نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۳ شماره ۲/ سال ۱۳۹۲

تاثیر حرارت دهی و اسیدی کردن بر مقدار فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هسته‌ی خرما

مهدی جلالی جیوان*[1]، سعید صادقی[1]، اشکان مددلو[2] و محمدسعید یارمند[2]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/٤/۲۲

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
[2]استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
*مسئول مکاتبه:E-mail: jalali.j1@ut.ac.ir

چکیده

فنل‌ها از ترکیبات مفید هسته‌ی خرما هستند که معمولا فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نیز نشان می‌دهند. هدف این مطالعه بررسی تاثیر حرارت‌دهی و اسیدی کردن روی فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هسته‌ی خرما بود. میزان فنول کل با استفاده از معرف فولین - سیوکالتیو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقدار فنل کل، با افزایش دمای حرارت‌دهی (در گستره‌ی ۷۰ تا ۱۱۰ °C) و با افزایش زمان حرارت‌دهی (۱۰ تا ٤۰ دقیقه)، افزایش یافت. با افزایش زمان حرارت‌دهی، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز افزایش پیدا کرد. هرچند دیگر با کاهش مقدار pH در گستره‌ی ٦/۲۳ تا ۱/۵۱، مقدار فنل کل عصاره از ۱۵۸۲ به ۱۰٦۸ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک کاهش یافته و متعاقبا میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز کاهش یافت. نتایج بررسی اثر همزمان حرارت‌دهی و اسیدی کردن روی میزان ترکیبات فنلی کل نشان داد که اثر حرارت دهی در افزایش ترکیبات فنلی مشخص‌تر از اثر اسیدی کردن در کاهش میزان این ترکیبات است.

واژهای کلیدی: ترکیبات فنلی کل، حرارت‌دهی، اسیدی کردن، فعالیت آنتی اکسیدانی، عصاره‌ی هسته خرما

Effect of heating and acidification on total phenolic content and antioxidant activity of date palm pit extract

M Jalali Jivan[1*], S Sadeghi [1], A Madadlou[2] and MS Yarmand[2]

Received: April 16, 2012 Accepted: July 13, 2013
[1]MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[*]Corresponding author: E mail: jalali.j1@ut.ac.ir

Abstract
Phenolic compounds are useful ingredients of date palm pit and usually exert high antioxidant activity. The aim of present study was to investigate the effect of heating and acidification on total phenolic content and antioxidant activity of date palm pit extract by using the Folin–Ciocalteau and ABTS reagents, respectively. Results showed that total phenolic content increased with increasing the heating temperature (70–110 °C) and time (10–40 minutes). The palm pit extract treated at longer heating times exhibited higher antioxidant activity. However, acidification of pit extract from its inherent pH 6.23 to 1.51 led to a decrease in total phenols content from 1582 to 1068 mg gallic acid equivalent per 100 g dry weight. Acidification also caused a decrease in antioxidant activity. The results of simultaneous heating and acidification treatments showed that increasing influence of heating on total phenolic content was more effective than decreasing influence of acidification on phenols content.

Keywords: Date palm pit extract, Heat treatment, Acidification, Total phenolic content, Antioxidant activity

مقدمه

میوه‌ی خرما از قسمت گوشتی و هسته تشکیل شده است (اردکانی و همکاران ۲۰۱۰) و به صورت خشک و نیمه‌خشک در نقاط مختلف دنیا استفاده می‌شود (بس بس و همکاران ۲۰۰٤). ایران با تولید بیش از یک میلیون تن خرما در سال، بعد از مصر و عربستان سومین تولید کننده بزرگ خرما در جهان است (آمار سازمان خوار و بار جهانی ۲۰۱۱).

میوه‌ی خرما به دو شکل تازه خوری و فرآوری شده مورد استفاده قرار می‌گیرد و یا اینکه در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی بکار گرفته می‌شود. این محصول در طب سنتی به‌عنوان یک عامل مقوی و نیروزا محسوب شده و برای بهبود زخم معده استفاده می‌شود (القراوی و همکاران ۲۰۰۵). هسته‌ی خرما به طور میانگین ۱۰ – ۱۵٪ وزن میوه‌ی خرما را تشکیل داده (امانی و همکاران۲۰۱۲) و در بعضی موارد به عنوان خوراک دام استفاده می‌شود. در بسیاری از واحدهای فرآوری خرما مثل واحدهای تولید شیره‌ی خرما، قند خرما، تولید اسید سیتریک و الکل از خرما و تولید شیرینی‌های پایه‌ی گوشت خرما، هسته‌ی خرما به‌عنوان ضایعات به دست می‌آید (همدا و همکاران ۲۰۰۲). هسته‌ی خرما دارای ۸۱– ۸۳ ٪ کربوهیدرات، ٥– ٦/۳ ٪ پروتئین، ۱۰/۱۹ – ۱۲/٦۷ ٪ روغن و ۱ – ۱/٥ ٪ خاکستر است (بس بس و همکاران ۲۰۰۵). عصاره‌ی هسته‌ی خرما یک منبع غنی از پلی‌فنل‌ها و فیبرهای تغذیه‌ای است (بیگلری و همکاران ۲۰۰۸ و بسونی و

