



بررسی مواد تلف شده در روش های عصاره گیری مختلف مدرن و سنتی گیاه *Origanum vulgare L**

راضیه وطن دوست

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران
r-vatandoust@iau-ahar.ac.ir

محمد جلیل زاده هدایتی

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

چکیده

Origanum Vulgare L جزء مهم ترین گونه های مرزن جوش متعلق به خانواده ی نعناعیان می باشد. گونه ی ذکر شده از مناطق حفاظت شده ی ارسباران- کوه های آینالو جمع آوری شد. اسانس این گیاه به روش تقطیر با آب داغ با استفاده از دستگاه کلونجر بدست آمده، بعد از مدتی نگهداری در فریزر توسط سدیم سولفات بی آب رطوبت زدایی و با GC/MS مورد تجزیه و شناسایی قرار گرفت. همین طور، عرق سنتی این گیاه با روش تقطیر تهیه شده و با کلروفرم استخراج گردید، و بعد از رطوبت زدایی به وسیله GC/MS مورد تحلیل و شناسایی قرار گرفت. از طرف دیگر عصاره های آبی و آلی به وسیله سوکسله تهیه شد، سپس عصاره های بدست آمده به وسیله ی روتاری حلال زدایی گردیده و جهت شناسایی ماده های از دست رفته به GC/MS تزریق شدند. گروه های مختلفی اعم از فلاونوئیدها، کاربورها، آلدئیدها، کتون ها، تریپنوئیدها و سایر ترکیبات فعال بیولوژیکی شناسایی شدند.

کلید واژه ها: مرزن جوش، نعناعیان، اسانس، عصاره، GC/MS.

* این پایان نامه مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد.

مقدمه

شود. البته فعالیت‌های آنتی اکسیدانی عصاره‌ها نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

خصوصیات مورفولوژیکی *Origanum Vulgar L*

گیاهی است پایا و چندساله که به حالت خودرو در نواحی خشک و مراتع آفتابی، سواحل دریاها، دامنه‌ی کوهستان‌ها و مکان‌های سنگی و نیز جنگل‌ها می‌روید. همچنین از گیاهان آروماتیک و معطر بوده و دارای ساقه‌ی مو دار یا کرک دار با بلندی ۳۰ تا ۹۰ سانتی‌متر، همچنین ساقه‌ی آن راست منشعب بوده و به رنگ سبز مایل به قرمز می‌باشد. برگ‌های آن تخم مرغی شکل یا بیضوی به رنگ سبز تیره و پوشیده از کرک در سطح تحتانی پهنک و در کناره‌های آزاد آن است. گل‌ها به صورت مجتمع یا خوشه‌ای به رنگ بنفش بوده و موسم گل خرداد تا مرداد ماه می‌باشد. میوه‌ی آن فندقی و چهار قسمتی، محصور در بقایای کاسه‌ی گل است، زمان برداشت سر شاخه‌ها در تیر و مرداد انجام می‌شود [۷-۹].

نام‌های گیاه

- لاتین: *Origanum Vulgare L.*
- انگلیسی: Wild marjoram
- آلمانی: Echter Dost, Willder Marjoran
- فرانسه: Origan, Marjolaine sauvage
- فارسی: مرزن جوش وحشی، آویشن کوهی، پونه‌ی کوهی
- عربی: فودنج جبلی، صعتر [۱۶-۱۰]

انتشار جغرافیایی *Origanum Vulgare L*

مرزن جوش^۳ معمولاً در سراسر آسیا، اروپا و شمال آفریقا دیده می‌شود [۱۷]. اگرچه بیش از ۷۵٪ از آن‌ها به شرق مدیترانه محدود شده‌اند [۱۸، ۱۹]. این جنس در ایران شامل یک گونه (*Origanum Vulgare*) و سه زیر گونه می‌باشد [۱۵، ۲۰]:

1. *Origanum Vulgare* Subsp. *Vulgare*
Syn: *O. Creticum L.*
2. *Origanum Vulgare* Subsp. *gracile* (C. Koch)
Letswaart.

