

بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی ترکیبات موثره و فعالیت
آنتی اکسیدانی اسانس اکوتیپ‌های مختلف گیاه دارویی *Oliveria decumbens* vent.
در استان خوزستان

سیدمحمد حسین آل عمرانی نژاد^{۱*}، علی رضوانی اقدم^۱

^۱مربی، گروه کشاورزی، واحد بین‌المللی خرمشهر خلیج فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، خرمشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۱۵

چکیده

گیاهان معطر بعنوان با ارزش ترین منبع آنتی اکسیدانی در طبیعت محسوب می شوند. در این تحقیق اکوتیپ‌های مختلف گیاه لعل کوهستان (*Oliveria decumbens* Vent.) در مرحله گلدهی کامل، از سه رویشگاه متفاوت در استان خوزستان شامل بهبهان، شوشتر و مسجد سلیمان جمع آوری گردید. اسانس گیاهان جمع آوری شده، به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج و مهمترین ترکیبات اسانس نمونه‌ها توسط دستگاه GC/MS شناسایی و آنالیز گردید و به جهت ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی نمونه اسانس‌ها در غلظت‌های مختلف اسانس (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر (μl)) از روش DPPH استفاده گردید. نتایج نشان داد که اسانس نمونه بهبهان با بیشترین مقدار مواد موثره: تیمول (۲۹/۶ درصد) و کارواکرول (۲۷/۸ درصد) از بیشترین پتانسیل و درصد تخریب رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به سایر رویشگاه‌ها برخوردار بود (با کمترین میزان $IC_{50}=21/23$) در نهایت می‌توان گفت اکوتیپ بهبهان با بیشترین میزان کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس و بیشترین خاصیت آنتی رادیکالی، می‌تواند به‌عنوان منبع طبیعی جدیدی جهت تامین آنتی اکسیدان، در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آنتی اکسیدان، تیمول، خوزستان، کارواکرول لعل کوهستان.

لعل کوهستان (*Oliveria decumbens* Vent.)،

گیاهی علفی، یکساله و معطر از خانواده چتریان، در ترکیه، عراق، سوریه و مناطق غربی و جنوب غربی ایران (کرمانشاه، چهارمحال بختیاری، فارس، بوشهر و خوزستان) مشاهده می‌شود (Mozafarian, 2007). این گیاه در شهرهای امیدیه، آغاچری، مسجد سلیمان، شوشتر، دزفول و بهبهان استان خوزستان با خاک‌های گچی و مارنی پراکنده است (Mozafarian, 1999). مطالعات گیاهشناسی و استفاده‌های دارویی این گیاه در طب سنتی ایران نشان می‌دهد که از زمان‌های بسیار دور در نیمه غربی ایران از گیاه دارویی لعل کوهستان، جهت درمان سوءهاضمه، اسهال، دردهای شکمی و رفع تب استفاده می‌شد (Bahraminejad et al., 2017). بر اساس تحقیقات بعمل آمده، اسانس حاصل از گلها و سرشاخه‌های گل دار این گیاه، دارای اثرات ضد میکروبی قوی است (Alizadeh Behbahani et al., 2018). شناسایی نوع و مقدار ترکیبات اجزای اصلی اسانس گیاه در شناخت خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها تاثیرگذار است. به‌عنوان نمونه ترکیبات تیمول و کارواکرول موجود در اسانس، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی هستند (Shahsavari et al., 2008). در تحقیق دیگری تفاوت فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها به ساختارهای مختلف عصاره‌های گیاهی مانند اسیدهای فنولیک، ترکیبات فلاونوئیدی، مشتقات آنها و تعداد گروه‌های هیدروکسی در ملکول نسبت داده شد (Sedaghat Brojeni et al., 2015). با توجه به اینکه ترکیبات ثانویه تحت تاثیر عوامل محیطی ساخته می‌شوند و از نظر اقتصادی (دارویی و غذایی) بسیار مهم و با ارزش هستند، بنابراین تاثیر عوامل محیطی بر کمیت و کیفیت ترکیبات مذکور همواره باید مورد تحقیق و آزمایش قرار گیرد. از آنجا که تاکنون ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، به‌خصوص اثرات آنتی‌اکسیدانی

انتخاب بهترین تیپ‌های اکوفیتوشیمیایی در بین جمعیت‌های طبیعی گیاهان دارویی، مهمترین و البته پر هزینه ترین مرحله در تحقیقات مربوط به گیاهان دارویی محسوب می‌شود. یکی از مهمترین و با ارزش ترین ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان دارویی، آنتی‌اکسیدانها می‌باشد. امروزه با تغییر سبک زندگی و بالا رفتن استرس، میزان عوامل اکسیداتیو در بدن افزایش یافته است (Idris et al., 2016). اکسیداسیون در اصطلاح فرآیند حذف الکترون از یک اتم یا ملکول و تولید رادیکال آزاد است. مطالعات نشان می‌دهد تولید رادیکال آزاد بسیار فعال آلکیل در نتیجه اکسیداسیون لیپیدها باعث می‌شود که در واکنش‌های زنجیره ای دومینو مانندی با اتصال به مکانهای فعال نوکلئوفیل در DNA، پروتئین‌ها و فسفولیپیدها سبب ایجاد ضایعات متنوعی در انسانها گردد (Firoozrai et al., 2007). کاربرد آنتی‌اکسیدان‌ها در مواد غذایی یکی از مؤثرترین روش‌های کُند کردن اکسایش لیپدها و محافظت اجزای سلول انسانی در برابر خطر رادیکالهای آزاد است. کشف جلوگیری از اکسیداسیون لیپدها به وسیله ترکیبات فنولی موجود در اسانس گیاهان سبب استفاده از این ترکیبات بعنوان آنتی‌اکسیدانهای طبیعی در صنایع غذایی شد (Baschieri et al., 2017). مشکلاتی نظیر فرار بودن، عدم پایداری در دمای بالا، تجمع در بدن و ایجاد صدمات کبدی و سرطانی (Ouariachi et al., 2014) از یک طرف، همچنین اهمیت استفاده از رژیم‌های غنی از آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، جهت جلوگیری از بیماری‌های سرطانی و کرونری قلب (Saidi, 2014)، از طرف دیگر ضرورت توجه به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به جای سنتتیک را بیش از پیش مشخص نمود.

