بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی بذر و اثر روش خشک کردن بر خواص فیزیکو شیمیایی کرفس کوهی

پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی

فرشته مختاری

اساتید راهنما:

دکتر سید امیر حسین گلی

دکتر جواد کرامت

۱۳۹۰

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم و صنایع غذایی خانم فرشته مختاری

تحت عنوان

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی بذر و اثر روش خشک کردن بر خواص فیزیکو شیمیایی کرفس کوهی

در تاریخ ۹۰/۱۲/۶ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱-استاد راهنمای پایان نامه	دکتر سید امیر حسین گلی
۲-استاد راهنمای پایان نامه	دکتر جواد کرامت
۳-استاد مشاور پایان نامه	دکتر مهدی کدیور
۴- استاد مشاور پایان نامه	دکتر ناصر همدمی
۵-استاد داور	دکتر محمد شاهدی
۶- استاد داور	دکترمهدی رحیم ملک
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر احمد ریاسی

تشکر و قدردانی

سپاس خدای را که سخنوران در ستودن او بمانند، شمارندگان شمردن نعمتهای او ندانند و کوشندگان حق او گزاردن نتوانند.

با سپاس از مادرم، او که آغوش گرمش را گشود تا فرصت پرواز یابم،او که در نیایشهای دیروزش امروز مرا خواست و گذشت از هرآنچه نمی توان گذشت.

با تشکر از پدرم، او که تمام امروزهای من تجسم دیروز های از دست رفته اش است، او که لبخند های امروزم را به بهای سیاهی موهایش و طراوت زندگیش برایم به ارمغان آورده است.

با تشکر از زیبایی حضور خواهر و برادر عزیزم که با کلام پر مهر و قلب سخاوتمندشان، خستگی های راه را به امید و روشنی راه تبدیل کردند.

با سپاس فراوان از استاد فرزانه و دلسوزم جناب آقای دکتر گلی که راهنمایی این رساله را به عهده گرفتند و با مناعت طبع، حسن خلق و فروتنی از هیچ کوششی دریغ نکردند.

با تشکر فراوان از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر کرامت که در کمال بزرگواری و سعه صدر عهده دار راهنمایی این رساله شدند.

با سپاس از اساتید گرامی ام جناب آقای دکتر کدیور و جناب آقای دکتر همدمی که زحمت مشاوره این رساله را متقبل شدند.

از اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر شاهدی و جناب آقای دکتر رحیم ملک که زحمت داوری این رساله را به عهده گرفتند کمال تشکر را دارم.

از سایر اساتید محترم گروه علوم و صنایع غذایی که در این سال‌ها از محضر پر فیض تدریسشان بهره‌مند گردیدم، سپاسگزارم.

با تشکر از جناب آقای مندس بهرامی، او که خالصانه رسم آموختن را به من آموخت.

از همکاری صمیمانه مسئولین اداره کل منابع طبیعی اصفهان، آقایان مهندس میر طالبی، مهندس شاملی و مهندس سلیمان پور خالصانه سپاسگزارم.

با تقدیر و تشکر شایسته از زحمات جناب آقای دهقانی و دوستان عزیزم خانم ها مهندس کاغذچی، مهندس واعظ دلیلی، مهندس خوش اخلاق، مهندس علی حیدری، دکتر جعفری، دکتر جاویدیان و دکتر علیان که محبتهای بی دریغشان هرگز فروکش نمی کند.

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این

پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به همه شبه‌گانی از جنس مهر

مادر، پدر، خواهر و برادران عزیزم،

که با لبهای محبت خود آموختند و با تحمل دشواری ها، سبب شدند تا در کمال آزادگی خیال و

فراغبال، شوق آموختن در من زنده بماند.

تقدیم به تمام آموزگارانم، از او که الفبا به من آموخت تا آنان که دریچه‌ای از علم را به رویم

گشودند...

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب .....هشت

فهرست جداول .....یازده

فهرست اشکال.....دوازده

فهرست پیوستها.....سیزده

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع ۲

۱-۱- لیپیدها و مزایای آن در مواد غذایی و بدن انسان ۲

۱-۲- فرایند اکسیداسیون در لیپیدها ۳

۱-۳- اکسیداسیون و مضرات آن ۴

۱-۴- آنتی اکسیدان ها.....۵

۱-۵- آنتی اکسیدانهای سنتزی ۹

۱-۵-۱-بوتیلات هیدروکسی آنیسول ۹

۱-۵-۲- بوتیلات هیدروکسی تولوئن ۱۰

۱-۵-۳- استرهای گالات ۱۰

۱-۵-۴-ترت بوتیل هیدرو کینون ۱۱

۱-۵-۵- آسکوربیل پالمیتات ۱۱

۱-۶- آنتی اکسیدان های طبیعی ۱۲

۱-۶-۱- توکوفرول ها و ترکیبات وابسته به آن.....۱۵

۱-۶-۲- اسید آسکوربیک ۱۶

۱-۷- ترکیبات فنولیک ۱۶

۱-۷-۱- فلاونوئیدها ۱۸

۱-۷-۲-اسیدهای فنولیک ۲۰

۱-۸- منابع طبیعی ترکیبات فنولیک.....۲۱

۱-۹- اثرات فیزیو لوژیک آنتی اکسیدان ها ۲۲

۱-۱۰-معرفی گیاه کرفس کوهی ۲۳

۱-۱۰-۱- مشخصات عمومی خانواده چتریان.....۲۳

۱-۱۰-۲- جایگاه گیاه در طبقه بندی گیاهی.....۲۴

۱-۱۰-۳- خصوصیات گیاه شناسی و پراکنش جغرافیایی کرفس کوهی .....۲۴.

