تعیین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه خرمالو

مرتضی محمدی[1*]، امیرحسین الهامی راد[2]، زهرا پورفلاح[1]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانش آموخته علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، سبزوار، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: mohamadi2003@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۱/۲/۳۱ پذیرش نهایی: ۹۱/۸/۲۱)

چکیده

با توجه به زیان‌های حاصل از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در صنایع غذایی، مطالعه و پژوهش برای یافتن جایگزین‌های طبیعی و سالم افزایش یافته است. در مطالعه حاضر، میزان ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در پوست خرمالو مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از حلال‌های اتانول و متانول با نسبت اختلاط ۱ واحد پوست و ۵ واحد حلال و به روش خیساندن برای استخراج عصاره استفاده گردید. سپس مقدار ترکیبات فنولی تام و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های اتانولی و متانولی به ترتیب دارای ۲۵۵/٦ و ۲٤۱/۱۵ میلی‌گرم گالیک اسید به ازای ۱۰۰ گرم پوست تازه میوه بودند. همچنین عصاره اتانولی نسبت به عصاره متانولی از قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: **ترکیبات فنولی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، خرمالو**

مقدمه

واژه آنتی‌اکسیدان، به گیرنده‌های رادیکال آزاد، ممانعت‌کننده‌های پراکسیداسیون لیپیدها و عوامل چلات کننده (Chelating agent)، نسبت داده می‌شود (Lee et al., 2003). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHA، BHT و پروپیل گالات در حال حاضر به فرآورده‌های غذایی، برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها اضافه می‌شوند. مطالعات نشان داده است که میوه‌ها، سبزی‌ها و ضایعات آنها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Sakanaka and Ishihara, 2008). پژوهش‌های انجام شده نشان داده است که ترکیبات فنولی (مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فنولیک اسیدها) باعث ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی فرآورده‌های گیاهی می‌باشند. این ترکیبات طبیعی اغلب در برابر رادیکال‌های آزاد مضر، از بدن محافظت کرده و به عنوان کاهش‌دهنده خطر انواع مختلفی از ناهنجاری‌ها، مانند سرطان، بیماری‌های قلبی

و عروقی، سکته‌ها و بیماری‌های تشدید شده به وسیله عوامل اکسیداتیو شناخته شده‌اند (Erasto et al., 2007). از طرفی مطالعات بسیاری نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، از جمله فنول‌ها قادرند که از اثر Low Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) جلوگیری کنند و در نتیجه باعث تأخیر در بروز بیماری‌های قلبی و عروقی شوند. همچنین مشخص شده است که این ترکیبات بدست آمده از منابع طبیعی، در جلوگیری و بهبود ناهنجاری‌های چربی خون بسیار کارآمد می‌باشند و با توجه به بالا رفتن سطح آگاهی مردم نسبت به اثرات سوء ناشی از مصرف دراز مدت آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، تقاضا برای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است (Yu et al., 2002; Gaziano, 1994; Kromhout et al., 2002; Park et al., 2006; Spiller, 1991).

درخت خرمالو بومی کشورهای آسیای جنوب شرقی مانند ژاپن، کره و چین می‌باشد. میوه خرمالو به صورت تازه و یا خشک‌شده مصرف شده و پوست درخت آن پس از دم کردن به عنوان یک نوشیدنی استفاده می‌شود (Sakanaka et al., 2005). از جمله ترکیبات تغذیه‌ای ارزشمند میوه خرمالو می‌توان به مواد معدنی، عناصر کم مقدار (Micromineral)، ترکیبات فنولی و فیبرهای محلول در آب اشاره کرد (Hertog et al., 1995). نتایج مطالعه‌ای که بر روی موش‌های مبتلا به کلسترول خون بالا انجام شد نشان داد که اضافه کردن خرمالو و یا سایر قسمت‌های آن به رژیم غذایی موش‌های مبتلا، باعث کاهش چربی خون آنها گردید (Gorinstein et al., 2000). میوه خرمالو معمولاً با مقدار بالایی از تانن‌ها شناخته می‌شود (Matsuo and Ito, 1978). تانن‌های خرمالو از انواع تانن فشرده یا پروآنتوسیانیدین می‌باشند که ساختار بسیار پیچیده‌ای داشته و از زیر واحدهای کاتچین (Catechin)، کاتچین۳-گالات (Catechin 3-gallate)، گالوکاتچین (Gallocatechin)، گالوکاتچین ۳-گالات (Gallocatechin 3-gallate)، با یک انتهای ناشناخته تشکیل شده است. محققان پیشنهاد نمودند که ساختار اصلی تانن خرمالو را لوکودلفینیدین (Leucodelphinidin) تشکیل می‌دهد. در واقع با وجود تحقیقات زیاد ساختار واقعی تانن خرمالو تاکنون به طور دقیق شناسایی نشده است (Andres, 2002; Matsuo and Ito, 1977 and 1978; Itoo and Monselise, 1986; Taira, 1996).

