بررسی فیتوشیمیایی اسانس گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.) در مراحل مختلف رشد و رویشگاه‌های طبیعی و گلخانه‌ای

میرمهدی هاشمی*[۱]، بهمن حسینی[۲]، عباس حسنی[۳]، رعنا قلی‌نژاد[۴]، یوبرت قوستا[۵]، علیرضا سیروس‌مهر[۶]

[۱]کارشناسی‌ارشد، گیاهان دارویی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۲]دانشیار، گروه علوم باغبانی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۳]استاد، گروه علوم باغبانی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۴]کارشناسی‌ارشد، گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی ،دانشگاه زابل، ایران

[۵]دانشیار،گروه گیاه پزشکی ،دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

[۶]استادیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

تاریخ دریافت: ۹٤/۱۱/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۱۰

چکیده

گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia* Benth.) متعلق به تیره نعنا است و اغلب به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، ضدباکتری و مسکن در درمان عفونت‌های دیابتی استفاده می‌شود. در این تحقیق به‌منظور بررسی فیتوشیمیایی اسانس، گیاه در مراحل مختلف رشد از زیستگاه طبیعی و سپس مقایسه آن با شرایط گلخانه ای، برگ‌های گیاه در مراحل مختلف رویشی، گلدهی و رسیدگی بذر در بهار ۱۳۹۱ از منطقه آبخوان سبزوار واقع در استان خراسان رضوی برداشت گردید و همزمان برگ‌های کشت شده همین گیاه در شرایط گلخانه‌ای جمع‌آوری و خشک گردید.اسانس نمونه‌ها به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) استخراج و توسط دستگاه GC و GC/MS آنالیز شد. نتایج نشان داد در فاز گلدهی، گیاه از بیشترین میزان اسانس (۱/۰۴ درصد) و به ترتیب کامفور (۲۳/۸۵ درصد)، بتا-پینن (۹/۸ درصد)، ۱و۸-سینئول (۸/۰۴ درصد) و آلفا-پینن (۶/۸۷ درصد) از بیشترین مقدار در فاز گلدهی برخوردار بودند و اینکه که در هر دو رویشگاه به‌ترتیب کامفور ، بتا-پینن و آلفا- پینن از بیشترین مقدار در اسانس برخوردار بودند و این در صورتی است که در فاز رسیدگی بذر کمترین میزان اسانس (۰/۶۵ درصد) رسیده و کامفور گزارش نشده است و میزان کامفور گزارش شده که در فاز گلدهی گیاه و مخصوصاً در رویشگاه طبیعی به بالاترین مقدار خود (۲۳/۸۵ درصد) رسیده است.

واژه‌های کلیدی: آلفا-پینن، بتا-پینن،۱و۸-سینئول، کامفور، نوروزک (*Salvia lerrifolia* Bench.).

*نویسنده مسول:mehdi_hashemi61@yahoo.com

مقدمه

اسانس‌ها ترکیب‌های معطری هستند که از اندام‌های مختلف گیاهان مانند دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، غنچه و گل تهیه می‌شوند (Burt, 2004). اسانس‌ها مخلوط پیچیده ای از ترکیب‌های با غلظت‌های متفاوت باشند (Naeini et al., 2009)، معمولاً اسانس‌ها برای درمان مشکلات سلامتی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mardafkan et al., 2015). کمیت و کیفیت ترکیب‌های اسانس‌ها می تواند تحت شرایط آب و هوایی، بافت خاک، اندام گیاه، سن و مراحل رشد گیاهان متفاوت باشد (Bakkali et al., 2007). نوروزک با نام علمی *Salvia lerrifolia* Bench. از تیره نعنا و بومی مناطق کم ارتفاع گرمسیری جنوب خراسان، سمنان و قسمتی از افغانستان است (Hosseinzade and Sadeghnia, 2009) و برای اولین بار در سال ۱۹۸۲ در فلور طبیعی ایران به آن اشاره شده است (Rechinger, 1982). گزارش‌های مختلفی در ارتباط با خواص درمانی گیاه نوروزک وجود دارد (Shirzadi Behfar *et al*., 2015; Hosseinzadeh and Lary, 2000; Sadeghnia *et al*., 2003; Shokoihzadeh, 1997). ارزش دارویی نوروزک را وابسته به متابولیت‌های ثانویه: ترپنوئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و آلکالوئیدها دانسته‌اند (Tabtabaii, 1996). میزان و نوع مواد موثره موجود در گیاهان که عمدتاً متابولیت‌های ثانویه هستند، در طول دوره رشد و نمو گیاه تغییر می‌کند، بنابراین طبیعی است که خواص دارویی گیاه که وابسته به حضور این ترکیبات است نیز دچار تغییر شود. روستائیان و همکاران (Rustaiyan et al., 2000) اسانس نوروزک را مورد مطالعه قرار داده و بتا-پینن (۲۳/۷ درصد)، ۱و۸- سینئول (۱۶/۲ درصد)، آلفا-پینن (۱۳/۸درصد) و آلفا- کادینول (۹ درصد) را به عنوان ترکیب‌های اصلی گزارش نمودند. در مطالعه دیگری مشخص شد که در گیاه *Origanum majorana*، بین مراحل مختلف رشد رویشی تا گلدهی کامل، درصد اسانس تغییر می‌کند، به طوری که بیشترین درصد اسانس در مرحله گلدهی با ۰/۰۹ درصد نسبت به مرحله رشد رویشی با ۰/۰۷ درصد به‌دست آمد (Ibtissem et al., 2009). بررسی و مطالعه زمانهای مختلف برداشت، شناسایی اجزاء و ترکیب‌ها در گیاهان مختلف موضوعی است که در بسیاری از تحقیقات به آن توجه شده است. این مسئله بیانگر این نکته است که برای حصول حداکثر درصد اسانس، زمان برداشت باید به دقت انتخاب شود. در بعضی گونه‌ها، ترکیب غالب اسانس با ایام سال تغییر می‌کند و زمان صحیح برداشت ممکن است اهمیت زیادی را از نقطه نظر کشاورزی و اقتصادی داشته باشد برای استفادهٔ بهینه از محصولات گیاهان دارویی و پیشبرد راهبردهای اصلاحی و به نژادی، داشتن اطلاعات پایه از ترکیبات شیمیایی عمده و دارای اهمیت دارویی، اندام‌های دارای مادهٔ مؤثره بیشتر و مرحله رشدی که بیشترین تولید مادهٔ مؤثره در آن رخ می‌دهد الزامی است. بنابراین، در همین راستا، این پژوهش به منظور بررسی اثر رویشگاه‌های طبیعی و شرایط گلخانه‌ای بر درصد اسانس و ترکیبات آن در گیاه نوروزک جمع آوری شده از منطقه آبخوان سبزوار به اجرا درآمد.

