

بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فیتوشیمیایی و ترکیبات موثره اسانس گیاه دارویی *Origanum vulgare L. Subsp. gracile*

امیر رحیمی^۱، الهام فرخی^{۲*}

^۱استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران
^۲کارشناس ارشد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۲

چکیده

خشک کردن رایج‌ترین روش نگهداری از گیاهان دارویی و معطر و حفاظت از ترکیبات بیوشیمیایی آنها است. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از بدن در برابر خسارات ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند. به‌منظور بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی اسانس سرشاخه‌های گلدار مرزنجوش در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، آزمایشی بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه (ارتفاع ۱۳۶۵ متر از سطح دریا) در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. اندام هوایی گیاه با استفاده از چهار نوع روش خشک کردن از جمله، دمای اتاق (۲۰-۲۳ درجه سانتی‌گراد)، هوای آزاد (نور مستقیم خورشید)، هوای آزاد (سایه) و دمای آون (۴۰ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) انجام گرفت. اجزاء اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد شناسایی قرار گرفت. میزان فنل فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)، فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال سوپراکسید و فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال نیتریک اکسید به ترتیب با استفاده از معرف فولین سیوکالتو، کلرید آلومینیوم، ۲ و ۲ دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل، بافر Tris-HCL و واکنش Griess Illosvoy اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین روش‌های مختلف خشک کردن وجود دارد. بیشترین مقدار اسانس، محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال DPPH و فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال سوپراکسید در روش خشک کردن در سایه مشاهده شد. با این حال کارواکرول و تیمول به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس دارای بیشترین مقدار در شرایط خشک کردن در هوای آزاد تحت نور مستقیم آفتاب بودند. بیشترین مقدار ترکیباتی نظیر بتا-مرسین، آلفا-تریپین، گاما-تریپین و ام-سیمول که بعد از کارواکرول و تیمول دارای بالاترین مقادیر بودند در روش خشک کردن در سایه بدست آمدند. می‌توان نتیجه گرفت ترکیبات اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرزنجوش به شدت تحت تاثیر روش خشک کردن قرار می‌گیرد و در بین روش‌های خشک کردن، خشک کردن در سایه بهترین روش برای گیاه مرزنجوش بود تا ترکیب شیمیایی اش را حفظ کند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسانس، روش خشک کردن، کارواکرول، مرزنجوش

هستند (Hassanpouraghdam et al., 2010). روش‌های مختلف خشک کردن می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را تغییر دهد (Sultana et al., 2007). در انتخاب نوع خشک کردن گیاهان دارویی باید به نوع اندام مورد استفاده و نوع موثره توجه کرد و روش مناسبی را مورد استفاده قرار داد (Omidbaigi, 2005). روش خشک کردن طبیعی (سایه و آفتاب) به دلیل برخورداری از هزینه کمتر هنوز هم در بسیاری از مناطق به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. خرم‌دل و همکاران (Khorramdel et al., 2013)، گزارش کردند که بالاترین درصد اسانس آویشن، بابونه، بادرنجبویه، ترخون و نعنا فلفلی در روش خشک کردن در سایه به ترتیب برابر با ۰/۷، ۰/۹، ۲/۹، ۲/۹ و ۳/۳ درصد بدست آمد و افزایش درجه آون از ۳۰ به ۶۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش درصد و اجزای اسانس این گیاهان شد. همچنین آنها گزارش کردند بالاترین محتوای تیمول در آویشن، کامازولن در بابونه، سیترونل در بادرنجبویه، استراگول در ترخون و منتول در نعنا فلفلی به ترتیب ۵۴/۲، ۷/۶، ۵۳/۵، ۶۹/۸ و ۶۷/۱ درصد در روش خشک کردن در سایه بدست آمد.

مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری سرطان و آلزایمر می‌گردد. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیاری در گیاهان وجود دارند که از جمله آنها می‌توان به ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و بنزوئیک اسید اشاره کرد (Lindsay and Astley, 2002). ترکیبات فنلی یکی از گسترده‌ترین گروه‌های فیتوشیمیایی موجودند که دارای اهمیت مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی زیادی در گیاهان هستند که ویژگی آنتی‌اکسیدانی آنها ناشی از قدرت احیا کنندگی و ساختار شیمیایی آنها است که باعث خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از

گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی با نام علمی (*Origanum vulgare L. Subsp. gracile*) متعلق به خانواده نعناعیان بوده و دارای ارتفاع ۳۰-۵۰ سانتی‌متر، گل‌های سفید یا بنفش و برگ‌های متقابل نوک تیز و دندان‌های است (Jennifer Ragi et al., 2011). بیشترین پراکنش گونه‌های مختلف مرزنجوش در منطقه مدیترانه، ایران و توران می‌باشد (Sozmen et al., 2012). از گونه‌های گیاهی مختلف مرزنجوش در صنایع غذایی، آرایشی و عطرسازی استفاده می‌شود (Mozafarian, 2012). تحقیقات نشان داده است که مرزنجوش دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی ضدباکتریایی و ضد میکروبی می‌باشد (Hashemi et al., 2016). این گیاه به صورت سنتی برای درمان سرماخوردگی، گلو درد، سوء هاضمه و اختلالات گوارشی به کار می‌رود (Yin et al., 2012). در بین گونه‌های مختلف مرزنجوش، زیر گونه *gracile* از لحاظ اسانس غنی‌تر هستند (Morshedloo et al., 2017). ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده مرزنجوش شامل کارواکرول، کارواکرول متیل‌تر، گلما-ترپین و پ-سیمین (Morshedloo et al., 2017)، کاریوفیلین، پاراسیمن، لینالول و زرانین استات می‌باشد که میزان این ترکیبات در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد (Kilic and Ozdemir, 2016). خشک کردن یکی از روش‌هایی است که از رشد میکروب‌ها و بروز تغییرات بیوشیمیایی خاص در گیاه جلوگیری کرده و بر ویژگی‌های ظاهری و آروماتیکی گیاه تاثیر می‌گذارد (Chong and Lim, 2012; Rabeta and Lai, 2013). روش‌های مختلفی برای خشک کردن گیاهان وجود دارد که از جمله آنها می‌توان به (خشک کردن با امواج ماکروویو، خشک کردن انجمادی، خشک کردن با هوای داغ، نورخورشید، سایه و خشک کردن در آون) اشاره کرد که هر یک دارای مزایا و معایبی

اکسیداسیون لیپیدها می شود (Ahmadi et al., 2007). فلاوونوئیدها ترکیبات زیست فعالی هستند که حدود ۶۰ درصد از ترکیبات پلی فنلی موجود در گیاهان را شامل شده و به وفور در میوه‌ها، سبزی‌ها، دانه‌ها و مغزها یافت می شوند (Shahbazi et al., 2013). آنیون سوپراکسید یک فرم کاهش یافته از اکسیژن مولکولی است و یک رادیکال آزاد تشکیل شده از سیستم‌های حمل و نقل الکترونی میتوکندری محسوب می‌شود. برخی از الکترون‌ها که از واکنش زنجیره‌ای میتوکندری عبور می‌کنند، به‌طور مستقیم با اکسیژن واکنش می‌دهند و آنیون سوپراکسید را تشکیل می‌دهند (Howes, 2006). NO به‌عنوان یک مولکول پیام رسان کلیدی در واکنش گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده، به‌عنوان واسطه و انتقال پیام در عمل تنظیم کننده‌های رشد گیاهی شرکت می‌کند (Xiong et al., 2012). مطالعات نشان می‌دهد که NO برخی اثرات محافظتی برای گیاهان تحت تنش خشکی ایجاد می‌کند که مرتبط با سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Arasimowicz and Floryszak, 2007). روش DPPH یکی از قدیمی‌ترین روش‌های اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که بر اساس واکنش رادیکال آزاد DPPH با ترکیبات دهنده هیدروژن مانند فنل‌ها می‌باشد.

