

مقایسه ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سه واریته خرماي حاج‌محمدی، کبکاب و

خاصی در مراحل مختلف رسیدن

مسعود ویسی^۱، شیرین امینی^{۲*}، مژگان نوربهبانی^۳، سید محمود لطیفی^۴

خلاصه

مقدمه: خرما از مواد غذایی بسیار پرمصرف خوراکی در ایران می‌باشد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ارزش تغذیه‌ای بالایی دارد. در این مطالعه مقدار کل ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی خرماهای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی در طی مراحل رسیدن مورد بررسی قرار گرفت. روش: مطالعه حاضر به روش آزمایشگاهی انجام شد. میوه‌های خرما (واریته‌های خاصی، کبکاب و حاج‌محمدی) در شهریور ماه ۱۳۹۱ از شهرستان بهبهان واقع در استان خوزستان و در سه مرحله خارک، رطب و خرما جمع‌آوری شد. عصاره هیدروالکلی به روش خیساندن تهیه و میزان ترکیبات فنولیک توسط روش Folin-Ciocalteu تعیین گردید و آزمون‌های توانایی احیای آهن اکسیده (Ferric reducing antioxidant power یا FRAP)، مهار رادیکال آزاد دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH یا Diphenylpicrylhydrazyl) و اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها مورد استفاده قرار گرفت. یافته‌ها: میزان ترکیبات فنولیک، توانایی احیاکنندگی آهن اکسیده و میزان آنتی‌اکسیدان کل در هر سه خرماي حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی در طی مراحل رسیدن افزایش یافت. افزایش در توانایی احیاکنندگی معنی‌دار بود. در روش DPPH، پایین‌ترین عدد IC₅₀ در هر سه واریته در طی مراحل رسیدن، متعلق به مرحله خرما بود. نتیجه‌گیری: توانایی احیاکنندگی آهن اکسیده در طی مراحل رشد خرما افزایش و میزان مهار کنندگی رادیکال DPPH طی مراحل رسیدن در سه واریته خرما کاهش می‌یابد. واژه‌های کلیدی: خرما، مراحل رشد، ترکیبات فنولیک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

۱- مری، گروه تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران ۳- کارشناس، گروه بوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران ۴- مری، گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران

* نویسنده مسؤل، آدرس پست الکترونیک: aminishirin83@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۳/۲۹ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۲/۹/۱۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۹/۲۷

مقدمه

اکسیژن برای زندگی حیاتی می باشد، اما تحت شرایط خاصی می تواند به صورت تک الکترون در آمده و تولید رادیکال آزاد نماید (۱). آسیب ایجاد شده توسط رادیکال آزاد منجر به تغییر ماهیت پروتئین، پراکسیداسیون لیپید، اکسیداسیون DNA (Deoxyribonucleic acid) و تغییر عملکرد پلاکت ها می گردد که با بسیاری از اختلالات مزمن مانند سرطان، التهاب و آترواسکلروز ارتباط دارد (۲، ۳).

آنتی اکسیدان ها با رادیکال های آزاد وارد واکنش می شوند و قبل از این که رادیکال ها به مولکول های حیاتی آسیب بزنند، به زنجیره واکنش های مخرب پایان می دهند. درخت خرما (Phoenix dactylifera) گیاهی از خانواده Arecaceae است (۴). میوه خرما حاوی ۷۰-۸۰ درصد کربوهیدرات (بیشتر فروکتوز و گلوکز) و ویتامین های C، گروه B و پیش ساز ویتامین A، همچنین حاوی کلسیم، منیزیم، فسفر، روی، آهن، پتاسیم، ید و مقدار کمی پروتئین و چربی است (۵-۸). علاوه بر این، از نظر ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند کارتنوئیدها، پروآنتوسیانین، فلاونوئیدهای گلیکوزیدی از دسته فلاون ها، فلاونول ها (مثل لوتئین، کوئرستین) و چند ماده دیگر منبع خوبی است (۹-۱۲).

