

بررسی تاثیر زمان ماندگاری بر ترکیبات فنولی، ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب زرشک

*رضا دهقانی بیدگلی

استادیار گروه مرتع و آبخیز دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کاشان

*نویسنده مسئول: dehghanir@kashanu.ac.ir

چکیده

سابقه استفاده از گیاه دارویی زرشک، به زمان‌های کهن بر می‌گردد. این گیاه، یکی از گیاهان درمانی در طب گیاهی است. شواهد و مستندات علمی نشان می‌دهد که ترکیبات این گیاه خواص درمانی زیادی دارند. دوره رشد کوتاه‌مدت و نیاز آبی نسبتاً کم این گیاه به همراه خواص دارویی و استفاده غذایی آن موجب شده است که بسیاری از کشاورزان به کشت این محصول بپردازند. این پژوهش به منظور تاثیر زمان ماندگاری بر ترکیبات فنولی، ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب زرشک انجام شده است. در این مطالعه از زرشک تازه با استفاده از روش فشردن و غوطه‌وری به منظور آبگیری استفاده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بلافاصله بعد از آبگیری (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از ماندگاری با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی تغییرات ویتامین ث، از روش تیتراسیون ید با یدور پتاسیم در حضور معرف نشاسته استفاده شد. نتایج نشان داد زمان ماندگاری تاثیر معنی‌داری بر ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی زرشک دارد به طوری که با گذشت و زمان و افزایش زمان ماندگاری آب زرشک در دمای اتاق، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن کاهش یافت؛ اما ترکیبات فنولی موجود در آب زرشک، ابتدا افزایش، اما با سپری شدن روزهای بیشتر، سیر نزولی نشان داد. میزان ویتامین ث با افزایش زمان ماندگاری کاهش یافت و نمونه‌ها در گروه‌های مختلف آماری قرار گرفتند. بر اساس نتایج، نمونه‌های تیمار شاهد و تیمار ۱۵ روز به ترتیب بیش‌ترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان دادند. از آنجایی که حداکثر زمان ماندگاری آب زرشک ۵ روز می‌باشد، لازم است شرکت‌های تولید کننده این فرآورده این بازه زمانی را برای عرضه تولیدات خود به بازار مصرف مد نظر قرار دهند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات طبیعی، درصد مهار، رادیکال آزاد، عصاره، DPPH.

مقدمه

نقش گیاهان دارویی در تأمین نیازهای غذایی و دارویی انسان غیر قابل انکار می‌باشد، در این میان، گیاه دارویی زرشک به لحاظ ارزش دارویی بالا از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (آزادی، ۱۳۸۸).

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها می‌باشند که معمولا در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، آجیل‌ها، دانه‌ها، ریشه و سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند. این مواد منافع قابل توجهی در زمینه مواد غذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی دارند (بیدلی، ۱۳۷۹). با توجه به طیف گسترده‌ی اثرات مطلوب زیستی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، استفاده از گیاهان دارویی رو به افزایش است (بالندری و کافی، ۱۳۸۱).

زرشک، با نام علمی *Berberis vulgaris* از خانواده Berberidaceae، یکی از گیاهانی است که استفاده از آن در طب سنتی دارای تاریخچه‌ای طولانی است. این گیاه، بومی آمریکا و اروپا بوده و در ایران نیز در سطح نسبتا وسیع کشت می‌شود (جانی قربان، ۱۳۸۳). تاریخ استفاده از این گیاه در طب چین به ۳۰۰۰ سال قبل باز می‌گردد (دانشور و مظهری، ۱۳۷۹). این گیاه سبب کاهش فشارخون و ایجاد هیپوگلیسمی شده، دارای اثرات ضدالتهابی بوده و خواص فارماکولوژیک آن از جمله خاصیت ضدهیستامین و ضدسیستم کولینرژیک مورد بررسی قرار گرفته است. از زرشک در درمان تب‌های عفونی، تیفوس و اسهال نیز استفاده می‌شود (ولایتی و همکاران، ۱۳۸۵). در یک بررسی، اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف ریشه زرشک

