Archive of SID

journal homepage: www.jhd.iaushk.ac.ir

بررسی اسیدهای چرب غیر اشباع در دانه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

غلامرضا بخشی خانیکی[*1]

۱. استاد گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند (bakhshi@pnu.ac.ir)

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۱۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۲/۱۰

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: شیمی گیاهی – صنایع غذایی

کلید واژگان:

- ✓ *اسیدهای چرب*
- ✓ *بذر*
- ✓ *روغن*
- ✓ *Ocimum basilicum L.*

چکیده

مقدمه و هدف: دانه‌های ریحان (*Ocimum basilicum* L.) منبعی غنی از اسیدهای چرب غیراشباع بوده و مقدار زیادی موسیلاژ نیز تولید می‌کنند. این مطالعه به منظور مقایسه میزان و نوع اسیدهای چرب غیراشباع موجود در ریحان متعلق به ده جمعیت مختلف به مرحله‌ی اجرا درآمد.

روش تحقیق: بذرهای جمع‌آوری شده از این گیاه در شرایط گل‌خانه در سه تکرار کشت شدند و در نهایت روغن بذرهای جمع آوری شده و بذرهای به دست آمده از گیاهان کشت شده به طور جداگانه استخراج و تبدیل به متیل استر گردیدند، سپس ترکیب‌های اسید چرب روغن بذرها توسط کروماتوگرافی گازی تعیین شدند.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که بالاترین میزان روغن کل در بین تمام جمعیت‌های محلی و آزمایشگاهی در جمعیت آزمایشگاهی اردبیل (۲۸/ ۹۸ درصد وزنی) و کمترین میزان آن (۱۷/ ۲۵ درصد وزنی) در جمعیت محلی آذربایجان غربی ۲ مشاهده گردید. هم‌چنین بالاترین میزان اسید پالمتیک (۳۴/ ۸۱ مول درصد) در جمعیت آزمایشگاهی کرمانشاه و کمترین میزان آن (۲/ ۰۵ مول درصد) در جمعیت آزمایشگاهی کرمان مشاهده شد. از طرفی بالاترین مقدار اسید استئاریک (۷/ ۵۶ مول درصد) در جمعیت آزمایشگاهی اهواز و کمترین آن (۱/ ۴۲ مول درصد) در جمعیت وحشی اردبیل مشاهده شد و بالاترین میزان اسید اولئیک (۲۲/ ۸۱ مول درصد) در جمعیت آزمایشگاهی قم و کمترین آن (۱۱/ ۱۰ مول درصد) در جمعیت محلی آذربایجان غربی ۲ مشاهده گردید. بالاترین میزان اسید لینولئیک (۲۵/۶۰ مول در صد) در جمعیت آزمایشگاهی آذربایجان غربی ۱ و کمترین آن (۱۵/۵۵ مول درصد) در جمعیت آزمایشگاهی کرمانشاه مشاهده شد. بالاترین میزان اسید لینولنیک (۵۳/۸۹ مول درصد) در جمعیت محلی آذربایجان غربی۱ و کمترین آن ۲۸/۰۸ مول درصد در جمعیت آزمایشگاهی کرمانشاه مشاهده شد. به طورکلی چنین به نظر می‌رسد که بذر جمعیت‌های مختلف ریحان دارای مقدار زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع و مقدار کمی از اسیدهای چرب اشباع هستند.

توصیه کاربردی/ صنعتی: بذر جمعیت‌های محلی ریحان متعلق به نواحی شمالی‌تر ایران با آب و هوای معتدل دارای مقادیر بیشتری اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر مانند اسید اولئیک و اسید لینولئیک می‌باشد که این اسیدهای چرب دارای کاربردهای دارویی، صنعتی، بهداشتی و آرایشی فراوانی هستند. بنابراین انتخاب جمعیت‌های محلی شمال کشور با هدف تولید اسید چرب غیراشباع توصیه می‌شود.

