

فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و بازده اسانس برخی جمعیت‌های آویشن کوهی و دناپی

Antioxidant Activity, Total Phenolics and Oil Content of Some *Thymus kotschyanus* and *Thymus daenensis* Populations

فاطمه خوش سخن^{۱*}، مصباح بابالار^۲، عباس پورمیدانی^۳ و محمدرضا فتاحی^۴

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۸/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۰۵

چکیده

گیاهان دارویی منابع ارزشمند آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از قبیل برخی ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی هستند و دارای پتانسیل بالا به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در کاهش استرس اکسیداتیو می‌باشند. لذا هدف از این تحقیق، بررسی و مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و میزان اسانس برخی جمعیت‌های آویشن کوهی و دناپی در شرایط زراعی می‌باشد. مطابق نتایج، میزان IC50 جمعیت‌های مختلف آویشن کوهی از $20/98 \mu\text{g/ml}$ تا $48/7 \mu\text{g/ml}$ و میزان ترکیبات فنلی از $42/6 \text{ mg GAEg}^{-1}$ تا $67/64 \text{ mg GAEg}^{-1}$ متغیر بودند. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی در گونه آویشن کوهی در جمعیت قزوین مشاهده شد. به‌طور کلی کمترین IC50 ($19/3 \mu\text{g/ml}$) و بیشترین ترکیبات فنلی ($107/6 \text{ mg GAEg}^{-1}$) در جمعیت خرم‌آباد ۱ از گیاه *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* مشاهده شد. همچنین برای صفت بازده اسانس بیشترین بازده اسانس در جمعیت مازندران ۱ ($2/5$) در گیاه آویشن کوهی و خرم‌آباد ۱ ($3/5$) از گونه *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* مشاهده شد. در بین جمعیت‌های مورد بررسی، گونه *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بالاترین درصد اسانس را در بین جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، عصاره متانولی، IC50

۱، ۲ و ۴. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. مربی پژوهشی، بخش تحقیقات مرتع، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قم، قم، ایران
*: نویسنده مسئول
Email: fatemehkhoshokhan@gmail.com

مقدمه

استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن‌واکنش‌گر عاملی مهم در ایجاد بیماری‌های مختلف می‌باشد. روشن است که تخریب اکسیداتیو حاصل از آن‌ها سبب پیشرفت و بروز بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان، آلزایمر، پارکینسون، التهاب، آترواسکلروز و... می‌شود (پارجو^۱ و همکاران، 2002؛ کی و هولوب^۲ 2002؛ مورتون^۳ و همکاران، 2000). مطالعات صورت گرفته روی برخی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آینزول، بوتیل هیدروکسی تولوئن و ترت بتا هیدروکسی کینون اثرات سوءتغذیه‌ای و سمی بودن آن‌ها را مشخص کرده است که عوارضی مانند صدمه به کبد و سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از خطرات ناشی از استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی است (یتو^۴ و همکاران، 1983)؛ بنابراین ما همواره نیاز به آنتی‌اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثربخشی بیشتر داریم. گیاهان دارویی منابع ارزشمند آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از قبیل برخی ترپنوئیدها و ترکیبات فنلی هستند به طوری که امروزه مورد توجه بسیاری از کشورهای پیشرفته جهان قرار گرفته و به عنوان مواد اولیه جهت تبدیل به داروهای بی‌خطر برای انسان تلقی می‌شوند. ایران یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به‌شمار می‌رود و دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع گیاهان می‌باشد (عظیم‌زاده^۵، 2009). گیاه آویشن متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae)، همانند دیگر جنس‌های این خانواده دارای ترکیبات بیولوژیک متعدد در اسانس و عصاره می‌باشد که امروزه در صنایع دارویی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در بسیاری از موارد ترکیبات فنولی موجود در اسانس و عصاره این گیاهان آثار تعیین‌کننده از خود بروز داده‌اند (پارجو و همکاران، 2002). جنس آویشن در دنیا شامل حدود ۲۵۰ گونه می‌باشد که ۱۴ گونه از این جنس در ایران پراکنش دارند و ۴ گونه از آن‌ها بومی هستند (مظفریان^۶، 1998).

دو گونه *T. daenensis* و *T. kotschyanus* Boiss. & Hohen بیشترین مصرف را به‌عنوان دارو، مواد طعم‌دهنده و چای گیاهی در میان گونه‌های آویشن ایران دارند (مین^۷، 1991؛ زرگری^۸، 1990). این گیاهان پایا و بوته‌ای

هستند که در مناطق نیمه‌خشک و سرد پراکنش دارد و در مناطق وسیعی از ایران از جمله ارتفاعات مناطق غربی، شمال غربی، مرکزی و جنوبی کشور رویش می‌یابد. گونه *T. daenensis* شامل دو زیر گونه *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* و *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* می‌باشد (رشینگر^۹، 1982) که در این مطالعه هر دو زیرگونه دنیایی مورد مطالعه قرار گرفت. به‌طور کلی اسانس آویشن در جهان به‌عنوان چاشنی معطرکننده غذا مورد استفاده زیادی پیدا کرده و همین‌طور در عطرها و صابون‌ها نیز به‌کار می‌رود و به‌دلیل اثرات ضد میکروبی، باکتریایی و ضداسپاسم برای مصارف دارویی استفاده می‌شود (میستر^{۱۰} و همکاران، 1999؛ اسوی و سورو^{۱۱}، 2000 و براسور^{۱۲}، 1983). همچنین اثرات ضد میکروبی روی ارگاناسم‌های فاسدکننده غذا موجب کاربرد وسیع‌تر این گیاه شده است (سمیت^{۱۳} و همکاران، 1998). تاکنون ۲۶ آنتی‌اکسیدان در عصاره این گیاه یافت شده است که تا ۶۴٪ از اکسیداسیون چربی‌ها ممانعت می‌کند (ناکاتانی^{۱۴}، 2000).

