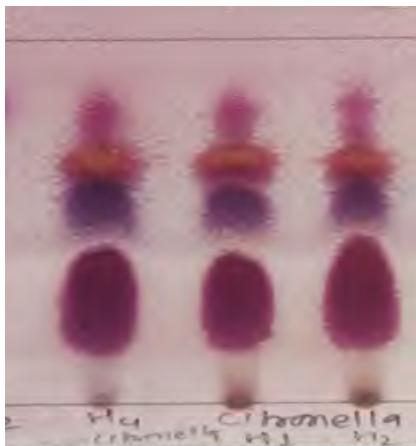


Fig: TLC spots of Citronella oil

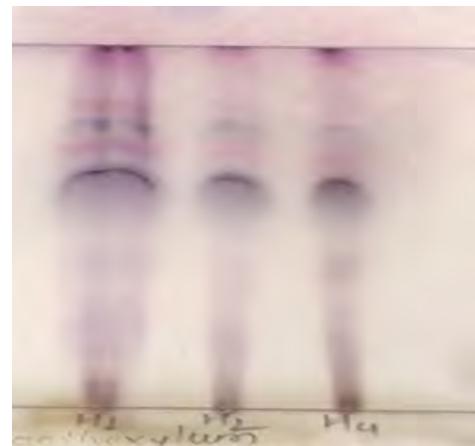


Fig:TLC spots of Xanthoxylum oil

Table for Rf values of some essential oil

S.N.	Name of Essential Oils	Rf Values	Sample Provider
1.	Eucalyptus	0.09,0.34,0.39,0.45,0.70,0.85	H ₁ , H ₂ , H ₄
2.	Lemongrass	0.18,0.32,0.65,0.77,0.87	H ₁
		0.18,0.34,0.65,0.77,0.88	H ₂
		0.16,0.25,0.44,0.63,0.76	H ₃
		0.16,0.30,0.62,0.75,0.88	H ₄
3.	Mentha	0.47,0.59,0.65,0.71,0.81	H ₁ , H ₂
		0.45,0.53,0.62,0.71,0.81	H ₃ , H ₄
4.	Juniper	0.14,0.22,0.0.35,0.42,0.48,0.56,0.65,0.72,0.85	H ₁ , H ₂ , H ₄
5.	Xanthoxylum	0.40,0.58,0.71,0.76,0.84,0.96	H ₁ , H ₂ , H ₄
6.	Citronella	0.29,0.55,0.66,0.80	H ₁ , H ₂ , H ₄
7.	Cinnamon	0.35,0.55,0.71,0.76,0.87	H ₁ , H ₂ , H ₄

Note: RF value सुगन्धित तेलको composition प्रयोगशालको वातावरण प्रयोग हुने solvent system र TLC plate समेतमा निर्धारण गर्दछ ।

१२. Accreditation Support Program

External Audit

प्रयोगशालाको ISO 17025 को स्तरोन्तती:

विभाग अन्तर्गतका Instrument Section र यस प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालामा ISO 17025:2005 बाट Accreditation भएकोमा ISO 17025:2017 मा स्तरोन्तती गर्न पूर्व तालिका अनुसार नै NABL India बाट प्रयोगशालाको audit गराईयो। Audit का क्रममा उठेका सवालहरूको सम्बोधन (Closure of Non Conformities-NC) पश्चात् प्रयोगशालाको Accreditation स्तरोन्तती भई सम्पूर्ण पारामिटरहरूमा ISO 17025 को Accreditation लाई निरन्तरता दिन सफलता प्राप्त भएको छ।



Standard Operating Procedure (SOP) preparation for phytochemical study

अनुसन्धानशालाले अध्ययन तथा अनुसन्धानको कार्यक्रमलाई व्यवस्थित तथा विश्वसनीय बनाउनका लागि समय समयमा विभिन्न प्रकारका SOP हरू बनाई लागू गर्दै आइरहेको छ। जस अन्तर्गत यस आ. व. मा High Performance Liquid Chromatography (HPLC) र Fractional Distillation Unit (FDU) संचालनको SOP बनाइएको छ। यसबाट उपकरणहरूको संचालन तथा प्रयोगमा सरलीकरण हुन्छ।

1. Standard operating procedure for fractional distillation.

	Department of Plant Resources Natural Products Research Laboratory Thapathali, Kathmandu, Nepal
Title: SOP for Fractional Distillation Effective from: 20/04/01	SOP No.: 04-02 Version No.: First

1. Objective

To formulate a procedure for Fractional Distillation for the fractionating the essential oils from the Aromatic plants.

2. RESPONSIBILITY

Section in-charge and other laboratory staff are responsible for the implementation of this operating procedure.

3. ACCOUNTABILITY: Head of the Laboratory

4. Principle:

A simple distillation is incapable of significant purification if the boiling points of the components are too close. When the difference in boiling points is less than 100°C, a modification is necessary, namely insertion of a fractionating column between the distilling flask and three-way adapter (Figure 1).

2. Standard operating procedure for HPLC

	Department of Plant Resources Natural Products Research Laboratory Thapathali, Kathmandu, Nepal
Title: SOP for Preparative High Performance Liquid Chromatography Effective from: 20/02/22	SOP No.: Version No.:

1.0 OBJECTIVE

To formulate a procedure for preparative high performance liquid chromatography (P-HPLC), which is one of the most popular analytical techniques to separate, identify and quantify each component in a mixture.

2.0 SCOPE

The procedure is applicable for separation and purification of phytochemical products of the plant extract.

3.0 RESPONSIBILITY

Section in-charge and other laboratory staff are responsible for the implementation of this operating procedure.

