دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال سیزدهم، شماره چهل و چهارم، ۱۴۰۰

بررسی فیتوشیمیایی گیاه دارویی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) در شرایط اکولوژیکی متفاوت

احمد نیک‌زاد[۱]، شهرام شرف‌زاده[۲]، اردلان علیزاده[۳]، بهرام امیری[٤]، فرود بذرافشان[٤]

دریافت: ۹۹/٤/۱۹ پذیرش: ۹۹/۹/۱۰

چکیده

در تحقیق حاضر، ٤ اکوتیپ مختلف گیاه دارویی آویشن شیرازی (استهبان، نی‌ریز، فسا و لارستان)، به منظور شناسایی برترین اکوتیپ، از لحاظ بالاترین درصد اسانس، اجزای اسانس، محتوای فنولی کل، خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات پلی‌فنولی عصاره متانولی بررسی شد. اسانس گیری از تمامی توده‌ها به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر انجام، سپس با استفاده از گاز کروماتوگراف و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی آنالیز گردید. به طور کلی ۵۲ ترکیب در اسانس توده‌های مختلف آویشن شیرازی شناسایی شد، ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس شامل: تیمول (٥٤/٣٥ – ٣٤/٤١ ٪)، پاراسیمن (١٩/٨٥ – ٩/٤٩ ٪)، گاماترپینن (١٦/٧٠ – ٧/٣٤ ٪)، کارواکرول (١٥/٣٤ – ٥/٣٥ ٪) بودند. تعیین فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی به ترتیب، با استفاده از روش رنگ سنجی فولین سیوکالتو و مهار رادیکال آزاد ۲و۲ دی‌فنیل، ۱ پیکریل هیدرازیل (DPPH) تعیین شد. ترکیبات پلی‌فنولی عصاره توده‌های مختلف، با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مشخص شد. فنل کل از ٢٣٤/٦٦ تا ٣٠٢/٢٨ میلی‌گرم گالیک اسید در وزن خشک متغییر بود. مقادیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز از ٣٤٨/٦٣ تا ٤٥٣/٧٦ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اعلام شد. ترکیبات پلی‌فنولی غالب در عصاره تمامی توده‌ها شامل: تیمول، کارواکرول، کوئرستین و رزماریک اسید بود. نتایج نشان داد که توده نی‌ریز بیشترین درصد اسانس و بالاترین درصد تیمول را دارا بود. بالاترین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در توده لارستان مشاهده شد. ترکیب پلی‌فنولی غالب، تیمول و در توده فسا مشاهده شد.

واژه های کلیدی: آویشن شیرازی، آنتی‌اکسیدان، اکوتیپ‌های مختلف، روغن فرار، محتوای فنولی.

نیک‌زاد، ا.، ش. شرف‌زاده، ا. علیزاده، ب. امیری و ف. بذرافشان. ۱٤۰۰. بررسی فیتوشیمیایی گیاه دارویی آویشن شیرازی *Zataria multiflora* (Boiss) در شرایط اکولوژیکی متفاوت. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ٤٤: ۷۵-۵۸.

۱- دانشجوی دکترا، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران

۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران

۳- استادیار، گروه گیاهان دارویی و معطر، دانشکده کشاورزی، واحد استهبان، دانشگاه آزاد اسلامی، استهبان، ایران- مسئول مکاتبات.
Ardelanalizadeh1718@yahoo.com

٤- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، ایران

مقدمه

تیره‌ی نعنائیان[1] جزء راسته‌ی لامیال[2] است. این تیره دارای ۲۵۰ جنس و ٦٨٠٠ گونه در سراسر جهان بوده که مرکز پراکندگی آن در ناحیه مدیترانه است (مابرلی، ۱۹۹۷). آویشن شیرازی *Zataria multiflora* و مترادف آن *Zataria bracteata* می‌باشد، که یکی از شناخته شده‌ترین گیاهان دارویی از تیره نعناعیان است، این گیاه پراکندگی محدودی در جهان دارد، رویشگاه‌ها و پراکندگی جغرافیایی آویشن شیرازی در ایران، افغانستان و پاکستان می‌باشد (حسین‌زاده و همکاران، ۲۰۰۰). این گیاه بومی، چند ساله و بوته‌ای بوده که در مناطق مرکزی و جنوبی ایران به طور گسترده‌ای پراکنده شده است، به علت وسعت رویشگاه‌های آن مصارف متعددی در طب سنتی در نقاط مختلف کشور دارد که علاوه بر مصرف خوراکی به عنوان عطر و طعم دهنده، در درمان اختلالات گوارشی، زخم‌های موضعی و همچنین به دلیل اثرات ضد احتقان و خلط‌آور در اختلالات تنفسی و سرما خوردگی نیز استفاده می‌شود (محققزاده و همکاران، ۲۰۰٤، حسین‌زاده و همکاران، ۲۰۰۰ ؛ فاضلی و همکاران، ۲۰۰۷ ؛ شریفی‌فر و همکاران، ۲۰۰۷). محل رویش این گیاه دارویی، در استان فارس، در شهرستان‌های: شیراز، سروستان، فسا، استهبان، لار و فیروزآباد می‌باشد (جمزاد، ۲۰۰۹).

عواملی مانند نور، رطوبت، آب و ارتفاع از سطح دریا از جمله عوامل اساسی تعیین کننده کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی در گیاهان هستند (کوچکی و علیزاده، ۱۹۹۵). شرایط اقلیمی منطقه رویش گیاه با تأثیر بر میزان فتوسنتز، تنفس و نیز خصوصیات رشدی و مورفولوژیکی گیاه می‌تواند روی محتوای اسانس و نیز اجزاء آن تأثیر گذار باشد (سحرخیز، ۲۰۰۲). متابولیت‌های ثانویه گرچه اساساً با هدایت فرایند ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد به طوری که این عوامل سبب تغییراتی در رشد گیاهان، مقدار و کیفیت مواد موثره و اسانس‌ها می‌گردد (امیدبیگی، ۲۰۰۵). تفاوت در مقادیر کمی ترکیبات شیمیایی گیاه از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در بین توده‌های مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژی حاکم بر رویشگاه باشد (ولی‌زاده و همکاران، ۲۰۱۵).

نعنائیان یکی از مهمترین خانواده‌ها در تولید روغن‌های اسانسی می‌باشد که در برابر بسیاری از باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا، خاصیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهد (لپوراتی و گدیرا، ۲۰۰۹). برخی از گیاهان تیره نعنائیان سرشار از ترکیبات فنولی مانند فلاونوئیدها، اسیدهای فنولی و دی‌ترپن‌های فنولی بوده که این ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند (رایس اوانس و همکاران، ۱۹۹۷ ؛ پورمراد و همکاران، ۲۰۰٦ ؛ وانگ و همکاران، ۲۰۰٦). مهمترین ترکیبات زیستی گیاهان آنتی‌اکسیدان‌ها هستند و عموماً در گیاهان حاوی ترکیبات فنلی وجود دارند. فنول-ها ترکیبات هیدرواکسیل آروماتیک هستند این ترکیبات از تعداد زیادی زیر گروه شامل فلاوونوئیدها، فنولیک‌اسید و تانن‌ها تشکیل شده‌اند (کوکیس و همکاران، ۲۰۰۸). تیمول و کارواکرول از ترکیبات شاخص اسانس در آویشن شیرازی هستند که دارای اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی خوبی هستند و جزء اصلی ترکیبات غیر فنلی آن پاراسیمن است (شفیعی و جاویدنیا، ۱۹۹۷ ؛ ساعی-دهکردی و همکاران، ۲۰۱۰ ؛ شریفی‌فر و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج تحقیقات گذشته توسط محبوبی و همکاران (۲۰۱۷)، مشخص کرد کارواکرول (۳٤/۲۰–۲۳/۹۰ ٪) و تیمول (۲۵/۸۰–٤۱/۱٦ ٪) ترکیبات عمده در اسانس آویشن شیرازی می‌باشند. با نتایج حاصله از تحقیقات رحیمی و همکاران (۲۰۱۹)، مشخص شد تیمول (۳٤/٤٤ ٪) و کارواکرول (۳۳/٤۵ ٪) از ترکیبات اصلی و مهم در اسانس آویشن شیرازی هستند. نیک‌زاد و همکاران (۲۰۲۰)، اعلام کردند عصاره آویشن شیرازی دارای غلظت بالایی از ترکیبات فنولیک می‌باشد که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی طبق نتایج دیگر محققین به طور کلی تیمول، کارواکرول، گاماترپینن و پاراسیمن گزارش شده است (کریمی و همکاران، ۲۰۲۰ ؛ گلکار و همکاران، ۲۰۲۰ ؛ پورحسینی و همکاران، ۲۰۲۰). با توجه به اهمیت فراوان گیاه دارویی آویشن شیرازی، در تحقیق حاضر چهار اکوتیپ مختلف این گیاه از لحاظ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنولی کل و ترکیبات پلی‌فنولی عصاره مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