بررسی و مشخص شد که عصاره متانولی از سایر عصاره‌ها مؤثرتر بوده و علیه باکتری‌های گرم مثبت با شدت بیشتری عمل می‌کند (کافی و بالندری، ۱۳۸۱). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۱۳۸۸، تأثیرات کاربرد طولانی مدت زرشک بر برخی از اجزای سندرم متابولیک مورد بررسی قرار گرفت. اثرات مثبتی از عصاره الکلی زرشک در ترمیم زخم‌های ناشی از لیشمانیوز با عامل لیشمانیا ماژور در موش‌ها گزارش شده است (جاچی، ۱۳۸۷). در سال‌های اخیر ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد مهم‌ترین عوامل اکسیدکننده مواد غذایی هستند که با یک روند تخریبی باعث از بین رفتن ارزش غذایی و تغییر در ترکیبات شیمیایی آن‌ها می‌شوند. فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی، انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیبات از جمله آنتی‌اکسیدانی، آنتی میکروبی و ضد التهاب آنها در بسیاری از تحقیقات گزارش شده است (عنبرانی، ۱۳۷۰). ترکیبات فنلی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی رادیکالی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا کنند (فلاحی و همکاران، ۱۳۷۹). هدف از اجرای این پژوهش، شناخت تاثیر زمان ماندگاری بر سه مورد از مهم‌ترین خصوصیات کمی و کیفی آب زرشک می‌باشد.

مواد و روش

در این تحقیق، زرشک تازه و عاری از کود و سم، از منطقه کوهسرخ شهرستان کاشمر از چند پایه گیاهی به صورت تصادفی تهیه و با استفاده از روش فشردن و غوطه‌وری، آبگیری از آنها انجام شد. در این روش، زرشک‌ها پس از شست و شو با آب سرد و آبکش

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

بررسی خاصیت توانایی دادن اتم هیدروژن با DPPH^۱ انجام شد. عصاره‌های مختلف با میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش ۲ و ۲ - دی فنیل، ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار گرفت. در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده عنوان معرف DPPH (Sigma-Aldrich) استفاده شد. به این ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های عصاره‌ها در متانول به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه شد. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانو متر با DPPH مقابل بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد از فرمول زیر محاسبه شد (Burits and Bucar, 2000).

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

اندازه گیری ویتامین ث

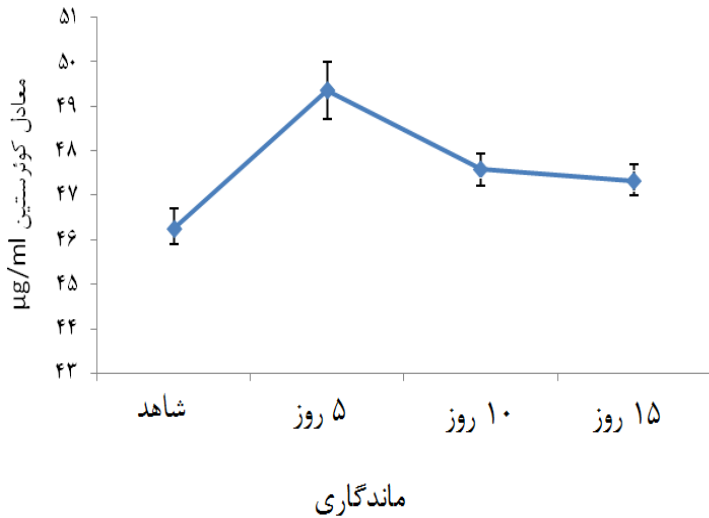
به منظور بررسی تغییرات ویتامین ث، از روش تیتراسیون ید با یدور پتاسیم در حضور معرف نشاسته استفاده شد. (Majedi, 1994). برای تعیین مقدار ویتامین ث، ۵ میلی‌لیتر از آب زرشک در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس با استفاده از محلول ید در یدور پتاسیم، در حضور ۲ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱ درصد تیتراژ شد. پایان رنگ آبی حاصل شد. با توجه به حجم آب زرشک اولیه، میزان ویتامین ث طبق فرمول زیر محاسبه شد.

کردن، همراه آب سرد، درون ظرفی غیرفلزی ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در این حالت قرار داده شد. سپس درون مخلوط‌کن ریخته شده و در نهایت، تفاله‌های زرشک از آب زرشک جدا شد. فعالیت آنتی اکسیدانی آب زرشک تهیه شده، بلافاصله بعد از آبیگری، در تیمارهای صفر به عنوان شاهد، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از ماندگاری با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱ - پیکریل هیدرازیل (DPPH) در ۵ تکرار اندازه گیری شد. میانگین صفات اندازه گیری شده توسط نرم افزار Excel تجزیه تحلیل و در قالب نمودار ارائه شده است.

