

بررسی تأثیر زمان برداشت و روش اسانس‌گیری بر کمیت و کیفیت اسانس *Thymus vulgaris L.*

فروزان نیکخواه^۱، فاطمه سفیدکن^{۲*} و ابراهیم شریفی عاشورآبادی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

۲- نویسنده مسئول، استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست الکترونیک: frsef@rifr-ac.ir

۳- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۷

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۷

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر مراحل مختلف برداشت و همچنین روشهای مختلف اسانس‌گیری بر بازده اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris L.*) آزمایشهای جداگانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شد. در آزمایش اول، تیمارها شامل تأثیر مراحل مختلف برداشت (رویشی، اوایل گلدهی و گلدهی کامل) بر بازده اسانس استخراج شده از گیاه آویشن بود که با استفاده از روش تقطیر با آب انجام شد. ترکیبهای تشکیل‌دهنده کلیه اسانسها به وسیله دستگاههای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفتند. طبق نتایج بدست آمده از آزمایش اول مشخص شد که تأثیر مراحل مختلف برداشت بر بازده اسانس گیاه آویشن در سطح یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین بازده اسانس مربوط به اوایل گلدهی بود که معادل ۱/۱۸٪ شد و نسبت به سایرین اختلاف معنی‌دار داشت. تجزیه و شناسایی ترکیبهای تشکیل‌دهنده اسانسها نشان داد که در تمام مراحل برداشت و روشهای استخراج، تیمول، پارا-سیمن و گاما-ترپین ترکیبهای عمده اسانس بودند. مقدار تیمول در اسانس در مراحل اوایل گلدهی و گلدهی کامل تفاوت جزئی داشت، ولی در مرحله قبل از گلدهی مقدار آن پایین‌تر بود. آزمایش دوم نیز شامل تأثیر روشهای مختلف اسانس‌گیری (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخار و تقطیر با بخار آب) بر بازده اسانس استخراج شده از گیاه آویشن در مرحله گلدهی کامل بود. نتایج حاصل از آزمایش دوم نشان داد که در مرحله گلدهی کامل، تأثیر روشهای مختلف اسانس‌گیری بر بازده اسانس گیاه آویشن در سطح یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگینها مشخص کرد که بیشترین بازده اسانس تولیدی مربوط به روش تقطیر با بخار آب و معادل ۱/۲۰٪ شد که با روش تقطیر با آب در یک سطح قرار داشت ولی نسبت به روش تقطیر با آب و بخار اختلاف معنی‌دار نشان داد. در روشهای مختلف تقطیر نیز میزان تیمول در اسانس تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای نداشت ولی به صورت مشاهده‌ای درصد تیمول در روش تقطیر با آب کمی بالاتر بود. به‌طور کلی با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان مرحله اوایل گلدهی و روش تقطیر با بخار آب را به‌عنوان مناسبترین زمان برداشت و روش استخراج برای اسانس آویشن باغی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: *Thymus vulgaris L.*، اسانس، مراحل برداشت، روش تقطیر، تیمول.

مقدمه

تقریباً ۳۵۰ گونه مختلف از جنس آویشن در سراسر جهان یافت می‌شود. گیاهان این جنس عمدتاً در پایه چوبی، معطر، همیشه سبز، بادوام و بوته‌ای می‌باشند که معمولاً در خاکهای آهکی و در چمنزارها و در سراسر اروپا و آسیا یافت می‌شوند (قهرمان، ۱۳۷۲).

از میان بسیاری از گیاهان خوشبو، آویشن را مظهر و سمبل مرگ می‌دانند چون اعتقاد بر این است که ارواح مردگان در گل‌های این گیاه به آرامش می‌رسند. از این گل در بسیاری از مراسم عبادی و تشریفاتی استفاده می‌شود. در مصارف خوراکی از گونه‌های مختلف آویشن به‌عنوان معطرکننده استفاده می‌کنند (زرگری، ۱۳۶۳). با وجود اینکه گونه دارویی این جنس را *T. vulgaris* می‌دانند، تمام آویشن‌ها از نظر ترکیب‌های فرار غنی می‌باشند و عمدتاً شامل تیمول و کارواکرول که ضد عفونی‌کننده‌های قوی هستند می‌باشند (سفیدکن و رحیمی بیدگلی، ۱۳۸۱؛ نقدی بادی و همکاران، ۱۳۸۱).

پراکندگی گونه‌های مختلف جنس آویشن به صورتی است که در بیشتر نواحی یافت می‌شود. ولی بیشینه انتشار آنها در منطقه مدیترانه است. از کاربردهای دارویی اسانس این گیاه می‌توان به داروهای تقویت معده، نیرودهنده، ضد تشنج، رفع بیماری‌های مختلف دستگاه تنفسی، قاعده‌آور، رفع ضعف عمل دستگاه هضم، نفخ، ضعف عمومی، سیاه سرفه، سرفه‌های مزمن و دردهای قاعدگی اشاره نمود (زرگری، ۱۳۶۳).

