اثر محلول‌پاشی متانول و اتانول بر ترکیبات اسانس نعناع‌فلفلی

فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۴، شماره ۲، صفحات ۱۸-۹
(تابستان ۱۳۹۷)

حسن نورافکن[۱]✉، زهرا کلانتری[۱]، فاطمه سفیدکن[۲]

۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران Nourafcan@m-iau.ac.ir ✉ (**مسؤول مکاتبات**)

۲ مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

چکیده گونه‌های مختلف نعناع منبع عمده تولید اسانس‌های منتولی به شمار می‌روند. محلول پاشی گیاهان دارویی با الکل‌هایی نظیر متانول و اتانول می‌تواند افزایش رشد و میزان متابولیت‌های ثانویه را سبب شود. این پژوهش جهت تعیین اثر محلول‌پاشی متانول و اتانول بر ترکیب اسانس نعناع‌فلفلی در مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه به صورت آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت. گیاهچه‌های ۱ ماهه نعناع فلفلی با محلول‌های آبی ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰٪ حجمی متانول و اتانول محلول‌پاشی شده و این کار ۲ و ۴ هفته بعد از اولین محلول‌پاشی تکرار شد. گیاهان در مرحله گلدهی کف‌بُر شده و استخراج اسانس با روش تقطیر با آب انجام شد. ترکیب اسانس نعناع فلفلی با دستگاه کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی تعیین شد. میزان ترکیبات موجود در اسانس نعناع فلفلی به جز ترانس پولگُل، سیس‌پولگُل، منتیل‌استات، ای‌کریوفیلن، آلفاهیموکالن و جرماکرن‌دی تحت تأثیر محلول‌پاشی با هیدروالکل‌ها قرار گرفت. کاربرد هیدروالکل‌ها در غلظت بالاتر از ۱۰٪ میزان منتول را به طور معنی‌داری افزایش داد. در مجموع، میزان منتول در گیاهان محلول‌پاشی شده با متانول بیشتر از اتانول بود. با این حال، مقادیر اغلب ترکیبات موجود در اسانس نعناع فلفلی با کاربرد اتانول ۳۰٪ افزایش بیشتری نشان داد. همچنین، محلول‌پاشی با متانول اثر منفی بر تولید منتون و ایزومنتون در نعناع فلفلی داشت. بنابراین، با توجه به یافته‌های این پژوهش، محلول‌پاشی متانول برای افزایش کیفیت اسانس نعناع فلفلی قابل توصیه می‌باشد.

شناسه مقاله
نوع مقاله: پژوهشی
تاریخ پژوهش: ۱۳۹۴
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۰۸
تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۲۱

واژه‌های کلیدی

- **تغذیه برگی**
- **دی‌اکسیدکربن**
- **منتول**
- **منتون**
- **هیدروالکل**

این مقاله با دسترسی آزاد تحت شرایط و قوانین The Creative Commons of BY - NC - ND انتشار یافته است.

DOI: 10.22034/AEJ.2018.543125

مقدمه جنس نعناع به عنوان تنها منبع تولید مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین اسانس منتولی جهان به شمار می‌رود.[۴،۱۴] اسانس نعناع در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی، شیرینی‌پزی، نوشابه‌سازی و تولید ادویه مورد استفاده قرار می‌گیرد. در طب سنتی از نعناع‌فلفلی برای کاهش اشتها، سرماخوردگی، سرفه، تب، تهوع، سردرد، آماس روده بزرگ، ضدگرفتگی عضله، ضدنفخ و سوءهاضمه استفاده می‌شود. اثرات ضدالتهابی، ضدمیکروبی، ضدویروسی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضدحساسیتی و حشره‌کشی این گیاه گزارش شده است.[۱،۹،۱۱] همچنین، اسانس آن در طعم‌دهنده‌ها و یا افزودنی‌های غذایی، خمیردندان و دیگر محصولات بهداشتی و فرمولاسیون دارویی به کار می‌رود.[۷]

