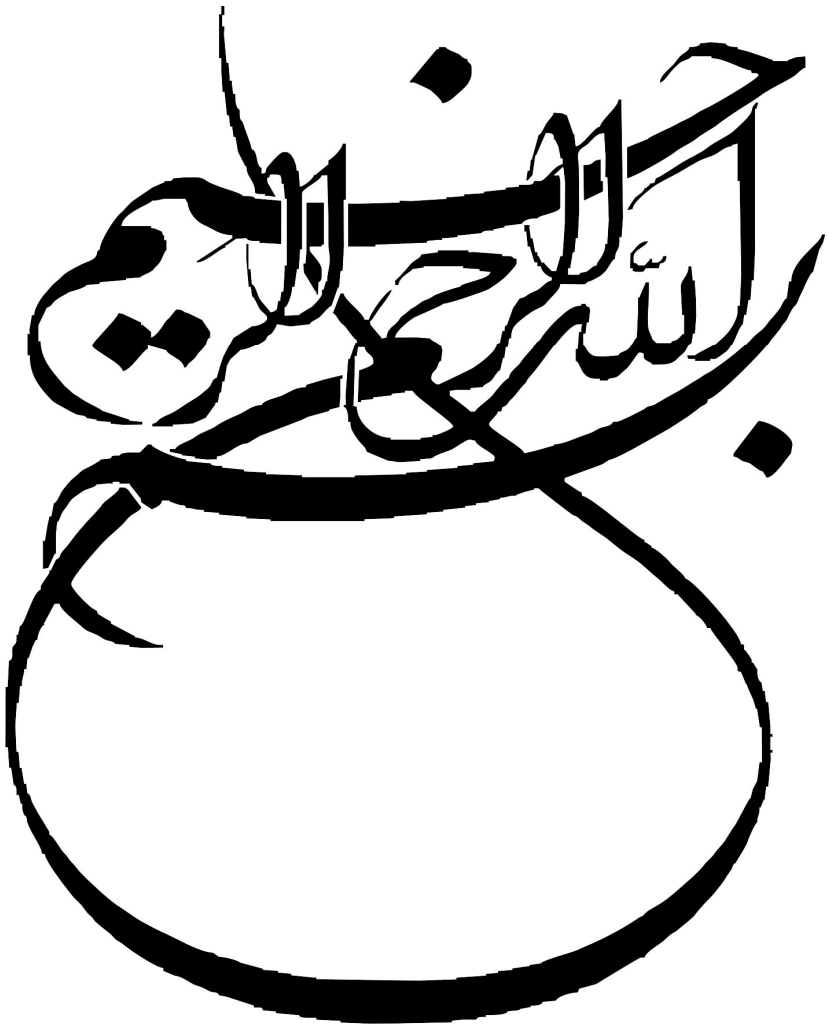
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده صنایع غذایی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد (M.Sc) در رشته مهندسی علوم وصنایع غذایی (گرایش شیمی مواد غذایی)

بررسی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی میوه ولیک (*Crataegus elbursensis*) و ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی آن در روغن

پژوهش و نگارش:
شهلا سلمانیان

استاد راهنما:
دکتر علیرضا صادقی‌ماهونک

اساتید مشاور:
دکتر مهران اعلمی
دکتر محمدقربانی

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 شهلا سلمانیان دانشجوی **رشته رشته مهندسی علوم وصنایع غذایی (گرایش شیمی مواد غذایی)** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم

تقدیم به:

