

شناسایی ترکیبهای شیمیایی موجود در روغن اسانس گیاه سوسنمبر (پونه
آبی) *Mentha aquatica* L. به کمک روش کاپیلاری
گاز کروماتوگرافی (C.G.C)

محمد مهدی برازنده *

چکیده:

گونه *Mentha aquatica* در شهریور ماه ۷۵ از رویشگاه طبیعی آن واقع در جنگلهای تحقیقاتی واز (ارتفاع ۱۵۰۰ متری) جمع‌آوری و از برگ خشک شده آن به روش تقطیر با بخار آب اسانس‌گیری بعمل آمد. محصول بدست آمده، روغن اسانسی با بازده یک درصد (وزن اسانس / وزن برگ خشک) بود که ترکیبهای شیمیایی آن به روش گاز کروماتوگرافی (GC) شناسایی و به کمک روش گاز کروماتوگرافی کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC/MS) تأیید گردیدند.

تعداد هفده ترکیب در این روغن اسانسی شناسایی شدند که مجموعاً ۸۵/۲ درصد از وزن اسانس را تشکیل می‌دهند.

از میان ترکیبهای شناسایی شده، β -Caryophyllene (۰/۵۲/۶)، Menthofuran (۱۱ درصد)، germacrene D (۷/۵ درصد)، 1,8-Cineole (۴/۲ درصد) بیشترین مقدار را به خود اختصاص می‌دهند.

مقدمه

اسانس نعناع از تقطیر برگ و سرشاخه گلدار گیاهان مذکور، تحت اثر بخار آب تهیه می‌گردد و برای این کار نیز معمولاً گیاه دو ساله را که واجد مقدار بیشتری از اسانس است، انتخاب می‌کنند (۳)

معمولاً برگ تازه تا ۲/۵ درصد اسانس داشته، در حالی که درصد اسانس در برگ خشک به ۲ و یا حتی یک درصد تقلیل می‌یابد. گیاه پرورش یافته در کشورهای نسبتاً سرد و مرطوب، مقدار زیادتری اسانس تولید می‌کند. در ضمن اگر گیاه در زمین زراعتی در سایه قرار گرفته باشد، مقدار درصد استرهای ماتول در آن کم می‌گردد در حالی که یخبندان عمل عکس انجام می‌دهد.

از میان گونه‌های موجود در جنس *Mentha* گونه *M. aquatica* قابل ذکر می‌باشد که اثر مقوی معده مشابه انواع دارویی *Mentha*ها دارد. از اسانس این گونه در عطرسازی استفاده بعمل می‌آید که در ذیل به انتشار جغرافیایی و مشخصات گیاهشناسی آن اشاره می‌گردد:

انتشار جغرافیایی گیلان:

فراوان در رشت، بندرانزلی، لاهیجان، مازندران، کناره‌های سنگی دره تالار بین عباس آباد و آمل، دشت نظیر، کجور، گلندرود در ارتفاعات ۵۰۰ متری، نوشهر، دره چالوس، گرگان: نهارخوران در ۴۵۰ متری، زیارت، در ارتفاعات کمتر از ۱۶۰۰ متری، بندرگز، تنگ گل در ۶۰۰ تا ۷۰۰ متری، اطراف تهران: چیت‌گر و غیره.

مشخصات گیاهشناسی:

ساقه: ایستاده ۱۰۰-۴۰ سانتیمتر، کم و بیش پوشیده از کرک‌های برگشته به پایین برگ: دم‌برگ دار، تخم‌مرغی، دارای دندان‌های اره‌ای بدون کرک یا پوشیده از کرک

گل: آبی، مجتمع در ۳ یا ۲ چرخه کمی دور از هم یا ادغام شده در هم به صورت توده‌ای، انتهایی در رأس جام کوچک کاسه دارای دندانه‌های درفشی، بادها ته برهنه
 موسم گل: اردیبهشت - خرداد
 در پیوست ۸ تصویر این گونه که از منطقه رویشی آن در بابل گرفته شده، نشان می‌دهد.

ج - قسمت تجربی:

مقدار ۷۵ گرم از برگ خشک شده گیاه در آزمایشگاه و به روش تقطیر با بخار آب (Steam Distillation) به مدت یکساعت مورد اسانس‌گیری قرار گرفت. (گونه مورد مطالعه در شهریورماه ۷۵ و در مرحله گلدهی از منطقه جنگلهای تحقیقاتی و از ارتفاع ۱۵۰۰ متری جمع‌آوری گردید). دبی آب‌کنندانسور ۵ ml/min و وزن اسانس بدست آمده ۰/۷۶ گرم (بازده $\frac{w}{w.dry}$ 1%) بود.

