

اثر مدت زمان استخراج بر محتوا و ترکیب‌های اسانس دو گونه آویشن شیرازی و

دنایی در مرحله گل‌دهی^۱

Investigation of the Effect of Extraction Duration on the Essential Oil Content and Composition of *Zataria multiflora* and *Thymus daenensis* under Flowering Stages

شراره نجفیان^{*}، محمدعلی شاهچراغی و وحید روشن^۲

چکیده

جنس آویشن به دلیل خاصیت دارویی و زیستی یکی از جنس‌های مهم و به طور کامل شناخته شده است. آویشن شیرازی و دنایی دو گیاه دارویی ارزشمند هستند که در طب سنتی ایران به طور گسترده از دیرباز استفاده می‌شده‌اند. اسانس این گونه‌ها یک منبع غنی از تیمول است و به همین دلیل ویژگی ضد میکروبی و ضد اکسیدانی دارد. در این پژوهش اندام هوایی گیاهان آویشن شیرازی و آویشن دنایی در مرحله رشد زایشی جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. عمل اسانس‌گیری برای هر گیاه با استفاده از دستگاه کلونجر در ۳ تیمار زمانی یک، دو و سه ساعته و با ۳ تکرار انجام شد. اسانس‌های استخراج شده هر تیمار با هم مخلوط و ترکیب اسانس‌های مخلوط شده با دستگاه GC و GC/MS شناسایی و تجزیه تحلیل شدند. بیشترین درصد اسانس در گیاه آویشن شیرازی در تیمار دو ساعت و در گیاه آویشن دنایی در تیمار یک و سه ساعت مشاهده شد. در گیاه آویشن شیرازی ترکیب‌های مهم کارواکرول (۲۹/۲٪) و تیمول (۲۷/۶٪) در تیمار دو ساعت، لینالول (۱۹/۵٪) و ترکیب‌های گاما-ترپینن (۶/۸٪) و پاراسیمن (۴/۸٪) در تیمار سه ساعت و در گیاه آویشن دنایی ترکیب‌های مهم تیمول (۳۶/۷٪)، ژرانیول (۱۲/۷٪) و بورنئول (۴/۶٪) در تیمار یک ساعت، ارواکرول (۳۰/۴٪) در تیمار دو ساعت و لینالول (۶/۵٪) در تیمار سه ساعت بیشترین مقدار را داشتند. بر اساس مشاهده‌ها و نتیجه‌های به دست آمده بهترین زمان استخراج اسانس آویشن شیرازی، دو ساعت و آویشن دنایی، یک ساعت می‌باشد، بنابراین هزینه‌های این فرایند بر اساس نتیجه‌های به دست آمده محاسبه، تأمین و از صرف هزینه‌های اضافی در استخراج اسانس این دو گیاه جلوگیری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنایی، آویشن شیرازی، درصد اسانس، رشد زایشی، طول دوره استخراج اسانس.

مقدمه

خداوند هیچ قوم و ملتی را نیافرید مگر اینکه درمان دردهای آنها را در رستنی‌ها و گیاهان اطراف آنها خلق کرده باشد. گیاهان دارویی و فراورده‌های آن امروزه به ترتیب ۲۰٪ و ۸۰٪ تجویزهای دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و در حال توسعه را به خود اختصاص می‌دهد (۴). گیاهان دارویی از جمله ذخیره‌های طبیعی در جهان محسوب می‌شوند که جزو منابع‌های تأمین کننده دارو به شمار می‌روند. مصرف روزافزون داروهای شیمیایی مشکل‌های حادی مانند پدیده خود ایمنی بر اثر مصرف مداوم و ضررهای جانبی دیگر را به وجود می‌آورند. به دلیل مشکل مقاومت عامل‌های بیماری‌زا به داروهای شیمیایی و ضررهای جانبی و ناخواسته آنها،

۱- تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۲۴

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۹

۲- به ترتیب استادیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور تهران، دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی و استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، شیراز.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (sh.najfian@pnu.ac.ir)