۱. مقدمه

از روزگاران قدیم ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به عنوان یک گیاه دارویی به طور وسیع در خاور دور به ویژه در چین و هند استفاده می‌شده است. ریحان از خانواده نعناعیان(Lamiaceae) با عدد کروموزومی ۲n =۴۸، گیاهی یک‌ساله علفی ایستاده، تقریباً بدون کرک، معطر و به ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر می‌باشد. این گیاه حالت تب‌بر، ضد انگل و اشتهاآور داشته و برای معالجه برخی ناراحتی‌های قلبی و درمان آفتِ دهان به کار می‌رود (Agnihotr & Kaushik 1999; Bentham 1848.) دانه‌ی این گیاه آرام بخش، مقوی، محرک تمایلات جنسی و مُدر است. از قدیم گیاه ریحان به عنوان افزایش دهنده شیر مادران مورد استفاده قرار می‌گرفته است. لعاب دانه‌ی این گیاه در درمان سرفه آنژین ورم و التهاب کلیه و مجاری ادراری به کار می‌رود. پیکر رویشی ریحان حاوی اسانس است که به عنوان ماده‌ی معطر و طعم‌دهنده در فرآورده‌های غذایی صنعتی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد.سازمان بین المللی استاندارد در سال ۱۹۹۷ چربی‌ها و روغن‌های حیوانی را به وسیله کروماتوگرافی گازی متیل استرهای اسیدهای چرب تجزیه کرد (Fleischer, 1981). امروزه برآورد و تشخیص اسیدهای چرب به وسیله روش‌های کروماتوگرافی صورت می‌گیرد، برای این منظور اسیدهای چرب را به وسیله عمل هیدرولیز از ترکیب لیپیدی جدا کرده، سپس آن را به صورت متیل

www.SID.ir

Archive of SID

استر درآورده، با عبور دادن گازی بی‌اثر مثل نیتروژن و حرارت دادن تدریجی ستون استرهای متیله اسیدهای چرب که به صورت بخار درآمده یکی بعد از دیگری از ستون خارج می‌شوند و با سرعت متناسب ضریب انتشار آن‌ها در بین فاز گازی و فاز مایع خارج می‌شود (Chales & Simon, 1990).هدف از این مطالعه، تعیین و بررسی تفاوت پروفیل انواع اسیدهای چرب در تعدادی از جمعیت‌های گیاه ریحان در ایران می‌باشد که نتایج حاصل از آن می‌تواند در کموتاکسونومی جنس نیز کمک زیادی نماید.

۲. مواد و روش‌ها

بذر ژنوتیپ‌های مختلف ریحان(*Ocimum basilicum* L.) از شهرهای مختلف ایران (خوزستان، مازندران، تهران، کرمان، اردبیل، کرمانشاه، شیراز، قم، یزد و آذربایجان غربی) جمع‌آوری شدند. بذور توده‌های جمع‌آوری شده در ۳۳ گلدان با حجم یکسان (۳ تکرار از هر جمعیت) کشت شدند. ابتدا در ته هر یک از گلدان‌ها مقداری شن درشت، جهت داشتن تهویه‌ی مناسب ریخته شد و بعد دو قسمت خاک مزرعه، یک قسمت ماسه، یک قسمت کود دامی و خاک‌برگ با هم مخلوط و ترکیب سبکی برای خاک گلدان‌ها تهیه گردید. بذور با فاصله و عمق مناسب کشت و توسط ماسه بادی پوشانده شدند. گلدان‌ها در گل‌خانه تحت شرایط یکسان نوری، دمایی و رطوبتی نگهداری شدند. مطالعه ترکیبات اسیدهای چرب و سایر بررسی‌های مورفولوژیک دانه‌های جمعیت‌های یاد شده در دو بخش صورت گرفتند.

۱- مطالعه بذرهای جمع آوری شده از مناطق طبیعی.

۲- مطالعه بذرهای حاصل از گیاهان کشت شده در گل‌خانه.