مادرم، زیباترین حکایت زندگی‌ام، به شوق طنین روح انگیز دعای خیرش

پدرم غزل ناب هستی‌ام، استوارترین کوه تاریخ بودنم

استاد فرزانه‌ام، چراغ راه آتی‌ام دکتر علیرضا صادقی ماهونک

چکیده

ولیک درختچه‌ای از خانواده گل سرخ و از جنس کراتگوس است که در مناطق جنگلی ایران به خصوص در شمال به وفور یافت می‌شود. در این پژوهش، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی عصاره‌های استونی، متانولی و اتانولی (۸۰٪) میوه‌های ولیک ایرانی (*Crataegus elbursensis*) مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل توسط حلال استون ۸۰٪ استخراج گردید که به ترتیب ۱۰۰/۷۵ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم عصاره و ۲/۱۴ میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم عصاره بود، اما بیشترین مقدار ترکیبات آنتوسیانینی کل توسط حلال متانول ۸۰٪ (۱/۴۴ میلی‌گرم معادل سیانیدین در هر گرم عصاره) استخراج گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با آزمون‌های مهار رادیکال‌های DPPH، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و قدرت احیاء کنندگی یون‌های آهن سه ظرفیتی بررسی و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه گردید. در آزمون مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به ترتیب عصاره‌های ولیک بیشترین فعالیت را داشتند. در آزمون‌های قدرت احیاء کنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، تمامی عصاره‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را از خود نشان دادند. بیشترین قدرت احیاء کنندگی و آنتی‌اکسیدانی به ترتیب به BHT و عصاره استونی تعلق داشت، عصاره‌های متانولی و اتانولی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند و در رده‌های بعدی قرار گرفتند. در بین عصاره‌های استونی حاصل از هسته، پالپ و کل میوه ولیک، کمترین مقادیر EC_{50} در هر سه آزمون به عصاره استونی هسته تعلق داشت. همچنین در بررسی پایداری عصاره استونی در pHهای مختلف، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بدون تغییر باقی ماند. اثر عصاره استونی میوه ولیک در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مقایسه شد. برای این منظور عصاره میوه در سه سطح غلظت (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و BHT در دو سه سطح غلظت (۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن افزوده شد و نمونه‌ها به مدت ۱۶ روز در دمای ^{o}C ۶۵ قرار گرفتند. نتایج نشان داد، غلظت‌های مختلف عصاره به طور قابل ملاحظه‌ای ($P < ۰/۰۵$) توانستند روند اکسیداسیون را نسبت به نمونه‌ی شاهد کند نمایند. کمترین مقدار عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در تمامی روزهای آزمایش متعلق به غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره میوه بود که بهتر از BHT در غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام عمل نمود. عصاره فعالیت ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای در مقابل تمامی باکتری‌های مورد بررسی نشان داد و تاثیر عصاره بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بود. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی عصاره به ترتیب از ۱۰- ۲/۵ و ۲۰- ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متغییر بود. بیشترین اثر باکتری‌کشی عصاره مربوط به *باسیلوس سابتیلیس* (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بود در حالیکه *سالمونلا انتریکا* بیشترین میزان MBC (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) را دارا بود. در نهایت، شناسایی ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های استونی و متانولی با کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا حاکی از وجود روتین، کوئرستین و کامپفرول در عصاره‌ها به ترتیب با مقادیر ۱۲۲/۹۲، ۵۲/۰۴ و ۹۷/۲۵ برای عصاره استونی و ۲۶۹/۱۷، ۶۴/۸۴ و ۱۴۰/۵۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک میوه، مربوط به عصاره متانولی بود. محتوای ویتامین C در میوه ولیک به میزان ۳۵۲/۸۸ میکروگرم اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک میوه اندازه‌گیری شد.

واژه‌های کلیدی: میوه ولیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فلاونوئیدی، فعالیت ضد میکروبی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول / مقدمه

۱- مقدمه و کلیات .....

۱-۱- گیاه‌شناسی ولیک .....

۱-۲- مواد موثره و اثرات دارویی ولیک .....

۱-۳- آنتی‌اکسیدان‌ها و نقش آن‌ها در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید .....

۱-۳-۱- آنتی‌اکسیدان‌های اولیه .....

۱-۳-۲- آنتی‌اکسیدان‌های سینرژیست .....

۱-۳-۳- آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه .....

۱-۳-۴- سایر آنتی‌اکسیدان‌ها .....

۱-۴- آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی .....

۱-۵- ترکیبات فنولی گیاهی .....

۱-۵-۱- فلاونوئیدها .....

۱-۶- خواص ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی .....

۱-۷- تکنیک‌های جداسازی و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی .....

۱-۸- فرضیه‌ها .....

۱-۹- اهداف .....

فصل دوم / مرور منابع

۲- مروری بر تحقیقات انجام شده .....

۲-۱- استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی .....

۲-۲- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های فنولی در روغن .....

۲-۳- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های فنولی .....

۲-۴- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی با روش کروماتورگرافی مایع با کارایی بالا .....

۲-۵- جمع‌بندی بررسی منابع .....

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل سوم / مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد و دستگاه‌ها

۳-۱-۱- مواد اولیه

۳-۱-۲- مواد شیمیایی

۳-۱-۳- دستگاهه و لوازم مصرفی

۳-۲- آماده‌سازی نمونه

۳-۳- استخراج ترکیبات فنولی به روش سنتی (غربالی)

۳-۴- اندازه‌گیری ترکیبات عصاره‌های فنولی

۳-۴-۱- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

۳-۴-۲- اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی کل

۳-۴-۳- اندازه‌گیری ترکیبات آنتوسیانینی کل

۳-۵- محاسبه بازده استخراج

۳-۶- تعیین پایداری pH عصاره

۳-۷- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۳-۷-۱- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

۳-۷-۲- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

۳-۷-۳- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش قدرت احیاءکنندگی

۳-۸- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن سویا

۳-۸-۱- تعیین عدد پراکسید روغن (pv)

۳-۸-۲- تعیین عدد تیوباربیتوریک در روغن (TBA)

