

بررسی تأثیر یون‌های فلزی و pH روی پایداری محلول رنگی استخراج شده از پوست میوه گردو (*Juglans regia*)

مسعود حیدری زاده^{۱*} و چنور محمدی^۱

۱- گروه علوم زیستی و بیوتکنولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱

چکیده

پوست میوه گردو دارای ترکیباتی است که می‌توان از آن‌ها جهت تهیه رنگ سبز استفاده کرد. جستجوی شرایط پایداری رنگ حاصل از محلول‌ها و عصاره‌های رنگ‌زا همواره مورد توجه محققین بوده است. یون‌های فلزی با کلاته شدن با ترکیبات رنگ‌زا آن‌ها را از تخریب در طول زمان حفظ کرده و به پایداری آن‌ها کمک می‌نمایند. هدف از این تحقیق تهیه عصاره‌های سبز رنگ با پایداری بیشتر جهت استفاده در صنایع نساجی و رنگرزی الیاف می‌باشد. در این پژوهش عصاره رنگی پوست سبز میوه گردو با حلال متانول استخراج شده، تحت تأثیر یون‌های فلزی (آهن، مس و آلومینیم)، در دو pH مختلف (۳ و ۴/۵) با نسبت‌های مختلف ۱:۱، ۲:۲ و ۴:۴ از عصاره و محلول یون‌های فلزی قرار داده شد. سپس پارامترهای رنگی (روشنایی) L^* (قرمز- سبز) a^* (زرد- آبی) b^* مربوط به تیمارها توسط دستگاه کالری‌متر در مدت زمان ۱۰ روز اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد اضافه کردن یون مس در مقایسه با یون‌های آهن و آلومینیم در یک محیط اسیدی‌تر (pH کمتر) تأثیر بهتری روی حفظ رنگ سبز در مدت زمان ۱۰ روز داشته است. مقایسه سه نسبت ذکر شده از یون‌های فلزی و عصاره نشان داد که نسبت ۲:۲ (در مورد آهن و آلومینیم) و نسبت ۴:۴ (در مورد مس) تأثیر بهتری روی فاکتور a^* در pH=۳ داشته است؛ بنابراین می‌توان از یون‌های فلزی (به‌خصوص مس) در یک محیط اسیدی به دلیل تشکیل کمپلکس با مولکول ماده رنگ‌زا، جهت تهیه عصاره‌هایی با کیفیت رنگ بهتر برای رنگ‌آمیزی الیاف در نساجی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: پایداری رنگ، کالری‌متری، رنگ، میوه گردو، یون‌های فلزی

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: m.haidarizadeh@uok.ac.ir

مقدمه

گیاهان یکی از مهم‌ترین منابع تهیه مواد رنگ‌زای طبیعی هستند. استخراج ترکیبات رنگ‌زای طبیعی گیاهی، صنایع را از به‌کارگیری رنگ‌های شیمیایی، آلودگی‌های زیست‌محیطی و پیامدهای استفاده از آن‌ها بی‌نیاز می‌نماید. پوست میوه گردو دارای ترکیباتی است که می‌توان از آن جهت تهیه رنگ سبز استفاده کرد. به‌طور سنتی از پوست گردو جهت تهیه رنگ قهوه‌ای استفاده می‌شود. پلی‌فنول‌هایی همچون اسیدگالیک، اسیدکلروژنیک، اسیدلاژیک، اسیدسیناپیک، اسید پروتوکاتچوئیک، کاتچین و ژوگلون از ترکیبات شیمیایی موجود در پوست میوه گردو می‌باشند (Jakopic *et al.*, 2009). این ترکیبات به‌ویژه کاتچین بسیار ناپایدار بوده و ممکن است طی یک واکنش اکسایشی به یک ماده رنگ‌زای دیگری تبدیل شوند. نشان داده شده است که پایداری پلی‌فنول‌ها به‌ویژه فلاوونوئیدها تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی از جمله غلظت، pH، دما، اکسیژن، نور و یون‌های فلزی قرار می‌گیرد (Brouillard *et al.*, Starr and Francis, 1991; Lapidot *et al.*, 1999; 1968).

جستجوی شرایطی که به پایداری رنگ حاصل از محلول‌ها و عصاره‌های رنگ‌زا منجر می‌شود همواره مورد توجه محققین بوده است. یون‌های فلزی با کلات شدن با ترکیبات رنگ‌زا آن‌ها را از تخریب در طول زمان حفظ کرده و به پایداری آن‌ها کمک می‌نمایند. علاوه بر این، ترکیبات پلی‌فنولیک تحت تأثیر تغییرات pH دچار دگرگونی‌های مولکولی می‌شوند.

Richard Willstatter شیمی‌دان آلمانی که جایزه نوبل را در سال ۱۹۱۵ دریافت نمود، مشاهده کرد که رنگیزه‌های مشابه می‌توانند عامل رنگ‌های مختلفی باشند (Goto and Kondo, 1991). کوپیگمنتاسیون می‌تواند پدیده با ارزشی در بهبود رنگ فراورده‌های غنی از ترکیبات پلی‌فنولیک باشد. تأثیر کوپیگمانت‌ها در محلول‌ها به مقدار مولکول‌های پلی‌فنول و کوپیگمانت، pH و حرارت

بستگی دارد (Mazza and Brouillard, 1990).

