

مقایسه خواص آنتی اکسیدانی لوبیا لیما (*Phaseolus lunatus* L.) با چند گونه لوبیای پرمصرف

ماندانا محمدنژاد^۱ و نازنین خاکی پور^{۲*}

(۱) گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

(۲) گروه خاکشناسی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

نویسنده مسئول: nazanin_kh_43713@yahoo.com*

این مقاله برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰

چکیده

سوپرفود به ماده غذایی اطلاق می شود که دارای اثراتی فراتر از ارزش تغذیه ای بر سلامتی انسان باشد. مهم ترین ویژگی سوپرفودها محتوای آنتی اکسیدانی آن هاست. در این تحقیق خواص آنتی اکسیدانی لوبیا لیما با دو لوبیای سفید و چیتی مقایسه شد. این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشگاه مازندران در سال زراعی ۱۳۹۷ اجرا گردید. قدرت مهار رادیکال آزاد به روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH1) و روش ABTS^۰ اندازه گیری شد و قدرت احیا کنندگی آهن (FRAP) و محتوای فنل تام آن ها ارزیابی شد. نتایج نشان داد میانگین محتوای فنل تام سه نوع لوبیای مورد مطالعه از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت ($p < 0.05$)، صرفاً از نظر عدد به ترتیب بیش ترین و کم ترین مقدار فنل تام در لوبیای لیما و لوبیای چیتی دیده شد. لوبیای لیما بالاترین درصد قدرت مهار رادیکال آزاد به روش (DPPH) را داشته (41.27 ± 4.94) و به طور معنی داری ($p < 0.05$) با دو نوع لوبیای دیگر اختلاف داشت. کم ترین مقدار این شاخص نیز در لوبیای چیتی دیده شد ($27.44 \pm 4.17\%$). بالاترین درصد شاخص ABTS^۰ در لوبیای لیما دیده شد اگرچه از نظر آماری تفاوت معنی داری با لوبیای سفید نداشت. کم ترین مقدار از این شاخص نیز در لوبیای چیتی حاصل گردید. مقدار فعالیت ضد اکسیدانی احیاء آهن در انواع لوبیا نشان داد این شاخص به طور معنی داری ($p < 0.05$) در لوبیای سفید بیش ترین 179.26 ± 4.52 و کم ترین مقدار آن در لوبیای چیتی 163.47 ± 6.82 مشاهده شد. اغلب شاخص های فعالیت ضد اکسیداسیونی در لوبیای لیما از دو نوع لوبیای دیگر (لوبیای سفید و لوبیای چیتی) بیش تر بود. با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، امکان معرفی لوبیا لیما به عنوان یک سوپرفود برتر که حاوی سطح بالایی از آنتی اکسیدان ها و ترکیبات فنولیک طبیعی است وجود دارد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، سوپرفود، فنل و لوبیا.

مقدمه

ابر غذا به ماده غذایی اطلاق می‌شود که دارای اثراتی فراتر از ارزش تغذیه‌ای بر سلامتی انسان باشد. اصطلاح "superfood" به غذاهایی گفته می‌شود که حاوی حداکثر فواید غذایی بوده و حداقل کالری را ارائه می‌دهند. آن‌ها مملو از ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها هستند. برطبق مطالعات انجام شده، ابر غذا، یکی از دسته‌های غذاهای کاربردی مرسوم حاوی ترکیبات فعال با عملکردهای خاص در بدن انسان است. در سال‌های اخیر بسیاری از مطالعات علمی اهمیت یک غذای فراوری شده طبقه‌بندی نشده را نشان می‌دهد که ترکیب غذایی آن برای تقویت و ارتقا ایده‌آل عملکرد بدن انسان، مناسب است (Spence, 2005). از نظر مفهومی سوپرفودها غذاهایی هستند که هم دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی هستند که این امر به خاطر بالا بودن مقدار مواد مغذی در آن‌هاست و از طرف دیگر، ارزش بیولوژیکی زیادی به دلیل فراهمی زیستی و فعالیت زیستی رضایت‌بخش در بدن دارند که دلیل آن وجود انواع مواد فعال زیستی در آن‌هاست (Devalaraja *et al.*, 2011). ابرغذاها قادر به افزایش علایم حیاتی بدن انسان هستند و می‌توانند انتخاب مناسبی جهت بهبود کلی سلامتی با تقویت سیستم ایمنی بدن باشند (Wolfe, 2009). مهم‌ترین اجزای فعال زیستی سوپرفودها که برای انسان مفید است، اسیدهای چرب اشباع نشده (ω -3, ω -6)، ویتامین‌ها، مواد معدنی، میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک، آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای آمینه ضروری، پلی‌ساکاریدها و آنزیم‌های مختلف هستند. از جمله مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های موجود در سوپرفودها، ویتامین‌های A، C و E، فلاونوئیدها، سلنیوم، β -کاروتن، روی، لیکوپن، آلبومین، اسیداوریک، بیلی روبین، کوآنزیم Q10 و پلی‌فنول‌ها مانند آنتوسیانیدین‌ها می‌باشند (Muhammada *et al.*, 2002). آنتی‌اکسیدان ترکیبی است که در غلظت‌های پایین نیز اکسیداسیون ترکیبات را به تأخیر انداخته و یا مانع می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها از ویتامین‌های محلول در چربی، کاروتنوئیدها و سایر اجزای مغذی موجود در غذاها محافظت می‌نمایند. این ترکیبات هم‌چنین تغییرات نامطلوب ناشی از اکسیداسیون غذاها مانند ایجاد رنگ نامطلوب در گوشت، محصولات گوشتی و قهوه‌ای شدن میوه‌ها و سبزیجات را به تأخیر می‌اندازند. اما حبوبات یک گروه از مواد غذایی با ارزش هستند که تعریف ابر غذا در مورد آن‌ها صدق می‌کند. میزان انرژی در حبوبات معادل غلات بوده و از نظر اسیدهای آمینه (به‌خصوص لایسین) غنی هستند. یکی از مهم‌ترین حبوبات، لوبیا می‌باشد که شامل گونه‌های مختلف چیتی، سفید، سیاه، قرمز، چشم بلبلی، لیما، پینتو و غیره می‌باشد. رژیم غذایی حاوی لوبیا سرشار از فیبر می‌باشد (Tonstad *et al.*, 2014). دانه‌ها بهترین منبع از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند که با استفاده صحیح از آن‌ها دیگر نیازی به اضافه کردن آنتی‌اکسیدان به‌صورت مصنوعی نمی‌باشد. با استفاده از این دانه‌ها در جیره حیوانات در نتیجه به‌طبع آن استفاده از این دانه‌ها به‌طور مستقیم در غذای انسان و نیز استفاده از گوشت حیوانات در غذای انسان، می‌توان به سلامتی کامل بدون استفاده از مواد شیمیایی و

