

## بررسی ترکیبات فنلی و عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره‌های آبی و متانولی برگ سه گونه از جنس *Pistacia* در منطقه سروستان شیراز

علی خدیو سروستانی<sup>۱</sup>، محمود دژم<sup>\*</sup>

<sup>۱</sup>دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا، فسا، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۷

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی و توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و متانولی برگ گونه‌های پسته اهلی (*Pistacia vera* L.)، بنه (*Desf. Pistacia atlantica*) و کلخنگ (*Pistacia khinjuk Stocks*) در باغات منطقه سروستان شیراز در بهار ۱۳۹۱ انجام شد. آنالیز عصاره‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) نشان داد که از نظر نوع و میزان ترکیبات فنلی تفاوت‌های زیادی بین عصاره‌های گونه‌های مختلف وجود دارد. بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنلی به ترتیب در عصاره متانولی بنه و عصاره آبی پسته و کلخنگ یافت شد. ترکیبات وانیلین و اسید گالیک در عصاره‌های آبی و متانولی هر سه گونه وجود داشتند در حالی که ترکیب اسید سینامیک فقط در عصاره‌های متانولی هر سه گونه یافت شد و از نظر مقدار نیز بالاترین غلظت را در بین سایر ترکیبات به خود اختصاص داد. در این پژوهش توان آنتی‌اکسیدانی با اندازه‌گیری میزان شکار رادیکال آزاد ۲،۲-دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی گردید و نتایج نشان داد که توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها متفاوت بود و با افزایش غلظت، توانایی مهار رادیکال آزاد توسط عصاره‌ها افزایش یافت، به طوری که در غلظت ۳۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های هر سه گونه بیشتر از استاندارد اسید گالیک بود. نتایج این پژوهش نشان داد که در بین عصاره‌های هر سه گونه، عصاره متانولی بنه دارای بیشترین توان آنتی‌اکسیدانی بود.

**واژگان کلیدی:** آنتی‌اکسیدان، بنه، پسته، ترکیبات فنلی و کلخنگ.

گیاهان جنس پیستاسیا که متعلق به خانواده پسته (Anacardiaceae) می‌باشند دارای ۱۱ گونه بوده که همه آنها از خود، ترباتین یا سقز ترشح می‌کنند. بیشتر این گونه‌ها جنگلی بوده، برخی از آنها به‌عنوان گیاهان زینتی و پسته خوراکی به‌عنوان گیاهی اهلی و میوه‌ای خشکباری شناخته شده است (Amri et al., 2013).

وجود ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بخش‌های مختلف گونه‌های جنس *Pistacia* گزارش شده است. در پژوهشی حضور ترکیبات فنلی مختلف شامل اسید گالیک، کورستین، لوتولین و چبولنیک اسید (chebulenic acid) در گونه *P. integerrima* گزارش شده است (Hirori et al., 1996). Benhammou و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که در عصاره‌های اتانولی برگ دو گونه *P. atlantica* و *P. lentiscus* استفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) امکان شناسایی ترکیبات فلاونولی، اسیدفنلیکی، فلاونی، آنتوسیان، اسید گالیک و اسیدپارااکوماریک را میسر ساخت و مشخص شد که عصاره هر دو گونه دارای قدرت احیاء کنندگی بالایی بودند و قدرت احیاء کنندگی عصاره گونه *P. lentiscus* نسبت به *P. atlantica* بیشتر بود. Kayani و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی میزان فنل کل شاخساره گیاه کلخنگ را ۲۳۰ میکروگرم معادل تانیک اسید بر گرم وزن گیاه گزارش کردند. Alai و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که میزان فنل کل گونه‌ای از جنس پسته (*Pistacia palaestina* Boiss.) در عصاره‌های آبی و متانولی به ترتیب ۴۲/۵ و ۵۲/۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم وزن خشک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های آبی و متانولی آن به ترتیب ۵۴۹ و ۵۹۰/۹ میکرومول معادل ترولوکس (Trolox) در گرم وزن خشک بود. Peksel (۲۰۰۸) مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره برگ بنه را به میزان ۲۳۷/۱۵ میکروگرم معادل پیروکاکچول بر یک میلی‌گرم عصاره گزارش کرد. در این پژوهش میزان فعالیت