یکی از مهم‌ترین زمینه‌های پژوهشی در مورد گیاهان دارویی، بررسی شرایط مختلف تأثیر گذار بر میزان عملکرد کمی و کیفی این گیاهان است. با توجه به اینکه هدف اصلی کشت گیاهان دارویی استفاده از مواد مؤثره آنهاست، هرچه مقدار این مواد مؤثره و متابولیت‌های ثانویه بیشتر باشد اقتصادی‌تر است.[۱۸] از جمله ترکیبات موجود در اسانس نعناع‌فلفلی می‌توان به منتول[۱]، منتون[۲]، سینئول[۳]، اوسیمن[۴]، کاریوفیلن[۵]، پیپرتون[۶]، ایزومنتول[۷]، فیتول[۸]، تانن[۹] و کارون[۱۰] اشاره نمود. منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس بوده و خواص ضدمیکروبی دارند. درصد منتول در نعناع فلفلی از ۳۵ تا ۵۵٪ و منتون از ۱۰ تا ۴۰٪ در سنین مختلف گیاه متغیر است. مقدار منتول، معیار اصلی تعیین کیفیت اسانس نعناع فلفلی است و می‌توان با به‌کارگیری روش‌های مناسب زراعی در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی آن گام برداشت.[۱،۷،۹،۱۱]

در سال‌های اخیر اطمینان از تولید پایدار فرآورده‌های غذایی سالم همراه با حفظ محیط زیست و توجه به مناسبات اجتماعی و اقتصادی موضوع قابل توجهی در علوم مختلف مانند کشاورزی، اکولوژی و محیط زیست بوده و مورد توجه روزافزون کشاورزان، پژوهشگران، دولتمردان و سیاستگذاران قرار گرفته است.[۱۹]

روش‌های مختلف افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه شامل استفاده از محرک‌ها، افزودن پیش‌سازها، بهینه‌سازی محیط کشت، کشت ریشه‌های مویین و مهندسی ژنتیک می‌باشد.[۱۳] محلول‌پاشی یکی از روش‌های مهم رساندن مواد غذایی و عناصر مورد نیاز به گیاهان می‌باشد که به خاطر سرعت بالای جذب، زود به نتیجه رسیده و نیاز غذایی گیاهان تامین می‌شود. محلول‌پاشی با الکل یک روش مناسب در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان محسوب می‌شود. اتانول و متانول با داشتن مولکول‌های کوچک‌تر از دی‌اکسیدکربن از طریق انتشار ساده و بدون مصرف انرژی از غشاء سلول‌های گیاهی جذب می‌شود.[۳] نوع الکل، ساختار شیمیایی و متابولیسم آنها می‌تواند بر مسیر تولید متابولیت‌های ثانویه اثر داشته باشد. یکی از راه‌های تغییر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی، مواجه شدن با تنش و یا

[1] menthol
[2] menthone
[3] cineole
[4] O-cymene
[5] caryophyllene
[6] pipertone
[7] isomenthol
[8] phytole
[9] tannin
[10] carvone

جدول ۱) ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه نعناع فلفلی Table 1) Essential oil chemical composition of Peppermint

Compound	RI	Compound	RI	Compound	RI
α-thujene	926	1,8-Cineol	1031	trans pulegol	1215
α-pinene	940	n-octanol	1038	cis pulegol	1229
camphene	952	menthone	1153	piperitone	1253
sabinene	974	iso menthone	1163	menthyl acetate	1295
β-pinene	989	menthol	1172	α-copaeme	1377
myrcene	999	cis linalyl oxide	1174	E-caryophyllene	1420
α-phellandrene	1002	trans linalyl oxide	1177	α-himochalene	1451
Limonene	1029	trans piperitol	1208	germacrene D	1485

