بررسی فیتوشیمیایی اسانس گیاه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

مرجان علی بخشی*[۱]، سیده‌خدیجه مهدوی[۲]، جلال محمودی[۳] و حسن قلیچ‌نیا[٤]

[۱]کارشناس‌ارشد، گروه مرتعداری، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

[۲و۳]استادیار، گروه منابع طبیعی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

[٤] عضو هیات‌علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/٦/۲٤

چکیده

در این تحقیق به‌منظور بررسی کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس گیاه دارویی سنبله بادکنکی (*Stachys inflata* L.)، سرشاخه‌های گلدار گیاه در اوایل خردادماه سال ۱۳۹۱ از سه رویشگاه مختلف استان مازندران جمع‌آوری و سپس در سایه خشک گردیدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) به‌مدت ٤ ساعت انجام شد. ترکیب‌های شیمیایی اسانس-ها با استفاده از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی گازی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) شناسایی شدند. بازده تولید اسانس سرشاخه‌های گلدار درویشگاه‌های مختلف از ۱,۳ تا ۲,۹ درصد بر حسب وزن سر شاخه‌های خشک گیاه متغیر بود و به‌ترتیب مواد موثره: ژرماکرن-دی (از ۸,۷ تا ٪۱٦/۹) و بی سیکلو ژرماکرن (از ۱۱,۲ تا ٪ ۱٦/٦) در هر سه رویشگاه از بیشترین میزان در اسانس برخوردار بودند که این تفاوت می‌تواند ناشی از شرایط مختلف اکولوژیکی مناطق مورد مطالعه باشد.

واژگان کلیدی: اسانس، ترکیب‌های شیمیایی، رویشگاه‌های مختلف استان مازندران، سنبله بادکنکی

*نویسنده مسئول: marjan_alibakhshi_marta@yahoo.com

مقدمه

طبیعت منبع غنی از ترکیب‌های دارویی می‌باشد که بخشی از آنها در گیاهان نهفته‌اند. امروزه در کشورهای در حال توسعه به‌دلیل بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، استفاده از داروهای گیاهی در درمان انواع بیماری‌ها و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در کارخانه‌های مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیب‌های فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت در حال انجام می‌باشد (Bagherzadeh, Pakravan, 1999). عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و نیز کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، اسانس‌ها و امثال آنها می‌گردد (Omidbaigi, 1995). به‌طورکلی اقلیم از مجموعه فاکتورهای ادافیکی (خاکی) و کلیماتیکی (آب و هوایی) تشکیل شده است که باید به نقش و تأثیر هر یک از آنها بر رشد و نمو، عملکرد و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی توجه داشت (Omidbaigi, 2010). گیاهان اسانس‌دار بخشی از گیاهان دارویی بوده که به لحاظ داشتن ترکیب‌های معطر از سایر گونه‌ها، متمایز می‌گردند. اکثر گیاهان این تیره معطرند و مورد چرای دام واقع نمی‌شوند، بنابراین ارزش علوفه‌ای بسیار کمی دارند و وجود بعضی از گیاهان این تیره در مراتع بیانگر سیر قهقرائی و تخریب مراتع می‌باشد (Moghadam,1998). جنس *Stachys* متعلق به تیره نعنا عبا حدود ٣٠٠ گونه در سراسر جهان رویشی وسیع و اثرات درمانی متعددی را در بر می‌گیرد. بیشترین پراکندگی این گیاه در اروپا و آمریکای شمالی می‌باشد. در آسیای میانه، آسیای جنوب شرقی همچنین خاورمیانه، گونه‌های متعددی از این گیاه دیده می‌شود (Seber Amoli et al., 2004). این جنس در ایران ٣٤ گونه دارد که ١٤ گونه آن انحصاری ایران است و به طور پراکنده در نقاط مختلف کشور می‌روید (Omidbaigh, 1999; Ghelichnia, 2000). گونه *Stachys inflata* در طب سنتی به "پولک " یا "گل ارغوان" مشهور است. عصاره‌های گرفته شده از سرشاخه‌های گیاه در طب سنتی ایران در عفونت، آسم، روماتولوژی و دیگر اختلالات التهابی بکار می‌رود (Maghol, 1992). سمنانی و سعیدی (٢٠٠٦) در بررسی ترکیب‌های شیمیایی اسانس گیاه *Stachys inflata* یافتند که ترکیب‌های اصلی موجود در این گونه عبارتند از: هگزادکونیک اسید (٩,١٪)، ژرماکرن-د (٨,٩٪)، آلفا-پینن (٥,٨٪) و بای سیکلو ژرماکرن (٥,١٪). بررسی‌های صورت گرفته به‌وسیله Skaltsa و همکران (٢٠٠٣) در مورد آنالیز اسانس هشت گونه از گیاهان جنس *Stachys* در یونان مشخص شد که هیدروکربن‌های سزکوئی‌ترپن بخش اصلی اسانس کلیه گونه‌های مورد مطالعه را تشکیل می‌دهند (Nabizadehasl et al., 2010). در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس دو کموتیپ گونه سنبله ارغوانی در رویشگاه‌های مختلف به این نتیجه رسیدند که بازده اسانس برای نمونه‌های دماوند-فیروزکوه و تبریز-زنجان به‌ترتیب ٠/١١ و ٠/١٤ درصد وزنی-وزنی به‌دست آمد و تعداد ٤٧ ترکیب از کل ترکیبات برای جمعیت دماوند-فیروزکوه شناسایی شد که معادل ٨٤/٩٨ درصد است و تعداد ٣٧ ترکیب نیز از کل ترکیبات برای جمعیت تبریز-زنجان شناسایی شد که معادل ٧٦/١٦ درصد است. ترکیبات عمده در اسانس جمعیت (دماوند-فیروزکوه) اسپاتونلول (١٠/٨٣٪)، هگزادکانول (٧/٢٠٪) وژرماکرن-دی (٧/١٥٪) بودند و در جمعیت جمع‌آوری شده از تبریز-زنجان مواد موثره سابینن (١٣/٢٥٪)، بتا-پینن (٦/٣١٪) و ژرماکرن-دی (٥/٣٪) گزارش شده است. لذا با توجه به تفاوت کمیت و کیفیت مواد موثره اسانس در رویشگاه‌های مختلف، این تحقیق با هدف بررسی و

