

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

شیما آزاده دل^۱، پریچهر حناجی^{۱*} و عذر رضوی^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 گستره‌ای از ترکیبات فنولی از مولکول‌های ساده مانند اسیدهای فنولی تا مولکول‌های با درجه پلی مریزاسیون بالاتری مانند تانن‌ها هستند. فنول‌ها و پلی فنول‌های بافت‌های گیاهی بر سلامت و بهبود زندگی انسان اثر می‌گذارند 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 اکسیدان‌های 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 عصاره‌ها 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 (IC₅₀ = ۰/۰۵۷ و ۰/۰۹۹) 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 آنتی اکسیدانی (۲/۵۵۶ و ۵/۹ mM) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی در حلال اتانول با روش خیساندن و استفاده از امواج فراصوت اندازه گیری شد.

واژه‌های کلیدی: پوست پسته، عصاره گیری، خاصیت آنتی اکسیدانی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۰۴۴۰۵۱، پست الکترونیکی: hanachi_wrc@yahoo.com

مقدمه

آنتی اکسیدان‌های طبیعی از یک طرف باعث افزایش قدرت آنتی اکسیدان‌های پلاسمما و از طرف دیگر باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سکته مغزی می‌شوند و همچنین از پیشرفت سرطان‌ها که موجب آسیب به DNA می‌شوند جلوگیری می‌کنند (۱۸ و ۱۹). علی‌رغم وجود آنتی اکسیدان‌های مختلف در پلاسمما، سیستم دفاعی بدن به تنها بیان قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تأمین آنتی اکسیدان از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین می‌شود (۲۴). شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و اثرات سوء تغذیه‌ای

گیاهان دارای گستره‌ای از ترکیبات فنولی از مولکول‌های ساده مانند اسیدهای فنولی تا درشت مولکول‌های پلیمری مانند تانن‌ها هستند. خواص زیادی از فنول‌ها و پلی فنول‌های بافت‌های گیاهی بر سلامت و بهبود زندگی انسان و حیوانات گزارش شده است برای مثال ترکیبات فنولی موجود در پسته مانند (فلاؤان-۳-۱، آتوسیانین، پروآتوسیانیدین، اسیدهای فنولی، استیلین، فلاونون، ایزوفلاؤن، فلاونول) که اثر آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد میکروبی آنها شناخته شده است (۱۳).

مورد استفاده قرار گیرد (۱۳). با این حال استفاده از این محصولات برای تعذیه نشخوار کنندگان به دلیل سمیت بالای تانن (۲۱) یا به علت تعامل با پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی و میکروارگانیسم‌های موجود در دستگاه گوارش محدود می‌شود (۱۲). گلی و همکاران در سال (۲۰۰۵) نشان دادند که پوست سبز پسته حاوی مقدار قابل توجهی از ترکیبات فنولی می‌باشد 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 اکسیدان‌های 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 فعالیت‌های بیولوژیکی عصاره‌های گیاهان در روش‌های مختلف استخراج، تفاوت معنی داری را نشان می‌دهند، از این رو تایید مناسب ترین روش استخراج اهمیت پیدا می‌کند.

مواد و روشها

ارقام پسته مورد آزمایش، بررسی (P. vera cv. Kallehghuchi) و (P. vera cv. Ohadi)، در سال ۱۳۹۳ از شهرستان سیرجان تهیه شدند و ابتدا پوست پسته‌ها در سایه خشک شد و با استفاده از آسیاب خرد گردید. نمونه‌های مورد استفاده برای آزمایش‌های مرحله‌ی استخراج دارای اندازه ذرات بین صفر تا ۲mm بودند. نمونه‌های الک شده تا زمان آزمایش در یخچال ۴°C نگهداری شد.

