



Scan online to view this article

## Investigation of antioxidant properties of essential oil of two different species of safflower in natural and agricultural habitat of North Khorasan

Faezeh khani<sup>1</sup>, Ahmad Asgharzadeh<sup>2\*</sup>, Mohammad Reza Hosseinzadeh<sup>3</sup>, Jamal Kasaian<sup>4</sup>

1. Department of Medicinal Plants, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
2. Department of Horticulture, Islamic Azad University, Shirvan, Iran .
3. Department of Agriculture, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran .
4. Natural Products and Medicinal Plants Research Center, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran..

### Abstract

**Aim and Background:** Savory plant *Satureja* sp. It is one of the types of medicine that has many therapeutic properties such as controlling diabetes and blood sugar, blood pressure, constipation, diarrhea, etc. The aim of this study was to evaluate the constituents and antioxidant properties of the essential oil of this plant.

**Materials and Methods:** In this study, two species of savory plants (*S. sativa* and *S. multica*) were collected from two natural and agricultural habitats and after drying in the shade, essential oil was extracted by Clevenger apparatus. Its antioxidant was evaluated using DPPH and FRAP methods and determination of total phenol.

**Results:** The results showed that the highest percentage of free radical degradation was due to the use of 4 mg / ml of essential oil of plants harvested from the *sativa* species of 82.26% and on the other hand the lowest percentage of free radical degradation. From the concentration of 0.5 mg / ml of essential oils of plants harvested from the cultivation of *multica* species was 24.87%. Essential oil of *multica* species obtained from natural habitat, at a concentration of 4 mg / ml with a numerical value of / 84 in FRAP method and total phenol, with a numerical value of 2.14, showed the highest antioxidant properties.

**Conclusion:** In this study, it was found that among species and natural and agricultural habitats, safflower essential oil of *multica* species in natural habitat has the most antioxidant effect and factors such as soil type, and climate can affect the essential oil.

**Keywords:** Savory, Medicinal effects, Essential oil, Antioxidant, Iau Science.

### Corresponding author:

Department of Horticulture, Islamic Azad University, Shirvan, Iran .

**Email:** ahmad@yahoo.com



برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

## بررسی خواص آنتی اکسیدان اسانس دو گونه مختلف گیاه دارویی مرزه در رویشگاه طبیعی و زراعی خراسان شمالی

فائزه خانی<sup>۱</sup>، احمد اصغرزاده<sup>۲\*</sup>، محمد رضاحسین زاده<sup>۳</sup>، جمال کسائیانی<sup>۴</sup>

۱. گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، ایران
۲. گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، ایران
۳. گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بجنورد، ایران
۴. مرکز تحقیقات فرآورده های طبیعی و گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** گیاه مرزه (*Satureja sp.*) یکی از گونه های دارویی است که دارای خواص درمانی زیادی از جمله کنترل دیابت و قند خون، فشار خون، یبوست، اسهال و ... است. هدف از این مطالعه، ارزیابی ترکیب های تشکیل دهنده و خواص آنتی-اکسیدانی اسانس این گیاه بوده است.

**مواد و روش ها:** در این پژوهش دو گونه گیاهی از جنس مرزه (*S. sativa* و *S. multica*) از دو رویشگاه طبیعی و زراعی جمع آوری و پس از خشک نمودن در سایه، توسط دستگاه کلونجر اسانس گیری شد و خاصیت آنتی اکسیدانی آن با استفاده از روش های DPPH و FRAP و تعیین فنل کل بررسی شد.

**یافته ها:** نتایج نشان داد بالاترین درصد تخریب رادیکال های آزاد، در نتیجه استفاده از غلظت ۴ mg/ml اسانس گیاهان برداشت شده از رویشگاه زراعی گونه *sativa* ۸۲/۲۶ درصد و از سوی دیگر کمترین درصد تخریب رادیکال های آزاد، از غلظت ۰/۵ mg/ml اسانس گیاهان برداشت شده از رویشگاه زراعی گونه *multica* ۲۴/۸۷ درصد حاصل شد. اسانس گونه *multica* به دست آمده از رویشگاه طبیعی، در غلظت ۴ mg/ml با داشتن مقدار عددی ۰/۸۴ در روش FRAP و فنل کل، با مقدار عددی ۲/۱۴، بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را نشان داد.

**نتیجه گیری:** در این پژوهش مشخص شد بین گونه ها و رویشگاه های طبیعی و زراعی، اسانس مرزه گونه *multica* در رویشگاه طبیعی بیشترین اثر آنتی اکسیدانی را داشته است و عواملی از قبیل جنس خاک و آب و هوا می تواند بر اسانس تأثیرگذار باشد.

