چکیده:

اکسیداسیون یکی از عوامل اصلی در تغییرات شیمیایی چربی‌هاست که به هنگام فرایند، انبارداری و آماده‌سازی نهایی مواد غذایی حاوی چربی اتفاق می‌افتد. مواد غذایی حاوی چربی‌های چند غیراشباعی مستعدتر در فساد اکسیداتیوی هستند(همانند، روغن‌بزرک).

آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و طبیعی هر دو توانایی جلوگیری از فساد اکسیداتیوی روغن‌ها را دارا هستند اما از نظر قانونی تنها تعداد کمی مجوز استفاده در موادغذایی از لحاظ عدم ایجاد سمیت و سایر اثرات جانبی دارند. نگرانی‌هایی که در سال‌های اخیر به سبب افزودن مواد افزودنی به غذا در جامعه ایجاد شده دانشمندان صنعت غذا را مشتاق به یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع مختلف کرد. اسانس‌های روغنی منبعی طبیعی از ترکیبات فنلی هستند که تحقیقات زیادی را به ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدرادیکالی به خود معطوف ساخته‌اند. این مطالعه به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو اسانس آویشن‌شیرازی و زیره کوهی به‌تنهایی و در حالت مخلوط با یکدیگر پرداخته‌است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این دو اسانس در غلظت های مختلف با استفاده از آزمون‌های حذف رادیکال DPPH و رادیکال کاتیونی ABTS، مهار پراکسید هیدروژن و قدرت کاهندگی ارزیابی شد. در آزمون DPPH، IC50 اسانس‌ها به ترتیب برای زیره‌کوهی و آویشن‌شیرازی ۱/۵۲ و ۰/۷۸۳ mg/ml بود و همچنین در آزمون‌های ABTS، مهار پراکسیدهیدروژن و قدرت‌کاهندگی به‌ترتیب برای زیره‌کوهی و آویشن شیرازی ۷/٤۹۸ ،۰/۱۰۹ mg/ml در آزمون ABTS، ۰/۷۱٦ و۰/۳۱۲ mg/ml در آزمون مهار پراکسیدهیدروژن و در آزمون قدرت‌کاهندگی ۲/۱۱۹ و ۰/۷۵۷mg/ml به دست آمد. همچنین کل محتوای فنلی با روش فولین- سیوکالتو برای آویشن‌شیرازی ۳۲۲ و برای زیره‌کوهی۵۰/٦ mg/ml محاسبه گردید. پس از محاسبه IC50 هر یک از اسانس‌ها به‌تنهایی، برهم کنش اسانس‌ها در حال مخلوط ارزیابی و در نمودار نقاط‌هم‌اثر نمایش داده‌شد. در آزمون DPPH، تمامی مخلوط‌ها اثر هم‌افزایی داشتند به جز مخلوط زیره‌کوهی با TBHQ و آلفاتوکوفرول. در آزمون ABTS تنها مخلوط آویشن‌شیرازی با TBHQ اثر هم‌افزایی ازخود نشان داد. از طرفی در هیچ‌یک از برهم‌کنش‌ها در آزمون مهار پراکسیدهیدروژن و قدرت‌کاهندگی اثر هم‌افزایی مشاهده نشد. بهترین غلظت در کاهش اکسیداسیون روغن‌بزرک برای هر دو اسانس ٦۰۰ ppm و برای TBHQ، ۲۰ ppm به‌دست آمد. در حالت مخلوط نیز غلظت ٦۰۰ ppm برای اسانس‌ها و ۲۰ ppm برای TBHQ بهترین نتایج در به تعویق‌انداختن اکسیداسیون روغن‌بزرک بودند.

واژگان کلیدی: روغن بزرک، اسانس آویشن‌شیرازی، اسانس زیره‌کوهی، هم‌افزایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱
۱-۱-اهمیت چربی‌ها ۱
۱-۲-اسانس‌ها ۳
۱-۲-۱-آویشن‌شیرازی ۳
۱-۲-۲- زیره‌کوهی ٤
۱-۳-روغن بزرک ٤
۱-٤-هدف تحقیق ۸
فصل دوم: کلیات و مروری بر منابع ۹
۲-۱-اکسیداسیون چربی‌ها ۹
۲-۲-آنتی‌اکسیدان‌ها ۱۲
۲-۳-اسانس‌ها: (روغن‌های فرار یا اتری) ۱٤
۲-٤-ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۱۷
۲-٤-۱-واکنش‌ها بر اساس ET ۱۷
۲-٤-۱-۱-آزمون کل محتوای فنلی با استفاده از Folin-Ciocalteu reagent ۱۸
۲-٤-۱-۲- آزمون ظرفیت حذف‌کنندگی $DPPH^{\bullet}$ و $ABTS^{\bullet+}$ ۱۹
۲-٤-۱-۲-۱- آزمون $DPPH^{\bullet}$ ۱۹
۲-٤-۱-۲-۲- آزمون $ABTS^{\bullet+}$ ۲۰
۲-٤-۱-۳- آزمون قدرت کاهندگی ۲۰
۲-٤-۱-٤- آزمون ظرفیت حذف کنندگی H_2O_2 ..... ۲۱
۲-٤-۲-آزمونهای مربوط به فساد روغن ۲۱
۲-٤-۲-۱- شاخص پراکسید (Peroxide value= PV) ۲۱
۲-٤-۲-۲- آزمون (Thiobarbituric acid reactive = TBA) ۲۲
۲-٤-۳-هم‌افزایی ۲۲
۲-٤-۳-۱-هم‌افزایی و برهم‌کنش بین ترکیبات ۲۳
۲-٤-۳-۲-دوز معادل ۲٦
۲-۵-مروری بر منابع ۲۸
فصل سوم: مواد و روش‌ها ۳۲
۳-۱-مواد اولیه ۳۲

۳-۲-مواد شیمیایی ۳۲
۳-۳-تجهیزات ۳۲
۳-٤-آزمون‌ها و روش‌ها ۳۳
۳-٤-۱-تعیین کل محتوای فنلی ۳۳
۳-٤-۲-اندازه‌گیری ظرفیت آنتیاکسیدانی با استفاده از رادیکال DPPH ۳۳
۳-٤-۳-تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی در حذف رادیکال کاتیونی ABTS ۳٤
۳-٤-٤-ظرفیت آنتیاکسیدانی بر اساس مهار پراکسیدهیدروژن ۳٤
۳-٤-٥-قدرت کاهندگی(Reducing power) ۳٤
۳-٥-تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو اسانس آویشن‌شیرازی و زیره‌کوهی در پایداری اکسیداتیوی روغن بزرک ۳٤
۳-٥-۱-تعیین عدد پراکسید ۳٥
۳-٥-۲-تعیین عدد TBA ۳٥
۳-٦-تجزیه آماری ۳٥
فصل چهارم: نتایج و بحث ۳٦
٤-۱-تعیین محتوای فنلی ۳٦
٤-۲-بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها ۳٦
٤-۲-۱-آزمون حذف رادیکال DPPH ۳٦
٤-۲-۲-آزمون میزان حذف رادیکال کاتیونی ABTS ٤۳
٤-۲-۳-آزمون مهار پراکسید هیدروژن ٥۱
٤-۲-٤-آزمون قدرت‌کاهندگی: ٥٥
٤-۳-بررسی اثربخشی اسانس‌های آویشن‌شیرازی و زیره‌کوهی در کاهش اکسیداسیون روغن بزرک در آزمون آون‌گذاری ٦۰
٤-۳-۱-تعیین عدد پراکسید ٦۰
٤-۳-۲-عدد تیوباربیتوریک‌اسید ٦٤
٤-٤-۱-تعیین عدد پراکسید در تیمارهای مخلوط‌کردن ٦۸
٤-٤-۲-تعیین عدد تیوباربیتوریک‌اسید در تیمارهای مخلوط ۷۰
نتیجه‌گیری کلی ۷۳
پیشنهادها ۷٤
فهرست منابع ۷٦
ضمایم ۸۱

