

بررسی میزان فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی صمغ گیاه *Pistacia atlantica* از منطقه سراوان (استان سیستان و بلوچستان)

زهرا صادقی^۱، جعفر ولی‌زاده^۲، امید عزیزیان شرمه^{۳*}

^۱مربی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مجتمع آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران
^۲دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران
^۳کارشناس ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲

چکیده

صمغ درخت بنه *Pistacia atlantica* در طب سنتی بلوچستان به صورت خوراکی و موضعی در درمان بیماری‌های عفونی به کار می‌رود. در این پژوهش مقدار فنل، فلاونوئید کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آلی و آبی صمغ و دود حاصل از سوزاندن صمغ بنه بررسی شد. برای سنجش میزان فنل و فلاونوئید به ترتیب از معرف‌های فولین سیوکالتیو و AlCl_3 و برای اندازه‌گیری پتانسیل آنتی‌اکسیدانی از دو روش DPPH و FRAP استفاده شد. نتایج نشان داد محتوای فنلی و فلاونوئیدی برای نمونه‌ها به ترتیب در محدوده $7/04 - 4/07$ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک و $1/34 - 0/65$ میلی‌گرم کوئرستینی در هر گرم وزن خشک می‌باشد که عصاره متانولی صمغ با $7/04 \pm 0/15$ میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم وزن خشک بیشترین مقدار فلاونوئید نسبت به سایر عصاره‌ها برخوردار بود. در ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH محدوده غلظت مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌ها $340/08 - 122/043$ $\mu\text{g/ml}$ می‌باشد که عصاره متانولی صمغ با مقدار $122/043 \pm 2/3$ $\mu\text{g/ml}$ دارای بیشترین قدرت مهارکنندگی است. توان آنتی‌اکسیدانی در روش FRAP در محدوده $(\text{mM Fe}^{2+}/\text{mg sample})$ $33/44 - 16/03$ می‌باشد که عصاره متانولی با مقدار $\text{mM Fe}^{2+}/\text{mg}$ $33/44 \pm 1/7$ از توان بالاتری برای احیای آهن برخوردار است و اینکه عصاره‌های کلروفرمی از مقادیر کم فنل، فلاونوئید و حداقل فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار است. میزان همبستگی داده‌ها با نرم‌افزار SPSS بررسی گردید. صمغ گیاه بنه به دلیل تولید ترکیبات فنلی از خاصیت آنتی‌اکسیدانی مناسبی نیز برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، بنه، ترکیبات فنلی، فلاونوئید، سیستان و بلوچستان

*نویسنده مسئول: omid_aziziyan@yahoo.com

مقدمه

مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی

انسان ایفا نمایندند (Shariatifar *et al.*, 2012).

پسته با نام علمی *Pistacia* (تیره *Anacardiaceae*) شامل ۱۵ گونه است که سه گونه آن شامل پسته خندان^۱، بنه^۲ و خنجوک^۳ در ایران وجود دارد (Taran *et al.*, 2010). بنه به صورت درختان کوتاه و یا درختچه‌ای یکی از مهمترین گونه‌های وحشی پسته است که دارای ۳ زیرگونه کابولیکا^۴، کردیکا^۵ و موتیکا^۶ می‌باشد. این گیاه از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان انتشار می‌یابد. بنه در ایران در حد فاصل استان‌های فارس و کردستان به صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به صورت پراکنده دیده می‌شود (Saffarzadeh *et al.*, 1999; Daryaei *et al.*, 2011; Salimi *et al.*, 2012).

مناطق انتشار بنه در منطقه بلوچستان ارتفاعات تفتان، ارتفاعات ناهوک سراوان و بیرک مهرستان و ارتفاعات سرباز و لاشار است (Ghanavati *et al.*, 2003). میوه بنه در حالت تازه کمی گرم و خشک بوده و مدر و قاعده آور است. میوه خشک آن بدلیل چربی بالای آن مصرف خوراکی دارد و از آن برای تهیه غذا استفاده می‌کنند. روغن مغز میوه بنه گرم و خشک و برای تقویت اعصاب، قوای جنسی، معده و کلیه بسیار مفید است. صمغ حاصل از تنه درخت بنه دارای خاصیت ضد عفونی کننده می‌باشد. برای تسکین زخم معده و ناراحتی‌های گوارش به کار می‌رود و برای خوشبو کردن دهان به عنوان آدامس باعث استحکام بافت لثه می‌شود. همچنین ملین، مدر تسکین دهنده و ضد نفخ می‌باشد. در زبان بلوچی به بنه، گون یا ون گویند و سقز بدست آمده از بنه گونجک نامیده می‌شود. در میان مردم بلوچ صمغ این گیاه برای التیام زخم و بیماری‌های حرکتی مورد استفاده است. علاوه