قلع (Sn، مس (Cu)، آهن (Fe)، آلومینیوم (Al)، منیزیم (Mg) و پتاسیم (K) رایج‌ترین فلزاتی هستند که با ترکیبات پلی‌فنولیک تشکیل کمپلکس می‌دهند (Markakis, 1982). علاوه بر این، یون‌های فلزی می‌توانند در کوپیگمنتاسیون، پیوند محکم‌تری را بین ترکیبات پلی‌فنولیک و کوپیگمانت‌های دیگر برقرار کنند- (Kunsagi-Mate *et al.*, 2008). این کمپلکس‌ها در حفظ و پایداری بیشتر رنگ‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند. نهایتاً تخریب حرارتی منجر به تولید فراورده‌های قهوه‌ای، به‌ویژه در حضور اکسیژن می‌شود. کاهش pH و حذف اکسیژن می‌تواند در به تأخیر انداختن تخریب حرارتی ترکیبات پلی‌فنولیک مؤثر باشد (Maccarone *et al.*, 1985).

Jakopič و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از حلال‌های مختلف ترکیبات فنولیک را از پوست سبز میوه گردو استخراج کردند و نشان دادند که متانول حلال بهتری نسبت به سایر حلال‌ها می‌باشد. همچنین Fernandez و همکاران (۲۰۰۲) کلاته شدن آهن و مس را توسط فلاوونوئیدها نشان دادند. هدف از این تحقیق تهیه عصاره‌های سبز رنگ با پایداری بیشتر جهت استفاده در صنایع نساجی و رنگرزی الیاف می‌باشد. در این تحقیق تأثیر یون‌های فلزی آهن، مس و آلومینیوم تحت شرایط مختلف روی پایداری ترکیبات فنولیک و رنگ عصاره بررسی گردید. پارامترهای (L* a* b*) توسط دستگاه کالری‌متر اندازه‌گیری گردید. این پارامترها نشان دهنده میزان روشنایی و رنگ نمونه‌ها می‌باشد. اختلاف رنگ (ΔE) تیمارها با نمونه شاهد طبق فرمول (۱) و (۲) محاسبه شد (Starr and Francis, 1974). هدف از این بررسی در نهایت پاسخ به این پرسش است که آیا استفاده از یون‌های فلزی منجر به پایداری عصاره رنگی استخراج‌شده از پوست میوه گردو با استفاده از متانول، می‌شود یا نه؟

مواد و روش‌ها

سولفات آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) از شرکت صنعتی یزد، سولفات مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)، سولفات آلومینیوم ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$)، متانول، اسید استیک، هیدروکسید سدیم با درجه خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک تهیه شدند. استخراج رنگ توسط حلال متانول در دمای کنترل شده در دستگاه بن‌ماری (Memmert Serologic) انجام شد. از دستگاه تبخیر در خلأ (روتاری) (Hei-vap value) (Heidolph) برای جدا کردن حلال و از دستگاه سانتریفوژ (Sahand.T.A) برای تهیه عصاره زلال و شفاف استفاده شد. به منظور تنظیم pHهای مختلف بازی و اسیدی، دستگاه pH متر (Hana 211) مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری پارامترهای رنگی از دستگاه کالری‌متر (Konica Minolta CR-400) استفاده شد.

نمونه‌ها در شهریور ماه از منطقه‌ای مشخص در اطراف شهرستان سنندج جمع‌آوری و خریداری شده و تا روز انجام آزمایش‌ها در دمای 18°C - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مرحله عصاره‌گیری از متانول به‌عنوان حلال استخراج‌کننده استفاده شد. به ازای هر یک گرم از پوست خرد شده گردو پنج میلی‌لیتر متانول اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در هاون با هم مخلوط شدند. مخلوط حاصل بعد از یکنواخت شدن، به مدت ۴۵ دقیقه در بن‌ماری با دمای 40°C درجه سانتی‌گراد قرار داده و توسط قیف بوخنر با کاغذ واتمن شماره یک صاف شد. در مرحله بعد، حلال با دستگاه روتاری در دمای 40°C درجه سانتی‌گراد جدا گردید. بعد از جداسازی حلال، محلول حاصل حدود نیم ساعت با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفوژ و محلول شفاف بالایی جهت انجام آزمایش‌های بعدی جدا شد.

تیمار عصاره با یون‌های فلزی و pHهای مختلف: بعد از تبخیر حلال، محلول تغلیظ

شده با پنج میلی‌لیتر آب مقطر رقیق و برای تیمار با یون‌های فلزی آماده شد. در مرحله بعد $0/5$ میلی‌لیتر از این محلول در 5 میلی‌لیتر از بافر استات سدیم ($0/5\text{M}$) با $\text{pH}=3$ و $\text{pH}=4/5$ رقیق شد. در تیمار عصاره با یون‌های فلزی آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)، مس ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)، آلومینیوم ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$)، محلول‌های مادر با غلظت $3-10$ M از هر کدام از ترکیبات محتوی یون‌های فلزی تهیه و با نسبت‌های $2:2:4$ ، $1:1$ به عصاره اضافه شدند. سپس، بر حسب مورد بعد از نیم ساعت، 2 ، 4 ، 6 ، 8 و 10 روز پارامترهای رنگی ($L^* a^* b^*$) توسط کالری‌متر اندازه‌گیری شدند (Jakopic et al., 2009).