Mostofi و همکاران، میزان تانن‌های موجود در میوه خرمالو که باعث طعم گس آن می‌باشند را اندازه‌گیری نمودند (Mostofi et al., 2008). Khademi و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸، اثر محلول پاشی اتانول، بر کاهش طعم گس میوه خرمالو، پس از برداشت را بررسی نمودند (Khademi et al., 2008). در سال ۲۰۱۱ نیز تاثیر عصاره خرمالو، بر رفلکس گگ (Gag reflex) که نوعی احساس دهانی غیر ارادی در انسان به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر تحریکات حلق و گلو می‌باشد بررسی گردید (Shadmehr et al., 2011).

هدف از انجام این پژوهش، تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوست میوه خرمالو بود تا اینکه کاربرد آن در صنعت به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی معرفی گردد و آگاهی عمومی نسبت به پوست میوه خرمالو که اغلب دور ریخته می‌شود، در حالیکه می‌تواند خشک شده و به صورت‌های گوناگون مورد استفاده قرار گیرد، مشخص شود.

مواد و روش‌ها

مواد

میوه خرمالو کاملاً رسیده، از فروشگاه‌های تهران تهیه و عمل پوست‌گیری به صورتی انجام شد که ضخامت پوست‌ها در محدوده ۲ میلی‌متر باشد. پوست‌ها بلافاصله پس از جدا شدن، درون ظروف پلاستیکی درب‌دار ریخته و تا زمان مصرف در دمای ۱۸°C- مصرف نگه‌داری شدند. حلال‌های اتانول و متانول که در فرآیند استخراج مورد استفاده قرار گرفتند از شرکت مرک (Merck) تهیه شدند.

آنزیم‌بری (Blanching)

به خاطر وجود آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در پوست تازه خرمالو، یک مرحله عمل آنزیم‌بری قبل از عمل استخراج انجام شد. به اینصورت که پوست مخلوط شده با حلال، به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه، در بن‌ماری (Julabo, Type: ED F12) و دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس، آنزیم‌بری شد (Hai-Feng et al., 2008).

تهیه عصاره از پوست خرمالو به روش خیساندن (Maceration)

برای این منظور، از دو حلال آلی متانول و اتانول استفاده شد. به این‌صورت که پوست میوه خرمالو با نسبت اختلاط ۱:۵ (یک گرم پوست میوه خرمالو و پنج گرم از حلال‌های اتانول و متانول) در مدت زمان ۲٤ ساعت با حلال مورد نظر، درون ارلن مایرهای درب‌دار مخلوط شده و پس از قرار گرفتن بر روی هم‌زن مغناطیسی (VELP Scientifica, Type ARE) در دمای محیط، به وسیله حلال‌های آلی اتانول و متانول مورد استخراج قرار گرفت. پوست خرمالو قبل از اختلاط با حلال، به وسیله خردکن آزمایشگاهی کاملاً خرد گردید (Barros et al., 2007). پس از اتمام فرآیند استخراج، عصاره‌های بدست آمده به وسیله کاغذ صافی، صاف شده توسط تغلیظ‌کننده گردان تحت خلا (BUCHI: vacuum system B-169 and water bath B-480)، حلال از عصاره‌ها، تا حد نهایی توانائی سیستم، جدا شد و به پلیت‌های ۱۵ سانتی‌متری (به منظور کاهش زمان خشک شدن) منتقل و سپس پلیت‌ها درون آون خلا (Vacuum Oven Drying memmert, type: VO)، در دمای ٤۰°C رطوبت زدایی و کاملاً خشک شدند. پس از آن عصاره‌ها به وسیله چاقوی آزمایشگاهی از کف پلیت‌ها تراشیده شده و درون ظروف درب‌دار که توسط فویل آلومینیوم، برای جلوگیری از نفوذ نور، پوشانده شده بودند، در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل

الف- ترسیم منحنی کالیبراسیون با استفاده از گالی اسید

ابتدا غلظت‌های ۳۰، ۳۵، ٤۰، ٤۵، ۵۰ و ٦۰ppm از گالیک اسید در آب مقطر تهیه و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از هر غلظت به لوله‌های آزمایش منتقل شده و ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین‌سیوکالتو ده بار رقیق شده در آب مقطر، به لوله‌ها منتقل و در نهایت ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگه‌داری شد. در پایان جذب نمونه، در سل‌های ۱ سانتی‌متری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Visible Recording-Shimadzu 160 A) در طول موج ۷٦۵ نانومتر قرائت گردید. برای نمونه شاهد از ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. آزمون برای هر نقطه با سه تکرار انجام شد (Kukic et al., 2008).

ب- تعیین ترکیبات فنولی کل برای عصاره‌های استخراجی

غلظت مناسبی از عصاره، با استفاده از پودر عصاره در آب مقطر تهیه شد، بطوریکه جذب آن پس از تست

فولین، در محدوده نمودار استاندارد گالیک اسید قرار گیرد. در پایان مقدار کل ترکیبات فنولی بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در صد گرم پوست تازه خرمالو محاسبه گردید.

