





دانشکده علوم پایه

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته شیمی گرایش تجزیه

عنوان:

استخراج برخی افزودنی‌های مواد غذایی با استفاده از روشی سریع، آسان، ارزان، موثر، نیرومند و ایمن (کچرز) و آنالیز آن‌ها با کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

استاد راهنما:

سرکار خانم دکتر زهرا طالب پور

استاد مشاور:

سرکار خانم دکتر وحیده مهدوی

دانشجو:

زهرا سفیدی

اسفند ماه ۱۳۹۲

"کلیه دستاوردهای این تحقیق متعلق به دانشگاه الزهرا (س) است."

ماحصل آموخته‌هایم را با کمال افتخار و امتنان تقدیم می‌کنم به :

محضر ارزشمند پدر بزرگوارم

و

مهربان‌ترینم، مادر عزیزم

که همواره دعایشان بدرقه‌ی راهم بوده است.

## پروردگارم، تو را سپاس

چرا که تو در کمال سخاوت به من بخشیده‌ای، بخشیده‌ای پدر و مادری که موهایشان در راه عزت من سپید گشت و دست‌هایشان برای موفقیت من پینه بست. پس پروردگار، به من توفیق ده تا هر لحظه شکر گزارشان باشم و ثانیه‌های عمرم را در عصبای دست بودنشان بگذرانم.

و خواهران و برادرانی بخشیده‌ای که زیبایی حضورشان در کنارم، خستگی‌های این راه را به امید و روشنی تبدیل کرده است.

و به من استادی بخشیده‌ای که در هر لحظه‌ی این دوران به در محضر ایشان بودن افتخار کرده‌ام و چقدر ظرف وجودم کوچک بود که به حداقل اکتفا نمودم. استاد عزیزم، سرکار خانم دکتر زهرا طالب پور، برایم تا ابد استاد خواهید ماند و چقدر دل‌پذیر است اگر مرا همیشه به عنوان شاگرد کوچکتان تان بپذیرید.

## پروردگارم

دوستان عزیزمی به من بخشیده‌ای، نگهدارشان باش و شادی و شور را همیشه در دل‌هایشان پایدار ساز. و با سپاس از سرکار خانم دکتر وحیده مهدوی که از مشاوره‌های ارزشمند ایشان در این پروژه استفاده نمودم. از محضر ارزشمند استاد گرامی جناب آقای دکتر علیرضا قاسم پور به خاطر داورمی این پایان نامه و راهنمایی‌های ارزشمندشان کمال تشکر را دارم.

به امید آن که توفیق یابم که جز خدمت به خلق نکوشم، خدمتی سرشار از شور و نشاط و همراه و همسوی با علم و دانش و پژوهش جهت رشد و شکوفایی ایران اسلامی.

## چکیده

سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات به طور گسترده‌ای در صنایع غذایی به عنوان نگهدارنده‌های غذا و به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌های مختلف، مخمرها و قارچ‌ها استفاده می‌شوند. مصرف بی‌رویه‌ی این مواد افزودنی عوارض جانبی به همراه دارد که کنترل سطح غلظتی آن‌ها را ضروری می‌نماید. در این پایان‌نامه برای اولین بار، یک روش آماده‌سازی نمونه‌ی سریع، آسان، ارزان، موثر، نیرومند و ایمن (کچرز) برای اندازه‌گیری این دو نگهدارنده در محصولات لبنی استفاده شد. آنالیز در این روش با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام شد. این روش امکان اندازه‌گیری هم‌زمان دو نگهدارنده را فراهم می‌کند.

