

بررسی تاثیر زمان نگهداری درمنه بیابانی (*Artemisia deserti*) بر فیتوشیمی، بازده

اسانس و عصاره

لیلا بهرامی سامانی^۱، مسعود فولادگر^{۱*}، لیلا امجد^۲

^۱ گروه شیمی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^۲ گروه زیست شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۶/۲۸

تاریخ تصحیح: ۹۴/۰۴/۰۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۱/۲۹

چکیده

گیاهان دارویی منبع خوبی از ترکیبات بیولوژیکی فعال فیتوشیمیایی می باشند که به عنوان آنتی اکسیدان با رادیکال های آزاد مقابله می کنند. در این تحقیق بررسی روش های مختلف استخراج بر فیتوشیمی، بازده اسانس و عصاره های درمنه بیابانی تازه و دوسال مانده (مانده) *Artemisia deserti* صورت گرفته است. گیاه *Artemisia deserti* از مناطق غرب استان اصفهان (ارتفاعات گلپایگان) در نیمه دوم شهریور سال ۱۳۹۱ برداشت شد و پس از خشک شدن و آماده سازی آزمون ها روی آن انجام شدند و بعد از دوسال مجدداً مورد آزمون قرار گرفته است. اسانس و عصاره های اتانولی، متانولی و n- هگزان گیاه *Artemisia deserti* مانده و تازه با استفاده از روش تقطیر با آب (HD)، تقطیر با بخار آب (SD) و استخراج از فاز جامد با ابزار سوکسله (SPE)، استخراج و با استفاده از کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی GC-MS، اجزای تشکیل دهنده آنها تکنیک و شناسایی شدند. در مطالعات فیتوشیمیایی، برای ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی اسانس و عصاره های این گیاه از روش تخریب رادیکال های آزاد DPPH، مهار پراکسید اسیون لینولئیک اسید در سیستم بتا کاروتن - لینو لئیک اسید و روش فولین - سیوکالتیو به ترتیب استفاده شدند. عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس درمنه بیابانی (مانده و تازه)، کامفور، (۱-۸- سینئول، پیرپیتون و لاوندیولول بودند. نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره ها از جمله، عصاره های متانولی و اتانولی گیاه تازه دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در آزمون مهار رادیکال های آزاد DPPH (IC_{50} برابر با ۲۷۸/۳۶ و ۳۵۶/۶۳ میکرو گرم بر میلی لیتر) و در ممانعت از اکسید اسیون لینو لئیک اسید عصاره های متانولی و اتانولی گیاه تازه به ترتیب (۷۵/۰۳ و ۷۲/۴۲ درصد) بودند. این پارامترها برای بوتیل هیدروکسی تولون (BHT) به عنوان کنترل مثبت به ترتیب ۲۷/۵۸ میکرو گرم بر میلی لیتر و ۹۲/۳۰ درصد بدست آمدند. میزان ترکیبات فنلی برای عصاره های متانولی و اتانولی گیاه تازه به ترتیب (۱۶۱/۵۱ و ۱۶۵/۶۵ میکروگرم گالیک اسید بر گرم عصاره) بدست آمدند. نتایج بدست آمده نشان داد که قدرت آنتی اکسیدان عصاره های متانولی و اتانولی نسبت به قدرت آنتی اکسیدانی اسانس قوی تر می باشند که دلیل آن تفاوت در میزان ترکیبات فنلی آنها می تواند باشد. قدرت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی گیاه درمنه تازه بیشتر از گیاه درمنه دو سال مانده (مانده) بود.

واژگان کلیدی: درمنه بیابانی، ترکیبات فنلی، اسانس، آنتی اکسیدان

۱- مقدمه:

اکسیداسیون در مواد غذایی یک روند تخریبی است که باعث از بین رفتن ارزش غذایی و تغییر در ترکیبات شیمیایی آنها می‌گردد. چربی‌ها و روغن‌ها بسیار مستعد اکسیداسیون هستند. اکسیداسیون در چربی‌ها و روغن‌ها باعث تندی آنها می‌شود [۱]. به علاوه محصولاتی که از اکسیداسیون لیپیدها حاصل می‌شوند، می‌توانند روی اجزای دیگر موجود در ماده غذایی نیز تاثیر منفی داشته باشند. به طوری که علاوه بر اثرات نامطلوب ارگانولپتیک در محصولات غذایی با از بین بردن ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری بدن و ایجاد ترکیبات سمی می‌توانند منجر به اثرات نامطلوب و عوارض سوء مختلف در بدن انسان شوند [۲].

امروزه اثرات سمی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی از یک طرف و استقبال مصرف‌کنندگان از مواد افزودنی طبیعی از جانب دیگر تمایل به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بیشتر نموده است [۳]. ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها، آنتوسیانین و غیره می‌باشند که معمولاً در میوه‌ها و سبزیجات، برگ‌ها، آجیل‌ها، دانه‌ها، ریشه و در سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند. این مواد منافع قابل توجهی در زمینه مواد غذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی با توجه به طیف گسترده‌ای از اثرات مطلوب زیستی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی دارند [۴]. با کشف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان دارویی با استقبال خوبی روبه‌رو شده است. در بین گیاهان دارویی اعضای خانواده *Asteraceae* نیز مورد توجه زیاد محققین قرار گرفته‌اند. در بین این خانواده گیاه *Artemisia* از جمله گیاهان بوته‌ای است که همانند بوته زارهای دنیا، مراتع قابل توجهی را در ایران تشکیل می‌دهد [۵]. جنس *Artemisia* یا درمنه متعلق به شاخه *Magnoliophyta*، رده *Magnoliopsida*، راسته *Asterales*، خانواده *Campositae* یا *Asteraceae* می‌باشد و متشکل از حدود ۵۰۰ گونه است که *deserti* یکی از گونه‌های آن محسوب می‌شود [۶]. گیاه درمنه گیاهی پایا با بوته‌های نیمه‌چوبی، سبز-خاکستری که در قاعده به شدت چوبی، بسیار پرشاخه و به ارتفاع ۳۰-۵۰ cm می‌باشد. موسم گل دهی گیاه درمنه از شهریور ماه تا اوایل آبان ماه بوده و انتشار جغرافیایی آن در نواحی تهران، اطراف و بین سیمین دشت و ارتفاعات گلپایگان در مناطق غرب استان اصفهان می‌باشد [۷].

گیاه درمنه یکی از گیاهانی است که کم و بیش در طب سنتی برای بهبود وضعیت گوارشی افراد توصیه شده است، و اکثر گونه‌های این گیاه درمنه دارای بو و مزه مشخصی هستند و خواص ضد میکروبی، ضد انگلی، ضد عفونی‌کننده ضد مسمومیت را می‌توان به این گیاه نسبت داد. همچنین طی تحقیقات انجام شده عصاره گیاهان درمنه اثری شبیه به داروی دیفنوکسیلات بر کاهش علائم اسهال داشته است و حجم آب دفع شده را نیز کاهش می‌دهد که با انجام تحقیقات بیشتر می‌تواند به عنوان داروی تازه در درمان اسهال مورد استفاده قرار گیرد [۸].

در گذشته تحقیقات مختلفی بر روی ترکیب شیمیایی گیاهان مختلف جنس *Artemisia* انجام گرفته اند [۹]. همچنین تحقیقات انجام شده در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس ساقه، برگ و گل *Artemisia deserti* نشان داده اند که بیشترین درصد فراوانی را ترکیباتی نظیر کامفور، ۸ و ۱ - سینئول و پیپریتون داشته اند [۱۰]. همچنین اسانس برگ و گل این گیاه از نظر مونوترپن اکسیژن دار غنی بوده در حالی که در اسانس ساقه آن، مونوترپن اکسیژن دار و سزکوئی ترپن به میزان فراوانی وجود دارد [۷]. براساس مطالعات ما ترکیبات شیمیایی عصاره های مختلف این گیاه تاکنون گزارش نشده اند.

علاوه بر این در طی تحقیقات انجام شده خواص آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گونه *Artemisia* به اثبات رسیده اند. از آنجایی که اسانس و عصاره این گیاهان سرشار از ترکیبات فنلی می باشد، خاصیت آنتی اکسیدانی به حضور این ترکیبات ارتباط داده می شود [۱۱].