4.0 ACCOUNTABILITY: Head of the Laboratory

5.0 PREPARATIONS

- 5.1 Preparation of Mobile Phase
- 5.1.1 Perform micro filtration before use
- 5.1.2 Mobile phase A- HPLC Grade Water or specified in monograph
- 5.1.3 Mobile Phase B- HPLC Grade Methanol (organic) or specified in monograph

5.2 Preparation of sample

- 5.2.1 Perform micro filtration before use
- 5.2.2 Dissolve in Methanol or in DMSO

5.3 Washing/purging before and after work: Perform washing using 70% methanol

6.0 DETAILED PROCEDURE

6.1 Hardware

6.1.1 Follow the following sequence of switching:

First switch off degasser → Pump 1 and 2 → Detector → Controller

6.1.2 Check fraction collector about rack, sample collecting tube, cleanliness, etc.

Prepared by: Reviewed by: Approved by:
Shanta Sapkota

Devi Prasad Bhandari

१३. Proficiency Testing (PT) कार्यक्रममा सहभागिता

ISO 17025:2017 को आवश्यकता तथा Accredited प्रयोगशालाको गुणस्तरीय मापदण्ड परिपूर्तिको निम्नि अन्तर्राष्ट्रिय स्तरको Proficiency Testing तथा Inter Laboratory Comparison - ILC कार्यक्रममा भाग लिन पर्ने प्रावधान अनुसार अनुसन्धानशालाबाट PT कार्यक्रममा भाग लिइएको थियो यस अन्तर्गत भारतको हैदराबादको Aashvi PT and Analytical Services बाट नमूना मगाई Acid value, Refractive Index / Saponification value को Proficiency testing मा भाग लिई प्रमाणपत्र समेत प्राप्त भयो ।



१४. ISO 17025: 2017 & QA/QC संबंधी तालिमः

वनस्पति विभाग, वनस्पति अनुसन्धान केन्द्रहरू र प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशालाका कर्मचारीहरूलाई ISO 17025:2017 & QA/QC सम्बन्धी पाचौं दिने तालिम दिई सो सम्बन्धी दक्षता अभिवृद्धि गर्न सफल भएको छ । उक्त तालिमको प्राप्तिबाट विभाग अन्तर्गतका प्रयोगशालामा काम गर्ने वैज्ञानिक तथा कर्मचारीमा गुणस्तरीय रूपमा प्रयोगशाला संचालनका साथै आइएसओको सफल कार्यान्वयनमा मद्दत पुग्दछ ।



Figure 4 विभागका महानिर्देशक र उपमहानिर्देशक ज्यूहरू सँग तालिमका सहभागी

Training Schedule :

Day	Subject	Date	Time	Trainer
1 st	General Requirements of ISO 17025: 2017 (Clause 4,5,6)	Poush 7	10am to 1pm	Mr. Sailesh K Jha
	Documentation Requirements of ISO 17025: 2017 (Clause 4,5,6)		1.30 pm to 4.30pm	Mr. Gajendra K Poudel
2 nd	General Requirements of ISO 17025: 2017 (Clause 7,8)	Poush 8	10am to 1pm	Mr. Sailesh K Jha
	Documentation Requirements of ISO 17025: 2017 (Clause 7,8)		1.30 pm to 4.30pm	Mr. Gajendra K Poudel
3 rd	Internal /external calibration of equipment (Mass set, Balance, Furnace, Thermometer, Glasswares like burette, pipette, volumetric flask, specific gravity bottle etc pertaining to ISO 17025: 2017	Poush 9	10 am to 4.30pm	Mr. Manish Das/ Mrs Maunta Manandhar
4 th	Measurement uncertainty and data analysis focusing on accredited parameters of DPR and NPRL	Poush 10	10am to 4.30pm	Mr. Deepak Gyawali
5 th	QA/QC of test results ,Method verification and validation	Posh 11	10am to 4.30pm	Mr. Sailesh K Jha Mrs Sova Basnet

List of participants:

S.N	Name of Participants	Designation	Institution
1.	Devi Prasad Bhandari	Senior Research Officer	NPRL
2.	Krishn Kumar Sah	Assistant Research Officer	NPRL
3.	Pradipika Acharya	Assistant Research Officer	NPRL
4.	Chetana Khanal	Assistant Research Officer	NPRL
5.	Rajeswar Ranjikar	Assistant Research Officer	NPRL
6.	Laxman Bhandari	Assistant Research Officer	NPRL
7.	Parasmani Yadav	Assistant Research Officer	DPR
8.	Amit Dhungana	Assistant Research Officer	DPR
9.	Raj Kishor Pandit	Assistant Research Officer	PRC, Makwanpur
10.	Madan Raj Bhatta	Assistant Research Officer	PRC, Kailali
11.	Ashok Babu Sapkota	Assistant Chemist	PRC, Banke
12.	Deepesh Upreti Khatri	Assistant Chemist	NPRL
13.	Shanta Sapkota	Assistant Chemist	NPRL
14.	Sarita Kumari Paudel	Assistant Chemist	NPRL
15.	Chintamani Basyal	Assistant Chemist	DPR
16.	Romi Maharjan	Assistant Chemist	DPR
17.	Bal Bahadur Bista	Assistant Chemist	DPR

१५. Animal House व्यवस्थापन

प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला अन्तर्गतको एनिमल हाउस शाखाबाट विभिन्न शिक्षण संस्थाका विद्यार्थीहरूलाई ल्याब एनिमलहरूको पालन पोषण, व्यवस्थापन सम्बन्धी जानकारी प्रदान गरिनुका साथै बाह्य शिक्षण संघ संस्थाहरूलाई अध्ययन, अनुसन्धानको लागि साना जनावरहरू उपलब्ध गराइएको छ ।

सि.नं.	साना जनावर को विवरण	उत्पादन संख्या	आन्तरिक प्रयोग	बाह्य संस्थानमा वित्री	मरेको	डिस्काउंट गरेको (मारि जाडिएको)	Total Stock	कैफियत
१	खरायो	९	-	६	३	-	२६	
२	ठिानिपिंग	२९	-	४	३५	-	६९	
३	र्याट	९५५	१००	५३६	१२७	१८३	३८९	
४	माइस	२४१२	५७८	८९८	८८७	८४५	८४७	

तालिका न १: आ. व. २०७६/७७ मा एनिमल हाउसमा रहेका तथा विभिन्न संघ संस्थाहरूलाई सहयोगात्मक रूपमा वित्री वितरण गरिएका साना जनावरहरूको विवरण तालिकामा दिईएको छ ।

