بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده مهندسی علوم و صنایع غذایی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (M.Sc.) در رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی

استخراج ترکیبات فنولیک از میوه ازگیل (*Mespilus germanica L.*) و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات حاصله

پژوهش و نگارش:
سمانه ممشلو

اساتید راهنما:
دکتر علیرضا صادقی ماهونک
دکتر محمد قربانی

اساتید مشاور:
دکتر مهران اعلمی
دکتر مرتضی خمیری

بهمن ماه ۱۳۹۰

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **سمانه ممشلو** دانشجوی رشته **مهندسی علوم و صنایع غذایی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

این پایان نامه را تقدیم می کنم به مهربان فرشتگانی که...

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست...

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

تشکر و قدردانی

اکنون که با استعانت از درگاه ایزد یکتا دوره ای دیگر از دوران تحصیلی ام را پشت سر نهاده ام، جای آن دارد از همه ی کسانی که طی این مدت مرا یاری نمودند سپاسگزاری نمایم.

ابتدا از جناب آقایان دکتر صادقی ماهونک و دکتر قربانی، برای پذیرفتن استاد راهنمایی اینجانب و مساعدت ها و حمایت های بی دریغشان در طی انجام و تدوین این پایان نامه، نهایت تشکر را دارم.

از اساتید مشاور ارجمند جناب آقای دکتر اعلمی و دکتر خمیری که در طول این پژوهش از همفکری هایشان بهره برده و نکات ارزنده ای در جهت بهبود این تحقیق ارائه نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می کنم.

از هیئت محترم داوران جناب آقایان دکتر مقصودلو و دکتر ضیائی فر و همچنین نماینده تحصیلات تکمیلی دکتر دهقانی، علاوه بر زحمت مطالعه پایان نامه بخاطر مساعدت و همراهیشان با اینجانب نهایت تشکر را دارم.

در پایان از همه دوستان و کسانی که در بخش های مختلف دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با اینجانب همکاری داشتند، سپاسگزارم.

Mespilus germanica

چکیده

ترکیبات فنولیک یک گروه ویژه از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات اکسیدکنندگی رادیکال های آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند. در این پژوهش ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و میزان کل ترکیبات فنولی دو نوع (باغی و جنگلی) میوه ازگیل (***Mespilus germanica L.***) توسط استخراج با حلال‌های استون، متانول و اتانول ۸۰ درصد و آب مورد ارزیابی قرار گرفت. بالاترین میزان ترکیبات فنولی با استون ۸۰ درصد و پس از آن با متانول۸۰ درصد، اتانول ۸۰ درصد و آب حاصل شد. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH، قدرت احیاءکنندگی آهن ۳ ظرفیتی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بررسی شده و با آنتی اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید. مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ی استونی برابر با ۷/۴۳۷ گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. عصاره استونی بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در تمام آزمون های انجام شده نشان داد. بعلاوه تاثیر دما (۵۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد) و pH (۳،۵،۷و۹) روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استونی مورد بررسی قرار گرفت. در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استونی در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد تغییری حاصل نشد و بالاترین پایداری عصاره در pH برابر ۵ بود. همچنین تاثیر خشک کردن انجمادی بر ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و میزان کل ترکیبات فنولی عصاره استونی میوه ازگیل مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره استونی حاصل از میوه خشک شده به روش انجمادی بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در تمام آزمون‌های انجام شده نشان داد. علاوه بر آن، اثر محافظتی عصاره‌ی استونی در روغن سویا بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره استونی حاصل از میوه ازگیل در هر دو نوع باغی و جنگلی قابلیت رقابت با آنتی اکسیدان سنتزی (BHT-۱۰۰) را دارد. همچنین عصاره استونی حاصل از میوه ازگیل فریزدرایر شده در تمامی غلظت‌ها اثر بازدارندگی بیشتری بر اکسیداسیون روغن سویا مورد بررسی داشته و به خوبی توانست اکسیداسیون را به تاخیر بیندازد. براساس نتایج حاصله میوه ازگیل به‌عنوان منبعی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی شناخته شد و خشک کردن انجمادی با جلوگیری و یا به تاخیر انداختن قهوه‌ای شدن آنزیمی باعث افزایش قابل توجهی در محتوی ترکیبات فنولی عصاره حاصل از میوه ازگیل شد. همچنین نتایج نشان داد محتوی ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی بین انواع باغی و جنگلی تفاوت قابل ملاحظه ای دارد.

