بررسی کربوهیدرات‌های گونه‌های سرده *Lycium* در ایران

زهرا ناظم بکایی[۱*]، خدیجه کیارستمی[۲]، راضیه راه‌چمنی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۳
تاریخ تصویب: ۹۳/۳/۵

چکیده

تیره Solanaceae، یکی از تیره‌های بسیار مهم نهاندانگان با کاربردهای مختلف غذایی و دارویی است. جنس Lycium از این تیره حاوی ترکیبات شیمیایی مختلفی مانند کربوهیدرات‌ها و آنتی‌اکسیدان‌هاست. گونه دارویی این سرده، L. barbarum دارای پلی ساکاریدهایی با خواص ضد سرطانی است. این پژوهش با هدف مطالعه کربوهیدرات‌های گونه‌های سرده Lycium در ایران و مقایسه آن با گونه دارویی L. Barbarum انجام شده است. قندهای محلول، قندهای احیاکننده و پلی ساکاریدهای ٦ گونه L. depressum L. L. kopetdaghi, L. ruthenicum, L.shawii, L.makranicum edgworthii, از نظر کمی و کیفی با یکدیگر و

[۱] استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا (نویسنده مسئول)؛ bokaeez@yahoo.com
[۲] دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا
[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا

با گونه L. barbarum مقایسه شدند. درگیاهان رشد یافته درایران، محتوای قندهای محلول، قندهای احیاکننده و پلی ساکاریدهای برگ در L. markranicum از سایر گونه‌ها بیشتر بود. محتوای پلی ساکاریدهای میوه در L. ruthenicum و محتوای قندهای محلول و قندهای احیاکننده میوه L. edgworthii از همه گونه‌ها بیشتر بود. قندهای محلول برگ و میوه گونه‌های مختلف به جز گونه L. shawii از نظر کیفیت شباهت زیادی به هم داشتند. مقایسه کیفی پلی ساکاریدهای برگ بین گونه‌های مختلف، تفاوتی نداشت. مقایسه کیفی پلی ساکاریدهای میوه، بیشترین شباهت را بین گونه‌های L. ruthenicum و L.kopetdaghi با L. barbarum نشان داد. بنابراین، گیاهان رویش یافته در ایران، منابعی بالقوه برای تولید انواع کربوهیدرات و قابل رقابت با L.barbarum هستند.

واژه‌های کلیدی: کربوهیدرات، پلی ساکارید، قندهای محلول، *Lycium*، ایران.

مقدمه

گیاهان دارویی در طول تاریخ همیشه با انسان قرابت خاصی داشته اند و آثار دارویی و موارد استفاده از آن بر هیچ کس پوشیده نیست. امروزه در اغلب کشورهای جهان، مراکزی وجود دارد که به مطالعه و بررسی گیاهان دارویی می‌پردازند. متخصصین بر این باورند که برای درمان صحیح بسیاری از بیماریها می‌توان از گیاهان دارویی بهره جست. ایران از لحاظ آب و هوا و موقعیت جغرافیایی و زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان به شمار می‌رود. کربوهیدراتها، فراوانترین ملکولهای زیستی در زمین هستند و دسته مهمی از آنها، پلی ساکاریدها هستند. پلی‌ساکاریدهای موجود در دیواره سلولی و موسیلاژ برخی از گیاهان دارویی به عنوان پلی‌ساکاریدهای ضدتومور و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی معروف هستند. امروزه این پلی‌ساکاریدها به علت خواص ضد سرطانی خود به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. علت خواص ضد توموری بسیاری از این ترکیبات هنوز ناشناخته است اما در تحقیقات اخیر، بررسی‌های متنوعی روی منوساکاریدهای تشکیل‌دهنده و ترکیبات همراه این پلی‌ساکاریدها انجام شده است. *Lycium*، یکی

از گیاهانی است که پلی ساکاریدهای ضد سرطانی از آن استخراج شده است. از سرده *Lycium*، ۱۰۰ گونه در دنیا نام برده شده است که در مناطق گرم انتشار دارند. در بین گونه‌های این سرده، گونه *L. barbarum* اهمیت دارویی زیادی دارد. این گیاه به عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی چینی به منظور درمان بیماری‌های کبدی، کلیوی و تقویت بینایی چشم استفاده می‌شود و میوه آن در ساخت نوعی نوشابه به کار می رود. از بین ترکیبات متنوع این گیاه، یک گروه از پلی‌ساکاریدها با ساختار سرین–O– گلایسین، گلیکوپپتیدی است که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Amagase, 2011). به علت خواص دارویی پیشنهاد شده برای گونه *L. barbarum*، مطالعات بسیاری در شناسایی ترکیبات آن انجام شده است که از جمله آنها می‌توان ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی مانند بتا کاروتن، بتا کریپتوکساتین، نئوگزانتین، زآگزانتین و انواع فلاوونوئید را نام برد (Wang et al., 2010).

پلی‌ساکاریدهای موجود در گیاه *L. barbaru* (موسوم به LBP[1])، ۵ تا ۸ درصد وزن خشک میوه را تشکیل می‌دهند. بخش‌های مختلف LBP به کمک کروماتوگرافی ستونی خالص‌سازی شده و یکی از این اجزا به نام LBP5 خواص ضدتوموری دارد. گروهپلی ساکاریدهای LBP، ملکول‌هایی با وزن ملکولی ۲۴۱ KDa – ۸ هستند. آنالیز این جزء با کروماتوگرافی گازی،حضورمنوساکاریدهای گلوکز، مانوز، آرابینوز، گزیلوز رامنوز و گالاکتوزرا نشان داده است (Wang et al. ,2009).