همکاران ۲۰۱۱) و دارای فعالیت آنتی اکسیدانی[1] بالایی است (سونگ و بارلو ۲۰۰٤ و باست وی و همکاران ۲۰۰۸). ترکیبات فنلی دارای توان کاهندگی بوده و نقش چشم‌گیری در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد در بدن دارند (جوانمردی و همکاران ۲۰۰۳). از اینرو غنی سازی مواد غذایی با این ترکیبات غذادارویی[2] می‌تواند یکی از راه‌های مناسب برای افزایش میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در بدن باشد که با توجه به افزایش میزان آگاهی مصرف‌کنندگان از اثرات نامطلوب پاداکسیدان‌های سنتزی تمایل به استفاده از پاداکسیدان‌های طبیعی رو به افزایش است (ال فارسی و همکاران ۲۰۰۸). گزارشاتی مبنی بر مفید بودن عصاره‌ی هسته‌ی خرما در پیشگیری و درمان بیماری‌های کبدی در موش‌ها نیز منتشر شده است (القراوی و همکاران ۲۰۰٤).

مراحل فرمول‌بندی و فراوری مواد غذایی معمولا شامل تیمارهای حرارتی در دماها و pH های مختلف است. از اینرو لازم است اثرات این تیمارها روی ترکیبات غذادارویی بررسی شود. ازیزا و همکاران در سال ۱۹۹۹ اثر گرمخانه گذاری در دماهای ۳۰-۹۰ درجه‌ی سلسیوس در مدت زمان دو ساعت را برای عصاره‌ی آبی گیاه کاکائو بررسی کردند و مشاهده نمودند که دماهای بالای ۵۰ درجه‌ی سلسیوس باعث کاهش معنی-داری در فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره می‌شود. همچنین عربشاهی و همکاران (۲۰۰۷) میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی آبی حاصل از سه گیاه درام استیک، برگ نعنا و هویج را تحت شرایط حرارت‌دهی در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس برای ۱۵ دقیقه در pHهای مختلف (٤ و۹) بررسی کردند و نتیجه گرفتند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های نعنا و هویج در pH ۹ دارای پایداری بالاتری نسبت به pH ٤ است در حالیکه در مورد عصاره‌ی گیاه درام استیک، pH اثر معنی‌داری روی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نداشت. با وجود مطالعات قابل توجه درباره‌ی عصاره‌های حاصل از گیاهان مختلف، تا به حال اثر حرارت دهی در شرایط اسیدی (مشابه آنچه که هنگام پاستوری کردن نوشیدنیهای میوه‌ای انجام می‌شود) روی عصاره‌ی هسته‌ی خرما بررسی نشده است. از اینرو هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر تیمارهای اسیدی و حرارت دهی روی مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی آبی هسته‌ی خرما جهت ارزیابی پتانسیل آن به‌عنوان منبع طبیعی ترکیبات آنتی اکسیدانی برای کاربردهای غذایی و دارویی است.

مواد و روش‌ها

مواد

میوه‌ی خرما رقم کبکاب از یکی از بازارهای محلی تهران خریداری شد. معرف فولین سیوکالتیو، ترولاکس (٦- هیدروکسی، ۲، ۵، ۷، ۸ – تترامتیل کرومان- ۲- کربوکسیلیک اسید) و اسید گالیک از شرکت مرک آلمان خریداری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی از کیت (شماره سی اس ۰۷۹۰) شرکت سیگمای امریکا استفاده شد. سایر مواد شیمیایی آزمایشگاهی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی هسته‌ی خرما

برای تهیه‌ی عصاره‌ی هسته‌ی خرما از روش شریعتی و همکاران (۱۳۸۹) با کمی تغییرات استفاده شد به این صورت که هسته‌های خرما بعد از شستشو و تمیز شدن، ابتدا در شرایط طبیعی و با استفاده از نور خورشید و سپس به منظور رسیدن به حد مطلوب خشک شدن، در دمای ۵۰ درجه‌ی سلسیوس برای ٤ ساعت خشک شده و سپس با استفاده از یک آسیاب چکشی آسیاب شدند. پودر حاصل از غربالی با قطر منافذ یک میلی‌متر عبور داده شد. در مرحله‌ی بعد، مقدار ۵۰ گرم از پودر هسته با یک لیتر آب داغ (۸۰

[1]- Antioxidant
[2]- Nutraceutical

درجه‌ی سلسیوس) دوبار تقطیر مخلوط شد و مخلوط حاصل به مدت ۷ ساعت در دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تکانیده شد تا عمل استخراج عصاره صورت گیرد. سپس عصاره‌ی حاصل با کاغذ واتمن شماره‌ی ٤ فیلتر شده و به‌منظور جلوگیری از فعالیت میکروبی ٥٠ میلی‌گرم در لیتر سدیم آزید به آن اضافه شد و تا زمان آنالیز در دمای ٤ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شد.

