نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره پیاپی ۳۴، سال نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳ / صفحات: ۴۳-۳۴

بررسی مواد موثره اسانس در سرشاخه‌های گلدار و عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه دارویی پونه *Mentha longifolia* (L.) Huds. در شرایط طبیعی و زراعی در دو مرحله رویشی و زایشی

آرزو مستعد*[1]، آرین ساطعی[2] و معصومه مازندرانی[3]

[1] کارشناس‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[2] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[3] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۲/٤/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۱۱

چکیده

این تحقیق با هدف شناخت تغییرات میزان مواد موثره اسانس و نیز عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره سر شاخه‌های گیاه پونه (*Mentha longifolia*) در دو مرحله رویشی و زایشی تحت شرایط زراعی (استفاده از کود حیوانی و نیز عدم استفاده از آن) و مقایسه آن با رویشگاه طبیعی صورت گرفت. بدین منظور سر شاخه‌های گیاه در دو مرحله رویش و زایشی از رویشگاه طبیعی آن واقع در منطقه عباس‌آباد استان گلستان و همچنین از گیاهان کشت شده در مزرعه دارای کودحیوانی گاوی و بدون کود جمع‌آوری گردید. نتایج تجزیه اسانس نشان داد که در مزرعه حاوی کود ترکیب سیرینگل و در رویشگاه طبیعت ترکیب آزولن از بالاترین میزان برخوردار بودند. همچنین عملکرد آنتی‌اکسیدانی با سه روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، میزان مهار رادیکال‌های آزاد و سنجش قدرت احیاء کنندگی ارزیابی گردید. در رابطه با ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و سنجش قدرت احیا کنندگی، گیاه خودرو در شرایط طبیعی از بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در فاز زایشی نسبت به شرایط زراعی (دارای کود و بدون کود) برخوردار بود. در رابطه با میزان مهار رادیکال‌های آزاد و نیز قدرت احیاءکنندگی نیز بیشترین میزان در فاز رویشی و زایشی در تیمار بدون کود مشاهده شد.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، اسانس، پونه کوهی، سنجش قدرت احیا کنندگی، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، میزان مهار رادیکال‌های آزاد

مقدمه

اسانس‌ها ترکیبات معطرو طبیعی می‌باشند که می‌توانند حاوی ترکیب‌های مختلف با غلظت‌های متفاوت باشند. این ترکیبات از اندام‌های مختلف گیاهان مانند دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، غنچه و گل استخراج می‌شوند (Naeini et al., Burt, 2004 ;2009). کمیت و کیفیت ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس می‌تواند تحت تاثیر شرایط آب و هوایی، بافت خاک، اندام گیاه، سن و مراحل رشد گیاهان متفاوت باشد (Bakkali et al., 2007). تحقیقات نشان داده است شرایط استرس می‌تواند کمیت و کیفیت اسانس را تغییر دهد (کامکار و همکاران، ۱۳۹۰). در گیاهان دارویی و معطر، خشکی ممکن است در میزان برخی از ترکیبات و عملکرد متابولیت‌های ثانویه اثر معنی‌داری داشته باشد (Petropoulos et al., 2008).

*نویسنده مسئول: armostaed@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

کمیت و کیفیت ترکیبات اسانس در رویشگاه‌های طبیعی می‌تواند به فاکتورهایی مانند محل رویش، ارتفاع، روش‌ها و زمان جمع‌آوری و روش خشک کردن نمونه‌ها، نوع خاک، اقلیم و نوسانات فصلی و اندام‌های گیاهی مرتبط باشد. با این حال عامل تعیین کننده اصلی برای ترکیبات اسانس قطعا ژنتیک گونه‌ها است (Al-Jaber et al., 2012). عنوان شده است که کاهش اسانس تحت تنش، ممکن است به علت اختلال در فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌ها و کاهش رشد گیاه باشد (Flexas and Medrano, 2002). حسنی و همکاران (۱۳۸۱) اظهار داشتند که تنش آبی اثر معنی‌داری بر اسانس ریحان داشت و با کاهش مقدار آب خاک، عملکرد اسانس کاهش و در مقابل، درصد اسانس افزایش یافت.

خانواده نعنائیان، یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهی است که دارای پراکنش جهانی بوده و شامل حدود ۲۰۰ جنس و بین دو تا پنج هزار گونه از بوته‌های معطر و درختچه‌های کوتاه می‌باشد (Burbott and Loomis, 1969). پونه محرک، مقوی، ضد اسپاسم، ضد نفخ، منقبض کننده کیسه صفرا، آرام بخش و ملین است. در مجموع اسانس پونه در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی، شیرینی‌سازی، نوشابه‌سازی و صنایع ادویه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bowles and Juneja, 1998; Putievsky et al., 1986).

