مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی
۳:۷ (۱۳۹۲) ۳۰-۲۵
Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)

ترکیبات شیمیایی روغن سبوس و شلتوک برنج طارم (Oryza Sativa L) شمال ایران با تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی(GC/MS).

محمدباقر پاشازانوسی*[۱]، محمد علی خلیل زاده[۲]، سید مومن حجازی[۱]، سعیده سلیمانپور[۱]
[۱]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، گروه شیمی، چالوس، ایران
[۲]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، گروه شیمی، قائمشهر، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۲/۲/۲۷، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۲/۳/۷، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۲/۳/۱۵

چکیده

در این تحقیق پوسته داخلی(سبوس) و پوسته خارجی (شلتوک) برنج طارم (Oryza Sativa L) جمع آوری شده در تابستان سال ۱۳۹۲ از مزارع شهرستان نوشهر، پس از عملیات تبدیل در کارخانه شالیکوبی، جداسازی گردیده و توسط حلال هگزان نرمال روغن آنها استخراج شد. پس از جدا نمودن حلال باقی مانده و خشک کردن روغن ها، به منظور تعیین نوع اسیدهای چرب و اندازه آنها توسط طیف سنج کروماتوگرافی گازی (GC) وکروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی(GC/MS)، توسط حلال هپتان نرمال و محلول متانولی هیدروکسید پتاسیم عملیات متیلاسیون بر روی نمونه های روغن انجام شد. نتایج نشان داد که از ۱۳ ترکیب شناسایی شده در روغن سبوس برنج که ۹۷/۶۷ درصد کل ترکیبات را شامل شد، به ترتیب لینولئیک اسید (۷۰/۰۵ درصد)، پالمیتیک اسید (۱۹/۰۹ درصد)، اولئیک اسید (۳/۱۸ درصد)، استئاریک اسید (۱/۱۹درصد) و از ۱۴ترکیب شناسایی شده در شلتوک برنج که ۸۷/۷۳ درصد کل ترکیبات را شامل شد، به ترتیب لینولئیک اسید (۵۳/۴۷ درصد)، پالمیتیک اسید (۱۸/۴۱ درصد)، اولئیک اسید (۵/۷۶ درصد)و استئاریک اسید (۲/۰۸ درصد) به عنوان ترکیبات اصلی گیاه شناسایی شدند. نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در روغن ها حاکی از کیفیت این رقم برنج می باشد.

واژه های کلیدی: برنج طارم، روغن سبوس، روغن شلتوک، متیلاسیون، اسید های چرب، طیف سنج (GC/MS).

۱. مقدمه

غلات بیش از نیمی از پروتئین مورد نیاز مردم جهان را تامین می کند. برنج، گیاهی با ترکیبات غذایی متنوع نظیر کربوهیدرات، چربی، پروتئین، فیبر و مواد معدنی، دومین غله تولیدی در جهان بوده که در حال حاضر در بیش از ۱۰۰ کشور با شرایط اقلیمی متفاوت رشد نموده [۳] ، به طوریکه بیش از ۹۰ درصد برنج دنیا در آسیا

* **عهده دار مکاتبات:** محمدباقر پاشازانوسی
نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد چالوس، گروه شیمی، چالوس، ایران.
تلفن: ۰۱۹۱-۲۲۲۰۵۲۵ **پست الکترونیکی:** mpashazanousi@yahoo.com