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۱-۱- خصوصیات انواع روغن‌های بزرک ۵
جدول۱-۲ – مقایسه ترکیب شیمیایی روغن بزرک با سایر روغن‌ها ٦
جدول۲-۱ - تقسیم بندی آنتی‌اکسیدان‌ها از نظر مکانیسم عمل ۱۳
جدول٤-۱- محتوای فنلی هر یک از اسانس‌ها ۳٦
جدول ٤-۲- IC50 نمونه‌های مورد آزمایش در آزمون DPPH ۳۹
جدول ٤-۳- نتایج حاصل از برهم‌کنش دو اسانس در نسبت‌های مختلف ٤۰
جدول ٤-٤- نتایج حاصل از برهم‌کنش اسانس‌ها با TBHQ ٤۱
جدول ٤-۵- نتایج حاصل از برهم‌کنش اسانس‌ها با آلفاتوکوفرول ٤۱
جدول ٤-٦- IC50 هر یک از نمونه ها در آزمون رادیکال ABTS ٤٦
جدول ٤-۷- نتایج حاصل از برهم‌کنش دو اسانس در آزمون ABTS ٤۸
جدول ٤-۸- نتایج برهم‌کنش هر یک از اسانس‌ها با TBHQ در آزمون ABTS ٤۹
جدول ٤-۹- نتایج به دست آمده از برهمکنش اسانسها با آلفاتوکوفرول ۵۰
جدول ٤-۱۰- IC50 هر یک نمونه‌های مورد آزمایش در آزمون مهار پراکسیدهیدروژن ۵۱
جدول -٤-۱۱- سایر تحقیقات انجام شده بر روی سایر گیاهان در آزمون مهار پراکسیدهیدروژن ۵۱
جدول ٤-۱۲- نتایج حاصل از برهم‌کنش اسانس‌های زیره و آویشن ۵۳
جدول ٤-۱۳- نتایج حاصل از برهم‌کنش اسانس‌ها با TBHQ ۵٤
جدول ٤-۱٤- میزان قدرت کاهندگی هر یک از نمونه ها بر حسب $RP_{0.5AU}$ ۵۵
جدول ٤-۱۵- مقایسه قدرت کاهندگی چند گیاه مختلف ۵٦
جدول ٤-۱٦- نتایج برهمکنش اسانس‌ها با یکدیگر و با TBHQ ۵۷
جدول ٤-۱۷- عدد پراکسید هر یک از تیمارها در روزهای مختلف ٦۱
جدول ٤-۱۸- مقایسه عدد پراکسید هر یک از تیمارها در روز ۱۵ ..... ٦۲
جدول ٤-۱۹- عدد تیوباربیتوریک‌اسید در روزهای مختلف ٦۵
جدول ٤-۲۰- نتایج حاصل از آزمون پراکسید در بررسی اثر مخلوط کردن آنتی‌اکسیدان‌ها ٦۸
جدول ٤-۲۱- جدول نتایج آزمون تیوباربیتوریک‌اسید در تیمارهای مخلوط ۷۰

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- اوربیتال‌های مولکولی اکسیژن سه‌گانه ۹
شکل ۱-۲- اوربیتال‌های مولکولی اکسیژن یگانه ۱۰
شکل ۱-۳ – مکانیسم واکنش اکسیژن سه‌گانه با اسید لینولئیک ۱۰
شکل ۱-٤- نحوه تشکیل هیدروپروکسیدها ۱۱
شکل ۱-۵- مسیر واکنش شکل تحریک‌شده در حالت سه‌گانه ۱۲
شکل ۱-۵-شکل مولکول DPPH ۱۹
شکل ۱-٦-شکل مولکول ABTS ۲۰
شکل ۱-۷- مکانیسم تشکیل پیگمان صورتی در آزمون TBA ۲۲
شکل ۱-۸- نمودار نفاط هم‌اثر در یک سطح اثر مشخص ۲۵
شکل ۱-۹- منحنی دوز-پاسخ ماده A و B ۲٦
شکل ۱-۱۰- نمودارهای نقاط هم‌اثر در سطوح اثر مختلف ۲۷
شکل ۱-۱۱- منحنی‌های تشکیل نقاط هم‌اثر ۲۷
شکل٤-۱- اثر غلظت آویشن‌شیرازی بر میزان حذف رادیکال DPPH ۳۷
شکل ٤-۲- اثر غلظت زیره‌کوهی بر میزان حذف رادیکال DPPH ۳۷
شکل ٤-۳- اثر غلظت TBHQ بر میزان حذف رادیکال DPPH ۳۸
شکل ٤-٤- اثر غلظت α-توکوفرول بر میزان حذف رادیکال DPPH ۳۸
شکل ٤-۵- نمودار نقاط هم‌اثر مخلوط اسانس آویشن‌شیرازی و زیره‌کوهی ٤۰
شکل ٤-٦- نمودار نقاط هم‌اثر آویشن و TBHQ در نسبت۱:۱ ..... ٤۱
شکل ٤-۷- نمودار نقاط هم‌اثر مخلوط اسانس آویشن و α- توکوفرول در نسبت ۱:۱ ..... ٤۲
شکل ٤-۸- نمودار نقاط هم‌اثر مخلوط اسانس زیره و α- توکوفرول در نسبت ۱:۱ ..... ٤۳
شکل ٤-۹-اثر غلظت اسانس آویشن بر میزان حذف رادیکال کاتیونی ABTS ٤٤
شکل ٤-۱۰- اثر غلظت اسانس زیره بر میزان حذف رادیکال کاتیونی ABTS ٤٤
شکل ٤-۱۱- اثر غلظت TBHQ بر میزان حذف رادیکال کاتیونی ABTS ٤۵
شکل٤-۱۲- اثر غلظت آلفاتوکوفرول بر میزان حذف رادیکال کاتیونی ABTS ٤۵
شکل ٤-۱۳- روند کاهش جذب در غلظت‌های مختلف اسانس زیره‌کوهی ٤۷
شکل٤-۱٤- روند کاهش جذب در غلظت‌های مختلف اسانس آویشن‌شیرازی ٤۷
شکل ٤-۱۵- نمودار نقاط هم‌اثر مخلوط دو اسانس در آزمون رادیکال ABTS ٤۸
جدول ٤-۸- نتایج برهم‌کنش هر یک از اسانس‌ها با TBHQ در آزمون ABTS ٤۸
شکل٤-۱٦- نمودار نقاط هم‌اثر اسانس آویشن و TBHQ ٤۹

شکل ٤-١٧- نمودار نقاط هم‌اثر اسانس زیره و TBHQ ٤٩
شکل ٤-١٨- نمودار نقاط هم‌اثر اسانس آویشن و آلفاتوکوفرول ٥٠
شکل ٤-١٩- نمودار نقاط هم‌اثر اسانس زیره و آلفاتوکوفرول. ٥٠
شکل ٤-٢٠- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن بر میزان مهار پراکسیدهیدروژن ٥٢
شکل ٤-٢١- اثر غلظت‌های مختلف اسانس زیره بر میزان مهار پراکسیدهیدروژن ٥٢
شکل ٤-٢٢- اثر غلظتهای مختلف TBHQ بر میزان مهار پراکسیدهیدروژن ٥٣
شکل ٤-٢٣- نمودار نقاط هم‌اثر برهم‌کنش اسانس آویشن و زیره در نسبت ١:١ ..... ٥٤
شکل ٤-٢٤- نمودار نقاط هم‌اثر اسانس زیره و TBHQ. ٥٤
شکل ٤-٢٥- نمودار نقاط هم‌اثر اسانس آویشن و TBHQ ٥٤
شکل ٤-٢٦- اثر غلظت اسانس زیره بر میزان افزایش جذب در آزمون قدرت‌کاهندگی ٥٦
شکل ٤-٢٧ - اثر غلظت اسانس آویشن بر میزان افزایش جذب در آزمون قدرت‌کاهندگی ٥٧
شکل ٤-٢٨- اثر غلظت TBHQ بر میزان افزایش جذب در آزمون قدرت کاهندگی ٥٧
شکل ٤-٢٩- نمودار نقاط هم‌اثر برهم‌کنش اسانس آویشن و زیره در آزمون تعیین قدرت‌کاهندگی ٥٨
شکل ٤-٣٠- نمودار نقاط هم‌اثر برهم‌کنش اسانس آویشن و TBHQ در آزمون تعیین قدرت‌کاهندگی ٥٨
شکل ٤-٣١- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف زیره بر عدد پراکسید در روزهای مختلف ٦٣
شکل ٤-٣٢- مقایسه اثر غلظت‌های مختلف آویشن بر عدد پراکسید در روزهای مختلف ٦٣
شکل ٤-٣٣- مقایسه عدد پراکسید اسانس آویشن‌شیرازی و زیره‌کوهی و آنتی اکسیدانهای سنتزی در روغن بزرک (روز پانزدهم) ٦٤
شکل ٤-٣٤- عدد تیوباربیتوریک‌اسید آویشن در غلظت‌های مختلف و در روزهای موردنظر ٦٦
شکل ٤-٣٥- عدد تیوباربیتوریک‌اسید آویشن در غلظت‌های مختلف و در روزهای موردنظر ٦٦
شکل ٤-٣٦- مقایسه عدد تیوباربیتوریک‌اسید اسانس‌ها و TBHQ در روز پانزدهم ٦٧
شکل ٤-٣٧- نمودار اثر تیمارهای مختلف در روزهای صفر تا ١٥ در میزان تغییر عدد پراکسید ٦٨
شکل ٤-٣٨- نمودار اثر تیمارها بر میزان تغییر عدد پرکسید در روز پانزدهم ٦٩
شکل ٤-٣٩- نمودار تغییرات عدد تیوباربیتوریک‌اسید تیمارها در روزهای مختلف ٧٠
شکل ٤-٤٠- نمودار عدد تیوباربیتوریک‌اسید تیمارها در روز پانزدهم ٧١

