

**AROMATERAPI:
LUFTEKSPONERINGS VIRKNING PÅ ESSENSIELLE OLJER**

AV

TURID KLEIVELAND STUSDAL

Masteroppgave i farmasi



Senter for farmasi/Kjemisk Institutt

Universitetet i Bergen

Mai 2009

Forord

Arbeidet med denne masteroppgåva er utført ved Kjemisk Institutt, Universitetet i Bergen, som ein avslutning på Integrert masterprogram i farmasi.

Takk til rettleiar George W. Francis for faglig god veiledning, og at du alltid har tatt deg tid til samtalar og til å tolka spekter og resultat.

Takk til Terje Lygre og Egil Nodland for faglig rettleiing og hjelp med GC/MS og DART, og at de har svart på spørsmål.

Takk til mi gode veninne og medstudent Yen Bui for eit godt samarbeid på laben og elles underveis i sjølve skriveprosessen.

Takk til alle medstudentar på kull -04 for delte erfaringar og støtte med skriving av oppgåva, og sosiale sammenkomstar for avkobling innimellom. Og elles takk for fem fantastiske år i lag på studiet!

Til slutt vil eg takka familie og vener som har fått meg til å slappa av mest mogleg på fritida, og for å ha lagt mest mogleg til rette for skriveprosessen, spesielt i innspurten.

Gamlesetra, mai 2009

Turid K. Stusdal

Sammendrag

Interessen for aromaterapi øker stadig, og blir i dag mest brukt til avslapning. Det finnes begrenset informasjon og det er gjort heller få studier, både kjemisk og klinisk når det gjelder essensielle oljer, og flere studier er derfor nødvendig.

I opprinnelig forstand ble flyktigheten av oljene utnyttet i form av aroma/ duft- terapi, senere har massasje med essensielle oljer blitt inkludert, på tross av sensitiviseringsfaren dette gir. Mye av bruken av essensielle oljer er basert på gammel tradisjon, som for eksempel i form av kjerringråd eller lignende, siden de er sett på naturlige da de kommer direkte fra naturen. De essensielle oljene vil trolig forandre seg ved lufteksponering, ved at de mest flyktige forbindelsene i oljen vil forsvinne først. Dette er forsøkt bekreftet vha GC/MS og DART-analyse av oljene før og etter lufteksponering, her fremskyndet ved blåsing med nitrogen. Hovedvekten er her lagt på essensielle oljer av peppermynte, åkermynte og grønnmynte, som har flere ulike effekter bl.a. kan de virke både stimulerende og relakserende på samme tid, grunnet mange ulike forbindelser. Essensielle oljer inneholder terpenoider, for det meste monoterpenoider, bl.a. i form av limonen, mentol, menton og carvon. Monoterpenoider blir mye brukt som duftkjemikalier i industrien, men er også nest største kilde til kontaktallergi.

Ved GC/MS har innholdet i oljene blitt bekreftet og fått konstatert at de mest flyktige forbindelsene forsvinner ved lengre tids fordampning. Det blir også bekreftet at grønnmynte ikke bør sammenlignes og likestilles med peppermynte og åkermynte, i alle fall ikke i samme utstrekning som før. Grønnmynte har for eksempel carvon som hovedforbindelse, mens peppermynte og åkermynte har mentol. Disse vil også utgjøre en større del av de essensielle oljene etter at de har blitt eksponert for luft over lengre tid. Mentol har vist seg å øke opptaket av andre forbindelser gjennom huden, og vil derfor være kritisk når det gjelder opptak av for eksempel pulegon og carvon.

Med DART ble det også oppdaget forbindelser med svært høye masser i forhold til det som var forventet og disse ble mer intense og fremtredende etter blåsing av oljene.

En eventuell positiv effekt av aromaterapi må veies oppimot eventuelle farer i form av bivirkninger som sensitivitet, allergi og toksisitet generelt, og ved graviditet, fødsel, amming og til barn, da disse er spesielt utsatt. Massasje med disse oljene er ikke å anbefale.

De store forbindelsene som ble oppdaget bør undersøkes nærmere for å identifiseres med tanke på innvirkningen disse vil ha ved massasje med essensielle oljer på hud.

Innholdsfortegnelse

| | |
|--|-----------|
| FORORD | 3 |
| SAMMENDRAG | 4 |
| INNHALDSFORTEGNELSE | 5 |
| 1. INNLEDNING | 7 |
| 1.1 PEPPERMYNTE | 10 |
| 1.1.1 <i>Botanisk skildring</i> | 10 |
| 1.1.2 <i>Essensiell peppermynteolje</i> | 11 |
| 1.1.3 <i>Fortynning</i> | 12 |
| 1.1.4 <i>Bruksområder</i> | 12 |
| 1.1.5 <i>Toksisitet</i> | 14 |
| 1.1.6 <i>Bioaktivitet</i> | 15 |
| 1.1.7 <i>Graviditet og amming</i> | 16 |
| 1.2 GRØNNMYNTE | 17 |
| 1.2.1 <i>Botanisk skildring</i> | 17 |
| 1.2.2 <i>Essensiell grønmynteolje</i> | 17 |
| 1.2.3 <i>Fortynning</i> | 18 |
| 1.2.4 <i>Bruksområder</i> | 18 |
| 1.2.5 <i>Toksisitet</i> | 19 |
| 1.2.6 <i>Bioaktivitet</i> | 20 |
| 1.2.7 <i>Graviditet og amming</i> | 20 |
| 1.3 ÅKERMYNTE..... | 21 |
| 1.3.1 <i>Botanisk skildring</i> | 21 |
| 1.3.2 <i>Essensiell åkermynteolje</i> | 21 |
| 1.3.3 <i>Fortynning</i> | 22 |
| 1.3.4 <i>Bruksområder</i> | 22 |
| 1.3.5 <i>Toksisitet</i> | 23 |
| 1.3.6 <i>Bioaktivitet</i> | 23 |
| 1.3.7 <i>Graviditet og amming</i> | 24 |
| 2. FORMÅL | 25 |
| 3. METODER | 26 |
| 3.1 GC/MS | 26 |
| 3.1.1 <i>Gasskromatografi</i> | 28 |
| 3.1.2 <i>Massespektrometri</i> | 31 |
| 3.1.3 <i>Presentering og analyse av resultater</i> | 35 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.2 | DART | 37 |
| 3.2.1 | <i>Prinsippene for selve analysen</i> | 40 |
| 3.2.2 | <i>Presentering av resultater – massespekter</i> | 42 |
| 3.3 | EKSPERIMENTELT | 43 |
| 3.3.1 | <i>Valg av oljer</i> | 43 |
| 3.3.2 | <i>Kvalitetssikring</i> | 43 |
| 3.3.3 | <i>Fortynning og i stand gjøring av prøver av "fullolje"</i> | 43 |
| 3.3.4 | <i>Fortynning og i stand gjøring av prøver etter lufteksponering</i> | 44 |
| 3.3.5 | <i>Innstillinger av GC/MS og DART</i> | 45 |
| 4. | RESULTATER | 47 |
| 4.1 | PEPPERMYNTE | 49 |
| 4.2 | GRØNNMYNTE | 55 |
| 4.3 | ÅKERMYNTE..... | 60 |
| 5. | DISKUSJON OG KONKLUSJON | 66 |
| 5.1 | DISKUSJON | 66 |
| 5.2 | KONKLUSJON..... | 72 |
| 5.3 | VIDERE ARBEID..... | 73 |
| 6. | REFERANSER | 74 |
| | VEDLEGG | 76 |

1. Innledning

Bakgrunnen for prosjektet er den økende interessen for aromaterapi som har kommet de siste årene. Det siste tiåret har interessen for aromaterapi i befolkningen økt kraftig, og blir i dag for det meste brukt til avslapning eller forbedring av personlig effektivitet, som å redusere subjektivt stress og arbeidsbelastning (Ilmberger *et al.* 2001). Det er en populær trend, men det mangler beviser på at det faktisk fungerer, og de forsøkene som er gjort har langt fra konsekvente resultater (Ilmberger *et al.* 2001).

Mye av denne interessen for aromaterapi er ment som tilleggsbehandling til skolemedisinen, men også som eneste behandling i enkelte tilfeller. Dette er et heller lite utforsket område og derfor spennende og utfordrende å forske på og finne ut mer om. Men det er også skremmende at mange er villig til å forkaste vitenskapelig og medisinsk behandling til fordel for noe som er lite dokumentert og svært lite utprøvd, bortsett fra tradisjonsmessig som kjerringråd m.m. Bruken bygger mye på at folk tenker på aromaterapi som naturlig og tradisjonelt (som urtemedisin), og man tenker gjerne at noe som kommer direkte fra naturen ikke kan være skadelig osv.

Aromaterapi i den opprinnelige forstand var terapi ved hjelp av aroma/ duft, der flyktigheten til oljene ble utnyttet. Nå blir massasje med de samme oljene også inkludert. Dette gjør at når det for eksempel er opplyst at oljen er trygg til bruk for aromaterapi, inkluderer det i utgangspunktet ikke bruk på hud, som det gjerne blir gitt inntrykk av.

I dette prosjektet har hovedvekten vært på essensielle oljer av peppermynte, japansk peppermynte/ åkermynte og grønmynte/ engelsk mynte.

Mynteslekten er flerårige, aromatiske urter, med firkantede stengler og en karakteristisk og sterkt aromatisk duft av mentol (Høeg and Christensen 1984). Bladene på disse plantene er motsatte på stengelen og bredt ovale, mens blomstene er små, rødfiolette og vokser i bladhjørnene eller i hoder eller aks på toppen av stengelen (Høeg and Christensen 1984). Mynteslekten danner ofte hybrider, og noen av dem finnes viltvoksende i Norge (Høeg and Christensen 1984).

Det er kun essensielle oljer som i utgangspunktet skal bli brukt innen aromaterapi, eller pressede oljer (gjelder sitrusfrukter) (Price and Price 2007). Planteekstrakter blir utvunnet ved dampdestillasjon av plantematerialer fra en enkelt botanisk kilde, og den essensielle oljen blir så separert fra den kondenserte dampen, og i utgangspunktet blir ingenting tilført eller fjernet (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007). Oljene til terapeutisk bruk må være rene og

ufortynnede, nøyaktig identifisert og merket, og de må være riktig lagret. Dette kan være vanskelig for enkelte oljer siden noen planter har lite utbytte når det gjelder essensiell olje, og disse oljene ville i så fall vært svært dyre (Price and Price 2007). Det er mange faktorer som spiller inn når det gjelder utbytte av essensielle oljer, både for kvalitet og kvantitet, og flere av faktorene ligger i hendene til den som dyrker plantene, for eksempel tidspunkt for høsting, kjemikalier som blir brukt, planteutvalg/ seleksjon (Price and Price 2007). Det er også andre faktorer som er vanskeligere å kontrollere som spiller inn, for eksempel tilgjengelighet av lys, høyde over havet, temperatur og nedbør (selv om man kan benytte seg av vanningsystemer) (Price and Price 2007). Mengde essensiell olje i plantene varierer med sesongen, og den er heller ikke jevnt fordelt i planten, den kan til og med variere med når på dagen man høster, dette gjelder også kvaliteten på den essensielle oljen (Price and Price 2007). Alle disse faktorene kan gjøre at man ikke kan regne med å få samme kvalitet på den essensielle oljen hver gang man kjøper inn nye oljer, selv om man kjøper fra samme produsent. Oljer merket som aromaterapioljer er vanligvis en 2 % - blanding av essensiell olje i en baseolje, men de blir ofte solgt til samme pris som rene essensielle oljer (Price and Price 2007). Disse oljene er ofte standardiserte og av lav kvalitet, og dermed mer egnet for industrien enn til alternativ medisin (Price and Price 2007).

Essensielle oljer har vist seg å gi effektiv relaksering, både pre- og postoperativt, å regenerere vev i tilfeller av alvorlig brannskade og inflammasjon, og lette smerter i tilfeller av reumatoid artritt (Price and Price 2007). De har hjulpet til å forbedre livskvaliteten for dødsyke og har også blitt funnet viktig når det gjelder barnefødsler (Price and Price 2007). Oljene blir også mer og mer brukt til å hjelpe personer med lærevansker og til eldre, gjelder spesielt med tanke på demens, samtidig som de blir brukt mye for å virke oppløftende på sinnsstemningen (Price and Price 2007). Selv om man på 80 og 90- tallet snakket om at man trengte mer beviser, har det skjedd lite på denne fronten, og dermed lite som kan støtte bruk av aromaterapi innen pleie og omsorg, utenom for avslapningen sin del (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004).

Plantefamilien *Lamiaceae* (som mynteslekten er en del av) er den største familien som man utvinner essensielle oljer fra, og disse oljene er også sterkt aromatiske (Price and Price 2007). De ulike artene innen mynteslekten inneholder mye de samme forbindelsene, men i varierende mengder (bl.a. mentol), det varierer fra art til art og etter klima og jordsmonn (Høeg and Christensen 1984). Essensielle oljer fra denne familien produserer både oppkvikkende/ stimulerende og relakserende oljer, de har fantastiske antiseptiske og antispasmodiske

egenskaper, og de blir generelt sett på som trygge pga deres tradisjonelle bruk gjennom tusenvis av år (Price and Price 2007). Disse egenskapene gjør at peppermynte gjerne blir sett på som en av de viktigste oljene innen aromaterapi. Men mynte generelt blir også brukt i en slags myntekrem for å unngå mastitt hos kyr (Lis-Balchin 2006), samtidig som man har produkter som for eksempel Mentolatum, Japansk peppermynteolje og Tigerbalsam.

Planter produserer mengder av kjemikalier, inkludert en stor gruppe forbindelser kalt terpenener (flere tusen er identifisert) (Price and Price 2007). For mynteslekten gjelder dette for det meste monoterpenoider (Ringer *et al.* 2005). Terpenener er hydrokarboner som bare består av karbon- og hydrogenatomer, og de kan som oftest kjennes igjen på navnet da alle ender på -en (Price and Price 2007).

Monoterpenoider består alltid av 10 karbonatomer i en kjede, de kan være sykliske eller i rette kjeder, gjerne med forgreininger, men det kan også bli dannet flere ringer i samme molekyl (Price and Price 2007). Man kan også finne sesquiterpenoider (15 karbonatomer) eller diterpenoider (20 karbonatomer), men man finner sjelden større molekyler enn dette i essensielle oljer, siden molekylvekten da vil være større enn det destillasjonsprosessen tillater (Price and Price 2007). Det er for det meste monoterpenoider eller terpenoider generelt som står for den effekten som essensielle oljer har, men det er også disse som virker irriterende på huden (Price and Price 2007). Man har flere undergrupper av monoterpenoider som for eksempel alkoholer, ketoner, aldehyder, metylesterer. Aromatiske ketoner finner man i mindre grad i essensielle oljer, men innen mynteslekten finnes det likevel noen (for eksempel pulegon, piperiton, menton, carvon), som man skal være forsiktig med bruken av, spesielt ved graviditet (Price and Price 2007).

I industrien blir monoterpenoider mye brukt som duftkjemikalier innen kosmetikk, hushold og industrielle produkter, men det er også den nest største kilden til kontaktallergi, etter nikkel (Nilsson *et al.* 2008). Innen aromaterapi blir det derimot ikke brukt isolerte forbindelser, så det er ikke sikkert at det er en direkte og enkel sammenheng mellom den terapeutiske virkningen av en spesiell forbindelse og virkningen av hele den essensielle oljen (Price and Price 2007). Men at oljene blir sagt å ha så mange ulike effekter kommer av at man lister opp effektene av de ulike forbindelsene, og dette gjør at man for eksempel finner oljer som kan virke både på løs og treg mage (peppermynte) eller relakserende og stimulerende osv. Dette er to motstridene effekter, men man kan ikke utelukke dette uten kliniske forsøk, derimot er det større fare for uheldige og uønskede bivirkninger når oljene har mange ulike effekter (Price and Price 2007).

1.1 Peppermynte

1.1.1 Botanisk skildring

Peppermynte er en hybrid av to ulike arter, nemlig grønnmynte, *Mentha spicata* L., og vassmynte, *Mentha aquatica* L., og har fått navnet *Mentha x piperita* L. (Lis-Balchin 2006). Den tilhører planteslekten *Mentha* og leppeblomstfamilien (*Lamiaceae*), og normalt blir den 50- 80 cm høy (Høeg and Christensen 1984).

Peppermynte er en europeisk flerårig urt (staude), som også vokser i USA og Canada, og de formerer seg vegetativt med utløpere eller stiklinger (må det for å bli ekte) (Samuelsson 2004). Den kan dermed også lett bli et ”ugress”. Dette fører også til at de ulike artene lett krysser seg med hverandre, slik at man får mange ulike varianter. Da vil det være vanskelig skille dem fra hverandre og gi navn til mange av myntene man finner.

Peppermynte dyrkes som lege- og krydderplante i deler av Europa og USA, men også i norske urtehager (Høeg and Christensen 1984), der det spesielt kan være vanskelig å skille de ulike artene. I enkelte tilfeller kan man faktisk bruke smak og lukt.

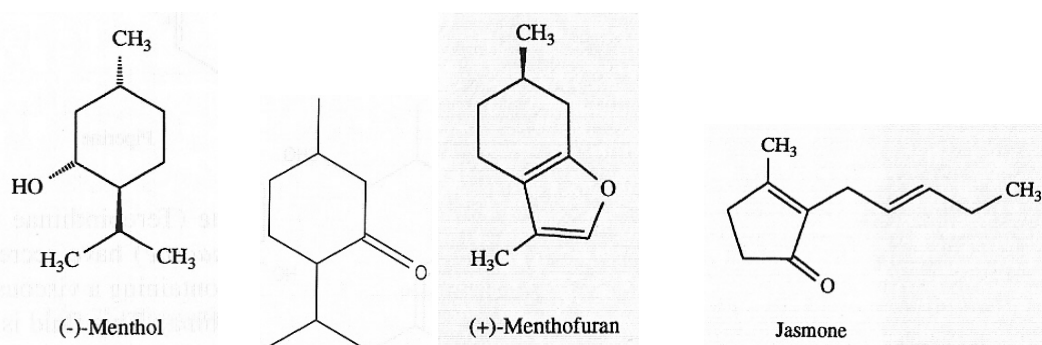
I Norge blir navnet peppermynte ofte brukt som et fellesnavn på flere arter, og mange av de som blir dyrket i urtehager som ”peppermynte” er gjerne en annen sort som for eksempel grønnmynte/ engelsk mynte (*Mentha spicata*) og eplemynte (*Mentha suaveolens*).

Den tradisjonelle/ ekte peppermynten har en glatt, blank og noe rødfarget stengel som er sterkt forgrenet (Høeg and Christensen 1984). Bladene er skaftet og mørkegrønne eller noe purpurfarget, og den har rosa eller lilla blomster i tette aks, hele planten har en utpreget peppermyntelukt (Høeg and Christensen 1984). Både blader og blomsterskudd er mulig å få tak i som uraffinert stoff (Samuelsson 2004), men det er peppermyntebladene som blir mest brukt, den andre delen er peppermynteolje. Det er peppermynteoljen som blir mest brukt til ulike medisinske formål, mens tørkede blader ofte blir brukt til te, og disse blir samlet inn flere ganger i løpet av sommeren.

Flere av de ulike mynteartene har vært kjente medisin- og krydderplanter helt siden antikken (Høeg and Christensen 1984), og blir også fortsatt brukt. Man finner ikke denne planten viltvoksende i naturen, så den blir nå dyrket som krydder- og medisinplante i tempererte strøk over hele verden. Mesteparten av den eteriske oljen kommer fra USA, mer enn 3000 tonn olje årlig, ellers kommer den fra Kina, India, Sør- Amerika, Italia og Japan (Lis-Balchin 2006). Peppermynte er i følge urtelisten fra Statens Legemiddelverk klassifisert som ”Handelsvare” og kan dermed omsettes fritt.

1.1.2 Essensiell peppermynteolje

Peppermynte inneholder rundt 1 % flyktig olje, som kan bli isolert ved dampdestillasjon, der 27-50% av oljen er mentol (figur 1.1), som også blir brukt i ren form (Samuelsson 2004, Lis-Balchin 2006). Oljen blir utvunnet ved dampdestillasjon av nyhøstede, små blomsterskudd, og er ofte rektifisert/ korrigert (Lis-Balchin 2006). Det totale esterinnholdet er 4-9 %, mens andre forbindelser i oljen er ca. 13-32% menton (figur 1.1), og små mengder av jasmon, limonen (1-3 %), mentofuran (0.3-12%), isomenton (2-10 %), 1.8-cineol/eucalyptol (5-14 %) og β -caryophyllen (Samuelsson 2004, Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007). Det finnes også piperiton i svært små konsentrasjoner i oljen, og pulegon finnes det spor av til >4 %, selv om det skal være under 4 % (Lis-Balchin 2006).



Figur 1.1: Strukturer av mentol, menton, mentofuran og jasmon (Samuelsson 2004, Price and Price 2007).

Selve oljen er fargeløs til svakt gul, med en sterk, gressaktig- mint lukt med en dyp balsamisk undertone og en søt uttøringslukkt (Lis-Balchin 2006). For å forbedre og øke utbytte av den essensielle oljen har man forsøkt ulike metoder for å finne frem til en ”super” peppermynte (Croteau et al. 2005, Wildung and Croteau 2005).

Lukten og smaken – og dermed kvaliteten på oljen – blir delvis bestemt av konsentrasjonen av andre forbindelser i oljen, spesielt med tanke på jasmon og mentofuran (figur 1.1) (Samuelsson 2004). Den inneholder bare en liten mengde jasmon (mindre enn 0,1 %), men den gir oljen en søt og behagelig smak, mens mentofuran har en skarp og ubehagelig lukt, slik at denne bør utgjøre så lite som mulig (Samuelsson 2004). Samtidig er det tilstedeværelsen av mentofuran som karakteriserer den ekte essensielle peppermynteoljen, det er en indikasjon på hvor ren oljen er, siden den i teorien kun finnes hos peppermynte (Lis-Balchin 2006).

Oljer destillert fra unge planter har høyt mentofuraninnhold og er derfor en mindreverdige olje enn den fra eldre planter (Samuelsson 2004). Avhengig av innsamlingsstidspunkt vil mengde av de ulike komponentene i oljen variere, noe man gjerne kan merke på smaken ved at den for

eksempel varierer i bitterhet, grunnet pulegon og mentofuran. Mentofuran blir derfor ofte fjernet ved rektifisering for å bedre smaken på oljen (Lis-Balchin 2006).

1.1.3 Fortynning

Peppermynteolje er en av de mest vidt produserte oljene samt en av de som blir mest fortynnet (Lis-Balchin 2006). Åkermynte også kjent som Japansk peppermynte (*Mentha arvensis*) er billigere, siden denne vokser vilt, og er ofte brukt til å fortynne eller til og med erstatte den ekte peppermynteoljen (Lis-Balchin 2006). Fortynning med åkermynteolje er vanskelig å oppdage selv når hele 85 % av peppermynteoljen er byttet ut med denne, dette siden fargetesten for mentofuran vil holde seg konstant, selv ved fortynning (Lis-Balchin 2006). Åkermynteolje kan også bli blandet med mindreverdige forprøver av peppermynteolje, og disse vil også gi positiv mentofurantest (Lis-Balchin 2006).

1.1.4 Bruksområder

Peppermynte har blitt brukt på flere ulike områder, men enkelte er mer vanlig og utbredt enn andre. Dette gjelder for eksempel bruk ved forkjølelse og hodepine, ved inhalasjon, men også ved å smøre på bryst og panne eller under nesen. Andre kjente bruksområder er fordøyelsessystemet, astma, akne, muskelsmerter m.m. (Lis-Balchin 2006). Dette er bl.a. siden peppermynte er kjent for å gi en økende utskillelse av fordøyelsesvæsker, da spesielt i gallen (Høeg and Christensen 1984). Peppermynte er nyttig ved flere lidelser ved oral bruk og for flere respiratoriske tilstander dersom brukt sammen med andre flyktige oljer (Lis-Balchin 2006).

Peppermynte som urte har blitt brukt fra gammelt av, helt fra antikken (Høeg and Christensen 1984), og man har utviklet denne bruken til å gjelde flere områder etter hvert.

Den essensielle oljen har bl.a. blitt omtalt som smertestillende, lett bedøvende, anti-inflammatorisk, mikrobehemmende, krampestillende, smittedrepende, gallestimulerende m.m. (Lis-Balchin 2006). Den blir nå hovedsaklig brukt i sammenheng med fordøyelse, smertelindring (for eksempel hodepine og migrene) og til å redusere hudsensitivitet, men også til inhalering og i form av brystbalsam for respiratoriske plager (Lis-Balchin 2006).

Man har utført studier med inhalering av peppermynteolje for å stimulere og friske opp turnusleger på nattskift eller for å motvirke trøtthet etter lunsj på en arbeidsplass (Norrish and Dwyer 2005). Peppermynte blir omtalt som en stimulerende odør som kanskje kan hemme eller hindre søvn (Goel and Lao 2006). Studiene tyder på at peppermynte gjør at man ikke faller i dyp søvn og at man har lettere for spontanoppvåkning enn ved luft- kontrollgrupper,

men dersom vann ble oppfattet som mer stimulerende påvirket dette også reaksjonen på en positiv måte (Norrish and Dwyer 2005). Dette gjør at man ikke har noen avgjørende beviser på at peppermynte hjelper, i alle fall ikke med konsentrasjoner av denne størrelsen, og selv om det er snakk om signifikant redusert tretthet ved peppermynte, kan man ikke utelukke at det her kan være placebo som utgjør effekten (Norrish and Dwyer 2005).

I mer tradisjonell bruk blir peppermynte brukt i inhalasjonspreparater og ulike hostedempende pastiller osv., da oftest i form av mentol. Mentol virker avkjølende, friskt rensende, antiseptisk og bedøvende når den blir tilført på huden, og den øker blodgjennomstrømmingen i det området den blir tilført (Høeg and Christensen 1984, Price and Price 2007). Den har også blitt omtalt som slimløsende, urindrivende, inflammasjonshemmende, appetittvekkende, krampeløsende, og lokallindrende på nervesmerter (Høeg and Christensen 1984). Dette gjør at peppermynteoljen fungerer bra som lokalbedøvelse og til å skape inflammasjon på hudoverflaten, for å avlede fra en mer dyptliggende inflammasjon som for eksempel muskulære smerter og verk (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007).

Peppermynteolje virker mer krampehemmende enn det mentol gjør alene, og studier har vist at peppermynteolje kan motvirke kramper i glatt muskulatur i mage- tarm kanalen og sammentrekning i tykktarmen (Price and Price 2007).

Man bør være varsom med å massere oljen på kroppen, spesielt dersom det er fare for sensitiv hud og det er slimhinner involvert, det er heller ingen vitenskapelige beviser for effekt ved bruk innen aromaterapi per i dag. Massasje i seg selv kan derimot lindre mange tilstander induert av stress, og muskelsmerter (Lis-Balchin 2006).

Peppermynte blir også mye brukt i hoste- og slimløsende teer, mye i sammenheng med forkjølelse og halsbetennelse og er en av de mest inntatte urteteene bestående av bare en ingrediens (McKay and Blumberg 2006). Peppermyntete som avtrekk av bladene til planten, og peppermynteolje blir begge brukt innen tradisjonell medisin, og det er ikke meldt om reaksjoner på peppermyntete, selv om man mangler studier som kan bekrefte virkning eller støtte bruken av både oljen og teen (McKay and Blumberg 2006).

Peppermynteolje eller mentol finnes i mange ulike lisensierte medisinske produkter i Storbritannia (finnes færre produkter i Norge), brukt mot dyspepsi, bronkitt og irritabel tarm syndrom, selv om det er omstridt (Lis-Balchin 2006). Man bruker da enterotabletter, som gjør at peppermynteoljen blir levert direkte i tarmen slik at man slipper påvirkning/ irritering av øvre pusterør og fordøyelsessystemet, for eksempel i form av halsbrann (Lis-Balchin 2006,

Price and Price 2007). Peppermynnteolje skal til og med kunne redusere kramper i tarmen ved endoskopi, dersom den blir introdusert sammen med endoskopet (Lis-Balchin 2006).

Peppermynnte har i flere hundre år vært en viktig krydder-, duft- og medisinplante, men også i våre dager hører urten, og den eteriske oljen som blir utvunnet fra den, med blant de mest brukte smakstilsetninger i legemidler, næringsmidler og nytelsesmidler. Dette gjelder for eksempel i ulike bakevarer, frossen mat, kjøtt, snop (som sjokolade og søtsaker/ drops), drikkevarer, tannpasta og tyggegummi, men den kan også brukes for å hemme bakterievekst (Samuelsson 2004, Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007).

Når peppermynnte blir brukt som smakstilsetning bør innholdet av mentofuran og pulegon være begrenset for å unngå den bitre smaken. Innholdet av pulegon er begrenset til 25 mg/kg i generell mat, mens konfekt med mynte kan inneholde 350 mg/kg, drikke som inneholder mynte og grønnmynte 250 mg/kg, og annen drikke 100 mg/kg (Lis-Balchin 2006).

Innen parfyme er peppermynnte heller lite brukt (Lis-Balchin 2006).

1.1.5 Toksisitet

Oral LD₅₀ 4,4 g/kg (rotte); >5 g/kg (mus og hamster) (Lis-Balchin 2006).

Mentol: 2,9 g/kg (rotte); 3,1 g/kg (mus) (Lis-Balchin 2006).

Dermal LD₅₀ >5 g/kg (kanin) (Lis-Balchin 2006).

Mentol er en av de forbindelsene man skal være mest forsiktig med bruken av, da denne kan irritere øyne og kan være skadelig dersom den blir inntatt i mengder (Lis-Balchin 2006).

Inntak av så lite som en teskje (1 g/kg kroppsvekt) ren mentol kan være fatalt, og dersom man inhalerer peppermynnte i form av damp, bør man holde øynene lukket for å beskytte slimhinnene (Lis-Balchin 2006).

Peppermynnte kan også virke irriterende på huden, den er generelt sett på som trygg ved 4 %, men 0,1 % er anbefalt for sensitive personer, siden 1 av 200 har vist reaksjon på peppermynnte (Lis-Balchin 2006). Peppermynnteolje er kjent for å føre til hypersensitivitetsreaksjoner, spesielt ved høye konsentrasjoner, i form av hudutslett, hodepine, muskelkramper osv., men det er ikke meldt om fotosensitivitet (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007).

Det har blitt rapportert hypersensitivitetsreaksjoner hos voksne med symptomer som hodepine, rødming, utslett, høyt blodtrykk og svimmelhet etter at de har vært i kontakt med mentol i ulike former, for eksempel tannpasta, sigarettøyk, snop og medisiner (Lis-Balchin 2006). I verste fall kan inntak av mentol føre til magesmerter, kvalme, oppkast, svimmelhet, trøtthet, ataksi og koma (Lis-Balchin 2006). Oljen er svært farlig dersom den blir inntatt uforytynnet

eller konsentrert, siden bare få dråper kan føre til tungpustethet, pga den skarpe lukten og den brennende effekten på nese og hals, og den kan derfor være dødelig for babyer og små barn (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007).

Overdosering av mentol, spesielt etter lengre tids bruk, kan føre til gastrointestinale plager, ataksi, sjokk og kramper – til og med blodutredninger har blitt rapportert, for eksempel ved overforbruk av mentolsigaretter (Lis-Balchin 2006).

I kosmetiske produkter er grensen for essensiell peppermynteolje satt til en konsentrasjon på 3 % for renseprodukter og 0,2 % for produkter som for eksempel ulike kremer osv., noe som også burde vært utgangspunktet innen aromaterapi (Lis-Balchin 2006).

Det ser ut som mentol kan føre til økt opptak av andre stoffer, og man bør derfor være varsom med bruken av enkelte ingredienser, bruk som kanskje er basert på at stoffet ikke blir absorbert i utgangspunktet (Lis-Balchin 2006). Disse ingrediensene kan dermed bli svakt absorbert pga mentolinnholdet i oljen, og dette vil da også være aktuelt ved blanding av ulike oljer innen aromaterapi.

1.1.6 Bioaktivitet

In vitro og *in vivo* kan peppermynteoljen og mentol alene påvirke glatt muskulatur som tarm, arteriær og papillær muskulatur, og livmoren. Påvirkningen av tarmmuskulaturen har blitt påvist i studier både via cAMP og ved kalsiumantagonistisk effekt (Lis-Balchin 2006).

