پژوهش های کاربردی در خشک میوه ها
Journal of Applied Researches in

Investigating the Biological Properties of *Pistacia vera* as the Most Popular Nut

Mozhgan Masoudi[1], Shahab Ojani[1,*]

Department of Chemistry, Rafsanjan Branch, Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran.

[*]Corresponding Author: Shahab_ojani@yahoo.com

Receive: 2024/7/21 Accepted: 2024/8/1

Abstract

Today, there is a lot of emphasis placed on the use of natural antioxidants in the food chain to have a healthy lifestyle due to the discovery that free radicals play an important role in causing diseases such as cancer, diabetes, Alzheimer's, cardiovascular diseases, etc. Meanwhile, *Pistacia vera* is considered as one of the most popular food nuts in the world, which contains rich phytochemical compounds with antioxidant properties. Iranian and American Roasted *P. vera* are used as a suitable flavoring for various desserts (halva, cake, ice cream, etc.) and it is welcomed by consumers, besides having unique properties that have a significant impact on human health, especially on the cardiovascular system. According to the results of the research, the protein of dried fruits like *P. vera* contains amino acid arginine, which is a precursor of nitric oxide, and nitric oxide is also responsible for regulating blood pressure and preventing blockage of blood vessels. Phytochemical compounds of *P. vera* include phenolic acids, flavonoids, tannins, coumarins, lignans, quinones, anthocyanins, etc., and due to the presence of these bioactive compounds, they have significant cytotoxic effects against HT29 colon cancer cells, T47D breast cancer cells, HepG2 cancer cells, etc. Therefore, this study examines the biological properties of *P. vera* as the most popular nut.

Keywords: Antioxidant, Phytochemical compounds, Free radicals, *Pistacia vera*

پژوهش های کاربردی در خشک میوه ها
Journal of Applied Researches in

بررسی خواص بیولوژیک پسته *Pistacia vera* به عنوان محبوب‌ترین آجیل غذایی

مژگان مسعودی[1]، شهاب اوجانی[1,*]

[1]گروه شیمی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران.

* نویسنده مسئول: Shahab_ojani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۱

چکیده

از زمان کشف این که رادیکال‌های آزاد نقش مهمی را در ایجاد بیماری‌هایی مانند سرطان، دیابت، آلزایمر، بیماری‌های قلبی - عروقی و غیره ایفا می‌کنند، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در زنجیره غذایی برای داشتن یک سبک زندگی سالم بسیار تاکید شده است. در این میان، پسته یکی از محبوب‌ترین آجیل‌های غذایی در جهان می‌باشد که حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی غنی با خواص آنتی‌اکسیدانی است. پسته بو داده ایرانی و آمریکایی به دلیل داشتن شکل مناسب و با وجود طعم دلپذیر و منحصر به فرد، به عنوان گزینه‌ای مناسب برای دسرهای مختلف (حلوا، کیک، بستنی و غیره) استفاده می‌شوند و در کنار داشتن خواص بی نظیر مورد استقبال مصرف‌کنندگان قرار می‌گیرد که تاثیر بسزایی بر سلامت انسان به ویژه بر سیستم قلبی - عروقی دارد. طبق تحقیقات انجام شده پروتئین میوه‌های خشک مانند پسته حاوی اسیدآمینه آرژنین است که پیش‌ساز نیتریک اکسید می‌باشد و نیتریک اکسید نیز مسئول تنظیم فشار خون و جلوگیری از انسداد رگ‌های خونی است. ترکیبات فیتوشیمیایی پسته شامل فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، کومارین‌ها، لیگنان‌ها، کینون‌ها، آنتوسیانین و غیره است و به دلیل وجود این ترکیبات زیست فعال اثرات سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای را در برابر سلول‌های سرطان روده بزرگ HT29 ، سلول‌های سرطان پستان T47D، سلول‌های سرطان HepG2 و غیره از خود نشان داده است. از این رو، در پژوهش حاضر به بررسی خواص بیولوژیک پسته *Pistacia vera* به عنوان محبوب‌ترین آجیل غذایی پرداخته می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فیتوشیمیایی، رادیکال‌های آزاد، *Pistacia vera*.

مقدمه

پسته حدود سه تا چهار هزار سال پیش در ایران کشت می‌شد و سپس به کشورهای دیگر راه یافت. حدود ۶۰ نوع پسته در ایران تولید می‌شود و ایران از نظر تنوع و کیفیت تولید پسته رتبه اول جهان را دارد. پسته ارزش اقتصادی قابل توجهی دارد و از این جهت به طلای سبز معروف است (Kashaninejad et al., 2006). تنها پسته ایران است که از نظر شکل، رنگ، ظاهر، اندازه، ابعاد و ویژگی‌های مغز دارای انواع مختلفی است، بنابراین کیفیت طعم و تنوع شکل پسته ایرانی در دنیا بی‌نظیر است (Pearson et al., 1994). اما این محصول علاوه بر ایران در کشورهایی مانند آمریکا، ترکیه، سوریه، ایتالیا و یونان نیز تولید می‌شود(Küçüköner and Yurt, 2003) پسته با نام علمی *Pistacia vera* L. بومی آسیا از خانواده

