ارزیابی اثرات حلال های مختلف بر خواص آنتی اکسیدانی عصاره میوه های تازه و خشک زرشک (*Berberis oreintalis*)

ناهید حبیبی[1*]، سید حسین نعمتی[2]

۱- دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی، مشهد ۲- سید حسین نعمتی ،استادیار گروه علوم باغبانی , دانشگاه فردوسی، مشهد
*نویسنده مسئول: nahidhabibi121@yahoo.com

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی تاثیر پنج حلال مختلف بر خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره های میوه تازه و خشک زرشک (*Berberis oreintalis*) به روش DPPH بود. از این رو آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. بررسی بازده عصاره گیری در میوه های تازه و خشک زرشک نشان داد که از میان پنج حلال متانول، هگزان، اتیل استات ، نرمال بوتانول و آب، اتیل استات دارای بالاترین بازده استخراج بوده است. نتایج حاصل از بررسی های IC_{50} نیز حاکی از اثر مهار کنندگی بیشتر رادیکال های آزاد به هنگام استفاده از حلال اتیل استات نسبت به سایر حلال ها بود. همچنین از نظر اثرات آنتی اکسیدانی تفاوت معنی داری میان عصاره های تازه و خشک شده زرشک در سطح احتمال ۵٪ مشاهده شد به طوری که اثر آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی میوه های تازه زرشک به مراتب بالاتر از انواع خشک شده آن بود.

کلمات کلیدی: زرشک، انتی اکسیدان، خواص دارویی زرشک، حلال های آنتی اکسیدان ها

مقدمه

جنس زرشک دارای بیش از ۶۶۰ گونه است که فقط یک نوع آن یعنی زرشک بی دانه به عنوان محصول باغی پرورش می یابد (بالندری، ۱۳۷۴). زرشک از تیره زرشکیان و از رده دو لپه ای هاست (سی و سه مرده، ۱۳۷۷). ترکیبات زرشک به طور گسترده ای در صنایع غذایی و پزشکی کاربرد دارند (Beltagi, 2008). مطالعات بسیاری در مورد ترکیبات آنتی اکسیدان سنتزی صورت گرفته که به دلیل سمیت، مصرف آنها محدود گردیده است. به همین دلیل یافتن آنتی اکسیدان های طبیعی به ویژه از گیاهان و استفاده از آنها بخصوص در صنایع غذایی و دارویی بسیار مطلوب است تا علاوه بر داشتن اثرات بیولوژیک وسیع، احتمال ایجاد اثرات جانبی و مسمومیت با آنها کاهش بیابد (Milos et al., 2000). برای بررسی اثرات گیاهان از عصاره های مختلف استفاده می شود تا متابولیت های گیاهی را استخراج کنند(Eloff, 1998). به همین دلیل در این تحقیق بر آن شدیم تا فعالیت آنتی اکسیدانی زرشک تازه و خشک را با استفاده از حلال های با قطبیت متفاوت مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

میوه های تازه زرشک (*Berberis oreintalis*) از باغات در بیرجند واقع در خراسان جنوبی جمع آوری شدند. عصاره گیری میوه های تازه و خشک به روش پرکولاسیون و با استفاده از حلال های متانول، هگزان، اتیل استات، نرمال بوتانول و آب انجام گرفت. برای عصاره گیری میوه های تازه و خشک ۵ حلال مختلف به تفکیک به نمونه ها اضافه گردید، عصاره هایی که تا حدی در زیر هود آزمایشگاه تغلیظ شده بودند به پتری دیش منتقل شده و در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت نگه داری شدند و از آن پس حذف کامل حلال توسط دستگاه فریز دراینگ مدل Heto ساخت کشور دانمارک انجام گردید. در این بررسی از پنج حلال متانول، هگزان (غیر قطبی)، اتیل استات (نسبتا قطبی)، نرمال بوتانول (قطبی) و آب (خیلی قطبی) استفاده شد.

برای ارزیابی اثرات آنتی اکسیدانی به روش DPPH ابتدا برای تهیه محلول‌های مختلف نمونه (۱۰۰، ۸۰، ۶۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر) عصاره‌ها در متانول حل شدند. ۲ میلی لیتر از محلول نمونه با ۱ میلی لیتر محلول متانولی DPPH به غلظت ۰/۲ میلی مولار مخلوط شد و این مخلوط به شدت تکان داده شد(Liu et al., 2008). سپس همه نمونه‌ها در دمای اتاق و تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه و جذب آنها در طول موج ۵۱۷ نانو متربا استفاده از اسپکتروفتومتر UV قرائت گردید (Saha et al., 2004).

