چکیده

درخت بادام از جنس *Amygdalus* و از خانواده Rosaceae است . قسمت های مختلف بادام دارای اسید های آلی، اسید های فنولیک، فلاوونوئید ها، لیپید، ویتامین ها، قند های احیا کننده و غیر احیا کننده می باشند. در این تحقیق محتوای فنولی و نوع ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی کل و همچنین فعالیت پاد اکسایشی عصاره ی متانولی، میزان آمیگدالین، نوع اسید های چرب ۳ گونه بادام (بادام تلخ ،ارژن و چالی) بررسی شد. در بین گونه های مطالعه شده بادام تلخ دارای بیشترین مقادیر گالیک اسید (معیار محتوای فنولی)،µg/gD.W (۰/۰۴ ±۰/۲)، فلاوونوئید کل (۰/۰۲±۰/۲)، ظرفیت جمع آوری رادیکال DPPH (۰/۲±۹۶/۰۴درصد)، فعالیت جمع آوری رادیکال هیدروژن پراکسید (۰/۴۲±۶۶/۸۶ درصد)، درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید (۳/۴±۹۰/۶۷)، درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید (۲/۰۷±۵۰/۷۵)، قدرت احیاء (۰/۰۶±۰/۷) و در مقابل چالی دارای کمترین مقادیر پارامترهای فوق به ترتیب با µg/gD.W (۰/۰۰۲±۰/۰۱) محتوای فنولی، مقدار فلاوونوئید (۰/۰۰۲±۰/۰۱)، ظرفیت جمع آوری رادیکال DPPH (۰/۵۵±۹۳/۲۳ درصد)، جمع آوری رادیکال هیدروژن پراکسید (۰/۳±۱۳/۶۳)، درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید (۳/۲±۴۵/۰۴)، درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید (۰/۰۸±۱۲/۶۴)، قدرت احیاء (۰/۰۵±۰/۱)، می باشد. چالی دارای بیشترین فعالیت مهارکنندگی پراکسیداسیون چربی (۰/۷۱±۸/۳۱) میکروگرم بر گرم MDA) و بادام تلخ دارای کمترین (۲/۱±۳۸/۰۹) فعالیت بود. نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین گونه ها از نظر همه ترکیبات فنولی می باشد. وجود تفاوت در ترکیبات فنولی به دلیل عوامل متعددی از قبیل آب و هوا و وراثت در سنتز ترکیبات فنولی است. میزان آمیگدالین اندازه گیری شده بین ۶/۱۳ تا۷۱ /۲۲میکروگرم بر گرم بر اساس نوع ژنوتیپ متغیر می باشد. بیشترین مقدار آمیگدالین در گونه ی بادام تلخ و کمترین در گونه ی چالی دیده شد. بررسی های گاز کروماتوگرافی نشان داد که سه اسید چرب پالمیتیک اسید، استئاریک اسید و لینولئیک اسید در گونه های بادام وجود دارد که میزان استئاریک اسید نسبت به دو اسید چرب دیگر بیشتر می باشد.

کلمات کلیدی : بادام تلخ، پاد اکساینده، ترکیبات فنولی، کروماتوگرافی

فصل اول

کلیات

۱- مقدمه

۱-۱- کلیات گیاه شناسی

بادام یکی از قدیمی ترین درختانی است که در مناطق سردسیری و نیمه سردسیری ایران کشت می شود. بعضی از گیاه شناسان موطن اصلی بادام را به ایران نسبت می دهند. فرض بر این است که خاستگاه اصلی بادام منطقه وسیعی از ایران و تاجیکستان و افغانستان تا غرب پاکستان بوده که همراه کاروان ها به یونان و بعدها توسط یونانی ها به سایر بنادر دریای مدیترانه انتقال و انتشار یافته است. قریب دویست سال است که بادام در نقاط مختلف حوزه مدیترانه از طریق هسته تکثیر شده و در اثر انتخاب طبیعی توده های مختلفی از بادام در نقاط مختلف جغرافیایی دنیا به وجود آمده و سازگار شده است. به طور مثال توده ی بادام های اسفاکس در تونس طوری با طبیعت آنجا سازگار شده اند که نیازی به سرما نداشته و نیاز سرمایی را از بین خود حذف نموده اند به طور کلی می توان گفت بادام بومی نقاط گرم و خشک آسیای غربی بوده و امروزه کشت آن در اسپانیا، ایتالیا، ایران، مراکش، پرتغال، یونان و ترکیه به طور وسیع معمول گردیده است. در دو دهه ی اخیر شاهد افزایش تولید بادام در آمریکا نیز هستیم امروزه آن کشور یکی از صادر کنندگان عمده ی این محصول به اروپا و سایر نقاط دنیا بوده و در سطح بین المللی ۳/۴ صادرات جهانی مغز بادام را در اختیار دارد. بادام درختی است که در شرایط آب و هوایی مدیترانه ای و در نواحی که دارای تابستان های گرم و خشک و زمستان های ملایم است به خوبی رشد می کند. با وجود این بادام را می توان در مناطقی که دارای زمستان های بسیار سرد نظیر آب و هوای همدان، آذربایجان، چهارمحال و بختیاری، اصفهان و خراسان نیز کاشت (۲).

۱-۲- تولید بادام در ایران

به علت مقاوم بودن بادام به شرایط خشک و آهکی پرورش این میوه در ایران رواج داشته ولی در چند دهه ی گذشته به علت خسارت های ناشی از سرمای دیررس بهاره، که اغلب محصول بادام را از بین می برد این محصول مورد بی توجهی باغداران قرار گرفت. بعد از تحولاتی که در باغبانی کشور پیدا شد با تولید و معرفی بادام های دیرگل و مرغوب، و بالا رفتن قیمت بادام مردم مجدداً به توسعه ی کشت بادام راغب شده و در صدد احیا و اصلاح باغ های قدیمی و تبدیل آن ها به ارقام اصلاح شده بر آمدند(۱). براساس آخرین اطلاعات و آمار موجود در سال زراعی ۸۴-۸۳ سطح زیر کشت بادام آبی و دیم برابر با ۷/ ۱۷۱هزار هکتار بوده که نسبت به سال زراعی قبل از آن ۱۱ هزار هکتار و نسبت به سه سال اخیر حدود هزار هکتار افزایش داشته است. یعنی سطح زیر کشت بادام در سه سال اخیر از ۱۵۴/۶ هزار هکتار به ۱۷۱/۷ هزار هکتار رسیده است. برابر آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی بیشترین سطح زیر کشت بادام مربوط به استان خراسان (قدیم) با ۲۷۳۲۸ هکتار است و استان های فارس، آذربایجان شرقی، یزد، کرمان، اصفهان، چهار محال و بختیاری به ترتیب مقام دوم تا هفتم را به خود اختصاص داده اند. استان سیستان و بلوچستان با ۹ هکتار کمترین سطح زیر کشت را در کل کشور داراست (۱۲۵).

