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

فائزه فاطمی[۱*]،یونس عصری[۲] و صابره نائیج[۳]

[۱] تهران، سازمان انرژی اتمی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، پژوهشکده مواد و سوخت هسته ای

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

[۳] تهران، دانشگاه پیام نور، دپارتمان زیست شناسی

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 به‌مدت 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، به‌ترتیب 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 آنتی اکسیدانی، اسانس، مامیران، نوشهر، مازندران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۴۱۸۶۳۴۹ ، پست الکترونیکی: ffatemi@aeoi.org.ir

مقدمه

مامیران گیاهی پایا به ارتفاع ۵۰ تا ۱۰۰ سانتیمتر با ساقه های قائم و گسترش یافته می باشد که برگهای پهن و بزرگ دارد و گلهای زرد رنگ آن در راس ساقه ها به صورت گل آذین چتر ساده قرار گرفته اند. در تمام این گیاه، شیرابه ای به رنگ زرد نارنجی جریان دارد. این گونه در مناطق وسیعی از آسیا و اروپا رویش دارد (۱۷). مامیران بیشتر بر روی دیوارها، مناطق متروک، مکانهای سایه دار، حاشیه جاده ها و مناطق مجاور آبادی ها رشد میکند. نمونه هایی از این گیاه را در ایران در استان های مازندران، گرگان، رشت و آذربایجان میتوان مشاهده نمود (۱۷).

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

(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 لوله های صفرا و نایژه دارد (۲۵). همچنین این گیاه حاوی آلکالوئید اسپارتئین بوده که موجب بازگشت حالت نامنظم ضربان قلب به حالت نرمال میشود. گیاه محتوی مقدار زیادی متابولیت ثانویه آلکالوئید ایزوکوئینولین از جمله Chelidonine، Sanguinarin، Coptisine، Berberin و Chelerythrine میباشد که دارای خاصیت ضدمیکروبی 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 می شوند(۳)، تهیه و نگهداری و نیز حمل و نقل نامناسب گیاهان دارویی می تواند باعث رشد و تکثیر انواع میکروارگانیسم ها در آنها شود که این مسئله ضرورت حذف آلودگی از این گیاهان را مشخص می نماید.

یکی از روشهای قدیمی حذف آلودگی، استفاده از نگهدارنده های شیمیایی نظیر اتیلن اکسید و پروپیلن بوده است، اما به دلیل سمیت اتیلن اکسید و واکنش دهنده های آن و از بین رفتن مواد مغذی نظیر ویتامین B_1 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 روش های غیرحرارتی اخیر در کاهش آلودگی بعد از برداشت مواد غذایی جایگاه ویژه ای دارد. این فرآیند به عنوان روشی ایمن برای استریل کردن گیاهان شناخته شده است (۲۲ و۲۳). پرتودهی مواد غذایی خشک به ویژه گیاهان در بسیاری از کشورها به منظور کاهش تعداد میکروارگانیسم های بیماریزا و فاسدکننده به کار گرفته می شود. امروزه گرایش علمی به مطالعه اثر پرتودهی بر فعالیت ضداکسایشی و ضدمیکروبی 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 دزهای۱۰و۲۵ کیلوگری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

پرتودهی مامیران: در این تحقیق از بخش های هوایی گیاه دارویی مامیران استفاده شده است. ابتدا نمونه ها از منطقه سی سنگان نوشهر جمع آوری و به سه قسمت تقسیم شدند. دو قسمت از نمونه های خشک و پودر شده در کیسه های پلی اتیلنی با ابعاد ۵×۱۴×۱۹ ریخته شد و پس از بسته بندی، 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 می باشد که با دزیمترهای استاندارد فریک کالیبره شده است. دمای محیط پرتودهی در حدود ۲۳-۲۲ درجه سانتیگراد و تمام نمونه ها تحت آهنگ Gy/sec ۳/۰۲ پرتودهی شدند. نمونه های شاهد و پرتودیده تا زمان انجام آزمایش در بسته های پلی اتیلنی در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) 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 بخش های هوایی گیاه مامیران به وسیله دستگاه کلونجر استخراج شد. به این منظور، ۱۵۰