گیاهان به عنوان ترکیبات طبیعی^۱ شناخته شده‌اند [۱]. امروزه اصطلاح ترکیبات طبیعی به صورت متداول برای اشاره به گیاهان، معجون‌های گیاهی، مکمل‌های غذایی گیاهی، داروهای سنتی و به طور کلی طب سنتی استفاده می‌شود [۲]. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی^۲ امروزه بیش از ۸۰٪ مردم جهان برای درمان بیماری‌ها هنوز از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند [۳]. تقریباً یک چهارم داروهای تهیه شده‌ی دنیا دارای منشاء گیاهی هستند که یا مستقیماً از گیاهان عصاره‌گیری شده‌اند یا بر اساس ترکیب‌های گیاهی سنتز شده‌اند. فلات وسیع ایران از تنوع اقلیمی، اکولوژیکی و جغرافیایی گوناگون برخوردار است و بیش از ۷۵۰۰ گونه‌ی گیاهی مختص به ایران است که از این تعداد حدود ۲۲ درصد انحصاری ایران هستند و تعداد ۱۷۲۷ گونه‌ی گیاهی بومی در کشور شناسایی شده است [۴]. در واقع ایران یکی از منابع دارو خیز جهان محسوب می‌شود و به دلیل شرایط آب و هوایی، موقعیت جغرافیایی و زمینه‌ی رشد گیاهان دارویی از جمله غنی‌ترین مناطق جهان به شمار می‌آید [۵]. از آنجا که گیاهان آروماتیک منابع بسیار عالی از مواد مؤثره و ترکیبات بیواکتیو هستند [۶] و علیرغم تنوع گیاهان دارویی در کشور ما، مطالعات فیتوشیمیایی انجام شده بر روی این گیاهان بسیار محدود می‌باشد. بنابراین با عنایت به اهمیت ترکیبات طبیعی مؤثر بر بیماری‌های مختلف و توسعه و تولید داروهای جدید، شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در منابع طبیعی از جمله گیاهان، حائز اهمیت است. در این پژوهش شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس، عرق و جوشانده‌ی *Origanum vulgare L* مورد بررسی قرار خواهد گرفت و از آن جایی که یکی از ایرادهای بزرگ روش‌های عصاره‌گیری از دست رفتن اکثر مواد ترپنوییدی می‌باشد، تلاش بر این خواهد بود که در روش‌های سنتی و مدرن عصاره‌گیری از گونه‌ی *Origanum vulgare L* مواد از دست رفته شناسایی شوند تا بهترین روش عصاره‌گیری صنعتی مشخص

۱ - Natural Compounds

۲ - WHO

۳ - Origano

نمونه‌های گیاهی پس از خشک شدن جهت اسانس گیری آماده شد. روشی که برای تهیه اسانس در این پژوهش بکار گرفته شد، اسانس گیری به روش تقطیر با آب، با استفاده از دستگاه کلونجر بود.

ابتدا حدود ۱۰۰ گرم از گیاه مزبور (اندام‌های هوایی شامل: ساقه - برگ - گل) را بعد از وزن کردن داخل ظرف آلومینیومی قرار داده و بر روی آن ۲۵۰ سی سی نیتروژن مایع اضافه شد (جهت تخریب دیواره‌ی سلولی گیاه). بعد از گذشت نیم ساعت گیاه در داخل بالن دو لیتری ته گرد به همراه آب مقطر^۴ قرار داده شد. بالن بر روی هیتر حرارتی گذاشته شده و درجه‌ی حرارت آن تنظیم گردید، از طرف دیگر سر بالن به دستگاه کلونجر متصل شد. با گرم شدن دستگاه، اسانس موجود در گیاه همراه با بخار آب تبخیر شده و به لوله‌ی سرد کننده می‌رسد. در اثر سرد شدن با آب جاری در مبرد، بخار آب و اسانس به حالت مایع در می‌آیند و چون آب دارای دانسیته‌ی بیشتری است دوباره به بالن وارد می‌شود، اما اسانس به علت سبک و نامحلول بودن در بالای لوله می‌ماند. بدین ترتیب به مدت چهار ساعت اسانس گیری انجام پذیرفت. اسانس حاصل پس از جداسازی از سطح آب توسط سدیم سولفات بی آب، رطوبت زدایی شد و با کمک حلال هگزان تمام اسانس استخراج گردید. برای شناسایی ترکیبات موجود در نمونه اسانس محلول در هگزان از دستگاه GC-MS استفاده شد.

