



دانشگاه گیلان، گروه باغبانی

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد شانزدهم، شماره دوم، ۱۳۸۸
www.gau.ac.ir/journals

تأثیر زمان برداشت و قطر ریشه بر میزان گلیسیریزین در گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*)

*الهام بلوری مقدم^۱، خدایار همتی^۲، زین العابدین بشیری صدر^۳ و کامبیز مشایخی^۴

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استادیار گروه باغبانی، دانشگاه

علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۳عضو هیأت علمی (دکتری)، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران،

^۴دانشیار گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۴؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۲

چکیده

گیاه دارویی شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* از تیره لگومینوز (Fabaceae) می‌باشد. گلیسیریزین مهم‌ترین ترکیب شیمیایی در بین ترکیبات موجود در شیرین بیان است که ۵۰ برابر ساکاروز شیرینی دارد. این ماده به‌عنوان ماده اولیه در داروسازی و در درمان بسیاری از بیماری‌ها و نیز در صنایع دخانیات، شیرینی‌سازی و نوشابه‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این بررسی به‌منظور تعیین بهترین زمان برداشت و مناسب‌ترین قطر ریشه برای به‌دست آوردن بالاترین میزان گلیسیریزین در این گیاه انجام شد. در سال ۱۳۸۵ ریشه شیرین بیان در چهار تاریخ برداشت (بیستم آبان، آذر، دی و بهمن ماه) و در سه قطر مختلف (کمتر از ۱ سانتی‌متر، ۱ تا ۲ سانتی‌متر و بیشتر از ۲ سانتی‌متر) در چهار تکرار از استان گلستان (ایستگاه تحقیقات کشاورزی عراقی محله) جمع‌آوری گردید. متغیرهای اندازه‌گیری شده شامل وزن تر و وزن خشک (برای اندازه‌گیری درصد رطوبت) و میزان گلیسیریزین بود. استخراج گلیسیریزین با متانول و اندازه‌گیری آن با استفاده کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا صورت گرفت. نتایج نشان داد که کمترین قطر ریشه‌ها، دارای کمترین درصد رطوبت (۳۲/۴۶ درصد) و بیشترین میزان

* مسئول مکاتبه: e_bolourimoghaddam@yahoo.com

گلیسیریزین (۱/۱۸۷ درصد) بود. همچنین، ریشه‌های برداشت شده در دی ماه در مقایسه با زمان‌های دیگر برداشت، دارای درصد رطوبت کمتر (۲۲/۲۶ درصد) و گلیسیریزین بیشتری (۱/۱۱۲ درصد) بودند.

واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، گلیسیریزین، زمان برداشت، قطر ریشه

مقدمه

گیاهان دارویی یکی از منابع غنی کشور محسوب می‌شوند که امکان صادرات آن‌ها نیز وجود دارد و ایران از لحاظ آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی در زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌گردد و در گذشته هم منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است (صمصام‌شریعت، ۱۹۹۵). در سال ۱۳۸۵، حدود ۳۰ هزار و ۵۹۴ تن گیاه دارویی در مجموع به ارزش ۱۲۴ میلیون و ۸۸۵ هزار دلار از کشورمان صادر شد. عمده صادرات گیاهان دارویی کشورمان در سال‌های اخیر شامل زعفران، زیره، پنبه، خاکشیر، انواع صمغ، ریشه شیرین بیان، کتیرا و انواع آن، حنا و سدر بوده است (فتح‌ا...، ۲۰۰۶). شیرین بیان یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و صنعتی است که از تولیدات آن به شکل‌های مختلف استفاده می‌شود و در بسیاری از صنایع مثل دخانیات، شیرینی‌سازی و داروسازی کاربرد دارد (فنونیک و همکاران، ۱۹۹۰). شیرین بیان گیاهی چندساله و علفی، متعلق به تیره پروانه‌آسها^۲ می‌باشد (قهرمان، ۱۹۹۹؛ امیدبگی، ۲۰۰۵). جنس شیرین بیان در دنیا دارای ۲۰ گونه و در ایران دارای ۳ گونه است (کریمی، ۲۰۰۲). بسیاری از گونه‌های شیرین بیان شناسایی شده‌اند که مهم‌ترین آن‌ها گونه گلابرا می‌باشد (آخوندزاده، ۲۰۰۰). اندام‌های هوایی گیاه شیرین بیان که به سرما حساس هستند، در زمستان از بین می‌روند و در بهار، دوباره از اندام‌های زیرزمینی رشد می‌کنند (مارتین و همکاران، ۱۹۹۷؛ میرحیدر، ۱۹۹۶). اندام‌های مورد استفاده این گیاه ریشه‌ها و ریزوم‌های آن هستند (آخوندزاده، ۲۰۰۰؛ چاندلر، ۲۰۰۰) که آن‌ها را در انتهای فصل رشد و در پاییز، هنگامی که گیاه برگ‌های خود را از دست می‌دهد (کریمی، ۲۰۰۲؛ سپتاک، ۱۹۹۹) به کمک وسایل مکانیکی از خاک خارج می‌کنند (آخوندزاده، ۲۰۰۰). مهم‌ترین ماده فعال این گیاه، گلیکوزیدی از دسته ساپونین‌ها به نام گلیسیریزین ($C_{42}H_{72}O_{16}$) با وزن مولکولی ۸۲۲/۹ گرم می‌باشد؛ که از لحاظ ساختاری یک گلیکوزید