روش کچرز، تلفیقی از استخراج مایع و پاکسازی به کمک جاذب‌هایی که به صورت پخشی مورد استفاده قرار می‌گیرند، می‌باشد، تا بتواند قندها، لیپیدها، استرول‌ها، پروتئین‌ها و آب اضافی را جذب کند. در این بررسی، فاکتورهای موثر در روش کچرز اعم از نوع روش، نوع حلال، نوع و مقدار نمک، pH نمونه و زمان استخراج بهینه شدند. همچنین مقادیر بهینه دو جاذب PSA و C<sub>18</sub> با طراحی مختلط مرکزی به دست آمدند. با توجه به آزمایش‌های انجام شده روشی مشابه روش کچرز اصلی انتخاب شد. در این روش اصلاح شده، استون به عنوان حلال استخراج‌کننده، افزودن نمک سدیم کلرید با مقدار ۰/۶ گرم در مرحله‌ی استخراج، ۳ pH= به عنوان pH بهینه‌ی نمونه، زمان ۲ دقیقه به عنوان زمان استخراج و مقدار ۵۶/۸ میلی‌گرم از هر کدام از جاذب‌های PSA و C<sub>18</sub> به عنوان مقادیر بهینه در مرحله‌ی پاکسازی انتخاب شدند. همچنین آنالیز نمونه‌های حقیقی با روش ساده‌ی پروتئین زدایی نیز انجام شد. ارزیابی کامل دو روش از نظر محدوده‌ی خطی بودن، حد تشخیص، حد کمی، بازیافت و تکرار پذیری بین روز و درون روز انجام شد. در مورد روش کچرز منحنی درجه بندی در محدوده‌ی غلظتی ۵۰-۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر با ضریب هم‌بستگی ۰/۹۹۸ و ۰/۹۹۵ به ترتیب برای سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات رفتار خطی مناسبی نشان داد. همچنین درصد بازیافت این دو نگهدارنده با این روش در نمونه حقیقی در غلظت‌های افزوده شده بررسی گردید و مقادیر درصد بازیافت درون روز و بین روز به ترتیب برای سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات در محدوده‌ی ۱۰۸-۹۹، ۱۱۲-۹۶ و ۱۰۶-۹۸، ۱۱۰-۹۷ به دست آمد. در مورد روش دوم نیز منحنی درجه بندی در محدوده‌ی غلظتی ۴۰۰-۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر با ضریب هم‌بستگی ۰/۹۹۸ و ۰/۹۹۹ به ترتیب برای سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات رفتار خطی مناسبی نشان داد. درصد بازیافت این دو نگهدارنده با این روش در نمونه حقیقی در غلظت‌های افزوده شده بررسی گردید و مقادیر درصد بازیافت درون روز و بین روز به ترتیب برای سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات در محدوده‌ی ۹۳-۸۸، ۱۰۸-۹۲ و ۱۰۶-۹۸، ۱۰۴-۹۸ به دست آمد. در نهایت از دو روش برای آنالیز نمونه‌های حقیقی نظیر انواع دوغ، شیر و ماست استفاده گردید.

واژگان کلیدی: سدیم بنزوات، پتاسیم سوربات، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، کچرز، شیر، ماست و دوغ

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	<b>فصل اول (مقدمه)</b>
۲	۱-۱ مقدمه
۳	۲-۱ مواد افزودنی
۳	۳-۱ ترکیبات نگهدارنده
۵	۱-۳-۱ انواع نگهدارنده های مصنوعی
۷	۱-۳-۱-۱ اسید بنزوئیک و بنزوات ها
۷	۲-۳-۱-۱ اسید سوربیک و سوربات ها
۱۰	۲-۳-۱ مکانیسم عمل نگهدارندگی سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات
۱۲	۳-۳-۱ عوارض مصرف سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات
۱۵	۴-۱ استاندارد سازی و اهمیت آن
۱۶	۵-۱ استاندارد های صنایع غذایی و کشاورزی
۱۸	۶-۱ روش های آنالیز سوربات و بنزوات
۱۹	۷-۱ روش های آماده سازی نمونه های حقیقی
۲۳	۱-۷-۱ روش کچرز
۲۹	۱-۱-۷-۱ مراحل روش کچرز
۳۰	۲-۱-۷-۱ دستورالعمل های اصلی روش کچرز
۳۴	۳-۱-۷-۱ انواع جاذب های پیشنهادی در مرحله ی پاکسازی
۳۵	۴-۱-۷-۱ بهینه سازی عوامل موثر در روش کچرز
۳۷	۵-۱-۷-۱ مقایسه ی روش کچرز با سایر روش ها