تهیه عرق

عرق گونه‌ی گیاهی به طور مجزا طی عمل اسانس گیری (شرح داده شده در قسمت تهیه اسانس) بدست آمد. در واقع آب جمع شده در قسمت پایین دستگاه کلونجر همان عرق گیاه می‌باشد، که ۱۰ میلی لیتر از آن به لوله‌ی آزمایش سرریز شده و یک سوم حجم عرق حلال کلروفرم به آن افزوده گردید و به مدت یک دقیقه به شدت هم زده شد، در نهایت استخراج عرق با کمک حلال کلروفرم انجام گرفت و با سدیم سولفات بی آب آبگیری شد. نمونه‌ی عرق استخراج

Syn.: *O. tyttantum* Gontsch.
3. *Origanum Vulgare* Subsp. *Viride* (Boiss.) Hayek.
Syn.: *O. heracleoticum* L.

خواص درمانی گیاه

در طب سنتی به عنوان مقوی و نیروبخش، آرام‌بخش، ضد عفونی کننده، ضد درد، ضد انقباض و تشنج، خلط‌آور، التیام دهنده‌های زخم‌ها استفاده می‌شود. علاوه بر آن دارای خواص ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد اکسیدانی و سیتوتوکسیک نیز می‌باشد [۲۱، ۱۸]. از موارد درمانی دیگر این گیاه می‌توان به استفاده از آن در درمان سرماخوردگی و بیماری‌های گوارشی (معهده و روده) و درمان مشکلات تنفسی، سوءهاضمه، آرتريت روماتوئید و اختلالات دستگاه ادراری اشاره کرد [۱۷، ۲۲، ۲۳].

کاربردهای گیاه

در یک طیف گسترده در صنایع غذایی، صنایع داروسازی، و همچنین لوازم آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد [۲۶-۲۴]. در صنایع غذایی به عنوان چاشنی، ادویه و نیز معطر کردن غذاها: [۳۰-۲۷، ۱۸]، خصوصاً غذاهای دریایی و مدیترانه‌ای [۳۱] به کار برده می‌شود. در صنعت صابون‌سازی [۳۳، ۳۲] جهت معطر کردن و در فرآورده‌های آرایشی به دلیل مهار اکسیداسیون لیپید در سرتاسر جهان استفاده می‌شود [۳۴، ۱۸].

بخش تجربی

تهیه نمونه‌ی گیاهی

گیاه *Origanum Vulgare* L در تیرماه سال ۱۳۹۲ از جنگل‌های ارسباران در شمال استان آذربایجان شرقی، در کوه‌های آینالو (قلب منطقه حفاظت شده ارسباران) جمع آوری و با نمونه هرباریومی آن مورد تطبیق قرار گرفته و شناسایی شد.

تهیه پودر گیاهی

ابتدا اندام‌های هوایی گیاه در هوای آزاد، دور از نور خورشید و در سایه، خشک شده و سپس به وسیله‌ی آسیاب برقی به پودر بسیار ریز تبدیل گردید. پودر حاصل از این مرحله بسیار سبک بوده و به عبارتی دارای دانسیته‌ی پایین می‌باشد.

تهیه اسانس

۴- آب مقطر بدون املاح است و تحت اثر حرارت روی اسانس تاثیر نمی‌گذارد.

تهیه عصاره به روش خیساندن^۶

عصاره گیری گیاه *Origanum vulgare* L با استفاده از روش خیساندن با اتانول ۷۰٪ به مدت ۳ شبانه روز و در دمای اتاق انجام گرفت. سپس عصاره‌ی اتانولی از کاغذ صافی گذرانده شده و توسط دستگاه تبخیر کننده دوار در فشار پایین و در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد حلال زدایی گردید. در این مرحله نیز ۲۰ قطره‌ی اولیه حلال پرانی عصاره‌ی اتانولی جهت شناسایی مواد هدر رفته به دستگاه GC-MS تزریق گردید.

مشخصات دستگاه GC-MS

از ستون BD₅ با گرادیان دما از ۶۰ درجه سانتی گراد به ۲۶۰ درجه سانتی گراد و با نسبت Split-Splitless یک به سه و گاز حامل هلیوم با سرعت ۱ میلی لیتر بر دقیقه و حجم تزریق نمونه ۱ میکرو لیتر استفاده شد، خلوص گاز هلیوم ۹۹/۹۹ بوده است. تزریق اسانس، عرق و جوشانده‌ی نمونه‌های گونه‌ی گیاهی *Origanum Vulgare* L به دستگاه GC-MS در شرایط زیر طبق جدول (۱) انجام گرفت.

