

## بررسی اسانس موجود در بخش‌های مختلف گیاه نعناع فلفلی با استفاده از روش‌های طیف‌سنجدی رامان

مژگان جمشیدیان<sup>۱</sup>، مهرداد مرادی<sup>۱</sup> و رضا دهقانی بیدگلی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه کاشان، کاشان

<sup>۲</sup>دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه کاشان، کاشان

[mozgan1995j@gmail.com](mailto:mozgan1995j@gmail.com), [m.moradi@kashanu.ac.ir](mailto:m.moradi@kashanu.ac.ir), [dehghanir@kashanu.ac.ir](mailto: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 متabolیت‌های ثانویه یک گیاه می‌باشند که بخش اصلی گیاهان دارویی محسوب می‌شوند و در پژوهشی کاربرد دارند. هدف از این مقاله اسانس موجود در اندام‌های گیاه نعناع فلفلی مانند ساقه و برگ با استفاده از طیف‌سنجدی رامان به عنوان جایگزین روش کروماتوگرافی گازی می‌باشد. در این بررسی ابتدا گیاه نعناع فلفلی از منطقه فین کاشان جمع‌آوری شد، سپس طیف برگ و ساقه تازه گیاه توسط طیف‌سنجدی رامان گرفته شد. براساس نتایج بدست آمده از طیف‌سنجدی رامان مقدار اسانس موجود در برگ گیاه بیشتر از مقدار ساقه آن می‌باشد که با نتایج آنالیز کروماتوگرافی مطابقت دارد.

کلید واژه- اسانس، برگ و ساقه گیاه نعناع فلفلی، طیف‌سنجدی رامان، کلونجر، کروماتوگرافی گازی

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

Mozhgan Jamshidian<sup>1</sup>, Mehrdad Moradi<sup>1</sup>, Reza Dehghani Bidgoli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Nanoscience and Nanotechnology, University of Kashan, Kashan, Iran

<sup>2</sup>Institute 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

علیرغم پیشرفت‌های زیاد در علوم مختلف، امروزه روش‌های تشخیص متابولیت‌های اولیه و ثانویه در گیاهان عمدهاً 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 طیف‌سنجدی 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 طیف‌سنجدی رامان استفاده می‌شود، در حدود  $0.2\text{ تا }2\text{ میلی‌متر}$  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 طیف‌سنجدی رامان افزوده‌اند [۳].

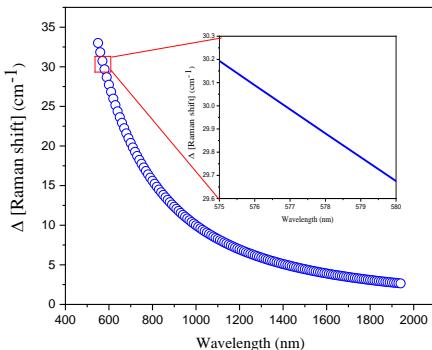
## مواد و روش‌ها

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  $532\text{ نانومتری}$  انجام شد. طیف‌سنجدی مورد استفاده در این تحقیق، طیف‌سنجدی رامان ساخت شرکت ASEQ در کشور کانادا می‌باشد. کل زمان قرار گرفتن نمونه‌ها در معرض طیف رامان  $5\text{ ثانیه}$ ، توان لیزر  $100\text{ میلی‌وات}$  و دقت طیف‌سنجدی  $0.4\text{ نانومتر}$  بود. در این طیف‌سنجدی برای کاهش نویزهای موجود در طیف و افزایش دقت طیف‌های رامان از یک آشکارساز با قابلیت خنک‌کنندگی استفاده شد.

## مقدمه

نuna 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. نuna 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 نuna فلفلی مربوط به وجود ترکیباتی است که در اسانس گیاه نuna فلفلی وجود دارد. ترکیبات اصلی گیاه نuna فلفلی منتalon 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 مواد مؤثره در گیاه به هیچ وجه ثابت نبوده و متناسب با میزان رشد گیاه تغییر می‌نماید. عوامل مهمی که در میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی مورد توجه قرار می‌گیرد و در هنگام جمع‌آوری و بهره برداری 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، الکالوئیدها، پلی استیلن‌ها، ترکیبات نیتریل، ایریدوئیدها و کلروفیل‌ها می‌باشد. انسان‌ها متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که تحت تأثیر فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند.

نمودار معادلات بالا نیز در شکل ۲ رسم شده است که محور X طول موج فوتون فرودی بحسب نانومتر و محور Y میزان تغییرات شیفت‌های رامان را نشان می‌دهد.