Peppermynte har bl.a. vist å redusere spontane sammentrekninger av livmoren og relaxere tarmmuskulaturen i enkelte dyrestudier (Lis-Balchin 2006). Pulegon, en liten komponent i peppermynteoljen, kan forårsake atoni, redusere kreatinininnholdet i blodet, senke terminal kroppsvekt og påvirke lever og hvit substans i hjernen hos rotter (Lis-Balchin 2006). Dette skjer ved inntak av 80 mg/kg og 160 mg/kg pulegon per dag, men uten effekt ved inntak av 20 mg/kg per dag (Lis-Balchin 2006).

Peppermynte har vist seg å ha signifikant antiinflammatorisk og smertestillende effekt hos gnagere, og har dessuten vist seg å være en av de mest potente essensielle oljene mot orale bakterier (Lis-Balchin 2006). Mennesker eksponert av mentoldamp i 5 minutter gav ingen forandring av den nasale luftstrømsresistansen, men de fleste rapporterte om en kald følelse i nesen og en følelse av forbedret luftstrøm etterpå (Lis-Balchin 2006).

Peppermynteolje har også vist seg å ha bakterie- og sopphekkende aktiviteter (mentol viste om lag samme resultat, mens menton var mindre aktiv) den var effektiv mot alle de 22 bakteriestammene og mot 11 soppstammer den ble testet på (Lis-Balchin 2006). Bl.a. har man gjort studier som har vist effekt på bakteriemengden i luft, men bare for de første 30-60

minuttene av prosessen kunne man se en bedring (Su *et al.* 2007). Peppermynsteolje og noen av hovedkomponentene har også vist seg å påvirke veksten av ulike bakteriestammer som har utviklet resistens mot enkelte antibiotika (Lis-Balchin 2006).

De studiene som er gjort omhandler som oftest inntak av peppermynsteolje oralt, og man kan dermed ikke bruke disse som utgangspunkt for aromaterapibruk, men det finnes også enkelte andre studier. Bl.a. har peppermynsteolje og mentol vist effekt på induisert hoste og hodepine ved henholdsvis inhalering og lokalapplisering (i fortynnet form) i studier, og ved denne siste skal den ha hatt lignende effekt som man får av 1000 mg paracetamol. Forskerne konkluderte med at preparater av den essensielle oljen kan redusere spenningshodepine, at den er godt tolerert samt kostnadseffektiv (Lis-Balchin 2006).

Man har også testet peppermynste for å se hvordan den påvirker søvnmønsteret hos unge voksne, men studien gav ingen avgjørende resultater da den gav økt NREM søvn hos kvinner, men ikke hos menn, og økt oppmerksomhet hos menn, men ikke hos kvinner, sammenlignet med kontrollgruppen (Goel and Lao 2006). Dette tyder på at psykologiske faktorer spiller en rolle samt individuelle forskjeller noe som gjør at resultatene ikke kan regnes som signifikante (Goel and Lao 2006).

1.1.7 Gravitet og amming

Tap av spontane sammentrekninger i livmoren ble observert når den essensielle oljen ble introdusert *in vitro*; men det er ingen data på at den essensielle oljen av peppermynste er en abortfremkallende olje (Lis-Balchin 2006). Pulegon har tradisjonelt hatt denne effekten. Noen aromaterapeuter mener at man ikke bør bruke peppermynsteolje mens man er gravid, mens andre mener at dersom man tynner oljen ut til 1 % og ikke mer enn tre dråper blir brukt i badevannet, kan det være sikkert selv for dem med sensitiv hud (Lis-Balchin 2006). Nytteverdien av peppermynsteolje innen aromaterapi må veies opp mot sensitiviseringsfaren når den blir brukt på huden, eller mulige muskelrykninger og astmatiske symptomer dersom brukt til inhalasjon, og bør derfor brukes med forsiktighet og kun i små mengder av gangen (Lis-Balchin 2006). Det er derimot ikke anbefalt å bruke noen som helst essensiell olje til massasje til små barn, uansett hvor mye oljen er fortynnet. Dette er også nødvendig å ta hensyn til med tanke på sensitiviseringsfaren av barna i ung alder pga luftbåren lukteffekt (Lis-Balchin 2006).

Den eteriske oljen av peppermynste skal helst ikke brukes ved amming, da den bl.a. kan føre til nedsatt melkeproduksjon (Lis-Balchin 2006).

1.2 Grønnmynte

1.2.1 Botanisk skildring

Grønnmynte er en buskaktig, flerårig urt som tilhører samme familie som peppermynte, leppeblomstfamilien (Lamiaceae), og den blir fra 30 cm til 1 m høy og har fått navnet *Mentha spicata* L. Planten har en krypende jordstengel og underjordiske utløpere, og har en grønn eller rødbrun opprett stengel. Grønnmynte er en glatt plante, så stengelen er snau eller nesten snau (noe som er uvanlig hos mynteslekten) (Høeg and Christensen 1984). Bladene er også glatte/ blanke og friskt grønne, de er avlange med kvasse tenner i kanten og kraftige nerver på undersiden (Høeg and Christensen 1984), men mangler bladskaft i motsetning til bladene hos peppermynte. Smaken og bladfargen varierer hos planten, det er bl.a. avhengig av hvilken sort og kvalitet jorda den blir dyrket i har.

I toppen av stengelen blir det fra juli til september dannet små rosa eller lilla blomsterkranser i lange, tette aks (Høeg and Christensen 1984). Det finnes mange varianter, former og sorter av grønnmynte som hos hele mynteslekten, bl.a. krusmynte (*Mentha spicata* var. *crispa*), som sannsynligvis har lignende medisinske egenskaper som grønnmynte.

Grønnmynte kommer opprinnelig fra middelhavsområdet, men har blitt dyrket over hele verden i områder med temperert klima i århundrer, og i England er det den myntarten som blir dyrket mest. Det er en hardfør plante som kan dyrkes over det meste av landet vårt, men den foretrekker fuktig og næringsrik jord. Man finner den gjerne på avfallsplasser eller dyrket mark, men den er sjelden (Høeg and Christensen 1984).

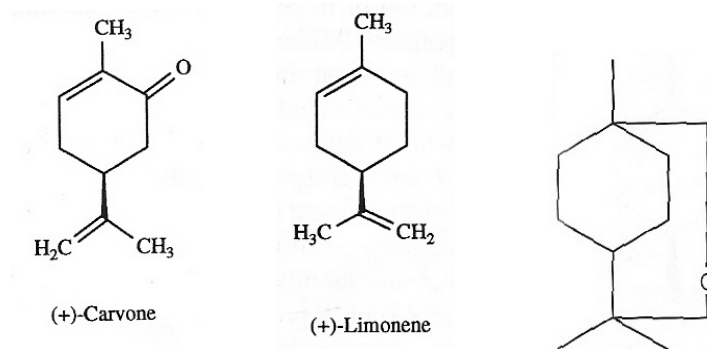
Grønnmynte blir i dag for det meste dyrket og utvunnet fra USA, Kina, India, Sør- Amerika, Italia og Japan (Lis-Balchin 2006).

Mynte er i følge *urtelisten* fra Statens LegemiddelVerk klassifisert som "Handelsvare" og kan dermed omsettes fritt.

1.2.2 Essensiell grønnmynteolje

Den flyktige oljen av grønnmynte blir utvunnet ved dampdestillasjon av nyhøstede, små blomsterskudd (Lis-Balchin 2006). Oljen er svak gul til svak oliven farget, og har en veldig varm, svakt grønn- urte lukt som er penetrerende og sterk, akkurat som den knuste urten, men den er ganske lik peppermynte, bare søtere, lettere og mer krydret (Lis-Balchin 2006). Oljen fordamper allerede ved svak varme, ellers mørkner den og blir tykkere med tiden (Lis-Balchin 2006).

Grønnmynte inneholder en eterisk olje med variabel sammensetning, men carvon (figur 1.2) utgjør hovedkomponenten med hele 39-67% (Price and Price 2007). Peppermynete og åkermynte inneholder for eksempel ikke denne komponenten i det hele tatt.



Figur 1.2: Struktur av carvon, limonen og eucalyptol/ 1,8- cineol (Samuelsson 2004, Price and Price 2007).

Oljen inneholder ellers bl.a. α -pinen (0.2-0.9%), β -pinen (0.3-2.3%), eucalyptol/ 1,8-cineol (0.5-3.2%) (figur 1.2), *cis*-dihydrocarvon (3.1-21.6%), *trans*-dihydrocarvon (0-21 %), (-)-mentol (0,5-2 %), limonen (2-25 %) (figur 1.2), dihydrocarveol (1.3 %), dihydrocarvylacetat (1.2-24.8%), β -caryophyllen (0.3-2.6%), β -bourbonen (spor av- 2 %) osv. (Price and Price 2007). Man kan ellers finne spor av forbindelser som menton, pulegon, mentofuran m.fl. Grønnmynte inneholder langt mindre mentol enn for eksempel peppermynete, noe som gjør det mindre troverdig at disse skal ha de samme egenskapene, også på bakgrunn av det høye innholdet av carvon som grønnmynte har.

1.2.3 Fortynning

Det er vanlig å tilsette (-)-carvon, men ellers er den essensielle oljen billig og er derfor ikke verdt å fortynne i det hele tatt (Lis-Balchin 2006).

1.2.4 Bruksområder

En urtete av mynte laget av bladene (tørkede eller friske) har tradisjonelt blitt brukt til behandling av fordøyelsesplager og magesmerter, forkjølelse og ved sykdom i galle og lever, og som urindrivende middel (Høeg and Christensen 1984). Ellers er det i følge gamle kjerringråd et fint middel mot dårlig ånde dersom man tygger på blad av grønnmynte. Den essensielle grønnmynteoljen har ingen dokumentert bruk innen urtemedisin, og ble egentlig utviklet som smakstilsetning. Likevel finner man mange forslag til bruk av grønnmynteolje i aromaterapibøker, noe som sannsynligvis baseres på mynte generelt (Lis-

Balchin 2006). Bruken av essensiell grønnmynteolje til massasje er derimot ikke anbefalt (Lis-Balchin 2006).

Oljen blir mye brukt for det samme som peppermynte, men den eteriske oljen av grønnmynte gir en friskhet uten å gi den isende kulden som peppermynte gir.

Den essensielle oljen blir gjerne brukt som smak i merkevarer, selv om egenskapene til grønnmynte inkluderer: lokalanestesi, antiinflammatorisk, antiseptisk, spasmehemmende osv. (Lis-Balchin 2006). Den har kvaliteter som ligner dem man finner hos peppermynte siden disse hører til samme plantefamilie og slekt. Men siden den ikke inneholder like mye mentol blir den oppfattet som mindre skarp enn peppermynteolje.

Dersom man ser vitenskapelig på dette vil man legge vekt på at den kjemiske sammensetningen av grønnmynte er helt annerledes enn den for andre mynter, for eksempel peppermynte og åkermynte. Det er derfor ulogisk at grønnmynte skal ha samme bruksområde som disse, også siden det ikke finnes noen beviser for slik bruk (Lis-Balchin 2006).

Grønnmynte blir først og fremst brukt som en smaksingrediens i ulike nærings- og nytelsesmiddel som for eksempel ulike bakevarer, frysemat, kjøtt, snop, drikke og tyggegummi (Lis-Balchin 2006), og kan også være et smaksstoff i tobakk og snus. På grunn av den gode smaken og antiseptiske virkningen bruker man gjerne grønnmynteolje i munnvann, tannkrem og tyggegummi.

Grønnmynte skal være mer velegnet enn peppermynte til bruk i mat, man kan spise bladene både rå og kokt, og med den sterke myntesmaken kan de brukes til å sette smak på salater eller kokte matretter. Bladene blir ofte brukt i sauser, i England er myntesaus f.eks. fast tilbehør til matretter med lam.

Innen parfymeindustrien blir grønnmynteolje brukt i såkalte ”chypres” og ”fougeres”, og den blander seg bl.a. godt med en del andre oljer (Lis-Balchin 2006).

1.2.5 Toksisitet

Oral LD₅₀ 5 g/kg (rotte) (Lis-Balchin 2006).

Dermal LD₅₀ >5 g/kg (kanin); 2 g/kg (hamster) (Lis-Balchin 2006).

Grønnmynte har blitt rapportert som ikke-giftig, mildt irriterende (slimhinneirriterende), og ikke- sensitiviserende (Price and Price 2007), og det er ikke rapportert noe fotosensitivitet ved bruk av oljen (Lis-Balchin 2006).

Oljen har vist seg å være trygg ved 4 %, men bør reduseres til 0,1 % for sensitive personer, siden grønnynte i tannkrem har ført til allergiske reaksjoner, mest sannsynlig på grunn av carvon-innholdet (Lis-Balchin 2006). Grensen for daglig inntak av carvon (+) og (-) er satt til 1.0 mg/kg kroppsvekt (Lis-Balchin 2006).

Carvon har blitt omtalt som neurotoksisk og abortfremkallende, men dette er noe omdiskutert, den har nemlig også blitt omtalt som ikke toksisk og dermed trygg å bruke dersom brukt på riktig måte, med riktig dosering og av en kvalifisert aromaterapeut (Price and Price 2007).

1.2.6 Bioaktivitet

Det man vet om farmakologiske aktiviteter av grønnynte *in vitro* og *in vivo*, på for eksempel glatt muskel, er at både peppermynte og grønnynte i vannløsninger førte til relaksering av den gastriske veggen og reduksjon av sammentrekninger i mage og tarm hos hunder (Lis-Balchin 2006).

Grønnynte har, akkurat som peppermynte, vist aktivitet mot ulike bakteriestammer også antibiotikaresistente stammer, og var sterkt aktiv mot 5 bakterier som ble testet *in vitro* (det samme gjelder mentol og peppermynte) (Lis-Balchin 2006).

1.2.7 Gravitet og amming

Grønnynte har blitt omtalt som kontraindikert når det gjelder gravitet, spedbarn og barn, dette pga av det høye innholdet av carvon (Price and Price 2007), men også som massasje ved fødsel eller amming (Lis-Balchin 2006).

Fra en farmasøytisk synsvinkel legger man vekt på at det er lite å finne om grønnynte når det gjelder toksikologi, farmakologi eller annen informasjon generelt (Lis-Balchin 2006). Siden den kjemiske sammensetningen av oljen også er helt annerledes enn for andre kjente mynter, som peppermynte og åkermynte, virker det ulogisk å sidestille egenskapene og bruken av grønnynte med disse (Lis-Balchin 2006).

Essensiell olje av grønnynte er ikke anbefalt for generell aromaterapibruk, men dersom man av og til bruker den som duft er den sannsynligvis ikke skadelig (Lis-Balchin 2006). Men generelt sett er det ikke anbefalt å bruke essensielle oljer til massasje for spedbarn og små barn, uansett hvor mye den er fortynnet (Lis-Balchin 2006).

1.3 Åkermynte

1.3.1 Botanisk skildring

Åkermynte, også kalt Japansk peppermynte, og fått navnet *Mentha arvensis* (i dette tilfellet *Mentha arvensis* var. *piperascens* Malinv. eks Holmes), og er en japansk urte som også dyrkes i USA og Brasil (Samuelsson 2004). Det er en flerårig urt akkurat som peppermynte, og har nedliggende eller oppstigende, ugreinete stengel (Høeg and Christensen 1984).

Planten blir gjerne 10-60 cm høy (sjelden 100 cm), med blader som vokser i motstående par, og de er smålodne, elliptiske, sagtannede og ofte lysegrønne av utseende (Høeg and Christensen 1984). Blomstene vokser i tette, men tydelig atskilte kranser/klynger med blader på stammen, og kronen er fiolett-rød eller blåfiolett (av og til hvite eller rosa) og er hårete innvendig (Høeg and Christensen 1984). Hele planten har en aromatisk, ofte litt sitronaktig duft, men har en harsk smak (Høeg and Christensen 1984).

Det finnes ulike subarter av åkermynte også (som den det er tatt utgangspunkt i her), og bl.a. blir en lignende art, *Mentha canadensis*, også inkludert når det er snakk om *M. arvensis* av enkelte forfattere.

Åkermynte finner man gjerne i våte enger, vannkanter og grøfter, og i Norge vokser den i lavlandet nord til Trøndelag og ellers spredt nord til Tromsø (Høeg and Christensen 1984). Ellers vokser planten bl.a. i USA, Kina, India, Sør Amerika, Italia og Japan, og det er disse landene som er viktigst for eksporten av åkermynte verden over (Lis-Balchin 2006).

1.3.2 Essensiell åkermynteolje

Åkermynte er en svak gul eller nesten fargeløs essensiell olje, lignende peppermynte, men sterkere siden den inneholder større mengde mentol og den har en bittersøt lukt med en røff treaktig undertone og bitter urteaktig lukt ved uttørring (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007). Den flyktige oljen blir utvunnet ved dampdestillasjon av nyhøstede blomsterskudd (Lis-Balchin 2006).

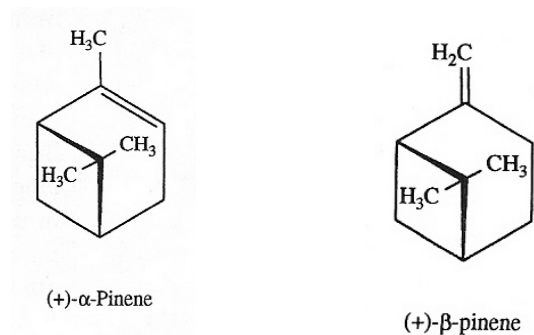
Åkermynteolje inneholder 50-70% (56.7-80.2%), av og til 90 % mentol, men er underordnet/ har lavere status enn vanlig peppermynteolje, og oljen blir derfor nesten utelukkende brukt som en mentolkilde (Samuelsson 2004, Price and Price 2007).

Åkermynte blir ”dementolisert” (man fjerner mentolen) ved nedfrysing av den essensielle oljen og ved deretter gjenvinning av 40 % av mentolen ved utfelling (Lis-Balchin 2006). Mentol krystalliserer seg ved -22 °C og blir rensset ved rekrystallisering, men kan også bli

syntetisert (Samuelsson 2004). Etter dette inneholder den essensielle oljen fremdeles 55 % mentol som kan konverteres (sammen med den bitre mentonen) ved kjemiske metoder, til mentolisomerer; før man fjerner mentolen på nytt (Lis-Balchin 2006).

Ellers inneholder åkermynteolje (-)-limonen (0.48-9.8%), α -pinen (0.1-1.54%) (figur 1.3), β -pinen (0.06-2.9%), (-)-menton (15-30%), isomenton (0,1-6 %), piperiton (0.1-5.9%), pulegon (0,3-4 %), ulike isomerer av isomentol, eucalyptol/ 1,8-cineol (spor av- 2.6 %) m.fl. (Price and Price 2007).

Dersom oljen blir ”dementolisert” blir innholdet noe endret, mentolinnholdet blir selvsagt redusert, men innholdet av de andre forbindelsene blir dermed også større prosentvis.



Figur 1.3: Struktur av α -pinen og β -pinen (Samuelsson 2004).

1.3.3 Fortynning

Åkermynte er billigere enn ”ekte” peppermynte, siden denne vokser vilt, og blir derfor ofte brukt til å blande i, og av og til som erstatning for peppermynteolje (Lis-Balchin 2006).

Fortynning er vanskelig å detektere selv om det er tilsatt 85 % åkermynteolje til ren peppermynte, dette er siden fargetesten av mentofuran holder seg konstant, selv ved fortynning (Lis-Balchin 2006).

1.3.4 Bruksområder

I Kina er åkermynte kjent som Bo He, og har blitt brukt i tusenvis av år for forkjølelse, sår hals, sår munn og tunge, tannverk, for å senke temperatur, dysenteri og diaré, ellers blir den brukt mye som peppermynte (Lis-Balchin 2006). Man anbefaler derimot ikke å bruke åkermynte i like stor grad og i samme konsentrasjon som andre mynter, pga den noe høyere konsentrasjonen av mentol i denne oljen.

Mentol er trolig hovedsmertestillende komponent, og effektene av den essensielle oljen er nesten uten unntak pga mentolinnholdet (Price and Price 2007). Mentol gir en kjølede følelse når den blir tilført på huden eller slimhinner og blir derfor brukt i salver og linimenter som et

middel mot kløe (Samuelsson 2004). Alle myntearter gir en kjølede følelse på slimhinnene i nesen og munnen pga mentol og de blir derfor også ofte brukt i tannkrem (Lis-Balchin 2006). Mentolkomponenten blir fjernet for bruk innen parfyme og farmasi, og man øker dermed nivået av menton kanskje opptil 26 % (Price and Price 2007).

Mynteolje, som oftest ”dementolisert” åkermynte, blir brukt i en krem (Uddermint) for å unngå og for å behandle mastitt/ jurbetennelse hos kyr (Lis-Balchin 2006).

Åkermynte er ikke listet opp for bruk i mat, men blir ofte brukt som essensiell olje av peppermynte etter ”dementolisering”, og grønnynte blir også brukt i lignende produkter (Lis-Balchin 2006).

Innen parfyme har åkermynte begrenset bruk, noe som trolig skyldes den litt sterkere duften av mentol hos denne mynten (Lis-Balchin 2006).

1.3.5 Toksisitet

Oral LD₅₀ >1.2- 2.9 g/kg (rotte); 3.1 g/kg (mus) (Lis-Balchin 2006).

Dermal LD₅₀ >5 g/kg (kanin) (Lis-Balchin 2006).

Mentol kan være irriterende for øynene, og den kan også være skadelig dersom inntatt i store mengder (Lis-Balchin 2006). Åkermynte skal helst unngås ved tilfeller av obstruksjon av gallelederne, inflammasjon av galleblæren, gallesteiner og alvorlige leverskader (Lis-Balchin 2006).

Essensiell åkermynteolje er, som peppermynte, en irritant og kan føre til hypersensitive reaksjoner, oftest pga mentol, bl.a. reaksjoner som hudutslett, hodepine, bradykardi, muskeltremor og ataksi (Lis-Balchin 2006).

Ingen fotosensitivitet er rapportert for denne mynteoljen heller, ellers er toksisiteten og sensitiviseringen om lag det samme som for peppermynte (Lis-Balchin 2006).

1.3.6 Bioaktivitet

Det er ikke funnet noen farmakologiske aktiviteter på glatt muskulatur *in vitro* og *in vivo* (Lis-Balchin 2006). Derimot har mentol vist seg å redusere respiratorisk ubehag ved pusting og signifikant hostedempende effekt i diverse studier (Lis-Balchin 2006), ellers er det flere aktiviteter som man også finner hos peppermynte, pga den felles mentolkomponenten. En gel som inneholdt 30 % åkermynteolje ble testet på pasienter som led av leddsmerter, og det ble konkludert med at mynteoljeterapi var trygt og effektivt å bruke for å behandle slike subakutte og akutte smerter (Price and Price 2007).

Man har også hos den essensielle åkermynteoljen oppdaget bakteriehemmende effekter, både hos antibiotikaresistente og antibiotikasensitive stammer (Lis-Balchin 2006).

I ulike tester har oljen vist antibakterielle- og antisopp- aktiviteter, men arter av *Sarcina* og *E. coli* var resistente (Price and Price 2007). Dementolisert åkermynteolje ble testet mot 23 sopparter, og viste seg å ha soppdrepende egenskaper, ved at den hemmet 22 av dem (Price and Price 2007). Ellers blir oljen regnet som likeverdig med peppermynte, og har derfor ellers effekter som ligner på denne.

1.3.7 Graviditet og amming

Åkermynte er mye brukt til fortynning av eller som substitutt for essensiell peppermynteolje, derfor må mesteparten av farene med peppermynte regnes med her, spesielt siden mentolinnholdet ofte er høyere enn i peppermynteoljen (Lis-Balchin 2006). Åkermynteoljen kan dermed være mer skadelig, og skal derfor brukes med forsiktighet (Price and Price 2007). Det er rapportert tap av spontan sammentrekning i livmoren hos rotter når mentol og essensiell peppermynteolje blir administrert *in vitro*, og derfor skal oljen av åkermynte bare brukes ved forsiktighet som lukt, men ikke masseres inn i huden under graviditet, fødsel eller amming (Lis-Balchin 2006), og er også kontraindisert for barn under 3 år, pga fare for apné (Price and Price 2007).

Åkermynteolje kan inneholde 20-30% av ketonet pulegon, og er derfor av grunnene til at denne ikke skal brukes i det hele tatt under graviditet (Price and Price 2007).

Sett fra en farmasøytisk synsvinkel kan essensiell åkermynteolje settes lik peppermynte pga fortynning og stadig utbytting av peppermynte med essensiell åkermynteolje (Lis-Balchin 2006), men man kan risikere høyere innhold av mentol i åkermynteolje. I begge tilfeller er mentol den mest aktive komponenten, og denne kan være årsaken til alvorlige problemer, spesielt med tanke på små barn (Lis-Balchin 2006).

Preparater som inneholder peppermynteolje skal ikke brukes på ansiktet, spesielt ikke på nesen, på små barn og spedbarn (Lis-Balchin 2006), så dette gjelder også åkermynte.

Nytteverdien innen aromaterapi har ikke blitt veid opp mot sensitiviseringsfaren ved å påføre åkermynteolje på huden, og faren for mulig fibrillering eller astmatiske symptomer dersom brukt som aroma (Lis-Balchin 2006). Dette gjør at man bør være forsiktig ved eventuell bruk. Som for alle andre essensielle oljer, er det ikke anbefalt å bruke åkermynteolje til massasje hos barn og spedbarn, men spesielt gjelder dette mentolinneholdende produkt, uansett hvor mye den eventuelle oljen er tynnet ut i en baseolje (Lis-Balchin 2006).

2. Formål

I dette prosjektet var formålet å finne ut om essensielle oljer, brukt i aromaterapi (i den opprinnelige forstand), forandrer seg i løpet av behandlingen, eller om den forventede og påståtte effekten er den samme selv etter en time, eventuelt i bruk til den neste kunden. Lukten av oljene forandrer seg som kjent etter lengre tids lufteksponering. Sannsynligvis skyldes dette at de ulike komponentene i oljen fordampes til ulik tid. De mest flyktige forbindelsene vil mest sannsynlig forsvinne først, noe som vil påvirke sammensetningen av oljen og dermed den påståtte effekten. Da kan man eventuelt si om det er fysiske eller psykiske effekter man opplever under behandling med essensielle oljer. Hypotesen blir da: Ved lengre tids lufteksponering vil de mest flyktige forbindelsene i essensielle oljer forsvinne først, slik at man ikke vil ha samme sammensetning av forbindelser i slutten av en aromaterapitime som man hadde i begynnelsen.

3. Metoder

3.1 GC/MS

GC/MS står for “Gas Chromatography Mass Spectrometry”, som er en metode som kombinerer gasskromatografi og massespektrometri i en maskin (figur 3.1 og 3.2) for å kunne identifisere ulike substanser i en prøve.



Figur 3.1: Eksempel på GC/MS- apparatur [http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometry].



Figur 3.2: Innsiden av GC/MS- apparaturen, der man kan se gasskromatograf- kolonnen i ovnen til høyre [http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometry].

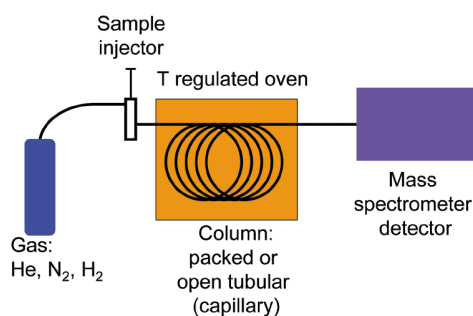
Kombinasjonen av disse to apparatene til et enkelt GC/MS- system gjør at man får et instrument som kan separere blandinger ned til de individuelle komponentene, identifisere disse for så å gi kvantitativ og kvalitativ informasjon angående mengden og den kjemiske strukturen av hver komponent/ forbindelse (McMaster and McMaster 1998). Mens et stort hinder var at denne kombinasjonsmetoden var ganske så kostnadsfull, har prisene sunket med tiden ettersom metoden utvikles videre (McMaster and McMaster 1998).

GC/MS kommer i mange ulike størrelser og utforminger alt etter hvilket arbeid og hvor de skal brukes, men bærer fortsatt med seg svakhetene av både gasskromatografi og massespektrometri (McMaster and McMaster 1998).

Et av hovedbruksområdene for denne analysemetoden er miljøanalyser (McMaster and McMaster 1998). Andre områder inkluderer detektering av medikamenter, brannetterforskning, etterforskning av sprengstoff/ bomber, og identifisering av ukjente prøver, og potensialet er fortsatt stort.

Innen substansidentifisering er GC/MS en av de mest brukte analysemetodene, siden den utfører en spesifikk test, altså den kan identifisere den virkelige tilstedeværelsen til en spesiell substans i den aktuelle prøven. Man trenger ikke store mengder stoff heller for å kunne utføre en analyse, noe som betyr at man ved å tilføre for eksempel en olje (som her) får ut et gasskromatogram og massespektre for komponentene i oljen, slik at man får en total analyse av hele blandingen i en engang.

Bruken av massespektrometer som detektor i gasskromatografi ble startet på 1950- talet av Roland Gohlke og Fred McLafferty. Etter dette har apparatene utviklet seg ved å bli litt mindre, mer omgjengelige og bedre, ved at for eksempel injiseringsteknikkene har utviklet seg (McMaster and McMaster 1998), det tar også mindre tid å analysere en prøve nå enn det gjorde før.



Figur 3.3: Skjematisk bilde av GC/MS- apparaturen [http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometry].

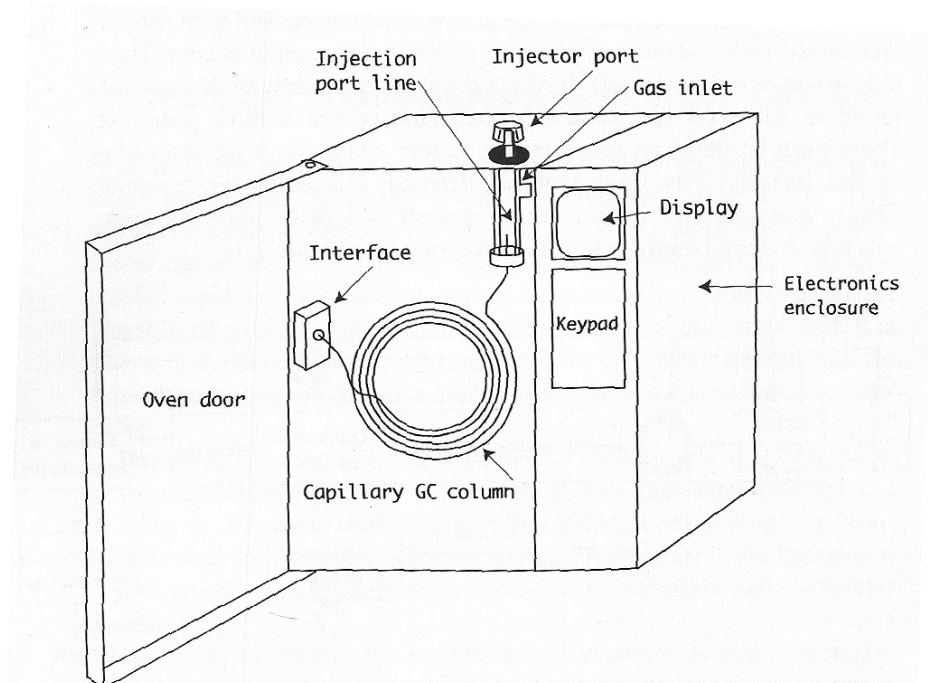
GC/MS- apparaturen består av to store ”klosser”: gasskromatografen og massespektrometeret. Disse to komponentene, brukt sammen, gjør det mulig å identifisere en mye finere grad av substanser enn det de klarer hver for seg. Det er nemlig ikke mulig å identifisere et spesielt molekyl ved hjelp av GC eller MS alene, bl.a. kan to ulike molekyler av og til ha et lignende mønster av ioniserte fragmenter i et massespekter, samtidig som man ved gasskromatografi kan få flere med samme retensjonstid (McMaster and McMaster 1998). Dersom man derimot kombinerer de to prosessene er det svært lite sannsynlig at to ulike molekyler vil oppføre seg

på samme måte i både gasskromatografen og massespektrometeret. Dette gjør at når et identifisert massespekter viser seg ved en karakteristisk retensjonstid i en GC/MS- analyse, er det svært sannsynlig at den interessante analytten er i prøven.

Det ble her brukt en maskin av typen Jeol Accutof JMS – T100GC.

