مقایسه دو دستگاه تقطیر با بخار(طراحی جدید)و اثرات آنها بر میزان و ترکیبهای اسانس نعناع فلفلی *Mentha x piperita* L.

کامکار جایمند[1] – محمد باقر رضایی[1] – فاطمه عسگری[1]

چکیده

گونه‌های نعناع از جمله گیاهان بسیار مهم می‌باشد که در صنایع دارویی، بهداشتی و غذایی مصرف وسیعی دارد. نمونه نعناع فلفلی در تیرماه ۱۳۸۰ از مجتمع تحقیقاتی البرز (مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی) جمع‌آوری و از برگ خشک با مقایسه دو دستگاه تقطیر با بخار(طراحی جدید) اسانسگیری بعمل آمد. بازده اسانس نمونه‌های جمع‌آوری شده، (طرح ۱ و ۲ جایمند – رضایی) به‌ترتیب ۰/۱٦ و ۰/۲۲ درصد بدست آمد. بعد ترکیبهای اسانس توسط دستگاههای کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد شناسایی قرار گرفتند. ترکیبهای عمده در طرح –۱، عبارتند از: ایزومنتول (٤۱/۵ درصد)، ایزومنتون (۱۷/۵ درصد)، بتا – اوسیمن (۷/۸ درصد) و کارواکرول (۷/۸ درصد) و ترکیبهای عمده در طرح –۲، عبارتند از: ایزومنتون (۲۸/٦ درصد)، کارواکرول (۱۳/۸ درصد)، بتا – اوسیمن (۸/٤درصد) و پولگون (۷/٤ درصد). همان‌طورکه شرایط منطقه، شامل نوع خاک، آب و هوا می‌توانند در نتایج یک گونه تأثیر داشته باشند، طراحی‌های مناسب دستگاه نیز بر میزان ترکیبها در اسانس تأثیر به‌سزایی خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: نعناع فلفلی، ترکیبهای شیمیایی، روش استخراج، تقطیر با بخار

---

[1] اعضاء هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق پستی ۱۱٦ – ۱۳۱۸۵

مقدمه

نعناع و یا پونه از خانواده نعناعیان است که در صنایع بهداشتی و دارویی مصارف وسیعی دارد. گونه‌های استفاده شده در این تحقیق شامل نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) که به انگلیسی به آن Pepermint گفته می‌شود دو واریته به نامهای *M. piperita* var. *vulgaris* Sole (نعناع سیاه) و *M. piperita* var. *officinalis* Sole (نعناع سفید) دارد (میرحیدر، ۱۳۷۲). گونه *M. piperita* L. نتیجه هماوری بین دو گونه M. aquatica و گونه *M. viridis* است، ولی تفاوت این دو گونه نا باروری بذر آنها است. بنابراین، دو گونه نعناع فاقد تکثیر جنسی هستند، و بقاء یا پایایی آن به کمک تکثیر رویشی، یعنی نمو ساقه خزنده انجام می‌گیرد (قهرمان، ۱۳۷۳). از کلیه قسمتهای هوایی این گیاه بوی معطر و مطبوع استشمام می‌شود، ولی در صورت جویدن علاوه بر بوی اسانس، در مخاط دهان نیز خنکی احساس می‌شود، که به‌خاطر وجود ترکیب (-)- منتول می‌باشد. درحال حاضر در ایران از اسانس نعناع فلفلی گونه *M..piperita* L. (که بیشتر وارداتی است) همراه دیگر گونه‌های گیاهی در ساخت داروهای گیاهی زیر، برای مثال قرص مکیدنی، آلتادین (موارد مصرف : التهابهای مخاط گلو و دهان)، قرص روکشدار آلیکوم (موارد مصرف: پایین آورنده فشار و چربی خون، ضد تصلب شرایین، ضد نفخ، اشتهاآور)، گرانول پلانتاژل (موارد مصرف: اسهالهای ساده)، قرص د- رگلیس (موارد مصرف: درمان زخم معده و اثنی عشر، گاستریت و نفخ معده)، پودر کارامین (موارد مصرف: اختلالهای هضم همراه نفخ)، شربت کاراوی میکسچر (موارد مصرف: دل درد نوزادان و اختلالات گوارشی در کودکان)، قرص مکیدنی ماسومنت (موارد مصرف: اسپاسمهای دستگاه گوارش، نفخ معده و به‌عنوان خوشبو کننده دهان)، ژل منتاژل (موارد مصرف: قارچ کچلی لای انگشتان پا و کشاله ران، ضد خارش و سوزش، گزیدگیها و سوختگیهای سطحی مصرف فراوانی دارد (درخشان رودسری، ۱۳۷۵).