1- *Glycyrrhiza Glabra*

2- Fabaceae

پنتاسیکلیک (تری‌ترپنوئید) است که به ۲ مولکول گلوکورونیک اسید متصل می‌باشد (بلومتال و همکاران، ۲۰۰۰؛ آلن‌تک و همکاران، ۲۰۰۷؛ امیدبیگی، ۲۰۰۴؛ امیدبیگی، ۲۰۰۵؛ مهرآور، ۱۹۹۱؛ ماری و همکاران، ۱۹۹۳). گلیسیریزین ۵۰ برابر ساکارز شیرینی دارد و در برخی از منابع این مقدار تا ۱۷۰ برابر نیز ذکر شده است (سایبونی و همکاران، ۲۰۰۵). میزان این ماده در گونه‌های مختلف شیرین‌بیان متفاوت است (فیلیپو و همکاران، ۲۰۰۲؛ هایاشی و همکاران، ۱۹۹۸) و به شرایط آب و هوایی، محل جغرافیایی (ریزوفلو و دیامانتوگلون، ۱۹۹۱؛ دوگلاس و همکاران، ۲۰۰۴)، منشا و نیز روش اندازه‌گیری بستگی دارد (سایبونی و همکاران، ۲۰۰۵). گلیسیریزین که بیش از ۲۴ درصد از وزن خشک ریشه‌ها را تشکیل می‌دهد (فوستر، ۱۹۹۰)، به‌عنوان نمک‌های پتاسیم و کلسیم است (سایبونی و همکاران، ۲۰۰۵؛ برادلی، ۱۹۹۲). مصرف زیاد گلیسیریزین در فرآورده‌های دارویی و یا غذایی سبب دفع پتاسیم و جذب سدیم و آب می‌شود بنابراین در اثر استفاده طولانی‌مدت و یا بیش از حد این ماده عوارض مختلفی مانند فشار خون پدید می‌آید لذا تعیین مقدار این ماده در محصولات مختلف دارویی و غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اثرات دارویی این گیاه آرام‌بخش و خلط‌آور است. همچنین، این گیاه مسهل ملایم، ضدالتهاب و ضداسپاسم می‌باشد و برای درمان زخم معده، زخم روده، برونشیت و نارسایی‌های قشر اولیه غده فوق‌کلبه نیز استفاده می‌شود (آخوندزاده، ۲۰۰۰). عصاره این گیاه ضدویروس، ضدآلرژیک، ضدسرطان، آنتی‌اکسیداتیو و آنتی‌هیپاتوتوکسیک می‌باشد (مارتین و همکاران، ۱۹۹۷). فوگرسبرگر و فرانز (۱۹۸۴)، با شناسایی و تعیین میزان گلیسیریزین در اندام‌های مختلف گونه *G. glabra* نشان دادند که میزان این ماده در ریشه‌ها در حدود ۱/۷۷ درصد بود و در بخش‌های سبز گیاه گلیسیریزینی وجود نداشت. مهرآور (۱۹۹۱) با اندازه‌گیری محتوای گلیسیریزین در ریشه‌های شیرین‌بیان نشان داد که میزان آن در گیاهان گونه‌های اسپانیایی، روسی، آسیایی و چینی به‌ترتیب در حدود ۸/۲۵، ۹/۸۸، ۱۰/۳۲ و ۷ درصد بود. یوسای و همکاران (۱۹۹۵) با مطالعه روی میزان گلیسیریزین در اندام‌های زیرزمینی گونه *G. glabra*، در منطقه ساردینیا ایتالیا، میزان این ماده را بین ۰/۱۲ تا ۲/۲۴ درصد گزارش نمودند. راوچنستینر و همکاران (۲۰۰۵) با آنالیز و مقایسه شیرین‌بیان در انواع شیرین‌بیان‌های اسپانیایی و چینی، نشان دادند که گلیسیریزین ترکیب غالب در همه گونه‌ها بود و بیشترین میزان آن به‌ترتیب در انواع گلابرا، اورالنسیس^۱ و اینفلاتا^۲ وجود داشت.

1- *Glycyrrhiza uralensis*

2- *Glycyrrhiza inflata*

هم‌چنین، بیشترین میزان گلیسیریزین در نتیجه عصاره‌گیری با متانول ۷۰ درصد نسبت به متانول ۵۰ درصد جداسازی شد. نتایج حاصل از تحقیقات شی‌اونگ و میلن (۲۰۰۳) نشان داد که عصاره‌گیری متانولی (۳۰:۷۰)، یک روش کارآمد برای عصاره‌گیری با خلوص بالا برای تعیین میزان گلیسیریزین در شیرین بیان است. تاکنون، روش‌های مختلفی برای ردیابی و اندازه‌گیری میزان مواد مؤثره در گیاهان دارویی به‌کار رفته است که یکی از بهترین این روش‌ها کروماتوگرافی است که یکی از پیشرفته‌ترین و دقیق‌ترین روش‌ها برای شناخت و تعیین مقدار مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌باشد (مصمصام‌شریعت، ۱۹۹۲). مطالعات مقایسه‌ای گسترده‌ای در گونه‌های مختلف شیرین بیان با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام شده است (جایمند و رضایی، ۲۰۰۱؛ آندوسکینا و همکاران، ۱۹۷۹؛ کوزمین و همکاران، ۱۹۷۵؛ راونچستیر و همکاران، ۲۰۰۵). سایبونی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یک روش حساس، سریع و کامل برای تعیین میزان گلیسیریزین شیرین بیان می‌باشد. جیانگ و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از این روش در تعیین میزان گلیسیریزین شیرین بیان نشان دادند که گلیسیریزین مهم‌ترین ترکیب در این گیاه است که حدود ۳۴/۱ درصد از کل ترکیبات موجود در گیاه را تشکیل می‌دهد. برنارد و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی میزان گلیسیریزیک اسید در کالوس‌ها و ریشه‌های طبیعی چند جمعیت از گیاه شیرین بیان، نشان دادند که مقدار این ترکیب در جمعیت‌های مختلف، از تفاوت معنی‌داری برخوردار نیست. رضایی و همکاران (۲۰۰۱) مقدار این ماده را در وارسته گلاندولیفرا^۱ ۲/۲۷ میلی‌گرم و در وارسته گلابرا^۱ ۱/۴۷ میلی‌گرم در هر گرم گزارش نمودند. از آنجایی که میزان گلیسیریزین در مرحله‌ای از رشد و نمو گیاه به حداکثر مقدار خود می‌رسد و سپس کاهش می‌یابد و هم‌چنین، به‌علت این‌که قطر ریشه روی میزان این ماده مؤثر می‌باشد لذا این تحقیق به‌منظور تعیین بهترین زمان برداشت و مناسب‌ترین قطر ریشه برای به‌دست آوردن بالاترین میزان گلیسیریزین در شیرین بیان در استان گستان، منطقه عراقی محله انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان (عراقی محله)، دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران در قالب طرح پایه