اندازه گیری مواد جامد کل و مواد جامد محلول در آب

برای اندازه‌گیری مقدار مواد جامد کل، مقدار ۱۰ گرم از عصاره در دمای ^{o}C ۱۰۵±۱ برای ٤ ساعت در آون (آون ترموستاتیک، انگلیس) تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. مواد جامد کل محلول در آب عصاره نیز با استفاده از رفراکتومتر (مدل تان بریج، انگلیس) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

برای اندازه‌گیری مقدار فنول کل از روش سینگیلتون و راسی (۱۹٦٥) با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو بااندکی اصلاح استفاده شد. به این صورت که مقدار ۳۰ میکرولیتر از عصاره به ۲۳۷۰ میکرولیتر آب دوبار تقطیر اضافه شد و سپس ۱٥۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالتیو به آن اضافه شد. سپس محلول بدست آمده برای هفت دقیقه در دمای اتاق به حال خود رها شد تا واکنش بین معرف و ترکیبات فنلی عصاره انجام گیرد. پس از مدت زمان مذکور، مقدار ٤٥۰ میکرولیتر محلول ۲۰ درصد بی‌کربنات‌سدیم به آن اضافه شد و محلول حاصل برای ۷۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و سپس مقدار جذب آن با استفاده اسپکتروفتومتر فرابنفش (سی سیل، مدل سی ای ۲٥۰۲، کمبریج، انگلیس) در ۷٦۰ نانومتر خوانده شد . در اندازه‌گیری فنل کل از اسید گالیک به‌عنوان استاندارد استفاده شد و مقدار ترکیبات فنلی کل بر اساس معادل میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک بیان می شود.

عصاره‌ی هسته‌ی خرما تحت تیمارهای مختلفی قرار گرفت. قسمتی از عصاره مستقیما و در همان pH اولیه (٦/۲۳) در دماهای ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ درجه‌ی سلسیوس و زمان‌های ٥، ۱۰، ۱٥، ۲۰، ٤۰، ٦۰ و ۸۰ دقیقه حرارت دهی شد. برای بررسی تاثیر اسیدی کردن، pH عصاره با افزودن اسید کلریدریک یک مولار به میزان چند میکرولیتر روی مقادیر ٦/۲۳ (مقدار اولیه)، ٥/۳۸، ٤/۲۳، ۳/۲۲، ۲/٥ و ۱/٥۱ تنظیم شده و در دمای اتاق نگهداری شد. همچنین مقداری از عصاره با درجات مختلف pH در دماهای ^{o}C ۷۰، ۸۰ و ۹۰ برای ۱۰، ۲۰ و ٤۰ دقیقه حرارت داده شد تا تاثیر تیمار حرارتی درشرایط اسیدی روی مقدار ترکیبات فنلی مورد بررسی قرار گیرد.

در تمامی مراحل انجام آزمایش برای اندازه‌گیری و کنترل pH از pH متر دیجیتال (مدل جی ال پی ۲۲، کرایسون، اسپانیا) استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس تشکیل رادیکال‌های ۲و′۲ – آزینو- بیس (۳- اتیل بنزتیازولین -٦- سولفونیک اسید)در حضور پراکسید هیدروژن و ظهور رنگ سبز در محلول (روشABTS) استوار بود. مقدار ۱۰ میکرولیتر عصاره و ۲۰ میکرولیتر از محلول کاری میوگلوبین با هم مخلوط شدند و ۱٥۰ میکرولیتر از محلول کاری ۲و′۲ – آزینو- بیس (۳- اتیل بنزوتیازولین -٦- سولفونیک اسید)به مجموعه اضافه شد پس از پنج دقیقه نگهداری در دمای محیط (۳۰ درجه‌ی سلسیوس)، به منظور توقف واکنش، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن افزوده شد و مقدار جذب با استفاده از یک اسپکتروفتومتر پلیت خوان (مدل ای ال ایکس ۸۰۰، ورمونت، ایالات متحده) در ٤۰٥ نانومتر خوانده شد. به عنوان استاندارد از ترولوکس که آنالوگ محلول در آب توکوفرول است استفاده شد. نتایج بصورت معادل توان آنتی اکسیدانی ترولوکس بیان می‌شوند.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی، بخشی از عصاره در pH اولیه‌اش در دمای ۹۰ درجه سلسیوس برای ۱۰، ۲۰ و ٤۰ درجه‌ی سلسیوس حرارت داده شد. همچنین pH عصاره روی ٦/۲۳، ۳/۸، ۲/۹ و ۱/۹ تنظیم شده و در دمای محیط نگهداری شد یا آنکه در ۹۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد.

اندازه‌گیری میزان پروتئین

هنگام اسیدی کردن عصاره، مقداری رسوب در عصاره تشکیل می شد. برای بررسی ماهیت این رسوب ، pH عصاره در گستره‌ی ۲-۷ تنظیم شده و برای تشکیل رسوب به مدت یک شب نگهداری شد. سپس عصاره با استفاده از فیلتر خلا صاف شده و محتوای پروتئین رسوب آن با اندازه گیری ازت توسط دستگاه کجلدال دیجیتالی (فاس، مدل ۲۳۰۰) و ضرب کردن مقدار ازت در عدد ٦/۲٥ تعیین شد. مقدار پروتئین رسوب تشکیل شده با مقدار پروتئین پودر هسته‌ی خرما مقایسه شد.

تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام گردید. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم-افزار SAS (نسخه‌ی ۹/۱) انجام گرفت و برای بررسی سطح معنی‌دار بودن اثر تیمارها، معادله‌ی رگرسیونی برای هر یک از تیمارها به دست آمد. مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و جدول ANOVA در سطح احتمال ٥٪ انجام گردید. تمامی نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم گردید.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی عصاره‌ی هسته‌ی خرما

نتایج حاصل از اندازه‌گیری ماده‌ی جامد کل و ماده‌ی جامد محلول عصاره نشان داد که بین این دو مقدار اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و مقدار آن‌ها به‌ترتیب ۰/٦٥ و ۰/٦ ٪ براساس وزن خشک می‌باشد. همچنین مقدار پروتئین رسوب و پودر هسته‌ی خرما به‌ترتیب ۳/٥ و ٦/۱ ٪ براساس وزن خشک بود که نشان می‌دهد بخشی از رسوب ایجاد شده در اثر اسیدی کردن عصاره، پروتئینی است.

مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی اولیه به‌ترتیب ۱٥۸۲ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک و ۱٥٤٥ میلی‌مولار ترولوکس در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. در تشابه با یافته‌های این مطالعه، شمس اردکانی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که مقدار فنل کل عصاره‌ی هسته‌ی رقم کبکاب ۱٦۹٤ میلی-گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود.

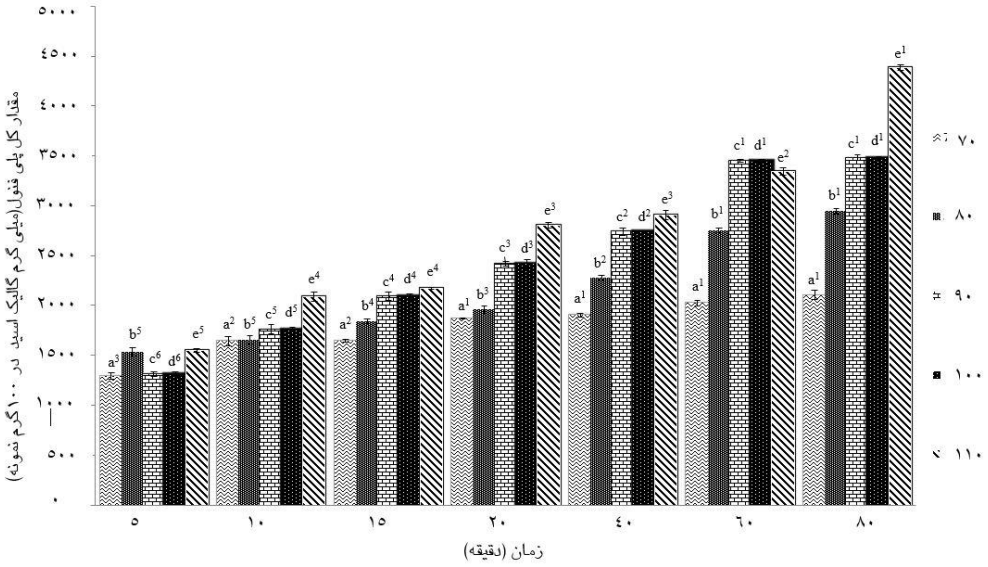
اثر حرارت دهی

اثر تیمار حرارتی بر مقدار فنل کل عصاره‌ی هسته‌ی خرما در pH اولیه‌ی آن در شکل ۱ آورده شده است. آشکار است که تیمار حرارتی باعث افزایش مقدار ترکیبات فنلی کل شده و هر چه که دمای حرارت‌دهی بالاتر بود مقدار ترکیبات فنلی کل عصاره نیز بیشتر بود. همچنین با افزایش مدت زمان حرارت‌دهی، میزان ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد که این مشاهده در تطابق با یافته‌های سونگ و بارلو (۲۰۰٤) در مورد مقدار پلی-فنل‌های پودر هسته‌ی مانگو است. احتمال داده می شود یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی در اثر حرارت دهی عصاره، تجزیه پلی‌فنل‌های سنگین وزن به انواع با وزن مولکولی کمتر باشد (کیم و همکاران ۲۰۰٦).

شایان توجه است که مقداری از ترکیبات فنلی خرما به صورت گلیکوزیدی و در اتصال با قندها هستند (پیگا و همکاران ۲۰۰۳ و الاسالوار و همکاران ۲۰۰٥). حدود یک سوم ترکیبات فنلی را در مواد گیاهی اسیدهای فنولیک تشکیل می‌دهند که از عمده‌ترین و شناخته شده‌ترین آن‌ها در هسته‌ی خرما می‌توان به پی- هیدروکسی بنزوئیک، پروتو- کاتوشوئیک و ام- کوماریک اسید نام برد که هم به شکل آزاد و هم به شکل ترکیب شده با سایر اجزا درهسته‌ی خرما وجود دارند (شهیدی و ناژک ۱۹۹٥). ترکیبات فنلی غیرآزاد، معمولا توسط پیوندهای کوالان در شکل‌های اتری شده، استری شده و استیله شده یافت می‌شوند (روبینز ۲۰۰۳). ممکن

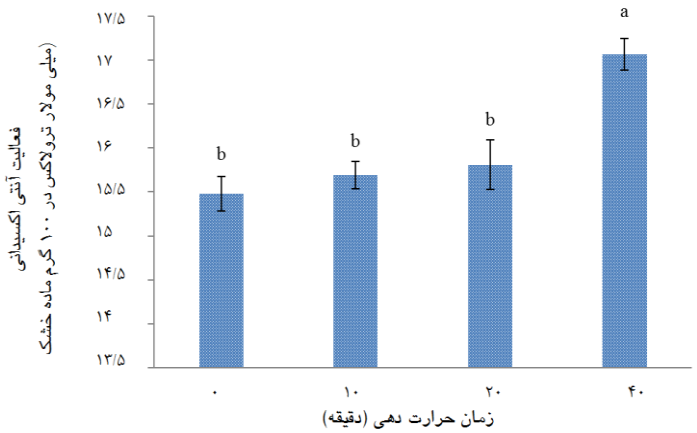
است ترکیبات فنلی، در اثر واکنش‌های غیرآنزیمی ناشی از حرارت دهی از پیش‌سازهایشان رها شده و از این‌رو مقدار آنها افزایش پیدا کند (فردمن و جرجنس ۲۰۰۰). به صورت مشابهی، در گذشته جهت آزاد کردن ترکیبات فنلی ترکیب شده و افزایش مقدار ترکیبات فنلی کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی پوست مرکبات از فرآیند حرارتی استفاده می شده است (سی اکمون و همکاران ۲۰۰٤).

