

اندازه‌گیری مقدار روغن، پروفیل اسیدهای چرب و فیتواسترول‌های چند اکوتیپ مختلف دانه روغنی ماریتیغال در شمال غرب کشور

بهرام فتحی آچاچلوئی^{۱*}، کاظم علیرضالو^۲، صدیف آزادمرد دمیرچی^۳

۱- استادیار علوم و صنایع غذایی- دانشکده علوم کشاورزی- دانشگاه محقق اردبیلی

۲- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی- دانشکده کشاورزی- دانشگاه تبریز

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی- دانشکده کشاورزی- دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۷)

چکیده

ماریتیغال با نام علمی *Silybum marianum* از خانواده کمپوزیته (Astraceae) گیاهی است یک‌ساله یا دوساله که در بسیاری از نقاط ایران رویش دارد و از مواد مؤثره میوه‌های رسیده این گیاه برای معالجه بیماری‌های کبدی (سیروز و مسمومیت‌های کبدی) و پیشگیری از سرطان کبد استفاده می‌شود. در این پژوهش، درصد روغن استخراج شده، پروفیل اسیدهای چرب و فیتواسترول‌های روغن سه اکوتیپ مختلف خروسلو، مغان (استان اردبیل) و قلعه بابک (استان آذربایجان شرقی) اندازه‌گیری شدند. مقدار روغن استخراج شده در این نمونه‌ها بین ۲۸-۲۹/۵ درصد بود. بیشترین میزان اسیدهای چرب موجود به ترتیب مربوط به اسید لینولئیک (۵۲-۴۹٪) و اسید اولئیک (۲۹-۲۵٪) و کمترین میزان اسید چرب، مربوط به اسید چرب لینولئیک بود که تقریباً در تمامی اکوتیپ‌های مورد مطالعه مقدار ناچیزی را به خود اختصاص می‌داد. همچنین ترکیبات استرولی نمونه‌های روغن از قبیل بتا- سیتو استرول، کامپسترول، کلسترول، استیگماسترول، کلرواسترول و دلتا ۷- استرول در تمام نمونه‌ها شناسایی و بوسیله گاز کروماتوگرافی اندازه‌گیری شد که بتا- سیتو استرول در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه بالاترین مقدار بود. نتایج نشان داد که بتا- سیتو استرول بیشترین مقدار را در بین استرول‌های اندازه‌گیری شده در روغن ماریتیغال اکوتیپ خروسلو (۳۴/۹٪ از کل استرول) داشت. بنابراین، استفاده از این دانه روغنی که دارای ارزش تغذیه‌ای زیادی می‌باشد، امری سودمند و مؤثر در تولید روغن خوراکی داخل کشور به شمار می‌رود.

کلید واژگان: اکوتیپ‌های مختلف ماریتیغال، مقدار روغن، اسیدهای چرب، فیتواسترول‌ها

* مسئول مکاتبات: bahram1356@yahoo.com

۱- مقدمه

گیاه ماریتیغال از تیره کاسنی با نام علمی *Silybum marianum* نام انگلیسی Milk Thistle و با نام‌های خار مریم، خار علیص خارسه، خرشجف، تیغ پنبه، شیشه مور و عکوب در فارسی و عربی شناخته می‌شود [۱]. ماریتیغال گیاهی است یکساله یا دوساله که در جلگه‌های هموار با آب و هوای گرم و در خاک‌های سبک شنی می‌روید. این گیاه در کشورهای اروپایی دارای آب و هوای مدیترانه‌ای، استرالیا و جنوب آمریکا می‌روید [۳،۴].

این گیاه در حاشیه مزارع، در مجاورت رودخانه‌ها و زمین‌هایی که عملیات خاک ورزی در آنها انجام گرفته، یافت می‌شود. کاربردهای اصلی دارویی و غذایی ماریتیغال و روغن حاصل از آن مربوط به درمان بیماری‌های کبدی [۵،۶]، کاهش میزان LDL-کلسترول [۶] و خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی [۴] می‌باشد. سیلی مارین جدا شده از دانه ماریتیغال یک داروی محافظ کبدی است که به طور وسیعی در درمان بیماری‌های مختلف کبدی (سیروز، هپاتیت ویروسی و سمی مزمن، کبد چرب و التهاب مجرای صفرا) استفاده می‌شود [۷]. ماریتیغال بیشتر بعنوان یک گیاه دارویی مطرح است، ولی استفاده‌های دیگری نیز برای آن مشخص شده است. به عنوان مثال، این گیاه قابلیت آنرا دارد که بعنوان یک گیاه روغنی مطرح شود. همچنین کنجاله آن در بعضی از کشورها در تغذیه دام‌ها استفاده می‌شود [۵]. دانه گیاه ماریتیغال همچنین حاوی بتائین، تری متیل گلیسین و میزان زیادی روغن (حدود ۲۰٪) به عنوان محصول جانبی است که دارای اثرات ضد التهابی و ضد هپاتیتی می‌باشد. روغن ماریتیغال حاوی اسیدهای چرب از قبیل اسیدلینولئیک (C18:2)، اسیداولئیک (C18:1)، اسید لینولئیک (C18:3)، اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید استئاریک (C18:0)، اسید آراشیدیک (C20:0)، اسید ایکوزنویک^۱ (C20:1)، اسید بهنیک (C22:0) و اسید لیگنوسریک (C24:0) می‌باشند که از مهمترین اسیدهای چرب موجود در روغن‌های خوراکی محسوب می‌شوند [۵]. نتایج تحقیقات فتحی آچاچلوئی و آزادمرد دمیرچی [۵] از بررسی روغن وارپته های مختلف ماریتیغال نشان داد که میزان اسیدهای چرب چند غیراشباعی در محدوده ۵۴-۵۰ درصد و اسیدهای