مواد وروش‌ها

تهیه نمونه گیاهی: به‌منظور بررسی کمی و کیفی اسانس، برگ‌های گیاه در ۳ فاز رویشی، گلدهی و رسیدگی بذر به ترتیب در زمان‌های ۱۳ فروردین، ۱۰ اردیبهشت و ۵ خردادماه ۱۳۹۱ از زیستگاه طبیعی در منطقه آبخوان سبزوار در استان خراسان رضوی برداشت گردید و همزمان هم از برگ‌های کشت شده

همین گیاه در شرایط گلخانه ای جمع آوری و خشک گردید. منطقه آبخوان سبزوار در ناحیه غربی استان خراسان رضوی در مدارهای جغرافیایی ۵۷ درجه و۴۰ دقیقه و ۳۶ درجه و ۱۳ دقیقه عرض جغرافیایی و در ارتفاع ۹۷۷/۱ متری از سطح دریا واقع است. از نظر طبقه بندی‌های اقلیمی این شهرستان در محدوده اقلیمی سرد و گرم و خشک واقع شده است.برای انجام این تحقیق بذرهای گیاه نوروزک از زیستگاه طبیعی خود واقع در منطقه آبخوان سبزوار جمع‌آوری شده و به دلیل درصد کم جوانه زنی بذرها، برای جوانه‌زنی آسان پوسته برداری شدند. در مرحله بعد بذرهای بدون پوسته داخل حوله خیس پس از ۵ الی ۶ روز جوانه‌دار شده و سپس داخل لیوان‌های نشایی کاشته شدند. گیاهچه‌ها پیش از رسیدن به مرحله ۴ برگچه‌ای به گلدان‌های بزرگ انتقال داده شدند. برای ترکیب خاک مورد استفاده در گلدانها خاک لوم، پرلیت و کود دامی پوسیده به نسبت ۳ : ۲ : ۱ بکار برده شد. پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌های بزرگ، گلدان‌ها در گلخانه و در شرایط کنترل شده به مدت شش ماه با دور آبیاری هفت روزه، دوره نوری ۱۶ ساعته و دمای ۲۵ درجه سلسیوس در طول روز و ۱۸ درجه سلسیوس در طول شب قرار گرفتند.

استخراج اسانس: برای محاسبه درصد اسانس نمونه‌های گیاهی در دمای اتاق و در محل سایه به مدت حدود ۲ هفته خشک شدند.برای استخراج اسانس‌ها از روش تقطیر با آب و از دستگاه کلونجراستفاده شد. برای اسانس گیری، ۱۰۰ گرم از برگ‌های نوروزک به طور دقیق توزین شدند و اسانس آن‌ها به مدت ۳ ساعت استخراج شد. در روند اسانس گیری در اثر حرارت، فشار بخار آب افزایش می‌یابد و غده‌های حاوی اسانس شکسته شده و اسانس همراه با بخار آب وارد مبرد می‌شود. در مبرد عمل میعان صورت گرفته و قطرات اسانس درون آب به صورت دو فاز مشخص به طرف لوله مدرج حرکت می‌کند که به دلیل سبک‌تر بودن اسانس نسبت به آب، اسانس روی آب تجمع پیدا می‌کند و آب اضافی از طریق لوله رابط به بالن باز می‌گردد. برای جمع آوری اسانس، شیر دستگاه باز شده تا آب خارج شود و سپس اسانس در داخل بطری‌های کوچک جمع آوری گردید و پس از آبگیری بوسیله سولفات سدیم خشک، در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی برای مطالعات بعدی نگهداری شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس: نمونه‌های اسانس نیز جهت آنالیز کیفی به گروه شیمی دانشگاه تبریز ارسال گردیدندبرای شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی GC و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج (GC/MS) استفاده شد.مشخصات این دستگاه‌ها به قرار زیر بود.

مشخصات گاز کروماتوگرافی (GC): دستگاه GC از مدل Younglin Acm6000 مجهز به دتکتور FID و ستونی به طول ۳۰ متر قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سلسیوس و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲۴۰ درجه سلسیوس و گرادیان حرارتی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

مشخصات گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS): دستگاه GC از مدل Agilent 6890 و دستگاه MC از مدل Agilent 5973 با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت

لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سلسیوس و توقف در این دما به‌مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲۴۰ درجه سلسیوس و گرادیان حرارتی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵ درجه سلسیوس در هر دقیقه و سه دقیقه توقف در این دما بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

براساس نتایج (جدول ۱) به‌دست آمده، مقدار اسانس با توسعه رشد گیاه تا مرحله گلدهی افزایش می‌یابد و سپس از مرحله گلدهی تا مرحله رسیدگی بذر کاهش می‌یابد. به طوری که درصد اسانس بر اساس وزن خشک نمونه بکار رفته در فازرویشی، گلدهی و رسیدگی بذر در زیستگاه طبیعی و فاز رویشی در گلخانه به‌ترتیب ۰/۴، ۱/۰۴، ۰/۶۵ و ۰/۹۳ درصد به‌دست آمد. بررسی‌های آماری نشان داد که تفاوت درصد اسانس بین مراحل مختلف رشد از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است به‌طوری که بیشترین درصد اسانس مربوط به مرحله گلدهی (۱/۰۴ درصد) می‌باشد.

