دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

(گرایش فیزیولوژی گیاهی)

بررسی مقایسه ای آناتومی برگ وفعالیت پاداکسایشی در چند گونه گلابی (*Pyrus* L.)

تنظیم ونگارش:

نسیبه دهقان

اساتید راهنما:

دکتر سیاوش حسینی سرقین

دکتر رشید جامعی

بهمن ۹۲

حق چاپ ونشر این اثر برای دانشگاه ارومیه محفوظ است

بسم الله الرحمن الرحیم

پایان نامه کارشناسی ارشد آقای / خانم : نسیبه دهقان به تاریخ ۹۲/۱۱/۱۳ شماره ۲۵۸۱-۲با

رتبه عالی و نمره ۱۹ (به حروف نوزده) مورد پذیرش هیات محترم داوران

قرار گرفت.

۱- استاد راهنما و رئیس هیئت داوران: دکترسیاوش حسینی

۲- استاد راهنمای دوم : دکتر رشید جامعی

۳- داور خارجی: دکتر لطیفه پوراکبر

٤- داور داخلی: دکتر جلیل خارا

٥- سرپرست تحصیلات تکمیلی: دکتر جلیل خارا

تقدیم به؛

پدر و مادر عزیز و مهربانم:

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، چراکه این دو وجود، پس از پروردگار، مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. و به آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند، حال این برگ سبزی است تحفه درویش تقدیم آنان که بهترین اند...

سپاسگزاری؛

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت نمی توانم معنایی بالاتر از تقدیر و تشکر بر زبانم جاری سازم و سپاس خود را در وصف استادان خویش آشکار نمایم، که هرچه گویم و سرایم، کم گفته ام.

از استاد گرانقدر و شایسته؛ جناب آقای دکتر سیاوش حسینی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند؛ از استاد بزرگوار و محترم، جناب آقای دکتر رشید جامعی، که زحمت راهنمایی این پایان نامه را متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این تحقیق به نتیجه مطلوب نمی رسید؛ و از اساتید فرزانه و دلسوز؛ جناب آقای دکتر جلیل خارا و سرکار خانم دکتر لطیفه پور اکبر که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم. با تقدیر و تشکر شایسته از همه اساتید محترم و همچنین کسانی که مرا در به سرانجام رساندن این پایان نامه یاری نمودند؛

جناب آقای دکتر مرادی

جناب آقای دکتر ایرج برنوسی

جناب آقای مهندس مهدی دهقان

جناب آقای دکتر سید محمد نقیبائی

سرکار خانم مریم نادم

سرکار خانم نفیسه دهقان

سرکار خانم آمنه پوررستمی

که با نکته های دلاویز و گفته های بلند، صحیفه های سخن را علم پرور نمودند و همواره راهنما و راه گشای بنده در اتمام و اکمال پایان نامه بوده اند. باشد که این خرد ترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید

فهرست **صفحه**

چکیده ۱

۱ **فصل اول:کلیات** ۲

۱-۱- مطالعات بیوشیمیایی ۳

۱-۱-۱- رادیکال های آزاد ۳

۱-۱-۲- انواع رادیکال های آزاد ۳

۱-۱-۳- سازوکارهای مقابله با رادیکال های آزاد ۳

۱-۱-۳-۱- سازوکار با منشأ درونی ٤

۱-۱-۳-۲- سازوکار با منشأ بیرونی ٤

۱-۱-٤- تنش اکسیداتیو ٤

۱-۱-۵- پاداکساینده های طبیعی و مصنوعی ۵

۱-۱-٦- دگرگوهره های ثانویه ٦

۱-۱-۷- ترکیبات فنولی در گیاهان ۷

۱-۱-۷-۱- اسیدهای فنولیک ۷

۱-۱-۷-۲- فلاونوئیدها ۸

۱-۱-۷-۳- تانن ها ۱۰

۱-۲- کلیات گیاه شناسی ۱۰

۱-۲-۱- تیره ی گل سرخ (Rosaceae) ۱۰

۱-۲-۱-۱- شرح جنس گلابی (*Pyrus* L.) ۱۱

گلابی گرگانی، تلکا (*Pyrus boissieriana* buhse) ۱۱
خُج – گلابی (*Pyrus communis* L.) ۱۲
گلابی خزری (*Pyrus hyrcana* fedor) ۱۳
۱-۳- ترکیبات شیمیایی موجود در گلابی ۱٤
۱-٤- خواص درمانی ۱۵
۱-۵- مطالعات آناتومیکی ۱۵
۱-۵-۱- آناتومی گیاهان ۱۵
۱-۵-۲- ریخت شناسی برگ ۱٦
۱-۵-۲-۱- روپوست یا اپیدرم (Epidermis) ۱٦
۱-۵-۲-۲- مزوفیل یا میانبرگ (Mesophyll) ۱٦
۱-۵-۲-۳- بافت آوندی (Vascular tissue) ۱۷
۱-۵-۳- ساختمان دمبرگ ۱۸
۱-٦- بافت های بالغ گیاهی ۱۸
۱-٦-۱- بافت پارانشیم (Parenchyma tissue) ۱۸
۱-٦-۲- بافت کلانشیم (Collanchyma tissue) ۱۹
۱-۷- مطالعات مورفولوژیکی ۱۹
۱-۸- سابقه ی تحقیق ۲۰
۱-۹- هدف ۲۱
۲ فصل دوم: مواد و روش ها ۲۲

۲-۱- مطالعات بیوشیمیایی ۲۳
۲-۱-۱- جمع آوری نمونه ها ۲۳
۲-۱-۲- عصاره گیری ۲۳
۲-۱-۳- تعیین محتوای فنولی کل ۲۳
۲-۱-٤- تعیین محتوای فلاونوئیدی کل ۲٤
۲-۱-۵- سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH (۲،۲- دی فنیل – ۱- پیکریل هیدرازیل) ۲٤
۲-۱-٦- تعیین درصد جمع آوری رادیکال های پراکسید هیدروژن ۲۵
۲-۱-۷- تعیین درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید ۲۵
۲-۱-۸- تعیین درصد جمع آوری رادیکال های نیتریک اکسید ۲٦
۲-۱-۹- قدرت احیای آهن با استفاده از سنجش FRAP (Ferric redacing antioxidant power) ۲٦
۲-۱-۱۰- سنجش ظرفیت مهار پراکسیداسیون چربی با روش تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۲٦
۲-۱-۱۱- تعیین سرعت شکستگی زنجیر ۲۷
۲-۲- مطالعات آناتومیکی ۲۷
۲-۲-۱- آماده سازی نمونه های برگ مورد مطالعه ۲۷
۲-۲-۲- رنگ آمیزی معمولی به روش کارمن زاجی – سبز متیل ۲۷
۲-۳- مطالعات مورفولوژیکی ۲۸
۲-۳-۱- ویژگی های مورفولوژیکی ۲۸
۲-۳-۲- اندازه گیری سطح برگ ۲۸
۲-٤- آنالیز آماری ۲۹

۳ فصل سوم: نتایج و بحث ۳۰

۳-۱ مطالعات بیوشیمیایی ۳۱

۳-۱-۱- محتوای فنول کل ۳۱

۳-۱-۲- محتوای فلاونوئید کل ۳٤

۳-۱-۳- درصد جمع آوری رادیکال DPPH (۲،۲- دی فنیل-۱- پیکر یل هیدرازیل) ۳۷

۳-۱-٤- درصد جمع آوری رادیکال پراکسید هیدروژن ٤۲

۳-۱-۵- درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید ٤٤

۳-۱-٦- درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید ٤۷

۳-۱-۷- قدرت احیای آهن با استفاده از سنجش FRAP (Ferric reducing antioxidant power) ۵۰

