

استخراج و تعیین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس گونه *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman

سمیه شاهرودی^{۱*}، فاطمه سفیدکن^۲، زیبا جمزاد^۳ و طاهر نژادستاری^۴

*- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

پست الکترونیک: shahverdi185@yahoo.com

۲- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۳- استاد، بخش تحقیقات گیاه‌شناسی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

۴- دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۸۹

چکیده

گونه *Origanum Strobilaceum* Mobayen & Ghahreman گیاهی از خانواده نعنا و متعلق به جنس *Origanum* است. در این تحقیق برای اولین بار، اسانس این گونه از نظر کمی و کیفی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور سرشاخه گلدار گیاه مذکور از استان مازندران، جاده جنت رودبار جمع‌آوری گردید. پس از خشک کردن در سایه با روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. سپس اجزای تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. ۲۹ ترکیب در اسانس شناسایی شدند که ۹۷/۳٪ اسانس را تشکیل می‌دادند. عمده‌ترین اجزای اسانس پارا-سیمن (۲۵٪)، ترانس کاریوفیلین (۱۴/۴٪)، تیمول (۹/۶٪)، کارواکرول (۵/۳٪) و کومین‌آلدئید (۵/۱٪) می‌باشند. اسانس این گونه از نظر نوع ترکیب‌های تشکیل‌دهنده با اسانس گونه *O. vulgare* که اجزای اصلی آن فنولهای تیمول و کارواکرول و نیز جرماکرن D و کاریوفیلین هستند، مشابهت‌ها و تفاوت‌هایی دارد.

واژه‌های کلیدی: *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman، اسانس، پارا-سیمن، ترانس کاریوفیلین، تیمول.

مقدمه

این جنس در تمام منطقه مدیترانه حضور دارد و به‌علاوه در تمام قسمتهای ناحیه اروپا-سیبری و ایران-تورانی دیده می‌شود. آنچه که در برخی از منابع خارجی ذکر شده است (Gurtner, 1986)، با شک و تردید زادگاه مرزنگوش را آفریقای شمالی (در مصر) دانسته‌اند که از

جنس *Origanum* گیاهیست بوته‌ای که بیشترین پراکندگی را در منطقه مدیترانه دارد. بیشتر گونه‌های این جنس (۷۵٪) در منطقه مدیترانه شرقی حضور دارند. به‌علاوه ترکیه و ایران نیز رویشگاه این گونه هستند.

O. vulgare subsp. *vulgare* در ایران که در مجموع ۹۹/۹ درصد ترکیب‌های آن را شامل می‌شوند، به ترتیب ترکیب‌های بتا-کاربوفیلین (۲۴/۵٪)، جرماکرن-دی (۱۵/۲٪)، ترانس-سایین هیدرات (۹٪)، سایین (۶٪)، آلفا-هومولن (۵/۱٪)، والنسن (۴/۳٪) و ترانس-بتا-اوسمین (۴/۲٪) بیشترین میزان را به خود اختصاص می‌دهند (برازنده، ۱۳۸۰).

تاکنون اسانس گونه *O. strobilaceum* مورد بررسی قرار نگرفته است، اما اسانس برخی از سایر زیرگونه‌ها و گونه‌های این جنس در گذشته بررسی شده است. در اسانس *O. vulgare* subsp. *vulgare* از ترکیب ۶۲ ترکیب شناسایی شده که ۸۹٪ اسانس مرزنگوش را تشکیل می‌دهد. کاربوفیلین (۱۴/۴٪)، اسپاتولون (۱۱/۶٪)، جرماکرن D (۸/۱٪) و آلفا-تریپینول (۷/۵٪) بیشترین ترکیب‌های این اسانس بوده‌اند (Sahin et al., 2004). در بین ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده اسانس گونه *O. vulgare* subsp. *Vulgare* ترکیب‌های اصلی فنل‌های تیمول و یا کارواکرول هستند (Leisher & Fleisher, 1991). البته جرماکرن D و ترپین-۴-آل نیز در این اسانس‌ها شناسایی شده‌اند (Sivropoulou et al., 1996). در تحقیقات دیگری گزارش شده که اسانس مرزنگوش فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد قارچی قابل توجهی دارد (Kordali et al., 2008).

مواد و روشها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

اندام هوایی گیاه *O. strobilaceum* در اواخر فصل بهار و اوایل تابستان در مرحله گلدهی کامل از جاده جنت رودبار جمع‌آوری شد و سپس در سایه خشک شد. نمونه هرباریومی این گیاه تهیه و توسط هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور شناسایی و با کد ۸۴۸۳ ثبت شد.

