

بررسی تغییرات میزان ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بذور عدس و ماش در اثر جوانه‌زنی

معصومه کیانی سام^۱، منیره رنجبر^{۲*} و لیلا امجد^۲

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۹

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان

^۲استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد فلاورجان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان

*مسئول مکاتبه: Email: ranjbar@iaufala.ac.ir

چکیده

استفاده از غلات و حبوبات جوانه زده در صنایع غذایی رو به گسترش است. جوانه زنی می‌تواند اثرات متفاوتی بر ترکیب دانه داشته باشد. در این مطالعه، عدس و ماش دو محصولی که استفاده زیادی در صنایع غذایی دارد مورد جوانه زنی قرار گرفت و اثرات آن بر مقدار فلاونوئید، مقدار فنل کل و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت. طرح آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. بذره‌های جوانه زده دو، چهار، شش و هشت روزه برداشت شدند. سنجش میزان فنل کل به روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالیتو و فلاونوئیدهای بر اساس روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش DPPH سنجش شد. با مقایسه میزان فلاونوئید موجود در بذر دو گیاه کنترل، بالاترین میزان متعلق به بذر عدس بود. ولی در تمام روزه‌های دیگر آزمایش، جوانه ماش نسبت به جوانه عدس از میزان بالاتر فلاونوئید برخوردار بود. گیاهان شاهد عدس در مقایسه با کنترل ماش دارای میزان فلاونول بالاتر بود و با شروع مراحل جوانه زنی این روند تغییر کرد بطوریکه ماش روز چهارم به بالاترین میزان فلاونول رسید. جوانه زنی در ماش باعث افزایش میزان فلاونول شد و عدس در هشتمین روز جوانه زنی بالاترین میزان فلاونول را نشان داد. بالاترین میزان فنل کل در عدس مربوط به جوانه‌های شش روزه است و در ماش در روز هشتم جوانه زنی بالاترین میزان فنل کل دیده شده است. جوانه‌های هشت روزه ماش بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند که با میزان فنل کل موجود در این مرحله مطابقت دارد. در عدس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهکهای دو، چهار، شش و هشت روزه نسبت به شاهد بالاتر بود و بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به جوانه‌های چهار روزه است که در این شرایط ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا را بایستی به سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی علاوه بر ترکیبات فنل نسبت داد. در ماش نیز چنین روند افزایشی نسبت به شاهد دیده شد.

واژگان کلیدی: جوانه زنی، فلاونوئید، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

رادیکال‌های آزاد، اتمها یا مولکولهایی هستند که به خاطر داشتن تک الکترون بسیار واکنش پذیرند. تشکیل این رادیکال‌ها در سیستم‌های زنده به ماکرو مولکول‌هایی نظیر DNA، پروتئینها و لیپیدها آسیب وارد می‌سازد. بدن برای دفاع در برابر این رادیکال‌ها سیستمی به نام سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی دارد که با مکانیسم‌های مختلف رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌نماید. عدم تعادل بین تولید این رادیکال‌ها و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود که در ایجاد بیماری‌های مختلف دخالت دارد (راهزانی و همکاران ۱۳۸۸).

آنتی‌اکسیدانها موادی حیاتی هستند که دارای توانایی محافظت از اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌باشند. اخیراً تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدانهای طبیعی و قوی از منابع مختلف گیاهی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های بدون اثرات جانبی صورت گرفته‌است (ازسوی و همکاران ۲۰۰۸). آنتی‌اکسیدانها را می‌توان بعنوان ماده اولیه در غذاها به منظور کاهش تاثیرات زیان‌آور گونه‌های فعال نظیر اکسیژن و نیتروژن واکنش‌دهنده بکار برد (هوانگ و پریور ۲۰۰۵). اعتقاد بر این است که گیاهان به عنوان منبع غنی آنتی‌اکسیدان و حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند. اثرات مفید مصرف آنها به خاطر وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متعدد مثل ویتامین‌ها، پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها است که برای سلامتی انسان بسیار مفید است (شجاع و همکاران ۱۳۹۰).

یکی از مهمترین گروه از ترکیبات متابولیت ثانویه ترکیبات فنلی هستند که جز آنتی‌اکسیدانهای طبیعی محسوب شده و از ترکیبات فعال موجود در مواد غذایی نیز به حساب می‌آیند (سپهری فر و حسنلو ۱۳۸۸). این ترکیبات نقش مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات اکسیدکنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند، این گروه از ترکیبات از

پیشرفت بیماریهایی مانند سرطان، عارضه قلبی، آلزایمر و پارکینسون جلوگیری می‌کند (آمس و همکاران ۲۰۰۳).

