اکوفیزیولوژی و فیتوشیمی گیاهان دارویی و معطر
EPPMAPs

تأثیر شرایط خشک شدن بر میزان اسید گلیسریزیک و عصاره محلول در آب گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)

علی رضوانی اقدم [۱*] و سیدمحمدحسین آل‌عمرانی‌نژاد [۱]

۱- گروه کشاورزی، واحد بین المللی خرمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، خرمشهر، ایران (نویسنده مسئول: rezvaniaghdam@gmail.com)

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: فروردین ۱۴۰۲

تاریخ پذیرش مقاله: خرداد ۱۴۰۲

نوع مقاله: علمی- پژوهشی

موضوع: فیتوشیمی

چکیده

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.)، گیاه بوته‌ای، چندساله و به‌دلیل دارا بودن خواص دارویی از گیاهان صادراتی با ارزش ایران محسوب می‌گردد. دما و اندازه نمونه از فاکتورهای اقتصادی و موثر بر میزان اسید گلیسریزیک و عصاره محلول در آب موجود در ریشه این گیاه پس از خشک کردن می‌باشد. به‌منظور ارزیابی اثر دو فاکتور فوق (دما و اندازه نمونه) بر صفات مذکور (اسید گلیسریزیک و عصاره محلول در آب) یک آزمایش فاکتوریل ۲×۳ در قالب بلوک‌های کامل تصادفی طراحی گردید. برای انجام آزمایش ریشه‌های گیاه شیرین بیان جمع‌آوری شده، به سه اندازه بزرگ (۱۰ سانتی‌متر طول و ۱۰ میلی‌متر قطر)، متوسط (۵ سانتی‌متر طول و ۷ میلی‌متر قطر) و کوچک (۲ سانتی‌متر طول و ۵ میلی‌متر قطر) تقسیم شدند. تمامی نمونه‌ها در سه شرایط طبیعی (۱±۳۰) و دمای آون ۵۰ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. بر اساس نتایج حاصله دمای ۷۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد بر میزان اسید گلیسریزیک نمونه‌های بزرگ و متوسط خشک شده اثر معنی‌دار داشت به‌طوریکه نمونه‌های بزرگ خشک شده تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد از بیشترین میزان اسید گلیسریزیک و نمونه‌های متوسط خشک شده تحت دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد از میزان اسید گلیسریزیک کمتری نسبت به نمونه قبلی و بیشتر نسبت به سایر تیمارها برخوردار بود. میزان عصاره محلول در آب در نمونه‌های خشک شده تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد از مقدار بیشتری برخوردار بودند. بر اساس این نتایج می‌توان خشک کردن نمونه‌های بزرگ تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد را برای خشک کردن ریشه گیاه شیرین بیان توصیه نمود.

واژگان کلیدی: اسید گلیسریزیک، شیرین‌بیان، عصاره، گیاهان دارویی، مواد مؤثره.