به گزارش Sun و Huie، پلی‌ساکاریدهای *L. barbarum* بیش از ۱۰۰ واحد مونو ساکاریدی دارند و می‌توانند محلول در آب یا غیرمحلول در آب باشند. ترکیب متنوع این قندهاگزیلوبتاگلوکان، گزیلومانان، بتاگلوکان، هتروبتاگلوکان و مانوبتاگلوکان هستند (Sun et al., 2005, Huie et al., 2004).

در مطالعات اخیر، تاثیرات ضدپیری و تقویت سیستم عصبی توسط LBP میوه گیاه به خوبی نشان داده شده است (Amagase & Fasworth, 2011). همچنین، بررسی ها نقش این ترکیبات را در درمان گلوکوما (آب سیاه)، تنظیم سیستم ایمنی، فعالیت ضد توموری و حفاظت سلولی اثبات کرده است (Wang et al., 2010). محققین اثرات LBP را در انرژی‌زایی، کاهش فشار خون، کاهش قند خون در افراد مبتلا به دیابت، کاهش کلسترول تام سرم خون و تری‌گلیسرید، افزایش کلسترول لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL[2])، افزایش سرعت متابولیسم

[1] *Lycium barbarum* polysccharides

[2] High-density lipoprotein

هورمونهای قشری آدرنال، کاهش چربی در بافت‌های ذخیره‌ای و پیشگیری از ابتلا به کبد چرب در موش گزارش کرده‌اند (Amagase & Fasworth, 2011، صداقت و همکاران ۱۳۸۸).
بر اساس منابع موجود،بیشتر تحقیقات و بررسی‌های انجام شده متوجه گیاه دارویی *Lycium barbarum* بوده و تحقیقات روی سایر گونه‌های جنس *Lycium* بسیار محدوداست. در ایران،مطالعات اکولوژیکی و سیستماتیکی بر روی گونه‌های این سرده انجام شده است (Jalali et al., 2012 و نارنجی ۱۳۷۵). بررسی اثر رژیم آبیاری بربرخی از گونه‌های *Lycium* نشان داد که گونه‌های این سرده،مقاومت زیادی به کم آبی دارند (ژیان برجکی و همکاران ۱۳۸٦). در ایران، از این سرده ۷ گونه *L. ruthenicum ,L. kopetdaghi,. L. depressum* subsp. turcomanicum, *L. depressum* subsp. angustifolium, *L. edgworthii, L. shawii*and *L. makranicum* شناسایی شده‌اند (خاتم‌ساز، ۱۳۷۷).
بر اساس بررسی‌های انجام شده، تاکنون گزارشی در مورد کربوهیدرات‌های گونه‌های سرده *Lycium* از ایران منتشر نشده است. لذا، این پژوهش به منظور مقایسه کمی و کیفی کربوهیدرات‌های گونه‌های موجود در ایران با گونه *L. barbarum* انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

نمونه‌های مورد بررسی شامل برگ و میوه ٦ گونه جنس *Lycium* از تیره سیب‌زمینی بود. گونه‌های *L. edgworthii ،L. makraicum* و *L. shawii* به ترتیب از مناطق ٦ کیلومتری اراک- جاده قم و بوشهر، گونه *L. depressum* از جاده سرخس واقع در استان خراسان رضوی، گونه *L. ruthenicum* از جاده نیشابور- مشهد و گونه *L. kopetdagh* از منطقه بجنورد مرکز خراسان شمالی جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده در سایه خشک شده و از پودر خشک برگ و میوه، جهت بررسی کربوهیدرات‌ها استفاده شد. همچنین بذر گیاه *L. Barbarum* از میوه این گونه که به صورت بسته‌بندی خریداری شده بود، به دست آمد و جهت کشت و مقایسه با نمونه‌های جمع‌آوری شده مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج و سنجش کربوهیدرات‌ها

برای استخراج قندها از اتانول ۸۰ درصد استفاده شد (عصاره‌گیری الکلی). ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده با ۱ میلی‌لیتر نمونه اتانول ۸۰ درصد به مدت ۵۰ ثانیه ورتکس شد. پس ازسانتریفوژ،عمل عصاره گیری ۳ بار دیگر تکرار شد. مجموع روشناروها در این مرحله جمع‌آوری و تبخیر شد و باقیمانده ته ظرف

با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر نیمه گرم شسته و به لوله سانتریفوژ منتقل شد. به هر لوله، ۲ میلی‌لیتر باریم هیدروکسید ۰/۳ نرمال و ۲/۵ میلی‌لیتر سولفات روی ۵ درصد اضافهو سانتریفوژ شد. روشناورحاوی منو و الیگوساکاریدها است. از این عصاره برای سنجش قندهای محلول(Duibos et al., 1956) و احیاءکننده استفاده شد (Somogy, 1952).

