

اثر پرتودهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی پودر دارچین

محبوبه جمشیدی^۱، محسن بزرگر^۲، محمدعلی سحری^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، پست الکترونیکی: mbb@modares.ac.ir

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۲

چکیده

ساخته و هدف: ادویه‌ها و گیاهان دارویی از زمان‌های کهن علاوه بر داشتن اثرات دارویی به عنوان نگهدارنده و طعم‌دهنده به مواد غذایی اضافه می‌شدند. این مواد اغلب توسط ریزسازواره‌ها آلوده می‌شوند. پرتودهی با اشعه گاما یکی از روش‌هایی است که امروزه به طور گسترده برای حذف آلودگی میکروبی مواد غذایی به کار می‌رود. هدف از این تحقیق، مطالعه‌ی اثر پرتودهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی دارچین بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های دارچین در معرض پرتو گاما در دزهای ۱۰، ۲۰ و ۲۵ کیلوگرمی قرار گرفتند. برای انجام آزمون‌های بعدی، عصاره‌ی هیدروالکلی (اتانول ۵۰ درصد) نمونه‌ها تهیه شد. فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌های پرتو دیده و نمونه‌ی کنترل توسط آزمون‌های حذف کنندگی رادیکال DPPH، قدرت کاهندگی فریک و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن ارزیابی و مقدار ترکیبات فنلی کل اندازه‌گیری شد. روش رقیق‌سازی محیط کشت مایع برای تعیین مقادیر کمترین غلظت بازدارندگی (MIC) ریزسازواره‌های اشریشیاکلی و استافیلوقوکوس اورئوس به کار رفت. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد. مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) در سطح $\alpha = 0.01$ صورت گرفت.

یافته‌ها: پرتودهی گاما اثر ناخواسته‌ای بر فعالیت ضد اکسایشی و مقدار کل ترکیبات فنلی نمونه‌ها نداشت. قدرت حذف کنندگی رادیکال عصاره در دزهای بالاتر از ۱۰ کیلوگرمی افزایش یافت (در آزمون DPPH). تا دز ۲۵ کیلوگرمی تفاوت معنی‌داری در فعالیت ضد میکروبی نمونه‌ها با نمونه‌ی کنترل مشاهده نشد ($p > 0.01$).

نتیجه‌گیری: تیمار پرتودهی دارچین اثر سویی بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی آن نداشت. تیمار پرتودهی با اشعه گاما تا دز ۲۵ کیلوگرمی برای دارچین مناسب به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*), عصاره‌ی اتانولی، پرتودهی گاما، فعالیت ضد اکسایشی، فعالیت ضد میکروبی

• مقدمه

نگهدارنده‌ی طبیعی و ضد باکتریایی مناسب در فراورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد (۱).

علاوه بر این، دارچین خاصیت ضد قارچ‌های آسپرژیلوس نیجر، آسپرژیلوس فومیگاتووس و آسپرژیلوس فلاوووس نشان داده است (۲). برای عصاره‌ی پوست درخت دارچین و اسانس آن نیز خاصیت ضد اکسایشی گزارش شده است. فعالیت بالای ضد اکسایشی آن به حضور ترکیبات فنلی نسبت داده شده است (۳). معمولاً دارچین به عنوان ضد اکساینده طبیعی به غذا افزوده می‌شود. عصاره‌ی دارچین توانایی کاهش پراکسیداسیون لیپید در سیستم بتاکاروتن/لینولئیک اسید را دارد و قابلیت

دارچین با نام علمی *Cinnamomum verum* یا *Cinnamomum zeylanicum* درختچه‌ای از راسته سورالس (Laurales) تیره‌ی برگ بوها (Cinnamomum) از جنس دارچین‌ها (Cinnamomum) است. از برگ و پوست درخت دارچین به عنوان ادویه و طعم‌دهنده در غذا استفاده می‌شود (۱). ویژگی‌های مفیدی از دارچین گزارش شده است، مانند: کنترل دیابت، جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی و درمان سرماخوردگی (۲). دارچین به دلیل داشتن ترکیبات مؤثر سینام آلدئید و اوژنول خاصیت ضد میکروبی نیز دارد (۳). اسانس دارچین بر رشد باکتری *E. coli* O157:H7 بازدارنده‌ی نشان داده است. بنابراین، می‌تواند به عنوان یک

تهیه شد. همچنین، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1112) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و باکتری اشريشياکاي (RITTC 1177) از مؤسسه سرم‌سازی رازی خریداری شدند. مواد شيميايي مورد نياز با بالاترين خلوص از شركت مرک و سيگما آلدريج تهيه شدند. همچنین، محيط کشت مولر هينتون براث از شركت Scharlau microbiology بارسلون اسپانيا خریداري شد.

پرتودهی نمونه‌ها: نمونه‌ها در بسته‌های پلی‌اتيلينی به وزن تقریبی ۵۰۰ گرم بسته‌بندی (۴ بسته) و در سل گاما 220 GC- Nordion در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کيلوگري با dose-rate ۴/۱۸ G/s برابر با ۱۸ و قدرت منبع کيلوکوری در دمای محيط در سازمان انرژي اتمی (تهران) پرتودهی شدند.

تهيهی عصاره: به منظور انجام آزمون‌های شيميايي و ميكروبی، عصاره‌ی هيدروالکلی نمونه‌ها تهيه شد. نمونه‌ها (۶ گرم) به نسبت ۱ به ۲۵ با حلال آب و اتانول مطلق (۵۰:۵۰) مخلوط شدند. سپس به مدت ۲ ساعت توسط همزن برقی در دمای اتاق (۲۵°C) هم زده شدند و بعد از صاف کردن محلول توسط کاغذ صافی واتمن (شماره یک)، حلال در تبخیر کننده چرخان حذف و نمونه‌ها در یخچال نگهداري شدند.

