



شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس دانه سویا (*Glycin max*) از طریق GC-MS و تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی آن با روش DPPH

راحله ژبانی^{۱*}، مرجان مرادی^۲

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نیشابور، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، نیشابور، ایران

^۲ گروه شیمی، واحد کرمان، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمان، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۳/۹/۱۴، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۳/۱۰/۱۲، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۳/۱۰/۲۷

چکیده

عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنلی هستند که به سبب خواص آنتی اکسیدانی بالای خود به منظور جلوگیری با کاهش اکسیداسیون روغن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای جلوگیری از اکسیداسیون روغن‌ها روش‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن آنتی اکسیدان‌های سنتزی می‌باشد. اما با توجه به این که آنتی اکسیدان‌های سنتزی اثرات نامطلوبی هم چون اثر جهش‌زایی و سرطان‌زایی در بدن انسان دارند، لذا تحقیق و بررسی منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی به منظور جایگزین کردن ترکیبات سنتزی ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه، بررسی اجزای تشکیل دهنده و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس دانه سویا (*Glycin max*) رقم zane، اطراف شهرستان زابل می‌باشد. ابتدا اسانس با دستگاه GC/MS تجزیه و اجزای شیمیایی آن شناسایی شد. ۱۷ ترکیب در اسانس دانه سویا zane وجود داشت که ترکیب‌های عمده آن عبارت‌اند از: اولئیک اسید (۳۱/۷۴٪)، لینولیک اسید (۱۶/۲۷٪)، سینئول، (۱۱/۸۹٪) و بتا سیکلوسیترال (۸/۳۱٪) که چهار ترکیب فوق‌بیشترین ترکیب اسانس را تشکیل می‌دهند و سپس فعالیت آنتی رادیکالی اسانس با آزمون رادیکال ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) بررسی شد و تغییرات آنتی اکسیدانی دانه سویا در سه غلظت مختلف مقایسه گردید. نتایج نشان داد که در درصد بازدارندگی اسانس روغنی با افزایش غلظت افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، سویا، آنتی اکسیدانی، DPPH GC/MS

۱. مقدمه

چربی‌ها و روغن‌ها ترکیبات غذایی با ارزشی هستند که علاوه بر تامین انرژی نقش مهمی در سلامت و ادامه حیات انسان داشته و در گروه مواد غذایی ضروری جای دارند. اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها طی فرآوردی و نگهداری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای

*عهده‌دار مکاتبات: راحله ژبانی

نشانی: نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه شیمی

پست الکترونیک: E-mail: r_zhani2006@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۵۵۰۲۰۸۴۵

و هضمی غذا می شود، بلکه ترکیباتی مانند رادیکال های آزاد تولید می کند که این ترکیبات منجر به واکنش های نامطلوب شیمیایی و احتمالاً بیولوژیکی می شوند [۱]. آنتی اکسیدان ها ترکیباتی هستند که با جذب رادیکال آزاد و در نتیجه ممانعت از اکسیداسیون، از فساد، تغییر رنگ و یا تند شدن چربی ها جلوگیری می کنند. به خصوص آنتی اکسیدان هایی که بنیان را دارا می باشند، نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون چربی ها OH حلقوی فنولی حاوی گروه دارند [۲].

در سال های اخیر مطالعات بسیاری در جهت بررسی و استخراج آنتی اکسیدان های طبیعی از گیاهان مختلف صورت گرفته است که می توان به استخراج ترکیبات فنولی نعناع [۳]، گشنیز، رزماری [۴]، کرفس کوهی [۱] اشاره نمود. یکی از گیاهانی که امکان بررسی و مطالعه بیشتر از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برای آن وجود دارد گیاه سویا است [۵].