شده برای گیاه جهت شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن‌ها به دستگاه GC-MS تزریق گردید.

تهیه جوشانده

جوشانده (عصاره آبی) بدست آمده از مراحل اسانس گیری و عرق گیری را از کاغذ صافی گذرانده و حلال هگزان و پترولیوم اتر جهت حذف چربی و رنگدانه‌های موجود در عصاره به آن افزوده گردید. در مرحله‌ی بعد حلال هگزان و پترولیوم دور ریخته شده و حلال کلروفرم به عصاره اضافه شد و عمل استخراج جوشانده انجام پذیرفت. نمونه‌ی جوشانده‌ی استخراج شده توسط سدیم سولفات خشک رطوبت زدایی شده و آماده‌ی تزریق به دستگاه GC-MS شد، تا عمل شناسایی ترکیبات برای جوشانده‌ی گیاه مورد مطالعه نیز انجام شود.

تهیه‌ی عصاره به روش سوکسله

مقدار ۲۰۰ گرم از پودر گیاه *Origanum vulgare* L را وزن کرده، در داخل کاغذ صافی ریخته شد، به طوری که گیاه پودر شده راه خروج به بیرون از کاغذ صافی را نداشت و در داخل مخزن دستگاه سوکسله قرار داده شد و به ترتیب با حلال‌های n - هگزان، کلروفرم و متانول (از هر کدام ۲۵۰۰ میلی لیتر) عصاره گیری انجام شد. بدین ترتیب که بعد از قرار دادن نمونه در مخزن سوکسله، حلال مورد نظر در بالن ریخته شد از چند عدد سنگ جوش برای جلوگیری از سررفتن احتمالی استفاده شد. در اثر حرارت حلال بخار شده و روی نمونه ریخته شد زمانی که مخزن سوکسله پر شد از طریق سیفون نازک شیشه‌ای دوباره به بالن برگشته و بدین ترتیب چرخه تا زمان بی رنگ شدن حلال خروجی ادامه یافت. حدود ۲۴ ساعت چرخه‌ی سوکسله انجام پذیرفت. پس از آن عصاره‌ها به وسیله‌ی دستگاه تبخیر کننده‌ی دوار (روتاری)^۵ در فشار پایین و در دمای ۴۰-۵۰ درجه سانتی گراد حلال زدایی گردیدند. از ۲۰ الی ۳۰ قطره اول مرحله حلال زدایی عصاره‌های هگزانی، کلروفرمی و متانولی برداشته شد و جهت شناسایی مواد تلف شده به دستگاه GC-MS تزریق گردیدند.

مدت ۲ دقیقه به شدت به به وسیله دستگاه شیکر^۷ تکان داده شد. لوله آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه کنار گذاشته شد و بعد از گذشت این مدت ظاهر کف مورد بررسی قرار گرفت. وجود کف پایدار در سطح نمونه‌ی تهیه شده به معنی وجود ساپونین می‌باشد که به دلیل خاصیت صابونی بودن ساپونین است.

تست تانن

۱۰ میلی گرم از نمونه‌های گیاهی درون ۱۰ میلی لیتر آب ریخته شد. به دلیل حلالیت تانن‌ها در آب به سهولت می‌توان آن را بدین روش استخراج نمود. روی عصاره‌ی صاف شده، محلول کلروفریک: (5% FeCl₃) اضافه گردید. در صورت وجود تانن‌ها، رسوب سیاه رنگی تشکیل خواهد شد. چون تانن‌های گیاهی به صورت پلی فنل هستند، از این رو با یون آهن کمپلکس نامحلولی تشکیل می‌دهند. به دلیل شیفته آهن و هیدروژن، طول موج جذبی نیز تغییر خواهد کرد.