۳-۹- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره استونی حاصل از میوه کامل ولیک

۳-۹-۱- آماده‌سازی سویه‌های میکروبی

۳-۹-۲- آماده‌سازی محلول مک فارند

۳-۹-۳- آماده‌سازی عصاره

۳-۹-۴- تعیین کمترین غلظت بازدارندگی (MIC)

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۹-۵- تعیین کمترین غلظت کشندگی(MBC) .....
۳-۱۰- شناسایی و اندازه‌گیی کمی ترکیبات فلاونوئیدی عصاره میوه با HPLC .....
۳-۱۰-۱- آماده‌سازی فاز متحرک .....
۳-۱۰-۲- آماده‌سازی نمونه و رسم منحنی استانداردها.....
۲-۱۰- اندازه‌گیری متحرک .....
۳-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری.....

فصل چهارم / نتایج و بحث

۴- نتایج و بحث .....
۴-۱- ارزیابی مقدار کل ترکیبات فنولی.....
۴-۳- ارزیابی مقدار کل ترکیبات آنتوسانینی.....
۴-۴- ارزیابی پایداری pH عصاره فنولی میوه ولیک.....
۴-۵- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف از میوه ولیک.....
۴-۵-۱- بررسی توانایی مهار رادیکال DPPH توسط عصاره‌های مختلف حاصل از میوه ولیک .....
۴-۵-۲- بررسی توانایی مهار رادیکال DPPH توسط عصاره‌های مختلف حاصل از بخش‌های مختلف میوه ولیک .....
۴-۵-۳- بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های مختلف حاصل از میوه ولیک.....
۴-۵-۴- بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌های مختلف حاصل از میوه ولیک.....
۴-۵-۵- ارزیابی قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های مختلف حاصل از میوه ولیک.....
۴-۵-۶- بررسی قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های استونی حاصل از بخش‌های مختلف میوه ولیک.....
۴-۵-۷- آنالیز همبستگی بین ترکیبات فیتوشیمیایی با اعداد EC_{50} عصاره‌های مختلف میوه ولیک.....
۴-۶- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه ولیک در روغن سویا و مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT .....
۴-۶-۱- ارزیابی اعداد پراکسید (PV_S) روغن .....
۴-۶-۲- ارزیابی اندیس تیوباربیوتوریک اسید (TBA) .....

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۴-۷- ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره ولیک.....
۴-۸- تعیین ترکیبات فلاونوئیدی و ویتامین C میوه ولیک با کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا.....

فصل پنجم / نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات

۵-۱- نتیجه‌گیری کلی.....
۵-۲- پیشنهادات پژوهشی و اجرایی.....
منابع .....

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- ترکیبات شیمیایی میوه ولیک .....

جدول۲-۱- برخی از بررسی‌های انجام شده در زمینه‌ی شناسایی ترکیبات فنولی .....

جدول ۳-۱- نمایی از میکروپلیت الایزا .....

جدول ۴-۱- مقایسه میانگین مقادیر مختلف فنول کل عصاره حلال‌های مختلف در دمای ^{o}C ۲۵ .....

جدول ۴-۲- مقایسه میانگین مقادیر مختلف فنول کل عصاره حلال‌های مختلف در دمای ^{o}C ۵۰ .....

جدول ۴-۳- مقایسه میانگین EC_{50} برای عصاره الکلی ولیک و BHT در روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH.....

جدول ۴-۴- مقایسه میانگین EC_{50} برای عصاره الکلی ولیک و BHT در روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل.....

جدول ۴-۵- مقایسه میانگین EC_{50} برای عصاره‌های الکی ولیک و BHT در روش قدرت احیاءکنندگی ...

جدول ۴-۶- نتایج آنالیز همبستگی روش‌های ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با ترکیبات فیتوشیمیایی ولیک.....

جدول ۴-۷- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) بر حسب میلی‌لیتر عصاره استونی میوه ولیک.....

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۴-۱- مقایسه مقادیر مختلف فنول کل عصاره حلال‌های مختلف در دماهای ^{o}C ۲۵ و ^{o}C ۵۰.....

شکل ۴-۲- مقایسه میانگین مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی استخراج شده از ولیک با حلال‌های مختلف ...

شکل ۴-۳- مقایسه میانگین مقدار کل ترکیبات آنتوسیانینی استخراج شده از میوه ولیک با حلال‌های مختلف .....

شکل ۴-۴- تاثیر pH بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استونی میوه ولیک.....

شکل ۴-۵- مقایسه میانگین مهار DPPH در غلظت مختلف عصاره‌های ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

شکل ۴-۶- مقایسه میانگین مهار DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی بخش‌های مختلف ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT.....

شکل ۴-۷- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT.....

شکل ۴-۸- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی بخش‌های مختلف ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT .....

شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های ولیک و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHY.....

شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین اعداد پراکسید تیمارهای مختلف روغن سویا در روزهای مختلف.....

شکل ۴-۱۲- مقایسه میانگین اندیس تیوباربیتوریک اسید تیمارهای مختلف روغن سویا در روزهای مختلف.....

شکل ۴-۱۳- کروماتوگرام ترکیبات فلاونوئیدی عصاره متانولی میوه ولیک .....

شکل ۴-۱۴- کروماتوگرام ترکیبات فلاونوئیدی عصاره استونی میوه ولیک .....

شکل ۴-۱۵- ساختار شیمایی تعدادی از فلاونوئیدها .....

شکل ۴-۱۶- کروماتگرام آسکوربیک اسید.....

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱- مقدمه و کلیات

لیپیدها ماکرومولکول‌های مهمی در مواد غذایی هستند. ارزش تغذیه‌ای محصولات غذایی و نیز طعم، بافت، پذیرش کلی و ثبات نگهداری این محصولات توسط لیپیدها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. خاصیت غیر اشباعی اسیدهای چرب، لیپیدها را در مقابل حمله اکسیژن حساس و آسیب‌پذیر می‌کند و در نتیجه باتغییرات شیمیایی پیچیده‌ای که به وقوع می‌پیوندد در نهایت طعم نامطلوب در ماده غذایی ایجاد می‌شود. علاوه بر نقشی که اکسیداسیون لیپید در فساد موادغذایی ایفا می‌کند، اهمیت آن در سلامت انسان بویژه در ایجاد و پیشرفت بیماری‌هایی چون بیماری‌های قلبی- عروقی، تصلب شرایین، سرطان و فرآیند پیری بسیار مورد توجه و مطالعه قرارگرفته است. یکسری از مکانیسم‌های دفاعی در بدن انسان نظیر آنزیم‌ها، عناصر فلزی و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان تا حدودی قادرند اجزای سلول را در برابر صدمات ناشی از اکسیداسیون ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد محافظت کنند. اما در صورت تولید مقادیر اضافی رادیکال‌های آزاد در بدن، اکسیداسیون لیپید غشاء سلولی شروع می‌شود که این امر منجر به ناپایداری غشاء و متلاشی شدن سلول می‌شود و یا اینکه ترکیبات سلولی مانند لیپیدها ، پروتئین‌ها و از همه مهم‌تر DNA مورد حمله قرار می‌گیرند. نتیجه نهایی این امر بروز بیماری‌هایی نظیر پیری، سرطان، دیابت، نارسایی‌های قلبی- عروقی (تصلب شرایین) و مشکلات عدیده دیگر است (کایر و کاپور، ۲۰۰۱؛ شوکلا و همکاران، ۲۰۰۹). اکسیداسیون لیپید در مواد غذایی یکی از موارد خطرآفرین است که در صورت عدم توجه تولیدکنندگان موادغذایی می‌تواند جامعه‌ای را با مشکل مواجه نماید. استرس اکسیداتیو در لیپیدهای دیواره رگ‌های خونی می‌تواند عامل مهمی در ایجاد تصلب شرایین باشد. در اثر اکسیداسیون لیپید، فرآورده‌هایی تولید می‌شوند که به اکسید شدن LDL[1] کمک می‌کنند که یکی از عوامل در پیشرفت تصلب شرایین است. اکسیداسیون لیپید موجود در مواد غذایی یک فرایند پیچیده شیمیایی و بیوشیمیایی است که با تولید فرآورده‌های مختلف همراه است. این پدیده نه تنها اثرات نامطلوبی بر عمر انبارداری بسیاری از فرآورده‌های غذایی دارد، بلکه در کاهش کیفیت تغذیه‌ای آن‌ها موثر است (احمدی و همکاران، ۲۰۰۷). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و یا طراحی فرمولاسیون مواد غذایی به گونه‌ای که خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن مدنظر باشد بسیار مورد توجه قرارگرفته است تا بتوان بخشی از نیاز انسان امروزی را فراهم نماید.