هدف از این تحقیق بررسی تاثیر نحوه خشک کردن گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی بر کمیت و کیفیت اسانس، ترکیبات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرزنجوش و انتخاب بهترین روش خشک کردن برای حصول بالاترین میزان اسانس، کیفیت بالای گیاه و کاهش هزینه‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی اثر روش‌های مختلف

خشک کردن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و چهار تیمار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. اندام هوایی گیاهان مرزنجوش (با شماره هرباریومی ۹۶۰۱ خریداری شده از مرکز تحقیقات کشاورزی هرباریوم گیاهی استان آذربایجان غربی) در مرحله ۵۰ درصد گلدهی از گیاهان سه ساله موجود در مزرعه زراعی دانشگاه ارومیه با مختصات (۳۷ درجه و ۳۹ دقیقه عرض شمالی و ۴۴ درجه و ۵۸ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۶۵ متر از سطح دریا) جمع‌آوری شده و بعد از شست‌وشو با آب مقطر، برگ‌های گیاه به چهار روش مختلف (در دمای ۲۰- ۲۳ درجه سانتی‌گراد در اتاق، در سایه، زیر نور مستقیم خورشید و در دمای ۴۰ درجه در آون) خشک گردیدند. به‌منظور اسانس‌گیری، ۵۰ گرم گیاه پودر برگ خشک شده مرزنجوش به روش تقیر با آب و با دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد (European Pharmacopoeia, 1997). برای عصاره‌گیری به‌منظور اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاه، مقدار ۲ گرم از برگ‌های خشک گیاه با ۲۵ میلی‌لیتر محلول متانول مطلق بر روی تکان‌دهنده مغناطیسی به مدت ۳ ساعت عصاره‌گیری شد و سپس محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید (Wijeratne et al., 2006).

تعیین محتوای فنل کل: ۱ میلی‌لیتر از معرف Folin-Ciocalteu (که به نسبت ۱:۱۰ رقیق شده بود) به ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی افزوده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۱۰٪) مخلوط شده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه گردید. در نهایت جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Oki

بود، با استفاده از یک سرنگ میکرولیتری به قسمت بالایی لوله آزمایش تزریق شده و مخلوط شد. مخلوط برای ۳ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و سپس بلافاصله ۱ قطره اسید آسکوربیک (۰/۰۳۵٪) برای پایان واکنش به داخل مخلوط چکانده شد. جذب مخلوط در ۴۲۰ نانومتر به‌عنوان A_0 پس از ۵ دقیقه ثبت شد، و این A_0 سرعت اتواکسیداسیون پیروگالول را نشان می‌دهد. سرعت اتواکسیداسیون A_1 از همان روش بالا گرفته شد فقط به بافر تریس میزان مشخصی از عصاره (۱۰ میکرولیتر) افزوده شد جمع‌آوری رادیکال با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$A_0 - \text{درصد جمع آوری رادیکال های سوپر اکسید} = \frac{(A_1 - A_2) \times 100}{A_0}$$

تعیین درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید:
 مهار رادیکال نیتریک اکسید با استفاده از واکنش Griess Illosvoy محاسبه گردید (Garrat, 1964). در این روش عامل واکنشی Griess Illosvoy با استفاده از جایگزینی نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید (۰/۱ درصد حجم/ وزن) به جای ۱- نفتیل آمین (۵ درصد) اصلاح شد. ۳ میلی‌لیتر محلول واکنشی حاوی ۲ میلی‌لیتر سدیم نیترو پروسید (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین و ۴۰ میکرولیتر عصاره گیاهی به‌مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر اسید سولفانلیک (۰/۳۳ درصد در اسید استیک گلاسیال ۱۰ درصد) مخلوط شده و به‌مدت ۵ دقیقه برای تکمیل دآزوتیزاسیون ثابت گذاشته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید به مخلوط اضافه گردید و اجازه داده شد مخلوط به

(et al., 2002). محتوای فنل کل برحسب میلی‌گرم اکی والان‌های گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بیان گردید.

تعیین محتوای فلاونوئید: ۵۰ میکرولیتر عصاره با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و سپس ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر نیتريت سدیم (۵٪) به آن اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول $AlCl_3$ (۱۰٪) اضافه شد و پس از گذشت ۶ دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر $NaOH$ (۱ مولار) اضافه گردید و حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. و شدت رنگ صورتی پدیدار شده در محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد (Zhishen et al., 1999). محتوای فلاونوئیدی کل بر حسب میلی‌گرم اکی والان‌های کوئرستین موجود در ۱۰۰ گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین بیان گردید.

سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH: میزان جمع‌کنندگی رادیکال پایدار DPPH (۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل) طبق روش بوریتس و بوکر (Burits and Bucar., 2000) با کمی تغییر تعیین گردید. ۴۰ میکرولیتر از عصاره با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴٪) مخلوط شد. جذب مخلوط بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون (در دمای اتاق و تاریکی) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

$100 \times \frac{(1 - A_{\text{sample}})}{A_{\text{blank}}}$ = درصد مها رادیکال DPPH
 A_{sample} جذب عصاره در $t = 60 \text{ min}$ و A_{blank} جذب شاهد در $t = 0 \text{ min}$ است.