فصل اول: مقدمه

۱-۱-اهمیت چربی‌ها:

همواره مطالب گوناگونی پیرامون اثرات نامطلوب چربی‌ها مطرح شده است اما باید به این نکته توجه داشت که چربی‌ها وظایفی همانند تامین انرژی، شرکت و حمایت ساختاری و تولید ترکیباتی که تنظیم کننده فرآیندهای فیزیولوژیکی بدن هستند را به عهده دارند. چربی‌های ذخیره‌ای[1] که منبع عمده چربی‌های بدن را در بر می‌گیرند، به عنوان منبع تامین کننده انرژی (۹ کیلوکالری بر گرم انرژی برای چربی‌ها در مقایسه با ٤ کیلوکالری بر گرم انرژی تولید شده توسط پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها)، حفظ دمای بدن و جذب‌کننده شوک نقش مهمی را ایفا می‌کنند. چربی‌ها حاوی اسیدهای چرب ضروری همانند اسید لینولئیک و لینولنیک هستند که در متابولیسم سلولی سبب تولید اکوزانوییدها[2] و موادی که فعالیت مشابه با هورمون‌ها دارند، می‌شوند بنابراین توانایی تنظیم بسیاری از وظایف عملکردی بدن را دارا هستند (Akon and Min, 2008).

در این قسمت سعی بر آن است که تنها توضیح مختصری پیرامون اهمیت اسیدهای چرب داده شود و از دیگر خصوصیات مهم چربی‌ها صرف‌نظر شود. همان‌طور که می‌دانید اسیدهای چرب در گستره وسیعی از وظایف متابولیکی بدن شرکت دارند. اسیدهای چرب منبع غنی از انرژی، کربن و به‌طور کلی منبع مناسبی در ذخیره انرژی هستند. با این وجود اهمیت اسیدهای چرب در تغذیه انسان تنها محدود به عنوان منابع کالری نمی‌شود. اسیدهای چرب اهمیت زیادی در ساختار و آبگریزی غشاهای سلولی به‌منظور حفظ نفوذپذیری محدود[3] آنها دارند. ساختار این ترکیبات با غیراشباع و طویل‌شدن تغییر یافته که در نهایت موجب تغییر در خصوصیات فیزیکی وشیمیایی آنها می‌شود. اتصالات استری به گلیسیریدها قابلیت تبادل آسان را برای جابه‌جایی اسیدهای چرب با یکدیگر فراهم می‌سازد و همچنین این امکان را به سلول‌ها می-دهد که خصوصیات فیزیکی غشاهایشان را تغییر دهند. اسیدهای چرب همچنین پیش‌ساز مولکول‌های فعالی همانند اکوزانوییدها هستند که اثرات بیولوژیکی قوی از خود نشان می‌دهند. همان‌طور که می‌دانیم بررسی‌های انجام شده بین حیوانات و گیاهان عدم توانایی حیوانات را در سنتز تمامی اسیدهای چرب مورد نیازشان نشان‌داده با وجود اینکه حیوانات توانایی تغییرات متابولیکی اسیدهای چرب را به‌صورت متمایز و مجزایی دارند اما هنوز توانایی گیاهان را در تغییرات اساسی بر این ترکیبات ندارند. بنابراین غشا، سیگنال و ذخیره چربی‌ها در حیوانات به‌طور وسیعی وابسته به رژیم غذایی آنهاست. به‌علاوه توانایی یک حیوان برای تولید یک اسید چرب خاص نیازمند مکانیسم ویژه‌ای برای غیراشباع کردن اسیدهای چرب اشباع یا تغییراتی روی پیش‌سازهای آن است که این مکانیسم و تغییرات ویژه اسیدهای چرب غیراشباع برای طیف

[1] Adipose
[2] Eicosanoid
[3] Semipermeable

وسیعی از وظایف عملکردی سلولی و فیزیولوژیکی لازم است. همچنین باید توجه کرد که اسیدهای چرب با عوامل متابولیکی و فیزیولوژیکی موثر در بیماری‌های قلبی و سرطان رابطه دارند و اسیدهای چرب غیر اشباع (UFA) نقش مهمی را در وظایف متابولیکی که دخالت در تولید انرژی ندارد، ایفا می‌کنند. همان‌طور که می‌دانیم منابع مختلفی برای UFAها وجود دارد که از آن جمله می توان به منابع میکروبی، حیوانی وگیاهی اشاره نمود(Akon and Min, 2008).

اغلب باکتری‌ها توانایی کامل در سنتز تمامی اسیدهای چرب مورد نیاز برای رشد و تکثیرشان را دارا هستند. آنزیم پیچیده اسید چرب سنتتاز مسئولیت این فعالیت را با افزودن واحدهای استات به انتهای زنجیره‌ای با طول ۱۸-۱۶ کربن داراست. باکتری‌ها، چربی‌ها را برای تامین انرژی ذخیره نمی‌کنند به‌علاوه تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها شکل اصلی چربی در باکتری نیست بنابراین از نظر مقدار نمی‌توانند به عنوان منبع چربی به‌کار روند. با وجود این حتی برای میکروبهایی که تولید مقادیر زیادی تری‌گلیسیرید ذخیره‌ای می-کنند شرایط اقتصادی و تهیه روغن از آنها قابل رقابت با منابع تجاری روغن‌های خوراکی نیست. اهمیت مصرف غذاهای حیوانی نسبت به گیاهی از تفاوت بین متابولیسم UFA[1] های با زنجیره طویل‌تر و غیر اشباعیت بیشتر اسیدهای چرب در حیوانات ناشی می‌شود که در نتیجه خارج شدن اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک از فرم n-٦ و n-٣ و تبدیل آنها به محصولات متابولیکی و تشکیل آراشیدونیک، اکوزاپنتاانوئیک[2] و دوکوزاهگزاانوئیک اسید[3] است. همان‌طور که قبلا بدان اشاره شد اسیدهای چرب ضروری لینولئیک و لینولنیک که حیوانات قادر به ساختن آنها نیستند باید از طریق منابع گیاهی به‌دست آیند. متابولیسم در حیوانات سبب تبدیل هریک از این دو اسید به خانواده‌ای از اسیدهای چرب چند غیر اشباعی C١٨، C٢٠ و C٢٢ n-٦ و n-٣ می‌شود(Akon and Min, 2008).

