

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌ی متانولی پوست سبز پسته (*Pistachia vera*)

احمد رجایی¹، محسن برزگر^{2*}، محمد علی سحری²

1- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

2- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

3- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

(تاریخ دریافت: 87/10/25 تاریخ پذیرش: 88/1/25)

چکیده

ترکیبات فنولیک، به‌ویژه آن‌هایی که منشأ گیاهی دارند، به دلیل خصوصیات آنتی‌اکسیدانی‌شان بخش اساسی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. مقدار فنولیک کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌ی متانولی پوست سبز چند رقم پسته‌ی ایرانی (فندق، کله قوچی، احمد آقایی، فروتنی و سید علی آقایی) مورد بررسی قرار گرفت. مقدار ترکیبات فنولیک بین 15/3 (رقم کله قوچی) تا 31/1 میلی‌گرم/گرم معادل گالیک اسید (رقم احمد آقایی) بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از دو روش DPPH و ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر دو روش وابستگی غلظت با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در تمام رقم‌ها مشاهده گردید. خاصیت آنتی‌اکسیدانی رقم احمد آقایی در هر دو روش بیشتر از رقم‌های دیگر بود. خاصیت ضد میکروبی نمونه‌ها در مقابل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و همچنین قارچ‌ها بررسی شد. عصاره‌ی تمام رقم‌ها تنها بر روی دو باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس خاصیت بازدارندگی رشد داشتند. در مورد تمام رقم‌ها باسلوس سرئوس حساسیت بیشتری نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان داد. این نتایج نشان داد که پوست سبز پسته می‌تواند به عنوان یک منبع ارزان و قابل دسترس ترکیبات فعال زیستی در نظر گرفته شود.

کلید واژگان: پوست سبز پسته، ترکیبات فنولیک، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی

1- مقدمه

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. در سال‌های اخیر به دلایل مربوط به سلامتی توجه زیادی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معطوف گردیده است و تحقیقات گسترده‌ای به منظور به کارگیری این ترکیبات در مواد غذایی به جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در دست اجرا است [4]. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معمولاً ترکیبات فنولیک گیاهی هستند که از منابع مختلف گیاهی به دست می‌آیند. ترکیبات فنولیک معمولاً چند کاره هستند و می‌توانند به عنوان عوامل کاهنده (رادیکال‌های آزاد)، کی لیت کننده‌ی فلزات و فرونشاندن‌ی

ترکیبات حاصل از اکسیداسیون بر طعم روغن‌ها اثر می‌گذارد و چنانچه اکسیداسیون در سطح پیشرفته‌ای صورت گرفته باشد آن‌ها را غیر قابل مصرف می‌کنند. به طور کلی بد طعمی روغن‌ها باید مرتبط با میزان پراکسید آن‌ها باشد [1]. در اکسیداسیون چربی‌ها و روغن‌ها علاوه بر ایجاد مزه‌ی تند و افت تغذیه‌ای (کاهش ویتامین‌ها و اسیدهای چرب ضروری)، ایجاد ترکیبات سمی و فعال نیز می‌تواند برای مصرف کننده خطر جدی محسوب گردد [2و3]. یکی از راه‌های جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها

* مسوول مکاتبات: mbb@modares.ac.ir

استان یزد تهیه و پس از خشک شدن در سایه در فریزر 20- درجه ی سانتی‌گراد تا زمان آزمایش نگهداری شد. مواد شیمیایی مورد استفاده همگی با خلوص بالا از شرکت های مرک و سیگما تهیه گردید. ریز سازواره‌های اشریشیاکلی¹ (PTCC 1330)، سالمونلا تاییفی موریوم² (PTCC 1609)، سودوموناس اثرورژنس³ (PTCC 1430)، استافیلوکوکوس اورئوس⁴ (PTCC 1431)، باسیلوس سرئوس⁵ (PTCC 1015)، کاندیدا آلیکنس⁶ (PTCC 5027) و نوروسپورا اینترمدیا⁷ (PTCC 5291) از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید.

2-2- آماده‌سازی نمونه‌ها

ابتدا پوست پسته‌ها در سایه خشک شد سپس پوست‌های خشک شده با استفاده از آسیاب خرد گردید و نمونه‌های آسیاب شده الک گردید. نمونه‌ی مورد استفاده برای آزمایش‌های مرحله‌ی استخراج دارای اندازه‌ی ذرات بین 0/5 تا 2 میلی‌متر بود. نمونه‌های الک شده تا زمان آزمایش در فریزر 20- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

2-3- استخراج ترکیبات فنولیک

به یک گرم نمونه آسیاب شده‌ی پوست پسته 20 میلی‌لیتر متانول اضافه شد و در دمای محیط نگهداری و پس از گذشت 4 ساعت، مخلوط به وسیله کاغذ صافی صاف گردیده و نمونه‌ی صاف شده تا زمان آزمایش در فریزر 20- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید.

