

بررسی اثرات پرتودهی گاما بر خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی و اسانس گیاه مامیران

فائزه فاطمی^{۱*}، یونس عصری^۲ و صابره نائیج^۳

^۱ تهران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده چرخه سوخت

^۲ تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، دپارتمان گیاه‌شناسی

^۳ تهران، دانشگاه پیام نور، دپارتمان زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۱۱

چکیده

در این تحقیق، ترکیبات و خواص بیولوژیکی اسانس و عصاره آبی استخراج شده از مامیران و اثرات پرتودهی گاما بر روی خواص بیولوژیک آنها، مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور، گیاه مامیران از منطقه سیسنگان، نوشهر جمع‌آوری و به مدت یک هفته در دمای اتاق و به دور از نور خورشید خشک شد. بخشی از نمونه‌ها برای پرتودهی با اشعه گاما به سازمان انرژی اتمی منتقل و با دز ۱۰ و ۲۵ کیلوگری پرتودهی شدند. اسانسها با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج و ترکیبات آن توسط دستگاه GC/MS آنالیز شد. در ادامه، عصاره هیدروالکلی تهیه و میزان فلاونوئید با محلولهای استاندارد تعیین شد. در مرحله بعدی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با انجام آزمونهای بتاکاروتن و DPPH تعیین گردیدند. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز GC/MS، در نمونه کنترل، ۲۲ نوع ترکیب و در نمونه‌های پرتودیده ۱۰ و ۲۵ کیلوگری، به ترتیب ۱۸ و ۲۶ نوع ترکیب در اسانس شناسایی شد. بیشترین میزان فلاونوئید متعلق به نمونه پرتودیده با دز ۲۵ کیلوگری و کمترین میزان متعلق به نمونه کنترل تعیین گردید که این تغییرات معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین، در آزمون بتاکاروتن و DPPH در مقایسه با آنتی‌اکسیدانهای استاندارد، اسانس و عصاره هیدروالکلی نمونه‌های مامیران پرتودیده و کنترل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای داشتند. به طور کلی، با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، اسانس و عصاره هیدروالکلی استخراج شده از مامیران دارای ترکیبات مشخصی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و پرتودهی گاما تأثیر معنی‌داری بر روی میزان فلاونوئید کل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نداشته است.

واژگان کلیدی: گیاه دارویی، خواص آنتی‌اکسیدانی، اسانس، مامیران، نوشهر، مازندران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۴۱۸۶۳۴۹، پست الکترونیکی: fatemi81@yahoo.com

مقدمه

بیشتر بر روی دیوارها، مناطق متروک، مکانهای سایه دار، حاشیه جاده‌ها و مناطق مجاور آبدی‌ها رشد میکند. نمونه‌هایی از این گیاه را در استان‌های مازندران، گرگان، رشت و آذربایجان میتوان مشاهده نمود (۱۷).

گیاه مامیران منبعی سرشار از مواد متنوعی است که اختصاصات ضد میکروبی، ضد توموری و ضد التهابی دارد

مامیران گیاهی پایا به ارتفاع ۵۰ تا ۱۰۰ سانتیمتر با ساقه‌های قائم و گسترش یافته می‌باشد که برگهای پهن و بزرگ دارد و گل‌های زرد رنگ آن در راس ساقه‌ها به صورت گل‌آذین چتر ساده قرار گرفته‌اند. در تمام این گیاه، شیرابه‌ای به رنگ زرد نارنجی جریان دارد. این گونه در مناطق وسیعی از آسیا و اروپا رویش دارد (۱۷). مامیران

گرایش علمی به مطالعه اثر پرتودهی بر فعالیت ضداسکایسی و ضد میکروبی گیاهان دارویی بیشتر شده است (۱۷).

در این پژوهش برای نخستین بار در کشور، گیاه مامیران رویش یافته در استان مازندران مد نظر قرار گرفته و خواص بیولوژیکی اسانس و عصاره آبی این گیاه دارویی مطالعه گردیده است. در ادامه برای اولین بار در ایران به بررسی تاثیر پرتودهی با اشعه گاما بر کاهش میزان آلودگی این گیاه دارویی پرداخته شده است و میزان تغییرات اسانس و عصاره آبی این گیاه با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

پرتودهی مامیران: در این تحقیق از بخش‌های هوایی گیاه دارویی مامیران استفاده شده است. ابتدا نمونه‌ها از منطقه سی سنگان نوشهر جمع‌آوری و به سه قسمت تقسیم شدند. دو قسمت از نمونه‌های خشک و پودر شده در کیسه‌های پلی اتیلنی با ابعاد $19 \times 14 \times 5$ ریخته شد و پس از بسته‌بندی، به وسیله دستگاه گاما سل ۲۲۰ با منبع Co^{60} در دزهای حداقلی ۱۰ و ۲۵ کیلوگری به صورت جداگانه پرتودهی شدند. سیستم پرتودهی مورد استفاده در این پژوهش، شامل یک منبع پرتودهی تحقیقاتی با اکتیویته بالا در پژوهشکده کاربرد پرتوها می‌باشد که با دزیمترهای استاندارد فریک کالیبره شده است. دمای محیط پرتودهی در حدود ۲۲-۲۳ درجه سانتیگراد و تمام نمونه‌ها تحت آهنگ $3/02 \text{ Gy/sec}$ پرتودهی شدند. نمونه‌های شاهد و پرتودیده تا زمان انجام آزمایش در بسته‌های پلی اتیلنی در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. به منظور صحت روند آزمایش، آزمایشات در دو سری جداگانه انجام گرفت و جذب نمونه‌ها در هر دو بار خوانده شد.

