نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال یازدهم، شماره ۴۴، زمستان ۱۳۹۵ / صفحات: ۸۷-۷۶

# اثر روش‌های مختلف استخراج بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه بادام وحشی (*Amygdalus scoparia* L.)

**نیر محمدخانی*، زهرا نورعلی‌زاده**

مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

**تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱٤**

**چکیده**

گیاهان دارویی یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان‌ها می‌باشند. باتوجه به سمی بودن و اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان‌های سنتزی موجود در موادغذایی، نیاز به آنتی اکسیدان‌های طبیعی از گیاهان با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت جدی است. در این تحقیق گیاه بادام وحشی از استان ایلام جمع آوری و خشک شدند و استخراج عصاره به روش حلال (آبی، هیدروالکلی و اتانولی)، کلونجر و سوکسله انجام شد. در این مطالعه هدف مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه بادام وحشی و بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج بر محتوای فنولی، محتوای فلاونوئیدی کل، فعالیت آنتی اکسیدانی کل و ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی با انجام آزمون DPPH بود. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که در میوه‌ی کامل، مغز و پوسته سبز بادام استخراج با روش هیدروالکلی بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را داشت. همچنین بر اساس نتایج به دست آمده برای برگ بادام روش آبی بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود. در برگ و میوه بادام محتوای فنول کل با خاصیت فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی همبستگی مثبت معنی‌داری را نشان داد، همینطور بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل و درصد بازدارندگی DPPH همبستگی مثبت معنی‌داری مشاهده شد.

***واژه‌های کلیدی***: گیاهان دارویی، فلاونوئید، فنول، همبستگی، هیدروالکلی.

**مقدمه**

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی دو گروه عمده از متابولیت‌های ثانویه هستند که در اکثر اندام‌های گیاهان دارویی وجود دارند که غلظت و ماهیت آنها در هراندام متفاوت است (Lincoln et al., 1986). در سال‌های اخیر پژوهش‌های علمی متعددی اثرات مفید مغزها روی سلامت انسان را نشان داده‌اند. میوه بادام به‌دلیل خصوصیات دارویی، تغذیه‌ای و آرایشی بسیار مورد توجه می‌باشد و در برخی کشورها مصرف آن به‌صورت نارس نیز رواج دارد (Roux et al., 2001). همچنین از محصولات جانبی بادام در صنایع شیمیایی استفاده می‌شود. پوست سبز بادام در ایران مصرف ندارد ولی در آمریکا به مصرف دام می رسد. بادام حاوی ۱۶ تا ۲۲ درصد پروتئین است که به‌جز متیونین تمام پروتئین‌های ضروری را در حد توصیه شده FAO تامین می‌کند. بادام حاوی ساکارز و رافینوز و مقادیر کمتری سوربیتول و اینوسیتول است. مطالعات نشان داده است که عصاره و ترکیب‌های استخراج شده از پوست سبز، مغز و پوشش قهوه‌ای

*نویسنده مسئول: n.mohammadkhani@urmia.ac.ir

مغز بادام فعالیت قوی در بلوکه کردن رادیکال‌های آزاد دارند که این موضوع را به وجود ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نسبت می‌دهند. در بادام اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها به وسیله پیوندهای گلیکوزیدی و استری به قند متصل هستند. تقریبا تمام گونه‌های وحشی بادام دارای مزه‌ای تلخ هستند که این تلخی را به وجود گلیکوزیدهای سیانوژنی نسبت می‌دهند (Jahanban Esfahlan et al., 2010).

تحقیقات نشان داده است فعالیت آنتی‌اکسیدانی مغزهای خوراکی تحت تاثیر غلظت ترکیبات فنولی و توکوفرول‌ها می‌باشد (Kornsteiner et al., 2006). ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی بادام عمدتاً در پوسته قهوه‌ای رنگ قرار گرفته و در روی مغز بادام تجمع یافته‌اند. گزارش شده است که پروتئین‌های هیدرولیز شده بادام وحشی حاوی پپتیدهایی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا است و می‌توان آن را به‌عنوان منبع آنتی‌اکسیدان در برنامه‌هایی غذایی پیشنهاد کرد (Mirzapour et al., 2016). همچنین عصاره پوسته سبز بادام که حاوی اسید فولیک بالا می‌باشد می‌تواند به‌عنوان یک منبع با ارزش برای اسیدهای فنلی در نظر گرفته شود. اسید کافئیک نیز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالا بوده که در پوست قهوه‌ای و پوشش پوسته سبز عصاره دانه بادام وجود دارد (Subhashinee et al., 2006). بادام و پوسته آن دارای قدرت مهار رادیکال‌های آزاد هستند که این فعالیت می‌تواند به خاطر تری ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک باشد که می‌تواند در مقادیر بالا یک منبع بالقوه مناسب برای استخراج آنتی‌اکسیدان محسوب شود (Takeoka et al., 2000).