جدول ۱: تغییرات درصد اسانس پیکر رویشی گیاه نوروزک در مراحل مختلف رشد گیاه در رویشگاه و گلخانه

	مراحل نموی	درصد اسانس
رویشگاه طبیعی	پیکر رویشی در فاز قبل از گلدهی	۰/۴ d
	پیکر رویشی درفاز گلدهی	۱/۰۴ a
	پیکر رویشی در فاز رسیدگی بذر	۰/۶۵ c
گلخانه	پیکر رویشی (در یک مرحله قبل از گلدهی)	۰/۹۳ b

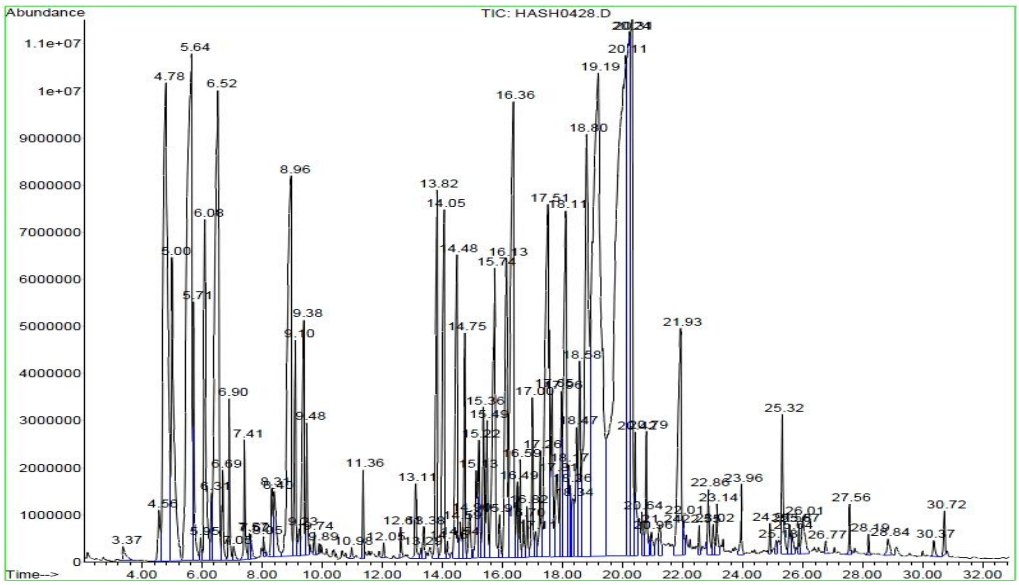
مواد متشکله اسانس گیاه در مراحل نموی مختلف در جدول ۲ آورده شده است. بررسی مواد متشکله اسانس گیاه در طی مراحل نموی نشان داد که در سه فاز رویشی، گلدهی و رسیدگی بذر در رویشگاه طبیعی و فاز رویشی در گلخانه به‌ترتیب ۳۱، ۳۱، ۳۰ و ۳۰ ترکیب شناسایی شد.

نتایج آنالیز اسانس نمونه‌های گیاهی بدست آمده از فاز رویشی در رویشگاه (شکل۱، جدول ۲) نشان می‌دهد کامفور (۱۰/۰۲ درصد)، آلفا-کادینول (۹/۳۷ درصد)، بتا-پینن (۸/۵۸ درصد)، آلفا-پینن (۷/۴۸ درصد)، ۱و۸-سینئول (۶/۲۷ درصد)، بورنئول (۵/۰۸ درصد) ترکیبات عمده اسانس در این مرحله می‌باشند که این ترکیبات حدود ۴۶/۸ درصد اسانس را به خود اختصاص می‌دهند.

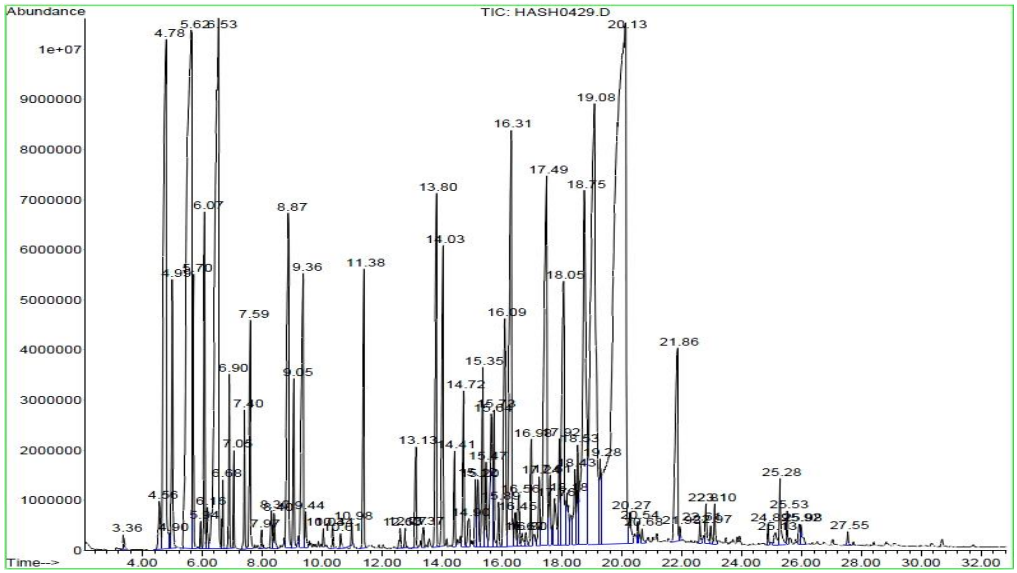
جدول ۲: مقایسه ترکیبات مختلف اسانس برگ گیاه.*Salvia lerrifolia* Benth در مراحل مختلف رشد گیاه در رویشگاه طبیعی و گلخانه

