

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

دانشکده مهندسی زراعی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی

موضوع:

بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی لیگنین استخراج شده از
باگاس نیشکر

استاد راهنما:

دکتر رضا اسماعیل زاده کناری

استاد مشاور:

دکتر علی عبدالخانی

دانشجو:

علی ابراهیم زاده

بهمن ۱۳۹۱

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
مقدمه.....	۱
فصل اول: کلیات	۴
۱-۱- اکسیداسیون و رادیکال آزاد.....	۴
۱-۲- آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک.....	۶
۱-۲-۱- بوتیل‌تید هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیل‌تید هیدروکسی تولوئن (BHT).....	۷
۱-۲-۲- ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و گالاتها (Galats).....	۹
۱-۲-۳- اربتروبیگ اسید و آسکوربیل پالمیتات.....	۱۲
۱-۳- آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی.....	۱۳
۱-۳-۱- توکوفرول‌ها و توکوترینول‌ها.....	۱۴
۱-۳-۲- آسکوربیک اسید و نمک‌های آسکورات.....	۱۶
۱-۳-۳- کاروتنوئیدها.....	۱۷
۱-۴- لیگنین.....	۲۰
۱-۴-۳- بیوسنتز لیگنین.....	۲۱
۱-۴-۳-۲- منابع مهم لیگنین.....	۲۳
۱-۴-۳-۳- ویژگی‌های عمومی لیگنین.....	۲۴
۱-۴- به‌کارگیری آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در روغن‌های خوراکی.....	۲۷
فصل دوم: بررسی منابع	۲۹
۱-۲- بررسی ویژگی‌های ساختاری لیگنین.....	۲۹
۱-۲- بررسی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی لیگنین.....	۳۲
فصل سوم: مواد و روش‌ها	۳۹
۱-۳- مواد اولیه.....	۳۹
۱-۳-۲- تهیه‌ی آرد چوب از باگاس نیشکر.....	۴۰
۱-۳-۳- آسیاب دورانی.....	۴۰
۱-۳-۳- خارج کردن مواد استخراجی غیر لیگنینی.....	۴۰
۱-۳-۳-۲- آسیاب تویی.....	۴۱

- ۴-۳- تعیین مقدار لیگنین کل و بازده استخراج..... ۴۲
- ۵-۳- تهیه‌ی لیگنین چوب آسیاب شده (MWL)..... ۴۳
- ۱-۵-۳- جدا کردن لیگنین از حلال دیوکسان-آب..... ۴۴
- ۶-۳- استخراج لیگنین به روش دیوکسان اسیدی (DL)..... ۴۴
- ۷-۳- خالص سازی لیگنین..... ۴۵
- ۸-۳- شناسایی ترکیبات لیگنین با از استفاده از طیف سنجی مادون قرمز (FTIR)..... ۴۷
- ۹-۳- محتوای ترکیبات فنولیک کل..... ۴۷
- ۱-۹-۳- ترسیم منحنی کالیبراسیون..... ۴۷
- ۲-۹-۳- ترکیبات فنولیک لیگنین..... ۴۸
- ۱۰-۳- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)..... ۴۹
- ۱۱-۳- اسیدولیز لیگنین..... ۴۹
- ۱۲-۳- افزودن مشتقات فنولیک لیگنین به روغن آفتابگردان..... ۵۰
- ۱۳-۳- آزمون شاخص رنگ..... ۵۱
- ۱۴-۳- آزمون دی‌ان مزدوج (CDV)..... ۵۱
- ۱۵-۳- آزمون اندیس اسیدی..... ۵۱
- ۱۶-۳- اندازه‌گیری کل ترکیبات قطبی (TPC)..... ۵۲
- ۱-۱۶-۳- تهیه‌ی سلیکاژل..... ۵۲
- ۲-۱۶-۳- پر کردن ستون کروماتوگرافی..... ۵۲
- ۳-۱۶-۳- تهیه و آماده سازی نمونه و حلال جداسازی..... ۵۳
- ۴-۱۶-۳- عملیات کروماتوگرافی و محاسبه‌ی درصد ترکیبات قطبی کل..... ۵۳
- ۱۷-۳- آنالیز آماری..... ۵۴
- فصل چهارم: نتایج و بحث..... ۵۵**
- ۱-۴- تأثیر روش‌های استخراج بر میزان بازده لیگنین..... ۵۵
- ۱-۱-۴- محتوای لیگنین کل در باگاس نیشکر..... ۵۵
- ۲-۱-۴- نتیجه‌ی استخراج با حلال دیوکسان-آب (MWL)..... ۵۶
- ۳-۱-۴- نتیجه‌ی استخراج با حلال دیوکسان-اسیدکلریدریک (DL)..... ۵۶
- ۲-۴- بررسی خصوصیات شیمیایی لیگنین..... ۵۷
- ۱-۲-۴- محتوای کل ترکیبات فنولیک لیگنین..... ۵۷