کاشت بادام در کالیفرنیا به طور گسترده ای رواج پیدا نموده و بر خلاف برخی از کشورهای اروپایی و آسیایی که به طور سنتی به عمل می آید. محصول بادام کالیفرنیا یکدست، یکنواخت، با پوششی لطیف و با پوستی صاف با کمترین چروک و با رنگ روشن عرضه می شود. کیفیت مطلوب محصول بادام و مدیریت بازرگانی آن عامل مؤثری در موفقیت تجاری جهانی بادام بوده و لذا به منظور رقابت با بادام تولیدی سایر کشورها باید به کیفیت محصول توجه کافی مبذول گردد (۴،۱).

۱-۳-اهمیت اقتصادی بادام در ایران و جهان

در دهه های اخیر تحولات زیادی در توسعه و کشت بادام صورت گرفته است. در این زمینه کشورهای حوزه ی مدیترانه (اسپانیا، ایتالیا، فرانسه، یونان و کشورهای شمال آفریقا) به منظور دست یابی به ارقام پر محصول و مرغوب در اصلاح ژنتیکی این گونه کارهای مهمی انجام داده اند و برخی از کشورها با روش های پیشرفته سطح زیر کشت آن را افزایش داده اند. بر اساس آمار سازمان خوار بار کشاورزی جهانی (FAO) مقدار تولید بادام در جهان جمعاً ۱/۵۶۰/۸۰۶ تن بوده که از این مقدار ۵۶۰/۰۰۰ تن به کشور آمریکا تعلق داشته است (۴).

۱-۴-مشخصات گیاه شناسی بادام

درخت بادام از جنس *Amygdalus* و از خانواده Rosaceae است که خویشاوندی نزدیکی با گونه های مختلف میوه های هسته دار از قبیل آلو و گوجه و به ویژه با هلو و شلیل دارد و از تلقیح بین بادام و هلو دو رگه هایی به نام هلو * بادام به دست آمده است که گیاه شناسان به نام *Amygdalus commumis* و از زیر خانواده Prunoidae معرفی کرده اند. علاوه بر بادام های اهلی، گونه های وحشی بسیار متعددی در خاورمیانه و آسیای مرکزی به طور گسترده ای وجود دارد که حاصل تلقیح و دورگ گیری طبیعی آنها بین خود یا بین گونه های اهلی است و در حال تحول و دگرگونی های گیاهی هستند (۱۰۸،۶۳).

Kingdom:Plantae Division: Magnoliophyta

Class: Mognoliopsida

Order: Rosales

Family:Rosaceae

Subfamily: Prunoideae

Genus: Prunus

Subgenus: Amygdalus

Species: P.dulcis

۱-۵-مشخصات ظاهری درخت بادام

بادام درختی است قوی که ارتفاع آن بر حسب رقم و آب و هوا و حاصلخیزی خاک و مواظبت های زراعی بین ۶ تا ۱۰ متر یا بیشتر متغیر است. درخت بادام ریشه های قوی دارد که می تواند به طور عمودی تا ۳ متر در خاک نفوذ کند، بدین سبب قادر است بخشی از احتیاجات و نیاز آبی خود را در مواقع خشکی و کم آبی از اعماق خاک تأمین نماید. تنه ی درخت بادام در جوانی به رنگ خاکستری شفاف و صاف بوده به تدریج تیره تر شده و ترک بر می دارد. گل بادام شامل ۵ کاسبرگ و ۵ گلبرگ و ۲۰ تا ۳۰ پرچم است و تخمدان آن محتوی دو تخمک است. جوانه های گل ممکن است منفرد بوده یا ۲-۳ جوانه همراه با جوانه های چوب در یک گره مشاهده شوند. بعضی ارقام بادام غالباً دارای گل های خود ناسازگار بوده و گیاه دگرگشنی است. برگ های بادام کشیده و نوک تیز و ضخیم و چرمی است. علت تلخی میوه ی بعضی از ارقام بادام، وجود ماده ای به نام گلوکوزید سیانوژنیک آمیگدالین در مغز آن هاست. چوب بادام سخت و سنگین و رنگ آن صورتی مایل به قهوه ای است. جوانه های گل ممکن است منفرد یا ۲- ۳ جوانه همراه با جوانه های چوب در یک گره مشاهده شوند. در بعضی از ارقام، تعداد زیادی از جوانه های گل به اتفاق یک جوانه چوب در روی شاخه بسیار کوچکی به طور تقریبی ۱-۲ سانتی متر قرار می گیرند که این نوع شاخه ها را در اصطلاح باغبانی سیخک یا اسپار می نامند (۱).

۱-۶-ویژگی های میوه ی بادام

بادام های شیرین خوراکی دارای سه قسمت متمایز هستند: هسته ی داخلی یا مغز، قسمت پوسته ی میانی و یک پوسته ی خارجی تر. واریته های بادام در بافت پوست متفاوت هستند بنابراین به نام پوست سخت و پوست نرم یا نازک نامیده می شوند. جمع آوری محصول زمانی آغاز می شود که بادام ها روی درختان تا اندازه ای خشک شده باشند (۱۲۴،۶۱).

میوه ی بادام هسته دار و تخم مرغی شکل بوده و منحنی رشد آن شبیه S است رشد میوه ی بادام ۷۰ تا ۷۵ روز بعد از گل دهی متوقف می شود. معلوم شده که رسیدن میوه ارتباطی با تاریخ گلدهی ندارد. برون بر تقریباً همیشه نازک بوده و ممکن است بر روی آن کرک های ریزی هم وجود داشته باشد. برون بر در اواخر تیرماه شکاف برداشته و باز می شود و درون بر آزاد می گردد. شکل ظاهری درون بر و استحکام آن جزو مشخصات ارقام است ولی این خصوصیات بسته به شرایط محیطی قابل تغییر است. درون بر دارای یک یا دو مغز است که اندازه ی آن ها متفاوت بوده و وزن آن ها از ۰/۵ تا ۱/۵ گرم تغییر می کند و در مرحله ی رسیدن، پوسته ی آن ها قهوه ای رنگ می شود. جنین در ابتدا رشد بسیار کندی دارد و ۵۰ روز بعد از تلقیح اندازه آن تنها۱۰۰ تا ۲۰۰ میکرومتر است. وقتی به اندازه ی کامل خود رسید، جنین به سرعت رشد کرده از تمام آندوسپرم استفاده نموده و در یک حالت نیمه جامد باقی می ماند. در مرحله ی رسیدگی، جنین با لپه ای بزرگ تمام دانه را پر می کند. معمولاً تنک کردن میوه بادام ضرورتی ندارد (۴).