محرک‌هایی است که بتواند مسیر بیوسنتز را تحت تأثیر قرار دهد.[۱۷] محلول‌پاشی با الکل‌هایی نظیر متانول و اتانول به عنوان یک منبع کربنی و محرک زیستی می‌تواند باعث افزایش زیست توده و عملکرد گیاهان دارویی شود.[۱۰] متابولیسم متانول، اتانول و تبدیل آن به قندها در برگ‌های گیاهان تیمار شده با آن‌ها می‌تواند پتانسیل اسمزی برگ‌ها را تغییر و باعث افزایش فشار تورگر و افزایش هدایت روزنه‌ای آن‌ها گردد که این امر باعث افزایش سرعت آسیمیلاسیون و همچنین افزایش رشد گیاهان می‌شود.[۱۵]

متانول به صورت فرم‌آلدئید و دی‌اکسیدکربن در گیاه اکسید شده و به صورت اسیدهای آمینه (سرین[1] و متیونین[2]) و کربوهیدرات‌ها در بافت‌های مختلف گیاهان گیاهان سه کربنه ساخته می‌شوند.[۱۲] سرعت رشد محصول پس از محلول‌پاشی متانول به علت افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در برگ‌ها و استفاده از متانول به عنوان یک منبع مستقیم برای ساخته شدن اسیدآمینه سرین و یا کاهش هدر رفت کربن از طریق تنفس نوری می‌باشد.[۵]

این پژوهش جهت تعیین اثر محلول‌پاشی متانول و اتانول بر ترکیبات اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار سطح محلول‌پاشی اتانول و متانول شامل ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ ٪ حجمی، آب مقطر و بدون محلول‌پاشی با سه تکرار در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه اجرا شد. برای انجام آزمایش، پس از انجام شخم و عملیات آماده‌سازی زمین، کرت‌هایی به ابعاد ۳ × ۲ متر مربع ایجاد شد. فاصله بین کرت‌ها ۰/۵ متر و بین بلوک‌ها ۱ متر در نظر گرفته شد. در زمان کاشت، فاصله ریزوم‌های نعناع فلفلی از هم در یک ردیف ۲۰ سانتی‌متر و فاصله هر ردیف با هم ۵۰ سانتی‌متر بود. اولین محلول‌پاشی ۱ ماه پس از کاشت و اطمینان از استقرار کامل ریزوم‌ها و رشد گیاهان به ارتفاع ۱۰ سانتیمتری و دو مرتبه نیز طی فصل رشد گیاه و با فواصل ۱۴ روزه انجام شد. کل اندام هوایی گیاه در مرحله گلدهی برداشت شده و برای استخراج

[1] serine
[2] methionine

اسانس از روش تقطیر با آب و طرح کلونجر استفاده شد.

اسانس نعناع فلفلی در آزمایشگاه فیتوشیمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی[1] و کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی[2] مورد تجزیه قرار گرفت. پس از جداسازی ترکیب‌های اسانس، شاخص بازداری[3] و درصد ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس محاسبه و برای شناسایی ترکیب‌های موجود در هر اسانس از پیشنهادهای کتابخانه‌ای کامپیوتر دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی و مقایسه آنها با ترکیب‌های استاندارد استفاده شد.

دستگاه کروماتوگراف گازی از نوع فوق سریع مدل Thermo-UFM دارای ستون Hp-5 به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر بود. دمای اولیه ۶۰ درجه سلسیوس با زمان نگهداری ۳ دقیقه بود که در نهایت با افزایش ۸۰ درجه سلسیوس دما در هر دقیقه به دمای نهایی ۲۸۰ درجه سلسیوس رسید. از گاز حامل هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ با حرکت در طول ستون با سرعت ۳۲ سانتی‌متر بر ثانیه استفاده شد.

کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی از ۲۴۰-۴۰ درجه سلسیوس با سرعت افزایش دمای ۳ درجه سلسیوس در دقیقه بود. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیشتر از دمای نهایی ستون تنظیم شد. گاز حامل، هلیوم بود که با سرعت ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کرد. زمان اسکن برابر ۱ ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بود.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ver 9.1 تجزیه و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج در کل، ۲۴ ترکیب فرار عمده از اسانس نعناع فلفلی شناسایی شد (جدول ۱). ترکیبات آلفاتوجن[4]، آلفاپینن[5]، کامفر[6]، سابینن[7]، بتاپینن[8]، میرسن[9]، آلفا-فلاندرن[10]، لیمونن[11]، ۱،۸-سینئول[12]، ان-اکتانول[13]، منتون، ایزومنتون[14]، منتول، سیس‌لینالیل‌اکساید[15]، ترانس-پیپریتول[16]، پیپریتون[17]، آلفاکوپائن[18] در سطح احتمال ۱٪ و ترانس‌لینالیل-اکساید[19] در سطح احتمال ۵٪ تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی با مقادیر مختلف اتانول و متانول قرار گرفتند. از بین ترکیبات شناسایی شده اسانس نعناع فلفلی، تمام ترکیبات با جرم مولکولی پایین تحت تأثیر محلول‌پاشی با هیدروالکل‌ها قرار گرفت ولی از بین ترکیبات با جرم مولکولی بالا فقط آلفاکوپائن تحت تأثیر محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۲).

محلول‌پاشی با اتانول ۳۰٪ سبب افزایش تولید تمام ترکیبات اسانس نعناع فلفلی با جرم مولکولی پایین گردید ولی در تمام ترکیبات سنگین، محلول‌پاشی اتانول ۱۰٪ اثر مثبتی

[1] Gas Chromatography (GC)
[2] Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)
[3] Retention Index (RI)
[4] α-thujene
[5] α-pinene
[6] camphene
[7] sabinene
[8] β-pinene
[9] myrcene
[10] α-phellandrene
[11] limonene
[12] 1,8-Cineol
[13] n-octanol
[14] iso menthone
[15] cis linalyl oxide
[16] trans piperitol
[17] Piperitone
[18] α-copaeme
[19] trans linalyl oxide

جدول ۳) اثر اتانول و متانول بر ترکیبات اسانس نعناع‌فلفلی

Table 3- Effect of ethanol and methanol foliar spraying on essential oil components of peppermint

Component (%) / Treatments		α-thujene	α-pinene	camphene	sabinene	β-pinene	myrcene	α-phellandrene	limonene	1,8-Cineol	n-octanol	menthone	iso menthone	menthol	cis linalyl oxide	trans linalyl oxide	trans piperitol	piperitone	α-copaene
no spraying		0.38c	0.42c	0.76b	0.22d	0.23c	0.31c	6.01ab	0.57a-d	0.74d	0.29cd	20.96ab	12.41a	39.92bc	0.67c	0.54bc	2.00b	5.5bc	0.31b
distilled water spraying		0.12f	0.21e	0.34e	0.12e	0.12d	0.65b	3.03d	0.33e	1.23bc	0.37bcd	18.49b	8.56bc	45.88abc	0.90bc	0.73abc	1.19cd	6.46b	0.45a
Ethanol spraying (%)	**10**	0.30d	0.35d	0.56c	0.12e	0.12d	1.95a	3.74cd	0.37de	1.02cd	0.25d	22.00ab	13.02a	35.01c	1.19ab	0.80ab	2.52a	7.52a	0.40ab
	20	0.22e	0.32d	0.55c	0.12e	0.12d	0.12d	5.01bc	0.55bcd	1.75ab	0.64a	21.97ab	8.48bc	41.96abc	0.75c	0.64bc	0.89cd	2.4e	0.45a
	30	0.58a	0.69a	0.95a	0.35a	0.33a	1.80a	6.84a	0.65abc	1.89a	0.48abc	22.85a	10.75ab	37.84bc	0.75c	0.50c	0.80d	3.68d	0.12c
	40	0.12f	0.33d	0.12f	0.29bc	0.12d	0.45c	3.25d	0.80a	0.59d	0.25d	20.43ab	7.85c	48.47ab	0.89bc	0.70abc	1.40c	5.75b	0.35b
Methanol spraying (%)	**10**	0.52b	0.60b	0.93a	0.33ab	0.27c	0.35c	7.24a	0.59a-d	1.6ab	0.40bcd	22.45ab	9.04bc	38.83bc	0.75c	0.55bc	0.80d	4.47cd	0.45a
	20	0.12f	0.31d	0.30e	0.12e	0.35a	0.44c	3.01d	0.75ab	1.29bc	0.45bc	14.54c	7.71c	52.19a	0.93bc	0.80ab	1.01cd	6.03b	0.12c
	30	0.12f	0.12f	0.45d	0.25cd	0.22c	0.12d	2.95d	0.55cde	1.31bc	0.50ab	13.55c	7.00c	52.41a	1.30a	0.94a	1.25cd	5.72b	0.45a
	40	0.12f	0.12f	0.43d	0.12e	0.28bc	0.38c	3.18d	0.65abc	1.69ab	0.49ab	14.48c	8.07c	52.84a	0.97bc	0.80ab	0.75d	5.71b	0.35b

