

Quantitative Analysis of Methanol and Ethanol in Traditional Handmade Herbal Distillates in Iranian market

Masoud Ghadipasha,
Maryam Akhgari,
Abdolrazagh Barzegar

Associate Professor, Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran

(Received November 10, 2021 ; Accepted March 11, 2022)

Abstract

Background and purpose: Medicinal plants are among highly consumed natural drugs. Many herb shops produce and sell this products without any license. Traditional herbal distillates are widely used in Iran, so, the aim of this study was to determine ethanol and methanol concentrations in handmade herbal distillates in Tehran herb shops.

Materials and methods: A total of 140 samples from 14 traditional handmade herbal distillates were obtained from Tehran herb shops and analyzed using headspace gas chromatography.

Results: In this study, no sample contained ethanol. Peppermint distillate had significantly higher methanol content (334.62 ± 153 ppm) compared with other distillates ($P < 0.05$). Also, high amounts of methanol were found in Fenugreek (321.43 ppm) and Tarragon (311.39 ppm) distillates. Pennyroyal distillate did not contain methanol and rose water had the lowest methanol content (14.61 ppm).

Conclusion: Handmade herbal distillates containing high concentrations of methanol can cause health problems in regular consumers. Therefore, highly consumed herbal distillates should be monitored to determine their methanol concentration.

Keywords: herbal distillates, ethanol, methanol, Headspace gas chromatography, analytical toxicology

J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32 (207): 90-94 (Persian).

* Corresponding Author: Maryam Akhgari - Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Tehran, Iran.
(E-mail: akhgari1349@yahoo.com)

بررسی کمی اتانول و متانول در برخی عرقیات گیاهی فله موجود در بازار ایران

مسعود قادى پاشا

مریم اخگرى

عبدالرزاق برزگر

چکیده

سابقه و هدف: گیاهان دارویی از دیر باز به عنوان یکی از مهمترین منابع طبیعی دنیا به حساب می آمده‌اند. بسیاری از عطاری‌های عرضه کننده فرآورده‌های گیاهی فاقد مجوز لازم جهت انجام فعالیت در زمینه گیاهان دارویی هستند. با توجه به بالا بودن آمار بیماران مصرف کننده عرقیات گیاهی، مطالعه حاضر با هدف بررسی کمی اتانول و متانول در عرقیات گیاهی فله موجود در عطاری های سطح شهر تهران طراحی شد.

مواد و روش‌ها: 140 نمونه از انواع عرقیات فله تهیه و مورد آنالیز قرار گرفتند. تمامی عرقیات مورد بررسی فله بوده و از عطاری‌های شهر تهران جمع آوری شدند. کلیه عرقیات به روش کروماتوگرافی گازی مجهز به Headspace آنالیز شدند. در این مطالعه 14 نوع عرق گیاهی فله مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که کلیه عرقیات گیاهی فله فاقد اتانول بودند. میزان متانول در عرق نعنا با بیشترین مقدار و با متوسط $334/62 \pm 153$ ppm دارای تفاوت معنی داری نسبت به سایر عرقیات بود ($P < 0/05$). همچنین میزان بالایی از متانول در عرق شنبلیله ($321/43$ ppm) و ترخون ($311/39$ ppm) وجود داشت. عرق پونه فاقد متانول و گلاب با میزان ppm 14/61 دارای حداقل میزان متانول بود.

استنتاج: مصرف مداوم عرقیات گیاهی فله حاوی غلظت های بالای متانول برای سلامت مصرف کنندگان مضر است. بنابراین بررسی وجود متانول در عرقیات گیاهی که دارای مصرف زیادی هستند از ضروریات است.

واژه های کلیدی: عرقیات گیاهی، اتانول، متانول، کروماتوگرافی گازی مجهز به Headspace، سم شناسی تجزیه ای

مقدمه

و به فروش، ساخت و یا تجویز گیاهان دارویی یا داروهای گیاهی می پردازند (1).
بررسی وجود الکل ها در عرقیات گیاهی در مطالعات محدودی در ایران دیده می شود. کریمی و همکاران در شهر مشهد از روش اسپکتروفوتومتري جهت شناسایی متانول در عرقیات گیاهی استفاده کردند (2). عرقیات گیاهی

گیاهان دارویی از دیرباز به عنوان یکی از مهم ترین منابع طبیعی دنیا به حساب می آمده‌اند. با وجود تمایل عموم افراد جامعه به مصرف داروهای گیاهی و فرآورده‌های حاصل از آنها و فعالیت چند هزار واحد عطاری در استان‌های مختلف کشور، بسیاری از آنها فاقد مجوز لازم جهت انجام فعالیت در زمینه گیاهان دارویی هستند

