

بررسی فعالیت ضد اکسایشی و ضد قارچ عصاره و پالپ ضایعات خرما (*Phoenix dactylifera* L.)

نوشین نوشیروانی¹، هادی فصیحی^{2,3}، الهام نور محمدی⁴، علی مرادی پیام⁵

1- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و منابع طبیعی تویسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
پست الکترونیکی: nooshin_noshirvani87@yahoo.com

2- دکتری بیوشیمی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان، ایران

3- گروه گیاهان دارویی و معطر، دانشگاه جامع علمی کاربردی، مرکز آموزش علمی کاربردی جهاد کشاورزی، همدان، ایران

4- دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

5- کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه جامع علمی کاربردی جهاد کشاورزی، همدان، ایران

تاریخ پذیرش: 95/9/20

تاریخ دریافت: 95/6/5

چکیده

سابقه و هدف: ایران به عنوان یکی از تولیدکنندگان مهم خرما در دنیا به شمار می‌رود. با توجه به اینکه خرما یک منبع غنی از ترکیبات پلی فنولی است، هدف از این پژوهش بررسی ویژگی‌های ضد اکسایشی و ضد قارچی پالپ و عصاره خرما حاصل از کارخانجات فرآوری خرما می‌باشد.

مواد و روش‌ها: عصاره متانولی پالپ خرما توسط روش سوکسله استخراج و به روش رنگ سنجی ارزیابی شد. همچنین، فعالیت ضد اکسایش عصاره با آزمون مهار رادیکال‌های آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. اثر سطوح مختلف پالپ و عصاره پالپ خرما بر روغن آفتابگردان با بررسی اعداد اسیدی، پراکسید و تیوباربیتریک در طول دوره 15 روزه نگهداری روغن در دمای 70°C مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت ضد قارچی عصاره و پالپ توسط روش دیسک انتشاری روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* ارزیابی شد.

یافته‌ها: مقدار کل ترکیبات فنولیک (میلی‌گرم گالیک اسید بر 100 گرم نمونه بر اساس وزن تر) و فلاوونوئیدی (میلی‌گرم کاتکین بر 100 گرم نمونه بر اساس وزن تر) پالپ و عصاره به ترتیب 414/72 و 304/18 و 28/62 و 20/72 بدست آمد. مقایسه داده های بدست آمده از آزمون بازدارندگی DPPH به صورت TBHQ < عصاره خرما < پالپ خرما بدست آمد و مقادیر EC₅₀ برای TBHQ، پالپ و عصاره پالپ به ترتیب 0/08، 3/5 و 1/1 میلی‌لیتر برآورد گردید. نتایج نشان داد افزودن پالپ و عصاره خرما به روغن در تمامی سطوح باعث کاهش عدد پراکسید و TBA نسبت به نمونه شاهد می‌شود. نتایج آزمون میکروبی اثر ضد قارچی عصاره بر کپک *آسپرژیلوس نایجر* را نشان داد.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش عصاره پالپ خرما را به عنوان یک منبع مقرون به صرفه غنی از ترکیبات پلی فنلی با فعالیت ضد اکسایشی و ضد قارچی معرفی می‌نماید.

واژگان کلیدی: اکسیداسیون، قدرت ضد اکسایشی، روغن آفتابگردان، عصاره خرما، فعالیت ضد قارچی

• مقدمه

استفاده از ترکیبات ضد اکساینده سنتزی نظیر بوتیلات هیدروکسی آنیزول (Butylated hydroxyanisole) BHA و بوتیلات هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluene) BHT و ترشیاری هیدروکینون (Ter-butyl hydroquinone) TBHQ به عنوان افزودنی در غذا می‌باشد (3).

روغن‌های خوراکی به دلیل دارا بودن محتوای بالای اسیدهای چرب به ویژه اسیدهای چرب غیر اشباع، حساس به اکسیداسیون می‌باشند (1). اکسیداسیون روغن با تولید ترکیبات عامل بوی بد با وزن مولکولی پایین همچنین با تخریب عوامل تغذیه‌ای و تولید ترکیبات سمی و دیمرها یا بسپارهایی از چربی‌ها و پروتئین‌ها قابلیت پذیرش غذا را کاهش می‌دهد (2). یکی از راه‌های غلبه بر اکسیداسیون

فنولی موجود در آن شامل پی کوماریک، فرولیک و سیناپیک اسیدها، فلاوونوئیدها و پروسیانیدین‌ها نسبت داده می‌شود (10). در مطالعه صورت گرفته توسط Al Farsi و همکاران (11) پروکاتچیک، وانیلیک، سینرژیک و فرولیک اسید، گالیک، کافئیک، پی کوماریک، فرولیک، پی هیدروکسی بنزوئیک به عنوان ترکیبات فنولی موجود در خرما معرفی شدند. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Besbes و همکاران (12) صورت پذیرفت ترکیبات فنولی روغن هسته خرما شامل 3 و 4 دی هیدروکسی فنلی استیک اسید، پروتوکاتچیک اسید، تیروزول، اسید گالیک، کافئیک اسید، p- کوماریک اسید و اولئوروپین گزارش شد. در کنار فعالیت ضد اکسایشی بسیاری از مطالعات فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی را نشان داده اند. به عنوان مثال Saleh و Otaibi (13) فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی میوه خرما را بر روی چند باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان دادند. اثر ضد میکروبی پلی فنول‌ها مربوط به اثر آن‌ها بر پروتئین‌ها و مهار آنزیم‌های ریزنده‌ها عنوان شد (13). در مطالعه ای دیگر El Sohaimy و همکاران (14) اثرات ضد میکروبی خرما مصری را بر روی باکتری‌های *اشرشیا کلی*، *سالمونلا اینتریکا*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اینتروکوکوس فوکالیس* نشان دادند.

پالپ خرما یکی از محصولات جانبی کارخانجات فرآوری خرما نظیر شیره و قند خرما بوده که پس از استحصال قند بدست می‌آید. از آنجایی که این محصول به عنوان یک محصول جانبی اغلب نادیده گرفته شده و یا به عنوان خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرد، استفاده صنعتی از آن می‌تواند منجر به ارزش افزائی به این فرآورده گردد. به عنوان مثال در مطالعه صورت گرفته توسط Mildner-Szkudlarz و همکاران (15) ضایعات کارخانجات تولید کننده نوشیدنی‌های انگور به عنوان منبع غنی از پلی فنول‌ها و آنتوسیانین‌ها با خاصیت ضد اکسایشی بالا برای پایدارسازی روغن کلزا مورد بررسی قرار گرفت. لذا در این پژوهش استخراج ترکیبات پلی فنولی پالپ خرما به عنوان یک محصول فرعی و ارزان قیمت و افزودن آن به روغن آفتابگردان و بررسی اثرات ضد اکسایش آن مورد توجه قرار گرفته است.