آویشن باغی با نام علمی *T. vulgaris* گیاهی چندساله و بومی نواحی شرقی مدیترانه است. آویشن، بوته‌های متراکم و پرشاخه، ریشه مستقیم و کم و بیش چوبی با انشعاب‌های فراوان، ساقه مستقیم و چهارگوش دارد که

ارتفاع بوته معمولاً بین ۲۰ تا ۵۰ سانتی‌متر است. پایین ساقه چوبی است در حالی که قسمت‌های فوقانی آن سبز رنگ بوده و انشعاب‌های فراوانی دارد. برگ‌ها کوچک، متقابل و کم و بیش نیزه‌ای شکل و بدون دم‌برگ هستند (زرگری، ۱۳۶۳).

در مورد اسانس *Thymus vulgaris* (آویشن باغی) تحقیقات زیادی انجام شده است. نمونه‌هایی از تحقیقات انجام شده به صورت زیر است:

اسانس گیاه *Thymus vulgaris* L. از آلبانی که به روش تقطیر با بخار آب از اندام‌های هوایی بدست آمده بود به وسیله دستگاه GC و GC/MS تجزیه شد و بیش از ۸۶ ترکیب در اسانس تشخیص داده شد که حدود ۴۰ ترکیب شناسایی شده و عمده‌ترین ترکیبها پارا-سیمن (۴۳/۷۵٪-۷/۷۶٪)، گاما-تریپنین (۲۷/۶۲٪-۴/۲۰٪) و تیمول (۶۰/۱۵٪-۲۱/۳۸٪) گزارش شده‌اند (Asllani & Toska, 2003).

در اسانس یک نمونه هیبرید از *Thymus vulgaris* معروف به 'Porlock' نیز ۲۵ ترکیب شناسایی شده که ۹۴٪ اسانس را تشکیل داده‌اند. اجزای اصلی اسانس تیمول (۳۹/۱٪)، بتا-کاریوفیلن (۱۱/۱٪) و پارا-سیمن (۱۰/۵٪) بوده‌اند (Mirza & Baher, 2003).

تغییرات فصلی میزان و ترکیب اسانس *Thymus vulgaris* در نیوزیلند (Central Otago) بررسی شده است. بالاترین عملکرد اسانس در ماه دسامبر (۲۲/۸ لیتر در هکتار) بعد از اتمام دوره گلدهی بدست آمده است. ترکیب‌های موجود در اسانس نیز در طی یک دوره ۱۳ ماهه تغییرات زیادی را نشان داده‌اند. بالاترین میزان ترکیب‌های فنلی تیمول و کارواکرول (۳۷٪) در فصل تابستان در مرحله بعد از گلدهی مشاهده شده‌اند. پارا-سیمن به‌عنوان

بررسی قرار گرفته است (Morteza Semnani et al., 2006). اجزای اصلی اسانس *T. kotschyanus*، پولگون (۱۸/۷٪)، ایزومتتون (۱۷/۸٪)، تیمول (۱۴/۹٪)، ۸،۱-سینئول (۹/۰٪)، پیریتنون (۶/۳٪) و کارواکرول (۵/۵٪) گزارش شده است. اجزاء اصلی اسانس *T. pubescens* نیز کارواکرول (۳۲/۱٪)، تیمول (۱۹/۱٪)، آلفا-ترپینئول (۱۴/۶٪) و پارا-سیمن (۶/۱٪) گزارش شده است.

اسانس پنج گونه آویشن به نامهای *T. kotschyanus*، *T. carnasus* و *T. serpyllum persicus* مورد بررسی قرار گرفته است. در کلیه اسانسها دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول، گاما-ترپینن و پارا-سیمن ترکیبهای عمده بوده‌اند (سفیدکن و عسگری، ۱۳۸۴).

همچنین تحقیقاتی در مورد تأثیر مرحله برداشت و روش تقطیر بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان معطر مختلفی صورت گرفته که برخی از آنها به قرار زیر است: تأثیر مرحله رشد گیاه و روش اسانس‌گیری بر روی کمیت و کیفیت اسانس آویشن کوهی مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور اندامهای هوایی آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) از یکی از رویشگاههای طبیعی خود در ایستگاه تحقیقاتی سیراچال، در سه مرحله قبل از گلدهی، اوایل گلدهی و گلدهی کامل جمع‌آوری شد و با روشهای مختلف اسانس‌گیری (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخار آب و نیز تقطیر با بخار آب مستقیم)، اسانس استخراج و بازده اسانس محاسبه شد. بعد اسانسهای بدست آمده مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت. نتایج نشان داده که بالاترین بازده اسانس با روش تقطیر با آب و پایین‌ترین بازده به روش تقطیر با بخار آب حاصل شده است. بازده اسانس با توجه به روش تقطیر و مرحله رشد گیاه بین ۰/۲۸٪ تا ۱/۸۰٪ متغیر بود. ترکیبهای اصلی

یکی از ترکیبهای مهم در زمستان و اوایل بهار بین ۴۰ تا ۵۰٪ اسانس را تشکیل می‌دهد و در ژانویه به ۲۱٪ کاهش یافته است. از این تحقیق نتیجه گرفته شده که زمان مناسب برداشت آویشن در منطقه مورد بررسی برای دستیابی به بالاترین عملکرد اسانس و بالاترین درصد از ترکیبهای فنلی، فصل تابستان و بعد از اتمام مرحله گلدهی است (McGimpsey et al., 2006).

تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه آویشن باغی در ایران، در طی یک دوره رشد و تراکم‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. دو فاکتور فاصله کاشت (سه سطح ۱۵، ۳۰ و ۴۵ سانتی‌متر) و برداشت در چهار تاریخ از اواسط اردیبهشت تا اواخر خرداد مورد بررسی قرار گرفته است. بیشترین درصد اسانس در برداشت چهارم (اواخر خرداد) حاصل شده، ولی درصد اسانس و مقدار تیمول در فاصله کاشت‌های مختلف از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداده است (نقدی بادی و همکاران، ۱۳۸۱).

فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن بر علیه هلیوباکتر نیز به اثبات رسیده است (Ghannadi et al., 2004). اسانس *T. pubescens* و *T. serpyllum* نیز خواص ضد میکروبی از خود نشان داده‌اند (Rasooli & Mirmostafa, 2002). همچنین از اسانس آویشن به‌عنوان سم بیولوژیک در کنترل بیماری آتشک درختان دانه‌دار استفاده شده است (حسن‌زاده و رضایی، ۱۳۷۶؛ Mosch et al., 1990).

تحقیقات مختلفی نیز در مورد اسانس سایر گونه‌های آویشن موجود در ایران انجام شده است که به اختصار به آنها اشاره می‌شود:

اجزای سازنده اسانس اندامهای هوایی *Thymus kotschyanus* و *Thymus pubescens* از کشور ایران در زمان گلدهی کامل (جمع‌آوری شده از حومه بهشهر) مورد

روشهای مختلف اسانس‌گیری (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخار و تقطیر با بخار آب) بر بازده اسانس استخراج شده از گیاه آویشن در مرحله گلدهی کامل بود.

بدین ترتیب گیاهان جمع‌آوری شده، ابتدا در سایه و دمای اتاق (به مدت ۳ روز) خشک شدند. بعد قسمتهای چوبی جدا شده و سایر اندامهای باقیمانده آسیاب شدند و با استفاده از روش تقطیر با آب (در سه تکرار) در مدت دو ساعت اسانس آنها استخراج شد. به منظور تعیین بهترین روش تقطیر برای دستیابی به بالاترین کمیت و کیفیت از اسانس در مرحله گلدهی کامل، از دو روش دیگر تقطیر یعنی تقطیر با آب و بخار آب و تقطیر با بخار مستقیم نیز (در سه تکرار) برای استخراج اسانس استفاده شد. پس از پایان تقطیر، اسانس را در شیشه‌های درب‌دار جمع‌آوری نموده و جهت رطوبت‌گیری از آن از پودر سولفات سدیم استفاده شد. پس از آن اسانس که به رنگ زرد شفاف بود به‌دقت وزن شد و راندمان (بازده) اسانس نسبت به وزن گیاه خشک محاسبه شد.

در زیر به اختصار سه روش تقطیر مورد استفاده شرح داده می‌شود.

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب (Hydro-distillation)

دستگاه مورد استفاده در این تحقیق طرح کلونجر و تمامی قسمتهای آن شیشه‌ای بود. این دستگاه براساس دارونامه بریتانیا طراحی شده بود. در این روش مقدار ۶۰-۸۰ گرم از اندام هوایی گونه آویشن خشک شده در سه تیمار جداگانه (مراحل مختلف برداشت) با آسیاب خرد و درون بالن ریخته شد. بعد به محتویات داخل بالن آب مقطر اضافه شد تا حدی که سطح گیاه را کاملاً

در تمام اسانسها کواکروول (۶۱/۲۳-٪/۴۶۷۴)، تیمول (۲۶/۹۲-٪/۷۵۱)، گاما-ترپینن، پارا-سیمن و بورنئول بوده‌اند (سفیدکن و رحیمی بیدگلی، ۱۳۸۱).

تحقیقات انجام شده در مورد اسانس گیاه *Eucalyptus dealbata* بدست آمده به سه روش مختلف تقطیر (تقطیر با آب، تقطیر با آب و بخار، تقطیر با بخار) نشان داده که ترکیب اصلی اسانس در کلیه روشها ۸،۱-سینئول می‌باشد ولی بالاترین میزان ۸،۱-سینئول در اسانس این گونه در روش تقطیر با آب بدست می‌آید (بهمن‌زادگان جهرمی، ۱۳۸۵).

تحقیقی بر روی *Eucalyptus camaldullensis* نشان داده که روش تقطیر با آب هم از نظر بازده اسانس‌گیری و هم از نظر تولید اسانس مرغوبتر (اسانس با درصد بالاتر ۸،۱-سینئول)، بر روش تقطیر با بخار آب، برتری داشته و از نظر اقتصادی، مقرون به صرفه‌تر است (Simmons & Parsons, 1987).

