

بررسی ترکیبات اسانس پونه (*Mentha longifolia* L.) منبع غنی از

پولگون در پنج رویشگاه استان فارس

پیمان آذرکیش^۱، محمد مقدم^{۲*}، جمیل واعظی^۳، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۴ و غلامحسین داوری نژاد^۵

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 پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۶

چکیده

پونه (*Mentha longifolia* syn. *Mentha sylvestris*) گیاه دارویی و معطر ارزشمند متعلق به خانواده نعنائیان می‌باشد. این گیاه به صورت سنتی به عنوان محرک، مقوی، ضداسپاسم، ضدنفخ، منقبض کننده کیسه صفرا، آرام‌بخش و مطبوع در ایران مصرف می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی میزان و اجزای تشکیل دهنده اسانس پیکرورویشی پونه در پنج رویشگاه آن در استان فارس بود. پیکرورویشی 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 تشکیل دهنده اسانس‌ها با استفاده از دستگاه GC و GC/MS شناسایی شدند. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین بازده اسانس به ترتیب از اکوتیپ‌های مرودشت (۵/۵ درصد) و لارستان (۱/۱۷ درصد) بدست آمد. در مجموع به ترتیب ۳۳، ۳۲، ۲۶، ۲۷ و ۲۸ ترکیب در اسانس اکوتیپ‌های سپیدان، آبشار مارگون، جهرم، لارستان و مرودشت شناسایی شد. به‌طور کلی 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 فوق‌دارای 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 و آبشار مارگون می‌باشند.

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

مقدمه

پونه یا بودنه با نام علمی *Mentha longifolia* L. متعلق به تیره نعنائیان^۱ 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^۲ شامل: *M. aquatica* *M. mozaffarianii* *M. spicata* *M. longifolia* *M. arvensis*

2- *Mentha* spp.

1- Lamiaceae

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 (Omidbeigi, 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 از جمله نوع رویشگاه، میزان رطوبت، نور، دمای محیط، ارتفاع از سطح دریا و میزان بارندگی متغیر 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). به واسطه 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

به منظور 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 هر بار یومی نیز از هر منطقه تهیه و پس از شناسایی در بخش تحقیقات هر بار یوم دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شد. اطلاعات مربوط

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 قرار گرفته است. انتقال این گیاه از عرصه طبیعت به مزرعه با موفقیت همراه بوده است (Davazdahemami and Majnoonhosini, 2013; Zargari, 2011; Omidbeigi, 2013). از نظر دارویی اسانس پونه مقوی معده و دارای خاصیت بادشکن، ضد تشنج، 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 کشندگی اش روی باکتری‌ها و نیز تأثیر ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی آن گزارش شده است (Dzamic et al., 2010; Mkaddem et al., 2009; Khan et al., 2011).

خاصیت ضد میکروبی 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 سیکلوهاگزان‌ها و معطر بوده و پولگون ترکیب اصلی این روغن‌ها، دارای عطر معین در محدوده نعنائی 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

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

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مناطق مورد آزمایش
Table 2. Physical and chemical properties of soil of experimental sites

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

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 اسانس گیری شد. بازده اسانس به روش حجمی - وزنی و بر اساس وزن خشک نمونه‌ها محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک آبرگیری و تا زمان آنالیز در یخچال و در تاریکی نگهداری شدند.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده 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 تشکیل دهنده اسانس‌ها با مقایسه طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداري بدست آمده، با طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداري 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 تشکیل دهنده روغن‌های اسانسی، با توجه به سطح زیر منحنی آن‌ها در کروماتوگرام حاصل از GC با روش Area Normalization به دست 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 آن 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 اتاکنک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

مشخصات دستگاه GC/MS

طیف سنج 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 برنامه ریزی حرارتی، دمای اولیه ستون به مدت ۵ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگاه داشته 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 بازداري کوآتس، تعداد ۳۳ ترکیب در اسانس اکوتیپ سپیدان شناسایی شد. ترکیبات عمده اسانس این نمونه، پولگون (۴۰/۳۷ درصد)، پیریتینون (۲۱/۴ درصد)، او ۸- سینتول (۷/۸۹ درصد) و منتون (۵/۷۵ درصد) بودند. در اکوتیپ آبشار مارگون تعداد ۳۲ ترکیب شناسایی شد که ترکیبات پولگون (۵۳/۴۴ درصد)، او ۸- سینتول (۸/۸۴ درصد)، پیریتینون (۸/۶۷ درصد) و منتون (۸/۳۳ درصد) ترکیبات عمده آن بودند. اسانس اکوتیپ جهرم دارای ۲۶ ترکیب بود که