شناسایی ترکیبات اسانس گونه مورد مطالعه در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف) خصوصیات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

موقعیت جغرافیایی و وضعیت منطقه بلده: بین موقعیت جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۶ دقیقه طول شرقی و ۳۶ درجه و ٤٧ دقیقه عرض شمالی قرار گرفته است. بارندگی در این منطقه از ۲۵۰ میلی‌متر تا ۷۰۰ میلی‌متر متغیر است. میانگین حداقل دما ۱۱/۱ درجه سانتی‌گراد و حداکثر دما ۲۰/۵ درجه سانتی‌گراد است. همچنین براساس روش آمپرژه، این منطقه دارای اقلیم خشک و سرد می‌باشد. ارتفاع بلده از سطح دریا ۹۱۵ متر و شیب منطقه ١٦(٪) و نمونه‌برداری از شیب جنوبی آن انجام شده است، همچنین بر اساس مشاهدات صحرایی، بوته‌های سنبله‌ای بادکنکی در منطقه بلده بلندتر و سبز تر و برگها بزرگتر و طول ساقه‌های گلدار بیشتر و رنگ گل‌ها بنفش تیره بوده و همچنین تراکم بوته‌ها در این منطقه بیشتر از مناطق واوسر و برنت می‌باشد.

موقعیت جغرافیایی و وضعیت منطقه واوسر: روستای واوسر شمالی‌ترین منطقه استان سمنان در موقعیت جغرافیایی ۳٦ درجه و ۵ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و درموقعیت ۵۳ درجه و ۳۳ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار مبدا «گرینویچ» قرار گرفته است. در ارتفاعات پایین، متوسط مجموع بارندگی سالانه ۸۳۰ میلی‌متر و در ارتفاعات بالا ۷۵۰ میلی‌متر است. بر اساس روش آمبرژه اقلیم منطقه واوسر نیمه مرطوب سرد می‌باشد. خاک منطقه دارای بافت سبک یا نسبتاً سنگین بوده و میزان ماده آلی کم تا متوسط می‌باشد. ارتفاع واوسر از سطح دریا ۹۱۹ متر و شیب منطقه ۳۸ (٪) و نمونه‌برداری از شیب غربی آن انجام شده است.

موقعیت جغرافیایی و وضعیت منطقه برنت: روستای برنت در بخش مرکزی استان مازندران در دامنه شمالی کوه‌های البرز مرکزی در بین عرض جغرافیائی ۳۵ درجه و ٤٩ دقیقه تا ۳٦ درجه و ۲۳ دقیقه نیمکره شمالی و در بین طول جغرافیائی ۵۲ درجه و ۳۹ دقیقه تا ۵۳ درجه و١٤ دقیقه نیمکره شرقی واقع شده است. اقلیم این منطقه معتدل سرد کوهستانی می‌باشد. متوسط بارندگی سالیانه آن ٦٧٠ میلی‌متر می‌باشد. خاک این منطقه دارای بافت سیلتی لومی است. عمق خاک از کم عمق تا نیمه عمیق متغیر است. این روستا از شمال به شهرستان قائمشهر، از جنوب به سلسله جبال البرز و فیروزکوه، از شرق به شهرستان ساری و از غرب به شهرستان بابل محدود می‌شود. ارتفاع برنت از سطح دریا ۱۲۷۳ متر و شیب منطقه ۲ (٪) و نمونه‌برداری از شیب جنوبی آن انجام شده است.

نمونه برداری: برای جمع‌آوری اطلاعات مورد نیاز در تحقیق حاضر، بعد از بازدیدهای مقدماتی و استفاده از نقشه توپوگرافی مقیاس ۱:۵۰۰۰۰ سه منطقه واوسر، بلده و برنت، با توجه به غنی بودن از این گیاه ارزشمند جهت مشاهده و بررسی، انتخاب شد. با توجه به حضور و فراوانی گونه مورد مطالعه در هر رویشگاه، توده معرف انتخاب شد. نمونه برداری از سرشاخه‌های گلدار گونه *Stachys inflata* در اوایل خردادماه در داخل توده‌های معرف هر منطقه هنگامی که گیاه در مرحله فنولوژیکی حداکثر گلدهی (Azarnivand et al., 2010) بود از سه نقطه به روش تصادفی (Azarnivand et al., 2010) انجام شد سپس اندامهای هوایی برداشت شده در هر منطقه با هم مخلوط شد و نمونه‌ها در داخل پاکت ریخته و روی هر پاکت اطلاعات کامل محل برداشت گیاه، ثبت شد.

بررسی خاک شناسی: به منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و ارتباط آن با کمیت و کیفیت اسانس گیاه در هنگام برداشت مواد گیاهی، از

هر نقطه برداشت گیاه در هر منطقه، خاک پای ریشه توده گیاهی نیز از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری (Azarnivand et al., 2010) جمع‌آوری شد. نمونه خاک‌ها برای انجام آزمایش‌های خاک‌شناسی به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های پس از خشک شدن در هوای آزاد، ابتدا توسط هاون چینی کوبیده و کلوخه‌های آن خرد و سپس از الک دو میلی‌متری (Jafari Haghighi, 2003) عبور داده شد و برای انجام آزمایشات آماده شد و تجزیه‌های آزمایشگاهی به شرح زیر انجام شد:

کربن آلی: با استفاده از روش والکی بلاک بر پایه اکسیداسیون مواد آلی انجام شد.

بافت خاک: با استفاده از روش هیدرومتری که معمولترین روش جهت تعیین بافت خاک است و به‌دلیل استفاده از هیدرومتر بایکاس به این نام خوانده می‌شود، انجام شد.

برای اندازه گیری ازت: از روش کجدال در سه مرحله هضم و تقطیر و تیتراسیون استفاده شد. مقدار **فسفر:** مقدار (برحسب ppm) با دستگاه اسپکتروفوتومتر تعیین شد.