افزودنی‌های غیرمجاز دست یافت (سوری و همکاران، ۱۳۸۲). مصرف‌کنندگان لوبیا سلیقه خاصی در مصرف و انتخاب ترکیب‌های مختلف اندازه، شکل و رنگ دانه دارند. در برخی موارد، حساسیت در انتخاب نوع لوبیا بسیار زیاد است و گاهی اوقات لازم شده است تا محققین، کلاس تجاری خاص و مورد علاقه را تولید نمایند تا به توانند پاسخگوی نیازهای خاص باشند. لوبیا لیما دارای ارزش غذایی بالا می‌باشد و زراعت آن در جهان در حال گسترش است. در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶، سطح زیر کشت انواع لوبیا در ایران ۱۰۶۲۶۴ هکتار با میانگین عملکرد ۲۴۰۱ کیلوگرم در هکتار بوده است (آمارنامه جهاد کشاورزی، ۲۰۱۸). دانه‌های آن حاوی کربوهیدرات فراوان، مواد معدنی مغذی، فولیک اسید، آهن، مولیبدن، فسفر، پتاسیم و انواع ویتامین‌ها از جمله تیامین و نیاسین است و پس از پخته شدن، خوراک خوش طعم و مقوی حاصل می‌شود. از ویژگی‌های مهم این گیاه، امکان کاشت آن به‌صورت بهاره و تابستانه و مصرف دو منظوره دانه سبز و دانه خشک آن می‌باشد (Ghanbari et al., 2020). لوبیای لیما (*Phaseolus lunatus*) گیاهی مقاوم بوده و برای شرایط سخت محیطی که سایر لگوها رشد خوبی ندارند، مناسب است. به دلیل محتوای بالای فیبر، مصرف لیما قند خون را افزایش نمی‌دهد و سبب تعادل سطح قند خون می‌گردد و به علت دارا بودن اسیدفولیک و منیزیم باعث کاهش حملات قلبی شده و به سلامت قلب کمک می‌کند. لوبیای لیما منبع بسیار خوبی از منگنز ماده معدنی کمیاب است که کوفاکتور ضروری در ساخت تعدادی از آنزیم‌هاست (Jenkins et al., 2012). این لوبیا هم‌چنین منبع بسیار خوبی از پروتئین می‌باشد که می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسب گوشت استفاده شود. لوبیا لیما به‌صورت دانه خشک غذای اصلی و مواد غذایی کنسرو شده نیز می‌تواند مصرف شود (مظاهری و مجنون‌حسینی، ۱۳۸۴). Apata و Ologhobo (۱۹۹۴)، یک مطالعه مقایسه‌ای از لحاظ مواد مغذی بین *P. vulgaris* و *P. lunatus* خام و فراوری شده، انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که ترکیبات شیمیایی این دو گونه لوبیا بسیار مشابه است *P. lunatus* به‌طور متوسط ۱/۳ درصد چربی، چهار درصد خاکستر و ۲۲ درصد پروتئین دارد، مقدار لیزین آن زیاد و قابلیت هضم خوبی دارد، اما کمبود ترئونین دارد. این ماده هم‌چنین دارای آنزیم گلیکوزیدسیانوژنیک، فازولوناتین و لیناماراز است که با وجود رطوبت در هنگام آسیاب کردن، گلیکوزید سیانوژنیک را هیدرولیز می‌کند و اسید سیانیدریک (HCN) تولید می‌کند. با این حال، مشخص شده است که خیساندن آن در آب تا حدی سیانور را از بین می‌برد. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بیش‌تر در گیاهانی موجود می‌باشند که حاوی ترکیبات فنلی هستند. محتوای فنلی و ترکیبات گیاه به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی وابسته می‌باشند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با سنجش‌های متعدد ارزیابی می‌شود. با وجود مطالعات قابل توجه درباره‌ی عصاره‌های حاصل از گیاهان مختلف، به‌ندرت پژوهشی در رابطه با خواص آنتی‌اکسیدانی دانه‌های خوراکی و مقایسه آن‌ها صورت گرفته است. در پژوهش حاضر، عصاره دانه‌های رسیده سه نوع لوبیا شامل لیما، چیتی و سفید آزمایش شدند، که هدف استخراج ترکیبات

فنولی و بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی لوبیاهای فوق بود.

