

## بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس ریحان مقدس (*Ocimum sanctum L.*) در مراحل مختلف رشد

نرجس کازرانی<sup>۱</sup>، محمد جمال سحرخیز

محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شیراز.

### چکیده

ریحان مقدس (*Ocimum sanctum L.*) گیاهی است دارویی، معطر و متعلق به تیره Lamiaceae می باشد. به منظور شناسایی و تعیین میزان ترکیبات شیمیایی اسانس آن در سال های ۸۸ و ۸۹، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی واقع در ۹ کیلومتری شهر برازجان در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد، تیمارها در ۴ سطح برداشت شامل مراحل ۱- رشد رویشی، ۲- تشکیل غنچه، ۳- گلدهی کامل، ۴- تشکیل میوه (دانه)، مجموعاً دوازده تیمار مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه تیمارها در مراحل مختلف برداشت شدند. پس از طی فرآیند خشک شدن محصول و عملیات تهیه اسانس به روش تقطیر با آب، میزان اسانس، بازده اسانس و عملکرد آن اندازه گیری شد. اسانس های گرفته شده جهت آنالیز و شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده اسانس به دستگاه های GC/MS و GC تزریق شد.

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر مراحل مختلف برداشت بر میزان اسانس، عملکرد و بازده، عملکرد های تر و خشک سرشاخه های تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه دانکن نشان داد که بیشترین میانگین اسانس، بازده اسانس و عملکرد اسانس در مرحله تمام گل به ترتیب ۰/۷۷۵، ۱/۱۱٪ و ۶۸/۶۴ کیلو گرم در هکتار حاصل گردید. در این آزمایش درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در تیمارهای مختلف به ترتیب مراحل رویشی ۱۲، غنچه دهی ۱۴، تمام گل ۱۵ و رسیدن ۱۵ ترکیب در آنها شناسایی شد. ترکیبات شاخص اسانس در تیمارهای مختلف به ترتیب اوژنول، سینول، بتایسابلن، استراگل و المن بود.

### مقدمه

ریحان مقدس گیاهی یکساله در برخی مناطق چند ساله و در سراسر سال گل می دهد. اندام رویشی معطراست. برگ، گل، ساقه، ریشه و دانه به عنوان اندام های دارویی ریحان مقدس محسوب می شوند. فرآورده های این گیاه خاصیت کاهش دهنده قند خون در افراد مبتلا به دیابت نوع دوم (ورتر و همکاران ۲۰۰۵)، ضد حساسیت، ضد درد، اکسپکتورانت، تصفیه کننده خون، ضد نفخ، ضد عفونی کننده، تسکین دهنده اعصاب و نیروزایی دارد و در رفع آلودگی های فارچی، جوش ها و دمل ها، جرب، شوره سر، روماتیسم، درد مفاصل، دردهای ماهیچه ای، اسهال خونی، تب مزمن، ضد تهوع، آسم، عقرب گزیدگی، مارگزیدگی، گازگرفتگی موثر بوده و خاصیت حشره کشی نیز دارد (۲ و ۵). از نظر ترکیب شیمیایی دارای اسانس روغنی فرار است. اسانس در کرک های ترشخی برگ ها متمرکز است. ترکیبات شیمیایی اسانس شامل متیل کایوکول (استراگول)، سینول، لینلول، متیل هوموآنسیک اسید، لیمونن، کاریوفیلن، اوژنول، متیل اوژنول و کارواکول می باشد (۳). ترکیبات فنلی این گیاه از خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار است (۶).

آریه و همکاران (۲۰۰۳-۲۰۰۲) در برزیل اثر ساعات مختلف روز در فصول مختلف سال را بر عملکرد اسانس گیاه دارویی Java citronella مورد بررسی قرار دادند نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس به ترتیب در ساعت ۹ صبح در فصول تابستان، زمستان و بهار بوده است (۱).

