



تجزیه شیمیایی روغن اسانسی بدست آمده از تقطیر با آب و میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد گیاه *Stachys byzantina* C. Koch. با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی

جعفر ایزدی نیا*

گروه شیمی، واحد شاهرود، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۲/۰۶/۰۳، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۲/۰۹/۰۲، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۲/۰۹/۱۱

چکیده

در این تحقیق گیاه *S. byzantina* با نام فارسی سنبله ای نقره ای، از شهرستان شاهرود در استان سمنان جمع آوری شد. اسانس گیاه با استفاده از تکنیک تقطیر با آب و تکنیک میکرواستخراج از فضای فوقانی فاز جامد بدست آمد و اسانس های حاصل از دو روش، با استفاده از روش طیف سنج جرمی کوپل شده با کروماتوگرافی گازی (GC-MS) مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفت. اکتان (۳۳/۹۷٪)، جرمکران-دی (۱۹/۲۱٪)، ترانس-۱-اتیل-۳-متیل سیکلوپنتان (۱۲/۳۷٪)، ژرانیول-آلفا-ترینین (۴/۹۸٪) و دکان (۴/۹۸٪) ترکیبات اصلی شناسایی شده در کل اسانس بدست آمده از اندام هوایی گیاه به روش تقطیر با آب را تشکیل می دهند. از دیگر ترکیبات موجود در اسانس گیاه می توان از بتا-پینین (۲/۸۱٪)، بتا-المن (۲/۱۳٪) و کاریوفیلین اکسید (۱/۶۷٪) نام برد. تجزیه اسانس بدست آمده با HS-SPME نشان داد، آلفا پینین (۲۶/۳۳٪)، بتا-پینین (۳۹/۷۷٪)، جرمکران دی (۸/۸۲٪) و بتا-المن (۳/۸۶٪) ترکیبات اصلی در اسانس شناسایی شده در کل اسانس بدست آمده از اندام هوایی گیاه را تشکیل می دهند. بتا-یلنگن (۲/۷۵٪) و بتا-کوپاین (۱/۱۷٪) از دیگر ترکیبات قابل ذکر در اسانس گیاه در این روش مطالعه می باشد.

واژه های کلیدی: *Stachys byzantina*, HS-SPME, جرمکران دی، آلفا-پینین، بتا-پینین و روغن های اسانسی

۱. مقدمه

جنس *Stachy* از خانواده لامیاسه یا لابیاته با حدود ۳۰۰ گونه در سراسر جهان رویشی وسیع و اثرات درمانی متعددی را در برمی گیرد. بیشترین پراکندگی این گیاه در اروپا و آمریکای شمالی می باشد. در آسیای میانه، آسیای جنوب شرقی همچنین خاورمیانه،

*عهده دار مکاتبات: جعفر ایزدی نیا

نشانی: گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، شاهرود، ایران

پست الکترونیک: E-mail: Jafar.aboli2011@gmail.com

تلفن: ۰۲۳۳۲۳۹۴۳۲۰

گونه های متعددی از این گیاه دیده می شود و به طور کلی در مناطق معتدل بجز استرالیا دیده می شود [۱]. این جنس در ایران ۳۴ گونه علفی چند ساله دارد که به طور پراکنده در بیشتر نقاط می رویند که ۱۳ گونه آن انحصاری ایران می باشد. گونه های انحصاری آن در ایران عبارتند از:

S.veronicifornis, *S. persepolitana*, *S. koelzii*, *S. pilifera*, *S. laxa*, *S. obtusicrena*, *S. subaphylla*
S. benthamiana, *S. asterocalyx*, *S. kermanshahensis*, *S. acerosa*, *S. aucheri*, *S. ixodes*

دیگر گونه های آن علاوه بر ایران در عراق، تالش، آناتولی، ماورای قفقاز، افغانستان، ترکمنستان و آسیای مرکزی می رویند [۲].

گیاه *Stachys Palustris* L. با نام سنبله باتلاقی در اروپا شهرت بسزایی به عنوان آرامبخش داشته است. در طب گیاهی مدرن گیاه را درست در زمان گلدهی جمع آوری و خشک می کنند و بعنوان ضد عفونی کننده و ضد تشنج به کار می برند. این گیاه همچنین تسکین دهنده نقرس، گرفتگی عضلانی و درد مفاصل و سرگیجه است و اثرات دارویی دیگری نیز از این گیاه دیده شده است [۳]. سنبله نقره ای یا زبان بره با نام علمی *Stachys byzantina* گیاهی علفی، چند ساله با خواص دارویی متعدد و از خانواده نعناعیان است که در مناطقی از شمال غرب و شمال ایران رویش دارد. دارای عطر و بوی دلپذیر است. در منابع علمی به آثار ضد باکتریایی، ضد تومور، ضد سرطانی، ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و همچنین خاصیت حشره کشی این گیاه اشاره شده است.

در طب سنتی جهان دو گونه *S. palustris* و *S. sylvatica* به عنوان بهبوددهنده زخم، درمان دردها و اسپاسم های شکمی، ضد عفونی کننده، درمان بیماریهای مجاری ادراری و ضد تب تایید شده اند [۴]. در طب سنتی ایران نیز گونه *S. Recta* به عنوان یک داروی موثر در درمان زخم و جراحت و از گیاه *S. Lavandulifolia* (چای کوهی) برای درمان دردهای گوارشی و آرام بخش، به عنوان مسکن ناراحتی های گوارشی و معده ای استفاده می شود. این گیاه در طب سنتی به عنوان بادشکن، مسکن دردهای احشایی، سردرد، دردهای عصبی، اشتها آور، تب بر و بطور سنتی در درمان بیماریهای عفونی مجاری تنفسی، سرماخوردگی، سینوزیت، آسم و روماتیسم استفاده می شود [۵]. در طب سنتی ایران از جنس *S. byzantina* در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری ها از جمله دیابت، سرطان، آرتريت روماتید، سکنه های قلبی و مغزی، پارکینسون، زخم های پوستی و بیماری های تنفسی مورد استفاده قرار می گرفت. اثرات ضد میکروبی اسانس گونه هایی از جنس *Stachys* بررسی شده است که از آن میان *S. candida* واجد اثر ضد میکروبی مناسبی است [۶]. هم چنین اسانس گیاهان *S. recta*، *S. euboica*، *S. cretica*، *S. menthifolia*، *S. cardiac* و *S. germanica* اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی مناسبی از خود نشان داده اند [۶].

بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys lavandulifolia* روئیده در باغ کشاورزی دانشگاه قم نشان داد اسپاتولونول (۱۳/۲۳٪)، بتا-فلاندرن (۱۴/۳۱٪)، آلفا-پینن (۱۹/۶۶٪)، میرسن (۹/۴۳٪)، ساینن (۷/۳۷٪) و بای سیکلو جرمکرن (۵/۲۲٪) ترکیبات اصلی اسانس این گیاه را تشکیل می دهند. همچنین تجزیه اسانس همین گیاه با استفاده از ماکروویو نشان داد هپتادکان (۱۷/۷۷٪)، کاروکرول (۱۰/۸۰٪)، تیمول (۸/۱۴٪)، ژرانیل استات (۷/۹۶٪)، ترانس- کاریوفیلن (۵/۱۲٪) و آلفا- ترپینول (۵/۰۳٪) ترکیبات اصلی

اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۷]. بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys trinervis* روئیده در کرج، که بوسیله تقطیر با بخار آب بدست آمد نشان داد، آلفا- پینن (۴۲/۶۸٪)، دلتا- ۲- کارن (۳۱/۹۰٪)، او۱- ۸- سینثول (۷/۰۳٪)، لیمونن (۴/۳۹٪) و ترانس- بتا- اوسیمن (۴/۲۱٪) ترکیبات اصلی گیاه را تشکیل می دهند [۸]. بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys lavandulifolia* Vahl روئیده در شهرستان بروجن در استان چهارمحال و بختیاری، که بوسیله تقطیر با بخار آب بدست آمد نشان داد، آلفا- توجن (۱۶/۲۹٪)، بتا- فلاندرن (۱۴/۴۴٪)، جرمکران دی (۱۱/۲۶٪) و دلتا- کادینن (۱۱/۶۱٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۹]. بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys parviflora* L. روئیده در استان خراسان جنوبی، که بوسیله تقطیر با بخار آب بدست آمد نشان داد، آلفا- مورولول (۴۸/۴٪)، سیس- کاریوفیلن (۱۱/۲٪)، کاریوفیلن اکسید (۹/۲٪) و کاریوفیلن الکل (۴/۰٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۱۰].

با توجه به خواص درمانی این گیاه، هدف از انجام این تحقیق بررسی ترکیب درصد مواد موجود در اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* روئیده در شهرستان شاهرود می باشد.

۲. مواد و روش ها

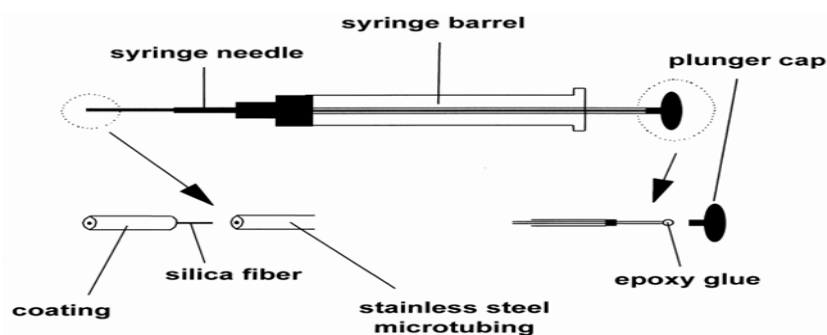
گیاه *Stachys byzanthina* در مرداد ماه سال ۱۴۰۲ هجری شمسی از مناطق کوهستانی شهرستان شاهرود در استان سمنان جمع آوری گردید. سپس اندام هوایی گیاه در سایه و در مجاورت جریان ملایم هوا خشک شد سپس نام گیاه توسط آقای دکتر مظفریان در سازمان تحقیقات جنگلها و مراتع ایران واقع در تهران تعیین شد.

۲-۱. استحصال اسانس گیاه با استفاده از تقطیر با آب (HD)

میزان ۱۰۰ گرم از اندام هوایی گیاه را خرد نموده و اسانس آن را توسط دستگاه کلونجر بدست آوردیم به منظور حذف رطوبت موجود در روغن فرار استحصالی، از سولفات سدیم بدون آب استفاده نمودیم. بازده روغن اسانس بدست آمده از اندام هوایی گیاه ۰/۴٪ حجمی، وزنی می باشد. نمونه اسانس تا موعد انجام مراحل آنالیز، در شیشه کوچک تیره و دربسته در یخچال (دمای ۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شد.