تحقیقات نشان داده است بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پونه کوهی شامل پولگون (۳۱/۵٤ درصد) و ۱,۸ سینئول (۱۵/۸۹درصد) می‌باشند. در مطالعه‌ای که توسط Gulluce و همکاران (۲۰۰۷) روی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی اسانس پونه کوهی صورت گرفت، بیشترین ترکیبات اسانس را سیس پیپریتون اپوکساید (۱۸/٤ درصد)، پولگون (۱۵/۵ درصد) و پیپریتون اکساید اعلام نمودند. همچنین آنها نشان دادند که تأثیر ضد میکروبی اسانس پونه بیشتر از عصاره آن می‌باشد (Gulluce et al., 2007).

ترکیبات آنتی اکسیدان از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که میزان آنها در گیاهان به شرایط تنش در محیط بستگی دارد (Verpoorte et al., 1999). نقش آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان عوامل کاهش‌دهنده و محدود کننده آسیب‌های اکسیداتیوی به ساختارهای زیستی به وسیله غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد که از این طریق نقش مهمی در جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپید ایفا می‌کنند (Gulcin et al., 2011; Barros et al., 2010؛ Majewska et al., 2011).

این تحقیق با هدف شناخت تغییرات میزان ترکیبات پونه (*Mentha longifolia*) در فصول مختلف سال و همچنین اثر کود حیوانی در قیاس با عدم استفاده از آن بر ترکیبات پونه و نیز مقایسه آن با ترکیبات پونه در رویشگاه طبیعی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در نیمه اول آبان سال ۱۳۹۰ ریزوم‌های گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.) از منطقه عباس‌آباد (کیلومتر ۵ جاده علی‌آباد – فاضل‌آباد) واقع در استان گلستان جمع‌آوری و به مزرعه دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان انتقال داده شد. در مزرعه دو کرت هریک به مساحت ۲۰ مترمربع (عرض ۲ متر و طول ۱۰ متر) شخم زده و جهت کشت آماده گردید. به یکی از کرت‌ها کود گاوی اضافه شد. در هر کرت چهار ردیف به فاصله ٤۰ سانتی‌متر و در هر ردیف ۱۲ ریزوم کشت گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده شامل نمونه‌های فصل‌های زمستان، بهار و تابستان بودند. از هر سه منطقه (مزرعه بدون کود حیوانی، مزرعه دارای کود حیوانی و رویشگاه طبیعی) نمونه‌ها در فصل‌های

Archive of SID

www.SID.ir

مختلف در زمان یکسانی برداشت شدند. سپس سرشاخه‌ها در دو مرحله یکی قبل از گلدهی (اردیبهشت‌ماه) و دیگری بعد از گلدهی (مردادماه) جمع‌آوری و در دمای اتاق و در تاریکی خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک برای تهیه عصاره و اسانس خرد شده و به صورت پودر در آمدند. چون پونه دارای ریزوم می‌باشد و فاقد ریشه‌های عمیق است. بنابراین نمونه‌برداری از خاک فقط از عمق ۳۰ الی ٤٠ سانتی‌متر انجام شد.

جدول ۱: آنالیز خاک دو منطقه

منطقه	هدایت الکتریکی	pH	EC	درصد موادخنثی شونده	کربنات آلی	ازت کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	درصد اشباع	رس	لای	ماسه	بافت
عباس‌آباد	۸-۰	۷/۹	۲	۵-۲/۲	۱/۵۵	۱۶-۰	٤/۲	۱۳۰	-	۲٦	٥٤	۲۰	سیلت
مزرعه	۸-۷/۵	۷/۸	۱	۲۰	۱/۳۱	٪۱۳	-	٤/۷	٤۷/۸	۳۲	٤۸	۲۰	سیلت کلی‌لوم

جدول ۲: میانگین آب و هوایی منطقه عباس آباد

پارامترهای جوی	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	سالیانه
میانگین درجه حرارت هوا (°C)	۱۳/۸	۱۸/۵	۲٤/۸	۲۷/۵	۲۸/٤	۲۵/٤	۲۱/۰	۱٤/۷	۱۰/۲	٦/۹	۷/٦	۱۰/۷	۱۷/۵
میانگین رطوبت نسبی هوا(٪)	۷۵/٤	۷۵/۳	٦۰/۵	٦۲/٤	۵۸/۸	٦۵/۱	٦۹/۳	۷۱/٤	۷۳/۵	۷۲/۸	۷۵/٤	۷۱/٦	٦۹/۳
میزان بارندگی (mm)	۵۹/۰	۵۰/۰	۲۵/۰	۲۳/۰	۲٦/۹	٦۰/٤	۷۷/۳	٦۸/۱	۵۹/٤	۵۸/۵	۱۰۸	۷۷/۰	٦۹۳/۱