Anacardiaceae می‌باشد که معمولا به صورت درختان وحشی، خودرو و همچنین مقاوم به خشکی هستند (Panahi, 2001). پسته درختی دوپایه است که تمامی گونه‌های آن به صورت دوپایه می‌باشند که می‌توان به *P. mutica*، *P. khinjuk*، *P. atlantica* و *P. integrima* و غیره اشاره نمود (AL-Saghir and Porter, 2012). پسته یکی از میوه‌های خشک است که مغز آن حاوی مواد انرژی‌زا و سرشار از پروتئین، چربی، فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی و غیره است به طوری که حاوی ۲۲-۱۸ درصد پروتئین، ۱۶-۱۵ درصد قند، ۶۰-۵۰ درصد چربی، ۲-۱ درصد سلولز، ۳ درصد خاکستر، ۶-۵ درصد رطوبت می‌باشد. این آجیل محبوب شامل روغن است که می‌توان به اسیدهای پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و غیره اشاره کرد (Garcia et al., 1992). شایان ذکر است که بارزترین خصوصیت کیفی پسته، روغن آن می‌باشد و در رابطه با روغن نکته قابل توجه این است که به همان اندازه که میزان روغن ارزشمند است، مواد ضد اکسایشی موجود در آن نیز بسیار با اهمیت است. در واقع، پایدارکننده‌های طبیعی موجود در آن مانع از هیدرولیز چربی‌ها شده و باعث افزایش ماندگاری می‌شود. اسیدهای چرب آزاد، درجه حرارت، اکسایش چربی‌ها، میزان اکسیژن، فلزات سنگین و نور عوامل منفی هستند که باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای و توسعه طعم و رنگ نامطلوب پسته می‌شوند (Ellis, 1994). پسته دارای اسید چرب امگا ۳ می‌باشد و اسیدهای چرب امگا ۳ در ساخت ترکیبات هورمون مانندی که دستگاه‌های حیاتی بدن و فعالیت‌های درون سلولی را کنترل می‌کنند، به کار می‌روند. بنابراین برای بدن ضروری می‌باشند و در این خصوص پژوهشگران توصیه می‌کنند که حداقل ۰/۵ درصد از انرژی مورد نیاز بدن باید از طریق اسیدهای چرب امگا ۳ تامین شود. در واقع ترکیبات اصلی عصاره پسته شامل بتا - سیتوسترول که جزء فیتواسترول‌ها یا (استرول‌های گیاهی) محسوب می‌شود، اسکوآلن(Squalene)، اولئیک اسید و پالمیتیک اسید است. فیتواسترول‌ها نیز سبب کاهش میزان کلسترول بد خون (LDL) می‌شوند و همچنین خطر ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهند (Hoerger et al., 1998). شواهد حاکی از آن است که این آجیل محبوب از دیرباز برای درمان‌های مختلف مانند بیماری‌های گوارشی، اسهال خونی، فشار خون، سردرد و آنفولانزا مورد استفاده قرار می‌گرفته است- (Iranmanesh et al., 2017; Villar et al., 1987). همچنین در طب سنتی نیز، از پسته برای درمان بیماری‌های کبد، کلیه، قلب و تنفس استفاده می‌شود. اثرات آجیل به ویژه بادام، گردو و پسته بر سطح چربی خون و عوارض قلبی - عروقی گزارش شده است (Rajaei, et al., 2010). در این راستا، مکانیسم دقیقی که این بهبود پروفایل لیپیدی یا کاهش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب را تعیین می‌کند، به طور دقیق مشخص نیست، اما ممکن است به محتوای چربی کم پسته مرتبط باشد (Martorana et al., 2013). تمام میوه‌ها دارای سطح بالایی از چربی تک غیر اشباع یا چند غیر اشباع و سطح پایینی از چربی اشباع شده هستند. ترکیب اسیدهای چرب هر نوع آجیل با انواع دیگر متفاوت است (Hojjati et al., 2013). علاوه بر این، آجیل سرشار از فیبر، ویتامین E و سایر ترکیبات است و پسته به دلیل دارا بودن مقدار مناسبی از ویتامین E باعث افزایش تقویت ایمنی بدن می‌شود. نکته حائز اهمیت این است که ویتامین E موجود در پسته در تحقیقات نشان داده است که نقش مهمی را در پیشگیری از بسیاری از انواع سرطان‌ها به ویژه سرطان ریه دارد (Dahooee et al., 2016). از طرفی در کنار عصاره و روغن‌های گیاهی، اسانس‌ها نیز خواص بیولوژیک متعددی دارند. در این راستا، در طی مطالعه‌ای ترکیبات عمده شناسایی شده در اسانس برگ پسته حضور β-Caryophyllene، Myrcene، α-Humulene و Limonene را تایید کرد (Magiatis et al., 1999). نتایج بررسی Bachrouch و همکارانش مشخص کرد که علاوه بر داشتن ترکیبات قبلی،

Terpinen-4-ol و α-Terpineol نیز وجود دارد (Bachrouch et al., 2010; Dragull et al., 2010). در طی پژوهشی دیگر نیز ترکیبات عمده موجود در اسانس اندام‌های هوایی شاخه پسته، Limonene، α-Pinene و α-Thujone تعیین گردید (Ezatpour et al., 2015). همچنین عمده ترکیبات اسانس پوسته خارجی پسته، α-Pinene و α-Terpineol گزارش شده است (Ozel et al., 2004). بنابراین با توجه به این که شیوع سرطان در کشورهای پیشرفته دنیا در حال افزایش است و سرطان‌ها نیز در برخی از موارد مقاومت دارویی نشان داده‌اند. تلاش جهت یافتن داروهای جدید علیه انواع سرطان‌ها از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. از این رو، در پژوهش حاضر به بررسی خواص بیولوژیک پسته *P. vera* به عنوان محبوب‌ترین آجیل غذایی پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

ارقام مختلف پسته از باغات استان کرمان تهیه و پس از شناسایی و تعیین نام علمی، در شرایط سایه و دمای محیط خشک گردید. سپس مواد شیمیایی مورد استفاده با خلوص بالا از شرکت‌های مرک و سیگما خریداری شد.