پورمحمدی^{۱۵} و همکاران (2011) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی سه گونه از آویشن از جمله گیاه آویشن کوهی منطقه گیلان را بررسی کردند؛ براساس یافته‌های آن‌ها ترکیبات فنلی ۵۳/۲ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره خشک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۰/۷۵ میلی‌مول ترولکس در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. در نتایج امیری^{۱۶} (2011) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی عصاره متانولی-آبی آویشن کوهی و دنیایی (*Thymus daenensis* subsp. *lancifolius*) منطقه لرستان بررسی شده که طی آن مقدار IC₅₀ ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر و ترکیبات فنلی ۱۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره برای گونه آویشن کوهی و در گونه دنیایی *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* مقدار IC₅₀ ۱۹/۱ μg/ml و میزان ترکیبات فنلی ۲۴۸ mg GAEg⁻¹ گزارش شده است.

باتوجه به پراکنش وسیع دو گونه آویشن کوهی و آویشن دنیایی در ایران و مطالعات اندک بر روی آن‌ها، بررسی و مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی امری ضروری است؛ بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و

9. Rechingger
10. Meister
11. Essawi and Srour
12. Bresseur
13. Smith
14. Nakatani
15. Pourmohamad
16. Amiri

1. Parejo
2. Kay and Holub
3. Morton
4. Ito
5. Azimzadeh
6. Mozaffarian
7. Amin
8. Zargari

در قسمت غربی استان و در بخش جعفرآباد با طول شرقی ۵۰° ۳۱' ۰۵" و عرض شمالی ۳۴° ۴۵' ۵۰" قرار گرفته است. ارتفاع منطقه از سطح دریا ۹۹۰ متر و اقلیم آن خشک بیابانی معتدل، بافت خاک رسی شنی با میانگین بارندگی سالانه ۱۸۰-۲۰۰ میلی‌متر و متوسط دمای سالانه ۱۶-۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در فصل گلدهی سرشاخه‌های گلدار ده جمعیت گیاه آویشن کوهی و سه جمعیت از گیاه آویشن دنیایی جمع‌آوری شدند و پس از شناسایی در آزمایشگاه دانشگاه تهران در سایه خشک شدند (جدول ۱).

میزان ترکیبات فنلی در جمعیت‌های مختلف این گیاه که در یک مکان مشترک کشت شده بودند صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

به‌منظور انجام این تحقیق بذور ده جمعیت از گیاه آویشن کوهی و سه جمعیت از آویشن دنیایی در سال ۱۳۸۵ در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در ایستگاه تحقیقاتی مهندس بدیعی واقع در ۳۰ کیلومتری شهرستان قم، در مجاورت شهر جعفریه و جاده قم - ساوه کشت شدند. ایستگاه

جدول ۱: رویشگاه جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه

Table 1: The geographic origins of investigated different populations

عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude from the sea (m)	ناحیه جمع‌آوری Areas of sample collection
37° 9	52° 49	1500	گیلان - سیاهکل Guilan-Siahkal
36° 49	49° 24	1800	گیلان - رودبار ۲ Guilan-Roudbar2
36° 27	50° 29	1800	قزوین - اوان Qazvin- Avan
36° 03	49° 42	1500	قزوین - تاکستان Qazvin-Takestan
36° 40	50° 00	2200	قزوین - الموت Qazvin- Alamut
36° 16	50° 02	1200	قزوین - قزوین Qazvin-Qazvin
35° 13	52° 19	1700	سمنان - سمنان Semnan-Semnan
37° 16	49° 36	2300	آذربایجان غربی - پیرانشهر Azarbaijan gharbi-Piranshahr
52° 55	36° 05	1300	مازندران ۱ Mazandaran1
52° 02	36° 02	1700	مازندران ۲ Mazandaran2
36° 46	49° 21	1700	گیلان رودبار ۱ Guilan-Roudbar1
48° 22	33° 29	1800	لرستان - خرم آباد ۱ Lorestan- Khoramabad1
48° 21	33° 30	1600	لرستان - خرم آباد ۲ Lorestan- Khoramabad2

شد و عصاره تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد (فرهوش^۱، ۲۰۰۷).

بازده اسانس

برای به‌دست آوردن درصد اسانس از روش تقطیر با آب استفاده شد. بدین‌منظور ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های گلدار از هر جمعیت با آسیاب خردشده و به روش تقطیر با آب با دستگاه کلونجر طبق فارماکوپه بریتانیا به مدت ۴ ساعت و در سه تکرار اسانس‌گیری شد و درصد اسانس نسبت به وزن خشک محاسبه شد (فارماکوپه بریتانیا^۲، ۱۹۸۸).

