نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۳ شماره ۴/ سال ۱۳۹۲

تعیین مقدار گلیسیریزین و برخی از ترکیبات شیمیایی واریته‌های شیرین بیان در استان اردبیل

بهرام فتحی آچاچلویی[۱*] و میکاییل بدرزاده[۲]

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۸

[۱] استادیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

[۲] مربی گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده فناوری کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

[*]مسئول مکاتبه: Email:bahram1356@yahoo.com

چکیده

ریشهٔ شیرین بیان دارای یک ترکیب آلی به نام گلیسیریزین است و به عنوان شیرین کننده در صنایع غذایی کاربرد زیادی دارد و استفاده های دارویی زیادی نیز از آن به عمل می‌آید. هدف از این پژوهش، جمع آوری و شناسایی دو واریته شیرین بیان در استان اردبیل (منطقه کورائیم) و اندازه گیری و مقایسه مقدار گلیسیریزین ریشه و برگ آنها و نیز تعیین برخی از ترکیبات شیمیایی برگ دو واریتهٔ مورد مطالعه، می‌باشد. مقدار گلیسیریزین ریشه و برگ واریته‌های شیرین بیان بوسیله دستگاه HPLC تعیین گردید. برخی از ترکیبات شیمیایی مانند چربی خام، پروتئین خام، خاکستر، فیبر و کربوهیدراتهای غیرساختمانی نیز در برگ دو واریتهٔ مورد مطالعه، اندازه گیری شد. نتایج حاصل از این تحقیق، شناسایی دو واریته از گونهٔ *Glycyrrhiza glabra* L. در استان اردبیل است که شامل *Glycyrrhiza glabra* L. *var. glandulifera* و *Glycyrrhiza glabra* L. *var. glabra* می‌باشد. نتایج اندازه‌گیری گلیسیریزین بر اساس مادهٔ خشک، نشان داد که مقدار گلیسیریزین ریشه در واریتهٔ glandulifera و glabra به ترتیب ٤/٣٤ و ٣/٢٩ درصد می‌باشد که دارای اختلاف معنی داری ($P<0.01$) بودند. بیشترین مقدار گلیسیریزین در هر دو واریتهٔ شیرین بیان، در پوست ریشهٔ آنها وجود داشت. مقدار گلیسیریزین برگ در واریتهٔ glandulifera و glabra به ترتیب ۰/۰۷۲ و ۰/۰۸۵ درصد تعیین شد که اختلاف معنی داری ($P>0.05$) بین دو واریته وجود نداشت. همچنین مقدار ترکیبات شیمیایی اندازه‌گیری شده در برگ های دو واریته اختلاف معنی داری ($P>0.05$) نداشتند، ولی بین دو مرحلهٔ قبل از گلدهی و اواخر گلدهی، مقدار ترکیبات شیمیایی اندازه‌گیری شده (به جز خاکستر) در هر دو واریته، تغییرات معنی داری ($P<0.01$) نشان دادند. در کل نتایج تحقیق امکان استخراج گلیسیریزین ریشه به مقدار بیشتر از واریتهٔ glandulifera در مقایسه با واریته glabra و استفاده از آن در صنایع غذایی و دارویی را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، گلیسیریزین، ترکیبات شیمیایی، استان اردبیل

مقدمه

جنس شیرین بیان (Glycyrrhiza)، یکی از جنس های تیرهٔ پروانه آسا (Fabaceae) می‌باشد که در دنیا حدود ۳۰ گونه و چندین زیرگونه و واریته دارد (خدمات اطلاعات و پایگاه بین المللی حبوبات ۲۰۰۵). برخی از گونه‌ها و واریته‌های آن در کشورهای مختلف مصرف دارویی دارند. به عنوان مثال، سابقهٔ استفاده از گونه ای شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza uralensis* در کشور چین، به ۵۰۰۰ سال می رسد و به همین دلیل، شیرین بیان چین به پدر بزرگ گیاهان دارویی آن کشور لقب یافته و از آن استفاده‌های زیادی در صنعت غذایی و داروسازی چین به عمل می‌آید (دوک وهمکاران ۱۹۸۵). در ایران ٤ گونه شیرین بیان وجود دارد که برخی از آنها دارای چندین واریته است (مظفریان ۱۳۷۷).

ایران یکی از کشورهای صادر کنندهٔ شیرین بیان محسوب می شود. بطوریکه سالیانه صدها تن از این گیاه بصورت ریشه و عصاره به خارج از کشور صادر می‌شود. این گیاه در مناطق مختلف ایران، رویش دارد. لذا بررسی کیفیت محصول مناطق مختلف حائز اهمیت است (حاجی مهدی‌پور و همکاران ۱۳۸۷).

مطالعه گیاهان، بویژه گیاهان تیرهٔ پروانه آسا مانند انواع شیرین بیان، از لحاظ ترکیبات شیمیایی و ارزش غذایی حائز اهمیت است و داده های بدست آمده از این مطالعات، برای برنامه‌ریزان و سیاست گذاران و کارشناسان توسعه کشاورزی و احیاء مراتع بعنوان اطلاعات پایه محسوب می گردد. در صورت عدم دسترسی به چنین اطلاعات، برنامه ریزی برای توسعه و خودکفائی جهت افزایش تولیدات دامی، غذایی و دارویی کارآیی نخواهد داشت.

ریشهٔ شیرین بیان دارای یک ترکیب آلی به نام گلیسیریزین می‌باشد که مهمترین مادهٔ طبیعی شیرین کننده بوده، به عنوان شیرین کننده در صنایع غذایی کاربرد زیادی دارد (سایت IUPC۲۰۰۵). مزهٔ گلیسیریزین بسیار شیرین است و درجهٔ شیرینی آن ۵۰ برابر ساکارز است (دوک وهمکاران ۱۹۸۵). همچنین، از گلیسیریزین استفاده‌های دارویی زیادی به عمل می‌آید. علاوه بر استفاده از این گیاه به عنوان شیرین کننده و طعم دهنده، ریشه شیرین بیان سال‌های متمادی است که در نقاط مختلف جهان در اختلالات ریوی، گوارشی، کبدی، صفراوی و ادراری استفاده می‌شود (بلومنتال و همکاران ۲۰۰۰).