اندازه‌گيري قدرت حذف کنندگی راديکال DPPH (2,2-Diphenyl 1-pycrylhydrazyl): بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ها با استفاده از راديکال‌های پایدار DPPH طبق روش Brand-Williams ۱۹۹۵ انجام شد (۱۳). برای تعیین قدرت عصاره‌ها در به دام انداختن راديکال‌های آزاد DPPH ۲ میلی‌لیتر از نسبت‌های مختلف عصاره به ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ مولار راديکال آزاد DPPH در اتانول افزوده شد. جذب محلول بعد از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با طیف نورسنج UVS-UV-Vis (Spectrophotometer) شينکو، مدل 2100، ساخت کره جنوبی) خوانده شد. يك نمونه حاوي ۲ میلی‌لیتر اتانول و ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. درصد بازدارندگی DPPH توسط عصاره که معیاری از میزان فعالیت ضردادیکالي عصاره است، طبق فرمول زير محاسبه شد.

$$\%RSA(\text{Radical Scavenging Activity}) = \frac{A_{\text{Control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

در اين فرمول A_{sample} میزان جذب نمونه، A_{Control} میزان جذب شاهد و RSA فعالیت گيرندگی راديکال است.

بازداراندگی آن با ضداساینده‌ی شيميايي BHT (Butylated Hydroxy Toluene) مقایسه است (۷). امكان استفاده از دارچين به عنوان ضداساینده‌ی طبيعی در کلوجه نيز گزارش شده است (۸). ادویه‌ها و گیاهان دارويی مانند ساير محصولات کشاورزی اغلب توسط ريزسازواره‌ها آلوده می‌شوند. آلودگی ممکن است در طول برداشت و فرایند رخ دهد (۹). يكى از روش‌های قدیمی حذف آلودگی، استفاده از نگهدارنده‌های شيميايي نظير اتيلن اكسید و پروپيلن بوده است. اما به دليل سمیت اتيلن اكسید و واکنش دهنده‌های آن و از بین رفتن مواد مغذی نظير ویتامین B و همچنین اثرات سوء آن‌ها در محيط زیست استفاده از آن در بسياری از کشورها منوع و پرتودهی جايگزين آن شده است (۱۰). فرایند پرتودهی در ميان روش‌های غيرحرارتی اخير در کاهش آلودگی بعد از برداشت مواد غذایي جايگاه ویژه‌ای دارد. اين فرایند روشی ايمان برای استريل کردن گیاهان و ادویه‌ها شناخته شده است (۹). پرتودهی مواد غذایي خشك به ویژه گیاهان و ادویه‌ها در بسياری از کشورها به منظور کاهش تعداد ريزسازواره‌های بيماري‌زا و فاسدکننده به کار گرفته می‌شود. میزان ادویه‌های پرتودهی شده در مقیاس تجاری در سال ۲۰۰۲ میزان صد هزار تن در سراسر دنيا تخمين زده شده است (۱۰). دز مناسب برای پرتودهی ادویه‌ها و گیاهان ۱۰ کيلوگري است، در حالی كه در برخی کشورها اين میزان به ۳۰ کيلوگري افزایش یافته است (۹). برای پرتودهی تجاری در فرایند محصولات غذایي، پزشکی و دارويی از سه نوع پرتو یونيزه کننده استفاده می‌شود: گاما، X و الکترون‌های شتاب یافته. منبع تأييد شده پرتو گاما برای پرتودهی غذا راديوايزوتوبهای کبالت ۶۰ و سزيم ۱۳۷ هستند. راديوايزوتوبی که بيشتر در پرتودهی غذا با پرتو گاما استفاده می‌شود، کبالت ۶۰ است که توسط بمباران نوتروروني فلز کبالت ۵۹ در راكتورهای هسته‌ای تولید می‌شود (۱۱). امروزه، گرایش علمی به مطالعه اثر پرتودهی بر فعالیت ضداسایشی، ضد ميكروبی ادویه‌ها و گیاهان دارويی بيشتر شده است (۹، ۱۰، ۱۲). در اين مطالعه سعی بر اين است تا اثر پرتودهی گاما بر فعالیت ضداسایشی و ضد ميكروبی دارچين بررسی شود.

• مواد و روش‌ها

مواد: پوست درخت دارچين (*Cinnamomum zeylanicum*) به صورت پودر از پژوهشکده گیاهان دارويی جهاد دانشگاهی

y=۰/۰۰۴). میزان ترکیبات فنلی کل با توجه به منحنی غلظت استاندارد گالیک اسید محاسبه و نتایج بر اساس میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک نمونه بیان شد. تعیین مقادیر MIC (Minimum Inhibitory Concentration) در برابر باکتری اشريشیاکلی و استافیلوکوکوس-اورئوس: این آزمون به روش Demirci و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد (۱۶). ابتدا سوسپانسیونی از باکتری‌ها معادل ۰/۵ مک فارلند (شامل ۹/۹۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱٪ اسید سولفوریک و ۰/۰۵ میلی‌لیتر محلول آبی ۱/۱۷۵٪ باریم کلراید) محتوى $10^8 \times 10^5$ سلول باکتری در هر میلی‌لیتر تهیه شد و رقیق‌سازی به نسبت یک صدم صورت گرفت. سپس در داخل میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ی مورد نظر (که توسط صافی استاتس سلولزی با قطر منفذ ۰/۲ میکرون صاف شد) با ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث به صورت متواالی رقیق شد. به هر یک از خانه‌ها ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه شد. دو نوع کنترل مثبت (شامل ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری) و منفی (شامل ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰ میکرولیتر عصاره) نیز تهیه شد و سپس میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C قرار داده شد. سپس رشد یا عدم رشد باکتری‌ها با دورت ایجاد شده بررسی شد و کمترین رقت که ایجاد دورت نکرده بود، به عنوان حداقل غلظت بازدارنده (MIC) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1.3 انجام گرفت. از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنی‌دار (LSD) صورت گرفت. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار بیان شده است.

