

جداسازی و شناسایی ساختار گلوکومانان موجود در ریشه گیاه سریش ایرانی (*Eremurus persicus*)

کامبیز جهان بین^{۱*}، معصومه بیگی^۲

- ۱- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی شهرورد
 ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی شهرورد
 (تاریخ دریافت: ۹۴/۰۹/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۲۲)

چکیده

گیاه سریش با نام علمی *Eremurus* متعلق به خانواده لاله است. سریش ایرانی از مهمترین گونه‌های جنس سریش است که در آسیای مرکزی شامل ایران، غرب پاکستان، افغانستان، عراق، ترکیه، فلسطین، لبنان، سوریه و فقراز به خوبی رشد می‌کند. در این پژوهش پلی‌ساقارید خام محلول در آب از ریشه گیاه سریش ایرانی، توسط استخراج با آب گرم 70°C ، ترسیب با اتانول و پروتئین زدایی جدا شد. خالص‌سازی پلی‌ساقارید خام با استفاده از ستون‌های کروماتوگرافی دی‌اتیل آمینواتیل-سلولز و سفدادکس جی-۱۰۰-انجام گرفت و جزء غالب (پلی‌ساقارید خالص) جمع آوری و به روش انجمادی خشک شد. راندمان تولید پلی‌ساقارید خالص از ریشه گیاه سریش ایرانی $4/5\%$ بود. وزن مولکولی، میزان قند کل و درجه چرخش نوری پلی‌ساقارید خالص به ترتیب $71/2$ کیلو Dalton، $۹۶/۴\%$ و $۳۲/۷\%$ -محاسبه شد. نتایج حاصل از آنالیز واحدهای مونوساقاریدی سازنده نشان داد که پلی‌ساقارید خالص از واحدهای مونومری گلوکز و مانوز با نسبت‌های مولی $۱/۹۸$ تشکیل شده است. ساختار پلی‌ساقارید خالص توسط ترکیبی از آزمون‌های آنالیز شیمیایی و دستگاهی مانند متیلاسیون، کروماتوگرافی گازی-طیف سنج جرمی، اکسیداسیون پریودات و تجزیه اسمیت، هیدرولیز ناقص اسیدی، طیف سنج مادون قرمز و رزونانس مغناطیس هسته اتمی‌های کربن و پروتون صورت گرفت. نتایج حاصل نشان داد که اسکلت اصلی پلی‌ساقارید خالص حاصل از ریشه‌های سریش ایرانی از واحدهای مانوز و گلوکز با اتصال $(\beta\rightarrow 4)\rightarrow 4$ تشکیل شده است که در برخی از نقاط زنجیره اصلی از محل کربن شماره ۶ مانوز دارای انشعاب است و انشعابات توسط واحدهای مانوز به انتها می‌رسد.

کلید واژگان: پلی‌ساقارید، استخراج، خالص‌سازی، سریش ایرانی، تعیین ساختار

۱- مقدمه

محال و بختیاری، فارس، کرمان، یزد، تهران، سمنان، خراسان شمالی و رضوی و سیستان و بلوچستان پراکنده است [۱۰]. از مشخصات ظاهری سریش ایرانی می‌توان به برگ‌های کشیده و باریک مجتمع در قاعده، گلهای سفید رنگ، متماشی به صورتی و به حالت گل آذین خوش‌های و ریشه‌های متورم، به صورت برگستگی‌های ضخیم، گوشت‌دار و غدهای کشیده اشاره کرد [۱۱]. از ریشه گیاه سریش ایرانی در طب سنتی برای درمان اختلالات کبد، معده، یبوست و دیابت استفاده می‌شود [۱۲]. از کاربردهای دیگر ریشه‌های آن می‌توان به تهیه الكل و استفاده از آن به عنوان چسب طبیعی در صنایع نساجی، نجاری و صحفی به علت ایجاد لعاب غلیظ اشاره کرد که دلیل عمده خصوصیات ذکر شده را به وجود پلی‌ساقاریدهای ریشه آن نسبت می‌دهند [۱۳].

مطالعات انجام شده برای شناسایی ساختار پلی‌ساقاریدهای موجود در ریشه گونه‌های مختلف سریش اندک است بطوریکه از ۶۱ گونه ذکر شده تنها ۱۱ گونه توسط محققین خارجی بررسی شده‌اند و از این تعداد نیز تنها ۴ گونه (*E. anisopterus*, *E. lactiflorus*, *E. altaicus*, *E. turkestanicus*, *E. sheldoni*) از اینکه مطالعه شده و در مابقی مطالعات تنها به ذکر درصد ترکیبات واحدهای مونومری سازنده پلی‌ساقارید بسته شده است [۲۱-۱۳؛ ۶]. تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با خالص‌سازی و شناسایی ساختار پلی‌ساقاریدهای ریشه گیاه سریش ایرانی صورت نگرفته است و تنها مطالعات انجام شده بر روی این گونه، به شناسایی اثرات ضد التهابی، ضدبacterیایی و مهارکنندگی عصاره متابولی و اتانولی بخش‌های مختلف آن محدود شده است [۱۲؛ ۲۲-۲۳]. با توجه به اینکه ویژگی‌های عملکردی پلی‌ساقاریدها در صنعت مواد غذایی و نیز سایر صنایع وابسته، ارتباطی بسیار تنگاتنگ با ساختار آنها دارد و مطالعه بسیاری از خصوصیات رفتاری و جریانی محلول‌های حاصل از آنها بدون برقراری ارتباط با ساختارشان قادر توجیه علمی لازم است، بنابراین انجام هر گونه مطالعه تکمیلی مرتبط با شناسایی ساختار پلی‌ساقاریدها بسیار مهم و اساسی است. لذا در این پژوهش ساختار پلی‌ساقارید غالب محلول در آب موجود در ریشه گیاه سریش ایرانی، برای اولین بار بطور کامل و با ذکر جزئیات توسط تلقیقی از روش‌های شیمیایی و پیشرفتۀ دستگاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

پلی‌ساقاریدها از فراوان ترین پلی‌مرهای زیستی هستند که از پیوستن بیش از ۱۰ واحد مونوساقاریدی با اتصالات گلیکوزیدی تشکیل شده‌اند [۱]. اهمیت آنها در صنعت مواد غذایی به دلیل نقش اساسی آنها در ایجاد قوام، تشکیل ژل، پایدارسازی امولسیون‌ها و کف‌ها، ایجاد ممانعت در تشکیل بلورهای شکر و یخ، قابلیت در کنترل رهاسازی عطر و طعم مواد غذایی و غیره بر کسی پوشیده نیست. لذا مصرف آن‌ها در صنعت مواد غذایی و سایر صنایع وابسته به طور گسترده در حال افزایش است و تامین آنها به مقدار کافی از نیازهای ضروری است. با توجه به محدود بودن منابع در دسترس، معرفی منابع جدیدی از پلی‌ساقاریدها با قابلیت کاربرد در صنعت، می‌تواند بسیار با ارزش و سودمند باشد و تحقیقاتی که هر سال برای شناسایی پلی‌ساقاریدها از منابع جدید توسط محققین در سرتاسر دنیا صورت می‌گیرد این مطلب را تائید می‌کند [۴-۲].