خرما از مواد غذایی بسیار پرمصرف خوراکی در ایران می باشد که استفاده غذایی، صنعتی و تجاری فراوانی از آن به عمل می آید. با توجه به این که عواملی از قبیل آب و هوا، خاک، ارتفاع و اختلاف در گونه های مختلف در میزان فنول، فلاونوئید تام و خواص آنتی اکسیدانی دخالت دارند (۱۳) و از طرف دیگر، با توجه به این که اختلاف نظرهای عمیقی در آزمون های آنتی اکسیدانی وجود دارد و در هر یک از روش ها اساس واکنش و نوع سوبسترای اکسید شونده متفاوت است؛ بنابراین یک آزمون به تنهایی توانایی نشان دادن تمام خصوصیات آنتی اکسیدان ها و اکسیدان ها را ندارد (۱۴-۱۶). برخی مطالعات گزارش

کرده اند که بالاترین میزان ترکیبات پلی فنولی و توانایی احیا کنندگی به ترتیب مربوط به مراحل نارس بودن و سپس رطب (خرمای نرم و رسیده) و بعد مرحله تمر (میوه خشک شده خرما) می باشد (۱۷). در بررسی های دیگری مشاهده شده است که میزان ترکیبات پلی فنولی در طی رسیدن میوه خرما افزایش می یابد (۱۸).

با وجودی که خرما از میوه های محبوب و پرمصرف در بین مردم ایران می باشد، تاکنون مطالعه ای جامع در زمینه تغییرات ترکیبات فنولیک و تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی واریته های خرمای ایرانی طی رشد و رسیدن و با آزمون های آنتی اکسیدانی انجام شده در این مطالعه، صورت نگرفته است. نتایج به دست آمده از سایر مطالعات نیز در بعضی موارد متناقض می باشد (۱۷، ۱۸). بنابراین مطالعه حاضر به منظور اندازه گیری و مقایسه مقدار کل ترکیبات فنولیک، فعالیت آنتی اکسیدانی به روش های FRAP (Ferric reducing antioxidant power) و میزان مهار رادیکال های آزاد DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، در عصاره های هیدروالکلی میوه خرماهای خاصی و کبکاب و حاج محمدی در طی مراحل رشد و رسیدن (خارک-رطب-خرما) انجام گرفت.

روش بررسی

مواد اولیه

سه نمونه خرمای شهرستان بهبهان واقع در استان خوزستان با نام های حاج محمدی، خاصی و کبکاب، در شهریور سال ۱۳۹۱ در سه مرحله از رشد (خارک-رطب-خرما) جمع آوری و شناسایی گردید. سپس هسته آن ها جدا و قسمت گوشتی تا زمان آزمایش در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی مورد استفاده شامل فسفات سدیم $(\text{NaH}_2\text{PO}_4)$ و $(\text{Na}_2\text{HPO}_4)$ ، معرف Folin-Ciocalteu، کربنات سدیم، اسید سولفوریک، متانول و کلرید آهن از شرکت Merck آلمان، اسید گالیک و فری سیانید پتاسیم از شرکت Sigmaaldrich آلمان، ۲ و ۲ دی فیل ۱-پیکریل هیدرازین، آمونیوم مولیبدات و تری کلرواستیک اسید از شرکت Sigma آمریکا بود.

جهت تهیه عصاره ابتدا ۱۰۰ گرم از میوه بدون هسته خرما خرد شده و در بشر قرار داده شد، حلال متانول ۷۰ درصد تا شناور شدن کامل گیاه به آن اضافه گردید و بعد از هم زدن، نمونه‌ها تا ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. بعد از طی شدن مدت زمان استخراج، عصاره‌ها با استفاده از قیف بوختر (Buchner) و کاغذ صافی Whatman صاف گردید. سپس مایع صاف شده توسط دستگاه دوار تقطیر در خلأ و در دمای ۴۰ درجه تغلیظ و حلال آن حذف و سپس با خشک کننده انجمادی اپرون کره جنوبی مدل FDCF-۱۲۰۰ خشک گردید. عصاره‌های خشک شده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند (۱۹).

حسب میلی گرم معادل اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه گزارش می‌شود (۲۰).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت احیاکنندگی (FRAP)

در این روش ۱ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره خرما (۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر) با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات $(\text{pH} = 6/6)$ و $(M = 0/5)$ و ۲/۵ میلی لیتر فری سیانید پتاسیم (۱۰ گرم در لیتر) به طور کامل مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. سپس ۲/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (۱۰۰ گرم در لیتر) به آن اضافه و مخلوط شد. این نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه توسط سائتریفوژ با سرعت ۱۷۰۰ دور در دقیقه سائتریفوژ شدند. پس از آن ۲/۵ میلی لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر کلرید آهن III (یک گرم در لیتر) مخلوط و جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد (میزان جذب بیانگر قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها می‌باشد) (۲۱).