۱-۶-۱-مغز بادام

بر خلاف سایر میوه ها مانند هلو و آلو، اهمیت غذایی میوه ی بادام به خاطر مغز آن است. مغز بادام انرژی زیادی دارد به طوری که ۱۰۰ گرم مغز تازه حاوی ۵۹۸ کالری انرژی، ۱۹ گرم پروتئین، ۵۴ گرم چربی، ۲۱ گرم کربوهیدرات و ۵ گرم آب است. علاوه بر این در مغز بادام اسیدهای آمینه، قند و عناصر معدنی نیز یافت شده است. قسمت غیر قابل صابونی شدن روغن پوسته بذر حاوی اترهای ۲۴-متیلن کلسترول، فوگسترول، سیتوسترول و استیگماسترول گلوکوپیرانوسیل بوده و هفت استرول نیز در روغن میوه شناخته شده است. مطالعه ی ترکیب اسیدهای آمینه ی پروتئین بذر نشان داده است که در بخش آلبومین آن ها از طرفی بین مقدار هیستیدین، ترئونین، سرین، والین و تریپتوفان و از طرف دیگر با مقدار ازت یک همبستگی منفی وجود دارد. همبستگی منفی مشابهی نیز در بخش گلوبولین بین مقدار ازت و مقدار لیسیتین یافت شده است. بادام های مغز تلخ محتوای ۵۵/۶٪ لیپید، ۱۸/۹٪ چربی، ۲٪ فیبر خام، ۲/۳٪ خاکستر، ۷/۹٪ مجموع قندهای قابل حل و ۰/۲۶۶٪ اسید هیدروسیانیک هستند (۴).

روغن بادام در شیرینی سازی، داروسازی و نیز تولید لوازم آرایشی کاربرد دارد. کره ی بادام عاری از نشاسته بوده و برای بیماری دیابت غذای مناسبی محسوب می شود. چغاله ی بادام نیز قابل خوردن است و یکی از موارد مصرف آن به این ترتیب است که چغاله های بادام را قبل از اینکه پوست خارجی تغییر رنگ دهد از درخت جدا می کنند و میوه ها را باز کرده و مغزها را که در مرحله ی شیری بوده و دارای شیرینی ملایمی هستند به صورت کرم همراه با پنیر مصرف می کنند. تعیین مقدار مصرف بادام در صنایع شیرینی سازی مشکل است ولی این مقدار در حدود ۷۵ تا ۸۰ درصد تخمین زده می شود و حدود ۲۰ تا ۲۵ درصد نیز به صورت مستقیم مصرف می شود (۲).

۱-۶-۲-پوست سبز بادام

پوست سبز (مزوکارپ) خشک، چرمی، سفت و بدمزه شده ی بادام منعکس کننده ی این حقیقت است که مزوکارپ بادام رسیده غلظت بالای غیر معمولی از فلاوونوئید دارد که در مقایسه با گیاهان هم خانواده و همچنین سایر میوه ها غیر معمول است. تصور بر این است که در نتیجه ی زمان طولانی که مزوکارپ هدف گرمای شدید، تابش فرابنفش و هجوم انگل ها قرار می گیرد، فلاوونوئیدها نقش حفاظتی را در مقابل این فاکتورهای تنش زای گیاه بازی می کنند. گسترش دوره ی بلوغ مزوکارپ به دنبال یک دوره پیری مشخص است. همچنین امکان بیوسنتز لیگنانها در مزوکارپ فراهم می شود که در مقایسه با سایر میوه ها این ترکیبات در آن ها حضور ندارند. مزوکارپ در پیری بعد از جمع آوری مغزهای آجیل با محتوای قند بالا، فلاوونوئید و لیگنان برای سال های طولانی ثابت باقی می ماند (۹۶).

فلاوونوئیدهای موجود در پوست سبز بادام دارای فعالیت پاد اکسایشی[1] هستند که تصور می شود در بهبود عملکرد ماهیچه بعد از ورزش شدید مؤثر باشد. به علاوه در فعالیت ورزشی خیلی زیاد با دوره های زمانی خیلی طولانی، پتانسیل آسیب DNA بالا رفته و این DNA تجمع یافته به نوبه ی خود در نتیجه ی حمله ی اکسیداتیو موجب صدمه دیدن سایر مولکول های زیستی می شود که می تواند اولین مرحله در ایجاد سرطان های چند عاملی باشد که شاید با سپری شدن سال ها کاملاً نمایان نشود. ورزش شدید فعالیت اکسیداسیونی بالا را به دنبال دارد و بنابراین فلاوونوئید های شربت پوست سبز بادام به بهبود عضله و انجام ورزش در کوتاه مدت کمک می کنند. فلاوونوئیدها هم اکنون به عنوان عناصر حفاظتی برای قلب و دستگاه گردش خون شناخته شده اند (۱۱۰).

لیگنانها و پلی فنول های شبه تانن شناسایی شده در پوست سبز بادام دارای فعالیت محافظ سلامتی هستند. تا این زمان سازوکارهای عمل برای مولکول های شبه تانن با وزن مولکولی سنگین کمتر شناخته شده است(۹۶).

۱-۶-۳-پوست مغز بادام

پوست مغز بادام در مقایسه با پوست سبز و پوست داخلی پوست نازکی است که مغز بادام را پوشانده و از محتویات آن محافظت می کند. طی چرخه ی بلوغ بادام این پوست نیز دوره ی بلوغ خود را که در ابتدا به رنگ سفید است طی کرده و سرانجام در موقع برداشت به رنگ قهوه ای در می آید. مغز بادام در اکثر کشورها به همراه پوست قهوه ای آن به صورت پوسته دار مصرف می شود ولی در دهه های گذشته با تحول در صنایع غذایی و برای بازار پسند کردن مغز بادام در بین انوع آجیل ها برخی کشورهای مهم تولید کننده ی بادام نظیر ایالت متحده آمریکا با استفاده از دستگاه های پیشرفته و روش هایی مانند حرارت دادن مغز بادام ها در آب پوست مغز را جدا نموده و مغزهای بادام سفید با کیفیت بالا را به بازار عرضه می کنند (۷۴،۴۰). در این فرایندها مقادیر زیادی پوست مغز بادام به عنوان محصولی زاید تولید می شود که بیشتر از آن به عنوان ماده ای کم ارزش در تولید انرژی و غذای مکمل دام استفاده می شود (۴۴). امروه با تحقیقات انجام شده روی پوست قهوه ای مغز بادام مشخص گردیده که این پوست های زائد می توانند منابع غنی از ترکیبات فنولی باشند(۱۰۷). به طوری که مقادیر این ترکیبات فنولی از مغز بادام، پوست داخلی و پوست سبز بیشتر است (۱۲۶،۱۱۲).

۱-Antioxidant

۱-۶-۴-پوست داخلی بادام

پوست داخلی بادام قسمت باقی مانده از آندوکارپ چوبی میوه های بادام است. این پوسته ها به طور معمول بدون کنترل سوزانده شده و یا به عنوان زباله دور ریخته می شود. پوست داخلی بادام ۳۵ تا۷۵ درصد از وزن کل میوه است و در مقادیر زیاد در دسترس می باشد که می توان از آن به عنوان محصول زاید کشاورزی مفید استفاده کرد (۱۲۳).