در قزاقستان، مقدار گلیسیریزین و ترکیبات فنولیک دو واریته از شیرین بیان بررسی شده است (هیاشی ۲۰۰۳). در استان وان ترکیه ویژگی های گیاه شناسی و مورفولوژیکی دو واریته از شیرین بیان با اسامی علمی *Glycyrrhiza glabra var.glandulifera* و *Glycyrrhiza glabra var.glabra* بررسی شده است (وان فلوراسی ۲۰۰۲). در آمریکا گونه‌ای از شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza lepidota* وجود دارد که استفاده‌های زیادی از ریشهٔ آن به عمل می‌آید. درصد گلیسیریزین شیرین بیان آمریکا تا ٦ درصد گزارش شده است (فرانسن وبوی ۱۹۸۱). در دو واریته از شیرین بیان استان فارس، مقدار گلیسیریزین ۲/۲۷ و ۱/٤۷ درصد گزارش گردیده است (رضایی ۱۳۸۰).

با توجه به اینکه، برگ واریته های مورد بررسی در این تحقیق، به عنوان علوفه به تغذیهٔ دامهای منطقه نیز می‌رسد. بنابراین، تعیین مقدار ترکیبات شیمیایی مهم در برگ آنها، مانند چربی خام، پروتئین خام، خاکستر، الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی (ADF)، الیاف حاصل از محلول شویندهٔ خنثی (NDF) و کربوهیدراتهای غیرساختمانی (NFC) از اطلاعات بنیادی و اساسی برای برنامه نویسان تغذیهٔ دام به شمار می‌رود.

در زمینه ترکیبات شیمیایی انواع شیرین بیان در ایران که مورد تغذیه دام‌های اهلی و یا وحشی قرار

می‌گیرد، مطالعات زیادی صورت نگرفته است، بنابراین، یکی دیگر از اهداف این تحقیق، تعیین ترکیبات شیمیایی نظیر چربی خام، پروتئین خام، ADF، NDF، NFC و خاکستر در واریته‌های شیرین بیان می‌باشد.

در کل هدف از این پژوهش، جمع آوری و شناسایی واریته‌های شیرین بیان در منطقه کورائیم استان اردبیل و اندازه‌گیری و مقایسه مقدار گلیسیریزین ریشه و برگ آنها و نیز تعیین برخی از ترکیبات شیمیایی در برگ واریتهٔ‌های مورد مطالعه، می‌باشد.

مواد و روش ها

تمامی حلال‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، تولیدی شرکت تجاری مرک بودند.

روش نمونه برداری از واریته‌های شیرین بیان

واریته‌های شیرین بیان که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، در کنار هم و در شرایط یکسان طبیعی می‌رویند. بنابراین، نمونه گیری از ریشه و برگ آنها به منظور آنالیز شیمیایی درآزمایشگاه، بصورت کاملا تصادفی انجام گرفت. برای این منظور، در داخل رویشگاه طبیعی واریته‌ها، ٤ عدد ترانسکت (متر نواری) ۱۰۰ متری به طور کاملاً تصادفی انتخاب شد و در طول هر ترانسکت حداقل ۱۰ بوتهٔ شیرین بیان از هر واریته نمونه گیری گردید.

شناسایی واریته‌های شیرین بیان

در این تحقیق دو واریته از گونهٔ *Glycyrrhiza glabra*، به منظور تعیین میزان گلیسیریزین و برخی از ترکیبات شیمیایی دیگر ریشه و برگ آنها، از منطقهٔ کورائیم جمع آوری و شناسایی شدند.

واریته‌های مذکور در مراحل مختلف رشد بررسی شده و تصاویر دیجیتالی از قسمت‌های مختلف گیاه تهیه گردید. واریته‌ها براساس کلید شناسایی موجود در فلورا ایرانیکا، فلور ترکیه و پاکستان شناسایی شدند (خدمات اطلاعات و پایگاه بین المللی حبوبات ۲۰۰۵، جپسون فلورا ۲۰۰۵ و ون سوئست۱۹٦۳).

منطقهٔ کورائیم در۲۰ کیلومتری شرق استان اردبیل واقع شده است. این منطقه دارای اقلیم نیمه خشک (هیاشی۲۰۰۳)، با میانگین بارش سالانهٔ ۳۱۰ میلی متر و متوسط روزهای یخبندان آن ۱۲۰ روز در سال می‌باشد. خاک منطقهٔ فوق دارای ۵۵ درصد سیلت، ۲۸ درصد رس، ۱۷ درصد شن، ۵ گرم در کیلوگرم مادهٔ آلی،۰/٤ گرم در کیلوگرم ازت، ۱۷ گرم در کیلوگرم آهک، ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم فسفر قابل جذب و ٤۵۰ میلی گرم در کیلوگرم پتاس قابل جذب می‌باشد. نسبت کربن به ازت و اسیدیتهٔ خاک به ترتیب ۱۲/۵ و ۷/۷ می‌باشد.

آنالیزشیمیایی نمونه‌های شیرین بیان

در این تحقیق، اندازه گیری و تعیین تر کیبات شیمیایی علوفهٔ واریته های مورد مطالعه، به روش AOAC (۱۹۹۵) انجام گرفته است.

برای تعیین درصد مادهٔ خشک ریشه و برگ واریته-ها، از دستگاه آون استفاده شد (AOAC ۱۹۹۵). برای تعیین مقدار پروتئین خام و چربی خام به ترتیب از روش کجلدال و سوکسله استفاده شد (AOAC ۱۹۹۵). با قرار دادن نمونه‌ها در حرارت ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ٤ ساعت در داخل کورهٔ الکتریکی، مقدارخاکسترآنها تعیین شد (AOAC ۱۹۹۵). برای اندازه‌گیری الیاف خام از دستگاه فایبرتک استفاده گردید (AOAC ۱۹۹۵). الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی (ADF) و محلول شویندهٔ خنثی (NDF) براساس روش ابداع شده به وسیلهٔ ون‌سوئست اندازه‌گیری شد (ون سوئست ۱۹۹۱).