انجا به اروپای مرکزی رفته است و به همین دلیل است که در عهد باستان، مرزنگوش به‌عنوان یک ادویه مهم و نیز گیاه اهلی و پرازش، به‌ویژه در مشرق زمین، می‌درخشیده است (جاویدتاش، ۱۳۷۳). بیشتر گونه‌های این جنس در ارتفاع ۱۵۰۰-۱۲۰۰ متر می‌رویند و در جنگلهای باز سوزنی برگ دیده می‌شوند، ولی به هر حال تعدادی از گونه‌ها در ارتفاعات پایین‌تر نیز دیده می‌شوند. تقریباً تمام گونه‌های این جنس در دامنه‌ی سنگلاخی و صخره‌ای می‌رویند و تعدادی نیز به‌طور مشخص در شکاف صخره‌ها می‌رویند (Ietswaart, 1980).

گونه *O. strobilaceum* گیاهیست علفی با ساقه چهارگوش و گاهی کم و بیش گرد که پوشیده از کرک می‌باشد. برگها معمولاً متقابل، گاهی چرخه‌ای، و بدون گوشوارک هستند. روزنه‌ها دیاستیک، تعدادی آنموستیک، گل‌آذین گرزنی است که به صورت متراکم شده در یک مجموعه قرار می‌گیرند که اصطلاحاً چرخه گل نامیده می‌شوند. پرچم‌ها چهار عدد و دی دینام می‌باشد. تخمدان فوقانی و میوه فندقه و تخمک ۴ عدد می‌باشد (قهرمان، ۱۳۸۵).

این گیاه ارزش دارویی بسیار زیادی دارد و از آن به‌عنوان ادویه استفاده می‌شود. در طب سنتی از برگها و سرشاخه‌های برگدار مرزنگوش به‌عنوان ماده مسکن برای ناراحتی عصبی، درمان تپش قلب و همین‌طور عامل حفظ معده و روده استفاده می‌شود. این گیاه مقوی، نیرودهنده، اشتهاآور، ضد نفخ، دارای خواص گندزدایی است و با راندن مواد سمی از اندامها آنها را شستشو می‌دهد. مرزنگوش از راه خوراکی مفید برای گوارش و مثل آویشن خلط‌آور، مسکن سرفه، ضد اسهال و ضد التهاب است (توکلی صابری و صدیقی، ۱۳۷۹). از میان ۳۶ ترکیب شناسایی شده در روغن اسانسی

اسانس گیری

برای اسانس گیری نمونه خشک شده آسیاب گردید و به صورت پودر درآمد. سپس به روش تقطیر با آب (طبق فارماکوپه اروپا) اسانس گیری شد. دستگاه مورد استفاده، یک دستگاه تمام شیشه‌ای طرح کلونجر بود. برای اسانس گیری، ۸۰ گرم از اندام هوایی خشک شده گیاه مورد بررسی آسیاب شده و مورد تقطیر قرار گرفت. اسانس بدست آمده با سولفات سدیم رطوبت زدایی شد. برای تعیین بازده اسانس نسبت به وزن خشک، رطوبت نمونه در زمان اسانس گیری نیز تعیین شد.

جداسازی و شناسایی ترکیب های اسانس توسط GC و GC/MS

برای شناسایی ترکیب های اسانس از دستگاه های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده گردید.

مشخصات گاز کروماتوگرافی (GC)

آنالیز GC با دستگاه گاز کروماتوگرافی فوق سریع (ultra fast) مدل Thermo-UFM ساخت کشور ایتالیا، مجهز به ستون PH-5 (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر) مورد استفاده قرار گرفت. دمای اولیه، ۶۰ درجه سانتی گراد (با زمان نگهداری ۳ دقیقه) بود که با ۸۰ درجه سانتی گراد افزایش در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۵ درجه سانتی گراد رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز (FID)، ۲۸۰ درجه سانتی گراد بود. گاز حامل هلیوم (با درجه خلوص ۹۹/۹۹٪) بود که با سرعت ۳۲ سانتی متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می کرد.

مشخصات گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS)

گاز کروماتوگرافی متصل شده به طیف سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود مورد استفاده قرار گرفت. برنامه ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۵۰ درجه سانتی گراد تا دمای نهایی ۲۸۰ درجه سانتی گراد بود که در هر دقیقه ۳ درجه سانتی گراد به آن افزوده می شد. دمای محفظه تزریق، ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

محاسبه شاخص بازداری و شناسایی ترکیبها

برای محاسبه اندیس های بازداری ترکیبها، آلکانهای نرمال C9-C22 به دستگاه GC تزریق گردید. شناسایی ترکیبها با مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیبهای استاندارد، با استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوئیدها در کامپیوتر و به کمک شاخصهای بازداری محاسبه شد و مقایسه آنها با شاخصهای بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده، انجام شد. محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز R3A-Chromatepac به روش نرمال کردن سطح (Area normalization method) و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به طیفها انجام شد.