ترکیبات فنلی یکی از گسترده‌ترین گروه‌های مواد شیمیایی در گیاهان بوده و دارای اهمیت فیزیولوژیکی قابل ملاحظه‌ای می‌باشند و به نظر می‌رسد که اساس مولکولی تأثیر محافظت‌کنندگی ترکیبات فنلی در گیاهان وابسته به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و توانایی شکار رادیکال‌های آزاد توسط آنها می‌باشد. تجمع ترکیبات فنلی با توجه به مرحله رشد، نمو و واکنش به تنش‌های محیطی کاملاً متفاوت بوده و میزان آنها در نتیجه توازن بین بیوستنز و تجزیه آنها می‌باشد (Korkina, 2007). شواهد علمی نشان می‌دهد تنش اکسیداتیو که در نتیجه عدم توازن بین سطوح ملکول‌های اکسیدکننده و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی رخ می‌دهد می‌تواند منجر به برخی تغییرات بیوشیمیایی و در نتیجه بروز برخی بیماری‌ها و ناهنجاری‌ها در انسان شده و می‌تواند منجر به صدمه به زیست مولکول‌های اصلی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها و DNA گردد. امروزه آشکار است که جهش‌زایی و دیگر اثرات منفی گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در بیماری‌های مختلف در انسان نقش دارند. در دو دهه اخیر تأکید فراوانی بر جایگاه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شده است. در این میان ترکیبات فنلی نظیر توکوفرول‌ها (مثل ویتامین E و ترکیبات وابسته)، انواع مختلف فلاونوئیدها، اسید فلوئیک، تانن‌ها و لیگنان‌ها به‌عنوان منبع ملکول‌های فعال زیستی توجه زیادی به خود جلب نموده است. آنتی‌اکسیدان‌ها به دلیل ویژگی شکار رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم ضد جهش‌زایی و ضدسرطان می‌باشند (Zayzafoon et al., 2010). این ترکیبات قادر به احیاء رادیکال‌های آزاد نظیر سوپراکسید، پراکسیل و هیدروکسیل می‌باشند. علاوه بر اثرات شکارگری، این ترکیبات قادر به جلوگیری از فعالیت آنزیم‌ها و یا ترکیباتی می‌باشند که فرایندهای تولید ROS را کاتالیزور می‌نمایند (Abdelwahed et al., 2007).

با مختصات جغرافیایی طول شرقی ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه و عرض شمالی ۲۹ درجه و ۱۷ دقیقه و ارتفاع ۱۵۷۰ متر از سطح دریا در بهار سال ۱۳۹۱ جمع‌آوری گردیدند. پس از شناسایی، نمونه‌هایی از هر سه گونه در هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا قرار داده شد.

**تهیه عصاره‌ها:** ابتدا برگ گونه‌های مورد نظر در سایه خشک شدند. جهت تهیه عصاره، ۱۰۰ گرم نمونه پودر شده از برگ هر گونه به نسبت ۱ به ۱۰ با آب یا متانول مخلوط گردید و به مدت یک ساعت روی شیکر قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند و مجدداً یک ساعت روی شیکر قرار گرفتند و در نهایت با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) و به کمک پمپ خلاء عصاره‌ها تهیه گردید. در ادامه عصاره‌های تهیه شده با استفاده از دستگاه روتاری و اپراتور مدل RV 10 کاملاً خشک شدند و وزن عصاره‌ها تعیین گردید.

**اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH:** ابتدا با استفاده از حلال متانول غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و ترکیب استاندارد اسید گالیک ساخته شدند. ترکیب DPPH نیز با حلال متانول با غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام تهیه شد. سپس غلظت‌های مختلف عصاره‌ها درون میکروپلیت ۹۶ تایی ریخته شد. برای هر غلظت ۸ خانه در نظر گرفته شد که ۴ خانه اول برای نمونه (sample) محتوی ۲۰ میکرولیتر عصاره + ۲۰۰ میکرولیتر DPPH و ۴ خانه دوم برای تصحیح (blank) محتوی ۲۰ میکرولیتر عصاره + ۲۰۰ میکرولیتر متانول بودند. برای شاهد (Control) نیز ۴ خانه محتوی ۲۰ میکرولیتر متانول + ۲۰۰ میکرولیتر DPPH در نظر گرفته شد. پس از آن میکروپلیت ۹۶ تایی داخل میکروپلیت ریدر گذاشته شد تا ۱۰ ثانیه لرزانده شود و بعد از ۳۰