مواد و روش ها

به منظور مقایسه خواص آنتی اکسیدانی لوبیا لیما با چند گونه لوبیای پرمصرف، این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشگاه مازندران در سال زراعی ۱۳۹۷ انجام شد. در این تحقیق ارقام لوبیا شامل لیما (کریسمس)، چیتی (صدری) و سفید (درسا) از مرکز تحقیقات اصلاح نهال و بذر شهرستان کرج تهیه شد. لوبیاهای را شسته پس از خشک کردن در دمای محیط، به وسیله آون تحت خلأ که برای خشک کردن مواد جامد استفاده می شود، در ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت پنج ساعت خشک و سپس توسط آسیاب خانگی به صورت پودری کاملاً یکنواخت درآورده و تا زمان انجام آزمایش در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند (Waterhouse, 2002).

بررسی محتوای تام فنلی (Total Phenol)

مقدار فنول کل موجود در بذر ارقام مختلف لوبیا، توسط رنگ سنجی به روش فولین-سیکالتو مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا به نیم میلی لیتر از هر یک از استانداردها (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ و ۱۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و عصاره اتانولی، پنج میلی لیتر فولین سیکالت (۱:۱۰) و چهار میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد اضافه گردید. برای تهیه شاهد، متانول خالص جایگزین عصاره اتانولی گردید. بعد از ۱۵ دقیقه، جذب در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری و منحنی استاندارد بر حسب گالیک اسید با غلظت های مختلف ترسیم و میزان ترکیبات فنول گیاه معادل گالیک اسید به صورت میلی گرم در هر گرم پودر خشک گیاه اندازه گیری شد (Pourmorad et al., 2006).

بررسی خاصیت آنتی رادیکالی با آزمون DPPH^۱

بررسی فعالیت آنتی رادیکالی عصاره ها، با استفاده از رادیکال های پایدار انجام شد. ۰/۲ میلی لیتر عصاره در غلظت های مختلف به چهار میلی لیتر از محلول متانولی $10^{-5} \times 6$ مولار رادیکال آزاد DPPH افزوده و ۶۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر دوپرتوی Jenway6105 ساخت کشور انگلستان قرائت گردید. یک نمونه به عنوان نمونه کنترل و حلال متانول برای صفر کردن دستگاه مورد استفاده گرفت (Oliveira et al., 2009).

رابطه ۱: $100 \times (\text{میزان جذب کنترل} / \text{میزان جذب نمونه} - \text{میزان جذب کنترل}) = \text{درصد به دام انداختن رادیکال آزاد}$

بررسی خاصیت آنتی رادیکالی با آزمون ABTS^۲

^۱ - 2, 2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

^۲ -2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

در این آزمون محلول‌های پایه ABTS (۷/۴ میلی مولار) و پتاسیم پرسولفات (۲/۶ میلی مولار) تهیه شده و در ادامه محلول اصلی بوسیله‌ی مخلوط کردن دو محلول پایه به مقدار مساوی با یکدیگر تهیه شده و در ادامه این مخلوط در دمای اتاق و محیط تاریک به مدت ۱۶ ساعت نگهداری شد. ۰/۲ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف آسکوربیک‌اسید و عصاره‌ها به چهار میلی‌لیتر از محلول تازه تهیه شده‌ی ABTS اضافه و به مدت دو ساعت در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب نمونه‌ها در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی درجه‌بندی اسیدآسکوربیک نتایج بر حسب معادل گرم آسکوربیک‌اسید بر گرم فنولیک نمونه بیان شد (Arnao et al., 2001).

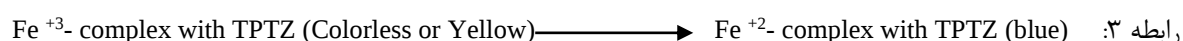
$$\%I = ((A_{b(15)} - A_{s(15)}) / A_{b(15)}) \times 100 \quad \text{رابطه ۲:}$$

$A_{b(15)}$: میزان جذب شاهد بعد از ۱۵ دقیقه، $A_{s(15)}$: میزان جذب نمونه بعد از ۱۵ دقیقه، I: درصد بازدارندگی

اندازه‌گیری قدرت احیاءکنندگی آهن

آنتی‌اکسیدان‌ها دو نوع آنزیمی (مانند گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیداز دیسموتاز) و غیرآنزیمی هستند. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مثل آسکوربیک‌اسید اهداکننده‌های الکترون می‌باشند. در واقع در واکنش اکسیداسیون که یک عامل اکسیدشونده و یک عامل احیاءکننده دارد، آنتی‌اکسیدان‌ها نقش احیاءکننده را بازی می‌کنند، یعنی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به توانایی احیاءکنندگی‌شان بستگی دارد. روش FRAP^۱ از یک واکنش اکسیداسیون احیا استفاده می‌شود که با تغییر رنگ همراه است. زمانی که احیاءکننده واکنش (آنتی‌اکسیدان) الکترون خود را اهدا می‌کند ماده‌ای تولید می‌شود که رنگی بوده و به راحتی می‌توان شدت رنگ تولید شده که نشان‌دهنده پیشرفت واکنش است را با استفاده از رابطه ۳ اندازه گرفت (Martinek, 1968).

