Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Food Processing and Preservation

Print ISSN: 2423-3544
Online ISSN: 2423-3803

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

The effect of cultivar and extraction method on antioxidant activity of date pit extract of some date cultivars in Bushehr province

Zakiyeh Ahmadi[1], Hassan Barzegar[2*], Mohammad Hojjati[3], Behzad Nasehi[4]

[1] M.Sc. Graduated, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

[2] Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, Email: hbarzegar@asnrukh.ac.ir

[3] Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

[4] Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Payame Noor University (PNU).

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2022-06-24
Revised: 2022-07-31
Accepted: 2023-01-09

Keywords:
Date kernel
Ultrasound
Maceration
Phenolic Compounds
Antioxidant activity

ABSTRACT

Background and objectives: Bioactive compounds, such as polyphenols and fibers in plant products had a significant role in human health. The beneficial effects of phenolic compounds are related to their multiple properties, including antioxidant and antimicrobial. The date kernel is categorized as "waste" in the Date processing factories. Depending on the variety, the average weight of date kernels are about 10 - 15% of whole date weight and are a source of dietary fiber and antioxidant compounds. The purpose of this study was to compare the effect of traditional extraction methods (Maceration) and Ultrasound on the amount of phenolic and flavonoid compounds extracted from kernel of three varieties date of Kabkab, Zahedi and Astamaran in Bushehr Province and investigation of their antioxidant properties.

Materials and methods: Date kernels were separated from the fruit and then washed with water to remove the flesh and finally dried and powdered. The Maceration method was used for extraction from the powder. In order to investigate the effect of Ultrasonic process on extraction of phenolic and flavonoid compounds, three times (5, 15, 25 minutes) and two sound intensity of 50 and 100% were used. Total phenols and flavonoids were measured by Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride colorimetry, respectively. Antioxidant activity of extracts was also determined by two methods of free radical scavenging DPPH and ABTS.

Results: Comparison between two extraction methods showed that the extraction's efficiency of the effective compounds of kernels of all three varieties by using Ultrasound method was higher than Maceration method. The most extraction efficiency of the effective compounds belonged to 10 minutes time and 100% the sound intensity. The results of antioxidant assays showed that the free radical scavenging activity of kernel's hydroalcoholic extracts of three date cultivars are depended on concentration and with increasing its concentration, their activity increas. Recent research indicated that with the presence of most phenol (29.34 µg/mg of gallic acid) and flavonoid (1282.66 µg/mg of quercetin), in Zahedi, the Kabkab variety kernel extract had the highest antioxidant activity.

Conclusion: The kernel powder of Zahedi, Kabkab and Astamaran is are

good source of natural antioxidant compounds (phenolic and flavonoids). Therefore, based on this research, seed powder and extract of various Date varieties can be used as a natural antioxidant compound in different foods.

Cite this article: Ahmadi, Z., Barzegar, H., Hojjati, M., Nasehi, B. 2022. The effect of cultivar and extraction method on antioxidant activity of date pit extract of some date cultivars in Bushehr province. *Food Processing and Preservation Journal*, 14 (4), 1-16.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/FPPJ.2023.20356.1706
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵٤٤-۲٤۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲٤۲۳

بررسی تاثیر رقم و روش استخراج بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته چند رقم خرمای استان بوشهر

زکیه احمدی[۱]، حسن برزگر[۲*]، محمد حجتی[۳]، بهزاد ناصحی[٤]

[۱]. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
[۲]. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران،
رایانامه: hbarzegar@asnrukh.ac.ir
[۳]. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
[٤]. دانشیار، گروه مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰٤/۰۳
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰۵/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۰/۱۹

واژه‌های کلیدی:
هسته خرما
فراصوت
خیساندن
ترکیبات فنولی
فعالیت آنتی‌اکسیدانی

چکیده

سابقه و هدف: ترکیبات فعال زیستی نظیر فیبرها و پلی‌فنول‌های موجود در محصولات گیاهی، در سلامت انسان نقش مهمی دارند. اثرات سودمند ترکیبات فنولی به خواص چندگانه آن‌ها از جمله خصوصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مربوط می‌شود. هسته خرما که جزء ضایعات کارخانجات فرآوری خرما است. بسته به نوع واریته، به‌طور میانگین حدود ۱۵- ۱۰ درصد وزن کل میوه را تشکیل می‌دهد و به‌عنوان یک منبع غنی از فیبرهای رژیمی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. هدف از این پژوهش، مقایسه اثر روش‌های استخراج سنتی (خیساندن) و فراصوت بر میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی استخراج شده از عصاره هسته سه واریته خرمای کبکاب، زاهدی و استعمران استان بوشهر و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها: هسته نمونه‌های خرما از میوه جداسازی شده و سپس به منظور حذف گوشت، با آب شت‌وشو و در نهایت خشک و پودر شدند. از پودر حاصله با استفاده از روش خیساندن عصاره‌گیری شد. به‌منظور بررسی اثر فرآیند فراصوت بر استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، سه زمان ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه و دو شدت ۵۰ و ۱۰۰ درصد استفاده شد. میزان محتوای فنول‌کل و فلاونوئید کل عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو و روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید به ترتیب اندازه‌گیری شد. خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز با دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS ارزیابی شد.

یافته‌ها: مقایسه بین دو روش استخراج نشان داد که بازده استخراج ترکیبات مؤثره هسته هر سه واریته خرما در روش فراصوت نسبت به روش خیساندن بیشتر بود. بیشترین بازده استخراج ترکیبات مؤثره مربوط به زمان ۱۰ دقیقه و شدت صوت ۱۰۰ درصد بود. نتایج آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد عصاره‌های هیدروالکلی هسته سه رقم خرما، وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت، فعالیت ضدرادیکالی آن‌ها افزایش می‌یابد، همچنین باوجود فنول (۲۹/۳۲٤میکروگرم بر میلی‌گرم گالیک‌اسید) و فلاونوئید (۱۲۸۲/۳٦۰

میکروگرم بر میلی‌گرم کوئرستین) بیشتر عصاره هسته رقم زاهدی ، عصاره هسته رقم کبکاب دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود.

نتیجه‌گیری کلی: پودر هسته رقم زاهدی، کبکاب و استعمران، منبع خوبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی (ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها) است. بنابراین بر اساس یافته‌های این پژوهش، پودر و عصاره هسته ارقام مختلف خرما می‌تواند به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان طبیعی در غذاهای مختلف استفاده شود.