نتایج

اثر آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره های متانولی، هگزانی، اتیل استاتی، بوتانولی و آبی میوه های تازه و خشک زرشک با شاخص آنتی‌اکسیدان (AI%) به صورت میانگین ۳ بار اندازه‌گیری مشخص شده است. . اثر آنتی اکسیدانی VitC و BHT (به عنوان کنترل) در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی اکسیدانی در میوه های تازه و خشک زرشک نیز در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱- شاخص آنتی اکسیدانی ویتامین C و BHT به روش DPPH

	۲/۵µg/mL	۵µg/mL	۱۰µg/mL	۲۰µg/mL	۴۰µg/mL	۶۰µg/mL	۸۰µg/mL	۱۰۰µg/mL
Vit C	۵۲/۲۷	۹۵/۶۵	۹۵/۴۳	۹۴/۷۶	۹۶/۳	۹۴/۴۵	۹۷/۱۰	۹۸/۴۳
BHT	۱۷/۴۵	۲۵/۵۱	۳۰/۳۸	۴۴/۱۸	۶۰/۲	۷۳/۵۸	۸۴/۳	۹۱/۵۴

جدول۲- شاخص آنتی اکسیدان عصاره های متانولی، هگزانی، اتیل استاتی، بوتانولی و آبی میوه های تازه و خشک زرشک به روش DPPH

میوه	حلال	۲/۵µg/mL	۵µg/mL	۱۰µg/mL	۲۰µg/mL	۴۰µg/mL	۶۰µg/mL	۸۰µg/mL	۱۰۰µg/mL
تازه	متانول	gh۲/۷۰۹	i۱۰/۴۹	i۱۷/۰۴	h۲۹/۸۸	f۴۰/۰۳	e۵۵/۹۸	d۶۷/۴۴	c۷۲/۸۷
	هگزان	k۰/۹۸	j۳/۶۵	i۱۱/۳۲	i۱۷/۸۷	h۲۶/۹۹	g۳۴/۶۶	f۴۵/۲۲	d۶۴/۰۱
	اتیل استات	j۸/۷۱	i۱۳/۸۷	h۲۲	g۳۷/۸	c۷۴/۵۹	a۹۴/۵	a۹۵/۴۲	a۹۶/۱۶
	نرمال بوتانول	j۲/۷۸	j۹	i۱۶/۰۷	h۲۳/۲۲	f۴۱/۴۵	d۶۶/۳۴	b۸۵/۷۲	a۹۵/۳۲
خشک	آب	j۲/۶	j۹/۹۸	i۱۷/۶	i۱۸/۸۴	i۱۹/۳۲	h۲۴/۸۴	h۲۶/۷۱	g۳۳/۵۹
	متانول	i۱/۸۷	h۱۰/۳۳	g۲۶/۹۷	f۳۹/۰۴	d۵۵/۲۱	c۶۸/۴۹	b۷۷/۱۹	a۸۳/۳۶
	هگزان	j۰/۳۳	i۵/۵۴	h۱۰/۳۰	h۱۵/۱۸	g۲۰/۷۶	g۲۹/۵۷	f۳۹/۷۲	d۵۹/۴۸
	اتیل استات	i۶/۰۷	i۹/۴۴	h۱۳/۷۶	f۳۰/۱۵	d۵۰/۳۸	c۶۹/۰۲	b۷۴/۹۶	c۶۸/۲۷
	نرمال بوتانول	j۰/۵۴	i۷/۳۲	i۷/۴۴	h۱۳/۸۷	g۲۲/۰۶	f۳۹/۷۶	b۷۰/۱۹	a۸۸/۴۵
	آب	j۰/۳۷	i۴/۲۸	i۴/۴۲	h۱۰/۳۴	h۱۲/۹۸	g۲۲/۷۶	d۵۹/۲۱	c۶۲/۷۴

غلظت ها مربوط به AI% در غلظت های مختلف (n=۳)

اعداد با حروف مشترک در جدول دارای اختلاف معنی دار ($P<0.05$) نیستند.

طبق نتایج به دست آمده تفاوت معنی داری میان سیستم های مختلف حلال در عصاره های میوه تازه و خشک زرشک وجود دارد، به طوری که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی به هنگام استفاده از عصاره اتیل استات گزارش شده است، و کمترین میزان اثر در عصاره های آبی و هگزانی بوده است. جهت مقایسه اثرات آنتی‌اکسیدان عصاره‌های مذکور میوه تازه و خشک زرشک در روش DPPH از پارامتر دیگری به نام IC_{50} استفاده شد. IC_{50} عصاره، غلظتی از عصاره می‌باشد که باعث ۵۰٪ فعالیت روبشگری می شود. در جدول ۲ نتایج حاصل از محاسبه IC_{50} عصاره‌های مختلف، ویتامین C و BHT در روش DPPH آمده است. حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانی نیز در هر دو حالت میوه در عصاره های اتیل استاتی اتفاق افتاده است. طبق جدول ۳ بیشترین مقادیر IC_{50} در عصاره های میوه های تازه و خشک شده در عصاره های آبی گزارش است. عصاره متانولی حاوی طیف وسیعی از ترکیبات قطبی و نسبتا غیر قطبی می باشد. به طوریکه آلکالوئیدها، استرول ها، تری ترپن ها، فلاونوئید ها، کربوهیدرات ها و کومارین ها در این عصاره یافت می شوند(Leite, 2006).