در سال‌های اخیر به استفاده از عصاره‌های گیاهی و گیاهانی که فعالیت ضد میکروبی دارند توجه شده است (۱). گیاهان دارویی میراثی منطقه‌ای ولی با اهمیت جهانی هستند که ثروت عظیمی را در جهان علاوه بر زیباسازی صحنه دنیا به شکل کارخانه‌های فعال (در عین حال غیر آلاینده) و فراورده‌های مفید و متنوع تولید می‌کنند و همواره آرام‌بخش درد و رنج بیماران و تأمین‌کننده سلامت انسان بوده‌اند. از آنجایی که گیاهان مفید دارویی در کشور ما فراوان می‌رویند، بررسی ترکیب‌های مؤثره این گیاهان و اثرهای دارویی آن‌ها می‌تواند گامی مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی با ارزش باشد. یکی از راه‌های شکرگزاری این نعمت ارزشمند شناخت هرچه بهتر و عمیق‌تر جنبه‌های گوناگون مربوط به این گیاهان و سعی در حفظ و بقای آن‌ها در عرصه طبیعت می‌باشد (۳). تیره نعناع یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی است که پراکنش جهانی و حدود ۲۰۰ جنس و دو تا پنج هزار گونه از بوته‌های معطر و درختچه‌های کوتاه دارد (۷). جنس *آویشن* یا *آزوربه* (*Thymus*) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی و ادویه‌ای است که دربرگیرنده به تقریب ۲۱۵ گونه علفی پایا و درختچه‌ای کوچک در دنیا است و منطقه مدیترانه به عنوان مرکز این جنس معرفی شده است (۲، ۸). گیاه *آویشن شیرازی* با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss. و نام انگلیسی *Wild marjoram* از جمله گیاهان دارویی از راسته لامیالها (Lamiales) و تیره نعناع (Lamiaceae (Labiatae) است که گسترش محدودی در جهان دارد و فقط در ایران، افغانستان و پاکستان می‌روید. این گیاه بیشتر در منطقه‌های مرکزی، جنوب و جنوب شرقی ایران مانند سیستان و بلوچستان، هرمزگان، فارس، کرمان، یزد، خوزستان، خراسان و اصفهان پراکنش دارد (۴). بیش از ۶۰ ترکیب تشکیل دهنده اسانس گیاه مشخص شده و تعدادی هم ناشناخته مانده است. اسانس *آویشن شیرازی* که از قسمت اندام هوایی گیاه با روش تقطیر با آب و بخار آب به دست می‌آید در حدود ۱ تا ۴٪ می‌باشد و بررسی‌های زیست‌شیمیایی بر روی این گونه نشانگر حضور ترکیب‌های فلاونوئیدی (لوتئولین و کورستین)، اسیدهای فنلی (رزمارینیک اسید)، سزکوئی‌ترین‌های هیدروکربنه (بتا-کاریوفیلین)، فراورده‌های بنزوئیک اسید، مشتقات فنیل پروپانوئید (تیمول و کارواکرول)، مونوترپن‌های هیدروکربنه (گاما-ترپینن، ترپینولن، لینالول و ۸-سینئول)، مونوترپن‌های اکسیژنه (بورنئول و ترپینن-۴-ال)، الکلها (آلفاپینن و آلفاتوجان)، ترپنوئیدها (سیمن و پاراسیمن)، تیمن و میرسین می‌باشد (۲، ۴، ۵). در ایران ۱۴ گونه مختلف از جنس *آویشن* در بخش‌های مختلف کشور رویش طبیعی دارد که در این میان ۴ گونه *T. carmanicus*، *T. daenensis* (با دو زیرگونه *T. daenensis* subsp. *daenensis* و *T. daenensis* subsp. *lancifolius*)، *T. persicus* و *T. trautvetteri* انحصاری ایران هستند (۸). خاصیت دارویی گیاهان جنس *آویشن* باعث شده است تا این گیاهان از معروف‌ترین و متداول‌ترین گیاهان در بین مردم سراسر دنیا باشند. گونه *آویشن* دنايي از مهم‌ترین گیاهان این جنس است که به صورت وسیع در منطقه‌های مختلف جهان به عنوان نوشیدنی (چای)، طعم دهنده غذایی (ادویه و چاشنی) و داروی گیاهی (شربت، قرص مکیدی، کرم، پماد، بخور و قطره) استفاده می‌شود و دم‌کرده و جوشانده سرشاخه‌های گل‌دار آن به عنوان ضد نفخ، هضم‌کننده غذا، ضداسپاسم، ضد سرفه و خلط آور در درمان سرماخوردگی کاربرد گسترده‌ای دارد (۲، ۸).

پژوهش حاضر بر روی گونه‌های *آویشن شیرازی* و *آویشن دنايي* به منظور تعیین بهترین طول دوره استخراج اسانس‌گیری جهت حصول به بیشترین عملکرد اسانس انجام شده است. بنابراین اهمیت این پژوهش از نظر صرفه‌جویی هزینه مصرف آب و برق مشخص می‌شود چرا که بر اساس مشاهده‌ها و نتیجه‌های به دست آمده، بهترین زمان استخراج اسانس در *آویشن شیرازی* و *آویشن دنايي* تعیین می‌شود و به دنبال کاهش زمان استخراج اسانس گیاهان دارویی در صنعت، به راندمان مصرف انرژی کمک می‌شود.

مواد و روش‌ها

اقلیم رویشگاه گیاهان مورد آزمایش

بر اساس بررسی‌های آماری بلند مدت شهرستان سمیرم، میانگین دمای سالانه این منطقه ۱۴/۶ درجه سلسیوس، میانگین بیشینه دمای آن ۲۲/۳ درجه سلسیوس، میانگین کمینه دمای آن ۷ درجه سلسیوس، اختلاف دمای گرم‌ترین و سردترین ماه سال ۲۴/۱ درجه سلسیوس، بالاترین دمای ثبت شده ۴۰/۲ درجه سلسیوس، پایین‌ترین دمای ثبت شده ۲- درجه سلسیوس و مجموع بارش سالانه ۱۴۴ میلی‌متر می‌باشد که قسمت اعظم آن را از سیستم‌های مدیترانه‌ای دریافت می‌کند، تعداد روزهای بارانی ۴۳ روز و تعداد روزهای برفی آن ۶ روز در سال است. شهرستان سروستان نیز در دشتی به وسعت ۲۷۰۰ کیلومتر مربع در هشتاد کیلومتری جنوب شرقی شیراز قرار گرفته است. میانگین سالانه دما ۱۷/۶ سلسیوس، میانگین مقدار بارش سالانه ۲۵۰ میلی‌متر و میانگین دمای آن ۶/۵ درجه سلسیوس است و در طی سال دما به مقدار ۲۲/۳ درجه سلسیوس تغییر می‌کند.

جمع‌آوری و آماده سازی نمونه گیاهی

نمونه‌های گیاهی گیاه آویشن شیرازی (کد هرباریوم: ۱۵۰۱۲) از منطقه سروستان در جنوب شرق استان فارس و گیاه آویشن دنایی (کد هرباریوم: ۱۵۸۹۲) از شهرستان سمیرم در جنوب استان اصفهان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند (شکل ۱). سپس جهت از بین بردن گرد و غبار، نمونه‌های گیاهی شستشو و سپس در سایه خشک شدند و در پایان گیاهان خشک شده توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمدند.

زمان و شیوه برداشت

به دلیل وجود بیشترین درصد اسانس در مرحله تمام گل برداشت گیاهان آویشن شیرازی و آویشن دنایی در اردیبهشت ماه ۱۳۹۴ در مرحله زایشی انجام شد. نمونه‌ها در ساعت‌های اولیه صبح با کمک قیچی باغبانی از قسمت بالایی طوقه برداشت شدند.



