Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 2, June. July. 2016, p. 296- 307

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۵ ص.۳۰۷-۲۹۶

مقایسه خواص ضداکسایشی زرشک تازه (*Berberis integerrima×Vulgaris*) در حلال‌های آبی و الکلی

فریده شریفی [۱]، لطیفه پوراکبر* [۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۶/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۱۴

چکیده

گیاه زرشک (*Barberry*) متعلق به خانوادهی *Berberidaceae* می‌باشد که به دلیل اثرات کاهش قند و فشار خون در طب سنتی استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی مقایسه‌ای مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوییدی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، سنجش قدرت احیای آهن، سنجش MDA، توان گیرندگی رادیکال نیتریک اکساید در عصاره‌های الکلی وآبی زرشک *Berberis integerrima×Vulgaris*) بود. بعد از جمع‌آوری میوه زرشک در آبان ۱۳۹۱ از منطقه قمچقای واقع در ۴۵ کیلومتری شهرستان بیجار استان کردستان تا زمان سنجش در فریزر نگهداری شد. سپس عصاره اتانولی، متانولی و آبی آن تهیه گردید. سنجش میزان فنل و فلاونوئید تام به روش اسپکتروفتومتری ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از توانایی مهار رادیکال‌های DPPH ، نیتریک اکسید ، قدرت احیاکنندگی و ظرفیت مهار پراکسیداسیون چربی به روش تیو باربیتوریک اسید صورت گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره آبی دارای بیشترین میزان فنل (۰/۴۹ ± ۴۸/۹۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و قدرت گیرندگی رادیکال نیتریک اسید (۶۴/۵۶ ±۷۲۳/۶ درصد) و عصاره متانولی حاوی بیشترین میزان فلاونوئید (۰/۰۳۳ ±۱/۹۳، میلی‌گرم در گرم وزن تر) ، مهارکنندگی رادیکال DPPH (۰/۹۹ ±۴۴/۶۲ درصد) ، قدرت احیای آهن (۰/۴۲ ±۵/۸۹ میلی‌مول در گرم وزن تر) و مالون دی آلدئید (۰/۷۹ ±۳۷/۱۲ میلی‌مول بر گرم وزن تر) بود. نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی زرشک می‌توانند بعنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل نموده و پس از آزمایش‌های تکمیلی در صنایع غذایی و دارویی بکار روند.

واژه‌های کلیدی: زرشک تازه، فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خواص ضداکسایشی

مقدمه

واکنش‌های بیوشیمیایی متعددی در بدن، اکسیژن فعال تولید نموده که توانایی تخریب بیومولکول‌ها را دارا می‌باشند. این اثر زیان بخش رادیکال‌های آزاد می‌تواند توسط مواد آنتی‌اکسیدان بلوکه شود.

آنتی اکسیدان‌ها مولکول‌ها یا ترکیباتی هستند که بعنوان از بین برنده‌ی رادیکال‌های آزاد عمل می کنند که این رادیکال‌ها باعث می‌شوند تا مولکول‌ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند. نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها به خوبی، به اثبات رسیده است (Kumaran and Karunakaran, 2006). دفاع اولیه در برابر این تخریب‌های اکسیداتیو بر عهده آنتی‌اکسیدان‌هاست (Valko *et al.*, 2006). گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند، می‌توانند سلول‌ها را از استرس‌های اکسیداتیو محافظت نمایند (Ielpo *et al.*, 2000). یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ترکیبات فنلی گیاهان می‌باشند (Shahidi, 2000). ترکیبات فنلی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (Ahmadi *et al.*, 2007). آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیشترین استفاده را در صنعت غذایی دارند، شامل: بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)، ترشیری بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و پروپیل گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این مواد بر سلامت انسان مشخص شده است (Kahl and Kappus, 1993; Namiki,1990).

بنابراین امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیبات فنلی آن‌ها بعنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند مورد توجه محققین قرار گرفته است (Kulisic *et al.*, 2004). برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از بافت‌های گیاهی می‌توان از حلال‌های مختلف و روش‌های متعدد عصاره‌گیری استفاده کرد. درجه قطبیت حلال‌های مختلف، میزان استخراج ترکیبات پلی‌فنلی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. تحقیقات نشان داده است که حلال‌های اتانول و متانول بصورت مخلوط با آب توانایی بیشتری نسبت به حالت خالص در استخراج ترکیبات فنلی از بافت‌های گیاه

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: lpourakbar@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

دارند (Suzuki *et al*., 2002). ایران از نظر پوشش و تنوع گیاهی دارای منابع بی‌نظیری است و طب سنتی ایران نیز یکی از غنی‌ترین و پرسابقه‌ترین طب‌های سنتی دنیا بشمار می‌رود.

خانواده *Berberidaceae* گروهی از گیاهان می‌باشند که از میان آنها چند نمونه مثل *Berberis Aristata* , *Berberis Integerrima* و *Berberis Vulgaris* دارای مصارف قابل توجهی در پزشکی و صنعتی می‌باشند. ترکیبات موجود در زرشک دارای فعالیت‌های بیولوژیکی هستند و بطور گسترده‌ای در صنایع غذایی و پزشکی کاربرد دارند (Martynov *et al*., 1984).

بر اساس مطالعاتی که بر روی عصاره‌ی ریشه‌ی زرشک و عمده‌ترین آلکالوئید آن یعنی بربرین انجام گرفته خواص زیر برای آن ذکر شده است: آنتی‌اکسیدان (Sabir *et al*., 1978)، ضدالتهاب (Ivanovska and Phlipov, 1999)، کاهنده‌ی فشار خون Fatehi (*et al*., 2005)، هیپوگلیسمی (Yin *et al*., 2002) و پایین‌آورنده‌ی چربی (Doggrell, 2005). عصاره‌ی زرشک حاوی انواع فلاونوئیدها از جمله کوئرستین، کریسانتمین، هایپروزید، دلفینیدین-۳-O-بتا-D-گلوکوزید، پلارگونین وپتیونیدین-۳- O- بتا- D- گلوکوزید است (Gilgun-Sherki *et al*.,2001)، همچنین دارای ترکیباتی نظیر آسکوربیک اسید، آلفاتوکوفرول و بتاکاروتن است که همگی جزء آنتی‌اکسیدان‌ها بشمار می‌روند (Ferre *et al*., 2001). ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی از مهمترین مواد موثره‌ی ثانویه در زرشک بعنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند (Sun *et al*., 2002; *al*., 2008 Silic, 2005; Kremer *et*).

Sasikumar و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند میوه‌ی زرشک توان آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و در جاروب کردن رادیکال‌های سوپراکسید، DPPH و نیتریک اکسید موثر است. محققان به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی اتانولی میوه‌های زرشک پرداختند و نشان دادند که این خاصیت به علت ترکیبات فنلی موجود در میوه‌ها است (Farag *et al*., 2003; Hanachi *et al*., 2009) .خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی گیاه زرشک زرافشانی توسط مجد و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. Motalleb و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که عصاره‌ی میوه‌ی زرشک سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده و پوست ریشه‌ی آن سرشار از ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی است.

