همایش ملی صنعت و تجاری سازی کشاورزی
27 آذر 1398 – اهواز

ارزیابی سطوح آنتی اکسیدان و ترکیبات فنلی در میوه گیاه زرشک وحشی دانه دار زرافشان (*Berberis integerrima*)

فاطمه آهنگری[1]، **سید حسن مرعشی**[*2]، **علی جوادمنش**[3]، **علی مقیمی**[4]

1.دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد Ahangari.ftm@gmail.com

2.استاد گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[*] نویسنده مسئول: (marashi@um.ac.ir)

3.استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

4.استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

هدف از مطالعه حاضر مقایسه کمی خاصیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنلی یا فلانوئیدی در عصاره های تهیه شده آبی و الکلی زرشک دانه دار وحشی (زرافشان)[1] بود. بعد از تهیه میوه زرشک زرافشان از منطقه امرودک خراسان رضوی و پودر کردن آن، عصاره های آبی به دو صورت شیکر به مدت 24 و 72 ساعت و جوشاندن هر یک به مدت 5 و 30 دقیقه تهیه شدند. تیمارها همچنین به دو صورت نمونه تر و خشک و نیز سانتریفیوژ شده و غیر سانتریفیوژ شده برای هر دو عصاره تهیه شده با شیکر و جوشانده تولید شدند. عصاره الکلی نیز با روش شیکر به مدت 72 ساعت تهیه گردید. فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار دی پی پی اچ[2] ، میزان فنل و فلانوئید کل با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی جوشانده شده به مدت 30 دقیقه دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق مهار رادیکال های آزاد دی پی پی اچ بود. همچنین عصاره آبی نسبت به نمونه اتانولی میزان فلانوئید بالاتری داشت.

[1] *Berberis integerrima*
[2] DPPH

کلید واژه: ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی آکسیدانی، زرشک زرافشان، عصاره آبی.

مقدمه

زرشک زرافشان از گیاهان بوته ای مهم در زمینه پزشکی محسوب میشود که ارتفاع بوته 4 متر با خوشه های 5-2 cm و میوه به طول 8-7 mm گزارش شده است (3). عصاره این گونه گیاهی به عنوان رنگ طبیعی جهت رنگ آمیزی الیاف استفاده می شود. شواهد حاکی از خاصیت ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد آنتی اکسیدانی و همچنین کاهش کلسترول، کاهش بیماری های قلبی و عروقی، مهار اکسیداسیون دئوکسی ریبونوکلئاز[3] اندام های مختلف گیاه زرشک است. آنتی اکسیدان ها ترکیبات فنولیکی می باشند که با اتصال به رادیکالهای آزاد فعالیت آنها را از بین برده تا از بدن خارج شوند (5). ترکیبات فنولی از متابولیت های ثانویه گیاهان هستند که به عنوان آنتی اکسیدان شناخته شده است که نقش مهمی در مقاومت به بیماری ها دارد فلانویید ها بزرگترین گروه ترکیبات فنلی با وزن مولکولی پایین می باشند. این مطالعه به بررسی اثر آنتی اکسیدانی روشهای مختلف عصاره گیری آبی میوه زرشک وحشی دانه دار(زرافشان) و مقایسه بهترین روش با عصاره اتانولی این زرشک بود.

مواد و روش

میوه تازه و خشک شده زرشک دانه دار منطقه امرودک خراسان رضوی جمع آوری و جهت شناسایی نمونه هرباریومی به مرکز گیاهشناسی دانشگاه فردوسی تحویل داده شد. به طور خلاصه، عصاره گیری نمونه های پودر شده (نسبت 3:1 با حلال) به روش شیکر و جوشاندن به ترتیب به مدت24 یا 72 ساعت روی دستگاه شیکر و جوشاندن 5 و30 دقیقه (در دمای 100 درجه) انجام گرفت. سپس عصاره آبی مورد نظر توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره 1 صاف و نمونه ها به دو دسته سانتریفیوژ شده (به مدت 20 دقیقه با دور 3500) و بدون سانتریفیوژ تقسیم شدند (جدول1). بدین ترتیب از 150 گرم پودر زرشک، 12 گرم عصاره بدست آمد. و عصاره ها در یخچال نگهداری شد.