از آنجایی که از یک سو بسیاری از ترکیبات موجود در اسانس و عصاره گیاه *Artemisia deserti* فرار می باشند و یا با گذشت زمان احتمال واکنش های مختلف از جمله اکسیداسیون آنها وجود دارد و از سوی دیگر در بسیاری از موارد گیاهان برداشت شده قبل از استفاده به مدت طولانی نگهداری می شوند، در این تحقیق علاوه بر بررسی روش های مختلف استخراج اسانس و عصاره این گیاه، اثر زمان نگهداری بر ویژگیهای گیاه از جمله ترکیب شیمیایی و خواص آنتی اکسیدانی آن مورد مطالعه قرار گرفته اند.

۲- روش تجربی:

۲-۱- مواد شیمیایی

ترکیبات ۲ و ۲- دی فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بتاکاروتن از شرکت سیگما(آمریکا) خریداری شدند و سایر مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده از شرکت مرک (آلمان) با بالاترین درصد خلوص خریداری شدند.

۲-۲- دستگاه ها

دستگاه هایی که در این تحقیق به کار گرفته شده اند عبارتند از: دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UNIC (UV 2100)، ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ مدل SCAITEC (SBA 32)، ابزار کلونجر مدل فارماکوپه انگلیس مورد استفاده قرار گرفته است.

۲-۳- جمع آوری و تهیه گیاه درمنه

گیاه درمنه در فصل گلدهی کامل، نیمه دوم شهریور ماه سال ۱۳۹۱ از مناطق غرب استان اصفهان (ارتفاعات گلپایگان) برداشت شد. نمونه ی گیاه مورد نظر توسط متخصصین گیاه شناسی اداره جنگل ها و مراتع استان اصفهان مورد تأیید قرار گرفت. گیاهان جمع آوری شده، ابتدا در سایه و دمای اتاق (به مدت ۳ روز) خشک شدند. قسمت های چوبی جدا شده و سایر

اندام های باقیمانده آسیاب شدند. به منظور بررسی اثر زمان نگهداری گیاه، مقداری از گیاه پس از خشک شدن مورد آنالیز قرار گرفت و مقدار دیگری از آن پس از ۲ سال نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد و تاریکی مجدداً مورد آنالیز قرار گرفت. کلیه آزمایش ها، سه بار تکرار و به طور جداگانه برای درمنه (دو سال مانده و تازه) انجام شدند.

۲-۴- استخراج اسانس به روش تقطیر با آب*

دستگاه مورد استفاده در این تحقیق طرح کلونجر و تمام قسمت های آن شیشه ای بود. در این روش مقدار ۱۰۰ گرم از اندام های هوایی درمنه بیابانی خشک شده درون بالن تقطیر ۲ لیتری ریخته شد. سپس به محتویات داخل بالن آب مقطر اضافه شد تا حدی که سطح گیاه را کاملاً بپوشاند. با تنظیم میزان حرارت و سرعت عبور آب سرد از مبرد، تقطیر شروع شد. مدت زمان اسانس گیری ۴ ساعت بود [۱۲].

۲-۵- استخراج اسانس به روش تقطیر با بخار آب[†]

در این روش گیاه را در محفظه جداگانه ای گذاشته که در بالای ظرف محتوی آب جوش قرار می گیرد. به طوری که آب با گیاه در تماس نیست بلکه در مجاورت بخار آب اشباع قرار می گیرد. بخار آب همراه با اسانس خارج و وارد سرد کننده شده و در ظرف جمع آوری نمونه از یکدیگر جدا می شوند. در این روش از ۱۰۰ گرم نمونه خشک شده در سایه، به مدت ۴ ساعت اسانس گیری انجام شد [۱۳].

۲-۶- تهیه عصاره

مقدار ۳۰ گرم پودر گیاه خشک شده در سایه به طور جداگانه با ۳۰۰ میلی لیتر حلال اتانول، متانول و n- هگزان با دستگاه سوکسله عصاره گیری شد. پس از صاف کردن بوسیله کاغذ واتمن شماره یک با روش تبخیر در خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد خشک شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال ۴+ درجه سانتی گراد نگهداری شد [۱۴].

۲-۷- تجزیه اسانس

تجزیه ترکیبات اسانس و عصاره های اتانولی درمنه بیابانی حاصل از روش های مختلف استخراج، توسط دستگاه GC/MS حاوی ستون HP-5MS (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر، ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) و گاز حامل هلیوم آنالیز شدند. در ضمن سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون در طیف سنج جرمی ۱۷۰ الکترون ولت انتخاب گردید. برنامه دمایی دستگاه به این صورت تنظیم گردید: ابتدا دما به مدت ۲ دقیقه در ۵۰ درجه سانتیگراد با

* - Hydro Distillation

† - Steam- Distillation

سرعت ۵ درجه بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۲ دقیقه در این دما باقی ماند، سپس با سرعت ۳ درجه بر دقیقه به دمای ۲۰۰ سانتی گراد افزایش یافته و به مدت ۲ دقیقه در این دما باقی ماند و در نهایت با سرعت ۲۰ درجه بر دقیقه به دمای ۲۸۰ سانتی گراد رسید. شاخص کوانتس ترکیبات نسبت به آلکان های نرمال (n-alkanes C₉-C₂₄) بدست آمدند [۱۵].

۲-۸- تعیین میزان ترکیبات فنلی

مقدار ترکیبات فنلی اسانس و عصاره ها درمنه بیابانی برحسب میکروگرم گالیک اسید در گرم نمونه ها بر اساس نمودار استاندارد گالیک اسید تعیین شدند. به طور خلاصه به ۰/۵ میلی لیتر از اسانس و عصاره های رقیق شده (غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر در متانول) مقدار ۵ میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو ۱۰٪ اضافه گردید و پس از ۳ الی ۵ دقیقه مقدار ۳ میلی لیتر از کرینات سدیم ۲٪ اضافه گردید. پس از ۱ ساعت نگهداری در دمای اطاق، جذب نمونه ها در مقابل شاهد آب مقطر در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. علاوه بر نمونه های گیاهی، غلظت های مختلف اسیدگالیک تهیه شدند و مانند روش فوق مورد آزمایش قرار گرفتند و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل اسانس و عصاره ها برحسب میکروگرم گالیک اسید در گرم نمونه ها محاسبه گردیدند [۱۷،۱۶].

۲-۹- ارزیابی فعالیت انتی اکسیدانی

۲-۹-۱- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH

توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در ترکیبات و عصاره های مختلف در این آزمون با میزان بی رنگ کردن محلول بنفش ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل یا (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می گیرد. در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل یا DPPH استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های مختلف اسانس و عصاره های اتانولی، متانولی و n- هگزان در متانول به ۳/۹ میلی لیتر محلول ۲۶ میکرومولار ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل یا DPPH در متانول اضافه شد و برای مدت زمان ۳۰ دقیقه در تاریکی تکان داده شدند. جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر نسبت به شاهد خوانده شد. درصد مهار رادیکال های آزاد ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل یا DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۱۸].

$$\% \text{Inhibition} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

در این فرمول Inhibition: درصد مهار، A₀: جذب محلول شاهد و A₁: جذب محلول نمونه مورد نظر را نشان می دهد. پس از آن غلظتی از اسانس و عصاره های درمنه که دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد بود (IC₅₀) با رسم نمودار محاسبه شد.

بدیهی است که هر چه این عدد کوچک تر باشد قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال های آزاد، بیشتر می باشد. در این آزمون به عنوان کنترل مثبت از آنتی اکسیدان سنتزی BHT استفاده شد.