جدول ۳: جدول میانگین آب و هوای منطقه گرگان

پارامترهای جوی	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	سالیانه
میانگین درجه حرارت هوا (°C)	۱٤/۲	۱۹/۱	۲٤/۷	۲۷/۵	۲۸/٤	۲٦/۱	۲۱/۲	۱۵/٦	۱۰/٤	۸/۰	۷/۸	۹/۹	۱۷/۷
میانگین رطوبت نسبی هوا(٪)	۷۳/۷	۷۱/۷	٦۳/۱	٦۵/۰	٦٦/۱	٦۸/۸	٦۸/۹	۷۲/۰	۷۵/٤	۷۵/۷	۷٤/۵	۷٤/۳	۷۰/۸
میزان بارندگی (mm)	۵۳/۰	٤٦/٤	۱۸/۸	۲۲/٤	۲۱/۲	۳٤/٤	۵٤/۸	٦۱/۱	۵۳/۹	٤٦/۲	۵۷/۷	۵۸/۸	۵۲۹/۸

استخراج عصاره و اسانس: برای تهیه عصاره گیاه پونه، نمونه‌های خشک شده خرد و به مقدار ۲۰۰ گرم از این نمونه‌ها به ۳۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و به‌مدت ۲٤ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شدند. سپس از صافی عبور و محلول بدست آمده دردستگاه بن ماری در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به‌مدت ۳ روز و خشک گردید. از این عصاره در سنجش قدرت احیا کنندگی، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل استفاده شد.

برای تهیه اسانس نیز مقدار ۱۵۰ گرم از نمونه‌های خشک پودر شده وزن گردید و توسط دستگاه کلونجر طرح جایمند ـ رضایی برای آنالیز مهمترین مواد موثره اسانس پونه بعد از ٤ ساعت، اسانس استخراج شد.

Archive of SID

www.SID.ir

سنجش قدرت احیا کنندگی: برای تهیه عصاره گیاه ٤٥ گرم از پودر گیاه در ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول خالص حل و به‌مدت ٢٤ ساعت در دستگاه شیکر قرار داده شد. سپس محلول و عصاره صاف شده دردستگاه بن ماری با دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. ۰/۱ گرم از عصاره خشک با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول به حجم رسانیده و از روی آن غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ ppm تهیه شد. سپس به یک میلی‌لیتر از عصاره‌های اندام‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (Butylated Hydroxy Ansiol) BHA و Butylated Hydroxy) BHT (Toluene با غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵ ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ ppm) ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH٦/٦ و ۲/۵ میلی‌لیتر فرو سیانید پتاسیم اضافه شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به هر کدام ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید افزوده و به‌مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۷۰ سانتریفوژ گشت. سپس به ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن۳ اضافه و جذب آن در ۷۰۰ طول موج نانو متر خوانده شد (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007).IC50 (غلظتی که درآن ۵۰درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) مربوط به هر نمونه و استانداردهای BHT, BHA با معادله خط مربوط محاسبه گردید.

سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل: ۰/۱ گرم از وزن عصاره خشک با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول به حجم رسانیده و از روی آن غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ ppm آماده شد. در داخل لوله‌های آزمایش ۰/۳ میلی‌لیتر از عصاره‌های اندام‌های مختلف و آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA, BHT با غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ppm) که مانند تست قدرت احیاء کنندگی تهیه شد را برداشته به هر کدام ۳ میلی‌لیتر معرف TAC اضافه و به‌مدت یک ساعت و نیم در بن ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داد شد. بعد از سرد شدن جذب نمونه را در طول موج ٦٩٥ نانو متر قرائت شد. (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007).

سنجش میزان مهار رادیکال‌های آزاد: ۰/۱گرم از وزن عصاره خشک با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول به حجم رسانیده و از روی آن غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ ppm تهیه شد. سپس ۳ میلی‌لیتر از عصاره اندام‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ ppm) به یک میلی‌لیتر محلول DPPH اضافه شده و مخلوط شد. لوله‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و جذب را در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007).

R= (AD-AS/AD)*100

AD[1]: جذب DPPH رقیق‌شده با متانول به نسبت ۱: ۱

AS[2]: جذب هر یک از نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر

R طبق فرمول محاسبه و نمودار مربوط به هر عصاره جداگانه بر اساس غلظت R رسم گردیده و معادله خط نمودارها بدست آمد و IC50 مربوط به هر نمونه (غلظتی که در آن ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی (ANOVA) و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها و شاهد بر اساس آزمون دانکن وهمبستگی توسط نرم‌افزار آماری SPSS با سه تکرار انجام گرفت. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد .Error Bars در نمودارها نشان‌دهنده SD می‌باشد.

