

اثر شوری و پتاسیم بر تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاه ریحان (Ocimum basilicum L.)

فرزاد الانی*

کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

حمید فهیمی

استادیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

احمد مجد

استاد زیست شناسی سلوی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

سارا سعاد تمند

استادیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

مهدی گراوندی

کارشناسی ارشد زراعت، سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی، کرمانشاه

محل انجام پژوهش: مرکز تحقیقات صنعتی آفت کشتهای نباتی و کود، شرکت خدمات حمایت کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، کرج

تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۱۴

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۲

چکیده

در این پژوهش اثر تیمارهای مختلف KCl و NaCl بر تغییرات کمی و کیفی اسانس ریحان در شرایط گلخانه با استفاده از دستگاههای GC و GC-MS مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. تعداد ۱۴ ترکیب شناسایی شد که در میان آن‌ها Methyl chavicol (۳۰/۹ درصد)، E-citral (۱۸/۱ درصد)، $\alpha\text{-humulene}$ (۶/۶ درصد)، $\text{Trans-caryophyllene}$ (۹/۱ درصد) و Z-citral (۱۳/۴ درصد)، $\text{NaCl} + ۰/۶ \text{ g KCl/kg}$ و $\text{NaCl} + ۰/۲ \text{ g NaCl/kg}$ و $\text{NaCl} + ۰/۳ \text{ g KCl/kg}$ به ترتیب بیشترین میزان را در نمونه شاهد به خود اختصاص دادند. دو تیمار خاک $۰/۰ \text{ g NaCl/kg}$ و $۰/۳ \text{ g NaCl/kg}$ به ترتیب میزان Methyl chavicol را به خود اختصاص دادند. بیشترین درصد ترکیبات E-citral (۱۸/۱ درصد) و Z-citral (۱۳/۴ درصد) مربوط به نمونه شاهد و کمترین درصد مربوط به اسانس در تیمار خاک $۰/۰ \text{ g NaCl/kg}$ به ترتیب (۶/۴۷ درصد) و (۵/۱ درصد) بود. ترکیب $\text{Trans-caryophyllene}$ در اسانس تیمار خاک $۰/۰ \text{ g NaCl/kg}$ به ترتیب (۰/۳ درصد) و (۰/۳ درصد) بیشترین (۱۶/۳۴ درصد) و در تیمار (خاک $۰/۰ \text{ g NaCl/kg}$) کمترین درصد (۸/۹ درصد) اندازه‌گیری شد. بیشترین و کمترین درصد ترکیب $\alpha\text{-humulene}$ به ترتیب مربوط به تیمار (خاک $۰/۰ \text{ g NaCl/kg}$) و (۰/۰ g NaCl/kg) است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، شوری، *Ocimum basilicum* L.

* مسؤول مکاتبات: آقای فرزاد الانی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، پست الکترونیکی: farzadalany54@yahoo.com

مقدمه

خطی مثبت وجود دارد که بیشترین فعالیت آنتیاکسیدان مربوط به ریحان منطقه بابل و کمترین آن در ریحان منطقه دزفول بود (۴).

Telci و همکاران در سال ۲۰۰۶ ترکیبات اسانس ریحان در مناطق مختلف ترکیب را شناسایی نمودند که متیل کاویکول، بیشترین ترکیب موجود گزارش شد (۵). در پژوهش حاضر، گیاه ریحان به دلیل اهمیت زیاد اقتصادی و دارویی، انتخاب و اثر تیمارهای مختلف NaCl و KCl در شرایط گلخانه‌ای بر تغییرات کمی و کیفی اسانس آن بررسی و با نمونه شاهد، مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بذرهای ریحان (Ocimum basilicum L.) را از مزرعه تولید بذر در منطقه ورامین، تهیه و در شرایط گلخانه‌ای کشت شد. خاک مورد استفاده به نسبت مساوی خاک برگ و ماسه شسته شده (W/W) به خوبی مخلوط گردید (۶)، به طوری که از این مخلوط درون هر گلدان دقیقاً یک کیلوگرم ریخته شد و پس از جدا کردن بذرهای سالم و یکنواخت، درون هر گلدان ۱۵ عدد بذر به فاصله مساوی و در عمق ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متری از سطح خاک کاشته شد (۷) و پس از این که گیاهان دو برگی شدند، درون هر گلدان ۱۰ بوته یکنواخت نگه داشته شد.