۰ یافته‌ها

قدرت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH: رادیکال DPPH با ضداکساینده‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده هیدروژن هستند، واکنش می‌دهد و به شکل کاهش‌یافته در می‌آید. رنگ آن از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌شود و در نتیجه، میزان جذب در طول موج ۵۱۵ تا ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. قدرت حذف‌کنندگی^۰ DPPH عصاره‌ی نمونه‌های کنترل و تیمار شده اندازه‌گیری و ارزیابی شد. در آزمون حذف‌کنندگی^۰ DPPH به منظور گزارش قدرت ضد اکسایشی از شاخص EC₅₀ (Efficient Concentration) +

آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون: آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون در اثر اکسایش لینولئیک اسید به روش Kim و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام گرفت (۱۲). محلول بتاکاروتون توسط حل کردن ۱۰ میلی‌گرم بتاکاروتون در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم تهیه شد. ۱ میلی‌لیتر از این محلول به بالن ته گرد ۱۰۰ میلی‌لیتری اضافه، سپس کلروفرم با دمیدن گاز ازت خارج شد. ۴۰ میکرولیتر اسید لینولئیک و ۴۰۰ میکرولیتر Tween 20 و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن اضافه و مخلوط به شدت هم زده شد. به ۹/۶ میلی‌لیتر امولسیون بتاکاروتون ۰/۴ میلی‌لیتر نمونه (با غلظت ppm ۹۵۰۰) اضافه و بلافارسله جذب ابتدایی نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه طیف نورسنج خوانده شد. سپس نمونه در حمام آب گرم ۵۰°C قرار گرفت. جذب ثانویه‌ی نمونه بعد از ۲ ساعت خوانده شد. فعالیت ضد اکسایشی طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{AOA (Antioxidant Activity)} \% = \left[\frac{A_{(2h)}}{A_{(0)}} \right] \times 100$$

در این فرمول AOA فعالیت ضد اکسایشی، $A_{(2h)}$ جذب مخلوط بعد از ۲ ساعت و $A_{(0)}$ جذب ابتدایی مخلوط است. اندازه‌گیری قدرت کاهنده‌گی فریک: این آزمون با توجه به روش Hsu و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شد (۱۴). به ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر فری پتاسیم سیانید ۰/۱٪ اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰°C قرار داده شد و بعد از خنک کردن سریع به آن ۲/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۱۰٪ اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. در نهایت ۵ میلی‌لیتر از محلول بالایی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به آن ۱ میلی‌لیتر فریک کلراید ۱٪ درصد اضافه و بعد از هم زدن شدید جذب محلول حاصل در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد.

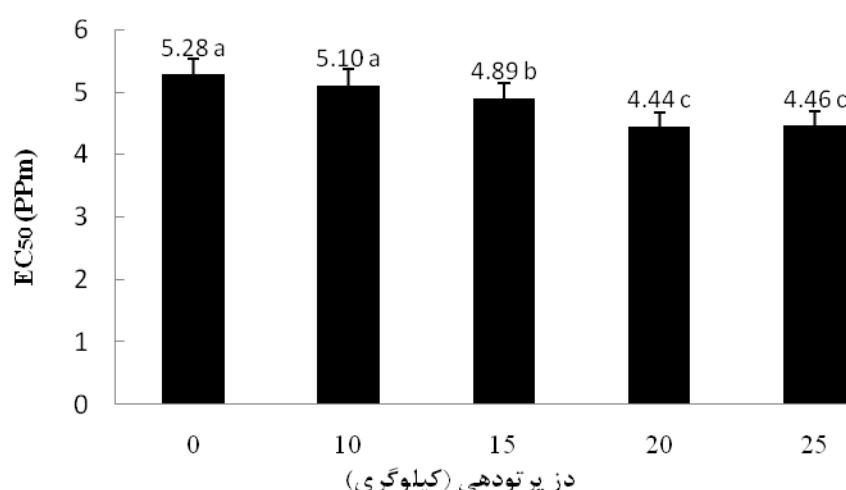
اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی: اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی به روش Motalleb و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شد (۱۵). ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره را که به نسبت ۰/۰۲ رقیق شده در لوله آزمایش ریخته و به آن ۰/۷۵ میلی‌لیتر معرف فولین که به نسبت ۱۰ برابر با آب مقطر رقیق شده اضافه شد. پس از ۵ دقیقه به آن ۰/۷۵ میلی‌لیتر محلول (w/v) ۰/۶٪ سدیم کربنات اضافه و مخلوط خوب هم زده شد. در نهایت بعد از ۹۰ دقیقه جذب محلول در ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه طیف نورسنج خوانده شد. منحنی غلظت استاندارد گالیک اسید نیز رسم شد (x = ۰/۰۸۲ +

بی رنگ شدن بتاکاروتون اندازه‌گیری و بر اساس درصد بیان شد. اثر پرتوودهی گاما در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری بر فعالیت ضد اکسایشی دارچین در شکل ۲ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری در فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌ی کنترل با نمونه‌های پرتو دیده وجود ندارد. اختلاف معنی‌داری هم بین سطوح مختلف پرتوودهی مشاهده نشد.

