

اثر تنش فلزات سنگین کادمیوم و نیکل بر ترکیبات عصاره گیاه آویشن ایرانی (*Thymus persicus*)

کیوان آقائی^{۱*} ، زهرا مصطفوی^۲

۱: استادیار دانشگاه زنجان ، دانشکده علوم ، گروه زیست شناسی

۲: دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه زنجان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

*: نویسنده مسئول keyvanaghahi@znu.ac.ir

چکیده

گیاه آویشن یکی از گیاهان دارویی پرمصرف در ایران است که گونه *Thymus persicus* یا آویشن ایرانی بعنوان یکی از گونه های اندمیک در استان زنجان در مناطق آلوده به فلزات سنگین از جمله نیکل و کادمیوم یافت می شود. به منظور بررسی اثر تجمع نیکل بر ترکیبات عصاره آویشن ایرانی دانه رسته های گیاهان در شرایط کشت هیدروپونیک با غلظت های ۰،۲، ۰،۴ و ۰،۶ میلی مولار نیکل و کادمیوم تیمار شدند. سه هفته پس از تیمار، نمونه های گیاهی جمع آوری گردیدند و عصاره هگزانی از بخش هوایی گیاهان استخراج شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر گازی تریبات تشکیل دهنده عصاره مورد اندازه گیری و بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عمده ترین ترکیبات موجود در عصاره آویشن ایرانی، اسید فرمیک، تیمول، تیموکوئینون و لینالول می باشد. مقدار تیمول در تمام غلظت های نیکل و کادمیوم به جز غلظت ۰/۴ میلی مولار نیکل نسبت به شاهد افزایش یافت. اما مقدار سه ترکیب مهم دیگر یعنی تیموکوئینون، لینالول و اسید فرمیک تحت تاثیر غلظت های مختلف هر دو فلز روند کاهشی داشته است. بطور کلی می توان نتیجه گرفت که تنش فلزات سنگین نیکل و کادمیوم بر مقدار و نوع ترکیبات موثره عصاره گیاه آویشن ایرانی تاثیرات متفاوتی داشته است. مقدار برخی ترکیبات اصلی افزایش و برخی دیگر تحت تین تنش کاهش نشان دادند که این نشان دهنده غیر قابل پیش بینی بودن نتایج اثرات فلزات سنگین بر ترکیبات ثانویه این گیاه می باشد.

کلمات کلیدی: آویشن ایرانی، فلزات سنگین، ترکیبات عصاره، نیکل، کادمیوم.

مقدمه :

ضد باکتریایی این گیاه و اثرات درمانی آن برای درمان آسم، سرفه های خشک مکرر، برونشیت به اثبات رسیده است (اکبری نیا و همکاران، ۱۳۷۸). در اطراف زنجان شرکت های بزرگ استخراج فلزات سنگین از جمله سرب و روی و نیکل و کادمیوم قرار دارند و احتمال آلودگی خاکها و گیاهان اطراف شهر به فلزات سنگین وجود دارد. گیاه آویشن ایرانی که به جهت خواص دارویی مورد استفاده قرار می گیرد در مناطق اطراف معادن فوق رویش می کند. بنابر این با برداشت گیاهان دارویی از مناطق مجاور و پایین دست این معادن و کشاورزی در این مناطق فلزات سنگین پس از مصرف مستقیم و یا فراورده های گیاهان وارد زنجیره غذایی انسان می گردند. بنابر این لازم است در رابطه با میزان آلودگی اندام های مختلف گیاهی به فلزات سنگین و نیز اثر آنها بر ترکیبات عصاره و اسانس آن مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش ها

