بررسی ترکیبات اسانس پونه (*Mentha longifolia* L.) منبع غنی از پولگون در پنج رویشگاه استان فارس

پیمان آذرکیش[1]، محمد مقدم[2]*، جمیل واعظی[3]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[4] و غلامحسین داوری‌نژاد[5]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، گیاهان دارویی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲*- **نویسنده مسئول:** دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد (m.moghadam@um.ac.ir)

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار، گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد

۵- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۰۵

چکیده

پونه (*Mentha longifolia syn. Mentha sylvestris*) گیاه دارویی و معطر ارزشمند متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. این گیاه به‌صورت سنتی به‌عنوان محرک، مقوی، ضداسپاسم، ضدنفخ، منقبض‌کننده کیسه صفرا، آرام‌بخش و مطبوع در ایران مصرف می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی میزان و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس پیکررویشی پونه در پنج رویشگاه آن در استان فارس بود. پیکررویشی پونه‌ها در مرحله گلدهی کامل از رویشگاه طبیعی آن‌ها جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. نمونه‌های خشک شده به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شدند. اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC و GC/MS شناسایی شدند. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین بازده اسانس به‌ترتیب از اکوتیپ‌های مرودشت (۵/۵ درصد) و لارستان (۱/۱۷ درصد) بدست آمد. در مجموع به‌ترتیب ۳۳، ۳۲، ۲۶، ۲۷ و ۲۸ ترکیب در اسانس اکوتیپ‌های سپیدان، آبشار مارگون، جهرم، لارستان و مرودشت شناسایی شد. به‌طورکلی منوترپن‌های اکسیژنه فراوان‌ترین دسته ترکیبات موجود در اسانس اکوتیپ‌های مورد مطالعه بود. ترکیبات عمده اسانس اکوتیپ‌ها شامل پولگون (۲۵/۳۶ – ۵۳/۴۴ درصد)، پیپریتنون (۴/۹۳ – ۴۳/۹ درصد)، ۱ و ۸ سینئول (۱/۱ – ۱۳/۳۳ درصد)، پیپریتنون اکسید (۱/۰۶ – ۱۹/۳۳ درصد) و منتون (۰/۹۸ – ۱۰/۲۸ درصد) بودند. با توجه به ارزش دارویی پولگون، در این تحقیق اسانس گیاه فوق دارای درصد بالایی از این ترکیب بود و می‌توان نتیجه گرفت که پونه استان فارس منبع غنی از پولگون می‌باشد. بهترین اکوتیپ‌ها برای حصول بیشترین میزان اسانس و پولگون به ترتیب اکوتیپ‌های مرودشت وآبشار مارگون می‌باشند.

کلید واژه‌ها: پونه، اسانس، پولگون، منوترپن، فارس.

مقدمه

پونه یا پودنه با نام علمی *Mentha longifolia* L. متعلق به تیره نعناعیان[1] می‌باشد (Mozaffarian, 2013). گیاهان این خانواده به وضعی در کره زمین پراکنده شده‌اند که در بیشتر مناطق رشد می‌نمایند ولی بیشینه انتشار آن‌ها در منطقه مدیترانه است. این تیره دارای تنوع گسترده‌ای است (EI-Gazzar and Watsonn, 1970)، در ایران ۶ گونه از جنس نعناع[2] شامل: *M. aquatica*، *M. mozaffarianii*، *M. arvensis*، *M. longifolia*، *M. spicata*،

1- Lamiaceae

2- *Mentha* spp.

M. suaveolens گزارش شده است (Mozaffarian, 2013).

گونه لانگیفولیا با نام مترادف *M. Sylvestris* دارای برگ‌های باریک و به شدت معطر و گل‌های ارغوانی یکی از شش گونه‌ای است که به علت در دسترس بودنش در طب سنتی مفید، مؤثر و مورد توجه قرارگرفته است. انتقال این گیاه از عرصه طبیعت به مزرعه با موفقیت همراه بوده است (Davazdahemami and Majnoonhosini, 2013؛ Omidbeaigi, 2013؛ Zargari, 2011). از نظر دارویی اسانس پونه مقوی معده و دارای خاصیت بادشکن، ضدتشنج، محرک، نیروبخش، کاهش‌دهنده تراوش‌های معده، تسکین‌دهنده درد زخم معده و سوزش آن است (Arnold, 1997). هم‌چنین خواص اسانس این گیاه برای درمان بیماری‌های میکروبی اثر کشندگی‌اش روی باکتری‌ها و نیز تأثیر ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی آن گزارش شده است (Dzamic *et al.*, 2010؛ Khan *et al.*, 2011؛ Mkaddem *et al.*, 2009).