اندازه‌گیری‌ها: پارامترهای ($L^* a^* b^*$) اندازه‌گیری شده توسط کالری‌متر میزان روشنایی و رنگ نمونه‌ها را نشان می‌دهند. در شکل ۱ محدوده این پارامترهای رنگی نشان داده شده است. a^* محدوده رنگ سبز تا قرمز بوده مقدار کمتر آن تمایل رنگ نمونه‌ها به سمت سبز و مقدار زیاد آن تمایل رنگ نمونه‌ها به سمت قرمز را نشان می‌دهد. b^* محدوده رنگ آبی تا زرد می‌باشد مقدار کمتر آن تمایل رنگ نمونه‌ها به سمت آبی و مقدار زیاد آن تمایل رنگ نمونه‌ها به سمت زرد را نشان می‌دهد. L^* نیز محدوده تیرگی و روشنایی نمونه می‌باشد که هر چقدر مقدار آن بیشتر باشد نمونه روشن‌تر و هر چقدر کمتر باشد نمونه تیره‌تر می‌باشد. دلتای پارامترهای رنگی (ΔL^* ، Δa^* ، Δb^*)، نشان‌دهنده اختلاف شاهد و نمونه در هر یک از این پارامترها می‌باشد. اگر نمونه‌ای نسبت به شاهد قرمزتر یا سبزتر باشد به وسیله طرح دلتا نشان داده می‌شود. به‌عنوان مثال، اگر Δa^* منفی باشد به این معنی است که نمونه نسبت به شاهد سبزتر می‌باشد. نمونه شاهد محلول رنگی است که هیچ تیماری از یون‌های فلزی و pH بر روی آن اعمال نشده است.

$$L^* \text{ شاهد} - L^* \text{ نمونه} = \Delta L^*$$

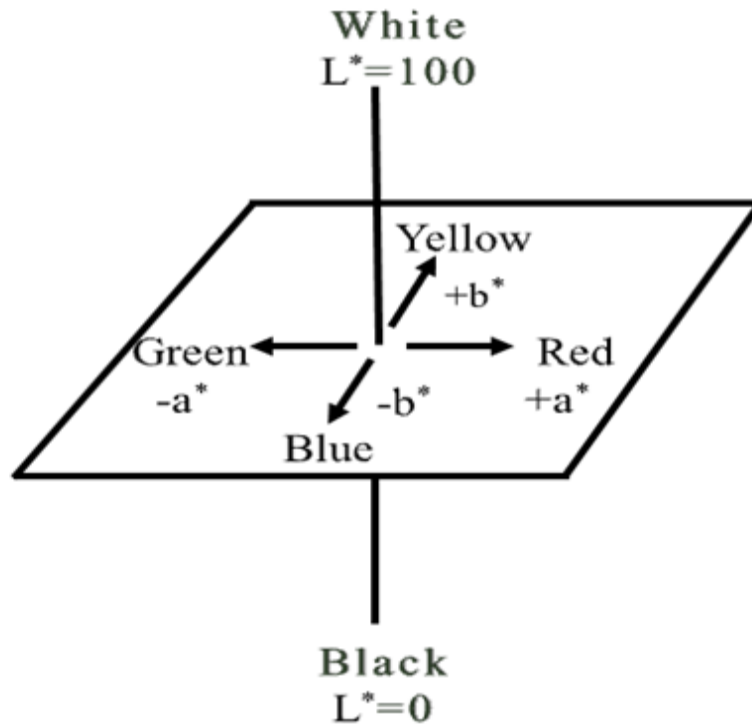
$$a^* \text{ شاهد} - a^* \text{ نمونه} = \Delta a^*$$

$$b^* \text{ شاهد} - b^* \text{ نمونه} = \Delta b^*$$

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} - \Delta a^{*2} - \Delta b^{*2}}$$

معادله (۱)

معادله (۲)