استناد: احمدی، ز.، برزگر، ح.، حجتی، م.، ناصحی، ب. (۱٤۰۱). بررسی تاثیر رقم و روش استخراج بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته چند رقم خرمای استان بوشهر. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱٤ (٤)، ۱٦-۱.

DOI: 10.22069/FPPJ.2023.20356.1706

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

خرما (*Phoenix dactylifera*)، گیاهی است که در بسیاری از نقاط دنیا به‌ویژه نواحی بیابانی کشورهای خاورمیانه رشد می‌کند و نقش مؤثری در بقاء بسیاری از تمدن‌های قدیمی داشته است. میوه خرما دارای درصد بالای کربوهیدرات، مواد معدنی، پروتئین، ویتامین‌ها و فیبرهای خوراکی است (۱). این میوه حاوی مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان، آنتوسیانین، ترکیبات فنولیک و اسیدهای آزاد و باند شده است. هسته خرما به‌طور میانگین حدود ۱۵-۱۰ درصد وزن کل میوه را تشکیل می‌دهد (۲). در کارگاه‌های صنعتی، هسته خرما را با مغزجاتی نظیر گردو جایگزین می‌کنند و در بعضی از کارگاه‌ها با جداسازی هسته، خرمای بدون هسته را بسته‌بندی می‌کنند. مقدار زیادی از هسته‌های خرما را می‌توان به راحتی از صنایع فرآوری خرما یا از ضایعات محصول جدا کرد (۳). در برخی از کشورها، مقداری از این هسته به‌عنوان خوراک دام استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر بررسی‌هایی در زمینه ترکیب شیمیایی و امکان استفاده از هسته خرما در صنایع مختلف صورت گرفته است و برخی کاربردهای بالقوه هسته خرما را در صنایع شیمیایی، آرایشی، بهداشتی، دارویی، خوراک دام و صنایع غذایی نشان می‌دهد (٤ و ٥). روش‌های بسیاری برای استخراج ترکیب‌های زیست فعال از منابع طبیعی وجود دارد که از آن جمله می‌توان به روش‌های سوکسله، خیساندن، استخراج با آب گرم، استخراج به کمک سیال فوق بحرانی و استخراج به کمک فراصوت اشاره نمود. خیساندن در حلال، روش معمول برای استخراج ترکیب‌های فنولی از منابع طبیعی مختلف می‌باشد. ادعا می‌شود که این روش دارای معایبی شامل دمای بالا، زمان عملیات طولانی و بازده استخراج پایین است. بنابراین، توصیه می‌شود که از روش‌های استخراج کمکی مثل امواج فراصوت برای تشدید استخراج این ترکیبات استفاده شود (٦). عصاره هسته خرما یک منبع غنی از پلی‌فنول‌ها و فیبرهای تغذیه‌ای است (۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه نزدیک با میزان ترکیبات فنولی در گیاهان دارد. ترکیبات فنولی، گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند و حدود ۸۰۰۰ ترکیب مختلف در این گروه قرار می‌گیرد. مهم‌ترین عملکرد این ترکیبات، در ارتباط با اکسیداسیون، غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد و تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی است. ترکیبات فنولی از طریق در اختیار قرار دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (۷). اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها طی فرآوری و نگهداری غذاها نه تنها باعث از دست رفتن کیفیت تغذیه‌ای و هضمی غذا می‌شود، بلکه باعث تولید ترکیباتی مانند رادیکال‌های آزاد نیز می‌شود. رادیکال‌های آزاد منجر به واکنش‌های نامطلوب شیمیایی و احتمالاً بیولوژیکی شده و بسیاری از بیماری‌ها را ایجاد می‌کنند (۸). امروزه در صنعت به‌منظور جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند: بوتیلات هیدروکسی‌آنیزول (BHA)، بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)، ترت‌بوتیل هیدروکینون (TBHQ) و استرهای‌گالات در بسیاری از غذاها مورداستفاده قرار گرفته است (۹). با وجود اثر بخشی و کارایی بالای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، اخیراً عوارض نامطلوب ناشی از مصرف آن‌ها از جمله سرطان‌زایی و ایجاد آسیب‌های کبدی به اثبات رسیده است. گرچه آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در مقادیر کم استفاده می‌شود ولی نیاز به انواع آنتی‌اکسیدان‌های بدون عوارض جانبی نیز احساس می‌شود زیرا نمی‌توان عوارض ناشی از مصرف طولانی مدت این ترکیبات را

در انسان نادیده گرفت. از این رو تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است (۸). در تحقیقی سایس باربرا و همکاران (۲۰۲۰)، مقادیر مختلف (۰، ۱/۵، ۳ و ٦ درصد) پودر هسته خرما را به فرمول بیف برگر افزودند، پودر هسته خرما باعث افزایش عمر نگهداری و بهبود خصوصیات محصول پس از پخت شد (۱۰). امانی و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر ترکیبات فنولی موجود در هسته خرما در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیلات‌هیدروکسی تولوئن (BHT) روی اکسیداسیون چربی و کیفیت گوشت قطعه قطعه شده در طول نگهداری در یخچال را مورد ارزیابی قراردادند. نتایج نشان داد که عصاره هسته خرما دارای بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که باعث کاهش شکل‌گیری هیدروپراکسیدها در قطعات گوشت در مدت‌زمان ماندگاری گردید (۲). با توجه به اینکه مقادیر فراوانی هسته در استان‌های جنوبی کشور از طریق صادرات خرمای بدون هسته، هسته جایگزین شده با گردو و تهیه شیره خرما تولید می‌شود، پیدایش راهی که هسته خرما تبدیل به فرآورده سودآوری شود و ارزش افزوده ایجاد کند دارای اهمیت است. به همین جهت در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هسته سه واریته مهم خرمای استان بوشهر، کبکاب، زاهدی (قصب) و استعمران که جهت صادرات هسته آن‌ها جدا و به‌عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود، مورد بررسی قرار گرفته و به مقایسه اثر روش‌های استخراج سنتی (خیساندن) و فراصوت روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی استخراج شده از عصاره هسته سه واریته خرمای مذکور که تا به حال موضوع تحقیقات نبوده، پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها و مواد شیمیایی: هسته سه رقم خرمای کبکاب، زاهدی و استعمران از نخلستان‌های دشتی و دشتستان از شهرستان‌های استان بوشهر در سال ۱۳۹٦، تهیه گردید. کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش، از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص آزمایشگاهی تهیه شد.