Fig. 1. *Zataria multiflora* (Right) and *Thymus daenensis* (Left).

شکل ۱- گیاه آویشن شیرازی (شکل سمت راست) و آویشن دنایی (شکل سمت چپ).

استخراج اسانس

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب (Hydro distillation=HD) و توسط دستگاه کلونجر صورت گرفت. برای تأثیر طول دوره استخراج بر مقدار و ترکیب‌های اسانس، عمل اسانس‌گیری برای هر گیاه در ۳ تیمار زمانی یک ساعت، دو ساعت و سه ساعت و با ۳ تکرار (به‌وسیله ۳ کلونجر متصل به هم) انجام شد. بدین صورت که ۶۰ گرم از پیکر رویشی گیاه (برگ‌های خشک شده) درون بالن ۲۰۰۰ میلی‌لیتری کلونجر ریخته و به آن ۶۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد تا سطح پودر با آب مقطر پوشانده شود. پس از به جوش آمدن آب درون بالن توسط حرارت، عمل تقطیر (اسانس‌گیری) به مدت ۱ ساعت، ۲ ساعت و ۳ ساعت انجام شد. سپس دستگاه خاموش و اسانس در محل مدرج دستگاه جمع شد. چون اسانس سبک‌تر از آب است بنابراین اسانس روی آب قرار گرفت. در ادامه پس از باز کردن شیر خروج آب دستگاه، ابتدا آب و در ادامه اسانس همراه با مقداری آب خارج شد. بسیار دقت شد که اسانس بدون آب باشد، زیرا در صورت وجود رطوبت، امکان انجام برخی از واکنش‌ها بین آب و اجزای خاصی از اسانس وجود دارد که در موقع شناسایی اجزای اسانس در دستگاه ایجاد مشکل می‌کند. بدین منظور، نمونه‌های اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم رطوبت‌گیری شدند. در آخر نمونه‌های نهایی اسانس تا زمان تجزیه و تحلیل در ظرف مخصوص شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شدند.

تجزیه اسانس

برای بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، نمونه‌های به‌دست آمده مربوط به تکرارهای مشابه جهت تجزیه با یکدیگر مخلوط و به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تزریق شدند. مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس به‌دست آمد و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر نمونه اسانس محاسبه شد. سپس اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) نیز تزریق شدند و طیف جرمی ترکیب‌ها به‌دست آمد (۱۵).

ویژگی‌های دستگاه کروماتوگراف گازی (GC)

سیستم کروماتوگرافی گازی نه تنها وسیله‌ای بسیار مطمئن برای جداسازی ترکیب‌ها است، بلکه اطلاع‌های بسیار مهمی نیز در مورد درصد و مقدار و اجزای جدا شده فراهم می‌آورد. در کروماتوگرافی گازی، اجزای یک نمونه تبخیر شده و در اثر توزیع بین فاز گاز متحرک و یک فاز ثابت که داخل ستون وجود دارد، از یکدیگر جدا می‌شوند. فاز متحرک گازی مانند هلیوم و یا هیدروژن بی‌اثر است. حرکت این گاز به داخل ستون سبب پیشرفت و حرکت نمونه می‌گردد (۹، ۱۲).

گاز کروماتوگراف از نوع Agilent technologies مدل A 7890، با ستون از نوع HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون، با برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ به ۲۱۰ درجه سلسیوس با شیب دمایی ۳ درجه سلسیوس در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با شیب دمایی ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه و توقف در این دما به مدت ۸ دقیقه و ۳۰ ثانیه، مدت زمان اجرای برنامه ۶۰ دقیقه، نوع آشکارساز FID با دمای ۲۹۰ درجه سلسیوس، گاز حامل نیتروژن با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس بود (۹، ۱۲).

ویژگی‌های دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج (GC/MS)

کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع Agilent technologies مدل C5975، با ستون از نوع HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون، با برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ به ۲۱۰ درجه سلسیوس با شیب دمایی ۳ درجه سلسیوس در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با شیب دمایی ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه و توقف در این دما به مدت ۸ دقیقه و ۳۰

ثانیه، مدت زمان اجرای برنامه ۶۰ دقیقه، ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت، روش یونیزاسیون الکترونی (EI)، دمای منبع یونیزاسیون ۲۳۰ درجه سلسیوس، دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس و گاز حامل هلیوم با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه بود (۱۵).

طرح و روش آماری

در این پژوهش در هر کدام از گیاهان، تیمارهای مورد بررسی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار مقایسه شدند. میانگین بازده اسانس‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS تجزیه و تحلیل و به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۵٪ مقایسه شد.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای مختلف زمانی بر درصد وزنی اسانس گیاه آویشن شیرازی و آویشن دناپی.

تیمارهای مختلف طول دوره استخراج بر درصد اسانس هر دو گیاه اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

جدول ۱- اثر مدت زمان استخراج بر بازده اسانس آویشن شیرازی و آویشن دناپی.

Table 1. Effect of extraction duration on the essential oil content of *Zataria multiflora* and *Thymus daenensis*.

گیاه Plant	بازده اسانس Essential oil content (%)		
	سه ساعت 3 hr	دو ساعت 2 hr	یک ساعت 1 hr
آویشن شیرازی <i>Zataria multiflora</i>	3.6 a †	4.2 a	3.4 a
آویشن دناپی <i>Thymus daenensis</i>	0.9 a	0.7 a	0.9 a

† Means in each row followed by the same letters are not significantly different ($P < 0.05$) by Duncans multiple range test.

† میانگین‌های با حرف‌های مشابه در هر سطر، در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن، اختلاف معنی‌داری ندارند.