ابتدا برای همین منظور بذور را به صورت پودر درآورده و سپس از هر نمونه میزان مشخصی توزین شد و بر روی هر نمونه، ۱۰ میلی‌لیتر اتر اضافه گردید. سپس درب ظروف شیشه ای محتوی نمونه ها را محکم بسته و به مدت ۱۲ ساعت در داخل انکوباتور ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از این مدت اتر حاوی چربی محلول را به ظرف دیگری منتقل کرده و دوباره این عمل تکرار گردید تا ۱۲ ساعت بعد تمام چربی استخراج شود. برای اندازه‌گیری چربی تمام نمونه‌ها ۵ دقیقه در سانتریوفوژ با ۲۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. پس از تبخیر اتر و رسوب چربی میزان چربی هر نمونه محاسبه گردید. برای تعیین پروفیل اسیدهای چرب باید اسیدهای چرب از تری اسیل گلیسرول‌ها و سایر ملکول‌ها جدا شده و متیله شوند (Fulton, 2001; Grayer *et al*., 1996; Hasegawa, 1997; Herbert, 1989). بدین منظور بر روی چربی‌های استخراج شده که در ظروف درب دار نگهداری شده بودند یک میلی لیتر هپتانرمال و ۰/۵ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی و نرمال ۱/۱۲ گرم KOH را در ۱۰میلی‌لیتر متانول حل کرده و به مدت ۱۵ دقیقه آن را به شدت هم زده تا گلیسرول از اسیدهای چرب جدا و رسوب نماید و اسیدهای چرب متیله شوند. برای تجزیه اسیدهای چرب از دستگاه GC - Danny مدل GC-1000 استفاده گردید(Chavan & Nikam, 1982; Chogo & Grank, 1981) .

آشکار ساز این دستگاه از نوع یونیزاسیون شعله‌ای بود که شعله‌ی آن از سوختن گاز هیدروژن با اکسیژن تأمین می‌گردد و از گاز نیتروژن به عنوان گاز حامل استفاده می‌شود. ستون مورد استفاده در این دستگاه ec-1000 با ماهیت قطبی بود و با تزریق از متیل استر اسیدهای چرب به میزان ۰/۲ میکرولیتر به دستگاه مناسب‌ترین شرایط کار برای تفکیک اسیدهای چرب نمونه‌ها مشخص شد. برنامه‌ی دمایی ستون دمای دریچه‌ی تزریق ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز (f/d) ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و فشار گاز حامل N_2 یک بار، فشار گاز هیدروژن ۰/۶ بار و هوا یک بار استفاده شد. بعد با تزریق مخلوط مناسبی از اسیدهای چرب استاندارد تحت همان شرایط و تهیه کروماتوگرام استاندارد نوع و میزان اسیدهای چرب تک تک نمونه ها تعیین و شناسایی شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از این آزمایش از نظر روغن کل، بین بذور مناطق مختلف و نمونه‌های کشت شده در گل‌خانه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. در سایر ایستگاه‌ها از نظر مقدار روغن کل، نمونه‌های محلی با نمونه‌ی آزمایشگاهی همان ایستگاه اختلاف معنی‌دار نشان داد. نمونه‌ی محلی آذربایجان غربی۲ نیز با تمام نمونه‌های محلی و آزمایشگاهی تمام ایستگاه‌ها به‌جز نمونه‌ی محلی اهواز دارای اختلاف معنی‌دار بود. پنج نوع اسید چرب عمده شامل اسید پالمتیک(C16:0)، اسید استئاریک (C18:0)، اسید اولیک (C18:1)، اسید لینولئیک (C18:2W-6) و لینولنیک (C18:3W-3) در نمونه‌ی روغن بذر گیاهان مورد بررسی مشخص گردید و میزان آن تعیین شد.

- *اسید پالمتیک*: بر اساس این ویژگی نمونه آزمایشگاهی کرمان با تمام نمونه ها اختلاف معنی‌دار نشان داد و نمونه آزمایشگاهی کرمانشاه نیز با تمام نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت. به جز نمونه آزمایشگاهی قم که بین توده جمع آوری شده و کشت شده اختلاف معنی‌دار نداشت در بقیه موارد نمونه‌های محلی هر ایستگاه با نمونه آزمایشگاهی همان ایستگاه اختلاف معنی‌دار داشتند (شکل ۱).

- اسید استئاریک: بر اساس این ویژگی نمونه محلی اردبیل با نمونه‌های آزمایشگاهی اهواز اختلاف معنی‌دار نشان داد (شکل۲).