اکوتیپ‌های لعل کوهستان در استان خوزستان مورد بررسی و مقایسه علمی قرار نگرفته است، تحقیق حاضر به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اکوتیپ‌های مختلف رویش یافته این گیاه در استان خوزستان اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه‌های گیاهی: در این مطالعه گل و

سرشاخه‌های گل دار توده‌های لعل کوهستان، براساس فلور گیاهان خوزستان، از رویشگاه‌های طبیعی شهرهای مسجد سلیمان، شوشتر و بهبهان استان خوزستان (جدول ۱) پس از تایید گیاه شناسی نمونه‌های جمع آوری شده به عنوان گونه *Oliveria decumbens* Vent از خانواده چتریان جمع‌آوری گردید.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی مناطق مختلف جمع‌آوری نمونه

نام منطقه	طول و عرض جغرافیایی	ارتفاع محل
شوشتر	32°03'13.6"N 48°55'13.7"E	۱۶۵
مسجد سلیمان	32°00'56.0"N 49°13'37.5"E	۲۷۵
بهبهان	30°39'19.9"N 50°12'45.5"E	۳۰۲

استخراج اسانس و شناسایی ترکیبات آن: ۱۰۰ گرم از هر نمونه با دستگاه خردکن کاملاً خرد شده، به روش تقطیر با آب^۱ استخراج اسانس طی مدت ۴ ساعت انجام گرفت. جهت شناسایی ترکیبات اسانس دستگاه کروماتوگرافی گازی با طیف سنج جرمی (GC_Mass) و کروماتوگرافی گازی (GC) استفاده گردید. ابتدا ترکیبات یک نمونه توسط دستگاه GC-Mass شناسایی گردید و سپس میزان ترکیبات شناسایی شده در سایر نمونه‌ها بوسیله دستگاه GC تعیین مقدار گردیدند.

دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Younglin Acme6000 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BP5 بود. با بررسی تعدادی از ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس، به بررسی تغییرات این ترکیبات در توده‌های برداشت شده از مناطق مختلف، پرداخته شد.

اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان: اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش کاهش ظرفیت رادیکالی^۲ با کمک DPPH^۳ انجام شد (Tohidi et al., 2017). اساس کار این روش بر مصرف رادیکالهای DPPH محلول در حضور آنتی اکسیدان و سنجش تغییر رنگ محلول توسط دستگاه اسپکتوفتومتر است (Hosseini et al., 2014). این روش به دلیل سادگی و سرعت دستیابی به نتیجه از متداول ترین روشهای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی محسوب می‌شود (Wollinger et al., 2016).

اندازه‌گیری مقدار آنتی‌اکسیدان در گیاه لعل کوهستان براساس روش Tohidi و همکاران (Tohidi et al., 2017)، با اندکی تغییرات بدست آمد. در ابتدا غلظت‌های مختلف اسانس شامل: ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر انتخاب گردید، در مرحله بعد هر یک از غلظت‌های فوق با واکنشگر شامل حجم ۱

2. Radical Scavenging Capacity(RSC)
3. 2,2'-diphenyl-1-picryl hydrazyl

1. Hydrodistillation

است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می گردد (غلظتی که باعث حذف رادیکالهای آزاد، به میزان ۵۰ درصد می شود). هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که اسانس مورد نظر، فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد.

آنالیز آماری: این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها بوسیله نرم افزار آماری SAS انجام گرفت. به منظور دستیابی به مقدار IC_{50} در هر یک از نمونه‌ها، رگرسیون خطی برای غلظت‌های مختلف اسانس انجام گرفت.

نتایج

آنالیز اسانس: بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۲، در خصوص شناسایی مواد تشکیل دهنده اسانس، بیشترین مقدار تیمول و کارواکرول به ترتیب با ۲۹/۶۷ و ۲۷/۸۸ درصد از گیاهان برداشت شده از منطقه بهبهان بدست آمد. بیشترین مقدار پاراسیمن از گیاهان برداشت شده از منطقه شوشتر و ماده گاما ترپینن فقط از اسانس گیاهان برداشت شده از منطقه مسجد سلیمان استخراج گردید (جدول ۲).