۲-۹-۲- تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی درمنه به روش بی رنگ شدن بتاکاروتن

اساس این روش، بی رنگ شدن بتاکاروتن است که سازو کار آن ، واکنش بتاکاروتن با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه ی تشکیل هیدروپراکساید از لینولئیک اسید می باشد. سرعت بی رنگ شدن بتا کاروتن در حضور آنتی اکسیدان ها کاهش می یابد ، به همین منظور از این روش برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های درمنه استفاده شد. در این روش فعالیت آنتی اکسیدانی با میزان مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید و جلوگیری از ایجاد ترکیبات فرار و هیدروپراکسیدهای کونژگه، مورد سنجش قرار می گیرد [۱۹]. ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن- لینولئیک اسید به صورت زیر تهیه شد. ۰/۵ میلی گرم بتاکاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل شد و سپس ۲۵ میکرولیتر لینولئیک اسید و ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ (Merck) به آن اضافه شد. سپس با روش تبخیر در خلاء کلروفرم خارج شده و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰۰ میلی لیتر در دقیقه) همراه با تکان شدید به آن اضافه شد .

۲/۵ میلی لیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۵۰ میکرولیتر از اسانس و یا عصاره (غلظت ۱ گرم در لیتر در اتانول) داخل لوله آزمایش ریخته شد. تمامی این مراحل در مورد BHT به عنوان کنترل مثبت و شاهد (فقط حاوی ۳۵۰ میکرولیتر اتانول) انجام شد. پس از ۴۸ ساعت نگهداری در تاریکی و دمای آزمایشگاه ، جذب نوری نمونه ها در ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتاکاروتن مورد سنجش قرار گرفتند. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۲۰].

$$\%AA=100[1-(A_0-A_t)/(A^0-A^t)]$$

A_0 و A_t به ترتیب نماینده جذب نوری ابتدایی و انتهایی (پس از گذشت ۴۸h) برای هر کدام از نمونه های تست شده و A^0 و A^t نماینده جذب نوری ابتدایی و انتهایی (پس از گذشت ۴۸h) برای گروه کنترل منفی می باشند.

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش ها ۳ بار تکرار و به طور جداگانه برای اسانس و عصاره های درمنه (مانده و تازه) انجام گرفتند و داده ها در جدول به صورت (میانگین \pm انحراف استاندارد) ارائه شده اند.. مقایسه میانگین ها با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد ($P < 0/05$) انجام شدند. برای این منظور از نرم افزار (SPSS 21) استفاده شد.

۳- نتایج و بحث:

در این تحقیق اسانس و عصاره های گیاه درمنه بیابانی مانده (به مدت دوسال) و تازه حاصل از روش های مختلف استخراج از نظر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی به طور جداگانه مورد بحث و بررسی و مقایسه قرار گرفتند.

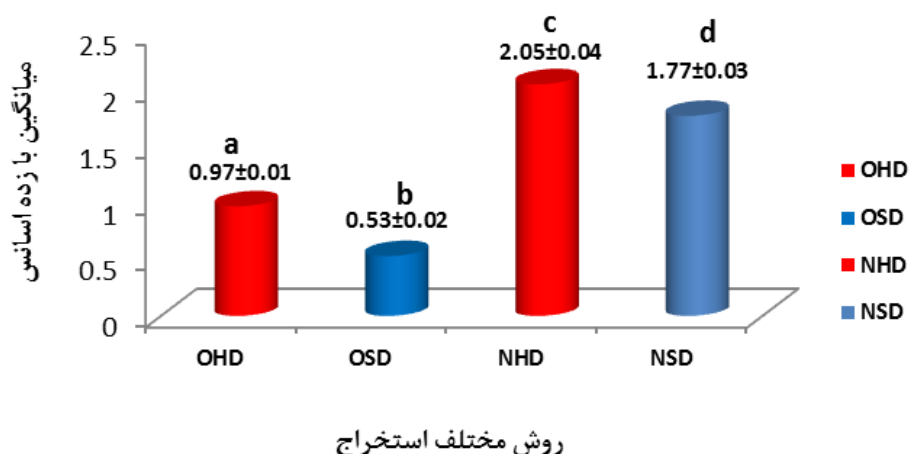
توضیح عبارات اختصاری اسانس ها و عصاره های درمنه در جدول شماره ۱ ارائه شده اند.

جدول ۱- تعریف عبارات اختصاصی اسانس و عصاره درمنه بیابانی (*Artemisia deserti*)

علامت اختصاری		علامت اختصاری	
NAE	عصاره اتانولی درمنه بیابانی تازه	OAE	عصاره اتانولی درمنه بیابانی مانده
NAM	عصاره متانولی درمنه بیابانی تازه	OAM	عصاره متانولی درمنه بیابانی مانده
NAH	عصاره هگزان درمنه بیابانی تازه	OAH	عصاره هگزان درمنه بیابانی مانده
NHD	تقطیر با آب درمنه بیابانی تازه	OHD	تقطیر با آب درمنه بیابانی مانده
NSD	تقطیر با بخار آب درمنه بیابانی تازه	OSD	تقطیر با بخار آب درمنه بیابانی مانده

۳-۱- راندمان اسانس

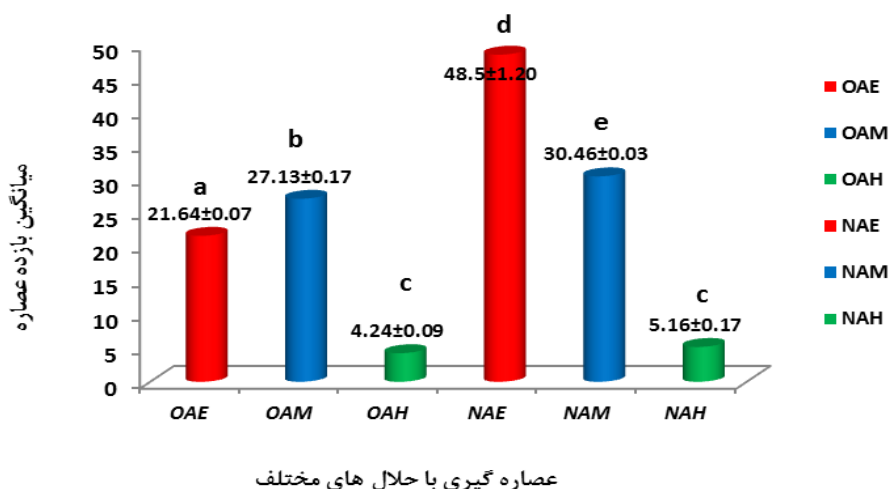
بیشترین میانگین راندمان اسانس متعلق به روش تقطیر با آب برابر $2/05 \pm 0/04$ میلی لیتر بر ۱۰۰ گرم گیاه درمنه بیابانی خشک و تازه (NHD) و کمترین میانگین راندمان اسانس متعلق به روش تقطیر با بخار آب برابر $0/53 \pm 0/02$ میلی لیتر بر ۱۰۰ گرم گیاه درمنه بیابانی مانده (OSD) بود. شکل ۱ میانگین راندمان استخراج اسانس را برای روش های مختلف نشان می دهد. از نظر آماری اختلاف معنی داری در میانگین بازده اسانس در روش های مختلف استخراج در درمنه تازه و مانده وجود دارد. حروف غیر مشابه در بالای ستون ها بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۹۵ درصد ($P < 0/05$) با آزمون دانکن است.



شکل ۱- میانگین راندمان استخراج اسانس درمنه بیابانی

۳-۲- راندمان عصاره

نتایج آزمون های آماری اختلاف معنی داری را در میانگین راندمان عصاره های اتانولی، متانولی و هگزان به روش سوکسله نشان داد. بیشترین میانگین راندمان عصاره متعلق به عصاره اتانولی برابر $48/5 \pm 1/20$ گرم بر ۳۰ گرم گیاه درمنه بیابانی خشک و تازه و کمترین میانگین راندمان عصاره متعلق به عصاره های هگزانی درمنه بیابانی (مانده و تازه) به ترتیب برابر $5/16 \pm 0/17$ و $4/24 \pm 0/09$ گرم بر ۳۰ گرم گیاه درمنه بیابانی خشک بود. شکل ۲ میانگین راندمان استخراج عصاره ها را با حلال های مختلف نشان می دهد. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون دانکن است.



