پژوهش های شیمیایی و نانومواد
Chemical Research & Nanomaterials(CRN)
https://sanad.iau.ir/journal/crn

بکارگیری نانوذرات در اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام

صفیه مومنی *

مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده زیست فناوری خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

چکیده: ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAC) به عنوان فعالیت تجمعی آنتی اکسیدان ها در یک نمونه، پارامتر مهمی در تجزیه و تحلیل ماتریس های بیولوژیکی یا غذایی است. بنابراین ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مواد موجود در رژیم غذایی و مایعات بیولوژیک اهمیت زیادی دارد. بر این اساس روش های زیادی به شیوه های گوناگون در شرایط مختلف، ظرفیت آنتی اکسیدانی و موثر بودن آن ها را بررسی می کنند. اما اغلب همبستگی قوی بین ظرفیت های اندازه گیری شده بر روی مواد یکسان با روش های مختلف وجود ندارد که علت آن تنوع مواد فعال، ساز و کارو ویژگی های متفاوت مانند انواع مختلف آنتی اکسیدان ها، حضور سایر مواد مداخله کننده در نمونه، عدم شرکت همه آنتی اکسیدان های نمونه در واکنش روش مورد استفاده می باشد. در سال های اخیر، روش های تجزیه ای متفاوتی بر اساس نانوذرات توسعه یافته اند تا ظرفیت آنتی اکسیدانی غذاها و مواد گیاهی را تعیین کنند. در این روش های سنجش عمدتا از نانوذراتی مثل طلا، نقره، اکسید آهن، اکسید منگنز، کوانتوم دات ها و اکسید سریم استفاده کرده اند. در این مقاله مروری به بعضی از پژوهش های انجام گرفته در زمینه ی سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می پردازیم.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، نانوذرات، رادیکال آزاد

Safieh.momeni@gmail.com

۱- مقدمه

اصطلاحات " رادیکال های آزاد " و " گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن" توجه تعداد زیادی از محققین را به خود جلب کرده است. رادیکال‌های آزاد، مولکول‌های حاوی اکسیژن یا نیتروژن با الکترون‌های جفت‌نشده هستند. آن‌ها ممکن است باعث واکنش‌های شیمیایی زنجیره‌ای در بدن شوند، چون با مولکول‌های دیگر به‌راحتی واکنش نشان می‌دهند. این واکنش‌ها اکسیداسیون نامیده می‌شوند و ممکن است مفید یا مضر باشند. در طی فعالیت های نرمال سلولی، گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن تولید می شوند. گونه های فعال اکسیژن(ROS) یک اصطلاح کلی است که بیان کننده رادیکال های آزاد مشتق از O_2 مانند سوپراکسید آنیون($O_2^{\cdot -}$) و رادیکال های هیدروکسیل($OH^{\cdot}$) و گونه های غیر رادیکالی مشتق از O_2 مانند هیدروژن پراکسید می باشد که به طور مداوم در ارگانیسم ها تولید می شوند. آن ها گونه های گذرایی هستند که قدرت واکنش پذیری بالایی با DNA، پروتئین، کربوهیدرات و لیپیدها دارند. گونه های نیتروژن فعال(RNS)، نیز اکنون به عنوان رادیکال های مهم شناخته شده اند. اکسید نیتریک(NO) می تواند در اشکال مختلف شیمیایی وجود داشته باشد. هم چنین NO می تواند با $O_2^{\cdot -}$ ترکیب و به فرم پراکسی نیتریت($ONOO^-$) درآید که می تواند آزادانه در داخل و میان

[1]Reactive Oxygen Species (ROS)/Reactive Nitrogen Species (RNS)

تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۱۱/۷
تاریخ پذیرش : ۱۴۰۲/۱۱/۱۹

سلول ها پخش شود. RNS و ROS علاوه بر عملکردهای سودمند، در آپوپتوز و سرطان که دو پدیده متضاد هستند نقش گسترده ای ایفا می کنند[۱].

استرس اکسیداتیو در اثر عدم تعادل بین تولید و حذف گونه های فعال اکسیژن/نیتروژن در یک سیستم بیولوژیک ایجاد می شود[۱]. در واقع، استرس اکسیداتیو به معنای نبود تعادل مابین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن است. سلول های بدن در طی فرآیندهای طبیعی متابولیک رادیکال های آزاد تولید می کنند. از سوی دیگر بدن با تولید آنتی اکسیدان هایی، این رادیکال های آزاد را خنثی می کنند. به طور کلی بدن قادر است تعادل بین آنتی اکسیدان ها و رادیکال های آزاد را حفظ کند. هنگامی که این تعادل به نفع رادیکال‌های آزاد به هم خورد، استرس اکسیداتیو به وجود می‌آید. این گونه های واکنش پذیر می توانند باعث آسیب اکسیداتیو به مولکول های زیستی(لیپیدها، پروتئین ها و DNA) شوند، بنابراین منجر به ایجاد بیماری های مختلف از جمله تخریب عصبی، بیماری عروق کرونر قلب، پیری، التهاب، دیابت و سرطان می شود[۲].

۲- آنتی اکسیدان ها

یک آنتی اکسیدان، مولکولی است که با اکسید کردن خود، اکسیداسیون مولکول های دیگر را مهار می کند. آنتی اکسیدان ها ترکیبات بسیار قدرتمندی هستند که قادر به تاخیر انداختن یا جلوگیری از زوال اکسیداتیو در سیستم های حیاتی هستند. در واقع آنتی اکسیدان ها نقش مهمی در مهار گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن و جلوگیری از تشکیل آن ها ایفا می کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند بدون ایجاد ناپایداری در ساختار خود، الکترون‌هایشان را به رادیکال‌های آزاد اهدا کنند. این عمل باعث ثبات وضعیت رادیکال‌های آزاد می‌شود؛ در نتیجه میزان و تعداد واکنش‌های انجام شده را کاهش می‌دهد. گونه های آنتی اکسیدانی به سه دسته تقسیم می شوند:

۱. سیستم های آنزیمی مانند کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردکتاز، سوپر اکسید دیسموتاز و سرولوپلاسمین

۲. مولکول های کوچک مانند آسکوربات، اسید اوریک، گلوتاتیون و ویتامین E

۳. پروتئین ها مانند آلبومین، ترانسفرین و متالوتیونین ها

آنتی اکسیدان های درون زا مانند گلوتاتیون، اسید اوریک، بیلی روبین و آلبومین در بدن انسان تولید می شوند. آنتی اکسیدان های برون زا مانند پلی فنول ها، ویتامین E، اسید اسکوربیک و بتاکاروتن در غذاهای مختلف وجود دارد و مصرف آن ها در رژیم غذایی روزانه برای سلامتی انسان مفید است[۳].