استخراج عصاره

به‌منظور استخراج عصاره، سرشاخه گلدار گیاهان مذکور با آسیاب پودر شدند و یک گرم از آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۲۰ میلی‌لیتر متانول قرار گرفتند. مخلوط حاصل با کاغذ صافی صاف شد و در انتها توسط دستگاه روتاری تغلیظ شد. عصاره حاصله در پلیت‌های شیشه‌ای به صورت لایه نازک پخش و در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد. با توزین پلیت‌ها (خالی و پس از خشک‌شدن عصاره) مقدار عصاره استحصالی و با تقسیم آن بر وزن نمونه بازده استخراج تعیین

1. Farhoosh
2. British pharmacopoeia

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از رادیکال آزاد DPPH (۲،۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل) استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی عصاره‌های گیاهی با غلظت ۱۰ الی ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر متانول تهیه شدند. سپس مخلوطی به‌نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (۸ mg/100) و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف تهیه شد. جذب نمونه‌ها پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه و تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر در سه تکرار خوانده شد (سان^۱ و همکاران، ۲۰۰۷؛ رای^۲ و همکاران، ۲۰۰۶ و اردموگلو^۳ و همکاران، ۲۰۰۶). درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از رابطه زیر به‌دست آمد:

$$\text{درصد بازداری} = \frac{A_{517}^{\text{Blank}} - A_{517}^{\text{Sample}}}{A_{517}^{\text{Blank}}} \times 100$$

در رابطه فوق A_{517}^{Blank} و A_{517}^{Sample} به‌ترتیب شدت نور جذب شده توسط شاهد و نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر می‌باشد. به‌منظور مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهوم IC50 استفاده شد. IC50 غلظتی از عصاره است که ۵۰٪ رادیکال آزاد را از بین می‌برد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

به ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو و ۰/۸ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۰/۷/۵) اضافه شد. در نهایت جذب همه نمونه‌ها پس از نگهداری به‌مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید (اسلینکارد و سینگلتون^۴، ۱۹۷۷). منحنی استاندارد براساس گالیک‌اسید رسم شد و میزان ترکیبات فنلی گیاه معادل میلی‌گرم گالیک‌اسید در یک گرم عصاره خشک مشخص گردید و در نهایت به‌منظور محاسبه مقایسه میانگین کلیه داده‌های حاصل از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

نتایج مقایسه میانگین بازده استخراج عصاره متانولی جمعیت‌های مختلف آویشن کوهی و دناپی در نمودار ۱ نشان داده شده است. همان‌طورکه مشخص است بازده استخراج در گونه آویشن کوهی در محدوده ۱۵٪-۱۰٪ متغیر است و بیشترین بازده برای جمعیت مازندران ۲ و کمترین بازده را

جمعیت‌های پیرانشهر و اوان به خود اختصاص دادند. هر سه جمعیت گونه آویشن دناپی در مقایسه با جمعیت‌های آویشن کوهی بازده استخراج بیشتری را نشان دادند و بالاترین بازده استخراج عصاره از زیر گونه دناپی (*Thymus daenensis* subsp. *daenensis*) با بازده استخراج ۱۷٪ بود.

مقایسه میانگین بازده متوسط تولید اسانس توسط سرشاخه‌های گلدار گیاه آویشن کوهی و آویشن دناپی در سه تکرار در نمودار ۲ نشان داده شده است. بیشترین مقدار اسانس در گیاه آویشن کوهی مربوط به نمونه مازندران ۲ (۲/۵٪) و کمترین بازده اسانس از نمونه اوان (۰/۷۳٪) و الموت (۰/۱۰۹٪) (استان قزوین) بود. به‌طورکلی جمعیت‌های مربوط به استان قزوین و گیلان نسبت به سایر جمعیت‌ها بازده اسانس کمتری را نشان داد. در گونه آویشن دناپی بازده اسانس در زیرگونه *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* از تمام جمعیت‌های مورد مطالعه با بازده اسانس ۳/۵٪ بیشتر بود.

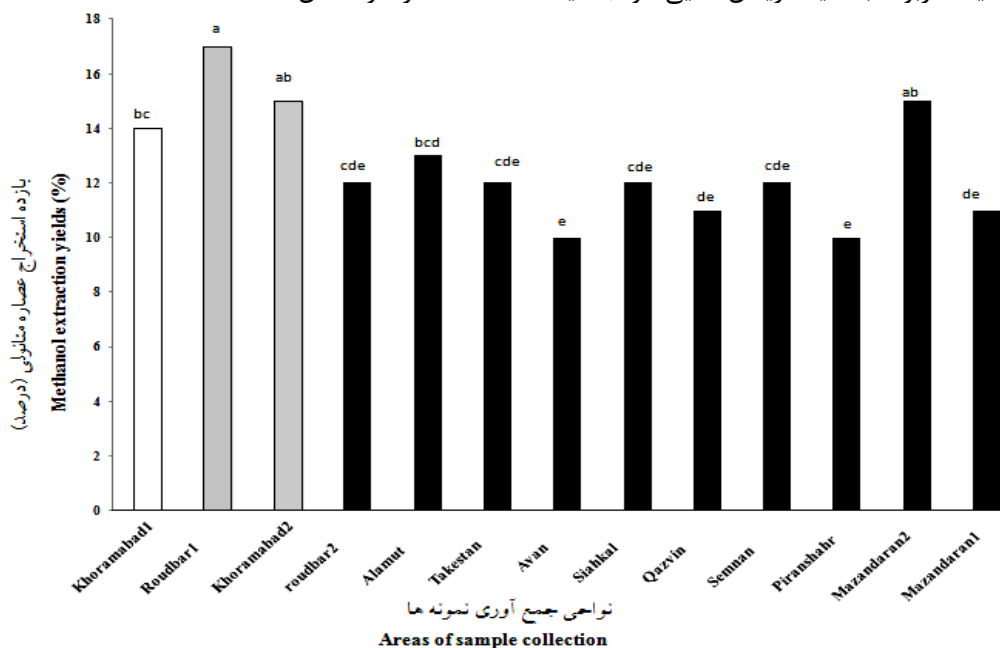
در نمودار (۳A) میزان IC50 عصاره‌های متانولی مورد بررسی را نشان می‌دهد. در گونه آویشن کوهی کمترین IC50 مربوط به جمعیت قزوین (۲۰/۹۸ μg/ml) و بیشترین IC50 مربوط به جمعیت مازندران ۱ (۴۸/۷ μg/ml) است. ترکیب BHT که یک آنتی‌اکسیدان پرکاربرد در صنایع غذایی می‌باشد ۷ μg/ml مشاهده شد اگرچه توانایی این ترکیب در مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۵۰ μg/ml با ۸۰٪ بازدارندگی از جمعیت‌های مازندران ۲، رودبار ۱، سیاهکل و قزوین کمتر است (نمودار ۴). میزان IC50 در گونه آویشن دناپی در دو جمعیت رودبار ۱ (۲۰/۲ μg/ml) و خرم‌آباد ۱ (۱۹/۳ μg/ml) نتایج بسیار مطلوبی را نشان داد. در نمودار (۳B) میزان فنل تام جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. کمترین میزان ترکیبات فنلی در گونه آویشن کوهی در جمعیت مازندران ۱ با ۴۲/۶ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره خشک تا ۶۷/۶۴ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره خشک در جمعیت قزوین متغیر است همچنین در گیاه آویشن دناپی نمونه خرم‌آباد ۱ با ۱۰۷/۶ mg GAEg⁻¹ بالاترین میزان فنل در بین تمام جمعیت‌های مطالعه شده در این تحقیق را نشان داد.

