Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Print ISSN: 2345-427X
Online ISSN: 2345-4288

Effect of gamma-irradiated treatment on total phenol content and antioxidant activity in the ethanol extracts from different parts of milk thistle (*Silybum marianum*)

Marzieh Heidarieh[1], Mahnoosh Parsaeimehr[*2], Samira Shahbazi[3]

1. Associate Prof. of Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran. E-mail: haidariehm81@gmail.com
2. Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran. E-mail: mparsaei@semnan.ac.ir
3. Associate Prof., Dept. of Medicinal Plant Science, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran. E-mail: samira.shahbazi.aeoi@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.17.2023
Revised: 06.05.2023
Accepted: 06.30.2023

Keywords:
ABTS,
Alcoholic extract,
DPPH,
Gamma irradiation,
Milk thistle

ABSTRACT

In recent years, the use of synthetic antioxidants has been limited due to their toxicity and carcinogenicity. Therefore, studies to find new herbal compounds have been considered in the treatment, reduction and prevention of oxidative effects. At the current study, the ethanolic extract was prepared from the seeds, leaves and stems of milk thistle, *Silybum marianum*. After irradiation of the extracts with doses of 10, 20 and 30 KGy of gamma ray, Total Phenolic Content (TPC) using Folin-Ciocalteau reagent at 263 nm, the percentage of DPPH and ABTS free radical scavenging activity were investigated. On the results of free radical scavenging DPPH and ABTS tests: Seed extract and treated extracts by dose of 20 KGy gamma ray showed significant increase in TPC and antioxidant activity to leaves and stems and compare to the other doses of gamma rays, respectively ($P<0.05$). Therefore, componed on the harmful effects of synthetic antioxidants and the obtained results can be suggested replacing synthetic antioxidants with milk thistle seed in particular. In addition, Current results suggested that applying gamma irradiated milk thistle seed extract at a dose of 20 kGy as a functional feed additive for aquatic animals would be a promising strategy for protecting them from oxidative stress and inflammation induced especially by High-fat diet.

Cite this article: Heidarieh, Marzieh, Parsaeimehr, Mahnoosh, Shahbazi, Samira. 2024. Effect of gamma-irradiated treatment on total phenol content and antioxidant activity in the ethanol extracts from different parts of milk thistle (*Silybum marianum*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (2), 13-22.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.21367.1780
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۷X
شاپا آنلاین: ۲۳۴۵-۴۲۸۸

بررسی اثر پرتو گاما بر محتوای تام فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum*)

مرضیه حیدریه[۱]، مهنوش پارسایی‌مهر*[۲]، سمیرا شهبازی[۳]

۱. دانشیار پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران. رایانامه: haidariehm81@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران. رایانامه: mparsaei@semnan.ac.ir
۳. دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران. رایانامه: samira.shahbazi.aeoi@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۹

واژه‌های کلیدی:
پرتوتابی،
خارمریم،
عصاره الکلی،
ABTS،
DPPH

چکیده

در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به‌علت سمی و سرطان‌زا بودن و محصولات تجزیه‌ای حاصل از آن‌ها محدود شده است. بنابراین مطالعات به‌منظور یافتن ترکیبات جدید با منشاء گیاهی مؤثر در درمان، کاهش و پیشگیری از اثرات اکسیداتیو در زمینه‌های مختلف مورد توجه پژوهش‌گران قرار گرفته است. در این پژوهش به بررسی اثر پرتوتابی بر میزان محتوای تام فنولی با استفاده از واکنشگر فولین- سیوکالتیو در طول موج ۲۶۳ نانومتر و درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد با آزمون‌های DPPH و ABTS عصاره‌های الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) پرداخته شده است. در مرحله اول عصاره الکلی از قسمت دانه، برگ و ساقه گیاه خارمریم تهیه و سپس پرتوتابی عصاره‌ها با دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما انجام گردید. نتایج حاصل از آزمون‌های مهارکنندگی رادیکال آزاد عصاره دانه نسبت به برگ و ساقه گیاه خارمریم و هم‌چنین عصاره‌های پرتوتابی شده با دز ۲۰ کیلوگری در تمام قسمت‌ها نسبت به سایر دزها، محتوای تام فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر نشان دادند ($P<0/05$). بنابراین با در نظر گرفتن اثرات منفی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و نیز با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان پیشنهاد داد که پرتوفرآوری عصاره الکلی گیاه خارمریم با دز ۲۰ کیلوگری پرتو گاما می‌تواند علاوه بر بهبود و افزایش میزان آنتی‌اکسیدانی این گیاه، به‌عنوان یک افزودنی خوراکی کاربردی برای پرورش آبزیان، یک استراتژی امیدوارکننده برای محافظت از آن‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از رژیم غذایی پرچرب خواهد بود.