۲-۱- ظرفیت آنتی اکسیدانی تام(TAC)[1]

اهمیت زیاد آنتی اکسیدان ها در علوم مختلف بیولوژی، پزشکی، تغذیه و کشاورزی نیاز به وجود یک روش ساده، آسان و معتبر برای اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام را ایجاد کرده است. ارزیابی مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مایعات و غذاهای بیولوژیکی، برای تشخیص و درمان بیماری های مرتبط با استرس اکسیداتیو در بیوشیمی بالینی و نیز مقایسه معنی دار محتوای آنتی اکسیدانی غذاها، دارای اهمیت است. در نتیجه، علاقه و توجه زیادی در ارزیابی و تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی تام غذاهای مختلف، عصاره های گیاهی، نوشیدنی ها و مایعات بیولوژیک وجود دارد. پیچیدگی آزمون ها و محدودیت های بررسی مستقیم سینتیک واکنش ممانعت کنندگی آنتی اکسیدان ها از اکسیداسیون چربی ها، که اغلب روش های دقیقتر و مطمئن تری می باشند، موجب شد تا روش های ساده تر در ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی ابداع گردد. بر این اساس روش های زیادی به شیوه های گوناگون در شرایط مختلف، ظرفیت آنتی اکسیدانی و موثر بودن آن ها را بررسی می کند. اما اغلب همبستگی قوی بین ظرفیت های اندازه گیری شده بر روی مواد یکسان با روش های مختلف وجود ندارد. به دلیل تنوع مواد فعال، ساز و کارو ویژگی های متفاوت مانند انواع مختلف آنتی اکسیدان ها، حضور سایر مواد مداخله کننده در نمونه، عدم شرکت همه آنتی اکسیدان های نمونه در واکنش روش مورد استفاده و... که در واکنش اکسایش دخالت دارند، روش ساده و جهانی برای ارزیابی های صحیح وتعیین مقدار آنتی اکسیدان ها تاکنون به ثبت نرسیده است. همچنین تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی در مواد غذایی پیچیدگی های بیشتری دارد، مانند خصوصیات کلوییدی

[1] Total Antioxidant Capacity (TAC)

نمونه، شرایط و مرحله اکسیداسیون، ویژگی های طبیعی ماده مانند رنگ، pH و محل حضور آنتی اکسیدان ها(فاز آبی یا روغنی) که این خود باعث عدم نتیجه گیری از یک روش می گردد. بنابراین اغلب به منظور اعتبار بخشی با نتایج یک مطالعه از چندین روش برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه های خوراکی استفاده می شود. به این ترتیب بزرگترین مشکل بر سر راه تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی حقیقی نمونه های زیستی و خوراکی فقدان یک روش معتبر می باشد. تعدادی از روش ها مانند طیف سنجی UV-Vis و فلورسانس، روش های الکتروشیمیایی و تشدید پارامغناطیس الکترون برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدان استفاده شده است [۶-۴].

۲-۲- روش های سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی

آنتی اکسیدان های متفاوتی با عملکردهای مختلف در بدن انسان فعالیت می کنند. از لحاظ عملکرد می توان آنتی اکسیدان ها را به انواع آنتی اکسیدان های ممانعت کننده[1] آنتی اکسیدان های مهار کننده[2] بازسازی کننده و تعمیرکننده[3]تقسیم بندی نمود. یکی از مهم ترین انواع آنتی اکسیدان ها، آنتی اکسیدان های مهار کننده ی رادیکال های آزاد هستند، که بررسی ظرفیت آن ها موضوع بسیاری از تحقیقات و بحث های علمی است. آنتی اکسیدان های مهاری(IH) از طریق مهار رادیکال آزاد(X^{o}) قبل از حمله به مولکول های ضروری بدن عمل می نمایند به این طریق که یا اتم هیدروژن اهدا می کند(واکنش اول) و یا الکترون را انتقال می دهد(واکنش دوم). محصولات این واکنش ترکیبات پایدار و رادیکال استخراج شده از آنتی اکسیدان هستند [۷].

$$X\bullet + IH \dashrightarrow XH + I\bullet \qquad (۱)$$

$$X\bullet + IH \dashrightarrow X^{-} + IH\bullet \dashleftarrow\dashrightarrow XH + I\bullet \qquad (۲)$$

روش های تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی نیز بر این اساس در دو گروه تقسیم بندی می شوند: روش انتقال اتم هیدروژن و روش انتقال الکترون. در روش های انتقال اتم هیدروژن آنتی اکسیدان و سوبسترا بر سر واکنش با رادیکال هیدروکسیل تولید شده از تجزیه حرارتی ترکیبات آزو با یکدیگر رقابت می کنند. روش های انتقال الکترون ظرفیت آنتی اکسیدانی را در کاهش رادیکال آزاد که با تغییر رنگ همراه است اندازه می گیرد که رنگ بر اساس غلظت آنتی اکسیدانی موجود در محیط تغییر می کند. روش های تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی بر اساس ساز و کار انتقال اتم هیدروژن شامل ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن[4] پارامتر آنتی اکسیدانی کل گیرنده رادیکال[5]و روش های سفید کننده کروسین[6]و بر اساس سازوکار روش انتقال الکترون شامل سنجش فنول های کل با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu[7]، ظرفیت آنتی اکسیدانی معادل ترولوکس[8] کاهش قدرت آنتی اکسیدانی یون آهن[9] سنجش TAC با استفاده از کمپلکس Cu(II) به عنوان اکسیدان و DPPH می باشد[۸ و ۹].