۱-۱۰-۴- ارزش های اقتصادی و اکولوژیکی ۲۵

۱-۱۰-۵- مواارد مصرف کرفس کوهی ۲۷

۱-۱۱- خشک کردن ۲۸
فصل دوم
مواد و روشها ۳۴
۲-۱- مواد و تجهیزات ۳۴
۲-۱-۱- مواد اولیه و مواد شیمیایی ۳۴
۲-۱-۲- دستگاه ها ۳۴
۲-۲- تعیین ترکیبات غذایی در بذر کرفس کوهی ۳۵
۲-۲-۱- اندازه گیری مقدار رطوبت ۳۵
۲-۲-۱-اندازه گیری مقدار چربی به روش سوکسله ۳۶
۲-۲-۳- اندازه گیری مقدار خاکستر ۳۶
۲-۲-۴- اندازه گیری میزان املاح در بذر کرفس کوهی (Na , K , Ca) ۳۷
۲-۲-۴-۱- اندازه گیری میزان سدیم و پتاسیم توسط دستگاه فلیم فتومتری(نشر اتمیک) ۳۷
۲-۲-۴-۲- اندازه گیری میزان کلسیم توسط دستگاه جذب اتمی: ۳۸
۲-۲- ۵- اندازه گیری مقدار فیبر خام ۳۸
۲-۲-۶- اندازه گیری مقدار پروتئین به روش کلدال ۳۹
۲-۲-۷- تعیین میزان کربوهیدرات ۴۰
۲-۳ - تهیه عصاره فنولیکی از بذر گیاه کرفس کوهی ۴۰
۲-۳- ۱- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک در بذر کرفس کوهی ۴۰
۲-۴- بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره بذر کرفس کوهی ۴۰
۲-۴-۱- به دام انداختن رادیکال های آزاد با استفاده از روش آلفا، آلفا_ دی فنیل_ بتا_ پیکریل هیدرازیل .. ۴۰
۲-۴-۲- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش بی رنگ شدن بتا کاروتن ۴۱
۲-۴-۳- بررسی قدرت احیا کنندگی ۴۲
۲-۵- خشک کردن برگ و ساقه کرفس کوهی ۴۲
۲-۵- ۱- خشک کردن به روش آون ۴۲
۲-۵-۲- خشک کردن به روش مایکروویو ۴۳
۲-۵-۳- خشک کردن به روش خورشیدی ۴۳
۲-۵-۴- خشک کردن به روش انجمادی ۴۳
۲-۵-۵- خشک کردن به روش سایه ۴۳
۲-۶- بررسی خواص برگ و ساقه خشک شده ۴۳
۲-۶-۱- اندازه گیری رطوبت ۴۳
۲-۶-۲- اندازه گیری میزان ویتامین C ۴۴
۲-۶- ۳- اندازه گیری میزان کلروفیل ۴۴

۲-۶-۴- تعیین رنگ ۴۴
۲-۶-۵- تعیین مقدار کل ترکیبات فنولیک ۴۵
۲-۷- تجزیه آماری نتایج ۴۵
فصل سوم
نتایج و بحث ۴۶
۳-۱- ترکیبات بذر گیاه کرفس کوهی ۴۶
۳-۲- تعیین مقدار کل ترکیبات فنولیک ۴۷
۳-۳- بررسی اثر آنتی اکسیدانی بذر کرفس کوهی ۴۷
۳-۳-۱- به دام انداختن رادیکال های آزاد با استفاده از روش آلفا، آلفا_ دی فنیل_ بتا_ پیکریل هیدرازیل ... ۴۷
۳-۳-۲- روش بی رنگ شدن بتا کاروتن ۵۱
۳-۳-۳- بررسی قدرت احیا کنندگی ۵۴
۳-۴- بررسی اثر روشهای مختلف خشک کردن بر خواص کیفی و کمی برگ و ساقه کرفس کوهی ۵۶
۳-۴-۱- ترکیبات فنولیک ۵۶
۳-۴-۲- ویتامین C ۵۸
۳-۴-۳- مقدار کلروفیل ۶۰
۳-۴-۴- مقدار رنگ ۶۱
فصل چهارم
نتیجه گیری کلی و پیشنهادات ۶۴
۴-۱- نتیجه گیری کلی ۶۴
۴-۲- پیشنهادات ۶۵
پیوست ۶۷
منابع ۷۱