پتاسیم: از روش استات آمونیوم بدین صورت که از عصاره‌گیری با استات آمونیوم یک مولار با pH برابر ۷ استفاده شد.

pH یا اسیدیته: بر اساس تهیه عصاره اشباع به روش پتانسیومتری و با استفاده از دستگاه pH متر تعیین شد. هدایت الکتریکی نیز با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی در نمونه‌های عصاره‌گیری شده اندازه‌گیری شد (Jafari Haghighi, 2003).

روش استخراج اسانس: سرشاخه‌های گلدار گیاه جمع آوری در سایه خشک و دردمای مناسب در پاکت‌های کاغذی نگه داری و جهت تعیین بازده و آنالیز مواد موثره اسانس گیاه به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ماده گیاهی خشک شده توسط آسیاب برقی خرد شد و ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده پس از توزین جهت استخراج اسانس به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر (Maleki et al., 2001) اسانس‌گیری شد.

روش‌های تجزیه دستگاهی

دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC): گاز کروماتوگراف شیمادزو سری 9A ساخت کشور ژاپن، دارای ستون مویینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرونو با نام تجارتی DB-5 بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه٦۰ درجه سانتیگراد شروع شده و در هر دقیقه ۳ درجه سانتی‌گراد به آن افزوده میشد تا به دمای۲۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسید. سپس دما با سرعت۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافته و در دمای۲٤۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸/۵ دقیقه متوقف می‌شد. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۸۰درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت آشکارساز۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. آشکارساز مورد استفاده در دستگاه کروماتوگرافی گازی از نوع FID (آشکارسازی و نیزاسیون شعلهای) بود که از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد و فشار ورودی آن به ستون برابر ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع تنظیم شد.

دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS): از گازکروماتوگرافواریان۳٤۰۰ متصل شده به طیف سنج جرمی (Saturn II, GC/MS) استفاده شد. ستون مورد استفاده از نوع DB-5 به طول۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرو نبود .برنامه ریزی حرارتی از۵۰ تا۲٤۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه، درجه حرارت محفظه تزریق۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و درجه حرارت ترانسفر لاین۲٦۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از گاز هلیم به‌عنوان گاز حامل

مورد استفاده قرار گرفته است. سرعت گاز هلیم ۳۱/۵ سانتی‌متر بر ثانیه، دتکتورتله یونی (Ion trap)، انرژی و نیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت، زمان اسکن برابر یک ثانیه و ناحیه جرمی از ٤۰ تا ۳۰۰ بوده است.

شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها صورت گرفت و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های صورت گرفته با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهندها سانس‌ها با توجه به سطح زیرمنحنی آن در طیف کروماتوگرام بدست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کواتس منتشر شده، مقایسه گردید (Flamini et al., 2004; Skaltsa et al., 2003).

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز ترکیب‌های خاک سه رویشگاه در جدول (۱) آورده شده است. بازده متوسط تولید اسانس توسط سرشاخه‌های گلدار گیاه *Stachys inflata* در هر منطقه بر حسب وزن اسانس در ۱۰۰ گرم سرشاخه خشک در هر تکرار، به‌ترتیب ۲/۹ درصد (رویشگاه بلده)، ۱/۳ درصد (رویشگاه برنت)، ۱/۵ درصد (رویشگاه واوسر) تعیین گردید. در مجموع در اسانس بلده، واوسر و برنت به‌ترتیب ۳٤، ۳۲ و ۳۳ ترکیب شناسایی شد که در جدول (۲) آورده شده‌اند، همچنین نمودار کروماتوگراف اسانس هر سه رویشگاه در شکل‌های ۲ تا ٤ آورده شده است. ترکیب‌های شناسایی شده از رویشگاه بلده ۹٦/۷ درصد، از رویشگاه واوسر ۹۵/٦ درصد و از رویشگاه برنت ۹۹/٦ درصد از اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند. عمده‌ترین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گیاه (همانطور که در جدول (۳) مشخص شده است در سه منطقه عبارت بودند از: شش ترکیب ژرماکرن-دی (۱٦/۹ درصد)، بایسیکلو ژرماکرن (۱٦/٦ درصد)، آلفا-پینن (۱۱/۳ درصد)، بتا-فلاندر (۹/۸٪)، بایسیکلومن (٦/٦٪) و بتا-پینن (۵/٦٪) از رویشگاه بلده؛ چهار ترکیب ژرماکرن-دی (۸/۷٪)، بایسیکلو ژرماکرن (۱۱/۲ ٪)، آلفا-پینن (٤/۵٪) و اسپاتولنول (۳/۱ ٪) از رویشگاه واوسر و سه ترکیب ژرماکرن-دی (۱٦/۱٪)، بایسیکلو ژرماکرن (۱٦/۲٪) و بایسیکلومن (۱۵/۷٪) از رویشگاه برنت بوده و سایر ترکیب‌ها کمتر از ۲/۲۹ درصد اجزای اسانس را تشکیل می‌دهند. مقایسه درصد ترکیب‌های مشترک موجود در اسانس سه منطقه نیز در جدول (٤) آورده شده است.

بحث

در جدول ۱ به‌طور اجمالی شرایط رویشگاهی این گونه در ۳ رویشگاه مورد مطالعه نشان داده شده است تا به‌طور واضح‌تری رویشگاه‌های مختلف این گونه با هم مقایسه شود. با توجه به جدول فوق‌الذکر: گونه مورد مطالعه در ارتفاعی بین ۹۰۰ تا ۱۳۰۰ متر از سطح دریا پراکنش دارد. این گونه درشیب‌های جنوبی و غربی گسترش دارد. در خاک‌های شنی لومی با اسیدیته بین ٦/۵ تا ۷ و هدایت‌الکتریکی بین ۰/٤۵ تا ۰/۷۵ گسترش دارد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده، از میان سه رویشگاه طبیعی، رویشگاه بلده بیشترین درصد بازده اسانس (۲/۹٪) را دارد. این رویشگاه در ارتفاع کمتری از سطح دریا (۹۱۵ متر) نسبت به دو رویشگاه واوسر (۹۱۹ متر) و برنت (۱۲۷۳ متر) قرار دارد. با توجه به این که هر سه منطقه در یک زمان نمونه‌برداری