گرم از گیاه خشک و پودر شده پس از افزودن ۱۵۰۰ میلی لیتر 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 ۱۰۰میلی لیتر محلول آب و متانول ۵۰ درصد با دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سانتی گراد مخلوط و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد 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 میلی متر، ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر)، برنامه دمایی ۲۴۶- ۶۰درجه سانتی گراد با نرخ ۳ºC/min، دمای تزریق کننده و دتکتور۲۵۰ درجه سانتی گراد و گاز حامل هلیم انجام گرفت. اجزا و ترکیبات نمونه ها با استفاده از روش طیف سنجی جرمی و مقایسه شاخص های بازداری آنها با ترکیبات استاندارد شناسایی شدند.

اندازه گیری میزان کل فلاونوئیدها درعصاره هیدروالکلی مامیران: برای اندازه گیری مقدار کل فلاونوئیدهای موجود در مامیران از روش Dowd تغییر یافته توسط Arvouet-Grand و همکاران(۱۹۹۴) استفاده شد (۴). به طور خلاصه دراین 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 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 فلاونوییدها با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از کریستین[۶] (۰-۱۰۰mg/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 ضداکسایشی الکترون یا اتم هیدروژن عصاره ها و ترکیبات خالص از طریق بی رنگ شدن محلول متانولی ۲،۲-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) اندازه گیری شده است. در این آزمون اسپکتروفتومتری، رادیکال پایدار DPPH به عنوان معرف مورد استفاده قرار می گیرد (۶ و۱۱). 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 (% 0/004در متانول) اضافه گردید. ترولوکس(۱ میلی مول) به عنوان آنتی اکسیدان 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 می شود:

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

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

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

آزمون β-Carotene-Linoleic Acidاسانس و عصاره هیدروالکلی: فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره هیدروالکلی با آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن تعیین گردید(۱۴). ابتدا ۱۰ میلی گرم از بتاکاروتن (نوع ۱ سنتتیک) در ۱۰ میلیلیتر کلروفرم حل شد، ۰/۲میلی لیتر از این محلول به فلاکس محتوی ۲۰۰ میلی گرم توئین۴۰ 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 اکسیژندارشده به آن اضافه و به شدت بهم زده شد تا فرم امولسیون تشکیل گردد. ۵ میلی لیتر امولسیون به لوله محتوی ۰/۲میلی 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 لوله ها در حمام آب گرم ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده و پس از گذشت ۶۰ دقیقه، اکسیداسیون امولسیون به روش اسپکتروفتومتری در طول موج۴۷۰ نانومتراندازه گیری شد. نمونه های محتوی ۰/۲ میلی لیتر اتانول به جای اسانس، به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. همچنین،BHT (Butylatedhydroxytoluene) که یک آنتی اکسیدان پایدار است، به عنوان آنتی اکسیدان مرجع در نظر گرفته شد. فعالیت آنتی اکسیدانی پس از ۶۰ دقیقه انکوباسیون توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

$$AA= 100 (DR_C – DR_S) / DR_C$$

AA= فعالیت آنتی اکسیدانی

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 داده ها با استفاده از نرم افزارSPSS۲۰ و آنالیز واریانس یکطرفه در سطح احتمال (p<۰/۰۵) انجام شد.