۵۸	۲-۲-۴- بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی لیگنین.....
۶۱	۳-۴- تعیین گروه‌های عاملی با طیف سنجی مادون قرمز.....
۶۵	۴-۴- فرایند اسیدولیز لیگنین و به دست آوردن ترکیبات فنولیک.....
۶۷	۴-۵-۱- ارزیابی ترکیبات فنولیک لیگنین در پایدارسازی حرارتی روغن آفتابگردان.....
۶۷	۴-۵-۱- اندیس اسیدی.....
۶۹	۴-۵-۲- شاخص رنگ.....
۷۰	۴-۵-۳- تغییرات دی ان مزدوج.....
۷۳	۴-۵-۴- تغییرات مقدار کل ترکیبات قطبی.....
۷۴	۴-۶- نتیجه‌گیری کلی.....
۷۶	۴-۷- پیشنهادات.....
۷۷	منابع و مراجع.....
۸۷	پیوست.....

فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۵.....	شکل ۱-۱ مراحل اکسیداسیون و مهار رادیکال‌های آزاد.....
۷.....	شکل ۲-۱ ساختار شیمیایی مولکول BHA.....
۸.....	شکل ۳-۱ ساختار شیمیایی BHT.....
۱۰.....	شکل ۴-۱ ساختار شیمیایی TBHQ و انواع اکتیل گالات‌ها.....
۱۲.....	شکل ۵-۱ ساختار شیمیایی اریتروبیك اسید و آسکوربیل پالمیتات.....
۱۵.....	شکل ۶-۱ ساختار شیمیایی توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها.....
۱۶.....	شکل ۷-۱ ساختار شیمیایی آسکوربیک اسید.....
۱۸.....	شکل ۸-۱ ساختار شیمیایی کاروتنوئیدها.....
۲۲.....	شکل ۹-۱ مسیر بیوسنتز لیگنین در گیاهان.....
۲۶.....	شکل ۱۰-۱ مونومرهای اصلی لیگنین (P کوماریل الکل، کانیفریل الکل و سیناپیل الکل).....
۴۰.....	شکل ۱-۳ دستگاه آسیاب دورانی.....
۴۱.....	شکل ۲-۳ پمپ مکش آب و دستگاه سوکسله.....
۴۲.....	شکل ۳-۳ محفظه‌ی دستگاه آسیاب تویی به همراه گلوله‌های سنگی.....
۴۶.....	شکل ۴-۳ مراحل مختلف استخراج لیگنین (چارت کلی).....
۴۸.....	شکل ۵-۳ منحنی کالیبراسیون غلظت ترکیبات فنولیک در برابر میزان جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر.....
۵۰.....	شکل ۶-۳ اسیدولیز و جداسازی ترکیبات فنولیک با حلال دی اتیل اتر.....
۵۹.....	شکل ۱-۴ درصد مهارکنندگی لیگنین با غلظت‌های مختلف در برابر رادیکال آزاد DPPH.....
۶۰.....	شکل ۲-۴ مقایسه‌ی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با آزمون دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل.....
۶۳.....	شکل ۳-۴ طیف FTIR لیگنین استخراج شده از باگاس نیشکر (DL).....
۶۴.....	شکل ۴-۴ طیف FTIR لیگنین استخراج شده از باگاس نیشکر (MWL).....
۶۶.....	شکل ۵-۴ چند نمونه از ساختارهای شیمیایی شناسایی شده در فرایند اسیدولیز لیگنین.....
۶۸.....	شکل ۶-۴ رابطه‌ی بین اندیس اسیدی با زمان حرارت دهی در دمای ۱۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد.....
۷۰.....	شکل ۷-۴ رابطه‌ی بین اندیس رنگی با زمان حرارت دهی در دمای ۱۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد.....
۷۲.....	شکل ۸-۴ رابطه‌ی بین عدد دی‌ان مزدوج و زمان حرارت دهی در دمای ۱۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد.....
۷۲.....	شکل ۹-۴ واکنش حلقه‌های فنولیک لیگنین در برابر رادیکال‌های تولید شده در روغن.....
۷۴.....	شکل ۱۰-۴ تغییرات مقدار کل ترکیبات قطبی روغن آفتاب‌گردان طی ۲۴ ساعت تیمار حرارتی.....

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱- آنتی‌اکسیدان‌های مجاز در غذاها.....	۱۹
جدول ۲-۱- مصرف قابل قبول روزانه (ADI) بعضی از آنتی‌اکسیدان‌های مجاز در غذاها.....	۲۰
جدول ۱-۴- مقدار لیگنین کل، فنل کل و بازده استخراج.....	۶۱
جدول ۲-۴- شناسایی پیوندها و گروه‌های مختلف لیگنین دی‌اکسان اسیدی با استفاده از طیف سنجی.....	۶۳
جدول ۳-۴- شناسایی پیوندها و گروه‌های مختلف لیگنین چوب آسیاب شده با استفاده از طیف سنجی.....	۶۴
جدول ۴-۴- ترکیبات حاصل از فرایند پیرولیز لیگنین.....	۶۷

