

بررسی روند تغییرات ترکیبات فنلی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سه رقم مختلف خرما طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه

سمیه رستگار^۱، مجید راحمی^۲، مهدیه غلامی^۳

۱-استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس. ۲-استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه شیراز، شیراز.

۳-استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

Srastegar2008@gmail.com

چکیده

خرما یکی از محصولات مهم و استراتژیک ایران می باشد. ارقام مختلف خرما به سه گروه نرم، خشک و نیمه خشک تقسیم می شوند. در این آزمایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سه رقم خرما طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه در طی دو سال متوالی مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی که از روش DPPH اندازه گیری شد و غلظت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (فنول و تانن) طی مراحل رشد میوه کاهش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف رشد میوه رابطه قوی با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در اغلب ارقام داشتند. سوپر اکسید دسموتار، پر اکسیداز به طور مرتب طی بلوغ میوه افزایش یافتند. اما پلی فنول اکسیداز در مرحله خرمادر همه ارقام کاهش یافت. به طور کلی می توان گفت که درصد رسیدگی بر میزان ترکیبات فنلی و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی میوه خرما موثر می باشد.

کلمات کلیدی: خرما- ترکیبات فنلی- آنتی‌اکسیدان- رسیدن میوه

مقدمه

درخت خرما با نام علمی *Phoenix dactylifera L.* گیاهی تک لپه و دو پایه می‌باشد. نخل یکی از درختان مهم و استراتژیک ایران است که از زمان‌های ماقبل تاریخ در مناطق بین مدار ۲۹ تا ۳۹ درجه عرض شمالی کشت و پرورش داشته است و در طی قرون متمادی به عنوان منبع تغذیه انسانی بوده است. ایران در بین کشورهای تولید کننده خرما از نظر سطح زیر کشت دارای رتبه اول و از نظر میزان تولید دارای رتبه سوم بعد از کشورهای مصر و عربستان می‌باشد. از زمان تلقیح تا رسیدن کامل میوه خرما در ارقام مختلف حدود ۲۰۰ روز طول می‌کشد. که این دوره از چندین مرحله مجزا شامل حبابوک^۱، کیمیری^۲، خلال^۳، رطب^۴ و تمر^۵ تشکیل شده است. در حقیقت تولید میوه با کیفیت بالا و بازاری پسند به داشتن دانش لازم در مورد تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی از زمان گلدهی تا رسیدن میوه بستگی دارد. رشد میوه به وسیله عوامل محیطی و ژنتیکی مانند نور، آب، دما، حاصلخیزی خاک و همچنین رقم، سن، میزان تشکیل میوه، زمان باز شدن گل‌ها، هورمون‌ها و مواد غذایی کنترل می‌شود. ارقام مختلف خرما از انواع خشک، نیمه خشک و نرم در ایران تولید می‌شوند اما اطلاعات اندکی راجع به ارقام مختلف و تفاوت‌های بین آنها وجود دارد. پلی فنول اکسیداز این گروه از آنزیمها عمدتاً بر پلی فنل‌هایی که بیشتر از گروه تانن‌ها می باشند تاثیر می گذارند. همچنین در واکنش های قهوه ای شدن آنزیمی خرما نقش دارند. آگاهی از وظایف و فعالیت این آنزیمها برای افراد دارای کارخانه بسته بندی یا فرآوری دارای اهمیت کاربردی است زیرا با مدیریت مناسب دما و رطوبت می توان شدت فعالیت این آنزیمها را افزایش یا کاهش داد. ترکیبات فنولی جزو ترکیباتی هستند که در تمام گیاهان شامل میوه جات، سبزیجات، غلات و غیره وجود دارند. این ترکیبات جزو متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند. به طور طبیعی بالغ بر ۸۰۰۰ ترکیب فنولی مختلف با تاثیرهای از قبیل

