فصلنامه الکترونیکی جلبک و گیاهان آبزی http://algalmag.ir/
ISSN: 2783-4751

بررسی تست‌های غربالگری در تعیین فلاونوئید, تانین, ساپونین, آلکالوئید, ترپنوئید و گلیکوزید در عصاره آبی گل نیلوفرسفید

زهره اسدی[1] , معصومه حسین زاده*[1] , نوابه نامی[1] , مریم عابدی [2]

۱- دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر-دانشکده شیمی

۲-دانشکده شیمی، دانشگاه فنی و حرفه ای، تهران. ایران.

Ma_hosseinzadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۲

چکیده

گل‌های گیاه نیلوفرآبی گونه *Nymphaea Alba*، خانوادهNympHaeaceae از منطقه فرح‌آباد ساری در شمال ایران در فصل بهار جمع‌آوری شد. نمونه به مدت یک هفته در سایه خشک شد عصاره گیاه خشک‌شده با تکنیک‌های سوکسله(در حلال متانول) عصاره بدست آمد. تست‌های غربالگری فیتوشیمیایی گیاه، حضور فلاونوئید، ترپنوئید، ساپونین، تانین، گلیکوزید و آلکالوئیدها در عصاره را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: نیلوفرآبی، *NympHaea Alba* ، فلاونوئید-ترپنوئید-تانین-گلیکوزید- آلکالوئیدها.

مقدمه

ایران یکی از هفت کشور آسیایی است بیشترین گیاهان دارویی را دارد. در سه دهه گذشته استفاده از این داروهای گیاهی و احیای طب سنتی روند رو به رشدی دارا بوده است. براساس آمار موجود در کشورمان نیز بیش از ۱۳۰ نوع داروی گیاهی وجود دارد و منشا اصلی آن‌ها گیاهان هستند. جایگاه داروهای گیاهی از یک سال پیش در کشور با تحولات علمی- تخصصی نظام‌مندتر شده است. تشکیل ستاد گیاهان دارویی و طب ایرانی، تاسیس دانشکده طب سنتی، ایجاد درمانگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی و آموزش تخصصی گروهی از پزشکان و داروسازان نمادی از تحول و نظام‌مندی نسبت به جایگاه طب سنتی ایران و درمان داروگیاهی است. امروزه تخمین زده می شود که ۷۵ هزار گیاه دارویی در سراسر جهان وجود داشته باشد و تاکنون ۵۰۰۰ داروی گیاهی توسط صنایع دارویی جهان ساخته و به بازار عرضه می شود.

نیلوفر آبی گیاهی است علفی و آبزی با برگ‌های بسیاربزرگ گرد و شناور در سطح آب که ریزوم مدفون شده در بستر آب منشا می‌گیرند و دارای دم برگ بسیار بلند می‌باشند.گل‌ها سفید رنگ و درشت و خارج از آب بوده و در برکه‌های شمال کشور می‌رویند. در تمامی اعضا این گیاه املاح معدنی مختلف، تانن، اسیدگالیک، اسیدتانیک و در جوانه‌های گل و دانه‌های این گیاه آلکوئید نوفارین وجود دارد.

نیلوفرآبی(*Water Lily*یا *Lotus*) در ایران نماد ایزدبانو آناهیتا بوده‌است. در اساطیر یونان ایزدبانو آفرودیت و در اسطوره‌های هند ایزدبانو لاکشمی با این گل پیوند دارند. در برخی روایت‌های اسطوره‌ای میترا در میان گل نیلوفر زاده می‌شود[مومنی،۱۳۸۴]. این گیاه به راسته لاله‌های آبی تعلق دارد. زیرگونه خاصی از آن به‌نام نیلوفر آبی سفید ایرانی با نام علمی *NympHaea alba* از خانواده *NympHaeacea* وجود دارد که در مصر، ایران و برخی از کشورهای آسیایی یافت می‌شود می باشد. اندازه برگ‌های آن بین ده تا ۳۰ سانتی‌متر و اندازه گل آن از ده‌تا ۲۰ سانتی‌متر متغیر است. گیاهی آبزی۱۱۱۱۱۱ است. ریشه‌های این گیاه آبزی درون رسوبات گلی بستر تالاب جای دارد. برگ‌هایی بزرگ و شناور دارد. سطح بالایی برگ‌ها سبز تیره و سطح زیرین متمایل به قرمز است. گل‌ها شناور و گلبرگ‌ها سفید یا کمی متمایل به صورتی است. ساقه‌هایی به رنگ زرد درخشان دارد. دانه‌ها که به مقدار زیاد تولید می‌شوند صاف و به رنگ سبز زیتونی هستند.این گیاه بین ماه‌های اردیبهشت تا شهریور گل می‌دهد. زمان گل‌دهی آن به ارتفاع تالاب، عرض جغرافیایی و اقلیم آن بستگی دارد. زنبورها، مگس‌ها و سوسک‌ها به گل‌های نیلوفر آبی سفید جذب می‌شوند اما گل‌ها اغلب از طریق «خودلقاحی» بارور می‌شوند. اندازه برگ‌های آن متغیر و بسیار گوناگون است و جمعیت موجود در آب‌های فقیر از نظر مواد مغذی از اندازه‌های متوسط کوچک‌تر هستند. این کوچکی در نسل‌های متمادی ادامه خواهد داشت و بعد از غنی شدن زیستگاه اولیه برای نسل‌ها کوچک باقی می‌مانند. گیاه مربوطه دارای خواص بیولوژیکی و فارماکولوژی فراوان بوده و به دلیل اهمیت ویژه آن در این پروژه سعی می شود از لحاظ فیتو شیمیایی بررسی شوند.(جایمند و همکاران،۱۳۹۰)