**واژگان کلیدی:** مرزه، اثرات دارویی، اسانس، آنتی اکسیدان، Iau Science.

### مقدمه

فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره های گیاهی

نویسنده مسئول:

گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، ایران  
پست الکترونیکی: ahmad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴

سال های زیادی مورد بررسی قرار گرفته است، اما بیشترین تمرکز و بررسی مربوط به سی سال گذشته است. در این دوره بیش تر روی گیاهانی که کاربرد سنتی داشته به ویژه در کشورهای نظیر چین و آمریکا کار شده است. در حالی که گزارش های مربوط به گیاهان بومی کشور ما ایران، بسیار پراکنده و جزئی است (۱).

یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیب‌های فنلی موجود در گیاهان است (۶). اسانس‌های استخراج شده از گیاهان در صنایع مختلف از جمله صنایع غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی استفاده می‌شود. امروزه فعالیت زیستی اسانس‌ها بیش از گذشته مورد توجه است، به همین دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها توسط محققان زیادی بررسی شده گرفته است (۷،۸).

مرزه (*Satureja sp.*) گیاهی علفی و از خانواده نعناعیان<sup>۴</sup> است که به‌عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و هم‌چنین به‌عنوان سبزی تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه در ایران ۱۲ گونه علفی یک‌ساله و چندساله دارد (۹). بر اساس مطالعه-های انجام شده کارواکرول<sup>۵</sup>، تیمول<sup>۶</sup>، گاما ترپینن<sup>۷</sup>، آلفا ترپینن<sup>۸</sup> و پاراسیمین<sup>۹</sup> ترکیب‌های اصلی تشکیل دهنده اسانس مرزه هستند (۱۰، ۱۱). هر چند که ممکن است تحت تأثیر شرایط خاک و آب و هوایی رویشگاه در مناطق مختلف مقدار اسانس و اجزای تشکیل دهنده آن متغیر باشد. بر اساس مطالعه‌ها، میزان اسانس در اندام‌های هوایی مرزه بسته به شرایط اقلیمی کج‌رویش گیاه متفاوت و بین ۱-۲ درصد است (۱۲). گزارش‌ها نشان می‌دهند که ترکیب شیمیایی اسانس گونه‌های مختلف *Satureja* تنوع قابل توجهی دارند (۱۳). اسانس این گیاه خاصیت ضد التهابی (۱۴)، آنتی‌اکسیدانی (۱۵) و ضد میکروبی (۱۶) بالایی دارد.

روش‌های متعددی برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های گیاهی وجود دارد که اغلب مکمل یکدیگر هستند. مطالعه‌های Dadashpour و همکاران در سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه زراعی و مرزه سهندی نشان داد که در روش DPPH<sup>۱۰</sup>، قدرت رادیکال‌زدایی اسانس‌ها کمابیش برابر هم اما بیش‌تر از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک است اما در روش FRAP<sup>۱۱</sup> فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه سهندی قوی‌تر از مرزه زراعی است (۱۷). هم-چنین بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی مرزه با استفاده از دو روش DPPH و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن نشان داده است که

موضوع رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و اثرهای آن‌ها بر سیستم‌های زیستی، یکی از مباحث مهم و مطرح در پزشکی است. این عوامل می‌توانند به‌طور برگشت ناپذیر به مولکول‌های حیاتی نظیر اسید نوکلئیک، پروتئین‌ها، لیپیدها و لیوپروتئین‌ها آسیب وارد نمایند. آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند سیستم‌های زیستی را در برابر این عوامل محافظت نمایند. برخی از گیاهان دارویی حاوی مقادیر بالایی از آنتی‌اکسیدان هستند که مصرف آن‌ها می‌تواند در سلامتی انسان مؤثر باشد. استفاده از گیاهان دارویی به‌طور سنتی در جوامع مختلف معمول است. در کشور ما نیز عامه مردم به‌منظور پیش‌گیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها از گیاهان دارویی استفاده می‌نمایند. تحقیق و پژوهش بر روی گیاهان دارویی از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌تواند به‌عنوان عوامل مؤثر در بهبود سلامتی انسان مطرح و مورد توجه قرار گیرد (۲).

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که با جذب رادیکال آزاد و ممانعت از اکسیداسیون، از فساد و تغییر رنگ لیپیدها جلوگیری می‌کنند (۹). آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند سیستم‌های زیستی نظیر اسید نوکلئیک، پروتئین‌ها، لیپیدها و لیوپروتئین‌ها را در برابر رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن محافظت کنند. برخی گیاهان دارویی حاوی مقادیر زیادی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که مصرف آن‌ها می‌تواند بر سلامتی مؤثر باشد (۳).

در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر بتا هیدروکسی اسید<sup>۱</sup> (BHA)، هیدروکسی تولوئن بوتیل<sup>۲</sup> (BHT)، تری بوتیل هیدروکینون<sup>۳</sup> (TBHQ) همانند سایر افزودنی‌های شیمیایی به دلیل سمیت احتمالی و سرطان-زایی آن‌ها محدود شده است. امروزه بیش‌تر تحقیقات صورت گرفته در این زمینه بر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های جدید و بدون خطر از منابع گیاهی، حیوانی، میکروبی و غذایی، تمرکز یافته است (۴). بنابراین دلیل اثرهای بد تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیب‌ها و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیب‌های طبیعی، کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (۵).