ترکیب سزکویی ترین هیدروکربنه (با مجموع ۰/۸۷ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی ترین اکسیژنه (با مجموع ۰/۹۸ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۱۳ درصد را شامل می‌شود. در اکوتیپ جهرم از ۲۶ ترکیب، ۸ ترکیب منوترین هیدروکربنه (با مجموع ۳/۲۷ درصد)، ۱۳ ترکیب منوترین اکسیژنه (با مجموع ۸۸/۳۵ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی ترین هیدروکربنه (با مجموع ۰/۷ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی ترین اکسیژنه (با مجموع ۰/۲۲ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۲۳ درصد را در برداشته‌اند. از ۲۷ ترکیب شناسایی شده در اکوتیپ لارستان ۸ ترکیب منوترین هیدروکربنه (با مجموع ۲/۳۵ درصد)، ۱۲ ترکیب منوترین اکسیژنه (با مجموع ۹۲/۰۳ درصد)، ۴ ترکیب سزکویی ترین هیدروکربنه (با مجموع ۱/۱ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی ترین اکسیژنه (با مجموع ۰/۳۸ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۰۸ درصد را شامل شد و از ۲۸ ترکیب اکوتیپ مرودشت ۱۱ ترکیب منوترین هیدروکربنه (با مجموع ۵/۶۷ درصد)، ۱۲ ترکیب منوترین اکسیژنه (با مجموع ۸۵/۷۶ درصد)، ۳ ترکیب سزکویی ترین هیدروکربنه (با مجموع ۰/۵۴ درصد)، ۱ ترکیب سزکویی ترین 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 معنی دار 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 ژرم پلاسم و عوامل ژنتیکی به صورت مستقیم و غیرمستقیم به میزان زیادی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند (Dong et al., 2010).

اصلی ترین اجزای اسانس شامل پولگون (۳۹/۶۸ درصد)، ۸۱ سینثول (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 مشکله اسانس را به خود اختصاص دادند. هم چنین اسانس نمونه به دست آمده از اکوتیپ مرودشت با ۲۸ ترکیب دارای اجزای اصلی پولگون (۴۷/۶ درصد)، ۸۱- سینثول (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 به عنوان اصلی ترین 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 منوترین هیدروکربنه (با مجموع ۴/۹۶ درصد)، ۱۳ ترکیب منوترین اکسیژنه (با مجموع ۸۵/۸۴ درصد)، ۴ ترکیب سزکویی ترین هیدروکربنه (با مجموع ۰/۹۳ درصد)، ۲ ترکیب سزکویی ترین اکسیژنه (با مجموع ۰/۵۴ درصد) و ۳- اکتانول با ۰/۱۸ درصد را شامل می‌شود. در اکوتیپ آبشار مارگون از ۳۲ ترکیب شناسایی شده ۱۱ ترکیب منوترین هیدروکربنه (با مجموع ۳/۸۷ درصد)، ۱۴ ترکیب منوترین اکسیژنه (با مجموع ۸۹/۵۹ درصد)، ۴

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	لارستان	جهرم	آبشارمارگون	سپیدان	شاخص بازداری	زمان بازداری	ترکیبات اسانس
Marvdasht	Larestan	Jahrom	Margoon waterfall	Sepidan	RI	RT	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 ۴- ترکیب اصلی اسانس *Mentha longifolia* L. گزارش شده از مناطق مختلفTable 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 شناسایی شده Number of constituents	محل جمع آوری Areas of sample collection
Mirzaaie-nadoushan <i>et al.</i> (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 <i>et al.</i> (2008)	73.31	کاروون Carvone	1.55	-	قزوین Qazvin
Abaszade <i>et al.</i> (2008)	64.3	کاروون Carvone	1.64	-	اردبیل Ardabil
Mkaddem <i>et al.</i> (2009)	45.41	پولگون Pulegone	1.3	35	قابس تونس Gabes Tunisia
Hafedh <i>et al.</i> (2010)	32.51	منتول Menthol	-	34	بوزید تونس Sidi Bouzid Governorate
Stanisavljevic <i>et al.</i> (2010)	50.8	پیپریتون Piperitone	1.1	31	صربستان Serbia
Dzamic <i>et al.</i> (2010)	23.64	ترانس دی هیدرو کاروون Trans-Dihydro carvone	-	35	کرواسی Croatia
Mahmodi <i>et al.</i> (2011)	31.54	پولگون Pulegone	-	22	تهران Tehran

