

## بررسی تاثیر شرایط محیطی بر میزان و ترکیبات شیمیایی روغن اسانس گیاه پونه آبی (*Mentha aquatica* L.) از رویشگاه های مختلف استان مازندران



مهری محسن پور<sup>۱</sup>، مهناز وفادار<sup>۱\*</sup>، حسین میقانی<sup>۲</sup> و الهه وطن خواه<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> گرگان، دانشگاه گلستان، دانشکده علوم، گروه شیمی

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۲۵

### چکیده

گیاه پونه آبی در استان های شمالی ایران به صورت وسیع می روید. بخش های هوایی گیاه پیش از مرحله گلدهی و نمونه های خاک در فصل بهار سال ۱۳۹۲ از ۴ منطقه مختلف از شرق تا غرب استان مازندران شامل ساری، بابل، نوشهر و تنکابن و در سه تکرار جمع آوری شد. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام شد و بازده اسانس در مناطق مختلف محاسبه شد. جداسازی و شناسایی ترکیبات مختلف تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی GC و GC/MS انجام شد. ویژگی های خاک شامل مقدار عناصر، میزان pH و هدایت الکتریکی (EC) اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام گرفت. نتایج نشان داد که بازده اسانس با سه تکرار برای هر منطقه بر اساس وزن خشک گیاه بین ۰/۲۵۴٪ در ساری (شرق استان) تا ۰/۴۷۴٪ در نوشهر (غرب استان) است. تعداد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس روندی معکوس نشان داد به گونه ای که اسانس نمونه گیاهی نوشهر دارای کمترین تعداد ترکیبات (۲۶ ترکیب) و اسانس نمونه ساری دارای بیشترین تعداد ترکیبات (۳۴ ترکیب) بود. شاخص ترین ترکیبات اسانس متتوفوران، ترانس- کاروفیلین، اوکالیپتول، جرماکرن- دی و ویریدی فلورول بودند. نتایج آزمایش های خاک نشان داد که کاهش اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک، افزایش مقدار نیتروژن، فسفر و عناصر آلی و مغذی خاک و بارندگی بیشتر در غرب استان منجر به تولید بیشتر اسانس شده اما افزایش اسیدیته و هدایت الکتریکی در شرق موجب تعداد بیشتر اجزای اسانس شد.

واژه های کلیدی: اسانس، *Mentha aquatica* L.، مازندران، عوامل محیطی

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۳۳۴۵۲۵۴۳، پست الکترونیکی: vafadar@znu.ac.ir

### مقدمه

مرطوب و سایه دار و در حواشی آنها و جویبارها یافت شده و به عنوان یکی از سبزیجات رایج در تهیه غذاهای محلی در منطقه شمال کشور کاربرد فراوان دارد. از نظر ویژگی های گیاه شناسی، گیاهی چندساله و دارای ساقه های زیرزمینی بوده، دارای ساقه هوایی به ارتفاع ۹۰-۲۰ سانتی متر، افراشته یا خیزان، کرکدار با برگ های مستطیلی، تخم مرغی، مثلثی، دایره ای و کرکدار، گل آذین کپه ای بوده و زمان گلدهی آن تابستان یا پاییز است (۴).

گیاه نعناع با نام علمی *Mentha* L. یکی از گیاهان خانواده نعناعیان است که در ایران دارای ۶ گونه و یک دو رگه می باشد. گونه *Mentha aquatica* L. (پونه آبی) یکی از گونه های این جنس است که در مناطق خزری در استان های گیلان، مازندران و گلستان گسترش فراوان داشته، علاوه بر آن در منطقه آذربایجان نیز رویش داشته و در دنیا در اروپا، ترکیه و منطقه قفقاز پراکنده است. این گونه به وفور در مناطق جلگه ای یا جنگلی شمال ایران، در مناطق

خانواده نعناعیان یکی از بزرگترین خانواده های گیاهی است که تعداد قابل توجهی از جنس های آن در زمره گیاهان دارویی به حساب می آید. اسانس ها از جمله ترکیبات مهم گیاهان دارویی هستند که دارای فعالیت های زیستی فراوانی می باشند (۲۸). این ترکیبات، ترکیباتی هیدرو کربنی متشکل از سه عنصر کربن، هیدروژن و اکسیژن می باشند و به گروه ترپنوئیدها شامل منوترپنوئیدها و سزکوئی ترپنوئیدها تعلق دارند (۳). این مواد فرار دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و بدن را در مقابل اثرات سوء رادیکال های آزاد اکسیژن حفاظت می نمایند (۱۶). ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از جمله منتوفوران، ترانس کاریوفیلن، جرماکرن-دی و اوکالیپتول دارای فعالیت های ضد عفونت، ضد التهاب، ضد مشکلات گوارشی و ضد سرطان نیز می باشند (۹). اگر چه تولید مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت فرایندهای ژنتیکی است ولی به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی مانند ارتفاع از سطح دریا، دما، نور، رطوبت نسبی قرار می گیرد، به طوری که عوامل محیطی سبب تغییرات در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد موثره آن ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها و اسانس ها می گرد (۱). مطالعات متعددی به منظور بررسی میزان و ترکیبات اسانس در جنس نعناع صورت پذیرفته است. مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه عبارتند از: منتوفوران، او-۸-سینئول، منتول، لیمونن، متون، بتا-سیس-اوسیمین، لدول، آلفا ترپینن، کاریوفیلن و ویریدیفلورول (۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۷، ۲۹، ۳۰).