Pogačnik و Poklarulrih (۲۰۱۱) توان آنتی‌اکسیدانی ۸ نوع گیاه از جمله زرشک *(Berberis Vulgaris)* را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که زرشک از فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار است. برنجی اردستانی و همکاران (۲۰۱۳) خواص فیزیکوشیمیایی و محتوای فنلی و آنتوسیانینی در دو گونه‌ی زرشک *Berberis Vulgaris* و *Berberis Integerrima* را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند هر دو گونه‌ی فوق دارای مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی و آنتوسیانین می‌باشند. در این تحقیق بر روی زرشک هیبرید بین گونه‌ای *Berberis integerrima×Vulgaris* مطالعه شد. با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای بر روی زرشک هیبرید در ناحیه‌ی قمچقای صورت نگرفته است لذا، هدف اصلی از این مطالعه تعیین بهترین حلال جهت استخراج عصاره، بررسی میزان ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌رادیکالی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف میوه‌ی تازه‌ی زرشک جمع‌آوری شده از منطقه‌ی قمچقای شهرستان بیجار در استان کردستان بوده است.

مواد و روش

جمع آوری گیاه

هیبرید *Berberis integerrima×Vulgaris* در آبان ماه سال۱۳۹۱ از منطقه قمچقای شهرستان بیجار جمع‌آوری گردید و تا زمان سنجش در فریزر نگهداری شد.

استخراج عصاره

بمنظور بررسی اثر حلال، مقایسه نتایج میان حلال‌های آلی و قطبی و انتخاب بهترین حلال جهت استخراج عصاره عملیات استخراج با حلال‌هایی با قطبیت متفاوت انجام شد. جهت تهیه عصاره از حلال‌های اتانول، متانول و آب استفاده شد. عصاره‌های مختلف گیاه مورد مطالعه به روش خیساندن (maceration) تهیه شد. به این صورت که مقدار ۲ گرم میوه تازه زرشک را درون ارلن ریخته و بطور جداگانه ۱۰ml حلال مورد نظر (اتانول، متانول و آب) به آن اضافه گردید. مخلوط حاصله به مدت ۲ ساعت با همزن (شیکر) همزده شد. میوه زرشک قبل از اختلاط با حلال کاملا خرد گردید. پس از آن با عبور مخلوط از کاغذ صافی عصاره اولیه حاصل گردید. این عمل با افزودن ۱۵ ml حلال به مواد باقی مانده تکرار شد.

تعیین مقدار ترکیبات فنلی تام

جهت اندازه‌گیری ترکیبات فنلی تام از معرف Folin-Ciocalteo استفاده شد (McDonald *et al*., 2001). ۱ میلی‌لیتراز این معرف به ۱ میلی‌لیتر عصاره بدست آمده گیاهی اضافه و سپس به مخلوط حاصل ۱ میلی‌لیتر سدیم کربنات اضافه شد پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل APPEL خوانده شد. نتایج، با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید به صورت میلی‌گرم هم ارزگالیگ اسید بر گرم وزن تر گزارش شد (Shui and Leong, 2002 Pandjaitan *et al*., 2005;).

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین مقدار ترکیبات فلاونوییدی

مقدار ترکیبات فلاونوییدی با روش نورسنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد (Chang *et al*., 2002). به ۱ میلی‌لیتر عصاره گیاهی تر ۱ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینییوم در محلول متانول ۵٪ اسید استیک در متانول اضافه شد و پس از ۱۰ دقیقه واکنش جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۳۰ نانومتر در برابر نمونه شاهد خوانده شد. نتایج بصورت میلی‌گرم هم ارز کوئرستین بر گرم وزن تر گزارش شد.

سنجش ظرفیت مهار پراکسیداسیون چربی به روش تیوباربیتوریک اسید (TBA)

میزان پراکسیداسیون لیپید در بافت‌ها از طریق تعیین محتوای مالون دی آلدئید (MDA) در واکنش با تیوباربیتوریک اسید سنجیده می‌شود. به این منظور ۲ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰٪ و ۲ میلی لیتر از محلول TBA ۰/۶۷٪ به ۰/۵ میلی لیتر از عصاره های نمونه های گیاهی اضافه شد این مخلوط به مدت ۱۰دقیقه در بن ماری ۱۰۰°C قرار گرفت و پس از سرد شدن تا دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه در سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. فعالیت ضداکسایشی بر اساس جذب محلول رویی در ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است.

تعیین فعالیت گیرندگی رادیکال به روش DPPH

میزان گیرندگی رادیکال‌های پایدار DPPH با استفاده از روش Cuendent و همکاران (۱۹۹۷) تعیین شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره به ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۰۰۴ ٪ DPPH اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری گردید. درصد گیرندگی عصاره‌ها طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$IC\ \% = (A\ blank - A\ sample / A\ blank) \times 100 \qquad (۱)$$

در این فرمول Ablank جذب کنترل و Asample جذب نمونه می‌باشد و IC فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال بوده و بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهارکنندگی است.

تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش به دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید

میزان مهار رادیکال های نیتریت با استفاده از واکنش Illosvoy Griss (Garrat, 1964) بدست آمد. محلولی متشکل از ۲ میلی‌لیتر سدیم نیتروپروسید (۱۰ میلی‌مولار) و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین با ۲۰ میکرولیتر عصاره مخلوط شد. محلول حاصله به مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. بعد از انکوباسیون ۱ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش با ۱ میلی‌لیتر از عامل سولفانیلیک اسید (۰/۳۳٪ در گلاسیال استیک اسید۲۰٪) مخلوط شد و اجازه داده شد به مدت ۵ دقیقه، جهت تکمیل واکنش باقی بماند. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید ۰/۱٪ به محلول مذبور اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج ۵۴۰ نانومتر سنجیده شد. درصد جمع‌آوری رادیکال توسط معادله ذیل محاسبه شد.

$$\text{درصد جمع‌آوری رادیکال‌های نیتریت} = (A\ blank - A\ sample) \times 100 / A\ sample \qquad (۲)$$

Asample: جذب همراه با نمونه

Ablank: جذب بدون نمونه

قدرت احیای آهن با استفاده از سنجش FRAP

قدرت احیای آهن با استفاده از سنجش FRAP با روش Benzie و Strain (۱۹۹۶) با اندکی تغییر تعیین شد. معرف FRAP حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر از TPTZ ۱۰ میلی‌مولار در HCL ۴۰ میلی‌مولار و۲/۵ میلی‌لیتر $FeCl_3$ ۲۰ میلی‌مولار و ۲۵ میلی‌لیتراز بافر استات ۰/۳ مولار (pH=۳/۶) بطور تازه، تهیه شد.۳ میکرولیتر از هر عصاره با ۳ میلی‌لیتر از معرف FRAP مخلوط و جذب واکنش در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