<sup>4</sup> Lamiaceae

<sup>5</sup> Carvacrol

<sup>6</sup> Thymol

<sup>7</sup> Gamma terpinene

<sup>8</sup> Alpha terpinene

<sup>9</sup> Para-cymene

<sup>10</sup> 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate

<sup>11</sup> Ferric Reducing Antioxidant Power Assay

<sup>1</sup> Beta hydroxy acid

<sup>2</sup> Butylated hydroxytoluene

<sup>3</sup> Tertiary butyl hydroquinone

در هر دو روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی بیش‌تر از اسانس مرزه بوده است (۱۲). به‌علاوه مطالعه خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه با استفاده از روش DPPH نشان داده است که حرارت دادن اسانس، با افزایش میزان کارواکول سبب افزایش خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد می‌گردد که این تغییرها با تغییر محتوای فنل کل در اسانس همراه است (۱۸). با توجه به مواد مؤثره گیاه مرزه و خواص بی نظیر آن، تحقیق حاضر با هدف بررسی و مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزه با استفاده از روش‌های مختلف در دو گونه مرزه جمع‌آوری شده از دو رویشگاه طبیعی و زراعی در استان خراسان شمالی طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی و تهیه اسانس

اندام‌های هوایی دو گونه مختلف گیاه مرزه شامل *S. sativa* و *S. multica* در فصل بهار، از دو رویشگاه شامل یک رویشگاه طبیعی واقع در منطقه درکش در شهرستان مانه و سملقان استان خراسان شمالی و دیگری مزرعه تحقیقاتی واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی استان خراسان شمالی شهرستان بجنورد جمع‌آوری شد و پس از سایه‌خشک شدن به‌صورت جداگانه برای اسانس‌گیری مورد استفاده قرار گرفت. اسانس گیاهی با استفاده از روش تقطیر با آب تهیه شد. به این صورت که مقدار ۴۰ گرم از گیاه مرزه در یک بالن یک لیتری ته صاف قرار داده و به آن مقداری آب مقطر (حدود ۲/۳ حجم بالن) اضافه گردید. سپس با استفاده از دستگاه اسانس‌گیری کلونجر، اسانس‌گیری به مدت ۴ ساعت انجام شد. اسانس حاصل از فاز آبی جدا و برای آب‌گیری از سولفات سدیم بی آب استفاده شد. اسانس جمع‌آوری شده به رنگ زرد روشن بود که تا بررسی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

### سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش تعیین قدرت

#### رادیکال‌زدایی (DPPH)

در این روش ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی نمونه مورد نظر (در غلظت‌های ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس به آن ۰/۱ ml محلول متانولی DPPH اضافه گردید (۰/۱۶ میلی مولار که در محیط تاریک نگهداری شود). محتویات هر لوله توسط ورتکس کاملاً مخلوط و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، در

دمای اتاق و در تاریکی جذب آن‌ها در طول موج ۴۹۰ nm با استفاده از دستگاه میکروپلیت ریدر (مدل CLARIOStar ساخت کشور آلمان) در برابر کنترل حاوی متانول خوانده شد. با افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان نمونه رنگ محلول حاصل زردتر می‌گردد (۱۹). درصد مهار اکسیداسیون هر نمونه با استفاده از رابطه  $AI\% = \left( \frac{Ac-As}{Ac} \right) \times 100$  محاسبه شد.

که در آن Ac جذب محلول کنترل در طول موج ۴۹۰ نانومتر و As جذب نمونه در ۴۹۰ نانومتر است. درصد AI یا درصد کاهش ظرفیت رادیکالی نیز به مفهوم مقدار مصرف رادیکال DPPH در حضور آنتی‌اکسیدان است. با رسم منحنی %AI در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره، مقدار  $IC_{50}$  (غلظتی از سوپسترا برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که برای کاهش DPPH به میزان ۵۰ درصد مقدار اولیه نیاز است)، برای هر عصاره تعیین گردید. پیش‌بینی می‌شود هر چقدر میزان آنتی‌اکسیدان در یک واکنش افزایش یابد درصد AI نیز افزایش می‌یابد.  $IC_{50}$ ، نشان دهنده غلظتی از ترکیب است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد (غلظتی که باعث حذف رادیکال‌های آزاد، به میزان ۵۰ درصد می‌شود). هرچه این غلظت کم‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که اسانس مورد نظر، فعالیت آنتی-اکسیدانی بالاتری دارد.

### سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش سنجش

#### قدرت (FRAP)

در این روش اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن انجام شد. معرف FRAP با مخلوط کردن سه محلول بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار (۳/۶ pH)، محلول  $TPTZ^{12}$ ، ۱۰ میلی‌مولار در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار و محلول فریک کلرید ۲۰ میلی‌مولار با نسبت ۱:۱:۱۰ (v/v/v) تهیه شد (این معرف می‌بایست تازه تهیه شود). برای رسم منحنی استاندارد کاتیون آهن دوظرفیتی، غلظت‌های متفاوت از صفر تا ۵ میلی‌مولار از محلول آمونیوم فروس سولفات  $(NH_4)_2 Fe (SO_4)_2$  آماده شد. سپس مقدار ۲۰ میکرولیتر از این محلول‌ها در میکروپلیت ریخته و به هریک از لوله‌ها مقدار ۱۵۰ میکرولیتر معرف FRAP اضافه شد. مخلوط حاصل به خوبی ورتکس گردید و به مدت ۸ دقیقه در دمای ۳۷ درجه

<sup>12</sup> 2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

محاسبه IC<sub>50</sub> اسانس‌های موردنظر از برنامه نرم‌افزاری Graphpad prism, version 5 انجام شد. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل در پایه طرح به‌طور کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تجزیه کوواریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار آماری SAS انجام گرفت. به‌منظور دستیابی به مقدار IC<sub>50</sub> در هر یک از نمونه‌ها، رگرسیون خطی برای غلظت‌های مختلف اسانس انجام گرفت.

## نتایج

### اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانتی به دو روش DPPH و FRAP

نتایج تجزیه واریانس اسانس مرزه بر خواص آنتی‌اکسیدانی به‌روش DPPH در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد بین گونه‌ها و رویشگاه‌های مختلف مرزه بر خواص آنتی‌اکسیدانی نشان داد. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مرزه از دو رویشگاه و دو گونه مختلف برداشت شده، بر تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH مؤثر هستند. بالاترین درصد تخریب رادیکال‌های آزاد، در نتیجه استفاده از غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس گیاهان برداشت شده از رویشگاه زراعی گونه *S. sativa* و برابر ۸۲/۲۶ درصد و کم‌ترین درصد تخریب رادیکال‌های آزاد، از غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس گیاهان برداشت شده از رویشگاه زراعی گونه *S. multica* و برابر ۲۴/۸۷ درصد حاصل شد. نتایج به‌دست آمده از غلظت‌های مختلف اسانس بر مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان داد که افزایش یا کاهش غلظت اسانس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیم دارد. این روند در همه اکوتایپ‌ها، قابل مشاهده است (شکل ۱).

### اندازه‌گیری فنل کل

طبق نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین گونه‌ها و رویشگاه‌های مختلف مرزه بر خواص آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس اسانس مرزه بر خواص آنتی‌اکسیدانی به‌روش تعیین فنل کل در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین مقدار فنل کل نشان داد در غلظت صفر تفاوت معنی‌داری بین گونه‌ها و رویشگاه‌ها وجود ندارد اما مانند آن‌چه در مورد نتایج به‌دست آمده از روش FRAP مشاهده شد، بیش‌ترین میزان فنل کل

سانتی‌گرد نگهداری شد. از لوله آزمایش فاقد آمونیوم فروس سولفات به‌عنوان شاهد استفاده شد. پس از طی این مدت، جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت گردید. با قراردادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد کاتیون آهن دوظرفیتی، توانایی احیاکنندگی عصاره‌ها محاسبه شد. داده‌ها بر اساس معادل میلی‌مول یون فروس تولید شده بر گرم وزن عصاره بیان گردید (۲۰).

### تعیین محتوای فنل کل

اندازه‌گیری محتوای فنل کل عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین-سیوکالچو<sup>۱۳</sup> انجام گرفت (۲۱). در این سنجش، از گالیک‌اسید به‌عنوان استاندارد استفاده گردید و منحنی استاندارد آن رسم شد. سپس با استفاده از معادله خط حاصل، محتوای فنل کل عصاره‌ها تعیین گردید. برای رسم منحنی استاندارد گالیک‌اسید، از محلول‌های گالیک‌اسید شامل غلظت‌های متفاوت از ۰/۰۳۹ تا ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در متانول، ۱۰ میکرولیتر برداشته و به هریک از لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین ۰/۲ نرمال اضافه شد و سپس بعد از ۳ دقیقه، ۹۰ میکرولیتر از محلول کربنات سدیم ۷۵ گرم بر لیتر به مخلوط اضافه شد. مخلوط حاصل ورتکس و به‌مدت ۲ ساعت در دمای محیط نگهداری شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر نسبت به شاهد توسط میکروپلیت ریدر اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد گالیک‌اسید به‌عنوان شاهد استفاده شد. منحنی استاندارد بر اساس مقادیر مختلف گالیک‌اسید و مقادیر جذب به‌دست آمده رسم گردید. سپس جهت اندازه‌گیری فنل کل عصاره‌های مورد نظر، مقدار ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده با متانول با غلظت مشخص در لوله‌های آزمایش ریخته شد و پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده در بالا، مقدار جذب نمونه‌ها نسبت به شاهد در ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنل کل موجود در عصاره‌ها محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم وزن خشک عصاره بیان گردید. میزان فنل تام موجود در هر عصاره متفاوت بوده و بر حسب گالیک‌اسید، که یک ترکیب فنلی خاص است و از روی منحنی استاندارد آن به روش فولین-سیوکالچو محاسبه شد (۲۲).

