



اثر پرتودهی گاما بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنول کل برخی سبزی‌های برگ‌ی تازه

برنجی اردستانی، سمیرا^(۱) - احمدی روشن، مرضیه*^(۱)

^۱ سازمان انرژی اتمی ایران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کاربرد پرتوها

چکیده:

تأثیر پرتودهی گاما ($0, 0.25, 0.5, 0.75, 1$ و 2 kGy) در دمای نگهداری 4°C به مدت ۱۵ روز بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنول کل انواع سبزی برگ‌ی تازه شامل تره، جعفری، شوید و مرزه بررسی شد در انواع سبزی محتوای فنول کل در تیمارهای پرتودهی شده به استثنای تیمار ۱ kGy جعفری، نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. در اغلب انواع سبزی فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب IC_{50} در تیمارهای پرتودهی شده به استثنای تیمار ۱ kGy تره، جعفری و مرزه، نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. در تمام انواع سبزی بیشترین محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین غلظت IC_{50}) در تیمار پرتودهی 0.5 kGy مشاهده شده‌است. با توجه به نتایج 0.5 kGy به عنوان دُز بهینه پرتودهی سبزی‌ها در این پژوهش پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: پرتودهی گاما، آنتی‌اکسیدان، سبزی برگ‌ی تازه، فنول کل

مقدمه

میوه‌ها و سبزی‌ها غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند که طیف وسیعی از خواص بیولوژیکی، دارویی و شیمیایی دارند که از سرطان و بیماری‌های دژنراتیو (پارکینسون و آلزایمر) جلوگیری می‌کنند و مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی و سرطان را کاهش می‌دهند. اثرات مفید میوه‌ها و سبزی‌های تازه تا حدی ناشی از مقادیر زیاد آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ترکیبات فنولی است [۱]. پرتوفاوری به‌عنوان روش فیزیکی و غیر حرارتی نگهداری محصولات غذایی مختلف به‌خوبی شناخته شده است که شامل قرار گرفتن مواد غذایی (خام یا فرآوری شده) در معرض پرتوهای یون‌ساز یا غیر یون‌ساز است. گزارش شده‌است که تحت شرایط معین مطلوب، غلظت مواد فیتوشیمیایی (محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها و فنول کل) گیاهی ممکن است پس از پرتودهی، افزایش یابد. این شرایط شامل قرار گرفتن در معرض چشمه‌های پرتو، زخم و آسیب، انبارش در دماهای پایین و یا قرار گرفتن در معرض دماهای بسیار پایین است [۲]. این پژوهش، با توجه به لزوم رعایت ایمنی و سلامت تغذیه مردم کشور، حذف ضد عفونی سبزی‌ها قبل از انبار، بی‌نیاز کردن تولیدکنندگان از مصرف مواد شیمیایی، قابلیت استفاده پس از بسته‌بندی، جلوگیری از ایجاد آلودگی ثانویه در محصول پیشنهاد شده‌است. لازم به ذکر است، پرتوفاوری گاما در دُزهای



پیشنهادی در این پژوهش ($0, 0.25, 0.5, 0.75, 1$) همراه با بررسی اثرات آن بر ویژگی‌های شیمیایی شامل محتوای فنول کل و ویژگی آنتی‌اکسیدانی سبزی‌ها برگی تازه (تره، جعفری، شوید و مرزه) تاکنون در کشور انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های سبزی بسته‌بندی شده در کیسه‌های پلاستیکی (پلیمر با درجه مواد غذایی) با چشمه ^{60}CO ، در گاماسل ۲۲۰ ساخت شرکت Nordion کانادا با آهنگ دز $1/98 \text{ Gy/s}$ در دمای محیط با دزهای 0 kGy (شاهد)، $0.25, 0.5, 0.75$ و 1 پرتودهی می‌شوند. آزمایش‌های زیر روی نمونه‌های شاهد و پرتودیده در روزهای صفر (روز پرتودهی نمونه‌ها)، 8 و 15 در دمای 4°C انجام و دز بهینه، برای پرتو فرآوری انواع سبزی تعیین شده و اثرات این فرآوری بر کیفیت شیمیایی ارزیابی می‌شود. به منظور تهیه عصاره، نمونه‌های سبزی شاهد و پرتودهی شده، در 35°C خشک و سپس پودر می‌شود. در تهیه عصاره به روش خیساندن، 10 گرم از برگ خشک گیاه با حدود 500 میلی‌لیتر متانول مخلوط شد. مجموعه به مدت 24 ساعت رها شده و سپس محلول عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره 1 فیلتر شده، فاز آلی جدا و مجدداً متانول جدید اضافه می‌شود. این عمل برای سه بار تکرار می‌شود. در روز سوم، مجموعه حلال‌ها توسط دستگاه تبخیر کننده چرخان (روتاری) در 37°C حذف می‌شود.