به‌طور کلی پلی‌انهای C٢٠ و C٢٢ مخصوص سیستم‌های حیوانی به‌ویژه چربی ماهی بوده و در سیستم-های گیاهی یا نبوده یا در مقادیر بسیار کم یافت می‌شود. تولید اسیدهای چرب همانند آراشیدونیک (٢٠:٤-١٤،١١،٨،٥)، اکوزاپنتاانوئیک (٢٠:٥-٢٠،١٧،١٤،١١،٨،٥)و دکوزاهگزاانوئیک(٢٢:٦-٢٢،١٩،١٦،١٣،١٠،٧،٤)در سیستم‌های گیاهی مشکل بزرگ برای دانشمندان علم ژنتیک گیاهی محسوب می‌شود(Shahidi, 2005).

n-6 acids based on linoleic acid $18:2 \rightarrow 18:3 \rightarrow 20:3 \rightarrow 20:4$

n-3 acids based on α-linolenic acid $18:3 \rightarrow 18:4 \rightarrow 20:4 \rightarrow 20:5 \rightarrow 22:5 \rightarrow 24:5 \rightarrow 24:6 \rightarrow 22:6$

گرچه تمام اسیدهای چرب در آبگریزی غشاها شرکت می‌کنند اما اسیدهای چرب غیراشباع دارای چندین ویژگی مهم هستند. اسیدهای چرب غیراشباع و به‌ویژه اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA)

[1] Unsaturated fatty acid
[2] Eicosapentaenoic acid
[3] Docosahexaenoic acid

می‌توانند سبب تشکیل گستره وسیعی از ساختارهای شیمیایی که هریک دارای خصوصیت فیزیکوشیمیایی خاصی هستند، شوند. سلول‌ها می‌توانند از اسیدهای چرب برای تعدیل خصوصیات غشایی، فعالیت آنزیم-های متصل به غشا و تولید مولکول‌هایی که به منظور ارسال پیام به کار می‌روند استفاده کنند. همان‌طور که می‌دانیم غشاها بر اساس نیروهای واندروالس بین زنجیره‌های آسیل چربی‌ها در کنار یکدیگر قرارگرفته‌اند و چون این نیروهای برهم‌کنشی به طور معنی‌داری با افزایش جزیی در فاصله بین زنجیره‌های آسیل کاهش می‌یابد در نتیجه گروه‌های آسیل نقش مهمی را در ساختار غشا ایفا می‌کنند. عمده اسیدهای چرب غیر اشباع، در موقعیت sn-۲ قرار گرفته‌اند که قرار گرفتن دو اسید چرب اشباع و غیر اشباع در یک مولکول فسفولیپید اهمیت زیادی در عدم اختلاط دو گروه آسیلی در غشا دارد. به طورکلی درجه غیر اشباعیت عاملی مهم در خصوصیات غشا بوده زیرا نیروهای واندروالس به فاصله برهم‌کنش بین زنجیره‌های آسیلی حساس‌اند (Akon and Min, 2008).

۱-۲-اسانس‌ها:

اسانس‌ها مخلوط پیچیده‌ای از ترکیبات شیمیایی آلی فرار، سنگین و چرب هستند. در اصل وجود آن‌ها، مسئول بوی خوش یا مزه در گیاه می‌باشند. اسانس‌ها در بسیاری از تیره‌ی گیاهان عالی از جمله تیره‌ی کاج، برگ بو، نارنج، مورد، چتریان، نعناعیان و کاسنی یافت می‌شوند(جایمند و رضایی، ۱۳۸۵).

یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیب‌های فنولیک موجود در نمونه‌های گیاهی است (Dormana *et al*., 2003). امروزه فعالیت بیولوژیکی اسانس‌ها بیش از گذشته مورد توجه بوده و به‌همین دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها توسط محققان زیادی مورد بررسی قرار گرفته‌است.

۱-۲-۱-آویشن شیرازی:

آویشن‌شیرازی سرشاخه‌های گلدار خشک‌شده گیاه .*Zataria multiflora* Boiss از خانواده نعناع (Labiatae) حداقل واجد ۰/٦درصد اسانس می‌باشد. در فارسی به این گیاه آفشن، آبشن شیراز، آویشم، آویشن شیرازی، آویشن پهن و در انگلیسی به آن Saatar گفته می‌شود. (بی‌نام، ۱۳۸۱)

انتشار عمومی این گیاه در ایران، افغانستان و پاکستان است. در ایران در اصفهان، لرستان، خوزستان، فارس، کرمان، بلوچستان، خراسان و یزد کشت می‌شود. (قهرمان، ۱۳٦۷)

سرشاخه هوایی آویشن‌شیرازی اسانس، اسیدهای چرب، الئانولیک اسید، بتاسیتواسترول و بتولین دارد. اسانس گیاه حاوی ۶۹ درصد فنل و غالباً کارواکرول بوده و جز اصلی ترکیبات غیرفنلی آن پاراسیمن می-باشد (Farooq and Gupta, 1954).

ترکیب عمده موجود در اسانس گیاه ایرانی، کارواکرول و تیمول و پس از این دو لینالول و پاراسیمن می‌باشد، البته میزان ترکیب‌های موجود در اسانس تحت شرایط مختلف متفاوت است و همین امر باعث تفاوت در ویژگی‌های آن‌ها می‌شود. (جاویدنیا، ۱۳۷٦).

از آویشن شیرازی به عنوان ضدنفخ استفاده می‌شود و همچنین به صورت بخور در رفع علایم سرماخوردگی مصرف دارد. از برگ‌های گیاه به عنوان چاشنی نیز استفاده می‌شود . در طب سنتی از آویشن به عنوان تسکین دهنده درد مفاصل، ضد نفخ و در رفع سرماخوردگی استفاده می‌شده‌است و اثرات ضد اسهال نیز برای آن قایل بوده‌اند(بی‌نام، ۱۳۸۱). تیمول و کارواکرول که اجزای اصلی اسانس گیاه را تشکیل می‌دهند؛ دارای اثرات ضد میکروبی خوبی هستند ترکیب‌های تیمول و کارواکرول دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی خوبی هستند(Sharififar *et al*., 2007).

۱-۲-۲- زیره‌کوهی:

زیره کوهی، میوه‌های خشک شده‌ی گیاه .*Bunium persicum* Boiss از خانواده چتریان (Umbeliferae) است که حداقل دارای ۲/۵ درصد اسانس می‌باشد (بی‌نام، ۱۳۸۱). انتشار عمومی این گونه در آسیا و در مناطق ایران، افغانستان، پاکستان، ترکمنستان، کشمیر، آسیای مرکزی و پامیر است. در ایران در گرگان، اصفهان، فارس، کرمان، خراسان، تهران، دامغان، سمنان، یزد کشت می‌شود.

قسمت عمده‌ی اسانس زیره‌کوهی را منوترپن‌های میرسن و گاماترپینن و به مقادیر کمتر پاراسیمن، کومن آلدئید، کاروئول و اکسیدکارون تشکیل می‌دهند . مقدار کارون در این گیاه ناچیز است و دانه‌های آن دارای حدود ۰/۱ درصد از این ماده می‌باشد (شفایی، ۱۳۷۲). گاما ترپینن دارای اثرات ضد اکسیداسیون، ضد تومور، باکتری‌کش، افزایش دفع روده، محرک و ایجاد صفرا در کبد و محافظت از سامانه هپاتیک است و میرسن مانع جهش سلولی، ضد اکسیداسیون، باکتری‌کش و برطرف‌کننده درد بوده(جایمند و رضایی، ۱۳۸۵) و نیز گاماترپینن موجود در اسانس زیره‌کوهی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است (Tepe *et al*., 2007).

۱-۳-روغن بزرک:

بزرک یا کتان با نام علمی (*Linum usitatissimum* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهانی است که به منظور تغذیه و مصرف فیبر آن توسط بشر کشت شده‌است. در حال حاضر تولیدکننده‌های اصلی دانه بزرک در دنیا عبارتند از آرژانتین، کانادا، آمریک، هند، روسیه، ترکیه، مصر، مراکش، بلژیک و فرانسه. در کشور ما نیز گیاه بزرک از نظر پراکندگی در مناطق گرم وخشک کشور به طور پراکنده کشت می‌شود، از جمله به طور نسبتا زیاد در استان خوزستان و به‌طور پراکنده در شهرستان‌های اطراف اصفهان (شهرضا)، نواحی کردستان و مناطقی در شمال کشور از جمله فومن را می‌توان نام برد(Robbellen *et al*, 1989). دانه بزرک حاوی ٤٥-٤٠ درصد روغن است و به‌دلیل درصد بالای اسیدآلفالینولنیک در دسته روغن‌های خشک‌شونده قرار می-

گیرد و مناسب برای تغذیه انسان نیست، ولی امروزه با تغیرات ژنتیکی انجام گرفته روی دانه آن، این روغن برای مصارف خانگی مناسب شده‌است. سولاین(Solin) که Linola هم نامیده می‌شود رقمی از بزرک است که اصلاح شده و ظرفیت اسید چرب آلفالینولنیک آن کاهش یافته‌است(Pass *et al*, 2002).

