بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی در عصاره پوست پسته (*Pistacia vera* L)

شیما آزاده دل[۱]، پریچهرحناچی[۱*] و عذرا صبورا[۲]

[۱] **تهران، دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم زیستی، بخش بیوشیمی، گروه بیوتکنولوژی**

[۲] **تهران، دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم زیستی، بخش علوم گیاهی، گروه فیزیولوژی**

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۹

چکیده

گیاهان دارای گستره ای از ترکیبات فنولی از مولکول های ساده مانند اسیدهای فنولی تا مولکول هایی با درجه پلی مریزاسیون بالاتری مانند تانن ها هستند. فنول ها و پلی فنول های بافت های گیاهی بر سلامت و بهبود زندگی انسان اثر می گذارند برای مثال ترکیبات فنولی موجود در مغز و پوست پسته که اثر آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی آنها شناخته شده است. هدف از انجام آزمایش این است که با توجه به تولید انبوه پوست پسته در ایران، امکان تولید صنعتی ترکیبات فنولی با توان فعالیت آنتی اکسیدان های طبیعی بررسی شود. در این آزمایش عصاره گیری با استفاده از دو روش استفاده از امواج فراصوت و خیساندن و چهار حلال (استن ۷۰٪، اتانول ۵۰٪، متانول ۵۰٪ و آب) در دو رقم کله قوچی(*P. vera* cv. Kallehghuchi) و اوحدی (*P.vera* cv. Ohadi) انجام شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با استفاده از دو روش DPPH و FRAP مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که در روش DPPH بیشترین و کمترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی بترتیب (IC_{50} =۰/۰۹۹ ،۰/۰۵۷) مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی و کله قوچی در حلال آب با روش خیساندن اندازه گیری شد. اما در روش FRAP بیشترین و کمترین میزان خاصیت انتی اکسیدانی (۲/۵،۵۶/۵۹ mM) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی در حلال اتانول با روش خیساندن و استفاده از امواج فراصوت اندازه گیری شد.

واژه های کلیدی: پوست پسته، عصاره گیری، خاصیت آنتی اکسیدانی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۰۴۴۰۵۱ ، پست الکترونیکی: hanachi_wrc@yahoo.com

مقدمه

گیاهان دارای گستره ای از ترکیبات فنولی از مولکول های ساده مانند اسیدهای فنولی تا درشت مولکول های پلیمری مانند تانن ها هستند. خواص زیادی از فنول ها و پلی فنول های بافت های گیاهی بر سلامت و بهبود زندگی انسان و حیوانات گزارش شده است برای مثال ترکیبات فنولی موجود در پسته مانند (فلاوان-۳- اول، آنتوسیانین، پروآنتوسیانیدین، اسیدهای فنولی، استیلبن، فلاوانون، ایزوفلاون، فلاونول)که اثر آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی آنها شناخته شده است (۱۳) .

آنتی اکسیدان های طبیعی از یک طرف باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان های پلاسما و از طرف دیگر باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی عروقی و سکته مغزی می شوند و همچنین از پیشرفت سرطان‌ها که موجب آسیب به DNA می شوند جلوگیری می کنند (۱۸ و ۱۹). علی رغم وجود آنتی اکسیدان های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی بدن به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال های آزاد ایجاد شده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین می شود (۲۴). شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوء تغذیه ای

آنتی اکسیدان های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و ترت بتا هیدروکسی کینون را تأیید می کند. علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان درحیوانات آزمایشگاهی ازمعایب استفاده ازآنتی اکسیدان های ساختگی است (۶ و۲۳). بنابراین نیاز به آنتی اکسیدان های طبیعی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب ناپذیر است. امروزه بسیاری از متخصصین تغذیه برای تأمین آنتی اکسیدان های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه جات و سبزیجات را توصیه می نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی اکسیدان های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری راایجاد می کند (۵). میوه ها و سبزیجات بخش کوچکی از کالری دریافتی ما هستند اما به دلیل وجود فاکتورهای موثری مثل ویتامین ها، پروویتامین ها (آسکوربیک اسید، توکروفرول ها) وکارتنوئیدها اثرات مفیدی را برجا می گذارند (۱۵).

گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان بوده می توانند باعث حفاظت سلول ها از تنش اکسیداتیو شوند (۱۰). تنش اکسیداتیو به دلیل عدم تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن ایجاد می شود. التهاب یک پاسخ محافظ عملکردی است که به صورت مجموعه پیچیده ایی از وقایع در نظر گرفته می شود و زمانی پیشرفت می کند که بدن، توسط عوامل مکانیکی یا شیمیایی زخمی شود. در بسیاری از اختلالات التهابی فعال شدن بیش از حد فاگوسیت ها، افزایش در تولید رادیکال های آزاد، نفوذ پذیری غشا، دناتوراسیون پروتئین ها وفرایند های غشایی مشاهده می گردد که این موجب نیاز به عوامل آنتی اکسیدان و ضد التهابی برای جلوگیری از تنش اکسیداتیو و التهابی است (۱۶).

در ایران سالانه بیش از۴۰۰۰۰۰ تن پوست پسته بعد از پوست زدایی محصول پسته به دست می آید که می تواند به عنوان یک منبع مناسب برای خوراک نشخوار کنندگان مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). با این حال استفاده از این محصولات برای تغذیه نشخوار کنندگان به دلیل سمیت بالای تانن (۲۱) یا به علت تعامل با پروتئین ها،کربوهیدرات ها، مواد معدنی و میکروارگانیسم های موجود در دستگاه گوارش محدود می شود (۱۲). گلی و همکاران در سال(۲۰۰۵) نشان دادند که پوست سبز پسته حاوی مقدار قابل توجهی از ترکیبات فنولی می باشد که مقدار آن در مقایسه با منابع دیگر قابل توجه است (۷). به دلیل تولید انبوه پوست پسته در ایران و با توجه به اینکه وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی پوست پسته در تحقیقات نشان داده شده(۲۰)، امکان تولید صنعتی آنتی اکسیدان های طبیعی حاصل از آن امکان پذیر است.

هدف از انجام این تحقیق، بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی در پوست دو رقم کله قوچی و اوحدی و همچنین بررسی بهترین حلال و روش استخراج ترکیبات پلی فنولی پوست پسته است و به دلیل اینکه فعالیت های بیولوژیکی عصاره های گیاهان در روش های مختلف استخراج، تفاوت معنی داری را نشان می دهند، از این رو تایید مناسب ترین روش استخراج اهمیت پیدا می کند.

مواد و روشها

ارقام پسته مورد آزمایش، (*P. vera* cv. Kallehghuchi و *P.vera* cv. Ohadi)، در سال ۱۳۹۳ از شهرستان سیرجان تهیه شدند و ابتدا پوست پسته ها در سایه خشک شد و با استفاده از آسیاب خرد گردید. نمونه های مورد استفاده برای آزمایش های مرحله ی استخراج دارای اندازه ذرات بین صفر تا ۲mm بودند. نمونه های الک شده تا زمان آزمایش در یخچال۴ °C نگهداری شد.

روش استخراج: دو روش استفاده از امواج فراصوت(ultrasound-assisted extraction procedure (UAE)) و خیساندن(maceration) برای عصاره گیری استفاده شد. در روش (UAE)، ۵ ml از چهار حلال(استن

۷۰٪، اتانول ۵۰٪، متانول ۵۰٪ و آب) به۱۰۰ mg نمونه افزوده و مخلوط حاصل در اولتراسونیکاتور به مدت ۲۰ دقیقه استخراج شد این عمل دو بار در دمای اتاق انجام و سپس نمونه ها برای ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ و روشناور جمع آوری و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴°C در یخچال نگهداری شد(۱۳).

در روش خیساندن، ۱۰۰ mg از نمونه با ۵ ml از چهار حلال(استن ۷۰٪، اتانول ۵۰٪، متانول ۵۰٪ و آب) به مدت۲ساعت در دمای اتاق روی شیکر خیسانده و عصاره گیری کامل شد. سپس نمونه ها برای ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند و از محلول رویی برای سنجش ترکیبات بیوشیمیایی استفاده شد (۱۷) .