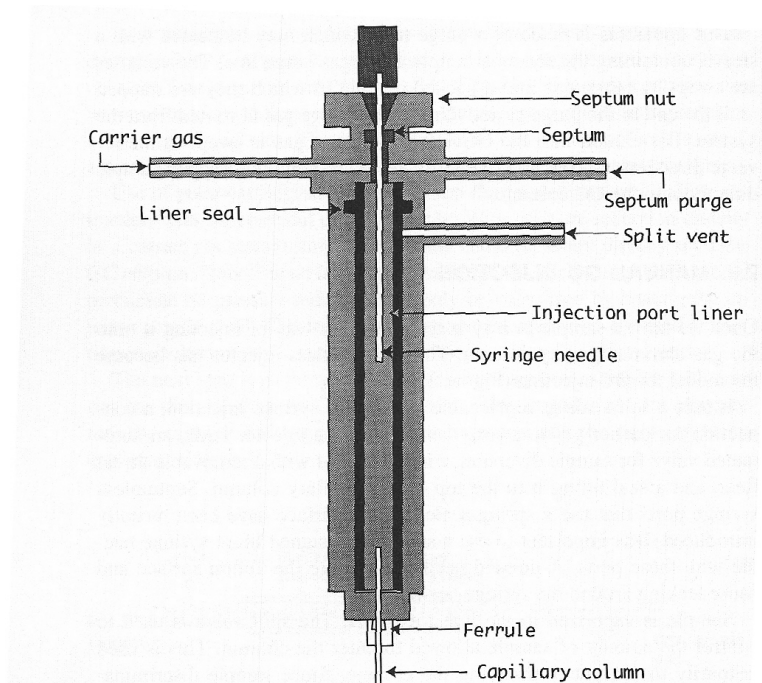
3.1.1 Gasskromatografi

Gasskromatografen (figur 3.4) er et populært, relativt billig og enkelt analyseinstrument (McMaster and McMaster 1998).



Figur 3.4: Skisse av en gasskromatograf (McMaster and McMaster 1998).

Man starter med å tilføre prøven til gasskromatografen, ved at man har gjort klar en passelig fortykning av den aktuelle prøven. 1 μL prøve blir injisert inn i kolonnen via en liten åpning, vanligvis en "split/splitless"-injektor (figur 3.5), ved hjelp av en glassprøyte (å 10 μL) (McMaster and McMaster 1998). Etter injiseringen vil det varme kammeret, som prøven blir injisert inn i, føre til at prøven fordampes.

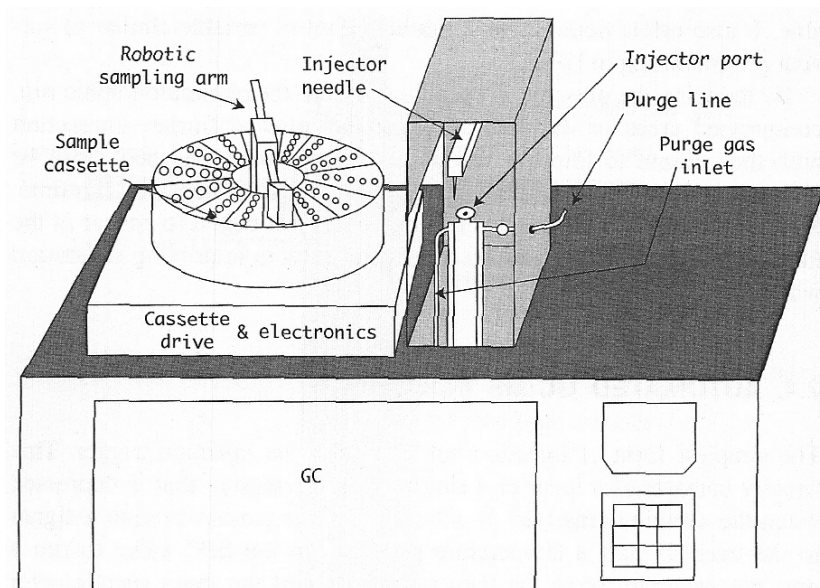


Figur 3.5: "Split/splitless" GC-injektor (McMaster and McMaster 1998).

"Split/splitless"-injektoren har blitt selve modellen for GC-injektorer, og den fungerer utmerket for uraffinerte prøver som gjerne trenger litt bearbeidelse før injisering (McMaster and McMaster 1998). Injektoren har en selvforseglende, utskiftbart septum for sprøyteinjeksjon, en kopling for transportgassen å føre prøven inn i injektorkroppen gjennom, en automatisert ventil for prøveavledning, en oppvarmet hals med demonterbar halsføring, og et segl som passer inn i toppen av kapillær kolonnen (McMaster and McMaster 1998). En konstant strøm av transportgass (helium) vil strømme gjennom den lille åpningen, og en del av denne vil transportere prøven inn i selve kolonnen (McMaster and McMaster 1998), mens en annen del av gassen blir brukt til å rense ut prøve fra septum, for å unngå kontaminering av senere analyser. Fordelen med et system uten splitt er at en større mengde av prøven kommer inn i selve kolonnen, men det er likevel foretrukket å bruke splittsystemet dersom detektoren er sensitiv overfor små mengder av prøven og det er fare for å overbelaste kolonnen (som i dette tilfellet med essensielle oljer).

Når man analyserer mange prøver per dag, ev. kjører prøver både dag og natt, vil en automatisert injektor være en fordel. Disse har robotarmer som tar en prøve ut av et spesifikt prøveglass i en karusell og injiserer den inn i injektorkroppen koplet til kapillærkolonnen (figur 3.6) (McMaster and McMaster 1998). Injeksjonsnålen blir vasket flere ganger i ulike

løsemiddel mellom hver prøve, ofte løsemiddelet som man har løst prøven i (McMaster and McMaster 1998). Prøveglassene er vanligvis forseglet med et septum som blir penetrert av injeksjonsnålen, og når nålen er fylt med prøve blir den flyttet til posisjonen over injektorseptumet og prøven injisert, før nålen blir vasket og gjort klar for neste prøve (McMaster and McMaster 1998).



Figur 3.6: Skisse over karusell med prøver og den automatiserte injeksjonssprøyten (McMaster and McMaster 1998).

En typisk gasskromatografisk kolonne når det gjelder GC/MS er en 25-150-m kveilet kapillært rør med en innvendig diameter på 0.25-0.75 mm. Kolonnen har gjerne en innside av silika eller glass som har en stasjonær fase, vanligvis et upolart materiale som metylsilikon eller lignende, bundet kjemisk til denne (McMaster and McMaster 1998). Denne pakkingen er stabil, har høy kapasitet og sørger for separering som parallelliserer forbindelsenes kokepunkt, der lave kokepunkter kommer ut først og høye kokepunkter sist (McMaster and McMaster 1998).

Separeringen av komponentene avhenger av den kapillære kolonnens dimensjon (lengde, diameter, filmtykkheten) samt faseegenskaper. Men også forskjellene i kjemiske egenskaper, som for eksempel flyktighet, mellom de ulike molekylene i den aktuelle blandingen vil gjøre at de blir separert etter hvert som de vandrer gjennom kolonnen. Etter hvert som komponentene kommer ut av kolonnen blir de detektert og man får da et kromatogram.

Gasskromatografi har et par svakheter som for eksempel at den krever flyktige komponenter, men den største er at man ikke har absolutte beviser på hva det er man detekterer av det man har separert ut (McMaster and McMaster 1998). For de fleste GC- detektorer bruker man kun retensjonstiden gjennom kolonnen som identifisering av komponenter, og siden mange komponenter kan ha samme retensjonstid, kan det være vanskelig å si noe om hvilke komponenter det kan være og renheten til disse når man ser på de separerte kromatogramtoppene (McMaster and McMaster 1998). Molekylene bruker ulik tid til å komme gjennom (til å bli vasket ut av) gasskromatografens kolonne, og det er dette som blir kalt retensjonstid.

3.1.2 Massespektrometri

Massespektrometeret ioniserer det injiserte materialet i høyt vakuum, akselererer og fokuserer ionene og fragmentproduktene gjennom en magnetisk masseanalysator, før den samler og måler mengde av hvert ion i detektoren (McMaster and McMaster 1998). For at ionene skal ha fri flyt gjennom maskinen uten å treffe på eller bli hindret av luftmolekyl er det viktig at man har vakuum inne i massespektrometeret.

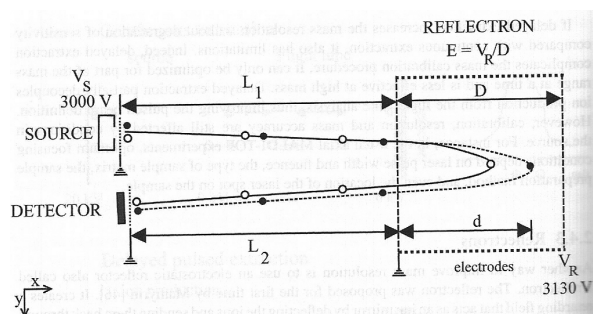
Massespektrometeret er en super måte å klart identifisere strukturen til en enkelt komponent, men er til mindre hjelp når det gjelder blandinger (McMaster and McMaster 1998).

Instrumentet er derfor avhengig av rene prøver for å kunne gjennomføre analysen uten for mye bakgrunnsstøy.

MS er en destruktiv metode siden man ikke kan gjenopprette prøven etter analysen, men det blir derimot brukt mindre prøve enn ved for eksempel NMR og IR, siden MS er en mye mer sensitiv metode. Man kan dermed finne ut mer om prøven, mer informasjon angående sammensetningen, ved å se på fragmenteringen.

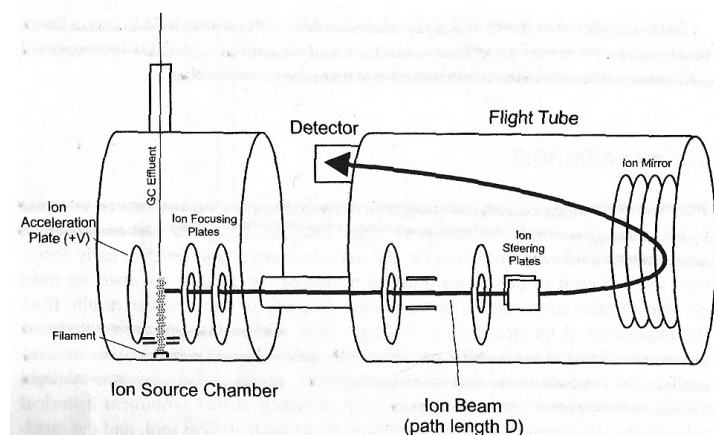
Etter hvert som molekylene kommer gjennom gasskromatografen hver for seg, kan massespektrometeret bryte hvert molekyl ned til ioniserte fragmenter og detektere disse ved å bruke forholdet mellom masse og ladning. Disse to faktorene blir kombinert slik at en får den såkalte *masse/ladning ratioen*, gitt ved symbolet m/z . For eksempel får man en m/z på 28 dersom et ion har masse på 28 og ladning på +1, men også dersom man har et ion med masse 56 og en ladning på +2. Man kan egentlig tenke seg at alle ionene har ladning +1, siden det er det vanligste, men også siden det gjør det lettere, og man får da samme masse og m/z - verdi. Massespektrometer kan ha ulike detektortyper, den vanligste innen GC/MS er en kvadrupel-MS, kjent som "Mass Selective Detector" (MSD) eller selektiv masse detektor. Den som er

brukt her er derimot en "time of flight"- MS (TOF- MS) eller "forflytningstid", som er et voksende segment når det gjelder GC/MS (McMaster and McMaster 1998).



Figur 3.7: Skjematisk beskrivelse av TOF- instrumentet utstyrt med et såkalt "reflectron" (R-TOF), som reflekterer ionestrålen (Hoffmann and Stroobant 2007).

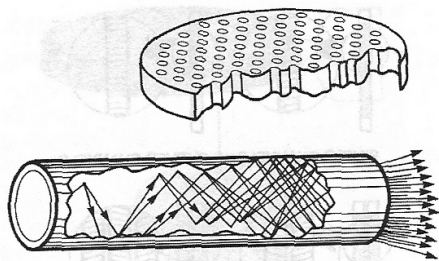
Ionekilden til et TOF- instrument (figur 3.7) bruker en elektronstråle til å støtvis ionisere prøven fra gasskromatografen i massespektrometeret, såkalt pulsionisering, før de ioniserte fragmentene blir avstøyt ned et fluktrør gjennom en fokuseringslinse (McMaster and McMaster 1998), og alle ioner av alle m/z - verdier blir dannet nesten samtidig (figur 3.8) (Smith 2004). Ionene får enten ett eller flere elektroner fjernet slik at man får dannet positive ioner, men mesteparten av ionene vil ha ladningen +1 siden det er mye vanskeligere å fjerne et elektron fra et allerede positivt ion. Disse ionene blir så akselerert ut av ionekilden vha et positivt elektrisk potensial (Smith 2004).



Figur 3.8: Skisse av R-TOF- MS (Smith 2004).

Den potensielle energien ionene har når de forlater ionekilden blir omdannet i ionet til kinetisk energi i fluktrøret, og den kinetiske energien ionene har når de når detektoren, er den samme som den potensielle energien de hadde når de forlot ionekilden (Smith 2004).

Ion-separering i en TOF-analysator er basert på prinsippet at ioner som blir gitt samme indre energi vil ha hastigheter som er proporsjonelle med m/z - verdien deres (Smith 2004). Lengden av fluktrøret har historisk sett gjort at man har fått produsert veldig store, uhåndterlige TOF- instrumenter, men problemet har blitt redusert ved å folde røret ved bruk av elektroniske speil for å reflektere og akselerere fluktstrømmen av fragmenter tilbake ned fluktrøret, for så å få et sammenstøt med detektoren (figur 3.7 og 3.8) (McMaster and McMaster 1998).



Figur 3.9: Tverrsnitt av en mikrokanal- plate og elektronmultiplisering inne i kanalen (Hoffmann and Stroobant 2007).

Detektoren som registrerer ionene er en elektron multiplikator, en såkalt mikrokanalplate detektor (MCP), som er en plate som har parallelle sylindriske kanaler drillet inn i seg (Hoffmann and Stroobant 2007). Kanaldiameteren varierer fra 4 til 25 μm med en senter- til-senter avstand som varierer fra 6 til 32 μm og en lengde på et par millimeter (figur 3.9), og den siden der ionene kommer inn blir holdt på et negativt potesial på ca. 1 kV i forhold til den andre siden (Hoffmann and Stroobant 2007).

Kanalen kan multiplisere tallet på elektroner med 10^5 , en plate kan gi en forsterkning på 10^2 - 10^4 , mens flere plater kan gi en forsterkning på 10^8 (Hoffmann and Stroobant 2007).

Mikrokanalplate detektoren kan derimot ha noen ulemper, for eksempel er den skjør, sensitiv til luft og de store mikrokanalplatene er dyre (Hoffmann and Stroobant 2007).

Tiden de ulike fragmentene bruker (i størrelsen 90 nanosekund for et 2 m langt fluktrør) er avhengig av m/z - verdien til hver av dem, der de lettere fragmentene når først frem til detektoren (McMaster and McMaster 1998), mens større ioner flytter seg sakte og når frem til detektoren senere (Smith 2004, Hoffmann and Stroobant 2007).

For å detektere et fragment med en gitt m/z -verdi, blir elektronmultiplikatoren kun aktivert for et smalt tidsrom, som tillater kun en masse per støt (McMaster and McMaster 1998). Ved å sakte øke tidsvinduet for elektronmultiplikatoren for påfølgende støt, kan alle masser over et

gitt tidsrom bli målt og tatt gjennomsnitt av, fort nok til å detektere og analysere de smale toppene produsert av GC (McMaster and McMaster 1998).

Ioner som har en så liten forskjell i tid som 1 nanosekund kan bli tatt opp, og så snart det tregeste (høyest m/z) ionet er detektert vil et nytt sett med ioner bli dannet og akselerert ut av ionekilden mot detektoren (Smith 2004).

TOF- instrumenter kan i utgangspunktet analysere ioner som har hvilken som helst m/z -verdi (Smith 2004), den har ingen øvre grense for masse på ionene, noe som gjør den spesielt dannet for myke ioniseringsteknikker, og den har høy sensitivitet (Hoffmann and Stroobant 2007). Men, siden størsteparten av fragmentene fra hvert støt blir vraket, vil sensitivitet og oppløsning være potensielle problemer med denne metoden (McMaster and McMaster 1998). SIM- innstillingen vil være den naturlige metoden for TOF- instrumentet siden elektronmultiplikatorens tidsvindu ikke trenger å forandres (McMaster and McMaster 1998).

For å øke sensitiviteten blir en tidsrekke- detektor brukt i nyere instrumenter, der rekkeelementene blir satt til å måle fluktstrømmen som når detektoren i ulike tidsrom (McMaster and McMaster 1998). Ved å bruke denne teknikken kan hele støtfragment- mønsteret analyseres for hvert enkelt tilfelle, og dersom man legger sammen de resulterte tidsrommene kan man få en 10 000- gangs økning i sensitiviteten (McMaster and McMaster 1998).

Et massespektrometer blir benyttet på en av to måter: Full SCAN eller Selektiv Ion Monitorering (SIM), der man ved full SCAN tar et kontinuerlig søk over en mengde masser, eller man kan utføre et søk over et diskret utvalg av masser med SIM (McMaster and McMaster 1998). Ioniseringsmetoden som blir brukt er valgt uavhengig av om en bruker full scan eller SIM. Hvilken man velger kommer an på om man vil se på utvalget av masser eller om man heller vil se på bestemte masser: ved SCAN kan man få en oversikt over utvalget eller man kan ta et spesifikt søk med svært høy sensitivitet med SIM (McMaster and McMaster 1998).

For ukjente eller kompliserte blandinger bruker man nesten alltid SCAN, spesielt første gang (McMaster and McMaster 1998), for eksempel av et bredt utvalg av massefragmenter som skal monitoreres vil være m/z 50 til m/z 400. Hvor stort sprang man skal ha kommer an på hva man forventer at prøven skal inneholde og innvirkningen som løsemiddelet har på prøven, og andre mulige innvirkninger. Man velger gjerne søk over m/z 50 for å unngå spor av vann (m/z 18), nitrogen (m/z 28) og oksygen (m/z 32) (McMaster and McMaster 1998), som vil bidra som bakgrunnsstøy i spekteret. Man søker også gjerne fra høy masse til lav for å få

mindre haler på fragmentene, og dermed bedre resolusjon mellom massetoppen M og karbonisotoptoppen M+1 (McMaster and McMaster 1998). Det er også viktig og ikke måle et for vidt utvalg av fragmenter siden dette vil føre til at sensitiviteten vil reduseres, da man får færre søk per sekund.

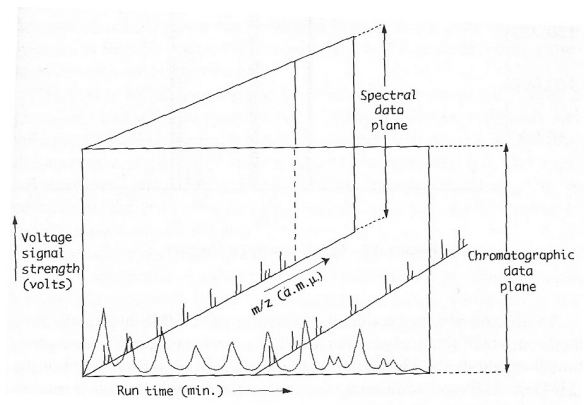
Når man derimot ser etter sporstoff av spesifikke forbindelser eller ser etter forandringer i komposisjonen over en lengre periode, bør man velge SIM (McMaster and McMaster 1998). GC/MS instrumentene er kapable til bruk av begge, enten individuelt eller ledsagende, det kommer an på oppsetningen av det aktuelle instrumentet.

3.1.3 Presentering og analyse av resultater

Massespekteret blir dannet ved å plote signalproduktet av detektoren som en funksjon av tiden, som kan bli konvertert til en funksjon av m/z-verdien av datasystemet (Smith 2004). Verdiene (m/z) blir bestemt ved å måle tiden ionene bruker på å bevege seg gjennom et feltfritt område mellom kilden og detektoren (Hoffmann and Stroobant 2007).

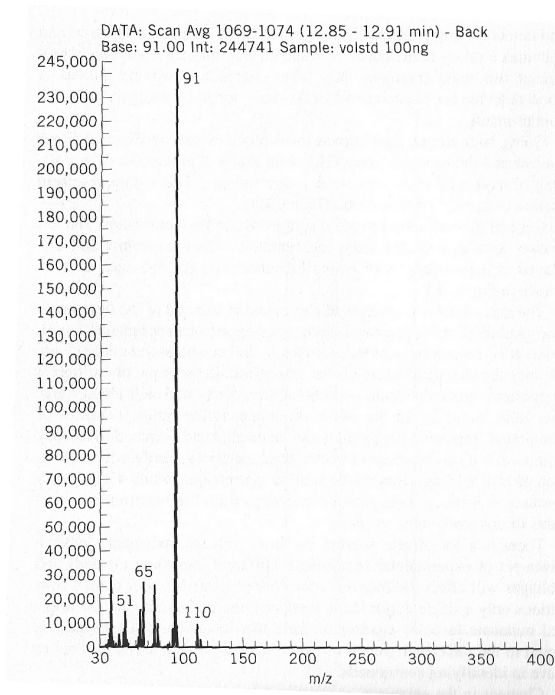
Massespektrometeret lagrer dataene som et tredimensjonalt spekter med tre akser (figur 3.10); tid, intensitet og m/z- verdi (masse/ ladning), men dersom man velger et spesifikt tidspunkt kan man vise dette som et massespekter med to akser (figur 3.11), intensitet mot m/z (McMaster and McMaster 1998). Spekteret viser alle fragmentene som er assosiert med den kromatografiske forbindelsen til stede ved det aktuelle tidspunktet, og man kan da bestemme strukturen av denne forbindelsen ved for eksempel sammenligne dette med et forbindelsesbibliotek som gjerne ligger inne i datamaskinen (McMaster and McMaster 1998). Enkelte systemer kan til og med korrelere flere data samtidig, som for eksempel retensjonstidene som ble identifisert av GC, for å relatere dataene mer nøyaktig.

Biblioteksøk blir gjort ved "sannsynlighetsmatching" som vanligvis starter fra den ene siden av spekteret, og jobber seg bortover til den andre siden. I dette tilfellet identifiseres spektrene begge veier, dvs. fra venstre mot høyre og fra høyre mot venstre, og dette forteller noe om hvor godt spekteret stemmer overens med bibliotekspektrene som finnes i databasen. Trefflisten man får opp, inneholder alle de mulige spektrene med de mest sannsynlige treffene øverst (McMaster and McMaster 1998). Dess nærmere tallet er 1000, dess bedre stemmer spektrene overens.



Figur 3.10: Tredimensjonal skisse av GC/MS- spekter med tre akser (McMaster and McMaster 1998).

Sensitiviteten av GC/MS- analysen vil øke, når mengde informasjon som blir samlet om ionene (i en gitt GC- topp) minker. Det vil si at en SIM- analyse lar en mindre mengde av en komponent bli detektert og målt, men graden av sikkerhet om identiteten til den aktuelle komponenten blir redusert.



Figur 3.11: Massefragmentspekter fra GC/MS for en spesifikk retensjonstid, intensitet mot m/z (McMaster and McMaster 1998).

3.2 DART

DART står for “Direct Analysis in Real Time”, og er en ionekilde (figur 3.12) med atmosfærisk trykk som i åpen luft, under atmosfæriske forhold, ioniserer gass, væske og fast stoff umiddelbart (Cody *et al.* 2005). Dersom man bruker DART i forhold til tradisjonelle metoder, minimerer man prøvemengden, forberedelsen, eliminerer ekstraksjonssteg, reduserer detekteringsgrensen og analysetiden.



Figur 3.12: En DART- ionekilde [http://en.wikipedia.org/wiki/DART_ion_source].

Metoden ble utviklet i 2005 av Laramée og Cody.

DART er en unik ”atmosfæreioniserings”- teknikk som er ulik alle andre ionekilder på den måten at man ikke trenger å gjøre klar en prøve på forhånd eller at man kan introdusere den i åpen luft (Song *et al.* 2009).

DART er svært nyttig for rask, usammentrekkende analyse av forbindelser og kjemikalier på overflater, væsker og gasser, og det er ikke nødvendig å utføre rensning eller prøveekstraksjon før analysering (Cody *et al.* 2005, Hoffmann and Stroobant 2007). Dette åpner et helt nytt vindu med tanke på hvilke komponenter som kan analyseres av massespektrometri ved hjelp av DART. Eksponisjon for høy spenning eller vakuum kreves ikke, noe som gjør at prøven ikke forandres (Hoffmann and Stroobant 2007).

Selve ioniseringen kan skje direkte på prøveoverflaten, og er spesielt effektiv på overflater som for eksempel sement/ betong, hud, kroppsvæsker (blod, spytt, urin) penger (papirpenger), flybilletter, tabletter, frukt, grønnsaker, klær og biologisk materiale, men det er den spesielle ioniseringsmekanismen som gjør at metoden skiller seg fra andre analysemetoder (Cody *et al.* 2005, Song *et al.* 2009). Det er også unikt at ionekilden kan analysere et vidt spekter av kjemikalier, som inkluderer middel innen kjemisk krigføring, farmasøytisk industri,

metabolitter, insektmidler, peptider, oligosakkarider, misbruksstoffer (narkotika), eksplosiver og giftige industrijemikalier m.m. (Cody et al. 2005, Song *et al.* 2009). Man har for eksempel klart å avdekke den aktive komponenten i farmasøytiske produkter som tabletter og kapsler, i løpet av få sekunder, uten å knuse eller åpne den opp, noe som gjør at man kan gi en rask og lett stoff- screening i situasjoner der tiden er kritisk (Cody *et al.* 2005).

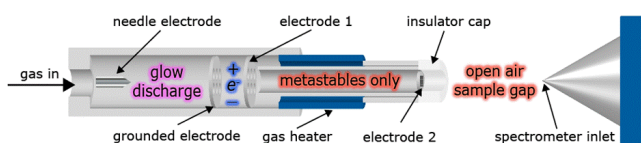
Selve analysen (se figur 3.13) starter med en strøm av gass, vanligvis helium (eller nitrogen), som er elektrisk ”utladet” for å produsere ioner, elektroner, og metastabile produkter. Den går gjennom ulike elektroder, med ulike funksjoner, og etter oppvarming (kan bli oppvarmet fra romtemperatur til 250 °C) og fjerning av ladede partikler, går denne strømmen av gass ut av ionekilden og ut i fri luft slik at den kan ionisere kjemikalier ved direkte kontakt, og dermed tillate analyse både av gass, væske og fast stoff (Song *et al.* 2009). Man tror at de metastabile heliumatomene eller nitrogenmolekylene, er den reagerende parten innen DART (Cody *et al.* 2005). Gass som forlater ionekilden gjennom den tredje elektroden er rettet mot massespektrometerets prøveåpning; en isolasjonshette beskytter prøven og operatøren for all eksposisjon til selve ionekilden. Denne elektroden har flere funksjoner: den fungerer som en ion-frastøter og den fjerner ioner av motsatt polaritet slik at man unngår signaltap pga rekombinasjon av typen ion-ion (Cody *et al.* 2005). Gasstrømmen vha svakt vakuüm styrer ionene som blir dannet inn gjennom åpningen av massespektrometeret.

Kort sagt sender DART- kilden ut nøytral gass (typisk helium eller nitrogen) som har blitt eksitert til en metastabil tilstand gjennom en elektrisk ”utlader”, som gjør at gassen bare inneholder nøytrale arter, da de ladede har blitt fjernet før gassen forlater kilden (Haefliger and Jeckelmann 2007). Strålen av gass blir sendt mot prøven som skal analyseres, som resulterer i at prøven går over til væske/gass- fase og blir ionisert, selv for de analyttene som ikke er typisk regnet som flyktige. Ioniseringen skjer så trolig gjennom en kombinasjon av prosesser som inkluderer direkte energioverføring fra de metastabile produktene og protonoverføring etter ionisering av atmosfærevann (luftfuktighet) av de metastabile produktene (Haefliger and Jeckelmann 2007).

Mekanismen som forklarer hvordan ”forbindelsen” forlater overflaten og blir til væske- eller gassfase er ikke fullt forstått ennå (Cody *et al.* 2005).

Ved å varme gassen forbedrer det omdannelsen av enkelte materialer, men salt, ”zwitterioner” og andre materialer uten signifikant damptrykk blir lett detektert av DART (Cody *et al.* 2005).

For andre materialer som ikke omdannes ved oppvarming av gassen, kan bombardering av overflaten med metastabile atomer og ioniserte klaser forbedre omdannelsesprosessen (Cody *et al.* 2005). Signalstyrken er relatert til prøvekvantiteten.



Figur 3.13: Skjematisk diagram av DART- ionekilden [http://en.wikipedia.org/wiki/DART_ion_source].

Selv om det finnes optimal geometri for de enkelte applikasjoner, er ikke den eksakte posisjonen, avstanden og vinkelen av DART, med hensyn på prøveoverflaten og massespektrometeret, kritisk, i alle fall ikke i utgangspunktet (Cody *et al.* 2005). Det har derimot vist seg at orienteringen av prøveoverflaten foran strømmen av eksitert gass, er mer kritisk for DART- kilden enn for andre analysemetoder (Williams *et al.* 2006).

Analyse av forbindelser med DART/MS er å foretrekke for å raskt bekrefte molekylvekter, dette i stedet for å kjøre injeksjonsanalyser med LC/ UV/ ESI- MS, og DART har vist seg å være en komplementær metode til ESI (elektrosprayionisering) når det gjelder stoffoppgivelser (Petucci *et al.* 2007). DART/MS er også nyttig for å bekrefte molekylvekt raskt når det gjelder stoffoppgivelser og i tilfeller der HPLC kanskje ikke er nødvendig før MS. Dette for å bestemme molekylvekt av en ren fraksjon, noe som gjør at denne metoden også kan være å foretrekke ved rask molekylvekt- screening av forbindelsesbibliotek, og for å oppnå raske, nøyaktige massemålinger (Petucci *et al.* 2007).

DART kan kanskje ikke erstatte veletablerte teknikker som GC/ MS og LC/ MS, men kan definitivt være et verdifullt komplement (Haefliger and Jeckelmann 2007). Den kan for eksempel ikke produsere klassiske EI- massespekter, men kan derimot være å foretrekke for eksperiment der rask gasstrøm ikke går overens med vakuum- baserte ionekilder eller der mangel på et elektronfilament er å foretrekke for analysen av korroderende forbindelser (Cody 2009).

Flytende prøver blir analysert ved å duppe noe (for eksempel en glasstav, en pipette eller lignende) ned i væskeprøven før man presenterer den til DART- ionekilden. Den beste sensitiviteten får man dersom man tilfører prøven i midten av utgangen av DART- ionekilden (Petucci *et al.* 2007).

DART er definitivt passende for å monitorere duft- utslippet fra ulike overflater, som for eksempel fjernet, gjenoppbygget, eller levende hud, etter hvert som den blir avgitt (Haefliger and Jeckelmann 2007). Det er en fersk ioniseringsteknikk som gir oss rask ionisering av små molekyler ved atmosfæriske tilstander (Petucci *et al.* 2007). Det er også en analytisk teknikk med ekstremt høyt potensial for analysen av råmaterialer til smak og duft i ekte og komplekse prøver, siden sensitiviteten er tilstrekkelig, semikvantitative analyser er mulige ved optimale tilstander, og en oppnår resultater på mindre enn 1 minutt (Haefliger and Jeckelmann 2007). Selv om metoden har vist seg svært effektiv til å analysere gassprøver, er den mindre effektiv for analyse av adsorberte molekyler, dette siden det ikke er mulig å visualisere gasstrømmen og den relativt vide prøvegeometrien (Williams *et al.* 2006).

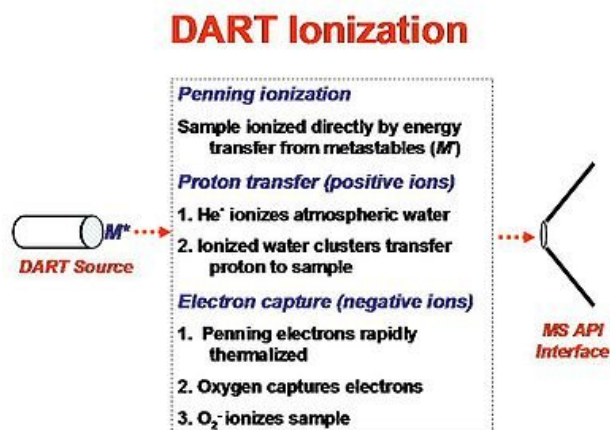
3.2.1 Prinsippene for selve analysen

Når det gjelder positive ioner er den enkleste prosessen Penning-ionisering, som involverer overføring av energi fra den eksiterte gassen til prøveanalytten, som gjør at man får et radikalt kation (Hoffmann and Stroobant 2007). En annen av hovedprosessene, ved bruk av helium, er protonoverføring. Denne typen ionisering skjer når metastabile heliumatomer reagerer med vann i atmosfæren for så å protonere prøvemolekylet, som fører til det protonerte molekylet (Hoffmann and Stroobant 2007).

