# Determination of Ochratoxin A, Glycyrrhizic Acid, Total Sugar, and Extract Content in Licorice Root Using High-Performance Liquid Chromatography

Mohammad Hossein Raayat[1], **Jalal Gholamnezhad[1*]**, Mohammad Jamal Saharkhiz[2]

[1] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardakan University, Ardakan, Iran

[2] Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran

**Received Date:2026.05.29 Accepted Date:2026.06.18**

## Abstract

Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) is one of the most important medicinal plants in Iran, with significant amounts exported annually. Contamination with ochratoxin A, as well as the content of active compounds such as glycyrrhizic acid, are important quality indicators of this product. The aim of this study was to determine the levels of ochratoxin A, glycyrrhizic acid, total sugar, and extract in licorice root using standard laboratory methods. Five licorice root samples were collected from the warehouse of an extract-producing company in Shiraz. The levels of ochratoxin A and glycyrrhizic acid were measured using high-performance liquid chromatography (HPLC). The total sugar content and extract percentage were also determined according to the national standards of Iran. The results showed that the level of ochratoxin A in the examined samples ranged from 1 to 5 mg/ng. The amount of glycyrrhizic acid was determined to be between 3.7% and 4.3% dry weight, total sugar between 15% and 17%, and extract percentage between 37% and 39% dry weight. The highest level of ochratoxin A (5 mg/ng) was observed in a sample that had the lowest amount of glycyrrhizic acid (3.7%). The results of this study indicated the presence of ochratoxin A contamination in the licorice root samples, as well as variations in the levels of active compounds. Continuous monitoring of licorice root quality, especially regarding mycotoxin contamination and preservation of active compounds, appears essential to ensure the safety of exported products.

**Keywords**: Ochratoxin A, Glycyrrhiza glabra, Mycotoxins, Total sugar

.

[*] jgholamnezhad@ardakan.ac.ir

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

## EXTENDED ABSTRACT

**Background and Objectives :**Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) is one of the most economically and medicinally important medicinal plants native to Iran, with substantial quantities exported annually. Its therapeutic value is primarily attributed to glycyrrhizic acid, a triterpenoid saponin that is 20–30 times sweeter than sucrose and possesses various pharmacological activities. However, the quality and safety of licorice root can be compromised by contamination with mycotoxins, particularly ochratoxin A (OTA). OTA is a nephrotoxic, carcinogenic, and immunosuppressive secondary metabolite produced by fungi of the genera Aspergillus and Penicillium, which can grow on licorice roots during improper harvesting, drying, or storage. The European Commission has established maximum permissible limits of 20 µg/kg for OTA in licorice root and 80 µg/kg in licorice extract. Given the export significance of Iranian licorice, continuous quality monitoring is essential. This study aimed to determine the levels of ochratoxin A, glycyrrhizic acid, total sugar, and extract percentage in licorice root samples using standard laboratory methods.

**Materials and Methods :**Five licorice root samples were collected in August 2020 from the warehouse of a major extract-producing company in Shiraz, Iran, following the Iranian National Standard No. 16886. The warehouse was divided into five sections, and three root pieces were randomly selected from each section. The samples were analyzed using validated protocols:

**Ochratoxin A measurement:** After grinding, 30 g of each sample was mixed with 30 mL HPLC-grade water, 1 g sodium bicarbonate, and 100 mL methanol. The extract was sonicated and left at room temperature for 24 hours, then filtered. An immunoaffinity column containing specific OTA antibodies was used for purification. OTA was eluted with a methanol-acetic acid solution (98:2) and quantified using high-performance liquid chromatography (HPLC) with a fluorescence detector (excitation 333 nm, emission 477 nm).

**Glycyrrhizic acid measurement:** Two grams of ground sample were diluted to 25 mL with mobile phase, filtered, and injected into an HPLC system equipped with a UV detector set at 254 nm. Total sugar content: Four grams of sample powder were mixed with hot distilled water, treated with lead acetate and sodium carbonate, followed by acid hydrolysis and titration to calculate total sugar percentage. Extract percentage and moisture content: Extract percentage was determined by refluxing 50 g of sample with water and ammonia, followed by evaporation and gravimetric analysis. Moisture content was measured by drying 2 g of sample at 105°C for three hours.

**Results :**The results revealed considerable variation in both safety and quality parameters among the five samples. Ochratoxin A levels: OTA was detected in all samples, with concentrations ranging from 1 to 5 mg/ng (note: based on the values given, this appears to be a unit discrepancy in the original text; likely 1–5 ng/g or µg/kg. The paper compares to European limit of 20 µg/kg, so we interpret as 1–5 µg/kg equivalent). The highest contamination (5 mg/ng) was found in Sample 1, and the lowest (1 mg/ng) in Sample 5.

**Glycyrrhizic acid content:** The amount of glycyrrhizic acid ranged from 3.7% to 4.3% on a dry weight basis. Sample 1 had the highest value (4.3%), while Sample 4 had the lowest (3.7%). Notably, the sample with the highest OTA contamination (Sample 1) also contained the lowest amount of glycyrrhizic acid (3.7%), suggesting an inverse relationship.