گاز کروماتوگراف: GC-9A Shimadzu مجهز به دتکتور FID (یونیزاسیون توسط شعله هیدروژن) و داده پرداز Chromatopac C-R3A

ستون‌های مورد استفاده: DB-1 (Dimethylsiloxane, 100% methyl) که ستونی غیر قطبی است و DB-wax (PEG, Polyethyleneglycol) که ستونی قطبی می‌باشد هر کدام به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون.

برنامه ریزی دمائی :

۱- برای ستون DB-1:

برنامه ریزی دمایی دو مرحله ای استفاده شد :

مرحله اول : $100^{\circ}\text{C} - 70^{\circ}\text{C}$ rate = $1/5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ مرحله دوم : $220^{\circ}\text{C} - 100^{\circ}\text{C}$ rate = $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$

۲- برای ستون DB-wax

 $180^{\circ}\text{C} - 70^{\circ}\text{C}$ rate = $1/5^{\circ}\text{C}/\text{min}$

گاز حامل هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برای ستون DB-1 برابر $1/5 \text{ kg/cm}^2$ و برای ستون DB-wax برابر $2/25 \text{ kg/cm}^2$ تنظیم شد.
Split ratio برابر ۱:۱۰۰ و برای رقیق کردن نمونه ها استفاده گردید.

دمای قسمت تزریق (Injection Port) 220°C و دمای آشکارساز 250°C

گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی (GC/MS): واریان ۳۴۰۰ با سیستم تله یونی (Ion trap) و انرژی یونیزاسیون 70ev و ستون DB-1 با مشخصات ستون دستگاه GC.

شناسائی پیکها با استفاده از کروماتوگرام های بدست آمده از GC روی دو ستون DB-1 و DB-wax و به کمک اندیس های بازداری کواتز و مقایسه آنها با شاخص های بازداری استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردیده انجام و توسط دستگاه GC/MS تأیید گردیدند.

محاسبات کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز C-R3A Chromatopac به روش طبیعی کرن سطح (Area Normalization Method) و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ (Response factors) مربوط به پیکها انجام شد.

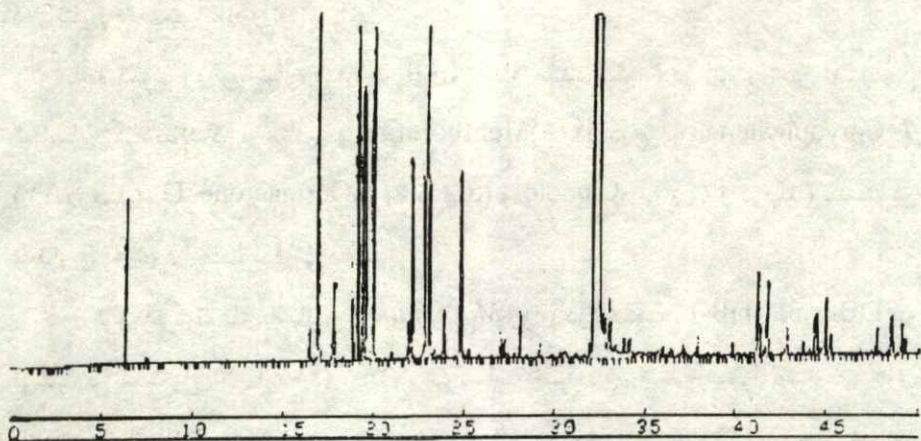
د - نتایج بدست آمده و تفسیر آنها

به کمک روش اشاره شده در فوق، تعداد هفده ترکیب در این روغن اسانس شناسایی گردیدند که از میان آنها Menthofuran (۵۲/۶ درصد)، β -Caryophyllene (۱۱ درصد)، Germacrene D (۷/۵ درصد) و 1,8-Cineole (۴/۲ درصد) بیشترین مقدار را به خود اختصاص می دهند.