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه و اسانس‌گیری

به منظور بررسی تأثیر مراحل مختلف برداشت و روشهای مختلف اسانس‌گیری بر بازده اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) آزمایشهای جداگانه‌ای در سال ۱۳۸۷ در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شد. در این تحقیق اندام هوایی آویشن باغی در فصل بهار از مزرعه گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی جمع‌آوری شد. در آزمایش اول، تیمارها شامل تأثیر مراحل مختلف برداشت (رویشی، اوایل گلدهی و گلدهی کامل) بر بازده اسانس استخراج شده از گیاه آویشن بود که با استفاده از روش تقطیر با آب انجام شد. آزمایش دوم نیز شامل تأثیر

بازده اسانس اندامهای هوایی *T. vulgaris* حاصل از سه تکرار در سه تیمار روش اسانس گیری و سه تیمار زمان برداشت، با استفاده از برنامه آماری SAS تجزیه واریانس شد و به روش آزمون چند دامنه دانکن نیز مورد مقایسه قرار گرفت.

شناسایی ترکیبهای تشکیل دهنده اسانس

پس از تزریق اسانسها به دستگاه گازکروماتوگراف (GC) و یافتن مناسبترین برنامه ریزی حرارتی ستون، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانسهای بدست آمده با دی کلرومتان رقیق شده و به دستگاه گازکروماتوگراف متصل شده با طیفسنج جرمی (GC/MS) تزریق و طیفهای جرمی و کروماتوگرامهای مربوطه بدست آمد. بعد با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کوتاه، مطالعه طیفهای جرمی و مقایسه با ترکیبهای استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم افزار SATURN، ترکیبهای تشکیل دهنده اسانسها، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت. مشخصات دستگاههای مورد استفاده به صورت زیر بود.

دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)

گازکروماتوگراف شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A 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 ۴۰ درجه سانتی گراد شروع شده و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۲۰ درجه سانتی گراد رسید. دمای محفظه تزریق و دتکتور در دمای ۲۴۰ درجه تنظیم شد. دتکتور از نوع FID بوده و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل

پوشاند. بعد با تنظیم میزان حرارت و سرعت عبور آب سرد از مبرد، تقطیر شروع شد. مدت زمان اسانس گیری برای تمام تکرارها دو ساعت بود.

استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و بخار (Water and Steam Distillation)

در این روش گیاه را در محفظه جداگانه ای گذاشته که در بالای ظرف محتوی آب جوش قرار می گیرد. به طوری که آب با گیاه در تماس نیست بلکه در مجاورت بخار آب اشباع قرار می گیرد. بخار آب همراه با اسانس خارج و وارد سردکننده شده و در ظرف جمع آوری نمونه از یکدیگر جدا می شوند. دستگاه مورد استفاده در این تحقیق از نوع کیزر و لانگ (Kaiser & Lang) و تمام شیشه ای بود. در این روش مقدار ۷۰-۸۰ گرم از نمونه خشک شده در سایه در سه تکرار به مدت دو ساعت اسانس گیری شدند.

استخراج اسانس به روش تقطیر با بخار آب مستقیم (Direct Steam Distillation)

در این روش ظرف محتوی آب زیر محفظه گیاه قرار نمی گیرد. بخار مورد نیاز برای عمل تقطیر در ظرف جداگانه ای تولید شده و بعد به درون محفظه گیاه فرستاده می شود. در این روش نباید گیاه پودر شود و یا به طور فشرده و متراکم در ظرف چیده شود، چون مانع از نفوذ بخار درون بافت گیاهی می شود. همچنین بهتر است تا حد امکان بخار با فشار از میان گیاه عبور کند. در این روش مقدار ۸۰ گرم از نمونه خشک شده در سایه در سه تکرار به مدت ۱/۵ ساعت اسانس گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

در هر کدام از آزمایشها، تیمارهای مورد بررسی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار آزمون شدند. میانگین

اسانس تولیدی مربوط به اوایل گلدهی بود که معادل ۱/۱۸٪ شد و نسبت به سایرین اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۲). ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس *T. vulgaris* در مراحل مختلف برداشت در جدول ۵ آورده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در مجموع تعداد ۱۷ ترکیب در اسانسها شناسایی شده که عمده‌ترین آنها تیمول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن می‌باشند. در آزمایش دوم، نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که در مرحله گلدهی کامل، تأثیر روشهای مختلف اسانس‌گیری بر بازده اسانس گیاه آویشن در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

مقایسه میانگینها مشخص کرد که بیشترین بازده اسانس تولیدی مربوط روش تقطیر با بخار آب و معادل ۱/۲۰٪ شد که با روش تقطیر با آب در یک سطح قرار داشت ولی نسبت به روش تقطیر با آب و بخار (۰/۷۸٪) اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۴).

ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس *T. vulgaris* در مرحله گلدهی کامل و با روشهای مختلف تقطیر در جدول ۶ آورده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود در مجموع تعداد ۱۶ ترکیب در اسانسها شناسایی شده که عمده‌ترین آنها تیمول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن می‌باشند.

استفاده شد که با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون عبور می‌کرد.