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- ترکیبات شیمیایی بذرکرفس کوهی.....۴۶
جدول۳-۲- مقایسه میانگین تیمارها در تعیین میزان ترکیبات فنولیک (mg/g D.W)برگ و ساقه کرفس کوهی.... ...۵۸
جدول۳-۳- مقایسه میانگین تیمارها در تعیین میزان ویتامین C (mg/100g W.B) برگ و ساقه کرفس کوهی.....۵۹
جدول۳-۴- مقایسه میانگین تیمارها در تعیین میزان کلروفیل (mg/g W.B) برگ کرفس کوهی ۶۰
جدول۳-۵- مقایسه میانگین تیمارها در تعیین میزان ضریب L برگ کرفس کوهی ۶۲

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل۱- ۱- ساختار کلی فلاونوئیدها ۲۰
شکل۱- ۲- رده بندی گیاهی انگلر ۲۴
شکل۳-۱- اثر آنتی اکسیدان های مختلف در به دام انداختن رادیکال DPPH ۴۹
شکل۳-۲- اثر آنتی اکسیدان های مختلف بر روند بی رنگ شدن بتا کاروتن ۵۱
شکل۳-۳- تیمار های اعمال شده در روش بتا کاروتن ۵۳
شکل۳-۴- تیمارهای اعمال شده در مدل سیستم قدرت احیا کنندگی ۵۵

فهرست پیوست ها

عنوان **صفحه**

جدول (۱)تجزیه واریانس داده ها در مدل سیستم DPPH 68
جدول(۲) تجزیه واریانس داده های مدل سیستم بتا کاروتن 68
جدول(۳) تجزیه واریانس داده ها در مدل سیتم قدرت احیا کنندگی 68
جدول(۴) تجزیه واریانس داده ها در تعیین مقدار کل ترکیبات فنولیک برگ و ساقه کرفس کوهی 68
جدول(۵) تجزیه واریانس داده ها در تعیین مقدار ویتامین C برگ و ساقه کرفس کوهی 69
جدول(۶) تجزیه واریانس داده ها در تعیین مقدار کلروفیل برگ و ساقه کرفس کوهی 69
جدول(۷) تجزیه واریانس داده ها در تعیین ضریب (L) برگ و ساقه کرفس کوهی ۶۹
جدول(۸) تجزیه واریانس داده ها در تعیین ضریب (a) برگ و ساقه کرفس کوهی ۶۹
جدول(۹) تجزیه واریانس داده ها در تعیین ضریب (b) برگ و ساقه کرفس کوهی ۷۰

چکیده

کرفس کوهی یکی از گیاهان بومی ایران و از تیره چتریان است. این گیاه با نام محلی کلوس، از دیر باز به عنوان غذا و چاشنی توسط ساکنان اطراف رویشگاه های آن مصرف می شده است و در طب سنتی دارای اثرات ضد سرفه، ضد التهاب، ضد فشار خون و ضد رماتیسم می باشد. وقوع هر گونه اکسیداسیون در مواد غذایی نامطلوب به شمار می آید و منجر به کاهش ارزش تغذیه ای و کیفیت محصول گردیده و سلامتی انسان را به خطر می اندازد. این مسئله در صنعت غذا بسیار مورد توجه است زیرا منجر به ایجاد بو و عطر و طعم مشخص تند شدن در غذاهای چرب و روغن ها گردیده، باعث کاهش مدت ماندگاری و غیر قابل مصرف شدن این محصولات می شود به علاوه فساد اکسیداتیو باعث تغییر در رنگ، بافت و قوام محصول می گردد و کیفیت تغذیه ای آن را کاهش می دهد. اکسیداسیون لیپید ها در حین نگهداری و فراوری غذا نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه ای غذا می شود بلکه محصولات حاصل از اکسیداسیون همانند رادیکالهای آزاد می تواند منجر به واکنشهای متعدد نامطلوب شیمیایی نیز شود . هر ترکیبی که گسترش تند شدن و یا هر نوع فساد طعمی نا مطبوع ناشی از اکسیداسیون را به تأخیر انداخته و یا ممانعت کند را آنتی اکسیدان می نامند. امروزه آنتی اکسیدان های سنتزی به طور گسترده ای در غذاهای فراوری شده استفاده می گردند ولی با انجام آزمایشات ایمنی و به دست آوردن نتایجی مبنی بر مضر بودن این ترکیبات، سعی بر جایگزین کردن این ترکیبات با ترکیبات طبیعی شده است.