۳-۱-۸- مهارکنندگی پراکسیداسیون چربی ۵۲

۳-۱-۹- سرعت شکستگی زنجیر ۵٤

۳-۲- مطالعات آناتومیکی ۵۷

۳-۲-۱- مطالعات آناتومیکی برگ ۵۷

۳-۲-۱-۱- نتایج مربوط به تیپ برگ، تعداد لایه های پارانشیم نردبانی و تعداد لایه های پارانشیم اسفنجی ۵۷

۳-۲-۱-۲ نتایج مربوط به ضخامت برگ، رگبرگ میانی و اندازه های سلول های اپیدرمی برگ و طول بزرگترین سلول پارانشیم رگبرگ میانی ۵۸

۳-۲-۲- مطالعات آناتومیکی دمبرگ ٦٤

۳-۲-۲-۱- نتایج مربوط به ضخامت دمبرگ، تعداد دستجات آوندی و طول بزرگترین سلول اپیدرم دمبرگ ٦٤

۳-۲-۲-۲- نتایج مربوط به اندازه دستجات آوندی، طول بزرگترین سلول پارانشیم و شکل دستجات آوندی دمبرگ ٦۵

۳-۳- مطالعات مورفولوژیکی ۶۹

۳-۳-۱- اندازه گیری طول پهنک، عرض پهنک، نسبت طول به عرض پهنک، طول دمبرگ و سطح برگ ٦٩

۳-٤- نتیجه گیری کلی ۷۱

پیشنهادات ۷۲

پیوست ۷۳

منابع ۷٦

Abstract ۹۰

فهرست جداول **صفحه**

جدول ۳-۱ نتایج مربوط به تیپ برگ، تعداد لایه های پارانشیم نردبانی و تعداد لایه های پارانشیم اسفنجی ۵۷

جدول ۳-۲- نتایج مربوط به ضخامت برگ، ضخامت رگبرگ میانی، اندازه سلول های اپیدرمی و طول بزرگترین سلول پارانشیم رگبرگ میانی ۵۸

جدول ۳-۳- نتایج مربوط به ضخامت دمبرگ و تعداد دستجات آوندی و طول بزرگترین سلول اپیدرم دمبرگ ٦٤

جدول ۳-٤- نتایج مربوط به طول بزرگترین دسته آوندی، طول بزرگترین سلول پارانشیم و شکل دستجات آوندی دمبرگ ٦٥

جدول ۳-۵- بررسی مطالعات مورفولوژیکی طول پهنک، عرض پهنک، نسبت طول به عرض پهنک، طول دمبرگ، سطح برگ. ٦٩

فهرست نمودارها **صفحه**

نمودار ۳-۱- محتوای فنولی (بر حسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر) در برگ ها و میوه های *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P < ۰/۰۵..... ۳۱

نمودار ۳-۲- محتوای فلاونوئید کل در برگ ها و میوه های *P. boisseriana* ، *P. communis* و *P. hyrcana* (بر حسب میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر). (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P <۰/۰۵ ..... ۳۵

نمودار ۳-۳- همبستگی بین محتوای فنولی و فلاونوئیدی کل ۳۶

نمودار ۳-٤- درصد جمع آوری رادیکال DPPH در برگ ها و میوه های *P. boissieriana*، *P. communis* ، *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P <۰/۰۵ ..... ۳۸

نمودار ۳-۵- مهار رادیکال آزاد DPPH براساس $IC_{۵۰}$ در برگ ها و میوه های *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P <۰/۰۵..... ۳۹

نمودار ۳-٦- همبستگی بین محتوای فنولی ودرصد جمع آوری رادیکال آزاد DPPH ٤۰

نمودار ۳-۷- همبستگی بین محتوای فنولی ومهار رادیکال آزاد DPPH براساس $IC_{۵۰}$ ٤۱

نمودار ۳-۸- درصد جمع آوری رادیکال پراکسید هیدروژن در برگ و میوه ی گونه های *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P <۰/۰۵ ..... ٤۲

نمودار ۳-۹- همبستگی بین محتوای فنولی ودرصد جمع آوری رادیکال پراکسید هیدروژن..... ٤۳