نتایج

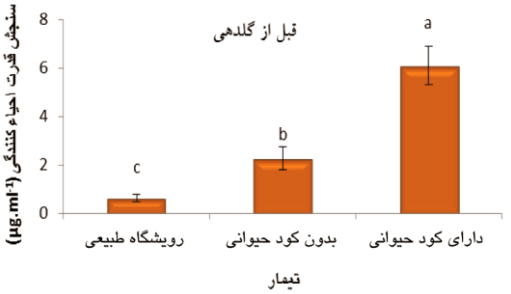
بررسی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در فاز زایشی و رویشی گیاه به روش RP (سنجش قدرت احیاء کنندگی): طبق نتایج بدست آمده عصاره حاصل از

1- Absorbance of DPPH
2- Absorbance of sample

Archive of SID
www.SID.ir

سر شاخه‌های گیاه پونه به خودرو از بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی و تیمار بدون کود از کمترین میزان آنتی‌اکسیدانی برخوردار بود. همچنین بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی در فاز رویشی نیز نشان داد بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار کوددار و کمترین آن در گیاهان خودرو بود (شکل ۱ و ۲).

شکل ۱: اثر عملکرد آنتی‌اکسیدانی سرشاخه‌های گیاه پونه در سه رویشگاه متفاوت در مرحله بعد از گلدهی



شکل ۲: اثر عملکرد آنتی اکسیدانی سرشاخه‌های گیاه پونه در سه رویشگاه متفاوت در مرحله قبل از گلدهی

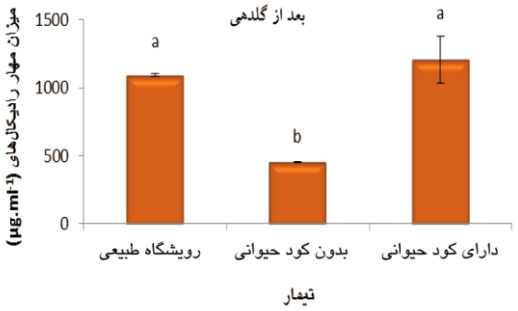
بررسی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در فاز زایشی و رویشی گیاه پونه به روش TAC (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل): نتایج بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل عصاره سرشاخه‌های گیاه پونه در تیمارهای مختلف در فاز زایشی در شکل ۳ حاکی از آن است که گیاه خودرو از بیشترین و تیمار کوددار از کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل برخوردار بود. طبق شکل ٤، در تیمارهای مختلف در فاز رویشی، بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل مربوط به تیمار گیاه خودرو در رویشگاه طبیعی و کمترین آن مربوط به تیمار بدون کود بود.

شکل ۳: مقایسه اثر کاربرد کود حیوانی و عدم استفاده از آن در شرایط مزرعه و نیز رویشگاه طبیعی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل سرشاخه‌های گیاه پونه در مرحله بعد از گلدهی

شکل ٤: مقایسه اثر کاربرد کود حیوانی و عدم استفاده از آن در شرایط مزرعه و نیز رویشگاه طبیعی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل سرشاخه‌های گیاه پونه در مرحله قبل از گلدهی

بررسی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در فاز زایشی و رویشی گیاه به روش DPPH (میزان مهار رادیکال‌های آزاد): در بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره سرشاخه‌های گیاه پونه از طریق میزان مهار رادیکال‌های آزاد در تیمارهای مختلف در فاز زایشی نتایج نشان داد که بیشترین میزان عملکرد مربوط به تیمار دارای کود و کمترین آن مربوط به گیاه بدون کود بود (شکل ۵). همچنین در فاز رویشی، تیمار بدون کود عصاره سرشاخه‌های گیاه پونه از کمترین میزان میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و گیاه خودرو از بیشترین میزان برخوردار بود.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۵: مقایسه اثر کاربرد کود حیوانی و عدم استفاده از آن در شرایط مزرعه و نیز رویشگاه طبیعی بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد سرشاخه‌های گیاه پونه بعد از گلدهی

شکل ٦: مقایسه اثر کاربرد کود حیوانی و عدم استفاده از آن در شرایط مزرعه و نیز رویشگاه طبیعی بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد سرشاخه‌های گیاه پونه قبل از گلدهی

نتایج آنالیز اسانس

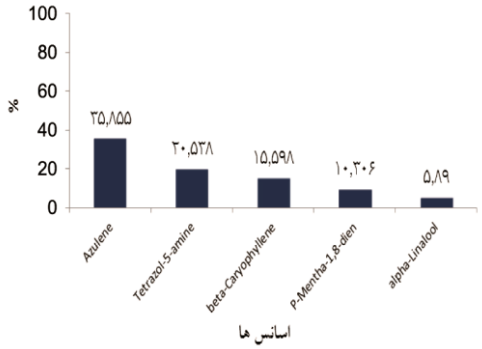
نتایج حاصل از آنالیز اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در دو منطقه مختلف در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

همانطور که از داده‌های مندرج در جدول ۱ قابل بررسی است اسانس در سر شاخه‌های گلدار پونه در مزرعه دارای کود حیوانی از ۱۳ ترکیب تشکیل شده که مهمترین مواد موثره آن شامل Syringol (٤٧/٧٤٢ درصد)، Terpinen-4-ol (۱۷/۳۰۳ درصد)، Anis alcohol (١٤/٥٩٨ درصد)، alpha-eudesmol (٩/٤٥٥ درصد)، Limonene (٤/٨٤٥ درصد) بود.