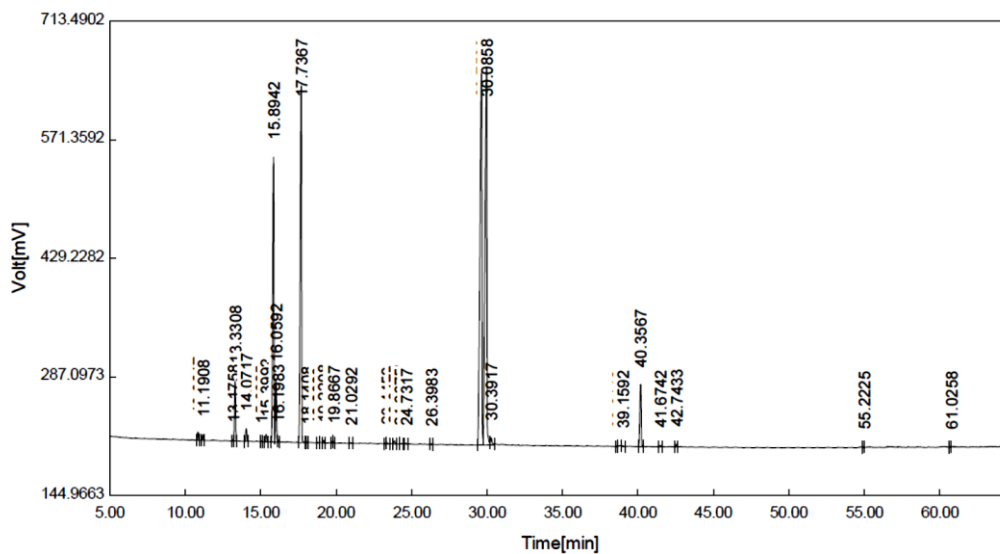
میلی لیتر از محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH و ۳ میلی لیتر متانول ۹۵ درصد، مخلوط شد سپس هر یک از محلول‌های فوق برای مدت زمان ۶۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شد. در نهایت جذب محلولهای حاصله بعد از این مدت زمان در طول موج ۵۱۷ نانومتر، هم برای شاهد (واکنشگر بدون نمونه یعنی متانول ۹۵ درصد) و هم برای نمونه‌ها، با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه گیری شد و درصد RSC (درصد کاهش ظرفیت رادیکالی یا همان فعالیت آنتی اکسیدانی)، بوسیله فرمول زیر محاسبه گردید:

$$RSC(\%)=100 \times (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}})$$

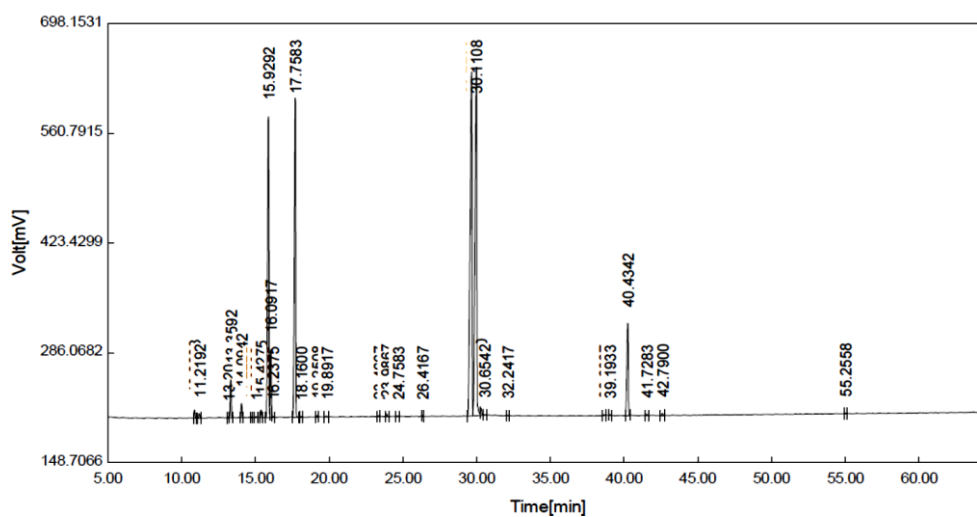
در این فرمول A_{control} و A_{sample} به ترتیب میزان جذب شاهد و نمونه هستند. درصد RSC در صد کاهش ظرفیت رادیکالی نیز به مفهوم مقدار مصرف رادیکال DPPH در حضور آنتی اکسیدان است. پیش بینی می شود هرچه قدر میزان آنتی اکسیدان در یک واکنش افزایش یابد درصد RSA نیز افزایش یابد. در این روش برای بررسی بهتر نتایج آزمون DPPH و مقایسه فعالیت آنتی رادیکالی در هر تیمار از شاخص IC_{50} استفاده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس بصورت IC_{50} ، نشان دهنده غلظتی از ترکیب

جدول ۲: ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه لعل کوهستان.

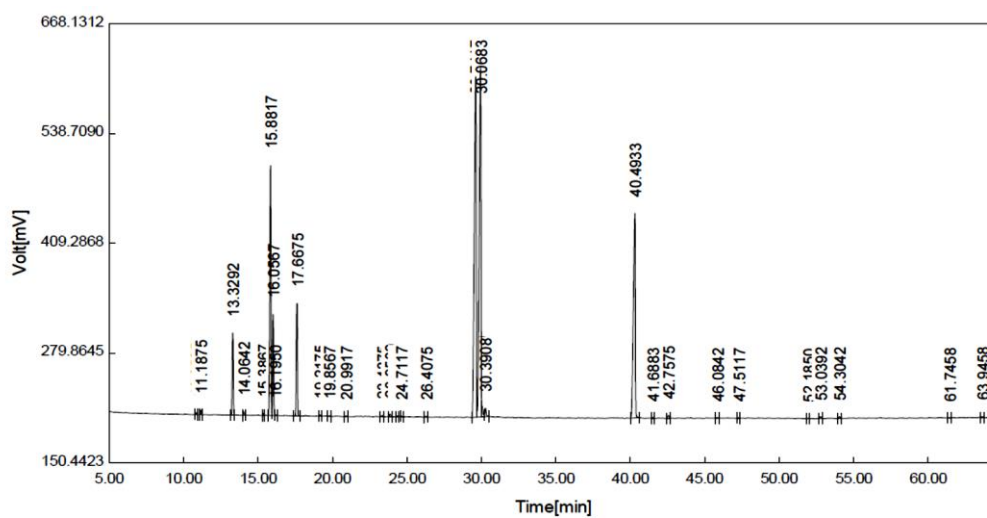
نام ترکیبات	KI calculated	KI book	بهبهان	شوشتر	مسجد سلیمان
a-Pinene	935	939	0.2164	0.1802	0.1942
β-Pinene	981	979	2.2217	1.515	3.3158
p-Cymene	1031	1025	13.088	15.0281	12.351
Limonene	1034	1029	2.3942	2.888	4.069
B-Phellandrene	1036	1030	0.1001	0.0615	0.0567
γ-Terpinene	1063	1060	-	-	4.9267
Thymol	1295	1290	29.6752	28.0096	28.0328
Carvacrol	1305	1299	27.8821	26.8937	26.2744
Myristicin	1539	1519	3.2146	5.6205	17.9932