سنجش‌ها همه در سه تکرار انجام شدند و نتایج بصورت مقادیر میانگین و خطای استاندارد (SE) میانگین بیان شده‌اند. ارتباط داده‌ها با استفاده از واریانس تک سویه در سطح احتمال ۵٪ ($p<0/05$) آنالیز شدند. رسم جدول‌ها و نمودارها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و EXCEL انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای فنل و فلاوونوئید

در فرآیند استخراج عواملی چون نوع حلال و زمان استخراج بسیار مهم هستند (Hayouni *et al*., 2007). استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی دارد، به علاوه قطبیت حلال‌های مورد استفاده نقش کلیدی را در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می‌کند (Huang., *et al* 2005; Javanmardi *et al*., 2003). حلال‌هایی با درجه قطبیت پائین نظیر هگزان، استون، بوتانول و کلروفرم نسبت به حلال‌های قطبی توانائی کمتری در استخراج این ترکیبات دارند (Rumbaoa *et al*., 2009).

www.SID.ir

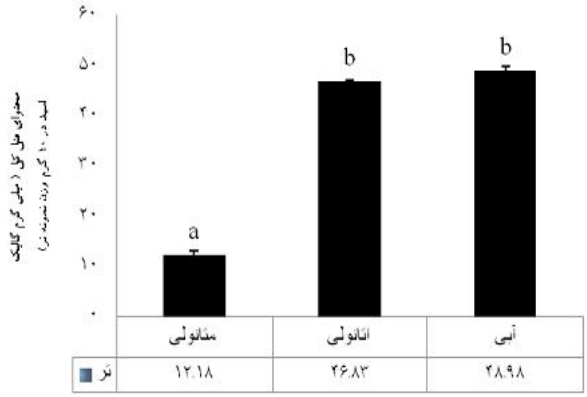
Archive of SID

حلالیت ترکیب‌های فنلی با توجه به نوع حلال، درجه پلیمریزاسیون آنها و برهمکنش آنها با سایر ترکیب‌های موجود در بافت‌های گیاهی متفاوت است (Trabelsi *et al* ., 2010). استفاده از آب بعنوان حلال استخراج، یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند که درآن برخی از ترکیبات فنلی با درجه قطبیت پائین به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به حلال‌های آلی با تشکیل یک محیط نسبتاً قطبی همراه بوده و بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنلی در این شرایط اطمینان حاصل می‌گردد .علاوه بر این عصاره‌ی آبی حاوی مقادیر زیادی از ناخالصی‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول می‌باشد که می‌توانند در تشخیص و تعیین مقدار ترکیبات فنلی تداخل ایجاد نمایند (Chirinos *et al* ., 2007). نتایج آنالیز واریانس نشان داد نوع حلال مورد استفاده جهت استخراج تاثیر معنی‌داری ($P<0/05$) بر مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دارد. نمودار شماره ۱ مقدار ترکیبات فنلی تام را بر حسب میلی‌گرم هم ارز گالیگ اسید بر گرم نشان می‌دهد. محتوای تام ترکیبات فنلی برای عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۴۸/۹۸±۰/۴۹، ۴۶/۸۳±۰، ۱۲/۱۸±۱/۵۶ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰ گرم وزن تر زرشک بدست آمد. بیشترین میزان فنل تام مربوط به عصاره آبی بود. نمودار شماره ۲، مقدار ترکیبات فلاونوئیدی را بر حسب میلی‌گرم کوئرستین نشان می‌دهد. محتوای فلاونوئید نیز، برای همین مجموعه به ترتیب ۰/۰۲۷ ±۱/۱۱، ۰/۰۵۶ ±۱/۴۶، ۰/۰۳۳ ±۱/۹۳ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰ گرم زرشک تر بدست آمد.

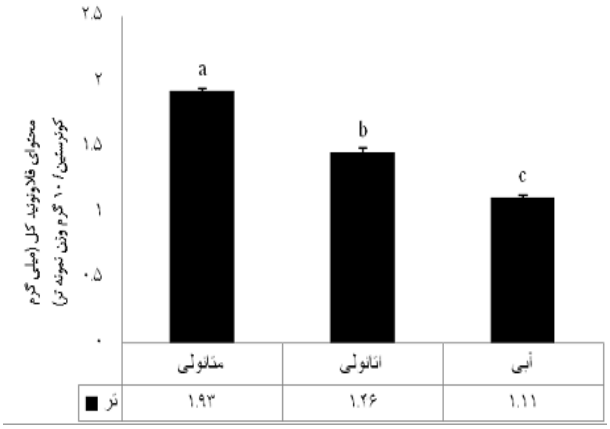
بالاترین مقدار فلاونوئید در عصاره متانولی مشاهده شد. Özgen و همکاران (۲۰۱۲) محتوای فنلی برای ۶ گونه مختلف زرشک را بین ۱۱۷±۲۵۶۵ تا ۲۴۰±۳۶۲۹ $mg.L^{-1}$ محاسبه کردند.

برنجی اردستانی و همکاران (۲۰۱۳) میزان فنل در میوه *Berberis Vulgaris* را ۲۷/۹۹ g/100g گزارش کرده اند. محتوای فنلی کل در میوه زرشک تازه *Berberis Vulgaris* در ترکیه ۸۸/۵۰mg/100g±۷۸۹/۳۲ گزارش شده است (*et al*.,2009 Akbulut). میزان کل فنل بدست آمده در این تحقیق کمتر است و این ممکن است به دلیل مراحل رسیدن میوه‌ها و یا برخی از عوامل محیطی باشد (Özgen *et al*., 2008 ; Özgen *et al*., 2012).

در مطالعه Sasikumar و همکاران (۲۰۱۲) محتوای فلاونوئیدی ۳۲۰mg معادل اکی والان کوئرستین در ۱۰۰ گرم میوه تازه زرشک گزارش شده است. Pyrkosz-Biardzka و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند عصاره‌ی متانولیBerberis Vulgaris حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها است. قاسمی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که بالاترین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به ترتیب در میوه و برگ زرشک وجود دارد. عصاره‌ی متانولی زرشک تر کمترین مقدار فنل تام را دارا بود اما احتمالا متانول توانسته حلال خوبی برای فلاونوئیدهای موجود در زرشک باشد، یعنی بیشتر بودن فلاونوئید احتمالاتحت تاثیر نوع و ترکیب فلاونوئید موجود در زرشک است که بیشتر در متانول حلالیت داشته اند.