بذر گیاهان آویشن ایرانی از مناطق اطراف معدن انگوران زنجان جمع آوری شدند و در گلدان های پلاستیکی حاوی پرلیت و محیط کشت هوگلند با نصف غلظت در شرایط اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد کشت شدند. سه هفته پس از کشت، گیاهان با غلظتهای ۰، ۰.۲، ۰.۴ و ۰.۶ میلی مولار از فلز نیکل و کادمیوم بطور جداگانه در محلول هوگلند با نصف غلظت و $pH=6$ به مدت سه هفته تیمار شدند. برای جلوگیری از تجمع فلزات سنگین، محیط کشت های محلول در هر تیمار به میزان ۴۰۰ میلی لیتر در زیر گلدانی ها ریخته شد و هر روز محلول ها بررسی و کمبود محلول های تیمار زیر گلدانی ها با همان محلول ها جایگزین می گردید.

تهیه عصاره گیاهی جهت آنالیز ترکیبات عصاره با GC/MS

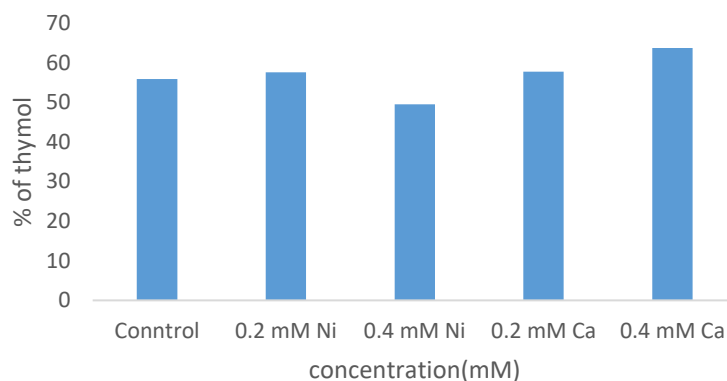
اسانس ها از جمله ترکیبات مهم گیاهان دارویی هستند که دارای فعالیت های زیستی فراوانی می باشند. اسانس آویشن دارای خواص ضد اسپاسم، خلط آور، ضد نفخ و ضد میکروبی می باشد که این اثرات مربوط به تیمول و کارواکرول است. اسانس آویشن به طور گسترده در خمیردندان ها، کرم ها، لوسیون ها، شوینده ها و صابون ها و در صنایع غذایی برای تهیه فرآورده های غذایی مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین امروزه در کشور، فرآورده های دارویی مختلفی از این گیاه ساخته شده و به عنوان ضد سرفه و خلط آور مورد استفاده بیماران قرار می گیرد (مکی زاده و همکاران، ۱۳۸۹). عوامل مختلفی چون آب و هوای رویشگاه، ارتفاع منطقه و نوع خاک، تراکم و ترکیب گونه ای جمعیت گیاهی، ژنوتیپ و جنسیت گیاه، تاریخ کشت، نحوه جمع آوری و طریقه خشک کردن مواد گیاهی، روش اسانس گیری، میزان و نوع تغذیه، آبیاری و مرحله تکوینی، گیاه بر کیفیت و کمیت اسانس ها اثر دارند (دوستی، ۱۳۹۵). فعالیتهای زیستی و کاربرد اسانس ها در صنایع مختلف به ترکیبات سازنده آنها بستگی دارد که تحت تاثیر عوامل متعددی قرار میگیرد. کمیت و کیفیت اسانس تحت تاثیر رویشگاه نیز قرار می گیرد (دوستی، ۱۳۹۵).

آویشن ایرانی (*Thymus persicus*) یکی از گونه های انحصاری جنس تیموس است که در استان های زنجان و آذربایجان غربی (تکاب و حومه) ایران رویش دارد. این گونه با داشتن برگهای باریک و خطی شکل با کرکهای غیر غده ای بلند به همراه کرکهای غده ای تک سلولی کوتاه در بین سایر جنسهای آویشن به خوبی متمایز است (Sonboli, 2013). این گیاه به صورت سنتی به عنوان ضد نفخ، هضم کننده غذا، ضد اسپاسم، ضد سرفه و خلط آور و به علت داشتن ترکیبات اصلی تیمول در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده میشود. (امیدبیگی، ۱۳۷۹). اثرات ضد قارچ و ضد انگل و