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

آنتی اکسیدان‌های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA) بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و ترت بتا هیدروکسی کیون را تأیید می‌کند. علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سلطان در جیوانات آزمایشگاهی از معايب استفاده از آنتی اکسیدان‌های ساختگی است (۶ و ۲۳). بنابراین نیاز به آنتی اکسیدان‌های طبیعی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب ناپذیر است. امروزه بسیاری از متخصصین تعذیه برای تأمین آنتی اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، مصرف گیاهان، میوه جات و سبزیجات را توصیه می‌نمایند، زیرا معمولاً مصرف آنتی اکسیدان‌های گیاهی عوارض جانبی کمتر و درمان بهتری را ایجاد می‌کند (۵). میوه‌ها و سبزیجات بخش کوچکی از کالری دریافتی ما هستند اما به دلیل وجود فاکتورهای موثری مثل ویتامین‌ها، پروویتامین‌ها (آسکوربیک اسید، توکروفول ها) و کارتنوئیدها اثرات مفیدی را بر جا می‌گذارند (۱۵).

گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان بوده می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از تنش اکسیداتیو شوند (۱۰). تنش اکسیداتیو به دلیل عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی بدن ایجاد می‌شود. التهاب یک پاسخ محافظت عملکردی است که به صورت مجموعه پیچیده ایی از وقایع در نظر گرفته می‌شود و زمانی پیشرفت می‌کند که بدن، توسط عوامل مکانیکی یا شیمیایی زخمی شود. در بسیاری از اختلالات التهابی فعال شدن بیش از حد فاگوسیت‌ها، افزایش در تولید رادیکال‌های آزاد، نفوذ پذیری غشا، دناتوراسیون پروتئین‌ها و فرایند های غشایی مشاهده می‌گردد که این موجب نیاز به عوامل آنتی اکسیدان و ضد التهابی برای جلوگیری از تنش اکسیداتیو و التهابی است (۱۶).

در ایران سالانه بیش از ۴۰۰۰۰۰ تن پوست پسته بعد از پوست زدایی محصول پسته به دست می‌آید که می‌تواند به عنوان یک منبع مناسب برای خوراک نشخوار کنندگان

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 اولیه به میزان ۵۰٪ مقدار اولیه است و هر چه مقدار آن کمتر باشد نشان دهنده‌ی میزان فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی است.

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

اندازه‌گیری ظرفیت تمام آنتی اکسیدانی بر اساس روشی که توسط Benzie و همکاران پیشنهاد شده است، انجام شد (۴). مقدار ۱/۵ mM از معرف FRAP (۰ mM) $FeCl_3$ (۲۰ mM) به محلول (۱۰ mM) HCl (۴۰ mM) در (۱۰ mM) TPTZ اضافه شد و سپس ۵۰ ml بافر استات (۳/۶ mM) (pH=۷) به آن اضافه شد و گردید. هر یک از لوله‌های آزمایش افزوده و مقدار ۱ ml از نمونه و یا استاندارد سولفات آهن با غلظت ۵۰ μ l به لوله‌های مذکور اضافه و کاملاً ورتکس گردید. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۹۳ nm در مقابل بلانک غلظت صفر استاندارد (۱/۵ ml) FRAP محلول و ۵۰ ml آب مقطر) اندازه‌گیری شد.

نتایج

DPPH میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در روش : در روش استفاده از امواج فرماصوت بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی ($IC_{50}=0.059\text{ }\mu\text{g/ml}$ ، $0.082\text{ }\mu\text{g/ml}$) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم واحدی در حلال

۷۰٪، اتانول ۰.۵٪، متانول ۵۰٪ و آب) به mg ۱۰۰ نمونه افزوده و مخلوط حاصل در اولتراسونیکاتور به مدت ۲۰ دقیقه استخراج شد. این عمل دو بار در دمای اتاق انجام و سپس نمونه‌ها برای ۱۰ دقیقه در g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ و روشنایر جمع آوری و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴۰°C در یخچال نگهداری شد (۱۳).