واژه‌های کلیدی: میوه ازگیل، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی، پایداری عصاره، مهار رادیکال های آزاد

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- اکسیداسیون و اثرات آن ۲

۱-۱-۱- مکانیسم اکسیداسیون روغن‌ها ۴

۱-۱-۲-روش‌های اندازه گیری اکسیداسیون چربی ۵

۱-۱-۲-۱- عدد پراکسید ۵

۱-۱-۲-۲- اندیس تیوباربیتوریک اسید ۵

۱-۲- روش‌های جلوگیری از اکسیداسیون ۶

۱-۳- آنتی‌اکسیدان ها ۶

۱-۳-۱- ترکیبات فنولیک ۸

۱-۴- میوه ازگیل ۱۰

۱-۴-۱- دامنه انتشار ۱۱

۱-۴-۲- ترکیبات تشکیل دهنده و خواص دارویی ۱۱

۱-۵- فرضیه‌ها ۱۲

۱-۶- اهداف ۱۲

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- میوه ازگیل ۱۴

۲-۲- محتوای ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی ۱۶

۲-۳- تاثیر ژنوتیپ گیاهی و شرایط کاشت بر محتوای ترکیبات فنولی ۱۸

۳-۳- پایداری روغن های خوراکی با آنتی اکسیدان های طبیعی ۱۹

فصل سوم : مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد اولیه ۲۲

۳-۲- مواد و محلول‌های شیمیایی ۲۲

۳-۳- دستگاه های مورد استفاده ۲۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۴- آزمون‌های شیمیایی ۲۳
۳-۴-۱- تهیه عصاره ۲۳
۳-۴-۲- اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی ۲۳
۳-۴-۳- ارزیابی میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ۲۴
۳-۴-۴- قدرت احیاکنندگی ۲۴
۳-۴-۵- ظرفیت آنتی‌اکسیدانیکل ۲۵
۳-۴-۶- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در روغن سویا ۲۵
۳-۴-۶-۱- اندازه‌گیری عدد پراکسید ۲۶
۳-۴-۶-۲- عدد تیوباربیتوریک اسید ۲۶
۳-۴-۷- بررسی پایداری حرارتی و pH ۲۷
۳-۵- آنالیز آماری ۲۷

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- نتایج استخراج ترکیبات فنولی ۳۰
۲-۱-۱- مقدار کل ترکیبات فنولی ۳۰
۴-۲- توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ۳۵
۴-۳- قدرت احیاکنندگی ۳۸
۴-۴- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ۴۰
۴-۵- پایداری حرارتی و pH ۴۲
۴-۶- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ها در روغن سویا ۴۵
۴-۶-۱- عدد پراکسید ۴۶
۴-۶-۱-۱- روز چهارم ۴۸
۴-۶-۱-۲- روز هشتم ۴۹
۴-۶-۱-۳- روز دوازدهم ۵۰
۴-۶-۱-۴- روز شانزدهم ۵۴