<sup>13</sup> Folin-Ciocalteu



در غلظت ۴ گونه *S. multica* جمع آوری شده از رویشگاه طبیعی (۲/۱۴) مشاهده شد. هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین میزان فنل کل به‌دست آمده در اسانس دو گونه *sativa* و *multica* جمع‌آوری شده از دو رویشگاه طبیعی و زراعی مشاهده گردید (شکل ۳). روش FRAP میزان احیاکنندگی آهن را نشان می‌دهد و از آنجا که ترکیب‌های فنلی به‌صورت مؤثری به‌عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده و قادرند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل کنند. بنابراین با افزایش میزان فنل کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی با این روش افزایش نشان می‌دهد (۳).

### سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌روش تعیین قدرت رادیکال‌زدایی (DPPH)

Haghirossadat و همکاران نیز با بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه نشان دادند که با افزایش غلظت اسانس، میزان تخریب رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد به‌طوری که بیش‌ترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به غلظت ۹۰ میکرولیتر این اسانس بود (۲۳).

شاخص  $IC_{50}$  در اسانس گونه‌های جمع‌آوری شده از دو رویشگاه طبیعی و زراعی با گونه‌های مختلف *S. sativa* و *S. multica* به‌ترتیب ۰/۳۴، ۰/۴۰۸، ۰/۱۷۶۷ و ۱/۸۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. با توجه به این که هرچه این غلظت کم‌تر باشد، نشان دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر اسانس است (۲۴)، بنابراین می‌توان گفت اسانس رویشگاه طبیعی *S. sativa* در مقایسه با اسانس استخراج شده از دیگر رویشگاه‌ها، با وجود داشتن کم‌ترین میزان  $IC_{50}$  بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارد. در تحقیق حاضر کم‌ترین میزان  $IC_{50}$  یا به تعبیر دیگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس رویشگاه طبیعی *S. sativa* در مقایسه با دیگر رویشگاه‌ها و گونه‌ها را می‌توان به محتوای بالاتر ترکیب‌های فنلی موجود در این اسانس نسبت داد. این در حالی است که میزان  $IC_{50}$  اسانس حاصل از مرحله پیش از گلدهی و بعد از گلدهی گیاه آویشن به‌ترتیب ۴۶/۸ و ۲۳/۸ گزارش شده است (۲۵). در آزمایش دیگری که در جنوب ایتالیا انجام شده است نتایج  $IC_{50}$  در سه توده جمع‌آوری شده از گونه *Thymus vulgaris* شامل ۶۴/۹۳، ۲۸/۹۵ و ۵۸/۲۵ است (۲۶). در تحقیقی مشابه بر روی اسانس لعل کوهستان جمع‌آوری شده از منطقه ایلام، غلظت ۱۰۰

میکروگرم اسانس، منجر به تخریب ۶/۷۵ درصدی رادیکال‌های آزاد DPPH شده است (۲۷).

اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی (RSC) به کمک ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH، ترکیبی است بنفش رنگ که به‌دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختارش به‌راحتی به‌صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال آزاد است. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در ۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بئر لامبرت پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیش‌تری مصرف شده و رنگ بنفش بیش‌تر به سمت زرد میل می‌کند (۲۸).

تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس حاصل از تقطیر ساده اندام هوایی مرزه بختیاری به‌روش DPPH بررسی گردید که به این نتیجه رسیدند که این اسانس دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است و می‌تواند به‌عنوان نگهدارنده به مواد غذایی افزوده شود (۲۹).

اسانس حاصل از تقطیر گیاه مرزه بختیاری به‌روش DPPH نشان داد که میزان  $IC_{50}$  برابر ۹/۴۶ میکروگرم در میلی‌لیتر و میزان فنل کل برابر ۲۱/۲۵ میلی‌گرم گالیک اسید گرم بر ماده خشک بود. باتوجه به وجود ترکیب‌های فنلی مانند کارواکرول و تیمول که تشکیل دهنده عمده اسانس مرزه بختیاری هستند، به‌نظر می‌رسد این ترکیب‌ها باعث ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شوند و این خاصیت باعث جلوگیری از اکسید شدن لیپیدها می‌شود و از آن به‌عنوان جایگزینی مناسب برای داروهای صنعتی استفاده کرد (۳۰).

