

بررسی کمی و کیفی عوامل فیزیکی و شیمیایی، فیتوشیمیایی و اثر آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه بنه (*Pistacia Atlantica Desf.*)، بومی شهرستان بیرجند



قدسیه باقرزاده* و محدثه نخعی

بیرجند، دانشگاه بیرجند، دانشکده علوم، گروه شیمی

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۷

چکیده

بنه یک گیاه با ارزش است که به دلیل کاربردهای دارویی، غذایی و صنعتی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در فصل بهار، برگ درخت بنه روئیده شده در منطقه کوه باقران بیرجند، در فاصله زمانی ۱۴ روز جمع‌آوری و خشک شد. برای بررسی فیتوشیمیایی، عصاره برگ به روش خیساندن در سه حلال آب، اتانول و استن تهیه و از آنها برای تشخیص متابولیت‌های ثانویه و تعیین مقدار کل فنل و فلاونوئید استفاده گردید. سپس با کاربرد روش‌های فولین-سیوکالتیو و کلرید آلومینیوم به ترتیب میزان فنل و فلاونوئید عصاره‌ها تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. پودر برگ، برای تعیین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی و میزان عناصر معدنی به کار رفت. در این بررسی، حضور استروئیدها، تریپنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، کومارین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، فلاونوئیدها، فیتواسترول‌ها و کربوهیدرات در برگ تأیید شد و بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، در برگ نیمه اردیبهشت‌ماه به ترتیب ۳۹/۹۵ و ۵/۱۱ (میلی‌گرم بر گرم خشک گیاه) مشاهده شد و بالاترین مقدار عناصر معدنی مربوط به عنصر پتاسیم (۴۴۹/۸۷ ppm) در برگ اول خرداد ماه بود.

واژه‌های کلیدی: بنه، محتوای فنل و فلاونوئید، عناصر معدنی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۶۳۲۳۴۵۱۹۲، پست الکترونیکی: ghbagherzadeh@birjand.ac.ir

مقدمه

تانن است و در درمان اسهال‌های ساده مورد استفاده قرار می‌گیرد. تحقیقات نشان می‌دهد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی برگ بنه بسیار بالاست (۲)، از این‌رو برای درمان دسته‌ای از بیماری‌ها مانند دیابت (۱۱) و عفونت چشم و دهان (۸ و ۹) استفاده می‌شود. همچنین این گیاه از خاصیت ضد ویروسی و ضد میکروبی قابل توجهی برخوردار است (۶). تحقیقات انجام شده بر روی برگ بنه وجود دسته‌ای از ترکیبات مهم مانند تریپن‌ها، تریپنوئیدها و گالیک اسید را نشان داده است (۱۸ و ۲۲). در این تحقیق، به منظور بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی و فیتوشیمیایی برگ بنه، آنالیزهای کمی و کیفی برگ گیاه انجام شد و بعد محتوای

در حدود ۲۰۰ سال قبل زمانی که اولین بار داروهای شیمیایی به بازار عرضه شده و توسط پزشکان به کار گرفته شدند، تصور می‌شد که عمر استفاده از گیاهان دارویی به سرآمده است، اما بعد از چند دهه، بهره‌گیری از گیاهان دارویی و طب گیاهی بار دیگر مرسوم شد (۱).

درخت بنه، گیاهی درختی و از خانواده پسته (*Pistacia Atlantica Desf.*) است، برگ‌های آن مرکب تک‌شانه‌ای بدون کرک و در انتها مدور و مانند درخت پسته از ۲ یا ۵ برگچه تشکیل شده است. روی برگ سبز روشن و پشت برگ سبز مات است. گل‌ها آرایشی خوشه‌ای دارند (۴). پوست و برگ درخت محتوی مقدار زیادی