واکنش‌های اکسیداسیون به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند استرس اکسیداتیو در سلول‌ها را کاهش داده و قادر به مهار رادیکال‌های آزاد، جلوگیری از اکسیداسیون، تقویت دستگاه ایمنی و دارای اثرات ضد میکروبی، ضد سرطانی و کاهش علائم آسیب‌های مغزی، کاتاراکت، رتینوپاتی و دیابت هستند (Ebrahimzadeh 2008; Mohajerani 2012). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو صورت طبیعی و سنتزی وجود دارند. در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی نظیر TBHQ، BHT، BHA همانند سایر افزودنی‌های شیمیایی به دلیل سمیت احتمالی و سرطان‌زایی آنها، محدود شده است. امروزه بیشتر تحقیقات صورت گرفته بر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های جدید و بدون خطر از منابع گیاهی، حیوانی، میکروبی و غذایی تمرکز یافته است (Mohammadi *et al.*, 2013; Pourreza, 2014). ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در گیاهان از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند که توان آنتی‌اکسیدانی مشابهی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، بدون اثرات جانبی دارند (Shashi *et al.*, 2013; Salmanian *et al.*, 2014).

از این رو تجویز آن‌ها برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مفید و مؤثر است. ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات فیتوشیمیایی هستند که انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیکی متنوع این ترکیبات از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد التهاب و گشاد کنندگی عروق آنها در بسیاری از بررسی‌ها گزارش شده است (Jamshidi *et al.*, 2010). این دسته از ترکیبات با داشتن خواص بیولوژیکی می‌توانند نقش

4. *Cabulica*
5. *Kurdica*
6. *Mutica*

1. *Pistacia vera*
2. *Pistacia atlantica*
3. *Pistacia khinjuk*

به گونه خنجوک برخوردار بود (Tohidi *et al.*, 2011). حاتم نیا و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار فنل کل قسمت‌های مختلف میوه ۵ ژنوتیپ بنه را مورد مطالعه قرار دادند (Hatamnia *et al.*, 2014). تحقیقات زیادی بر روی صمغ گیاه بنه انجام نگرفته است. حسینی و همکاران فعالیت ضد باکتریایی اسانس صمغ بنه منطقه بوکان (غرب ایران) را مورد مطالعه قرار دادند (Hosseini *et al.*, 2013). سلیمی و همکاران اسانس صمغ بنه منطقه بانه استان کردستان را آنالیز کرده و ترکیبات اصلی اسانس را مشخص کردند (Salimi *et al.*, 2011). با توجه به این که عوامل بسیار زیادی از جمله اقلیم، خاک و ارتفاع، اختلاف در گونه‌های گیاهی، روش‌ها و حلال‌های استخراج و روش‌های مختلف اندازه‌گیری در میزان متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل تام و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند (Mirzaei *et al.*, 2011)، ضرورت انجام تحقیق بروی میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بنه در منطقه سراوان قابل توجه است. این مطالعه، میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در عصاره‌های آبی و آلی صمغ و برای اولین بار در دود طبی حاصل از سوختن صمغ که بیشتر برای درمان بیماری‌های عفونی به کار می‌روند مورد بررسی قرار می‌دهد.

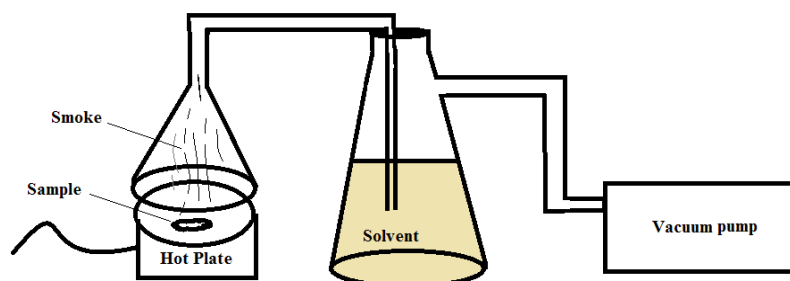
مواد و روش‌ها

در این تحقیق آزمایشگاهی صمغ تازه درخت بنه در خردادماه ۱۳۹۳ از عطاری شهرستان سراوان خریداری شد. برای تهیه هریک از عصاره‌های آبی و آلی مقدار ۵ گرم از نمونه به دقت توزین و به کار رفت. عمل عصاره‌گیری از صمغ بنه توسط حلال‌های متانول، آب و کلروفرم به روش خیساندن به مدت ۴۸ ساعت انجام شد (Zohouri *et al.*, 2014). عمل استحصال دود توسط دستگاه طراحی شده به این