2-4- اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک کل

به منظور اندازه‌گیری مقدار فنولیک کل از روش فولین استفاده گردید. به منظور انجام آزمایش، ابتدا 40 میکرولیتر از نمونه یا غلظت‌های مختلف استاندارد گالیک اسید به 3160 میکرولیتر آب مقطر اضافه شد، سپس 200 میکرولیتر معرف فولین و در نهایت 600 میکرولیتر کربنات سدیم اشباع اضافه گردید. پس از مدت زمان 2 ساعت نگهداری نمونه‌ها در تاریکی، جذب نمونه‌ها در

اکسیژن یکتایی عمل کنند [5]. تحقیقات نشان داده که غذاهای غنی از ترکیبات فنولیک با یکسری از خصوصیات فیزیولوژیکی همانند آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی [6]، ضد جهش‌زایی [7]، بازدارنده اکسیداسیون لیپوپروتئین و تجمع پلاکت‌ها [8]، فعالیت ضد التهابی [9] و غیره را دارا می‌باشند.

پسته معمولی (پسته خوراکی رایج در بازار) با نام علمی *pistacia vera* از گیاهان تیره آناکاردیاسه یا تیره پسته است. گونه‌های مختلف جنس پسته، عموماً درختان وحشی، خودرو و در مقابل خشکی مقاوم اند. تنها پسته ایران است که از نظر شکل، رنگ، هیئت ظاهری، اندازه و ابعاد و همچنین مشخصات مغز آن، ارقام بسیار متنوعی دارد، بطوری که از نظر کیفیت طعم و تنوع شکل، در دنیا بی‌همتاست [10]. در سال 1383، میزان تولید پسته در جهان حدود 450 هزار تن بوده است که تقریباً 307 هزار تن در ایران تولید گشته است. در ایران با احتساب درختان پراکنده بیش از 380 هزار هکتار زمین زیر کشت بوده که حدود 55 درصد آن در استان کرمان می‌باشد [11].

گلی و همکاران در سال 2005 نشان دادند که پوست سبز پسته حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولیک می‌باشد که مقدار آن در مقایسه با منابع دیگر قابل توجه می‌باشد [12]. با توجه به اینکه، پوست سبز خارجی پسته، حدود 40 درصد وزن میوه را تشکیل می‌دهد [13] و پسته به طور انبوهی در کشور تولید می‌شود، مقدار پوست حاصل از آن، زیاد خواهد بود. نظر به اینکه وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پوست سبز پسته در تحقیقات نشان داده شده است و همچنین با توجه به تولید انبوه آن امکان تولید صنعتی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی حاصل از پوست پسته وجود دارد. هدف از این تحقیق تعیین میزان ترکیبات فنولیک پوست سبز پسته چند واریته‌ی مهم ایران و همچنین بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی ترکیبات فنولیک استخراج شده می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد اولیه

ارقام پسته مورد استفاده (رقم‌های احمد آقایی، فندق، کله قوچی، سید علی آقایی و فروتنی) از مرکز تحقیقات کشاورزی

1. *Escherichia coli*
2. *Salmonella typhi*
3. *Pseudomonas aeruginosa*
4. *Staphylococcus aureus*
5. *Bacillus cereus*
6. *Candida albicans*
7. *Neurospora intermedia*

مساوی با یکدیگر تهیه شده و در ادامه این مخلوط در دمای اتاق و محیط تاریک به مدت 16 ساعت به منظور تکمیل واکنش نگهداری شد. سپس محلول تهیه شده با متانول تا رسیدن جذب به $1/00 \pm 0/02$ در طول موج 734 نانومتر رقیق شد. 0/2 میلی لیتر از غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید و عصاره‌ها به 4 میلی لیتر از محلول تازه تهیه شده ی $ABTS^{++}$ اضافه شد و به مدت 2 ساعت در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب نمونه‌ها در 734 نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی درجه بندی اسید آسکوربیک نتایج بر حسب معادل گرم آسکوربیک اسید بر گرم فنولیک نمونه بیان گردید.