1- *Glycyrrhiza Glandulifera*

آشپانه‌ای^۱، با چهار تکرار انجام گردید. در این طرح، چهار زمان برداشت (آبان، آذر، دی و بهمن) و سه قطر ریشه (کمتر از ۱ سانتی‌متر، ۱ تا ۲ سانتی‌متر و بیشتر از ۲ سانتی‌متر) در نظر گرفته شد. برداشت ریشه در درجه حرارت حداقل ۱۲/۳ درجه سانتی‌گراد (دی ماه) و حداکثر ۲۳/۱ درجه سانتی‌گراد (آبان ماه) انجام شد. خصوصیات شرایط آب و هوایی در طول دوره برداشت به شرح زیر بوده است (جدول ۱). هم‌چنین، بافت خاک محل رویش شیرین‌بیان سیلتی-رسی-لوی و با pH ۷/۷ بود (جدول ۲).

جدول ۱- خصوصیات شرایط آب و هوایی منطقه در طول دوره برداشت شیرین‌بیان.

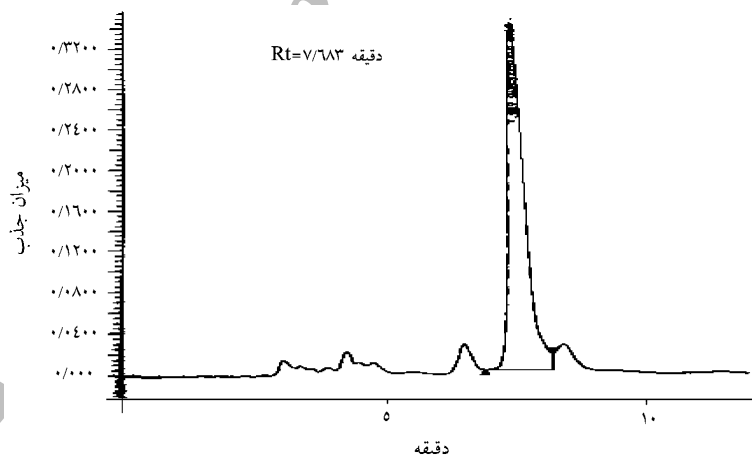
ماه	سرعت باد	سمت باد	میزان تبخیر		میزان ساعات آفتابی		میزان بارندگی (میلی‌متر)		رطوبت نسبی (درصد)		درجه حرارت (سانتی‌گراد)	
			میزان	ساعات	حداقل	حداکثر	حداقل	حداکثر	حداقل	حداکثر		
آبان	۴/۳	۲۲۲/۳	۲/۲	۵/۹	۵/۱	۴۹/۹	۹۰/۴	۱۲/۴	۲۳/۱			
آذر	۳/۱	۲۱۳	۰/۷	۴/۳	۵/۵	۵۸/۲	۹۰/۴	۴/۹	۱۳/۳			
دی	۴	۲۱۱	۰/۹	۵/۸	۳/۶	۵۴/۸	۸۷/۹	۲/۵	۱۲/۳			
بهمن	۵/۱	۱۹۴	۱/۸	۵/۲	۴/۴	۶۰/۷	۹۰/۷	۴/۵	۱۵/۳			

جدول ۲- مشخصات خاک محل جمع‌آوری نمونه‌های شیرین‌بیان.

مشخصه	هدایت الکتریکی (میلی‌موس بر سانتی‌متر)	مواد آلی (درصد)	فسفر (قسمت در میلیون)	پتاسیم (قسمت در میلیون)	کل مواد خنثی‌شونده (قسمت در میلیون)	اسیدیته (pH)
مقدار	۱/۵	۱/۷	۱۱	۳۷۰	۲۴	۷/۷

گیاه شیرین‌بیان در اواخر تابستان مورد شناسایی گیاه‌شناسی قرار گرفت؛ پس از آن‌که برگ‌های گیاه شروع به زرد شدن نمود، ریشه‌ها در سه قطر مورد نظر از خاک خارج شدند و پس از شستن و رطوبت سطحی در شرایط دمای اتاق به سرعت خشک گردیدند. ریشه‌ها به قطعات کوچک تقسیم شدند و به مدت یک هفته در آون و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، کاملاً خشک گردیدند. ریشه‌های خشک شده توسط آسیاب برقی پودر گردیدند و از الک با قطر منافذ ۰/۷ میلی‌متر عبور داده شدند.

برای عصاره‌گیری، یک گرم از پودر ریشه در ۸ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد حل شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه، قرار گرفت (شی‌اوتنگ و میلن، ۲۰۰۳) و محلول به دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد. این عمل ۵ بار تکرار شد. تغلیظ نمونه‌ها در آون تهویه‌دار با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد تا زمانی که حجم نهایی عصاره به ۵ میلی‌لیتر برسد انجام گردید. سپس عصاره نهایی با ۵ میلی‌لیتر متانول مخلوط شد و به شیشه‌های تیره رنگ ممه‌ور شده انتقال یافت. محلول استاندارد گلیسیریزین با خلوص ۷۵ درصد برای اندازه‌گیری میزان گلیسیریزین استفاده شد. دو نمونه ۷/۵ و ۱۱/۲۵ میکروگرمی اسید گلیسیریزیک در ۱۰ میلی‌لیتر فاز متحرک (متانول) حل شد و جهت رسم منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با ستون نوع C₁₈ فاز معکوس، ابعاد ۳/۹ میلی‌متر قطر و ۳۰ سانتی‌متر طول، حجم تزریق ۱۰ میکرولیتر، سرعت جریان ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه و طول موج آشکارساز ۲۵۴ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت. محلول استاندارد و مجهول (نمونه‌ها) پس از عبور از صافی یک‌بار مصرف با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرومتر به دستگاه تزریق شد تا کروماتوگرام‌های مورد نظر برای هر نمونه به دست آید (شکل ۱).



شکل ۱- کروماتوگرام محلول استاندارد گلیسیریزین با غلظت ۷/۵ میکروگرم.