۱. مقدمه

طبیعت به‌واسطه تولید گیاهان دارویی و میکروارگانیسم‌های متعدد، همیشه منبعی عالی برای بسیاری از ترکیبات درمانی بوده است. شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*)، از خانواده پروانه‌آسا[1] یکی از گیاهان با ارزش دارویی محسوب می‌گردد (Hassan et al., 2021). این گیاه بومی مناطق معتدله با آب و هوای مدیترانه‌ای می‌باشد که در جنوب شرق آسیا گسترش زیادی دارد. گیاه شیرین‌بیان به واسطه دارا بودن متابولیت‌های ثانویه در ریشه خود در دنیا حائز اهمیت بوده و مورد توجه صنایع دارویی، غذایی و حتی دخانیات قرار دارد (Khanahmadi et al., 2013). بسیاری از ترکیبات موثره موجود در عصاره این گیاه محلول در آب بوده و تقریباً ۴۰ تا ۵۰ درصد وزن خشک کل را تشکیل می‌دهند. از مهمترین ترکیبات موثره موجود در این گیاه می‌توان به ترکیبات تری‌ترپنوئیدی[2] نظیر گلیسریزین[3]، ساپونینی[4] مانند اسید گلیسریزیک[5] و اسید گلیسریتینیک[6] و فلاونوئیدی شامل لیکوئیریتین[7]، ایزولیکوئی‌ریتین[8]، لیکوئی‌ریتی‌جنین[9] و رامنولیکوئی‌ریتین[10] اشاره کرد (Hasan et al., 2021). یکی از مهم‌ترین ترکیبات فعال در ریشه این گیاه ماده‌ای به نام گلیسیریزیک اسید با خاصیت ضدالتهاب می‌باشد (Khanahmadi et al., 2013). تحقیقات مختلف اثرات خلط‌آوری، ضد زخم، ضد التهاب، ضد سرطان، ضد دیابت، ضد ویروسی (Bisht et al., 2022) ضد قارچی، ضد باکتریایی (Al-Ani et al., 2018) آنتی‌اکسیدانی، ضدحساسیت، ضدمیکروبی، ملین و بهبود زخم این گیاه را اثبات نموده است. با توجه به ویژگی‌های مذکور، این گیاه در درمان بیماری‌های مختلفی نظیر برونشیت، آسم، احتقان قفسه سینه، اختلالات دستگاه گوارشی مانند زخم‌های معده و اثنی‌عشر و التهابات ناشی از گاستریت، تاثیر ضدسرطانی روی سلول‌های سرطانی معده و پروستات و همچنین درمان بیماری هپاتیت (Bokelmann, 2021). مورد استفاده قرار می‌گیرد. امروزه با تمرکز بر خواص ضدالتهابی، ضد ویروسی و تعدیل کننده ایمنی این گیاه و با مطالعه چگونگی تاثیر مولکولی مواد موثره آن در درمان بیماری‌ها، به‌منظور پیشگیری و درمان عفونت کووید ۱۹[11] نیز مطالعات متعددی در جریان است (Bisht et al., 2022).

خشک کردن یکی از مهم‌ترین فرآیندهای پس از برداشت و قدیمی‌ترین روش برای نگهداری مواد گیاهی است. این روش از طریق حذف رطوبت با به‌کارگیری عمل تبخیر تا رسیدن به یک آستانه خاص موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های میکروب‌ها و مخمرها در مواد گیاهی و کاهش زوال و فساد آنها می‌شود، در نتیجه نگهداری محصول را برای مدت طولانی بدون کاهش کمیت و کیفیت آن امکان‌پذیر می‌کند. به‌منظور دستیابی به بهترین کیفیت گیاهان دارویی خشک شده، توجه به اندام مورد استفاده (ریشه، ساقه، برگ و ...) و نوع مواد مؤثره (آلکالوئید، اسانس، فنل، ترپنوئید و...) موجود در آن از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (Parsafar et al., 2022). دمای خشک کردن و اندازه نمونه دو فاکتور تاثیرگذار بر میزان مواد موثره گیاهان دارویی می‌باشد (Rezvaniaghdam et al., 2016).

[1] Fabaceae
[2] Triterpenoid
[3] Glycyrrhizin
[4] Saponin
[5] Glycyrrhizic acid
[6] Glycyrrhetinic acid
[7] Liquiritin
[8] Isoliquiritin
[9] liquiritigenin
[10] Rhamnoliquiritin
[11] Covid-19