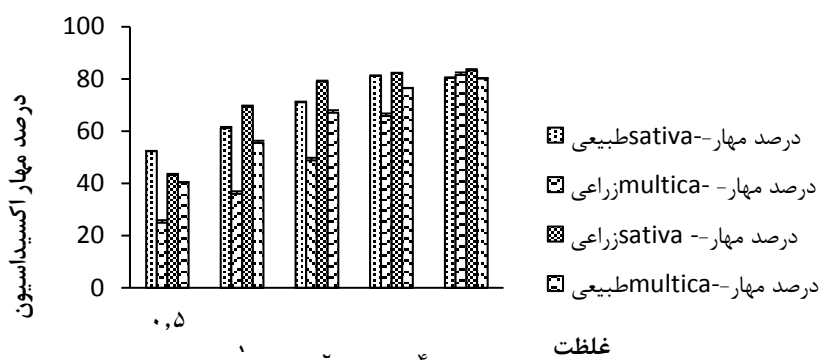
### اندازه‌گیری فنل کل

طبق نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین گونه‌ها و رویشگاه‌های مختلف مرزه بر خواص آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده به روش FARP مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه با این روش در جدول ۲ نشان داده شده است. مقایسه میانگین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده به‌روش FARP نشان داد در غلظت صفر در این روش تفاوت معنی-

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر غلظت اسانس و نوع گونه-رویشگاه بر خواص آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده به روش DPPH

منابع تغییرها	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت	۵	۰/۲۳**
گونه-رویشگاه	۳	۰/۰۱**
غلظت × گونه-رویشگاه	۱۵	۰/۳**
خطا	۴۸	۰/۰۰۷**
ضریب تغییرات (CV)	۳/۲	

\* و \*\*، به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد، و ns اختلاف آماری غیر معنی دار



شکل ۱. مقایسه میانگین تأثیر غلظت اسانس و گونه-رویشگاه بر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده به روش DPPH

روش تقطیر با بخار بوده که ترکیب‌های فنلی را دست‌خوش تغییر و تبدیل می‌کند (۳۱).

## نتیجه‌گیری

در این تحقیق فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو گونه مرزه جمع-آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی و زراعی استان خراسان شمالی با استفاده از دو روش DPPH و FRAP مورد مقایسه قرار گرفت. اگرچه نتایج به‌دست آمده از این دو روش بر یکدیگر منطبق نبود اما نتایج در مجموع نشان داد که اسانس گیاه دارویی مرزه به‌دست آمده از هر دو رویشگاه استان خراسان شمالی با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا، دارای مواد ارزشمند دارویی و صنعتی است. به‌طور نسبی گیاهانی که دارای محتوای ترکیب‌های فنلی بیشتری هستند فعالیت احیاء رادیکالی بیش‌تر و  $IC_{50}$  کم‌تری دارند و این موضوع نشانگر این است که ترکیب‌های پلی فنلی اثر مستقیم در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان داشته باشند. پتانسیل بی‌نظیر مرزه کوهی استان خراسان شمالی به‌عنوان یکی از ناشناخته‌ترین گیاهان دارویی کشورمان در

و *S. multica* به دست آمده از دو رویشگاه طبیعی و زراعی در غلظت‌های ۲ و ۴ مشاهده شد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده با روش FARP، به غلظت ۴ گونه *S. multica* جمع‌آوری شده از رویشگاه طبیعی (۰/۸۴) مربوط بود (شکل ۲). بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی ۱۳ گیاه دارویی مختلف با استفاده از روش‌های مختلف نشان داد که بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده مربوط به روش FRAP است (۳).

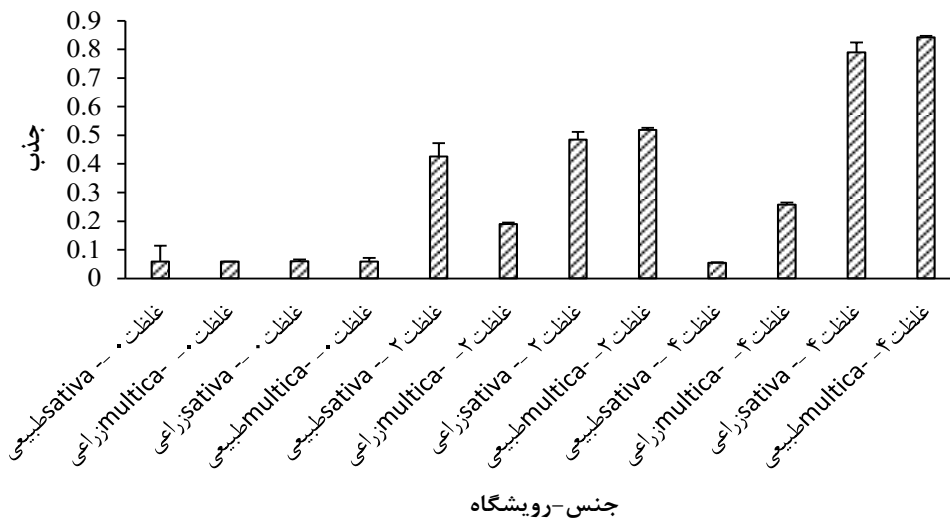
طبق پژوهش Fathi و همکاران میزان فنل کل در اسانس مرزه *S. hortensis* L برابر ۲۹۳/۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر گزارش شده است (۹). در مطالعه انجام شده توسط Oke و همکاران بر روی *S. cuneifolia* Ten که در سایه خشک شده بود، میزان فنل کل در اسانس استخراج شده به روش تقطیر با بخار ۱۸۵/۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک گزارش شده است که با تحقیق حاضر مطابقت دارد. علت این میزان کم فنل، دمای بالای بخار در

کاربردهای طب سنتی، داروئی و صنایع می تواند چشم انداز روشنی در آینده کشورمان ایجاد کند و تجارت، کشت و کار

و در نتیجه فرآوری صنعتی- داروئی آن را افزایش دهد.