آماده سازی پودر هسته: ابتدا هسته‌های خرما از میوه جداسازی شده و جهت حذف کامل گوشت، میوه‌های خرما کاملاً با آب شسته شده و به کمک جریان هوا در آفتاب خشک شده و در دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت در آون خشک شدند. به علت اینکه هسته خرما بسیار سفت و محکم است برای پودر کردن آن ابتدا با استفاده از هاون آهنی کوبیده شدند سپس با آسیاب چکشی آسیاب شدند سپس پودر حاصل از غربالی با منافذ یک میلی‌متر (مش شماره ۱۸) عبور داده شدند. نمونه‌ها در ظروف شیشه‌ای با درب‌های غیرقابل نفوذ به هوا و رطوبت ریخته شده و تا زمان آزمایش در یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند (۱۱).

استخراج عصاره: استخراج عصاره بر اساس روش بیگلری (۲۰۰۸) با اندکی تغییرات انجام شد. ۲۰گرم پودر هسته، در ٦۰ میلی‌لیتر حلال متانول- آب با نسبت (٤ به ۱) غوطه‌ور شده و به مدت ٤۸ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار گرفت، سپس توسط دستگاه شیکر، ۲ ساعت تکان داده و به‌وسیله سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه صاف شد. پس از صاف کردن، به‌منظور حذف حلال، عصاره‌های حاصل در دستگاه تبخیرکننده تحت خلأ (روتاری)، در دمای ٤۵ – ٤۰ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند تا میزان آسیب ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و

ترکیبات فنولی به حداقل برسد. سپس عصاره به پلیت‌های شیشه‌ای منتقل شده و به مدت حدود ۳ ساعت روی بن ماری در دمای ۵۰-٤۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا باقیمانده حلال حذف شده و عصاره کاملاً تغلیظ شود، درب پلیت‌ها بسته و به‌منظور جلوگیری از تأثیر نور آفتاب با فویل آلومینیومی پوشانده شد. عصاره‌ها تا زمان آزمایش در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۲).

استخراج عصاره با امواج فراصوت: در فرآیند استخراج با امواج فراصوت، عصاره به روش خیساندن تهیه شد با این تفاوت که مخلوط نمونه و حلال در معرض امواج فراصوت با فرکانس ثابت ۲٤ کیلوهرتز در دمای محیط در سه زمان ۵، ۱۰، ۱۵ دقیقه و در دو شدت ۵۰ و ۱۰۰ درصد قرار گرفت. فراصوت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک ساخت شرکت هشلر آلمان مدل Up 200H باقدرت ٤۰۰ وات و پروب S3 از جنس تیتانیوم با قطر ۳ میلی‌متر، عمق نفوذ ۹۰ میلی‌متر و ۱cycle انجام شد (۱۲).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی عصاره‌ها: مقدار کل ترکیبات فنولیک در عصاره حاصل، از دو روش استخراج خیساندن و فراصوت طبق روش سینگلتون و روسی (۱۹٦۵) به‌وسیله معرف فولین سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت. جهت اندازه‌گیری فنول کل عصاره تولیدی، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره به یک میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالچو (۱۰ درصد وزنی/وزنی) اضافه و به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید. سپس ۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (۱۰ درصد) به آن اضافه شد. پس از نگهداری نمونه به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از غلظت‌های ۰-۰/۵ (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد و میزان فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره (mg GAE/g) گزارش گردید (۱۳).

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل: مقدار ترکیبات فلاونوئیدی توسط کاربرد رنگ سنجی آلومینیوم تری کلرید به روش حسین و رحمان (۲۰۱۱)، با اندکی اصلاح اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر که قبلاً تهیه شده، با ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس ۷۵ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵٪ به مخلوط افزوده و پس از گذشت ٦ دقیقه ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم تری کلرید ۱۰٪ (pH=۵/۸) به آن اضافه و پس از گذشت ۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر سود ۱ مولار به آن افزوده (محلول صورتی‌رنگ) و بلافاصله جذب نمونه در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل به‌صورت میکروگرم کوئرستین بر میلی‌گرم عصاره گزارش گردید (۱٤).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مهار رادیکال آزاد DPPH: جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت عصاره برگ گیاه با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره با ۳/۹۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر معادل ۲۵۰ میلی‌مولار) مخلوط و به مدت ٦۰ دقیقه در دمای اتاق در مکانی تاریک نگهداری شد. از ۰/۰۵ میلی‌لیتر متانول به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. در پایان، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر به دست آمد (۱۵).

رابطه ۱)

$$\text{فعالیت مهارکنندگی (\%)} = (1 - \text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{control}}) \times 100$$

مهار رادیکال آزاد ABTS : این آزمون بر اساس روش زولتا و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد. برای تهیه

رادیکال ABTS ابتدا یک محلول آبی از محلول ABTS به غلظت ۷ میلی‌مولار تهیه شد. به این محلول ABTSپتاسیم پرسولفات اضافه شد تا غلظت نهایی آن به ۲/٤٥ میلی‌مولار در محلول برسد. محلول حاصل در شرایط دمای اتاق و تاریکی به مدت ١٦ ساعت قرار داده شد. در این مدت از مولکول ABTS، رادیکال کاتیون $ABTS^{+}$ تولید شد. ۳۰ میکرولیتر از نمونه‌ها (عصاره یا استاندارد) را با سمپلر برداشته و با ۳ میلی‌لیتر از محلول ABTS درکوت مخلوط گردیده، سپس جذب آن در ٧٣٤ نانومتر بعد از ٦ دقیقه خوانده شد. و درنهایت نتایج به‌صورت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس بیان گردید (١٦).