کیسل و همکاران (۲۰۰۵) در لهستان اثر برداشت در مراحل مختلف (رویشی، گلدهی، پایان گلدهی و رسیدن) بر میزان اسانس و ترکیبات آن بررسی نمودند و گزارش کردند که بیشترین بازده اسانس در اواخر گلدهی (۰/۸۳٪) و کمترین آن در اوایل

گلدهی (۰/۵۹٪) بود. همچنین ترکیبات اصلی به ترتیب بتایسابلن با ۱۳/۲٪، متیل کابیکول ۹-۳٪، ۱۸۱۱ سینوئل ۳۳-۹٪، اوژنول ۹-۴٪ و آلفایسابلن ۷-۴٪ بود (۴)

بنابراین باتوجه به نتایج آزمایش های بدست آمده نشان میدهد که کمیت و کیفیت اسانس گیاه در مراحل مختلف رشد بسیار متفاوت می باشد بنابراین باید در زمان برداشت مناسب بتوان اندام گیاهی را طوری جمع آوری نمود که به ادامه رشد گیاه آسیبی وارد نشود و در عین حال بیشترین بازده اسانس نیز بدست آید. لذا با توجه به مطالب یاد شده فوق این آزمایش در راستای تعیین مناسب ترین زمان برداشت گیاه ریحان مقدس صورت گرفت.

### مواد و روش ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات کشاورزی استان بوشهر واقع در ۹ کیلومتری جنوب شرقی شهر برازجان با ۵۱° و ۱۷' طول شرقی و ۲۹° و ۲' عرض شمالی، با ارتفاع ۱۱۰ متر از سطح دریا در سالهای ۱۳۸۸ و ۸۹ در قطعه زمینی که در سال قبل آیش بود اجرا شد. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۳ تکرار و عامل مورد بررسی شامل ۴ سطح برداشت شامل مراحل: ۱- رویشی، ۲- غنچه دهی، ۳- تمام گل، ۴- تشکیل میوه (دانه)، مجموعاً ۱۲ تیمار بود. نشاء در مرحله ۵-۴ برگی بود به زمین اصلی انتقال یافت. فاصله بین ردیف در هر کرت ۲۵ سانتی متر و فاصله بین بوته ای ۲۰ سانتی متر، تعداد خطوط کاشت ۶ خط طول خط کاشت ۳ متر در نظر گرفته شد. کل. کلیه مراقبت های زراعی بطور یکنواخت در مورد کلیه تیمارها اجرا شد کود نیتروژنه به دو قسمت مساوی تقسیم شد یک قسمت قبل از کاشت همراه با سایر کودها و نیم دیگر در مرحله قبل از گلدهی گیاه به مزرعه داده شد. دفعات آبیاری بر اساس نیاز گیاه صورت گرفت.

پس از رشد بوته ها در زمانی که بوته ها وارد فاز رویشی شده بودند در تاریخ ۱۵ مهر ماه اولین برداشت از برگ های گیاه، دومین برداشت در مرحله غنچه دهی در ۵ آبان ماه از برگ ها و سرشاخه های گلدار، سومین برداشت در مرحله تمام گل در تاریخ ۲۰ آبان ماه از برگ ها و سرشاخه های گلدار و چهارمین برداشت در زمان تشکیل دانه در تاریخ ۱۵ آذر ماه از برگها و سرشاخه ها صورت گرفت. در هنگام خشک شدن به منظور جلوگیری از کپک زدگی آنها به طور مرتب زیر و رو شدند. استخراج اسانس موجود در اندام های گیاه دارویی ریحان مقدس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر صورت گرفت. میزان بازده اسانس (درصد) بر اساس وزن خشک گیاه بدست آمد. اسانس ها را تا زمان تجزیه، در ظرف های شیشه ای تیره ریخته و برای گرفتن آب موجود در آن از ماده شیمیایی رطوبت گیر (سولفات سدیم) استفاده گردید و سپس در یخچال نگهداری شد. برای جدا سازی و شناسایی ترکیب های موجود در اسانس، ابتدا یک میکرولیتر از نمونه اسانس هر تیمار به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) تزریق شد. برنامه ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب های اسانس به دست آمد. همچنین، درصد ترکیب های تشکیل دهنده هر نمونه اسانس و عدد بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. سپس اسانس ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شده و طیف جرمی و مقایسه با طیف های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه های کامپیوتر زمان بازداری و نمایه بازداری و بررسی طیف های جرمی و مقایسه با طیف های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه های کامپیوتر دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی و ترکیبات استاندارد صورت گرفت.