نتیجه گیری

نتیجه گیری کلی از تحقیقات انجام گرفته در این پژوهش به شرح ذیل بیان می‌گردد:

۱- بازده اسانس حاصل از بخش‌های هوایی گیاه *Origanum Vulgare L* یک درصد (۱٪) به دست آمد و در مجموع ۱۸ ترکیب شناخته شده که ۸۹/۴۹ درصد از اجزای اسانس را تشکیل می‌دهد، شناسایی شد. با توجه به ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، مونوترپن‌ها به عنوان غالب‌ترین ترکیبات می‌باشند، البته مقادیر سزکویی‌ترین‌ها نیز قابل توجهند. فهرست کامل ترکیبات تشکیل دهنده اسانس *Origanum Vulgare L* همراه با شاخص بازداری و درصد ترکیبات در جدول (۲) آورده شده است. همچنین ترکیبات اصلی اسانس این گونه در جدول (۲) مشخص شده است.

جدول ۱- شرایط GC/MS برای تزریق اسانس، عرق و جوشانده

Rate (°C/min)	Value (°C)	Hold Time (min)
	۶۰	۰
۴	۱۴۰	۳
۲۰	۲۶۰	۲

Termal Aux : 280
Solvent delay : 3 min
Post time : 5 min

شناسایی ترکیبات اسانس - عرق و جوشانده

شناسایی نهایی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس - عرق و جوشانده‌ی نمونه‌های گیاهی و تعیین ساختمان آن‌ها با استفاده از پارامترهای مختلفی مانند اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی رایانه‌ی دستگاه GC-MS، شاخص بازداری، مطالعه‌ی طیف‌های جرمی و مقایسه‌ی آن‌ها با ترکیبات استاندارد و ثابت اندیس کوتاه‌های موجود از این ترکیبات در منابع و کتب مرجع گزارش شده صورت گرفت.

تست فلاونوئید

حضور فلاونوئیدها را می‌توان به کمک تست سیانیدین تشخیص داد. اساس این تست بر مجاور نمودن عصاره‌ی الکلی نمونه گیاهی با منیزیم و اسید کلریدریک غلیظ استوار می‌باشد. جهت انجام این تست، ۱۰ میلی گرم از عصاره‌ی مورد نظر در ۴-۲ میلی لیتر متانول ۵۰٪ حل شده و پس از تقسیم عصاره‌ها به دو بخش، به هر یک از عصاره‌ها، یک میلی لیتر اسید کلریدریک غلیظ (37% HCl) اضافه گردید. به منظور تشخیص فلاونوئیدها در نمونه‌ها، به یکی از عصاره‌ها نوار منیزیم اضافه شد. ظهور رنگ قرمز در این بشر، حاکی از وجود فلاونوئیدها است. بشر دیگر به عنوان شاهد می‌باشد. زیرا: ممکن است تغییر رنگ تدریجی و غیر محسوس باشد.

تست ساپونین

وجود ساپونین را در عصاره‌های گیاهی، معمولاً با انجام تست کف پایدار، مورد بررسی قرار می‌دهند. برای انجام این آزمایش، ۱۰ میلی گرم از عصاره‌ی مورد نظر، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه کرده و در داخل لوله آزمایش درب بسته، به

جدول ۳- ترکیبات شناسایی شده از عرق Origanum Vulgare L

ردیف	ترکیب	(min) شاخص بازداری	(%) درصد ترکیب
۱	2-Hexene-1-ol	۳/۲۷۹	۹/۵۱
۲	Benzaldehyde	۵/۳۰۴	۲/۸۶
۳	Sabinene hydrate	۶/۹۸۴	۳/۹۲
۴	Diosgenin dehydro	۷/۰۷۷	۴/۴۷
۵	Tripropargylamine	۸/۷۰۸	۳/۶۱
۶	Trans-Ocimene	۹/۰۰۶	۱۲/۰۷
۷	Limonene	۱۱/۸۷۶	۳۵/۴۸
۸	2-Methyl-4,5-Dihydrofuran	۱۲/۱۳۲	۳/۳۵
۹	Phenol,2-methyl-5-(1-methylethyl)	۱۵/۱۲۱	۳/۶۳
۱۰	Phendimetrazine	۱۸/۵۲۶	۴/۰۲
۱۱	Gamma-Stearolactone	۲۸/۴۰۸	۲/۱۸

۳- در جوشانده‌ی گیاه Origanum Vulgare L بیست ترکیب شناخته شده مشخص گردید، که در مجموع ۷۰/۶۸ درصد از کل جوشانده را تشکیل می‌دهد. از ماده‌های مهم شناسایی شده برای جوشانده‌ی گیاه مورد مطالعه که از ترکیب‌های دارویی محسوب می‌شوند، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

