بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه کردستان

دانشکده علوم پایه

گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی

عنوان:

جدا سازی و شناسایی مخمرهای تجزیه کننده کافئین و بررسی کاربرد آن در صنعت

پژوهشگر:

مریم برچلویی

اساتید راهنما:

دکتر مراحم آشنگرف

دکتر مسعود حیدری زاده

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش سلولی و مولکولی

اسفند ماه ۱۳۹۲

کلیه حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایـج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان‌نامه (رسـاله) متعلق به دانشـگاه کردستان است.

تعهد نامه

اینجانب مریم برچلویی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش علوم سلولی و مولکـولی دانشگاه کردستان، دانشکده علوم پایه گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی تعهد می نماییم که محتوای این پایان نامه نتیجه تلاش و تحقیقات خود بوده و از جایی کپی برداری نشـده و بـه پایـان رسـانیدن آن نتیجـه تـلاش و مطالعات مستمر اینجانب و راهنمایی و مشاوره اساتید بوده است.

با تقدیم احترام

مریم برچلویی

۱۳۹۲ /۱۲/۲۰

دانشگاه کردستان

دانشکده علوم پایه

گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش سلولی و مولکولی

عنوان:

جدا سازی و شناسایی مخمرهای تجزیه‌کننده کافئین و بررسی کاربرد آن در صنعت

پژوهشگر:

مریم برچلویی

در تاریخ ۲۰ / ۱۲/ ۱۳۹۲ توسط کمیته تخصصی وهیات داوران زیر مورد بررسی قرار گرفت و با نمره ..... و درجه ..... به تصویب رسید.

هیات داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	امضاء
۱ـ استاد راهنما اول	دکتر مراحم آشنگرف	استادیار	
۲- استاد راهنما دوم	دکتر مسعود حیدری زاده	استادیار	
۳ـ استاد داور خارجی	دکتر اسعد معروفی	استادیار	
۴ـ استاد داور داخلی	دکتر محمدعلی زارعی	استادیار	

مهر و امضاء مدیر گروه

مهر و امضاء معاون آموزشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده

نه تو می مانی

نه اندوه

و نه هیچ یک از مردم این آبادی...

به حباب نگران لب یک رود قسم

و به کوتاهی آن لحظه شادی که گذشت

غصه هم خواهد رفت

آنچنانی که فقط خاطره ای خواهد ماند...

لحظه ها عریانند

به تن لحظه خود جامه اندوه مپوشان

هرگز!!

تو به آیینه، نه، آیینه به تو خیره شده ست

تو اگر خنده کنی او به تو خواهد خندید

و اگر بغض کنی

آه از آیینه دنیا که چه ها خواهد کرد!!

گنجه دیروزت، پر شد از حسرت و اندوه و چه حیف!

بسته‌های فردا همه ای کاش ای کاش!

ظرف این لحظه ولیکن خالی ست

ساحت سینه پذیرای چه کس خواهد بود؟

غم که از راه رسید در این سینه بر او باز مکن

تا خدا یک رگ گردن باقی ست

تا خدا مانده، به غم وعده این خانه مده!

تقدیم به اسطوره تلاش و ایثار: پدرم،

عطوفت و مهربانی: مادرم،

و برادران و خواهران عزیزم،

تقدیم به اساتید ارجمندم:

جناب آقای دکتر مراحم آسنگرف و جناب آقای دکتر مسعود حیدری زاده

که استاد بودن شایسته و برازنده ایشان است.

و تقدیم به همه آنان که از فیض وجودشان بهره ها یافته ام، همه آنان که سخاوتمندانه سرمایه علم و معرفتشان را در اختیارم قرار داده اند.

تحسین سپاس به پیشگاه خدای یگانه که هر آن چه دارم لطف اوست.

از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر مراحم آسنگرف و جناب آقای دکتر مسعود حیدری زاده که وجودشان سختی راه را برایم آسان نمود صمیمانه سپاسگزارم.

از اعضای هیئت علمی گروه زیست شناسی، همه دوستان، کارمندان دلسوز و زحمتکش دانشکده علوم پایه، سرکار خانم علیپور و سرکار خانم زارعی تقدیر و تشکر به عمل می آورم.