تولید و مصرف می‌شود [۴]. از آنجائیکه بهره برداری از ضایعات کشاورزی و گیاهی به عنوان منبع توانمند آنتی اکسیدان های طبیعی مورد توجه بوده، لذا استفاده کامل از ضایعت مهم برنج (سبوس و شلتوک) حائز اهمیت می باشد. در یک سیستم آسیاب مدرن از شلتوک، ۶۷ درصد برنج آسیاب شده ، حدود ۱۰ درصد سبوس و بقیه پوسته خارجی یا شلتوک بوده ، که نشان می دهد که سبوس و شلتوک می توانند به عنوان یک منبع توانمند روغن باشند [۱۶]. سبوس، محصول جانبی برنج، ماده ای پودری و نرم بوده که شامل پوشش دانه، لایه آلورون و قسمتی از لایه زیرین آلورون می باشد [۵]. سبوس برنج ۳ تا ۸ درصد از دانه برنج را تشکیل داده، که حاوی حدود ۱۲تا ۱۵درصد پروتئین و منبع غنی از فیبر رژیمی می باشد [۶]. ترکیبات توکوفرولی توکوتری انولی مانند آلفا توکوفرول، بتا توکوفرول، گاما توکوفرول، آلفا توکوتری انول، گاما توکوتری انول و گاما اریازانول موجود در روغن سبوس برنج برای سلامتی انسان بسیار با اهمیت است [۸]. به طوریکه این ترکیبات دارای فعالیت آنتی اکسیدانتی بسیار بالا، حفاظت از رگ های خونی، تقویت دیواره سرخرگ ها، حفظ جریان خون در سرخرگ ها (کرونر، کاروتید و پری فال)، جلوگیری از بیماری های قلبی - عروقی و ایجاد سرطان می شوند [۱۳]. سبوس برنج علاوه بر املاح معدنی نظیر کلسیم، پتاسیم، منیزیم، روی، منگنز، فسفر و درصد بالایی آهن [۳] شامل انواع ویتامین ها به ویژه ویتامین های خانواده B نظیر ۷۸ درصد تیامین، ۴۷ درصد ریبوفلاوین و ۶۷ درصد نیاسین نیز می باشد [۸]. همچنین تحقیقات نشان می دهد که، روغن سبوس برنج، کلسترول مضر (LDL) را کاهش داده در حالیکه بر روی کلسترول مفید (HDL) تغییری ایجاد نمی کند [۱۱]. در تحقیق انجام شده بر روی اسیدهای چرب روغن سبوس برنج، نتایج نشان دهنده ۲۹ - ۴۵ درصد لینولئیک اسید (امگا ۶)، ۳ درصد آلفا لینولئنیک اسید (امگا ۳) و ۱۲ – ۲۲ درصد پالمیتیک اسید بوده است [۹]. در تحقیق مشابه مقادیر زیادی اسیدهای چرب از روغن سبوس برنج به دست آمد [۱۰]. همچنین در پژوهش انجام شده در کشور ژاپن، نتایج نشان داد که در روغن سبوس برنج ۸۶/۰ –۸۴/۹ درصد وزنی تری اسیل گلیسرول های، ۴/۶ –۴/۲ درصد وزنی اسیدهای چرب و ۶/۷ –۶/۵ درصد وزنی فسفولیپیدها موجود است [۱۲]. در تحقیق انجام شده بر روی اسید های چرب روغن سبوس ارقام مختلف برنج در کشور نیجریه، نتایج حاکی از ۵۲/۱ –۳۴/۸ درصد اولئیک اسید، ۲۷/۱ –۲۲/۱ درصد لینولئیک اسید، ۱۶/۲ –۱۴/۹ درصد پالمیتیک اسید و ۱/۹ درصد میرستیک اسید بوده است [۱۴]. همچنین آنالیز اسیدهای چرب اصلی موجود در روغن سبوس برنج در کشور هند وجود اسیدهای اصلی مانند پالمتیک، لینولئیک و اولئیک را نشان داد [۱۵]. لذا از آن جائی که ترکیبات شیمیایی و کیفیت غذایی برنج به طور قابل ملاحظه ای تحت تاثیر فاکتورهای ژنتیکی، اثرات محیطی و نوع کود قرار دارند، انتظار می رود که ارقام برنج مختلف از نظر ترکیب شیمیایی و نوع اسیدهای چرب موجود در آن متفاوت بوده، که این موضوع سبب گردید تا ضرورت انجام تحقیق حاضر با عنوان، اندازه گیری ترکیبات شیمیایی روغن سبوس و شلتوک برنج طارم (Oryza Sativa L) شمال ایران با تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی(GC/MS)، محسوس شده، تا بتوان آگاهی مصرف کنندگان در مورد ارزش بالای اجزا برنج را افزایش داد.

۲. مواد و روش تحقیق

۲-۱. جمع آوری نمونه ها

در این تحقیق، پوسته خارجی (شلتوک) و پوسته داخلی(سبوس) برنج طارم (Oryza Sativa L) جمع آوری شده در تابستان سال ۱۳۹۲ از مزارع شهرستان نوشهر، پس از عملیات تبدیل در یکی از کارخانه های شالیکوبی تهیه و در کیسه های پلاستیکی مقاوم به نفوذ رطوبت و هوا بسته بندی و تا انجام آزمایش ها در جای خنک نگهداری گردید.