شکل ۲ اثر حرارت دهی در ۹۰ درجه‌ی سلسیوس برای مدت زمان‌های مختلف را روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هسته‌ی خرما نشان می‌دهد. همانطور که از شکل پیداست با افزایش زمان حرارت‌دهی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته است.



شکل ۱- اثر دما و زمان حرارت دهی بر مقدار فنل کل

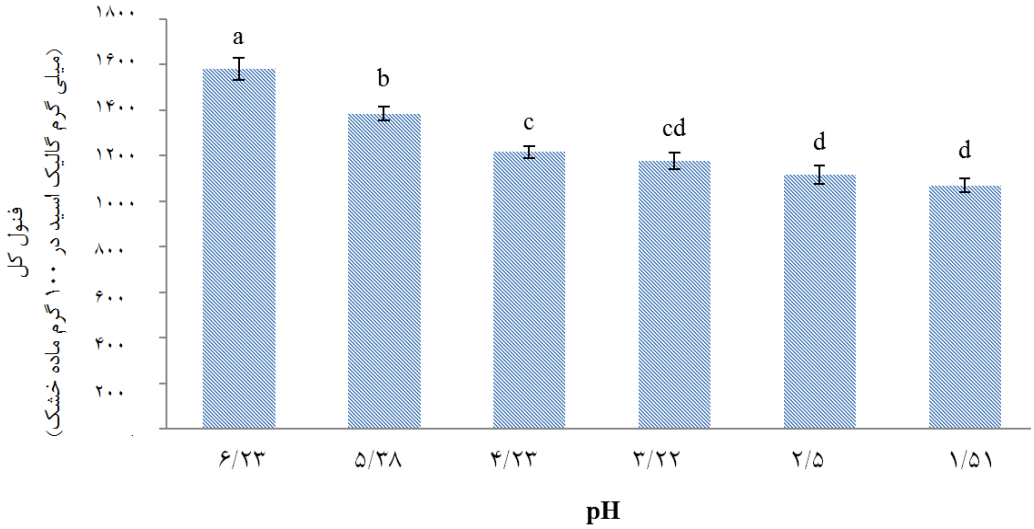
(هر حرف مربوط به یک تیمار حرارتی بوده و تفاوت در عدد حروف نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار بین نتایج در سطح پنج درصد می‌باشد)



شکل ۲- اثر زمان حرارت دهی در دمای ۹۰ درجه‌ی سلسیوس بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی

(ستون‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، فاقد تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد هستند)

افزایش مقدار فنل کل در اثر حرارت‌دهی عصاره می‌تواند دلیلی برای افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی باشد. ترکیبات فنلی می‌توانند به گروههای در معرض اکسیداسیون، هیدروژن یا الکترون بدهند و رادیکال خود این ترکیبات که در اثر هیدروژن دهی یا الکترون دهی ایجاد می شود، پایدار است از اینرو این ترکیبات توانایی بالایی از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی دارند (کوولییر و همکاران ۱۹۹۲). بنابراین، میزان ترکیبات فنلی می‌تواند به‌عنوان شاخصی مهم برای برآورد فعالیت آنتی اکسیدانی باشد و توجه به این نکته می‌تواند گیاهان دارویی را به‌عنوان منابع ترکیبات آنتی اکسیدانی در تولید داروهای با پایه‌ی گیاهی، غذاداروهای فومولە شده و غذاهای فراسودمند معرفی کند (لی یو و همکاران ۲۰۰۸). همچنین احتمال می‌رود که تشکیل ترکیبات پیچیده‌ی حاصل از واکنش مایلارد در اثر دماهای بالا، در افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های حرارت دیده بی‌تاثیر نباشد (نیکولی و همکاران ۱۹۹۹). نتایج حاصل از مطالعه‌ی ما در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های حرارت دیده،درراستای نتایج کیم و همکاران (۲۰۰۶) بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ی هسته‌ی انگور است. افزون بر اینها افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در اثر حرارت-دهی، ممکن است ناشی از باز شدن ساختار سوم پروتئین‌های موجود در آن در اثر واسرشته‌شدن (دناتوراسیون) جزئی آنها باشد. به اینترتیب میزان در دسترس بودن باقیمانده‌های اسید آمینه‌ای دارای زنجیره‌های جانبی سولفوردار (سیستئین و متیونین) یا آروماتیک (تریپتوفان، تیروزین و فنیل آلانین) که به راحتی پروتون آزاد می‌کنند افزایش پیدا می کند (الیاس و همکاران ۲۰۰۸).