عمده ترین ترکیباتی که در عصاره آویشن ایرانی شناسایی شدند عبارتند از: تیمول، اسید فرمیک، تیموکوئینون و لینالول. تیمول در گیاه شاهد ۵۵/۹ درصد، در تیمار ۰/۲ میلی مولار نیکل ۵۷/۶ درصد، در تیمار ۰/۴ میلی مولار نیکل ۴۹/۵ درصد، در تیمار ۰/۲ میلی مولار کادمیوم ۵۷/۷۷ درصد و در تیمار ۰/۴ میلی مولار کادمیوم ۶۳/۷۳ درصد ترکیبات عصاره را شامل شده است (شکل ۱).

۱ گرم از بافت تر برگ از هر یک از تیمارهای کادمیوم، نیکل و شاهد بصورت جداگانه به هاون چینی منتقل و با مقدار مورد نیاز نیتروژن مایع ساابیده شد. و مقدار ۱.۵ سی سی از هگزان به آن اضافه شد. پس از ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه محلول حاصل در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه قرار داده شد. محلول شفاف بدست آمده آماده برای آنالیز با استفاده از دستگاه GC/MS شد.

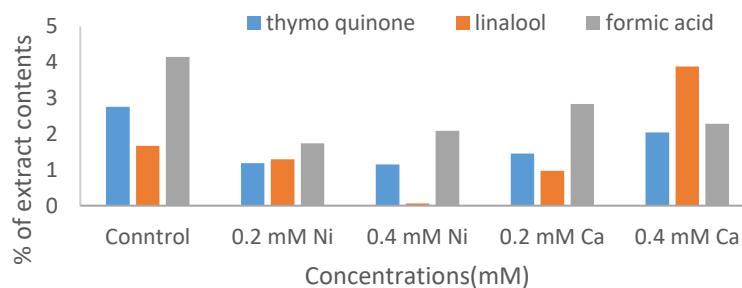
نتایج و بحث:



شکل ۱: مقایسه مقدار تیمول در عصاره گیاه آویشن ایرانی تحت تنش کادمیوم و نیکل

که در غلظت ۰/۴ میلی مولار کادمیوم (۳/۸۸٪) بطور قابل توجهی نسبت به شاهد (۱/۶۷٪) افزایش نشان داد، بقیه ترکیبات همگی تحت غلظت های نیکل و کادمیوم نسبت به شاهد کاهش یافتند.

مقایسه میزان سه ترکیب مهم دیگر در عصاره آویشن ایرانی در تیمار های شاهد و غلظت های مختلف نیکل و کادمیوم (شکل ۲) نشان می دهد که بجز لینالول



شکل ۲: مقایسه چند ترکیب مهم عصاره گیاه آویشن ایرانی تحت تنش کادمیوم و نیکل

درصد فراوانی ترکیبات عصاره گیاه آویشن تحت تاثیر غلظت های صفر (شاهد)، ۰/۲، ۰/۴ میلی مولار نیکل و کادمیوم در جدول ۱ مشخص شده است.

جدول ۱: مقایسه درصد فراوانی ترکیبات عصاره آویشن تحت تاثیر غلظتهای مختلف فلز سنگین نیکل و کادمیوم