۲-۲. آماده سازی نمونه ها

به منظور آماده سازی نمونه ها و انجام عملیات روغن گیری نمونه ها، از حلال هگزان نرمال استفاده گردید. برای این منظور شلتوک و سبوس به نسبت نمونه به حلال ۱ به ۳ (وزنی - حجمی) در دو مرتبه و هر بار به مدت ۴ ساعت مخلوط شده، تا عملیات روغن گیری انجام شد. شلتوک و سبوس برنج روغن گیری شده توسط کاغذ صافی، جدا شده و روغن ناخالص به مدت ۲۴ ساعت در زیر هود قرار داده شده تا حلال باقی مانده در نمونه ها جدا و جهت خشک شدن به مدت یک شبانه روز در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس به خاطر پایین آمدن دما و جلوگیری از اکسیده شدن به

مدت ۵ ساعت در یخچال نگهداری و در نهایت روغن حاصل به منظور آزمایشات بعدی در ظرف شیشه ای مخصوص وارد شد.

۲-۳. شناسایی و اندازه گیری اسیدهای چرب موجود در روغن نمونه ها

در میان تمام روش های کروماتوگرافی، تعیین و تشخیص اسیدهای چرب به وسیله ی کروماتوگرافی گازی، دقیق ترین نتایج را ارائه می دهد. کروماتوگرافی گازی یک روش فیزیکی می باشد که برای جداسازی، شناسایی و اندازه گیری اجزای فرار به کار می رود [۱]. آکسو از این روش برای اندازه گیری و تشخیص اسیدهای چرب موجود در روغن سه رقم کلزا استفاده کردند [۱۷]. در تحقیق حاضر نیز برای تفکیک و جداسازی اسیدهای چرب از استرهای متیلیک آنها که نقطه جوش پایین تری دارند، استفاده شد. به این منظور، جهت متیله کردن اسیدهای چرب موجود در روغن نمونه ها، ۰/۱ گرم از روغن مورد آزمایش توزین و به همراه ۳ میلی لیتر هپتان نرمال و ۰/۵ میلی لیتر محلول متانولی هیدروکسید پتاسیم ۲ نرمال در لوله آزمایش مخصوص مخلوط کرده و محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه توسط همزن برقی تکان داده شد. پس از گذشت این زمان، محتویات لوله آزمایش ۲ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده تا گلیسرول های موجود ته نشین شدند. فاز محلول، استرهای متیلی محلول در هپتان بوده که جهت تعیین نوع و مقدار اسیدهای چرب موجود در نمونه ها به دستگاه GC/MS تزریق گردید.

۲-٤ مشخصات دستگاههای مورد استفاده

۲-٤-۱. کروماتوگرافی گازی (GC)

از دستگاه کروماتوگراف گازی شیمادزو (Shimadzu) مدل GC-9A مجهز به دتکتور F.I.D (یونیزاسیون با شعله هیدروژن) و ستون DB-1، به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون استفاده گردید. برنامه ریزی حرارتی ستون از تا با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و از تا با سرعت ۱۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافته و از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

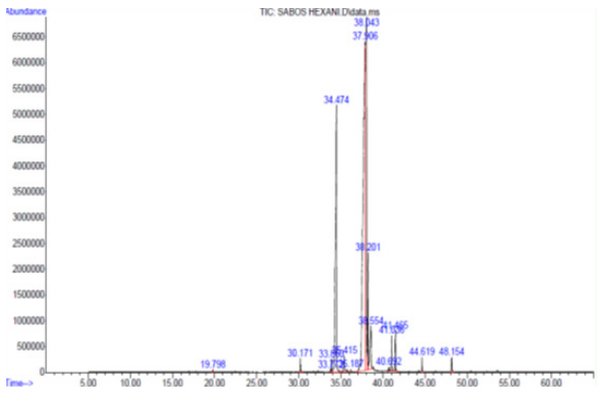
۲-٤-۲. کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS)

از کروماتوگراف گازی Thermo quest - finnigan مدل Trace متصل به طیف سنج جرمی مجهز به ستون DB-1 بطول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شبیه برنامه‌ریزی ستون در دستگاه GC بوده و از گاز هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بعنوان گاز حامل استفاده شد. زمان اسکن برابر یک ثانیه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بوده است.