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۴-۶-۲- عدد تیوباربیتوریک اسید ۵۳
۴-۶-۲-۱- روز چهارم ۵۳
۴-۶-۲-۲- روز هشتم ۵۴
۴-۶-۲-۳- روز دوازدهم ۵۵
۴-۶-۲-۴- روز شانزدهم ۵۶
۴-۷- بررسی تاثیر خشک کردن انجمادی بر میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه ازگیل ۵۹
۴-۷-۱- مقدار کل ترکیبات فنولی ۶۰
۴-۷-۲- به دام اندازی رادیکال های آزاد DPPH ۶۰
۴-۷-۳- قدرت احیاءکنندگی ۶۱
۴-۷-۴- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ۶۲
۴-۷-۵- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش گرمخانه ۶۳
۴-۸- نتیجه‌گیری کلی ۶۷
۴-۹- پیشنهادات پژوهشی و اجرایی ۶۹
منابع ۷۱

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۴-۱- مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های حاصل از میوه ازگیل ۳۵
جدول ۴-۲- مقادیر EC_{50} عصاره‌ها و آنتی اکسیدان سنتزی ۳۸
جدول ۴-۳- مقایسه میانگین مقادیر EC_{50} برای عصاره‌های استونی میوه ازگیل در روش قدرت احیاء کنندگی ۴۰
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین مقادیر EC_{50} برای عصاره‌های استونی میوه ازگیل در روش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل ۴۲
جدول ۴-۵- میانگین درصد بازدارندگی تیمارهای مختلف بر اکسیداسیون روغن سویا طی۱۶روز گرم‌خانه گذاری ۵۲
جدول ۴- ۶- مقایسه میانگین اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف در روغن سویا ۵۷
جدول ۴-۷- مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره های حاصل از میوه ازگیل ۶۰
جدول۴-۸- مقادیر EC_{50} عصاره‌ها و آنتی اکسیدان سنتزی ۶۱
جدول ۴-۹- درصد مهار کنندگی تیمارهای مختلف عصاره‌ی استونی میوه ازگیل و آنتی اکسیدان سنتزی ۶۵
جدول ۴- ۱۰- مقایسه میانگین اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف در روغن سویا ۶۶

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۴-۱- مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده از میوه ازگیل جنگلی در مدت زمان‌های مختلف ۳۱

شکل ۴-۲- مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده از میوه ازگیل باغی در مدت زمان‌های مختلف..... ۳۱

شکل ۴-۳- مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده از میوه ازگیل جنگلی پس از اعمال حرارت..... ۳۳

شکل ۴-۴- مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده از میوه ازگیل باغی پس از اعمال حرارت..... ۳۴

شکل ۴-۵- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل جنگلی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT ۳۶

شکل ۴-۶- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل باغی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT ۳۷

شکل ۴-۷- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌ی استونی میوه‌ی ازگیل جنگلی، باغی و آنتی اکسیدان سنتزیBHT ۳۷

شکل۴-۸- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل جنگلی و آنتی اکسیدان سنتزیBHT..... ۳۹

شکل۴-۹- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل باغی و آنتی اکسیدان سنتزیBHT..... ۳۹

شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل جنگلی و آنتی‌اکسیدان سنتزیBHT..... ۴۱

شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل باغی و آنتی اکسیدان سنتزیBHT..... ۴۱

شکل ۴-۱۲- بررسی پایداری حرارتی عصاره استونی میوه ی ازگیل جنگلی در دمای $50^{\circ}c$ و $100^{\circ}c$ در مدت زمان ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه..... ۴۳

شکل ۴-۱۳- بررسی پایداری حرارتی عصاره استونی میوه ازگیل باغی در دمای $50^{\circ}c$ و $100^{\circ}c$ در مدت زمان ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه ۴۴

شکل ۴-۱۴- بررسی پایداری عصاره استونی میوه ازگیل جنگلی و باغی در pH مختلف (۹ و۷، ۵، ۳) ۴۵

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۴-۱۵-مقایسه عدد پراکسید تیمارهای مختلف عصاره استونی ازگیل باغی با آنتی‌اکسیدان سنتزی و نمونه شاهد ۴۶

شکل۴-۱۶-مقایسه عدد پراکسید تیمارهای مختلف عصاره استونی ازگیل جنگلی با آنتی‌اکسیدان سنتزی و نمونه شاهد ۴۷