تعیین قدرت رادیکال‌گیرندگی (Radical Scavenging)

ابتدا محلول ۵۰۰μM از DPPH در متانول آماده گردید. غلظت‌های مختلفی از کاتشین به عنوان آنتی‌اکسیدان مرجع تهیه و ٤ میلی‌لیتر از هر غلظت به لوله‌های آزمایش درب‌دار فویل پیچ شده منتقل و با ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH مخلوط گردید. در پایان جذب محلول در طول موج ۵۱۷ nm قرائت گردید. برای نمونه شاهد از متانول استفاده شد. پس از آن غلظت‌های متفاوتی از عصاره‌های متانولی و اتانولی تهیه و مطابق روش فوق و با استفاده از فرمول زیر قدرت رادیکال‌گیرندگی محاسبه گردید.

$$\text{(Radical Scavenging Ability) } RSA\%=(A_{control} - A_{sample})/A_{control}\times 100$$

و در نهایت قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌ها و کاتشین با استفاده از پارامتر IC_{50} که برابر است با غلظتی از آنتی‌اکسیدان که باعث جذب ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط می‌شود، مورد مقایسه قرار گرفت (Kukic et al., 2008).

راندمان استخراج

راندمان استخراج عصاره‌های استخراجی با توجه به مقدار گرم پودر عصاره آنتی‌اکسیدانی بدست آمده در برابر، پوست میوه استفاده شده، در فرآیند عصاره‌گیری، با استفاده از فرمول زیر، محاسبه و نتایج بدست آمده برای حلال‌های مورد استفاده، با یکدیگر مقایسه گردید.

$$Y\%=PE\times 100/FM$$

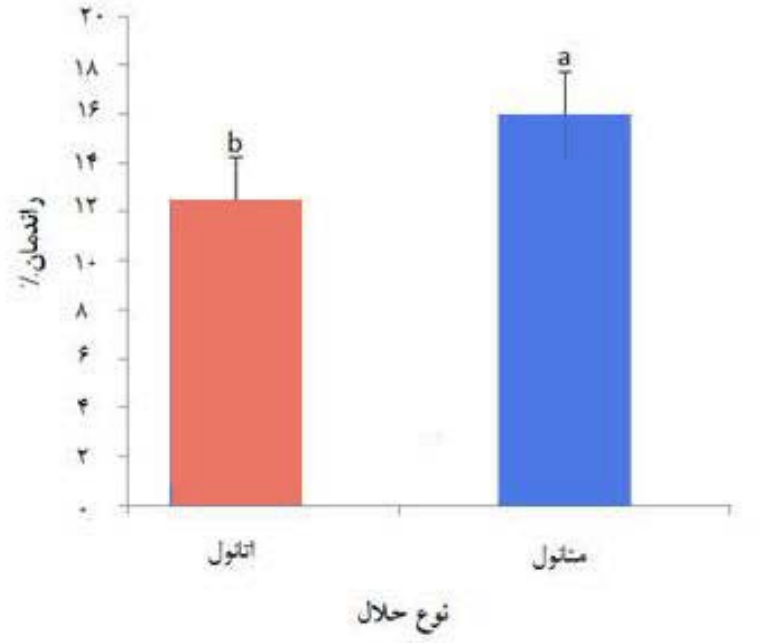
که در آن، Y% راندمان استخراج، PE مقدار پودر عصاره بر حسب گرم و FM مقدار پوست تازه میوه مورد استفاده برحسب گرم می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج بدست آمده برای مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های استخراجی و همچنین راندمان استخراج هرکدام از حلال‌های مورد استفاده، از آزمون t و نرم افزار SPSS نسخه ١٦ بهره گرفته شد و برای تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های استخراجی و نمونه استاندارد کاتچین، از جدول ANOVA در طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی در سطح معنی‌داری P<۰/۰۱ بهره گرفته شد. آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری Least Significant Difference(LSD) بین میانگین‌ها نیز انجام شد و برای این منظور از نرم افزار SAS استفاده شد.