و با تشکر از همه عزیزانی که ذکر نامشان مقدور نیست.

مریم برچلویی

اسفند ۹۲

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌عنوان زیست واکنشگرهای مبتنی بر شیمی سبز جهت حذف کافئین سمی از پساب‌های صنعتی و محصولات غذایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در بخش اول این پژوهش سویه‌های مخمری با قابلیت تحمل‌پذیری بالا نسبت به کافئین غربالگری شد و حذف زیستی کافئین تحت سلول‌های رویشی مورد بررسی قرار داده شد. در این راستا، ۷۵ سویه‌ی مخمری از مناطق مختلف ایران جداسازی شد و تحمل‌پذیری ذاتی آنها با استفاده از روش رقت در آگار مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، سلول‌های رویشی سویه‌ی مخمری TFS۹ که قابلیت حذف ۸۴/۸ درصد کافئین را بعد از ۶۰ ساعت گرماگذاری داشت، به‌عنوان سویه‌ی برتر انتخاب گردید و بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، فیزیکوشیمیایی و فیلوژنتیک با استفاده از تکثیر توالی‌های ITS۱–۵۸S–ITS۲ rDNA به‌عنوان ساکارومیسس سروزیه TFS۹ (GenBank accession number **KF٤١٤٥٢٦**) شناسایی گردید. در بخش دیگر این پژوهش، بهینه‌سازی فرآیند حذف زیستی کافئین توسط سلول‌های رویشی سویه‌ی بومی مخمری ساکارومایسس سرویزیه TFS۹ با استفاده از روش آماری تاگوچی مورد بررسی قرار گرفته است که میزان حذف زیستی کافئین، با درجه اطمینان ۹۵ درصد، ۸۲/۸ درصد به‌دست آمد در حالی که قبل از آزمایشات بهینه‌سازی، سویه‌ی TFS۹ تنها قادر به حذف ۲۵/۵ درصد از کافئین با غلظت اولیه ۵ گرم در لیتر بعد از ۴۸ ساعت گرماگذاری بوده است که با توجه به افزایش ۳/۲ برابری کارآیی بالای تکنیک طراحی تاگوچی را به‌خوبی اثبات می‌کند. در قسمت دوم این پژوهش، جداسازی و شناسایی مخمرهای با پتانسیل زیست‌تبدیلی کافئین به تئوفیلین و پارازانتین مطالعه شد. براساس نتایج به‌دست آمده از آنالیزهای TLC و HPLC، سلول‌های در حال استراحت سویه‌ی مخمری *Rhodotroula* sp. CW۰۳، دارای پتانسیل تبدیل‌کنندگی کافئین به تئوفیلین و پارازانتین بود. داده‌های حاصل از پژوهش نشان می‌دهد که حذف میکروبی کافئین یک فرآیند ساده و مقرون‌به‌صرفه می‌باشد و رویکرد امیدوارکننده‌ای را جهت توسعه‌ی فرآیندهای بی‌خطر به‌منظور حذف کارآمد کافئین از پساب‌های صنعتی فراهم ساخته و همچنین پتانسیل بیوتکنولوژیک کافئین به‌عنوان یک سوبسترای ارزان‌قیمت در فرآیندهای زیست‌تبدیلی جهت تولید محصولات باارزش، مانند تئوفیلین و پارازانتین را نشان داد.

کلمات کلیدی: تجزیه‌ی زیستی کافئین، سویه‌های مخمری، الگوی تحمل‌پذیری، سلول رویشی، فرآیند زیست‌تبدیلی، سلول در حال استراحت.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول (مفاهیم علمی و پیشینه‌ی تحقیق)..... ۱