یکی از مهمترین روش ها، روش اندازه گیری آنتی اکسیدانی[1]CUPRAC می باشد. این روش، یک روش استاندارد است که بر اساس اندازه گیری جذب کمپلکس Cu(I)-neocuproine(Nc) در تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی به کار می رود. این روش که توسط آپاک و همکارانش معرفی شد بر اساس کاهش کمپلکس Cu(II)-Nc به فرم Cu(I)-Nc در حضور آنتی اکسیدان ها عمل می کند. این روش شامل مخلوط کردن محلول آنتی اکسیدان(به صورت مستقیم یا بعد از هیدرولیز کردن) با محلول $CuCl_2$، نئوکوپرین و بافر استات در pH ۷ است و در آن جذب در حداکثر طول موج جذب نور ۴۵۰ نانومتر بعد از ۳۰ دقیقه ثبت می شود. آنتی اکسیدان هایی که به صورت آهسته واکنش می دهند به مدت ۲۰ دقیقه در دمای 50°C انکوبه می شوند تا تغییر رنگ لازم حاصل شود. فلاونوئید گلوکوزیدها در محلول ۱/۲ مولار HCl حاوی ۵۰٪ متانول رفلاکس می شوند تا خواص آنتی اکسیدانی خود را به صورت کامل نشان دهند. بنابراین، این روش مبتنی بر انتقال الکترون است. مزیت این روش اندازه گیری آنتی اکسیدان هایی همچون تیول می باشد که در روش هایی همچون FRAP (که با آهن کار می کند) مشخص نمی شوند. میزان جذب با مقدار آنتی اکسیدان رابطه مستقیم دارد. از روش CUPRAC مادر که ابتدا در موارد غذایی (زردآلو، چای های

[1] Preventing Antioxidants
[2] Scavenging Antioxidants
[3] Repair and de novo Antioxidants

[4] ORAC(Oxygen Radical Absorbance Capacity)
[5] TRAP(Total Radical Antioxidant Parametere)
[6] CBA(Crocin Bleaching Assay)
[7] FCR(Folin-Ciocalteu Reagent)
[8] TEAC(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)
[9] FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power)
[1] CUPRAC(Cupric Reducing Antioxidant Capacity)

گیاهی، گیاهان خوراکی وحشی، پنیر علفی و غیره) و مایعات بیولوژیکی(به عنوان آنتی اکسیدان های آب دوست و چربی دوست با هم یا در بخش های جداگانه) استفاده می شد، تعدادی از روش های دیگر تکامل یافته است. روش CUPRAC را می توان به عنوان یک روش اندازه گیری یکپارچه که برای سنجش آنتی اکسیدان ها مفید است توصیف کرد[۱۰].

۳- کاربرد نانوفناوری در تشخیص آنتی اکسیدان ها

نانوفناوری، توانایی تولید مواد در سطوح مولکولی و اتمی است و کاربردهایی در حوزه های مختلف از غذا، دارو، پزشکی و بیوتکنولوژی تا الکترونیک، کامپیوتر، ارتباطات، حمل و نقل، انرژی، محیط زیست، مواد و هوافضا دارد. نانوفناوری پزشکی بهره گیری از فناوری نانو در علم پزشکی است[۱۱]. نانوفناوری پزشکی تأثیرات شگرفی در بسیاری از حوزه های پژوهشی مثل مهندسی بافت، حسگرهای زیستی مبتنی بر سلول، میکروآرایه های پرتوان و پزشکی ترمیمی داشته است[۱۲]. فعالیت در ابعاد نانومتری کلید اصلی در ساخت تکنولوژی های جدید برای تمامی حوزه های پژوهشی پزشکی است[۱۳]. به کمک نانوفناوری پزشکی، محصولات دارویی می توانند مثل ماشین های هوشمند برنامه ریزی شوند. آن ها به حسگرهایی مجهزند که می توانند قدرت تصمیم گیری و تأثیرپذیری از محیط را برای ماشین ها فراهم کنند. این ماشین ها می توانند مانع از عوارض جانبی و واکنش های حساسیت زا گردند. داروهای جدید خود را با بدن سازگار می کنند و تنها با رسیدن به مقصد نهایی عمل اختصاصی خود را که در واقع همان درمان است انجام می دهند که به این عمل دارورسانی هدفمند[1]می گویند[۱۴]. ابزارهای بسیار ابتدایی نانوفناوری پزشکی می توانند برای شناسایی بیماری و توزیع دارو و همچنین توزیع هورمون در بیماری های مزمن و نقص های سیستم بدن به کار روند.

از نانومواد به دلیل پتانسیل بسیار زیاد و ویژگی های منحصر به فرد نوری، الکترونیکی و کاتالیزوری، در زمینه های مختلف مانند سنجش و تجزیه و تحلیل شیمیایی بسیار استفاده شده است. در سال های اخیر، از نانومواد برای تولید روش های جدید آنتی اکسیدانی برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی در نمونه های پیچیده استفاده شده است. چندین مطالعه روش های مختلف مبتنی بر نانومواد را برای تعیین محتوای آنتی اکسیدان در نمونه های غذایی توصیه کرده اند.

برخی از نانوذرات فلزات نجیب مانند نانوذرات طلا(Au) و نقره (Ag)پلاسما رزونانس سطح[2]موضعی منحصر به فردی را نشان می دهند که می توانند در رنگ سنجی و اسپکتروفتومتری مورد استفاده قرار گیرد. ترکیبات آنتی اکسیدانی پتانسیل کاهش یون های فلزی نجیب طلا یا نقره و تولید نانوذرات مربوطه را دارند[۱۵–۱۹] یا می توان از آن ها به عنوان عوامل کاهنده در رشد نانوذرات استفاده کرد[۲۰–۲۲]. بنابراین فعالیت آنتی اکسیدانی را می توان با تولید یا رشد نانوذرات ارزیابی کرد و باندهای LSPR به عنوان شاخصی از فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده می شوند.