¹ -Habbaboke

² -Kimri

³ -Khalal

⁴ -Rutab

⁵ -Tamar

دخالته در ساخت دیواره سلولی، مکانیسم دفاعی گیاه و دخیل در خصوصیات میوه مانند رنگ، طعم و مزه در گیاه وجود دارد. همچنین ترکیبات فنولی به عنوان شاخص‌هایی برای مراحل فیزیولوژیکی در طول رشد میوه نیز در نظر گرفته می‌شود. در مراحل اولیه رشد و نمو میوه تانن به صورت محلول هستند ولی در مراحل نهایی به فرم دانه‌های غیر محلول در آمده و میوه طعم گس خود را از دست می‌دهد (Reuveni, 1986). میزان تانن در مراحل مختلف رشد میوه نیز بسیار مهم است برخی ارقام دنیا، در مراحل مختلف مصرف میوه شامل خلال، رطب و خرما دارای کمترین میزان تانن بوده و میوه دلپذیر آن بسیار شیرین و در هر سه مرحله مذکور قابل مصرف است. اما برخی ارقام دیگر فقط در مرحله رطب کامل و خرما قابل مصرف هستند. آنتی اکسیدان، ماده ای است که بتواند از آسیب اکسیداتیو به مولکول هدف جلوگیری کند و یا آن را به تاخیر بیندازد. از بین رفتن رادیکال‌های آزاد واکسیژن فعال شده توسط آنتی اکسیدان داخلی انجام می‌شود. آنتی اکسیدان‌های آنزیمی طیف وسیعی دارند که مهمترین آنها سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌باشند. این سه آنزیم نقش مهمی در تخریب H₂O₂ دارند

مواد و روشها

آزمایش در طی دو سال متوالی ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ انجام گردید. آزمایش به صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا گردید. نمونه‌ها به مقدار کافی در مراحل مختلف رشد میوه (کیمری، خلال، رطب و تمر) برداشت شدند. تعدادی از میوه‌ها در ازت مایع فریز و به آزمایشگاه بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انتقال داده شد. محتوای فنل کل بر اساس روش (Shui and Leong, 2006) و با استفاده از معرف فولین اندازه گیری شد. میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی با استفاده از کلرید آلومینیوم و بر حسب کوئرستین ۶ اندازه گیری گردید (Kim et al., 2003). محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر کوئرستین تهیه شد. غلظت تانن محلول نمونه‌ها بر طبق روش فولین سیاکالتیو ۷ اندازه گیری شد (Taira, 1996). عصاره گیری با استفاده از متانول ۸۰ درصد همگن گردیده و پس از سانتریفوژ به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، عصاره تاننی بدست آمد. ۵ میلی‌لیتر عصاره به ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۵ میلی‌لیتر معرف فولین دیونیزه اضافه گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه ۲/۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم اشباع به این مخلوط اضافه گردید و یک ساعت بعد میزان جذب نوری محلول فوق در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت تانن از منحنی استاندارد حاصل از گالیک اسید در غلظت‌های مختلف که هم‌زمان با تهیه نمونه‌ها و مشابه به آن تهیه شده بود محاسبه شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها، از طریق خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد ۲، ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل ۸ تعیین گردید. ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Aoet al, 2008).

$$\%DPPH = (A_{cont} - A_{samp}) / A_{cont} \times 100$$

سنجش آنزیم سوپر اکسید دسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام گرفت (Giannopolitis and Ries, 1977). برای اندازه گیری غلظت کمی آنزیم پراکسیداز از روش Plewa (1991) و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد. پلی فنول اکسیداز با روش Jiang و همکاران در سال ۲۰۰۲ محاسبه گردید.

⁶ -Quercetin

⁷ -Folin ciocaltiu

⁸ -DPPH

نتایج و بحث

بیشترین میزان فنول در هر سه رقم در مرحله کیمری مشاهده شد. در مقایسه با دو رقم دیگر، دیری دارای محتوای فنول بیشتری بود. نتایج ما در راستای تحقیقات Biglari و همکاران در سال ۲۰۰۸ می باشد. گزارشات مختلفی از میزان فنول در ارقام مختلف در کشورهای مختلف گزارش شده است شاید تفاوت رقم و شرایط آب و هوایی دلیل تفاوت تحقیقات باشد. ارقام مختلف روند تغییر متفاوتی در میزان تانن محلول نشان دادند و همزمان با رشد میوه طی مراحل مختلف رشد، میزان آن در میوه کاهش یافت. نتایج ما با یافته های Myhara در سال (۲۰۰۰) مطابقت دارد.