1-Low Density Lipoprotein

۱-۱- گیاه شناسی ولیک

ولیک[1] گیاه دارویی با ارزشی از خانواده گل سرخ[2] و جنس کراتگوس[3] است. غالب گونه‌های تیره گل سرخ در نواحی معتدل نیمکره شمالی پراکنده‌اند. گروهی از گیاهان این تیره به صورت درختچه‌هایی خاردار و عده‌ای نیز به شکل درختانی دارای ارتفاع متوسط وجود دارند. خارها در گیاهان این تیره فراوان دیده می‌شوند. از دانه تمام رزاسه‌های هسته دار روغن گرفته می‌شود. از میوه برخی رزاسه‌ها در تهیه شربت‌ها و نوشابه‌ها و کمپوت‌ها استفاده می‌کنند. بعلاوه، گل و برگ و ساقه‌های جوان و حتی پوست ریشه درختان میوه در این تیره به علت داشتن بعضی هتروزیدها و هیدروکینون‌ها[4] اهمیت دارویی دارند. از این جنس، ۱۳ گونه به طور پراکنده در جنگل‌های شمال ایران فراوان می‌رویند و در نواحی مختلف کشور با نام‌های محلی گوناگون از جمله کمار، مارکه، قراقیله، ولیک، شال ولیک، قوچاک، سرخ ولیک، سیاه ولیک و بالاخره زالزالک انتشار دارند. دو گونه آن میوه خوراکی دارند، یکی زالزالک (کراتگوس ازارولوس)[5] که در نواحی استپی البرز و زاگرس و تقریبا تا فارس انتشار دارد و در این ناحیه کیالک نامیده می شود، دیگری سیاه ولیک که در جنگل‌های شمال از ارسباران تا گرگان و در ارتفاعات بالای جنگل‌های کلاردشت می‌روید (قهرمان، ۱۳۷۲). درختچه‌های ولیک معمولا چند شاخه ای به ارتفاع ۵-۲ متر می‌باشند که گاهی به بیش از ۱۰ متر نیز می‌رسند. درختان ولیک در نواحی حاشیه‌های جنگلی مناطق پست تر و گرمتر می‌رویند. میوه اکثر گونه‌های ولیک در اوایل تا اواسط پاییز می‌رسد. گیاه ولیک در نیمکره شمالی عمدتا در چین، اروپا و آمریکای شمالی پراکنده شده است. تاکنون بیش از هزار گونه از این جنس شناسایی شده است، اما تنها تعداد کمی از این گونه ارزش غذایی و دارویی دارند. در کشورهای چین و اروپا برخی از گونه‌های شاخص ولیک به طور گسترده به عنوان مواد غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بخش‌های قابل استفاده این گیاه دارویی، برگ‌ها، گل‌ها و میو ها می‌باشند. مهم‌ترین گونه‌های ولیک در اروپا که از برگ‌ها و گل‌هایشان به عنوان مواد دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند، *C.monogyna* و *C. lavigata* است و عمد ترین گونه‌های ولیک در چین *C.pinnatifida* و *C.scabrifolia* می‌باشند که به طور

1-Hawthorn
2-Rosaceae
3-Crataegus
4-Hydroquinon
5-*Crataegus azarolus*

متداول از میوه‌های این دو گونه جهت مصارف غذایی (میوه تازه یا فرآیند شده به صورت مربا و آبمیوه) و دارویی استفاده می‌شود (ازکان و همکاران، ۲۰۰۵؛ لیو و همکاران، ۲۰۱۰).

سیاه ولیک (*Crataegus elbursensis*)، فراوان ترین گونه ولیک بومی ایران بوده که به فراوانی در جنگل‌های نواحی شمال کشور یافت می‌شود. این گیاه در واقع، درختچه یا درختان کوچک به ارتفاع ۷-۴ متر با برگ‌هایی کوچک و خزان کننده به طول ۳۰-۲۰ میلی متر و دارای ۳ و گاهی ۵ لبه که لبه‌ها در انتها دارای دندانه‌های اره‌ای اند، با گل‌هایی سفید و مجتمع و متشکل از ۵-۴ عدد خامه و میو هایی به رنگ سیاه یا آبی سیاه، بیضی یا کروی، به طول تقریبی ۱۰-۸ میلی‌متر با ۵-۴ عدد هسته دارای سطح پشتی کمی شیاردار و سطح شکمی محدب، می‌باشند. سایر گونه‌های ولیک یافت شده در ایران، *C. pontica*، *C. microphylia*، *C. meyeri*، *C. monogyna* و *C. turkestauica* می‌باشند (قهرمان، ۱۳۸۶).

۱-۲- مواد موثره و اثرات دارویی ولیک

امروزه، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن از جمله تصلب شرایین و سرطان توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف کرده است. ولیک به دلیل برخورداری از بیوفلاونوئیدها و پیروآنتوسیانین‌ها جایگاه ویژه‌ای در صنایع دارویی دارد که جهت درمان بیماری‌های قلبی- عروقی و نیز به عنوان منبع غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ولیک حاوی اسیدهای پنتاسیکلیک تری‌ترپنوئید، آمین‌های آروماتیک، مقدار کمی اسانس، اسیدهای فنولی، ۲-۱٪ فلاونوئیدها (هایپرین[1] ، روتین[2]، آپیژنین[3]، کوئرستین[4]) و ۳-۲٪ پروآنتوسیانیدین ها می‌باشد (برونتون، ۱۹۹۹). ازکان و همکاران (۲۰۰۵)، میزان ترکیبات شیمیایی این میوه ها را اندازه گیری نمودند که نتایج آن‌ها در جدول ۱-۱ آورده شده است.