در این تحقیق پس از استخراج عصاره متانولی بذر و اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولیک ، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره با استفاده از مدل سیستم های آزمایشگاهی، مدل بی رنگ شدن بتا کاروتن، آلفا، آلفا- دی فنیل- بتا- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و قدرت احیا کنندگی مورد بررسی قرار گرفت و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره با فعالیت آنتی اکسیدان های سنتزی بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) وآنتی اکسیدان های طبیعی، اسید آسکوربیک و آلفا توکوفرول مقایسه شد. مقدار کل ترکیبات فنولیک موجود در عصاره توسط اسپکتروفتومتری با روش فولین- سیاکالتو تعیین شد و بر اساس اکی والانت اسید گالیک گزارش گردید. در مدل سیستم آلفا، آلفا- دی فنیل- بتا- پیکریل هیدرازیل و قدرت احیا کنندگی، عصاره بذر گیاه نسبت به اسید آسکوربیک و ترت بوتیل هیدروکینون فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری داشت. اما فعالیت عصاره بذر گیاه نسبت به آلفا توکوفرول و بوتیلات هیدروکسی تولوئن بیشتر بود. اگر چه در مدل سیستم بی رنگ شدن بتا کاروتن فعالیت آنتی اکسیدانی بوتیلات هیدروکسی تولوئن نسبت به عصاره بیشتر بود اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود ($\rho \leq 0.05$) و ترت بوتیل هیدروکینون بیشترین فعالیت و اسید آسکوربیک در این مدل سیستم کمترین فعالیت را داشت.

در این تحقیق اثر روشهای مختلف خشک کردن (آون، انجمادی، مایکروویو، سایه و خورشیدی) بر خواص فیزیکوشیمیایی (ویتامین C، کلروفیل، ترکیبات فنولیکی و رنگ) برگ و ساقه این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. میزان کل ترکیبات فنولیک در اثر خشک کردن گیاه نسبت به گیاه تازه افزایش یافته بود. در بین روشهای مختلف خشک کردن، نمونه های خشک شده به روش سایه در محیط آزمایشگاه، میزان کل ترکیبات فنولیک بیشتری نسبت به سایر نمونه های خشک شده نشان داد. میزان کل ترکیبات فنولیک در برگ خشک شده به روش انجمادی و آون، اختلاف معنی داری با هم نداشتند و هر دو، تا یک اندازه در استخراج این ترکیبات مؤثر بودند. در روش مایکروویو احتمالا به خاطر اینکه نمونه با سرعت بیشتری خشک می شود و زمان کافی برای شکسته شدن ساختار سلولی و استخراج بهتر ترکیبات فنولیکی وجود ندارد، میزان کل این ترکیبات در این روش کمتر از سایر روشها گزارش شده است. روشهای مایکروویو و انجمادی باعث حفظ بهتر و بیشتر میزان ویتامین C و کلروفیل شدند و همچنین این روشها باعث حفظ بهتر رنگ در گیاه نیز گردید در روش خشک کردن انجمادی به خاطر اینکه حرارت به عنوان یکی از عوامل مخرب ویتامین C وجود ندارد، ویتامین C و کلروفیل بیشتری حفظ شده است. بعد از این روش، روش مایکروویو به میزان بیشتری ویتامین C و کلروفیل را حفظ کرده است به خاطر این که مدت زمان خشک شدن در این روش بسیار اندک بوده و اکسیداسیون ویتامین C در این مدت کم بوده است.

واژه های کلیدی:کرفس کوهی، ترکیبات فنولیک، خاصیت آنتی اکسیدانی،خشک کردن

فصل اول
مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- لیپیدها و مزایای آن در مواد غذایی و بدن انسان

لیپیدها رده‌ای از ترکیبات آلی دارای هیدروکربن هستند که از مواد بنیادین برای ساختار و کارکرد یاخته‌های زنده بشمار می‌آیند و در ساختمان غشاهای بیولوژیکی نیز شرکت می‌کنند. لیپیدها منبع عمده تأمین انرژی می‌باشند و در پدیدهٔ شناسایی سلول[1] نقش مهمی دارند. این ترکیبات عایق های مناسبی برای حفظ موجودات خونگرم که درمناطق قطبی زندگی می‌کنند به شمار می‌آیند و در بیوسنتز ترکیبات شبه هورمون به خصوص پروستاگلاندین‌ها شرکت می‌کنند. تمامی گیاهان و حیواناتی که مورد تغذیه انسان قرار می گیرند حاوی لیپیدها می باشند. لیپیدها ترکیبات مهمی هستند که بر روی ارزش تغذیه ای و حسی انواع غذاها تأثیر بسزایی دارند[۱۴].

تأثیر لیپیدها بر کیفیت غذاها به محتوای لیپید، توزیع آن در شبکه غذا، ترکیب شیمیایی و واکنش پذیری لیپیدها و نیز به تغییرات فیزیکی آنها در طی فراوری و بر هم کنش آنها با سایر اجزاء بستگی دارد.
لیپیدها از بعد تغذیه ای دارای دو وظیفه تأمین انرژی و تأمین نیاز های تغذیه ای غیر از انرژی هستند. لیپیدها منابع مهم انرژی هستند. هرگرم چربی معادل ۹ کیلو کالری انرژی تولید می کند که بیش از دو برابر انرژی تولیدی توسط کربو هیدرات ها و پروتئین ها می باشد. یکی از دلایل دانسیته بالای انرژی زایی چربی ها، بدون آب بودن این ترکیبات یعنی متراکم بودن آن هاست.