Antioxidant



برای انجام این واکنش نیاز است تا معرف FRAP تهیه گردد. این معرف مخلوط کلریدآهن و TPTZ است که در یک بافر مناسب حل شده است. این مخلوط بیرنگ تا زرد رنگ می‌باشد. زمانی که نمونه مورد بررسی یا استاندارد به این محلول اضافه می‌شود، این کمپلکس احیاء شده و تشکیل کمپلکس حاوی آهن دو ظرفیتی آبی رنگ را می‌دهد که حداکثر جذب را در طول موج ۵۸۹ نانومتر دارد. عدد FRAP نمونه‌ها براساس میکرومولار در هر یک گرم ماده خشک با استفاده از رابطه ۴ محاسبه می‌شود:

$$\text{FRAP value} = \frac{\text{The slope of the linear plot for reducing Fe}^{+3} \text{ - TPTZ reagent by sample}}{\text{The slope of the linear plot for FeSO}_4 \text{ (standard)}} \quad \text{رابطه ۴:}$$

¹ - ferric reducing antioxidant power

برای مقایسه قدرت احیاء‌کنندگی آهن تیمارهای مختلف، محلولی از ۱۰۰ میکروگرم عصاره خشک در یک میلی‌لیتر آب مقطر تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۰/۲ مولار، pH ۶/۵) و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول آبی یک درصد فری‌سیانیدپتاسیم $[K_3Fe(CN)_6]$ مخلوط و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد اسیدتری‌کلرواستیک به مخلوط اضافه و محلول به‌دست آمده به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (سانتریفیوژ ساخت شرکت Heraeus مدل Labofuge 2000). سرانجام ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و نیم میلی‌لیتر محلول کلریدفریک $[FeCl_3]$ مخلوط و جذب توسط اسپکتروفتومتر دوپرتوی Jenway 6105 ساخت کشور انگلستان در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. جذب بیشتر محلول نشان‌دهنده قدرت احیاء‌کنندگی آهن بالاتر آن است (Olaleye, 2007). با توجه به داده‌های به‌دست آمده و با استفاده از نرم‌افزار SPSS، مقایسه میانگین داده‌ها تحت ANOVA با آزمون دانکن در سطح پنج درصد، برای هر نمونه با سه تکرار در سه گونه لوبیای مورد آزمایش انجام و نتایج براساس آن، مورد تفسیر قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج بررسی شاخص‌های فعالیت ضداکسیداسیونی لوبیا لیما و مقایسه آن با دو نوع لوبیا دیگر (لوبیا چیتی و سفید) شامل قدرت مهار رادیکال آزاد به روش دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)، ارزیابی فعالیت ضداکسیداسیونی به‌وسیله رادیکال آزنوسیس اتیل‌زولین‌سولفوئیک (ABTS)، فعالیت آنتی‌اکسیداسیونی احیا آهن (FRAP) و فنل تام در جدول و شکل‌های زیر به تفکیک آمده است.

قدرت مهار رادیکال آزاد به روش (DPPH)

در جدول تجزیه واریانس این شاخص اثر تیمار از نظر آماری معنی‌دار گردید ($P=0/025$). میانگین درصد قدرت مهار رادیکال آزاد به روش (DPPH) در انواع لوبیا در آمده است (جدول‌های ۱ و ۲). لوبیای لیما بالاترین درصد قدرت مهار رادیکال آزاد به روش (DPPH) را داشته و به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) با لوبیا چیتی اختلاف داشت. کم‌ترین مقدار این شاخص نیز در لوبیای چیتی دیده شد. براساس گزارشات علیزاده فیروزه و همکاران (۱۴۰۰) درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH در محلول پروتئینی عدس در زمان صفر ۴۴/۷۸ درصد و این مقدار در زمان ۶۰ دقیقه، ۷۰/۳۰ درصد بوده است. نتایج حاکی از آن است که آلکالاز نقش مؤثری در تولید پپتیدها با خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH دارد. خاصیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدها تا حد زیادی تحت تأثیر ترکیب اسیدآمین، طول زنجیره و آبگریز بودن پپتیدها است (Lai et al., 2016). در همین راستا Seidu و همکاران (۲۰۱۴) فعالیت آنتی‌اکسیدانی دانه لوبیا لیما را بررسی کردند و گزارش نمودند که آرد دانه لیما دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال‌های آزاد نیز می‌باشد. لوبیای لیما از نظر

غذایی غنی است و منبع خوبی از پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه ضروری است.

جدول ۱: خلاصه تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در لوبیا

منبع تغییرات	درجه آزادی	قدرت مهار رادیکال آزاد به روش DPPH	فعالیت ضد اکسیداسیونی به روش ABTS	فنل تام	فعالیت ضد اکسیداسیونی احياء آهن
تیمار	۲	۱۴۴/۱۰۰*	۲۴۳/۱۰۱**	۵۱۴/۰۶۹ ^{ns}	۱۹۰/۵۲۵*
خطا	۶	۱۹/۸۵۶	۲۳/۱۴۲	۴۹۹/۰۰۹	۲۸/۰۳۶
ضریب تغییرات (CV%)	-	۱۳/۰۷	۸/۸۶	۱۸	۳/۷

ns، * و **: میانگین مربعات تیمارها به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می‌باشد.