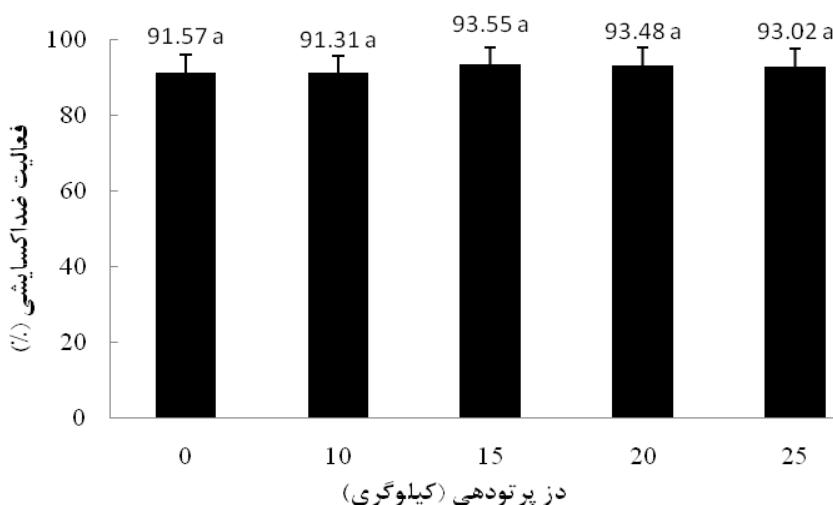
قدرت کاهندگی فریک: در این آزمون، توانایی ضد اکساینده‌های موجود در نمونه در تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دوظرفیتی اندازه‌گیری شد. در این فرایند کاهشی، رنگ آبی ظاهر شد که حداکثر جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر است. هرچه شدت رنگ بیشتر باشد، جذب بالاتر و قدرت کاهندگی و قدرت ضد اکسایشی بهتر است. قدرت EC₅₀(RP) نشان‌دهنده‌ی میزان غلظتی است که جذبی برابر ۵/۰ دارد و در این تحقیق توسط رگرسیون خطی به دست آمد. در آزمون قدرت کاهندگی فریک، مانند آزمون حذف کنندگی DPPH[°]، هر چه میزان EC₅₀(RP) کمتر باشد، یعنی خاصیت ضد اکسایشی نمونه بیشتر است. اثر پرتوودهی گاما در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری بر میزان EC₅₀(RP) دارچین در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به شکل و مقادیر به دست آمده مشاهده می‌شود که اختلاف معنی‌داری در میزان EC₅₀(RP) نمونه‌های پرتو دیده با نمونه‌ی کنترل وجود ندارد. بین سطوح مختلف پرتوودهی هم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

استفاده می‌شود که عبارتست از غلظت مورد نیاز از ضد اکساینده مورد نظر جهت کاهش ۵۰ درصد غلظت رادیکال‌های DPPH اولیه. بنابراین، هرچه میزان EC₅₀ کمتر باشد، یعنی خاصیت ضد اکسایشی نمونه بیشتر است. شکل ۱ اثر پرتوودهی گاما در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری را بر فعالیت ضد اکسایشی و میزان EC₅₀ نمونه‌ی دارچین نشان می‌دهد. نمونه‌ی دارچین پرتوودهی شده با دز ۱۰ کیلوگری و نمونه‌ی کنترل آن فعالیت ضد اکسایشی مشابهی داشتند و اختلاف معنی‌داری در میزان EC₅₀ مشاهده نشد. بنابراین، پرتوودهی در دز ۱۰ کیلوگری اثر معنی‌داری بر میزان EC₅₀ نداشت. در حالی که با افزایش دز پرتوودهی میزان EC₅₀ کاهش و در نتیجه فعالیت ضد اکسایشی افزایش یافت.

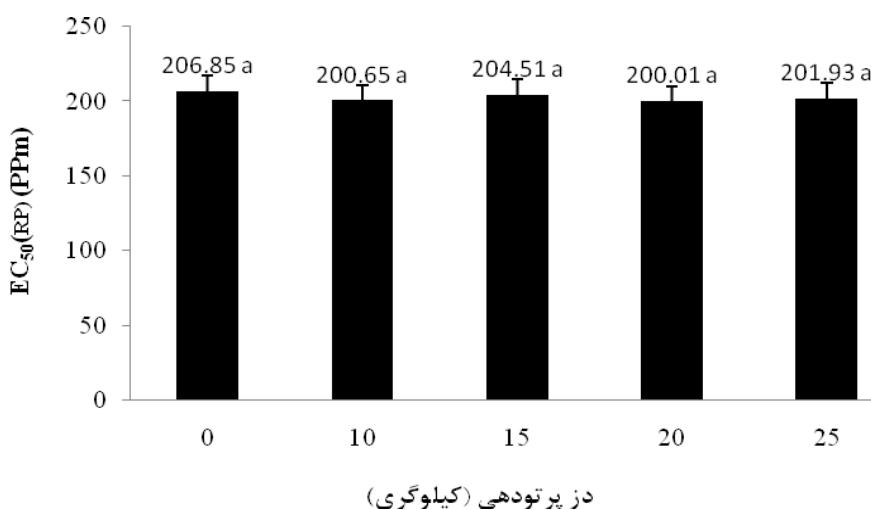
بی رنگ شدن بتاکاروتون: اساس این روش، بی رنگ شدن بتاکاروتون در اثر واکنش آن با رادیکال آزاد تولید شده و تشکیل هیدروپراکسید از اسید لینوئیک است. این امر سبب کاهش رنگ بتاکاروتون می‌شود و در نتیجه، میزان جذب محلول بتاکاروتون در طول موج ۴۷۰ نانومتر کاهش می‌یابد. سرعت بی رنگ شدن بتاکاروتون در حضور ضد اکساینده‌ها کاهش می‌یابد و در نتیجه از شدت کاهش رنگ بتاکاروتون در اثر این واکنش می‌کاهند. بنابراین، بین قدرت ضد اکسایشی مواد شرکت کننده در این آزمون و میزان جلوگیری از کاهش رنگ بتاکاروتون رابطه‌ی مستقیمی وجود دارد. فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی نمونه‌های کنترل و تیمار شده در آزمون