ترکیبات	شاهد(صفر)	۰/۲ میلی مولار نیکل	۰/۴ میلی مولار نیکل	۰/۲ میلی مولار کادمیوم	۰/۴ میلی مولار کادمیوم
۱ Formic acid, decyl ester	۴.۱۵	۱.۷۴	۲.۰۹	۲.۸۹	۲.۲۸
۲ Linalool	۱.۶۷	۱.۲۹	۰	۰.۹۷	۳.۸۸
۳ Thymoquinone	۲.۷۶	۱.۱۹	۱.۱۵	۱.۴۵	۲.۹۶
۴ Thymol	۵۵.۹۰	۵۷.۶	۴۹.۵۳	۵۷.۱۷	۶۲.۷۳
۵ 2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol	۳.۲۷	۴.۹۵	۰.۹۷	۱.۰۲	۲.۰۴
۶ 2-(4-Methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-yl 2-methylbutanoate	۷.۴۸	-	-	-	-
۷ Eicosyl isopropyl ether	۱.۸۷	-	-	-	۰.۵۴
۸ 3-Cyclohexen-1-ol, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl	۲.۲۳	-	-	-	-
۹ 1-Decanol, 2-hexyl-	۲.۹۹	-	۱.۴۶	-	۲.۲۹
۱۰ Octatriacontyl pentafluoropropionate	۴.۰۱	-	-	-	-
۱۱ Eucalyptol	-	-	-	۰.۷۷	۱.۰۷
۱۲ Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7- trimethyl-, (1S-endo)-	-	-	۰.۴۷	۱.۸۱	۴.۸۴
۱۳ L-.alpha.-Terpineo	-	-	۴.۹۴	۶.۷۱	-
۱۴ Octatriacontyl pentafluoropropionate	۴.۰۱	۴.۵۲	۱.۱۲	۲.۵۵	-
۱۵ Eicosyl octyl ether	-	۱.۳۱	-	۲.۴۶	۰.۵۴
۱۶ 3-Butoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-3,5,5-tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	-	۱.۷۱	-	-	۱.۷۱
۱۷ 1-Tetradecanol	-	-	-	-	۱.۱۴۱
۱۸ 1H-Benzocyclohepten-9-ol, 2,4a-.beta.,5,6,7,8,9,9a-.beta.-octahydro-3,5,5,9-.beta.-tetramethyl	-	-	-	-	۱.۶۰
۱۹ Disulfide, di-tert-dodecyl	-	۱.۲۰	-	-	۱.۲۰
۲۰ Geraniol	-	۲.۵۳	-	-	-
۲۱ Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	-	۱.۲۹	-	-	-
۲۲ Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl	۰.۷۹	.۴	-	-	۰.۶۵
۲۳ Pentanoic acid, 5-hydroxy-, 2,4-di- <i>t</i> butylphenyl esters	-	۳.۲۳	-	-	-
۲۴ (+)-Borneo	-	-	۱.۵۸	۱.۰۳	-
۲۵ Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl	-	۰.۶	۱.۸۲	-	-
۲۶ 1-Octadecanesulphonyl chloride	-	-	۱.۱۹	-	-
۲۷ .alpha.-Terpinyl acetate	-	-	-	۶.۳۳	-
۲۸ Hexadecane, 1-chloro-	-	-	-	۱.۰۱	-

تشکیل داده و لینالول هم به مقدار قابل توجهی در عصاره یافت شد که احتمالاً یکی از دلایل این تفاوت به نحوه جداسازی ترکیبات در دو روش عصاره گیری و اسانس گیری مربوط باشد و برخی ترکیبات موجود در اسانس در زمان عصاره گیری تبخیر شده و از دسترس خارج می شوند.

نتیجه گیری کلی: با توجه به نتایج این تحقیق بطور کلی می توان گفت که چهار ترکیب مهم در عصاره گیاه آویشن ایرانی: تیمول، تیموکوئینون، لینالول و اسید فرمیک تحت تاثیر غلظت های مختلف فلزات سنگین نیکل و کادمیوم قرار گرفته اند که در نتیجه آن مقدار تیمول بعنوان ترکیب اصلی بطور کلی در تیمار افزایش یافت اما سه ترکیب مهم دیگر تحت تنش کاهش یافتند.