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ندارند

Means in each column followed by the same letter(s) are non-significantly different.

داشت. در کامفن و سابینن، متانول ۱۰٪ با اتانول ۳۰٪ در یک سطح آماری قرار گرفت و اگر هدف از از محلول‌پاشی افزایش مقدار آنها باشد می‌توان برای صرفه‌جویی در مصرف الکل از متانول استفاده نمود. در بتاپینن، متانول ۲۰٪ با اتانول ۳۰٪ در یک گروه آماری قرار گرفت ولی میرسن فقط تحت تأثیر مثبت رقت‌های ۱۰ و ۳۰٪ اتانول بود. رقت‌های کم اتانول و زیاد متانول در کنار محلول‌پاشی با آب مقطر باعث کاهش مقدار لیمونن و آلفافلاندرون شد. اثر مثبت محلول‌پاشی اتانول و متانول بر میزان ۱،۸–سینئول و محلول‌پاشی رقت‌های کم اتانول و زیاد متانول در ان‌اکتانول مشاهده شد. محلول‌پاشی متانول باعث کاهش میزان منتون و ایزومنتون شد ولی محلول‌پاشی ترکیبات هیدروالکلی در کنار تیمار آب مقطر باعث افزایش میزان منتول به عنوان مهمترین و باارزش‌ترین ترکیب شیمیایی اسانس نعناع فلفلی گردید و متانول اثر بهتری در مقایسه با اتانول نشان داد. محلول‌پاشی با اتانول ۱۰٪ در سیس‌لینالیل اکساید، ترانس‌پیپریتول، پیپریتون، آلفاکوپائن و ترانس‌لینالیل‌اکساید اثر مثبتی نشان داد. در کنار تیمار اتانول ۱۰٪، اثر مثبت محلول‌پاشی متانول در میزان سیس‌لینالیل‌اکساید، ترانس‌لینالیل‌اکساید و آلفاکوپائن مشاهده شد (جدول ۳).