روش تیمار

تیمارهای KCl و NaCl به مدت سه هفته طبق جدول ۱ انجام گردید. تیمارها براساس گرم در یکصد کیلوگرم خاک، محاسبه و در ۱۰۰ میلی لیتر آب، حل و آبیاری گردید.

ریحان (Ocimum basilicum L.) از تیره نعناع، به عنوان گیاهی دارویی، ادویه‌ای و همچنین به عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود. این گیاه بومی ایران، افغانستان و هند است و در سطوح وسیعی در کشور فرانسه، آمریکا (کالیفرنیا)، اندونزی، مراکش، اسپانیا، مصر، پاکستان و شمال آفریقا کشت می‌شود. در بیشتر نقاط ایران کاشته می‌شود. در تبریز، ارومیه، مازندران، خراسان، همدان، کرمان، خرم‌آباد، خوزستان حوالی تهران پراکنده‌گی دارد (۱).

اسانس ریحان، مایعی به رنگ زرد یا سبز است که بویی معطر و وزن مخصوص بین ۰/۰۳۹ تا ۰/۵۰۹ دارد. مقدار اسانس با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش، متفاوت و بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد است. عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان، شامل استراگول (Estragol) یا متیل کاویکول (Methyl chavicol)، لینالول (Linalol)، سینئول، سینامات متیل، اوژنول (Eugenol)، گرانیول و غیره است. برگ ریحان دارای ماده‌ای به نام اوسمین (Ocimene) به فرمول C₁₀H₁₆ و به وزن مولکولی ۱۳۶/۲۳ است. پیکر رویشی ریحان همچنین حاوی ویتامین ب و ث و مواد تلخ است. برگ ریحان جهت معطر کردن اغذیه به کار می‌رود و به حالت خام نیز مصرف می‌شود. دم کرده آن، اثر ضد تشنج، نیرو دهنده، مقوی و مدر دارد. مصرف آن برای رفع سردردهای یکطرفه، سردردهای عصبی، تقویت عمل دستگاه گوارش، از بین بردن نفخ، سرگیجه، دلپیچه‌ها، سرفه، آنژین و سیاه‌سرفه توصیه شده است (۲).

Javanmardi و همکاران در سال ۲۰۰۳ بر روی فعالیت آنتیاکسیدان در ۲۳ ریحان رویش یافته در مناطق مختلف ایران مطالعه نمودند و گزارش دادند که بین میزان فعالیت آنتیاکسیدان با ترکیبات فنولیک اسید، ارتباط

جدول ۱- روش تیماردهی به ریحان‌های کاشته شده در گلدان

مقدار KCl بر حسب گرم در صد کیلوگرم خاک				مقدار NaCl بر حسب گرم در صد کیلوگرم خاک				تیمار
هفته سوم	هفته دوم	هفته اول		هفته سوم	هفته دوم	هفته اول		
-	-	-	۰	-	-	-	۰	شاهد
-	-	-	۰	-	-	۳۰	۳۰	۱
-	-	-	۰	-	۳۰	۳۰	۶۰	۲
-	-	-	۰	۳۰	۳۰	۳۰	۹۰	۳
-	-	۲۰	۲۰	-	-	-	۰	۴
-	-	۲۰	۲۰	-	-	۳۰	۳۰	۵
-	-	۲۰	۲۰	-	۳۰	۳۰	۶۰	۶
-	-	۲۰	۲۰	۳۰	۳۰	۳۰	۹۰	۷
-	۲۰	۲۰	۴۰	-	-	-	۰	۸
-	۲۰	۲۰	۴۰	-	-	۳۰	۳۰	۹
-	۲۰	۲۰	۴۰	-	۳۰	۳۰	۶۰	۱۰
-	۲۰	۲۰	۴۰	۳۰	۳۰	۳۰	۹۰	۱۱
۲۰	۲۰	۲۰	۶۰	-	-	-	۰	۱۲
۲۰	۲۰	۲۰	۶۰	-	-	۳۰	۳۰	۱۳
۲۰	۲۰	۲۰	۶۰	-	۳۰	۳۰	۶۰	۱۴
۲۰	۲۰	۲۰	۶۰	۳۰	۳۰	۳۰	۹۰	۱۵