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۸-۱ هدف پایان نامه .....	۳۸
<b>فصل دوم (بخش تجربی)</b>	
۱-۲ مواد .....	۴۰
۲-۲ دستگاهوری .....	۴۱
۳-۲ بهینه سازی شرایط جداسازی در HPLC به منظور اندازه‌گیری دو نگهدارنده ی SB و PS ..	۴۲
۴-۲ روش‌های آماده سازی نمونه برای تعیین نگهدارنده‌ها در محصولات لبنی.....	۴۳
۱-۴-۲ روش ۱: پروتئین زدائی .....	۴۳
۱-۱-۴-۲ ارزیابی روش ۱ .....	۴۳
۲-۱-۴-۲ آنالیز نمونه‌های حقیقی .....	۴۵
۲-۴-۲ روش ۲ : کچرز .....	۴۶
۱-۲-۴-۲ روش کچرز اصلی .....	۴۶
۲-۲-۴-۲ کچرز بافری .....	۴۷
۳-۲-۴-۲ کچرز اصلاح شده .....	۴۸
۵-۲ تهیه‌ی محلول‌های استاندارد.....	۴۸
۱-۵-۲ محلول‌های منحنی درجه بندی مینا.....	۴۸
۲-۵-۲ محلول‌های استاندارد غنی سازی .....	۴۹
۶-۲ بهینه‌سازی عوامل موثر بر روش کچرز اصلاح شده.....	۵۰
۱-۶-۲ اثر نمک منیزیم سولفات .....	۵۱



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۵۰	۲-۶-۲ مقدار جاذب‌های مورد استفاده در مرحله‌ی پاکسازی.....
۵۲	۲-۶-۳ حلال استخراج کننده.....
۵۲	۲-۶-۴ بررسی اثر نوع و نمک.....
۵۲	۲-۶-۵ pH نمونه.....
۵۳	۲-۶-۶ زمان استخراج.....
۵۳	۲-۷ ارزیابی روش.....
۵۴	۲-۸ آنالیز نمونه‌های حقیقی.....
<b>فصل سوم (بحث و نتیجه گیری)</b>	
۵۷	۳-۱ بهینه سازی شرایط جداسازی HPLC به منظور اندازه‌گیری دو نگهدارنده SB و PS.....
۶۱	۳-۲ روش‌های آماده سازی نمونه‌های حقیقی.....
۶۱	۳-۲-۱ روش ۱: پروتئین زدایی.....
۶۴	۳-۲-۱-۱ ارزیابی روش.....
۶۷	۳-۲-۱-۲ آنالیز نمونه های حقیقی.....
۷۰	۳-۲-۲ روش ۲ کچرز.....
۷۴	۳-۳ نتایج حاصل از کچرز اصلی و بافری.....
۷۶	۳-۴ بهینه سازی روش کچرز.....
۷۶	۳-۴-۱ اثر افزودن نمک منیزیم سولفات بر میزان کارآیی استخراج.....
۷۷	۳-۴-۲ مقدار جاذب‌های مورد استفاده در مرحله‌ی پاکسازی.....

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۸۰	۳-۴-۳ حلال استخراج کننده
۸۲	۳-۴-۴ بررسی اثر نوع و مقدار نمک بر درصد بازیابی دو ترکیب SB و PS
۸۳	۳-۴-۵ زمان استخراج
۸۴	۳-۴-۶ pH محلول نمونه
۸۵	۳-۵ ارزیابی روش
۸۹	۳-۶ آنالیز نمونه حقیقی
۹۲	۳-۷ نتیجه گیری

## فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

### فصل اول (مقدمه)

- شکل ۱-۱ نمودار مهار نسبی مخمرها در غلظت‌های برابر از سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات ..... ۱۱
- شکل ۲-۱ نمودار تعداد مقالات منتشر شده در مورد به کارگیری روش کچرز ..... ۲۴
- شکل ۳-۱ شمایی از روش کچرز (مرحله ی اول)..... ۲۷
- شکل ۴-۱ جدایی فاز پس از انجام مرحله ی اول کچرز ..... ۲۸
- شکل ۵-۱ شمایی از روش کچرز (مرحله ی دوم) ..... ۲۸
- شکل ۶-۱ سه دستورالعمل اصلی روش کچرز..... ۳۲