بحث اعمال محلول‌پاشی با اتانول ۳۰٪ سبب افزایش تولید اغلب ترکیبات اسانس نعناع فلفلی گردید. اثر مثبت اتانول و متانول ۱۰٪ نیز تا اندازه‌ای مشاهده شد. از سوی دیگر، اثرات متفاوت محلول‌پاشی با متانول یا اتانول در افزایش یا کاهش میزان ترکیبات عمده اسانس نعناع فلفلی شامل منتول، منتون، آلفافلاندرون، ایزومنتون و پیپریتون مشاهده گردید. محلول‌پاشی با متانول سبب افزایش منتول در مقایسه با اتانول شد و رقت‌های بالاتر از ۱۰٪ متانول باعث افزایش معنی‌دار منتول شد ولی محلول‌پاشی متانول بر میزان منتون و ایزومنتون اثر منفی نشان داد. آلفافلاندرون همانند بیشتر ترکیبات مورد ارزیابی در متانول ۱۰٪ و اتانول ۳۰٪ و پیپریتون در اتانول ۱۰٪ بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۳). پیرو یافته‌های این پژوهش، محلول‌پاشی اتانول با تأثیر بر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به عنوان یک عامل محرک تولید سبب افزایش میزان و یا عملکرد کارواکرول و تیمول در گیاه دارویی آویشن می‌شود. الکل با افزایش فتوسنتز، تولید سیتوکنین و تحریک رشد گیاه، افزایش فعالیت آنزیم نیترات-ردوکتاز[۳۲] و کاهش تنفس نوری، می‌تواند در رشد و تغییر محتوای فیتوشیمیایی گیاهان نقش داشته باشد.[۱۷] تثبیت کربن در طی فتوسنتز صرف تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود.[۱۸] ارتباط متابولیسم متانول با تنفس نوری این است که آنزیم‌ها و برخی از ترکیبات شرکت کننده در سیکل تنفس نوری در متابولیسم متانول نیز نقش بسیار مهمی دارند. روبیسکو[۳۳]، کاتالاز[۳۴] و گلیکولات‌اکسیداز[۳۵] و گلیسین-دکربوکسیلاز[۳۶] از عمده‌ترین آنزیم-های موجود در برگ‌های بالغ، در متابولیسم و آسیمیلاسیون متانول در گیاهان نیز نقش اساسی دارند.[۱۶] در گیاهان ریحان و نعناع با افزایش تراکم غده‌های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ، باعث تجمع بیشتر اسانس می‌شود.[۶] بررسی اثر محلول‌پاشی متانول و اتانول بر خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه آویشن باغی نشان داد که محلول-پاشی متانول ۳۰٪ و اتانول ۲۰٪ با افزایش میزان اسانس، تیمول و

[32] nitrate reductase
[33] Rubisco
[34] Catalase
[35] Glycolate oxidase
[36] Glycine decarboxylase

کارواکرول سبب افزایش عملکرد فیتوشیمیایی گیاه می‌شود.[۱۷] گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد برخی از متابولیت‌ها تنها تحت تأثیر ژنتیک گیاه نیستند بلکه با توجه به الگوهای محیطی نیز تغییر می‌کنند.[۱۸] اسانس‌ها به طور کلی بازمانده‌های ناشی از فرآیندهای اصلی متابولیسم گیاهان محسوب می‌شوند.[۶] به طور کلی ترکیباتی نظیر منتول، منتون، ژرماکرن D و غیره در اغلب گیاهان تیره نعناع وجود دارند و منتول به عنوان مهمترین ترکیب معطر اسانس نعناع بوده و ارزش اقتصادی و دارویی آن وابسته به منتول است.[۲] مواد مؤثره اگرچه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آن‌ها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد.[۸] در پژوهش حاضر، متانول اثر بهتری در افزایش منتول در مقایسه با اتانول داشت و غلظت‌های بالاتر آن باعث افزایش معنی‌دار منتول در مقایسه با شاهد گردید. در پژوهشی روی نعناع فلفلی نشان داده شد که شرایط محیطی باعث متفاوت بودن میزان منتول تولیدی در مناطق مختلف رشد می‌شود.[۲] که تأیید کننده نتایج این پژوهش است. یکی از مهمترین عوامل تأثیرگذار در میزان متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، تنش‌های اعمال شده بر آنهاست. گیاهان در شرایط تنش با تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف، خودشان را در این شرایط حفظ می‌کنند. تنش خشکی در گیاه آویشن، میزان تیمول، کافئیک اسید[۳۷]، فولیک اسید[۳۸]، پاراکوماریک اسید[۳۹]، کلروژنیک اسید[۴۰]، سالیسیلیک اسید و وانیلیک اسید[۴۱] را افزایش ولی رزمارینیک اسید[۴۲] و روتین[۴۳] را کاهش می‌دهد. همچنین در گیاه آویشن و مریم گلی با افزایش فواصل آبیاری، به ترتیب درصد نسبی تیمول و رزمارینیک اسید افزایش می‌یابد.[۱۸] نتایج فوق نتایج حاصل از پژوهش حاضر در خصوص تغییر میزان ترکیبات اسانس نعناع فلفلی مانند منتول، منتون، ایزومنتون و غیره را در اثر مصرف اتانول و متانول تأیید می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی بیشتر ترکیبات موجود در اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر معنی‌دار محلول‌پاشی با اتانول و متانول قرار گرفت و بهترین تیمار در افزایش آنها اتانول ۳۰٪ بود. متانول در افزایش میزان منتول به عنوان مهم‌ترین ترکیب اقتصادی و دارویی اسانس نعناع فلفلی، تأثیر بهتری نسبت به اتانول از خود نشان داد و غلظت‌های بالاتر متانول سبب افزایش معنی‌دار منتول گردید در حالی که متانول اثر منفی بر تولید منتون و ایزومنتون در اسانس نعناع-فلفلی نشان داد. در کل، می‌توان با محلول‌پاشی برگی اتانول و متانول در راستای افزایش عملکرد کمی و کیفی اسانس نعناع فلفلی گام برداشت.