مواد و روشها

الف- جمع‌آوری و شناسایی:

نمونه مورد آزمایش نعناع فلفلی (Mentha piperita L.) در تاریخ ۹ تیر ۱۳۸۰ از ایستگاه البرز (ایستگاه تحقیقاتی کشت گونه‌های دارویی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع در کرج) جمع‌آوری و در بخش تحقیقات گیاه شناسی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع مورد شناسایی قرار گرفت.

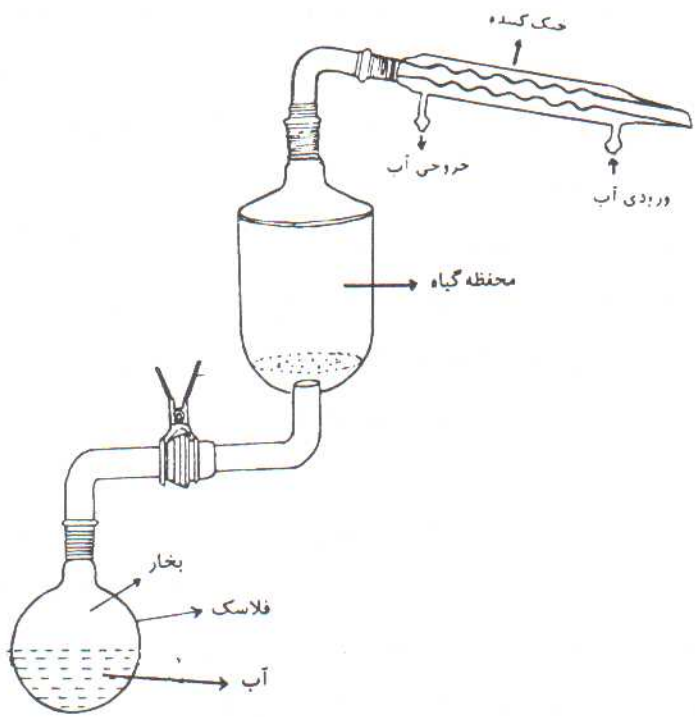
ب- روش استخراج:

نمونه مورد آزمایش به دو روش کلاسیک تقطیر با بخار (طرح -۱ و طرح -۲، جایمند - رضایی) اسانسگیری شد. بازده اسانس به روش تقطیر با بخار به‌ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۲۲ درصد بدست آمده است.

معمولاً از روش تقطیر با بخار مستقیم جهت استخراج اسانس از اندام تازه گیاهان استفاده می‌کنند. بنابراین سرشاخه‌های گلدار گیاه را پس از جمع‌آوری و آماده‌سازی داخل محفظه مخصوص گیاه در دستگاه تقطیر قرار دادیم. بدین وسیله اسانس همراه با بخار آب در قسمت سرد کننده جمع می‌شود. روش تقطیر (برای جمع‌آوری اسانسها) روشی است که فشار بخار با شدت زیاد به داخل بافتها و سلولهای گیاهی نفوذ می‌کند. در این روش تجزیه ترکیبهای اسانس به حداقل ممکن می‌رسد. سرعت جریان آب در داخل مبرد باید برای سرد نگهداشتن آن کافی باشد. میزان دما در دستگاه حرارتی (هیتر) بایستی تنظیم شده باشد تا از جوشیدن زیاد جلوگیری شود و مایع با سرعتی یکنواخت و آرام تقطیر شود.

طبق بررسی انجام شده، درمورد با روش تقطیر با بخار در دارونامه بریتانیا (BP) روشی ارائه نشده است، بلکه فقط روش تقطیر ساده را بیان نموده است. آقای توش (J. Touche) یکی از کارشناسان UNDP طی سفری که در سال ۱۹۹۵ به ایران

(به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع) داشتند، دستگاه تقطیر با بخاری را (بالن شیشه‌ای یک لیتری که ۷۵ تا ۱۰۰ گرم گیاه خشک گنجایش دارد) به ایران آوردند. این دستگاه به سیم مولد گرمایی (Heating cord) جهت انتقال گرما مجهز بود (شکل شماره۱). درجایی‌که این دستگاه جهت اسانسگیری ساخته شده بود، ولی برای انتقال بخار و نصب با مشکلاتی، زمان استخراج اسانس روبرو بودیم، از این‌رو به‌طور مستقیم اقدام به طراحی و ساخت دستگاه تقطیر با بخار به‌طور مستقیم اقدام نمودیم. نصب این دستگاه به راحتی انجام می‌گیرد و مسیری را که بخار باید طی نماید کوتاه شده است و طی آزمایشهای انجام شده در بعضی موارد قابلیت بالاتری جهت تهیه اسانس به همراه دارد.