خاصیت ضدمیکروبی اسانس را می‌توان به دلیل وجود گروه‌های پولگون، منتون و نئومنتون دانست زیرا می‌توانند با تغییر نفوذپذیری غشاء سلولی و تخریب دیواره باکتریایی سبب درهم گسیختن ساختار لایه‌های مختلف پلی‌ساکارید، اسیدهای چرب و فسفولیپیدهای غشای باکتری شوند (Nobakht *et al.*, 2011؛ Teixeira *et al.*, 2012). مشخص شده است که روغن‌های ضروری پونه از نوع سیکلوهگزان‌ها و معطر بوده و پولگون ترکیب اصلی این روغن‌ها، دارای عطر معین در محدوده نعنایی شدید تا تند و سرکه‌ای است (Gaeini *et al.*, 2013). پولگون در طبیعت گیاه را از آسیب حشرات و گیاهخواران حفظ می‌کند. در صنعت از آن در ساخت حشره‌کش‌ها، صابون‌های معطر، دئودورانت‌ها و هم‌چنین به‌عنوان طعم‌دهنده در خمیردندان‌ها استفاده می‌شود. از دیگر خواص دارویی پولگون، می‌توان به درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل‌پیچه اشاره کرد (Naghibi *et al.*, 2005). از آنجا که اکوسیستم‌ها نقش عمده‌ای در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه دارند، همواره باید به مطالعات تأثیر تغییرات اکوسیستم بر تولیدات متابولیتی گیاهان (اعم از اولیه یا ثانویه) پرداخت (Omidbeaigi, 2013). ترکیب اصلی اسانس در شرایط مختلف اقلیمی متفاوت است و در هر منطقه یک جزء خاص ممکن است قسمت عمده اسانس را تشکیل دهد. از آنجا که درصد اسانس گونه‌ها در شرایط متفاوت ازجمله نوع رویشگاه، میزان رطوبت، نور، دمای محیط، ارتفاع از سطح دریا و میزان بارندگی متغییر است. بررسی ترکیب‌های موجود در این گونه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است (Jaimand and Rezaee, 2002). با توجه به ارزش دارویی جنس نعناع؛ و تفاوت‌ها و شباهت‌هایی که از نظر فیتوشیمیایی در گونه‌های این جنس مشاهده می‌شود، به نظر می‌رسد که این تفاوت می‌تواند در ترکیب شیمیایی اسانس و تأثیر عوامل ژنتیکی و رویشگاهی بر پونه نیز دیده شود (Azarkish, 2015). به‌واسطه مقادیر بالای منوترپن پولگون موجود در گونه‌ی منتا لانگیفولیا و اهمیت این ترکیب شیمیایی در صنایع مختلف دارویی و بهداشتی؛ هم‌چنین پراکنش جغرافیایی نسبتاً گسترده این گونه در سراسر کشور، هدف از این مطالعه بررسی میزان و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس این گونه در رویشگاه‌های استان فارس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

به‌منظور بررسی میزان و اجزاء متشکل اسانس پونه در رویشگاه‌های مختلف استان فارس در اواخر بهار و اوایل تابستان ۱۳۹۳ نمونه‌های گیاهی در مرحله گلدهی از پنج رویشگاه طبیعی استان فارس (سپیدان، آبشار مارگون، جهرم، لارستان و مرودشت) جمع‌آوری شدند. یک نمونه هرباریومی نیز از هر منطقه تهیه و پس از شناسایی در بخش تحقیقات هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شد. اطلاعات مربوط

به رویشگاه‌ها و شماره هرباریومی نمونه‌ها در جدول (۱) آورده شده است. نمونه‌ها در دمای معمولی اتاق (۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد) و در شرایط سایه خشک شدند. هم‌چنین از خاک هر رویشگاه نیز به عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر، نمونه‌برداری و جهت تجزیه به آزمایشگاه خاک‌شناسی ارسال شد که نتایج حاصل از آن، در جدول (۲) قابل مشاهده است.

جدول ۱- مختصات جغرافیای، میانگین دما و بارش سالیانه رویشگاه‌های پونه مورد مطالعه

Table 1. The geographical coordinates, average temperature and rainfall of *Mentha longifolia* L. habits in this study

شماره اکوتیپ Ecotype No.	محل جمع‌آوری نمونه Areas of sample collection	آبشارمارگون Margoon waterfall				ارتفاع از سطح دریا (متر) Altitude from the see (m)	میانگین دما سالیانه (درجه سانتی گراد) Average annual temperature (°C)	میانگین بارش سالیانه (میلی‌متر) Average annual rainfall (mm)	شماره هرباریومی Herbarium number
		عرض Latitude		طول Longitude					
		دقیقه Minute	درجه Degree	دقیقه Minute	درجه Degree				
1	سپیدان Sepidan	14	30	9	52	2165	18.5	269.4	6027
2	آبشار مارگون Margoon waterfall	13	30	25	52	1820	18.5	269.4	6027
3	جهرم Jahrom	24	28	47	52	1569	21.9	299.2	6026
4	لارستان Larestan	38	27	38	54	678	24.1	239.2	6025
5	مرودشت Marvdasht	1	30	46	52	2119	18.5	269.4	6012

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مناطق مورد آزمایش

Table 2. Physical and chemical properties of soil of experimental sites

مشخصات Properties	سپیدان Sepidan	آبشارمارگون Margoon waterfall	جهرم Jahrom	لارستان Larestan	مرودشت Marvdasht
بافت خاک Soil texture	لومی شنی Sand loam	لومی رسی Clay loam	لومی شنی Sand loam	لومی رسی Clay loam	لومی شنی Sand loam
اسدیته pH	7.7	7.56	7.62	7.58	7.5
هدایت الکتریکی EC (ds/m)	0.46	0.39	0.56	0.7	0.52
ماده آلی (درصد) Organic matter	0.09	0.091	0.083	0.092	0.025
ظرفیت تبادل کاتیونی Cation exchange capacity	0.5	0.46	0.56	0.34	0.61
نیتروژن (درصد) Nitrogen (%)	0.18	0.13	0.23	0.08	0.1
فسفر قابل جذب P ($mg.kg^{-1}$)	9	7.5	8	12	6
پتاسیم قابل جذب K ($mg.kg^{-1}$)	430	425	356	287	312

استخراج اسانس

برای استخراج اسانس ۴۰ گرم از نمونه خشک شده اندام هوایی حاوی برگ، گل و سرشاخه‌های نازک گیاه خرد و به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس به روش حجمی- وزنی و بر اساس وزن خشک نمونه‌ها محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک آبگیری و تا زمان آنالیز در یخچال و در تاریکی نگهداری شدند.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

اسانس مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شد. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با مقایسه طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداری بدست آمده، با طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداری ترکیب‌های استاندارد و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در منابع معتبر (Adams, 2007) و هم‌چنین با استفاده از بانک اطلاعاتی WILLY موجود در دستگاه GC/MS انجام شد. درصد نسبی هر یک از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده روغن‌های اسانسی، با توجه به سطح زیر منحنی آن‌ها در کروماتوگرام حاصل از GC با روش Area Normalization به‌دست آمد.