[37] caffeic acid
[38] folic acid
[39] ρ-Coumaric acid
[40] chlorogenic acid
[41] vanillic acid
[42] rosmarinic acid
[43] rutin

References

1. Abdolmaleki M, Bahraminejad S, Salari M, Abbasi S, Panjeke N (2011) Antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of Medicinal Plants 2(38): 26-34. [in Persian with English abstract]
2. Alaei SH, Khan Ahmadi M, Zaji B (2007) Comparative studies of essential oil and menthol content of cultivated peppermint in three different regions of Kermanshah. Plant and Ecosystem 3(9): 71-81. [in Persian with English abstract]
3. Asgari AA, Moinfard A (2014) The effect of alcohol foliar application on plants as a modern application in agriculture. Proceedings of the First National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran. Tehran, Iran 4 pp. [in Persian]
4. Chakraborty A, Chattopadhyay S (2008) Stimulation of menthol production in *Mentha piperita* cell culture. In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant 44(6): 518-524.
5. Fall R, Benson AA (1996) Leaf methanol, the simplest natural product from plants. Trends Plant Sciences 1(9): 296-301.
6. Farzaneh A, Ghani A, Azizi M (2010) The effect of water stress on morphological characteristic and essential oil content of improved sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Plant Production 17(1): 103-111. [in Persian with English abstract]
7. Heidari F, Zehtab Salmasi S, Javanshir A, Aliari H, Dadpoor MR (2008a) The effects of application microelements and plant density on phonology, yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24(1): 1-9. [in Persian with English abstract]
8. Heidari F, Zehtab Salmasi S, Javanshir A, Aliari H, Dadpoor MR (2008b) The effect of plant density on yield and production of essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Water and Soil Science 12(45): 501-510. [in Persian with English abstract]
9. Izadi Z, Ahmadvand GH, Esna-Ashari M, Piri M (2010) The effect of nitrogen and plant density on some growth characteristics, yield and essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 8(5): 824-836. [in Persian with English abstract]
10. Khosravi MT, Mehrafarin A, Naghdibadi H, Hajiaghaee R, Khosravi E (2011) Effect of methanol and ethanol application on yield of *Echinacea purpurea* L. in Karaj region. Journal of Herbal Drugs 2(2): 121-128. [in Persian with English abstract]
11. Mehrafarin A, Naghdi Badi H, Poorhadi M, Hadavi E, Qavami N, Kadkhoda Z (2011) Phytochemical and agronomical response of peppermint (*Mentha piperita* L.) to bio-fertilizers and urea fertilizer application. Journal of Medicinal Plants 4(40): 107-118. [in Persian with English abstract]
12. Nonomura AM, Benson AA (1992) The path of carbon in photosynthesis: improved crop yield with methanol. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Boston, USA 9794-9798.
13. Nourafcan H (2014) Elicitors, precursors and culture medium components effects on some growth characteristics, citral percentage and antimicrobial activity of essential oil of lemon verbena (*Lippia citriodora* H.B.K.) *in vitro* and greenhouse conditions. PhD Thesis, Islamic Azad University - Science and research Branch, Faculty of Agriculture: Tehran, Iran. [in Persian with English abstract]
14. Nourafcan H (2015) Effect of salicylic acid on salinity stress tolerance improvement of peppermint (*Mentha piperita* L.) in greenhouse. Agroecology Journal 10(2-2): 85-95. [in Persian with English abstract]
15. Nourafcan H, Kalantari Z (2017) The effect of methanol and ethanol foliar application on peppermint morpho-physiological traits. Agroecology Journal 12(4): 1-9. [in Persian with English abstract]
16. Safarzadeh Vishkaei MT (2007) Effect of methanol on growth and yield of peanut (*Arachis hypogaea* L.). PhD Thesis, Islamic Azad University - Science and research Branch, Faculty of Agriculture: Tehran, Iran. [in Persian with English abstract]
17. Sajedi Moghadam S, Mehrafarin A, NaghdiBadi H, Pazoki AR, Qavami N (2012) Evaluation of phytochemical yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under foliar application of hydro alcohols. Journal of Medicinal Plants 11(44): 130-140. [in Persian with English abstract]
18. Sayyadi A, Ahmadi J, Asghari B, Hosseini SM (2014) Effect of drought stress and salinity on phenolic