مقدمه

پدیده‌ی اکسیداسیون در طی نگهداری و فرایندهای مختلف اعمال شده بر روی محصولات غذایی خام و فراوری شده باعث ایجاد تندی و توسعه طعم نامطلوب در آن‌ها می‌شود (کارپینسکا و همکاران، ۲۰۰۱). واکنش اکسیداسیون لیپیدها فرایند پیچیده‌ای است که طی آن اسیدهای چرب غیراشباع از طریق یک مکانیسم زنجیره‌ای با اکسیژن وارد واکنش می‌شوند که این واکنش می‌تواند توسط عواملی مانند نور، دما، آنزیم‌ها، فلزات و پروتئین‌های فلزدار تحریک شوند و رادیکال آزاد تولید نمایند رادیکال‌های تولید شده از طریق تخریب ویتامین‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع و سایر ترکیبات باعث افت کیفیت در مواد غذایی می‌شوند؛ به تعویق انداختن فرآیندهای اکسیداسیون برای تولیدکنندگان محصولات غذایی و در واقع برای همه‌ی افراد درگیر در چرخه و زنجیره غذایی از تولید کننده تا مصرف کننده بسیار مهم و حیاتی می‌باشد (لادیکوس و لوگوویس، ۱۹۹۰). آنتی‌اکسیدان‌ها از طریق دفع رادیکال‌های آزاد و زدودن اکسیژن، مواد غذایی را در مقابل اکسیداسیون محافظت می‌کنند. (وان آرت و همکاران، ۲۰۰۴)؛ و ترکیباتی هستند که وقتی در غلظت پایین در مقایسه با سوبسترا در غذا باشند، به طور محسوسی اکسیداسیون سوبسترا را به تأخیر انداخته یا جلوگیری می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌هایی که در این تعریف گنجانده می‌شوند شامل زدااینده‌های رادیکال آزاد، غیرفعال کننده‌های پراکسیدها و دیگر گونه‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS)، چنگالی - کننده‌های فلزات و دفع کننده‌های محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون لیپیدها هستند که تولید بوی تندی^۲ می‌کنند همچنین آنتی‌اکسیدان‌ها به علت قابلیتشان در محافظت بدن در برابر آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، گونه‌های فعال نیتروژن^۳ (RNS) و گونه‌های فعال کلر^۴ (RCS) در سطوح مرتبط با سلامتی نیز به کار برده می‌شوند (شهیدی، ۱۹۹۷). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند بر اساس مکانیسم واکنش‌شان به طور

1-Reactive oxygen species

2- Rancid

3-Reactive nitrogen species

4- Reactive chlorine species

گسترده دسته‌بندی شوند؛ از جمله آنتی‌اکسیدان‌های اولیه که با شکستن زنجیره‌ی واکنش اکسیداسیون، با دادن هیدروژن و تولید رادیکال‌های پایدار عمل می‌کنند و آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه که از طریق چنگالی کردن فلزات، احیای آنتی‌اکسیدان‌های اولیه، تجزیه هیدروپراکسیدها و زدودن اکسیژن، میزان اکسیداسیون را کاهش می‌دهند. اگرچه ترکیبات زیادی برای جلوگیری از فرایندهای تخریبی اکسیداسیون پیشنهاد شده‌اند، فقط تعداد کمی از آنها در فراورده‌های غذایی می‌توانند استفاده شوند. (هوی، ۱۹۹۶). آنتی-اکسیدان‌های مورد استفاده در فراوری غذا باید ارزان، غیر سمی، موثر در غلظت پایین (۰/۰۲ - ۰/۰۱ درصد) فعال در طی فراوری، پایدار و در فراورده پایانی عاری از رنگ، طعم و بوی نامطلوب باشد. به طور کلی انتخاب آنتی‌اکسیدان‌ها بستگی به فرآورده‌ها، سازگاری و قوانین حاکم دارد (ریش و همکاران، ۱۹۹۸). نتایج بسیاری از گزارشات نشان می‌دهد که انتخاب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلیتیدهیدروکسی‌آیزول (BHA)، بوتیلیتیدهیدروکسی‌تولون (BHT) دارای اثرات سمی بر روی سلامتی انسان هستند، بنابراین جایگزین کردن آنتی‌اکسیدان‌های ایمن و طبیعی به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مواد غذایی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. پلی‌فنول‌ها علاوه بر داشتن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی، دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد قارچی نیز می‌باشند، به همین علت در صنایع غذایی مورد مطالعه بیشتر قرار گرفته‌اند (مور و همکاران، ۲۰۰۱). فلاونوئیدها و لیگنین‌ها از جمله ترکیبات فنولیک موجود در گیاهان می‌باشند که بخش اصلی رژیم غذایی انسان را شامل می‌شوند. این ترکیبات به عنوان آنتی‌اکسیدان مناسب برای مهار گونه‌های مضر و فعال اکسیژن مانند O_2^- ، H_2O_2 ، OH^\cdot در نظر گرفته می‌شوند (ساکي‌هاما و همکاران، ۲۰۰۲).