تعیین درصد جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید: لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس اسیدکلریدریک (pH=۸/۲ ۵۰ میلی‌مول بر لیتر) به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. ۴۰ میکرولیتر از محلول پیروگالول که قبلاً در ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده

نیتروژن به عنوان گاز حامل استفاده گردید. سرعت جریان گاز حامل یک میلی لیتر بر دقیقه و روش یونیزاسیون (EI) ۷۰ الکترون ولت بود. دریچه تزریق در مد Split با نسبت ۱:۵۰ بود. به منظور شناسایی درصد ترکیبات از یونیزاسیون شعله (FID، ۲۶۰ درجه سانتی گراد) استفاده شد (Abdellatif et al., 2014;) (Basta et al., 2005).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار CoStat، مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس طرح بلوک کامل تصادفی و در سه تکرار انجام گرفت.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر میزان فنل کل، درصد جمع-آوری رادیکال DPPH، درصد جمع‌کنندگی رادیکال سوپراکسید و رادیکال نیتریک اکسید و همچنین درصد اسانس مرزنجوش در سطح احتمال ۰/۱ درصد و بر میزان فلاونوئید کل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای فنل و فلاونوئید کل، رادیکال سوپر اکسید، رادیکال نیتریک اکسید، فعالیت آنتی اکسیدانی و درصد اسانس گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				فنل کل (میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم)	فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم)	مهار رادیکال آزاد (DPPH) (%)	مهار رادیکال سوپراکسید (%)	مهار رادیکال نیتریک اکسید (%)	درصد اسانس (%)
		۲	۳	۶	ضرب تغییرات (%)						
بلوک (تکرار)	۲	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۱/۹ ^{ns}	۰/۶۹ ^{ns}	۰/۳۲ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	۰/۳۲ ^{ns}	۰/۳۲ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}	
خشک کردن	۳	۱۸۲/۳ ^{***}	۰/۰۰۵ ^{**}	۱۰/۴ ^{***}	۱۷/۸ ^{***}	۹/۰۱ ^{***}	۰/۸۵ ^{***}	۱۷/۸ ^{***}	۹/۰۱ ^{***}	۰/۸۵ ^{***}	
خطا	۶	۲/۲۴	۰/۰۰۰۳	۲/۵	۰/۶۶	۰/۳۸	۰/۰۰۲	۰/۶۶	۰/۳۸	۰/۰۰۲	
ضرب تغییرات (%)	-	۳/۸	۴/۲	۳/۱	۷/۳	۷/۵	۲/۲۴	۷/۳	۷/۵	۲/۲۴	

^{ns}، ^{**} و ^{***} به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و ۰/۱ درصد

کردن در دمای اتاق و آون تفاوت معنی‌داری نشان نداد و کمترین مقدار فنل و فلاونوئید کل در روش

مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت بماند. یک صورتی منتشر در زمینه روشن پدیدار گردید. جذب این محلول در ۵۴۰ نانومتر در مقابل یک بلانک خوانده شد. درصد جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید با استفاده فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد} = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) \times 100 / A_{\text{sample}}$$

جمع‌آوری رادیکال‌های نیتریک اکسید

به منظور شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مرزنجوش از دستگاه GC/mass و GC استفاده شد. بعد از بدست آمدن برنامه زمانی مناسب برای جداسازی ترکیبات اسانس، اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی با مشخصات زیر تزریق شد. دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent 6990N ساخت آمریکا و نرم‌افزار HP Chemstation در محیط ویندوز و اینجکتور با مد split / splitless و ستون موئین HP-5 MS با طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر. دمای اولیه آون در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه نگه داشته شده و بعد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و ۵ دقیقه در همان دما ماند. از گاز

بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل گیاه در روش خشک کردن در سایه بدست آمد و با روش خشک

(DPPH) گیاه در روش خشک کردن در آون مشاهده شد. بیشترین و کمترین فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال نیتریک‌اکسید به ترتیب در روش خشک کردن در دمای اتاق و دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون مشاهده شد. بالاترین میزان درصد اسانس در روش خشک کردن در سایه بدست آمد (جدول ۲).

خشک کردن در زیر نور مستقیم آفتاب مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) و فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال سوپراکسید در برگ‌های گیاه مرزنجوش بخارایی در روش خشک کردن در سایه مشاهده شد. در مورد رادیکال سوپراکسید در سایر روش‌های خشک کردن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

جدول ۲: میانگین داده‌های اثر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای فنل و فلاونوئید کل، رادیکال سوپر اکسید، رادیکال نیتریک اکسید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد اسانس گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی

درصد اسانس (%)	مهار رادیکال نیتریک اکسید (%)	مهار رادیکال سوپراکسید (%)	مهار رادیکال آزاد (DPPH) (%)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم)	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم)	روش خشک کردن
۲/۰۹ ^c	۹/۸۶ ^a	۹/۶ ^b	۵۲/۱ ^a	۰/۴۳ ^a	۴۲/۵ ^a	دمای اتاق (۲۰-۲۳ درجه)
۱/۳۵ ^d	۷/۷۲ ^{bc}	۹/۷ ^b	۴۳/۶ ^b	۰/۳۶ ^b	۲۷/۳ ^b	هوای آزاد (نور آفتاب)
۲/۵۸ ^a	۸/۵۵ ^b	۱۴/۷ ^a	۵۳/۵ ^a	۰/۴۶ ^a	۴۳/۸ ^a	هوای آزاد (در سایه)
۲/۳۴ ^b	۵/۷۲ ^c	۱۰/۳ ^b	۴۱/۸ ^b	۰/۴۲ ^a	۴۲/۱ ^a	آون (۴۰ درجه سانتی‌گراد)

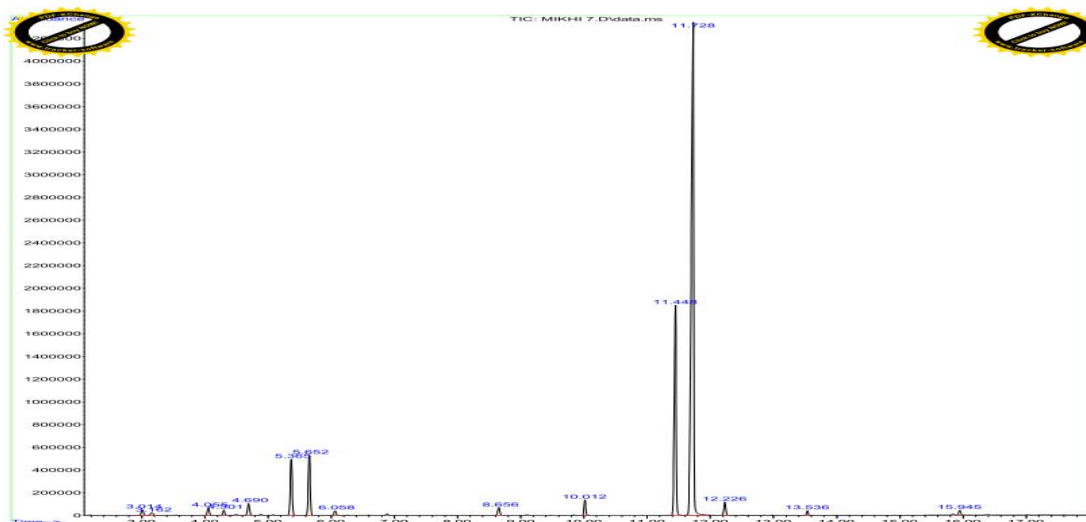
در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از لحاظ آماری (آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪) اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۳: ارزیابی و مقایسه کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه مرزنجوش در روش‌های مختلف خشک کردن