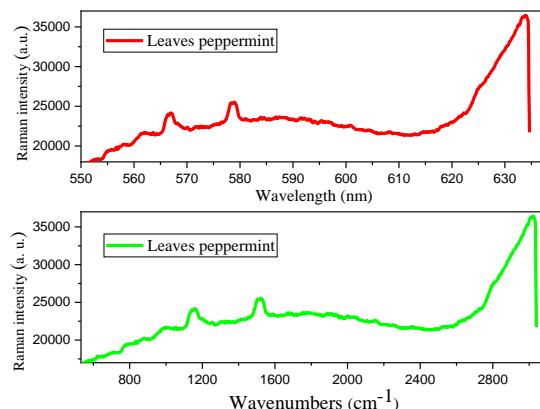


شکل ۲: جابجایی رامان بر حسب طول موج مختلف به ازای تغییر یک نانومتر، شکل داخلی تغییر در طیف رامان در حوالی طول موج ۵۸۰ نانومتر.

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 ۶۰ قله ۱۴۴۸ بر سانتیمتر در اسانس می‌باشد ولی مقدار بر سانتیمتر جابجا شده است. طبق فرمول شماره (۱) قله ۵۷۸/۴ ۱۵۰۸ بر سانتیمتر به نانومتر تبدیل شود طول موج ۵۷۶/۴ نانومتر به دست می‌آید و قله ۱۴۴۸ ۱۴۴۸ بر سانتیمتر در طیف اسانس بر حسب نانومتر عدد ۵۷۶/۴ به دست می‌آید تفرقی این دو عدد برابر با ۲ نانومتر می‌باشد پس این شیفت بر حسب طول موج مقدار کمی است که به احتمال زیاد بخارتر 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].

## 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 ۱: طیف رامان برگ (بالا) بر حسب طول موج و (پایین) بر حسب عدمدوج.

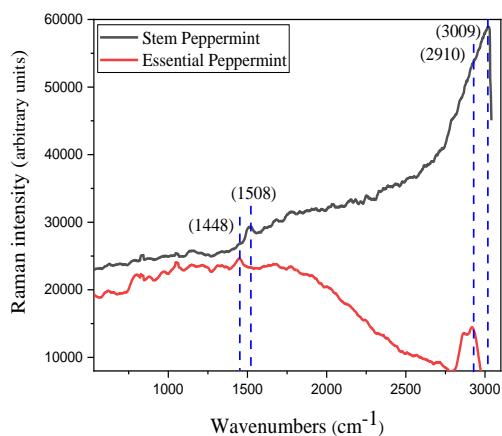
همانطور که مشاهده می‌کنید محور افقی بیانگر جابجایی قله رامان است که مطابق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

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

$\lambda_{ex}$  بیانگر طول موج لیزر تحریک کننده یعنی ۵۳۲ نانومتر و  $\lambda$  طول موج فوتون‌های پراکنده شده به صورت غیرالاستیک که معرف پراکنده‌گی رامان هستند. محور عمودی نیز شدت پراکنده‌گی 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:

$$\Delta R_{\text{Raman shift}} =$$

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



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

### نتیجه‌گیری

با استفاده از طیفسنجی رامان اسانس موجود در ساقه و برگ گیاه نعنای 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 با خاطر کرک‌های موجود در برگ است.

### مرجع‌ها

[۱] محمودزاده، مهدی، علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، تابستان ۱۳۹۵.

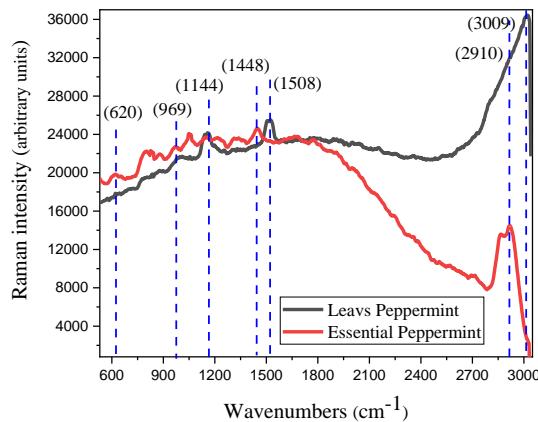
[۲] زرگری، علی، گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۱.

[۳] خدابخشیان، کارگر؛ عمادی، باقر. «تعیین مراحل رسیدگی خرمای مضافتی با استفاده از طیفسنجی رامان»؛ نشریه ماشین‌های کشاورزی، جلد ۶، شماره ۱، صفحه ۲۰۱ تا ۲۱۳، بهار و تابستان ۱۳۹۵.

[۴] 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

[۵] 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.

[۶] 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.



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

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در طیف ساقه نیز مانند طیف برگ در شکل ۳، قله ۱۵۰۸ که جایه‌جا 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 نعنای فلفلی بیشتر از اسانس موجود در ساقه می‌باشد زیرا منابع اسانسی این گیاه از نوع کرک‌های ترشحی می‌باشد که بیشتر در برگ تجمع دارد [۶]. قله ۳۰۰۹ برسانتمتر نیز مربوط به دسته‌ای لیپیدها می‌باشد که طبق شکل ۴ در ساقه نیز وجود دارد.