شکل۱ - محتوای فنل کل (برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰ گرم نمونه تر) در میوه تر زرشک *B.integerrima*×*vulgaris* در عصاره‌گیری‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی (سه تکرار±SE، $p<0/05$)



شکل۲- محتوای فلاونوئید کل (برحسب میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰ گرم تر) در میوه تر زرشک *B.integerrima*×*vulgaris* در عصاره‌گیری‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی (سه تکرار±SE، $p<0/05$)

سنجش میزان مالون دی آلدئید

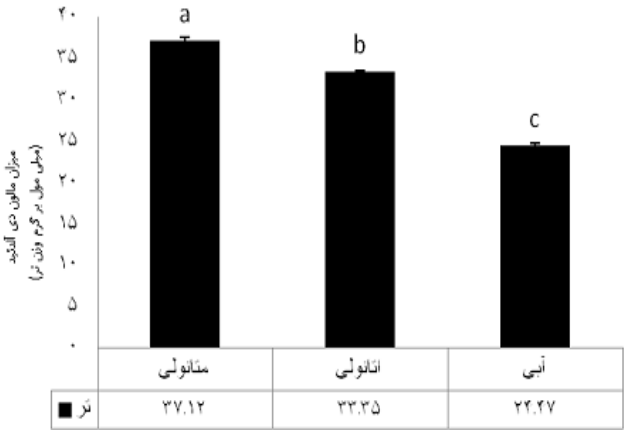
میزان اکسایش لیپیدها با تعیین میزان مالون دی آلدئید (MDA) انجام شد. تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث اکسایش اسیدهای چرب غیراشباع دارای چندین پیوند دوگانه در غشای پلاسمایی و ایجاد (MDA) می‌شود. نشان داده شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی برگ و میوه‌ی زرشک می‌تواند در پیشگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و حفاظت در برابر آسیب DNA موثر باشد (Hanachi *et al*., 2006). اندازه‌گیری مهار پراکسیداسیون لیپیدها روش مناسبی برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بشمار می‌رود. اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء زیستی منجر به تشکیل رادیکال‌های چربی می‌شود. جذب اکسیژن توسط این

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال‌ها موجب آرایش مجدد پیوندهای دو گانه در چربی‌های غیر اشباع شده که منجر به تخریب غشاء و تولید مالون دی آلدئید می‌شود که بعنوان یک ماده جهش‌زا و سرطان‌زا شناخته شده است. تشکیل هیدروکسیدها یک ماده‌ی واسطه در فرایند پراکسیداسیون چربی‌هاست. در واقع می‌توان از مالون دی آلدئید بعنوان شاخص پراکسیداسیون استفاده نمود. تاکنون در زمینه مهار پراکسیداسیون لیپید در عصاره‌های زرشک هیچگونه بررسی صورت نگرفته است.

رایج آنالیز واریانس حاکی از آن بود که عصاره‌های مختلف از نظر محتوای MDA با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند. میزان MDA به ترتیب در عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی ۲/۸۹±۲۴/۴۷، ۱۷/۰۰۶±۳۳/۳۵ و ۰/۷۹±۳۷/۱۲ میلی‌مول بر گرم وزن تر به دست آمد. طبق نمودار شماره ۳ در بین عصاره‌های مذکور بیشترین میزان MDA در عصاره متانولی مشاهده شد. نتایج بدست آمده از ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف زرشک برحسب میزان MDA نشان می‌دهد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره آبی است.



شکل ۳- مقدار مالون دی آلدئید اندازه‌گیری شده در میوه تر زرشک *B. integerrima*× *vulgaris* در عصاره‌گیری‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی (سه تکرار±SE، p<۰/۰۵)

در بررسی El-Wahab و همکاران (۲۰۱۳) عصاره اتانولی یک مهارکننده قوی برای مهار پراکسیداسیون لیپیدی معرفی شد. این نتیجه قبلا درمورد عصاره متانولی زرشک به اثبات رسیده بود (*et al.*, El-Sayed. 2011).

این اثر آنتی‌اکسیدانی را به محتوای فنلی عصاره‌ها نسبت می‌دهند. در واقع با افزایش غلظت، مقدار ترکیبات فنلی افزایش یافته که منجر به افزایش گروه‌های فعال برای مهار رادیکال آزاد می‌گردد. این ترکیبات به دلیل داشتن گروه هیدروکسیل، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را دارند. عماد (۲۰۰۶) با افزودن عصاره پوست و دانه انگور به روغن آفتابگردان گزارش کرده است که به دلیل وجود ترکیبات فنلی بالاتر در پوست، توانایی پوست در ممانعت از اکسیداسیون بالاتر از دانه می‌باشد. به عبارتی ترکیبات فنلی با پاکسازی رادیکال‌های آزاد از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالون دی آلدئید می‌شوند، در بررسی حاضر نیز نتیجه‌ی مشابهی بدست آمد.

فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH

نتایج آنالیز واریانس نشان داد نوع عصاره‌ها تاثیری معنی‌داری بر میزان رادیکال‌های آزاد داشتند (P<۰/۰۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش رادیکال DPPH در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است. در این بررسی، درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH به ترتیب در عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی ۰/۶۶± ۳۴/۸۸، ۰/۶۰±۴۱/۶۰ و ۰/۹۹±۴۴/۶۲ مشخص شد. تفاوت‌های مشاهده شده بین عصاره‌های مختلف در این بررسی را می‌توان به تفاوت در ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنها نسبت داد. افزایش غلظت ترکیبات فنلی بطور مستقیم میزان توانائی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد .در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999). قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنلی بستگی دارد . در ترکیبات فنلی با وزن مولکولی پائین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند (Jung *et al* ., 2006).

در این بررسی عصاره‌ی متانولی نسبت به سایر عصاره‌ها فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نشان داد. در مطالعه Pogačnik و Poklarulrih که در سال ۲۰۱۱ بر روی گیاه *Berberis Vulgaris* صورت گرفت نشان داده شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی گیاه نسبت به عصاره‌ی آبی آن بیشتر است که با نتیجه بدست آمده در این بررسی مطابقت داشت.

Sasikumar و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH عصاره متانولی زرشک *tinctoria* (*Berberis Lesch.*) بطور کارآمدتری از آنتی‌اکسیدان سنتزی بالاتر بود.

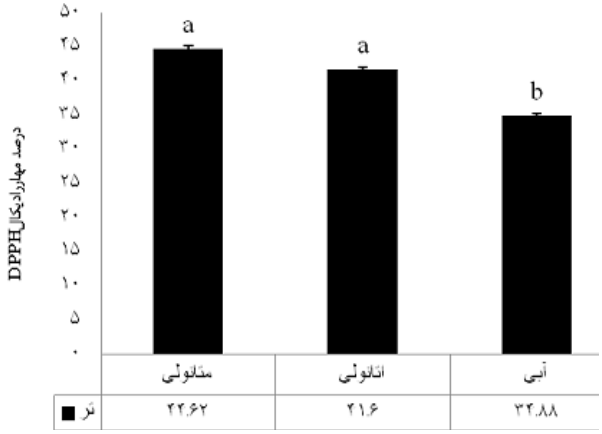
Pyrkosz-Biardzka و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی مقایسه‌ای سه گیاه *Berberis vulgaris*، *Cornus* و *Mahonia aquifolium* به این نتیجه رسیدند که فعالیت جاروب‌کنندگی رادیکال DPPH درعصاره‌ی متانولی گیاه *Berberis vulgaris* در مقایسه با دو گیاه دیگر بسیار بالاتر بوده‌است.