صورت گرفته است. تفاوت در نوع و درصد اجزای متشکله اسانس می‌تواند ناشی از تاثیر عوامل مختلف اکولوژیک مثل بارندگی، نوع خاک و ارتفاع از سطح دریا باشد. تاثیر عواملی نظیر ارتفاع و اقلیم سبب شده که در رویشگاه بلده گونه مذکور دارای برگ‌های بزرگتر و متراکم و تعداد گل‌های بیشتری نسبت به دو رویشگاه دیگر داشته باشد. در نتیجه کمیت و کیفیت اسانس افزایش یافته است که با نتایج Corticchiato, et al., 1998; Jayman and Rezai, 2006 مطابقت دارد. از لحاظ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، تفاوت‌هایی هم از نظر کمی و هم از نظر کیفی با یکدیگر دارند، به‌طوری‌که در نمونه اسانس بلده میزانژرماکرن-دی (١٦/٩) و بی سیکلوژرماکرن (١٦/٦) بیشتر از دو منطقه دیگر به‌ترتیب واوسر (٨/٧٪ و ١١/٢) و برنت (١٦/١٪ و ١٦/٢٪) بوده است، همچنین میزان آلفاپینن در رویشگاه بلده (١١/٣٪) و در واوسر ٤/٥٪ می‌باشد این در حالی است که این ترکیب در رویشگاه برنت دیده نشده است. همچنین ترکیب بی سیکلولومن در رویشگاه برنت با ١٥/٧٪ وجود داشته در حالی که در دو رویشگاه دیگر وجود نداشت (جدول ٢ و ٣). Rezazadeh و همکاران (٢٠٠٦) روی ترکیبات عمده گونه *S. Athorecalyx* مطالعه انجام دادند که ترکیبات عمده آن را spathulenol، α-pinene، β-pinene، linalool، α-terpinol است. Moshefi و همکاران (٢٠٠٩) روی ترکیبات گونه *S.acerosa* بررسی انجام دادند که ترکیبات عمده آن شامل *cis*-chrysanthenyl acetate، oxide caryophyllen، β-caryophyllene، caryophyllen oxide، linalool -(-)-spathulenol است (Nabizadehasl et al., 2010). ترکیبات عمده در اسانس جمعیت (دماوند-فیروزکوه) spathulenol، hexadecanol و germacrene بودند و در جمعیت جمع‌آوری شده از تبریز-زنجان sabinene، β -pinene و germacrene D بودند و نیز نتایج حاصل از مطالعات (Semnani saidi., 2006) بر روی گونه *Stachys inflata* نشان داد که از نظر اجزای تشکیل دهنده اسانس، ژرماکرن-دی و بایسیکلوژرماکرن از اجزای عمده اسانس مناطق مورد مطالعه بوده که با اجزای عمده اسانس نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش (جدول٣)، مطابقت دارد.

ژرماکرن یک کلاس از هیدروکربن‌های آلی فرار، به‌طور خاص، ترپن‌ها هستند. ژرماکرن معمولاً در تعدادی از گونه‌های گیاهی با خواص ضدمیکروبی و حشره‌کشی را ایفا می‌کنند. دو مولکول برجسته شامل دی ژرماکرن و ژرماکرن هستند. همچنین ژر ماکرن دی نقش یک پیش ماده را در سزکوئی ترپن‌های مختلف بازی می‌کند (Bülow, König, 2000; Telascrea et al., 2007).

آلفا-پینن جزء دسته موترپن‌های دوحلقه‌ایی که در صنعت اسانس به‌عنوان ترکیبات پایه‌ائی اترهای روغنی به‌شمار می‌آید. اگر چه در دهه ٨٠ میلادی قرن گذشته سنتز شیمیائی آلفا-پینن با موفقیت صورت گرفته است اما طبیعی بود نااینمونوترپن با خواص ویژه بیشتر مورد نیاز صنعت اسانس می‌باشد. آلفا-پینن ایزومری که در واکنش‌های متعددی از قبیل ایزومریزاسیون، اکسیداسیون، هیدراسیون، استیلاسیون و غیره به کار می‌رود و در تهیه ترپنویدهای زیادی مانند اوسیمن، ترپینولن، ترپینن هیدرات، ترپینولو کامفور مورد استفاده قرار می‌گیرند. ترکیبی که در ساخت فرآورده‌های صنعتی فراوانی از قبیل صابون، آرم، عطر، بخور، پاک آننده‌ها، چسب، داروهای ضدعفونی‌کننده، حشره‌کش‌ها، چرم و حلال‌ها و... بکار می‌رود (Jokarkashi et al., 2005). آلفا پینن با فرومول $C_{10}H_{16}$ در طبیعت به‌صورت ایزومرهای مختلف وجود دارد. آلفا-پینن در آب نامحلول و در الکل، کلروفرمواتر محلول است. آلفا-پینن خالص را

می‌توان با تقطیر روغن‌های تربانتین تهیه کرد. این ترکیب باعث افزایش عطر و بودر تولیدات صنعتی می‌شود.

بی سیکلوژرماکرن با فرمول $C_{15}H_{24}$ اسم آنزیمی با نام سیستمی (2E,6E)-farnesyl-diphosphate bicyclogermacrene-forming diphosphate-lyase است (Crocoll et al., 2010). اولین بار در سال ۱۹۶۹ از اسانس گیاه به نام *Citrans junos* استخراج و از ان موقع به بعد به‌عنوان یک ترکیب در سایر گیاهان شناسایی شد. این ماده همچنین در ساخت سایر سزکوئی ترپن‌ها که شامل دی متیل سیکلو ترپنن است به کار می‌رود (John Gregory, 1987).