ضدرادیکالی آن در غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر معادل ۸۵ درصد باز ماندگی بود و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده مانند اسید آسکوربیک، عصاره برگ بنه از توان آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای برخوردار بود. Joshi و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که در گونه *P. integerrima* ترکیبات فنلی وجود داشته و میزان آنها در عصاره متانولی و فراکشن اتیل استاتی عصاره متانولی به ترتیب ۴/۲۹ و ۶/۸۲ درصد بود و عصاره‌ها توان آنتی‌اکسیدانی بالایی داشتند. Cherbal و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی میزان فنل کل عصاره برگ گونه *P. lentiscus* را معادل  $632/9 \pm 1/35$  میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره گزارش کردند. در این پژوهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ‌های این گونه در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ۷۶/۴ درصد شکار ترکیب DPPH بود که نسبت به ترکیب استاندارد اسید گالیک کمتر ولی با ترکیب استاندارد آلفا-توکوفرول برابری می‌نمود.

از آن جایی که در رابطه با توان آنتی‌اکسیدانی و میزان و نوع ترکیبات فنلی گونه‌های پسته اهلی (*Pistacia vera* L.)، بنه (*Desf. Pistacia atlantica*) و کلخنگ (*Pistacia khinjuk* Stocks) گزارشات بسیار کمی وجود دارد، هدف از این پژوهش بررسی کمی و کیفی عصاره‌های آبی و متانولی برگ این سه گونه با روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) و تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها بود.

#### مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی:** برگ‌های پسته اهلی رقم احمد آقایی از درختان ده ساله از باغات پسته شهرستان سروستان در ۷۵ کیلومتری جنوب شیراز و برگ‌های دو گونه بنه و کلخنگ از درختان بالغ در اطراف شهرستان سروستان

دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. پس از قرائت جذب نمونه‌ها درصد شکار رادیکال آزاد با فرمول زیر محاسبه شد.

$$A = 100 \times (\text{شاهد} / \text{تصحیح} - \text{نمونه})$$

$$\text{درصد شکار رادیکال آزاد} = 100 - A$$

سپس منحنی کالیبراسیون ترسیم و از روی معادله خط، میزان IC<sub>50</sub> برای ترکیب استاندارد اسید گالیک و عصاره‌ها محاسبه گردید و در آخر IC<sub>50</sub> بدست آمده از ترکیب استاندارد و عصاره‌ها با هم مقایسه شدند (Bruits et al., 2001).

روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا: ابتدا ۱۵ گرم از هر نمونه پودر شده با ۱۵۰ میلی‌لیتر n-هگزان مخلوط شد و ۲۴ ساعت نگه‌داری گردید تا چربی‌زدایی صورت گیرد. سپس نمونه‌ها با کاغذ صافی جدا و در معرض هوا خشک گردید. پس از آن هر نمونه گیاهی به دو قسمت تقسیم شده و هر ۷/۵ گرم به صورت جداگانه با ۷۵ میلی‌لیتر حلال آب و یا متانول مخلوط شد و ۲۴ ساعت نگه‌داری گردید. در طی این ۲۴ ساعت هر نمونه ۱۵ دقیقه اولتراسونیک و ۶-۷ ساعت لرزانده شد و در بقیه مواقع در تاریکی نگهداری گردید. نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت از کاغذ صافی عبور داده شدند و محلول زیر کاغذ صافی با روتاری تغلیظ گردید. سپس ۰/۰۱ گرم از عصاره تغلیظ شده در ۱ میلی‌لیتر حلال (عصاره آبی در آب دیونیزه و عصاره متانولی در متانول) حل گردید و پس از عبور از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتری، ۲۰ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق شد. دستگاه مورد استفاده در این پژوهش Agilent سری ۱۲۰۰ بود که به یک تشخیص دهنده از نوع DAD در طول موج‌های ۲۸۰ و ۳۲۰ نانومتر مجهز بود. برای هر نمونه میزان ۲۰ میکرولیتر عصاره به فاز معکوس تزریق گردید که ستون آن از نوع Zorbaa eclipse با ابعاد ۵ میکرومتر (ID) و ۱۵۰ × ۴/۶

میلی‌متر (FT) بود. فاز متحرک شامل ترکیبی از متانول و اسید فورمیک ۱ درصد با نسبت‌های مختلف بود که در طی ۳۵ دقیقه با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه تزریق گردید. درجه حرارت آون در حد ۳۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. ترکیبات فنلی استاندارد در این پژوهش شامل وانیلین، اسید سینامیک، اسید گالیک، کاتچین، اسید کافئیک، اسید کلروژنیک، روتین، کورستین، اسید پاراکوماریک و کارواکول بودند. مساحت قله‌ها و زمان‌های بازداری با استفاده از نرم‌افزار Chemstation محاسبه گردید و مقادیر ترکیبات شناسایی شده در عصاره‌ها با مقایسه آنها با نمودارهای مربوط به ترکیبات استاندارد محاسبه شد و نتایج برحسب میلی‌گرم ترکیبات فنلی بر گرم وزن خشک ماده گیاهی گزارش گردید.