اندازه‌گیری محتوای فنول کل

تعیین محتوای ترکیبات فنولی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیوو با اسپکتروفتومتر انجام می‌شود [۳]. عصاره‌ها تا زمان انجام آزمایش در یخچال (4°C) نگهداری می‌شود.

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH°

به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از فاکتور IC_{50} استفاده شد، که بیانگر غلظتی از نمونه که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH° اولیه به 50% مقدار اولیه است که توسط نمودار محاسبه می‌شود. در این آزمایش به‌عنوان کنترل مثبت از آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHT استفاده گردید [۴].

تجزیه و تحلیل آماری



نتایج (میانگین \pm انحراف استاندارد در سه تکرار) به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ (IBM, USA) و روش تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال ($p < 0.05$) صورت گرفت. به منظور تعیین اثر متقابل متغیرهای مستقل آزمون از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده شد. طرح آماری کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفت و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

۱- تجزیه واریانس کلی آزمون محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH°

مطابق نتایج تجزیه واریانس کلی آزمون‌های شیمیایی نشان داد که حداقل بین میانگین دو تیمار از اثر اصلی دُز پرتودهی اختلاف معنی‌دار آماری ($P < 0.01$) وجود دارد. اثر اصلی زمان انبارمانی و اثر متقابل دُز پرتودهی در زمان انبارمانی معنی‌دار نبودند.

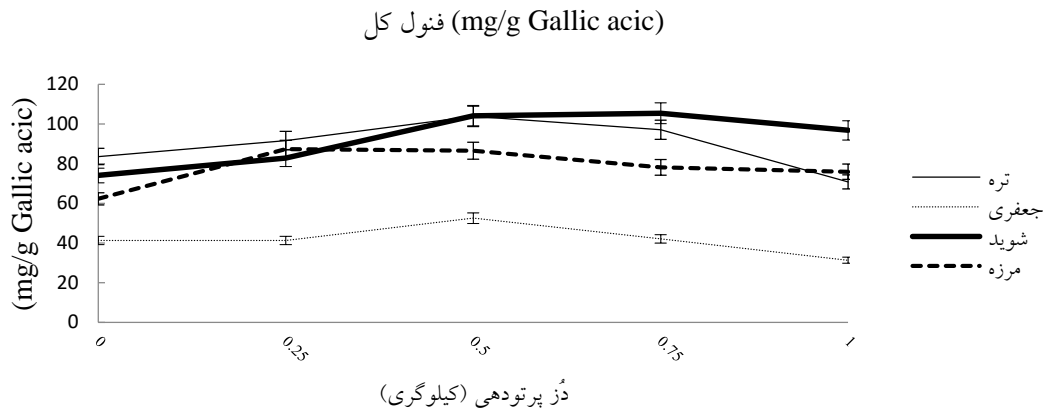
۲- مقایسه میانگین اثر اصلی دُز پرتودهی بر محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH°