هم‌چنین از نظر عناصر زیست فعالی دارای ترکیباتی هستند که اثرات بسیاری برای سلامتی دارند. افزایش مصرف لوبیا لیما در تولید محصولات غذایی و مواد مغذی مفید است (Lourembam Chanu Bonita et al., 2020). تحقیقات در مورد ترکیب فنلی حبوبات نشان داده است که حبوبات منابع خوبی از ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند که می‌توانند در مدیریت بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد مهار شوند (Iriti and Varoni, 2017).

جدول ۲: نتایج مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در سه نوع لوبیا

تیمارها	قدرت مهار رادیکال آزاد به روش DPPH (درصد)	فعالیت ضد اکسیداسیونی به روش ABTS (درصد)	فنل تام (میلی گرم اسید گالیک در گرم)	فعالیت ضد اکسیداسیونی احياء آهن (میکروگرم در میلی لیتر)
لوبیا سفید	۳۳/۵۵ ± ۴/۲۱ab	۵۷/۷۰ ± ۴/۰۶ab	۱۲۳/۶۹۰ ± ۲۲/۸۱a	۱۷۹/۳۶۰ ± ۴/۵۲a
لوبیا چیتی	۲۷/۴۴ ± ۴/۱۷b	۴۴/۰۶۷ ± ۴/۲۴b	۱۱۱/۵۱۰ ± ۳۰/۷۰a	۱۶۳/۴۷۰ ± ۶/۸۲b
لوبیا لیما	۴۱/۲۷ ± ۴/۹۴a	۶۱/۰۶۷ ± ۵/۹۱a	۱۳۷/۶۷۰ ± ۵/۸۵a	۱۷۲/۴۹۰ ± ۴/۱۵b

ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف آماری در سطح پنج درصد آزمون دانکن ندارند.

ارزیابی فعالیت ضد اکسیداسیونی به روش ABTS

نتایج نشان می‌دهد بین ارقام مختلف لوبیا تفاوت معنی‌داری دیده می‌شود ($P=0/011$) (جدول ۱). میانگین درصد فعالیت ضد اکسیداسیونی به روش ABTS در سه نوع لوبیای مورد ارزیابی، در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد بیش‌ترین درصد این شاخص در لوبیای لیما حاصل گردید که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با لوبیای سفید نداشت و کم‌ترین مقدار از این شاخص نیز در لوبیای چیتی دیده شد ($P<0/05$). در مطالعه‌ای علیزاده فیروزه و همکاران (۱۴۰۰) درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS در محلول پروتئینی عدس در زمان صفر ۴۹/۰۷ درصد و این مقدار در زمان ۶۰ دقیقه، ۷۰/۹۶ درصد گزارش گردید. براساس مطالعات قبلی به نظر می‌رسد که ظرفیت مهارکنندگی محصولات هیدرولیز پروتئینی می‌تواند تحت تأثیر عواملی نظیر اندازه، میزان اسیدآمینه‌های آبگریز و غلظت مواد اهداکننده الکترونی در محصول هیدرولیز پروتئینی باشد. علاوه بر آن نتایج نشان دادند که میزان مهار رادیکال ABTS به‌طور معناداری بالاتر از میزان مهار رادیکال DPPH بود. محققان دلیل این تفاوت را حلالیت و انتشار پپتیدها در محیط واکنش و هم‌چنین واکنش‌پذیری

بیش تر رادیکال های ABTS با ترکیبات آنتی اکسیدان در مقایسه با رادیکال های DPPH عنوان کردند (Bamdad *et al.*, 2011). در آزمایشی مشابه که توسط Seidu و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی لوبیا لیما صورت گرفت ظرفیت آنتی اکسیدانی به روش ABTS، ۳۶ درصد حاصل گردید که در قیاس با نتایج این آزمایش، کاهش چشمگیری را نشان داد. همچنین نمونه حاوی محتوای پروتئین خام (۱۵/۷۵ درصد) بالاتر از آن چه در بیش تر محصولات غلات به دست می آید، بود. محتوای بالای پروتئین پوشش دانه ها، پتانسیل آن را به عنوان مکمل های پروتئینی در غلات به منظور بهبود کیفیت پروتئین نشان می دهد. میزان فیبر خام گزارش شده در لوبیای لیما، ۳۳/۵۶ درصد می باشد (Seidu *et al.*, 2014) در مقابل ۴/۶۱ درصد موجود در ماش، ۵/۳۵ درصد گزارش شده برای بادام زمینی بامبارا و ۱۰/۸۹ درصد بامیه (Martin *et al.*, 2011; Masood and Rizwana, 2010; Adetuyi *et al.*, 2011). طی تحقیقی مشابه بر روی لوبیا لیما در نیجریه فعالیت آنتی اکسیدانی لوبیا لیما با اندازه گیری DPPH و ABTS توانایی مهار رادیکال آزاد و همین طور اندازه گیری قدرت احیاء کنندگی آهن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مقادیر بالاتر ترئونین، والین، ایزولوسین، تربیتوفان، لوسین، لیزین و هیستیدین با مجموع ۵۱/۷۰ گرم از ۱۰۰ گرم پروتئین را نشان داد. غربالگری فیتوشیمیایی حضور فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین، تانن و فنولیک را در ترکیب نشان داد. همچنین تجزیه و تحلیل به روش کروماتوگرافی با عملکرد بالا با آشکار ساز دیود (HPLC-DAD) وجود فنل و توکوفرول را مشخص نمود. لوبیا لیما فعالیت قابل توجهی برای مهار رادیکال های آزاد و کاهش قابل توجه ذخایر آهن را نشان داد. دانه لوبیا لیما به علت فعالیت آنتی اکسیدانی اش به عنوان یک منبع بالقوه آنتی اکسیدان طبیعی دارای مزایای بسیاری برای تغذیه و سلامت است (Seidu *et al.*, 2014). در همین رابطه مجذوبی و فرقانی (۱۳۹۲) میزان آنتی اکسیدان های برنج، گندم، ذرت و جو دوسر را بررسی کردند. با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی و اسپکتروفتومتری، آنتی اکسیدان های موجود در این نوع چهار غله عبارتند از: گندم (توکوفرول و فرولیک اسید)، برنج (اسید فنولیک و اسید آسکوربیک)، ذرت (پلی فنول و آنتوسیانین)، جو دوسر (توکوفرول و اسید فنولیک) که در بین موارد ذکر شده گندم دارای بیش ترین میزان آنتی اکسیدان بود. تحقیقات متعددی نیز بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره محصولات کشاورزی از جمله هسته انگور، جو، گندم، برنج و سنجد توسط دانشمندان انجام شده است. این نتایج همچنین نشان می دهند که بیش ترین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها به وسیله روش رادیکال های آزاد ABTS مربوط به هسته انگور می باشد که مقدار آن از لوبیا لیما نیز بیش تر می باشد. نتیجه نشان می دهد که نوع ترکیب فنولیک در فعالیت آنتی اکسیدانی نقش دارد.