جهت تجزیه و تحلیل داده های بدست آمده از نرم افزار آماری Mstat-C و برای مقایسه میانگین های بدست آمده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطوح آماری ۱ و ۵ در صد استفاده شد و برای داده های بدست آمده انحراف معیار تعیین شد.

### نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مراحل مختلف برداشت در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ بر عملکرد ماده تر، ماده خشک شاخساره، بازده اسانس و عملکرد اسانس تاثیر معنی داری داشته است. یعنی با ۹۵ درصد اطمینان می توان گفت که زمان برداشت بر درصد اسانس (بازده) و سایر صفات گیاه دارویی ریحان مقدس موثر می باشد. مقایسه میانگین ها به روش آزمون چند دامنه دانکن نشان داد که بیشترین عملکرد تر و خشک در مرحله تشکیل میوه و کمترین عملکرد محصول در مرحله رویشی است بیشترین بازده اسانس در مرحله تمام گل و کمترین بازده اسانس در مرحله تشکیل میوه بود

جدول ۱، مقایسه میانگین بازده اسانس، عملکرد ماده تر و خشک و اسانس در مراحل مختلف برداشت همراه با انحراف معیار

عملکرد اسانس (kg ha <sup>-1</sup> )	بازده اسانس (%)	عملکرد ماده خشک (kg ha <sup>-1</sup> )	عملکرد ماده تر (kg ha <sup>-1</sup> )	مراحل برداشت
۴۵/۵۸ ± ۸/۴۴ c	۰/۹۸۲۴ ± ۰/۰۱۵ ab	۴۶۲۹/۶۲ ± ۳۲۰/۷۵ c	۱۴۷۰۳/۶۹ ± ۱۲۹۷/۵ d	رویشی
۶۱/۷۷ ± ۱۰/۵۵ b	۰/۹۲۵۳ ± ۰/۰۱۳ b	۶۶۶۶/۶۶ ± ۱۰۵۹/۹۳ b	۱۸۸۱۴/۷۹ ± ۱۸۶۳۹۷/۶ c	غنچه دهی
۶۸/۶۴ ± ۵/۵۸ b	۱/۱۰۸۱ ± ۰/۱۴۰ a	۶۲۹۶/۲۹ ± ۱۲۸۲/۹۹ b	۳۴۴۴۴/۴۱ ± ۳۸۴۹/۰۰ b	تمام گل
۶۲/۰۵ ± ۶/۷۵ a	۰/۵۰۷۱ ± ۰/۰۱ c	۱۲۲۲۲/۲۱ ± ۱۱۱۱/۱۱ a	۴۱۱۱۱/۰۷ ± ۲۲۲۲/۲۱ a	تشکیل میوه

ترکیبات شیمیایی اسانس

پس از تزریق اسانس به دستگاههای گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف سنج جرمی (GC/MS) کلیه ترکیب های تشکیل دهنده اسانس همراه با درصد نسبی، شاخص بازداری (RI) در جدول ۲ منعکس است. در اسانس این گیاه در مراحل مختلف رشد به ترتیب مرحله رویشی ۱۲، در غنچه دهی و تمام گل ۱۴ و در مرحله تشکیل میوه ۱۵ ترکیب شناسایی گردید. ۴ ترکیب عمده (بیش از ۱۰٪) اسانس گیاه ریحان مقدس شامل اوژنول، بتایسابلن، سینونل - ۸، ۱ و استراگل بود.

