Eco–phytochemical
Journal of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University
Gorgan Branch
Iranian Society
of Medical Plants

Effect of growth stage, drying method and distillation duration on the yield of essential oils in *Salvia macrosiphon* and *Marrubium vulgare*

Najmeh Eskandari Damaneh[1], Majid Ajorlo[1*], Ahmad Pahlavanravi[1], Mansour Ghaffari Moghadam[2]

[1]MSc Graduate, Associate Professors, Department of Rangeland and Watershed Management, Faculty of Water and Soil, University of Zabol, Iran, Email: eskandarynagmeh@yahoo.com ،ajorlo_m54@uoz.ac.ir
[2]Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Zabol, Iran, Email: mansghaffari@uoz.ac.ir

Article type:
Research article

Article history
Received:10-04-2024
Revised: 26-06-2024
Accepted: 06-08-2024

Keywords
Flowering stage
Phenological stage
Seeding stage
Vegetative growth stage
Dalfard region in Jiroft city

Abstract

Genetic and physiological characteristics, phenological stages, geographical habitat locations, drying methods, and extraction durations can all influence the yield of essential oils in medicinal plants. This study aimed to investigate the quantitative and qualitative changes in the essential oils of *Salvia macrosiphon* and *Marrubium vulgare* at different growth (phenological) stages, as well as to determine the most suitable drying method and extraction duration using water distillation. The study was designed as a completely randomized experiment with three treatments and three replications. Sampling was conducted randomly across three growth stages: vegetative growth, flowering, and seeding, in three habitats within the rangelands of the Delfard region in Jiroft city. Essential oils were extracted from the samples via water distillation, and the chemical components of these oils were analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS). The results showed that the highest yield of essential oil occurred during the flowering stage, while the lowest yield was recorded in the seeding stage ($P<0.05$). Changing the growth stage did not significantly affect the quality of the essential oils from either species ($P>0.05$). A total of 34 chemical compounds were identified in the essential oils of *M. vulgare*, and 20 compounds were identified in *S. macrosiphon*. The study found that shade-dried samples had the highest essential oil yield (0.069 mg), whereas samples dried in the oven had the lowest yield (0.02 mg). Specifically, the yield of essential oil from shade-dried samples was 33.3% and 62.3% higher than that from sun-dried and oven-dried samples, respectively. Additionally, the yield was highest from samples subjected to a 3-hour distillation (0.062 mg) and lowest from samples distilled for just 1 hour (0.01 mg) ($P<0.05$). In conclusion, the flowering stage (mid-May) is the optimal time to harvest the aerial parts of both species in the rangelands of the Delfard region in Jiroft city. The best drying method for these medicinal plants is shade drying, and the most effective distillation duration is 3 hours.

Cite this article as: Eskandari Damaneh, N., Ajorlo, M., Pahlavanravi, A., Ghaffari Moghadam, M. (2024). Effect of growth stage, drying method and distillation duration on the yield of essential oils in *Salvia macrosiphon* and *Marrubium vulgare*. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 12(3): 47-64

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

بررسی تأثیر مراحل مختلف نموی، روش خشکاندن و مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس مرمرشک (*Salvia macrosiphon*) و فراسیون‌سفید (*Marrubium vulgare*)

نجمه اسکندری دامنه[۱]، مجید آجورلو[۱*]، احمد پهلوانروی[۱]، منصور غفاری مقدم[۲]

[۱] گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده آب و خاک، دانشگاه زابل، ایران. رایانامه: ajorlo_m54@uoz.ac.ir

[۲] گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه زابل، ایران.

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت:۱۴۰۳/۰۱/۲۲
تاریخ بازنگری:۱۴۰۳/۰۴/۰۶
تاریخ پذیرش:۱۴۰۳/۰۵/۱۶

واژه‌های کلیدی:
مرحله فنولوژیکی
مرحله بذردهی
مرحله رشد رویشی
مرحله گلدهی
مریم‌گلی لوله‌ای
مراتع دلفارد شهرستان جیرفت

چکیده

ویژگی‌های ژنتیکی، فیزیولوژیکی، مرحله فنولوژیکی، موقعیت جغرافیایی رویشگاه، روش خشکاندن و مدت زمان عصاره‌گیری می‌توانند بر بازده اسانس گیاهان دارویی تأثیرگذار باشند. هدف این مطالعه، بررسی تغییرات کمّی و کیفی اسانس مرمرشک یا مریم‌گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon*) و فراسیون سفید (*Marrubium vulgare*) در مراحل مختلف نموی (فنولوژیک)، تعیین بهترین زمان برداشت اندام‌های دارویی آنها، تعیین مناسب‌ترین روش خشکاندن و مدت زمان تقطیر با آب بود. تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. نمونه‌برداری از گونه‌ها در مراتع دلفارد شهرستان جیرفت، در سه مرحله نموی رشد رویشی، گل‌دهی و بذردهی انجام شد. اسانس نمونه‌ها با دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب استخراج و ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس توسط روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مشخص شد. تغییر مرحله نموی بر بازده اسانس در هر دو گونه اثر معنی‌دار داشت. در هر دو گونه، بیشترین بازده اسانس در مرحله گل‌دهی و کمترین بازده در مرحله بذردهی بود ($P < ۰/۰۵$). ولی تغییر مرحله فنولوژیک بر کیفیت اسانس دو گونه اثر نداشت ($P > ۰/۰۵$). در اسانس فراسیون سفید و مرمرشک به ترتیب ۳۴ و ۲۰ ترکیب شیمیایی شناسایی شد. روش خشکاندن تأثیر معنی‌داری بر مقدار بازده اسانس داشت ($P < ۰/۰۵$). در هر دو گونه، بیشترین و کمترین بازده اسانس به ترتیب در نمونه‌های خشک شده در سایه (۰/۰۶۹ میلی‌گرم) و در آون (۰/۰۲ میلی‌گرم) بود. بازده اسانس در مدت زمان ۳ ساعت تقطیر دارای بیشترین مقدار (۰/۰۶۲ میلی‌گرم) و در زمان ۱ ساعت کمترین مقدار (۰/۰۱ میلی‌گرم) برای هر دو گونه بود ($P < ۰/۰۵$). این مطالعه گزارش می‌کند مرحله گل‌دهی (اواسط اردیبهشت) مناسب‌ترین زمان برای برداشت اندام‌های هوایی هر دو گونه در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت است. همچنین، بهترین روش برای خشکاندن اندام‌های دارویی دو گونه، قراردادن آنها سایه، و مناسب‌ترین مدت تقطیر برای استخراج اسانس آنها، ۳ ساعت است.

استناد: اسکندری دامنه، نجمه؛ آجورلو، مجید؛ پهلوانروی، احمد؛ غفاری مقدم، منصور. (۱۴۰۳). بررسی تأثیر مراحل مختلف نموی، روش خشکاندن و مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس مرمرشک (*Salvia macrosiphon*) و فراسیون‌سفید (*Marrubium vulgare*). *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۲ (۳)، ۶۴-۴۷.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

مواد مؤثره در گیاهان دارویی ترکیبات شیمیایی هستند که به نسبت‌های گوناگون در گل، برگ، ریشه، پوست، ساقه و دانه گیاهان ذخیره می‌شود و در مراحل مختلف رشد گیاه، مقدار و کیفیت آن‌ها تغییر می‌کند (Majnoon Hosseini and Davazdah Emami, 2009; Amritpal *et al*., 2008). مواد مؤثره حاصل سوخت‌وساز ثانویه هستند که در اثر جذب ازت در برخی گیاهان تولید می‌شوند مانند گلیکوزیدها، الکالوئیدها و غیره که به متابولیت‌های ثانویه هم معروف هستند. گرچه مواد مؤثره موجود درگیاهان تحت فرایندهای خاص فیزیولوژیکی ساخته می‌شوند ولی عوامل مختلفی در کمّیت و کیفیت آنها اثر دارند مانند ویژگی‌های ژنتیکی گیاه، شرایط طبیعی رویشگاه (خاک، اقلیم و توپوگرافی)، مرحله فنولوژیکی، اندام دارویی، مدیریت بهره‌برداری (زمان برداشت و عملیات پس از برداشت)، روش خشکاندن و فرایند استحراج و عصاره‌گیری (Marotti et al., 1994; Abdalla and El-Khoshiban, 2007). ماده مؤثره گیاهان دارویی در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی، بهداشتی، صنعتی و غیره کاربرد زیادی دارد. تعیین زمان مناسب برداشت اندام‌های دارویی براساس بررسی‌های فنولوژیکی، روش خشکاندن و مدت زمان تقطیر با هدف بالا بردن کمّیت و کیفیت ماده مؤثره و جلوگیری از کاهش مقدار آن در هنگام برداشت، نگهداری و فراوری یکی از مسائل مهم در مدیریت و بهره‌برداری از گونه‌های گیاهی دارویی است. برداشت در زمان نامناسب، نه تنها میزان محصول را کاهش می‌دهد، بلکه محصول برداشت شده از کیفیت مناسبی نیز برخوردار نخواهد بود. زیرا عملکرد اندام مورد نظر و همچنین میزان متابولیت‌های ثانویه یک گیاه دارویی، در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه متفاوت است. بنابراین، تعیین زمان مناسب برداشت، نقش مهمی در افزایش کمّیت و کیفیت ماده مؤثره دارد (Omidbaigi, 2005).