نقش حفاظتی ترکیبات فنلی در برابر بیماریهای مختلف به توان آنتی‌اکسیدانی و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد آنها برمی‌گردد (ویسمان و هالی ویل ۱۹۹۶).

مقدار ترکیبات فنلی بستگی به گونه، واریته و درجه رسیدگی دانه دارد. اثرات سلامتی فنل‌ها از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی بستگی به ساختمان ترکیب از جمله تعداد گروه‌های هیدروکسیل و موقعیت قرارگیری آنها دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فنولیک‌ها مربوط به ساختار شیمیایی آنها است (لوپز و همکاران ۲۰۰۶). پلی‌فنول‌های فلاونوئیدی ترکیبات بسیار مهم گیاهی بوده که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. این ترکیبات در تمام اندام‌های گیاهان یافت شده و بنابراین جزء مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند (سیاهپوش و امرایی ۱۳۸۹).

جوانه‌زنی بذر فرآیند پیچیده‌ای است که با جذب آب آغاز می‌شود و پس از یک وقفه کوتاه پروتئین آنزیمی ساخته و فعال می‌شود (ماتیلا و همکاران ۲۰۰۸). جوانه‌زدن بذر عبارت است از مجموعه فعالیت‌هایی که در نتیجه آن جنین رشد خود را شروع کرده و پوشش بذر را شکافته و گیاه جدیدی ایجاد می‌شود که می‌تواند مستقلاً به زندگی ادامه دهد (تقی لو و عدالت ۱۳۸۷). در بسیاری از کشورها، دانه‌های جوانه‌زده گیاهان خانواده نخود به عنوان جوانه مورد مصرف قرار می‌گیرد. در طی جوانه‌زنی ترکیبات موجود تغییر کرده و صرف فرآیند تنفس و سنتز ترکیبات جدید سلولی می‌گردد. این ترکیبات جدید برای نمو جنین بکار می‌رود، در نتیجه تغییرات معنی‌داری در ویژگی‌های بیوشیمیایی دانه رخ می‌دهد. جوانه‌زنی دانه‌ها و تبدیل آن به جوانه فرآیندی است که در طی آن هم تغذیه‌ای و مؤثر در سلامتی انسان افزایش می‌یابد. این فرآیند باعث افزایش سطوح اسید آمینه‌ای آزاد، کربوهیدرات‌های قابل استفاده

اما مطالعات تأثیر جوانه زنی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های حاصل از منابع طبیعی مثل متابولیت‌های ثانویه از جمله فیتواستروئول‌ها، پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و ... که در کنترل واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون دخالت دارند، اندک بوده است. همچنین تا کنون مطالعات اندکی در رابطه با تأثیر جوانه‌زنی بر میزان متابولیت‌های ثانویه بذر گیاهان خانواده لگومینوزه انجام شده است. در این پژوهش در پی پاسخ به این سؤال که "آیا جوانه زنی بر میزان فلاونوئیدها، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان لگومینوز اثرگذار می‌باشد؟" سعی شده است با انتخاب دو گونه از حبوبات (عدس و ماش)، متعلق به خانواده لگومینوز، تأثیر جوانه‌زنی و رشد این گیاهان زراعی در شرایط گلخانه‌ای بر میزان فلاونوئیدها - فنل کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۹۳-۱۳۹۲ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی و احد فلورجان اجرا گردید. تحقیق به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا گذاشته شد. از دانه‌های عدس و ماش تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی در این آزمایش استفاده گردید. تعداد مورد نیاز بذر با هیپو کلریت سدیم ضد عفونی شده و سپس درون پتری دیش‌ها قرار گرفت. آبیاری بذور با آب مقطر انجام شد. تمامی پتری دیش‌ها در تمام مدت آزمایش در درجه حرارت 25°C درون ژمیناتور نگهداری شد. ده عدد جوانه از هر گیاه را در روز دوم، چهارم، ششم و هشتم جوانه زنی وزن شده و اقدام به خشک‌کردن آنها درون آن با دمای 65°C گردید. سپس دانه‌های خشک شده جداگانه آسیاب گردیده و به صورت پودر درآمدند. ۱۰۰ گرم بذور جوانه گیاهان آسیاب شده در یک لیتر متانول ۹۶٪ به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. بعد از ۲۴ ساعت از کاغذ صافی عبور

فیبرهای تغذیه‌ای و سایر ترکیبات می‌شود، که ناشی از افزایش ترکیبات فعال زیستی است (دوناس و همکاران ۲۰۰۹).

حبوبات پس از غلات از محصولات مهم کشاورزی مورد تغذیه انسان و دام می‌باشد (باقری و محمودی ۱۳۸۰).

