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

احمد رجایی[1]، محسن برزگر[2*]، محمد علی سحری[2]

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

2- دانشیارگروه 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 منشا گیاهی دارند، به دلیل خصوصیات آنتی‌اکسیدانی‌شان بخش اساسی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. مقدار فنولیک کل و فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره ی متانولی پوست سبز چند رقم پسته‌ی ایرانی (فندقی، 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 آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از دو روش DPPH و ABTS مورد ارزیابی قرار گرفت. در هر دو روش وابستگی غلظت با خاصیت آنتی اکسیدانی در تمام رقم‌ها مشاهده گردید. خاصیت آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی

## 1- مقدمه

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 استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. در سال‌های اخیر به دلایل مربوط به سلامتی توجه زیادی به آنتی اکسیدان‌های 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 کننده ی فلزات و فرونشاننده ی

* مسوول مکاتبات: mbb@modares.ac.ir



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

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. گونه های 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 بی همتاست[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 از380 هزار هکتار زمین زیر کشت بوده که حدود 55 درصد آن در استان کرمان می باشد [11] .

گلی و همکاران در سال 2005 نشان دادند که پوست سبز پسته حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولیک می باشد 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 می دهد [13] و پسته به طور انبوهی در کشور تولید می شود، مقدار پوست حاصل از آن، زیاد خواهد بود. نظر به اینکه وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی پوست سبز پسته در تحقیقات نشان داده شده است و همچنین با توجه به تولید انبوه آن امکان تولید صنعتی آنتی اکسیدان های طبیعی حاصل از پوست پسته وجود دارد. هدف از این تحقیق تعیین میزان ترکیبات فنولیک پوست سبز پسته چند واریته ی 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، فندقی، کله قوچی، سید علی آقایی و فروتنی) از مرکز تحقیقات کشاورزی 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 *اشریشیاکلی*[1](PTCC 1330)، *سالمونلا تایفی موریوم*[2](PTCC 1609)، *سودوموناس ائروژنس*[3](PTCC 1430) ، *استافیلوکوکوس اورئوس*[4] (PTCC 1431)، *باسیلوس سرئوس*[5](PTCC 1015)، *کاندیدا آلبیکنس*[6](PTCC 5027) و *نوروسپورا اینترمدیا*[7] (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 اندازه گیری مقدار فنولیک کل از روش فولین استفاده گردید. به منظور انجام آزمایش، ابتدا40 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 نمونه ها در

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



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

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 $DPPH^{\bullet}$ مطابق با روش اولیوریا[9] و همکاران انجام گرفت[15]. 0/2 میلی‌لیتر عصاره در غلظت‌های مختلف به 4 میلی‌لیتر از محلول متانولی $6\times10^{-5}$ مولار رادیکال آزاد $DPPH^{\bullet}$ افزوده و60 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 میلی‌لیتر متانول به همراه 4 میلی‌لیتر محلول $DPPH^{\bullet}$ 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:

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

در این رابطه:

$A_{sample}$ = میزان جذب نمونه

$A_{Control}$ = میزان جذب شاهد

RSA = فعالیت گیرندگی رادیکال است.

به‌جهت 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 $DPPH^{\bullet}$ اولیه به 50٪ مقدار اولیه است.

## 2-6- بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی با آزمون ABTS[11]

آزمون ABTS مطابق با روش آرناو[12] و همکاران با اندکی تغییر انجام شد[16]. محلول‌های پایه ABTS (7/4 میلی‌مولار) و پتاسیم پرسولفات (2/6 میلی‌مولار) تهیه شد و در ادامه محلول اصلی $ABTS^{\bullet+}$ بوسیله ی مخلوط کردن دومحلول پایه به مقدار 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 0/02±1/00 در طول موج 734 نانومتر رقیق شد. 0/2 میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید و عصاره‌ها به 4 میلی‌لیتر از محلول تازه تهیه شده ی $ABTS^{\bullet+}$ اضافه شد و به مدت 2 ساعت در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب نمونه ها 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 میترا[13] با اندکی تغییر انجام شد[ 17]. به منظور انجام آزمایش ابتدا ریزسازواره‌های مورد نظر در محیط کشت نوترینت براث[14] فعال گردید. سپس از ریزسازواره‌های فعال شده سوسپانسیونی معادل با نیم مک فارلند[15] تهیه شد (در هر 1 سی سی معادل نیم مک‌فارلند $1/5\times10^{8}$ سلول باکتری وجود دارد).