روش استخراج اسانس

جهت استخراج اسانس ریحان مورد مطالعه، از روش تقطیر با آب (Hydro Distillation) استفاده شد. به این ترتیب که مقدار مورد نظر، مثلاً ۲۰ گرم از نمونه‌های خشک شده گیاه ریحان در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (۱:۱۰ W/V) مخلوط شد و سپس بوسیله دستگاه کلونجر عمل اسانس‌گیری انجام گرفت (۸). اسانس حاصل پس از جمع‌آوری، با حلal کلروفرم (۱:۱۰ V/V)، رفیق و با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی (GC و GC-MC) ترکیبات موجود در اسانس، شناسایی شد (۵).

افزودن NaCl به گلدان‌ها در برخی تیمارها به تدریج صورت گرفت. مثلاً، برای تیمار ۳۰ گرم نمک در یکصد کیلوگرم خاک، یکبار در هفته اول و برای تیمار ۶۰ گرم نمک در یکصد کیلوگرم خاک، یکبار در هفته اول و یکبار در هفته دوم و برای تیمار ۹۰ گرم نمک در یکصد کیلوگرم خاک، یکبار در هفته اول، یکبار در هفته دوم و یکبار در هفته سوم انجام شد تا گیاهان یکباره تحت تاثیر NaCl با غلظت زیاد قرار نگیرند و اثرات تنفسی تدریجی بوده و شدید و یکباره نباشد. چون در گلدان مقدار یک کیلوگرم خاک قرار داشت، میزان نمک بر حسب گرم نمک درصد کیلوگرم خاک برای هر گلدان محاسبه و اضافه شد. افزودن KCl نیز به طور تدریجی در سه هفته طبق جدول شماره ۱ انجام شد.

دماه اولیه ۵۰ درجه سانتی گراد و دماه نهایی ۲۲۰ درجه سانتی گراد و سرعت افزایش دما برابر ۸ درجه سانتی گراد در دقیقه انجام گرفت. درجه حرارت مدخل تزریق ۲۵۰ (Detector) و آشکارساز (Injection Port) درجه سانتی گراد، تنظیم و نمونهها به حجم ۲ میکرولیتر و توسط سرنگ ۱۰ میکرولیتری شرکت HP تزریق شد. رقیق کردن نمونهها به روش شکافتی و با نسبت شکافت N2 (Split Ratio) برابر ۲۰:۱ انجام گرفت. گاز حامل N2 (با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹) و فشار ورودی آن به ستون برابر ۶/۷ پاسکال و سرعت جریان (Flow) ۱/۳ میلی لیتر بر دقیقه تنظیم شد (۶).

نتایج
پس از تزریق، اسانس به دست آمده به روش تقطیر با آب (۰/۲ میکرولیتر اسانس رقیق شده در کلروفرم) به دستگاه GC/MS ، تعداد چهارده ترکیب شناسایی شد که در جدول ۲ درصد اسانس در تیمارهای مختلف KCl و NaCl ، زمان بازداری و اندیس کواتس و در شکل ۱ کروماتوگرام اسانس ریحان در نمونه شاهد مشاهده می شود. در ضمن طیفهای جرمی ترکیبات عمدۀ این اسانس در شکل های ۲ تا ۶ نشان داده شده است.

آنالیز اسانس ریحان

آنالیز به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) دستگاه مورد استفاده، کروماتوگرافی گازی HP مدل 6890 plus مجهز به آشکارساز یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن (FID) و Chemstation داده پرداز است.

