ترکیبات اسانس کموتیپ جدید گونه *Thymus migricus Klokov&Desj-shost* از ا ستان آذربایجان شرقی

یوسف ایمانی دیزج یکان[1*] و اکبر عبدی قاضی جهانی[2]

۱و ۲) مربی پژوهش بخش تحقیقات جنگل ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران.

شماره صفحات
۱۰-۵

*نویسنده مسئول: **y_dizaj@yahoo.com**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۲

چکیده:

از دوران باستان جنس تیموس یکی از مهم‌ترین وشناخته شده‌ترین گیاهان کاربردی در زمینه دارویی و خوراکی به‌شمار می‌رود. آویشن آذربایجانی یکی ازهفت گونه‌ی آویشن موجود در استان‌آذربایجان شرقی است. برای اجرای این تحقیق اندام-های هوایی گونه مورد نظر از دو منطقه واقع در استان آذربایجان شرقی برداشته شد. نمونه‌ها درسایه و دمای طبیعی آزمایشگاه خشک و با آسیاب پودر شد. اسانس آن‌ها به روش تقطیر با آب در طی ۲/۵ساعت گرفته شد. رطوبت موجوددر اسانس‌ها با استفاده از سولفات‌سدیم بدون آب گرفته شد. ترکیبات سازنده دراسانس‌ها با استفاده از اطلاعات به‌دست آمده از طیف‌های GCو GC-Mass شناسایی شد. ۱۱ و۹ ترکیب موجود در روغن‌های فرار استحصالی ازنمونه‌های مناطق میشو و اسپیران به-ترتیب ۹۴/۶۲ و ۸۶/۰۸ درصد کل ترکیبات سازنده‌های اسانس را تشکیل می‌دهند. ترکیبات لینالول با (۶۵/۵۷ درصد)، سیترونلول(۱۵/۶۳ درصد) و ژرانیول(۲/۷۹ درصد) در نمونه میشوولینالول (۴۶/۳۶ درصد)، ژرانیول(۲۶/۷۴ درصد)وژرانیل-استات (۶/۱۷ درصد) در نمونه اسپیران از ترکیبات اصلی اسانس این گونه می‌باشند. با توجه به درصد بالای لینالول به‌دست آمده ازاسانس آویشن آذربایجانی در استان آذربایجان شرقی و کاربرد این مونوترپن الکلی در صنایع آرایشی و عطرسازی می‌توان ازاسانس این گونه در صنایع دارویی و بهداشتی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آویشن آذربایجانی، روغن فرار، تقطیر با آب، لینالول و آذربایجان شرقی.