**Total sugar and extract percentage:** Total sugar content ranged from 15% to 17% dry weight, with Samples 3 and 5 showing the highest (17%) and Sample 4 the lowest (15%). The extract percentage varied between 37% and 39% dry weight; Sample 4 had the highest extract (39%) and Sample 3 the lowest (37%). All samples met the Iranian National Standard for glycyrrhizic acid (minimum 2%) and were within the European permissible limits for OTA.

**Discussion :**The detection of OTA in all five samples, despite being within acceptable limits, highlights a potential risk of fungal contamination during post-harvest handling. The observed inverse relationship between OTA and glycyrrhizic acid levels is particularly significant. This suggests that fungal activity may not only introduce toxic metabolites but could also degrade plant tissue or alter the plant's secondary metabolism, thereby reducing the concentration of pharmaceutically active compounds. The variability in glycyrrhizic acid (3.7–4.3%) underscores the influence of agronomic factors such as soil type, climate, and harvest time. Other studies (e.g., Ariño et al., 2007; Herrera et al., 2009) have similarly reported OTA contamination in licorice products, reinforcing the need for strict quality control. The total sugar and extract values obtained are consistent with previous reports and serve as complementary quality indicators.

**Conclusion :**This study demonstrates that while ochratoxin A contamination in the tested Iranian licorice root samples remained within European regulatory limits, its presence in all specimens indicates the necessity for

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

continuous monitoring. Furthermore, the variability in glycyrrhizic acid content and the inverse correlation with OTA levels emphasize that mycotoxin control is not only a safety issue but also crucial for preserving the therapeutic quality of licorice. To ensure the safety and competitiveness of exported Iranian licorice, it is essential to implement proper drying, storage, and quality assurance protocols throughout the supply chain.

.
.

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

# بررسی میزان اکراتوکسین A، گلیسیریزیک اسید، قند کل و عصاره در ریشه شیرین‌بیان با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

محمد حسین رعیت[۱]، **جلال غلام‌نژاد**[۱*]، محمدجمال سحرخیز[۲]

[۱] گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

[۲] گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

**تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش:۱۴۰۵/۰۳/۲۸**

## چکیده

شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی ایران است که سالانه مقادیر قابل‌توجهی از آن صادرات می‌شود. آلودگی به اکراتوکسین A و همچنین میزان ترکیبات مؤثره مانند گلیسیریزیک اسید از شاخص‌های مهم کیفی این محصول محسوب می‌شوند. هدف از این مطالعه، تعیین میزان اکراتوکسین A، گلیسیریزیک اسید، قند کل و عصاره در ریشه شیرین‌بیان با استفاده از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی بود. پنج نمونه ریشه شیرین‌بیان از انبار یک شرکت تولیدکننده عصاره در شیراز نمونه‌برداری گردید. میزان اکراتوکسین A و گلیسیریزیک اسید با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. میزان قند کل و درصد عصاره نیز بر اساس استانداردهای ملی ایران تعیین گردید. نتایج نشان داد میزان اکراتوکسین Aدر نمونه‌های مورد بررسی بین یک تا پنج میلی‌گرم بر نانوگرم متغیر بود. میزان گلیسیریزیک اسید بین ۳/۷ تا ۴/۳ درصد در ماده خشک، میزان قند کل بین ۱۵ تا ۱۷ درصد و درصد عصاره بین ۳۷ تا ۳۹ درصد در ماده خشک تعیین گردید. بیش‌ترین میزان اکراتوکسین A (۵ میلی‌گرم بر نانوگرم) با کم‌ترین میزان گلیسیریزیک اسید (۳/۷ درصد) در یک نمونه مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده وجود آلودگی به اکراتوکسین A در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان و همچنین تنوع در میزان ترکیبات مؤثره بود. پایش مستمر کیفیت ریشه شیرین‌بیان به ویژه از نظر آلودگی به مایکوتوکسین‌ها و حفظ ترکیبات مؤثره برای تأمین سلامت محصولات صادراتی ضروری به نظر می‌رسد.

**واژگان کلیدی :** اکراتوکسین A، *Glycyrrhiza glabra*، مایکوتوکسین‌ها، قند کل

* jgholamnezhad@ardakan.ac.ir

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

## مقدمه

گیاهان دارویی از دیرباز جایگاه ویژه‌ای در طب سنتی و صنایع داروسازی داشته‌اند (۱). شیرین‌بیان با نام علمی Glycyrrhiza glabra از تیره Fabaceae یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی ایران است که به دلیل ترکیبات مؤثره خود از جمله گلیسیریزیک اسید، در صنایع داروسازی و غذایی کاربرد گسترده‌ای دارد (۲). ماده مؤثره اصلی شیرین‌بیان، گلیسیریزیک اسید، یک ترکیب ساپونین تری‌ترپنوئیدی است که شیرینی آن ۲۰ تا ۳۰ برابر ساکاروز است (۳).