compounds of *Thymus vulgaris* L. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 2(4): 50-61. [in Persian with English abstract]

19. Tahami Zarandi SMK, Rezvani Moghaddam P, Jahan M (2010) Comparison the effect of organic and chemical fertilizers on yield and essential oil percentage of basil (*Ocimum basilicum* L.). Agroecology 2(1): 63-74. [in Persian with English abstract]

The effect of methanol and ethanol foliar application on essential oil composition of peppermint

Agroecology Journal

Vol. 14, No.2 (9-18)
(summer, 2018)

Hassan Nourafcan[1]✉, Zahra Kalantari[1], Fatemeh Sefidkon[2]

1 Horticultural Sciences Department, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

✉ Nourafcan@m-iau.ac.ir (**corresponding author**)

2 Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

Received: 28 January 2018 **Accepted**: 21 July 2018

Abstract

Mentha spp. are the main source of menthol essential oils. Medicinal plants sprayed with alcohols such as methanol and ethanol may cause vegetative growth and secondary metabolites improvement. The current study was carried out to evaluate ethanol and methanol foliar application efficiency on peppermint essential oils composition at Medicinal Plant Research Farm of Islamic Azad University, Miyaneh Branch based on randomized complete block design. One month aged peppermint plantlets were sprayed by 10, 20, 30 and 40% (v/v) ethanol and methanol aqueous solutions repeated twice two and four weeks after. The plants were harvested in flowering stage and their essential oils were extracted using hydro-distillation. The essential oils composition was specified using GC and GC-MS techniques. All phytochemicals in peppermint essential oils were significantly affected by hydroalcoholic solutions application but transpulegol, cis-pulegol, menthyl acetate, e-caryophyllene, α-himochalene and germacrene D. Plants sprayed by upper than 10% hydroalcohol solutions contained more menthol, significantly. Moreover, menthol amount was in higher values in the case of methanol application than ethanol. However, most of phytochemicals of peppermint were effectively promoted using ethanol 30%. Also, menthone and isomenthone negatively affected by methanol spraying in peppermint. Therefore, considering current research findings, methanol spraying is recommending to increase peppermint essence quality.

Keywords

- carbon dioxide
- foliar application
- hydro alcoholic
- menthol
- menthone

This open-access article is distributed under the terms of the Creative Commons-BY-NC-ND which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

DOI: 10.22034/AEJ.2018.543125