---

1 . Cell-recognition

در مورد نقش تأمین ترکیبات مورد نیاز بدن می توان گفت لیپیدها منابع مهم تأمین ویتامین های محلول در چربی (A,D,K,E) هستند. لیپیدها تأمین کننده اسید های چرب ضروری هستندکه شامل اسید لینولئیک و اسید لینولنیک است. در صورت عدم وجود اسید های چرب ضروری در بدن، خارش پوست و اگزاما ایجاد می گردد. وجود این اسیدهای چرب در بدن مادر در دوران بارداری بسیار مهم است. این ترکیبات عامل مقاومت در مقابل تشعشع بوده و از پارگی مویرگ ها جلوگیری می کنند. در رژیم غذایی یک فرد بالغ باید روزانه حدود ۱۰ گرم از اسیدهای چرب ضروری وجود داشته باشد. مصرف اسیدهای چرب دارای چند پیوند غیر اشباع فشار خون را کاهش می دهد[۶۸].

۱-۱- فرایند اکسیداسیون در لیپیدها

اکسیداسیون [1] یا اکسایش واکنشی شیمیایی است که در آن یک مادّه الکترون یا هیدروژن از دست می‌دهد ، یا اکسیژن می‌گیرد. اکسیداسیون همواره با واکنش دیگری به نام احیا یا کاهش همراه است که در آن یک مادّه الکترون یا هیدروژن می‌گیرد، یا اکسیژن از دست می‌دهد. مجموع این دو فرایند اکسیداسیون –احیا (اکسایش-کاهش) می‌نامند که در آن اکسیژن، یا هیدروژن، یا الکترون از مادّه‌ای به مادّه دیگر منتقل می‌شود. اکسیداسیون لیپیدها تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی متعددی مانند نوع اسید چرب، محتوا و فعالیت پرو و یا آنتی اکسیدانی، نور، دما، فشار اکسیژن، تماس با اکسیژن و فعالیت آبی قرار می گیرد، چون لیپیدها فقط جزئی از محصول هستند پیدا کردن ترکیب غذایی که روی اکسیداسیون لیپید تأثیر نداشته باشد بسیار مشکل است[۹۶]. اسید های چرب چند غیر اشباع که بین باندهای دوگانه آنها دو یا تعداد بیشتری گروه متیلن در حالت فضایی سیس وجود دارد، به اکسید شدن توسط اکسیژن بسیار حساس هستند. محصولات اولیه حاصل از اکسید شدن چربی ها که هیدرو پر اکسید نامیده می شوند فاقد مزه و بو هستند و تجزیه شدن این ترکیبات و محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون باعث ایجاد عطر و طعم نا مطلوب در روغن و غذاهای چرب می گردد.

اکسیداسیون شامل سه مرحله آغازین، گسترش یا پیشرفت و پایانی می باشد. این مراحل در سرعت واکنش با یکدیگر متفاوتند و سرعت این مراحل به شرایط واکنش و سوبسترا بستگی دارد. تشکیل رادیکال های آزاد در مرحله آغازین توسط عواملی مانند تجزیه حرارتی یا نوری، هیدرو پراکسید ها، کاتالیزورهای فلزی و یا اشعه ماوراء بنفش صورت می گیرد.

در مرحله آغازین، در حضور یک آغازگر (In) لیپید های غیر اشباع (RH) یک هیدروژن از دست می دهند و در نتیجه یک رادیکال لیپید (R°) تشکیل می شود (واکنش ۱).

1 . Oxidation

$$RH+In \longrightarrow R^{\circ}+ InH \quad (۱)$$

در مرحله انتشار، رادیکال آلکیل لیپید (R°) با اکسیژن مولکولی واکنش می دهد و رادیکال پر اکسیل (ROO°) تولید می شود.

$$R^{\circ}+ O_2 \longrightarrow ROO^{\circ} \quad (۲)$$

این مرحله از واکنش در حضور اکسیژن بسیار سریع است.

رادیکال های پر اکسیل از سایر مولکول های غیر اشباع لیپیدی هیدروژن جذب می کنند و هیدرو پر اکسید و یک رادیکال لیپید جدید (R°) تولید می نمایند.

$$ROO^{\circ} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\circ} \quad (۳)$$

این واکنش در دمای محیط کندتر و مرحله تعیین کننده سرعت واکنش است.

مرحله پایانی، مرحله تشکیل محصولات غیر رادیکالی و پایدار است و شامل مراحل ۴ تا ۶ می باشد.

$$ROO^{\circ} + ROO^{\circ} \longrightarrow ROOR + O_2 \quad (۴)$$

$$R^{\circ} + R^{\circ} \longrightarrow 2R \quad (۵)$$

$$R^{\circ} + ROO^{\circ} \longrightarrow ROOR \quad (۶)$$

در حضور هوا واکنش۴ مهم تر است و واکنش های ۵ و۶ در هنگامی که غلظت اکسیژن پایین است و از سطح روغن و یا غذای چرب دور است، اهمیت بیشتری خواهند داشت[۸۹، ۹۶].

