



بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و دوازدهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه خوارزمی،
تهران، ایران.
۱۶-۱۵ بهمن ۱۳۹۸



بررسی اسانس موجود در بخش‌های مختلف گیاه نعنا فلفلی با استفاده از

روش‌های طیف‌سنجی رامان

مژگان جمشیدیان^۱، مهرداد مرادی^۱ و رضا دهقانی بیدگلی^۲

^۱پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان، کاشان

^۲دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه کاشان، کاشان

mozgan1995j@gmail.com, m.moradi@kashanu.ac.ir, dehghanir@kashanu.ac.ir

چکیده - اسانس‌ها ترکیب‌های معطری هستند که در بافت‌های مختلف گیاه یافت می‌شوند که به علت تبخیر در دمای اتاق و در مجاورت هوا، به آن‌ها روغن‌های فرار، یا اسانس‌های روغنی اطلاق می‌گردد. اسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه یک گیاه می‌باشند که بخش اصلی گیاهان دارویی محسوب می‌شوند و در پزشکی کاربرد دارند. هدف از این مقاله شناسایی اسانس موجود در اندام‌های گیاه نعنا فلفلی مانند ساقه و برگ با استفاده از طیف‌سنجی رامان به عنوان جایگزین روش کروماتوگرافی گازی می‌باشد. در این بررسی ابتدا گیاه نعنا فلفلی از منطقه فین کاشان جمع‌آوری شد، سپس طیف برگ و ساقه تازه گیاه توسط طیف‌سنجی رامان گرفته شد. براساس نتایج به‌دست آمده از طیف‌سنج رامان مقدار اسانس موجود در برگ گیاه بیشتر از مقدار ساقه آن می‌باشد که با نتایج آنالیز کروماتوگرافی مطابقت دارد.

کلیدواژه- اسانس، برگ و ساقه گیاه نعنا فلفلی، طیف‌سنجی رامان، کلونجر، کروماتوگرافی گازی

Evaluation of essential oils in different parts of peppermint using Raman spectroscopy methods

Mozhgan Jamshidian¹, Mehrdad Moradi¹, Reza Dehghani Bidgoli²

¹Institute of Nanoscience and Nanotechnology, University of Kashan, Kashan, Iran

²Institute of College Natural Resources and Earth Sciences, University of Kashan, Kashan, Iran

Abstract- Essential oils are the aromatic compounds that found in various plant tissues and evaporate at room temperature, these oils named volatile oils or essential oils. Essential oils are the secondary metabolites of a plant that are the main part of medicinal plants and used in medicine. The purpose of this article is to identify essential oils in different parts of peppermint such as stem and leaf using Raman spectroscopy as an alternative to gas chromatography. In this study, peppermint was first collected from Fin Kashan region, then fresh leaf and stem spectra were obtained by Raman spectroscopy. According to the results that obtained from Raman spectroscopy, the amount of essential oil in the leaves of the plant was higher than the amount of stem, which confirmed by the results of chromatographic analysis.

Keywords: Essential oil, Leaves and stem Peppermint, Raman spectroscopy, Clevenger, Gas chromatography

مقدمه

نعنا فلفلی یکی از گیاهان بسیار مهم دارویی است که به طور گسترده در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و به شکل‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. نعنا فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) به عنوان سبزی، ادویه و گیاه دارویی کشت و استفاده می‌شود [۱]. تمام خواص دارویی و معطر نعنا فلفلی مربوط به وجود ترکیباتی است که در اسانس گیاه نعنا فلفلی وجود دارد. ترکیبات اصلی گیاه نعنا فلفلی منتون و منتول می‌باشند. میزان ترکیبات ثانویه در اندام‌های مختلف گیاهان شامل برگ، ساقه و ریشه متفاوت می‌باشد و آگاهی از این موضوع اهمیت زیادی دارد. باید توجه داشت که میزان مؤثره در گیاه به هیچ وجه ثابت نبوده و متناسب با میزان رشد گیاه تغییر می‌نماید. عوامل مهمی که در میزان مؤثره گیاهان دارویی مورد توجه قرار می‌گیرد و در هنگام جمع‌آوری و بهره‌برداری اندام‌های گیاهان دارویی باید به آن توجه شود، زمان جمع‌آوری گیاه و سن گیاه می‌باشد [۲]. یک گیاه دارای متابولیت‌های اولیه و متابولیت‌های ثانویه می‌باشد. متابولیت‌های اولیه به عنوان آن دسته از ترکیبات گیاهی در نظر گرفته می‌شوند که برای حیات گیاهان ضروری است. نمایندگان اصلی این گروه پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها هستند. متابولیت‌های ثانویه برای بقای سلول‌های گیاهی ضروری نیستند. انسان از متابولیت‌های ثانویه به عنوان دارو، طعم دهنده‌های غذایی و مواد مخدر استفاده می‌کند. در این مقاله طبقه‌بندی‌های اصلی ترکیبات ثانویه مهمی که برای تغذیه انسان‌ها هستند بیان شده است که شامل ترکیبات فنلی، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، پلی‌استیلین‌ها، ترکیبات نیتریل، ایریدوئیدها و کلروفیل‌ها می‌باشد. اسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که تحت تأثیر فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند.