شکل ۱: کروماتوگرام اسانس لعل کوهستان جمع آوری شده از منطقه بهبهان.



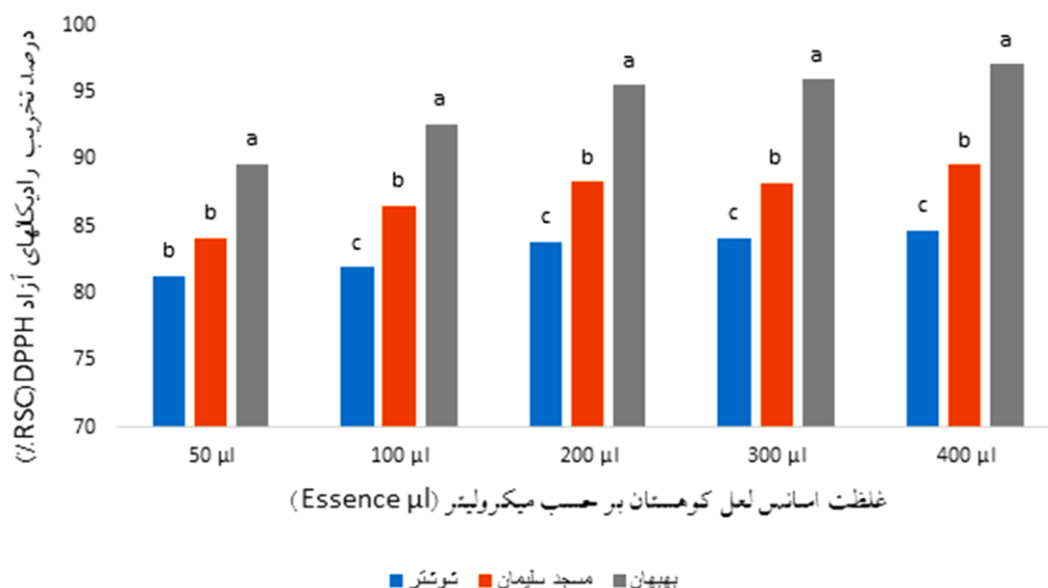
شکل ۱: کروماتوگرام اسانس لعل کوهستان جمع آوری شده از منطقه شوشتر



شکل ۳: کروماتوگرام اسانس لعل کوهستان جمع آوری شده از منطقه مسجدسلیمان

گیاهان برداشت شده از منطقه بهبهان با ۹۷/۰۶ درصد و از سوی دیگر کمترین درصد تخریب رادیکالهای آزاد، از غلظت ۵۰ میکرولیتر (μl) اسانس گیاهان برداشت شده از منطقه شوشتر با ۸۱/۳۲ درصد حاصل شد.

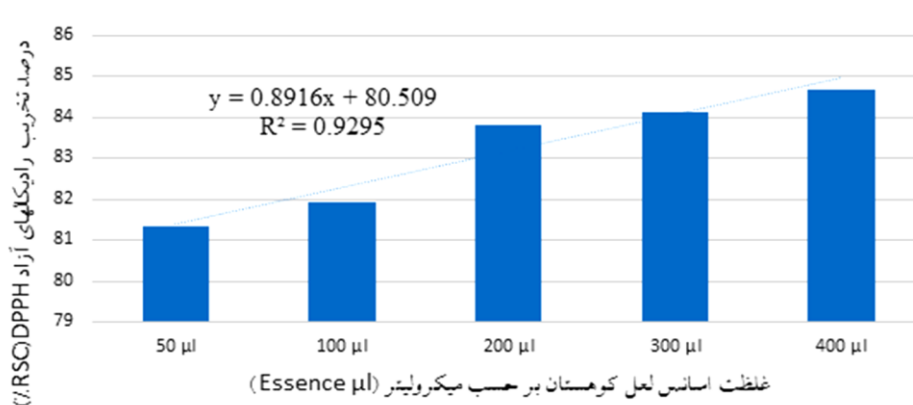
فعالیت آنتی اکسیدانی: بر اساس نتایج حاصله غلظت های مختلف اسانس گیاه لعل کوهستان از سه منطقه برداشت شده، در سطح ۱٪ بر تخریب رادیکالهای آزاد DPPH موثر بود (جدول ۳). بالاترین درصد تخریب رادیکالهای آزاد، در نتیجه استفاده از غلظت ۴۰۰ میکرولیتر (μl) اسانس