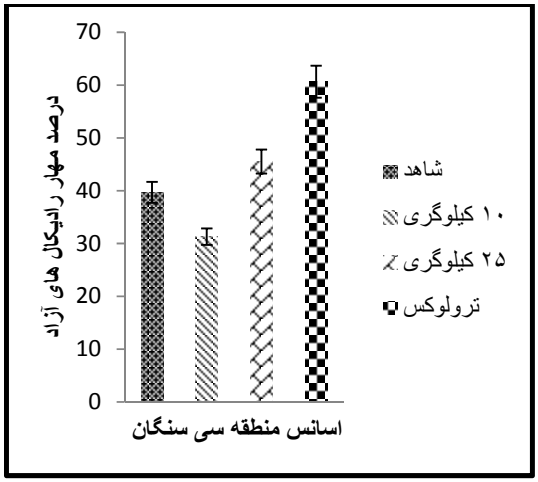
نتایج

تجزیه اسانس مامیران پرتودیده و شاهد (پرتوندیده): در اسانس استخراج شده از بخش هوایی مامیران در نمونه شاهد، ۲۲ نوع ترکیب و در نمونه های پرتودیده ۱۰ و ۲۵ کیلوگری به ترتیب ۱۸ و ۲۶ نوع ترکیب شناسایی گردید (جدول۱). 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– و ۱/۱۰+ درصد ودر 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 آنتی اکسیدان مرجع(ترولکس) نشان داده است. میزان توانایی به دام انداختن رادیکالهای آزاد اسانس نمونه های مامیران شاهد معادل ۳۹/۷ درصد می باشد که این میزان پس از پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی داری نداشته است (P>0.05).

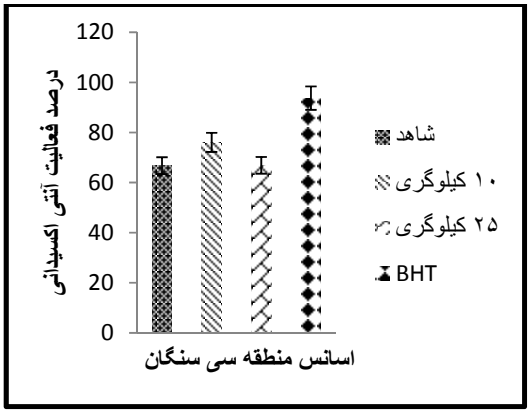
جدول۱- ترکیبات اسانس استخراج شده از مامیران پرتودهی شده با گاما و مقایسه آن با نمونه شاهد

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



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

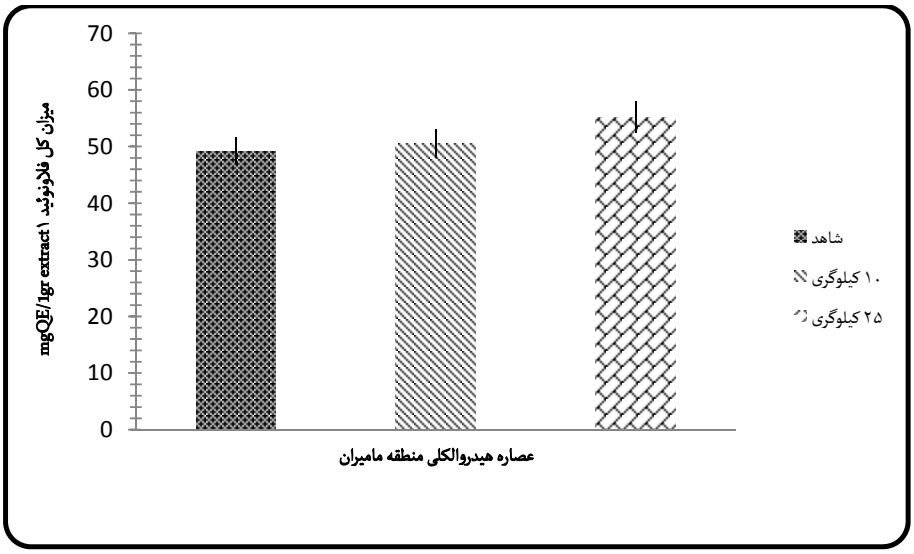
تاثیر پرتو گاما بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مامیران: اثر مهاری اسانس مامیران پرتودیده (۱۰ و ۲۵ کیلوگری) و شاهد بر پراکسیداسیون لیپیدها در in vitro با آزمون بتاکاروتن (شکل ۲) نشان داد که اسانس حاصل از نمونه های مامیران در شرایط شاهد باعث مهار ۶۶/۷۷ درصد در پراکسیداسیون لینولئیک اسید می شوند. این میزان پس از پرتودهی 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 ۲- تاثیر پرتو گاما بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس مامیران در مقایسه با بوتیلات هیدروکسی تولوئن(BHT)