جدول ۱- ترکیب‌های موجود در اسانس گونه *Origanum strobilaceum*

| شماره | نام ترکیب | شاخص بازداری (RI) | درصد |
|-------|-------------------------|-------------------|------|
| ۱ | α -thujene | ۹۲۶ | ۰/۲ |
| ۲ | α -pinene | ۹۳۲ | ۰/۱ |
| ۳ | camphene | ۹۵۲ | ۰/۷ |
| ۴ | sabinene | ۹۷۴ | ۴/۹ |
| ۵ | α -terpinene | ۱۰۱۵ | ۱/۹ |
| ۶ | <i>P</i> -cymene | ۱۰۲۵ | ۲۵/۰ |
| ۷ | γ -terpinene | ۱۰۶۰ | ۷/۴ |
| ۸ | terpinolene | ۱۰۸۰ | ۰/۱ |
| ۹ | terpinolene-4-ol | ۱۱۷۴ | ۰/۹ |
| ۱۰ | cumin aldehyde | ۱۲۳۹ | ۵/۱ |
| ۱۱ | thymol | ۱۲۹۰ | ۹/۶ |
| ۱۲ | carvacrol | ۱۲۹۸ | ۵/۳ |
| ۱۳ | α -copaene | ۱۳۷۵ | ۰/۲ |
| ۱۴ | β -bourbonene | ۱۳۸۴ | ۰/۶ |
| ۱۵ | β -cubebene | ۱۳۸۶ | ۰/۲ |
| ۱۶ | β -elemene | ۱۳۸۹ | ۰/۷ |
| ۱۷ | <i>E</i> -caryophyllene | ۱۴۱۶ | ۱۴/۴ |
| ۱۸ | β -copaene | ۱۴۳۰ | ۰/۳ |
| ۱۹ | α -humulene | ۱۴۵۴ | ۲/۶ |
| ۲۰ | allo-aromadendrene | ۱۴۵۸ | ۱/۲ |
| ۲۱ | γ -muarolene | ۱۴۷۷ | ۲/۲ |
| ۲۲ | germacrene D | ۱۴۸۳ | ۲/۰ |
| ۲۳ | bicyclogermacrene | ۱۴۹۸ | ۱/۲ |
| ۲۴ | spathulenol | ۱۵۷۵ | ۲/۲ |
| ۲۵ | caryophyllen oxide | ۱۵۸۱ | ۴/۹ |
| ۲۶ | globulol | ۱۵۸۳ | ۰/۳ |
| ۲۷ | β -eudesmol | ۱۶۴۹ | ۰/۲ |
| ۲۸ | α -cadinol | ۱۶۵۱ | ۰/۲ |
| ۲۹ | β -bisabolol | ۱۶۷۲ | ۲/۶ |
| | مجموع | | ۹۷/۲ |

نتایج

نتایج نشان داد که بازده اسانس حاصل از گیاه *O. strobilaceum*، ۰/۰۱٪ است. ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس مذکور در جدول ۱ آورده شده است. در اسانس این گیاه ۲۹ ترکیب شناسایی شده که به ترتیب پارا-سیمن (۰/۲۵٪)، ترانس-کاریوفیلن (۰/۱۴/۴٪)، تیمول (۰/۹/۶٪)، گاما-تریپین (۰/۷/۴٪)، کارواکرول (۰/۵/۳٪) و کاریوفیلن اکساید (۰/۴/۹٪) ترکیب‌های شاخص بودند.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *O. strobilaceum* با داشتن ترکیب پارا-سیمن به میزان ۰/۲۵٪ از سایر گونه‌ها و زیرگونه‌های جنس *Origanum* قابل تفکیک است و این می‌تواند یکی از شواهد مورد استفاده برای منظور نمودن آن به‌عنوان گونه مستقل در نظر گرفته شود. در بین ترکیب‌های شناخته شده از اسانس زیرگونه *O. vulgare subsp. vulgare* ترکیب‌های اصلی فنل‌های تیمول و کارواکرول (Leisher & Fleisher, 1991) و همچنین جرماکرن D و تریپین-۴-اُل (Sivropoulou et al., 1996) می‌باشند. اما در مطالعه انجام شده در این تحقیق، تیمول در اسانس گونه *O. strobilaceum* ۰/۹/۶٪، کارواکرول ۰/۵/۳٪ و جرماکرن D فقط ۰/۲٪ را به خود اختصاص داده است و این مقدار ترکیب‌های فنلی در مقایسه با تحقیقات قبلی درصد قابل‌ملاحظه‌ای نیست اما مقدار تیمول در مقایسه با سایر گونه‌ها و زیرگونه‌های این جنس درصد قابل‌توجهی است. در مقایسه ترکیب‌های اصلی اسانس روغنی گیاهان مورد

آزمایش در این تحقیق با تحقیقات قبلی (Sahin et al., 2004) تفاوت‌هایی وجود دارد.