نمودار ۳-۱۰- درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید در برگ ها ومیوه های *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P <۰/۰۵..... ٤۵

نمودار ۳-۱۱- همبستگی بین محتوای فنولی ودرصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید ٤٦

نمودار ۳-۱۲- درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید در برگ و میوه ی گونه های *P. boissieriana* ، *P. communis* و *P. hyrcana* . (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری P <۰/۰۵ ..... ٤۸

نمودار ۳-۱۳- همبستگی بین محتوای فنولی ودرصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید ٤۹

نمودار ۳-۱٤- قدرت احیاء با استفاده از سنجش FRAP در میوه و برگ سه گونه ی گلابی *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری ۰/۰۵> P ۵۰

نمودار۳-۱۵- همبستگی بین محتوای فنولی و قدرت احیا براساس سنجش FRAP ۵۱

نمودار ۳-۱٦- فعالیت مهار پراکسیداسیون چربی در میوه و برگ گونه های *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (بر حسب میکروگرم MDA بر گرم وزن تر). (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری۰/۰۵> P ۵۳

نمودار۳-۱۷- همبستگی بین محتوای فنولی ومیزان مالون دی آلدهید..... ۵٤

نمودار ۳-۱۸- سرعت شکستگی زنجیر در برگ ها و میوه های سه گونه ی گلابی *P. boissieriana*، *P. communis* و *P. hyrcana* (۳ تکرار ± SE) در سطح آماری۰/۰۵> P..... ۵۵