تهیه اسانس گیاهی: اسانس بخش‌های هوایی گیاه مامیران به وسیله دستگاه کلونجر استخراج شد. به این منظور، ۱۵۰

(۱۱). خاصیت مسکن بودن و مدر بودن، تحریک ترشح صفرا و همچنین خاصیت ضداسپاسمی این گیاه دارویی مشخص شده است (۵). مامیران محتوی آلکالوئید کلیدونین است که شبیه آلکالوئید پاپاورین خشخاش میباشد (۱۳) و ضد انقباض بوده و اثر مسکن روی لوله‌های صفرا و نایژه دارد (۲۵). همچنین این گیاه حاوی آلکالوئید اسپارتین بوده که موجب بازگشت حالت نامنظم ضربان قلب به حالت نرمال میشود. گیاه محتوی مقدار زیادی متابولیت ثانویه آلکالوئید ایزوکوئینولین از جمله Chelidionine, Sanguinarin, Coptisine, Berberin و Chelerythrine میباشد که دارای خاصیت ضد میکروبی هستند (۲۱).

از آنجا که گیاهان دارویی به صورت کاملاً خام به نقاط مختلف دنیا انتقال می‌یابند و در برخی از کشورها به محصولات بینابینی و یا نهایی تبدیل شده و مجدداً صادر می‌شوند (۳)، تهیه و نگهداری و نیز حمل و نقل نامناسب گیاهان دارویی می‌تواند باعث رشد و تکثیر انواع میکروارگانیسم‌ها در آنها شود که این مسئله ضرورت حذف آلودگی از این گیاهان را مشخص می‌نماید.

یکی از روش‌های قدیمی حذف آلودگی، استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی نظیر اتیلن اکسید و پروپیلن بوده است، اما به دلیل سمیت اتیلن اکسید و واکنش دهنده‌های آن و از بین رفتن مواد مغذی نظیر ویتامین B_۱ و همچنین اثرات سوء آنها در محیط زیست، استفاده از آن در بسیاری از کشورها ممنوع و پرتودهی جایگزین آن شده است (۱۷). فرآیند پرتودهی با اشعه گاما در میان روش‌های غیرحرارتی اخیر در کاهش آلودگی بعد از برداشت مواد غذایی جایگاه ویژه‌ای دارد. این فرآیند به عنوان روشی ایمن برای استریل کردن گیاهان شناخته شده است (۲۲) و (۲۳). پرتودهی مواد غذایی خشک به ویژه گیاهان در بسیاری از کشورها به منظور کاهش تعداد میکروارگانیسم‌های بیماریزا و فاسدکننده به کار گرفته می‌شود. امروزه

در طول موج ۴۱۵ نانومتر و در مقابل محلول شاهد که حاوی ۵ میلی‌لیتر عصاره مامیران با ۵ میلی‌لیتر اتانول بدون آلومینیوم تری کلراید بود، خوانده شد. سپس، مقدار کل فلاونوئیدها با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از کریستین^۶ (۱۰-۰ mg/l) مقایسه و به صورت میلی‌گرم هم ارز کریستین در هر گرم از عصاره هیدروالکلی گزارش شد.

ظرفیت به دام انداختن رادیکال آزاد اسانس (آزمون 2,2-diphenylpicrylhydrazyl): ظرفیت ضد اکسایشی الکترون یا اتم هیدروژن عصاره‌ها و ترکیبات خالص از طریق بی‌رنگ شدن محلول متانولی DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl) اندازه‌گیری شده است. در این آزمون اسپکتروفتومتری، رادیکال پایدار DPPH به عنوان معرف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶ و ۱۱). در میان غلظت‌های مختلف اسانس تهیه شده، ۲۰v/v درصد (در متانول) برای آزمون DPPH مناسب بوده است. ۵۰ میکرولیتر از اسانس در متانول، به ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۰۰۴٪ در متانول) اضافه گردید. ترولوکس (۱ میلی‌مول) به عنوان آنتی‌اکسیدان مرجع مورد استفاده قرار گرفت. پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و در تاریکی، جذب در مقابل بلانک در طول موج ۵۱۷nm خوانده شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد (I%) در حضور اسانس با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

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

A_{blank} = میزان جذب معرف شاهد است (شامل تمام معرف‌ها به غیر از محلول‌های مورد آزمایش)
 A_{sample} = جذب محلول‌های مورد آزمایش

ظرفیت به دام انداختن رادیکال آزاد عصاره هیدروالکلی (آزمون 2,2-diphenylpicrylhydrazyl): ظرفیت به دام انداختن رادیکال‌های آزاد عصاره هیدروالکلی مامیران با استفاده از رادیکال DPPH به صورت اسپکتروفتومتری

گرم از گیاه خشک و پودر شده پس از افزودن ۱۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۳ ساعت در یک بالن دو لیتری جوشانده شد. سپس، در قسمت نزولی دستگاه، فاز روغنی جدا گردید. اسانس حاصل در یخچال یا فریزر پایدار است.

استخراج عصاره هیدروالکلی: برای استخراج عصاره هیدروالکلی مامیران، ۳۰ گرم از گیاه خشک پودر شده، با ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آب و متانول ۵۰ درصد با دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد مخلوط و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در حمام آب گرم نگهداری شد. مخلوط حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۳ صاف شد. عصاره فیلتر شده برای مصارف بعدی در فریزر نگهداری گردید.

تجزیه اسانس استخراج شده از مامیران با دستگاه GC/MS: آنالیز ترکیبات اسانس به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل 6890 کوپل شده با طیف سنج جرمی مدل 5973-N، دارای ستون موئین HP-5MS با فاز ساکن متیل فنیل سیلوکسان ۵ درصد (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر)، برنامه دمایی ۲۴۶-۶۰ درجه سانتی‌گراد با نرخ ۳°C/min، دمای تزریق کننده و دتکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هلیم انجام گرفت. اجزا و ترکیبات نمونه‌ها با استفاده از روش طیف سنجی جرمی و مقایسه شاخص‌های بازداری آنها با ترکیبات استاندارد شناسایی شدند.