توانایی عصاره متانولی جمعیت‌های مختلف دو گونه آویشن کوهی و آویشن دناپی در مهار رادیکال آزاد DPPH در نمودار ۴ نشان داده شده است. همان‌طورکه مشخص است با افزایش غلظت عصاره، قابلیت به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد نیز افزایش می‌یابد. با توجه به آزمایشات ابتدایی غلظت‌های ۵۰-۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

1. Sun
2. Rai
3. Erdemoglu
4. Slinkard and Singleton

رودبار ۱ و خرم‌آباد ۱ فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار مناسبی را نشان دادند به طوری که در غلظت $50 \mu\text{g/ml}$ قدرت بازدارندگی 88% از خود نشان دادند.

انتخاب شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آویشن کوهی از کمترین غلظت تا بیشترین غلظت به ترتیب $38/3\%$ تا $38/9\%$ بود. در سه جمعیت مربوط به گیاه آویشن دنیایی دو جمعیت



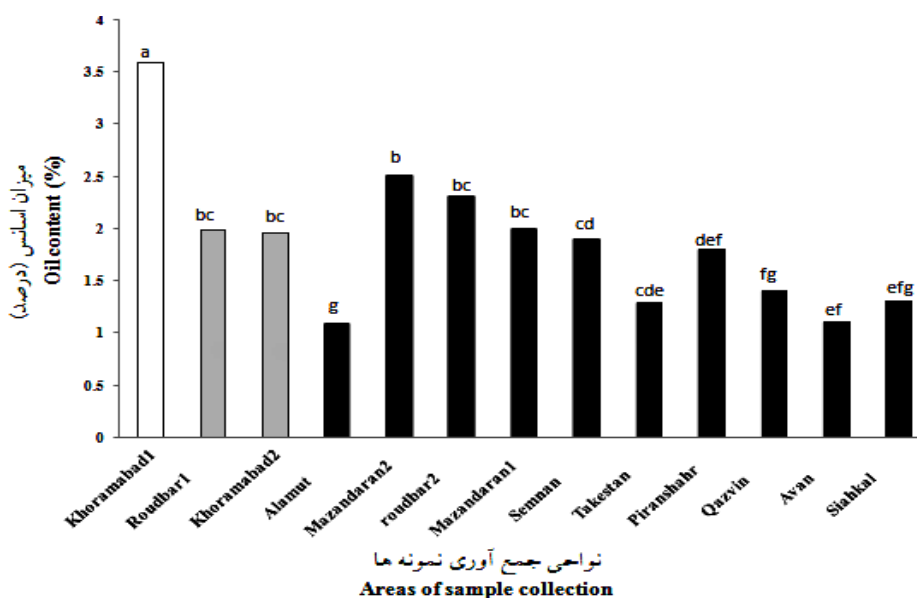
Thymus daenensis subsp. lancifolius ■ *Thymus daenensis subsp. daenensis* □ *Thymus kotschyanus* ■

نمودار ۱: مقایسه بازده استخراج عصاره متانولی جمعیت‌های مختلف

Fig. 1: Comparison of methanol extraction yields among different populations

*حروف مشابه بالای ستون‌ها از نظر آماری در سطح احتمال 5% با هم تفاوت معنی‌داری ندارند

*Similar letter over the columns are not significantly different at the level of 5%