F/Y 2076/077 (Animal)							
S.N.	Date	Name of Company	Address	Rat	Mice	Rabbit	Ginipig
1	03-04-76	St. Xavier College	Kathmandu		20		
2	06-04-76	Himalayan College of Agricultural Science & Technology					4
3	07-04-76	Universal Institute of Advance Studies	Lalitpur	50	40		
4	08-04-76	Valley College of Technical Science			10		
5	09-04-76	Hester Bioscience Nepal				5	
6	12-04-76	Central Inst. of Scie. & Technology		5	10		
7	13-04-76	Dr. Binu Shah	Kathmandu	30			
8	23-04-76	Central Department of Microbiology			20		
9	24-04-76	Tri- Chandra College	DarbarMarg, KTM		33		
10	24-04-76	KCST			10		
11	26-04-76	Karnali Education & Health Research P. Ltd.	Gausala, Kathmandu	20			
12	27-04-76	Banepa Nist College	Banepa, Kavre	40	30		
13	29-04-76	Little Budhha College of Health Science			18		
14	02-05-76	Bishwa Raj Dhungana			8	10	
15	08-05-76	Alka Hospital P. Ltd	Patan, Lalitpur	35	30		
16	076/5/10	Gandaki Medical College	Kaski		12		
17	076/5/11	CIST College			12		
18	076/5/29	Kantipur Academy			10		
19	30-05-76	Kantipur Valley college			4		

S.N.	Date	Name of Company	Address	Rat	Mice	Rabbit	Ginipig
20	31-05-76	SANN International			10		
21	31-05-76	Hope International College	Tikabhairab Sadak, Lalitpur	5	10		
22	31-05-76	CBEAS				1	
23	01-06-76	Banepa Nist School		40	40		
24	02-06-76	Banepa Nist School		30	50		
25	02-06-76	Manmohan Memorial Inst. Health Science	Soltimode, KTM	20			
26	07-06-76	College of Biomedical Engineering & Applied Sceince	Hadigaun Marg Kathmandu	20			
27	17-07-76	Manmohan Memorial Institute of Health Science	Soltimode, Kath- amndu				
28	17-07-76	College of Biomedical Engineering & Applied Science	Hadigaun Marg Kathmandu				
29	17-07-76	Asian College for Advance Studies	Satdobato, Lalitpur				
30	25-07-76	Manmohan Memorial Institute of Health Science	Soltimode, KTM				
31	05-08-76	Karnali Education & Health Research Pvt.Ltd.	Surya bikram Gyan- walmarg, ktm				
32	09-08-76	Asian College for Advance Studies	Satdobato, Lalitpur				
33	09-08-76	Shree Mediciland Technical College	Bharatpur, Chitwan				
34	13-08-76	Jaibik Prabidhi Kendriya Bibhag					
35	18-08-76	Little Budhha College of Health sci	Minbhawan, KTM				
36	18-08-76	National Inst.of Science	Patan, Lalitpur				
37	22-08-76	Nobel College	Budhhanagar,Ktm				
38	25-08-76	Manmohan memorial Inst. Health Science	Soltimode, KTM				
39	25-08-76	Gyanodaya Secondary School	Kalimati, Kathmandu				
40	11-09-76	Valley College of Technical Science	Sitapaila,Kathamndu	20			
41	076/9/24	Pentagon International H. S. S.	Madan Bahndari- Marg, kathmandu	20			
42	076/10/3	School of Health & allied Science	Kaski,Pokhara		40		
43	076/10/7	Crimson College of Technolugy	Devi Nagar,Butwal		50		
44	076/10/13	Golden Gate International College	Old Baneshwar, KT		25		
45	076/10/15	Manju Maharjan	Ktm		25		
46	076/10/21	Manmohan Memorial Ins. of Health Science	Soltimode, KTM	15			
47	076/10/26	Jaibik Prabidhi Kendriya Bibhag					
48	076/11/2	Little Budhha College of health secience			20		
49	076/11/8	NIS		20			
50	076/11/21	CIST College		3	6		
51	076/12/2	Central Deapartment of Bio Technology			2		

१६. उपकरण खरिद तथा जडान

अनुसन्धानशालाको प्रयोगशालालाई आवश्यक रहेका विभिन्न उपकरणहरू खरिद तथा जडान गरी सञ्चालनमा ल्याइएको छ ।



Figure 1: Rota Evaporator

Rota evaporator with
chiller: यसबाट
Phytochemical
Section मा वनस्पति
नमूनाको अनुसन्धानको
ऋगमा Extract तयार
पार्न मद्दत पुग्दछ ।



Figure 2: Chiller

व्यामरा सहितको माइक्रोस्कोप

यसको उपयोगबाट Pharmacognosy Section मा वनस्पति नमूनाको पहिचान तथा विस्तृत अध्ययनका लागि मद्दत पुग्दछ ।



Figure 3: Microscope with Camera

१७. वार्षिक प्रगति प्रतिवेदन तथा ब्रोसर प्रकाशन

कार्यालयको जानकारी र सूचना सहित आ. व. २०७६/०७७ को वार्षिक प्रगति प्रतिवेदन २०० प्रति प्रकाशन गरिएको छ । साथै नेपालका जडिबुटीको जानकारी सहितको ५०० थान ब्रोसर समेत तयार पारी जर्मनीको नुरेम्बर्गमा आयोजना भएको BIOFACH 2020 मा वितरण समेत गरियो ।



१८. Product Formulation कार्यक्रम

- यस अनुसन्धानशालाबाट नेपालमा पाइने सुगन्धित तेलहरूको समिश्रणको प्रयोग गरी Mosquito Repellent Cream बनाइएको छ । उक्त Cream को फिल्ड ट्रायल एवम् गुणस्तर निर्धारणको लागि थप अनुसन्धानको आवश्यकता रहेको छ ।
- त्यसौंगरी कोभिड-१९ को जोखिमलाई मध्यनजर गरी विश्व स्वास्थ्य संगठनको मापदण्ड अनुसार विभिन्न सुगन्धित तेलको समिश्रण गरी Hand Sanitizer को उत्पादन गरी वन मन्त्रालय, वनस्पति विभाग लगायत विभिन्न निकायलाई उपलब्ध गराइएको छ । सोको फर्मूला जडिबुटी उत्पादन तथा प्रशोधन कम्पनीलाई हस्तान्तरण गरी सो बनाउन प्राविधिक सहयोग समेत गरिएको छ ।