-*اسید اولئیک*: بر اساس این ویژگی ، نمونه‌های محلی و آزمایشگاهی کرمانشاه با هم اختلاف معنی‌دار نشان ندادند، ولی در بقیه موارد

www.SID.ir

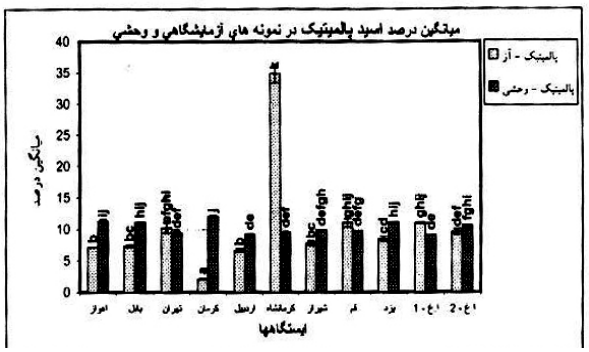
Archive of SID

اختلاف بین میزان اسید اولئیک بذور محلی و بذور حاصل از کشت هر ایستگاه معنی‌دار بودند. نمونه قم که با تمام نمونه‌های محلی و آزمایشگاهی اختلاف معنی‌دار داشت (شکل ۳).

- *اسید لینولئیک*: بر اساس این ویژگی، نمونه‌های محلی بابل، تهران (شهر ری)، کرمان، قم و یزد با نمونه‌های آزمایشگاهی خود اختلاف معنی‌داری نداشته، در حالی‌که نمونه‌های محلی سایر مناطق با نمونه‌های آزمایشگاهی همان منطقه اختلاف معنی‌دار داشتند و نیز نمونه‌های آزمایشگاهی کرمانشاه با تمام نمونه‌ها، اختلاف معنی‌دار نشان دادند (شکل ۴).

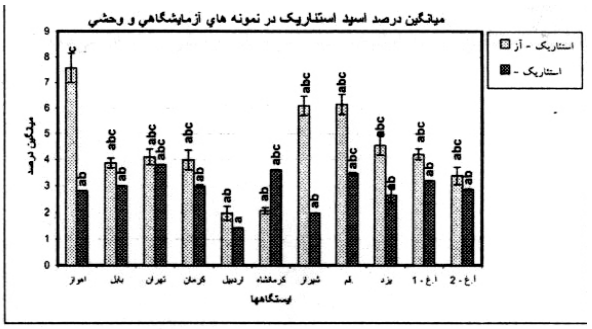
- *اسید لینولنیک*: بر اساس این ویژگی، نمونه‌های محلی بابل با نمونه‌ی آزمایشگاهی آن اختلاف معنی‌دار نداشت ولی نمونه‌های محلی سایر ایستگاه‌ها با نمونه‌های آزمایشگاهی همان ایستگاه اختلاف معنی‌دار داشتند. از نظر میزان اسید لینولنیک، بذور محلی آذربایجان غربی۱ و نمونه‌های آزمایشگاهی کرمانشاه، آذربایجان غربی ۲ و قم با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری نشان دادند (شکل۵).میزان روغن کل، درسایر گونه‌های مختلف ریحان نیز گزارش شده است که تعدادی از آنها گزارش می شود. در گونه *O. basilicum* در حدود ۲۴ درصد (Loliger, 1991) درگونه *O. pilosum* معادل ۱۷ درصد Mazotti (*et al*.,1996) در گونه *O. sanctum* ۱۸درصد (Nterubanza *et al*., 1984) در گونه *O. viride* ۱۰ درصد (Osawa 1994; Simon *et al*., 1999 *et al*., 1990).

لذا با توجه به اهمیت اسیدهای چرب در کاهش بیماری‌های قلبی، پیش‌گیری از سرطان و نقش مهم آن‌ها در بارداری، شیردهی و استحکام مویرگ‌های خونی، باید در برنامه غذایی انسان جایگاه مناسبی داشته باشند (Velioglu *et al*., 1998; Vieira, 1999; Zgorka & Glowniak , 2001).