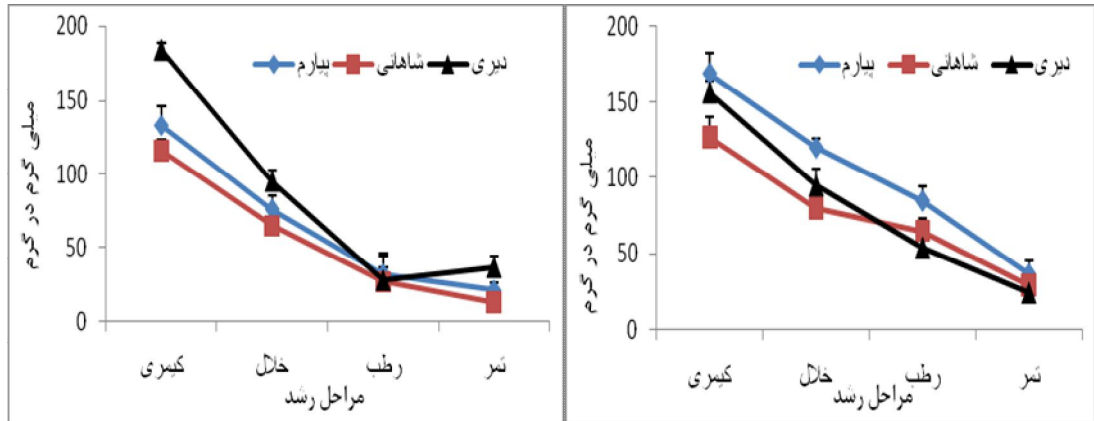
ارقام مختلف خرما روند کاهشی مشابهی در فعالیت آنتی اکسیدانی طی مراحل مختلف رشد نشان دادند. فعالیت آنتی اکسیدانی خرما عمدتاً ناشی از حضور مواد محلول در آب با خاصیت آنتی رادیکالی، مانند ترکیبات فنولی (سینامیک اسید) و فلاونوئیدها می باشد (Mansouri et al., ۲۰۰۵). میوه خرما منبع خوبی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشد (Al-Farsi et al., ۲۰۰۵). خصوصیات آنتی اکسیدانی خرما به عنوان یک میوه، به محتوای ترکیبات فنولی، ویتامین C و E، کارتنوئید و فلاونوئید وابسته است (Al-Farsi et al., 2005; Mansouri et al., 2005). می توان گفت در خرما خاصیت آنتی اکسیدانی خرما بیشتر تحت تاثیر میزان فنول آن می باشد.

هر سه رقم شاهانی، پیارم و دیری بیشترین و کمترین میزان همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب با میزان فنول و تانن محلول بدست آمد. گرچه سایر همبستگی ها نیز قابل قبول است اما می توان گفت در خرما خاصیت آنتی اکسیدانی خرما بیشتر تحت تاثیر میزان فنول آن می باشد.

ارقام مختلف خرما الگوی مشابهی از فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان دادند. به طوریکه در مراحل پایانی نمو میوه، فعالیت آنزیم افزایش یافت. نتایج این تحقیق در راستای یافته های دیگر محققان می باشد. تحقیقات نشان می دهند که به طور کلی بدون توجه به رقم با رسیدن میوه فعالیت پراکسیداز افزایش می یابد. فعالیت پراکسیداز به عنوان عامل مهم در رسیدن و پیری معرفی شده است. افزایش پراکسیداز در مراحل پایانی نمو میوه ممکن است به افزایش نشت غشا بدلیل شروع رسیدگی مربوط باشد. فرایند رسیدن منجر به کاهش نفوذ پذیری غشا بدلیل اکسیداسیون ترکیبات دیواره سلولی مانند لیپیدها می شود. علاوه بر این فعالیت این آنزیم ممکن است به تجزیه ترکیبات فنولی برای حذف H₂O₂ مربوط باشد.

سوپر اکسید دسموتاز فعالیت کمتری نسبت به دیگر آنزیمهای اکسیدانی نشان داد. ارقام مختلف الگوی متفاوتی در روند فعالیت این آنزیم نشان دادند. در رقم دیری تفاوت قابل ملاحظه ای در فعالیت آنزیم در مراحل مختلف دیده نشد. طی مطالعات انجام گرفته گزارشی از بررسی فعالیت این آنزیم در خرما دیده نشده است.