1,1,3-Trimethyl-3-phenylidane و 4, 4'-di-tert-butyl biphenyl 4H-Benzo[def]Carbazole و 5-Methyl-2-phenylindolizine 1-t-butyl-4-(adamantly-1) benzene و 5-Amino-2-methyl-2-phenyl-2,3-dihydro[1,2,4]triazolo[1,5-a][1,3,5]triazine

فهرست ترکیبات تشکیل دهنده‌ی جوشانده‌ی این گونه‌ی گیاهی به همراه شاخص بازداری و درصد ترکیبات تشکیل دهنده‌ی آن در جدول (۴) آورده شده است. ترکیبات غنی جوشانده‌ی این گونه در جدول (۴) مشخص شده است.

جدول ۴- ترکیبات شناسایی شده از جوشانده‌ی Origanum Vulgare

ردیف	ترکیب	شاخص (min)	درصد ترکیب (%)
۱	n-Dodecane	۷/۱۵۱	۲/۳۲
۲	Ethanone, 1-(2,2-dimethylcycopentyl)	۷/۳۶۴	۳/۹۲
۳	Tetradecane	۱۰/۳۷۶	۲/۵۹
۴	4H-Benzo[d,f]carbazole	۱۲/۴۹۳	۱/۱۶
۵	Hexadecane	۱۳/۴۲۲	۴/۹۵

جدول ۲- ترکیبات شناسایی شده از اسانس Origanum Vulgare L

ردیف	ترکیب	(min) شاخص بازداری	(%) درصد ترکیب
۱	α -Pinene	۴/۶۰۰	۲۷/۳۹
۲	Thujene	۵/۴۷۷	۱/۱۰
۳	β -Pinene	۵/۵۶۹	۲/۴۵
۴	β -Myrcene	۵/۸۶۱	۷/۵۷
۵	Tricyclene	۶/۳۸۴	۲/۸۲
۶	Sabinene	۶/۸۸۶	۱۳/۵۱
۷	β -Ocimene	۷/۰۹۵	۱/۹۴
۸	Delt-3-Carene	۸/۹۱۱	۳/۳۰
۹	Bicyclo[3,1,1]hept-2-ene-2,6,6-trimethyl	۱۱/۷۹۱	۳/۸۵
۱۰	Limonene	۱۳/۸۳۶	۱/۶۲
۱۱	Trans-9,10-dihydrocapsenone	۱۵/۰۵۴	۱/۴۰
۱۲	M-Mentha-6,8-diene	۱۶/۸۹۹	۲/۲۳
۱۳	Alfa-Copanene	۱۷/۷۴۳	۵/۰۷
۱۴	Trans-Alfa-Bergamotene	۱۹/۵۹۳	۱/۴۷
۱۵	Beta-Farnecene	۲۰/۲۳۸	۱/۷۸
۱۶	Clovene	۲۱/۰۵۰	۴/۲۹
۱۷	Delta-Cadinene	۲۲/۶۱۳	۵/۹۲
۱۸	Hexadecanoic Acid	۲۸/۱۶۰	۱/۷۸

۲- در عرق استخراج شده از Origanum Vulgare L یازده ترکیب شناخته شده مشخص گردید، که در مجموع ۸۵/۱۰ درصد از کل عرق را تشکیل می‌دهد. همچنین ترکیب دارویی Phendimetrazine که به عنوان داروی ضد چاقی کاربرد دارد، در عرق این گونه حائز اهمیت است.

فهرست کامل ترکیبات تشکیل دهنده‌ی عرق این گیاه همراه با زمان بازداری و درصد ترکیبات در جدول (۳) آورده شده است. همچنین، ترکیبات غنی عرق این گیاه در جدول (۳) مشخص شده است.