بعضی از خواص فیزیکوشیمیایی متعارف روغن دانه بزرک و ارقام با اسید لینولنیک کم، در جدول شماره ۱ آمده‌است. وزن مخصوص (۰/۹۳۵) مشاهد شده برای روغن بزرک، بیشتر از سایر روغن‌های گیاهی بوده که می‌توان مستقیما به سهم بالای اسیدلینولنیک آن نسبت داد. این نسبت به صورت خطی با چگالی مخصوص اسیدهای چرب از ۰/۸۹۵ به ۰/۹۰۳۸ و به ۰/۹۱٤ به ترتیب برای اسیدهای اولئیک، لینولئیک و لینولنیک افزایش می یابد. نقطه اشتعال روغن دانه بزرک در مقایسه با سایر روغن‌های گیاهی، نسبتا پایین‌تر بوده و این امر به بالابودن محتوای اسیدهای چرب چند غیراشباع آن نسبت داده شده است. محتوای مواد غیرقابل‌صابونی در روغن بزرک، مشابه سایر روغن‌های گیاهی است(Shahidi, 2005).

جدول۱-۱- خصوصیات انواع روغن‌های بزرک

فاکتور	روغن بزرک	لینولا	
		خام	RBD
چگالی نسبی(۲۰ درجه سانتی گراد/ آب در ٤ درجه)	۰/۹۲۵ -۰/۹۳۵	۰/۹۲۱	۰/۹۲۰
شاخص انکسار(n_d 20°C)	۱/٤۷۵	۱/٤٦۵۷	۱/٤٦٦۵
نقطه ذوب(درجه سانتی گراد)	۲۰- تا ٤۰-		
نقطه اشتعال(درجه سانتی گراد)	۱۳۵- ۱۲۰		
ویسکوزیته (CP)		٤٦/۸	٤٦/٤
عدد یدی	۲۰۳- ۱۸۲	۱٤۲	۱٤٤
مواد غیر قابل صابونی(درصد)	۱/۷ — ۰/۱	۱/۲	۰/٦
عدد صابونی(میلی گرم هیدروکسید سدیم بر گرم)	۱۹۵ - ۱۸۷	۱۸۵	۱۸۵
فسفر (ppm)	۳۰ - ۱	۳۰۰	۱
کلروفیل (ppm)	۱/۵ - ۰	۰/٤	۰/۱
اسیدهای چرب آزاد (درصداولئیک)	۲/۰ — ۰/۱	۰/۳	کمتر از ۰/۰۲
تری گلیسیرید (درصد)	۹۸ - ۹٤	۹۸ - ۹۳	۹۸ - ۹٦

RBD: تصفیه، رنگ‌بری و بی‌بو شده

جدول شماره۱-۲ – مقایسه ترکیب شیمیایی روغن بزرک با سایر روغن‌ها

ترکیب	روغن بزرک	لینولا	کانولا	سویا	آفتابگردان
اسیدهای چرب (درصد)					
C16:0	۵/۳	٦/۱	۳/۸	۱۱/۲	٦
C18:0	۳/۳	۳/۸	۱/۷	٤/۱	٤
C18:1	۱۷/۹	۱۵/۵	۵۸/۲	۲٤/۳	۱٦/۵
C18:2	۱٤/۷	۷۱/۳	۲۰/۱	۵٤/٦	۷۲/٤
C18:3	۵۸/۷	۲	۹/٦	۸/۳	۰/۵
اسید چرب اشباع	۹	۱۰	٦/۲	۱۵/٦	۱۱/۲
اسید چرب با یک پیوند غیر اشباع	۱۸/۱	۱۷/۱	٦٤/۲	۲۳/٤	۱٦/۷
اسید چرب با چند پیوند غیر اشباع	۷۲/۹	۷۲/۹	۲۹/٦	٦۱	۷۲/۱
توکوفرول(ppm)					
آلفا	۲۰	۱۵	۲۷۲	۱۱٦	٦۱۳
گاما	۲۰۰	۲۰۰	٤۲۳	۷۳۷	۱۹
دلتا	۷	۵	–	۲۷۵	–
پلاستوکرومانول- ۸	۱۲۰	۱۱۰	۷۵	–	–
کل	۳٤۷	۳۳۰	۷۷۰	۱۱۲۸	٦۳۲
فیتواسترول(درصد)					
براسیکاسترول	۱	۱	۱٤	–	–
کمپسترول	۲۷	۲۳	۲۸	۱۸	۷
استیگماسترول	۸	٤	۱	۱۵	۷
بتا- سیتوسترول	۵۰	۵٤	۵۲	۵٤	۵۸
اوناسترول	۱۰	۱۸	۵	۲	٤
کل استرول ها(گرم/کیلوگرم)	۲/۳	۲/۲	٦/۹	۲/٦	۳/۱

ترکیبات اصلی روغن‌های گیاهی تری گلیسرول‌ها بوده ومعمولا بیش از ۹۰ درصد کل ترکیبات را شامل می‌شوند. ترکیبات فرعی در روغن بزرک در همان سطوح مربوط به روغن‌های سویا و کانولا می‌باشد ترکیب اسید چرب روغن بزرک معمولی، از سایر روغن‌های تجاری متفاوت بوده، زیرا سهم بسیار بالایی از آلفالینولنیک (بیش از ۵۰ درصد) را شامل می‌شود. به دلیل محتوای بالای این اسید چرب، دانه بزرک و

روغن آن را اغلب به عنوان مکمل‌های غذایی استفاده می‌کنند (زمانیکه غنی‌سازی با اسیدهای چرب امگا۳ مورد نیاز باشد). این اسیدچرب به اکسیداسیون حساس بوده، ٤٠-٢٠ مرتبه سریعتر از اسیداولئیک و ٤-٢ مرتبه سریعتر از اسید لینولئیک اکسید می‌شود. روغن بزرک در مقایسه با روغن بزرک با اسیدلینولنیک کم و روغن سویا و آفتابگردان حاوی مقادیر کم اسیدهای چرب‌اشباع(SFA) بوده، هر چند که مقدار آن نسبت به روغن کانولا بیشتر است. روغن‌های بزرک حاوی مقادیر کمتری از توکوفرول‌ها (به میزان نیمی از مقادیر آن در روغن‌های آفتابگردان و کانولا و یک سوم میزان موجود در روغن سویا) می‌باشد. گاماتوکوفرول به عنوان توکوفرول اصلی در روغن‌های بزرک یافت شده‌است که این امر روغن‌بزرک را قابل‌مقایسه با روغن سویا قرار داده‌است. در میان آنتی اکسیدان‌های منحصر به فرد روغن‌های بزرک، پلاستوکرومانول- ۸[1] شناسایی شده که این ترکیب از مشتقات گاماتوکوترینول با دو برابر طولی زنجیر جانبی غیر اشباع می‌باشد همچنین این ترکیب کارآیی بیشتری نسبت به سایر ایزومرهای توکوفرول دارد. محتوای کم توکوفرول در دانه بزرک سبب نشده که در برابر اکسیداسیون حساس باشد آزمایش‌ها نشان داده که می‌توان دانه بزرک آسیب دیده را به مدت ۲۸ ماه در درجه حرارت محیط، بدون تغییرات قابل ملاحظه‌ای در محصولات اکسیداسیون، نگهداری نمود. این امر به حضور آنتی اکسیدان‌هایی غیر از توکوفرول‌ها در دانه نسبت داده می‌شود. استرول‌ها یا فیتواسترول‌ها در روغن‌های بزرک، در سطح پائین‌تری نسبت به بسیاری از روغن‌های گیاهی قرار دارد و ترکیب اصلی استرول‌ها در روغن بزرک، مشابه سایر روغن‌هاست. بتاسیتوسترول (β-sitostrol) ترکیب اصلی و پس از آن کمپسترول (Campesterol) و(Avenasterol -Δ_5) قرار دارد (Shahidi, 2005).