تهیه عصاره هیدرواتانولی

مقدار ۲۰ گرم از پودر آسیاب شده قسمت‌های مختلف پسته به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط الکل اتیلیک ۹۶ درصد و آب مقطر به نسبت ۸۵:۱۵ داخل ارلن اضافه و به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به روش Digestion انجام شد. بعد از این مدت، عمل صاف شدن محلول حاصل از مرحله قبل به کمک کاغذ واتمن شماره ۱ صورت گرفت و سپس به وسیله دستگاه روتاری (شرکت سازنده: Efficient، مدل دستگاه: LABOROTA 4001) تغلیظ گردید و در نهایت عصاره خشک توزین و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد در یخچال (شرکت سازنده: Samsung، مدل دستگاه: RT790 BAEW) نگهداری شد.

غربالگری فیتوشیمیایی مقدماتی عصاره (روش کیفی)

به منظور شناسایی متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره بر اساس فارماکوپه از روش‌های موجود استفاده شد.

سنجش مقدار فنول کل به روش رنگ‌سنجی فولین - سیوکالتیو

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین - سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره تهیه شد. سپس ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو ترکیب شده و پس از گذشت ۵ دقیقه ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات به آن اضافه شد. در نهایت نیز جذب نمونه حاصل پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۷۶۵ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (شرکت سازنده: Rayleight، مدل دستگاه: 1601) در مقابل بلانک قرائت شد. سپس گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به

کار رفت و مقدار فنول کل بر اساس میزان معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره گزارش گردید Singleton et al., (1999).

سنجش مقدار فلاونوئید کل به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید

مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره تهیه شد. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد اضافه شد. سپس در مرحله بعد ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار و همچنین ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری گردید. در ادامه، جذب نمونه حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت، مقادیر کل ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره گزارش گردید (Chang et al., 2002).

تعیین خواص آنتی اکسیدانی به روش $DPPH^0$

فعالیت آنتی اکسیدانی از طریق اندازه‌گیری ظرفیت مهار رادیکالی ۲ و۲ دی فنیل – ۱و۱ - پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت (Brand-Williams et al., 1995). بدین منظور، ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار ۲ و۲ دی فنیل -۱و۱- پیکریل هیدرازیل به ۱ میلی‌لیتر از نمونه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. سپس جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر با بلانک متانول قرائت شد. در نهایت، مقدار به دام‌اندازی رادیکال ۲ و۲ دی فنیل -۱و۱- پیکریل هیدرازیل با فرمول زیر محاسبه گردید (Blois, 1958).

$$RSA = (A_B - A_S) / A_B \times 100$$

A_B = میزان جذب نوری کنترل منفی

A_S = میزان جذب نوری نمونه‌های مورد آزمایش

RSA = درصد مهار رادیکال ۲ و۲ دی فنیل -۱و۱- پیکریل هیدرازیل

فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت مقدار IC_{50} بیان می‌گردد. در واقع IC_{50} نشاندهنده غلظتی از نمونه است که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در ظرفیت رادیکال آزاد می‌گردد (Sharma and Bhat, 2009).

بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره به روش انتشار دیسک

آزمون فعالیت ضد باکتریایی، بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بر اساس استاندارد NCCLS 2006 انجام شد.

ارزیابی سمیت سلولی به روش آزمون رنگ سنجی MTT

آزمون رنگ سنجی MTT یکی از پر کاربردترین آزمون‌های سلولی به عنوان یک مشخصه برای زنده بودن سلول، میزان بقا سلول را مشخص می‌کند. به طور معمول از این آزمون برای بررسی سمیت سلولی استفاده می‌کنند. اساس این روش تبدیل نمک تترازولیوم زرد رنگ یا همان معرف MTT، به کریستال‌های فورمازان بنفش رنگ در سلول‌های فعال است. بدین ترتیب، مقدار جذب نوری بر حسب شدت رنگ فورمازان در طول موج ۵۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه خوانش‌گر الایزا اندازه‌گیری گردید. در نهایت نیز به منظور تبدیل چگالی نوری (OD) به درصد سلول‌های زنده از فرمول زیر استفاده شد.

درصد توانایی زیستی = OD نمونه / OD شاهد × 100

شایان ذکر است که در این سنجش غلظتی از ترکیبات مورد آزمایش که درصد حیات سلولی را به نصف تقلیل می‌دهد به عنوان IC_{50} در نظر گرفته شد (Stockert et al., 2018).

ارزیابی توان زیستی بر روی رده سلولی سرطانی

بدین منظور، سلول‌ها در فلاسک حاوی محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر استرپتومایسین (برای جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم منفی) و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین (برای جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت) کشت و پاساژ داده شد. سپس جهت جدا نمودن سلول‌ها از کف فلاسک از محلول تریپسین استفاده گردید(Bible et al., 2021).