[3] DNA

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی توسط به دام اندازی رادیکال (دی پی پی اچ)

یک میلی لیتر ازمحلول یک میلی مولار دی پی پی اچ با یک میلی لیتر از عصاره مخلوط شد و به مدت 30 دقیقه در تاریکی نگهداری و با طول موج 517 نانومتر جذب خوانده شد. فعالیت بر حسب درصد نسبی دی پی پی اچ طبق معادله زیر محاسبه گردید:

درصد دی پی پی اچ = [(درصد جذب نمونه - درصد جذب شاهد/ درصد جذب شاهد) ×100]

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از معرف دی پی پی اچ

ابتدا غلظت های مختلفی از عصاره گیاه تهیه، سپس از هر غلظت 2 میلی لیتر در لوله آزمایش ریخته و با 2 میلی لیتر از محلول 0/004% دی پی پی اچ مخلوط و لوله ها به مدت 30 دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شدند. جذب نمونه ها نسبت به شاهد اندازه گیری و با استفاده از فرمول زیر درصد مهار رادیکال آزاد هر عصاره تعیین شد (2).

$$\%I = (A_{Control} - A_{sample}) / A_{Control} \times 100$$

اندازه گیری فنل کل

جهت اندازه گیری فنل کل یک میلی لیتر از معرف فولین به یک میلی لیتر عصاره مورد نظر اضافه و به محلول حاصل یک میلی لیتر کربنات سدیم اضافه شد بعد از ورتکس، به مدت 30 دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه ها در طول موج 765 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده ونتایج با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید به صورت میلی گرم هم ارز گالیک اسید گزارش شد (1).

اندازه گیری فلانوئید کل

به طور خلاصه، به 500 میکرولیتر از هرعصاره، 1/5 میلی لیتر متانول 80% و 100 میکرولیتر آلومنیوم کلراید 10%، 100 میکرولیتر استات پتاسیم ا مولار و 2/8 میلی لیتر آب مقطر اضافه و مخلوط ورتکس به مدت 40 دقیقه نگهداری دردمای محیط جذب محلول در طول موج 415 نانومتر نسبت به شاهد اندازه گیری گردید. میزان فلانوئید کل عصاره ها براساس میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (4).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

سنجش ها در سه تکرار و آنالیز آماری با نرم افزار مینی تب 17 و جامپ 9[4] به روش آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و مقایسه میانگین در سطح 5 درصد با آزمون فیشر انجام گرفت. نمودارها با نرم افزار اکسل رسم شدند.

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی

در گروه الف نتایج آنالیز واریانس نشان داد که عصاره گیری آبی با شیکر تاثیر معنی داری بر میزان رایکال آزاد نداشته است ($P<0.5$). ولی در روش جوشاندن، نمونه تر به مدت 5 دقیقه (92/28%) تفاوت معنی داری با نمونه های دیگر داشت (جدول1).

جدول1: تقسیم بندی تیمارها و درصد مهار رادیکال DPPH در میوه زرشک وحشی دانه دار.

I% درصد مهار رادیکال آزاد.

گروه الف		I%	گروه ب		I%	زمان
شیکر	تر	۶۳/۷۳ cd	شیکر	سانتریفوژ شده	۵۶/۹۲ ab	۲۴h
		۸۳/۹۲ a			۶۲/۳۲ cd	۲۴h
	خشک	۶۲/۵۵ d		بدون سانتریفوژ	۶۸/۹۸ a	۲۴h
		۵۵/۷۱ e			۶۱/۰۶ d	۲۴h
جوشاندن	تر	۹۲/۲۸ a	جوشاندن	سانتریفوژ شده	۵۵/۴۱	۵min
		۶۳/۰۲ d			۷۳/۵۰	۳۰min
	خشک	۸۰/۰۳ b			۷۳/۵۵	۵min
		۷۷/۴۱ c		بدون سانتریفوژ	۸۰/۴۲	۳۰min

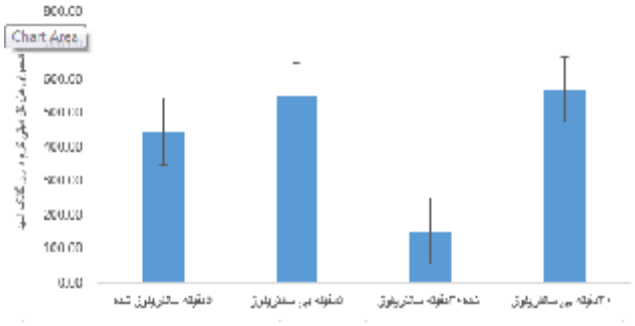
در گروه ب نتایج آنالیز درصد مهار رادیکال آزاد در عصاره تهیه شده با استفاده از شیکر تفاوت معنی داری نداشت ولی روش جوشاندن آنالیز داده ها اثر معنی داری بر میزان رادیکال آزاد را در سطح % 5 نشان داد.

[4] JMP9

در این بررسی در عصاره جوشانده 30 دقیقه و بدون سانتریفیوژ بیشترین میزان مهار دیده شد. نتایج آنالیز واریانس برای مقایسه عصاره آبی جوشانده شده به مدت 30 دقیقه و عصاره اتانولی تفاوت معنی داری را در سطح 5% نداشت (جدول 1).

میزان فنل کل

نتایج حاکی از آن است که در عصاره های گروه الف تفاوت معنی داری دیده می شود که بیشترین میزان فنل در نمونه خشک30 دقیقه جوشانده گزارش شد. در گروه ب نمونه (نمودار 1) جوشانده و30 دقیقه بدون سانتریفیوژ، بیشترین میزان فنل کل را داشت.