۱-۲- اکسیداسیون و مضرات آن

وقوع هر گونه اکسیداسیون در مواد غذایی نامطلوب به شمار می آید و منجر به کاهش ارزش تغذیه ای و کیفیت محصول گردیده و سلامتی انسان را به خطر می اندازد. این مسئله در صنعت غذا بسیار مورد توجه است زیرا منجر به ایجاد بو و عطر و طعم مشخص تند شدن در غذاهای چرب و روغن ها گردیده، باعث کاهش مدت ماندگاری و غیر قابل مصرف شدن این محصولات می شود به علاوه فساد اکسیداتیو باعث تغییر در رنگ، بافت و قوام محصول می گردد و کیفیت تغذیه ای آن را کاهش می دهد. اکسیداسیون لیپید ها در حین نگهداری و فراوری غذا نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه ای غذا می شود بلکه محصولات حاصل از اکسیداسیون همانند رادیکالهای آزاد می تواند منجر به واکنشهای متعدد نامطلوب شیمیایی نیز شود . با پیشرفت علم بیوشیمی نقش مؤثر رادیکالهای آزاد در بروز خیلی از بیماری ها مشخص شده است. نقش رادیکالهای آزاد و اکسیژن فعال در بیماری های خاص انسانی مانند سرطان، پیری و تصلب شرائین[1] مورد توجه است. استرس های اکسیداتیو در ایجاد بیماری های سرطان، تصلب شرایین، مالاریا، ورم

1 . Atherosclerosis

مفاصل روماتیسمی[1]، از کار افتادن اعصاب[2] و فرایند پیری نقش دارند[۷۲] . رادیکال های آزاد و سایر گونه های اکسیژن فعال در بدن انسان نیز تولید می شوند، مکان های هدف برای گونه های اکسیژن فعال در سیستم های بیولوژیکی، اسید دئوکسی ریبو نوکلئیک ، پروتئین ها و لیپید ها است[۹۴].

برخی از بیماری ها که بوسیله اکسیداسیون شدید چربی ها رخ می دهد شامل پیری، آلزایمر، آرتریت های روماتیسمی، تصلب شرایین، برخی سرطان ها، آب مروارید، التهابات پوستی، دیابت، فاویسم، عقیمی، مالاریا، پارکینسون و غیره هستند. علاوه بر این برخی رفتارهای انسان مانند مصرف الکل، استعمال سیگار، مصرف بیش از حد چربی های غیر اشباع، تمرینات سنگین، حضور بیش از حد در برابر نور خورشید[۹۳]، قرار گرفتن در میدان های مغناطیسی و MRI نیز منجر به افزایش شدت اکسیداسیون چربی ها می گردد[۵۶]. دراثر اکسیداسیون لیپیدها در طی فرایند واکنشهای زنجیره ای، رادیکالهای آزاد تولید می شود که این مسئله موجب شده تا برای حفاظت در برابر آسیبهای ناشی از ایجاد رادیکا لهای آزاد، استفاده ازترکیبات آنتی اکسیدان موردتوجه قرارگیرد.

۱-۳- آنتی اکسیدان ها

تاریخچه آنتی اکسیدانها به قرن نوزدهم بر می گردد، زمانی که مشخص شد آنچه که تا آن زمان در مورد فساد لاستیک طبیعی می پنداشته اند اشتباه بوده است، در واقع مشخص شد که دلیل فساد این ماده فرایند های بیولوژیکی نیست بلکه، پر اکسیداسیون می باشد. تحقیقاتی که بعد از این کشف در زمینه آنتی اکسیدان یا آنتی اکسیژن صورت گرفت، به دو فاز مشخص که از لحاظ زمانی همپوشانی دارند تقسیم می گردد، در فاز نخست که از همان زمان شروع شد و در دهه ۱۹۶۰ به اوج خود رسید، حفاظت از مواد تکنولوژیکی در برابر فساد اکسیداتیو مورد توجه قرار داشت و فاز دوم در دهه ۱۹۵۰، زمانی که اهمیت آنتی اکسیدان های بیولوژیک در ممانعت از بروز بعضی بیماری ها کشف شد، آغاز گردید.

متخصصین شیمی غذایی به زودی نشان دادند، پر اکسیداسیون، که عامل تند شدن روغن ها و چربی های چند غیر اشباعی است، توسط ویتامین های طبیعی که خاصیت آنتی اکسیدانی دارند متوقف می گردد. در همان زمان متخصصین صنعت نفت متوجه شدند که دلیل تسریع خشک شدن فیلم های رنگی، توسط فلزات واسطه، اثر کاتالیزوری آنها بر اکسیداسیون روغن های چند غیر اشباعی در نتیجه ایجاد پیوند های عرضی بین آنها می باشد. برای متخصصین بیوشیمی بدیهی بود که چنین مکانیسمی در داخل بدن موجود

1 . Rheumatoid arthritis
2 . Neurodegeneration

زنده هم قابل انجام است و در نتیجه پر اکسیداسیون لیپید های بدن موجود زنده محصولات کربونیلی تولید شده و یا الیگومر تولید می نمایند[۹۳].