اغلب مطالعات انجام شده بیانگر تاثیر عصاره‌های حاصل از میوه، برگ و گل ولیک بر روی عملکرد سیستم قلبی- عروقی، جلوگیری از اکسیداسیون LDL و آلفا- توکوفرول ناشی از خاصیت عصاره در پاکسازی رادیکال آزاد است (لیو و همکاران، ۲۰۱۰). اثرات مختلف و مفید دارویی و سلامت بخش ولیک شامل حفاظت قلبی- عروقی(اتساع عروق، بهبود خونرسانی به عضله قلب،

1-Hyperin
2-Rutin
3-Apigenin
4-Quercitin

افزایش جریان خون کرونری)، کاهش فشار خون و کلسترول کل پلاسما، اثرات آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد، اثرات ضدویروسی، ضدالتهابی، درمان آنژین، جلوگیری از اکسیداسیون آلفا-توکوفرول و LDL، رفع ناراحتی‌های گوارشی، سوء هاضمه و اسهال است. این اثرات به حضور ترکیبات فنولی بویژه فلاونوئیدها در گیاه ولیک نسبت داده‌شده‌است.

جدول۱-۱- ترکیبات شیمیایی میوه ولیک

ترکیبات	مقدار (٪)
رطوبت	۶۴/۲۶
پروتئین*	۲/۴۸
روغن	۰/۸۷
سلولز	۴/۶۷
انرژی (کیلوکالری/گرم)	۳۴/۰۲
خاکستر	۲/۲۸
خاکستر نامحلول در اسید	۰/۰۰۱۲
اسیدیته	۳/۳۸
pH	۱/۸۹
عصاره محلول در آب	۳۲/۳۱
عصاره محلول در الکل	۲۰/۳۶

* N×۶/۲۵

محققین بیان نموده‌اند که ولیک غنی از ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی است که مهم-ترین و عمده‌ترین این ترکیبات، اسیدهای فنولی(کلروژنیک اسید[1])، پروسیانیدین‌های نوع B، فلاونوئیدها (کوئرستین، روتین، هایپروزید[2] و اپی‌کاتچین[3]) است (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۱؛ لیو و همکاران، ۲۰۱۰؛ دینگ و همکاران، ۲۰۱۰؛ کیو و همکاران، ۲۰۱۱).

1-Chlorogenic acid
2-Hyperoside
3-Epicatechin

۱-۳-آنتی‌اکسیدان‌ها و نقش آن‌ها در جلوگیری از اکسیداسیون لیپید

آنتی‌اکسیدان‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که قادرند اکسیداسیون لیپید را به تاخیرانداخته، متوقف ساخته و یا از بروز آن جلوگیری کنند. این ترکیبات با دادن H به رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را به ترکیبات غیررادیکال تبدیل کرده و خود به صورت رادیکال آنتی‌اکسیدان اکسید شده در می‌آیند. این نکته قابل ذکر است که ساختمان آنتی‌اکسیدان‌ها به گونه‌ای است که اگرچه اتم هیدروژن را آزاد می‌کنند و خود تبدیل به رادیکال می‌شوند ولی از واکنش‌پذیری کمی برخوردارند به طوری که احتمال واکنش آن‌ها با لیپید و انجام واکنش زنجیرای اکسیداسیون وجود ندارد. البته گروهای مختلف آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است به صورت‌های دیگری بجز توقف واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد عمل کنند. لذا، آنتی‌اکسیدان‌ها را بر اساس نحوه عمل‌شان می‌توان به سه گروه اصلی تقسیم نمود.

۱-۳-۱-آنتی‌اکسیدان‌های اولیه[1]

این دسته از آنتی‌اکسیدان‌ها که گروه اصلی آنتی‌اکسیدان‌ها را نیز تشکیل می‌دهند واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد را از طریق دادن اتم هیدروژن یا الکترون‌ها به رادیکال‌های آزاد و تبدیل آن‌ها به ترکیبات پایدارتر متوقف می‌کنند. این آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است با رادیکال‌های لیپید واکنش داده و کمپلکس لیپید- آنتی‌اکسیدان تشکیل دهند. از آنتی‌اکسیدان‌های فنلی مصنوعی مانند BHA, BHT, TBHQ و بسیاری از ترکیبات فنلی طبیعی نظیر فلاونوئیدها در این گروه جای می‌گیرند. لازم به ذکر است که آنتی‌اکسیدان‌های اولیه در غلظت‌های بسیار پایین موثرند و در غلظت‌های بالاتر می‌توانند به صورت پرواکسیدان عمل کنند.