Formulation 1: Mosquito Repellent Cream	
S.N.	Ingredients
1	Steric acid
2	Cetyl alcohol
3	Mineral oil
4	Glycerine
5	Methyl paraben
6	Propyleparaben
7	Triethylamine
8	Mosquito Repellent Essential oil (Lemongrass, Basil, Artemesia, Cammomile, Camphor etc.)
9	Water



Formulation 2: Ethanol Based Hand Sanitizer	
S.N.	Ingredients
1	Ethanol
2	Rose water
3	Glycerine
4	Essential oil
5	Hydrogen peroxide
6	Aloe vera
7	Distilled water



Formulation 1: F1-Z

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethylamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Zanthoxylum aratum	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Formulation 2: F2-L

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethylamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Lemon grass	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Formulation 3: F3-C

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethylamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Citronella	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Formulation 4: F4-O

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethalamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Ocimum sanctum	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Formulation 5: F5-E

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethalamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Eucalyptus	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Formulation 6: F6-C

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethalamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Cider oil	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Formulation 7: F7-A

Ingredients	dose 1	dose 2	dose 3
Steric Acid	15%	15%	15%
Cetyl Alcohol	2%	2%	2%
Mineral Oil	2%	2%	2%
Glycerin	10%	10%	10%
Methyl Parben	0.2%	0.2%	0.2%
Propyl paraben	0.02%	0.02%	0.02%
Triethalamine	1%	1%	1%
Distilled Water	Q.S. 100%	Q.S. 100%	Q.S. 100%
Preservatives	Q.S.	Q.S.	Q.S.
Mosquito repellent essential oils Artimesia	0.5%	1%	1.5%
Neem extracts	1%	1%	1%
Titepati extracts	1%	1%	1%

Results of Evaluation of Mosquito Repellant Cream.

Parameters	F1 Z	F2 L	F3 C	F4 O	F5 E	F6 Ci	F7 A
Appearance	White colored, smooth cream having a characteristic odour.	Yellow colored, smooth cream having a characteristic odour.	White colored, smooth cream having a characteristic odour.	Colorless, smooth cream having a characteristic odour.	Colorless, smooth cream having a characteristic odour.	Yellow, smooth cream having a characteristic odour.	Light green colored, smooth cream having a characteristic odour.
Spreadability	6.0 g cm/sec	6.1 g cm/sec	6.1 g cm/sec	6.2 g cm/sec	6.1 g cm/sec	6.0 g cm/sec	6.2 g cm/sec
Irritancy Test:	Non irritant						
PH	approx. 7						
Thermal Stability	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours	Stable at $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 48 hours

Conclusion:

Thus in the present study both the formulations of seven different essential oils containing creams offer a remarkable mosquito repellency. Further studies are needed to explore the other allied activities of these formulations.

१०. आ.व. २०७६/०७७ को कार्यक्रमगत वार्षिक खर्च तथा भौतिक र वितीय प्रगति

कार्यक्रमको नाम	वार्षिक बजेट (रु. लाखमा)			वार्षिक खर्च (रु. लाखमा)			भौतिक प्रगति (प्रतिशत)	वितीय प्रगति (प्रतिशत)
	पूँजीगत	चालु	जर्मा	पूँजीगत	चालु	जर्मा		
वनस्पति अध्ययन, अनुसन्धान तथा बजारीकरण	१८	२७	३९	९.३३	१६.०३	२५.३६	९४.५%	६४.०३%
जडीबुटी विकास कार्यक्रम	९	३८.६७	४७.६७	६.०५	२९.४६	३५.५१	८०.५%	७४.४९%

अन्य विवरणहरू:

सि.नं.	आवश्यक विवरण	राजश्व संकलन	बेरुजु फर्क्ष्यौदा	कैफियत
१.	प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला	५,३२,५०५/-	१,२८,९०३.६६ (शून्य पारिएको)	

२०. सार्वजनिक विश्लेषण सञ्चालनी सेवाग्राहीहरूको विवरण

S.N.	Company name	Phone No.	Address	E-mail
1	Alternative Herbal Products Pvt. Ltd.	01-6202842, 9851120541	Kausaltar, Bhaktapur	ahi@infoclub.com.np
2	Annapurna Aroma Company Pvt. Ltd.	9841985608	New Baneshwar	Annapurna.aroma@gmail.com
3	Aarya Aroma Pvt. Ltd.	4427133	Gairidhara, Ktm	
4	Bahubali Herbal Asenss & Export Pvt. Ltd.	81-521102	Nepalgunj-2	jainbahubali@wlink.com.np
5	Everest Arom Pvt. Ltd.	5546743, 9851035949	Prayag Pokhari, Lagankhel	everestaroma@gmail.com
6	Everest Herbs Processing Pvt. Ltd.	0841351718, 4220087	Mechinagar Jhapa	
7	Kulayan Natural Herbal P.Ltd			
8	Green Vision Pvt.Ltd.	4475265	Kasturi marga-34,new-baneshwar	greenvision2222@gmail.com
9	H. Plant Pvt. Ltd.	9841425362	Lalitpur	info@hplantinternational.com
10	Himalayan Bio Trade Pvt. Ltd.	4386690, 9851164113	Ktm, Nepal	hbtp@himalayanbiotrade.com
11	Herbo Nepal Enterprise Pvt. Ltd.		Lazimpat, panipokhari	info@aromaticnepal.com
12	Natural Resources Industries Pvt. Ltd.	4110860	Sinamangal, Ktm	info@msinp.com
13	Jain Naturabs			
14	Kalpasanad Adhyan Pratisthan		Bajhang-8, maulali	
15	Khapterd Aroma Industries Pvt. Ltd.	4414052, 9851006207		khaptararomaindustries@yahoo.com
16	Male International Pvt. Ltd.	543317, 539397		maleint@wlink.com.np
17	N.P. International	051-520513, 9845040183		
18	Naiad Nepal Pvt. Ltd.	01-4440173	Lazimpat, Ktm	naiadnepal@gmail.com
19	Namuna Jadibuti Proshodhan Kendra			
20	Prima Tech Pvt. Ltd.	522871,527370,526894	KTM	info@NBE.MOS.COM.NP
21	Satya International Pvt. Ltd.	9858020390		
22	Shambhala Herbal & Aromatic Pvt. Ltd.	4478359, 9851043654	Mahakal, ktm	amatya@sambhala.wlink.com.np
23	Unique Himalayan Herbs International	4494914	Kathmandu	ribdrawal@wlink.com.np
24	National Organic	4359612	Balaju Height	office@nationalorganices.com.np