نوع و درصد ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن شیرازی

نتیجه‌های حاصل از تجزیه اسانس به‌وسیله دستگاه GC/MS نشان داد که ۵۷ ترکیب در مخلوط اسانس‌های استخراج شده در مدت زمان ۱، ۲ و ۳ ساعت آویشن شیرازی شناسایی شد (شکل ۲). از بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در اسانس استخراج شده تیمار ۱ ساعت، ۵ ترکیب کارواکرول (Carvacrol)، تیمول (Thymol)، لینالول (Linalool)، گاما-ترپینن (γ -Terpinene) و پاراسیمن-p (Cymene) به ترتیب با ۲۷/۲، ۲۶/۲، ۱۹/۰، ۵/۹ و ۴/۷٪، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). از بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده اسانس استخراج شده در تیمار ۲ ساعت، ۵ ترکیب کارواکرول، تیمول، لینالول (Linalool)، گاما-ترپینن و پاراسیمن به ترتیب با ۲۹/۲، ۲۷/۶، ۱۸/۱، ۴/۹ و ۳/۸٪، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). از بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در اسانس استخراج شده تیمار ۳ ساعت، ۵ ترکیب کارواکرول، تیمول، لینالول، گاما-ترپینن و پاراسیمن به ترتیب با ۲۶/۵، ۲۵/۸، ۱۹/۵، ۶/۱ و ۴/۸٪، بیشترین مقدار را داشتند (جدول ۲).

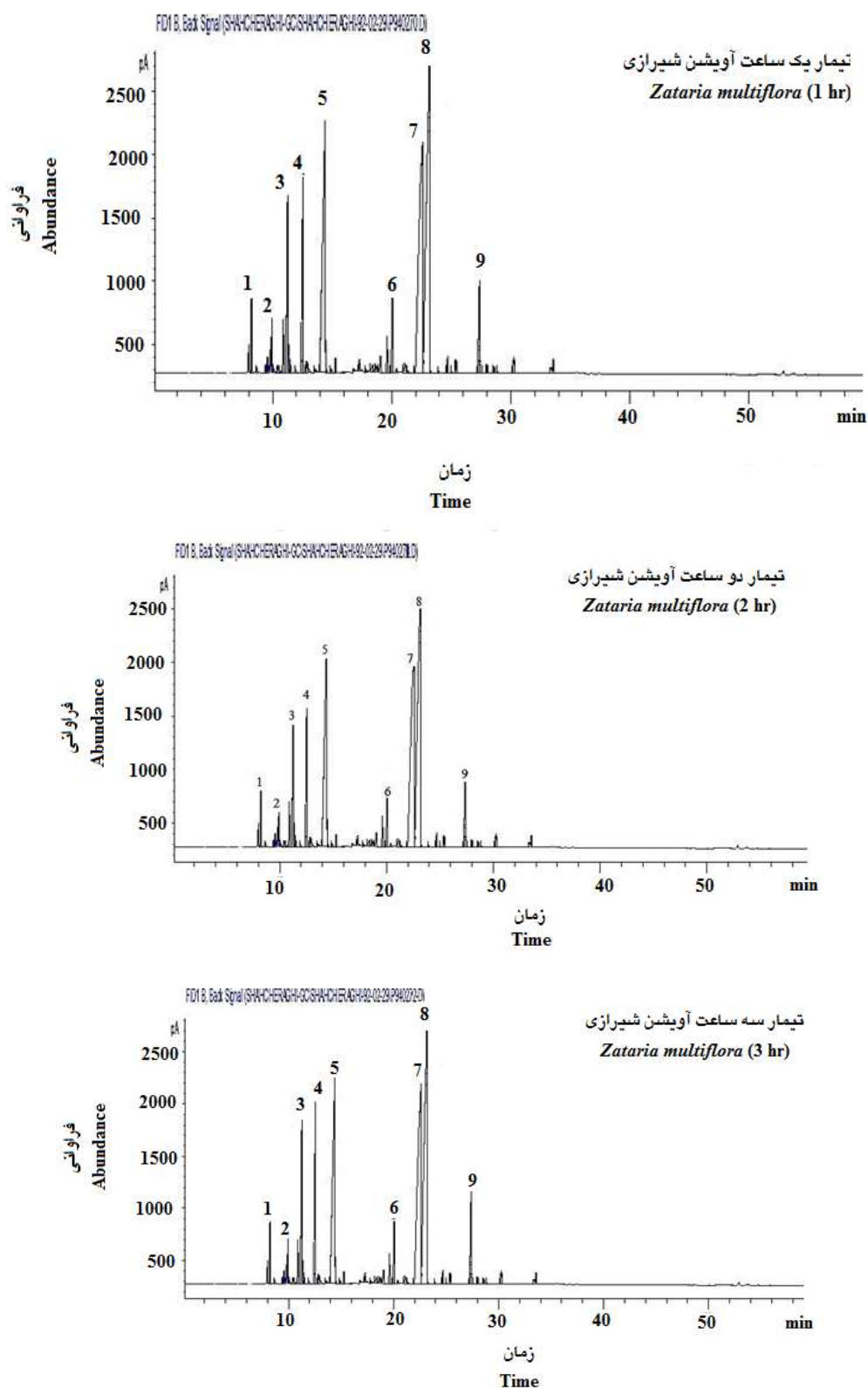


Fig. 2. GC chromatograph in different extraction duration of *Zataria multiflora*. Peak identification: 1: α -Pinen; 2: α -Terpinene; 3: p-Cymene; 4: γ -Terpinene; 5: Linalool; 6: Carvacrol methyl ether; 7: Thymol; 8: Carvacrol; 9: (E)-caryophyllene.

شکل ۲- کروماتوگرام GC در مدت زمان‌های متفاوت استخراج گیاه آویشن شیرازی. شناسایی پیک: ۱: آلفا پینن، ۲: آلفا ترپینن، ۳: پارا سیمین، ۴: گاما ترپینن، ۵: لینالول، ۶: کارواکرول متیل اتر، ۷: تیمول، ۸: کارواکرول، ۹: ای، کاریوفیلن.