چرب اشباع در محدوده ۲۱-۱۹ درصد می‌باشد. این نسبت از نظر ارزش تغذیه ای بخاطر تاثیر اسیدهای چرب چند غیراشباعی در ساختار غشاء سلول، بیان ژن، بیوستز پروستاگلاندین‌ها، تقویت سیستم ایمنی و غیره حائز اهمیت می‌باشد [۵]. نتایج تحقیقات محققان نشان داده است که اسید لینولئیک و اسید اولئیک، اسیدهای چرب غالب در روغن ماریتیغال هستند، بطوری که در بین آنها اسید لینولئیک بیشترین مقدار را در روغن ماریتیغال به خود اختصاص می‌دهد [۱۲،۱۳،۱۴]. همچنین در بین اسیدهای چرب موجود در روغن ماریتیغال اسید لینولئیک کمترین درصد اسید چرب روغن را دارا بودند. همچنین اسید اولئیک و اسید پالمیتیک حالت حد واسطی را نشان دادند. اسیدهای چرب آراشیدیک اسید، آراشیدیک اسید-۱۱ سیس و بهنیک اسید اسیدهای چرب جزئی هستند که بیشتر در روغن‌هایی مثل روغن ماریتیغال مشاهده می‌شوند [۵].

بنابراین، از فرآورده‌های جانبی کارخانه‌های داروسازی که اقدام به تهیه دارو از سیلی مارین می‌نمایند، تهیه مقدار زیادی روغن خوراکی است که در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز می‌توان استفاده کرد. همچنین روغن حاصل از دانه‌های ماریتیغال حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات تغذیه‌ای مانند فسفولیپید، فلاونوئید، استرول‌ها و ویتامین E یا توکوفرول‌ها است [۳]. مهمترین فلاونوئیدهای دانه ماریتیغال عبارتند از: سیلی بین^۲، سیلی کریستین^۳ و سیلی دیانین^۴ که مجموعه آنها تحت عنوان سیلی مارین^۵ شناخته می‌شوند [۵]. سیلی مارین در آب غیر محلول و در الکل محلول است. این فلاونوئیدها ضد مسمومیت‌های کبدی هستند و در مقابل عوامل مسموم کننده از کبد محافظت می‌کنند. با توجه به اهمیت و استفاده روز افزون صنایع داروسازی از مواد مؤثره این گیاه، ماریتیغال از چند دهه پیش در تعدادی از کشورها در مقیاس وسیع کشت و ارقام اصلاح شده آن تولید گردیده است [۲]. نتایج تحقیقات زی و آگاروال [۸] نشان داد که مهمترین فلاونوئید این گیاه با نام سیلی بین در درمان سرطان پروستات نقش مؤثری را ایفاء می‌نماید [۹].

2. Silybin
3. Silychristin
4. Silydianin
5. Silymarin

1. Eicosenoic Acid

می‌تواند درآینده چشم‌اندازی برای استفاده از این گیاه علاوه بر خواص دارویی، بعنوان یک دانه روغنی باشد.

۲- مواد و روش‌ها

تمامی حلال‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش، تولیدی شرکت تجاری مرک بودند.

۲-۱- استخراج روغن

نمونه‌های روغن از دانه‌های ماریتیغال مطابق روش آزادمرد دمیرچی و همکاران [۱۵] به شرح ذیل استخراج شد. به لوله‌های استیل حاوی ۱۰ گرم دانه‌های خرد شده ماریتیغال، ۳۰ میلی لیتر محلول هگزان/ایزوپروپانول (۳:۲، حجمی:حجمی) اضافه شده و چهار عدد ساچمه فولادی نیز برای تسریع عمل هم‌وزنی‌سازی به داخل هر لوله انداخته شد. لوله‌های استیل در دمای اتاق به مدت یک ساعت تحت تکان شدید توسط دستگاه همزن^۱ قرار گرفته و سپس محتوای لوله‌ها با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف شدند. تفاله‌های باقیمانده ۲ بار و هر بار با ۲۰ میلی لیتر از همان محلول شسته شده، بعد ۳۵ میلی لیتر محلول سولفات سدیم ۶/۷ درصد به محلول صاف شده اضافه شد تا آب احتمالی جدا شود. با استفاده از قیف جداکننده، لایه حاوی حلال و روغن جدا شده و در دستگاه تبخیر تحت خلاء در دمای ۴۰°C تبخیر شد. نمونه‌های روغن برای استفاده در مراحل بعدی تجزیه و تحلیل در ۲۰°C درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

۲-۲- درصد استخراج روغن

برای تعیین درصد روغن از توزین روغن به‌دست آمده از ۱۰۰ گرم نمونه ماریتیغال توسط دستگاه سوکسله استفاده شد [۱۶].

۲-۳- اندازه گیری اسیدهای چرب

۲-۳-۱- آماده سازی متیل استر اسیدهای چرب

آماده سازی متیل استر اسیدهای چرب بر اساس روش گزارش شده توسط فتحي آچاچلوئی و آزادمرد دمیرچی [۵] و به شرح زیر انجام شد.

حدود ۱۰ میلی گرم لیپید در ۰/۵ میلی لیتر هگزان در لوله آزمایش حل شده و سپس ۲ میلی لیتر NaOH ۰/۰۱ مولار در متانول خشک اضافه شد. لوله آزمایش حاوی محلول‌های یاد

دلتا ۷- استرول از مهمترین استرول‌های موجود در روغن دانه ماریتیغال است که بوسیله دستگاه GC اندازه گیری می‌شود [۵]. فیتو استرول‌ها از لحاظ تغذیه ای دارای اهمیت زیادی هستند چرا که آنها موجب کاهش میزان کلسترول سرمی خون در انسان می‌شوند [۱۰]. اخیراً جنبه‌های سلامتی دیگری از بتا - سیتو استرول که از جمله استرول‌های گیاهی می‌باشد و در روغن دانه‌های ماریتیغال نیز بیشترین مقدار را دارد، مشخص شده‌است. بطوری که خاصیت بتا - سیتو استرول در کاهش مقادیر کلسترول و جلوگیری از انواع مختلفی از سرطان‌ها از جمله سرطان روده بزرگ یا کولون، سرطان پروستات، سرطان پستان و ممانعت از رشد تومورها گزارش شده‌است [۱۱].