پلی‌ساقاریدها از منابع مختلفی تهیه می‌شوند که در بین منابع موجود، استفاده از منابع طبیعی مانند گیاهان، به دلیل دور بودن از مضرات حاصل از کاربرد سایر منابع، مقبولیت بیشتری دارد. ریشه گیاهان دارویی منبعی مهم از پلی‌ساقاریدهای زیست فعالی است که غالباً عملکردهای بیولوژیکی متفاوتی از خود نشان می‌دهند که برای مثال می‌توان به افزایش فعالیت سیستم ایمنی، کاهنده قند خون، فعالیت ضداکسیدنگی، درمان بیماری‌های کبد و معده و غیره اشاره کرد. وجود تفاوت‌های زیاد در عملکرد این ترکیبات ناشی از تفاوت در ساختار پلی‌ساقاریدهای حاصل از ریشه گیاهان مختلف است [۵-۸].

جنس سریش (*Eremurus M. B.*), از جنس‌های مهم خانواده لاله (*Liliaceae*), با پراکنده‌گی حدود ۶۱ گونه بر روی کره زمین است [۹]. رویشگاه‌های طبیعی این جنس به طور گسترده در نواحی خشک و نیمه خشک دامنه کوه‌های سنگی به ویژه در آسیای مرکزی و خاورمیانه، از جمله ایران، افغانستان، تاجیکستان، لبنان، عراق، فلسطین، قفقاز، سوریه و ترکیه توزیع شده‌اند. در کشور ایران، جنس سریش دارای هفت گونه گیاه علفی چندساله است. گونه سریش ایرانی (*E. persicus*) از گونه‌های مهم این جنس است که در مناطق وسیعی از ایران شامل استان‌های اصفهان، مرکزی، قم، چهار

تغییط شدند. حذف پروتئین‌ها از عصاره آبی حاصل با استفاده از روش سواگ (استفاده از ۱-بوتانول و کلروفرم و سپس ساتریفیوژ کردن محلول نهایی) انجام شد [۲۴]. جداسازی پلی ساکاریدها پس از افزودن اتانول مطلق به عصاره آبی پروتئین‌زدایی شده (۱:۳) و نگهداری در دمای یخچال به مدت یک شباهه روز و در ادامه ساتریفیوژ کردن سوسپانسیون حاصل انجام گرفت. در نهایت رسوبات حاصل (پلی‌ساکاریدهای محلول در آب) پس از شستشو روی کاغذ صافی توسط اتانول مطلق، استن و اتر، در آب یون‌زدایی شده حل و سپس توسط خشک کن انجام‌داد (Christ Alpha 1-2، ساخت کشور آلمان) خشک شدند.

۳-۲- خالص سازی پلی‌ساکاریدهای جداشده
خالص سازی پلی‌ساکاریدهای جداشده، به ترتیب توسط ستون‌های کروماتوگرافی دی‌ایتل‌آمینواتیل-سلولز و ژل تراوای سفادکس جی-۱۰۰۰ انجام گرفت. قبل از استفاده از ستون‌ها، پلی‌ساکاریدهای خام در حجم کمی از آب یون‌زدایی شده حل گردید و از صافی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. در ادامه محلول پلی‌ساکاریدی خام وارد ستون کروماتوگرافی دی‌ایتل‌آمینواتیل-سلولز (۲/۶ سانتیمتر × ۴۰ سانتیمتر) شد. سپس ستون به ترتیب توسط آب و محلول آبی کلرید سدیم با گرادیان غلظتی صفر تا یک مولار شسته شد و تعیین غلظت پلی‌ساکاریدها در جزء‌های جمع آوری شده توسط روش فنل-اسید سولفوریک انجام گرفت [۲۵].

در ادامه فرآکشن‌های جمع آوری شده از ستون دی‌ایتل‌آمینواتیل-سلولز وارد ستون کروماتوگرافی سفادکس جی-۱۰۰۰ (۱/۶ سانتیمتر × ۷۰ سانتیمتر) شدند. شستشوی ستون در این مرحله توسط آب یون‌زدایی شده با سرعت جریان حجمی ۱۰ میلی لیتر بر ساعت انجام شد و در نهایت جزء پلی‌ساکارید غالیب (پلی‌ساکارید خالص) جمع آوری و با روش انجام‌داد خشک گردید.

۴- تعیین پروتئین، قند کل و واحدهای

مونوساکاریدی سازنده پلی‌ساکارید

تعیین پروتئین توسط روش برادفورد^۸ (با استفاده از استاندارد آلبومین سرم گاوی) انجام شد [۲۶] و روش فنل-اسید سولفوریک (با استفاده از استاندارد D-گلوکز در طول

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمع آوری مواد گیاهی و شیمیایی

ریشه‌گیاه در مرداد ماه ۱۳۹۳ از منطقه میمه واقع در استان اصفهان جمع آوری شد. ریشه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه، در مجاورت با هوا، خشک و در دمای اتاق نگهداری شدند. شناسایی گونه گیاه توسط دکتر ولی الله مظفریان، گیاه شناس معروف، انجام شد. پیش از انجام آزمایش، بمنظور حذف سایر مواد خارجی چسبیده به بخش بیرونی ریشه‌های گیاه، ابتدا پوسته بیرونی آنها توسط چاقو تمیز و سپس با استفاده از آب شستشو داده شد و در نهایت ریشه‌های پوست گیری شده در مجاورت با هوا خشک شدند.

دکستران با وزن‌های مولکولی متفاوت (۵۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰۰ دالتون)، دی‌ایتل‌آمینواتیل-سلولز و سفادکس جی-۱۰۰ از شرکت فارماسیا^۱ (أُيسالا، سوئد) خریداری شدند. استاندارد مونوساکاریدهای خالص و دی‌متیل سولفوكساید^۲ از شرکت سیگما^۳ (آمریکا) و DSS^۴ از شرکت مرک^۵ (آلمان) خریداری شدند. اسید تری‌فلورواستیک از شرکت فلوکا^۶ خریداری شد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده، نظیر انواع اسیدها، بازها و ... از درجه خلوص آزمایشگاهی برخوردار بودند.

۲-۲- جداسازی پلی‌ساکاریدهای محلول در آب

ابتدا ریشه‌های خرد شده گیاه توسط اتانول ۹۵٪ در دمای جوش به مدت ۹ ساعت تیمار شد. برای افزایش بهره‌وری در این مرحله، هر سه ساعت اتانول مصرفی با اتانول تازه جایگزین شد. این مرحله برای حذف رنگ‌ها، چربی‌ها، بخشی از ساپونین‌ها و مونوساکاریدها انجام شد. در نهایت ریشه‌های گیاهی تیمار شده از اتانول جدا و در مجاورت با هوا خشک شدند.

