

اندازه‌گیری متانول در عرقیات گیاهی با استفاده از کیت تشخیصی جدید

*علی رفیع‌زاده^۱(BS) - دکتر شهاب شریعتی^۲(PhD) - دکتر محمدنقی صفرزاده ویشکایی^۳(PhD)

^۱نویسنده مسئول: گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، ایران

پست الکترونیک: mpalirafizadeh@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۰۴/۱۸ تاریخ ارسال: ۹۴/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۰۵

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر، بروز کوری عصبی ناشی از آشامیدن بعضی از انواع عرقیات گیاهی نگرانی‌های جدی بوجود آورده است. یکی از عوامل منجر به این حادثه شرب ناخواسته متانول از طریق عرقیات گیاهی است.

هدف: اندازه‌گیری مقدار متانول در عرق‌های گیاهی براساس کیتی جدید برپایه روش اسید کروموتروویک و ارائه نتایج آن در ارزیابی چند نمونه عرق گیاهی تولیدی کارخانه‌های گوناگون از نظر متانول است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، از ۳۰ عرق گیاهی (۱۰ نوع مختلف از ۳ کارخانه) تولید شده به روش صنعتی به عنوان نمونه استفاده شد و همه آزمایش‌ها با کیت تجاری جدید ویژه اندازه‌گیری متانول در عرقیات گیاهی انجام شد. این کیت مبتنی بر روش معتبر کروموتروویک اسید طراحی و اختراع و به تازگی تجاری‌سازی شده است.

نتایج: همه نمونه‌ها حاوی مقادیر متفاوتی متانول بودند که کمترین مقدار آن در نمونه گلاب (۶۵ mg/L) کارخانه "الف" و بیشترین مقدار آن در نمونه عرق خارشتر (۳۱۰ mg/L) کارخانه "ج" اندازه‌گیری شد. در حالی که، میانگین متانول سه کارخانه مورد مطالعه برای گلاب و عرق خارشتر به ترتیب ۷۹ و ۳۰۰ mg/L بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به تولید پیوسته متانول در هنگام زندگی گیاهان، لازم است، افزون بر تعیین مقدار مجاز متانول در عرقیات گیاهی، همه صنایع تولیدکننده این فرآورده‌ها و سازمان‌های بازرسی ملزم به کنترل مقدار متانول در این قبیل محصولات شوند.

کلید واژه‌ها: آنالیز / گیاهان شفابخش / متانول

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست و چهارم شماره ۹۶، صفحات: ۶۷-۶۱

مقدمه

کنسرو شده (مانند آب پرتقال و گریپ‌فروت) مجاز دانسته شده‌است (۸). از طرف دیگر، شرایط رشد و استرس محیطی بر گیاهان مانند هیپوکسی ناشی از برف، افزایش غلظت ازن هوا، پیر شدن بافت‌های گیاهی، آسیب ناشی از حمله گیاه‌خواران و قطع شاخه‌ها، خشکی برگ‌ها و مانند آن باعث افزایش تولید متانول در بافت‌های گیاه می‌شود که به دنبال شکست آنزیمی لیگنین، دمتیلاسیون DNA، مسیرهای ترمیم پروتئین و دمتیلاسیون پکتین موجود در ماتریکس آنها رخ می‌دهد و عامل اخیر، نقش فراوانی در گسترش دیواره سلولی ساخته‌های گیاهی به هنگام رشد ایفا می‌کند (۶). نوسان محیط در جذب کربن باعث می‌شود گیاهان همواره به منبع غنی از کربن مانند متانول برای تداوم تثبیت CO₂ در شرایط دشوار محیطی وابسته باشند، بنابراین، تولید، انباشت و به دنبال آن انتشار متانول به اتمسفر بخش مهمی از فعالیت‌های حیاتی گیاهان ساکن خشکی را تشکیل می‌دهد که در اندام‌های سبز