به تفاله‌های خشک شده حاصل از عصاره‌گیری الکلی مرحله اول ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. عمل استخراج ۳ بار تکرار شد. محلول صاف شده به حجم ۷۵ میلی لیتر رسیده، برای آزاد کردن منوساکاریدها یک پنجم حجم این محلول با اسید سولفوریک ۰/٦ نرمال به مدت ۲۰ دقیقه هیدرولیز شد(ابراهیم‌زاده، ۱۳۸٤). از عصاره هیدرولیز شده برای سنجش قندهای پلی ساکاریدی استفاده شد.

سنجش پلی‌ساکاریدها

برای سنجش منوساکاریدهای آزاد شده از قندهای پلی ساکاریدی از روش فنل – سولفوریک اسید استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های ساخته شده گلوگز یا نمونه مجهول با آب مقطر به ۲حجم میلی‌لیتر رسانده شد. به هر لوله ۱ میلی‌لیتر محلول فنل ۵٪ اضافه و به خوبی تکان داده شد. بلافاصله به هر لوله ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه گردید. لوله‌های حاوی نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Visible UV–CECLL 9000 در طول موج ٤۹۰ نانومتر خوانده شد (Duibos et al., 1956). برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر گلوکز استفاده شد.

سنجش قندهای احیاکننده

برای سنجش قندهای احیاءکننده به روش Somogy (۱۹۵۲) محلول‌های زیر تهیه شدند:

الف– محلول سدیک–۲۵ گرم کربنات‌سدیم بدون آب، ۲۵ گرم سدیم–پتاسیم تارتارات، ۲۰ گرم سدیم هیدروژن کربنات و ۲۰۰ گرم سدیم سولفات در ٦۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به حجم یک لیتر رسید. این محلول در دمای بالاتر از ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد.

ب– محلول کوئیوریک اسید–۱۵ گرم سولفات مس در ۸۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. ۲–۱ قطره سولفوریک اسید غلیظ اضافه و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول در دمای آزمایشگاه نگهداری شد.

ج– محلول آرسینو مولیبدات–ابتدا ۲۵ گرم آمونیوم مولیبدات در ٤۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر

حل و به آن ۲۱ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد. سپس ۳گرم سدیم آرسنات در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. این دو محلول به هم افزوده شدند و قبل از استفاده، ۲٤ ساعت در در ظروف تیره در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند.

د- محلول کوئیوروسدیک -این محلول باید به صورت تازه، هنگام آزمایش سنجش قندهای احیا با مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر محلول سدیک و ۱ میلی‌لیتر محلول کوئیوریک تهیه شود.

برای سنجش قندهای احیاءکننده به لوله آزمایش حاوی ۱ میلی‌لیتر عصاره،۱ میلی‌لیتر محلول کوئیوروسدیک اضافه و به شدت هم زده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از سرد شدن لوله‌ها و رسیدن به دمای اتاق، به هر لوله ۱ میلی لیتر محلول آرسینو مولیبدات اضافه شد و حجم آنها با آب مقطر به ۱۲/۵ میلی‌لیتر رسید. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV-Visible CECIL 9000 در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد (Somogy, 1952).

برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گلوکز استفاده شد.

کروماتوگرافی لایه نازک

کروماتوگرافی لایه نازک با استفاده از سیلیکاژل G60 و با سیستم حلالی کلروفرم- اسید استیک- آب ۳: ۳/۵: ۰/۵ صورت گرفت. برای آشکارسازی لکه‌های منوساکاریدیبر روی صفحات TLC از معرف استفاده شد (Jork et al., 1990). معرف مورد استفاده از دو بخش A و B تشکیل شده است. بخش A از حل شدن ۲ گرم دی فنیل‌آمین با ۲ میلی‌لیتر آنیلین در ۱۰۰ میلی‌لیتر استن به دست آمد و بخش B شامل ۱۰ میلی‌لیتر اسید اورتو فسفریک ۸۵ درصد بود. این دو بخش بلافاصله قبل از استفاده با هم مخلوط و توسط اتمایزر اسپری شد. سپس صفحات جهت ظاهرسازی در آون ۱۰۰ تا ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از ظهور لکه‌ها، Rf هر یک از آنها محاسبه و با Rf نمونه‌های استاندارد شامل قندهای گلوکز، مانوز، گزیلوز، آرابینوز و رامنوز مقایسه شد.

نتایج

محتوای پلی ساکاریدهای برگ و میوه

بررسی محتوای پلی‌ساکارید برگ ۷ گونه جنس *Lycium* نشان داد که بیشترین محتوای پلی‌ساکاریدی متعلق به گونه *L. makricum* (٤٩ /٠±١٤٣/٠٣) بود. بعد از آن، به ترتیب گونه‌های *L. barbarum* , *L. shawii* , *L. depressum* , *L. ruthinicum*, *edgworthii* *kopetdaghi* قرار داشتند. در این بررسی، کمترین محتوای پلی‌ساکاریدی برگ متعلق به گونه *L. kopetdaghi*، محتوای پلی‌ساکاریدی

برگ گونه *L. makranicum* بیشترین بود و محتوای پلی‌ساکاریدی برگ گونه *L. shawii* نزدیک‌ترین مقدار به گونه *L. barbarum* بود (جدول ۱).