خانواده نعناعیان یکی از بزرگترین خانواده های گیاهی است که تعداد قابل توجهی از جنس های آن در زمره گیاهان دارویی به حساب می آید. اسانس ها از جمله ترکیبات مهم گیاهان دارویی هستند که دارای فعالیت های زیستی فراوانی می باشند (۲۸). این ترکیبات، ترکیباتی هیدرو کربنی متشکل از سه عنصر کربن، هیدروژن و اکسیژن می باشند و به گروه ترپنوئیدها شامل منوترپنوئیدها و سزکوئی ترپنوئیدها تعلق دارند (۳). این مواد فرار دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و بدن را در مقابل اثرات سوء رادیکال های آزاد اکسیژن حفاظت می نمایند (۱۶). ترکیبات تشکیل دهنده اسانس از جمله منتوفوران، ترانس کاریوفیلن، جرماکرن-دی و اوکالیپتول دارای فعالیت های ضد عفونت، ضد التهاب، ضد مشکلات گوارشی و ضد سرطان نیز می باشند (۹). اگر چه تولید مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت فرایندهای ژنتیکی است ولی به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی مانند ارتفاع از سطح دریا، دما، نور، رطوبت نسبی قرار می گیرد، به طوری که عوامل محیطی سبب تغییرات در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد موثره آن ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها و اسانس ها می گرد (۱). مطالعات متعددی به منظور بررسی میزان و ترکیبات اسانس در جنس نعناع صورت پذیرفته است. مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه عبارتند از: منتوفوران، او-۸-سینئول، منتول، لیمونن، متون، بتا-سیس-اوسیمین، لدول، آلفا ترپینن، کاریوفیلن و ویریدیفلورول (۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۷، ۲۹، ۳۰).

مهم ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی بر طبق تحقیقات انجام شده عبارتند از: بتا-کاریوفیلن، ویریدیفلورول، ۱۸-سینئول و پیریتنون اکساید (۱۷) و منتوفوران، ۱۸-سینئول و ترانس کاریوفیلن (۲۰). تاثیر شرایط محیطی بر میزان و کیفیت متابولیت های ثانویه در خانواده های مختلف گیاهی از جمله خانواده نعناعیان توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از بررسی اسانس گونه

ترکیبات اسانس گیاه نعناع لعلی (*Mentha × piperata* L.) در محیط های مختلفی از شمال هند مورد بررسی قرار گرفت. یافته های تحقیق نشان داد که که متابولیسم منوترپن ها در این گیاه قویا متاثر از عوامل محیطی است (۲۶). نتایج حاصل از مطالعه اثر ارتفاع بر اسانس در گیاه دارویی آویشن وحشی (*Thymus kotschyanus* Boiss.) در منطقه طالقان بیانگر آن است که بین درصد اسانس و ارتفاع از سطح دریا یک رابطه خطی منفی و معنی دار وجود دارد. افزایش ارتفاع باعث کاهش مقدار اسانس گردیده اما کیفیت اسانس با افزایش ارتفاع بیشتر شده است (۶). اثر برخی عوامل محیطی (جهت شیب و خاک) بر ترکیبات اسانس گونه *Teucrium chamaedrys* از خانواده نعناعیان در مراتع نمارستاق آمل مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان اسیدپتیکه خاک با درصد اسانس رابطه معکوس داشته ولی میزان نیتروژن خاک رابطه مستقیمی با میزان تولید اسانس دارد (۱۱). ترکیبات اسانس گونه *Perovskia abrotanoides* Karel. در دو استان خراسان و بلوچستان نیز مورد تحقیق قرار گرفت. یافته ها بیانگر آن بود که اسانس گیاه منطقه بلوچستان حاوی ۴۱ ترکیب و اسانس گیاه منطقه خراسان دارای ۲۹ ترکیب بود (۲۲).

تا زمان انجام این تحقیق، مطالعه ای به منظور بررسی تاثیر عوامل محیطی و رویشگاهی بر روی گیاه پونه آبی انجام نشده بود. هدف از انجام این پژوهش بررسی شرایط رویشگاهی و اکولوژیک و تاثیر این فاکتورها بر تولید اسانس در این گیاه بود.

## مواد و روشها

**کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی**  
 (GC/MS): برای شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف Hewlett Packard مدل Agilent متصل به طیف سنج جرمی استفاده شد. ستون مشابه ستون استفاده شده در دستگاه GC بود. گاز به کار رفته هلیوم با سرعت ۳۵ ثانیه بر سانتی متر و انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی در دامنه ۲۴۰-۶۰ درجه با سرعت ۳ درجه بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه بود. شناسایی طیف‌های ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از زمان بازداری و استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد انجام گرفت.

**آزمایش‌های خاک شناسی:** نمونه‌های خاک پس از جدا کردن سنگ‌ها، سنگریزه و بقایای گیاهی در هاون چینی کوبیده شد. پس از کوبیدن، نمونه‌های خاک از الک دو میلیمتری عبور داده شد. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (EC) و اسیدیته (pH) خاک با استفاده از دستگاه هدایت سنج و pH متر انجام شد. اندازه‌گیری عناصر خاک پس از آماده‌سازی نمونه‌های خاک با استفاده از محلول تی‌زاب سلطانی (مخلوط اسید نیتریک و اسید کلریدریک به نسبت ۱:۳) با دستگاه جذب اتمی ICP-OES مدل Spectro Genesis (AMETEK) انجام پذیرفت (۲).