اندازه‌گیری میزان کل فلاونوئیدها در عصاره هیدروالکلی مامیران: برای اندازه‌گیری مقدار کل فلاونوئیدهای موجود در مامیران از روش Dowd تغییر یافته توسط Arvouet-Grand و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد (۴). به طور خلاصه در این روش، ۵ میلی‌لیتر از محلول ۲ درصد آلومینیوم تری کلراید با متانول هم حجم با عصاره آبی مخلوط گردید. پس از ۱۰ دقیقه، جذب محلول حاصل

تعیین گردید (۶). در این روش، ۲ میلی لیتر از عصاره هیدروالکلی به محلول DPPH (۱۲۵ میکرومول در متانول) اضافه گردید. محلول در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوباسیون گردید. کاهش جذب DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار با مقایسه جذب بلانک و نمونه‌ها محاسبه گردیده است.

آزمون β -Carotene-Linoleic Acid اسانس و عصاره

هیدروالکلی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره هیدروالکلی با آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن تعیین گردید (۱۴). ابتدا ۱۰ میلی گرم از بتاکاروتن (نوع ۱ سنتتیک) در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد، ۰/۲ میلی لیتر از این محلول به فلاکس محتوی ۲۰۰ میلی گرم توئین ۴۰ و ۲۰ میلی گرم لینولئیک اسید اضافه شد. کلروفرم با استفاده از دستگاه روتاری در ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه حذف گردید. سپس ۵۰ میلی لیتر آب اکسیژندار شده به آن اضافه و به شدت بهم زده شد تا فرم امولسیون تشکیل گردد. ۵ میلی لیتر امولسیون به لوله محتوی ۰/۲ میلی لیتر اسانس طبق روش Choe و همکاران اضافه گردید (۹). جذب بلافاصله در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مقابل بلانک -محتوی یک امولسیون بدون بتاکاروتن- خوانده شد. سپس لوله‌ها در حمام آب گرم ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده و پس از گذشت ۶۰ دقیقه، اکسیداسیون امولسیون به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نمونه‌های محتوی ۰/۲ میلی لیتر اتانول به جای اسانس، به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. همچنین، BHT (Butylatedhydroxytoluene) که یک آنتی‌اکسیدان پایدار است، به عنوان آنتی‌اکسیدان مرجع در نظر گرفته شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

$$AA = 100 (DR_C - DR_S) / DR_C$$

AA = فعالیت آنتی‌اکسیدانی

DR_C = میزان تخریب بتاکاروتن در شاهد [ln(a/b)/60]

DR_S = میزان تخریب بتاکاروتن در نمونه [ln(a/b)/60]

a = جذب در زمان صفر b = جذب در زمان ۶۰ دقیقه

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS۲۰ و آنالیز واریانس یکطرفه در سطح احتمال (p < ۰/۰۵) انجام شد.

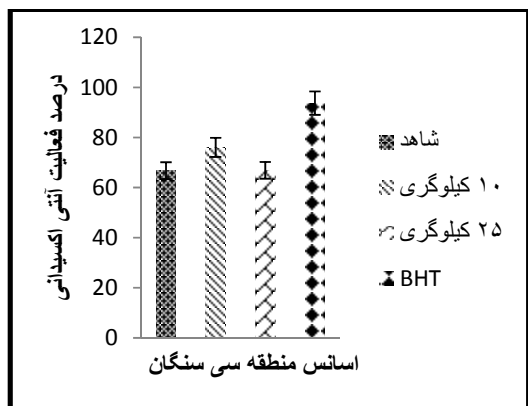
نتایج

تجزیه اسانس مامیران پرتودیده و شاهد (پرتودیده): در اسانس استخراج شده از بخش هوایی مامیران در نمونه شاهد، ۲۲ نوع ترکیب و در نمونه‌های پرتودیده ۱۰ و ۲۵ کیلوگری به ترتیب ۱۸ و ۲۶ نوع ترکیب شناسایی گردید (جدول ۱). ترکیبات عمده در نمونه شاهد شامل Phytol (۵۰/۹۵٪)، Pentadecanone (۱۲/۷۳٪)، Neophytadiene (۵/۸۱٪) و beta-Ionone (۱/۳۴٪) بوده است که پرتودهی گاما تغییرات اندکی در محتوی ترکیبات ایجاد کرده است. بر طبق این نتایج، تغییرات در پرتودهی با دز ۱۰ کیلوگری به ترتیب ۲/۴۹-، ۱/۴۱+، ۳/۵۱-، ۱/۱۰+ درصد و در پرتودهی با دز ۲۵ کیلوگری به ترتیب ۱۲/۳۵-، ۲/۸۳+، ۴/۰۲- و ۱/۶۱+ درصد بودند.

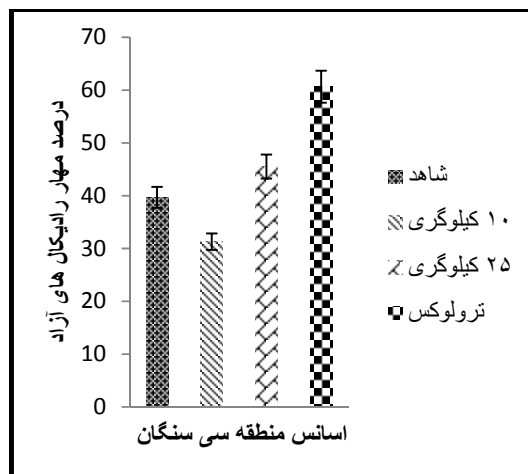
تاثیر پرتو گاما بر توانایی به دام انداختن رادیکالهای آزاد اسانس مامیران: شکل ۱ میزان توانایی به دام انداختن رادیکالهای آزاد اسانس استخراج شده از مامیران را در مقایسه با آنتی‌اکسیدان مرجع (تروکس) نشان داده است. میزان توانایی به دام انداختن رادیکالهای آزاد اسانس نمونه‌های مامیران شاهد معادل ۳۹/۷ درصد می‌باشد که این میزان پس از پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی‌داری نداشته است (P > 0.05).

