

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

محبوبه جمشیدی^۱، محسن برزگر^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 دریافت: ۹۱/۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۲۵

چکیده

سابقه 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، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری 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 حذف‌کنندگی 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 *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس 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 حذف‌کنندگی رادیکال عصاره در دزهای بالاتر از ۱۰ کیلوگری افزایش یافت (در آزمون DPPH). تا دز ۲۵ کیلوگری 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 اشعه‌ی گاما تا دز ۲۵ کیلوگری 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 ضدباکتریایی مناسب در فراورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد (۴).

علاوه بر این، دارچین خاصیت ضدقارچی بر قارچ‌های *آسپرژیلوس نیجر*، *آسپرژیلوس فومیگاتوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* نشان داده است (۵). 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 (۶). 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 *لورالس* (*Laurales*) تیره‌ی برگ‌بوها (*Lauraceae*) 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 اثر بازدارندگی 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 *اشریشیاکلی* (RITTC 1177) از مؤسسه سرم‌سازی رازی خریداری شدند. مواد شیمیایی مورد نیاز با بالاترین خلوص از شرکت مرک و سیگما آلدریج تهیه شدند. همچنین، محیط کشت مولر هینتون برات از شرکت *Scharlau microbiology* بارسلون اسپانیا خریداری شد.

پرتو دهی نمونه‌ها: نمونه‌ها در بسته‌های پلی‌اتیلنی به وزن تقریبی ۵۰۰ گرم بسته‌بندی (۴ بسته) و در سل گاما Nordion GC- 220 در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری با *dose- rate* برابر با ۴/۱۸ G/s و قدرت منبع ۱۸ کیلوگری در دمای محیط در *سازمان انرژی اتمی (تهران)* پرتو دهی شدند.

تهیه‌ی عصاره: به منظور انجام آزمون‌های شیمیایی و میکروبی، عصاره‌ی هیدروالکلی نمونه‌ها تهیه 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 تبخیرکننده چرخان حذف و نمونه‌ها در یخچال نگهداری شدند.

اندازه‌گیری قدرت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH

(2,2-Diphenyl 1-ptycrylhydrazyl): بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ها با استفاده از رادیکال‌های پایدار DPPH طبق روش *Brand-Williams* و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام شد (۱۳). برای تعیین قدرت عصاره‌ها در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH ۲ میلی‌لیتر از نسبت‌های مختلف عصاره به ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۲ مولار رادیکال آزاد DPPH در اتانول افزوده شد. جذب محلول بعد از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با طیف نوسنج (Spectrophotometer) (UV-Vis) شینکو، مدل UVS- 2100، ساخت کره جنوبی) خوانده شد. یک نمونه حاوی ۲ میلی‌لیتر اتانول و ۱ میلی‌لیتر محلول DPPH^۰ به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. درصد بازدارندگی DPPH^۰ توسط عصاره که معیاری از میزان فعالیت ضدرادیکالی عصاره است، طبق فرمول زیر محاسبه شد.

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

در این فرمول A_{sample} میزان جذب نمونه، A_{Control} میزان جذب شاهد و RSA فعالیت گیرندگی رادیکال است.

بازدارندگی آن با ضداکساینده‌ی شیمیایی BHT (Butylated Hydroxy Toluene) به میزان ۱۰۰ ppm قابل مقایسه است (۷). امکان استفاده از دارچین به عنوان ضداکساینده‌ی طبیعی در کلوچه نیز گزارش شده است (۸).