روش‌های آماری: داده‌های مربوط به درصد شکار رادیکال‌های آزاد توسط نمونه‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفت و میانگین تیمارها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. همچنین انحراف معیار داده‌ها نیز محاسبه گردید.

### نتایج

در این پژوهش، درصد بازده انواع عصاره‌های آبی و متانولی در سه گونه پسته، بنه و کلخنگ متفاوت بود. در مجموع بیشترین بازده عصاره به میزان ۳۶/۵۵ درصد مربوط به عصاره آبی بنه و کمترین آن به میزان ۲۰/۵ درصد مربوط به عصاره متانولی بنه بود. در پسته بازده عصاره‌های آبی و متانولی به ترتیب ۲۰/۵۸ و ۲۲ درصد و در کلخنگ بازده عصاره‌های آبی و متانولی به ترتیب ۲۱/۴۶ و ۲۶ درصد بود.

نتایج این پژوهش نشان داد که توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و متانولی سه گونه پسته، بنه و کلخنگ در مقایسه با ترکیب استاندارد اسید گالیک متفاوت و در هر عصاره با افزایش غلظت، درصد شکار رادیکال

کلخنگ و عصاره آبی بنه بود که با ترکیب اسید گالیک تفاوت معنی داری نداشتند. در این غلظت نیز کمترین توان آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره آبی پسته بود. همین روند در غلظت‌های پایین‌تر نیز مشاهده گردید (جدول ۱). در نمودار ۱ مقادیر  $IC_{50}$  مربوط به عصاره‌های آبی و متانولی گونه‌های پیستاسیا آورده شده است. در این پژوهش در هر سه گونه عصاره‌های متانولی نسبت به عصاره‌های آبی در تمامی غلظت‌ها از توان آنتی اکسیدانی بالاتری برخوردار بودند. در بین عصاره‌ها کمترین میزان  $IC_{50}$  مربوط به عصاره متانولی بنه و بیشترین میزان آن مربوط به عصاره آبی پسته بود. هرچند تمامی عصاره‌ها نسبت به اسید گالیک  $IC_{50}$  بیشتری داشتند.

آزاد افزایش یافت به طوری که در تمامی عصاره‌ها بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد در غلظت ۳۲۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. مقایسه میانگین داده‌ها بین عصاره‌های مختلف سه گونه در هر غلظت تفاوت‌های معنی داری را نشان داد. در غلظت ۳۲۰۰ میلی گرم در لیتر عصاره‌های آبی و متانولی هر سه گونه نسبت به اسید گالیک از توان آنتی اکسیدانی بالاتری برخوردار بودند و تفاوت معنی داری را نسبت به اسید گالیک نشان دادند. در غلظت ۱۶۰۰ میلی گرم در لیتر، بالاترین توان آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره‌های متانولی سه گونه و عصاره آبی بنه بود و عصاره آبی پسته کمترین توان آنتی اکسیدانی را از خود نشان داد. در غلظت ۸۰۰ میلی گرم در لیتر، بیشترین درصد شکار رادیکال آزاد مربوط به عصاره‌های متانولی بنه و

جدول ۱: مقایسه توان آنتی اکسیدانی (درصد مهار رادیکال آزاد) عصاره‌های سه گونه مورد مطالعه