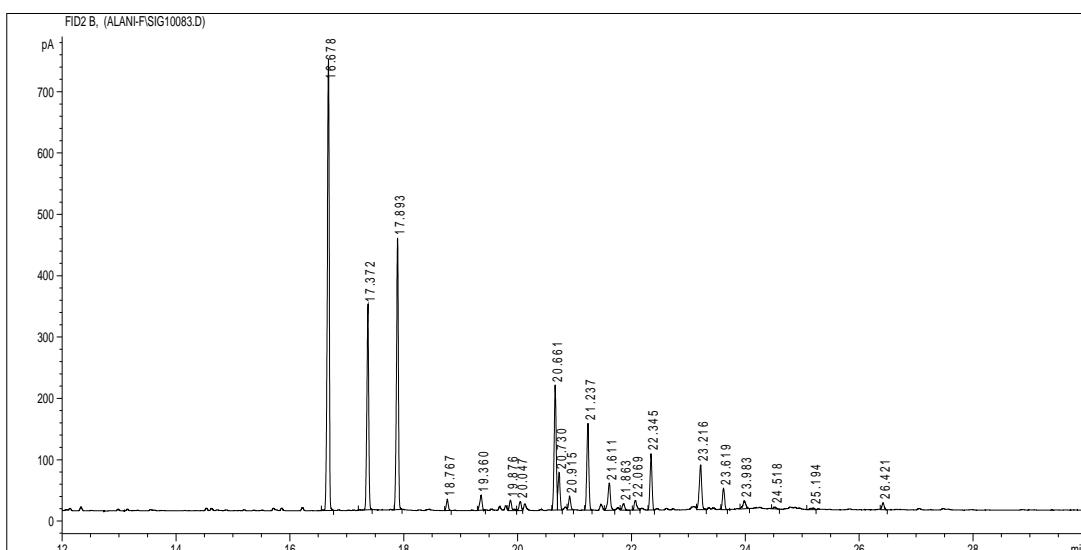
ستون مورد استفاده، یک ستون موئینه (Dimethyl Polysiloxane) کاملاً غیرقطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۵ میکرومتر است.

آنالیز به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS)

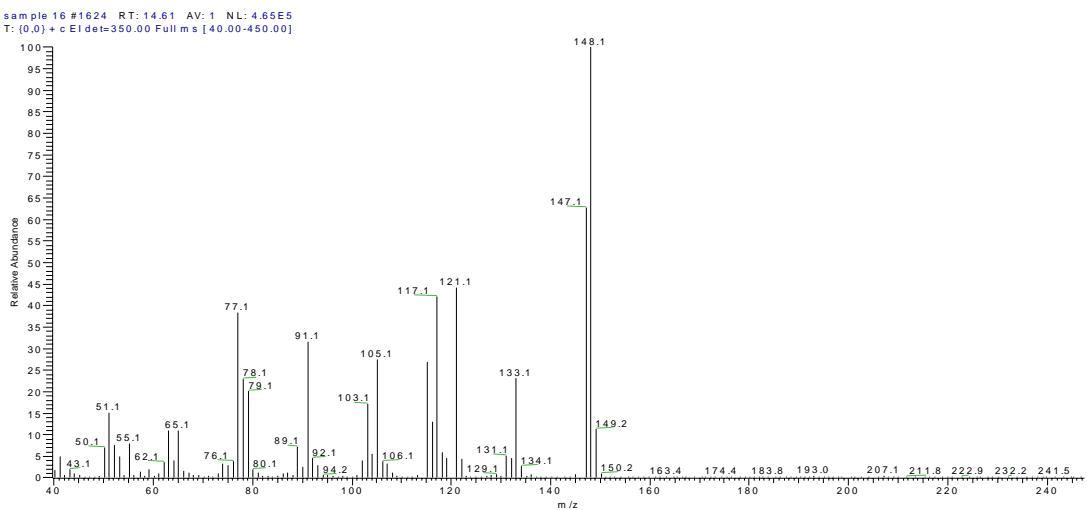
دستگاه مورد استفاده، Thermofinnigan مدل Trace Mettler Mettler متعلق به طیف سنج جرمی با سیستم Quadropole و با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت است.