**آنالیز آماری:** به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده، ابتدا تست نرمال بودن داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف اسمیرنوف انجام شد. بعد از بررسی نرمال بودن داده‌ها، آنالیزهای آماری توسط نرم افزار SAS 9.1 انجام پذیرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت.

### نتایج

**اطلاعات اقلیمی و نتایج تجزیه خاک:** اطلاعات اقلیمی مناطق مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است. از نظر ارتفاع

**جمع آوری نمونه:** جمع آوری نمونه‌های گیاهی از ۴ منطقه در استان مازندران از شرق به غرب شامل ساری، بابل، نوشهرو تنکابن در بهار سال ۹۲ در مرحله رویشی و در ۳ تکرار صورت پذیرفت. به منظور بررسی خصوصیات خاک و ارتباط آن با کمیت و کیفیت اسانس گیاه از همه مناطق مورد بررسی، نمونه خاک با سه تکرار از عمق ۳۰-۰ سانتی متر از منطقه ریزوسفر ریشه برداشت شد. اطلاعات اقلیمی مناطق از مرکز اطلاعات و آمار هواشناسی استان مازندران به دست آمد.

**استخراج اسانس:** نمونه‌های گیاهی گیاه پونه آبی پس از جمع آوری از مناطق و جداسازی خاک، در سایه به دور از تابش مستقیم آفتاب و در دمای محیط خشک شدند. حدود ۸۰ گرم ماده خشک گیاهی از سرشاخه‌ها با آسیاب پودر شده و استخراج اسانس با استفاده از روش تقطیر با آب انجام شد (۲۵). اسانس‌گیری به مدت ۴ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر صورت پذیرفت. اسانس حاصل پس از جداسازی، توسط سولفات سدیم بدون آب رطوبت زدایی شد و بازده اسانس بر اساس وزن خشک نمونه گیاهی اولیه محاسبه شد (۲۵).

### روش‌های تجزیه دستگاهی:

**کروماتوگرافی گازی (GC):** دستگاه کروماتوگرافی گازی Hewlett Packard مدل HP-7890 دارای ستون با نام تجاری HP-5 با قطر داخلی ۰/۵ میکرومتر و طول ۳۰ متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر. دمای ستون از ۵۰ درجه سانتی‌گراد آغاز شد و در نهایت به ۲۵۰ درجه رسید. دمای آشکار ساز بر روی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. از گاز حامل هلیوم به عنوان حامل با سرعت ۱۲ ثانیه بر سانتی‌متر استفاده شد. درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس با محاسبه مساحت سطح زیر هر منحنی در کروماتوگرام‌های GC که دتکتور آن FID بوده است تعیین شد.

از سطح دریا، مناطق مورد بررسی در دامنه ۲۹ متر پایین تر از سطح دریا در نوشهر (غرب استان) تا ۱۳۲ متر بالاتر از سطح دریا در ساری (شرق استان) قرار دارند. میانگین بارش سالیانه در دامنه ۵۸۶/۲ میلی متر در ساری تا ۱۳۳۰ میلی متر در نوشهر قرار دارد.

جدول ۱- مشخصات مناطق مورد مطالعه و ویژگی‌های اقلیمی مناطق جمع‌آوری گیاه *Mentha aquatica* در استان مازندران

محل جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (m)	میانگین بارش سالانه (mm)	میانگین دمای سالانه (°C)
ساری: کیلومتر ۲ جاده ساری-نکاه	۵۳ درجه و ۳	۳۶ درجه و ۳۳	۱۳۲	۵۸۶/۲	۱۷/۷۰
بابل: کیلومتر ۵ جاده بابل-قائم شهر	۵۲ درجه و ۳۴	۳۶ درجه و ۳۴	-۲	۷۱۴/۹	۱۷/۷۰
نوشهر: کیلومتر ۱۰ جاده نوشهر-نور	۵۱ درجه و ۴۸	۳۶ درجه و ۶۰	-۲۹	۱۳۳۰	۱۷
تنکابن: کیلومتر ۸ جاده تنکابن-رامسر	۵۱ درجه و ۱۰	۳۶ درجه و ۷۰	-۲۰	۱۲۶۲/۱	۱۷/۳۰

خاک‌های مناطق مورد مطالعه در استان مازندران نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین عناصر در نقاط مختلف در سطح ۱ درصد است (جدول ۴).

**بازده اسانس:** مقدار بازده اسانس در نمونه‌های گیاه پونه آبی از شرق به سمت غرب استان روند افزایشی داشته است به گونه‌ای که بیشترین مقدار بازده اسانس در نمونه‌های مورد مطالعه مربوط به غرب استان (نوشهر) و کمترین مقدار مربوط به شرقی‌ترین منطقه مورد مطالعه (ساری) است. مقدار بازده اسانس در مناطق مختلف مورد مطالعه به شرح زیر بود:

نمونه ساری ۰/۲۵۴٪، نمونه بابل ۰/۳۳۲٪، نمونه نوشهر ۰/۴۷۴٪ و نمونه تنکابن ۰/۴۲۱٪.

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر رویشگاه‌های مختلف مورد مطالعه در استان مازندران بر اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک (\*\*): معنی‌داری در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهد.