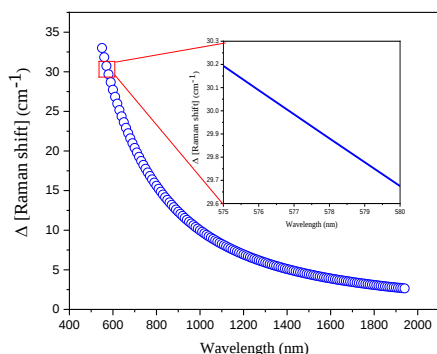
علیرغم پیشرفت‌های زیاد در علوم مختلف، امروزه روش‌های تشخیص متابولیت‌های اولیه و ثانویه در گیاهان عمدتاً روش غیرمستقیم، مخرب و هزینه‌بر کروماتوگرافی گازی می‌باشد. به این صورت که ابتدا اسانس موجود در اندام گیاه را از طریق دستگاه کلونجر استخراج کرده و سپس با دستگاه کروماتوگرافی آنالیز می‌شود. در این مقاله از روش طیف‌سنجی رامان برای بررسی میزان اسانس موجود در برگ و ساقه‌ی گیاه نعنا فلفلی استفاده شد این روش یک روش مستقیم می‌باشد که با خود اندام گیاه در ارتباط است. پدیده رامان مورد استفاده، تکنیکی ایده‌آل برای مطالعات بیولوژیکی است، چرا که آب یک پخش‌کننده ضعیف رامان به شمار می‌رود و در نتیجه تأثیر آن برای انجام مطالعات روی مواد گیاهی تازه مناسب‌تر است. از آنجا که قطر پرتو لیزری که به عنوان منبع نوردهی در دستگاه طیف‌سنج رامان استفاده می‌شود، در حدود ۰/۲ تا ۲ میلی‌متر است، می‌توان با نمونه‌های بسیار ریز و با حجم کم هم کار کرد. علاوه بر این، حساسیت بالا، زمان کوتاه آزمایش، عدم نیاز به آماده‌سازی نمونه و غیر مخرب بودن این تکنیک، از جمله مزایای دیگری هستند که بر جذابیت استفاده از طیف‌سنجی رامان افزوده‌اند [۳].

مواد و روش‌ها

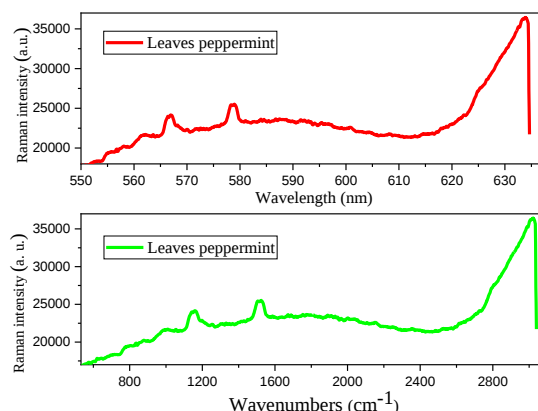
در این تحقیق گیاه نعنا فلفلی از منطقه فین کاشان جمع‌آوری و برای تشخیص میزان اسانس موجود در برگ و ساقه گیاه طیف رامان گرفته شد. اندازه‌گیری طیف رامان گیاه با استفاده از یک اسپکترومتر دستی رامان، مجهز به یک لیزر ۵۳۲ نانومتری انجام شد. طیف‌سنج مورد استفاده در این تحقیق، طیف‌سنج رامان ساخت شرکت ASEQ در کشور کانادا می‌باشد. کل زمان قرار گرفتن نمونه‌ها در معرض طیف رامان ۵ ثانیه، توان لیزر ۱۰۰ میلی‌وات و دقت طیف‌سنج ۰/۴ نانومتر بود. در این طیف‌سنج برای کاهش نویزهای موجود در طیف و افزایش دقت طیف‌های رامان از یک آشکارساز با قابلیت خنک‌کنندگی استفاده شد.