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر غلظت اسانس و نوع گونه-رویشگاه بر خواص آنتی اکسیدانتی اندازه گیری شده به روش FARP

منابع تغییرها	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت	۲	۰/۶۲**
گونه-رویشگاه	۳	۰/۲۵**
غلظت × گونه -رویشگاه	۶	۰/۳**
خطا	۲۴	۰/۰۰۰۶**
ضریب تغییرات (CV)	۷/۹	
* و **، به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد، و ns اختلاف آماری غیر معنی دار		

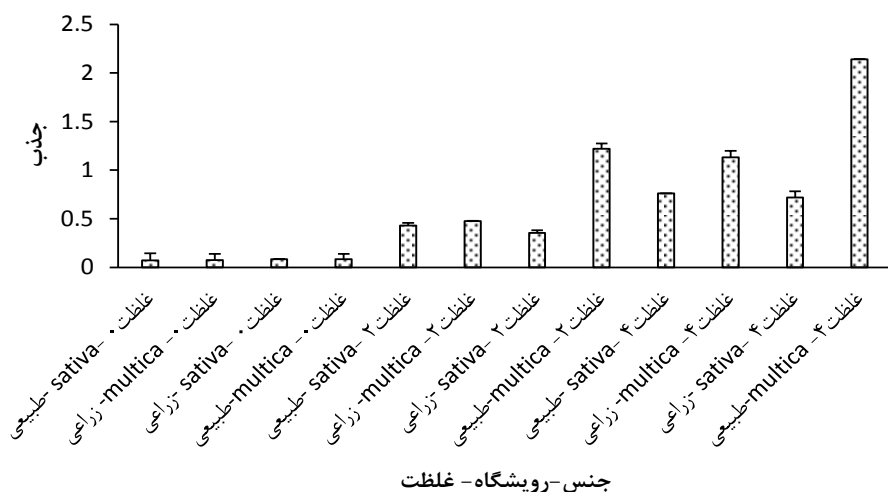


شکل ۱. مقایسه میانگین تأثیر غلظت اسانس و گونه-رویشگاه بر میزان خاصیت آنتی اکسیدان اندازه گیری شده به روش FRAP

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر غلظت اسانس و نوع گونه-رویشگاه بر مقدار فنل کل به دست آمده از دو گونه مرزه

منابع تغییرها	درجه آزادی	میانگین مربعات
غلظت	۲	۳/۷**
گونه-رویشگاه	۳	۱/۱**
غلظت × گونه -رویشگاه	۶	۰/۳**
خطا	۲۴	۰/۰۴
ضریب تغییرات (CV)	۳/۰۷	
* و **، به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد، و ns اختلاف آماری غیر معنی دار		





جنس - رویشگاه - غلظت

شکل ۱. مقایسه میانگین تاثیر غلظت اسانس و گونه-رویشگاه بر میزان فنل کل به دست آمده از دو گونه مرزه

### سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات دانشکده علوم پزشکی خراسان شمالی واحد مرکز تحقیقات فرآورده‌های طبیعی و گیاهان دارویی و هم‌چنین از مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان شمالی تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