بر این، صمغ این گیاه به صورت خوراکی (جوشانده) و موضعی (دود و شستشو) برای درمان بیماری‌های عفونی واژینال توسط زنان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Bozorgi *et al.*, 2013; Mosaddegh *et al.*, 2012; Sadeghi *et al.*, 2014). در عصاره مجاری رزینی بنه، هم صمغ و هم رزین وجود دارد که برای سهولت، فقط از اصطلاح صمغ در متن استفاده شده است. تاکنون مطالعات فارماکولوژیکی مختلفی نظیر خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بر روی میوه و برگ گیاه بنه انجام شده است. بهره‌بر و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی میوه بنه را به صورت برون تنی و درون تنی در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد عصاره متانولی بنه دارای بیشترین مقدار متابولیت‌های شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (Bahrebar *et al.*, 2012). پکسل^۱ و همکاران اثرات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌استیل کولین استراز عصاره‌های متانولی و اتیل استاتی برگ گیاه بنه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد هر دو عصاره اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی را در مقایسه با نمونه‌های سنتزی نظیر BHT و BHA و α توکوفرول نشان دادند. فعالیت بازدارندگی آنزیم استیل کولین استراز عصاره اتیل استات بیش از اثرات بازدارندگی عصاره متانولی می‌باشد (Peksel *et al.*, 2010). در تحقیق دیگری که توسط بنهامو و همکاران فعالیت آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های برگ بنه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج یک اثر ضد قارچ قوی و ضد باکتری ضعیف و همچنین قدرت کاهندگی قوی را با معرف‌های EEPL و EEPA در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد اما توان روبندگی آنیون سوپر اکساید عصاره‌ها پایین بود (Benhammou *et al.*, 2008). توحیدی و همکاران نیز اثرات آنتی‌باکتریال گونه خنجوک و بنه را مطالعه کردند که گونه بنه از اثرات ضدباکتری کمتری نسبت

1. Peksel

عصاره‌گیری، حلال نمونه تبخیر و عصاره‌های تغلیظ شده برای انجام تست‌های مورد نظر در یخچال نگهداری شد.



شکل ۱- دستگاه طراحی شده به منظور استحصال عصاره متانولی دود حاصل از سوختن صمغ بنه

درصد متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱M) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب محلول‌ها در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین (Quercetin, Sigma Chemical Co.) در حلال متانول در غلظت‌های $1000-250 \mu\text{g. ml}^{-1}$ تهیه شد و منحنی با نرم افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط $y=ax+b$ بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت (واحد) بدست آمد. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی^۱ به کمک ۲-۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH (سیگما-آلدریچ) ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار آن به راحتی به صورت رادیکال در آمده و در واقع منبع رادیکال

منظور (شکل ۱)، در ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول انجام شد. به منظور جلوگیری از تخریب شدید ترکیبات موثره موجود در صمغ و ایجاد ترکیبات سمی و رادیکال از حرارت ملایم برای ایجاد دود استفاده شد. پس از

اندازه‌گیری مقدار فنول کل: محتوی فنول کل با استفاده از معرف فولین - سیوکالتیو توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis مدل (UNICO UV 2100) اندازه‌گیری شد. به نیم میلی‌لیتر از عصاره‌ها (مقدار ۰/۰۰۵ گرم پودر نمونه در ۱ میلی‌لیتر متانول)، ۲ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد کربنات سدیم به آن اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد (Wojdylo et al., 2007). گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان فنول کل بر اساس میزان معادل "میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره" گزارش گردید. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد.

تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل: از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئید کل استفاده شد (Chang et al., 2002). هر کدام از عصاره‌های گیاهی (۰/۵ ml) از 10 g. ml^{-1} به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰

3. Benzie
4. Strain

1. Radical Scavenging Capacity
2. Ferric ion reducing antioxidant power

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد سپس جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. فعالیت احیاکنندگی نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی مول یون آهن (II) بر میلی‌گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد. در این آزمایش از آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و پس از سه بار تکرار آزمایش، میانگین آنها گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده به صورت انحراف معیار \pm میانگین (Mean \pm SD) برای سه بار تکرار محاسبه و از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. برای بررسی رابطه بین آزمایشات آنتی‌اکسیدانی و فنل و فلاونوئید کل از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج

در این تحقیق میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل و فلاونوئید کل ۴ عصاره مختلف صمغ بنه مورد سنجش قرار گرفت. غلظت تمام عصاره‌ها برای کلیه آزمایشات ۱ mg/ml به کار رفت. قدرت مهار رادیکال‌های آزاد توسط آزمایش DPPH مورد بررسی قرار گرفت علاوه بر این روش قدرت احیاءکنندگی آهن، FRAP برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی صمغ استفاده شد. در روش DPPH با افزایش غلظت عصاره‌ها، مهار رادیکال‌ها با قدرت بیشتری صورت گرفت. برای محاسبه مقدار IC_{50} ابتدا منحنی کالیبراسیونی قدرت بازداری (%IP) بر حسب غلظت ($\mu\text{g/ml}$) رسم شد (شکل ۲) و معادله خط نمودار بدست آمده و با جایگزین کردن عدد ۵۰ در محور y مقدار IC_{50} از محور x محاسبه شد. غلظتی از عصاره‌ها که ۵۰ درصد مهار رادیکالی را منجر شد در جدول ۱ و در مقایسه با بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) آورده شده است. محدوده پتانسیل آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH نشان داد که عصاره متانولی

آزاد می‌باشد. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش DPPH در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد (Thaipong *et al.*, 2006; Kamkar *et al.*, 2009). غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها به همراه ۱ میلی‌لیتر از DPPH ۰/۱ میلی‌مولار و ۱ میلی‌لیتر متانول تهیه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه قرار دادن در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با DPPH در مقابل بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%IP = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

%IP: درصد مهار رادیکال‌های آزاد (درصد بازداری آنتی‌اکسیدان در برابر رادیکال‌های آزاد)

A_{blank} : جذب شاهد (که حاوی ۱ میلی‌لیتر از متانول در ۱ میلی‌لیتر از محلول DPPH می‌باشد)

A_{Sample} : جذب نمونه (که حاوی حجم‌های مختلفی از عصاره گیاهی (آنتی‌اکسیدان)، متانول و محلول DPPH می‌باشد)

در این تست از بوتیلات هیدروکسی تولوئن، BHT، (یک آنتی‌اکسیدان سنتزی) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید و کلیه آزمایشات سه بار تکرار شدند و میانگین آنها گزارش شد.

اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی به روش احیاء یون آهن (III)، FRAP: برای اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن روش بنزی^۳ و استرین^۴ با کمی تغییر مورد استفاده قرار گرفت. اصل این روش مبتنی بر کاهش کمپلکس فریک تری پیریدیل تری آزین، به فرم فرس در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها است (Shahwar *et al.*, 2012; Chaouche *et al.*, 2013). در لوله آزمایش به ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره (با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال آب) مقدار ۱/۸ میلی‌لیتر از محلول تازه فرپ افزوده شد (محلول فرپ با افزودن ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ قبل از انجام آزمایش تهیه شد). مخلوط فوق ۵ دقیقه در

نتایج به دست آمده در جدول ۲ گزارش شده است. یافته‌ها نشان می‌دهند که عصاره متانولی صمغ با مقدار $7/04 \pm 0/15$ میلی گرم گالیک اسید بر گرم نمونه، بیشترین مقدار فنول و با مقدار $1/34 \pm 0/15$ میلی گرم کوئرستین بر گرم خشک نمونه بیشترین مقدار فلاونوئید را به خود اختصاص داده است. نتایج ثابت کرد عصاره‌های کلروفرمی از مقادیر پایین فنل و فلاونوئید برخوردارند. در تمام تست‌های انجام شده عصاره متانولی دود در جایگاه سوم از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار کل فنل و فلاونوئید قرار گرفت. برای بررسی رابطه بین آزمایشات آنتی اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل، از ضرایب همبستگی پیرسون استفاده شد. جدول ۳ ضرایب همبستگی و سطح معنی داری را برای تست‌های آنتی اکسیدانی، مقدار فنول و فلاونوئید کل نشان می‌دهد.

صمغ با مقدار $122/043 \pm 2/3$ $\mu\text{g/ml}$ دارای بیشترین قدرت مهارکنندگی است. شکل ۳ نمودار درصد بازداری غلظت‌های مختلف عصاره صمغ بنه را در مقابل BHT، در روش DPPH نشان می‌دهد. در روش FRAP فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس توانایی احیاء یون فریک (III) به یون فروس (II) سنجیده می‌شود که نتایج بر حسب میلی مول یون فروس بر هر میلی گرم نمونه گزارش شد. عصاره متانولی با مقدار $33/44 \pm 1/7$ از توان بالاتری برای احیاء آهن برخوردار بود (جدول ۱ و شکل ۳). حداقل فعالیت آنتی اکسیدانی در هر دو روش مربوط به عصاره‌های کلروفرمی می‌باشد. به منظور ارزیابی مقدار متابولیت‌های ثانویه که مرتبط با فعالیت آنتی اکسیدانی هستند، محتوای فنلی و فلاونوئیدی صمغ با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مورد سنجش قرار گرفت.