نوع عصاره	غلظت عصاره (میلی گرم در لیتر)					
	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	۱۶۰۰	۳۲۰۰
اسید گالیک	۸۶/۱۶±۰/۷۰a	۸۷/۲۵±۰/۴۰a	۸۷/۱۹±۰/۳۵a	۸۷/۸۹±۰/۴۰a	۹۰/۰۵±۰/۹۴a	۹۰/۰۵±۰/۴۸b*
عصاره آبی پسته	۲۵/۳۷±۱۷/۹۹cd	۱۰/۲۹±۴/۲۵f	۱۶/۰۸±۷/۴۳d	۲۸/۹۱±۱/۳۱d	۶۴/۸۶±۸/۸۱c	۹۴/۷۳±۴/۵۴a
عصاره آبی بنه	۲۴/۱۹±۱۰/۰۹cd	۲۸/۶۲±۵/۰۶d	۴۶/۲۴±۴/۱۷c	۸۶/۵۱±۲/۱۵a	۹۰/۴۹±۳/۶۸a	۹۷/۳۱±۱/۶۵a
عصاره آبی کلخنگ	۴۵/۳۰±۲۶/۱۶b	۱۸/۵۶±۵/۹۰e	۲۶/۷۰±۳/۲۵d	۴۵/۴۴±۳/۹۵c	۷۷/۵۷±۱۲/۷۹b	۹۵/۵۱±۱/۷۷a
عصاره متانولی پسته	۱۸/۱۹±۲/۵۷d	۲۸/۲۰±۵/۳۰d	۴۶/۶۴±۱۰/۲۴c	۶۷/۲۷±۱۱/۴۸b	۹۴/۴۹±۱/۶۶a	۹۵/۶۰±۱/۱۷a
عصاره متانولی بنه	۴۲/۰۱±۳/۸۱bc	۶۸/۲۹±۵/۶۴b	۹۷/۴۷±۹/۲۴a	۹۴/۴۲±۱۰/۹۶a	۹۵/۸۰±۱/۷۶a	۹۵/۸۰±۱/۳۳a
عصاره متانولی کلخنگ	۲۳/۲۱±۳/۰۲cd	۳۹/۲۳±۷/۰۲c	۷۰/۴۵±۱۰/۴۹b	۸۹/۰۷±۱۲/۳۲a	۹۶/۱۰±۲/۲۲a	۹۵/۴۷±۱/۴۱a

\* در هر ستون حداقل یک حرف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۱: مقایسه میزان  $IC_{50}$  (میلی گرم بر لیتر) در عصاره‌های مختلف گونه‌های مورد مطالعه

سینامیک، اسید گالیک و اسید پاراکوماریک در عصاره متانولی پسته یافت شد. ترکیبات اسید کلروژنیک و کوئرستین در هیچکدام از عصاره‌ها یافت نگردیدند و برعکس ترکیبات وانیلین و اسید گالیک در تمامی عصاره‌ها یافت شدند. اسید سینامیک فقط در عصاره‌های متانولی و کارواکرول فقط در عصاره‌های آبی یافت شدند. در بین گونه‌ها غلظت مجموع ترکیبات در عصاره‌های بنه بیشتر از دو گونه دیگر بود. غلظت مجموع ترکیبات فنلی در هر سه گونه در عصاره‌های متانولی بیشتر از عصاره‌های آبی بود. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در عصاره متانولی بنه یافت شد به طوری که مقدار ترکیبات فنلی در این عصاره نسبت به عصاره آبی بنه ۴/۵ برابر بیشتر بود. کمترین میزان ترکیبات فنلی در عصاره‌های آبی کلخنگ و پسته وجود داشت به طوری که میزان آنها در عصاره‌های آبی کلخنگ و پسته حدود ۰/۰۷ عصاره متانولی بنه بود.

نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا نشان داد که در بین عصاره‌های آبی و متانولی سه گونه پسته، بنه و کلخنگ تفاوت‌های کمی و کیفی زیادی دیده می‌شود به گونه‌ای که برخی از ترکیبات فقط در نوع خاصی از عصاره‌ها و یا در گونه‌ای خاص یافت شدند (جدول ۲). آنالیز HPLC ترکیبات وانیلین، اسید گالیک، کاتچین، اسید کافئیک، روتین و کارواکرول را در عصاره آبی و ترکیبات ذکر شده بجز اسیدکافئیک و کارواکرول را در عصاره متانولی بنه شناسایی نمود. به‌علاوه در عصاره متانولی بنه ترکیبات اسید سینامیک و اسید پاراکوماریک نیز یافت شدند. در کلخنگ، ترکیبات وانیلین، اسید گالیک، کاتچین، روتین و اسید پاراکوماریک در عصاره آبی و ترکیبات وانیلین، اسید سینامیک، اسید گالیک، روتین و اسید پاراکوماریک در عصاره متانولی یافت شدند. ترکیبات وانیلین، اسید گالیک، کاتچین، روتین، اسید پاراکوماریک و کارواکرول در عصاره آبی پسته و ترکیبات وانیلین، اسید