قبلاً در روغن اسانسی *O. vulgare subsp. vulgare* کشت شده در ایران، ترکیب‌های بتا-کاریوفیلن (۰/۲۴/۵٪)، جرماکرن-دی (۰/۱۵/۲٪)، ترانس-سایبین هیدرات (۰/۹٪)، سایبین (۰/۶٪)، آلفا-هومولن (۰/۵/۱٪)، والنسن (۰/۴/۳٪) و ترانس بتا-اوسمین (۰/۴/۲٪) به‌عنوان ترکیب‌های اصلی گزارش شده بودند (برازنده، ۱۳۸۰). نتایج این تحقیق نشان داد که در اسانس گونه *O. strobilaceum* بیشترین درصد ترکیب‌ها را پارا-سیمن به میزان ۰/۲۵٪ و ترانس-کاریوفیلن به میزان ۰/۱۴/۴٪ و کمترین میزان ترکیب‌ها را آلفا-پینن و آلفا-تریپینولن (۰/۰/۱٪) به خود اختصاص داده‌اند که این نشان‌دهنده تفاوت اسانس این گونه با سایر گونه‌های مرزنجوش می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- برازنده، م.م.، ۱۳۸۰. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده روغن اسانسی گل مرزنجوش (مرزنجوش) (*Origanum vulgare* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد، ۹: ۱۸۷-۱۷۸.
- توکلی صابری، م.ر. و صداقتی م.ر.، ۱۳۷۹. گیاهان دارویی. انتشارات چاپخانه گلشن، تهران، ۲۶۰ صفحه.
- جاویدتاش، ا.، ۱۳۷۳. کشت تا برداشت گیاه مرزنجوش *Origanum vulgare* L. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۳۰ صفحه.
- قهرمان، ا.، ۱۳۸۵. گیاه‌شناسی پایه. جلد سوم، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ۷۸۲ صفحه.
- Gurtner, M., 1986. Gesund durch Heilkräuter. Gondrom Verlag Salzburg, S., 210: 504.
- Ietswaart, J.H., 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). PhD thesis. Leiden Botanical Series 4, Leiden University Press, The Hague.
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M. and Mete, E., 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil

- methanol extract of *Origanum Vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control, 15: 549-557.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkinin, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oil. Journal of Agriculture and Food chemistry, 44: 1201-1205.
 - Leisher, A. and Fleisher, Z., 1991. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. Journal of Essential Oil Research, 3: 121-123.
 - Sahin, F., Gulluce, M., Dafereera, D., Sakman, A., Sokman, M., Polissiou, M., Agar, G. and Ozer, H., 2004. Biological activities of the essential oils and isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresource Technology, 99(18): 8788-8795.

Essential oil composition of *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman

S. Shahverdi^{*1}, F. Sefidkon², Z. Jamzad² and T. Nejheidsattari³

1*- Corresponding author, MSc. Student, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

E-mail: shahverdi185@yahoo.com

2- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

3- Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

Received: October 2010

Revised: January 2011

Accepted: January 2011

Abstract

Origanum strobilaceum Mobayen & Ghahreman belongs to Lamiaceae. Thirty eight species of the genus were known so far which are categorized in 9 sections. The species is aromatic and its essential oil compositions are valuable. In this research, for the first time, the essential oil content and composition of *O. strobilaceum* was studied. The aerial parts of the plant were collected from janat rodbar in Mazandaran Province road at full flowering stage. After drying the plant materials, the essential oil was obtained by hydro-distillation method. Identification of essential oil constituents was done by using GC and GC/MS. The results showed 29 constituents in this oil that presented 97.3% of total oil. The main components of the oil were P-cymen (25%), E-caryophyllen (14.4%), thymol (9.6%), carvacrol (5.3%) and cuminaldehyde (5.1%). This oil had some similarities and differences with *O. vulgare* oil with high content of phenols, thymol and carvacrol as well as germacrene D and caryophyllene.

Key words: *Origanum strobilaceum* Mobayen & Ghahreman, essential oil, p-cymene, E-caryophyllen, thymol.