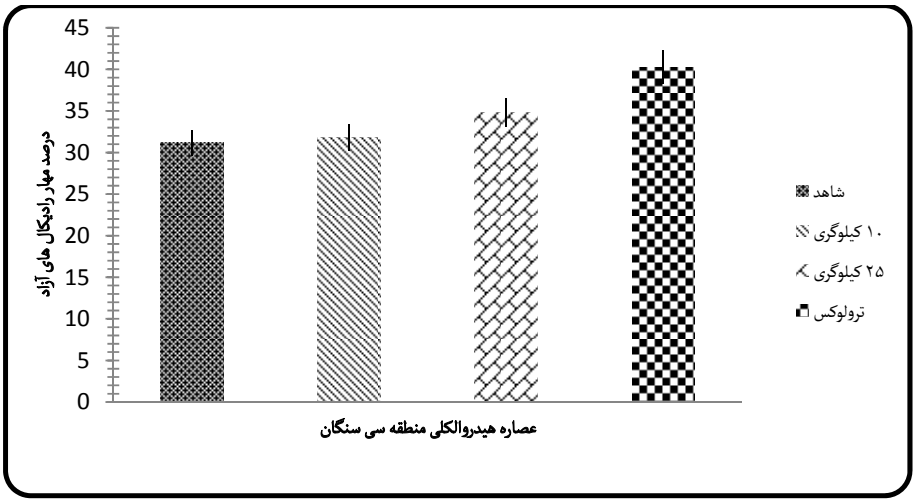
اختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان می دهد ($P<0.05$).

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 پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری اختلاف معنی داری نداشته است ($P>0.05$).



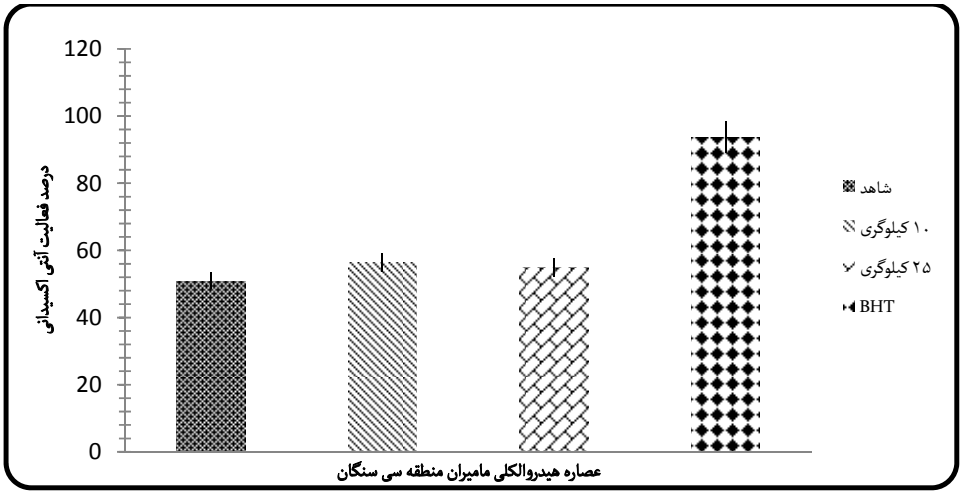
شکل ۳- تاثیر پرتودهی گاما بر میزان کل فلاونوئیدهای عصاره هیدروالکلی مامیران

تاثیر 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 (ترولکس) نشان می دهد. میزان فعالیت آنتی اکسیدان مرجع (ترولوکس) ۴۰/۲۹ درصد می باشد و 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).