مطابق نتایج نشان داده شده در نمودار ۱ در سبزی تره محتوای فنول کل در تیمارهای پرتودهی شده نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین محتوای فنول کل در تیمار پرتودهی ۰/۵ kGy مشاهده شده‌است. محتوای فنول کل در این تیمار نسبت به شاهد افزایش ۲۴ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۰/۷۵ kGy، ۰/۲۵ و ۱ بیشترین مقادیر محتوای فنول کل را نشان دادند. در سبزی جعفری محتوای فنول کل در تیمارهای پرتودهی شده به استثنای تیمار ۱ kGy نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین محتوای فنول کل در تیمار پرتودهی ۰/۵ kGy مشاهده شده‌است. محتوای فنول کل در این تیمار نسبت به شاهد افزایش ۲۴ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۰/۷۵ kGy، ۰/۲۵ بیشترین مقادیر محتوای فنول کل را نشان دادند. در سبزی شوید محتوای فنول کل در تیمارهای پرتودهی شده نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین محتوای فنول کل بدون مشاهده تفاوت آماری معنی‌دار ($p < 0.01$) در دو تیمار پرتودهی ۰/۵ kGy و ۰/۷۵ مشاهده شده‌است. محتوای فنول کل در این تیمارها نسبت به شاهد به ترتیب افزایش ۴۰ و ۴۲ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۱ kGy، ۰/۲۵ و ۰ (شاهد) بیشترین مقادیر محتوای فنول کل را نشان دادند. در سبزی مرزه محتوای فنول کل در تیمارهای پرتودهی شده نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین محتوای فنول کل بدون مشاهده تفاوت آماری معنی‌دار ($p < 0.01$) در دو تیمار پرتودهی ۰/۲۵ kGy و

Duncan's Multiple Range Test¹



۰/۵ مشاهده شده است. محتوای فنول کل در این تیمارها نسبت به شاهد به ترتیب افزایش ۴۰ و ۳۹ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۰/۷۵ kGy، ۱ و ۰ (شاهد) بیشترین مقادیر محتوای فنول کل را نشان دادند.

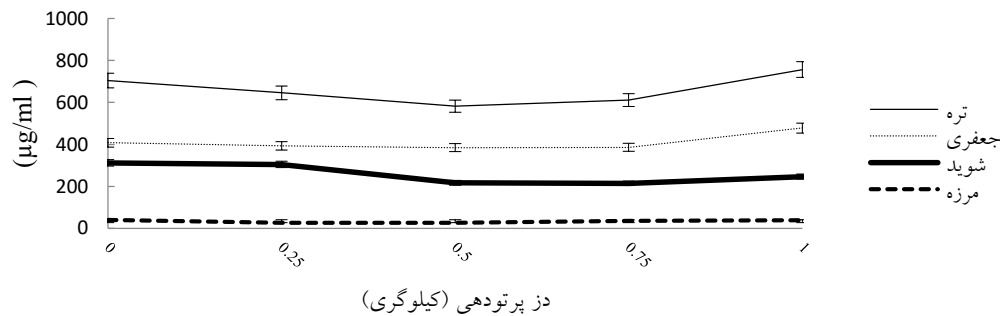


نمودار (۱) مقایسه میانگین اثر اصلی دز پرتودهی بر محتوای فنول کل برخی انواع سبزی برگی تازه مطابق نتایج نشان داده شده در نمودار ۲ در سبزی تره فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب IC_{50} در تیمارهای پرتودهی شده به استثنای تیمار ۱ kGy نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (کمترین غلظت IC_{50}) در تیمار پرتودهی ۰/۵ kGy مشاهده شده‌است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این تیمار نسبت به شاهد افزایش ۲۱ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۰/۷۵ kGy، ۰/۲۵ و ۰ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. در سبزی جعفری فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای پرتودهی شده به استثنای تیمار ۱ kGy نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای پرتودهی ۰/۷۵ و ۰/۵ kGy بدون مشاهده تفاوت آماری معنی‌دار ($p < 0.01$) مشاهده شده‌است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این تیمارها نسبت به شاهد افزایش ۶ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۰/۲۵ kGy، ۰ و ۱ بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. در سبزی شوید فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای پرتودهی شده نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بدون مشاهده تفاوت آماری معنی‌دار ($p < 0.01$) در دو تیمار پرتودهی ۰/۷۵ و ۰/۵ kGy مشاهده شده‌است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این تیمارها نسبت به شاهد به ترتیب افزایش ۴۵ و ۴۳ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۱ kGy، ۰/۲۵ و ۰ (شاهد) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. در سبزی مرزه فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای پرتودهی شده نسبت به شاهد افزایش داشته‌است. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بدون مشاهده تفاوت آماری معنی‌دار ($p < 0.01$)



در دو تیمار پرتودهی ۰/۲۵ و ۰/۵ مشاهده شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این تیمارها نسبت به شاهد به ترتیب افزایش ۵۳ و ۵۱ درصدی داشته‌است. پس از این تیمار به ترتیب تیمارهای پرتودهی ۰/۷۵، ۱ و ۰ (شاهد) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند.