अनुसूची २

List of Plant species prioritized by Government of Nepal for cultivation and development:

S.N	Scientific name	Local name	Family
1	<i>Aconitum heterophyllum</i> Wall.ex Royle	अतिस	(Ranunculaceae)
2	<i>Aconitum ferox</i> Wall.ex ser.	विष	(Ranunculaceae)
3	<i>Acorus calamus</i> L.	बोझो	Acoraceae
4	<i>Asparagus racemosus</i> Wild.	सतावरी	Asparagaceae
5	<i>Azadirachta indica</i> A.Juss.	निम	Meliaceae
6	<i>Bergenia ciliata</i> (Haw.) Sternb.	पाषाणभेद	Saxifragaceae
7	<i>Cinnamomum tenuipile</i> Kosterm.	सुगन्धकोकिला	Lauraceae
8	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (Berk.) Sacc.	यार्सागुम्बा	Ophiocordycipitaceae
9	<i>Cinnamomum tamala</i> (Buch-Ham.) Nees & Eberm	तेजपात	Lauraceae
10	<i>Dactylorhiza hatagirea</i> (D.Don) Soo.	पाँचऔले	Orchidaceae
11	<i>Dioscorea deltoidea</i> Wall.ex Griseb	भ्याकुर	Dioscoreaceae
12	<i>Gaultheria fragrantissima</i> Wall.	धसिंगरे	Ericaceae
13	<i>Juglans regia</i> L.	ओखर	Juglandaceae
14	<i>Parmelia cirrhata</i> Fr.	इयाऊ	Parmeliaceae
15	<i>Morchella elata</i> Fr.	गुच्छी च्याउ	Morchellaceae
16	<i>Nadostachys jatamansi</i> DC.	जटामसी	Caprifoliaceae
17	<i>Neopicrorhiza scrophulariifolia</i> (Penell) D.Y. Hong	कुटकी	Scrophulariaceae
18	<i>Phyllanthus emblica</i> L.	अमला	Phyllanthaceae
19	<i>Piper longum</i> L.	पिपला	Piperaceae
20	<i>Sinopophyllum hexandrum</i> (Royle.) T.S.Ying	लघुपत्र	Berberidaceae

21	<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth.ex kurz	सर्पगन्धा	Apocynaceae
22	<i>Rheum australe</i> D.Don	पदमचाल	Polygonaceae
23	<i>Rubia manjith</i> Roxb.ex Fleming	मजिठो	Rubiaceae
24	<i>Sapindus Mukorossi</i> Gaertn.	रिष्टा	Sapindaceae
25	<i>Swertia chirayita</i> (Roxb.) Buch.-Ham. ex C.B.Clarke	चिराईतो	Gentianaceae
26	<i>Tagetes minuta</i> L.	जंगली सयपत्री	Asteraceae
27	<i>Taxus wallichiana</i> Zucc.	लौठ सल्ला	Taxaceae
28	<i>Tinospora sinensis</i> (Lour.) Merrill	गुर्जो	Menispermaceae
29	<i>Valeriana Jatamansi</i> Jones.	सुगन्धवाल	caprifoliaceae
30	<i>Zanthoxylum armatum</i> DC.	टिमुर	Rutaceae
31	<i>Paris polyphylla</i> Sn.	सत्रुवा	Melanthaceae
32	<i>Fritillaria cirrhosa</i> D.Don	काकोली	Liliacea
33	<i>Curculigo orchioides</i> Gaertn.	कालो मुस्ली	Hypoxidaceae

Methods for Estimation of Total Phenolic Content (TPC), Total Flavonoid Content (TFC) and Determination of Antioxidant Activity of Medicinal plants

1. Estimation of Total Phenolic Content (TPC) by Folin-Ciocalteau Reagent (FCR) Method by Spectrophotometer.

The purpose of the method is to evaluate the total phenolic compounds present in the given plant sample. This method is applicable for quantitative estimation of phenolic compounds in plant material. The apparatus required is volumetric flask, test tubes, beakers, micropipette (10-100 μL and 100-1000 μL), and measuring cylinder.

1. Preparation of standard gallic acid for calibration curve

Reagents Preparation

10% Folin- Ciocalteu reagent (FCR):

Dissolve 10 mL of Folin- Ciocalteu reagent in 90 mL of distilled water

7%Na₂CO₃

Dissolve 7 g of sodium carbonate in 100 mL of Distilled water

Gallic acid of 1mg/mL: Dissolve 10 mg of Gallic acid in 10 mL methanol

The total phenolic content in plant extracts can be estimate by Folin- Ciocalteu reagent as method described by Singleton and Rossi.

a. Various concentrations such as 25, 50, 75, 100, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ prepare from standard gallic acid solution. For this, carefully take 25 μL of gallic acid solution and make it 1 mL by adding 975 μL of methanol to prepare gallic acid of 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration. Similarly, 50 μL of gallic acid solution and make it 1 mL by adding 950 μL of methanol to prepare gallic acid of 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. For other concentrations perform in same way.

b. To each concentration, add 5 ml of 10% Folin-Ciocalteu reagent and 4 ml of 7% Na₂CO₃ that makes 10 ml total volume.

c. Shake the thus obtained blue colored mixture.

d. Incubate in water bath at 40°C for 30 minutes.

e. Measure the absorbance at 760 nm thrice by spectrophotometer and use the average value of absorbance to plot calibration curve.