فنولوژی عبارت از تغییرات زمانی پدیده‌های زیستی گیاه نظیر شروع رشد رویشی، گلدهی، بذردهی و غیره در یک منطقه که تحت تأثیر شرایط طبیعی رویشگاه (عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، اقلیم، و توپوگرافی) رخ می‌دهد. آگاهی از فنولوژی گیاهان دارویی مهم در هر منطقه برای تعیین مناسب‌ترین زمان بهره‌برداری، مدت دوره بهره برداری و تعیین روش صحیح برداشت ضروری است. زیرا کمّیت و کیفیت ماده موثره گیاهان در طول دوره رویش، دچار تغییر و تحول می‌گردد (Omidbaigi et al, 2009). باید زمانی اقدام به جمع‌آوری گیاهان نمود که اندام‌های مورد نظر حاوی حداکثر ماده مؤثره با کیفیت مناسب باشند. بنابراین، با تکیه بر اطلاعات فنولوژیک گونه‌های مهم دارویی، می توان نحوه مدیریت گیاهان دارویی و زمان مناسب برداشت آنها را انتخاب نمود. به عبارت دیگر، بدون آگاهی از خصوصیات فنولوژی یک گیاه، امکان زمان‌بندی و برنامه‌ریزی برای بهره‌برداری مفید از گیاه وجود ندارد (Ebn-E-Abbasi and Saeidi, 2009). پژوهشگران زیادی اثر مراحل فنولوژیک گیاه را بر کمّیت یا بازده ماده مؤثره بررسی کرده‌اند. Naghdibadi و همکاران (۲۰۰٤) بیان کردند که بازده اسانس *Thymus vulgaris* و *Mesosphaerum suaveolens* در طول رشدونمو افزایش یافته و در مرحله گل‌دهی به حداکثر می‌رسد. Cirak و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه هوفاریقون (*Hypericum perforatum*) پی بردند که بیشترین بازده اسانس در زمان گل‌دهی حاصل می‌شود. Ibtissem و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که در گیاه *Origanum majorana* بین مراحل مختلف رشد رویشی تا گلدهی کامل، درصد اسانس تغییر می‌کند. Imani (۲۰۰۵) با بررسی تغییرات مواد مؤثره

گیاه بادرنجبویه در طی رشد اعلام کردند که میزان اسانس گیاه تابع عوامل محیطی بوده و مقدار اسانس با میزان بارندگی رابطه معکوس دارد و در مرحله گل‌دهی بازده اسانس بیشتر از سایر مراحل فنولوژی است. همچنین تحقیقات نشان داده است که زمان‌های مختلف برداشت بر میزان و ترکیبات ماده مؤثره گیاهان اثرگذار است. Yousefzadeh و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که میزان اسانس گیاه بادرشبو از ۰/۲۷ در مرحله ظهور جوانه‌های گل به ۰/۵۲ در مرحله گل‌دهی می‌رسد. Ghannadi و همکاران (۱۹۹۹) ترکیبات شیمیایی اسانس مریم‌گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon*) را با ترکیبات شیمیایی سایر گونه‌های مریم‌گلی مقایسه و بیان کردند که اگرچه مواد متشکله اسانس مریم گلی لوله‌ای با ترکیبات تشکیل دهنده بسیاری از گونه‌های مورد مطالعه شباهت دارد؛ ولی گونه‌هائی از مریم‌گلی یافت می‌شوند که دارای تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای از نظر نوع و بازده ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس هستند. برای مثال، در گونه‌های *S. santolinifolia*، *S. canddissma*، *S. multicaulis*، *S. tomentosa* همانند *S. hydrangea* مریم گلی لوله‌ای مونوترپنوئیدهای آلفا و بتا پینن درصد اصلی اسانس گیاه را تشکیل می‌دهند. Sefidkon و همکاران (۲۰۰۰) ترکیبات عمده اسانس مریم‌گلی لوله‌ای را لینالول (۲۱/۸٤)، اسکارئول (۱۵/۷٦٪)، و هگزیل ۳-متیل بوتانوات (۹/۳۹٪) گزارش کردند. Gohari و همکاران (۲۰۱۱) ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس مریم‌گلی لوله‌ای را (۲٦/۳٪) Linalool، (۹/٦٪) hexy hexanoate، (۹٪/۳) hexylisovalerate، (۸٪/۹) hexyl-2-methyl butanoate، (۷٪/۲) sclareol و (٦/۱٪) hexyl octanoate گزارش کردند. Sajjadi و همکاران (۲۰۰۰)، ٤٦ ترکیب شیمیایی را در اسانس مریم‌گلی لوله‌ای در منطقه کلاه قاضی اصفهان شناسایی کردند که بتا-پینن (۱۵/۳٪)، جرماکرن-دی (۱۰/۱٪)، اسپاتولنول (۷/۷٪)، ۱و۸-سینئول (۷/٤٪)، لیمونن (۵/۲٪)، آلفا-پینن (٤/۷٪) و آلفا-ترپینئول (٤/۱٪) ترکیبات شیمیایی اصلی تشکیل دهنده اسانس گیاه بودند. Bakhshi Khaniki و Lari Yazdi (۲۰۰۹) بیان کردند که بیشترین اسانس از اندام‌های هوایی و گل‌های مریم‌گلی لوله‌ای استخراج شد و اصلی‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس این گیاه لیمونن، آلفاپینن، اسپاتولنول، میرسن، بتاپینن، بتا-کاریوفیلن است.

گیاهان دارویی و معطر تازه مقدار زیادی رطوبت و میکروارگانیسم دارند و خشکاندن سریع و صحیح آن‌ها، مهم‌ترین عمل در فرایند پس از برداشت، جهت اجتناب از کاهش کمّیت و کیفیت ماده مؤثره می‌باشد (Mohtashami et al., 2012). خشکاندن یکی از مراحل مهم در استحصال ماده مؤثره و فراوری گیاهان دارویی است. خشکاندن شامل کاهش مقدار رطوبت طی عمل تبخیر تا رسیدن به یک آستانه معین است به گونه‌ای که با متوقف کردن فعالیت‌های شیمیایی و زیستی بتوان محصول را برای مدت طولانی انبار کرد (Ebadi et al., 2013). خشکاندن سبب حرکت ترکیبات معطر در برگ گیاهان دارویی به سمت سطح برگ به همراه آب می‌شود که در این پدیده مقداری از این ترکیب‌ها از دست می‌روند. بنابراین، روش خشکاندن جهت کاهش هدر رفتن ترکیبات شیمیایی بسیار مهم است (Asekun et al, 2007). به طور کلی در خشکاندن اندام‌های هوایی گیاهان دارویی سه عامل اساسی عدم تغییر در مقدار ماده مؤثره، عدم تغییر در صفات خارجی مانند رنگ و بو و طعم و غیره، و عدم تأثیر نامطلوب بر بازده اقتصادی محصول باید مد نظر باشند. روش خشکاندن اثر زیادی بر مقدار ماده مؤثره دارد. استفاده از روش نامناسب می تواند منجر به کاهش کمیت و کیفیت مواد مؤثره

موجود در اندام‌های دارویی گردد. روش خشکاندن به میزان رطوبت در اندام‌های گیاه بستگی دارد. انتخاب روش خشکاندن، دما و زمان مناسب خشکاندن بسته به نوع مواد مؤثره هم متفاوت می‌باشد. روش‌های متعددی برای خشکاندن گیاهان دارویی وجود دارد از جمله خشکاندن در آفتاب مستقیم، خشکاندن در سایه، خشکاندن با جریان هوای گرم در آون (Omidbaigi, 2005). این روش‌ها، عمدتاً از نظر درجه حرارت و روش انتقال گرما به ماده خشک شدنی در فرایند خشکاندن با هم تفاوت می‌کنند. مثلاً، دمای مطلوب برای خشک کردن اندام‌های حاوی اسانس در آون ۳۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (Martinov and Oztikon, 2007). تحقیقات نشان داده است که دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد برای خشک کردن اندام‌های حاوی اسانس مناسب نیست؛ چون باعث کاهش شدید ترکیبات شیمیایی فرّار اسانس می‌شود. این کاهش به خاطر از بین رفتن مونوترپن‌های غیراکسیژنه می‌باشد (Venskutonis, 1997). روش خشک کردن طبیعی (سایه و آفتاب) هم معایبی دارد مانند عدم امکان جابجایی مقادیر زیاد ماده گیاهی و دستیابی به استانداردهای ثابت کیفیت. بازده کم انرژی و زمان بر بودن فرایند هم از معایب خشکاندن با هوای گرم است (Rahmati et al., 2010). خشک کردن طبیعی (سایه یا آفتاب) و خشکاندن با جریان هوای گرم مصنوعی به دلیل در برداشتن هزینه‌های کمتر، هنوز هم مهم‌ترین روش متداول است. به دلیل اهمیت چگونگی خشکاندن اندام‌های دارویی، تحقیقات متعددی در این زمینه انجام شده است. نتایج تحقیقات نشان داده، چنانچه گیاهانی مانند اسطوخودوس، نعناع و رزماری در آفتاب خشک شوند، اسانس آن‌ها به مقدار٢٤٪ کاهش می‌یابد در حالی که اگر این گیاهان در سایه خشک شود اسانس آنها فقط ۱٪ کاهش می‌یابد (Omidbaigi, 2005). Asekun و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که بهترین روش خشکاندن پونه (*Mentha longifolia*) خشک کردن آن در آون (دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد) است. در مرزه (*Satureja hortensis*) بالاترین بازده اسانس در خشکاندن با آون در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و روش سایه، و کمترین بازده در روش خشکاندن در آفتاب بود (Ebadi et al., 2013). Azizi and Ghani (۲۰۰۹) اظهار نمودند که بیشترین بازده اسانس بومادران (*Achillea melifolium*) در روش خشکاندن در سایه و کمترین آن در روش خشکاندن در آون بود. آن‌ها بهترین روش برای خشکاندن این گیاه را خشک کردن در سایه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گزارش نموده‌اند. kazemi (2000) مشاهده نمود که روش خشکاندن بر بازده اسانس گل‌های بابونه رومی در آفتاب، سایه و آون (٤٠ درجه سانتی‌گراد) تاثیر داشت و بیش‌ترین مقدار اسانس از گل‌هایی حاصل شد که در سایه خشک شده بودند. بالاترین درصد اسانس در گیاه بادرشبی (*Dracocephalum moldavica*) مربوط به تیمار سایه و کمترین آن در تیمار آون بود (Mohtashami et al., 2012).