می‌باشند. Mohkami (۲۰۱۱) ترکیبات عمده اسانس پونه استان گلستان را پولگون (۲۲/۳۶ درصد)، ایزومنتون (۱۸/۲۱ درصد)، پپیریتنون (۱۱/۷ درصد)، بتا-پینن (۷/۰۲ درصد) و ۸-اوسینئول (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 ۸-اوسینئول گزارش شده است. Gulluce و همکاران (۲۰۰۷) مهم‌ترین ترکیبات اجزای اسانس گونه لانگیفولیا جمع‌آوری شده از ترکیه را سیس-پپیریتون ایوکساید، پولگون و پپیریتنون 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)، ۸-اوسینئول (۷/۴۱ درصد) و بورئول (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 این که 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 منوترین‌های اکسیژنه بیشترین مقدار اجزای اسانس را شامل می‌شوند (جدول ۳). تحقیقات نشان می‌دهند که منوترین‌های اکسیژنه ترکیبات اصلی اسانس

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. به‌طوری که اکوتیپ مرودشت با میانگین دمای سالانه (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^۱ 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)، توس گلستان (۰/۷۶ درصد) و گرگان (۰/۳۴ درصد) گزارش شد (Mkaddem, Mohkami, 2011) 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، پپیریتنون، ۸-سینئول، پپیریتنون اکسید و منتون مهم‌ترین ترکیبات منوترین اکسیژنه و تعیین‌کننده خواص اصلی اسانس پونه

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^۱ 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 شناسایی شده 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 پیریتون می‌تواند سهم مهمی در ایجاد عطر نعنای داشته باشد. گزارش‌ها نشان می‌دهند که ترکیبات دیگری نظیر ۳-اکتانول و نونون در پونه مشاهده شده است، به طوری که هر دو ترکیب به‌ویژه ۳-اکتانول اثر زیادی بر روی خصوصیات رایحه‌ای پونه دارند (Diaz-Maroto et al., 2007). Coleman و

پونه به شمار می‌آیند که به‌طور عمده از ترکیباتی نظیر پولگون، منتون و نونون تشکیل شده‌اند (Anderson et al., 1996؛ Araus et al., 2008؛ Calderon et al., 2007؛ Chen et al., 2001؛ Dietz and Gordon؛ Diaz-Maroto et al., 2007؛ Bolton, 2010؛ Kamkar et al.; Jazani et al., 2009؛ et al., 1982؛ Rim and Perez-Calderon et al., 2007؛ et al., 2010؛ Teixeira؛ Sullivan et al., 1979؛ Jee, 2006؛ Vallnce and Edin, 1955؛ et al., 2012).

البته ترکیبات دیگری مانند پیریتون و ۳-اکتانول در مقادیر مختلف اسانس این گیاه یافت می‌شوند (Kamkar et al., 2010؛ Diaz-Maroto et al., 2007) هم‌چنین (Vian et al., 2008؛ Smith et al., 2009). نتایج این مطالعه نشان داد پولگون ترکیب اصلی اسانس منتا لانگیفولیا چهار اکوتیپ استان فارس بود که یک منوترین اکسیژن‌دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ و بوی مطبوع می‌باشد و به‌عنوان جزء اصلی تشکیل‌دهنده اسانس برخی از گیاهان خانواده نعنایان 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، پیریتون اکسید، ۸۱ و سینتول و پیریتون 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).

به‌طور کلی گروه‌های به‌دست آمده از نتایج این تحقیق، هم‌چنین درصد منوترین‌های اکسیژنه (۸۹/۱۸)

1- *Camphorosma monspeliaca* L.

همکاران (۱۹۹۸) اظهار داشتند که اختلاف در کیفیت طبیعی اسانس گونه‌های جنس متنا 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. در نهایت 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 به عنوان 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؛ به طوری که 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 به حساب 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 CO₂ 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 quantity 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 University 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. El-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., Mejdj, 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. Evaluation of some morphological characteristics and phytochemical of native *Mentha* population in Golestan province. MSc Thesis in Horticulture, Gorgan University 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 contact 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]