بیشترین محتوای پلی‌ساکاریدی میوه، متعلق به گونه *L. ruthinicum* (۵۰ /۰±۳۸۰/۵۶) بود. بعد از آن به ترتیب گونه‌های *L. edgworthii*, *L. kopetdaghi*, *L. depressum*, *L. barbarum*, *L. makaranicum*, *L. shawii* بیشترین محتوای پلی‌ساکاریدی را داشتند. در این بررسی، کمترین محتوای پلی‌ساکاریدی مربوط به گونه *L. shawii*، بیشترین محتوای پلی‌ساکاریدی میوه متعلق به گونه *L. ruthinicum* و محتوای پلی‌ساکاریدی میوه گونه *L. kopetdaghi* نزدیک‌ترین مقدار به گونه دارویی *L. barbarum* بود.

محتوای قندهای محلول برگ و میوه

بیشترین محتوای قندهای محلول برگ متعلق به گونه *L. makaranicum* (۷۹ /۰±۹۸/۹۹) بود. بعد از آن به ترتیب گونه‌های *L. edgworthii*، *L. kopetdaghi*، *L. shawii*، *L. depressum*، *L. ruthenicum* و *L. barbarum* بیشترین محتوای قندهای محلول را داشتند. در این بررسی، محتوای قندهای محلول برگ‌گونه *L. barbarum* کمترین و محتوای قندهای محلول برگ گونه *L. makaranicum* بیشترین مقدار بود و محتوای قندهای محلول برگ گونه‌های مختلف به جز گونه *L. Makaranicum* با گونه دارویی *L. barbarum* شباهت داشت.

بررسی محتوای قندهای محلول میوه ۷ گونه مورد مطالعه از جنس *Lycium* نشان داد که بیشترین مقدار متعلق به گونه *L. edgworthii* بود. بعد از آن، به ترتیب گونه‌های *L. ruthenicum*, *L. barbarum*, *L. depressum*, *L. kopetdaghi*, *L. makaranicu*, *L. shawii*, بیشترین محتوای قندهای محلول میوه را داشتند. در این بررسی، کمترین محتوای قندهای محلول میوه در گونه *L. shawii* و بیشترین مقدار در گونه *L. edgworthii* مشاهده شد.

محتوای قندهای احیاکننده برگ و میوه

در این بررسی، بیشترین محتوای قندهای احیاکننده برگ متعلق به گونه *L. makaranicum* بود. بعد از آن، به ترتیب گونه‌های *L. barbarum*, *L. depressum*, *L. shawii*, *L. ruthinicum*, *L. edgworthii* و *L. Kopetdaghi* بیشترین محتوای قندهای احیاکننده برگ را داشتند. کمترین محتوای قندهای احیاکننده برگ متعلق به گونه *L.shawii* به دست آمد و محتوای قندهای احیاکننده برگ گونه *L.makaranicum* نزدیک‌ترین مقدار به گونه دارویی *L. barbarum* بود. برگ گونه *L. kopetdaghi* فاقد قندهای احیاکننده بود.

بیشترین محتوای قندهای احیاکننده میوه متعلق به گونه *L. edgworthii* (۴۸۰/۷۲±۰/۱۸) بود. بعد از آن به ترتیب گونه‌های *L. barbarum*، *L. kopetdaghi*، *L.ruthinicum*، *L. depressum* و *L. shawii*، *L. makaranicum* دارای بیشترین محتوای قندهای احیاکننده بودند. کمترین محتوای قندهای احیاکننده متعلق به گونه *L. shawii* به دست آمد که محتوای آن تقریباً ۰/۱۳ درصد محتوای قندهای احیاکننده میوه گونه *L. edgworthii* (بیشترین) بود.

جدول۱ –مقایسه محتوای کربوئیدرات برگ ۷ گونه سرده *Lycium*. حروف مشابه عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها را با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در P<۰/۰۱ نشان می‌دهد.

گونه	پلی ساکارید برگ (mg/gDw)	پلی ساکارید میوه (mg/gDw)	قند محلول برگ (mg/gDw)	قند محلول میوه (mg/gDw)	قند احیا کننده برگ (mg/gDw)	قند احیا کننده میوه (mg/gDw)
L. depressum	۳۵/۴۶ ± ۰/۴۵^{def}	۱۱۹/۱۳±۰/۶۸^{e}	۳۶/۶۳ ± ۰/۳۱^{bcdefg}	۱۸۰/۸۹ ±۱/۱۵^{cde}	۳/۳۴ ± ۰/۱۳^{cd}	۹۰/۳۱ ± ۰/۱۸^{e}
L. ruthinicum	۳۶/۱۳ ± ۰/۵۳^{def}	۳۸۰/۵۶±۰/ ۵۰^{a}	۲۵/۱۱ ± ۰/.۲۸^{bcdefg}	۲۵۰/۴۳±۱/۲۲^{b}	۰/۸۸۶ ± ۰/۰۸^{e}	۱۰۴/۵۸ ± ۰/۸۱^{cd}
L. makraicum	۱۴۳/ ۰۳±۰/ ۴۹^{a}	۶۷/۱۳ ± ۰/۷۲^{f}	۹۸/۹۹±۰/ ۷۹^{a}	۱۰۸/۹۹ ± ۰/۲۴^{f}	۴/۵۸±۰/ ۲۰^{ab}	۵۳/۳۷ ± ۰/۳۷^{f}
L. shawii	۴۳/۴۴ ± ۰/۲۹^{c}	۵۷/۰۵ ± ۰/۴۲^{g}	^{bcdefg}۳۳/۰۸ ± ۰/۳۹	۴۵/۶۳ ± ۰/۶۳^{g}	^{ab}۰/۲۷±۰	۰/۶۵ ± ۰/۱۵^{g}
L. edgworthii	۳۷/۴۵ ± ۰/۴۴^{def}	۱۹۸/۱۶ ± ۰/۲۶^{b}	^{bcdefg}۳۴/۴۷ ± ۰/۸۶	۳۲۱/۷۰ ± ۱/۸۱^{a}	۲/۸ ± ۰/۱۹^{cd}	۴۸۰/۷۲±۰/۱۸^{a}
L. kopetdaghi	^{g}۲۵/۶۷ ±۰/ ۳	^{c}۱۴۰/۲۹ ± ۰/۴	^{bcdefg}۳۱/۵۶ ± ۰/۳۴	۱۵۹/۳۴ ± ۰/۹۸ ^{cde}	۰^{fg}	۱۰۵/۵۱ ±۱^{cd}
L. barbarum	۵۲/۴۶ ± ۰/۳۰^{b}	۱۳۳/۴۷ ± ۰/۵۳^{d}	^{bcdefg}۲۴/۶۶± ۰/۳۷	۱۸۸/۸۹ ± ۰/۸۶ ^{cde}	۴/۳۴ ± ۰/۲۷^{ab}	۳۱۴/۰۶ ± ۰/۷۵^{b}