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به وسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل(DPPH): دی فنیل پیکریل هیدرازیل از رادیکال های آزاد پایدار است. در این روش توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره های موجود، از روی میزان تغییر رنگ محلول ارغوانی به محلول زرد رنگ سنجیده میشود. مقادیر مختلفی از عصاره ها (۰/۱-۱۰µl) را با متانول مطلق به حجم۲ml رسانده شد. پس از افزودن ۱ml محلول ۰/۰۰۴٪ DPPH مخلوط به خوبی تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب نمونه ها در۵۱۷ nm خوانده شد و با جایگزین کردن در فرمول زیر درصد رادیکال های آزاد پاکسازی شده(RSA٪) محاسبه گردید. متانول مطلق برای صفر کردن دستگاه و نمونه حاوی۲ ml متانول مطلق و ml ۱ DPPH به عنوان کنترل در نظر گرفته شد (۱۴).

$$\% RSA =((AControl - Asample) / AControl)) \times 100$$

در این رابطه:

Asample میزان جذب نمونه، Acontrol میزان جذب شاهد در طول موج ۵۱۷ nm و RSA میزان فعالیت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل است. به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی اکسیدانی، از فاکتور IC_{50} استفاده شد که بیانگر غلظتی از عصاره است که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد $DPPH^{\cdot}$ اولیه به میزان۵۰٪ مقدار اولیه است و هر چه مقدار آن کمتر باشد نشان دهنده ی میزان فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی است.

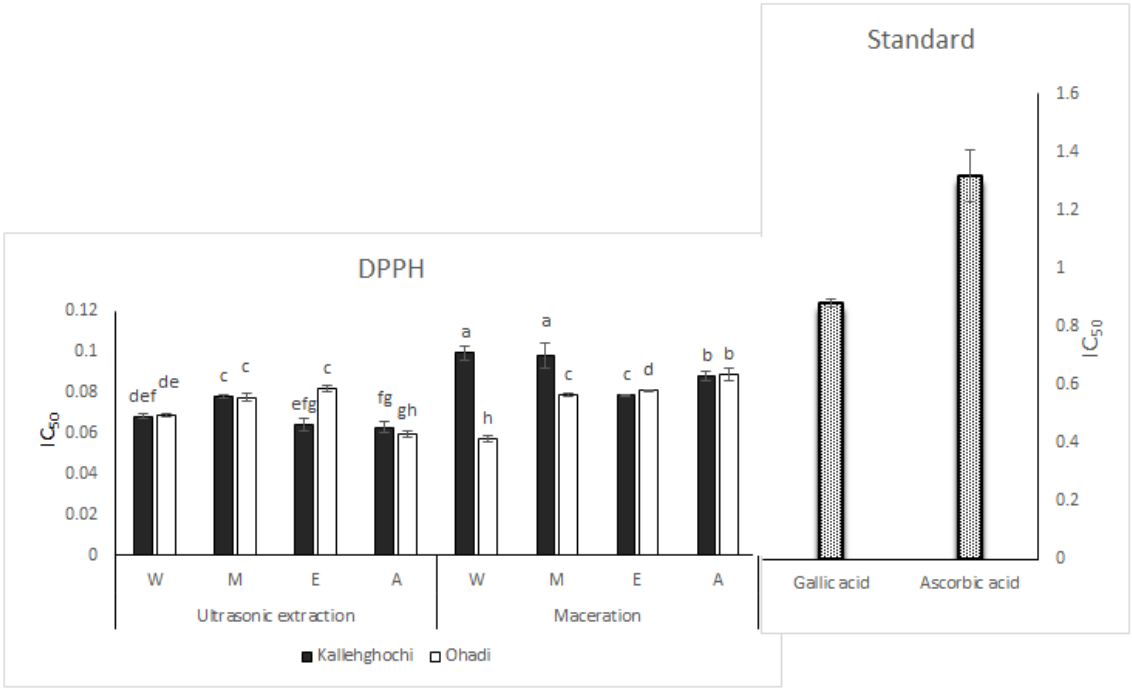
بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش (FRAP): در این روش توانایی عصاره ها در احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها اندازه‌گیری می‌شود. با احیای یون های فریک (Fe^{3+}) و تبدیل آن به یون‌های فرو(Fe^{2+}) در pH اسیدی و در حضور تری پریدیل اس تریازین(TPTZ) ،کمپلکسFe-TPTZ تشکیل می شود که رنگ آن آبی است. پس از آن سنجش نوری در ۵۹۳ nm اندازه‌گیری می‌شود (۱۱).البته باید اشاره کرد توانایی یک آنتی‌اکسیدان برای غلبه بر رادیکال‌های آزاد الزاما منطبق بر توانایی آن برای احیاء Fe^{3+} به Fe^{2+} نیست (۱۹).

اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بر اساس روشی که توسط Benzie و همکاران پیشنهاد شده است، انجام شد (۴). مقدار ۱/۵ mM از معرفFRAP((ml $FeCl_3$(۲۰ mM) ۵ به محلول (TPTZ (۱۰mM در(HCl(۴۰ mM اضافه شد و سپس ۵۰ml بافر استات ۳۰۰mM(pH=۳/۶) به آن اضافه گردید) به هر یک از لوله‌های آزمایش افزوده و مقدار ۵۰µl از نمونه و یا استاندارد سولفات آهن با غلظت۱ mM به لوله‌های مذکور اضافه و کاملا ورتکس گردید. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ nm در مقابل بلانک غلظت صفر استاندارد (۱/ ۵ ml محلول FRAP و ۵۰ml آب مقطر) اندازه‌گیری شد.

نتایج

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در روش DPPH : در روش استفاده از امواج فراصوت بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی(۰/۰۵۹ µg/ml، IC_{50}=۰/۰۸۲) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی در حلال

استن و اتانول به دست آمد. اما در روش خیساندن بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدان (۰/۰۵۷ µg/ml، IC_{50}=۰/۰۹۹) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی و کله قوچی در حلال آب مشاهده شد. عصاره های حاصل از رقم کله قوچی در حلال آب و متانول با روش خیساندن اختلاف معنا داری ($P<0.05$) با دیگر عصاره ها داشتند. استانداردهای استفاده شده در این آزمایش شامل گالیک اسید و آسکوربیک اسید بود که IC_{50} آن ها بترتیب۰/۸۸ µg/ml، ۱/۳۲ به دست آمد. نتایج به دست آمده در این آزمایش، فعالیت آنتی اکسیدانی خیلی قوی را در مقایسه با استاندارد گالیک اسید و آسکوربیک اسید نشان داد که اختلاف معنی داری با عصاره های پسته داشت (شکل۱). در تمام عصاره های حاصل از دو روش استخراج، استفاده از امواج فراصوت و خیساندن، پتانسیل آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره و یا به عبارتی با افزایش ماده موثره موجود در محلول واکنش افزایش پیدا کرده است (شکل های ۲ و ۳).



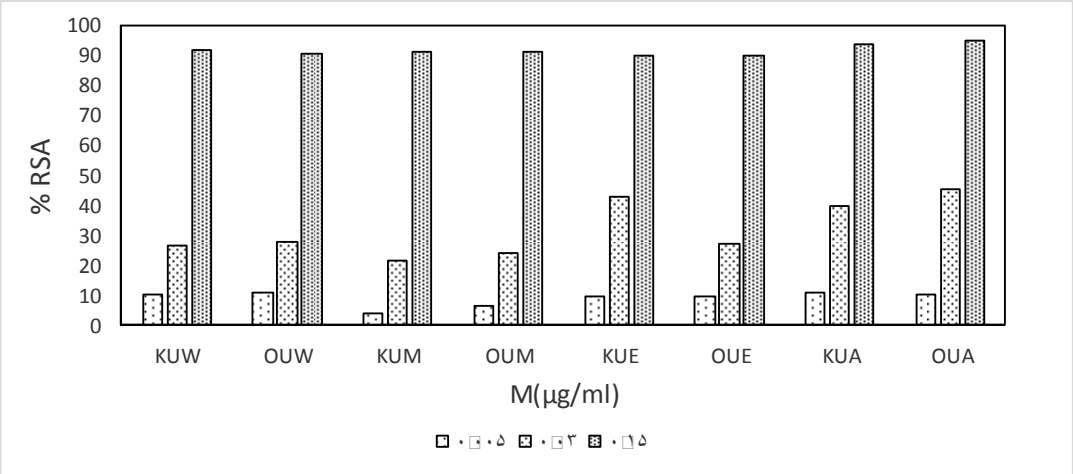
شکل ۱- مقایسه اثر آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف در روش DPPH. ($P<0.05$ آزمون چند دامنه ای دانکن) (W :آب، M:متانول، E:اتانول، A:استن)

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در روش FRAP : در روش استفاده از امواج فراصوت بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی(۳/۷۱mM، ۲/۵۶) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم کله قوچی در حلال آب و رقم اوحدی در حلال اتانول به دست آمد. اما در روش خیساندن بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی(۵/۵۹mM، ۳/۰۱) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی در حلال اتانول و استن مشاهده شد. عصاره حاصل از رقم اوحدی با روش خیساندن در حلال اتانول اختلاف معنادار ی($P<0.05$) با دیگر عصاره ها داشت (شکل ۴).