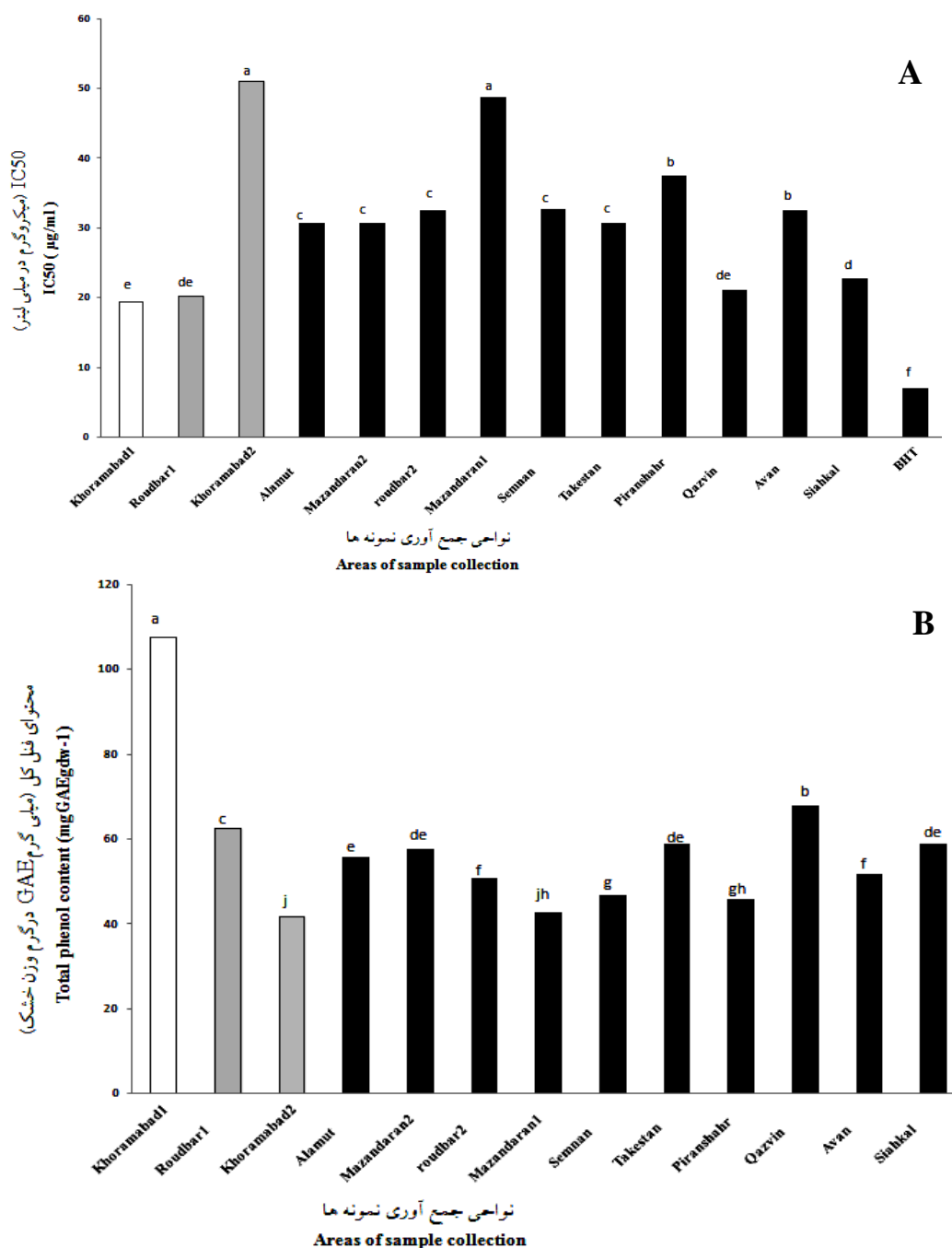
Thymus daenensis subsp. lancifolius ■ *Thymus daenensis subsp. daenensis* □ *Thymus kotschyanus* ■

نمودار ۲: مقایسه بازده اسانس جمعیت‌های مختلف

Fig. 2: Comparison of oil content among different populations

*حروف مشابه بالای ستون‌ها از نظر آماری در سطح احتمال 5% با هم تفاوت معنی‌داری ندارند

* Similar letter over the columns are not significantly different at the level of 5%



Thymus daenensis subsp. *lancifolius* ■ *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* □ *Thymus kotschyanus* ■

نمودار ۳: (A) مقدار IC50 و (B) میزان فنول در جمعیت‌های مختلف

Fig. 3: (A) IC50 and (B) phenolic content in different populations

*حروف مشابه بالای ستون‌ها از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ با هم تفاوت معنی‌داری ندارند

*Similar letter over the columns are not significantly different at the level of 5%

بحث

فنلی که به‌صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شود و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی تا اسانس آن‌ها قابل استخراج است (امیری، 2011). از آن‌جا که متانول و یا مخلوط آن با آب از کارآترین حلال‌ها برای استخراج ترکیبات پلی‌فنلی است (سنگول^۱ و

در این مطالعه بازده اسانس، میزان ترکیبات فنلی و قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره متانولی برخی جمعیت‌های آویشن کوهی و دناهی ارزیابی گردید. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که در بیشتر گیاهان از جمله آویشن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره از اسانس بیشتر است چرا که ترکیبات

1. Sengul

سمنان، قزوین، پیرانشهر، الموت و رودبار از گونه آویشن کوهی تیره‌ترین رنگ اسانس را نشان دادند و به رنگ زرد مایل به نارنجی مشاهده شد. ولی در گونه دناپی رنگ اسانس هر سه جمعیت زرد کم‌رنگ بود که با نتایج امیری (2011) مبنی بر تفاوت رنگ میان دو گونه آویشن کوهی و دناپی مطابقت دارد.

در نتایج حاصل از تحقیقات امیری (2011) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن کوهی مقدار IC50 را ۱۲۸ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شده است که این میزان IC50 از تمام جمعیت‌های مورد مطالعه بیشتر است. علت این اختلاف را می‌توان به عوامل مختلفی چون تفاوت شرایط آب‌وهوایی، خاک، ارتفاع، روش استخراج، نوع حلال و... نسبت داد از طرفی نتایج مطلوب حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای گونه *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* در این تحقیق و یافته‌های مشابه (امیری، 2011) اهمیت این گیاه با ارزش و اندمیک ایران را بیش از پیش مشخص می‌سازد. ترکیبات فنلی موجود در منابع طبیعی عمده‌ترین ترکیباتی هستند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند و به‌صورت مؤثری به‌عنوان دهنده هیدروژن عمل می‌کند. دو ترکیب تیمول و کارواکرول از ترکیبات فنلی مهم این گیاه می‌باشد که مهم‌ترین دلایل فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای این گیاه را می‌توان در وجود این دو ترکیب در عصاره متانولی ذکر کرد (امیری، 2011). نتایج مربوط به میزان فنل کل عصاره‌ها (نمودار ۳B) نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آویشن کوهی و دناپی رابطه مستقیمی با میزان فنل آن دارد و می‌توان گفت فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه مربوط به وجود ترکیبات فنلی موجود در آن است که مشابه همین یافته در گیاهانی چون نعناع، بومادران، درمنه و برخی گونه‌های آویشن تاییدی در این مطلب است که ترکیبات فنلی به‌عنوان دهنده الکترون عمل می‌کنند و از ایجاد واکنش‌های اکسیداتیو توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند (جمشیدی^۶ و همکاران، 2010؛ میرزایی^۷ و همکاران، 2010؛ امیری، 2011).