استخراج پلی‌ساکاریدها از ۱۰۰ گرم ریشه گیاه خشک شده توسط یک لیتر آب (۷۰ درجه سانتیگراد) به مدت ۳ ساعت انجام گرفت. این مرحله ۳ بار تکرار شد و در نهایت عصاره‌های آبی حاصل تا رسیدن به یک سوم حجم اولیه

1. Pharmacia

2. Uppsala

3. Dimethyl sulfoxide (DMSO)

4. Sigma

5. 4,4-dimethyl-4-silapentane-1-sulfonic acid

6. Merck

7. Fluka

۶-۲- تهیه طیف فرابنفش و مادون قرمز

پلی ساکارید

طیف فرابنفش نمونه با اندازه‌گیری جذب محلول پلی ساکارید خالص در ناحیه ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر واریان کری ۱۰۰-بیو^{۱۴} (ساخت کشور آمریکا) ثبت شد. طیف مادون قرمز پلی ساکارید خالص با استفاده از طیفسنج مادون قرمز مدل نیکولت^{۱۵} (مدیسون^{۱۶}، آمریکا) پس از تشکیل قرص یک میلی‌متری از مخلوط پلی ساکارید خالص با پودر برومور پیاسیم بر حسب فرکانس در محدوده ۴۰۰-۴۰۰۰ cm^{-۱} بدست آمد [۲۹].

۷-۲- هیدرولیز ناقص اسیدی پلی ساکارید

هیدرولیز ناقص اسیدی پلی ساکارید خالص بر اساس روش تانگ و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام گرفت [۳۰]. بطرور خالصه، ۸۰ میلی‌گرم پلی ساکارید توسط ۳۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ مولار اسیدتری فلورواتنیک در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت هیدرولیز شد و پلی ساکارید هیدرولیز شده به منظور حذف رسوبات سانتریفیوژ گردید. رسوبات جدایشده تحت عنوان پلی ساکارید ۱ نامگذاری شدند. سیال رویی به مدت ۲۴ ساعت دیالیز شد و در انتهای فرآکشن جدایشده جمع‌آوری و تحت عنوان پلی ساکارید ۴ نامگذاری گردید. سیال باقی مانده در کیسه دیالیزی توسط اتانول رسوب داده شد و رسوب و سیال رویی به ترتیب تحت عناوین پلی ساکارید ۲ و ۳ نامگذاری شدند. تمامی فرآکشن‌ها پس از خشک‌شدن توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (بخش ۴-۲) آنالیز شدند.

۸- اکسیداسیون پریودات و تجزیه اسمیت

ابتدا ۲۰ میلی‌گرم پلی ساکارید خالص توسط محلول ۰/۰۴ مولار پریودات سدیم (۲۵ میلی‌لیتر) اکسید شد و پس از نگهداری در تاریکی، هر ۴ ساعت میزان جذب آن در ۲۳۳ نانومتر ثبت گردید. پایان اکسیداسیون با ثابت شدن میزان جذب پس از ۹۶ ساعت تعیین شد و مازاد پریودات سدیم با افزودن اتیلن گلیکول حذف گردید. مصرف پریودات و تولید اسیدفرمیک به ترتیب توسط روش اسپکتروفوتومتری و تیتراسیون با محلول ۰/۰۵۳ مولار سود تعیین شد. محلول

موج ۴۹۰ نانومتر) برای تعیین قند کل مورد استفاده قرار گرفت [۲۵]. برای تعیین کمی و کیفی واحدهای مونوساکاریدی سازنده پلی ساکارید، از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل واریان^۹ (ساخت آمریکا) استفاده شد. ستون دستگاه از نوع موئینه (۳۰ متر × ۰/۳۲ میلی‌متر × ۰/۲ میکرومتر) و آشکارساز مورد استفاده از نوع یونش شعله‌ای بود. دمای ستون در ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه ثابت ماند و سپس تا دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد (با نرخ ۸ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه) افزایش یافت و به مدت ۳ دقیقه در دمای نامبرده نگهداشته شد. ازت به عنوان گاز حامل با سرعت جریان حجمی ۱/۲ میلی‌لیتر بر دقیقه مورد استفاده قرار گرفت و دمای قسمت تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. آماده‌سازی نمونه و تبدیل آن به استات‌های الدیتول مونوساکاریدهای سازنده با استفاده از روش چاپلین و کندي (۱۹۹۴) انجام گرفت و از میواینوزیتول^{۱۰} به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد [۲۷].

۵-۲- تعیین درجه چرخش نوری و وزن

مولکولی پلی ساکارید

درجه چرخش نوری با استفاده از روش جهانبین و همکاران (۲۰۱۱) و توسط دستگاه پلاریمتر پرکین الم^{۱۱} (ساخت کشور آمریکا) و وزن مولکولی پلی ساکارید خالص توسط دستگاه کروماتوگرافی ژل تراوا با کارآیی بالا (HPGPC) مدل شیمادزو^{۱۲} با ستون TSK-GEL PWXL ساخت توسو^{۱۳} ژپن (۳۰۰ × ۷/۸ میلی‌متر) تعیین شد [۵]. شیستشوی ستون توسط محلول ۰/۱ مولار سولفات سدیم با سرعت جریان حجمی ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه انجام گرفت و آشکارساز RID-10A مورد استفاده از نوع ضریب شکست نور مدل (شیمادزو، ژپن) بود. منحنی کالیبراسیون با استفاده از استانداردهای دکستران بدست آمد و وزن مولکولی پلی ساکارید محلول در آب، توسط منحنی کالیبراسیون محاسبه شد [۲۸].

9. Varian

10. Myo-inositol

11. Perkin-Elmer

12. Shimadzu

13. Tosoh

14. Varian Cary 100-Bio

15. Nicolet

16. Madison

۳- نتایج و بحث

۳-۱- استخراج و خالص‌سازی

پلی‌ساکارید محلول در آب از ریشه گیاه سریش ایرانی توسط استخراج با آب گرم (۷۰ درجه سانتیگراد)، پروتئین زدایی و ترسیب با اتانول جدا شد و پس از شستشو با اتانول مطلق، استن و اتر، خشک گردید. پلی‌ساکارید ناخالص جدا شده قهوه‌ای رنگ بود که در ادامه توسط ستون‌های کروماتوگرافی دی‌اتیل‌آمینواتیل-سلولز و سفادکس جی-۱۰۰ خالص گردید. در نهایت فرآکشن غالب (پلی‌ساکارید خالص)، جمع‌آوری و به روش انجمادی خشک شد. راندمان تولید پلی‌ساکارید ناخالص و خالص حاصل از ریشه گیاه سریش ایرانی به ترتیب ۸/۸٪ و ۴/۵٪ بود. پلی‌ساکارید خالص پودری سفید رنگ بود که به روش برادفورد پاسخ منفی داد و فاقد جذب در نواحی ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر از طیف فرابنفش بود که بیانگر عدم حضور پروتئین و آسیدنوكلئیک در ساختار پلی‌ساکارید خالص است. پودر پلی‌ساکارید خالص در آنالیزهای شیمیایی و دستگاهی برای تعیین ساختار مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۲- قند کل و واحدهای مونوساکاریدی