مخلوط کرده و در تاریکی و دمای اتاق قرار داده شد. پس از ۱ ساعت جذب نمونه‌ها در ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید؛ و مقدار فنل تام از روی منحنی استاندارد بر حسب $\text{mg GAE g}^{-1} \text{DW}$ محاسبه شد (۲۱).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فلاونوئیدی: برای اندازه‌گیری میزان ترکیبات فلاونوئیدی از روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید و استاندارد روتین استفاده گردید. ۱ میلی لیتر استاندارد یا عصاره و ۱ میلی لیتر محلول $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ۲٪ مخلوط و بعد توسط اتانول ۵۰٪ به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. بعد از گذشت ۴۰ دقیقه جذب محلول‌ها در حضور شاهد در ۴۱۵ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب $\text{mg g}^{-1} \text{DW}$ به دست آمد (۱۶).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی: تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با کاربرد آزمون DPPH انجام گردید. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف از عصاره آبی تهیه شد. ۱ میلی لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی مولار به ۳ میلی لیتر از عصاره افزوده و مخلوط به دست آمده به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک در دمای اتاق قرار گرفتند. بعد از این مدت، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد و نمونه کنترل مثبت با مخلوط کردن ۲ میلی لیتر آسکوربیک اسید ۰/۳ میلی مولار و ۱ میلی لیتر DPPH تهیه شد و کنترل منفی با مخلوط کردن ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر DPPH آماده شد. درصد مهار رادیکال DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید (۱۷).

$$\left(\frac{A_{(-)} - A_{S}}{A_{(-)}} \right) \times 100 = \text{به دام اندازی رادیکال آزاد } (\%)$$

$$A_{(+)}]$$

که در این رابطه $A_{(-)}$ و $A_{(+)}$ به ترتیب جذب کنترل منفی و مثبت و A_S جذب نمونه می‌باشد. و مقدار IC_{50} ، با رسم

فنل، فلاونوئید و اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز بررسی گردید.

مواد و روشها

جمع آوری و آماده‌سازی گیاه: برگ بنه از ارتفاعات جنوبی شهرستان بیرجند، در منطقه باقران در بهار ۱۳۹۲ از درختان بالغ جمع آوری گردید. خشک کردن گیاه در سایه و در معرض جریان هوا انجام و بعد برگ‌ها در کیسه‌های مناسبی نگهداری و برای انجام کار آزمایشگاهی آسیاب شدند.

بررسی فیزیکی و شیمیایی برگ بنه:

اندازه‌گیری عناصر معدنی: برای اندازه‌گیری عناصر معدنی لازم است که محلول خاکستر تهیه گردد، بدین منظور ابتدا خاکستر گیاه آماده و بعد ۵ میلی لیتر اسیدکلریدریک ۱ نرمال به آن اضافه و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد. سپس محلول حاصل را به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و در ادامه با تهیه استانداردهای لازم میزان عناصر معدنی در برگ بنه با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (۷).

بررسی فیتوشیمیایی برگ بنه: ۱۰ گرم از پودر گیاه با ۲۰۰ میلی لیتر از حلال‌هایی با قطبیت‌های متفاوت شامل اتانول، آب و استن به طور جداگانه مخلوط گردید و به روش خیساندن به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط و همراه با هم زدن مخلوط، عصاره‌گیری شد. سپس حذف حلال انجام شد. عصاره خشک شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد (۱۹).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی: میزان ترکیبات فنلی، بر اساس روش رنگ سنجی Folin-Ciocalteu و با استاندارد گالیک اسید اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۵ میلی لیتر استاندارد یا عصاره، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین ۰/۵ مولار و ۲ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۷/۵٪ را با هم

نتایج

با توجه به بررسی‌های فیتوشیمیایی به عمل آمده بر روی برگ گیاه بنه مشخص گردید که متابولیت‌های ثانویه شامل استروئیدها، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها، کومارین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، فلاونوئیدها، فیتواسترول‌ها، ترپنوئیدها و کربوهیدرات‌ها در برگ بنه وجود دارد. همچنین مقدار رطوبت، خاکستر کل و خاکستر محلول در آب و خاکستر نامحلول در اسید به ترتیب ۰/۱۱، ۶/۷۳، ۱/۵ و ۳/۴۷ (%w/w) در برگ بنه تعیین شد. به‌طوری‌که تفاوت بین مقدار کل خاکستر و خاکستر محلول در آب و نامحلول در اسید، نیز نشان دهنده حضور مقدار قابل توجهی از مواد معدنی، مانند کلسیم اکسالات در پودر برگ است. در ادامه بررسی فیزیکی و شیمیایی، عناصر معدنی موجود در گیاه اندازه‌گیری شد که در جدول ۱ نشان داده شده است.

نمودار خطی درصد بازدارندگی بر حسب $\mu\text{g/mL}$ عصاره، تعیین شد.