مشخصات دستگاه GC

دستگاه GC مدل Agilent Technologies 7890 مجهز به دکتور FID و ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۴ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

مشخصات دستگاه GC/MS

طیف‌سنج جرمی Agilent مدل 5975C، متصل به کروماتوگراف گازی Agilent مدل 7890A، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. در برنامه‌ریزی حرارتی، دمای اولیه ستون به مدت ۵ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داشته شد و تا دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و در دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه متوقف شد. گاز حامل، هلیوم با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۵۰ تا ۵۵۰ بود.

نتایج و بحث

نتایج اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در رویشگاه‌های مختلف نشان می‌دهد که بافت خاک در رویشگاه‌های سپیدان، جهرم و مرودشت سبک‌تر بوده و میزان ماده آلی کمتری نسبت به رویشگاه‌های آبشار مارگون و لارستان دارا می‌باشند (جدول ۲). در واقع رویشگاه‌های مختلف دارای ساختار خاکی متفاوتی بودند. بازده اسانس با تعیین درصد رطوبت هر نمونه در زمان اسانس‌گیری، نسبت به وزن خشک گیاه محاسبه گردید.بازده اسانس نمونه سپیدان (۱/۷۵ درصد)، آبشار مارگون (۱/۵۵ درصد)، جهرم (۱/۷۵ درصد)، لارستان (۱/۱۷ درصد) و مرودشت (۵/۵ درصد) بدست آمد. نتایج حاصل از آنالیز اسانس‌ها در جدول (۳) دیده می‌شود. با مطالعه طیف‌های جرمی و محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس، تعداد ۳۳ ترکیب در اسانس اکوتیپ سپیدان شناسایی شد. ترکیبات عمده اسانس این نمونه، پولگون (۴۰/۳۷ درصد)، پیپریتینون (۲۱/۴ درصد)، ۱و ۸- سینئول (۷/۸۹ درصد) و منتون (۵/۷۵ درصد) بودند. در اکوتیپ آبشار مارگون تعداد ۳۲ ترکیب شناسایی شد که ترکیبات پولگون (۵۳/۴۴ درصد)، ۱و ۸- سینئول (۸/۸۴ درصد)، پیپریتینون (۸/۶۷ درصد) و منتون (۸/۳۳ درصد) ترکیبات عمده آن بودند. اسانس اکوتیپ جهرم دارای ۲۶ ترکیب بود که

اصلی‌ترین اجزای اسانس شامل پولگون (۳۹/۶۸ درصد)، ۱و۸ سینئول (۱۳/۳۳ درصد)، پیپریتینون (۷/۸۵ درصد)، پیپریتینون اکسید (۷/۱۹ درصد) منتون (۵/۱۳ درصد) و آلفا- ترپینول (۵/۱۱ درصد) بود. اسانس اکوتیپ لارستان دارای ۲۷ ترکیب بود که پولگون (۲۵/۳۶ درصد)، پیپریتینون اکسید (۱۹/۳۳ درصد) و پیپریتینون (۴۳/۹ درصد) بیشترین مقدار اجزاء متشکله اسانس را به خود اختصاص دادند. هم‌چنین اسانس نمونه به‌دست آمده از اکوتیپ مرودشت با ۲۸ ترکیب دارای اجزای اصلی پولگون (۴۷/۶ درصد)، ۱و ۸- سینئول (۱۱/۹۸ درصد)، منتون (۱۰/۲۸ درصد) و پیپریتینون اکسید (۵/۱۶ درصد) بودند (جدول ۳).

بارزترین نکته که در جدول (۳) مشاهده می‌شود، درصد بالای پولگون است که البته پیش از این نیز تجزیه ترکیب‌های این گونه در برخی از نقاط مختلف ایران و سایر کشورها گزارش شده بود (جدول ۴). همان‌طور که در این جدول (۴) مشاهده شد ترکیبات عمده اسانس در مناطق مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشد. در این تحقیق تنها در اکوتیپ لارستان بیشترین ترکیب اسانس پیپریتینون (۴۳/۹ درصد) بود، در صورتی که در سایر اکوتیپ‌ها بیشترین مقدار اجزای اسانس را پولگون تشکیل می‌داد. دامنه تغییرات پولگون در این مطالعه به‌عنوان اصلی‌ترین ترکیب از ۵۳/۴۴ درصد در اکوتیپ متعلق به آبشار مارگون تا ۲۵/۳۶ درصد در اکوتیپ متعلق به لارستان می‌باشد. مقایسه ترکیب‌های شناسایی شده (جدول ۳) نشان داد از ۳۳ ترکیب شناسایی شده اکوتیپ سپیدان ۱۳ ترکیب منوترپن هیدروکربنه (با مجموع ۴/۹۶ درصد)، ۱۳ ترکیب منوترپن اکسیژنه (با مجموع ۸۵/۸۴ درصد)، ۴ ترکیب سزکویی‌ترپن هیدروکربنه (با مجموع ۰/۹۳ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی‌ترپن اکسیژنه (با مجموع ۰/۵۴ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۱۸ درصد را شامل می‌شود. در اکوتیپ مارگون از ۳۲ ترکیب شناسایی شده ۱۱ ترکیب منوترپن هیدروکربنه (با مجموع ۳/۸۷ درصد)، ۱۴ ترکیب منوترپن اکسیژنه (با مجموع ۸۹/۵۹ درصد)، ۴ ترکیب سزکویی‌ترپن هیدروکربنه (با مجموع ۰/۸۷ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی‌ترپن اکسیژنه (با مجموع ۰/۹۸ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۱۳ درصد را شامل می‌شود. در اکوتیپ جهرم از ۲۶ ترکیب، ۸ ترکیب منوترپن هیدروکربنه (با مجموع ۳/۲۷ درصد)، ۱۳ ترکیب منوترپن اکسیژنه (با مجموع ۸۸/۳۵ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی‌ترپن هیدروکربنه (با مجموع ۰/۷ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی‌ترپن اکسیژنه (با مجموع ۰/۲۲ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۲۳ درصد را در برداشته‌اند. از ۲۷ ترکیب شناسایی‌شده در اکوتیپ لارستان ۸ ترکیب منوترپن هیدروکربنه (با مجموع ۲/۳۵ درصد)، ۱۲ ترکیب منوترپن اکسیژنه (با مجموع ۹۲/۰۳ درصد)، ۴ ترکیب سزکویی‌ترپن هیدروکربنه (با مجموع ۱/۱ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی‌ترپن اکسیژنه (با مجموع ۰/۳۸ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۰۸ درصد را شامل شد و از ۲۸ ترکیب اکوتیپ مرودشت ۱۱ ترکیب منوترپن هیدروکربنه (با مجموع ۵/۶۷ درصد)، ۱۲ ترکیب منوترپن اکسیژنه (با مجموع ۸۵/۷۶ درصد)، ۳ ترکیب سزکویی‌ترپن هیدروکربنه (با مجموع ۰/۵۴ درصد)، ۱ ترکیب سزکویی‌ترپن اکسیژنه (با مجموع ۰/۲۹ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۱ درصد را در برداشته‌اند.