در روش خیساندن، mg ۱۰۰ از نمونه با ۵ ml از چهار حلال (استن ۷۰٪، اتانول ۰.۵٪، متانول ۵۰٪ و آب) به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق روی شیکر خیسانده و عصاره گیری کامل شد. سپس نمونه‌ها برای ۱۰ دقیقه در g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و از محلول رویی برای سنجش ترکیبات بیوشیمیابی استفاده شد (۱۷).

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به وسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): دی فنیل پیکریل هیدرازیل از رادیکال‌های آزاد پایدار است. در این روش توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره‌های موجود، از روی میزان تغییر رنگ محلول ارغوانی به محلول زرد رنگ سنجیده می‌شود. مقادیر مختلفی از عصاره‌ها (۰/۱۰ ml) را با متانول مطلق به حجم ۲ ml رسانده شد. پس از افزودن ۱ ml محلول ۰.۰۰۴٪ DPPH مخلوط به خوبی تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ nm در ۰.۱۷ ml میزان جذب نمونه در حجم ۲ ml خوانده شد و با جایگزین کردن در فرمول زیر درصد رادیکال‌های آزاد پاکسازی شده (RSA٪) محاسبه گردید. میزان جذب نمونه در حجم ۰.۱۷ ml به عنوان کنترل در نظر گرفته شد (۱۴).

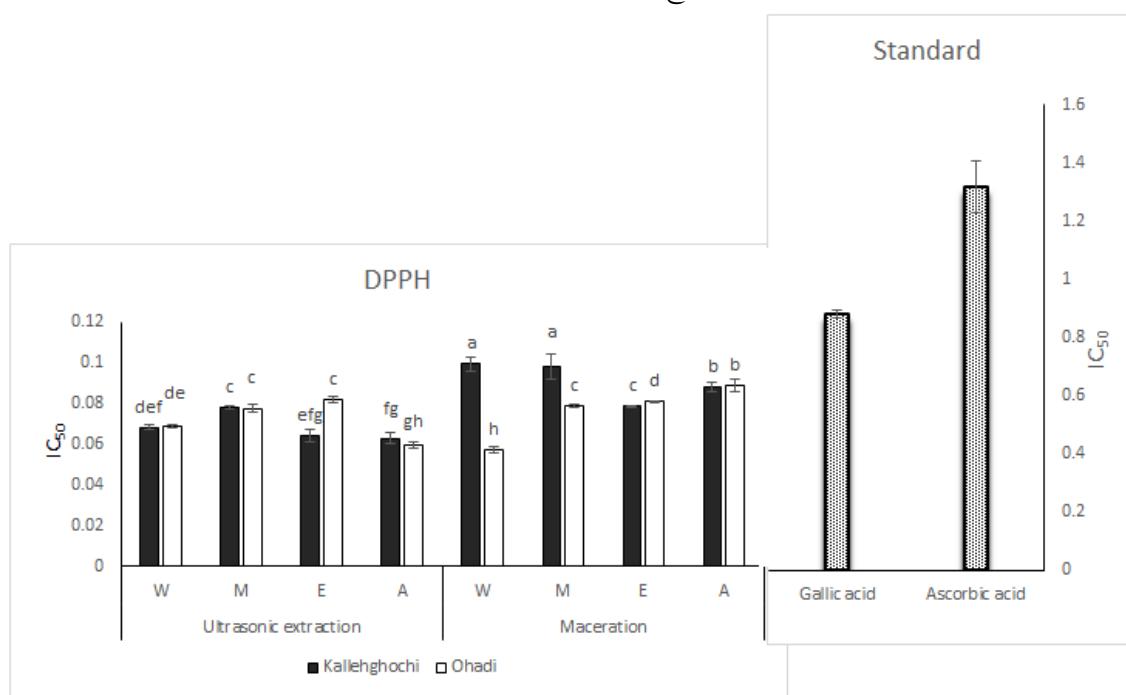
$$\% RSA = ((AControl - Asample) / AControl) \times 100$$

در این رابطه:

Acontrol میزان جذب نمونه، Asample میزان جذب نمونه، RSA میزان فعالیت به دام شاهد در طول موج ۵۱۷ nm و میزان فعالیت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل است. به جهت

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 (شکل ۱). در تمام عصاره های حاصل از دو روش استخراج، استفاده از امواج فرا صوت 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).