آزمونهای کیفی برای تشخیص ترکیبات دارویی بنه: آزمون‌های کیفی بر روی چهار عصاره آبی، اتانولی، استنی و نرمال هگزانی برگ بنه انجام شد. هدف از این آزمایش‌ها تشخیص کیفی استروئیدها، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها، کومارین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، فلاونوئیدها، فیتواسترول‌ها، ترپنوئیدها و کربوهیدرات‌ها در برگ بنه می‌باشد (۱۲).

آنالیزهای آماری: تمام آزمایش‌ها، در دو تکرار مستقل در زمان یکسان و برای هر نوبت جمع‌آوری گیاه انجام شد و داده‌های حاصل از سنجش‌ها، در ۳ عصاره مربوط به ماه‌های مختلف با نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. پس از مشخص شدن وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، میانگین‌ها در سطح احتمال $p < 0.05$ گروه-بندی و مقایسه شدند.

جدول ۱- میانگین غلظت عناصر معدنی برگ بنه در فواصل زمانی مختلف (ppm)

سطح معنی داری	انحراف استاندارد میانگین	نیمه اردیبهشت	اول خرداد	نیمه خرداد	
۰/۰۰۲	۱/۴۹	۱۱۲/۵ ^a	۴۶/۷۰ ^c	۶۲/۴۴ ^b	Mg
۰/۰۰۰۱	۰/۰۲۹	۳/۶۲ ^c	۸/۲۷ ^b	۱۲/۸۲ ^a	P
۰/۰۰۰۳	۰/۴۲	۱۶/۳۲ ^c	۵۱/۶۴ ^b	۷۳/۲۲ ^a	Ca
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۶	۳/۵۳ ^c	۴/۰۹ ^b	۹/۵۸ ^a	Fe
۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۴۶	۰/۵۲۴ ^b	۰/۶۱۷ ^a	۰/۱۸۹ ^c	Mn
۰/۰۱	۳/۴۶	۴۲۸/۸۴ ^a	۴۴۹/۸۷ ^a	۳۹۴/۸ ^b	K
۰/۰۰۰۵	۰/۰۹۲	۵۶/۵۴ ^c	۶۰/۱۱ ^b	۶۴/۲۸ ^a	Na
۰/۵۱	۰/۰۰۴۳	۰/۴۲۰	۰/۴۲۷	۰/۴۲۱	Zn

حروف متفاوت در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی‌دار آماری بین میانگین‌ها است.

مقدار آن، در نیمه خرداد ماه وجود دارد (۰/۱۸۹ppm) که تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با سایر ماه‌ها نشان می‌دهد. لازم به تذکر است که میزان رطوبت و عناصر معدنی خاک برای تمام نمونه‌ها در فاصله زمانی نمونه برداری

همانطور که مشاهده می‌شود، پتاسیم فراوان‌ترین عنصر است و در اول خرداد ماه به حداکثر مقدار خود رسیده است (۴۴۹/۸۷ppm) و منگنز در مقایسه با سایر عناصر کمترین میزان را به خود اختصاص داده است. پایین‌ترین

آلومینیوم کلراید معین شد (جدول های ۳ و ۲). مقایسه میزان ترکیبات فنلی در ماه‌ها و عصاره های مختلف نشان داد که بیشترین محتوای فنلی، متعلق به عصاره آبی برگ نیمه اردیبهشت با مقدار $39/95 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ بود و کمترین مقدار در عصاره استنی نیمه خرداد با مقدار $9/49 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ تعیین شد.

یکسان می باشد. میزان بازده باقیمانده جامد پس از استخراج و تبخیر از ۱۰ گرم برگ در حلال های مختلف (آب، اتانول و استن) اندازه گیری شد. این مقادیر در حلال های آب، اتانول و استن به ترتیب $4/485$ ، $4/026$ و $3/070$ (گرم) معین شد. میزان کل فنل و فلاونوئید موجود در برگ، به ترتیب با استفاده از روش های فولین سیوکالتیو و

جدول ۲- میانگین غلظت ترکیبات فنلی استخراج شده برگ بنه با حلال های مختلف در فواصل زمانی مختلف (mg/g DW)

سطح معنی داری	انحراف استاندارد میانگین	نیمه اردیبهشت	اول خرداد	نیمه خرداد	آب
۰/۰۱۷	۱/۵۸	$39/95^a$	$33/26^a$	$17/51^b$	آب
۰/۰۲۷	۱/۲۰۵	$38/54^a$	$29/51^b$	$25/40^b$	اتانول
۰/۰۲۷	۱/۲۷	$23/69^a$	$19/01^a$	$9/49^b$	استن

حروف متفاوت در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی دار آماری بین میانگین ها است.