در بررسی El-Wahab و همکاران (۲۰۱۳) که بر روی عصاره‌ی

www.SID.ir

Archive of SID

اتانولی زرشک انجام شد عصاره مذکور توانایی بالایی در مهار رادیکال DPPH نشان داد. قدرت مهار DPPH فقط تحت تاثیر فنل کل نیست احتمالا آنتی‌اکسیدان‌های دیگر مثل آنتوسیانین‌ها هم در این امر دخیل هستند. همانطور که مشخص شده ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی از مهمترین مواد موثره ثانویه در زرشک بعنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند (Sun *et al*., 2002; Silic, 2005; Kremer *et al*., 2008). البته آنتی‌اکسیدان‌های دیگری نیز مثل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی (میزان ویتامین ث و یا توکوفرول) نیز می‌توانند در این امر موثر باشند همچنان که توکلی و همکاران (۱۳۹۲) قدرت آنتی‌اکسیدانی (قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH) بالای پوست گیاه کلخونگ را به مقدار فراوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی آن به ویژه ترکیبات توکوفرولی نسبت دادند. در بسیاری از مطالعات رابطه مستقیمی بین محتوای فنل، فلاونوئید و قدرت پاک‌کنندگی رادیکال DPPH وجود دارد (Biglari *et al*., 2008; Brighente *et al*., 2007). در این بررسی نیز نتایج فعالیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد در عصاره‌های مختلف گیاه زرشک با روش DPPH همبستگی مثبت معنی‌داری با محتوای فلاونوئیدی را نشان داد (R^2=0.923).

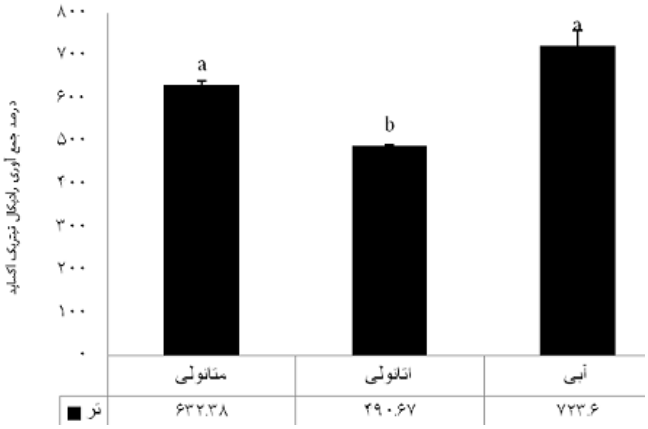


شکل ٤- درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH، در میوه تر زرشک *B. integerrima*×*vulgaris* در عصاره‌گیری‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی (سه تکرار±SE، p<۰/۰۵)

سنجش به دام‌اندازی نیتریک اکساید

نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن بود که عصاره‌های مختلف از نظر به دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با یکدیگر دارند. در شکل شماره ۵ قدرت به دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌های مختلف زرشک نشان داده شده است. در این بررسی توانایی به دام‌اندازی برای عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۶۴/۵۶±۷۲۳/۶۰، ۵/۳۹±۴۹۰/۶۷ ، ۱۸/۵۹±۶۳۲/۳۸ درصد بدست آمد. به عبارتی در بین عصاره‌های مختلف عصاره‌ی آبی توانایی بالاتری برای به دام انداختن رادیکال نیتریک اکساید داشت. فعالیت آنتی‌ادیکالی بر علیه رادیکال NO ممکن است توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره‌ی زرشک باشد که با اکسیژن بر سر واکنش با NO رقابت می‌کنند (Marcocci *et al*., 1958).

El-Wahab و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که عصاره‌ی زرشک می‌تواند سطح رادیکال نیتریک اکساید را به میزان ۱۶ تا ۲۵ درصد کاهش دهد. Sasikumar و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی فعالیت پاک‌کنندگی عصاره‌ی متانولی زرشک پرداختند و نشان دادند که قدرت به دام‌اندازی عصاره متانولی زرشک در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT کمتر است.



شکل ٥- درصد جمع‌آوری رادیکال نیتریت در میوه تر زرشک *B. integerrima*×*vulgaris* در عصاره‌گیری‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی (سه تکرار ± SE، p<۰/۰۵)

در گیاهان اکسید نیتریت از چهار مسیر تولید می‌شود:

۱-L – آرژینین سنتتاز وابسته به نیتریک اکسید سنتتاز

۲- توسط نیترات ردوکتاز متصل به غشا پلاسما

۳- توسط زنجیره الکترون میتوکندری

۴- توسط واکنش‌های غیر آنزیمی.

معمولا ترکیبات فنلی در رقابت با اکسیژن در واکنش سنتز رادیکال را مهار می‌کنند. علی‌الرغم این هر ماده دیگری که بتواند اکسیژن را در مسیر حذف کند می‌تواند در مهار این رادیکال نقش داشته باشد. بسیاری از آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها هم می‌توانند در به تله انداختن اکسیژن نقش داشته باشند و مانع از ترکیب آن با نیتریت و تشکیل رادیکال‌های نیتریت شوند.

نیکخواه و همکاران (۱۳۸۸) نشان دادند عصاره‌های آنتوسیانینی توت‌ها بطور موثری توانایی مهار رادیکال نیتریک اکساید را دارند. ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی از مهمترین مواد موثره ثانویه در زرشک بعنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان می باشند (Sun *et al*., 2002; Silic, 2005; Kremer *et al*., 2008).

قاسمی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که میوه‌ی زرشک سرشار از آنتوسیانین است، احتمالا آنتوسیانین موجود در زرشک در مهار

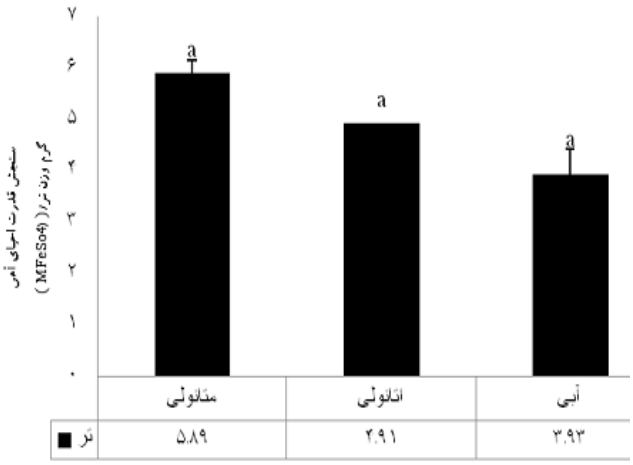
www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال نیتریک اکساید نقش موثری دارد.