لیگنین یک پلیمر متشکل از اجزاء فنلی است که در دیواره‌ی سلولی و قسمت‌های فیبری گیاهان یافت می‌شود. این ترکیب فراوان‌ترین و مهم‌ترین پلیمر آلی در دنیای گیاهی است که از مونومرهای مختلف p کوماریل (در گیاهان علفی)، کانیفریل (سوزنی‌برگان) و سیناپیل الکل (پهن‌برگان) تشکیل شده است (دی‌زبیت و همکاران، ۲۰۰۴). بیش از یک قرن است که مطالعات گسترده‌ای بر روی لیگنین صورت گرفته است در این مدت پیشرفت‌های قابل توجهی در رابطه با بیوسنتز و توضیح و آنالیز ساختاری لیگنین حاصل

شده است. با این حال در ترتیب و قاعده‌ی تکپارهای سازنده‌ی لیگنین هنوز اختلاف نظرات زیادی وجود دارد. لیگنین را نمی‌توان جزو کربوهیدرات‌ها به شمار آورد اما در سلول گیاهی، ترکیبات لیگنین همراه با کربوهیدرات‌ها وجود دارند. در جریان مراحل شیمیایی تهیه‌ی کاغذ و موادی نظیر آن، لیگنین را باید از خمیر چوب جدا ساخت به این ترتیب می‌توان تصور کرد که مقادیر زیادی از لیگنین به این طریق به دست می‌آید که فعلاً به عنوان یک ماده‌ی زاید از بین برده می‌شود که این خود مشکلی را به وجود آورده است. پیشرفت روش‌های مربوط به تبدیل لیگنین به سایر مواد قابل استفاده، هم مشکل فعلی از بین بردن لیگنین به عنوان یک ماده‌ی زاید را مرتفع می‌سازد و هم ماده‌ای که فعلاً به علت در دست نداشتن راه استفاده از آن به عنوان ماده‌ی زاید محسوب می‌گردد را تبدیل به ماده‌ی مفید قابل استفاده می‌کند (خاوری نژاد ۱۳۸۳). هدف از مطالعه‌ی حاضر، بررسی تأثیر انواع روش‌های استخراج و حلال‌های مختلف بر قدرت آنتی‌اکسیدانی لیگنین و همچنین به دست آوردن مشتقات فنولیک ارزشمند حاصل از آن در پایدارسازی حرارتی روغن آفتابگردان می‌باشد.

فصل اول: کلیات

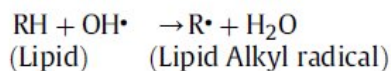
۱-۱- اکسیداسیون و رادیکال آزاد

اکسیداسیون لیپیدها فرایندی است که به طور معمول در بین مولکول‌های اکسیژن و چربی‌های غیراشباع رخ می‌دهد و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود و به دلیل اهمیتی که اکسیداسیون چربی‌ها در ایجاد بد طعمی در مواد غذایی دارد، این پدیده مورد تحقیق گسترده‌ای قرار گرفته است. برای مدتی طولانی تصور می‌شد که ماده‌ی حاصل از اکسیداسیون یک پراکسید حلقوی است سرانجام فارمر^۱ و همکارانش در سال‌های ۱۹۴۲ نشان دادند که ماده‌ی تولید شده در اثر اکسیداسیون در حقیقت یک هیدروپراکسید^۲ می‌باشد. بر طبق پیشنهاد این گروه مکانیسم فرایند اکسیداسیون اساساً بر پایه‌ی تشکیل ترکیبات رادیکالی قرار دارد و رادیکال‌های آزاد ترکیبات فعال، پراثرژی و به شدت ناپایدار هستند که حامل الکترون آزاد می‌باشند. به طور کلی این فرایند شامل سه دسته واکنش زیر می‌باشد (شکل ۱-۱).

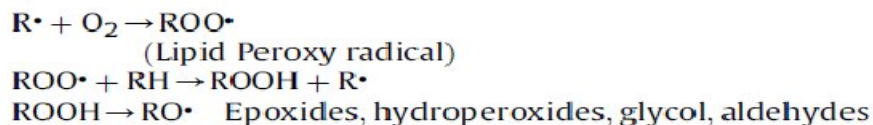
1 -Farmer

2- Hydroperoxide

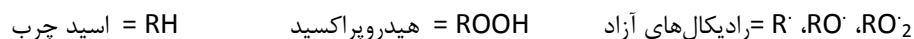
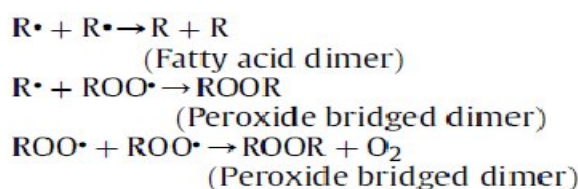
Initiation step