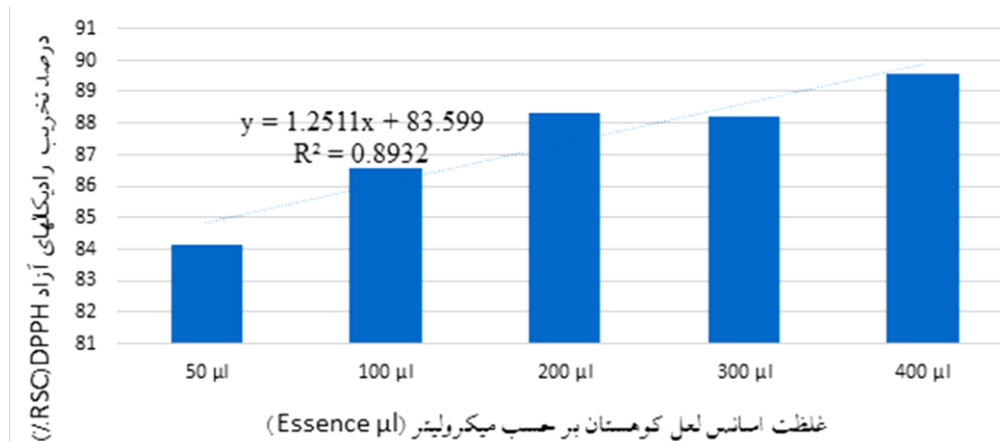
شکل ۴: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف اسانس سه اکوتیپ مختلف گیاه لعل کوهستان

میزان IC_{50} متعلق به اسانس گیاه لعل کوهستان بومی سه منطقه شوشتر، مسجد سلیمان و بهبهان به ترتیب ۲۱/۳۴، ۲۶/۸۵ و ۲۱/۲۳ میکروگرم بر میلی لیتر ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) بدست آمد (شکل های ۲، ۳ و ۴).

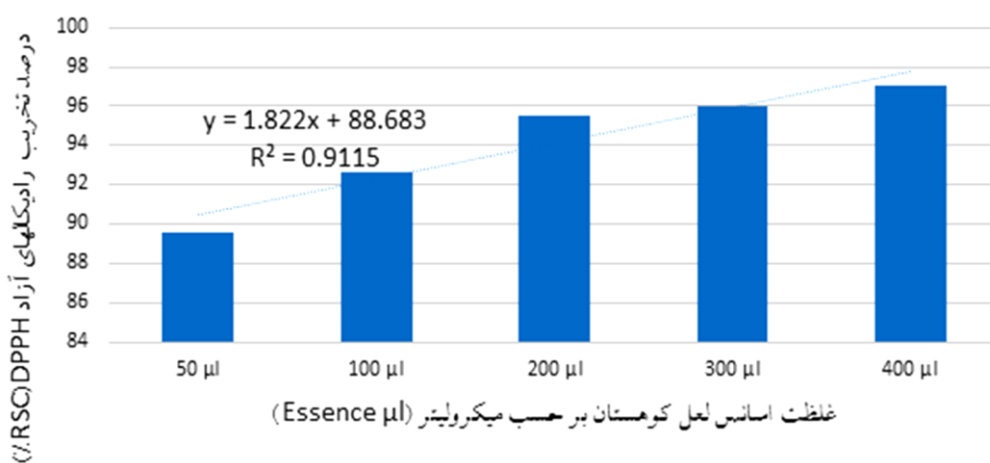
با توجه به معادلات خطی شکل های ۲، ۳ و ۴ غلظتی از اسانس گیاه لعل کوهستان برداشت شده از سه منطقه مورد مطالعه که منجر به تخریب ۵۰ درصد رادیکال های آزاد می گردد (IC_{50}) محاسبه شد.



شکل ۵: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس لعل کوهستان اکوتیپ شوشتر



شکل ۶: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس لعل کوهستان اکوتیپ مسجدسلیمان



شکل ۷: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس لعل کوهستان اکوتیپ بهبهان

بحث
 رابطه ترکیبات اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی:
 نتایج آنالیز اسانس گیاه دارویی لعل کوهستان نشان داد بیشترین ترکیبات موجود در اسانس مربوط به تیمول و کارواکرول بود (جدول ۱) که با نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی اکوتیپ‌های مختلف قابل انطباق است (شکل ۱) به این مفهوم که فعالیت آنتی اکسیدانی با مقدار ترکیبات فنلی رابطه مستقیم دارد. آزمایشات دیگر محققان نیز در تطابق با نتایج این تحقیق نشان داد فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان اسانس دار بطور عمده به حضور ترکیبات فنلی موجود در اسانس مانند تیمول و کارواکرول بستگی دارد (, Ghasemi Pirbalouti et al., 2017, Tohidi et al., 2015). بنابراین شدت و ضعف خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه لعل کوهستان بطور عمده مربوط به حضور و میزان این دو ترکیب غالب در اسانس بستگی دارد. در توضیح این پدیده می توان گفت، ترکیبات فنلی موجود در اسانس ها مانند تیمول و کارواکرول با توجه به ساختار شیمیایی خود، قادر به انتقال هیدورژن به رادیکالهای آزاد بوده و در نتیجه به عنوان آنتی اکسیدان مطرح می شوند (, Tohidi et al., 2017). یافته های دیگر محققان نیز بررسی های فوق را تایید می کند. چنانچه در آزمایشی جهت اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی گونه ای از آویشن باغی مشخص شد که هیدروکربن های مونوترپنی و ترکیبات فنولیک مونوترپن موجود در اسانس استخراج شده