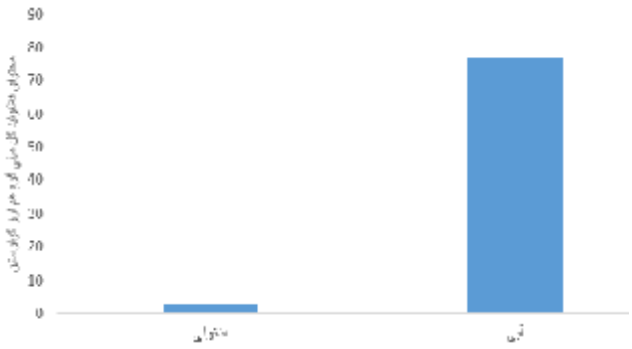


شکل1- محتوی فنل کل برحسب میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره میوه زرشک دانه دار *Berberis integerrima* .

میزان فنل کل برای نمونه‌ی اتانولی در مقایسه با نمونه‌ی آبی تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

میزان فلانوئید کل

آنالیز داده ها برای بررسی میزان فلانوئید کل در عصاره های گروه ب جوشانده به مدت 30 دقیقه تفاوت معنی داری نشان ندادند ($P<\%5$). مطالعه حاضر مبین این است که عصاره آبی 30 دقیقه بدون سانتریفوژ در سطح 5% دارای تفاوت معنی داری با عصاره اتانولی می باشد و عصاره آبی میزان فلانوئید بالاتری دارد.



نمودار2- محتوی فلانوئید کل (میلی گرم کوئرستین در گرم میوه زرشک وحشی دانه دار (*Berberis integerrima*) در عصاره های آبی و اتانولی.

نتیجه گیری

به طور کلی، آنالیز داده ها در هشت نمونه در گروه الف نشان داد که نمونه جوشانده تر به مدت 5 دقیقه بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد را دارد. در هشت نمونه گروه ب نتایج نشان دهنده میزان بالای مهار رادیکال آزاد و همچنین بیشترین میزان فنل کل در نمونه های جوشانده 30 دقیقه بدون سانتریفیوژ بود.

منابع

۱) شریفی ف، پوراکبر ل.، ۱۳۹۴. مقایسه خواص ضداکسایشی زرشک تازه Berberis (*integerrima*×*Vulgaris*) درحلال های الکلی و آبی. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۲ :۲۹۶-۳۰۷.

۲) مشایخی ک، آتشی ص.، ۱۳۹۴. راهنمای آزمایشات فیزیولوژی گیاهی. تحقیقات آموزش کشاورزی ومنابع طبیعی، تهران، ۳۱۰.

3) Ashraf, H., Heidari, R., Nejati, V., Ilkhanipoor, M., 2013. Effects of Aqueous Extract of *Berberis integerrima* Root on Some Physiological Parameters in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 12 (2): 425-434.

4) Chang, C., Yang, H., Chern, J., 2002. Estimation of total flavonoid content in proplis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10:178-182.

5) Okatan, V., Melda, C. A., 2019. Chemical and phytochemicals contentof Barberry (*Berberis vulgaris* L.) Fruit genotypes from Siv Asli District of Usak province of western Turkey. Pak. J. Bot, 51(1): 165-170.

همایش ملی صنعت و تجاری سازی کشاورزی
27 آذر 1398 – اهواز

Evaluating the levels antioxidant and phenolic compounds in the fruit of Zarafshan wild barberry (*Berberis integerrima*)

Fatemeh Ahangari[1], Hassan Marashi[2*], Ali Javadmanesh[3], Ali Moghimi[4]

1. Msc. Student of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2. Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran (*Corresponding author: marashi@um.ac.ir)
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
4. Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Abstract

The aim of the present study was to compare the antioxidant properties and phenolic / Flavonoids compounds in aqueous and alcoholic extracts of wild grain barberry. After purchasing from Amrudak village (Razavi Khorasan Province Iran) and powdering of Zarafshan Barberry fruit, the aqueous extracts were prepared in two ways (shaking for 24 and 72 hours and boiling each for 5 and 30 minutes). Treatments were also produced in both wet and dry samples as well as centrifuged and non-centrifuged for both extracts prepared with shaker and boiled. The alcoholic extract was prepared by shaker method for 72 hours. Antioxidant activity was determined by DPPH inhibition, total phenol and total Flavonoids levels using spectrophotometer. The results of this study showed that the aqueous extract boiled for 30 minutes had the highest amount of antioxidant activity through inhibition of DPPH free radicals. The aqueous extracts also has a higher Flavonoids content than the ethanol sample.

Keywords: Antioxidant activity, aqueous extract, *Berberis integerrima*, Phenol contents.