تشخیص کل ترکیبات فنلی

محتوی تام فنولیک با استفاده از معرف فولین - سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. در این روش به نیم میلی - لیتر از هر عصاره، ۲/۵ میلی لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو اضافه شده، پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم اضافه و جذب مخلوط ۲ ساعت بعد در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت. میزان تام فنولیک بر اساس میزان معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش شد. آزمایش‌ها با سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها ثبت شد (Borelli, 2012).

^۱ α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl



شکل ۱) تاثیر ماندگاری بر فنول کل (معدل کوئرستین) آب زرشک

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی، از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. بعد از خواندن جذب محلول هر یک از نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر، درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با غلظت ثابت ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای هر کدام از نمونه‌ها محاسبه شد. با توجه به نتایج ارائه شده در (شکل ۲) همان طور که مشاهده می‌شود در نمونه‌های شاهد درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بیشتر است، در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نیز دارند. همچنین با توجه به نمودار استاندارد BHT، میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها بررسی شد و درصد مهار بر حسب منفی لگاریتم غلظت برای تیمارهای مختلف روی نمودار استاندارد رسم شد (شکل ۳ و ۴).

$$\text{Ascorbic acid\%} = \frac{V * 0.188}{\text{حجم آب زرشک}}$$

acid Ascorbic = میزان ویتامین ث بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰

میلی‌لیتر آب میوه

V = حجم ید در یدور پتاسیم مصرفی بر حسب میلی‌لیتر

۰/۱۸۸ = عدد ثابت بوده و بدین معنی است که هر میلی‌لیتر ید ۰/۱

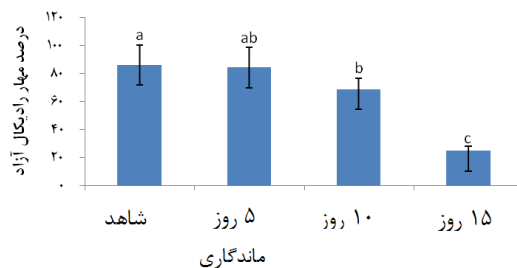
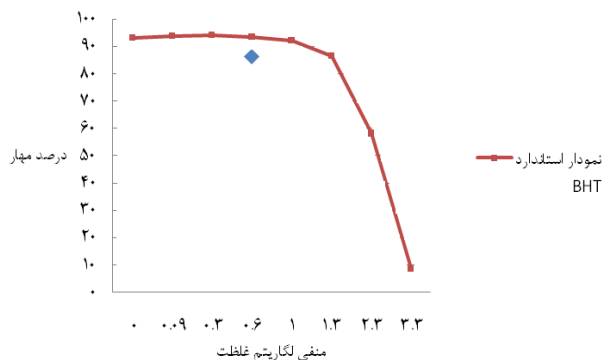
نرمال، برابر با ۰/۱۸۸ میلی‌گرم ویتامین ث می‌باشد.

میزان ویتامین ث، با تعیین مقدار ید در یدور پتاسیم وارد واکنش شده و با توجه به حجم آب زرشک اولیه محاسبه شد. از ضرب عدد ۱۷۶/۱۳ (وزن مولکولی ویتامین ث) در حجم ید در یدور پتاسیم مصرفی نیز می‌توان مقدار این ویتامین را به صورت گرم در لیتر و در نهایت به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بدست آورد که یک روش سریع برای محاسبه مقدار ویتامین ث است.

نتایج

میزان کل ترکیبات فنلی

همان طور که اشاره شد برای به‌دست آوردن مقدار ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ها از آزمون فولین سیکالتو استفاده شد که تعیین کننده میزان کل ترکیبات فنلی گیاه است و میزان کل ترکیبات فنلی بر حسب میکروگرم گالیک اسید معادل با یک میلی‌گرم عصاره با توجه به نمودار استاندارد محاسبه شد. میزان ترکیبات فنلی خود معیاری از آنتی‌اکسیدانی بودن عصاره‌ها نیز می‌باشد و هر چه این ترکیبات در عصاره‌ها بیشتر باشند، عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارند. میزان فنول کل به دست آمده نشان از خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالای این گونه است (شکل ۱).