۲-۲. استحصال اجزاء فرار گیاه توسط تکنیک HS-SPME

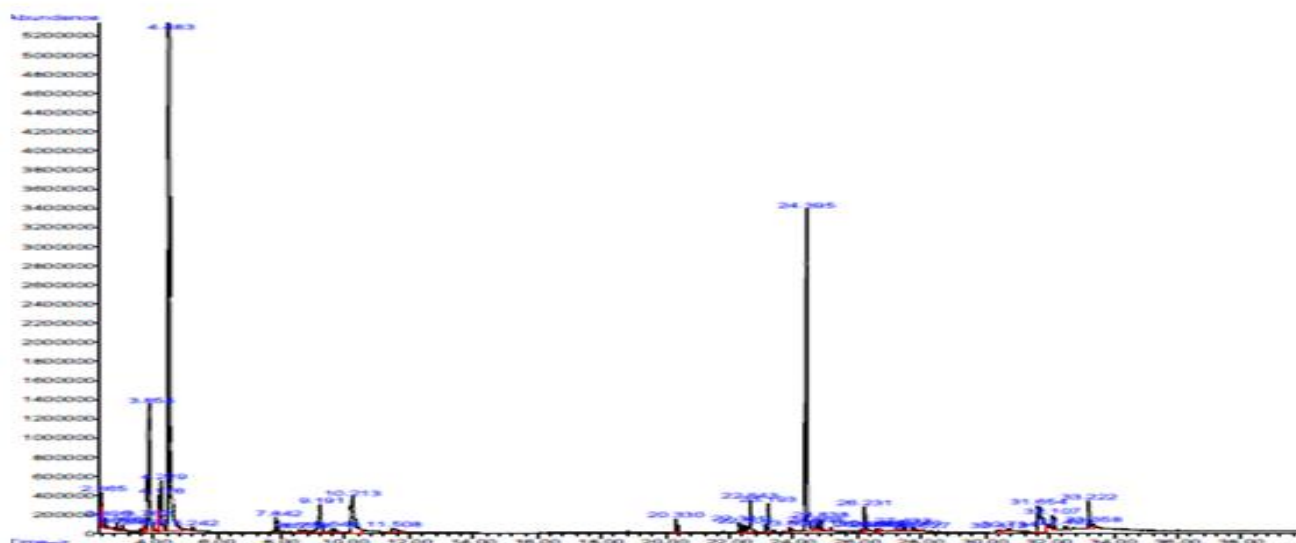
در آزمایش دیگر اجزاء فرار گیاه توسط تکنیک HS-SPME بدست آمد. در این تکنیک حدود ۲ گرم گیاه خشک در ویالی قرار داده شده و دمای ویال بین ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد قرار می گیرد (شرایط دمایی در حالت بهینه قرار می گیرد تا بخارات مواد موجود در اسانس گیاه در فضای بالای سطح جامد به صورت اشباع در آیند) سپس سرنگ SPME در فضای فوقانی ظرف با درب پوشیده قرار داده می شود و مواد موجود در بخارات گیاه توسط فاز سیلیکای موجود در سوزن دستگاه جذب می گردد. پس از زمان کافی و اشباع شدن فیبر سیلیکا از ترکیبات فرار، فیبر به طور مستقیم در بخش ورودی دستگاه GC/MS قرار می گیرد و در اثر دمای قسمت ورودی، مواد موجود در فیبر واجذب گردیده و وارد دستگاه GC/MS شده و مورد شناسایی قرار می گیرند [۱۱].



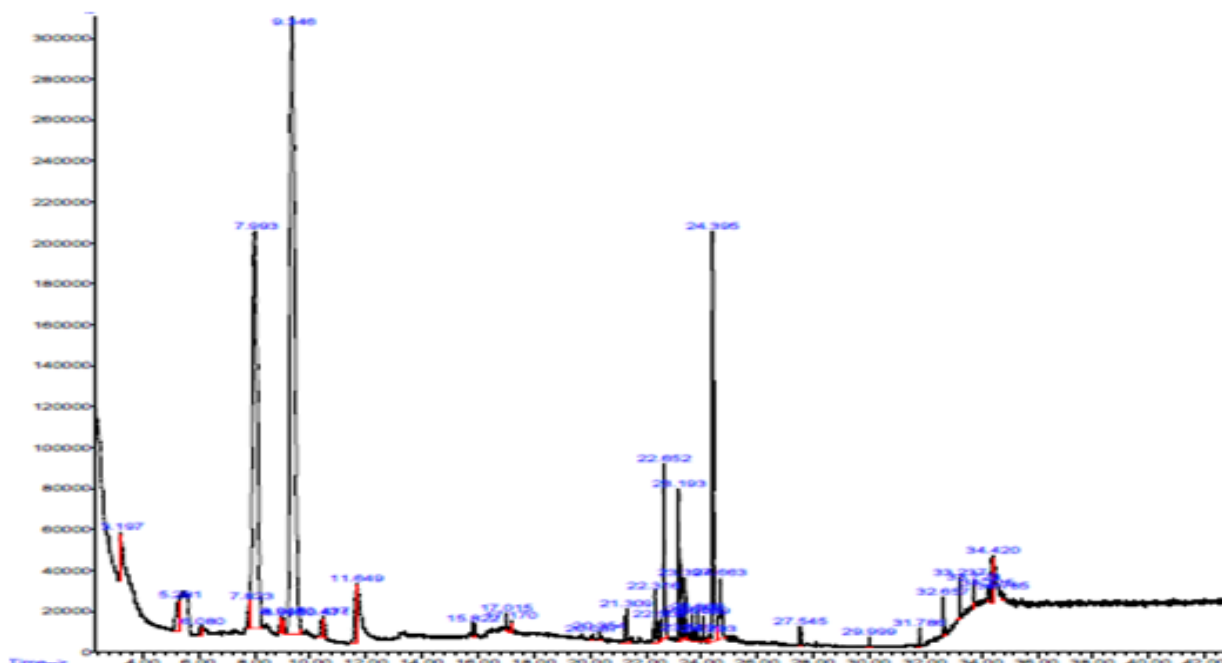
شکل ۱. شمایی ساده از سرنگ مورد استفاده در میکرو استخراج از فضای فوقانی در تکنیک HS-SPME.

۲-۳. مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی

در این تحقیق از دستگاه گاز کروماتوگراف Agilent مدل ۷۸۹۰ استفاده شد. ستون مویینه دستگاه با نام HP-5MS دارای طول ۳۰ متر، قطر ۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون می باشد. ابتدا ۰/۱ میکرولیتر از نمونه به ورودی دستگاه تزریق شد. در ابتدا دمای ورودی دستگاه به مدت سه دقیقه در ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس با سرعت $8^{\circ} \text{C min}^{-1}$ به ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسید، پس از آن با سرعت $40^{\circ} \text{C min}^{-1}$ به ۲۹۰ درجه سانتیگراد رسانده شد و به مدت سه دقیقه در این دما نگهداری شد. آشکارساز دستگاه کروماتوگراف گازی نیز از نوع FID بوده و بعنوان گاز حامل در این آزمایش از گاز هلیوم با سرعت ۱/۲ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. در شکل های ۲ و ۳ کروماتوگرام اسانس بدست آمده از اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* توسط روش تقطیر با آب و همچنین کروماتوگرام حاصل از تجربه بدست آمده از تجزیه اسانس گیاه *Stachys byzanthina* توسط تکنیک HS-SPME آمده است.



شکل ۲. کروماتوگرام اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* به دست آمده با استفاده از تکنیک تقطیر با آب.



شکل ۳. کروماتوگرام اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* به دست آمده با استفاده از تکنیک میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد.