تحقیقات متعددی به‌منظور ارزیابی فاکتورهای مختلف بر میزان مواد موثره گیاهان دارویی پس از خشک شدن انجام شده است. در تحقیق صورت گرفته توسط رضوانی‌اقدام و همکاران بر گیاه سیر مشخص شد اندازه حبه و دمای خشک کردن بر میزان آلیسین و اسید پیرویک موجود در گیاه سیر موثر است، بطوریکه در حبه‌های دونیم شده افزایش دمای خشک‌کن از ۵۰ به ۷۰ درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش اسید پیرویک و آلیسین گردید، اما میزان این ترکیبات در حبه‌های کامل خشک شده تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌شدت کاهش یافت (Rezvani Aghdam et al., 2016). خشک نمودن گیاه به‌لیمو توسط ۱۰ درصد اشعه ماکرویو منجر به استخراج بیشترین میزان اسانس با کیفیت مطلوب گردید (Rezvani Aghdam et al., 2019a). آون خلا تحت دمای ٤٥ درجه سانتیگراد نیز منجر به تولید بیشترین و با کیفیت‌ترین اسانس و همچنین حفظ بیشترین میزان کلروفیل برگ و بالطبع بهترین رنگ برگ پس از خشک شدن گردید (Rezvani Aghdam et al., 2019b). در تحقیق صورت گرفته بر روی گیاه علف طلایی (*Solidago virgaurea*) بیشترین میزان فنل کل از نمونه‌های خشک شده در سایه حاصل شد، درحالیکه بیشترین میزان فلاونوئید از نمونه‌های خشک شده در آون تحت دمای ٤٥ درجه سانتیگراد حاصل شد (Parsafar et al., 2022). در تحقیق صورت گرفته بر گیاه درمنه خزری حرارت غیر مستقیم و کمتر منجر به بازیابی بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان و فلاونوئید گردید (Mohammadi Nia Samakoush et al., 2022). با توجه به اهمیت دو فاکتور اندازه نمونه و دمای خشک‌کردن، در این تحقیق سعی شده است با تغییر در اندازه قطعات ریشه و دمای خشک شدن مناسب‌ترین شرایط دمایی و اندازه نمونه را به‌منظور دستیابی به بیشترین میزان اسید گلیسریزیک و عصاره محلول در آب مورد ارزیابی قرار دهد.

۲. مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی

ابتدا گیاه دارویی شیرین بیان از جزیره مینو، شهرستان خرمشهر جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس، ریشه‌های جمع‌آوری شده شسته شده و به‌منظور خشک شدن در هوای آزاد قرار گرفتند. برای انجام آزمایش ریشه‌های شیرین بیان در سه سایز بزرگ (طول ۱۰ سانتی‌متر، قطر ۱۰ میلی‌متر)، متوسط (طول ۵ سانتی‌متر، قطر ۷ میلی‌متر) و کوچک (طول ۲ سانتی‌متر، قطر ۵ میلی‌متر) خرد شدند.

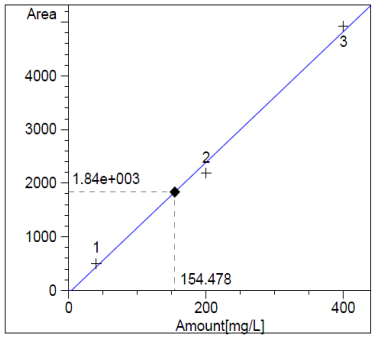
- خشک کردن نمونه‌ها

برای بررسی اثر دمای خشک کردن بر کیفیت گیاهان خشک شده دو شرایط دمایی ۵۰ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد برای کلیه سایزها مورد بررسی قرار گرفتند. به‌منظور مقایسه خشک کردن مصنوعی و طبیعی قسمتی از نمونه‌ها در شرایط آزمایشگاه در دمای ۱±۳۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. برای کلیه واحدهای آزمایشی ۱۰۰ گرم گیاه جهت خشک شدن داخل آون قرار گرفتند.

- اندازه‌گیری اسید گلیسریزیک

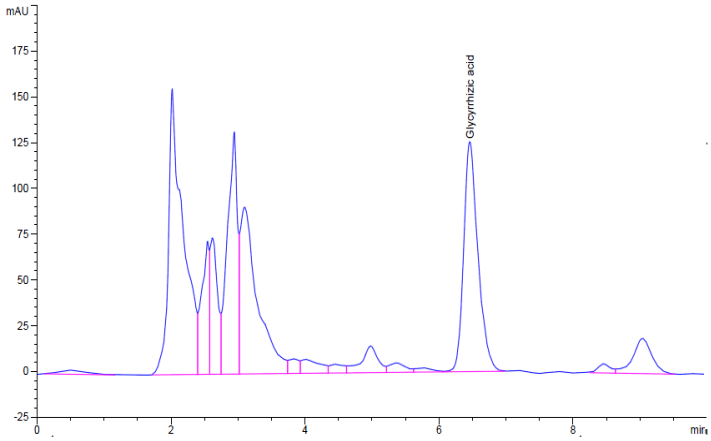
برای تعیین میزان اسید گلیسریزیک ابتدا شیرین بیان خشک شده توسط آسیاب پودر گردید. سپس محلولی از شیرین بیان پودر شده طبق روش فارماکوپه اروپا جهت تزریق به دستگاه HPLC مهیا شد. در نهایت محلول آماده شده به دستگاه HPLC تزریق گردید. جهت تعیین مقدار ماده موجود در نمونه‌ها، استانداردهای آماده شده طبق روش فوق‌الذکر در چهار غلظت مشخص آماده