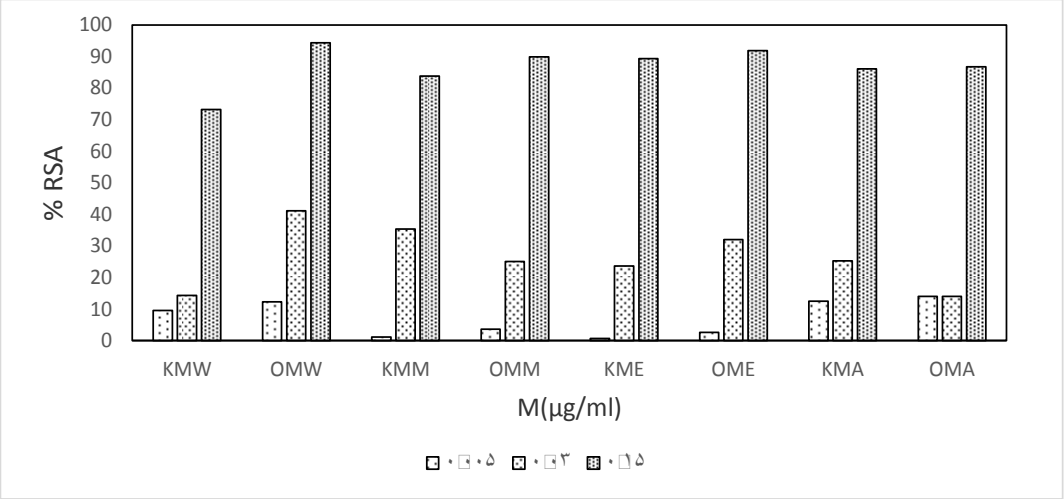
بحث

در تحقیقی که رجایی و همکاران (۲۰۱۰) انجام دادند میزان فعالیت آنتی اکسیدانی پوست پسته را با روش DPPH اندازه گیری کردند. میزان اثر بازدارندگی در دو رقم احمدآقایی و کله قوچی در غلظت ۰/۵ µg/ml بترتیب

۱۰/۹ و ۴٪ بود که این اثر در غلظت ۳ µg/ml به ۵۰ و ۵/۱۵٪ افزایش یافت. درمورد IC_{50} رقم های مختلف، رقم احمدآقایی ۲/۷ µg/ml کمترین مقدار بود و اختلاف معناداری با دیگر رقم ها(احمد آقایی، فندقی، کله قوچی، سید علی آقایی و فروتنی) داشت.



شکل ۲- مقایسه اثر بازدارندگی رادیکال های آزاد DPPH در غلظت های مختلف پوست پسته با روش استفاده از امواج فراصوت .
(K:کله قوچی، O: اوحدی، U: روش استفاده از امواج فراصوت، W:آب، M: متانول، E: اتانول، A: استن)