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH)

در آزمون DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌های نمونه واکنش می‌دهند و مقدار آن‌ها کاهش می‌یابد؛ در نتیجه جذب در طول موج ۵۱۷-۵۱۵ نانومتر کاهش می‌یابد (۲۲).

در روش DPPH ابتدا از عصاره‌های خشک شده به روش انجمادی، غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی لیتر تهیه شد. ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در حضور متانول صفر گردید. ۳/۹ میلی لیتر از DPPH استوک ساخته شده در کورت شیشه‌ای (با قطر یک سانتی متر) ریخته شد و جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UNICO مدل UV-۲۱۰۰ در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد، سپس ۰/۱ میلی لیتر از عصاره اضافه و جذب آن در ۵۱۵ نانومتر، ابتدا هر یک

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

در کل برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Folin-Ciocalteu استفاده می‌شود. به ۰/۱ میلی لیتر از نمونه، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم ۲ درصد اضافه گردید و ۲ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. در پایان ۲ دقیقه، ۰/۱ میلی لیتر از محلول Folin-Ciocalteu به آن اضافه شد و بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۵ میلی لیتر اسید گالیک استفاده شد و معادله خطی منحنی به دست آمد که با قرار دادن مقادیر جذب به دست آمده از عصاره‌ها در این معادله می‌توان غلظت معادل اسید گالیک از عصاره‌ها را به دست آورد. نتایج نهایی بر

از دربندی، به مدت ۹۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. بعد از خنک شدن نمونه‌ها و رسیدن آن‌ها به دمای اتاق، میزان جذب در طول موج ۶۹۵ نانومتر در برابر یک شاهد (حاوی ۱ میلی لیتر محلول معرف و ۰/۱ میلی لیتر حلال متانول که در شرایط یکسان با بقیه نمونه‌ها انکوبه شد) خوانده شد (۲۴).

آزمون‌ها سه بار تکرار و نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از روش ANOVA و متعاقب آن از آزمون Tukey استفاده شد و $P < ۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد. رسم شکل‌ها توسط نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج

همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، نتایج میزان کل ترکیبات فنولی با رسیده شدن میزان ترکیبات پلی فنولی کل افزایش می‌یابد، اما این افزایش در هر سه نمونه خرما طی هر کدام از مراحل (خارک-رطب-خرما) معنی دار نبود ($P > ۰/۳۱۶$).

دقیقه تا دقیقه ۱۵، سپس هر ۵ دقیقه تا دقیقه ۳۰ خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

$$I = 100 (A_0 - A_s) / A_0 \text{ (درصد)}$$

در معادله مذکور، A_0 جذب نمونه شاهد (همه اجزای واکنش بدون نمونه) و A_s میزان جذب نمونه بود. نتایج به صورت IC_{50} (غلظتی از عصاره که باعث مهار ۵۰ درصد رادیکال آزاد شود) بیان گردید (۲۳).

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ظرفیت آنتی اکسیدانی کل

این روش بر مبنای احیای مولیدنوم VI به مولیدنوم V توسط نمونه و تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفات مولیدنوم در محیط اسیدی می‌باشد. ابتدا از عصاره‌های خشک شده، غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر از هر یک از غلظت‌ها را در لوله آزمایش ریخته، یک میلی لیتر از محلول معرف (شامل اسیدسولفوریک ۰/۶ مولار + فسفات سدیم ۲۸ میلی مولار + آمونیم مولیدات ۴ میلی مولار) به آن‌ها اضافه گردید و بعد

جدول ۱. میزان ترکیبات فنولیک مراحل مختلف رشد سه نمونه خرما (بر حسب میلی گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه)

P	مرحله رشد			
	خرما	رطب	خارک	نوع خرما
۰/۹۹۶	۴۵/۴۸ \pm ۰/۰۲۶	۴۴/۶۹ \pm ۰/۰۱۱	۴۰/۳۹ \pm ۰/۰۷۳	حاج محمدی
۱	۴۳/۷۸ \pm ۰/۰۰۳	۴۳/۲۱ \pm ۰/۰۴۶	۴۱/۱۳ \pm ۰/۰۱۱	کبکاب
۰/۳۱۶	۴۰/۸۰ \pm ۰/۰۸۵	۳۶/۴۰ \pm ۰/۰۸۴	۲۶/۸۳ \pm ۰/۰۰۷	خاصی