خانواده *NhympHaeaceae* از گیاهان علفی، دائمی، گلدار و دولپه‌ای است که به آنها نیلوفر آبی هم می‌گویند. گیاهان آبزی ریزوم دار هستند که ریشه آنها در خاک رویشگاه‌های ماندابی و برگ‌ها و گل‌های آنها شناور در سطح آب قرار می‌گیرند. گونه های این خانواده در مناطق معتدله و حاره پراکنش دارند. این خانواده شامل هشت جنس و حدود هفتاد گونه می‌باشد در منابع علمی معتبر گیاه‌شناسی از این خانواده تعداد ۵۶ گونه در ۸ جنس را به رسمیت شناخته‌اند. این هشت جنس شامل *NympHaea*، *NympHozanthus*، *Ropalon*، *Victoria*، *Euryale*، *NupHar*، *Barclaya* و *Castalia* می باشد. جنس‌های *NympHaea* و *NupHar* دارای بیشترین گونه هستند بقیه جنس‌ها نیز هر کدام دارای دو و یا یک گونه هستند. گونه‌های جنس *NympHaea* در نیمکره شمالی پراکنش دارند و جنس *Victoria* انحصاری امریکای جنوبی می‌باشد. نیلوفرآبی، نه تنها یک گیاه زینتی می‌باشد بلکه در تصفیه آب نیز مفید است. ریشه این گیاه می‌تواند مواد سمی مانند جیوه، سرب، فنل، و غیره را جذب نموده و میکرواورگانیسم‌ها را در آب فیلتر نماید..(پارسائیان و همکاران،۱۳۹۱)

مواد و روش ها

متانول(مجتمع صنایع شیمیایی دکتر مجللی) و اتیل استات ($C_4H_8O_2$ - 99%–M=88.10 g/mol)و اتانول (C_2H_5OH) مرک - استون (C_3H_6O) (مجتمع صنایع شیمیایی دکتر مجللی) و ان-هگزان (C_6H_{14}) و ید (I_2) مرک و پتاسیم یدید (KI)

مرک و کوئرستین ($C_{15}H_{10}O_7$) (HPLC) و سدیم کربنات (Na_2CO_3) مرک و کلروفرم $CHCl_3$)و آسکوربیک اسیدو گالیک اسیدوپتاسیم استات و آهن کلرید ۳ وآلومینیوم کلرید.

جمع آوری و خشک کردن گیاه

گونه‌ی گیاهی مورد استفاده در این تحقیق، گیاه نیلوفر آبی از منطقه شمال ایران (شکل) در استان مازندران جمع‌آوری شد. این گیاه در مجاورت هوا، دور از نور مستقیم خورشید خشک و به صورت پودر در آورده شد.

شکل ۱-رشد گیاه نیلوفرآبی شهرستان ساری استان مازندران

عصاره گیری با روش سوکسله

ابتدا ۲۰ گرم از گیاه پودر شده درون کاغذ صافی بزرگ قرار داده شد و با منگنه کاملاً بسته و درون فلاسک سوکسله جای داده شد. ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول درون بالن ته‌گرد ۵۰۰ میلی‌لیتری اضافه شد. بعد از نصب دستگاه و حرارت دادن، عملیات استخراج عصاره صورت گرفت، عمل سوکسله تا جایی ادامه می‌یابد، تا حلالی که به بالن ریخته شد بی رنگ گردد. در ادامه محلول حلال پرانی گردید.

محلول‌سازی

تهیه محلول واگنر(معرف واگنر)(۶ گرم پتاسیم یدید را به ۲ گرم ید اضافه و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد).