جدول ۲- ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن شیرازی در مدت زمان‌های متفاوت استخراج.

Table 2. Main compounds of essential oils in different extraction duration of *Zataria multiflora*.

ترکیب‌ها Compounds	نمایه بازداری RI ^a	درصد ترکیب Area% (3 hr)	درصد ترکیب Area% (2 hr)	درصد ترکیب Area% (1 hr)
آلفا پینن α -Pinen	933	1.4	1.2	1.3
آلفا ترپینن α -Terpinene	1016	1.2	1.0	1.2
پارا سیمین p-Cymene	1026	4.8	3.8	4.7
گاما ترپینن γ -Terpinene	1060	6.1	4.9	5.9
لینالول Linalool	1098	19.5	18.1	19.0
ترنس کارول Trans-carveol	1220	0.4	0.3	0.6
تیمول متیل اتر Thymol methyl ether	1233	0.9	0.8	0.8
کارواکرول متیل اتر Carvacrol methyl ether	1244	2	1.9	2.0
تیمول Thymol	1290	25.8	27.6	26.2
کارواکرول Carvacrol	1300	26.5	29.2	27.2
ای، کاریوفیلین (E)-caryophyllene	1423	3.2	3.1	2.9

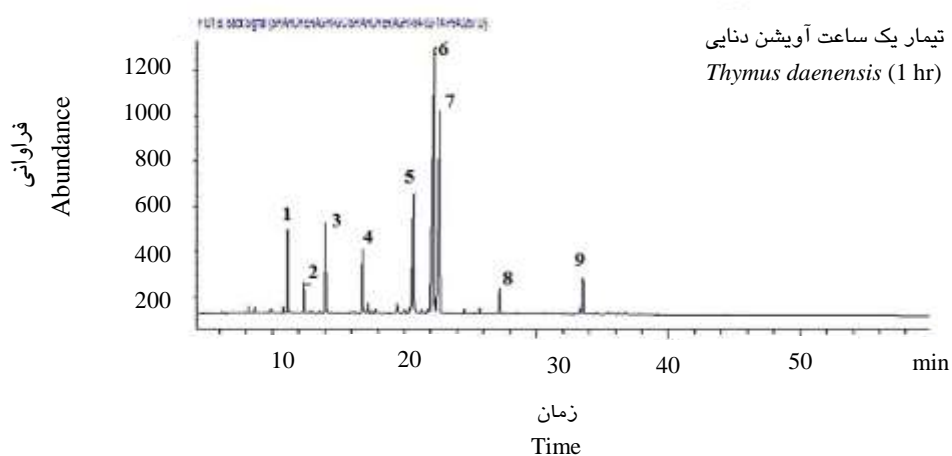
نوع و درصد ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن دنايي

نتیجه‌های حاصل از تجزیه اسانس به وسیله دستگاه GC/MS نشان داد که ۴۴ ترکیب در مخلوط اسانس‌های استخراج شده در تیمار ۱ ساعت و ۴۵ ترکیب در مخلوط اسانس‌های استخراج شده در تیمار ۲ ساعت و ۳ ساعت آویشن دنايي وجود داشت (شکل ۳). از بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در اسانس استخراج شده تیمار ۱ ساعت، ۵ ترکیب تیمول، کارواکرول، ژرانیول (Geraniol)، لینالول و بورنئول (Borneol) به ترتیب با ۳۶/۷، ۲۳/۱، ۱۲/۷، ۵/۹ و ۴/۶٪، بیشترین مقدار را داشتند (جدول ۳). از بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده اسانس استخراج شده در تیمار ۲ ساعت، ۵ ترکیب تیمول، کارواکرول، ژرانیول، لینالول و بورنئول به ترتیب با ۳۵/۲، ۳۰/۴، ۸/۸، ۵/۳ و ۴/۵٪، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). از بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در اسانس استخراج شده تیمار ۳ ساعت، ۵ ترکیب تیمول، کارواکرول، ژرانیول، لینالول و بورنئول به ترتیب با ۳۵/۵، ۲۷/۰، ۱۰/۶، ۶/۵ و ۴/۲٪، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

جدول ۳- ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن دنایی در مدت زمان‌های متفاوت استخراج.

Table 3. Main compounds of essential oils in different extraction duration of *Thymus daenensis*.

نام ترکیب‌ها Compounds	نمایه بازداری RI ^a	درصد ترکیب Area % (3 hr)	درصد ترکیب Area % (2 hr)	درصد ترکیب Area % (1 hr)
پارا سیمین p-Cymene	1023	3.1	3.6	4.2
گاما ترپینین γ -Terpinene	1056	1.3	1.2	1.6
بورنئول Borneol	1167	4.2	4.5	4.6
ترپینین ۴ اول Terpinene-4-ol	1177	0.5	0.5	0.6
نرول Nerol	1230	0.6	0.5	0.9
ژرانیول Geraniol	1255	10.6	8.8	12.7
تیمول Thymol	1290	35.5	35.2	36.7
کارواکرول Carvacrol	1297	27.0	30.4	23.1
ایکاریوفیلین (E)-caryophyllene	1418	2.5	2.1	1.6
لینالول Linalool	1099	6.5	5.3	5.9
کریوفیلین اکسید Caryophyllene oxide	1584	3.0	2.8	2.5