به تازگی، گزارش مواردی از تازی دید منجر به کوری به دنبال شرب ناآگاهانه متانول به همراه مصرف برخی عرقیات گیاهی باعث نگرانی شدید و حساسیت مسئولان بهداشتی کشور شده‌است (۱ و ۲). برخلاف نوشیدنی‌های الکلی، تولید متانول در عرقیات گیاهی از فرآیندهای متابولیک گیاه در هنگام رشد و حتی پس از برداشت گیاه تا تهیه عرق ناشی می‌شود (۳-۵). بنابراین، فرآیند رشد در گیاهان، اصلی‌ترین منبع تولید متانول در طبیعت و انتشار آن به اتمسفر محسوب می‌شود (۶). مقدار آن در مطالعات متعدد به روش کروماتوگرافی گازی (GC) *Gas Chromatography* بر ۱۱ گونه مختلف گیاهی، حدود ۰/۶ تا ۱۷ µg کربن در ساعت به ازای هر گرم از وزن خشک گیاه اندازه‌گیری شده‌است (۷). بنابراین، وجود متانول در فرآورده‌های گیاهی طبیعی است به طوری که، براساس استانداردهای آمریکا، وجود ۶۴ mg/L - ۱۲ (با میانگین ۱۴۰ mg/L) متانول در آب میوه‌های تازه و

۱. گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، ایران

۲. گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، ایران

۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، رشت، ایران ۶۱

مواد و روش‌ها

مواد و تجهیزات: در این پژوهش، از کیت اندازه‌گیری متانول ویژه عرقیات گیاهی مبتنی بر روش کروماتروپیک اسید که دارای ۵ واکنش‌گر با غلظت‌های معین است و با حروف A, B, C, D و E نشان داده می‌شوند، براساس دستورکار بروشور کیت استفاده شد. همچنین، ۳۰ نمونه عرق گیاهی (از انواع نعناع، رازیانه، خارشتر، شوید، کاسنی، بیدمشک، بهارنارنج، شاه‌تره، گلاب و شیرین‌بیان) که به روش صنعتی توسط ۳ کارخانه متفاوت تولید شده بود، از فروشگاه‌های سطح شهر رشت خریداری و استفاده شد که جهت رعایت مسایل اخلاقی از ذکر نام آنها خودداری و از حروف الف، ب و ج برای مشخص کردن آنها استفاده شد. تاریخ تولید و انقضای همه نمونه‌های مربوط به یک کارخانه کم و بیش یکسان و بیشینه یک ماه و نمونه‌های مختلف حدود ۴-۱ ماه با یکدیگر تفاوت داشتند. همچنین، در این تحقیق، برای تعیین میزان جذب نوری نمونه‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر با نشان تجاری شیماتزو، مدل UV-120-02 ساخت ژاپن استفاده شد.

روش آزمایش: برای آزمایش از دستورالعمل موجود در بروشور کیت استفاده شد که براساس آن، یک حجم از هر یک از نمونه‌های عرقیات گیاهی با چهار حجم آب مقطر رقیق شد تا محلولی با نسبت حجمی ۱:۵ تهیه شود. سپس، ۰/۲ ml از هر ۵ استاندارد داخل کیت و رقت‌های آماده شده از نمونه‌ها به همراه به ترتیب ۵۰ µl از هر کدام از واکنش‌گرهای A (محلول آبی سولفوریک اسید) و B (محلول آبی پتاسیم پرمنگنات) داخل لوله آزمایش تمیز ریخته و با تکان دادن مخلوط شدند تا پس از ۵ دقیقه انتظار برای واکنش شیمیایی، آزمایش با افزودن ۵۰ µl واکنش‌گر C (محلول آبی سدیم بی‌سولفیت) و تکان شدید لوله تا بی‌رنگی کامل آن ادامه یافت. سپس، به ترتیب ۵۰ µl واکنش‌گر D (محلول آبی کروموتروپیک اسید) و 1 ml واکنش‌گر E (سولفوریک اسید غلیظ) به این مجموعه افزوده و مخلوط شد. پس از ۵ دقیقه و خنک شدن لوله‌ها (گرمای تولیدی ناشی از اختلاط واکنش‌گراهاست)، میزان جذب هر لوله در مقابل شاهد آب مقطر در طول موج ۵۷۵ nm خوانده و در مقایسه با منحنی