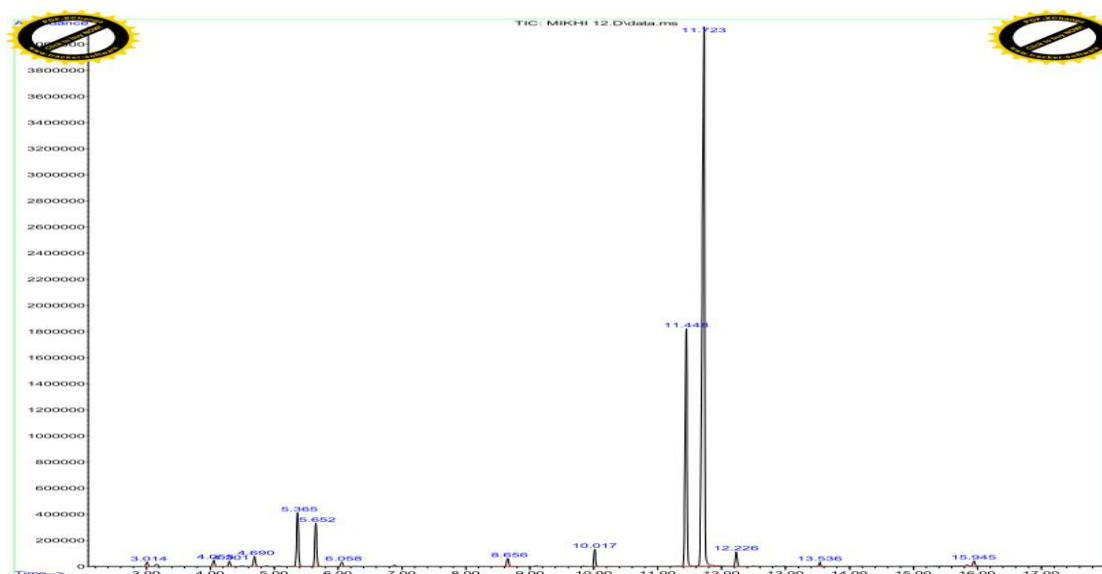
شاخص بازداری (RI)	خشک کردن در آفتاب	خشک کردن در آون	خشک کردن در دمای اتاق	خشک کردن در سایه	اجزای اسانس مرزنجوش بخارایی (%)
۹۲۷	۰/۴۳	۰/۶۳	۰/۷۲	۰/۶۰	alpha.-Thujene
۹۳۱	-	۰/۴۲	۰/۴۴	۰/۳۸	alpha.-Pinene
۹۸۹	۰/۶۱	۰/۷۹	۰/۸۵	۰/۷۷	beta.-Myrcene
۹۷۵	۰/۴۶	۰/۵۲	۰/۴۸	۰/۴۹	1 octen 3 ol
۱۰۱۵	۰/۹۷	۱/۲۶	۱/۴۳	۱/۲۱	alpha.-Terpinene
۱۰۲۲	۴/۹۵	۶/۰۱	۷/۶۵	۵/۵۳	m-Cymol
۱۰۵۷	۳/۹۶	۶/۱۳	۶/۳۸	۵/۷۹	gamma.-Terpinene
۱۰۶۶	۰/۴۴	۰/۵۴	۰/۴۲	۰/۴۹	Cis-sabinenhydrate
۱۱۷۴	۰/۸۶	۰/۸۱	۰/۷۹	۰/۸۷	4-Terpineol
۱۲۴۵	۱/۳۹	۱/۴۲	۱/۳۹	۱/۳۲	Carvacrol methyl ether
۱۲۹۵	۲۰/۶۶	۱۶/۴۶	۱۹/۰۵	۱۹/۳۱	Thymol
۱۳۰۵	۶۳/۱۸	۵۹/۵۷	۵۸/۵۴	۶۱/۱۷	Carvacrol
۱۴۲۵	۱/۲۸	۱/۵۰	۱/۱۳	۱/۲۳	trans-Caryophyllene
۱۵۰۵	۰/۳۲	۰/۵۳	۰/۳۴	۰/۳۷	beta.-Bisabolene
۱۵۸۷	۰/۴۸	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۴۶	Caryophyllene oxide

خشک شده در زیر نور آفتاب (۲۰/۸۲ درصد)، سایه (۱۹/۲۵ درصد)، دمای اتاق (۱۹/۳۳ درصد) و دمای ۴۰ درجه آون (۱۶/۵۲ درصد) بود. بیشترین و کمترین میزان ترکیبات گاما-ترینن، ام-سیمول، آلفا-ترینن و بتا-مرسین به ترتیب در گیاهان خشک شده در سایه و نور آفتاب مشاهده شد. ترکیبات ترانس کاروفیلین و کارواکرول متیل اتر در مرزنجوش خشک شده در دمای ۴۰ درجه آون دارای بیشترین مقدار بودند (جدول ۳).

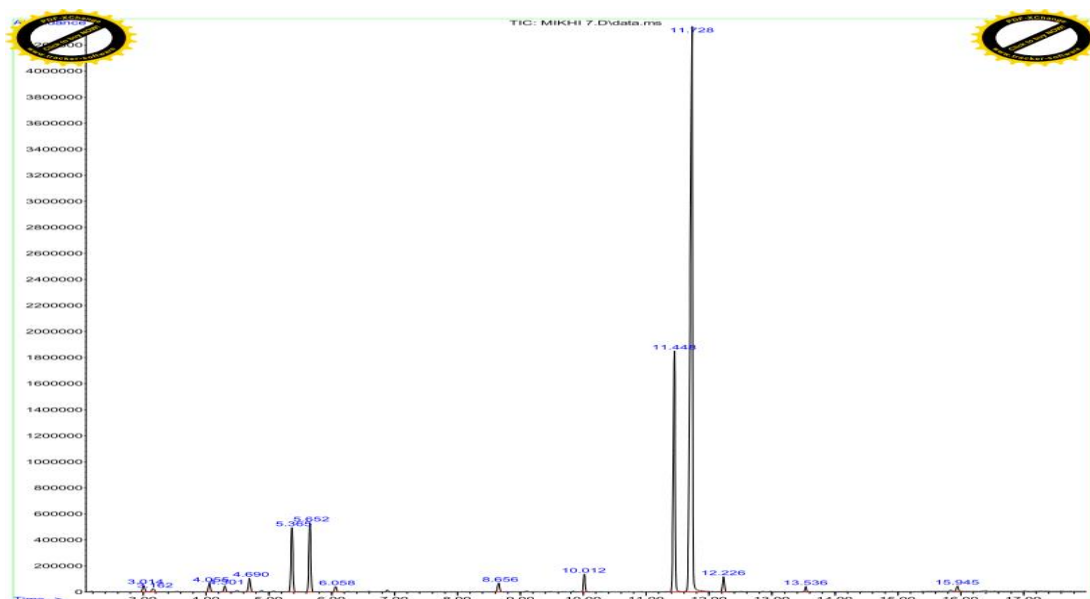
با توجه به نتایج تجزیه اسانس مرزنجوش که با دستگاه GC/MC انجام گرفت، مشخص شد، تیمول و کارواکرول ترکیبات اصلی گیاه دارویی مرزنجوش در روش‌های مختلف خشک شده بوده و بعد از کارواکرول و تیمول، بالاترین درصد ترکیبات مربوط به ام-سیمول و گاما-ترینن می‌باشد. میزان کارواکرول به ترتیب در مرزنجوش‌های خشک شده در زیر نور آفتاب (۶۳/۲۳ درصد)، سایه (۶۱/۱۵ درصد)، آون (۵۹/۶۱ درصد) و دمای اتاق (۵۸/۳۱ درصد) مشاهده شد. مقدار تیمول به ترتیب در گیاهان