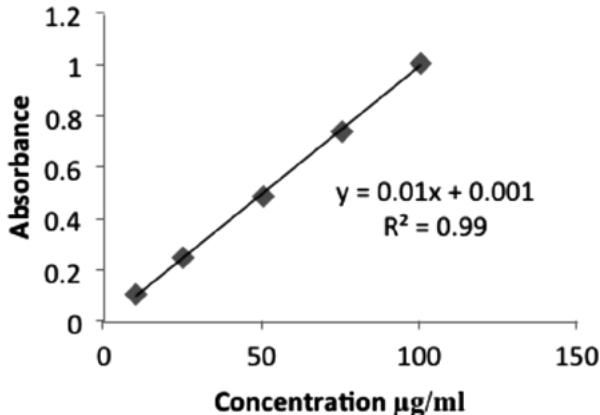


Figure 1: Example of Calibration curve for authentic gallic acid

II. Preparation of samples for total phenolic content.

a. Prepare the sample solution of extracts by dissolving 10 mg of each extract in 10 ml of methanol in order to make 1mg/mL.

b. Prepare various concentrations such as 25, 50, 75, 100, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ from stock solution as previously of gallic acid.

c. To each concentration, add 5 ml of 10% Folin-Ciocalteu reagent and 4 ml of 7% Na_2CO_3 that makes 10 ml total volume.

d. Shake the solution thus obtained blue colored mixture.

e. Incubate in water bath at 40°C for 30 minutes.

f. Measure the absorbance at 760 nm thrice and use average value of absorbance to calculate total phenolic content.

Calculations demonstration:

Let an equation from calibration curve is $y = 0.0109x$ (i)

y= absorbance

x= amount of substrate

Let take one concentration 150 $\mu\text{g/mL}$ as an example, which has absorbance 0.137

Substituting the value of absorbance on equation (i)

$$x = 12.56 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Using formula, $\text{TPC} = cV/m$

Where, c is the amount of substrate present in sample in mg = x , V is the volume in ml and m is the amount of sample in gram

We have, c in $\mu\text{g/g}$ so we need to convert it into mg by dividing by 1000 and m in μg needs to convert into g.

Then, **TPC** = $\frac{(12.56 \times (1/1000) \times 1)}{(150 / (1000 \times 1000))}$ = **83.79 mg GAE/g**

REFERENCES

1. Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science & Technology, 37(2), 153-161.
 2. Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nature protocols, 2(4), 875.
 3. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in enzymology (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
 4. Mustafa, R. A., Hamid, A. A., Mohamed, S., & Bakar, F. A. (2010). Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. Journal of food science, 75(1), C28-C35.

2. Estimation of Total Flavonoid Content (TFC)

The Purpose of this method is to evaluate the total flavonoid content present in the given plant sample having positive test for flavonoids in preliminary phytochemical screening test. The total flavonoid content was determined by aluminium chloride colorimetric assay. This method is applicable for quantitative estimation of flavonoid compounds in plant material having high flavonoid content. The apparatus required is volumetric flask, test tubes, beakers, micropipette (10-100 μ L and 100-1000 μ L), burette, measuring cylinder.

I. Preparation of standard quercetin for calibration curve

Reagent Preparation

5% NaNO₂:

Dissolve 5 g of sodium nitrite in 100 mL distilled water

10% AlCl₃:

Dissolve 10 g of AlCl₃ in 100 ml distilled water

Preparation of 1N NaOH:

Dissolve 4 g of sodium hydroxide in 100 mL distilled water

The total flavonoid content in extract can be determined by aluminium chloride colorimetric assay.

- a. Prepare the stock solution of quercetin of 1 mg/mL concentration in methanol
- b. From 1mg/mL solution, take 25 μ L by micropipette and add 975 μ L methanol to make 25 μ g/mL solutions.
- c. Similarly, prepare 50, 75, 100, 150 μ g/mL concentration solutions in different test tubes.
- d. Add 1 mL quercetin of each concentration to the test tube containing 4 mL of distilled water.
- e. At zero-time, add the 0.3 mL of 5% NaNO₂ to the test tube
- f. After 5 min, 0.3 mL of 10% AlCl₃. Then, after 6 min, add 2 mL of 1 M NaOH to the mixture.
- g. Immediately, make the volume of the mixture up to 10 mL by the addition of 4.4 mL of distilled water.
- h. Measure the absorbance of colored mixture at 510 nm.
- i. Plot the standard calibration curve.

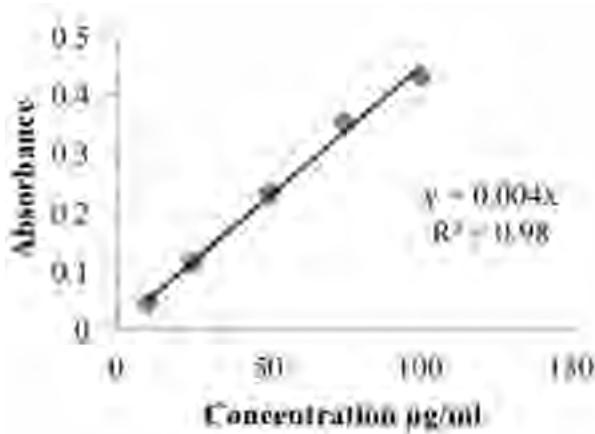


Figure 2: Example of Calibration curve for authentic quercetin

Table Format 1: Absorbance value for gallic acid and quercetin measured for calibration curve

Gallic acid used as standard for calibration of phenols		Quercetin is used as standard for calibration of flavonoid	
Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Absorbance for gallic acid measured	Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Absorbance values for quercetin measured
10	10
25	25
50	50
75	75
100	100

II. Preparation of samples for total flavonoid content:

- Prepare the stock solution of sample extract of 1 mg/mL concentration in methanol
- From 1mg/mL solution, take 25 μL by micropipette and add 975 μL methanol to make 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ solution.
- Similarly, prepare 50,75,100, 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration solutions in different test tubes.
- Add 1 mL quercetin of each concentration to the test tube containing 4 mL of distilled water.
- At zero-time, add the 0.3 mL of 5% NaNO₂ to the test tube
- After 5 min, 0.3 mL of 10% AlCl₃. Then, after 6 min, add 2 mL of 1 M NaOH to the mixture.
- Immediately, make the volume of the mixture upto 10 mL by the addition of 4.4 mL of distilled water.
- Measure the absorbance of colored mixture at 510 nm by spectrophotometer.