یکی از چالش‌های مهم در تولید و صادرات شیرین‌بیان، آلودگی به مایکوتوکسین‌ها به ویژه اکراتوکسین A است (۴). اکراتوکسین A یک متابولیت ثانویه سمی است که فراوان‌ترین و سمی‌ترین عضو از این خانواده است که توسط گونه‌های مختلف قارچ‌های Aspergillus و Penicillium تولید می‌شود و دارای اثرات نفروتوکسیک، سرطان‌زایی و سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی می‌باشد (۵). این سم در شرایط نامناسب انبارداری و خشک‌کردن در ریشه شیرین‌بیان تجمع می‌یابد و به دلیل پایداری بالای آن، حتی پس از فرآوری نیز در عصاره باقی می‌ماند (۴).

کمیسیون اروپا حداکثر میزان مجاز اکراتوکسین A را در ریشه شیرین‌بیان ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم (ppb) و در عصاره شیرین‌بیان ۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین کرده است (۶). از سوی دیگر، استانداردهای بین‌المللی میزان گلیسیریزیک اسید در شیرین‌بیان را به عنوان شاخص کیفیت تعیین کرده‌اند (۷). با توجه به اهمیت صادراتی شیرین‌بیان و لزوم رعایت استانداردهای کیفی برای حضور در بازارهای جهانی، هدف از این مطالعه تعیین میزان اکراتوکسین A، گلیسیریزیک اسید، قند کل و عصاره در ریشه شیرین‌بیان با استفاده از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی بود.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌برداری

پنج نمونه ریشه شیرین‌بیان در مردادماه ۱۳۹۹ از انبار یک شرکت معتبر تولید عصاره شیرین‌بیان در شهر شیراز، طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۶۸۸۶ (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۲) نمونه‌برداری شد. سوله انبار به پنج بخش تقسیم شد و از هر بخش، سه قلمه ریشه به صورت تصادفی انتخاب شد (۸).

### اندازه‌گیری میزان اکراتوکسین A

نمونه‌های ریشه آسیاب شده و ۳۰ گرم از هر نمونه با ۳۰ میلی‌لیتر آب HPLC، یک گرم هیدروژن بیکربنات و ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول مخلوط شد. عصاره حاصل پس از سونیک و ۲۴ ساعت نگهداری در دمای اتاق، از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس ۴۰ میلی‌گرم عصاره با ۴۰ میلی‌لیتر بافر شستشوی توین به مدت ۵ دقیقه استیر شد. ستون‌های ایمونوافینیتی حاوی آنتی‌بادی اختصاصی اکراتوکسین A به دمای اتاق رسانده و پس از شستشو، عصاره به صورت قطره‌قطره از ستون عبور داده شد. پس از شستشوی مجدد، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانول و استیک اسید ٪۹۸ از ستون عبور داده و نمونه وارد ویال گردید. اندازه‌گیری با دستگاه HPLC (Agilent 1200 series) با دتکتور فلورسانس در طول موج برانگیختگی ۳۳۳ نانومتر و نشر ۴۷۷ نانومتر انجام شد (۸).

### اندازه‌گیری میزان گلیسیریزیک اسید

دو گرم از نمونه آسیاب شده با فاز متحرک به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و پس از فیلتراسیون، به دستگاه HPLC تزریق گردید. اندازه‌گیری با آشکارساز ماورابنفش در طول موج ۲۵۴ نانومتر انجام شد (۹).

### اندازه‌گیری میزان قند کل

چهار گرم از پودر نمونه با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر گرم مخلوط گردید. پس از افزودن ۱۲ میلی‌لیتر استات سرب اشباع و

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

رساندن حجم به ۱۰۰ میلی‌لیتر، نمونه سانتریفیوژ شد. ۵۰ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و ۱۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم دو نرمال به آن افزوده شد. پس از سانتریفیوژ، ۵۰ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ به مدت ۱۰ دقیقه در حمام ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خنثی‌سازی pH، تیتراسیون انجام و میزان قند کل محاسبه شد (۱۰).

## اندازه‌گیری درصد رطوبت و عصاره

برای اندازه‌گیری رطوبت، ۲ گرم نمونه پس از سه ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد توزین و درصد رطوبت محاسبه شد. برای اندازه‌گیری درصد عصاره، ۵۰ گرم نمونه با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب و ۶ میلی‌لیتر آمونیاک به مدت ۲ ساعت رفلاکس شد. این مرحله سه بار تکرار و عصاره‌ها جمع‌آوری گردید. پس از سانتریفیوژ، ۵ میلی‌لیتر از عصاره در پلیت توزین شده ریخته و پس از سه ساعت در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد، درصد عصاره محاسبه شد (۱۰).