• مواد و روش‌ها

متانول، معرف فولین سیوکالتو (Folin ciocalteu)، معرف 2,2-diphenyl-1- DPPH) دی متیل پیکریل هیدرازیل (picrylhydrazyl)، سدیم بی کربنات، آلومینیم کلراید، پتاسیم استات، متانول، اتانول، کلروفرم، فنل فتالئین، سدیم

ترکیبات ضد اکسایش با اضافه شدن به غذا میزان تند شدگی را به حداقل رسانده، تشکیل ترکیبات سمی حاصل از اکسیداسیون را به تأخیر انداخته، کیفیت تغذیه‌ای را حفظ و زمان ماندگاری غذا را افزایش می‌دهند (4). به نظر می‌رسد استفاده از ترکیبات ضد اکسایشی سنتزی دارای اثرات سوء بر روی سلامت انسان بوده و بنابراین محدودیت‌های زیادی برای استفاده از آنها وجود داشته باشد. به علاوه این ترکیبات حلالیت کمی داشته و از فعالیت ضد اکسایشی متوسطی برخوردار می‌باشند (5). امروزه تمایل به جایگزینی ترکیبات ضد اکسایش سنتزی با طبیعی در صنعت غذا به دلیل سرطان زا بودن ترکیبات سنتزی افزایش یافته است. پلی فنول‌ها به عنوان ضد اکساینده‌های طبیعی به وفور در گیاهان یافت می‌شوند. فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات فنولی مربوط به خاصیت احیاء کنندگی آنهاست که به عنوان عوامل احیاء کننده با دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد فعال به عنوان یک ترکیب ضد اکسایشی عمل کرده و بنابراین از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند (6).

میوه خرما (*Phoenix dactylifera L.*) یکی از قدیمی ترین گیاهان کشت شده در زمین بوده و بخش مهمی از رژیم غذایی مردم نواحی خشک و نیمه خشک را شامل می‌شود. در سال 2012 میلادی میزان تولید خرما حدود 7/5 میلیون تن از 1/1 میلیون هکتار نخلستان با متوسط عملکردی معادل شش هزار و 834 کیلوگرم در هکتار اعلام شده است. کشور مصر بزرگ‌ترین تولیدکننده خرما در جهان با بیشترین میزان عملکرد و کشور الجزایر نیز دارای بیشترین سطح زیر کشت این محصول در دنیا گزارش شده است. ایران در مقام دوم تولید و سوم سطح زیر کشت خرما در جهان قرار دارد و متوسط عملکرد خرما ایران با متوسط عملکرد جهانی برابری می‌کند (7).

خرما به صورت روزانه مصرف شده و جزء مهمی از رژیم غذایی مردم بسیاری از نقاط جهان را تشکیل می‌دهد. مطالعات علمی اهمیت مواد غذایی نظیر خرما را در جلوگیری از بیماری‌های مختلف نظیر سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی به اثبات رسانده است. خرما غذایی با محتوای انرژی، قند، آهن، پتاسیم و ید بالا و منبع خوبی از ترکیبات ضد اکسایشی شناخته شده است. فعالیت ضد اکسایشی خرما بستگی به محتوای ترکیبات فنولی و ویتامین‌های سی و ای، کاروتنوئیدها و فلاوونوئیدها دارد (8). فعالیت ضد اکسایشی 22 واریته مختلف خرما توسط Al-Harrasi و همکاران (9) نشان داده شده است. فعالیت ضد اکسایشی خرما به ترکیبات

فنولی با استفاده از معادله خط رسم شده برای اسیدگالیک، بر مبنای اسید گالیک به صورت میلی گرم در گرم نمونه خشک بیان شد (17). برای هر تیمار سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین گزارش شد.

اندازه گیری ترکیبات فلاونوئیدی: اندازه گیری ترکیبات فلاونوئیدی توسط روش رنگ سنجی انجام شد. برای تجزیه کمی فلاونوئیدهای کل موجود در پالپ و عصاره، 0/5 میلی لیتر عصاره و پالپ رقیق شده (1 گرم از پالپ و عصاره توسط حلال متانول به حجم 10 میلی لیتر رسانده شد)، 1/5 میلی لیتر متانول، 0/1 میلی لیتر کلرید آلومینیم، 0/1 میلی لیتر استات پتاسیم و 2/8 میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده و توسط همزن مغناطیس در دور 500 (دور در دقیقه) واکنش به مدت 30 دقیقه در تاریکی همزده شد. سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب در طول موج 415 نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از معادله خط رسم شده برای کاتچین، بر مبنای کاتچین به صورت میلی گرم در گرم نمونه خشک بیان شد (17). برای هر تیمار سه تکرار انجام شد و نتایج به صورت میانگین گزارش شد.

قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH: قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH بر اساس بی رنگ شدن محلول متانولی ارغوانی رنگ ۲،۲ دی فنیل 1- پیکریل هیدرازیل تعیین می گردد. برای اندازه گیری قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH، غلظت های مختلفی (1 - 0/1 میلی گرم بر میلی لیتر) از عصاره و پالپ خرما و نیز ترکیب ضد اکساینده سنتزی TBHQ در حلال متانول تهیه شد. سپس 0/3 میلی لیتر از محلول های تهیه شده با 2/7 میلی لیتر محلول متانول حاوی معرف DPPH (غلظت 0/1 میلی مولار) مخلوط شد. مخلوط همزده شده و به مدت 60 دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس جذب در 517 نانومتر اندازه گیری گردیده و فعالیت به دام اندازی رادیکالی توسط معادله زیر محاسبه شد (18).

$$\text{DPPH} = \frac{100 \times \text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}}$$

درصد به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH

آماده سازی تیمارهای مختلف: به منظور بررسی اثر ضد اکسایش پالپ و همچنین عصاره تهیه شده از پالپ، آماده سازی تیمارهای مختلف به صورت زیر صورت پذیرفت. عصاره در 4 سطح 100، 250، 500 و 1000 میلی گرم بر لیتر (TE100، TE250، E500 و TE1000) و پالپ در دو سطح

هیدروکسید (سود)، اسید استیک، پتاسیم یدید، معرف نشاسته، پتاسیم تیوسولفات، بوتانول و 2- تیوباربتوریک اسید TBA (Thiobarbituric acid)، حلال دی متیل سولفوکساید DMSO (Dimethyl sulfoxide)، محیط کشت ساپرو دکستروز آگار SDA (Sabouraud Dextrose Agar) از نماینده شرکت مرک آلمان تهیه شد.

روغن نباتی آفتابگردان: روغن تصفیه و بوگیری شده آفتابگردان و عاری از ترکیبات ضد اکسایشی از شرکت صنعتی بهشهر تهیه شد.

پالپ خرما: پالپ خرما رقم کبکاب به عنوان ضایعات حاصل از تولید شیره خرما از کارخانه شیرین توشه بهاران (همدان) تهیه شد. سپس هسته از خرما جدا شده و پالپ حاصل به مدت 72 ساعت در دمای اتاق خشک شد. پالپ خشک شده توسط آسیاب به صورت پودر درآمده و در فریزر نگهداری شد.