جدول ۱: نتایج آنالیز مواد موثره روغن اسانسی سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در مزرعه دارای کود حیوانی

شماره	ماده تشکیل‌دهنده	زمان‌بازداری	%
۱	alpha-Pinene	٥/٢٥٤	٠/٥٦٣
۲	Sabinene	٦/٣٠٦	٠/٦٥٦
۳	beta- Pinene	٦/٤٨٥	١/٠٢٩
٤	beta-Myrcene	٦/٧٣١	٠/٦٢٢
٥	Limonene	٨/١١٤	٤/٨٤٥
٦	gamma-Terpineol	٨/٢٦٨	٠/٥٢٢
۷	Terpinen-4-ol	١٧/٥٨٨	١٧/٣٠٣
۸	Anis alcohol	٢٢/٢٨٩	١٤/٥٩٨
۹	Syringol	٢٢/٤١٧	٤٧/٧٤٢
١٠	alpha-eudesmol	٢٤/٦٢٢	٩/٤٥٥
١١	Caryophyllene	٢٦/١٢٥	٠/٥٤٥
١٢	beta-Cubebene	٢٧/١٩٩	١/٥٤٢
١٣	Eremophilene	٣٣/٣٨٨	٠/٥٧٨

شکل ۷: بیشترین ترکیبات موثره اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در در مزرعه دارای کود حیوانی



شکل ۸: بیشترین ترکیبات موثره اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در رویشگاه طبیعی

www.SID.ir

جدول ۲: نتایج آنالیز مواد موثره روغن اسانسی سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در رویشگاه طبیعی

شماره	مواد تشکیل دهنده	زمان بازداری	درصد
۱	alpha-Pinene	۵/۲۵٦	۰/۵۲۰
۲	Phellandrene	٦/۳۰۷	۰/٤۰۲
۳	beta- Pinene	٦/٤۸۷	۰/۷٦٤
٤	beta-Myrcene	٦/۷۲۹	۰/۳۷۳
٥	alpha-Linalool	۸/۱۳۲	٥/۸۹۰
٦	1,8-Cineole	۸/۲۷۰	۲/٥۸۸
۷	Pulegone	۱٥/۰۲۹	۳/۰۷۳
۸	P-Mentha-1,8-dien	۱۷/۱۳۱	۱۰/۳۰٦
۹	Tetrazol-5-amine	۱۷/۲٥٥	۲۰/۸۳٥
۱۰	beta-Caryophyllene	۱۷/٥۹٦	۱٥/٥۹۸
۱۱	---	۱۷/۷٤۷	۰/۲٤۷
۱۲	beta-Eremophilene	۱۸/۱۹۸	۰/۹۷۷
۱۳	Azulene	۲۲/۳۸٥	۳٥/۸٥٥
۱٤	---	۲۲/٤۹٦	۰/۰۱٤
۱٥	Alloaromadendren	۲٤/٥۹٦	۱/٦۷۱
۱٦	Linalool,formate	۳۳/۱۰۸	۰/۳۲۷
۱۷	alpha-Selinene	۳۳/۲۱۰	۰/۸٥۷

همانطور که از داده‌های مندرج در جدول ۲ قابل بررسی است اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در رویشگاه طبیعی از ۱۷ ترکیب تشکیل شده و مهمترین مواد موثره آن شامل Azulene (۳٥/۸٥٥ درصد)، Tetrazol-5-amine (۲۰/٥۳۸ درصد)، beta-Caryophyllene (۱٥/٥۹۸ درصد)، P-Mentha-1,8-dien (۱۰/۳۰٦ درصد)، alpha-Linalool (٥/۸۹۰ درصد) بود.

بحث

تحقیقات نشان داده است عملکرد آنتی اکسیدانی به عوامل محیطی، غلظت و ترکیب متابولیت‌های ثانویه نظیر فلاونوئیدها و فنل کل وابسته است (Motalleb et al., 2005; Mazandarani et al., 2011; Sokol- Letowska et al., 2007) و تحت تاثیر دما و زمان آزمایش قرار می‌گیرد (Sokol- Letowska et al., 2007).