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

از گاز کروماتوگراف متصل شده با طیف‌سنج جرمی مدل Varian-3400 از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون مشابه با برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

نتایج

در آزمایش اول، طبق نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس مشخص شد که تأثیر مراحل مختلف برداشت بر بازده اسانس گیاه آویشن در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین بازده

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر مراحل مختلف برداشت بر درصد اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*)

با استفاده از روش تقطیر با آب

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
مراحل برداشت	۲	۰/۰۷۸**
خطا	۶	۰/۰۰۴
کل	۸	-

**، در سطح یک درصد معنی‌دار است.

جدول ۲- مقایسه میانگین مراحل مختلف برداشت بر درصد اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) به وسیله روش تقطیر با آب، با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن

درصد اسانس	مراحل مختلف برداشت
۰/۸۶ b	رویشی
۱/۱۸ a	اوایل گلدهی
۱/۰۵ b	گلدهی کامل

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است.

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر روشهای مختلف اسانس گیری بر درصد اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) در مرحله گلدهی کامل

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰/۱۳۶**	۲	مراحل برداشت
۰/۰۰۵	۶	خطا
-	۸	کل

**، در سطح یک درصد معنی دار است.

جدول ۴ - مقایسه میانگین روشهای مختلف اسانس گیری (در مرحله گلدهی کامل) بر درصد اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris*) با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن

درصد اسانس	روش اسانس گیری
۱/۰۵ a	تقطیر با آب
۰/۷۸ b	تقطیر با آب و بخار
۱/۲۰ a	تقطیر با بخار آب

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است.

جدول ۵- ترکیب‌های اسانس *T. vulgaris* در مراحل مختلف برداشت به روش تقطیر با آب

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	قبل از گلدهی (%)	اوایل گلدهی (%)	گلدهی کامل (%)
۱	α -thujene	۹۳۲	۱/۳	۱/۱	۱/۳
۲	α -pinene	۹۳۸	۱/۳	۱/۳	۱/۲
۳	β -pinene	۹۷۵	۳/۲	۲/۸	۲/۴
۴	myrcene	۹۹۸	۱/۸	۱/۸	۱/۹
۵	α -terpinene	۱۰۱۷	۱/۰	۱/۴	۰/۹
۶	<i>p</i> -cymene	۱۰۲۶	۲۸/۰	۱۹/۵	۱۷/۸
۷	1,8-cineole	۱۰۳۱	۱/۴	۱/۴	۱/۰۱
۸	γ -terpinene	۱۰۶۰	۱۰/۶	۱۵/۴	۱۵/۱
۹	<i>Cis</i> -sabinene hydrate	۱۰۷۰	-	۰/۴	۰/۴
۱۰	<i>Trans</i> -sabinene hydrate	۱۰۹۵	۲/۲	۲/۳	۲/۵
۱۱	camphor	۱۱۴۳	۰/۷۵	۰/۲	۰/۵
۱۲	borneol	۱۱۶۶	۴/۶	۵/۳	۴/۰
۱۳	methyl ether carvacerol	۱۲۴۲	-	۰/۴	-
۱۴	thymol	۱۲۸۷	۳۶/۵	۳۹/۹	۴۰/۵
۱۵	carvacerol	۱۲۹۶	۲/۵	۳/۲	۲/۵
۱۶	E-caryophyllene	۱۴۲۰	۱/۹	۲/۱	۱/۴
۱۷	germacrene D	۱۴۸۵	-	۰/۱۵	-
	مجموع		۹۷/۱	۹۸/۵	۹۳/۴

بحث

بررسی نتایج کمی اسانسها (بازده نسبت به وزن خشک) نشان داد که برای دستیابی به بالاترین میزان اسانس، بهتر است در مراحل قبل از گلدهی از گیاه *T. vulgaris* برداشت صورت نگیرد. در مرحله گلدهی نیز برداشت در اوایل گلدهی (که حدود ۲۰٪ گلها باز شده‌اند) بهتر از زمان گلدهی کامل (هنگامی که ۵۰٪ گلها باز شده‌اند) می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج Sefidkon و همکاران (۲۰۰۷) در مورد گیاه *Satureja rechingeri* و Sefidkon و Akbari-nia (۲۰۰۹) در مورد *Satureja sahendica* مطابقت دارد. در مورد هر دو گونه فوق‌الذکر نیز مرحله اوایل گلدهی بالاترین بازده اسانس را تولید کرده بود. نتایج این تحقیق با

نتایج سفیدکن و رحیمی بیدگلی (۱۳۸۱) در مورد *T. kotschyanus* مطابقت ندارد. این محققان مرحله گلدهی کامل را برای دستیابی به بالاترین میزان اسانس از *T. kotschyanus* پیشنهاد کرده بودند. همچنین نتایج این تحقیق با بررسی انجام شده بر روی این گونه در نیوزیلند (McGimpsey et al., 2006) که بهترین مرحله برداشت آویشن باغی را پس از گلدهی معرفی کرده بودند، مطابقت ندارد. این عدم مطابقت می‌تواند از شرایط مختلف رویش ناشی شود. البته در تحقیق حاضر مرحله پس از گلدهی مورد مطالعه قرار نگرفت. قابل ذکر است که در شرایط ایران، اغلب ساقه‌های آویشن باغی پس از گلدهی خشک و چوبی می‌شوند و فقط برگهای سبز قابل برداشت هستند