جدول ۱- ترکیبات اسانس استخراج شده از مامیران پرتودهی شده با گاما و مقایسه آن با نمونه شاهد

۲۵ کیلوگری		۱۰ کیلوگری		شاهد		ترکیب شیمیایی	
زمان بازداری	%	زمان بازداری	%	زمان بازداری	%		
-	-	-	-	۱۰/۷۶	۰/۳۲	dl-Limonene	۱
۱۳/۶۸	۰/۴۰	-	-	-	-	Nonanal	۲
۱۸/۵۳	۰/۲۳	-	-	-	-	Dimethyl tetrasulphide	۳
۱۸/۶۷	۰/۲۰	-	-	-	-	3-Isopropylidene-5-methyl-hex-4	۴
۲۷/۲۴	۰/۲۸	-	-	-	-	alpha-Ionone	۵
۲۹/۶۲	۲/۹۵	۲۹/۵۸	۲/۴۴	۲۹/۵۹	۱/۳۴	beta-Ionone	۶
۳۰/۸۰	۰/۳۱	۳۰/۷۹	۰/۶۶	۳۰/۸۰	۰/۲۰	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethyleth)	۷
۳۰/۹۶	۰/۳۵	-	-	-	-	1H-Imidazole, 1-(cyclohexylcarb)	۸
۳۳/۹۴	۱/۰۹	۳۳/۹۲	۱/۴۷	۳۳/۹۳	۰/۹۲	2-Ethylhexyl, 2-ethylhexanoate	۹
۳۴/۲۳	۰/۲۶	-	-	-	-	Tetradecanal	۱۰
-	-	۳۷/۸۸	۱/۶۳	-	-	Octadecanal	۱۱
۳۷/۹۱	۱/۶۳	-	-	۳۷/۹۰	۰/۹۹	Tetradecanal	۱۲
-	-	۴۲/۰۴	۰/۵۸	-	-	Citronellyl propionate	۱۳
۴۲/۰۵	۰/۴۰	-	-	-	-	Neophytadiene	۱۴
۴۲/۵۱	۱۵/۵۶	۴۲/۴۱	۱۴/۱۴	۴۲/۴۶	۱۲/۷۳	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimet	۱۵
۴۳/۲۵	۰/۵۶	۴۳/۲۱	۰/۵۱	۴۳/۲۵	۰/۷۱	1,2-Benzenedicarboxylic acid	۱۶
۴۳/۷۶	۰/۹۷	۴۳/۷۳	۰/۸۸	۴۳/۷۵	۰/۵۷	9,12-Octadecadienoyl chloride	۱۷
-	-	۴۳/۹۵	۱/۱۷	۴۳/۹۶	۰/۶۸	11,14,17-Eicosatrienoic acid, m	۱۸
۴۴/۷۷	۱/۰۰	۴۴/۷۴	۰/۹۷	۴۴/۷۵	۰/۸۳	3-Methyl-2-(3,7,11-trimethyl)do	۱۹
۴۴/۹۳	۰/۴۰	-	-	۴۴/۹۳	۰/۳۳	Hexadecanoic acid, methyl ester	۲۰
۴۵/۶۶	۱/۵۶	۴۵/۶۲	۱/۴۵	۴۵/۶۳	۰/۷۴	Isophytol 1-Hexadecen-3-ol	۲۱
۴۶/۲۵	۰/۹۹	۴۶/۲۲	۰/۸۶	۴۶/۲۴	۱/۰۴	Dibutyl phthalate	۲۲
-	-	-	-	۴۶/۷۶	۱/۰۵	Hexadecanoic acid	۲۳
۴۷/۱۴	۰/۳۵	-	-	-	-	Eicosane	۲۴
-	-	-	-	۵۰/۳۳	۰/۵۵	Ethyl linoleolate	۲۵
۵۰/۳۳	۰/۶۹	-	-	-	-	9,12,15-Octadecatrienoic acid	۲۶
-	-	۵۰/۵۲	۱/۳۲	۵۰/۵۵	۱/۰۳	Pyrrolidin-2-one, 5,3-heptnon	۲۷
۵۰/۵۵	۰/۹۷	-	-	-	-	3,6,6-Trimethylcyclohexa-2-en-1	۲۸
۵۱/۱۰	۳۸/۴۲	۵۰/۹۸	۴۸/۰۹	۵۱/۱۱	۵۰/۹۵	Phytol	۲۹
-	-	۵۱/۳۷	۱/۳۲	-	-	2-(3-Fluorophenyl)pyrimidine	۳۰
۵۱/۴۲	۰/۵۸	-	-	-	-	5-Cyano-(4,5-dihydro-3H-pyrrol)	۳۱
-	-	-	-	۵۱/۴۳	۰/۵۲	2-Cyanomethyl-1,3-benzothiazole	۳۲
-	-	۵۱/۶۰	۲/۸۴	-	-	Cyclopentanone, 2-(5-oxohexyl)	۳۳
۵۱/۶۵	۱/۹۱	-	-	-	-	1,2,3,4,5-Pentamethyl-cyclopentane	۳۴
-	-	-	-	۵۱/۶۶	۲/۴۱	5-Isopropyl-2(5H)-furanone	۳۵
-	-	۵۱/۸۲	۰/۹۴	-	-	1-Docosene	۳۶
-	-	-	-	۵۱/۸۸	۰/۹۲	Citronellylvalerate	۳۷
۵۳/۷۱	۰/۳۸	-	-	۵۳/۷۳	۰/۷۹	Phytol acetate	۳۸
۵۸/۵۳	۱/۷۹	۵۸/۳۳	۲/۶۶	۵۸/۴۰	۵/۸۱	Neophytadiene	۳۹
-	-	-	-	۱۰/۷۶	۰/۳۲		