اگر چه تولید مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت فرایندهای ژنتیکی است ولی به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی مانند ارتفاع از سطح دریا، دما، نور، رطوبت نسبی قرار می گیرد، به طوری که عوامل محیطی سبب تغییرات در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد موثره آن ها نظیر آکالوئیدها، گلیکوزیدها و اسانس ها می گردد (وفادار و همکاران، ۱۳۹۶). محققین نشان دادند ترکیب کارواکرول با ۸۰ درصد و پس از آن لینالول و تیمول بیشترین سهم را در میان ترکیبات موجود در اسانس گیاه آویشن دارد (نادری و همکاران، ۱۳۸۸). البته در گیاه آویشن ایرانی مورد مطالعه ترکیب کارواکرول بسیار کم و غیر قابل اندازه گیری بود اما تیمول بیشترین میزان عصاره این گیاه را

منابع:

۴. وفادار م.، محسن پور م.، میقانی ح.، وطن خواه ا.، (۱۳۹۶)، بررسی تاثیر شرایط محیطی بر میزان ترکیبات شیمیایی روغن اسانس گیاه پونه آبی از رویشگاههای مختلف استان مازندران، مجله پژوهش های گیاهی (زیست شناسی ایران)، ج ۳۰، شماره ۲: ۴۳۲-۴۴۳
5. Sonboli A., Mirjalili MH., Bakhtiari Z., Jamzad Z., (2013), Molecular authentication of *Thymus persicus* based on nrDNA sequences data, Iran, J, Bot, 19(1): 179-185.
6. Hoseini S.M., Zargari F., (2013), Cadmium in plant: A Review, International journal of Farming and Allied Sciences., 2(17): 579-581
7. Mirzaei M. (2015), Evaluation of heavy metals concentration (Cd, Cu, Mn, Ni, Le, Zn) in sediments of Zayandehrood river. Iranian journal of Research in Environmental Health, 1 (4): 251-265
۱. اکبری نیا ا.، میرزا م.، (۱۳۸۷)، شناسایی ترکیب های معطر گیاه دارویی آویشن دنايي کشت شده در قزوین، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، سال ۱۲، شماره ۳ (پی در پی ۴۸): ۵۹-۶۱.
۲. امیدبگی ر.، (۱۳۷۹)، تولید و فرآوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی: ۸۸-۹۹.
۳. نادری غ.، جعفری دینانی ن.، جعفریان دهکردی ع.، عسگری ص.، شاهی ر. (۱۳۸۸)، آنالیز ترکیبات موجود در اسانس چهار چاشنی غذایی و بررسی فعالیت فیبرینولیتیک این ترکیبات در محیط *in vitro*، فیزیولوژی و فارماکولوژی، ۱۳ (۴): ۴۲۹-۴۲۳.

Effect of heavy metal stresses due to Nickel and Cadmium concentrations on extract composition of *Thymus persicus*

Keyvan Aghaei* and Zahra Mostafavi¹

¹: Department of Biology, Faculty of Sciences, The University of Zanjan

*: Corresponding author; keyvanaghaei@znu.ac.ir

Abstract

Thyme is one of the high consuming medicinal plants in Iran and *Thymus persicus* is an Iran endemic thyme species which grows in heavy metal contaminated areas of Zanjan province. In order to study of the effect of Nickel and Cadmium on the secondary compounds of *Thymus persicus*, seedlings were cultured in different concentrations of Ni and Cd: 0 (control), 0.2, .04 and 0.6 mM in a hydroponic culture system. Three weeks after treatment, the N-Hexane extract of aerial parts of plants at control and heavy metal stress treatments were analyzed using GC/MS. According to the results; thymol, thymoquinone, linalool and formic acid were the main components of the extract at the control treatment. The percentage of thymol increased at all Ni and Cd concentrations except for the 0.4 mM Ni, however; the amount of thymoquinone, linalool and formic acid decreased at all heavy metal treatments comparing to control. It can be suggested that Ni and Cd had different effects on extract composition in this plant. Some major compounds of extract increased and some decreased which showed unpredictable consequences.

Keywords: Extract, Cadmium, Heavy metals, Nickel, *Thymus persicus*.