مقدمه

جنس تیموس تقریبا ۳۵۰ گونه‌ی مختلف در جهان دارد که ۱۴ گونه آن در ایران وجود دارد و از این تعداد تنها ۴ گونه ***Th. trautvetteri***، *Th. persicus*، *Th. carmanicus* و *Th. daenensis* انحصاری ایران هستند (Mozaffarian,1996). آویشن آذربایجانی یکی از گونه‌هایی است که پراکنش آن محدود به استان‌های اردبیل،آذربایجان غربی و شرقی است واز لحاظ پراکنش علاوه‌بر استان‌های یاد شده ایران درترکیه، نخجوان وارمنستان پراکنش دارد.(Jamzad, 2012). *Thymus migricus* گیاهی پایا با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و بسیار منشعب و کرک‌داربا برگ‌های سه گوش تخم مرغی تا تخم مرغی سر نیزه‌ای وگل‌های صورتی تا صورتی متمایل به سفید است (Rechinger,1982). Yavari *et al* (2010) در طی مطالعه‌ای بر روی اسانس آویشن آذربایجانی(*Thymus migricus*) نشان دادند که نمونه‌های برداشت شده از سه منطقه در سه ترکیب تیمول (۴۶/۶-۷۰/۵ ٪)، گاما–ترپی‌نن(۶/۲- ۱۶/۷ ٪)و پارا–سیمن(۴-۶/۲ ٪) مشترک بوده و غنی از این ترکیبات بودند.Başer *et al* (2002) در طی مطالعه بر روی اسانس *Thymus migricus* که با روش تقطیر با آب گرفته شده بود ترکیبات اصلی سازنده اسانس را به ترتیب کارواکرول، تیمول و لینالول مشخص کردند. بررسی و مطالعه اثرات ضد قارچی اسانس *Thymus migricus* که توسط Alizadeh (2010) انجام گردید نشان داد که اسانس این گونه دارای این اثر بوده و بررسی کیفی آن با روش GC-MS ترکیبات اصلی آن را به‌ترتیب تیمول(۴۴/۹ ٪)،ژرانیول(۱۰/۸ ٪)،گاما- ترپی‌نن(۱۰/۳ ٪)، سیترونلول(۸/۵ ٪)و پارا–سیمن(۷/۲ ٪)مشخص نمود. Gholami و همکاران (2012) ترکیبات اسانس *Th.migricus* را مورد مطالعه قرار دادند نتایج این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین بازده اسانس در مرحله گل‌دهی ودر پایین ترین ارتفاع برداشت شده به‌دست آمده بود. ترکیبات آلفا- ترپینئول (۳/۴-۲۱٪/۸)،تیمول (۳/۴-۱۹/۴٪)۱و۸-سینئول (۱/۹-۱۴/۵٪) و کارواکرول (۲/۵-۱۶/۱٪)از اجزائ اصلی اسانس بودند. با توجه به قدمت کاربرد اسانس*Thymus* و اهمیت آن در صنایع دارویی ،بهداشتی و غذایی اسانس گونه آویشن آذربایجانی در این استان برای اولین بارمورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی ترکیبات اصلی اسانس گونه *Thymus migricus* ، نمونه‌برداری در اواسط بهار۹۰ از رویشگاه‌های طبیعی میشوو اسپیران واقع در شمال غربی وشمال استان آذربایجان شرقی انجام پذیرفت. برداشت سرشاخه گل‌دار و نمونه‌برداری در اواسط مرحله گل‌دهی صورت گرفته و مشخصات جغرافیایی مناطق با دستگاه GPS ثبت گردید نمونه‌های خاک به‌منظور انجام آزمایش‌های فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه ارسال گردید. نمونه‌ها بعداز برداشت و جداکردن آلودگی‌های گیاهی و محیطی در سایه و دمای محیط خشک شدند.گیاهان خشک سپس توسط آسیاب پودر گردیدند. ۱۰۰گرم از نمونه پودر شده با روش تقطیر با آب (دستگاه کلونجر) به‌مدت ۲/۵ ساعت در سه تکراراسانس‌گیری شد و توسط سولفات‌سدیم بدون آب، آب‌گیری گردید.

درصد اسانس گونه‌ها بر اساس درصد وزن خشک گیاه محاسبه شد. آنالیز کیفی اسانس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS انجام شد و ترکیب‌های موجود در آن‌ها شناسایی گردید.

جدول۱:مشخصات عرصه های طبیعی نمونه برداری

ردیف	نام محل	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع(متر)	جهت شیب
۱	میشو	۴۵ ۴۶ ۲۹/۴	۳۸ ۲۰ ۲۶/۱	۱۸۷۴	شمالی
۲	اسپیران	۴۶ ۲۶ ۵۴	۳۸ ۲۵ ۱۷	۲۳۰۰	غربی

جدول۲: نتایج آزمایشات خاک

ردیف	محل	EC ms/cm	pH	T.N.V %	کربن آلی ٪	P(ava)ppm	N %	K (ava) ppm	Sand %	Silt %	Clay %
۱	میشو	۰/۵۵	۷/۱۶	۰/۹۶	۲/۹۹	۲/۷۸	۰/۳	۲۷۰	۵۵/۸۷	۲۵/۲۵	۱۸/۸۸
۲	اسپیران	۰/۵۶	۷/۷۴	۹/۸۷	۲/۳۵	۴/۷	۰/۲۴	۴۰۷	۵۷	۲۲/۸	۲۰/۲

تجزیه با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

دستگاه کروماتوگراف گازی Thermo-UFM (Ultera Fast Model) ساخت کشور ایتالیا و داده‌پرداز Chrom-Card A/Dمجهز به ستون موئینه Ph-5 (غیرقطبی) ساخت شرکت Thermo به طول ۱۰ متر و قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر به ضخامت ۰/۴ میکرومتر پوشیده شده با فاز ساکن از جنس Dimethyl siloxane phenyl, 5% بود. برنامه حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع و تا رسیدن به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد، در هر دقیقه ۸۰ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده شد و سپس در این دما به مدت ۳ دقیقه متوقف شد. نوع آشکارساز از نوع FID و از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل که فشار ورودی آن به ستون برابر ۰/۵ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع تنظیم شده، بوداستفاده گردید. دمای محفظه آشکارساز ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد .

تجزیه با دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

از دستگاه کروماتوگراف گازی Varian 3400 متصل به طیف سنج جرمی Saturn II، با سیستم تله‌یونی و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت با ستون DB-5 که ستونی نیمه‌قطبی (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) بود. فشار گاز سر ستون ۳۵ پوند بر اینچ مربع، درجه حرارت ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید .شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص‌های بازداری آن‌ها و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها و توسط برنامه کامپیوتری و به زبان بیسیک محاسبه شد. همچنین مقایسه آن‌ها با منابع

مختلف از جمله (Adams ،2001)، (Davies ،1990) و (Shibamoto ،1987) و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد، و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS صورت پذیرفت.