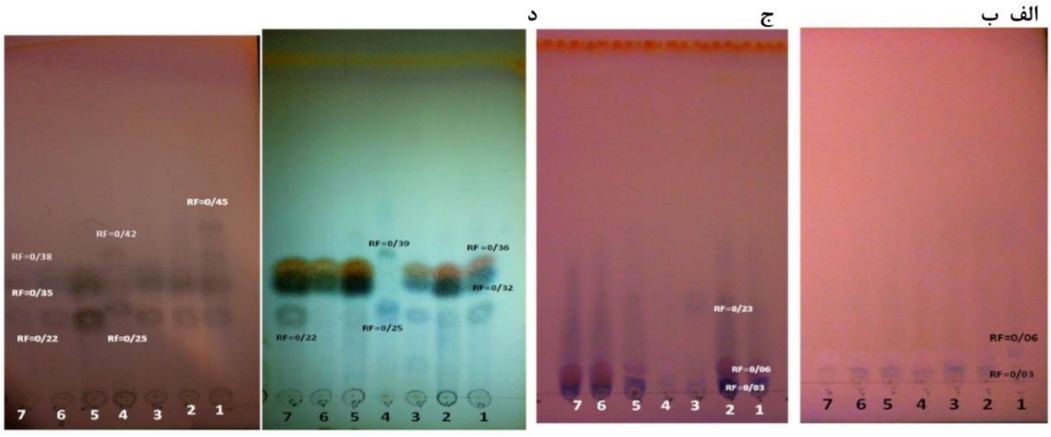
کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)

در بررسی کیفی پلی‌ساکایدهای هیدرولیز شده برگ و میوه با کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در تمام گونه‌های مورد بررسی، دو باند قرمز و آبی رنگ به ترتیب با Rf ۰/۰۶ و ۰/۰۳ دیده شد. این امر می‌تواند مشابهت پلی‌ساکاریدهای گونه‌های جمع‌آوری شده از ایران را با گونه *L. barbarum* نشان دهد. در برخی از گونه‌ها، باند سومی با Rf معادل ۰/۲۳دیده می‌شود (شکل ۱ الف و ب).

مقایسه Rf قندهای حاصل از هیدرولیز پلی ساکاریدهای برگ و میوه با Rf قندهای استاندارد، حضور گلوکز ومانوز را نشان می دهد. در کروماتوگرام حاصل از قندهای استاندارد، Rf گلوکز، مانوز،گزیلوز،آرابینوزو رامنوز به ترتیب ۰/۳۴، ۰/۳۶ ، ۰/۴۳، ۰/۱۷ و۰/۵۲ بود.

بررسی کیفی قندهای محلول با کروماتوگرافی لایه نازک گونه‌های مختلف، مشابهت بین قندهای محلول گونه‌های جمع‌آوری‌شده از ایران و گونه *L. barbarum* را اثبات می‌کند. در کروماتوگرافی لایه نازک، قندهای محلول سه باند مشابه با *L. barbarum* در گونه‌های *L. depressum* ,*L. ruthenicum*, *L. edgworthii* و دو باند مشابه در *L. kopetdaghi* دیده می‌شود که با مقایسه Rf لکه‌های تشکیل شده با قندهای استاندارد، حضور گلوکز و مانوز در گونه‌های

L. markanicum ,*L. ruthenicum*, *L. depressum* ,*L. edgworthii* و *L. kopetdaghi* مشابه *L. barbarum* دیده می‌شود. در این بررسی، گونه *L. shawii* با تشکیل دو باند کاملاً متفاوت، از سایر گونه‌ها متمایز بود و بیشترین تفاوت را با گونه *L. barbarum* نشان می‌دهد. در بررسی کیفی قندهای محلول برگ با کروماتوگرافی لایه نازک نیز مشابهت بین قندهای محلول برگ برخی از گونه‌های جمع‌آوری‌شده از ایران با *L. barbarum* مشاهده شد. سه باند مشابه در گونه‌های *L. depressum* , *L. ruthenicum* , *L. markanicum* , *L. edgworthii*, *L. kopetdaghii* و *L. barbarum* دیده می‌شود که با مقایسه Rf آن با نمونه استاندارد، دو باند از این سه باند را گلوکز و مانوز تشکیل می‌دهد. قندهای محلول برگ‌گونه *L. shawii* باندهای متفاوتی با سایر گونه‌ها تشکیل می‌دهد (شکل ۱ ج و د).