تقریبا ۳۵ درصد از وزن پوست داخلی بادام را همی سلولزهای نوع گزیلان تشکیل می دهد که پلیمرهای زیستی با استفاده وسیع در شکل طبیعی یا بعد از تغییرات هدفمند هستند اما تا به حال برای بهره برداری در صنایع به طور گسترده استفاده نشده اند. پوست های داخلی بادام همچنین غنی از لیگنین و سایر ترکیبات فنولی و پاداکساینده های طبیعی هستند که ظرفیت های بیولوژیکی خوبی را برای محافظت انسان در مقابل رادیکال های آزاد، پیشرفت بیماری های کرونیک و اکسیداتیو لیپید در غذاها از خود نشان می دهند. گزیلان های دارای ترکیبات فنولی مانند اسیدهای فنولی آزاد یا در اتصال با لیگنین نشان دهنده ی یک گروه خیلی جالب از اکسیدان های طبیعی بوده، زیرا این ترکیبات فعالیت پاد اکسایشی فنول ها را با ویژگی های فیزیکوشیمیایی و عملکردی ریشه ی پلی ساکارید به هم مرتبط می سازد (۳۶).

گزیلوالیگوساکاریدهای پوست بادام و سایر محصولات زاید کشاورزی پوست سخت مانند بلوط و آکاسیا یک گروه جدید از الیگوساکاریدها هستند که در داروسازی، فرمولاسیون غذایی و کشاورزی اهمیت پیدا کرده اند.

گزیلوالیگوساکاریدها ویژگی های فیزیکوشیمیایی و فیزیولوژیکی عالی از خود نشان می دهند. این مواد به عنوان پروبیوتیک عمل کرده و رشد باکتری های مفید در روده ی بزرگ را تقویت می کنند. از اینرو خطر ابتلا به سرطان کولون را کاهش می دهند. زنجیره دراز گزیلوالیگوساکاریدهادارای گلوکورونیک اسید فعالیت تنظیم رشد گیاه و خواص ضد میکروبی از خود نشان می دهند (۷۸،۷۷).

امروزه پوست داخلی بادام به دلیل داشتن بادام مقادیر بالای الیگوساکارید دارای پتانسیل استفاده در جهت استخراج گزیلوز، تولید کربن فعال، جاذب رنگ های صنعتی و محیط کشت بی خاک در باغبانی را داراست (۷۸،۷۳)

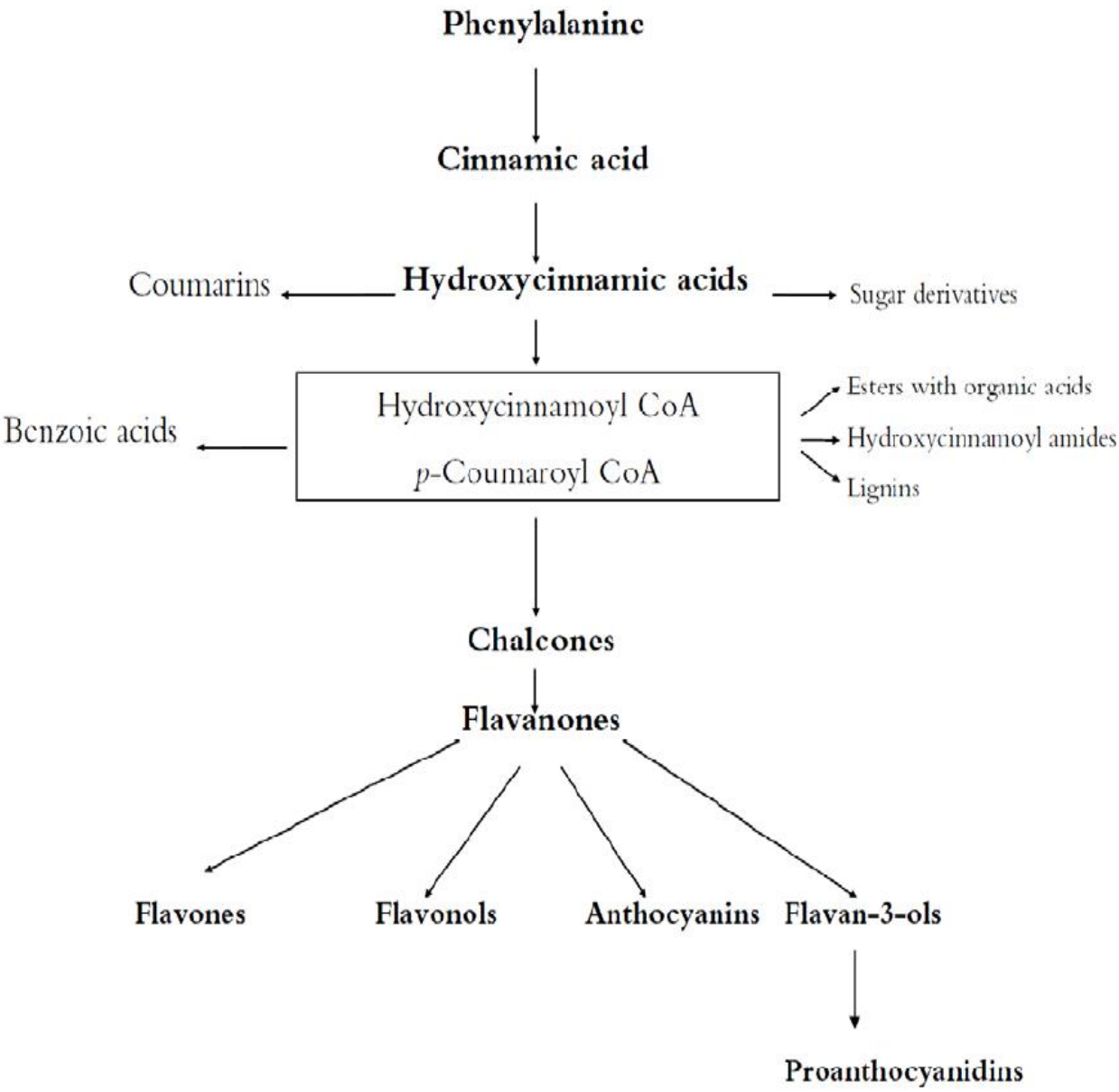
۱-۷-ترکیبات فنولی گیاه

ترکیبات فنولی عمده در گیاهان بخش قابل توجهی از رژیم غذایی انسان هستند و به خاطر جنبه های پاد اکسایشی توجه قابل ملاحظه ای به آنها شده است. این ترکیبات دارای یک حلقه ی آروماتیک با یک یا چند گروه هیدروکسیل هستند و ساختارشان ممکن است از یک مولکولی ساده تا یک کمپلکس پلیمر با وزن مولکولی بالا متغیر باشد. فعالیت پاد اکسایشی ترکیبات فنولی به ساختار به ویژه تعداد و موقعیت گروههای هیدروکسیل و نوع جانشینی ها در حلقه های آروماتیک بستگی دارد. میوه جات،

سبزیجات و نوشیدنی ها منابع عمده ی ترکیبات فنولی در غذای انسان هستند. صنایع غذایی و محصولات کشاورزی مقادیر قابل توجهی محصولات زاید از فنول تولید می کنند که می تواند به عنوان منابع طبیعی در جهت تولید پاد اکساینده ها باشد. بعضی از این محصولات زاید موضوعات تحقیق بوده اند و منابع مؤثر از پاد اکساینده های فنولی می توانند باشند. با ارزیابی این ترکیبات فنولی طبیعی به عنوان پاد اکساینده که در روغن های خوراکی، ماهی، گوشت و محصولات ماکیان وجود دارند نشان داده اند که فعالیت پاد اکسایشی در آن ها قابل مقایسه باپاد اکساینده ی مصنوعی است. بنابراین جنبه های علمی عصاره گیری و تولید مقادیر کافی پاد اکساینده ها ی طبیعی در بسیاری از این منابع بایستی روشن گردد (۲۲،۱۳).