شکل ۲- میانگین راندمان استخراج عصاره درمنه بیابانی (*Artemisia deserti*)

۳-۳- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس و عصاره

۳-۳-۱- اسانس گیاه درمنه بیابانی مانده

ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس گیاه درمنه بیابانی مانده وتازه (جدول ۲) ارائه شده است. در روش تقطیر با آب(OHD) ۹۶/۹۲ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمده عبارت از: کامفور ۳۲/۹۰، پیپریتون ۱۸/۹۱، لاواندیلول ۱۴/۵۳ و ۸۱- سینئول ۱۰/۲۳ درصد بودند. مونوترپن های هیدروکربنه ۰/۹۹، مونوترپن های اکسیژنه ۸۹/۲، سزکوئی ترین های هیدروکربنه ۰/۶۳، سزکوئی ترین های اکسیژنه ۱/۶۸ و استرها ۴/۰۶ درصد بودند.

روش تقطیر با بخار آب (OSD) ۹۵/۶۹ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمده عبارت از : کامفور ۳۴/۷۶، لاواندیلول ۱۳/۸۷، پیپریتون ۱۵/۰۱ و ۸۱-سینئول ۹/۳۴ درصد بودند. مونوترپن های هیدروکربنه ۰/۴۶، مونوترپن های اکسیژنه ۸۶/۹۲، سزکوئی ترین های هیدروکربنه ۰/۶۶، سزکوئی ترین های اکسیژنه ۲/۰۷ و استرها ۷/۵۵ درصد بودند.

جدول ۲- ترکیبات موجود در اسانس گیاه *A. deserti* به روش تقطیر با آب و تقطیر با بخار آب

ردیف	نام ترکیب	شاخص کواتس مرجع a	OHD		OSD		NHD		NSD		روشنایی
			درصد ترکیب	شاخص کواتس محاسبه شده ^b	درصد ترکیب	شاخص کواتس محاسبه شده ^b	درصد ترکیب	شاخص کواتس محاسبه شده ^b	درصد ترکیب	شاخص کواتس محاسبه شده ^b	
۱	Santolina triene	۹۰۲	-	-	-	-	۰/۳۲	۸۵۵	۰/۲۴	۸۵۵	d
۲	α -pinene	۹۱۷	-	-	-	-	۱/۰۹	۸۸۵	۰/۹۵	۸۸۵	d
۳	Camphene	۹۲۴	۰/۹۹	۹۰۳	۰/۴۶	۹۰۳	۳/۱۹	۹۰۳	۲/۷۸	۹۰۳	d
۴	β -Pinene	۹۵۲	-	-	-	-	۰/۸۲	۹۳۸	۰/۸۱	۹۳۸	d,c
۵	Yomogi alcohol	۹۸۲	۰/۶۷	۹۷۰	۰/۲۴	۹۷۱	۰/۶۶	۹۷۱	۰/۲۱	۹۷۱	d,c
۶	α -phellandrene	۹۷۴	-	-	-	-	۰/۹۶	۹۷۴	۰/۹۷	۹۷۴	d,c
۷	α -Terpinene	۹۹۰	-	-	-	-	۰/۱۸	۹۹۰	۰/۱۶	۹۹۰	d,c
۸	P-Cymene	۱۰۰۲	-	-	-	-	۰/۹۷	۱۰۰۱	۰/۸۹	۱۰۰۱	d,c
۹	1,8-Cineole	۱۰۰۹	۱۰/۲۳	۱۰۰۸	۹/۳۴	۱۰۰۷	۱۱/۴۹	۱۰۰۹	۱۲/۲۸	۱۰۰۹	d,c
۱۰	δ -Terpinene	۱۰۴۲	-	-	-	-	۰/۱۷	۱۰۴۴	۰/۱۲	۱۰۴۴	d,c
۱۱	Artemisa ketone	۱۰۴۵	۴/۳۸	۱۰۴۶	۳/۹۸	۱۰۴۷	۸/۳۵	۱۰۴۸	۸/۶۴	۱۰۴۸	d,c
۱۲	Trans-sabinene hydrate	۱۰۵۴	-	-	-	-	-	-	۰/۵۸	۱۰۵۵	d,c
۱۳	Artemisa alcohol	۱۰۶۲	۰/۹۰	۱۰۵۷	۲/۷۰	۱۰۵۷	۰/۹۹	۱۰۷۵	۱/۰۲	۱۰۷۵	d,c
۱۴	Cis- sabinene hydrate	۱۰۹۵	-	-	-	-	۰/۱۲	۱۰۹۴	۰/۳۹	۱۰۹۳	d,c
۱۵	Linalool	۱۰۹۷	-	-	-	-	۰/۴۷	۱۰۹۸	۰/۴۸	۱۰۹۷	d,c
۱۶	p-Menth-2-en-1-ol	۱۱۲۳	۰/۴۸	۱۱۲۲	۰/۳۸	۱۱۲۲	-	-	-	-	d,c
۱۷	Terpineol	۱۱۴۲	۰/۸۹	۱۱۴۴	۰/۳۵	۱۱۴۴	۰/۸۳	۱۱۲۴	۰/۵۷	۱۱۲۳	d,c
۱۸	Camphor	۱۱۴۸	۳۲/۹۰	۱۱۴۹	۳۴/۷۶	۱۱۴۹	۲۲/۵۸	۱۱۵۳	۲۴/۳۲	۱۱۵۲	d,c
۱۹	Lavandulol	۱۱۷۵	۱۴/۵۳	۱۱۷۶	۱۳/۸۷	۱۱۷۶	۴/۰۴	۱۱۷۷	۴/۹۳	۱۱۷۶	d,c
۲۰	Terpinene - 4 -ol	۱۱۸۷	۱/۴۹	۱۱۸۸	۱/۱۷	۱۱۸۸	۱/۳۳	۱۱۸۸	۰/۸۱	۱۱۸۸	d,c
۲۱	α -Terpineol	۱۲۰۲	۱/۶۴	۱۲۰۴	۱/۶۸	۱۲۰۴	۱/۴۰	۱۲۰۵	۱/۳۱	۱۲۰۴	d,c
۲۲	cis-Piperitol	۱۲۱۵	۰/۲۶	۱۲۲۵	۰/۲۶	۱۲۲۵	۰/۲۸	۱۲۲۵	۰/۳۳	۱۲۲۳	d,c
۲۳	Myrtenol	۱۲۰۴	-	-	-	-	۰/۵۴	۱۲۱۱	۰/۴۹	۱۲۱۱	d,c
۲۴	cis-Geraniol	۱۲۴۷	۰/۷۷	۱۲۴۸	۰/۵۴	۱۲۴۸	۰/۲۱	۱۲۴۹	۰/۱۳	۱۲۴۹	d,c
۲۵	D-carvone	۱۲۶۵	۰/۶۹	۱۲۶۶	-	-	۰/۲۴	۱۲۶۶	۰/۱۸	۱۲۶۶	d,c

ادامه جدول ۲- ترکیبات موجود در اسانس گیاه *A. deserti* به روش تقطیر با آب و تقطیر با بخار آب

۲۶	Piperitone	۱۲۷۵	۱۸/۹۱	۱۲۷۷	۱۵/۰۱	۱۲۷۶	۱۰/۸۱	۱۲۸۰	۱۰/۳۲	۱۲۷۹	d,c
۲۷	Isobornyl acetate	۱۳۰۴	۱/۳۶	۱۳۰۹	۲/۰۵	۱۳۰۹	۱/۸۸	۱۳۰۹	۲/۲۴	۱۳۰۹	d,c
۲۸	lavandulyl acetate	۱۲۹۸	۲/۷۰	۱۳۱۴	۴/۸۲	۱۳۱۴	۷/۴۷	۱۳۱۶	۸/۳۷	۱۳۱۵	d,c
۲۹	Thymol	۱۳۱۸	۱/۴۳	۱۳۲۱	۰/۹۳	۱۳۲۳	-	-	-	-	d,c
۳۰	Myrtenyl acetate	۱۳۳۵	-	-	-	-	۰/۳۱	۱۳۵۲	۰/۳۱	۱۳۵۲	d,c
۳۱	Neryl acetate	۱۳۸۵	-	-	-	-	۱/۸۹	۱۳۹۲	۱/۹۰	۱۳۹۲	d,c
۳۲	Geranyl acetate	۱۴۱۱	-	-	۰/۴۳	۱۳۹۴	۱/۰۰	۱۴۱۳	۰/۸۷	۱۴۱۳	d,c
۳۳	Caryophyllene	۱۴۵۵	-	-	-	-	-	-	۰/۱۸	۱۴۵۱	d,c
۳۴	Davana ether	۱۵۱۴	۱/۳۸	۱۵۴۰	۲/۲۴	۱۵۴۰	۰/۱۴	۱۵۴۰	۰/۲۰	۱۵۴۰	d,c
۳۵	Spathulenol	۱۶۰۵	۰/۳۲	۱۶۰۴	۰/۴۸	۱۶۰۴	۰/۲۰	۱۶۰۴	-	-	d,c
۳۶	Davanone	۱۶۰۹	-	-	-	-	۱۳/۰۹	۱۶۱۳	۹/۰۱	۱۶۱۱	d,c
		-	۹۶/۹۲	۹۵/۶۹	-	۹۸/۰۲		۹۶/۹۹			