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بازده اسانس برابر ۰/۹۳ و ۰/۳۸ درصد به‌ترتیب درنمونه‌های منطقه میشو و اسپیران نسبت به وزن خشک گیاه است. شناسایی ترکیبات با استفاده از طیف‌های به‌دست آمده، ترکیبات لینالول (۶۵/۵۷ ٪)و سیترو نلول(۱۵/۶۳ ٪) رادر نمونه میشو و لینالول (۴۶/۳۶٪) و ژرانیول (۲۶/۷۴٪)را در اسپیران به‌عنوان سازنده‌های اصلی مشخص می‌کند. یازده و نه ترکیب شناسایی شده دراسانس نمونه‌های میشو و اسپیران به‌ترتیب ۹۴/۶۲و ۸۶/۰۸ درصد ترکیبات موجود در این اسانس‌ها را تشکیل می‌دهند. نمونه اسپیران فاقد ترکیبات مونو ترپن هیدروکربنی است.

جدول۳: ترکیبات اسانس *Thymus migricus*در منطقه میشو و اسپیران

ردیف	نام ترکیب	اندیس بازداری	میشو ٪	اسپیران ٪
۱	*Limonene*	۱۰۵۶	۱/۳۸	–
۲	*1,8-Cineole*	۱۰۶۶	۱/۱۲	۱/۵۵
۳	*Linalool*	۱۱۱۳	۶۵/۵۷	۴۶/۳۶
۴	*Citronellal*	۱۱۲۷	۱/۳۶	–
۵	*Borneol*	۱۲۱۱	–	۰/۳۸
۶	*α-Terpineol*	۱۲۲۸	۰/۷۲	–
۷	*Citronellol*	۱۲۳۹	۱۵/۶۳	–
۸	*Geraniol*	۱۲۶۷	۲/۷۹	۲۶/۷۴
۹	*Geranial*	۱۲۸۹	۰/۴۶	۲/۰۴
۱۰	*Thymol*	۱۳۰۵	–	۱/۴۱
۱۱	*Carvacrol*	۱۳۲۱	–	۰/۲۹
۱۲	*Citronellyl acetate*	۱۳۵۱	۱/۱۳	–
۱۳	*Geranyl acetate*	۱۳۷۷	۲/۸۳	۶/۱۷
۱۴	*E-Caryophyllene*	۱۴۸۸	۱/۶۳	۱/۱۴
		مونو ترپن هیدروکربنی	۱/۳۸	–
		مونو ترپن اکسیژن دار	۹۱/۶۱	۸۴/۹۴
		سزکو ئی ترپن هیدروکربن	۱/۶۳	۱/۱۴
		مجموع	۹۴/۶۲	۸۶/۰۸
		درصد اسانس	۰/۹۳	۰/۳۸