تجزیه و تحلیل آماری: به‌منظور آنالیز آماری داده‌ها و بررسی اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مختلف، از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. به‌منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار هر آزمون)، پس از آنالیز واریانس، از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده گردید. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماریSAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج و بحث

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی: مقایسه میانگین اثر روش‌های استخراج بر میزان فنول کل در جدول ۱ ارائه شده است. اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک عصاره‌های استخراجی با روش‌های خیساندن و فراصوت حاکی از آن است که روش استخراج تأثیر به سزایی بر میزان کل ترکیبات فنولیک برحسب اسید گالیک داشته است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، روش استخراج با فراصوت ، ترکیبات فنولیک بیشتری را نسبت به روش خیساندن استخراج کرده است. می‌توان گفت استرس برشی حاصل از امواج فراصوت باعث شکسته شدن مولکول‌های پلیمری بزرگ و در نتیجه باعث استخراج بهتر ترکیبات فنولیک نسبت به روش خیساندن می‌شود (۱۷). حیدری مجد و همکاران (۲۰۱٤) در پژوهشی گزارش کردند که روش فراصوت ترکیبات فنولیک بیشتری را از گیاه پونه گاوی نسبت به روش خیساندن استخراج کرد و دلیل آن را استرس برشی حاصل از امواج فراصوت بر ترکیبات فنولیک بیان نمودند (۱۸). در پژوهش حاضر نیز استخراج ترکیبات فنولیک از عصاره هسته سه رقم مورد بررسی توسط استخراج فراصوت بیشتر از استخراج خیساندن بود. فرآیند استخراج با حلال شامل دو مرحله غوطه‌وری بافت گیاهی در حلال به‌منظور جذب و تورم بافت و سپس انتقال مواد از بافت به داخل حلال از طریق فرآیندهای انتشار و اسمز است. امواج فراصوت، هر دو مرحله فرآیند استخراج یعنی تورم بافت و نیز خروج ترکیبات از آن را، از طریق ایجاد تخلخل و منافذ در دیواره سلول‌ها و بهبود انتشار و انتقال جرم تسهیل می‌کنند (۱۹). در مطالعه‌ای که در خصوص اثر استفاده از امواج فراصوت بر استخراج روغن از دانه‌های آسیاب شده زیتون انجام پذیرفت، مشخص شد دیواره سلول‌ها و بافت‌های گیاهی در حضور این امواج تخریب شده، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (پلی فنول‌ها و توکوفرول‌ها) و رنگدانه‌های (کلروفیل و کاروتنوئید) بیشتری به داخل روغن راه می‌یابد که باعث افزایش ارزش تغذیه‌ای می‌گردد (۲۲). در جدول ۱ می‌توان تأثیر شدت صوت و زمان را بر استخراج ترکیبات فنولیک به کمک امواج فراصوت مشاهده کرد. بر اساس نتایج این پژوهش در رقم کبکاب و زاهدی با افزایش زمان در هر دو شدت ۵۰ و ۱۰۰ نسبت به روش خیساندن افزایش میزان ترکیبات فنولیک مشاهده می‌شود اما در رقم استعمران در شدت ۵۰ با افزایش زمان استخراج ترکیبات فنولی افزایش، اما در شدت ۱۰۰ با افزایش زمان میزان

ترکیبات فنولیک کاهش می‌یابد. مدت‌زمانی که برای استخراج ترکیبات فنولی در نظر گرفته می‌شود حائز اهمیت است، به‌طوری که با افزایش زمان می‌توان میزان ترکیبات فنولی استخراجی در عصاره را افزایش داد. البته میزان افزایش زمان دارای محدودیت بوده و در روش‌های مختلف استخراج متفاوت می‌باشد (۲۰). اسپیگنو(۲۰۰۹)، دلیل افزایش ترکیبات فنولی با افزایش زمان استخراج را این گونه توجیه می‌کند که با گذشت زمان، حلال فرصت پیدا می‌کند که به درون بافت گیاهی نفوذ کرده و همچنین ترکیبات فنولی نیز فرصت کافی برای جدا شدن از ماتریکس و ورود به حلال را دارند. شمس اردکانی و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی ترکیبات فنولی کل از ۱٤ رقم مختلف هسته خرما گزارش کردند که عصاره DMSO رقم زاهدی دارای بیشترین محتوای فنولی کل (۳٥٤۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گیاه خشک) می‌باشد در پژوهش حاضر نیز از میان عصاره هسته ارقام مورد بررسی، رقم زاهدی دارای بیش‌ترین ترکیبات فنولی بود. عوامل متعددی مانند، مراحل آماده‌سازی گیاه (نحوه خشک کردن، زمان و دمای عصاره گیری)، نمونه گیاهی (نوع گونه، جمعیت، مرحله نمو)، شرایط محیطی گیاه (ساختار خاک، شرایط اقلیمی، تنش‌ها) و روش‌های سنجش ترکیبات فنولی می‌تواند بر میزان استخراج ترکیبات فنولی تأثیرگذار باشد (۲۱).

جدول ۱- تاثیر رقم و روش استخراج بر میزان فنول کل (mg GAE/g)

Table 1- The effect of cultivar and extraction method on total phenol content (mg GAE/g)

رقم Cultivar	روش استخراج Extraction method						
	A*	B	C	D	E	F	G
استعمران Astamaran	15.938±0.112^{b}	22.703±0.660^{a}	22.343±0.450^{a}	23.37±0.355^{a}	23.863±0.905^{a}	16.020±0.512^{b}	14.745±0.340^{b}
کبکاب Kabkab	14.696±0.070^{d}	21.853±0.546^{c}	23.324±0.219^{c}	27.147±0.350^{bc}	29.794±0.800^{b}	38.373±0.325^{a}	39.059±0.424^{a}
زاهدی Zahedi	23.127±0.865^{c}	24.794±0.425^{c}	28.176±0.200^{b}	29.157±0.286^{b}	37.637±0.100^{a}	38.202±0.140^{a}	24.157±0.610^{c}

*حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج درصد است

*A: خیساندن ، B: فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۵ دقیقه، C : فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۰ دقیقه، D: دقیقه فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۵ E: دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۵، F : فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان۱۰ دقیقه، G: دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۱۵

* The same letter in each column indicate no significant difference at 5 % level ($p < 0.05$)

*A: Soaking, B: US (Intensity: 50%, 5 min), C: US (Intensity: 50%, 10 min), D: US (Intensity: 50%, 15 min), E: US (Intensity: 100%, 5 min), F: US (Intensity: 100%, 10 min), E: US (Intensity: 100%, 15 min).

بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی: ارزیابی میزان ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های استخراجی با روش‌های خیساندن وامواج فراصوت حاکی از آن بود که روش استخراج تأثیر به سزایی بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی برحسب کوئرستین دارد. مقایسه میانگین اثر ساده نوع رقم نشان داد که میزان فلاونوئید برای رقم زاهدی۱۰۵۱/۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌گرم کوئرستین است که به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر از رقم کبکاب و برای این رقم به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر از رقم استعمران بود (جدول ۲). همچنین مقایسه روش‌های استخراج نشان داد که بدون در نظر گرفتن نوع رقم، میزان فلاونوئید در روش استخراج فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۰دقیقه به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر از روش‌های فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۵دقیقه ، فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۵دقیقه و فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۱۵دقیقه و برای این روش‌ها به‌طور معنی‌داری در سطح

($p<۰/۰۱$) بیشتر از روش استخراج فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۱۰دقیقه بود. همچنین کمترین میزان فلاونوئید در روش استخراج خیساندن مشاهده شد. ژانگ و همکاران (۲۰۰۰)، برای استخراج رنگدانه‌های فلاونوئیدی از برگ گیاه بامبو از دو روش فراصوت و خیساندن در آب داغ استفاده نمودند. نتایج نشان داد استفاده از فراصوت در دمای پایین نسبت به استخراج به روش خیساندن در آب ۸۰ درجه سانتی‌گراد مناسب‌تر است، زیرا استخراج در کمترین زمان انجام شده و به ساختار رنگدانه‌ها آسیبی وارد نمی‌سازد. در واقع به‌منظور استخراج مواد، غشاء سلول‌ها باید شکسته شود. حفره‌زایی فراصوت، نیروهای برشی را ایجاد می‌کند که دیواره‌های سلول ر ا به‌طور مکانیکی می‌شکند و انتقال مواد را بهبود می‌بخشد. از این اثر در استخراج مواد از سلول‌ها استفاده می‌شود (۲۲). احمدیان کوچکسرایی و نیازمند (۱۳۹۵) در پژوهش خود بیان کردند زمان استخراج بیش‌ترین تأثیر را بر مقدار استخراج فلاونوئید دارد و با افزایش توان دستگاه فراصوت، محتوای فلاونوئیدی در عصاره استخراج شده افزایش می‌یابد. در پژوهش حاضر نیز به‌جز رقم استعمران که در شدت ۱۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه میزان فلاوونوئید آن کاهش یافت در دو رقم دیگر شاهد افزایش میزان فلاونوئیدها با افزایش زمان در هر دو شدت ۵۰ و ۱۰۰ بودیم. طبق گزارش سایر محققان می‌توان گفت افزایش بازده ناشی از شدت امواج فراصوت بر استخراج فلاونوئیدها با افزایش تخریب دیواره‌های سلولی و در نتیجه خروج و دسترسی بیش‌تر این مواد مرتبط است (۲۳). در واقع سازوکار اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده حفره‌زایی[1] مربوط می‌شود که طی آن حباب‌های بسیار ریزی در توده مایع تشکیل‌شده و به سرعت تا یک اندازه بحرانی رشد می‌کنند و سپس منفجر می‌گردند. انفجار این حباب‌ها بیشتر با آزاد شدن مقدار بسیاری انرژی همراه است که به شکل تنش برشی به محیط اطراف اعمال می‌شود (۲٤). مشابه با گزارش محققی ثمرین و همکاران (۲۰۱۱) در فرایند استخراج ترکیبات فنولی با روش فراصوت، افزایش بیش از حد زمان استخراج، باعث از دست رفتن مقدار بیشتری از ترکیبات فنولی می‌شود. همان‌طور که اشاره شد در رقم استعمران شاهد این اتفاق بودیم.

تأثیر نوع رقم و روش استخراج بر ۵۰ درصد مهار رادیکال‌های آزاد (IC_{50}): معمولاً برای مقایسه بهتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف از فاکتوری تحت عنوان IC_{50} استفاده می‌شود. طبق تعریف، IC_{50} به غلظتی از عصاره گفته می‌شود که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان‌دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضدرادیکالی بیشتری دارد. مقایسه میانگین تأثیر روش‌های استخراج بر میزان IC_{50} برای هر یک از ارقام مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. برای رقم استعمران، میزان IC_{50} برابر۰/۷٦٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در استخراج خیساندن به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر و در واقع درصد مهارکنندگی آن کمتر از سایر روش‌ها گزارش شد. برای این رقم کمترین میزان IC_{50}، ۰/۲۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و بیشترین درصد مهارکنندگی در روش استخراج فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه به دست آمد اما از این نظر تفاوت معنی‌داری با روش‌های استخراج فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۱۰ و ۱۵ دقیقه و فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۰ و ۱۵ دقیقه وجود نداشت. برای رقم کبکاب نیز میزان IC_{50} برابر ۰/۳۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در روش استخراج خیساندن به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر و درصد مهارکنندگی آن کمتر از

1. Cavitation

سایر روش‌ها بود. در این رقم درصد مهارکنندگی بیشتر و کمترین میزان IC_{50}، ۰/۱٤٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۰/۱۳۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب در روش‌های استخراج فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۱۵ دقیقه و فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۰دقیقه مشاهده شد.

جدول ۲- تاثیر رقم و روش استخراج بر میزان ترکیبات فلاوونوئیدی (میکروگرم بر میلی‌گرم)

Table 2- The effect of cultivar and extraction method on flavonoid compounds content (µg/mg)

رقم Cultivar	روش استخراج Extraction method						
	*A	B	C	D	E	F	G
استعمران Astamaran	697.666± 45.019^{e}	822.000± 37.362^{d}	867.000± 24.671 ^{d}	903.500± 15.270^{cd}	1012.666± 65.210^{b}	1129.333 ± 43.090^{a}	976.000± 33.100^{bc}
کبکاب Kabkab	732.500± 38.220^{f}	846.000± 25.131^{e}	990.000± 28.323 ^{c}	1081.000± 29.000^{b}	916.000± 31.120^{d}	1174.000 ± 20.320^{a}	1141.000± 25.219^{ab}
زاهدی Zahedi	1051.500± 41.312^{f}	1138.000± 22.210^{e}	1255.500± 52.562 ^{d}	1365.000± 34.612^{bc}	1399.000± 27.413^{ab}	1455.500 ± 47.065^{a}	1312.000± 32.060^{cd}

*حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج درصد است.