شکل۱-الف - کروماتوگرافی لایه نازک پلی‌ساکارید برگ و ب- کروماتوگرافی لایه نازک پلی‌ساکارید میوه ۷ گونه جنس Lycium که به ترتیب شماره‌های یک تا هفت گونه‌های L. depressum ،L. ruthenicum ،L. markanicum ،L. shawii ،L. edgworthi ،L. kopetdaghi و L. barbaru می‌باشند. ج- کروماتوگرافی لایه نازک قند محلول برگ و د - کروماتوگرافی لایه نازک قند محلول میوه.

بحث

بررسی منابع موجود نشان می‌دهد که تاکنون مطالعات فیتوشیمیایی روی ترکیبات مختلف گونه‌های جنس *Lycium* در ایران انجام نشده است. نتایج حاصل از بررسی پلی‌ساکاریدهای برگ و میوه گونه‌های جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که تفاوت محتوای پلی‌ساکاریدهای برگ معنی دار نیست؛ به استثنای گونه *L. makranicum* که از همه گونه‌ها بیشتر است که احتمالاً ناشی از تفاوت ژنتیکی این گونه با گونه‌های دیگر است. به طور کلی، از نظر محتوای

پلی‌ساکارید برگ، گونه‌های مختلف به گونه دارویی *L. barbarum* نزدیک هستند.

تفاوت پلی‌ساکاریدهای میوه گونه‌های مختلف معنی‌دار است که این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت ژنتیکی گونه‌های مختلف، شرایط آب و هوایی منطقه، تفاوت درمیزان فتوسنتز و بیان آنزیم‌های سنتزکننده پلی‌ساکاریدها باشد. برگ‌ها، اندام تولیدکننده‌اند و پلی‌ساکاریدهای برگ اغلب پلی‌ساکاریدهای ساختاری هستند در حالی که میوه، اندام ذخیره‌ای گیاه و پلی‌ساکاریدهای آن از دسته پلی‌ساکاریدهای ذخیره‌ای هستند و بیشتر تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند. تمام گونه‌های این سرده از مناطق گرم ایران مثل بوشهر، قم و سرخس جمع‌آوری شده‌اند و تحت تنش گرما قرار داشتند اما میزان بارندگی و نوع خاک مناطق جمع‌آوری بسیار متفاوت است و می‌تواند بر محتوای پلی ساکاریدها اثربگذارد. حاصلخیزی خاک نیز بر محتوای پلی‌ساکارید موثر است به طوری که یک مطالعه درباره تاثیر کود نیتروژن بر محتوای پلی‌ساکاریدهای *L. barbarum* نشان داد کود نیتروژن‌دار منجر به کاهش غلظت پلی‌ساکارید و افزایش سنتز بتائین می‌شود (Chung et al., 2010). بررسی‌های Santesteban در رابطه با وضعیت آب، سطح برگ و بار میوه و تاثیر آن بر وزن و تجمع قند در توت تحت شرایط نیمه خشک نشان داد که تحت شرایط نیمه خشک، در دسترس بودن آب نقش اصلی را در تنظیم رشد و تجمع قند در توت دارد و تنش خشکی باعث افزایش غلظت قند میوه می‌شود (Santesteban et al., 2006). یکی دیگر از علت‌های مهم تفاوت پلی‌ساکاریدها و ترکیبات قندی میوه در گونه‌های مختلف را می‌توان تفاوت زمان برداشت میوه بیان کرد. فلاحی و همکارانش در سال ۱۳۸۸ در بررسی تاثیر تاریخ برداشت بر شاخص‌های کمی و کیفی میوه زرشک بی‌دانه دریافتندکه بیشترین درصد مواد جامد محلول، اسیدیته و آنتوسیانین در تاریخ آخرین برداشت یعنی رسیدگی کامل میوه دیده می شود.

در این پژوهش رابطه معنی‌داری بین محتوای کربوهیدرات‌های برگ و میوه گونه‌های مختلف دیده نشد به نحوی که بیشترین مقدار پلی‌ساکارید برگ در گونه *L. makranicum* و بیشترین مقدار پلی‌ساکارید میوه در گونه *L. ruthenicum* و کمترین مقدار پلی‌ساکارید برگ در گونه *L. kopetdaghi* و کمترین مقدار پلی‌ساکارید میوه درگونه *L. shawii* دیده شد. بنابراین، بیشتر یا کمتر بودن مقدار کربوهیدرات برگ دلیلی برای بیشتر یا کمتر بودن این ترکیبات در میوه نیست.