آنتی اکسیدان ترکیبی است که در غلظت های پایین نیز اکسیداسیون ترکیبات را به تأخیر انداخته و یا مانع می شود[۹۵].آنتی اکسیدان ها از ویتامین های محلول در چربی، کاروتنوئید ها و سایر اجزای مغذی موجود در غذاها محافظت می نمایند. این ترکیبات همچنین تغییرات نا مطلوب ناشی از اکسیداسیون غذاها مانند ایجاد رنگ نامطلوب در گوشت و محصولات گوشتی و قهوه ای شدن میوه ها و سبزیجات را به تأخیر می اندازند[۸۹]. تعریفی که از این ترکیبات در قوانین استفاده از آنتی اکسیدان ها در مواد غذایی(۱۹۷۸) انگلستان آورده شده، بصورت زیر است:

"هر ترکیبی که گسترش رانسیدیتی[1] (تند شدن) و یا هر نوع فساد طعمی نا مطبوع ناشی از اکسیداسیون را به تأخیر انداخته و یا ممانعت کند"[۱۷].

آنتی اکسیدانها به دو گروه عمده تقسیم می شوند، آنتی اکسیدان های اولیه (یا زنجیره شکن) که با رادیکال های لیپید واکنش می دهند و محصولات پایداری تولید می کنند و آنتی اکسیدان های ثانویه یا بازدارنده که از طریق مکانیسم های متعددی فرایند را به تأخیر می اندازند[۹۶].

آنتی اکسیدان های اولیه واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد را در فرایند اتو اکسیداسیون متوقف می کنند. توکوفرول های طبیعی و سنتزی، آلکیل گالات ها، بوتیلات هیدروکسی تولوئن ، BHA، TBHQ و غیره در این گروه قرار می گیرند. این آنتی اکسیدان به صورت دهنده الکترون و یا پذیرنده رادیکال آزاد عمل می کنند و از این طریق مانع واکنش های زنجیره ای می گردند، مکانیسم واکنش یک آنتی اکسیدان اولیه (AH) در واکنش های ۱ تا ۸ نشان داده شده است:

$$AH + RO^{\circ} \longrightarrow ROH + A^{\circ} \quad (۱)$$

$$AH + ROO^{\circ} \longrightarrow ROOH + A^{\circ} \quad (۲)$$

$$RH + A^{\circ} \longrightarrow AH + A^{\circ} \quad (۳)$$

$$AH + ROO^{\circ} \longrightarrow [ROO^{\circ}AH] \quad (۴)$$

$$[ROO^{\circ}AH] \longrightarrow \text{محصولات غیر رادیکال} \quad (۵)$$

$$A^{\circ} + A^{\circ} \longrightarrow AA \quad (۶)$$

$$A^{\circ} + R^{\circ} \longrightarrow RA \quad (۷)$$

$$A^{\circ} + ROO^{\circ} \longrightarrow ROOA \quad (۸)$$

1 . Rancidity

واکنش بازدارندگی، یعنی واکنش شماره۲، از واکنشهای ۱ و ۴ مهم تر است، در واقع در این واکنش جلوی واکنشهای مرحله انتشار گرفته می شود و روی ثابت سرعت بازدارندگی تأثیر دارد. هیبرید رزونانس پایدار رادیکال آزاد حاصله از آنتی اکسیدان و محصولات غیر رادیکالی واکنش های ۵ تا ۸، در مراحل آغازین و یا پیشرفت واکنش های زنجیره ای شرکت نمی کنند[۸۹].

آنتی اکسیدان های ثانویه یا بازدارنده مکانیسم های متعددی برای به تأخیر انداختن اکسیداسیون دارند[۹۶]. تجزیه پر اکسید با مکانیسم پر اکسیدولیز یونی مکانیسم منحصر به فردی برای آنتی اکسیدان های بازدارنده می باشد. جذب اشعه ماوراء بنفش و اثر غیر فعال سازی یون های فلزات واسطه، مکمل فعالیت آنتی اکسیدان های زنجیره شکن و بازدارنده هستند زیرا مانع فتولیز یا ترمولیز پراکسید ها می شوند و از آنجا که هر دسته از آنتی اکسیدان ها با مکانیسم خاص خود فعالیت می کند بکار بردن چند دسته از آنها به همراه هم اثر تشدید کنندگی دارد[۹۳].

یون های فلزی مانند آهن و مس از طریق فعالیت کاتالیزوری اکسیداسیون لیپیدها را تسریع می کنند، عوامل کمپلکس کننده فلزات[1] با کمپلکس کردن این فلزات مانع فعالیت آنها می شوند. از این عوامل می توان به اسید سیتریک و ایزو پروپیل سیترات، اسیدهای آمینه، اسید فسفریک ، اسید تاتاریک ، اسید آسکوربیک و آسکوربیل پالمیتات و اتیلن دی آمین ترا اسید استیک[2] اشاره نمود[۸۹]، فنیل سالیسیلات و هیدروکسی بنزوفنون از انواع آنتی اکسیدان های بازدارنده هستند که اشعه ماوراء بنفش را جذب می کنند[۱۷].