تحقیقات نشان داده است هنگام بالا بودن میزان فنول اثر محافظتی افزایش می‌یابد که این امر بیانگر ارتباط بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فنول کل است (João et al., 2008). در مطالعات نشان داده شد که مقدار فنول حاصل از عصاره اتانولی پوسته قهوه‌ای و پوسته سبز بادام به‌ترتیب ۱۰ و ۹ برابر بیشتر از کل دانه بود (Subhashinees et al., 2006). همچنین طی یک آزمایش بیشترین میزان فنول زمانی به‌دست آمد که از متانول ۸۰ درصد استفاده شد. همچنین پوسته قهوه‌ای بادام دارای بیشترین اثر ضداکسیداسیون و پوسته سبز بادام دارای کمترین مقدار بود (Subhashinee et al., 2006). در بسیاری از مطالعات برای اندازه‌گیری میزان فنول کل از روش فولین سیوکالتیو استفاده شده است (Mazandarani et al., 2016).

گونه بادام کوهی با نام علمی *Amygdalus scoparia* یکی از گیاهان تیره گل سرخ (Rosaceae) و متعلق به دولپه‌ای‌ها می‌باشد. دو نوع درخت بادام تلخ و شیرین وجود دارد. این درخت یا درختچه خاردار یا بی‌خار با شاخه‌های کوتاه یا فاقد آن خزان کننده بوده و گل‌ها قبل از بازشدن برگ‌ها پدیدار می‌شوند. نوع بادام شیرین گل‌های صورتی تولید می‌کند و مغز آن حاوی روغن فرار و امولسیون است. نوع بادام تلخ گل‌های سفید دارد و نسبتاً پهن‌تر و کوتاه‌تر از نوع شیرین است و حاوی تقریباً ۵۰ درصد روغن غیر فرار موجود در بادام‌های شیرین می‌باشد (Khatamsaz, 1993). تاثیر تغذیه ای مفید مغز بادام به‌دلیل ترکیب استرولی و پروفایل اسید چربی و آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (Lopez-Ortiz et al., 2008).

هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج شامل حلال (آبی، اتانولی، هیدروالکلی) کلونجر و سوکسله بر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه بادام وحشی و مشخص کردن این که برای هر کدام از اندام‌های گیاه مورد آزمایش کدام روش بهترین نتیجه را نشان می‌دهد.

**مواد و روش‌ها**

**جمع‌آوری اندام‌های گیاهی و خشک کردن:** برای انجام آزمایش در فصل بهار گیاه بادام وحشی از استان ایلام، شهرستان دره شهر واقع در عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۵ دقیقه ی شمالی و طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۲۹ دقیقه شرقی با ارتفاع ۶۴۵ متر از سطح دریا و میانگین بارش سالانه ۴۱۳ میلی‌متر جمع آوری شد. گیاه مذکور بعد از تمیز شدن برای خشک گردیدن به اتاقک تاریک آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از خشک شدن، اندام‌های مختلف شامل مغز، پوسته سبز، برگ، کل میوه بادام به‌صورت جداگانه باهاون پودر شدند.

**عصاره‌گیری:** برای عصاره‌گیری از روش حلال (آبی، اتانولی، هیدروالکلی)، سوکسله و کلونجر استفاده شد. عصاره‌های ٪۵ (w/v) آبی، اتانولی (ساخت مرک آلمان ٪۹۹/۹) و هیدروالکلی (اتانول ٪۷۰) برای کلیه ی نمونه‌ها تهیه شد. در این روش حلال‌های تهیه شده (آبی، اتانولی، هیدروالکلی) را بعد از ۲۴ ساعت خیساندن به مدت ۵ تا ۶ ساعت روی شیکر قرار داده و بعد از گذشت این زمان آن را صاف کرده تا عصاره نمونه موردنظر به‌دست آید. روش دیگری که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت عصاره گیری به روش سوکسله بود. در این روش که برای نمونه میوه کامل بادام مورد استفاده قرار گرفت عصاره ٪۲۰ (w/v) تهیه شد. در این روش قبل از عصاره گیری نمونه‌های پودر شده با استفاده از هگزان (ساخت مرک آلمان) به مدت ۱ ساعت چربی زدایی شدند. سپس از کاغذ صافی عبور داده شده و بعد به‌مدت ۵ تا ۶ ساعت در سوکسله قرار گرفتند. روش بعدی عصاره‌گیری به روش کلونجر بود که عصاره‌گیری با این روش برای نمونه‌های برگ و میوه کامل بادام مورد استفاده قرار گرفت. در این روش برای عصاره‌گیری از ۲۰ گرم نمونه پودر شده و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. در عصاره‌گیری به روش کلونجر نمونه پودر شده و آب مقطر را داخل بالن ریخته سپس کلونجر را روی آن نصب کرده بعد آن را به‌مدت ۲ تا ۴ ساعت روی شوف بالن قرار داده تا عصاره نمونه مورد نظر استخراج شود.

**تعیین محتوای فنولی کل:** تعیین محتوای فنولی به روش فولین- سیوکالتئو (Horwitz, 1984) انجام شد. ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره با ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم (٪۷/۵)، ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتئو و ۱ میلی‌لیتر آب دیونیزه مخلوط شده و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق ماند. جذب محلول حاضر در ۷۳۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف گالیک اسید تهیه شد و محتوای فنولی بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک گزارش شد.