($\mu\text{g/ml}$) IC50 DPPH



نمودار (۲) مقایسه میانگین اثر اصلی دُز پرتودهی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH^o برخی انواع سبزی برگی تازه مشابه نتایج پژوهش حاضر، نتایج Fan هم نشان داد که، پرتودهی محتوای فنول کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهوهای Romaine، Endive و Iceberg را افزایش می‌دهد. پرتوهای یونساز اثرات خود را عمدتاً از طریق رادیکال‌های آزاد تولید شده در نتیجه پرتوکافت آب اعمال می‌کنند. در پاسخ به تنش‌های زیستی یا غیرزیستی مانند پرتودهی، بافت‌های گیاهی قادر به انطباق با شرایط نامساعد از طریق افزایش آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زنی، از جمله فنول‌ها می‌باشند. به نظر می‌رسد بافت‌های با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر، پاسخ کمتری نسبت به پرتودهی دارند، در حالی که بافت‌های با ظرفیت آنتی‌اکسیدان پایین‌تر قوی‌تر پاسخ می‌دهند. به طور کلی، ترکیبات فنولیک از طریق روش شیکیمیک سنتز می‌شود، که PAL آنزیم کلیدی آن است. شبیه به ایجاد زخم‌های مکانیکی، پرتودهی می‌تواند فعالیت PAL را در بافت گیاه افزایش دهد و منجر به انباشت ترکیبات فنلی شود. آنتی‌اکسیدان‌های اصلی در سبزی‌های تازه، اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها هستند. فنول‌ها مانند اسید تانیک و اسید گالیک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا هستند. پرتودهی هر دو محتوای فنولیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داده، که نشان می‌دهد، افزایش سنتز فنولیک باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل شده است. پرتودهی با افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها، باعث افزایش ارزش غذایی نیز می‌شود. در حال حاضر در آمریکا استفاده از پرتودهی میوه‌ها و سبزی‌های تازه در دُز ۱ kGy مجاز است. بیشینه دُز مجاز رایج (۱ kGy)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سبزی‌ها را افزایش می‌دهد [۱]. در سال ۲۰۱۱ Gumus و همکاران دریافتند که، پرتوهای گاما به طور قابل توجهی محتوای