Propagation step



Termination step



شکل ۱-۱- مراحل اکسیداسیون و مهار رادیکال‌های آزاد

مکانیسم اثر آنتی‌اکسیدان‌ها به این صورت است که با دادن اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، از گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند بنابراین کارایی و درجه‌ی تأثیر یک آنتی‌اکسیدان، به سهولت جدا شدن اتم هیدروژن از آن مربوط می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌هایی که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرند اساساً دارای ساختمان فنلی با یک یا چند عامل هیدروکسیل هستند (دشپاند و همکاران، ۲۰۰۲ و فاطمی، ۱۳۸۷). در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر BHT، BHA و TBHQ همانند سایر افزودنی‌های شیمیایی، به دلیل سمیت احتمالی و سرطانزایی آنها، محدود شده است. این ترکیبات فنولی با چندین مکانیسم مختلف، از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. مهم‌ترین عملکردهای این ترکیبات، غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد و تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی می‌باشند. امروزه بیشتر تحقیقات صورت گرفته در این زمینه بر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و بدون خطر از منابع گیاهی، حیوانی، میکروبی و غذائی تمرکز یافته است. بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قابل قبول،

اجزای غذاهای با منابع گیاهی هستند که انسان همواره آنها را از طریق رژیم غذایی خود دریافت می‌کند. از مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدانی موجود در رژیم غذایی می‌توان به توکوفرول‌ها، گلووتاتیون‌ها، اسید آسکوربیک، نمک‌های آسکوربات، کاروتنوئیدها و ترکیبات پلی‌فنولی مانند لیگنین اشاره کرد (هالیول و همکاران، ۱۹۹۵).

۱-۲- آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک

اگرچه تاریخ استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به دوران باستان برمی‌گردد که از شاخ و برگ گیاهان و ادویه-جات برای نگهداری غذاها استفاده می‌شد، اما تکنولوژی مدرن آنتی‌اکسیدان‌ها فقط ۶۰ سال عمر دارد. از آنجا که رادیکال‌های آزاد به عنوان مسئول اکسیداسیون لیپیدها شناخته شده‌اند، صدها ترکیب طبیعی و سنتتیک به عنوان زدااینده رادیکال‌ها و دیگر اثرات بازدارندگی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و از بین آنها فقط چهار آنتی‌اکسیدان سنتتیک به طور گسترده در مواد غذایی مصرف می‌شوند که عبارتند از بوتیلیتید-هیدروکسی‌آنیزول^۱ (BHA)، بوتیلیتیدهیدروکسی‌تولوئن^۲ (BHT)، پروپیل‌گالات^۳ (PG) و ترت‌بوتیل‌هیدروکینون^۴ (TBHQ). (باک و ادوارد، ۱۹۹۷). دانشمندان تلاش می‌کنند تا آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک جدید را با هدف به تاخیر اندازی تأثیر رادیکال‌های آزاد و کاهش صدمات در فرآورده‌های غذایی و به علاوه در سلول‌های بدن گسترش دهند (هوسین و همکاران، ۲۰۰۳). آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک که در صنعت غذا استفاده می‌شوند می‌توانند به صورت مستقیم به عنوان افزودنی و یا به صورت غیر مستقیم از طریق انتشار از مواد بسته‌بندی مصرف شوند. همه‌ی آنتی‌اکسیدان‌ها دارای نقاط ضعف و قوت هستند. بنابراین نقاط خاصی نظیر پایداری حرارتی، غلظت موثر و اثر هم‌افزایی در هنگام انتخاب آنتی‌اکسیدان‌ها برای استفاده در

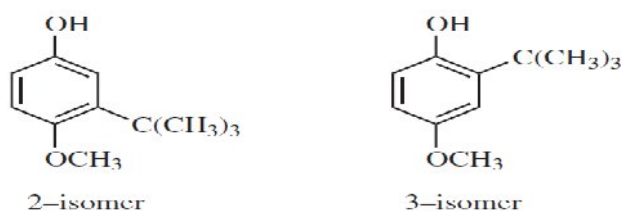
1- Butylated hydroxy anisole

2- Butylated hydroxy anisole

3 - Propylgalate

4 - Tert-butylhydroquinone

یک غذای خاص باید در نظر گرفته شوند. وضعیت قانونی عامل دیگری است که نمی‌تواند نادیده گرفته شود. مخصوصاً برای بعضی از آنتی‌اکسیدان‌ها که پتانسیل اثرات نامطلوب برای سلامتی در آنها گزارش شده است. آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک بر اساس مطالعات سم‌شناسی پیچیده به منظور استفاده در غلظت کم در مواد غذایی تحت ارزیابی‌های ایمنی و تأییدی قرار می‌گیرند. حدود مجاز برای استفاده‌ی آنتی‌اکسیدان‌ها در کشورهای مختلف به طور چشمگیر تغییر می‌کند و بستگی به فراورده‌های غذایی مورد نظر دارد (وان آرت و همکاران، ۲۰۰۴).