اندازه گیری ترکیبات فنولیک کل

جدول تجزیه واریانس فنل تام در انواع لوبیا در جدول ۱ نشان داده شده است. تفاوت آماری معنی داری در مقدار تیمارها

وجود ندارد ($P=0/412$). بنابراین با وجود اختلافات عددی، میانگین محتوای فنل تام سه نوع لوبیای مورد مطالعه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). صرفاً از نظر عدد به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار فنل تام در لوبیای لیما و لوبیای چیتی دیده شد. در این رابطه Oliveira (۲۰۰۹) میزان فنل کل در عصاره اتانولی و آبی دانه اسپند را با میوه ازگیل و پوست گردو مقایسه کرد. نتایج نشان داد که میزان فنل کل در عصاره اتانولی و آبی دانه اسپند بیش‌تر از پوست گردو و میوه ازگیل بوده است. هم‌چنان‌که Devanand و همکاران (۲۰۰۶) میزان پلی‌فنل کل دانه را در لوبیاهای مورد بررسی بین ۱۹/۱ تا ۴۸/۳ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم گزارش کردند. از طرفی داروغه و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که مقدار فنل کل عصاره‌ی هسته‌ی خرما واریته قصب ۱۶۹۴ میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک بود. هم‌چنین مرادپور و همکاران (۱۳۹۱) مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی برگ زیتون را به ترتیب ۱۱۵۳ میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۷۷ گرم وزن خشک و ۱۱۰۱ میلی‌مولار ترولوکس در ۱۷۷ گرم وزن خشک گزارش دادند. میزان پلی‌فنل کل دانه در لوبیا بستگی به نوع تیپ‌های مختلف رنگی دارد طوری‌که میزان پلی‌فنل دانه لوبیا چیتی بیش‌تر از لوبیا سیاه گزارش گردیده است (Xu and Chang, 2009).

فعالیت ضد اکسیداسیونی احیاء آهن

با توجه به داده‌های جدول ۱ به وضوح می‌توان دریافت که اثر تیمار بر میانگین این شاخص از نظر آماری معنی‌دار است ($P>0/0287$). میانگین مقدار فعالیت ضد اکسیدانی احیاء آهن در انواع لوبیا که در (جدول ۲) آمده است نشان داده این شاخص بطور معنی‌داری ($P<0/05$) در لوبیای سفید مقدار بیش‌تری داشته و کم‌ترین مقدار در لوبیای چیتی دیده شد. با توجه به داده‌های جدول ۲ فعالیت ضد اکسیدانی احیاء آهن در لوبیای سفید مقدار بیش‌تری داشته و کم‌ترین مقدار در لوبیای چیتی دیده شد. در بررسی‌های Seidu و همکاران (۲۰۱۴) خاصیت احیاء آهن لوبیا لیما ۱۷۱/۳۸ تعیین گردید که تقریباً با نتیجه آزمایش ما هم‌خوانی دارد. در تحقیقی که Schubert و همکاران (۱۹۹۹) انجام دادند، قدرت احیاء‌کنندگی آهن هسته انار را معادل ۰/۰۶ میلی‌مول آهن در هر گرم پودر خشک هسته در تست (FRAP) گزارش کردند. این مقدار در برابر استاندارد آسکوربیک‌اسید که معادل ۱۴/۳۷ میلی‌مول آهن در هر گرم آن فعالیت داشت، گزارش شده است. در پژوهشی که Tabata و همکاران (۲۰۰۸) بر روی برگ و ساقه سبز چای انجام دادند، اعلام کردند، عصاره‌ها در حلال آب داغ بالاترین قدرت احیاء‌کنندگی آهن را دارند. بهرامی و همکاران (۱۳۹۲) تحقیقی بر روی گیاه زردچوبه انجام دادند. آن‌ها گزارش کردند، ترکیبات فنلی به عنوان متابولیت‌های ضروری برای رشد و تولیدمثل گیاهان و هم‌چنین مواد محافظت‌کننده در برابر عوامل آسیب‌زا نقش دارند. این ترکیبات منبع مهمی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که به عنوان مواد احیاء‌کننده و دهنده هیدروژن عمل می‌کنند. این مطالعه به صورت تجربی و با چند بار تکرار روی عصاره آبی الکلی