مطالعات طیف سنجی اخیر نشان داده است که سایر نانوذرات مانند اکسید سریم[3][۲۳، ۲۴] نقاط کوانتومی[4][۲۵، ۲۶]نانوذرات رودیم [۲۷] و نانوذرات اکسید آهن [۲۸] نیز می توانند برای بهبود ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی استفاده شوند. به طور کلی، در روش نانوذرات فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق تغییر در اندازه، حالت های اکسیداسیون سطح، یا تجمع مواد نانو در حضور آنتی اکسیدان ها کنترل می شود.

نانومواد دارای ابعادی در محدوده ی ۱ تا ۱۰۰ نانومتر در یک یا چند بعد هستند که سبب می شود خواص ویژه ای را از خود نشان دهند که متفاوت از حالت بالک مواد است. علت این امر تعداد اتم های زیاد در سطح و انرژی سطح بالا می باشد. بنابراین نانومواد می توانند در زمینه های مختلف مورد استفاده قرار گیرند. یکی از کاربرد های نانومواد استفاده از آن ها در زمینه ی تعیین TAC در نمونه های پیچیده می باشد. در این زمینه نانوذراتی از قبیل نانوذرات فلزی به ویژه طلا و نقره و کوانتوم دات ها(QD) مورد استفاده قرار گرفته اند.

[1] Targeted Drug Delivery

[2] LSPR(Local Surface Plasma Resonance)
[3] CeO NPs(Cerium Oxide Nanoparticles)
[4] QD(Quantum Dots)

در سال های اخیر، مقالات تحقیقاتی و مروری زیادی در زمینه ی اندازه گیری TAC بر اساس نانوترکیبات به چاپ رسیده است که در ادامه به بعضی از پژوهش های انجام گرفته در زمینه ی سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام می پردازیم[۶, ۳۷, ۳۹].

نانوذرات فلزی عمدتا به وسیله ی کاهش محلول های رقیق ترکیبات فلزی به وسیله ی عوامل کاهنده تولید می شوند. آنتی اکسیدان های طبیعی می توانند به عنوان عوامل کاهنده مورد استفاده قرار گیرند و نمک های فلزی را کاهش می دهند و نانوذرات فلزی را ایجاد می کنند یا خواص فیزیکی-شیمیایی نانوذرات را تغییر می دهند[۲۹-۴۷].

اسکومپیکیو و همکارانش برای اولین بار، روش سنجش آنتی اکسیدان ها با استفاده از سنتز نانوذرات طلا را گزارش کردند[۴۸]. در این کار تشکیل و رشد نانوذرات طلا با استفاده از قدرت آنتی اکسیدانی چند فنولیک اسید و مواد غذایی مرتبط با آن گزارش شد. محلول کلوییدی نانوذرات تهیه شده و پاسخ نوری آن ها مبتنی بر باندهای جذبی پلاسمای آن ها اندازه گیری شد و بهترین جذب در pH ۸ بعد از ۱۰ دقیقه در ۴۵°C به دست آمد. روش سنجش طراحی شده با روش الکتروشیمیایی مقایسه شد و نتایج به دست آمده هم خوانی خوبی داشتند. بنابراین این روش برای تخمین TAC در غذاها و نوشیدنی ها(چای سبز و سیاه، آب پرتقال و شراب قرمز) به کار رفت. بعد از آن گروه Escarpa و همکارانش تلاش کردند تا سنتز نانوذرات طلا را به عنوان یک روش برای ارزیابی TAC معرفی کنند[۴۹].

ونگ و همکارانش روش های نوری و الکتروشیمیایی را به کار بردند و از فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات کاهنده برای بزرگ تر شدن اندازه نانوذرات ریز طلا استفاده کردند. الکترود طلا با نانوذرات طلا اصلاح شد و با استفاده از این الکترود میزان TAC اندازه گیری شد. در حضور فلاونوئیدها، نانوذرات ریز طلا رشد می کنند و نانوذرات بزرگتر را ایجاد می کنند. با بزرگتر شدن نانوذرات طلا، طیف UV-vis محلول تغییر می کند و باند جذبی افزایش می یابد. همچنین بزرگتر شدن نانوذرات طلا وقتی روی سطح الکترود طلا قرار گرفته اند سبب تغییر در سیگنال الکتروشیمیایی می شود و تغییرات سیگنال الکتروشیمیایی متناسب با غلظت فلاونوئید ها می باشد[۵۰].

در سال ۲۰۱۱ گومز-هنز و همکاران در مطالعه خود به ایجاد یک روش ساده و سریع برای تعیین چندین آنتی اکسیدان مصنوعی و طبیعی که به عنوان مواد افزودنی در نمونه های مواد غذایی استفاده می شود پرداخته اند[۵۱]. در حضور آنتی اکسیدان ها، AuNPs تشکیل شدند و منحنی های کالیبراسیون و حدود تشخیص برای آنتی اکسیدان های مختلف به دست آمد. دقت روش بیان شده به عنوان RSD٪، در دو سطح غلظت هر آنالیز، با مقادیر بین ۰/۶ و ۴/۸٪ تعیین شد. سودمندی عملی روش توسعه یافته با تعیین چندین ماده افزودنی آنتی اکسیدان در نمونه های مواد غذایی مورد سنجش قرار گرفت و مقدار بازده بین ۹۵/۴ تا ۹۹/۵٪ نشان داده شد. نتایج به دست آمده با استفاده از دو روش مرجع اعتبارسنجی شد.