**تعیین محتوای فلاونوئیدی کل:** محتوای فلاونوئیدی کل با روش Bonvehi و همکاران (۲۰۰۱) تعیین شد. ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره و ۰/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه با ۱ میلی‌لیتر $AlCl_3$ ۲ درصد (محلول ۵ درصد استیک اسید در متانول) مخلوط شد و بعد از ۳۰ دقیقه جذب در ۴۳۰ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف کوئرستین تهیه شد. محتوای فلاونوئیدی عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گزارش شد.

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها به روش فسفومولیبدات آنالیز شد (Pulido et al., 2000). ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره با ۳ میلی‌لیتر معرف (سولفوریک اسید ۰/۶ مولار، سدیم فسفات ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ۴ میلی‌مولار) مخلوط شده به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۶۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. اسید آسکوربیک برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

به‌صورت میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک نمونه گزارش شد.

**سنجش DPPH** : فعالیت جاروب رادیکال‌های آزاد با استفاده از رادیکال آزاد ۱ و ۱- دی فنیل- ۲- پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش Blois (۱۹۵۸) اندازه‌گیری شد. ۱ میلی‌لیتر عصاره با ۱ میلی‌لیتر DPPH متانولی ۰/۲ میلی‌مول مخلوط و به‌مدت ۳۰ دقیقه در ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. متانول فاقد عصاره به عنوان شاهد استفاده و فعالیت جاروب رادیکال‌های آزاد با فرمول زیر محاسبه شد:

%inhibition= 100× [(OD control-OD sample)/OD control]

آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. میانگین داده‌های سه تکرار و انحراف معیار محاسبه شد. تفاوت خاصیت آنتی اکسیدانی بین عصاره‌های استخراج شده به روش‌های مختلف با آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و تفاوت خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان با GLM (General Linear Model) آنالیز شد. تست مقایسات چندگانه Tukey (P<0.05) برای تعیین تفاوت بین عصاره‌ها استفاده شد. همبستگی بین فاکتورهای مختلف نیز تعیین شد.

## نتایج

جدول ۱ و ۲ نتایج آنالیز واریانس اثر روش‌های استخراج بر خاصیت آنتی اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه بادام را نشان می‌دهد. روش‌های مختلف استخراج تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) را در خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نشان داد. بین روش‌های استخراج روش کلونجر بیشترین عملکرد عصاره را نشان داد، بین روش‌های حلال روش هیدروالکلی بهترین نتیجه را داشت.

**جدول ۱:** تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر روش‌های استخراج بر خاصیت آنتی اکسیدانی برگ و میوه‌ی کامل بادام.

| | درجه آزادی | محتوای فنول کل | محتوای فلاونوئید کل | خاصیت آنتی اکسیدانی کل | درصد بازدارندگی |
|---|---|---|---|---|---|
| اندام گیاهی | ۱ | ۵۲۳/۳۹* | ۶/۸۵* | ۶۸۹۲۰۶/۶۸۲* | ۵/۵۱* |
| روش استخراج | ۴ | ۳۳۵/۹۳* | ۲/۱۶* | ۲۱۹۸۲۵/۱۵۹* | ۳۵۷/۶۵* |
| روش استخراج × اندام گیاهی | ۴ | ۱۸۰/۴۰* | ۱/۲۲* | ۱۴۹۵۸۱/۲۴* | ۲۶۴/۸۳* |
| خطا | ۲۰ | ۰/۷۸۱ | ۰/۰۰۱ | ۴۲۹/۰۵ | ۰/۸۵۹ |

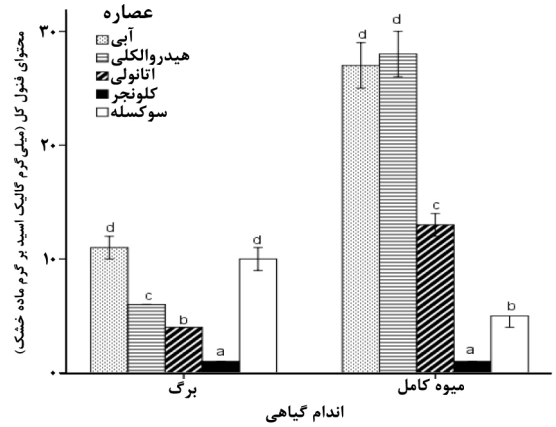
* اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد را نشان می‌دهد.