از آنجایی که حبوبات دارای ارزش غذایی زیاد و از منابع مهم تأمین پروتئین می‌باشند لذا مطالعه در مورد سایر ویژگی‌های بذر حائز اهمیت است. عدس^۱ و ماش^۲ مواد غذایی هستند که در گروه حبوبات جای می‌گیرند. در برنامه غذایی روزانه، حبوبات مهم‌ترین منبع تأمین پروتئین گیاهی هستند. گیاهان خانواده لگومینوز، بخاطر ترکیبات پروتئینی‌شان، بطور وسیع، در اغلب کشورهای جهان مصرف می‌شوند (عبادی ۱۳۸۰).

عدس منبع خوبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است و منبع غنی پروتئین و ویتامین‌های گروه B می‌باشد و سرشار از پروتئین، املاح معدنی و ویتامین‌ها است (آگر و همکاران ۲۰۰۴). در بین گیاهان فقط لوبیا و سویا بیشتر از عدس پروتئین دارند. برخی پژوهشگران گزارش کرده‌اند فنل‌های فلاونوئیدی و غیر فلاونوئیدی در اثر جوانه تغییر اساسی نشان می‌دهند و جوانه‌زنی باعث تغییر کمیت و کیفیت ترکیبات فنلی در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌گردد. نتایج نشانگر این بوده که جوانه‌زدن موجب افزایش محتویات فنل‌ها می‌گردد (دوناس و همکاران ۲۰۰۹ و فرناندز-اروزکو و همکاران ۲۰۰۹).

لوپز-آموس و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پس از جوانه زنی در لوبیا و نخود، سویا و لوبیاهای آذوکی^۳ دیده می‌شود که همراه با متابولیسم بیوشیمیایی دانه در طی جوانه زنی است.

1. Lens esculentum

2. Vigna radiata L

3. azukibean

تعیین مقدار ترکیبات فنل کل

تعیین میزان ترکیبات فنولی کل در عصاره جوانه‌ها، بر اساس روش رنگ سنجی فولین سیوکالیتو^۵ و بر حسب اسید گالیک اندازه گیری شد (شرافتی، چالشتری و همکاران ۱۳۸۷).

محلول استاندارد با غلظت ۱۵-۲۵-۵۰-۱۰۰-۱۲۵ ppm از اسید گالیک در محلول متانول ۶۰٪ تهیه شد. آنگاه از هر یک از محلولها ۱/۸ ml به لوله آزمایش منتقل گردید و به آن ها ۰/۵ ml از محلول ۱۰٪ واکنشگر فولین سیوکالیتو اضافه و پس از ۳ الی ۸ دقیقه به آن ۱/۴ ml از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه گردید، آنگاه لوله ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری و پس از آن میزان جذب نوری به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵nm اندازه گیری شد. بر این اساس نمودار استاندارد رسم گردید. سپس ۰/۰۲ g از عصاره را در متانول ۶۰٪ حل کرده و به حجم ۱۰ ml رسید. برای تعیین میزان فنل کل ۰/۱ میلی لیتر از محلول عصاره با محلولهای مورد استفاده در محلول استاندارد مخلوط گردید. با این تفاوت که به جای محلول استاندارد ۱/۸ ml از عصاره اضافه شد. جذب نوری در طول موج ۷۶۵ nm تعیین شد. نمونه بلانک در این آزمایش متانول ۶۰٪ می باشد. سپس میزان جذب قرائت شده در نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فنل کل عصاره بر حسب mg/g عصاره معادل اسید گالیک بدست آمد. این آزمایش با استفاده از میانگین و انحراف معیار مقادیر متوسط حاصل از ۳ مرتبه تکرار گزارش شد.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

غلظت‌های مختلف عصاره با ۲ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۵ درصد DPPH مخلوط شد. محلول شاهد منفی شامل ۲ میلی لیتر DPPH و ۲ میلی لیتر متانول است. محلول شاهد مثبت شامل ۲ میلی لیتر اسید آسکوربیک است. محلولها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای

داده شده و صاف گردید و با استفاده از دستگاه اوپراتور تحت خلا چرخان، حلال از محیط خارج شد و عصاره بدست آمده خشک شد. بدین ترتیب عصاره تام از هر یک از بذور و جوانه ها بدست آمد.

تعیین مقدار فلاونوئید و فلاونول

مقدار فلاونوئیدها و فلاونول کل در عصاره بذر و جوانه گیاهان مورد آزمایش، بر اساس روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و بر حسب استاندارد روتین^۴ اندازه گیری شد (شرافتی، چالشتری و همکاران ۱۳۸۷).