سویا گیاهی است از خانواده *Papilionaceae* و از تیره لگومینوز (*Leguminosa*) و با نام علمی *Glycin max* می باشد. گیاهی است یکساله با ریشه های راست و عمیق و انشعابات جانبی زیاد که روی آنها غده ها یا گره های تثبیت کننده ازت قرار دارد. ساقه سویا معمولاً راست و انشعابات آن به نوع تیپ رشدی آن بستگی دارد. ارتفاع ساقه ها بین ۴۰ تا ۲۰۰ سانتیمتر می باشد و اصولاً پوشیده از کرک می باشد. کرک ها به رنگ قهوه ای، خاکستری و کوتاه هستند [۶]. با اینکه سویا همیشه در طبیعت وجود داشته است ولی فقط در چند دهه گذشته بدلیل پی بردن به امتیازات و خواص بسیار حیرت انگیز و والای آن توجه محققین را بخود جلب نموده است. سویا فوایدی دارد از جمله: ترشح هورمون آنابولیک که شکل دادن به عضله را شتاب می بخشد تحریک می کند، کمک می کند تا بهتر از اکسیژن استفاده کرده و در نتیجه مدت بیشتری به فعالیت پردازیم. سویا زنجیره چند شاخه ای اسیدهای آمینه را برای طولانی تر کردن مقاومت تامین می کند، پروتئین سویا خستگی بعد از ورزش را می کاهش دهد، سویا سریعاً هضم می شود و خیلی زود جذب می گردد و تعادل مثبت نیتروژنی ایجاد می کند، سویا فشار متابولیکی روی کلیه ها را کاهش می دهد به دلیل وجود پروتئین قابل توجه در دانه سویا امکان تهیه انواع غذاهای سالم و مقوی از این دانه روغنی وجود دارد.

دانه سویا در مجموع دارای ۶۰ درصد پروتئین و روغن بوده که نشان دهنده ارزش غذایی بالای سویا می باشد. میزان پروتئین دانه سویا از ۳۵ تا ۵۰ درصد تغییر می کند که مقدار متوسط آن ۴۰ درصد می باشد. سویا همچنین دارای کلسیم، آهن و ویتامین های مختلف می باشد که در تغذیه انسان و دام اهمیت دارند [۷]. کنجاله حاصل از دانه روغن کشتی شده هم حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد پروتئین دارد که در تغذیه دام مورد اهمیت است. در این مطالعه میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی برگ های گزنه با حلال های مختلف بررسی گردید و اثر آنتی اکسیدانی عصاره های حاصله در به تاخیر اندازی اکسیداسیون روغن سویا مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

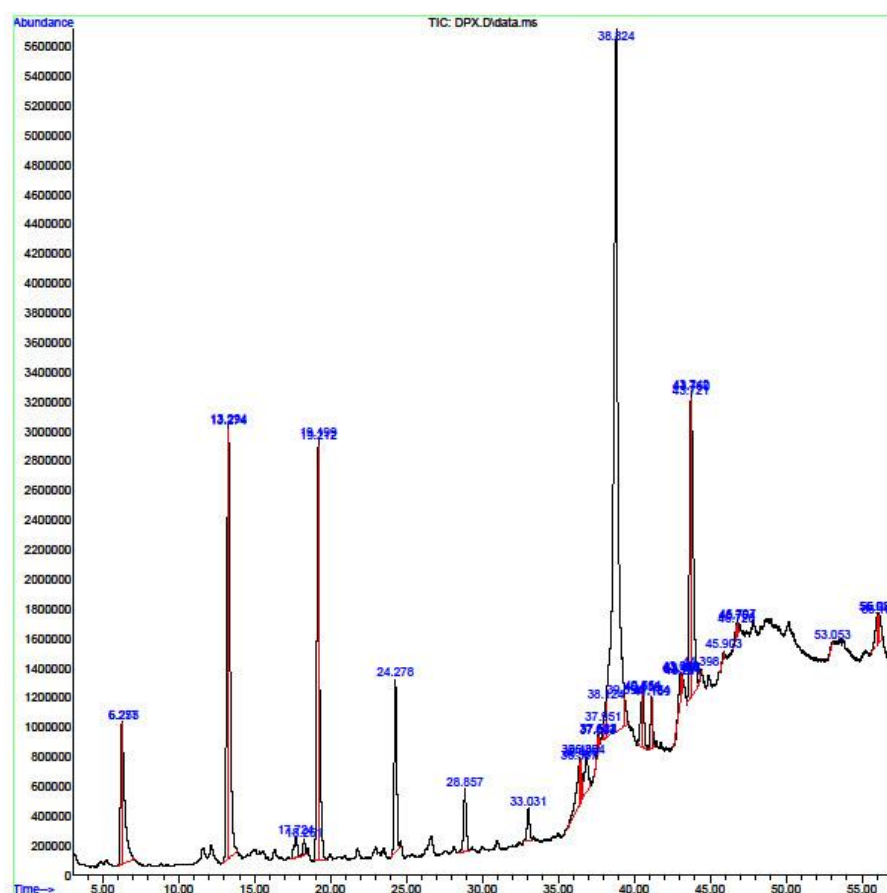
۲-۱. مواد شیمیایی

تمامی مواد شیمیایی و حلال های مورد استفاده با درصد خلوص بالا؛ BHT، سولفات سدیم انیدرید، کلرفرم، سولفوریک اسید، اتیل استات، بوتیل تولوئن از شرکت مرک (آلمان) و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) از شرکت سیگما آلدردیج تهیه شدند.