تهیه عصاره پالپ خرما: عمل عصاره گیری پالپ خرما توسط حلال متانول و دستگاه سوکسله (Soxhlet 600 RDSX, Quick fit، انگلستان) صورت پذیرفت. بدین منظور 30 گرم پالپ خرما (خشک و آسیاب شده) در داخل کارتوش قرار داده شد. پانصد میلی لیتر متانول خالص در داخل دستگاه ریخته شده و عمل عصاره گیری در دمای 50°C به مدت 24 الی 72 ساعت صورت پذیرفت. پس از سپری شدن این مدت عصاره توسط دستگاه تبخیر کننده چرخان (HB4 Basic, IKA، آلمان) و تحت خلا تا حجم حدود 100 میلی لیتر تغلیظ شده و حلال اضافی تبخیر شد. سپس عصاره غلیظ شده در داخل پتری دیش ریخته شده و در زیر هود قرار داده شد تا متانول احتمالی باقی مانده تبخیر شده و عصاره عاری از حلال به دست آید. عصاره به دست آمده تا پایان آزمایش ها در ظرف شیشه ای قهوه ای رنگ و در دمای یخچال (4°C) نگهداری شد (16).

اندازه گیری ترکیبات فنولی: اندازه گیری فنول توسط روش رنگ سنجی و به وسیله معرف فولین سیوکالتو صورت گرفت برای آنالیز کمی پلی فنول های تام موجود در پالپ و عصاره پالپ، 100 میکرولیتر پالپ و عصاره رقیق شده (1 گرم از پالپ و عصاره توسط حلال متانول به حجم 10 میلی لیتر رسانده شد) با 0/75 میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. پس از 5 دقیقه 0/75 میلی لیتر محلول کربنات سدیم سیر شده به مخلوط افزوده شد. واکنش در محیط تاریک به مدت 90 دقیقه انجام گردید و سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Speccord 210, Analytik AG, Jena ساخت آلمان) جذب در طول موج 725 نانومتر خوانده شد. مقدار کل ترکیبات

سپس دیسک کاغذی استریل بر روی محیط کشت قرار داده شده و 15 میکرولیتر عصاره و پالپ خرما (رقیق شده توسط حلال دی متیل سولفوکساید با غلظت 1 mg/ml) بر روی دیسک کاغذی قرار گرفته و پس از پوشش دادن درزهای پلیت‌ها با پارافیلیم، در دمای 25 °C گرمخانه گذاری شد. فعالیت ضد میکروبی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد با خط کش دیجیتالی محاسبه شد. این آزمون برای هر تیمار در 3 تکرار صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: مقدار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره و پالپ در قالب طرح کاملاً تصادفی و در 3 تکرار بررسی شد. در بخش مربوط به ارزیابی اثر ضد اکسایشی عصاره‌ها در روغن آفتابگردان، بررسی اثر تیمارهای مختلف در طی زمان (صفر تا 15 روز) با استفاده از روش اندازه‌گیری تکرار شده در زمان و طرح اسپیلیت پلات و در سطح احتمال (p<0/01) انجام شد. نتایج به دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال (p<0/01) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS (V9.1) و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت.

• یافته‌ها

محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی: میزان ترکیبات فنول کل و فلاونوئیدها توسط رنگ‌سنجی نوری اندازه‌گیری و نتایج آن در جدول 1 آورده شده است. مقدار فنول عصاره و پالپ به ترتیب 414/72 و 28/62 میلی‌گرم گالیک اسید بر 100 گرم نمونه و مقدار فلاونوئید عصاره و پالپ به ترتیب 304/18 و 20/72 میلی‌گرم کاتچین بر 100 گرم نمونه بدست آمد. همچنین راندمان استخراج عصاره خرما در این پژوهش 7/14 % به دست آمد.

500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر (TP500 و TP1000) به روغن بوگیری شده فاقد ترکیبات ضد اکسایش اضافه شده و توسط دستگاه همزن مغناطیسی به مدت یک ساعت مخلوط شد. همچنین ترکیب ضد اکساینده سنتزی TBHQ در سطح 200 میلی‌گرم بر لیتر (TS) به روغن آفتابگردان فاقد ضد اکساینده اضافه شده و یک نمونه فاقد ترکیب ضد اکساینده به عنوان نمونه شاهد (T0) انتخاب شد. علت استفاده از روغن آفتابگردان به دلیل وجود مقادیر زیاد اسیدلینولئیک در آن و در نتیجه اکسایش سریع این روغن بود. تیمارهای تهیه شده به مدت 15 روز در 70 °C نگهداری شدند.

بررسی اثر ضد اکسایش عصاره و پالپ خرما در روغن آفتابگردان: بررسی اثر ضد اکسایش عصاره و پالپ خرما در روغن آفتابگردان توسط اندازه‌گیری عدد پراکسید (15)، عدد تیوباربیتریک اسید و عدد اسیدی (19) در طول دوره نگهداری در دمای 70 °C (روزهای 0، 5، 10 و 15) برای هر تیمار در 3 تکرار اندازه‌گیری شد.

بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره پالپ خرما: بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره پالپ خرما بر روی کپک آسپرژیلوس نایجر (PTCC5298) تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (تهران) توسط روش دیسک انتشاری (Disc diffusion) و به روش اکرمی مهاجری و همکاران (20) با کمی تغییر صورت پذیرفت. ابتدا سوبه کپک در محیط کشت سابرو دکستروز آگار کشت داده شده و در دمای 25 °C گرمخانه گذاری شد سپس اسپورها در سرم فیزیولوژیک همراه با محلول 0/1 % توپین 80 پخش شده و توسط لام نئوبار و میکروسکوپ نوری عمل شمارش اسپورها به غلظت 10⁶ اسپور بر میلی‌لیتر انجام شد. محیط کشت سابرو دکستروز آگار داخل پلیت‌ها ریخته شده و پس از جامد شدن محیط کشت، 100 میکرولیتر از سوسپانسیون کپک بر روی محیط کشت ریخته و توسط آنس استریل پخش شد.

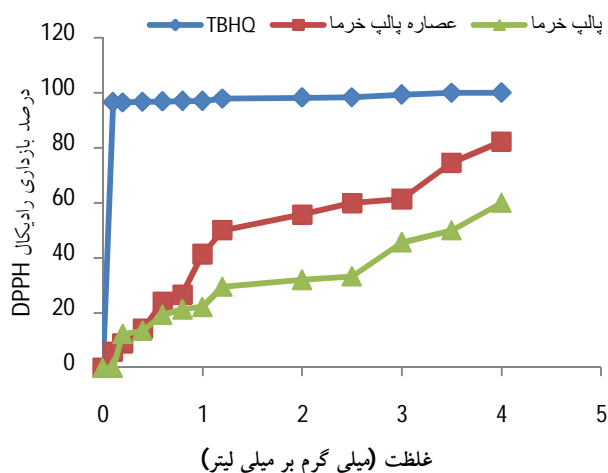
جدول 1. محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و EC₅₀ عصاره و پالپ خرما و TBHQ

| محتوای فنول (میلی‌گرم اسید گالیک بر 100 گرم نمونه) | محتوای فلاونوئید (میلی‌گرم کاتچین بر 100 گرم نمونه) | EC ₅₀ (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) |
|--|---|--|
| 414/72 ± 5/65 ^a | 304/18 ± 3/43 ^a | 1/1 ± 0/34 ^b |
| 28/62 ± 0/98 ^b | 20/72 ± 1/23 ^b | 3/5 ± 0/25 ^a |
| - | - | 0/08 ± 0/01 ^b |

حروف غیر مشابه در یک ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح 1% است.