با توجه به مقادیر بالای نیتروژن و فسفر در کودهای حیوانی، از آنجائی که نیتروژن جزء اصلی مولکول‌هایی مانند آمینواسیدها، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها می‌باشد، لذا افزایش میزان نیتروژن با افزایش میزان فتوسنتز، میزان سنتز کربوهیدرات‌ها را افزایش داده و در ادامه با افزایش بکارگیری اسکلت کربنی تولیدی در سنتز پروتئین، میزان تولید پروتئین‌ها از جمله آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. این موضوع در گزارش محققان مختلف بیان شده است. به‌عنوان مثال در گزارشی اعلام شده است که مقادیر متفاوت نیتروژن به شکل نیترات و آمونیم روی سه گیاه ذرت، جو و آرابیدوپسیس فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تاثیر قرار می‌دهد و منجر به افزایش آن می‌شود (Medici et al., 2004).

در پژوهش حاضر، طبق بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی به روش TAC در فاز زایشی، بیشترین عملکرد آنتی اکسیدانی مربوط به گیاه خودرو بود که با توجه به تنش‌های اکولوژیکی، دما و نور در زمان گلدهی و در نتیجه افزایش متابولیت‌های قابل توجیه است. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی، اسانس *Menthalongifolia* قادر به کاهش رادیکال‌های DPPH به فرم DPPH-H بود و فعالیت آن به مقدار این رادیکال‌ها وابسته بود. در راستا شخص گردید اسانس فوق میزان DPPH را به میزان ۵۰ درصد کاهش داد (Dzamic et al., 2010).

نتایج حاضر در جدول‌های ۱ و ۲ و اشکال ۷ و ۸ نشان داد که اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه پونه در رویشگاه طبیعت از ۱۷ ترکیب تشکیل شده که مهمترین مواد موثره آن شامل Azulene (۳٥/۸٥٥ درصد)، Tetrazol-5-amine (۲۰/٥۳۸ درصد)،

Archive of SID

www.SID.ir

β-Caryophyllene (۱۵/۵۹۸ درصد)، P-Mentha-1,8-dien (۱۰/۳۰۶ درصد) و α-Linalool (۵/۸۹۰ درصد) بود، در حالی که اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه در زمین زراعی کودار از ۱۳ ترکیب تشکیل شده و مهمترین مواد موثره آن شامل Syringol (۴۷/۷۴۲ درصد)، Terpinen-4-ol (۱۷/۳۰۳ درصد)، Anis alcohol (۱۴/۵۹۸ درصد)، α-eudesmol (۹/۴۵۵ درصد) و Limonene (۴/۸۴۵ درصد) بود.

در گزارشی از محمودی (۱۳۸۹) در مورد گیاه پونه کوهی، نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس در سرشاخه‌های گلدار بدین صورت گزارش شد: پولگون، ۳۱/۵۴ و سینولئون ۱۵/۸۹ درصد با بیشترین و اسپاتولنول با ۰/۵۲ درصد کمترین میزان. تحقیقات نشان داده است که در مراحل اولیه رشد گیاه قبل از گلدهی، ترکیبات مونوترپنوئیدی (پولگون، منتوفوران[1]، منتوفوران[1]، منتون) در اسانس برگ‌های جوان بیشتربوده، در حالی که بعد از مدتی (زمان گلدهی) ماده موثره منتول از ترکیبات اصلی گیاه می‌شود (Voirin et al., 1990) که بدین وسیله دارای خواص ضدمیکروبی و ضد باکتریایی است (Iscan et al., 2002).

کمیت و کیفیت ترکیبات اسانس در رویشگاه‌های متفاوت اکولوژیک و از جمله زراعی بسیار مختلف می‌باشد که می‌تواند به عواملی مانند محل رویش، ارتفاع، روش‌ها و زمان جمع‌آوری و روش خشک کردن نمونه‌ها، نوع خاک، اقلیم و نوسانات فصلی و اندام‌های گیاهی مرتبط باشد. با این حال تعیین کننده اصلی برای ترکیبات اسانس قطعا ژنتیک گونه‌ها می‌باشد که به نوبه خود، همه این عوامل با یکدیگر روی فعالیت‌های زیستی اسانس‌ها اثر می‌گذارند (Al-Jaber et al., 2011).

طبق تحقیقاتی که توسط کامکار و همکاران (۱۳۹۰) بر روی پونه ایرانی صورت گرفت، تعداد ۳۹ ترکیب در اسانس شناسایی شد و این ترکیبات در مجموع ۹۱/۷ درصد از اسانس را تشکیل می‌دادند. اجزای اصلی اسانس پونه را ترکیبات اکسیژن دار مونوترپنی تشکیل می‌دادند که به‌ترتیب شامل سیس پیپریتون اکسید[2] (۲۷/۲۳ درصد)، آلفاترپینول[3] (۱۸/۶۴ درصد)، منتون[4] (۱۰/۹۷ درصد)، پولگون[5] (۹/۷۳ درصد) و پیپریتون اکسید[6] (۸/۷۳ درصد) است.