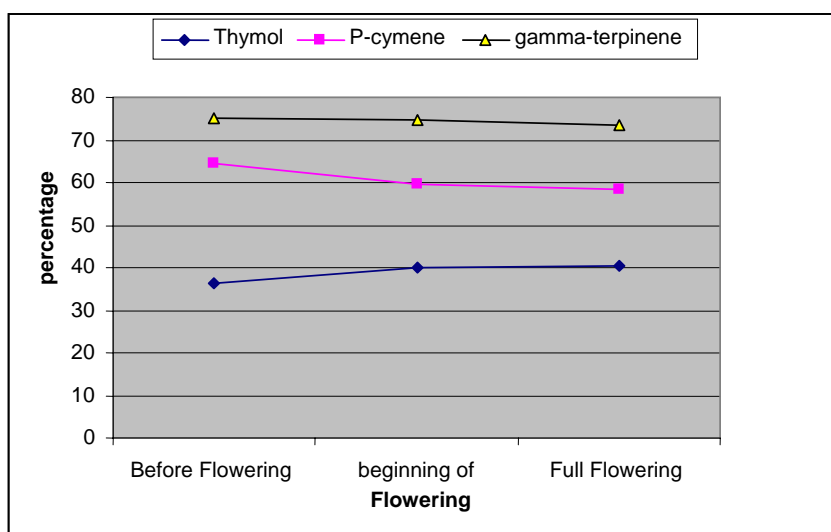
جدول ۶- ترکیبهای اسانس *T. vulgaris* در مرحله گلدهی کامل با روشهای مختلف تقطیر

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	تقطیر با آب (%)	تقطیر با آب و بخار آب (%)	تقطیر با بخار آب (%)
۱	α -thujene	۹۳۲	۱/۳	۱/۴	۱/۵
۲	α -pinene	۹۳۸	۱/۲	۱/۳	۱/۵
۳	β -pinene	۹۷۵	۲/۴	۲/۶	۲/۷
۴	myrcene	۹۹۸	۱/۹	۲/۱	۲/۲
۵	α -terpinene	۱۰۱۷	۰/۹	۱/۳	۱/۴
۶	<i>p</i> -cymene	۱۰۲۶	۱۷/۸	۲۱/۰	۱۸/۶
۷	1,8-cineole	۱۰۳۱	۱/۰۱	۰/۹۵	۰/۸
۸	γ -terpinene	۱۰۶۰	۱۵/۱	۱۶/۱	۱۶/۲
۹	<i>Cis</i> -sabinene hydrate	۱۰۷۰	۰/۴	۰/۸	۰/۹
۱۰	<i>Trans</i> -sabinene hydrate	۱۰۹۵	۲/۵	۲/۲	۲/۶
۱۱	camphor	۱۱۴۳	۰/۵	۰/۶	۰/۴
۱۲	borneol	۱۱۶۶	۴/۰	۳/۵	۳/۴۵
۱۳	thymol	۱۲۸۷	۴۰/۵	۳۶/۷	۳۸/۶
۱۴	carvacrol	۱۲۹۶	۲/۵	۲/۶	۲/۳
۱۵	E-caryophyllene	۱۴۲۰	۱/۴	۴/۳۵	۳/۴
۱۶	germacrene D	۱۴۸۵	-	۰/۵	-
	مجموع		۹۳/۴	۹۸/۰	۹۶/۵۵

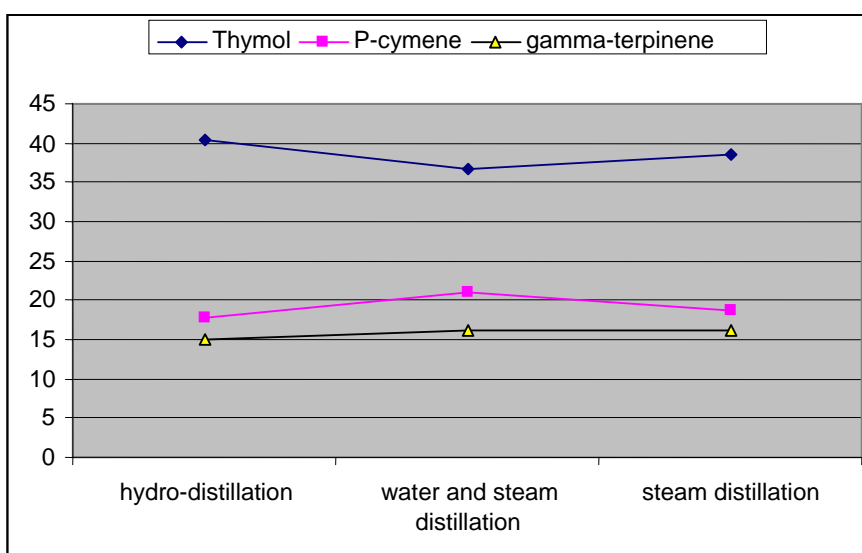
شناسایی کیفی ترکیبهای اسانسها در مراحل مختلف برداشت وجود ۱۵ ترکیب را در مرحله قبل از گلدهی نشان داد که عمده ترین ترکیبها تیمول (۳۳/۵٪)، پارا-سیمن (۲۸/۰٪) و گاما-ترپینن (۱۰/۶٪) بودند. در مرحله اوایل گلدهی ۱۷ ترکیب در اسانس شناسایی شد که ترکیبهای عمده تیمول (۳۹/۹٪)، پارا-سیمن (۱۹/۵٪) و گاما-ترپینن (۱۵/۴٪) بودند. در مرحله گلدهی کامل، ۱۵ ترکیب در اسانس شناسایی شد که اجزای اصلی تیمول (۴۰/۵٪)، پارا-سیمن (۱۷/۸٪) و گاما-ترپینن (۱۵/۱٪) بودند. بررسی سیر تغییرات میزان این ترکیبها نشان می دهد که در حالی که مقدار تیمول از ابتدای مرحله رویشی به مرحله گلدهی کامل به تدریج افزایش می یابد، میزان پارا-سیمن اُفت به نسبت