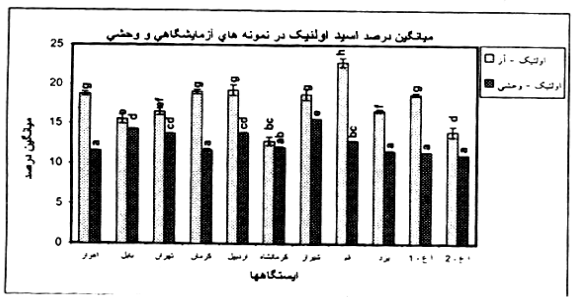


شکل ۱. مقایسه میانگین درصد اسید پالمیتیک

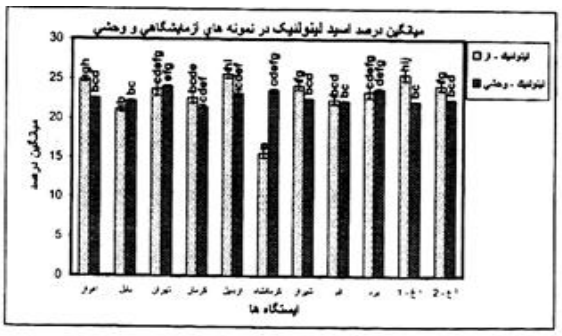
بر اساس مطالعات انجام شده قبلی نیز میزان اسید چرب استئاریک درگونه‌های مختلف جنس ریحان چنین گزارش شده است. در گونه *O. basilicum* میزان ۵/۴۵ مول درصد (Bentham, 1848)، در گونه *O. album* ۲/۳۳ مول درصد (Bentham, 1848)، درگونه *O. canum* ۰/۲ مول درصد (Simon *et al*.,1990)، گونه *O. pilosum* ۶/۴ مول درصد (Simon *et al*., 1999)، گونه *O. sanctum* ۲/۱ مول درصد، گونه *O. viride* ۲/۷ مول درصد و هم‌چنین درکموتایپ‌های مختلف *O. basilicum* نیز به این ترتیب گزارش شده است. کموتایپ سیترال ۲/۲ مول درصد، کموتایپ لینالول ۲ مول درصد، کموتایپ کاویکول ۲/۸ درصد و کموتایپ متیل سینامات ۲/۴ درصد (Marotti *et al*., 1996).



شکل ۲. مقایسه میانگین درصد اسید استئاریک



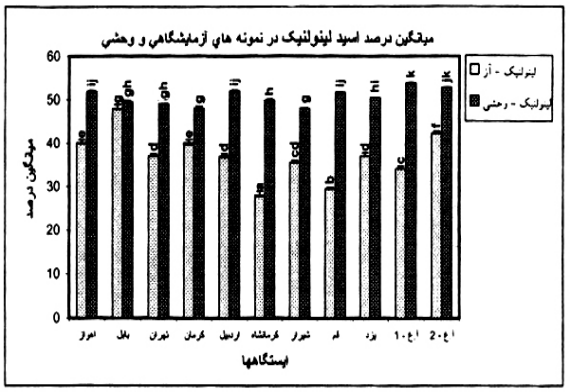
شکل ۳. مقایسه میانگین درصد اسید اولئیک



شکل ۴. مقایسه میانگین درصد اسید لینولئیک

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵. مقایسه میانگین درصد اسید لینولنیک

۴. نتیجه گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، نمونه‌های متعلق به نواحی شمالی‌تر ایران و نواحی دارای آب و هوای معتدل دارای مقدار بیشتری از اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر اسید اولئیک، لینولئیک و لینولنیک بودند. در حالی که اسیدهای پالمتیک و استئاریک در نمونه‌های متعلق به نواحی گرمسیر ایران بیشتر بودند. نوع خاک، فصل کشت و شرایط محیطی محل رویش بر روی تعداد و کیفیت دانه‌های تولید شده از نظر ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی تأثیر می‌گذارد. دانه و روغن می‌تواند با انتخاب مناسب و شرایط محیطی ایده آل به مقدار قابل توجهی افزایش یابد (Downey, 1990). محتوی بالای اسید لینولنیک که در *O. basilicum* و *O. canum* یافت می‌شود، می‌تواند در نقاشی، ساختن لعاب و صنایع جوهرسازی کاربرد داشته باشد و وقتی محتوی لینولنیک اسید پایین باشد مثل *O.ratissimum* و *O. sanctum* و برخی جمعیت‌های *O basilicum* می‌تواند در صنایع غذایی کاربرد فراوانی داشته باشند (Fleischer, 1981; Fulton, 2001). از آنجایی‌که میزان اسیدهای چرب مختلف، در جمعیت‌های گوناگون ریحان، تحت تأثیر عوامل اقلیمی تغییر می‌یابد، لذا بررسی و تعیین شرایط و عواملی که باعث افزایش و کاهش هر یک از این اسیدهای چرب گشته و در نهایت منجر به تولید ریحان‌هایی با کیفیت مطلوب می‌شود، لازم و ضروری است. ازسوی دیگر ریحان به عنوان گیاهی که باعث جلب حشرات خاص می‌شود، به عنوان گیاهی دگر گرده افشان توانسته زیر گونه‌ها، واریته‌ها و جمعیت‌های متعددی را پدید آورد که می‌تواند مورد توجه محققین در زمینه‌های مختلف علمی و دارویی قرار گیرد.