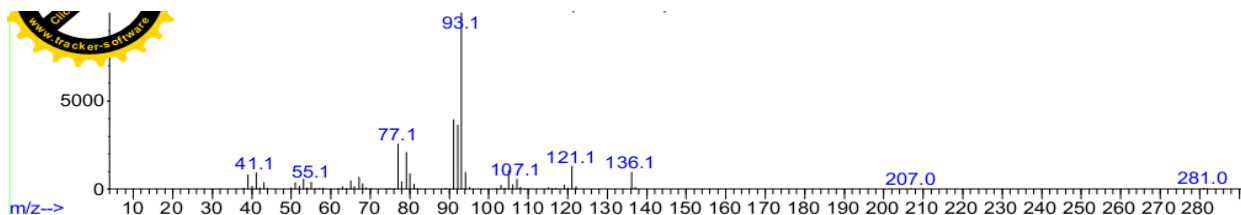
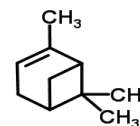
۲-۴. دستگاه کروماتوگراف گازی متصل شده به طیف سنج جرمی

دستگاه Agilent مدل ۷۸۹۰ متصل شده به یک دتکتور جرمی ۵۹۷۵C برای شناسایی اجزای اسانس مورد استفاده گردید. ستون موئینه دستگاه با نام HP-5MS دارای طول ۳۰ متر، قطر ۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرون استفاده شد. ابتدا ۰/۱ میکرولیتر از نمونه به ورودی دستگاه تزریق شد. در ابتدا دمای ورودی دستگاه به مدت سه دقیقه در ۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس با سرعت $8^{\circ}\text{C min}^{-1}$ به ۲۰۰ درجه سانتیگراد رسید، پس از آن با سرعت $40^{\circ}\text{C min}^{-1}$ به ۲۹۰ درجه سانتیگراد رسانده شد و به مدت سه دقیقه در این دما نگهداری شد. دمای ورودی دستگاه طیف سنج جرمی ۲۸۰ درجه سانتیگراد بوده و از یک منبع الکتریکی با قدرت ۷۰ الکترون ولت جهت یونیزاسیون استفاده شد. ولتاژ دتکتور دستگاه ۱/۶۶۵ کیلو ولت بوده دستگاه توانایی ثبت اجرام ۳۰ تا ۴۵۰ واحد جرم اتمی را دارد. سرعت اسکن دستگاه نیز ۲/۸۶ اسکن در ثانیه بوده است.

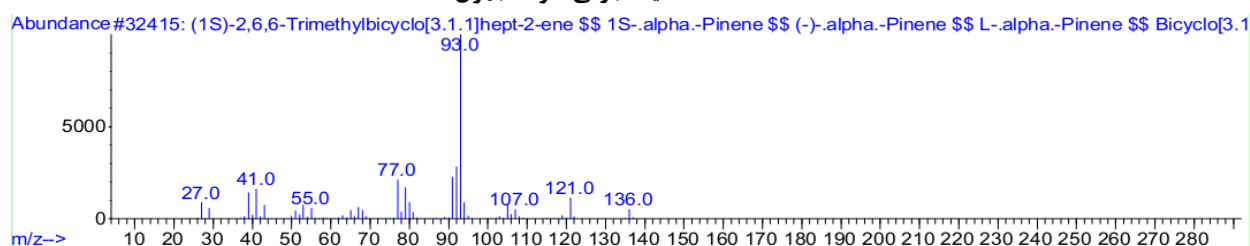
۲-۵. شناسایی اجزای اسانس

در ابتدا آلکان‌های سری C₈-C₂₅ تحت شرایط ذکر شده به دستگاه GC/MS تزریق و زمان بازداری هر یک از اجزاء بر روی ستون HP-5M بدست آمد و شاخص کواتس ترکیبات موجود در اسانس بر اساس رابطه مربوطه محاسبه شدند و با مقادیر ذکر شده در منابع معتبر مقایسه گردیدند [۱۲]. در روش دیگر جهت اثبات شناسایی‌های انجام شده، پیک‌های اصلی طیف جرمی نمونه جزء

مجهول اسانس را با طیف های استاندارد ارائه شده توسط کتابخانه دستگاه مقایسه نموده و نام جزء مجهول را یافته و ساختار آن را نیز از منابع معتبر بدست آوردیم [۱۲]. در شکل های ۴ تا ۷ طیف جرمی نمونه های ذکر شده و طیفهای استاندارد ماده آورده شده است.

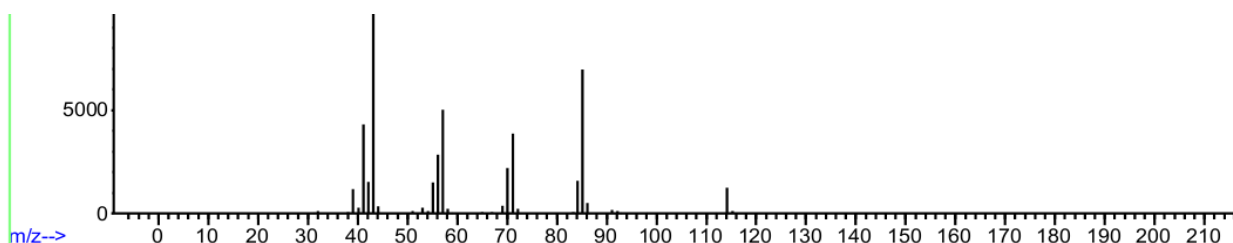


الف. طیف جرمی نمونه مجهول

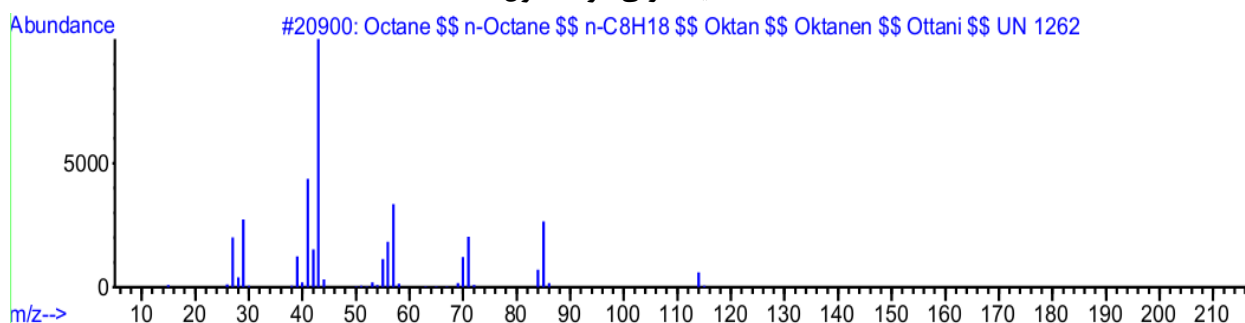


ب. طیف جرمی استاندارد آلفا- پینن

شکل ۴. طیف جرمی نمونه مجهول و طیف جرمی استاندارد آلفا - پینن.