شکل۴-۱۷- مقایسه عدد پراکسید تیمار های مختلف عصاره استونی میوه ازگیل جنگلی و باغی ۴۷

شکل۴-۱۸- مقایسه میانگین اعداد پراکسید عصاره ها پس از گذشت چهار روز نگهداری در روغن سویا..... ۴۸

شکل۴-۱۹- مقایسه میانگین اعداد پراکسید عصاره ها پس از گذشت هشت روز نگهداری در روغن سویا..... ۴۹

شکل۴-۲۰- مقایسه میانگین اعداد پراکسید عصاره ها پس از گذشت دوازده روز نگهداری در روغن سویا..... ۵۰

شکل۴-۲۱- مقایسه میانگین اعداد پراکسید عصاره ها پس از گذشت شانزده روز نگهداری در روغن سویا..... ۵۳

شکل ۴-۲۲- مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید عصاره ها پس از گذشت چهار روز نگهداری در روغن سویا ۵۳

شکل ۴-۲۳-مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید عصاره ها پس از گذشت هشت روز نگهداری در روغن سویا ۵۴

شکل۴-۲۴- مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید عصاره‌ها پس از گذشت دوازده روز نگهداری در روغن سویا ۵۵

شکل۴-۲۵- مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید عصاره‌ها پس از گذشت شانزده روز نگهداری در روغن سویا ۵۶

شکل ۴-۲۶- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه-ی ازگیل و آنتی اکسیدان سنتزیBHT. ۶۱

شکل۴-۲۷- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های ازگیل و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT ۶۲

شکل۴-۲۸-مقایسه میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره‌های ازگیل و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT ۶۳

شکل ۴-۲۹- روند تغییرات عدد پراکسید تیمارهای مختلف حاوی عصاره‌ی استونی میوه ازگیل و نمونه شاهد طی نگهداری در دمای $65^{\circ}C$..... ۶۴

فهرست ضمائم

عنوان **صفحه**

نمودار۱- مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف در روغن سویا.....۷۸
نمودار۲- مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف در روغن سویا.....۷۸
نمودار۳- مقایسه میانگین اعداد پراکسید دو عصاره استونی با پیش تیمار (فریز درایر) متفاوت در روغن سویا.....۷۹
نمودار۴- مقایسه میانگین اعداد تیوباربیتوریک اسید دو عصاره استونی با پیش تیمار (فریز درایر) متفاوت در روغن سویا.....۷۹
جدول ۱- میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل جنگلی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT.....۸۰
جدول ۲- میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه ازگیل باغی و آنتی اکسیدان سنتزی BHT.....۸۰
جدول ۳- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط غلظت‌های مختلف عصاره‌های میوه‌ی ازگیل با پیش تیمار های مختلف و آنتی اکسیدان سنتزیBHT.....۸۱

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

واکنش‌های بیوشیمیایی متعددی در بدن، اکسیژن فعال تولید نموده که توانایی تخریب بیومولکول‌ها را دارا می‌باشند. این اثر زیانبخش رادیکال‌های آزاد می‌تواند توسط مواد آنتی اکسیدان بلوکه شود. این ترکیبات موجب به دام اندازی رادیکال‌های آزاد شده و موجب سمیت زدایی می‌شوند. غذاهای غنی از آنتی اکسیدان‌ها نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های مختلف دارند. نظر به اینکه گیاهان منبع آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند تحقیقات در این زمینه رو به افزایش می‌باشد. گیاهانی که غنی از آنتی اکسیدان هستند می‌توانند سلول‌ها ر ا از استرس‌های اکسیداتیو محافظت نمایند (نبوی و همکاران، ۱۳۸۷). امروزه نگاهی به کارهای پژوهشی صورت گرفته در زمینه صنایع غذایی در دنیا نشان می‌دهد که حجم عمده این تحقیقات در چند سال اخیر روی موضوع غذاها و ترکیبات سلامتی‌زا و نیز نگهدارنده‌های طبیعی متمرکز بوده است که این خود نمایانگر تمایل و استقبال جهانی از این نوع ترکیبات می‌باشد و این امر با محرز شدن خواص سرطانزایی و بیماریزایی بسیاری از افزودنی‌های شیمیایی شدت گرفته است (سالاری و همکاران، ۱۳۸۸).