منابع تغییرات	درجه آزادی	pH	EC
رویشگاه	۳	۰/۱۴۲**	۰/۲۴۱**
خطا	۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۷۳۰
ضریب تغییرات	-	۱/۱۹۲	۲/۶۹۷

**نتایج سنجش اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک:** اسیدیته (pH) خاک‌های مناطق مورد مطالعه در دامنه ۷/۳۹ برای منطقه تنکابن (غربی‌ترین منطقه مورد مطالعه) تا ۷/۸۲ برای خاک ساری در شرق استان متغیر بوده است. اسیدیته خاک‌های بابل و نوشهر به ترتیب ۷/۸۱ و ۷/۶ بود. هدایت الکتریکی (EC) خاک‌ها در دامنه ۲/۵۶ دسی‌زیمنس بر متر برای خاک تنکابن تا ۳/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر برای خاک ساری متغیر بوده است. هدایت الکتریکی خاک‌های بابل و نوشهر هم به ترتیب ۳/۳۳ و ۲/۹۹ دسی‌زیمنس بر متر بوده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس اطلاعات اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک‌های مناطق مورد مطالعه در استان مازندران نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است (جدول ۲).

**نتایج حاصل از اندازه‌گیری عناصر خاک:** خاک‌های نوشهر و تنکابن در غرب استان از نظر عناصر آلی و مغذی نیتروژن، فسفر، کلسیم، منیزیم غنی‌تر از خاک‌های شرق استان (ساری و بابل) بودند. بالعکس از نظر عنصر سدیم خاک‌های شرق استان حاوی مقادیر بیشتری بودند. مقدار عناصر خاک به تفکیک منطقه از شرق به غرب در جدول ۳ آمده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مقادیر عناصر

جدول ۳- مقدار عناصر موجود در خاک رویشگاه‌های مختلف مورد مطالعه در استان مازندران

عناصر					
رویشگاه	نیترژن (ppm)	فسفر (ppm)	کلسیم (ppm)	منیزیم (ppm)	سدیم (ppm)
ساری	۲۴/۳۳	۳/۳۲	۹۴۲	۳۴/۵	۱۳/۴۹
بابل	۵۶	۵/۳۶	۱۵۸۰	۲۴/۲	۸/۶۹
نوشهر	۷۴	۸/۵۵	۱۷۰۰	۹۸/۱	۶/۸
تنکابن	۶۴/۶۶	۱۲/۹۹	۱۲۳۶	۶۵/۶	۵/۸۶

جدول ۴- آنالیز واریانس اثر رویشگاه‌های مختلف مورد مطالعه در استان مازندران بر روی عناصر خاک (\*\*): معنی داری در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهد.

منابع تغییرات	درجه آزادی	نیترژن (ppm)	فسفر (ppm)	سدیم (ppm)	کلسیم (ppm)	منیزیم (ppm)
رویشگاه	۳	۳۷۶/۸۰۳**	۹۱۱۶/۸۰۰**	۲۶/۸۶۸**	۱۴۸۶۳۵/۵۶**	۴۷۹۶/۰۸۸**
خطا	۱۰	۱۱/۰۰	۰/۰۱۴	۰/۰۲۳	۲۴۱۷/۵۵	۰/۵۲۳
ضریب تغییرات	-	۵/۶۵۳	۰/۳۸۰	۱/۸۲۶	۴/۷۰۹	۱/۲۱۷

نتایج حاصل از بررسی تعداد اجزای تشکیل دهنده اسانس، روندی معکوس نسبت به مقدار بازده اسانس نشان می‌دهد به گونه‌ای که اسانس گیاه پونه آبی مربوط به ساری در شرقی‌ترین منطقه مورد مطالعه با میزان بازده اسانس کمتر نسبت به سایر مناطق دارای بیشترین تعداد ترکیبات تشکیل دهنده (۳۴ ترکیب) بوده که مجموعاً ۹۹/۳۷٪ اسانس را تشکیل می‌دهد. اسانس نمونه بابل دارای ۳۱ ترکیب بوده که مجموعاً ۹۸/۲۸٪ اسانس را تشکیل می‌دهد. اسانس نمونه نوشهر دارای ۲۶ ترکیب که ۹۹/۹۵٪ اسانس را تشکیل داده و اسانس نمونه تنکابن دارای ۲۷ ترکیب بوده که در مجموع ۹۹/۹۹٪ اسانس را به خود اختصاص می‌دهد.

شاخص‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در گیاه پونه آبی عبارت بودند از: منتوفوران (در دامنه ۱۰/۸۱٪ در نمونه ساری تا ۴۹/۸۱٪ در نمونه بابل)، ترانس-کاریوفیلین (در دامنه ۵٪ در نمونه بابل تا ۲۲/۷۷٪ در نمونه تنکابن)، جرماکران-دی (در دامنه ۲/۳٪ در نمونه بابل تا ۱۸/۵۹٪ در نمونه تنکابن)، اوکالیپتول (در دامنه ۱۵/۵۶٪ در نمونه تنکابن تا ۲۸/۹۹٪ در نمونه ساری) و ویریدیفلورول (در دامنه ۱/۹۲٪ در نمونه بابل تا ۱۲/۱۴٪ در نمونه تنکابن). نتایج بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در جدول‌های ۵ و ۶ آمده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی از ۴ منطقه مورد مطالعه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد است (جدول ۷).