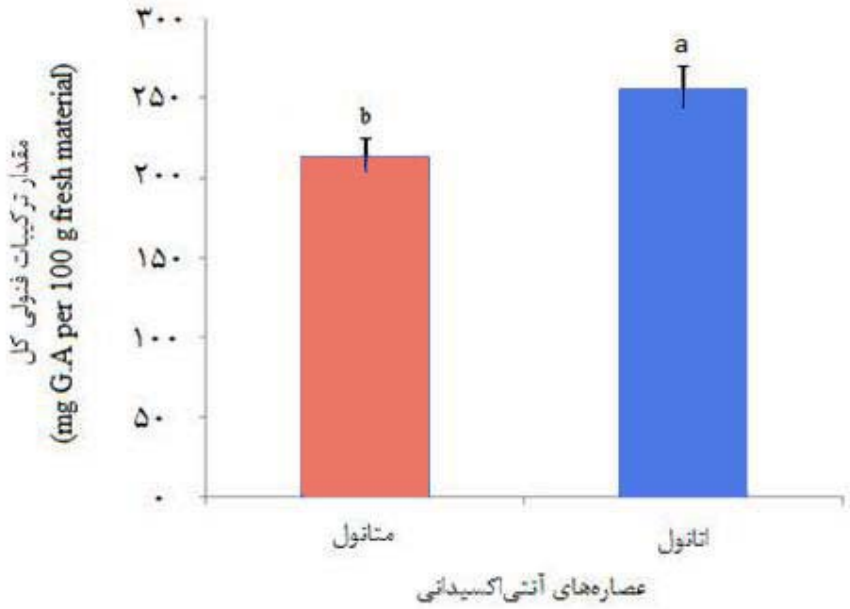
یافته‌ها

نتایج نشان داد که عصاره اتانولی از مقدار ترکیبات فنولی بیشتری نسبت به عصاره متانولی برخوردار بوده است (P<۰/۰۱). نتایج همچنین نشان داد که عصاره متانولی از راندمان استخراج بالاتری برخوردار بوده است.



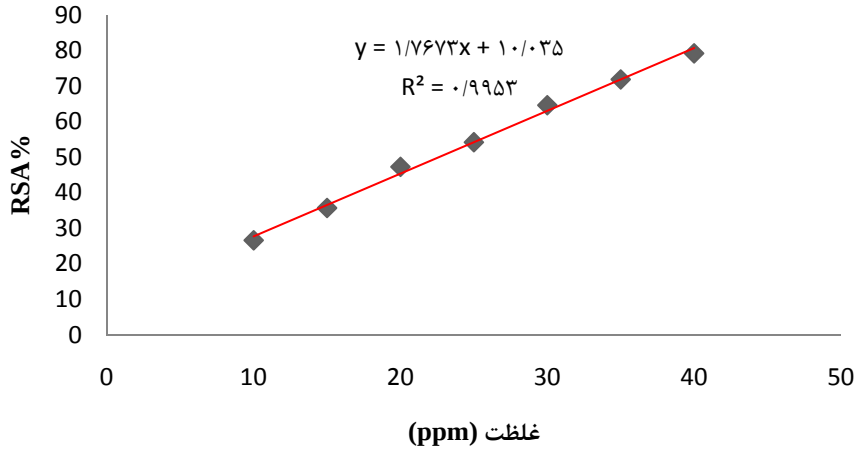
نمودار ۱: راندمان استخراج حلال‌های اتانول و متانول

نتایج مربوط به مقدار ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های اتانولی و متانولی پوست میوه خرمالو در نمودار زیر نشان داده شده است

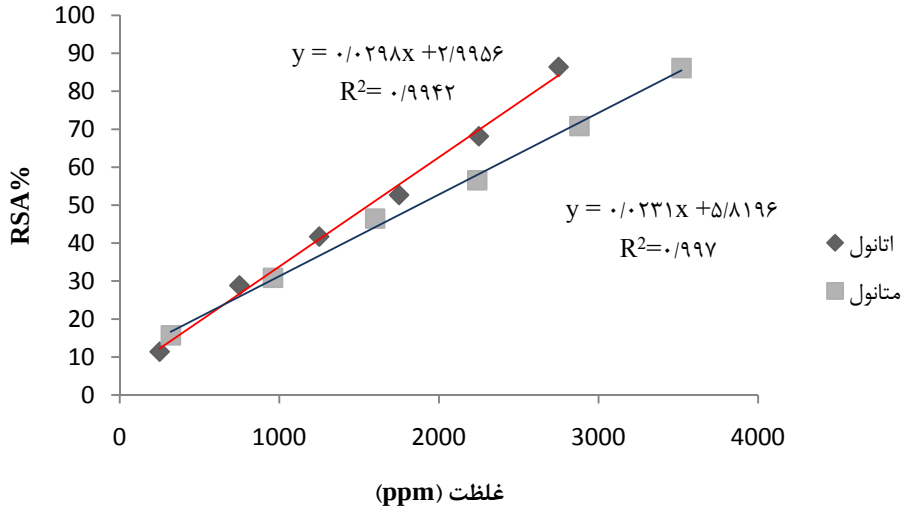


نمودار ۲: مقدار ترکیبات فنولی کل عصاره‌های اتانولی و متانولی

قدرت رادیکال‌گیرندگی به وسیله معرف رادیکال آزاد DPPH مورد آزمون قرار گرفت و برای این منظور نمودارهای استاندارد رادیکال‌گیرندگی برای کاتشین، به عنوان مرجع، (نمودار ۳)، عصاره اتانولی و عصاره متانولی (نمودار ٤) ترسیم و قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از پارامتر IC_{50} (جدول ۱) با یکدیگر مقایسه شد.