همان‌طور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) که کاربرد وسیعی در صنایع غذایی و بهداشتی دارد مقایسه شده است. میزان IC50 ترکیب BHT (۷۰۰ μg/ml) به‌دست آمد که این میزان از IC50 مربوط به جمعیت قزوین (۲۰/۹۸ μg/ml) و خرم‌آباد (۱۹/۳ μg/ml) نیز کمتر است.

همکاران، 2009؛ شریفی‌فرا^۱ و همکاران، 2003؛ وجدیلو^۲ و همکاران، 2001؛ پشل^۳ و همکاران، 2006) و سایر حلال‌ها مانند استون، آب، اتیل استات و... کاهش راندمان را به‌دنبال دارند در این مطالعه نیز متانول به‌عنوان حلال انتخاب شد. باید توجه داشت که بین بازده استخراج و خصوصیتی چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی رابطه خاص و معنی‌داری وجود ندارد (هینبورگ^۴ و همکاران، 2006). میزان اسانس از جمله صفاتی است که به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی می‌باشد. با توجه به این‌که کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط یکسان کشت شده‌اند، تفاوت در میزان اسانس را تا حدود زیادی می‌توان به ژنوتیپ نسبت داد. در نتایج تحقیقات جمشیدی و همکاران ۱۳۸۴، میزان بازده اسانس سه جمعیت اطراف منطقه دماوند از گونه آویشن کوهی ۰/۷۹ تا ۱/۵۳٪ گزارش شده است در حالی که میزان بازده اسانس در جمعیت‌های مازندران ۲، مازندران ۱، سمنان و پیرانشهر به‌ترتیب با بازده اسانس ۲/۵، ۲، ۲/۳ و ۱/۸ درصد میزان بازده بهتری را نشان می‌دهد. با توجه به این‌که تنش خشکی و گرما فتوسنتز را در گیاهان *Thymus vulgaris* را محدود می‌سازد و با تغییر جذب مواد غذایی از خاک تولید ماده آلی، قند و آمینواسیدها را دچار اختلال می‌کند، در این وضعیت گیاه پیام تنش را دریافت کرده و به‌دنبال آن با کاهش تولید متابولیت‌های اولیه اقدام به تغییر مسیر به سمت تولید متابولیت‌های ثانوی (اسانس) می‌کند تا با تنش مقابله کند (فیگورادو^۵ و همکاران، 2008). در نتیجه یکی از عوامل مهم در بالا بودن بازده اسانس جمعیت‌های مورد مطالعه، شرایط اقلیمی (میانگین بارندگی سالانه ۲۰۰-۱۸۰ میلی‌متر و متوسط دمای سالانه ۱۶-۱۵ درجه سانتی‌گراد) موجود برای گیاهان کاشته شده می‌باشد. در نتایج تحقیقات امیری (2011)، بازده اسانس در گیاه *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* جمع‌آوری شده از استان لرستان را ۲٪ به‌دست آوردند در حالی که در نتایج به‌دست آمده از این مطالعه بازده اسانس بیشتر (۳/۵٪) بود که دلیل آن را با توجه به یکسان بودن رویشگاه اولیه آن‌ها، تفاوت در شرایط محیطی که گیاهان مذکور در آن قرار داشتند دانست. نیک آور و همکاران (۱۳۸۳) بازده تولید اسانس را در گونه *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* را ۲/۴٪ ذکر کردند که میزان آن کمی بیشتر از نتایج به‌دست آمده در این مطالعه (۱/۹٪) می‌باشد.