**ترکیبات فنلی:** با توجه به شکل‌های ۱ و۲ روش‌های مختلف عصاره گیری در میزان فنول کل موثر بود. در میوه کامل، مغز و پوسته سبز بادام روش هیدروالکلی بیشترین میزان فنول را نشان داد و در برگ بادام روش آبی بهترین نتیجه را داشت. جدول آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان داد که در برگ و میوه کامل بادام تفاوت بین اندام گیاهی، تفاوت بین روش‌های عصاره گیری و تفاوت بین اندام گیاه در عصاره معنی‌دار (P<۰/۰۵) است. در میوه کامل و برگ بادام تفاوت بین این دو اندام معنی‌دار شد. آنالیز GLM نشان داد که در برگ و میوه کامل بادام تفاوت عصاره آبی – هیدروالکلی معنی‌دار نشد، اما تفاوت بین بقیه عصاره‌ها همه معنی‌دار (P<۰/۰۵) شدند. در جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد که در مغز و پوسته سبز بادام تفاوت بین اندام گیاه، تفاوت بین روش عصاره‌گیری و تفاوت بین اندام گیاه معنی‌دار بود. تفاوت بین مغز و پوسته سبز بادام نیز معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود.

**جدول ۲:** تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر روش‌های استخراج بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی مغز و پوسته‌ی سبز بادام.

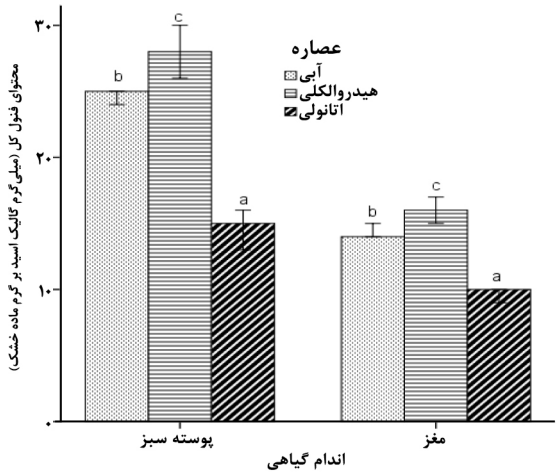
| | درجه آزادی | محتوای فنول کل | محتوای فلاونوئید کل | خاصیت آنتی اکسیدانی کل | درصد بازدارندگی |
|---|---|---|---|---|---|
| اندام گیاهی | ۱ | ۳۷۵/۹۵* | ۰/۱۹ | ۱۱۸۳۶/۰۴* | ۵۸۹/۸۳* |
| روش استخراج | ۲ | ۱۶۰/۰۸* | ۰/۷۲* | ۷۴۸۵۰/۹۳* | ۵۶۷/۹۹* |
| روش استخراج × اندام گیاهی | ۲ | ۱۹/۷۴* | ۰/۰۱۲ | ۱۲۱۷/۹۹ | ۳۸/۱۱* |
| خطا | ۱۲ | ۰/۹۹۶ | ۰/۱۴۱ | ۴۴۹/۲۶ | ۰/۳۹۶ |

*اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد را نشان می‌دهد.




**شکل ۱:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر میزان فنول کل میوه کامل و برگ بوته بادام.

حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P< ۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.



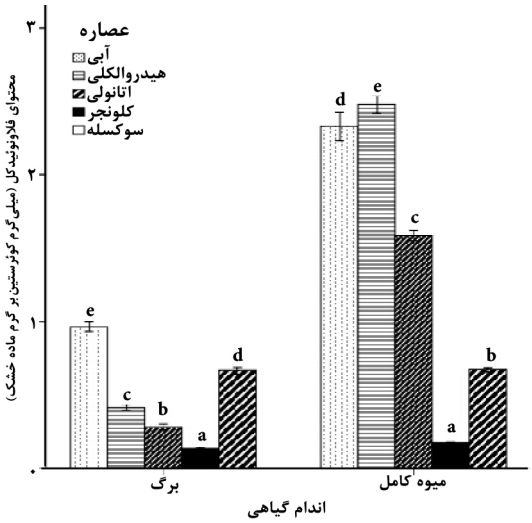

**شکل ۲:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر میزان فنول کل مغز و پوسته سبز بادام.

حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار (P< ۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.

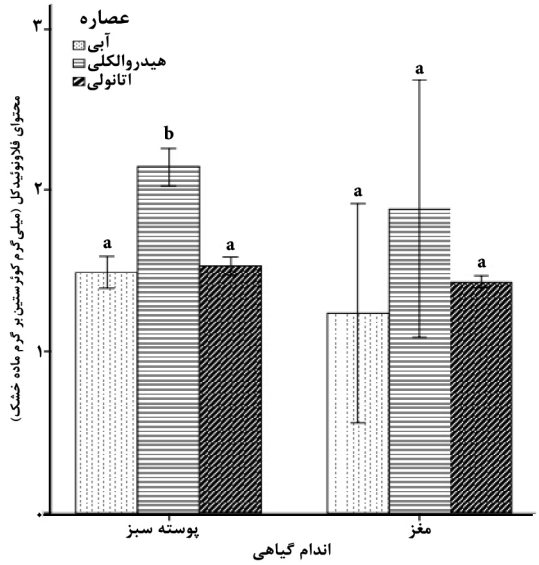
**میزان فلاونوئیدها** : همانطور که شکل‌های ۳ و۴ نشان می‌دهند روش‌های مختلف عصاره‌گیری در خاصیت فلاونوئیدی کل تفاوت نشان دادند. جدول آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان داد که برگ و میوه کامل بادام تفاوت بین اندام گیاه، تفاوت بین روش‌های عصاره‌گیری و تفاوت اندام گیاه در عصاره همه

معنی‌دار شد. تفاوت بین برگ و میوه بادام معنی‌دار بود.

جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد که در مغز و پوسته سبز بادام تفاوت بین اندام‌های گیاهی معنی‌دار شد اما تفاوت بین روش‌های عصاره گیری و اندام در عصاره معنی‌دار نشد. تفاوت بین پوسته سبز و مغز بادام معنی‌دار نشد.آنالیز GLM نشان داد که در پوسته سبز بادام تفاوت بین عصاره آبی – اتانولی و هیدروالکلی– اتانولی معنی‌دار نشد اما تفاوت بین بقیه عصاره‌ها همه معنی‌دار بود. تفاوت معنی‌داری بین عصاره‌ها در مغز بادام هیچکدام مشاهده نشد.



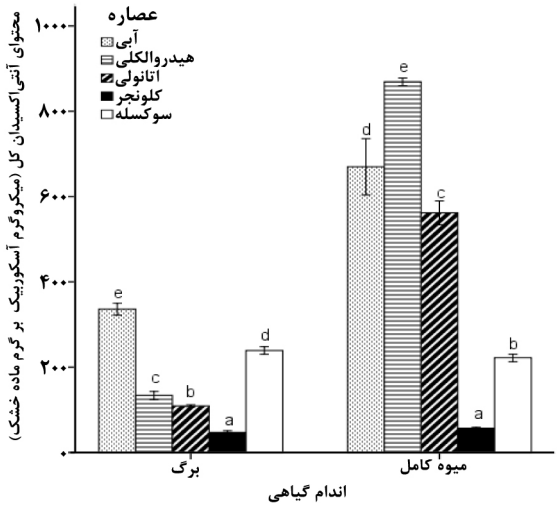

**شکل ۳:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر میزان فلاونوئید کل برگ و میوه کامل بادام. حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.



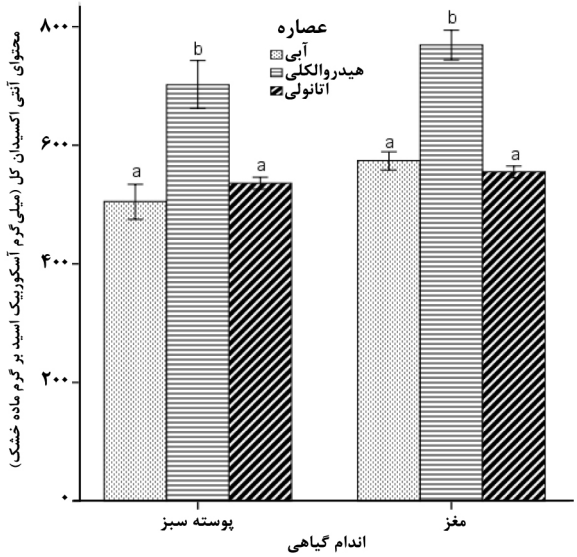

**شکل ٤:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر میزان فلاونوئید کل مغز و پوسته سبز بادام. حروف غیرمشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.

**خاصیت آنتی‌اکسیدانی:** همان‌طور که شکل‌های ۵ و ۶ نشان می‌دهند روش‌های مختلف عصاره‌گیری در خاصیت آنتی اکسیدانی کل تفاوت نشان دادند. در مغز، پوسته سبز و میوه کامل بادام روش هیدروالکلی

بهتـرین نتیجـه را داد امـا در بـرگ بـادام روش آبـی خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری داشت. آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان داد که در بـرگ بـادام، میـوه کامـل بـادام تفـاوت بـین گیاهـان، تفـاوت بـین روش‌هـای عصاره‌گیری و تفاوت بین گیاه در عصاره در سـطح ۵ درصد معنی‌دار شد. تفاوت بـین بـرگ و میـوه کامـل بادام معنی‌دار بود.




**شکل ۵:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل برگ و میوه کامـل بـادام. حـروف غیـر مشـابه در بـالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P< ۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.

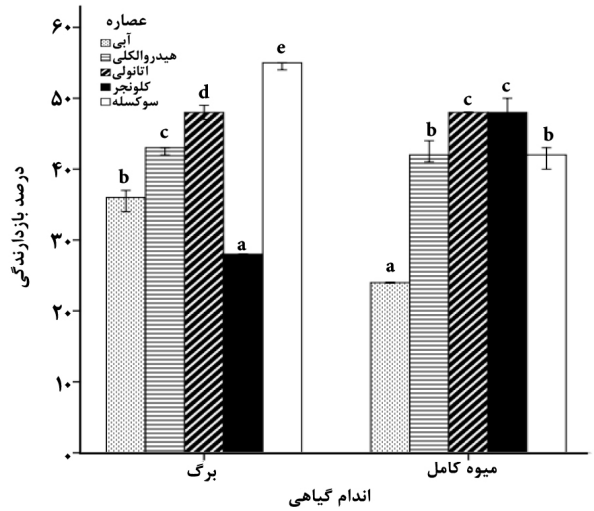



**شکل٦:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل مغز و پوسته سبز بادام. حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P< ۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.

جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد کـه در مغز بادام و پوسته سبز بادام تفـاوت بـین انـدام گیـاه، تفاوت بین روش‌های عصاره‌گیری و تفاوت بین اندام گیاه در عصاره در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. تفاوت بین برگ و میوه کامل بادام معنی‌دار بود. تفاوت بـین مغز بادام و پوسته سبز بادام معنی‌دار شد. آنالیز GLM

نشان داد که در در پوسته سبز و مغز بادام تفاوت عصاره‌های آبی– اتانولی معنی‌دار نبود، اما تفاوت بقیه عصاره‌ها همه معنی‌دار بود.

**جاروب رادیکال‌های آزاد (DPPH):** همان‌طور که شکل‌های ۷ و۸ نشان می‌دهند روش‌های مختلف عصاره‌گیری در خاصیت DPPH کل دارای تفاوت‌اند. به‌طوری‌که در برگ بادام روش سوکسله بهترین نتیجه در مغز و پوسته سبز بادام روش اتانولی نتیجه بهتری را نشان داد. در میوه کامل بادام کلونجر و اتانولی دارای نتیجه بهتری بود. جدول آنالیز واریانس (جدول ۱) نشان داد که در برگ و میوه کامل تفاوت بین اندام، تفاوت بین روش‌های عصاره‌گیری و تفاوت بین اندام گیاه در عصاره همه معنی‌دار (P< ۰/۰۵) شد. تفاوت بین برگ و میوه کامل بادام معنی‌دار بود. آنالیز GLM نشان داد که در برگ و میوه کامل بادام عصاره هیدروالکلی–سوکسله و کلونجر–اتانولی معنی‌دار نشد، اما بقیه عصاره‌ها همه معنی‌دار بودند.



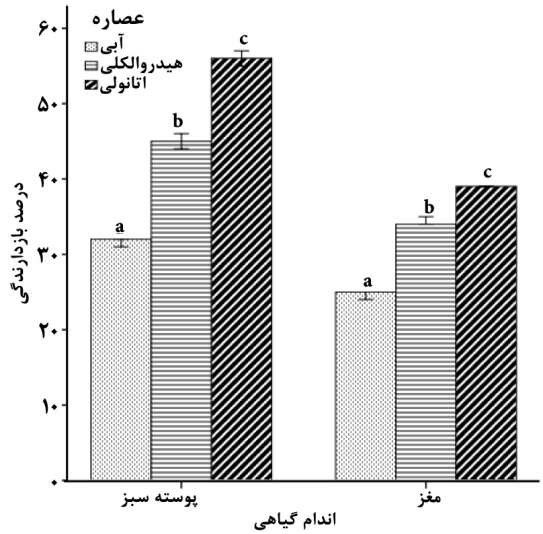

**شکل ۷:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر درصد بازدارندگی DPPH در برگ و میوه کامل بادام. حروف غیر مشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P< ۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.

**جدول ۳:** ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در خاصیت آنتی اکسیدانی برگ و میوه‌ی کامل بادام.

| صفات | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
|---|---|---|---|---|
| محتوای فنول کل | ۱ | | | |
| محتوای فلاونوئید کل | ۰/۹۷۴** | ۱ | | |
| خاصیت آنتی اکسیدانی کل | ۰/۹۵۴** | ۰/۹۸۸** | ۱ | |
| درصد بازدارندگی | ۰/۸۸۷** | ۰/۸۷۹** | ۰/۸۹۱** | ۱ |

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن ضریب همبستگی در سطح ۱ درصد می‌باشد.

جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد که در مغز و پوسته سبز بادام تفاوت بین اندام، تفاوت بین روش‌های عصاره‌گیری و تفاوت بین اندام گیاه در عصاره همه معنی‌دار بود. تفاوت بین پوسته سبز و مغز بادام معنی‌دار (P< ۰/۰۵) شد. جداول ۳ و ۴ همبستگی بین صفات مورد بررسی را در اندام‌های مختلف اندام گیاه بادام وحشی نشان می‌دهد. همان‌طور که در جداول مشخص است، ضریب همبستگی بین صفات آنتی‌اکسیدانی در برگ و میوه کامل بادام (جدول ۳) بیشتر از مغز و پوسته بادام (جدول ۴) بود.




**شکل ۸:** اثر روش‌های مختلف استخراج بر درصد بازدارندگی DPPH در مغز و پوسته سبز بادام. حروف غیرمشابه در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (P< ۰/۰۵) طبق آنالیز Tukey می‌باشد.