ردیف	ترکیب	رویشگاه طبیعی				شرایط گلخانه‌ای
		اندیس بازداری (RI)	فاز رویشی	فازگلدهی	فاز رسیدگی بذر	فاز رویشی
۱	α-thujene	۹۴۳	۰/۴۷	۰/۳۳	۰/۳۰	۰/۲۱
۲	α-pinene	۹۳۶	۷/۴۸	۶/۸۷	۱۵/۸۹	۷/۶۷
۳	camphene	۹۵۳	۲/۸۷	۱/۵۶	۲/۵۶	۲/۱۸
۴	β-pinene	۹۷۸	۸/۵۸	۹/۸۰	۱۵/۹۴	۸/۹۴
۵	β-myrcene	۹۸۶	۱/۲۰	۱/۲۸	–	۱/۵۵
۶	δ-3-carene	۱۰۱۲	۲/۲۱	۱/۶۵	۱/۱۸	۲/۵۵
۷	p-cymene	۱۰۲۴	–	–	۰/۹۷	–
۸	1,8-cineol	۱۰۳۵	۶/۲۷	۸/۰۴	۱۹/۳۶	۹/۰۱
۹	γ-terpinene	۱۰۴۶	۰/۵۹	۰/۸۳	–	۰/۴۵
۱۰	linalool	۱۰۹	۰/۱۲۹	۱/۳۱	–	–
۱۱	α-terpinolene	۱۱۱۸	۰/۵۵	۰/۵۷	–	۰/۴۹
۱۲	trans-pinocarveol	۱۱۳۸	۰/۴۳	۰/۱۲	۱/۱۶	۰/۶۵
۱۳	borneol	۱۱۶۶	۵/۰۸	۳/۳۳	۶/۹۷	۴/۵۰
۱۴	terpinene-4-ol	۱۱۷۶	–	–	۱/۷۲	–
۱۵	3-cyclohexen-1-ol	۱۱۷۵	۱/۰۸	۰/۹۴	–	۰/۹۶
۱۶	α-terpineol	۱۲۱۳	۱/۵۹	۲/۵۳	۳/۲۹	۲/۰۳
۱۷	borneol acetate	۱۲۹۸	–	–	۰/۵۳	–
۱۸	*trans*-caryophyllene	۱۴۱۵	۲/۳۲	۲/۱۷	–	۲/۲۸
۱۹	α-gurjunene	۱۴۲۱	۲/۳۶	۲/۳۵	۰/۸۴	۲/۴۲
۲۰	e- caryophyllene	۱۴۳۴	–	–	۰/۵۸	–
۲۱	aromadendrene	۱۴۳۶	۲/۰۷	۰/۲۶	–	۱/۳۰
۲۲	α-humulene	۱۴۵۴	۰/۹۶	۰/۸۹	۰/۵۳	۱/۰۱
۲۳	α -muurolene	۱۵۲۴	–	–	۱/۶۹	–
۲۴	germacrene D	۱۵۰۵	۰/۷۱	۱/۰۸	–	۱/۶۰
۲۵	naphthalene	۱۵۰۸	۰/۴۶	۱/۳۳	۰/۸۷	۰/۵۳
۲۶	γ-cadinene	۱۵۱۵	۲/۷۱	۲/۲۴	۶/۸۹	۲/۹۳
۲۷	δ-cadinene	۱۵۲۴	۴/۵۱	۴/۰۴	۲/۵۴	۴/۲۶
۲۸	spathulenol	۱۵۷۶	–	–	۰/۶۸	–
۲۹	caryophyllene oxide	۱۵۸۰	۰/۸۱	۰/۳۱	۰/۸۲	۰/۹۶
۳۰	10-epi-γ-eudesmol	۱۶۲۳	–	–	۱/۴۰	–
۳۱	viridiflorol	۱۶۳۰	۰/۴۲	۰/۲۹	–	۰/۴۶
۳۲	geranyl isovalerate	۱۶۴۳	۰/۵۴	۰/۳۹	۰/۴۷	۰/۴۲
۳۳	germacrene d-4-ol	۱۶۴۹	۴/۱۱	۴/۴۸	۱/۴۰	۲/۱۷
۳۴	dihydro endosmol	۱۶۶۳	–	–	۱/۰۷	–

۳۵	7-epi-α- endosmol	۱۶۶۵	–	–	۱/۹۴	–
۳۶	tau-cadinol	۱۶۷۱	۴/۳۹	۴/۲۹	۱/۹۴	۳/۴۸
۳۷	α-cadinol	۱۶۷۷	۹/۳۷	۷/۶۸	۴/۴۲	۶/۵۸
۳۸	1-naphthalenecarboxaldehyde	۱۷۱۲	۲/۲۲	۲/۲۴	۱/۰۷	۲/۱۳
۳۹	camphor	۱۷۳۴	۱۰/۰۲	۲۳/۸۵	–	۲۲/۰۹
۴۰	longifolenaldehyde	۱۷۵۴	۲/۴۷	۲/۳۱	۰/۷۶	۲/۱۷
۴۱	Identified compounds		٪۸۸/۹۷	٪۹۹/۳۲	٪۹۹/۷۷	٪۹۷/۹۸



شکل ۱: کروماتوگرام اسانس پیکر رویشی مربوط به مرحله قبل از گلدهی در رویشگاه

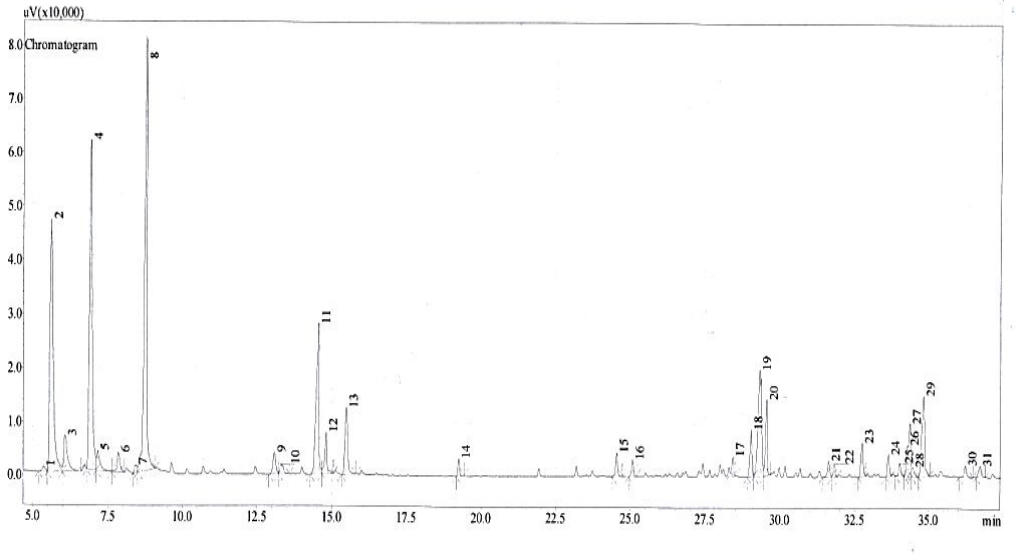


شکل ۲: کروماتوگرام اسانس مربوط به مرحله گلدهی در رویشگاه

همچنین نتایج حاصل از شناسایی اسانس این گیاه در فاز گلدهی در رویشگاه طبیعی نشان می دهد که ۵۹/۵۷ درصد کل اسانس مربوط به ترکیبات کامفور (۲۳/۸۵ درصد)، آلفا-کادینول (۷/۶۸ درصد)، بتا-پینن