### فصل سوم (بحث و نتیجه گیری)

- شکل ۱-۳ کروماتوگرام‌های ثبت شده برای مخلوط استاندارد ۲۰ میلی گرم بر لیتر SB و PS در نسبت-های فازی مختلف..... ۵۸
- شکل ۲-۳ کروماتوگرام‌های ثبت شده در سرعت جریان ۰/۸ میلی لیتر بر دقیقه و طول موج ۲۲۵ نانو متر با استفاده از فاز متحرک برای محلول‌های استاندارد داخلی مختلف..... ۶۰
- شکل ۳-۳ کروماتوگرام محلول استاندارد دو ترکیب SB و PS و پتاسیم سوربات به همراه ۴- متیل بنزوئیک اسید..... ۶۱
- شکل ۴-۳ کروماتوگرام‌های ثبت شده برای محلول استاندارد SB و PS و استاندارد داخلی ۴- متیل بنزوئیک اسید با استفاده از فاز متحرک استونیتریل /بافر آمونیوم استات با. نسبت‌های حجمی مختلف..... ۶۳
- شکل ۵-۳ منحنی درجه بندی داخلی با روش پروتئین زدائی ..... ۶۴

- شکل ۳-۶- کروماتوگرام‌های ثبت شده برای پنج نمونه دوغ..... ۶۹
- شکل ۳-۷- طیف UV ثبت شده به وسیله‌ی آشکارساز PDA و کروماتوگرام‌های محلول‌های استاندارد SB و PS ..... ۷۱
- شکل ۳-۸- طیف های UV ثبت شده به وسیله‌ی آشکارساز PDA و کروماتوگرام های مربوط به پنج شرکت ماست مختلف ..... ۷۲
- شکل ۳-۹- طیف های UV ثبت شده به وسیله‌ی آشکارساز PDA و کروماتوگرام های مربوط به نمونه ی شیر خشک وارداتی ساخت آمریکا ..... ۷۳
- شکل ۳-۱۰- کروماتوگرام مربوط به شیر خشک شرکت نان..... ۷۴
- شکل ۳-۱۱- تاثیر مقدار نمک منیزیم سولفات بر میزان استخراج سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات ..... ۷۷
- شکل ۳-۱۲- نمودار سه بعدی سطوح پاسخ ..... ۸۰
- شکل ۳-۱۳- کروماتوگرام مربوط به استون و ب) محلول لیتر SB و PS در استون ..... ۸۲
- شکل ۳-۱۴- تاثیر زمان بر درصد بازیابی دو نگهدارنده SB و PS ..... ۸۴
- شکل ۳-۱۵- تاثیر pH بر درصد بازیابی دو نگهدارنده SB و PS ..... ۸۴
- شکل ۳-۱۶- طراحی نقاط منحنی درجه بندی..... ۸۵
- شکل ۳-۱۷- منحنی درجه بندی داخلی SB و PS با روش کچرز ..... ۸۸
- شکل ۳-۱۸- کروماتوگرام‌های ثبت شده نمونه دوغ‌های شرکت ۱ و ۶ با روش کچرز ..... ۹۰

## فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
<b>فصل اول (مقدمه)</b>	
جدول ۱-۱- ویژگی های اسید بنزوئیک و برخی از نمک های آن	۸
جدول ۲-۱- ویژگی های سوربیک اسید و برخی از نمک های آن	۹
جدول ۳-۱- اندازه گیری سدیم بنزوات و پتاسیم سوربات در محصولات غذایی مختلف	۲۱
جدول ۴-۱- استفاده از روش کچرز برای آماده سازی برخی از نمونه های غذایی	۲۵
جدول ۵-۱- استفاده از روش کچرز برای آماده سازی برخی از محصولات لبنی	۳۳
جدول ۶-۱- انواع جاذب های به کار برده شده در محیط های مختلف	۳۴
جدول ۷-۱- فاکتورهای بهینه شده و نوع طراحی آزمایش در روش آماده سازی کچرز	۳۷
<b>فصل دوم (بخش تجربی)</b>	
جدول ۱-۲- مقادیر مختلف دو جاذب PSA و C18 با روش طراحی آزمایش	۵۱
<b>فصل سوم (بحث و نتیجه گیری)</b>	
جدول ۱-۳- بررسی اثر تغییر نسبت فاز متحرک بر زمان بازداری و قدرت تفکیک	۵۹
جدول ۲-۳- مقادیر محاسبه شده منحنی درجه بندی برای اندازه گیری SB و PS	۶۵
جدول ۳-۳- جدول آنالیز ANOVA برای SB و PS بت روش پروتئین زدایی	۶۵
جدول ۴-۳- مقادیر محاسبه شده برای صحت و دقت روز روش ۱ در محلول های استاندارد	۶۶
جدول ۵-۳- مقادیر محاسبه شده برای دقت و صحت روز در نمونه های حقیقی دوغ	۶۷
جدول ۶-۳- مقادیر محاسبه شده SB و PS در دوغ های مختلف	۶۸

## فهرست مطالب

عنوان	صفحه
جدول ۳-۷- مقادیر محاسبه شده SB و PS در چند نمونه دیگر محصولات لبنی.....	۷۰
جدول ۳-۸- مقایسه‌ی شیب منحنی درجه بندی و درصد بازیابی دو دستورالعمل اصلی و بافری کچرز.....	۷۵
جدول ۳-۹- مقادیر مختلف دو جاذب PSA و C18 و درصد بازیابی‌های آن، در روش طراحی مختلط مرکزی .....	۷۸
جدول ۳-۱۰- نتایج روش ANOVA طراحی مختلط مرکزی برای SB .....	۷۹
جدول ۳-۱۱- نتایج روش ANOVA درصد بازیابی PS .....	۷۹
جدول ۳-۱۲- مقایسه‌ی درصد بازیابی حلال‌های مختلف برای دو ترکیب SB و PS در روش کچرز .....	۸۱
جدول ۳-۱۳- مقایسه‌ی درصد بازیابی دو ترکیب SB و PS با استفاده از نمک‌های مختلف در مرحله‌ی اول کچرز .....	۸۲
جدول ۳-۱۴- مقادیر محاسبه شده‌ی منحنی‌های درجه بندی برای SB و PS .....	۸۶
جدول ۳-۱۵- ارزیابی منحنی‌های درجه بندی SB با روش ANOVA	۸۷
جدول ۳-۱۶- ارزیابی منحنی‌های درجه بندی PS با روش ANOVA	۸۷
جدول ۳-۱۷- مقادیر محاسبه شده برای دقت و صحت روش کچرز اصلاح شده با استفاده از محلول‌های استاندارد در شیر خشک.....	۸۹
جدول ۳-۱۸- مقادیر SB و PS با روش آماده سازی کچرز با استفاده از منحنی‌های درجه بندی افزایش استاندارد و داخلی در نمونه‌های دوغ .....	۸۹
جدول ۳-۱۹- مقادیر SB و PS با روش آماده سازی کچرز با استفاده از منحنی‌های درجه بندی افزایش استاندارد و داخلی در نمونه‌های ماست.....	۹۱
جدول ۳-۲۰- مقادیر محاسبه شده برای صحت و دقت درون روز در نمونه‌ی دوغ و ماست .....	۹۱

# فصل اول

## مقدمه

## ۱-۱ مقدمه

ماده‌ی غذایی کالایی فاسد شدنی است که توسط طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بنابراین، حفظ و نگهداری مواد غذایی همواره از اهمیت زیادی برخوردار بوده است. امروزه این محافظت به طور گسترده‌ای با استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی انجام می‌گیرد [۱]. این ترکیبات شیمیایی با وجود مهار رشد باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها و در نتیجه افزایش ماندگاری ماده غذایی، عوارضی نظیر میگرن، اگزما، کهیر، جوش و تاول، آسم، بیش‌فعالی و سایر اختلالات رفتاری در کودکان، آسیب‌های کلیوی، سندروم روده‌ی تحریک پذیر و غیره را باعث می‌شوند. بنابراین برای حفاظت از بهداشت جامعه، لزوم ارزیابی دقیق این افزودنی‌ها امری ضروری است. از این رو دولت‌ها تلاش می‌کنند تا قوانین و روش‌های مربوط به اندازه‌گیری افزودنی‌ها را مطابق با آخرین پیشرفت‌ها در علوم غذایی به روز رسانی کنند [۲-۴].