علاوه بر روش خشکاندن، مدت زمان تقطیر و عصاره‌گیری هم برای استخراج حداکثر ماده مؤثره مهم است. مدت زمان تقطیر استاندارد برای گیاهان دارویی وجود ندارد و از یک گونه به گونه دیگر تفاوت می‌کند. مدت زمان تقطیر می‌تواند اثر افزایشی یا کاهشی برای بازده ماده مؤثره داشته باشد بدین معنا که افزایش مدت زمان تقطیر الزماً باعث افزایش بازده ماده مؤثره نمی‌شود. بنابراین، لازم است مدت زمان بهینه عصاره‌گیری در گونه‌های گیاهی دارویی مختلف تعیین شود تا بدین طریق، در مدت زمان مناسب از نظر زمان و مصرف انرژی، بیشترین ماده مؤثره استخراج شود. در تحقیقات مختلف، مدت زمان

متفاوتی برای برخی از گیاهان دارویی گزارش شده است. برای مثال، Naderi Hajibagheri kandi و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند با افزایش مدت زمان استخراج از ۱۵ دقیقه به ۹۰ دقیقه در گیاه برگبو (*Laurus nobilis*)، بازده اسانس افزایش قابل توجهی می‌یابد. آن‌ها بهترین مدت زمان عصاره‌گیری برای بازده مناسب اسانس برگ این گیاه را ۹۰ دقیقه گزارش کردند. Habibzadeh و همکاران (۲۰۱۲) در گیاه *Pimpinella affinis* مشاهده کردند که مدت زمان تقطیر در دو روش تقطیر با آب و تقطیر با بخار آب بین ۱/۵ تا ۲/۵ ساعت، اثر قابل توجهی در مقدار اسانس نداشت؛ پس، برای صرفه‌جویی در مصرف انرژی، مدت زمان تقطیر را ۱/۵ ساعت پیشنهاد نمودند.

گیاهان خانواده نعناعیان (Lamiaceae) مانند مرمرشک و فراسیون‌سفید به دلیل انعطاف اکولوژیکی زیاد نسبت به اقلیم‌های متنوع به عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی مهم گیاهی محسوب می‌شوند و به واسطه وجود اسانس و سایر ترکیبات معطر موجود در آنها، در صنایع آرایشی و بهداشتی کاربرد فراوان دارند. مرمرشک یا مریم‌گلی لوله‌ای (*Salvia macrosiphon*) گیاهی پایا، تقریبا سبز مایل به سفید یا متمایل به زرد، کمی معطر، پوشیده از کرک‌های متراکم، غیرغده‌ای، غده‌پوش و دارای کرک‌هائی در انتها متورم است. اندام‌های هوایی آن دارای اسانسی به رنگ زرد مایل به سبز با بوی مطبوع می‌باشد (Sajjadi, 2000). در طب سنتی از دانه‌های آن به علت دارا بودن موسیلاژ به عنوان برطرف کننده خارش‌های گلو و ضدسرفه استفاده می‌شود (Amin, 1991). فراسیون‌سفید (*Marrubium vulgare*) یا گندنای کوهی و افنان‌سر گیاهی علفی، پایا، ریزوم‌دار، با ارتفاع ۳۰ تا ٦٥ سانتی‌متر، سفید و پوشیده از کرک است. برگ‌ها ساده، متقابل، زبر و خشن، گل‌ها سفید و کوچک، موسم گل، اردیبهشت تا خرداد است. رویشگاه آن مراتع مناطق کوهستانی و ارتفاعات متوسط به بالا است. اندام‌های دارویی آن، برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار است و بویی قوی و نسبتاً مطبوع دارد (Zargari, 1997). نوع ماده مؤثره در فراسیون‌سفید و مرمرشک، اسانس (روغن فرار) است. اسانس‌ها گروهی از مواد مؤثره در گیاهان دارویی را تشکیل می‌دهند که معطر هستند و از نظر ترکیب شیمیایی همگن نیستند و از گروه شیمیایی موسوم به ترپن‌ها بوده و یا منشأ ترپنی دارند. این ترکیب‌ها معمولاً از بو و طعم خاصی برخوردارند و وزن مخصوص آنها به طور معمول از آب کمتر است و به علت تبخیر در دمای معمولی، روغن‌های فرار نیز نامیده می‌شوند (Omidbaigi, 2003).

مطالب فوق بیانگر آن است که مشخص کردن اثر مراحل مختلف فنولوژی بر کمّیت و کیفیت ماده مؤثره گیاهان جهت تنظیم برنامه‌های بهره‌برداری، استفاده صحیح از گیاهان دارویی و استحصال حداکثر ماده مؤثره حائز اهمیت است. به علاوه، روش‌های خشکاندن و مدت زمان تقطیر برای استحصال بالاترین بازده ماده مؤثره در گیاهان دارویی اهمیت ویژه‌ای دارد و لازم است که اثر این سه عامل برای گیاهان دارویی مرمرشک و فراسیون‌سفید تعیین شود. بنابراین، **هدف** این تحقیق تعیین اثر مراحل مختلف فنولوژیک (رشد رویشی، گلدهی و رسیدن بذر)، روش خشکاندن (سایه، آفتاب و آون)، و مدت زمان تقطیر با آب (۱، ۲ و ۳ ساعت) بر تغییرات کمّی (بازده) و کیفی (ترکیبات شیمیایی) اسانس فراسیون‌سفید و مرمرشک و تعیین بهترین زمان برداشت اندام‌های دارویی این دو گونه در مراتع منطقه دلفارد از توابع بخش ساردوئیه شهرستان جیرفت بود.

مواد و روش‌ها

تعیین اثر مراحل مختلف فنولوژیک بر بازده اسانس

طرح آزمایش، نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها: این تحقیق با آزمایش فاکتوریل ۳×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار و ۳ تکرار (سه رویشگاه مختلف با فاصله چند کیلومتر از یکدیگر) انجام شد. مدل طرح به صورت $y = \mu + \alpha i + \beta j + \alpha\beta ij + eijk$ بود که در آن α اثر گونه/روش خشکاندن/مدت زمان تقطیر، β اثر مرحله فنولوژیکی، $\alpha\beta$ اثر بر همکنش گونه و مرحله فنولوژیکی، μ میانگین کل و e خطا است. این مطالعه در بهار ۱۳۹۹ در رویشگاه‌های طبیعی گونه‌ها در مراتع منطقه دلفارد از توابع بخش ساردوئیه شهرستان جیرفت با مختصات جغرافیایی ″۱۲ ′۳۸ º۵۷ طول شرقی و″۳۰ ′۲۹ º۲۸ عرض شمالی واقع در۴۰ کیلومتری شمال غرب جیرفت انجام شد. متوسط بارندگی سالانه منطقه ۱۲٦ میلی‌متر و متوسط درجه حرارت ۱۷/۱٤ درجه سانتیگراد است.

نمونه‌ها از اندام‌های دارویی مرمرشک و فراسیون‌سفید به روش تصادفی در سه مرحله نموی (فنولوژیکی) رشد رویشی (اوایل اردیبهشت)، گلدهی (اواسط اردیبهشت) و بذردهی (اواخر اردیبهشت و اوایل خرداد) برداشت شدند. در هر مرحله فنولوژیک ۱۰ نمونه مرکب در هر تکرار جمع‌آوری شد. هر نمونه مرکب متشکل از ۵ پایه گیاهی از گونه مورد نظر بود. لازم به ذکر است که در منطقه رویشگاه ها با فاصله چند کیلومتر از یکدیگر انتخاب شدند تا اثر تغییرات محیطی در ترکیبات شیمیایی اندام‌های دارویی گونه‌ها لحاظ شده باشد. بنابراین، در هر مرحله فنولوژیک ۳۰ نمونه مرکب (جمعاً ۹۰ نمونه) از هر گونه در منطقه مورد مطالعه جمع‌آوری شد. به‌علاوه، تعداد ۹۰ نمونه مرکب برای مطالعه اثر روش‌های خشکاندن و ۹۰ نمونه مرکب دیگر برای بررسی اثر مدت زمان تقطیر با آب برای هر گونه از منطقه جمع آوری شد. نمونه‌ها پس از برداشت به طور جداگانه داخل پاکت‌های منفذدار قرار داده شد و در محیط خشک و سایه به دور از نور خورشید خشک شدند. نمونه‌های خشک شده با آسیاب خرد شدند. مقدار٤۰ گرم از هر نمونه آسیاب شده جهت استخراج اسانس برداشته شد.