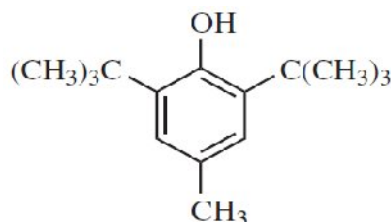
شکل ۱-۲- ساختار شیمیایی مولکول BHA

۱-۲-۱- بوتیل‌تید هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیل‌تید هیدروکسی تولوئن (BHT)

ترکیبات فنولی و پلی‌های آن از آنتی‌اکسیدان‌های بسیار مهم در رژیم غذایی هستند. تنوع ساختاری آنتی‌اکسیدان‌های فنولیک به طور مستقیم، ویژگی‌های فیزیکی آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در نتیجه باعث تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌شود. BHA و BHT نمونه‌هایی از فنول‌هایی هستند که در آنها حلقه‌ی آروماتیک دارای گروه آلکیل است و به طور موثر به عنوان آنتی‌اکسیدان در نظر گرفته می‌شوند (ریش و همکاران، ۱۹۹۸).

BHA به صورت جامد مومی سفید است که به شکل پودری یا قرص فروخته می‌شود و به طور شیمیایی، ترکیبی از ۲ ایزومر است (شکل ۱-۲) ایزومر ۳ به عنوان آنتی‌اکسیدان بهتر ارزیابی می‌شود و حدود ۹۰ درصد BHA تجاری را شامل می‌شود. یک آنتی‌اکسیدان منوفنولی به شدت محلول در چربی است که به شکل گسترده و به صورت امولسیون روغن در آب استفاده می‌شود (باک و ادوارد، ۱۹۹۷). با اثبات اثر قابل

توجه BHA در کنترل اکسیداسیون اسیدهای چرب زنجیر کوتاه، اغلب برای حفاظت از روغن هسته خرما و شیرینی‌جات نیز به کار می‌رود. BHA به دلیل پایداری در برابر حرارت و شرایط ملایم قلیایی، برای پخت مناسب است هر چند که به علت قابلیت فراربت در سرخ کردن مصرف آن محدودیت دارد؛ با این حال می‌تواند به مواد بسته‌بندی اضافه شود تا با تبخیر از میان ماده‌ی بسته‌بندی، از ماده‌ی غذایی حفاظت کند (باک و ادوارد، ۱۹۹۷). BHA خصوصاً در حفاظت از عطر و طعم اسانس‌ها مفید است. علاوه بر این گزارش شده است که این ماده دارای فعالیت ضد میکروبی است و با دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر BHT اثر هم‌افزایی دارد. BHT^۱ یک ماده‌ی جامد کریستالی سفید با ویژگی‌های شبیه BHA است که برای فرایندهای حرارتی مناسب می‌باشد (شکل ۱-۳). این ماده قادر به احیای BHA بوده و برای ارائه‌ی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتر، معمولاً با BHA ترکیب می‌شود (باک و ادوارد، ۱۹۹۷).



شکل ۱-۳- ساختار شیمیایی BHT

معمولاً مخلوط BHT با BHA در سطح ۰/۰۲ درصد به غذاها اضافه می‌شود. BHA و BHT هر دو دارای بوی ناچیز فنولیک هستند و اگر در درجه حرارت بالا و به مدت طولانی استفاده شوند ممکن است باعث ایجاد بوی نامطلوب شوند (ریش و همکاران، ۱۹۹۸). هر چند آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک به طور گسترده در صنعت غذا استفاده می‌شوند، یک سری مباحث درباره‌ی ایمنی آنها وجود دارد (شهیدی و واناسوندارا، ۱۹۹۲). کاربرد BHT و BHA در مواد غذایی به دلیل پتانسیل آنها در گسترش سرطان کاهش یافته است (فاراگ و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه بر ایجاد سرطان شکمبه توسط BHA در جوندگان، آزمایشات نشان می‌دهند که استفاده از BHT نیز می‌تواند به بافت کلیه، جگر و شش موش صحرایی آسیب وارد کند