جدول ۲: میزان و نوع ترکیبات فنلی مختلف در گونه‌های پستاسیا با روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا

نوع ترکیبات (میلی‌گرم در گرم وزن خشک گیاه)	عصاره آبی بنه	عصاره متانولی بنه	عصاره آبی کلخنگ	عصاره متانولی کلخنگ	عصاره آبی پسته	عصاره متانولی پسته
وانیلین	۰/۰۳۳۰	۰/۰۲۹۷	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۴۴
اسید سینامیک	-	۱/۶۱۷۰	-	۰/۵۳۱۴	۰/۷۶۴۱	-
اسید گالیک	۰/۲۳۲۰	۰/۰۳۶۱	۰/۰۸۹۳	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۱۲	۰/۱۰۵۹
کاتچین	۰/۰۶۴۲	۰/۰۲۹۹	۰/۰۳۳۳	-	-	۰/۰۱۲۹
اسید کافئیک	۰/۰۰۶۵	-	-	-	-	-
اسید کلروژنیک	-	-	-	-	-	-
روتین	۰/۰۶۱۴	۰/۰۸۰۴	۰/۰۰۴۲	۰/۰۰۸۱	-	۰/۰۰۷۹
کوئرستین	-	-	-	-	-	-
اسید پاراکوماریک	-	۰/۰۰۷۱	۰/۰۰۱۵	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۱۹
کارواکرول	۰/۰۰۰۴	-	-	-	-	۰/۰۰۰۵
مجموع	۰/۳۹۷۵	۱/۸۰۰۲	۰/۱۲۹۷	۰/۵۴۱۹	۰/۷۶۷۲	۰/۱۳۳۵

## بحث

آنتی‌اکسیدانی بنه کمتر بود. Ilahi و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی نشان دادند که گونه *P. integerrima* در تمامی غلظت‌ها در مقایسه با اسید آسکوربیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را به‌طور معنی‌داری نشان داد. Cherbal و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گونه *P. lentiscus* را با روش توانایی شکار ترکیب DPPH اندازه‌گیری کردند. نتایج آنها نشان داد که عصاره آبی-متانولی برگ‌های این گونه در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی (۷۶/۴ درصد توانایی شکار ترکیب DPPH) بود که نسبت به ترکیب استاندارد اسید گالیک کمتر ولی با ترکیب استاندارد آلفا-توکوفرول برابری می‌نمود که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. در مجموع به نظر می‌رسد تفاوت‌های گزارش شده در توان آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مختلف پستاسیا وابسته به عواملی نظیر نوع گونه، نوع اندام، نوع حلال مورد استفاده جهت تهیه عصاره، محل جمع‌آوری نمونه گیاهی، نوع ترکیب استاندارد مورد استفاده و... باشد.

همچنین نتایج این پژوهش با روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد نشان داد که بین عصاره‌های آبی و متانولی سه گونه پسته، بنه و کلخنگ تفاوت‌های کمی و کیفی زیادی دیده می‌شود به گونه‌ای که برخی از ترکیبات فقط در نوع خاصی از عصاره‌ها و یا در گونه‌ای خاص یافت می‌شود. گزارشات متعددی در رابطه با میزان و نوع ترکیبات فنلی در انواع عصاره‌های مربوط به گونه‌های مختلف جنس پستاسیا وجود دارد. Joukhi و Khazaei (۲۰۱۰) در پژوهشی میزان فنل کل عصاره‌های متانولی و اتانولی میوه بنه را به‌ترتیب  $1611.07 \pm 7.2$  و  $135.27 \pm 22.42$  میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن تر گزارش نمودند. آنها همچنین میزان چندین ترکیب فنلی مانند اسید گالیک، اسید کلروژنیک، اسید سیناپیک، اسید پروتوکاتچونیک، کاتچین و جوگلون را مشخص نمودند که در این میان