تأثیر عصاره و پالپ خرما بر تغییرات عدد پراکسید: اثر متقابل تیمار و روز نگهداری بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان در دمای 70 °C از طریق اندازه‌گیری عدد پراکسید در شکل 2 نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان، تیمارهای اعمال شده و اثر متقابل زمان و تیمار بر تغییرات عدد پراکسید در سطح 1% معنی‌دار می‌باشد (جدول 2). مقایسه میانگین بین زمان‌های مورد بررسی نشان داد که بین هر 4 زمان اختلاف معنی‌دار وجود دارد. کمترین و بیشترین اندیس پراکسید به ترتیب در نمونه حاوی ترکیب ضد اکسایش TBHQ (TS) و نمونه شاهد (T0) مشاهده شد. تأثیر نوع تیمار (استفاده از عصاره و پالپ خرما) بر اندیس پراکسید نشان داد که استفاده از پالپ خرما در 2 سطح 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عدد پراکسید کمتری نسبت به نمونه شاهد داشته ولی نسبت به سایر نمونه‌ها اثر کمتری در کنترل اکسیداسیون داشت. به طور کلی با افزایش غلظت عصاره از 100 به 1000 میلی‌گرم بر لیتر، عدد پراکسید به صورت منظم کاهش یافت که این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم میان افزایش غلظت عصاره و کاهش عدد پراکسید بود.

مهار رادیکال DPPH: قدرت مهار رادیکال DPPH برای غلظت‌های مختلف عصاره و پالپ خرما و TBHQ در شکل 1 و داده‌های مربوط به EC₅₀ در جدول 1 نشان داده شده است. با توجه به نتایج، قدرت ضد اکسایش برای TBHQ بالاتر از عصاره پالپ خرما و آن نیز بالاتر از پالپ خرما می‌باشد.

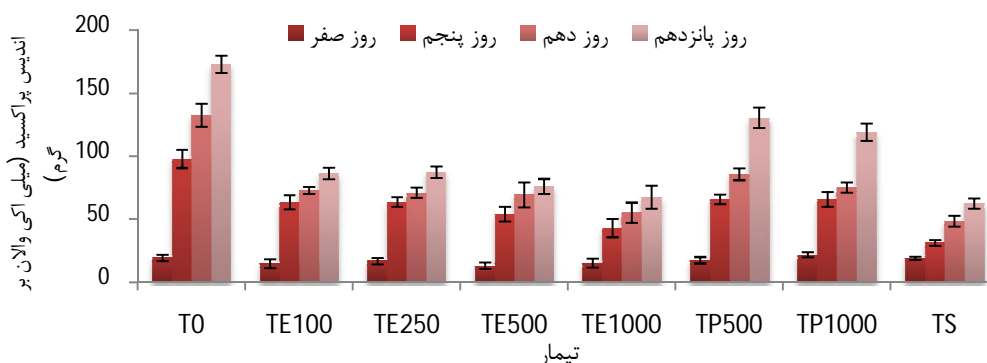


شکل 1. اثر مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره و پالپ خرما و آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بر رادیکال آزاد DPPH

جدول 2. آنالیز واریانس اثر ترکیبات مختلف بر عدد اسیدی، عدد پراکسید و عدد تیوباربیتریک اسید روغن آفتابگردان

| MS | | | درجه آزادی | منابع تغییرات (SOV) |
|-----------------------|-------------|-----------|------------|---------------------|
| عدد تیوباربیتریک اسید | عدد پراکسید | عدد اسیدی | | |
| 1/98 | 0/4113 | 0/000063 | 2 | تکرار (R) |
| 598906/17** | 98630/973** | 0/7766** | 3 | تیمار (T) |
| 0/9760 | 0/7443 | 0/000253 | 6 | روز*تکرار |
| 534190/06** | 5418/813** | 0/4369 | 7 | تیمار |
| 8913/13 | 3917/42** | 0/3171** | 21 | تکرار*روز |
| 0/8788 | 1/9007 | 0/000017 | 14 | تیمار*تکرار |
| 0/7309 | 0/9163 | 0/00081 | 42 | خطا |
| 0/77 | 1/51 | 4/31 | | (CV%) ضریب تغییرات |

**معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد



شکل 2. مقایسه میانگین عدد پراکسید در زمان‌های مختلف

(T0: نمونه شاهد (روغن عاری از ترکیب ضد اکسایش)، TS: روغن حاوی ترکیب ضد اکسایش TBHQ، روغن حاوی 100، 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره پالپ خرما (TE100، TE250، TE500، TE1000) و روغن حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر پالپ خرما (TP500 و TP1000) در طول دوره نگهداری. میانگین اعداد پراکسید در مجموع روزهای صفر، پنجم، دهم و پانزدهم برای هر تیمار در سه تکرار (حروف غیر مشابه در ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 0/01 می‌باشند).

لیتر عصاره پالپ خرما کمترین عدد TBA را نشان دادند (جدول 3).

عدد اسیدی: تغییر در اندیس اسیدی نمونه شاهد، عصاره و پالپ خرما در طی پانزده روز در جدول 4 نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر زمان، تیمارهای اعمال شده و اثر متقابل زمان و تیمار بر تغییرات عدد اسیدی در سطح 1 درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول 2). مقایسه میانگین اعداد اسیدی نشان داد که تغییرات عدد اسیدی در بین تیمارهای مختلف از روند منظمی برخوردار نمی‌باشد.

تغییرات عدد تیوباریتوریک اسید (TBA): بر اساس نتایج آنالیز واریانس با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر اندیس TBA به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0/15$). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان، تیمارهای اعمال شده و اثر متقابل زمان در تیمار روی تغییرات عدد پراکسید در سطح 1 درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول 2). آنالیز آماری نشان داد که بین عدد TBA نمونه‌ها در روزهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشته است ($p < 0/05$). مقایسه میانگین اعداد TBA در دوره 15 روزه نگهداری نشان داد، نمونه شاهد بالاترین و نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر

جدول 3. مقایسه میانگین عدد تیوباریتوریک اسید (TBA) در زمان‌های مختلف

| تیمار | T0 | TE100 | TE250 | TE500 | TE1000 | TP500 | TP1000 | TS | روز |
|----------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-----|
| | 62±1/12 | 42/65±1/42 | 60±1/02 | 60±1/92 | 60±2/22 | 60±1/23 | 60±1/92 | 64±2/34 | 0 |
| | 137/23±3/45 | 70±0/99 | 59/27±2/96 | 82/77±6/02 | 72/58±5/36 | 109/02±4/52 | 99/88±4/67 | 75/55±1/12 | 5 |
| | 184/31±1/45 | 134/54±1/32 | 129/68±1/85 | 95/87±4/18 | 80/4±5/41 | 154/23±2/98 | 156/53±6/72 | 117/15±5/92 | 10 |
| | 255/59±2/38 | 165/14±1/45 | 148/88±3/62 | 106/08±2/89 | 91/875±2/39 | 204/9±5/43 | 203/16±5/79 | 134/92±3/72 | 15 |
| میانگین* | 159/78 ^a | 103/08 ^d | 99/45 ^e | 86/18 ^e | 76/21 ^h | 132/03 ^b | 129/89 ^c | 97/9 ^f | |

* میانگین اعداد تیوباریتوریک اسید در مجموع روزهای صفر، پنجم، دهم و پانزدهم برای هر تیمار در سه تکرار (حروف غیر مشابه در ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 0/01 می‌باشند). (T0: نمونه شاهد (روغن فاقد ترکیب ضد اکسایش)، TS: روغن حاوی ضد اکسایش TBHQ، روغن حاوی 100، 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره پالپ خرما (TE100، TE250، TE500، TE1000) و روغن حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر پالپ خرما (TP500 و TP1000)).

جدول 4. مقایسه میانگین عدد اسیدی در زمان‌های مختلف

| تیمار | T0 | TE100 | TE250 | TE500 | TE1000 | TP500 | TP1000 | TS | روز |
|----------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-----|
| | 0/036±0/0012 | 0/03±0/0038 | 0/036±0/0087 | 0/016±0/0027 | 0/033±0/0016 | 0/02±0/0045 | 0/033±0/0012 | 0/033±0/0024 | 0 |
| | 0/06±0/0036 | 0/063±0/0071 | 0/046±0/0026 | 0/066±0/0054 | 0/043±0/0046 | 0/033±0/0043 | 0/056±0/0087 | 0/07±0/0081 | 5 |
| | 0/083±0/0017 | 0/093±0/0085 | 0/09±0/0028 | 0/091±0/0016 | 0/083±0/0048 | 0/073±0/0012 | 0/08±0/0012 | 0/086±0/0045 | 10 |
| | 0/133±0/0039 | 0/125±0/0016 | 0/113±0/0028 | 0/146±0/0031 | 0/123±0/0089 | 0/12±0/0034 | 0/13±0/0089 | 0/356±0/009 | 15 |
| میانگین* | 0/078075 ^b | 0/077825 ^c | 0/0413 ^f | 0/080065 ^a | 0/0531 ^e | 0/042 ^f | 0/0747 ^d | 0/0814 ^a | |

* میانگین اعداد اسیدی در مجموع روزهای صفر، پنجم، دهم و پانزدهم برای هر تیمار در سه تکرار (حروف غیر مشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 0/01 می‌باشند). (T0: نمونه شاهد (روغن عاری از ترکیب ضد اکسایش)، TS: روغن حاوی ضد اکسایش TBHQ، روغن حاوی 100، 250، 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره پالپ خرما (TE100، TE250، TE500، TE1000) و روغن حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر پالپ خرما (TP500 و TP1000)).

جدول 5. فعالیت ضد میکروبی عصاره و پالپ خرما بر روی کپک

| نمونه | قطر هاله عدم رشد (سپریژیلوس نایجر) |
|-----------------|------------------------------------|
| شاهد | 0 ± 0 ^c |
| عصاره پالپ خرما | 21 ± 0/9 ^a |
| پالپ خرما | 7 ± 0/4 ^b |

(حروف غیر مشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 0/01 می‌باشند).

فعالیت ضد میکروبی: فعالیت ضد میکروبی عصاره و پالپ خرما بر روی کپک *آسپریژیلوس نایجر* در محیط کشت توسط اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفته شده و نتایج در جدول 5 نشان داده شده است. نتایج نشان داد که عصاره پالپ خرما فعالیت ضد میکروبی بالاتری نسبت به پالپ خرما نشان می‌دهد ($p < 0/01$).

• بحث

وابسته به غلظت می‌باشد. El Sohaimy و همکاران (14) نشان دادند که خرما می‌تواند حاوی مقدار بالایی ترکیبات فنولی بوده و فعالیت ضد اکسایشی بالایی نشان می‌دهد. فعالیت مهار بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH بر حسب EC_{50} مربوط به عصاره، پالپ خرما و TBHQ در جدول 1 آمده است. نتایج نشان داد که TBHQ در مقایسه با عصاره و پالپ خرما اثر ضد اکسایش بیشتری داشته است.

نتایج آزمون عدد پراکسید نشان داد عدد پراکسید در طول زمان برای همه تیمارها افزایش می‌یابد هر چند این افزایش برای نمونه شاهد از شدت بالاتری برخوردار می‌باشد. نتایج افزایش شاخص پراکسید در طول دوره نگهداری با نتایج حاصل از پژوهش Mariod و همکاران (4) و سلمانیان و همکاران (25) مطابقت داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که نمونه شاهد بیشترین و نمونه حاوی TBHQ و پس از آن تیمارهای حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره خرما کمترین عدد پراکسید را دارا می‌باشند. همانطور که انتظار می‌رود نمونه شاهد به دلیل نداشتن مواد ضد اکسایش بیشترین میزان اکسایش را نشان داده است. در نمونه‌های حاوی سطوح مختلف عصاره خرما نمونه حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره کمترین عدد پراکسید را نشان می‌دهد که این امر ممکن است مربوط به بالا بودن میزان ترکیبات فنولی در آن‌ها باشد. به طور کلی با افزایش غلظت عصاره از 100 به 1000 میلی‌گرم بر لیتر، عدد پراکسید به صورت منظم کاهش یافت که این امر نشان دهنده یک رابطه مستقیم میان افزایش غلظت عصاره و کاهش عدد پراکسید بود. دلیل این امر احتمالاً مربوط به افزایش غلظت ترکیبات فنولی و بالا بودن ظرفیت ضد اکسایش در غلظت‌های بالاتر عصاره بوده و لذا می‌توان عنوان نمود که توانایی ترکیبات ضد اکسایش در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بوده است. اگر چه در روزهای ابتدایی اختلاف میان اندیس پراکسید در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره محسوس نبود، اما با گذشت زمان نمونه‌های روغن حاوی ترکیب ضد اکسایش سنتزی یا نمونه حاوی 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره ثبات اکسایشی بیشتری نشان دادند. افزایش قدرت ضد اکسایش ترکیبات فنولی در نتیجه افزایش غلظت را می‌توان به افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد

با مقایسه محتوای ترکیبات فنول و فلاونوئید عصاره و پالپ خرما مشاهده می‌شود که عصاره به طور معنی داری در سطح احتمال 0/01 میزان بالاتری از ترکیبات فنولی را نشان می‌دهد. محتوای ترکیبات فنولی در مطالعه Behija Saafi و همکاران (21) 209-447 میلی‌گرم بر 100 گرم به دست آمد که تقریباً با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. همچنین مقدار ترکیبات فنولی در خرما در مطالعه صورت گرفته توسط Kchaou و همکاران (22) بین 240-505 میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره و محتوای ترکیبات فلاونوئیدی بین 213-58 میلی‌گرم کاتچین بر 100 گرم عصاره به دست آمد. همچنین در مطالعه دیگری توسط Al Farsi و همکاران (23) میزان ترکیبات فنولی کل خرما می‌مانی 172-246 میلی‌گرم گالیک اسید در 100 گرم به دست آمد. میزان ترکیبات فنولی کل چند رقم خرما در پژوهش صورت گرفته توسط بیگلری و همکاران (24) بین 141-2/9 میلی‌گرم گالیک اسید در 100 گرم نمونه به دست آمد. همچنین میزان ترکیبات فلاونوئیدی بین 81/8-1/6 میلی‌گرم در 100 گرم ماده خشک بر اساس معادل کاتچین به دست آمد.