استخراج اسانس نمونه‌ها: استخراج اسانس نمونه‌ها توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب، که بیشترین بازده اسانس را دارد انجام شد. مدت زمان تقطیر برای استخراج اسانس برای کلیه نمونه‌ها ثابت و برابر با ٤ ساعت بود (Habibzadeh et al., 2012; Barazandeh, 2005; Rezaee et al., 2002). بازده اسانس (درصد اسانس) پس از رطوبت زدایی با توزین مجدد مقدار اسانس، محاسبه شد.

شناسایی ترکیبات شمیایی ماده مؤثره: برای شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس، از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (Varian CP-3800 GC with Saturn 2200 GC/MS) با مشخصات ستون Rtx-**5** GC Capillary Column, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm استفاده شد. در این روش از روی ترکیبات و شاخص بازداری (RI) طیف‌ها، اندیس کوواتس برای تک تک پیک‌ها محاسبه می‌شود. سپس، با تطبیق اندیس کوواتس محاسبه شده و طیف مربوط به آن با کتاب‌ها و مراجع و مقایسه چهره‌به‌چهره طیف‌ها با اطلاعات کتابخانه‌ای و دیگر منابع، طیف‌های مربوط به هر جسم تفسیر و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آن‌ها شناسایی می‌شوند (Tajali and Sadeghipour, 2010). در این مطالعه، ابتدا مقدار ۰/۲ میکرولیتر از هر نمونه اسانس به دستگاه تزریق شد و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر نمونه محاسبه شد. برای محاسبه اندیس‌های بازداری ترکیب‌ها، مخلوطی از هیدروکربن‌های نرمال C8-C22 مطابق با

شرایط تزریق نمونه‌های اسانسی به دستگاه تزریق شد. شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس با استفاده از اندیس بازداری، بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آن با طیف‌های جرمی استاندارد موجود و مراجع معتبر (Adams, 1995) انجام شد (Habibzadeh, 2012).

تعیین اثر روش خشکاندن و مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس: برای بررسی اثر روش‌های خشکاندن و مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس توده‌ها، نمونه‌های جمع‌آوری شده تحت سه تیمار خشکاندن در سایه (۷ روز)، خشکاندن در آفتاب (۳ روز) و خشکاندن در آون (دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت) خشک گردیدند. نمونه‌ها به دفعات متوالی توزین شدند و در صورت عدم تغییر وزن، از خشک شدن کامل آنها اطمینان حاصل شد. نمونه‌ها با آسیاب پودر و تا زمان اسانس‌گیری در پاکت‌های کاغذی در محیط خنک و خشک نگهداری شدند. مدت زمان تقطیر جهت اسانس‌گیری، ۱، ۲ و ۳ ساعت در نظر گرفته شد. سپس جهت استخراج اسانس به روش تقطیر با آب از دستگاه کلونجر استفاده شد. مقدار ٤٠ گرم نمونه پودر شده در بالن دستگاه کلونجر ریخته شد و ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه شد، و بر روی گرم‌کن الکتریکی قرار گرفت. پس از سپری شدن زمان تقطیر مورد نظر، اسانس نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای تیره جمع آوری شد. بازده اسانس به دست آمده از هر تیمار به صورت وزنی بر حسب میلی‌گرم محاسبه شد (Mohtashami et al., 2012).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

ابتدا داده‌ها از نظر توزیع نرمال، همگنی واریانس‌ها و وجود داده‌های پرت (outlier) بررسی شدند. برای ارزیابی تأثیر مرحله فنولوژیک و مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس، از آزمون تجزیه واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated Measures ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. آزمون تجزیه واریانس یک طرفه برای بررسی اثر روش‌های خشکاندن شامل ۳ روش خشکاندن در سایه، خشکاندن در آفتاب، وخشکاندن در آون با ۳ تکرار بر فاکتور بازده اسانس استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS 21.0 انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج

اثر مرحله فنولوژیکی بر بازده اسانس: مرحله فنولوژیک بر بازده ماده مؤثره (اسانس) مرمرشک و فراسیون‌سفید اثر معنی‌دار داشت ($P < ۰/۰۵$). بازده اسانس در مراحل مختلف فنولوژیکی رشد رویشی، گل‌دهی و بذردهی متفاوت بود (جدول ۱). در هر دو گونه، بیشترین بازده اسانس مربوط به مرحله گل‌دهی و کمترین بازده مربوط به مرحله بذردهی بود. بازده اسانس در مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی در مرمرشک به ترتیب ٦٦، ۹۰ و ٤٨ میلی‌گرم و در فراسیون سفید ٦۰، ۸۰ و ٣٤ میلی‌گرم به دست آمد. در مرمرشک بازده اسانس در مرحله گل‌دهی به ترتیب ۲۷٪ و ٤٧٪ بیش از مرحله رویشی و بذردهی بود. بازده اسانس فراسیون‌سفید در مرحله رویشی تقریباً دو برابر بیش از مرحله بذردهی بود. در واقع، بازده اسانس در مرحله گل‌دهی ۳۳ و ۵۸ درصد بیش از بازده اسانس به ترتیب در مراحل رویشی و بذردهی بود ($P < ۰/۰۵$) (جدول ۲). مقایسه بازده اسانس در مراحل مختلف فنولوژی نشان داد که برای حصول کمیت بیشتر اسانس، هر دو گونه باید در مرحله گل‌دهی کامل برداشت شوند.

جدول ۱: آنالیز واریانس اثر مرحله فنولوژیکی بر تغییرات بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت

گونه	منبع تغییرات	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	F
مرمرشک	اثر مرحله فنولوژیکی	۲۷۰۸۳/۹۸۹	۱۳۵٤۱/۹۹۵	۲	۲۲٤/٥٤٤**
	خطا	٥۲٤٦/۸۷۰	٦۰/۳۰۹	۸۷	
	کل	۳۲۳۳۰/۸٥۹	–	۸۹	
فراسیون‌سفید	اثر مرحله فنولوژیکی	۳۲٦٤۲/۷٦۳	۱٦۳۲۱/۳۸۱	۲	۲۳۲/۹٤٥**
	خطا	٦۰۹٥/٦۸٦	۷۰/۰٦٥	۸۷	
	کل	۳۸۷۳۸/٤٤۹	–	۸۹	

** نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < ۰/۰٥$).

جدول ۲: مقایسه میانگین مراحل مختلف فنولوژیک بر بازده اسانس (میلی‌گرم) توده‌های جمع آوری شده از مراتع دلفارد شهرستان جیرفت

گونه	مرحله فنولوژی			مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	F
	رویشی	گلدهی	بذردهی				
مرمرشک	٦٦a	۹۰b	٤۸c	٥۳٤۰/۳۹	٥۳٤۰/۳۹	۱	۱۰۸/۲۳**
فراسیون‌سفید	٦۰b	۸۰a	۳٤c	۱۰٤٦٤/۹٦	۱۰٤٦٤/۹٦	۱	۲۲۰/٦۹**

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار هستند. ** نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < ۰/۰٥$).

اثر متقابل گونه و مرحله فنولوژیک بر بازده اسانس: اثر متقابل گونه و مرحله فنولوژیک در هر دو گیاه معنی‌دار بود. بازده اسانس دو گونه در مرحله فنولوژیک رشد رویشی تفاوت داشت ($P < ۰/۰٥$). بازده اسانس فراسیون‌سفید و مریم‌گلی لوله‌ای در این مرحله به ترتیب ٦۰ و ٦٦ میلی‌گرم بود. بازده اسانس مریم گلی لوله‌ای ۹ درصد بیش از بازده اسانس فراسیون‌سفید در مرحله رشد رویشی بود ($P < ۰/۰٥$). بازده اسانس دو گونه در مرحله گل‌دهی تفاوت داشت ($P < ۰/۰٥$). بازده اسانس فراسیون‌سفید و مریم گلی لوله‌ای در این مرحله به ترتیب ۸۰ و ۹۰ میلی‌گرم بود. بازده اسانس مریم گلی لوله‌ای ۱۱ درصد بیش از بازده اسانس فراسیون‌سفید در مرحله گلدهی بود ($P < ۰/۰٥$). بازده اسانس دو گونه در مرحله بذردهی نیز تفاوت داشت ($P < ۰/۰٥$). بازده اسانس فراسیون سفید و مریم گلی لوله‌ای در این مرحله به ترتیب ۳٤ و ٤۸ میلی‌گرم بود. بازده اسانس مریم گلی لوله‌ای ۲۹ درصد بیش از بازده اسانس فراسیون سفید در مرحله بذردهی بود ($P < ۰/۰٥$). بیشترین بازده اسانس در هر دو گیاه به ترتیب در مرحله گلدهی، رویشی و بذردهی بود. گیاه مریم گلی لوله‌ای از بازده اسانس بیشتری نسبت به گیاه فراسیون سفید برخوردار بود ($P < 0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳: اثر متقابل گونه و مرحله فنولوژیک بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت

گونه گیاهی	مرحله فنولوژی	بازده اسانس (میلی‌گرم)	خطای معیار	F
مریم‌گلی لوله‌ای	رویشی	٦٦	۷/۷٤	۵۰٦/۹۷**
فراسیون سفید		٦۰	۷/۳۷	
مریم‌گلی لوله‌ای	گلدهی	۹۰	۸/٤۷	۵۰٦/۹۷**
فراسیون سفید		۸۰	۱۰/۵۷	
مریم‌گلی لوله‌ای	بذردهی	٤۸	٦/۱۸	۵۰٦/۹۷**
فراسیون سفید		۳٤	٦/٦۳	

** نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$).

اثر مرحله فنولوژیکی بر ترکیبات شیمیایی اسانس: منظور از کیفیت ماده مؤثره، ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده ماده موثره و درصد هر یک از این ترکیبات در آن است. شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس یا هر ماده مؤثره دیگر می‌تواند در استفاده صحیح از گیاهان دارویی کمک نماید. مرحله فنولوژیک بر ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس فراسیون سفید و مرمرشک تاثیر نداشت ($P > ۰/۰۵$). هم چنین درصد هر یک از ترکیبات شیمیایی در اسانس دو گیاه مذکور در مراحل فنولوژیک مطالعه شده تغییر نکرد. بنابراین، این مطالعه گزارش می‌کند که در مراتع دلفارد جیرفت ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس فراسیون سفید و مرمرشک در طول فصل رویش تغییر نمی‌کند. در اسانس گیاه فراسیون سفید ۳٤ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که به ترتیب γ-Eudesmol (۱۱/۹۳٪)، β-Citronellol (۹/۹۰٪)، Citronellyl formate (۹/۵۰٪)، Germacrene-D (۹/۳۷٪)، Geranyl formate (٦/۲۵٪)، Geranyl tiglate (۵/۵۳٪)، Ledene (۵/۳۵٪) فراوان‌ترین ترکیبات را شامل شدند. حجم ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس در فراسیون سفید ۹۸٪ بود. در اسانس گیاه مرمرشک نیز ۲۰ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که عمده‌ترین ترکیبات آن شامل Cyperene (۱۱٪)، β-Cubeben (۱۰/٦٪)، Germacrene-B (۰/۷٪)، β-Selinene (٦/۷٪)، α-Farnesene (٦/۵٪)، α-Cadinol (٦/۳٪)، Aromandedrene (۵/۸٪) بودند. حجم ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس در مرمرشک نیز ۸۰/۹٪ بود (جدول ٤).

اثر روش خشکاندن بر بازده اسانس: روش‌های مختلف خشکاندن بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید اثر معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). بیش‌ترین بازده اسانس هر دو گونه در روش خشکاندن در سایه و کمترین بازده آن در روش خشکاندن در آون حاصل شد. به طور کلی، بیش‌ترین بازده اسانس گونه‌ها به ترتیب در روش خشکاندن در سایه، آفتاب و آون بود. بازده اسانس مرمرشک در روش خشکاندن در سایه به ترتیب ۳۳/۳٪ و ٦۲/۳٪ بیش از بازده اسانس در روش خشکاندن در آفتاب و آون بود. این مقادیر برای فراسیون‌سفید، به ترتیب ۵۰٪ و ٦٦٪ بود. هر دو گونه در مرحله گل‌دهی در هر سه روش خشکاندن بازده اسانس بیشتری داشتند بازده اسانس در روش سایه و در مرحله گلدهی بیشترین و در روش آون و در مرحله بذردهی کمترین مقدار بود (جدول ۵).

جدول ٤: ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت

ردیف	فراسیون‌سفید			مرمرشک (مریم گلی لوله‌ای)		
	نام ترکیب	مقدار ترکیب (درصد)	شاخص بازداری	نام ترکیب	مقدار ترکیب (درصد)	شاخص بازداری
۱	N-trimethylsilyl trifiluoroacetamide	۲/۳۵	۷٦٤	Trans-β-Ocimne	۲/۰	۱۰٦٦
۲	N,N- bistrimethylsilyl	۰/۹۷	۸۵۷	Linalool	۱/۸	۱۱۰۳
۳	α-Pinene	۱/۱٦	۹۳۲	α-Terpineol	ناچیز	-
٤	Camphene	۰/٤۹	۹٤۸	Cis-Verbenyl acetate	۲/٤	۱۱۹۳
۵	1,8-Cineole	۳/۷۲	۱۰٤٤	Hexyl-2-methyl butyrate	۲/٤	۱۲۱٦
٦	α-Thujone	۲/۲۷	۱۱۳۱	Eugenol	۲/۸	۱۳۰۵
۷	1-Vinylcyclohexane	۰/۷۵	۱۱٤۳	β-Elemene	۲/۵	۱۳۳۹
۸	Camphor	۱/۰۳	۱۱۷٤	Cyperene	۱۱	۱۳٦۰
۹	Iso menthon	۰/۵۷	۱۱۹۷	γ-Gurjunene	۳/۲	۱۳۹٤
۱۰	Borneol	۰/٦۱	۱۱۹۹	β-Cubebene	۱۰/٦	۱٤۰٦
۱۱	β-Citronellol	۹/۹۰	۱۲٦٦	б-Selinene	۲/۸	۱٤۱۰
۱۲	Geraniol	۲/۷٤	۱۲۹۵	Germacrene-B	۷/۰	۱٤۱۳
۱۳	Citronellyl formate	۹/۵۰	۱۳۱۵	β-Selinene	٦/۷	۱٤۱۷
۱٤	Geranyl formate	٦/۲۵	۱۳٤٤	α-Farnesene	٦/۵	۱٤۱۸
۱۵	α-Copaene	۱/۳۷	۱٤۱۹	Spathulenol	۳/۲	۱٤۷۷
۱٦	β-Bourbonene	۱/۹٦	۱٤۲۹	α-Gurjunene	۲/۰	۱۵۰۹
۱۷	Trans- caryophyllene	۲/۱۵	۱٤٦۲	α-Cadinol	۳/٦	۱۵۰۷
۱۸	α-Muurolene	۰/٦۳	۱٤۸٤	Globulol	۲/٦	۱۵۰۹
۱۹	α-Amorphene	۰/۸۱	۱٤۹۰	Aromandedrene	۵/۸	۱۵۲٤
۲۰	α-Humulene	۰/٦۸	۱٤۹۵	Caryophyllene oxide	۲/۰	۱۸۵۳
۲۱	Neoalloocimene	۰/۹۱	۱۵۰۲			
۲۲	Neryl acetate	۳/٤۱	۱۵۱۲			
۲۳	Germacrene- D	۹/۳۷	۱۵۲۱			
۲٤	Ledene	۵/۳۵	۱۵۳٤			
۲۵	-bisaboleneβ	۰/۸٦	۱۵٤٤			
۲٦	б-Cadinene	۳/۳۰	۱۵۵۹			
۲۷	α-Agarofuran	۰/٤۲	۱۵۸۱			
۲۸	Furan-2-one, 4-phenyltetrahydro	۱/٤٤	۱٦۱٦			
۲۹	γ-Eudesmol	۱۱/۹۳	۱٦٤۷			
۳۰	-Cubebene β	۱/۵۲	۱٦۷٤			
۳۱	Citronellyl butanoate	۰/٦٦	۱٦۸۲			
۳۲	Geranyl tiglate	۵/۵۳	۱۷۱۲			
۳۳	Cyclononasiloxane octadecamethyl	۳/۰۸	۲۱۹۸			
۳٤	Eicosamethyl cyclodecasiloxane	۲/۲۹	۲۲٦٤			

جدول ۵: تاثیر روش خشکاندن بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت

گونه	روش خشکاندن	بازده اسانس (میلی‌گرم)	درجه آزادی	مجموع مربعات	F
مرمرشک	سایه	۰/۰٦۹a	۲	۰/۰۲۸	۷۱/۷۵**
	آفتاب	۰/۰٤٦b			
	آون	۰/۰۲٦c			
فراسیون‌سفید	سایه	۰/۰٦a	۲	۰/۰۱۰	۳٤/۸۷**
	آفتاب	۰/۰۳b			
	آون	۰/۰۲c			

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار هستند. ** نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است (P < ۰/۰۵).

اثر مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس: تاثیر مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید در هر سه مرحله رشد رویشی، گلدهی و بذردهی معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بازده اسانس مرمرشک در مرحله گل‌دهی در مدت زمان تقطیر ۳ ساعت دارای بیشترین مقدار (۰/۰٦۲ میلی‌گرم) و در مرحله بذردهی در مدت زمان ۱ ساعت کمترین مقدار (۰/۰۱۷ میلی‌گرم) بود. به طور کلی بازده اسانس در مدت زمان ۳ ساعت در مرحله گل‌دهی به ترتیب ۲۲/٦ و ٤٥/۲ درصد بیش از بازده اسانس در مرحله رویشی و بذردهی بود. بازده اسانس فراسیون‌سفید در مرحله گلدهی در مدت زمان تقطیر ۳ ساعت دارای بیشترین مقدار (۰/۰٦ میلی‌گرم) و در مرحله بذردهی در مدت زمان ۱ ساعت دارای کمترین مقدار (۰/۰۱ میلی‌گرم) بود. به طور کلی، بازده اسانس در مدت زمان ۳ ساعت در مرحله گل‌دهی به ترتیب ۳۳٪ و ٦٦٪ بیش از بازده اسانس در مرحله رویشی و بذردهی بود (جدول ٦).