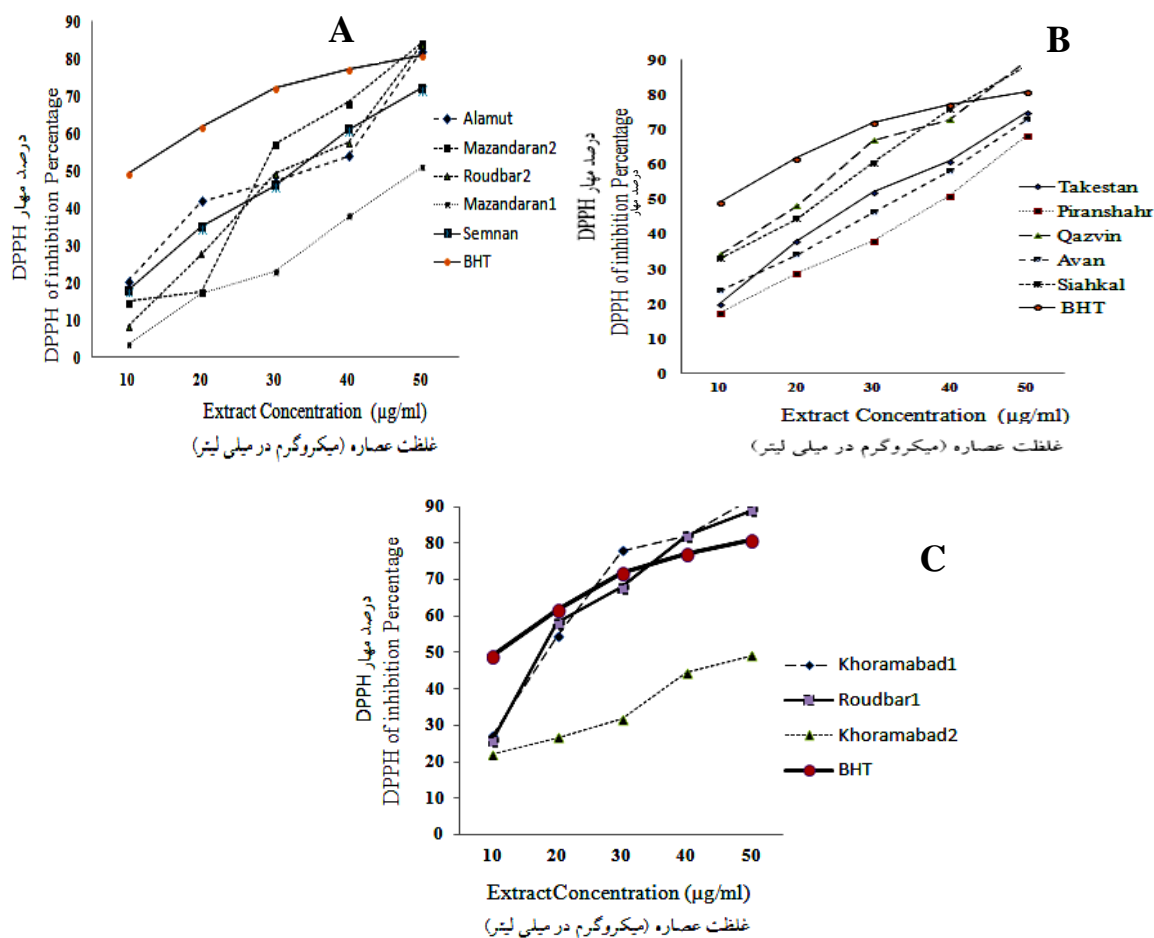
یکی از مشخصه‌هایی که اسانس جمعیت‌های مختلف را از هم متفاوت می‌کرد صفت رنگ اسانس بود که در جمعیت‌های

1. Shrififar
2. Wojdyło
3. Pesche
4. Hinneburg
5. Figueiredo

6. Jamshidi
7. Mirzaei

با ۹۲٪ و جمعیت قزوین (*Thymus kotschyanus*) با ۸۹/۳۸٪ بازدارندگی در مقابل رادیکال آزاد DPPH بیشترین درصد بازدارندگی در مقابل رادیکال آزاد DPPH را به خود اختصاص داد. با توجه به این که نیاز بشر در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های

از طرفی درصد بازدارندگی ترکیب BHT در غلظت ۵۰ $\mu\text{g/ml}$ با ۸۰٪ بازدارندگی از جمعیت‌های خرم‌آباد ۱، رودبار ۱، رودبار ۲، سیاهکل و قزوین کمتر است به طوری که جمعیت خرم‌آباد ۱ (*Thymus daenensis* subsp. *lancifolius*)



نمودار ۴: مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی جمعیت‌های مختلف آویشن کوهی (A و B) و آویشن دناپی (C)

Fig. 4: Comparison of antioxidant activity among different populations: (A and B) *Thymus kotschyanus* and (C) *Thymus daenensis*

آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای برای استفاده عملی از این گیاه در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی باشد. در پایان پیشنهاد می‌شود مطالعاتی بیشتر در زمینه بررسی اثر روش استخراج، نوع حلال و ... جهت حصول نتایج جامع‌تر و کاربردی‌تر روی این گیاه صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران صمیمانه قدردانی می‌گردد.

ایمن و جدید از منابع طبیعی به‌منظور پیشگیری از تخریب اکسیداتیو مواد غذایی و همچنین کاهش آسیب به سلول‌های زنده گسترش یافته است و از طرفی فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی دو گونه آویشن کوهی و دناپی در غلظت پایین می‌توان این دو گونه را جایگزینی مناسب به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر BHT دانست.

نتایج این مطالعه نشان داد که جمعیت قزوین (*Thymus kotschyanus*) و جمعیت خرم‌آباد ۱ (*Thymus daenensis* subsp. *lancifolius*) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی را دارد. با توجه به بومی بودن گیاه آویشن کوهی و اندمیک بودن گیاه آویشن دناپی در ایران، دسترسی آسان و ارزان به این مواد گیاهی، مقبولیت و پذیرش آن از جانب مصرف‌کنندگان و همچنین مشکلات و معایب