شده و به دستگاه تزریق گردید. با محاسبه سطح زیر منحنی پیک‌های کروماتوگرام حاصله از تزریق استانداردها (شکل ۲) غلظت استانداردها تعیین شد. با استفاده از غلظت‌های محاسبه شده استاندارد، منحنی کالیبراسیون رسم گردید (شکل ۱). با قرار دادن مقادیر حاصله از تزریق نمونه‌ها در فرمول بدست آمده توسط استانداردها، غلظت اسید گلیسریزیک نمونه‌ها تعیین شد.




```
Glycyrrhizic acid at exp. RT: 6.340
DAD1 A, Sig=254,4 Ref=off
Correlation:           0.99805
Residual Std. Dev.:  169.66769
Formula: y = mx + b
      m:     12.18705
      b:    -46.70102
      x: Amount
      y: Area
```

شکل ۱. منحنی کالیبراسیون اسید گلیسریزیک



شکل ۲. نمونه‌ای از گراف HPLC

- **اندازه‌گیری عصاره محلول در آب**

برای تهیه عصاره محلول در آب، روی ٤ گرم از هر نمونه، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. مخلوط حاصله پس از ٢٤ ساعت سکون، مدت ۸ ساعت برروی شیکر قرار گرفته و مجدد ۱۸ ساعت در محلی بطور ثابت قرار گرفت. مخلوط حاصله صاف شده، سپس داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد تا زمان رسیدن به وزن ثابت حرارت داده شد. ماده خشک باقیمانده به‌عنوان عصاره محلول در آب در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

- **تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها**

میزان اسید گلیسریزیک و عصاره محلول در آب حاصل شده از نمونه‌های مختلف به‌عنوان فاکتورهای مورد ارزیابی در قالب طرح فاکتوریل ۳×۲ در قالب پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار توسط نرم افزار آماری SAS مورد ارزیابی قرار گرفتند. جداول توسط نرم‌افزار ورد و نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

۳. نتایج و بحث

- تأثیر شرایط خشک شدن و اندازه نمونه بر میزان اسید گلیسریزیک

بر اساس نتایج به‌دست آمده، اندازه نمونه در سطح ۵ درصد و اثر متقابل دما و اندازه نمونه در سطح ۱ درصد بر میزان اسید گلیسریزیک ریشه‌های خشک شده تاثیرگذار بود (جدول ۱). بیشترین میزان اسید گلیسریزیک در نمونه‌های درشت خشک شده در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد و کمترین آن در نمونه‌های متوسط خشک شده در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد مشاهده گردید. در خصوص نمونه‌های کوچک دما تاثیر معنی‌داری بر میزان اسید گلیسریزیک نداشته است، به‌طوریکه میزان اسید گلیسریزیک نمونه-های خشک شده تحت دمای ۵۰ و ۷۰ درجه سانتیگراد تقریبا برابر است (شکل ۳). دما بر میزان اسید گلیسریزیک موجود در نمونه‌های متوسط و بزرگ خشک شده تاثیر معنی‌دار داشت.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر دمای خشک کردن و اندازه قطعه بر میزان اسیدگلیسریزیک و عصاره محلول در آب