استخراج شده از ریشه زردچوبه انجام شده است و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد. در این مطالعه با استفاده از استاندارد اسیدتانیک محتوای پلی فنولی عصاره زردچوبه ارزیابی شد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که محتوای پلی فنولی هر میکروگرم از عصاره آبی الکلی استخراج شده برابر ۵۹ میکرومول اسید تانیک می‌باشد. این بررسی نشان داد محتوای پلی فنلی عصاره آبی الکلی زردچوبه قابل توجه می‌باشد و به نظر می‌رسد محتوای پلی فنولی آن به دلیل وجود ترکیبات کورکومینوئیدی موجود در گیاه زردچوبه باشد. از طرفی Oliveira (۲۰۰۹) با بررسی قدرت احیاکنندگی عصاره آبی پوست سبز گردو، دانه اسپند و میوه ازگیل گزارش کرد که با افزایش ترکیبات فنلی قدرت احیاکنندگی افزایش می‌یابد. بیشترین قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی متعلق به عصاره آبی پوست گردو و کمترین برای عصاره آبی ازگیل است.

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد هر سه نوع لوبیای مورد آزمایش خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان دادند. در نهایت از نظر آماری، لوبیای لیما از نظر خواص آنتی اکسیدانی به هر سه روش ذکر شده، خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به لوبیا سفید و لوبیا چیتی نشان داد. هر چند این اختلاف با لوبیا سفید از نظر آماری، معنی‌دار نبود. از نظر میزان فنل تام، تفاوت معنی‌داری بین سه گونه مشاهده نگردید. لوبیا لیما را می‌توان به عنوان منبع غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در تولید محصولات چوبی چون انواع غذاهای کنسرو شده، کنسرو لوبیا و تمامی غذاهایی که در دستور تهیه آن‌ها نوعی لوبیا وجود دارد و نیز محصولات غذایی که در آن‌ها به دلیل حضور چربی‌ها احتمال اکسیداسیون وجود دارد به صورت مؤثری استفاده نمود. لذا با گنجاندن آن در رژیم غذایی می‌توان آنتی اکسیدان‌های مورد نیاز بدن را تا اندازه‌ای فراهم نمود.

منابع

- بهرامی، م.، افشاری، ز.، احمدی، ف.، محیط، م. ج.، جلالی‌خان‌آبادی، ب.، و مرادی، ع. ۱۳۹۲. ارزیابی محتوای پلی فنلی عصاره آبی الکلی زردچوبه در ایران با روش سینگلتن. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد. ۲۱(۳): ۲۹۰-۲۸۱.
- داروغه، ف.، پرستان، ر.، مجاهدی جهرمی، س.، و رنجبر، م. ۱۳۹۲. اندازه‌گیری مواد فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه خرما واریته قصب شهرستان جهرم. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی شیراز.
- سوری، ع.، فرسام، ح.، حسنی، م.، و عظیمی خیرآبادی، ز. ۱۳۸۲. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان ۲۵ دانه گیاه مورد مصرف در طب سنتی ایران. فصلنامه گیاهان دارویی. ۲ (۸): ۳۴-۲۷.

علیزاده فیروزه، ر.، میرزایی، م.، و فداب نوغایی، و. ۱۴۰۰. پایداری فعالیت آنتی اکسیدانی محصول هیدرولیز پروتئین عدس در برابر تیمارهای حرارتی و pH. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۷(۵): ۸۴۹-۸۶۱.

مجنوبی، م.، و فرقانی، ز. ۱۳۹۲. پروتئومیکس دانه گندم، بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران، شیراز.

مرادپور، م.، اسماعیل‌زاده‌کناری، ر.، و نوری، ل. ۱۳۹۱. اهمیت و کاربردهای بالقوه از برگ‌های زیتون، دومین سمینار ملی امنیت غذایی، سوادکوه.

مظاهری، د.، و مجنون‌حسینی، ن. ۱۳۸۴. مبانی زراعت عمومی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۰ صفحه.

آمارنامه جهاد کشاورزی. ۲۰۱۸. آمار کشاورزی سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶. جلد اول: محصولات زراعی. وزارت کشاورزی - جهاد، تهران، ایران.

Adetuyi, F.O., Osagie, A.U., and Adekunle, A.T. 2011. Nutrient, antinutrient, mineral and zinc bioavailability of okra *Abelmoschus esculentus* L. moench variety. American Journal of Food Science and Nutrition. 1(2):49-54.

Apata, D., and Ologhobo, A. 1994. Biochemical evaluation of some Nigerian legume seeds. Food Chemistry. 49:333 – 338.

Arnao, M.B., Cano, A., and Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry. 73: 239-244.

Bamdad, F., Wu, J., and Chen, L., 2011. Effects of enzymatic hydrolysis on molecular structure and antioxidant activity of barley hordein. Journal of Cereal Science. 54: 20-28.

Devalaraja, S., Jain S., and Yadav, H. 2011. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. Food Research International. 44: 1856-1865.

Devanand, L., Luthria, M., and Pastor-Corrales, A. 2006. Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. Journal of Food Science. 19: 205-211.