۱-۱- اکسیداسیون و اثرات آن

اکسیداسیون، انتقال الکترون از یک اتم است و یک قسمت از متابولیسم موجودات زنده می‌باشد. مولکول‌های اکسیژن، پذیرنده‌های الکترون در سیستم انتقال الکترون می‌باشند که در بدن از ATP انرژی تولید می‌نمایند. اکسیژن تحت شرایط خاص ممکن است به صورت تک الکترون درآمده و تولید رادیکال آزاد نماید. زمانی که اکسیژن به صورت تک الکترون در می‌آید به آن اکسیژن فعال (ROS) می‌گویند.[1] ROS به لیپیدهای غشاء سلول، پروتئین‌های بافتی یا آنزیم‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA حمله کرده و باعث اکسیداسیون این ترکیبات می‌شود که نتیجه آن آسیب غشایی، تغییرات در ساختمان پروتئین‌ها و آسیب DNA است. رادیکال‌های آزاد واکنشگرهای بسیار قوی هستند که تمایل زیادی برای گرفتن الکترون و جفت کردن الکترون‌های خود دارند، لذا باعث می‌شوند تا دیگر مولکول‌ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند. شواهد محکمی وجود دارد که رادیکال‌های

1. Reactive oxygen species

آزاد مسئول آسیب به لیپیدها، پروتئین ها و اسید های نوکلئیک در سلول‌ها می باشند که باعث بروز اختلالات فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی از قبیل التهابات و بیماری های قلبی و عروقی می‌شود.

خسارت‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداتیو به DNA، پروتئین‌ها و سایر مولکول‌ها می‌تواند باعث پیشرفت و تشدید بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان، پیری، خونریزی کبدی و ایدز گردد (امیری، ۱۳۸۷).

۱-۱-۱- مکانیسم اکسیداسیون روغن‌ها

اکسیداسیون چربی‌ها از مهمترین عوامل فساد و تخریب مواد مغذی موجود در آنها می‌باشد. فساد اکسیداتیو روغن سبب ایجاد طعم وعطر نامطلوب و تخریب جزیی یا کامل ویتامین‌ها و دیگر مواد مغذی از طریق واسطه‌های شیمیایی در مراحل مختلف اکسیداسیون می‌گردد. چربی اکسید شده با پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها واکنش داده و تغییرات شیمیایی مهمی در غذا ایجاد می‌کند.

برای مدتی طولانی تصور می‌شد که ماده حاصل از اکسیداسیون یک پراکسید حلقوی است. فارمر و همکاران (۱۹۴۰) نشان دادند که ماده تولید شده در اکسیداسیون در حقیقت یک هیدروپراکسید می‌باشد. بر طبق پیشنهاد این گروه مکانیزم فرایند اکسیداسیون اساساً بر پایه تشکیل رادیکال آزاد قرار دارد. به‌طور کلی این فرایند شامل سه دسته واکنش زیر می‌باشد.