1 -3,5- Di- tert- butyl- 4 hydroxytoluene

(لانیگان و یاکاریک، ۲۰۰۲). با این حال برخی از دانشمندان معتقدند که متابولیسم BHT در موش صحرایی و انسان به اندازه‌های متفاوت است که اجازه نمی‌دهد BHT چنان مخاطره‌ای را در انسان ایجاد کند (ورهانگن و همکاران، ۱۹۸۹). به طور کلی آنتی‌اکسیدان‌های مجاز در مواد غذایی نظیر BHT و BHA دارای یک حاشیه‌ی امنیت قابل توجه هستند به عنوان مثال دوز لازم برای ایجاد سرطان حداقل حدود ۱۵۰۰ بار بیشتر از مقداری است که انسان در معرض آن قرار می‌گیرد (وایسنر و همکاران، ۱۹۹۴). بعضی از محققان گزارش کرده‌اند که BHT و BHA دارای خطر سرطان‌زایی برای انسان نمی‌باشند و با جلوگیری از اکسیداسیون کلسترول در بدن می‌تواند به عنوان ضد سرطان محسوب شوند (هایروز و همکاران، ۱۹۹۹) با وجود گزارشات مثبت و منفی درباره‌ی آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک در انسان، مصرف آنها در کشورهای مختلف طبق مقررات انجام می‌شود، برای مثال در ایالات متحده، اداره‌ی غذا و دارو^۱ (FDA) و وزارت کشاورزی^۲ (USDA) مسئول نظارت بر حدود مواد افزودنی می‌باشند. بسیاری از کشورهای دیگر قوانین مشابه آنچه که در آمریکا استفاده می‌شود را اقتباس کرده‌اند (ریش و همکاران، ۱۹۹۸). طبق قوانین افزودنی‌های مواد غذایی انتشار یافته توسط اداره‌ی غذا و دارو، BHA و BHT جز افزودنی‌های مجاز به استفاده به صورت تنها یا مخلوط در حداکثر سطح ۰/۰۲ درصد یا ۲۰۰ppm در مواد غذایی لیپیدی هستند که به وسیله‌ی کد قوانین فدرال^۳ (CFR) مشخص شده‌اند. اگرچه BHT و BHA در غلظت‌های پایین موثر هستند ولی در غلظت‌های بالا در مواد غذایی به صورت پراکسیدان عمل می‌کنند (ریش و همکاران، ۱۹۹۸).

۱-۲-۲- ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و گالات‌ها (Galats)

TBHQ به شکل پودر قهوه‌ای مایل به زرد یا کریستال‌های سفید مایل به زرد است که اغلب در کاربردهای سرخ کردن با میزان بالای روغن‌های غیر اشباع گیاهی به کار می‌رود. حلالیت آن در حلال‌های

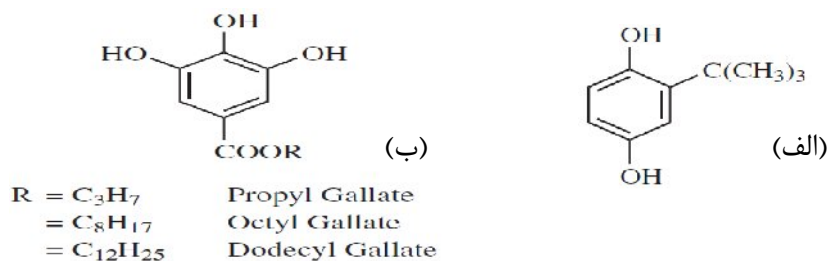
1- Food and Drug Administration

2- U.S. Department of Agriculture

3- Code of Federal Regulations

مختلف به ترتیب نزولی الکل < چربی‌ها > آب است. که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان دی فنولیک، در روغن‌های گیاهی مؤثرتر از BHT و BHA است. این ماده مقاوم به حرارت بوده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر در پیش‌گیری از اکسیداسیون روغن‌های سرخ کردنی و یک جایگزین یا مکمل روغن هیدروژنه برای افزایش پایداری اکسیداسیون به حساب می‌آید (ریش و همکاران، ۱۹۹۸).

TBHQ اثر هم‌افزایی خوبی با اسیدسیتریک نشان می‌دهد. یک مخلوط سه‌گانه از TBHQ، منوآسیل-گلیسرول‌سیترات^۱ (MGC) و آسکوربیل پالمیتات^۲ (AP) بالاترین پایداری حرارتی را نشان می‌دهند و یک محافظت ایتیمم از روغن در طی فرآیند سرخ کردن را فراهم می‌کنند. بنابراین مخلوط TBHQ با BHT و BHA می‌تواند نقطه دود روغن‌ها را افزایش دهد (ین و همکاران، ۱۹۹۷). سه مورد از استرهای اسیدگالیک بنام‌های پروپیل‌گالات (PG)، اکتیل‌گالات و دودسیل‌گالات مجوز استفاده در مواد غذایی را دارند (شکل ۴). پروپیل‌گالات پودر کریستالی سفید است که به میزان اندک در آب و چربی حل می‌شود، در حالی که اکتیل و دودسیل‌گالات در آب نامحلول هستند و در روغن‌ها حل می‌شوند.



شکل ۴-۱ ساختار شیمیایی TBHQ (الف) و انواع اکتیل‌گالات‌ها (ب)

در مواقعی که آنتی‌اکسیدان‌های محلول در لیپید نظیر BHT و BHA و TBHQ مناسب برای مصرف نباشند، پروپیل‌گالات (PG) به طور گسترده در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. PG با توجه به پایداری ناچیز در دماهای بالا، مناسب برای سرخ کردن نیست و در نقطه ذوب خود (۱۴۸°C) تجزیه می‌شود.

1-Monoacylglycerol citrate

2-Ascorbyl palmitate

از آنجایی که گالاتها می‌توانند با آهن و مس تشکیل کمپلکس‌های نامطلوب و تیره رنگی دهند، معمولاً به صورت مخلوط با چنگالی کننده‌های فلزات نظیر¹ EDTA به فروش می‌رسند. گالاتها همچنین می‌توانند با دیگر آنتی‌اکسیدانها اثر هم‌افزایی داشته باشند (باک و ادوارد، ۱۹۹۷).