حاج محمدی و کبکاب طی مرحله تبدیل خارک به رطب معنی دار ($P < ۰/۰۵۰$)، اما در مرحله تبدیل رطب به خرما غیر معنی دار بود ($P > ۰/۶۶۶$). افزایش قدرت احیاکنندگی طی رسیدن خرما طی هر سه مرحله معنی دار به دست آمد ($P < ۰/۰۱۳$).

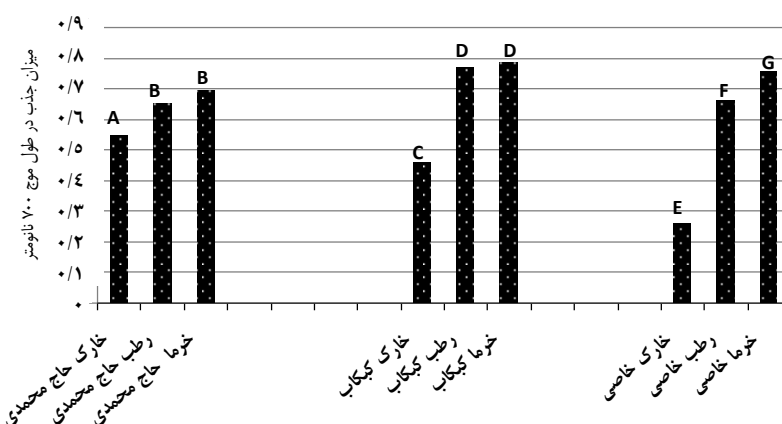
میزان قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها

تغییرات در میزان قدرت احیاکنندگی سه نمونه خرما در نمودار ۱ آورده شده است. با توجه به این نمودار می‌توان دریافت که میزان قدرت احیاکنندگی در هر سه خرما و طی مراحل رشد افزایش یافت. این افزایش در خرما

آزمون DPPH

IC₅₀ بیانگر غلظتی از عصاره است که برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH موردنیاز می‌باشد. IC₅₀ کمتر نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره مربوط می‌باشد. همان گونه که جدول ۲ نشان می‌دهد، در هر سه وارسته طی مراحل رشد و رسیدن، میزان مهار رادیکال DPPH کاهش می‌یابد.

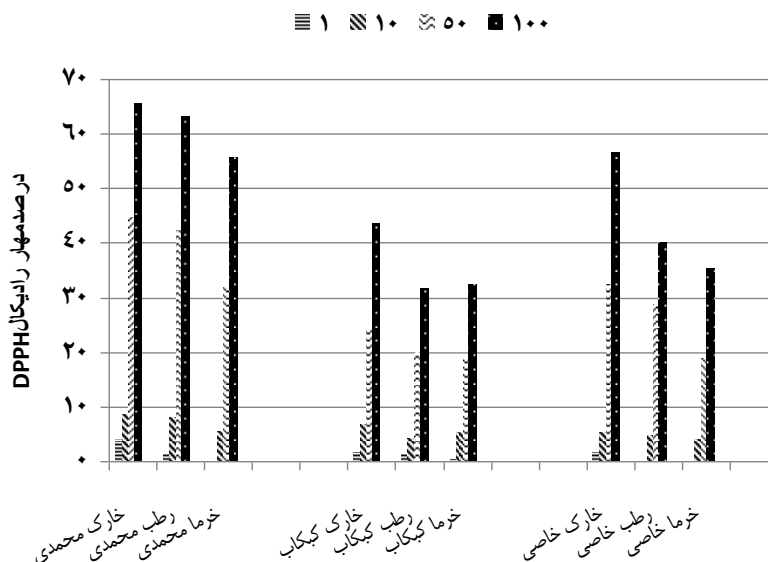
نمودار ۲ بیان می‌کند که با افزایش غلظت، قدرت مهار رادیکال افزایش می‌یابد. توانایی مهار رادیکال DPPH در هر سه وارسته در طی مراحل رشد کاهش می‌یابد. این کاهش در دو وارسته حاج‌محمدی و کبکاب معنی‌دار نبود، اما در وارسته خاصی و در مرحله خرما به طور معنی‌داری از خارک کمتر بود.