مرحله آغازین:

$$RH \rightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet} \quad (۱-۱)$$

$$ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + OH^{\bullet} \quad (۲-۱)$$

$$2ROOH \rightarrow RO^{\bullet} + ROO^{\bullet} + H_2O \quad (۳-۱)$$

مرحله گسترش:

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow + ROO^{\bullet} \quad (۴-۱)$$

$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet} \quad (۵-۱)$$

مرحله پایانی

$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow R\text{-}R \quad (۶\text{-}۱)$$

$$R^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOH \quad (۷\text{-}۱)$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2 \quad (۸\text{-}۱)$$

رادیکال‌های آزاد = $ROO^{\bullet}$، $RO^{\bullet}$، $R^{\bullet}$ **هیدروپراکسید** = ROOH **اسید چرب** = RH

همانطور که مشخص است شروع اکسیداسیون با جدا شدن هیدروژن و تشکیل رادیکال آزاد $P^{\bullet}$ صورت میگیرد. در مرحله بعد این رادیکال با اکسیژن ترکیب می‌شود و رادیکال پراکسی را به وجود می‌آورد. این رادیکال به مولکول اسید چرب سالم حمله می‌کند و هیدروپراکسید و رادیکال $R^{\bullet}$ را تولید می‌نماید. این مرحله که به صورت یک سیکل می‌تواند دائماً تکرار گردد، مرحله‌ی گسترش یا توسعه گفته می‌شود. در مرحله‌ی بعد یا پایانی رادیکال‌های آزاد با یکدیگر ترکیب می‌شوند و به این ترتیب از زنجیره واکنش‌های اکسیداسیون خارج می‌گردند. در مرحله پایانی هیدروکربن‌ها، آلدهیدها و کتون‌ها تولید می‌شوند. این که کدام یک از واکنش‌ها در این مرحله صورت می‌گیرند بستگی به میزان موجودیت اکسیژن در محیط دارد. باید توجه شود که طبق روابط فوق، این امکان وجود دارد که رادیکال $R^{\bullet}$ در اثر حمله رادیکال‌های $OR^{\bullet}$ و $OH^{\bullet}$ به اسید چرب نیز به وجود آید (فاطمی، ۱۳۸۷).

۱-۱-۱- روش‌های اندازه‌گیری اکسیداسیون چربی

روش‌های مختلفی برای ارزیابی اکسیداسیون چربی مطرح گردیده است. هیچ آزمایشی نمی‌تواند برای تمامی مراحل اکسیداسیون مفید باشد و هیچکدام به تنهایی برای تمامی چربی‌ها و غذاها مناسب نمی‌باشند. در بهترین شرایط، یک آزمایش می‌تواند یک یا تعداد کمی از تغییرات فیزیکی را در اکسیداسیون کنترل و مشخص نماید. بنابراین مناسب است که ترکیبی از چند روش برای ارزیابی اکسیداسیون به کار گرفته شود (فنما، ۱۹۹۶).

۱-۱-۲-۱- عدد پراکسید[1]

اندیس پراکسید عبارت است از میلی اکی والان گرم پراکسید یا اکسیژن فعال موجود در یک کیلوگرم از نمونه روغن و یا چربی. پراکسید اولین ترکیبی است که بعد از اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها بوجود می‌آید. وقتی که میزان پراکسید به اندازه معین رسید تغییرات مختلفی صورت می‌گیرد ومواد فراری ایجاد می‌شوند که باعث ایجاد بو و طعم نامطلوب در چربی و روغن‌ها می‌گردند. اندیس پراکسید شاخصی برای نشان دادن میزان فساد اکسیداتیو در روغن‌ها و چربی‌ها می باشد. پراکسید اصلی‌ترین محصول ابتدایی در اکسیداسیون می‌باشد و در روش آزمایش، از قدرت پراکسید در آزاد سازی ید از یدید پتاسیم و یا تبدیل آهن سه ظرفیتی به دو ظرفیتی استفاده می‌گردد. این عدد معمولاً بر حسب میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی بیان می‌گردد.

در طول اکسیداسیون و به مرور زمان، عدد پراکسید به حداکثر مقدار خواهد رسید و سپس شروع به کاهش می‌نماید که این امر به دلیل آن است که در مراحل پیشرفته اکسیداسیون پراکسید به محصولات دیگری تجزیه می‌شود (فنما، ۱۹۹۶).