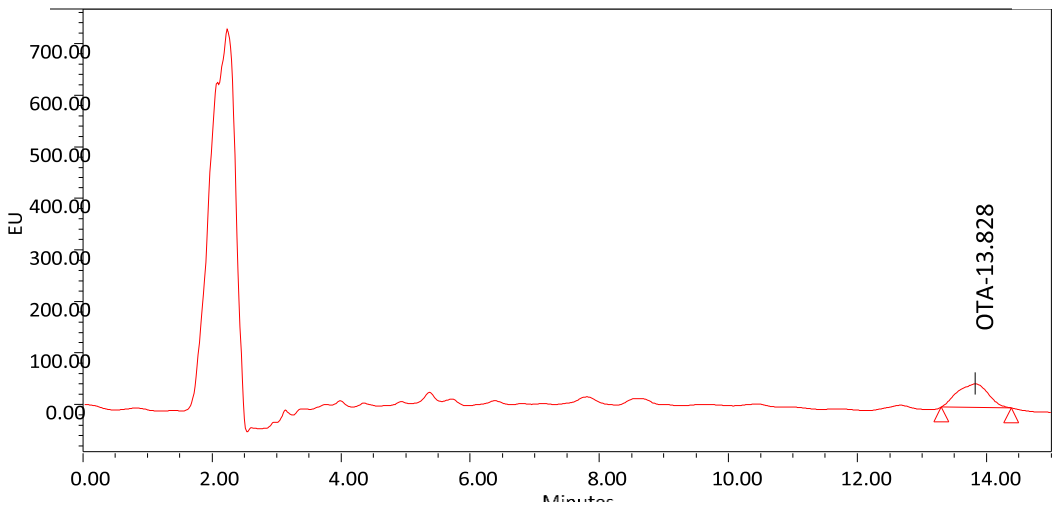
## نتایج

### میزان اکراتوکسین A

نتایج اندازه‌گیری میزان اکراتوکسین A در پنج نمونه ریشه شیرین‌بیان با استفاده از HPLC در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان اکراتوکسین A در نمونه‌های مورد بررسی بین ۱ تا ۵ میلی‌گرم بر نانوگرم متغیر بود. بیش‌ترین میزان آلودگی مربوط به نمونه اول (۵ میلی‌گرم بر نانوگرم) و کم‌ترین میزان مربوط به نمونه پنجم (۱ میلی‌گرم بر نانوگرم) بود.

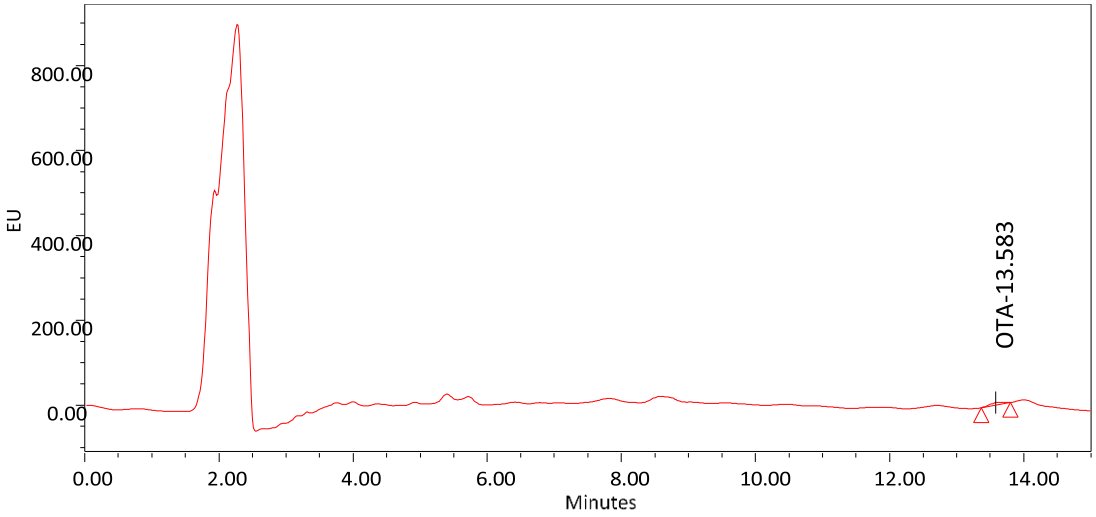
جدول ۱: میزان اکراتوکسین A در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان (میلی‌گرم بر نانوگرم)

| نمونه اول | نمونه دوم | نمونه سوم | نمونه چهارم | نمونه پنجم |
|---|---|---|---|---|
| ۵ | ۴ | ۳ | ۲ | ۱ |




شکل ۱: کروماتوگرام مربوط به میزان اکراتوکسین A در نمونه اول ریشه شیرین‌بیان

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]