۵. منابع

Agnihotr, A. & Kaushik, N. 1999.Transfer of double low characteristics in early maturing *Brassica napus* L. *Journal of Oil Seed Research*, 16 (2): 227 – 229 .

Bentham, G. 1848. Labiatae in prodomus systematic naturalis regni vegetabilis pars XII, Treuttel and wurtz , Paris , PP: 24 - 608.

Charles, D. J. & Simon, J. E. 1990. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal Horticulture Science*, 115(3): 458 - 462.

Chavan, S. R. & Nikam, S. T. 1982. Mosquito larvicidal activity of *Ocimum basilicum* Linn. *Journal of Medical Research*, 75: 220 - 222.

Chogo, J. B. & Crank, G. 1981. Chemical Composition and Biological activity of the Tanzanian plant *Ocimum suave* L. *Journal of Nature of Production*, 44(3): 308 - 311.

Downey, R. K. 1990. A quality brassica oil seed In: Janick J. and Simon J. E. (Eds), Advances in new crops, Timber Press, Portland OR., P: 340.

Fleischer, A. 1981. Essential oils from two varieties of *Ocimum basilicum* L. grown in Israel. *Journal of Science Food Agriculture*, 32: 1119 - 1122.

Fulton, P. 2001. Medicinal culinary and aromatic crops. *Available on http://www.agric.gor. Ab.Ca / Crops/Special / basil.HTML.*

Grayer, R. J., Kite, G. C., Goldstone, F. G., Bryan, S. E., Paton, A. & Putievsky, E. 1996. Intra specific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 43: 1033 - 1039.

Hasegawa, Y., Tajima, K., Toi, N. & Sugimura, Y. 1997. Characteristic component found in essential oil of *Ocimum basilicum* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 12: 195 - 200.

Herbert, R. B. 1989. Shikmic acid pathway in the secondary metabolites Chapman and Hall, New York, PP: 96 - 110.

Loliger, J. 1991. The use of antioxidants in Food, In O. I. Aruoma, B. Hall: Well (Eds.) Free radicals and Food additives, London: Taylor and Francis, PP: 129 - 150.

Marotti, M., Piccaglia, R. & Giovanell, E. 1996. Difference in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.), Italian cultivars related to morphological characteristics. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 44: 3926 - 3929.

Ntezurubanza, L., Scheffer, J. J. C., Looman, A. & Baerhiem, A. 1984. Composition of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum*

www.SID.ir

Archive of SID

grown in Rowanda. *Planta Medica*, 13: 385 - 388.

Osawa, T. 1994. Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In I. Uritani , V. V. Garcia , & E. M. Mendosa (Eds.),Postharvest biochemistry of plant food materials in the tropics, Tokyo , Japan : Japan Scientific Societies Press, PP: 241 - 251.

Simon, J. E., Quinn, J. & Murray, R. G. 1990. A source of essential oils, In: J. Janick and J. E. Simon (eds.), Advance in new crops, Timber Press, Portland, OR., PP: 484 - 489.

Simon, J. E., Morales, M. R., Phippen, W. B., Viera, R. F. & Hao, Z. 1999. A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb, In J. Janick (Ed.), Perspectives on new crops and new use, Alexandria, VA: ASHS Press.

Velioglu, Y. S., Massa, G., Gao, L., & Oomah, B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetable and grain products. *Journal of Agricultural Food & Chemistry*, 46: 4113 - 4117.

Vieira, R. F. 1999. Genetic diversity and inheritance of volatile oil constituents in basil (*Ocimum* spp.), Ph.D. Thesis, Purdue University, West Lafayette I. N., USA.

Zgorka, G. & Glowniak, K. 2001. Variation of free phenolic acid in medicinal plants belonging to the lamiaceae family. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26: 79 - 87.

www.SID.ir