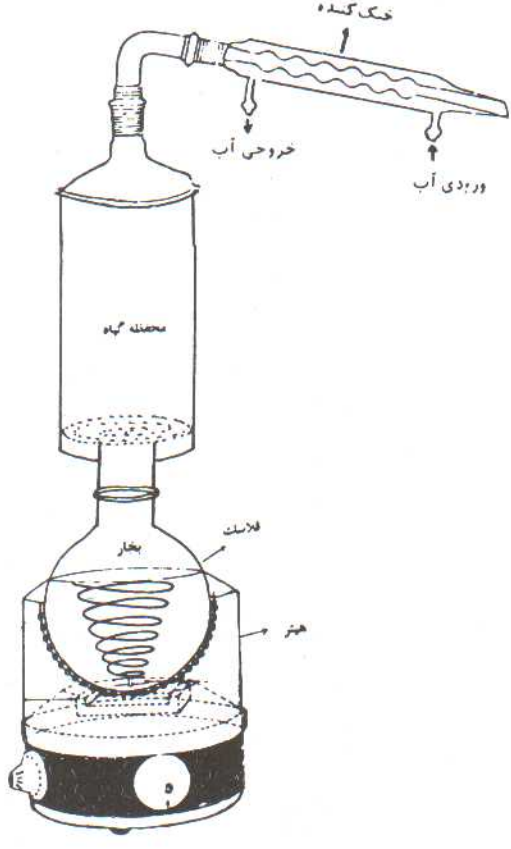


شکل شماره ۱: دستگاه تقطیر با بخار (به‌طور غیر مستقیم)

آقای توش (J. Touche)

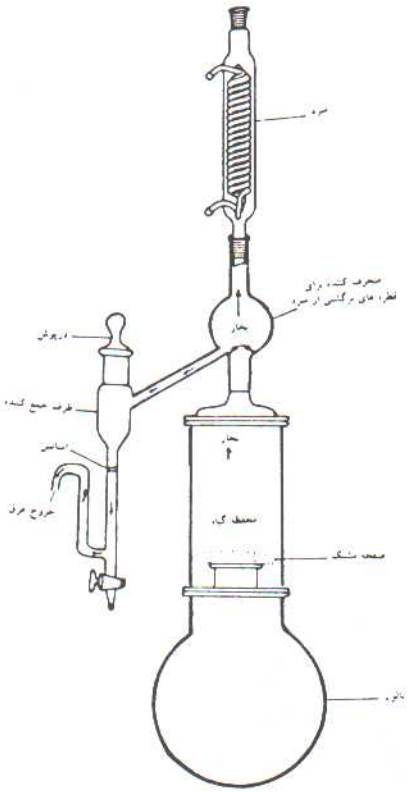
دستگاه تقطیر با بخار (طرح –۱) جایمند - رضایی

طراحی دو دستگاه تقطیر با بخار (شکل شماره ۲و۳) در آزمایشگاه شیمی گیاهی بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع طراحی شده است. دستگاه طرح–۱، براساس (شکل شماره ۱) طراحی شده است. در فصل سرما می‌توان توسط ژاکت (پشم شیشه) محفظه گیاه و مسیر عبور بخار را پوشاند. بنابراین بخار به راحتی تا مبرد جریان پیدا خواهد کرد.



شکل شماره ۲: دستگاه تقطیر با بخار (طرح –۱) جایمند – رضایی

دستگاه طرح –۲، در این طرح بالون و محفظه گیاه همانند طرح شماره ۱ می‌باشد. ولی اختلاف در وضعیت سوار نمودن مبرد (به صورت عمودی)، قسمت منحرف کننده و خروج عرق می‌باشد. در این روش نصب مبرد تغییر کرده و اسانس نیز در قسمت بالا خنک و در بازوی (کناری) جمع‌آوری و عرق از طریق لوله به شکل U وارد ظرف می‌شود پس از اتمام زمان اسانسگیری می‌توان با باز نمودن شیر انتهایی اسانس را برداشت نمود. همچنین با برداشت درپوش بازوی کناری می‌توان اسانس را در فواصل زمانی معیین با سرنگ برداشت نمود.