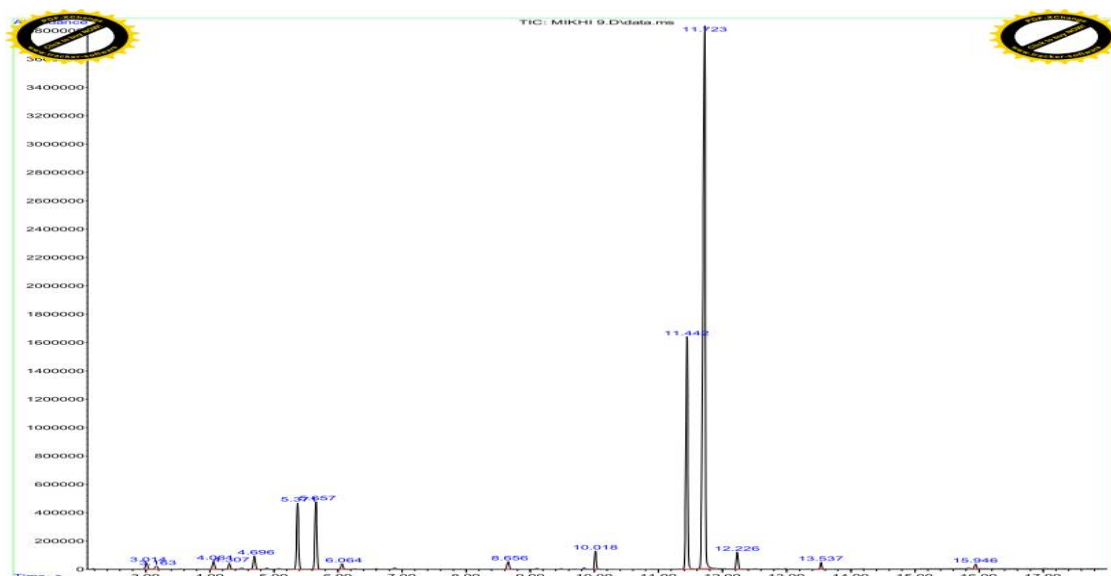
شکل ۱: کروماتوگرام اسانس گیاه مرزنجوش بخارایی در روش خشک کردن در دمای اتاق



شکل ۲: کروماتوگرام اسانس گیاه مرزنجوش بخارایی در روش خشک کردن در نور آفتاب



شکل ۳: کروماتوگرام اسانس گیاه مرزنجوش بخارایی در روش خشک کردن در سایه



شکل ۴: کروماتوگرام اسانس گیاه مرزنجوش بخارایی در روش خشک کردن در آون

بحث

ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در خانواده نعناعیان افزایش داده است (Hossain et al., 2010). گزارش شده است در بین روش‌های مختلف خشک کردن، خشک کردن در زیر نور خورشید تاثیر منفی بر کیفیت ظاهری و مواد موثره گیاهان دارویی دارد (Arsalan and Ozcan, 2008). در این تحقیق کمترین میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت رادیکال DPPH در

درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به ویژگی‌های مختلفی از جمله ژنوتیپ، اقلیم، فصل رشد، موقعیت جغرافیایی، نوع خاک، شرایط نگهداری و نحوه خشک کردن بستگی دارد (Asekun et al., 2006).
ترکیبات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: تحقیقات پیشین نشان می‌دهد، خشک کردن نمونه‌های تازه، محتوای

خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند (Amin et al., 2012). بالاترین مقدار ترکیبات فنل، فلاونوئید و فعالیت رادیکال DPPH در روش خشک کردن در سایه مشاهده شد که با تحقیقات انجام گرفته بر روی دو گونه ترب شیر (Shaukat Yari and Jameie, 2015) و روزماری (Khorshidi et al., 2009) مطابقت دارد. تحقیقات نشان داده است، میزان ترکیبات فنلی و پلی‌فنلی موجود در عصاره بر فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال نیتریک اکسید (Revathi and Rajeswari, 2015) و سوپراکسید (Robak and Gryglewski, 1988) موثر است. پارول و همکاران (Parul et al., 2012) فعالیت رادیکال نیتریک‌اکسید بالایی را برای برگ گیاه *Triumfetta rhomboidae* خشک شده در سایه گزارش کرد. فرانسیز و آندره (Awah, 2010) ترکیبات فنلی، فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال سوپراکسید و نیتریک اکسید بالایی را در برگ‌های خشک شده گیاه دارویی ریحان گزارش کردند. رادیکال سوپراکسید عامل اکسیدکننده نیرومندی است که می‌تواند با غشاهای بیولوژیکی واکنش داده و آسیب بافتی را القا کند. همچنین می‌تواند به اکسیژن منفرد رادیکال هیدروکسیل و هیدروژن پراکسید تجزیه شود (Jiao et al., 2005).

درصد اسانس، کمیت و کیفیت اسانس: روش‌های مختلف خشک کردن تاثیر معنی‌داری بر میزان اسانس و ترکیبات ثانویه در گیاه داشته (Okoh et al., 2008) و همچنین عملکرد اسانس در گونه‌های مختلف گیاهی به فصل زراعی، زمان برداشت و نحوه استخراج بستگی دارد (Olatunya and Akintayo, 2017). دمای بالا و تشعشعات خورشید اثر منفی بر ترکیبات شیمیایی گیاه داشته و باعث کاهش اسانس، ویتامین‌ها و سایر ترکیبات گیاه می‌شود (Ozcan et al., 2005). در این تحقیق بیشترین درصد اسانس در روش خشک کردن در سایه و کمترین درصد اسانس