و به هنگام رشد شدت بیشتری داشته و در فصل بهار و اوایل تابستان به اوج خود می‌رسد (۹،۷ و ۱۰). در حال حاضر، تنها از روش‌های GC، *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*، *Fourier transform Chromatography (FT-IR)*، *infrared spectrometry*، *تزریتی جریان انتخابی (Selective flow-injection)* و روش آنزیمی (*Enzymatic method*) برای اندازه‌گیری مستقیم متانول استفاده می‌شود. اما، با توجه به گران بودن ساز و برگ و امکانات نامبرده و نیز پرهزینه بودن سرویس و نگهداری آنها، شناسایی متانول با این روش‌ها در آزمایشگاه‌های عمومی شدنی نیست (۱۴-۱۱). برخلاف متانول، روش‌های شیمیایی بسیار زیادی برای شناسایی یا اندازه‌گیری فرمالدئید وجود دارد و چون اکسایش متانول به تشکیل فرمالدئید منجر می‌شود، می‌توان از روش‌های شیمیایی اندازه‌گیری فرمالدئید در متانول نیز استفاده کرد و روش پیشنهاد شده توسط *National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)* و *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)* روش اسید کروموتروپیک (*Chromotropic Acid (CA)*) است (۱۷-۱۵). در این روش، فرمالدئید حاصل از اکسیداسیون متانول تحت تاثیر گرما در محیط به شدت اسیدی با شناساگر اختصاصی واکنش داده و تولید کمپلکس کاملاً اختصاصی بنفش رنگ می‌کند که در طول موج ۵۸۰-۵۷۰ دارای جذب است (۱۸). اما، این روش محدودیت‌های کاربردی ویژه‌ای دارد (۱۷ و ۱۸) و تنها برای اندازه‌گیری مقادیر کمی متانول در مشروبات الکلی پیشنهاد شده (۱۶)، از این رو، کاربرد نایجابی آن در نمونه‌های بدون اتانول دور از اشتباه نیست و اعمال تغییر سلیقه‌ای در غلظت و روش آزمایش می‌تواند به افزایش خطا منجر شود. بنابراین، هدف از این تحقیق، معرفی روشی حساس، دقیق، ارزان و آسان کاربردی برای اندازه‌گیری مقدار متانول در عرقیات گیاهی براساس کیتی جدید مبتنی بر روش مرجع و معتبر کروموتروپیک اسید و نیز ارائه مقدار متانول چند نمونه عرق گیاهی تولید شده توسط کارخانجات داخل کشور با استفاده از آن است.

۲/۸٪ محاسبه گردید که همگی بیانگر دقت عملکرد کیت می‌باشند. میانگین نتایج حاصل از ۳ بار آزمایش تعیین غلظت متانول در نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده‌است. کمترین مقدار میانگین متانول در گلاب (۷۹ mg/l) وجود داشت که کمترین آن در نمونه کارخانه "الف" و بیشترین در نمونه کارخانه "ج" بدست آمد و بیشترین میانگین متانول در عرق خارشتر (۳۰۰ mg/l) وجود داشت که کمترین در نمونه کارخانه "ب" و بیشترین مقدار در نمونه کارخانه "ج" اندازه‌گیری شد.

استاندارد تعیین مقدار و برای محاسبه مقدار متانول موجود در عرقیات گیاهی، مقدار به دست آمده در عدد ۵ (ضریب رقت) ضرب شد. برای اطمینان بیشتر از نتایج به دست آمده، هر نمونه سه بار رقیق و هر رقت دو بار آزمایش و از میانگین نتایج بدست آمده، نتیجه نهایی استنباط شد.