^a شاخص کواتس گزارش شده در مقالات

^b شاخص کواتس محاسبه شده با استفاده از کروماتوگرام حاصل از آلکان های C9-C24 بر روی ستون HP-5MS

^c شناسایی براساس شاخص کواتس (NIST Standard Reference Database Number 69)

^d شناسایی براساس مقایسه طیف جرمی با بانک های Wiley(W9N11) و NIST05a

۳-۳-۲- اسانس گیاه درمنه بیابانی تازه

در روش تقطیر با آب (NHD) ۹۸/۰۲ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمده عبارت از: کامفور ۲۲/۵۸، داوانون ۱۳/۰۹، او-۸-سینئول ۱۱/۴۹، پیپریتون ۱۰/۸۱ و آرتمیازیا کتون ۸/۳۵ درصد بودند. مونوترپن های هیدروکربنه ۷/۷، مونوترپن های اکسیژنه ۶۴/۴۵، سزکوئی ترین های اکسیژنه ۱۳/۴۳ و استرها ۱۲/۵۵ درصد بودند.

روش تقطیر با بخار آب (NSD) ۹۶/۹۹ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمده عبارت از: کامفور ۲۴/۳۲، او-۸-سینئول ۱۲/۲۸، پیپریتون ۱۰/۳۲، داوانون ۹/۰۱ و آرتمیازیا کتون ۸/۶۴ درصد بودند. مونوترپن های هیدروکربنه ۶/۹۲، مونوترپن های اکسیژنه ۶۶/۹۹، سزکوئی ترین های هیدروکربنه ۰/۱۸، سزکوئی ترین های اکسیژنه ۹/۲۱ و استرها ۱۳/۶۹ درصد بودند.

۳-۳-۳- شناسایی ترکیبات موجود در عصاره اتانول درمنه بیابانی

ترکیبات تشکیل دهنده ی عصاره اتانولی گیاه درمنه بیابانی مانده و تازه در جدول شماره ۳ ارائه شده اند. در عصاره اتانولی درمنه مانده (OAE) تعداد ۷ ترکیب معادل ۸۹/۹۱ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمده عبارت اند از: کامفور ۳۷/۸۱، پیپریتون ۱۱/۲۶، داوانون-۲-۱۱-۲۹/۶۱، او-۸-سینئول ۳/۸۵ و بورنتول ۳/۶۸ درصد بودند.

ترکیبات تشکیل دهنده ی عصاره اتانولی گیاه درمنه بیابانی اتانولی درمنه تازه (NAE) تعداد ۷ ترکیب معادل ۹۶/۲۱ درصد ترکیبات شناسایی شدند که ترکیبات عمده عبارت از: کامفور ۳۶/۳۰، داوانون ۲۹/۴۷، داوانون-۲-۱۰-۱۰/۰۶، پیپریتون ۸/۴۲، لاواندیولیل استات ۵/۴۳، او-۸-سینئول ۳/۷۴ و بورنتول ۲/۸۸ درصد بودند.

جدول ۳- ترکیبات شناسایی شده در عصاره اتانول گیاه *A. deserti* (مانده و تازه)

ردیف	component	شاخص کواتس محاسبه شده	شاخص کواتس استاندارد	OAE	NAE
۱	1,8-Cineole	۱۰۰۸	۱۰۰۹	۳/۸۵	۳/۷۴
۲	Camphor	۱۱۴۷	۱۱۴۸	۳۷/۸۱	۳۶/۳۰
۳	Borneol	۱۱۷۴	۱۱۷۳	۳/۶۸	۲/۸۸
۴	Piperitone	۱۲۷۷	۱۲۷۵	۱۱/۲۶	۸/۴۲
۵	Lavandulyl acetate	۱۳۱۴	۱۲۹۸	۱/۴۱	۵/۴۳
۶	Lilac Alcohol	۱۳۹۵	۱۳۹۲	۲/۲۹	-
۷	Davanone-2-ol	۱۷۲۵	۱۷۳۰	۲۹/۶۱	۱۰/۰۶
۸	Davanone	۱۶۱۰	۱۶۰۹	-	۲۹/۴۷
Total				۸۹/۹۱	۹۶/۲۱

۳-۴- تعیین ترکیبات فنلی:

در این تحقیق میزان فنل کل بدست آمده در اسانس و عصاره های گیاه درمنه (مانده و تازه) بر حسب میکرو گرم گالیک اسید در گرم اسانس و عصاره ها، بر اساس نمودار استاندارد گالیک اسید تعیین شد (جدول شماره ۴). نتایج آزمون های آماری اختلاف معنی داری را در میزان فنل کل تحت روش های مختلف استخراج برای اسانس و عصاره های درمنه (مانده و تازه) نشان می دهند.

بیشترین میزان فنل کل برابر $۱/۴۴ \pm ۶۱/۵۱$ میکروگرم گالیک اسید در گرم اسانس درمنه تازه مربوط به روش تقطیر با آب (NHD) و کمترین میزان فنل کل برابر $۰/۵۲ \pm ۵۰/۵۳$ میکروگرم گالیک اسید در گرم اسانس درمنه مانده مربوط به روش تقطیر با بخار آب (OSD) بود. از نظر آماری میزان فنل کل در اسانس درمنه تازه بیشتر از اسانس درمنه مانده بود. همچنین محتوای فنلی عصاره های درمنه، به طور معنی داری بیشتر از اسانس های آن بودند. بیشترین میزان فنل کل برابر $۲/۱۸ \pm ۱۶۵/۶۵$ میکروگرم گالیک اسید در گرم عصاره اتانولی درمنه تازه (NAE) و کمترین میزان فنل کل برابر $۱/۱۱ \pm ۷۳/۷۰$ میکروگرم گالیک اسید در گرم عصاره n-هگزان درمنه مانده (OAH) بود. از نظر آماری اختلاف معنی داری در میزان فنل کل عصاره های قطبی و غیر قطبی وجود دارد. علاوه بر این نتایج نشان داد که میزان فنل کل در عصاره و اسانس با گذشت زمان و پس از نگهداری طولانی مدت، کاهش می یابد.

جدول ۴- میانگین میزان ترکیبات فنل کل اسانس و عصاره درمنه بیابانی ($\mu\text{g/g}$) گالیک اسید

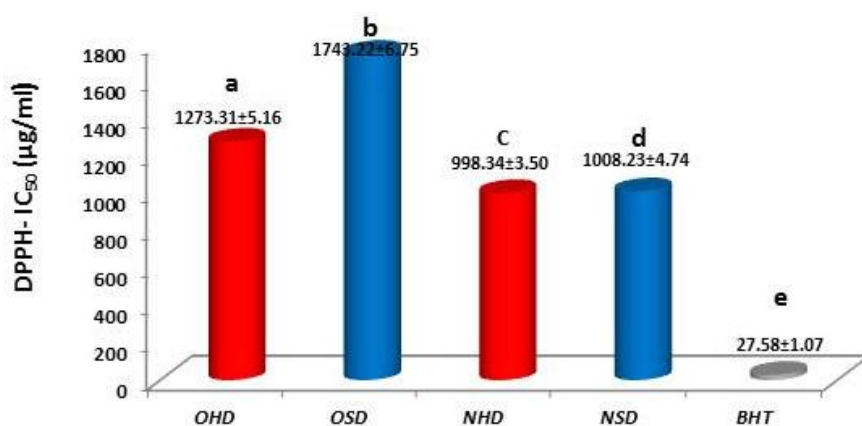
نمونه	میزان فنل کل ($\mu\text{g/g}$) گالیک اسید	نمونه	میزان فنل کل ($\mu\text{g/g}$) گالیک اسید
OAE ^c	۱۱۰/۷۸±۱/۱۲	NAE ^f	۱۶۵/۶۵±۲/۱۸
OAM ^d	۱۱۳/۹۵±۰/۲۲	NAM ^e	۱۶۱/۵۱±۱/۱۲
OAH ^a	۷۳/۷۰±۱/۱۱	NAH ^b	۷۸/۰۹±۱/۰۸
OHD ^a	۵۴/۴۳±۱/۳	NHD ^c	۶۱/۵۱±۱/۴۴
OSD ^b	۵۰/۵۳±۰/۵۲	NSD ^b	۵۱/۲۶±۰/۸۵

حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است

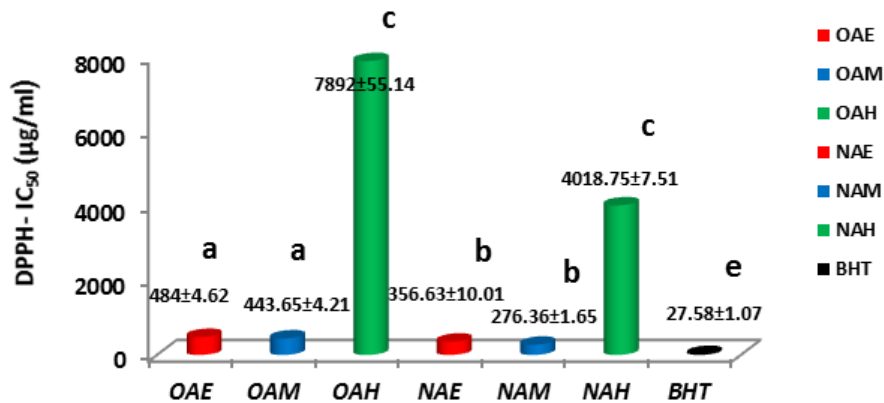
۳-۵- ارزیابی فعالیت های آنتی اکسیدانی

۳-۵-۱- بررسی فعالیت های آنتی اکسیدانی به روش DPPH

توانایی مهار رادیکال آزاد توسط آزمایش ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل یا DPPH ارزیابی شد. در این آزمایش با افزایش غلظت اسانس و عصاره ها، مهار رادیکال ها با قدرت بیشتری صورت گرفت. غلظتی از اسانس و عصاره ها که ۵۰ درصد مهار رادیکالی را سبب می شوند (IC_{50}) (شکل ۳و۴) در مقایسه با همین پارامتر برای بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) در شکل ۳ و ۴ آورده شده اند. نتایج آزمون های آماری اختلاف معنی داری را در میزان IC_{50} اسانس و عصاره های بدست آمده از درمنه بیابانی تازه نسبت به درمنه مانده نشان دادند. در شکل ۳ کمترین میزان IC_{50} (یا بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر ۵۰/۳±۹۹۸/۳۴ میکرو گرم اسانس در میلی لیتر متانول مربوط به روش تقطیر با آب درمنه تازه (NHD) و بیشترین میزان IC_{50} (یا کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر ۶/۷۵±۱۷۴۳/۲۲ میکرو گرم اسانس در میلی لیتر متانول مربوط به روش تقطیر با بخار آب درمنه مانده (OSD) بود. نتایج آماری نشان دادند که قدرت آنتی اکسیدانی اسانس درمنه نیز با گذشت زمان به طور معنی داری کاهش می یابد.



شکل ۳- میانگین میزان IC_{50} اسانس درمنه بیابانی (مانده و تازه) و BHT برحسب میکروگرم بر میلی لیتر بر اساس نتایج نشان داده شده در شکل ۴ کمترین میزان IC_{50} (یا بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر $1/65 \pm 276/36$ میکروگرم عصاره در میلی لیتر متانول مربوط به عصاره متانولی درمنه تازه (NAM) و بیشترین میزان IC_{50} (یا کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی) برابر $55/14 \pm 7892/55$ میکروگرم عصاره در میلی لیتر متانول مربوط به عصاره n-هگزان درمنه مانده (OAH) بود. در این آزمایش BHT با میزان IC_{50} برابر $1/07 \pm 27/58$ میکروگرم در میلی لیتر به عنوان شاهد مثبت به کار برده شده است. در این ارتباط اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های اتانولی، متانولی (مانده و تازه) با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشته ولی به صورت معنی دار برتر از اسانس ها و عصاره n-هگزان بودند. قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های درمنه تازه بیشتر از عصاره های درمنه مانده بودند. از نظر آماری اختلاف معنی داری در قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های قطبی و غیر قطبی وجود دارد. همچنین روشن است که فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس ها و عصاره های گیاه درمنه بیابانی در مقایسه با ترکیب BHT به طور معنی داری کمتر می باشد.



شکل ۴- میانگین میزان IC_{50} عصاره های اتانولی، متانولی و هگزان درمنه بیابانی (مانده و تازه) و BHT برحسب میکروگرم بر میلی لیتر

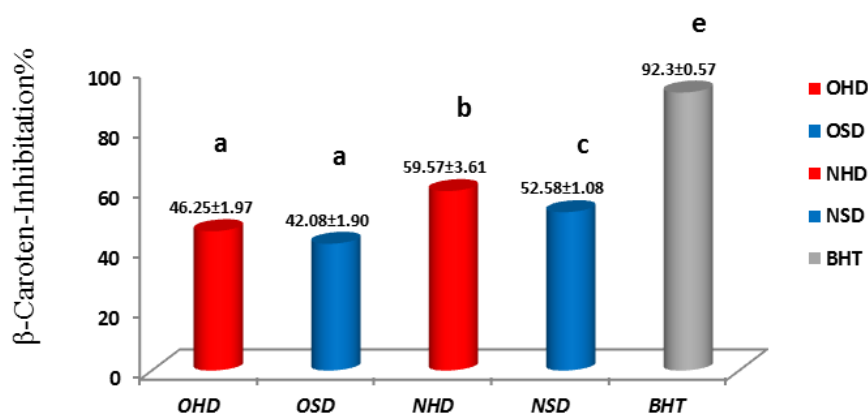
۳-۵-۲- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن

فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره های حاصل از روش های مختلف استخراج درمنه بیابانی (مانده و تازه) بر اساس میزان رنگ بری بتاکاروتن در طول موج ۴۷۰ نانومتر ارائه شده اند (شکل ۵ و ۶). اندازه گیری بتاکاروتن باقی مانده فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه را تخمین می زند. نتایج آزمون های آماری اختلاف معنی داری را در میزان درصد مهار سیستم بتاکاروتن/ لینولثیک اسید برای اسانس و عصاره های بدست آمده از درمنه بیابانی تازه نسبت به گیاه مانده نشان دادند. بر اساس شکل ۵ بیشترین درصد مهار بتاکاروتن اسانس برابر $3/61 \pm 59/57$ مربوط به روش تقطیر با آب گیاه درمنه تازه (NHD) و کمترین درصد مهار بتاکاروتن اسانس برابر $1/90 \pm 42/08$ مربوط به روش تقطیر با بخار آب درمنه مانده (OSD) بود.