جدول ۳- میانگین غلظت ترکیبات فلاونوئیدی استخراج شده برگ بنه با حلال های مختلف در فواصل زمانی مختلف (mg/g DW)

سطح معنی داری	انحراف استاندارد میانگین	نیمه اردیبهشت	اول خرداد	نیمه خرداد	آب
۰/۰۰۲	۰/۰۹۳	$5/11^a$	$0/933^c$	$2/52^b$	آب
۰/۰۰۴	۰/۰۶	$1/87^b$	$1/75^b$	$2/61^a$	اتانول
۰/۵۰	۰/۲۴	$3/33$	$3/64$	$3/20$	استن

حروف متفاوت در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی دار آماری بین میانگین ها است.

بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی، نشان داد که بیشترین محتوای فلاونوئید، در عصاره آبی نیمه اردیبهشت ماه با مقدار $5/11 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ بود و کمترین میزان در عصاره آبی اول خرداد ماه با میزان $0/933 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ دیده شد. نتایج ثابت می کند که تفاوت معنی داری بین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره های با قطبیت متفاوت در ماه های مختلف وجود دارد. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه در فواصل زمانی ذکر شده اندازه گیری شد (جدول ۴) و نتایج نشان می دهد که عصاره آبی نیمه اردیبهشت

در مقایسه با سایر ماه‌ها کمترین میزان IC_{50} و بیشترین خاصیت ضد رادیکالی را از خود نشان می دهد. IC_{50} در روش مهار رادیکال های آزاد به غلظتی از عصاره اطلاق می گردد که در آن ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هرچه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد. حروف متفاوت در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی دار آماری بین میانگین هاست.

جدول ۴- میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی برگ بنه در فواصل زمانی مختلف ($IC_{50}(\mu\text{g/ml})$)

سطح معنی داری	انحراف استاندارد میانگین	برگ نیمه اردیبهشت	برگ اول خرداد	برگ نیمه خرداد	عصاره آبی نمونه
۰/۰۰۲	۰/۹۳۸	$53/47^c$	$69/23^b$	$96/81^a$	فعالیت آنتی اکسیدانی ($IC_{50}(\mu\text{g/ml})$)

حروف متفاوت در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی دار آماری بین میانگین ها است.

بحث

قطبیت مناسب استفاده کرد (۱۵). بدین منظور در این کار پژوهشی از حلال‌هایی مانند اتانول، آب و استن برای جداسازی و استخراج مؤثرتر استفاده گردید. همان‌طور که در جدول‌های ۲ و ۳ مشخص است بیشترین میزان استخراج ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در برگ نیمه اردیبهشت ماه مربوط به حلال آب بوده، از طرف دیگر اتانول و استن از بازدهی استخراج کمتری برخوردار می‌باشند. Stankovic و همکاران عصاره آبی و متانولی قسمت‌های مختلف گیاه سیزاب کوهستان را از نظر محتوای فنلی و فلاونوئیدی بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که محتوای فنلی و فلاونوئیدی عصاره آبی بیشتر از عصاره متانولی است که نشان‌دهنده نقش مؤثرتر آب نسبت به سایر حلال‌هاست (۲۰).

همچنین محتوای فنل و فلاونوئید تام بدست آمده از عصاره‌های آبی گیاه *D. superbus* در بررسی انجام شده توسط Gou و همکاران (۲۰۱۱)، به ترتیب 1 mg GAE g^{-1} و 24 mg RE g^{-1} گزارش شد (۱۰) و در نتایج حاصل از این پژوهش، میزان فنل و فلاونوئید در عصاره آبی نیمه اردیبهشت ماه بیشتر از میزان گزارش شده در گیاه *D. Superbus* بود (۱۰). البته میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان، با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. بر اساس نتایج بدست آمده بیشترین محتوای فنل و فلاونوئید در عصاره آبی برگ نیمه اردیبهشت ماه به ترتیب $39/95$ و $5/11$ میلی‌گرم استاندارد بر گرم برگ خشک اندازه‌گیری شد. در آزمون بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه بنه، با توجه به نتایج بدست آمده، عصاره آبی برگ نیمه اردیبهشت ماه از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار می‌باشد $(IC_{50}(\mu\text{g/ml}): 53/47)$.

میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در برگ بنه مربوط به این تحقیق در مقایسه با مطالعه‌ای که پکسل در سال ۲۰۰۸ در ترکیه انجام داد، از مقدار بیشتری برخوردار

مقایسه میزان عناصر موجود در برگ درختان یک منطقه در فواصل زمانی مختلف می‌تواند تا حدی نشان‌دهنده میزان مصرف عناصر مورد نیاز و یا ورود عناصر به چرخه بیولوژیک اکوسیستم باشد. زرین کفش (۱۳۵۰)، میزان عناصر پرمصرف در برگ بنه را گزارش کرده است (۳). در این تحقیق مشخص شد که پتاسیم فراوان‌ترین عنصر موجود در برگ این گیاه است که به‌ویژه در برگ اول خرداد ماه در مقایسه با برگ نیمه اردیبهشت و نیمه خرداد به بیشترین مقدار می‌رسد ($449/87 \text{ ppm}$). پتاسیم جزء عناصر درشت مغذی بوده و در فعال کردن تعداد زیادی از آنزیم‌ها، به‌ویژه آنزیم‌های شرکت‌کننده در فتوسنتز و تنفس نقش دارد. از طرف دیگر با وجود تطابق یافته‌های این تحقیق با نتایج ارائه شده توسط زرین کفش و همکارانش در مورد میزان نسبی کلسیم و سدیم برگ‌ها، برای میزان پتاسیم و منیزیم همخوانی چندانی وجود نداشته و میزان این دو عنصر با گذشت زمان کاهش یافته است.

بر اساس نتایج بدست آمده از آنالیز عناصر معدنی برگ بنه، کمترین مقدار مشاهده شده مربوط به فلز منگنز با غلظت $0/189 \text{ ppm}$ در برگ نیمه خرداد ماه می‌باشد. منگنز کوفاکتور تعدادی از آنزیم‌هایی است که در چرخه تنفسی کربن نقش حیاتی ایفا کرده و جزء عناصر ریز مغذی طبقه-بندی شده است و میزان آن در برگ‌های گیاه مورد تحقیق کاملاً منطقی است (۵). در تحقیق انجام شده توسط Kamangar و Farsam (۱۹۹۷) بر روی میوه گیاه بنه نشان داده شد که میوه گیاه از عناصر معدنی بالاتری نسبت به برگ آن برخوردار است (۱۳).

ترکیبات فنلی یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در گیاهان به شمار می‌آیند. این ترکیبات دارای ساختارهای متفاوت قطبی بوده، از این‌رو برای جداسازی عوامل مؤثر از گیاهان باید از حلال‌هایی با

از مسئولان محترم دانشگاه بیرجند، به‌ویژه معاون محترم پژوهشی آقای دکتر بهدانی و گروه شیمی این دانشگاه که با همکاری در تمام مراحل، امکان انجام این تحقیق را فراهم کردند، قدردانی می‌گردد. همچنین از همکاران محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند سپاسگزاری می‌کنیم.

است. این نکته تأییدی بر این موضوع است که میزان متابولیت‌های تشکیل‌دهنده گیاه ارتباط زیادی با شرایط آب و هوایی و اقلیم منطقه دارد (۱۴).