2-7- آزمون ضد میکروبی به روش انتشار

دیسکی

روش انتشار دیسکی به منظور غربال کردن فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها با استفاده از روش بیان شده توسط چاکرابورتی و میترا¹³ با اندکی تغییر انجام شد [17]. به منظور انجام آزمایش ابتدا ریزسازواره‌های مورد نظر در محیط کشت نوترینت برات¹⁴ فعال گردید. سپس از ریزسازواره‌های فعال شده سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند¹⁵ تهیه شد (در هر 1 سی سی معادل نیم مک فارلند $1/5 \times 10^8$ سلول باکتری وجود دارد).

پس از تهیه ی سوسپانسیون 0/1 میلی لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار¹⁶ به طور یکنواخت پخش گردید. سپس 30 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر روی دیسک‌های کاغذی (6 میلی متری) اضافه شد و در ادامه دیسک‌ها بر روی محیط کشت قرار داده شد. در پایان پلیت‌ها در دمای مناسب برای هر ریز سازواره به مدت 24 ساعت گرمخانه گذاری شد. پس از اتمام گرمخانه گذاری قطر ناحیه ی بازداری شده بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد.

طول موج 765 نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار ترکیبات فنولیک کل بر اساس میلی گرم معادل گالیک اسید در گرم نمونه خشک بیان گردید [14].

2-5- بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی با آزمون

DPPH^{8*}

بررسی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌ها، با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH^{*} مطابق با روش اولیوریا⁹ و همکاران انجام گرفت [15]. 0/2 میلی لیتر عصاره در غلظت‌های مختلف به 4 میلی لیتر از محلول متانولی $10^{-5} \times 6$ مولار رادیکال آزاد DPPH^{*} افزوده و 60 دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول در طول موج 517 نانومتر با استفاده از طیف‌نورسنج خوانده شد. یک نمونه حاوی 0/2 میلی لیتر متانول به همراه 4 میلی لیتر محلول DPPH^{*} به عنوان نمونه کنترل و حلال متانول برای صفر کردن دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در سه تکرار انجام شد. میزان فعالیت گیرندگی رادیکال (Radical scavenging activity) عصاره با فرمول زیر تعیین گردید:

$$\% \text{RSA} = [1 - ((A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{Control}}) \times 100]$$

در این رابطه:

$$A_{\text{sample}} = \text{میزان جذب نمونه}$$

$$A_{\text{Control}} = \text{میزان جذب شاهد}$$

$$\text{RSA} = \text{فعالیت گیرندگی رادیکال است.}$$

به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی، از فاکتور EC_{50}^{10} استفاده شد که بیان گر غلظتی از عصاره است که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH^{*} اولیه به 50٪ مقدار اولیه است.

2-6- بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی با آزمون

ABTS¹¹

آزمون ABTS مطابق با روش آرنو¹² و همکاران با اندکی تغییر انجام شد [16]. محلول‌های پایه ABTS (7/4 میلی مولار) و پتاسیم پرسولفات (2/6 میلی مولار) تهیه شد و در ادامه محلول اصلی $ABTS^{++}$ بوسیله ی مخلوط کردن دو محلول پایه به مقدار

8. 2, 2-diphenyl-1- picrylhydrazyl

9. Oliveria

10. 50% Effective concentration

11. 2, 2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid)

12. Arnao

13. Chakraborty and Mitra

14 - Nutrient broth

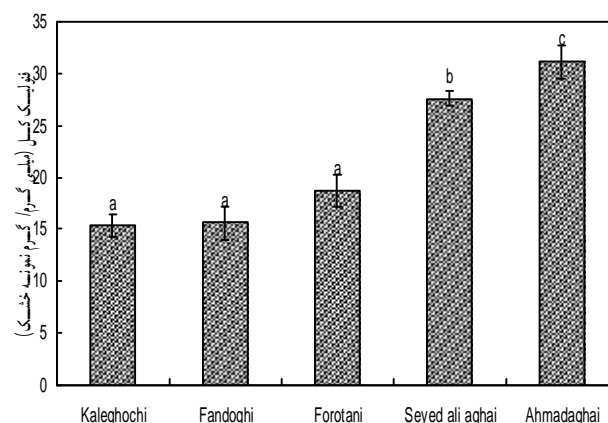
15 - Mac Farland

16 - Mueller-Hinton agar

3- نتایج و بحث

3-1- میزان ترکیبات فنولیک

میزان ترکیبات فنولیک در مورد رقم های مختلف بین 15/3 تا 31/1 (میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک) به ترتیب مربوط به رقم های کله قوچی و احمد آقایی بود. رقم احمد آقایی دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک در بین رقم‌های دیگر بود که اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) با سایر رقم‌ها داشت (شکل 1).