در سال ۲۰۱۸ آپاک و همکاران از حسگر رنگ سنجی CUPRAC اصلاح شده با نانوذرات طلای پایدار شده با هپارین برای اندازه گیری TAC استفاده کردند[۱۸]. هپارین به عنوان عامل کاهنده و پایدار کننده در سنتز نانوذرات طلا به کار می رود. روشی را برای تعیین TAC با استفاده از نانوذرات طلا ارائه کردند. از واکنش Cu(II)-Nc با آنتی اکسیدان ها، ترکیب مس(I)-نئوکوپروین(Cu(I)-Nc) ایجاد می شود. سپس AuNPs به محلول Cu(I)-Nc اضافه می شود و شدت جذب ترکیب Cu(I)-Nc-AuNP ایجاد شده درطول موج ۴۵۵ نانومتر اندازه گیری شد. برخلاف دیگر حسگرهای مبتنی بر AuNPs مشابه، حساسیت نانوحسگر پیشنهادی(۱۰۰۰ برابر) افزایش می یابد و همچنین محدوده ی خطی برای آنتی اکسیدان های مختلف گسترش می یابد. این حسگر سبز به طور قابل توجهی مصرف معرف را کاهش داده و در نمونه های غذایی پیچیده با یک روش ساده، قابل اعتماد و قوی کار می کند.

در یک روش دیگر، نانوکامپوزیت سیلیکا(SiO_2) همراه با نانوذرات طلا(SiO_2/AuNPs) در تماس با ترکیبات فنولی مختلف قرار گرفت[۵۲]. در حضور ترکیبات فنولیک اسید، گروه های هیدروکسیل فنول به عنوان عامل کاهنده عمل کردند و نانوکامپوزیت SiO_2/AuNPs با درجات مختلف رشد کرد. در نتیجه طیف UV-vis و پراکندگی رامان تقویت شده سطح(SERS) برای روش طراحی شده در حضور فنولیک اسید های مختلف ارزیابی شد. تغییرات مشاهده شده در طیف SERS

متناسب با غلظت فنولیک اسید بود و نشان داد روش طراحی شده SiO_2/AuNPs می تواند به عنوان یک نانوپروب مناسب برای اندازه گیری فنولیک اسیدها مورد استفاده قرار گیرد.

در مطالعه دیگر از نانوذرات نقره و دو روش اصلاح شده FRAP و DPPH برای اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره های مختلفی از دانه های کلزا استفاده کردند[۱۵]. روش AgNPs براساس واکنش انتقال الکترون بین یون های نقره و آنتی اکسیدان ها و تشکیل نانوذرات نقره بود. روش جدید AgNPs در برابر محلول های آنتی اکسیدانی مختلف از قبیل گالیک اسید، کافئیک اسید، اسکوربیک اسید و کوئرستین به عنوان محلول های استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه همبستگی خوبی بین روش AgNPs و روش های FRAP و DPPH وجود داشت.

تیرسانگ و همکارانش از نانوذرات نقره همراه با پلی ونیل الکل(PVA-AgNPs) به عنوان یک حسگر رنگ سنجی برای اندازه گیری TAC استفاده کردند[۵۳]. در حضور آنتی اکسیدان ها، اندازه نانوذرات کوچک افزایش می یابد و PVA-AgNPs در فرایند کاهش یون های Ag^+ به وسیله ی آنتی اکسیدان ها به عنوان هسته عمل می کنند. Ag^+ در حضور آنتی اکسیدان ها به Ag^0 کاهش می یابد و روی سطح PVA-AgNPs جمع می شود و منجر به افزایش اندازه ی نانوذرات می شود. از حسگر طراحی شده برای اندازه گیری TAC در محصولات زنجبیل استفاده شد. کالها و همکارانش نیز از خواص پلاسمونیک AgNPs برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی استفاده کردند[۵۴]. در سال ۲۰۱۸، کمپگنون و همکارانش نیز از سنتز AgNPs برای تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی استفاده کردند و پلاسمای رزونانس سطح AgNPs را در طول موج ۴۸۰ نانومتر گزارش کردند[۵۵]. روش طراحی شده ساده، حساس، ارزان قیمت و همراه با تکرارپذیری خوب بود.

در مطالعه ی دیگر، ونگ و همکارانش از نانومیله های طلا(AuNRs) به عنوان هسته استفاده کردند[۲۱]. در حضورآنتی اکسیدان ها، نانوذرات نقره ایجاد شده روی سطح نانومیله های طلا رشد کردند و نانوذرات دوفلزی Au@Ag هسته/پوسته ایجاد شد و پلاسمای رزونانس سطح تغییر.کرد. یک رابطه ی خطی بین شیفت در پلاسمای رزونانس سطح و غلظت آنتی اکسیدان ها وجود داشت. این روش برای اندازه گیری آنتی اکسیدان ها در نمونه چای سبز به کار رفت.

آپاک و همکارانش نیز از کاهش یون های نقره به وسیله ی پلی فنول ها در حضور نانوذارت نقره پایدار شده با سیترات به عنوان هسته، در اندازه گیری پلی فنول ها استفاده کردند[۵۶]. کاهش یون های نقره به نانوذرات نقره در حضور پلی فنول ها و نانوذرات کوچک نقره سبب افزایش باند جذبی پلاسمای رزونانس سطح در طول موج ۴۲۳ نانومتر می شود. جذب پلاسمای نانوذرات نقره امکان اندازه گیری کمی پلی فنول ها را در محدوده ی غلظتی وسیعی از ترکیبات استاندارد پلی فنولی فراهم می کند. مقدار TEAC مربوط به آنتی اکسیدان های مختلف با روش طراحی شده اندازه گیری شد و با روش استاندارد CUPRAC مقایسه شد. ترکیبات مختلف موجود در مواد غذایی از قبیل اگزالات، سیترات، آمینو اسیدها و شکرها مزاحمتی را برای روش طراحی شده ایجاد نمی کنند. از حسگر طراحی شده برای اندازه گیری TAC در مواد غذایی مختلف استفاده شد.