نمودار۳: نمودار استاندارد آزمون رادیکال‌گیرندگی کاتشین



نمودار۴: نمودار استاندارد آزمون رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های اتانولی و متانولی

جدول ۱: جدول آنالیز واریانس مربوط به پارامتر IC_{50}

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	معنی داری
آنتی‌اکسیدان	۲	٦۱۸٤۰۱۱/٤۰٦	۳۰۹۲۰۰۵/۷۰۳	۰/۰۰۰
خطا	٦	۲۵/۱۷۲	٤/۱۹۵	
مجموع	۸	٦۱۸٤۰۳٦/۵۷۸		

در جدول آنالیز واریانس (جدول ۱) می‌توان مشاهده نمود که نوع آنتی‌اکسیدان به کار رفته برای بررسی قدرت رادیکال‌گیرندگی، به عنوان یک متغیر ثابت، باعث ایجاد تغییرات معنی‌داری بر پارامتر IC_{50} شده است (P<۰/۰۱).

جدول ۲: IC_{50} عصاره‌های متانولی، اتانولی و کاتچین

	عصاره آنتی‌اکسیدانی		
	کاتچین	اتانول	متانول
IC_{50}	۲۲/۶۲[c]	۱۶۰۵/۸۹[b]	۱۹۱۵/۱۴[a]

a، b، c: اعداد دارای حروف غیرمشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (P< ۰/۰۱)

نتایج نشان می‌دهد که عصاره اتانولی بصورت معنی‌داری دارای قدرت رادیکال‌گیرندگی بالاتری نسبت به عصاره متانولی بوده است (P<۰/۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

در روش‌های سنتی استخراج ترکیبات فنولی، معمولا از حلال‌های آلی با قطبیت پایین، مانند اتانول و متانول استفاده می‌شود. با توجه به اینکه ترکیبات فنولی معمولاً ترکیباتی حجیم از نظر مولکولی و در نتیجه ترکیباتی با قطبیت کم می‌باشند لذا حلال‌های آلی دارای راندمان بالاتری در استخراج آنها می‌باشند. نتایج حاصل از استخراج عصاره‌ها حاکی از این بود که استفاده از حلال متانول دارای راندمان بالاتری برای استخراج، نسبت به اتانول بوده است که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال P<۰/۰۱ با یکدیگر داشتند (نمودار ۱).

ترکیبات فنولی دارای اثرات بیولوژیک بسیاری می‌باشند، از جمله این اثرات می‌توان به جلوگیری از اکسیداسیون و غیرفعال‌سازی رادیکال‌های آزاد اشاره نمود (Kahkonen et al., 1999). به منظور مقایسه اثر نوع حلال بر قدرت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی موجود در پوست میوه خرمالو از حلال‌های متانول و اتانول استفاده شد. معمولاً برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل از یک مرجع مانند گالیک اسید استفاده شده و مقدار ترکیبات فنولی را با ضریبی از گالیک اسید بیان می‌کنند و در این مطالعه مقدار ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های استخراجی با معادل میلی‌گرم گالیک اسید در صد گرم ماده اولیه تازه بیان گردید.

نمودار ۲ نشان می‌دهد که مقدار ترکیبات فنولی استخراج شده به وسیله اتانول بیشتر از متانول بوده است هرچند که راندمان عصاره‌گیری به وسیله متانول بیشتر از اتانول بود. دلیل چنین امری می‌تواند به خاطر قطبیت کمتر اتانول نسبت به متانول باشد. زیرا ترکیبات فنولی، ترکیباتی حجیم و با قطبیت پایین می‌باشند در نتیجه اتانول، که قطبیت کمتری نسبت به متانول دارد از قدرت بیشتری در استخراج این ترکیبات برخوردار است.

بررسی مطالعات سایر محققان که بر روی قدرت آنتی‌اکسیدانی منابع گیاهی مطالعه نموده‌اند نیز در مواردی نشان داد با اینکه راندمان استخراج متانول بیشتر از اتانول بوده است اما مقدار ترکیبات فنولی بیشتری در

عصاره اتانولی نسبت به عصاره متانولی مشاهده گردید. Khanavi و همکاران که در سال ۲۰۰۹ بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلفی از خانواده Lamiaceae مطالعه نمود بیان کرد که عصاره اتانولی از مقدار ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به عصاره متانولی برخوردار بوده است (Khanavi et al., 2009).

رادیکال‌های آزاد به طور مستمر مسئول ایجاد صدماتی در بافت‌های زنده به شمار می‌روند که در شرایط استرس، با قدرت بیشتری اثرگذاری می‌کنند. بسیاری از بیماری‌هایی که امروزه به جامعه بشری منسوب می‌شود، مانند بیماری‌های قلبی و عروقی، ناهنجاری‌های عصبی، سرطان و کاهش عمر، ناشی از استرس‌های اکتسابی از محیط می‌باشد. رادیکال آزاد از عوامل اصلی در بروز واکنش‌های اکسایشی روغن‌ها و چربی‌ها به شمار می‌روند (Aruoma, 1998).