شکل 1 مقدار ترکیبات فنولیک کل پوست سبز پنج رقم پسته ی مورد مطالعه.

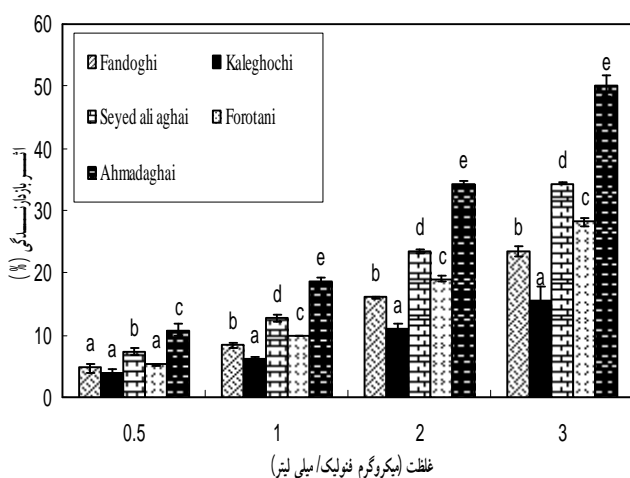
مقدار ترکیبات فنولیک رقم‌های کله قوچی (15/3 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک)، فندقی (15/6 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک) و فروتنی (18/3 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک) از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) نداشتند.

در تحقیقی که راباباه و همکاران (2004) انجام دادند میزان ترکیبات فنولیک شنبلله، جای سبز، جای سیاه، دانه‌ی انگور، زنجبیل و روزماری به ترتیب 54/3، 59/8، 59/3، 63/5، 92/5 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک بود [18]. آرکان و یمینسیکلو¹⁷ (2009) میزان ترکیبات فنولیک مغز فندق، گردو و پسته را به ترتیب 4/25، 5/89، 4/61 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک گزارش کردند [19].

3-2- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

در این تحقیق قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی پوست سبز پنج رقم پسته‌ی ایرانی بوسیله‌ی دو آزمون DPPH و ABTS ارزیابی شد.

آزمون DPPH به طور گسترده‌ای به منظور تعیین فعالیت بازدارندگی رادیکال‌های آزاد ترکیبات خالص یا گیاهی مختلف به کار می‌رود [20 و 21]. در این روش، فعالیت وابسته به غلظت در مورد اثر آنتی‌رادیکالی بر روی رادیکال‌های DPPH در مورد تمام رقم های مورد استفاده مشاهده گردید (شکل 2).



شکل 2 مقایسه ی اثر بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره ی پوست سبز پنج رقم پسته ی مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف.

در مورد تمام غلظت‌های آزمایش شده رقم احمد آقایی و کله قوچی به ترتیب بیشترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان دادند که این اختلاف در سطح 5 درصد معنی دار بود. به عنوان مثال، رقم احمد آقایی و کله قوچی در غلظت 0/5 (میکروگرم فنولیک/میلی‌لیتر) به ترتیب اثر بازدارندگی 10/9 و 4 درصد را نشان دادند که این اثر در غلظت 3 (میکروگرم فنولیک/میلی‌لیتر) به 50 و 15/5 درصد افزایش یافت. نتایج به دست آمده یک فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی را در مقایسه با ترکیب استاندارد (BHT¹⁸) نشان داد. در مورد EC_{50} رقم های مختلف، رقم احمد آقایی (2/7 میکروگرم فنولیک/میلی‌لیتر) کمترین مقدار بود که اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) بین این رقم با رقم‌های

همانند استرها، وابسته به تعداد گروه های هیدروکسیل در مولکول است [18].

آرکان و یمنیسیکلو (2009) 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 به ترتیب 35/7، 90/5 و 44/4 میکرو مولار معادل تورولوکس²⁰ گرم نمونه خشک بود [19]. اردونز²¹ و همکاران (2006) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه *Sechium edule* را با روش DPPH اندازه گیری کردند. میزان EC₅₀ این عصاره 2 میکروگرم / میلی لیتر بود [22]. شهوری و همکاران در سال 2008، فعالیت آنتی رادیکالی اسانس گیاه زیره ی کوهی (*Bunium persicum L.*) را با دو روش DPPH* و بی رنگ شدن بتاکاروتن اندازه گیری کرده و میزان EC₅₀ 0/88 ± 0/04 mg/ml و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس در سطح 0/45٪، 80٪ تعیین شد، که تقریباً معادل BHT در سطح غلظتی 0/01٪ بود [23]. تحقیقات متعددی نیز روی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ضایعات محصولات کشاورزی از جمله پوست گردو [15]، بادام [24]، گندم سیاه [25]، لوبیا [26]، برنج [27] و آفتابگردان [28] انجام شده است.