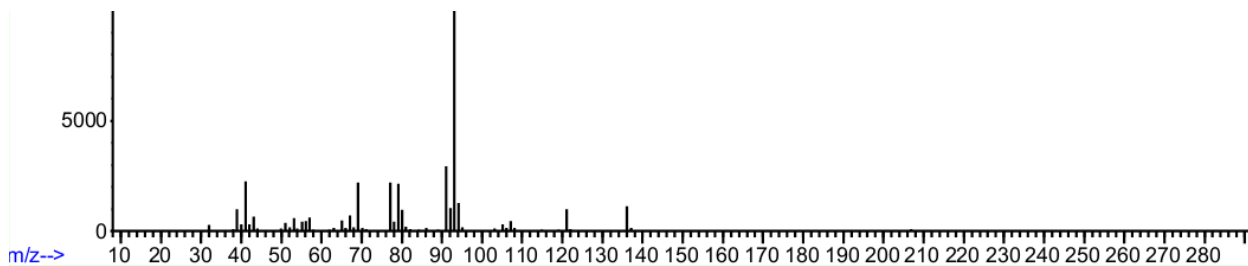
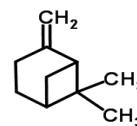


الف. طیف جرمی نمونه مجهول

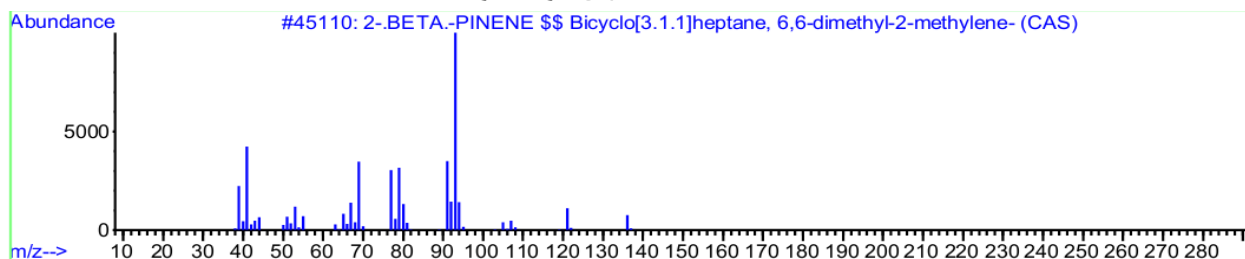


ب. طیف جرمی استاندارد نورمال اکتان

شکل ۵. طیف جرمی نمونه مجهول و طیف جرمی استاندارد اکتان نورمال.

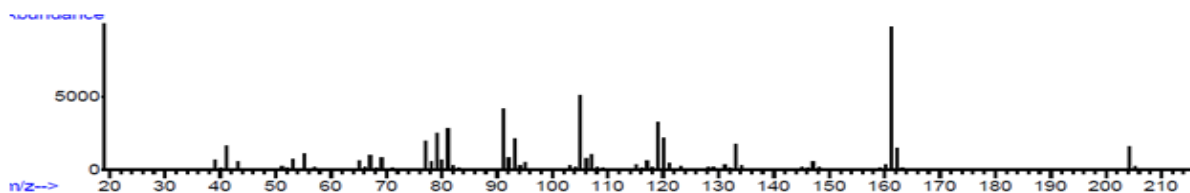
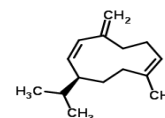


الف. طیف جرمی نمونه مجهول

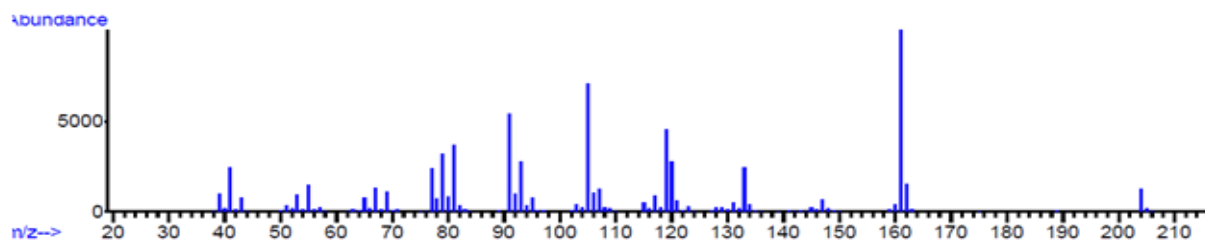


ب. طیف جرمی استاندارد بتا- پینن

شکل ۶. طیف جرمی نمونه مجهول و طیف جرمی استاندارد بتا- پینن.



الف. طیف جرمی نمونه مجهول



ب. طیف جرمی استاندارد جرمکران دی

شکل ۷. طیف جرمی نمونه مجهول و طیف جرمی استاندارد جرمکران دی.

۳. نتایج و بحث

بررسی فیتوشیمیایی گیاه جهت بررسی خواص درمانی و کاربردهای دیگر آن حائز اهمیت می‌باشد. در این تحقیق اسانس گیاه *Stachys byzanthina* از نظر ترکیبات موجود در آن، ساختار اجزاء و همچنین ترکیب درصد آنها مورد بررسی قرار گرفت. اسانس اندام هوایی گیاه یکبار با استفاده از تکنیک تقطیر با آب و در تجربه دیگر با استفاده از تکنیک میکرواستخراج از فضای فوقانی فضای جامد (HS-SPME) بدست آمد. سپس نتایج بررسی و با یکدیگر مقایسه گردید. همچنین با مقایسه نتایج حاصل با تحقیقات مشابه، اثر اقلیم و آب و هوا بر روی اسانس گیاه مورد بررسی قرار گرفت.