متأسفانه روش‌های اندازه‌گیری که به طور معمول در آزمایشگاه‌ها به کار گرفته می‌شود دور از حالت ایده‌آل، زمان‌بر، خسته‌کننده، پیچیده و گران است. از سوی دیگر مقادیر زیادی زباله‌های خطرناک تولید می‌کنند. بنابراین، نیاز به نگاهی نو در روش‌های تعیین آنالیت‌ها در بافت‌های مختلف غذایی احساس می‌شود.

روش‌های مورد استفاده علاوه بر داشتن ویژگی‌هایی هم چون زمان کم آنالیز، آسان بودن و هزینه‌های کم تر آزمایش، باید مبتنی بر روش‌های چند ماده‌ای<sup>۱</sup> نیز باشند، به این معنی که با یک آنالیز بتوان چندین ترکیب را اندازه‌گیری کرد. به

---

<sup>۱</sup> Multi-Residual Methods (MRMs)



علاوه، بتوانند اهداف اصلی شیمی سبز، که مصرف ترکیبات شیمیایی کم خطرتر یا مقدار کمتری از ترکیبات شیمیایی خطرناک است را تامین کند [۵].

### ۱-۲ مواد افزودنی<sup>۱</sup>

مواد افزودنی ترکیباتی هستند که ارزش غذایی کمی دارند و یا فاقد ارزش غذایی اند، اما در پردازش و یا ذخیره‌سازی مواد غذایی، مورد استفاده قرار می‌گیرند. یکی از دلایل استفاده روز افزون از افزودنی‌ها، استفاده‌ی بی‌دردسر و آسان آن‌ها است. بیش از ۳۰۰۰ نوع افزودنی برای بهبود طعم، مزه و ایجاد یک ویژگی مطلوب در ماده‌ی غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ترکیبات شامل آنتی‌اکسیدان‌ها، رنگ‌ها، طعم دهنده‌ها، معطرکننده‌ها، عوامل ضدعفونی‌کننده، تغلیظ‌کننده‌ها، تثبیت‌کننده‌ها، مکمل‌های غذایی و نگهدارنده‌ها هستند [۶ و ۷].

### ۱-۳ ترکیبات نگهدارنده<sup>۲</sup>

فساد مواد غذایی و آشامیدنی همواره به عنوان یک مشکل در طول تاریخ مطرح بوده است. اغلب این فساد به علت انجام واکنش‌های آنزیمی در مواد غذایی رخ می‌دهد. آنزیم‌ها ترکیبات آلی پیچیده‌ای هستند که به عنوان کاتالیست عمل می‌کنند و یک تغییر شیمیایی را سرعت می‌بخشند. بیشتر آنزیم‌هایی که در فساد مواد غذایی نقش دارند به وسیله‌ی ریز ارگانسیم‌ها (باکتری‌ها، قارچ‌ها، مخمرها) تولید می‌شوند.

ماده غذایی به طور طبیعی برخی از این ریز ارگانسیم‌ها را دارا می‌باشد و بقیه از راه‌های مختلف وارد ماده غذایی می‌شوند. این آنزیم‌ها در دو گروه اصلی قرار می‌گیرند؛ گروه اول آنزیم‌هایی هستند که درون سلول ریز ارگانسیم وجود دارند و آنزیم‌های درونی<sup>۳</sup> نامیده می‌شوند. گروه دوم آنزیم‌هایی هستند که توسط ریز ارگانسیم به محیط بیرون انتشار

<sup>۱</sup> Additives

<sup>۲</sup> Preservatives

<sup>۳</sup> Endoenzyme

می‌یابد و آنزیم‌های بیرونی<sup>۱</sup> نامیده می‌شوند. در حالت طبیعی ماده غذایی هیچ گونه مقاومتی در برابر عمل آنزیم‌ها ندارد و دچار فساد می‌شود. بنابراین به منظور حفظ ماده غذایی، از بین بردن آنزیم‌ها و یا مهار منبع آن‌ها ضروری است [۸ و ۹]. در این راستا، چهار روش کلی برای نگهداری از ماده‌ی غذایی توسط سازمان غذا و دارو<sup>۲</sup> (FDA) پذیرفته شده است.