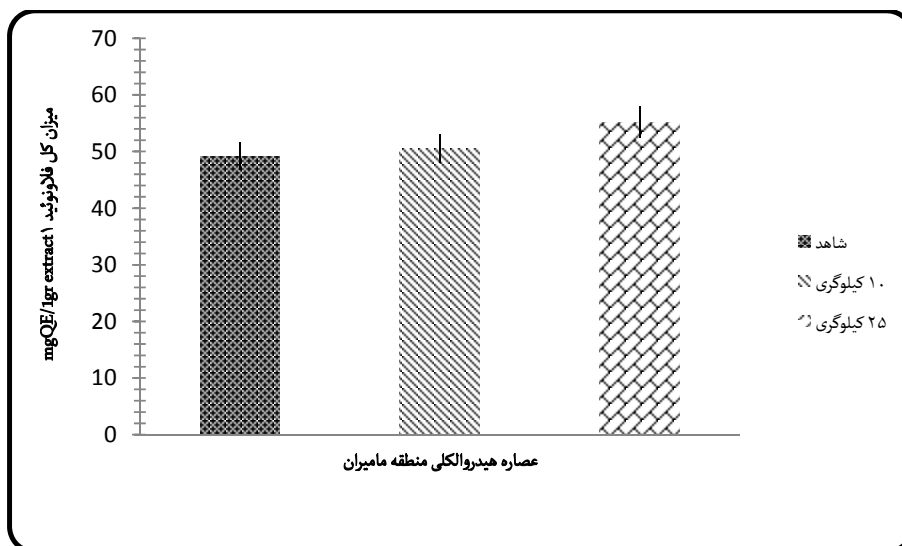
شکل ۲- تاثیر پرتو گاما بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مامیران در مقایسه با بوتیلات هیدروکسی تولون (BHT) اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان می دهد ($P < 0.05$).



شکل ۱- تاثیر پرتو گاما بر میزان توانایی به دام انداختن رادیکال های آزاد اسانس مامیران

تاثیر پرتو گاما بر میزان کل فلاونوئید عصاره هیدروالکلی مامیران: شکل ۳ میزان کل فلاونوئیدها را بر اساس منحنی استاندارد کریستین نشان می دهد. میزان کل فلاونوئیدهای نمونه های مامیران معادل ۴۹/۲۳ میلی گرم کریستین در هر گرم عصاره هیدروالکلی است که پس از پرتو دهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی داری نداشته است ($P > 0.05$).

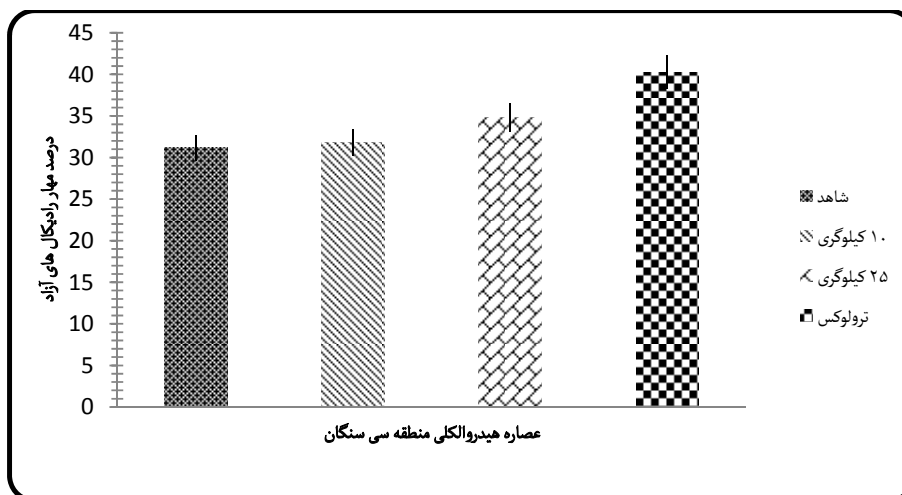
تاثیر پرتو گاما بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مامیران: اثر مهاری اسانس مامیران پرتو دیده (۱۰ و ۲۵ کیلوگری) و شاهد بر پراکسیداسیون لیپیدها در *in vitro* با آزمون بتاکاروتن (شکل ۲) نشان داد که اسانس حاصل از نمونه های مامیران در شرایط شاهد باعث مهار ۶۶/۷۷ درصد در پراکسیداسیون لینولئیک اسید می شوند. این میزان پس از پرتو دهی با دز ۱۰ کیلوگری اختلاف معنی داری را با نمونه شاهد نشان می دهد ($P < 0.05$)، اما نمونه ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P > 0.05$).



شکل ۳- تاثیر پرتو دهی گاما بر میزان کل فلاونوئیدهای عصاره هیدروالکلی مامیران

عصاره هیدروالکلی مامیران نیز دارای قدرت زیادی در مهار رادیکال‌های آزاد است. میزان توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد عصاره نمونه های مامیران معادل ۳۱/۱۸ درصد می باشد که این میزان پس از پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی داری را نشان نداد ($P>0.05$).