پس از تهیه ی سوسپانسیون 0/1 میلی‌لیتر از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار[16] به طور یکنواخت پخش گردید. سپس30 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر روی دیسک‌های کاغذی (6 میلی‌متری) 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 میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

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

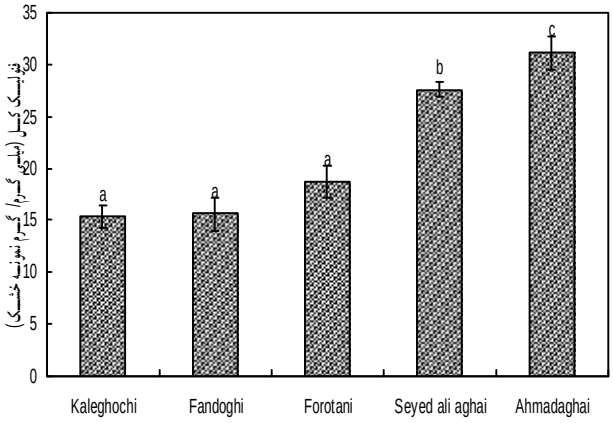


[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

# 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 (شکل1).




**شکل1** مقدار ترکیبات فنولیک کل پوست سبز پنج رقم پسته ی مورد مطالعه.

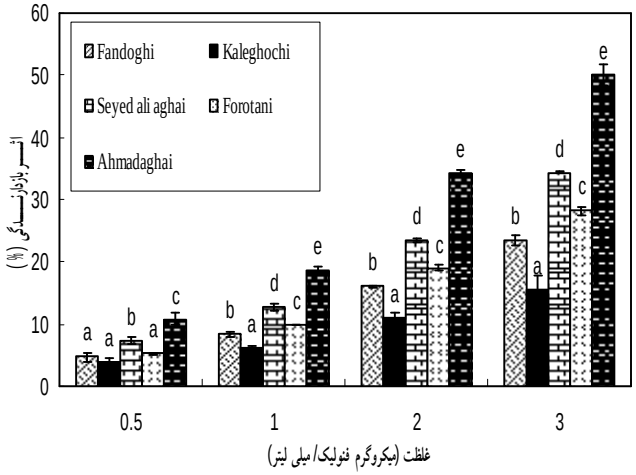
مقدار ترکیبات فنولیک رقم‌های کله قوچی (15/3 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک )، فندقی (15/6 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک) و فروتنی (18/3 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک) از نظر آماری اختلاف معنی داری ($P<0.05$) نداشتند.

در تحقیقی که راباباه و همکاران (2004) انجام دادند میزان ترکیبات فنولیک شنبلیله، چای سبز، چای 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 یمنیسیکلو[17] (2009) میزان ترکیبات فنولیک مغز فندق، گردو و پسته را به ترتیب 4/25، 5/89 و 4/61 میلی‌گرم فنولیک / گرم نمونه خشک گزارش کردند [19].

## 3-2- فعالیت آنتی اکسیدانی

در این تحقیق قدرت آنتی اکسیدانی 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 رادیگال‌های آزاد ترکیبات خالص یا گیاهی مختلف به کار می‌رود[20و21]. 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).




**شکل2** 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 آنتی اکسیدانی 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 بازدارندگی10/9 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 آنتی اکسیدانی قوی را در مقایسه با ترکیب استاندارد(BHT[18]) 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

17. Arcan and Yemenicioglu

18. 2, 6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

دیگر وجود داشت. در مورد $EC_{50}$ هر چه مقدار آن کمتر باشد نشان دهنده‌ی میزان فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی می باشد.

در آزمون ABTS فعالیت بازدارندگی رادیکال $ABTS^{+}$ عصاره‌ها 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 رقم‌ها خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به BHT از خود نشان دادند (جدول1).