نتایج و بحث

تمام ترکیبات گیاهی مانند سبزیجات، میوه‌ها و دانه‌ها (مغزها) منابع طبیعی آنتی‌اکسیدان هستند. بنابراین، تحقیقات محققان تایید می‌کند که ارتباط نزدیکی بین استفاده مکرر از آجیل و کاهش سطح (LDL) وجود دارد. در حقیقت انواع واکنش‌های اکسیژن به شکل سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل به طور طبیعی در متابولیسم بدن رخ می‌دهد (Molyneux, 2004). با تکثیر بیش از حد، به مولکول‌های بیولوژیکی مانند چربی‌ها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، RNA و DNA حمله می‌کنند یا باعث آسیب شدید بافتی می‌شوند که می‌توان با مصرف مواد مغذی آنتی اکسیدانی مانند فلاونوئیدها و سایر مواد فنولی آن‌ها را کاهش داد (Mokhtarpour et al., 2014). در واقع، عوامل هم‌افزایی مانند مولکول‌های فعال زیستی موجود در غذاهای گیاهی مانند مغزها، مسئول افزایش خواص آنتی اکسیدانی هستند. خواص منحصر به فرد دانه‌ها (مغزها) با پروتئین‌های گیاهی، اسیدهای چرب غیراشباع، فیبرهای غذایی، استرول‌های گیاهی و ترکیبات غذایی مانند توکوفرول‌ها مرتبط است (Kornsteiner et al., 2006). شایان ذکر است که پسته و پوسته آن منبع غنی از ترکیبات فنولی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی مانند گالوتانین‌ها، گالیک اسید، میریستین و کوئرستین است و به عنوان یکی از ۵۰ منبع برتر ترکیبات فنولی رتبه‌بندی شده است (Hanachi and Saboora, 2016). در همین راستا لازم به ذکر است که قسمت‌های مختلف درخت، میوه، برگ و پوسته پسته دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند (Hosseinzadeh et al., 2012). در واقع، ترکیبات فنولی به دلیل داشتن خواص آنتی اکسیدان بالا، مهار سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهند و به همین منظور نقش مهمی را در پیشگیری و درمان سرطان دارند (Pourshamsian and Ojani, 2016). محتوای فنولیک شامل فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، کومارین‌ها، لیگنان‌ها، کینون‌ها و غیره است که دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد انعقادی، ضد درد (Hosseinzadeh et al., 2011) و ضد التهابی(Giner-Larza et al., 2001) می‌باشند و نتایج حاصل از محققان مشخص کرده است که این مشتقات استخراج شده از گیاهان دارویی بر روی رده‌های سلول سرطانی مختلف مورد مطالعه قرار گرفته‌اند به عنوان مثال گیاه گاوزیره که بر روی رده سلول سرطانی K562 بررسی شده است (Ojani et al., 2023). در همین راستا، در طی مطالعه‌ای بر روی یکی از گونه‌های پسته بر روی رده سلول سرطانی کولون مشخص شد که پسته حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی فنولیک، فلاونوئیدها و آنتوسیانین است (Balan et al., 2007). همچنین به دلیل وجود این ترکیبات

زیست فعال اثرات سمیت سلولی قابل ملاحظه‌ای در برابر سلول‌های سرطان روده بزرگ HT29 انسان از خود نشان می‌دهد (Rezaei et al., 2012). همچنین تاثیر پوست پسته بر روی رده سلول سرطانی پستان T47D تائید شده است Rezaei et al., 2012). در مطالعه‌ای دیگر اثر سمیت سلولی عصاره هیدروالکلی پوست پسته بر روی رده سلول سرطانی HepG2 مشخص گردید و طبق نتایج بدست آمده تعیین شد که با افزایش غلظت و زمان، زنده‌مانی سلول‌ها کاهش می‌یابد. در واقع روش معمول درمان سرطان این است که ماده موثره را وارد بدن می‌کنند و این ماده موثره علاوه بر سلول‌های سرطانی، سلول‌های سالم را نیز متاثر می‌کند و از آن جایی که پوست پسته یک ماده طبیعی گیاهی است تاثیر مخرب کمتری بر روی سلول‌های سالم می‌گذارد و در نهایت سبب افزایش اثر درمانی می‌شود. در این راستا، مطالعات تجربی نشان داده است که ترکیبات فیتوشیمیایی پسته اثرات دارویی بسیاری را از خود نشان داده است که از جمله آن‌ها می‌توان به کاهش فشار خون، اثرات ضد التهابی و ضد میکروبی (به ویژه بر روی باکتری‌های گرم مثبت مانند *Staphylococcus aureus*) اشاره کرد (Hanachi and Azadedel, 2022). نتایج فعالیت ضد میکروبی نشان داده است که در مورد تمام رقم‌های مختلف پوست سبز پسته باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی و همچنین قارچ‌ها حساس‌تر هستند و به طور کلی باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم منفی مقاوم‌تر هستند Oliveira et al., 2008; Fernández-Agulló et al., 2013). در واقع، این تفاوت احتمال دارد به دلیل تفاوت در ساختار دیواره سلولی آن‌ها باشد (Negi et al., 2003). شواهد تجربی نشان داده است که ترکیبات فنولیک موجود در پوست سبز پسته اثر ضد میکروبی بیشتری روی *Bacillus cereus* نسبت به *S. aureus* دارند و نکته جالب توجه این است که خاصیت ضد میکروبی رقم کله قوچی در بالاترین غلظت استفاده شده بیشتر از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین گزارش شده است (Bhunia, 2008). در حقیقت، ترکیبات موثره پسته به خصوص ترکیبات فنولیک آن مانند کوئرستین به عنوان منبع غنی از عوامل ضد میکروبی محسوب می‌شوند و همچنین به عنوان بازدارنده آنزیم DNA gyrase نیز عمل می‌کنند (Cushnie and Lamb, 2005). پسته همچنین حاوی ماده موثره‌ای به نام کاتچین (Catechin) می‌باشد که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است که خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی را کاهش می‌دهد و باعث کاهش فشار خون و کاهش علائم تصلب شرائین می‌شود. از طرفی بیشتر اسیدهای چرب موجود در پسته غیراشباع هستند که منجر به کاهش (LDL) می‌شود که یک ماده آتروژنیک است (Kawashty et al., 2000). در این راستا، مطابق با تحقیقات انجام شده پروتئین میوه‌های خشک مانند پسته حاوی اسیدآمینه آرژنین است که پیش‌ساز نیتریک اکسید می‌باشد و نیتریک اکسید نیز مسئول تنظیم فشار خون و جلوگیری از انسداد رگ‌های خونی است (Gheysarbigi et al., 2020). در نتیجه، مصرف پسته ممکن است در کاهش خطر تصلب شرایین و همچنین کاهش رسوب پلاک‌های چربی مفید و موثر باشد. در واقع پسته به دلیل وجود ترکیبات فنولی و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی مناسب نقش مهمی در سبد کالای غذایی انسان ایفا کرده است(Nadernejad et al., 2013) و به همین منظور داشتن کیفیت میوه بسیار حائز اهمیت می‌باشد و به طور کلی کیفیت میوه ممکن است که تحت تاثیر ژنتیک عوامل قبل از برداشت و بعد از برداشت قرار بگیرد و بر اساس نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد پوشش‌دار کردن میوه پسته با تیمار تلفیقی کارنوبا ۱ درصد و گاما - آمینوبوتریک اسید ۱۰ میلی مولار می‌تواند منجر به حفظ اغلب شاخص‌های کمی و کیفی میوه پسته تر از قبیل شاخص سفتی پوست و مغز، درصد رطوبت، مقدار رنگیزه‌های مغز و ترکیبات فنولی مغز و غیرع طی ۵۰ روز در انبار سرد