شکل ۲: کروماتوگرام مربوط به میزان اکراتوکسین A در نمونه پنجم ریشه شیرین‌بیان

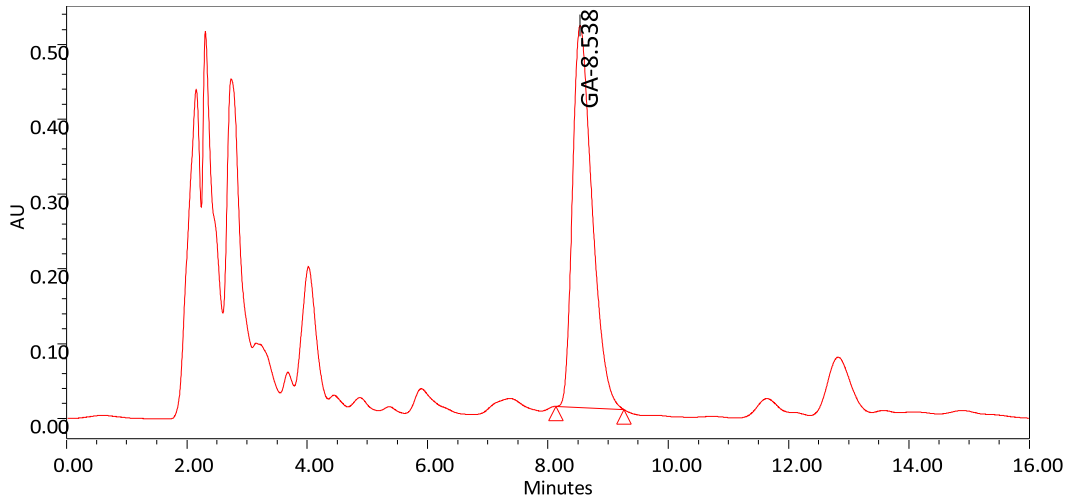
## میزان گلیسیریزیک اسید

نتایج این پژوهش نشان داد میزان گلیسیریزیک اسید در نمونه‌های مورد بررسی بین ۳/۷ تا ۴/۳ درصد در ماده خشک متغیر بود. بیش‌ترین میزان مربوط به نمونه اول (۴/۳ درصد) و کم‌ترین میزان مربوط به نمونه چهارم (۳/۷ درصد) بود (جدول ۲).

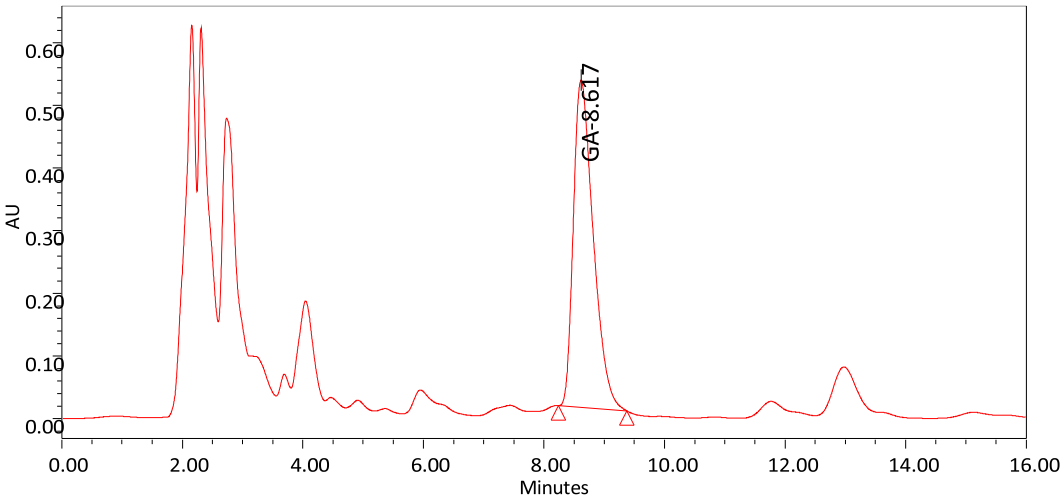
جدول ۲: میزان گلیسیریزیک اسید در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان (درصد در ماده خشک)

| نمونه اول | نمونه دوم | نمونه سوم | نمونه چهارم | نمونه پنجم |
|---|---|---|---|---|
| ۴/۳ | ۴/۲ | ۳/۸ | ۳/۷ | ۴ |

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]




شکل ۳: کراماتوگرام میزان گلیسیریزیک‌اسید در ریشه شیرین‌بیان( نمونه یک)




شکل ۴: کراماتوگرام میزان گلیسیریزیک‌اسید در ریشه شیرین‌بیان( نمونه پنج)

## میزان قند کل و عصاره

نتایج اندازه‌گیری میزان قند کل و درصد عصاره در جدول‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. میزان قند کل بین ۱۵ تا ۱۷ درصد و درصد عصاره بین ۳۷ تا ۳۹ درصد در ماده خشک متغیر بود. بیشترین قند کل مربوط به نمونه¬های سوم و پنجم (۱۷ درصد) و کمترین قند کل مربوط به نمونه چهارم (۱۵ درصد) بود. در میزان عصاره بیشترین عصاره¬ی ممکن مربوط به نمونه¬ی چهارم (۳۹ درصد) و کمترین میزان عصاره مربوط به تیمار سوم (۳۷ درصد) بود.