۲۱/۲۳ میکروگرم بر میلی لیتر ($\mu\text{g.ml}^{-1}$) بدست آمد (شکل های ۲، ۳ و ۴). با توجه به اینکه هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر اسانس می باشد (Aminzadeh et al., 2015)، بنابراین طبق بررسی نتایج بدست آمده می توان گفت اسانس اکوتیپ بهبهان در مقایسه با اسانس استخراج شده از دیگر اکوتیپ های مشابه، با وجود داشتن کمترین میزان IC_{50} بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی را دارد. در تحقیق حاضر کمترین میزان IC_{50} یا به تعبیر دیگر خاصیت آنتی اکسیدانی بالای اکوتیپ بهبهان در مقایسه با دیگر اکوتیپ را می توان به محتوای بالاتر ترکیبات فنلی موجود در این اسانس نسبت داد.

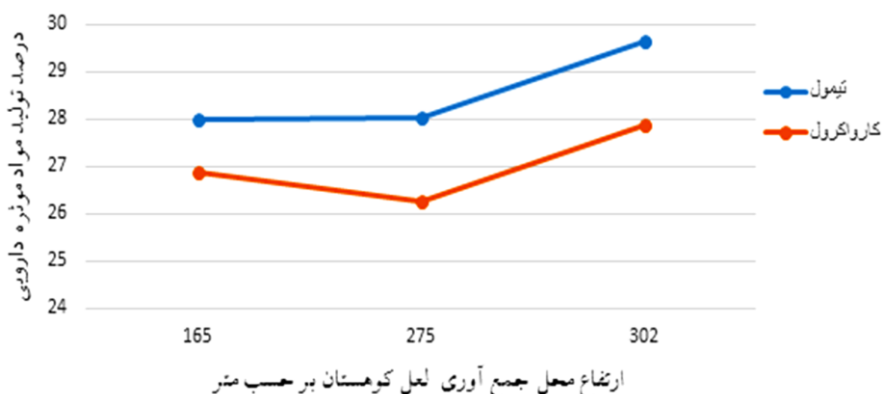
این در حالی است که میزان IC_{50} در اسانس حاصل از مرحله پیش از گلدهی و بعد از گلدهی گیاه آویشن به ترتیب ۸/۴۶ و ۸/۲۳ بدست آمد (Alizadeh et al., 2013). در آزمایش دیگری که در جنوب ایتالیا انجام شد نتایج IC_{50} در ۳ توده جمع آوری شده از گونه *Thymus vulgaris* شامل ۹۳/۶۴ و ۹۵/۲۸ و ۲۵/۵۸ مشاهده شد (Mancini et al., 2015). در تحقیقی مشابه روی اسانس لعل کوهستان جمع آوری شده از منطقه ایلام نشان داد غلظت ۱۰۰ میکروگرم اسانس، منجر به ۷۵/۶ درصد تخریب رادیکالهای آزاد DPPH شد (Saidi, 2014).

رابطه عوامل محیطی با ترکیبات اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی: با توجه به اینکه مناطق مورد نمونه برداری همگی در استان خوزستان واقع شده و از شرایط تقریباً یکسان به لحاظ نور، درجه حرارت و آبیاری ناشی از بارندگی (نزولات جوی) برخوردار بودند، لذا تاثیر ارتفاع محل که مهمترین عامل محیطی متغیر میان مناطق مورد مطالعه بود، بررسی گردید. نتایج حاصل از تاثیر ارتفاع محل نمونه برداری در تولید مواد موثره غالب نشان داد با افزایش ارتفاع محل رویش گیاه، مقدار تیمول و کارواکول افزایش یافت (شکل ۵).

بیشترین تاثیر را در خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس این گونه گیاهی دارد (Sarikurkcu et al., 2010). در پژوهش دیگری جهت مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی دو گونه آویشن باغی مشاهده شد که گونه *T. broussonetti* بدلیل کارواکول و تیمول بیشتر نسبت به گونه *T. algeriensis* از فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری برخوردار بود (Ouariachi et al., 2014). در تحقیق دیگری پس از جمع آوری نمونه های مرزه خوزستانی و لعل کوهستان و آویشن دناپی از استان ایلام فعالیت آنتی اکسیدانی آنها با استفاده از روش های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی از میان نمونه های مورد مطالعه مربوط به لعل کوهستان بدست آمد و این خاصیت بدلیل حضور ترکیبات فنلی موجود در اسانس بخصوص تیمول و کارواکول گزارش گردید (Saidi, 2014).

بنابراین خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه دارویی لعل کوهستان با توجه به تحقیقات و بررسی های دیگر محققین عمدتاً به ترکیبات فنلی موجود در اسانس مانند تیمول و کارواکول لعل کوهستان مربوط می شود و در حقیقت اکوتیپی برتر است که از میزان تیمول و کارواکول بیشتری برخوردار باشد.