شکل ۱. اثر پرتوودهی گاما بر میزان EC₅₀ دارچین (به روش DPPH)



شکل ۲. اثر پرتوودهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌های دارچین (به روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن)

شکل ۳. اثر پرتوودهی گاما بر میزان EC₅₀(RP) دارچین (به روش FRP)

جدول ۱. اثر پرتوودهی گاما بر میزان کل ترکیبات فنلی دارچین

میزان کل فنلی (mgGAE/gdw)	دز پرتوودهی (کیلوگرم)
۵۵/۶۹±۱/۴۳ ^a	.
۵۵/۶۲±۰/۵۴ ^a	۱۰
۵۵/۵۷±۰/۴۰ ^a	۱۵
۵۶/۵۰±۰/۲۲ ^a	۲۰
۵۶/۵۰±۰/۳۲ ^a	۲۵

*داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

مقدار کل ترکیبات فنلی: برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی در سامانه‌های زیستی معمولاً از روش فولین‌سیوکالتو استفاده می‌شود. اساس این روش، کاهش اکسیدهای فلزی توسط پلی‌فنل‌ها است که به تشکیل رنگ آبی با حداکثر جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر منجر می‌شود. در این تحقیق، مقدار کل ترکیبات فنلی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و نتایج بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک نمونه (mgGAE/gdw) بیان شد. مقدار کل ترکیبات فنلی دارچین پرتو دیده و کنترل در جدول ۱ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری نمونه‌ی کنترل دارچین با نمونه‌های پرتو دیده آن مشاهده نشد. بین سطوح مختلف پرتوودهی نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

تشکیل محصولات حاصل از واکنش میلارد منجر می‌شود که این ترکیبات می‌توانند رادیکال را حذف کنند (۱۸). در دیگر آزمون‌های تعیین فعالیت ضد اکسایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اختلاف معنی‌داری هم بین سطوح مختلف تیمار به دست نیامد. پرتودهی اثر قابل ملاحظه‌ای بر فعالیت ضد میکروبی دارچین نداشت و مشاهده شد که کمترین غلظت بازدارندگی عصاره‌ها برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کمتر از باکتری اشريشياکلي است. در نتیجه، باکتری استافیلوکوکوس اورئوس گرم مثبت نسبت به باکتری اشريشياکلي گرم منفی به این عصاره‌ها حساس‌تر است. باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره‌های گیاهان دارویی، ادویه‌ها و اسانس‌های روغنی بسیار حساس‌تر هستند. باکتری‌های گرم منفی به دلیل داشتن سطوح آبدوست در لایه‌ی خارجی غشا و فضای پری‌پلاسمیک منحصر به فرد نسبت به مواد ضد میکروبی مقاوم هستند. سطوح آبدوست این باکتری‌ها تعداد فراوانی ملکول لیپوپلی‌ساکارید دارند که به عنوان مانع در برابر ضد میکروب‌ها عمل می‌کنند و هم‌چنین، با آنزیم‌های فضای پری‌پلاسمیک ارتیباط دارند که این آنزیم‌ها می‌توانند ملکول‌های لایه‌ی خارجی را تجزیه کنند. بنابراین، مواد ضد میکروبی می‌توانند از دیواره‌ی سلولی باکتری‌های گرم مثبت به دلیل نداشتن چنین ساختمان دیواره‌ی سلولی و غشاء‌ی خارجی عبور کنند، به غشاء‌ی سیتوپلاسمیک آسیب برسانند و باعث تراوش سیتوپلاسم یا انعقاد آن شوند (۱۹).

در مطالعات دیگری اثر پرتودهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی نمونه‌های مختلف برسی شده است. به عنوان مثال، پرتودهی گاما در دزهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ کیلوگری روی دارچین انجام شد. عصاره توسط اتیل‌اتر، متانول و آب استخراج شد. نتایج نشان داد که پرتودهی اثری بر فعالیت ضد اکسایشی دارچین در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون ندارد (۲۰). پرتودهی گاما در دز ۳۰ کیلوگری اثر معنی‌داری بر قدرت حذف کنندگی DPPH[°]، قدرت کاهنده‌ی و میزان کل ترکیبات فنلی عصاره‌های متانولی و آبی پونه‌ی کوهی و مریم‌گلی نداشت. بنابراین، پرتودهی باعث حفظ خصوصیات ضد اکسایشی این گیاهان شد (۹). پرتودهی زیره‌ی سیاه تا دز ۱۰ کیلوگری اثر مخربی بر فعالیت ضد میکروبی آن نداشت (۲۰). در تحقیق دیگری پرتودهی با دز ۱۰ کیلوگری اثری بر ظرفیت ضد اکسایشی و فعالیت حذف کنندگی رادیکال سوپراکسید در گیاهان دارویی

فعالیت ضد میکروبی: در این مطالعه، روش رقیق‌سازی محیط کشت مایع برای تعیین مقدار MIC عصاره‌ی دارچین در برابر ریزسازواره‌های اشريشياکلي و استافیلوکوکوس اورئوس به کار رفت. MIC کمترین غلظتی است که از رشد ریزسازواره‌ها جلوگیری می‌کند. جدول ۲ اثر پرتودهی گاما بر میزان (mg/ml) MIC عصاره‌ی دارچین در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و اشريشياکلي را نشان می‌دهد. در این مطالعه، مقدار MIC برای عصاره‌ی کنترل و پرتو دیده دارچین (در تمامی سطوح) در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشريشياکلي به ترتیب ۰/۱۵ و ۱/۱۹ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. بنابراین، پرتودهی اثر سوئی بر فعالیت ضد میکروبی دارچین نداشته است.