شدیدی نشان می دهد. مقدار گاما-ترپینن نیز از مرحله قبل از گلدهی به ابتدای گلدهی رشد ناگهانی نشان داده و بعد تقریباً ثابت می ماند. در شکل ۱، نمودار تغییرات این سه ترکیب مشاهده می شود. این نمودار نشان می دهد که میزان نسبی ترکیبهای عمده در دو مرحله اوایل گلدهی و گلدهی کامل بسیار نزدیک به یکدیگر است. در مورد سایر ترکیبهای اسانس، تفاوت قابل ملاحظه ای در مراحل مختلف برداشت دیده نمی شود. فقط در اسانس مرحله اوایل گلدهی وجود دو ترکیب متیل اتر کارواکرول و جرماکرن D قابل ذکر است که در دو اسانس دیگر وجود ندارند.

تحقیقات قبلی در مورد *T. kotschyanus* نیز نشان داده که در مرحله گلدهی کامل، اسانس دارای مقادیر بالاتری



شکل ۱- تغییرات ترکیبهای عمده اسانس *T. vulgaris* در سه مرحله برداشت



شکل ۲- تغییرات ترکیبهای عمده اسانس *T. vulgaris* در روشهای مختلف تقطیر

در اسانس شناسایی شد که ترکیبهای عمده تیمول (۳۸/۶٪)، پارا-سیمن (۱۸/۶٪) و گاما-ترینن (۱۶/۲٪) بودند. بررسی تغییرات میزان این ترکیبها نشان می‌دهد که بالاترین مقدار تیمول در مرحله گلدهی کامل با روش تقطیر با آب بدست آمده است. بالاترین میزان پارا-سیمن در روش تقطیر با آب و بخار آب حاصل شده است. مقدار گاما-ترینن تغییر قابل‌ملاحظه‌ای نداشته است. در شکل ۲ نمودار تغییرات این

از مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول بوده است (سفیدکن و رحیمی بیدگلی، ۱۳۸۱).

شناسایی کیفی ترکیبهای اسانسها در مرحله گلدهی کامل و با روشهای مختلف تقطیر، وجود ۱۶ ترکیب را در روش تقطیر با آب و بخار آب نشان داد که عمده‌ترین ترکیبها تیمول (۳۶/۷٪)، پارا-سیمن (۲۱/۰٪) و گاما-ترینن (۱۶/۱٪) بودند. در روش تقطیر با بخار مستقیم، ۱۵ ترکیب

- سفیدکن، ف. و عسگری، ف.، ۱۳۸۴. مقایسه کمی و کیفی اسانس پنج گونه آویشن. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۹(۲): ۱۳۶-۱۲۵.

- قهرمان، ا.، ۱۳۷۲. کورموفینهای ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد دوم، مرکز نشر دانشگاهی تهران، ۷۷۰ صفحه.

- نقدی بادی، ح.ع.، یزدانی، د.، نظری، ف. و محمدعلی، س.، ۱۳۸۱. تغییرات فصلی عملکرد و ترکیبات اسانس آویشن (*Thymus vulgaris* L.) در تراکم‌های مختلف کاشت. فصلنامه گیاهان دارویی، ۵: ۵۶-۵۱.

- Asllani, U. and Toska, V., 2003. Chemical composition of Albanian Thyme oil (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Essential Oil Research, 15, 165-167.

- Ghannadi, A., Sajjadi, S.E., Abedi, D., Jalily and Yousefi Daraei Ardekani, R., 2004. The in vitro activity of seven Iranian plants of the Lamiaceae family against helicobacter pylori. Nigerian Journal of Natural Products and Medicine, 8: 40-42.

- McGimpsey, J.A., Douglas, M.H., Van Klink, J.W., Beauregard, D.A. and Perry, N.B., 2006. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. Flavour and Fragrance Journal, 9(6): 347-352.

- Mirza, M. and Baher, Z., 2003. Chemical composition of essential oil from *Thymus vulgaris* hybrid. Journal of Essential Oil Research, 15, 329-330.