رابطه غلظت اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی: نتایج بدست آمده از غلظت های مختلف اسانس برای مهار رادیکالهای آزاد DPPH نشان داد که افزایش یا کاهش غلظت اسانس با فعالیت آنتی اکسیدانی رابطه مستقیم دارد این روند در همه اکوتیپ ها، قابل مشاهده است (شکل ۱). نتایج تحقیقات مشابه نیز رابطه خطی غلظت اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی را که در اینجا مشاهده شد تایید می کند (Haghirossadat et al., 2010, Aminzadeh et al., 2015). شاخص IC_{50} در اسانس توده های جمع آوری شده از منطقه شوشتر، مسجد سلیمان و بهبهان به ترتیب ۲۶/۸۵، ۳۴/۲۱ و



شکل ۸: میزان بیوستز تیمول و کارواکرول در ارتفاعات مختلف محل نمونه برداری

افزایش تیمول و کارواکرول همزمان با کاهش ارتفاع بود (Torras et al., 2007). با اجرای مشابه این آزمایش روی گونه *Thymus carmanicus* مشاهده شد افزایش ارتفاع سبب افزایش کارواکرول و کاهش تیمول شد (Pirbalouti and Mohammadi, 2013). همچنین در بررسی روابط میان اجزای اسانس و ارتفاع محل رویش گونه *Thymus pubescens* در استان آذربایجان شرقی مشخص شد ترکیبات کارواکرول و تیمول از رابطه همبستگی منفی با ارتفاع محل رویش برخوردارند (Dizajeyekan et al., 2016). بطورکلی پس از بررسی نتایج آزمایش حاضر و انطباق با یافته‌های دیگر محققان می‌توان گفت: بسته به میزان دوری و نزدیکی شرایط کشت هر گونه گیاهی در مقایسه با رویشگاه طبیعی، عملکرد متابولیت‌های ثانویه در هر گیاه و اکوتیپ تغییر می‌یابد بنابراین فقدان یک رویه مشخص در سنتز تیمول و کارواکرول آویشن تحت تاثیر تغییر ارتفاع محل کاشت، در حقیقت به مطابقت شرایط رشدی هر اکوتیپ با رویشگاه طبیعی همان اکوتیپ بستگی دارد و این روند برای تمامی گونه‌ها یکسان نمی‌باشد. بر اساس گزارشات میدانی و مطالعه فلور خوزستان، رویشگاه طبیعی لعل کوهستان در محل‌های مرتفع هر منطقه می‌باشد زیرا نسبت به سرمای زمستان و شرایط سخت ارتفاعات سازگاری دارد و از تراکم و

نتایج آزمایشات صورت گرفته بر روی اسانس حاصل از *Thymus cotschyanus* Boiss. نیز مشابه تحقیق حاضر نشان داد، درصد تیمول با افزایش ارتفاع محل رویش گیاه از سطح دریا، بطور معنی داری افزایش می‌یابد (Gordanian et al., 2012). چنین نتایجی در گونه *Thymus kotschyanus* نیز مشاهده شد، یعنی با افزایش ارتفاع محل کاشت، تیمول و کارواکرول افزایش یافت (Habibi et al., 2007). در آزمایش دیگری که روی اسانس حاصل از *Thymus fallax* انجام شد نتایج حاکی از افزایش تیمول و کارواکرول همزمان با افزایش ارتفاع از سطح دریا بود (Mohammadian et al., 2014). اما از طرف دیگر با مطالعه شرایط اکولوژیکی آویشن باغی مشاهده شد در مناطق گرم و با ارتفاع کم، ترکیبات فنولیک (تیمول و کارواکرول) غالب تر از دیگر ترکیبات در اکوتیپ‌های جمع آوری شده از مناطق مختلف بود (Naghd Badi and Makkizadeh, 2003). در آزمایش دیگری جهت بررسی اسانس آویشن در ارتفاعات مختلف مشخص شد با افزایش ارتفاع محل، میزان درصد اسانس، مجموع ترکیبات و درصد کارواکرول کاهش یافت اما بین تیمول و ارتفاعات مختلف هیچگونه اختلاف معنی داری مشاهده نشد (Jamshidi et al., 2006). همچنین تحقیق روی شیموتایپ‌های *Tymus vulgaris* بیانگر

مختلف اسانس شامل ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر (µl) وجود دارد بنابراین غلظت ۴۰۰ میکرولیتر بعنوان بهترین تیمار این تحقیق شناسایی شد. همچنین در این مطالعه بیشترین و کمترین میزان IC_{50} (غلظتی که باعث حذف رادیکالهای آزاد به میزان ۵۰ درصد می‌شود) به ترتیب در اکوتیپ شوستر و بهبهان بدست آمد. در نتیجه می‌توان گفت اسانس حاصل از اکوتیپ بهبهان با وجود داشتن کمترین میزان IC_{50} ، بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی را در این روش دارد. براساس یافته‌های این تحقیق می‌توان این گیاه را بعنوان منبع طبیعی جدیدی برای تامین آنتی کسیدان در صنایع غذایی، دارویی و صنعتی معرفی نمود.

فراوانی نسبتا بالایی برخوردار است بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بهترین محل رویش گیاه به لحاظ تولید متابولیت‌های ثانویه موثر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مناطق مرتفع استان خوزستان می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

بررسی نتایج حاصل از آزمایش اندازه‌گیری مقدار ترکیبات اسانس لعل کوهستان بیانگر وجود رابطه معنی دار مثبت تیمول و کارواکرول با میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس اکوتیپ‌های لعل کوهستان در مناطق مورد بررسی بود. مطالعه تاثیر غلظت اسانس لعل کوهستان جهت تخریب رادیکالهای آزاد DPPH نشان داد تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای غلظت‌های