- جمشیدی، ا. ح.، امین زاده، م.، آذر نیوند، ح. و عابدی، م. ۱۳۸۵. تاثیر ارتفاع بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه آویشن کوهی (مطالعه موردی منطقه دماوند، زیرحوضه دریاچه تار). فصلنامه گیاهان دارویی. ۵ (۱۸): ۱۷-۲۲.
- جمشیدی، م.، احمدی آشتیانی، ح. ر.، رضازاده، ش.، فتحی آزاد، ف.، مازندرانی، م. و خاکی، آ. ۱۳۸۹. بررسی و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی چندگونه گیاهی بومی مازندران. فصلنامه گیاهان دارویی. ۹ (۳۴): ۱۷۶-۱۸۳.
- عظیم‌زاده، م.، امیری، ر.، عصاره، م.، بی‌همتا، م. و فروتن، م. ۱۳۹۳. ارزیابی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های زیره سیاه ایران (*Bunium persicum* Boiss) با توالی یابی نواحی ITS از DNA ریبوزومی هسته. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۲۲ (۱): ۱-۱۰.
- میرزایی، ع.، اکبرتبار، م.، صادقی، ه. و شریفی، ب. ۱۳۸۹. ارزیابی میزان فنل تام و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بومادران، درمنه و بابونه. ارمان دانش. ۱۵ (۳): ۲۴۳-۲۵۲.
- Amin, G. 1991. Poular medicinal plants of Iran. Tehran: Research Deputy of Health Ministry, 1: 39.
- Amiri, H. 2011. Essential oils composition and antioxidant properties of three thymus Species. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Article ID 728065: 8.
- Brasseur, T. 1983. Etudes botaniques, phytochimiques et pharmacologiques consacrees au Thym. Journal de Pharmacie de Belgique, 38: 261-272.
- British pharmacopoeia. 1988. London: HMSO. 137-138.
- Cristina Figueiredo, A., Barroso, J. G., Pedro, L. G. and Scheffer, J. J. C. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 23: 213-226.
- Erdemoglu, A., Turan, N. N., Caköcö, I., Sener, B. and Aydon, A. 2006. Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. Phytotherapy Research, 20 (1): 9 - 13.
- Essawi, T. and Srour, M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 70: 343-349.
- Farhoosh, R., Golmovahhed, G. A. and Khodaparast. MHH. 2007. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). Food Chemistry, 100 (1): 231-6.
- Hinneburg, I., Damien Dorman, HJ. and Hiltunen, R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry, 97 (1): 122- 9.
- Kay, CD. and Holub, BJ. 2002. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. British Journal of Nutrition, 88: 389 - 97.
- Meister, A., Bernhardt, G., Christoffel, V. and Buschauer, A. 1999. Antispasmodic activity of *Thymus vulgaris* extract on the isolated guinea-pig trachea: discrimination between drug and ethanol effects. Planta Medical, 65: 512-516.
- Morton, L. W., Caccetta, R. A., Puddey, I. B. and Croft, K. D. 2000. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: Relevance to cardiovascular disease. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 27: 152-9.
- Nakatani, N. 2000. Phenolic antioxidants from herbs and species Biofactors, 13: 141-146.
- Parejo, I., Viladoma, F., Jaume, B., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. S. and Codina, A. 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean Herbs and Aromatic Plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 6882 - 90.
- Peschel, W., Rabaneda, F., Diekmann, W., Plescher, A., Gartzia, I., Jimenez, D., Raventos, L., Buxaderas, S. and Codina, C. 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. Food Chem. 97 (1): 137 -50.
- Pourmohamad, F., Enteshari, S. and Sariri, R. 2011. Total phenolic content and antioxidant activity of the methanolic extracts of three *Thymus* Cultivars Grown in Iran. Pharmacologyonline, 1: 851-860.
- Rai, S., Wahile, A., Mukherjee, K., Pada Saha, B. and Mukherjee, PK. 2006. Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. Journal of Ethnopharmacology, 104: 322 -7.
- Rechinger, KH. 1982. Flora Iranika. vol. 152, gray: Akademische Druck and Varagsanstalt, 542-543.
- Sengul, M., Sezai, E., Hilal, Y., Neva, G., Arzu, K., and Bülent, Ç. 2009. Antioxidant, antimicrobial the activity and total phenolic content within aerial parts of *Artemisia absinthum*, *Artemisia santonicum* and *Saponaria officinalis*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10 (1): 49-5.
- Shrififar, F., Yassa, N. and Shafiee, A. 2003. Antioxidant activity of *Otostegia persica* (Labiatae) and its constituents. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 235-239.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods.
- Smith-Palmer, A., Stewart, J. and Fyfe, L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essence against five important food borne pathogens. Letters in Applied Microbiology, 26:118-122.
- Sun, T., Xu, Z., Wu, C. T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W. and No, H. K. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). Food Science, 72: 98-102.
- Mozaffarian, V. 1998. A Dictionary of Iranian Plant Names.
- Wojdyło, A., Oszmian'ski, J. and Czemerys, R. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 105: 940-949.
- Zargari, A. 1990. Medicinal plants: Tehran University Press, 4: 28-42.

Antioxidant Activity, Total Phenolics and Oil Content of Some *Thymus kotschyanus* and *Thymus daenensis* Populations

Khoshshokhan^{1*}, F., Babalar², M., Poormeidani³, A. and Fatahi⁴, M. R.

Abstract

The use of natural antioxidants is one of the easiest ways to reduce cell destructive reactions. Plants are considered as rich sources of natural antioxidants such as flavonoids, phenolic acids, tannins, etc. The present study was aimed to evaluate oil content, total phenolics and antioxidant activity of some (*Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen) and *Thymus daenensis* populations cultivated in a same environmental condition. according to the results, there was considerable variation among IC₅₀ (20.98 to 48.7 µg . ml) and total phenolics (42.6 to 67.64 mg GAE.g) of *Thymus kotschyanus* populations. the highest antioxidant activity and total phenolic was observed in the population of Qazvin. The lowest IC₅₀ (19/3 µg / ml) and highest of phenolic compounds (107/16 mg GAE.g) in a Khorramabad population of *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* observed. The highest oil content for population of Mazandaran1 (2/5%) and Khorramabad 1 (3/5%) were existed. The *Thymus daenensis* subsp. *lancifolius* had The highest antioxidant activity and oil content among studied populations.

Keywords: Oxidative stress, Methanol extracts, IC₅₀

1, 2 and 4. MSc Student, Professor and Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, Karaj, Iran

3. Instructor, Agriculture and Natural Resources Research Center, Qom, Iran

*: Corresponding author Email: fatemehkhoshshokhan@gmail.com