شکل ۳ – اثر تیمار اسیدی کردن بر مقدار فنل کل

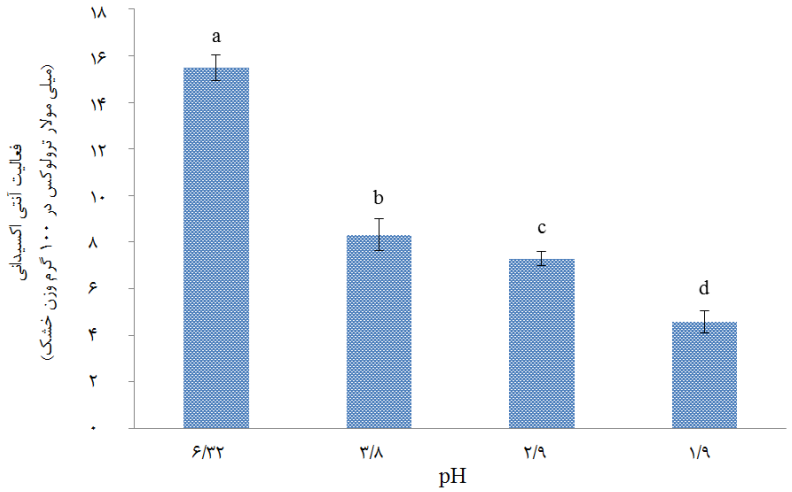
(ستون‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، فاقد تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد هستند)

اثر اسیدی کردن

شکل ۳ تاثیر pH های مختلف را روی مقدار ترکیبات فنلی کل در عصاره‌ی هسته‌ی خرما نشان می‌دهد. همانطور که در این شکل دیده می‌شود با کاهش مقدار pH، مقدار ترکیبات فنلی کل کاهش می‌یابد به این صورت که مقدار آن در pH اولیه (۶/۲۳) در بالاترین حد یعنی ۱۵۸۲ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک بوده و با کاهش مقدار pH، مقدار آن کاهش یافته و در pH برابر ۱/۵۱، به پایین‌ترین حد خود یعنی۱۰۶۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم وزن خشک رسیده است که علت این کاهش، پایین بودن میزان حلالیت بعضی از این ترکیبات در شرایط اسیدی و در نتیجه

رسوب آن‌ها در این شرایط می‌باشد (براوو ۱۹۹۸). نظر به اینکه بخشی از ترکیبات فنلی عصاره به‌صورت ترکیب با اجزای عصاره و از جمله ترکیب با پروتئین‌ها است از اینرو کاهش مقدار پروتئین عصاره در شرایط اسیدی-شده (بخش ۳-۱ را ببینید) می‌تواند با کاهش مقدار ترکیبات فنلی تحت این شرایط در ارتباط باشد.

همچنین در ادامه‌ی کار، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به-عنوان تابعی از pH عصاره مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج (شکل ٤) نشان می‌دهد که در اثر اسیدی کردن عصاره، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش می‌یابد که این نتایج در تطابق با نتایج حاصل از مطالعات انجام گرفته بر روی عصاره‌ی کاکائو (ازیزاه و همکاران ۱۹۹۹) در گستره‌ی pH ۳-۱۱ است.



شکل ۴- اثر تیمار اسیدی کردن بر فعالیت آنتی اکسیدانی

(ستون‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک، فاقد تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد هستند)

همچنین، عرب‌شاهی و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که با افزایش pH ، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره-های هویج و برگ نعنا به طور معنی‌داری افزایش یافت. از آنجا که فعالیت آنتی اکسیدانی، بیشتر مربوط به ترکیبات فنلی موجود در عصاره است (جوانمردی و همکاران ۲۰۰۳) از اینرو کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی در شرایط اسیدی می‌تواند با پایین بودن حلالیت بعضی از این ترکیبات در این شرایط و در نتیجه رسوب آن‌ها در ارتباط باشد. به احتمال، رسوب بخشی از پروتئین عصاره هنگام اسیدی کردن آن نیز در کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی موثر می‌باشد. شدت تفکیک شدن باقیمانده‌های اسید آمینه‌ای سولفوردار در اثر اسیدی کردن کاهش می یابد و نیز گروههای سولفیدریل با همدیگر درهمکنش کرده، پلهای دی‌سولفیدی می سازند. مجموع این پدیدها موجب کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در شرایط اسیدی شده است.

اثر حرارت دهی در شرایط اسیدی

برای بررسی اثر همزمان اسیدی کردن و تیمار حرارتی بر مقدار فنل کل، ابتدا pH عصاره روی مقادیر متفاوت (٦/٢٣، ٥/٣٨، ٤/٢٣، ٣/٢٢، ٢/٥ و ١/٥١) تنظیم شد و سپس نمونه‌ها در دماهای مختلف (۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه‌ی سلسیوس) برای مدت زمان‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ٤٠ دقیقه) حرارت داده شدند. نتایج در جدول ۱ گزارش شده‌اند. مشاهده می شود که در یک pHخاص، با افزایش دما و افزایش زمان حرارت‌دهی، مقدار ترکیبات