میزان مهار رادیکال آزاد DPPH برای غلظت‌های مختلف عصاره و پالپ خرما و همچنین ضد اکسایش سنتزی TBHQ در شکل 1 نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود ضد اکسایش سنتزی TBHQ در غلظت‌های کمتری نسبت به پالپ و عصاره خرما 100% فعالیت بازدارندگی را نشان می‌دهد که بیانگر فعالیت ضد اکسایشی بالاتر آن نسبت به پالپ و عصاره خرما می‌باشد. همچنین مقایسه پالپ و عصاره پالپ خرما نشان می‌دهد که عصاره نسبت به پالپ فعالیت مهارکنندگی بالاتری نشان می‌دهد که این پدیده به محتوای بالاتر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره در مقایسه با پالپ نسبت داده می‌شود که در جدول 1 نشان داده شده است. بیگلری و همکاران (24) نشان دادند که ارتباط خطی بین فعالیت ضد اکسایشی و محتوای ترکیبات فنولی خرما وجود دارد. همچنین Kchaou و همکاران (22) ارتباط مستقیمی بین محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت ضد اکسایشی در عصاره خرما را گزارش نمودند. آنها همچنین عنوان نمودند فعالیت بازدارندگی عصاره خرما روی DPPH

500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره، کمترین میزان اکسیداسیون مربوط به نمونه حاوی TBHQ بود. این نتایج با نتایج حاصل از عدد پراکسید که بعد از گذشت پانزده روز عدد پراکسید برای نمونه حاوی ضد اکساینده سنتزی TBHQ کمترین بوده و دو نمونه حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره بعد از آن دارای کمترین عدد پراکسید می‌باشند، مطابقت ندارد. در حالی که نتایج حاصل از آزمون TBA نشان می‌دهد بعد از گذشت پانزده روز گرمخانه گذاری کمترین عدد TBA مربوط به دو نمونه حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره بوده و نمونه حاوی ضد اکساینده سنتزی TBHQ بعد از آن کمترین میزان TBA را نشان داد. این نتایج با نتایج پژوهش صمدلوئی و همکاران (26) که نتیجه گیری نمودند روند افزایش پراکسید با روند افزایش TBA هماهنگی ندارد مطابقت داشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت روند افزایش TBA علاوه بر پراکسید تحت تأثیر شاخص‌های دیگری نیز می‌باشد. در روز 15 ام نمونه‌های TE100 و TE250، TP500 و TP1000 افزایش قابل توجهی در TBA نشان دادند، در حالی که در سایر تیمارها افزایش عدد TBA از روند آهسته‌ای برخوردار بود. در بیان علت این پدیده می‌توان عنوان نمود که ظرفیت ضد اکسایش سطوح پایین عصاره به دلیل غلظت کم پلی فنول‌ها کاهش یافته ولی در غلظت‌های بالای عصاره همچنان اثر ضد اکسایشی در طول زمان حفظ شده است. مقایسه سطوح مختلف عصاره خرما نشان داد که با افزایش غلظت عصاره اثر ضد اکسایشی افزایش یافته به طوری که بعد از 15 روز نگهداری در دمای 70°C نمونه حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره کمترین عدد TBA و بعد از آن به ترتیب نمونه 250 و 500 میلی‌گرم بر لیتر عصاره قرار داشتند. کاهش عدد TBA در نمونه‌های حاوی عصاره برگ گیاه *Monechma ciliatum* و ترکیب ضد اکسایش سنتزی BHA نسبت به نمونه شاهد توسط Mariod و همکاران (4) گزارش شد.

اندیس اسیدی در طی دوره‌ی نگهداری در تمام تیمارها در حال افزایش بود. نتایج آزمون دانکن بین میانگین‌ها نشان داد بین روزهای مختلف تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 1% در اسیدیته مشاهده می‌شود به طوری که تیمارهای حاوی 1000 میلی‌گرم بر لیتر پالپ خرما، TBHQ و 100 میلی‌گرم بر لیتر عصاره خرما به ترتیب بالاترین میزان عدد اسیدی را

نسبت داد (25). در بسیاری از پژوهش‌ها ارتباط بین محتوای ترکیبات پلی فنولی و فعالیت ضد اکسایش به اثبات رسیده است. به عنوان مثال در پژوهش صورت گرفته توسط Al-Turki و همکاران (8) ارتباط مستقیمی بین محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایش در 15 واریته خرما نشان داده شد. بر اساس نتایج استفاده از پالپ خرما در 2 سطح 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عدد پراکسید کمتری نسبت به نمونه شاهد نشان داد ولی نسبت به سایر نمونه‌ها اثر کمتری در کنترل اکسایش داشت. این نتایج بر اساس محتوای ترکیبات فنول و فلاوونوئید بین پالپ و عصاره قابل تفسیر می‌باشد. زیرا عصاره در سطح احتمال 0/05 حاوی میزان بالاتری از ترکیبات فنول و فلاوونوئیدی نسبت به پالپ خرما بوده است لذا فعالیت ضد اکسایش بالاتری نسبت به پالپ خرما نشان می‌دهد. با مقایسه اثر بخشی نمونه حاوی ترکیب ضد اکسایش سنتزی TBHQ و سطوح مختلف پالپ و عصاره خرما می‌توان عنوان نمود استفاده از TBHQ در سطح 200 میلی‌گرم بر لیتر اثربخشی بیشتری نسبت به پالپ و عصاره در سطح مورد استفاده داشته است. همچنین مقایسه نتایج آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، بالاتری فعالیت ضد اکسایش را مربوط به ترکیب ضد اکسایش TBHQ عنوان نمود و بعد از آن عصاره و سپس پالپ خرما قرار داشتند. هر چند با توجه به شکل 1 می‌توان دریافت نمود که فعالیت مهارکنندگی پالپ و عصاره با افزایش غلظت به طور منظم افزایش نشان می‌دهد و ارتباط مستقیمی بین فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و غلظت وجود دارد. لذا به نظر می‌رسد استفاده از غلظت‌های بالاتر عصاره بتواند با غلظت TBHQ که 200 میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شده است، رقابت نماید.