۱-۳-۲-آنتی‌اکسیدان‌های سینرژیست[2]

این گروه از آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند با دادن هیدروژن به رادیکال‌های فنوکسی موجب احیای مجدد آنتی‌اکسیدان‌های اولیه شوند. لذا اگر از این آنتی‌اکسیدان‌ها همزمان با آنتی‌اکسیدان‌های اولیه استفاده شوند، می‌توان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه را در غلظت کمتری استفاده نمود. این آنتی‌اکسیدان‌ها همچنین با ایجاد یک محیط نسبتا اسیدی، پایداری آنتی‌اکسیدان‌های اولیه را بهبود می‌بخشند. آنتی‌اکسیدان‌های

1-Primary Antioxidants
2-Synergistic Antioxidants

سینرژیست را می‌توان به دو گروه جاذب‌های اکسیژن[1] و جاذب‌های یون‌های فلزی[2] تقسیم نمود. از جاذب‌های اکسیژن می‌توان اسید آسکوربیک، سولفیت‌ها، آسکوربیل پالمیتات را ذکر نمود که با اکسیژن آزاد واکنش می‌دهند و آن را از محیط واکنش خارج می‌کنند. از گروه جاذب‌های فلزی می‌توان اسید سیتریک و فسفات‌ها را نام برد که کمپلکس‌های پایداری با فلزات پرواکسیدان مانند آهن و مس تشکیل می‌دهند و نقش این فلزات را در شروع اکسیداسیون لیپید خنثی می‌کنند.

۱-۳-۳-آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه[3]

این آنتی‌اکسیدان‌ها که تحت عنوان آنتی‌اکسیدان‌های ممانعت کننده[4] نیز خوانده می‌شوند، موجب تجزیه پراکسیدهای لیپید به ترکیبات پایدارتر می‌شوند. از این گروه می‌توان تیودی پروپیونیک اسید و دی لوریل و دی استئاریل استرها را نام برد.

۱-۳-۴-سایر آنتی‌اکسیدان‌ها

ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها و ترکیبات وابسته و همچنین اسیدهای آمینه، هم به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه و هم سینرژیست عمل می‌کنند. بتاکاروتن و کاروتنوئیدهای مربوطه به‌عنوان جاذب اکسیژن و همچنین جلوگیرنده از تشکیل هیدروپراکسیدها عمل می‌کنند (پکورنی و کرزاک، ۲۰۰۱).

۱-۴-آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی

آنتی‌اکسیدان‌های فنولی سنتزی مجاز شناخته شده شامل BHA[5](بوتیلات هیدروکسی آنیزول)، BHT[6](بوتیلات هیدروکسی تولوئن)، TBHQ [7](ترت بوتیل هیدروکینون)، PG ۸(پروپیل گالات)، آسکوربیل پالمیتات و غیره می‌باشند. اصولا مقدار مجاز هر یک از آنتی‌اکسیدان‌ها به تنهایی ۰/۰۱٪ و

1-Oxygen Scavengers
2-Chelators
3-Secondary Antioxidants
4-Preventive
5-Butylated hydroxyl anisole
6-Butylated hydroxyltoluene
7-Tert-butyl hydroquinone
8-Propyl Gallat

مقدار مجاز ترکیبی از آنتی‌اکسیدان‌ها ۰/۰۲٪ می‌باشند. در سال‌های اخیر استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتزی همچون BHT، BHA و TBHQ همانند افزودنی‌های شیمیایی دیگر، به دلیل سمیت احتمالی و سرطانزایی آن‌ها، محدود شده است. بنابراین نیاز به منابع آنتی‌اکسیدانی ایمن، اقتصادی و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا از منابع طبیعی جهت جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رو به افزایش است. اخیرا استفاده از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان به دلیل ویژگی‌های بالقوه آنتی‌اکسیدانی و اثرات سلامتی بخش، بویژه هنگامیکه این ترکیبات در مقادیر بالا در مواد غذایی حضور دارند، افزایش یافته است (آناگلوستوپولو و همکاران، ۲۰۰۶).