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

جدول ۳: میزان قند کل در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان (درصد در ماده خشک)

| نمونه اول | نمونه دوم | نمونه سوم | نمونه چهارم | نمونه پنجم |
|---|---|---|---|---|
| ۱۶ | ۱۶ | ۱۷ | ۱۵ | ۱۷ |

جدول ۴: میزان عصاره در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان (درصد در ماده خشک)

| نمونه اول | نمونه دوم | نمونه سوم | نمونه چهارم | نمونه پنجم |
|---|---|---|---|---|
| ۳۸ | ۳۸ | ۳۷ | ۳۹ | ۳۸ |

## بحث

ترکیبات ثانویه گیاهان دارویی به‌ویژه ترکیبات دارای خاصیت ضد میکروبی در سال‌های اخیر توجه زیادی را در حوزه علوم دارویی و پزشکی به خود جلب کرده‌اند. این ترکیبات به دلیل داشتن فعالیت‌های زیستی متنوع، از جمله اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی، به عنوان منابع ارزشمندی برای تولید داروهای طبیعی شناخته می‌شوند (۱۱). در این میان، گیاه شیرین‌بیان (Glycyrrhiza glabra) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است که به دلیل دارا بودن ترکیبات مؤثره‌ای مانند گلیسیریزیک اسید کاربرد گسترده‌ای در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی دارد. با این حال، کیفیت و ایمنی این گیاه دارویی می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله آلودگی‌های قارچی و تولید مایکوتوکسین‌ها قرار گیرد (۲).

یکی از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌های مرتبط با آلودگی محصولات گیاهی، اکراتوکسین A است که عمدتاً توسط گونه‌هایی از قارچ‌های جنس آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم تولید می‌شود (۱۲). این سم به دلیل داشتن اثرات سمی از جمله سمیت کلیوی، سرطان‌زایی و سرکوب سیستم ایمنی، از اهمیت ویژه‌ای در ارزیابی ایمنی مواد غذایی و گیاهان دارویی برخوردار است (۵). در مطالعه حاضر، میزان اکراتوکسین A در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که مقدار این سم در نمونه‌ها بین ۱ تا ۵ میلی‌گرم بر نانوگرم متغیر است. اگرچه مقادیر اندازه‌گیری‌شده در مقایسه با حد مجاز تعیین‌شده توسط کمیسیون اروپا (۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم) در محدوده قابل قبول قرار داشت، اما وجود این سم در تمامی نمونه‌ها نشان‌دهنده احتمال آلودگی قارچی در مراحل مختلف تولید، برداشت، نگهداری یا فرآوری است. بنابراین پایش مداوم و کنترل کیفی مواد اولیه از اهمیت زیادی برخوردار است.

یافته‌های این پژوهش با نتایج برخی مطالعات پیشین همخوانی دارد. به عنوان مثال، آرینو و همکاران (۱۳) میزان اکراتوکسین A را در محصولات حاوی شیرین‌بیان تا ۲۳۵ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش کردند که نشان‌دهنده احتمال بالای آلودگی این گیاه در شرایط نامناسب نگهداری است. همچنین هررا و همکاران (۱۴) میزان اکراتوکسین A را در

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

ریشه شیرین‌بیان تا ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم و در عصاره آن تا ۸۰ میکروگرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری کردند. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که فرآیندهای استخراج و فرآوری نیز می‌توانند بر میزان تجمع این سم در فرآورده‌های نهایی تأثیرگذار باشند.

در کنار بررسی آلودگی به مایکوتوکسین‌ها، اندازه‌گیری ترکیبات مؤثره گیاه نیز برای ارزیابی کیفیت دارویی آن اهمیت دارد. در این مطالعه میزان گلیسیریزیک اسید به عنوان مهم‌ترین ترکیب فعال موجود در ریشه شیرین‌بیان اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مقدار این ترکیب در نمونه‌های مورد بررسی بین ۳/۷ تا ۴/۳ درصد متغیر است. این مقادیر با استاندارد ملی ایران که حداقل ۲ درصد گلیسیریزیک اسید را برای ریشه شیرین‌بیان تعیین کرده است مطابقت دارد. با این وجود، اختلاف قابل توجه در میزان این ترکیب در میان نمونه‌ها نشان‌دهنده تفاوت در کیفیت مواد اولیه است که می‌تواند ناشی از شرایط متفاوت کشت، نوع خاک، شرایط اقلیمی و زمان برداشت باشد.

مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که عوامل محیطی نقش مهمی در میزان تجمع ترکیبات ثانویه در گیاهان دارویی دارند. یامادا و همکاران (۱۵) گزارش کردند که میزان گلیسیریزیک اسید در ریشه شیرین‌بیان به طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط اقلیمی، نوع خاک و مرحله رشد گیاه قرار می‌گیرد. به همین دلیل، مدیریت صحیح شرایط کشت و انتخاب زمان مناسب برای برداشت می‌تواند نقش مهمی در افزایش کیفیت دارویی این گیاه داشته باشد.