کربوهیدرات‌های غیرساختمانی یا غیرفیبری (NFC)، از طریق فرمول رایج زیر در آزمایشگاه‌های تغذیهٔ دام برآورد شد (ون سوئست۱۹۹٤):

$$NFC=100-(NDF+CP+EE+Ash)$$

CP= پروتین خام EE= چربی خام

اندازه‌گیری گلیسیریزین به روش HPLC

به منظور اندازه گیری گلیسیریزین ریشه، هر واریته با چهار تکرار نمونه برداری شد. سپس پوست ریشه از مغز آن جدا شد و بطور جداگانه در سایه و هوای آزاد، در طی چندین هفته خشک شدند. در ضمن، کل ریشه نیز به همین روش خشک گردید. به منظور اندازه گیری گلیسیریزین، پودر پوست ریشه، مغز ریشه و کل ریشه بطور جداگانه به آزمایشگاه انتقال یافت. همچنین برای اندازه‌گیری گلیسیریزین برگ به روشHPLC، قسمتی از پودر حاصل به آزمایشگاه جهت اندازه‌گیری منتقل شد.

در این روش جداسازی گلیسیریزین از دیگر اجزای موجود درعصاره ریشه گیاه با استفاده از فاز معکوس مطابق با روش سابیونی و همکاران (۲۰۰۶) با اصلاحات جزئی صورت گرفت. در این روش، عصارهٔ ریشهٔ شیرین بیان توسط حلال‌های اتانول و آب (با نسبت حجمی/حجمی ۱: ۱) استخراج و پس از شناسایی ترکیب اسید گلیسیریتیک آن، مقدار گلیسیریزین تعیین گردید (سابیونی و همکاران ۲۰۰۶). محلول‌های استاندارد گلیسیریزین (نمک گلیسیریزین آمونیوم خریداری شده از شرکت سیگما) در محدوده غلظت‌های ۱ تا ۵۰ میلی گرم در لیتر در دستگاه HPLC تزریق گردیده و هر بار سطح زیر پیک حاصل از کروماتوگرام یادداشت شد. برای اندازه‌گیری مقدار گلیسیریزین در نمونه‌های مورد نظر، روش ذکر شده استفاده گردید و مقدار گلیسیریزین از روی منحنی کالیبراسیون محاسبه شد (شکل ۱).

دستگاه HPLC مورد استفاده مدل Knauer آلمان با ستونی از نوعShim-pack CLC-C8 به ابعاد 150*4.6 میلی متر و قطر 5 میکرومتر بوده و دتکتور مورد استفاده،Knauer smartline 2500 UV detector، دمای انجام آزمایش، دمای اتاق و سیستم جداسازی ایزوکراتیک بود. فاز متحرک شامل متانول، استونیتریل، آب و اسید استیک گلاسیال (با نسبت حجمی/حجمی ۳۵:۳۵: ۳۰: ۱) و سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه بود.

تجزیه وتحلیل آماری

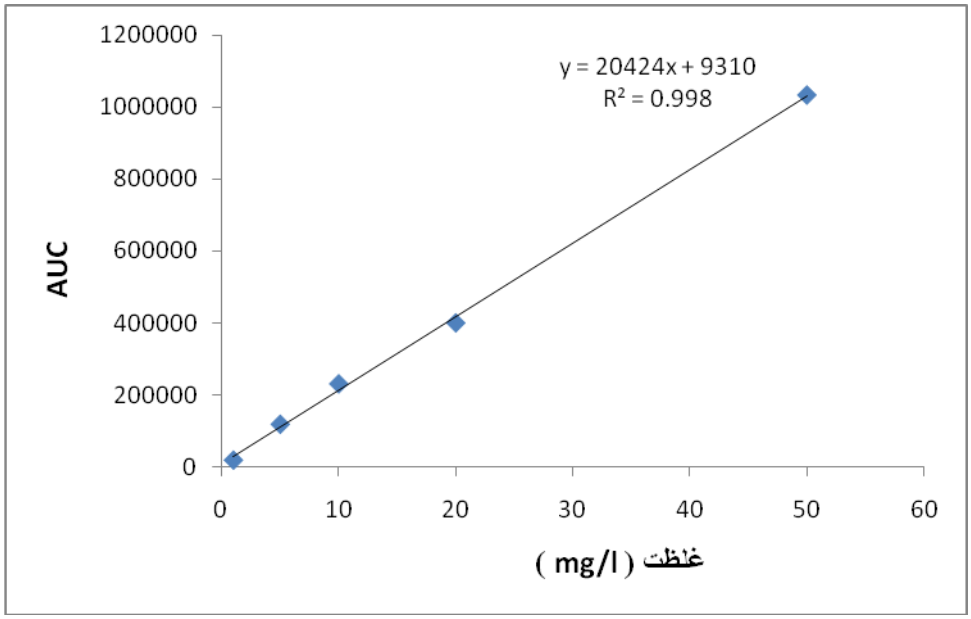
تمامی آزمایشات و اندازه گیری ها در سه تکرار انجام گرفته وآنالیز پارامترهای ذکر شده در قسمت-های مختلف گیاه با استفاده از رویه GLM از نرم افزار SAS (۲۰۰۳) در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفته و مقایسه میانگین بین واریته‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال معنی داری کمتر از ۱٪ تعیین گردید. همچنین پارامترهای ترکیبات شیمیایی مورد نظر در واریته‌ها، بصورت مجزا در دو مرحله قبل از گلدهی و بعد از گلدهی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از جمع آوری و شناسایی واریته‌های شیرین بیان در مناطق مختلف کورائیم نشان داد که دو واریتهٔ مهم در این منطقه وجود دارد. این واریته‌ها عبارت بودند از:

1.*Glycyrrhiza glabra* L. *var. glandulifera*
2.*Glycyrrhiza glabra* L. *var. glabra*

واریته‌های فوق، براساس کلید شناسایی در فلورهای خارجی و داخلی شناسایی شدند تصاویر دیجیتالی و نمونه‌های هرباریوم واریته‌های مورد تحقیق، در دانشکدهٔ کشاورزی نگهداری می شوند. نتایج بررسی صفات مورفولوژیکی واریته‌ها نشان داد که مهمترین تفاوت آنها در میوهٔ نیام می باشد. بطوریکه، میوه در واریتهٔ اول دارای پرز های سیخکی و خارمانند می‌باشد. درحالیکه میوهٔ واریتهٔ دوم دارای سطح صاف و بدون پرز است.