تجزیه اسانس به روش برنامه ریزی درجه حرارت (LTPGC)

اسانس به روش برنامه ریزی درجه حرارت LTPG (Linear Temperature Programmed Gas) با



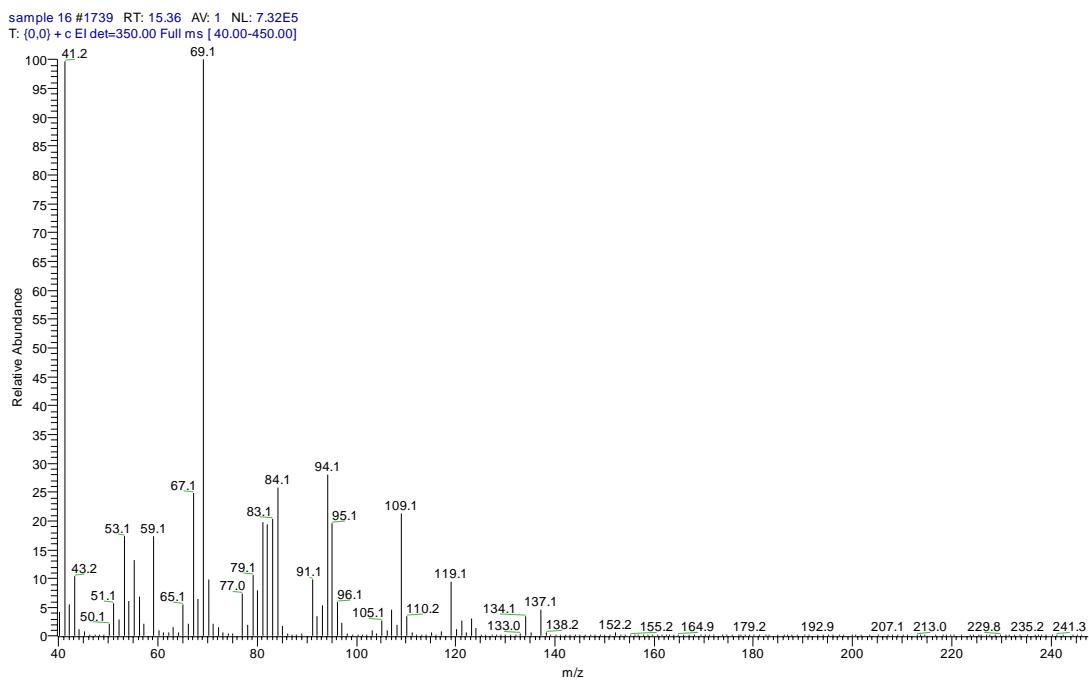
شکل ۱ - کروماتوگرام اسانس ریحان در نمونه شاهد