جدول ٦: تاثیر مدت زمان تقطیر با آب بر بازده اسانس (میلی‌گرم) مرمرشک و فراسیون‌سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت

گونه	مرحله فنولوژی	مدت زمان تقطیر (ساعت) ۱	۲	۳	خطای معیار	درجه آزادی	F
مرمرشک	رویشی	۰/۰۲۲c	۰/۰۳٥b	۰/۰٤۸a	۰/۰۰۱	۲	٤۲۲/۲٦**
	گلدهی	۰/۰۳۳c	۰/۰٤٥b	۰/۰٦۲a	۰/۰۰۱	۲	۳۳۹/٦۹**
	بذردهی	۰/۰۱۷b	۰/۰۳٤a	۰/۰۳٤a	۰/۰۰۲	۲	٦/۱۰۰**
فراسیون‌سفید	رویشی	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰٤	۰/۰۰۱	۲	۲٦٤/٥**
	گلدهی	۰/۰۳	۰/۰٥	۰/۰٦	۰/۰۰۱	۲	۱۲۱/٦**
	بذردهی	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۱	۲	۳٤/۲۱**

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار هستند. ** نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است (P < ۰/۰۵).

اثر متقابل روش خشکاندن و مدت تقطیر بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در هر دو گونه، خشکاندن در سایه در مدت تقطیر ۳ ساعت بیش‌ترین بازده و در روش آون در زمان ۱ ساعت کم‌ترین بازده داشت. به طور کلی، در مرمرشک بازده اسانس در روش خشکاندن در سایه در زمان ۳ ساعت به ترتیب ۲۹٪ و ۲۷/۵٪ بیش از بازده اسانس در مدت زمان ۱ و ۲ ساعت بود. در فراسیون‌سفید، بازده اسانس در روش خشکاندن در سایه در مدت زمان ۳ ساعت به ترتیب ۱٦٪ و ۳۳٪ بیش از بازده اسانس در مدت زمان ۱ و ۲ ساعت بود. در واقع، روش خشکاندن بیش از مدت تقطیر بر بازده اسانس اثر داشت (جدول ۷).

جدول ۷: اثر متقابل روش خشکاندن و مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت

روش خشکاندن	مدت زمان تقطیر (ساعت)	مرمرشک			فراسیون‌سفید		
		بازده اسانس (میلی‌گرم)	خطای معیار	*F*	بازده اسانس (میلی‌گرم)	خطای معیار	*F*
سایه	۱	۰/۰۳۵	۰/۰۰۱	۱۷/٤۲	۰/۰٤	۰/۰۰۱	۱۰/۳۳
	۲	۰/۰٤۹			۰/۰۵		
	۳	۰/۰٦۹			۰/۰٦		
آفتاب	۱	۰/۰۲۰	۰/۰۰۱	۲۳/٦۲	۰/۰۲	۰/۰۰۱	٤/۵۰
	۲	۰/۰۳۳			۰/۰۳		
	۳	۰/۰٤۸			۰/۰۳		
آون	۱	۰/۰۱٦	۰/۰۰۱	۳/٦۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۷/۳۸
	۲	۰/۰۳۲			۰/۰۲		
	۳	۰/۰۲٦			۰/۰۲		

بحث

اثر مرحله فنولوژیکی بر بازده اسانس: ماده مؤثره گیاهان دارویی از نظر کمّی و کیفی در طول فصل رویش با تغییر مراحل فنولوژیکی می‌تواند تغییر کند (Omidbaigi et al, 2009). به همین دلیل دانستن بهترین زمان برداشت گیاهان دارویی، لازمه مدیریت و بهره‌برداری صحیح آن‌ها است. زمان مناسب برداشت می‌تواند نقش اساسی در افزایش کمّیت و کیفیت ماده مؤثره داشته باشد. با آگاهی از فنولوژی گیاهان دارویی هر منطقه، زمان مناسب بهره‌برداری از اندام‌های دارویی و دوره استفاده از گیاهان دارویی تعیین و روش صحیح برداشت آنها تدوین می‌شود. لازم به ذکر است که معیار بهترین زمان برداشت گیاه، هدف و نوع استفاده از ماده مؤثره است که می‌تواند کمّیت و کیفیت مشخصی از ماده مؤثره را نیاز داشته باشد (Omidbaigi, 2003).

در این مطالعه، تغییر مراحل فنولوژیک از رویشی به بذردهی بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید اثر داشت. بازده اسانس در مرحله گل‌دهی در هر دو گونه بیش‌ترین مقدار بود که با پیشرفت رشد گیاه به مرحله بذردهی روند کاهشی داشت؛ این روند با بیشتر گیاهان تیره نعناعیان همخوانی دارد. این نتیجه با یافته‌های Naghdibadi و همکاران (۲۰۰٤) در آویشن شیرازی (*Thymus vulgaris*)، Ghani و Azizi (۲۰۰۹) در مریم‌گلی کبیر (*Salvia sclarea*)، Nejad Ebrahimi و همکاران (۲۰۰۸) در آویشن کرمانی (*Thymus caramanicus*) مطابقت دارد. Ghani و Azizi (۲۰۰۹) بیان کردند بازده اسانس در مراحل مختلف رشد و در اندام‌های مختلف گیاه مریم گلی کبیر تفاوت معنی‌دار داشت. Omidbaigi و همکاران (۲۰۰۳) گزارش نمود که در گیاه مریم‌گلی بیشترین بازده اسانس در گل‌ها بوده و با شروع تشکیل بذر از مقدار آن کاسته می‌شود. و بیشترین بازده اسانس مربوط به مرحله گل‌دهی و کمترین بازده مربوط به بعد از گل‌دهی بود.

در بیشتر گیاهان تیره نعناع، مقدار اسانس موجود در بافت‌های گیاهی از آغاز گل‌دهی روند افزایشی می‌یابد که عمدتاً به دلیل اسانس بیشتر موجود در گل‌ها است. چرا که تعداد غدد حاوی اسانس در واحد زیتوده در مرحله گل‌دهی بیشتر می‌شود. با شروع گل‌دهی و تبدیل تعداد زیادی از مریستم‌های رویشی به مریستم‌های زایشی، فعالیت برگ‌زایی نیز تا حد زیادی متوقف می‌شود و همه این عوامل منجر به کاهش تعداد کرک‌های غده‌ای و متعاقب آن کاهش بازده اسانس در مرحله بذردهی می‌شود (Doosti, 2007). اگر چه رشدونمو و بازده مواد مؤثره گیاهان

داروئی اساساً با هدایت ژنتیکی صورت می‌گیرد ولی عوامل محیطی و زیستی نیز نقش عمده‌ای در آن دارند. بازده اسانس با بیوسنتز، متابولیسم و فعالیت زیستی گیاه رابطه مستقیمی دارد که این‌ها تابع شرایط محیطی و اقلیمی رویشگاه است (Majrouhi, 2009). به علاوه، عوامل مختلفی نظیر زمان برداشت، روش جمع‌آوری، روش خشکاندن و شرایط انبارش و نگهداری هم بر بازده اسانس مؤثر هستند. تفاوت در بازده اسانس در طول رشد گیاه می‌تواند به دلیل تغییر عوامل محیطی مانند دمای روزانه، طول روز، نور، بارندگی و رطوبت (Msaada و همکاران، ۲۰۰۹) و نیز فرایندهای فیزیولوژیکی طی رشد و نمو (Tavares و همکاران، ۲۰۰۸) و همچنین تاثیر عوامل مختلف بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی و مسیرهای متابولیسمی گیاه باشد.

اثر مرحله فنولوژیک بر کیفیت اسانس: فعالیت بیولوژیک و کاربرد اسانس در صنایع مختلف به ترکیبات شیمیایی آن بستگی دارد. تغییرات فیزیکی، شیمیایی و فیزیولوژیکی که طی نمو گیاه اتفاق می‌افتد (Msaada و همکاران، ۲۰۰۹) و یا به عبارتی، مجموعه تغییراتی که طی اونتوژنز و مورفوژنز رخ می‌دهد و به صورت تغییرات ریختی و تغییرپذیری فرایندهای فیزیولوژیکی آشکار می‌شوند (Tavares و همکاران، ۲۰۰۸)؛ سبب بروز تغییرات کیفی در ترکیبات شیمیایی اسانس در طول رشد و نمو گیاه می‌شوند. با مطالعه بر روی گونه‌های دارویی مناطق مختلف می‌توان به ترکیبات شیمیایی عمده موجود در ماده مؤثره آنها پی برد و آن را به عنوان شیمیوتیپ‌های مختلف معرفی کرد و با توجه به ترکیبات شیمیایی غالب هر گونه در برنامه‌های اصلاح نژادی، برای استاندارد کردن فراورده‌های دارویی و کشت و کار آنها استفاده نمود (Ghani and Azizi, 2009).