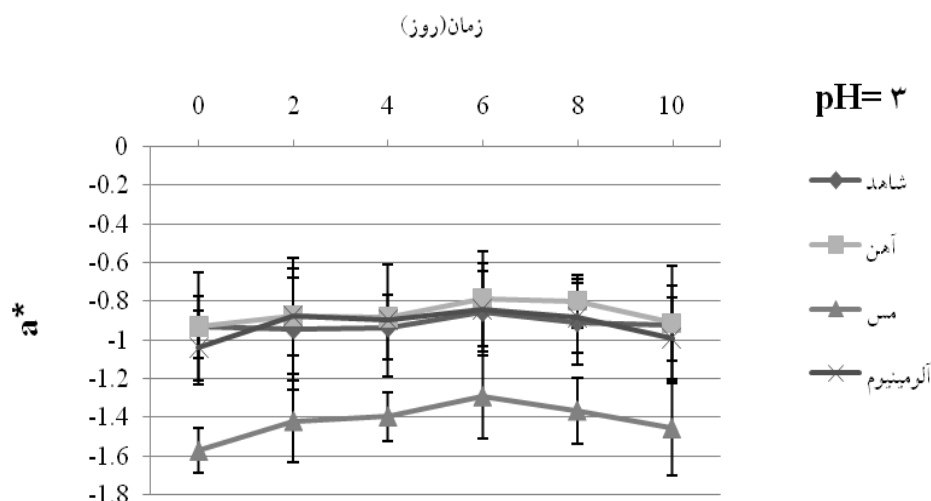


شکل ۱- محدوده پارامترهای رنگی CIE L* a* b*

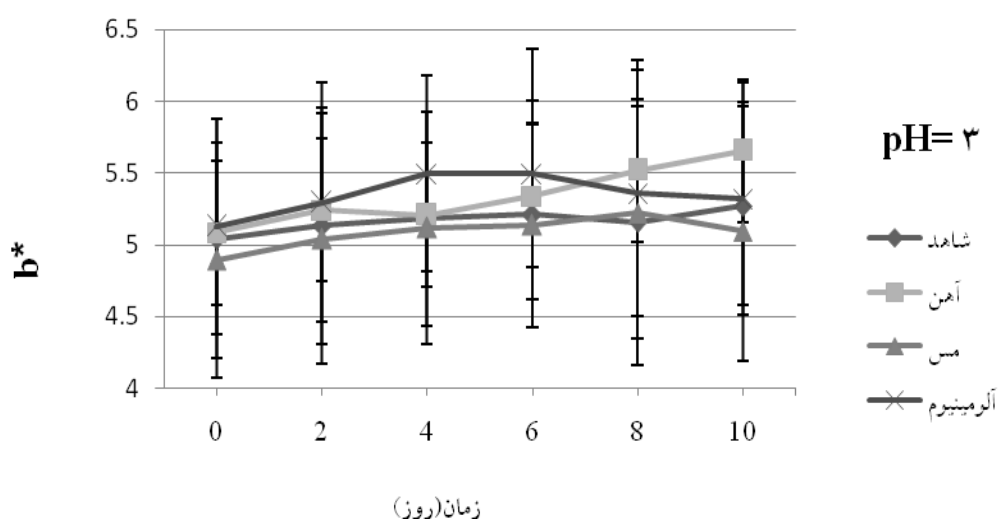
نتایج

تیمار عصاره با یون‌های فلزی و pH های متفاوت: در این پژوهش همه آزمایش‌ها با سه تکرار انجام و داده‌های حاصل با نرم‌افزار SPSS 11.5 تجزیه و تحلیل گردیدند. طبق آنالیزهای آماری، مقدار a* در pH=3 در مورد مس اختلاف معنی‌داری با شاهد و سایر یون‌های فلزی در مدت زمان ۱۰ روز داشته است اما آهن و آلومینیوم تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان ندادند (شکل ۲). نتایج مربوط به پارامتر a* در pH=۴/۵ نیز مشابه به نتایج آن در pH=3 است با این تفاوت که در pH=3 مقدار آن در هر سه تیمار منفی‌تر از pH=۴/۵ است (شکل ۴). نتایج مربوط به پارامتر b* در محاسبات مربوط به ΔE (اختلاف رنگ تیمارها با شاهد) مورد استفاده قرار گرفته است (شکل ۳). شکل ۶ مقایسه پارامترهای a* و b* را به‌طور همزمان در تیمارها نشان می‌دهد که حاکی از آن است که در pH=3 نسبت به pH=۴/۵ نمونه‌ها در محور a* سبزتر بوده و در محور b* به آبی متمایل‌اند. همچنین در مقایسه تیمارها

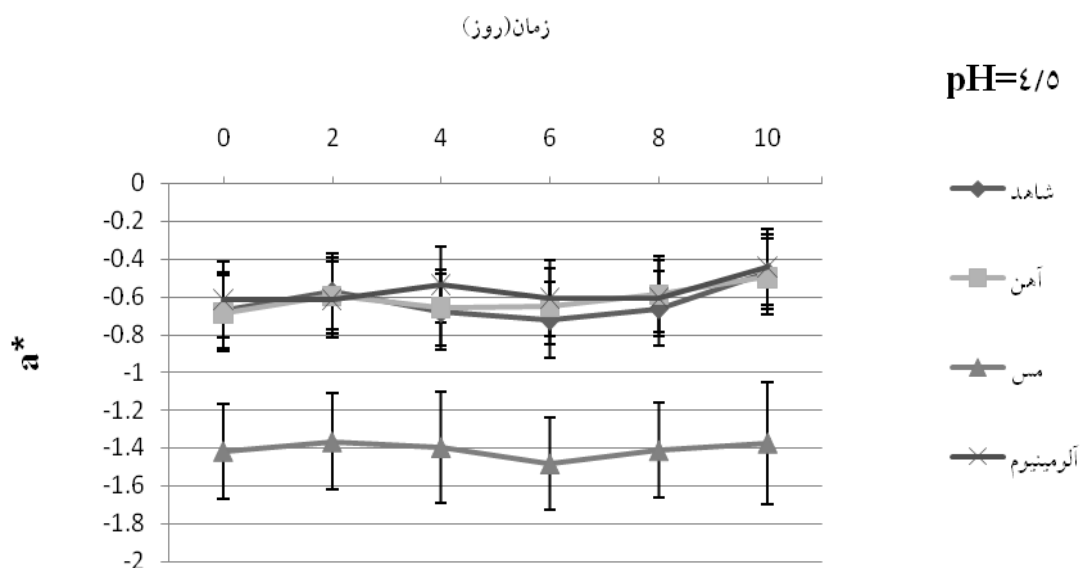
نیز مس نسبت به آهن و آلومینیوم در محور a*، به رنگ سبز و در محور b* به رنگ زرد متمایل‌تر می‌باشد. شکل ۷ نتایج مربوط به تأثیر نسبت‌های مختلف از عصاره و یون‌های فلزی را در pH=3 و در پارامتر a* نشان می‌دهد. در مقایسه نسبت‌ها مشاهده می‌شود مقدار a* در تیمار آهن و آلومینیوم در نسبت ۲:۲ و در تیمار مس در نسبت ۴:۴ منفی‌تر و به عبارتی سبزتر بوده است. در نسبت ۴:۴ در تیمار با آهن و آلومینیوم میزان رنگ سبز در مقایسه با نسبت ۲:۲ کاهش داشته است در حالی که در مورد مس افزایش دیده می‌شود. در جدول ۱، Δa* (اختلاف تیمارها با شاهد در رنگ سبز) در pH=3 و pH=۴/۵ محاسبه شده است و نتایج نشان می‌دهد که این اختلاف در تیمار مس در هر دو pH بیشتر بوده است. نتایج مربوط به محاسبات ΔE در هر دو pH در جدول ۲ نشان می‌دهد که اختلاف رنگ نمونه‌ها در تیمار مس بیشتر بوده است. این اختلاف در تیمارهای آهن و آلومینیوم در pH=3 نسبت به pH=۴/۵ بیشتر می‌باشد.