همچنین روغن حاصل از دانه‌های ماریتیغال حاوی مقادیر بالایی از ویتامین E می‌باشد. ویتامین E برای محافظت بافت‌های بدن از واکنش‌های مضر (پراکسیداسیون) که عمدتاً ناشی از فرایندهای متابولیک معمولی و عوامل سمی خارجی می‌باشد، یک نقش آنتی اکسیدانی را ایفاء می‌کند. همچنین ویتامین E طبیعی در بافت‌های بدن بهتر جذب می‌شود و فعالیت بیولوژیکی آن بیشتر از ویتامین E سنتزی می‌باشد [۳]. همچنین نتایج تحقیقات فتحي آچاچلوئی و آزادمرد دمیرچی [۵] نشان داد که در روغن واریته های مختلف ماریتیغال، بیشترین میزان توکوفرولها در بین انواع مختلف توکوفرول مربوط به α- توکوفرول (ویتامین E) در محدوده ۴۶۵-۱۸۷ میکروگرم در گرم روغن بود.

در این مطالعه، با توجه به موارد مطرح شده، هدف بررسی و اندازه‌گیری درصد روغن استخراج شده، پروفیل اسیدهای چرب و استرول‌های موجود در روغن گیاه ماریتیغال سه اکوتیپ خروسلو و مغان (واقع در پارس آباد اردبیل) و قلعه بابک (واقع در شهرستان کلبر آذربایجان شرقی) می‌باشد. اسیدهای چرب و استرول‌های موجود در روغن نمونه‌ها بوسیله دستگاه GC مورد آنالیز قرار گرفته و با همدیگر مقایسه شدند. با توجه به اینکه روغن یکی از ترکیبات اصلی و دارای خصوصیات تغذیه‌ای و دارویی در گیاه ماریتیغال می‌باشد، لذا ارزیابی و بررسی کیفی و کمی میزان اسیدهای چرب شاخص و ترکیبات مغذی دیگر در دانه روغنی ماریتیغال بویژه در ارقام بومی و منطقه ای حائز اهمیت می‌باشد و

1. Stirrer

میکرولیتر اتانول ۹۹/۵٪ اضافه شده و دوباره خوب هم زده شد. لایه هگزانی جدا شده و برای مرحله بعدی آنالیز تحت جریان نیتروژن خشک شد.

۲-۴-۲- آماده سازی مشتقات اتری تری متیل سیلیل (TMS) استرول ها

مشتقات اتری تری متیل سیلیل استرول کل طبق روش توضیح داده شده توسط آزادمرد دمیچی و همکاران [۱۷،۱۵] آماده شدند. به نمونه خشک شده از مرحله قبلی ۱۰۰ μl از معرف تری-سیل^۲ (Pierce Chemical Co. Rockford, USA) اضافه شد و در حمام فراصوت به مدت ۳ دقیقه نگهداری گردید. سپس در آن ۶۰ °C برای مدت ۴۵ دقیقه نگهداری شده و دوباره در حمام فراصوت قرار داده شد. پس از آن، حلال تحت جریانی از نیتروژن تبخیر شده و مشتقات اتر تری متیل سیلیل در ۲۰۰ μl هگزان برای آنالیز بعدی با گاز کروماتوگرافی حل گردید.

۲-۴-۳- آنالیز استرول ها بوسیله GC

آنالیز استرول ها بوسیله گاز کروماتوگرافی مطابق روش آزادمرد دمیچی و دوتا [۱۷] انجام گرفت. برای تعیین کیفی استرولها از استاندارد سیتواسترول، کامپسترول و استیگماسترول استفاده شد. استرولهای ذکر شده به مشتقات سیلیلت شده تبدیل شدند و به کروماتوگرافی گازی تزریق شدند و زمان بازداری آنها تعیین شد و از روی آن استرولها موجود در نمونه های روغن نیز مشخص شدند. برای تعیین کمی از روش استاندارد داخلی و از ۵-آلفا-کلکستن بعنوان استاندارد داخلی استفاده شد.

برای این منظور، از دستگاه گاز کروماتوگرافی (Model 6100, Young Lin, Korea) مجهز به ستون موئینه سیلیکای DB-5MS 30m * 0.25mm, 050 μm (J&WScientific, Folsom, CA, USA) و آشکار ساز یونیزاسیون شعله‌ای (6000 series, Young Lin, Korea) استفاده شد. شرایط آنالیز عبارتند از:

- ۱- دمای پورت تزریق ۲۶۰ °C -۲ دمای شروع ۶۰ °C برای ۱ دقیقه، سرعت افزایش دما ۴۰ °C در دقیقه، دمای نهایی ۳۱۰ °C برای ۲۷ دقیقه -۳ هلم بعنوان گاز حامل ۴- دمای آشکار ساز ۳۱۰ °C.

شده در حمام آب ۶۰ °C به مدت ۱۰ دقیقه نگه داری شد. سپس ۳ میلی لیتر معرف BF₃ افزوده و ۱۰ دقیقه دیگر نگهداری شد. بعد از انجام واکنش لوله آزمایش یاد شده تحت جریان آب، سرد شده و ۲ میلی لیتر محلول نمک ۲۰٪ و ۱ میلی لیتر هگزان اضافه گردید. سپس بعد از مخلوط کردن کامل، سانتریفوژ شده و لایه هگزان حاوی متیل استرهای اسیدهای چرب جداسازی گردید.