شکل شماره ۳: دستگاه تقطیر با بخار (طرح –۲)، جایمند – رضایی

۱- دستگاه کروماتوگرافی گازی:

کروماتوگراف گازی مدل GC-9A Shimadzu مجهز به دتکتور F.I.D. (یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن) و داده پرداز EuroChrom 2000 از شرکت Knauer آلمان، ستون DB-1 که ستون غیر قطبی است به طول ٦٠ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون است. برنامه ریزی حرارتی ستون DB-1 ، از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش دمای ٤ درجه سانتیگراد در دقیقه انجام گردید. گاز حامل هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر ۲/۵ کیلو گرم بر سانتیمتر مربع تنظیم شده است. نسبت شکافت برابر ۱ : ۱۰۰، برای رقیق کردن نمونه استفاده گردید. دمای قسمت تزریق ۲۲۰ درجه سانتیگراد و دمای آشکار ساز ۲۵۰ درجه سانتیگراد محاسبه گردیده است.

۲ – کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) :

دستگاه کرماتوگراف گازی مدل Varian 3400، متصل شده به دستگاه طیف سنج جرمی Saturn II، ستون همانند ستون دستگاه GC می‌باشد، فشار گاز سر ستون Psi ۳۵ ، انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت. برنامه ریزی حرارتی ستون از ٤۰ تا ۲۵۰ درجه سانتیگراد با سرعت افزایش ٤ درجه سانتیگراد در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق ۲٦۰ درجه سانتیگراد و دمای ترانسفر لاین ۲۷۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده است.

شناسایی طیفها به کمک شاخصهای بازداری آنها که با تزریق هیدرو کربورهای نرمال (C_7-C_{25}) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانسها و توسط برنامه کامپیوتری

نوشته شده به زبان بیسیک محاسبه شدند و مقایسه آنها با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده (Sandra و Bicchi، ۱۹۸۷ و Davies، ۱۹۹۸) صورت گرفت و نیز با استفاده از طیفهای جرمی ترکیبهای استاندارد، استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه ترپنوییدها در کامپیوتر دستگاه GC/MS تأیید شدند.

محاسبه‌های کمی (تعیین در صد هر ترکیب) به کمک داده پرداز EuroChrom 2000 به روش نرمال کردن سطح[1] و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ[2] مربوط به طیفها انجام شده است.

نتایج

همان‌طورکه در جدول زیر مشاهده می‌نمایید از یک گونه نعناع فلفلی با یک روش تقطیر با بخار، ولی با دو دستگاه مختلف نتایج متفاوتی بدست آمده است.

جدول شماره ۱: شناسایی ترکیبهای اسانس نعناع فلفلی توسط دو دستگاه تقطیر با بخار بر روی ستون DB-1

ردیف	نام ترکیب	طرح –۱	طرح –۲	R.I. *
۱	camphene	۰/۵	۰/۲	۹۴۴
۲	myrcene	۰/۵	۰/۳	۹۷۹
۳	trans – p – menthane	۱/۰	۰/٤	۹۸۳
٤	cis – p – menthane	۰/۵	۰/٦	۹۹۳
۵	(E) - β - ocimene	۷/۸	۸/٤	۱۰۳۵
٦	terpinolene	۱/٦	۳/۰	۱۰٦۷
۷	isomenthone	۱۷/۵	۲۸/٦	۱۱۵۳
۸	menthofuran	۲/۲	٤/۱	۱۱۵۹
۹	γ - terpineol	۱/٤	۲/۲	۱۱٦۲
۱۰	pulegone	٤/۱	۷/٤	۱۱٦۷
۱۱	isomenthol	٤۱/۵	٤/۲	۱۱۸٤
۱۲	carvomenthone	۰/۵	۰/۹	۱۱۹۲
۱۳	piperitone	۰/۵	۱/۰	۱۲۳۰
۱٤	isopiperitone	۰/۳	۰/٦	۱۲٤۲
۱۵	piperitone oxide	۰/٦	۱/۰	۱۲۷۲
۱٦	carvacrol	۷/۸	۱۳/۸	۱۲۹۲
۱۷	p-menthan-3,8-diol	۰/٤	۰/۸	۱۳۰۵
۱۸	α - gurjunene	۱/۱	۲/٤	۱۳۹۳
۱۹	β - carryophyllene	۳/۳	٦/۸	۱٤۲۵
۲۰	α - humulene	۰/۵	۱/۰	۱٤٤٦
۲۱	germacrene D	۲/۳	۵/۰	۱٤۷۵
۲۲	germacrene B	۰/۳	۰/۷	۱٤۸۷
۲۳	guaiol	۰/۷	۱/۷	۱۵۸۳

* R.I. = شاخصهای بازداری بر روی ستون DB-1 .