اطلاعات مندرج در جدول (۲) نشان می‌دهد که این گیاه در رویشگاه‌های سپیدان، لارستان و مرودشت در خاک‌های لومی شنی و در رویشگاه‌های آبشار مارگون و جهرم در خاک‌های لومی رسی رشد می‌کند. در رویشگاه‌های آبشار مارگون و جهرم به دلیل بافت سنگین خاک (بافت رسی) پایین بودن محتوای اسانس معنی‌دار به نظر می‌رسد. اما در رویشگاه‌های سپیدان، لارستان و مرودشت بافت سبک جز عوامل مهم در افزایش عملکرد اسانس به شمار می‌آید. کیفیت گیاهان دارویی بازتاب تاثیر تعداد زیادی عوامل محیطی در طول دوره رویش آن گیاه می‌باشد. علاوه بر این ژرم‌پلاسم و عوامل ژنتیکی به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم به میزان زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند (Dong *et al*., 2010).

جدول ۳- ترکیبات شیمیایی اسانس اکوتیپ‌های پونه مورد مطالعه

Table 3. The chemical composition of essential oils of *Mentha longifolia* L. ecotypes in this study

مرودشت Marvdasht	لارستان Larestan	جهرم Jahrom	آبشارمارگون Margoon waterfall	سپیدان Sepidan	شاخص بازداری RI	زمان بازداری RT	ترکیبات اسانس Essential oil components
0.03	0.00	0.00	0.02	0.03	925	5.11	α-Thujene
0.86	0.41	0.58	0.62	0.71	934	5.28	α-Pinene
0.16	0.00	0.03	0.11	0.31	970	5.62	Camphene
0.76	0.25	0.54	0.64	0.99	974	6.17	Sabinene
1.5	0.64	1.31	1.26	1.02	978	6.28	β-Pinene
0.39	0.18	0.19	0.31	0.52	990	6.56	Myrcene
0.1	0.08	0.23	0.13	0.18	996	6.67	3-Octanol
0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	1016	7.27	α-Terpinene
0.17	0.17	0.1	0.17	0.08	1025	7.48	p-Cymene
1.56	0.52	0.34	0.56	0.93	1028	7.66	Limonene
11.98	1.1	13.33	8.84	7.89	1033	7.71	1,8-Cineole
0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	1036	7.81	cis-Ocimene
0.08	0.06	0.00	0.04	0.06	1057	8.45	γ-Terpinene
0.11	0.12	0.18	0.1	0.05	1066	8.72	Sabinene hydrate
0.00	0.00	0.00	0.04	0.08	1086	9.34	α-Terpinolene
0.17	0.13	0.23	0.25	0.28	1100	9.65	Linalool
10.28	0.98	5.13	8.33	5.75	1155	11.42	Menthone
0.00	0.00	0.00	1.33	0.00	1159	11.726	neo-Menthol
0.00	0.00	0.00	1.11	1.82	1166	11.77	Borneol
0.37	0.23	2.85	1.03	0.18	1173	11.99	Menthol
1.75	0.5	3.99	1.7	1.27	1178	12.15	Terpinen-4-ol
3.15	0.15	5.11	1.56	1.8	1192	12.58	α-Terpineol
0.1	0.06	0.19	0.09	0.14	1196	12.72	Dihydrocarveol
47.6	25.36	39.68	53.44	40.37	1249	14.28	Pulegone
0.00	0.00	2.37	1.71	0.00	1282	14.644	Piperitone
0.2	0.18	0.37	0.47	0.09	1296	15.85	Thymol
0.07	0.11	0.06	0.00	0.05	1302	16.17	Carvacrol
4.93	43.9	7.85	8.67	21.4	1344	17.49	Piperitenone
5.16	19.33	7.19	1.06	4.8	1368	18.27	Piperitenone oxid
0.00	0.08	0.00	0.07	0.09	1387	18.85	β-Bourbonene
0.4	0.88	0.53	0.63	0.65	1413	19.92	β-Caryophyllene
0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	1457	21.25	α-Humulene
0.06	0.08	0.17	0.12	0.15	1482	21.81	Germacrene-D
0.00	0.06	0.00	0.05	0.04	1498	22.27	Bicyclogermacrene
0.00	0.07	0.06	0.37	0.15	1581	24.66	(+) Spathulenol
0.29	0.31	0.16	0.61	0.39	1587	24.83	Caryophyllene oxide
5.67	2.35	3.27	3.87	4.96	-	-	Monoterpene Hydrocarbons
85.76	92.03	88.35	89.59	85.84	-	-	Oxygenated Monoterpenes
0.54	1.1	0.7	0.87	0.93	-	-	Sesquiterpene Hydrocarbons
0.29	0.38	0.22	0.98	0.54	-	-	Oxygenated Sesquiterpenes
0.1	0.08	0.23	0.13	0.18	-	-	Others (3-Octanol)
92.36	95.94	92.77	95.44	92.45	-	-	Total