در سال ۲۰۱۲، همتی نژاد و همکارانش از کوانتوم دات های CdTe برای ارزیابی فعالیت های آنتی اکسیدانی پلی فنول ها استفاده کردند[۲۵]. این روش سنجش بر اساس ممانعت ترکیبات آنتی اکسیدانی از سفید شدن کوانتوم دات های CdTe در اثر القای نور UV می باشد. کوانتوم دات ها دارای پایداری نوری خوبی در عدم حضور نور UV هستند در حالی که تحت تابش نور UV به سرعت سفید می شوند و نوری را از خود تابش نمی کنند. تحت تابش نور UV، گونه های فعال اکسیژن(ROS) تولید می شوند و سبب سفید شدن کوانتوم دات ها می شوند. در حضور آنتی اکسیدان ها، مقدار ROS کاهش می یابد و در نتیجه میزان سفید شدن کوانتوم دات ها کاهش می یابد. نتایج به دست آمده از این روش دارای هم خوانی خوبی با روش Folin-Ciocalteu است.

در سال ۲۰۱۶ گیوکاز و همکاران رویکرد جدیدی را برای تعیین ترکیبات فنولی بر اساس اثر متقابل آن ها با نانوذرات رودیم دارای پوشش سیترات گزارش کردند[۲۷]. ترکیبات فنولی(به عنوان مثال، کاتچین ها، گالات ها، سینامات ها و اسیدهای دی

هیدروکسی بنزوئیک) باعث تغییر در اندازه و رزونانس پلاسمون موضعی نانوذرات رودیم شدند و بنابراین، باعث ایجاد طیف و رنگی آنالیز خاص در محلول های نانوذرات رودیم می شوند. پس از واکنش با ترکیبات فنولی، پیک های جذب جدید در ۳۵۰ نانومتر و ۴۵۰ نانومتر مشاهده شد. پس از واکنش با مشتقات تری هیدروکسی بنزوات، یک پیک جذب اضافی در ۵۸۰ نانومتر مشاهده شد که به صورت ویژه نشان دهنده ی حضور این گونه های فنولی در نمونه می باشد. هر دو پیک جذب در ۴۵۰ نانومتر و ۵۸۰ نانومتر با افزایش غلظت ترکیبات فنولی در محدوده خطی ۰–۵۰۰ میکرومتر افزایش یافت. بر اساس این یافته ها، روش نانوذره رودیم برای تعیین محتوای فنولی کل و محتوای کاتچین در نمونه های چای استفاده شد. نتایج به دست آمده با روشهای معمول استفاده شده(به عنوان مثال، Folin-Ciocalteu و آلومینیوم) ارتباط مثبت دارد. وارکارسل و همکارانش در سال ۲۰۱۴ روش جدیدی را برای اندازه گیری ترکیبات فنولی در روغن زیتون ارائه دادند[۲۶]. آن ها از QDهای گرافن در این زمینه استفاده کردند. از شدت فلورسانس کوانتوم دات های گرافن برای اندازه گیری گالیک اسید، الئوروپین به عنوان آنالیت های مدل استفاده شد.

در سال ۲۰۱۵ تولدزیکا و همکارانش به تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی کلزا، پوسته های سفید و کنجاله با استفاده از روش جدید مبتنی بر نانوذرات اکسید سریم(CeONP) پرداختند[۲۴]. آنتی اکسیدان های موجود در کلزا و عصاره های محصول جانبی آن، یون های سریم(IV) را به محلول های بنفش قرمز رنگ نانوذرات اکسید سریم در pH ۵/۶ کاهش می دهند. تأثیر زمان، دما، pH و غلظت محلول سولفات سریم(IV) بر تولید نانوذرات اکسید سریم بهینه سازی شد. همبستگی مثبت و معناداری بین AC عصاره های مورد بررسی با هر دو روش تحلیلی تعیین شده وجود دارد. مقادیر رضایتبخش انحراف استاندارد نسبیRSD٪ ۱/۲–۳/۹ و بازده ۹۵/۸–۱۰۳/۳٪ دقت و صحت روش جدید CeONP برای تجزیه و تحلیل AC کلزا و محصولات جانبی آن را نشان می دهد.

در مطالعه ی دیگر از نانوذرات Fe_2O_3 همراه با ترکیب ABTS برای اندازه گیری آنتی اکسیدان ها استفاده کردند[۲۸]. نانوذرات Fe_2O_3 سبب اکسیداسیون ترکیب ABTS به کاتیون رادیکال سبز رنگ می شود. در حضور آنتی اکسیدان ها به دلیل کاهش کاتیون رادیکال به وسیله قدرت دهندگی هیدروژن آنتی اکسیدان ها، شدت رنگ محلول کاهش می یابد. از این روش می توان برای اندازه گیری آنتی اکسیدان های مختلف به وسیله ی کاهش شدت پراکندگی رامان محلول ABTS استفاده کرد. از حسگر طراحی شده برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه های حقیقی استفاده شد.

در سال ۲۰۱۸، آپاک و همکارانش یک حسگر رنگ سنجی جدید برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از نانوذرات اکسیدسریم پوشیده شده با نمک سدیم پلی اکرلیک اسید (PAANa)-CeO NPs طراحی کردند[۵۷]. نانوذرات CeO NPs، TMB را در شرایط اسیدی کم در pH ۴ به کمپلکس آبی رنگ اکسید می کند. در حضور آنتی اکسیدان ها شدت رنگ آبی محلول کاهش می یابد. ظرفیت آنتی اکسیدانی ترولکس برای آنتی اکسیدان های هیدروفیلیک و لیپوفیلیک با استفاده از روش طراحی شده و روش های متداول مورد ارزیابی قرار گرفت. ترکیباتی مانند گلوکز، سیتریک اسید، سوربیتول و بنزوئیک اسید هیچ گونه مزاحمتی در اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی ایجاد نکردند. حسگر طراحی شده دارای حساسیت و انتخابگری بالایی بود.