*A: خیساندن ، B: فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۵ دقیقه، C : فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۰ دقیقه، D: دقیقه فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۵

E: دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۵، F : فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان۱۰ دقیقه، G: دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۱۵

* The same letter in each column indicate no significant difference at 5 % level ($p < 0.05$)

* The same letter in each column indicate no significant difference at 5 % level ($p < 0.05$)

*A: Soaking, B: US (Intensity: 50%, 5 min), C: US (Intensity: 50%, 10 min), D: US (Intensity: 50%, 15 min), E: US (Intensity: 100%, 5 min), F: US (Intensity: 100%, 10 min), E: US (Intensity: 100%, 15 min).

برای رقم زاهدی IC_{50} در روش استخراج خیساندن به‌طور معنی‌داری بیشتر از روش فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۱۵ دقیقه و برای این روش به‌طور معنی‌داری بیشتر از روش‌های فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۵ و ۱۰ دقیقه، و فراصوت با شدت۱۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه بود. کمترین میزان IC_{50} و بیشترین درصد مهارکنندگی برای رقم زاهدی در روش فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه مشاهده شد (جدول ۳). بدون در نظر گرفتن نوع رقم خرما، میزان IC_{50} در روش استخراج خیساندن به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر از سایر روش‌های استخراج بود. همچنین تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) میان روش‌های استخراج فراصوت با شدت ۵۰ و زمان ۱۵ دقیقه و فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۵دقیقه از این نظر مشاهده نشد. کمترین میزان IC_{50} در روش فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۵ دقیقه مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین این روش و روش استخراج فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۰ دقیقه وجود نداشت. بدون در نظر گرفتن روش استخراج، میزان IC_{50} ۰/۷٦٦ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در رقم استعمران به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر از رقم زاهدی و برای این رقم به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) بیشتر از رقم کبکاب به دست آمد. روش استخراج، نوع رقم خرما و اثر متقابل این دو فاکتور به‌طور معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۱$) میزان فلاونوئید، فنول کل ، IC_{50} و ABTS را تحت تأثیر قرارداد. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود عصاره حاصل از روش فراصوت، دارای فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد بیشتری (IC_{50} کمتر) نسبت به روش خیساندن هست. و می‌توان گفت که استخراج بیشتر ترکیبات فنولیک در روش فراصوت نسبت به روش خیساندن باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر روش فراصوت شده است. این نتایج با گزارش منصول ملاشاهی خمکی و وارسته مرادی (۱۳۹٤) مطابقت

دارد، این محققان گزارش کردند که استفاده از روش فراصوت باعث فعالیت آنتی‌اکسیدان بیشتر عصاره استخراج شده از بذر گیاه کنگرفرنگی (آرتیشو) نسبت به روش خیساندن شده است (۲۵). نتایج به دست آمده از پژوهش گوهرگانی و محمدی (۱۳۹٦) نیز نشان داد که روش فراصوت دارای قدرت فراوانی جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میوه بلوط در مقایسه با دو روش دیگر مورد مطالعه (ماکروویو و خیساندن) می‌باشد (۲٦). احمدیان کوچکسرایی و نیازمند (۱۳۹۵) به‌منظور استخراج ترکیبات مؤثره گلبرگ زعفران به کمک امواج فراصوت، در شدت صوت ۱۰۰ درصد، بالاترین میزان درصد بازدارندگی را مشاهده کردند و علت این امر را استخراج بالاتر ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی در این شدت صوت بیان نمودند. هم‌چنین، در این پژوهش از میان پارامترهای مورد بررسی مشخص گردید که زمان و شدت صوت تأثیر بیش‌تر و دمای استخراج شدت تأثیر کم‌تری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته است (۲۲). شریفی و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر زمان روی قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در روش فراصوت را معنی‌دار اعلام کردند و دریافتند با افزایش مدت‌زمان استخراج تا حد خاصی قدرت مهارکنندگی افزایش یافته است (۲۷). روحانی و همکاران (۱۳۹٤) به‌منظور بررسی اثر فرآیند فراصوت در بهینه‌سازی استخراج ترکیبات آنتوسیانینی و آنتی‌اکسیدانی پرچم گل زعفران، سه زمان ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه و شدت صوت ۲۰، ٦۰ و ۱۰۰ درصد را به کار بردند و دریافتند با افزایش زمان و شدت صوت از ۵ تا ۱۰ دقیقه مقدار پلی‌فنول کل افزایش یافت اما در زمان ۱۵ دقیقه این روند ثابت شد و در برخی موارد کاهش یافت. بیشترین میزان پلی‌فنول کل و قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH در زمان ۱۰ دقیقه و شدت صوت ۱۰۰ درصد به دست آمد که از این نظر با پژوهش حاضر مطابقت دارد (۲۸). شمس اردکانی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که هسته ۱٤ رقم از خرمای ایران دارای فعالیت نسبتا بالای آنتی‌اکسیدانی هستند و می‌توان آن‌ها را به‌عنوان منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای اهداف دارویی و تجاری در نظر گرفت. در بسیاری از پژوهش‌ها عنوان شده است که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های گیاهی ارتباط مستقیمی وجود دارد، اما در عصاره‌های گیاهی، علاوه بر فنول‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های دیگری هم وجود دارد که برهم‌کنش بین این ترکیبات، نقش به سزایی در بروز قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها دارد (۲۱). در پژوهش حاضر مشاهده شد با وجود بیشتر بودن مقدار فنول و فلاونوئید در رقم زاهدی، رقم کبکاب دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. طبق گزارش برخی از محققان عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، اختلاف در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهان از جمله فنول و فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارد، تفاوت در میزان ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌ها در هسته ارقام مختلف خرما می‌تواند ناشی از تأثیر عوامل محیطی، زیستگاهی و تغذیه‌ای درخت خرما باشد (۲۹).

نتایج آزمون ABTS : نتایج مقایسه میانگین نشان داد که میزان ABTS برای رقم استعمران در روش فراصوت (شدت ۱۰۰ و زمان۵ دقیقه)، به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر روش‌ها بود. همچنین، درصد مهارکنندگی ABTS در روش خیساندن به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر روش‌ها به‌دست آمد (جدول ٤).