۱-۵- ترکیبات فنولی گیاهی

ترکیبات فنولی به عنوان متابولیت‌های ثانویه در نظر گرفته می‌شوند و توسط گیاهان در طی رشد و گسترش معمولی و در پاسخ به شرایط استرس مانند عفونت، جراحت، تابش فرابنفش و دیگر عوامل سنتز می‌شوند. این ترکیبات در همه قسمت‌های گیاه حضور دارند و یک گروه بسیار متنوع از ترکیبات فیتوشیمیایی مشتق شده از فنیل آلانین و تیروزین هستند. فنول‌های گیاهی شامل فنول‌های ساده، اسیدهای فنولی (مشتقات هم بنزویک اسید و هم سینامیک اسید)، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، تانن‌های قابل هیدرولیز و کندانس شده، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها می‌باشند. در گیاهان فنول‌ها ممکن است به عنوان فیتوآلکسین‌ها، جاذب‌هایی برای گرده افشانی، کمک کننده‌هایی جهت رنگ گیاه، آنتی اکسیدان‌ها، عوامل محافظتی در برابر نور فرابنفش و غیره عمل کنند. در مواد غذایی، فنول‌ها ممکن است در تلخی، گسی، رنگ، طعم، بو و پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی نقش داشته باشند. بعلاوه اثرات سلامت بخش برخی فنول‌های گیاهی و ویژگی‌های ضد تغذیه‌ای دیگر فنول‌های گیاهی، برای تولید کنندگان، فرآوری کنندگان و مصرف کنندگان بسیار حائز اهمیت است. فنول‌ها بطور یکنواخت در بافت‌ها و سلول‌های گیاهی پراکنده نمی‌شوند. فنول‌های نامحلول ترکیبات دیواره‌های سلولی هستند، در حالیکه فنول‌های محلول درون واکوئل‌های سلول گیاهی قرار دارند. در سطح بافت، لایه‌های بیرونی‌تر گیاه حاوی مقادیر بالاتری از فنول‌ها نسبت به دیگر لایه‌های قرارگرفته در بخش‌های درونی‌تر می‌باشند. به طور کلی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در برگیرنده گروه‌های عمده ترکیبات طبیعی همچون توکوفرول‌ها و توکوتری انول‌ها، اسیدآسکوربیک و نمک‌های آسکوربات، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولی می‌باشند (ناک و شهیدی، ۲۰۰۴).

۱-۵-۱- فلاونوئیدها

این ترکیبات به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهان به شمار می‌روند و به طور بسیار گسترده و تقریبا در تمام قسمت‌های گیاه وجود دارند. فلاونوئیدها مهم‌ترین گروه منفرد فنول‌ها در مواد غذایی می‌باشند. فلاونوئیدها ترکیباتی با وزن مولکولی پایین و قطبی بوده که از اسیدهای آمینه آروماتیک نظیر فنیل آلانین و تیروزین مشتق می‌شوند. ساختار پایه آنها هسته فلاون بوده و تنوع ساختاری در این ترکیبات ناشی از درجه و الگوی هیدروکسیلاسیون، متوکسیلاسیون و گلیکوزیلاسیون می‌باشد. فلاونوئیدها را می‌توان بر اساس درجه اکسیداسیون حلقه مرکزی پیران به آنتوسیانین‌ها[1]، فلاوانول‌ها[2]، فلاون‌ها[3]، فلاوانون‌ها[4]، فلاوان-۳-اُل‌ها[5] و ایزوفلاون‌ها[6] تقسیم نمود (آندرسن و مارخام، ۲۰۰۶). تحقیقات اخیر بر روی عملکردهای سلامتی بخش ترکیبات فنولی شامل فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدهای میوه‌ها و سیزیجات متمرکز شده است. به عنوان مثال، پلی‌فنول های ایزوله شده (آنتوسیانین‌ها و اسیدهای هیدروکسی سینامیک) از میوه‌های کرن بری و بلوبری، سلول‌های اندوتلیال[7] (سلول‌های پوششی دیواره قلب، لنف و رگ‌های خونی) را در برابر H_2O_2 محافظت نموده و از التهاب جلوگیری می‌کنند (یودیم و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین ترکیبات فنولی در عصاره‌ها با قطبیت متفاوت از میوه Boxthorn، مانند روتین، کلروژنیک اسید، پروتوکاتچیک اسید؛ مهارکننده رادیکال آزاد DPPH هستند (کیان و همکاران، ۲۰۰۴). آنتوسیانین‌های شاه توت نیز اثر بازدارندگی در جابه جایی و تهاجم سلول سرطانی پوشاننده شش انسان دارند (چن و همکاران، ۲۰۰۶). اثرات مفید سلامتی‌بخش آنتوسیانیدین‌ها، آگلیکون‌های آنتوسیانین‌ها، نیز توسط ژانگ و همکاران (۲۰۰۵)، گزارش شده است. آنتوسیانین‌ها قادر به جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ایجاد شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن به DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و دیگر ماکرومولکول‌ها هستند. فعالیت بیولوژیکی آنتوسیانین‌ها و آنتوسیانیدین‌های ایزوله شده یا مواد غذایی غنی از آنتوسیانین می‌تواند در سطوح مختلف شامل جلوگیری از بیماری قلبی- عروقی، فعالیت ضدسرطانی، ضدتوموری و ضدموتاژنی، تاثیرات سودمند در بیماری دیابت (جلوگیری از جذب گلوکز و اثر محافظتی بر سلول‌های پانکراس)، اثر حفاظتی در

1-Anthocyanins
2-Flavanols
3-Flavones
4-Flavanones
5-Flavan-3-ols
6-Isoflavones
7-Endothelial