جدول ۵- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی از رویشگاه‌های ساری و بابل در شرق استان مازندران

نام ترکیب	شاخص بازداری کوتاس	درصد ترکیب
۱ α-Thujene	۱۰۹۰	ساری ۰/۱۷ بابل ۰/۱
۲ α-Pinene	۱۱۰۶	ساری ۳/۲۶ بابل ۱/۷

0/26	0/55	۱۱۳۸	Camphene	۳
0/55	0/63	۱۱۹۶	Sabinene	۴
2/4	3/27	۱۱۲۵	2- $\beta$ -Pinene	۵
0/77	0/24	۱۲۱۵	1-Octene-3 Ol	۶
0/9	0/77	۱۲۳۵	$\beta$ -Myrcene	۷
0/25	0/36	۱۲۹۳	$\alpha$ -Terpinene	۸
-	0/61	۱۳۱۴	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)	۹
26/48	28/99	۱۳۲۷	Eucalyptol	۱۰
2	0/96	۱۳۴۳	1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl	۱۱
0/65	1/26	۱۳۸۹	$\gamma$ -Terpinene	۱۲
0/19	0/19	۱۴۵۷	$\alpha$ -Terpinolene	۱۳
49/81	10/81	۱۶۳۸	Menthofuran	۱۴
-	0/27	۱۶۷۴	4-Terpineol	۱۵
0/24	0/27	۱۶۹۰	Menthol	۱۶
-	0/19	۱۸۶۸	Carvacrol Methyl Ether	۱۷
0/1	0/24	۱۹۸۳	Borneol acetate	۱۸
-	0/6	۲۰۰۶	Lavandulyl acetate	۱۹
0/33	0/52	۲۰۵۱	Methyl acetate	۲۰
-	0/27	۲۱۷۲	5-Ethyl-m-xylene	۲۱
-	0/28	۲۲۴۰	Copaene	۲۲
0/1	0/16	۲۲۶۴	$\beta$ -Bourbonene	۲۳
-	0/7	۲۲۸۶	$\beta$ -Elymene	۲۴
5	16/41	۲۳۶۱	trans-Caryophyllene	۲۵
-	1/33	۲۴۴۹	$\alpha$ -Humulene	۲۶
0/15	0/99	۲۴۶۲	trans- $\beta$ -Farnesene	۲۷
2/3	12/24	۲۵۲۴	Germacrene-D	۲۸
-	0/46	۲۵۵۷	Germacrene-B	۲۹
0/13	0/9	۲۶۲۲	$\delta$ -Cadinene	۳۰
0/17	0/5	۲۷۵۴	Caryophyllene oxide	۳۱
1/92	10	۲۷۸۱	Viridiflorol	۳۲
0/12	0/53	۲۹۰۰,۵	tau-Cadinol	۳۳
0/1	0/44	۲۹۳۰,۶	$\alpha$ -Cadinol	۳۴
0/2	-	۱۲۵۴	3-Octanol	۳۵
0/4	-	۲۲۸۹	tert-Butylbenzene	۳۶

0/15	-	۲۱۷۲	1(7),5,8-o-Menthatriene	۳۷
0/35	-	۲۴۴۹	$\alpha$ -Humulene	۳۸
0/2	-	۲۵۷۱	Mint furanone	۳۹
0/26	-	۱۵۱۵	1-Octene-3-yl acetate	۴۰

جدول ۶- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی از رویشگاه های نوشهر و تنکابن در غرب استان مازندران

درصد ترکیب		شاخص بازداری کواتس	نام ترکیب	
تنکابن	نوشهر			
1/58	1/04	1107	$\alpha$ -Pinene	۱
0/51	0/2	1139	Camphene	۲
0/41	-	1196	Sabinene	۳
2/06	1/75	1203	2- $\beta$ -Pinene	۴
0/67	0/52	1265	1-Octene-3 Ol	۵
0/55	26/80	1282	$\beta$ -Myrcene	۶
-	1/04	1243	Ethylamylcarbino	۷
0/41	0/52	1313	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)	۸
15/56	26/80	1326	Eucalyptol	۹
0/50	1/04	1336	1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl	۱۰
0/49	0/74	1390	$\gamma$ -Terpinene	۱۱
-	0/28	1514	1-Octene-3-yl acetate	۱۲
13/78	38/97	1641	Menthofuran	۱۳
-	0/25	1675	4-Terpineol	۱۴
-	0/50	1691	Menthol	۱۵
-	1/73	2051	Menthyl acetate	۱۶
-	0/49	2288	Benzene,1,2,4,5-tetramethyl	۱۷
-	0/36	2322	isocaryophyllene	۱۸
22/77	10/42	2361	trans-Caryophyllene	۱۹
2/73	0/86	2449	$\alpha$ -Humulene	۲۰
1/04	0/3	2463	trans- $\beta$ -Farnesene	۲۱
18/59	5/01	2524	Germacrene-D	۲۲
1/19	0/38	2574	$\delta$ -Cadinene	۲۳
0/53	0/33	2686	Caryophyllene oxide	۲۴
12/14	4/94	2768	Viridiflorol	۲۵
0/58	0/25	2839	tau-Cadinol	۲۶

0/77	0/25	2838	$\alpha$ -Cadinol	۲۷
0/18	-	1293	$\alpha$ -Terpinene	۲۸
0/18	-	1690	Carene	۲۹
0/32	-	1983	Borneol acetate	۳۰
0/53	-	2006	Lavandulyl acetate	۳۱
0/45	-	2240	Copaene	۳۲
0/27	-	2264	$\beta$ -Bourbonene	۳۳
1/20	-	2287	$\beta$ -Elymene	۳۴

جدول ۷- آنالیز واریانس ترکیبات شاخص تشکیل دهنده اسانس گیاه پونه آبی در مناطق مختلف استان مازندران (\*\*): معنی داری در سطح ۱ درصد را نشان می دهد.