قدرت احیای آهن با استفاده از سنجش FRAP

روشFRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن می‌سنجد در حقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب را نشان می‌دهد (*et al.*, Deepa 2007). شکل ۶ قدرت سنجش احیای آهن به روش FRAP در عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی زرشک را نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن بود که عصاره‌ها از نظر قدرت احیاءکنندگی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. میزان قدرت احیای آهن در عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۲/۴۰±۳/۹۳، ۰±۴/۹۱ و۰/۴۲±۵/۸۹ میلی‌مول بر گرم وزن تر بدست آمد. میزان قدرت احیای آهن در عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره‌ها بالاتر بود. اختلاف مشاهده شده بین عصاره‌ها از نظر قدرت احیاءکنندگی را می‌توان به تفاوت در نوع ترکیبات فنلی استخراج شده توسط هر یک از این حلال‌ها نسبت داد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی مختلف با توجه به ساختار شیمیایی آنها متفاوت است.



شکل ٦- قدرت احیای آهن با استفاده از سنجش FRAP در میوه تر زرشک *B. integerrima*× *vulgaris* در عصاره‌گیری‌های مختلف متانولی، اتانولی و آبی (سه تکرار ±SE، $p<0.05$)

ترکیبات فنلی مانند کاتچین در تعیین FRAP می‌توانند نقش داشته باشند همانطور که مشخص شده است زرشک سطح قابل توجهی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کاتچین دارد (Mortazaeinezahad and Safavi, 2011). در روش FRAP نیز نتیجه ای مشابه روش DPPH بدست آمد. بدین معنا که عصاره متانولی نسبت به سایر عصاره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از خود نشان داد.

Özgenو همکاران (۲۰۱۲) دامنه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۶ گونه زرشک به روش FRAP را بین ۴۱ و ۱۶۵.۵ µmol TE.g-1 گزارش کردند که این مقادیر بسیار بالاتر از بسیاری از میوه‌های قرمز تیره بود.

Pyrkosz-Biardzka و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی مقایسه‌ای سه گیاه *Berberis vulgaris*، *Cornus* و*Mahonia aquifolium* نشان دادند که توان احیای آهن به روش FRAP درعصاره متانولی گیاه *Berberis vulgaris* در مقایسه با دو گیاه دیگر بسیار بالاتر بود.

مقایسه نتایج سه روش آزمون سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد در هر دو روش ضد رادیکالی DPPH و قدرت احیا به روش FRAP عصاره‌ی متانولی و آبی به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است اما در گیرندگی رادیکال نیتریک اکساید عصاره‌های آبی و اتانولی بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند که خود نشان‌دهنده تفاوت ترکیب شیمیایی عصاره‌های مختلف می‌باشد.

Kawagishi و همکاران (۱۹۸۸) بیان نمودند که برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی در الکل نسبت به آب محلول تر هستند. در این آزمایش هدف بررسی تبدیل Fe^{+3} به Fe^{+2} توسط عصاره‌های مختلف بوده است، مطالعات معمولا نشان داده که در استخراج ترکیبات فنلی حلال‌های آلی مخصوصا متانول، نسبت به آب موثرتر بوده و احتمالا ترکیبات فنلی احیاکننده توسط عصاره‌ی متاتولی بهتر استخراج شده‌اند.

نتیجه‌گیری

اگرچه جهت استخراج ترکیبات فنلی از حلال‌های مختلف می‌توان استفاده نمود اما بررسی نتایج مربوط به میزان فنل تام و گیرندگی رادیکال نیتریک اکساید نشان داد که بهترین حلال آب می‌باشد و از طرف دیگر بالاترین توان گیرندگی رادیکال DPPH، میزان فلاونوئید و توان احیاکنندگی مربوط به عصاره اتانولی می‌باشد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی با سه روش (مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ، نیتریک اکساید و قدرت احیاکنندگی) اندازه‌گیری شد که در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و احیاکنندگی عصاره متانولی و در به دام‌اندازی رادیکال نیتریک اکساید عصاره آبی دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود.

تفاوت در نتایج سه روش حکایت از تفاوت ترکیب‌های شیمیایی عصاره‌های مختلف داشت، در نهایت می‌توان بیان کرد که گیاه *Berberis integerrima*×*Vulgaris* به واسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنلی توان آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد، و از این رو می‌تواند به‌عنوان منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، مورد پژوهش بیشتر قرار گیرد. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، مطالعات بیشتر در زمینه کاربرد این عصاره‌ها در سیستم‌های غذایی مستعد به اکسیداسیون پیشنهاد می‌گردد.

قدردانی

بدین وسیله از راهنمایی ارزشمند جناب آقای مهندس معروفی

www.SID.ir

Archive of SID

(عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی استان کردستان جهت شناسایی گونه گیاه مذبور و جناب آقای علی شهنواز (عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان) جهت انجام آنالیزهای آماری سپاسگزاری می‌نماییم.

منابع

توکلی، ج.، حداد خداپرست، م.ح.، اسماعیل زاده کناری، ر.، امین لاری، م. و شریف، ع.، ۱۳۹۲، بررسی قدرت آنتی اکسیدانی روغن پوست کلخونگ به عنوان منبع غذایی جدید در ایران، نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، (۱)۹، ۶۷-۶۱.

مازندرانی، م.، قاسمی، ن. و بیات، ه.، ۱۳۹۲، بررسی مهمترین مواد موثره ثانوی و مقایسه آن در اندامهای مختلف گیاه در دارویی زرشک (Berberis vulgaris L.) درجنوب شرق استان گلستان، فصلنامه پژوهشهای علوم گیاهی، ۸، ۷۰-۵۹ .

نیکخواه، ا.، خیامی، م. و حیدری، ر.، ۱۳۸۸، بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال های نیتریک اکسید توسط عصاره آنتوسیانینی میوه های شاه توت(Morus nigra L.)، توت فرنگی (Fragaria Vesca L.) و توت سیاه (Morus alba L. Var. Nigra)، فصلنامه علمی –پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، (۱) ۲۵ ، ۱۲۸-۱۲۰.

Ahmadi, F., Kadivar, M & Shahedi, M., 2007, Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry*, 105: 57-64.

Akbulut, M., Calisir, S., arakoglu, T. & Coklar, H., 2009, Some physicomechanical and nutritional properties of Berberis vulgaris L. fruits. *Journal of Food Process Engineering*, 32: 479-511.

Benzie, IF. & Strain, JJ., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. Anal. *Biochemistry*, 239: 70-76.

Berenji Ardestani, S., Sahari, M. A., Barzegar, M. & Abbasi, S., 2013, Some physicochemical properties of Iranian native barberry fruits (abi and poloei): Berberis integerrima and Berberis vulgaris. *Journal of food and Pharmaceutical Sciences*,1: 67-74.

Biglari, F., Alkarkhi, A.F.M. & Easa, A.M., 2008, Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (Phoenix dactylifera) fruits from Iran. *Food Chemistry*,107: 1636-1641.

Brighente , I.M.C., Dias, M., Verdi, L.G. & Pizzolatti, M.G., 2007, Antioxidant activity and total phenolic content of some Brazilian species. *Pharmaceutical Biology*. 45: 156 - 161.