۳-۱. تجزیه شیمیایی اسانس حاصل از تکنیک تقطیر با آب

تجزیه اسانس بدست آمده با روش تقطیر با آب نشان می‌دهد، اکتان (۳۳/۹۷٪)، جرمکران دی (۱۹/۲۱٪)، ترانس-۱-اتیل-۳-متیل سیکلو پنتان (۱۲/۳۷٪)، ژرانیول-آلفا-ترپین (۴/۹۸٪) و دکان (۴/۹۸٪) ترکیبات اصلی شناسایی شده (۹۲/۵۶٪) در کل اسانس بدست آمده از اندام هوایی گیاه را تشکیل می‌دهند. از دیگر ترکیبات موجود در اسانس گیاه می‌توان از بتا-پینن (۲/۸۱٪)، بتا-المن (۲/۱۳٪) و کاریوفیلین اکسید (۱/۶۷٪) نام برد. مونوترپن‌ها ۵/۴۲٪، سزکویی‌ترین‌ها ۲۹/۵۶٪ و ترکیبات غیرترپنی ۵۲/۶٪ از کل اسانس شناسایی شده (۹۲/۵۶٪) گیاه را تشکیل می‌دهند. در جداول ۱ تا ۴ ترکیبات شناسایی شده در اسانس اندام هوایی گیاه گزارش شده است.

جدول ۱. ترکیبات شناسایی شده در اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* با روش تقطیر با آب.

شماره	نام ترکیب	زمان بازداری	اندیس کواتس	ترکیب درصد اجزا
۱	2,4- Dimethylhexane	۳/۰۳۲	۷۲۰	۰/۴۷
۲	Methylheptane	۳/۶۹۴	۷۶۰	۰/۲۸
۳	trans-1-Ethyl-3-Methylcyclopentane	۴/۲۲۹	۷۹۰	۱۲/۳۷
۴	n-Octan	۴/۴۸۳	۸۰۰	۳۳/۹۷
۵	α -Pinene	۷/۸۴۲	۹۳۹	۰/۸۸
۶	4-Ethyl octane	۸/۵۵۳	۹۰۰	۰/۲۲
۷	5-Methylnonane	۸/۷۱۳	۹۶۰	۰/۳۱
۸	β -Pinene	۹/۱۹۱	۹۷۹	۲/۸۱
۹	Decane	۱۰/۲۱۳	۱۰۰۰	۴/۹۸
۱۰	Limonene	۱۱/۵۰۸	۱۰۲۹	۰/۷۴
۱۱	Bornyl acetate	۲۰/۳۳۰	۱۲۸۹	۰/۹۹
۱۲	α -Copaene	۲۲/۳۱۱	۱۳۷۷	۰/۶۶
۱۳	β - Bourbonene	۲۲/۵۰۱	۱۳۸۸	۰/۵۰
۱۴	β - Elemene	۲۲/۶۴۳	۱۳۹۱	۲/۱۳
۱۵	Caryophyllene	۲۳/۱۹۳	۱۴۶۶	۱/۷۰

۱۶	α - Humulene	۲۳/۸۶۵	۱۴۵۵	۰/۳۰
۱۷	Germacrene D	۲۴/۳۹۵	۱۴۸۵	۱۹/۲۱
۱۸	β -Guaiene	۲۴/۶۶۸	۱۴۹۳	۰/۸۳
۱۹	Germacrene A	۲۴/۸۳۸	۱۵۰۹	۰/۸۰
۲۰	δ - Cadinene	۲۵/۱۵۰	۱۵۲۳	۰/۲۸
۲۱	Spathulenol	۲۶/۲۴۸	۱۵۷۸	۰/۲۹
۲۲	Caryophyllene oxid	۲۶/۲۳۱	۱۵۸۳	۱/۶۷
۲۳	α -Muurolol	۲۷/۲۱۹	۱۶۴۶	۰/۱۸
۲۴	α - Cadinol	۲۷/۴۴۳	۱۶۴۵	۰/۶۶
۲۵	Patchouli alcohol	۲۷/۷۴۰	۱۶۵۸	۰/۳۵
۲۶	geranyl- α -terpinene	۳۱/۶۵۴	۱۹۵۲	۴/۹۸
	Total			٪۹۲/۵۶

جدول ۲. ترکیبات مونو ترپنی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* با روش تقطیر با آب

هیدروکربن های مونو ترپنی	ترکیب درصد	مونو ترپن های اکسیژن دار	درصد
α -Pinene	۰/۸۸	Bornyl acetate	۰/۹۹
β -Pinene	۲/۸۱	----	----
Limonene	۰/۷۴	----	----
کل	٪۴/۴۳	کل	٪۰/۹۹
کل مونو ترپن ها = ٪۵/۴۲			

جدول ۳. ترکیبات سزکویی ترپنی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* با روش تقطیر با آب

سسکوئی ترین های هیدروکربنی	ترکیب درصد	سسکوئی ترین های اکسیژن دار	ترکیب درصد
α - Copaene	۰/۶۶	Spathulenol	۰/۲۹
β - Bourbonene	۰/۵۰	Caryophyllene oxid	۱/۶۷
β - Elemene	۲/۱۳	α -Muurolol	۰/۱۸
Caryophyllene	۱/۷۰	α - Cadinol	۰/۶۶
α - Humulene	۰/۳۰	Patchouli alcohol	۰/۳۵
Germacrene D	۱۹/۲۱	----	----
β -Guaiene	۰/۸۳	----	----
Germacrene A	۰/۸۰	----	----
δ - Cadinene	۰/۲۸	----	----
Total	۲۶/۴۱	Total	۳/۱۵
کل سسکوئی ترین ها = ٪۲۹/۵۶			

جدول ۴. ترکیبات غیر ترپنی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* با روش تقطیر با آب

ترکیبات غیر ترپنی	ترکیب درصد
2,4- Dimethylhexane	۰/۴۷
Methylheptane	۰/۲۸
5-Methylnonane	۰/۳۱
4-Ethyl-octane	۰/۲۲
trans-1-Ethyl-3-Methylcyclopentane	۱۲/۳۷
n-Octan	۳۳/۹۷
Decane	۴/۹۸
کل ترکیبات غیر ترپنی = ۵۲/۶٪	

جدول ۵. ترکیبات دی ترپنی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* با روش تقطیر با آب