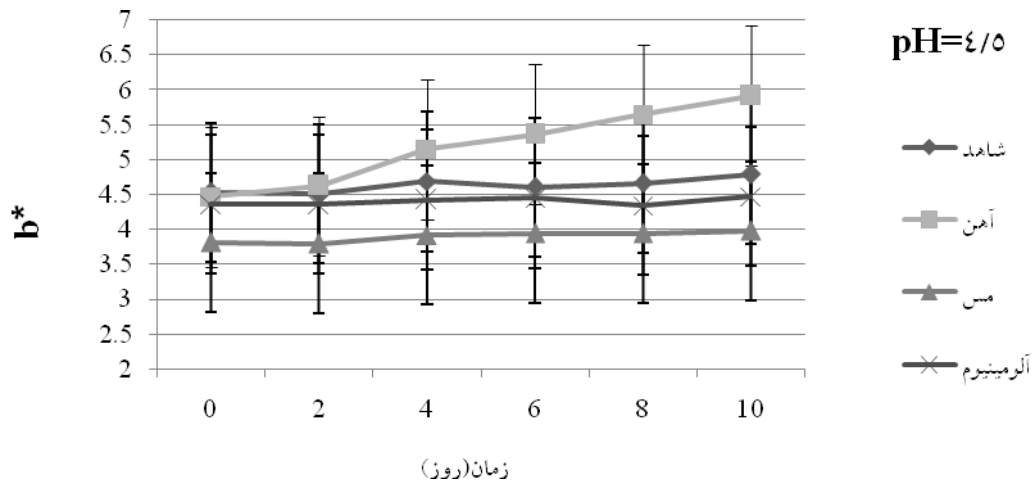
شکل ۲- مقدار a^* تحت تأثیر یون‌های فلزی مختلف و $\text{pH}=3$ در عصاره پوست گردو ($M \pm Sd$)



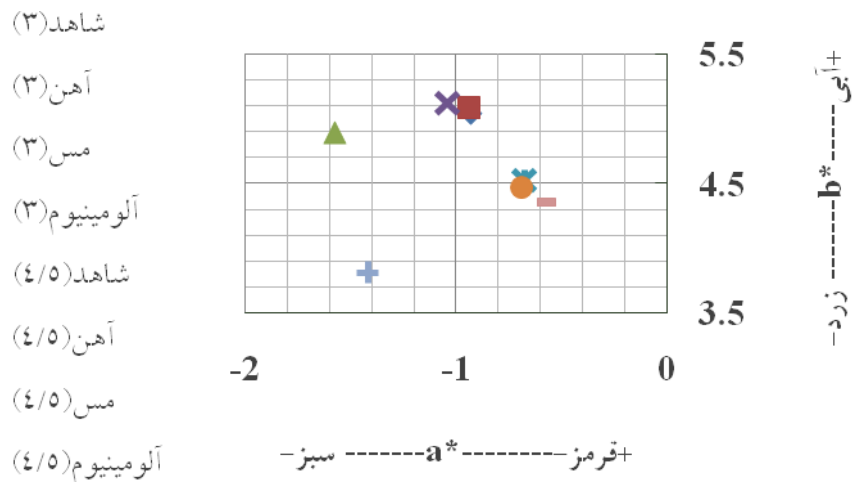
شکل ۳- مقدار b^* تحت تأثیر یون‌های فلزی مختلف و $\text{pH}=3$ در عصاره پوست گردو ($M \pm Sd$)



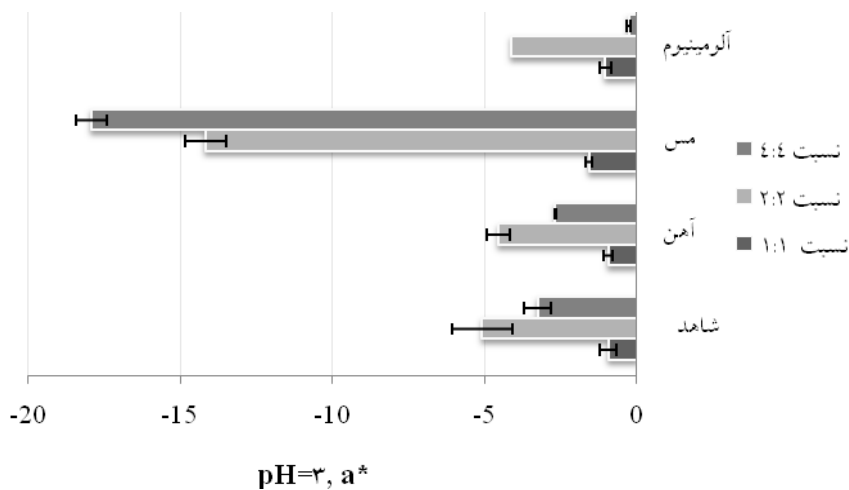
شکل ۴- مقدار a^* تحت تأثیر یون‌های فلزی مختلف و $\text{pH}=4/5$ در عصاره پوست گردو ($M \pm Sd$)



شکل ۵- مقدار b^* تحت تأثیر یون‌های فلزی مختلف و $pH=4/5$ در عصاره پوست گردو ($M \pm Sd$)



شکل ۶- مقایسه a^* و b^* در $pH=3$ و $pH=4/5$ تحت تأثیر یون‌های فلزی مختلف



شکل ۷- مقایسه a^* در $pH=3$ در نسبت‌های مختلف یون‌های فلزی به عصاره پوست گردو

جدول ۱- مقدار Δa^* در pH=4/5 و pH=3 در تیمارهای مختلف

تیمار	(Δa^* , pH=3)	(Δa^* , pH= ۴/۵)
آهن	-0.00333	-0.01333
مس	-0.64333	-0.74333
آلومینیوم	-0.11	0.056667