ابتدا محلول های استاندارد با غلظت ۲۵-۵۰-۱۰۰-۲۵۰-۵۰۰ ppm از روتین در متانول ۶۰٪ تهیه شد. آنگاه ۱/۸ ml از این محلول به لوله آزمایش منتقل گردید. ۱ ml از محلول کلرید آلومینیوم ۲٪ و سپس ۱ ml از محلول ۵٪ استات پتاسیم به آن اضافه گردید. میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر پس از مدت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ nm برای استاندارد فلاونوئید و پس از دو ساعت ونیم در طول موج ۴۴۰ nm برای استاندارد فلاونول قرائت و بر این اساس دو نمودار استاندارد رسم گردید. سپس ۰/۰۲ g از نمونه خشک شده عصاره را در متانول ۶۰٪ حل کرده و به حجم ۱۰ ml رسید. برای تعیین میزان فلاونوئید و فلاونول عصاره‌ها محلولهایی مشابه محلولهای استاندارد تهیه گردید. با این تفاوت که به جای محلول استاندارد ۱/۸ ml از محلول عصاره اضافه شد. نمونه بلانک در این آزمایش متانول ۶۰٪ می باشد. میزان جذب قرائت شده را در نمودار استاندارد قرار داده و به این ترتیب مقدار فلاونوئید و فلاونول کل بر حسب mg/g عصاره معادل روتین محاسبه گردید. تمامی آزمایش ها ۳ مرتبه تکرار و مقادیر متوسط حاصل از ۳ مرتبه تکرار با استفاده از میانگین و انحراف معیار گزارش شد.

^۵. Folin-Ciocaltue

^۴. Rutin

برخوردار است ($p < 0/0001$). بالاترین میزان فلاونوئید در ماش روز دوم جوانه‌زنی است. این در حالی است که در سایر روزها میزان فلاونوئید با بذر شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد. در عدس نیز بذره‌های جوانه زده دو روزه از میزان بالاتر فلاونوئید برخوردار بودند ولی در روزهای دیگر جوانه زنی کاهش میزان فلاونوئید مشاهده شد.

تحقیقات نشان می‌دهد که یکی از فراوان‌ترین گروه متابولیت‌های ثانویه در حبوبات ترکیبات فنلی هستند (لوپز-آمووس و همکاران ۲۰۰۶ و دوناس و همکاران ۲۰۰۹). عسگری و همکاران (۱۳۷۸) نشان دادند در آزمایش‌های شیمیایی میزان پروتئین، خاکستر و فیبر نمونه جوانه‌زده بیشتر از نمونه معمولی بود. پژوهش سیاهپوش و امرایی (۱۳۸۹) نشان می‌دهند که عصاره‌های حاوی ترکیبات فنلی دارای بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. پژوهش حسینی و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد با به کار بردن آرد لوبیای جوانه زده در سوسیس آلمانی می‌توان محصولی با کیفیت فیزیکی، شیمیایی و ارزش تغذیه‌ای بالاتر تولید کرد. در مطالعه جمشیدی و همکاران (۱۳۸۹) فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید رابطه مستقیم دارد. ای-آدوی (۲۰۰۲) مشابه تحقیق سادانا و چبرا در سال ۲۰۰۳، نشان داد که جوانه زدن باعث بهبود قابلیت هضم پروتئین و کاهش عوامل ضدتغذیه‌ای مانند مهارکننده آنزیم تریپسین، فعالیت هم‌گلوٲین، تانن، ساپونین، اسیدفیتیک، استاکیوز و رافینوز گردید. جوانه زدن باعث حفظ بهتر مواد معدنی و ویتامین‌های B در مقایسه با فرآیند پختن گردید. همچنین دوناس و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش نمودند که فنل‌های فلاونوئیدی و غیر فلاونوئیدی در اثر جوانه تغییر اساسی نشان می‌دهند.

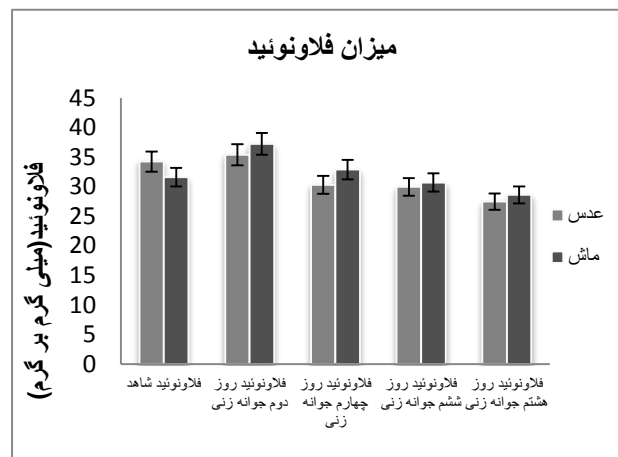
اتاق نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول خوانده شد. بر اساس جذب نوری بدست آمده درصد مهارکنندگی هریک از عصاره‌ها تعیین شد (دیوناس و همکاران ۲۰۰۹).