به‌منظور تعیین درصد رطوبت ریشه‌ها، ۱۰ گرم از هر کدام از نمونه‌ها پس از توزین، به مدت ۴۸ ساعت در درون آون و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن، وزن خشک

و نیز درصد رطوبت آن‌ها تعیین گردید. در این بررسی، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گردید. مقایسات میانگین نیز به روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که تاریخ برداشت بر میزان گلیسیریزین اثر معنی‌داری دارد به طوری که بیشترین و کمترین میزان این ماده به ترتیب در دی ماه (۱/۱۱۲ درصد وزن خشک) و آذر ماه (۰/۷۷۳۳ درصد وزن خشک) تعیین شد. ماه‌های بهمن (۰/۹۹۹۲ درصد) و آبان (۰/۸۸۶۷ درصد) نیز از نظر مقدار گلیسیریزین در مقام‌های بعدی قرار داشتند. (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان گلیسیریزین در چهار تاریخ برداشت و سه قطر ریشه مختلف در منطقه گرگان.

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه تشخیص
تاریخ برداشت	۳	۰/۷۶۳	۰/۲۵۴	۱۶/۱۸۳۷**
قطر ریشه	۲	۱/۷۹۶	۰/۸۹۸	۵۷/۱۷۰۰**
تاریخ برداشت (قطر ریشه)	۶	۰/۶۰۰	۰/۱۰۰	۶۳۶۴**
خطا	۳۶	۰/۵۶۶	۰/۰۱۶	

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۴- مقایسه میانگین میزان گلیسیریزین در زمان‌های مختلف برداشت گیاه شیرین بیان.

زمان برداشت (ماه)	میزان گلیسیریزین (درصد)
۲۰ آبان	۰/۸۸۶۷ ^c
۲۰ آذر	۰/۷۷۳۳ ^d
۲۰ دی	۱/۱۱۲ ^a
۲۰ بهمن	۰/۹۹۹۲ ^b

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

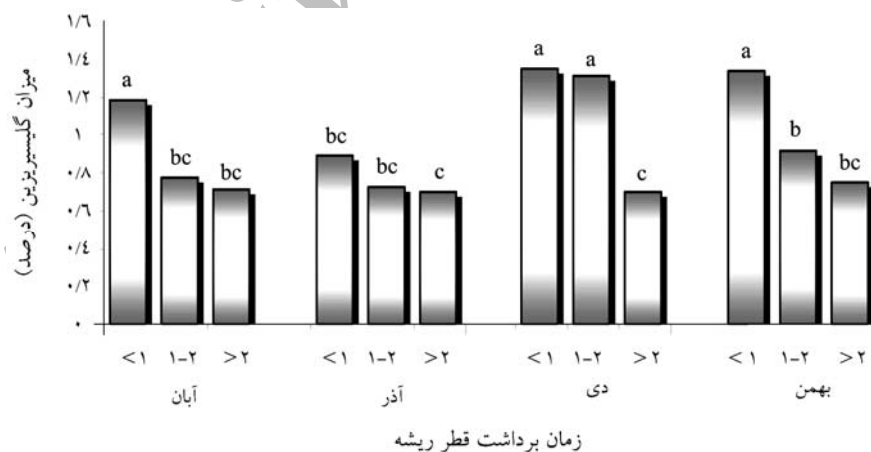
هم‌چنین، بیشترین میزان این ماده در ریشه‌های با قطر کمتر از ۱ سانتی‌متر و کمترین آن در ریشه‌های با قطر بالای ۲ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. میزان گلیسیریزین در ریشه‌های با قطر کمتر از ۱ سانتی‌متر ۱/۱۸۷ درصد، در ریشه‌های با قطر ۱ تا ۲ سانتی‌متر ۰/۹۲۷۵ درصد و در ریشه‌های با قطر بالای ۲ سانتی‌متر (۲ تا ۳ سانتی‌متر) ۰/۷۱۳ درصد به‌ازای وزن خشک گیاه بود (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین میزان گلیسیریزین در قطرهای مختلف ریشه گیاه شیرین‌بیان.

میزان گلیسیریزین (درصد)	قطر ریشه (سانتی‌متر)
۱/۱۸۷ ^a	کمتر از ۱
۰/۹۲۷۵ ^b	۱ تا ۲
۰/۷۱۳ ^c	بیشتر از ۲

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتایج اثر متقابل تاریخ برداشت و قطر ریشه‌ها نشان داد که بیشترین میزان گلیسیریزین در نمونه‌های برداشت شده با کمترین قطر در دی ماه (۱/۳۴ درصد) وجود دارد (شکل ۲).



شکل ۲- اثر متقابل زمان برداشت و قطر ریشه روی میزان گلیسیریزین.

نتایج تجزیه واریانس درصد رطوبت نمونه‌ها (جدول ۶) نشان داد که تاریخ برداشت و قطر ریشه به‌طور معنی‌داری درصد رطوبت نمونه‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها (جدول ۷) نیز نشان داد که میانگین درصد رطوبت در تاریخ‌های مختلف برداشت در سطوح مختلفی قرار می‌گیرند. بیشترین میزان رطوبت در ریشه‌های جمع‌آوری شده در آبان (۵۳/۹۰ درصد) و کمترین آن در دی ماه (۲۲/۲۶ درصد) به‌دست آمد. ریشه‌های برداشت شده در ماه‌های آبان و بهمن نیز به‌ترتیب دارای ۴۶/۶۸ درصد و ۳۲/۴۵ درصد رطوبت بودند (جدول ۷).

جدول ۶- تجزیه واریانس درصد رطوبت ریشه شیرین‌بیان در تاریخ‌های مختلف برداشت و قطرهای مختلف ریشه، منطقه گرگان.

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درجه تشخیص
تاریخ برداشت	۳	۷۲۴۷/۴۹	۲۴۱۵/۸۳	۸۱/۲۴**
قطر ریشه	۲	۹۱۹/۶۹	۴۵۹/۸۴	۱۵/۴۶**
تاریخ برداشت (قطر ریشه)	۶	۴۹۹/۳۲	۸۳/۲۲	۲/۷۹*
خطا	۳۶	۱۰۷۰/۵۱	۲۹/۷۳	

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۷- مقایسه میانگین میزان رطوبت ریشه شیرین‌بیان در زمان‌های مختلف برداشت در منطقه گرگان.