Det har blitt foreslått at ved PI-DART (positive ioner) vil metastabile heliumatomer indusere Penning-ionisering av atmosfærevann i fri luft, og generere protonerte vannklaser, for det meste H_3O_2^+ , som videre vil ionisere analytter via kjemiske reaksjoner (Cody *et al.* 2005, Song *et al.* 2009).

Ioniseringsprosessen involverer en interaksjon mellom analysemolekylet (S) og elektronisk eksiterte atomer eller vibrasjonseksiterte molekyler (metastabile produkter – M^*), og dersom disse har tilstrekkelig indre energi vil de også avgi elektroner (en av to mulige mekanismer) (Cody *et al.* 2005). Den andre mulige mekanismen involverer en interaksjon mellom metastabile produkter (M^*) og en overflate (som for eksempel den perforerte utgangselektroden) for å frigjøre elektroner (Cody *et al.* 2005).

Før kollisjonen mellom det eksiterte gassmolekylet (M^*) og overflaten av prøven, vil det utveksles energi fra gassmolekylet til det nøytrale analysemolekylet (S). Dette gjør at et elektron blir løst fra analysemolekylet og man får dannet et radikalt kation (såkalt Penning-ionisering), som så blir avstøtt fra prøveoverflaten og følger gasstrømmen (typisk N_2 eller He) videre til masseanalysatoren (Cody *et al.* 2005, Cody 2009). Energien fra det eksiterte gassmolekylet må være større enn ioniseringspotensialet til det nøytrale molekylet for at denne reaksjonen skal skje (Cody *et al.* 2005, Cody 2009).



Figur 3.14: Summen av DART- ioniseringsmekanismene [http://en.wikipedia.org/wiki/DART_ion_source].

Ioniseringen skjer når DART-gassen kommer i kontakt med gass, væske eller fast prøve i fri luft mellom ionekilden og massespektrometeret (Cody 2009). Ved ionisering kan en kompleks serie av konkurrerende reaksjoner skje (figur 3.14), og resultatet varierer med faktorer som tilstedeværelse eller fraværelse av løsemiddel, eller andre kontamineringsmiddel som det kan være spor av, temperatur, gasstrøm, trykk og elektriske potensialer (Cody 2009). Ioniseringsprosessen skjer på den følgende måten, dersom helium blir brukt som transportgass: Først kolliderer et eksitert heliumatom raskt med et vannmolekyl under atmosfærisk trykk, og dette blir ionisert (Cody *et al.* 2005), dette skjer med ekstremt høy effektivitet (Cody 2009):

Det ioniserte vannmolekylet blir deretter utsatt for mange reaksjoner med andre nøytrale vannmolekyler som fører til dannelse av en klynge av protonerte vannmolekyler (Cody *et al.* 2005). Vannklyngen interagerer med analysemolekylet (M) og genererer da et protonert molekyllært ion, dersom M har høyere protonaffinitet enn den ioniserte vannklyngen (Cody 2009).

Fragmentering kan bli observert dersom forskjellen i protonaffinitet mellom prøven og den ioniserte vannklyngen er stor (Cody 2009). Fragmentering kan også induseres ved at DART-

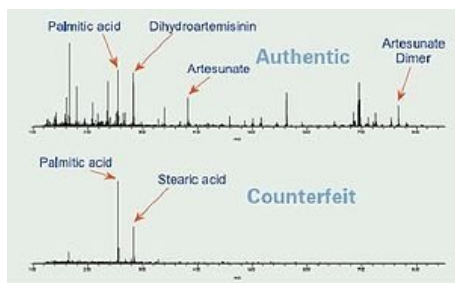
gassvarmeren blir satt til en tilstrekkelig høy temperatur (Cody 2009). Fragmentioner blir ikke observert for alle forbindelser, men fragmentering kan induseres (Cody *et al.* 2005).

Molekylære ioner har blitt observert for enkelte forbindelser, som for eksempel danner helium $[M + H]^+$ - kationer (Cody *et al.* 2005). Mekanismen for hvordan dannelsen av molekylærioner og andre oddetals- elektron- produkter i DART-ioneilden er ikke fullt forstått (Cody 2009).

3.2.2 Presentering av resultater – massespekter

DART produserer et relativt enkelt massespekter som blir dominert av protonerte molekyler $[M+H]^+$ som positive ioner (som her), eller deprotonerte molekyler $[M-H]^-$ som negative ioner. Andre arter kan også dannes avhengig av hvilke molekyler det gjelder, som for eksempel $M^{+•}$ fra aromatiske hydrokarboner.

Disposisjonen og frigjøringen av duften fra overflater som for eksempel stoffer eller hår, blir ofte studert innen duftindustrien, noe som for eksempel Haefliger og Jeckelmann har gjort (Haefliger and Jeckelmann 2007).



Figur 3.15: Massespekter av et ekte og forfalsket stoff; dihydroartemisinin er den aktive ingrediensen [http://en.wikipedia.org/wiki/DART_ion_source].

Produksjon av forfalskede medisiner er et voksende internasjonalt problem innen farmasøytisk industri, bl.a. i Storbritannia, Kina, Russland, Argentina, Nigeria og India. DART gir oss muligheten til å oppdage forfalskninger (figur 3.15) uten store forberedelser, siden det for eksempel ikke er nødvendig å forberede prøve før analyse (for eksempel knusing eller ekstrahering), for å finne den aktive ingrediensen i medisiner i tablettform (Cody *et al.* 2005).

Man kan finne mer informasjon om selve DART- metoden andre steder (Cody *et al.* 2005). Det ble her brukt en maskin av typen Jeol Accutof JMS – T100LC. Mekanismen som forklarer hvordan ”forbindelsen” forlater overflaten og blir til væske- eller gassfase er ikke fullt forstått ennå (Cody *et al.* 2005).

3.3 Eksperimentelt

3.3.1 Valg av oljer

Før man starter må man tenke på er hvor mange oljer man vil analysere, og hvor omfattende man vil at det skal være, spesielt med tanke på at det er begrenset med tid.

Det kan være lurt å velge en olje som inneholder en del forbindelser, helst litt ulike, for at det skal være mulig å skille mellom hva som blir avgitt til atmosfæren først og sist, dermed forbindelser som lar seg separere vha GC og identifisere vha MS.

Oljene er valgt etter hvilke oljer som blir mye brukt og hvilke oljer som har velkjente og heller uomstridte effekter. I denne sammenheng er det valgt ulike arter av mynteslekten, dette gjør også at man kan sammenligne oljene litt med hverandre, i tillegg til å sammenligne dem med standardanalyser som finnes for de enkelte.

3.3.2 Kvalitetssikring

I utgangspunktet var meningen å analysere prøvene vha vanlig GC først for så å sammenligne retensjonstidene med GC/MS- analysen etterpå. I dette tilfellet ble GC- maskinen bare brukt til å finne en passende kolonne for GC/MS- analysen, en kolonne som skilte forbindelsene i oljene tilstrekkelig for å kunne identifisere de ulike vha MS.

For å kvalitetssikre oljene ble GC/MS brukt først til å analysere bare den ene oljen, nemlig peppermynte. Dette ble også gjort for å finne ut hvilken fortytning man skal bruke for å få best mulig resultater, også et resultat som gjør det mulig å sammenligne med standardene fra litteraturen.

Dersom man fortynner for mye vil enkelte av de mindre forbindelsene gjerne forsvinne, altså ikke detekteres av maskinen, eller forsvinne i forhold til de største forbindelsene. Dersom man fortynner for lite vil de største forbindelsene bli for dominerende i spekteret slik at man ikke kan se hva som er hva. Forbindelsene vil da gli inn i hverandre siden de vil bruke lengre tid på å komme gjennom kolonnen, og dermed gi et ukorrekt bilde av sammensetningen.

3.3.3 Fortytning og i stand gjøring av prøver av ”fullolje”

Til GC/MS- analysen ble det fra litteraturen tatt utgangspunkt fra tidligere GC-kjøring av essensielle oljer. Det ble valgt en 10 % - fortytning av oljene i løsemiddel, som i dette tilfellet ble laget ved å bruke ca. 0,1 g olje og fortynne til 1,0 g med løsemiddel. Det ble brukt en vekt

med fire desimaler og ”glassbur”, for å få en så nøyaktig måling som mulig med tanke på at det ble brukt flyktige oljer.

I første omgang ble en analyse på peppermynte (peppermynte1; se tabell 3.1) kjørt for å se at fortynningen var bra nok og at forbindelsene i oljen ble separert tilstrekkelig av kolonnen, her ble metanol brukt som løsemiddel. For selve hovedanalysen ble derimot heksan brukt som løsemiddel, men man kan selv velge hva man vil bruke, da man oppnår samme resultat (kommer an på hvor godt oljene lar seg løse i det aktuelle løsemiddelet).

Tabell 3.1: Fortynninger til GC/MS- analyse for ”fullolje”.

| | 0.1 g olje | til 1.0 g med metanol |
|---------------------|-------------------|------------------------------|
| Peppermynte1 | 0,1092 | 1,0023 |
| | 0.1 g olje | til 1.0 g med heksan |
| Åkermynte | 0,1077 | 1,0033 |
| Grønnmynte | 0,1007 | 1,0039 |
| Peppermynte2 | 0,1008 | 1,0051 |

Tabell 3.2: Fortynninger av ”fullolje” til DART- analysen.

| | 0.1 g olje | til 1.0 g med metanol |
|--------------------|-------------------|------------------------------|
| Peppermynte | 0,1033 | 1,0106 |
| Åkermynte | 0,1063 | 1,0063 |
| Grønnmynte | 0,1052 | 1,0410 |

Før kjøring av DART ble det laget nye 10 % - prøver, da med metanol som løsemiddel (tabell 3.2), siden dette løsemiddelet har vist seg å gi fine resultater og massespektre tidligere.

I utgangspunktet blir det sagt at man ikke trenger å forberede prøver før kjøring av spesielt DART, men likevel har prøvene her blitt fortynnet til 10 %. Dette ble gjort siden aromatiske oljer har lett for å klebe seg til metalloverflater, man kan da risikere å kontaminere senere prøver i maskinen. Så fortynningene ble laget for å beskytte systemet samt senere prøver, dette gjelder for så vidt også GC/MS.

3.3.4 Fortynning og i stand gjøring av prøver etter lufteksponering

For å kunne si noe om avdampning til atmosfæren må man også analysere oljene på GC/MS og DART etter lengre tids avdampning/ eksponering for luft. For å få fortlgang i prosessen ble oljene her blåst med nitrogengass samtidig som reagensrøret ble holdt varmt (ca.40 °C). Dette ble gjort for å unngå vann i prøven, siden nitrogengass fører til nedkjøling av oljene og man dermed kan risikere kondens i røret.

Prøvene ble laget til ved å tilføre ca. 1 mL ren essensiell olje til et reagensrør, før man blåste denne med nitrogengass til det gjenstod 50 % av oljen igjen i røret (ganske lang prosess tidsmessig for myntene). Tok så ut olje fra reagensrøret for å lage en 10 % - fortynning av oljen i løsemiddel som tidligere (her metanol, se tabell 3.3).

Blåste så oljen ytterligere til det kun gjenstod 10 % av den opprinnelige mengden (altså ca. 0,1 mL) og gjentok fortynningsprosessen og lagde en 10 % - fortynning av denne igjen (se tabell 3.3).

Prøvene ble introdusert til DART-ioneilden ved å dyppe en pipette i prøven og introdusere denne i DART-gassen. Det ble brukt litt aluminiumsfolie til å danne et skille mellom de ulike prøvene i ionekromatogrammet, ved å bryte gasstrømmen med denne.

Tabell 3.3: Fortynning av oljene etter blåsing med nitrogen, som ble brukt til både GC/MS og DART- analysen.

| | 0.1 g olje | til 1.0 g med metanol |
|------------------------|-------------------|------------------------------|
| Peppermynete 50 | 0,1022 | 1,0050 |
| Peppermynete 10 | 0,1006 | 1,0077 |
| Åkermynte 50 | 0,1090 | 1,0101 |
| Åkermynte 10 | 0,1040 | 1,0046 |
| Grønnmynte 50 | 0,1028 | 1,0057 |
| Grønnmynte 10 | 0,1093 | 1,0084 |

Prøvene som ble laget ble analysert på GC/MS og DART, og resultatene av kjøringen kunne så sammenlignes for 100 % ren essensiell olje, 50 % gjenstående olje og 10 % gjenstående olje.

Vha disse resultatene kan man si noe om hva som skjer med oljene ved lengre tids eksposisjon for luft og om den virkningen som oljene skal ha innenfor aromaterapi er sannsynlig, med tanke på om enkelte forbindelser i oljene forsvinner underveis.

Tabell 3.4: Nye fortynninger for de inntørkede prøvene til DART- analyse.

| DART2 | 0.1 g olje | 1.0 g med metanol |
|----------------------|-------------------|--------------------------|
| Åkermynte 10 | 0,1067 | 1,0002 |
| Grønnmynte 50 | 0,1059 | 1,0033 |

Analysene av ”fullolje” ble først utført, før de delvis fordampede prøvene av oljene ble analysert. De ble ikke analysert på samme dag, noe som neppe bør ha innvirkning på resultatet, men maskinenes analyseegenskaper kan forandre seg litt fra dag til dag.

Det viste seg at et par av prøvene tørket inn/ fordampet mellom GC/MS- og DART- analysen, på tross av at de ble oppbevart i kjøleskap. Dette gjorde at nye prøver måtte lages for disse, åkermynte 10 % og grønmynte 50 %.

3.3.5 Innstillinger av GC/MS og DART

GC/MS- maskinens innstillinger ble valgt med utgangspunkt i litteraturen (Kubeczka and Formáček 2002) (se tabell 3.5 og 3.6).

Det ble ellers valgt ioniseringstype EI+, med et masseutvalg på 35-500 m/z, og en spenning på 70 eV, da det er denne spenningen bibliotekspektrene er samlet fra.

Tabell 3.5: Kolonnevalg og innstillinger for GC/MS- analysen.

| | Type | Lengde (m) | Diameter (µm) | Filmtykkhet (µm) | Trykk (kPa) | Hastighet (mL/min) |
|----------------------|-------------------|------------|---------------|------------------|-------------|--------------------|
| Kolonne | VF - 1MS | 25.0 | 200.0 | 0.33 | - | - |
| Transportgass | Helium | - | - | - | 81.8 | 0.7 |
| Injektor | "Split/splitless" | - | - | - | - | - |

Tabell 3.6: Temperaturprogram for ovnen for GC/MS- analysen.

| | Hastighet (°C/min) | Temperatur (°C) | Varighet av aktuell temp.(min) |
|---------------|--------------------|-----------------|--------------------------------|
| Start | - | 50 | 0.00 |
| Nivå 1 | 30.00 | 150 | 0.00 |
| Nivå 2 | 8.00 | 300 | 5.00 |

Innstillingene på DART- maskinen ble stilt inn etter hva som var forventet å finne i oljene, altså litt etter massespektrene fra GC/MS, men det ble også brukt ulike temperaturprogram for hver analyse. Det vil si at det ikke finnes nøyaktige innstillinger for DART i dette tilfellet, men det er heller ikke nødvendig her.

Det som er konstant fra analyse til analyse er at det ble brukt positiv ionisering (tilnærmet lik ESI+) og et masseutvalg mellom 100-1000 m/z.

4. Resultater

Analysene av de ulike oljene med GC/MS gav gasskromatogrammer som stemte overens med standardkromatogrammer som finnes i litteraturen (Kubeczka and Formáček 2002), med tanke på hva som var forventet og hvilke forbindelser man forventer skal dominere.

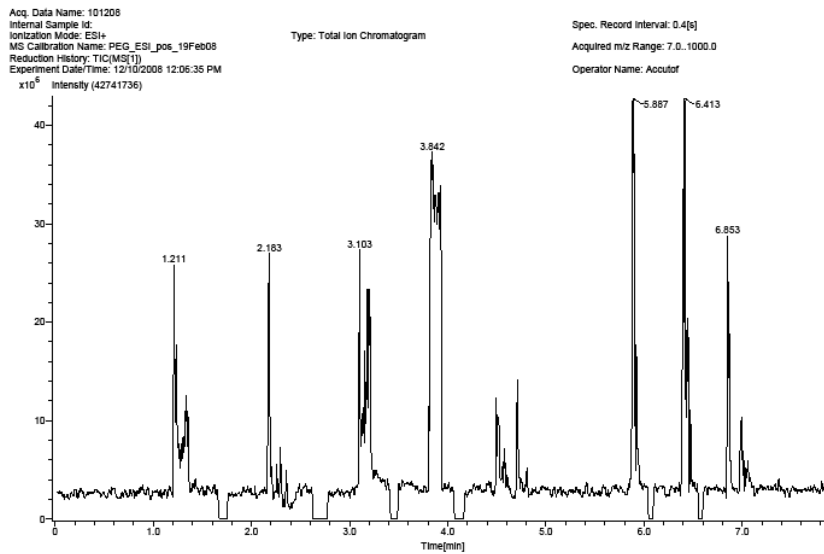
Av gasskromatogrammene av de ulike oljene kan man se at for alle tre oljene forsvinner de mest flyktige forbindelsene etter blåsing med nitrogen, dette gjelder forbindelsene som kommer gjennom kolonnen før 4 minutter er gått. Men man kan også se at de gjenværende forbindelsene blir redusert, toppene er ikke lenger så intense som de er på originalkromatogrammet, kromatogrammet for ”fullolje” (100 %) (figur 4.3, 4.12, 4.20).

Når man ser på kromatogrammet for oljene som er blåst med nitrogen til 50 %, ser man at de flyktigste komponentene (de første toppene på kromatogrammet) er borte eller kraftig redusert, og at dette er forsterket på kromatogrammet for 10 % gjenværende olje (figur 4.4, 4.13, 4.21). Toppene i kromatogrammene for ”fulloljene” er identifisert vha søk i forbindelsesbiblioteket (se tabellene for treffsikkerhet og hvilke forbindelser det er snakk om). Treffsikkerhetene har vist seg å være veldig bra, spesielt for de mest intense toppene, hovedforbindelsene. Massespektrene av hovedforbindelsene hos disse er tatt med her, mens massespektrene av de andre, mindre forbindelsene som er representert i tabellen, er lagt ved som vedlegg.

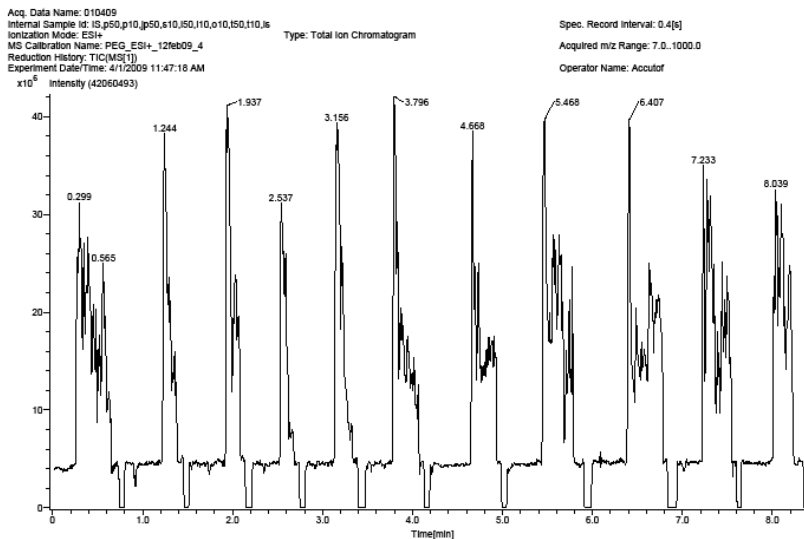
De ulike massespektrene fra DART er tatt fra de totale ionekromatogrammene (figur 4.1 og 4.2) av oljene før og etter blåsing med nitrogen. Disse kromatogrammene forteller heller lite i dette tilfellet, men man kan se at de ulike myntene har lignende kromatogrammer, selvsagt med unntak av peppermynte ”fullolje” siden det tydeligvis har skjedd noe med denne.

Når man ser på massespektrene fra DART- analysen kan man se at det dukker opp ”nye” forbindelser i forhold til GC/MS- analysen, spesielt forbindelser med ekstra høye masser i forhold til de forventede forbindelsene som man ser av disse massespektrene (se resultat for de enkelte oljene for videre utdypning).

Nedenfor er de ulike resultatene presentert hver for seg for de tre oljene.



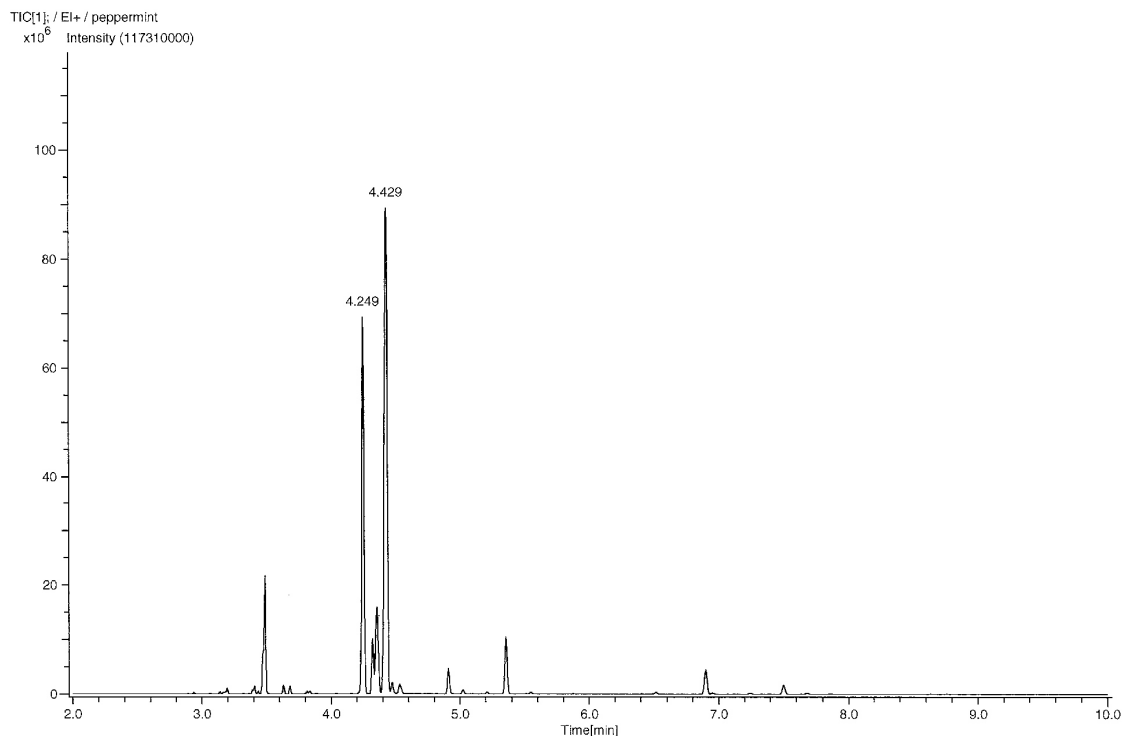
Figur 4.1: Totalt ionekromatogram av "fulloljene" fra DART, der peppermynte ligger mellom 4 og 5 minutter, åkermynte mellom 5 og 6.1 minutter og grønnynte mellom 6.1 og 6.6 minutter.



Figur 4.2: Totalt ionekromatogram av blåste oljer fra DART, der peppermynte 50 % ligger mellom 0.8 og 1.5 minutter, peppermynte 10 % mellom 1.5 og 2.2 minutter, åkermynte 50 % mellom 2.2 og 2.8 minutter, og grønnynte 10 % mellom 2.8 og 3.4 minutter.

4.1 Peppermynnte

Av gasskromatogrammet fra GC/MS for peppermynnte kan man se en del topper jevnt utover tidsskalaen, og man ser at hovedtoppene, det vil si de mest intense toppene, ligger mellom 4.2 og 4.5 minutter (se figur 4.3).



Figur 4.3: Kromatogram fra GC/MS av peppermynnte "fullolje" før blåsing med nitrogen.

Ellers er det noen andre topper som også må tas i betraktning, disse ligger rundt 3.5, 5, 5.2 og 7 minutter. Det er disse toppene samt hovedtoppene som det er lagt vekt på her, og det er sett litt bort fra de resterende toppene, da det var snakk om svært små mengder av dem i forhold til de utvalgte. De utvalgte toppene er også de forbindelsene man oftest assosierer med peppermynnteolje.

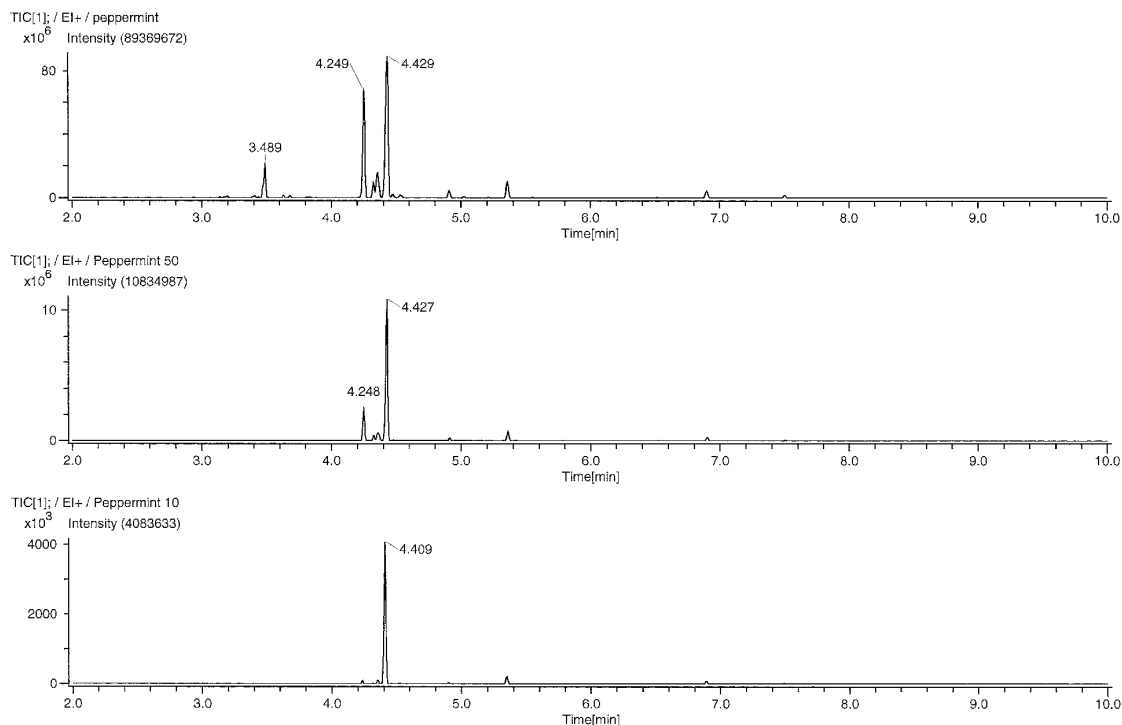
Som man kan se er det mentol (figur 4.5) og menton (figur 4.6) som er hovedforbindelsene i denne oljen (retensjonstid 4,249 og 4,429), men den inneholder også mentofuran (figur 4.7, retensjonstid 4,356) som er en essensiell forbindelse i peppermynnteoljen, (se tabell for flere forbindelser).

Man kan også se at de fleste forbindelsene er identifisert med en ganske stor sikkerhet vha søk i forbindelsesbiblioteket på datamaskinen som var koplet til GC/MS- maskinen.

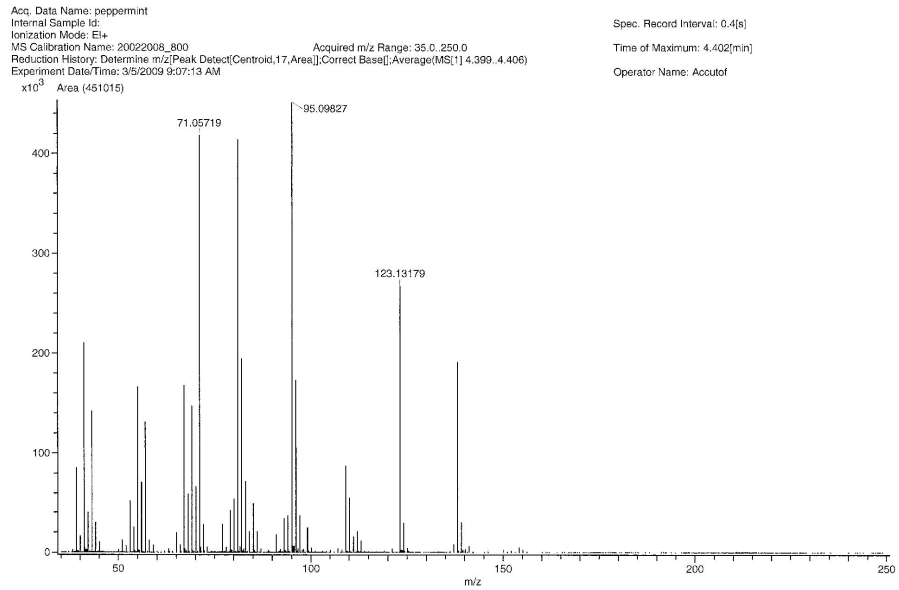
Tabell 4.1: Identifisering av dominerende forbindelser i peppermynteoljen av GC/MS og søk i forbindelsesbiblioteket.

| Forbindelser | Retensjonstid, toppmaksimum (min) | Treffsikkerhet | Massespekter |
|-------------------------|-----------------------------------|----------------|--------------|
| α -limonen | 3,469 | 917/921 | Vedlegg 1 |
| eucalyptol/ 1,8- cineol | 3,469 | 935/936 | Vedlegg 2 |
| <i>p</i> -menton | 4,249 | 915/933 | Figur 4.6 |
| <i>p</i> -menton | 4,322 | 922/942 | Vedlegg 3 |
| mentofuran | 4,356 | 839/839 | Figur 4.7 |
| mentol | 4,429 | 937/938 | Figur 4.5 |
| pulegon | 4,902 | 887/897 | Vedlegg 4 |
| isomentolacetat | 5,548 | 781/899 | Vedlegg 5 |
| β -caryophyllen | 6,894 | 930/937 | Vedlegg 6 |

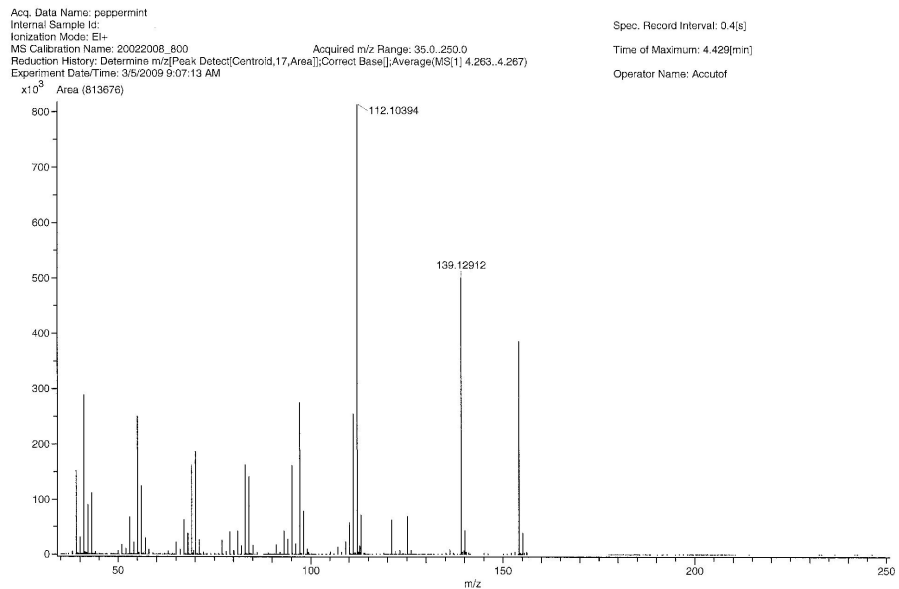
Når man ser på kromatogrammene av peppermynte før og etter blåsing (p100, 50 og 10) kan man tydelig se en forandring i mengde topper (se figur 4.4). Man ser også av de tre kromatogrammene at intensiteten til de ulike forbindelsene blir redusert ved blåsing av oljene, noe som tyder på at alle forbindelsene fordamper til en viss grad. Man kan se at toppen 4.249 nesten forsvinner i det tredje kromatogrammet (peppermynte 10 %), som i dette tilfellet tilsvarer menton (se tabell 4.1), og man vil da hovedsakelig stå igjen med mentol i oljen.