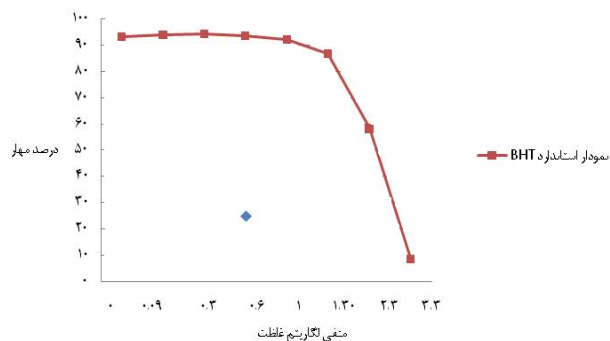


شکل ۲) نمودار مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی آب زرشک تحت تاثیر زمان های مختلف ماندگاری

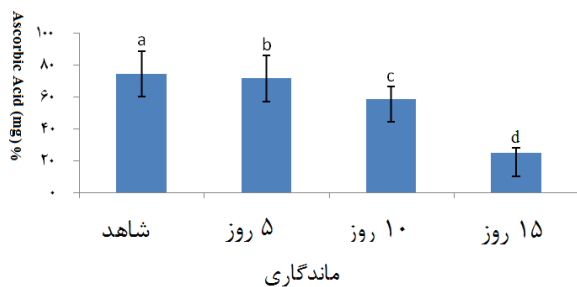
شکل ۴) نمودار درصد مهيار تيمار شاهد روی نمودار استاندارد

تغييرات ويتامين ث

نتايج نشان دادند در نمونه های شاهد درصد آسکوربيک اسيد و در نتيجه ميزان ويتامين ث بيشتر است (شکل ۵). ميزان اين فاکتور با افزايش زمان ماندگاری کاهش يافت و تيمارها در گروه های مختلف آماری قرار گرفتند.



شکل ۳) نمودار درصد مهيار تيمار ۱۵ روز ماندگاری روی نمودار استاندارد BHT



شکل ۵) نمودار مقایسه تغييرات ويتامين ث تحت تاثیر زمان مختلف ماندگاری

تیمار ۱۵ روز ماندگاری به ترتیب بیش‌ترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داده‌اند.

در مورد تغییرات ویتامین ث در مورد زرشک گزارشی مشاهده نشد. اما بر اساس نتیجه بررسی Majedi در سال (۱۹۹۴) با موضوع تغییرات ویتامین ث در کولتیوارهای مختلف نارنگی، مشخص شده است که نارنگی‌های تازه تر میزان ویتامین ث بیشتری دارند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

دستورالعمل ترویجی

تاکنون گزارشی مبنی بر تاثیر زمان ماندگاری بر محتوی فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آب زرشک؛ که از جنبه های نوآوری پژوهش حاضر است، منتشر نشده است. با توجه به محتوی فنولی و اثر آنتی‌اکسیدانی قابل قبول زرشک، شناسایی و بررسی میزان ترکیبات مؤثره این گونه گیاهی در رویشگاه‌های مختلف امری ضروری محسوب می‌شود. نظر به این که میزان ترکیبات موجود در گیاهان دارویی نسبت به شرایط مختلف آب و هوایی و در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است، لازم است طی آزمایش‌های متعدد، میزان این ترکیبات در مناطق مختلف بررسی شود.

استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم، اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آنهاست. زیرا وجود ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی در گیاه می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که گیاه دارویی زرشک منبعی از ترکیبات فنولی است که با نتایج تحقیقات پیشین در مورد این گونه مطابقت دارد. تاثیر کودهای مختلف بر فلاونوئیدهای موجود در گیاه دارویی زرشک نیز توسط محققین دیگری انجام شده است. که در آن بیش از ۲۵ پیک ریایی و شناسایی شده اند و وجود فلاونوئیدهایی مانند کامفرول و کوئرستین نیز تائید شده است (Nelson and Moser, 1994; Rattan et al., 2005). در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. جمشیدی و همکاران (۲۰۱۰) عصاره متانولی چند گیاه بومی مازندران را از نظر میزان فلاونوئید و فنلی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه نشان دادند که ارتباط مناسبی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات پلی فنلی گیاه وجود دارد.