نوع خرما

نمودار ۱. مقایسه تغییرات قدرت احیاکنندگی سه نمونه خرمای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی در سه مرحله از رشد (خارک-رطب-خرما)

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد



نوع خرما

نمودار ۲. اثر غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره‌های سه نمونه خرمای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی بر میزان مهار رادیکال DPPH

در سه مرحله از رشد (خارک-رطب-خرما)

جدول ۲. IC₅₀ و درصد مهار رادیکال DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) سه نمونه خرماي حاج محمدی، کبکاب و خاصی در سه مرحله از رشد (خارک-رطب-خرما)

P	مراحل رشد			نوع خرما	
	خرما	رطب	خارک		
> ۰/۵۸۲	۵۵/۶۶ ± ۰/۲۴	۶۳/۲۶ ± ۰/۰۴۴	۶۵/۱۶ ± ۰/۲۱	حاج محمدی	درصد مهار رادیکال
> ۰/۵۰۹	۳۲/۳۰ ± ۰/۳۶	۳۱/۶۰ ± ۰/۰۲۵	۴۳/۶۰ ± ۰/۰۸	کبکاب	آزاد DPPH در
۰/۰۰۸	۳۵/۲۶ ± ۰/۰۷	۴۰/۰۰ ± ۰/۰۴۷	۵۶/۶۳ ± ۰/۱۴	خاصی	غلظت ۱۰۰ میلی گرم
	۳/۷۸۹	۳/۴۴۱	۳/۳۴۰	حاج محمدی	بر میلی لیتر
	۵/۱۲۱	۵/۱۹۸	۴/۱۰۸	کبکاب	IC ₅₀
	۵/۲۳۹	۴/۲۰۶	۳/۵۹۶	خاصی	

DPPH: Diphenylpicrylhydrazyl

بحث و نتیجه گیری

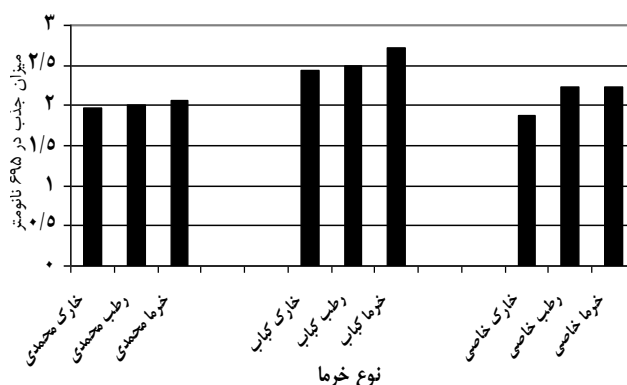
آزمایش های Folin-Ciocalteu، قدرت احیا کنندگی و اندازه گیری ترکیبات آنتی اکسیدانی کل بر سه نمونه خرماي مورد بررسی نشان داد که در هر سه واریته با رسیدن شدن خرما، قدرت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد که تنها افزایش در قدرت احیا کنندگی معنی دار می باشد.

نتایج حاصل از این بررسی وجود رابطه بین مقدار ترکیبات فنولیک و توانایی احیا کنندگی را نشان می دهد. نتایج به دست آمده توسط سایر محققین وجود ارتباط بین میزان ترکیبات فنولیک عصاره و قدرت احیا کنندگی آن را تأیید می نمایند (۲۶، ۲۵، ۱۸).

ویژگی احیا کنندگی به حضور ترکیبات اهدا کننده الکترون وابسته است. طی رشد میوه خرما و با کاهش رطوبت، غلظت ترکیبات فنولیک تا حدودی افزایش می یابد. با افزایش میزان ترکیبات فنولیک موجود در عصاره، قدرت احیا کنندگی آن افزایش می یابد (۲۸، ۲۷). در طی فرایند استخراج ترکیبات دیگری مانند اسید اسکوربیک، اسیدهای آمینه، پروتئین ها و قندها (که خود اهدا کننده الکترون می باشند) همراه با ترکیبات فنولیک وارد عصاره می شوند. به همین علت افزایش قدرت

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در عصاره ها

جهت اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ به دلیل بالا بودن میزان آنتی اکسیدان، نمونه ها سیاه شدند و میزان آنتی اکسیدان کل در غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر قرائت شد. همان گونه که در نمودار ۳ مشاهده می گردد، تغییرات در هر واریته خرما طی سه مرحله از رشد معنی دار نبود ($P > ۰/۰۵$). کبکاب در هر سه مرحله خارک، رطب و خرما میزان آنتی اکسیدان کل بالاتری نسبت به دو نمونه دیگر داشت ($P < ۰/۰۳۷$).