ادویه‌ها و گیاهان دارویی مانند سایر محصولات کشاورزی اغلب توسط ریزسازواره‌ها آلوده می‌شوند. آلودگی ممکن است در طول برداشت و فرایند رخ دهد (۹). 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 B₁ و همچنین اثرات سوء آن‌ها در محیط زیست استفاده از آن در بسیاری از کشورها ممنوع و پرتو دهی جایگزین آن شده است (۱۰). فرایند پرتو دهی در میان روش‌های غیرحرارتی اخیر در کاهش آلودگی بعد از برداشت مواد غذایی جایگاه ویژه‌ای دارد. این فرایند روشی ایمن برای استریل کردن گیاهان و ادویه‌ها شناخته شده است (۹). پرتو دهی مواد غذایی خشک به ویژه گیاهان و ادویه‌ها در بسیاری از کشورها به منظور کاهش تعداد ریزسازواره‌های بیماری‌زا و فاسدکننده به کار گرفته می‌شود. میزان ادویه‌های پرتو دهی شده در مقیاس تجاری در سال ۲۰۰۲ میزان صد هزار تن در سراسر دنیا تخمین زده شده است (۱۰). دز مناسب برای پرتو دهی ادویه‌ها و گیاهان ۱۰ کیلوگری است، در حالی که در برخی کشورها این میزان به ۳۰ کیلوگری افزایش یافته است (۹). برای پرتو دهی تجاری در فرایند محصولات غذایی، پزشکی و دارویی از سه نوع پرتو یونیزه کننده استفاده می‌شود: گاما، X و الکترون‌های شتاب یافته. منبع تأیید شده پرتو گاما برای پرتو دهی غذا رادیوایزوتوپ‌های کبالت ۶۰ و سزیم ۱۳۷ هستند. رادیوایزوتوبی که بیشتر در پرتو دهی غذا با پرتو گاما استفاده می‌شود، کبالت ۶۰ است که توسط بمباران نوترونی فلز کبالت ۵۹ در راکتورهای هسته‌ای تولید می‌شود (۱۱).

امروزه، گرایش علمی به مطالعه‌ی اثر پرتو دهی بر فعالیت ضد اکسایشی، ضد میکروبی ادویه‌ها و گیاهان دارویی بیشتر شده است (۹، ۱۰، ۱۲). در این مطالعه سعی بر این است تا اثر پرتو دهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی دارچین بررسی شود.

• مواد و روش‌ها

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

$y=0/004$. 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 اشریشیالی 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 میلی لیتر از محلول ۱٪ اسید سولفوریک و ۰/۰۵ میلی لیتر محلول آبی ۱/۱۷۵٪ باریم کلراید) محتوی $10^8 \times 1/5$ سلول باکتری در هر میلی لیتر تهیه شد و رقیق سازی به نسبت یک صدم صورت گرفت. سپس در داخل میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ی مورد نظر (که توسط صافی استات سلولزی با قطر منافذ ۰/۲ میکرون صاف شد) با ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون برات به صورت متوالی 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 37°C قرار داده شد. سپس رشد یا عدم رشد باکتری‌ها با کدورت ایجاد شده بررسی شد و کمترین رقت که ایجاد کدورت 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 معنی دار (LSD) صورت گرفت. تمامی نتایج به صورت میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار بیان شده است.

• یافته‌ها

قدرت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH: رادیکال DPPH با ضداکساینده‌ها یا دیگر گونه‌های رادیکالی که دهنده هیدروژن هستند، واکنش می‌دهد و به شکل کاهش یافته 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 DPPH° عصاره‌ی نمونه‌های کنترل و تیمار شده اندازه‌گیری و ارزیابی شد. در آزمون حذف‌کنندگی DPPH° به منظور گزارش قدرت ضد اکسایشی از شاخص EC_{50} (Efficient Concentration)

آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن: آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در اثر اکسایش لینولئیک اسید به روش *Kim* و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام گرفت (۱۲). محلول بتاکاروتن توسط حل کردن ۱۰ میلی گرم بتاکاروتن در ۱۰ میلی لیتر کلروفرم تهیه شد. ۱ میلی لیتر از این محلول به بالن ته گرد ۱۰۰ میلی لیتری اضافه، سپس کلروفرم با دمیدن گاز ازت خارج شد. ۴۰ میکرولیتر اسید لینولئیک و ۴۰۰ میکرولیتر توئین ۲۰ (Tween 20) و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به بالن اضافه و مخلوط به شدت هم زده شد. به ۹/۶ میلی لیتر امولسیون بتاکاروتن ۰/۴ میلی لیتر نمونه (با غلظت ppm ۹۵۰۰) اضافه و بلافاصله جذب ابتدایی نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه طیف نورسنج خوانده شد. سپس نمونه در حمام آب گرم 50°C قرار گرفت. جذب ثانویه‌ی نمونه بعد از ۲ ساعت خوانده شد. فعالیت ضد اکسایشی طبق فرمول زیر محاسبه شد:

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

در این فرمول AOA فعالیت ضد اکسایشی، $A_{(2h)}$ جذب مخلوط بعد از ۲ ساعت و $A_{(0)}$ = جذب ابتدایی مخلوط است.