۱-۱- متیل‌زانتین‌ها..... ۲

۱-۲- کافئین..... ۳

۱-۲-۱- منابع کافئین ۳

۱-۲-۲- مکانیسم عمل کافئین در بدن انسان ۴

۱-۳- اهمیت تجزیه‌ی کافئین..... ۴

۱-۳-۱- جلوگیری از آلودگی زیست‌محیطی..... ۴

۱-۳-۲- استفاده از ضایعات کارخانه‌ها به‌عنوان خوراک دام..... ۵

۱-۳-۳- کاهش اثرات فیزیولوژیک نامطلوب کافئین برانسان..... ۵

۱-۳-۴- وجود مواد حدواسط باارزش در مسیر تجزیه‌ی کافئین ۶

۱-۴- روش‌های حذف کافئین..... ۷

۱-۴-۱- روش‌های مرسوم جهت حذف کافئین ۷

۱-۴-۲- روش ژنتیکی حذف کافئین از گیاهان ۹

۱-۴-۳- تجزیه‌ی زیستی کافئین ۱۱

۱-۴-۳-۱- تجزیه‌ی کافئین در گیاهان و پستانداران ۱۱

۱-۴-۳-۲- تجزیه‌ی کافئین در باکتری‌ها ۱۱

۱-۴-۳-۳- تجزیه‌ی کافئین در قارچ‌های رشته‌ای ۱۳

۱-۴-۳-۴- تجزیه‌ی کافئین در مخمرها..... ۱۳

۱-۵- تاریخچه استفاده از میکروارگانیسم‌ها در تجزیه‌ی زیستی کافئین..... ۱٤

۱-۶- اهدف تحقیق..... ۱۶

فصل دوم (مواد و روش‌ها)..... ۱۷

۲-۱- مواد، وسایل و دستگاه‌های مورد نیاز..... ۱۸

۲-۱-۱- مواد استفاده شده ۱۸
۲-۱-۲- وسایل و دستگاه‌های استفاده شده ۱۹
۲-۲- مواد و روش‌های مربوط به غنی‌سازی و جداسازی سویه‌های با قابلیت تجزیه‌کنندگی کافئین..... ۲۰
۲-۲-۱- جمع‌آوری نمونه‌ها ۲۰
۲-۲-۲- غربالگری سویه‌های مخمری با توان بالقوه‌ی تحمل‌پذیری نسبت به کافئین ۲۰
۲-۲-۲-۱- انواع محیط‌های کشت ۲۰
۲-۲-۲-۲- روش جداسازی ۲۰
۲-۳- تعیین الگوی تحمل‌پذیری سویه‌های مخمری جدا شده..... ۲۱
۲-۳-۱- روش رقت در آگار ۲۱
۲-۳-۱-۱- استانداردهای مک فارلند ۲۲
۲-۴- غربالگری سویه‌های مخمری با قابلیت تجزیه‌کنندگی کافئین..... ۲۳
۲-۵- سنجش تجزیه‌ی کافئین..... ۲۳
۲-۵-۱- سنجش تجزیه‌ی کافئین با استفاده از روش اسپکتروفتومتری ۲۳
۲-۵-۲- سنجش تجزیه‌ی کافئین در مخلوط واکنش با استفاده از روش HPLC ۲۴
۲-۵-۲-۱- روش کار..... ۲۵
۲-۶- بررسی تجزیه‌ی زیستی کافئین توسط سویه‌ی مخمری TFS۹ ..... ۲۶
۲-۷- شناسایی سویه‌ی مخمری TFS۹..... ۲۶
۲-۷-۱- شناسایی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی ۲۶
۲-۷-۲- شناسایی مولکولی ۲۷
۲-۷-۲-۱- استخراج DNA ژنومی ۲۷
۲-۷-۲-۲- واکنش PCR ۲۸
۲-۸- الکتروفورز ژل آگارز..... ۲۹
۲-۸-۱- مواد مورد استفاده در الکتروفورز ۲۹
۲-۸-۱-۱ بافر TBE..... ۲۹