رادیکال آزاد از عوامل اصلی در بروز واکنش‌های اکسایشی روغن‌ها و چربی‌ها و همچنین از عوامل ایجادکننده بیماری‌های قلبی و عروقی و انواع سرطان‌ها می‌باشند. از طرفی یکی از قابلیت‌های آنتی‌اکسیدان‌ها مهار یا غیرفعال کردن این رادیکال‌های آزاد می‌باشد. با توجه به افزایش ناراحتی‌های قلبی و عروقی، امروزه در مطالعه خواص پزشکی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، برای حذف رادیکال‌های آزاد، آزمون رادیکال‌گیرندگی با استفاده از رادیکال‌های آزاد مختلف انجام می‌شود که در این مطالعه از رادیکال آزاد DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) استفاده شد.

رادیکال DPPH یکی از مهمترین رادیکال‌های سنتزی برای بررسی خصوصیات رادیکال‌گیرندگی ترکیبات زیست فعال و عصاره‌های غذایی می‌باشد. این رادیکال از پایداری بیشتری نسبت به رادیکال‌های هیدروکسی و سوپراکسی برخوردار می‌باشد (Locatelli et al., 2010).

در این مطالعه خواص روبش رادیکال DPPH، با حداقل شش غلظت مختلف برای هر عصاره و با حداقل پنج تکرار برای هر غلظت بررسی گردید. نمودارهای ۳ و ٤ به ترتیب به آزمون رادیکال‌گیرندگی کاتشین، عصاره اتانولی و متانولی مربوط می‌شود. ضریب تبیین بسیار مناسب نمودارها حاکی از انجام دقیق آزمایشات بود. همانطور که در نمودار ٤ مشاهده می‌شود منحنی رادیکال‌گیرندگی عصاره متانولی از شیب کمتری نسبت به عصاره اتانولی برخوردار بود که نشان از قدرت بالاتر عصاره اتانولی در غیرفعال کردن رادیکال آزاد DPPH و زایل کردن رنگ بنفش آن به صورتی بود. با استفاده از معادله بدست آمده از نمودارهای استاندارد ترسیم‌شده برای هر کدام از عصاره‌ها و همچنین آنتی‌اکسیدان مرجع، قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌ها با هم و با کاتشین مقایسه گردید.

جدول ۱ نشان می‌دهد که عصاره‌های اتانولی و متانولی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با کاتشین دارند ($P<۰/۰۱$). باید توجه داشت که هر چه مقدار IC_{50} بیشتر باشد، قدرت رادیکال‌گیرندگی آنتی‌اکسیدان کمتر است. بنابراین کاتشین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان خالص، بیشترین قدرت رادیکال‌گیرندگی را داشت و ناخالصی‌های استخراج شده به وسیله اتانول و متانول باعث کاهش قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های پوست میوه خرمالو شد. همچنین در میان عصاره‌های استخراجی، عصاره اتانولی، نسبت به عصاره

متانولی، از غلظت مؤثر کمتری برای غیر فعال کردن ۵۰٪ از رادیکال‌های آزاد موجود در محیط برخوردار بود. با مقایسه نتیجه حاصل از تست رادیکال‌گیرندگی و اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل می‌توان مشاهده نمود که عصاره اتانولی که مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی را دارا بود، قدرت رادیکال‌گیرندگی بیشتری نیز داشت. در مطالعه‌ای که بر روی قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های آنتی‌اکسیدانی پوست فندق که به وسیله حلال‌های مختلفی مورد استخراج قرار گرفته بودند نیز مشخص شد که عصاره متانولی هر چند راندمان استخراج بالاتری نسبت به عصاره اتانولی داشت اما دارای ترکیبات فنولی و قدرت رادیکال‌گیرندگی کمتری نسبت به عصاره بدست آمده از حلال اتانول بود (Locatelli et al., 2010). همچنین Ghaderi Ghahfarokhi و همکارانش در بررسی خصوصیت آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌گیری گیاه موره نشان دادند که عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره متانولی و آبی دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنولی کل و نیز ترکیبات فلاونوئیدی بوده و نیز عصاره اتانولی فعالیت ضدرادیکالی بیشتری داشته و میزان IC_{50} عصاره متانولی در مقایسه با عصاره اتانولی بالاتر بوده است (Ghaderi Ghahfarokhi et al., 2011) که این نتیجه با نتایج بدست آمده در این مطالعه نیز مطابقت داشت. پژوهشگران IC_{50} عصاره‌های آبی و متانولی میوه خرما را به ترتیب ۷۶/۶۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ٤/٦٥ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیان نمودند (Siahpoosh et al., 2011). همچنین قدرت رادیکال‌گیرندگی برخی دیگر از منابع گیاهی به وسیله سایر پژوهشگران نیز مورد پژوهش قرار گرفت که از آن جمله می‌توان به مقدار IC_{50} نعناع، شاهی، گشنیز و ریحان اشاره نمود که در سال ۲۰۰۸ به وسیله Goli Movahed و همکارش به ترتیب ۲۱۹، ۳۲۹۵، ۵۰۳۹ و ٥٤٩٨ میکروگرم در میلی‌لیتر گزارش شد (Goli Movahed and Mehraban Sang Atash, 2008). از طرفی قدرت رادیکال‌گیرندگی برگ زیتون ۱۰٦/۰٦ میکروگرم در میلی‌لیتر (Rafiei et al., 2011)، توت سیاه هندی ۱٦۸ و چای ۲۲/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر (Banerjee et al., 2005)، عصاره اتانولی و متانولی بلوط به ترتیب ٦۱/۹۹ و ٤۹/٦٥ میکروگرم در میلی‌لیتر (Ghaderi Ghahfarokhi et al., 2011)، عصاره آبی، متانولی و اتانولی دانه سورگوم به ترتیب ۱۷/۱۱، ۱۷/٦٦ و ۱۸/۰۲ (Kamath et al., 2004) گزارش شد. با توجه به نتایجی که از پژوهش سایر محققان در مورد قدرت رادیکال‌گیرندگی دیگر منابع گیاهی حاوی ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی ارائه گردید می‌توان گفت که عصاره‌های اتانولی و متانولی پوست میوه خرمالو با مقادیری به تریب معادل ۱٦۰٥/۸۹ و ۱۹۱٥/۱٤ میکروگرم در میلی‌لیتر از قابلیت رادیکال‌گیرندگی نسبتاً مناسب اما نه چندان بالایی برخوردار بودند.