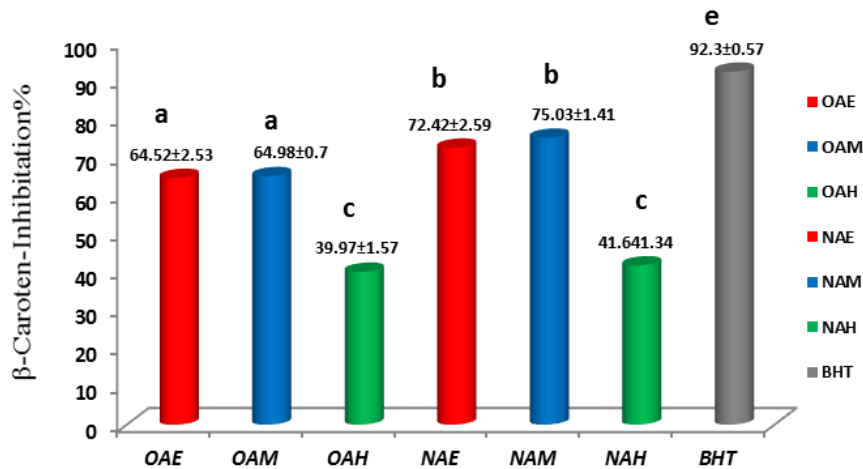
بر اساس شکل ۶ بیشترین درصد مهار بتاکاروتن عصاره برابر $1/41 \pm 75/03$ مربوط به عصاره متانولی درمنه تازه (NAM) و کمترین درصد مهار بتاکاروتن عصاره برابر $1/57 \pm 39/97$ مربوط به عصاره هگزان درمنه مانده (OAH) بود. در این آزمایش BHT با درصد مهار بتاکاروتن برابر $0/57 \pm 92/30$ به عنوان شاهد مثبت به کار برده شد. در این ارتباط اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های اتانولی، متانولی (مانده و تازه) با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ولی به صورت معنی دار برتر از اسانس و عصاره هگزان بودند. قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های درمنه تازه نیز به طور معنی داری بیشتر از عصاره های درمنه مانده بودند.

۴- خلاصه

در تحقیق حاضر، گیاه درمنه بیابانی از مناطق غرب استان اصفهان (ارتفاعات گلپایگان) در نیمه دوم شهریور جمع آوری گردید. ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره های اتانول، متانول و هگزانی گیاه تازه و گیاه دو سال مانده، به روش تقطیر با آب، تقطیر با بخار آب و سوکسله مورد بررسی و همچنین ترکیبات شیمیایی اسانس و عصاره های از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که ترکیب کامفور بیشترین درصد فراوانی را در همه نمونه ها داشت. مقایسه خواص آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی اسانس و عصاره درمنه بیابانی (مانده و تازه) نشان داد که عصاره ها از جمله عصاره متانول و اتانول درمنه (مانده و تازه) سرشار از ترکیبات فنولی بوده و خواص آنتی اکسیدانی بالایی نسبت به اسانس داشتند. بنابراین می توان از عصاره درمنه به عنوان آنتی اکسیدانی در صنایع غذایی و دارو سازی استفاده کرد. همچنین براساس نتایج بدست آمده، مقدار ترکیبات فنلی و خواص آنتی اکسیدانی گیاه درمنه با سپری شدن زمان طولانی از زمان برداشت، به طور معنی داری کاهش می یابد که ممکن است به دلیل فرار بودن ترکیبات موجود در نمونه های استخراج شده باشد.



شکل ۵- میانگین قدرت آنتی اکسیدانی اسانس درمنه بیابانی (مانده و تازه) و BHT در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید



شکل ۶- میانگین قدرت آنتی اکسیدانی عصاره های درمنه بیابانی (مانده و تازه) و BHT در ممانعت از اکسیداسیون لینولئیک اسید

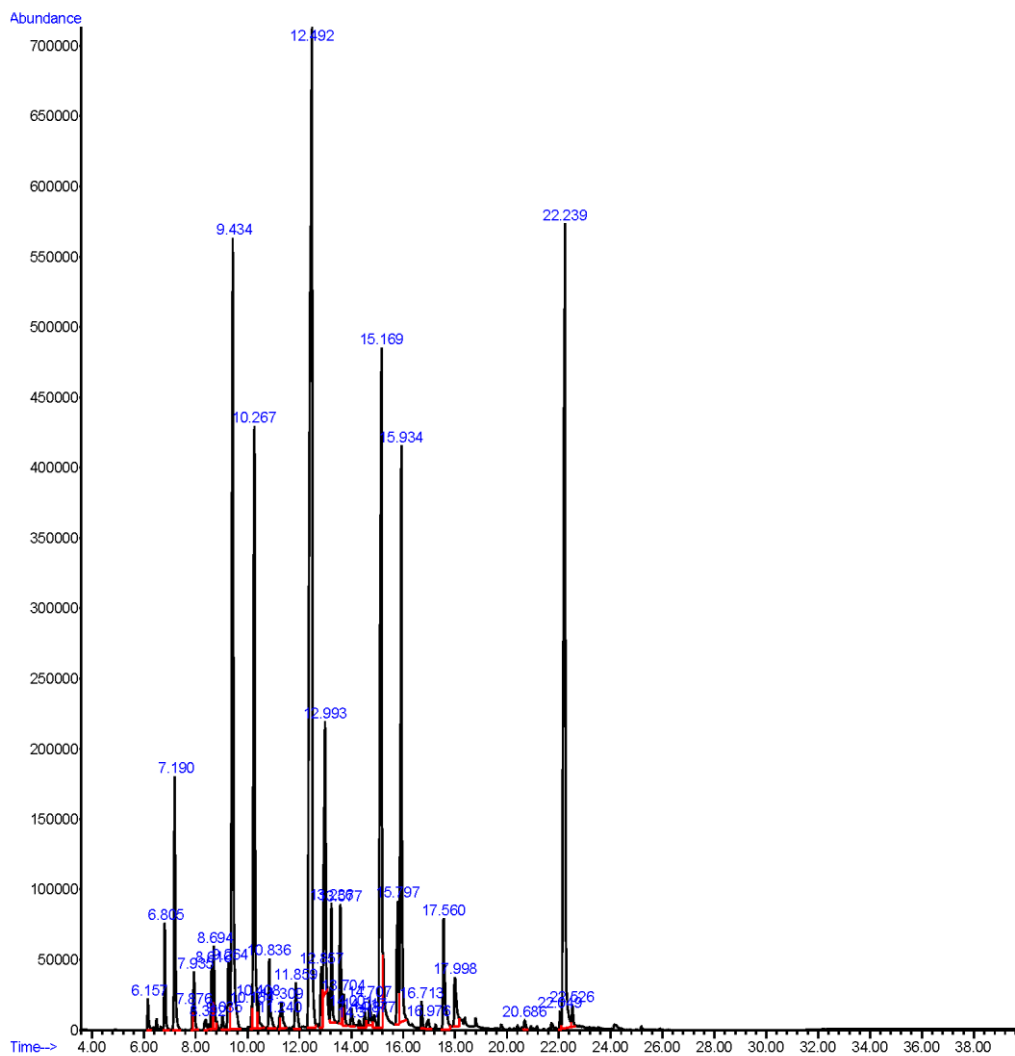
تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان صمیمانه تشکر می‌نمایند.

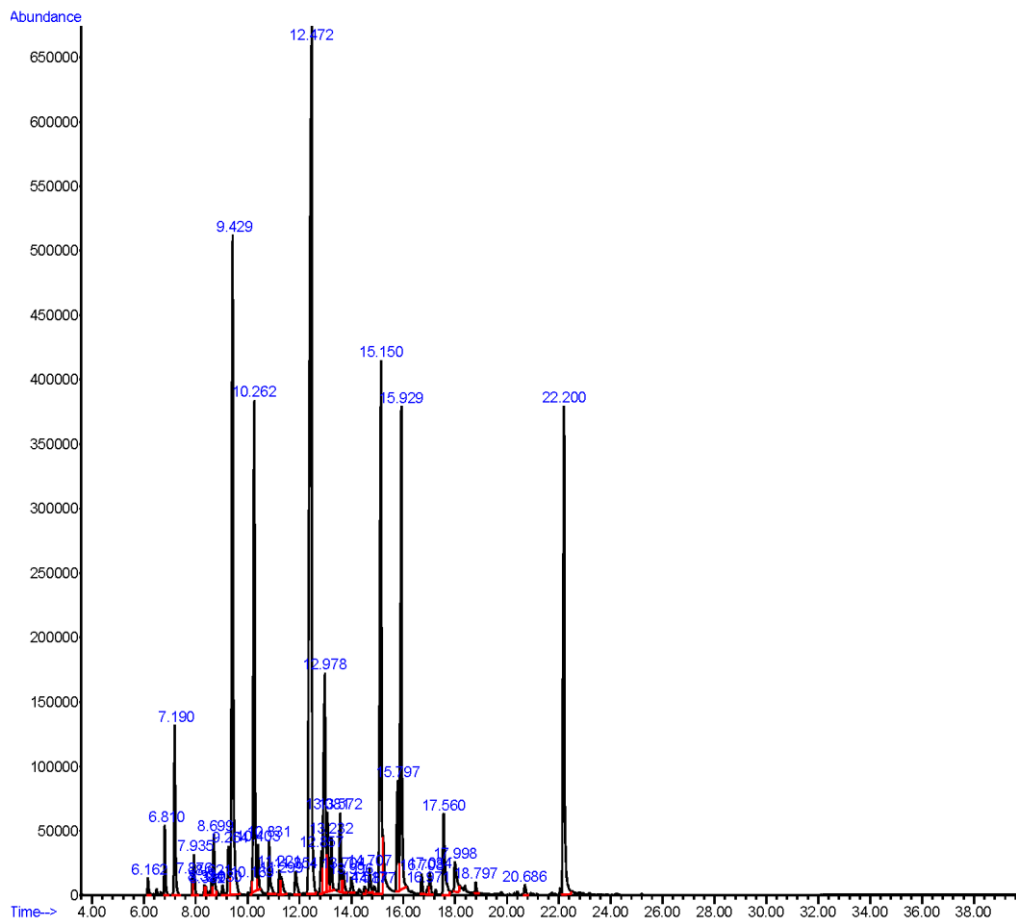
۵- مراجع:

- [1] L. Chaofeng, L. Xiancui, L. Hony, G. shuju and Z. xiaobin, *Chinese J. Oceanol. Limnol.*, **31** (2013) 850.
- [2] A. H. Ebrahimabadi, Z. Djafari – Bidgoli, A. Mazoochi, F. Jookar Kashi, H. Batooli, *Food Control*, **21** (2010) 1173.
- [3] G. Singh, P. Marimuthu, C. S. Heluani, C. A. Catalan, *J. Sci. Food Agr.*, **85** (2005) 2297.
- [4] M. Taherkhani, A. Rustaiyan, *J. Basic. Appl. Sci. Res.*, **3** (2013) 20.
- [5] S. Garcia, E. D. McArthur, J. Pellicer, S. C. Sanderson, J. Vallès, T. Garnatje, *Am. J. Bot.*, **98** (2011) 638.
- [6] N.V. Tkach, M. H. Hoffmann, M. Roser, A. A. Korbkov, K. B. Von Hagan, *Evolution*, **67** (2007) 184.
- [7] M. Kazemi, S. Shafizadeh, K. Larijani, *J. Appl. Chem. Res.*, **18** (2011) 29.
- [8] H. Karimi, R. Monajemi, L. Amjad, *Int. J. Basic Sci. Appl. Res.*, **3** (2014) 1.
- [9] A. Rustaiyan, S. Masoudi, *Phytochem. Lett.*, **4** (2011) 440.
- [10] L. Ahmadi, M. Mirza, *J. Essent. Oil Res.*, **13** (2001) 30
- [11] M. Sengul, S. Ercisli, H. yildiz, N. Gungor , A. Kavaz , B. Cetin, *Iran.J. Pharm. Res.*, **10** (2009) 49.
- [12] A. A. Hamid, O. O. Aiyelaagbe, L. A. Usman, *Int. J. Curr. Res.*, **3** (2011) 86

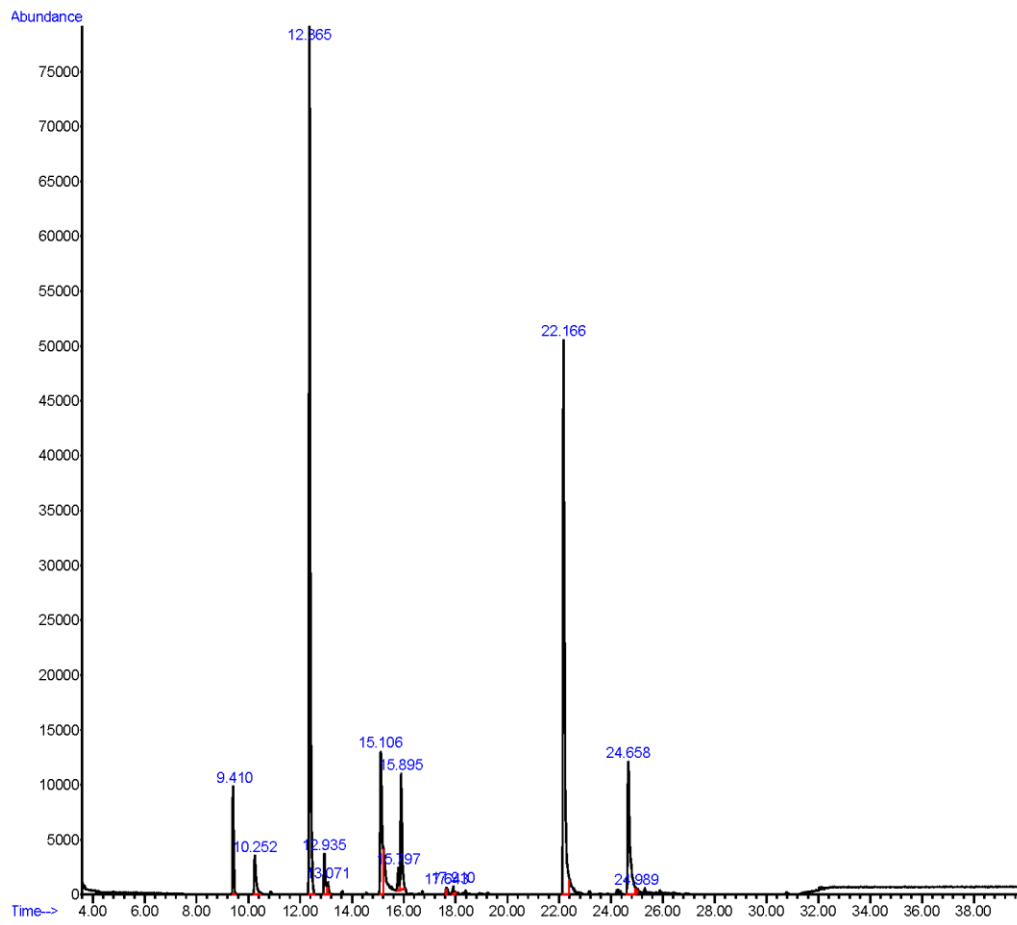
- [13] V. K. Koul, B. M. Gandotra, S. koul, S. Ghosh, C. L. Tikoo, *Indian J. Chem. Technol.*, **11** (2004) 135.
- [14] D. Mampouya, R.K. Niamayoua, S. Goteni, A.N. Loumouamou, *Adv. J. Food Sci. Technol.*, **5** (2013) 230.
- [15] A. Rustaiyan, H. Komeilizadeh, Sh. Masoudi, A. Monfared, M. Yari, *Journal of Sciences Islamic Republic of Iran*, **11** (2000) 213.
- [16] Sh. Iqbal, U. Younas, K.W. Chan, M. Zia-UI-Haq, M. Ismail, *Molecules*, **17** (2012) 6020.
- [17] M. Mohadjerani, K. Pakzad, *J. Appl. Chem.* **7** (2013) 45.
- [18] P. Wootton-Beard, A. Morgan, L. Ryan, *Food. Res. Int.*, **44** (2011) 217.
- [19] D. Lopes-Lutz, D. S. Alviano, C. S. Alviano, P. P. Kolodziejczyk, *Phytochemistry*, **69** (2008) 1732.
- [20] A. H. Ebrahimabadi, A. Mazoochi, F. Jookar Kashi, Z. Djafari-Bidgoli, H. Batooli, *Food Chem. Toxicol.*, **48** (2010) 1371.



کروماتوگرام اسانس حاصل از روش تقطیر با آب درمنه بیابانی تازه (NHD)



کروماتوگرام اسانس حاصل از روش تقطیر با بخار آب درمنه بیابانی تازه (NSD)



کروماتوگرام عصاره اتانولی درمنه بیابانی تازه (NAE)