بررسی نتایج مربوط به آزمون TBA نشان می‌دهد، بیشترین میزان TBA تا روز پنجم مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان آن مربوط به نمونه حاوی 100 میلی‌گرم بر لیتر عصاره بود. مقایسه میانگین مقادیر TBA در دوره 15 روزه نشان داد که نمونه شاهد و نمونه حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر پالپ خرما بیشترین و نمونه حاوی 500 و 1000 میلی‌گرم بر لیتر عصاره پالپ خرما و نمونه حاوی ضد اکساینده سنتزی TBHQ کمترین میزان اکسایش را نشان دادند. در مقایسه عملکرد ضد اکساینده سنتزی TBHQ با عصاره و پالپ خرما، تا روز پانزدهم پس از دو نمونه حاوی

دیواره سلولی باکتری و بنابراین ممانعت از رشد باکتری عنوان شده است. همچنین در مطالعه دیگر توسط Alan و Miller (32) بازدارندگی از فعالیت باکتری های گرم مثبت به حضور فلاوون ها، فلاوونوئیدها، آنتوسیانین ها و فلاوان ها نسبت داده شد. با توجه به این نتایج و همچنین بر اساس نتایج حاصل از اندازه گیری ترکیبات فنولی (جدول 1) می توان عنوان نمود عصاره به دلیل دارا بودن محتوای بالاتر ترکیبات فنولی فعالیت ضد میکروبی بالاتری نسبت به پالپ نشان داده است. نتایج پژوهش El Sohamy و همکاران (14) ارتباط مستقیمی بین محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت ضد باکتریایی عصاره خرما را نشان داد. تفاوت در فعالیت ضد میکروبی عصاره خرما در مطالعات مختلف مربوط به تفاوت محتوا و نوع ترکیبات پلی فنولی عصاره خرما می باشد.

در این پژوهش اثر پلی فنول های عصاره و پالپ خرما بر اکسیداسیون روغن آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از قدرت ضد اکسایش بیشتر عصاره خرما نسبت به پالپ بود. دلیل این امر محتوای بالای ترکیبات پلی فنولی و فلاوونوئیدی می باشد که به عنوان به دام اندازنده رادیکال های آزاد عمل می نمایند. همچنین نتایج آزمون میکروبی فعالیت ضد کپکی عصاره پالپ خرما را بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* نشان داد. باتوجه به اینکه پالپ خرما یک فرآورده فرعی کارخانجات شیره و قند خرما محسوب شده و اغلب به صورت خوراک دام و یا کود کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرد و با توجه به اثرات قوی ضد اکسایشی این ماده، می توان عصاره این میوه را به عنوان منبع بالقوه ای از ترکیبات ضد اکسایش طبیعی مورد پژوهش بیشتر قرار داده و در صنعت غذا و داروسازی مورد استفاده قرار داد.

سپاسگزاری: نویسندگان بر خود لازم می دانند از زحمات خانم مهندس آزاده آزادیان به دلیل انجام برخی آزمون ها، جناب آقای مهندس حسن خلیفه مسئول کنترل کیفیت شرکت بهشهر به دلیل فراهم ساختن روغن آفتابگردان و همچنین سرکار خانم دکتر رویا کریمان عضو هیئت علمی دانشگاه بوعلی سینا به دلیل در اختیار گذاشتن برخی امکانات آزمایشگاهی برای این کار، نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند.

نشان دادند. نتایج اعداد اسیدی نشان داد که بین تیمارهای مختلف و عدد اسیدی روند منظمی وجود ندارد، بنابراین می توان نتیجه گرفت که افزودن ترکیب ضد اکسایش، تأثیر بازدارنده ای بر عدد اسیدی نداشته است.

کپک *آسپرژیلوس نایجر* عامل فساد بسیاری از میوه ها و سبزیجات به شمار می رود همچنین به دلیل تولید مایکوتوکسین ها کپکی بیماری زا محسوب می شود (27)، لذا خواص ضد قارچی عصاره و پالپ خرما بر روی این کپک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون میکروبی نشان می دهد عصاره و پالپ خرما دارای فعالیت ضد کپکی بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* می باشند هر چند شدت فعالیت ضد کپکی در عصاره به طور معنی داری بالاتر از پالپ می باشد. قدرت ضد کپک خرما در تحقیقات مختلفی نشان داده شده است. به عنوان مثال در تحقیق انجام شده توسط Altuwairki و Ismail (28) عصاره متانولی پالپ خرما دارای اثر بازدارنده قوی بر کپک های *آلترناریا*، *فوزاریوم*، *پنی سیلیوم*، *آسپرژیلوس* و *اوکسی پوروم* بوده و قطر هاله عدم رشد کپک با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. در میان کپک های مورد بررسی *پنی سیلیوم* و *فوزاریوم* نسبت به سایر کپک ها حساسیت بیشتری به عصاره متانولی نشان دادند. گزارش شده است که تیمار *کاندیدا آلبیکنز* توسط عصاره خرما منجر به تضعیف و فرو ریختن جزئی دیواره سلولی شده و در غلظت بالا اثرات عمیقی از تحلیل سلولی، نشت محتویات سیتوپلاسمی و حتی مرگ سلول مشاهده شده است. به طور کلی ترکیبات شیمیایی گیاهی اثرات متعددی بر روی کپک ها داشته و استفاده از عصاره خرما به عنوان یک ماده دارویی نیز محتمل دانسته شده است. تحقیقات در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که احتمالاً فلاوونوئیدها مسئول بروز خواص ضد کپک عصاره خرما به شمار می روند (29). بسیاری از پژوهش ها نشان داده اند که فعالیت ضد باکتری عصاره ها نیز مربوط به محتوای ترکیبات فنولی آن می باشد. کومارین، فلاوونوئید، تانن و اسید های فنولیک اثر ضد باکتری قابل توجهی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده اند (30). در مطالعه صورت گرفته توسط Barbery و همکاران (31) فعالیت ضد میکروبی عصاره خرما مربوط به توانایی ترکیبات فنولی در اتصال به