جدول ۱- مقایسه نتایج حاصل از فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها با دو روش DPPH و FRAP در مقابل BHT و آسکوربیک اسید

Sample	DPPH assay IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	FRAP assay mM Fe ²⁺ / mg sample
smoke	294/98 \pm 27/5	21/88 \pm 2/2
methanol extract	122/04 \pm 2/3	33/44 \pm 1/7
aqueous extract	189/48 \pm 4/9	26/41 \pm 2/7
chloroform extract	340/06 \pm 7/6	16/03 \pm 1/3
BHT	4/8 \pm 0/32	----
Ascorbic acid	----	60/75 \pm 2/3

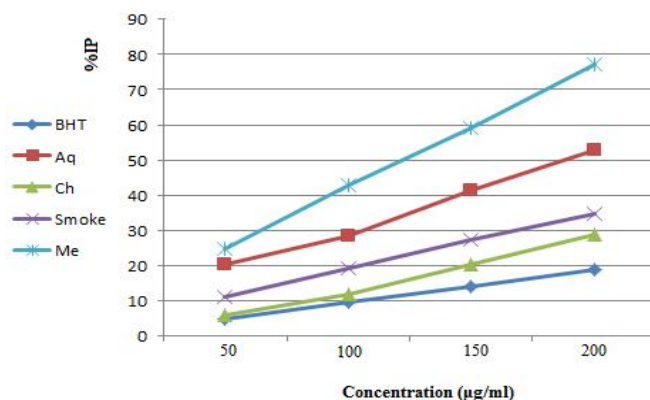
جدول ۲- مقایسه مقادیر فنل و فلاونوئید کل صمغ بنه با حلال‌های مختلف

Sample	Total Flavonoids (mg Quercetin/g DW)	Phenol content (mg Galic acid/g DW)
smoke	0/96 \pm 0/10	5/124 \pm 0/36
methanol extract	1/34 \pm 0/13	7/04 \pm 0/15
aqueous extract	1/22 \pm 0/18	6/14 \pm 0/19
chloroform extract	0/65 \pm 0/14	4/07 \pm 0/12

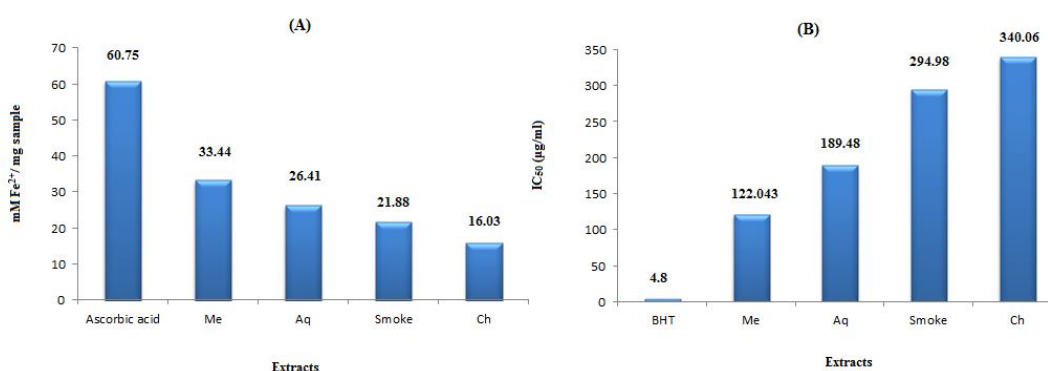
جدول ۳- میزان همبستگی میان فنول و فلاونوئید کل و مقادیر فعالیت آنتی اکسیدانی

FRAP		DPPH		سنجش آنتی اکسیدان
R	مقدار Sig (P)	R	مقدار Sig (P)	
0/994**	0/006	-0/987	0/013**	مقدار فنول کل
0/969*	0/031	-0/966	0/034*	مقدار فلاونوئید کل

** همبستگی در سطح 0/01 معنی دار است؛ * همبستگی در سطح 0/05 معنی دار است.



شکل ۲- منحنی کالیبراسیونی قدرت بازدارنده عصاره‌های مختلف در مقابل BHT در روش DPPH



شکل ۳- پتانسیل آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره صمغ بنه، A: روش FRAP در مقایسه با آسکوربیک اسید
B: روش DPPH در مقایسه با BHT

روش فولین - سیوکالتو از رایج‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنلی است. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهد. مخلوط متانول-آب و یا متانول به تنهایی برای استخراج ترکیبات فنلی به ویژه فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی از بافت گیاهی به کار می‌رود (Mirzaei *et al.*, 2011). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره متانولی صمغ بنه منطقه سراوان دارای ۷/۰۴ میلی‌گرم اسیدگالیک در هر گرم نمونه صمغ می‌باشد. افزایش غلظت ترکیبات فنلی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک ترکیبات فنلی در محیط واکنش، احتمال