**جدول ٤:** ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی مغز و پوسته سبز بادام.

| صفات | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ |
|---|---|---|---|---|
| محتوای فنول کل | ۱ | | | |
| محتوای فلاونوئید کل | ۰/۶۱۵** | ۱ | | |
| خاصیت آنتی اکسیدانی کل | ۰/۴۲۴** | ۰/۸۰۴** | ۱ | |
| درصد بازدارندگی | ۰/۴۵۰** | ۰/۸۴۶** | ۰/۸۲۵** | ۱ |

**نشان‌دهنده معنی‌دار بودن ضریب همبستگی در سطح ۱ درصد می‌باشد.

**بحث**

عوامل مختلفی در افزایش راندمان عصاره‌ها اثر دارد که از جمله مهم ترین آنها می‌توان به روش استخراج و نوع حلال اشاره کرد (Afrazeh et al., 2015). انتخاب روش مناسب برای عصاره‌گیری می‌تواند غلظت مواد آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که در مغز، پوسته سبز و میوه کامل بادام روش اتانولی بیشترین میزان خاصیت DPPH را دارد. انتخاب روش استخراج به نوع بافت گیاهی بستگی دارد. همچنین میزان کمیت و کیفیت ماده موثره گونه‌های مختلف بسته به نوع گونه، حلال و روش استخراج و گاهی متاثر از تنش‌های اکولوژیکی منطقه متفاوت است (Tundis et al., 2013). در گیاه *Nepeta cataria* L. روش استخراج بر فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه اثر معنی‌دار داشت (Mazandarani et al., 2016). موثرترین روش استخراج مواد آنتی‌اکسیدانی از گیاه مریم گلی عصاره‌گیری با آب داغ تحت فشار بالا بود که بعدا با کاربرد امواج فراصوتی یا خیساندن در اتانول ۷۰ درصد همراه بود (Ollanketo et al., 2002). نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های کلروفرمی و اتانولی دو گیاه بومادران و گل عسلی ایرانی نشان داد که عصاره اتانولی از عصاره کلروفرمی قوی‌تر بوده همچنین قدرت بازدارندگی عصاره اتانولی گیاه بومادران ایرانی ازگیاه گل عسلی بیشتراست (Maghsoudloo et al., 2015). در مطالعه‌ای در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذر

Guarana بیشترین اثر مهاری مربوط به عصاره متانولی (۸۵/۹ درصد) و کمترین اثر مربوط به عصاره آبی (۷۰/۹ درصد) بود. پایین‌ترین اثر مهار رادیکالی و آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره آبی بود ولی عصاره‌هایی که با مخلوطی از آب و حلال آلی به‌دست آمده بودند، در این تحقیق دارای مهار رادیکال آزاد بالا بودند (Majhenic et al., 2007). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیشترین میزان فنول مغز، پوسته سبز و میوه کامل بادام، در زمان استفاده از روش هیدروالکلی به‌دست آمد. همچنین مغز، میوه کامل و پوسته سبز بادام، در روش هیدروالکلی بیشترین میزان فلاونوئید را نشان دادند و مغز، میوه کامل و پوسته سبز بادام، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در زمان استفاده از روش هیدروالکلی نشان دادند. در مطالعه‌ای عصاره آبی و متانولی قسمت‌های مختلف گیاه سیزاب کوهستان از نظر محتوای فلاونوئیدی و فنولی بررسی شد و مشخص گردید نتیجه رسیدند که محتوای فنولی و فلاونوئیدی عصاره آبی بالاتر ازعصاره متانولی است ( Stankovic et al., 2011). تحقیقات‌ها نشان داد که دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های قطبی بالا بودن ترکیبات فنولی است، زیرا ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد. همین‌طور به نظر می‌رسد ترکیبات فنولی که به‌طور گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند، بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی آنها قابل استخراج می باشد (Candan et al., 2003). Shahidi و همکاران (۱۹۹۲) فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان معطر مربوط به گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی است. همچنین در مطالعه حاضر بیشترین میزان فنول برگ بادام در زمان استفاده از عصاره آبی بود. بیشترین میزان فلاونوئید برگ بادام نیز در عصاره آبی **دیده** شد. همچنین در برگ بادام روش سوکسله بیشترین میران خاصیت DPPH را نشان داد. همچنین طبق نتایج بدست آمده در این تحقیق در مغز بادام و پوسته سبز بادام خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل با DPPH ($P<0.01$, $r=0.8$) همبستگی مثبت معنی‌داری داشت. نتایج مطالعه Kamali و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در گیاه (*Deracocephalum*) رابطه مستقیم با میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل دارد به‌طوری‌که مشاهده می‌شود عصاره متانولی با بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی دارای بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو روش FRAP و DPPH است. در مطالعه حاضر نیز در برگ بادام و میوه کامل بادام محتوای فنول کل با خاصیت فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ($P<0.01$, $r=0.9$) همبستگی مثبت معنی‌داری نشان داد. همچنین خاصیت فلاونوئیدی کل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای همبستگی مثبت معنی‌داری بود (جدول‌های ۳ و ۴).

## نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌ی کامل، مغز و پوسته سبز بادام استخراج با روش هیدروالکلی و برای برگ بادام، روش آبی بهترین روش بود. همچنین طبق نتایج بدست آمده در اندام‌های مختلف گیاه بادام همبستگی مثبت معنی‌داری ($P<0.05$) بین محتوای فنول و فلاونوئید کل با خاصیت آنتی اکسیدانی وجود داشت.

## References

**Afrazeh, Z., Bolandi, M., Khorshidi, M. and Mohammadi Nafchi, A. (2015).** Antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts (methanol, ethanol) of saffron petals. Journal of Agriculture and Technology Saffron. 2(3): 231-236.