نتایج

حد تشخیص (LOD) و حد اندازه‌گیری (LOQ) کیت مورد استفاده به ترتیب ۲ و ۷ mg/l تعیین شد. به علاوه، ضریب تغییرات درون و برون روزی آن به ترتیب ۳/۰٪ و ۵/۱٪ و RSD یا انحراف نسبی استاندارد در سطح غلظتی ۵۰ mg/l،

جدول ۱: میزان متانول نمونه‌های مورد آزمایش برحسب mg/l

نوع عرق گیاهی	کارخانه			
	الف	ب	ج	میانگین (mg/l)
نعناع	۱۷۳	۲۰۳	۱۸۰	۱۸۵
رازیانه	۱۰۳	۱۲۰	۱۰۰	۱۰۸
خارشتر	۲۹۹	۲۹۱	۳۱۰	۳۰۰
شوید	۱۸۴	۲۴۳	۱۹۵	۲۰۷
کاسنی	۲۳۳	۳۵۳	۲۴۹	۲۷۸
بیدمشک	۱۶۱	۲۱۸	۲۰۲	۱۹۴
بهارنارنج	۲۱۲	۱۷۵	۲۱۴	۲۰۰
شاتره	۱۵۲	۱۸۹	۱۷۶	۱۷۲
گلاب	۶۵	۹۰	۸۱	۷۹
شنبلله	۲۲۴	۲۶۱	۲۲۳	۲۳۶

داشت، مطالعه کریمی و همکاران از اولین تحقیقات صورت گرفته در زمینه متانول موجود در عرقیات گیاهی بود که در آن، از روش کروماتوگرافی اسید ارائه شده توسط AOAC برای اندازه‌گیری متانول در نوشیدنی‌های الکلی جهت انجام آزمایش استفاده شد (۱) که شاید این موضوع منشاء پاره‌ای از تفاوت‌های موجود در نتایج دو تحقیق باشد. البته، در مطالعه صلحی و همکاران نیز تقریباً از همان روش برای اندازه‌گیری و مقایسه متانول عرقیات گیاهی تهیه شده به روش‌های صنعتی و سنتی شهرستان اراک استفاده کردند (۲) که می‌تواند باعث تفاوت‌های موجود در نتایج دو تحقیق باشد. در صورتی که، رفیع‌زاده و همکاران در تحقیق خود از یک روش بهینه شده کروماتوگرافی اسید برای عرقیات گیاهی جهت انجام آزمایش استفاده کردند (۵) که به طراحی کیت مورد

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده نشان داد، با چشم‌پوشی از کارخانه تولید کننده، همه عرقیات گیاهی حاوی مقادیر متفاوت متانول بودند. نتایج به دست آمده در این پژوهش، با نتایج کسب شده در تحقیقات کریمی و همکاران (۱) از دانشگاه علوم پزشکی مشهد در سال ۱۳۸۶، صلحی و همکاران (۲) از دانشگاه علوم پزشکی اراک در سال ۱۳۸۸ و رفیع‌زاده و همکاران (۵) از دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت در سال ۱۳۹۲ همسو است. زیرا، در همه آنها کلیه نمونه‌های عرقیات گیاهی مورد آزمایش حاوی مقادیر متفاوتی متانول بودند. هرچند، در مطالعه کریمی و همکاران، مقادیر متانول گزارش شده در بعضی موارد بسیار بیشتر از تحقیق حاضر بود که از این نظر، با تحقیق حاضر غیرهمسو می‌باشد. باید در نظر

