# 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 به‌دلیل کاربردهای دارویی، غذایی و صنعتی، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در فصل بهار، برگ درخت بنه روییده 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 به‌ترتیب میزان فنل و فلاونوئید عصاره‌ها تعیین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲و َ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. پودر برگ، برای تعیین پارامترهای فیزیکی و شیمیایی و میزان عناصرمعدنی به‌کار رفت. در این بررسی، حضور استروئیدها، ترپنوئیدها، 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 به‌ترتیب 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

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، برگ های آن مرکب تک شانه‌ای 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 خوشه-ای دارند (۴). پوست و برگ درخت محتوی مقدار زیادی تانن است و در درمان اسهال‌های ساده مورد استفاده قرار می‌گیرد. تحقیقات نشان می‌دهد که خاصیت آنتی اکسیدانی 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 ترپن‌ها، ترپنوئید ها و گالیک اسید را نشان داده است (۱۸ و ۲۲). در این تحقیق، به منظور بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی و فیتوشیمیایی برگ بنه، آنالیز های کمی و کیفی برگ گیاه انجام شد و بعد محتوای

فنل، فلاونوئید و اثرات آنتی اکسیدانی گیاه نیز بررسی گردید.

## مواد و روشها

**جمع آوری و آماده سازی 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 برگ ها در کیسه‌های مناسبی نگهداری و برای انجام کار آزمایشگاهی آسیاب شدند.

**بررسی فیزیکی و شیمیایی برگ بنه:**

**اندازه‌گیری عناصر معدنی: برای اندازه گیری 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 به‌مدت 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، عصاره گیری شد. سپس حذف حلال انجام شد. عصاره خشک شده در دمای ۴ درجه سانتی گراد 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 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 $mg\ GAE\ g^{-1}\ DW$ 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 $AlCl_3.6H_2O$ ۲٪ مخلوط و بعد توسط اتانول ۵۰٪ به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. بعد از گذشت ۴۰ دقیقه جذب محلول ها در حضور شاهد در nm ۴۱۵ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب $mg\ g^{-1}\ DW$ به‌دست آمد (۱۶).

**بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی:** تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی 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 لیتراز عصاره افزوده و مخلوط به‌دست 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 اندازه گیری شد و نمونه کنترل مثبت با مخلوط کردن ۲ میلی لیتر آسکوربیک اسید ۰/۳ میلی مو لار 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).

به دام اندازی رادیکال آزاد (٪) $=[(A_{(-)}-A_S)/(A_{(-)}-A_{(+)})]\times 100$

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

نمودار خطی درصد بازدارندگی بر حسب µg/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، تانن ها، آنتوسیانین ها، کومارین ها، پروتئین ها، اسید های آمینه، فلاونوئید ها، فیتواسترول‌ها، ترپنوئید ها و کربوهیدرات در برگ بنه می‌باشد (۱۲).

**آنالیزهای آماری:** تمام آزمایش‌ها، در دو تکرار مستقل در زمان یکسان و برای هر نوبت جمع آوری گیاه انجام شد و داده های حاصل از سنجش ها، در ۳عصاره مربوط به ماه-های مختلف با نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. پس از مشخص شدن وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، میانگین ها در سطح احتمال p <۰/۰۰۵ گروه-بندی و مقایسه شدند.

## نتایج

با توجه به بررسی‌های فیتوشیمیایی به عمل آمده بر روی برگ گیاه بنه مشخص گردید که متابولیت‌های ثانویه شامل استروئیدها، تانن ها، آنتوسیانین ها، کومارین ها، پروتئین ها، اسید های آمینه ، فلاونوئید ها، فیتواسترول ها، ترپنوئیدها و کربوهیدرات ها 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 نا محلول 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.

