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

سمیه رستگار [1*]، مجید راحمی [2]، مهدیه غلامی [3]
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 واستراتژیک ایران می باشد. ارقام مختلف خرما به سه گروه نرم ،خشک و نیمه خشک تقسیم می شوند. در این آزمایش فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیمهای انتی اکسیدانی در سه رقم خرما طی مراحل مختلف رشد ونمو میوه در طی دو سال متوالی مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت انتی اکسیدانی که از روش DPPH اندازه گیری شد وغلظت ترکیبات آنتی اکسیدانتی (فنول وتانن)طی مراحل رشد میوه کاهش یافت. فعالیت اتنی اکسیدانی در مراحل مختلف رشد میوه رابطه قوی با ترکیبات آنتی اکسیدانتی در اغلب ارقام داشتند. سوپر اکسید دسموتار،پر اکسیداز به طور مرتب طی بلوغ میوه افزایش یافتند. اماپلی فنول اکسیداز در مرحله خرمادر همه ارقام کاهش یافت. به طور کلی می توان گفت که درصد رسیدگی بر میزان ترکیبات فنلی وخصوصیات انتی اکسیدانتی میوه خرما موثر می باشد.

کلمات کلیدی:خرما-ترکیبات فنلی-انتی اکسیدان-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 حدود۲۰۰ روز طول می‌کشد. که این دوره از چندین مرحله مجزا شامل حبابوک۱، کیمری۲، خلال۳، رطب۴ و تمر۵ تشکیل شده است. در حقیقت تولید میوه با کیفیت بالا و بازارپسند 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 وتفاوتهای بین آنها وجود دارد.پلی فنول اکسیداز این گروه از آنزیمها عمدتا بر پلی فنل هایی که بیشتر از گروه تانن ها 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 بر۸۰۰۰ ترکیب فنولی مختلف با تاثیرهای ازقبیل

[1] -Habbaboke
[2] -Kimri
[3] -Khalal
[4] -Rutab
[5] -Tamar

دخالت 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 می شود. . 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 رادیکالهال آزاد واکسیژن فعال شده توسط آنتی اکسیدان داخلی انجام می شود.

آنتی اکسیدانتهای آنزیمی طیف وسیعی دارند که مهمترین آنها سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز می‌باشند. این سه آنزیم نقش مهمی درتخریب H_2O_2 دارند

مواد وروشها

آزمایش در طی دو سال متوالی ۱۳۸۹و۱۳۹۰ انجام گردید. آزمایش به صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا گردید. نمونه ها به مقدار کافی در مراحل مختلف رشد میوه(کیمری، خلال، رطب و تمر) برداشت شدند. تعدادی از میوه ها 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 کوئرستین۶ اندازه گیری گردید (Kim et al., 2003). محلول‌های استاندارد با غلظت-های۱۰۰،۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم در لیترکوئرستین تهیه شد.غلظت تانن محلول نمونه ها بر طبق روش فولین سیاکالتیو۷ اندازه گیری شد(Taira, 1996). عصاره گیری با استفاده از متانول ۸۰ درصد همگن گردیده و پس از سانتریفوژ به مدت۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه، عصاره تاننی بدست آمد. ۵ میلی‌لیتر عصاره به ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه و ۵ میلی لیتر معرف فولین دیونیزه اضافه گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه ۲/۵ میلی لیتر 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 ازگالیک اسید در غلظت‌های مختلف که هم زمان با تهیه نمونه ها و مشابه به آن تهیه شده بود محاسبه شد.

ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها، از طریق خنثی کنندگی رادیکال آزاد ۲و۲دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل۸ تعیین گردید. . ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به صورت درصد بازدارندگیDPPH و با استفاده ازفرمول زیر محاسبه گردید(Aoet al, 2008) .

$$\%DPPH = (Acont - Asamp) / Acont \times 100$$

سنجش آنزیم سوپر اکسید دسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیم (NBT) درطول موج۵۶۰ نانومتر انجام گرفت (Giannopolitis and Ries, 1977). برای اندازه گیری غلظت کمی آنزیم پر اکسیداز از روش Plewa (1991) و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد. پلی فنول اکسیداز با روش Jiang وهمکاران در سال ۲۰۰۲ محاسبه گردید.

[6] -Quercetin
[7] -Folin ciocaltiu
[8] -DPPH

نتایج وبحث

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 سال۲۰۰۸می‌باشد. 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.