بحث

چندین روش برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. بکارگیری حداقل ۲ روش برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی صحت نتایج را تایید می‌کند. در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن (FRAP)، مورد سنجش قرار گرفت. از آنجا که متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند، مقدار فنول و فلاونوئید کل صمغ گیاه بنه نیز به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. در این تحقیق الگوی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل و فلاونوئید کل از بیشترین به کمترین عبارتند از:
عصاره متانولی صمغ < عصاره آبی صمغ < عصاره متانولی دود صمغ < عصاره کلروفومی صمغ

قادر به جداسازی و شناسایی ترکیب آنتی اکسیدانی طبیعی از هیسپولون موجود در بنه شدند (Yousefi et al., 2009). کاواشتی^۱ و همکاران فلاونوئید کوئرستین^۳-گلوکوزید و همچنین آدامز^۲ و همکاران ترکیب فنلی متوکسی کارپاکرومن^۳ را در اندام هوایی بنه گزارش کرده‌اند (Kawashty et al., 2000, Adams et al., 2009). بعضی از تری ترپنوئیدهای موجود در اندام هوایی بنه توسط شریفی و همکاران شناسایی شد که شامل ماستیکادی انونیک اسید^۴ و ماستیکادی انوئیک اسید^۵ و مورولیک اسید^۶ و اولئانویک اسید^۷ و یورسونیک اسید^۸ و ۳-او-استیل-۳-اپیزوماتیکادیئینولیک اسید^۹ می‌باشند (Sharifi et al., 2012). تاکنون مطالعات فارماکولوژی متعددی در مورد میوه و برگ بنه گزارش شده است، اما علی‌رغم اهمیت زیاد صمغ بنه در صنایع غذا و دارو مطالعات زیادی بر روی صمغ، انجام نشده است. حسینی و همکاران فعالیت ضدباکتریایی اسانس صمغ بنه را بر روی استرپتوکوکوس موتانز بررسی کردند نتایج فعالیت ضد باکتریایی مناسبی را برای اسانس صمغ نشان داد (Hosseini et al., 2013). مهمترین مواد تشکیل دهنده صمغ شامل روغن تربانتین و کلوفان می‌باشد (Daryaei et al., 2012). سلیمی و همکاران اسانس صمغ بنه را با GC-MS آنالیز کرده و ترکیبات اصلی اسانس را مشخص کردند که آلفا-پینن ۸۱/۹ درصد و مقدار بتا-پینن ۷/۴ درصد گزارش کردند (Salimi et al., 2011).

در این تحقیق خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار فنول و فلاونوئید کل دود حاصل از سوختن بنه نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در طب سنتی مردم بلوچ دود دادن موضع عفونت به خصوص در بیماری‌های عفونی ادراری و واژینال در زنان، توسط درمانگران محلی بسیار توصیه می‌شود. مطالعات زیادی بر روی

دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. توانایی و قدرت مهارکنندگی فنل‌ها به دلیل گروه‌های هیدروکسیل در ملکول‌های آنهاست. در بین ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قویتری محسوب می‌شوند. فلاونوئیدها بازدارنده‌های قوی رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هستند. فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در روش DPPH بستگی به غلظت عصاره‌های گیاهی دارد. با افزایش غلظت، توانایی دادن الکترون‌ها به رادیکال‌های آزاد و در نتیجه قدرت مهارکنندگی شدت می‌یابد و واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد متوقف می‌شود (Peksel et al., 2010). همچنین ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌توانند باعث افزایش احیاء آهن شوند (Pourreza et al., 2013; Mirzaei et al., 2011). اختلاف معنی‌دار (منفی) بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمام نمونه‌ها به روش DPPH و مقدار فنول ($P < 0/01$) و فلاونوئید کل ($P < 0/05$) مشاهده گردید. همچنین در مطالعه حاضر رابطه معنی‌دار (مثبت) میان مقدار فنول ($P < 0/01$) و فلاونوئید ($P < 0/05$) و روش ارزیابی آنتی‌اکسیدانی FRAP مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق بهره بر همسو می‌باشد. بهره بر و همکاران فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی میوه بنه به صورت برون تنی و درون تنی در موش‌های صحرایی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد عصاره متانولی بنه دارای بیشترین مقدار ترکیبات فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (Bahrebar et al., 2012). یوسفی و همکاران مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدان کل قسمت‌های مختلف درخت بنه را مطالعه کردند. نتایج نشان داد عصاره‌های فنلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی دارند. همچنین آنها با روش‌های مختلف کروماتوگرافی

6. Morolic acid
7. Oleanolic acid
8. Ursonic acid
9. 3-O-acetyl-3- epiisomasticadienolic acid

1. Kawashty
2. Adams
3. Methoxycarpachromene
4. Masticadienonic acid
5. Masticadienolic acid

سپاسگزاری

پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند که مراتب سپاس خود را از همکاران محترم آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، مجتمع آموزش عالی سراوان اعلام نمایند.