- استرلیزه کردن به وسیله گرما و یا تشعشع

- کاهش دما

- خشک کردن و حذف آب

- استفاده از نگهدارنده‌ها

مواد نگهدارنده، ترکیبات شیمیایی طبیعی یا مصنوعی هستند که به مواد غذایی، رنگ‌ها، نمونه‌های زیست محیطی، مواد دارویی، چوب و غیره اضافه می‌شوند تا از رشد میکروبی و یا تغییرات شیمیایی نا مطلوب جلوگیری کنند و ماندگاری محصول را افزایش دهند. کاربرد یک ماده افزودنی با اثر نگهدارندگی بر روی مواد غذایی مقوله‌ی جدیدی نبوده و قرن- هاست که مورد استفاده قرار می‌گیرد. به عنوان مثال نمک، شکر، سرکه، الکل، روغن کرچک، عصاره‌ی رزماری و رازک به عنوان نگهدارنده‌های سنتی استفاده می‌شوند. این ترکیبات به صورت فیزیکی، با افزایش فشار اسمزی و یا به صورت شیمیایی با مهار مستقیم ریزارگانیسیم‌ها، مانع از فساد ماده غذایی می‌گردند [۹].

گروه دیگری از نگهدارنده‌های طبیعی، آنزیم‌های متابولیزه‌کننده در میوه‌ها و سبزیجات را که عامل فساد هستند، مورد هدف قرار می‌دهند. به عنوان مثال؛ هنگامی که سیب یا سیب‌زمینی برش داده می‌شود، پس از مدتی رنگ قهوه‌ای به خود می‌گیرد که به دلیل عمل آنزیم‌های متابولیزه‌کننده‌ی فنولاز<sup>۳</sup> بر روی سطح می‌باشد. این آنزیم در حضور اکسیژن باعث اکسید شدن ترکیبات مونوفنولی<sup>۴</sup> ماده غذایی و ایجاد ترکیبات جدیدی به نام کینون<sup>۵</sup>ها می‌شود. کینون‌ها در نهایت باعث

<sup>1</sup> Exoenzyme

<sup>2</sup> Food and Drug Administration

<sup>3</sup> Phenolase

<sup>4</sup> Mono-phenolic

<sup>5</sup> Kinon

تولید رنگدانه‌های قرمز و قهوه‌ای و در نتیجه رنگی شدن مواد غذایی می‌گردند. با ریختن آب مرکباتی مثل لیمو بر روی سطح، اسید سیتریک و اسیدآسکوربیک موجود در آن، اثر آنزیم فنولاز را مهار کرده و ماندگاری افزایش می‌یابد [۱۰]. از ویتامین E نیز به عنوان نگهدارنده استفاده می‌شود [۱۱]. اما با ظهور غذاهای فرآوری شده در نیمه‌ی قرن بیستم، نگهدارنده‌های دیگری با منشا مصنوعی معرفی شدند.

در حال حاضر، فواید، ایمنی و روش اندازه‌گیری تعداد زیادی از افزودنی‌های مواد غذایی از جمله مواد نگهدارنده، مورد بحث دانشگاهیان، متخصصان علم تغذیه، سم شناسان و زیست شناسان می‌باشد.

### ۱-۳-۱ انواع نگهدارنده‌های مصنوعی

از شایع‌ترین ترکیباتی که به عنوان نگهدارنده در محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌توان؛ سولفات‌ها و سولفیت‌ها<sup>۱</sup>، پروپیونات‌ها<sup>۲</sup>، نترات و نیتريت‌ها<sup>۳</sup>، فرمالدئید (معمولاً به صورت محلول)، گلووتارالدئید<sup>۴</sup>، پلی فسفات‌ها<sup>۵</sup>، پارابن‌ها<sup>۶</sup>، اسید بنزوئیک<sup>۷</sup> و اسید سوربیک<sup>۸</sup> و نمک‌هایشان را نام برد. در ادامه در مورد تعدادی از این ترکیبات توضیحاتی داده می‌شود. [۱۱-۱۵].

