● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست و یکم، شمارهٔ۵، ص۴۳۶-۴۲۶، ۱۳۹۳

مقالهٔ پژوهشی

مقایسه ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سه واریته خرمای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی در مراحل مختلف رسیدن

مسعود ویسی[۱]، شیرین امینی*[۲]، مژگان نوربهبهانی[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 (Diphenylpicrylhydrazyl یا DPPH) 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 خرمای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی در طی مراحل رسیدن افزایش یافت. افزایش در توانایی احیاکنندگی معنی‌دار بود. در روش DPPH، پایین‌ترین عدد IC۵۰ 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- مربی، 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 بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران ۴- مربی، گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور، اهواز، ایران

* نویسنده مسؤول، 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 می‌باشد، اما تحت شرایط خاصی می‌تواند 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 پلاکت‌ها می‌گردد که با بسیاری از اختلالات مزمن مانند سرطان، التهاب و آترواسکلروز ارتباط دارد (۳،۲).

آنتی‌اکسیدان‌ها با رادیکال‌های آزاد وارد واکنش می‌شوند و قبل از این‌که رادیکال‌ها به مولکول‌های حیاتی آسیب بزنند، به زنجیره واکنش‌های مخرب پایان می‌دهند. درخت خرما (Phoenix dactylifera) گیاهی از خانواده Arecaceae است (۴). میوه خرما حاوی ۸۰-۷۰ درصد کربوهیدرات (بیشتر فروکتوز و گلوکز) و ویتامین‌های C، گروه B و پیش‌ساز ویتامین A، همچنین حاوی کلسیم، منیزیم، فسفر، روی، آهن، پتاسیم، ید و مقدار کمی پروتئین و چربی است (۸-۵). علاوه بر این، از نظر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند کارتنوئیدها، پروآنتوسیانین، فلاونوئیدهای گلیکوزیدی از دسته فلاون‌ها، فلاونول‌ها (مثل لوتئین، کوئرسیتین) و چند ماده دیگر منبع خوبی است (۱۲-۹).

خرما از مواد غذایی بسیار پرمصرف خوراکی در ایران می‌باشد که استفاده غذایی، صنعتی و تجاری فراوانی از آن به عمل می‌آید. با توجه به این‌که عواملی از قبیل آب و هوا، خاک، ارتفاع و اختلاف در گونه‌های مختلف در میزان فنول، فلاونوئید تام و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند (۱۳) و از طرف دیگر، با توجه به این‌که اختلاف نظرهای عمیقی در آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد و در هر یک از روش‌ها اساس واکنش و نوع سوبسترای اکسید شونده متفاوت است؛ بنابراین یک آزمون به تنهایی توانایی نشان دادن تمام خصوصیات آنتی‌اکسیدان‌ها و اکسیدان‌ها را ندارد (۱۶-۱۴). برخی مطالعات گزارش کرده‌اند که بالاترین میزان ترکیبات پلی‌فنولی و توانایی احیاکنندگی به ترتیب مربوط به مراحل نارس بودن و سپس رطب (خرمای نرم و رسیده) و بعد مرحله تمر (میوه خشک شده خرما) می‌باشد (۱۷). در بررسی‌های دیگری مشاهده شده است که میزان ترکیبات پلی‌فنولی در طی رسیدن میوه خرما افزایش می‌یابد (۱۸).

با وجودی که خرما از میوه‌های محبوب و پرمصرف در بین مردم ایران می‌باشد، تاکنون مطالعه‌ای جامع در زمینه تغییرات ترکیبات فنولیک و تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی واریته‌های خرمای ایرانی طی رشد و رسیدن و با آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی انجام شده در این مطالعه، صورت نگرفته است. نتایج به دست آمده از سایر مطالعات نیز در بعضی موارد متناقض می‌باشد (۱۸، ۱۷). بنابراین مطالعه حاضر به منظور اندازه‌گیری و مقایسه مقدار کل ترکیبات فنولیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش‌های FRAP (Ferric reducing antioxidant power) و میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، در عصاره‌های هیدروالکلی میوه خرماهای خاصی و کبکاب و حاج‌محمدی 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 نام‌های حاج‌محمدی، خاصی و کبکاب، در شهریور سال ۱۳۹۱ در سه مرحله از رشد (خارک- رطب- خرما) جمع‌آوری و شناسایی گردید. سپس هسته آن‌ها جدا و قسمت گوشتی تا زمان آزمایش در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی مورد استفاده شامل فسفات سدیم (NaH_2PO_4) و (Na_2HPO_4)، معرف Folin-Ciocalteu، کربنات سدیم، اسید سولفوریک، متانول و کلرید آهن از شرکت Merck آلمان، اسید گالیک و فری‌سیانید پتاسیم از شرکت Sigmaaldrich آلمان، ۲ و ۲ دی‌فنیل ۱-پیکریل هیدرازین، آمونیوم مولیبدات و تری‌کلرواستیک 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 بوخنر (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).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