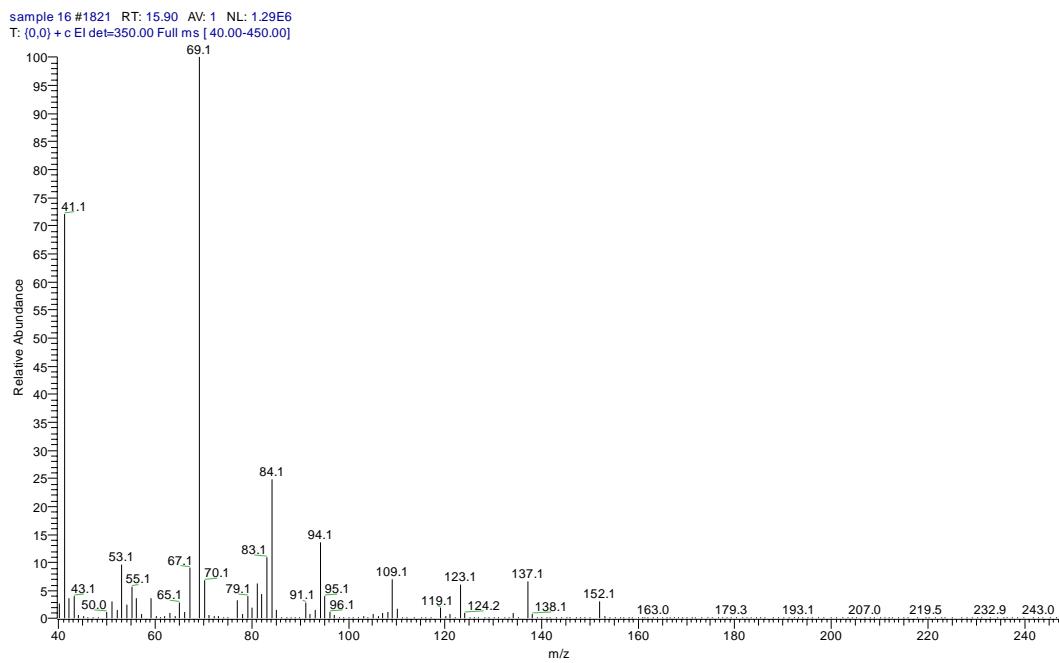
شکل ۲ - طیف جرمی Methyl chavicol

جدول ۲- نتایج تجزیه اسانس ریحان (Ocimum basilicum L.) از مقادیر نسبتی تیمارهای مختلف KCl و $NaCl$ (نسبت گرم در بیک صد کیلوگرم خاک) با نمونه شاهد