میزان رطوبت (درصد)	زمان برداشت (ماه)
۴۶/۶۸ ^b	۲۰ آبان
۵۳/۹۰ ^a	۲۰ اذر
۲۲/۲۶ ^d	۲۰ دی
۳۲/۴۵ ^c	۲۰ بهمن

* در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

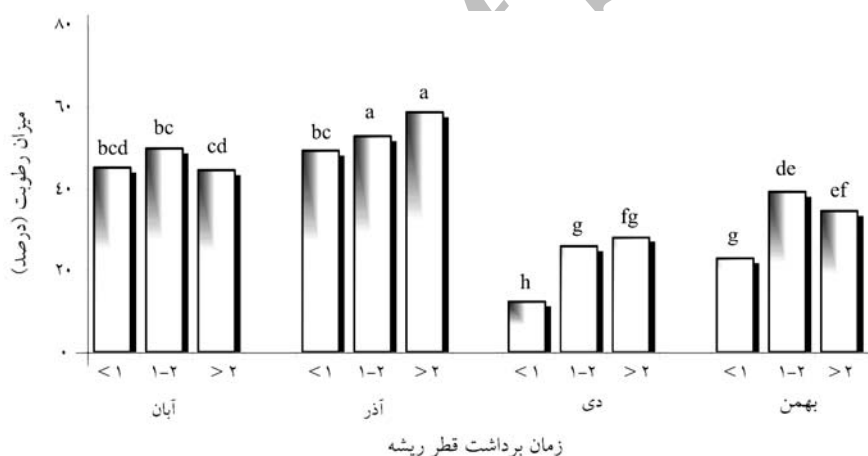
درصد رطوبت در ریشه‌های با قطر کمتر از ۱ سانتی‌متر ۳۲/۶۴ درصد، در ریشه‌هایی با قطر ۱ تا ۲ سانتی‌متر ۴۲/۱۴ درصد و در ریشه‌های با قطر بالای ۲ سانتی‌متر ۴۱/۶۹ درصد تعیین شد (جدول ۸).

جدول ۸- مقایسه میانگین میزان رطوبت در قطرهای مختلف ریشه شیرین بیان، منطقه گرگان.

قطر ریشه (سانتی‌متر)	میزان رطوبت (درصد)
کمتر از ۱	۳۲/۶۴ ^b
۱ تا ۲	۴۲/۱۴ ^a
بیشتر از ۲	۴۱/۶۹ ^a

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتایج اثر متقابل تاریخ برداشت و قطر ریشه‌ها نشان داد که کمترین میزان رطوبت در نمونه‌های برداشت شده با کمترین قطر در دی ماه (۱۲/۲۵ درصد) وجود دارد (شکل ۳).



شکل ۳- اثر متقابل زمان برداشت و قطر ریشه روی میزان رطوبت ریشه گیاه شیرین بیان، منطقه گرگان.

با توجه به این که عوامل محیطی سبب تغییراتی در رشد گیاهان دارویی و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها می‌گردند لذا برداشت یک گیاه دارویی زمانی مقرون به صرفه است که مواد مؤثره آن به حد مطلوب رسیده باشد. برداشت گیاهان دارویی در زمان نامناسب نه تنها میزان محصول به دست آمده را کاهش می‌دهد بلکه محصول برداشت شده نیز از کیفیت خوبی برخوردار نخواهد بود زیرا عملکرد اندام مورد نظر و همچنین میزان متابولیت‌های ثانویه یک گیاه دارویی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه متفاوت

است (امیدبگی، ۲۰۰۵). یکی از مهم‌ترین عواملی که در میزان ماده مؤثره گیاهان دارویی مؤثر است و در هنگام جمع‌آوری و بهره‌برداری از اندام‌های گیاهی باید به آنها توجه نمود، زمان جمع‌آوری گیاه است. تغییراتی که در میزان مواد مؤثره در طول سال و حتی ساعات یک روز وجود دارد، اهمیت جمع‌آوری گیاه دارویی را در زمان مناسب نمایان می‌سازد (صمصام‌شریعت، ۱۹۹۲). به‌عنوان مثال، ریشه و ریزوم را در اواخر پاییز برداشت می‌کنند زیرا در بهار ریشه‌ها معمولاً گوشتی و اسفنجی شکل هستند و در اثر خشک شدن به سرعت خرد شده و کیفیت خود را از دست می‌دهند (سپتاک، ۱۹۹۹). برداشت اندام‌های زیرزمینی شیرین‌بیان در فصلی که برگ‌ها در حال ریختن است و در انتهای فصل رویشی (پاییز و زمستان) باید انجام شود زیرا در این دوره از رشد گیاه، ریشه دارای حداکثر مقدار ماده گلیسیریزین است (میرحیدر، ۱۹۹۶). تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی معمولاً تحت اثر ژنوتیپ و عوامل محیطی قرار دارد (فیلیو و همکاران، ۲۰۰۲). آندوسکینا و همکاران (۱۹۷۹) و کوزمین و همکاران (۱۹۷۵)، در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیدند که اندام‌های زیرزمینی شیرین‌بیان در گونه‌های گلابرا و اورالنسیس در تمامی مراحل رشد و نیز در زمستان که گیاهان کاملاً در خواب هستند، دارای گلیسیریزین می‌باشند و این مقدار در انتهای فصل رشد به بالاترین مقدار خود می‌رسد. به نظر می‌رسد که در انتهای فصل به دلیل استراحت گیاه، مواد ذخیره‌ای از قسمت‌های هوایی گیاه به سمت ریشه مهاجرت می‌نمایند و در درون ریشه جمع می‌شوند. سرانو (۱۹۸۴) بیان کرد که مقدار گلیسیریزین در شیرین‌بیان در ماه اردیبهشت به بالاترین مقدار و در ماه مرداد به حداقل میزان خود می‌رسد.