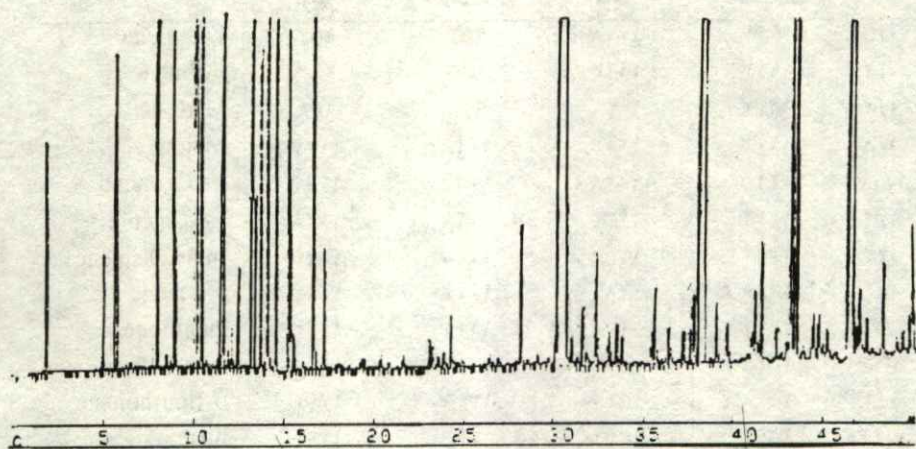
کروماتوگرامهای اسانس *M. aquatica* روی دو ستون DB-1 و DB-wax به ترتیب در شکلهای شماره (۱) و (۲) و ترکیبات شناسایی شده همراه شاخصهای بازداری کواتز آنها روی دو ستون و نیز درصد آنها در جدول شماره (۱) دیده می شوند.

جدول شماره (۱) ترکیبهای شناسایی شده در روغن اسانسی گونه *M. aquatica* L.

نام ترکیب	عددکواتز(ستون DB-1)		عددکواتز(ستون DB-WAX) درصد (۱)	
	مرجع	محاسبه شده	مرجع	محاسبه شده
Camphene	۹۵۲	۹۵۲	۱۰۷۸	۱۰۷۳
β -Pinene	۹۸۳	۹۸۵	۱۱۲۳	۱۱۲۳
Myrcene	۹۷۸	۹۷۸	۱۱۷۱	۱۱۷۲
Limonene	۱۰۲۳	۱۰۲۸	۱۲۰۳	۱۲۰۳
cis-Ocimene	۱۰۱۷	۱۰۱۴	۱۲۲۸	۱۲۲۵
1,8-Cineole	۱۰۲۸	۱۰۲۹	۱۲۳۲	۱۲۴۴
trans-Ocimene	۱۰۲۷	۱۰۱۷	۱۲۵۲	۱۲۵۴
p-cymene	۱۰۰۳	۱۰۰۰	۱۲۸۶	۱۲۸۶
menthone	۱۱۴۳	۱۱۴۰	۱۴۷۸	۱۴۷۴
menthofuran	۱۱۵۶	۱۱۵۶	--	۱۵۲۵
β -Bourbonene	۱۳۷۹	۱۳۷۹	۱۵۴۶	۱۵۴۸
linalool	۱۰۹۶	۱۰۹۶	۱۵۷۴	۱۵۶۷
menthol	۱۱۸۶	۱۱۷۸	۱۶۱۲	۱۶۱۱
β -caryophyllene	۱۴۲۳	۱۴۲۳	۱۶۲۶	۱۶۲۷
Germacrene D	۱۴۸۰	۱۴۸۰	۱۷۲۷	۱۷۳۵
α -Muurolene	۱۴۹۴	۱۴۹۴	۱۷۵۴	۱۷۵۷



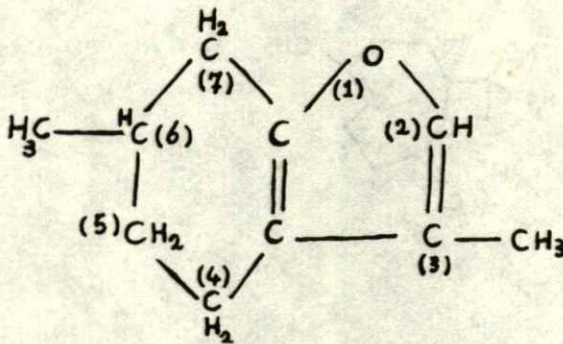
شکل شماره (۱) - کروماتوگرام روغن اسانسی *M. aquatica*
 ستون مورد استفاده : DB-1(Dimethylsiloxane, 100% methyl)



شکل شماره (۲) - کروماتوگرام روغن اسانسی *M. aquatica*
 ستون مورد استفاده : DB-WAX(PEG, polyethyleneglycol)

خواص ترکیبهای مهم اسانس *M.aquatica*:

۱- Menthoruran

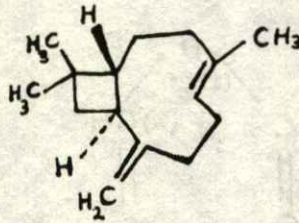


نام دیگر آن 4,5,6,7-Tetrahydro- 3,6-dimethyl benzofuran است و دارای وزن مولکولی ۱۵۰/۲۱ می باشد. Carles آنرا از تقطیر شکوفه های نعناع بدست آورد و Dewein و wienhaus این ترکیب جدید را با فرمول 3,6,Dimethyl coumarone و tetrahydride(4,5,6,7) مشخص کرده و منتوفوران نامگذاری کردند. به نظر می آید این ترکیب به تدریج در گیاه تشکیل شده و در طی زمان شکوفه دهی به حداکثر مقدار می رسد و با افزایش مقدار مانتول (Menthol) در گیاه، به آرامی ناپدید می گردد. بوی آن شبیه بوی مانتول بوده و رنگ آن آبی می باشد. در مجاورت هوا به یک اسید ($C_7H_{10}O_2$) تبدیل می گردد. به طور عمده در صنعت عطرسازی از آن استفاده به عمل می آید (۹).