۲-۸-۱-۲- بافر TAE ۲۹
۲-۸-۱-۳- بافر بارگذاری ۳۰
۲-۸-۱-۴- اتیدیوم برماید ۳۰
۲-۸-۱-۵- مارکرهای وزن مولکولی ۳۱
۲-۸-۲- روش الکتروفورز ۳۱
۲-۹- بهینه‌سازی تجزیه‌ی زیستی کافئین با استفاده از سلول‌های رویشی سویه‌ی مخمری TFS۹ ..... ۳۲
۲-۹-۱- بهینه‌سازی مرحله اول ۳۲
۲-۹-۱-۲- اثر منابع کربن ۳۳
۲-۹-۱-۳- اثر منابع ازت ۳۳
۲-۹-۱-۴- اثر یون‌های فلزی ۳۳
۲-۹-۲- بهینه‌سازی مرحله دوم ۳۳
۲-۱۰- مواد و روش‌های استفاده شده در ارتباط با غربالگری سویه‌های با توان بالقوه‌ی زیست‌تبدیلی کافئین به تئوفیلین و دیگر متیل‌زانتین‌های باارزش ۳۴
۲-۱۰-۱- سویه‌های مخمری با قابلیت زیست‌تبدیلی کافئین ۳۴
۲-۱۰-۲- تکنیک کروماتوگرافی لایه نازک ۳۴
۲-۱۰-۲-۱- اصول کروماتوگرافی لایه نازک ۳۴
۲-۱۰-۲-۲- تعیین فاز متحرک (حلال) ۳۵
۲-۱۰-۲-۳- تعیین مقادیر Rf ۳۵
۲-۱۱- غربالگری سویه‌های مخمری با قابلیت زیست‌تبدیلی کافئین ۳۶

۲-۱۱-۱- غربالگری با استفاده از روش TLC ۳۶

۲-۱۱-۲- غربالگری با استفاده از HPLC ۳۷

۲-۱۲- شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی سویه‌ی مخمری CW۰۳ ..... ۳۷

فصل سوم (نتایج)..... ٤٠

۳-۱- غربالگری سویه‌های بومی مخمری با توان بالقوه تحمل‌پذیری بالا نسبت به کافئین..... ۴۱

۳-۲- جداسازی سویه‌های مخمری دارای تحمل‌پذیری بالا با پتانسیل تجزیه‌کنندگی کافئین..... ۴۳

۳-۳- شناسایی فنوتیپی و مولکولی سویه‌ی مخمری TFS۹..... ۴۳

۳-۴- مطالعه سینتیکی تجزیه‌ی کافئین توسط سلول‌های رویشی مخمر ساکارومایسس سرویزیه سویه‌ی TFS۹..... ۴۸

۳-۵- بهینه‌سازی شرایط تجزیه‌ی زیستی کافئین با کمک رویکرد تاگوچی..... ۵۰

۳-۵-۱- انجام آزمایش تاییدی..... ۵۶

۳-۶- غربالگری سویه‌های مخمری با پتانسیل زیست‌تبدیلی کافئین به تئوفیلین..... ۵۷

۳-۷- شناسایی فنوتیپی و مولکولی سویه‌ی مخمری CW۰۳..... ۵۹

فصل چهارم (بحث و نتیجه‌گیری)..... ٦٢

۴-۱- لزوم حذف زیستی کافئین..... ۶۳

۴-۲- جداسازی و شناسایی سویه‌های مخمری بومی با قابلیت تجزیه‌کنندگی کافئین..... ۶۳

۴-۳- کاربرد تکنیک طراحی تاگوچی در بهبود تجزیه‌ی زیستی کافئین توسط سویه‌ی مخمری ساکارومایسس سرویزیه TFS۹..... ۶۵

۴-۴- غربالگری و شناسایی سویه‌های مخمری بومی با قابلیت زیست‌تبدیلی کافئین..... ۶۷

نتیجه‌گیری..... ٦٨

پیشنهادات..... ٦٩

منابع..... ٧٠

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

فصل دوم (مواد و روش‌ها) **۱۷**

جدول ۲-۱: لیست مواد مورد استفاده ۱۸

جدول ۲-۲: روش تهیه انواع استانداردهای مک فارلند ۲۲

جدول ۲-۳: مواد واکنش دهنده درفرآیند PCR در سویه مخمری TFS۹ ..... ۲۸

جدول ۲-٤: ترکیب محیط نمکی MSM ۳۲

جدول ۲-۵: توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده جهت تعیین هویت سویه‌ی مخمری CW۰۳ ..... ۳۵