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

| | نیمه خرداد | اول خرداد | نیمه اردیبهشت | انحراف استاندارد میانگین | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|---|---|
| Mg | ۶۲/۴۴[b] | ۴۶/۷۰[c] | ۱۱۲/۵۰[a] | ۱/۴۹ | ۰/۰۰۲ |
| P | ۱۲/۸۲[a] | ۸/۲۷[b] | ۳/۶۲[c] | ۰/۰۲۹ | ۰/۰۰۰۱ |
| Ca | ۷۳/۲۲[a] | ۵۱/۶۴[b] | ۱۶/۳۲[c] | ۰/۴۲ | ۰/۰۰۰۳ |
| Fe | ۹/۵۸[a] | ۴/۰۹[b] | ۳/۵۳[c] | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۰۰۱ |
| Mn | ۰/۱۸۹[c] | ۰/۶۱۷[a] | ۰/۵۲۴[b] | ۰/۰۰۴۶ | ۰/۰۰۰۳ |
| K | ۳۹۴/۸[b] | ۴۴۹/۸۷[a] | ۴۲۸/۸۴[a] | ۳/۴۶ | ۰/۰۱ |
| Na | ۶۴/۲۸[a] | ۶۰/۱۱[b] | ۵۶/۵۴[c] | ۰/۰۹۲ | ۰/۰۰۰۵ |
| Zn | ۰/۴۲۱ | ۰/۴۲۷ | ۰/۴۲۰ | ۰/۰۰۴۳ | ۰/۵۱ |

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

همانطور که مشاهده می‌شود، پتاسیم فراوان ترین 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. پایین ترین مقدار آن، در نیمه خرداد ماه وجود دارد (۰/۱۸۹ppm) که تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با سایر ماه‌ها نشان می دهد. لازم به تذکر است که میزان رطوبت و عناصر معدنی خاک برای تمام نمونه ها در فاصله زمانی نمونه برداری

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 ۴/۴۸۵، ۴/۰۲۶ و ۳/۰۷۰ (گرم) معین شد. میزان کل فنل و فلاونوئید موجود در برگ، به ترتیب با استفاده از روش‌های فولین سیوکالتیو و آلومینیوم کلراید معین شد (جدول های ۲و۳). 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 $mg\ g^{-1}\ DW$ ۳۹/۹۵ بود و کمترین مقدار در عصاره استنی نیمه خرداد با مقدار $mg\ g^{-1}\ DW$ ۹/۴۹ تعیین شد.

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

| | نیمه خرداد | اول خرداد | نیمه اردیبهشت | انحراف استاندارد میانگین | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|---|---|
| آب | ۱۷/۵۲[b] | ۳۳/۲۶[a] | ۳۹/۹۵[a] | ۱/۵۸ | ۰/۰۱۷ |
| اتانول | ۲۵/۴۰[b] | ۲۹/۵۱[b] | ۳۸/۵۴[a] | ۱/۲۰۵ | ۰/۰۲۷ |
| استن | ۹/۴۹[b] | ۱۹/۰۱[a] | ۲۳/۶۹[a] | ۱/۲۷ | ۰/۰۲۷ |

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)

| | نیمه خرداد | اول خرداد | نیمه اردیبهشت | انحراف استاندارد میانگین | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|---|---|
| آب | ۲/۵۲[b] | ۰/۹۳۳[c] | ۵/۱۱[a] | ۰/۰۹۳ | ۰/۰۰۲ |
| اتانول | ۲/۶۱[a] | ۱/۷۵[b] | ۱/۸۷[b] | ۰/۰۶ | ۰/۰۰۴ |
| استن | ۳/۲۰ | ۳/۶۴ | ۳/۳۳ | ۰/۲۴ | ۰/۵۰ |

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 $mg\ g^{-1}\ DW$ ۵/۱۱ بود و کمترین میزان در عصاره آبی اول خرداد ماه با میزان $mg\ g^{-1}\ DW$ ۰/۹۳۳ دیده شد. نتایج ثابت می‌کند که تفاوت معنی‌داری 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 می‌دهد که عصاره آبی نیمه اردیبهشت ($IC_{50(\mu g/ml)}$:۵۳/۴۷) در مقایسه با سایر ماه‌ها کمترین میزان $IC_{50}$ و بیشترین خاصیت ضد رادیکالی را از خود نشان می‌دهد. $IC_{50}$ در روش مهار رادیکال‌های آزاد به غلظتی از عصاره اطلاق می گردد که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های 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 معنی‌دار آماری بین میانگین‌هاست.