نمودار۳-۱۹- همبستگی بین محتوای فنولی وشکستگی زنجیر ۵٦

فهرست تصاویر **صفحه**

شکل ۱-۱- ساختار ترکیبات فنولی: هیدروکسی بنزوئیک اسیدها ۸

شکل ۱-۲- ساختار ترکیبات فنولی: هیدروکسی سینامیک اسیدها ۸

شکل ۱-۳- ساختار فلاونوئیدها ۹

شکل ۱-٤- گلابی گرگانی (*Pyrus boissieriana* buhse) ۱۲

شکل ۱-٥- گلابی (*Pyrus communis* L.) ۱۳

شکل ۱-٦- گلابی خزری (*Pyrus hyrcana* fedor) ۱٤

شکل۳-۱- برش عرضی برگ در ۳ گو نه گلابی(٤۰۰×). ٦۰

شکل۳-۲- برش عرضی رگبرگ میانی در ۳ گو نه گلابی(۱۰۰×).. ..... ٦۱

شکل۳-۳- طول بزرگترین سلول اپیدرم برگ ۳ گونه گلابی (٤۰۰×). ٦۲

شکل ۳-٤- طول بزرگترین سلول پارانشیم رگبرگ میانی (٤۰۰×). ٦۳

شکل ۳-٥- مقطع عرضی دمبرگ در ۳ گونه گلابی (۳۲×). ٦٦

شکل۳-٦- طول بزرگترین سلول اپیدرم دمبرگ (٤۰۰×). ٦۷

شکل۳-۷- طول بزرگترین سلول پارانشیم دمبرگ (٤۰۰×).. ..... ٦۸

چکیده

گلابی منبع بسیار غنی از ویتامین های A ، C وپلی فنل هامی باشد. که این ترکیبات پاداکسایندہ های عمده ای هستندکه خطر بیماری ها را کاهش می دهند. در تحقیق حاضر محتوای فنولی و فلاونوئیدی کل و همچنین فعالیت پاداکسایشی عصاره ی متانولی برگ ها و میوه های۳ گونه گلابی استان گیلان (تلکا، گرگانی *Pyrus boissieriana* buhse ، خُج *Pyrus communis* L. ، خزری *Pyrus hyrcana* fedor) بررسی شد. در بین گونه های مطالعه شده برگ گونه ی *P. communis* دارای بیشترین (۰/۸۰ ±۹/۲۵ میلی گرم گالیک اسید در۱۰۰گرم وزن تر) و میوه ی گونه ی *P. communis* دارای کمترین (۰/۰۳ ± ۱/۵۰ میلی گرم گالیک اسید در۱۰۰گرم وزن تر) محتوای فنولی بودند. بیشترین مقدار فلاونوئید در برگ گونه ی *P. boissieriana* (۰/۰۳ ±۲/۳۹ میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن در میوه های دو گونه ی *P. boissieriana* و *P. hyrcana* (۰/۰۰۳ ± ۰/۰٤ میلی گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد. همچنین بالاترین ظرفیت جمع آوری رادیکال DPPH در برگ گونه های *P. boissieriana* (۰/۲۰ ± ۷۲) و *P. hyrcana* (۰/۲۸±۷۲درصد) بود و کمترین ظرفیت جمع آوری متعلق به میوه ی گونه ی *P. communis* (۱/۰۹ ± ۳۳/۱۸ درصد) بود. از نظر مهار رادیکال آزاد (DPPH) بر اساس IC۵۰ میوه گونه ی *P. communis* بالاترین مقدار (۰/۰۰۳± ۰/۳۹ میکرو گرم بر میلی لیتر) و برگ گونه ی *P. boissieriana* کمترین مقدار (۰/۰۰٦± ۰/۱٤ میکرو گرم بر میلی لیتر) را نشان داد. بیشترین درصد جمع آوری رادیکال پراکسید هیدروژن متعلق به میوه ی گونه ی *P. communis* (۰/۷۷ ± ۸۰/٤۰ درصد) و کمترین فعالیت در برگ گونه ی *P. boissieriana* (۰/٦۹ ± ۳۰/۳۲ درصد) مشاهده شد. از نظر جمع آوری رادیکال سوپر اکسید در میوه ی گونه ی *P. hyrcana* بیشترین (۰/۰۲ ± ۱/۵٦ درصد) و برگ گونه ی *P. communis* کمترین (۰/۰۱ ± ۱/۱۲ درصد) فعالیت را نشان داد. برگ گونه ی *P. hyrcana* بیشترین (۰/۰٤ ± ۱/٦٤) درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید و میوه ی *P. boissieriana* کمترین (۰/۰۰۹± ۰/۷۲ درصد) فعالیت را دارا بودند از نظر قدرت احیاء بر اساس سنجش FRAP برگ *P.communis* (۰/۲۲ ± ۷/۱۹ M $FeSO_4$ / 100g FW) و میوه ی گونه ی *P. hyrcana* کمترین (M $FeSO_4$/ 100g FW ۰/۰۳±۱/۱۵) مقادیر را داشتند. میوه ی گونه ی *P. hyrcana* دارای بیشترین فعالیت مهار کنندگی پراکسیداسیون چربی (۰/۸۵ ± ۳۹/۱۰ میکرو گرم MDA بر گرم وزن تر) و برگ گونه ی *P. communis* دارای کمترین (۰/٤۵ ± ۱۳/۸۵ میکرو گرم MDA بر گرم وزن تر) فعالیت بود. از نظر سرعت شکستگی زنجیر برگ گونه ی *P. boissieriana* بیشترین (-Abs^{-3}/ min/ mg FW ۰/۰۱ ± ۰/٤۱) و میوه ی *P. hyrcana* کمترین (-Abs^{-3}/ min/ mg FW ۰/۰۰٦± ۰/۱۰) مقادیر را داشتند. ضخامت برگ، رگبرگ میانی و دمبرگ در بین ۳ گونه ی آزمایش شده متفاوت بود . در بین گونه های متفاوت صفات مورفولوژیک از قبیل طول پهنک و سطح برگ نیز متفاوت بود.