ترکیبات فنولی دگرگوهره های[۱] ثانویه ای هستند که از مسیرهای پنتوز فسفات، شیکیمات و فنیل پروپانوئید در گیاهان مشتق می شوند. (شکل ۱-۱). این ترکیبات یکی از گسترده ترین گروه های فیتو شیمیایی موجود با اهمیت موفولوژیکی و فیزیولوژیکی قابل ملاحظه در گیاهان هستند. این ترکیبات نقش مهمی را در رشد، تولید مثل، تأمین حفاظت لازم در مقابل انگل ها دارند و علاوه بر این در ویژگی های رنگ، حساسیت میوه ها و سبزیجات شرکت می کنند (۲۲ ،۲۶).

۱ Metabolites



شکل ۱-۱ : بیوسنتز ترکیبات فنولی (۶۷).

ترکیبات فنولی طیف وسیعی از خواص فیزیولوژیکی مانند ضد آلرژی، ضد میکروب، ضد انعقاد، ضد التهاب، اثرات محافظتی و گشادکنندگی عروق قلب و رگها را آشکار می سازند. ترکیبات فنولی در صورتی که مقادیر بالایی از میوه و سبزیجات مصرف شود برای سلامتی مفید هستند. اثرات سودمند حاصل از ترکیبات فنولی مربوط به فعالیت پاد اکسایشی آنهاست. ترکیبات فنولی می توانند یک عامل تعیین کننده ی عمده در پتانسیل پاد اکسایشی غذاها باشد. هدف بیشتر پروژه ها در دهه های اخیر ارزیابی

شیمی ترکیبات فنولی در ارتباط با فعالیت پاد اکسایشی آن ها، وجود این ترکیبات در منابع غذایی و غیر غذایی، قابلیت دسترسی زیستی به آنها، سوخت و ساز ترکیبات فنولی و همچنین بررسی پتانسیل استفاده از این ترکیبات به عنوان پاد اکساینده های غذایی است (۶۹،۲۲، ۸۹).

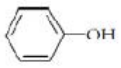
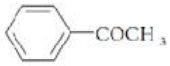
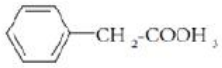
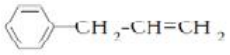
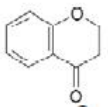
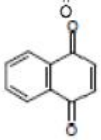
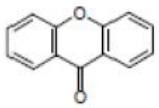
۱-۸- شیمی ترکیبات فنولی

به لحاظ ساختاری ترکیبات فنولی دارای یک حلقه ی آروماتیک هستند که در آن یک یا چند گروه هیدروکسیل قابل تعویض است و از مولکول های فنولی ساده تا ترکیبات زیاد پلیمریزه شده تغییر می کنند. علیرغم این تنوع ساختاری گروهی محدود از ترکیبات گاها به پلی فنول ها نسبت داده می شوند. بیشتر ترکیبات فنولی طبیعی در ترکیب با مونو و پلی ساکاریدها وجود دارند که به یک یا بیش از یک گروه فنولی متصل هستند و شاید به عنوان مشتقات عملکردی مانند استرها یا متیل استرها وارد عمل شوند. علیرغم تنوع ساختاری با گستره ی وسیع که برای ترکیبات فنولی در طبیعت اتفاق افتاده است این ترکیبات فنولی را اساساً می توان در چند گروه طبقه بندی نمود. از بین این ها اسیدهای فنولی، فلاوونوئیدها و تانن ها به عنوان ترکیبات فنولی غذایی عمده بیشتر مورد توجه هستند (۱۰۴،۶۶،۲۶).

۱-۸-۱- اسیدهای فنولی

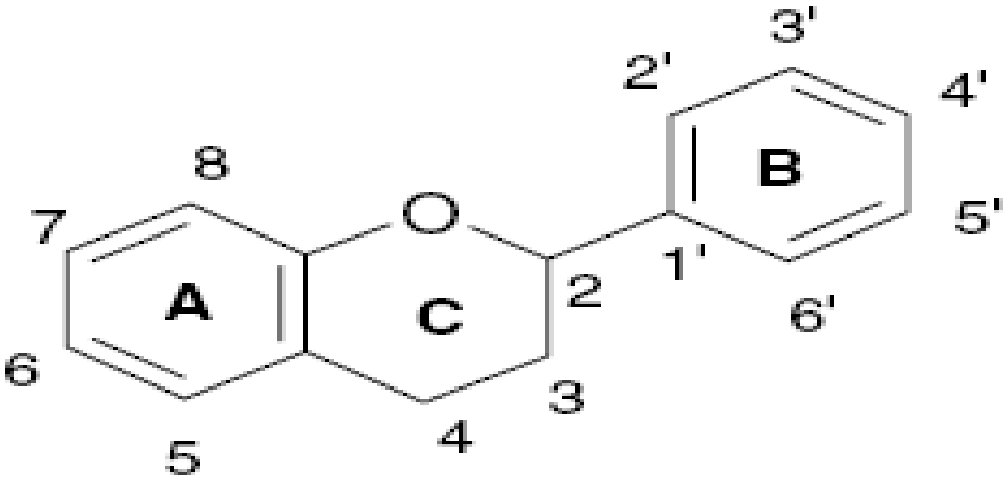
اسیدهای فنولی از دو زیر گروه تشکیل شده اند که شامل هیدروکسی بنزوئیک اسید و هیدروکسی سینامیک اسید هستند. هیدروکسی بنزوئیک اسیدها شامل گالیک، پارا هیدروکسی بنزوئیک، پرتوکاتچوئیک، وانیلیک و سینرجیک اسیدها است که ساختار عمومی آن ها به صورت C_6-C_1 می باشد. هیدروکسی سینامیک اسید ها از طرف دیگر ترکیبات آروماتیکی با یک ساختار سه کربنه کنار زنجیر C_6-C_3 هستند و اغلب شامل کافئیک، فرولیک، پاراکوماریک و سیناپیک اسیدها می باشند (۲۶).