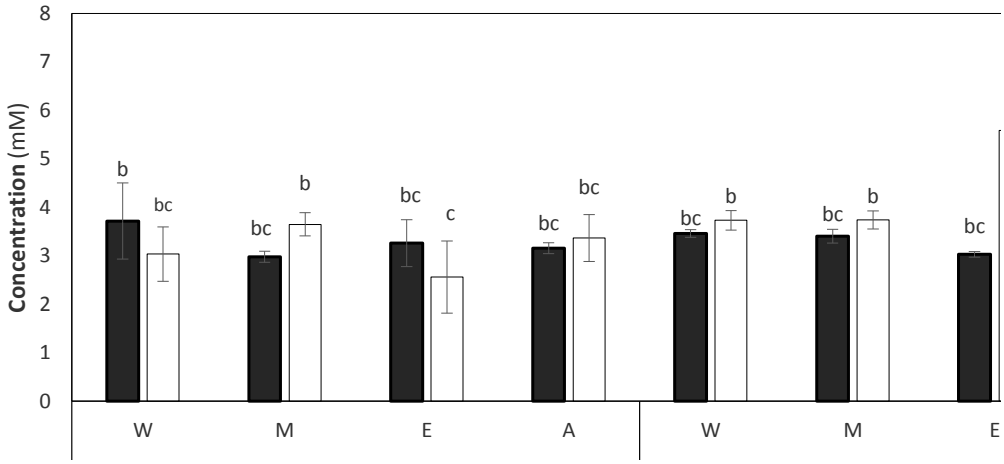


شکل۳ - مقایسه اثر بازدارندگی رادیکال های آزاد DPPH در غلظت های مختلف پوست پسته با روش خیساندن.
(K:کله قوچی، O: اوحدی، M: روش خیساندن، W:آب، M: متانول، E: اتانول، A: استن)

در روش دیگر ABTS رقم احمد آقایی و سید علی آقایی بترتیب بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را g ۳ascorbic/g phenol و ۱/۸ از خود نشان دادند (۲۰).

در تحقیقی که حسین زاده و همکاران (۲۰۱۲) انجام دادند میزان فعالیت آنتی اکسیدانی میوه، برگ و صمغ پسته را با روش های مختلفی مانند سنجش تخریب دئوکسی ریبوز، پراکسیداسیون لیپید گلبول قرمز و پراکسیداسیون لیپید میکروزومی کبد, به دست آوردند. در سنجش تخریب دئوکسی ریبوز، IC_{50} برای عصاره آبی و اتانولی میوه بترتیب µg/ml ۱۴۹/۲ و ۶۴/۷ و برای عصاره برگ ها µg/ml ۱۰۵/۴ و ۸۴/۸ و برای عصاره هیدروالکی صمغ پسته µg/ml ۲۸۵/۵ به دست آمد. همچنین در سنجش

پراکسیداسیون لیپیدی گلبول های قرمز، IC_{50} در عصاره آبی و اتانولی بترتیب برای میوه ۷۶۸/۳ µg/ml و ۳۲۵/۱ و برگ ها ,۳۱۴/۵ µg/ml و ۲۳۱/۴ و برای عصاره صمغ اثر آنتی اکسیدانی کمتر از ۵۰% را نشان داد. و در سنجش پراکسیداسیون لیپید میکروزومی کبد IC_{50} در عصاره آبی و اتانولی میوه بترتیبµg/ml ۱۴۴۱/۵ و ۶۴۸/۷ و برای عصاره برگ ها µg/ml ۱۱۰۱/۱ و ۷۰۰/۱ و برای عصاره صمغ پسته کمتر از ۵۰% را نشان داد(۹).



شکل۴ – مقایسه اثرآنتی اکسیدانی عصاره های مختلف با روش FRAP.

($P<0.05$ آزمون چند دامنه ای دانکن) (W :آب، M:متانول، E:اتانول، A:استن)

آرکان و یمنیسیکلو (۲۰۰۹) میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مغز فندق، گردو و پسته را با استفاده از روش ABTS اندازه گیری کردند. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مغز فندوق، گردو و پسته بترتیب ۳۵/۷، ۹۰/۵ و ۴۴/۴ میکرو مولار معادل تورولوکس/ نمونه خشک بود(۳). در تحقیقی که الماسی و همکاران(۲۰۱۵) انجام دادند میزان فعالیت آنتی اکسیدانی سه گونه از جنس *Centaurea* L (مرکبان) را با روش DPPH به دست آوردند که میزان IC_{50} دراندام هوایی *C. iransharii* دارای کمترین مقدار معادل ۰/۱۱ میلی گرم عصاره بر میلی لیتر حلال و گونه *C. imperialis* دارای بیشترین IC_{50} معادل ۰/۳۶ میلی گرم عصاره بر میلی لیتر حلال بود. میزان IC_{50} در گونه *C. iransharii* کمتر از آسکوربیک اسید معادل ۰/۱۲۵ میلی گرم عصاره بر میلی لیتر حلال بود و این حالت بیانگر پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی در این گونه بود(۲).