Calculations of TFC are same as that of TPC:

Total flavonoid content was calculated using the formula:

$C = cV/m$ where $C =$ Total content mg QE/ g dry extract.

$c =$ concentration of quercetin obtain from calibration curve, mg/ml,

$V =$ the volume of the extract in ml, $m =$ the weight of plant extract in g.

Table Format 2 : Total Phenolic content (TPC) and Total Flavonoid Content (TFC) in different extracts.

TPC and TFC content (Mean)	MeOH extract	50% EtOH extract	H2O extract
mg GAE/ g (Mean TPC± S.D)
QE mg/ g (Mean TFC± S.D)

REFERENCES

1. Mustafa, R. A., Hamid, A. A., Mohamed, S., & Bakar, F. A. (2010). Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. Journal of food science, 75(1), C28-C35.
2. Pekal, A., & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminiumcomplexation reaction for flavonoid content assay. Food Analytical Methods, 7(9), 1776-1782.
3. Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the university of chemical technology and metallurgy, 40(3), 255-260.
4. Sen, S., De, B., Devanna, N., & Chakraborty, R. (2013). Total phenolic, total flavonoid content, and antioxidant capacity of the leaves of Meynaspinosaroxb, an Indian medicinal plant. Chinese journal of natural medicines, 11(2), 149-157.

3. Determination of antioxidant activity of the selected extracts using DPPH free radical scavenging assay.

In general to evaluate the antioxidant potential of the given plant sample by DPPH method. Simple and inexpensive method to measure antioxidant capacity of plants involves the use of free radical 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method which is widely used to test the ability of compounds to act as free radicals scavengers or hydrogen donors and to evaluate antioxidant activity.

An antioxidant is a molecule that inhibits the oxidation of other molecules. Many medicinal plants contains large amounts of antioxidants such as polyphenols which play important role in absorbing and neutralizing free radicals, quenching singlet and triplet oxygen or decomposing peroxides.

This method is applicable for quantitative estimation of half maximal inhibitory concentration of the plant material. The apparatus required is volumetric flask, test tubes, beakers, micropipette (10-100 μ L and 100-1000 μ L), and measuring cylinder. This is a quick and easy method to analyze the scavenging potential of antioxidants. Free radical scavenging activity of selected extracts was measured by using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical by spectrophotometrically.

I. Preparation of DPPH solution (0.1mM)

Carefully weigh 0.39 mg of the DPPH carefully dissolved in methanol and finally maintains the volume to 100 ml.

II. Preparation of extract solutions

A stock solution of plant extract of 1 mg/mL was prepared by dissolving 10 mg of each extract in 10 mL of methanol. From the sample stock solution 10, 25, 50, 75, 100 μ g/mL solutions were prepared.

For 10 μ g/mL: mix 10 μ L of extract solution from 1 mg/mL and 990 μ L methanol

For 25 μ g/mL: mix 25 μ L of extract solution from 1 mg/mL and 975 μ L methanol

For 50 μ g/mL: mix 50 μ L of extract solution from 1 mg/mL and 950 μ L methanol

And similarly prepare other different concentrations.

III. Evaluation of antioxidant potential

- a. To the sample solutions of different concentration, add 1.5 mL DPPH solution
- b. Incubate at room temperature (in dark) for 30 minutes
- c. Measure the absorbance at 517 nm spectrophotometrically.
- d. Ascorbic acid was used as the standard for antioxidant.

The percentage of inhibition was calculated by using formula,

$$I\% = \frac{AC-AO}{AC} \times 100\%$$

where, AC = absorbance of the control (1 mL methanol + 1.5 mL DPPH solution), AO = absorbance of the sample solution, and I% = percentage of inhibition

Then, plot the graph of % inhibition vs concentration in excel and note the equation.

Calculations for IC₅₀,

Let's take ascorbic acid,

For example we have an equation from plot, $y = 0.772x + 26.409$

For half inhibitory concentration, $y=50$, then,

$$50 = 0.772x + 26.409$$

$$x = 30.55 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

The value of x is IC₅₀ value.

The radical scavenging activities of essential oil were expressed in terms of their IC₅₀ values

Note: Lower the IC₅₀ value higher the antioxidant potential of plant sample.

Table Format 3: Absorbance and a control measured at wavelength 517 nm in the DPPH assay, % inhibition and IC₅₀

Plant extract	Conc. $\mu\text{g}/\text{ml}$	Absorbance	% inhibition	IC ₅₀	TPC(mgGAE/g)	TFC (mg QE/g)
Methanolic	10
	25			
	50			
50 % ethanolic	10
	25			
	50			
Aqueous Extract	10
	25			
	50			
Control					

REFERENCES

- Verzelloni, E., Tagliazucchi, D., & Conte, A. (2007). Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar. *Food Chemistry*, 105(2), 564-571.
- Mustafa, R. A., Hamid, A. A., Mohamed, S., & Bakar, F. A. (2010). Total phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activity of 21 selected tropical plants. *Journal of food science*, 75(1), C28-C35.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.
- Gupta, S., & Prakash, J. (2009). Studies on Indian green leafy vegetables for their antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(1), 39-45.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, 14(5), 323-328.
- Wangensteen, H., Samuelsen, A. B., & Malterud, K. E. (2004). Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food chemistry*, 88(2), 293-297.
- Szabo, M. R., Iditoiu, C., Chambre, D., & Lupea, A. X. (2007). Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chemical Papers*, 61(3), 214-216.