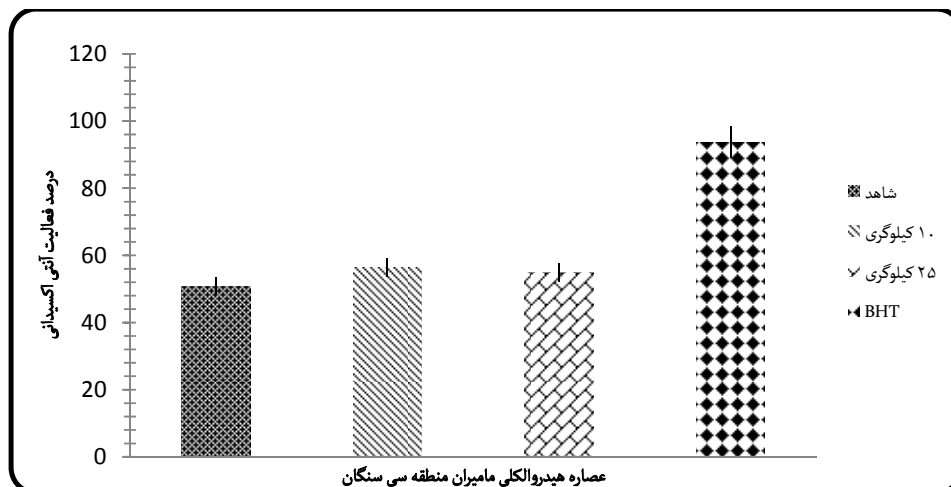
تأثیر پرتودهی گاما بر میزان توانایی به دام انداختن رادیکال های آزاد عصاره هیدروالکلی مامیران: شکل ۴
میزان توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد عصاره هیدروالکلی استخراج شده از مامیران را در مقایسه با آنتی اکسیدان مرجع (ترولوکس) نشان می دهد. میزان فعالیت آنتی اکسیدان مرجع (ترولوکس) ۴۰/۲۹ درصد می باشد و



شکل ۴- تأثیر پرتودهی گاما بر میزان توانایی به دام انداختن رادیکال های آزاد عصاره هیدروالکلی مامیران

مامیران باعث مهار ۵۰/۹۲ درصد در پراکسیداسیون لینولئیک اسید گردید. این میزان پس از پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی داری نداشته است ($P>0.05$).

تأثیر پرتودهی گاما بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی نمونه های گیاه مامیران: اثر مهاری عصاره هیدروالکلی مامیران پرتودیده و شاهد بر پراکسیداسیون لیپیدها در *in vitro* با آزمون بتاکاروتن (شکل ۵) نشان داد که عصاره هیدروالکلی نمونه های



شکل ۵- تأثیر پرتودهی گاما بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی مامیران در مقایسه با BHT

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه گیاهان دارویی به منظور کشف روش‌های درمانی جدید که دارای عوارض جانبی کمتر و ارزش اقتصادی بالاتری می‌باشند در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است (۳). یکی از این گیاهان دارویی مامیران می‌باشد. اسانس مامیران از ترکیبات متنوع خطی، حلقوی، ترپنها و از انواع الکل، الدهید، کتون و نظایر آن تشکیل شده است. با این حال، عواملی نظیر شرایط آب و هوایی و زمان برداشت محصول، ترکیبات اسانس گیاهان را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۰). در مطالعات انجام شده روی تاثیر پرتودهی بر خواص بیولوژیکی گیاهان مشخص شده است که در بعضی از گونه‌ها، تعدادی از ترکیبات موجود در اسانس بر اثر پرتودهی دستخوش تغییر و تحول شده‌اند. در پژوهش حاضر، پرتودهی گاما روی اسانس مامیران تغییراتی را در محتوی ترکیبات ایجاد کرده است، به طوریکه تعداد ۲۲ نوع ترکیب در نمونه شاهد، تحت تاثیر اشعه گاما با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری به ترتیب به ۱۸ و ۲۶ ترکیب تغییر یافته است. در مجموع از ۳۹ ترکیب، فقط ۱۱ ترکیب در نمونه‌های شاهد و تحت تابش اشعه مشترک می‌باشند. صالحی سورمقی و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تاثیر تابش اشعه گاما با دز ۲۵ کیلوگری روی اسانس گشنیز (*Coriandurmsativum*) دریافتند اگرچه تعداد ترکیبات تغییر نیافته است، اما فقط شش ترکیب قبل و پس از پرتودهی پایدار مانده‌اند (۲۷). در بعضی از گونه‌ها تابش اشعه گاما تاثیری در نوع ترکیبات اسانس نداشته، اما مقادیر آنها دستخوش تغییراتی شده است. برای مثال تابش اشعه گاما با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری بر اسانس دانه‌های زیره سیاه اختلاف معنی‌داری را در محتوای فلاونوئیدهای عصاره هیدروالکلی ایجاد نکرده است و درصد کلی ۱۰ ترکیب شناسایی شده در اسانس این گیاه در اثر تابش اشعه تغییر نداشته است (۱۶). همچنین، تاثیر پرتودهی آویشن شیرازی

(*Zatariamultiflora*) با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اشعه گاما نشان داد که با وجود اینکه ۱۲ نوع ترکیب شناسایی شده در اسانس‌های شاهد و پرتودیده تغییر نیافته‌اند، اما کمیت این ترکیبات تغییرات قابل توجهی داشته‌اند و بیشترین تغییر در مقادیر تیمول، کارواکرول، پی-سیمن و گاما-تریپنین اسانس پرتودیده با دز ۲۵ کیلوگری رخ داده است (۱۵). بسیلری از گیاهان دارویی، حاوی ترکیبات ضد اکسایشی هستند، این ترکیبات به مهار بسیاری از واکنش‌های اکسیداسیون که توسط رادیکال‌های آزاد مثل پراکسید، هیدروکسیل و پراکسی نیتريت ایجاد می‌شوند (جاروب رادیکال‌های آزاد)، کمک می‌کنند (۵). با وجود اینکه میزان توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اسانس مامیران پس از پرتودهی با دز ۲۵ کیلوگری در مقایسه با آنتی‌اکسیدان مرجع (تروکس) و اسانس بدون پرتودهی افزایش داشته است، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. مطالعه انجام شده روی اسانس دانه‌های زیره سیاه نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس این دانه‌ها اختلاف معنی‌داری را تا دز ۲۵ کیلوگری ندارد (۱۶). همچنین Chatterjee و همکاران در مطالعه انجام شده روی زردچوبه (*Curcuma longa*) دریافتند که پرتودهی گاما با دز ۱۰ کیلوگری اثری بر فعالیت ضداکسایشی آن نداشته است (۸).