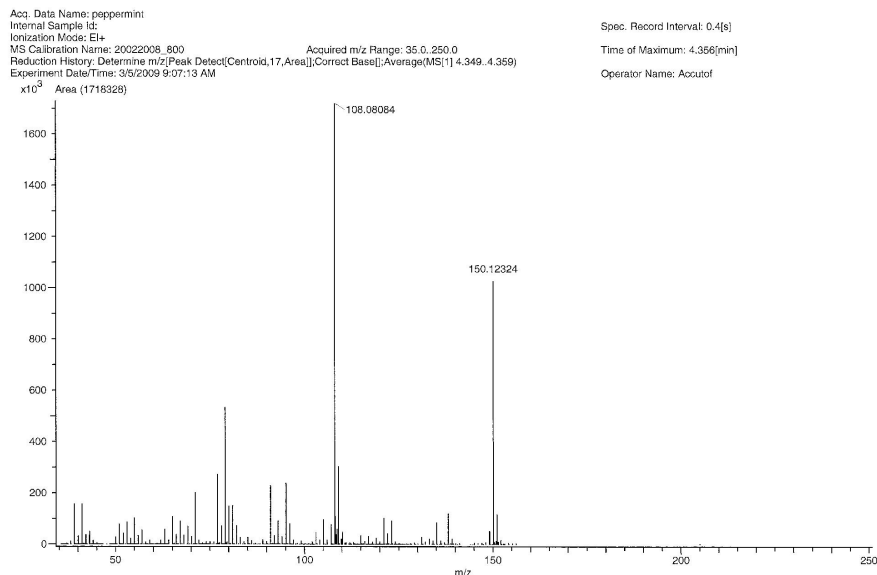
Figur 4.4: Sammenligning av kromatogrammer fra GC/MS av peppermynte "fullolje", 50 % og 10 %.



Figur 4.5: Massespekter av mentol fra GC/MS av peppermynete "fullolje".



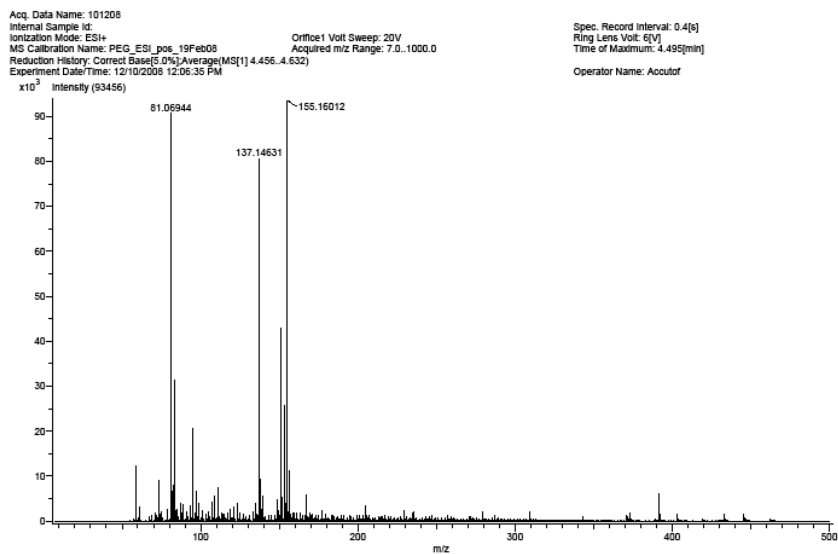
Figur 4.6: Massespekter av menton fra GC/MS av peppermynete "fullolje".



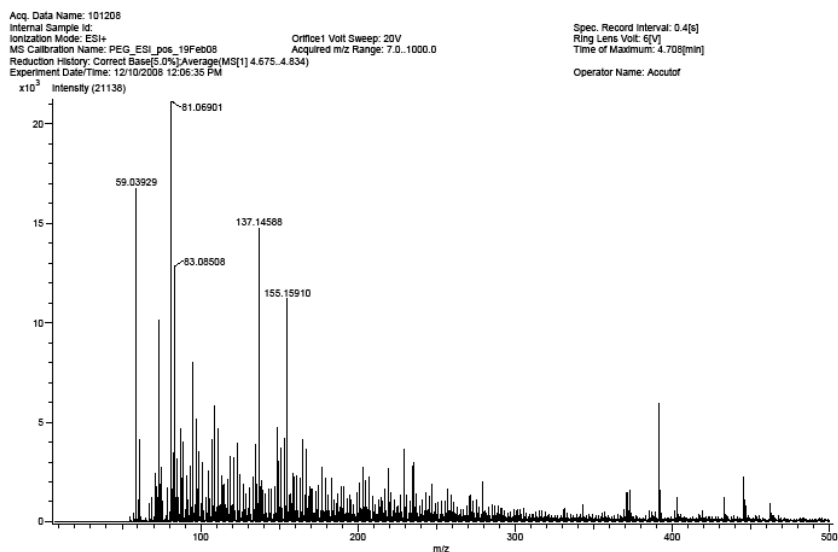
Figur 4.7: Massespekter av mentofuran fra GC/MS av peppermynnte "fullolje".

Når man ser på det totale ionekromatogrammet for peppermynnte "fullolje" fra DART (figur 4.1) ser man denne mellom 4 og 5 minutter, og at denne skiller seg veldig fra de andre toppene som representerer mynte. Det har tydelig skjedd noe ved introduksjonen til ionekilden, men det er vanskelig å si hva eller hvordan, da det ble gjort på samme måte hver gang. Det eneste man kan se her er at det ikke er brukt aluminiumsfolie mellom denne og den neste prøven (åkermynte), for å danne et klart skille, men man ser likevel at det er snakk om to ulike prøver. Selv om denne avviker en del fra de andre kromatogramtøppene, er det likevel tatt ut massespekter på bakgrunn av dette kromatogrammet (figur 4.8 og 4.9).

Når man ser på disse massespektrene kan man likevel se at dette mest sannsynlig er peppermynnteolje da hovedtøppene ligger på 137 m/z og 155 m/z (figur 4.8) som trolig representerer M+H, og disse er forventede masser for forbindelser i mynteoljene. Når man derimot ser på spekteret av den bakre delen av kromatogrammet (figur 4.9) ser det ut som det er kommet til andre forbindelser som har mye høyere masse enn forventet, rundt 400-500 m/z. Man ser samtidig som de samme tøppene som i det fremre spekteret (figur 4.8), men disse har nå mindre intensitet siden forbindelsene med høye masser øker i dette bakre spekteret.

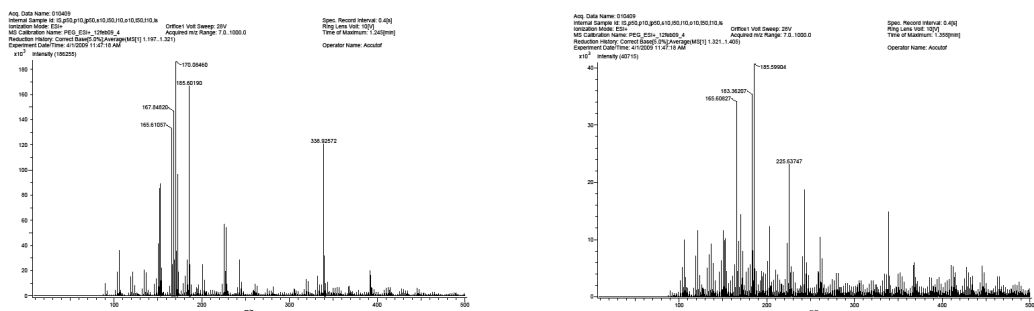


Figur 4.8: Massespekter av peppermynthe "fullolje" fra DART, med utgangspunkt i fremre del av kromatogramtoppen i figur 4.1.

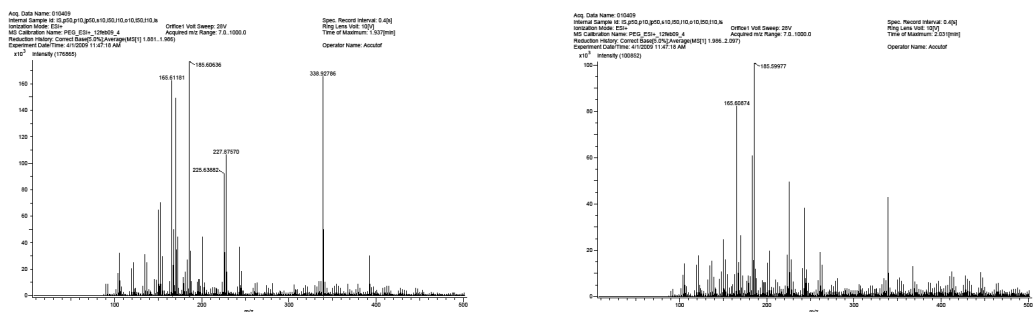


Figur 4.9: Massespekter av peppermynthe "fullolje" fra DART, med utgangspunkt i bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.1.

Massespektrene som man oppnår etter blåsing av oljene fra DART er litt ulike fra de for ”fullolje” da forbindelsene med høye masser ser ut til å øke i mengde i forhold til de forventede massene (figur 4.10 og 4.11). Disse noe større forbindelsene utgjør en større del av spekteret for de blåste oljene enn de gjorde for ”fullolje”.



Figur 4.10: Massespekter av blåst peppermynteolje 50 % fra DART, fremre og bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.2.

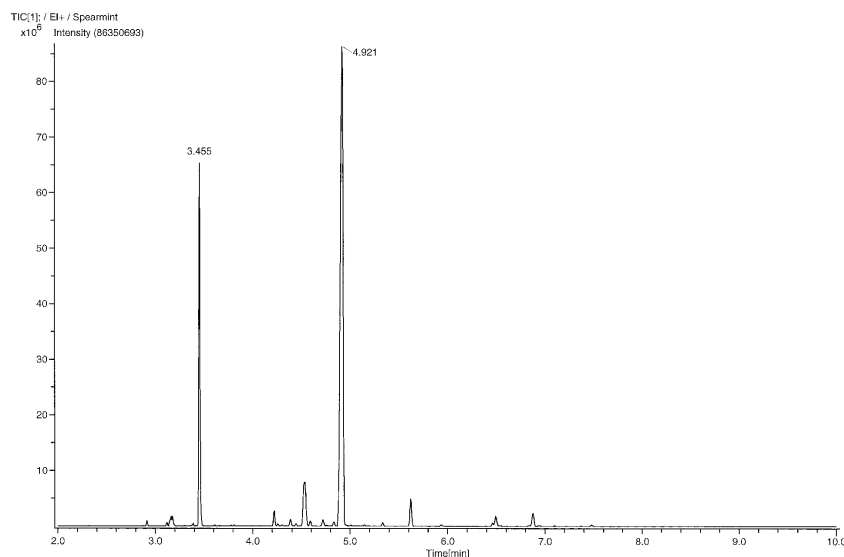


Figur 4.11: Massespekter av blåst peppermynteolje 10 % fra DART, fremre og bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.2.

4.2 Grønnmynte

Av gasskromatogrammet fra GC/MS for grønnmynte kan man se at denne oljen inneholder litt flere forbindelser enn for eksempel peppermynnteolje, altså noen flere topper (se figur 4.12).

Dette skyldes at forbindelsene er fordelt litt mer utover tidsskalaen, de er med andre ord bedre separert av kolonnen enn det forbindelsene i peppermynnteoljen er.

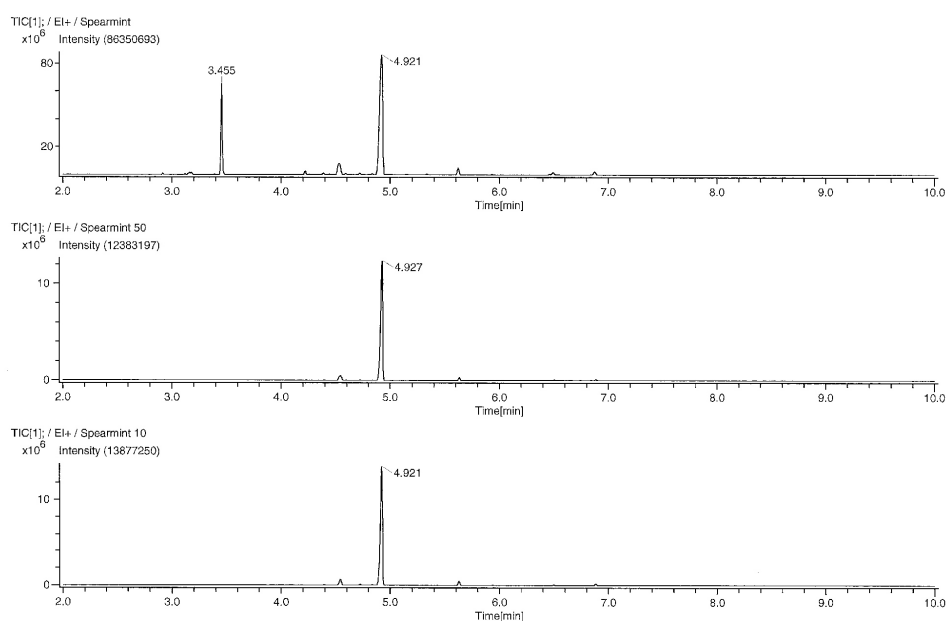


Figur 4.12: Kromatogram fra GC/MS av grønnmynte "fullolje" før blåsing med nitrogen.

Tabell 4.2: Identifisering av dominerende forbindelser i grønnmynteoljen, av GC/MS og søk i forbindelsesbiblioteket.

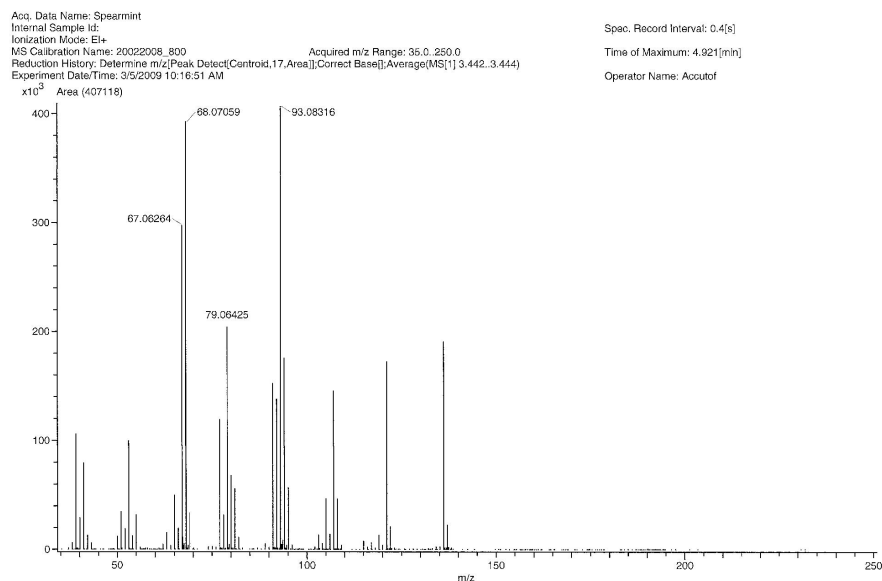
| Forbindelser | Retensjonstid, toppmaksimum (min) | Treffsikkerhet | Massespekter |
|------------------------|-----------------------------------|----------------|--------------|
| α -pinen | 2,916 | 914/929 | Vedlegg 7 |
| β -fellandren | 3,122 | 870/932 | Vedlegg 8 |
| β -pinen | 3,178 | 929/942 | Vedlegg 9 |
| limonen | 3,455 | 924/925 | Figur 4.14 |
| eucalyptol/ 1,8-cineol | 3,474 | 883/888 | Figur 4.15 |
| <i>p</i> -menton | 4,221 | 933/952 | Vedlegg 10 |
| isomentol | 4,385 | 896/943 | Vedlegg 11 |
| dihydrocarveol | 4,535 | 846/857 | Vedlegg 12 |
| (<i>R</i>)-carvon | 4,921 | 921/921 | Figur 4.16 |
| dihydrocarvylacetat | 5,621 | 895/895 | Vedlegg 13 |
| β -elemen | 6,460 | 890/924 | Vedlegg 14 |
| β -bourbonen | 6,493 | 911/919 | Vedlegg 15 |
| β -caryophyllen | 6,873 | 932/933 | Vedlegg 16 |

Man ser av kromatogrammet av ”fullolje” (figur 4.12) at de mest intense toppene her ligger på en retensjonstid på 3,455 og 4,921 minutter (tabell 4.2), som har blitt identifisert som henholdsvis limonen/ eucalyptol (figur 4.14 og 4.15) og carvon (figur 4.16). Limonen og eucalyptol finner man av samme topp i kromatogrammet, limonen i fremre del og eucalyptol i bakre del, som også kan ses av retensjonstiden i tabellen (tabell 4.2). Dette viser at denne kolonnen ikke kunne skille disse forbindelsene helt fra hverandre, men likevel nok til at de kunne identifiseres. Det er også tatt hensyn til en del andre og mindre intense topper i kromatogrammet (tabell 4.2).

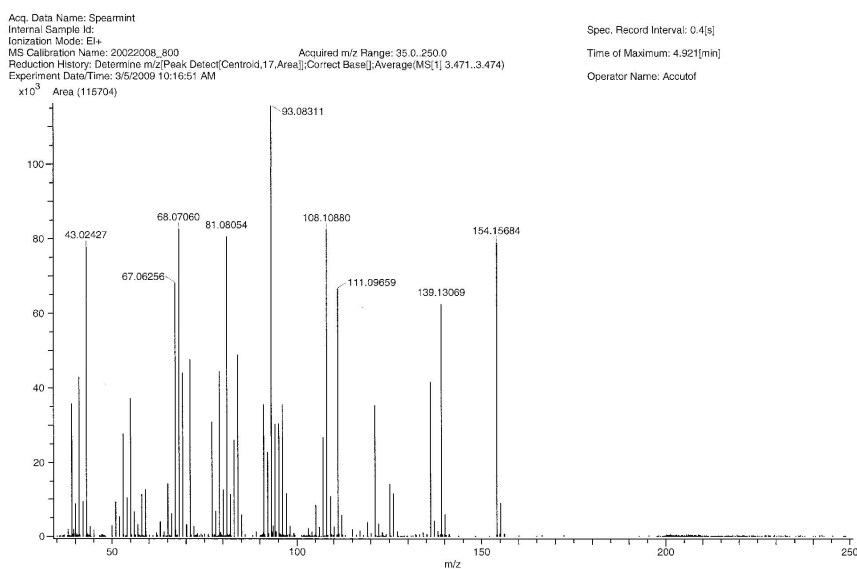


Figur 4.13: Sammenligning av kromatogrammer fra GC/MS av grønnmynte ”fullolje”, 50 % og 10 %.

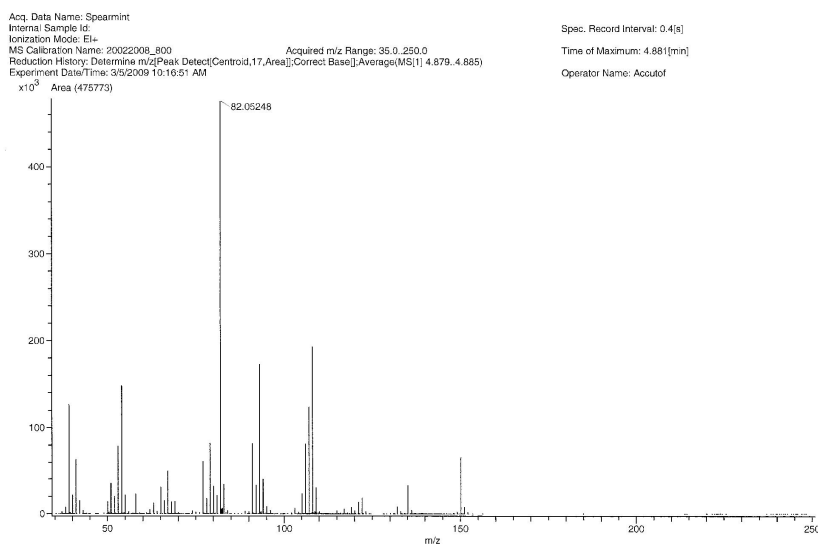
Ved sammenligning av gasskromatogrammer fra før og etter blåsing med nitrogen kan man også her tydelig se en forandring i mønsteret og intensiteten til de ulike forbindelsene (se figur 4.13). Som man også ser av de andre oljene er det først og fremst forbindelsene med retensjonstid mindre enn 4 minutter som forsvinner, og dette gjelder dermed også limonen og eucalyptol i dette tilfellet (tabell 4.2). Man vil da hovedsakelig stå igjen med hovedkomponenten carvon etter blåsing av grønnmynteolje til 10 % gjenværende olje.



Figur 4.14: Massespekter av limonen fra GC/MS av grønmynte "fullolje".

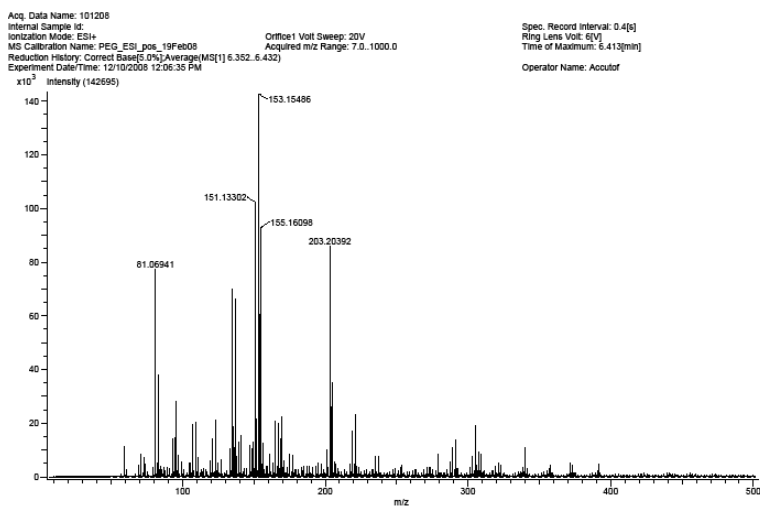


Figur 4.15: Massespekter av eucalyptol fra GC/MS av grønmynte "fullolje".

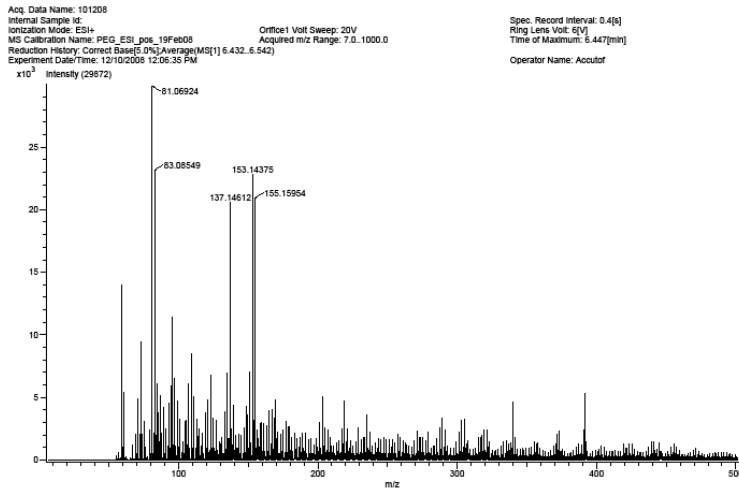


Figur 4.16: Massespekter av carvon fra GC/MS av grønnmynte "fullolje".

DART- kromatogrammene for grønnmynteolje såg normale ut for både "fullolje" (figur 4.1) og blåst olje (figur 4.2), her kun 10 %, da 50 % viste seg å være tørket ut før analysen ble gjennomført. Som man kan se har denne oljen litt andre topper enn peppermynteolje (figur 4.17 og 4.18), men hovedtoppene ligger som forventet rundt 151, 153 og 155 m/z.

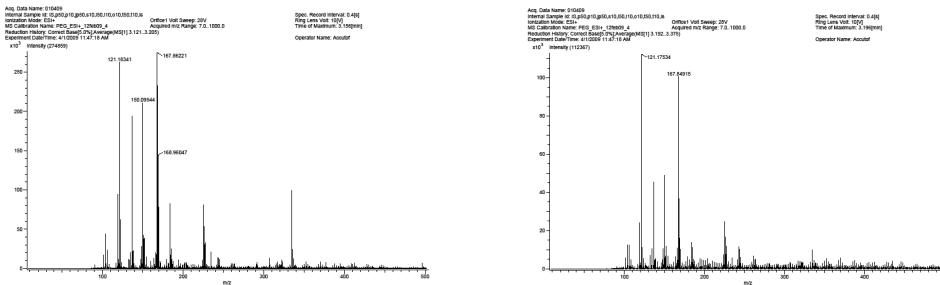


Figur 4.17: Massespekter av grønnmynte "fullolje" fra DART, med utgangspunkt i fremre del av kromatogramtoppen i figur 4.1.



Figur 4.18: Massespekter av grønnmynte "fullolje" fra DART, med utgangspunkt i bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.1.

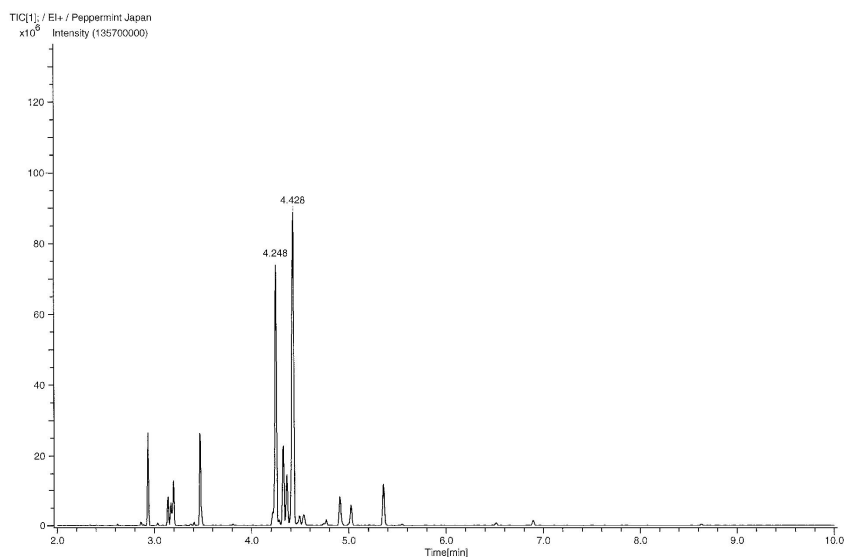
Man kan derimot her se flere høye masser enn hos peppermynnte allerede på massespekteret til "fulloljen" (figur 4.17 og 4.18), fra 200 til 400 m/z, men disse er mer intense og dominerende på massespektrene for den blåste grønnmynteoljen (figur 4.19) samtidig som det kommer til noen flere forbindelser nærmere 500 m/z.



Figur 4.19: Massespekter av blåst grønnmynteolje 10 % fra DART, fremre og bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.2.

4.3 Åkermynte

Av gasskromatogrammet for åkermynte (figur 4.20) kan man se at denne oljen inneholder litt flere forbindelser enn det peppermynte gjør, spesielt gjelder dette forbindelser med retensjonstid på under 4 minutter.

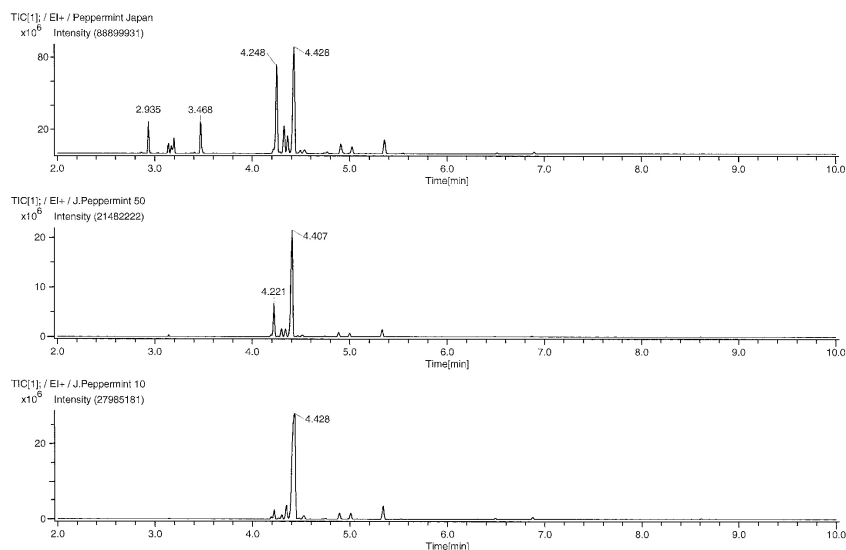


Figur 4.20: Kromatogram fra GC/MS av åkermynte "fullolje" før blåsing med nitrogen.

Tabell 4.3: Identifisering av dominerende forbindelser i åkermynteoljen, av GC/MS og søk i forbindelsesbiblioteket.

| Forbindelser | Retensjonstid, toppmaksimum (min) | Treffsikkerhet | Massespekter |
|---------------------|-----------------------------------|----------------|--------------|
| α -pinen | 2,929 | 936/939 | Figur 4.22 |
| β -fellandren | 3,142 | 868/894 | Vedlegg 17 |
| 3-oktanol | 3,162 | 899/928 | Vedlegg 18 |
| β -pinen | 3,182 | 901/918 | Vedlegg 19 |
| D-limonen | 3,462 | 923/923 | Figur 4.23 |
| isopulegol | 4,215 | 884/934 | Vedlegg 20 |
| menton | 4,324 | 924/924 | Figur 4.24 |
| mentol | 4,428 | 932/945 | Figur 4.25 |
| isopulegol | 4,534 | 779/789 | Vedlegg 21 |
| pulegon | 4,898 | 874/907 | Vedlegg 22 |
| piperiton | 5,021 | 924/927 | Vedlegg 23 |
| isomentolacetat | 5,354 | 941/948 | Vedlegg 24 |

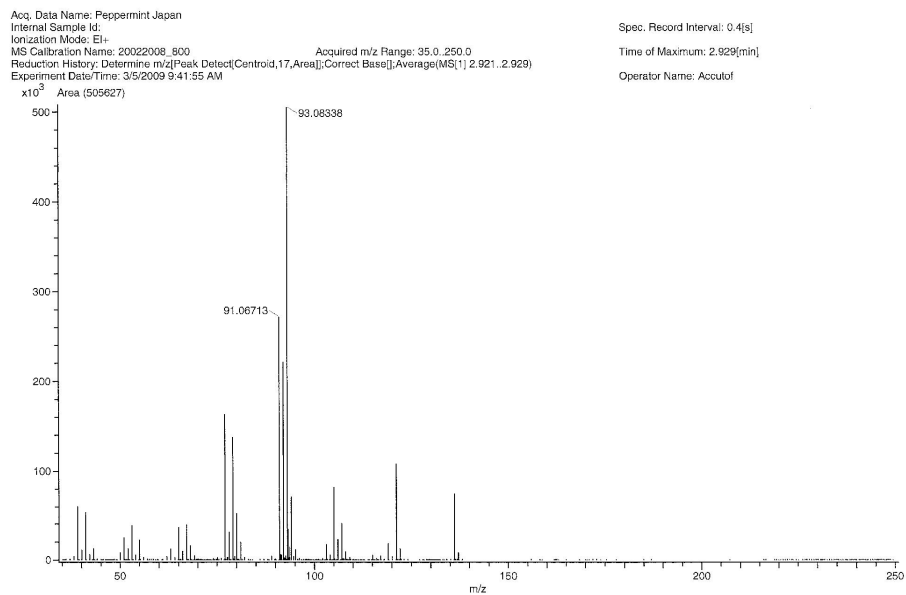
Når man ser på kromatogrammet for åkermynte ”fullolje” (figur 4.20), retensjonstider og de identifiserte forbindelsene (tabell 4.3), ser man at det også her er menton og mentol som dominerer samt limonen, men man kan også se en ”ny” topp som representerer α - pinen (retensjonstid 2,929, tabell 4.3) i dette tilfellet.