کلمات کلیدی: فعالیت پاداکسایشی، آناتومی برگ، گلابی

فــصل اول

کلیــات

۱-۱- مطالعات بیوشیمیایی

۱-۱-۱- رادیکال های آزاد

رادیکال های آزاد ترکیبات بسیار فعالی هستند که دارای الکترون منفرد یا جفت نشده ای می باشند که در حین واکنش اکسیژن با بعضی مولکول‌ها در بدن (طبق اعمال متابولیک طبیعی) ساخته می شوند. همه سلول های بدن دارای اتم‌هایی با هسته بار مثبت و الکترون‌هایی با بار منفی به دور خود هستند. چه طی فعالیت‌های متابولیکی بدن و چه هنگامی که بدن در معرض عوامل محیطی نامناسب قرار می‌گیرد، الکترون‌ها می‌توانند از مدار خود خارج شوند. در این حالت اتمی که الکترون از دست داده است ناپایدار می-شود و سعی می‌کند تا از اتم‌های نزدیک به خود الکترون بگیرد تا جایگزین الکترون از دست رفته نماید و درنتیجه واکنش های زنجیره‌ای به راه می‌افتد که عواقب سویی درپی دارد . درواقع رادیکال های آزاد به دلیل داشتن مقادیر زیادی از انرژی بسیار ناپایدارند و جهت کاهش میزان انرژی با مواد شیمیایی خاصی در بدن واکنش داده و درنتیجه در عملکرد طبیعی سلول‌های بدن تداخل ایجاد می‌کنند (Porkorny *et al*., 2001; Roos, 2004).

۱-۱-۲- انواع رادیکال های آزاد

رادیکال های آزاد، مولکول‌های بسیار ناپایدار و بسیار واکنش‌پذیر هستند که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1])، نظیر «آنیون سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن» و گونه‌های فعال نیتروژن(RNS[2]) مانند «نیتریک اکسید و پراکسید نیتریت» را دربرمی-گیرند (Çakir *et al*., 2006).

۱-۱-۳- سازوکارهای مقابله با رادیکال های آزاد

دو سازوکار برای مقابله با رادیکال های آزاد وجود دارد: سازوکاری با منشأ درونی که شامل مدافعین پاداکساینده آنزیمی و غیرآنزیمی است که در بدن تولید می شوند و دیگری که به وسیله مواد غذایی فراهم می‌شود و سازوکاری با منشأ بیرونی نام دارد (Kuhn and Borchert, 2002).

1- Reactive Oxygen Species
2- Reactive Nitrogen Species

۱-۱-۳-۱- سازوکار با منشأ درونی

مهمترین پاداکساینده های آنزیمی که در خنثی کردن ROS/RNS شرکت می کنند. شامل سوپراکسید دیسموتار (SOD)، کاتالاز(CAT)، تیوردوکسین ردوکتاز، پراکسید ردوکسین و گلوتاتیون پراکسیداز (GP) می‌باشند (Hayes and Melellan, 1999). مجموعاً این آنزیم‌ها اولین خط دفاعی را برعلیه سوپراکسید و پراکسید هیدروژن فراهم می‌کنند. آن‌ها در متوقف کردن آسیب حدواسط‌های ROS به ماکرومولکول‌های زیستی خیلی مهم هستند، اما نمی‌توانند صددرصد مؤثر باشند. به این دلیل که برخی ترکیبات تولید شده توسط واکنش متقابل ROS ها با ماکرومولکول‌ها واکنش‌پذیری بالایی دارند، بنابراین سم زدایی این محصولات ثانویه به منظور جلوگیری از صدمات درون سلولی بیشتر، تخریب ترکیبات سلولی و حتی مرگ سلول لازم می‌باشد. این دومین خط دفاعی برعلیه ROS ها است که به وسیله‌ی آنزیم‌هایی مثل GP، گلوتاتیون – S- ترانسفراز (GST)، آلدو- کتو ردوکتاز و آلدهید دهیدروژناز انجام می‌شود (Kuhn and Borchert, 2002).