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

تاثیر 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 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).



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

بحث و نتیجه گیری

مطالعه گیاهان دارویی به منظور کشف روش های درمانی جدید که دارای عوارض جانبی کمتر و ارزش اقتصادی بالاتری می باشند در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است (۳). یکی از این گیاهان دارویی مامیران می باشد. 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 وهوایی و زمان برداشت محصول، ترکیبات اسانس گیاهان را به شدت تحت تاثیر قرار می دهند (۱۰). در مطالعات انجام شده روی تاثیر پرتودهی بر خواص بیولوژیکی گیاهان مشخص شده است که در بعضی از گونه ها، تعدادی از ترکیبات موجود در اسانس بر اثر پرتودهی دستخوش تغییر و تحول شده اند. 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 تاثیراشعه 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 نمونه های شاهد و تحت تابش اشعه مشترک می باشند. 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 مانده اند (۲۷). در بعضی از گونه ها 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 دانه های زیره سیاه اختلاف معنی داری 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 اسانس های شاهد و پرتودیده تغییر نیافته اند، اما کمیت این ترکیبات تغییرات قابل توجهی داشته اند و بیشترین تغییر در مقادیر تیمول، کارواکرول، پی- سیمن و گاما- ترپینن 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 واکنش های اکسیداسیون که توسط رادیکال های آزاد مثل پراکسید، هیدروکسیل و پراکسی نیتریت ایجاد می شوند (جاروب رادیکال های آزاد)، کمک می کنند (۵). با وجود اینکه میزان توانایی به دام انداختن رادیکالهای آزاد اسانس مامیران پس از پرتودهی با دز ۲۵ کیلوگری در مقایسه با آنتی اکسیدان مرجع(ترولکس) و اسانس بدون پرتودهی افزایش داشته است، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نبود. مطالعه انجام شده روی اسانس دانه های زیره سیاه نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس این دانه ها اختلاف معنی داری 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 معنی دار نبود. فاطمی و همکاران نیز در بررسی تاثیر پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری بر فعالیت آنتی اکسیدانی آویشن شیرازی مشاهده نمودند که پرتودهی اسانس دانه های این گونه تاثیر معنی داری 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 معنی دار نبوده است.

مطالعات دیگر نیز حاکی از عدم تغییر میزان فلاوونوییدها در اثر پرتودهی می باشند. Koseki و همکاران دریافتند که پرتودهی با گاما تا دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری هیچ تأثیری بر روی میزان فلاوونوییدهای بعضی ازانواع گیاهان دارویی از جمله شاهی (*Lepidiumsativum*)، رزماری (*Rosmarinusofficinalis*)، ریحان (*Ocimumbasilicum*) وکنگرفرنگی (*Cynarascolymus*) ندارد (۱۹). در مقابل، بعضی از مطالعات نشان داده اند که پرتودهی تا دزهای ۳۰ کیلوگری باعث افزایش معنی دار در میزان کل فلاونوئیدها می گردد. به عنوان مثال مطالعات انجام شده توسط Stajner و همکاران نشان داده اند که میزان ترکیبات فنلی در دانه های 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 معنی داری داشته است (۲۲). به نظر می رسد که این تناقض در تأثیر پرتو بر میزان فلاوونوییدها به دلیل تفاوت در میزان از دست رفتن فلاوونوییدها پس از پرتودهی در دمای پرتودهی و نیز در نوع فلاوونوییدها می باشد.

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 معنی دار نبود. Polovka و Suhajنیز دریافتند که افزایش دز پرتو گاما از ۵ تا ۳۰ کیلوگری اختلاف معنی داری را در میزان کل ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی ایجاد نمی کند (۲۶). در مطالعه روی عصاره دارچین (*Cinnamomumcamphora*) 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 حذف کنندکی 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 معنی داری را نشان نمی دهد. فاطمی و همکاران نیز در بررسی اثر مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی زیره سیاه مشاهده نمودند که پرتودهی اشعه گاما با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری تاثیری روی پراکسیداسیون لیپیدهای آن ندارند (۱۴). همچنین، پرتودهی با دزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری بر فعالیت آنتی اکسیدانی آویشن شیرازی نشان داد که پرتودهی هیچ تاثیر معنی داری در فعالیت پراکسیداسیون لینولئیک اسید ندارد (۱۵).