روش عصاره گیری ترکیبات گیاهی بر اساس نوع ترکیب مورد نظر برای استخراج انتخاب می شود. انتخاب یک روش عصاره گیری مناسب می تواند غلظت ترکیبات موثره و آنتی اکسیدان ها را در عصاره افزایش دهد(۲۲). امروزه روش های متعدد عصاره گیری بمنظور افزایش کیفیت و کمیت ترکیبات موثره و آنتی اکسیدان های موجود در عصاره گیاهی در صنعت و پزشکی مورد استفاده قرار می گیرد. تفاوت در میزان ترکیبات استخراج شده بستگی به روش استخراج شده و همچنین کارایی حلال مورد استفاده در حل نمودن ترکیبات دارد. در سال های اخیر بسیاری از فناوری های در حال ظهور مانند: استخراج فوق بحرانی (SFE)، استخراج به کمک امواج ماکروویو(MAE)، استخراج به کمک امواج فراصوت(UAE)، استخراج آبی به کمک فشار(PAWE) و استخراج تحت فشار بالا(HPE) توسعه یافته و جایگزین روش های معمول استخراج شده

اند(۸). اخیرا استفاده از امواج فراصوت به طور گسترده در استخراج ترکیبات فنولی از بخش های مختلف گیاه استفاده می شود (۱). یک مطالعه مقایسه ای نشان داد که استفاده از امواج فراصوت باعث تخریب کمتر و استخراج سریع تر ترکیبات فنولی از توت فرنگی در مقایسه با دیگر روش های استخراج مثل جامد-مایع، آب فوق بحرانی و روش مایکروویو می شود(۱۳). در این پژوهش بمنظور انتخاب بهترین روش استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از دو روش استفاده از امواج فراصوت و خیساندن استفاده شد. بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی در سنجش DPPH و FRAP در عصاره حاصل از رقم اوحدی با روش خیساندن و بترتیب در حلال های آب و اتانول به دست آمد بنابرین روش خیساندن از روش استفاده از امواج فراصوت کارامدتراست و باعث تخریب کمتر ترکیبات فنولی با قدرت آنتی اکسیدانی می شود.

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که پوست پسته می تواند به عنوان یک منبع ارزان و قابل دسترس ترکیبات فعال زیستی استفاده شود. تمام عصاره های به دست آمده از دو رقم کله قوچی و اوحدی و چهار حلال استن، متانول، اتانول و آب با دو روش استفاده از امواج فراصوت و خیساندن خاصیت آنتی اکسیدانی خیلی قوی را از خود نشان دادند به طوری که در روش DPPH خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها خیلی قوی تر از دو استاندارد گالیک اسید و آسکوربیک اسید به دست آمد.

منابع

1- Albu, S., E. Joyce, L. Paniwnyk, JP. Lorimer and TJ. Mason (2004). "Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry." Ultrasound Sonochemistry **11**(3-4): 261-265.

2- Almasi, N., R. Karamian and F. Karamian (2015)." Antioxidant and antibacterial activity of the methanolic *Centaurea* L. species (Astraceae) from Iran extracts of three. " Journal of Iran Biology **28**(2): 224-234.

3- Arcan, I and A. Yemenicioğlu (2009). "Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat." Journal of Food Composition and Analysis **22**(3): 184-188.

4- Benzie, I. F and J. J. Strain (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay." Analytical Biochemistry **239**(1): 70-76.

5- Frankel, E. N. (1991). "Review. Recent advances in lipid oxidation." Journal of the Science of Food and Agriculture **54**(4): 495-511.

6- Gao, J . J., K. Igalashi and M. Nukina (1999). "Radical scavenging activity of phenylpropanoid glycosides in Caryopteris incana." Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry **63**(6): 983-988.

7- Goli, A. H., M. Barzegar and M. A. Sahari (2005). "Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (Pistachia vera) hull extracts." Food Chemistry **92**(3): 521-525.

8- Gou, J., Y. Zou and J. Ahn (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.

9- Hosseinzadeh, H., S. A. Sajadi Tabassi, N. Milani Moghadam, M. Rashedinia and S. Mehri (2012). "Antioxidant Activity of Pistacia vera Fruits, Leaves and Gum Extracts." Iranian Journal of Pharmaceutical Research **11**(3):879-887.

10- Kumaran, A. (2006). "Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus." Food chemistry **97**(1): 109-114.