روش خشک کردن در نور آفتاب به دست آمد که به دلیل تاثیر منفی نور خورشید بر این ترکیبات بود. در این رابطه گزارش شده است، استفاده از روش‌های گرمایی در خشک کردن مانند (ماکروویو، آون و نور خورشید) سبب کاهش ترکیبات فنلی کل در برگ‌های گیاه زنجبیل شده است (Chan et al., 2009). بالاترین مقدار فنل، فلاونوئید و درصد جمع‌کنندگی رادیکال DPPH در دارچین در نمونه خشک شده در آون با دمای ۵۰ درجه گزارش شد (Bernard et al., 2014). خشک کردن در آون در دماهای مختلف، برای خشک کردن انواع مختلف مواد گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hassanpouraghdam et al., 2010). با توجه به اینکه درجه حرارت مطلوب برای خشک کردن اندام‌های هوایی دارای اسانس، دمای ۳۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (Martinov et al., 2007) بنابراین در این تحقیق از دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون استفاده شده است. استانیساوجییک و همکاران (Stanisavljevic et al., 2014)، بیشترین فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال DPPH در گیاه نعنا را در روش خشک کردن در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند. تان و همکاران (Tan et al., 2013) بیشترین محتوای فنل کل را در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد آون و بیشترین رادیکال DPPH را در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون برای گیاه کدو گزارش کردند. نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که بیشترین مقدار فنل کل و رادیکال DPPH در گل گلم در دمای ۴۰ درجه آون در عصاره متانولی بدست آمد (Anwar et al., 2013). ترکیبات فنلی ویژگی‌های احیایی دارند که به آنها اجازه می‌دهد که به عنوان احیا کننده و دهنده هیدروژن و کاهنده اکسیژن‌های منفرد وارد عمل شوند (Henriques et al., 2012). مقادیر مختلف فنل در گیاه می‌تواند بر خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه تاثیر بگذارد زیرا ترکیبات فنلی در گیاهان منبع

بود. مرادی و همکاران (Moradi et al., 2015) بیان کردند، کارواکرول بالاترین جزء اسانس مرزنجوش بخارایی است و بعد از آن بیشترین جزء اسانس به ترتیب مربوط به گاما ترپینن و پاراسیمن می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که ترکیبات اصلی اسانس مرزنجوش شامل تیمول و کارواکرول است (Novak et al., 2003). در این تحقیق مقدار کارواکرول و تیمول در روش خشک کردن در نور آفتاب بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد در حالیکه مقدار آلفا-ترپینن، گاما-ترپینن، ام-سیمول و بتا-مرسین در روش خشک کردن در نور آفتاب کاهش یافت. دلیل این امر را می‌توان چنین بیان کرد که، افزایش درجه حرارت به دلیل بالا رفتن سرعت حرکت آب به طرف اندام‌ها و افزایش سرعت انتقال مولکول‌های ترکیبات معطر در طی تبخیر، سبب کاهش مهمترین اجزای اسانس در گونه‌های گیاهی می‌شود (Asekun et al., 2007). وجود ترکیبات شیمیایی مانند سینونل، آلفا-پینن، کارواکرول، سیمن و آلفا ترپیننول در اسانس اندام‌های مختلف گیاه باعث اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در گیاه می‌شود (Moulod et al., 2018). نتایج تحقیقات کیهانی و همکاران (Keyhani et al., 2015) نشان داد، مقدار تیمول و ترکیبات فنلی اسانس در روش خشک کردن در دماهای ۳۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون و سایه با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی مقدار تیمول و ترکیب تیمول و کارواکرول در تیمار ۵۰ درجه آون، بالاتر از سه روش دیگر بود. نتایج تحقیقاتی که بر روی بادرنجبویه انجام گرفته است نشان می‌دهد، بیشترین درصد لینالول (۲/۱۸ و ۳/۱۲ درصد) و آلفا ترپینن (۶/۳۵ و ۸/۲۲) به ترتیب در روش خشک کردن در نور آفتاب در برداشت اول و دوم بدست آمد در حالی که برای منتول (۰/۹۳ و ۱/۳ درصد) بیستین مقدار در روش خشک کردن در سایه بود و مشاهده شد که در برداشت دوم مقایر ترکیبات فوق افزایش یافته است

در روش خشک کردن زیر نور آفتاب به دست آمد که احتمالاً به دلیل اثرات منفی نور خورشید بر اسانس و ترکیبات آن در این گیاه بود. محققان بسیاری روش خشک کردن در سایه را نسبت به روش‌های دیگر از لحاظ حفظ درصد اسانس برتر دانستند که از جمله آنها می‌توان به تحقیقات عزیز و همکاران (Azizi et al., 2009) در بابونه آلمانی، عبادی و همکاران (Ebadi et al., 2013) در ریحان، چالشکان و همکاران (Caliskan et al., 2017) در نعنای فلفلی، خالد و همکاران (Khalid et al., 2017) در بادرنجبویه اشاره کرد. عظیم‌زاده و همکاران (Azimzadeh et al., 2015) بیان داشتند که بیشترین کمترین درصد اسانس در گیاه *Agastache foeniculum* به ترتیب مربوط به روش خشک کردن در سایه و ماکروویو بود، زیرا با اینکه روش خشک کردن در ماکروویو، روش سریعی بوده و سبب حفظ رنگ گیاه می‌شود ولی باعث کاهش قابل توجه روغن‌های فرار در گیاه نیز می‌گردد. بررسی روش‌های مختلف خشک کردن در گیاه *Mentha pulegium* نشان داد که بیشترین و کمترین درصد اسانس در روش‌های سایه و آون بدست آمد (Hassanpouraghdam and Hassani, 2014). نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است که دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای خشک کردن آویشن و مریم‌گلی مناسب نیست و باعث کاهش شدید ترکیبات فرار در آنها می‌شود که به دلیل از بین رفتن مونوترپن‌های غیر اکسیژنه می‌باشد (Venskutonis, 1997). کاراویا و همکاران (Karawya et al., 1980)، بیشترین درصد اسانس جعفری را به ترتیب در سایه (۲/۵۸ درصد)، دمای آون (۲/۳۴ درصد)، دمای اتاق (۲/۰۹ درصد) و نورخورشید (۱/۳۵ درصد) گزارش کردند. بیشترین درصد ترکیبات اصلی اسانس در مرزنجوش بخارایی به ترتیب مربوط به کارواکرول، تیمول، ام-سیمول، گاما-ترپینن، کارواکرول متیل اتر و ترانس کاریوفیلن

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد و ترکیبات اسانس گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی اثر معنی‌داری داشت. خشک کردن به دلیل تاثیر در میزان مواد موثره گیاهی، کیفیت گیاه دارویی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. روش خشک کردن طبیعی (سایه و نور آفتاب) متداول‌ترین و کم هزینه‌ترین روش‌های خشک کردن گیاهان می‌باشند. طبق نتایج این آزمایش، بهترین روش خشک کردن برای گیاه مرزنجوش بخارایی، روش خشک کردن در سایه بود و خشک کردن در نورآفتاب به دلیل دمای بالا و تشعشعات بالا اثرات نامطلوبی از خود نشان داد. بعد از روش خشک کردن در سایه، خشک کردن در آون و دمای اتاق نتایج مطلوبی را نشان داد.