تهیه محلول آهن (III) کلرید ۰/۱٪(۰/۱ گرم از آهن (III) کلرید در بالن ۱۰۰ با آب مقطر به حجم رسانده شد).

تهیه محلول آمونیاک ۱ ٪(۲ میلی‌لیتر آمونیاک در بالن ۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد).

تهیه محلول هیدروکلریک اسید ۲ نرمال(۴/۲ میلی لیتر از هیدروکلریک اسید ۱۲ نرمال در بالن ۲۵ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد).

تهیه عصاره آبی A-به ۱ گرم گیاه پودر شده، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. این محلول در حمام آب قرار گرفت تا به جوش بیاید. بعد از ۲۰ دقیقه عصاره آبی صاف شد.

تهیه عصاره آبی B-به ۴ گرم گیاه پودر شده، ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و در حمام آب قرار داده شد تا به جوش بیاید. سپس عصاره آبی صاف شد.

تهیه محلول سدیم کربنات ۷۵ گرم بر لیتر(۳/۷۵ گرم سدیم کربنات وزن و در بالن ۵۰ میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد).

تست‌های غربالگری

۱-تانین(۴ میلی لیتراز عصاره A را برداشته، سپس ۵ قطره آهن (III) کلرید به آن اضافه شد).

۲-ساپونین(۵ میلی‌لیتر عصاره B برداشته و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. به خوبی تکان داده شد تا کف پایداری تشکیل شود).

۳- فلاونوئید(به ۱ میلی‌لیتر از عصاره B مقداری آب اضافه شد. سپس ۳ قطره آمونیاک به آنها اضافه شد).

۴- ترپنوئید(۵ میلی‌لیتر از عصاره B برداشته، ۲ میلی‌لیتر کلروفرم به آن اضافه و سپس ۳ میلی‌لیتر سولفوریک اسید اضافه شد).

۵- گلیکوزید(۱ میلی‌لیتر از سولفوریک اسید غلیظ به ۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی B اضافه شد و نهایتاً با ۲ میلی‌لیتر استیک اسید غلیظ حاوی یک قطره آهن (III) کلرید مخلوط شد).

۶- تست واگنر (آلکالوئید)(۰/۵ گرم عصاره متانولی در ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۲ نرمال حل و سپس صاف شد. در ادامه، به محلول صاف شده ۲ تا ۳ قطره معرف واگنر اضافه شد)(Ramesh and et.al 2014)

نتایج و بحث

نتایج تست‌های غربالگری

تست‌های غربالگری بر روی عصاره حاصل از سوکسله گیاه نیلوفرآبی انجام شد. نتایج این تست‌ها در جدول گزارش شده‌است.

تست تانین

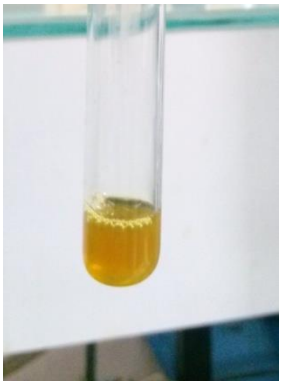
۴ میلی‌لیتر از محلول با ۲ تا ۳ قطره آهن III کلرید یک درصد مخلوط شده، تغییر رنگ از قهوه‌ای کم‌رنگ به قهوه‌ای پررنگ بود، مشاهده شد. این تغییر رنگ نشان‌دهنده حضور تانین در عصاره است.

شکل ۲ -تست تانین

تست فلاونوئید

۱ میلی‌لیتر از عصاره آبی غلیظ با ۳ قطره آمونیاک یک درصد مخلوط شده و رنگ زرد حاصله حضور فلاونوئید را ثابت کرده‌است.

.



شکل ۳ **- تست فلاونوئید**

تست ساپونین

۵ میلی‌لیتر از عصاره غلیظ را با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده تا رقیق‌تر شود و محکم تکان داده شد، کف پایدار تشکیل شده حضور ساپونین را ثابت کرد.

شکل ۴- تست ساپونین

تست گلیکوزید

۲ میلی‌لیتر استیک اسید با ۲ قطره اهن III کلرید مخلوط شده و این محلول آرام‌آرام به لوله‌ای که حاوی (۵ میلی‌لیتر آبی غلیظ + ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک) بوده اضافه شده رسوب کمی ته‌نشین شده که رسوب قرمز مایل به قهوه‌ای بود که وجود گلیکوزید را ثابت کرد.