این در حالی است که کاسبرگ، دمگل و حتی تخمدان در آنها بزرگ و تقویت شده‌است که این جستار به حضور حجم نسبتاً بیشتر بافت‌های سبز گیاهی حاوی متانول در توده گلی منجر می‌شود که قرار است عرق آن گرفته شود. همچنین، نتایج بدست آمده از سایر عرقیات گیاهی نشان‌دهنده وجود مقادیر بیشتر متانول نسبت به گلاب بود که مطمئناً ناشی از نوع بافت (برگ و ساقه سبز) استفاده شده بوده‌است. عرق‌های نعناع، رازیانه، خارشتر، شوید، شاتره، شنبلیله و کاسنی از اندام‌های هوایی گیاهان مربوط به خود تهیه می‌شوند، هرچند در مورد گیاه آخر، گاهی از مخلوط ریشه، ساقه و برگ نیز برای این منظور استفاده می‌شود که خود می‌تواند به وجود مقادیر مختلف متانول در عرق کاسنی تهیه شده به دو روش گوناگون از یک گیاه واحد منجر شود. زیرا، علاوه بر تفاوت ساختار پلیمری پکتین گونه‌های مختلف گیاهی، این ترکیب در بخش‌ها و بافت‌های گوناگون یک گیاه واحد نیز ساختاری متفاوت دارد. این ترکیب حاوی مقادیر بسیار زیادی اسید پلی‌گالاکتورونیک است که می‌تواند به درجه‌های مختلف توسط گروه‌های متیل‌استری شود و از این نظر تفاوت میزان تولید متانول توسط بافت‌های مختلف یک گیاه توجیه‌پذیر است (۲۰ و ۱۹)، به طوری که مثلاً میزان تولید متانول در ریشه به مراتب کمتر از برگ‌ها و ساقه سبز است (۲۳-۲۱). همچنین، تولید متانول در گیاهان گلدار به میزان تجمع پکتین در دیواره‌های سلولی گیاهان بستگی دارد (۲۴). تفاوت ژنتیکی، نژادی و بسیاری از متغیرهای احتمالی دیگر را نباید در تفسیر تفاوت در مقدار متانول اندوخته شده در بافت‌های گیاهی مختلف و عرقیات گیاهی حاصل را از نظر دور داشت زیرا هر یک از این عوامل تاثیرگذار در جای خود به عاملی تعیین‌کننده برای توجیه تفاوت‌های موجود از این نظر تبدیل می‌شوند. به عنوان مثال، هر دو گیاه خارشتر و شنبلیله از خانواده Fabaceae هستند که با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن همزیستی داشته و به‌طور طبیعی سرعت متابولیسم بالایی دارند و از این رو، مقدار بیشتری متانول نسبت به گیاهان دیگر تولید می‌کنند. بنابراین، وجود مقادیر بیشتر متانول در عرقیات آنها نسبت به سایر نمونه‌ها دور از انتظار نیست. از طرف دیگر، دما و شرایط اقلیمی حاکم بر

استفاده در این تحقیق منجر گردید و از این رو، از نظر تکنیکی مشابه تحقیق حاضر است. اما، درباره علت وجود متانول در عرقیات گیاهی باید در نظر داشت، عوامل بسیار متنوعی وجود دارند که می‌توانند بر مقدار متانول یک عرق گیاهی تاثیرگذار باشند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به منشاء بافت گیاهی مورد استفاده در عرق‌گیری، تفاوت‌های ژنتیکی و نژادی گیاهان، شرایط اقلیمی و آب و هوایی، عمر گیاه مورد استفاده، روش عرق‌گیری و غیره اشاره کرد که در ادامه، هر یک از آنها به طور مختصر مورد بررسی بیشتر قرار خواهند گرفت. به عنوان نمونه، همان‌طور که دیده شد، کمترین مقدار متانول اندازه‌گیری شده در این پژوهش به نمونه‌های گلاب (با میانگین ۷۹ mg/l) تعلق داشت که به عنوان یک بافت غیرفتوستزکننده، وجود مقادیر زیاد این ماده در آن می‌تواند دلیلی بر کیفیت ناپسند روند تولید باشد. هرچند، راهکارهای مناسب می‌تواند به کاهش چشمگیر همین مقدار نیز منجر شود. زیرا، در تولید صنعتی گلاب، معمولاً حجم بالایی از گل به همراه دمگل و کاسبرگ (بافت‌های سبز فتوستزکننده) به درون مخازن بزرگ عرق‌گیری ریخته می‌شوند که خود می‌تواند توجیه‌کننده وجود این مقدار متانول در محصولات باشد. این در حالی است که در همه انواع عرق‌گیری (حتی گلاب‌گیری) برای افزایش بازده کار و بالا رفتن کیفیت محصول، گیاه یا گل را پس از حدود ۴۸ ساعت تنش کم آبی چیده و مورد استفاده قرار می‌دهند که به عنوان نوعی استرس باعث افزایش غلظت متانول در گیاه یا گل و در نتیجه، عرق یا گلاب حاصل از آن می‌شود که می‌تواند وجود متانول را در فرآورده‌هایی توجیه کند که به دلیل تهیه از گل نباید حاوی این مقدار متانول باشند. اما، در توجیه وجود مقادیر کمابیش زیاد متانول در عرق‌های تهیه شده از گل‌های بهارنارنج و بیدمشک نسبت به گلاب باید به مقایسه ساختاری و ویژگی‌های گل در این گیاهان با یکدیگر پرداخت. زیرا، در گلاب‌گیری، تعداد و سطح مقطع گلبرگ‌های نسبت به دمگل و کاسبرگ بسیار بیشتر و در نتیجه حجم کمتری از بافت‌های سبز فتوستزکننده به همراه گلبرگ‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، در حالی که در گل‌های بیدمشک و بهارنارنج، تعداد گلبرگ‌ها بسیار محدود بوده و سطح مقطع بسیار کمی دارند و