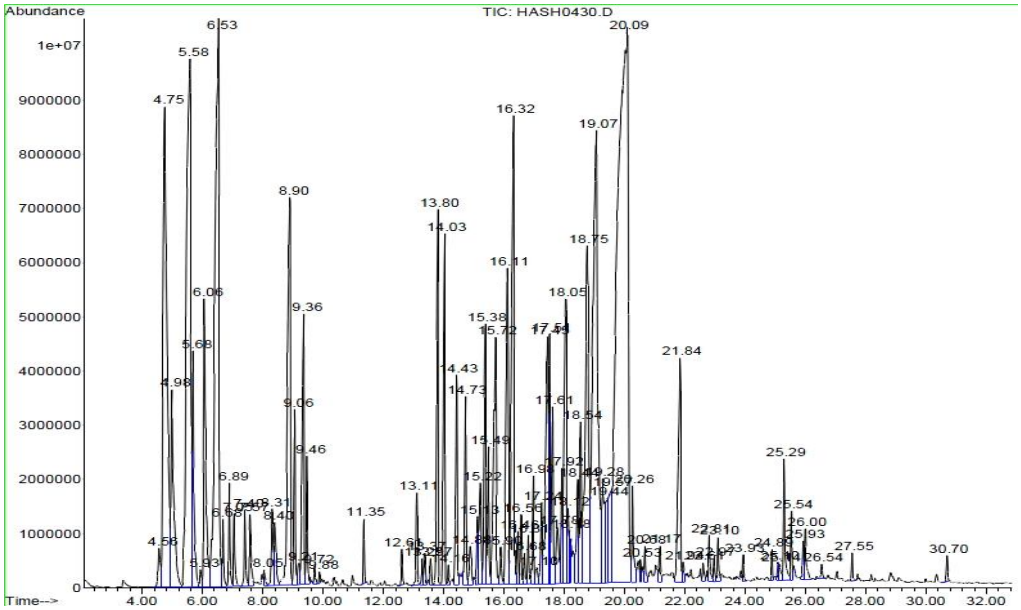
(۹/۸ درصد)، آلفا-پینن (۶/۸۷ درصد)،۱و۸ سینئول (۸/۰۴ درصد) و بورنئول (۳/۳۳ درصد) می‌باشد. از تفاوتهای قابل ذکر بین مواد متشکله اسانس در این مرحله نسبت به مرحله قبلی افزایش مقدار کامفور است.

در مرحله رسیدگی بذر نیز نتایج شناسایی ترکیبات اسانس نشان داد که تغییرات معنی داری در ترکیبات اسانس این مرحله نسبت به مراحل دیگر روی داده است، به‌طوری‌که در این مرحله تعداد ۳۰ ترکیب اصلی شناسایی شد که از این بین آلفا-کادینول (۴/۴۲ درصد)، بتا-پینن (۱۵/۹۴ درصد)، آلفا-پینن (۱۵/۸۹ درصد)، ۱و۸-سینئول (۱۹/۳۶ درصد) و بورنئول (۶/۹۷ درصد) جزء ترکیبات عمده اسانس این مرحله می‌باشند که ۶۲/۵۸ درصد اسانس را به خود اختصاص داده است. بیشترین درصد اسانس ترکیبات فوق مربوط به مرحله رسیدگی بذر می‌باشد، همچنین در این مرحله ترکیب کامفور حذف شده است و همزمان درصد بقیه ترکیبات از جمله بتا-پینن، آلفا-پینن، ۱و۸-سینئول بیشتر شده است درصد ۱و۸-سینئول در این مرحله نسبت به دو مرحله قبلی افزایش چشمگیر داشته است. همچنین ترکیب آلفا کادینول در این مرحله روند کاهشی دارد (شکل ۳).



شکل ۳: کروماتوگرام اسانس مربوط به مرحله بعد از گلدهی (رسیدگی بذر) در رویشگاه

نتایج حاصل از شناسایی اسانس در فار رویشی در گلخانه با دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنجی جرمی (GC/MS) (شکل ۴) در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که در جدول مشاهده می‌شود در این مرحله ۳۰ ترکیب شناسایی شد که کامفور (۲۲/۰۷ درصد)، آلفا-کادینول (۶/۵۸ درصد)، بتا-پینن (۸/۹۴ درصد)، آلفا-پینن (۷/۶۷ درصد)، ۱و۸-سینئول (۹/۰۱ درصد) و بورنئول (۴/۵ درصد) ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس (۵۴/۲۷ درصد) در این مرحله می‌باشند. از تفاوت‌های قابل ذکر در این مرحله افزایش درصد ترکیبات کامفور و ۱و۸-سینئول در مقایسه با مرحله مشابه در رویشگاه طبیعی می‌باشد و این باعث افزایش درصد ترکیبات عمده این مرحله نسبت به مرحله رویشی در رویشگاه شده است.