E-mail: akhgari1349@yahoo.com

مؤلف مسئول: مریم اخگرى - تهران: سازمان پزشکی قانونی کشور

دانشیار پژوهشی، مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1400/7/19 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1400/10/28 تاریخ تصویب: 1400/12/2

می‌رود (2). یک میلی‌لیتر از اتانول، متانول و استونیتریل (به عنوان استاندارد داخلی) به بالون ژوزه 100 میلی‌لیتری منتقل شد. حجم نمونه با آب مقطر به 100 میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل حاوی 1 درصد حجمی/حجمی از اتانول، متانول و استونیتریل بود. جهت محاسبه RRF غلظت‌های 1:1، 1:2، 1:5، 1:10، 1:20 و 1:50 از اتانول: استونیتریل و متانول: استونیتریل به شکل جداگانه تهیه شد.

RRF طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$RRF = \frac{AUC_{\text{استونیتریل}} / AUC_{\text{اتانول}}}{\text{حجم استونیتریل} / \text{حجم اتانول}}$$

برای محاسبه RRF در مورد متانول از فرمول زیر استفاده شد:

$$RRF = \frac{AUC_{\text{استونیتریل}} / AUC_{\text{متانول}}}{\text{حجم استونیتریل} / \text{حجم متانول}}$$

در صورت وجود خطا در تزریق با تهیه محلول‌های استاندارد کاری، RRF با فاکتور ایجاد پاسخ نسبی موجب کاهش خطای آزمایش خواهد شد (2).

جهت بررسی آزمایشگاهی از روش Headspace GC با دتکتور یونش شعله (Flame Ionization Detector=FID) استفاده شد. ابتدا غلظت‌های معلوم‌العیار از متانول و اتانول (0/4 درصد) تهیه شد و در گرم‌خانه دستگاه قرار داده شد. سپس نمونه‌های مورد آزمایش در ویال‌های مخصوص دستگاه ریخته شد و پس از بستن درب ویال‌ها، در گرم‌خانه در شرایط دمایی مشابه با استانداردها قرار داده شد. دستگاه Headspace GC) Agilent 6890N, USA (دستگاه جهت بررسی الکل مورد استفاده قرار گرفت. ستون مورد استفاده 30m×320μm×1.8μm (DB-ALCI) بود. 1000 میکرولیتر از نمونه به شکل اتوماتیک توسط اتوسمپلر به ستون تزریق شد. منحنی کالیبراسیون برای اتانول و متانول در غلظت‌های 50، 100، 200، 400، 800 و 1600 ppm و به دست آوردن سطح زیر منحنی (Area Under the Curve=AUC) به روش Headspace Gas Chromatography به دست آمد. تصاویر شماره 1 و 2 منحنی کالیبراسیون اتانول و متانول را نشان می‌دهند.

تولید شده از سه کارخانه معتبر توسط موسوی و همکاران در استان خراسان رضوی از نظر وجود الکل‌ها مورد بررسی قرار گرفتند (3). نتایج حاصل از هر دو مطالعه موید وجود متانول در نمونه‌های عرقیات گیاهی بود. صلیحی و همکاران غلظت متانول را در عرقیات گیاهی کارخانه‌ای با عرقیات تهیه شده در عطاری‌ها مقایسه نمودند (4). افروز احمدی و همکاران میزان اتانول و متانول را در 10 برند عرقیات گیاهی بررسی کردند (5). هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان اتانول و متانول در عرقیات گیاهی فله موجود در عطاری‌های شهر تهران با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی مجهز به Headspace (Headspace Gas Chromatography) است.