[1] Lamiaceae
[2] Lamiales

مواد گیاهی

توده‌های آویشن شیرازی از رویشگاه‌های طبیعی مناطق بلغان (لارستان)، سهل‌آباد (استهبان)، آباده طشک (نی‌ریز) و ششده (فسا) در اردیبهشت سال ۱۳۹۷ از جمع‌آوری گردید. گیاهان جمع‌آوری شده با استفاده از فلور منطقه‌ای و منابع معتبر طبقه‌بندی گیاهان، شناسایی شدند (ریچینگر، ۱۹۸۲). در هر منطقه ارتفاع از سطح دریا، طول و عرض جغرافیایی به وسیله دستگاه موقعیت یاب جهانی (GPS، مدل Vista، تایوان) اندازه‌گیری گردید (جدول ۱).

جدول ۱- خصوصیات رویشگاه توده‌های وحشی آویشن شیرازی

نام رویشگاه	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)
لارستان (جویم – بلغان)	۲۸ ° ۹′ N	۵۳ ° ۳۶′ E	۶۶۸
استهبان (خیر – سهل‌آباد)	۲۹° ۳۲′ N	۵۴ ° ۳۰′ E	۱۷۶۷
نی‌ریز (آباده طشک- آباده طشک)	۲۹° ۵۳′ N	۵۳ ° ۲۶′ E	۱۶۰۰
فسا (ششده و قره‌بلاغ- ششده)	۲۸° ۳۱′ N	۵۳ ° ۱۹′ E	۱۴۵۰

جدول ۲- خصوصیات آب و هوایی و فیزیکوشیمیایی خاک مناطق جمع‌آوری توده‌های وحشی آویشن شیرازی

گزارش نتایج تجزیه خاک مناطق مختلف جمع‌آوری توده‌های آویشن شیرازی					
ردیف	پارامترهای تجزیه ماکرو	استهبان	فسا	نی ریز	لارستان
۱	pH	۷/۲۸	۷/۸۰	۷/۳۴	۷/۴۷
۲	شوری EC (ms)	*۰/۶۸	۰/۶۸	۱/۵۰	۰/۵۸
۴	فسفر P(ppm)	۲/۸۰	۱/۱۰	۵/۸۰	۱/۸۰
۵	پتاسیم K (ppm)	۱۹۸	۱۹۸	۳۳۸	۲۸۰
۶	کربن C (%)	۰/۶۰	۰/۹۰	۰/۶۰	۰/۰۸
۷	درصد N (%)	۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۰۱
۱۲	بافت خاک Texture	لوم رس شنی	لوم شنی	لوم شنی	لوم شنی
۱۳	میانگین دراز مدت دما (C°)	۲۲	۲۴	۲۲	۲۸
۱۴	میانگین دراز مدت بارش (mm)	۲۳۱/۶۷	۲۲۴/۵۴	۱۷۱/۳۴	۱۸۳/۰۴

* داده‌ها حاصل تجزیه خاک مناطق توسط آزمایشگاه کشاورزی خاک آزما پارس می‌باشد. (عمق ۳۰-۰ سانی‌متر).

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک رویشگاه طبیعی هر یک از توده‌های مورد آزمون مانند میزان اسیدیته خاک، میزان هدایت الکتریکی و عناصر خاک، از طریق نمونه‌برداری خاک و تجزیه و تحلیل اطلاعات ثبت شد. به منظور بررسی اقلیم مناطق رشد گیاه آویشن شیرازی با توجه به چند ساله بودن این گیاه، داده‌های هواشناسی از ایستگاه‌های سینوپتیک مناطق تهیه شد (جدول ۲).

به منظور بررسی اقلیم مناطق رشد گیاه آویشن شیرازی با توجه به چند ساله بودن این گیاه، داده‌های هواشناسی از ایستگاه-های سینوپتیک مناطق تهیه شد.

اسانس‌گیری

اندام هوایی توده‌های وحشی آویشن شیرازی به مدت ۲ هفته در دمای اتاق (۲ ± ۲۵) خشک شد. جهت استخراج اسانس، برگ نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب خورد شد. مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه خورد شده با دقت توزین و در یک بالن یک لیتری ریخته شد و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به آن افزوده گردید. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام شد. اسانس به دست آمده توسط سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شد و مقدار وزنی آن برای محاسبه درصد اسانس اندازه‌گیری شد. اسانس به دست آمده، درون شیشه‌های کوچک با رنگ تیره (جهت جلوگیری از اثرات مخرب نور) جمع آوری و در یخچال در دمای ۴ درجه نگهداری شد (فیضی و همکاران، ۲۰۱۲).

تعیین کمیت و کیفیت ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

جهت تعیین کمیت و کیفیت ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از دستگاه گازکروماتوگراف[1] و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی[2] استفاده شد.

ویژگی‌های دستگاه کروماتوگرافی گازی

از دستگاه گازکروماتوگراف نوع Agilent technologies و مدل 7890 A، مجهز به ستون HP-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، استفاده گردید. برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا۲۱۰ درجه سانتی گراد با افزایش دمای سه درجه سانتی گراد در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای بیست درجه سانتی گراد در دقیقه و تاخیر به مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی انجام شد. از آشکارساز نوع FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتی گراد و از گاز نیتروژن با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه، به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای محفظه تزریق ۲۴۰ درجه سانتی گراد بود.

ویژگی‌های دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی

گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی از نوع Agilent technologiesو مدل 5975C، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بوده و دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی گراد، انرژی یونیزاسیون در دستگاه ۷۰ الکترون ولت و گاز حامل هلیوم با سرعت یک میلی‌لیتر بر دقیقه بود. برای جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از دستگاه GC-MS و برای تعیین درصد اجزاء آن از دستگاه GC استفاده شد. شناسایی با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل شاخص بازداری (RI)، طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با اطلاعات موجود در حافظه کامپیوتر دستگاه GC-MS و منابع انجام پذیرفت (آدامز، ۲۰۰۷).

تهیه عصاره متانولی

عصاره متانولی ٤ توده آویشن شیرازی با روش خیساندن تهیه شد. بدین منظور ۵ گرم پودر از برگ هر گیاه درون ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و مقدار ۵۰ میلی‌لیتر متانول خالص به آن اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ٢٤ ساعت بر روی شیکر با دور ۱۳۰ قرار گرفتند. پس از آن با عبور مخلوط از کاغذ صافی شماره ٤٠ عصاره متانولی حاصل شد. در نهایت عصاره حاصل با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شدند. عصاره‌های تغلیظ شده از نظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی، محتوی فنل کل و پلی‌فنولی مورد بررسی قرار گرفتند.

تعیین فنول کل

میزان فنول کل با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان شد (سینگلتون و روسی، ۱۹٦۵). در این روش ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره درون لوله آزمایش با ۱/۱٦۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شدند. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ ٪ وزن به حجم) به محتوی لوله آزمایش افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس جذب آن-ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷٦۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد گالیک اسید، محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لتر تهیه گردید. پس از منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار فنول کل موجود در عصاره محاسبه شد. در نهایت داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره بیان گردید.

تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی به کمک ۲و۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل مطابق با روش (برند ویلیامز و همکاران، ۱۹۹۵) و (ونگ و همکاران، ۱۹۹۸) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH،[3] ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار آن به راحتی به صورت رادیکال درآمده و در واقع منبع رادیکال آزاد می‌باشد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. رادیکال‌های آزاد موجود در DPPH، در

1 GC: Gas chromatography
2 GC-MS: Gas chromatography-mass spectrometry

3 2,2 diphenyl 1-pycril hydrazyl

۵۱۷ نانومتر جذب دارند که از قانون بیر لامبرت[1] پیروی می‌کنند و کاهش جذب آن با میزان ماده آنتی‌اکسیدان رابطه خطی دارد. هر چه بر مقدار ماده آنتی‌اکسیدان افزوده شود، DPPH بیشتری مصرف شده و رنگ بنفش بیشتر به زرد میل می‌کند. فعالیت آنتی-اکسیدانی عصاره به صورت مقدار IC_{50}[2] (غلظتی از عصاره که سبب ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌گردد)، نشان داده شد. درصد مهار رادیکال آزاد طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

Percentage inhibition (% I): $[(A-B)/A] \times 100$

A: جذب بلانک B: جذب نمونه

شناسایی و تعیین مقدار اجزاء ترکیبات پلی‌فنولی

تعیین مقدار و نوع ترکیبات پلی‌فنولی در توده‌های مختلف آویشن شیرازی بر اساس استاندارد ملی ایران (۲۰۱۳)، به شماره ۱۶۳۲۳ (روش اندازه‌گیری بیوفنول‌ها به وسیله کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC) انجام شد. ترکیبات پلی‌فنولی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا، [شرکت Young Lin مدل ۹۱۰۰ ساخت کشور کره جنوبی و ستون RP-C ۱۸ (مشخصات ستون اندازه ذرات ۵ میکرومتر، طول ۲۵ سانتی‌متر قطر داخلی ۰/۴۶ میلی‌متر)] تعیین شد. در این روش آزمون، فاز متحرک A: آب دیونیزه + اسید استیک ۵ درصد و فاز متحرک B: استونیتریل+ استیک اسید ۵ درصد بود. بدین منظور برای تعیین نوع و مقدار ترکیبات پلی‌فنولی، نمونه‌های رقیق شده ۱ درصد از فیلتر سرسرنگی ۰/۲ میکرونی عبور داده شدند. عصاره صاف شده به میزان ۲۰ میکرولیتر توسط سرنگ ۱۰۰ میکرولیتری به دستگاه HPLC تزریق شد.

تجزیه آماری داده‌ها

در این تحقیق تمامی آزمون‌ها ۳ بار تکرار شد و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. نتایج حاصل با استفاده از روش آنالیز آماری واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (دانکن، ۱۹۹۵) در سطح احتمال ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام و برای ثبت داده‌ها از نرم افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس توده‌های مختلف آویشن شیرازی

نتایج پژوهش حاضر در مورد درصد اسانس توده های آویشن شیرازی استان فارس نشان داد که بالاترین درصد اسانس مربوط به توده نی ریز (۳/۵۸ ٪) و کمترین درصد اسانس مربوط به توده فسا (۲/۲۷ ٪) بود (جدول ۳). ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس توده‌های مختلف آویشن شیرازی شامل: تیمول (۵۴/۳۵ – ۳۴/۴۱ ٪)، پاراسیمن (۱۹/۸۵ – ۹/۴۹ ٪)، گاماترپینن(۱۶/۷۰ – ۷/۳۴ ٪) و کارواکرول (۱۵/۳۴ – ۵/۳۵ ٪) بودند (جدول ٤). همچنین اسانس توده‌های مختلف آویشن شیرازی در طبقات مونوترپن‌های هیدروکربنی (۵۰/۱۵ – ۲۷/۱۳ ٪)، سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنی (۳/۷۷ – ۲/۸۲ ٪)، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (۶۸/۱۳ – ٤٦/۲۸ ٪) و سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار (۰/٦٤ – ۰/۰٦ ٪) قرار داشتند. بالاترین و کمترین درصد ترکیبات فرار به ترتیب مربوط به منوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار بود (جدول ۳). ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی توسط محققین دیگر نیز ارائه شده است. شریفی‌فر و همکاران (۲۰۰۷)، تیمول (۳۷/۹۰ ٪)، کارواکرول (۳۳/٦۵ ٪)، پاراسیمن (۷/۷۲ ٪) و گاماترپنین (۳/۸۸ ٪) را به عنوان مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی معرفی کردند. رستگار و همکاران (۲۰۱۱) گزارش نمودند تیمول (۳۰/۷۲ ٪) و کارواکرول (۲۹/۹۵ ٪) بالاترین درصد را در بین ترکیبات استخراج شده از اسانس آویشن شیرازی داشتند.

در تحقیقی علیزاده و شعبانی (۲۰۱٤)، ترکیبات عمده در توده-های مختلف آویشن شیرازی را کارواکرول (٦۳/۵۱ ٪)، لینالول (۵/۷۸ ٪)، پاراسیمین (۵/۳۱ ٪)، تیمول (٤/٦۰ ٪) اعلام کردند. طی مطالعه‌ای که رئیسی و همکاران (۲۰۱٦)، انجام دادند کارواکرول (٦۳/۲۰ ٪) و تیمول (۱۵/۱۰ ٪) به عنوان ترکیبات عمده در اسانس آویشن شیرازی معرفی شدند. در صورتی که نیک‌زاد و همکاران (۲۰۲۰)، تیمول (۵٤/۳۵ ٪ – ۳٤/٤۱)، پاراسیمن (۱۹/۸۵ ٪ – ۹/٤۹)، گاماترپینن (۱٦/۷۰ ٪ – ۷/۳٤) و کارواکرول (۱۵/۳٤ ٪ – ۵/۳۵) را به عنوان ترکیبات اصلی در توده‌های وحشی آویشن شیرازی اعلام کردند. درصد و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر شرایط محیطی، ژنتیکی و ویژگی-های فیزیکی و شیمیایی خاک قرار می‌گیرد (پورحسینی و همکاران، ۲۰۱۸).

1 Beer_Lambert law
2 Half maximal inhibitory concentration

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس توده‌های مختلف آویشن شیرازی برداشت شده از مناطق و ارتفاعات مختلف از لحاظ میزان ترکیبات اصلی اسانس با یکدیگر متفاوت می‌باشند و مقدار این ترکیبات، تحت تأثیر ارتفاع و دما به شدت تغییر کرده است. بیشترین میزان تیمول به عنوان ترکیب اصلی اسانس در بالاترین ارتفاع (توده نی‌ریز با ارتفاع ۱٦۰۰ متر و توده استهبان با ارتفاع ۱۷٦۷ متر) و کمترین میانگین دمای بلند مدت (۲۲ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد. مقدار تیمول در توده لارستان و فسا به ترتیب به ۳۸/٤٥ ٪ و ۳٤/٤۱ ٪ کاهش یافت، که مربوط به کمترین ارتفاع (٦٦۸ متر و ۱٤٥۰ متر) و بیشترین دما (۲۸ و ۲٤ درجه سانتی‌گراد) بود. به طور کلی در پژوهش حاضر مقدار اسانس با افزایش ارتفاع و کاهش دما، افزایش یافت، به نظر می‌رسد که ارتفاع بالاتر و دمای پایین تر شرایط رشدی بهینه‌تری را برای رشد و تجمع اسانس در آویشن شیرازی ایجاد کرده باشد. نتایج تجزیه و تحلیل آماری ترکیبات تشکیل دهنده اسانس نشان داد حداکثر غلظت کارواکرول و پاراسیمن به ترتیب با ۱٥/۳٤٪ و ۱۹/۸٥ ٪ در توده لارستان گزارش شد. بیشترین میزان گاماترپینن با ۱٦/۷۰٪ و ۱٦/٤٥٪ به ترتیب در توده استهبان و فسا گزارش شد (جدول ٤).