سازانده پلی‌ساکارید

مقدار قند کل پلی‌ساکارید خالص ۹۶/۴٪ بود که بیانگر درجه خلوص بسیار بالای پلی‌ساکارید و انجام خوب مراحل خالص‌سازی است. برای تعیین واحدهای مونوساکاریدی سازنده، ابتدا پلی‌ساکارید توسط اسید تری فلورواستیک به واحدهای مونوساکاریدی سازنده خود هیدرولیز گردید و پس از استیله شدن و تبدیل به استات‌های آلدیتول مربوطه، توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی آنالیز شد. نتایج حاصل (شکل ۱) نشان داد که پلی‌ساکارید کاملاً خالص از واحدهای مونوساکاریدی گلوکز و مانوز با نسبت‌های مولی ۱ به ۱/۹۸ تشکیل شده و یک گلوكومانان است. مطالعات انجام شده روی گونه‌های دیگر سریش مشخص کرد که نسبت مانوز به گلوکز در پلی‌ساکارید حاصل از گونه ایرانی کمتر از گونه‌های یابی ۲/۶ (۲/۴)، لاتیفلوروس (۲/۵)، آلتائیکوس (۱/۶)،

حاصل از پریودات به مدت ۴۸ ساعت دیالیز شد و سپس توسط ۵۰ میلی‌گرم بروهیدرید سدیم (دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت) خشی گردید. در نهایت هیدرولیز کامل توسط محلول ۲ مولار اسیدتری فلورواستیک انجام شد و محصولات حاصل پس از استیله شدن توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (بخش ۲-۴)، آنالیز شدند [۵].

۳-۳- متیله کردن پلی‌ساکارید

متیله کردن پلی‌ساکارید خالص و تشکیل محصولات حاصل از آن توسط روش چاپلین و کندی (۱۹۹۴) انجام شد [۲۷]. محصولات متیله شده توسط اسید فرمیک و محلول ۲ مولار اسیدتری فلورواستیک هیدرولیز و پس از حذف مازاد اسید با بروهیدرید سدیم خشی شدند. آلدیتول‌های حاصل توسط مخلوط پیریدین-انیدرید استیک (۱:۱)، در حمام آب ۹۰ درجه سانتی‌گراد (مدت ۱ ساعت) به استات‌های آلدیتول تبدیل و در نهایت استات‌های آلدیتول نیمه متیله شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی - طیفسنج جرمی (GC-MS) آنالیز شدند. GC-MS مورد استفاده مجهر به ستون موئینه کوارتزی (۲۵ متر × ۰/۲۲ میلی‌متر × ۰/۲ میکرومتر) بود. دمای ستون در ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد (مدت ۲ دقیقه) ثابت و سپس تا ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد (با نرخ ۱۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه) افزایش یافت و به مدت ۴۰ دقیقه در این دما نگهداشته شد.

۳-۴- تهیه طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌ای

(NMR) پلی‌ساکارید

طیف‌های NMR کربن-۱۳ و پروتون پلی‌ساکارید خالص، توسط دستگاه طیفسنج رزونانس مغناطیسی هسته‌ای در ۱۳/۵۰۰ مگاهرتز برای NMR پروتون و ۷۵/۱۲۵ مگاهرتز برای NMR کربن-۱۳ در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد ثبت شدند. استاندارد مورد استفاده DSS و زمان بازداری ۲ ثانیه بود. پلی‌ساکارید خالص در حلال بی‌اثر D_2O (۹۹/۱٪) بصورت محلول درآمد و سپس در بین دو قطب مغناطیس دستگاه قرار گرفت. تغییرات ایجاد شده توسط دستگاه NMR، در مقایسه با جسم استاندارد، به صورت پیک‌هایی با ppm ارتفاع متفاوت (جابجایی شیمیایی پیک‌ها بر حسب نمایش داده شد) ثبت و مورد ارزیابی قرار گرفت.

(۱۵۰ کیلودلتون) و آلتائیکوس (۱۲۰ کیلودلتون) است [۱۳-۱۴].

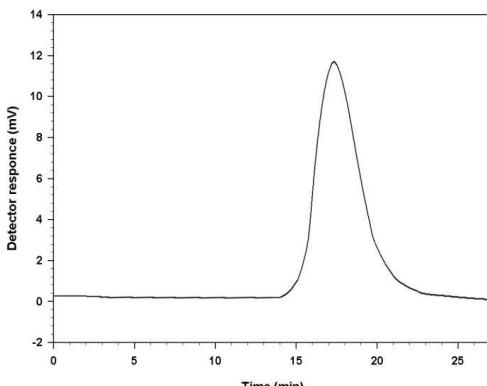


Fig 2 The profile of the polysaccharide fraction in HPGPC, with RI detection

۴-۳- طیف مادون قرمز

طیف مادون قرمز پلی‌ساقارید خالص، برای تعیین نوع گروه‌های شیمیایی موجود در ساختار آن در محدوده ۴۰۰ تا 400 cm^{-1} مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۳). همانطور که در شکل دیده می‌شود طیف مادون قرمز پلی‌ساقارید خالص پیک کشیده بزرگی را در محدوده $3423/6\text{ cm}^{-1}$ نشان داد که مربوط به گروه‌های هیدروکسیل (OH) است. وجود پیک در محدوده $2914/1\text{ cm}^{-1}$ و $1639/3\text{ cm}^{-1}$ به ترتیب نشان دهنده اتصالات (C-H) کرین شماره ۶ واحدهای قندی و آب پیوسته است. جذب‌های مربوط به ارتعاشات C-H در ساختار حلقه در محدوده $1468/2\text{ cm}^{-1}$ و $1383/5\text{ cm}^{-1}$ به صورت دو پیک مجزا مشخص شده است. وجود پیک در محدوده $1145/3\text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده وجود اتصالات اتری (C-O-C) در ساختار پلی‌ساقارید و جذب در محدوده $1081/9\text{ cm}^{-1}$ و $1027/3\text{ cm}^{-1}$ ناشی از ارتعاشات کششی مربوط به اتصال الکلی (C-O-H) است. وجود پیک در محدوده $892/8\text{ cm}^{-1}$ نشان دهنده وجود قند مانوز با اتصال β و در محدوده $868/7\text{ cm}^{-1}$ بیانگر وجود تعداد زیاد اتصالات آنومری نوع β در ساختار کل قندها است که نتایج حاصل از درجه چرخش نوری (بخش ۳-۳) را تایید می‌کرد [۶-۵]. عدم مشاهده جذب در نواحی $(1740-1700)\text{ cm}^{-1}$ و $(1260-1220)\text{ cm}^{-1}$ بیانگر عدم وجود گروه استیل در ساختار پلی‌ساقارید خالص است. با توجه به اینکه در ساختار سایر گونه‌های سریش وجود گروه‌های استیل گزارش شده است لذا می‌توان اینظور نتیجه گرفت که ساختار پلی‌ساقارید خالص

زانگزوریکوس^{۱۸} (۳۷۳: ۱)، لوتوس^{۱۹} (۳: ۱)، تادشیکروم^{۲۰} (۱: ۵)، کریستاتوس^{۲۱} (۲: ۹)، ترکستانیکوس (۳: ۱) و تقریباً مشابه با گونه رجلی^{۲۲} (۲: ۱) است [۱۴-۱۳-۲۱؛ ۳۲-۳۱]. نوع واحدهای مونومری گزارش شده برای پلی‌ساقارید حاصل از گونه آئیسوپتروس متفاوت با گونه ایرانی و سایر گونه‌های جنس سریش است زیرا پلی‌ساقارید آن از واحدهای مانوز و گالاكتوز با نسبت‌های مولی ۳ به ۱ تشکیل شده است [۶].