به رغم افزایش مهارکنندگی اسانس مامیران پرتودیده (۱۰ و ۲۵ کیلوگری) بر پراکسیداسیون لیپیدها در مقایسه با شاهد، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. فاطمی و همکاران نیز در بررسی تاثیر پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن شیرازی مشاهده نمودند که پرتودهی اسانس دانه‌های این گونه تاثیر معنی‌داری بر فعالیت پراکسیداسیون لیپیدها نداشته است (۱۵).

میزان کل فلاونوئیدهای اسانس مامیران پرتودیده (دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری) در مقایسه با اسانس پرتوندیده آن افزایش داشته است، اما این تغییر معنی‌دار نبوده است.

فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایجاد نمی‌کند (۲۶). در مطالعه روی عصاره دارچین (*Cinnamomum camphora*) مشخص شده است که پرتودهی گاما از دز ۵ کیلوگری تا ۲۵ کیلوگری اثری بر فعالیت ضداکسایشی دارچین ندارد (۹). در تحقیق دیگری که توسط کومار و همکاران انجام شده است، پرتودهی با دز ۱۰ کیلوگری اثری بر ظرفیت ضد اکسایش و فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال سوپراکسید در گیاهان دارویی نشان نداده است (۲۰).

اثر مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی مامیران پرتودیده (۱۰ و ۲۵ کیلوگری) بر پراکسیداسیون لیپیدها در مقایسه با شاهد افزایش داشته است، اما اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. فاطمی و همکاران نیز در بررسی اثر مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی زیره سیاه مشاهده نمودند که پرتودهی اشعه گاما با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری تأثیری روی پراکسیداسیون لیپیدهای آن ندارند (۱۴). همچنین، پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن شیرازی نشان داد که پرتودهی هیچ تأثیر معنی‌داری در فعالیت پراکسیداسیون لینولئیک اسید ندارد (۱۵).

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که اسانس و عصاره هیدروالکلی استخراج شده از مامیران دارای ترکیبات با خواص آنتی‌اکسیدانی موثری می‌باشد. پرتودهی با اشعه گاما (در دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری) نیز تأثیر معنی‌داری روی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره مذکور ندارد. از این رو نتایج پژوهش حاضر استفاده از تکنیک پرتودهی را به عنوان یک راه مناسب برای نگاهداری خواص آنتی‌اکسیدانی داروهای گیاهی تأیید می‌کند.

مطالعات دیگر نیز حاکی از عدم تغییر میزان فلاونوئیدها در اثر پرتودهی می‌باشند. Koseki و همکاران دریافتند که پرتودهی با گاما تا دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری هیچ تأثیری بر روی میزان فلاونوئیدهای بعضی از انواع گیاهان دارویی از جمله شاهی (*Lepidium sativum*)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*)، ریحان (*Ocimum basilicum*) و کنگرفرنگی (*Cynarascolymus*) ندارد (۱۹). در مقابل، بعضی از مطالعات نشان داده‌اند که پرتودهی تا دزهای ۳۰ کیلوگری باعث افزایش معنی‌دار در میزان کل فلاونوئیدها می‌گردد. به عنوان مثال مطالعات انجام شده توسط Stajner و همکاران نشان داده‌اند که میزان ترکیبات فنلی در دانه‌های سویا (*Glycine max*) تیمار شده با دز ۱۰ کیلوگری، افزایش یافته است (۲۸). مطالعات انجام شده روی پوست انار (*Punicagranatum*) نیز نشان داده است که میزان کل ترکیبات فنلی در دزهای بیشتر از ۱۰ کیلوگری افزایش معنی‌داری داشته است (۲۲). به نظر می‌رسد که این تناقض در تأثیر پرتو بر میزان فلاونوئیدها به دلیل تفاوت در میزان از دست رفتن فلاونوئیدها پس از پرتودهی در دمای پرتودهی و نیز در نوع فلاونوئیدها می‌باشد.

میزان توانایی به دام انداختن رادیکالهای آزاد عصاره هیدروالکلی استخراج شده از مامیران پس از پرتودهی (با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری) در مقایسه با عصاره هیدروالکلی بدون پرتودهی افزایش داشته است، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. Polovka و Suhaj نیز دریافتند که افزایش دز پرتو گاما از ۵ تا ۳۰ کیلوگری اختلاف معنی‌داری را در میزان کل ترکیبات

منابع

۱. بکائیان، محمد، فرازمنند. راضیه، کی قبادی. سمانه، سعیدی. سعیده. (۱۳۹۴) بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر (*Allium Sativum*) بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس
۲. موحدی نژاد. هاجر، حیدری. رضا، جامعی. رشید (۱۳۹۱) بررسی فعالیت ضداکسایشی و جاروب‌کنندگی رادیکال در برگ، اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۸، شماره ۱، ص ۳۴-۴۱