(مانند نعناع) بیش از گیاهان علفی (مانند رازیانه) است. اما، در صورت طولانی شدن فاصله زمان چینش گیاه تا موعد عرق‌گیری، نباید احتمال افزایش جزئی مقدار متانول عرق بدست آمده از این راه را از نظر دور داشت که در این صورت نیز فعالیت پکتین متیل استراز با اتولیز دیواره سلولی بافت‌های گیاهی و نه رخ دادن فرآیند تخمیر عامل و منشاء افزایش متانول خواهد بود. باید توجه داشت، هرگز نمی‌توان مقدار متانول را در عرقیات گیاهی به صفر رساند و از این نظر، وجود متانول در یک عرق گیاهی می‌تواند عامل تعیین کننده اصالت عرق باشد. اما، روش‌هایی هست که می‌تواند به کاهش بسیار شدید غلظت متانول در این فرآورده‌ها منجر شود. هرچند، عوامل تکنیکی می‌تواند در ایجاد محصولاتی با مقادیر متفاوت متانول در کارخانه‌های گوناگون موثر باشد و این احتمالاً همان علتی است که باعث گوناگونی مقدار متانول یک نوع عرق واحد تهیه شده از یک گونه گیاهی خاص در کارخانجات یک منطقه اقلیمی یا شهر می‌شود و باید با کنترل و نظارت دقیق به نزدیکی و استانداردسازی آن همت گماشت.

تقدیر و تشکر: بدین وسیله، لازم می‌دانیم، مراتب سپاس و تقدیر خود را از پارک علم و فناوری گیلان و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گیلان به دلیل پشتیبانی فراوان اعلام داریم.

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

رشد گیاهان از عوامل موثر دیگری است که می‌تواند بر ذخیره بافتی متانول مؤثر باشد (۲۵ و ۲۶) که به خوبی، در مقایسه نتایج مربوط به عرقیات خارشتر و شنبلیله تشخیص داده می‌شود، زیرا خارشتر گیاهی است که بیشتر در مناطق خشک کویری و حتی شوره‌زار می‌روید و نسبت به شرایط کم‌آبی بسیار مقاوم است از این رو، به دلیل فرار گرفتن در شرایط تنش دائمی کم‌آبی، به طور طبیعی، غلظت بالاتری از ذخیره درون بافتی متانول نسبت به گیاه دیگر هم‌خانواده خود (شنبلیله) دارد که ویژه مناطق معتدل است. عمر گیاه در هنگام تهیه عرق از دیگر عوامل موثر بر مقدار متانول فرآورده نهایی است، زیرا، اگر از گیاهان جوان در حال رشد استفاده شود، به دلیل مقادیر بیشتر متانول در ذخایر بافتی آنها، عرق تولید شده متانول بیشتری خواهد داشت. بنابراین، برخلاف آنچه گمان می‌رود، علت اصلی وجود متانول در عرقیات گیاهی عمدتاً ناشی از فرآیند تخمیری ناشی از فساد عناصر چوبی بخش‌های مختلف گیاه در زمان بعد از چینش و انبارکردن نبوده و محصول مستقیم فرآیند حیات گیاه پیش از چیده شدن است. زیرا، فرآیند تخمیر زمان‌بر بوده و آماده شدن شرایط آن به‌طور طبیعی نیازمند صرف کمینه چند هفته‌ای است که به نظر نمی‌رسد در صنایع این فرصت تامین شود و در عمل، معمولاً عمل عرق‌گیری حداکثر ظرف ۲۴ الی ۴۸ ساعت پس از چیده شدن گیاه انجام می‌شود و از این رو به راستی بیشترین سهم آنزیم پکتین متیل استراز (Pectin Methyl Esterase) به عملکرد آن در هنگام رشد و بلوغ گیاه مربوط بوده و به همین دلیل، میزان متانول در گیاهان دارای آوندهای چوبی ضخیم‌تر