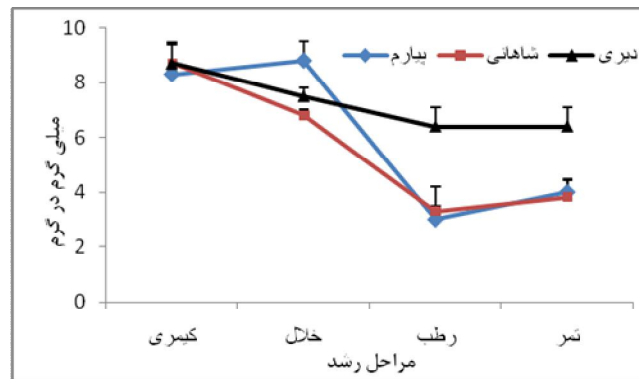
حداکثر فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در مرحله خلال در هر سه رقم مشاهده شد، یعنی قبل از شروع تغییر رنگ به قهوه ای در مرحله رطب فعالیت آنزیم افزایش یافت. Awad و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که فعالیت پلی فنول اکسیداز تا مرحله خلال افزایش می یابد بعد از آن بسته به رقم در مرحله رسیدن کاهش می یابد.



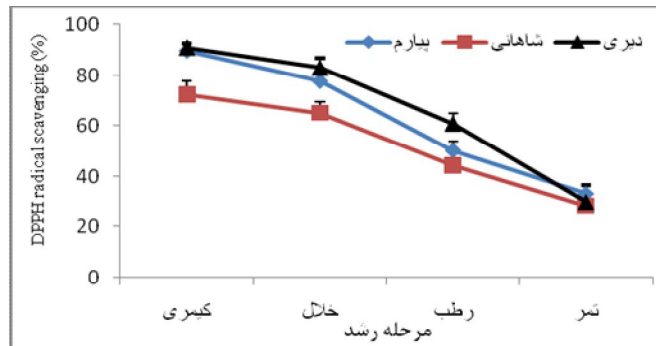
(ب)

(الف)

شکل ۱- روند تغییرات فنول (الف) و فلاونوئید (ب) ارقام شاهانی، بیارم و دیری در مراحل کیمری، خلال، رطب و تمر.



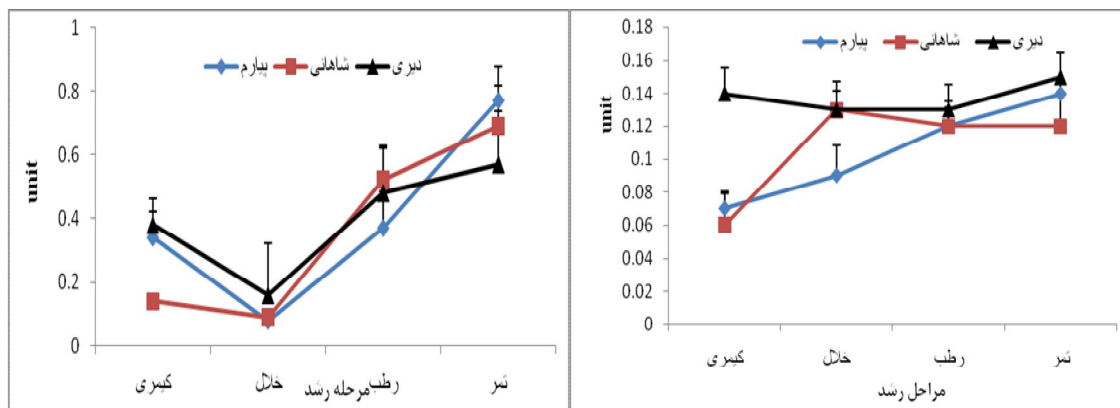
شکل ۲- تغییرات محتوای تانن محلول ارقام شاهانی، بیارم و دیری در مراحل کیمری، خلال، رطب و تمر.