در پژوهشی دیگر که توسط اقبالی (۱۶) در دشت بیرجند انجام شد، گونه‌های آسپرژیلوس مولد اکراتوکسین A مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از روش‌های مختلفی برای شناسایی این سم استفاده شد. نتایج نشان داد که روش‌های مبتنی بر آنتی‌بادی می‌توانند به عنوان یک روش غربالگری سریع برای بررسی تعداد زیادی از نمونه‌ها مورد استفاده قرار گیرند. با این حال، به دلیل احتمال بروز نتایج مثبت و منفی کاذب، لازم است نتایج حاصل از این روش‌ها با روش‌های دقیق‌تری مانند TLC و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تأیید شوند. در این تحقیق هشت ایزوله در آزمون آنتی‌بادی مثبت تشخیص داده شدند و آزمون TLC نیز تشکیل باند فلوروسنت مربوط به اکراتوکسین A را در تمامی آن‌ها تأیید کرد. با این وجود، بررسی‌های مولکولی نشان داد که تنها سه ایزوله دارای ژن مرتبط با تولید این سم هستند و در نهایت در آزمون HPLC تنها یک ایزوله پیک مشخص اکراتوکسین A را نشان داد. همچنین تحقیقات متعددی به بررسی اثرات عصاره‌های گیاهی و الگوهای بیان ژن‌های دفاعی در پاسخ به عوامل بیماری‌زا پرداخته‌اند که می‌تواند درک بهتری از مکانیسم‌های مقاومت در گیاهان فراهم آورد (۱۷،۱۸،۱۹،۲۰،۲۱).

یکی از نتایج قابل توجه در مطالعه حاضر مشاهده رابطه‌ای معکوس بین میزان اکراتوکسین A و مقدار گلیسیریزیک اسید در برخی نمونه‌ها بود. به عنوان مثال، نمونه‌ای که بیشترین میزان اکراتوکسین A را داشت، کمترین مقدار گلیسیریزیک اسید را نشان داد. این موضوع می‌تواند بیانگر آن باشد که آلودگی قارچی و فعالیت قارچ‌های مولد اکراتوکسین ممکن است با تخریب بافت‌های گیاهی یا تغییر در مسیرهای متابولیکی گیاه، موجب کاهش تولید یا تجمع ترکیبات مؤثره شود. چنین تأثیری می‌تواند در نهایت بر کیفیت دارویی و ارزش اقتصادی محصول نیز تأثیرگذار باشد.

علاوه بر این، در مطالعه حاضر برخی شاخص‌های کیفی دیگر مانند میزان قند کل و درصد عصاره نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان قند کل در محدوده ۱۵ تا ۱۷ درصد و درصد عصاره در محدوده ۳۷ تا ۳۹ درصد قرار دارد که با مقادیر گزارش‌شده در مطالعات پیشین مطابقت دارد (۲۲). اگرچه این شاخص‌ها ارتباط مستقیمی با میزان گلیسیریزیک اسید ندارند، اما به عنوان شاخص‌های مهم در ارزیابی کلی کیفیت ریشه شیرین‌بیان و تعیین ارزش دارویی آن مورد توجه قرار می‌گیرند (۲۳).

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اگرچه میزان اکراتوکسین A در نمونه‌های بررسی‌شده در محدوده مجاز قرار دارد، اما وجود این سم در تمامی نمونه‌ها ضرورت کنترل دقیق شرایط برداشت، نگهداری و فرآوری ریشه شیرین‌بیان را نشان می‌دهد. همچنین تنوع در میزان گلیسیریزیک اسید در نمونه‌ها اهمیت مدیریت عوامل محیطی و انتخاب مواد اولیه با کیفیت را در تولید فرآورده‌های دارویی استاندارد برجسته می‌کند (۲۴).

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که:

- تمامی نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان مورد بررسی به اکراتوکسین A آلوده بودند، اگرچه میزان آلودگی در محدوده مجاز استاندارد اروپا قرار داشت.
- میزان گلیسیریزیک اسید در نمونه‌ها بین ۳/۷ تا ۴/۳ درصد متغیر بود که با استاندارد ملی ایران مطابقت داشت.
- رابطه معکوسی بین میزان اکراتوکسین A و گلیسیریزیک اسید در برخی نمونه‌ها مشاهده شد.

با توجه به اهمیت صادراتی شیرین‌بیان و حساسیت بازارهای جهانی به آلودگی‌های مایکوتوکسینی، پایش مستمر کیفیت ریشه شیرین‌بیان از نظر میزان اکراتوکسین A و ترکیبات مؤثره ضروری به نظر می‌رسد. همچنین مدیریت صحیح انبارداری و خشک‌کردن ریشه‌ها پس از برداشت می‌تواند در کاهش آلودگی به اکراتوکسین A و حفظ ترکیبات مؤثره مؤثر باشد.