بدیهی است که تنوع در اقلیم یک منطقه، مانند ارتفاع، دمای هوا، ترکیب و باروری خاک، پراکنش جغرافیایی گیاه، زمان برداشت، روش‌های خشک کردن و روش استخراج اسانس تأثیر بسیاری بر کمیت و کیفیت عملکرد روغن‌های اسانسی و ترکیبات تشکیل‌دهنده آن‌ها دارد. مک‌گیپسی و همکاران (۱۹۹٤) و سائز (۱۹۹۸)، گزارش کردند که تغییرات محیطی و فصلی بر عملکرد و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس دو گیاه *Thymus vulgaris* و *Thymus hymalis* موثر هستند. نتایج مطالعات پژوهش حاضر نیز نشان داد که شرایط محیطی متفاوت بر ترکیبات اسانس آویشن شیرازی تأثیرگذار است و همین عوامل سبب متفاوت بودن درصد اسانس و ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در چهار توده استهبان، نی-ریز، فسا و لارستان شده است. طالبی‌کویوخی و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش کردند تنوع فیتوشیمیایی، نه تنها در میان توده‌های مناطق مختلف بلکه در میان توده‌های یک منطقه با ارتفاع مختلف نیز دیده می‌شود که نشان‌دهنده تأثیر ارتفاع محیط رشد بر اجزاء تشکیل دهنده اسانس است. نتایج مطالعات قبلی نشان داد که ارتفاع مهمترین عامل محیطی تأثیرگذار بر محتوای روغن فرار *Tymbra spicata var. spicata L.* است (کزیل، ۲۰۱۰). سایر عوامل محیطی و ژنتیکی می‌توانند بر بیوسنتز اسانس‌ها در یک گیاه خاص اثر گذار باشند. بدین صورت که یک گونه گیاهی در شرایط مختلف محیطی می‌تواند اسانس‌هایی با ترکیبات مؤثره مختلف تولید کند (آندراد و همکاران، ۲۰۱۱). قاسمی‌پیربلوطی و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش نمودند ارتفاع به عنوان مهمترین فاکتور تأثیرگذار در ترکیبات شیمیایی آویشن دنایی *Thymus denensis Celak* است. مطالعات فاطیما و همکاران (۲۰۱۲)، نشان داد عوامل مختلف آب و هوایی مثل ارتفاع در مقدار تیمول و کارواکرول گیاه مرزنجوش *Origanum syriacum* مؤثر است. مقایسه نتایج ما با گزارش‌های قبلی حاکی از آن است که ترکیب اسانس آویشن شیرازی در شرایط آب و هوایی و منشأ جغرافیایی مختلف، متفاوت است و تفاوت در عملکرد و ترکیب اسانس در میان توده‌های مختلف به شرایط رشد گیاه مانند ارتفاع، دما، نور خورشید، نوع خاک و آب و هوا نسبت داده می‌شود.

جدول ۳- **بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس توده‌های وحشی آویشن شیرازی**

شماره	ترکیب	٤ توده وحشی آویشن شیرازی					ANOVA
		RI	استهبان	نی‌ریز	فسا	لارستان	
۱	(E)-2-Hexenal	۸۵۱	۰/۱٦±۰/۲۰	۰/۰٤±۰/۰۲	۰/۰۵±۰/۰۲	۰/۰۵±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۲	Tricyclene	۹۲۳	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰۷±۰/۰۰۲	۰/۰۰±۰/۰۰	P≥۰/۰۵
۳	α-Thujene	۹۲۵	۱/۰۵±۰/۱۸	۰/۸۵±۰/۱۳	۱/۵۷±۰/۲٤	۰/۲۰±۰/۰۸	P≥۰/۰۵
٤	α-Pinene	۹۳۳	۲/۳۸±۰/۲۵	۱/٦۳±۰/۲۵	۳/۸٤±۰/۲٦	۵/۲۵±۱/۰۰	P≥۰/۰۵
۵	Camphene	۹٤۷	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱	۰/۱۱±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
٦	Thuja-2,4(10)-diene	۹۵۳	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰٦±۰/۰۲	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	P≥۰/۰۵
۷	Sabinene	۹۷۲	۰/۰۳±۰/۰۱	۰/۰۳±۰/۰۱	۰/۰۵±۰/۰۲	۰/۰۳±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
۸	β-Pinene	۹۷٦	۰/۵۸±۰/۰۸	۰/٤۵±۰/۰۸	۰/۸٤±۰/۰۹	۰/٤۸±۰/۰۷	P≥۰/۰۵
۹	3-Octanone	۹۸۵	۰/۷۵±۰/۰۹	۰/٤۰±۰/۰۷	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/٦۸±۰/۰۷	P≥۰/۰۵
۱۰	Myrcene	۹۹۰	۲/۱۹±۰/۲۱	۱/۹۹±۰/۲۵	٤/٤۳±۰/٤۸	۰/٦۳±۰/۵۲	P≥۰/۰۵
۱۱	3-Octanol	۹۹۵	۰/۲٤±۰/۰٦	۰/۰٦±۰/۰۲	۰/۲۱±۰/۰٦	۰/۰٤±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۱۲	α-Phellandrene	۱۰۰۵	۰/۲٤±۰/۰٦	۰/۱٤±۰/۰۳	۰/۳٤±۰/۰۳	۱/۲۵±۰/۰٤	P≥۰/۰۵
۱۳	p-Mentha-1(7), 8-diene	۱۰۰۷	۰/۰۵±۰/۰۲	۰/۰٤±۰/۰۱	۰/۰۸±۰/۰۳	۰/۰۳±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
۱٤	α-Terpinene	۱۰۱٦	۳/۰۸±۰/۲۸	۱/۷۱±۰/۲۳	۳/۹۳±۰/۳۲	۱/۲۰±۰/۱۸	P≥۰/۰۵
۱۵	p-Cymene	۱۰۲٤	۹/٤۹±۱/۲۲	۱۰/۸۱±۱/۲٤	۱۷/۱۱±۱/٤٤	۱۹/۸۵±۱/۵۸	P≤۰/۰۵
۱٦	Limonene	۱۰۲۷	۰/٤٤±۰/۰۸	۰/۲۸±۰/۰۷	۰/۵۹±۰/۰۸	۰/۲۳±۰/۰٦	P≥۰/۰۵
۱۷	β-Phellandrene	۱۰۲۸	۰/۳۰±۰/۰۹	۰/۲۳±۰/۰٦	۰/۳٤±۰/۰۵	۰/۱۷±۰/۰٤	P≥۰/۰۵

ادامه جدول ۳-

شماره	ترکیب	٤ توده وحشی آویشن شیرازی					ANOVA
		RI	استهبان	نی‌ریز	فسا	لارستان	
۱۸	1,8-Cineole	۱۰۳۰	۰/۳۳±۰/۰۹	۰/٤۱±۰/۰۸	۰/٤۱±۰/۰۸	۰/۳٤±۰/۰۹	P≥۰/۰۵
۱۹	(Z)-β-Ocimene	۱۰۳٦	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۱۱±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۲۰	(E)-β-Ocimene	۱۰٤٦	۰/۰۸±۰/۰۲	۰/۰٦±۰/۰۲	۰/۱۲±۰/۰۲	۰/۰۹±۰/۰۳	P≥۰/۰۵
۲۱	γ-Terpinene	۱۰۵۸	۱٦/۷۰±۱/۱۷	۸/۳۳±۱/۰۲	۱٦/٤۵±۱/۰۹	۷/۳٤±۱/۰۳	P≤۰/۰۵
۲۲	cis-Sabinene hydrate	۱۰٦۵	۰/۳۸±۰/۱	۰/٦۵±۰/۰۹	۰/۲۸±۰/۰۹	۱/۲۵±۰/۲۳	P≥۰/۰۵
۲۳	trans-Linalool oxide	۱۰۷۲	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۵±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۲٤	Terpinolene	۱۰۸۸	۰/۱٤±۰/۰۳	۰/۱۰±۰/۰۲	۰/۲٤±۰/۱۹	۰/۰٦±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۲۵	Linalool	۱۰۹۵	۰/۸۷±۰/۱۳	۱/۰۵±۰/۱۰	۱/۱۹±۰/۱۸	۰/۰۵±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۲٦	Hotrienol	۱۱۰٤	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۱۹±۰/۰۱	۰/۰۳±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
۲۷	1-Octen-3-yl acetate	۱۱۱۲	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۵±۰/۰۲	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
۲۸	3-Octanol acetate	۱۱۲۳	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۲±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
۲۹	Camphor	۱۱٤٤	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	P≥۰/۰۵
۳۰	Borneol	۱۱٦۵	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۲۸±۰/۰٦	P≥۰/۰۵
۳۱	Terpinen-4-ol	۱۱۷٦	۰/٦۳±۰/۰۹	۰/٤۸±۰/۰۸	۰/۷٤±۰/۰۸	۰/۵٤±۰/۰۸	P≥۰/۰۵
۳۲	α-Terpineol	۱۱۹۰	۰/۰۵±۰/۰۲	۰/۰۵±۰/۰۲	۰/۱۰±۰/۰۲	۰/۰۵±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
۳۳	trans-Dihydro carvone	۱۲۰۰	۰/۲۸±۰/۰۷	۰/٤٤±۰/۰٦	۰/۲۲±۰/۰۵	۰/۲۳±۰/۰۸	P≥۰/۰۵
۳٤	Thymol methyl ether	۱۲۳٤	۱/۹۷±۰/٤۹	۱/۹٤±۰/۱۲	۱/۲۰±۰/۱۹	۰/۲۳±۰/۰۸	P≥۰/۰۵