منابع تغییرات	درجه آزادی	متفوران	ویریدیفلورول	اوکالیپتول	ترانس- کاریوفیلین	جرماکرن- دی
رویشگاه	۳	۱۹۰۲/۲۵**	۶۵/۲۱**	۱۰۹/۲۸۶**	۱۷۶/۰۴۷**	۱۶۲/۱۳۰**
خطا	۸	۰/۰۰۱۵۵	۰/۰۸۳	۰/۰۰۳۱۵	۰/۰۰۶۴	۰/۰۶۰۳۳
ضریب تغییرات	-	۰/۱۳۹۲	۳/۹۵۰۰	۰/۲۲۹۶	۰/۵۸۸۹	۰/۹۰۶

## بحث

پژوهش مورد مطالعه، به منظور بررسی تأثیر شرایط محیطی بر میزان تولید اسانس در گیاه پونه آبی در مازندران انجام شد. رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم ها، تحت تأثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، محیط خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد (۶). اگر چه تولید مواد موثره گیاهان دارویی با هدایت فرایندهای ژنتیکی است ولی به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی مانند ارتفاع از سطح دریا، عامل دما، نور، رطوبت نسبی قرار می گیرد، به طوری که این فاکتورها سبب تغییرات در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد موثره آن ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها و اسانس ها می شود (۱). تفاوت های شیمیایی گیاهان می تواند وابسته به شرایط جغرافیایی و محیطی محل زندگی آنها باشد (۲۱). نتایج حاصل از پژوهش حاضر حاکی از آن است که عوامل محیطی شامل ارتفاع از سطح دریا، اسیدیته خاک، هدایت الکتریکی خاک، میزان عناصر آلی و مغذی خاک و میزان بارش بر روی میزان تولید روغن های

اسانسی و کیفیت آن ها و تعداد ترکیبات تشکیل دهنده آن ها به طور معنی داری تأثیر گذار است (جدول های ۲ و ۴).

ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک و بستر رشد گیاه و محتوای غذایی از عوامل مهم در رشد و نمو و تولید متابولیت های ثانویه هستند. محتوای آب و عناصر غذایی و معدنی خاک و همین طور ازت نقش قابل توجهی در ترکیب شیمیایی و کیفیت روغن های اسانسی ایفا می نمایند (۲۴). خصوصیات فیزیکی خاک، ساختار خاکدانه ها و زهکشی تأثیر بسزایی در رشد ریشه و جذب مواد غذایی دارد. از عوامل مؤثر در تولید کمی و کیفی اسانس ها خاک محل رویش است که اثر مستقیمی بر روی میزان کمی اسانس دارد. در این بررسی آشکار شد که در مناطق شرقی استان، میزان pH و هدایت الکتریکی خاک نسبت به غرب استان بیشتر بود. هم چنین، خاک های منطقه غرب استان دارای مقدار بیشتری از عناصری چون فسفر، ازت، منیزیم و کلسیم نسبت به شرق استان هستند. نتایج نشان داد که درصد کل اسانس و میزان بازده آن در غرب استان



مورد (*Myrtus communis* L.) در استان لرستان هم خوانی دارد (۱۲). نتایج حاصل از پژوهش بررسی تاثیر عوامل محیطی بر روی گیاه مریم نخودی طناز نشانگر آن است که EC بالاتر خاک بر روی درصد اسانس در گیاه تاثیر گذار بوده و منجر به کاهش میزان درصد اسانس شده است (۱۱). هم چنین مطالعه تاثیر محیط‌های شور بر روی گیاه نعنای نشان داد که چنین شرایطی علاوه بر تأثیر منفی بر رشد گیاهان موجب توقف تولید اسانس آن‌ها می‌شود (۲۱). مطالعات بر روی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) از خانواده نعنائیان منجر به حصول نتایج مشابهی شد به این صورت که اعمال تنش شوری منجر به کاهش عملکرد اسانس گردید (۲۳).

در شرق استان (ساری)، مقدار بارندگی نسبت به غرب استان کمتر بوده (جدول ۱) و دریافت نور بیشتر است. هم چنین هدایت الکتریکی خاک نیز بیشتر است. بنابراین در مقایسه با غرب استان، شرایط زندگی برای گیاه پونه آبی کمتر مساعد بوده و در نتیجه گیاه کیفیت ترکیبات ثانویه خود را افزایش داد. متابولیت‌های ثانویه در گیاهان به عنوان ترکیبات دفاعی نیز عمل می‌کنند. تشعشع و تابش نور نقش مهمی در کیفیت روغن‌های اسانسی دارد (۳۱). تحقیقات نشان داده است که افزایش زمان تابش نور منجر به افزایش ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس می‌شود (۱۵).

مطالعات مختلفی در مورد ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در گیاه نعنای گونه پونه آبی صورت پذیرفته است (۱۴، ۱۷، ۲۰، ۲۹). بر طبق مطالعات انجام گرفته، تعداد اجزای تشکیل‌دهنده اسانس گیاه پونه آبی در دامنه ۲۹-۲۰ ترکیب بوده است. شاخص‌ترین ترکیبات عبارت بودند از: منتوفوران، ۸-سینئول، منتول، آلفا ترپینن، کاریوفیلن، ویریدیفلورول، آلفا-پینن و بتا پینن. در تحقیق حاضر، برای نمونه اسانس بابل ۳۱ ترکیب و برای نمونه اسانس ساری ۳۴ ترکیب گزارش شد. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در گیاه پونه آبی در این پژوهش منتوفوران،