در این پژوهش بیشترین بازده عصاره مربوط به عصاره آبی بنه و کمترین آن مربوط به عصاره متانولی بنه بود. حسین‌زاده و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی میزان عملکرد عصاره آبی برگ‌ها و میوه‌های پسته را به‌ترتیب ۴/۲۲ و ۱۰ درصد و عصاره اتانولی را به‌ترتیب ۲۶ و ۶/۹ درصد گزارش نمودند. به نظر می‌رسد که عملکرد عصاره‌ها با توجه به نوع حلال، گونه و اندام مورد استفاده متفاوت است. در این پژوهش در هر عصاره با افزایش غلظت، توان آنتی‌اکسیدانی (درصد شکار رادیکال آزاد) افزایش یافت به‌طوری‌که در تمامی عصاره‌ها بالاترین درصد شکار رادیکال آزاد در غلظت ۳۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها بین عصاره‌های مختلف سه گونه در هر غلظت تفاوت‌های معنی‌داری را نشان داد. در غلظت ۳۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر عصاره‌های آبی و متانولی هر سه گونه نسبت به اسیدگالیک از توان آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بودند و تفاوت معنی‌داری را نسبت به اسیدگالیک نشان دادند. گزارشات متعددی در رابطه با توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و اندام‌های مختلف گونه‌های جنس پستاسیا وجود دارد. Peksel (۲۰۰۸) در پژوهشی نشان داد که عصاره برگ بنه قادر به احیاء رادیکال DPPH بود و میزان فعالیت ضد رادیکالی آن در غلظت ۱۵ میکروگرم در میلی‌لیتر معادل ۸۵ درصد بازماندگی بود و در مقایسه با آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده مانند اسیدآسکوربیک، عصاره برگ بنه از توان آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای برخوردار بود. Souri و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که درصد جلوگیری از پراکسیداسیون در غلظت‌های ۰/۴، ۴ و ۴۰ میکروگرم عصاره میوه بنه به‌ترتیب  $28.75 \pm 7.13$ ،  $50.86 \pm 3.93$  و  $56.46 \pm 2.79$  و میزان IC<sub>50</sub> آن برحسب میکروگرم معادل  $7.51 \pm 0.14$  بود که در مقایسه با ترکیب آلفاتوکوفرولبا IC<sub>50</sub> معادل ۰/۶۰ میکروگرم فعالیت

مشاهده نمود. Alai و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که در گونه‌ای از جنس پسته (*Pistacia palaestina* Boiss.) همبستگی خطی معنی‌داری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل برای عصاره‌های آبی و متانولی وجود داشت و ضرایب همبستگی برای عصاره‌های آبی و متانولی به ترتیب ۰/۸۶۳ و ۰/۸۵۰ بود. همچنین Gardeli و همکاران (۲۰۰۸) همبستگی شدیدی را بین میزان فنل کل و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گونه *P. lentiscus* مشخص نمودند. در مجموع نتایج این پژوهش مشخص کرد که تفاوت‌های کمی و کیفی زیادی در رابطه با ترکیبات فنلی عصاره‌های مختلف وجود داشت و همچنین توان آنتی‌اکسیدانی آنها نیز متفاوت بود.

#### منابع

1. Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A.M., Ghedira, K., Laporti, F., Dijoux-Franca, M.G., and Chekir-Ghedira, L. 2007. Study of anti-mutagenic and antioxidant activities of gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloyl glucose from *Pistacia lentiscus*: confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, 165: 1-130.
2. Alai, F.Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., Nielsew, S.J., Wheatons, W.D., Falkinham, J.O., and Oberlies, N.H. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of aqueous and methanolic extracts of Jordanian plants: an ICBG Project, *Natural Product Research*, 21: 1121-1131.
3. Amri, I., Lamia, H., Mohsen, H., Gargouri, S., and Bassem, J. 2013. Chemical composition and antifungal activity of three anacardiaceous species grown in Tunisia. *Science International*, 1: 148-154.
4. Benhammou, N., Bekkara, F.A., and Anovska, P. 2008. Antioxidant and antimicrobial of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2: 22-28.
5. Bruits, M., Asres, K., and Bucar, F. 2001. The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and