ادامه جدول ۳-

شماره	ترکیب	٤ توده وحشی آویشن شیرازی					ANOVA
		RI	استهبان	نی‌ریز	فسا	لارستان	
۳۵	Carvacrol methyl ether	۱۲٤۳	۰/۹٤±۰/۲۳	۰/۷۵±۰/۰۵	۰/٦۸±۰/۱۱	۰/۱٤±۰/۰۳	P≥۰/۰۵
۳٦	Linalyl acetate	۱۲۵۹	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۳±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
۳۷	Thymol	۱۲۹۰	٤۵/۸۵±۲/۱٤	۵٤/۳۵±۱/۸۸	۳٤/٤۱±۲/۲۳	۳۸/٤۵±۲/٤۷	P≤۰/۰۵
۳۸	Carvacrol	۱۲۹۸	۵/۳۵±۰/٤۵	۷/۰٤±۱/۱۱	٦/۰٦±۰/۵۵	۱۵/۳٤±۱/۱۲	P≤۰/۰۵
۳۹	Thymol acetate	۱۳۵٤	۰/۷۰±۰/۰۹	۰/۷٦±۰/۱۲	۰/۵۱±۰/۰۹	۰/۵٤±۰/۰۸	P≥۰/۰۵
٤۰	Carvacrol acetate	۱۳۷۳	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۰٦±۰/۰۲	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۰٦±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
٤۱	(Z)-Caryophyllene	۱٤۱۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۲±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
٤۲	(E)-Caryophyllene	۱٤۱۸	۲/۷۸±۰/۲٤	۲/٦۰±۰/۲۳	۲/۵۳±.۰/۲۳	۲/۱۲±۰/۲۱	P≥۰/۰۵
٤۳	β-Gurjunene	۱٤۳۷	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۲±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
٤٤	Aromadendrene	۱٤٤۱	۰/۳۰±۰/۰۸	۰/۱۹±۰/۰۳	۰/۲۱±۰/۰٤	۰/۱۱±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
٤۵	α-Humulene	۱٤۵۲	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۰۹±۰/۰۳	۰/۰۵±۰/۰۲	P≥۰/۰۵
٤٦	allo-Aromadendrene	۱٤۵۸	۰/۰۳±۰/۰۱	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۰۲±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
٤۷	β-Selinene	۱٤۸٦	۰/۰۳±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	۰/۰۱±۰/۰۱	P≥۰/۰۵
٤۸	δ-Selinene	۱٤۹۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۲±۰/۰۱	P≥۰/۰۵

ادامه جدول ۳-

شماره	ترکیب	٤ توده وحشی آویشن شیرازی					ANOVA
		RI	استهبان	نی‌ریز	فسا	لارستان	
٤٩	Viridiflorene	١٤٩٣	٠/٥١±٠/٠٨	٠/٣٧±٠/١١	٠/٢٤±٠/٠٥	٠/٣٤±٠/٠٩	P≥٠/٠٥
٥٠	δ-Cadinene	١٥٢٢	٠/٠٠±٠/٠٠	٠/٠٠±٠/٠٠	٠/٠٠±٠/٠٠	٠/١١±٠/٠٢	P≥٠/٠٥
٥١	Spathulenol	١٥٧٦	٠/١٨±٠/٠٤	٠/٣٢±٠/١٠	٠/٠٣±٠/٠١	٠/٠٥±٠/٠٢	P≥٠/٠٥
٥٢	Caryophyllene oxide	١٥٨١	٠/١١±٠/٠٢	٠/٣٢±٠/١٠	٠/٠٣±٠/٠١	٠/١٢±٠/٠٢	P≥٠/٠٥
	Monoterpene hydrocarbons	١٩٦٩٧	٣٧/٨٧	٢٧/١٣	٥٠/١٥	٣٧/٧٤	
	Oxygenated monoterpens	٤٧٢٣٢	٥٧/٦٢	٦٨/١٣	٤٦/٢٨	٥٧/٧٩	
	Sesquiterpene hydrocarbons	١٦٠٩٧	٣/٧٧	٣/٣١	٣/١١	٢/٨٢	
	Oxygenated sesquiterpenes	٣١٥٧	٠/٢٩	٠/٦٤	٠/٠٦	٠/١٧	
	Total	٨٦١٨٣	٩٩/٥٥	٩٩/٢١	٩٩/٦١	٩٨/٥٢	
	Essential oil yield (%)		٣/٢٥	٣/٥٨	٢/٢٧	٢/٣٩	

*شاخص بازدارندگی: RI: Retention indices relative

نتایج به صورت میانگین ۳ بار آنالیز ± انحراف معیار (SD: standard deviation) می‌باشند

جدول ٤- ترکیبات مهم اسانس ٤ توده وحشی آویشن شیرازی

ترکیبات مهم	درصد ترکیبات آویشن شیرازی				ANOVA
	استهبان	نی‌ریز	فسا	لارستان	
Thymol	٤٥/٨٥ b *	٥٤/٣٥ a	٣٤/٤١ d	٣٨/٤٥ c	P≤٠/٠٥
p-Cymene	٩/٤٩ c	١٠/٨١ c	١٧/١١ ab	١٩/٨٥ a	P≤٠/٠٥
γ-Terpinene	١٦/٧٠ a	٨/٣٣ b	١٦/٤٥ a	٧/٣٤ b	P≤٠/٠٥
Carvacrol	٥/٣٥ bc	٧/٠٤ b	٦/٠٦ b	١٥/٣٤ a	P≤٠/٠٥
Essential oil yield (%)	٣/٢٥ ab	٣/٥٨ a	٢/٢٧ c	٢/٣٩ b	P≤٠/٠٥

*هر داده میانگین ۳ تکرار می‌باشد. در هر ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵ ٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

محتوای فنول کل

محتوی فنول کل با روش فولین سیکالتو معادل گالیک اسید بیان شد (معادله منحنی استاندارد: R^2 = ٠/٩٩٧٤ و x – ٠/٠٦ = y ٠/٠٠٥٧). طبق نتایج بدست آمده در جدول ۵، تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد در توده‌های مختلف آویشن شیرازی مشاهده شد. بالاترین فنول کل با ۳۰۲/۲۸ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک در توده لارستان اعلام شد. در حالیکه کمترین آن با ۲۳٤/٦٦ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک در توده استهبان گزارش گردید. محتوی فنولی کل در فسا و نی‌ریز به ترتیب ۲٦۷/٤٤ و ۲٤۸/۳۸ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک اعلام گردید (جدول ۵). که به لحاظ آماری تفاوت معناداری در سطح احتمال ۵ درصد داشتند. مطالعات اخیر در مورد آویشن شیرازی نشان داده است این گیاه منبع غنی از ترکیبات فنولی می‌باشد. رئیسی و همکاران، (۲۰۱۸) گزارش نمودند آویشن شیرازی با ۲٦۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک، دارای محتوی فنولی بالایی است. مجدرلنگرودی و همکاران، (۲۰۱۹) محتوی فنولی اسانس روغنی آویشن شیرازی را ۱۷۹/٤۲ میلی‌گرم در گرم گزارش نمودند. همچنین شرافتی چالشتری و همکاران، (۲۰۱۳) اعلام کردند فنول کل در این گیاه برابر با ۲۸۳/٤۳ میلی‌گرم در گرم معادل گالیک اسید می‌باشد. کمیت و کیفیت ترکیبات فنولیک، به طور قابل توجهی به عوامل مختلف، مانند نوع گونه‌ها، ژنتیک گیاهی، خاک، شرایط رشد، زمان برداشت و روش‌های استخراج بستگی دارد (علیزاده، ۲۰۱٦ ؛ جعفری و همکاران، ۲۰۰۳).