با توجه به اینکه تمام شرایط انتخاب نمونه‌ها، خشک شدن، استخراج اسانس و شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس برای نمونه‌های هر سه رویشگاه یکسان در نظر گرفته شد، تفاوت موجود در نوع و درصد اجزای متشکل‌ها سانس می‌تواند ناشی از تغییرات ژنتیکی یا غیر ژنتیکی در پاسخ به تفاوت‌های محیطی اکو سیستم رویشگاه‌ها از قبیل ترکیب شیمیایی خاک و عوامل فیزیوگرافیک باشد. ارتفاع از سطح دریا تأثیر معکوس برکمیت (بازده اسانس) و کیفیت (تعداد ترکیبات) رویشگاه دارد. ارتفاع منطقه واوسر و برنت بیشتر از بلده بوده در نتیجه میزان بارندگی و رطوبت در این دو منطقه بیشتر شده و در نتیجه رطوبت تاثیر معکوس بر بازده اسانس این گیاه دارد. در مطالعه‌ای که توسط Diamantoglon و Rhizopoulou (۱۹۹۱) انجام گردید شرایط با رطوبت پایین بر میزان اسانس مرزنجوش افزوده است. تحقیقات Simon (۱۹۹۲) بر روی ریحان نشان داد که رطوبت پائین بر مقدار اسانس گیاهان فوق تأثیر مثبت دارد. با توجه به اینکه رشد و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی و آروماتیک تحت تأثیر عوامل محیطی می‌باشند و اسانس گیاهان در نتیجه تغذیه Stutte, 2006; Street et al., 2009 تحت تاثیر قرار می‌گیرد به‌نظر می‌رسد که تفاوت‌های مشاهده شده گیاهان دو منطقه به علت تفاوت قابل ملاحظه عناصر در خاک و اندام‌های مختلف گیاه است. در رویشگاه بلده، همچنین بیشترین مقدار فسفر و کربن آلی در خاک وجود دارد و اختلاف قابل ملاحظه‌ای با دو رویشگاه دیگر دارد (جدول ۱). در نتیجه می‌توان مقادیر بالای فسفر و کربن آلی را نیز در کنار دیگر عوامل نامبرده به‌عنوان عوامل تأثیر گذار در زیاد شدن درصد بازده اسانس مؤثر دانست.

نتیجه‌گیری نهایی

کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی و بازده اسانس گیاه در سه رویشگاه متفاوت می‌باشد. نوسانات شدید کمیت و کیفیت ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس ناشی از تفاوت‌ها بوم‌شناختی (اکولوژیک: طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع، دما، رطوبت، اقلیم، خاک و غیره) بوده و شرایط متفاوت اقلیمی و ادافیکی مسیرهای متابولیکی و بیوسنتز مواد موثره را تحت تاثیر قرار داده و در نتیجه متابولیت‌های ثانویه متنوعی تحت شرایط محیطی متفاوت بیوسنتز می‌شوند.

جدول ١: نتایج مطالعات خاکشناسی خاک پای گونه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

رویشگاه	وزن (گرم)	هدایت الکتریکی ds/m	اسیدیته	درصد									میلی‌گرم در کیلوگرم	
				کربنات کلسیم	نیتروژن	ماده آلی	کربن آلی	شن	سیلت	رس	بافت	فسفر	پتاسیم
واوسر	١٠٠٠	٠/٧٤	٧/٠٩	١	٠/٠٠٥	١/٠٩	٠/٦٣	٦٧	١٧	١٦	شنی لومی	١٣	٧٥٨/١
بلده	١٠٠٠	٠/٤٧	٧/٢٢	٢	٠/١٧	٣/٦٩	٢/١٤	٦١	٢١	١٨	شنی لومی	١٤/٧	١٤٧
برنت	١٠٠٠	٠/٤٦	٠/٥٤	٢	٠/٠٣	٠/٦٦	٠/٣٩	٦٣	١٩	١٨	شنی لومی	٤/٧	٦٩/٣

جدول ٢: معرفی و مقایسه ترکیب‌های متشکله اسانس گونه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	برنت(٪)	واوسر(٪)	بلده (٪)
١	α-thujene	١٠٨٥	٢/٦	٢/٨	٠/٩
٢	α-pinene	٩٣٤	١/٣	٤/٥	١١/٣
٣	sabinene	٩٧١	١/٢	٢/٥	٢/٨
٤	β- pinene	٩٧٥	١/١	١/٩	٥/٦
٥	myrcene	٩٨٧	٢/١	٢/٢	٢/٢
٦	α-phellandrene	١٠٠٣	١/٥	٢/٨	١/٣
٧	3-carene	١٠٠٩	١/٥	١/٩	٢
٨	α-terpinene	١٠١٥	٢/٢	٢/٧	٠/٤
٩	o-cymene	١٠١٩	–	٢/٣	-
١٠	p- cymene	١٠٢٣	١/٦	٢/٢	٠/٧
١١	β-phellandrene	١٠٢٧	٢/٤	٢/٣	٩/٨
١٢	1,8-cineole	١٠٣٠	١/٩	٢/٢	٢/١
١٣	(Z)- β- ocimene	١٠٣٦	٢/٧	٢/٨	١/٨
١٤	(E)- β-ocimene	١٠٤٥	١/١	–	–
١٥	γ-terpinene	١٠٥٨	٢/٨	٢/٧	٢/٧
١٦	cis-sabinene hydrate	١٠٦٤	٠/٩	٢/١	٢/١
١٧	terpinolene	٩٢٦	–	٢/٨	٢/٨
١٨	linalool	١٤٩٤	١/٨	١/٦	١/٦
١٩	nonanal	١١٠١	١/٥	–	٠/١
٢٠	allo-ocimene	١١٢٦	١/٣	–	-
٢١	terpinen-4-ol	١١٧٥	١/١	٢/٦	٠/٧
٢٢	α-terpineol	١١٨٨	٢/١	٢/٧	٢
٢٣	bornyl acetate	١٢٨٣	–	٢/٥	-
٢٤	bicycloelemene	١٣٣٣	١٥/٧	٢/٣	٦/٦
٢٥	α-cubebene	١٣٤٧	–	٢/٤	٠/١
٢٦	α-copaene	١٣٧٢	٠/٩	٢/٨	١/١

ادامه جدول ۲: معرفی و مقایسه ترکیب‌های متشکله اسانس گونه *Stachys inflata* در رویشگاه‌های مختلف استان مازندران

ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	برنت(٪)	واوسر(٪)	بلده (٪)
۲۷	β- cubebene	۱۳۸٦	–	–	۰/۱
۲۸	β-elemene	۱۳۸۸	۱/۸	–	۱/۱
۲۹	β-gurjunene	۱٤۲۷	۱/۲	۲/۸	۰/۵
۳۰	αllo-aromadendrene	۱٤۵۸	۱/۹	۲/۲	۰/۱
۳۱	germacrene-D	۱٤۷۹	۱٦/۱	۸/۷	۱٦/٦
۳۲	bicyclogermacrene	۱۰۹۷	۱٦/۲	۷	۱٦/٦
۳۳	γ-cadinene	۱٦۵۰	۱/۲	–	-
۳٤	δ- cadinene	۱۵۲۲	۱/٦	۱/۹	۱/٤
۳۵	spathulenol	۱۵۷۵	۱/۹	۳/۱	۲/۲
۳٦	caryophyllene oxide	۱۵۸۰	۲/۱	–	۰/۵
۳۷	isospathulenol	۱٦۳۲	۱/٦	۲/۸	۱
۳۸	β-eudesmol	۱٦٤٦	–	۲/۷	۰/۱
۳۹	α-cadinol	۱۵۱۱	۲/٤	۲/٦	۰/۱
	مجموع		۹۹/٦	۹۵/٦	۹٦/۷
	بازده اسانس		۱/۳	۱/۵	۲/۹

جدول ۳: ترکیب‌های عمده اسانس گونه *Stachys inflata* در هر رویشگاه در استان مازندران

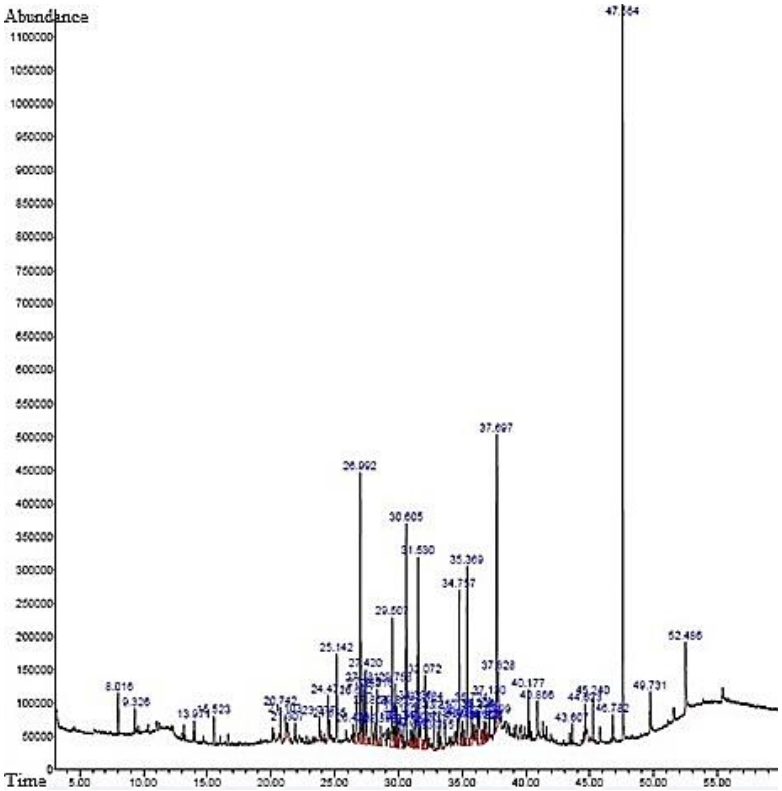
برنت(۱۲۷۳ متر از سطح دریا)			واوسر(۹۱۹ متر از سطح دریا)			بلده(۹۱۵ متر از سطح دریا)		
(٪)	شاخص بازداری	نام ترکیب	(٪)	شاخص بازداری	نام ترکیب	شاخص بازداری	(٪)	نام ترکیب
۱٦/۲	۱٤۹٤	bicyclogermacrene	۱۱/۲	۱٤۹٤	bicyclogermacrene	۱٤۷۹	۱٦/۹	germacrene-D
۱٦/۱	۱٤۷۹	germacrene-D	۸/۷	۱٤۷۹	germacrene-D	۱٤۹٤	۱٦/٦	bicyclogermacrene
۱۵/۷	۱۳۳۳	bicycloelemene	٤/۵	۹۳٤	α-pinene	۹۳٤	۱۱/۳	α-pinene
–	–	-	۳/۱	۱۵۷۵	spathulenol	۱۰۲۷	۹/۸	β-phellandrene
–	–	–	–	–	–	۱۳۳۳	٦/٦	bicycloelemene
–	–	–	–	–	–	۹۷۵	۵/٦	β- pinene

جدول ٤: مقایسه کمی ترکیب‌های مشترک اسانس گیاه سنبله‌ای بادکنکی در سه رویشگاه مورد مطالعه در استان مازندران