۲-۳-۲- آنالیز متیل استرهای اسیدهای چرب با گاز کروماتوگرافی

آنالیز متیل استرهای اسیدهای چرب بوسیله گاز کروماتوگرافی مطابق روش آزادمرد دمیچی و دوتا [۱۷] انجام گرفت. برای تعیین کیفی اسیدهای چرب از استاندارد متیل استرهای اسیدهای چرب استفاده شد. استاندارد متیل استرهای اسیدهای چرب به کروماتوگرافی گازی تزریق شد و زمان بازداری آنها مشخص شد و برای تعیین نوع اسیدهای چرب نمونه های روغن استفاده شد. برای تعیین کمی نیز، مساحت زیر منحنی کل اسیدهای چرب صد در صد در نظر گرفته شد و مساحت زیر منحنی هر اسید چرب نسبت به کل بیان شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به ستون موئینی سیلیکائی BPX70 (SGE, Austin, USA) با طول ۵۰ متر و قطر ۰/۲۲ میلی متر با ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر برای جداسازی متیل استرهای اسیدهای چرب استفاده شد. دمای اولیه ۱۵۸ درجه سانتی گراد بود و با افزایش ۲ درجه سانتی گراد در دقیقه به ۲۲۰ °C رسید و در این دما ۲۰ دقیقه نگهداری شد. دمای محل تزریق ۲۳۰ °C و دمای آشکار ساز ۲۵۰ °C بود [۱۷].

۲-۴-۲- اندازه گیری استرول ها

۲-۴-۱- صابونی کردن برای آنالیز استرول ها

صابونی کردن برای آنالیز استرول ها طبق روش آزادمرد دمیچی و همکاران [۱۷،۱۵] انجام گرفت. به ۱۰ میلی گرم نمونه روغن وزن شده در لوله آزمایش یک میلی لیتر پتاس ۲ مولار در اتانول ۹۵٪ اضافه شد. بعد از همزدن کافی، لوله آزمایش در حمام آب ۶۰ °C برای مدت ۴۵ دقیقه نگهداری شد. سپس لوله تحت جریان آب، سرد شده و یک میلی لیتر آب و ۲ میلی لیتر هگزان حاوی ۱۰ میکرو گرم ۵-آلفا کلکستن^۱ بعنوان استاندارد داخلی اضافه شد. بعد از همزدن شدید، ۲۰

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

در اجرای این پژوهش، از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تمامی آزمایشات و اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفته و با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۲۰۰۳) میانگین داده‌ها و خطای آزمایش محاسبه شد. آنالیز واریانس با استفاده از رویه GLM۱ انجام گرفت و اثرات تیمارها و تکرارها تخمین زده شد و سطح معنی‌داری در سطح احتمال کمتر از ۵٪ تعیین گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- درصد روغن استخراج شده

روغن نمونه‌های ماریتیغال از طریق حلال استخراج شد و نتایج نشان داد که میزان استخراج روغن در این نمونه‌ها بین ۲۸ تا ۲۹/۵ درصد می‌باشد ولی میان نمونه‌های مختلف روغن ماریتیغال اختلاف معنی‌داری ($p > 0.05$) وجود نداشت (نمودار ۱).



نمودار ۱ میزان روغن استخراج شده در اکوتیپ‌های مختلف

ماریتیغال (درصد)

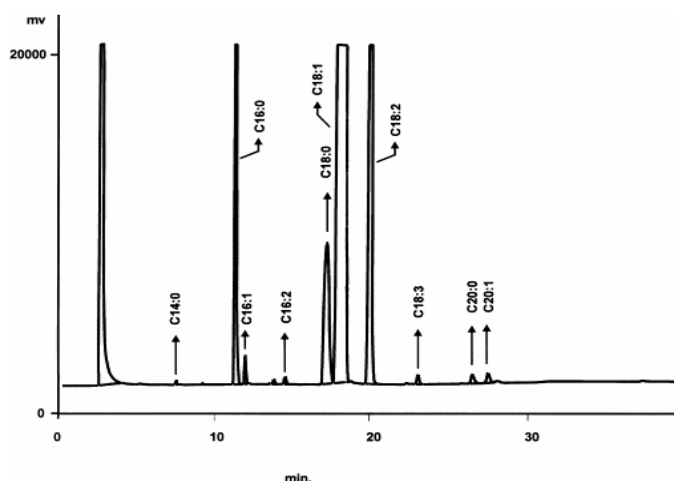
نتایج تحقیقات فتنی آچاچلوئی و آزادمرد دمیرچی [۵] از بررسی درصد روغن دو واریته اصلاح شده خارجی ماریتیغال و دو واریته داخلی این گیاه نشان داد که میزان روغن دانه‌ها در محدوده ۲۶-۳۱ درصد می‌باشد. همچنین محتوای روغن دانه‌های ماریتیغال مورد مطالعه در این پژوهش در مقایسه با

1. General Linear Model

نتایج هادولین و همکاران [۳] بالاتر است که احتمالاً می‌تواند متأثر از نوع واریته دانه، شرایط آب و هوایی و نوع خاک منطقه باشد. دما می‌تواند نقش مهمی در میزان روغن دانه‌ها داشته باشد، به طوری که میزان روغن دانه‌ها با افزایش دما بیشتر می‌شود [۱۸]. بنابراین، یکی از دلایل مهم عدم تفاوت معنی‌دار محتوای روغن نمونه‌ها تشابه آب و هوایی و نزدیکی مناطق مورد مطالعه می‌باشد. محتوای روغن ماریتیغال در مقایسه با روغن تجاری سویا (۲۰٪) بیشتر بوده که جالب توجه می‌باشد.