استن و اتانول به دست آمد. اما در روش خیساندن بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدان ($IC_{50}=0.99 \mu\text{g/ml}$) 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 متابول 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 بترتیب $0.88 \mu\text{g/ml}$ و $0.32 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. نتایج به



شکل ۱- مقایسه اثر آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف در روش DPPH. (W: آب، M: متابول، E: اتانول، A: استن)

شد. عصاره حاصل از رقم اوحدی با روش خیساندن در حلال اتانول اختلاف معناداری ($P<0.05$) با دیگر عصاره ها داشت (شکل ۱).

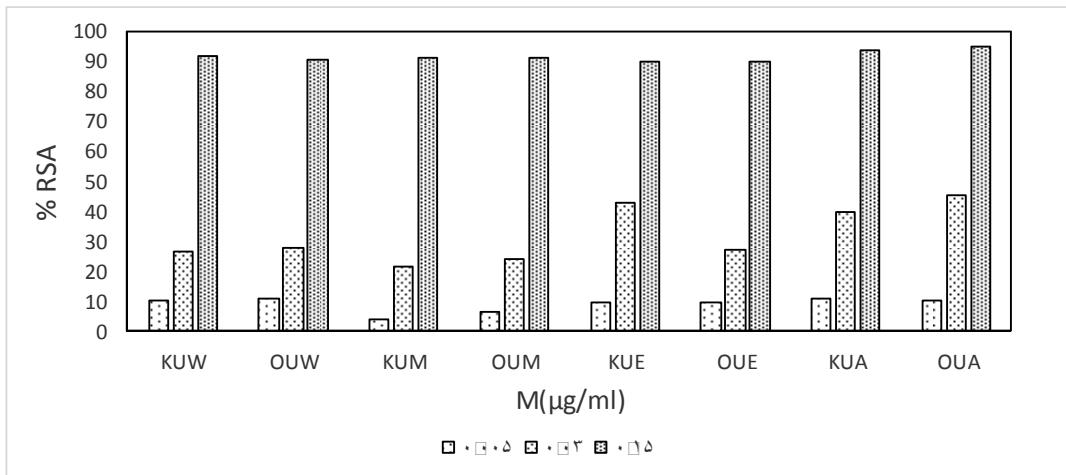
بحث

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 $0.5 \mu\text{g/ml}$ بترتیب

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها در روش FRAP: در روش استفاده از امواج فرا صوت بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ($3.71 \mu\text{M}$ ، $2.56 \mu\text{M}$) 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 ($5.01 \mu\text{M}$ ، $5.59 \mu\text{M}$) بترتیب مربوط به عصاره حاصل از رقم اوحدی در حلال اتانول و استن مشاهده

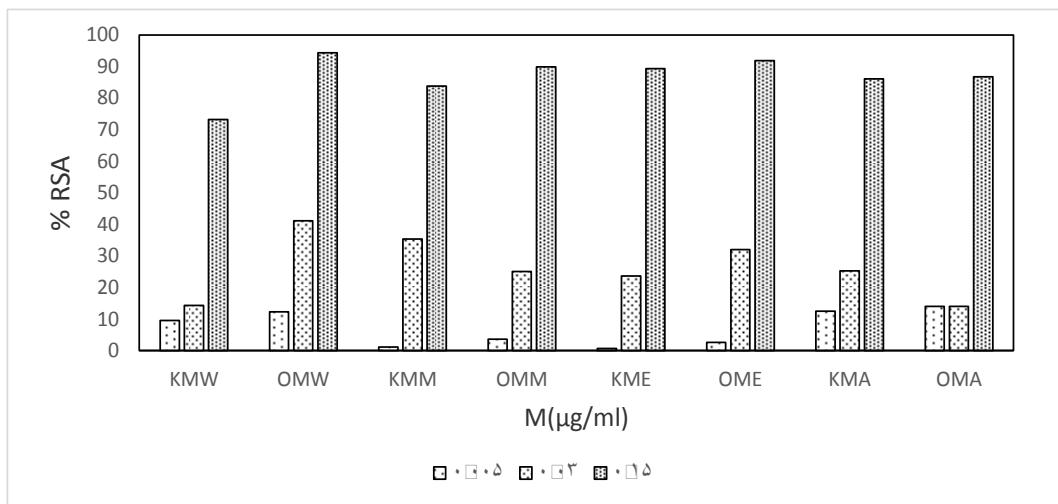
معناداری با دیگر رقم‌ها (احمد آقایی، فندقی، کله قوچی، سید علی آقایی و فروتنی) داشت.