اندازه‌گیری قدرت کاهندگی فریک: این آزمون با توجه به روش *Hsu* و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شد (۱۴). به ۱ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار ($\text{pH}=6/6$) و ۲/۵ میلی لیتر فری پتاسیم سیانید ۱٪ اضافه شد. مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در 50°C قرار داده شد و بعد از خنک کردن سریع به آن ۲/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. در نهایت ۵ میلی لیتر از محلول بالایی با ۵ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به آن ۱ میلی لیتر فریک کلراید ۰/۱ درصد اضافه و بعد از هم زدن شدید جذب محلول حاصل در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد.

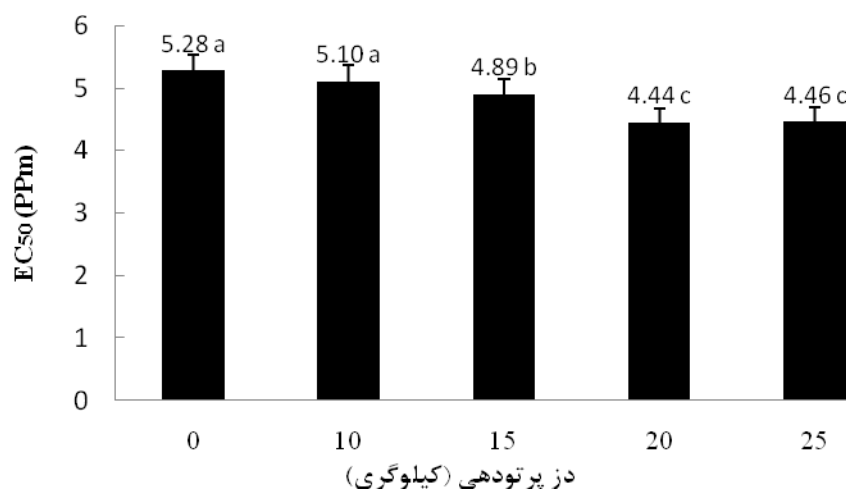
اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنلی: اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی به روش *Motalleb* و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شد (۱۵). ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره را که به نسبت ۰/۰۲ رقیق شده در لوله آزمایش ریخته و به آن ۰/۷۵ میلی لیتر معرف فولین که به نسبت ۱۰ برابر با آب مقطر رقیق شده اضافه شد. پس از ۵ دقیقه به آن ۰/۷۵ میلی لیتر محلول (w/v) 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 ($0/0082 \times$)