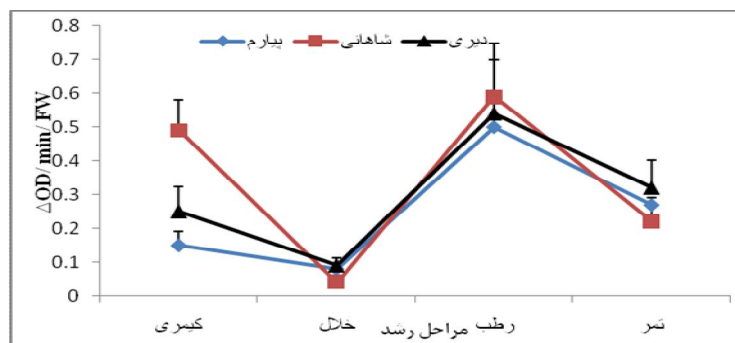
شکل ۳- تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام شاهانی، بیارم و دیری در مراحل کیمری، خلال، رطب و تمر.

جدول ۱- بررسی روابط رگرسیونی و ضریب همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام مختلف خرما با فنول، فلاونوئید، تانن محلول و کارتنوئیدها.

ارقام	فنول	فلاونوئید	تانن محلول	کارتنوئیدها
شاهانی	$y = 34/7x - 31/5$ $R2 = 0/95$	$y = 30/9x - 2$ $R2 = 0/96$	$y = 1/82x - 1/1$ $R2 = 0/85$	$y = -0/08x - 0/67$ $R2 = 0/93$
پیارم	$y = 38x - 29/5$ $R2 = 0/93$	$y = 43/1x - 5$ $R2 = 0/99$	$y = 1/87x - 1/3$ $R2 = 0/67$	$y = -0/04x - 0/54$ $R2 = 0/86$
دیری	$y = 50/8x - 41$ $R2 = 0/83$	$y = 44x - 27/5$ $R2 = 0/97$	$y = 0/8x - 5/25$ $R2 = 0/89$	$y = -0/02x - 0/23$ $R2 = 0/89$



شکل ۴- تغییرات آنزیم سوپر اکسید دسموتاز(الف) و پراکسیداز(ب) ارقام شاهانی، پیارم و دیری در مراحل کیمیری، خلال، رطب و تمر.



شکل ۵- روند تغییرات پلی فنول اکسیداز ارقام شاهانی، پیارم و دیری در مراحل کیمیری، خلال، رطب و تمر.

منابع

Awad, M. A., Al-Qurashi, A. D., and Mohamed, S. A. (2011). Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 129, 688-693.

Jiang, Y. M., Zhang, Z. Q., Joyce, D. C., and Ketsa, S. (2002). Postharvest biology and handling of Longan fruit (*Dimocarpus longan* Lour.). *Postharvest Biological and Technology*, 26, 241-252.

Kim, D. O., Jeong, S. W., and Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 8, 321-326.

- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., and Kefalas, P., (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89, 411–420.
- Myhara, R., Al-Alawi, A., Karkalas A., and Taylor, M. (2000). Sensory and textural changes in maturing Omani dates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 2181–2185.
- Plewa, M. J., Smith, S. R., and Wanger, E. D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, 247, 57-64
- Reuveni, O. (1986). Date. In: *Handbook of fruit set and development*. (ed). Monselise, P.S., CRC Press, Boca Raton, FL, pp.112-230
- Shui, G., and Leong, L. P. (2006). Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry*, 97, 277–284.
- Taira, S. (1996). Astringency in persimmon. In: Linskens, H.P., Jackson, J.F. (Eds.), *Modern Methods of Plant Analysis, Fruit Analysis*, vol. 18. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 97–110.

Study of phenolic compounds and antioxidant enzyme activities in five date cultivars during development and ripening

Abstract

Date palm is one of the most important and strategic crop of Iran. Date varieties fall into three categories including soft, semi-dry and dry dates. In this study Antioxidant capacity, antioxidant compounds and antioxidant enzyme activities in dates of three cultivars during development and ripening were studied in the two seasons. Both the antioxidant capacity measured by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method and the antioxidant compound (phenols and tannins) concentrations decreased from young stages through to the maturation and the ripening stages. The antioxidant capacity was highly positively correlated with the concentration of antioxidant compounds in most cultivars. Superoxide dismutase and peroxidase increased gradually during maturing but polyphenol oxidase decreased at tamar stage in all cultivars. We have demonstrated how the percentage of ripeness affects the phenolic compound and antioxidant properties of date palm fruit.