Chang, C.C.,Yang, M.H., Wen, H.M. & Chern, J.C., 2002, Estimation of total flavonoid Content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Anal*, 10:178-182.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. & Larondelle, Y., 2007, Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz and Pavon). *Separation and Purification Technology*, 55: 217-225.

Cuendent, M., Hostettmann, K. & Potterat, o., 1997, Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from Fagreae blumei. *Helvetica Chimica Acta* ,80:1144-1152.

Deepa, N., Kaura, Ch., Georgea, B., Singhb, B. & Kapoor, H.C., 2007, Antioxidant constituents in some sweet pepper (Capsicum annuum L.) genotyps during maturity. *LWT Food Science and Technology*, 40: 121-129.

Doggrell, S.A., 2005, Berberine-a novel approach to cholesterol lowering. *Expert Opinion Investing Drugs* ,14(5):683-685.

El-Sayed, M., Ghareeb, DA., Sarhan, EM. & Khalil, AA., 2011, Therapeutic Bio-screening of the bioactive extracted ingredients of Berberis vulgaris, *berberine*. *FPSB*,13: 63–68.

El-Wahab, AEA., Ghareeb, DA., Sarhan, EEM, Abu-Serie, M.M. & Demellawy, MAEl, 2013, In vitro biological assessment of berberis vulgaris and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. *Academic Journal*, 5(13):218.

Emad, S, 2006, Antioxidant effect of extracts from red grape seed and peel on lipid oxidation in oils of sunflower. *LWT Food Science and Technology*, 39: 883-892.

Farag, RS., El-Baroty, GS. & Basuny, AM, 2003, The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cv. Picual and Kronakii), on the stability of sunflower oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(1): 81-87.

Fatehi, M., Saleh, T.M. & Fatehi-Hassanabad, Z., 2005, A pharmacological study on Berberis Vulgaris fruit extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(10):46-52.

Ferre, N., Camps, K., Cabre, M., Paul, A. & Joven, J., 2001, Hepatic paraoxygenase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism*, 50(9):997-1000

Garrat, D.C., 1964, The quantitative analysis of drugs, vol.3. Chapman and Hall 1th. *Japan*,456-458.

www.SID.ir

Archive of SID

Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E. & Offen, D., 2001, Oxidative stress induced neuro-dengenerative diseases: The need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, 40(8):959-75.

Hanachi, P. and Golkho, Sh., 2009, Using Hplc to determination the composition and antioxidant activity of Berberis vulgaris. *Europian Journals Publishing*, 29: 47-54.

Hanachi, P., Kua, S.H., Asmah, R., Motalleb, G. and Fauziah, O., 2006, Cytotoxic effect of Berberis vulgaris fruit extract on the proliferation of human liver cancer cell line (HepG2) and its antioxidant properties. *Int. J.Cancer Res*, 2: 1-9.

Hayouni, A., Abedrabba, M., Bouix, M. & Hamdi, M., 2007, The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105 (3):1126–1134.

Huang, D., Ou B. & Prior, R. L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53: 1841–1856.

Hou, WC., Lin, RD., Cheng, KT., Hung, YT., Cho, CH., Chen, CH., Hwang, SY. & Lee, MH., 2003, Free radical scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*, 10: 170-175.

Ielpo, M.T.L., Basile, A., Miranda, R., Moscatiello, V., Nappo, C., Sorbo, S., Laghi, E., Ricciardi., M.M., Ricciardi, L. & Vuotto, M..L., 2000, *Immunopharmacological properties of flavonoids Fitoterapia*, 71: 101-109.

Ivanovska, N.& Phlipov, S., 1999, Study on the anti-inflammatory action of berberis vulgaris root extract, alkaloid fractions and pure alkaloid. *International Journal Ethnopharmacology*, 64 (2):161-166.

Javanmardi, L., Stushnoff, C., Locke, E. & Vivanco, J. M., 2003, Antioxidant activity and total phenolic contents of Iranian Ocimum accessions. *Food Chemistry*, 83:547–550.

Jung, CH., Seog, HM., Choi, IW., Park, MW. & Cho, HY., 2006, Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT*, 39: 266-274.

Kahl, R. & Kappus, H., 1993, Toxicity of synthetic antioxidants BHT and BHA in comparison with natural antioxidants vitamin E. Zeitschrift fur Lebensmittel-*Untersuchungund Forschung* , 196: 329–338.

Kawagishi, H A., Nomura, T., Yumen, T., Mizumo, T., Hgwara, A. & Nakamuna, T., 1988, Isolation and Properties of Lecitin from The Fruiting Bodies of Agaricus blazei. *Carbohydrate Research*, 15183(1):150-154.

Kremer, D., Randic, M., Kosalec, I. & Karlovic, K., 2008, New localities of Berberis croatica Horvat in Croatia. Acta Botanica Croatica, 67: 237–244.

Kulisic, T., Radonic, A. & Katalinic, V., 2004, Use of different methods for testing antioxidative of oregano essntial oil. *Journal of Food Chemistry*, 85: 633-640.

Kumaran, A. & Karunakaran, R.J. , 2006, Antioxidant and free radical scavenging activity an Aqueous extract of Coleus aromaticus. *Food Chemistry* , 97: 109-114.

Majd, A., Mehrabian, S., Mostafai, H. & Rahmani, H., 2008, Antioxidant and anticancer effect of aqueous extract of berberis integerrima. *Journal of biological sciences*, 1: 31-38. [Article in Persian]

Marcocci, L., Packe, L., Droy-Lefaiz, M. T., Sekaki, A. & Gardes-Albert, M., 1958, Antioxidant actions of Ginko biloba extract. *Methods of Enzymology*, 26: 1199-1202.

Martynov, E.G., Stroev, E.A. & Peskov, D.D., 1984, Polysaccharides of Berberis vulgaris. *Chemistry of Natural Compounds*, 20(1): 99-100.

McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M., Robards, K . & Stadtman, E.R., 2001, Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73-84.

Mensor, LL., Menezes, FS., Leitao, GG., Reis, AS., dos Santos, TC., Coube, CS. & Leitao, SG., 2001, Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother*. Res, 15:127-130.

Mortazaeinezahad, F. and Safavi, K., 2011, Investigation of epicatechin in barberry fruits. *International Conference on Life Science and Technology*, 3: 156-158.

Motalleb, G., Hanachi, P., Kua, SH., Fauziah, O. and Asmah, R., 2005, Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in Berberis vulgaris fruit extract. *Journal of Biological Science*, 5 (5): 648-653.

Namiki, M., 1990, Antioxidants, antimutagens in food. Critical Rev. *Food Science & Nutrition*, 6: 273-300.

Özgen, M., Wyzgoski, F.J., Tulio, A.Z., Gazula, A., Miller, A.R., Scheerens, J.C., Reese, R.N. & Wright, S.R. , 2008, Antioxidant capacity and phenolic antioxidants of Midwestern black raspberries grown for direct markets are influenced by production site. *Hortscience* ,43:2039-2047.

Özgen, S., Sekerci, Korkut, S.R. & Karabiyik. T., 2012, The tomoato debate: Postharvest- ripened or vine ripe has more antioxidant? Hort. Environ. *Biotechnoloogy* , 53: 271-276.