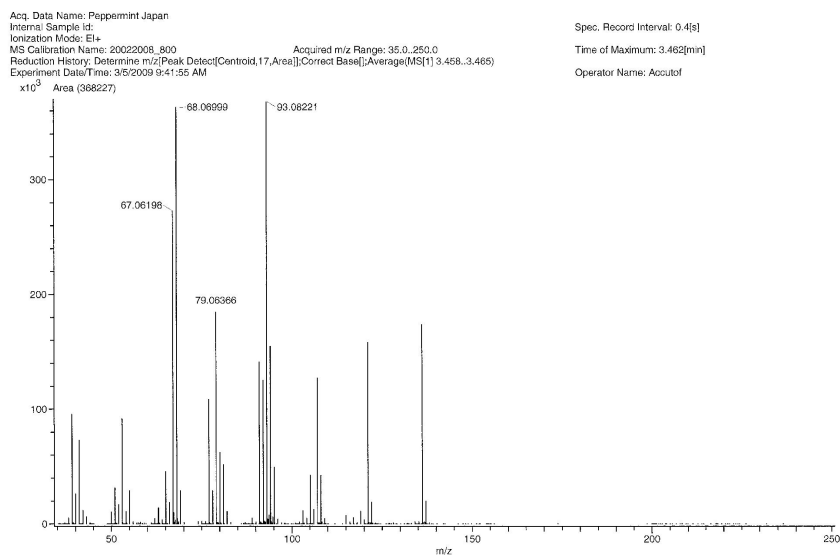
Figur 4.21: Sammenligning av kromatogrammer fra GC/MS av åkermynte ”fullolje”, 50 % og 10 %.

Ved 50 % og 10 % gjestående olje har åkermynte og peppermynte mer like kromatogrammer enn de har ved 100 %, noe som er basert på at begge kromatogrammer da domineres nesten kun av mentolkomponenten (figur 4.4 og 4.21). Dette gjør at også denne ”nye” forbindelsen forsvinner ved blåsing av oljene med nitrogen.

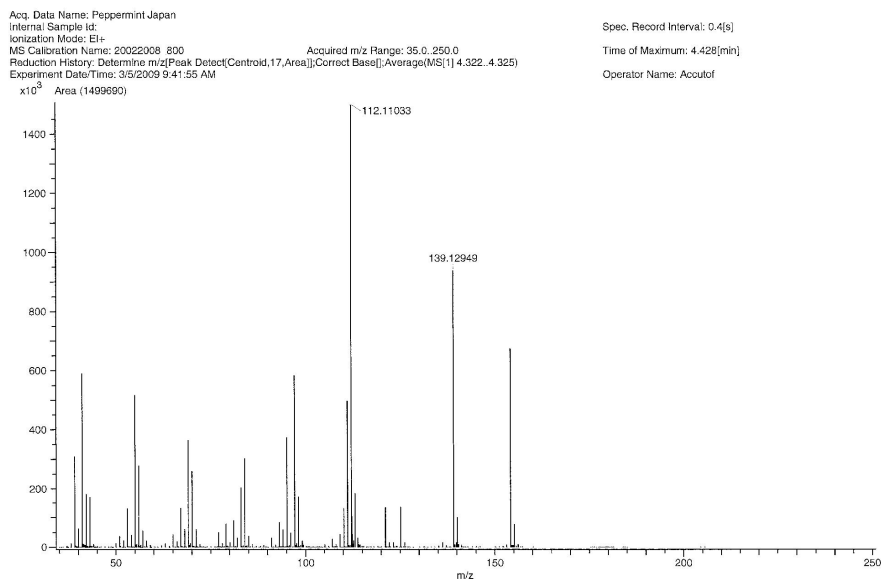
Hos åkermynteoljen kan man også se større forskjeller mellom kromatogrammet til 50 % og 10 % gjenværende olje (figur 4.21) da man tydelig ser at toppen med retensjonstid 4,248 nesten forsvinner helt (i dette tilfellet tilsvarer denne retensjonstiden menton, se tabell 4.3). Forbindelser som fordamper er med andre ord α -pinen (figur 4.22), D-limonen (figur 4.23) og menton (figur 4.24), noe som gjør at man står hovedsakelig igjen med hovedkomponenten mentol (figur 4.25).



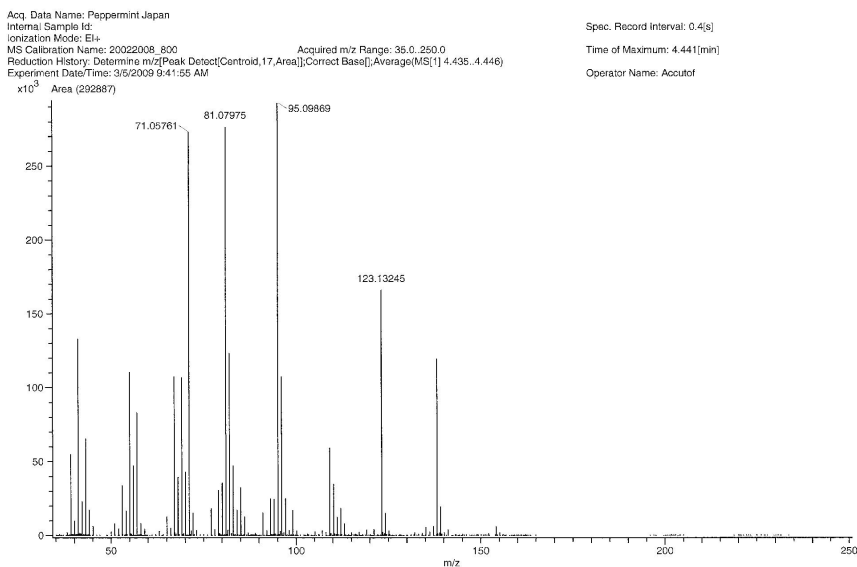
Figur 4.22: Massespekter av α -pinen fra GC/MS av åkermynte "fullolje".



Figur 4.23: Massespekter av D-limonen fra GC/MS av åkermynte "fullolje".

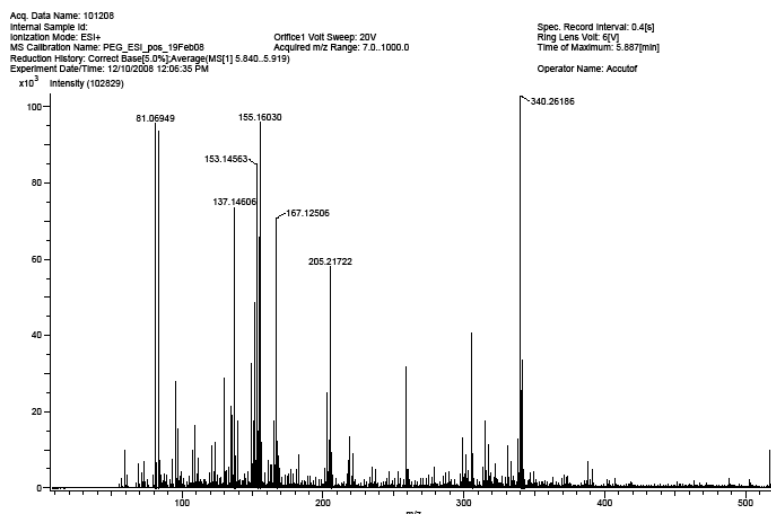


Figur 4.24: Massespekter av menton fra GC/MS av åkermynte "fullolje".

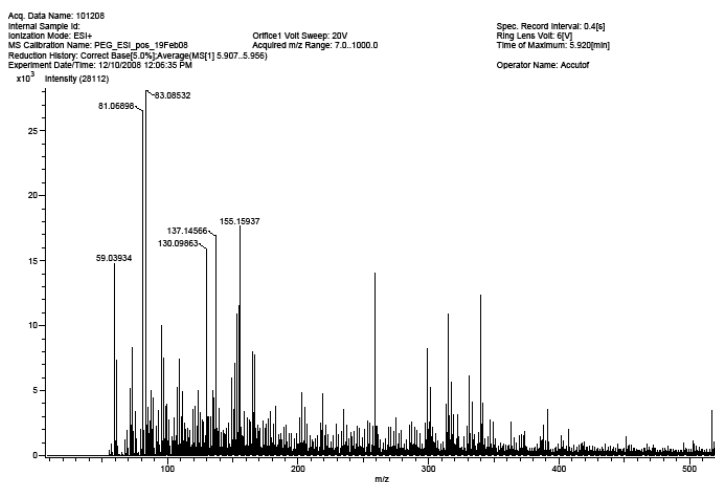


Figur 4.25: Massespekter av mentol fra GC/MS av åkermynte "fullolje".

Massespektrene av åkermynte ”fullolje” fra DART viser mange ulike masser på hele skalaen, helt opp til over 500 m/z (figur 4.26). Det er spesielt mange masser fra 100 til 200 m/z og rundt 300 m/z, men de fra 200 m/z og oppover er ikke forventet i utgangspunktet dersom man sammenligner med GC/MS- analysen. For åkermynte er det ikke stor forskjell mellom fremre og bakre massespekter, bortsett fra litt økt bakgrunnsstøy på det bakre (figur 4.26 og 4.27).

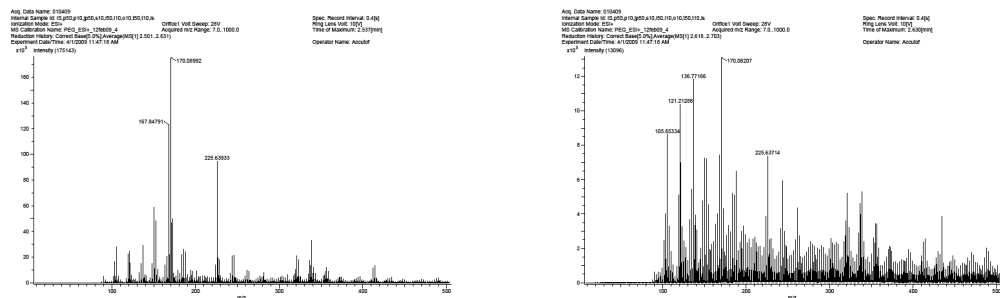


Figur 4.26: Massespekter av åkermynte ”fullolje” fra DART, med utgangspunkt i fremre del av kromatogramtoppen i figur 4.1.



Figur 4.27: Massespekter av åkermynte ”fullolje” fra DART, med utgangspunkt i bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.1.

Når man derimot ser på massespektrene for 50 % gjenværende olje (figur 4.28) varierer det heller lite fra ”fullolje”, bortsett fra mye bakgrunnsstøy på det bakre spekteret.



Figur 4.28: Massespekter av blåst åkermynteolje 50 % fra DART, fremre og bakre del av kromatogramtoppen i figur 4.2.

5. Diskusjon og konklusjon

5.1 Diskusjon

Gasskromatogrammene for de enkelte "fulloljene" viste at oljene inneholdt de forbindelsene som var forventet med tanke på standardkromatogrammer fra litteraturen (Kubeczka and Formáček 2002). De vil selvsagt avvike litt siden de essensielle oljene som blir brukt sannsynligvis ikke er fra samme produsent som de oljene som er brukt for standardkromatogrammene, men man får dannet et bilde av hvilke komponenter man kan forvente og hvilke som bør dominere kromatogrammet.

Massespektrene som er identifisert ut fra kromatogrammene viser ganske sikre treff i forbindelsesbiblioteket, men det betyr ikke at dette stemmer, det er nemlig begrenset hvor mange spektrere den sammenlignes med, og disse er ikke nødvendigvis av høy kvalitet da de er lagt til tilfeldig og uten kvalitetssikring.

Kromatogrammene av peppermynte og åkermynte viser at disse oljene er ganske like, at de inneholder mye de samme forbindelsene, noe tabellene over de ulike forbindelsene stadfester. Det er derfor ikke overraskende at peppermynte og åkermynte blir brukt mye om hverandre og at begge ofte går under navnet peppermynte. Dersom man derimot sammenligner med kromatogrammet for grønmynte ser man at denne oljen er ganske annerledes, den inneholder for eksempel ikke mentol, men store mengder carvon. Man kan selvsagt aldri være helt sikker på innholdet i essensielle oljer da noe kan bli fjernet eller tilsatt, selv om det ikke skal det i utgangspunktet (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007).

Hos peppermynte- eller åkermynteolje finner man ikke carvon (bekreftet av GC/MS- analysen av oljene), og selv om innholdet av denne er høy i grønmynte, blir denne regnet som mer egnet til bruk i mat enn hva peppermynte blir. Peppermynte som urt har bl.a. blitt brukt helt siden antikken (Høeg and Christensen 1984).

Innholdet av carvon i grønmynteoljen underbygger teorien om at denne oljen ikke kan sammenlignes helt, og bli sett på som likeverdig med de andre mynteoljene når det kommer til aromaterapi og annen bruk.

Carvon har bl.a. blitt omtalt som neurotoksisk og abortfremkallende, om enn omdiskutert (Price and Price 2007), men man setter grensen for daglig inntak av carvon på 1 mg/kg kroppsvekt (Lis-Balchin 2006). Pga det høye carvoninnholdet blir grønmynteolje også frarådet brukt til barn og gravide (Price and Price 2007).

På tross av dette blir alle artene innen mynteslekten brukt som likeverdige oljer, gjelder også for urten generelt sett, med tanke på bruken av blader til diverse matlaging og te osv. Mynteslekten danner for eksempel lett hybrider og man kan derfor ikke være helt sikker på art (Høeg and Christensen 1984), og dermed innhold og eventuell effekt av de enkelte.

Videre ble kromatogrammer fra ”fullolje”, 50 % og 10 % gjenværende olje sammenlignet, og man ser tydelig forandring for alle tre mynteoljene. Det er her klart at de mest flyktige forbindelsene forsvinner når man blåser oljene med nitrogen, altså vil de mest flyktige forbindelsene i oljene fordampe først også ved vanlig fordampning og aromaterapi. Men det vil også ha innvirkning ved bruk av oljene til andre formål, som for eksempel til inhalering ved forkjølelse eller andre respiratoriske tilstander (Lis-Balchin 2006).

Etter blåsing av oljene ser man at alle oljene fortsatt står igjen med hovedforbindelsen til den enkelte, men at en del mindre forbindelser er forsvunnet. Man vil i teorien få en opphopning av denne hovedforbindelsen i forhold til de andre forbindelsene, slik at man da vil bli eksponert for større prosentdel av denne, samtidig som denne er den mest aktive komponenten i oljen fra før. På samme måte som at mentoninnholdet i åkermynsteoljen øker ved ”dementolisering” (Price and Price 2007).

Resultatene fra DART tyder også på at forbindelsene med høye masser øker i forhold til de forventede forbindelsene, etter blåsing med nitrogen. Dette er ikke overraskende siden de minste og flyktigste forbindelsene forsvant ved blåsing, og intensiteten til de resterende forbindelsene ble redusert. Dermed vil de større og mindre flyktige forbindelsene utgjøre en større del av oljen. Man ser derimot at det også dukker opp noen nye forbindelser som man ikke oppdager ved GC/MS-analysen, og det blir samtidig oppdaget flere forbindelser etter fordampning enn det gjør før. Dette kan være forbindelser som man kanskje ikke oppdager med GC/MS, eller det kan være forbindelser som kommer utenifra, som ikke har sammenheng med oljene i det hele tatt.

DART er en veldig sensitiv analysemetode og det kan derfor hende at denne oppdager noe GC/MS- analysen ikke gjør, men det kan også hende at den er for sensitiv og derfor analyserer alt som blir registrert i nærheten av ionekilden.

Det er med andre ord tydelig at det er mer enn bare flyktige komponenter til stede her, men det er vanskelig å forklare disse kun i form av dimere og lignende. Det er nemlig en grense for hvor store forbindelser oljene kan inneholde med tanke på destillasjonsprosessen for disse (Price and Price 2007). Forbindelsene kan selvsagt være noe som finnes i oljene, men uansett

gjør disse forbindelsene at man ikke kan bruke DART verken som en kvalitativ eller som en kvantitativ analyse i denne sammenheng. Dette var også avgjørende for at de nye prøvene som ble laget for DART- analyse av de inntørkede prøvene ikke ble analysert likevel, siden DART- resultatene da ikke kunne brukes som ønsket.

Analysen blir trolig her kontaminert av utenforstående stoffer og man kan derfor ikke være sikker på det kvantitative resultatet man får, at man virkelig har så store mengder som det gis inntrykk av. Kvalitativt fungerer heller ikke denne metoden i dette tilfellet, da man ikke kan være sikker på hva det er man har når det dukker opp nye og ukjente forbindelser ved analysen. Enkelte av toppene i DART- kromatogrammet kan stemme overens med GC/MS- analysen, men pga de ukjente toppene som man ikke kan identifisere, er det sannsynlig at disse også er kontaminert av andre forbindelser.

De nye forbindelsene som ble oppdaget med DART vil trolig ha betydning for eksempel om man skulle bruke oljen ved massasje, den vil antageligvis legge seg mer på toppen av huden da massene er høye, noe som viser at det gjelder store molekyler.

Dersom man ser på resultatene for de ulike oljene hver for seg, ser man at det for peppermynte vil si at det nesten kun vil være mentol igjen i den resterende oljen etter blåsing til 10 %.

Når det gjelder åkermynte vil man få samme resultat som for peppermynte. Det vil hovedsakelig være mentol igjen i oljen, som gjør at denne vil utgjøre en enda større del av oljen enn før. Dette vil også trolig gjøre at peppermynte og åkermynte da vil nærme seg hverandre i effekt siden sammensetningen trolig blir mer lik etter lufteksponering. Men det er ikke anbefalt å bruke åkermynte i like stor utstrekning og konsentrasjon som peppermynte blir, siden mentolinnholdet er høyere hos åkermynte. Man bør da også være mer obs på farene knyttet til mentol, men også pulegon som da kan utgjøre en større del av oljen (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007). Åkermynteolje kan for eksempel inneholde så mye som 20-30% pulegon (Price and Price 2007), og siden det er mye utbytting og fortykning for peppermynte med denne, vil dette også gjelde denne peppermynteoljen. Dette gjør at man bør være svært forsiktig med tanke på graviditet m.m. (Price and Price 2007). Man kan selvsagt argumentere med at de oljene som blir brukt til aromaterapi ikke inneholder mer enn 2 % essensiell olje i en baseolje (Price and Price 2007), og det vil dermed ikke ha noe å si om mentolinnholdet i forhold til de andre forbindelsene øker, mentol vil likevel utgjøre en liten del i denne blandingen. Derimot kan det ha noe å si i kontakt med sensitiv hud eller små barn, og for mennesker som ikke er så erfarne med bruken av aromaterapioljer og bruker essensielle oljer

mer direkte. Dette er ikke umulig da aromaterapioljer ofte blir solgt som om de var rene essensielle oljer (Price and Price 2007), og det derfor grunn til å tro at disse kan brukes direkte i ublandet form.

Ser man på grønnynte vil oljen for det meste inneholde carvon, slik at denne vil utgjøre en større del enn i utgangspunktet, og man bør dermed fraråde bruken helt dersom oljen har vært eksponert for luft over lengre tid. Oljen er generelt ikke anbefalt for bruk innen aromaterapi (Lis-Balchin 2006), og man bør spesielt ikke bruke den etter lufteksponering.

Både peppermynte/ åkermynte og grønnynte, spesielt i form av mentol og carvon, er kjent for å irritere hud og slimhinner i varierende grad (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007, Nilsson et al. 2008). De essensielle oljene kan inneholde mange ulike innholdsstoff og kan dermed ha flere effekter, men man vil samtidig ha større fare for uheldige og uønskede bivirkninger (Price and Price 2007). Det er derfor viktig at populariteten til aromaterapi veies oppimot de potensielle risikoene det er for allergi (sensitiseringsfare), trygghet rundt bruken og uanstendig bruk av uerfarne brukere (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004). For åkermynteolje er ikke nytteverdien innen aromaterapi veid opp mot sensitiseringsfaren ved bruk (Lis-Balchin 2006)

Det er gjort studier som tyder på at peppermynte kan redusere tretthet, og at dette er en reell effekt (Norrish and Dwyer 2005), men for å kunne konkludere trenger man flere studier på dette, da man ikke kan utelukke placebo. For eksempel vil en person som føler seg uoppmerksom ha større sannsynlighet for å kjenne virkning enn en som allerede er oppmerksom. Samtidig vil subjektive forventninger spille en rolle, samt kjønn og personlighet, som gjør at man sjelden finner en signifikant forskjell mellom eksperimentgruppen og kontrollgruppen (Ilmberger *et al.* 2001). Med andre ord er det vanskelig å si om den eventuelle virkningen skyldes placebo eller en reell effekt, da psykologiske samt individuelle forskjeller mellom mennesker vil spille en rolle (Goel and Lao 2006)

Dette er konklusjoner som går mye igjen når det gjelder studier innen aromaterapi. En av grunnene er selvsagt at det er gjort få studier, men også at det er vanskelig å gjøre dobbelblindede kliniske studier med tanke på aroma i forhold til en nøytral kontroll. Selv om bruken av essensielle oljer er kjent fra gammelt av betyr ikke det at det ikke er farlig, eller at dette er et ferdig utforsket område. Det er derimot store muligheter for forskning på området, for eksempel bruk av aromaterapi innen pleie og omsorg, med tanke på applikasjonsmetoder, doser osv. av essensielle oljer (Maddocks-Jennings and Wilkinson

2004). Det må tas hensyn til en del ting når det gjelder dette, som for eksempel utdanning innen aromaterapi og bruken av denne, samt studier som sier noe om tryggheten av bruk (gjort svært få studier med mennesker), praktisk bruk med hensyn på farmakokinetikk og psykologiske effekter av essensielle oljer (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004). Hovedproblemet for pleierne i denne sammenheng er korrekt lagring og håndtering av de essensielle oljene, for å unngå oksidering, kontaminering av bakterier eller overdoseuhell (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004).

Andre store, potensielle problemer er for eksempel bruk av essensielle oljer med tanke på graviditet, fødsel, amming og spedbarn, da det er sagt at oljene bl.a. kan ha virkning på kjente svangerskapsplager som morgenkvalme, strekkmerker, åreknuter, halsbrann, hemoroider, ryggsmarter og utmattelse, noe som heller ikke er dokumentert (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004). Bruk av essensielle oljer ved graviditet er omstridt, men de bør ikke brukes siden flere har vist seg å redusere spontane sammentrekninger i livmoren (Lis-Balchin 2006). Essensielle oljer har ellers blitt mye brukt til smertelindring, også innen kreftbehandling, men da mest med tanke på sinnsstemning og til å støtte symptomkontroll mer enn som en alternativ behandling (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004).

Når det gjelder behandling av barn har man gjerne behandlet atopisk eksem med essensielle oljer, og selv om man har hatt en positiv effekt av denne i starten, ender det gjerne med at de fleste får eksemen tilbake, ofte pga en allergisk reaksjon på oljene (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004). Ellers er det sjelden at barn får velge det som er best for dem, fordi de for eksempel ikke har opparbeidet seg samme erfaring som det voksne har.

Før man eventuelt kan starte opp med aromaterapi innen pleie og omsorg, må pleierne bl.a. kunne forstå de vitenskapelige resultatene som blir presentert i studier fra andre profesjoner, disse må kunne gjøres om slik at man kan bruke det til klinisk bruk (applikasjonsmetoder, doser og lignende) gjerne vha nye studier, de må kunne bevise bruken og bruksmetoden og at den stemmer overens med eksisterende praksis (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004). På dette området er det enorme muligheter for videre forskningsarbeid, da mest med tanke på kliniske forsøk (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004). Det vil også være viktig å identifisere kjemiske allergener i produkter som finnes på jobben og i hjemmet, ved å bruke passende analysemetoder. For eksempel er monoterpener, som blir mye brukt i industrien og som utgjør en stor del av de essensielle oljene, potente allergener (Nilsson *et al.* 2008).

Aromaterapi i moderne forstand er en populær trend, som også er i stadig vekst, men det mangler generelt beviser på at dette faktisk fungerer, og de forsøkene som er gjort har langt fra konsekvente resultater (Ilmberger *et al.* 2001). Det er lite som støtter bruk av essensielle oljer innen aromaterapi, bortsett fra for avslapningen sin del (Maddocks-Jennings and Wilkinson 2004)

Resultatene i dette prosjektet derimot levner liten tvil om at oljene virkelig forandrer seg ved lufteksponering. Man vet for eksempel at lukten av aromatiske oljer forandrer seg etter hvert (Lis-Balchin 2006), og denne har gjerne en sammenheng med enkelte forbindelser i oljen, som mengden av ulike monoterpenoider (Samuelsson 2004, Price and Price 2007). Men innholdet av de ulike forbindelsene varierer også med andre faktorer som har med dyrking og høsting av plantene å gjøre (Høeg and Christensen 1984, Samuelsson 2004, Price and Price 2007). Kvaliteten samt smaken av oljene blir bestemt av innholdet av bl.a. mentofuran (Samuelsson 2004), det er mer i unge planter enn i eldre. Dette øker bitterheten av planten, men det gjør også økt innhold av pulegon.

Resultatene som er oppnådd vil ha noe å si dersom man for eksempel skal bruke oljene på huden ved massasje, da det kan påvirke opptaket av de ulike forbindelsene gjennom huden, for eksempel opptaket av pulegon. Dette gjelder bl.a. mentol, som har vist seg å øke opptaket (Lis-Balchin 2006). Mentol vil her utgjøre en større del av oljen enn den gjør i utgangspunktet, derfor er det sannsynlig at dette vil påvirke opptaket ved massasje med en lufteksponert peppermynteolje. Leppeblomstfamilien, som mynteslekten er en del av, er den største for utvinning av essensielle oljer (Price and Price 2007), så man bør være ekstra obs ved bruk av disse. Man finner nemlig både relakserende og stimulerende essensielle oljer i denne familien (Price and Price 2007).

Man blir utsatt for mentol m.m. gjennom produkter fra industrien som smakstilsetning, duft, i tannkrem og tyggegummi (Lis-Balchin 2006), men disse er kvalitetssikret før bruk. Derimot bør man være forsiktig med annen eksponering som man selv kan styre, for eksempel bruk av essensielle oljer mer direkte. Man bør uansett være forsiktig ved bruk av eldre essensielle oljer, som gjerne har vært eksponert for luft over lengre tid, også siden min forskning viser at oppbevaringen kan være viktig. Ellers bør man være forsiktig med bruken av essensielle oljer generelt med tanke på sensitivisering og allergi, og toksisiteten til enkelte forbindelser i disse oljene, da spesielt når det gjelder bruk under graviditet, fødsel, amming og til barn (Lis-Balchin 2006, Price and Price 2007).

5.2 Konklusjon

Gjennom denne oppgaven er det bevist at de ulike forbindelsene i oljene vil fordampe til ulike tider og man vil da ha en annen blanding av forbindelser, i alle fall i et annet forhold til hverandre enn det man hadde i starten. Man vil få en blanding der mentol utgjør en større prosentdel av peppermynte- og åkermyntheoljen og carvon av grønnmynteoljen, enn det man i utgangspunktet hadde, etter lengre tids lufteksponering.

Dette vil ha en betydning når det kommer til aromaterapi og massasje med aromatiske oljer, spesielt med tanke på sensitivisering og allergi, og spesielt pga mentol og carvon, men gjerne også pulegon. Hvor stor innvirkning dette vil ha på selve aromaterapien er usikkert, da det avhenger av flere faktorer enn de som er tatt hensyn til her, det kommer også an på aromaterapeuten og pasienten.

Fra en farmasøytisk synsvinkel legges det vekt på sensitiviseringsfaren m.m., og bruk av disse essensielle oljene til massasje blir derfor frarådet, men uansett er det nødvendig med mange flere studier både på kjemisk og klinisk nivå før man kan sette en konklusjon angående bruk av essensielle oljer til massasje generelt.

5.3 Videre arbeid

Man kunne selvsagt brukt en annen kolonne for å separere de ulike forbindelsene bedre, og man kunne da klart å identifisere flere mindre forbindelser i oljene, men dette var ikke formålet med denne oppgaven.

Det som kan gjøres videre med denne oppgaven som utgangspunkt er for eksempel å se mer på de store komponentene som ble registrert vha DART. Spesielt siden disse kan ha betydning ved massasje med essensielle oljer. De ser her ut til å utgjøre en stor del av oljene, og man bør finne ut om disse faktisk stammer fra oljene og ikke pga kontaminering, og man kan vha TLC finne ut om disse er flyktige i det hele tatt eller om det kanskje kun er snakk om fettsyrer.

Andre vinklinger er å finne ut om man merker forskjell på lukt (eventuelt effekt) dersom oljen er blåst til 10 % i forhold til ”fullolje”, i form av kliniske forsøk, da som inhalering. Det er ellers gjort få studier innen aromaterapi og massasje med aromatiske oljer.

6. Referanser

- Cody, R. B. (2009): Observation of Molecular Ions and Analysis of Nonpolar Compounds with the Direct Analysis in Real Time Ion Source. *Analytical Chemistry* 81: 1101-1107.
- Cody, R. B., J. A. Laramee, and H. D. Durst (2005): Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Analytical Chemistry* 77: 2297-2302.
- Croteau, R. B., E. M. Davis, K. L. Ringer, and M. R. Wildung (2005): (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. *Naturwissenschaften* 92: 562-577.
- Goel, N., and R. P. Lao (2006): Sleep changes vary by odor perception in young adults. *Biological Psychology* 71: 341-349.
- Haefliger, O. P., and N. Jeckelmann (2007): Direct mass spectrometric analysis of flavors and fragrances in real applications using DART. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 1361-1366.
- Hoffmann, E. d., and V. Stroobant (2007): *Mass spectrometry : principles and applications*. Wiley, Chichester.
- Høeg, O. A., and A. S. W. Christensen (1984): *Våre medisinske planter: trolskap, tradisjon og legekunst*. Det Beste, Oslo.
- Ilmberger, J., E. Heuberger, C. Mahrhofer, H. Dessovic, D. Kowarik, and G. Buchbauer (2001): The influence of essential oils on human attention. I: Alertness. *Chemical Senses* 26: 239-245.
- Kubeczka, K. H., and V. Formáček (2002): *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy*. Wiley, Chichester.
- Lis-Balchin, M. (2006): *Aromatherapy science : a guide for healthcare professionals*. Pharmaceutical Press, London.
- Maddocks-Jennings, W., and J. M. Wilkinson (2004): Aromatherapy practice in nursing: literature review. *Journal of Advanced Nursing* 48: 93-103.
- McKay, D. L., and J. B. Blumberg (2006): A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research* 20: 619-633.
- McMaster, M. C., and C. McMaster (1998): *GC/MS : a practical user's guide*. Wiley-VCH, New York.

- Nilsson, J., J. Carlberg, P. Abrahamsson, G. Hulthe, B. A. Persson, and A. T. Karlberg (2008): Evaluation of ionization techniques for mass spectrometric detection of contact allergenic hydroperoxides formed by autoxidation of fragrance terpenes. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22: 3593-3598.
- Norrish, M. I. K., and K. L. Dwyer (2005): Preliminary investigation of the effect of peppermint oil on an objective measure of daytime sleepiness. *International Journal of Psychophysiology* 55: 291-298.
- Petucci, C., J. Diffendal, D. Kaufman, B. Mekonnen, G. Terefenko, and B. Musselman (2007): Direct analysis in real time for reaction monitoring in drug discovery. *Analytical Chemistry* 79: 5064-5070.
- Price, S., and L. Price (2007): *Aromatherapy for health professionals*. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Ringer, K. L., E. M. Davis, and R. Croteau (2005): Monoterpene metabolism. Cloning, expression, and characterization of (-)-isopiperitenol/(-)-carveol dehydrogenase of peppermint and spearmint. *Plant Physiology* 137: 863-872.
- Samuelsson, G. (2004): *Drugs of natural origin : a textbook of pharmacognosy*. Apotekarsocieteten, Stockholm.
- Smith, R. M. (2004): *Understanding mass spectra : a basic approach*. Wiley-Interscience, Hoboken, N.J.
- Song, L. G., A. B. Dykstra, H. F. Yao, and J. E. Bartmess (2009): Ionization Mechanism of Negative Ion-Direct Analysis in Real Time: A Comparative Study with Negative Ion-Atmospheric Pressure Photoionization. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 20: 42-50.
- Su, H. J., C. J. Chao, H. Y. Chang, and P. C. Wu (2007): The effects of evaporating essential oils on indoor air quality. *Atmospheric Environment* 41: 1230-1236.
- Wildung, M., and R. B. Croteau (2005): Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield. *Transgenic Research* 14: 365-372.
- Williams, J. P., V. J. Patel, R. Holland, and J. H. Scrivens (2006): The use of recently described ionisation techniques for the rapid analysis of some common drugs and samples of biological origin. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20: 1447-1456.