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

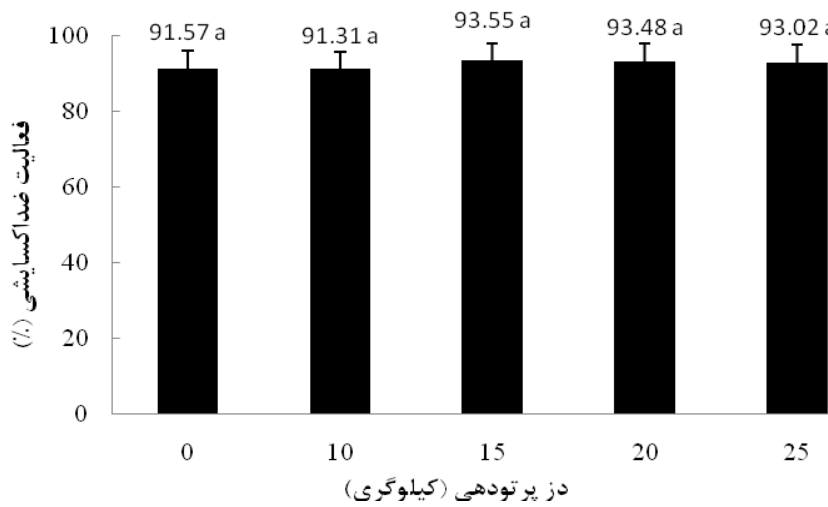
قدرت کاهندگی فریک: در این آزمون، توانایی ضد اکساینده‌های موجود در نمونه در تبدیل آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی اندازه‌گیری شد. در این فرایند کاهشی، رنگ آبی ظاهر شد که حداکثر جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر است. هرچه شدت رنگ بیشتر باشد، جذب بالاتر و قدرت کاهندگی و قدرت ضد اکسایشی بهتر است. $EC_{50}(RP)$ نشان‌دهنده‌ی میزان غلظتی است که جذبی برابر ۰/۵ دارد و در این تحقیق توسط رگرسیون خطی به دست آمد. در آزمون قدرت کاهندگی فریک، مانند آزمون حذف‌کنندگی $DPPH^{\circ}$ ، هر چه میزان $EC_{50}(RP)$ کمتر باشد، یعنی خاصیت ضد اکسایشی نمونه بیشتر است. اثر پرتودهی گاما در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری بر میزان $EC_{50}(RP)$ دارچین در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به شکل و مقادیر به دست آمده مشاهده می‌شود که اختلاف معنی‌داری در میزان $EC_{50}(RP)$ نمونه‌های پرتو دیده با نمونه‌ی کنترل وجود ندارد. بین سطوح مختلف پرتودهی 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 EC_{50} کمتر باشد، یعنی خاصیت ضد اکسایشی نمونه بیشتر است. شکل ۱ اثر پرتودهی گاما در دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری را بر فعالیت ضد اکسایشی و میزان EC_{50} نمونه‌ی دارچین نشان می‌دهد. نمونه‌ی دارچین پرتودهی شده با دز ۱۰ کیلوگری و نمونه‌ی کنترل آن فعالیت ضد اکسایشی مشابهی داشتند و اختلاف معنی‌داری در میزان EC_{50} مشاهده نشد. بنابراین، پرتودهی در دز ۱۰ کیلوگری اثر معنی‌داری بر میزان EC_{50} نداشت. در حالی که با افزایش دز پرتودهی میزان EC_{50} کاهش و در نتیجه فعالیت ضد اکسایشی افزایش یافت.

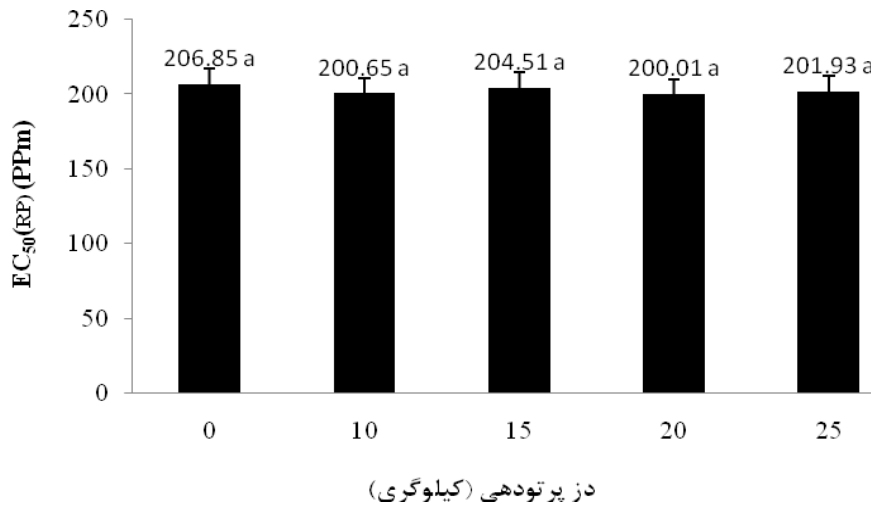
بی‌رنگ شدن بتاکاروتن: اساس این روش، بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در اثر واکنش آن با رادیکال آزاد تولید شده و تشکیل هیدروپراکسید از اسید لینولئیک است. این امر سبب کاهش رنگ بتاکاروتن می‌شود و در نتیجه، میزان جذب محلول بتاکاروتن در طول موج ۴۷۰ نانومتر کاهش می‌یابد. سرعت بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در حضور ضد اکساینده‌ها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