۱-۱-۳-۲- سازوکار با منشأ بیرونی

ترکیبات زیادی در گیاهان و سبزیجات توانایی واکنش با رادیکال های آزاد بدون تولید رادیکال های بیشتر را دارند. بنابراین واکنش‌های زنجیره‌ای را فرو می‌نشانند. سایر ترکیباتی که ROS ها را به مقدار زیاد پاکسازی می‌کنند، اکسید می‌شوند و لازم است که برای استفاده‌ی بیشتر دوباره تولید شوند. ترکیبات پاداکساینده به طور مستقیم با رادیکال های القا کننده‌ی تنش اکسیداتیو واکنش می-دهند و اثر حفاظتی خود را برعلیه آسیب های سلولی اعمال می کنند (Gawrieh, 2004) .

فراوان‌ترین پاداکساینده‌های سبزیجات شامل: ویتامین C و E، ترکیبات فنلی و مخصوصاً فلانوئید ها است. و این پاداکساینده ها رادیکال‌ها را پاکسازی می‌کنند و شروع واکنش‌های زنجیره‌ای را متوقف می‌کنند، یا تکثیر واکنش های زنجیره ای را می شکنند (Block *et al*., 2004)

۱-۱-٤- تنش اکسیداتیو

افزایش تولید رادیکال آزاد و یا کاهش سطح پاداکسایشی ممکن است باعث تخریب اکسیداسیونی سلولی اسیدهای چرب چند پیوند دوگانه موجود در ساختمان غشاء سلولی شود که به عنوان پراکسیداسیون لیپید شناخته شده و اگر چنان چه این تخریب اکسیداسیونی شروع شود به طور زنجیره وار ادامه می یابد که این وضعیت در نهایت ممکن است باعث مرگ سلولی همراه با علائم گسترده بیماری شود. عدم تعادل بین تأثیر دفاعی پاداکسایشی و افزایش تولید رادیکال های آزاد باعث حالتی می شود که به آن تنش

اکسیداتیو می گویند. تنش اکسیداتیو در نتیجه افزایش تولید اکسیژن هایی مثل اکسیژن های فعال به وجود می آید. این وضعیت ممکن است باعث آسیب سلولی شده در برخی بیماری ها مؤثر می باشد (Halliwell, 1999).

۱-۱-۵- پاداکساینده‌های طبیعی و مصنوعی

بدن انسان به طور مداوم در معرض تنش اکسیداتیو درنتیجه‌ی عدم تعادل میان سیستم‌های حفاظتی ضد اکسیداتیو و تشکیل مواد اکسید کننده‌ی قوی شامل رادیکال های آزاد می‌باشد (Kancheva, 2009).

رادیکال های آزاد جهت پایداری خود به سایر مولکول‌ها در بدن حمله می‌کنند که درنهایت منجر به آسیب سلولی و تشکیل رادیکال های آزاد دیگرو درنتیجه یک واکنش زنجیره‌ای می‌شود. این گونه‌های واکنش‌پذیر در بیماری‌های عروقی خاص و پیری، التهاب، مالاریا، آتریت روماتوئید، آب مروارید، ایدز، بیماری‌های قلبی و سیستم عصبی (آلزایمر و پارکینسون) نقش دارند (Szôllôsi and Varga, 2002; Pourmorad *et al*., 2006; Odukoya *et al*., 2005).

در مقابل این عوامل، پاداکساینده‌ها ترکیب‌هایی هستند که به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال های آزاد ایجاد می‌شوند، کمک نموده و بدین وسیله آسیب وارده به سلول‌ها و بافت‌ها را مهار کرده و یا به تأخیر می‌اندازند.

از جمله مکانیسم‌های عملکردی آنها واکنش جمع‌آوری گونه‌های رادیکال آزاد اکسیژن و نیتروژن می‌باشد. پاداکساینده‌ها می‌توانند آسیب رادیکال های آزاد حاصل از اکسیداسیون LDL کلسترول که می‌تواند موجب تصلب شرایین شود و نیز پیشبرد چسبندگی پلاکت‌ها که منجر به ترومبوزیس شده و به این وسیله موجب افزایش خطر بیماری‌های قلبی یا سکته می‌شود را مهار نمایند.