یافته های این پژوهش نشان می دهد که اسانس و عصاره هیدروالکلی استخراج شده از مامیران دارای ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی موثری می باشد. پرتودهی با اشعه گاما (در دزهای ۱۰و ۲۵ کیلوگری) نیز تاثیر معنی داری روی خواص آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره مذکور ندارد. از این رو نتایج پژوهش حاضر استفاده از تکنیک پرتودهی را بـه عنـوان یـک راه مناسـب بـرای نگاهـداری خواص آنتی اکسیدانی داروهای گیاهی تأیید می‌کند.

منابع

۱. بکائیان. محمد، فرازمند. راضیه، کی قبادی. سمانه، سعیدی. سعیده. (۱۳۹۴) بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر (*Allium Sativum*)بر روی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیک های مختلف، مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، جلد۲۸،شماره۱،ص ۴۱-۳۴

۲. موحدی نژاد. هاجر، حیدری. رضا، جامعی. رشید (۱۳۹۱) بررسی فعالیت ضداکسایشی و جاروب کنندگی رادیکال در برگ،

3. Alkhateeb, F.M., Doucette, W.R. andGanther-Urmie, J.M. (2006) Influences on consumer spending forherbalproducts.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) Acutehepatitis induced by greater celandine (*Chelidoniummajus*). 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.andBucar, F. (2000) Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil.PhytotherapyResearch 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.andSawamura, 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 *Pistacialentiscus*L.and*Myrtuscommunis*L.Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chemistry 107: 1120-1130.
11. Colombo, M.L. &Bosisio, E. (1996) Pharmacological activities of *Chelidoniummajus*L. (Papaveraceae).PharmacolResearch33(2): 127-134.
12. Cuendet, M., Hostettmann, K.andPottera, O. 1997. Iridoidglucosides with free radical scavenging properties from *Fagraeablumei*.HelveticaChimicaActa 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 (*Papaversomniferum*) using two-dimensional gel electrophoresis and microsequencing. Electrophoresis 21(16): 3500-3516.
14. Fatemi, F., Allameh, A., Khalafi, H., Rajaee, R. and Rezaei, M.B. (2011) Biochemical properties of γ-irradiated caraway essential oils.FoodBiochem. 35(2): 650-662.
15. Fatemi, F., Asri, Y., Rasooli, I. and Shaterloo, M. 2012.Chemical composition and antioxidant properties of γ-irradiated Iranian *Zatariamultiflora*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 antioxidantproperties of cumin extracts. Journal of Food Biochemistry37(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 (*Cinnamomunzeylanicum* 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 eatable herbs. Radiation Physics and Chemistry 63(3): 681-684.
20. Kumar, S., Gautam, S., Powar, S. and Sharma, A. (2010) Microbial decontamination of medicinally importantherbals 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.LifeSciences72(6): 645-657.
22. Mali, A.B., Khedkar, K. andLele, S.S. (2011)Effect of gamma irradiation on total phenolic content and in vitro antioxidant activity of pomegranate (*Punicagranatum* L.) peels.FoodandNutrition 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.andCroci, C.A. (2007) Radiation induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinusofficinalis* 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

and antioxidant properties of culinary herbs and spices. Food Reviews International 26(2): 138-161.

27. SalehiSurmaghi, M.H., Amin, G.H., Zahedi,H.andKouchesfahani, 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. andPopovićBoris, 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.

Fatemi F.[1], Asri Y.[2] and Naij S.[3]

[1] **Materials and Nuclear Fuel Cycle Research School, NSTRI, Tehran, I.R. of Iran**

[2] **Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research,Education and Extention 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