جدول ۲، مقایسه ترکیب های موجود در اسانس *Osmium sanctum* در مراحل مختلف برداشت

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری RI	رویشی	غنچه دهی	تمام گل	تشکیل میوه
۱	Ethyl Isovalerate	۸۵۴	-	-	۰/۸۳	۰/۳۷
۲	α-pinene	۹۵۴	۰/۷۶	۰/۴۱	۰/۶۶	۰/۳۷
۳	Sabinen	۹۸۵	۰/۵۵	۰/۴۴	۰/۴۹	۰/۲۷
۴	β-pinene	۱۰۱۰	۸۰/۱	۱/۵۳	۱/۷۳	۱/۰۵
۵	Myrcene	۱۰۵۹	۰/۵۳	۱/۱۲۸	۰/۹۳	۰/۰۹
۶	۱,۸-Cineole	۱۰۶۸	۲۰/۷۸	۱۹/۴۱	۲۰/۴۵	۱۶/۷۹
۷	Linalool	۱۱۰۹	۰/۲۲	۰/۱۹	۰/۱۵	۰/۱۸
۸	Unknown	۱۱۵۲	۰/۴	-	۰/۳۸	۰/۳۱
۹	Terpinen-۴-ol	۱۱۸۴	-	۰/۲۸	-	۰/۱۹
۱۰	α-Terpineol	۱۲۱۱	-	۰/۳۷	۰/۴۲	۰/۳۲
۱۱	Estragol	۱۲۲۹	۱۱/۴۹	۱۰/۶۱	۱۱/۴۰	۸/۶۱
۱۲	Carvone	۱۲۸۳	-	-	-	-
۱۳	Eugenol	۱۳۸۲	۱۵/۷۰	۳۷/۱۵	۲۴/۶۳	۳۰/۵۰
۱۴	E-caryophyllene	۱۴۶۳	-	-	-	-

۲/۵۵	۲/۶۹	۱/۳۰	۳/۱۳	۱۴۶۹	$\alpha$ -cis-bergamotene	۱۵
۱/۵۲	۱/۲۷	۱/۲۹	۲/۳۴	۱۴۸۲	$\alpha$ -Humulene	۱۶
۱۸/۸۲	۱۸/۷۶	۱۳/۲۹	۲۰/۹۹	۱۵۴۲	$\beta$ -bisabolen	۱۷
۸/۵۴	۷/۸	۷/۷۰	۱۰/۴۷	۱۵۶۵	$\gamma$ -Elemene	۱۸

## منابع

- ۱- Arie, F., Andressa, G., Costa, M., Ftima, Arrigoni (۲۰۰۷). Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winteranus jowitt*) volatile oil. Bars. Farmacogn, Vol. ۱۷ No. ۴. Joao Pessoa Oct./Dec ۲۰۰۷.
- ۲- Gill, B.S. and G. S. Randhawa. ۲۰۰۰. Effect of different row and plant spacing on yield and quality of fernch basil oil. J. Res. Punjab Agric. Univ. ۳۶: ۱۹۹۱-۳
- ۳- Javanmardi, J., C.Stushnoff, E.Locke, J.M.Vivanco, ۲۰۰۳. Antioxidant activity and total
- ۴- Kicel, Agnieszka, Kurowska, Anna, Kalemba, Danuta. ۲۰۰۵. Composition of the Essential Oil of *Ocimum sanctum* L. Grown in Poland During Vegetation Journal of Essential Oil Research: JEOR, Mar/Apr ۲۰۰۵
- ۵- Kirtikar, K.R., B.D. Baus, ۱۹۷۵. Medicinal plant. ۲nd. Vol. ۳, ۱۹۶۵-۱۹۶۸
- ۶- Raseetha, S., S.F.Cheng, C.H.Chuah. ۲۰۰۸. Comparative study of volatile compounds from genus *Ocimum*. J.American, ۶ (۳): ۵۲۳-۵۲۸.

### Effect of harvesting time on the production and chemical composition of tulsi leaves essential oil N- kazerani, M.J.Saharkhiz

#### Abstract

The effect of harvesting time on the production and chemical composition of essential oils from tulsi (*Ocimum sanctum* [*O. tenuiflorum*]) leaves was investigated. Plants were grown during ۲۰۰۷ and ۲۰۰۸, and were transplanted in a field in Borazjan-Iran. Leaves were collected during the vegetative stage, initiation of flower, full flowering stage and seed formation stage GC and GC-MS analyses showed that the highest oil concentration (۱.۱۱%) and highest terpene composition (۱۸ compounds) were obtained in oils from leaves collected during the full flowering stage. The oil concentration and terpene composition in oil from leaves collected during the full flowering have ۱۵ terpenes.