شود (Mirdehghan, 2021). از آن جایی که پسته تازه به عنوان یکی از محصولات مهم کشاورزی در کشور است و پتانسیل بالایی برای صادرات دارد. از این رو، یکی از مشکلات آن ماندگاری پایین آن می‌باشد که اخیرا استفاده از ترکیبات نانو نقره و دمای پایین می‌تواند باعث افزایش ماندگاری پسته تازه می‌شود. در این رابطه تحقیقات بسیاری نشان داده است که نانوذرات نقره به دلیل داشتن خواص ضد میکروبی بالا کاربرد فراوانی را در صنایع مختلف دارند (Montazeri and Ojani, 2018; Ojani, 2015). تحقیقات نشان داده است که میوه‌های خشک مانند پسته حاوی مقادیر بالایی کلسیم و فسفر هستند و در عین حال نیاز بدن به استخوان‌ها و دندان‌های قوی را تامین می‌کنند، به خصوص در افرادی که شیر یا لبنیات مصرف نمی‌کنند. پسته از فیبر بالایی برخوردار است که علاوه بر این که حرکات غذا را در دستگاه گوارش زیاد می‌کند در جلوگیری از انواع سرطان‌ها نیز موثر است (Benhammou et al., 2008). از طرفی پسته حاوی ویتامین‌های گروه B، آهن، روی و پتاسیم است که در این راستا روی می‌تواند نقش مهمی را در درمان سرطان ایفا کند و نکته مهم این است که روی می‌تواند سلول‌های طبیعی را در مقابل اثرات مضر داروهای ضد سرطان و اشعه محافظت کند (Nishimuta et al., 2000). همچنین شواهد تجربی نشان داده است میوه‌های خشک کاملا با رژیم غذایی دیابتی‌ها سازگاری دارند و از آن جایی که کربوهیدرات کم، پروتئین و چربی غیراشباع بالایی دارند، یک میان وعده ایده‌آل برای این افراد محسوب می‌شوند. از طرفی نیز پژوهشگران به این نتیجه رسیده‌اند که میوه‌های خشک حاوی ترکیباتی هستند که احتمال نیاز به جراحی کیسه صفرا و سرطان مثانه را کاهش می‌دهند (Barreca et al., 2016). در همین راستا مشخص شده است که پسته می‌تواند در درمان عفونت‌های مجاری ادراری به کار رود (Ojani and Amirkhani, 2022). همچنین بر اساس تحقیقات وزارت کشاورزی ایالات متحده آمریکا (USDA)، میوه‌های خشک شده مانند پسته حاوی ترکیبی به نام لوتئین (Lutein) هستند که از آسیب به قسمت مرکزی شبکیه جلوگیری می‌کند (Pumilia et al., 2014). گلی و همکارانش در سال ۲۰۰۵ گزارش دادند که پوست سبز پسته حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی است (Goli et al., 2005). در طی پژوهشی میزان ترکیبات فنولی ارقام مختلف پسته فروتنی ۳/۱۸، احمد آقایی ۳۱/۱، فندقی ۶/۱۵ و کله قوچی ۳/۱۵ میلی‌گرم در گرم معادل گالیک اسید گزارش شد که سطح بالای ترکیبات فنولی در پوست پسته نشان‌دهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالای آن است در طی پژوهشی فعالیت آنتی‌اکسیدانی فندق، گردو و پسته را با استفاده از یک روش آنتی‌اکسیدانی از نوع غیر آنزیمی به نام ۲،۲ - آزینو بیس ۳ - اتیل بنزوتیازولین ۶ - سولفونیک اسید (ABTS) اندازه‌گیری کردند و سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانی فندق، گردو و پسته به ترتیب ۳۵/۷، ۹۰/۵ و ۴۴/۴ میکرومولار ترولکس/ نمونه خشک گزارش شد (Arcan and Yemenicioğlu, 2009). اثر محافظتی عصاره پسته در مقابل کم‌خونی ناشی از فنیل هیدرازین بر روی سیستم تناسلی نر در موش‌ها نشاندهنده سطح بالای ترکیبات آنتی اکسیدانی با خواص درمانی آن است (Falahati-pour et al., 2024). در همین راستا، شواهد تجربی نشان داده است که عصاره هیدرواتانولی پسته به صورت وابسته به غلظت و زمان، سبب مهار رشد تا ۸۰ درصد در سلول‌های K562 به عنوان مدلی برای فاز بلاست لوسمی میلوئیدی مزمن (CML) می‌شود، به طوری که غلظت و زمان بهینه، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بعد از گذشت ۷۲ ساعت از تیمار می‌باشد (Keikhaei et al., 2014). وجود آنتوسیانین‌هایی مانند سیانیدین - ۳ - گالاکتوزید و سیانیدین - ۳ - گلوکوزید در مغز و پوست پسته می‌تواند دلیل خوبی برای بالا بودن اثرات آنتی اکسیدانی در پسته باشند(Tomaino et al., 2010; Miniati, E. 1981). آزمایشات اولیه فیتوشیمیایی صمغ پسته سطوح