شکل ٤: کروماتوگرام اسانس مربوط به مرحله قبل از گلدهی در گلخانه

بحث

با توجه به مقایسه بازده اسانس برگ گیاه نوروزک در مراحل مختلف رشد در رویشگاه طبیعی و شرایط گلخانه‌ای ملاحظه می‌شود که مقدار اسانس با توسعه رشد گیاه تا مرحله گلدهی افزایش می‌یابد و سپس از مرحله گلدهی تا مرحله رسیدگی بذر کاهش می‌یابد. به‌طوری که بیشترین درصد اسانس مربوط به مرحله گلدهی (۱/۰۴ درصد) و کمترین آن مربوط به مرحله رسیدگی بذر (۰/۶۵ درصد) می‌باشد. تغییر میزان اسانس در مراحل مختلف رشد در مورد بسیاری از گیاهان قبلا گزارش شده است (Bourd et al., 2014; Mozafari Dahshiri et al., 2013; Negahban et al., 2015). میرجلیلی (Mir Jalili, 2005) در تحقیقی تغییرات کمی و کیفی اسانس *Diplotaenia cachrydifolia* Boiss. را در سه مرحله نموی قبل از گلدهی، گلدهی کامل و بعد از گلدهی در اوایل تشکیل میوه مورد بررسی قرار دادند. پس از اسانس‌گیری و آنالیز ترکیبات تشکیل‌دهنده مراحل مختلف رشدی، نتایج بدست آمده نشان داد که بازده اسانس در سه مرحله مختلف رشدی قبل از گلدهی، گلدهی کامل و بعد از گلدهی به‌ترتیب، ۰/۹۳، ۴/۴۹ و ۲/۶۶ درصد می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود بیشترین میزان اسانس در مرحله گلدهی کامل می‌باشد که این تحقیق با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد. تجریه اسانس برگ حاصل با استفاده از دستگاه GC و GC/MS رویشگاه به شناسایی ۳۱ ترکیب در فاز رویشی (۸۸/۹۷ درصد کل اسانس)، ۳۱ ترکیب در فاز گلدهی (۹۹/۳۲ درصد کل اسانس)، ۳۰ ترکیب در فاز رسیدگی بذر (۹۹/۷۷ درصد کل اسانس) و ۳۰ ترکیب در فاز رویشی در گلخانه (۹۷/۹۸ درصد کل اسانس) منجر شد (جدول ۲). مهم‌ترین ترکیبات اسانس شامل کامفور، آلفا-کادینول، بتا-پینن، آلفا-پینن، ۱و۸-سینئول و بورنئول است که درصد این ترکیبات در مراحل مختلف تغییر می‌کند به‌طوری‌که بیشترین مقدار این ترکیبات در اسانس گیاه نوروزک مربوط به فاز رسیدگی بذر (۶۲/۵۸ درصد) می‌باشد. روستائیان و همکاران (Rustaiyan et al., 2000) اسانس نوروزک را مورد مطالعه قرار داده و بتا-پینن (۲۳/۷ درصد)، ۱ و۸-سینئول (۱۶/۲درصد)، آلفا-پینن (۱۳/۸ درصد) و آلفا- کادینول (۹ درصد) را

به‌عنوان ترکیب‌های اصلی گزارش نمودند درصد ترکیب کامفور در فاز رویشی، گلدهی و رسیدگی بذر در زیستگاه طبیعی و فاز رویشی در گلخانه به‌ترتیب شامل ۱۰/۰۲، ۲۳/۸۵، ۰ و ۲۲/۰۷ است. این ترکیب در فاز رسیدگی بذر حذف شده است و همزمان درصد بقیه ترکیبات از جمله بتا پینن، آلفا پینن، ۱و۸-سینئول بیشتر شده است. همچنین مقایسه مقدار این ترکیب در فاز رویشی در گلخانه (۲۲/۰۷ درصد) و زیستگاه طبیعی (۱۰/۰۲ درصد) نشان می دهد که مقدار این ترکیب در فاز رویشی در گلخانه دو برابر مقدار آن در زیستگاه طبیعی می‌باشد. بیشترین میزان این ترکیب مربوط به فاز گلدهی (۲۳/۸۵ درصد) می‌باشد. کامفور[1] یک محصول طبیعی (مونو ترپن) است که کاربردهای بسیاری در طب سنتی و مدرن دارد. کامفور دارای مزه تلخ و محلول در حلال‌های آلی است. از نظر بالینی کامفور محرک و دارای اثرات سمی می باشد، همچنین ترکیبی آنتی‌سپتیک و مقوی قلب است. کامفور به‌عنوان داروی ضدخارش موضعی، دافع حشرات، تنظیم کننده فعالیت قلب، ضدالتهاب، مسکن و خلط‌آور مورد استفاده قرار می‌گیرد (Majd Jabari et al., 2003). در مورد تغییرات دو ترکیب آلفا-پینن و بتا-پینن در مراحل مختلف رشد می توان گفت مقدار بتا-پینن در تمامی مراحل نسبت به آلفا-پینن بیشتر بوده است و مقدار این دو ترکیب در فاز رسیدگی بذر بیشترین مقدار را دارا هستند علت این افزایش را میتوان به حذف ترکیب کامفور در این مرحله و همزمان افزایش بقیه ترکیبات مهم از جمله آلفا و بتا پینن نسبت داد. آلفا-پینن مهمترین ماده تشکیل‌دهنده تربانتین است که به‌عنوان طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می گیرد و یک واسط مهم در ساختمان ترکیبات معطر است که به‌طور وسیعی به‌عنوان حلال و معطرکننده در نمک‌ها، اسپری‌های خانگی، ضدعفونی کننده‌ها و حشره کش‌ها به کار می‌رود. بتا-پینن نیز به‌عنوان یک واسطه مهم در ساخت ترکیبات معطر مصنوعی و ترکیبات روغنی معطر به کار می‌رود و به‌عنوان مونومر در تولید رزین‌های ترپنی استفاده می‌شود. هر دو ترکیب آلفا وبتا-پینن دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بوده و اثر حشره‌کشی دارند، آلفا-پینن دارای خاصیت اسپاسمولیتیک و قرمزکنندگی پوست بوده و بتا-پینن دارای اثرات ضدالتهابی و ضدترشحی بوده و دارای خواص آنتی بیوتیکی برروی باکتریهای اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس می‌باشد (Dhar et al., 2014; Mohammadi et al., 2016). همچنین درصد ۱و۸-سینئول در این مرحله نسبت به مراحل قبلی افزایش چشمگیر داشته است (۱۹/۳۶ درصد). ۱و۸-سینئول با وزن مولکولی ۱۵۴/۲ و فرمول $C_{10}H_8O$ جزء گروه منتان‌ها با بوی شبیه کامفور و محلول در حلال‌های آلی است. این ترکیب به‌عنوان آنتی‌سپتیک، طعم دهنده، خلط‌آور و معرق مورد استفاده قرار می‌گیرد. اثرات ضد انگلی، ضدنفخ، دافع حشرات و ضددردهای موضعی در دهانشویه‌ها را نیز دارا است. همچنین جهت حل کردن سنگ‌های کلسترولی در مجاری صفراوی بسیار مفید است. نتایج تحقیق سحرخیز و همکاران (Saharkhiz et al., 2015) بر روی اسانس گیاه ریحان *Ocimum sanctum* در مراحل مختلف رشد (رویشی، اوایل گلدهی و گلدهی کامل) نشان داد که درصد ترکیبات مهم از جمله آلفا پینن، بتا پینن، ۱و۸-سینئول و اوژنول در مراحل مختلف نموی دچار تغیرات شده است به‌طوریکه با توسعه رشد به سمت گلدهی کامل مقدار بتا پینن افزایش می‌یابد در حالی که بیشترین مقدار آلفا-پینن و ۱و۸-سینئول در مرحله رویشی و بیشترین مقدار اوژنول در مرحله اوایل گلدهی می‌باشد. مقدار ترکیب