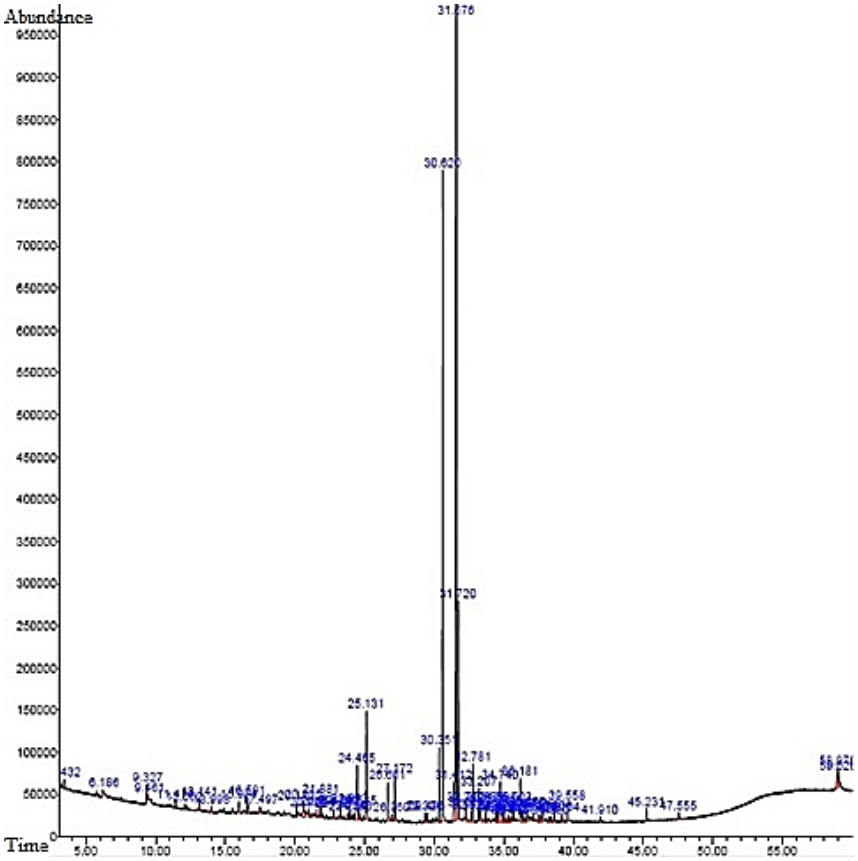
ردیف	نام ترکیب	شاخص بازداری	برنت(٪)	واوسر(٪)	بلده (٪)
۱	α-thujene	۱۳۷۲	۲/٦	۲/۸	۰/۹
۲	α-pinene	۹۳٤	۱/۳	٤/۵	۱۱/۳
۳	sabinene	۹۷۱	۱/۲	۲/۵	۲/۸
٤	β- pinene	۹۷۵	۱/۱	۱/۹	۵/٦
۵	myrcene	۹۸۷	۲/۱	۲/۲	۲/۲
٦	α-phellandrene	۱۰۰۳	۱/۵	۲/۸	۱/۳
۷	3-carene	۱۰۰۹	۱/۵	۱/۹	۲
۸	α-terpinene	۱۰۱۵	۲/۲	۲/۷	۰/٤

ادامه جدول ٤: مقایسه کمی ترکیب‌های مشترک اسانس گیاه سنبله‌ای بادکنکی در سه رویشگاه مورد مطالعه در استان مازندران

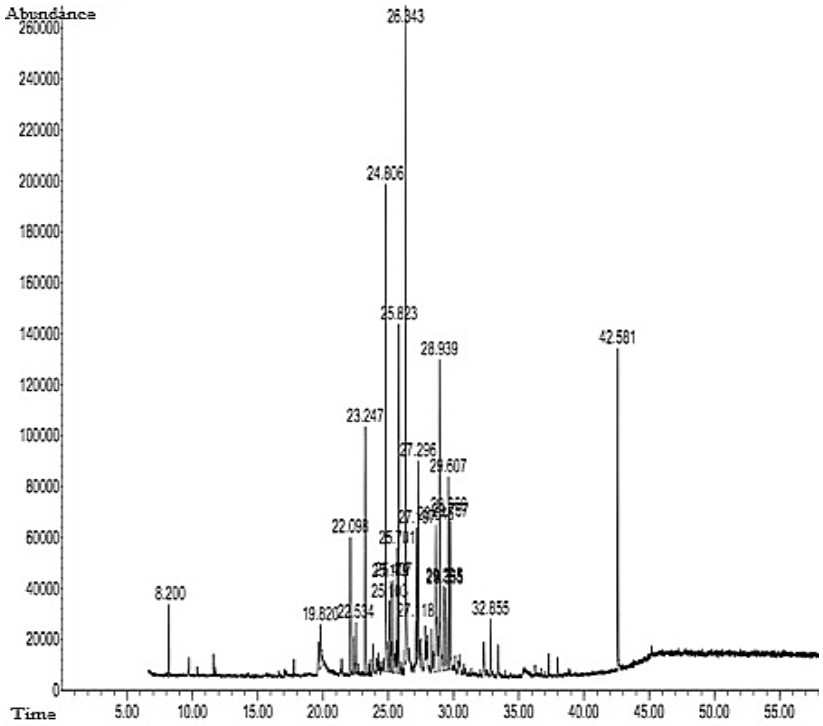
٩	p- cymene	١٠٢٣	١/٦	٢/٢	٠/٧
١٠	β-phellandrene	١٠٢٧	٢/٧	٢/٣	٩/٨
١١	1,8-cineole	١٠٣٠	١/٩	٢/٢	٢/١
١٢	(Z)- β- Ocimene	١٠٣٦	٢/٧	٢/٨	١/٨
١٣	γ-terpinene	١٠٥٨	٢/٨	٢/٧	١/٢
١٤	linalool	١٠٩٧	١/٨	١/٦	٢/١
١٥	terpinen-4-ol	١١٧٥	١/١	٢/٦	٠/٧
١٦	α-terpineol	١١٨٨	٢/١	٢/٧	٢
١٧	bicycloelemene	١٣٣٣	١٥/٧	٢/٣	٦/٦
١٨	α-copaene	٩٢٦	٠/٩	٢/٨	١/١
١٩	β-gurjunene	١٤٢٧	١/٢	٢/٨	٠/٥
٢٠	αllo-aromadendrene	١٦٥٠	١/٩	٢/٢	٠/١
٢١	germacrene-D	١٤٧٩	١٦/١	٨/٧	١٦/٩
٢٢	bicyclogermacrene	١٤٩٤	١٦/٢	١١/٢	١٦/٦
٢٣	δ- cadinene	١٥٢٢	١/٦	١/٩	١/٤
٢٤	spathulenol	١٥٧٥	١/٩	٣/١	٢/٢
٢٥	isospathulenol	١٦٣٢	١/٦	٢/٨	١
٢٦	α-cadinol	١٤٥٨	٢/٤	٢/٦	٠/١



شکل ١: نمودار کروماتوگراف اسانس *Stachys inflata* در رویشگاه بلده



شکل۲: نمودار کروماتوگراف اسانس *Stachys inflata* در رویشگاه واوسر



شکل ۳: نمودار کروماتوگراف اسانس *Stachys inflata* در رویشگاه برنت

منابع

1.Azarnivand, H., Gham Arbani, M., Sefidkon, F., and Tavili, A. 2010. Examination if effect of characteristic of ecology (soil, elevation) on quantity and quality essential oil flower and leaf *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium.* Journal of researches medicinal and aromatic plant Iran. 25(4):556-571.