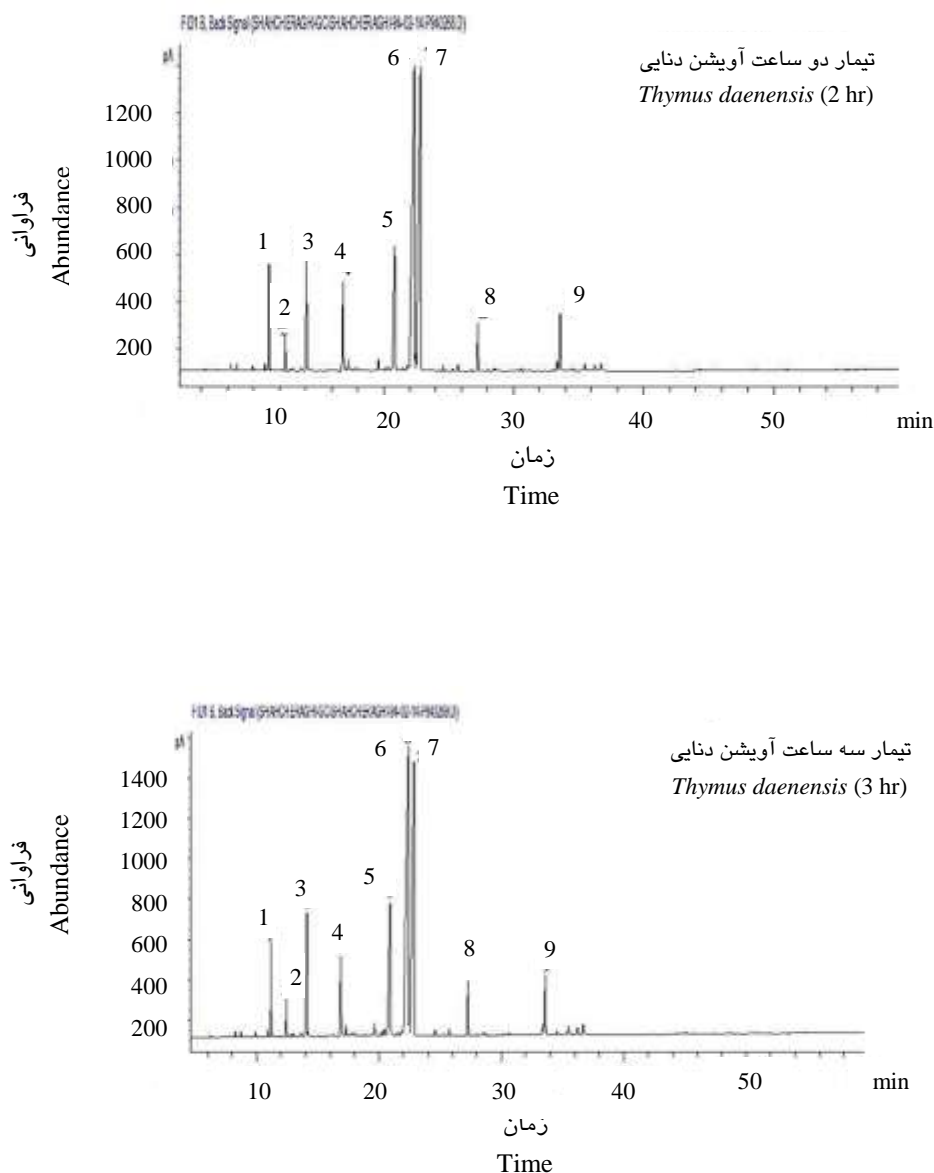


Fig. 3. GC chromatograph in different extraction duration of *Thymus daenensis*. Peak identification: 1: p-Cymene; 2: γ -Terpinene; 3: Linalool; 4: Borneol; 5: Geraniol; 6: Thymol; 7: Carvacrol; 8: (E)-caryophyllene; 9: Caryophyllene oxide.

شکل ۳- کروماتوگرام GC در مدت زمان‌های متفاوت استخراج گیاه آویشن دناایی. شناسایی پیک: ۱: پارا سیمین، ۲: گاما ترپینن، ۳: لینالول، ۴: بورنتول، ۵: ژرانیول، ۶: تیمول، ۷: کارواکرول، ۸: ای، کاریوفیلن، ۹: کریوفیلن اکسید.

بحث

مقایسه عملکرد اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف زمانی نشان داد که تیمار ۲ ساعت، با راندمان ۴/۲٪ بیشترین بازده اسانس را نشان داد، ولی مقدار عملکرد اسانس حاصل از تیمارهای مختلف طول دوره استخراج اسانس (۱، ۲، ۳ ساعت) در دامنه بین ۳/۱ تا ۴/۲٪ بر اساس وزن خشک، اختلاف معنی‌داری نداشت. نتیجه‌های تجزیه زیست‌شیمیایی اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف زمانی با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MC) نشان می‌دهد که مهم‌ترین ترکیب‌های شناسایی

شده در اسانس آویشن شیرازی، در تیمارهای مختلف شامل کارواکرول در دامنه بین ۲۶/۵ تا ۲۹/۲٪ به عنوان ترکیب اصلی و تیمول در دامنه بین ۲۵/۸ تا ۲۷/۶٪ به عنوان ترکیب دوم اسانس گیاه است، همچنین لینالول، گاما-تریپنین و پاراسیمن سایر ترکیب‌های عمده اسانس بودند. نتیجه‌های این پژوهش در راستای پژوهش‌های زیر می‌باشد. علاوه بر این بهترین زمان استخراج اسانس آویشن شیرازی برای دو ترکیب اصلی (کارواکرول و تیمول)، ۲ ساعت می‌باشد.