بحث

کیفیت طبیعی اسانس نعناع فلفلی اختلافشان بستگی به عوامل ذاتی (ژنتیک یا قابلیت وراثت از ساقه، وضعیت بلوغ گیاه ، و غیره) و عوامل بیرونی (نور خورشید، آب، حرارت ، فشار، بلندی، عرض جغرافیایی، خاک و غیره) در رشد گیاه و میزان اسانس نعناع تاثیر می‌گذارد. به‌علاوه، شرایط و نوع وسایل بکار برده شده در تقطیر در تعیین کیفیت اسانس نعناع فلفلی خیلی مهم است. پس نمونه‌های اسانس طبیعی از کشورهای مختلف می‌توانند به‌واسطه مزه و کیفیت بوی شان اغلب تعیین گردد. اختلافات خیلی کمی در کیفیت کریستالهای منتول اغلب به‌خاطر مواد غیر خالص خیلی کمی است که ظاهر می‌شوند. منتول مصنوعی به‌طورکلی این ناخالصیها را ندارد (Coleman و همکاران، ۱۹۹۸). همان‌طورکه در جدول شماره یک مشاهده می‌نمایید در طرح –۱ مقدار ترکیب ایزومنتول (٤١/٥ درصد) بیشتر از طرح –۲ (٤/٢ درصد) می‌باشد و به‌عکس، در طرح –۲ مقدار ترکیب ایزومنتون (٢٨/٦ درصد) بیشتر از طرح –۱ (١٧/٥ درصد) می‌باشد. این تحقیق نشان می‌دهد که در یک گونه با یک روش مشخص، ولی دستگاه متفاوت می‌توان بازده متفاوت و ترکیبهای متفاوتی را بدست آورد. به‌طورکلی، به شرطی که گونه / شیمیوتیپ مناسب باشد، با تنظیم عوامل موثر در رشد (تاریخ کشت، تراکم جمعیت گیاهی، مصرف کود، میزان آب، تاریخ برداشت و نگهداری از محصول هر وقت که مناسب باشند) می‌توان باعث بهبود عملکرد شد و به این ترتیب می‌توان تحت محدودیتهای اقتصادی، بیشترین میزان بیوماس را بدست آورد، و می‌توان با شناخت درست از روش استخراج و دستگاه مناسب با آن بیشترین بازده و بهترین کیفیت طبیعی از اسانس را بدست آورد.

منابع

- میرحیدر ، حسین.۱۳۷۲. معارف گیاهی، جلد اول، صفحه ۲۸۸ تا ۲۹٤، انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی.
- قهرمان ، احمد.۱۳۷۳. کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی)، جلد اول، مرکز نشر دانشگاهی، چاپ دوم، صفحه ۳٤.
- درخشان رودسری ، مسعود.۱۳۷۵. اطلاعات و کاربرد بالینی داروهای گیاهی، انتشارات تدبیر.
- Coleman III,W.M. ; Perfetti,T.A. and Suber,Jr.,R.L.1998." Quantitative analysis of menthol isomer distributions in selected samples" J. Chromatographic Science, vol. 36, 318 – 321.
- Sandra,P. and C.Bicchi, 1994."Chromatographic method,Capillary Gas Chromatography in Essential oil analysis", Chapter 8, Retention Indices in Essential Oil analysis,259-274.
- Davies, N.W. 1990. "Gas Chromatographic Retention Index of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl silicon and Carbowax 20 M phases". J. Chromatogr.,503, 1-24.

Comparative of two steam distillation apparatus (New design) And identification of Chemical Constituents On *Mentha x piperita* L.

Jaimand,K. and Rezaee,M.B.
Research Institute of Forest and Ranglands , P.O.Box 13185, Tehran, Iran.

Abstract

The genus of mentha is one of the most important of medicinal plant which is used in pharmaceutical and food industries . In this research our aim is study on methods of extraction and its effects on content and constituents of essential oils from *Mentha x piperita* L. Samples were collected from Alborz research center (Medicinal plant research farm , in Karadj city), and then only leaves seperated and dried on laboratory condition , and essential oils extracted by different apparatus of steam distillation method (apparatus planed by Jaimand – Rezaee, plan –1 and plan –2) essential oils content were 0.16% and 0.22% yield respectively. The essential oils samples analyzed by GC and GC/MS . the major constituents in plan-1 were : isomenthol 41.5% , isomenthone 17.5% , (E)-β-ocimene 7.8% and carvacrol 7.8%, and in plan –2 were isomenthone 28.6% , carvacrol 13.8% , (E) - β -ocimene 8.4% and pulegone 7.4% . Now you can observed type of apparatus for extraction, can be one of the factors on quantitative isolation in essential oils.

Key words : *Mentha x piperita* , chemical composition , different methods of distilation , isomenthol , isomenthone .