مطابق با یافته‌های این پژوهش، پلی‌ساکاریدهای میوه گونه‌های *L. kopetdaghi* و *L. depressum* بیشترین

مشابهت را به گونه *L. barbarum* داشتند. بیشترین مقدار پلی‌ساکارید در گونه *L. ruthnicum* دیده شد که محتوای پلی‌ساکارید این گونه ۲/۸۵ برابر گونه *L. barbarum* و کمترین مقدار پلی‌ساکارید در گونه *L. shawii* دیده شد که محتوای پلی‌ساکارید آن ۰/٤۲ برابر گونه *L. barbarum* بود.

Redwell و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به بررسی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب و ترکیبات غیر محلول دیواره سلولی استخراج‌شده از میوه گونه *L. barbarum* پرداختند. بر اساس نتایج Wang پلی‌ساکاریدها ٦/۸ درصد محتویات میوه *L. barbarum* را تشکیل دادند که در این بین ۱/۲ درصد محلول در آب و ٥/٦ درصد غیر محلول و ۰/۳ درصد آن را آرابینوگالاکتان متصل به پروتئین محلول تشکیل می‌دادند (Wang et al., 2010). در بررسی کیفی پلی‌ساکایدهای هیدرولیز شده برگ و میوه با کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) مشابهت پلی‌ساکاریدهای گونه‌های جمع‌آوری شده از ایران به گونه *L. barbarum* را نشان دهد. استفاده از کروماتوگرافی گازی نشان داد که بخش٥ پلی‌ساکاریدهای *L. barbarum* که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی است از منوساکاریدهای گلوکز، گزیلوز، رامنوز، مانوز و آرابینوز تشکیل شده است (Keetal., 2011). براساس نتایج کروماتوگرافی لایه نازک حاصل از عصاره‌های خالص‌سازی نشده در این پژوهش Rf باندهای حاصل با Rf استاندارد قندهای مذکور متفاوت است اما حضور لکه‌هایی با Rf مشابه با گلوکز ومانوز در کروماتوگرافی لایه نازک قندهای محلول میوه و برگ گونه‌های مختلف دیده می‌شود.

براساس نتایج حاصل از بررسی کمی قندهای محلول جنس *Lycium* با استفاده از روش فنل- اسید سولفوریک، تفاوت قندهای محلول برگ گونه‌های مختلف به جز گونه *L. markanicum* معنی‌دار نبود در حالی که تفاوت معنی‌داری در قندهای محلول میوه برخی از گونه‌ها مشاهده شد. علل تفاوت محتوای قندهای محلول میوه گونه‌های مختلف می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی، تفاوت زمان برداشت میوه، ترکیبات مختلف خاک و تاثیرپذیری بیشتر میوه تحت شرایط محیطی باشد. جهانی و همکارانش در سال ۱۳۹۰ اثر شوری خاک را برقندهای محلول گیاه جومورد بررسی قرار دادند و دریافتند که شوری خاک باعث افزایش قندهای محلول می‌شود. بیشترین مقدار قندهای محلول میوه متعلق به گونه *L. edgworthii* و کمترین مقدار قندهای محلول متعلق به گونه *L. shawii* است. قندهای محلول برگ و میوه گونه *L. markanicum* به‌طور معنی‌داری با گونه‌های دیگر متفاوت است که می‌تواند ناشی از ژنوتیپ متفاوت باشد. گروهی از قندهای محلول که دارای گروه فعال و قابلیت احیاکنندگی هستند، به عنوان قندهای

احیاکننده مطرح می‌شوند. براساس نتایج حاصل از بررسی کمی قندهای احیاکننده جنس *Lycium*، مقدار قندهای احیاکننده در برگ گونه‌های مختلف در مقایسه با میوه بسیار ناچیز است. بیشترین مقدار قندهای احیاکننده برگ مربوط به گونه *L. makranicum* بود که برگ این گونه از نظر میزان قندهای احیاکننده به گونه دارویی *L. barbarum* مشابه است. میزان قندهای احیاکننده در دو گونه *L. depressum* و *L. edgworthii* نزدیک به گونه *L. barbarum* گزارش شدند. میزان قندهای احیاکننده در برگ و میوه گیاه *L. shawii* بسیار ناچیز بود که علت آن می‌تواند ناشی از برایند علل ذکر شده در مورد تفاوت کربوهیدرات‌ها باشد.

بررسی کیفی قندهای محلول گونه‌های مختلف با کروماتوگرافی لایه نازک، مشابهت بین قندهای محلول گونه‌های جمع‌آوری شده از ایران و گونه *L. barbarum* را اثبات می‌کند. در این بررسی گونه *L. shawii* با تشکیل دو باند کاملاً متفاوت از سایر گونه‌ها متمایز بوده و بیشترین تفاوت را با گونه *L. barbarum* نشان داد. بررسی کیفی قندهای محلول برگ با کروماتوگرافی لایه نازک نیز مشابهت بین قندهای محلول برگ برخی از گونه‌های جمع‌آوری شده از ایران با *L. barbarum* را نشان داد.