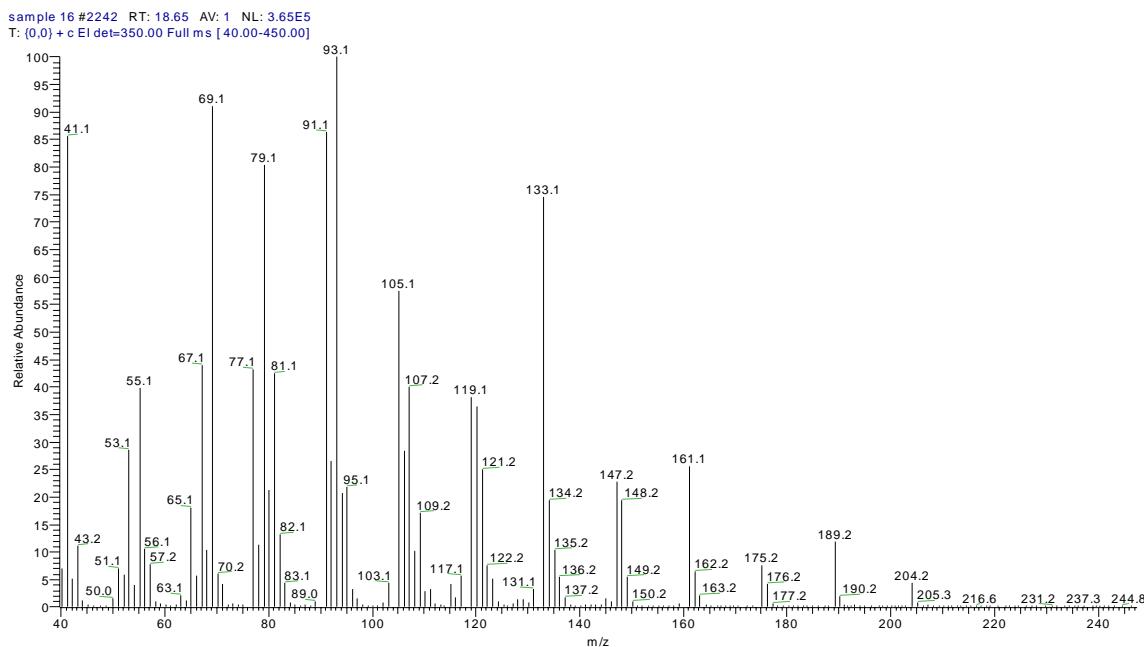
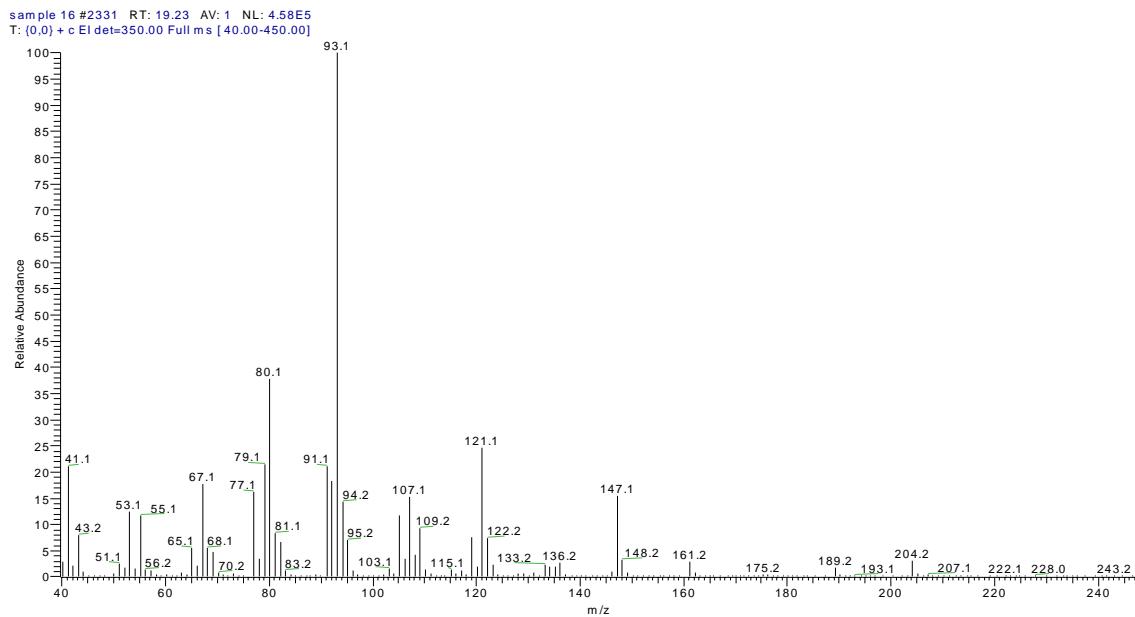
نام ترکیب	زمان بازداری با خصوصیات زیستی	شاهد	زمان بازداری با خصوصیات زیستی	نام ترکیب
Methyl chavicol	۱۶۹	۱۱۹۰	۳۰/۹۴	۲۹/۶۷
Z-citral	۱۲۴	۱۳۳۸	۱۰/۷۴	۹/۷۷
E-citral	۱۷۰	۱۱/۱	۱۲۷	۱۱/۰۴
Neryl acetate	۱۳۶۰	۱۲۷۶	۱/۴۹	۱/۴
<i>a</i> -Copaene	۱۳۷۶	۱/۱۳	۱/۴۴	۱/۱۴
Trans-caryophyllene	۱۲۱	۱۱/۰۰	۹/۱	۱۱/۷۴
<i>a</i> -bergamotene	۱۴۳۶	۲/۶	۲/۹۴	۲/۱۷
Trans- β -farnesene	۱۶۱	۱/۰۱	۰/۵۱	۰/۰۴
<i>a</i> -humulene	۱۲۰۴	۹/۱۹	۷/۷۴	۹/۱۶
Germacrene-D	۱۴۸۰	۲/۲	۲/۴۲	۹/۲۹
Cis- <i>a</i> -bisabolene	۱۴۳۱	۳/۹۵	۴/۱۰	۰/۰۳
Humulene oxide	۱۶۲۵	۲/۴۲	۲/۴۲	۲/۴۲
Hexahydro farnesyl acetone	۱۸۴۳	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۱۴
Total	۹۵/۴۸	۹۰/۰۸	۹۷/۸۲	۸۰/۳۳



شکل ۳ - طیف جرمی Z-citral



شکل ۴ - طیف جرمی E-citral

شکل ۵ - طیف جرمی *Trans-caryophyllene*شکل ۶ - طیف جرمی *α-humulene*

اسانس گیاه ریحان (Ocimum basilicum L.)

شناسایی شد و از میان آن‌ها، ترکیب‌های زیر با بیشترین غلظت، بخش عمده اسانس در نمونه شاهد را تشکیل می‌دهند: ۳۰/۹ (Methyl chavicol)، ۱۸/۱ (E-citral)، ۱۳/۴ (Z-citral)، ۹/۱ (*Trans-caryophyllene*) و ۶/۲ (*α-humulene*).