منابع

- 1- Schoental, R., 1965, Toxicology of natural products, Food Cosmetics Toxicol., 620-609,(4) 3, 1965.
- 2-] Holt, G. A., Chandra, A., Herbs in the modern healthcare environment – An overview of uses, legalities, and the role of the healthcare professional, Clin. Res. Regulatory Affairs (USA), 19, 83-107, 2002.
- 3- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo, Z., Medicinal plants in therapy, Bull WHO, 63, 965- 981, 2005.
- 4- Asareh, M. H., Plants Biodiversity of Iran, Research Institute of Forests and Rangelands, Iran, pp, 134 – 6, 2005.
- 5- Zargari, A., Medicinal plants 6 thed, Tehran university, 200- 5, 1999.
- 6- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saravia, J. A., Nunes, M. L., Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil, J. Sci. Food. Agric., 93, 2707- 2714, 2013.
- 7- Zargari, A., Iranian Medicinal Plants, Tehran University Press, Tehran, Vol. 4, pp, 51- 9, 1987.
- 8- LaGow, B., (chief ed.), PDR for herbal Medicine. Third edition, Thomson PDR, USA, pp, 808- 9, 609- 10, 2004.
- 9- Josifovic, M., Stjepanovic, L., Jankovic, M. M., Gajic, M., Kojic, M., Diklic, N., Flora of SR Serbia (in serbian), SANU, 6, 474-475, 1974.
- 10- Leung, A. Y., Foster, S., Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 364-99, 1996.
- 11- Basker, D., Putievsky, E., Seasonal variation in the yield of herb and essential oil in some labiatae species, J. Horticultural Sci, 53(3) , 179-83, 1976.
- 12- Fleisher, A., Sneer, N., Oregano Spices and Origanum Chemotypes, J. Sci Food Agric, 33, 441-6, 1982.
- 13- Chiej, R., The Macdonald Encyclopedia of Medicinal Plants, London: Macdonald & Co Ltd., 213,1984.
- 14- Irma, N., High resolution Gas Chromatographic – mass spectrometric determination of the flavour composition of wild marjoram (*Origanum Vulgare L.*) cultivated in Finland, Z. Lebensm Unters Forsch, 183, 267-272, 1986.
- 15- Rechinger, K. H., Labiatae, In: Rechinger K. H. (ed), Flora Iranica, Graz: Akademische Druk – u, Verlagsanstalt, 527-32,1986.
- 16- Afsharypuor, S., Sajjadi, S. E., Erfan- Manesh, M., Volatile Constituents of *Origanum Vulgare ssp. Viride* (Syn. *O. heracleoticum*) from Iran, Planta Med, 63, 179-80, 1997.
- 17- Gruenwald, J., Brendler, T. and Jaenicke, C., PDR for Herbal Medicines, Medical Economic Co. Inc., Montvale, NJ, 2000.
- 18- Padulois, S., Oregano. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, Valenzano (Bari), Italy; IPGRI: Rome, Italy, 1997.
- 19- Greuter, W., Burdet, H. M., Long, G., Medical Checklist, In Editions de Conservatoire de Jardin Botaniques de la Vile de Geneve, vol. 3, 1986.
- 20- Mozaffarian, V., A dictionary of Iranian plant names, Farhang Moaser Publication, 671 pages, (In Farsi) , 1995.
- 21- Perrot, E. and Paris, R., Les Plantes Medicinales, Presses Universitaires de France, Vol. 2, p. 166, 1971.
- 22- Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T., & Yankova, T., Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants, J. Ethno-pharmacology, 96, 145-150, 2005.
- 23- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek., M., Mete, E., Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene, Journal of Bioresource Technology, 99, 8788-8795, 2008.
- 24- Baricevic, D., Bartol, T., The biological/ pharmacological activity of the *Origanum* genus, In: Kintzios S. E., ed. *Oregano: the genera Origanum and Lippia*, London, New York: Taylor and Francis, 177-213, 2002.
- 25- Singletary, K., Oregano: overview of the literature on health benefits, Nutrition Today 45, 129-138, 2010.
- 26- Kuorwel, K. K., Cran, M. J., Sonneveld, k., Miltz, J., Bigger, S. W., Essential oils and their principal constituents as