در گیاهان رشد یافته در ایران، محتوای قندهای محلول، قندهای احیاکننده و پلی‌ساکاریدهای برگ در *L. markranicum* از سایر گونه‌ها و از *L. barbarum* بیشتر است در حالی که محتوای قندهای محلول و احیا کننده در *L. ruthenicum* از همه گونه‌ها بیشتر است. بیشترین محتوای پلی ساکاریدی به گونه *L. Ruthenicum* مربوط می‌شود. مقایسه کروماتوگرام حاصل از پلی ساکاریدهای میوه نیز بیشترین شباهت را بین گونه‌های *L. ruthenicum* و *L. barbarum* نشان می‌دهد اما شناخت محتوای پلی ساکاریدهای این گونه و اثرات آن نیاز به بررسی بیشتری دارد.

تشکر وقدردانی

از مسئولین هرباریوم دانشگاه شهید بهشتی که در تهیه نمونه همکاری داشتند سپاسگزاری می‌شود.

منابع

ابراهیم‌زاده، ح. ، عباسی، م و فخر طباطبائی ، س. م (۱۳۸٤)، بررسی وضعیت گالاکتوز و قندهای محلول قطعات جداکشت سه گونه اکالیپتوس بعنوان یک نشانگر شرایط رشد بافت‌ها. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۱۸ ص ۲۸۰-۲۹٤.

جهانی، ص. ، لاهوتی، م و عباسی، ف (۱۳۹۰). اثر برهمکنش Na^{+} -Ca^{+} بـر تغییـرات قنـدهای محلول و میزان عدد کلروفیل متر در گیاه جو (*Hordeum vulgare* L. CV. Reyhan). اولـین همایش ملی راهبردهای دستیابی به کشاورزی پایدار.

خاتم‌ساز، م (۱۳۷۷). فلور ایـران تیـره سـیب زمینـی شـماره ۳۶، تهـران: انتشـارات موسسـه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.

فلاحـی، ج. ، رضـوانی مقـدم، پ و سـفیری محلاتـی، م. (۱۳۸۸). اثـر تـاریخ برداشـت بـر شاخص‌های کمی و کیفی میوه زرشک بی‌دانه. نشریه پـژوهش‌هـای زراعـی ایران،جلـد ۸ (۲)ص ۲۲۵-۲۳٤.

صداقت، ر. روغنی، م و حسین‌آبادی، س. (۱۳۸۸). بررسی اثـر مصـرف خـوراکی میـوه آسـه (*Lycium barbarum*) بر میزان گلـوکز، لیپیـدها و کسـترول HDL و LDL خـون در مـوش صحرایی دیابتی، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان. جلد ۱۸ ص۱۳-۲۳.

نارنجی ، ز (۱۳۷۵) ، سیتولوژی، مورفولـوژی و الکتروفـورز جـنس *Lycium* ایـران، پایانامـه کارشناسی ارشد ، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی.

Amagase, H and Fasworth, N. (2011). A review of botanical characteristics, photochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). *Food Research Inernational, 44 : 1702-1717.*

Chao, J. C., Chang, S. W., Wang, C. C., Tsai, Y. H. and Wu, M. S. (2006). Hot water-extracted *Lycium barbarum* and *Rehmanhia glutinosa* inhibit proliferation and induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells. World Journal of Gastroenterology, 12 (28): 4478 – 4484.

Dubois, M., Gilles, K. A. , Hamilton, J. k. , Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for the determination of sugars and related substances Analitical Chemistry, 28: 350 -356.

Huie, C. W and Di, X. (2004). Chromatographic and electrophoretic methods for Lingzhi pharmacologically active components. Journal of Chromatography. B, 812(2):241 – 257.

Ke, M., Zhang, X. J., Han, Z. H., Yu, H. Y., Lin, Y., Zhang, W. G., Sun, F. H and Wang, T. J. (2011). Extraction, purification of *Lycium barbarum* polysaccharides and bioactivity of purified fraction, Journal of carbohydrate polymers, http:// www. elsevier.com/locate/carbpol.

Santesteban, L. G. and Royo, J. B. (2006). Water status, leaf area and fruit load influence on berry weight and sugar accumulation of CV. Tempranillo under semiarid condition. Scientia horticulture. 109(9): 60-65.

Smogy, M. (1952). Note on sugar determination. Biological Chemistry, 195:19-23.

Sun, Y., Tang, J., Gu, x. and Li, D. (2005). Water – soluble polysaccharide from *Angelica sinesis* (Oliv) Diels: Preparation, characterization and bioactivity. International Journal of Biological. Macromoleculs, 36(5): 283 – 289.

Wang, C. C., Chang, S. C., Lnbaraj, S. and Chen, B. H. (2011). Isolation of carotenoids, flavonoids and polysaccharides from *Lycium barbarum* polysaccharides and bioactivity of purified fraction. journal of Carbohydrate Polymers. http:// www. elsevier. Com / locate / carbpol.

Wang, Y., Kairong, C., Gengsheng, X., Xinamin, L. and Gengmei, X. (1999). Effect of hydrogen peroxide on somatic embryogenesis of *Lycium barbarum*. Plant Science 146: 9-16.

Suleiman, M. K., Bhat. N. r., Jacob. S and Thomas. R. R. (2011). Germination Studies in Lycium shawii Roem. And Schult. World Journal of Agricultural Sciences, 7 (1): 26-28, 2011

Jalali, G. A., Akbarian, H., Rhoades, C. Yousefzadeh, H. (2012). The effect of the halophytic shrub *Lycium ruthenicum* (mutt) on selected soil properties of a desert ecosystem in central Iran Polish Journal of Ecology. 604: 845-850.