جدول ٤- ترکیب اصلی اسانس .*Mentha longifolia* L گزارش شده از مناطق مختلف

Table 4. Main constituents of *Mentha longifolia* L. essential oil samples reported at various locations

مرجع گزارش شده Referannce	درصد Percentage	ترکیب اصلی Main component	بازده اسانس(درصد) Oil yield (%)	تعداد ترکیبات شناسایی‌شده Number of constituents	محل جمع‌آوری Areas of sample collection
Mirzaaie-nadoushan *et al*. (2001)	-	-	1.77	-	تهران Tehran
Jaimand and Rezaee (2002)	60.12	پیپریتون Piperitone	-	20	تهران Tehran
Younis and Beshir (2004)	78.9	کاروون Carvone	1.4	22	سودان Sudan
Abaszade *et al*. (2008)	73.31	کاروون Carvone	1.55	-	قزوین Qazvin
Abaszade *et al*. (2008)	64.3	کاروون Carvone	1.64	-	اردبیل Ardabil
Mkaddem *et al*. (2009)	45.41	پولگون Pulegone	1.3	35	قابس تونس Gabes Tunisia
Hafedh *et al*. (2010)	32.51	منتول Menthol	-	34	بوزید تونس Sidi Bouzid Governorate
Stanisavljevic *et al*. (2010)	50.8	پیپریتون Piperitone	1.1	31	صربستان Serbia
Dzamic *et al*. (2010)	23.64	ترانس دی هیدرو کاروون Trans-Dihydro carvone	-	35	کرواسی Croatia
Mahmodi *et al*. (2011)	31.54	پولگون Pulegone	-	22	تهران Tehran

مقایسه بازده اسانس پنج اکوتیپ منتا لانگیفولیا جمع‌آوری شده از استان فارس با فواصل مکانی زیاد با یکدیگر نشان می‌دهد که میزان اسانس این گونه دارای تغییرات زیادی است. به‌طوری‌که اکوتیپ مرودشت با میانگین دمای سالیانه (۱۸/۵ درجه سانتی‌گراد) دارای بیشترین میزان اسانس (۵/۵ درصد) می‌باشد لذا این اکوتیپ می‌تواند در برنامه‌های اصلاح و اهلی کردن این گیاه مورد استفاده قرار گیرد. درجه حرارت مناسب برای رشد و نمو و افزایش اسانس در پونه ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد است (Omidbeaigi, 2013).

Mirzaaie-nadoushan و همکاران (۲۰۰۱) درصد اسانس منتا لانگیفولیا[1] از تهران را ۱/۷۷ درصد گزارش کرد. بازده اسانس استخراج شده از اندام‌های هوایی پونه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان گلستان شامل: کردکوی (۱/۷۸ درصد)، بندر ترکمن (۱/۴ درصد)، جنگل گلستان (۱/۱ درصد)، چهارباغ (۰/۸۴ درصد)، توسکستان (۰/۷۶ درصد) و گرگان (۰/۳۴ درصد) گزارش شد (Mohkami, 2011). Mkaddem و همکاران (۲۰۰۹) درصد اسانس پونه منطقه قابس تونس را ۱/۳ درصد بیان نمودند. می‌توان تفاوت‌های تنوع عملکرد در محتوای کل اسانس در مناطق مختلف را به تفاوت ژنتیکی و تا اندازه‌ای تفاوت در اقلیم مناطق مختلف رویش این گیاه و هم‌چنین زمان جمع‌آوری مربوط دانست (Kokkini, 1995). مقایسه نتایج حاصل از بررسی این تحقیق در خصوص آنالیز اسانس گونه لانگیفولیا با نتایج سایر تحقیقات بر روی این گونه نشان می‌دهد که اغلب ترکیبات شاخص پونه در نقاط مختلف با تفاوت‌هایی جزئی در درصد اجزای اسانس با هم مشترک هستند اما در سایر ترکیبات که درصدهای کمتری از اسانس را تشکیل می‌دهند با هم تفاوت‌هایی را نشان می‌دهند. مجموع پنج ترکیب پولگون، پیپریتنون، ۱و۸ سینئول، پیپریتنون اکسید و منتون مهم‌ترین ترکیبات منوترپن اکسیژنه و تعیین‌کننده خواص اصلی اسانس پونه می‌باشند. Mohkami (۲۰۱۱) ترکیبات عمده اسانس پونه استان گلستان را پولگون (۲۲/۳۶ درصد)، ایزومنتون (۱۸/۲۱ درصد)، پیپریتنون (۱۱/۷ درصد)، بتا-پینن (۷/۰۲ درصد) و ۱و۸ سینئول (۶/۵۹ درصد) گزارش کرد. در بررسی Asekun و همکاران (۲۰۰۷) سه جز مهم اسانس گونه لانگیفولیا جمع‌آوری شده از مناطق آلیس کیپ شرقی در آفریقای جنوبی پولگون، منتون و ۱و۸ سینئول گزارش شده است. Gulluce و همکاران (۲۰۰۷) مهم‌ترین ترکیبات اجزای اسانس گونه لانگیفولیا جمع‌آوری شده از ترکیه را سیس-پیپریتون ایپوکساید، پولگون و پیپریتینون اکسید معرفی کردند. محققین بیان نمودند پونه منطقه قابس تونس دارای پولگون (۵۴/۴۱ درصد) به‌عنوان یک جز اصلی و پس از آن ایزومنتون (۱۲/۰۲ درصد)، ۱و۸ سینئول (۷/۴۱ درصد) و بورنئول (۶/۸۵ درصد) می‌باشند (Mkaddem *et al.*, 2009). در صورتی که پونه لانگیفولیا منطقه بوزید تونس منتول (۳۲/۵۱ درصد)، منتون (۲۰/۷۱ درصد)، پولگون (۱۷/۷۶ درصد) و ۱ و ۸ سینئول (۵/۶۱ درصد) مهم‌ترین ترکیبات آن معرفی شد (Hafedh *et al.*, 2010). البته درجه حرارت بالاتر باعث تغییراتی در ترکیب اجزا اسانس می‌گردد، به‌عنوان مثال در نعناع فلفلی افزایش دما (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) باعث کاهش منتول می‌شود (Omidbeaigi, 2013).