شکل ۱- منحنی کالیبراسیون گلیسیریزین با استفاده از محلولهای استاندارد

مقدار گلیسیریزین در عصاره خام ریشهٔ گونه‌ها و واریته‌های مختلف شیرین بیان متفاوت است. ریشهٔ شیرین بیان عمیق و و نسبتاً قطورتر است بطوری که ریشهٔ آن از دو قسمت مهم تشکیل شده است که عبارتند از: پوست ریشه و مغز ریشه.

در این تحقیق، مقدار گلیسیریزین پوست و مغز ریشه، در هر دو واریته بطور جداگانه اندازه گیری شده و با هم مقایسه گردیده‌اند. ضمن اینکه، مقدار گلیسیریزین در کل ریشه نیز اندازه گیری شده است. مقدار گلیسیریزین پوست و مغز ریشه در واریتهٔglabra به ترتیب ۳/۷۱ و ۲/۸٦ درصد بوده و با هم اختلاف معنی داری (P<0.01) دارند (جدول۱). به عبارت دیگر، در واریتهٔ مزبور مقدار گلیسیریزین پوست بیشتر از میزان گلیسیریزین مغز می باشد. علت این امر، احتمالاً از حجم بالای پوست ریشه ناشی شده است.

مقدار گلیسیریزین پوست و مغز ریشه در واریتهٔ glandulifera به ترتیب ٤/٤٤ و ٤/٢٣ درصد بوده و با هم اختلاف معنی داری (P>0.01) ندارند (جدول۱).

جدول۱- مقایسهٔ میانگین درصد گلیسیریزین اندام برگ با قسمتهای مختلف ریشه، در دو واریتهٔ جمع آوری شدهٔ شیرین بیان از منطقهٔ کوراییم اردبیل (مقدار گلیسیریزین، براساس مادهٔ خشک تعیین شده است)

نام واریته	کل ریشه	مغز ریشه	پوست ریشه	برگ	C.V	Sig.
var. glandulifera	٪٤/٣٤±٠/١٩ a	٪٤/٢٣±٠/١١ a	٪٤/٤٤±٠/٤٣ a	٪٠/٠٧٢±٠/٠١ b	٣/٠٥	**
var. glabra	٪٣/٢٩±٠/١٩ b	٪٢/٨٦±٠/١١ c	٪٣/٧١±٠/١٢ a	٪٠/٠٨٥±٠/٠١ d	٤/٩٥	**

میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حرف مشابه نیستند، با هم اختلاف معنی‌دار(P < 0.01) دارند.

اعداد انحراف معیار ± میانگین هستند.

C.V = ضریب تغییرات (**P < 0.01)سطح معنی دار =Sig.

در کل مقدار گلیسیریزین در کل ریشهٔ واریتهٔ glandulifera و glabra به ترتیب ٤/٣٤ و ٣/٢٩ درصد بوده که با هم اختلاف معنی دار (P<0.01) دارند (جدول۱).

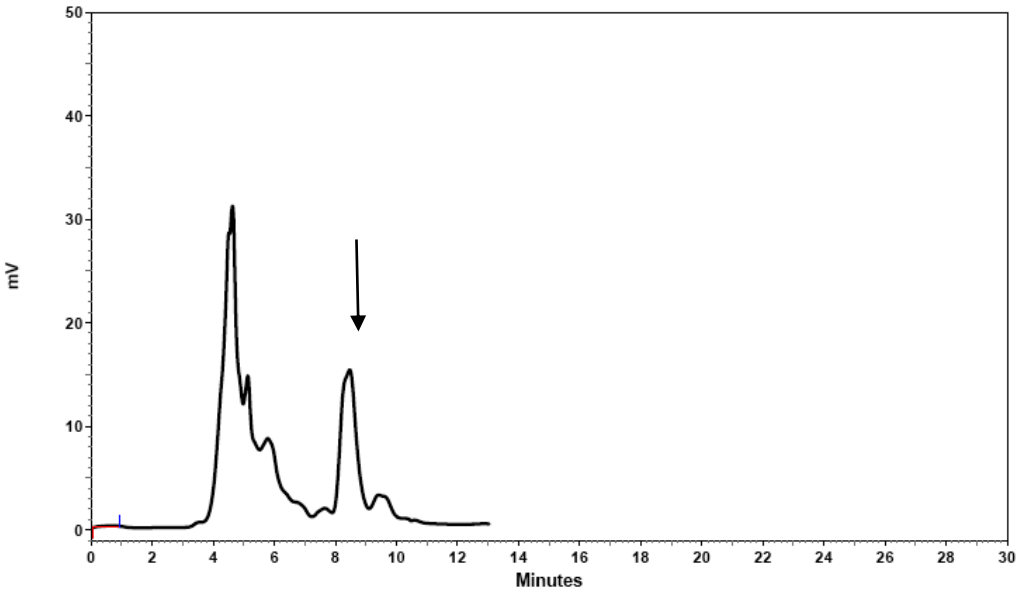
شکل ۲، کروماتوگرام حاصل از محلول استاندارد عصارهٔ ریشهٔ شیرین بیان در روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا را نشان می‌دهد.

مقدار گلیسیریزین برگ، در مقایسه با مقدار آن در پوست و مغز ریشه، در سطح بسیار پایینی قرار دارد (جدول ۱). به عبارت دیگر، از کل گلیسیریزین ذخیره شده در هر دو واریته، فقط ۱٪ آن در اندام برگ ذخیره گردیده است. جدول ۲ نیز مقایسهٔ میانگین درصد گلیسیریزین در ریشهٔ دو واریته شیرین بیان را نشان می‌دهد.