نسبت به شرق استان بیشتر است. این امر احتمالاً به دلیل غنی‌تر بودن خاک‌های غرب استان از نظر عناصر آلی و مغذی نسبت به شرق است که منجر به تولید بیشتر متابولیت‌های ثانویه شده است. نتایج حاصل از مطالعه اثر برخی عوامل محیطی (جهت شیب و خاک) بر ترکیبات اسانس گونه مریم نخودی طناز (*Teucrium chamaedrys*) از خانواده نعنائیان در مراتع نامرستاق آمل نیز نشان داد که میزان اسیدیته خاک با درصد اسانس رابطه معکوس داشته ولی میزان نیتروژن خاک رابطه مستقیمی با میزان تولید اسانس دارد (۱۱). میزان عناصر غذایی موجود در خاک به خصوص نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم عامل تعیین‌کننده‌ای در رشد و نمو گیاه و تولید ترکیبات موثره گیاهان است. اسیدیته خاک نیز با تاثیر بر جذب عناصر غذایی عامل مهمی در سنتز ترکیبات فرار است (۱۸). پژوهش انجام شده بر روی مقدار روغن اسانس و ترکیبات گیاه دارویی آویشن وحشی (*Thymus kotschyanus* Boiss.) در منطقه طالقان نشان داد که بین درصد اسانس و ارتفاع از سطح دریا رابطه منفی وجود دارد. افزایش ارتفاع باعث کاهش مقدار اسانس شده اما کیفیت اسانس با افزایش ارتفاع بیشتر شده است. هم چنین همبستگی مثبتی بین عناصر مغذی خاک نظیر منیزیم، کلسیم و مواد آلی و ترکیبات اسانس وجود دارد (۶). مطالعات انجام گرفته بر روی محتوای رزمارینیک اسید، سالویانولیک اسیدها و ترکیبات اسیدهای چرب چند گونه مریم‌گلی (*Salvia* L.) خودروی ایران از رویشگاه‌های مختلف استان‌های خراسان، قزوین، البرز و تهران نیز موید تفاوت‌های موجود در محتوای ترکیبات موثره است (۸، ۱۰).

EC بالاتر خاک سبب محدود کردن رشد گیاه می‌شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌دهنده EC پایین‌تر خاک‌های غرب استان نسبت به شرق استان بوده و مقدار عنصر سدیم در خاک‌های غرب کمتر از مقدار این عنصر در خاک‌های شرق استان است. یافته‌های این تحقیق با مطالعه تاثير شرایط اکولوژیک بر درصد بازده اسانس درختچه

کیفیت آن در گیاه پونه آبی دارند. گیاهان مناطق غرب استان به دلیل شرایط مساعدتر اقلیمی و خاکی و غنی تر بودن خاک از نظر عناصر آلی و مغذی، اسانس بیشتری را تولید کرده اند اما تعداد اجزای تشکیل دهنده اسانس در گیاه پونه آبی برداشت شده از شرق استان بیشتر بود.

ترانس- کاریوفیلین، اوکالیپتول، ویریدیفلورول و جرماکرن- دی بود. برخی ترکیبات در مطالعه حاضر و مطالعات پیشین مشترک بود اما اسانس مورد مطالعه فاقد ترکیب ۸و- سینثول بود.

به عنوان یک نتیجه گیری کلی می توان گفت که عوامل محیطی تاثیر مشخصی بر تولید روغن های اسانسی و

## منابع

- ۱- امید بیگی، ر، ۱۳۷۹، تولید و فراوری گیاهان دارویی، انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۲۴ صفحه.
- ۲- بنی اردلان، س، ۱۳۹۲، بررسی غلظت فلزات سنگین در خاکهای اطراف معدن زرشوران شهرستان تکاب، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دانشگاه زنجان.
- ۳- جاد، و. اس، کمپبل، ک. اس، کلوگ، ای. آ، استیونس، پ. اف، ۱۳۸۲، سعیدی، ح، سیستماتیک گیاهی (دیدگاهی فیلوژنتیکی)، انتشارات جهاد دانشگاهی صنعتی اصفهان، ۵۰۰ صفحه.
- ۴- جم زاد، ز، ۱۳۹۱، فلور ایران (خانواده نعناعیان)، انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۱۰۶۶ صفحه.
- ۵- جمشیدی، م، احمدی آشتیانی، ح، رضازاده، ش، آزاد فتحی، ف، مازندرانی، م، خاکی، ا، ۱۳۸۹، بررسی و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی چند گونه بومی مازندران، فصلنامه گیاهان دارویی، ۳۴، صفحات ۱۸۳-۱۷۷.
- ۶- حبیبی، ح، مظاهری، د، مجنون حسینی، ن، چائی چی، م، ر، فخر طباطبائی، م، بیگدلی، م، ۱۳۸۵، اثر ارتفاع بر روغن اسانس و ترکیبات گیاه دارویی آویشن وحشی (*Thymus kotschyanus* Boiss.) منطقه طالقان، پژوهش و سازندگی، ۷۳، صفحات ۱۰-۲.
- ۷- دهقان، ز، سفیدکن، ف، بخشی خانیکی، غ، ر، کلوندی، ر، ۱۳۸۹، بررسی تاثیر برخی از شرایط رویشگاهی بر کمیت و کیفیت اسانس *Ziziphora clinopodioides* Lam. conditions, Annals of Biological Research, 4(7): 85-90.
- 13- Abbaszadeh, B., Valadabadi, S. A. R., Aliabadi Farahani, H., Hassanpour Darvishi, H., 2009, Studying of essential oil variations in leaves of *Mentha species*, *African Journal of Plant Science*, 3(10): 217-221.
- 14- Abbaszadeh, B., Teymoori, M., Pouyanfar, M., Rezaei, M. B., Mafakheri, S., 2013, Growth and essential oil of *Mentha longifolia* L. (var. *amphilema*) from different ecological
- 15- Bernath, J., 2000, Medicinal and Aromatic Plants, Mezo Publication, Budapest, pp. 667.
- 16- Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Eslami, B., 2010, Biological activity of *Mentha aquatica* L., *Pharmacologyonline*, 2: 611-619.