Mimica-Dukic و همکاران در سال ۲۰۰۸ اسانس پونه را دریوگسلاوی موردآزمایش قراردادند ودریافتند ترکیبات عمده آن شامل پیپریتون و منتون است، در حالی که Jalilzadeh-Amin و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات اسانسی این گیاه را شامل پولگون (۱۷/۳درصد)، کاریوفیلن اکسید (۱۴/۸ درصد)، ایزومنتون (۱۲/۴درصد) و ۸، ۱- سینئول (۱۹/۸ درصد) اعلام داشتند.

طبق تحقیقات Hafedh و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی اثربخشی اسانس پونه علیه باکتری‌های بیماری‌زا نشان داد که مهمترین مواد موثر عبارت بودند از منتول، پولگون، منتون، سینئول، تریپنول ۴- اُل. همچنین در این تحقیق عنوان شد که اسانس گیاهان یک منبع جایگزین از ترکیبات طبیعی ضدباکتریال برای باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد، زیرا آنها منبع غنی از مواد شیمیایی فعال را تشکیل می‌دهند و به‌طور معمول به‌عنوان عطر و طعم دهنده و چاشنی برای افزودنی‌های غذایی استفاده می‌شوند.

تحقیقات نشان داده است که میزان و کیفیت مواد موثره اسانس، با توجه به تغییرات شرایط محیطی از

1- Menthophoran

2- Cispiperitone epoxide
3- α-terpineol
4- Menthone
5- Pulegone
6- Cispiperitone epoxide

Archive of SID

www.SID.ir

قبیل آب و هوا، درجه حرارت، میزان بارندگی، pH و سایر مختصات خاک تغییر می‌کند. با توجه به تغییرات شرایط اکولوژیکی (شرایط آب و هوایی)، میزان اسانس بدست آمده از طبیعت با زمین زراعی یکسان نبوده و از میزان ترکیبات اسانسی بیشتری برخوردار بود.

نتیجه‌گیری نهایی

در تحقیق حاضر باتوجه به اینکه اسانس سرشاخه‌های گلدار پونه در رویشگاه طبیعی شامل ۱۷ ترکیب و در رویشگاه زراعی کوددار ۱۳ ترکیب بوده و مهمترین ترکیبات مواد موثره در دو رویشگاه متفاوت بوده است می‌توان نتیجه گرفت که کمیت و کیفیت ترکیبات اسانس در رویشگاه‌های متفاوت اکولوژیک و ازجمله زراعی بسیار مختلف می‌باشد و باتوجه به تغییرات شرایط محیطی تغییر می‌کند. همچنین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی هم بسته به‌عوامل محیطی و مراحل رشدی گیاه (فاز رویشی و زایشی) متفاوت بود. طبق بررسی حاضر، عملکرد آنتی‌اکسیدانی با روش TAC در فاز زایشی بیشترین عملکرد آنتی اکسیدانی مربوط به گیاه خودرو در فاز رویشی مربوط به گیاه بدون کود بود. به روش DPPH (میزان مهار رادیکال‌های آزاد) بیشترین عملکرد آنتی‌آکسیدانی در فاز زایشی در گیاه بدون کود مشاهده شد. در روش RP (سنجش قدرت احیاء کنندگی) گیاه در فاز زایشی، گیاه خودرو از بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی و تیمار بدون کود از کمترین میزان برخوردار بود و در فاز رویشی تیمار کوددار بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص می‌داد.

منابع

حسنی، ع.، و امید بیگی، ر. (۱۳۸۱). اثرات تنش آبی بر برخی خصوصیات مورفولوژیی، فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه ریحان. مجله دانش کشاورزی دانشگاه تبریز. جلد ۱۲، شماره ۳، صفحات ۵۹-٤۷.

کامکار، ه.، شریعتی‌فر، ن.، جمشیدی، ا.و.، جبلی جوان، ا.، صادقی، ط. و ضیغم منفرد، م. (۱۳۹۰). مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره پونه (*Mentha longifolia*) ایرانی در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامه گیاهان دارویی. سال یازدهم. دوره ۱۲. صفحات ۱۹٤-۱۸۵.

محمودی، ب. (۱۳۸۹)، آشنایی با اسانسهای معطر گیاهی و اثرات شفابخش آنها: به انضمام نسخ درمانی و راهنمای مصور رنگی آروماتراپی، انتشارات نور دانش. صفحات ٦-۱.