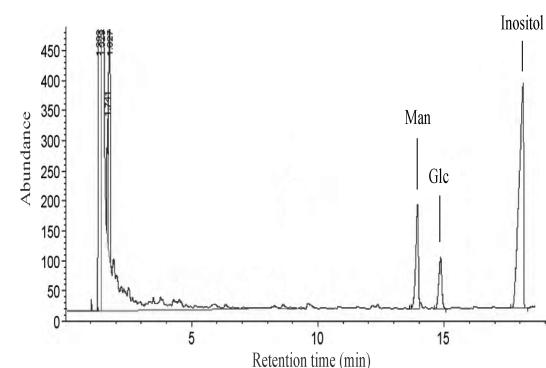


Fig 1 Gas chromatogram of the monosaccharide compositions of purified polysaccharide from *E. persicus* roots

۳-۳- درجه چرخش نوری و وزن مولکولی پلی‌ساقارید

[α]_D²⁰ درجه چرخش نوری پلی‌ساقارید خالص محاسبه شد، که نشان دهنده وجود سهم زیاد اتصالات نوع β نسبت به نوع α در ساختار پلی‌ساقارید خالص است. منحنی‌های حاصل از دستگاه HPGPC، پیک تنها و متقاضانی را نشان داد (شکل ۲) که بیانگر همگن بودن پلی‌ساقارید خالص بود. از مقایسه منحنی پلی‌ساقارید با منحنی‌های استاندارد دکستران، میانگین وزن مولکولی پلی‌ساقارید خالص ۷۱/۲ کیلودلتون محاسبه شد. در نتیجه می‌توان عنوان نمود وزن مولکولی گونه سریش ایرانی بیشتر از گونه‌های کریستاتوس (۶۹ کیلودلتون) و تادشیکروم (۶۳ کیلودلتون) و کمتر از گونه‌های یابی (۵/۲۶۵ کیلودلتون)، زانگزوریکوس (۵/۲۳۳ کیلودلتون)، لاکتیفلوروس (۷۹ کیلودلتون)، لوتوس (۱۹ کیلودلتون)،

18. *Zangezuricus*

19. *Luteus*

20. *Tadshicorum*

21. *Cristatus*

22. *Regelii*

همانطور که در بخش ۷-۲ اشاره شد چهار فرآکشن پلی‌ساقارید ۱ (رسوب پس از هیدرولیز)، پلی‌ساقارید ۲ (رسوب در کیسه دیالیز)، پلی‌ساقارید ۳ (سیال رویی در کیسه دیالیز) و پلی‌ساقارید ۴ (فرآکشن بیرون از کیسه دیالیز) در نتیجه هیدرولیز ناقص اسیدی از پلی‌ساقارید خالص، بازیافت و پس از هیدرولیز کامل با اسید تری فلورواستیک توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج حاصل (جدول ۱) بیانگر وجود مانوز و گلوکز در پلی‌ساقارید ۱ و ۲ و مقدار کمی مانوز در پلی‌ساقارید ۳ و ۴ بود. لذا می‌توان استنباط کرد که مانوز و گلوکز مونوساقاریدهای سازنده اسکلت اصلی پلی‌ساقارید خالص هستند و مقدار جزئی مانوز نیز در شاخه جانبی پلی‌ساقارید خالص قرار گرفته است.

حاصل از ریشه گیاه سریش ایرانی متمایز از سایر گونه‌های بررسی شده است [۱۳-۱۴؛ ۲۱-۲۱؛ ۳۲-۳۲].

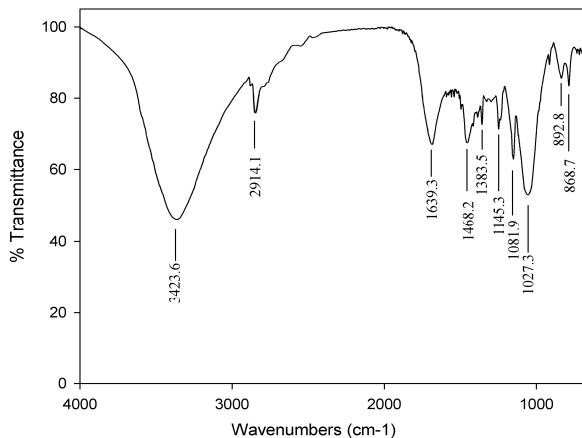


Fig 3 FT-IR spectra of the purified polysaccharide from *E. persicus* roots

۳-۵- هیدرولیز ناقص اسیدی

Table 1 The results of partial acid hydrolysis, periodate oxidation and Smith degradation of *E. persicus* polysaccharide

Molar ratios				Fractions
Glucose	Mannose	Glycerol	Erythritol	
1.00	1.71	—	—	<i>Partial acid hydrolysis</i>
1.00	1.68	—	—	Polysaccharide 1 ^a
—	0.34	—	—	Polysaccharide 2 ^b
—	0.31	—	—	Polysaccharide 3 ^c
—	—	1.03	8.19	Polysaccharide 4 ^d
—	—	—	—	<i>Periodate-oxidized products</i>
—	—	—	8.19	Full acid hydrolysis
—	—	—	—	<i>Smith degradation</i>
—	—	0.99	7.97	Out of sack
—	—	—	—	Supernatant in sack
—	—	—	—	Precipitation in sack

a Precipitation after hydrolysis

b Precipitate in the sack

c Supernatant in the sack

d Fraction out of sack

گازی محصولات کاملاً هیدرولیز شده حاصل از پریودات (جدول ۱)، بیانگر عدم حضور مانوز و گلوکز و وجود مقادیر قابل توجهی اریتریتول و نیز مقداری گلیسرول بود. عدم حضور واحدهای مونومری سازنده پلی‌ساقارید بیانگر این است که تمامی واحدهای مانوز و گلوکز دارای اتصالاتی نظیر $\text{A} \rightarrow 1$ ، $\text{A} \rightarrow 4$ ، $\text{A} \rightarrow 6$ ، $\text{A} \rightarrow 2$ ، $\text{A} \rightarrow 4$ ، $\text{A} \rightarrow 6$ و $\text{A} \rightarrow 1$ بوده و فاقد اتصالات $\text{A} \rightarrow 3$ هستند و وجود مقادیر قابل توجه اریتریتول بیانگر وجود تعداد زیاد اتصالات $\text{A} \rightarrow 1$ و $\text{A} \rightarrow 4$ در ساختار پلی‌ساقارید خالص وجود دارد. نتایج کروماتوگرافی $\text{A} \rightarrow 4$ در ساختار پلی‌ساقارید خالص است [۳۳-۳۵].