منابع تغییرات	درجه آزادی	اسیدگلیسریزیک	عصاره محلول درآب
اندازه ریشه	۲	۰/۱۷*	۲۸/۹۸*
دمای خشک کردن	۱	۰/۰۴۳ns	۲۸/۸۳*
دمای خشک کردن × اندازه قطعه	۲	۰/۶۳**	۱/۰۰۸ns
خطای آزمایشی	۶	۰/۰۱۶	۳/۵۰
ضریب تغییرات (درصد)	-	۴/۰۷	۱۹/۴۹

ns- عدم تفاوت معنی‌دار، * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

به‌طوریکه در نمونه‌های متوسط افزایش دما از ۵۰ به۷۰ درجه سانتیگراد منجر به کاهش معنی‌دار اسید گلیسریزیک گردید، اما در نمونه‌های بزرگ افزایش دما از ۵۰ به۷۰ درجه سانتیگراد منجر به افزایش معنی‌دار اسید گلیسریزیک گردید. نتایج تحقیقات Rezvani Aghdam و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده است ایجاد یک تعادل بین زمان خشک کردن و دمای مورد استفاده می‌تواند منجر به دستیابی به بیشترین میزان ماده موثره گردد.

بر اساس نتایج حاصله از این تحقیق و تحقیق صورت گرفته توسط Rezvani Aghdam و همکاران (۲۰۱۶) درصورت کوچک بودن نمونه بدلیل سطح تماس بیشتر با دمای بالا میزان اسید گلیسریزیک کاهش می‌یابد، اما در نمونه‌های بزرگ بدلیل سطح تماس کمتر نتایج منفی کمتری حاصل می‌شود. در حقیقت در نمونه‌های بزرگ علیرغم استفاده از دمای بالا چون سطح تماس ماده با این دما کمتر است و در مقابل زمان خشک شدن کاهش می‌یابد نتایج مطلوب‌تر از خشک شدن در دمای بالا حاصل شده است، اما در نمونه‌های متوسط سطح تماس بیشتر علیرغم خشک شدن سریعتر در دمای بالا منجر به کاهش اسید گلیسریزیک گردیده است. در نمونه‌های کوچک با توجه به افزایش سطح تماس، دما تاثیر معنی‌داری بر میزان اسید گلیسریزیک نداشته است.

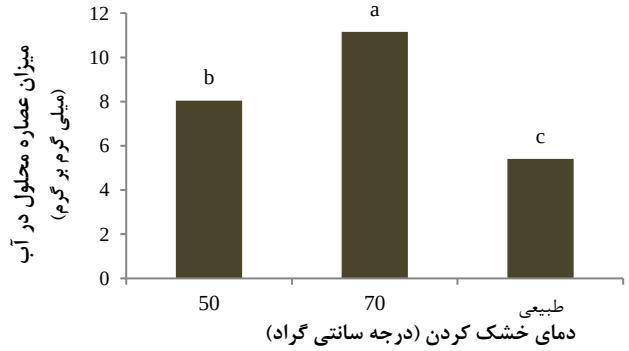
شکل ۳. اثر متقابل اندازه نمونه و دمای خشک شدن بر میزان اسید گلیسریزیک گیاه شیرین‌بیان

(میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.)

- **تأثیر شرایط خشک شدن و اندازه نمونه بر میزان عصاره محلول در آب**

نتایج حاصل از آزمایش نشان‌دهنده اثر معنی‌دار روش خشک کردن بر میزان عصاره محلول در آب در سطح ۱ درصد می باشد، به‌طویکه نمونه‌های خشک شده تحت دمای ۷۰ درجه سانتیگراد از بیشترین عصاره محلول در آب برخوردار بوده درحالیکه خشک کردن طبیعی منجر به کاهش بیش از اندازه عصاره محلول در آب گردید (شکل ٤).

خشک‌کردن نمونه‌های درشت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد از بیشترین میزان عصاره محلول در آب برخوردار بوده، درحالیکه نمونه‌های با اندازه متوسط که در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد خشک شده بودند از کمترین میزان عصاره محلول در آب برخوردار بودند (شکل ۵). در تحقیق انجام شده توسط Rezvani Aghdam و همکاران (۲۰۱٦) بر گیاه سیر نیز نتایجی مشابه تحقیق حاضر حاصل شد و کاهش اندازه همراه با افزایش دما منجر به کاهش آلیسین و اسید پیرویک موجود در گیاه سیر گردید. با توجه به موارد مذکور، کاهش زیاد عصاره محلول در آب در نمونه‌های متوسط تحت دمای ۵۰ درجه سانتیگراد را می‌توان طولانی شدن زمان خشک شدن ذکر نمود.