۳-۲- اسیدهای چرب

مشتقات متیلی اسیدهای چرب بعد از متیلاسیون نمونه‌های روغن با هگزان استخراج گردید که با استفاده از نمونه استاندارد اسیدهای چرب توسط GC شناسایی و اندازه‌گیری شد. کروماتوگرام استاندارد متیل‌های اسید چرب تزریق شده به GC در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ کروماتوگرام استاندارد استرهای متیل اسیدهای چرب

(C_{14:0}, myristic; C_{16:0}, palmitic; C_{16:1}, palmitoleic, C_{16:2}, hexadecadienoic; C_{18:0}, stearic; C_{18:1} oleic; C_{18:2}, linoleic; C_{18:3}, linolenic; C_{20:0}, eicosanoic; C_{20:1}, eicosenoic fatty acid methyl esters)

جدول ۱ نیز نتایج حاصل از اندازه‌گیری اسیدهای چرب در اکوتیپ‌های مختلف ماریتیغال را نشان می‌دهد. در بین اسیدهای چرب موجود در روغن ماریتیغال مهمترین اسیدهای چرب شامل، اسید اولئیک (C_{18:1})، اسید لینولئیک (C_{18:2})، اسید لینولنیک (C_{18:3})، اسید پالمیتیک (C_{16:0})، اسید استئاریک (C_{18:0})، اسید آراشیدیک

اصلی اسیدهای چرب روغن ماریتیغال را تشکیل می‌دهند. بیشترین درصد از نظر اسید لینولئیک با مقدار (۵۱/۷۲٪) مربوط به روغن حاصل از منطقه قلعه بابک بود. بالاترین درصد اسید اولئیک (۲۸/۹۰٪) به توده بومی خروسلوی اردبیل مربوط بود.

(C20:0)، اسید ایکوزنوئیک (C20:1)، اسید بهنیک (C22:0) و اسید لیگنوسریک (C24:0) می‌باشد که در کلیه ارقام، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید پالمیتیک و اسید استئاریک بالاترین درصد اسید چرب را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). همانطور که مشخص شد اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و پالمیتیک به میزان ۸۵٪ بوده و ترکیب

جدول ۱ ترکیب اسیدهای چرب اندازه‌گیری شده در اکوتیپ‌های مختلف دانه روغنی گیاه ماریتیغال (درصد)

اسید های چرب	خروسلو	مغان	قلعه بابک
(C16:0) اسید پالمیتیک	۷/۴۵±۰/۰۷۲ ^b	۸/۳۳±۰/۰۷۲ ^a	۸/۴۵±۰/۰۷۲ ^a
(C18:0) اسید استئاریک	۵/۶۰±۰/۰۳ ^b	۶/۴۲±۰/۰۳ ^a	۶/۶۰±۰/۰۳ ^c
(C18:1) اسید اولئیک	۲۸/۹۰±۰/۰۳ ^a	۲۵/۷۷±۰/۰۳ ^c	۲۷/۶۹±۰/۰۳ ^b
(C18:2) اسید لینولئیک	۴۹/۷۴±۰/۱۳ ^b	۴۹/۴۱±۰/۱۳ ^b	۵۱/۷۲±۰/۱۳ ^a
(C18:3) اسید لینولنیک	۰/۲۱±۰/۰۰۵ ^b	۰/۳۲±۰/۰۰۵ ^a	۰/۲۲±۰/۰۰۵ ^b
(C20:0) اسید آراشیدیک	۳/۳۳±۰/۰۳ ^b	۴/۰۴±۰/۰۳ ^a	۲/۷۰±۰/۰۳ ^c
(C20:1) اسید ایکوزانوئیک	۰/۸۳±۰/۰۲ ^b	۰/۹۲±۰/۰۲ ^a	۰/۹۰±۰/۰۲ ^a
(C22:0) اسید بهنیک	۲/۳۷±۰/۰۳ ^b	۲/۸۷±۰/۰۳ ^a	۲/۳۲±۰/۰۳ ^b
(C24:0) اسید لیگنوسریک	۰/۶۶±۰/۰۲ ^b	۰/۷۲±۰/۰۲ ^a	۰/۷۳±۰/۰۲ ^a
UFA/ SFA	۳/۹۸ ^b	۳/۳۳ ^c	۴/۲۴ ^a

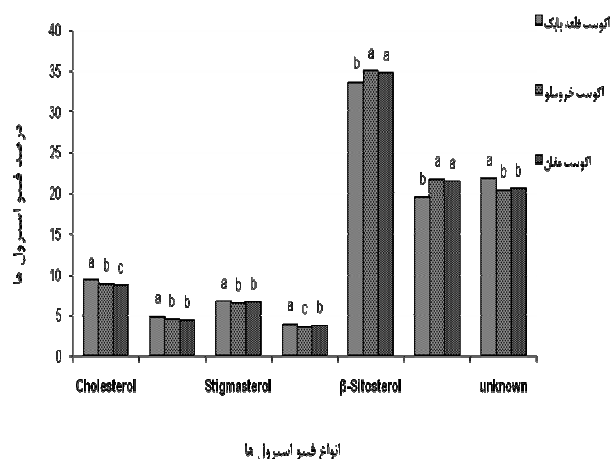
داده‌های فوق میانگین ± خطای استاندارد حاصل از سه تکرار اندازه‌گیری بوده و CV کمتر از ۲ درصد می‌باشد.

میانگین‌های هر ردیف دارای حرف غیرمشابه، اختلاف معنی‌دار دارند (P < 0.05).