- 17- Esmaili, A., Rustaiyan, a., Masoudi, Sh., Nadji, K., 2006, Composition of the Essential Oils of *Mentha aquatica* L. and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran, Journal of Essential oil Research, 18(3): 263-265.
- 18- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Scheffer, J. J. C., 2008, Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils, Flavour and Fragrance Journal, 23(4): 213-226.
- 19- Gulluce, M., Shain, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., Ozcan, H., 2007, Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. spp. *longifolia*, Food Chemistry, 103: 1449-1456.
- 20- Jerkovic, I., Mastelic, J., 2001, Composition of Free and Glycosidically Bound Volatiles of *Mentha aquatica* L., Croatica Chemica Acta, 74(2): 431-439.
- 21- Keltawi, N., Croteau, R., 1987, Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reversal by foliar applied cytokinin. Phytochemistry, 26(5): 1333-1334.
- 22- Oreizi, E., Rahiminejad, M. R., Asghari, Gh. R., 2014, Influence of environment on glandular trichomes and composition of essential oil of *Perovskia abrotanoides* Karel., Jundishapur J Nat Pharm prod, 9(4): 1-6.
- 23- Ozturk, A., Ipek, A., Unlukara, A., Gurbuz, B., 2004, Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm depression of growth and essential oil formation in (*Melissa officinalis* L.), Pakistan Journal of Botany, 36: 787-792.
- 24- Rajeswara, R., Bhaskaruni, R., Kakaraparthi, P. Sastry., 1990, Variation in Yields and quality of Geranium, under varied climatic and fertility conditions, Journal of Essential oil Research, 2: 73-79.
- 25- Sefidkon, F., Rahimi-Bidgoli, A., 2003, Quantitative and qualitative variation of essential oil of *Thymus kotschyanus* by different methods of distillation and stage of plant growth, Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 15: 1-22.
- 26- Shahi, A. K., Chandra, S., Dutt, P., Kaul, B. L., Tava, A., Avato, P., 1999, Essential oil composition of *Mentha × piperata* L. from different environments of north India, Flavour and Fragrance Journal, 14: 5-8.
- 27- Singh, A. K., Raina, V. K., Naqvi, A. A., Patra, N. K., Kumar, B., Ram., P., Khanuja, S. P. S., 2005, Essential oil composition and chemoarrays of menthol mint (*Mentha arvensis* L. f. *Piperascens* Malinvaud ex. Hoimes) cultivars, Flavour and Fragrance Journal, 20: 302-305.
- 28- Theriault, M., Caillet, K., Lacroix, S., 2006, Antiradical, antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products, Food Chemistry, 98: 490-501.
- 29- Zamfirache, M. M., Burzo, I., Padurariu, C., Boz, I., Andro, A. R., Badea, M. L., Olteanu, Z., Lamban, C., Truta, E., 2010, Studies regarding the chemical composition of volatile oils from some spontaneous and cultivated Lamiaceae species, Biologie Vegetala, 6(3): 43-49.
- 30- Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I., 2006, Biochemical activities of Iranian *Mentha piperata* L. and *Mentha communis* L. essential oils, Phytochemistry, 67: 1249-1255.
- 31- Yamaura, T., Tanaka, S., Tobana, M., 1989, Light dependent formation of glandular trichomes and monoterpenes in thyme seedlings, Phytochemistry, 28: 741-744.

## The impact of the environmental factors on yield and chemical compositions of essential oil of water mint, *Mentha aquatica* L. from different habitats of Mazandaran province

Mohsenpoor M.<sup>1</sup>, Vafadar M.<sup>1</sup>, Mighani H.<sup>2</sup> and Vatankeh E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biology Dept., Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Chemistry Dept., Faculty of Science, University of Golestan, Gorgan, I.R. of Iran

### Abstract

Water mint grows widely in Northern provinces of Iran. Plant shoots and soil samples have been collected before flowering phase from four different sites, east to the west of the province including Sari, Babol, Nowshahr and Tonekabon in the spring season 2013 in three replications. Essential oil extraction was carried out by hydro distillation method with Clevenger apparatus and essential oil yield has been calculated in different localities. Isolation and identification of the essential oil components have been carried out with Gass Chromatography (GC) and GC/MS. Soil features including elements amount, acidity (pH) and electrical conductivity (EC) have been measured. Data analysis has been carried out with SAS software ver. 9.1. The results indicated that the essential oil yield based on dry plant weight was between 0.254% in Sari (east of the province) to 0.474% in Nowshahr (west of the province). The number of essential oil components showed a reverse trend in which the oil of Nowshahr consisted of the least components (26 components) and the oil of the Sari composed of the most (34 components). The most characteristic constituents of the oils were menthofuran, trans-caryophyllene, Eucalyptol, Germacrene- D and viridiflorol. The results of the soil experiments showed that decreasing of the soil pH and EC, increasing in N, P and soil organic and nutrient elements and more precipitation in the west of the province resulted in more oil yield but increasing of the soil pH and EC in the east leads to more components of the oil.

**Key words:** essential oil, *Mentha aquatica* L., Mazandaran, environmental factors