بالایی از فلاونوئیدها، تانن‌ها و ساپونین‌ها را نشان داده است (Rohrdanz et al., 2002). همچنین شواهد تجربی نشان می‌دهد که پوسته سبز پسته می‌تواند به عنوان منبع ارزان و در دسترس ترکیبات زیست فعال مورد استفاده قرار گیرد (Azadedel et al., 2018).در همین راستا شایان ذکر است که هر کدام از این مواد موثره خواص بیولوژیک قابل ملاحظه‌ای را دارند که در حوزه‌های مختلف مانند پزشکی، داروسازی، آرایشی - بهداشتی، غذایی، کشاورزی و غیره کاربرد دارند.

در مجموع با توجه به نتایج حاصل از گزارشات محققان و پژوهشگران مشخص شد که تمامی ارقام پسته به دلیل داشتن متابولیت‌های ثانویه گوناگون نظیر ترکیبات فنولی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و ضد میکروبی قابل توجهی هستند و از این رو توصیه می‌شود که جهت پیشگیری از برخی از بیماری‌ها و حفظ سلامتی، مغزهای خوراکی به ویژه پسته بخش مهمی از رژیم غذایی روزانه افراد را تشکیل بدهند.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی - واحد رفسنجان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. AL-Saghir, M.G. and Porter, D.M. 2012. Taxonomic revision of the genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). American journal of plant sciences, 3(1):12-32.
2. Arcan, I. and Yemenicioğlu, 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(3): 184-188.
3. Azadedel, S., Hanachi, P. and Saboora, A. 2018. Investigation on antioxidant activity of pistachio (*Pistacia vera* L.) skin extraction. Journal of plant research (Iranian journal of biology), 30(4): 722-731.
4. Anu, K., Devanesan, S., Prasanth, R., AlSalhi, M.S., Ajithkumar, S. and Singaravelu, G. 2020. Biogenesis of selenium nanoparticles and their anti-leukemia activity. Journal of king saud university-science, 32(4): 2520-2526.
5. Bachrouch, O., Jemâa, J.M.B., Wissem, A.W., Talou, T., Marzouk, B. and Abderraba, M. 2010. Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of stored products research, 46(4): 242-247.
6. Barreca, D., Laganà, G., Leuzzi, U., Smeriglio, A., Trombetta, D. and Bellocco, E. 2016. Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) hulls. Food chemistry, 196: 493-502.
7. Balan, K.V., Prince, J., Han, Z., Dimas, K. Cladaras, M., Wyche, J.H., Sitaras, N.M. and Pantazis, P. 2007. Anti-proliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. chia. Phytomedicine, 14(4): 263-272.