مقدار تمام ترکیبات شیمیایی (به جز خاکستر) در برگ واریتهٔ glandulifera در دو مرحلهٔ رشد، تغییر پیدا کرده و در میزان آنها تفاوت معنی داری (P<0.01) دیده می‌شود (جدول ۳).

مقدار پروتئین خام در برگ واریتهٔglandulifera از ٢٦/٣٥ درصد (در مرحلهٔ رشد قبل از گلدهی) به ١٦/٩٨ درصد (در اواخر گلدهی) کاهش یافته است. در این واریته، مقدار پروتئین خام در مرحلهٔ قبل از گلدهی، بطور معنی داری بیشتر از اواخر گلدهی می‌باشد (P<0.01). به عبارت دیگر، با افزایش سن گیاه، میزان پروتئین برگ کاهش پیدا کرده است (جدول ۳).

مقدار NDF در برگ واریتهٔ glandulifera، در مرحلهٔ قبل از گلدهی و گلدهی کامل به ترتیب ٢٨/٤٨٪ و ٣٦/٢٨٪ اندازه گیری شده و میزانNDF در دو مرحلهٔ مذکور با هم اختلاف معنی دار داشته (P<0.01) و با افزایش سن گیاه، مقدار آن افزایش پیدا کرده است (عکس روند تغییر پروتئین). در واقع، با افزایش سن شیرین بیان، از میزان پروتئین برگ کاسته شده و بر میزان NDF افزوده شده است. به عبارت دیگر، از لحاظ روند تغییر، بین پروتئین خام وNDF همبستگی منفی وجود دارد.



شکل ۲- کروماتوگرام حاصل از محلول استاندارد عصارهٔ ریشهٔ شیرین بیان درروش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای اندازه‌گیری گلیسیریزین

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مقدارADF برگ در واریتهٔ glandulifera با مقدار پروتئین خام رابطهٔ همبستگی منفی دارد. ADF، الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی است که همان مجموع لیگنین و سلولز می‌باشد (مظفریان۱۳۷۷). مقدارADF در واریتهٔ glandulifera، در دو مرحلهٔ رشد اندازه گیری شده است (جدول ۳). مقدار آن در مرحلهٔ قبل از گلدهی و گلدهی کامل به ترتیب ۲۰/۶۸٪ و ۳۸/۷۵٪ می‌باشد و این دو مرحله از نظر میزانADF با هم اختلاف معنی داری (P<0.01) دارند.

در واریتهٔ glandulifera بین مقدارADF وNDF رابطهٔ همبستگی مثبت وجود دارد.

جدول۲- مقایسهٔ میانگین درصد گلیسیریزین در ریشهٔ دو واریته شیرین بیان (براساس مادهٔ خشک)

نام واریته	کل ریشه	مغز ریشه	پوست ریشه	برگ
var. glandulifera	٪٤/٣٤±٠/١٩ a	٪٤/٢٣±٠/١١ a	٪٤/٤٤±٠/٤٣ a	٪٠/٠٧٢±٠/٠١ a
var. glabra	٪٣/٢٩±٠/١٩ b	٪٢/٨٦±٠/١١ b	٪٣/٧١±٠/١٢ b	٪٠/٠٨٥±٠/٠١ a
CV	١/٨٩	٦/١٦	٢/٣٧	٨/٥٤
Sig	**	**	**	ns

میانگین‌هایی که در هر ستون واجد حرف مشابه نیستند، دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند(P < 0.01).

اعداد انحراف معیار ± میانگین هستند.

NS= عدم معنی دار (P > 0.05) C.V = ضریب تغییرات (**P < 0.01) سطح معنی دار =Sig

در جدول٤، درصد ترکیبات شیمیایی برگ در مرحلهٔ رشد قبل از گلدهی و گلدهی کامل نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که مقدار تمام ترکیبات شیمیایی (به جز خاکستر)، در دو مرحلهٔ رشد، با هم اختلاف معنی دار دارند (P<0.01). بنابراین، مقدار تمام ترکیبات شیمیایی (به جز خاکستر) در برگ واریتهٔ glabra، در دو مرحلهٔ رشد تغییر پیدا کرده و در میزان آنها تفاوت معنی دار دیده می‌شود و از این لحاظ، هیچ تفاوتی با واریتهٔ glandulifera ندارد.

در واریتهٔ glabra نیز، همانند واریتهٔ glandulifera، با افزایش سن گیاه، از میزان پروتئین برگ کاسته شده و بر میزان NDF افزوده شده است. به عبارت دیگر، از لحاظ روند تغییر، بین پروتئین خام و NDF همبستگی منفی وجود دارد.

از طرف دیگر، در این واریته نیز همانند واریتهٔ glandulifera، بین ADF و پروتئین خام همبستگی منفی وجود دارد. جدول ٥ و ٦ نیز مقایسه میانگین درصد ترکیبات شیمیایی در برگ دو واریته شیرین بیان، در دو مرحلهٔ فنولوژیکی قبل از گلدهی و گلدهی کامل را نشان می‌دهد.

در قزاقستان واقع در آسیای مرکزی در تحقیقی که در ارتباط با اندازه گیری مقدار گلیسیریزین روی چند گونه از ریشهٔ شیرین بیان انجام گرفته است، مقدار مادهٔ فوق از ٢/١٤ تا ٥/٧٢ درصد گزارش شده است. در تحقیق مزبور، میزان گلیسیریزین در *Glycyrrhiza glabra* ٢/١٤ درصد گزارش گردیده است ولی مشخص نشده است که مقدار فوق، مربوط به کدام زیرگونه از گونهٔ *Glycyrrhiza glabra* می‌باشد.