جدول ۲- مقدار ΔE در pH=4/5 و pH=3 در تیمارهای مختلف

تیمار	(Δa^* , pH=3)	(Δa^* , pH= ۴/۵)
آهن	0.197456	0.130512
مس	0.989472	1.045206
آلومینیوم	0.644938	0.371128

بحث

نمونه‌های شاهد قرمز کدر یا قهوه‌ای می‌شود (Wrolstad, Elhabiri and Erlanson, 1973) و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که می‌توان از واکنش یون‌های فلزی مثل Fe(III) و Al (III) با ساختار فلاویلیوم (کاتیون یک ترکیب پلی فنولیک) در مدت زمان طولانی به‌عنوان آزمایش کیفی استفاده کرد. این آزمایش بر اساس تغییر رنگ و یا تغییرات بازوکرومیک در max می‌باشد. در این مطالعات بررسی داده‌های اسپکتروسکوپی به‌روشنی تأثیر کمپلکس‌های فلزی آنتوسیانین‌ها را روی پایداری رنگ نشان می‌دهد. علاوه بر این حضور گروه‌های آسیل و مالونیل نیز روی واحدهای قندی رنگیزه‌ها منجر به واکنش‌های درون مولکولی با کروموفورها شده که در پایداری کمپلکس فلز- آنتوسیانین قابل بحث هستند. Fernandez و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که مکانیسم پاد اکسایدگی دیگری برای فلاونوئیدها می‌تواند مربوط به توانایی آن‌ها در کلاته شدن با یون‌های فلزی آهن و مس باشد که به‌واسطه تشکیل این کمپلکس، یون‌های فلزی از شرکت در واکنش‌هایی که تولید رادیکال آزاد می‌کنند مهار می‌شوند. آن‌ها برهم‌کنش یون‌های فلزی را با یک سری از فلاونوئیدها با نسبت‌های مختلف بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که یون‌های فلزی با نسبت ۱:۲ با فلاونوئیدها کمپلکس بهتری تشکیل می‌دهند.

نتایج نشان دادند، اضافه کردن یون مس در مقایسه با یون‌های آهن و آلومینیوم در یک محیط اسیدی تر (pH کمتر) تأثیر بهتری روی حفظ رنگ سبز در مدت زمان ۱۰ روز داشته است. به نظر می‌رسد تشکیل کمپلکس بین یون‌های فلزی و ترکیبات پلی فنولیک نقش مهمی در حفظ رنگ و پایداری بیشتر آن‌ها ایفا می‌نماید. این مکانیسم احتمالاً مربوط به تشکیل پیوند بین گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات پلی فنولیک و یون‌های فلزی می‌باشد که در اثر آن یک یون فلزی با چندین مولکول از این ترکیبات پیوند برقرار کرده و در طول زمان از تخریب و تغییر رنگ آن‌ها جلوگیری می‌نماید. در پیوند تشکیل شده، ترکیبات پلی فنولیک خاصیت الکترون‌دهی و یون‌های فلزی خاصیت الکترون‌گیرندگی دارند و چون مس نسبت به آهن و آلومینیوم الکترون‌گاتر است احتمالاً می‌تواند پیوند محکم‌تری تشکیل و بنابراین نقش بیشتری در حفظ رنگ سبز دارد.

Wrolstad و همکاران (۱۹۷۳) برای اولین بار یون‌های آلومینیوم^{۳+}، قلع^{۲+} و قلع^{۳+} را روی آنتوسیانین‌های توت‌فرنگی (از جمله ترکیبات پلی فنولیک) تأثیر داده و مشاهده کردند که نمونه‌های تیمار شده با این یون‌ها در طول آزمایش رنگشان قرمز باقی می‌ماند در حالی که رنگ

رز قرمز پی‌برد و تنوع رنگ گل‌ها را به pH های مختلف نسبت داد. به‌علاوه، تغییرات pH؛ رنگ این ترکیب را در محلول اسیدی به رنگ قرمز، در محلول خنثی به رنگ بنفش و در محلول بازی به رنگ آبی ظاهر می‌سازد (شکل ۹) (Goto and Kondo, 1999) در بررسی ترکیب یون‌های فلزی با عصاره به نسبت‌های مختلف، دیده شد که افزایش این نسبت به‌جز در مورد مس نمی‌تواند به معنی تأثیر بهتر بر روی رنگ سبز باشد. دلیل این امر می‌تواند این باشد که یون‌های فلزی و ترکیبات پلی‌فنولیک در غلظت‌های مشخصی می‌توانند کمپلکس پایدارتر تشکیل دهند که در این تحقیق نسبت ۲:۲ تأثیر بهتری روی میزان a^* و یا به عبارتی رنگ سبز داشته است. کاهش یا افزایش نسبت مورد نظر (۱:۱ و ۴:۴) می‌تواند باعث کاهش میزان رنگ سبز شود. البته این مسئله به نوع یون فلزی نیز بستگی دارد در مورد مس با افزایش این نسبت میزان رنگ سبز نیز افزایش پیدا کرده است. با توجه به اینکه مس در مقایسه با آهن و آلومینیوم قادر به تشکیل کمپلکس پایدارتری است بنابراین این احتمال وجود دارد که در نسبت‌های بالاتر نیز می‌تواند کمپلکس پایدارتری را تشکیل دهد.