SFA: اسیدهای چرب اشباع، UFA: اسیدهای چرب غیراشباع

می‌باشد که نتایج این پژوهش با نتایج این محققان مطابقت دارد. لازم به ذکر است که در بین اسیدهای چرب مذکور اسید لینولئیک کمترین درصد اسید چرب روغن را دارا بودند. همچنین اسید اولئیک و اسید پالمیتیک حالت حد واسطی را نشان دادند. اسیدهای چرب آراشیدیک اسید، آراشیدیک اسید-۱۱ سیس و بهنیک اسید اسیدهای چرب جزئی هستند که بیشتر در روغن‌هایی مثل روغن ماریتیغال مشاهده می‌شوند [۵]. همچنین نتایج تحقیقات فتحی آچاچلوئی و آزادمرد دمیچی [۵] نشان داد که کشت دیم یا آبی تأثیری در ترکیب اسیدهای چرب روغن

الملاح و همکاران [۱۲]، دراز و همکاران [۱۳]، خان و همکاران [۱۴] و علیرضالو و همکاران [۱۹] گزارش دادند که اسید لینولئیک و اسید اولئیک، اسیدهای چرب غالب در روغن ماریتیغال هستند، به طوری که در بین آنها اسید لینولئیک بیشترین مقدار را در روغن ماریتیغال به خود اختصاص می‌دهد. همچنین نتایج حاصل از این تحقیق با گزارش آن محققان مطابقت دارد. همچنین نتایج تحقیقات فتحی آچاچلوئی و آزادمرد دمیچی [۵] نشان داد که در روغن واریته‌های مختلف ماریتیغال، بیشترین میزان اسیدهای چرب به ترتیب مربوط به اسید لینولئیک (۵۴-۵۰٪)، اسید اولئیک (۲۹-۲۳٪) و اسید پالمیتیک (۸-۷٪)



نمودار ۳ درصد فیتواسترول ها در روغن اکوتیپ های مختلف

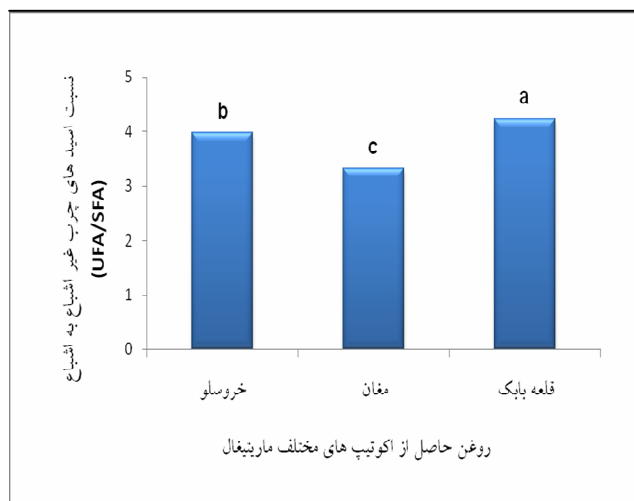
ماریتیغال

۳-۳- استرول های گیاهی (فیتواسترول ها)

فیتواسترول ها ترکیبات جزئی روغن های خوراکی هستند که قسمت اصلی ترکیبات غیر قابل صابونی شونده را در روغن تشکیل می دهند [۵، ۱۰، ۱۵]. بعد از صابونی کردن نمونه های روغن با هگزان، مواد غیر قابل صابونی شونده استخراج گردید و با استفاده از GC و GC-MS¹ فیتواسترول های موجود در نمونه ها شناسایی و اندازه گیری شد. نتایج حاصل از اندازه گیری استرول های گیاهی در روغن اکوتیپ های مختلف ماریتیغال در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطوری که در جدول ۲ مشاهده می شود، در بین استرول های اندازه گیری شده در روغن اکوتیپ های مختلف ماریتیغال، بتا- سیتو استرول بیشترین مقدار (۳۴/۹٪ از کل استرول) را در روغن ماریتیغال اکوتیپ خروسلو دارد. همچنین نمودار ۳، نمودار مقایسه ای فیتواسترول های اکوتیپ های مختلف روغن ماریتیغال را نشان می دهد. همانطوری که در نمودار ۳ مشاهده می شود، در بین انواع فیتواسترول های اندازه گیری شده، بتا- سیتو استرول حاصل از روغن اکوتیپ های مختلف ماریتیغال دارای بیشترین مقدار بوده و این نمودار روند تغییرات فیتواسترول ها را در روغن اکوتیپ های مختلف ماریتیغال نشان می دهد.

واریته های اصلاح شده خارجی ماریتیغال، بوداکالاز (با منشاء مجارستان) و CN-seed (با منشاء انگلستان)، نداشت.

با توجه به ترکیب و مقدار اسیدهای چرب می توان گفت که روغن ماریتیغال در گروه روغن های اولئیک-لینولئیک قرار می گیرد، که در این گروه روغن هایی همچون سویا، آفتابگردان و گلرنگ نیز طبقه بندی می شوند. مطابق نتایج بدست آمده روغن ماریتیغال حاصل از توده های قلعه بابک دارای مجموع اسیدهای چرب غیراشباع بالاتری نسبت به سایر نمونه ها است. از مهمترین متغیرها در مورد ترکیب اسیدهای چرب روغن های خوراکی، نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع می باشد که از جنبه های کیفیت تغذیه ای و ماندگاری حائز اهمیت است. میزان این پارامتر در مورد روغن ماریتیغال در حدود ۴ بوده (نمودار ۲) که با سایر گزارش ها همخوانی دارد [۱۹]. همانطوری که در نمودار ۲ مشاهده می شود، روغن ماریتیغال اکوتیپ قلعه بابک نسبت به روغن سایر اکوتیپ های ماریتیغال دارای بیشترین مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع و نیز دارای بالاترین نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع می باشد ($P < 0.05$).