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

| عصاره آبی نمونه | برگ نیمه خرداد | برگ اول خرداد | برگ نیمه اردیبهشت | انحراف استاندارد میانگین | سطح معنی داری |
|---|---|---|---|---|---|
| فعالیت آنتی اکسیدانی($IC_{50(\mu g/ml)}$) | ۹۶/۸۱[a] | ۶۹/۲۳[b] | ۵۳/۴۷[c] | ۰/۹۳۸ | ۰/۰۰۲ |

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

## بحث

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 فراوان ترین 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 (۴۴۹/۸۷ ppm ). پتاسیم جزء عناصر درشت مغذی بوده و در فعال کردن تعداد زیادی از آنزیم ها، به‌ویژه آنزیم‌های شرکت کننده در فتو سنتز و تنفس نقش دارد. از طرف دیگر با وجود تطابق یافته های این تحقیق با نتایج ارائه شده توسط زرین کفش و همکارانش در مورد میزان نسبی کلسیم و سدیم برگ ها، برای میزان پتاسیم و منیزیم همخوانی چندانی وجود نداشته و میزان این دو عنصر با گذشت زمان کاهش یافته است.

براساس نتایج بدست آمده از آنالیز عناصر معدنی برگ بنه، کمترین مقدار مشاهده شده مربوط به فلز منگنز با غلظت ۰/۱۸۹ppm در برگ نیمه خرداد ماه می باشد. 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 برگ های گیاه مورد تحقیق کاملا 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 آنتی اکسیدان های طبیعی موجود در گیاهان به شمار می آیند. این ترکیبات دارای ساختارهای متفاوت قطبی بوده، از این‌رو برای جداسازی عوامل مؤثر از گیاهان باید از حلال هایی با قطبیت مناسب استفاده کرد (۱۵). بدین منظور در این کار پژوهشی از حلال هایی مانند اتانول، آب و استن برای جداسازی و استخراج مؤثرتر استفاده گردید. همان طور که در جدول های 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 می باشند. Stankovic و همکاران عصاره آبی و متانولی قسمت های 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 ازعصاره متانولی است که نشان دهنده نقش مؤثرتر آب نسبت به سایر حلال‌هاست (۲۰).

همچنین محتوای فنل و فلاونوئید تام بدست آمده از عصاره های آبی گیاه *D. superbus* در بررسی انجام شده توسط Gou و همکاران (۲۰۱۱)، به ترتیب $mg\ GAE\ g^{-1}$ ۲۴ و $mg\ RE\ g^{-1}$ ۳ 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 آنتی اکسیدانی 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 بنه مربوط به نیمه اردیبهشت ماه به ترتیب ۳۹/۹۵ و ۵/۱۱ میلی‌گرم استاندارد بر گرم برگ خشک اندازه گیری شد. در آزمون بررسی اثر آنتی اکسیدانی برگ گیاه بنه، با توجه به نتایج بدست آمده، عصاره آبی برگ نیمه اردیبهشت ماه از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار می‌باشد ($IC_{50(\mu g/ml)}$:۵۳/۴۷).

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

است. این نکته تأییدی بر این موضوع است که میزان متابولیت های تشکیل دهنده 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، 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.

## منابع

۱- رضوی، م. (۱۳۸۱) گیاهان دارویی. انتشارات تلاش. تهران.

۲- زرگری، ع. (۱۳۶۰) گیاهان داروئی (جلد اول). انتشارات دانشگاه تهران. تهران.

۳- زرین کفش، م. (۱۳۵۰) بررسی قسمتی از خاک های جنگلی یا سوج . 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 with14 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