جدول ۳- مقایسهٔ میانگین درصد ترکیبات شیمیایی برگ در مرحلهٔ رشد قبل از گلدهی و گلدهی کامل، در واریتهٔ glandulifera (تمام ترکیبات براساس مادهٔ خشک تعیین شده اند)

صفت	گلدهی کامل	فبل از گلدهی	Sig.	CV
CP	۱۶/۹۸ ±۰/۷۶^{b}	۲۶/۳۵ ±۰/۹۰^{a}	**	٤/٦٩
NDF	۳٦/۲۸ ±۰/۹٤^{a}	۲۸/٤۸ ±۱/۰۷^{b}	**	٤/۳۷
ADF	۲۸/۷۵ ±۰/۷۰^{a}	۲۰/٦۸ ±۱/ ۳۱^{b}	**	۲/۹۷
EE	۸/۸٦ ±۰/۹٦^{b}	۱۱/۱۰ ±۰/۵۸^{a}	**	۳/٤۵
Ash	۵/۵۲ ±۰/۳۹^{a}	۵/٤۱ ±۰/۳۹^{a}	NS	۱/۱۵
NFC	۳۲/۲۵ ±۰/۵۰^{a}	۲۸/٦۵ ±۰/۸۵^{b}	**	۱/۲۱

میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حرف مشابه نیستند، با هم اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.01$). اعداد انحراف معیار ± میانگین هستند.

CP :پروتئین خام، NDF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ خنثی ADF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی، EE: چربی خام، NFC: کربوهیدراتهای غیرفیبری، Ash : خاکستر CV : ضریب تغییرات ، Sig: سطح معنی دار (**P<0.01) و NS: غیر معنی دار($P > 0.05$) .

جدول ۴- مقایسهٔ میانگین درصد ترکیبات شیمیایی برگ در مرحلهٔ رشد قبل از گلدهی و گلدهی کامل،در واریتهٔ glabra (تمام ترکیبات براساس مادهٔ خشک تعیین شده اند)

صفت	گلدهی کامل	فبل از گلدهی	Sig.	CV
CP	۱۸/٦۰ ±۰/۷۱^{b}	۲۷/۷٦ ±۰/۹۳^{a}	**	۳/۱۲
NDF	۳۳/۵۳ ±۱/۲۱^{a}	۲٦/۱۳ ±۰/۹٦^{b}	**	۳/۱٦
ADF	۲۷/۱۰ ±۰/۹۵^{a}	۱۹/۰۳ ±۰/ ٦۱^{b}	**	۲/۵۲
EE	۸/۹۵ ±۰/٦۱^{b}	۱۱/۳۳ ±۰/۵٤^{a}	**	۳/٤۸
Ash	۵/۲٦ ±۰/۲٦^{a}	۵/۲۷ ±۰/۳۷^{a}	NS	۱/۵٤
NFC	۳۳/٦۷ ±۰/۹۷^{a}	۲۹/۵۱ ±۰/۸٦^{b}	**	۲/٤۹

میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حرف مشابه نیستند، با هم اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.01$).

اعداد انحراف معیار ± میانگین هستند.

پروتئین خام، NDF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ خنثی ADF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی، EE: چربی خام، NFC: کربوهیدراتهای غیرفیبری، Ash : خاکستر CV : ضریب تغییرات ، Sig: سطح معنی دار (**P<0.01) و NS: غیر معنی دار($P > 0.05$) .

جدول۵- مقایسهٔ میانگین درصد ترکیبات شیمیایی در برگ دو واریته شیرین بیان، در مرحلهٔ فنولوژیکی قبل از گلدهی (تمام ترکیبات براساس مادهٔ خشک تعیین شده اند)

	Ash	NFC	EE	ADF	NDF	CP
Var1	۵/٤۱ ±۰/۳۹^{a}	۲۸/٦۵ ±۰/۸۵^{a}	۱۱/۱۰ ±۰/۵۸^{a}	۲۰/٦۸ ±۱/۳۱^{a}	۲۸/٤۸ ±۱/۰۷^{a}	۲٦/۳۵ ±۰/۹۰^{a}
Var2	۵/۲۷ ±۰/۳۷^{a}	۲۹/۵۱ ±۰/۸٦^{a}	۱۱/۳۳ ±۰/۵٤^{a}	۱۹/۰۳ ±۰/٦۱^{a}	۲٦/۱۳ ±۰/۹٦^{b}	۲۷/۷٦ ±۰/۹۳^{a}
CV	۰/۸۷	۲/۸۱	۰/٦۱	٦/۱۳	۲/۹۷	۲/۷۱
Sig.	NS	NS	NS	NS	**	NS

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند ، اختلاف معنی‌دار ندارند ($P > 0.05$).

اعداد انحراف معیار ± میانگین هستند.

var1: *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* var2: *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra*

پروتئین خام، NDF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ خنثی ADF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی، EE: چربی خام، NFC: کربوهیدراتهای غیرفیبری، Ash : خاکستر CV : ضریب تغییرات ، Sig: سطح معنی دار (**P<0.01) و NS: غیر معنی دار($P > 0.05$) .

جدول۶- مقایسهٔ میانگین درصد ترکیبات شیمیایی در برگ دو واریته شیرین بیان، در مرحلهٔ فنولوژیکی گلدهی کامل (تمام ترکیبات براساس مادهٔ خشک تعیین شده اند)

	Ash	NFC	EE	ADF	NDF	CP
Var1	۵/۵۲ ±۰/۳۹[a]	۳۲/۲۵ ±۰/۵۰[a]	۸/۸۶ ±۰/۹۶[a]	۲۸/۷۵ ±۰/۷۰[a]	۳۶/۲۸ ±۰/۹۴[a]	۱۶/۹۸ ±۰/۷۶[a]
Var2	۵/۲۶ ±۰/۲۶[a]	۳۳/۶۷ ±۰/۹۷[a]	۸/۹۵ ±۰/۶۱[a]	۲۷/۱۰ ±۰/۹۵[a]	۳۳/۵۳ ±۱/۲۱[b]	۱۸/۶۰ ±۰/۷۱[a]
CV	۱/۱۹	۱/۸۴	۱/۸۷	۰/۳۳	۲/۹۲	۲/۴۸
Sig.	NS	NS	NS	NS	**	NS

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشابه هستند ، اختلاف معنی‌دار ندارند (P>0.05). اعداد انحراف معیار ± میانگین هستند.

var2: *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* var1: *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera*

پروتئین خام، NDF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ خنثی ADF: الیاف حاصل از محلول شویندهٔ اسیدی، EE: چربی خام، NFC: کربوهیدراتهای غیرفیبری، Ash : خاکستر CV : ضریب تغییرات ، Sig: سطح معنی دار (**P<0.01) و NS: غیر معنی دار(P > 0.05) .