Ghanbari, A. Mostafavi Rad, M., and Generosity, R. 2020. Determining plant density and suitable planting time of Lima beans in Gilan province. Journal of Agricultural Science and Technology. 31(1): 209-219.

Iriti, M., and Varoni, E. M. 2017. Pulses, healthy, and sustainable food sources for feeding the planet. International Journal of Molecular Sciences. 18 (2): 255-260.

Jenkins, D.J., Kendal, C. W.C., and Augustin, S.A. 2012. Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: a randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine*. 172(21): 1653-1660.

Lai, T., Lin, Z., Zhang, R., Guo, X., Ma, Z., Liao, W., Hu, X., 2016. Processing stability of antioxidant protein hydrolysates extracted from degreased walnut meal. *International Journal of Food Engineering*. 2: 155-161.

Lourembam Chanu Bonita, G. A., Shantibala D., and Brajakishor Singh, Ch. 2020. Lima Bean (*Phaseolus Lunatus* L.) – A health perspective. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 9(2): 5638-5649.

Martin, A. M. M., Samuel, R. M., Israël, L.M., and Etoa, F. X. 2011. Nutritional potential of bambara bean protein concentrate. *Pakistan Journal of Nutrition*. 10 (2): 112-119

Martinek, J. 1968. A note on the μ -zeros of combinations of cross- product Bessel functions. *Acta Mechanica*. 6: 203-207.

Masood, S. B., and Rizwana, B. 2010. Nutritional and functional properties of some promising legumes protein isolates. *Pakistan Journal of Nutrition*. 9 (4): 373-379.

Muhammada, I., Zhaoa, J., Dunbara, C., and Khana, I. 2002. Constituents of *Lepidium meyeniiemacai*. *Phytochemistry*. 59(1): 105-110.

Olaleye, M. T. 2007. Cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus Sabdariffa*. *The Journal of Medicinal Plants*. 1(1): 9-13.

Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., and Pereira, J.A. 2009. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia*)activities of pomegranate peel extracts. . *Food Chemistry*. 80-93.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African journal of biotechnology*. 5(11):1142-1145.

Schubert, S., Lansky, E., and Neeman, I. 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme in habitation properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal Ethnpharma*. 66: 11-17.

Seidu, K.T., Osundahunsi, O.F., and Olaleye, M.T. 2014. Chemical composition, phytochemical constituents and antioxidant potentials of Lima bean seeds coat. *Annals: Food Science and Technology*. 15(2): 288-298.

Spence, J. 2005. Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 54-56.

Tabata, H., Katsybe, T., Tsuma, T., Ohte, Y., Imawaka, N., and Utsumi, T. 2008. Isolation and evaluation of the radical –scavenging activity of the antioxidants in the leaves of an edible plant, *malotux japonicas*. *Food Chemistry*. 109: 64-71.

Tonstad, S., Malick, N., and Haddad, E. 2014. A high- fiber bean-rich diet versus a low-carbohydrate diet for obesity. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 27(2): 109-116.

Waterhouse, A.L. 2002. Current protocols in food analytical chemistry: Determination of Total Phenolics. New York: John Wiley and Sons.

Wolfe, D. 2009. Superfoods: The food and medicine of the future. California: North Atlantic Books. 10-49.

Xu, B., and Chang, S. 2009. Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 57: 4754-4764

Comparison of antioxidant properties of Lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) with several high consumption beans

M. Mohammadnezhad¹ and N. Khakipuor^{2*}

1) Department of Food Industry Science and Engineering, Swadkoh Branch, Islamic Azad University, Swadkoh, Iran.

2) Department of Soil Science, Swadkoh Branch, Islamic Azad University, Swadkoh, Iran.

Corresponding author: :^{} nazanin_kh_43713@yahoo.com

This article is an excerpt from a master's thesis.

Received date: 2022.06.30

Accepted date: 2022.10.22

Abstract

Superfood refers to food that has effects beyond its nutritional value on human health. The most important feature of superfoods is their antioxidant content. In this research, the antioxidant properties of lima beans were compared with white and pinto beans. This experiment was carried out based on a completely random design in the laboratory of Mazandaran University in the crop year of 2017. The free radical scavenging power was measured by the diphenylpicrylhydrazyl method (DPPH1) and ABTSO method, and the iron reducing power (FRAP) and their total phenol content were evaluated. The results showed that the average total phenol content of the three types of beans under study was not statistically significant ($p < 0.05$), only in terms of numbers, the highest and lowest amount of total phenol was observed in lima beans and pinto beans, respectively. Lima beans had the highest percentage of free radical scavenging power (DPPH) (41.27 ± 4.94) and it differed significantly ($p < 0.05$) from other two types of beans. The lowest value of this index was also seen in pinto beans ($27.44 \pm 4.17\%$). The highest percentage of ABTSO index was seen in lima beans, although it was not statistically significantly different from white beans. The lowest amount of this index was also seen in pinto beans. The amount of antioxidant activity of iron reduction in all kinds of beans showed that this index was significantly ($p < 0.05$) in white beans, the highest value was 179.36 ± 4.52 , and the lowest value was observed in pinto beans, 163.470 ± 6.82 . Most of the indicators of antioxidant activity in lima beans were higher than the other two types of beans (white beans and pinto beans). According to the results obtained in this research, it is possible to introduce lima beans as a superior superfood that contains a high level of antioxidants and natural phenolic compounds.

Key word: Antioxidant, Superfood, Phenol and Beans.