۱/۰۷	۱۴/۰۱۸	3-Methyl-5-Diphenyl-dihydroFuran	۶
۱/۱۶	۱۴/۴۵۸	1,1,3-Trimethyl-3-phenylidane	۷
۰/۳۹	۱۴/۷۵۲	N-methyl-1-adamantaneacetamide	۸
۳/۷۵	۱۴/۹۳۲	Docosane	۹
۰/۹۵	۱۴/۹۹۰	5-Methyl-2-phonylindolizine	۱۰
۱/۳۱	۱۵/۲۱۷	1H-Indole,2-methyl-3-phenyl	۱۱
۳/۹۴	۱۵/۶۴۵	Pentadecanoic acid, 14-methyl , methyl ester	۱۲
۱/۱۱	۱۵/۸۲۱	n-Hexadecanoic acid	۱۳
۲/۱۲	۱۵/۸۹۰	Tricyclo[4.3.1.13,8] undecane-3-carboxylic acid , methyl ester	۱۴
۰/۷۰	۱۶/۶۱۲	Pyrrrolo[3,2-c]dibenzofuran	۱۵
۲۷/۷۲	۱۷/۰۷۳	5-Amino-2-methyl-2-phenyl-2,3-dihydro[1,2,4] trazolo[1,5-a][1,3,5] trazine	۱۶
۰/۶۳	۱۷/۴۶۳	4-Dehydroxy-N-(4,5-methylenedioxy-2-nitrobenzylidene)tyramine	۱۷
۱/۸۶	۱۷/۵۶۹	1-t-Butyl-4-(adamantyl-1) benzene	۱۸
۰/۳۲	۱۷/۹۵۹	Anthracene-9,10-dihydro-9,9,10-trimethyl	۱۹
۸۷۱	۱۸/۰۲۹	4, 4-di-tert-Butyl biphenyl	۲۰

۴- در شناسایی مواد هدر رفته‌ی عصاره‌های n-هگزانی، کلروفرمی، متانولی و هم چنین اتانولی گیاه *Origanum Vulgare L* که با دستگاه GC-MASS انجام پذیرفت، هیچ ماده‌ی از دست رفته‌ی شناسایی نگردید. به دلیل این که تمام ماده‌های موجود در داخل عصاره باقی مانده‌اند و هیچ یک از ترکیبات عصاره‌ها در حلال‌های خالص شده‌ی مورد استفاده نفوذ نکرده‌اند، این به علت اختلاف دمای بین عصاره گیری و نیز حلال پرانی توسط روتاری می‌باشد، بنابراین اختلاف درجه حرارت عامل اصلی می‌باشد.

۵- در شناسایی گروه‌های مختلف ترکیبات گیاهی نیز عصاره‌های n-هگزانی و کلروفرمی، به دلیل عدم تغییر رنگ (عدم ظهور رنگ قرمز)، عدم ایجاد کف پایدار و تشکیل نشدن رسوب سیاه رنگ به ترتیب فاقد فلانویید، ساپونین و تانن می‌باشند. در حالی که عصاره‌ی متانولی، به دلیل ظهور رنگ قرمز، ایجاد کف پایدار به ارتفاع سه سانتی متر و همچنین تشکیل رسوب سیاه رنگ حاوی فلانویید، ساپونین و تانن می‌باشد.

- antimicrobial agents for synthetic packaging films, *Journal of Food Science* 76, 164-177, 2012.
- 27- Valnet, J., Duraffourd, C., Lapraz, J. C., The aromagram: new results and an attempt at interpretation of 68 clinical cases, *Plant. Med. Phytother*, 12 (1) , 43-52, 1987.
- 28- Janssen, A. M., Chin, N. L., Scheffer, J. J. C., Baerheim Svendsen, A., Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique, *Statistics and correlation. Pharm. Weekbl. Sci. Ed.*, 8, 289-292, 1986.
- 29- Della, A., Paraskeva – Hadjichambi, D., Hadjichambis A. C.. An ethnobotanical survey of wild edible plants of Paphos and Larnaca countryside of Cyprus, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 34, 2006.
- 30- Neffati, A., Bouhlef , I., Ben Sghaier, M. & et al., Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27, 187-194, 2009.
- 31- Viuda – Martos, M., Navajas, Y. R., Zapata, E. S., Fernandez – lopez, I., & Perez – Alvarez, J. A., Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet, *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 13-19, 2009.
- 32- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oil, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 44, 1202-1205, 1996.
- 33- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I. B., Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species, *Journal of Agriculture Food Chemistry* , 49, 4168-4170, 2001.
- 34- Zargari, A., *Iranian Medicinal Plants*, Tehran University Press, Tehran, Vol. 4, pp, 51- 9, 1987.