References

1. Abdellatif, F., Boudjella, H., Zitouni, A. and Hassani, A. 2014. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian (*Melissa officinalis* L.). *Experimental and Clinical Sciences Journal*, 13:764-772.
2. Arasimowicz, M. and Floryszak-Wieczorek, J. 2007. Nitric oxide as a bioactive signaling molecule in plant stress responses. *Plant Science*, 172(5): 876-887.
3. Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. *Food chemistry*, 105(1): 57-64.
4. Arslan, D. and Özcan, M.M. 2008. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. *Energy Conversion and Management*, 49(5):1258-1264.
5. Asekun, O.T., Grierson, D.S. and Afolayan, A.J. 2007. Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. *Capensis*. *Food Chemistry*, 101(3): 995-998.

(Khalid et al., 2008). تحقیقات انجام شده بر روی گیاه اکالیپتوس نشان داد، ترکیبات اصلی این گیاه شامل ۸۰ سینئول و آلفا- پینن می‌باشد و بیشترین مقدار ۸۰ سینئول در روش خشک کردن در سایه و با روش تقطیر با آب بدست آمد (Fathi and Sefidkon, 2012). میراحمدی و همکاران (Mirahmadi et al., 2017)، ترکیب اصلی اسانس بادرنجبویه شامل بتا- کاریوفیلن، ژرانیال و گاما- کادینن را به ترتیب در روش خشک کردن در سایه، دمای ۳۵ و ۵۵ درجه آون گزارش کردند.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده در این تحقیق حاکی از آن است که روش‌های مختلف خشک کردن بر میزان

6. Amin, Z.A., Abdulla, M.A., Ali, H.M., Alshawsh, M.A. and Qadir, S.W. 2012. Assessment of in vitro antioxidant, antibacterial and immune activation potentials of aqueous and ethanol extracts of *Phyllanthus niruri*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9):1874-1877.
7. Anwar, F., Kalsoom, U., Sultana, B., Mushtaq, M., Mehmood, T. and Arshad, H.A. 2013. Effect of drying method and extraction solvent on the total phenolics and antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.) extracts. *International Food Research Journal*, 20(2): 653-659.
8. Awah, F.M. 2010. Antioxidant activity, nitric oxide scavenging activity and phenolic contents of *Ocimum gratissimum* leaf extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(23): 2479-2487.
9. Azimzadeh, Z., Hassani, A. and Esmaili, M. 2015. Effect of different drying methods on the essential oil content and composition of Anise hyssop (*Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 31(5):789-800.

10. Azizi, M.A., Rahmati, M., Ebadi, T. and Hasanzadeh Khayyat, M. 2009. The effects of different drying methods on weight loss rate, essential oil and chamazolene contents of chamomile (*Matricaria recutita*) flowers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25(2):182-92.
11. Basta, A., Tzakou, O. and Couladis, M. 2005. Composition of the leaves essential oil of *Melissa officinalis* sl from Greece. Flavour and fragrance journal, 20(6):642-644.
12. Bernard, D., Asare, I.K., Ofosu, D.O., Daniel, G.A., Elom, S.A. and Sandra, A. 2014. The effect of different drying methods on the phytochemicals and radical scavenging activity of Ceylon Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) plant parts. European Journal of Medicinal Plants, 4(11):1324-1335.
13. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1):25-30.
14. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy research, 14(5):323-328.
15. Caliskan, T., Maral, H., Prieto, L.M.V.G., Kafkas, E. and Kirici, S. 2017. The influence of different drying methods on essential oil content and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.) in cukurova conditions. indian journal of pharmaceutical education and research, 51(3): 518-521.
16. Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, S.K., Lim, K.K., Tan, S.P., Lianto, F.S., Martinov, M., Oztekin, S. and Muller, J. 2007. Medicinal and Aromatic Crops. CRC Press, United States of America. 320 p.
17. Chong, K.L. and Lim, Y.Y. 2012. Effects of drying on the antioxidant properties of herbal tea from selected Vitex species, Journal of Food Quality, 35(1): 51-59.
18. Ebadi, M.T., Rahmati, M., Azizi, M., Khayyat, M.H. and Dadkhah, 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.
19. Fathi, E. and Sefidkon, F. 2012. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus sargentii*. Journal of Agricultural Science and Technology, 14(5): 1035-1042.
20. Hashemi, M., Ehsani, A., Aminzare, M. and Hassanzadazar, H. 2016. Antioxidant and antifungal activities of essential oils of *origanum vulgare* ssp. Gracile flowers and leaves from Iran. Journal of food quality and hazards control, 3(4): 134-140.
21. Hassanpouraghdam, M.B., Hassani, A., Vojodi, L. and Farsad-Akhtar, N. 2010. Drying method affects essential oil content and composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13(6): 759-766.
22. Henriques, F., Guiné, R. and João Barroca, M. 2012. Chemical properties of pumpkin dried by different methods. Hrvatski časopis za prehrabenu tehnologiju, biotehnologiju inutricionizam, 7(1-2): 98-105.
23. Hossain, M.B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B. and Brunton, N.P. 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. Food Chemistry, 123(1): 85-91.
24. Howes, R.M. 2006. The free radical fantasy. Annals of the New York Academy of Sciences, 1067(1):22-26.
25. Jennifer Ragi, M.D., Amy Pappert, M.D. and Babar Rao, M.D. 2011. Oregano extracts ointment for wound healing: a randomized, double-blind, petrolatum-controlled study evaluating efficacy. Journal of Drugs in Dermatology, 10(10): 1168-1172.
26. Jiao, Z., Liu, J. and Wang, S. 2005. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. Food Technology and Biotechnology, 43(1): 97-102.
27. Karawya, M., E-Wakeil, F., Hifnawy, M., Ismail, F. and Khalifa, M. 1980. Study of certain factors affecting