**جدول1** خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ی پوست سبز پنج رقم پسته تعیین شده با آزمون‌های 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 |
| فروتنی | $^{ab}$5/1±0/2 | $^{b}$2/3±0/1 |
| سید علی آقایی | $^{ab}$4/2±0/2 | $^{c}$1/8±0/1 |
| 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 ستون‌های مشابه نشان دهنده ی تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$ آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

در آزمون های DPPH و ABTS اگرچه مقدار ترکیبات فنولیک عصاره‌های حاصل در برخی از رقم‌ها کمتر از استاندارد BHT بود اما فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره‌ها بیشتر بود. این نتیجه نشان می‌دهد که نوع ترکیب فنولیک بیشتر از مقدار آن در فعالیت آنتی اکسیدانی نقش دارد. این نتایج با نتایج کارهای دیگران از جمله راباباه[19] و همکاران (2004) مطابقت دارد که این محققین گزارش کرده‌اند 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 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 اندازه‌گیری کردند. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مغز فندوق، گردو و پسته به ترتیب 35/7، 90/5 و 44/4 میکرو مولار معادل تورولوکس[20] *l* گرم نمونه خشک بود [19]. اردونز[21] و همکاران (2006) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه ***Sechium edule*** را با روش DPPH اندازه‌گیری کردند. میزان $EC_{50}$ این عصاره 2 میکروگرم */*میلی‌لیتر بود [22]. شهسواری و همکاران در سال 2008، فعالیت آنتی رادیکالی اسانس گیاه زیره‌ی کوهی (*Bunium persicum* L.) را با دو روش $DPPH^{\bullet}$ و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن اندازه‌گیری کرده و میزان $EC_{50}$، 0/04 mg/ml ± 0/88 و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در سطح 0/45٪، 80٪ تعیین شد، که تقریبا 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 آفتابگران [28] انجام شده است.

## 3-3- فعالیت ضد میکروبی

عصاره‌های متانولی رقم‌های مختلف پوست سبز پسته به منظور تعیین خصوصیات ضد میکروبی در مقابل ریزسازواره های *اشریشیاکلی* ، *سالمونلا تایفی موریوم*، *سودوموناس ائروژنس* ، *استافیلوکوکوس اورئوس* ، *باسیلوس سرئوس*، *کاندیدا آلبیکنس* و *نوروسپورا اینترمدیا* غربال شدند. نتایج انتشار دیسکی نشان داد که در مورد تمام رقم های آزمایش شده باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی و همچنین قارچ‌ها حساس‌تر هستند (جدول ۷) که نتایج مسابقی به‌وسیله‌ی محققین دیگر در این زمینه به دست آمده است[15]. به طور کلی باکتری های گرم منفی نسبت به گرم مثبت‌ها نسبت به ترکیبات فنولیک مقاومتر هستند که این تفاوت شاید به دلیل تفاوت در ساختمان دیواره‌ی سلولی آن‌ها باشد[29]. عصاره‌ی متانولی حاصل از رقم کله قوچی در مورد هر دو باکتری *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*

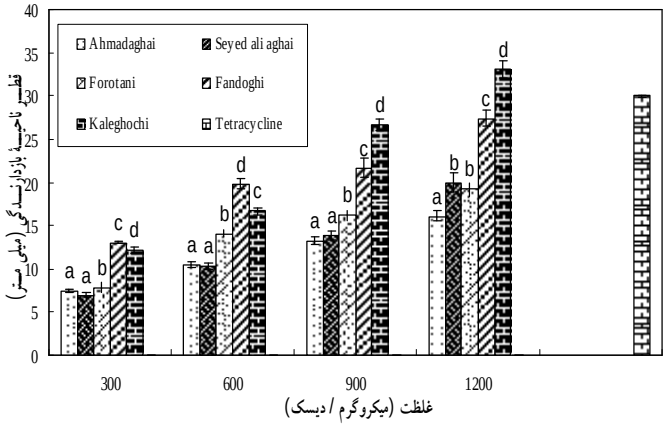
19. Rababah

20.Trolox
21. Ordonez

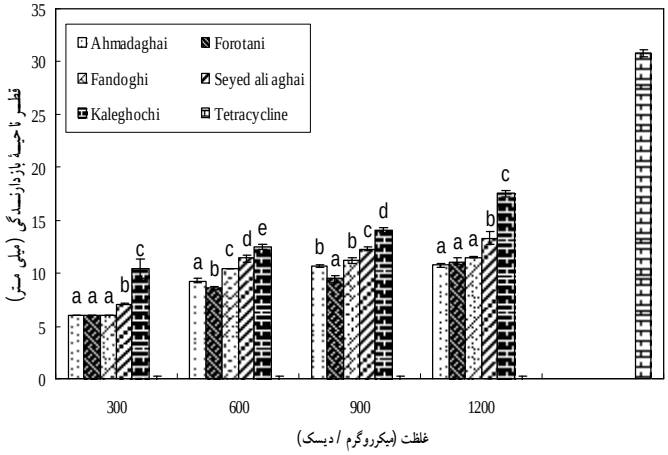


[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

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




**شکل3** مقایسه ی اثر ضد میکروبی پوست سبز پنج رقم پسته ی مورد مطالعه مربوط به باکتری باسیلوس سرئوس




**شکل** 4 مقایسه ی اثر ضد میکروبی پوست سبز پنج رقم پسته ی مورد مطالعه مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس.