۱-۱-۲-۲- اندیس اسید تیوباربیتوریک[2]

عدد اسید تیوباربیتوریک مقدار مالون دی آلدئید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی است. استفاده از اسید تیوباربیتوریک برای سنجش فساد ناشی از اکسیداسیون روغن‌ها را می توان یک روش کمکی برای سایر روش‌ها از جمله اندازه‌گیری پراکسید، اسیدیته و تندی به حساب آورد. بر اساس تحقیقات انجام شده مشخص شده است که این اندیس مراحل اولیه فساد را تعیین نمی‌کند، لیکن وقتی که روغن اکسید شد تغییرات پایداری در این اندیس پدیدار می‌گردد که می تواند مورد استفاده قرار گیرد. در اثر واکنش اسید تیوباربیتویک با مالون آلدئید رنگ قرمزی تولید می‌شود که با دستگاه طیف سنج نوری اندازه‌گیری می‌گردد (صمدلویی و همکاران، ۱۳۸۶).

1 .Peroxide Value
2 .Thiobarbituric Acid (TBA)

۱-۲- روش‌های جلوگیری از اکسیداسیون

امروزه از روش‌های مختلفی برای جلوگیری از اکسیداسیون استفاده می‌شود:

- بکارگیری ترکیباتی به نام آنتی اکسیدان
- حذف اکسیژن با ایجاد خلاء یا استفاده از گاز بی اثر
- استفاده از دماهای پایین و تاریکی در انبار نمودن محصول (فنما، ۱۹۹۶)

۱-۳- آنتی‌اکسیدان‌ها

واژه آنتی‌اکسیدان به علم شیمی بر می‌گردد. در علم شیمی آنتی‌اکسیدان به ماده‌ای شیمیایی اطلاق می‌شود که از جذب اکسیژن جلوگیری می‌کند. در اواخر قرن ۱۹ و اوایل قرن ۲۰ مطالعات زیادی به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در فرایندهای صنعتی مهم، مثل جلوگیری از زنگ زدگی و خوردگی فلزات، اختصاص داده شد. تحقیقات اولیه در زمینه نقش آنتی اکسیدان‌ها در علوم زیستی به استفاده آن‌ها در جلوگیری از اکسید شدن چربی‌های غیر اشباع که منجر به فساد آنها می‌شود متمرکز شد. تحقیق در مورد اینکه چگونه ویتامین E باعث پیشگیری از فرایند پراکسید شدن چربی‌ها می‌شود، به شناسایی آنتی اکسیدان‌ها به عنوان مواد احیا کننده منتهی شد.

در واقع آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با کاهش سرعت اکسیداسیون، مشخصاً دوره اکسیداسیون کند را افزایش می‌دهند. این مواد ممکن است به طور طبیعی در ماده غذایی وجود داشته باشند و یا در طبیعت موجود نباشند و به صورت سنتزی تهیه و به ماده غذایی اضافه شوند. مکانیسم اثر آنتی اکسیدان‌ها به این ترتیب است که با دادن یک اتم هیدروژن به رادیکال آزاد تشکیل شده، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند. به این ترتیب کارایی و درجه تاثیر یک آنتی اکسیدان به سهولت جدا شدن این اتم هیدروژن از آن مربوط می‌شود. بدیهی است که رادیکال آزاد به جا مانده از آنتی اکسیدان پس از دادن هیدروژن باید حتی الامکان خود سبب تولید رادیکال آزاد اسید چرب و آغاز اکسیداسیون آن نشود و در ضمن سریعاً توسط اکسیژن اکسید نگردد.

آنتی اکسیدان هایی که در حال حاضر استفاده می شوند اساساً دارای ساختمان فنولی با یک یا چند عامل هیدروکسیل هستند. آنتی اکسیدان های فنلی از هر سه ویژگی فوق الذکر برخوردار هستند که دلیل آن وجود رزونانس پایدار در رادیکال تشکیل شده از آنها می باشد (فاطمی، ۱۳۸۷).