بحث

در این کار تحقیقاتی که با مطالعه و بررسی دقیق زمان‌های بازداری ترکیب‌ها، اندیس‌های بازداری کواتس (Kl) (۱۰)، طیف‌های جرمی و مقایسه کلیه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و مقایسه با طیف‌های جرمی و اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتر دستگاه GC-MS صورت گرفته است. چهارده ترکیب مختلف در

منابع

- ۱- زرگری، ع. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی. جلد چهارم، چاپ ششم. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.
- ۲- امید بیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافت‌های تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم. چاپ اول. موسسه چاپ و انتشارات آستان قدس رضوی، صفحات ۹۹-۱۰۶.
- ۳- مهرپور، ش.، رضایی، م.، مجذ، ا.، جایمند، ک. ۱۳۸۰. اثر پرتوهای فرابنفش بر تغییرات کمی و کیفی انسان گیاه نعناع (*Mentha spicata L.*) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۸، صفحات ۳-۱۳.
- 4-Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accessions*. Food Chemistry 83:547-50.
- 5-Telci, I., Bayram, E., Yilmaz, G., Avci, B. 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basil (*Ocimum basilicum L.*). Biochemical Systematics and Ecology 34:489-97.
- 6-Kivilompolo, C., Hyotylainen, T. 2007. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. Journal of Chromatography A 1145:155-64.
- 7-Zheljazkov, V.D., Crake, M., Lyle, E., Xing, B. 2006. Effect of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and

بر اساس آنالیز ترکیبات انسان ریحان رشد یافته در مناطق مختلف ترکیه، متیل کاویکول، بیشترین درصد ترکیب موجود در انسان مشخص شد. Telci و همکاران در سال ۲۰۰۶ با بررسی تیمارهای مختلف NaCl و KCl نشان دادند که بیشترین درصد متیل کاویکول در تیمار خاک KCl/kg $0/2$ g (۳۸ درصد) و کمترین آن $4/58$ $0/3$ g NaCl + $0/6$ g KCl /kg در تیمار خاک $0/3$ g NaCl + $0/6$ g KCl /kg (درصد) و همچنین بیشترین درصد *E-citral*، مربوط به نمونه شاهد (۱۸/۱ درصد) و کمترین آن مربوط به انسان $6/74$ $0/3$ g NaCl + $0/6$ g KCl/kg در تیمار خاک در انسان نمونه شاهد، درصد است. ترکیب *Z-citral* در انسان نمونه شاهد، بیشترین درصد $13/4$ (درصد) و کمترین درصد، مربوط به $5/2$ $0/2$ g NaCl + $0/6$ g KCl /kg درصد) و تیمار خاک $0/3$ g NaCl + $0/6$ g KCl/kg (درصد) است. ترکیب فوق از نظر میزان درصد، بین $5/1$ (دو تیمار خاک $0/3$ g NaCl/kg و تیمار خاک KCl/kg $16/34$ $0/3$ g NaCl + $0/6$ g KCl /kg درصد) و کمترین درصد، در انسان تیمار خاک $0/2$ $0/2$ KCl/kg درصد ترکیب α -humulene به ترتیب مربوط به تیمار خاک $10/87$ $0/3$ g NaCl + $0/6$ g KCl /kg (درصد) و تیمار خاک $7/47$ $0/6$ g NaCl/kg (درصد) اندازه‌گیری شد.

با توجه به نتایج این پژوهش، می‌توان با استفاده از غلظت‌های مختلف پتابسیم، اثر تخریبی شوری را بر مقدار ترکیبات موجود در انسان ریحان کشت شده در مناطق شور کشور، کاهش درصد انسان و ترکیبات موجود در انسان ریحان را افزایش داد.

- the field. *Scientia Horticulturae* 108:408-13.
- 9- Kovats, E. 1965. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advanced in Cheomatography* 1:229-47.
- basil. Environmental and Experimental Botany 58:9-16.
- 8-Sifola, M.I., Barbieri, G. 2006. Growth yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in