Vedlegg

Vedlegg 1-24:

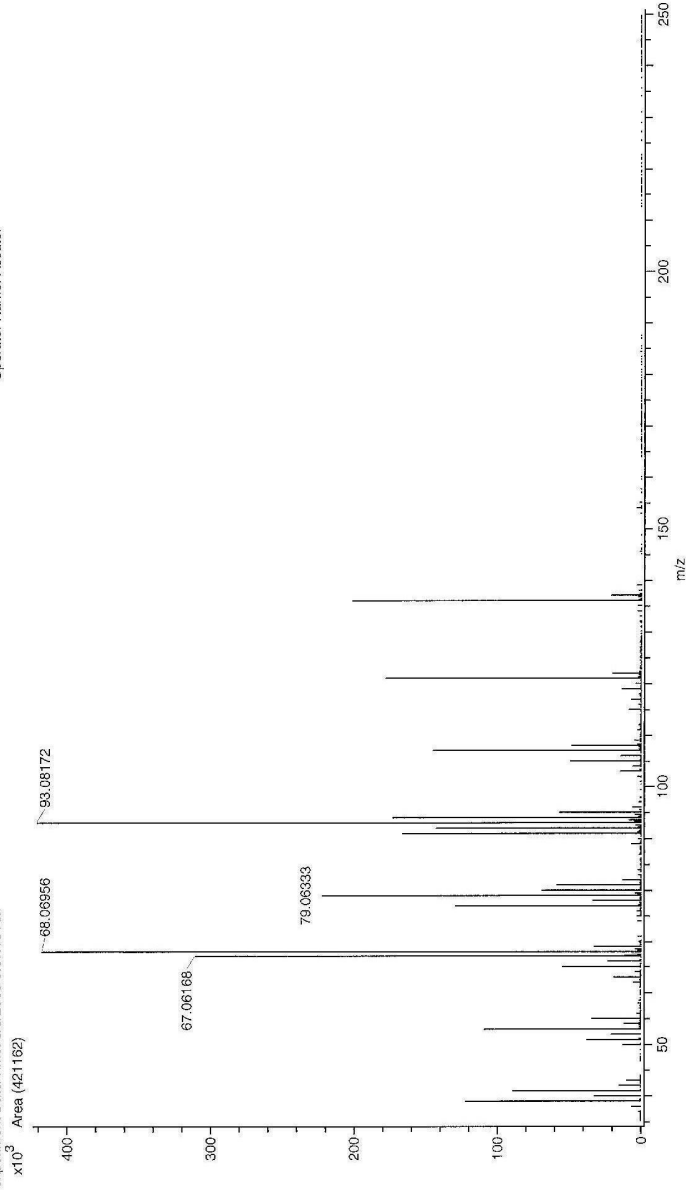
Massespekter av de ulike forbindelsene som ble identifisert av forbindelsesbiblioteket etter analyse med GC/MS, de som ikke er presentert i selve oppgaven.

Acq. Data Name: peppermint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: E+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17,Area]];Correct Base[;Average(MS1)] 3.464,3.470
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:07:13 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

Time of Maximum: 3.468[min]

Operator Name: Accutof

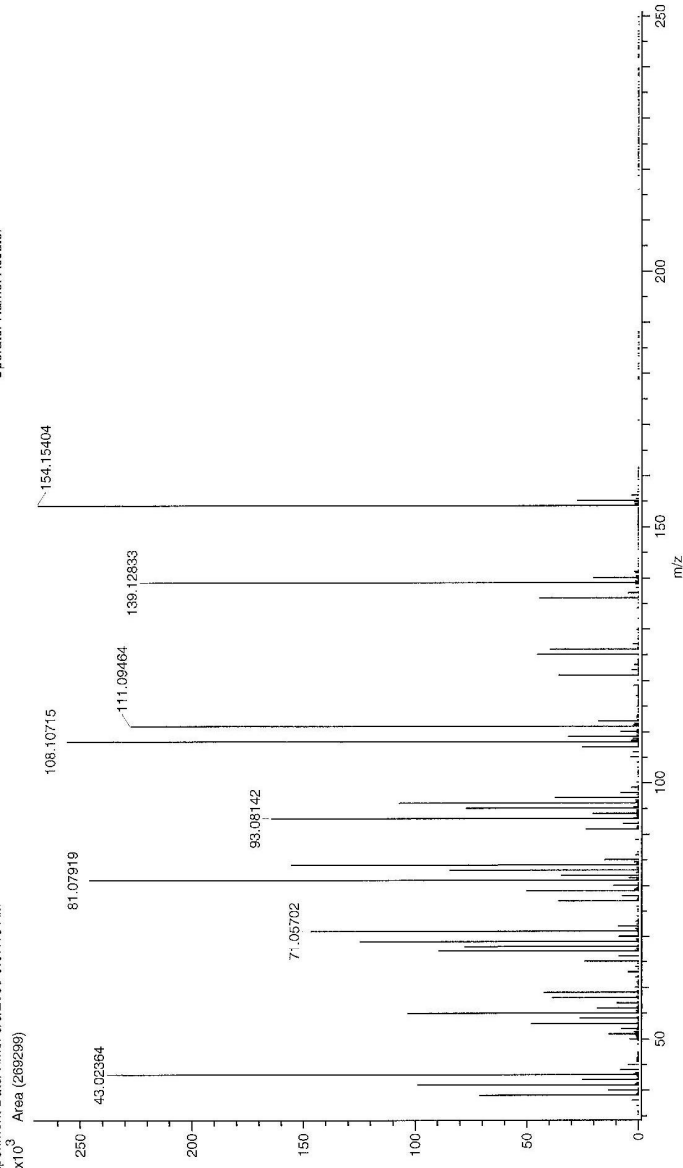


Acq. Data Name: peppermint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z/Peak Detect[Centroid,17_Area],Correct Base[Average(MS)[1 3.495, 3.501)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:07:13 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

Time of Maximum: 3.496[min]

Operator Name: Accutof

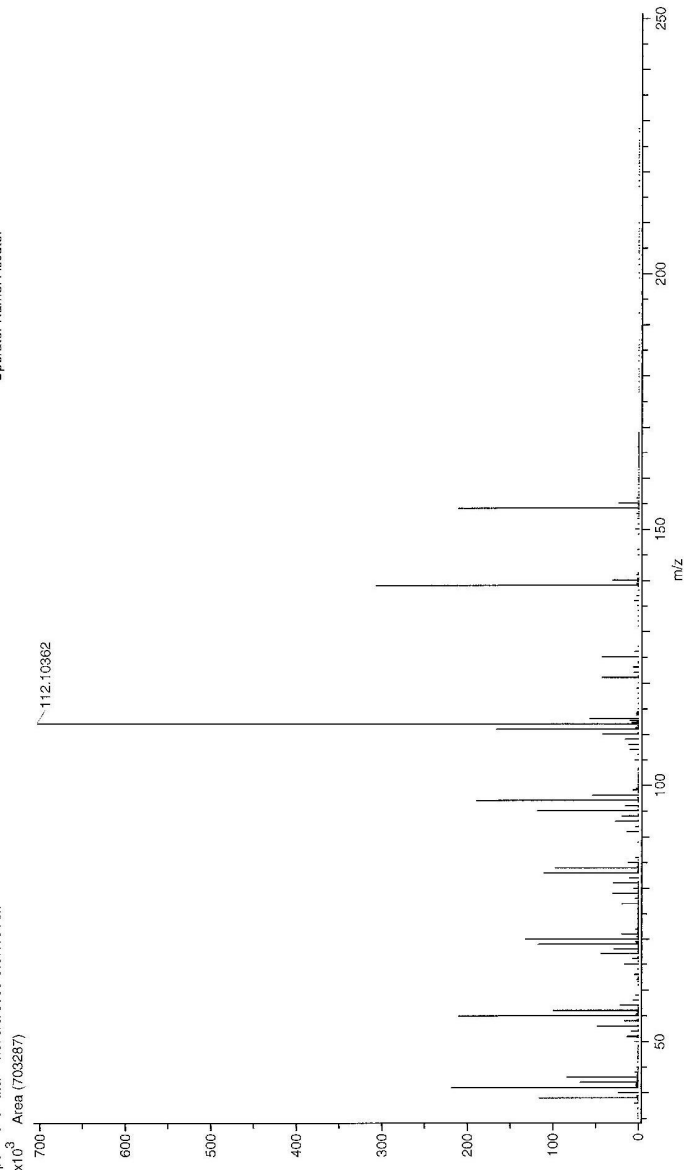


Acq. Data Name: peppermint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Acquired m/z Range: 35.0..250.0
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect][Centroid,17_Area][Correct Base][Average(MS)[1_4_315_4_332]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:07:13 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

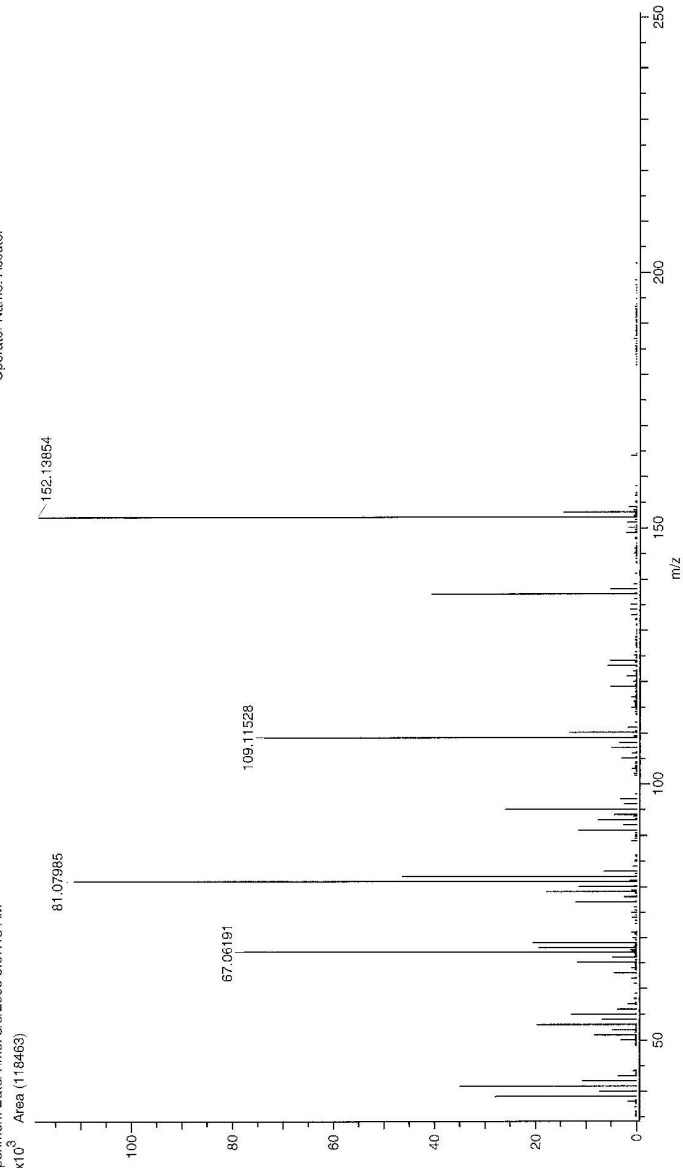
Time of Maximum: 4.322[min]

Operator Name: Accutof



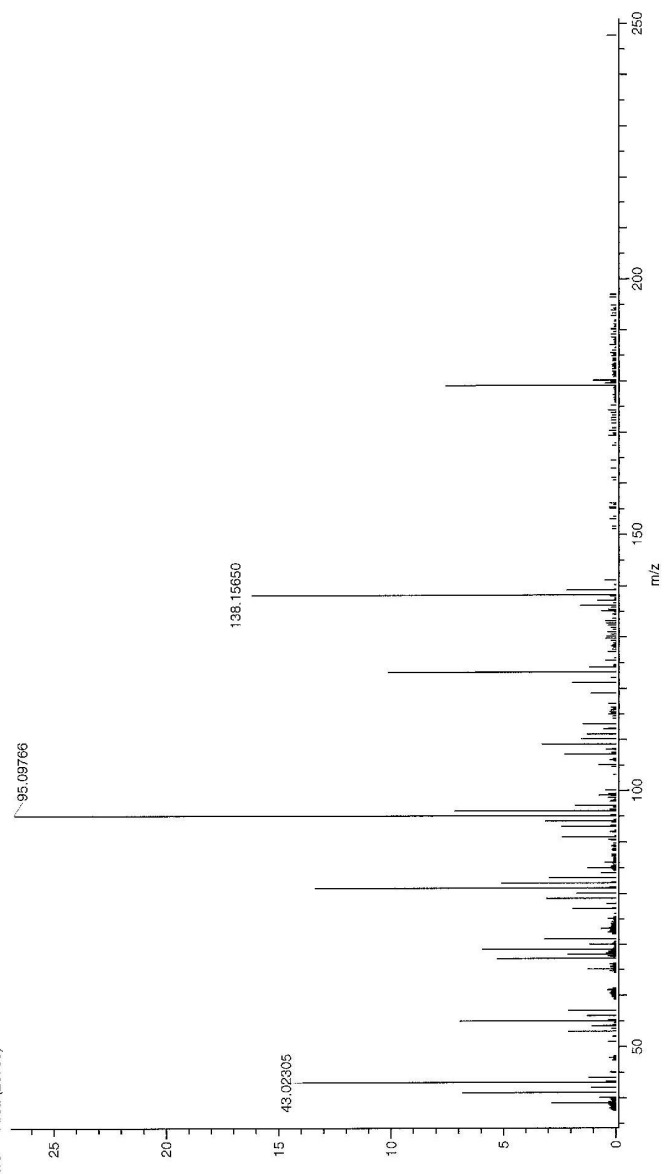
Acq. Data Name: peppermint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect [Controll, 17, Area]], Correct Base [Average (MS [1 4, 895, 4, 904])
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:07:13 AM
Operator Name: Acculof

Spec. Record Interval: 0.4 [s]
Time of Maximum: 4.902 [min]
Operator Name: Acculof

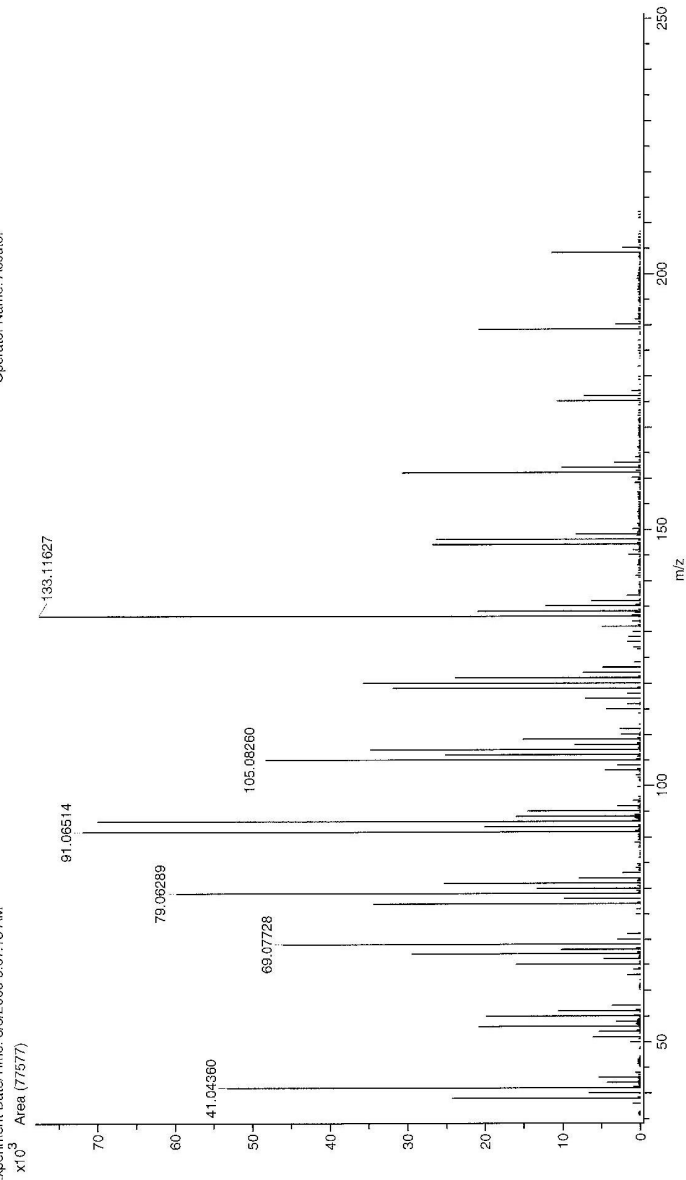


Acq. Data Name: peppermint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17,Area]],Correct Base[.Average(MS[1],5.537-.5554)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:07:13 AM
x10³ Area (26755)

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 5.548[min]
Operator Name: Accutof



Acq. Data Name: peppermint
Internal Sample ID:
Ionization Mode: ESI-
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect (Centroid, 17_Area)], Correct Base [Average (MS [16.874, 6.894])]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:07:13 AM
Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 6.894 [min]
Operator Name: Accutof

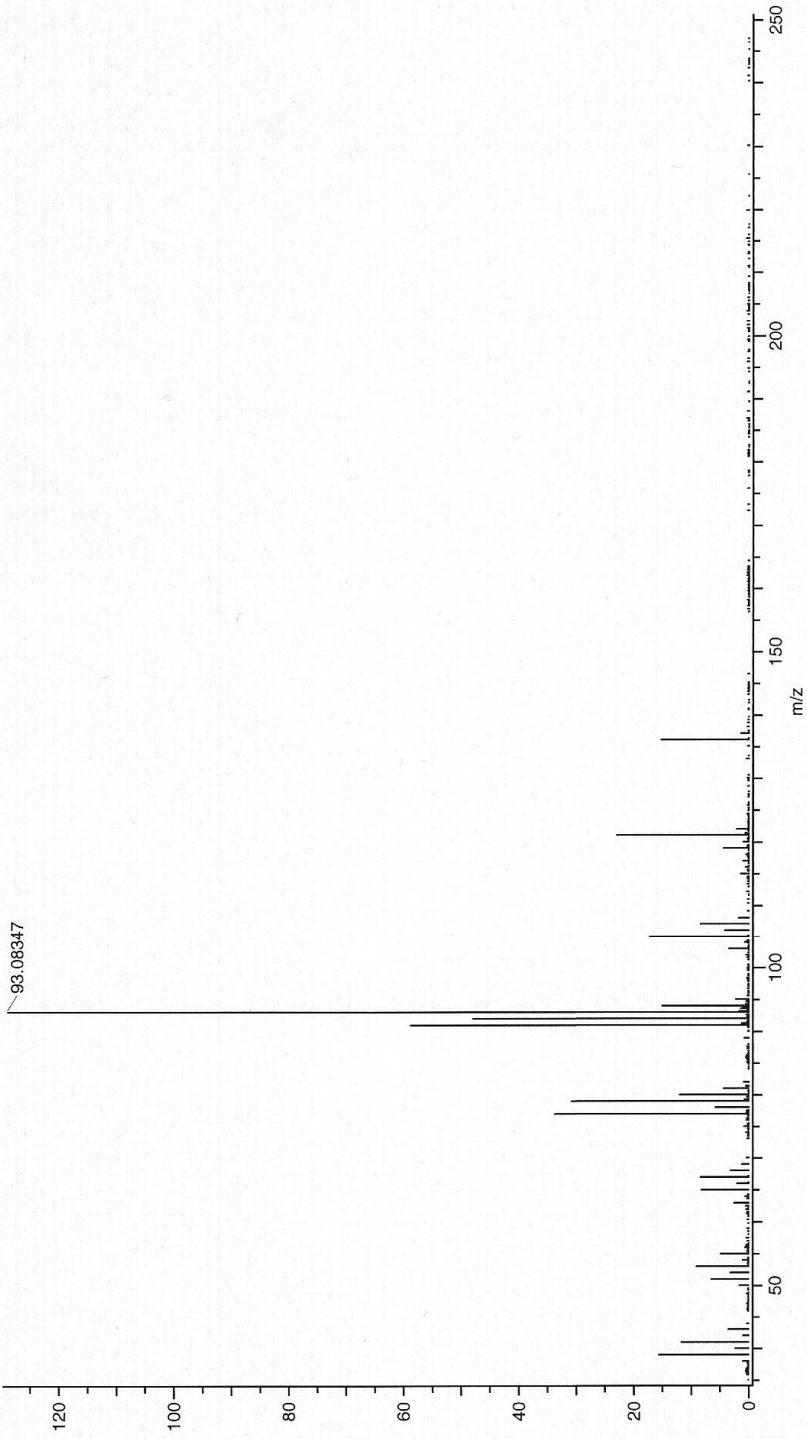


Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect(Centroid,17,Area)],Correct Base[],Average(MST)[2.914..2.919]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 2.916[min]
Operator Name: Accutof

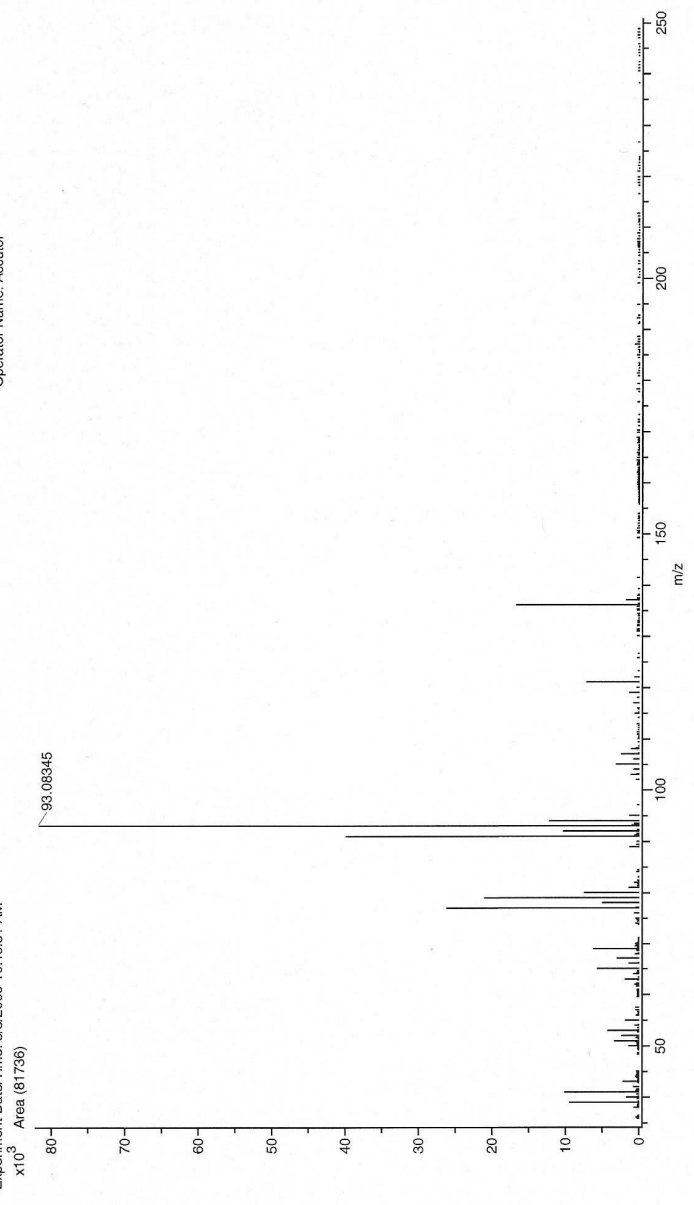
Acquired m/z Range: 35.0..250.0

x10³ Area (129008)



Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17,Area]],Correct Base[],Average[MS[1,3,115,.3,123]]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
Operator Name: Accutor

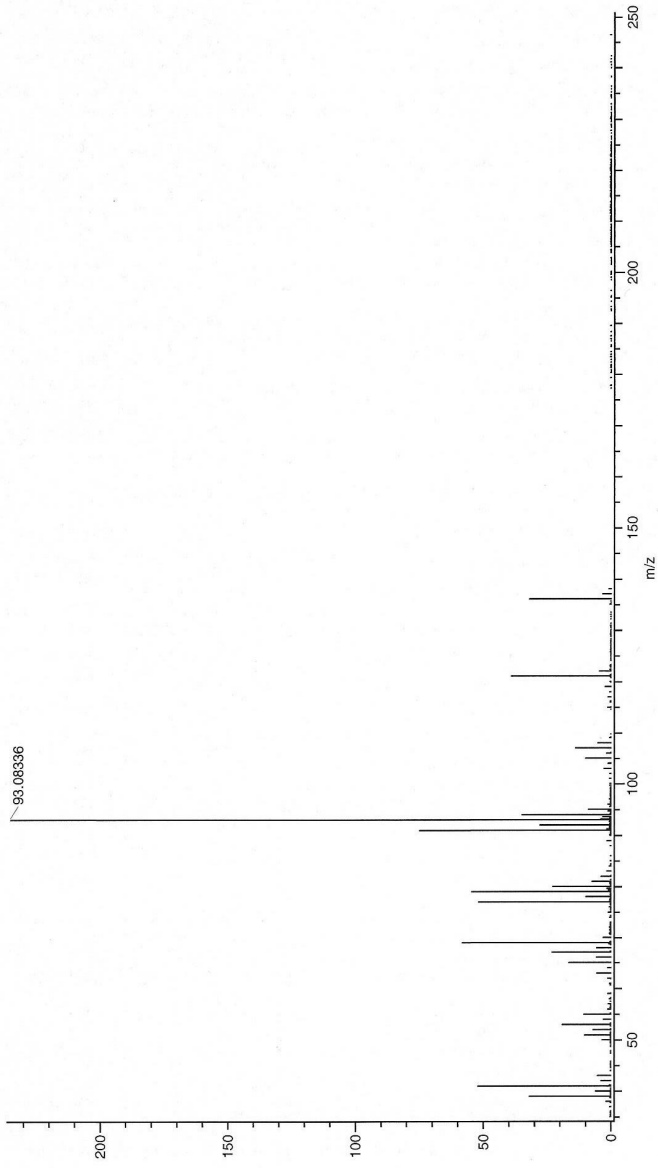
Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 3.122[min]
Operator Name: Accutor



Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17,Area]],Correct Base[;Average(MS[1]3.173..3.178)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
Operator Name: Accutor

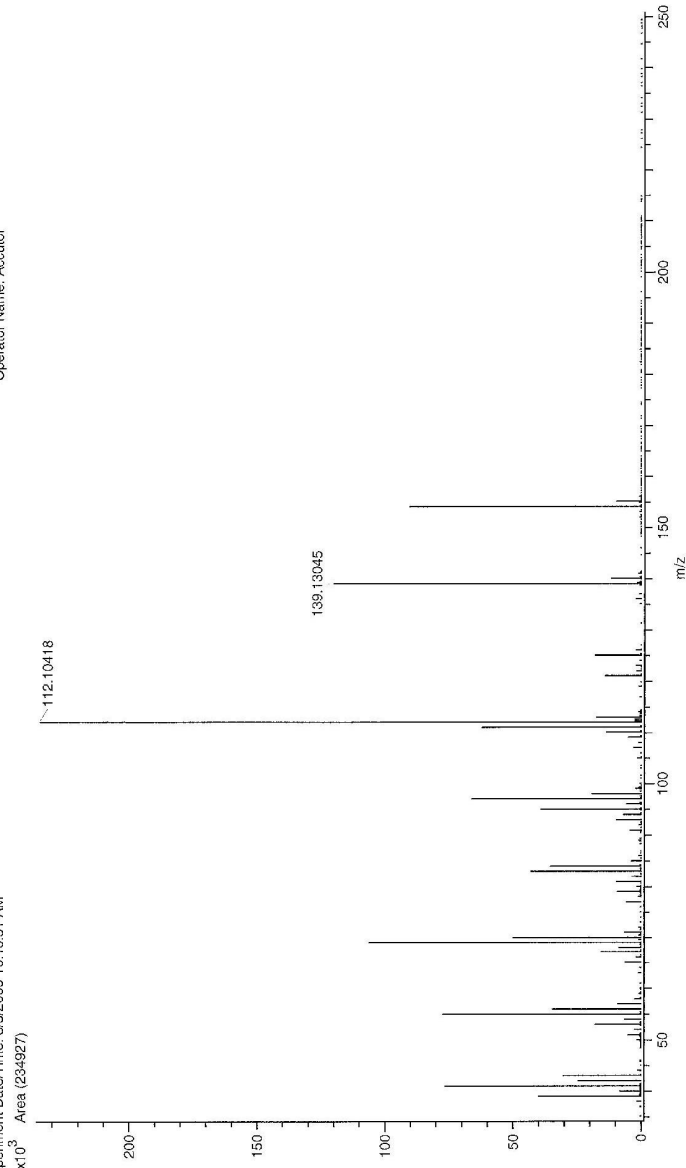
Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 3.175[min]

Acquired m/z Range: 35.0..250.0
x10³ Area (235209)



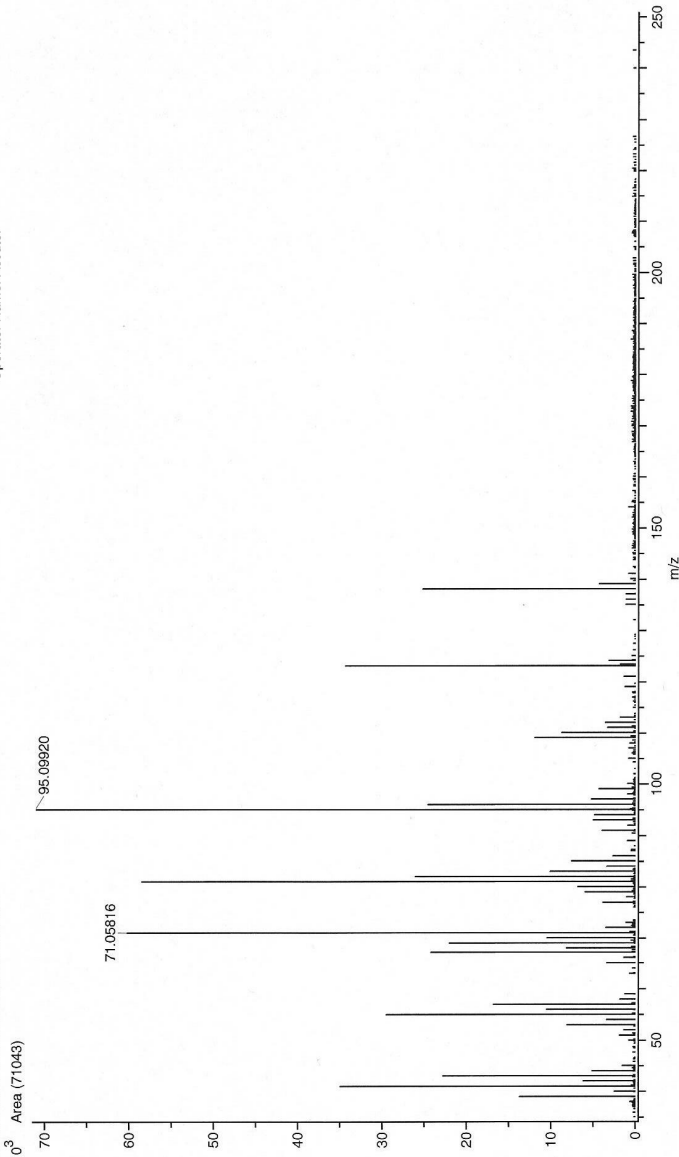
Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17_Area]],Correct Base[Average(MS[14,215..4,222])]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
Operator Name: Acculof

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 4.221[min]
Operator Name: Acculof



Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17,Area]],Correct Base[;Average(MS[1]4,383-4,389)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
x10³ Area (71043)

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 4.388[min]
Operator Name: Accutof