۱۰/۹٪ بود که این اثر در غلظت $3 \mu\text{g/ml}$ به ۵۰ و ۵٪ افزایش یافت. در مورد IC_{50} رقم‌های مختلف، رقم احمد آقایی $2/7 \mu\text{g/ml}$ کمترین مقدار بود و اختلاف



شکل ۲- مقایسه اثر بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت‌های 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)



شکل ۳- مقایسه اثر بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH در غلظت‌های مختلف پوست پسته با روش خیساندن.

(K: کله قوچی، O: اوحدی، M: روش خیساندن، W: آب، E: متانول، A: استن)

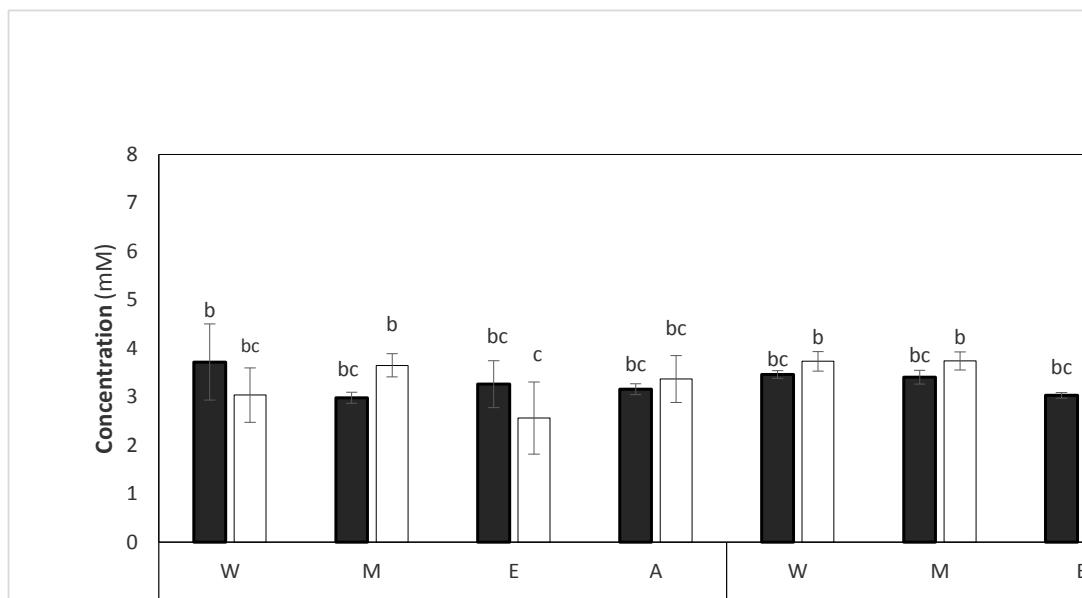
پراکسیداسیون لیپید گلیکول قرمز و پراکسیداسیون لیپید میکروزوومی کبد، به دست آورده‌ند. در سنجش تخریب دئوکسی ریبوز، IC_{50} برای عصاره آبی و اتانولی میوه بترتیب $149/2 \mu\text{g/ml}$ و $64/7 \mu\text{g/ml}$ و برای عصاره برگ‌ها $105/4 \mu\text{g/ml}$ و $84/8 \mu\text{g/ml}$ و برای عصاره هیدرولالکی صمغ پسته $285/5 \mu\text{g/ml}$ به دست آمد. همچنین در سنجش