نمودار ۳. تغییرات میزان آنتی اکسیدان کل در سه نمونه خرماي

حاج محمدی، کبکاب و خاصی

غلظت ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر در طی مراحل رسیدن (خارک-رطب-خرما)

احیاکنندگی در هر سه وارسته در طی رسیدن به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد (۲۹).

در مطالعات انجام شده بر روی خرما در کشورهای مختلف، بیشتر تغییرات ترکیبات فنولیک در طی رشد، مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج آن‌ها با مطالعه حاضر مطابقت دارد. سرهنگی، مقدار ترکیبات فنولیک خرمای کبکاب را در طی رسیدن مورد بررسی قرار داد و مشاهده کرد که در طی رسیدن، میزان ترکیبات فنولیک افزایش می‌یابد (۱۷). Al-Farsi و همکاران نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین‌ها و کارتنوئید و فنول‌های سه خرمای بومی، تازه و خشک شده با خورشید را در عمان مورد مقایسه قرار دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها و کارتنوئیدها پس از خشک کردن توسط نور خورشید کاهش می‌یابد؛ در حالی که کل محتوای فنولیک و فنول آزاد و متصل به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (۳۰).

Myhara و همکاران در مطالعه خود نشان دادند که در عمان طی رشد میوه خرما تا رسیدن به مرحله رطب، محتوای تانن کاهش می‌یابد و با کاهش رطوبت، خشک شدن و رسیدن به مرحله تمر، غلظت تانن افزایش می‌یابد (۲۸)، اما در مطالعه Allaith بر روی خرماهای رایج در بحرین، بالاترین میزان ترکیبات فنولیک مربوط به مراحل نارس بودن خرما بود (۱۶).

میزان تغییرات فنولیک گیاهان هر منطقه به عوامل زیادی از جمله آب و هوا، خاک و گونه‌های مختلف گیاهان بستگی دارد. همچنین علت این اختلاف می‌تواند ناشی از به کار بردن روش‌های مختلف اندازه‌گیری و به خصوص استخراج توسط حلال متفاوت و استانداردهای مختلف برای بیان نتایج باشد (۳۱). جهت استخراج عصاره فنولیک در مطالعه Allaith، از آب استفاده شد (۱۶). استفاده از آب به عنوان حلال استخراج، محیطی قطبی ایجاد می‌کند که در آن برخی از ترکیبات فنولیک با درجه قطبیت پایین

به میزان کمتری استخراج می‌شوند. افزودن آب به حلال‌های آلی با تشکیل یک محیط به نسبت قطبی همراه می‌باشد؛ بنابراین از استخراج مقادیر و انواع بیشتری از ترکیبات فنولیک در این شرایط اطمینان حاصل می‌گردد (۳۲).

در مطالعه حاضر همبستگی خوبی بین مقدار ترکیبات پلی‌فنولی، توانایی احیاکنندگی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کل دیده شد. نتایج آزمون با سه آزمون دیگر متفاوت می‌باشد. با مقایسه مراحل رشد هر یک از وارسته‌های خرما (جدول ۲)، مشاهده می‌گردد که با رسیدن شدن خرما اثر ضد رادیکالی آن کاهش می‌یابد. این کاهش در وارسته حاج‌محمدی و کبکاب غیر معنی‌دار و در وارسته خاصی معنی‌دار می‌باشد.

رادیکال DPPH یک رادیکال پایدار می‌باشد و شباهتی با رادیکال‌های بسیار فعالی که در بدن تشکیل می‌شود، ندارد و بسیاری از ترکیبات که ممکن است با رادیکال‌های فعال به سرعت واکنش دهند، در برابر این رادیکال به کندی و یا حتی بی‌اثر هستند (۱۳).

در آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، وارسته کبکاب به طور معنی‌داری دارای آنتی‌اکسیدان کل بالاتری نسبت به دو وارسته دیگر می‌باشد. همچنین میزان قدرت احیاکنندگی و اثرات ضد رادیکالی عصاره‌ها با یکدیگر مقدار متفاوتی است. هرچند که تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان تحت تأثیر شرایط محیط می‌باشد، اما صفات فیزیولوژیک این وارسته‌ها بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد که سبب این تفاوت‌ها گردیده است (۲۸).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سه وارسته خرمای مورد بررسی، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی به نسبت مناسبی می‌باشند که طی فرایند رسیدن تا حدودی افزایش می‌یابند. آنچه اهمیت دارد این است که نتایج آزمایشگاهی نمی‌تواند بیان کاملی از آنچه که در درون بدن رخ خواهد داد، باشد. سرنوشت آنتی‌اکسیدان مورد

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد با شماره طرح NRC-۹۱۰۹ و به هزینه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز می باشد. بدین وسیله از مسؤولان این معاونت و از گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی سپاسگزاری می گردد.

بررسی در بدن، زمان ماندگاری، نوع اکسیدانی که بر آن عمل می کند، مکانیسم عمل آن در بدن و سایر اثرات فیزیولوژیک آن، در کنار نتایج آزمایشگاهی و با هم می توانند شناخت کاملی از یک آنتی اکسیدان با تمامی قابلیت ها و محدودیت ها ارائه دهند؛ بنابراین انجام آزمون های دیگر آنتی اکسیدانی و بررسی قدرت آنتی اکسیدانی خرما در درون بدن توصیه می گردد.

References

- Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63(7): 1035-42.
- Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 1987; 201(4359): 875-80.
- Shahidi F. Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. Urbana, Illinois: The American Oil Chemists Society; 1997.
- Onuh SN, Ukaejiofo EO, Achukwu PU, Ufelle SA, Okwuosa CN, Chukwuka CJ. Haemopoietic activity and effect of crude fruit extract of phoenix dactylifera on peripheral blood parameters. *Int J Biol Med Res* 2012; 3(2): 1720-3.
- Vayalil PK. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera* L. Areaceae). *J Agric Food Chem* 2002; 50(3): 610-7.
- Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M, Shahidi F. Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *J Agric Food Chem* 2005; 53(19): 7586-91.
- Al-Showiman SS, Ba Osman AA. Review on vitamins with special reference to dates. *Saudi Pharmaceutical Journal* 1999; 7: 173-91.
- Al-Farsi M, Alasalvar C, Al-Abid M, Al-Shoaily K, Al-Amry M, Al-Rawahy F. Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry* 2007; 104(3): 943-7.
- Boudries H, Kefalas P, Hornero-Méndez D. Carotenoid composition of Algerian date varieties (*Phoenix dactylifera*) at different edible maturation stages. *Food Chemistry* 2007; 101(4): 1372-7.
- Hong YJ, Tomas-Barberan FA, Kader AA, Mitchell AE. The flavonoid glycosides and procyanidin composition of Deglet Noor dates (*Phoenix dactylifera*). *J Agric Food Chem* 2006; 54(6): 2405-11.
- Salib JY. Flavonoid glycosides from fruit shells of phoenix dactylifera L. *Asian Journal of Chemistry* 2008; 20(2): 1593-8.
- Gupta AK, Misra N. Hepatoprotective activity of aqueous ethanolic extract of chamomile capitula in paracetamol intoxicated albino rats. *American Journal*