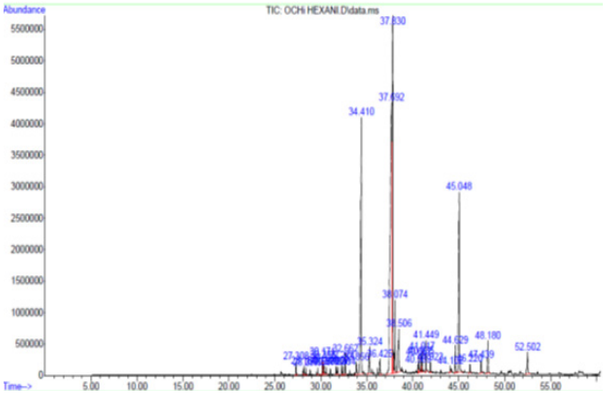
۳. نتایج و بحث

کروماتوگرام روغن های حاصل از عمل متیلاسیون بر روی ستون DB-1 در شکل های ۱و۲ نشان داده شده است. راندمان روغن های استخراج شده برای پوسته داخلی(سبوس) و پوسته خارجی (شلتوک) گیاه برنج Oryza Sativa L که در فصل تابستان ۱۳۹۲ از مزارع کشاورزی شهرستان نوشهر جمع آوری شده اند، به ترتیب ۱۵ درصد برای سبوس و ۱۰ درصد برای شلتوک گیاه به دست آمده است. ترکیب های شیمیایی و به خصوص اسیدهای چرب شناسایی شده در روغن نمونه ها، به همراه شاخص های بازداری کواتس و نیز درصد هر یک از ترکیبات در جدول۱ نشان داده شده است. بر اساس جدول۱، در روغن سبوس برنج، از ۱۳ ترکیب شناسایی شده که ۹۷/۶۷ درصد کل ترکیبات را شامل گردید، به ترتیب لینولئیک اسید (۷۰/۰۵ درصد)، پالمیتیک اسید (۱۹/۰۹ درصد)، اولئیک اسید (۳/۱۸ درصد) و استئاریک اسید (۱/۱۹درصد) به عنوان ترکیبات اصلی گیاه شناسایی شدند. این روغن شامل ۰/۷۳ درصد سزکوئی ترپن های هیدروکربنی و ۹۶/۹۴ درصد سزکوئی ترپن های اکسیژن دار بوده است. همچنین بر اساس جدول۱ و از ۱۴ترکیب شناسایی شده در روغن شلتوک برنج که ۸۷/۷۳ درصد کل ترکیبات را شامل گردیده، به ترتیب لینولئیک اسید (۵۳/۴۷ درصد)، پالمیتیک اسید (۱۸/۴۱ درصد)، اولئیک اسید (۵/۷۶ درصد) و استئاریک اسید (۲/۰۸ درصد) به عنوان ترکیبات اصلی گیاه شناسایی شدند. این روغن شامل ۱/۳۰ درصد سزکوئی ترپن های هیدروکربنی و ۸۶/۴۳ درصد سزکوئی ترپن های اکسیژن دار بوده است.

نتایج حاصل از آنالیز روغن نمونه ها نشان دهنده آن است که،



شکل ۱. کروماتوگرام روغن سبوس برنج طارم گونه Oryza Sativa L.

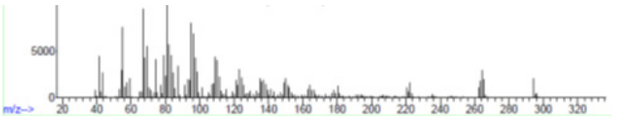


شکل ۲. کروماتوگرام روغن شلتوک برنج طارم گونه Oryza Sativa L.

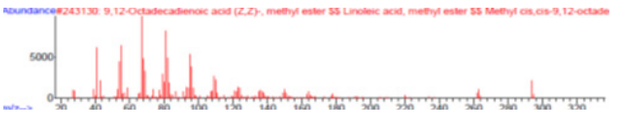
جدول ۱. اسیدهای چرب روغن برنج طارم (Oryza Sativa L) شمال ایران.

نام ترکیب	KI	شلتوک ٪	سبوس ٪
Tridecane	۱۳۰۰	-	۰/۰۵
Hexadecane	۱۶۰۰	۰/۳۸	-
Tetradecanoic acid	۱۷۲۴	۰/۴۶	۰/۴۳
Octadecane	۱۷۷۸	۰/۴۶	۰/۲۵
Luric acid	۱۷۸۶	۰/۶۱	۰/۰۶
Palmitoleic acid	۱۸۵۰	۰/۶۰	۰/۴۱
Palmitic acid	۱۹۲۲	۱۸/۴۱	۱۹/۰۹
Phthalic acid	۲۰۳۶	۰/۶۲	۰/۰۷
Linoleic acid	۲۰۹۶	۵۳/۴۷	۷۰/۰۵
Stearic acid	۲۱۲۵	۲/۰۸	۱/۱۹
Oleic acid	۲۱۵۹	۵/۷۶	۳/۱۸
Arachidic acid	۲۴۴۵	۱/۱۴	۰/۹۹
Behenic acid	۲۵۴۰	۰/۹۰	۰/۹۰
Tetracosanoic acid	۲۷۶۲	۱/۵۵	۰/۹۶
Nonacosane	۲۸۹۱	۱/۵۹	-
Total		۸۷/۷۳	۹۷/۶۷
Group components			
Sesquiterpene hydrocarbons		۱/۳۰	۰/۷۳
Oxygenated Sesquiterpenes		۸۶/۴۳	۹۶/۹۴