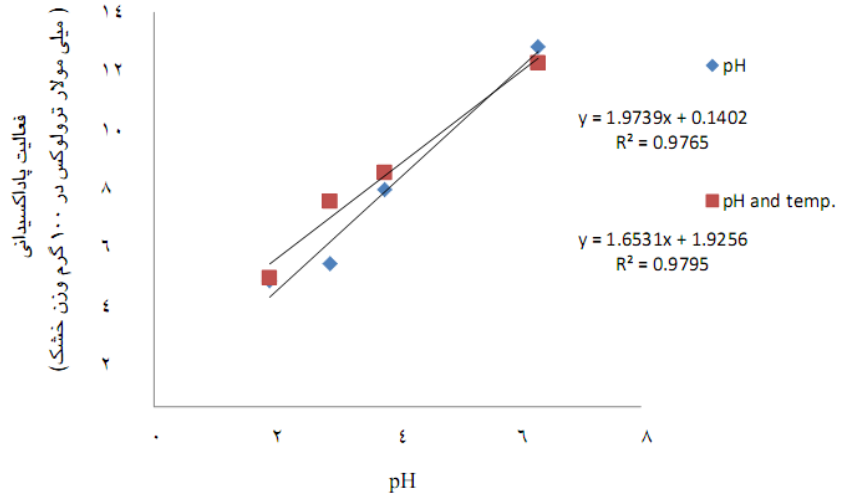
فنلی کل افزایش می‌یابد. ولی در یک دما و زمان معین، با کاهش pH، مقدار این ترکیبات کاهش می‌یابد.

جدول ۱- تاثیر همزمان تیمارهای اسیدی کردن، دما و زمان حرارت‌دهی بر فنل کل (میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک)

دما (درجه‌ی سلسیوس)	۷۰				۸۰				۹۰			
زمان (دقیقه)	۱۰	۲۰	۴۰	۱۰	۲۰	۴۰	۱۰	۲۰	۴۰
pH									
۶/۲۳	۱۶۹۶/۷±۷۵	۱۹۹۱/۷±۴۲	۲۶۷۴±۶۵	۱۸۴۹/۶±۸۱	۲۵۴۳/۳±۵۴	۲۷۶۷/۲±۷۲	۲۵۸۱/۵±۷۱	۲۵۹۲/۴±۶۰	۲۸۱۰/۹±۷۱
۵/۳۸	۱۵۷۸/۷±۴۴	۲۲۱۵±۵۹	۲۲۵۳±۷۱	۲۴۶۱±۵۵	۲۵۰۳/۸±۸۲	۲۶۱۴/۳±۹۸	۲۴۸۷±۵۶	۲۵۰۷/۱±۶۵	۲۷۰۳/۸±۷۴
۴/۲۳	۱۵۳۲/۹±۴۸	۲۲۲۴/۸±۸۳	۲۲۰۵±۶۳	۲۱۰۲±۳۷	۲۴۴۵±۴۷	۲۶۷۴/۴±۲۸	۲۱۲۲/۷±۸۲	۲۵۰۳/۴±۸۹	۲۶۷۸/۲±۸۵
۳/۲۲	۱۵۷۶/۶±۲۵	۲۰۹۵/۴±۳۹	۲۲۷۵±۶۶	۱۸۷۷±۷۴	۲۲۰۴/۳±۶۱	۲۲۹۶/۵±۲۸	۲۱۰۸/۳±۸۵	۲۳۷۴±۶۴	۲۵۴۳/۳±۴۱
۲/۵۰	۱۵۵۸/۵±۹۸	۱۹۱۵/۲±۵۴	۲۱۹۶±۸۰	۱۹۱۱/۸±۸۲	۲۱۵۵/۹±۷۴	۲۲۶۶/۸±۴۷	۲۰۱۹±۷۴	۲۲۴۲/۹±۵۴	۲۳۱۳/۹±۸۷
۱/۵۱	۱۵۲۴±۴۷	۱۸۱۶/۹±۵۱	۲۱۶۶±۵۹	۱۹۰۱/۶±۳۷	۲۱۳۲±۸۹	۲۲۷۴±۸۲	۲۰۰۵/۴±۵۹	۲۲۱۰/۱±۸۲	۲۲۳۷/۵±۳۲

از آنجا که اثر کاهش pH و افزایش دما، روی میزان ترکیبات فنلی کل در جهت عکس هم است از اینرو با در نظر گرفتن اثر همزمان این دو تیمار می‌توان نتیجه‌گیری کرد که حرارت‌دهی، نقش مشخص‌تری در افزایش میزان ترکیبات فنلی کل درمقایسه با تاثیر کاهشی اسیدی‌کردن **دارد**.

برای بررسی اثر حرارت دهی در شرایط اسیدی روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره، ابتدا pH نمونه‌ها را در مقادیر معین تنظیم کرده و سپس آن‌ها را در ۹۰ درجه‌ی سلسیوس برای مدت زمان ۱۰ دقیقه حرارت‌دهی کردیم. ضرایب معادله‌هایرگرسیونی بدست آمده (شکل ۵) نشان می‌دهد که شدت کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه-های اسیدی شده‌ی حرارت داده شده، پائین‌تر از نمونه-های اسیدی شده‌ای بود که تیمار حرارتی ندیده بودند. بنابراین، تاثیر اسیدی کردن که باعث کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره می‌شود در مقایسه با تاثیر حرارت که موجب افزایش این فعالیت می‌شود مشخص تر بوده است.



شکل ۵- مقایسه‌ی اثر تیمار اسیدی کردن با اثرتیمار اسیدی کردن و حرارت دهی بر فعالیت آنتی اکسیدانی

نتیجه‌گیری

عصاره‌ی هسته‌ی خرما یکی از منابع طبیعی مواد سودمند نظیر فنل‌ها است که اغلب دارای خاصیت آنتی اکسیدانی نیز هستند. افزایش دما و زمان حرارت‌دهی عصاره‌ی آبی هسته‌ی خرما در pH طبیعی آن (٦/٢٣)، موجب افزایش میزان فنل کل شد. همچنین افزایش زمان حرارت‌دهی، باعث افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شد.