- ساقه و بذر *Asperugo procumbens* L. از خانواده گل‌گاوزبان، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۵، شماره ۳، ص ۴۷۳-۴۷۳
- of γ -irradiated caraway essential oils. *Food Biochem.* 35(2): 650-662.
15. Fatemi, F., Asri, Y., Rasooli, I. and Shaterloo, M. 2012. Chemical composition and antioxidant properties of γ -irradiated Iranian *Zataria multiflora* extracts. *Pharm. Biol.* 50: 232-238.
 16. Fatemi, F., Dadkhah, A., Rezaei, M.B. and Dini, S. (2013) Effect of γ -irradiation on the chemical composition and antioxidant properties of cumin extracts. *Journal of Food Biochemistry* 37(4): 432-439.
 17. Kiani, K. Illustrated Atlas of Medicinal Plants. Third edition, ZarGhalam Publication, Tehran.
 18. Kitazura, E.R., Moreira, A.V.B., Manicini-Filho, J., Delincee, H. and Villavicencio A.L.C.H. (2004) Effect of irradiations of natural antioxidants of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* N.). *Radiation Physics and Chemistry* 71(1-2): 39-41.
 19. Koseki, P.M., Villavicencio, A.L.C.H., Brito, M.S., Nahme, L.C., Sebastiao, K.I., Rela, P.R., Almeida-Muradian, L.B., Mancini-Filho, J. and Freitas, P.C.D. (2002) Effects of irradiation in medicinal and edible herbs. *Radiation Physics and Chemistry* 63(3): 681-684.
 20. Kumar, S., Gautam, S., Powar, S. and Sharma, A. (2010) Microbial decontamination of medicinally important herbs using gamma radiation and their biochemical characterization. *Food Chemistry* 119(1): 328-335.
 21. Küpeli, E., Kosar, M., Yesilada, E., Husnu, K. and Baser, C. (2002) A comparative study on the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic effects of isoquinoline alkaloids from the roots of Turkish *Berberis* species. *Life Sciences* 72(6): 645-657.
 22. Mali, A.B., Khedkar, K. and Lele, S.S. (2011) Effect of gamma irradiation on total phenolic content and in vitro antioxidant activity of pomegranate (*Punicagranatum* L.) peels. *Food and Nutrition Sciences* 2: 428-433.
 23. Perez, M.B., Banek, S.A. and Croci, C.B. (2011) Retention of antimicrobial activity in gamma irradiated Argentinian sage and oregano. *Food Chemistry* 126(1): 121-126.
 24. Perez, M.B., Caldero, N.L. and Croci, C.A. (2007) Radiation induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry* 104(2): 585-592.
 25. Phillips, R. and Foy, N. (1990) Herbs. Pan Books Ltd., London.
 26. Polovka, M. and Suhaj, M. (2010) The effect of irradiation and heat treatment on composition
3. Alkhateeb, F.M., Doucette, W.R. and Ganther-Urmie, J.M. (2006) Influences on consumer spending for herbal products. *Research in Social and Administrative Pharmacy* 2(2): 254-265.
 4. Arvouet-Grand, B., Vennat, A., Pourrat, and Legret, P. (1994) Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. *Journal de Pharmacie de Belgique* 49(6): 462-468.
 5. Benninger, J., Schneider, H.T., Schuppan, D., Kirchner, T. and Hahn, E.G. (1999) Acute hepatitis induced by greater celandine (*Chelidonium majus*). *Gastroenterology* 117(5): 1234-1237.
 6. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by use of a stable free radical. *Nature* 181(4617): 1199-1200.
 7. Burits, M. and Bucar, F. (2000) Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research* 14: 323-328.
 8. Chatterjee, S., Padwal Desai, S.R. and Thomas, P. (1999) Effect of gamma irradiation on the antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts. *Food Research International* 32(7): 487-490.
 9. Choi, H.S., Song, H.S., Ukeda, H. and Sawamura, M. (2000) Radical scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(9): 4156-4161.
 10. Chryssavgi, G., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L. Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107: 1120-1130.
 11. Colombo, M.L. & Bosio, E. (1996) Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae). *Pharmacol Research* 33(2): 127-134.
 12. Cuendet, M., Hostettmann, K. and Pottera, O. 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta* 80(4): 1144-1152.
 13. Decker, G., Wanner, G., Zenk, M.H. and Lottspeich, F. (2000) Characterization of proteins in latex of the opium poppy (*Papaver somniferum*) using two-dimensional gel electrophoresis and microsequencing. *Electrophoresis* 21(16): 3500-3516.
 14. Fatemi, F., Allameh, A., Khalafi, H., Rajaei, R. and Rezaei, M.B. (2011) Biochemical properties

- and antioxidant properties of culinary herbs and spices. *Food Reviews International* 26(2): 138-161.
27. Salehi Surmaghi, M.H., Amin, G.H., Zahedi, H. and Kouchesfahani, H. (2007) The survey on the changes of oil compounds of medicinal and edible plants sterilized with gamma radiation. *Journal of Medicinal Plants* 6(22): 71-76. (in Persian)
28. Štajner, D., Milošević, M. and Popović Boris, M. (2007) Irradiation effects on phenolic content, lipid and protein oxidation and scavenger ability of soybean seeds. *International Journal of Molecular Sciences* 8(7): 618-627.
29. Taga, M.S., Miller, E.E. and Pratt, D.E. (1984) Chia seeds as a source of natural lipid antioxidant. *Journal of the American Oil Chemist's Society* 61: 928-931.

The effect of gamma irradiation on the antioxidant property of hydroalcoholic extract and essential oils derived from *Chelidonium majus* L.

Faezeh Fatemi¹, Younes Asri², Sabere Najj³

¹Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, I.R. of Iran

² Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. of Iran

³ Botany Dept., Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

In this study, the composition and antioxidant properties of hydroalcoholic extract and the essential oils of *Chelidonium majus* L. and also the effect of gamma irradiation on their biological properties were investigated. For this purpose, *Chelidonium majus* were collected from Sisangan-Nowshahr. Plant samples were dried at room temperature and away from sunlight for one week. Parts of samples were transferred to the Radiation Application Research Institute, irradiated at 10 and 25 kGy. Then, the essential oils extracted using Clevenger apparatus and its compounds were analyzed by GC / MS. Then, the hydroalcoholic extraction was made following estimation of flavonoid rate with standard solutions. The antioxidant activities of the samples were determined by beta-carotene and DPPH tests. Based on the results of the analysis of GC / MS, 22, 18 and 26 compounds were identified in control, 10 and 25 kGy irradiated samples, respectively. The highest flavonoid content belongs to 25 kGy irradiated samples and the lowest belongs to control samples, but these changes were not significant. Also, control and irradiated essential oils and extracts, significantly indicating strong antioxidant activities in beta-carotene and DPPH tests in comparison with references. According to the results, oil and extracts derived from *Chelidonium majus* contained certain compounds with significant antioxidant activities. Gamma radiation had no significant effects on the flavonoids rate and antioxidant activities of plant sample.

Key words: Medicinal Plants, Antioxidant properties, Essential oils, *Chelidonium majus* L., Nowshahr, Mazandaran