جدول۳- IC_{50} عصاره های متانولی، هگزانی، اتیل استاتی، بوتانولی و آبی میوه های تازه و خشک زرشک، ویتامین C و BHT در روش DPPH

	نمونه مورد بررسی	IC_{50} (µg/ml)
	ویتامین C	۲/۳۳
	BHT	۱۵/۰۳
(تازه)	عصاره متانولی	۵۰/۴۴
	عصاره هگزانی	۸۵/۰۲
	عصاره اتیل استاتی	۲۵/۹۹
	عصاره بوتانولی	۴۹/۳۴
	عصاره آبی	۲۵۲/۷۶
(خشک)	عصاره متانولی	۶۰/۹۰
	عصاره هگزانی	۹۶/۹
	عصاره اتیل استاتی	۳۹/۳
	عصاره بوتانولی	۵۰/۰۱
	عصاره آبی	۳۹۴/۹

در این مطالعه، به نظر می رسد که فعالیت آنتی اکسیدانی زرشک به دلیل وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی(به طور کلی ترکیبات پلی فنول) موجود در این گیاه می باشد. مطالعات دیگر نیز مؤید این مطلب می باشند(Dorman and Hiltunen, 2002). در مطالعه ای که به روی سیستم های مختلف حلال و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی آن انجام دادند به این نتیجه رسیدند که حلال اتیل استات: متانول: آب ۶۰: ۳۰: ۱۰ بیشترین بازده استخراج را ایجاد می کند (۱۷ درصد) سالاری و همکاران(۱۳۸۷). اتیل استات در استخراج ترکیبات فنلی بسیار کارآمد است (Jayaprakasha , 2003). نتایج حاصل از آزمایش به روی عصاره های میوه های تازه و خشک زرشک نشان داد که تفاوت معنی داری میان سیستم های حلال های مختلف در بازده استخراج وجود دارد و حلال اتیل استات بیشترین بازده استخراج را ایجاد کرده است، حلال های آب و هگزان هم کمترین راندمان استخراج را در این آزمایش دارا بودند.

منابع

۱. بالندری، ا. ۱۳۷۴. اثر جیبرلیک و اتفن بر خصوصیات میوه و سهولت برداشت زرشک بی دانه. سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، مرکز خراسان، ایران.

۲. سالاری، ا.، حبیبی نجفی، م. و فرهوش، ر. ۱۳۸۷. استخراج عصاره هسته انگور با سیستم های مختلف حلال و ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی آن. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی.

۳. سی و سه مرده، ع.۱۳۷۷. اثر تنش شوری بر تغییرات محتوای یونی اندام ای گیاه در مراحل مختلف رشد سه رقم گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران، ایران.

4. Beltagi, M.S. 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. African Journal of plants Science. 10: 118-123.
5. Dorman, H.J.D. and Hiltunen, R. 2004. Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. Food Chem. 88: 193-199.
6. Jayaprakasha, G.K. 2003. Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifer) seed extracts. Food Research International. 117-122.
7. Kirby A.J. and Schmidt R.J. 1997. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-1, J. Ethnopharmacol. 56:103-108.
8. Liu X., Zhao M., Wang, J., Yang, B. and Jiang , Y. 2008. Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six region in China . J. Food Compos. Anal., 21: 219-228.
9. Saha, K., Lajis, N.H., Israf, D.A., Hamzah, A.S., Khozirah, S., Khamis, S. and Syahida, A. 2004. Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plant. J. Ethnopharmacol . 92: 263-267.
10. Eloff, J.N. 1998. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plant. J. Ethnopharmacol. 60: 1-8.
11. Milos, M., Mastelic, J., and Jerkovic, I., 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from organo (*Origanum vulgar* L. ssp. *hirtum*). Food Chem. 71: 79-83.

Study The Effects of Different Silvents on Antioxidant Activity of Fresh and Dry *Berberis oreintalis* Fruit Extracts

N. Habibi[*1],H. Nemati[2]

1-Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. 2-Associate Professor,Dep. of Horticultural Science, Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

*Corresponding author: nahidhabibi121@yahoo.com

Abstract

The aim of this study was to determine and compare the antioxidant activities of different extrects in fresh and dry fruits of *Berberis oreintalis*, by DPPH method, as a factorial complete randomized design (RCD) with three replications. The evaluation of extraction yield in fresh and dry fruits was showed that among five extracts (methanol, ethylacetate, water, n-butanol and hexane) ethylacetate, had the maximum efficiency. The obtained results revealed that, IC50 showed the highest activity in both case of fruits in ethyl acetate extraction. There was a very significant different (at the 0.05 level) between fresh and dry fruits, hence, the antioxidant and antiradical activity of fresh fruits were more than dry ones.

Key words: Antioxidant, Different Silvents, Fresh and Dry Berberis, eintalis Fruit Extracts