اسیدی کردن عصاره نیز میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی آن را کاهش داد.

ایجاد رسوب در اثر اسیدی کردن عصاره، امکان افزودن مستقیم آن را به نوشیدنیهای اسیدی محدود کرده، نیاز به فناوری‌هایی نظیر درون پوشانی عصاره را برای محافظت در این شرایط نشان می دهد.

تقدیر و تشکر

از همکاری آزمایشگاه‌های شیمی و میکروب شناسی گروه صنایع غذایی دانشگاه تهران و آزمایشگاه مرجع سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به خاطر فراهم کردن تجهیزات و مواد مورد نیاز برای انجام این مطالعه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع مورد استفاده

شریعتی ا، پردلی ح، خادمیان آ و کیائی ا، ۱۳۸۹. بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره های میوه و هسته خرما علیه سویه های استافیلوکوکس اورئوس مقاوم. علوم غذایی و تغذیه، سال هفتم شماره٤. صفحات ٤٧-٤٤.

Alasalvar C, Al-farsi M, Morris A, Baron M, and Shahidi F, 2005. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date(phoenix dactylifera l) varieties grown in oman. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 7592 -7599.

Al-Farsi M A, and Lee C Y, 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. Food Chemistry 108: 977-985.

Al-Qarawi A A, Mousa H M, Hamed Ali B E, Abdel-Rahman H and El-Mougy S A, 2004. Protective effect of extracts from dates (phoenix dactylif era l) on carbon tetrachloride–induced hepatotoxicity in rats . International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine 2: 176 -180.

Amany MM B, Shaker M A, and Abeer AK, 2012. Antioxidant activities of date pits in a model meat system. International Food Research Journal 19(1): 223-227.

Al-Qarawi A, Abdel-Rahman H, Ali B, Mousa H, and El-Mougy S, 2005. The ameliorative effect of dates (phoenix dactylifera l) on ethanol-induced gastric ulcer in rats. Journal of Ethnopharmacology 98: 313 - 317.

Arabshahi S, Devi V, and Urooj A, 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extractsand their heat, pH and storage stability. Food Chemistry 100: 1100 - 1105.

Azizah A H, NikRuslawati N M, and Swee Tee T, 1999. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. Food Chemistry 64: 199-202.

Bastway Ahmed M, Hasona N A S, and Selemain H A H. 2008. Protective effects of extract from dates (phoenix dactylifera l) and ascorbic acid on thioacetamide-induced hepatotoxicity in rats. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 7: 193-201.

Besbes S, Blecker C, Deroanne C, Lognay G, Drira N E, and Attia H, 2004. Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. Food Chemistry 84: 577-584.

Besbes S, Blecker C, Deroanne C, Lognay G, Drira N E, and Attia H, 2005. Heating effects on some quality characteristics of date seed oil. Food Chemistry 91: 469 - 476.

Biglari F, AlKarkhi A F, and Mat Easa A, 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm(phoenix dactylifera) fruits from Iran. Food Chemistry 107: 1636 - 1641.

Bravo L, 1998. polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews 56: 317-333.

Cuvelier M E, Richard H, andBerset C, 1992. Comparison of the antioxidant activity of some acid phenols: structure activity relationship. Bioscience Biotechnology Biochemistry 56: 324 - 325.

Elias R, Kellerby S S, and Decker E A, 2008. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 48: 430- 441.

FAO, 2011: http://faostat.fao.org/site/567.

Friedman M, and Jurgens H S, 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 2101 - 2110.

Hamada J, Hashim I, and Sharif F, 2002. Preliminary analysis and potential uses of date pits in foods. Food Chemistry 76: 135 - 137.

Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, and Vivanco J, 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. FoodChemistry 83: 547 - 550.

Kim S Y, Jeong S M, Kim S J, Jeon K I, Park E, park H R, et al., 2006. Effect of Heat Treatment on the Antioxidative and Antigenotoxic Activity of Extracts from persimmon (Diospyros kakiL.) peel. Bioscience Biotechnological Biochemistry 70: 999 - 1002.

Kim S Y, Jeong S M, Park W P, Nam K C, Ahn D U, and Lee S C, 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. Food Chemistry 97: 472 - 479.

Liu H, Qiu N, Ding H, Yao R, 2008. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. Food Research International 41: 363 - 370.

Mohamed Basuny A M, and Al-Marzooq M A, 2011. Production of mayonnaise from date pit oil. Food and Nutrition Sciences 2: 938 - 943.

Nicoli M, Anese M, and Parpinel M, 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends in Food Science & Technology 10: 94 - 100.

Piga A, Del Carz A, and Cordan G, 2003. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 3675 -3681.

Robbins R J, 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 2866 - 2887.

Seok-Moon J, So-Young K, Dong-Ryul K, Seong-Chun J, Nam K C, Ahn D U, and Seung-Cheol L, 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 3389 - 3393.

Shahidi F and Naczk M, 1995. Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications. lancaster PA: Technomic Publishing Company Inc.

Shams Ardekani M R, Khanavi M, Hajimahmoodi M, Jahangiri M, and Hadjiakhoondi A, 2010. Comparison of antioxidant activity and total phenol contents of some date seed varieties from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 9: 141-146.

Singleton V L, and Rossi J A, 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic and phosphotungstic acid reagent. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144 - 158.

Soong Y Y, and Barlow P, 2004. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. Food Chemistry 88:411-417.