1. Camphor

آلفا کادینول از فاز رویشی تا رسیدگی بذر در زیستگاه طبیعی روند کاهشی داشته همچین مقدار آن در فاز رویشی در گلخانه در مقایسه با مرحله رویشی در زیستگاه حدود ۳ درصد کاهش یافته است.

در حال حاضر مطالعه در خصوص تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه از جمله اسانس‌ها در مشخص نمودن بهترین زمان جمع‌آوری و اندام گیاه جهت بدست آوردن بیشترین ماده مؤثره حائز اهمیت می‌باشد. گزارش‌های متعددی در مورد تغییرات کمی و کیفی اسانس‌ها در مراحل مختلف رشد وجوددارد (Amiri et al., 2004). مقایسه نتایج این بررسی با سایر نتایج بدست آمده در مورد آنالیز برگ گیاه *Salvia leriifolia* نشان می‌دهد که کامفور، آلفا پینن، بتا پینن، ۱و۸-سینئول از ترکیب‌های شاخص مشترک در این مطالعات هستند. در مطالعات صورت گرفته توسط لویزوو همکاران (Loizzo et al., 2009) کامفور (۱۰/۵ درصد)، ۱و۸-سینئول (۸/۶ درصد)، آلفا-پینن (۴/۷ درصد)، بتا-پینن (۲/۷ درصد) به‌عنوان اجزای اصلی تشکیل‌دهنده اسانس برگ گیاه نوروزک شناسایی شده‌اند. اختلافات اقلیمی محل رویش گیاهان قطعا در تفاوت‌های مشاهده شده نقش خواهند داشت، زیرا در نظرگرفتن ویژگی‌های محل رویش و موقعیت گیاه در طبیعت از عمده عواملی است که می‌تواند روی اسانس و مواد مؤثره گیاهان تأثیر زیادی داشته باشد. همچنین فاکتورهایی مثل تکنولوژی استخراج اسانس، زمان جمع آوری گیاه، روشهای برداشت و سن گیاه نیز می‌توانند مهم باشد (Chatzopoulou and Katsiotis, 1993). عوامل اکولوژیک مانند ارتفاع، خواص فیزیکی و شیمیایی خاک نه تنها بر روی الگوهای رشدی گیاهان بلکه باعث تغییر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی و معطر می‌شود (Weiss and Edwards, 1980; Omidbeygi, 2005).

نتیجه‌گیری نهایی

شناخت ترکیبات موجود در گیاهان بومی کشورمان، می‌تواند ما را در جهت استفاده‌های کاربردی از ذخایر گیاهی یاری نماید از جمله می‌توان از نتایج حاصله از مطالعه بر روی اسانس‌ها، در استاندارد نمودن فرآورده‌های دارویی حاوی آنها بهره جست. با توجه به نتایج این مطالعه مشاهده می شود که ترکیبات مهم در اسانس برگ این گیاه شامل کامفور، آلفا کادینول، بتا پینن، آلفا پینن، ۱و۸-سینئول و بورنئول بود که درصد این ترکیبات در مراحل مختلف رشد در زیستگاه طبیعی و گلخانه تغییرات قابل ملاحظه‌ای داشته است. مقدار اسانس برگ این گیاه با توسعه رشد گیاه تا مرحله گلدهی افزایش می‌یابد و سپس از مرحله گلدهی تا مرحله رسیدگی بذر کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که بیشترین درصد اسانس مربوط به مرحله گلدهی و کمترین آن مربوط به مرحله رسیدگی بذر می‌باشد. در نهایت میتوان نتیجه گرفت کیفیت و کمیت محصولات طبیعی به وضعیت جغرافیایی محل رویش آن‌ها، ژنتیک گیاه، حمله آفات و بیماری‌ها بستگی دارد. اسانس‌ها که توسط گونه‌های متفاوت گیاهان تولید و در اندام‌های مختلف ذخیره می‌شوند رابطه مستقیمی با بیوسنتز، متابولیسم و فعالیت بیولوژیکی گیاه دارند که تابع شرایط اقلیمی محیط زیست گیاه هستند.از این رو تفاوت‌های مربوط به نوع ترکیبات گزارش شده می‌تواند به عوامل فوق نسبت داده شود. به‌طورکلی، نتایج تفاوت چندانی را در نوع ترکیبات اصلی در مراحل مختلف رشد نشان نداد، اما درصد این ترکیبات در مراحل مختلف رشد متفاوت بود. بنابراین، می توان گفت با توجه به ترکیب مورد نظر و درصد آن در مراحل مختلف رشد و همچنین مقدار اسانس در مراحل مختلف رشد، زمان برداشت گیاه نوروزک را انتخاب کرد از آنجا که بیشترین مقدار اسانس در مرحله گلدهی با فاصله

معنادار از مراحل دیگر رخ داده است می تـوان گفـت بهترین زمان برای برداشت این گیاه بـرای اسـتفاده از اسانس مرحله گلدهی است.