بحث و بررسی

شکل ۱ طیف رامان برگ گیاه نعنا فلفلی را نشان می‌دهد. نمودار رامان نمونه برگ (بالا) بر حسب طول موج و (پایین) بر حسب عدد موج می‌باشد.



شکل ۲: جابجایی رامان بر حسب طول موج مختلف به ازای تغییر یک نانومتر، شکل داخلی تغییر در طیف رامان در حوالی طول موج ۵۸۰ نانومتر.



شکل ۱: طیف رامان برگ (بالا) بر حسب طول موج و (پایین) بر حسب عدد موج.

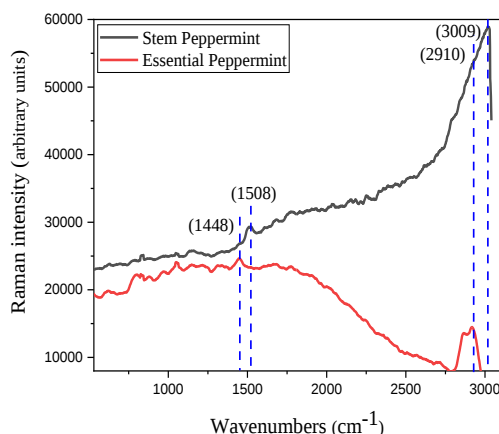
همانطور که مشاهده می‌کنید محور افقی بیانگر جابجایی قله رامان است که مطابق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$Raman\ shift [cm^{-1}] = \frac{10^7}{\lambda_{ex} [nm]} - \frac{10^7}{\lambda [nm]} \quad (1)$$

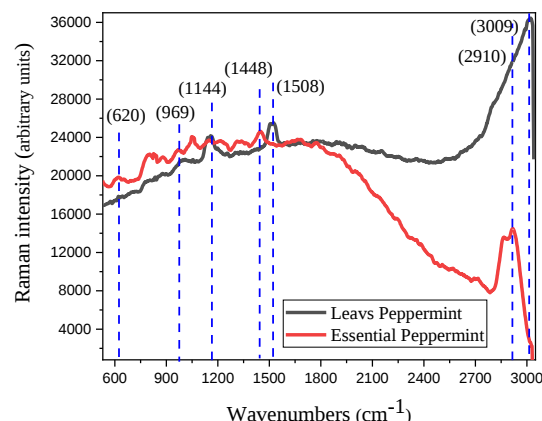
λ_{ex} بیانگر طول موج لیزر تحریک کننده یعنی ۵۳۲ نانومتر و λ طول موج فوتون‌های پراکنده شده به صورت غیرالاستیک که معرف پراکندگی رامان هستند. محور عمودی نیز شدت پراکندگی رامان را نمایش می‌دهد و از طریق شمارش فوتون‌های پراکنده شده از نمونه در آشکارساز CCD به دست می‌آید. با استفاده از رابطه (۱) می‌توان مقدار اختلاف ایجاد شده به ازای یک نانومتر تغییر در طول موج پراکنده شده رامان را به دست آورد:

$$\Delta R_{Raman\ shift} = \left(\frac{1}{\lambda_{ex}} - \frac{1}{\lambda} \right) - \left(\frac{1}{\lambda_{ex}} - \frac{1}{\lambda+1} \right) = \frac{-1}{\lambda(\lambda+1)} \quad (2)$$