3-3- فعالیت ضد میکروبی

عصاره های متانولی رقم های مختلف پوست سبز پسته به منظور تعیین خصوصیات ضد میکروبی در مقابل ریزسازواره های *اشرشیاکلی*، *سالمونلا تایفی موریم*، *سودوموناس اثرورنسنس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و *نوروسپورا ایترمدیا* غربال شدند. نتایج انتشار دیسکی نشان داد که در مورد تمام رقم های آزمایش شده باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی و همچنین قارچ ها حساس تر هستند (جدول 2) که نتایج مسابهی به وسیله ی محفین دیگر در این زمینه به دست آمده است [15]. به طور کلی باکتری های گرم منفی نسبت به گرم مثبت ها نسبت به ترکیبات فنولیک مقاومتر هستند که این تفاوت شاید به دلیل تفاوت در ساختمان دیواره ی سلولی آن ها باشد [29]. عصاره ی متانولی حاصل از رقم کله قوچی در مورد هر دو باکتری *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*

دیگر وجود داشت. در مورد EC₅₀ هر چه مقدار آن کمتر باشد نشان دهنده ی میزان فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی می باشد. در آزمون ABTS فعالیت بازدارندگی رادیکال ABTS⁺ عصاره ها به عنوان معادل آسکوربیک اسید بیان شد. در این روش رقم احمد آقایی و سید علی آقایی به ترتیب بیشترین و کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را از خود نشان دادند که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری (P<0.05) با یکدیگر داشتند. همچنین تمام رقم ها خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به BHT از خود نشان دادند (جدول 1).

جدول 1 خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ی پوست سبز پنج رقم پسته تعیین شده با آزمون های DPPH و ABTS

نمونه	آزمون DPPH EC ₅₀ (µg phenolic/mL)	آزمون ABTS g ascorbic acid/g phenolic
احمد آقایی	^a 2/7± 0/1	^a 3/0±0/1
فندقی	^b 6/2± 0/4	^a 2/7±0/1
فروتی	^{ab} 5/1±0/2	^b 2/3±0/1
سید علی	^{ab} 4/2±0/2	^c 1/8±0/1
آقایی		
کله قوچی	^c 12/1±0/7	^a 2/8±0/2
BHT	^{ab} 4/2±0/3	^d 1/1±0/1

مقادیر با حروف متفاوت در ستون های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی دار می باشد (P<0/05 آزمون چند دامنه ای دانکن)

در آزمون های DPPH و ABTS اگرچه مقدار ترکیبات فنولیک عصاره های حاصل در برخی از رقم ها کمتر از استاندارد BHT بود اما فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره ها بیشتر بود. این نتیجه نشان می دهد که نوع ترکیب فنولیک بیشتر از مقدار آن در فعالیت آنتی اکسیدانی نقش دارد. این نتایج با نتایج کارهای دیگران از جمله راباباه¹⁹ و همکاران (2004) مطابقت دارد که این محققین گزارش کرده اند که فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی می تواند تحت تاثیر ساختارهای متفاوت اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها و همچنین مشتقات این ترکیبات باشد. به عنوان مثال، فعالیت آنتی اکسیدانی اسیدهای فنولیک و مشتقات آن

20. Trolox

21. Ordonez

19. Rababah

جدول 2 فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ی متانولی رقم‌های مختلف بر ریزسازواره‌های آزمایش شده بر اساس روش انتشار دیسکی

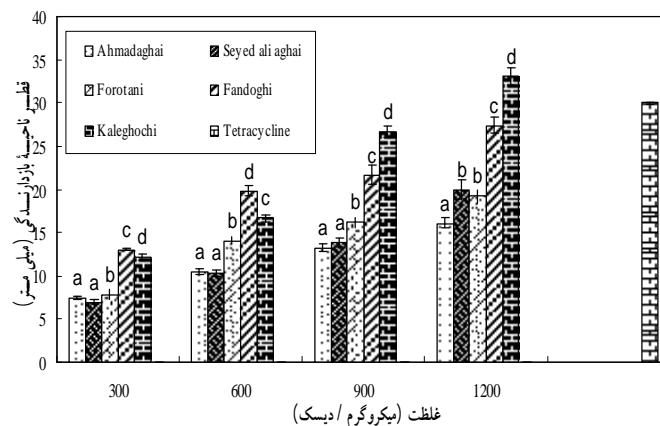
تتراسایکلین	احمد آقایی	کله قوچی	سید علی آقایی	فروتی	فلقی	
+	+	+	+	+	+	باسیلوس سرئوس
+	+	+	+	+	+	استافیلوکوکوس اورئوس
+	-	-	-	-	-	اشریشیاکلی
+	-	-	-	-	-	سلمونلا تایفی موریوم
+	-	-	-	-	-	سوردهمولس اورئوس
-	-	-	-	-	-	کلایدا آلیکس
-	-	-	-	-	-	نورسپورالترمدیا