در نهایت داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS نسخه ۱۹ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون دانکن انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده شد. تمامی سنجش‌ها برای هر نمونه گیاهی سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش گردید.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر وجود تغییر میزان ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی در طی جوانه زنی را تایید می‌نمایند. نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بر میزان فلاونوئیدها، فلاونول، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی دربذره‌های جوانه‌زده دو گیاه عدس و ماش تأثیر دارد. همچنین مقادیر فنل و فلاونوئیدها در بذرها متفاوت بوده و بذره‌های مورد مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی داشتند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مورد بررسی در این مطالعه متناسب با فنل کل موجود در آنها نبوده است. برخی از مطالعات نشان داده‌است که گیاهانی که ترکیبات فنلی بالاتری دارند، فعالیت ضد رادیکال‌های آزاد بالاتری را نشان می‌دهند.

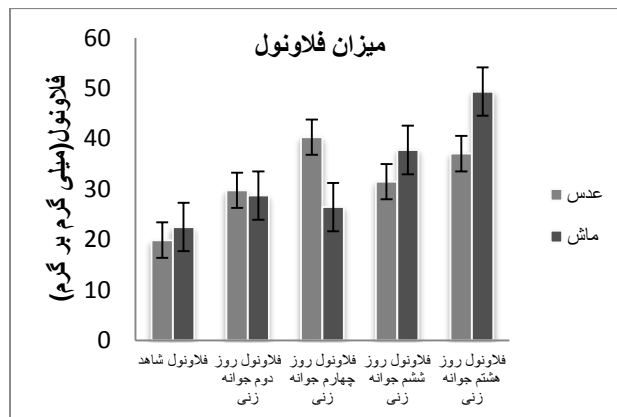
با بررسی جداول آنالیز واریانس مشخص شد که جوانه‌زنی بر تغییر میزان فلاونوئید تأثیر معنی‌داری داشته‌است. بر اساس شکل ۱ بالاترین میزان فلاونوئید مربوط به روز دوم جوانه‌زنی است. با مقایسه میزان فلاونوئید موجود در بذر دو گیاه شاهد، بالاترین میزان متعلق به بذر عدس بود. ولی در سایر روزهای آزمایش ماش نسبت به جوانه عدس از میزان بالاتر فلاونوئید



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان فلاونوئید در طی روزهای جوانه‌زنی به تفکیک بذره‌های مورد آزمایش داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد.

ترکیبات فنلی بخصوص فلاونوئیدها و همچنین فلاونول‌ها به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی بسیار مفید هستند. این مواد با بدام انداختن رادیکال‌های آزاد باعث کاهش استرس اکسیداتیو همچنین مهار اکسیداسیون ماکرومولکولها شده و خطر بیماری‌های دژنراتیو و جهش‌زا را کم می‌کنند. بطور کلی مواد آنتی‌اکسیدان علاوه بر درمان یا پیشگیری از سرطان، بعضی از بیماری‌های قلبی و عروقی، اختلالات مغزی و سیستم ایمنی، در جلوگیری از پیری زودرس ناشی از عوامل اکسیداتیو نیز موثرند (آمس ۲۰۰۳).

در بین بذره‌های شاهد مورد مطالعه، ماش دارای میزان فلاونول بالاتر بوده است (شکل ۲). با شروع مراحل جوانه‌زنی در روز دوم، ششم و هشتم میزان فلاونول در این گیاه افزایش یافت. ماش در هشتمین روز جوانه زنی بالاترین میزان فلاونول را نشان داد. جوانه زنی در ماش باعث افزایش میزان فلاونول شد بطوری که در شاهد کمترین مقدار مشاهده گردید ($p < 0.001$). در عذس جوانه‌های چهار روز به بالاترین میزان فلاونول را داشتند. افزایش میزان فلاونول در این گیاه از شروع آزمایش تا روز چهارم ادامه داشت ولی پس از آن تا حدودی کاهش یافت. این نتایج با یافته‌های فرناندز-اروزکو و همکاران (۲۰۰۹) تطابق داشت.

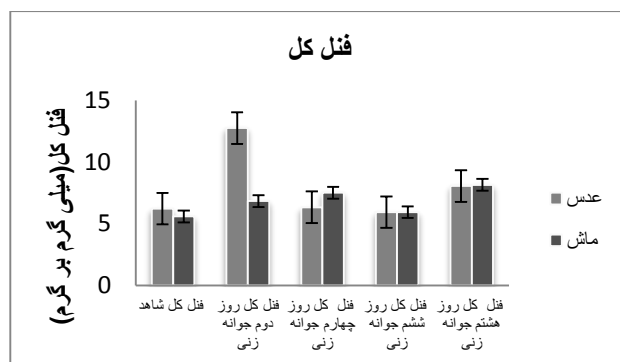


شکل ۲- مقایسه میانگین میزان فلاونول در طی روزهای جوانه‌زنی به تفکیک بذره‌های مورد آزمایش داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد.