جدول ۱-۱: مهم ترین رده های ترکیبات فنولی در گیاهان (۵۰)

Basic skeleton	Class	Basic structure	Examples
C_6	Simple phenols		Phenol, cresol, resorcinol
	Benzoquinones		Benzoquinone
C_6-C_1	Hydroxybenzoic acids	see Figure 1	Gallic acid, vanillic acid
	Condensed tannins	see Figure 1	Gallotannins, ellagitannins
C_6-C_2	Acetophenones		Annphenone
	Phenyl acetic acids		*p*-Hydroxyphenylacetic acid
C_6-C_3	Hydroxycinnamic acids	see Figure 1	Caffeic acid, ferulic acid
	Phenylpropenes		Eugenol, myristicin
	Coumarins, isocoumarins		Umbilliferone, scopoletin
	Chromones		Eugenin
C_6-C_4	Naphthoquinones		Juglone
C_6-C_1-C_6	Xanthones		Mangostin, mangiferin

۱-۸-۲-فلاوونوئیدها.

فلاوونوئیدها بزرگترین گروه فنول های گیاهی را تشکیل می دهند و تقریباً بیش از نیمی از هشت هزار ترکیب فنولی طبیعی موجود را شامل می شوند. فلاوونوئیدها ترکیبات با وزن مولکولی پایین هستند و ساختارشان را ۱۵ اتم کربن تشکیل می دهد که به صورتC۶-C۳-C۶ آرایش می یابند. اساساً ساختار فلاوونوئیدها شامل دو حلقه ی آروماتیک A و B است که توسط یک پل۳- کربنه به هم اتصال می یابند. معمولاً در شکل یک حلقه هتروسیلیک C است. (شکل ۱-۲). حلقه ی آروماتیک A از مسیر استات/ مالونات مشتق می شود در حالی که حلقه B از فنیل آلانین به واسطه ی مسیر شیکیمات حاصل می شود. تنوع نوع جانشینی ها در حلقه C موجب به وجود آمدن گروه های اصلی فلاوونوئید مانند فلاونول ها، فلاون ها،فلاونون ها،فلاوانول ها (یا کاتچین ها)، ایزوفلاون ها، فلاوانونول ها و آنتوسیانیدین ها می شود که فلاون ها و فلاونول ها از بین این ها گسترده ترین گروه های موجود بوده و به لحاظ ساختاری متنوع هستند. جانشینی در حلقه های A وB موجب ایجاد ترکیبات مختلف در هر یک از گروه های فلاونوئیدها می شود. این جانشینی ها احتمالاً شامل اکسیژن دار شدن، افزوده شدن گروه الکیل، گلیکوزیله شدن، آسیله شدن و سولفاته شدن است (۱۲۷،۹۱،۹۶).



شکل۱-۲. ساختار یک مولکول فلاونوئید (۸۱)

۱-۸-۳- تانن ها

تانن ها ترکیبات با وزن مولکولی نسبتاً بالا هستند که سومین گروه مهم از ترکیبات فنولی را تشکیل می دهند و می توان آنها را به دو زیر گروه قابل هیدرولیز و تانن های متراکم تقسیم بندی کرد. شکل ساختاری گروه اول استرهایی از گالیک اسید(گالو- وآلاژی- تانن ها) در حالی که گروه دوم (همچنین به عنوان پروآنتوسیانیدین هم شناخته می شوند) پلیمرهایی از منومرهای پلی

هیدروکسی فلاوان۳- ال هستند. یک زیر گروه سوم فلوروتانن ها هستند که تماماً از فلوروگلوسینول تشکیل شده و از چندین جنس جلبک قهوه ای جداسازی شده اند اما این ها در رژیم غذایی انسان مفید واقع نمی شوند (۹۲،۲۶).

۱-۹-ترکیبات فنولی حاصل از محصولات زاید کشاورزی

روند تهیه مواد غذایی گیاهی منجر به تولید محصولات کشاورزی و صنعتی می شود که این محصولات منابع غنی از ترکیبات فعال زیستی هستند که شامل ترکیبات فنولی می شود. دسترسی به ترکیبات فنولی از طریق مواد زاید کشاورزی و صنعتی، استخراج و فعالیت پاد اکسایشی آن ها موضوع برخی مطالعات می باشد. ترکیبات فنولی با فعالیت پاد اکسایشی در چندین محصول زاید کشاورزی همچون پوست سبز برنج، پوست سبز علف گوزن و پوست سبز بادام شناسایی شده است. پوست های سبز پسته منبع دیگر برای فعالیت پاد اکسایشی فنولی هستند. هر ساله میلیون ها تن در کشورهای تولید کننده بادام از مغز جدا شده و به عنوان غذای چهارپایان، سوخت و یا به عنوان زباله دور ریخته می شود. ولی با تحقیقاتی که در مورد این مواد زاید انجام شده مشخص شده که محتوای فنولی پوست سبز و پوست داخلی بیشتر از مقدار فنول موجود در مغز بادام است (۱۱۲). در دهه های اخیر رادیکال های آزاد علاقه قابل توجهی را بین دانشمندان برانگیخته است. اثرات بسیار گسترده ی آن ها روی سیستم های بیولوژیکی موجب توجه بسیاری از کارهای آزمایشگاهی به این سمت شده است. ثابت شده است که این سازوکارها شاید در پاتوژنز بیماری ها و پیری مهم باشند. گزارش های زیادی وجود دارد که استفاده از مکمل های پاداکساینده در کاهش سطح تنش اکسیداتیو و آهسته نمودن یا جلوگیری از پیشرفت عوارضی ناشی از بیماری ها را حمایت می کنند. مطالعات نشان داده که ترکیبات پاد اکساینده ی طبیعی دارای اثرات سمی یا جهش زا هستند که این موجب توجه به پاد اکساینده های طبیعی موجود شده است. بخش های متعدد گیاهان جمع کننده ی رادیکال های آزاد یا پاد اکساینده فعال هستند. فلاوونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی (مشتقات هیدروکسیل سینامیک، کاتچین) با منشأ گیاهی به عنوان جاروب کننده و مهار کننده های پراکسیداسیون لیپید گزارش شده است (۱۲۰،۱۱۵)

۱-۱۰-پاد اکساینده های غذایی

روش های گوناگونی از گذشته های دور برای مهار اکسیداسیون لیپیدها و بد مزه شدن آنها در سیستم های غذایی به کار گرفته شده است. هیدروژناسیون اسیدهای چرب اشباع نشده(۷۹)، خارج ساختن اکسیژن به کمک بسته بندی در خلا(۱۱)، استفاده از جاروب کننده های اکسیژن مانند گلوکز اکسیداز و اسکوربیک اسید اکسیداز(۵۰)، حذف یا جذب کردن یون های فلزی (۵۸)، تابش پرتو(۱۱)، سرد کردن، خنک کردن یا انجماد(۳۹)، و استفاده ازپاد اکساینده ها روش های مرسوم در کنترل اکسیداسیون لیپید هستند(۱۰۱). اضافه کرن ادویه یا اجزای گیاه به شکل پودر یا در حالت برگ کامل یا ریشه ها از زمان های گذشته به کار می رفت. با این وجود سازوکار عمل و ترکیبات فعال همیشه به طور کامل درک یا مشخص نشده است. ترکیبات فنولی ترکیبات