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود میزان اسانس موجود در برگ با توجه به پیک‌های ۹۶۹ و ۱۱۴۴ بر سانتیمتر قابل مشاهده هستند. طبق تحقیقات صورت گرفته توسط محققان اجزاء اصلی اسانس نعنا فلفلی منتون و منتول می‌باشد که به ترتیب قله آن‌ها در محدوده ۱۴۴۸ و ۶۲۰ بر سانتیمتر رخ می‌دهد [۴]. قله ۱۵۰۸ بر سانتیمتر در طیف برگ به نظر همان قله ۱۴۴۸ بر سانتیمتر در اسانس می‌باشد ولی مقدار ۶۰ بر سانتیمتر جابجا شده است. طبق فرمول شماره (۱) قله ۱۵۰۸ بر سانتیمتر به نانومتر تبدیل شود طول موج ۵۷۸/۴ نانومتر به دست می‌آید و قله ۱۴۴۸ بر سانتیمتر در طیف اسانس بر حسب نانومتر عدد ۵۷۶/۴ به دست می‌آید تفریق این دو عدد برابر با ۲ نانومتر می‌باشد پس این شیفت بر حسب طول موج مقدار کمی است که به احتمال زیاد بخاطر بافت‌های داخلی برگ گیاه می‌باشد. قله ۳۰۰۹ نیز مربوط به دسته‌ای از لیپیدها می‌باشد که در محدوده ۲۹۱۰ نیز در اسانس توسط طیف‌سنجی رامان تشخیص داده شده است [۵].



شکل ۴: نمودار طیف رامان ساقه و اسانس گیاه نعنا فلفلی
توسط طیف‌سنج ASEQ ساخت کشور کانادا.



شکل ۳: نمودار طیف برگ و اسانس نعنا فلفلی توسط طیف‌سنج
رامان ASEQ ساخت کشور کانادا.

نتیجه‌گیری

با استفاده از طیف‌سنجی رامان اسانس موجود در ساقه و برگ گیاه نعنا فلفلی بررسی شد که جایگزین روش غیر مستقیم، مخرب و هزینه‌بر کروماتوگرافی گازی شد. نتایج نشان دادند که اسانس موجود در برگ بیشتر از ساقه است که به نظر می‌رسد بخاطر کرک‌های موجود در برگ است.

مرجع‌ها

- [۱] محمودزاده، مهدی، علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، تابستان ۱۳۹۵.
- [۲] زرگری، علی، گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۱.
- [۳] خدابخشیان، کارگر؛ عمادی، باقر. «تعیین مراحل رسیدگی خرماي مضافتي با استفاده از طیف‌سنجی رامان»؛ نشریه ماشین‌های کشاورزی، جلد ۶، شماره ۱، صفحه ۲۰۱ تا ۲۱۳، بهار و تابستان ۱۳۹۵.

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در طیف ساقه نیز مانند طیف برگ در شکل ۳، قله ۱۵۰۸ که جابه‌جا شده قله ۱۴۴۸ در طیف اسانس است، نیز وجود دارد. این قله بیانگر وجود میزان اسانس موجود در ساقه می‌باشد ولی این مقدار نسبت به قله موجود در طیف برگ ضعیف‌تر است. در تحقیقات گذشته توسط آنالیزهای کروماتوگرافی مشخص شده است که میزان اسانس موجود در برگ گیاه نعنا فلفلی بیشتر از اسانس موجود در ساقه می‌باشد زیرا منابع اسانسی این گیاه از نوع کرک‌های ترش‌می‌باشد که بیشتر در برگ تجمع دارد [۶]. قله ۳۰۰۹ برسانتیمتر نیز مربوط به دسته ای لیپیدها می‌باشد که طبق شکل ۴ در ساقه نیز وجود دارد.

- [4] P. Jentzsch, L. Ramos, V. Ciobota, "Handheld Raman spectroscopy for the distinction of essential oils used in the cosmetics industry", *Cosmetics*, Vol. 2, No. 2, pp. 162-176, 2015
- [5] H. Schulz, M. Baranska, "Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy", *Vib. Spectrosc.* Vol. 43, No. 1, pp.13-25, 2007.
- [6] D. J. Guedon, B. P. Pasquier, "Analysis and distribution of flavonoid glycosides and rosmarinic acid in 40 *Mentha x piperita* clones", *J. Agric. Food chem.* Vol. 42, pp. 679-684, 1994.