جدول ۲-٦: مواد و مقادیر مورد نیاز برای انجام واکنش PCR در سویه‌ی CW۰۳ ..... ۳۹

فصل سوم (نتایج) **٤۰**

جدول ۳-۱: ویژگی‌های فنوتیپی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک سویه‌ی مخمری TFS۹ ..... ۴۶

جدول ۳-۲: عوامل موثر و سطوح مورد بررسی در طراحی آزمایش‌ها به روش آماری تاگوچی ۵۳

جدول ۳-۳: عوامل و سطوح مورد بررسی در آرایه متعامد L۱۶ و نتایج حاصل از حذف کافئین به‌صورت میانگین سه تکرار ۵۳

جدول ۳-٤: ارزیابی تاثیرات متقابل بین جفت عامل‌های مختلف بر میزان حذف زیستی کافئین توسط مخمر ساکارومایسس سرویزیه سویه‌ی TFS۹ ..... ۵۶

جدول ۳-۵: تحلیل واریانس نتایج حاصل از حذف زیستی کافئین توسط سویه‌ی مخمری ساکارومایسس سرویزیه TFS۹ با ۹۵ درصد اطمینان و پس از عمل POOLING ۵۷

جدول۳-٦: شرایط بهینه پیش‌بینی شده برای دستیابی به حداکثر حذف زیستی کافئین توسط سویه‌ی مخمری TFS۹ ..... ۵۸

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

فصل اول (پیشینه و تاریخچه تحقیق) ۱

شکل ۱-۱: ساختار برخی از متیل‌زانتین‌ها..... ۲

شکل ۱-۲: طرح کلی روش‌های شیمیایی برداشت کافئین..... ۹

شکل ۱-۳: مسیر اصلی ساخت کافئین در گیاه قهوه..... ۱۰

شکل ۱- ٤: مسیر تجزیه‌ی کافئین در میکروارگانیسم‌ها..... ۱۴

فصل دوم (مواد و روش‌ها) ۱۷

شکل ۲-۱: روش کشت خطی شکل..... ۲۱

شکل ۲-۲: نحوه کشت نقطه‌ای در روش رقت در آگار..... ۲۲

شکل ۲-۳: کشت خطی بر روی محیط M۹ ..... ۲۳

شکل ۲-٤: طیف جذبی محلول کافئین..... ۲۴

شکل ۲-۵: رسم منحنی کالیبراسیون با استفاده از جذب محلول‌های استاندارد کافئین در دستگاه اسپکتروفتومتری..... ۲۴

شکل ۲-٦: کروماتوگرام حاصل از تزریق محلول استاندارد کافئین به‌وسیله دستگاه HPLC ۲۵

شکل ۲-۷: شمایی ساده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) ۳۵

شکل ۲-۸: کروماتوگرام TLC ترکیبات متیل‌زانتین‌های استاندارد با استفاده از فاز متحرک بوتانول/اسیداستیک/آب با نسبت‌های حجمی ۴:۱:۱..... ۳۶

شکل ۲-۹: کروماتوگرام حاصل از تزریق مخلوط محلول‌های متیل‌زانتین استاندارد به‌وسیله دستگاه HPLC..... ۳۷

فصل سوم (نتایج)..... ٤۰

شکل ۳-۱: نمودار تحمل‌پذیری سویه‌های مخمری بومی جدا شده نسبت به کافئین..... ۴۳

شکل ۳-۲: نمودار درصد حذف زیستی کافئین توسط سویه‌های مخمری با پتانسیل تحمل‌پذیری بالا نسبت به کافئین..... ۴۴

شکل ۳-۳: ویژگی‌های کشتی و ریخت‌شناسی سویه‌ی مخمری TFS۹ ..... ۴۵

شکل ۳-٤: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR سویه‌ی TFS۹ ..... ۴۷

شکل ۳-۵: نتایج حاصل از بلاست در پایگاه NCBI برای سویه‌ی مخمری TFS۹ ..... ۴۸

شکل ۳-٦: درخت فیلوژنتیکی سویه‌ی مخمری TFS۹ با استفاده از روش neighbor-joing ۴۹

شکل ۳-۷: دوره زمانی تجزیه‌ی غلظت‌های مختلف کافئین به‌وسیله سلول‌های رویشی مخمر ساکارومایسس سرویزیه سویه‌ی TFS۹ ..... ۵۰