ترکیباتی از قبیل ویتامین‌های B₆، B₁₂ ویتامین C، ویتامین E و نیز مواد معدنی هستند. ویتامین B₁₂ معمولاً در گیاهان دیده نمی‌شود اما به دلیل تغییرات هنگام جوانه‌زدن این ویتامین در جوانه‌ها موجود است. ویتامین E موجود در جوانه‌ها نقش موثری در حفظ و سلامت پوست و پیشگیری یا کندی روند پیری سلول‌ها دارد. همچنین میزان ویتامین C بسته به نوع جوانه متفاوت بوده اما میزان آن در جوانه‌ها نسبت به میزان آن در دانه افزایش می‌یابد. جوانه‌ها همچنین حاوی مواد معدنی مانند سلنیوم هستند که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار مهم و پیشگیری کننده از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌توانند در پیشگیری از سرطان‌ها نقش داشته باشند. همچنین منیزیم موجود در جوانه‌ها می‌تواند در کارکرد صحیح عضلات موثر باشد. در جوانه‌زدن میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجود افزایش می‌یابد که این امر موجب راحت‌تر شدن هضم جوانه‌ها می‌شود.

در بین دو بذر مورد بررسی بالاترین میزان فنل کل در عدس دیده شده که مربوط به جوانه‌های دو روزه بوده است (شکل ۳) ($p < 0.0001$). در گیاه عدس بیشترین میزان فنل کل مربوط به روز دوم جوانه‌زنی است. روز چهارم تفاوتی با شاهد از نظر فنل کل دیده نشد. در روز هشتم کاهش نیز دیده شد. در نهایت روز هشتم افزایش مجددی مشاهده شد. در گیاه ماش تفاوت‌های موجود قابل توجه نبود. میزان فنل کل در این گیاه روزهای چهارم و هشتم از میزان بالاتری نسبت به شاهد برخوردار بود (شکل ۳).

فرناندز-اروزکو و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند جوانه‌زدن موجب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی و محتویات فنل‌های نخود می‌گردد. همچنین جوانه‌های بذر می‌تواند به عنوان جایگزین و افزودنی مناسب برای اصلاح عملکرد تغذیه مورد مصرف قرار گیرند. در فرایند جوانه‌زنی تغییرات بسیار و در عین حال مفید بر روی دانه‌ها صورت می‌گیرد که موجب غنی‌تر شدن مواد مغذی موجود در آن می‌شود جوانه‌ها حاوی



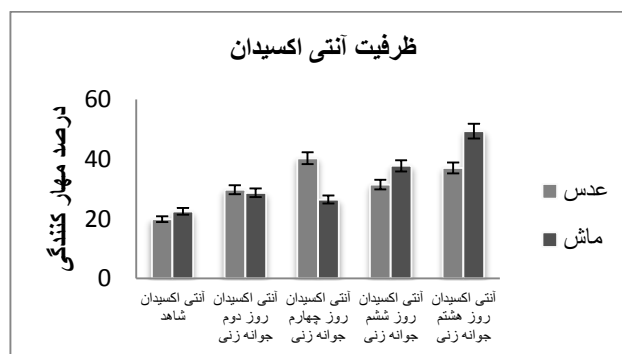
شکل ۳- مقایسه میانگین میزان فنل کل در طی روزهای جوانه‌زنی در بذره‌های مورد آزمایش داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد.

هشت روزه نسبت به شاهد بالاتر بود و بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به جوانه‌های چهار روزه است که در این شرایط ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا را بایستی به سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی علاوه بر ترکیبات فنل نسبت داد. در ماش چنین روند افزایشی نسبت به شاهد

در مقایسه دو بذر مورد مطالعه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عدس کمتر از ماش بود (شکل ۴). جوانه‌های هشت روزه ماش بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را دارد که با میزان فنل کل موجود در این مرحله مطابقت دارد. در عدس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهکهای دو، چهار، شش و

افزایش یافته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذره‌های جوانه‌زده پس از ۶ روز افزایش نشان می‌دهد. ولی در گیاه عدس حالت عکس مشاهده کرد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی پس از جوانه‌زنی در سویا، لوبیا و ماش نیز دیده می‌شود که با افزایش متابولیسم تنفسی دانه همراه است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بعضی از موارد با میزان ترکیبات فنلی مرتبط است. به همین دلیل این خاصیت در روزهای مختلف با یکدیگر متفاوت است. ترکیبات فنلی از جمله ترکیبات بسیار مهم گیاهان بوده که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. این ترکیبات در تمام اندام‌های گیاه یافت شده و بنابراین جزء مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند.