۲-۲. جمع آوری، استخراج و تجزیه اسانس

گیاه معرفی شده پس از جمع آوری از اطراف شهرستان زابل و خشک کردن به روش مناسب، توسط دستگاه ساکسوله اسانس گیری شد و برای کاهش درصد خطا، استخراج اسانس را سه بار تکرار نمودیم اسانس مورد نظر جمع آوری و توسط سولفات سدیم انیدرید آبیگری شد و تا زمان انجام آنالیز در ظرف در بسته در یخچال نگهداری شد.

اسانس بدست آمده توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS^۱) تجزیه شد. دستگاه کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent ۸۶۹۰ با ستون به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سانتیگراد و به مدت ۵ دقیقه در این دما نگهداری شد و گرادیان دمایی ۵ درجه سانتیگراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتیگراد و تا ۵ دقیقه توقف در این دما. و از گاز هلیوم بعنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد. طیف سنج جرمی مدل Agilent ۵۹۷۳ با ولتاژ ۷۰ الکترون ولت، انرژی یونیزاسیون بود. سپس با استفاده از محاسبه ضرایب بازداری هریک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها (طیف ۱) و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شناسایی شد (جدول ۱).



طیف ۱. کروماتوگرام ترکیبات اسانس استخراج شده از دانه سویا (*Glycin max*) رقم *Zane*.

¹ Gas chromatography–mass spectrometry

جدول ۱. درصد وزنی و اندیس کواتس^۲ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس دانه سویا (*Glycin max*) رقم Zane.

Peak Number	Chemical composition	%Area	KI
1	α -pinene	1.13	930
2	Decane	1.34	999
3	Cineole (1,4)	11.89	1013
4	Linalyl acetate	6.85	1257
5	Carvone oxide <trans->	7.79	1277
6	β -Cyclocitral	8.31	1280
7	Menthyl acetate	0.03	1294
8	Ethyl decanoate	0.05	1389
9	Jasmone	2.05	1392
10	oleic acid	31.74	1400
11	linolenic acid	16.27	1412
12	α -Ionone	0.62	1421
13	Thujopsene <cis->	5.02	1426
14	β -Ionone	2.65	1483
15	α -Farnesene	0.28	1506
16	Methyl hexadecanoate	1.82	1927
17	Eicosane	0.64	2740
	total	98.48	

۲-۳. تعیین قدرت اسانس در به دام انداختن رادیکال آزاد DPPH

برای تعیین قدرت اسانس در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH، از نمونه‌ها به مقدار ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برداشته به ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ میلی مولار رادیکال آزاد DPPH در کلروفرم افزوده شد جذب محلول بعد از ۵۰ دقیقه، در طول موج ۵۱۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد یک نمونه کلروفرم و ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH به‌عنوان شاهد استفاده شد در این آزمایش از هیدروکسی بوتیل تولوئن به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH توسط اسانس که معیاری از میزان فعالیت آنتی رادیکالی اسانس است، مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times \text{میزان جذب کنترل} / (\text{میزان جذب کنترل} - \text{میزان جذب نمونه}) = \text{درصد به دام انداختن}$$

² Kovat index

جدول ۲. مقایسه درصد بازدارندگی اسانس سویا zane در سه غلظت مختلف و در طول موج ۵۱۷ نانومتر.