Pandjaitan, N., Howard, L.R., Morelock, T& Gil, M.I., 2005, Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by Genetics and maturation. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8618-8623.

Pogačnik, L. & Poklarulrih, N., 2011, Determination of antioxidants in medicinal harbs. Bulletin of the Transilvania University of Brasov Series VI: Medical Sciences ,4 (53): 95-102.

www.SID.ir

Archive of SID

Pyrkosz-Biardzka, K., Z. Kucharska, A., Sokół-Łętowska, A., Strugała, P. and Gabrielska, J., 2014, A Comprehensive Study on Antioxidant Properties of Crude Extracts from Fruits of Berberis vulgaris L., Cornus mas L. and Mahonia aquifolium Nutt. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(2): 91-99.

Rumbaoa, RGO., Cornago, DF. & Geronimo, IM., 2009, Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (Solanum tuberosum) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 546-550.

Sabir, M., Akhter, M.H. & Bhide, N.K., 1978, further studies on pharmacology of berberin *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* , 22 (1): 9-13.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. & Saura- Calixto, F, 1999, Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32: 407- 412.

Sasikumar, J. M., Maheshu, V., Smilin, A. G., Gincy, M. M. & Joji, C., 2012, Antioxidant and antihemolytic activities of common Nilgiri barberry (Berberis tinctoria Lesch.) from south India. International Food Research Journal, 19 (4): 1601-1607.

Shahidi, F., 2000, Antioxidants in food and food antioxidants.Molecular Nutrition & Food Reserch , 44: 158-163.

Shui, G. & Leong, L.P., 2002, Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 977: 89–96.

Šilic, C, 2005, Atlas of dendroflora (trees and shrub) of Bosnia and Herzegovina. Matica hrvatska C˘itluk, Franjevac˘ka kuc´a Masna Luka, C itluk (*in Bosnian*), 18(2): 160-161.

Sun, J., Chu,Y.F., Wu, X. & Liu, R.H., 2002, Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7449-7454.

Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y. & Tsuji, K., 2002, An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 49: 507- 511.

Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. & Abdelly, C., 2010, Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte Limoniastrum monopetalum leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4): 632-639.

Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M.& Mazur, M., 2006, Free radicals, metals. and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160:1–40.

Yin, I., Hu, R., Chen, M., Tang, J., Li, F.& Yang, Y., 2002, Effects of berberine on glucose metabolism in vitro. *Metabolism*, 51(11): 1439-1443.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 2, June. July. 2016, p. 296- 307

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۳۹۵ ص.۳۰۷-۲۹۶

Comparison of anti-oxidative properties of fresh *Berberis (integerrima × Vulgaris)* in Aqueous and alcoholic solvents

F. Sharifi[1], L. Pourakbar*[2]

Received: 2014.09.21
Accepted: 2015.06.04

Introduction: Numerous biochemical reactions in human body produce active oxygen which is able to destroy biomolecules. This destructive effect of free radicals can be blocked by antiradicals. The role of free radicals in causing a noticeable number of disease has been proved. Anti-oxidants defend against these oxidative destructions. One of the best natural resources of oxidants are phenolic compounds in plants. Phenolic compounds by giving electrons to free radicals, restrain lipid oxidative reactions. Chemical antioxidants have been using a lot in food industrysuch as BHT, BMA, TBHQ and propyl gallate that their destructive and carcinogenesis effects on human body have been proved. Therefore, nowadays, the consumption of medicinal plants and their phenolic compounds as natural resources of antioxidants has been highly recommended. Different solvents and a variety of extraction methods can be used for extracting anti-oxidative compounds from plant tissues. Polarization degree of different solvents will effect on the amount of extracted phenolic compounds. *Berberidacease* family has a significant use in medicine and industry. There are biological activities in Barberry and it's highly used in food and medical industries. The main alkaloid of barberry is Barberine which has the anti-oxidative and anti-inflammatory properties and decreases blood pressure, hypoglycemia and lipid. Phenolic compounds and anthocyanins are the most important secondary active nutrients in Barberry. Barberry's extract and its bark root are rich in anti-oxidative and phenolic compounds. *Berberis Integerrima × vulgaris* has been studied in this research. The aim of this study was to determine the best solvent for extraction, the amount of phenolic compounds, anti-radical activity and anti-oxidative capacity in different extracts of fresh barberry which is gathered from Qamchoqai zone, Bijar, kordestan province.

Materials and method: For this study, Barberries were collected from Qamchoqai zone located in Bijar, Kurdistan, Iran. They had been maintained in freezer till we started to examine them. Then, we prepared the ethanol, methanol and water extracts of these frozen Berberis. The total Phenol and Flavonoid contents of extracts according to the method of UV-VIS, Total antioxidant activity content of extracts by using three different methods including scavenging activity of DPPH , NO, reducing power assay and the capacity of inhibit lipid peroxidation by thiobarbituric acid were determined.

Results and Discussion: In conclusion, this investigation demonstrates that Barberry is a rich source of phenolic compounds and antioxidant capacity. The aqueous extract showed the highest total phenol content (48/98±0/49 mg/g (wet weight)) and scavenging power of Nitric Oxide radical activity(%723/6±64/56) and the methanol extract showed the highest flavonoid content (1/93±0/033 mg/g(wet weight)), DPPH scavenging effect (%44/62±0/99), reducing power (5/89±0/42 mmol/g(wet weight)) and MDA content (37/12±0/79 mmol/g(wet weight). The type of solvent used for extraction has significant effect on phenolic compounds and flavonoids. Methanol extract has the minimum amount of phenol in fresh barberry, but methanol is a good solvent for flavonoids in barberry. The result of anti-oxidative effects in different extracts of barberry according to MDA scale shows that the water extract has the maximum amount of anti-oxidative activity. These activities in extracts are because of the existence of phenols which prevent lipid oxidation by removing free radicals and stop the increase of Malondialdehyde. In this study, Methanol extract has the maximum amount of anti-radical activity. These different results in extracts are due to the different phenolic compounds and flavonoids in them. Among extracts, water exract has the maximum capacity in trapping nitric oxide radical. Anti-radical activity against NO radicals probably is done by anti-oxidative compounds in barberry which competes with O_2 over NO. In term of reduce power, extracts didn't have significant difference with each other. FRAP and DPPH method was the same result. This means that the methanol extract than other extracts showed higher antioxidant activity. In the extraction of phenolic compounds, Organic solvents especially methanol, was more effective than water and possibly "phenolic compounds derived regenerative better by methanol extract. Results showed that aqueous and alcohol extracts of *Berberis Integerrima×Vulgaris* can act as a natural antioxidant and after complimentary

1 And 2- M.S student and Assistant professor, Department of biology, Urmia University, Urmia, Iran.
(*-Corresponding Author Email: lpourakbar@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

expriments, it can be used in food and medecine industry

Keywords: Barberry, phenols, flavonoids, antioxidant activity, anti-oxidation properties

www.SID.ir