- Morteza Semnani, K., Rostmi, B. and Akbarzadeh, M., 2006. Essential oil composition of *Thymus kotschyanus* and *Thymus pubescens* from Iran. Journal of Essential Oil Research, 18(3): 272-274.

- Mosch, J., Klingauf, F. and Zeller, W., 1990. On the effects of plant extracts against fireblight. Acta Horticulture, 273: 355-361.

- Rasooli, I. and Mirmostafa, S.A., 2002. Antibacterial properties of *Thymus pubescens* and *Thymus serpyllum* essential oils. Fitoterapia, 73(3): 244-250.

- Sefidkon F. and AKbari-nia A., 2009. Essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. in different stage of plant growth. Journal of Essential Oil Research, In Press.

- Sefidkon, F. Abbasi, Kh., Jamzad, Z. and Ahmadi, Sh., 2007. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. Food Chemistry, 100: 1054-1058.

- Simmons, D. and Parsons, R.F., 1987. Seasonal variation in the volatile leaf oils of two Eucalyptus species. Biochemical Systematic and Ecology, 15(2): 209-215.

سه ترکیب مشاهده می‌شود. این نمودار نشان می‌دهد که بالاترین کیفیت اسانس به صورت نسبی در روش تقطیر با آب و سپس تقطیر با بخار آب است.

نتایج تحقیقات قبلی در مورد *T. kotschyanus* نیز نشان داده که درصد کلی تیمول و کارواکرول به وسیله روش تقطیر با بخار آب (۶۶/۶۵٪) بیشتر از روش تقطیر با آب (۵۸/۴۲٪) و روش تقطیر با آب و بخار آب (۶۲/۹۸٪) می‌باشد ولی نسبت تیمول به کارواکرول در هر سه روش تفاوت زیادی ندارد (سفیدکن و رحیمی بیدگلی، ۱۳۸۱).

در مورد سایر ترکیبهای اسانس، تفاوت قابل ملاحظه‌ای در روشهای مختلف استخراج دیده نمی‌شود. فقط در اسانس حاصل از روش تقطیر با آب و بخار آب وجود ترکیب جرم‌اکرن D قابل ذکر است که در دو اسانس دیگر وجود ندارد. به‌طور کلی با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان مرحله اوایل گلدهی و روش تقطیر با آب را به‌عنوان مناسبترین زمان برداشت و روش استخراج برای اسانس *Thymus vulgaris* معرفی نمود.

منابع مورد استفاده

- بهمن‌زادگان جهرمی، ع.، ۱۳۸۵. بررسی تغییرات فصلی اسانس چهار گونه اکالیپتوس و تأثیر روش تقطیر بر کمیت و کیفیت اسانس *Eucalyptus dealbata* پایان‌نامه کارشناسی ارشد، رشته فیتوشیمی، دانشگاه شهید بهشتی.

- حسن‌زاده، ن. و رضایی، م.ب.، ۱۳۷۶. ارزیابی تأثیر عصاره‌های گیاهان بر باکتری عامل بیماری آتشک درختان دانه‌دار. پژوهش و سازندگی، ۳۷: ۳۷-۳۴.

- زرگری، ع.، ۱۳۶۳. گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۹۴۷ صفحه.

- سفیدکن، ف. و رحیمی بیدگلی، ع.، ۱۳۸۱. بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) در دوره رشد گیاه و روشهای مختلف تقطیر. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۱۵: ۲۲-۱.

The effect of distillation methods and plant growth stages on the essential oil content and composition of *Thymus vulgaris* L.

F. Nikkhah¹, F. Sefidkon^{2*} and E. Sharifi Ashoorabadi³

1- MS. Student of Islamic Azad University, Karaj Unit, Karaj, Iran

2*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, E-mail: frsef@rifr-ac.ir

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

Received: February 2009

Revised: March 2009

Accepted: April 2009

Abstract

The aerial parts of *Thymus vulgaris* were collected in three stages of plant growth (before flowering, at the beginning and full flowering stage) from Research Field of Shahid Beheshti University (Tehran) at spring. The plant materials were dried in shade and their essential oils were isolated by hydro-distillation in three replications. In addition, the essential oils of plant materials at full flowering stage were obtained by water-steam distillation and direct steam distillation. The oil yields were calculated based on dried weigh and compared by statistic analysis. The oils were analyzed by capillary GC and GC/MS. Statistic analysis showed different stages of plant growth and different distillation methods had significant effect on oil yield. The highest oil yield was obtained at the beginning of flowering (1.18% w/w). Among distillation methods, the highest oil yield was obtained by direct steam distillation (1.20%). Analysis and identification of components showed thymol, P-cymene and γ -terpinene as main compounds in all samples. The percentage of thymol at the beginning and full flowering stage was the same, but at the beginning of flowering was lower. There was no remarkable difference between different distillation methods for producing thymol, but by hydro-distillation the thymol amount was little higher. Based on the results of this investigation it can be concluded that the beginning of flowering and hydro-distillation are the best for obtaining the higher oil content and thymol percentage.

Key words: *Thymus vulgaris* L., essential oil, plant growth stages, distillation methods, thymol.