2.Bagherzadeh, K., and Pakravan, M. 1999. Introduction of medical and industrial plants of Isfahan province. Proceeding of First Congress of Traditional Medicine. Tehran. Pp: 78-89.

3.Bülow, N., and König, W.A. 2000. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: Investigation of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. Phytochemistry, 55:141–168.

4.Corticchiato, M., Tomi, F., Bernardini, A.F. and Casanova, J. 1998. Composition and intraspecific variability of essential oil from *Thymus herbabarona* Bois. Biochemical Systematics and Ecology, 26: 915-932.

5.Crocoll, C., Asbach, J., Novak, J., Gershenzon, J. and Degenhardt, J. 2010. "Terpene synthases of oregano (*Origanum vulgare* L.) and their roles in the pathway and regulation of terpene biosynthesis". Plant Mol. Biol. 73:587–603.

6.Flamini, G., Luigicioni, P., Morelli, I. and Maccioni, S. 2004. Phytochemical typologies in some population of *Myrtus communis* L. on caprionepromontory (East Ligurio, Italy). Food Chemistry, 85: 599-604.

7.Ghelichnia, H. 2000. Study of Distribution and Ecology of 36 Species of Essenced Medical Plants of Mazandaran Province. Proceeding of First Congress of Traditional Medicine. Tehran. 101- 112.

8.Jaymand, K. and Rezaei, M.B. 2006. Essential oils, distillation apparatuses, test methods of essential oils and retention indices in essential oil analysis. Iranian Society of Medicinal Plants.

9.Jafari, Gh. 2003. Methods of analysis of soil, sampling and important analysis physical and chemical with emphasis on principal theory and applied. Publication Nedayr Zohi. 236p.

10.Jokarkashi, F., Foladi, J. and Bayat, M. 2005. Biotransformasion, β-pinene to α-pinene by biocatalyzor. Proceeding of fourth of national conference biotechnology of the Islamic Republic of Iran. Kerman.

11.John E.M., and Gregory K.B. 1987. Synthesis of macrocyclic terpenoid hydrocarbons by intramolecular carbonyl coupling: bicyclogermacrene, lepidozene, and casbene. Journal Organic. Chemistry, 52(22):4885–4893.

12.Maghol, M. 1992. Medical Plants of Isfahan and Chaharmahal o Bakhtiari Province. Proceeding of First Congress of Traditional Medicine. Tehran. 216-230.

13.Maleki, N., Garjani, A., Nazemiyeh, H., Nilfouroushan, N., Eftekhar Sadat, A.T., Allameh, Z. and Hasannia, N. 2001. Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* onrates. Journal of Ethnopharma cology, 75:213-218.

14.Moghadam, M.R. 1998. Rangeland and range management. Publication, University Tehran. 450 p.

15.Moshefi, M.H., Mofidi, A., Mehrabani, M.N., and Mehrabani, M. 2009. Examination of component and its effect antibacterial essential oil *Stachys acerosa* Boiss. plant. Journal of medicinal plant. 33:108-115.

16.Nabizahedasl, S., Majizi, A., and Jabarimoghadam, N. 2010. Examination of chemical component two cemotype *Stachys inflata* Benth in two different habitet. Journal of bio science. 5(1):31-38.

17.Omidbaygi, R. 1995. Approaches of production and processing of medicinal plants. Publication Fekre roz. (1):283 p.

18.Omidbaygi, R. 2010. Production and processing of medicinal plants. Publication, Astane Ghodse Razavi. (1): 347 p.

19.Omidbeigi, R. 1999. Study of Wild Comomiles of Iran and Compare with Cultivated Types. Tarbiat Modares Journal of Agricultural Sciences. 1:73-90.

20.Rezazadeh, Sh.A., Pirhamedani, M., Hajiakhondi, A., Yazdani, D., Jamshidi, A.M., and Taghizadeh, M. 2006. Examination of component of esseintial oil *Stachys athorecalyx* C. Koch. in Aresbaran region. Journal of medicinal plant. Year. 18:56-62.

21.Rhizophoulou, S., and Diamantoglon, S. 1991 .Water stress induced diurnal variation in leaf water relation stomatal conductance, soluble, sugar, lipids and essential oil content of *Origanum majoranal*. J. of Horticultural Science, 66: 119-125.

22.Telascrea, M., de Araújo, C.C., Marques, M.O.M., Facanali, R. and de Moraes, P.L.R. 2007. Cavalheiro, A.J. Essential oil leaves of *Cryptocarya mandioccana* Meisner (Lauraceae): Composition and intraspecific chemical variability. Biochem. Syst. Ecol. 35: 22-232.

23.Saber Amoli, S., Naseri, A., Rahmani, G.H., and Kalirad, A. 2004. Medical Plants of Kerman Province. Journal of Research in Medical and Essence Plants of Iran. 20(4):487- 532.

24.Semnani, M., and Saidi, M. 2006. Examination and comparison of effect anti microbe extractions of methanol some species (*Stachys, Phlomis).* Journal of University medical science of Mazandaran. 57:57-66.
25.Shahrokhi, N. 1996. Quality control methods for substrates of medical plants medicines. Iranian Academic Center of Education of Shahid Beheshti University press. 287 p.
26.Simon, J.E., Reiss – Bubenheim, D., Joly, R. and Charles, D. 1992. Water stress induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. Journal of Essential Oil Research, 4:71-75.
27.Skaltsa, H.D., Demetzos, C., Lazari, D., and Sokovic, M. 2003. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece. Phytochem. 64:743-52.
28.Street, R.A., Kulkarni, M.G., Stirk, W.A., Southway, C., Abdillahi, H.S., Chinsamy, M. and Staden, J.V. 2009. Effect of cadmium uptake and accumulation on growth and antibacterial activity of *Merwillaplumbea*-An extensively used medicinal plant in South Africa. South African Journal of Botany, 75(3):611-616.
29.Stutte, G.W. 2006. Process and product: recirculating hydroponics and bioactive compounds in acontrolled environment. Hort. Science, 41(3):526-530.