References

- Alizadeh, A., Alizadeh, O., Amari, G. and Zare, M. 2013. Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant activity and antifungal properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. as influenced by Ontogenetical Variation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1): 59-70.
- Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Vasiee, A. and Mortazavi, S.A. 2018. *Oliveria decumbens* essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial Pathogenesis*, 114: 449-452.
- Aminzadeh, M., Jamshidi, A., Mortazavimoghadam, F., Azarnivand, H., Naghavi, M. and Sarvestani, R. 2015. Evaluation of phytochemical and compare the yeild of antioxidant essential oils and extracts of *Salvia reuterana* Boiss. from Damavand region. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 3(3): 1-9.
- Bahraminejad, S., Seifolahpour, B. and Amiri, R. 2017. Antifungal effects of some medicinal and aromatic plant essential oils against *Alternaria solani*. *Journal of Crop Protection*, 5(4): 603-616.
- Baschieri, A., Ajvazi, M. D., Tonfack, J. L. F., Valgimigli, L. and Amorati, R. 2017. Explaining the antioxidant activity of some common non-phenolic components of essential oils. *Food Chemistry*, 232: 656-663.
- Dizajeyekan, Y.I., Haghghi, A.R. and Gajoti, T.E. 2016. Regional altitude and soil physicochemical factors influence the essential oil of *thymus pubescens* (Lamiales: Lamiaceae). *J. Biol. Environ. Sci*, 10(29): 45-51.
- Firoozrai, M., Sarasgani, M., Hesabi, B. and Bandegi, A. 2007. Effect of sports on the reduction of cell membrane susceptibility, antioxidant defense and oxidative stress. *Razi Journal of Medical Sciences*, 14(56): 125-136.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Ghahfarokhi, B. B., Ghahfarokhi, S.A.M. and Malekpoor, F. 2015. Chemical composition of essential oils from the aerial parts and underground parts of Iranian valerian collected from different natural habitats. *Industrial Crops and Products*, 63(0): 147-151.
- Gordanian, B., Behbahani, M., Carapetian, J. and Fazilati, M. 2012. Cytotoxic effect of *Artemisia absinthium* L. grown

- at two different altitudes on human breast cancer cell line MCF7. *Research in Medicine*, 36(3): 124-131.
- Habibi, H., Mazaheri, D., Majnoon Hosseini, N., Chaechi, M.R., Fakhr-Tabatabaee, M. and Bigdeli, M. 2007. Effect Of Altitude On Essential oil and components in wild Thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss.) Taleghan Region. *Pajouhesh and Sazandegi*, 73: 2-10.
- Haghirossadat, F., Bernard, F., Kalantar, M., Sheikhha, M., Hokmollahi, F., Azimzadeh, M. and Hoori, M. 2010. *Bunium Persicum* (Black Caraway) of Yazd province: chemical assessment and evaluation of its antioxidant effects. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 18(3): 284-291.
- Hosseini, S., Gharachorloo, M., Ghiassi Tarzi, B. and Ghavami, M. 2014. A review of antioxidant capacity assays (reactions, methods, pros and cons). *Food Technoloy and Nutrition*, 11(4): 89-111.
- Idris, M., Abbas, R.Z., Masood, S., Rehman, T., Farooq, U., Babar, W., Hussain, R., Raza, A. and Riaz, U. 2016. The potential of antioxidant rich essential oils against avian coccidiosis. *World's Poultry Science Journal*, 73(1): 89-104.
- Jamshidi, A., Aminzadeh, M., Azarnivand, H. and Abedi, M. 2006. Effect of evaluation for quality and quantity of essential oil *Thymus kotschyanus* (Damavand – Tar). *Journal of Medicinal Plants*, 2(18): 17-22.
- Mancini, E., Senatore, F., Del Monte, D., De Martino, L., Grulova, D., Scognamiglio, M., Snoussi, M. and De Feo, V. 2015. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. *Essential Oils. Molecules*, 20(7): 12016.
- Mohammadian, A., Karamian, R., Mirza, M. and Sepahvand, A. 2014. Effects of altitude and soil characteristics on essential of *Thymus fallax* Fisch. et C.A. Mey. in different habitats of Lorestan province. *Scientific Journal Management System*, 30(4): 519-525.
- Mozafarian, V. 1999. Flora of Khuzistan, Research center of Natural resource and husbandary of Khuzistan, Ahvaz, 282 p.
- Mozafarian, V. 2007. Flor of Iran(Umbelliferae), Forest and Rangelands Research Institute, Tehran, 600 p.
- Naghdi Badi, H. and Makkizadeh, M. 2003. Review of common thyme. *Journal of Medicinal Plants*, 3(7): 1-12.
- Ouariachi, E. m. E., Hamdani, I., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., Costa, J., Paolini, J. and Chetouani, A. 2014. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(4): 281-286.
- Pirbalouti, A.G. and Mohammadi, M. 2013. Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(2): 123-128.
- Saidi, M. 2014. Antioxidant activities and chemical composition of essential oils from *satureja khuzestanica*, *oliveria decumbens* and *Thymus daenensis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(3): 513-521.
- Sarikurkcü, C., Sabih Ozer, M., Eskici, M., Tepe, B., Can, Ş. and Mete, E. 2010. Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7): 1801-1805.
- Sedaghat Brojeni, L., Hojateslami, M., Keramat, J. and Ghasemi Pirbalouti, A. 2015. Comparison of antioxidant activity of leaf essential oil (*Myrtus communis*) and synthetic antioxidants on the physicochemical properties of potato chips and oil over its shelf life. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 6(4): 67-74.
- Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M. and Naghdi Badi, H. 2008. An Investigation on the Antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. in Soy Bean Oil. *Journal of Medicinal Plants*, 4(28):56-64

- Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A. 2017. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. *Food Chem*, 220: 153-161.
- Torras, J., Grau, M .D., López, J. F. and las Heras, F.X.C.D. 2007. Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *Journal of the science of food and agriculture*, 87(12): 2327-2333.
- Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D. and Kunz, W. 2016. Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chimie*, 19(6): 754-765.