دیده شد. البته بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به جوانه‌های هشت روزه بود. می‌توان بیان کرد که جوانه‌زنی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شده است بطوری که بیشترین میزان در جوانه‌های هشت روزه ماش دیده شده است. بر این اساس می‌توان گفت که تغییر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بذره‌های مورد مطالعه از روند تقریباً یکسانی تبعیت می‌کند ($p < 0.0001$). این نتایج نشان داد که جوانه‌زنی در گیاه ماش بر تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر داشته است و برتری نمونه جوانه‌زده را کاملاً آشکار می‌سازد. این یافته از تحقیق حاضر، همسو با تحقیق لویز-آموس و همکاران (۲۰۰۶) می‌باشد که مشاهده کردند در اثر جوانه‌زنی ترکیبات فنولیک در گیاهان لوبیا و نخود



شکل ۴- مقابسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طی روزهای جوانه‌زنی به تفکیک بذره‌های مورد آزمایش داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می باشد.

می‌شوند و آنتی‌اکسیدانها به عنوان جاروب کننده‌های رادیکال‌های آزاد عمل کرده و سلول‌ها را از تماس با رادیکال‌ها و آسیب سلولی بیشتر محافظت می‌نمایند. احتمال می‌رود مواد آنتی‌اکسیدانی از قبیل ترکیبات فنلی مختلف مانند فلاونوئیدها، کومارین‌ها و کامپفرول در حبوبات به عنوان جاروب کننده‌های رادیکال‌های آزاد باشند. بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طول فرایند جوانه‌زنی توسط پژوهشگران دیگر مشاهده شده است. در گیاه نخود، پنج روز پس از جوانه‌زنی افزایش قابل

فرناندز-اروزکو و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که مقادیر TEAC^۱ تا روز پنجم جوانه‌زنی کمی تغییر کرد اما بعد از ۶ تا ۹ روز به طور قابل توجهی افزایش یافت (به ترتیب ۲۵ و ۲۸ درصد). اعتقاد بر این است که حبوبات به عنوان منبع غنی آنتی‌اکسیدان و حذف کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند. در بدن رادیکال‌های آزاد طی مکانیسم‌های مختلف درونی و عوامل بیرونی تولید

^۶. Transactions on Economics and Computation

^۲. Quencher

Lupin.angustifolins می‌شود که ناشی از بالا رفتن ویتامین C، E، توکوفرول است. در آرد نخود و لوبیای جوانه‌زده، تغییر ترکیبات فنلی با افزایش ظرفیت جاروب کردن رادیکالهای آزاد همراه است (لوپز - آموس و همکاران ۲۰۰۶).

نتیجه گیری

جوانه‌زنی باعث بهبود ویژگیهای تغذیه‌ای بذور مورد مطالعه می‌گردد.

توجهی در میزان ترکیبات پلی‌فنلی دیده شده‌است. افزایش ترکیبات پلی‌فنلی بر روی خاصیت جاروب کردن رادیکالهای آزاد تأثیر می‌گذارد. به همین دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های، متانولی جوانه‌ها به دلیل افزایش میزان پلی‌فنل‌ها می‌باشد. همچنین ارتباط بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال آزاد و کل پلی‌فنول‌ها در لوبیا و در دانه‌های جوانه‌زده‌ی (*Lupin.angustifolins*)، مشاهده شده‌اند. بر اساس گزارشهای مختلف، فرآیند جوانه‌زنی باعث افزایش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در دانه‌های گیاه