**Bonvehi, J.S., Torrento, M.S. and Lorente, E.C. (2001).** Evaluation of polyphenolic flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49(4): 1848-1853.

**Blois, M.S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1199-1200.

**Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A.H. and Akpulat, A. (2003).** Antioxidant and antimicrobial act*i*vity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan. (Asteraceae) Ethnophama. 87: 215-220.

**Horwitz, W. (1984).** Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Association of Official Analytical Chemists, pp: 1-771.

**Jahanban Esfahlan, A., Jamei, R. and Jahanban Esfahlan, R. (2010).** The importance of almond (*Prunus amygdalus* L.) and its by-products. Food Chemistry. 120: 349-360.

**João**, **C.M., Barreira., Isabel C.F.R. Ferreira**, **M., Beatriz, P.P., Oliveira, J. and Alberto, P. (2008).** Antioxidant activity and bioactive compounds of ten Portuguese regional and commercial almond cultivars. Food and Chemical Toxicology. 46: 2230–2235.

**Kamali, M., Khosroyar, S. and Jalilvand, M. (2015).** Evaluation of phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity of different extracts of the aerial parts of medicinal plant Dracocephalum kotschyi. Journal of North Khorasan University of Medical Sciences. 6(3): 627-634.

**Mirzapour, M., Sentandreu, M.A., Moosavi-Movahedi, A.A. and Rezaei, K. (2016).** In vitro antioxidant activities of hydrolysates obtained from Iranian wild almond (*Amygdalus scoparia*) protein by several enzymes. International Journal of Food Science and Technology. 51: 609–616.

**Khatamsaz, M. (1993).** Flora of Iran. Rosaceae Family: 314-319.

**Kornsteiner, M., Wagner, K.H. and Elmadfa, I. (2006)**. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. Food Chemistry. 98: 381-387.

**Lincoln, D.E., Murray, M.J. and Lawrence, B.M. (1986).** Chemical composition and genetic basis for the isopinocamphone chemotype of *Mentha citrate* hybrids. Phytochemistry. 25(8): 1857.

**Lopez-Ortiz, C.M.**, **Prats-Moya, S.**, **Sanahuja, A.B.**, **Mestre-Perez, S.E.**, **Grane- Teruel, N. and Martin Carratala, M.L. (2008).** Comparative study of tocopherol homologue content in four almond oil cultivars during two consecutive years. Journal of Food Composition and Analysis. 21: 144-151.

**Maghsoudloo, M., Valizadeh, J., Ebrahimian Chavoshloo, S., Mohammadi Bolban Abad, M. and Rahneshan, N. (2015).** Evaluation of secondary metabolites and plant yield of *Alyssum maritimum* and *Achillea wilhelmsii* in Sistan and Baluchestan. Journal of Medicinal Plants. 2(3): 1-9.

**Majhenic, L., Skerget, M. andKenz, Z. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry. 104: 1258-1268.

**Mazandarani, M., Ghasemali, M. and Ghafouriyan, M. (2016).** Evaluation of ecological needs, the floristic, phytochemical and antioxidant ranges of *Nepeta cataria* L. extract in the provinces of Golestan and Mazandaran. Journal of Medicinal Plants. 3(4): 40-57.

**Ollanketo, M., Peltoketo, A., Hartonen, K., Hiltunen, R. and Riekkola, M.L. (2002).** Extraction of sage by pressurized hot and conventional methods antioxidant activity of the extracts. European Food Research and Technology. 215: 158-63.

**Pulido, R., Bravo, L. and Saura-Calixto, F. (2000).** Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48(8): 3396-3402.

**Roux, KH.**, **Teuber, S**,**S.**, **Robotham, J.M. and Sathe, S.K. (2001).** Detection and stability of the major almond allergen in foods. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 5(49): 2131-2136.

**Stankovic, M.S., Niciforovic, N., Topuzovic, M. and Solujic, S. (2011).** Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. Biotechnology and Biotechnological Equipment. 25(1): 2222-2227.

**Shahidi, F., Janitha, P.K.**, **and Wanasundara, P.D.**, **(1992**). Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 32(1): 67-103.

**Subhashinees, K., Wijeratne, M., ABOU-ZAID., M. and Shahidi, F. (2006).** Antioxidant Polyphenols in Almond and Its Co products. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 54: 312−318.

**Siriwardhana, S.S.K.W. and Shahidi, F. (2002).** Antiradical activity of extracts of Almond and its by-products. Journal of the American Oil Chemists' Society. 903: 908-979.

**Tundis, R., Nadjafi, F. and Menichini, F. (2013).** Angiotensin converting enzyme inhibitory activity and antioxidant properties of *Nepeta crassifolia* Boiss & Buhse and *Nepeta binaludensis* Jamzad. Phytotherapy Research. 27: 572-580.

**Takeoka, G., Teranishi, L.D.R.**, **Wong, R.**, **Flessa, S., Harden, L. and Edwards, R. (2000).** Identification of three triterpenoids in Almond Hulls. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 48: 3437–3439.