1. Suffredini IB, Paciencia MLB, Varella AD, Younes RN. Antibacterial activity of Brazilian Amazonplant Extracts, The Brazilian Journal of Infectious Disease. 2006; 10(6):400–402.
2. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J and Aruoma OI. The characterization of antioxidants, Food Chem, Toxicol. 1995; 33:601-617.
3. Mazarie A, Mousavi-Nik SM, and Fahmideh L. Assessments of phenolic, flavonoid and antioxidant activity of aqueous, alcoholic, ethanol and acetone extracts of thirteen medicinal plants. – Nova Biologica Report. 2018; 4: 299-309.
4. Velioglu YS, Mazza G, Gao L and Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables and grain products. J. of Agriculture and Food Chemistry. 1998; 46: 4113 - 4.
5. Frankel EN. Recent advances in lipid oxidation. A review. J. of the Sci. of Food and Agriculture. 1991; 54: 495 - 511.
6. Lee SJ, Umamo K, Shibamoto T and Lee KG. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chem. 2005; 91: 131 – 7
7. Cheman Y, and Jaswir I. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. Food Chem. 2000; 69: 301 - 7.
8. Lee KG, and Shibamoto. Determination of antioxidative potential of volatile extracts isolated from various spices and herbs. J. Agric. Food Chem. 2002; 50: 4947 - 52.
9. Fathi A, Sahari MA, Zangiabadi M, and Barzegar M. Application of *Satureja hortensis* L and *Zataria multiflora* Boiss. Essential oils as two natural antioxidants in soybean oil during microwave heating. Journal of Medicinal Plants. 2011; 10(39): 13-20
10. Omidbaigi R. Production and processing of medicinal plants. 2000. Astane Qouds Publication. Tehran. Pp:397.
11. Amini B, Karamat J, Hojatoleslami M, Jahadi M, and Mahmudian k. Evaluation of antioxidant properties of savory essential oil in rapeseed oil and kilka fish oil. Food technology and Nutrition. 2015; 12(3): 29-38.
12. Kamkar A, Tooryan F, Akhondzadeh Basti A, Misaghi A, Shariatifar N. Chemical composition of summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil and comparison of antioxidant activity with aqueous and alcoholic extracts. Journal of Veterinary Research. 2013; 68,2:183-190.
13. Sefidkon F, Abbasi K, Jamzad Z, and Ahmadi, S. The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. Food Chemistry. 2007; 100(3): 1054-1058.
14. Skocibusic M, Bezic N, and Dunkic V,. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. Food Chemistry. 2006; 96: 20-28.
15. Radonic A, and Milos M. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L. Free Radical Research. 2003; 37(6): 673-679.
16. Azaz AD, Kurkuoglu M, Satil F, Baser KHC, and Tumen G. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some *Satureja* essential oils. Flavour and Fragrance Journal. 2005; 20(6): 587-591.

17. Dadashpour M, Rasooli I, Sefidkon F, Hosseingholi Zaade E, Darvish Alipour Astaneh Sh. Antimicrobial, Antioxidative, Superoxide Anion Radical Scavenging And Anti Tyrosinase Properties Of *Satureja Sahendica Bornm.* and *Satureja Hortensis L.* Essential Oils. Iranian journal of medicinal and aromatic plants. 2013;4(28):616-627.
18. Chambre DR, Moisa C, Lupitu A, Copolivici L, Pop G, Copolivici DM. Chemical composition, antioxidant capacity, and thermal behavior of *Satureja hortensis* essential oil. *Scientific Reports*. 2020; 10, 21322. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78263-9>
19. Kang W, Yang H, Ju Hong H, Hoon Han C, Jae Lee Y. Anti-oxidant activities of kiwi fruit extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Korean Journal of Vet Research*. 2012; 52(4) : 270-280.
20. Tenkerian C, El-Sibai M, Daher C, Mroueh M.. Hepatoprotective, Antioxidant, and Anticancer Effects of the *Tragopogon porrifolius* Methanolic Extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015; 1- 10.
21. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*. 2005; 91: 571-577.
22. Mo Ku, K., Juvik John, A. Environmental Stress and Methyl Jasmonate-mediated Changes in Flavonoid Concentrations and Antioxidant Activity in Broccoli Florets and Kale Leaf Tissues. *Hortscience*. 2013; 48(8), 996–1002.
23. Haghirossadat F, Bernard F, Kalantar M, Sheikhha M, Hokmollahi F, Azimzadeh M, and Hoori M. *Bunium Persicum* (Black Caraway) of Yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2010; 18(3): 284-291
24. Aminzadeh M, Jamshidi A, Mortazavimoghadam F, Azarnivand H, Naghavi M, and Sarvestani. R. Evaluation of phytochemical and compare the yeild of antioxidant essential oils and extracts of *Salvia reuterana* Boiss from Damavand region. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*. 2015; 3(3): 1-9.
25. Alizadeh A, Alizadeh O, Amari G, and Zare M. Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant activity and antifungal properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. as in Influenced by Ontogenetical Variation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2013; 16(1): 70.
26. Mancini E, Senatore F, Del Monte D, De Martino L, Grulova D, Scognamiglio M, Snoussi, M, and De Feo V. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris*L. Essential Oils. *Molecules*. 2015; 20(7): 12016
27. Saidi M.. Antioxidant activities and chemical composition of essential oils from *satureja khuzestanica*, *oliveria decumbens* and *Thymus daenensis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2014; 17(3): 513-521.
28. Singh RP, Murthy KN, Jayaprakasha GK. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50(1): 81-6.
29. Vosughi N, Ghasemi pirbalouti A, Shirmardi H. Phytochemical analysis and antioxidant activity from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil were collected from the area Sabzkouh (Bakhtiari Zagros). *National Conference of Medicinal Plants, Shahrekord*; 2014.
30. Shirali R, Samani Babadi R, Extraction and survey on phenolic compounds and antioxidant activity from *Satureja bachtiarica* Bunge essential oil in Fars province. *National Conference of Medicinal Plants; Shahrekord*; 2014
31. Oke F, Aslim B, Ozturk S, Altundag S. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chem*. 2009; 112(4): 874-9.25. Sefidkon F, Jamzad Z. Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge. *Journal of Essential oil Research*. 2000; 12(5): 545-6.