شکل ۱. اثر پرتودهی گاما بر میزان EC_{50} دارچین (به روش DPPH)



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



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

جدول ۱. اثر پرتو دهی گاما بر میزان کل ترکیبات فنلی دارچین

میزان کل فنل (mgGAE/gdw)	دوز پرتو دهی (کیلوگری)
۵۵/۶۹±۱/۴۳ ^a	۰
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 فولین سیوکالتو 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 پرتو دهی 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. پرتو دهی اثر قابل ملاحظه‌ای بر فعالیت ضد میکروبی دارچین نداشت و مشاهده شد که کمترین غلظت بازدارندگی عصاره‌ها برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* کمتر از باکتری *اشریشیاکلی* است. در نتیجه، باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* گرم مثبت نسبت به باکتری *اشریشیاکلی* 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 ارتباط 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 غشای خارجی عبور کنند، به غشای سیتوپلاسمیک آسیب برسانند و باعث تراوش سیتوپلاسم یا انعقاد آن شوند (۱۹).

در مطالعات دیگری اثر پرتو دهی گاما بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی نمونه‌های مختلف بررسی شده است. به عنوان مثال، پرتو دهی گاما در دزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری روی دارچین انجام شد. عصاره توسط اتیل‌اتر، متانول و آب استخراج شد. نتایج نشان داد که پرتو دهی اثری بر فعالیت ضد اکسایشی دارچین در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن ندارد (۱۰). پرتو دهی گاما در دز ۳۰ کیلوگری اثر معنی‌داری بر قدرت حذف‌کنندگی $DPPH^{\circ}$ ، قدرت کاهندگی و میزان کل ترکیبات فنلی عصاره‌های متانولی و آبی پونه‌ی کوهی و مریم‌گلی نداشت. بنابراین، پرتو دهی باعث حفظ خصوصیات ضد اکسایشی این گیاهان شد (۹). پرتو دهی زیره‌ی سیاه تا دز ۱۰ کیلوگری اثر مخربی بر فعالیت ضد میکروبی آن نداشت (۲۰). در تحقیق دیگری پرتو دهی با دز ۱۰ کیلوگری اثری بر ظرفیت ضد اکسایشی و فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال سوپراکسید در گیاهان دارویی

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

جدول ۲. اثر پرتو دهی گاما بر میزان MIC عصاره‌ی دارچین در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی*

دز پرتو دهی (کیلوگری)	<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	<i>اشریشیاکلی</i>
۰	۰/۱۵	۱/۱۹
۱۰	۰/۱۵	۱/۱۹
۱۵	۰/۱۵	۱/۱۹
۲۰	۰/۱۵	۱/۱۹
۲۵	۰/۱۵	۱/۱۹

• 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 پرتو دهی و اثر پرتو دهی بر ترکیباتی که مسئول چنین فعالیت‌هایی هستند، وجود ندارد (۹). نتایج این مطالعه نشان داد که پرتو دهی 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 حذف‌کنندگی $DPPH^{\circ}$ مشاهده شد. افزایش در قدرت حذف‌کنندگی $DPPH^{\circ}$ بدون تغییر در میزان کل ترکیبات فنلی در دزهای بالاتر ممکن است به علت برخی تغییرات ساختاری در ساختمان اسیدهای فنلی باشد که توسط پرتو دهی ایجاد می‌شود (۱۷).