زیستی به عنوان پاد اکساینده عمل کرده و موادی هستند که وقتی در غلظت های پایین موجود باشند در گوهرمایه های[1] قابل اکسید به طور معنی داری اکسیداسیون گوهرمایه را به تأخیر می اندازند یا مهار می کنند (۴۵). این پاد اکساینده ها امروزه برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپید به غذاها اضافه می شوند. و از نظر منشأ مصنوعی یا طبیعی می باشند. پاد اکساینده های موجود در غذاها در مقابل حمله ی اکسیداتیو با حذف اکسیژن منفرد، کاهش غلظت اکسیژن، جلوگیری از آغاز چرخه ی اکسیداتیو با جمع کردن رادیکال های اولیه، اتصال به کاتالیست های یون فلزی، تجزیه کردن محصولات ابتدایی اکسیداسیون به ترکیبات غیر رادیکالی و شکستن زنجیر گوهرمایه برای جلوگیری از ربایش پیوسته هیدروژن از گهرمایه ها عمل می کنند. اما پاد اکساینده های طبیعی شاید در طول مرحله ی تهیه ی غذا از بین روند. تولید کنندگان غذا از پاداکساینده هایی با منشأ طبیعی یا مصنوعی برای بالا بردن دوره ی ماندگاری و بهبود کیفیت غذاها استفاده می کنند. پاد اکساینده های مختلف در غذا شاید در برابر اکسیداسیون بیشتر مؤثر باشد تا اینکه مقدار زیادی از یکی یا دو ترکیب به کار گرفته شود (۱۱۰).

بادام دارای اثرات سودمند روی سطوح کلسترول خون و میزان لیپوپروتئین در انسان است. رژیم های دارای مغز بادام با روغن آن نشان داده است که موجب کاهش احتمال سرطان کولون در موش ها می شود (۱۹).

علاوه بر اثرات سودمند مغز بادام، در طی سال های اخیر مقالات علمی زیادی روی محتوای پلی فنولی ریشه های لیگنو سلولزی مختلف از جمله پوست بادام منتشر شده است. مقادیر بالای فنول عمدتا تانین ها مانند رامنتین، کوئرستین و کامفرول در پوست بادام گزارش شده است که ۴/۵ درصد از وزن کل پوست را شامل می شود. سایر ترکیبات فنولی مانند کلروژنیک و مشتقات بنزوئیک اسید در مقادیر کمتر یافت شده اند. عصاره های دانه بادام کامل، پوست قهوه ای و پوشش سبز دارای ظرفیت بالقوه در جمع آوری رادیکال های آزاد هستند. این فعالیت ها احتمالاً مربوط به حضور فلاوونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی در آجیل ها هستند. مشخص شده که پوست سبز بادام منبع غنی از سه تری ترپنوئید (تقریبا۱٪ از پوست بادام) بتولینیک اسید، اولئانولیک اسید و ارسولیک اسید است (۱۳۲).

در گذشته، پوست های بادام به عنوان یک محصول زائد و فرعی در صنعت بادام بود که بعد از جمع آوری از بادام جدا شده و به عنوان غذای مکمل دام یا سوخت مورد استفاده واقع می شد. در صورتی که بتوان از پوست بادام با ارزش اقتصادی کم و ماده زاید ترکیبات پاد اکساینده و ترکیبات شیرین کننده ی طبیعی با ارزش افزوده بالاتر به دست آورد می توان به افزایش کاشت بادام و حمایت از این محصول امیدوار بود.(۸۶،۱۱۲).

[1] Substrate

۱-۱۱-آمیگدالین

در مغز بادام تلخ، آلو، هلو و گیلاس یک ترکیب سیانوژن گلیکوزید به نام آمیگدالین وجود دارد. این ترکیب خصوصیات ویژه ای به بادام می دهد. اما در دز بیشتر از ۵۰۰ ppm دارای خصوصیات سمی است. این ترکیب دارای فرمول کلی $C_{۲۰}H_{۲۷}NO_{۱۱}$ است آمیگدالین ماده متبلوری است که از اثر آب بر روی این ماده اسید سیانیدریک، آلدئید بنزوئیک و گلوکز حاصل می شود که برای تهیه دارو ها مورد استفاده قرار می گیرد. ممکن است بادام های تلخ بین ۶ تا ۸ درصد سیانید هیدروژن تولید نمایند. اسانس بادام تلخ (آلدئید بنزوئیک) در عطر سازی بکار می رود و همچنین از آن رنگ سبزی به نام مالاشیت درست می کنند (۳۵). ترکیبات گلیکوزید سیانوژنیک در بافت های گیاهان مانند بافت های رویشی و بذر وجود دارد و گیاهان بسیاری قادر به سنتز این ترکیبات هستند .حداقل ۲۵۰۰ گونه گیاهی از خانواده رزاسه، گرامیته، لیناسه و کمپوزیته قادر به سنتز یکی از ترکیبات سیانوژنیک اند. اغلب ترکیبات سیانوژنیک دارای ترکیبات قندی ساده (مونوگلیکوزید) مثل پرونازین یا (دی گلیکوزید) مانند آمیگدالین می باشند (۶).

۱-۱۲-اسید های چرب

چربی ها و روغن ها به شکل تری گلیسرید، یا تری آسیل گلیسرول هستند که مولکول اسید های چرب به سه گروه هیدروکسیل گلیسرول از طریق پیوند استری متصل می شوند.در گیاهان معمولا اسید های چرب دارای تعداد اتم های زوج کربن می باشند. درصد هر یک از اسید های چرب در ترکیب لیپید های گیاهی، بسته به گونه متفاوت است.مثلا روغن بادام زمینی دارای پالمیتات، اولئات و لینولئیک اسید می باشد .در حالیکه درصد این روغن ها در پنبه متفاوت است (۶۵).

هدف از انجام این تحقیق استخراج و تعیین محتوای فنولی دربادام تلخ، مقایسه میزان فعالیت ضداکسایشی آنها، آنالیز میزان آمیگدالین، و همچنین تعیین درصد اسید های چرب در ژنوتیپ های مختلف بادام می باشد.

.

فصل دوم

مواد و روش ها

۲-۱-مطالعات بیوشیمیایی

۲-۱-۱-جمع آوری نمونه ها

شکوفه ومیوه‌های بالغ گونه های بادام تلخ (*A. scouparia*)، ارژن (*A.orientalis*) و چالی (*A.lycioide*) از کوه استخر اطراف شهر شیراز طی ماه های اسفند و خرداد سال های ۸۹ و ۹۰جمع آوری شدند و به کمک مرکز تحقیقات کشاورزی استان فارس شناسایی شدند. پوسته ی سبز خارجی و پوسته ی داخلی از دانه‌های بادام جدا گردید و اجازه داده شد جداگانه در دمای اتاق در تاریکی خشک شوند. بعد از اطمینان از خشک شدن، پوست‌ها وشکوفه با آسیاب کوچک آسیاب شدند. سپس نمونه‌های آسیاب شده غربال گردیدند. ذرات کوچکتر از۰/۰۵میلی متر برای عصاره گیری انتخاب شدند.