جدول ۳- تأثیر نوع رقم و روش استخراج بر ۵۰ درصد مهار رادیکال‌های آزاد IC_{50} (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

Table 3- The effect of cultivar and extraction method on the IC_{50} (mg/ml)

رقم Cultivar	روش استخراج Extraction method						
	A	B	C	D	E	F	G
استعمران Astamaran	0.766± 0.052 a	0.500± 0.013 b	0.346± 0.004 bc	0.380± 0.005 bc	0.280± 0.001 c	0.340± 0.006 bc	0.440± 0.015 bc
کبکاب Kabkab	0.380± 0.022 a	0.220± 0.009 bc	0.190± 0.015 c	0.146± 0.007 d	0.240± 0.013 b	0.133± 0.001 d	0.233± 0.011 b
زاهدی Zahedi	0.510± 0.031 a	0.336± 0.015 c	0.306± 0.005 c	0.453± 0.0124 b	0.180± 0.010 c	0.260± 0.012 d	0.313± 0.008 c

*حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج درصد است

* A: خیساندن، B : فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۵ دقیقه، C: فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۰ دقیقه، D : دقیقه فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۵

E : دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۵، F : فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان۱۰ دقیقه، G: دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۱۵

*The same letter in each column indicate no significant difference at 5 % level ($p < 0.05$)

*A: Soaking, B: US (Intensity: 50%, 5 min), C: US (Intensity: 50%, 10 min), D: US (Intensity: 50%, 15 min), E: US (Intensity: 100%, 5 min), F: US (Intensity: 100%, 10 min), E: US (Intensity: 100%, 15 min)

برای رقم کبکاب، بیشترین میزان ABTS توسط روش‌های استخراج فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۰ دقیقه، ۸۹/۵۶۳ و روش فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه، ۸۲/۸۴۸ به‌دست آمد. با این حال اختلاف معنی‌داری بین روش‌های فراصوت (شدت ۱۰۰ و زمان ۱۵دقیقه) و فراصوت (شدت ۵۰ و زمان ۱۵ دقیقه) از این نظر وجود نداشت. مشابه با رقم استعمران کمترین میزان ABTS در روش سنتی (خیساندن)، مشاهده شد. برای رقم زاهدی بیشترین میزان ABTS مربوط به روش‌های استخراج (فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۵) و (فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۰)، بود. همچنین در این رقم کمترین میزان ABTS مربوط به روش سنتی (خیساندن)، بود. مقایسه میانگین اثر ساده نوع رقم نشان داد که میزان ABTSبرای رقم‌های استعمران و زاهدی، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما رقم کبکاب با رقم‌های ذکر شده تفاوت معنی‌داری داشته و دارای بیشترین درصد مهارکنندگی ABTS بود (جدول ٤-٨). همچنین مقایسه روش‌های استخراج نشان داد که بدون در نظر گرفتن نوع رقم، میزان ABTS در روش‌های استخراج فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان‌های ۵ و ۱۰دقیقه، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. و در این روش‌ها درصد مهارکنندگی ABTS بیشتر از روش‌های فراصوت با شدت ۵۰ و زمان‌های ۱۰و ۱۵دقیقه و فراصوت با شدت ۱۰۰ و زمان ۱۵ دقیقه بود. همچنین کمترین میزان ABTS در روش استخراج سنتی (خیساندن) مشاهده شد . اثر ساده روش استخراج، نوع رقم خرما و اثر متقابل این دو فاکتور به‌طور معنی‌داری میزان فلانوئید، فنول کل، IC_{50} و ABTS را تحت تأثیر قرار داد (جدول ٤). جلالی جیوان و همکاران (۱۳۹۲) تأثیر حرارت‌دهی و اسیدی کردن روی فنول کل و فعالیت‌آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی هسته‌ی خرما را بررسی کردند. میزان فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت .نتایج نشان داد که مقدار فنول کل، با افزایش دمای حرارت‌دهی (در گستره ۷۰ تا ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد) و با افزایش زمان حرارت‌دهی (۱۰ تا ٤۰ دقیقه) افزایش یافت. با افزایش زمان حرارت‌دهی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش پیدا کرد (۱۱).

جدول ٤- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس(میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

Table 4- Trolox equivalent antioxidant capacity (mg/ml)

رقم Caltivar	روش استخراج Extraction method						
	A	B	C	D	E	F	G
استعمران Astamaran	0.236± 0.016 e	0.412± 0.031 cd	0.472± 0.002 bc	0.526± 0.025 b	0.616± 0.011 a	0.423± 0.022 c	0.347± 0.012 d
کبکاب Kabkab	0.358± 0.014 d	0.472± 0.004 c	0.596± 0.014 b	0.605± 0.021 ab	0.437± 0.007 cd	0.703± 0.001 a	0.632± 0.003 ab
زاهدی Zahedi	0.237± 0.019 f	0.347± 0.017 e	0.408± 0.008 d	0.457± 0.009 cd	0.665± 0.013 a	0.601± 0.007 b	0.474± 0.006 c

*حروف مشابه در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای پنج درصد است

* A: خیساندن، B : فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۵ دقیقه، C: فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۰ دقیقه، D : دقیقه فراصوت با شدت ۵۰٪ و زمان ۱۵

E : دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۵، F : فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان۱۰ دقیقه، G: دقیقه فراصوت با شدت ۱۰۰٪ و زمان ۱۵

*The same letter in each column indicate no significant difference at 5 % level ($p< 0.05$)

*A: Soaking, B: US (Intensity: 50%, 5 min), C: US (Intensity: 50%, 10 min), D: US (Intensity: 50%, 15 min), E: US (Intensity: 100%, 5 min), F: US (Intensity: 100%, 10 min), E: US (Intensity: 100%, 15 min)

نتیجه‌گیری

نتایج آزمون‌ها نشان داد که روش استخراج با فراصوت نسبت به روش خیساندن دارای بازده بیشتری از نظر استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئید و خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. نتایج آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد، عصاره‌های هیدروالکلی هسته سه رقم خرما، در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت، فعالیت ضدرادیکالی آن‌ها افزایش می‌یابد. پودر هسته رقم زاهدی، کبکاب و استعمران منبع خوبی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی بوده و بنابراین بر اساس یافته‌های این پژوهش، پودر و عصاره هسته ارقام مختلف خرما می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در غذاهای مختلف استفاده شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان برای تامین هزینه‌های انجام این پایان نامه که مقاله حاضر بخشی از نتایج آن بود، تشکر و قدردانی نمایند.