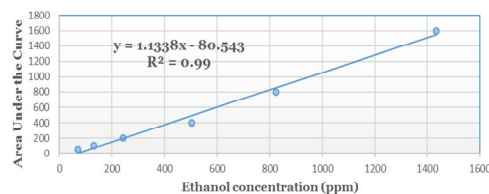
مواد و روش‌ها

جهت بررسی میزان اتانول و متانول در عرقیات گیاهی فله موجود در بازار که استاندارد کارخانه‌ای ندارند عرقیات گلاب (Rose Water)، خارشر (Camel's thorn)، کاسنی (Chicory)، شاتره (Fumitory)، زیره سیاه (Caraway) و نعنا (Peppermint)، ترخون (Tarragon)، شنبلیله (Fenugreek)، بیدمشک (Willow)، رازیانه (Fennel)، چهل گیاه (Forty Plants)، پونه (Pennyroyal)، پنیرک (Mallow) و زیره سبز (Cumin) که بیشترین استفاده را دارند انتخاب شدند. عرقیات گیاهی فله از عطاری‌های شهر تهران تهیه شدند. با توجه به مطالعات مشابه حجم نمونه مورد بررسی 140 نمونه (10 نمونه از هر شش نوع عرق گیاهی) تعیین شد (2). تمامی نمونه‌ها از عرقیات فله دست‌ساز تهیه شده بودند و هیچ‌یک دارای برچسب معتبر مبنی بر تاریخ تولید، تاریخ انقضاء، نام تولیدکننده و برند خاصی نبودند. در مطالعه حاضر استونیتریل به عنوان استاندارد داخلی جهت بررسی کمی اتانول و متانول در عرقیات گیاهی استفاده شد. روش Relative Response Factor (RRF) یا فاکتور ایجاد پاسخ نسبی به منظور اصلاح پاسخ دتکتور در دستگاه‌هایی که به روش کروماتوگرافی کار می‌کنند به کار

نتایج نشان داد که از 14 نوع عرق گیاهی فله مورد بررسی همگی از نظر وجود اتانول منفی بودند. غلظت متانول در عرق گیاهی نعنا با متوسط $334/62 \pm 153$ ppm دارای تفاوت معنی داری نسبت به سایر عرقیات بود ($P < 0/05$). در مطالعه حاضر بیشترین میزان متانول در عرق نعنا ($334/62$ ppm)، شنبلیله ($321/43$ ppm) و ترخون ($311/39$ ppm) بود. عرق پونه فاقد متانول بود. گلاب با میزان $14/61$ ppm دارای حداقل میزان متانول بود. نتایج حاصل از مطالعه حاضر بیانگر وجود مقادیر متفاوتی از متانول در نمونه‌های مورد بررسی بود که همگی می‌توانند گویای استفاده از گونه‌های مختلف گیاه و شرایط غیر یکسان در تولید عرقیات فله باشد. Solhi و همکاران در مطالعه بر روی چندین عرق گیاهی پرمصرف در شهرستان اراک به این نتیجه دست یافتند که تفاوت معنی داری بین عرقیات تهیه شده به روش سنتی و روش صنعتی از نظر وجود متانول دیده نشد (4).

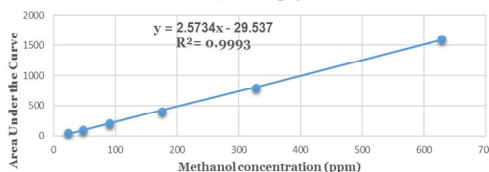
کریمی و همکاران در شهر مشهد از روش اسپکتروفتومتری جهت شناسایی متانول در عرقیات گیاهی استفاده کردند. نتایج حاصل از بررسی آن‌ها نشان داد بیشترین میزان متانول در عرق شوید کم‌ترین آن مربوط به عرق بیدمشک بود (2). در حالی که در مطالعه حاضر بیشترین میزان متانول به روش Headspace GC در عرق نعنا به دست آمد. تفاوت در روش‌های آنالیز، استفاده از برندهای مختلف کارخانه‌ی و فله می‌تواند توجیه‌کننده میزان متفاوت متانول در عرقیات مورد بررسی باشد. زمان تولید، فصل تولید، نوع گیاه مورد استفاده در هر فصل متفاوت بوده و با توجه به عدم دسترسی به تاریخ تولید و انقضا عرقیات امکان تفاوت در محتوای اتانول و متانول را توجیه می‌کند. بسته‌بندی عرقیات فله به‌طور عمده در ظروف شفاف و غیر مقاوم به نور و از جنس پلاستیک صورت گرفته بود. همچنین در بسیاری از موارد در ظروف کاملاً در بسته و محکم نبود که با توجه به ماهیت فرار اتانول و متانول امکان از دست رفتن آن‌ها در اثر نگهداری در برابر نور و یا دمای بالا وجود

Calibration curve for ethanol using Headspace gas chromatography



نمودار شماره 1: منحنی کالیبراسیون اتانول در غلظت‌های ppm 50, 100, 200, 400, 800 و 1600 در مقابل سطح زیر منحنی