+ : عدم مشاهده‌ی رشد باکتری اطراف دیسک؛ - : مشاهده‌ی رشد

باکتری اطراف دیسک

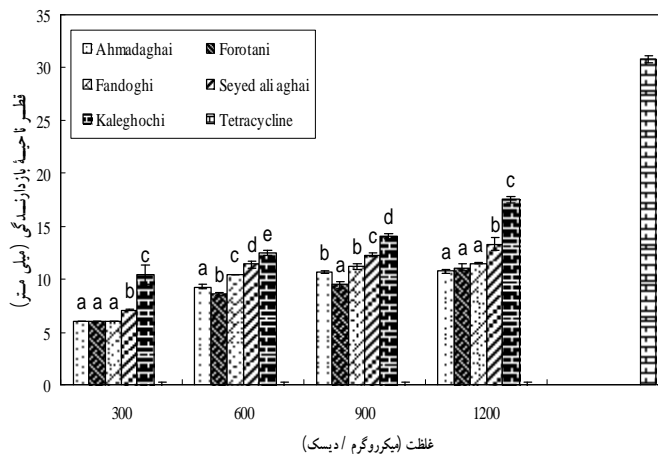
همچنین با توجه به ناحیه‌ی بازدارندگی در مورد باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت‌های مختلف مشاهده گردید که در غلظت مشابه ناحیه‌ی بازدارنده در مورد باسیلوس سرئوس بیشتر از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد که این نشان می‌دهد که ترکیبات فنولیک موجود در پوست سبز پسته اثر ضد میکروبی بیشتری روی باسیلوس سرئوس نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس دارند (شکل‌های 3 و 4). نکته‌ی جالب توجه اینکه خاصیت ضد میکروبی رقم کله قوچی در بالاترین غلظت استفاده شده بیشتر از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بود (شکل 3). این نتایج با توجه به اینکه باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس می‌توانند چند نوع سم تولید کنند که این سم‌ها عامل التهاب روده‌ای و در نتیجه ایجاد بیماری‌های مسمومیت غذایی در تعداد زیادی از کشورها هستند از اهمیت قابل توجهی برخوردار است [15 و 30]. ترکیبات طبیعی ممکن است منبع غنی از عوامل ضد عفونی باشند. به‌عنوان مثال، فلاونوئیدها فعالیت ضد میکروبی از خود نشان داده‌اند، همچنین کوئرستین و ترکیبات وابسته‌ی دیگر اساساً به عنوان بازدارنده‌ی آنزیم DNA گیراز²² عمل می‌کنند [31].

بیشترین اثر ضد میکروبی را از خود نشان داد که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) با رقم‌های دیگر داشت (شکل‌های 3 و 4).



شکل 3 مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی پوست سبز پنج رقم پسته‌ی مورد

مطالعه مربوط به باکتری باسیلوس سرئوس



شکل 4 مقایسه‌ی اثر ضد میکروبی پوست سبز پنج رقم پسته‌ی مورد

مطالعه مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس.

4- نتیجه گیری کلی

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که پوست سبز پسته می تواند به عنوان یک منبع ارزان و قابل دسترس ترکیبات فعال زیستی استفاده شود. تمام رقم های مورد آزمایش خاصیت آنتی اکسیدانی خوبی از خود نشان دادند که در برخی از موارد حتی از ترکیبات سنتزی مثل BHT نیز بیشتر بود. در مورد هر دو آزمون آنتی اکسیدانی، عصاره ی حاصل از رقم احمد آقایی خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به رقم های دیگر داشت. علاوه بر این، عصاره ی تمام رقم ها خاصیت ضد میکروبی بر روی باکتری های گرم مثبت بیماریزا از خود نشان دادند. مطالعه های بیشتری به منظور شناسایی ترکیبات فنولیک موجود در این رقم ها و همچنین اثر هر کدام از این ترکیبات بر روی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی ضروری می باشد.

5- سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از قطب علمی مهندسی بازیافت و کاهش ضایعات محصولات استراتژیک کشاورزی به دلیل حمایت های مالی ابراز می دارند.