در استان فارس مقدار گلیسیریزین در دو واریته از گونهٔ *Glycyrrhiza glabra* اندازه گیری شده و مقدار مادهٔ فوق در کل ریشهٔ واریتهٔ glandulifera ۲/۲۷٪ و در ریشهٔ واریتهٔ glabra ۱/۴۷٪ گزارش گردیده است (رضایی ۱۳۸۰). بنابراین، براساس تحقیق انجام گرفته در استان فارس، مقدار گلیسیریزین در ریشه واریتهٔ glandulifera بیشتر از واریتهٔ glabra می‌باشد. نتایج تحقیق انجام گرفته دراستان فارس با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. از ایالات متحدهٔ آمریکا فقط یک گونه شیرین بیان با نام *Glycyrrhiza lepidota* گزارش شده است و براساس مطالعهٔ انجام گرفته در مورد آن، درصد گلیسیریزین ریشهٔ آن ٦ درصد ذکر شده است (فرانسن و بوی ۱۹۸۱).

در تحقیقی که در کشور ترکیه، در ارتباط با ترکیبات شیمیایی برگ شیرین بیان انجام گرفته است (کمالاک ۲۰۰٦)، میزان پروتئین خام در گونهٔ *Glycyrrhiza glabra*، در سه مرحلهٔ فنولوژیکی رشد به شرح زیر گزارش شده است:

قبل از گلدهی گیاه، اواسط گلدهی گیاه و اواخر گلدهی گیاه به ترتیب: ۲٦/۹۳٪ ، ۲۱/۵۳٪ و ۱٦/۱۹٪ براساس صد در صد مادهٔ خشک.

بر اساس تحقیق فوق در ترکیه، میزان پروتئین برگ شیرین بیان در سه مرحلهٔ رشد، اختلاف معنی دار داشته است و با افزایش سن گیاه، از میزان پروتئین کاسته شده است.

براساس تحقیق انجام گرفته در ترکیه (کمالاک ۲۰۰٦)، میزانNDF در برگ گونهٔ *Glycyrrhiza glabra*، در سه مرحلهٔ فنولوژیکی رشد به شرح زیر گزارش شده است:

قبل از گلدهی گیاه، اواسط گلدهی گیاه و اواخر گلدهی گیاه به ترتیب: ۲۸/۳۷٪، ۳۲/٦۳٪ و ۳۵/٦۳٪ بر اساس صد در صد مادهٔ خشک.

بر اساس تحقیق فوق در ترکیه، میزان NDF برگ شیرین بیان در سه مرحلهٔ رشد، اختلاف معنی دار داشته است و با افزایش سن گیاه، برمیزانNDF نیز افزوده شده است و این نتیجه، با نتایج حاصل در این تحقیق، کاملاً همخوانی دارد.

مقدار NDF نشانگر کل الیاف دیواره‌های سلول‌های گیاهی است و شامل سلولز، لیگنین و همی‌سلولز است (صوفی ۱۳٦۵). NDF مسئول پر کردن شکمبهٔ حیوان است. با تعیین درصد NDF و از طریق رابطه می‌توان مقدار دریافت و مصرف علوفه توسط حیوان را پیش‌بینی کرد (اسکروندر ۱۹۹٤). مقدار NDF علوفه با مقدار مصرف حیوان نسبت عکس دارد. به عبارت دیگر زمانی که مقدار NDF علوفه افزایش پیدا می‌کند، مقدار مصرف و دریافت

مادهٔ خشک به وسیلهٔ حیوان کاهش پیدا می‌کند (اسکروندر ۱۹۹٤).

همانطوریکه قبلاً اشاره شده است، شیرین بیان از تیرهٔ بقولات می باشد. باید توجه داشت که گیاهان تیرهٔ بقولات، در مقایسهٔ با تیرهٔ گندمیان در مرحلهٔ رشد یکسان، از NDF کمتری برخوردار هستند. زیرا در دیواره‌های سلول‌های گیاهان بقولات، مادهٔ پکتیک زیادی وجود دارد و این ماده در زمان اندازه‌گیری NDF در آزمایشگاه، با محلول شویندهٔ خنثی، قابل حل می‌باشد و از الیاف جدا می‌گردد و به همین دلیل بقولات، NDF کمتری را نشان می‌دهند (ون سوئست ۱۹۹٤). در حالی که دیواره‌های سلول‌های گیاهان تیرهٔ گندمیان از پکتیک کمتر و از NDF بالایی برخوردار هستند (ون سوئست ۱۹۹٤).

نتیجه‌گیری

گلیسیریزین ریشه شیرین بیان به عنوان شیرین کننده در صنایع غذایی کاربرد زیادی دارد و استفاده‌های دارویی زیادی نیز از آن به عمل می‌آید. هدف از این پژوهش، جمع آوری و شناسایی دو واریته شیرین بیان در استان اردبیل و اندازه‌گیری و مقایسه مقدار گلیسیریزین ریشه و برگ آنها و نیز تعیین برخی از ترکیبات شیمیایی در برگ دو واریتهٔ مورد مطالعه، می‌باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق، شناسایی دو واریته از گونهٔ *Glycyrrhiza glabra* L. در استان اردبیل است که شامل *Glycyrrhiza glabra* L. *var. glabra* و *Glycyrrhiza glabra* L. *var. glandulifera* می‌باشد. نتایج بررسی صفات مورفولوژیکی واریته‌ها نشان داد که مهمترین تفاوت آنها در شکل میوهٔ نیام می‌باشد. نتایج اندازه‌گیری گلیسیریزین بر اساس مادهٔ خشک، نشان داد که مقدار گلیسیریزین ریشه در واریتهٔ glandulifera و glabra به ترتیب ٤/۳٤ و ۳/۲۹ درصد می‌باشد که دارای اختلاف معنی داری ($P<0.01$) بودند. بیشترین مقدار گلیسیریزین در هر دو واریتهٔ شیرین بیان، در پوست ریشهٔ آنها وجود داشت. مقدار گلیسیریزین برگ در واریتهٔ glandulifera و glabra به ترتیب ۰/۰۷۲ و ۰/۰۸۵ درصد تعیین شدند که اختلاف معنی داری ($P>0.05$) بین دو واریته وجود نداشت. همچنین مقدار ترکیبات شیمیایی اندازه‌گیری شده در برگ‌های دو واریته اختلاف معنی داری ($P>0.05$) نداشتند، ولی بین دو مرحلهٔ قبل از گلدهی و اواخر گلدهی، مقدار ترکیبات شیمیایی اندازه گیری شده (به جز خاکستر) در هر دو واریته، تغییرات معنی داری ($P<0.01$) نشان دادند.