Refrences

1. Al-Shahib, W. and Marshall, R. 2003. Fatty acid content of the seeds from 14 varieties of date palm Phoenix dactylifera. International Journal of Food Science and Technology. 38:709-712.
2. Amany, M.M. B., Shaker, M.A. and Abeer, A.K. 2012. Antioxidant activities of date pits in a model meat system. International Food Research Journal. 19(1): 223-227.
3. Basuny, A.M.M. and Marzooq, A.A. 2011. Production of mayonnaise from date pits oil, Banats Journal of Biotechnology. 2: 3-8.
4. Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Bahloul, N., Logney, G., Drira, N.E. and Attia, H. 2004. Date seed oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. Journal of Food Lipids. 11: 251-265.
5. Ghufran Saeed, S.M., Urooj, S., Ali, S.A., Ali, R., Mobin, L., Ahmaed, R. and Sayeed, S.A. 2020. Impact of the incorporation of date pit flour an underutilized biowaste in dough and its functional role as a fat replacer in biscuits. Journal of Food Processing and Preservation. 45 (3): 1-16.

6. Shirani Bidabadi, Kh., Safaeian, Sh., Mousavi Nadushan, R. and Rahimi fard, N. 2022. Evaluation of different extraction methods (maceration and ultra sound) on antioxidant, anti-Alzhaimerrs and antimicrobial properties of *Padina distromatic* extract. Iranian Journal of Food Science and Technology. 122 (19): 199-209. (In Persian).
7. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. and Jimenez, L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. Clinical Nutrition. 79: 727-747.
8. Gharakhani, M., Ebrahimzadeh, M., Jafari, S.M. and Sadeghi Mahoonak, A. 2010. Effect of nettle (Urtica dioica) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. Food Processing and Preservation Journal. 1 (2): 85-102. (In Persian).
9. Olmedo, R.H., Asensio, C., Nepote, V., Mestrallet, M.G. and Grosso, N.R. 2009. Chemical and sensory stability of fried-salted peanuts flavored with oregano essential oil and olive oil. Journal of the Science of Food and Agriculture. 89: 2128-2136.
10. Sayas- Barbera, E., Martin-sanchez, A.M., Cherif, S., Ben- Abda, J. and Perez- Alverez, J. A. 2020. Effect of Date (*Phoenix dactylifera* L.) Pits on the Shelf Life of Beef Burgers. Foods, 9 (1): 102- 117.
11. Jalali, M., Sadeghi, S., Madadloo, A. and Yarmand, M. S. 2014. Effect of heating and acidification on total phenolic content and antioxidant activity of date palm pit extract. Journal of Food Research. 23: 237-48. (In Persian).
12. Biglari, F., AlKarkhi, A. F. and Mat Easa, A. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. Food Chemistry. 107: 1636 – 1641.
13. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16:144-158.
14. Hossain, M.A. and Rahman, S.M.M. 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. Food Research International. 44: 672-676.
15. Barzegar, H., Hojjati, M. and Panahi, M. 2017. Antioxidant and antimicrobial activity of different extracts of *Pistacia atlantica* leaf. Journal of Food Science and Technology. 69 (14): 147-57. (In Persian).
16. Zulutetta, A., Estevea, M.J. and Frgola, A. 2009. ORAC and TEAC next term assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chemistry. 114: 310-16.
17. Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P and Mason, T.J. 2004. Potential for the use of Ultrasound in the Extraction of Antioxidants from Rosmarinus officinalis for the Food and Pharmaceutical Industry. Ultrasonics Sonochemistry. 11: 261.
18. HeydariMajd., M., Rajaei, A., Salar Bashi, D., Mortazavi, S.A. and Bolourian, SH. 2014. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from bovine pennyroyal (*Phlomidoschema parviflorum*) leaves using response surface methodology. Industrial Crops and Products. 57: 195–202.
19. Vinatoru, M. 2001. An owerview of the ultrasonically assisted of bioactive principles from herbs. Ultrasonics Sonochemistry. 8(3): 303.
20. Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J.A. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food and Chemical Toxicology, 46(7): 2326-2331
21. Shams Ardekani, M.R., Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Jahangiri, M. and Hadjiakhoondi, A. 2010. Comparison of antioxidant activity and total phenol contents of some date seed varieties from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 9: 141-146.
22. Gang, X., Hong, Z., and Jian, H. 2000. Leaching method of flavone from bamboo leaves. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 28(7), 857-859.
23. Ahmadian- Kouchaksaraie, Z. and Niazmand, R. 2016. Extraction of Active Components from Saffron Petal with the Help of Ultrasound and Optimization of Extraction Conditions. Innovative Food Technologies. 4 (13): 121-35. (In Persian).
24. Ji, J. B., Lu, X. H., Cai, M.Q., and Xu, Z.C. 2006. Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry, 13(5): 455-462.

25. Mansoul Mollashahi Khomaki, A. and varasteh Moradi. A. 2015. The effect of different extraction methods on the effective compounds and antioxidant function of *Cynara scolymus* L. in Golestan province. Eco- Phytochemical Journal of Medicinal Plants. 3 (30: 74-85. (In Persian).
26. Gohargani, M. and Mohammadi, A. 2017. Comparison of extraction methods (microwave, ultrasound and massage) to extract antioxidant compounds from oak fruit. Journal of Food Research. 27 (1): 27-35. (In Persian).
27. Sharifi, M.R. and Sharifi, A. 2013.Optimize the extraction efficiency and anthocyanins extracted from (*Crataegus elbursensis*) by ultrasound technology to help response surface methodology. Journal of Innovation in Food Science and Technology. 68-74.
28. Rouhani, R., Eyneafshar, S. and Ahmadzadeh, R. 2015. Study of anthocyanin and antionidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 11(2): 161-170. (In Persian).
29. Fraga, C.G., Galleano, M., Verstraeten, S.V., and Oteiza, P.I. 2010. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. Molecular Aspects of Medicine, 31(6), 435-445.