نمودار ۲ نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع در روغن

اکوتیپ های مختلف ماریتیغال

1. Gas Chromatography Mass Spectrometry

جدول ۲ ترکیب استرول‌های اندازه‌گیری شده در اکوتیپ‌های مختلف دانه روغنی گیاه ماریتیغال (درصد)

استرول‌ها	خروسلو	مغان	قلعه بابک
Cholesterol	$8/80 \pm 0/06^b$	$8/60 \pm 0/06^c$	$9/20 \pm 0/06^a$
Campesterol	$4/50 \pm 0/06^b$	$4/40 \pm 0/06^b$	$4/80 \pm 0/06^a$
Stigmasterol	$6/40 \pm 0/06^b$	$6/50 \pm 0/06^b$	$6/70 \pm 0/06^a$
Clerosterol	$3/50 \pm 0/06^c$	$3/70 \pm 0/06^b$	$3/90 \pm 0/06^a$
β -Sitosterol	$34/90 \pm 0/12^a$	$34/70 \pm 0/12^a$	$33/60 \pm 0/12^b$
$\Delta 7$ -Sterol	$21/60 \pm 0/12^a$	$21/40 \pm 0/12^a$	$19/40 \pm 0/12^b$
Unknown	$20/30 \pm 0/12^b$	$20/50 \pm 0/12^b$	$21/80 \pm 0/12^a$

داده‌های فوق میانگین $\pm$ خطای استاندارد حاصل از سه تکرار اندازه‌گیری بوده و CV کمتر از ۲ درصد می‌باشد.

میانگین‌های هر ردیف دارای حرف غیرمشابه، اختلاف معنی‌دار دارند ($P < 0.05$).

نتایج تحقیقات قبلی نیز نشان داده است که مهمترین استرول-های موجود در روغن ماریتیغال شامل: بتا- سیتو استرول، کامپسترول، کلسترول، استیگماسترول، کلرواسترول (Clerosterol) و دلتا ۷- استرول می‌باشد [۵، ۱۲] که نتایج اندازه‌گیری استرول‌ها در اکوتیپ‌های مختلف گیاه ماریتیغال در این تحقیق با نتایج تحقیقات قبلی مطابقت دارد. همچنین نتایج تحقیقات فتحی آچاچلونی و آزادمرد دمیچی [۵] نشان داد که در روغن وارپته‌های مختلف ماریتیغال، بیشترین میزان استرول‌های گیاهی به ترتیب مربوط به دسته ۴-دس متیل استرول، ۴-۴ دی متیل استرول و ۴ مونو متیل استرول می‌باشد. بطوری که از دسته ۴-دس متیل استرول، بتا- سیتو استرول (۳۷-۳۳٪) و دلتا ۷- استرول (۲۲-۱۹٪) دارای بیشترین مقدار فیتواسترول‌ها در روغن ماریتیغال بودند [۵].

۴- نتیجه‌گیری

دانه گیاه ماریتیغال از نظر داروئی مورد توجه بسیار قرار گرفته است. با توجه به رویش و بازدهی خوب این گیاه در استان اردبیل، این پژوهش توانست میزان و ترکیب روغنی دانه‌های این گیاه را بررسی کند. با توجه به میزان روغن (۲۸-۲۹/۵٪)، ترکیب اسید چربی آن (میزان بالای اسید لینولئیک (C18:2)، اسید اولئیک (C18:1) و اسید پالمیتیک (C16:0)) و میزان بالای فیتواسترول‌ها بویژه بتا- سیتواسترول، در کنار اهمیت داروئی دانه این گیاه و اهمیت تغذیه‌ای گیاه بعنوان علوفه دامی، روغن حاصله از دانه این گیاه نیز می‌تواند محصول جانبی و با ارزشی باشد. بنابراین، با توجه به بحث‌های فوق الذکر و با توجه به اینکه روغن یکی از ترکیبات اصلی در گیاه

ماریتیغال بوده و همچنین با توجه کیفیت تغذیه‌ای که مربوط به مقادیر بالای اسیدهای چرب ضروری لینولئیک اسید (امگا ۶) و لینولئیک اسید (امگا ۳) و توکوفرول‌ها است، کشت و استفاده از این دانه روغنی که دارای جنبه‌های غذایی و دارویی زیادی می‌باشد امری سودمند و مؤثر در تولید و مصرف روغن خوراکی مصرفی داخل کشور به شمار می‌رود. همچنین در ارتباط با کیفیت تغذیه‌ای، امروزه ثابت شده است که روغن-های حاوی اسیدهای چرب با یک یا چند باند غیراشباعی علاوه بر اینکه میزان کلسترول خون را افزایش نمی‌دهند بلکه می‌توانند در کاهش آن نیز مؤثر باشند. با توجه به ضروری بودن لینولئیک اسید و لینولئیک اسید برای بدن انسان (اسیدهای چرب ضروری) و میزان بالای آن‌ها در روغن ماریتیغال، می‌توان نتیجه گرفت که این روغن دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که در بین استرول‌های موجود اندازه‌گیری شده در روغن اکوتیپ‌های مختلف ماریتیغال، بتا- سیتو استرول بیشترین مقدار (۳۴/۹٪) از کل استرول را در روغن ماریتیغال اکوتیپ خروسلو دارد. البته با توجه به اینکه روغن ماریتیغال جزء منابع جدید برای تولید روغن‌های خوراکی می‌باشد، بنابراین، لازم است ترکیبات سمی احتمالی موجود در روغن نیز مورد بررسی قرار گیرد.

۵- منابع

- [1] Zargari A. (1375). Medicinal plants. Volume III. Tehran University Publications [in Persian].