11- Mancuso, M., M. Pacini, P. Gemignani, B. Bartalini, B. Agostini, L. Ferroni, M. Caputo, D. Capitani, E. Mondin and A. Cantagallo (2012). Clinical application of prismatic lenses in the rehabilitation of neglect patients. A randomized controlled trial." European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine **48**(2): 197-208.

12- McSweeney, C., B. Palmer, D. McNeill and D. Krause (2001" .Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants." Animal Feed Science and Technology **91**(1): 83-93.

13- Mokhtarpour, A., A. Naserian, R. Valizadeh, M. D. Mesgaran and F. Pourmollae (2014). "Extraction

of phenolic compounds and tannins from pistachio by-products 2." proteins **3**: 25.

14- Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." Songklanakarin Journal of Science and Technology **26**(2): 211-219.

15- Motalleb, G., P. Hanachi, O. Fauziah and R. Asmah (2012). "Effect of Berberis vulgaris fruit extract on alpha-fetoprotein gene expression and chemical carcinogen metabolizing enzymes activities in hepatocarcinogenesis rats." Iranian Journal of Cancer Prevention **1**(1): 33-42.

16- Murugan, R .and T. Parimelazhagan (2014). "Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from Osbeckia parvifolia Arn. – An in vitro approach." Journal of King Saud University - Science **26**(4): 267-275.

17- Nadernejad, N., A. Ahmadimoghadam, J. Hossyinifard and S. Poorseyedi (2013). "Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (Pistacia vera L.)". Journal of Plant Biology (15): 95-110.

18- Noguchi, N. and E. Niki (2000). "Phenolic antioxidants: a rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis." Free Radical Biology & Medicine **28**(10): 1538-1546.

19- Prior, R. L. and G. Cao (2000). "Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications." HortScience **35**(4): 588-592.

20- Rajaei, A., M. Barzegar, A. M. Mobarez, M. A. Sahari and Z. H. Esfahani (2010). "Antioxidant, anti-microbial and antimutagenicity activities of pistachio (Pistachia vera) green hull extract." Food and Chemical Toxicology **48**(1): 107-112.

21- Reed, J. D. (1995). "Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes." Journal of Animal Science **73**(5): 1516-1528.

22- Suhaj, M. (2006). "Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review." Journal of food composition and analysis **19**(6): 531-537.

23- Williams, G. M., M. J. Iatropoulos and J. Whysner (1999). "Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives." Food and Chemical Toxicology **37**(9-10): 1027-1038.

24- Young, I . S and J. V. Woodside (2001). "Antioxidants in health and disease." Journal of Clinical Pathology **54**(3): 176-186.

Investigation on antioxidant activity of pistachio *(Pistacia vera* L.*)* skin extraction

Azadedel Sh.[1], Hanachi P.[1] and Saboora A.[2]

[1] Biotechnology Group, Biochemistry Dept., Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Physiology Group, Plant Sciences Dept., Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Plants contain phenolic compounds ranging from simple molecules such as phenolic acids to highly polymerized molecules such as tannins. Phenols and polyphenols in plant tissues have gained increasing scientific interest because of their potential beneficial effects on human health. Among which, the nut and skin of pistachio are known as a rich source of phenolic compounds with antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties. The aim of this study was to investigated feasibility for industrial production of phenolic compounds with antioxidant activity because of mass pistachio skin production in Iran. The extraction experiments on two species of pistachio, namely Kalleghuchi (*P. vera* cv. Kallehghuchi) and Ohadi (*P.vera* cv . Ohadi) were carried out by using two methods, i.e. maceration and ultrasonic extraction and four solvents (acetone 70% ,ethanol 50% , methanol 50% and water). The antioxidant property of the extracts were then evaluated through DPPH and FRAP methods. experiment results showed that the highest and lowest amounts of the antioxidant property in DPPH assay method have the values respectively , IC_{50} 0.057µg/ml and 0.099µg/ml related to extract taken from Ohadi and Kallehghuchi in water solvent with maceration method. Whereas, in FRAP assay method resulted in 5.59 mM and 2.57 mM as the highest and lowest antioxidant activity respectively related to the extract taken from Ohadi in ethanol solvent with maceration and ultrasonic methods.

Key words: Pistachio hull, Extraction ,Antioxidant activity