अनुभूती ब

नागरिक वडापत्र

प्राकृतिक सम्पदा अनुसंधानशालाबाट प्रदान गरिने सेवा, लाभको समय तथा सेवा शुल्क

सि.नं	विवरण	लाभने समय	सेवा शुल्क	सि.नं	विवरण	लाभने समय	सेवा शुल्क
(क) रासायनिक विशेषण सेवा							
	उपकरणद्वारा परिदृश्य प्रति लग्ना				विज्ञानिक उपकरणद्वारा परिदृश्य प्रति लग्ना		
	<input type="checkbox"/> UV/VIS Spectrophotometer	३००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> UV/VIS Spectrophotometer	७ दिन	५०।००
	<input type="checkbox"/> Polarimeter	३००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> Polarimeter	७ दिन	२००।००
	<input type="checkbox"/> Refractometer	३००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> Refractometer	७ दिन	५०।००
	<input type="checkbox"/> PH परिक्षण	३००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> PH परिक्षण	७ दिन	२००।००
	<input type="checkbox"/> विविध परिक्षण (Moisture content, Total Ash, Specific gravity)	३००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> विविध परिक्षण (Moisture content, Total Ash, Specific gravity)	७ दिन	२५०।००
(ख) रोगिकृत तेलका Physiochemical parameter निर्धारण प्रति लग्ना।							
१	<input type="checkbox"/> Ester value after acetylation	२००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> रोगिकृत सम्बन्धी सेवा		
	<input type="checkbox"/> Acid value	२००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> विविध प्रतिकृत तथा विक्रिकृत (प्रति पटक प्रति ग्रॅम १० जना मास)		
	<input type="checkbox"/> Ester value	२००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> १० कक्षा सम्मका विद्यार्थी	३००।००	प्रति घटा
	<input type="checkbox"/> उग्रान्तित तेल प्रतिशत निर्धारण	२००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> स्नातक सम्मका विद्यार्थी	७५।००	२००।००
	<input type="checkbox"/> Qualitative Test by TLC	४००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> स्नातकोत्तर सम्मका विद्यार्थी	१०५।००	१५ दिन
२	प्राणीकरण प्रति लग्ना।	४००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> विविधिकृत प्रयोगशालामा लिंगित तथा विक्रिकृत (जाडिभुटी प्रसाधन तथा विशेषण आदि बारे निवेदकको रथानमा गई)		
	वाक्यस्थिक रसायन विशेषण सेवा (प्रति लग्ना।)	४००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> प्रदान गर्ने मान्य-प्रति व्याप्ति	५००।००	जाडिभुटी तथा सामाजिको अवश्य
३	<input type="checkbox"/> विशेषको �Phytochemical screening	५००।००	१ भाइना।		<input type="checkbox"/> राजपत्राकित जनशक्ति	४५।००	पूर्ण जानकारी अनुसार
	<input type="checkbox"/> विशेषको Extract तयार गर्ने । (Bench Scale)	५००।००	७ दिन		<input type="checkbox"/> राजपत्र अनुचित जनशक्ति	४५।००	निवेदनकर्ताको लिए रथानमा गई
मरणकोलोगिकल परिक्षण							
	<input type="checkbox"/> Acute Toxicity Test	१००।००	५५ दिन		<input type="checkbox"/> राजपत्र अनुचित जनशक्ति	४५।००	सामाजिक विशेषण चाला,
	<input type="checkbox"/> Isolated Tissue Test	१००।००	५५ दिन		<input type="checkbox"/> राजपत्र अनुचित जनशक्ति	४५।००	प्रकासन चाला,
४	<input type="checkbox"/> Antifertility Test	१००।००	५५ दिन		<input type="checkbox"/> राजपत्र अनुचित जनशक्ति	४५।००	प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला, अपाथली।
	<input type="checkbox"/> Anthelmintic Test	१००।००	५५ दिन				प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला, अपाथली।
	<input type="checkbox"/> Cardio Vascular Test	१००।००	५५ दिन				प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला, अपाथली।
जग्नावरकृत वितरण सेवा (प्रति लग्ना।)							
	<input type="checkbox"/> जग्नावरयोगी	५००।००					
	<input type="checkbox"/> निरोपिया	३००।००					
	<input type="checkbox"/> याट	१२५।००					
	<input type="checkbox"/> माइरा	५०।००					
५	फर्निकोलोगिकल प्रतिकृति तेलका विक्रिकृत (प्रति पटक)	५००।००	५५ दिन	५००।००			
	<input type="checkbox"/> जग्नावरयोगी	३००।००					
	<input type="checkbox"/> निरोपिया	१२५।००					
	<input type="checkbox"/> याट	५०।००					
	<input type="checkbox"/> माइरा	५०।००					
फर्निकोलोगिकल प्रतिकृति तेलका विक्रिकृत (प्रति लग्ना।)							
६	<input type="checkbox"/> विशेष तथा तिनका मारको पहियान तथा नामवरण	३००।००	७ दिन				
	<input type="checkbox"/> परिवर्तन नमुनाको पहियान	३००।००	७ दिन				
	<input type="checkbox"/> म्युजियमको नमुनाको प्रत्यक्ष परिवर्तन गराउने (प्रति पटक)	१५०।००					

- नोट:**
- १) उल्लेखित सेवाहरू पहिलो आज्ञा लाई परिवर्तन राखिन्दा यी सम्पर्क अवधिमा कारबै रसम्बव इन नसान्तर
 - २) नियुक्ति संस्कृको अवधिमा कारबै रसम्बव इन नसान्तर
 - ३) Sampling ISO 212 : 1973 Guideline अनुसार गरिने जातकाली गर्दैँच

प्रयोगशाला भित्र भएका केही क्रियाकलापहरूको छलक



वनस्पति तथा सुगन्धित तेलको नमूना संकलन र प्रोडक्ट फर्मूलेशन जार्डे





Laboratory For Quality



नेपाल सरकार
वन तथा वातावरण मन्त्रालय

वनस्पति विभाग
प्राकृतिक सम्पदा अनुसन्धानशाला

थापाथली, काठमाडौं ।

फोन नं.: ८२६६८५६ / ८२६८२४७, फैक्स : ९७७-१-८२५११४१

www.nprl.gov.np