دی ترپین‌ها	ترکیب درصد
geranyl- α -terpinene	۴/۹۸

۲-۳. تجزیه شیمیایی اسانس حاصل از تکنیک میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد

در اسانس حاصل از HS-SPME گیاه *Stachys byzanthina* تعداد ۱۴ ترکیب (۸۷/۹۳٪ کل اسانس) شناسایی شدند. (جدول شماره ۶) حدود ۶۸/۹۴٪ از ترکیبات شناسایی شده را مونوترپن‌ها تشکیل می‌دهند. در حالیکه تنها ۱۸/۹۹٪ را سزکویی ترپن‌ها شامل می‌شوند که فقط شامل سزکویی ترپن‌های هیدروکربنی هستند. آلفا-پینن (۲۶/۳۳٪)، بتا-پینن (۳۹/۷۷٪)، جرمکران دی (۸/۸۲٪) و بتا-المن (۳/۸۶٪) ترکیبات اصلی اسانس حاصل از اندام هوایی گیاه را تشکیل می‌دهند. بتا-یلنگن (۲/۷۵٪) و بتا-کوپاین (۱/۱۷٪) از دیگر ترکیبات قابل ذکر در اسانس گیاه در روش مطالعه با HS-SPME می‌باشند.

جدول ۶. ترکیبات شناسایی شده اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* در تکنیک میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد

شماره	نام ترکیب	زمان بازداری	اندیس کواتس	ترکیب درصد اجزا
۱	α -Thujene	۷/۸۲۲	۹۳۰	۰/۵۰
۲	α -pinene	۷/۹۹۳	۹۳۹	۲۶/۸۳
۳	β -pinene	۹/۳۴۶	۹۷۹	۳۹/۷۷
۴	limonene	۱۱/۶۴۹	۱۰۲۹	۱/۶۹
۵	Isoborneol	۱۷/۱۷۰	۱۱۶۲	۰/۱۵
۶	α -Copaene	۲۲/۳۱۶	۱۳۷۷	۱/۱۳
۷	β -Elemene	۲۲/۶۵۲	۱۳۹۱	۳/۸۶
۸	β -Ylengen	۲۳/۱۹۳	۱۴۲۱	۲/۷۵
۹	β -Copaene	۲۳/۳۹۷	۱۴۳۲	۱/۱۷
۱۰	β -Cubebene	۲۳/۵۱۹	۱۳۸۸	۰/۱۶

۱۱	γ -Muurolene	۲۳/۶۸۵	۱۴۸۰	۰/۴۸
۱۲	Bicyclosquiphellandrene	۲۴/۰۵۹	۱۴۶۶	۰/۴۹
۱۳	α -Amrophone	۲۴/۲۹۳	۱۴۸۱	۰/۱۳
۱۴	Germacrene D	۲۴/۳۹۵	۱۴۸۵	۸/۸۲
	Total			٪۸۷/۹۳

جدول ۷. ترکیبات مونو تریپنی موجود در اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* در تکنیک میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد

هیدروکربن های مونو تریپنی	ترکیب درصد	مونو تریپن های اکسیژن دار	درصد
α -Thujene	۰/۵۰	Isoborneol	۰/۱۵
α -pinene	۲۶/۸۳	----	----
β -pinene	۳۹/۷۷	----	----
limonene	۱/۶۹	----	----
Total	۶۸/۷۹	Total	۰/۱۵
کل مونو تریپن ها = ٪۶۸/۹۴			

جدول ۸. ترکیبات سزکوئی تریپنی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* در تکنیک میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد

سزکوئی تریپن های هیدروکربنی	ترکیب درصد
α -Copaene	۱/۱۳
β -Elemene	۳/۸۶
β -Ylengen	۲/۷۵
β -Copaene	۱/۱۷
β -Cubebene	۰/۱۶
γ -Muurolene	۰/۴۸
Bicyclosquiphellandrene	۰/۴۹
α -Amrophone	۰/۱۳
Germacrene D	٪۸/۸۲
کل سزکوئی تریپن ها = ٪۱۸/۹۹	

۳-۳. مقایسه نتایج برخی از تحقیقات انجام شده

بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* جمع آوری شده از خلخال در آذربایجان شرقی نشان داد، بتا- کاربوفیلین (٪۱۴/۳)، اسپاتونول (٪۱۶/۱)، آلفا- کوپان (٪۱۶/۶)، آلفا- کوپین (٪۱۲/۶)، هومولن (٪۸/۴) و هومولن اپوکسید (٪۶/۸) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۱۳]. بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* جمع آوری شده از بهشهر استان مازندران نشان داد، ۱۴،۱۰،۶- تری متیل پنتا دکان-۲-اون (٪۶/۴)، نرمال-تریکوسان (٪۹/۹)، پیریتنون (٪۶/۴) و

جرمکران دی (۴/۹٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۱۴]. بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* جمع آوری شده از خراسان شمالی نشان داد آلفا-پینن (۱۶/۱٪) هگزادکانوئیک اسید (۱۰/۵٪)، میرسن (۸/۴٪)، بتا-فلاندرن (۷/۵٪)، بتا-پینن (۶/۵٪)، اسپاتولنول (۵/۳٪)، جرمکران دی (۵/۲٪) و بتا-کادینن (۵/۱٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۱۵]. بررسی اسانس اندام هوایی گیاه *Stachys byzanthina* جمع آوری شده از شمال شرق ایران نشان داد ۸۱-سینول (۱۴/۸٪)، جرمکران دی (۹/۶٪)، لینالول (۱۲/۹٪)، کوبنول (۹/۹٪)، آلفا ترپینول (۷/۸٪)، آلفا-کادینول (۶/۸٪) و منتون (۶/۹٪) ترکیبات اصلی اسانس گیاه را تشکیل می دهند [۱۶].