منابع

- Adams, M., Plitzko, I., Kaiser, M., Brun, R., and Hamburger, M. 2009. HPLC-profiling for antiplasmodial compounds-3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*, *Phytochem. Lett*, 2(4):159-162.
- Bahrebar, M., Mirzaei, A., Mantegheyan, E., and Bahrebar, A. 2012. In vivo and in Vitro Antioxidant Activity of Hydro-Alcoholic Extract of *Pistacia atlantica*, *Armaghane-danesh*, 17(6): 540-551
- Benhammou, N., Bekkara, FA., and Panovska, TK. 2008, Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 2(2): 22-28.
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, MH., Shams-Ardekani, MR., and Rahimi, R., 2013. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*. 1-33.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., Chern, J., 2002, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *J. Food Drug. Analysis*, 10: 178-182.
- Chaouche, TM., Haddouchi, F., and Ksouri, R. 2013. Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of phenolic extract of *Prasiummajus* L. free radical Antioxidant, 3: 43-46.
- Daryaei, MG., Hoseiny, .SK, Taheri, K., Mirzaei, J., and Mzbani, A. 2012. Effect of morphological variables of *Pistacia atlantica* on gum and seed production. *Iranian journal of biology*, 25(2): 303-314.
- Ebrahimzadeh, MA., Pourmorad, F., and Hafezi, S. 2008. Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turk J Biol*, 32: 43-49.
- Jamshidi, M., Ahmadi, HR., Rezazadeh, S., Fathi, F., and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. *Medic Plan*; 9(34):177-183.
- Hatamnia, AA., Abbaspour, N., and Darvishzadeh, R. 2014, Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits, 15(145): 306-311.
- Hosseini, F., Adlgostar, A., and Sharifnia, F. 2013, Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* extracts on *Streptococcus mutans* biofilm, *Int. Res. J. Biological Sci.* 2(2): 1-7.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار فنول کل دودهای طبی به خصوص دود صمغ بنه انجام نگرفته است. پروین و همکاران خواص ضد میکروبی دود حاصل از دانه‌های اسپند و سرگین را بر روی سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اورئوس بررسی کردند که دود حاصل از سرگین اثر قابل توجهی بر میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه داشت. بسیاری از ترکیبات دود مانند فرمالدئید، استالید، متانول و بعضی از ترکیبات آروماتیک مانند فنل‌ها، گایاکل، کروزل دارای خاصیت باکتری‌سیدال و یا باکتریواستاتیک می‌باشند (Parvin *et al.*, 2010).

محقق زاده و همکاران نیز در مقاله خود درباره دودهای با مصارف طبی به این نکته اشاره دارد که اطلاعات اندکی در خصوص ترکیب این دودهای طبی وجود دارد. حرارت دهی موجب تبدیل مواد موجود در یک گیاه و یا فرآورده به اجزاء ریز و میکروسکوپی شده و امکان جذب بیشتر این مواد را فراهم می‌کند این مورد به مکانیسم نفوذ دود در سلول‌ها به نوعی اشاره دارد (Mohagheghzadeh *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری نهایی

در این تحقیق نشان داده شد که عصاره متانولی صمغ بنه اثرات آنتی‌اکسیدانی قویتر و میزان فنل و فلاونوئید بیشتری نسبت به دود و عصاره‌های آبی و کلروفومی دارد. همچنین در غلظت میانگین، نتایج همبستگی معنا داری میان میزان ترکیبات فنلی کل و فلاونوئید و خواص آنتی‌اکسیدانی در این تحقیق را نشان داد. لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به صورت موثری به‌عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده لذا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر عمل می‌کنند. برای استفاده عملی از خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاهان در زمینه‌های مختلف، باید تحقیقات بیشتری در زمینه بنه از جمله کار آزمایشگاهی روی عصاره‌های مختلف تهیه شده از قسمت‌های مختلف این گیاه، همچنین ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره در مدل‌های غذایی انجام شود.