با توجه به این‌که هر پنج اکوتیپ مورد مطالعه در یک مرحله رشدی جمع‌آوری و اسانس‌گیری از سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان به عمل آمده است. هم‌چنین مقایسه ترکیب‌های اسانس به‌دست آمده با نتایج سایر محققان نشان می‌دهد که تفاوت در نوع و درصد اجزای متشکله اسانس، می‌تواند ناشی از تأثیر تفاوت‌های ژنتیکی و تا حدودی عوامل محیطی روی ترکیبات اسانس اکوتیپ‌های مختلف یک گونه باشد(جدول ۴). با مقایسه کلی نتایج آنالیز اسانس مشاهده می‌شود که منوترپن‌های اکسیژنه بیشترین مقدار اجزای اسانس را شامل می‌شوند (جدول ۳). تحقیقات نشان می‌دهند که منوترپن‌های اکسیژنه ترکیبات اصلی اسانس

1- *Mentha longifolia*

پونه به شمار می‌آیند که به‌طور عمده از ترکیباتی نظیر پولگون، منتون و نئومنتون تشکیل شده‌اند (Anderson *et al.*, 1996؛ Araus *et al.*, 2008؛ Calderon *et al.*, 2001؛ Chen *et al.*, 2007؛ Dietz and Gordon, 2010؛ Diaz-Maroto *et al.*, 2007؛ Jazani *et al.*, 2009؛ Kamkar *et al.*, 2010؛ Perez-Calderon *et al.*, 2007؛ Rim and Jee, 2006؛ Sullivan *et al.*, 1979؛ Teixeira *et al.*, 2012؛ Vallnce and Edin, 1955).

البته ترکیبات دیگری مانند پیپریتون و ۳- اکتانول در مقادیر مختلف اسانس این گیاه یافت می‌شوند (Diaz-Maroto *et al.*, 2007؛ Kamkar *et al.*, 2010؛ Smith *et al.*, 2009؛ Vian *et al.*, 2008). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد پولگون ترکیب اصلی اسانس منتا لانگیفولیا چهار اکوتیپ استان فارس بود که یک منوترپن اکسیژن‌دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ و بوی مطبوع می‌باشد و به‌عنوان جزء اصلی تشکیل‌دهنده اسانس برخی از گیاهان خانواده نعناعیان محسوب می‌شود. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد میزان این ماده در اکوتیپ‌های مختلف استان فارس ۲۵/۳۶ تا ۵۳/۴۴ درصد است. نتایج کلی به دست آمده حاصل از تجزیه اسانس در این تحقیق نشان می‌دهد که پونه رویش یافته در مناطق مورد بررسی خصوصاً منطقه آبشار مارگون مقدار پولگون زیادتری دارند؛ ولی در مورد منتون، پیپریتنون اکسید، ۱و۸ سینئول و پیپریتنون مقدار به دست آمده در مناطق مورد مطالعه کم می‌باشد، بنابراین می‌توان اسانس این گونه در این مناطق را به‌عنوان کموتایپ‌های دارای پولگون بالا معرفی کرد و در مواردی که نیاز به بالا بودن این ماده در اسانس باشد می‌توان از گیاهان پونه این منطقه در برنامه اصلاح و اهلی کردن این گونه استفاده کرد (جدول ۳).

به‌طورکلی گروه‌های به‌دست آمده از نتایج این تحقیق، هم‌چنین درصد منوترپن‌های اکسیژنه (۸۹/۱۸ درصد) با نتایج Mkaddem و همکاران (۲۰۰۹) هم‌خوانی دارد. هم‌چنین Mahmodi و همکاران (۲۰۱۱) با آنالیز شیمیایی اسانس پونه کوهی در تهران، ۲۲ ترکیب شناسایی کردند که در این میان پولگون با ۳۱/۵۴ درصد ترکیب عمده و اصلی آن بود. هم‌چنین Gulluce و همکاران (۲۰۰۷) برای پونه مناطق مختلف ترکیه ۴۵ ترکیب شناسایی که پولگون (با ۱۵/۵ درصد) دومین ترکیب مهم آن بود. Tajali و همکاران (۲۰۰۹) گیاه کافوری[1] را از نظر ترکیبات تشکیل‌دهنده آن مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند که پولگون نیز یکی از اجزای اسانس این گیاه را تشکیل می‌دهد. آن‌ها بیان کردند که میزان این ماده در اسانس گیاه کافوری در مناطق همدان، اراک و شهرکرد باهم متفاوت بود. با توجه به کاربردهای این ترکیب در صنایع مختلف، منتا لانگیفولیا می‌تواند منبعی ارزشمند و غنی برای تأمین پولگون مورد نیاز باشد. اگرچه این میزان پولگون استخراج شده، قابل مقایسه با گزارش‌های ارائه شده از سایر نقاط ایران و جهان می‌باشد، اما تفاوت‌های قابل توجهی در میزان و نوع و سایر ترکیب‌های موجود در اسانس و تعداد کل ترکیب‌های شناسایی‌شده نسبت به گزارش‌های موجود در منابع علمی وجود دارد (جدول ۴). با توجه به این که مهم‌ترین ترکیب در اسانس این گونه، پولگون می‌باشد و در واقع ارزش اقتصادی و دارویی آن وابسته به میزان پولگون موجود در آن است، بنابراین هدف اصلی از بهره‌برداری این گیاه، استخراج میزان پولگون در آن می‌باشد. پولگون در کنار ایزومر خود "ایزوپولگون" و پیپریتون می‌تواند سهم مهمی در ایجاد عطر نعناعی داشته باشد. گزارش‌ها نشان می‌دهند که ترکیبات دیگری نظیر ۳- اکتانول و نونئون در پونه مشاهده‌شده است، به‌طوری‌که هر دو ترکیب به‌ویژه ۳- اکتانول اثر زیادی بر روی خصوصیات رایحه‌ای پونه دارند (Diaz-Maroto *et al.*, 2007). Coleman و

1- *Camphorosma monspeliaca* L.