روغن دانه‌بزرک، روغنی است زرد طلایی با طعم مشخص و ویژه، مزه آن شیرین با بوی خفیف و مخصوصی شبیه بوی دانه‌بزرک. نقطه ذوب آن پایین و کمی کمتر از سایر روغن‌ها با گرانروی بالاست. روغن بزرک تحت برودت ۲۰- درجه سانتی‌گراد نباید منجمد شود. این روغن محلول در حلال‌های آلی بوده و اندیس ید آن به علت بالا بودن درجه غیراشباعیت اسیدهای چرب تشکیل دهنده آن زیاد است، به علت غیراشباعیت زیاد لایه‌های نازک آن در معرض هوا و همچنین در موقع وارد کردن هوا در آن در درجه حرارت های بالا به سرعت واکنش می‌دهد. این روغن در اثر حرارت پلیمریزه می‌شود در نتیجه مواد حاصل از این واکنش‌ها سبب می‌شود که این روغن از نظر رنگ‌سازی و فرآورده‌های مربوطه بی‌نهایت با ارزش باشد. قابلیت واکنش زیاد آن با اکسیژن قابلیت مصرف خوراکی‌شان را محدود می‌کند زیرا این روغن به خصوص اگر تصفیه و بی‌بو شده باشد در معرض هوا خوب نمی ماند(Sabin, 1911).

[1] Plastochromanol-8

۱-٤-هدف تحقیق:

- باتوجه به بومی‌بودن و اثرات دارویی و بیولوژیکی دو اسانس مذکور و همچنین تکمیل مطالعات انجام شده در گذشته، شناسایی هر چه بیشتر و بهتر خصوصیات این دو اسانس ضروری به‌نظر می‌رسد از طرف دیگر آشنایی بیشتر با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آنها در آزمون‌های دیگر آنتی‌اکسیدانی کمک شایانی در جهت آشنایی و استفاده بهتر از این دو اسانس در آینده نزدیک در سیستم‌های غذایی و دارویی می‌کند.

- آگاهی از اهمیت استفاده روغن‌بزرک در زندگی روزمره و همچنین با توجه به مطالعاتی که روی بزرک ایرانی صورت گرفته بر آن شدیم تا قدمی در جهت معرفی و آشنایی هرچه بیشتر جامعه در استفاده از این روغن و همچنین مطالعه‌ای به منظور پایداری این روغن منحصر به فرد انجام شود.

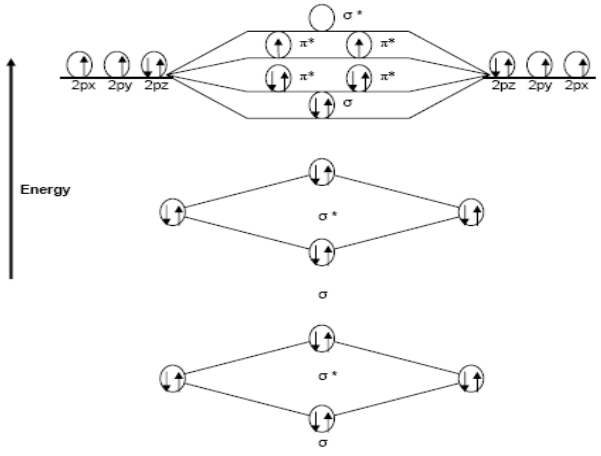
- از دیگر اهداف مهم این تحقیق بررسی برهم‌کنش‌های بین اسانس‌ها (دو اسانس مذکور) و همچنین برهم‌کنش هریک از اسانس‌ها با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در محیط *in vitro* برای شناخت بهتر و اثر بخشی بیشتر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی این دو اسانس و همچنین بررسی اثر برهم‌کنش بین آنها در سیستم‌های غذایی به‌خصوص روغن‌ها می‌باشد. امید است در آینده‌ای نزدیک بتوان با به کارگیری راهکارهایی جدید جای آنتی‌اکسیدانهای طبیعی را در صنعت به ویژه صنعت غذا باز کرد.

فصل دوم: کلیات و مروری بر منابع

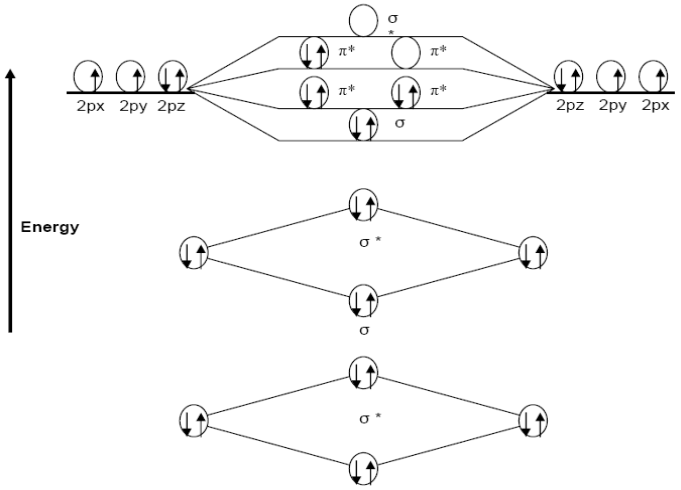
۲-۱-اکسیداسیون چربی‌ها:

اکسیداسیون چربی‌ها، واکنشی است که بین اکسیژن و اسیدهای چرب غیراشباع انجام می‌گیرید. اسیدهای چرب چند غیراشباعی همانند اسید لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک، به ویژه مستعد اکسیداسیون هستند. در غذاها، اکسیداسیون چربی عامل off-flavor، off-odor، تشکیل رنگهای نامطلوب و تولید ترکیبات سمی است که می‌تواند مشکل جدی در صنعت غذا ایجاد کند. دو شکل اصلی اکسیژن در اکسیداسیون چربی دخیل است که شامل: اکسیژن سه گانه($^{3}O_{2}$) و یگانه($^{1}O_{2}$)است. (King, 2007)

تفاوت‌های موجود در خصوصیات شیمیایی $^{3}O_{2}$ و $^{1}O_{2}$ را می‌توان به بهترین نحو در شکل شماره ۱ و۲ مشاهده نمود. چندگانگی اسپینی به حالات اسپینی یک مولکول (۱+۲S) گفته می‌شود که S کل تعداد کوانتومی اسپین تعریف می‌شود. اکسیژن سه‌گانه چندگانگی اسپینی برابر با ۳ دارد که می‌تواند نشان‌دهنده سه سطح مختلف انرژی تحت میدان مغناطیسی باشد. اکسیژن سه‌گانه پارامغناطیسی با خصوصیات دی-رادیکالی است و می‌تواند با دیگر رادیکال‌های موجود در غذا واکنش دهد البته اغلب ترکیبات غذایی غیر رادیکالی بوده و در حالت پایدار قرار دارند. شکل زیر نشان می‌دهد که اوربیتال مولکولی اکسیژن یگانه متفاوت از اکسیژن سه‌گانه است و اوربیتال ضد پیوندی π جفت شده است. S در اکسیژن یگانه ۱/۲-۱/۲+۰=است و در نتیجه چندگانگی اسپینی آن برابر با ۱ است. اکسیژن یگانه از قانون Hund تبعیت نمی‌کند (الکترونها در ابتدا اوربیتالهای با انرژیِ یکسان را قبل از اینکه الکترون بعدی اضافه شود پر می-کنند). اکسیژن یگانه مولکول پر انرژی بوده و۲۲/٤ kcal/mol انرژی بیشتر از حالت پایدار دارد که در نتیجه سبب افزایش واکنش‌پذیری آن می‌شود(Akon and Min, 2008) .