در کل برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Folin-Ciocalteu استفاده می‌شود. به ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد اضافه گردید و ۲ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. در پایان ۲ دقیقه، ۰/۱ میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر 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 حسب میلی‌گرم معادل اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه گزارش می‌شود (۲۰).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت احیاکنندگی (FRAP)

در این روش ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره خرما (۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر) با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH = ۶/۶ و M = ۰/۵) و ۲/۵ میلی‌لیتر فری‌سیانید پتاسیم (۱۰ گرم در لیتر) به طور کامل مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (۱۰۰ گرم در لیتر) به آن اضافه و مخلوط شد. این نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه توسط سانتریفوژ با سرعت ۱۷۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از آن ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر تهیه شد. ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در حضور متانول صفر گردید. ۳/۹ میلی‌لیتر از DPPH استوک ساخته شده در کوت شیشه‌ای (با قطر یک سانتی‌متر) ریخته شد و جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UNICO مدل UV-۲۱۰۰ در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد، سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره اضافه و جذب آن در ۵۱۵ نانومتر، ابتدا هر یک

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:

$$I = ۱۰۰ (A۰-As)/A۰ \text{ (درصد)}$$

در معادله مذکور، A۰ جذب نمونه شاهد (همه اجزای واکنش بدون نمونه) و As میزان جذب نمونه بود. نتایج به صورت IC۵۰ (غلظتی از عصاره که باعث مهار ۵۰ درصد رادیکال آزاد شود) بیان گردید (۲۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

این روش بر مبنای احیای مولیبدنوم VI به مولیبدنوم V توسط نمونه و تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفات مولیبدنوم در محیط اسیدی می‌باشد. ابتدا از عصاره‌های خشک شده، غلظت‌های ۱، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از هر یک از غلظت‌ها را در لوله آزمایش ریخته، یک میلی‌لیتر از محلول معرف (شامل اسیدسولفوریک ۰/۶ مولار + فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار + آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) به آن‌ها اضافه گردید و بعد از دربندی، به مدت ۹۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد 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 میلی‌لیتر محلول معرف و ۰/۱ میلی‌لیتر حلال متانول که در شرایط یکسان با بقیه نمونه‌ها انکوبه شد) خوانده شد (۲۴).

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

نتایج

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

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

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

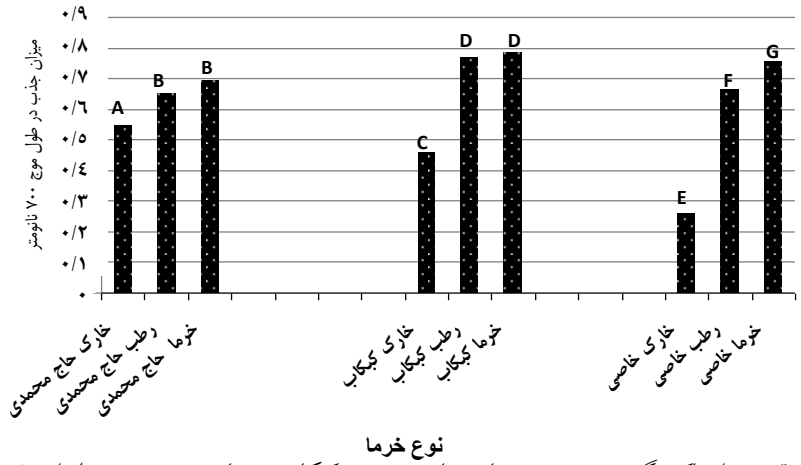
میزان قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها

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 خرمای حاج‌محمدی و کبکاب طی مرحله تبدیل خارک به رطب معنی‌دار ($P< ۰/۰۵۰$)، اما در مرحله تبدیل رطب به خرما غیرمعنی‌دار بود ($P> ۰/۶۶۶$). افزایش قدرت احیاکنندگی طی رسیدن خرمای خاصی در هر سه مرحله معنی‌دار به دست آمد ($P < ۰/۰۱۳$).