جدول ۲. اثر پرتودهی گاما بر میزان MIC عصاره‌ی دارچین در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و اشريشياکلي

دز پرتودهی (کیلوگری)	استافیلوکوکوس	اشريشياکلي
۰/۱۹	۰/۱۵	.
۱/۱۹	۰/۱۵	۱۰
۱/۱۹	۰/۱۵	۱۵
۱/۱۹	۰/۱۵	۲۰
۱/۱۹	۰/۱۵	۲۵

• بحث

اگرچه سالم و بی‌خطر بودن گیاهان پرتو دیده به اثبات رسیده است، اما هنوز اطلاعات کافی درباره‌ی بهبود یافتن فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی گیاهان دارویی و معطر در نتیجه پرتودهی و اثر پرتودهی بر ترکیباتی که مسئول چنین فعالیتی هستند، وجود ندارد (۶). نتایج این مطالعه نشان داد که پرتودهی اثر سوئی بر فعالیت ضد اکسایشی و مقدار ترکیبات فنلی دارچین ندارد. تنها افزایش فعالیت ضد اکسایشی در دزهای بالاتر از ۱۰ کیلوگری در آزمون قدرت حذف کنندگی DPPH مشاهده شد. افزایش در قدرت حذف کنندگی DPPH بدون تغییر در میزان کل ترکیبات فنلی در دزهای بالاتر ممکن است به علت برخی تغییرات ساختاری در ساختمان اسیدهای فنلی باشد که توسط پرتودهی ایجاد می‌شود (۱۷).

افزایش تدریجی قدرت حذف کنندگی DPPH ممکن است به علت حضور قند و اسیدهای آمینه‌ی دارچین باشد (۱). پرتودهی مواد غذایی حاوی قند و اسیدهای آمینه به

از نمونه‌ها داشته است. به عنوان مثال، پرتوودهی دانه‌ی درخت بالارد (Cashew nuts) در دزهای ۰/۲۵ تا ۱ کیلوگری موجب کاهش فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌ها شده است (۲۷). در بررسی اثر پرتوودهی گاما در دزهای ۰/۵، ۰/۵ و ۱۰ کیلوگری بر پایداری آنتوسبیانین‌های آب انار نتایج نشان داد که استفاده از پرتوودهی در همه‌ی دزهای به کار رفته موجب کاهش مقدار آنتوسبیانین‌ها شده است (۲۸). همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج مطالعات نشان داده است که پرتوودهی گاما می‌تواند اثرات متفاوتی در نمونه‌های مختلف داشته باشد. پرتوودهی در برخی از نمونه‌ها اثر قابل ملاحظه‌ای بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی نداشته است. این حقیقت را می‌توان با اصول شیمی پرتوودهی توضیح داد. اگر میزان آب، کم باشد، امکان تشکیل رادیکال‌های آزاد محدود می‌شود. در شرایط خشک، رادیکال‌های تولید شده در نتیجه‌ی پرتوهای یونیزه کننده شناسی برای حرکت ندارند یا تحرک کمتری دارند و به این ترتیب، از ترکیبات دیگر محافظت می‌شود (۹). برخی مطالعات نشان داده‌اند که پرتوودهی موجب افزایش میزان ترکیبات فنلی و فعالیت ضد اکسایشی در برخی از نمونه‌ها شده است. این افزایش در مقدار کل ترکیبات فنلی را می‌توان به آزادسازی ترکیبات فنلی از ترکیبات گلیکوزیدی و تجزیه‌ی ترکیبات فنلی بزرگ‌تر به ترکیبات کوچک‌تر در نتیجه‌ی پرتوودهی گاما نسبت داد. *Adamo* و همکاران نیز عقیده داشتند که فراینددهای شیمیایی پلی‌فنل‌ها را بشکنند. گاما می‌توانند پیوندهای شیمیایی پلی‌فنل‌ها را بشوند. بنابراین، فنل‌های محلول با وزن مولکولی کم رها می‌شوند (۲۹). در برخی نمونه‌ها نیز پرتوودهی موجب کاهش فعالیت ضد اکسایشی شده است که می‌تواند به دلیل حذف رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در نتیجه‌ی پرتوهای یونیزه کننده توسط ضد اکساینده‌ها باشد (۲۷). این تفاوت‌های اثر پرتوودهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی و مقدار کل ترکیبات فنلی ممکن است به دلیل تفاوت در نوع گیاه، ترکیبات شیمیایی آن‌ها، شرایط محیطی و جغرافیایی، نوع حلal و روش استخراج، ترکیب محتوای فنلی و دز پرتوودهی گاما باشد (۲۴).