شکل ۳-۸: اثر منابع کربن (A)، یون‌های فلزی (B) و منابع ازت (C) بر روی خذف زیستی کافئین توسط سلول‌های رویشی مخمر ساکارومایسس سرویزیه سویه‌ی TFS۹ ..... ۵۲

شکل ۳-۹: اثر تغییر سطح هر یک از عوامل بر روند حذف زیستی کافئین توسط سویه‌ی مخمری ساکارومایسس سرویزیه TFS۹ ..... ۵۵

شکل ۳-۱۰: کروماتوگرام HPLC به‌دست آمده از تجزیه‌ی کافئین توسط سویه‌ی مخمری ساکارومایسس سرویزیه TFS۹ ..... ۵۹

شکل ۳-۱۱: آنالیز TLC جهت بررسی پتانسیل تبدیل‌کنندگی کافئین به تئوفیلین در سویه‌های مخمری با پتانسیل تحمل‌پذیری بالا نسبت به کافئین ۶۰

شکل ۳-۱۲: کروماتوگرام‌های حاصل از HPLC پس از ۴۸ ساعت واکنش زیست‌تبدیلی سوبسترای کافئین به‌وسیله سلول‌های در حال استراحت سویه‌ی مخمری CW۰۳ ..... ۶۱

شکل ۳-۱۳: ویژگی‌های ریخت‌شناسی و کشتی سویه‌ی مخمری CW۰۳ ..... ۶۲

شکل ۳-۱٤: (A) توالی نوکلئوتیدی ژن rDNA سویه‌ی CW۰۳ (GeneBank accession no. KF۴۱۴۵۳۱) (B) الکتروفورز محصول PCR ژنوم مخمر CW۰۳، (C) نتایج حاصل از بلاست کردن سویه‌ی CW۰۳ در سایت اینترنتی NCBI ۶۳

فصل اول

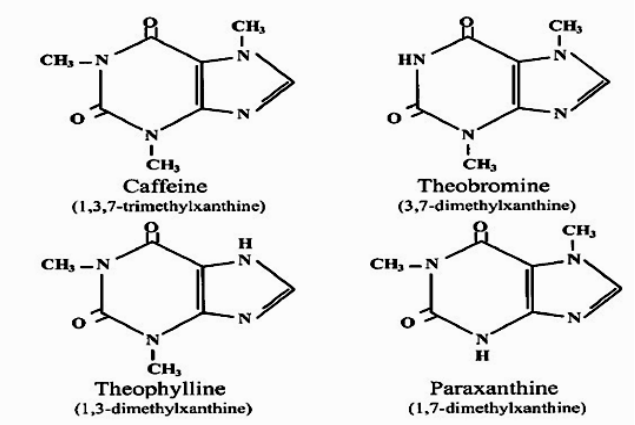
مفاهیم علمی و پیشینه‌ی تحقیق

فصل اول

مفاهیم علمی و پیشینه‌ی تحقیق

۱-۱- متیل‌زانتین‌ها[۱]

متیل‌زانتین‌ها گروهی از ترکیبات آلی هستند که دارای دو بخش حلقه‌ای (مشابه بازهای پورینی) بوده و تعدادی گروه متیل نیز بر روی این حلقه‌ها قرار گرفته‌اند (شکل ۱-۱). در هر کدام از متیل‌زانتین‌ها تعداد و موقعیت گروه‌های متیل متفاوت است. یکی از دلایل اهمیت متیل‌زانتین‌ها شباهت ساختاری آنها به باز نیتروژن‌دار آدنین است. اعضای این خانواده شامل کافئین[۲]، تئوفیلین[۳]، تئوبرومین[۴]، پارازانتین[۵] و چند ترکیب دیگر بوده که همگی در برخی عملکردهای فیزیولوژیک با هم مشترک هستند. به‌طور مثال همه‌ی متیل‌زانتین‌ها دارای خواص آنتاگونیستی برای گیرنده‌های آدنوزین بوده و از این طریق عملکرد آدنوزین را مهار کرده و از القای خواب توسط آدنوزین جلوگیری می‌کنند. از سوی دیگر این ترکیبات با مهار آنزیم فسفودی‌استراز باعث افزایش غلظت cAMP[۶] درون سلولی می‌شوند [۱]. هر یک از متیل‌زانتین‌ها خواص دارویی به‌خصوصی دارند که در ادامه مورد بحث قرار خواهند گرفت. این خواص باعث شده است که محققین همواره به مطالعه این ترکیبات و ایجاد روش‌های جدید برای تولید کارآمد آن‌ها علاقه‌مند باشند.