6- منابع

- [1] Fatemi, H. 2003. Food Chemistry. 2nd Edn. Sahami Compony of Enteshar.Tehran. 481p (In Persian).
- [2] Esterbauer, H., Wag, G. and Puhl, H. 1993. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. British Medical Bulletin. 49, 566-567.
- [3] Markesbery, W. R. and Lovell, M. A. 1998. Four-hydranonenal, a product of lipid peroxidation is increased in the brain in Alzheimer's disease. Neurobiology Aging. 19, 33-36.
- [4] Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K. (1996). Food Antioxidants. New York: Marcel Dekker, Inc, USA. 378p.
- [5] Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D. and Madhavi, D.L. 1995. Lipid Oxidation in Biological and Food Systems. In: A.D. Madhavi and D. K. Salunkhe (Edn.), Food

تحقیقات متعددی روی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان مختلف انجام شده است. از جمله این تحقیقات می توان به تحقیق اولیوریا و همکاران (2008) روی اثر ضد میکروبی عصاره آبی پوست گردو اشاره کرد. در این تحقیق اثر ضد میکروبی عصاره پوست گردو روی باکتری های گرم منفی، گرم مثبت، مخمر و کپک بررسی شد. نتایج نشان داد که ترکیبات فنولیک تنها روی باکتری های گرم منفی از جمله باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس اثر ضد میکروبی دارند [15]. در تحقیق دیگر توسط الیوریا و همکاران (2008) که روی خاصیت ضد میکروبی عصاره سه وارپته فندق انجام شد نتیجه مشابهی به دست آمد [32]. نتایج این تحقیق نیز یافته های این محققین را تأیید می کند و نشان می دهد که ترکیبات فنولیک اثر ضد میکروبی بیشتری روی باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی و قارچ ها دارند.

مقالات زیادی در مورد فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولیک گزارش شده است. با وجود این، سازوکار این ترکیبات به روشنی مشخص نشده است. پربندل و رایت²³ (1977) گزارش کرده اند که اثر ترکیبات فنولیک وابسته به غلظت می باشد. در غلظت های پایین، ترکیبات فنولیک بر فعالیت آنزیم ها به ویژه آنزیم هایی که در ارتباط با تولید انرژی هستند اثر می گذارند، در صورتیکه در غلظت های بالاتر، ترکیبات فنولیک باعث غیرطبیعی شدن پروتئین ها می شوند. اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب ها و تولید سم می تواند در نتیجه قابلیت ترکیبات فنولیک در تغییر پذیری دیواره ی سلولی و خروج ماکرومولکول ها از درون سلول نیز باشد. همچنین این ترکیبات می توانند با پروتئین های غشاء واکنش داده و باعث تغییر شکل این پروتئین ها و به تبع آن تغییر در عملکرد آن ها شوند. ریکرمونوز²⁴ و همکاران (1987) پس از اینکه نشان دادند که ترکیبات فنولیک مختلف اثرات مختلفی روی غشاء استافیلوکوکوس اورئوس دارند، نتیجه گرفتند که ترکیبات فنولیک احتمالاً یک سازوکار مشترک ندارند و ممکن است که هدف های مختلفی در ارتباط با اثر ضد میکروبی آن ها وجود داشته باشد [33].