از آنجایی که زمان ماندگاری، بر درصد مهار نمونه ها در مقایسه با نمودار استاندارد BHT تاثیرگذار بوده است؛ این موضوع نشان می‌دهد عملکرد آنتی‌اکسیدانی به شدت تحت تاثیر زمان ماندگاری می‌باشد که با نتایج مطالعات قبلی در مورد برخی فرآورده‌های گیاهی مانند آب لیمو مطابقت دارد (Raghavendra and Vijayananda, 2011). درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نشان دهنده خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبتا بالای این گونه است. بر اساس نتایج، نمونه های تیمار شاهد و

فهرست منابع

فیزیکی زرشک، نشریه ماشین های کشاورزی، ۱۲(۴):
۳۸-۴۵.

11- Borelli, A. (2012). The influence of the water regimes and nitro

gen fertilizing on the production of Roses under glass. *Journal of Rivista Della Orto Florofuettioli*, 65:109-117.

12- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Madicaco sativa* essential oil. *Journal of Phytotherapy Research*, 17: 311-318.

13- Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S.h., Fathi, F., & Mazanderani, M. (2010). Study on phenolicd and anioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Journal of Medicinal Plants*, 9(34):177-183.

14- Nelson, C.J., & Moser, I. (1994). Plant factors affecting forage quality, proc, Natl, conf. Forage quality evaluation and utilization, *Nebraska*, 5:115-142.

15- Majedi, M. (1994). Methods chemical test of food. Tehran University Publications of Jahad, Tehran, 108 pp.

16- Raghavendra, H., & Vijayananda, B. (2011). In vitro antioxidant activity of *Vitex negundo* L. Root extracts. *Chiang Mai Jornal of Science*, 41(4): 511-526.

Rattan, R.K., Datta, S.P., Chhonkar, K., Suribabu, A., & Singh, K. (2005). Long-term Impact of Irrigation with Sewage Effluents on Heavy Metal Content in Soils, Crops and Groundwater. *Journal of Ecosys and Environ*, 109: 310-322.

۱- آزادی، ر. (۱۳۸۸). فلور ایران تیره زرشک. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور. ۴۲ ص.

۲- بالندری، ا. و کافی، م. (۱۳۸۱). زرشک فناوری تولید و فرآوری. ناشر زبان و ادب مشهد. ۲۱۰ ص.

۳- بیدلی، ن. (۱۳۷۹). بررسی اثرات بازدارنده‌ها در جلوگیری از قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی زرشک. موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مشهد. ۱۷ ص.

۴- جانی قربان، م. (۱۳۸۳). معرفی گونه دارویی زرشک و بررسی برخی از خصوصیات فنولوژیک و اکولوژیک آن از استان‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری. دومین همایش گیاهان دارویی. دانشگاه شاهد تهران. ۱۲- ۵

۵- چاجی، ح. (۱۳۷۸). طراحی و روش ساخت دستگاه خشک کن مناسب برای زرشک. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز. ۱۲۰ ص.

۶- دانشور، م و مظهری، م. (۱۳۷۹). نگرشی اقتصادی- اجتماعی بر جایگاه محصولات راهبردی ویژه خراسان مطالعه موردی محصول زرشک، اقتصاد کشاورزی و توسعه. ۳(۸): ۱۰۲-۹۸.

۷- عنبرانی، م. (۱۳۷۰). زرشک و عناب دو عقیق رخشان صحراهای خراسان. انتشارات آستان قدس رضوی. ص ۱۳-۲۵

۸- فلاحی، ن.، رضوانی مقدم، پ و نصیری محلاتی، م. (۱۳۸۹). اثر تاریخ برداشت بر شاخص های کمی و کیفی میوه زرشک بی دانه، مجله پژوهشهای زراعی ایران، ۳(۲): ۲۳۴-۲۲۰.

۹- کافی، م. و بالندری، ا. (۱۳۸۱). زرشک فناوری تولید و فرآوری. ناشر زبان و ادب مشهد. ۱۳۵ ص.

۱۰- ولایتی، ا.، عمادی، ب.، خجسته پور، م و سعیدی راد، م. (۱۳۸۵). اثر محتوی رطوبتی بر برخی خواص