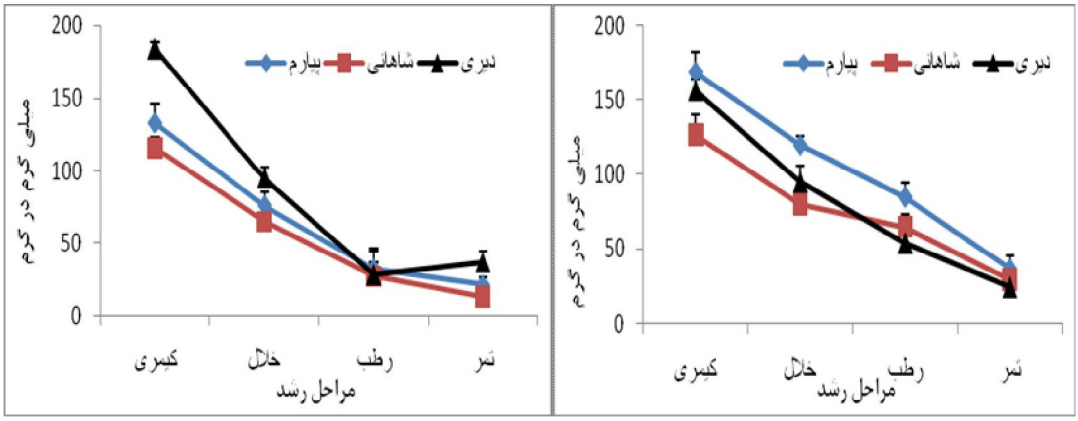
ارقام مختلف خرما روند کاهشی مشابهی در فعالیت آنتی اکسیدانی طی مراحل مختلف رشد نشان دادند. فعالیت آنتی اکسیدانی خرما عمدتا ناشی از حضور مواد محلول در آب با خاصیت آنتی رادیکالی، مانند ترکیبات فنولی(سینامیک اسید) و فلاونوئیدها می‌باشد (Mansouri et al.,۲۰۰۵). میوه خرما منبع خوبی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشد(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). می‌توان گفت در خرما خاصیت آنتی‌اکسیدانی خرما بیشتر تحت تاثیر میزان فنول آن می-باشد.

هر سه رقم شاهانی، پیارم و دیری بیشترین وکمترین میزان همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب با میزان فنول و تانن محلول بدست آمد.گرچه سایر همبستگی‌ها نیز قابل قبول است اما می‌توان گفت در خرما خاصیت آنتی‌اکسیدانی خرما بیشتر تحت تاثیر میزان فنول آن می‌باشد.

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 یافته‌های دیگرمحققان 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 پر اکسیداز 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 حذفH_2O_2 مربوط باشد.

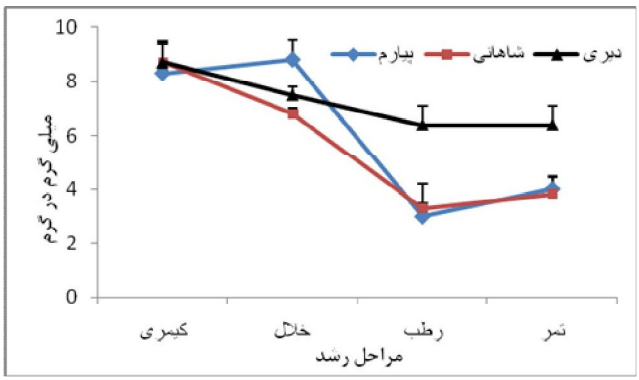
سوپر اکسیددسموتاز فعالیت کمتری نسبت به دیگر آنزیمهای اکسیدانتی نشان داد. ارقام مختلف الگوی متفاوتی در روند فعالیت این آنزیم نشان دادند. در رقم دیری تفاوت قابل ملاحظه‌ای در فعالیت آنزیم در مراحل مختلف دیده نشد. طی مطالعات انجام گرفته گزارشی از بررسی فعالیت این آنزیم در خرما دیده نشده است.

حداکثر فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در مرحله خلال در هر سه رقم مشاهده شد، یعنی قبل از شروع تغییر رنگ به قهوه‌ای در مرحله رطب فعالیت آنزیم افزایش یافت. Awad و همکاران نیز در سال۲۰۱۱ گزارش کردند که فعالت پلی فنول اکسیداز تا مرحله خلال افزایش می‌یابد بعد از آن بسته به رقم در مرحله رسیدن کاهش می‌یابد.