۳-۶- اکسیداسیون پریودات و تجزیه اسمیت

نتایج اکسیداسیون پریودات نشان داد که $1/11$ مول پریودات مصرف و $0/11$ مول اسید فرمیک تولید شد لذا می‌توان نتیجه گرفت که مقادیر کمی از اتصالات نوع $\text{A} \rightarrow 1$ یا $\text{A} \rightarrow 6$ در ساختار پلی‌ساقارید خالص وجود دارد. مقدار مصرف پریودات حدود 10 برابر اسید فرمیک تولید شده بود که نشان می‌دهد اتصالاتی مانند $\text{A} \rightarrow 4$ یا $\text{A} \rightarrow 1$ به مقدار نسبتاً زیاد در ساختار پلی‌ساقارید خالص وجود دارند. نتایج کروماتوگرافی

، ۳-۶-تری متیل مانوز، ۲، ۳-تری متیل مانوز و ۲، ۳، ۴-پلی ساکارید تری متیل مانوز که به ترتیب با نسبت های مولی ۱/۰۱، ۳/۲۴ و ۴/۳۳ در ساختار پلی ساکارید خالص وجود داشتند. بنابراین می توان نتیجه گرفت که اسکلت اصلی پلی ساکارید خالص سریش ایرانی دارای اتصالات (۱→۴) و (۱→۶) است. نتایج حاصل از متیله کردن، نتایج قبلی حاصل از نسبت واحدهای مونومری سازنده پلی ساکارید خالص و نیز نتایج حاصل از هیدرولیز ناقص اسیدی، اکسیداسیون پریودات و تجزیه اسمیت را تائید کرد. این نتایج همچنین نشان داد که اشکال حلقوی فورانوزی (۵-ضلعی) در ساختار وجود ندارد و تمامی واحدهای مونوساکاریدی سازنده پلی ساکارید خالص دارای اشکال پیرانوزی (۶-ضلعی) هستند [۳۶].

نتایج حاصل از تجزیه اسمیت (جدول ۱) رسوبی را در کیسه دیالیز نشان نداد که بیانگر اکسیدشدن کامل اسکلت اصلی پلی ساکارید توسط پریودات است. بنابراین می توان استنباط کرد که اسکلت اصلی پلی ساکارید خالص سریش ایرانی، اتصالاتی نظیر (۱→۴)، (۱→۶)، (۶→۲)، (۱→۱)، (۱→۶) و (۶→۴) دارد. وجود مقادیر زیاد اریترینول بیانگر وجود مقادیر زیادی از اتصالات نوع (۱→۴) یا (۱→۶) در ساختار اصلی پلی ساکارید خالص است و وجود گلیسرول نیز احتمالاً از اتصالات →۱ مربوط به پایانه غیر احیاء کننده (نقطه انشعاب)، نشأت می گیرد [۲۸؛ ۲۹].

۷-۳- متیله کردن

نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی- طیفسنج جرمی، وجود چهار پیک متفاوت را نشان داد (جدول ۲). این پیک ها پس از شناسایی عبارت بودند از: ۲، ۳-تری متیل گلوكز، ۲

Table 2 GC-MS results of methylation analysis of *E. persicus* polysaccharide

Type of linkage	Mass fragments (m/z)	Molar ratio	Methylated sugar
→4)-Glc-(1→	43,45,71,87,99,101,113,117,129,161,173,233	3.24	2,3,6-Me ₃ -Glc
→4,6)-Man-(1→	43,85,87,101,117,127,142,159,161,201,261	1.01	2,3-Me ₂ -Man
→4)-Man-(1→	43,45,71,87,99,101,113,117,129,161,173,233	4.33	2,3,6-Me ₃ -Man
Man-(1→	43,45,71,87,101,117,129,145,161,205	0.98	2,3,4,6-Me ₄ -Man

لذا می توان عنوان نمود که گلوكومانان حاصل از ریشه گیاه سریش ایرانی دارای پیوند غالب (۱→۴)- β -D-Manp است. سیگنال در ناحیه ۴/۱۷ ppm پروتون های متصل به کربن های شماره ۶ β -D-Manp را در نقطه اتصال نشان می دهد. عدم مشاهده سیگنال در محدوده ۱/۸-۲/۲ ppm بیانگر عدم وجود گروه استیل در ساختار پلی ساکارید خالص و تأیید کننده نتایج طیف مادون قرمز نمونه است [۳۷؛ ۲۱].

۸-۳- طیف رزونانس مغناطیس هسته ای

با توجه به جدول ۳، وجود سیگنال در نواحی ۴/۷۲ ppm و ۴/۵۳ ppm به ترتیب نشان دهنده پروتون های آنومری β -D-Manp و β -D-Glcip است. وجود سیگنال در ناحیه ۴/۳/۸۳ ppm مربوط به پروتون های متصل به کربن های شماره ۴ β -D-Manp و وجود سیگنال در ناحیه ۳/۴۵ ppm مربوط به پروتون های متصل به کربن های شماره ۴ β -D-Glcip است؛

Table 3 ¹H NMR chemical shift data (δ , ppm) for purified polysaccharide

Chemical shifts, δ (ppm)						Sugar residues
H-6	H-5	H-4	H-3	H-2	H-1	
3.96	3.46	3.59	3.63	4.11	4.70	β -D-Manp-(1→
3.97	3.59	3.83	3.76	4.14	4.72	→4)- β -D-Manp -(1→
4.17	3.70	3.82	3.76	4.12	4.71	→4,6)- β -D-Manp-(1→
3.91	3.50	3.45	3.54	3.36	4.53	→4)- β -D-Glcip -(1→

که در تشکیل پیوند شرکت دارند. سیگنال در ناحیه ۶/۸ ppm کربن ۶ مانوز در محل اتصال را نشان می دهد [۳۸-۳۷]. عدم مشاهده سیگنال در محدوده ۶۴-۶۵ ppm بیانگر آن است که تمام واحدهای مونوساکاریدی تشکیل دهنده پلی ساکارید دارای اشکال پیرانوزی هستند که نتایج حاصل از آزمون

شکل ۴ طیف NMR کربن پلی ساکارید خالص را نشان می دهد. وجود سیگنال در نواحی ۱۰۱ ppm و ۱۰۴ ppm به ترتیب نشان دهنده کربن های آنومری β -D-Manp و β -D-Glcip است. وجود سیگنال در نواحی ۸۰ و ۷۸ ppm به ترتیب مربوط به کربن های شماره ۴ گلوكز و مانوزی است

زیر برای پلی ساکارید خالص استحصال شده از ریشه گیاه سریش ایرانی پیشنهاد می شود (شکل ۵).