منابع

1. Karimi Gh, Hassanzadeh M, Shahihdi N, Samiee Z. Determination of methanol in distilled herbaceous drinks by spectrophotometric method. Faslnameh Giahn Daroe 2007; 25: 57- 59. [Text in Persian]
2. Solhi H, Delavar M, Cheshme Jahanbin A, Abdollahi M. Comparison of methanol concentration in herbal essences produced in Arak city with industrial produced herbal essences with different commercial brands. Arak Med U J 2009; 12: 85-91. [Text in Persian]
3. Rafizadeh A, Shariati SH, Pourmohammad L, Fooladmehr S. Application a colorimetric method for qualitative analysis of methanol. Scin J Forensic Med 2010; 16: 94-89. [Text in Persian]
4. Rafizadeh A, Pourmohammad L, Shariati SH, Mirzajani E. Introduce of a colorimetric method for qualitative detection of methanol in several kinds of drinks. Journal of Mazandaran Medical Science 2011; 21: 150-152. [Text in Persian]
5. Rafizadeh A, Nasiri Fard R, Nasoori Gazni M, Haghshnace M, Jmali Biverzani F, Pourmohammad L. The effectiveness of whole Concentration of homemade herbal distillates on the result of qualitative methanol detection by the chromotropic acid method. Journal of Ornamental and Horticultural Plants 2013; 3: 105-109.
6. Jacob DJ, Field BD, Li Q and et al. Global budget of methanol: constraints from atmospheric observations. J Geophys Res Atmospheres 2004; 27: 315-321.