بحث و نتیجه گیری

مطالعه برروی اسانس فنوتیپ‌های آویشن آذربایجانی این استان برای اولین بار انجام گرفت توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس نمونه *Thymus migricus* برداشت شده از منطقه میشو و اسپیران آذربایجان شرقی به ترتیب دارای (۱/۳۸و۰درصد) مونوترپن هیدرو کربنی، (۹۱/۶۱و۸۴/۹۴درصد) مونوترپن‌های اکسیژن‌دار و (۱/۶۳و۱/۱۴درصد) حاوی هیدروکربن سزکوئی‌ترپن است. ترکیب لینالول (۴۶/۳۶-۶۵/۵۷ ٪) اصلی‌ترین سازنده این گونه را تشکیل می‌دهد. در نمونه میشو سیترونلول (۱۵/۶۳ درصد) و در نمونه اسپیران ژرانیول (۲۶/۷۴درصد) و ژرانیل استات (۶/۱۷درصد) دیگر ترکیبات اصلی این گونه را در این مناطق تشکیل می‌دهند. نتایج خاک نیز نشان می‌دهد که ارتفاع، مقدار فسفرو پتاسیم قابل دسترس وآهک اثر منفی بر روی بازده اسانس این گونه دارند. بر اساس تحقیق انجام گرفته توسط Yavari *et al* بر روی آویشن آذربایجانی در سه منطقه آذربایجان غربی اسانس این گونه در این مناطق همانند بیش‌تر گونه‌های متعلق به این جنس (Thymus) دارای جزء اصلی تیمول در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس می‌باشد.و لینالول (۸/۱ ٪) فقط در اسانس یک منطقه مشاهده می‌شود. ترکیبات مونوترپن اکسیژن‌دار در این مناطق نیز غالب سازنده‌های اسانس را شامل می‌شوند.در مطالعه دیگری که بر روی اسانس گونه *Thymus migricus*در شهرهای آگری و وان ترکیه توسط Başer *et al* (2002) انجام گرفت ترکیبات تیمول و کارواکرول به عنوان اجزاء اصلی گزارش گردیدند. نتایج حاصل از تحقیقات Gholami *et al* بر روی اسانس این گونه در استان آذربایجان غربی کموتیپ دیگری را مشخص نمود که ترکیبات آلفا-ترپینئول و تیمول از ویژگی‌های این فنوتیپ است. در مطالعه دیگر توسط Alizadeh *et al* بر روی اسانس این گونه ترکیبات تیمول و ژرانیول به‌عنوان اجزاءاصلی اسانس گزارش گردیدند. مقایسه نتایج تحقیقات انجام گرفته قبلی نشان می‌دهد که در اکثر مناطق تیمول و ترکیبات فنلی که ویژگی بارز اسانس جنس تیموس است از سازنده‌های اصلی اسانس هستند ولی در تحقیق انجام گرفته ترکیب لینالول درصد بالای اسانس را در نمونه‌های متعلق به این استان را تشکیل می‌دهد و ترکیب تیمول و کارواکرول که از ترکیبات اصلی اسانس این جنس می‌باشند در نمونه میشو وجود نداشته و در نمونه اسپیران در حد ناچیزی شناسایی شده است. نتایج این تحقیق کموتیپ جدیدی از این گونه را معرفی می‌نماید که بیانگر اثر عوامل محیطی برروی مواد موثره گیاهان دارویی است. البته در همه تحقیقات انجام گرفته مونو ترپن‌های اکسیژن‌دار ترکیبات عمده اسانس‌هارا می سازند. با توجه به کاربرد بالای لینالول در صنایع عطرسازی می‌توان از اسانس آویشن آذربایجانی متعلق به این مناطق در این صنایع استفاده نمود.

منابع

Adams, RP., 2001.Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry, Allured Publishing Corporation Carol Stream, Illinois,USA,456p.

Alizadeh, A., Sharaifi, R., Javan-Nikkhah, M and Sedaghat N., 2010. Survey of Thymus migricus essential oil on aflatoxin inhibition in Aspergillus. flavus Commun Agric Appl Biol sci. 75(4):769-76p.

Davies,N.W., 1990. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicon and Carbowax 20M phases, Journal of Chromatography, 503: 1-24.

Gholami Takaloo, S., Hassani, A.,Hassanpouraghdam, M.H., Meshkatalsadat, M.H., Pirzad, A., and Heidari, M., 2012.Essential Oil Content and Composition of *Thymus migricus* Klokov & Desj-Shost. affected by Plant Growth Stage and wild habitat altitude .Romanian Biotechnological Letters . Vol. 17, No. 1:6982-6988p.

Husnu Can Baser, K., Demirci, B., Kirimer ,N., Satil, F., and Tumen, G., 2002.The essential oils of *Thymus migricus* and *T. fedtschenkoi* var. *handelii* from Turkey. Flavour and Fragrance Journal. 17:41-45p.

Jamzad,Z.,2012.Flora of Iran, RIFR pub,No:76,Iran,1072p. (In Persian)

Jamzad,Z.,1994.Avishan,RIFR pub,Iran,15p. (In Persian)

Mozaffarian,v.,1996. A Dictionary of Iranian Plant Names,Farhang Moasser pub,Iran,740p. (In Persian)

Leung, AY., and Foster, S., 1996.Encyclopedia of Common Natural Ingredients: used in food, drugs, and cosmetics. A Wiley Interscience Publication – John Wily & Sons, Inc.

Omidbaigi,R.,1995.Production and Processing of Medicinal Plants,Fekreroze pub,Iran,283p. (In Persian)

Rechinger, K.H., 1982. Flora Iranica . Graz:Akademische Druck- und Verlagsanstalt. vol. 152, 543-544p.

Shibamoto, T., 1987. Retention Indices in Essential Oil Analysis. 259-275, In: Sandra, P., Bichi, C. (eds).Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis. Alfred Heuthig: New York. 745p.

Yavari, A., Nazeri, V., Sefidkon, F., and Hassani, ME., 2010.Influence of some environmental factors on the essential oil variability of Thymus migricus.Natural Produdcts Commun. Jun,5(6):943-8p.

Zargari,A.,1993.Medicinal Plants,Tehran univ pub, Iran,946p. (In Persian)