همکاران (۱۹۹۸) اظهار داشتند که اختلاف در کیفیت طبیعی اسانس گونه‌های جنس منتا به عوامل ذاتی (ژنتیک یا قابلیت وراثت از ساقه، وضعیت بلوغ و ...) و عوامل بیرونی (نور خورشید، آب، حرارت، فشار، ارتفاع، عرض جغرافیایی، خاک و ...) که در رشد گیاه و میزان اسانس تاثیر می‌گذارد، بستگی دارد که البته با نتیجه تحقیق حاضر نیز تأیید می‌گردد. درنهایت با توجه به اینکه مهم‌ترین مسأله در برنامه‌های اصلاحی وجود تنوع ژنتیکی است. به نظر می‌رسد نمونه پونه جمع‌آوری شده از منطقه مرودشت و آبشار مارگون بالاترین میزان اسانس و همچنین بالاترین درصد پولگون را در بین سایر اکوتیپ‌ها دارند و می‌تواند به‌عنوان نمونه‌های امیدبخش در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند.

نتیجه‌گیری

از آنجایی که روغن‌های ضروری پونه دارای ویژگی‌های منحصر به فردی هستند می‌توان کاربردهای متعددی را به آن‌ها نسبت داد؛ به‌طوری‌که این ماده مؤثر طبیعی می‌تواند به دلیل نقش ممانعتی از رشد ریزنده‌ها و افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی، جایگزین مناسبی برای نگه‌دارنده‌های مصنوعی به شمار آید. هم‌چنین روغن‌های ضروری این گیاه به سبب دارا بودن ترکیبات فنولی، آنتی‌اکسیدان‌های قدرتمندی محسوب می‌شوند، بنابراین می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی که عوارض ناگوار آن‌ها بر انسان ثابت شده است به‌حساب آیند. در تحقیق حاضر اگرچه بهترین اکوتیپ از نظر داشتن بالاترین میزان پولگون اکوتیپ آبشارمارگون می‌باشد؛ ولی اکوتیپ مرودشت به جهت داشتن بازده اسانس بیشتر و میزان پولگون نسبتاً خوب می‌تواند یک اکوتیپ مناسب جهت اهلی‌سازی و کشت این گیاه مطرح باشد. اگرچه بررسی اکوتیپ‌های مختلف این گونه در سایر نقاط کشور برای دستیابی به بهترین اکوتیپ‌ها توصیه می‌شود.

References

1. Abaszade, B., Rezaee, M.B., Ardekani, M.R., and Baseri, R. 2008. Study of morphological traits and flowering tops yield of *Mentha* species collected from different regions. Research in Agriculture, 1(1): 41-51. [In Farsi]

2. Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadruple mass spectroscopy. Carol Stream IL: Allured Publishing Cropration, 804 P.

3. Anderson, I.B., Mullen, W.H., Meeker, J.E., Khojasteh- Bakht, S.C. Oishi, S., and Nelson, S.D. 1996. Pennyroyal toxicity: Measurement of toxic metabolite levels in two cases and review of the literature. Journal of Internal Medicine, 124: 726-34.

4. Araus, K., Uquiche, E., and Del Valle, J.M. 2008. Matrix effects in supercritical CO_2 extraction of essential oils from plant material. Journal of Food Engineering, 92: 438-447.

5. Arnold, M.L. 1997. Natural hybridization and evolution. Oxford University Press, New York, pp: 118-125.

6. Asekun, O.T., Grierson, D.S., and Afolaya, A.J. 2007. Effect of drying methods on

the quality and quatity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. Capensis. Food Chemistry, 10: 995-998.

7. Azarkish, P. 2015. Evaluation of morphological and phytochemical diversity of some horse mint (*Mentha Longifolia* L.) ecotypes in South West of Iran. M.Sc. Thesis in Horticulture Ferdowsi Univesity of Mashhad. [In Farsi]

8. Chen, L.J., Lebetkin, E.H., and Burka, L.T. 2001. Metabolism of (R)-(+)-pulegone in F344 rats. Drug Metabolism and Disposition, 29: 1567-77.

9. Coleman, W.M., Perfetti, T.A., and Suberjr, R.L. 1998. Quantitive analysis of menthol isomer distributions in selected samples. Journal of Chromatographic Science, 36: 318-321.

10. Davazdahemami, S. and Majnoonhosini, N. 2013. Cultivation and production of certain herbs and species. Tehran University Press, Tehran, 300 P. [In Farsi]

11. Diaz-Maroto, C., Castillo, N., Castro-Vazquez, L., Gonzalez-Vinas, M. and Perez-Coello, S. 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. Flavour and Fragrance Journal. 22: 114-18.

12. Dietz, B.M. and Bolton, J.L. 2010. Biological reactive intermediates (BRIs) formed from botanical dietary supplements. Chemico-Biological Interactions, 192: 72-80.

13. Dong, J., Ma, X., Wei, Q., Peng, S., and Zhang, S. 2010. Effects of growing location on the contents of secondary metabolites in the leaves of four selected superior clones of *Eucommia ulmoides*. Industrial Crops and Products, 34: 1607-1614.

14. 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. Botanica Serbica, 34: 57-62.

15. EI-Gazzar, A. and Watsonn, L. 1970. A taxonomic study of the labiatae and related genera. New Phytologist, 69: 451-486.