- [12] El- Mallah MH, El-Shami SM, Hassanein MM. (2003). Detailed studies on some lipids of *Silybum marianum* (L.) seed oil. *Grasas-y-Aceites* 54(4): 397-402.
- [13] Deraz S, Bayram E. (1995). Evaluation of chemical contents of medicinal plant (*Silybum marianum* L. Gaertn) wild-growing in Turkey. *Ege-Ueniversitesi-Ziraat-Fakueltesi-Dergisi* 32(3): 79-85.
- [14] Khan SA, Khan KH, Zaka S, Waheed I, Raie MY, Bhatti MK. (1985). Fatty acids from indigenous resources for possible industrial applications. VIII. Investigations of some species of compositeae family. *Pakistan-Journal of Scientific and Industrial Research* 28(6): 400-402.
- [15] Azadmard-Damirchi S, Savage GP and Dutta PC. (2005). Sterol fractions in Hazelnut and virgin olive oils and 4,4'-Dimethylsterols as Possible Markers for Detection of Adulteration of virgin olive oil. *Journal of the American oil chemists' society* 82: 717- 725.
- [16] Uquiche E, Jeréz M and Ortíz J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from chilean hazelnuts. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9:495-500.
- [17] Azadmard-Damirchi S, Dutta PC. (2006). Novel Solid-phase extraction method to separate 4-desmethyl-, 4-monomethyl-, and 4, 4'-dimethylsterols in vegetable oils. *Journal of chromatography A* 1108: 183-187.
- [18] Damian MM, Diana OL, Jose MM, Alicia LL, Julio AZ and Carlos AG. (1998). Seed composition of soybean cultivar evaluated in different environmental regions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77: 494-498.
- [19] Alirezalu K, Hesari J, Alirezalu A, Mohammadi M and Fathi-Achachlouei B. (1390). Evaluation of Physicochemical Properties and Fatty Acid Composition of Milk Thistle Seed Oil. *Journal of Food Research* 21(1): 25-33[in Persian].
- [2] Omid beigi R. (1376). Approaches to processing of medicinal plants. Volume II. Nashr Designers Publications [in Persian].
- [3] Hadolin M, Skerget M, Knez Z, and Bauman D. (2001). High Pressure Extraction of Vitamin E-rich Oil from *Silybum Marianum*. *Food Chemistry* 74: 355-364.
- [4] Gazak R, Walterova D and Kren V. (2007). Silybin and silymarin, new and emerging applications in Medicine. *Current Medicinal Chemistry.Schiphol* 14(3): 315-324.
- [5] Fathi-Achachlouei B and Azadmard-Damirchi S. (2009). Milk thistle seed oil constituents from different varieties grown in Iran. *Journal of the American oil chemists' society* 86: 643-649.
- [6] Locher R, Suter P, Weyhenmeyer R and Vetter W. (1998). Inhibitory action of silibinin on low density lipoprotein oxidation. *Arzneimittelforschung (Drug Research)* 48(3): 236-239.
- [7] Kren V, Ulrichova J, Kosina P, Stevenson D, Sedmera P, Prikrylova V, Halada P and Simanek V. (2000). Chemoenzymatic preparation of silybin β -glucuronides and their biological evaluation. *Drug Metabolism and Disposition* 28: 1513-1517.
- [8] Zi X and Agarwal R. (1999). Silibinin decreases prostate- specific antigen with cell growth inhibition via G1 arrest, leading to differentiation of prostate carcinoma cells: Implications for prostate cancer intervention. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 7490- 7495.
- [9] Vojtisek B, Hronova B, Hamrik J and Jankova B. (1991). Milk thistle (*Silybum marianum*) in feed given to ketonic cows. *Veterinarni Medicina* 36(6): 31- 33.
- [10] Moreau RA. (2004). Plant sterols in functional foods. In: Dutta PC (ed) *Phytosterols as functional food components and nutraceuticals*. Marcel Dekker, New York. p. 317-346.
- [11] Savage GP, McNeil DL and Dutta P C. (1997). Lipid composition and oxidative stability of oils in Hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in New Zealand. *Journal of the American oil chemists' society* 74: 755- 759.

Evaluation of Oil Content, Fatty Acids Profile and Phytosterols of Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) Oil in Several Different Ecotypes in North -West of Iran

Fathi-Achachlouei, B. ^{1*}, Alirezalu, K. ², Azadmard-Damirchi, S. ³

1. Assistant Professor, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2. Ph.D student, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3. Associate Professor, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

(Received: 93/4/23 Accepted: 93/8/7)

Silybum marianum (Family: Astraceae) is an annual or biennial plant, which it grows in the most regions of Iran. The extracts of the mature milk thistle seeds are used as medicinal compounds against liver diseases and liver cirrhosis and inhibitor of liver cancer. In this study, oil content, fatty acids profile and phytosterol compounds were determined in three ecotypes which are in north-west of Iran including Khoreslo, Moghan (in Ardabil) and Babakcastle (in East Azerbaijan). The extracted oil contents of the seeds were from 28% to 29.5%. linoleic acid (49-52%) was predominated followed by oleic acid (25-29%) and linolenic acid was in the lowest level in the all samples. Moreover, phytosterols such as β -Sitosterol, Stigmasterol, Campesterol, Cholesterol, Cleroesterol and Δ^7 - Sterol were determined in the all extracted oil samples by GC, which β -Sitosterol was the highest in comparison to the others in the all samples. Therefore, the highest content of β -Sitosterol (34.9% of total phytosterol) among the three different ecotypes was belonged to Khoreslo ecotype. In conclusion, using of milk thistle seed oil which has high nutritional value is beneficial in production of edible oil in the country.

Keywords: Different ecotypes of milk thistle, Oil content, Fatty acids profile, Phytosterols

* Corresponding Author E-Mail Address: bahram1356@yahoo.com