23. Prindle and Wright

24. Rico Muñoz

- L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2326–2331.
- [16] Arnao, M.B., Cano, A. and Acosta, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73, 239–244.
- [17] Chakraborty, M. and Mitra, A. 2008. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. *Food Chemistry*, 107, 994–999.
- [18] Rababah, T.M., Hettiarachchy, N.S. and Horax, R. 2004. Total Phenolics and Antioxidant Activities of Fenugreek, Green Tea, Black Tea, Grape Seed, Ginger, Rosemary, Gotu Kola, and Ginkgo Extracts, Vitamin E, and tert-Butylhydroquinone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5183–5186
- [19] Arcan, I. and Yemenicioglu, A. 2009. Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 184–188.
- [20] Mayachiew, P. and Devahastin, S. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *LWT*, 41, 1153–1159.
- [21] Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valento, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R. and Estevinho, L. 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antimicrobial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2287–2295.
- [22] Ordonez, A.A.L., Gomez, J.D., Vattuone, M.A. and Isla, M.I. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 97, 452–458.
- [23] Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdibadi, H. 2008. Antioxidant Activity and Chemical Characterization of Essential Oil of *Bunium persicum*. *Plant Foods and Human Nutrition*, 63, 183–188.
- [24] Sfahlan, A.J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R. and Jamei, R. 2009. Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 115, 529–533.
- Antioxidants: Toxicological aspects of food antioxidant. New York, Marcel Dekker, pp. 5–56.
- [6] Pereira, J.A., Oliveira, I., Sousa, A., Valento, P., Andrade, P.B., Ferreira, I.C.F.R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R. and Estevinho, L. 2007. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: phenolic compounds, antimicrobial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2287–2295.
- [7] Duarte, M.P., Laires, A.N, Gaspar, J, Leão, D, Oliveira, J.S. and Rueff, J. 1999. Genotoxicity of instant coffee: possible involvement of phenolic Compounds. *Mutation Research*. 442, 43–51.
- 103, 521–527.
- [8] Kay, C. D. and Holub, B. J. 2002. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 88, 389–398.
- [9] Wang, H., Nair, M. G., Strasburg, G. M., Chang, Y., Booren, A. M., Gray, J. I. and DeWitt, D. L. 1999. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products*, 62, 294–296.
- [10] Abrishami, M. 1994. Iranian pistachio, historical recognition. *Sahami Compony of Enteshar*. Tehran. 669p (In Persian).
- [11] Anonymous, 2005. *Iran Statistical Year Book* 2005. [Http://eamar.sci.org.ir/index_e.aspx](http://eamar.sci.org.ir/index_e.aspx).
- [12] Goli, A. H., Barzegar, M. and Sahari, M. A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92, 521–525.
- [13] Hokmabadi, H. 1998. Effect of different sugars on the quality and quantity properties of pistachio of Kaleghochi variety. MS C theses of husbandry, Faculty of agriculture, Tarbiat Modares University, 88p (In Persian).
- [14] Waterhouse, A.L. 2002. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry: Determination of Total Phenolics*. New York: John Wiley and Sons.
- [15] Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J.A. 2009. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia*

- activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*, 80, 393–397.
- [30] Bhunia, A.K., 2008. *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. In: A.K. Bhunia (Edn.), *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*. Springer, New York, USA. pp.135-147.
- [31] Cushnie, T.P.T., Lamb and A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavanoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343–356.
- [32] Oliveirab, I., Sousa, A., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J.A. 2008. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1801–1807.
- [32] Davidson, P.M., Sofos, J.N. and Branen, A.L. (2005). *Antimicrobials in food*. CRC press, Taylor & Francis, Boca Raton, FL.
- [25] Watanabe, M., Ohshita, Y. and Tsushida, T. 1997. Antioxidant compounds from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 1039-1044.
- [26] Duh, P.; Yen, W.J.; Du, P.C.; Yen, G.C. 1997. Antioxidant activity of mung bean hulls. *Journal of American Oil Chemist Society*, 74, 1059- 1063.
- [27] Asamarai, A.M., Addis, P.B., Epley, R.J., Krick, T.P. 1996. Wild rice hulls antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 126-130.
- [28] Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 4113-4117.
- [29] Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. 2003. Antioxidant and antimutagenic

Investigation on antioxidative and antimicrobial activities of pistachio (*Pistachia vera*) green hull extracts

Rajaei, A. ^{1*}, Barzegar, M. ², Sahari, M. A. ³

1-Ph. D. Student of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2-Associate Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, P. O. Box 14115-336, Tehran, Iran.

3-Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

(Received:87/10/25 Accepted: 88/1/25)

Phenolic compounds, especially those of plants origin, are an essential part of the human diet, and are of considerable interest due to their antioxidant properties. The total phenolics content (TPC) and antioxidant and antimicrobial activities of pistachio green hull methanolic extracts of five different cultivars (Fandoghi, Kaleghochi, Ahmadaghai, Forotani and Seyed ali aghai) were studied. TPC ranged from 15.3 mg/g of GAE (cv. Kaleghochi) to 31.1 mg/g of GAE (cv. Ahmadaghai). The antioxidant capacity of extracts was assessed through DPPH and ABTS methods. A concentration-dependent antioxidative capacity was verified in both methods for all the cultivars. Antioxidant activity of Ahmadaghai cultivar in both methods was more than the other cultivars. The antimicrobial capacity was screened against Gram positive and Gram negative bacteria, and fungi. All the extracts inhibited the growth of Gram positive bacteria of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. *Bacillus cereus* was more susceptible than *Staphylococcus aureus* for all the extracts. The results obtained in this study showed that pistachio green hull can be used as a cheap and easily accessible source of natural bioactive compounds.

Keywords: Pistachio green hull, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Antimicrobial activity

* Corresponding author E-mail address: mbb@modares.ac.ir