افزایش تدریجی قدرت حذف‌کنندگی $DPPH^{\circ}$ ممکن است به علت حضور قند و اسیدهای آمینه‌ی دارچین باشد (۱). پرتو دهی مواد غذایی حاوی قند و اسیدهای آمینه به

از نمونه‌ها داشته است. به عنوان مثال، پرتودهی دانه‌ی درخت بلارد (Cashew nuts) در دزهای ۰/۲۵ تا ۱ کیلوگری موجب کاهش فعالیت ضد اکسایشی نمونه‌ها شده است (۲۷). در بررسی اثر پرتودهی گاما در دزهای ۰/۵، ۲، ۳/۵ و ۱۰ کیلوگری بر پایداری آنتوسیانین‌های آب انار نتایج نشان داد که استفاده از پرتودهی در همه‌ی دزهای به کار رفته موجب کاهش مقدار آنتوسیانین‌ها شده است (۲۸). همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج مطالعات نشان داده است که پرتودهی گاما می‌تواند اثرات متفاوتی در نمونه‌های مختلف داشته باشد. پرتودهی در برخی از نمونه‌ها اثر قابل ملاحظه‌ای بر فعالیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی نداشته است. این حقیقت را می‌توان با اصول شیمی پرتودهی توضیح داد. اگر میزان آب، کم باشد، امکان تشکیل رادیکال‌های آزاد محدود می‌شود. در شرایط خشک، رادیکال‌های تولید شده در نتیجه‌ی پرتوهای یونیزه کننده شانس برای حرکت ندارند یا تحرک کمتری دارند و به این ترتیب، از ترکیبات دیگر محافظت می‌شود (۹). برخی مطالعات نشان داده‌اند که پرتودهی 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 پرتودهی گاما نسبت داد. Adamo و همکاران نیز عقیده داشتند که فرایندهای مخرب اکسایش و پرتودهی گاما می‌توانند پیوندهای شیمیایی پلی‌فنل‌ها را بشکنند. بنابراین، فنل‌های محلول با وزن مولکولی کم رها می‌شوند (۲۹). در برخی نمونه‌ها نیز پرتودهی 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 پرتودهی 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 حلال و روش استخراج، ترکیب محتوای فنلی و دز پرتودهی گاما باشد (۲۴).

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

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

فرایند پرتودهی گاما می‌تواند موجب افزایش فعالیت ضد اکسایشی و ترکیبات فنلی در برخی از نمونه‌ها شود. به عنوان مثال، در پرتودهی ریشه‌ی شیرین بیان در دزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری مشاهده شد که با افزایش دز پرتودهی میزان EC₅₀ به‌طور 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 پرتودهی 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 پرتودهی تا دز ۲۰ کیلوگری اثری بر خصوصیت ضد میکروبی آن ندارد. در حالی که پرتودهی در دز ۲۵ کیلوگری باعث کاهش فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌ها شده است (۲۴). پرتودهی ۳۰ کیلوگری رزماری موجب افزایش میزان EC₅₀(RP) به میزان ۴۵٪ و ۲۸٪ و EC₅₀ (به روش DPPH^o) 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، پرتودهی باعث افزایش خصوصیات ضد اکسایشی عصاره‌های آبی و اتانولی رزماری شده است. در صورتی که پرتودهی اثری بر عصاره متانولی رزماری نداشته است (۲۵). استفاده از پرتودهی گاما در دزهای ۱۰ تا ۲۰ کیلوگری برگ‌های چای سبز موجب افزایش قدرت حذف‌کنندگی DPPH^o عصاره اتانولی آن بلافاصله بعد از پرتودهی شده است (۲۶). از سوی دیگر، پرتودهی 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 پرتو دهی 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-Koij A. Antioxidant activity of cinnamon (Cinnamomum Zeylanicum, Breynia) extracts. *Bollivian Chim Farmacol* 1998; 137, 443-7.
- Badei AZM, El-Akel ATM, Faheid SMM, Mahmoud BSM. Application of some spices 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 activity in 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 (Cinnamomum 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, Berset 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-caroten, and the total phenolic content was also determined. The broth diluting 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: Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), Ethanol extract, Gamma irradiation, Antioxidant activity, Antimicrobial activity