در روش دیگر ABTS، رقم احمد آقایی و سید علی آقایی برتریب بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را g^{-1} و $1/8$ 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 روش‌های مختلفی مانند سنجش تخریب دئوکسی ریبوز،

پراکسیداسیون لیپید میکروزوومی کبد IC₅₀ در عصاره آبی و اتانولی میوه بترتیپ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۱۴۴۱/۵ و ۶۴۸۷ و برای عصاره برگ ها $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۱۱۰۱/۱ و ۷۰۰/۱ و برای عصاره صمغ اثر صمغ پسته کمتر از ۵۰% را نشان داد(۹).

پراکسیداسیون لیپیدی گلوبول های قرمز، IC₅₀ در عصاره آبی و اتانولی بترتیپ برای میوه $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۷۶۸/۳ و ۳۲۵/۱ و برگ ها، $\mu\text{g}/\text{ml}$ ۳۱۴/۵ و ۲۳۱/۴ و برای عصاره صمغ اثر آنتی اکسیدانی کمتر از ۵۰% را نشان داد. و در سنجش



شکل ۴ - مقایسه اثر آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف با روش FRAP (آزمون چند دامنه ای دانکن) (W: آب، M: اتانول، A: استن)

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 حلal مورد استفاده در حل نمودن ترکیبات دارد. در سال های اخیر بسیاری از فناوری های در حال ظهور مانند: استخراج فوق بحرانی (MAE)، استخراج به کمک امواج ماکروویو (SFE)، استخراج به کمک امواج فرا صوت (UAE)، استخراج آبی به کمک فشار (PAWE) و استخراج تحت فشار بالا (HPE) توسعه یافته و جایگزین روش های معمول استخراج شده

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 فندق، گردو و پسته بترتیپ ۹۰/۵، ۳۵/۷ 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 IC₅₀ دراندام *C. iranshariai* دارای کمترین مقدار معادل ۰/۱۱ میلی گرم عصاره بر میلی لیتر حلal و گونه *C. imperialis* دارای بیشترین IC₅₀ معادل ۰/۳۶ میلی گرم عصاره بر میلی لیتر حلal بود. میزان IC₅₀ در گونه *C. iranshariai* کمتر از آسکوربیک اسید معادل ۰/۱۲۵ میلی گرم عصاره بر میلی لیتر حلal بود و این حالت بیانگر پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی در این گونه بود(۲).

و باعث تخریب کمتر ترکیبات فنولی با قدرت آنتی اکسیدانی می‌شود.

نتیجه گیری

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

اند(۸). اخیراً استفاده از امواج فراصلوت به طور گسترده در استخراج ترکیبات فنولی از بخش‌های مختلف گیاه استفاده می‌شود (۱). یک مطالعه مقایسه‌ای نشان داد که استفاده از امواج فراصلوت باعث تخریب کمتر و استخراج سریع تر ترکیبات فنولی از توت فرنگی در مقایسه با دیگر روش‌های استخراج مثل جامد-سایع، آب فوق بحرانی و روش مایکروویو می‌شود(۱۳). در این پژوهش بمنظور انتخاب بهترین روش استخراج ترکیبات آنتی اکسیدانی از دو روش استفاده از امواج فراصلوت و خیساندن استفاده شد. بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی در سنجد FRAP و DPPH در عصاره حاصل از رقم اوحدی با روش خیساندن و بترتیب در حلال‌های آب و اتانول به دست آمد بنابرین روش خیساندن از روش استفاده از امواج فراصلوت کارآمدتر است.

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. Yemencioğlu (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 (Pistacia 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 (*Pistacia 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, IC₅₀ 0.057 µg/ml and 0.099 µg/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