در این مطالعه، در هر دو گونه ترکیبات شیمیایی اسانس در مراحل فنولوژیک تغییر معنی‌دار نکرد. دلیل این امر احتمالاً به علت عدم تغییر در ویژگی‌های اقلیمی، زیستی و جغرافیایی رویشگاه‌های نمونه برداری شده، باشد. شرایط جغرافیایی (عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، توپوگرافی)، عوامل اقلیمی (میانگین دمای روزانه، فتوپریود، مقدار بارش و غیره)، خصوصیات خاک (Maric و همکاران، ۲۰۰٦)، و هم‌چنین تنش‌های زیستی و محیطی مانند آفات و بیماری‌های گیاهی، گیاهان مهاجم و علف‌های هرز، خشکسالی و غیره در یک رویشگاه ممکن است بر کیفیت و ترکیب شیمیایی ماده مؤثره اثر گذارد. عوامل محیطی بر روی فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی و درنتیجه ترکیب شیمیایی اسانس، شدیداً اثر می‌گذارند. برای مثال، نور خورشیدی که گیاهان دریافت می‌کنند احتمالاً ترکیباتی را که در دوره‌های خاص تولید و در پاسخ به تغییرات محیطی انباشته می‌شوند را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Wang و همکاران، ۲۰۰۹). Dehghan و همکاران (۲۰۱۰) در کاکوتی‌کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) گزارش کردند که ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس در نمونه‌های مختلف متفاوت بود که این نشان دهنده تأثیر شرایط رویشگاهی بر کیفیت اسانس است. Karimi و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که ارتفاع از سطح دریا بر میزان تیمول آویشن دنایی اثر معنی‌دار و مثبت داشت ولی عوامل اقلیمی از جمله میزان بارش سالانه و متوسط دمای سالانه و عوامل ادافیکی اثر معنی‌داری بر میزان تیمول و کارواکرول این گونه در نداشت. همچنین تغییرات ترکیبات شیمیایی اسانس می‌تواند به دلیل تغییرات و تبدیلات ترپن‌ها، فرایندهای اکسایش ناشی از نور و دما باشد. مسیرهای بیوسنتزی ترپنوئیدها طی نمو گیاه و تحت تنش گیاهخواران و در شرایط محیطی متفاوت تغییر می‌کند (Neffati و همکاران، ۲۰۰۹). علاوه بر موارد ذکر شده در بالا، شرایط و روش‌های آزمایشگاهی به کار برده شده در استخراج اسانس و تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی آن‌ها نیز ترکیب شیمیایی اسانس‌ها

را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Wang و همکاران، ۲۰۰۹؛ Msaada و همکاران، ۲۰۰۹).

اثر روش خشکاندن بر بازده اسانس: گیاهان حاوی اسانس اگر بلافاصله خشک نشوند اسانس آنها کاهش می‌یابد. دما مهمترین عامل در خشک کردن گیاهان دارویی است. اگرچه خشک کردن اندام‌های گیاه دارویی در دمای زیاد باعث از بین رفتن جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود، باید توجه داشت که افزایش بیش از حد دما و مدت خشکاندن، سبب کاهش مقدار ماده مؤثره می‌شود و بر کیفیت آن هم اثر منفی می‌گذارد. در صورت خشک کردن به روش درست، رنگ و رایحه اولیه اندام دارویی بهتر حفظ می‌شود. به علاوه، واکنش گیاهان مختلف نسبت به دمای خشک کردن تفاوت دارد که ناشی از ماهیت اسانس و نوع ترکیبات تشکیل دهنده و فرّاریت نسبی آنها است (Kayhani و همکاران، 2014). در این مطالعه، بازده اسانس مرمرشک و فراسیون‌سفید درروش‌های مختلف خشکاندن تفاوت داشت. بیشترین بازده اسانس اندام‌های هوایی هر دو گونه در روش خشکاندن در سایه و کمترین مقدار آن در روش خشکاندن در آون بود. Shakeri و همکاران (۲۰۱۷) هم گزارش کردند که در بابونه کبیر (*Tanacetum parthenium*) بالاترین درصد اسانس در روش خشکاندن در سایه حاصل شد. دلیل زیاد بودن بازده اسانس در این روش، عمدتاً ناشی از دمای بهینه محیط است. چون در محیط سایه، دمای هوا حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. در حالی‌که در آون دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. یعنی دمای زیاد باعث کاهش بیشتر مقدار اسانس در اندام‌های گیاه شد. بنابراین، مرمرشک و فراسیون سفید واکنش یکسانی به روش و دمای خشک کردن داشتند.

عکس‌العمل گیاهان مختلف به روش خشک کردن متفاوت است. مثلا در گونه *Mentha longifolia* بالاترین مقدار اسانس در میان روش‌های مختلف خشک کردن، از خشکاندن در آفتاب حاصل شده است (Asekan *et al.*, 2007). ولی در بیشتر موارد، خشک کردن در آفتاب باعث کاهش مقدار ماده مؤثره شده است (Arslan and Musa Özcan, 2008) که علت آن ممکن است تأثیر منفی تشعشعات آفتاب بر مقدار اسانس باشد (Ghani and Azizi, 2009). Rahmati و همکاران (۲۰۱۰) بیشترین بازده اسانس حاصل شده در بابونه آلمانی (*Matricaria chemmomilla*) خشک شده به سه روش در آفتاب، سایه و آون (دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد)، را در روش سایه گزارش کردند. در گیاه بومادران هم، بیشترین بازده اسانس در تیمار خشکاندن در سایه بود و بازده اسانس در تیمار آفتاب نسبت به تیمارهای سایه و آون کمتر بود (Ghani and Azizi, 2009). در گیاه بادرشبی (*Dracocephalum moldavica*) بالاترین درصد اسانس مربوط به تیمار سایه و کمترین آن مربوط به آون بود (Mohtashami و همکاران، 2012). بنابراین، این مطالعه گزارش می‌کند که خشکاندن در سایه روش مناسب و قابل توصیه برای مرمرشک و فراسیون‌سفید است.

اثر مدت زمان تقطیر بر بازده اسانس: در این مطالعه، مدت زمان تقطیر در هر سه مرحله فنولوژیک بر بازده اسانس اثر معنی‌دار داشت. بازده اسانس در مدت زمان تقطیر ۳ ساعت بیش از ۱ و ۲ ساعت بود. دلیل بالا بودن بازده اسانس در مدت زمان تقطیر بیشتر احتمالاً این است که افزایش مدت زمان تقطیر، باعث خروج مقدار بیشتر اسانس از غدد حاوی ماده مؤثره در اندام‌های دارویی می‌شود (Habibzadeh et al., 2012). Barazandeh (۲۰۰۵) گزارش نمود که بازده اسانس برگ‌های اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) با افزایش مدت زمان تقطیر از ۱۵ دقیقه به ۱۸۰ دقیقه افزایش یافت؛ ولی محتوای ترکیبات بیوشیمیائی اسانس کاهش یافت. Habibzadeh و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند بازده اسانس در گونه *Pimpinella affinis* با افزایش مدت زمان تقطیر از ٦٠ دقیقه به ۹۰ دقیقه افزایش یافت ولی با افزایش مدت تقطیر به ۱۵۰

دقیقه، بازده اسانس تغییر معنی‌دار نکرد. Mirza و Najafpour Navaei (2016) مناسب‌ترین مدت زمان برای استخراج اسانس گل محمدی به روش تقطیر با آب را ۹۰ دقیقه پیشنهاد کرده‌اند. این مطالب بیانگر آن است که تعیین مدت زمان بهینه تقطیر برای حصول ماده مؤثره با کمّیت و کیفیت مورد نظر حائز اهمیت زیادی است و این مدت در گونه‌های مختلف دارویی یکسان نیست و لازم است برای گیاهان دارویی مهم هر منطقه به طور جداگانه تعیین شود.

نتیجه‌گیری نهایی

تغییرات مرحله فنولوژیک از مرحله رشد رویشی تا مرحله بذردهی بر بازده اسانس مرمرشک و فراسیون سفید در مراتع منطقه دلفارد شهرستان جیرفت تأثیر دارد. بیشترین بازده اسانس هر دو گونه در مرحله گل‌دهی و کمترین بازده در مرحله بذردهی است. ولی، تغییر مراحل فنولوژیک بر کیفیت اسانس این دو گونه اثر ندارد. در واقع ترکیبات شیمیایی و درصد آنها در اسانس دو گونه در مراحل مختلف فنولوژیک یکسان است. بنابراین، بهترین زمان برداشت اندام‌های دارویی هر دو گونه در مراتع دلفارد شهرستان جیرفت در مرحله گلدهی (اواسط اردیبهشت) است. روش خشکاندن در سایه بهترین روش برای خشکاندن اندام‌های دارویی دو گونه مرمرشک و فراسیون سفید است. مناسب‌ترین مدت زمان تقطیر با آب برای هر دو گونه، ۳ ساعت است. به عبارت دیگر، بیشترین بازده اسانس این دو گونه زمانی حاصل می‌شود که اندام‌های اسانس‌دار در سایه خشکانده شوند و به مدت حداقل ۳ ساعت عصاره‌گیری شوند. لازم است تأکید شود که زمان مناسب برای برداشت اندام‌های دارویی گیاهان بسته به شرایط جغرافیای و اقلیمی رویشگاه‌ها می‌تواند متفاوت باشد. این نکته بیانگر آن است که زمان مناسب برداشت برای هر گونه دارویی در هر منطقه جغرافیایی باید جداگانه تعیین شود و نمی‌توان به استناد تحقیقات انجام شده در سایر شرایط جغرافیایی، زمان برداشت مناسب را تعیین نمود.

سپاسگزاری

این تحقیق مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد بوده و با حمایت مالی دانشگاه زابل انجام شده است.

References

Amin, G. 1991. Medicinal plants and traditional medicine of Iran. Publications of the Research Deputy of the Ministry of Health and Medical Education, 104 p.