Calibration curve for methanol using Headspace gas chromatography

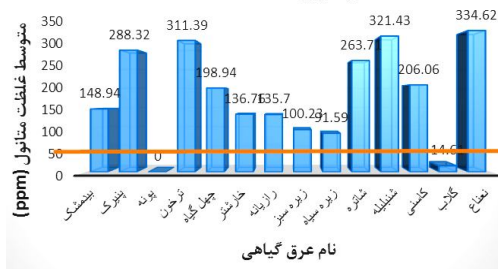


نمودار شماره 2: منحنی کالیبراسیون متانول در غلظت‌های ppm 50, 100, 200, 400, 800 و 1600 در مقابل سطح زیر منحنی

یافته ها و بحث

نتایج حاصل از بررسی pH نمونه‌ها نشان داد که pH تمامی نمونه‌ها خنثی و معادل 7 بود. خط رگرسیون در منحنی‌های کالیبراسیون با $R^2 > 0.99$ هستند. حداقل غلظت قابل شناسایی (LOD) برای اتانول و متانول 0/0001 درصد و یا 0/001 ppm به دست آمد. در حالی که حداقل غلظت قابل اندازه‌گیری (LOQ) برای اتانول و متانول معادل 0/001 درصد یا 0/01 ppm محاسبه شد. متوسط غلظت متانول در 14 نوع از عرقیات در تصویر شماره 3 نشان داده شده است.

Methanol concentration in hand-made herbal distillates (ppm)



تصویر شماره 3: متوسط غلظت متانول در 14 نوع از عرقیات گیاهی آنالیز شده به روش Headspace Gas Chromatography. خط قرمز نشان دهنده میزان مجاز متانول در عرقیات گیاهی است

تاییدیه اخلاق: این مطالعه مصوب مرکز تحقیقات پزشکی قانونی با کد اخلاق IR.LMO.REC.1397.57 بوده و کلیه موازین اخلاقی مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق معاونت آموزشی و پژوهشی سازمان پزشکی قانونی کشور و منطبق با بیانیه هلسینکی است. تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: بودجه لازم برای اجرای این مطالعه توسط معاونت آموزشی و پژوهشی سازمان پزشکی قانونی کشور تامین شده است.

دارد (5). با توجه به عدم رعایت شرایط بهینه و استاندارد تولید عرقیات گیاهی، عدم پاستوریزاسیون و امکان ایجاد آلودگی‌های میکروبی، احتمال تولید اتانول و متانول در نمونه‌ها پس از طی مراحل تولید وجود دارد. در مورد عرقیات گیاهی حداکثر میزان مجاز متانول در ایران 100 mg/L است (6).

در مطالعه حاضر برخی از انواع عرقیات حاوی متانول در مقادیر بالاتر از مقدار مجاز (100 ppm) بودند. با توجه به مصرف گسترده عرقیات گیاهی لزوم نظارت گسترده بر تولید آن‌ها احساس می‌شود.

References

1. Foroughi MH, Akhgari M, Jokar F, Mousavi Z. Identification of undeclared active pharmaceutical ingredients in counterfeit herbal medicines used as opioid substitution therapy. *Aust J Forensic Sci* 2017; 49(6): 720-729.
2. Karimi G, Hassanzadeh M, Shahidi N, Samie Z. Quantitative Determination of Methanol in Plant Water Produced in Mashhad by Spectrophotometry Method. *J Med Plant* 2008; 1(25): 56-59.
3. Mousavi SR, Namaei-Ghassemi M, Layegh M, AfzalAghaee M, Vafae M, Zare Gh, et al. Determination of methanol concentrations in traditional herbal waters of different brands in Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2011; 14(4): 361-368 (Persian).
4. Solhi H, Delavar M, Cheshm Jahanbin A, Abdollahi M. Comparison of methanol concentration in hand-made herbal essences produced in Arak city with industrial produced herbal essences with different commercial brands. *J Arak Univ Med Sci* 2009; 12: 71-77 (Persian).
5. Ahmadi A, Akhghari M, Gholamzadeh S, Zarenezhad M. Quantitative Determination of Ethanol and Methanol in non-alcoholic Fermented Beverages and Herbal Distillates: Analytical Toxicology Perspectives. *Ir J Forensic Med* 2018; 23(3): 225-232 (Persian).
6. Shirani K, Vahdati Hassani F, Razavi Azar-Khiavi K, Samie Moghaddam Z, Karimi Gh. Determination of methanol in Iranian herbal distillates. *J Complement Integr Med* 2016; 13(2): 123-127.