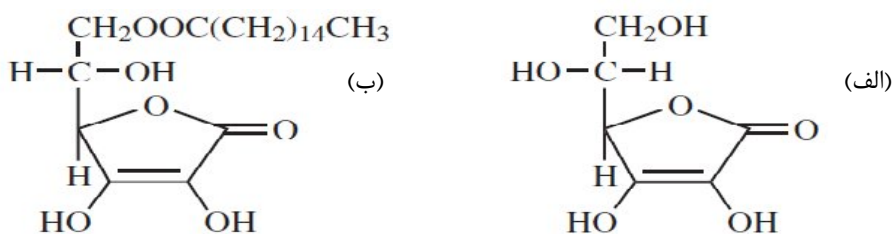
مشابه BHT و BHA، در ایمنی TBHQ و گالاتها نیز به عنوان آنتی‌اکسیدانهای سنتتیک تردید وجود دارد از این رو هم معایب و هم مزایای گالاتها و TBHQ گزارش شده است. TBHQ نوع غیر معمولی از مرگ سلولی را نشان می‌دهد و در پیشرفت نوعی سرطان مغز استخوان موثر است که در این نوع سرطان مغز استخوان، تولید بیش از حد گلبول‌های سفید وجود دارد و به صورت چشمگیری آسیب‌های DNA را افزایش می‌دهد (اوکوبو و همکاران، ۲۰۰۳ و کونگ و همکاران، ۱۹۹۸). گزارش شده است که TBHQ و PG برای سلامتی انسان سودمند هستند TBHQ در پیش‌گیری از اکسیداسیون کلسترول و PG در بازداری از پاتوژن‌های غذایی موثر هستند و می‌توانند فعالیت‌های ضد سرطانی از خود نشان دهند (والن زوالا و همکاران، ۲۰۰۳). بر طبق مقررات استفاده از آنتی‌اکسیدانها در مواد غذایی، میزان مصرف مجاز TBHQ توسط FDA و USDA به ترتیب کمتر از ۰/۰۲ و ۰/۰۱ درصد عنوان شده است. در سطوح بالاتر از ۰/۰۲ درصد، TBHQ ممکن است اثرات پراکسیدان نشان دهد. طبق CFR حداکثر مقدار TBHQ افزودنی ۰/۰۲ درصد (۲۰۰ ppm) است. در هر حال ترکیب TBHQ و PG غیر مجاز است (وان آرت و همکاران، ۲۰۰۴). در ژاپن و کشورهای اروپایی، افزودن TBHQ به مواد غذایی مجاز نیست در حالی که استفاده آن در کانادا کاملاً تازه است و به سال ۱۹۹۹ برمی‌گردد. PG تنها گالاتی است که استفاده آن در مواد غذایی در ایالات متحده و کانادا مجاز می‌باشد. گالاتها دارای غلظت‌های بهینه برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند و اگر در سطوح بالاتر به کار روند ممکن است به عنوان پراکسیدان عمل کنند.

1- Ethylene diamine tetraacetic acid

۱-۲-۳- اریترویک اسید^۱ و آسکوربیل پالمیتات^۲

اریترویک اسید (یا D آسکوربیک اسید) پودر کریستالی سفید یا اندکی زرد رنگ است که اغلب در میوه‌ها و گوشت‌های فرآوری شده جهت تثبیت رنگ فراورده‌ی غذایی استفاده می‌شود (شکل ۵). بر خلاف ایزومر خود یعنی L- آسکوربیک اسید، یک ترکیب طبیعی از غذاها نیست و کمتر از ویتامین C خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد (ریش و همکاران، ۱۹۹۸).

آسکوربیل پالمیتات یک مشتق سنتتیک از آسکوربیک اسید به شکل پودر سفید با طعم صابونی و بوی شبیه مرکبات است که نسبت به آسکوربیک اسید و نمک‌های آن حلالیت بهتری در لیپیدها دارد و اغلب به حالت ترکیب با α -توکوفرول‌ها در غذاهای حاوی لیپید استفاده می‌شود. آسکوربیل پالمیتات با زدودن اکسیژن یگانه، مانع اکسیداسیون می‌شود. اخیراً جایگزینی بخش پالمیتات با اولئات به منظور افزایش حلالیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روغن‌ها پیشنهاد شده است (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۷). (شکل ۶)



شکل ۱-۵- ساختار شیمیایی اریترویک‌اسید (الف) و آسکوربیل‌پالمیتات (ب)

علاوه بر آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک اصلی که بحث شد (BHA, TBHQ, BHT)، گالات‌ها، اریترویک اسید و آسکوربیل پالمیتات) چندین آنتی‌اکسیدان سنتتیک دیگر نیز وجود دارند که در موارد خاص در صنعت غذا استفاده می‌شوند؛ از جمله‌ی مهم‌ترین آنها می‌توان به اتوکسی‌کوئین^۳، تری‌هیدروکسی-

1-Erythorbic acid

2- Ascorbyl palmitate

3- Ethoxyquin