آزمون DPPH

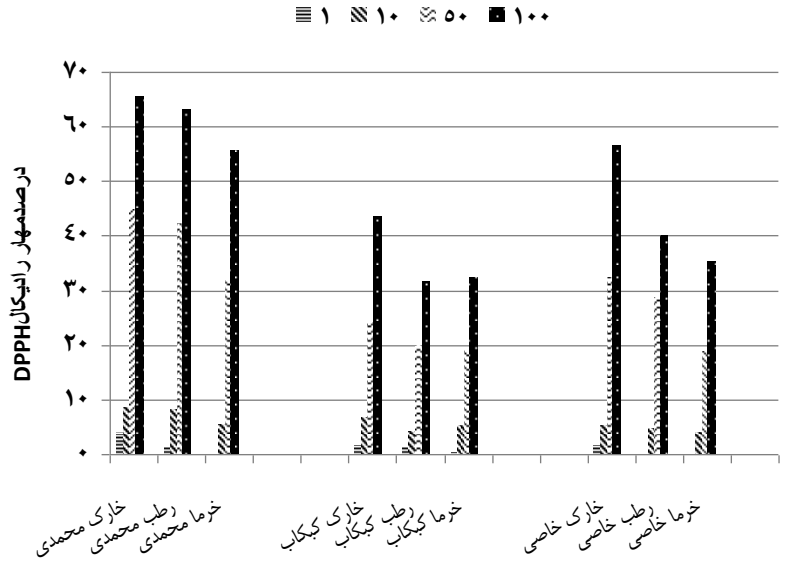
IC۵۰ بیانگر غلظتی از عصاره است که بـرای مهـار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH موردنیاز مـی‌باشـد. IC۵۰ کمتر نشان دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره مربوط می‌باشد. همان گونه که جدول ۲ نشان می‌دهد، در هر سـه واریته طی مراحل رشد و رسـیدن، میـزان مهـار رادیکـال DPPH کاهش می‌یابد.

نمودار ۲ بیان می‌کند که با افزایش غلظت، قدرت مهار رادیکال افزایش می‌یابد. توانایی مهار رادیکال DPPH در هر سه واریته در طی مراحل رشد کاهش می‌یابد. این کـاهش در دو واریته حاج‌محمدی و کبکاب معنی‌دار نبود، امـا در واریته خاصی و در مرحله خرمـا بـه طـور معنـی‌داری از خارک کمتر بود.



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



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)*

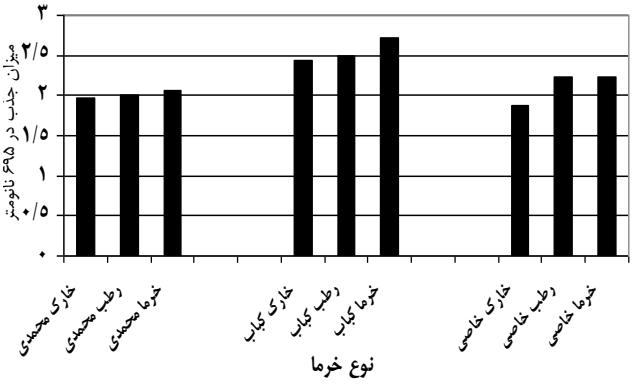
جدول ۲. *IC۵۰ و درصد مهار رادیکال DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) سه نمونه خرمای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی در سه مرحله از رشد (خارک- رطب- خرما)*