میزان تمامی ترکیبات در عصاره متانولی بیشتر از عصاره اتانولی بود و ترکیب جوگلون به ترتیب به میزان ۲۴ و ۲۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر بیشترین غلظت را نسبت به سایر ترکیبات در عصاره‌های متانولی و اتانولی به خود اختصاص داد. در پژوهش کنونی نیز با آنالیز HPLC ترکیبات اسیدگالیک و کاتچین در عصاره متانولی برگ بنه شناسایی شد در حالی که این عصاره فاقد اسیدکلروژنیک بود. این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل نوع اندام مورد استفاده جهت تهیه عصاره و یا شرایط اقلیمی متفاوت درختان مورد استفاده باشد. محققین تفاوت‌های مشاهده شده بین عصاره‌های مختلف را به تفاوت در قطبیت حلال‌های مورد استفاده مربوط می‌دانند (Silva et al., 2006; Huang et al., 2005; Javanmardi et al., 2003). عصاره‌گیری ترکیبات فنلی از مواد گیاهی به وسیله ساختار شیمیایی ترکیبات فنلی، نحوه عصاره‌گیری، اندازه ذرات گیاهی، زمان و شرایط نگهداری مواد گیاهی و وجود ترکیبات مداخله کننده تحت تاثیر قرار می‌گیرد. نوع حلال نیز یکی از عواملی است که تاثیر بسزایی بر عصاره‌گیری فنل‌ها دارد و در این راستا حلال‌های مختلفی نظیر آب، متانول، اتانول، استون و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (Nacz and Shahidi, 2004). مجموع این عوامل می‌تواند بیان کننده تفاوت‌های کمی و کیفی در مواد فنلی گونه‌های مختلف جنس پستاسیا می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش بیشترین توان آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های متانولی بنه دیده شد. همچنین بیشترین میزان ترکیبات فنلی نیز در این عصاره وجود داشت. از طرفی دیگر کمترین غلظت ترکیبات فنلی و کمترین توان آنتی‌اکسیدانی متعلق به عصاره‌های آبی پسته و کلخنک بود. بنابراین می‌توان نوعی ارتباط و همبستگی را بین غلظت مواد فنلی و توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها



- Juniperus procera*. Phytotherapy Research, 15:103-108.
6. Cherbal, A., Kebieche, M., Madani, K., and El-Adawi, H. 2012. Extraction and valorization of phenolic compounds of leaves of Algerian *Pistacia lentiscus*. Asian Journal of Plant Science, 3(11):131-136.
  7. Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., and Komaitis, M. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chemistry, 107:1120-1130.
  8. Hirori, T., Takahashi, T. and Imamara, H. 1996. Wood extractives, XV, constituents of *Pistacia chinensis* wood. Nippon Mokuzi Gakkaishi, 12: 324-326.
  9. Hosseinzadeh, H., Sajadi Tabassi, S.A., Milani Moghadam, N., Rashedinia, M., and Mehri, S. 2012. Antioxidant activity of *Pistacia vera* fruits leaves and gum extract. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11: 879-887.
  10. Huang, D., Ou, B., and Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53:1841-1856.
  11. Ilahi, I., Samar, S., Khan, I., and Ahmad, I. 2013. *In vitro* antioxidant activities of four medicinal plants on the basis of DPPH free radical scavenging. Pakistan Journal of Pharmaceutical Science, 26: 949-952.
  12. Javanmardi, L., Stushnoff, C., Locke, E., and Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic contents of Iranian *Ocimum* accessions. Food Chemistry, 83: 547-550.
  13. Joshi, U.D., and Mishra, S.H. 2009. *In vitro* antioxidant activity of galls of *Pistacia integerrima*. Pharmacology online, 2:763-768.
  14. Joukki, M., and Khazaei, N. 2010. Compare of extraction of phenolic compounds from *Pistacia atlantica* in different solvents. Advances in Biomedical Research, 8:361-365.
  15. Kayani, S.A., Masood, A., Achakzal, A.K., and Anbreen, Sh. 2007. Distribution of secondary metabolites in plants of Ouetta-Balochistan. Pakistan Journal of Botany, 39:1173-1179.
  16. Korkina, L.G. 2007. Phenyl propanoid compounds in plant response to different stress factors. Acta Physiologia Planta, 19: 257-268.
  17. Naczek, M. and Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography, 1054: 95-111.
  18. Peksel, A. 2008. Antioxidative properties of decoction of *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. Asian Journal of Chemistry, 20: 681-693.
  19. Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees, J.F., and Larondelle, Y. 2006. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. Food Chemistry, 101: 1012-1018.
  20. Souri, E., Amin, Gh., Dehmobed-Sharifabadi, A., Nazif, A., and Farsam, H. 2004. Antioxidant activity of sixty plant from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 3: 55-59.
  21. Zayzafoon, G., Odeh, A., Mohzia, Y., and Allaf, A.W. 2011. Measurements of essential oil extract and antioxidants in Syrian *Myrtus Communis* L. leaves using photochemiluminescence assay. Helvia Polonica, 57: 5-19.