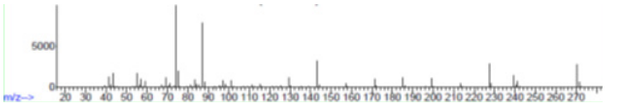
اسیدهای چرب به عنوان ترکیبات اصلی و عمده پوسته های داخلی و خارجی گیاه را تشکیل دادند. با توجه به این موضوع، لینولئیک اسید بالاترین درصد اسید چرب را در نمونه ها تشکیل داده است. به طوریکه میزان آن در سبوس (۷۰/۰۵ درصد) و در شلتوک (۵۳/۴۷ درصد) اندازه گیری شد. بعد از لینولئیک اسید، دو اسید چرب مهم دیگر به نام های پالمیتیک اسید و اولئیک اسید در نمونه ها بدست آمده، که میزان آن به ترتیب در روغن سبوس(۱۹/۰۹ و ۳/۱۸ درصد) و در شلتوک (۱۸/۴۱ و ۵/۷۶ درصد) اندازه گیری شد. شکل های ۳ تا ۸ ، طیف جرمی استاندارد و شناسایی شده سه اسید چرب مهم در برنج، که توسط طیف سنج جرمی به دست آمده است را نشان می دهد. بر اساس تحقیقات انجام شده توسط سایر محققین و تحقیق حاضر می توان این ترکیب ها را مهمترین ترکیبات گیاه دانسته، که نشان دهنده ی کیفیت این روغن ها از بعد تغذیه ای می باشد. درتحقیق انجام شده بر روی اسید های چرب روغن سبوس برنج در کشور کره جنوبی نتایج نشان داد که، اولئیک اسید ۴۱/۱۷ درصد، لینولئیک اسید۳۹/۷۳ درصد، پالمیتیک اسید ۱۴/۳۵ درصد، لینولنیک اسید ۱/۵۰ درصد و استئاریک اسید ۱/۲۷ درصد اصلیترین ترکیبات بوده اند [۱۸]. همچنین آنالیز ترکیبات اسیدهای چرب که



شکل۳. طیف جرمی استاندارد لینولئیک اسید.



شکل٤. طیف جرمی لینولئیک اسید شناسایی شده در برنج.

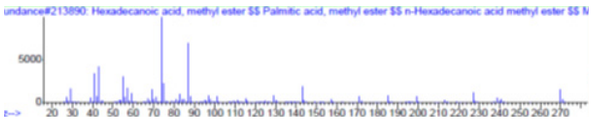


شکل۵. طیف جرمی استاندارد پالمیتیک اسید.

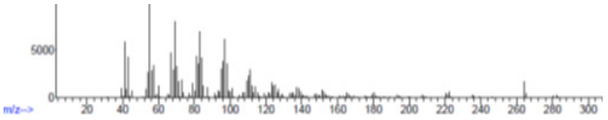
در جدول۱ آمده است، نشان دهنده وجود اسیدهای چرب اشباه و غیر اشباه در نمونه ها است. به طوریکه لینولئیک اسید، اولئیک اسید، پالمیتولئیک اسید و تتراکوزانوئیک اسید از اسیدهای چرب غیر اشباه و پالمیتیک اسید، فتالیک اسید، استئاریک اسید، بهنیک اسید، آراچیدیک اسید و تترادکانوئیک اسید از دسته ی اسیدهای چرب اشباه شناسایی شده می باشند. این نتایج نشان می دهد که کیفیت اسیدهای چرب غیر اشباه به ترتیب در سبوس و شلتوک (۷۴/۶۲ و ۶۱/۳۸ درصد) بوده، که بیشتر از اسیدهای چرب اشباه (۲۲/۶۷ و ۲۳/۶۱ درصد) است. همانطور که می دانیم، لینولئیک اسید از بعد تغذیه ای به عنوان مهمترین اسید چرب غیر اشباه بوده، که بدن قادر به سنتز آن نبوده، لذا بایستی از طریق جیره ی غذایی تامین گردد. از طرف دیگر، اولئیک اسید نیز یکی از اسید چرب غیر اشباه مهم است که علاوه بر اهمیتی که در تغذیه دارد، روغن حاوی آن مقاومت بالایی در برابر اکسیداسیون داشته و برای مصارف پخت و پز بسیار مناسب است [۲].