نام سولفیت‌ها و ترکیبات مرتبط با آن در اکثر محصولات غذایی یافت می‌شود. این ترکیبات با مولکول‌های انتقال دهنده‌ی انرژی سلول‌ها که همان مولکول‌های آدنوزین تری فسفات می‌باشد واکنش می‌دهد، بنابراین از برخی از مسیرهای متابولیک بدن جلوگیری کرده و سیستم‌های حمل و نقل سلولی را متوقف می‌کند. سولفیت‌ها هم‌چنین کشمش و دیگر میوه‌های خشک را از خطر از دست دادن رنگ مضمون نگه می‌دارند؛ به این ترتیب که واکنش‌های قهوه‌ای

<sup>1</sup> Sulfates and Sulfites

<sup>2</sup> Propionates

<sup>3</sup> Nitrates and Nitrites

<sup>4</sup> Glutaraldehyde

<sup>5</sup> poly phosphate

<sup>6</sup> Paraben

<sup>7</sup> Benzoic Acid

<sup>8</sup> Sorbic Acid

شدن آنزیمی و غیر آنزیمی را که در واقع واکنش کاهش بین قند و آمینواسید بوده و واکنش میلارد<sup>۱</sup> نام دارد را متوقف می‌کند. کشمش‌هایی که تیره می‌شوند عطر و طعمشان تغییر کرده و سطح اسیدآمین‌های ضروری نیز در آن‌ها کاهش می‌یابد. سولفیت‌ها به عنوان محرکی برای مبتلایان به آسم شناخته شده اند [۱۶ و ۱۷].

پروپیونات در راهرو نانوائی‌ها به وفور یافت می‌شود. کلسیم پروپیونات، در نان و فرآورده‌های آردی، فرآورده‌های گوشتی و محصولات لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پروپیونیک اسید به طور طبیعی در توت فرنگی، سیب، برگ‌های بنفش، حبوبات و پنیر وجود دارد. این اسید در برابر قارچ‌ها، اسپورهای باکتری باسیلوس آنتراسیس<sup>۲</sup> که باعث غیر قابل خوردن محصول پخته شده می‌شود، موثر است [۱۸].

از نیترات و نیتريت سدیم برای ایجاد رنگ صورتی و جلوگیری از تیره شدن رنگ در فرآورده‌های گوشتی و ایجاد طعم مخصوص و نیز نگهدارنده استفاده می‌شود. نیترات هنگامی در به وجود آوردن رنگ قرمز فرآورده‌ی گوشتی موثر است که احیا شده و به نیتريت تبدیل شود [۱۹].

واژه پارابن<sup>۳</sup> مخفف پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید<sup>۴</sup> است. پارابن‌ها خانواده‌ای از استرهای آلکیل پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید هستند. چهار استر مهم و پرکاربرد شامل؛ متیل پارابن، اتیل پارابن، پروپیل پارابن، و بنزیل پارابن می‌باشند. بوتیل پارابن و ایزوبوتیل پارابن نیز در این دسته هستند که کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند.

پارابن‌ها در انواع محصولات آرایشی و بهداشتی مثل شامپوها، مرطوب کننده‌ها، ژل‌های شستشو، خمیردندان‌ها، محصولات زیبایی و هم‌چنین در انواع محصولات دارویی موضعی و تزریقی و انواع غذاها به کار می‌روند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ انجام گرفته است، پارابن‌ها در مقادیر کم در تومورهای سرطان پستان یافت شده‌اند. با توجه به این‌که این مواد ساختارهای شبه استروئنی دارند، دلیلی برای بروز این عارضه در نظر گرفته شده اند. از طرفی گزارش‌های متعددی

<sup>1</sup> Maillard reaction

<sup>2</sup> Bacillus anthracis

<sup>3</sup> Paraben

<sup>4</sup> para Hydroxy benzoic acid