	0.1 mg/ml	0.2 mg/ml	0.3 mg/ml
Soybean essential oil (zane)	27.00	35.58	48.53
BHT	94.65	94.71	94.83

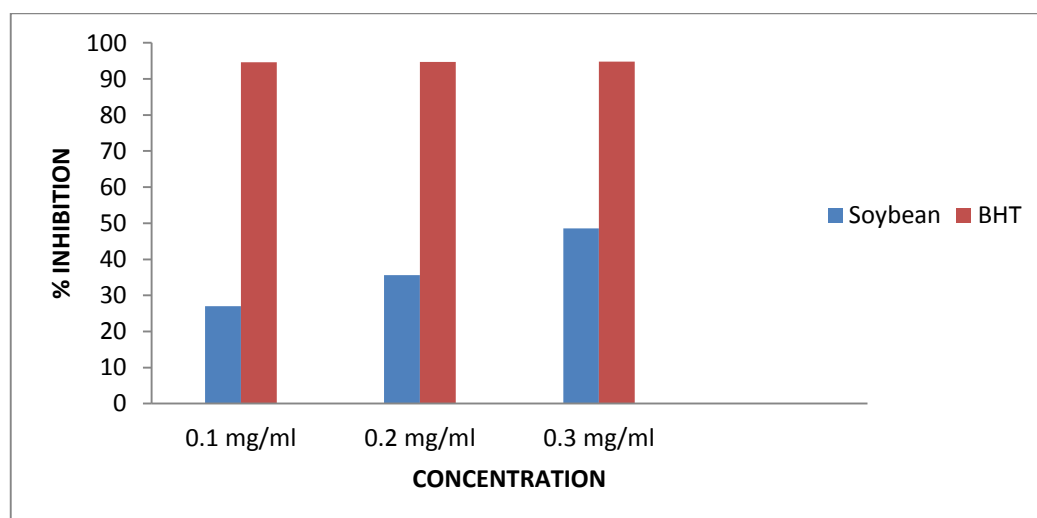
۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱. بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس

بر اساس آنالیز GC/MS، ۱۷ ترکیب در مجموع ۹۸/۴۸ درصد در اسانس Glycin max شناسایی شد. ترکیبات عمده آن عبارتند از: اولئیک اسید، لینولیک اسید، سینئول و بتا سیکلوسیترال که چهار ترکیب فوق بیشترین ترکیب اسانس را تشکیل می دهند و ترکیب اولئیک اسید با مقدار ۳۱/۷۴ بیشترین درصد اسانس و ترکیب متیل استات با مقدار ۰/۰۳ کمترین میزان اسانس را شامل می شود.

۳-۲. بررسی نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی

در سیستم DPPH، آنتی اکسیدانها با رادیکال پایدار DPPH واکنش داده و آن را کم رنگ یا بی رنگ می نمایند میزان کاهش رنگ با قدرت آنتی اکسیدانی نمونه رابطه مستقیم دارد. آنتی اکسیدانهایی نظیر سیستین، گلوکاتینون، آسکوربیک اسید، توکوفرول، ترکیبات آروماتیک پلی هیدروکسی (مثل هیدروکینون، پروگالول و غیره) با دادن هیدروژن و یا الکترون به رادیکال DPPH، آن را احیا نموده باعث کم رنگ شدن و یا حتی بی رنگ شدن آن می شوند با افزایش غلظت ترکیبات فنلی یا درجه هیدروکسیلاسیون ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی اسانس یا عصاره افزایش پیدا می کند. در این روش برای مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس روغنی با نمونه صنعتی از بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده شد. نمودار ۱ به مقایسه درصد بازدارندگی اسانس دانه سویا و BHT در هر یک از مقدار ۰/۱ و ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم بر میلی لیتر پرداخته شده است.



نمودار ۱. مقایسه درصد بازدارندگی اسانس دانه سویا و BHT در سه غلظت متفاوت نتایج نشان داد که در درصد بازدارندگی اسانس روغنی با افزایش غلظت افزایش می یابد.

۴. مراجع

- [1] F. Ahmadi, M. Kadivar and M. Shahedi, *Food Chem.*, 105 (2007) 57.
- [2] O.R. Fennema, *Food Chemistry.*, Marcel Dekkert, NewYork: U.S.A., 158 (1996).
- [3] S. Shobana and K.A. Nidu, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 62 (2000) 107.
- [4] N. Erkan, G. Ayranci and Ayranci, E. *Food Chem.*, 110 (2008) 76.
- [5] J.M. Hamilton-Reeves, G. Vazquez, S.J. Duval, W.R. Phipps, M.S. Kurzer and M.J. Messina, *Fertil. Steril.*, 94 (2010) 997.
- [6] C.L. Heald, M.R. Ritchie, C. Bolton-Smith, M.S. Morton and F.E. Alexander, *Br. J. Nutr.*, 98 (2007) 388.
- [7] L. Yan and E.L. Spitznagel, *J. Clin. Nutr.*, 89 (2009) 1155.