نتایج حاصل از بررسی اثر پرتوودهی گاما در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ کیلوگری بر دارچین نشان داد که دارچین فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی در برابر دو باکتری استافیلکوکوس اورئوس و شریشیاکلی دارد و پرتوودهی

نشان نداد (۲۱). در مطالعه دیگری مشاهده شد که پرتوودهی رازیانه، دارچین، زنجبل، شیرین بیان، نعناع، جوزهندی و وانیل در دزهای ۱، ۳، ۵ و ۱۰ کیلوگری اثری بر فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌ها با آزمون قدرت حذف کنندگی DPPH[°] ندارد (۲۲). همچنین، پرتوودهی در دز ۱۰ کیلوگری اثری بر فعالیت ضد اکسایشی زردچوبه نداشت (۲۳). پرتوودهی ۱، ۳، ۵ و ۱۰ کیلوگری زیره‌ی سبز هم نشان داد که قدرت حذف کنندگی DPPH[°] با افزایش دز پرتوودهی به تدریج افزایش می‌یابد؛ ولی این افزایش، معنی‌دار نبود و اختلاف معنی‌داری بر فعالیت ضد اکسایشی در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتون و میزان کل ترکیبات فنلی نداشت. بنابراین، پرتوودهی موجب حفظ خصوصیات ضد اکسایشی زیره شده است (۱۲).

فرایند پرتوودهی گاما می‌تواند موجب افزایش فعالیت ضد اکسایشی و ترکیبات فنلی در برخی از نمونه‌ها شود. به عنوان مثال، در پرتوودهی ریشه‌ی شیرین بیان در دزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری مشاهده شد که با افزایش دز پرتوودهی میزان EC₅₀ به طور معنی‌داری کاهش و در نتیجه، فعالیت ضد اکسایشی افزایش می‌یابد. همچنین، اختلاف معنی‌داری در مقدار کل ترکیبات فنلی نمونه‌های پرتو دیده تا دز ۱۵ کیلوگری گزارش نشده است. در حالی که پرتوودهی در دزهای ۲۰ و ۲۵ کیلوگری موجب افزایش معنی‌داری در مقدار کل ترکیبات فنلی نمونه‌ها شده است. بنابراین، استفاده از دزهای بالاتر موجب افزایش فعالیت ضد اکسایشی شده است. نتایج نشان داد که پرتوودهی تا دز ۲۰ کیلوگری اثری بر خصوصیت ضد میکروبی آن ندارد. در حالی که پرتوودهی در دز ۲۵ کیلوگری باعث کاهش فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌ها شده است (۲۴). پرتوودهی ۳۰ کیلوگری رزماری موجب افزایش میزان (EC₅₀) به میزان ۴۵٪ و ۲۸٪ در EC₅₀ (به روش DPPH[°]) به میزان ۲۲٪ در عصاره‌های اتانولی و آبی شده است. افزایش میزان ترکیبات فنلی کل به میزان ۳۵٪ در عصاره آبی گزارش شده است. در نتیجه، پرتوودهی باعث افزایش خصوصیات ضد اکسایشی عصاره‌های آبی و اتانولی رزماری شده است. در صورتی که پرتوودهی اثری بر عصاره اتانولی رزماری نداشته است (۲۵). استفاده از پرتوودهی گاما در دزهای ۱۰ تا ۲۰ کیلوگری برگ‌های چای سبز موجب افزایش قدرت حذف کنندگی DPPH[°] عصاره اتانولی آن بلافضله بعد از پرتوودهی شده است (۲۶). از سوی دیگر، پرتوودهی گاما اثر منفی در برخی

۲۵ کیلوگری استفاده کرد، بدون اینکه اثر منفی و مخربی بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی این گیاه دارویی داشته باشد.

نمونه‌ها تا دز ۲۵ کیلوگری اثر سویی بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی آن ندارد. بنابراین، از پرتودهی می‌توان به عنوان یکی از روش‌های حذف آلودگی حتی تا دز