٤. نتیجه گیری

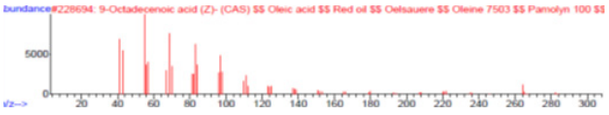
با توجه به نقش تغذیه ای پوسته خارجی (شلتوک) و پوسته داخلی (سبوس) برنج در رژیم انسان و همچنین به عنوان منبع توانمند آنتی اکسیدان های طبیعی، اهمیت استفاده از آنها به عنوان بخشی از ضایعات آسیاب برنج انکارناپذیر است. از طرف دیگر، با توجه به اینکه روغن حاصل از این محصولات جانبی به خصوص روغن



شکل٦. طیف جرمی پالمیتیک اسید شناسایی شده در برنج.



شکل۷. طیف جرمی استاندارد اولئیک اسید.



شکل۸. طیف جرمی اولئیک اسید شناسایی شده در برنج.

سبوس برنج حاوی مقادیر قابل توجهی پروتئین، کربوهیدرات، مواد معدنی، ویتامین های B و E و انواع اسیدهای چرب به ویژه اسیدهای چرب غیر اشباه مانند لینولئیک اسید و اولئیک اسید می باشد، بایستی از این محصول در جهت افزایش بهره وری این صنعت استفاده کرد.

۵. منابع

[۱] دسپتاک، آ. ۱۳۸۰ . تعیین قرابت و بررسی شیمیوتاکسونومی چند رقم کدو. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم ، دانشگاه ارومیه.

[۲] ناصری، ف. ۱۳۷۰. دانه های روغنی . انتشارات آستان قدس رضوی .

[3] J.G.N. Ammisah, W.O. Ellis, *Food Control.*, 14 (**2003**) 21.

[4] F.A.O. Rome, *Production Year book*. Vol 50., (**1997**).

[5] P. Hangmoungjai, D.L. Pyle, *Journal of the American Oil chemist society,* 78 (**2001**) 817.

[6] G.K. Chandi, and K.D. Sogi, *Journal of Food Engineering,* 79 (**2007**) 592.

[7] A.H. Azizah, and S.L. Yu, *Food Chemistry*, 68 (**2000**) 15.

[8] M.H. Chen, and C.J. Bergman, *Cereal Chemistry*, 82 (**2005**) 4.

[9] R.R. Eitenmiller, *Food Technol.* 51 (**1997**) 78.

[10] D.R. Lichenstein, *Arteriosclerosis and Thrombosis*, 14 (**1994**) 549.

[11] T.A. Wilson, R.J. Nicolosi, B. Woolfrey, *Nutr. Biochem.*, 18 (**2007**) 105.

[12] H. Yoshida, T. Tanigawa, I. Kuriyama, N. Yoshida and Y. Mizushina, *Brans. Nutrients*, 3 (**2011**) 505.

[13] R.M. Tomarelli and P. Gyorgi, *J. Biol. Chem.*, 25 (**1945**) 367.

[14] O.I. Oluremi, A. Olukayode Solomon and A. Abolanle Saheed, *Journal of Environmental Chemistry and*

Ecotoxicology., 5(3) (**2013**) 39.
[15] A. Farooq, T.G. Kazi, S. Rubina, M.I. Bhanger. *Grasasy Aceites, Fasc.,* 160 (55) (**2004**) 160.
[16] R.N. Adsule and S.S. Kadman, World Oil Seeds. Van Nostrate Reinhold, New York., (**1992**).
[17] N.M. Aksouh, B.C. Jacobs, F.L. Stoddart and R.J. Mailer., *Aust. J. Agric. Res.,* 52 (**2001**) 817.
[18] H.H. Young, S.J. Young and S. Hoi, *Agric. Chem. Biotechnol.,* 45(3) (**2002**) 121.