**جدول2** فعالیت ضد میکروبی عصاره ی متانولی رقم‌های مختلف بر ریزسازواره‌های آزمایش شده بر اساس روش انتشار دیسکی

| | فندقی | فرونتی | سید علی آقایی | کله‌قوچی | احمد آقایی | تتراسایکلین |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *باسیلوس سرئوس* | + | + | + | + | + | + |
| *استافیلوکوکوس اورئوس* | + | + | + | + | + | + |
| *اشریشیاکلی* | - | - | - | - | - | + |
| *سلمونلا تایفی موریوم* | - | - | - | - | - | + |
| *سودوموناس ائروژنس* | - | - | - | - | - | + |
| *کلبسیلا آلیکنس* | - | - | - | - | - | - |
| *نوروسپورا ایترمدیا* | - | - | - | - | - | - |

+: عدم مشاهده ی رشد باکتری اطراف دیسک; - : مشاهده ی 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[15و30]. ترکیبات طبیعی ممکن است منبع غنی از عوامل ضد عفونی باشند. به‌عنوان مثال، فلاونوئیدها فعالیت ضدمیکروبی از خود نشان داده‌اند، همچنین کوئرستین و ترکیبات وابسته‌ی دیگر اساساً به عنوان بازدارنده ی آنزیم DNA گیراز[22] عمل می‌کنند[31].

22 . DNA gyrase



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

تحقیقات متعددی روی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاهان مختلف انجام شده است. از جمله این تحقیقات می‌توان 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 باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت، مخمر و کپک بررسی شد. نتایج نشان داد که ترکیبات فنولیک تنها روی باکتری‌های 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 واریته فندق انجام شد نتیجه مشابهی به دست آمد [32]. نتایج این تحقیق نیز یافته‌های این محققین را تائید می‌کند و نشان می‌دهد که ترکیبات فنولیک اثر ضد میکروبی بیشتری روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌ها دارند.

مقالات زیادی در مورد فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات فنولیک گزارش شده است. با وجود این، سازوکار این ترکیبات به روشنی مشخص نشده است. پریتدل و رایت[23] (1977) گزارش کرده‌اند که اثر ترکیبات فنولیک وابسته به غلظت می‌باشد. در غلظت‌های پایین، ترکیبات فنولیک بر فعالیت آنزیم‌ها به‌ویژه آنزیم‌هایی که در ارتباط با تولید انرژی هستند اثر می‌گذارند، در صورتیکه در غلظت‌های بالاتر، ترکیبات فنولیک باعث غیرطبیعی شدن پروتئین‌ها می‌شوند. اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب‌ها و تولید سم می‌تواند در نتیجه‌ی قابلیت ترکیبات فنولیک در تغییر پذیری دیواره‌ی 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 پروتئین‌ها و به تبع آن تغییر در عملکرد آن‌ها شوند. ریکرمونوز[24] 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 آن‌ها وجود داشته باشد[33].

23. Prindle and Wright
24. Rico Muñoz

## 4- نتیجه‌گیری کلی

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که پوست سبز پسته می‌تواند به عنوان یک منبع ارزان و قابل دسترس ترکیبات فعال زیستی استفاده شود. تمام رقم‌های 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، عصاره‌ی حاصل از رقم احمد آقایی خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به رقم‌های دیگر داشت. علاوه‌براین، عصاره‌ی تمام رقم‌ها خاصیت ضدمیکروبی بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیماریزا از خود نشان دادند. مطالعه‌های بیشتری به منظور شناسایی ترکیبات فنولیک موجود در این رقم‌ها و همچنین اثر هر کدام از این ترکیبات بر روی خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی ضروری می‌باشد.

## 5- سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از قطب علمی مهندسی بازیافت و کاهش ضایعات محصولات استراتژیک کشاورزی به دلیل حمایت‌های مالی ابراز می‌دارند.

## 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-hydrononenal, 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

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

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 lsla. 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, Lea˜o, 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.
[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

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

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

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]

# 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

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-28 ]