شکل ۱-۱: ساختار برخی از متیل‌زانتین‌ها

[۱] Methylxanthine
[۲] Caffeine
[۳] Theophylline
[۴] Theobromine
[۵] Paraxanthine
[۶] Cyclic Adenosine Monophosphate

۱-۲- کافئین

کافئین (۱، ۳، ۷-تری‌متیل‌زانتین) ترکیب تجاری مهمی است که به خانواده آلکالوئیدهای پورینی ساخته شده در گیاهان تعلق دارد [۲]. آلکالوئیدهای پورینی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که از نوکلئوتیدهای پورینی مشتق شده‌اند و در نزدیک به ۱۰۰ گونه و ۱۳ راسته از قلمرو گیاهان مشاهده شده‌اند [۳، ۴]. سایر متیل‌زانتین‌ها مانند تئوبرومین، تئوفیلین، پارازانتین و متیل‌یوریک‌اسید نیز به‌عنوان آلکالوئیدهای پورینی طبقه‌بندی می‌شوند. کافئین به‌عنوان محرک رفتاری در قهوه، در سال ۱۸۲۰ جداسازی و ساختار صحیح این متیل‌زانتین در اواخر همان قرن شناسایی شد [۵]. با این وجود ویژگی تحریک رفتار در متیل‌زانتین‌هایی مانند کافئین تا سال ۱۹۸۱ که ارتباط خصوصیات تحریکی کافئین و آنالوگ‌های مختلف آن با مسدود کردن گیرنده‌های آدنوزینی مشخص نشده بود، به‌طور واضح معلوم نشد [۶]. کافئین ترکیب کلیدی در بسیاری از نوشیدنی‌ها به‌خصوص چای و قهوه است. این ترکیب سفید رنگ بوده و در آب، حلال‌های آلی مانند متیلن‌کلراید، کلروفورم، اتانول، اتیل‌استات، متانول و بنزن قابلیت حل‌شوندگی دارد. این مولکول، دارای سه گروه متیل متصل‌شونده به نیتروژن در حلقه زانتینی بوده و همچنین دارای حلقه ایمیدازول و یوراسیل است [۷]. تمام اعضای این خانواده خصوصیات تحریکی عصبی برای انسان دارند، اما کافئین به‌علت داشتن سه گروه متیل دارای خاصیت تحریکی زیاد همراه با اثرات زیان‌آور برای سلامتی است. برداشت گروه‌های متیل اثرات زیان‌آور این مولکول‌ها را کاهش داده و خواص درمانی باارزش مشتقات حاصل را افزایش می‌دهد، در نتیجه دی‌متیل‌زانتین‌های مشتق شده از کافئین دارای خواص دارویی فراوان از جمله خواص ضدآسم، ضد سرطان و آنتی‌اکسیدان هستند [۸].

۱-۲-۱- منابع کافئین

در طبیعت کافئین در برگ‌ها و میوه‌های گیاهانی مانند قهوه[۱]، چای[۲]، گوارانا[۳]، کولا[۴] و کاکائو[۵] وجود دارد اما بیشترین مقدار کافئین در دانه‌های قهوه یافت می‌شود [۲]. خاصیت محرک بودن کافئین باعث شده است که در تولید محصولات غذایی مصرف گسترده‌ای داشته باشد. این ترکیب در ساخت نوشیدنی‌هایی

[۱] *Coffea Arabica*
[۲] *Camellia Sinensis*
[۳] *Paullina Coplanar*
[۴] *Cola Nitida*
[۵] *Theobroma Cacao*