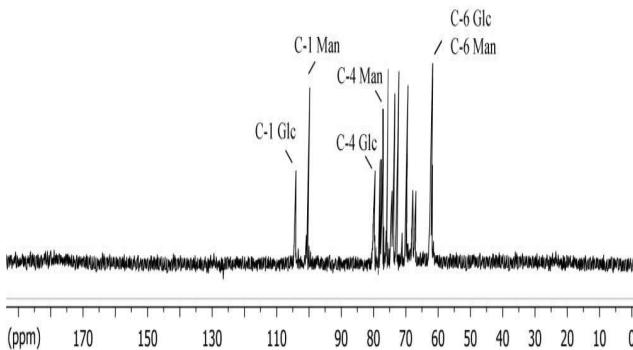


Fig 4 ^{13}C NMR spectrum of *E. persicus* polysaccharide

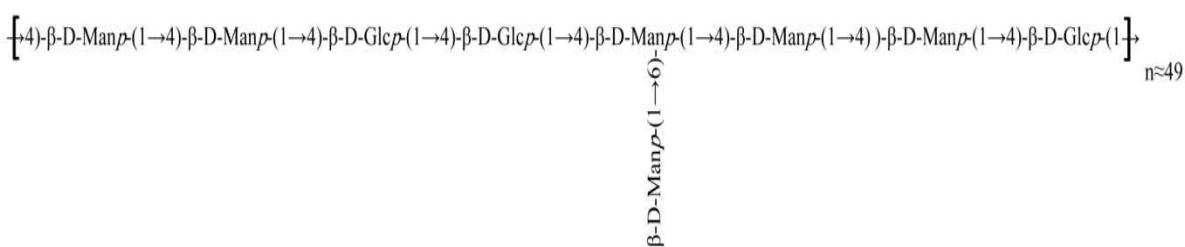


Fig 5 Predicted structure of purified polysaccharide from *E. persicus* roots

صنعت غذا و نیز صنایع دارویی و بهداشتی ضروری به نظر می‌رسد.

- ۵ سپاسگزاری

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه صنعتی شاهروд به علت کمکهای مادی و معنوی صورت گرفته در راستای انجام طرح پژوهشی، دانشجوی، با کد ۴۶۴ تشنک و قدردانه مم، گ.دد.

٦- منابع

- [1] Stephen, A. M., Phillips, G. O., and Williams, P. A. 2006. Food polysaccharides and their applications. CRC press.
 - [2] Zhang, L., Zhang, W., Wang, Q., Wang, D., Dong, D., Mu, H., Ye, X.-S., and Duan, J. 2015. Purification, antioxidant and immunological activities of polysaccharides

متیله کردن را تأیید کرد. نتایج NMR کرین پلی ساکارید خالص با نتایج حاصل از درجه چرخش نوری و طیف مادون قرمز که نشان می داد مقادیر زیادی از اتصالات نوع β در ساختار پلی ساکارید خالص وجود دارد، همخوانی داشت. در محدوده ۱۷۰-۲۲ ppm و ۱۸۰-۱۸۰ ppm از طیف NMR کرین، سیگنالی مشاهده نشد که می توان نتیجه گرفت پلی ساکارید خالص فاقد استر کربوکسیل (گروه استئیل) است. این نتایج همراه با نتایج H-NMR در تطابق با نتایج حاصل از طیف مادون قرمز نمونه بود، لذا با اطمینان می توان بیان نمود که پلی ساکارید حاصل از ریشه گیاه سریش ایرانی از نوع استئله نیست.

با تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از طیف سنج مادون قمز، تعیین واحدهای مونوساکاریدی سازنده، هیدرولیز ناقص اسیدی، اکسیداسیون پریودات و تجزیه اسمیت، آتانالیز متیله کردن همراه با نتایج حاصل از طیف سنج رزونانس مغناطیسی هسته، ساختار

۴- نتیجہ گیری

با جمع بندی نتایج و مقایسهٔ بین گونه سریش ایرانی با سایر گونه‌های مطالعه شده، می‌توان عنوان کرد که پلی‌ساکارید حاصل از ریشه گونه ایرانی یک گلوکومانان منشعب است که شاخه‌های فرعی آن روی اتم کربن شماره ۶ مانوز قرار دارد. این در حالی است که ساختارهای گزارش شده برای گلوکومانان سایر گونه‌های سریش از نوع خطی و یا بسیار کم شاخه است. همچنین گلوکومانان سریش ایرانی به علت نداشتن گروه استیل در ساختار، از سایر گونه‌های مطالعه شده متمایز است. با توجه به کاربرد گسترده گلوکومانان‌ها در صنایع مختلف، گلوکومانان حاصل از ریشه گیاه سریش ایرانی نیز می‌تواند به عنوان یک منبع جدید جهت استفاده در صنایع وابسته مورد استفاده قرار گیرد. لذا انجام مطالعات تكمیلی جهت کاربرد این گلوکومانان در صنایع مختلف از جمله

- [14] Dzhumamuratova, A., Rakhimov, D. A., and Ismailov, Z. F. 1979. Polysaccharides of *Eremurus*. X. Characteristics of the polysaccharides of *Eremurus lactiflorus* and *E. luteus*. Chemistry of Natural Compounds, 15(5), 526-529.
- [15] Dzhumamuratova, A., Rakhimov, D. A., and Kondratenko, E. S. 1982. Polysaccharides of *Eremurus*. XV. Structure of the glucomannan of *Eremurus lactiflorus*. Chemistry of Natural Compounds, 18(6), 642-646.
- [16] Gudyushkina, O. G., Rakhimov, D. A., and Ismailov, Z. F. 1976. A study of the polysaccharides of *Eremurus robustus*. Chemistry of Natural Compounds, 12(5), 582-582.
- [17] Igamberdieva, M. I., Rakhimov, D. A., and Ismailov, Z. F. 1977. The structure of the glucomannan from the tuberous roots of *Eremurus altaicus*. Chemistry of Natural Compounds, 13(2), 162-167.
- [18] Rakhimov, D. A., and Ismailov, Z. F. 1982. Polysaccharides of *Eremurus*. XIV. Structure of the glucomannan from *E. turkestanicus*. Chemistry of Natural Compounds, 18(1), 127-128.
- [19] Rakhimov, D. A., and Kondratenko, E. S. 1983. Polysaccharides of *Eremurus*. XVIII. A glucomannan from the tuberous roots of *Eremurus tadshicum*. Chemistry of Natural Compounds, 19(3), 361-362.
- [20] Rakhimov, D. A., and Yuldasheva, N. P. 1996. Polysaccharides of *Eremurus* XXIX. Isolation of a glucomannan. Chemistry of Natural Compounds, 32(4), 587-588.
- [21] Smirnova, N., Mestechkina, N., and Shcherbukhin, V. 2001. The Structure and Characteristics of Glucomannans from *Eremurus iae* and *E. zangezuricus*: Assignment of Acetyl Group Localization in Macromolecules. Applied Biochemistry and Microbiology, 37(3), 287-291.
- [22] Gaggeri, R., Rossi, D., Azzolina, O., Ahmed, K. M., Avanzini, A., Mantelli, M., Gozzini, D., Paolillo, M., and Collina, S. 2013. Anti-inflammatory properties of ethanolic root extract of *Eremurus persicus* (Jaub and Spach) Boiss, a Kurdish herbal remedy. J. Med. Plants Res, 7, 1730-1735.
- [23] Vala, M. H., Asgarpanah, J., Hedayati, M. H., Shirali, J., and Bejestani, F. B. 2011. Antibacterial and cytotoxic activity of *Eremurus persicus* (Jaub and Spach) Boiss.
- from *Actinidia Chinensis* roots. International Journal of Biological Macromolecules, 72, 975-983.
- [3] Phillips, G. O., and Williams, P. A. 2009. Handbook of hydrocolloids. CRC press.
- [4] Yu, Z., Liu, L., Xu, Y., Wang, L., Teng, X., Li, X., and Dai, J. 2015. Characterization and biological activities of a novel polysaccharide isolated from raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruits. Carbohydrate Polymers, 132, 180-186.
- [5] Jahanbin, K., Gohari, A. R., Moini, S., Emam-Djomeh, Z., and Masi, P. 2011. Isolation, structural characterization and antioxidant activity of a new water-soluble polysaccharide from *Acanthophyllum bracteatum* roots. International Journal of Biological Macromolecules, 49(4), 567-572.
- [6] Hu, C., Kong, Q., Yang, D., and Pan, Y. 2011. Isolation and structural characterization of a novel galactomannan from *Eremurus anisopterus* (Ker. et Kir) Regel roots. Carbohydrate Polymers, 84(1), 402-406.
- [7] Jahanbin, K., Hedayati, A., Moini, S., Gohari, A. R., Emam-Djomeh, Z., Esposito, A., and Bagheri, T. 2011. The first application of a new polysaccharide from *Acanthophyllum bracteatum* for the health improvement of Atlantic salmon exposed to mercury chloride. Toxicology and Industrial Health.
- [8] Mumivand, H., Rustaii, A.-R., Jahanbin, K., and Dastan, D. 2010. Essential oil composition of *Pulicaria dysenterica* (L.) Bernh from Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13(6), 717-720.
- [9] Mozaffarian, V. 2008. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser, 208-210.
- [10] Karimi, H. 1995 Names of Iran plants Tehran: Nashre-Daneshgahi press, pp: 412. (In Persian).
- [11] Zargari, A. 1990. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University press, 325-328.
- [12] Asgarpanah, J., Amin, G., and Parviz, M. 2013. In vitro antiglycation activity of *Eremurus persicus* (Jaub. Et Sp.) Boiss. African Journal of Biotechnology, 10(54), 11287-11289.
- [13] Berdiikeev, A., Rakhimov, D. A., Plekhanova, N. V., and Kondratenko, E. S. 1982. Glucomannan of the tuberous roots of *Eremurus cristatus*. Chemistry of Natural Compounds, 18(2), 226-227.