شکل ۴. اثر روش خشک کردن بر میزان عصاره محلول در آب موجود در نمونه پس از خشک شدن

(میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.)

شکل ۵. اثر متقابل اندازه نمونه و دمای خشک کردن بر میزان عصاره محلول در آب موجود در نمونه پس از خشک شدن

(میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.)

۴. نتیجه‌گیری

در این تحقیق اندازه ریشه و دمای خشک شدن مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد با افزایش اندازه نمونه امکان افزایش دمای خشک شدن فراهم می‌گردد. براساس نتایج این تحقیق دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و اندازه نمونه درشت را می‌توان به‌عنوان مناسب‌ترین شرایط خشک کردن ریشه شیرین‌بیان به‌منظور دستیابی به بیشترین میزان اسید گلیسریزیک و عصاره محلول در آب توصیه نمود.

۵. منابع

Al-Ani, B.M., Owaid, M.N. and Al-Saeedi, S.S.S. 2018. Fungal interaction between *Trichoderma* spp. and *Pleurotus ostreatus* on the enriched solid media with licorice *Glycyrrhiza glabra* root extract. *Acta Ecologica Sinica*, 38 (3): 268-273. **DOI**: https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2017.08.001

Bisht, D., Rashid, M., Arya, R.K.K., Kumar, D., Chaudhary, S.K., Rana, V.S. and Sethiya, N.K. 2022. Revisiting liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) as anti-inflammatory, antivirals and immunomodulators: Potential pharmacological applications with mechanistic insight. *Phytomedicine Plus*, 2(1): 100206. DOI: https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100206.

Bokelmann, J.M. 2021. Medicinal Herbs in Primary Care-E-Book: An Evidence-Guided Reference for Healthcare Providers. Elsevier Health Sciences, Unites States of America.

Hasan, M.K., Ara, I., Mondal, M.S.A. and Kabir, Y. 2021. Phytochemistry, pharmacological activity, and potential health benefits of *Glycyrrhiza glabra*. *Heliyon*, 7(6): e07240. **DOI**: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07240.

Khanahmadi M, M., Naghdi Badi, H., Akhondzadeh, S., Khalighi–Sigaroodi, F., Mehrafarin, A., Shahriari, S. and Hajiaghaee, R. 2013. A Review on Medicinal Plant of *Glycyrrhiza glabra* L. *Journal of Medicinal Plants*, 12(46): 1-12.

Mohammadinia Samakoush, A., Moradi, H., Esmailzadeh, M. and Davatgar, F. 2022. Evaluation of antioxidant activity, phenol content and flavonoid extract of *Artemisia annua* L. Under the influence of different drying methods. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, *9*(4): 115-132. (In Persian)

Parsafar, S., Eghlima, G., Mirjalili, M.H., Nejad Ebrahimi, S. and Hadian, J. 2022. Effects of different drying methods on drying time and some phytochemical traits of *Solidago virgaurea* L. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 10(1): 1-14. (In Persian)

Rezvani Aghdam, A., Aleomrani Nezhad, S.M.H. and Khazaei, J. 2016. The Assessment of Temperature and Sample Size on Color Variations, Pirovic Acid and Allicin in Local Shushtar Garlic after Drying. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 13(2): 99-107. (In Persian)

Rezvani Aghdam, A., Naghdi Badi, H., Abdossi, V., Hajiaghaee, R. and Hosseini, S.E. 2019a. Changes in Essential Oil Content and Composition of Lemon Verbena (*Lippia citriodora* Kunth.) Under Various Drying Conditions. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 14(4): e66265. **DOI:** 10.5812/jjnpp.66265

Rezvani Aghdam, A., Naghdi Badi, H., Abdossi, V., Hajiaghaee, R. and Hosseini, S.E. 2019b. Changes in the Essential Oil Content and Composition of Lippia citriodora under Vacuum Oven-drying and Pre-drying Operation. *Journal of Medicinal Plants*, 18(72): 110-120. (In Persian)