7. Marshall MN, MacDonald RC, Franzen JJ, Wojciechowski C, Fall R. Methanol emission from leaves' enzymatic detection of gas-Phase methanol and relation of methanol fluxes to stomata conductance and leaf development. *Plant Physiol* 1995; 108: 1359-1368.
8. Committee on toxicology. Spacecraft maximum allowable concentrations for selected airborne contaminants, Volume 5. USA; 2008: 275-276.
9. Brunner A and et al. Interactive comment on methanol exchange between grassland and the atmosphere. *Biogeosciences Discuss* 2007; 4: S320–S321.
10. Dufour S, Szopa DA, Hauglustaine CD, Boone CP, Rinsland PF, Bernath G. The influence of biogenic emissions on upper-tropospheric methanol as revealed from space. *Atmos Chem Phys Discuss* 2007; 7: 9183–9202.
11. Quanmin L, Huanhuan Z. Study of methanol catalyzed reaction between sodium 1,2-aphthoquine-4-sulfonate and hydroxyl on and its application in the determination of methanol. *Spectrochim Acta Part A* 2008; 71: 245–251.
12. Garcia de Maria C, Manzano T, Duarte R, Alonso A. Selective flow-injection determination of methanol using immobilized enzyme reactors. *Anal Chim Acta* 1995; 309: 241–250.
13. Wu MC, Jiang CM, Ho YY, Shen SC, Chang HM. Convenient quantification of methanol in juices by methanol oxidase in combination with basic fuchin. *Food Chem* 2007; 100: 412-418.
14. Savary BJ, Nuñez A. Gas chromatography-mass spectrometry method for determining the methanol and acetic acid contents of pectin using headspace solid-phase micro extraction and stable isotope dilution. *J Chromatogr A* 2003; 1017: 151–159.
15. Ashraf AM, Ahmed TM, Zakaria MHM, Khaled FF. Highly sensitive and selective catalytic determination of formaldehyde and acetaldehyde. *Talanta* 2008; 74: 578–585.
16. Official Method of Analysis of AOAC International. Williams Company. USA; 1995: 15-16
17. Fagnani E, Melios CB, Pezza L, Pezza HR. Chromotropic acid-formaldehyde reaction in strongly acidic media, the role of dissolved oxygen and replacement of concentrated sulphuric acid. *Talanta* 2003; 60: 171-176.
18. Pickard AD, Clark ER. The determination of traces of formaldehyde. *Talanta* 1984; 763: 31-32.
19. Nari J, Noat G, Richard J. Pectinmethylesterase, metal ions and plant cell- wall extention. *Biochem J* 1991; 279: 343–350
20. Moustacas AM, Nari J, Borel M, Noat G, Richard J. The role of metal ions in plant cell- wall extension. *Biochem J* 1991; 279: 351-354
21. MacDonald R, Fall R. Detection of substantial emissions of methanol from plants to the atmosphere. *Atmos Environ* 1993; 27: 1709-1713
22. Fisher GS, Legendre MG, Lovgren NV, Schuller WH, Wells JA. Volatile constituents of southern pea seeds (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *J Agric Food Chem* 1979; 27: 7–11
23. Nursten HE. Volatile compounds: the aroma of fruits. In: Hulme AC(ed). *The Biochemistry of fruits and their products*. New York; Academic Press, 1970: 240-267.
24. Fall R, Benson AA. Leaf methanol-the simplest natural product from plants. *Trends Plant Sci* 1996; 1: 296–301
25. Nemecek-Marshall M, MacDonald RC, Franzen JJ, Wojciechowski CL, Fall R. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomata conductance and leaf development. *Plant Physiol* 1995; 108: 1359–1368
26. Hemming D, Criddle R. Effects of methanol on plant respiration. *J Plant Physiol* 1995; 146: 193–198

Determination of Herbal Distillates Methanol Using a New Diagnostic Kit

*Rafizadeh A(BS)¹- Shariati SH(PhD)²- Safarzadeh Vishekaei MN(PhD)³

*Corresponding Address: Department of Nursing & Midwifery, School of Medicine, Islamic Azad University of Rasht branch, Rasht, Iran

Email: mpalirafizadeh@gmail.com

Received: 09/Jul/2014 Revised: 10/Jun/2015 Accepted: 26/Jun/2015

Abstract

Introduction: In recent years, the appearance of nervous blindness caused by drinking the herbaceous distillates has created some serious anxieties.

Objective: The aim of this study was to introduce a sensitive, accurate, inexpensive and easy method for measuring methanol in herbal distillates, based on chromotropic acid method and use the respective results to determine some herbal distillates methanol content produced by different companies.

Materials and Methods: In this study, 30 herbaceous distillates (10 different kinds from 3 companies) produced by industrial method were used as samples and all of tests were done by using a new trademark kit for herbal distillates. This new kit was designed and innovated based on valid chromotropic acid method recently patented.

Results: The obtained results showed that all of the examined samples were having different amounts of methanol.

Conclusion: Since the continued production of methanol occurs in life time of plants, the determination of permitted amount of methanol in herbal distillates is necessary. In addition, all of the producers and the supervising centers must control the methanol level in such products

Conflict of interest: non declared

Key words: Analysis\ Methanol\ Plants, Medicinal

Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 96, Pages: 61-67

Please cite this article as: Rafizadeh A, Shariati SH, Safarzadeh Vishekaei MN. Determination of Herbal Distillates Methanol Using a New Diagnostic Kit. J of Guilan University of Med Sci 2015; 24(96):61-67. [Text in Persian]

1. Department of Nursing & Midwifery, School of Medicine, Islamic Azad University of Rasht branch, Rasht, Iran.

2. Department of Chemistry, School of Basic Sciences, Islamic Azad University of Rasht branch, Rasht, Iran.

3. Department of Agronomy, School of Agriculture, Islamic Azad University of Rasht branch, Guilan, Iran