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی توده‌های مختلف آویشن شیرازی به لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معناداری مشاهده گردید. بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند ویتامین C (۲۳/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) و بوتیل هیدراکسی تولوئن (۲۵/٤۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) و کوئرستین (۳۷/۸۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) اعلام شد. سپس بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در توده لارستان (۳٤۸/٦۳ میکروگرم در میلی‌لیتر) و فسا (۳۹۷/۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد. کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در توده استهبان و نی‌ریز (٤٥۳/۷٦ و ٤۱۱/٥٤ میکروگرم در میلی‌لیتر) گزارش گردید (جدول ۵). ارتباط مستقیمی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات پلی فنلی گیاه وجود دارد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده‌ی بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بعضی از عصاره‌های گیاهی می‌باشد (جمشیدی و همکاران، ۲۰۱۰).

طبق نتایج این تحقیق نوعی همبستگی بین فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی کل مشاهده شد که نشان می‌دهد که بخش عمده‌ای از فـعالیت آنتی‌اکسیدانی در توده‌های مختلف آویشن شیرازی ناشی از ترکیبات فنولی می‌باشد. با این حال فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فقط از طریق فنول‌ها ایجاد نمی‌شود و ممکن است از وجود سایر متابولیت‌های ثانویه نیز ناشی شود. طبق نتایج بدست آمده از یافته‌های سایر محققین، رابطه بسیار قوی بین محتوی فنول کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (علیزاده، ۲۰۱۳ ؛ علیزاده، ۲۰۱۵ صادقی و همکاران، ۲۰۱۲ غریبی و همکاران، ۲۰۱۳ علیزاده و آقایی، ۲۰۱٦). لذا عوامل دیگری از جمله روش استخراج عصاره، سن گیاه نیز می‌تواند بر محتوی

فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعیین شده از طریق اسپکتروفتومتری مؤثر واقع شود (نانتیتانون، ۲۰۱۰).

جدول ۵- محتوای فنول تمام و خاصیت آنتی‌اکسیدانی توده‌های مختلف آویشن شیرازی

	محتوای فنولی کل (mg GAE/g DW) [1]	IC_{50} (µg/ml) [2]
منطقه		
استهبان	۲۳٤/٦٦± ۱/۲۵ cd	٤٥۳/۷٦±۰/۸۳ a
نی‌ریز	۲٤۸/۳۸± ۱/۱۸ c	٤۱۱/٥٤±۰/۹۸ b
فسا	۲٦۷/٤٤± ۱/۲۲ b	۳۹۷±۰/٥٦ c
لارستان	۳۰۲/۲۸± ۱/۸٥ a	۳٤۸/٦۳±۰/٥٦ d
آنتی‌اکسیدان سنتزی		
BHT	-	۲٥/٤۳±۰/٤۸ f
Quercetin	-	۳۷/۸٥± ۰/۸۸ e
Vitamin C	-	۲۳/۷٥ ±۱/۲٤ f

۱- داده‌ها به صورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک بیان شده‌اند

۲- IC50: غلظتی از ترکیب که سبب ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود و به صورت میکروگرم در میلی‌لیتر بیان شده است

۳- هر داده میانگین ۳ تکرار می‌باشد و به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند

ترکیبات پلی‌فنولی عصاره توده‌های آویشن شیرازی

از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا HPLC جهت شناسایی ترکیبات پلی‌فنولی عصاره متانولی توده‌های آویشن شیرازی استفاده شد. ترکیبات پلی‌فنولی شناسایی شده در جدول ٦ آورده شده است. تفاوت معنی‌داری در نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات پلی‌فنولی موجود در توده‌ها مشاهده شد ($P\leq$ ۰/۰۵). به طور کلی از۱۷ ترکیب پلی‌فنولی به عنوان شاخص در تمام توده‌های وحشی آویشن شیرازی استفاده گردید. از بین ترکیبات پلی‌فنلی شاخص در عصاره توده‌های آویشن شیرازی، ترکیبات گالیک اسید، کاتچین، کلروجنیک اسید و وانیلین شناسایی نشد. چهار ترکیب پلی‌فنلی پی‌کوماریک اسید، رزماریک اسید، کوئرستین و کارواکرول در تمام توده‌ها شناسایی شد. ترکیب کافئیک اسید با ٦/۳۸ و ۳/٦۹ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب تنها در توده‌های فسا و لارستان مشاهده گردید. لازم به ذکر است ترکیب ترانس فرولیک اسید در توده لارستان تشخیص داده نشد ولی میزان این ترکیب در توده‌های استهبان، نی-ریز و فسا به ترتیب ۱۳/۰۹، ۲۸/۰۹ و ۲۰/۵۳ میلی‌گرم در لیتر گزارش گردید. ترکیب تیمول با میزان بالا برابر با ۱٤۷۸/۸۳، ۲٦۱۱/۹٤ و ۹۷٥/۲۹ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب در توده‌های استهبان، فسا و لارستان گزارش گردید ولیکن میزان این ترکیب در توده نی‌ریز تشخیص داده نشد (جدول ٦).

عوامل متعددی می‌تواند بر میزان ترکیبات فنولی تأثیر گذار باشد از جمله: مراحل آماده‌سازی گیاه، نمونه گیاهی (نوع گونه، جمعیت، اندام مورد استفاده، مرحله نمو)، شرایط محیطی ساختار خاک، شرایط اقلیمی، تنش‌ها و روش‌های سنجش ترکیبات فنولی (موریس دیسوزا و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج بدست آمده در این پژوهش نیز بیانگر نقش مؤثر جایگاه رویش گیاه با توجه به خصوصیات اکولوژیکی و آب و هوایی متفاوت آن‌ها بر میزان ترکیبات پلی‌فنولی توده‌ها بود به عبارتی تفاوت در میزان ترکیبات پلی فنولی عصاره توده‌های مختلف را می‌توان به منشاء جغرافیایی و شرایط اقلیمی نسبت داد.

جدول ٦- ترکیبات پلی فنولی عصاره ٤ توده وحشی آویشن شیرازی استخراج شده با استفاده از HPLC

شماره	ترکیبات	شاخص بازدارندگی (دقیقه)	میزان ترکیبات (میلی‌گرم در لیتر)					
			استهبان	نی‌ریز	فسا	لارستان	معادله رگرسیون خطی	ضریب همبستگی
١	Gallic acid	٣/٣	❋–	–	–	–	Y = ٤٠/٥٠٧ x – ٣٣/٤٢٧	٠/٩٩٩
٢	Catechin	٨/٣٠	–	–	–	–	Y = ٩/٢١٩١ x – ٧٧/٠٢٢	٠/٩٩٧
٣	Chloregenic acid	١٠/٥٠	–	–	–	–	Y = ٣٦/٧٩٦ x – ٦٨٢/٠٩	٠/٩٩٩
٤	Caffeic acid	١١/٦٠	–	–	٦/٣٨	٣/٦٩	Y = ١٢/٥٨٦ x + ٤٢/٤٤٧	٠/٩٩٩
٥	Vanilin	١٣/٥٠	–	–	–	–	Y = ٤٢/٧٤ x + ٥٩/٤٦٤	٠/٩٩٩
٦	p-Coumaric acid	١٥/٦٠	٢/١٥	٩/٩١	٦/١٩	٢/١٨	Y = ٨٢/٢٤٢ x + ٢٨٧/٧٢	٠/٩٩٧
٧	Trans-ferulic acid	١٦/٣٠	١٣/٠٩	٢٨/٠٩	٢٠/٥٣	–	Y = ٣٠/٧١٨ x – ٢١٤/٤٨	٠/٩٩٩
٨	Sinapic acid	١٦/٥٠	–	–	–	–	Y = ٠/٨٩٥ x + ٦/٨٥٣٢	٠/٩٩٨
٩	Coumarin	١٧/٤٠	–	–	–	–	Y = ٥٥/٢٠٣ x + ١٨٦/٢٢	٠/٩٩٩
١٠	Hesperidin	١٨/٥٠	–	–	–	–	Y = ١٦/٨٤٩ x + ٤٠/٨١٧	٠/٩٩٧
١١	Ellagic acid	١٩/٠٢	–	–	–	–	Y=١٧/٨٠٣ x –١٨٥/٠٦	٠/٩٩٢
١٢	Rosmarinic acid	١٩/٠٢	١٤٩/١٨	٣٧١/١٧	١٤٩/٣١	٣٩٣/٧٤	Y = ١٠/٦٧٥ x – ١٢/٩٢١	٠/٩٩٩
١٣	Quercetin	٢١/٦٠	٢٦٢/٨٠	٥٣١/٧٦	٤٥٨/٩٥	٢٣٢/٥٦٢	Y = ١١/٨٠١ x – ٩٧/٧١٩	٠/٩٩٦
١٤	Hesperetin	٢٢/٤٠	–	–	–	–	Y= ٣٠/٥٧٤ x –١٤١/٧٦	٠/٩٩٩
١٥	Eugenol	٢٣/٧٠	–	–	–	–	Y=١١/٣٢ x –١٤٧/١٧	٠/٩٩٤
١٦	Carvacrol	٢٨/٤٠	١٢١/٠٠	٢٠٣٠/٠٠	٢٧٥/٠٠	٨١٩/٠٠	Y = ١٠/٦٧٥ x – ١٢/٩٢١	٠/٩٩٩
١٧	Thymol	٢٨/٩٠	١٤٧٨/٨٣	–	٢٦١١/٩٤	٩٧٥/٢٩	Y = ٣١/٨٢٤ x – ٢١٥/٦٥	٠/٩٩٨