عوامل محیطی مثل خاک، آب، هوا و روش‌های کاشت در ترکیب مواد مؤثره دخالت دارند بنابراین ارزیابی یکایک آن‌ها به تنهایی بسیار مشکل است (صمصام‌شریعت، ۱۹۹۲). فنویک و همکاران (۱۹۹۰) و هایاشی و همکاران (۱۹۹۸)، گزارش کردند که غلظت گلیسیریزین در ریشه‌های شیرین‌بیان به وارپته، محل و زمان برداشت وابسته است. آب موجود در خاک عامل اصلی جابه‌جایی و توزیع مواد در درون خاک است و بالا بودن مقدار رطوبت بر جذب ریشه اثر مهمی دارد زیرا میزان تحرک، انتشار و نفوذ یون‌های مواد غذایی را بر اثر حل شدن ترکیبات آن‌ها بالا می‌برد و آن‌ها را در حد مطلوبی برای جذب در مجاورت ریشه قرار می‌دهد (قهرمان، ۱۹۹۹). در طی دوره چهار ماهه برداشت گیاه، دی ماه دارای کمترین مقدار بارندگی بوده است؛ هم‌چنین بر طبق نتایج حاصله از بررسی میزان رطوبت نمونه‌های برداشت شده از ریشه، دی ماه دارای کمترین میزان رطوبت در مقایسه با ریشه‌های

برداشت شده در سایر ماه‌ها بود. از آنجایی که گلیسیریزین در آب محلول می‌باشد (شی‌اونگ و میلن، ۲۰۰۳)، غلظت گلیسیریزین موجود در نمونه‌های برداشت شده در دی ماه، بالاتر از سایر ماه‌ها بود. این روند در سایر ماه‌ها نیز دنبال گردید و در ماه‌هایی که دارای درصد رطوبت کمتری بودند، در مقدار گلیسیریزین بیشتری تولید شد. دوگلاس و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی میزان گلیسیریزین در ریشه‌ها و ریزوم‌های رشدیافته در دو منطقه کلید^۱ با متوسط بارندگی ۴۵۴ میلی‌متر در سال و لین‌کولن^۲ با متوسط بارندگی ۵۰۶ میلی‌متر در سال در نیوزلند، به نتایج مشابهی دست یافت و میزان این ماده را در منطقه کلید با بارندگی کمتر، بیشتر از منطقه لین‌کولن گزارش نمودند و عنوان کردند که در مناطق دارای بارندگی کمتر، میزان گلیسیریزین بیشتری تولید می‌گردد. ریزوفلو و دیاماتوگلون (۱۹۹۱)، لاهوتی (۱۹۹۱)، و فاکرباھر و همکاران (۲۰۰۰) نیز در بررسی‌های خود روی اسانس‌های گیاهان به نتایج مشابهی دست یافتند.

یکی از عوامل مؤثر در میزان ماده مؤثره، دما است. نقش دما بر میزان مواد مؤثره در گیاهان مختلفی بررسی شده است. در گیاه روبراب^۳ مشخص شد که ترکیبات آنترانول در حضور دمای زیاد، اکسید می‌شود و به ترکیبات آنتراکینون تبدیل می‌گردد (صمصام‌شریعت، ۱۹۹۲). جایمند و رضایی (۲۰۰۱) با اندازه‌گیری میزان گلیسیریزین در نمونه‌های شیرین‌بیان استان فارس، مقدار آن را ۱۴/۹ درصد تعیین و به نتایج مشابه دست یافتند. با توجه به این که منطقه فارس از آب و هوایی گرم و خشک برخوردار است و میزان بارندگی و رطوبت این منطقه نسبت به گرگان (گرم و مرطوب) کمتر می‌باشد لذا در منطقه فارس میزان بیشتری از گلیسیریزین در ریشه‌های شیرین‌بیان گزارش شد.

نتایج این تحقیق نشان داد که ریشه‌های دارای کمترین قطر دارای بیشترین میزان گلیسیریزین بودند. ریشه‌های با قطر کمتر سطح جانبی بیشتری به‌ازای وزن خشک دارند و قادر به جستجوی سراسر خاک و جذب بهتر عناصر غذایی نسبت به ریشه‌های ضخیم‌تر هستند (رنگل و گراهام، ۱۹۹۶). در ریشه‌های با قطر بیشتر، در اثر فعالیت لایه زاینده، پوست و بشره از بین می‌رود و یک بافت چوب‌پنبه‌ای ایجاد می‌شود (مجتهدی و لسانی، ۱۹۹۵). محل تولید گلیسیریزین در بافت‌های ریشه در درون پارانشیم پوستی می‌باشد (مارزی و همکاران، ۱۹۹۳). پارانشیم‌ها از بافت‌های مهم و اساسی