در سال ۲۰۲۰، جابری و همکارانش از نانوصفحات منگنز دی اکسید(MnO_2) برای اندازه گیری TAC استفاده کردند. صمغ عربی، یک پلی ساکارید، به عنوان عامل کاهنده و هم عامل پایدارکننده کننده برای سنتز نانوصفحات MnO_2 به کار رفت. نانوصفحات MnO_2 اکسیدکننده قوی هستند و باعث اکسیداسیون تترامتیل بنزیدین (TMB)در pH فیزیولوژیک به یک محصول آبی رنگ می شوند. در حضور آنتی اکسیدان ها، با توجه به واکنش اکسایش کاهش بین نانوذرات MnO_2 و آنتی اکسیدان ها، مقدار MnO_2 باقیمانده برای اکسایش TMB کاهش می یابد و درنتیجه شدت رنگ مخلوط MnO_2 وTMB کاهش می یابد. از این ویژگی برای اندازه گیری مقدار آنتی اکسیدان استفاده شد. غلظت آنتی اکسیدان ها متناسب با کاهش شدت جذب محلول است. اختلاف جذب سوسپانسیون حاصل در ۶۵۲ نانومتر اندازه گیری شد. مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی معادل ترولوکس (TEAC)چندین ترکیب آنتی اکسیدانی با

استفاده از روش طراحی شده و روش استاندارد CUPRAC اندازه گیری و مقایسه شد. تحت شرایط بهینه، محدوده غلظت خطی، حد تشخیص، دقت و صحت روش پیشنهادی برای تشخیص ترکیبات مختلف آنتی اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان دهنده قابلیت اطمینان و کارایی این روش بود. این روش در pH فیزیولوژیکی به کار گرفته شد و توانست مقادیر TAC در نمونه های بیولوژیکی را اندازه گیری کند[۵۸].

٤- نتیجه گیری

اهمیت زیاد آنتی اکسیدان ها در علوم مختلف بیولوژی، پزشکی، تغذیه و کشاورزی نیاز به وجود یک روش ساده، آسان و معتبر برای اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام را ایجاد کرده است. ارزیابی مقادیر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مایعات و غذاهای بیولوژیکی، برای تشخیص و درمان بیماری های مرتبط با استرس اکسیداتیو در بیوشیمی بالینی و نیز مقایسه معنی دار محتوای آنتی اکسیدانی غذاها، دارای اهمیت است. در نتیجه، علاقه و توجه زیادی در ارزیابی و تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی تام غذاهای مختلف، عصاره های گیاهی، نوشیدنی ها و مایعات بیولوژیک وجود دارد. در سال های اخیر، روش های تجزیه ای متفاوتی بر اساس نانوذرات مثل طلا، نقره، اکسید آهن، اکسید منگنز، کوانتوم دات ها و اکسید سریم توسعه یافته اند تا ظرفیت آنتی اکسیدانی غذاها و مواد گیاهی را تعیین کنند. به طور کلی، در روش نانوذرات، فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق تغییر در اندازه، حالت های اکسیداسیون سطح، یا تجمع مواد نانو در حضور آنتی اکسیدان ها کنترل می شود. در این مقاله مروری به بعضی از پژوهش های انجام گرفته در زمینه ی سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پرداختیم.

مراجع

1. B. Halliwell, J.M. Gutteridge, Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press, USA, 2015.

2. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T.D. Cronin, M. Mazur, J. Telser, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39, 44 (2007).

3. S. Llesuy, P. Evelson, A. Campos, E. Lissi, Biological Research, 34, 51 (2001).

4. J. Hoyos-Arbeláez, M. Vázquez, J. Contreras-Calderón, Food chemistry,;221:1371-81 (2017).

5. M.F. Barroso, N. De-Los-Santos-Álvarez, C. Delerue-Matos, M.B.P.P. Oliveira, Biosensors and Bioelectronics, 30, 1 (2011).