کمپلکس کننده ها تشدید کننده [3] هم نامیده می شوند زیرا قادرند فعالیت آنتی اکسیدان های فنولیکی را تقویت نمایند، تصور می شود که تشدید کننده (SH) آنتی اکسیدان اولیه را مجددا" تولید می نماید:

$$SH + A^{\circ} \longrightarrow AH + S^{\circ} \qquad (۹)$$

در سیستم های غذایی و روغن ها، فسفولیپید ها، آسکوربیک اسید (ویتامین C) وآسکوربیل پالمیتات به عنوان تشدید کننده های آنتی اکسیدان ها شناخته شده اند آسکوربیل پالمیتات (AP) و آسکوربیک اسید (AA) به صورت به دام اندازنده های اکسیژن نیز عمل می کنند و خود آنها به ترکیبات دهیدرو تبدیل می گردند:

$$2AA + O_2 \longrightarrow 2 \text{ dehydro-AA} + 2H_2O \qquad (۱۰)$$

1 . Chelating Agent
2 . EDTA
3 . Synergist

$$2AP + O_2 \longrightarrow 2\ \text{dehydro-AP} + 2\ H_2O \qquad (۱۱)$$

معمولا" در سیستم های غذایی برای کسب کارایی بیشتر از آنتی اکسیدان های اولیه، سینرژیست ها و کلاته کننده ها به همراه هم استفاده می شود در نتیجه تجزیه هیدرو پراکسیدها که پیش سازهای بوها و طعم های نا مطلوب در غذا هستند به تعویق می افتد و بد طعمی ناشی از تند شدن را در روغن و چربی و غذاهای چرب به تأخیر می اندازد[۸۹].

از آنجا که یکی از جالب ترین مکانیسم های عمل آنتی اکسیدان ها در سیستم های زیستی و صنعتی، واکنش با رادیکال های آزاد و اکسید کننده است، می توان با کمک رادیکال های آزاد توان آنتی اکسیدانی ترکیبات مختلف را تعیین نمود. برای تعیین قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات از یک رادیکال آزاد پایدار به نام آلفا و آلفا- دی فنیل- بتا- پیکریل هیدرازیل استفاده می شود که به علت داشتن یک الکترون منفرد، خاصیت پارامغناطیسی دارد، این مولکول می تواند یک الکترون یا هیدروژن بگیرد و به یک مولکول پایدار دیا مغناطیس تبدیل شود. وجود یک الکترون منفرد در مولکول باعث شده است که آلفا و آلفا- دی فنیل- بتا- پیکریل هیدرازیل یک باند جذبی قوی در طول موج ۵۱۷ نانومتر داشته باشد و محلول دارای رنگ بنفش می باشد. وقتی الکترون منفرد موجود در ساختار مولکول جفت شود، جذب محلول کاهش یافته و کاهش رنگ به صورت استوکیومتری وابسته به تعداد الکترون های گرفته شده می باشد[۲۸].رادیکال های آلفا و آلفا- دی فنیل- بتا- پیکریل هیدرازیل پایدار هستند و سرعت تخریب و واکنش پذیری آنها نسبت به سایر ترکیبات پایین می باشد در نتیجه فقط ترکیباتی که قادرند اتم هیدروژن خود را به خوبی از دست دهند احتمال دارد که از طریق استوکیومتری با رادیکا لهای پایدار واکنش دهند[۹۲].این عمل توسط یک آنتی اکسیدان قابل انجام است زیرا آنتی اکسیدان از طریق دادن اتم هیدروژن به مولکول آلفا و آلفا- دی فنیل- بتا- پیکریل هیدرازیل آنرا غیر فعال می نماید و باعث کاهش جذب محلول می گردد که به صورت کم رنگ شدن از ارغوانی به زرد قابل تشخیص است[۳۱].درجه بی رنگ شدن محلول نشانه قدرت آنتی اکسیدان در غیر فعال کردن رادیکال آزاد است[۹۷].

اساس مدل سیستم بی رنگ شدن بتا کاروتن واکنش بتاکاروتن با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه تشکیل هیدرو پراکسید از اسید لینولئیک است[۶۲] در این مدل سیستم از بتا کاروتن به عنوان شاخصی که بیانگر شدت اکسیداسیون چربی ها می باشد استفاده می گردد. رنگ کاروتنوئید ها ناشی از حضور یک سیستم از پیوند های دوگانه و مضاعف می باشد. هر چه تعداد این نوع پیوند ها در مولکول بیشتر باشد، باند های جذب اصلی به ناحیه با طول موج بیشتر انتقال یافته و در نتیجه رنگ قرمز تر می شود. حد اقل هفت پیوند دو گانه و مضاعف لازم است تا رنگ زرد محسوسی ایجاد گردد، پیوند های دوگانه معمولا" در