8. Benhammou, N., Bekkara, F.A. and Panovska, T.K. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African journal of pharmacy and pharmacology, 2(2): 022-028.
9. Bhunia, A.K. 2008. *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis, 135-148.
10. Bible, K.C., Kebebew E., Brierley J., Brito J.P., Cabanillas M.E., Clark, T.J. Jr, Di Cristofano, A., Foote, R., Giordano, T., Kasperbauer, J., Newbold, K., Nikiforov, Y.E., Randolph, G., Rosenthal, M.S., Sawka, A.M., Shah, M., Shaha, A., Smallridge, R. and Wong-Clark, C.K. 2021. 2021 American thyroid association guidelines for management of patients with anaplastic thyroid cancer. Thyroid, 31(3): 337-386.
11. Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181(4617): 1199-1200.
12. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and technology, 28(1): 25-30.
13. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3).
14. Cushnie, T.T. and Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. International journal of antimicrobial agents, 26(5): 343-356.
15. Dahooee, F., Fatemi, S.J., Mandegary, A. and Sharififar, F. 2016. Iron chelating and antioxidant activities and cytotoxicity effect of the Pistachio (*Pistacia vera* L.) hull and kernel extracts in the A549, HT29 and MCF-7 cancerous cell lines. International journal of clinical pharmacology & toxicology, 5(1): 195-201.
16. Dragull, K., Beck, J.J. and Merrill, G.B. 2010. Essential oil yield and composition of *Pistacia vera* 'Kerman' fruits, peduncles and leaves grown in California. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(4): 664-668.
17. Ellis, M.J. 1994. The methodology of shelf life determination. In Shelf life evaluation of foods. Boston, MA: Springer US, 27-39.
18. Ezatpour, B., Saedi Dezaki, E., Mahmoudvand, H., Azadpour, M. and Ezzatkhah, F. 2015. In vitro and in vivo antileishmanial effects of *Pistacia khinjuk* against *Leishmania tropica* and *Leishmania major*. Evidence based complementary and alternative nedicine, 2015(1): 149707.
19. Falahati-pour, S.K., Khoradmehr, A., Baghery, F., Amin, F., Parvaz, N. and Pourmasumi, S. 2024. Antioxidant properties of *Pistacia vera* against the effects of phenylhydrazine induced hemolytic anemia on male fertility in mice. Andrologia, 2024(1): 5512743.
20. Fernández-Agulló, A., Pereira, E. Freire, M.S., Valentão, P., Andrade, P.B., González-Álvarez, J. and Pereira, J.A. 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. Industrial crops and products, 42: 126-132.
21. Garcia, J.M., Agar, I.T. and Streif, J. 1992. Fat content and fatty acid composition in individual seeds of *Pistachio* varieties grown in Turkey. European journal of horticultural science. 57(3): 130-133.

22. Gheysarbigi, S., Mirdehghan, S.H., Ghasemnezhad, M. and Nazoori, F. 2020. The inhibitory effect of nitric oxide on enzymatic browning reactions of in-package fresh pistachios (*Pistacia vera* L.). Postharvest biology and technology, 159: 110998. https://ma.x-mol.com/paperRedirect/5880 064.
23. Giner-Larza, E.M., Máñez, S., Recio, M.C., Giner, R.M., Prieto, J.M., Cerdá-Nicolás, M. and Ríos, J.L. 2001. Oleanonic acid, a 3-oxotriterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. European journal of pharmacology, 428(1): 137-143.
24. Goli, A.H., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera*) hull extracts. Food chemistry, 92(3): 521-525.
25. Hanachi, P. and Azadedel, S. 2022. Investigation of antibacterial properties in *Pistacia vera* L. extract on *Staphylococcus aureus*. Navid No, 25(81): 57-66.
26. Hanachi, P. and Saboora, O. 2016. Investigation of soluble and insoluble tannins and anthocyanins assay in two Cultivar pistachio (*Pistacia vera* L). Journal of food science and technology (Iran), 14(63): 179-186.
27. Hojjati, M., Calín-Sánchez, Á., Razavi, S.H. and Carbonell-Barrachina, Á.A. 2013. Effect of roasting on color and volatile composition of pistachios (*Pistacia vera* L.). International journal of food science and technology, 48(2): 437-443.
28. Hoerger, T.J., Bala, M.V., Bray, J.W., Wilcosky, T.C. and LaRosa, J. 1998. Treatment patterns and distribution of low-density lipoprotein cholesterol levels in treatment-eligible United States adults. The American journal of cardiology, 82(1): 61-65.
29. Hosseinzadeh, H., Behravan, E. and Soleimani, M.M. 2011. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Pistacia vera* leaf extract in mice. Iranian journal of pharmaceutical research, 10(4): 821.
30. Hosseinzadeh, H., Tabassi, S.A.S., Moghadam, N.M., Rashedinia, M. and Mehri, S. 2012. Antioxidant activity of *Pistacia vera* fruits, leaves and gum extracts. Iranian journal of pharmaceutical research, 11(3): p. 879.
31. Iranmanesh, F., Amin, A.M., Shamsizadeh, A., Fatemi, I., Rad, A.M. and Rahnama, A. 2017. Effects of *Pistacia vera* hydro-alcoholic extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in male rats. Iranian journal of pharmacology and therapeutics, 14(2): 35-40.
32. Kashaninejad, M., Mortazavi, A., Safekordi, A. and Tabil, L.G. 2006. Some physical properties of Pistachio (*Pistacia vera* L.) nut and its kernel. Journal of food engineering, 72(1): 30-38.
33. Kawashty, S.A., Mosharrafa, S.A.M., El-Gibali, M. and Saleh, N.A.M. 2000. The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. Biochemical systematics and ecology, 28(9): 915-917.
34. Keikhaei, F., Naghsh, N. and Modaresi, M. 2014. The comparison between hydroethanolic extraction of *pistacia Atlantica* and Suzin effects on growth inhibition of K562 cell line in vitro condition. Arak medical university journal, 17(87): 66-73.
35. Kornsteiner, M., Wagner, K.H. and Elmadfa, I. 2006. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. Food chemistry, 98(2): 381-387.
36. Küçüköner, E. and Yurt, B. 2003. Some chemical characteristics of *Pistacia vera* varieties produced in Turkey. European food research and technology, 217: 308-310.

37. Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F.P., Saija, A., Trombetta, D. and Tomaino, A. 2013. In vitro antioxidant and in vivo photo protective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seed and skin extracts. Fitoterapia, 85: 41-48.
38. Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A.L., Chinou, I.B. and Mitaku, S. 1999. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. chia. Planta medica, 65(08): 749-752.
39. Mirdehghan, H. 2021. Study on storage of fresh pistachio cultivar ahmad aghaie using gamma aminobutyric acid and carnuba wax. Journal of food science and technology (Iran), 18(110): 153-163. DOI: 10.29252/fsct.18.01.14. (In Persian)
40. Miniati, E. 1981. Anthocyanin pigment in the pistachio nut. Fitoterapia, 52: 267-271.
41. Mokhtarpour, A., Naserian, A.A., Valizadeh, R., Mesgaran, M.D. and Pourmollae, F. 2014. Extraction of phenolic compounds and tannins from pistachio by-products. Annual research and review in biology, 4(8):1330-1338.
42. Montazeri, N. and Ojani, S.H. 2018. Application of catalysts in the synthesis of heterocyclic compounds. Islamic Azad University (Tonekabon) Publications, First Edition. (In Persian)
43. Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl ($DPPH^0$) for estimating antioxidant activity Songklanakarin journal of science and technology, 26(2): 211-219.
44. Nadernejad, N., Ahmadimoghadam, A., Hossyinifard, J. and Poorseyedi, S. 2013. Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (*Pistacia vera* L.). Journal of plant biological sciences, 5(15): 95-110.
45. Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. 2003. Antioxidant and anti-mutagenic activities of pomegranate peel extracts. Food chemistry, 80(3): 393-397.
46. Nishimuta, S., Taki, M., Takaishi, S., Iijima, Y. and Akiyama, T. 2000. Structures of 4-aryl-coumarin (neo flavone) dimers isolated from *Pistacia* chinensis BUNGE and their estrogen-like activity. Chemical and pharmaceutical bulletin, 48(4): 505-508.
47. Ojani, S., Montazeri, N., Mohammadi Zeydi, M. and Ghane, M. 2023. Phytochemical examination of the hydroalcoholic extract of *Polylophium involucratum* (Pall.) Boiss. harvested from the heights of the Javaherdeh - Ramsar and determination of its cytotoxic effects on chronic myeloid leukemia. Iranian journal of biological sciences, 18: 49-62. (In Persian).
48. Ojani, S. and Amirkhani, S. 2022. Antibacterial activity of methanolic extract of *Pistacia atlantica* fruits using disk diffusion method for the treatment of urinary tract infections. 23rd International congress of microbiology of Iran. Faculty of medicine, Tehran University of medical sciences.
49. Ojani, Sh. 2015. Quantitative and qualitative study of the essential oil and alcoholic extract of the *Polylophium involucratum* (Pall.) Boiss. harvested in the highlands of Ramsar using microwave irradiation and its use to synthesis of silver nanoparticles. (M.Sc) Thesis: Islamic Azad University, Tonekabon Branch. (In Persian)

50. Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J.A. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food and chemical toxicology, 46(7): 2326-2331.
51. Ozel, M.Z., Gogus, F., Hamilton, J.F. and Lewis, A.C. 2004. The essential oil of *Pistacia vera* L. at various temperatures of direct thermal desorption using comprehensive gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. Chromatographia, 60: 79-83.
52. Panahi, B. 2001. Pistachio Guide planting and harvest. Publication agriculture. P. 20-42.
53. Pearson, T.C., Slaughter, D.C. and Studer, H.E. 1994. Physical properties of pistachio nuts. Transactions of the ASAE, 37(3): 913-918.
54. Pourshamsian, K. and Ojani, S. 2016. Phytochemical screening of the aqueous extract of seeds of *Polylophium involucratum* (Pall.) Boiss. from Ramsar-Iran. Planta medica, 82(05): 62.
55. Pumilia, G., Cichon, M.J., Cooperstone, J.L., Giuffrida, D., Dugo, G. and Schwartz, S.J. 2014. Changes in chlorophylls, chlorophyll degradation products and lutein in pistachio kernels (*Pistacia vera* L.) during roasting. Food research international, 65: 193-198.
56. Rajaei, A., Barzegar, M., Mobarez, A.M., Sahari, M.A. and Esfahani, Z.H. 2010. Antioxidant, anti-microbial and anti-mutagenicity activities of pistachio (*Pistacia vera*) green hull extract. Food and chemical toxicology, 48(1): 107-112.
57. Rezaei, P.F., Fouladdel, S., Ghaffari, S.M., Amin, G. and Azizi, E. 2012. Induction of G1 cell cycle arrest and cyclin D1 down-regulation in response to pericarp extract of Baneh in human breast cancer T47D cells. Daru Journal of pharmaceutical sciences, 20(1): 101.
58. Rezaei, P.F., Fouladdel, S., Hassani, S., Yousefbeyk, F., Ghaffari, S.M., Amin, G. and Azizi, E. 2012. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by pericarp polyphenol-rich extract of Baneh in human colon carcinoma HT29 cells. Food and chemical toxicology, 50(3-4):1054-1059.
59. Rohrdanz, E., Ohler, S., Tran-Thi, Q. and Kahl, R. 2002. The phytoestrogen daidzein affects the antioxidant enzyme system of rat hepatoma H411E cells. Journal of nutrition. 132: 370-5.
60. Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178.
61. Sharma, O.P. and Bhat, T.K. 2009. $DPPH^0$ antioxidant assay revisited. Food chemistry, 113(4): 1202-1205.
62. Stockert, J.C., Horobin, R.W., Colombo, L.L. and Blázquez-Castro, A. 2018. Tetrazolium salts and formazan products in cell biology: viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. Acta histochemica, 120(3): 159-167.
63. Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C. and Saija, A. 2010. Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. Biochimie, 92(9): 1115-1122.
64. Villar, A., Sanz, M.J. and Paya, M. 1987. Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L. International journal of crude drug research, 25(1): 1-3.