12. Ghanavati, F., and Moradi, F. 2003. Plants of Sistan and Baluchestan province. First edition. Publishing Sistan and Baluchistan Agricultural Jihad Organization. Zahedan. Pp 180.
13. Kawashty, SA., Mosharrafa, SAM., El-Gibali, M., and Saleh, NAM. 2000. The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochem. Syst. Ecol.* 28(9): 915-917.
14. Kamkar, A., Asadi, F., Jebelli Javan, A., and Jamshidi, R. 2009. Antioxidant capacity of essential oil and extract of Iranian *Mentha spicata*, *Journal of Veterinary Medicine & Laboratory*, 1(1): 69-77.
15. Mirzaei, A., Mohammadi, J., Mirzaei, N., and Mirzaei, M. 2011. The antioxidant Capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. *Journal of Fasa University of medicinal sciences*, 1(3): 160-166.
16. Mohajerani, M. 2012. Antioxidant activity and total phenolic content of *Nerium oleander* L. grown in north of Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4):1121-1126.
17. Mohagheghzadeh, A., Faridi, P., Shams-Ardakani, M., and Ghasemi, Y. 2006. Medicinal smokes. *J Ethnopharmacol*, 108(2):161-184.
18. Mohammadi, M., Kazemi tabar, K., Asili, J., and Kamali, H. 2014. Study of the antioxidant and antibacterial activity in methanolic, dichloromethan and hexane extracts of aerial parts of *Cyperus longos*, *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*, 6(1):168.
19. Mosaddegh, M., Naghibi, F., Moazzeni, H., Pirani, A., and Esmaeili, S. 2012. Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran, *J. Ethnopharmacol*, 141(1):80-95.
20. Parvin, N., Validi, M., and Banitalebi M. 2010. Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. 2010, 12(2):76-83.
21. Peksel, A., Arisan-Atac, I., Yanardag, R. 2010. Evaluation of Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of the Extracts of *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *Journal of Food Biochemistry*, 34(3):451-476.
22. Pourreza, N. 2013. Phenolic Compounds as Potential Antioxidant. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 8(4): 149-50.
23. Sadeghi, Z., Kuhestani, K., Abdollahi, V., and Mahmood, A. 2014. Ethnopharmacological studies of indigenous medicinal plants of Saravan region, Baluchistan, Iran. *J. Ethnopharmacol*; 153: 111-118.
24. Saffarzade, A., Vincze, L., Csapo, J. 1999, Determination of the chemical composition of Ocurrn (*Quercus branti*), *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk* seeds as non-conventional feedstuffs. *Acta Agraria Kaposvariensis*, 3(3): 59-69.
25. Salimi, F., Shafaghat, A., Sahebalzamani, H., and Alizadeh, MM. 2011, α -Pinene from *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *Kurdica* (Zohary) Rech. F. Der *Chemica Sinica*, 2(3):1-3.
26. Salmanian, Sh., Sadeghi, MAR., Alami, M., and Ghorbani, M. 2013. Determination of antiradical and antioxidant activities and flavonoid content in hawthorn fruit (*Crataegus elbursensis*). *Iran J. Nutr. Food Sci. Food Technol.* 8(1): 177- 185.
27. Shashi, A., Sanjay, KJ., Amita, V., Mayank, K., Alok, M. and Monika, S. 2014. Herbal antioxidant in clinical practice: A review. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(1):78-84.
28. Shariatifar, N., Kamkar, A., Shams Ardakani, MR., Misaghi, A., Jamshidi, AH. and Jaed Khaniki, GR. 2012. Quantitative and qualitative study of phenolic compounds and antioxidant activity of plant *Pulicaria gnaphalodes*. *Ofogh-e- Danesh J.*, 18(1): 35-41.
29. Sharifi, MS. and Hazell, SL. 2012. Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of mastic, *Kurdica*, *Mutica* and *Cabolica* gums from Genus *Pistacia*, *Global Journal of Health Science*, 4(1): 217-228.
30. Shahwar, D., Asam Raza, M., Bukhari, S. and Bukhari, G. 2012. Ferric reducing antioxidant power of essential oils extracted from *Eucalyptus* and *Curcuma* species. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2(3):1633-1636.
31. Taran, M., Sharifi, M., Azizi, E. and Khanahmadi, M. 2010. Antimicrobial Activity of the Leaves of *Pistacia khinjuk*, *J. Med. Plants*, 9(6): 81-85.
32. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Byrne, DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *J. Food Compos Anal.*, 19: 669-675.
33. Tohidi, M., Khayami, M., Nejati, V., and Meftahizade, H. 2011. Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk*. *J. Med. Plants Res.*, 5(17): 4310-4314.
34. Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R., 2007, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chem.*, 105: 940-949.
35. Yousfi, M., Djeridane, A., Bombarda, I., Chahrazed-Hamia, A., Duhem, B., Gaydou, EM. 2009. Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytother. Res.* 23(9):1237-1242.
36. Zohouri, A. Tabatabaee Yazdi, F. Mortazavi, S.A. and Shahidi, F. 2014, Comparison ps efficiency and extraction of color and natural compounds from red beet by maceration and ultrasonic extraction methods. *JFST*, 52(13): 50-56.