نتایج نشان داد که عصاره‌های متانولی و اتانولی پوست تازه میوه خرمالو حاوی ترکیبات فنولی با قابلیت رادیکال‌گیرندگی نسبتاً ضعیف‌تر، در مقایسه با کاتشین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان خالص می‌باشند. نتایج همچنین حاکی از این بود که عصاره اتانولی با داشتن راندمان استخراج پایین‌تر نسبت به عصاره متانولی، حاوی مقادیر بیشتری ترکیبات فنولی در هر ۱۰۰ گرم از پوست تازه میوه خرمالو بود. با مقایسه نمودارهای ترسیم شده برای قابلیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های

استخراجی مشخص شد که منحنی رادیکال گیرندگی عصاره‌های اتانولی بیشتر از منحنی رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های متانولی بود. در نهایت می‌توان اینگونه بیان نمود که قدرت رادیکال‌گیرندگی و مقدار ترکیبات فنولی کل با یکدیگر دارای همبستگی از نوع مثبت بودند.

منابع

- Anders, B. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins, Critical Reviews in Biology and medicine, 13: 184-196.
- Aruoma, O.I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. Journal of American Oil Chemistry Society, 75: 199-212.
- Banerjee, A., Dasgupta, N. and De, D. (2005). In vitro study of antioxidant activity of Syzygium cumini fruit. Food Chemistry, 90: 727-733.
- Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I.C.F.R. and Baptista, P. (2007). Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. Food Chemistry, 103:413-419.
- Erasto, P., Grierson, D.S. and Afolayan, A.J. (2007). Evaluation of antioxidant activity and the fatty acid profile of the leaves of Vernonia amygdalina growing in South Africa. Food Chemistry, 104: 636-642.
- Gaziano, J.M. (1994). Antioxidant vitamins and coronary artery disease risk. American Journal of Medicine, 97: 18S-21S, 22S-28S.
- Ghaderi Ghahfarokhi, M., Mamashloo, S., Sadeghi Mahoonak, A.R., Alami, M. (2011). Evaluation of antioxidant activity, reducing power and free radical scavenging of different extract of *Artemisia annua* L. Journal on Plant Science Researches, 1: 46-57[In Farsi].
- Goli Movahed, Gh.A. and Mehraban Sang Atash, M. (2008). Comparison of antioxidant and anti-radical properties of methanolic extracts of edible leafy vegetables. Journal of Medicinal Plants, 8(29): 64-71[In Farsi].
- Gorinstein, S., Kulasek, G., Bartnikowska, E., Leontowicz, M., Zemser, M., Morawiec, M. and Trakhtenberg, S. (2000). The effects of diets, supplemented with either whole persimmon or phenol-free persimmon, on rats fed cholesterol. Food Chemistry, 3: 303-308.
- Hai-Feng, G., Chun-Mei, L., Yu-juan, X., Wan-feng, H., Mei-hong, C. and Qiong-hong, W. (2008). Structural features and antioxidant activity of tannin from persimmon pulp. Food Research International, 4: 208-217.
- Hertog, M.G., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Finanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B. (1995). Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. Archive of Internal Medicine, 155(4): 381-386.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.L., Vurrela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 3954-3962.
- Kamath, V.G., Chandrashekar, A. and Rajini, P.S. (2004). Antiradical properties of sorghum (*Sorghum bicolor L. Moench*) flour extracts. Journal of Cereal Science, 40: 283-288.
- Khademi, O., Mostofi, Y., Zamani, Z.O. and Fatahi Moghadamm M.R. (2008). Effects of Postharvest Ethanol Application on Astringency Removal and Fruit Quality of Persimmon (*Diospyros kaki Thumb*). Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science, 12: 19-27[In Farsi].

- Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Cheraghi-Niroomand, M., Kargar, Z., Ajani, Y., Hadjiakhoondi, A. and Oveisi, M.R. (2009). Comparison of the antioxidant activity and total phenolic contents in some Stachys species. African Journal of Biotechnology, 8(6): 1143-1147.
- Kromhout, D., Menottim, A., Kesteloot, H. and Sans, S. (2002). Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: Evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. Circulation, 105: 893-898.
- Kukic, J., Popovic, V.N., Petrovic, S., Mucaji, P., Ciric, A., Stojkovi, D. and Sokovic, M. (2008). Antioxidant and antimicrobial activity of Cynaracardunculus extracts. Food Chemistry, 107: 861-868.
- Lee, J.C., Kim, J., Park, J.K., Chung, G.H, Jang, Y.S. (2003). The antioxidant, rather than prooxidant, activities of quercetin on normal cells: quercetin protects mouse thymocytes from glucose oxidase-mediated apoptosis. Exp. Cell Research, 291: 386-397.
- Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J.D., Martelli, A., Stevigny, C. and Arlorio, M. (2010). Analytical Methods Total antioxidant activity of hazelnut skin (*NocciolaPiemonte PGI*): Impact of different roasting conditions. Food Chemistry, 119:1647-1655.
- Matsuo, T. and Ito, S. (1977). Kaki tannin. J. Chem Biol. (Kagaku to Seibutsu), 15: 732-736[in Japanese].
- Matsuo, T. and Ito, S. (1978). The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki*). Agricultural and Biological Chemistry, 42: 1637-1643.
- Monselise, S.P. (1986). Handbook of Fruit Set and Development, CRC. Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Mostofi, Y., Zamani, Z., Fatahi Moghadam, M.R. and Khademi, O. (2008). Measurement of soluble tannins and evaluation of consumer acceptance of persimmon fruit cv. Karaj after deastringency treatments. Journal of Food Science and Technology, 5: 79-89[In Farsi].
- Park, Y.S., Jung, S.T., Kang, S.G., Delgado-Licon, E., Ayala, A.L.M., Tapia, M.S., Martin-Brlloso, O., Trakhtenberg, S. and Gorinstein, Sh. (2006). Drying of persimmons (*Diospyros kaki L*) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. LWT- Food Science and Technology, 39(7): 748-755.
- Rafiei, Z., Jafari, S.M., Alami, M. and Khomeiri, M. (2011). The antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. Researches in Food Science and Technology, 21(1): 11-23[In Farsi].
- Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. (2005). Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). Food Chemistry, 89: 569-575.
- Sakanaka, S. and Ishihara, Y. (2008). Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. Food Chemistry, 107: 739-744.
- Shadmehr, E., Hekmatian, E. and Asghari G. R. 2011. Effect of Diospyros kaki L. fruit extract on gag reflex. Journal of Herbal Drugs, 4: 1-6. [In Farsi]
- Siahpoosh, A., Gol Fakhrabadi, F. and Jorkesh, F. (2011). Determine and compare the antioxidant capacity of aqueous and methanol extracts of palm fruit Abadan varieties (*Phoenix dactylifera L*). Journal of Faculty of Medicine, 2(35): 81-86[In Farsi].
- Spiller, G.A. (1991). Health effects of Mediterranean diets and monounsaturated fats. Cereal Foods World, 36: 812-814.
- Taira, S. (1996). Astringency in Persimmon. In: "Modern Method of Plant Analysis, Fruit Analysis", Editors: Linskens, H.F. and Jackson, J.F. Springer-Verlang, Berlin, 18: 97-110.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. and Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 1619-1624.

Determination of total phenolic compound contents and antioxidant capacity of persimmon skin

Mohamadi, M.[1*], Elhami Rad, A.H.[2], Pourfallah, Z.[1]

1- Graduated of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
2- Assistant Professor of Food Science Department, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
[*]Corresponding author email: mohamadi2003@yahoo.com
(Received: 2012/5/20 Accepted: 2012/11/11)

Abstract

Due to the adverse side effects of synthetic antioxidants, the search for natural and safe antioxidants has become crucial. In this study, the total phenolic compound contents and antioxidants activity of persimmon skin was investigated. The extraction was carried out by means of maceration method using ethanol and methanol solvents with ratio of 1 part persimmon skin to 5 parts of solvents. Afterwards, the total phenolic compounds and antioxidants activity was measured. According to the results, ethanolic and methanolic extracts contained 255.6 and 214.15 mg gallic acid per 100 g of persimmon skin, respectively. Moreover, ethanolic extracts showed a higher activity for scavenging free radicals compared to methanolic extracts.

Key words: Phenolic compound, Antioxidant ability, Persimmon