❋مقدار ترکیب تشخیص داده نشد

نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان بیان کرد تیمول به عنوان اصلی‌ترین ترکیب در اسانس هر ٤ توده مورد مطالعه اعلام شد و توده نی‌ریز بیشترین درصد اسانس و بیشترین درصد تیمول را دارا بود. عصاره متانولی در تمام اکوتیپ‌ها، محتوای فنولی بالا و خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی داشت. بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی در توده لارستان و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در توده استهبان گزارش گردید. ترکیب پلی-فنولی غالب در تمام عصاره‌ها تیمول، کارواکرول، کوئرستین و رزماریک اسید بود. بیشترین میزان تیمول در عصاره متانولی در توده فسا، بیشترین میزان کارواکرول در توده لارستان، بیشترین میزان کوئرستین در توده نی‌ریز و بیشترین میزان رزماریک اسید در توده لارستان اعلام شد. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی، تا حدودی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار گرفته است و تفاوت در عملکرد توده‌های مختلف از این گیاه می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی، اقلیم، منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا، موقعیت جغرافیایی مناطق مختلف باشد. با توجه به بالا بودن ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در توده‌های مورد بررسی و همچنین خوراکی بودن این گیاه، می‌توان از اسانس و عصاره این گیاه به عنوان جایگزینی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در صنایع غذایی و دارویی استفاده نمود.

منابع

Adams, RP. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois, USA, 1–804.

Andrade, EHA., CN. Alves, EF. Guimaraes, LMM. Carreira and JGS. Maia. 2011. Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* LC Rich. Biochem Syst Ecol. 39(4): 669-75.

Alizadeh, A. 2013. Essential oil constituents, antioxidant and antimicrobial activities of *Salvia virgata* Jacq. from Iran, J. Essen. Oil Bearing Plants. 16: 172-182.

Alizadeh, A. and M. Shaabani. 2014. Essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activities of Iranian *Zataria multiflora* Boiss. International Journal Biosciences. 4(4): p. 1-8.

Alizadeh, A. 2015. Essential oil composition, phenolic content, antioxidant, and antimicrobial activity of cultivated *Satureja rechingeri* Jamzad at different phenological stages, Z. Naturforsch C. 70(3-4): 51-58.

Alizadeh, A. 2016. Essential oil constituents and biological activities of different ecotypes of *Satureja bachtiarica* Bunge. as a traditional herbal drug in Southwestern Iran, J. Essent. Oil Bearing Plants. 19(6):1328-1339.

Alizadeh, A. and Z. Aghaee. 2016. Essential oil constituents, phenolic content and antioxidant activity of *Lavandula stricta* Delile growing wild in southern Iran. Nat.Prod. Res. 30: 2253–2257.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebenson Wiss Tech. 28:25-30.

Duncan, D.B. 1955. Multiple range and Multiple F-tests. Biometrics, (2-4): 1-42.

Fatima, A. Ahmad, K. and H. Ali Chokr. 2012. Factors affecting quantitative and qualitative variation of thyme (*Origanum syriacum* L.) essential oil in Lebanon. Adv. Environ. Bio. 6(4): 1509-1514.

Fazeli, MR., G. Amin, M.M. Ahmadian Attari, H. Ashtiani, H. Jamalifar and N. Samadi. 2007. Antimicrobial activities of Iranian sumac and Avishan-e-Shirazi (*Zataria multiflora*) against some food borne bacteria. Food Control. 18: 646-649.

Feyzi, P., H. Kamali, A. Yazdani and H. Hashemimoghadam. 2012. Comparison of solvent extraction and hydrodistillation of essential oil from *Biebersteinia multifida* DC. Conjunction with gas chromatography – mass spectroscopy. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. (Natural Products & Medicinal Plants Supplementary). 4: 35-41.

Gassemi Pirbalouti, A. Rahimmalek, M. Malekpoor, F. and A. Karimi. 2011. Variation in antibacterial activity, thymol and carvacrol contents of wild populations of *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. Plant Omics.4: 209-214.

Gharibi, S.H., S.E. Badraldin Tabatabaei, G.H. Saeidi, S.A.H. Goli, and M. Talebi. 2013. Total phenolic content and antioxidant activity of three Iranian endemic *Achillea* species, Ind. Crops Prod. 50: 154-158.

Golkar, P, N. Mosavat and S.A.H. Jalali. 2020. Essential oils, chemical constituents, antioxidant, anti-bacterial and in vitro cytotoxic activity of different *Thymus* species and *Zataria multiflora* collected from Iran. S. Afr. J. Bot. 130: 250-258.

Hosseinzadeh, H., M. Ramezani, and G. Salmani. 2000. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multifora* Boiss extracts in mice and rats. J. Ethnopharm. 73(3):379-385.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Determination of biophenols in olive oils by HPLC. no16323. 1st. Edition, Karaj: ISIRI. 2013. in Persian.

Jaffery, E.H, A.F. Brown, A.C. Kurilich, A.S. Keck, N. Matusheski, B.P. Klein and J.A. Juvik. 2003. Variation in content of bioactive components in broccoli, J. Food Compos. Anal. 16: 323-330.

Jamshidi, M., HR. Ahmadi Ashtiani, Sh. A. Rezazadeh, F. Azad, M. Mazandarani and A. Khaki. 2010. A.Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran Province. Journal of medicinal Plant. 9(34): 177-183.

Jamzad, Z. 2009. Thyme and Savory of Iran. Institute of Forest and Rangelands. Tehran, 172p.

Karimi, A, A. Krähmer, N. Herwig, H. Schulz, J. Hadian, and T. Meiners. 2020. Variation of secondary metabolite profile of *Zataria multiflora* Boiss. populations linked to geographic, climatic, and edaphic factors. Front. Plant. Sci. 11.

Kizil, S. 2010. Determination of essential oil variations of *Thymbra spicata* var *spicata* L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey. Ind. Crops Prod. 32(3): 593-600.

Koochaki, A. and M. Alizadeh. 1995. *Principle of agronomy in dry regions*. Astan Quds Razavi. 260 pp.

Kukic, J., V. Popovic, S. Petrovic, P. Mucaji, A. Ciric, D. Stojkovic. and M. Sokovi. 2008. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts Food Chemistry, 107: 861 – 868.

Leporatti, M.L. and K. Ghedira. 2009. Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia. J Ethnobiol. Ethnomed. 5: 31-39.

Mabberley, DJ. 1997. The plant -Book 2nd ed .400 Cambridge, Cambridge university press. 384 p.