نتیجه‌گیری

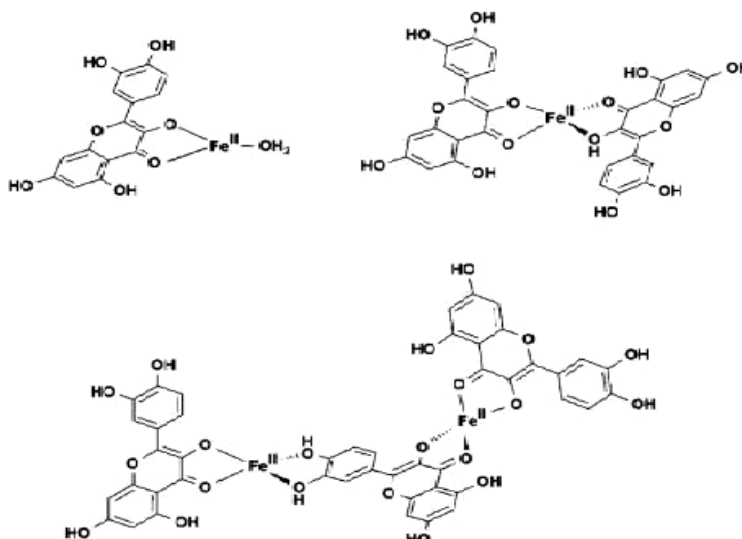
پایداری عصاره رنگی استخراج شده از پوست میوه گردو با اضافه کردن فاکتورهایی مثل یون‌های فلزی تحت شرایط اسیدی افزایش پیدا می‌کند. در رنگ‌رزی سنتی مستقیماً از پوست گردو جهت رنگ کردن استفاده می‌شود و الیاف رنگ‌رزی شده بیشتر رنگ قهوه‌ای به خود می‌گیرند در حالی که با استفاده از عصاره پوست گردو (استخراج شده با متانول) و تأثیر دادن فاکتورهای مناسب جهت افزایش پایداری آن، می‌توان از نتایج این تحقیق و تحقیق‌های بعدی در تهیه رنگ‌های طبیعی با پایداری بیشتر در صنایع نساجی استفاده کرد.

سپاسگزاری

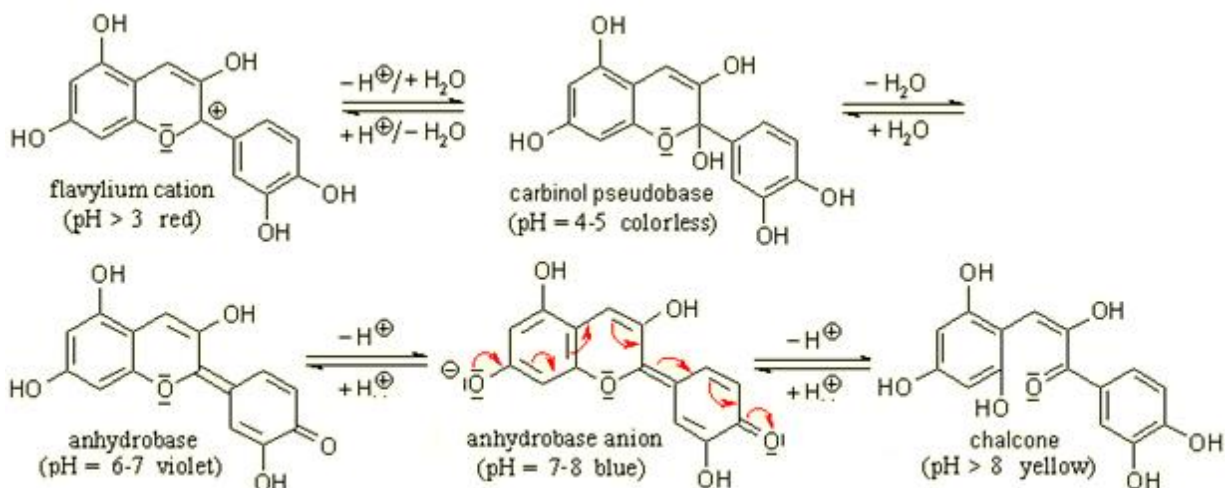
از معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان برای حمایت از این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می‌شود.

بنابراین تشکیل کمپلکس بین یون‌های فلزی و ترکیبات پلی‌فنولیک علاوه بر اینکه باعث پایداری بیشتر این ترکیبات می‌شود (به‌خصوص در مورد رنگیزه‌های ناپایدار) می‌تواند در کاهش تولید رادیکال‌های آزاد توسط یون‌های فلزی مؤثر باشد. Guo و همکاران نیز (۲۰۰۷) نشان دادند که کوثرسیتین و دیگر ترکیبات فنولی گیاهی تمایل زیادی برای اتصال به یون آهن دارند. آن‌ها نشان دادند که تمایل زیاد ترکیبات فنولی به آهن ممکن است در حفظ تعادل آهن و به عبارتی پایداری آهن در بافت‌ها و سلول‌ها تحت شرایط فیزیولوژیکی مؤثر باشد. همچنین نشان دادند که لیگاند‌های برپایه اکسیژن در مقایسه با لیگاند‌های بر پایه نیتروژن تمایل بیشتری برای اتصال به آهن دارند. نکته جالب دیگری که به آن اشاره کردند، نقش کلاته شدن آهن توسط کوثرسیتین (فلاوونوئید) در مهار واکنش فنتون می‌باشد. واکنش فنتون در حضور یون آهن II و H_2O_2 تولید رادیکال هیدروکسیل کرده که به سلول آسیب می‌رساند (شکل ۸) (Lapidot et al., 1999).