1- Clyde

2- Lincoln

3- *Rheum Palmatum*

گیاهان به ویژه در گیاهان تازه و جوان می‌باشند. پارانشیم ذخیره‌ای در اندام‌های زیرزمینی مانند ریشه و ریزوم وجود دارد که فاقد کلروفیل و محتوی موادی مثل گلوکوسیدها یا ذرات چربی‌اند (قهرمان، ۱۹۹۹). با افزایش قطر ریشه از میزان پارانشیم پوستی کاسته می‌شود و به اسکلرانسیم‌ها، فیبرها و بافت‌های چوبی که دارای سلول‌های طویل و فاقد ماده زنده هستند، افزوده می‌شود. هایاشی و همکاران (۱۹۹۸) و مارزی و همکاران (۱۹۹۳)، بالاترین غلظت گلیسیریزین را در اندام‌های زیرزمینی قطورتر گزارش نمودند. در مطالعات یوسای و همکاران (۱۹۹۵)، در ریشه‌هایی با قطر ۰/۲۰، ۰/۶۰-۰/۵۵ و ۱/۷۰ سانتی‌متر به ترتیب ۰/۹۳، ۱/۳۰ و ۲/۲۴ درصد تولید گشت. یوسای و همکاران (۱۹۹۵) در بررسی میزان گلیسیریزین در ساقه‌های زیرزمینی شیرین بیان به نتایج مشابهی دست یافتند و بیشترین میزان گلیسیریزین را در ریزوم‌های باریک‌تر به دست آوردند. نتایج تحقیقات گسترده دوگلاس و همکاران (۲۰۰۴) در مورد ریشه‌ها و ریزوم‌های شیرین بیان با نتایج این بررسی مشابه بود. بر طبق یافته‌های این پژوهشگران، ریشه‌های با قطر کمتر، حاوی گلیسیریزین بیشتری بودند. آن‌ها میزان گلیسیریزین را در ریشه‌هایی با قطر کمتر از ۱/۵ سانتی‌متر، ۱/۵ تا ۳ سانتی‌متر، ۳ تا ۶ سانتی‌متر و ۶ تا ۹ سانتی‌متر به ترتیب ۳۵/۱، ۳۲/۳، ۲۸/۸ و ۲۵/۶ گرم در هر کیلوگرم وزن خشک گیاه تعیین نمودند. مقدار گلیسیریزین در ریزوم‌هایی با قطر کمتر از ۱/۵ سانتی‌متر، ۲۷/۶ گرم در هر کیلوگرم وزن خشک گیاه و در ریزوم‌هایی با قطر ۱/۵ تا ۳ سانتی‌متر، ۲۵/۶ گرم در هر کیلوگرم وزن خشک گیاه بود. با توجه به این‌که مسیر بیوستزی شیرین بیان هنوز به طور کامل شناخته نشده است (هایاشی و همکاران، ۱۹۹۸؛ یوسای و همکاران، ۱۹۹۵) لذا این احتمال وجود دارد که عوامل مختلف از جمله دما، رطوبت، دوره‌های مختلف رشد و نمو گیاه و قطرهای مختلف ریشه بر عملکرد آنزیم‌ها و سوبستراهای این مسیر، اثر می‌گذارند و سبب تغییراتی در ماده گلیسیریزین و یا پیش‌ماده‌های تولید آن می‌شوند.

نتیجه‌گیری کلی

بیشترین تولید ماده گلیسیریزین در شرایط آب و هوایی گرگان در گیاه شیرین بیان هنگامی صورت گرفت که قطر ریشه کمتر از ۱ سانتی‌متر و دمای روزانه بین حداقل ۲/۵ و حداکثر ۱۲/۳ درجه سانتی‌گراد (دی ماه) بود. با توجه به اهمیت این ماده در صنایع غذایی و دارویی نیاز است که زمان تولید بیشترین میزان گلیسیریزین در این گیاه مشخص گردد تا با بهره‌برداری به موقع گامی مؤثر در جهت غنی‌سازی صنایع دارویی و غذایی برداشته شود.

منابع

1. Akhundzadeh, S. 2000. Encyclopedia of Iranian Medicinal plants. Institute of medicinal plants. Jahad-e Daneshgahi, 213p.
2. Alan Teck, W.E., Yuan, H.M., and Shi, O.E. 2007. Evaluation of surfactant assisted pressurized liquid extraction for the determination of glycyrrhizin and ephedrine in medicinal plants. *Analytica Chimica Acta*, 583: 289-295.
3. Andoskina, L.E., Muinova, S.S., and Pauzner, L.E. 1979. Effect of the time of mowing on the productivity and quality of licorice roots. *Horticultural Abstract*, 49: 539.
4. Bernard, F., Soleimani, S.H., Rezaee, M.B., and Jaimand, K. 2002. Study of Glycyrrhizin content in calluses and Natural roots in some population of Licorice. National Congress of Iranian Medicinal Plants. Research Institute of Forest and Rangelands, 132p.
5. Blumenthal, M., Goldberg, A., and Brinckmann, J. 2000. Herbal Medicin, Expanded Commission A Monographs, American Botanical Council, 110: 46-52.
6. Bradley, P.R. 1992. British herbal compendium. Vol. 1. Bournemouth, British Herbal Medicine Association, Pp: 145-148.
7. Chandler, F. 2000. Herbs. Everyday Reference for Health professionals. Canadian Pharmacists Association and the Canadian Medicinal Association.
8. Douglas, J.A., Douglas, M.H., Lauren, D.R., Martin, R.J., Deo, B., Follett, J.M., and Jensen, D.J. 2004. Effect of plant density and depth of harvest on the production and quality of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) root harvested over 3 years. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32: 363-373.
9. Faker Baher, Z., Rezaee, M.B., Mirza, M., and Abbas Zade, B. 2000. Review of changes for quantitative and qualitative of *Satureja hortensis* essence duration of field drought stress. *Seasonal magazine research of medicine and odorous plant*, 11: 51-37.
10. Fathollah, M. 2006. Organization of extension business. Office of business programming of Medicinal plants, 85p. (In Persian)
11. Fenwick, G.K., Lutomski, J., and Nieman, C. 1990. Licorice, *Glycyrrhiza glabra* L. composition, uses and analysis. *Food chemistry*, 38: 119-143.
12. Filippo, L., Marreti, A., and Lovat, A. 2002. Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. *Industrial crop product*. 15: 59-69.
13. Foster, S. 1990. Licorice. *Food Chemistry*, 38: 119-143.
14. Fuggersberger-Heinz, R., and Franz, G. 1984. formation of glycyrrhizic acid in *Glycyrrhiza glabra* var. *typica*. *Planta Medicine*, 50: 409-413.
15. Ghahraman, A. 1999. Basic Botany: Anatomy and Morphology, Vol. 1. University of Tehran Press, 539p.