جاویدنیا (۱۱) در مطالعه‌های خود بر روی اسانس گیاه آویشن شیرازی رویش یافته در یزد اعلام داشتند که کارواکرول با ۶۱/۲۹٪ ترکیب اصلی و تیمول با ۲۵/۱۸٪ به عنوان ترکیب دوم اسانس گیاه است. محقق زاده و همکاران (۱۴) با مطالعه بر روی اسانس شاخساره گیاه آویشن شیرازی گزارش کردند که لینالول با ۶۲/۲۲٪ و لینالیل استات با ۱۱/۵۲٪ از ترکیب‌های اصلی روغن فرار است. مالیک و همکاران (۱۳) پس از مطالعه‌های انجام شده بر روی گیاه آویشن شیرازی در کشور پاکستان گزارش کردند که کارواکرول با ۵۷/۴۰٪، تیمول با ۱۵/۵۹٪، بتا-کاریوفیلین و پاراسیمن ترکیب‌های عمده اسانس هستند. مصحفی و همکاران (۵) با مطالعه بر روی اثرهای ضد میکروبی و ضد اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از منطقه فیروزآباد استان فارس گزارش کردند که اسانس دارای ۲۵ ترکیب و بازده ۲/۸٪ است که تیمول با ۳۷/۵۹٪، کارواکرول با ۳۳/۶۵٪، پاراسیمن با ۷/۷۲٪، گاماتریپنین با ۳/۸۸٪ و بتا-کاریوفیلین با ۲/۰۶٪ عمده ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس هستند.

مقایسه بازده اسانس آویشن دناپی در تیمارهای مختلف زمانی نشان داد که تیمار ۱ ساعت و ۲ ساعت، با راندمان ۰/۹٪ بیشترین بازده اسانس را داشتند، ولی مقدار عملکرد اسانس حاصل از تیمارهای مختلف زمانی استخراج اسانس (۱، ۲، ۳ ساعت) در دامنه بین ۰/۷ تا ۰/۹٪ بر اساس وزن خشک اختلاف معنی‌داری نداشت. نتیجه‌های تجزیه زیست‌شیمیایی اسانس آویشن دناپی در تیمارهای مختلف با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MC) نشان می‌دهد که مهم‌ترین ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس آویشن دناپی در تیمارهای مختلف شامل کارواکرول در دامنه بین ۲۳/۱ تا ۳۰/۴٪ به عنوان ترکیب اصلی و تیمول در دامنه بین ۲۵/۲ تا ۲۶/۷٪ به عنوان ترکیب دوم اسانس گیاه است، همچنین لینالول، بورنئول و ژرانیال سایر ترکیب‌های عمده اسانس بودند. نتیجه‌های این پژوهش در راستای پژوهش‌های زیر می‌باشد. علاوه بر این بهترین زمان استخراج اسانس آویشن دناپی برای ترکیب اصلی (کارواکرول)، ۲ ساعت و برای تیمول، بورنئول و ژرانیال ۱ ساعت می‌باشد.

عسکری (۱۰) عنوان کرد که اسانس قسمت‌های هوایی گیاه آویشن دناپی جمع‌آوری شده از کوه‌های البرز استان تهران در مرحله گلدهی کامل ۳۰ ترکیب و به مقدار ۱/۱٪ دارد و تیمول با ۴۹/۷٪، کارواکرول با ۱۵/۲٪، پاراسیمن با ۶/۴٪ و گاما-تریپنین با ۵/۴٪ از ترکیب‌های اصلی اسانس است. نیک‌آور و همکاران (۸) با بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس شاخساره‌های گل‌دار گیاه آویشن دناپی جمع‌آوری شده (در خرداد سال ۸۱) از منطقه کوهستانی الوند استان همدان به وسیله روش‌های GC-FID و GC-MS گزارش کردند که اسانس ۲۶ ترکیب و به مقدار ۲/۴٪ دارد و تیمول با ۷۴/۷٪، پاراسیمن با ۶/۵٪، بتا-کاریوفیلین با ۳/۸٪ و متیل کارواکرول با ۳/۶٪ عمده ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس می‌باشند. اکبری‌نیا و همکاران (۲) با بررسی اسانس گیاه آویشن دناپی کشت شده در قزوین عنوان داشتند که این گیاه در شرایط کشت شده ضمن عملکرد سرشاخه زیاد، از مقدار اسانس و تیمول بالاتری برخوردار است. مدت زمان طولانی بر مقدار اسانس آویشن دناپی تأثیر معنی‌داری ندارد و مقدار اسانس در تمام چین‌های برداشت و سال‌های آزمایش حدود ۳٪ است (غیر از چین سوم که ۲/۸۳٪ بر اساس وزن خشک بود). در چهار چین برداشت، تیمول با ۶۹ تا ۷۶٪، پاراسیمن با ۲/۵ تا ۸٪، کارواکرول با ۱ تا ۴/۵٪ و گاما-تریپنین با ۱/۵ تا ۴/۵٪ ترکیب‌های اصلی تشکیل دهنده اسانس بودند. نعمتی و

همکاران (۶) با بررسی شرایط مختلف خشک کردن بر مقدار و ترکیب‌های اسانس گیاه آویشن دنايي جمع‌آوری شده (در اواسط خرداد ۸۸) از ایستگاه تحقیقات کشاورزی کرج اعلام کردند که اسانس برگ‌ها و سرشاخه‌های جوان خشک شده در خشک‌کن ۳۰ درجه سلسیوس دارای ۱۷ ترکیب و بازده ۱/۴۳٪، خشک‌کن ۴۰ درجه سلسیوس دارای ۱۵ ترکیب و بازده ۱/۱۳٪، خشک‌کن ۵۰ درجه سلسیوس، دارای ۲۰ ترکیب و بازده ۱/۲۵٪ و سایه، دارای ۱۷ ترکیب و بازده ۱/۳۰٪ است؛ همچنین دامنه ترکیب تیمول بین ۶۷/۲ تا ۷۵/۸٪، آلو-آرومادندرن ۵/۸ تا ۴٪، پاراسیمن ۵/۵ تا ۴/۱٪، گاماترپینن ۹/۹ تا ۳٪ و کارواکرول ۴/۱ تا ۱/۶٪ است. با توجه به ارزش فراوان اقتصادی دو ترکیب مهم دارویی کارواکرول و تیمول بسیار مقرون به صرفه است که در طول دوره زمانی کمتر، اسانس این دو گونه دارویی استخراج شود. صرفه‌جویی در مصرف آب و برق از نتیجه‌های این پژوهش بود چون کاهش زمان استخراج اسانس گیاهان دارویی در صنعت به راندمان مصرف انرژی کمک می‌کند.