شکل۵- تست گلیکوزید

تست ترپنوئید

۵ میلی‌لیتر از عصاره آبی غلیظ با ۲ میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط شده و به آن ۳ میلی‌لیتر سولفوریک اسید اضافه شد، واکنشی به شدت گرمازا رخ داد و محتوای لوله‌ی آزمایش می‌جوشید که نتیجه آن تشکیل دو فاز قهوه‌ای و سفید است که حضور ترپنوئید را ثابت می‌کند.

شکل۶- ترپنوئید

تست واگنر برای شناسایی آلکالوئید

۰/۵ گرم از عصاره متانولی با ۵ میلی‌لیتر اسید کلریک ۲ نرمال مخلوط شده، محلول حاصل صاف شده و ۲ تا ۳ قطره معرف واگنر (۲ گرم ید+ ۶گرم پتاسیم یدید+ ۱۰۰میلی‌لیتر آب) به آن اضافه شد. تشکیل رسوب قهوه‌ای مایل به قرمز حضور آلکالوئید را ثابت می‌کند.

شکل۷- تست واگنر برای شناسایی آلکالوئید

جدول(۱) نتایج حاصل از تست غربالگری

ساپونین (saponine)	++
فلاوونوئید (Flavonoids)	++
گلیکوزید (Glycoside)	+
آلکالوئید (Alkaloid)	+
تانین (Tanin)	++
ترپنوئید (Terpenoid)	+++

منابع

شکوه ف.، مومنی ک.(۱۳۸۴)، مقدمه‌ای بر نانوتکنولوژی، انتشارات فرهنگی نشر گستر، چاپ اول.

پیرنیا ح. (۱۳۷۰)، تاریخ ایران باستان، جلد اول، چاپ پنجم، تهران: دنیای کتاب، صفحه ۲۴۷.

صداقت س. (۱۳۸۷)، "شیمی اسانس"، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

اوانس ویلیام چارلز،(۱۳۸۶) فارماکوگنوزی تریزواوانس،ترجمه دکتر سلیمان افشاری پور، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان . اصفهان. ۲۹۱-۲۸۶ ، ۴۰۰-۳۹۳.

جایمند ک.، اهرابی اصلی ه.، منفرد ا.، "استخراج و اندازه‌گیری ترکیب کوئرستین در اندام‌های مختلف سه گونه گیاهی بومادران، *Achillea millefolium L.*، *Achillea biebersteinii Afan.* و *Achillea tenuifolia Lam.*"، فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۷، شماره ۳، صفحه ۵۳۹-۵۲۹، ۱۳۹۰. ،

پارسائیان ن.، جلالی خان‌آبادی ب.، مظفری خسروی ح.، "بررسی اثر پودر کاکائو بر شاخص‌های آترواسکلروز، محافظ قلبی و اکسیداسیون لیپیدهای خون بیماران مبتلا به هیپرلیپیدمی"، خلاصه مقالات همایش کشوری گیاهان دارویی، یاسوج انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتیدرمانی یاسوج، صفحه۱۹ O، ۱۳۹۱.

Ramesh P., Rajendran A., Meenakshisundaram M., *J. Nanosci. Nanotech.* 2014, **2**, 4.

Davidson A., Jaine T., Watercress," The *Oxford companion to food*, Oxford University Press, 2006, 840.

Biddington N.L., and Ling B., *J. Hort. Sci*., 1983, **58**, 417.

Siegel R.W., "NanopHase Materials", Encyclopedia of Applied PHysics, CH Publishers, 1994, **11**.

Hadas S.P., Meir S., Akiri B., Kanner J., J. Agric. Food Chem., 1994, **42**, 2376.

Gerard E., Greg H., Jerry D., Gary G., *J Agric Food Chem*, 2006, **54**, 328.

Mithen R., *Plant Growth Regul*, 2001, **34**, 91.

Hecht S.S., Carmella S.G., MurpH S.E., *Biomarkers PreV*, 1999, **8**, 907.

Hecht S. S., Chung F.L., Richie J.P., Akerkar S.A., Borukhova A., Skowronski L. Carmella

S.G., *Cancer Epidemiol Biomarkers PreV*, 1995, **4**, 877.
Halliwell B., Gutteridge J.M.C., Free Radical in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford 1989.
Sato M., Ramarathnam N., Suzuki Y., Ohkubo T., Takeuchi M., Ochi H., *J. Agric. Food Chem*., 1996, **44**, 37.
Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura- Calixto F., *Food Res. Int*., 1999, **32**, 407.
Vinson J.A., Dabbagh Y.A., Serry M.M., Jang J., *J. Agric. Food Chem*., 1995, **43**, 2800.
Tuzlac E., Erol M.K., *Fitoterapia*, 1999, **70**, 593.