16. Gaeini, Z., Sohrabvandi, S., Sobhani, R., and Soleimani, M. 2013. Characteristics of pennyroyal essential oils. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 7(5): 661-668. [In Farsi]

17. Gordon, W.P., Forte, A.J., McMurtry, R.J., Gal, J., and Nelson, S.D. 1982. Hepatotoxicity and pulmonary toxicity of pennyroyal oil and its constituent terpenes in the mouse. Toxicology and Applied Pharmacology, 65: 413-24.

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

19. Hafedh, H., Fethi, B.A., Mejdi, S., Emira, N., and Amina, B. 2010. Effect of *Mentha longifolia* L. ssp longifolia essential oil on the morphology of four pathogenic bacteria visualized by atomic force microscopy. African Journal of Microbiology Research, 4: 1122-1127.

20. Jaimand, K. and Rezaee, M.B. 2002. Chemical constituents of essential oils from *Mentha longifolia* (L.) Hudson var. *asiatica* (Boriss.) Rech. from Iran. Journal of Essential Oil Research, 14: 107-108.

21. Jazani, N.H., Ghasemnejad-berenji, H. and Sadegpoor, S. 2009. Antibacterial effects of Iranian *Mentha pulegium* essential oil on isolates of *Klebsiella* spp. Pakistan Journal of Biological Sciences, 12: 183-5.

22. Kamkar, A., Javan, A.J., Asadi, F. and Kamalinejad, M. 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. Food and Chemical Toxicology, 48: 1796-800

23. Khan, R.A., Khan, F., Mushtaq, A., Shah, A.S., Khan, N.A., Khan, M.R., and Shah, M.S. 2011. Phytotoxic and antibacterial assays of crude methanolic extract of *Mentha longifolia* (Linn.). African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5: 1530-1533.

24. Kokkini, S., Karousou, R., and Lanaras, T. 1995. Essential oils of spearmint (carvone-rich) plants from the island of Crete (Greece). Biochemical Systematics and Ecology, 23: 425-30.

25. Mahmodi, R., Tajik, H., Farshid, A.A., Ehsani, A., Zaree, P., and Moradi, M. 2011. Phytochemical properties of *Mentha longifolia* L. essential oil and its antimicrobial effects on *Staphylococcus aureus*. Armaghane Danesh Journal, 16(5): 400-412. [In Farsi]

26. Mirzaaie-nadoushan, H., Rezaie, M., and Jaimand, K. 2001. Path analysis of the essential oil-related characters in *Mentha* spp. Flavour and Fragrance Journal, 16: 340-343.

27. Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., and Romdhane, M. 2009. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha (longifolia* L. and *viridis*) essential oils. Journal of Food Science, 74: 358-363.

28. Mohkami, Z. 2011. Evalouation of some morphological characteristics and phytochemical of native *Mentha* paputation in Golestan provionce. MSc Thesis in Horticulture, Gorgan Universty in Agriculture and Natural Resource. [In Farsi]

29. Mozaffarian, V. 2013. A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publishers Press. Tehran, Iran, pp: 228-230. [In Farsi]

30. Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, Motamed, S., and Ghorbani, A. 2005.

Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2: 63-79.

31. Nobakht, A., Norani, J., and Safamehr. A. 2011. The effects of different amounts of *Mentha pulegium* L. (pennyroyal) on performance, carcass traits, hematological and blood biochemical parameters of broilers. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 3763-3768.

32. Omidbeaigi, R. 2013. Production and processing of medicinal plants. Vol. I. Behnashr Press. Mashhad, Iran. 347 P. [In Farsi]

33. Pérez-Calderon, R., Gonzalo-Garijo, A., Bartolome- Zavala, B., Lamilla-Yerga, A., and Moreno-Gaston, I. 2007. Occupational cantact urticaria due to pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). Contact Dermatitis, 57: 285-286.

34. Rim, I.S. and Jee, C.H. 2006. Acaricidal effects of herb essential oils against *Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of an herb *Mentha pulegium* (pennyroyal). Korean Journal of Parasitology, 44: 133-8.

35. Smith, T.J., George, D.R., Sparagano, O.A.E., Seal, C., Shiel, R.S., and Guy, J.H. 2009. A pilot study into the chemical and sensorial effect of thyme and pennyroyal essential oil on hens eggs. Journal of Food Science and Technology, 44: 1836-1842.

36. Stanisavljevic, D.M., Dordevic, S., Ristic, M., Velickovic, D., and Randelovic, N.V. 2010. Effects of different drying methods on the yield and the composition of essential oil from herb *Mentha longifolia* (L.). Journal of Biologica Science, 1: 89-93.

37. Sullivan, J.B., Rumack, B.H., Thomas, H. Jr Peterson, R.G., and Bryson, P. 1979. Pennyroyal oil poisoning and hepatotoxicity. Journal of the Mississippi State Medical Association, 242: 2873-2874.

38. Tajali, A.A., Amin, G.R., and Gandomkar Ghalheri, A. 2009. Identification chemical composition essential oil of *Camphorosma monspeliaca* L. at different phenological stages in rangeland of Arak, Hamedan and Sharekord. Journal of Rangeland Science, 3(2): 302-316. [In Farsi]

39. Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saraiva, J.A., and Nunes, M.L. 2012. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. Industrial Crops and Products, 36: 81-87.

40. Vallnce, W.B. and Edin, M.B. 1955. Pennyroyal poisoning, a fatal case. The Lancet. 269: 850-851

41. Vian, M.A., Fernandez, X., Visinoni, F., and Chemat, F. 2008. Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. Journal

of Chromatography A, 1190: 14-17.

42. Younis, Y.M.H. and Beshir, S.M. 2004. Carvone-rich essential oils from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. schimperi Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. Journal of Essential Oil Research. 16: 539-541.

43. Zargari, A. 2011. Medicinal Plants. Tehran University Publication. Tehran, Iran. 1: 249-265. [In Farsi]