References

1. Amiri, H., Khavarinazhad, R. and Rustaiyan, A. 2004**.** Quantitative and qualitative study of plant essential oils *Smyrnium cordifolium* Boiss. Different stages of plant growth. Journal of Research and Construction. 73: 195-199.
2. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2007. Biological effect of essential oils-A review. Journal of Food and Chemical Toxicology, 46:446-475.
3. Bourd, R., Rezazade, Sh., Naghavi, M., Omidi, M., Torabi, S., Parvane, S., Akbari, F. and Taghizad, R. 2014. Essential changes in the aerial parts of the plant *Artemisia annua* L. Different stages of growth. Journal of Horticultural Science, 45(3): 319-324.
4. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiolog, 94: 223–253.
5. Chatzopoulou, P.S. and Katsiotis, T.S. 1993. Study of the essential oil from *Juniperus communis* (cones) growing wild in Greece. Planta Medica, 59:553-556**.**
6. Dhar, P., Chan, P., Cohen, D.T., Khawam, F., Gibbons, S., Snyder-Leiby, T., Dickstein, E., Rai, P.K., and Watal, G. 2014. Synthesis, antimicrobial evaluation, and structure activity relationship of α-pinene derivatives, Journal of Agricultural Food Chemistry. 62(16): 3548-3552.
7. Hosseinzadeh, H. and Lary, P. 2000. The effect of *Salvia leriifolia* Benth. root extracts on morphine dependence in mice. Phytotherapy Research, 14(5): 384-387.
8. Hosseinzadeh, H. and Sadeghnia, H.R. 2009. Review of the pharmacological and toxicological effects of *Salvia leriifolia*. Iranian Journal of Basic Medical Science, 12:1-8.
9. Ibtissem, H.S., Maamouri, E. Chahed, T., Wannes, W.A., Kchouk, M. and Marzouk, B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crops and Production, 30: 395-402.
10. Loizzo, M.R., Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Conforti, F., Nadjafi, F. and Statti, G.A. 2009. In vitro biological activity of *Salvia lerifolia* Benth. essential oil relevant to the treatment of Alzheimer's disease. Journal of Oleo Science, 58: 443-446.
11. Majdjabari, T., Rustaiyan, A. And Vatan puor, H. 2003. Study the ingredients of in essential oil. *Tanacetum khorassanicum* (Krasch.) Parsa. Journal of Medicinal Plants, 6: 15-20.
12. Mardafkan, N., Iranmanesh, M., Larijani, K., Mahasti, P., Nazari, F. and Zojaji, M. 2015. Chemical components and antibacterial activities of essential oils obtained from iranian local *Lavandula officinalis* and *Thymus vulgaris* against pathogenic bacteria Isolated from human. Journal of Food Biosciences and Technology, 1: 31-36.
13. Mir Jalali, M. 2005. Economic status aromatic plants in the world. Olive magazine. 156, 26 p.
14. Mohammadi, N., Ghasemi, A., Aghabarari, B. and Hamehi, B. 2016. Essential oil mixtures, anti-bacterial and antioxidant activity of essential oil of *Nigella sativa* L. different ecotypes in different habitats Iran. Eco-phyto chemical Journal of Medical Plants, 4: 58-68.
15. Mozafari Dahshiri, T., Sefidkon, F., askari, F. and Bakhshi, Gh. 2013. Essential oil evaluation of *Pimpinella aurea* DC. in different growth stage: case study of natural habitat of Tehran province**.** Eco-phytochemical Journal of Medical Plants, 1: 1-13.
16. Naeini, A., Khosravi. A., Chitsaz. M., Shokri, H., Kamlnejad, M. 2009. Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional

medicine. Journal mycologic medicale, 19:168-172.
17. Negahban, M., Saeedfar, S., Zakerin, A. and Aboutalebi, A. 2015. The effect of different harvest stages on the quality and quantity of the essential oil of Tulsi (*Ocimum sanctum* L.). Russian Journal of Biological Research, 3(1): 39-42.
18. Omidbeigi R. 2005. Production and manufacturing the herbs, Beh-nashr Publication, Mashhad, 347.
19. Rechinger, K.H. 1982. Flora Iranica. N. 150, Academishe Druk. u. Verlagsustalt Gratz, 439 pp.
20. Rustaiyan, A., Masoudi, S.h., Yari, M., Rabbani, M., Motiefar, H.R. and Larijani, K. 2000. Essentialoil of *Salvia lereifolia* Benth. Journal of Essential Oil Research, 12:601-602.
21. Sadeghnia, H.R., Nassiriasl, M., Haddad Khodaparast, M.H. and Hosseinzadeh, H. 2003. The effect of *Salvia leriifolia* Benth. Root extracts on lipid peroxidation during global is chemicreperfusion in rats. Journal Med icinal Plants, 7: 19-28.
22. Saharkhiz, M., Kamyab, A., Khatoon Kazerani, N., Zomorodian, K., Pakshir, K. and Rahimi, M. 2015. Chemical compositions and antimicrobial activities of *Ocimum sanctum* L. essential oils at different harvest stages. Jundishapur Journal Microbiol. 8(1): 13720.
23. Shirzadi Behfar, M., Shahidi, S. and Hosseini, A. 2015. Evaluation ethanol extract of the leaves of *Salvia leriifolia* on the scopolamine-induced memory loss in rats by passive avoidance. Journal of Medical Sciences, Islamic Azad University, 25(3): 183-189.
24. Shokohizadeh, H. 1997. The decreasing effects of blood sugar of *Salvia leriifolia* leaf and seed on mice. Mashhad: Ferdwosi University.
25. Tabatabaii, Y.F. 1996. Investigating of anti-oxidant effects of extract and essence of *Salvia leriifolia* leaf and determinate its photochemistry. Tehran: Tehran University.
26. Weiss V and Edwards J. 1980. The biosynthesis of aromatic compounds, Wiley Interscience publ, New York.