منابع مورد استفاده

- باقری ع، محمودی ف، ۱۳۸۴، زراعت و اصلاح لوبیا، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- تقی لوح، عدالت ع، ۱۳۸۷، باغبانی عمومی، انتشارات آوای نور، تهران.
- جمشیدی م، احمدی آشتیانی ح، رضازاده ش، فتحی آزاد ف، مازندرانی م، خاکی آ، ۱۳۸۹، بررسی و مقایسه ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند گونه گیاهی بومی مازندران، فصلنامه گیاهان دارویی، ۹، ۱۸۳-۱۷۷.
- حسینی م، هاشمی نصب آ، قناعت زاده ل، فرحناکی ع، ۱۳۹۰، استفاده از آرد لوبیا چیتی جوانه زده به جای آرد گندم در تولید سوسیس آلمانی، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۷، ۱۱۸-۱۱۱.
- راهزانی ک، ملکی راد ع، شریعت زاده م، بیرامی م، فضل‌د، باغی نیا م، ۱۳۸۸، مقایسه تاثیر عصاره آبی شوید و روغن جوانه گندم بر استرس اکسیداتیو خون موش های صحرایی نر، فصلنامه گیاهان دارویی، ۸، ۸۳-۷۳.
- سپهری فر ر، حسنلو ط، ۱۳۸۸، بررسی ترکیبات پلی‌فنلی، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدهای تام و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی قره قاط (*Vaccinium arctostaphylos L.*) جمع آوری شده از چهار منطقه مختلف ایران، فصلنامه گیاهان دارویی، ۹، ۷۴-۶۶.
- سیاهپوش ا، امرایی ف، ۱۳۸۹، بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدان عصاره‌های مختلف اندام هوایی گیاه *Astragalus murinus* Boiss، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۹، ۴۴۴-۴۳۷.
- شجاع آ، قاسم نژاد م، مرتضوی ن، ۱۳۹۰، تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کیفیت پس از برداشت میوه پرتقال های تامسون ناوول و خونی در طی انبارداری، نشریه علوم باغبانی و صنایع کشاورزی، ۲۵، ۱۵۵-۱۴۷.
- شرافتی چالشتی ر، رفیعیان کوپایی م، شرفی ک، ۱۳۸۷، تعیین میزان ترکیبات فنلی و اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی مغز گردو، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۹، ۵۳۲-۵۲۵.
- عبادی ع، ۱۳۸۰، اثر حرارت مرطوب بر روی برخی شاخص‌های کیفی پروتئین (پروتئین کل و پروتئین محلول در نمک و الکل) و مهار کننده‌های تریپسین در سه گونه از لگوم‌ها، لوبیا، نخود و باقلا. پایان نامه، کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشکده علوم- گروه علوم زیستی، دانشگاه ارومیه.

Ames BN, Shigenaga MK and Hagen TM, 2003. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Pp. 915-922. Proceeding of the National Academy of Sciences of U S A, USA.

Auger C, AL-awwadi N, Bornet A, Rouanet, JM, Gasc F, Cros G and Teissedre PL, 2004. Catechins and procyanidins in Mediterranean diet. Food Research International 37: 233-245.

- Duenas M, Hernandez T, Estrella, I. and Fernandez D, 2009. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds. *Food chemistry* 117: 599-607.
- El-Adaway TA, 2002. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas undergoing different cooking methods and germination. *Plant Foods Human Nutrition* 57(1): 83-97.
- Fernandez-Orozco R, Frias J, Muñoz R, Zielinski H, Piskula, M K, Kozłowska H. and Vidal-Valverde C, 2009. Effect of fermentation conditions on the antioxidant capacity of *Lupinus angustifolius* cv. Zapaton. *European Food Research and Technology* 227: 979-988.
- Lopez-Amoros ML, Hernandez T and Estrella I, 2006. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. *Journal Food Composition Analysis* 19: 277-83.
- Matilla AJ, Matilla-Vazquez, MA, 2008. Involvement of ethylene in seed physiology. *Plant Science* 175: 87-97.
- Ozsoy N, Can A, Yanardag R and Akev, N, 2008. Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry* 110: 571-583.
- Wiseman H and Halliwell B, 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal* 313: 17-29.

Investigation of lentil and mung bean seeds phenolic compounds and antioxidant capacity changes during germination

M Keiani Sam¹, M Ranjbar^{2*} and L Amjad²

Received: August 12, 2014 Accepted: February 08, 2015

¹MSc Student, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

²Assistant Professor, Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

*Corresponding author: Email: ranjbar@iaufala.ac.ir

Abstract

The use of germinated cereals and grains on food industry is growing. Germination can have different effects on seed compounds. In this study, lentils and mung bean, two products that are used in the food industry were germinated and their effects on flavonoid content, total phenolic content and antioxidant properties were investigated. This experiment was arranged factorial experimental design in a completely randomized design with three replications. The germinated seeds were harvested after two, four, six and eight days. Total phenols, flavonoids, flavonol and antioxidant capacity were determined by Folin-ciocalleu method aluminum chloride colorimetric method and DPPH method. The raw lentil seeds had the greatest rates flavonoids compare to raw mung bean seeds. But all the other days of testing, compared to mung bean, lentil sprouts had higher levels of flavonoids. The raw lentil seeds flavonol the greater than raw mung bean seeds. Germination modified the flavonol contents. On four days of germination, mung bean sprouts and eight days of germination, lentil sprouts had the highest levels of flavonols. And was also observed that after six days, germinated lentil seeds and after eight days, germinated mung bean seeds had the highest total phenols. The results indicated that eight days mung bean sprouts had the highest antioxidant capacity that in this period corresponded to the amount of total phenols. Antioxidant capacity on lentil sprouts were the greater than raw seeds and four days sprouts had the highest antioxidant capacity. In this condition, a great antioxidant capacity related to other antioxidant compounds in addition to phenolic compounds. The similar results were observed on mung bean.

Keywords: Antioxidant capacity, Flavonoid, Germination and Total phenols