- yield and composition of herbs parsley essential oil (effect of stage of growth, successive cutting, time of day of harvesting, method of drying, storage of herb oil). Egyptian Journal of Pharmaceutical Sciences, 21(1-2): 69-75.
28. 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, 30(2):239-249
29. Khalid, K.A., Hu, W. and Cai, W. 2008. The effects of harvesting and different drying methods on the essential oil composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 11(4):342-349.
30. Khorshidi, J., Mohammadi, R., Fakhr Tabatabaei, M. and Nourbakhsh, H. 2009. Influence of drying methods, extraction time, and organ type on essential oil content of Rosemary. Nature and Science, 7(11):42-44.
31. Khorramdel, S., Shabahang, J. and Asadi, G.A. 2013. Effect of drying methods on drying time, essential oil quantitative and qualitative of some of medicinal plants. Eco- phytochemical Journal of Medical Plants, 1(1): 36-48.
32. Kilic, O. and Ozdemir, F.A. 2016. Variability of essential oil composition of *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* Populations from Turkey. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 19(8): 2083-2090.
33. Ling, T.Y. and Zhao, X.Y. 1995. The improved pyrogallol method by using terminating agent for superoxide dismutase measurement. Progress Biochemistry Biophysics, 22: 84-86.
34. Martinov, M., Oztekin, S. and Müller, J. 2007. Drying medicinal and aromatic crops: harvesting, drying, and processing. Haworth Food & Agricultural Products Press, Binghamton. 320p.
35. Mirahmadi, S.F., Norouzi, R. and Ghorbani Nohooji, M. 2017. The Influence of drying treatments on the essential oil content and composition of *Melissa officinalis* L. compared with the fresh sample. Journal of Medicinal Plants, 16(61): 68-78.
36. Moradi, M., Hassani, A., Sefidkon, F. and Maroofi, H. 2015. Chemical composition of leaves and flowers essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* growing wild in Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(1): 242-247.
37. Morshedloo, M.R., Craker, L.E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H. and Maggi, F. 2017. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. Plant physiology and biochemistry, 111: 119-128.
38. Morshedloo, M.R., Mumivand, H., Craker, L.E. and Maggi, F. 2018. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils in *Origanum vulgare* subsp. *gracile* at different phenological stages and plant parts. Journal of Food Processing and Preservation, 42(2):1-8.
39. Moulodi, F., Alidade Khaledabad, M., Mahmoudi, R. and Rezazad Bari, M. 2018. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant Properties of essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *Gracile*. Journal of Babol University of Medical Sciences, 20(10): 36-44.
40. Mozafarian, V. 2012. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Tehran, Iran: Farhang Moaser Press. 1444p.
41. Novak, I., Zambori-Nemeth, E., Horvath, H., Seregély, Z. and Kaffka, K. 2003. Study of essential oil components in different *Origanum* species by GC and sensory analysis. Acta Alimentaria, 32(2):141-150.
42. Okoh, O.O., Sadimenko, A.P., Asekun, O.T. and Afolayan, A.J. 2008. The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L. African Journal of Biotechnology, 7(10): 1500-1502.
43. Oki, T., Masuda, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Furuta, S., Suda, I. and Sato, T. 2002. Polymeric procyanidins as radical-scavenging components in

- red-hulled rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(26): 7524-7529.
44. Olatunya, A.M. and Akintayo, E.T. 2017. Evaluation of the effect of drying on the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of peels from three species of citrus group. *International Food Research Journal*, 24(5): 1991-1997.
45. Omidbaigi, R. 2005. Production and processing of medicinal plants. Publications Astan Quds Razavi, Mashhad, 438p
46. Ozcan, M., Arslan, D. and Ünver, A. 2005. Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Food Engineering*, 69(3): 375-379.
47. Parul, R., Kundu, S.K. and Saha, P. 2013. In vitro nitric oxide scavenging activity of methanol extracts of three Bangladeshi medicinal plants. *The Pharma innovation Journal*, 1(12): 83-88.
48. Rabeta, M.S. and Lai, S.Y. 2013. Effects of drying, fermented and unfermented tea of *Ocimum tenuiflorum* Linn. On the antioxidant capacity. *International Food Research Journal*, 20(4):1601-1608.
49. Revathi, D. and Rajeswari, M. 2015. In vitro evaluation of nitric oxide scavenging activity of *Guettarda speciosa* Linn. *International Journal Science Research*, 4(9): 962-965.
50. Robak, J. and Gryglewski, R.J. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemical pharmacology*, 37(5): 837-841.
51. Shahbazi, R., Davoodi, H. and Esmaeili, S. 2013. The anticancer effects of flavonoids: involvement of P13K/ Akt signaling pathway. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7(4): 1-10.
52. Shaukat Yari, Q. and Jamei, R. 2015. Correlation between antioxidant activity and phenolic content in two species of horseradish (*Leontice armeniaca* and *L. leontopetalum*). *Iranian Journal of Plant Biology*, 6(22): 1-14.
53. Sozmen, F., Uysal, B.K., Ose, E.O., Aktaş O., Cinbilgel, I. and Oksal, B.S. 2012. Extraction of the essential oil from endemic *Origanum bilgeri* PH Davis with two different methods: comparison of the oil composition and antibacterial activity. *Chemistry and Biodiversity*, 9: 1356-1363.
54. Sultana, B., Anwar, F. and Przybylski, R. 2007. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees. *Food Chemistry*, 104(3): 1106-1114.
55. Tan, E.S., Abdullah, A. and Maskat, M.Y. 2013. November. Effect of drying methods on total antioxidant capacity of bitter melon (*Momordica charantia*) fruit. In American Institute of Physics Conference Proceedings, 1571(1): 710-716.
56. Venskutonis, P.R. 1997. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). *Food chemistry*, 59(2): 219-227.
57. Wijeratne, S.S., Abou-Zaid, M.M. and Shahidi, F. 2006. Antioxidant polyphenols in almond and its coproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2): 312-318.
58. Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C. and Tao, L. 2012. Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. *Journal of plant research*, 125(1): 155-164.
59. Yin, H., Fretté, X.C., Christensen, L.P. and Grevsen, K. 2011. Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(1): 136-143.
60. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4):555-559.

Evaluation of the Effect of Different Drying Methods on Antioxidant and Phytochemical Activity of Essential oil of *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile*

Rahimi, A.¹, Farrokhi, E.^{2*}

¹Assistant Professor, Dept. of Agronomy, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

²M.Sc. student, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 2019-2-16 ; Accepted: 2019-8-24

Abstract

Drying is the most common way to preserve medicinal and aromatic plants and protect their biochemical compounds. The aim of the present study was to investigate the effect of different drying methods on the antioxidant and phytochemical activity of essential oil of aerial parts of *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile* in 50 percentage of the flowering stage. This study was conducted in a randomized complete block design with four treatments in three replications at Research Farm of faculty of Agriculture, Urmia University (1365 m above sea level) during 2016. The aerial parts of the plant were dried using four types of drying methods, including room temperature (20-23 °C), open air (direct sunlight), free air (shade) and oven temperature (40°C). The obtained essential oils by hydro-distillation method were analyzed by GC and GC/MS. Total phenol, total flavonoid, antioxidant activity (DPPH), superoxide radical scavenging activity, and nitric oxide radical scavenging activity were measured by Folin–Ciocalteu reagent (FCR), aluminum chloride, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Tris-HCl buffer, and Griess Illosvoy reaction respectively. Based on the results, there was significant difference among different drying methods. The highest amount of essential oil, total phenol content, total flavonoid, DPPH radical scavenging activity, and superoxide radical scavenging activity were observed in shade drying method. However, carvacrol and thymol as the main constituents of essential oil had the highest amount of drying in open air under direct sunlight. After carvacrol and thymol, compounds obtained in a shad-drying method including β -merson, α -terpinene, γ -trypinene and M-simol had the highest amounts. We concluded that essential oil composition and antioxidant activity of oregano were greatly affected by the drying method and among the different methods of drying, shade drying was the best for the oregano plant to preserve its chemical composition.

Keywords: Antioxidant, Carvacrol, Drying, Essential oil, *Origanum vulgare* L. subsp. *gracile*

*Corresponding author; elhamfarrokhy.ef@gmail.com