		مراحل رشد			P
	نوع خرما	خارک	رطب	خرما	
درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	حاج‌محمدی	۶۵/۱۶ ± ۰/۲۱	۶۳/۲۶ ± ۰/۰۴۴	۵۵/۶۶ ± ۰/۲۴	> ۰/۵۸۲
	کبکاب	۴۳/۶۰ ± ۰/۰۸	۳۱/۶۰ ± ۰/۰۲۵	۳۲/۳۰ ± ۰/۳۶	> ۰/۵۰۹
	خاصی	۵۶/۶۳ ± ۰/۱۴	۴۰/۰۰ ± ۰/۰۴۷	۳۵/۲۶ ± ۰/۰۷	۰/۰۰۸
IC۵۰	حاج‌محمدی	۳/۳۴۰	۳/۴۴۱	۳/۷۸۹	
	کبکاب	۴/۱۰۸	۵/۱۹۸	۵/۱۲۱	
	خاصی	۳/۵۹۶	۴/۲۰۶	۵/۲۳۹	

DPPH: Diphenylpicrylhydrazyl

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در عصاره‌ها

جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ به دلیل بالا بودن میزان آنتی‌اکسیدان، نمونه‌ها سیاه شدند و میزان آنتی‌اکسیدان کل در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قرائت شد. همان گونه که در نمودار ۳ مشاهده می‌گردد، تغییرات در هر واریته خرما طی سه مرحله از رشد معنی‌دار نبود (P> ۰/۰۵). کبکاب در هر سه مرحله خارک، رطب و خرما میزان آنتی‌اکسیدان کل بالاتری نسبت به دو نمونه دیگر داشت (P< ۰/۰۳۷).



نمودار ۳. *تغییرات میزان آنتی‌اکسیدان کل در سه نمونه خرمای حاج‌محمدی، کبکاب و خاصی*

غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در طی مراحل رسیدن (خارک- رطب- خرما)

بحث و نتیجه‌گیری

آزمایش‌های Folin-Ciocalteu، قدرت احیاکنندگی و اندازه‌گیری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کل بر سه نمونه خرمای مورد بررسی نشان داد که در هر سه واریته با رسیده شدن خرما، قدرت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد که تنها افزایش در قدرت احیاکنندگی معنی‌دار می‌باشد.

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

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

احیاکنندگی در هر سه واریته 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 رسیده شدن مورد بررسی قرار داد و مشاهده کرد که در طی رسیده شدن، 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 واریته‌های خرما (جدول ۲)، مشاهده می‌گردد که با رسیده شدن خرما اثر ضد رادیکالی آن کاهش می‌یابد. این کاهش در واریته حاج‌محمدی و کبکاب غیر معنی‌دار و در واریته 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، واریته کبکاب به طور معنی‌داری دارای آنتی‌اکسیدان کل بالاتری نسبت به دو واریته 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 واریته‌ها بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد که سبب این تفاوت‌ها گردیده است (۲۸).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سه واریته 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

بررسی در بدن، زمان ماندگاری، نوع اکسیدانی که بـر آن عمل می‌کند، مکانیسم عمل آن در بـدن و سـایر اثـرات فیزیولوژیک آن، در کنار نتـایج آزمایشـگاهی و بـا هـم می‌توانند شناخت کاملی از یک آنتی‌اکسـیدان بـا تمـامی قابلیت‌ها و محـدودیت‌هـا ارایـه دهنـد؛ بنـابراین انجـام آزمـون‌هـای دیگـر آنتـی‌اکسـیدانی و بررسـی قـدرت آنتی‌اکسیدانی خرما در درون بدن توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بـا شـماره طرح ۹۱۰۹–NRC و به هزینه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز می‌باشد. بدین‌وسیله از مسؤولان این معاونت و از گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63(7): 1035-42.
2. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 1987; 201(4359): 875-80.
3. Shahidi F. Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. Urbana, Illinois: The American Oil Chemists Society; 1997.
4. 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.
5. Vayalil PK. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (Phoenix dactylifera L. Arecaceae). *J Agric Food Chem* 2002; 50(3): 610-7.
6. 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.
7. Al-Showiman SS, Ba Osman AA. Review on vitamins with special reference to dates. *Saudi Pharmaceutical Journal* 1999; 7: 173-91.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Salib JY. Flavonoid glycosides from fruit shells of phoenix dactylifera L. *Asian Journal of Chemistry* 2008; 20(2): 1593-8.
12. 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. Servey and comparsion 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. Determmination of Antiradical Activity, Reducing Power and Total Antioxidant Activity of Phenolic Extracts of Acorn Fruit (Q.branti ver 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. Hydroalcholic 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