• References

- Zhang Y, Yang L, Zu Y, Chen X, Wang F, Liu, F. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chem* 2010; 118: 656–662.
- Choe E, Min DB. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Compr Rev Food Sci* 2009; 8: 345–358.
- Iqbal S, Bhangar MI. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. *Food Chem* 2007; 1: 246–254.
- Adam Mariod A, Ibrahim RM, Ismail M, Ismail N. Antioxidant activity of the phenolic leaf extracts from *Monechma ciliatum* in stabilization of corn oil. *J Am Oil Chem Soc* 2010; 87: 35–43.
- Pormorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajid N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 2006; 5: 1142–1145.
- Wannes WA, Mhamdi B, Sriti J, Ben Jemia M, Ouchikh O, Hamdaoui G, Kochuk ME, Marzouk B. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis*) leaf stem and flower. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1362–1370.
- FAO/WHO. 1973. Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO ad hoc expert committee. Rome and Geneva: FAO Nutrition Meetings Report Series No. 52, WHO Technical Report Series No. 522.
- Al-Turki S, Shahba MA, Stushnoff C. Diversity of antioxidant properties and phenolic content of date palm (*Phoenix dactylifera L.*) fruits as affected by cultivar and location. *J Food Agric Environ* 2010; 8: 253 - 260.
- Al-Harrasi, A., Ur Rehman, N., Hussain, J., Latif Khan, A., Al-Rawahi, A., Gilani, S. A., Al-Broumi, M., Ali, L. Nutritional assessment and antioxidant analysis of 22 date palm (*Phoenix dactylifera*) varieties growing in Sultanate of Oman. *Asian Pac J Trop Med* 2014;7(1): S591-S598.
- Jeong Hong Y, 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: 2405–2411.
- 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: 7592–7599.
- Besbes S, Blecker C, Deroanne C, Bahloul N, Lognay G, Drira NE, Attia H. Date seed oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. *J Food Lipids* 2004; 11: 251–265.
- Saleh, F.A., Otaibi, M. M. Antibacterial activity of date palm (*Phoenix Dactylifera L.*) fruit at different ripening stages. *J Food process Technol* 2013; 4(12): 1-6.
- El Sohaimy, S. A., Abdelwahab, A. E., Brennan, C. S., Aboul-enein, A. M. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian date palm (*Phoenix dactylifera L.*) fruits. *Aust j basic appl sci* 2015; 9(1): 141–147.
- Mildner-Szkudlarz S, Zawirska- Wojtasiak R, Goslinski M. Phenolic compounds from winemaking waste and its antioxidant activity towards oxidation of rapeseed oil. *Int. J Food Sci Technol* 2010; 45: 2272–2280.
- AACC. Approved method of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul: American Accosiation of Cereal Chemists 1999.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol* 1999; 299:152–178.
- Noshirvani N, Fasihi F, Moradipayam A. Study on the antioxidant effects of extract and powder of green walnut hulls on the oxidation of sunflower oil. *Iranian J Nutr Sci & Food Technol* 2015; 10(3): 79–90 [in Persian].
- AOAC. Official methods of analysis. 1990; Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, DC., USA.
- Akrami Mohajeri F., Misaghi A., Akhondzadeh A., Ghiesari HR., Khosravi AR., Gandomi H., Ebrahimnejad H. Growth inhibition and morphological alterations to *Penicillium citrinium* in response to *Zataria multiflora* Boiss. essential oil *J Vet Res* 2012; 67(4):307–312 [in Persian].
- Behija Saafi E, Arem AE, Issaoui M, Hammami M, Achour L. Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (*Phoenix dactylifera L.*) fruit varieties grown in Tunisia. *Int J Food Sci Technol* 2009; 44: 2314–2319.
- Kchaou, W., Abbes, F., Attia, H., Besbes, S. In Vitro antioxidant activities of three selected dates from Tunisia (*Phoenix dactylifera L.*). *J Chem* 2014; 1–8.
- 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 Chem* 2007; 104: 943–947.
- Biglari F, Aakarkhi AFM, Mat Easa A. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem* 2008; 107: 1636–1641.
- Salmanian S, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Ghorbani M. Antioxidant activity of hawthorn (*Crataegus elbursensis*) extract on stability of soybean oil. *J Food Res* 2013; 199– 209 [In Persian].

26. Samadloiy HR, Azizi MH, Barzegar M. Antioxidative effect of pomegranate seed phenolic componends on soybean oil. *J Agric Sci Natur Resour* 2007; 14(4): 193-200 [In Persian].
27. Gautam AK., Sharma S, Avasthi S, Bhadauria R. Diversity, parogenicity and toxicology of *A.niger*: An important spoilage fungi. *Res J Microbiol* 2011; 6(3): 280-280.
28. Ismail I, Altuwairki D. Chemical Composition and Antimicrobial Efficacy of Date Palm Fruit of Saudi Arabia. *World Appl Sci J* 2016; 34(2): 140-146.
29. Baliga MS, Baliga BRV, Kandathil SM, Bhat HP, Vayalil PK. A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera L.*). *Food Res Int* 2011; 44(7): 1812-1822.
30. Hatano T, Kusuda M, Inada K, Ogaw, TO, Shiota S, Tsuchiya T, Yoshida T. Effects of tannins and related polyphenols on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry* 2005; 66, 2047–2055.
31. Barbary OM, S.A. El-Sohaimy MA. El-Saadani AMA. Zeitoun. antioxidant, antimicrobial and anti-HCV activities of lignan extracted from flaxseed. *Res J Agric Biol Sci* 2010; 6(3): 247-256.
32. Alan L, & Miller N D. Antioxidant flavonoids, function and clinical usage. *Altern Med Rev* 1996; 1: 4–10.

Study on the Antioxidant and Antifungal Activities of Extract and Pulp of Date (*Phoenix dactylifera* L.) by-Products

Noshirvani N^{1*}, Fasihi H^{2,3}, Nourmohammadi E⁴, Moradipayam A⁵

1- *Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Toyserkan Faculty of Engineering & Natural Resources, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. Email: Nooshin_noshirvani87@yahoo.com

2- Ph.D of Biochemistry, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Educational Center, AREEO, Hamedan, Iran

3- Medicinal and Aromatic Plants Department, University of Applied Science & Technology of Jihad-E Agriculture, Hamedan, Iran

4- Ph.D of Food Science and Technology, Gorgan Natural Resources and Agriculture University, Gorgan, Iran

5- M.Sc of Plant Breeding, University of Applied Science & Technology of Jihad-E Agriculture, Hamedan, Iran

Received 26 Aug, 2016

Accepted 10 Dec, 2016

Background and Objectives: Iran is considered as one of the most important suppliers of date all over the world. Since date is a rich source of polyphenolic compounds, the aim of this study is to investigation of the antioxidant and antifungal properties of dates pulp and its methanolic extract.

Materials & Methods: Methanolic extract of date pulp was extracted by Soxhlet and evaluated by colorimetric method. In addition, antioxidant properties of the extracts were measured by DPPH radical scavenging method. The effect of different levels of date extract and pulp on acidic, peroxide and thiobarbituric acid values of sunflower oil during 15 days of storage at 70 °C were investigated. Antifungal effect of date extract and pulp against *Aspergillus niger* was evaluated according to the disc diffusion method.

Results: Total phenolic (mg gallic acid/ 100 g sample) and flavonoid (mg catechin/100 g sample) compounds of extract and pulp were 414.72, 304.18, 28.62 and 20.72, respectively. DPPH radical scavenging activity of TBHQ, date pulp and extract showed the results as follows: TBHQ > date extract > date pulp. Based on the results, addition of date pulp and its extract decreased peroxide and TBA values of sunflower oil compared to the control sample. The results of antifungal test indicated antifungal effects of date extract against *Aspergillus niger*.

Conclusion: According to the obtained results, date pulp and its extract can be introduced as a cost-effective source of antioxidant as well as antifungal compound in food technology.

Keywords: Oxidation, Antioxidant power, Sunflower oil, Date extract, Antifungal activity