سپاسگزاری

این پژوهش در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس انجام شد. بدین‌وسیله از همکاری صمیمانه کلیه همکاران بخش تحقیقات گیاهان دارویی و همچنین مهندس سید احسان رضوی سپاسگزاری می‌شود.

References

منابع

۱. اشرفی، م.، ع. قاسمی پیربلوطی، م. رحیم ملک و ب. حامدی. ۱۳۹۱. اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک بر درصد و ترکیبات اسانس آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak.). فصلنامه داروهای گیاهی. ۸۰-۲:۷۵.
۲. اکبری‌نیا، ا.، ا. شریفی عاشورآبادی و م. میرزا. ۱۳۸۹. بررسی عملکرد، میزان و ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak.) کشت شده در قزوین. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۱۲-۲۰۵:۲۶.
۳. امامی، الف.، م.ر. شمس اردکانی و الف. مهرگان. ۱۳۸۳. فرهنگ مصور گیاهان دارویی. تهران: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی. مرکز تحقیقات طب سنتی و مفردات پزشکی. ۴۵۶ ص.
۴. صادق زاده، ل.، ف. سفیدکن و پ. اولیاء. ۱۳۸۵. بررسی ترکیب و خواص ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی. مجله پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی، ۵۶-۵۲:۷۱.
۵. مصحفی، م.، ش. منصور، ف. شریفی فر و م. خشنودی. ۱۳۸۵. اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه آویشن شیرازی در برون تن. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۴۳-۳۳:۱.
۶. نعمتی، ش.، ف. سفیدکن و م. پورهروی. ۱۳۹۰. تأثیر شرایط خشک کردن بر مقدار و ترکیب‌های اسانس آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak.). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۷۲-۸۰:۲۷.
۷. نقدی‌بادی، ح. و م. مکی زاده تفتی. ۱۳۸۲. مروری بر گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.). فصلنامه گیاهان دارویی. ۱-۱۲:۷.
۸. نیک‌آور، ب.، ف. مجاب و ر. دولت آبادی. ۱۳۸۳. بررسی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس سرشاخه‌های گل‌دار آویشن دنايي. فصلنامه گیاهان دارویی، ۴۹-۴۵:۴.
9. Adams, R.P. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois. 804 p.

10. Askari, F. 2003. Essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. From Iran. J. Essential oil Bearing Plants 61:123-125.
11. Javidnia, K. 1997. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil *Zataria*, *Ziziphora* and *Matricaria*. Ph.D. Thesis. Faculty of Pharmacy. Tehran University of Medical Sciences. 98 p.
12. Joulain, D., W.A. Konig and D.H. Hochmuth. 2001. Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils. Library of Mass Finder, 2.1, Hamburg, Germany. 48 p.
13. Malik, M.S., M.J. Iqbal and S. Hamid. 2003. Essential oils resources of Pakistan studies on the essential oils of the species of Labiatae: Part-1. Pak. J. Sci. 55: 34-36.
14. Mohagheghzadeh, A., M. Shams-Ardakani and A. Ghannadi. 2000. Volatile constitutes of callus and flower-bearing tops of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae). Flavour Fragr. J. 15:373-376.
15. Rowshan, V., A. Bahmanzadegan and M.J. Saharkhiz. 2013. Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. Indust. Crop. Products 49:97-101.

Investigation of the Effect of Extraction Duration on the Essential Oil Content and Composition of *Zataria multiflora* and *Thymus daenensis* under Flowering Stages

SH. Najafian^{*}, M.A. Shahcheraghi and V. Rowshan¹

Thymus species are well known as medicinal plants because of their biological and pharmacological properties. *Zataria multiflora* and *Thymus daenensis* are two valuable medicinal plants which are extensively used in Iranian traditional medicine. Essential oil of *Zataria multiflora* and *Thymus daenensis* is a rich source of thymol which gives high antimicrobial and antioxidant activity to these plants. In this research, the aerial parts of *Z. multiflora* Boiss. and *T. daenensis* Celak. were collected at the reproductive phase and dried in shade. Extraction operation for each plant was done in 3 duration treatments of one, two and three hours with 3 replications using cleveger apparatus. Essential oils from each treatment were combined, identified and analyzed by GC and GC/MS. The highest percentage of essential oil of *Z. multiflora* Boiss. Was obtained in two hours treatment and in *T. daenensis* Celak. in one and three hours. The main constituents of *Zataria multiflora* Boiss. were carvacrol (29.2%) and thymol (27.6%) in two hours treatment, linalool (19.5%), γ -terpinene (6.1%) and p-cymene (4.8%) in three hours treatment; while in *Thymus daenensis* Celak. thymol (36.7 %), geraniol (12.7%) and borneol (4.6%) in one hours treatment, carvacrol (30.4%) in two hours treatment and linalool (6.5%) in three hours treatment. In conclusion, the best extraction duration for *Z. multiflora* essential oil is two hours, whereas for *T. daenensis*, is one hour. Therefore, the process will become cost effective, accordingly.

Key Words: *Zataria multiflora* Boiss. *Thymus daenensis* Celak, Essential oils, Reproductive growth, Extraction duration.

1. Assistant Professor Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, M.Sc. Student of Horticultur, College of Agriculture, Islamic Azad University, Shiraz, Assistant Professor of Natural Resources, Fars Research Center for Agriculture and Natural Resources, Shiraz, Iran.

^{*}Corresponding author, Email: (sh.najafian@pnu.ac.ir)