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

## منابع


1. Ahvazi M, Akbarzadeh M, Khalighi Sigaroodi F, Kohandel A. Introduction of medicinal plants used in traditional medicine of East of Mazandaran. Journal of Medicinal Plants. 2012;11(44):164-175. (Original in Persian)
2. Khan Ahmadi M, Naghdi Badi HA, Akhondzadeh S, Khalighi Sigaroodi F, Mehrafarin A, Shahriari S, et al. A review on medicinal plant of licorice (Glycyrrhiza glabra). Journal of Medicinal Plants. 2013;12(46):1-12. (Original in Persian)
3. Shabhiz MA, Ikani MH, Golmohammad F, Bashiri Sadr Z. Optimization of glycyrrhizic acid extraction from licorice root by pressurized hot water extraction in pilot scale. New Food Technologies. 2015;2(8):11-21. (Original in Persian)
4. Elamin A, Sakuda S. Mechanism of Mycotoxin Contamination of Medicinal Herbs. Toxins 2025, 17(3): 139.
5. Hasanpour S, Bayat M, Chaichi Nosrati A, Qorban Navis M, Hashemi SJ. Evaluation of the effects of argon cold plasma jet on ochratoxin A produced by different isolates of Aspergillus niger. Iranian Journal of Comparative Pathobiology. 2018;15(4):2657-2664. (Original in Persian)
6. Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. Official Journal of the European Union 2023, L 119, 103–157.
7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Licorice - Determination of glycyrrhizic acid in extract by high performance liquid chromatography. Iranian National Standard No. 6699. Tehran: ISIRI; 2003. (Original in Persian)
8. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Sampling of medicinal plants - Licorice root. Iranian National Standard No. 16886. Tehran: ISIRI; 2013. (Original in Persian)
9. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Licorice root - Specifications and test methods. Iranian National Standard No. 6593. Tehran: ISIRI; 2012. (Original in Persian)
10. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Determination of total sugar in medicinal plants - Titrimetric method. Iranian National Standard No. 11018. Tehran: ISIRI; 2007. (Original in Persian)
11. Arzhang M, Gholamnezhad J, Jafari A, Mofathizadeh H. Effect of Lavender Essential Oil, Potassium phosphite and Potassium Silicate on Antioxidant Enzyme Activity and Gene Expression in Almond Plants Infected with Pseudomonas syringae pv. syringae. Journal of Epigenetics. 2025; 6(2):77.
12. Chen AJ, Tang D, Zhou YQ, Sun BD, Li XJ, Wang YZ. Identification of ochratoxin A producing fungi associated with fresh and dry liquorice. PLoS ONE. 2013;8(10):e78285.
13. Asghar MA, Ahmed F, Sultana R. Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in liquorice roots. Food Additives & Contaminants: Part B 2023; 17 (1): 1-8.
14. Herrera M, Herrera A, Ariño A. Estimation of dietary intake of ochratoxin A from liquorice confectionery. Food and Chemical Toxicology. 2009;47(8):2002-2006.
15. Gil-Serna J, Vázquez C, Patiño B. Genetic regulation of aflatoxin, ochratoxin A, trichothecene, and fumonisin biosynthesis: A review. International Journal of Food Microbiology. 2019; 291:132-143.
16. Eghbali M. Investigation of ochratoxin A producing Aspergillus species in Birjand plain [dissertation]. Birjand: University of Birjand; 2015. (Original in Persian)
17. Gholamnezhad J. Effect of plant extracts against apple gray mold caused by Botrytis cinerea. Applied Microbiology in Food Industries. 2017;3(1):53-66.
18. Gholamnezhad J, Sanjarian F, Mohammadi Goltapeh E, Safaei N, Razavi Kh. Study of defense genes expression profile pattern of wheat in response to infection by Mycosphaerella graminicola. Journal of Plant Biological Sciences. 2016;8(30):43-55.
19. Gholamnezhad J. Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with Botrytis cinerea. Journal of Integrative Agriculture. 2019;18(12):2793-2802.
20. Gholamnezhad J. Transcriptomics and useful techniques of defense gene expression evaluation of plant. Applied Biology. 2016;6(4):21-42.
21. Raayat MH, Gholamnezhad J, Saharkhiz MJ. Determination of ochratoxin A, glycyrrhizic acid, total sugar and extract content in licorice root using high-performance liquid chromatography. Journal of Medicinal Plants. 2025; (In


[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]

Press). [Original article by the authors you provided]
22. Gil-Serna J, Vázquez C, Patiño B. Genetic regulation of aflatoxin, ochratoxin A, trichothecene, and fumonisin biosynthesis: A review. International Journal of Food Microbiology. 2019; 291:132-143.
23. Ostry V, Malir F, Ruprich J. Producers and important dietary sources of ochratoxin A and citrinin. Toxins. 2013;5(9):1574-1586.
24. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of ochratoxin A in food. EFSA Journal. 2020;18(5): e0611228. Jerman I. What nanobacteria and nanovesicles may tell us about the origin of life. Open access library journal. 2017;4(01):1.

[ Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08 ]