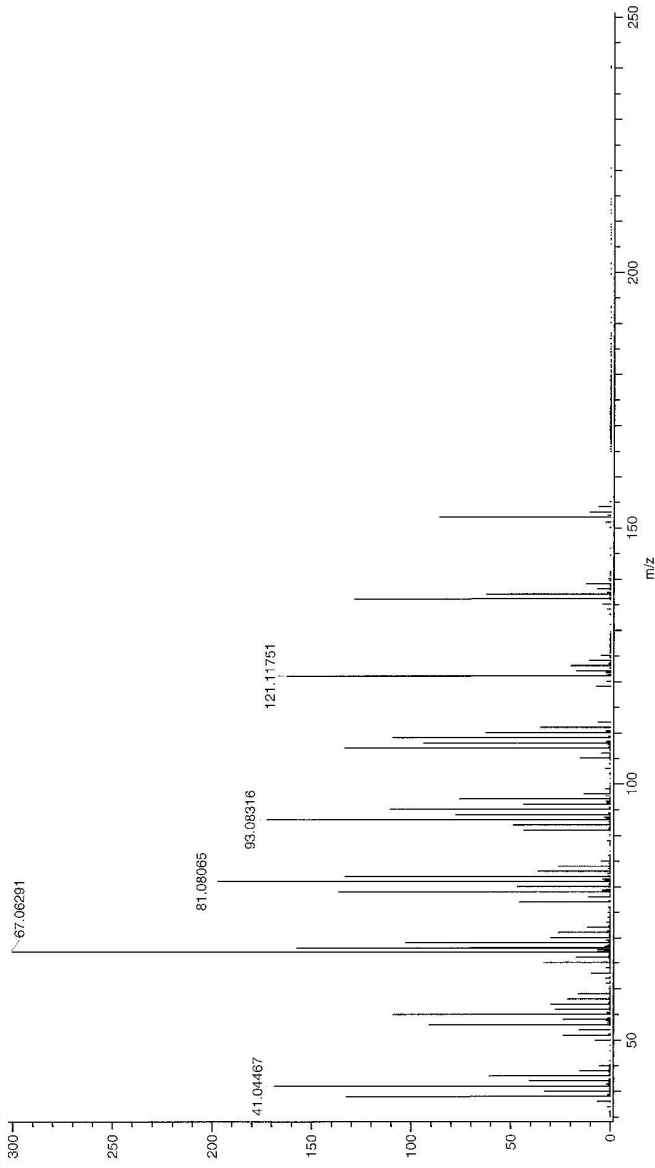


Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: E+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z/Peak Detect[Centroid], 17_Area[,Correct Base[,Average[MS[1], 4.525, 4.534)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
x10³ Area (300725)

Spec. Record Interval: 0.4[s]

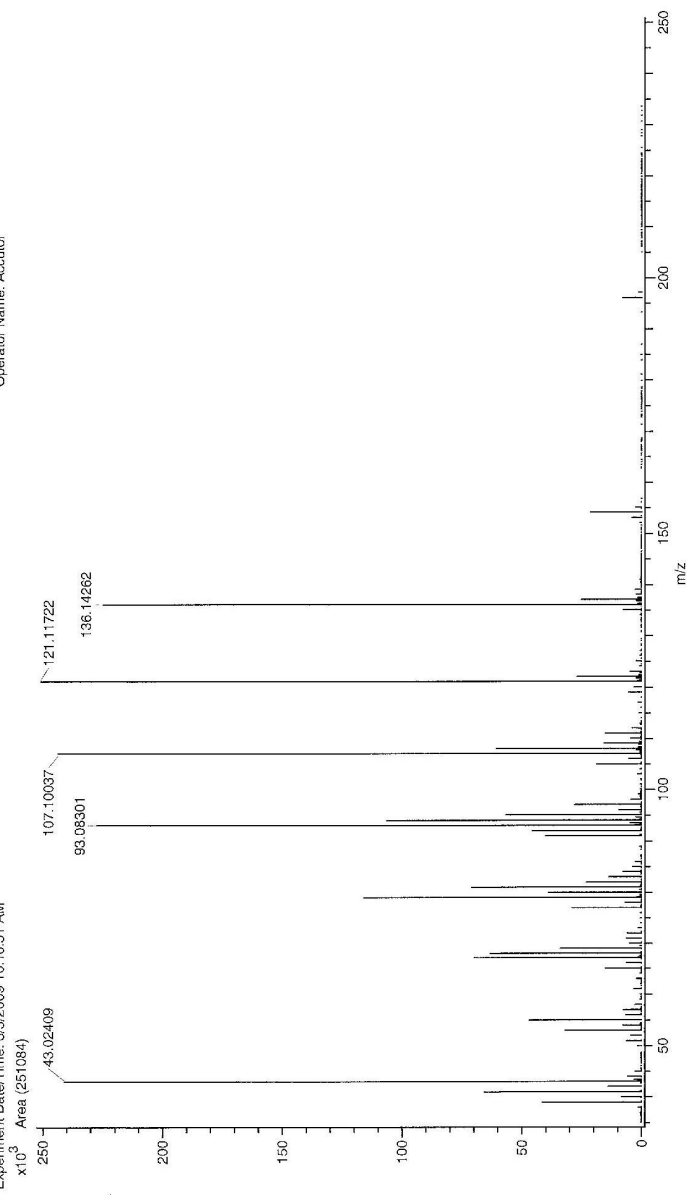
Time of Maximum: 4.528[min]

Operator Name: Accutor

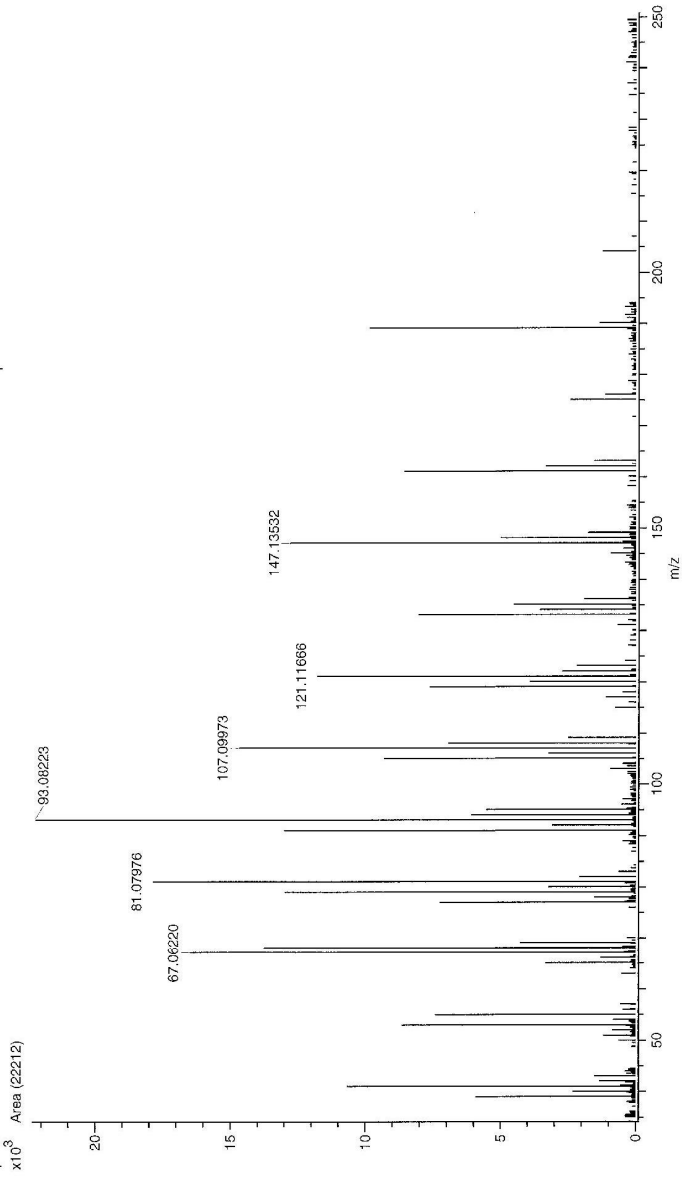


Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect][Centroid][17_Area][Correct Base][Average][MS][15_618_5_625]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 5.621 [min]
Operator Name: Accutof



Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Acquired m/z Range: 35.0..250.0
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect][Centroid];7_Ave[];Correct Base[];Average(MS[1];6.457;.8.464)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
Operator Name: Accutof

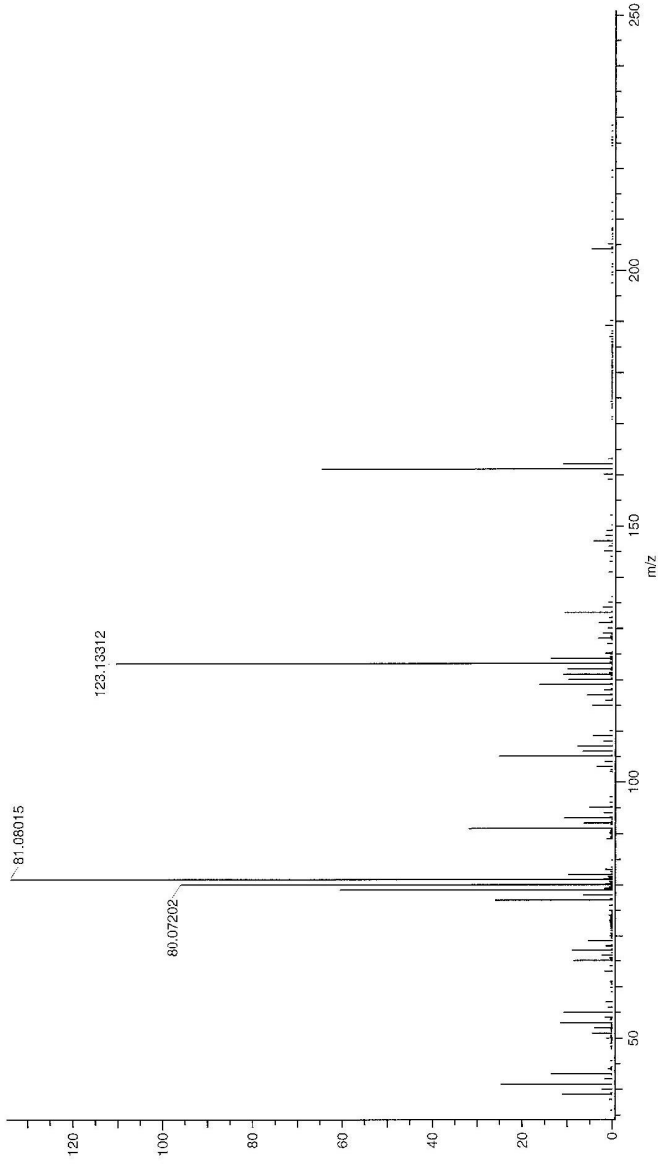


Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: E+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect][Centroid,17,Area][Correct Base][Average(MS[1,6,491...6,500])
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
x10³ Area (133909)

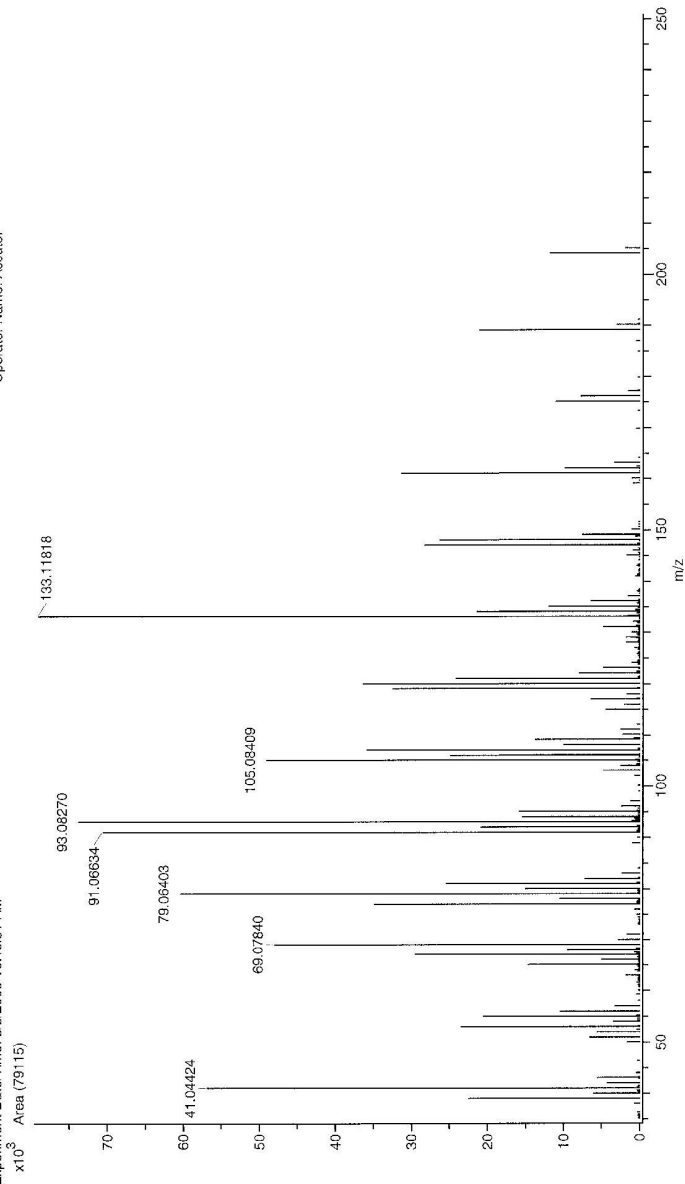
Spec. Record Interval: 0.4[s]

Time of Maximum: 6.493[min]

Operator Name: Accutorf

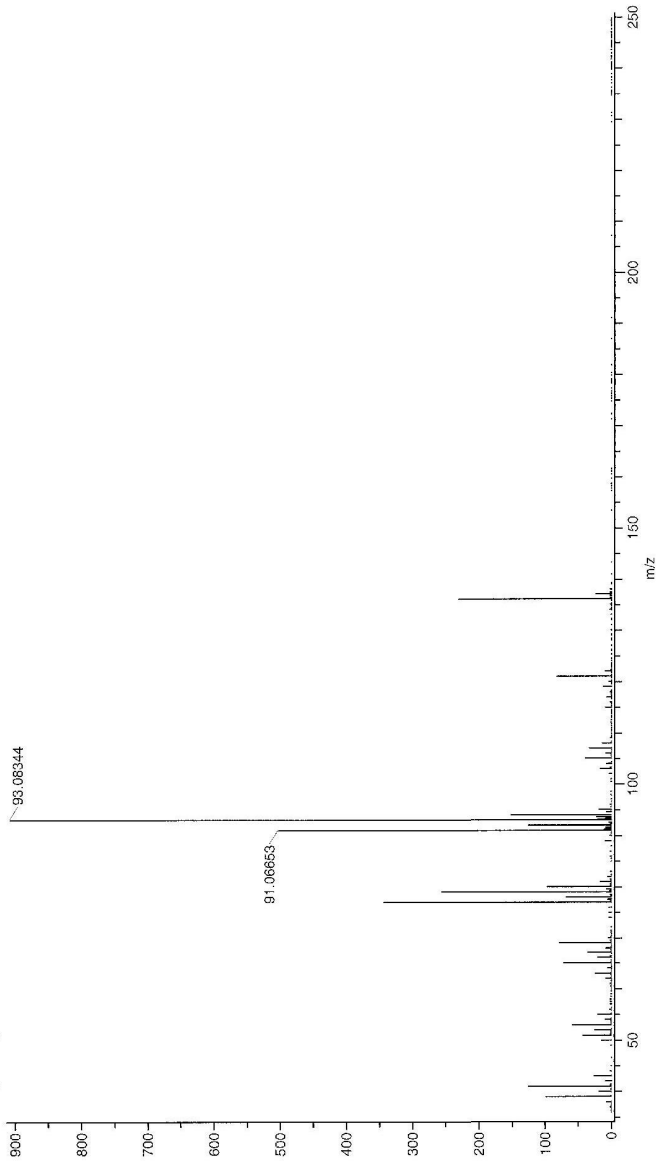


Acq. Data Name: Spearmint
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect][Centroid,17_Area][Correct Base][Average(MS)[1 6.872_6.880)]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 10:16:51 AM
Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 6.872[min]
Operator Name: Accutof



Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_80C
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect][Centroid, 17, Area][Correct Base][Average(MS[1] 3, 133, 3, 147)]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
x10³ Area (908530)

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 3.142[min]
Operator Name: Accutorf

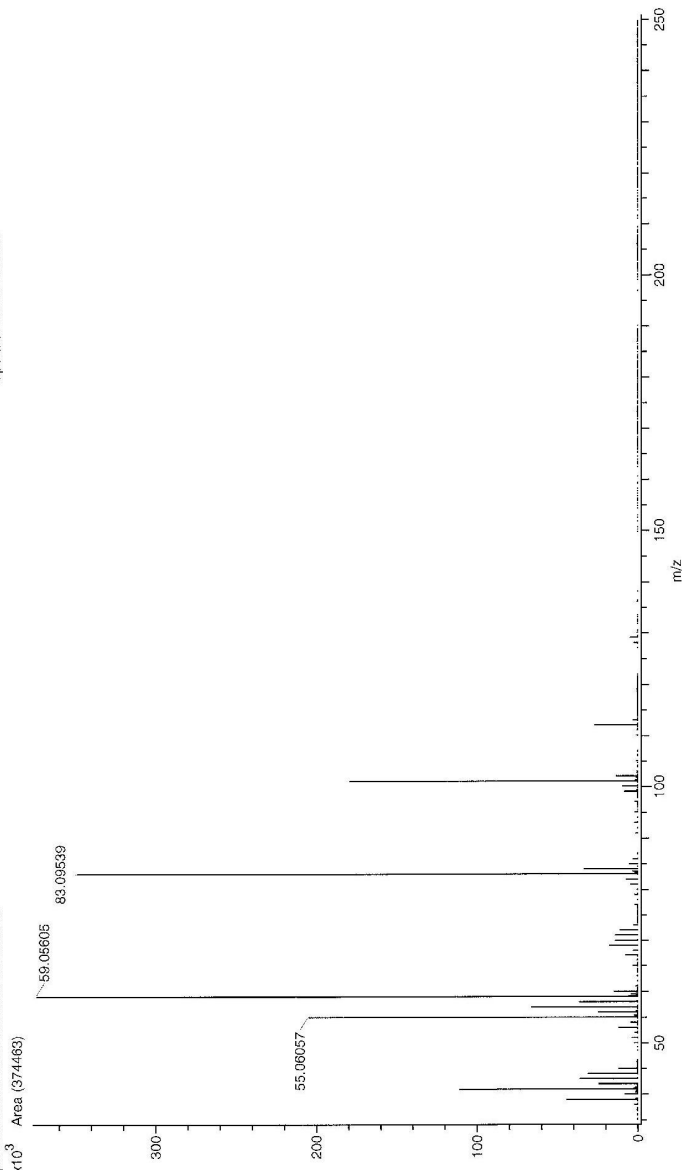


Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample ID:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17_Area]];Correct Base[;Average(MS[1] 3_161...3_166)
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
Operator Name: Acculof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

Time of Maximum: 3.162[min]

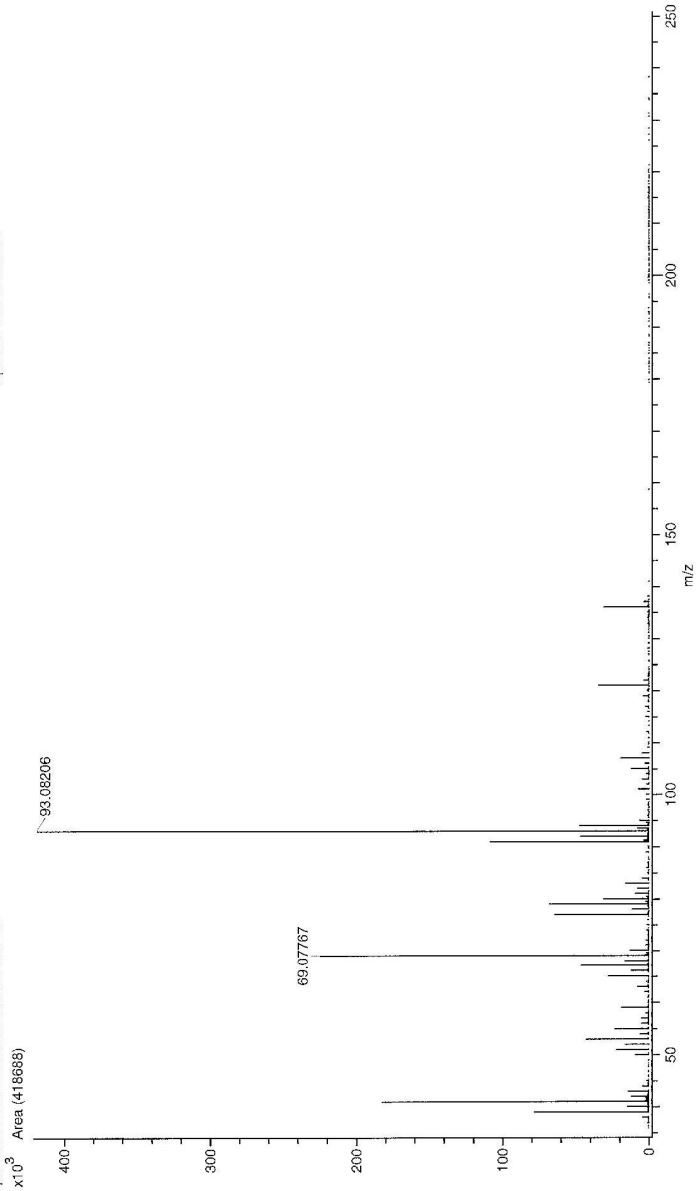
Operator Name: Acculof



Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z|Peak Detect|Centroid|17_Area|Correct Base|Average[MS][1] 3.177..3.184
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
x10³ Area (418688)

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 3.182[min]
Operator Name: Accutof

Acquired m/z Range: 35.0-250.0

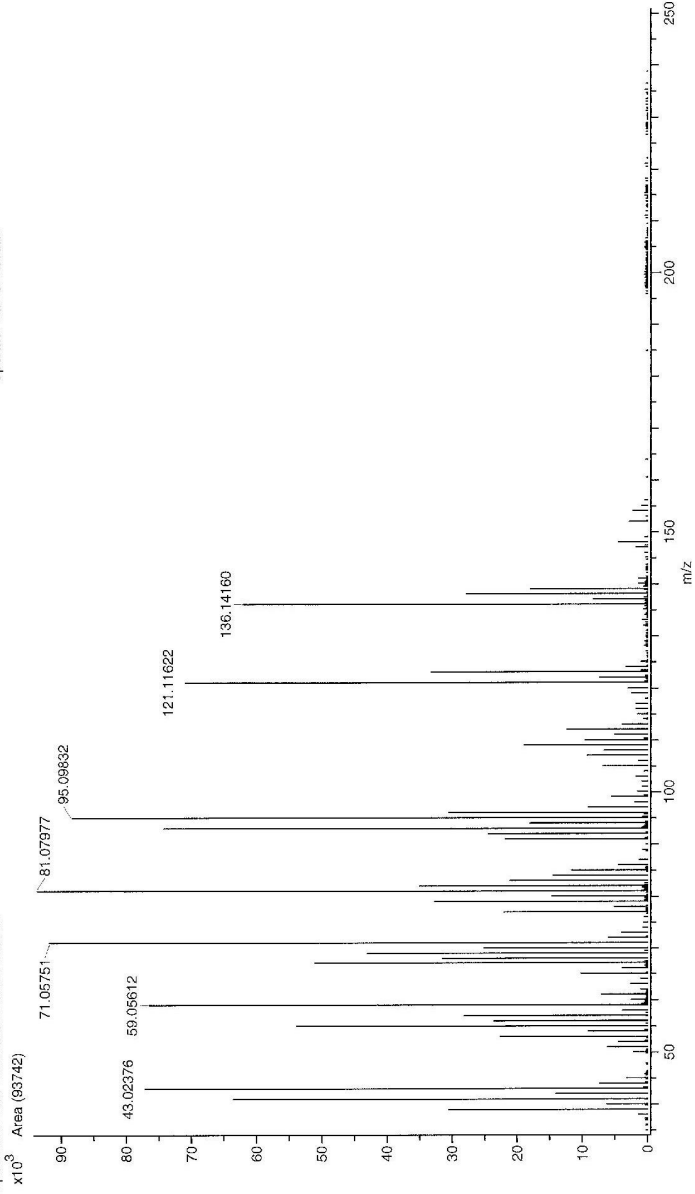


Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect] [Centroid, 1, 7, Area]; Correct Base; Average [MS] [4.530..4.541]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

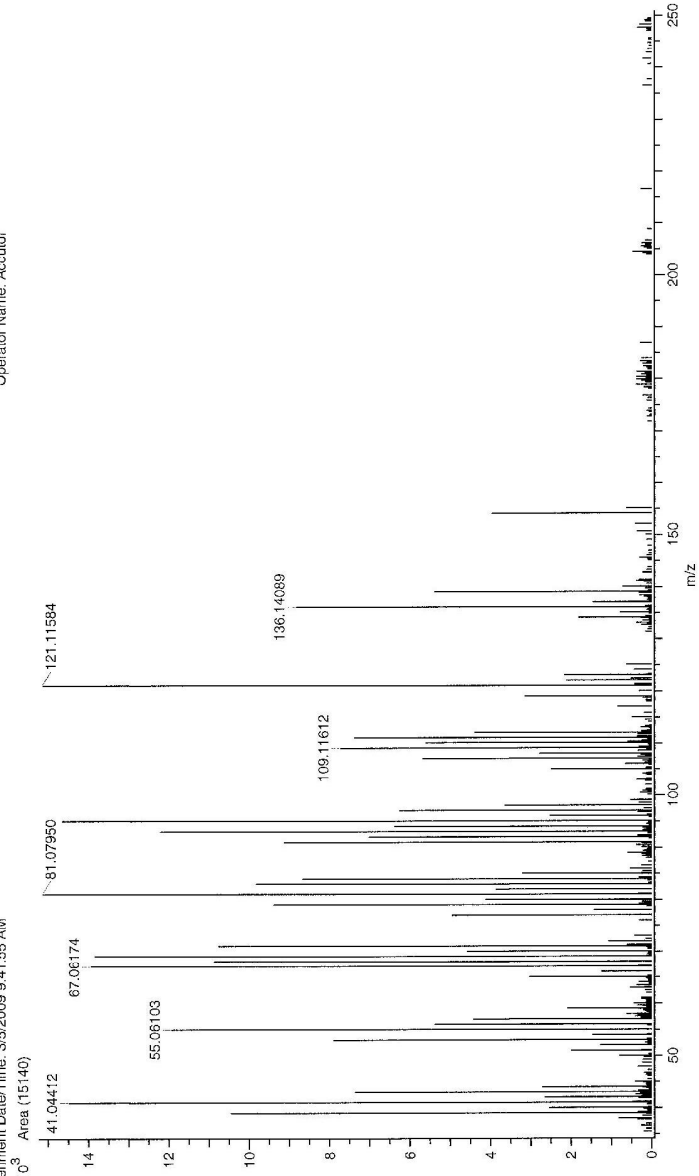
Time of Maximum: 4.534 [min]

Operator Name: Accutof



Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_80C
Reduction History: Determine m/z[Peak Detect[Centroid,17,Area]]; Correct Base[;Average(MS[1],4,197,4,206)]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
x10³ Area (15:140)

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 4.201 [min]
Operator Name: Acculof

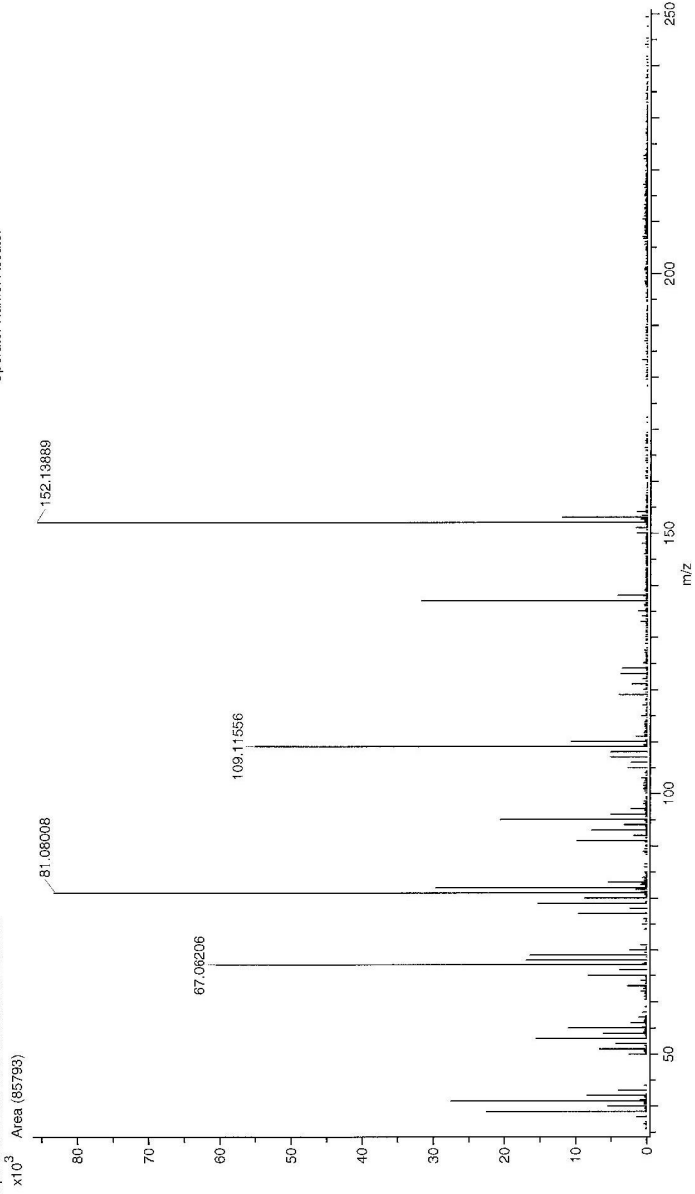


Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect (Centroid, 17, Area)], Correct Base [Average (MS [1.4897..4.899])]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

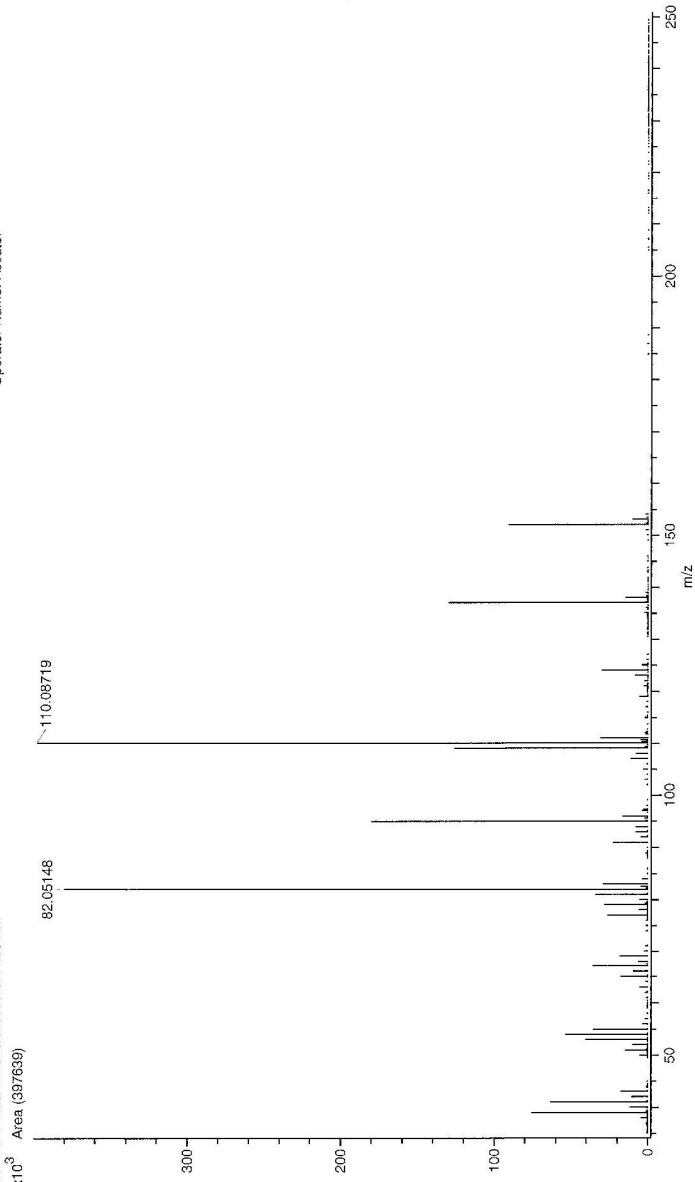
Time of Maximum: 5.354 [min]

Operator Name: Accutof



Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect] Correct Base [Average (MS)] 5.013...5.038
Experiment Date/Time: 3/5/2009 8:41:55 AM
x10³ Area: (397639)

Spec. Record Interval: 0.4[s]
Time of Maximum: 5.021 [min]
Operator Name: Accutof



Acq. Data Name: Peppermint Japan
Internal Sample Id:
Ionization Mode: EI+
MS Calibration Name: 20022008_800
Reduction History: Determine m/z [Peak Detect][Centroid,1.7,Area];Correct Base1;Average(MS)[1.5,336-.5,375]
Experiment Date/Time: 3/5/2009 9:41:55 AM
Operator Name: Accutof

Spec. Record Interval: 0.4[s]

Time of Maximum: 5.354 [min]

Operator Name: Accutof