Amritpal, S., Herbal, C., and Chandigarh, I.S. 2008. A Note on variation of active principles in Indian medicinal plants and TIM formulations. Ethnobotanical leaflet. 12: 603-606.

Arslan, D., and Musa Özcan, M. 2008. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and color characteristics of rosemary leaves. Energy Conversion and Management. 49(5): 1258-1264.

Asekun, OT, Grierson, DS., and Afolayan, AJ. 2007. Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia*L. Subsp *Capensis*. Food Chemistry. 101: 995-998.

Bakhshi Khaniki, Gh., and Lari Yazdi, H. 2009. The survey of essential oils composition in *Salvia limbate* & *Salvia macrosiphon*. Biology. 4(1): 33-42.

Barazandeh, M.M. 2005. The Effect of method and time of distillation on the essential oil yield and composition of *Eucalyptus globulus*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 21(1): 75-93.

Cirak, C., Radusienes, J., Janulis, V., and Ivanauskas, L. 2007. Secondary metabolites in *Hypericum perfoliatum* variation among plant parts and phonological stages. Botanica Helvatica. 117: 29 -36.

Dehghan, Z., Sefidkon, F., Bakhshi Khaniki, G., and Kalvandi, R. 2010. Effects of some ecological factors on essential oil content and composition of *Ziziphora clinopodioides* Lam. subsp. *rigida* (Boiss.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 26(1): 49-63.

Doosti, B. 2007. Investigating the structure, ultrastructure and development of glandular hairs of *Saturea khuzistanica* and analyzing the components of the essential oil during the vegetative and reproductive stages of the plant and its antimicrobial properties. PhD Thesis, Islamic Azad University, Sciences and Research Unit, Tehran, 137 p.

Ebadi, M.T., Rahmati, M., Azizi, M., Hassanzadeh Khayyat, M., and Darkhah, A. 2013. The effects of different drying methods on drying time, essential oil content and composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 29(2): 425-437.

Ebn-E-Abbasi, R., and Saedi, K. 2009. Quantitative study of some micro elements of three important range species in different phenological stages in Saral, Kurdistan province. Journal of Rangeland. 3(1): 69-78.

Ghani, A., and Azizi, M. 2009. The effect of different drying methods on quantity and quality characteristics of five Yarrow species (*Achillea*). The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture). 23(1): 1-11.

Ghannadi, A., Samsam-shariat, S. H., and Moattar, F. 1999. Composition of the leaf oil of *Salvia hydrangea* DC. ex Benth. Grown in Iran. Journal of Essential oil Research. 1:745-746.

Gohari, AR., Ebrahimi, H., Saeidnia, S., Foruzani, M., Ebrahimi, P., and Ajani, Y. 2011. Flavones and Flavone Glycosides from *Salvia macrosiphon* Boiss. Journal of pharmaceutical Research. 10(2): 247-251.

Habibzadeh, M., Sefidkon, F., and Fatemi, Sh. 2012. The effects of different mesh sizes, methods and periods of distillation on essential oil content and composition of *Pimpinella affinis* Ledeb. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 28(2): 224-234.

Ibtissem, H. S., Maamouri, E. Chahed, T., Wannes, W. A. Kchouk, M., and Marzouk, B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crop and Production. 30: 395-402.

Imani, y. 2005. Investigation on Essential Oil Content of Melissa officinalis during Growth Period in Malekan and Arasbaran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 21(2): 123-129.

Karimi, A., Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., and Yousefi, M. 2010. Evaluation of ecotype and chemotype diversity of *Thymus daenensis* Celak. in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces. Journal of Medicinal Herbs. 1(3): 1-10.

Kayhani, A., Sefidkon, F., and Monfared, A. 2014. The effect of drying and distillation methods on essential oil content and composition of *Satureja sahendica* Bornm. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 30(2): 239-249.

Kazemi, F. 2000. The effect of different methods of drying and extracting essential oils on the amount and constituents of essential oils of Roman chamomile flowers of Floraplena cultivar. MSc thesis. Tarbiat Modares University, Tehran.

Majnoon Hosseini, N., and Davazdah Emami, S. 2009. Cultivation and production of some medicinal and spice plants. Tehran University press.

Majrouhi, A. 2009. Research of changes in quantities and qualities of leaf volatile oils of *Zhumeria majdae* Rech. f. & Wendelbo in different stages of growth. Journal of Medicinal Plants. 8 (29):107-113.

Maric, S., Maksimovic, M., and Milos, M. 2006. The Impact of the Locality Altitudes and Stages of Development on the Volatile Constituents of *Salvia officinalis* L. from Bosnia and Herzegovina. Journal of Essential Oil Research. 18(2): 178–180.

Martinov, M., and Oztekin S. 2007. Medicinal and Aromatic Crops (Harvesting, Drying, and Processing), 1st Edition. CRC Press, 320p.

Mirza, M., and Najafpour Navaei, M.D. 2016. The effect of extraction time on essential oil composition of 4 genotype of Rosa damascene Mill. Eco-phytochemical of Medicinal plants. 2(4): 23-32.

Mohtashami, S., Babalar, M., Ebrahim zadeh mosavi, M., Mirjalili, M., and Adib, J. 2012. Effect of farming conditions and drying methods on the drying period, essential oil quantity, color and microbial loads of *Dracocephalum moldavica* L. Iranian Journal of Horticultural Science. 43(2): 243-254.

Msaada, K., Hosni, K., Taarit, M.B., Ouchikh, O., and Marzouk, B. 2009. Variations in essential oil composition during maturation of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits. Journal of Food Biochemistry. 33: 603-612.

Naderi Hajibagheri kandi, M., Sefidkon, F., Azizi, A., and Pourheravi, M.R. 2011. The influence of different distillation times on essential oil content and composition of *Laurus nobilis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 27(2): 249-260.

Naghdibadi, H., Yazdani, D., Sajed, M. A., and Nazari, F. 2004. Effect of spacing and harvesting time on herbage yield and quautity / quality of oil in thyme (*Thymus vulgaris* L.). Industrial Crop and Production. 19: 231-236.

Neffati, A., Limem, I., Kilani, S., Bouhlel, I., Skandrani, I., Bhouri, W., Ben Sghaier, M., Boubaker, J., Ledauphin, J., Barillier, D., Ghedira, LC., and Ghedira, K. 2009. A comparative evaluation of mutagenic, antimutagenic, radical scavenging and antibacterial activities of essential oils of *Pituranthos chloranthus* (Coss. et Dur.). Drug and Chemical Toxicology. 32(4):372-80.

Nejad Ebrahimi, S., Hadian, J., Mirjalili, M. H., Sonboli, A., and Yousefzadi, M. 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenologycal stages. Food chemistry. 110: 927-931.

Omidbaigi, R. (2005). Production and processing of medicinal plants. 1st Edition, Astan Quds Razavi Press, Tehran. 348 p.

Omidbaigi, R. 2003. Production and processing of medicinal plants. 3rd volume, 3rd edition, Astan Quds Razavi Press, 397 p.

Omidbaigi, R., Rezalo, A., and Hadi, N. 2009. Investigating the phenology of *Angelica archangelica* L. in Zardband region of Tehran. The 6th Congress of Horticultural Sciences of Iran.

Rahmati, M., Azizi, M., Ebadi, MT., and Hassanzadeh Khayyat, M. 2010. Effect of various drying methods on weight loss rate essential oil quantity, and kamazolen percent in *Matricaria recutita*. Journal of Horticultural Science. 24(1): 29-37.

Rezaee, MB., Jaimand, K., Majd, A., and Maddah, M. 2002. Effect of harvesting time on quality and quantity of essential oil from different organs of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 11(1): 11-23.

Sajjadi, A., Emami, A., and Nemati, R. 2000. Composition of the essential oil of *Salvia macrosiphone* Boiss. Pharmaceutical Sciences. 3: 51-56.

Sefidkon, F., Mirza, M., and Javidtash, I. 2000. Essential oil composition of *Salvia macrosiphon* Boiss. From Iran. Journal of Essential Oil-Bearing plant. 8(2): 126-129.

Shakeri, H., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Maleki, A., Ghasemi, A., and Hosseinzadeh Samani, B. (2017). Effects of Different Drying Methods on the Quality and Quantity of the Essential Oil of *Tanacetum Parthenium* L.). Iranian Journal of Biosystems Engineering. 48(1), 172-165.

Tajali, A.A., and Sadeghipour, O. 2010. Influence of phonological stages on essential oil composition of *Stachys schtschegleevii*. 4(1): 130-139.

Tavares A.C., Goncalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Lopes, M.C., Canhoto, J., and Salgueiro, L.R. 2008. Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: composition, antifungal activity and cytotoxicity. Journal of Ethnopharmacology. 119:129-134.

Venskutonis, PR. 1997. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Saliva officinalis* L.). Food Chemistry. 59(2): 219-277.

Wang, L., Li, M., Jin, W., Zhang, Sh., and Yu, L. 2009. Variation in the components of *Osmanhus fragrans* Lour essential oil at different stages of flowering. Food Chemistry. 114: 233-236

Yousefzadeh, S., Modarres-Sanavy, S.A.M., Sefidkon, F., Asgarzadeh, A., and Ghalavand, A. 2011. Effects of different harvest time on essential oil content and composition of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 26(4): 2011.

Zargari, A. 1997. Medicinal plants. Tehran University Press.