۴. نتیجه گیری

مقایسه نتایج اسانس بدست آمده گیاه *Stachys byzanthina* به دو روش تقطیر با آب و روش میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد نشان می دهد، اسانس حاصل از تقطیر با بخار آب حاوی مونوترپن ها (۵/۴۲٪)، سزکویی ترپن ها (۲۹/۵۶٪) و ترکیبات غیر ترپنی (۵۲/۶٪) از کل اسانس شناسایی شده (۹۲/۵۶٪) گیاه را تشکیل می دهند. در حالیکه در اجزاء فرار حاصل از روش میکرو استخراج از فضای فوقانی فاز جامد، ترکیبات غیر ترپنی مشاهده نشدند. ۶۸/۹۴٪ از ترکیبات شناسایی شده را مونوترپن ها تشکیل می دهند و ۱۸/۹۹٪ آن سزکویی ترپن ها هستند که فقط سزکویی ترپن های هیدروکربنی را شامل می شوند. بطور کلی ترکیبات اکسیژن دار قابل توجهی در اسانس دیده نمی شوند که این تفاوت در اجزاء حاصل از دو روش را، در زمان و دمای اسانس گیری باید جستجو کرد. به طور کلی در بررسی اجزا توسط تکنیک HS-SPME دمای پایین تر و زمان بسیار کوتاهتری مورد نیاز است. همچنین مقایسه نتایج این تحقیق با تحقیقات قبلی صورت گرفته بر روی اسانس *Stachys byzanthina* نشان دهنده تاثیر شرایط اقلیمی بر روی ترکیبات موجود در اسانس گیاه و ترکیب درصد آنها می باشد.

۶. تقدیر و تشکر

از جناب آقای دکتر ولی الله مظفریان و سازمان تحقیقات جنگل ها و مراتع ایران که زحمت نامگذاری علمی این گیاه را متحمل شدند کمال تشکر را داریم.

۷. مراجع

- [1] Rechinger, K. H., & Hedge, I. C. (1982). Flora Iranica; Akademische druck und verlagsanstalt. *Gras, Austria*. 150, 359, 360, 361, 365.
- [2] Mozaffarian, V. (1996). *Dictionary of Iranian Plant Names'*. Farhang Mo'aser. 522
- [3] Mozaffarian, V. (2013) *identification of medicinal and aromatic plants of IRAN*. 572.
- [4] Gruenwald, J., Brendler, T., & Jaenicke, C. (2007). *PDR for herbal medicines*. Thomson, Reuters. 832.
- [5] Norouzi-Arasi, H., Yavari, I., & Alibabaei, M. (2004). Chemical constituents of the essential oil of *Stachys schtschegleevii* Sosn. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 16(3), 231-232.
- [6] Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Chinou, I. B., & Loukis, A. E. (1999). Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Stachys candida* and *S. chrysantha* from southern Greece. *Planta medica*, 65(03), 255-256.
- [7] Biglar, M., Ardekani, M. R., Khanavi, M., Shafiee, A., Rustaiyan, A., Salimpour, F., & Farjadmand, F. (2014). Comparison of the volatile composition of *Stachys pubescence* oils obtained by hydro distillation and steam distillation. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 17(7), 942-946.

- [8] Khanavi, M., Farahanikia, B., Janbakhsh, S., Sheibani, S., Hoseini-Sajedi, S. M., Salahi-Oliaee, M. H., ... & Hadjiakhoondi, A. (2008). Comparison of the essential oil composition of *Stachys trinervis* Aitch. & Hemsl. and *Stachys subaphylla* Rech. F. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(4), 406-412.
- [9] Pirbalouti, A. G., & Mohammadi, M. (2013). Phytochemical composition of the essential oil of different populations of *Stachys lavandulifolia* Vahl. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(2), 123-128.
- [10] Bashi, D. S., Emami, S. A., Iranshahy, M., & Asili, J. (2013). Essential oil composition of aerial parts of *Stachys parviflora* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(2), 261-264.
- [11] Lord, H., & Pawliszyn, J. (2000). Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 153-193.
- [12] Adams, R. P. (2001). *Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy*. Allured publishing corporation.
- [13] Khanavi, M., Hadjiakhoondi, A., Amin, G., Amanzadeh, Y., Rustaiyan, A., & Shafiee, A. (2004). Comparison of the volatile composition of *Stachys persica* Gmel. and *Stachys byzantina* C. Koch. oils obtained by hydrodistillation and steam distillation. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(7-8), 463-467.
- [14] Morteza-Semnani, K., Akbarzadeh, M., & Changizi, S. (2006). Essential oils composition of *Stachys byzantina*, *S. inflata*, *S. lavandulifolia* and *S. laxa* from Iran. *Flavour and fragrance journal*, 21(2), 300-303.
- [15] Zendegani, S., Afshar, A. S., & Motavalizadehkakhky, A. (2013). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils of flower of *Stachys byzantina* C. Koch. from Iran. *NCNPMP*, 385.
- [16] Mostafavi, H., Mousavi, S. H., Zalaghi, A., & Delsouzi, R. (2013). Chemical composition of essential oil of *Stachys byzantina* from North-West Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(3), 334-337.

Analysis of the essential oil obtained with hydrodistillation and head space solid phase micro extraction of the *Stachys byzantina* C. Koch. Using GC and GC-MS

Jafar Izadi Nia*

Department of Chemistry, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran

Submitted: 25 August 2023, Revised: 23 November 2023, Accepted: 02 December 2023

Abstract

In this investigation *Stachys byzantina* C. Koch. Collected from shahrood aria, semnan province and the essential oil of aerial part of plant was obtained with hydrodistillation and solid phase microextraction (HS-SPME) instrument and analyzed by GC and GC/MS. Analysis essential oil obtained with hydrodistillation showed n-Octan (33.97%) Germacrene D (19.21%) trans-1-Ethyl-3-Methylcyclopentane (12.37%), geranyl- α -terpinene(4.98%) and Decane (4.98%) were the main component in the total recognized (92.56%) aerial part oil. The other notable component were β - pinen(2.81%), β - Elemene (2.13%) and Caryophyllene oxid (1.67%). The analysis of the essential oil obtained with HS-SPME instrument from aerial part of the plant showed that β -pinene (39.77%), α -pinene (26.33%), Germacrene D (8.82%) and β - Elemene (3.86%) were the main component in the total recognized (87.93%) oil from aerial part of the plant. the other notable component were β - Ylengen (2.75%) and β - Copaene (1.17%).

Keywords: *Stachys byzantina*, HS-SPME, Germacrene D, α -pinene, β - pinen, and essential oil

*Corresponding author : Jafar Izadi Nia

Address: Department of Chemistry, Shahrood Branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran.

Tel: 02332394320

E-mail: Jafar.aboli2011@gmail.com