6. A. Vasilescu, E. Sharpe, S. Andreescu, Current Analytical Chemistry, 8, 495 (2012).

7. E. Niki, Journal of Berry Research, 1, 169 (2011).

8. P.C. Wootton-Beard, A. Moran, L. Ryan, Food Research International, 44, 217 (2011).

9. A.B. Moreira, T.F.S. Teixeira, R.d.C.G. Alfenas, Nutrición Hospitalaria, 27, 1408 (2012).

10. M. Özyürek, K. Güçlü, R. Apak, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 30, 652 (2011).

11. R.A. Freitas Jr, International Journal of Surgery, 3, 243 (2005).

12. D.T. Harris, M. Badowski, N. Ahmad, M.A.Gaballa, Expert Opinion on Biological Therapy, 7, 1311 (2007).

13. D. Falconnet, G. Csucs, H.M. Grandin, M. Textor, Biomaterials, 27, 3044 (2006).

14. A. Babu, A.K. Templeton, A. Munshi, R. Ramesh, Aaps Pharmscitech, 15, 709 (2014).

15. A. Szydłowska-Czerniak, A. Tułodziecka, E. Szłyk, Analyst, 137, 3750 (2012).

16. A. Andreu-Navarro, J.M. Fernández-Romero, A. Gómez-Hens, Analytica Chimica Acta, 695, 11 (2011).

17. T.G. Choleva, F.A. Kappi, D.L. Giokas, A.G. Vlessidis, Analytica Chimica Acta, 860, 61 (2015).

18. M. Bener, F.B. Şen, R. Apak, Talanta, 187, 148 (2018).

19. A. Tułodziecka, A. Szydłowska-Czerniak, Food Chemistry, 208, 142 (2016).

20. S. Teerasong, A. Jinnarak, S. Chaneam, P. Wilairat, D. Nacapricha, Talanta, 170, 193 (2017).

21. L. Li, P. Zhang, W. Fu, M. Yang, Y. Wang, Sensors and Actuators B: Chemical, 276, 158 (2018).

22. M. Özyürek, N. Güngör, S. Baki, K. Güçlü, R. Apak, Analytical Chemistry, 84, 8052 (2012).

23. F.A. Ozdemir Olgun, A. Üzer, B.D. Ozturk, R. Apak, Talanta, 182, 55 (2018).

24. A. Tułodziecka, A. Szydłowska-Czerniak Food Analytical Methods, 9, 3053 (2016).

25. B. Hemmateenejad, M. Shamsipur, T. Khosousi, M. Shanehsaz, O. Firuzi, Analyst, 137, 4029 (2012).

26. S. Benítez-Martínez, M. Valcárcel, Sensors and Actuators B: Chemical, 197, 350 (2014).

27. V. Gatselou, D.C. Christodouleas, A. Kouloumpis, D. Gournis, D.L. Giokas, Analytica Chimica Acta, 932, 80 (2016).

28. S. Sloan-Dennison, N.C. Shand, D. Graham, K. Faulds, Analyst, 142, 4715 (2017).

29. M.N. Alam, N.J. Bristi, M. Rafiquzzaman, Saudi Pharmaceutical Journal, 21, 143 (2013).

30. K. Ramachandran, A. Zahoor, T.R. Kumar, K.S. Nahm, A. Balasubramani, G.G. Kumar, Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 46, 19 (2017).

31. C. López-Alarcón, A. Denicola, Analytica Chimica Acta, 763, 1 (2013).

32. G.A. Ali, M.M. Yusoff, E.R. Shaaban, K.F. Chong, Ceramics International, 43, 8440 (2017).

33. F. Della Pelle, D. Compagnone, Sensors, 18, 4622018 (2018).

34. H. Peng, Y. Li, C. Liu, X. Wei, H. Dong, L Yang, et al, Electrochimica Acta, 247, 745 (2017).

35. D. Vilela, M.C. González, A. Escarpa, TRAC Trends in Analytical Chemistry, 64, 1 (2015).

36. J. Yao, Q. Pan, S. Yao, L. Duan, J. Liu, Electrochimica Acta, 238, 30 (2017).

37. S. Saha, A. Pal, Separation and Purification Technology, 134, 26 (2014).

38. H. Chen, S. Zeng, M. Chen, Y. Zhang, L. Zheng, Q. Li, Small, 12, 2035 (2016).

39. M. Zhang, L. Xing, H. Ke, Y.-J. He, P.-F. Cui, Y. Zhu, et al, ACS Applied Materials & Interfaces, 9, 11337 (2017).

40. Y. Hao, L. Wang, B. Zhang, D. Li, D. Meng, J. Shi, et al, International Journal of Nanomedicine, 11, 1759 (2016).

41. J. Liu, L. Meng, Z. Fei, P.J. Dyson, X. Jing, X. Liu, Biosensors and Bioelectronics, 90, 69 (2017).

42. L. He, F. Wang, Y. Chen, Y. Liu, Luminescence, 33, 145 (2018).

43. W. Huang, Y. Deng, Y. He, Biosensors and Bioelectronics, 91, 89 (2017).

44. A. Roque, Jr. O. Wilson, Materials Science and Engineering: C, 28, 443 (2008).

45. S. Bajpai, M. Kumari, International Journal of Biological Macromolecules, 80, 177 (2015).

46. P.R. Devi, C.S. Kumar, P. Selvamani, N. Subramanian, K. Ruckmani, Materials Letters, 139, 241 (2015).

47. L. Zhang, F. Yu, A.J. Cole, B. Chertok, A.E. David, J. Wang, et al, The AAPS Journal, 11, 693 (2009).

48. M. Scampicchio, J. Wang, A.J. Blasco, A. Sanchez Arribas, S. Mannino, A. Escarpa, Analytical Chemistry, 78, 2060 (2006).

49. D. Vilela, M.C. González, A. Escarpa, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 404, 341 (2012).

50. J. Wang, N. Zhou, Z. Zhu, J. Huang, G. Li, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 388, 1199 (2007).

51. A. Andreu-Navarro, J. Fernández-Romero, A. Gómez-Hens, Analytica Chimica Acta, 695, 11 (2011).

52. Y. Rao, X. Zhao, Z. Li, J. Huang, Talanta, 190, 174 (2018).

53. S. Teerasong, A. Jinnarak, S. Chaneam, P. Wilairat, D. Nacapricha, Talanta, 170, 193 (2017).

54. A.A. Bhutto, Ş. Kalay, S. Sherazi, M. Culha, Talanta, 189, 174 (2018).

55. F. Della Pelle, A. Scroccarello, M. Sergi, M. Mascini, M. Del Carlo, D. Compagnone, Food Chemistry, 256, 342 (2018).

56. M. Özyürek, N. Güngör, S. Baki, K. Güçlü, Ra. Apak, Analytical Chemistry, 84, 8052 (2012).

57. F.A.O. Olgun, A. Üzer, B.D. Ozturk, R. Apak, Talanta, 182, 55 (2018).

58. H. J aberie, S. Momeni, I. Nabipour, Microchemical Journal, 157, 104908 (2020).

پژوهش های شیمیایی و نانومواد
Chemical Research & Nanomaterials(CRN)
https://sanad.iau.ir/journal/crn

Determination of total antioxidant capacity with nanoparticles

S. Momeni*

Department of, Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr 75147 Iran

Abstract: Total antioxidant capacity (TAC) as the cumulative activity of antioxidants in a sample is an important parameter in the analysis of biological or food matrices. Therefore, it is very important to evaluate the total antioxidant capacity of the substances in the diet and biological fluids. Based on this, many methods check their antioxidant capacity and effectiveness in different conditions. However, there is often no strong correlation between the capacities measured on the same materials with different methods, which is due to the variety of active materials, mechanisms and different characteristics such as different types of antioxidants, the presence of other interfering substances in the sample, lack of participation of antioxidants are used in the method reaction. In recent years, different analytical methods based on nanoparticles have been developed to determine the antioxidant capacity of foods and plant materials.In these measurement methods, nanoparticles such as gold, silver, iron oxide, manganese oxide, quantum dots and cerium oxide have been used. In this article, we review some of the researches conducted in the field of total antioxidant capacity measurement.

Keywords: Antioxidant, Total Antioxidant Capacity, Nanoparticles, Free radical

*Correspondent Author Email: *Safieh.momeni@gmail.com*