- of *Pharmacology and Toxicology* 2006; 1(1): 17-20.
13. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005; 53(10): 4290-302.
 14. Frankel EN, Meyer AS. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000; 80(13): 1925-41.
 15. Shahidi F, Wanasundara UN, Amarowicz R. Natural antioxidants from low-pungency mustard flour. *Food Research International* 1994; 27(5): 489-93.
 16. Allaith AAA. Antioxidant activity of Bahraini date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit of various cultivars. *International Journal of Food Science & Technology* 2008; 43(6): 1033-40.
 17. Sarhangi B. Survey and comparison of antioxidant activity of Behbahan Kabkab date palm (*Phoenix dactylifera*) in different Ripening stages [Thesis]. Ahvaz, Iran: Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences 2011. [In Persian].
 18. Samsam S, Moatar F. Herbal and natural medicine. Isfahan, Iran: Ruzbahan Publication; 1990. [In Persian].
 19. Woraratphoka J, Intarapichet KO, Indrapichate K. Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand. *Food Chemistry* 2007; 104(4): 1485-90.
 20. Yildirim A, Mavi A, Kara AA. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem* 2001; 49(8): 4083-9.
 21. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 1995; 28(1): 25-30.
 22. Haghirossadat F, Bernard F, Kalantar M, Sheikhha MH, Hokmollahi F, Azimzadeh M, et al. Bunium *Persicum* (Black Caraway) of Yazd province: Chemical assessment and Evaluation of its Antioxidant Effects. *J Shaheed Sadoughi Univ Med Sci* 2010; 18(3): 284-91. [In Persian].
 23. Ghaderi Ghahfarokhi M, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M, Azizi MH. Determination of Antiradical Activity, Reducing Power and Total Antioxidant Activity of Phenolic Extracts of Acorn Fruit (*Q.branti* var *persica*). *Journal of Food Research* 2011; 21(1): 93-104. [In Persian].
 24. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem* 1999; 269(2): 337-41.
 25. Ghaderi Ghahfarokhi M, Mamashloo S, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M. Evaluation of antioxidant activity, reducing power and free radical scavenging of different extract of *Artemisia annua* L. *Journal of Plant Science Researches* 2011; 6(1): 46-57. [In Persian].

26. Oliveira I, Sousa A, Ferreira IC, Bento A, Estevinho L, Pereira JA. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(7): 2326-31.
27. Faller ALK, Fialho E. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International* 2009; 42(1): 210-5.
28. Myhara RM, Al-Alawi A, Karkalas J, Taylor MS. Sensory and textural changes in maturing Omani dates. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2000; 80(15): 2181-5.
29. Pokorný J. Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology* 2007; 109(6): 629-42.
30. Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Baron M, Shahidi F. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *J Agric Food Chem* 2005; 53(19): 7592-9.
31. Burk DR, Cichacz ZA, Daskalova AM. Aqueous extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) inflorescences suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 murine macrophages. *Journal of Medicinal Plants Research* 2010; 4: 225-34.
32. Chirinos R, Campos P, Larondelle Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. *Separation and Purification Technology* 2007; 55(2): 9.

Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Activity of the Three Date Palm Varieties of Hajmohamadi, Kabkab, and Khasi (*Phoenix dactylifera* L.) in Different Ripening Stages

Masoud Veissi, M.Sc.¹, Shirin Amini, B.Sc.^{*2}, Mozhgan Noor Behbahani, B.Sc.³, Seyed Mahmoud Latifi, M.Sc.⁴

1. Lecturer, Nutritional and Metabolic Diseases Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2. M.Sc. Student, Department of Nutritional Sciences, School of Allied Medical Sciences, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3. Department of Biochemistry, School of Medicine, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4. Lecturer, Department of Biostatistics & Diabetes Research Center, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

* Corresponding author; E-mail: aminishirin83@yahoo.com

(Received: 19 June 2013

Accepted: 18 Dec. 2013)

Abstract

Background & Aims: Date palm fruit is one of the highly consumed foods with antioxidant compounds and high nutritive value in Iran. In this study, total phenolic compounds and antioxidant capacity of three varieties of date palm (Hajmohamadi, Kabkab, and Khasi) in three stages of ripening were investigated.

Methods: This was a laboratory study. Palm fruits of Hajmohamadi, Kabkab, and Khasi varieties in three stages of Khalal, Rotab, and Tamar were collected of Behbahan, Khuzestan province, Iran, in November 2012. Hydroalcoholic extracts were prepared by maceration method. Total phenolic content was measured by the Folin-Ciocalteu reagent. Ferric reducing antioxidant power (FRAP), diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) free-radical scavenging, and total antioxidant capacity tests were used to evaluate the antioxidant capacity of extracts.

Results: Phenolic compound content, ferric reducing power, and total antioxidant capacity increased in Hajmohamadi, Kabkab, and Khasi varieties during ripening. Increase in ferric reducing power was significant. The lowest DPPH test result (IC₅₀), in all three varieties during ripening, was observed in the date stage.

Conclusion: Ferric reducing power increases during ripening stages. Moreover, the DPPH radical scavenging capacity decreases in the three varieties of dates during ripening

Keywords: Date palm, Growth stages, Polyphenol compounds, Antioxidant capacity

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2014; 21(5): 426-436