pH نیز از جمله عواملی است که تأثیر به‌سزایی روی ساختار ترکیبات پلی‌فنولیک دارد و افزایش آن می‌تواند باعث کاهش شدت رنگ شود. Cheng و همکاران (۱۹۹۷) تشکیل کمپلکس بین آهن و ترکیبات پلی‌فنولیک را بررسی کرده و مشاهده کردند که با افزایش غلظت آهن از ۰ تا ۰/۲۵ میلی‌مول، جذب آنتوسیانین افزایش پیدا کرده و در $pH=3/5$ جذب بیشتری نسبت به $pH=4$ دارد. آن‌ها بیان کردند که تنوع لکه‌های رنگی روشن و تیره در سطح پوست هلو به دلیل تشکیل کمپلکس رنگیزه- یون فلزی می‌باشد. در این تحقیق نیز $pH=3$ تأثیر بهتری روی رنگ سبز نسبت به $pH=4/5$ داشته است. در واقع یک ترکیب رنگ‌زا تحت تأثیر تغییرات pH دچار دگرگونی‌های مولکولی شده و رنگ آن نیز دستخوش تغییر می‌شود. Willstatter شیمی‌دان آلمانی که موفق به دریافت جایزه نوبل در سال ۱۹۱۵ شد، مشاهده کرد که رنگیزه‌های مشابه می‌توانند عامل رنگ‌های مختلفی باشند. بنابراین به وجود رنگیزه مشابه سیانین، در گل گندم آبی و



شکل ۸- تشکیل کمپلکس بین آهن و فلاونوئیدها (کوئرسیتین) (Lapidot et al., 1999)



شکل ۹- ساختار یک ماده پلی فنولیک (سیانیدین) در محلول آبی تحت تأثیر pH های مختلف (Goto and Kondo, 1991)

References

- Brouillard, R., Wigand, M. C., Dangles, O. and Cheminat, A. (1991). The pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* 2: 1235-1241.
- Elhabiri, M., Figueiredo, P., George, F. and Brouillard, R. (1998). Synthesis, photochromism and metallic complexation of synthetic and natural anthocyanins. 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2), <http://www.mdpi.org/ecsoc/>, September 1-30, 1998.
- Fernandez, M. T., Mira, M. L., Florencio, M. H. and Jennings, K. R. (2002). Iron and copper chelation by flavonoids: an electrospray mass spectrometry study. *Journal of Inorganic Biochemistry* 92(2): 105-11.
- Goto, T. and Kondo, T. (1991). Structure and molecular stacking of anthocyanins-flower color variation. *Angewandte Chemie International Edition* 30:17-33.
- Guo, M., Perez, C., Wei, Y., Rapoza, E., Su, G., Bou-Abdallah, F. and Chasteen, N. D. (2007). Iron-binding properties of plant phenolics and cranberry's bio-effects. *Dalton Trans* 21(43): 4951-4961.
- Jakopic, J., Veberic, R. and Stampar, F. (2009). Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta agriculturae Slovenica* 11-15.
- Kunsagi-Mate, S., Stampel, E., Kollar, L. and Pour nikfardjam, M. S. (2008). The effect of the oxidation state of iron ions on the competitive complexation of malvidin by caffeic or ellagic acid. *Food Research International* 41:693-696.
- Lapidot, T., Harel, S., Akiri, B., Granit, R. and Kanner, J. (1999). pH-dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 67-70.

- Maccarone, E., Maccarrone, A. and Rapisarda, P. (1985). Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. *Journal of Food Science* 50: 901-904.
- Markakis, P. (1982). Stability of anthocyanins in foods. In: *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis P (ed.), Academic Press Inc., New York, p.163-178.
- Mazza, G. and Brouillard, R. (1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry* 29:1097-1102.
- Starr, M. S. and Francis, F. J. (1974). Effect of metallic ions on color and pigment content of cranberry juice cocktail. *Journal of Food Science* 38: 1043-1046.
- Starr, M. S. and Francis, F. J. (1968). Oxygen and ascorbic acid effect on the relative stability of four anthocyanin pigments in cranberry juice. *Food technology* 22: 1293-1295.
- Wrolstad, R. E. and Erlandson, J. A. (1973). Effect of metal ions on the color of strawberry puree. *Journal of Food Science* 38: 460-463.
- Applications note. CIE L* a* b* color scale .vol. 8, No.7. Available in: [http:// www. Hunterlab.com](http://www.Hunterlab.com).

Effect of Metallic Ions and pH on the Stability of the Dye Solution Extracted from the Skin of Walnut Fruit (*Juglans regia*)

Masoud Haidarizadeh ^{1,*} and Chenour Mohammadi ¹

1-Department of Biological sciences and Biotechnology, Faculty of Basic Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Abstract

Walnut fruit skin has compounds that can be used to prepare green color. Color stability of the dye extracts always considered by researchers. Metallic ions help stability of these compounds during of time by complex formation. The purpose of this study provides extracts of green color with more stability for use in the textile and dyeing fibers. Green color of walnut skin was extracted by methanol and affected by metallic ions (iron, copper, aluminum) in two different pH (3, 4.5) with three different ratio (1:1, 2:2.4:4) of juice and metallic ions. Then, color parameters L*(lightness) a*(green-red) b*(blue-yellow) in treatments was measurement by colorimeter in 10 days. Concerns to results, copper treatments has better effect on green color stability than iron and aluminum treatments in more acidic conditions. Also compare of three different ratio of juice and metallic ions show that 2:2(iron and aluminum treatments) and 4:4(copper treatments) has better effect on a* factor in pH =3. Therefore, our results show the color stability by metallic ions (especially copper) in acidic condition which can use to produce the juices with better color quality for coloring of fiber in loom.

Key words: Color stability, Colorimetry, Dye, Metallic ions, Walnut fruit

* Corresponding Author, E-mail: m.haidarizadeh@uok.ac.ir