- method. *Chemistry of Natural Compounds*, 18(1), 12-15.
- [32] Rakhimov, D. A., Igamberdieva, M. I., Arifkhodzhaev, K. A., and Ismailov, Z. F. 1974. Polysaccharides of *Eremurus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 10(4), 512-513.
- [33] Cao, W., Li, X.-Q., Liu, L., Wang, M., Fan, H.-T., Li, C., Lv, Z., Wang, X., and Mei, Q. 2006. Structural analysis of water-soluble glucans from the root of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. *Carbohydrate Research*, 341(11), 1870-1877.
- [34] Ishrud, O., Zahid, M., Ahmad, V. U., and Pan, Y. 2001. Isolation and Structure Analysis of a Glucomannan from the Seeds of Libyan Dates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3772-3774.
- [35] Joshi, H., and Kapoor, V. P. 2003. *Cassia grandis* Linn. f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies. *Carbohydrate Research*, 338(18), 1907-1912.
- [36] Muralikrishna, G., and Rao, M. V. S. S. T. S. 2007. Cereal Non-Cellulosic Polysaccharides: Structure and Function Relationship—An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(6), 599 - 610.
- [37] Capek, P., Alföldi, J., and Lišková, D. 2002. An acetylated galactoglucomannan from *Picea abies* L. Karst. *Carbohydrate Research*, 337(11), 1033-1037.
- [38] Xue, B.-L., Wen, J.-L., Xu, F., and Sun, R.-C. 2012. Structural characterization of hemicelluloses fractionated by graded ethanol precipitation from *Pinus yunnanensis*. *Carbohydrate Research*, 352(0), 159-165.
- African Journal of Microbiology Research, 5(16), 2349-2352.
- [24] Staub, A. M. 1965. Removal of protein – Sevag method. *Methods in Carbohydrate Chemistry*: Academic Press.
- [25] Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- [26] Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- [27] Chaplin, M. F., and Kennedy, J. F. 1994. *Carbohydrate Analysis. A Practical Approach*. New York: Oxford University Press.
- [28] Sun, L., Feng, K., Jiang, R., Chen, J., Zhao, Y., Ma, R., and Tong, H. 2010. Water-soluble polysaccharide from *Bupleurum chinense* DC: Isolation, structural features and antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 180-183.
- [29] Ray, B. 2006. Polysaccharides from *Enteromorpha compressa*: Isolation, purification and structural features. *Carbohydrate Polymers*, 66(3), 408-416.
- [30] Tong, H., Liang, Z., and Wang, G. 2008. Structural characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Physalis alkekengi* L. *Carbohydrate Polymers*, 71(2), 316-323.
- [31] Dzhumamuratova, A., Rakhimov, D. A., Shashkov, S. S., and Kondratenko, E. S. 1982. Polysaccharides of *Eremurus*. XIII. Study of the structure of the partially acetylated glucomannans by the ¹³C NMR

Isolation and structural characterization of a glucomannan from *Eremurus persicus* roots

Jahanbin, K.^{1*}, Masoumeh Beigi²

1. Assistant Prof, Department of Food Science and Technology, School of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology

2. M Sc. Student, Department of Food Science and Technology, School of Agricultural Engineering, Shahrood University of Technology

(Received: 2015/12/05 Accepted: 2016/05/11)

The *Eremurus* plant, popularly called “serish” in Iran, belongs to the Liliaceae family. *Eremurus persicus* is one of the most important species from this genus. It grows very well in Central Asia, including Iran, West Pakistan, Afghanistan, Iraq, Turkey, Palestine, Lebanon, Syria and Caucasus. In current study a water-soluble crude polysaccharide (CESP) was obtained from the roots of *E. persicus* by warm-water extraction (70°C), ethanol precipitation and deproteinization. CESP was purified with DEAE-cellulose and Sephadex G-100 columns and the main fraction was collected and freeze-dried. The total yield of purified polysaccharide was 4.5% of the dried material. Molecular weight, total carbohydrate content and specific optical rotation of polysaccharide were 71.2 KDa, 96.4% and -32.7° respectively. Monosaccharide analysis showed that polysaccharide was composed of Glucose and Mannose with a relative molar ratio of 1.0: 1.98. Its structural features were elucidated by a combination of chemical and analytical methods such as Methylation, GC-MS analysis, Periodate Oxidation and Smith degradation, Partial acid hydrolysis, FT-IR and ¹³C and ¹H NMR Spectroscopy. The data obtained indicate that purified polysaccharide from *E. persicus* roots possessed a backbone of β -(1→4)-linked Glucose and Mannose with branched attached to O-6 by β -1→linked Mannose.

Keywords: Polysaccharide, Extraction, Purification, *Eremurus persicus*, Structural Characterization

* Corresponding Author E-Mail Address: Jahanbin@shahroodut.ac.ir