فنول کل مرزه را تحت تاثیر قرار می دهد. مطابق نتایج پژوهش حاضر آنها هم افزایش در محتوای فنول کل نمونه های پرتودهی شده رویت کردند. به عقیده ایشان، افزایش محتوای فنول کل در مرزه پرتودهی شده را می توان به رهایش ترکیبات فنولی از اجزای گلیکوزیدی و تخریب ترکیبات فنولیک بزرگتر به وسیله پرتوهای گاما به انواع کوچکتر و وزن مولکولی کمتر نسبت داد [۵]. مشابه مطالعه حاضر، در جعفری، دُزهای تا ۲ kGy محتوای فنل کل را به طور قابل توجهی ($P < 0.05$) افزایش داد. پرتودهی موجب انباشت ترکیبات فنولی در گیاهان به عنوان یک مکانیسم دفاعی با توسعه بیوسنتز فلاوانون، آنتوسیانین ها، رزوراترول و افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز، می شود. پرتودهی همچنین باعث تسهیل استخراج پذیری آنها توسط القاء دپلیمره شدن و انحلال پلی ساکاریدها در دیواره سلولی می شود. دُز ۲/۷ kGy باعث کاهش معنی داری ($p < 0.05$) ۴۳٪ در فنول ها شد [۶]. جعفری فعالیت آنتی اکسیدانی متوسط دارد. مقدار ۱۵۳ گرم جعفری فعالیت آنتی اکسیدانی معادل ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C دارد. مقادیر ۱۶۷، ۱۶۰، ۱۷۴ و ۱۸۷ گرم به ترتیب برای نمونه های پرتودهی شده با دُزهای ۰/۷، ۱/۴، ۲ و ۲/۷ بود. در دُز ۲/۷ kGy در مقایسه با شاهد، فعالیت آنتی اکسیدانی ۵۰ درصد کمتر بود [۷]. مشابه این نتایج در این پژوهش نیز با افزایش دُز پرتودهی به ۱ kGy فعالیت آنتی اکسیدانی جعفری نسبت به دُز ۰/۵ kGy و نمونه شاهد به ترتیب ۲۴ و ۱۷ درصد کاهش داشته است. پرتودهی گاما فعالیت روبش رادیکال آزاد عصاره متانولی مرزه را احتمالاً به علت برخی تغییرات ناشی از پرتو در ساختار محتوای فنولی کاهش داد. پرتودهی گاما مقدار IC_{50} در عصاره متانولی مرزه را به میزان ۲۹/۶۰، ۲۳/۶۸ و ۳/۷۲ درصد در دُزهای ۱/۲، ۳/۰ و ۵/۱ به ترتیب در مقایسه با شاهد افزایش داد (کاهش AA). تفاوت در تاثیر پرتوهای گاما بر فعالیت روبش رادیکال آزاد گیاهان ممکن است به دلیل تفاوت ترکیب شیمیایی آنها، حلال مورد استفاده برای استخراج و سایر خصوصیات باشد [۵]. در مطالعه حاضر هم با افزایش دُز پرتودهی به ۰/۷۵ kGy و ۱ فعالیت آنتی اکسیدانی مرزه نسبت به دُزهای پایین تر پرتودهی ۰/۵ و ۰/۲۵ کاهش معنی دار نشان داده است. با در نظر گرفتن نتایج این دو آزمون شیمیایی دُز ۰/۵ kGy به عنوان دُز بهینه پرتودهی انواع سبزی های برگی تازه (تره، جعفری، شوید و مرزه) پیشنهاد می شود.



منابع

- [1]. Fan, X. (2005). Antioxidant capacity of fresh-cut vegetables exposed to ionizing radiation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 995-1000.
- [2]. Said Al Ahl, H.A.H., Sarhan, A.M.Z., Abou Dahab, A.D.M., Abou-Zeid, E.S.N., Ali, M.S., Naguib, N.Y. (2015). Effects of Zinc and Gamma Radiation on Some Chemical Compositions of Dill Herb. *International Journal of Life Science and Engineering*, 1(2): 68-74.
- [۳] شهنازی، ر.، مهردادفر، ف.، ابراهیم‌زاده، م.ع. (۱۳۹۶). بررسی تاثیر روش استخراج بر محتوای تام فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌هیپوکسی گیاه تره *Allium ampeloprasum* مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ۲۷(۱۵۸): ۲۷-۴۴.
- [۴] کامکار، ا. (۱۳۸۸). مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره شوید ایرانی. افق دانش؛ فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد، ۱۵ (۲): ۱۱-۱۷.
- Gumus, T., Albayrak, S., Sagdic, O., Arici, m. (2011). Effect of gamma irradiation on total [5]. phenolic contents and antioxidant activities of satureja hortensis, thymus vulgaris, and thymbra spicata from turkey. *International Journal of Food Properties*, 14: 830-839.
- [6]. Song, [H.P.](#), Kim, D.[H.](#), [Jo](#), Ch., [Lee](#), Ch.H., [Kim](#), K.S., [Byun](#), M.W. (2006). Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and antioxidant activity of fresh vegetable juice. *Food Microbiology*, 23(4): 372-378.
- [7]. Cătușescu, G.M., Rotar, I., Vidican, R., Bunghez, F., Rotar, A.M. (2017). Gamma radiation enhances the bioactivity of fresh parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss Var. Neapolitanum). *Radiation Physics and Chemistry*, 132: 22-29.