Mahboubi, M., R. Heidarytabar, E. Mehdizadeh and H. Hosseini. 2017. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus species* and *Zataria multiflora* essential oils. Agriculture and Natural Resources. 51: 395-401.

Mc Gimpsey, J. A. Douglas, M.H. Van Klink, J.W. Beauregard, D.A. and N.B. Perry. 1994. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgais* L. in New Zealand. Flav. Frag. J. 9: 347-35.

Mojaddar Langroodi, A., H. Tajik and T. Mehdizadeh. 2019. Antibacterial and antioxidant characteristics of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* L. J. Food Qual. Hazards Control. 6(1): 16-24.

Mohagheghzadeh, A., M. Shams-Ardakani, A. Ghannadi and M. Minaeian. 2004. Rosmarinic acid from *Zataria multiflora* tops and in vitro cultures. Fitoterapia. 75. Pp. 315-21.

Moraes de souza, R. A., TLC. Oldoni, D. Regitano MAB. Arce and SM. Alencar. 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. Ciencia Tecnololia de Alimentos 2008; 6(1): 41-7.

Niczad, A., Sh. Sharafzadeh, A. Alizadeh, B. Amiri, and F. Bazrafshan. 2020. Variability in Essential Oil Constituent, Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. from Iran. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. Taylor and Francis group. 22(6). Pp: 1435-1449.

Nantitanon, W., S. Yotsawimonwat and S. Okonogi. 2010. Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. LWT–Food Sci. Technol. 43: 1095–1103.

Omidbaigi, R. 2005. Production and Processing of medicinal plants. Tehran University. 283 Pp.

Purmorad, F., S. J. Hossinimehr and N. Shahabimajd. 2006. Antioxidant activity phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. Afr. J. Biotech.
5(11):1142-1145.

Pourhosseini, S.H, M.H. Mirjalili, S.N. Ebrahimi and A. Sonboli. 2018. Essential oil quantity and quality of different plant organs from *Perovskia abrotanoides* Karel in natural habitat of North Khorasan province. The Plant Prod. 40: 53-62.

Pourhosseini, S. H., H. Ahadi, A. Aliahmadi and M. H. Mirjalili. 2020. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Carvacrol-rich Essential Oils of *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) from Southern Natural Habitats of Iran. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. Taylor and Francis group. 23(4). Pp: 779-787.

Raeisi, M., H. Tajik, S.M. Razavi Rohani, B. Tepe, H. Kiani, R. Khoshbakht, H.Sh. Aski and H. Tadrisi. 2016. Inhibitory effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, alone and in combination with monolaurin, on Listeria monocytogenes. Veterinary Res. 7 (1): 7 – 11.

Raeisi, M., M. Hashemi, M. Aminzare, A. Afshari, T. Zeinali and B. Jannat. 2018. An investigation of the effect of *Zataria multiflora* Boiss and *Mentha piperita* essential oils to improvethe chemical stability of minced meat, Vet. World. 11(12): 1656–1662.

Rahimi, V., SH. Hekmatimoghadam, A. Jebali and E. Khalili Sadrabad. 2019. Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Zataria multiflora*. Journal of Nutrition and Food Security. 4(1): 1-6.

Rastegar, F., S. Moharamipour, M. Shojaei and H. Abbasipour. 2011. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora*. (Lamiaceae) against *Callosobruchus maculates* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). J. Integrated protection of Stored. 69: 281-288.

Rechinger, K.H. 1982. Flora Iranica. No.150, Graz: Akademisch Druck-u.Verlagsanstal; pp. 403-476.

Rice-Evans, C.A., N. J. Miller and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Sci. 2:152–159.

Saei-Dehkordi, S.S., H. Tajik, M. Moradi and F. Khalighi-Sigaroodi. 2010. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. From different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. Food Chem. Toxicol. 48: 1562-1567.

Saez, F. 1998. Variability in essential oils from populations of *Thymus hymalis* Lange in southeasten Spain. J. Herbs, Spices Med. Plants. 5: 65-76.

Sadeghi, F., A. Alizadeh, M. Zadehbagheri, M. Kamelmanesh, and M. Shabani. 2012. Chemical composition of essential oil, total phenolic content, antioxidant and antifungal activity in *Satureja sahendica* Bornm. from Iran, J. Med. Plant Res. 6: 3525-3534.

Saharkhiz, M. J. 2002. *Effect of harvesting time on Pimpinella anisum essential oil and components*. M.Sc. thesis. Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Iran. (in Farsi).

Sharafati Chaleshtori, R., M. Rafieian-Kopaei, N. Rokni, S. Mortazaei and A. Sharafati Chaleshtori. 2013. Antioxidant activity of *Zataria multiflora* hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*, J. Mazandaran Uni. Med Sci. 22:87-94.

Sharififar, F., M.H. Moshafi S.H. Mansouri and M. Khodashenas. 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. Food control. Pp. 18, 800-805.

Shafiee, A. and K. Javidnia. 1997. Composition of essential oil of *Zataria multiflora*. Planta Med. 63: 371-372.

Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic phosphotungesicacid reagents, Amer. J. Enol. Vitic. 16: 144-158.

Talebi Kouyakhi, E. Naghavi, M.R. and M. Alaysh. 2008. Study of the essential oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. Chem. Nat. Com. 44(1): 124-126.

Valizadeh, J., A. Bagheri, J. Valizadeh, and M.H. Mirjalili. 2015. Phytochemical investigation of *Withania coagulans* (Stocks) Dunal in natural habits of Sistan and Baluchestan. Province of Iran. Iranian Journal of medical and aromatics plants. 31(3): 406-417.

Wang, M., J. Li, M. Rangarajan, Y. Shao, E.J. La Voie, C.T. Huang, and CT. Ho. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). J. Agri. Food Chem. 46: 4869-4873.

Wong, C. C., H. B. Li, K. W. Cheng and F. Chen. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chem. 97:705-711.

Phytochemical study of *Zataria multiflora* Boiss in different ecological conditions

A. Niczad[1], Sh. Sharafzadeh[2], A. Alizadeh[3], B. Amiri[4], F. Bazrafshan[4]

Received: 2020-7-9 Accepted: 2020-11-30

Abstract

In the present study, 4 different ecotypes of *Zataria multiflora* medicinal plant (Estahban, Neyriz, Fasa and Larestan), were investigated in order to identify the best ecotype in terms of the highest percentage of essential oil, essential oil components, total phenolic content, antioxidant properties and polyphenolic compounds of methanolic extract. Essential oils were extracted from all ecotypes by hydro-distillation via Clevenger apparatus, then analyzed using gas chromatography (GC) and gas chromatograph connected to mass spectrophotometer (GC/MS) . In total, 52 compounds were identified in the essential oils of different ecotypes of *Zataria multiflora*. The main chemical constituents were, thymol (34.41 - 54.35 %), *p*-cymene (9.49 - 19.85 %), γ-Terpinene (7.34 - 16.70 %) and carvacrol (5.35 - 15.34 %). Determination of total phenol and antioxidant activity of methanolic extract were determined using the Folin-Ciocalteau reagent and by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay, respectively. Polyphenolic components of extracts of different ecotypes were determined using high performance liquid chromatography (HPLC). Total phenols varied from 234.66 to 302.28 mg gallic acid equivalents/g dry weight, IC_{50} values in the radical scavenging assay ranged from 348.63 to 453.76 mg/mL. The predominant polyphenolic compounds in the extracts of all ecotypes included: Thymol, Carvacrol, Quercetin and Rosmarinic acid. The results showed that Neyriz ecotype has the highest percentage of essential oil and the highest percentage of thymol. The highest amount of phenolic compounds and antioxidant activity was observed in Larestan ecotype. The predominant polyphenolic component was thymol and was observed in the Fasa ecotype.

Keywords: *Zataria multiflora*, antioxidant activity, different ecotypes, essential oil, phenolic content

1- PhD Student of Agronomy, Faculty of Agriculture, Firoozabad Branch, Islamic Azad University, Firoozabad, Iran
2- Associated Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Firoozabad Branch, Islamic Azad University, Firoozabad, Iran
3- Assisstant Professor, Department of Medicinal and Aromatic Plants, Faculty of Agriculture, Estahban Branch, Islamic Azad University, Estahban, Iran
4- Assisstant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Firoozabad Branch, Islamic Azad University, Firoozabad, Iran