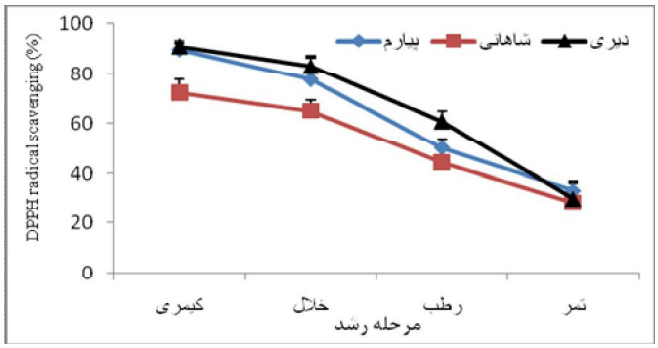


(ب) (الف)

شکل۱- روند تغییرات فنول(الف) و فلاونوئید(ب) ارقام شاهانی، پیارم و دیری در مراحل کیمری، خلال، رطب و تمر.



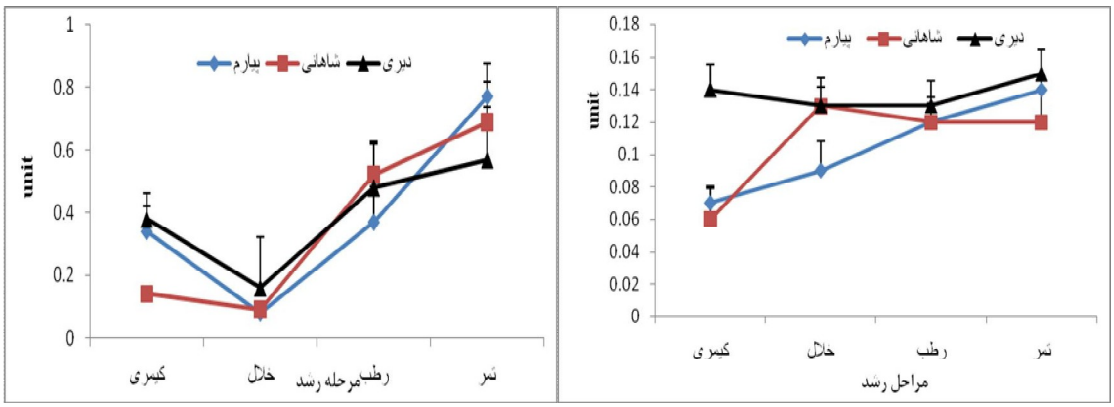
شکل۲- تغییرات محتوای تانن محلول ارقام شاهانی، پیارم و دیری در مراحل کیمری، خلال، رطب وتمر.



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

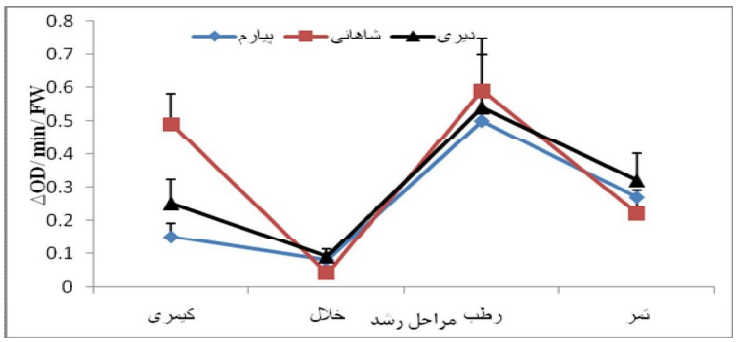
جدول۱- بررسی روابط رگرسیونی و ضریب همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی ارقام مختلف خرما با فنول، فلاونوئید، تانن محلول و کارتنوئیدها.

ارقام	فنول	فلاونوئید	تانن محلول	کارتنوئیدها
شاهانی	y= ۳۴/۷x – ۳۱/۵	y= ۳۰/۹x – ۲	y= ۱/۸۲x – ۱/۱	y= -۰/۰۰۸x – ۰/۶۷
	R2=۰/۹۵	R2=۰/۹۶	R2=۰/۸۵	R2=۰/۹۳
پیارم	y= ۳۸x – ۲۹/۵	y= ۴۳/۱x – ۵	y= ۱/۸۷x –۱/۳	y= -۰/۰۰۴x – ۰/۵۴
	R2=۰/۹۳	R2=۰/۹۹	R2=۰/۶۷	R2=۰/۸۶
دیری	y= ۵۰/۸x – ۴۱	y= ۴۴x – ۲۷/۵	y= ۰/۸x – ۵/۲۵	y= -۰/۰۰۲x – ۰/۲۳
	R2=۰/۸۳	R2=۰/۹۷	R2=۰/۸۹	R2=۰/۸۹



الف ب

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



شکل۵- روند تغییرات پلی فنول اکسیداز ارقام شاهانی، پیارم و دیری در مراحل کیمری، 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.