• References

- Peter KV. Handbook of herbs and spices. Cambridge: Woodhead Ltd, Abington Hall. 2001. p. 143-53.
- Anderson RA, Broadhurst CL. Isolation and characterization of poly phenol typ-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 65-70.
- Prasad KN, Yang B, Dong X, Jiang G, Zhang H, Xie H, et al. Flavonoid contents and antioxidant activities from cinnamun spesies. *Innovative Food Sci Emerg Tech* 2009; 10: 627-32.
- Noori N, Tooryan F, Rokni N, Akhondzadeh A, Misaghi, A. Preservative effect of Cinnamomum Zeylanicum Blume. essential oil and storage temperature on the growth of E .coli O157:H7 in hamburger using Hurdle Technology. *J Food Sci Technol* 2010; 7(4): 35- 42. [in Persian].
- Singh HB, Srivastava M, Singh AB, Srivastava AK. Cinnamon bark oil, a potent fungitoxicant against fungi causing respiratory tract mycoses. *Allergy* 1995; 50: 995-9.
- Jayaprakasha GK, Negi PS, Jena BS, Jagan Mohan Rao L. Antioxidant, antimutagenic activities of Cinnamomum zeylanicum fruit extract. *J Food Comp Anal* 2007; 20: 330-36.
- Mancini-Filho J, Van-Koijj A. Antioxidant activity of cinnamon (Cinnamomum Zeylanicum, Breyne) extracts. *Bolivian Chim Farmacol* 1998; 137, 443-7.
- Badei AZM, El-Akel ATM, Faheid SMM, Mahmoud BSM. Application of some spicess in flavoring and preservation of cookies. Antioxidant properties of cardamom, cinnamon and clove. *Deutsche Lebensmittel Rundschau* 2002; 98: 176-83.
- Perez MB, Banek SA, Croci CB. Retention of antimicrobial activityin gamma irradiated argentinian sage and oregano. *Food Chem* 2011; 126: 121-6.
- Kitazura ER, Moreira AVB, Manicini-Filho J, Delincee H, Villavicencio ALCH. Effect of irradiations of natural antioxidants of cinnamon (Cinnamomun zeylanicum N.). *Radiat Phys Chem* 2004; 71: 39-41.
- Arvanitoyannis LS. Irradiation of food Commodities: techniques, application, detection, legislation, safety and consumer opinion. New York: Academic Press 2010. p 23-35.
- Kim JH, Shin MH, Hwang YJ, Srinivasan P, Kim JK, Park HJ, et al. Role of gamma irradiation on natural antioxidant in cumin seeds. *Radiat Phys Chem* 2009; 78: 153-7.
- Brand-Williams SW, Cuvelier ME, Breset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol* 1995; 28: 25-30.
- Hsu B, Couper IM, Ng K. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the doum palm, Hyphaene thebaica. *Food Chem* 2006; 98: 317-28.
- Mottaleb G, Hanachi P, Kua SH, Fauziah O, Asmah R. Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in Berberis vulgaris fruit extract. *J Biol Sci* 2005; 5(5): 648-53.
- Demirci F, Guven K, Demirci B, Dadandi MY, Baser KHC. Antibacterial activity of two Phlomis essential oils against food pathogens. *Food Control* 2008; 19: 1159-64.
- Khattak KF, Simpson TJ, Ihsanullah. Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of Nigella sativa seed. *Food Chem* 2008; 110: 967-72.
- Chawal SP, Chander R, Sharma A. Antioxidant formation by gamma irradiation of glucose amino acid model systems. *Food Chem* 2007; 103: 1297-304.
- Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Inter J Food Microbiol* 2007; 117: 112-19.
- Khattak KF, Ihsanullah, Ali L. Effect of gamma radiation on antimicrobial compounds of Nigella sativa. In: Ihsanullah K, SU, editors. Proceedings of the National Executive Symposium on Technologies Developed for Commercialisation. Challenges and Opportunities; Pishawar, 2004; Pakistan; 2004. p. 170-5.
- Kumar S, Gautam S, Powar S, Sharma A. Microbial decontamination of medicinally important herbals using gamma radiation and their biochemical characterisation. *Food Chem* 2010; 119: 328-35.

22. Murcia MA, Eges I, Romojaro J. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. Influence of irradiation procedure. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 1872-81.
23. Chatterjee S, Padwal Desai SR, Thomas P. Effect of gamma irradiation on the antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa L.*) extracts. *Food Res Int* 1999; 32: 487-90.
24. Khattak KF, Simpson TJ. Effect of gamma irradiation on the antimicrobial and free radical scavenging activity of *Glycyrrhiza glabra* root. *Radiat Phys Chem* 2010; 79: 507-12.
25. Perez MB, Caldero NL, Croci CA. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Food Chem* 2007; 104: 585-92.
26. Jo C, Son JH, Lee HJ, Byun MW. Irradiation for color removal and purification of green tea leaves extract. *Radiat Phys Chem* 2003; 66: 179-84.
27. Sajilata MG, Singhal RS. Effect of irradiation and storage on the antioxidative activity of cashew nuts. *Radiat Phys Chem* 2006; 75: 297- 300.
28. Alighorchi H, Barzegar M, Abbasi S. Effect of gamma irradiation on the stability of anthocyanins and shelf life of various pomegranate juices. *Food Chem* 2008; 110: 1036-40.
29. Adamo M, Capitani D, Mannina L, Cristinzio M, Ragni P, Tata A. Truffles decontamination treatment by ionizing radiation. *Radiat Phys Chem* 2004; 71: 165-8.

Effect of gamma irradiation on the antioxidant and antimicrobial activities of cinnamon powder

Jamshidi M¹, Barzegar M^{*2}, Sahari MA³

1- M.Sc in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2- *Corresponding author:Associate Professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

3- Professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Received 10 Apr, 2012

Accepted 15 Jul, 2012

Background and Objective: Spices and herbs have been added to foodstuffs since old times due to their medicinal, preservative and flavouring effects. They are, however, often contaminated with microorganisms. Gamma irradiation is currently used widely to eliminate microbial contaminations in foods. The aim of the study was to determine the effects of gamma irradiation on the antioxidant and antimicrobial activities of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*).

Materials and Methods: Samples of cinnamon were exposed to gamma irradiation at doses of 10, 15, 20 and 25 kGy, followed by preparing hydroalcoholic (50% ethanol) extracts from them for sequence analysis. The antioxidant activity of the irradiated and control samples was measured by DPPH radical scavenging, ferric reducing power, and bleaching of beta-carotene, and the total phenolic content was also determined. The broth dilution method was applied for the determination of minimal inhibitory concentration (MIC) of *E. coli* and *S. aureus*. All tests were performed in triplicates, and the least significant difference (LSD) statistical test at $\alpha = 0.01$ was used to compare differences among the means.

Results: Gamma irradiation had no adverse effects on antioxidant activities and total phenolic content of the samples. Only at doses more than 10 kGy did the radical scavenging activity of the cinnamon extract increase (DPPH test). With regard to the effect of gamma irradiation on antimicrobial activity, as compared to the control value, there was no statistically significant difference in the activity of irradiated samples up to a dose of 25 kGy.

Conclusion: Gamma irradiation treatment of cinnamon had no adverse effect on its antioxidant and antimicrobial activities. Gamma irradiation at doses up to 25 kGy seems to be appropriate for cinnamon.

Keywords: Cinamon (*Cinnamomum zeylanicum*), Ethanolic extract, Gamma irradiation, Antioxidant activity, Antimicrobial activity