در کل نتایج تحقیق امکان استخراج گلیسیریزین ریشه به مقدار بیشتر از واریتهٔ glandulifera در مقایسه با واریته glabra و استفاده از آن درصنایع غذایی و دارویی را نشان داد.

منابع مورد استفاده

حاجی مهدی پور ه و همکاران،۱۳۸۷. بررسی کیفیت ریشه های شیرین بیان جمع آوری شده از رویشگاههای مختلف ایران، فصلنامهٔ گیاهای دارویی شماره۲۷ ص ۱۰۶-۱۱٤.

رضایی م و همکاران،۱۳۸۰. تعیین میزان گلیسیریزین در دو واریتهٔ *Glycyrrhiza glabra* از استان فارس. همایش ملی گیاهان دارویی ایران. موسسهٔ تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.

صوفی سیاوش ر، ۱۳٦۵. تغذیهٔ دام (ترجمه). انتشارات عمیدی.

مظفریان و، ۱۳۷۷. فرهنگ نامهای گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر، تهران.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists International. Arlington, VA.

Blumenthal M, Goldberg A and Brinckmann J, 2000. Herbal Medicine, Expanded Commission E Monographs. 1st ed. Integrative Medicine Communications. USA. pp: 233 - 235.

Duke JA and Ayensu ES, 1985. Medicinal Plants of China Reference Publications. IncISBN 0-917256-20-4.

Fransen SC and Boe A, 1981. Laboratory quality determination of American licorice (*Glycrrhiza lepidota* Pursh). Proceeding of South Dakota Academy of Science 60:171.

Hyashi H, 2003. Field Survey of Glycyrrhiza Plants in Central Asia (1). The Pharmaceutical Society of Japan. Biological & pharmaceutical bulletin 26(6): 867-871.

International Legume Database and Information Service. 2005. Online: www.ildis.org

Jepson Flora Project. 2005. online:http://ucjeps.berkeley.edu/cgi- bin/get_JM_treatment.pl.FABACEAE

Kamalak A, 2006. Determination of nutritive value of leaves of a native grown shrub, Glycyrrhiza glabra L. using in vitro and in situ measurements. Small Ruminant Research 64: 268–278.

Sabbioni CA, Ferranti F, Bugamelli G, Cantelli F and Augusta Raggi M, 2006. Simultaneous HPLC Analysis with Isocratic Elution of Glycyrrhizin and Glycyrrhetic Acid in Liquorice Roots and Confectionery Products. Phytochemical Analysis 17: 25–31.

Schroender JW, 1994. Interpreting forage analysis. http://www.ext.nodac.edu.extpubs/plantsci/hay/ r1080w.htm

Van Florasi, 2002. Online: www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr/flora/ingindex.htm

Van Soest PJ, 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists 46:825-829.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74:3583-3597.

Van Soest PJ, 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.

www.iupc.org, 2005. Licorice root: A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine.

Determination of glycyrrhizin content and some chemical compounds of glycyrrhiza varieties in Ardabil province

B Fathi Achachlouei*[1] and M Badrzadeh[2]

Received: April 21, 2013 Accepted: September 30, 2013

[1]Assistant Professor, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2]Lecturer, Department of Range and Watershed Management, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
*Corresponding author: E-mail:bahram1356@yahoo.com or b_fathi@uma.ac.ir

Abstract

Glycyrrhiza glabra roots contain a compound that is called glycyrrhizin extensively used as natural sweeteners in food products and several pharmaceutical formulations. The main objectives of this study were identification of Glycyrrhiza varieties in Ardabil province (Korayim region) and determination of glycyrrhizin content in root and leaf of identified varieties. Moreover, determination of some chemical compounds in leaf of Glycyrrhiza varieties was performed. Glycyrrhizin content in root and leaf of identified varieties were detected by HPLC. Some chemical compounds in leaf of Glycyrrhiza varieties such as extracted fat, crude protein, ash, fiber and carbohydrate were analysed. Two varieties of *Glycyrrhiza glabra* L. were identified in Ardabil. The scientific names of these varieties were *Glycyrrhiza glabra* L.*var. glandulifera*, and *Glycyrrhiza glabra* L.*var. glabra*. Results of glycyrrhizin contents (based on dry matter) showed that glycyrrhizin content in roots of var. glandulifera and var. glabra was %4.34 and %3.29, respectively which were significantly ($P<0.01$) different with each other. At the both varieties, the highest content of glycyrrhizin was found in the root hull. The glycyrrhizin content of leaf in var. glandulifera and var. glabra was %0.072 and %0.085, respectively with no significant difference between varieties. Moreover, there was no significant difference between leaves of two varieties in measured chemical compounds, but between two stage of early bloom and late bloom, there were significant ($P<0.01$) difference between leaves of two varieties in measured chemical compounds (except of ash). In conclusion, the obtained results showed possibility of glycyrrhizin extraction in the root of var. glandulifera in comparison to var. glabra and it's use in food and drug products.

Keywords: Glycyrrhiza varieties, Glycyrrhizin, Chemical compounds, Ardabil province