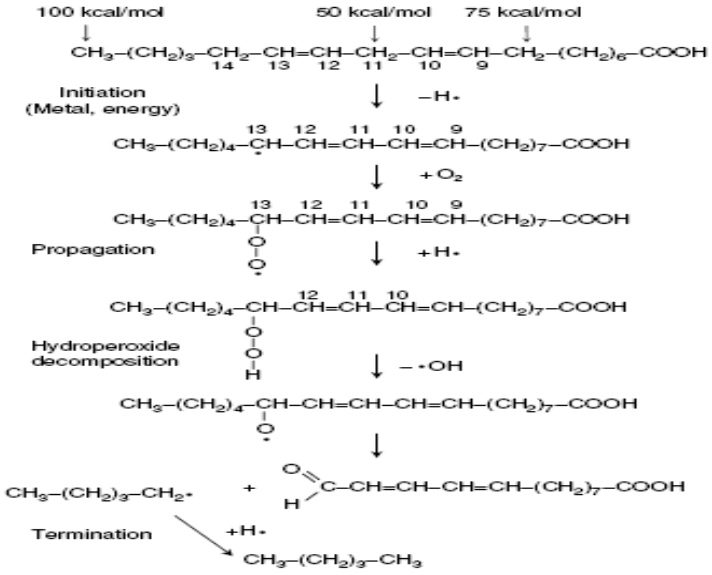
شکل ۱-۱- اوربیتال‌های مولکولی اکسیژن سه‌گانه



شکل ۱-۲- اوربیتال‌های مولکولی اکسیژن یگانه

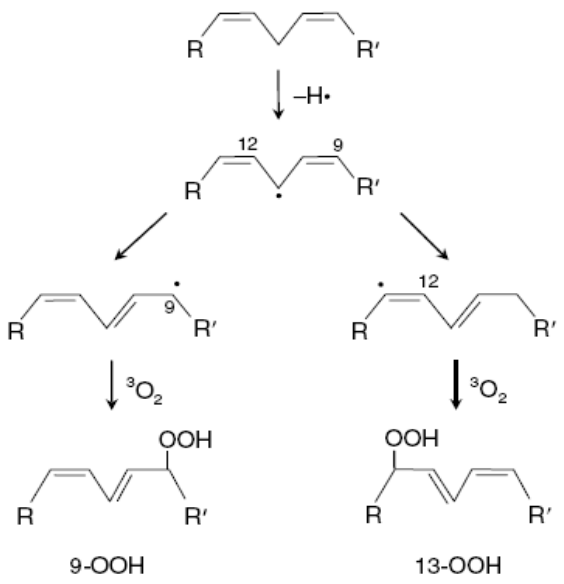
همان‌طور که می‌دانید عوامل مختلفی از جمله دما، وجود کاتالیست‌ها و طبیعت ماده در اکسیداسیون موثر است. دما اثر کمی روی اکسیداسیون اکسیژن یگانه داشته اما اثر معنی‌داری روی اکسیداسیون اکسیژن سه‌گانه دارد که انرژی فعالسازی بالایی را برای واکنش طلب می‌کند. در اکسیداسیون با اکسیژن سه گانه PUFAها مستعدتر از اسیدهای چرب یک غیراشباعی هستند از طرفی انرژی فعالسازی PUFA ها برای تشکیل رادیکال آزاد کمتر است(Akon and Min, 2008) .

همان‌طور که گفته شد اکسیژن سه‌گانه یک ترکیب دی‌رادیکالی است که می‌تواند با ترکیبات رادیکالی واکنش دهد اما ترکیبات غذایی در حالت رادیکالی نیستند که با اکسیژن سه‌گانه واکنش دهند. مکانیسم واکنش $^{3}O_{2}$ با اسید لینولئیک در شکل شماره ۳ نمایش داده شده است



شکل ۱-۳ – مکانیسم واکنش اکسیژن سه‌گانه با اسید لینولئیک

اکسیداسیون با اکسیژن سه‌گانه دارای سه مرحله آغاز، ادامه و پایان است. حرارت، نور، فلزات و گونه-هایی از اکسیژن فعال سبب آسان‌ترشدن تشکیل رادیکال در ترکیبات غذایی می‌شوند. شروع تشکیل رادیکال در چربی‌ها در کربنی اتفاق می‌افتد که دارای کمترین انرژی برای جداساختن هیدروژن است. پیوند کربن–هیدروژن در کربن شماره ۸ یا ١٤ اسیدلینولئیک حدود kcal/mol ۷۵ و پیوند کربن– هیدروژن روی کربن اشباع بدون هیچ پیوند دوگانه‌ای نزدیک به kcal/mol ۱۰۰ انرژی دارد. انرژی لازم برای شکستن پیوند کربن–هیدروژن روی کربن شماره ۱۱ در حدود kcal/mol ۵۰ است. پیوندهای دوگانه موجود روی کربن-های ۹ و ۱۲ سبب کاهش این انرژی با کشیدن الکترون‌ها در کربن شماره ۱۱ می‌شوند. سرعت اکسیداسیون اسیدهای چرب اولئیک، لینولئیک و لینولنیک برحسب قدرت پیوند کربن–هیدروژن به ترتیب برابر با نسبت ۱:۱۲:۲۵ است. پس ضعیف‌ترین پیوند کربن–هیدروژن روی کربن شماره ۱۱ قرار داشته و سبب تشکیل یک رادیکال در کربن شماره ۱۱ می‌شود. این رادیکال آرایش مجدد یافته و به شکل رادیکال پنتادی‌انیل مزدوج در کربن شماره ۹ یا ۱۱ با یک پیوند دوگانه به حالت ترانس در می‌آید. اکسیژن سه‌گانه با پیوند دوگانه مزدوج شده واکنش داده و تولید رادیکال پروکسیل در کربن شماره ۹ یا ۱۳ می‌کند. این رادیکال تشکیل شده به‌آسانی قابلیت گرفتن اتم هیدروژن را اسیدهای چرب داشته و تولید هیدروپروکسید می‌کند (Akon and Min, 2008).

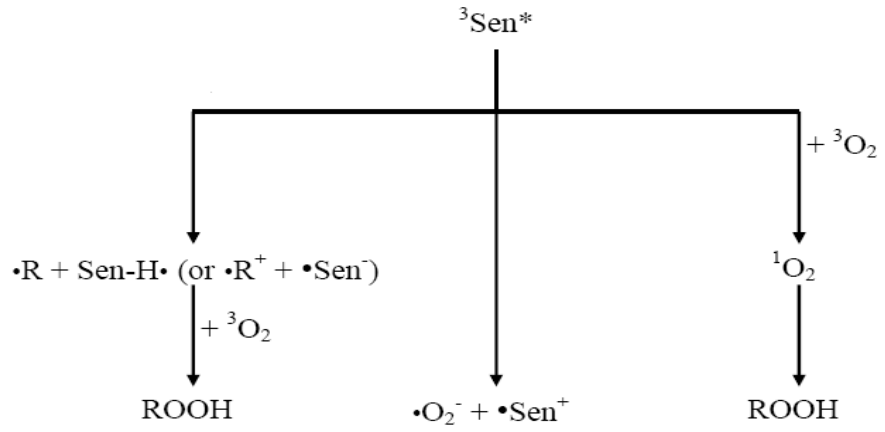


شکل۱-٤- نحوه تشکیل هیدروپروکسیدها

محصولات اولیه اکسیداسیون هیدروپروکسیدها هستند که نسبتا در دمای اتاق و در غیاب فلزات پایدارند اما با افزایش دما یا حضور فلزات هیدروپروکسیدها به رادیکال‌های آلکوکسی تجزیه شده و سپس

سبب تشکیل آلدهیدها، کتونها، الکل‌ها، اسیدهای استری و هیدروکربن‌های کوتاه زنجیر می‌شوند و می‌توان گفت تجزیه هیدروپروکسیدها ترکیبات فرار را پدید می‌آورند. (Akon and Min, 2008)

پایداری $^1O_2$ بسیار کوتاه است (در آب ۲ میکروثانیه) و قابلیت تشکیل از واکنش‌های مختلف را دارد اما در غذا مکانیسم اصلی تشکیل آن تحریک توسط نور است و فرایندی است که در آن تهییج نقاط حساس به نور توسط یک طول موج خاص انجام شده از حالت یگانه به فرم اولیه خود (^{1}sen) به حالت یگانه در حالت تهییج شده (^{1}sen*) تبدیل می‌شود در این حالت فرم تهییج شده تمایل به برگشت به فرم اولیه خود را دارد که از طریق internal conversion (انتقال شکل تحریک‌شده به شکل پایدار با اسپین مشابه که با از دست دادن انرژی همراه است)، برگشت با انتشار نور فلورسنت یا intersystem crossing (^{1}sen* به شکل سه‌گانه تحریک‌شده ^{3}sen* تبدیل می‌شود) انجام می‌شود که این ترکیب تهییج شده توانایی اکسیداسیون چربی‌های موجود در غذا را داراست. دو مسیر به‌وسیله ^{3}sen* برای اکسیداسیون چربی‌ها وجود دارد در نوع اول فرم تهییج شده به عنوان یک رادیکال آزاد با جداکردن یک الکترون یا هیدروژن از ترکیبات غذایی عمل می‌کند و در مسیر دوم برهم کنش بین ^{3}sen* و اکسیژن سه‌گانه اتفاق می‌افتد. این برهم‌کنش می‌تواند از دو طریق اتفاق بیفتد. در حالت اول ^{3}sen* می‌تواند یک الکترون به اکسیژن سه‌گانه بدهد و یون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)تولید نماید تشکیل $O_2^{\cdot-}$به ندرت و کمتر از ۱درصد واکنش بین ^{3}sen* و اکسیژن سه‌گانه اتفاق می‌افتد. واکنشی که به‌طور معمول اتفاق می‌افتد تشکیل اکسیژن یگانه است که در نتیجه این واکنش و انتقال انرژی فرم‌های ^{1}sen و $^1O_2$ تشکیل می‌شود. در زیر می‌توان مسیر این واکنش‌ها را به‌صورت شماتیک در شکل شماره ۵ مشاهده کرد(King, 2007).