16. Hayashi, H., Hiraoka, N., Ikeshiro, Y., Yamamoto, H., and Yoshikawa, T. 1998. Seasonal variation of glycyrrhizin and isoliquiritigenin glycosides in the root of *Glycyrrhiza glabra* L. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 21: 987-989.
17. Jaimand, K., and Rezaee, M.B. 2001. Extraction and Measurement of Glycyrrhizin in Licorice using HPLC. National Congress of Iranian Medicinal Plants. Research Institute of Forest and Rangelands, 112p.
18. Jiang, Y., Lu, T.H., and Chen, F. 2004. Preparative purification of glycyrrhizin extracted from the root of licorice using high-speed counter-current chromatography. Journal of Chromatography, 1033: 183-186.
19. Karimi, H. 2002. Iranian Vegetable Glossary. Pharcham Press, Vol. 1. 1200p.
20. Kuzmin, E.V., Kashkavar, N.F., and Golovenko, K.A. 1975. The glycyrrhizic acid content in the roots of licorice from the valley of the river Ural. Horticultural Abstract, 47: 1893.
21. Lahouti, M. 1991. The Principles of Plant Physiology. Astane-Ghodse Razavi Press, 322p.
22. Martin, R.J., Douglas, M.H., and Heaney, A.J. 1997. Yield and root distribution in a commercial licorice crop. Journal of Crop and Food Research, 40: 45-49.
23. Marzi, V., Circella, G., and Vampa, G.M. 1993. Effect of soil depth on the rooting system growth in *Glycyrrhiza glabra* L. ISHS Acta Horticulture, 331: 71-78.
24. Mehravar, M. 1991. Extraction of licorice from licorice roots by pure water and one percent aqueous ammonia solution. M.Sc. Thesis. Shiraz University, Shiraz, Iran, 107p. (In Persian)
25. Mirheidar, H. 1996. Plant Education with plant employed in prevention and Disease remedy. Vol. 3. Farhang-e eslami Press, 532p.
26. Mojtahedi, M., and Lesani, M. 1995. Life of Green plants. University of Tehran Press, 587p.
27. Omidbaigi, R. 2004. Production and Processing of Medicinal Plants. Behnashr Press, Vol. 3. 379p.
28. Omidbaigi, R. 2005. Production and Processing of Medicinal Plants. Behnashr Press, Vol. 3. 379p.
29. Rauchensteiner, F., Matsumura, Y., Yamamoto, Y., Yamaji, S., and Tani, T. 2005. Analysis and comparison of Radix Glycyrrhiza (Licorice) from Europe and China by capillary-zone electrophoresis (CZE). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 38: 594-600.
30. Rengel, Z., and Graham, R.D. 1996. Uptake of Zinc from chelate-buffered nutrient by wheat genotype differing Zn deficiency. Journal of experimental botany, 47: 217-226.

31. Rezaee, M.B., Bernard, F., Jaimand, K., and Soleimani, S.H. 2001. Determination of Glycyrrhizin content in two varieties of Licorice of Fars province. National Congress of Iranian Medicinal Plants. Research Institute of Forest and Rangelands, 201p.
32. Rhizophoulou, S., and Diamantoglou, S. 1991. Water stress induced diurnal variation in leaf water relation stomatal conductance, soluble sugar, lipids and essential oil content of *Origanum majorana*. Journal of Horticultural Science, 66: 119-125.
33. Sabbioni, C., Ferranti, A., Bugamelli, F., Cantelli Forti, G., and Augusta Raggi, M. 2005. Simultaneous HPLC analysis, with isocratic elution, of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in licorice root and confectionary products. Phytochemical Analysis, 17: 1. 25-31.
34. Samsam Sariat, H. 1992. Extraction of Active substance of Medicinal plants and their recognized assessment methods. Medical faculty of Esfahan, Press, 293p.
35. Samsam Sariat, H. 1995. Nourishment and reproduction of Medicinal plants. Medical faculty of Esfahan, 418p. (In Persian)
36. Septak, M. 1999. Comparison study of Antimicrobial effects of root and leaf pure extract of licorice and licorice powder in market. Ph.D. Thesis Pharmaceutics faculty, Ferdowsi University, Mashhad, 102p.
37. Serano, M. 1984. the Spanish licorice plant. Horticultural Abstract, 18: 2050.
38. Shi, O.E., and Mei, L.S. 2003. Pressurized hot water extraction of berberin, baicalin and glycyrrhizin in medicinal plants. Analytica Chimica Acta, 482: 81-89.
39. Usai, M., Vincenzo, P., and Domenico, A. 1995. Glycyrrhizin variability in subterranean organs of Sardinian *Glycyrrhiza glabra* subspecies *glabra* var. *glabra*. Journal of Natural Products, 58: 11. 1727-1729.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 16(2), 2009
www.gau.ac.ir/journals

Effect of harvest time and root diameter on Glycyrrhizin content in *Glycyrrhiza glabra*

*E. Bolouri Moghaddam¹, Kh. Hemmati², Z. Bashiri Sadr³
and K. Mashayekhi⁴

¹Former M.Sc. student, Dept. of Horticultural, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, ²Assistant Prof., Dept. of Horticultural, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, ³Member of Scientific Mission (Ph.D.), Scientific and Industrial Researches organization, ⁴Associate Prof., Dept. of Horticultural, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources

Abstract

Licorice, *Glycyrrhiza glabra* (Fabaceae), is one of the herbal medicines. Glycyrrhizin is the importance content through compounds exiting in licorice, which is 50 times sweeter than sucrose. Glycyrrhizin used as the primary matter in pharmacy and used to remedy of many diseases, and also, used in tobacco, confectionary and beverage industries. Since Glycyrrhizin in the phases of growth received at maximum and then decreased; and also to consider of root diameter and harvest time effect on active substance content, This study done for determine the best harvest time and suitable root diameter to obtain the greatest Glycyrrhizin in this plant. For this study, root of *Glycyrrhiza glabra* were collected in four times (Nov, Dec, Jan and Feb) and in three root diameter (<1 Cm, 1-2 Cm and >2 Cm) from gorgan (Araghi mahalle agricultural station). Variant of measurement in this study were including fresh weight, dry weight (for determination of percentage of humidity) and glycyrrhizin content. Extraction of glycyrrhizin was done with methanol and its measurement done with used high performance liquid chromatography (HPLC). The result showed that the least root diameter were containing the least humidity percentage (32.46%) and the greatest of glycyrrhizin (1.187%), the root were harvested in Jan., in comparison with other harvest time, were containing the least humidity percentage (22.26%) and the greatest amount of glycyrrhizin (1.112%).

Keywords: *Glycyrrhiza glabra*, Glycyrrhizin, Harvest time, Root diameter

* Corresponding Author; Email: e_bolourimoghaddam@yahoo.com