۲-۱-۲-عصاره گیری

برای عصاره گیری نمونه‌ها ۵۰ گرم از هر کدام از نمونه‌ها با استفاده از ۱۰۰میلی‌لیتر متانول به عنوان حلال به مدت ۳ ساعت روی شیکر مغناطیسی عصاره‌گیری شدند. محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شده و پس از سانتریفیوژ به مدت ۳۰ دقیقه درg ۳۰۰۰ در ۸۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد (۸).

۲-۱-۳-تعیین محتوای فنول کل

محتوای فنول کل به وسیله ی معرف Folin-Ciocalteu تعیین شد. به هر لوله ی آزمایش ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتئو و۱میلی لیتر بیکربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد و به هر کدام از لوله ها جز شاهد ۰/۵ میلی لیتر عصاره اضافه گردید و لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. جذب محلول ها در طول موج ۷۳۰ نانومتر به وسیله ی دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS (Biowave,WPA S۲۱۰۰, UK) خوانده شد. محتوای فنول کل بر حسب میلی گرم گالیک اسید با استفاده از منحنی استاندارد (غلظت های ۰ تا ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر) گالیک اسید بیان شد(**ضمائم نمودار ۱**) (۵۵).

۲-۱-۴- تعیین محتوای فلاونوئیدی کل

محتوای فلاوونوئیدی کل توسط روش Bonvehi و همکاران (۲۰۰۱) با کمی تغییر تعیین گردید(۲۵). ۱ میلی لیتر از عصاره با ۱ میلی لیتر از $AlCl_3$ ۲ درصد در محلول متانول(۵ درصد اسیداستیک در متانول) مخلوط شد. اجازه داده شد که مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه واکنش انجام دهد و جذب آن در ۴۳۰ نانومتر در برابر یک نمونه ی شاهد بدون واکنش دهنده خوانده شد. محتوای

فلاوونوئید کل بر حسب میزان کاتچین [1]موجود با استفاده از منحنی استاندارد کاتچین (غلظت های ۰ تا ۰/۰۰۲۵) میلی گرم بر لیتر (ضمائم نمودار ۲) بیان شد.

۲-۱-۵- سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH (۲،۲- دی فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل)

فعالیت جمع آوری رادیکال های آزاد DPPH بر اساس احیای محلول متانولی DPPH مطابق با روش Zhang و همکاران (۲۰۱۰) با تغییرات جزئی انجام گرفت. ۴۰ میکرولیتر از عصاره ی گیاهی با ۲ میلی لیتر از محلول متانولی DPPH (۰/۰۰۴) مولار در لوله آزمایش مخلوط شد و ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت و جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد(۱۳۳).

درصد مهار رادیکال DPPH = ۱- [(جذب نمونه) / جذب شاهد)] x ۱۰۰

۲-۱-۶- سنجش درصد جمع آوری رادیکال هیدروژن پراکسید (H_2O_2)

۰/۱ میلی لیتر عصاره با ۳/۴ بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۴) و ۶۰۰ میکرولیتر از محلول ۴۳ میلی مولار پراکسید هیدروژن (تهیه شده در همان بافر) مخلوط شد و جذب بلافاصله در طول موج ۲۳۰ نانومتر خوانده شد. درصد جمع آوری رادیکال پراکسید هیدروژن طبق فرمول زیر محاسبه گردید(۴۱).

درصد ظرفیت جمع آوری رادیکال پر اکسید هیدروژن = (جذب شاهد /جذب نمونه-جذب شاهد) ×۱۰۰

۲-۱-۷- تعیین درصد جمع آوری رادیکال سوپراکسید

جمع آوری رادیکال های آزاد سوپراکسید مطابق با روش Senevirathne و همکاران (۲۰۰۶) انجام گرفت. به ۲۰ میکرولیتر از عصاره، ۹ میلی لیتر از بافر تریس کلریدریک (۵۰ میلی مولار با pH= ۸/۲) اضافه گردید و در دمای ۲۰ درجه ی سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. در مرحله ی بعد ۴۰ میکرولیتر محلول پیروگالول(۴۵ میلی مولار که بااسید کلریدریک ۱۰ میلی مولار به حجم رسانیده شده بود و در دمای ۲۰ درجه ی سانتی گراد به مدت ۲۵ دقیقه انکوبه شده بود) به محلول فوق اضافه گردید و به مدت ۳ دقیقه انکوبه شد. یک قطره اسید آسکوربیک ۱ مولار جهت متوقف کردن واکنش به صورت سریع به آن اضافه گردید و محلول فوق ۵ دقیقه به حالت استراحت گذاشته شد و جذب آن در ۴۲۰ نانومتر تعیین شد(۱۰۶).

۱- Catechin

ظرفیت جمع آوری رادیکال های سوپراکسید(٪) = [A_0-[A_1-A_2]] /A_0 x ۱۰۰

A_0 : جذب محلول بافر + پیروگالول

A_1: جذب محلول بافر + پیروگالول + عصاره

A_2: جذب آب مقطر + بافر + پیروگالول

۲-۱-۸- تعیین درصد جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید

برای سنجش میزان جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید از واکنش Griess Illosvoy با اندکی تغییر استفاده شد. مخلوط واکنش(۳ میلی لیتر) شامل سدیم نیترو پروسید (۲ میلی لیتر،۱۰ میلی مولار)، بافر فسفات سالین(۰/۵ میلی لیتر) و عصاره (۱میلی لیتر) به مدت ۱۵۰ دقیقه در ۲۵ درجه ی سانتیگراد انکوبه شد. بعد از انکوباسیون ۰/۵ میلی لیتر از مخلوط واکنش با۱ میلی لیتر از معرف سولفانیلیک اسید(۳۳٪در ۲۰٪گلاسیال استیک اسید) مخلوط شد و اجازه داده شد تا ۵ دقیقه جهت تکمیل واکنش باقی بماند. سپس ۱ میلی لیتر از نفتیل اتیلن دی آمید دی هیدرو کلراید اضافه شد و مخلوط گردید. مخلوط برای مدت ۳۰ دقیقه در ۲۵ درجه ی سانتیگراد باقی ماند. یک رنگ صورتی پخش شده در محلول ایجاد گردید و جذب محلول در ۵۴۰ نانومتر خوانده شد(۲۹).

درصد ظرفیت جمع آوری رادیکال نیتریک اکسید = جذب شاهد – جذب نمونه/۱۰۰ × جذب نمونه

۲-۱-۹- سنجش قدرت احیا

۴۰ میکرولیتر از عصاره با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (۰/۲مولار ،pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی لیتر فروسیانید پتاسیم ($K_3Fe(CN)_6$: ۱۰g L^{-1}) مخلوط شد و سپس مخلوط در دمای ۵۰ در جه ی سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. پس از انکوباسیون، ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA, ۱۰۰ g L^{-1}) اضافه گردید و مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. سرانجام، ۱ میلی لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر کلرید فریک ($FeCl_3$, ۱g L^{-1}) مخلوط گردید و جذب در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. بالاترین جذب، بیشترین میزان قدرت احیا را نشان می دهد(۸۱).