Al-Jaber, H.I., Al-Qudah, M.A., Barhoumi, L.M., Abaza, I.F. and Afifi, F.U. (2012). Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried *Salvia palaestina* Benth. (Lamiaceae) growing wild in Jordan. Natural Product Research. 26(13): 1179-1187.

Arabshahi-Delouee, S. and Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry. 102(4):1233-1240.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. (2007). Biological effect of essential oils-A review. Journal of Food and Chemical Toxicology. 46:446-475.

Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S. and Ferreira, I.C.F.R. (2010). Strawberry-tree, blackthorn fruits: detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. Journal of Food Chemistry. 120: 247-254.

Bowles, B.L. and Juneja, V.K. (1998). Inhibition of food-borne bacterial pathogens by naturally occurring food additives. Journal of Food Safety. 18: 101-112.

Burbott, A.J. and Loomis, W.D. (1969). Evidence for metabolic turnover of monoterpenes in peppermint. Plant Physiology, Lancaster. 44: 173-9.

Archive of SID

www.SID.ir

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology, 94: 223–253.

Dzamic, A.M., Sokovic, M.D., Ristic, M.S., Novakovic, M., Grujic-Jovanovic, S., Tesevic, V. and Marin, P.D. (2010). Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* (L.) Hudson (Lamiaceae) essential oil. Botany Serbica. 34(1):57-61.

Flexas, J., and Medrano, H. (2002). Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. Annual Botany. 89: 183-9.

Gulcin, I., Topal, F., Sarkaya, S.B.O., Buesal, E., Bilsel, G. and Goren, A.C. (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). Records of Natural Products. 5(3): 158-175.

Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokme, A., Polissiou, M., Adiguzel, A. and Ozkan, H. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. sp. longifolia. Food Chemistry. 103: 1449-1456.

Hafedh, H., Fethi, B.N., Emira, N., Mejdi, S., Emira, N. and Amina, B. (2010). Effect of *Mentha longifolia* L. sp. longifolia essential oil on the morphology of four pathogenic bacteria visualized by atomic force microscopy. African Journal of Microbiology Research. 4 (11): 1122-7.

Iscan, G., Kirimer, N., Kürkcüoglu, M., Baser, Kh.C. and Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50:3943-3946.

Jalilzadeh-Amin, G., Maham,M., Dalir-Naghadeh, D. and Kheiri, F. (2012). Effects of *Mentha longifolia* essential oil on ruminal and abomasal longitudinal smooth muscle in sheep. Journal of Essential Oil Research. 24(1):96-99.

Majewska, M., Skrzycki, M., Podsiad, M. and Czeczot, H. (2011). Evolution of antioxidant potential of flavonoids and *in vitro* study. ACTA Ploniae Pharmaceutica-Drug Research. 68(4): 611-615.

Mazandarani, M., Majidi, Z., Zarghami Moghadam, P., Abrodi, M., Hemmati, H. and Fathi azad, F. (2012). Essential oil composition, TP, TF, Anthocyanin and antioxidant activity in different parts of *Artemisia annua* L. in two localities, North of Iran. Journal of Medicinal Plant and By Product. 1:13-21.

Mazandarani, M., Makari, S., Bajian, G.R, Zarghami Moghadam, P. and Abrodi, M. (2011). Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* Rech.F. in Golestan province, North of Iran. Iranian Journal of Plant Physiology. 2(2): 381-388.

Medici, L.O., Azevedo, R.A., Smith, R.J. and Lea, P.J. (2004). The influence of nitrogen supply on antioxidant enzymes in plant root. Functional Plant Biology. 31(1): 1-9.s

Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., Mihajlovic, B. and Matavul, J.M. (2008). Antimicrobial and antioxidant of three *Mentha* species Essential oils. Journal Agricultural Food Chemical. 19(55):7879-7885.

Motalleb, G., Hanachi, P., Kua, SH., Fauziah, O. and Asmah, R. (2005). Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extract. Journal of Biological Science. 5(5):648-653.

Naeini, A., Khosravi. A., Chitsaz. M., Shokri, H. and Kamlnejad, M. (2009). Anti-*Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. Journal Mycology Medical. 19:168-172.

Putievsky, E., Ravid, U. and Dudai, N. (1986). The essential oil and yield components from various plant parts of *Salvia fruticosa*. Journal of Natural Products. 49: 1015-17.

Sokol-letowska, A., Oszmianski, J. and Wojdylo, A. (2007). Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap. Food Chemistry. 103: 853–859.

Verpoorte, R., van der Heijden, R., Ten Hoopen, H.J.G. and Memelink, J. (1999). Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. Biotechnology Letters. 21(6): 467-479.

Voirin, B., Brun, N. and Bayet, C. (1990). Effect of day length on the monoterpene composition of leaves of *Mentha*. Phytochemistry, 29(3): 746-7.

Archive of SID

www.SID.ir