شکل۱-۵- مسیر واکنش شکل تحریک‌شده در حالت سه‌گانه

۲-۲-آنتی‌اکسیدان‌ها:

کلمه آنتی‌اکسیدان را می‌توان برای هرماده‌ای حتی در غلظت کم که بتواند اکسیداسیون را به تاخیر بیاندازد و یا مانع آن شود استفاده کرد. مولکول‌های مختلفی وجود دارند که نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کنند

که شامل endogenous (در داخل سنتز می‌شوند) و exogenous (باید مصرف شوند) می‌شوند، از طرفی می‌توان آنها را براساس مکانیسم عمل به آنتی‌اکسیدان‌هایی که عمل شکستن زنجیره و آنتی‌اکسیدان‌هایی که عمل بازدارندگی را انجام می‌دهند، تقسیم نمود. دسته اول در زنجیره واکنش‌های مرحله ادامه در اکسیداسیون تداخل می‌کنند و دسته دوم عمل کاهش سرعت واکنش‌های مرحله آغاز اکسیداسیون را به‌عهده دارند. در جدول شماره ۳ به برخی از آنها اشاره شده است(Somogyi *et al*., 2007).

جدول۲-۱ – تقسیم بندی آنتی‌اکسیدان‌ها از نظر مکانیسم عمل

آنتی‌اکسیدان‌های زنجیرشکن	آنتی‌اکسیدان‌های بازدارنده
آلبومین، بیلروبین، اسیداوریک	متالوتیونین، ترانسفرین
ویتامین Eو C، کاروتن‌ها، اسید لیپوئیک	سرولوپلاسمن، میوگلوبین، فریتین
کوآنزیمQ10، گلوتاتیون، فلاونوئیدها	سلنیوم، فلاونوئیدها
آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی: سوپرکسید دسموتاز، کاتالاز،	EDTA(اتیلن دی‌آمین ترا استات)
گلوتاتیون‌دسموتاز	DTPA(دی‌اتیلن تری‌آمین پنت‌استات)

آنتی‌اکسیدان‌های بازدارنده آنزیم‌هایی مثل کاتالاز و دیگر پروکسیدازها هستند که با ROOH (هیدروپروکسید چربی) واکنش می‌دهند و شلاته کننده‌های فلزی مانند EDTA و DTPA را دربر می‌گیرند. این‌گونه سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از تشکیل غیرکنترل شده رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژنی فعال یا از واکنش آنها با ساختارهای بیولوژیکی جلوگیری می‌کنند(Somogyi *et al*., 2007).

آنتی‌اکسیدان‌های درون سلولی شامل مهارکننده‌های با وزن مولکولی کم‌اند که مسئول مهار گونه‌های اکسیدکننده و آنزیم‌هایی که سبب حذف سوپرکسید و هیدروپروکسیدها می‌شوند، هستند. ویژگی شیمیایی این ترکیبات محل آنها را در سلول تعیین می‌کند آنتی‌اکسیدان‌های آبدوست در سیتوزول، میتوکندری وهسته یافت می‌شوند و نوع آب‌گریز آنها در غشاهای سلولی جایی که باعث توقف یا مانع واکنش‌های زنجیره‌ای پروکسیداسیون چربی می‌شوند، قرار دارند. پس ترکیبات آنزیمی مسئولیت دفاع درون سلولی را به‌عهده دارند و ترکیبات غیرآنزیمی مانند آلبومین، اسید اوریک و بیلیروبین که در پلاسما خون هستند وظیفه دفاع برون سلولی را به عهده دارند. دیگر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همانند coeruloplasmine، transferrin و thiolها نقش کمتری در دفاع آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کنند و غلظت آنها در پلاسمای خون کم است(Somogyi *et al*., 2007).

با توجه به تغییراتی که به هنگام اکسیداسیون برای چربی‌ها رخ می‌دهد، نیازمند افزودن آنتی‌اکسیدان-هایی به روغن‌ها هستیم که عطر ، طعم و رنگ آنها را حفظ کند و مانع تخریب ویتامین‌ها می‌شود. تعدادی از انواع سنتزی آنتی اکسیدان‌ها شامل BHA (butylated hydroxyanisole)، (butylated hydroxytoluene) BHT، PG (propyl gallate) و TBHQ (tert-butyl hydroquinone) که برای حفظ غذا استفاده می‌شوند، وجود دارد. توکوفرول‌ها نیز به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در موادغذایی به‌کار می‌روند. اما گزارش‌ها نشان داده که BHA و BHT می‌توانند سمی باشند و از طرف دیگر هزینه ساخت بالاتر و دارای کارایی کمتری از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند توکوفرول‌ها هستند. با توجه به افزایش آگاهی مصرف-کنندگان به مورد اطمینان بودن افزودنی‌های غذایی نیاز به شناسایی منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی و امن‌تر وجود دارد. جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با انواع طبیعی ممکن است علاوه بر سودمندی تغذیه‌ای، اثرات عملکردی مهمی مانند حلالیت در آب و روغن که در امولسیون‌های غذایی به‌کار می‌روند، داشته باشند. مواد گیاهی دارای بسیاری از ترکیبات با فعالیت آنتی اکسیدانی هستند. مطالعات که روی چندین گیاه صورت گرفته نشان داده که آنها می‌توانند به عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی طبیعی و امن در صنعت غذا به کار روند از ترکیبات مختلفی که در این مورد از آنها جدا کرده‌اند پلی فنل‌ها دارای اهمیت بیشتری هستند. پلی-فنل‌ها ترکیباتی هستند که علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند موثر بر ارزش تغذیه‌ای و عملکردی پروتئین‌های گیاهی باشند و همچنین در خصوصیات ارگانولپتیکی میوه‌ها وسبزیجات شرکت کنند (Moure *et al*., 2001).

رادیکال‌های آزاد عامل اصلی در بیماری‌هایی همچون تصلب شراین، سرطان، دستگاه گوارش، پیری پوست، زوال عقل ناشی از پیری و ورم مفاصل هستند. مطالعات کلینیکی گوناگونی نشان داده که آنتی-اکسیدان‌های گیاهی نقش مهمی در پیشگیری از بیماریهایی همانند سرطان و قلب و عروقی ایفا می‌کنند. این ترکیبات به عنوان یک گیرنده گونه‌های مختلف اکسیژن و شلاته کننده فلزات، سلول‌های انسانی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیوی حفظ می‌کنند (Grajek *et al*., 2005).

۲-۳-اسانس‌ها: (روغن‌های فرار یا اتری[1])

اسانس‌ها، مایعات روغنی آروماتیک هستند که از مواد گیاهی به‌دست می‌آیند (گلها، جوانه‌ها، دانه‌ها، برگها، شاخه‌ها، پوست درخت، چوب، میوه‌ها و ریشه‌ها). آنها را می‌توان از expression، تخمیر، enfleurage (عطرگیری با روغن‌های جاذب) یا استخراج به‌دست آورد اما روش تقطیر با بخار به‌طور معمول برای تولید اسانس‌های روغنی تجاری استفاده می‌شود. نام اسانس روغنی مشتق شده از نامی است

[1] ethereal