سپاسگزاری

اینک که به توفیق خداوند این تحقیق به پایان رسیده است،

منابع

- ۱- رضوی، م. (۱۳۸۱) گیاهان دارویی. انتشارات تلاش. تهران.
- ۲- زرگری، ع. (۱۳۶۰) گیاهان دارویی (جلد اول). انتشارات دانشگاه تهران. تهران.
- ۳- زرین کفش، م. (۱۳۵۰) بررسی قسمتی از خاک‌های جنگلی یا سوخ. دانشکده جنگلداری تهران. ۲۴: ۹۷-۱۰۵.
- ۴- قهرمان، ا. (۱۳۷۲). کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). انتشارات دانشگاه تهران. تهران.
- ۵- هاپکینز، و.ج. (۱۳۸۸). مقدمه‌ای بر فیزیولوژی گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه تهران. تهران.
- 6- Adams, M., Plitzko, I., Kaiser, M., Brun, R. and Hamburger, M. (2009). HPLC- profiling for antiplasmodial compounds 3-methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. *Phytochemistry Letter*, 2(4): 159-162.
- 7- Alabi, D.A. and Alausa, A.A. (2006). Evaluation of the mineral nutrients and organic food contents of the seeds of *lablab purpureus*, *leucaena leucocephala* and *mucuna utilis*. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2 (1): 115-118.
- 8- Altundag, E. and Ozturk, M. (2011). Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia-Social and Behavioral Sciencess*, 19: 756-777.
- 9- Block, T.D. (1956). Methods of lipid extraction in plants. *Mycologia*, 48:337-343.
- 10- Gou, J., Zou, Y. and Ahn, J. (2011). Enhancement of antioxidant and antimicrobial activities of *Dianthus superbus*, *Polygonum aviculare*, *Sophora flavescens*, and *Lygodium japonicum* by pressure-assisted water extraction. *Food Science and Biotechnology*, 20(1): 283-287.
- 11- Hamdan, I.I. and Afifi, F.U. (2004). Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacol*, 93: 117-121.
- 12- Hegde, K. and Joshi, A.B. (2010). Preliminary phytochemical screening and antipyretic activity of *carissa spinarum* root extract. *Scholars Research Library Der Pharmacia letter*, 2(3): 255-260.
- 13- Kamangar, T. and Farsam, H. (1997). Chemical composition of pistachio kernels of various Iranian origins. *Journal of Food Science*, 42: 1135-1136.
- 14- Peksel, A. (2008). Antioxidative properties of decoction of *Pistacia Atlantica* Desf. Leaves. *Asian Journal of Chemistry*, 20(1): 681-693.
- 15- Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 3101-3113.
- 16- Quettier, D. Gressier, B. Vasseur, J. Dine, T. Brunet, C. Luyckx, M. Cayin, J. Bailleul, F. and Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1-2), 35-42.
- 17- Rabeta M.S., And Nabil, Z. (2013). Total phenolic compounds and scavenging activity in *Clitoriaternatea* and *Vitexnegundolinn*. *International Food Research*, 20(1): 495-500.
- 18- Roitman, J.N., Merrill, G.B. and Beck, J.J. (2010). Survey of ex situ fruit and leaf volatiles from several *Pistacia* cultivars grown in California. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5): 934-942.
- 19- Singleton, V. Orthofer, R. and Lamuela-raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299:152-178.

- 20- Stankovic, M.S., Niciforovic, N., Topuzovic, M. and Solujic, S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. *Biotechnol Eq.* 25(1): 2222-2227.
- 21- Stanković, MS. (2011). Total Phenolic Content, Flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. Kragujevac *Journal of Science.* 33:63-72.
- 22- Yousfi, M., Djeridane, A., Bombarda, I., Hamia, Ch., Duhem, B. and Gaydou, E.M., 2009. Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytotherapy Research*, 23(9): 1237-1242.

Quantitative and qualitative physicochemical, phytochemical investigations and antioxidant activity of *Pistacia Atlantica*, plant leaf extract, native of Birjand

Bagherzadeh Gh. and Nakhaee M.

Chemistry Dept., University of Birjand, Birjand, I.R. of Iran

Abstract

Bene is a valuable plant that has attracted so much attention due to its pharmaceutical, nutritional and industrial applications. In this study, the leaves of Bene tree, grown up in Bagheran Mountain in Birjand were collected and dried with 14 day's interval in spring. For phytochemical investigation Bene leaf extracts were prepared by maceration method, using ethanol, acetone and water as solvents. The obtained extracts were used for the detection of secondary metabolites and quantification of total phenols and flavonoids. Then, phenolic and flavonoid contents of extracts were determined by Folin-Ciocalteu and Aluminum chloride methods, respectively. Furthermore the antioxidant activity of plant extracts was evaluated by inhibiting free radical 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Leaf powder was used, to determine the physicochemical parameters and mineral elements. The presence of steroids, terpenoids, anthocyanins, tannins, coumarins, proteins, amino acids, flavonoids, phytosterols and carbohydrates in plant leaves were identified. The highest phenol and flavonoid content of 39.95 and 5.11 (mg /g DW) were observed respectively in leaves aqueous extract of mid-May. The highest mineral concentration belonged to K (449.87 ppm) in the leaves on May 30.

Key words: Bane tree, phenol and flavonoid content, minerals