۲- β -Caryophyllene

نام دیگر آن trans - caryophyllene می باشد. وزن مولکولی آن ۲۰۴/۳۶ ($H_{11}/84\%$ و $C_{11}/16\%$) است. در طبیعت به صورت

مخلوط با α -Caryophyllene (humulene), isocaryophyllene یافت می شود.



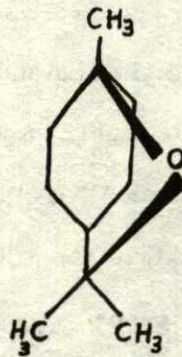
سزکوئی ترپنی است که در بسیاری از روغن های اسانسی به ویژه در روغن میخک (Clove oil) و روغن حاصل از شاخه و گل *Syzygium aromaticum* L. وجود دارد. به حالت مایع بویی ترپنی دارد که هم شبیه بوی تربانتین (سقز) و هم شبیه بوی میخک است. نقطه جوش آن $129-133^{\circ}\text{C}$ و چگالی آن در 17°C نسبت به آب ۴ درجه سانتیگراد (d^{17}) برابر 0.905 می باشد (۹).

۳- 1,8-Cineole

نام دیگر آن Eucalyptol بوده و به اسامی 1,8-epoxy-P-menthane, Cajeputol, 1,3,3-Trimethyl - 2-Oxabicyclo[2.2.2]-octanw نیز خوانده می شود. وزن مولکولی آن $154/25$ (O $10/37\%$ و H $11/76\%$ و C $77/87\%$) می باشد. مایعی بیرنگ با بویی شبیه بوی کافور است که طعمی سرد و ادویه ای دارد. چگالی آن در ۲۵ درجه سانتیگراد نسبت به آن ۲۵ درجه سانتیگراد (d^{25}) برابر $0.921-0.923$ نقطه جوش آن در فشار اتمسفر یک $176-177$ درجه سانتیگراد.

نقطه ذوب آن $+۱/۵$ درجه سانتیگراد و ضریب شکست نوری آن

$$n_D^{20} = ۱/۴۵۵ - ۱/۴۶۰ \text{ می باشد.}$$



در عمل در آب نامحلول بوده (۱/۹ در ۱۰۰ قسمت آب) ولی به هر نسبتی با الکل و اتر مخلوط می‌گردد. در کلروفرم، اسیداستیک (Glacial) و روغنهای دیگر نیز محلول است. به طور عمده در داروسازی از آن استفاده می‌شود.

منابع مورد استفاده:

- ۱- برازنده، محمدمهدی - مقایسه کمی و کیفی اسانس‌های (*Lavandula spica*) و Lavandin و (*Lavandula vera*) به کمک روش کاپیلاری گاز کروماتوگرافی. مجله پژوهش و سازندگی، از انتشارات معاونت آموزش و تحقیقات وزارت جهاد سازندگی. شماره ۳۱ تابستان ۱۳۷۵. صفحه ۴۷-۵۰.
- ۲- قهرمان، احمد - فلور ایران - جلد سوم، شماره ۳۳۰
- ۳- زرگری، علی - گیاهان دارویی - جلد چهارم صفحه ۱۹-۱۷
4. Spinelli, G. Bertoli, A. Tomei Paolo Emilio, 1997. Variability of Essential oil composition of *Mentha aquatica* ssp. *aquatica* collected in two different habitats of north Tuscany, Italy.
5. Hefendebl, F. W. and Merritt, J. M. 1972. Changes in Monoterpene Composition in *Mentha aquatica* produced by Gene substitution, *Phytochemistry*, Vol. 11, pp 189-195.

Essential Oil Composition of *Mentha aquatica* L. from Iran**Mohammad Mahdi Barazandeh***Research Institute of Forests & Rangelands***Abstract**

The essential oil of *Mentha aquatica* L. from Iran was produced by steam distillation of its dry leaves at yield of 1% (weight of essential oil/weight of dry leaves) and then analysed by GC & GC/MS. Sixteen Compounds were identified in this essential oil which consist of about 83% of total oil among them menthofuran (52.6%), β -Caryophyllene (11.0%), germacrene D (7.5%) and 1,8 -cineole (4.2%) had the highest percentages.