همچنین رادیکال های آزادی را که موجب آسیب به DNA سلول می‌شوند جمع‌آوری کرده و با این روش پیشرفت سرطان را مهار می‌کنند. همچنین می‌توانند پیشرفت التهاب و اختلال در عملکرد سیستم ایمنی را محدود نمایند (Lakenbrink *et al*., 2000).

ارزش پتانسیلی پاداکساینده‌ها، محققان را وادار به جستجوی ترکیبات طبیعی با فعالیت پاد اکسایشی بالا و سمیت کم کرده است.

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تعدادی از محصولات گیاهی شامل: پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها، کومارین‌ها، ترپن‌ها و انواع عصاره‌های گیاهی، فعالیت پاداکسایشی از خود نشان می‌دهند (Roussis *et al*., 2005). در جستجو برای پاداکساینده‌های طبیعی جدید، بعضی گیاهان در سال‌های اخیر از لحاظ ترکیبات پاداکساینده و جمع‌کننده‌ی رادیکال‌ها به طور گسترده‌ای مطالعه شده‌اند که از جمله‌ی آنها می‌توان به آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنولی اشاره داشت (Espin *et al*., 2000; Rice-Evans *et al*., 1997).

همه اندام‌های هوازی دارای دفاع پاداکسایشی شامل آنزیم‌های پاداکساینده و سازوکارهایی جهت جابه‌جایی یا تعمیر مولکول‌های آسیب دیده می‌باشند (Davies, 2000). با این وجود گاهی این سازوکار پاداکسایشی طبیعی ناکافی بوده و بنابراین داشتن رژیم غذایی حاوی ترکیبات پاداکساینده مهم است (Halliwell, 1994) . شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوءتغذیه‌ای پاداکساینده‌های مصنوعی مثل هیدروکسی آنیزول بوتیله شده (BHA[3])، هیدروکسی تولوئن بوتیله شده (BHT[4]) و ترت بتا هیدروکسی کینون را تأیید کردند و علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از معایب پاداکساینده-های مصنوعی است (Gao *et al*., 1999; Williams *et al*., 1999).

بنابراین نیاز به پاداکساینده‌های قوی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر است. امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین پاداکساینده‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه‌جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند. مصرف پاداکساینده‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری ایجاد می‌کند (Frankel, 1999).

۱-۱-٦- دگرگوهره‌های ثانویه[5]

دگرگوهره‌های ثانویه ترکیباتی هستند که هیچ نقش مستقیمی در فرآیندهایی مانند فتوسنتز، تنفس، انتقال مواد، تمایز و یا تشکیل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها یا لیپیدها ندارند و درحقیقت فرآورده‌های جانبی در جریان تولید دگرگوهره‌های اولیه در داخل سلول‌های گیاهی هستند. این ترکیبات برخلاف دگرگوهره‌های اولیه و آمینواسیدها، نوکلئوتیدها، قندها و اسیدهای چرب انتشار محدود در قلمرو گیاهان دارند. و به عبارت دیگر دگرگوهره‌های ثانویه‌ی خاص، اغلب فقط در یک گونه، یا گیاهان مرتبط با آن گونه یافت می‌شوند. نقش‌های مهم این ترکیبات عبارتند از: ۱- حمایت از گیاهان دربرابر گیاهخواران، ۲- جلوگیری ازآلوده شدن با پاتوژن‌های میکروبی و ۳- ایجاد جاذبه برای جانورانی که در گستراندن دانه‌ها و گرده‌افشانی نقش دارند. آلکالوئیدها، فنل‌ها، تریپتوئیدها و روغن‌های مومی، از ترکیب‌های مهم دگرگوهره‌های ثانویه‌ی خاص می‌باشند ترکیب‌های ثانویه از نظر رده‌بندی، ترکیب‌های فنلی هستند (Lincon and Eduardo, 2002).

3- Butylated hydroxy anisole
4 - Butylated hydroxy toloene
5- Secondary metabolites