استناد: حیدریه، مرضیه، پارسایی‌مهر، مهنوش، شهبازی، سمیرا (۱۴۰۳). بررسی اثر پرتو گاما بر محتوای تام فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۲)، ۲۲-۱۳.
DOI: 10.22069/japu.2023.21367.1780

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

امروزه درصد بالایی از مردم در سراسر جهان از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌کنند. تقریباً، یک چهارم داروها در دنیا، به‌طور مستقیم از گیاهان دارویی استخراج می‌شوند و یا منشأ گیاهی دارند (۱). ایران به‌عنوان منبع منحصربه‌فرد گونه‌های گیاهی وحشی و پزشکی شناخته می‌شود. در این خصوص، نتایج برخی از مطالعات موجود بیانگر این است که گیاه دارویی ماریتیغال یا خار مریم با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی است ۲ ساله با رنگ بنفش و خاردار که ساقه‌ای به طول ۵۲-۷۲ سانتی‌متر دارد (۲). گیاه خارمریم دارای ماده‌ای به نام سیلی‌مارین که خود شامل ٤ ایزومر اصلی به نام‌های سیلی‌بین، ایزوسیلی‌بین، سیلی‌دیانین و سیلی‌کریستین است که بیش‌ترین اثرات گیاه را به این دسته از مواد نسبت داده‌اند (۳). این در حالی است که پژوهش‌گران از مهم‌ترین عصاره متانولی بذر خارمریم، یعنی سیلی‌مارین با فرمول شیمیایی C25H2O10 به‌عنوان اصلی‌ترین فلاونوئید مؤثر گیاه جهت مصارف فارماکولوژیکی و فیزیولوژیکی سود می‌برند (٤، ٥). سیلی‌مارین موجود در گیاه خارمریم فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی داشته و سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. هم‌چنین فعالیت‌های دارویی متعدد دیگری از جمله، محافظت از کبد و عامل ضد التهابی، ضد حساسیت، ضد جهش‌زا، ضد ویروسی، ضد نئوپلاستیک، عوامل ضد ترومبوتیک و گشادکننده عروق نیز پس از مصرف این ماده گزارش شده‌اند (٦). یکی از مسائل مهم در رابطه با سیلی‌مارین می‌توان به این مهم اشاره داشت که این گیاه به‌عنوان یک گیاه بی‌خطر و بدون هیچ عوارض جانبی برای سلامتی مصرف‌کننده شناخته شده است (۷).

به‌طورکلی رادیکال‌های آزاد موجب بروز انواع بیماری‌ها می‌شوند. رادیکال‌های آزاد اتمی با یک الکترون، در سطح خارجی می‌باشند. قدرت اکسیدکنندگی بالا و توانایی زیادی جهت آسیب زدن به اجزای حیاتی سلول مانند لیپیدها، DNA، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دارند. یکی از انواع رادیکال‌های آزاد فرم فعال اکسیژن ROS (Reactive Oxygen Species) است که در شرایط نامتعادل واکنش‌های اکسیداسیون و احیای درون سلولی تولید می‌شود. تجمع این دسته از مواد، عامل بسیار مهمی در بروز بسیاری از بیماری‌ها است (۸). موجودات زنده سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای جهت مقابله با گونه‌های فعال رادیکال‌های آزاد و کاهش اثرات مخرب آن‌ها دارند. سیستم آنتی‌اکسیدانی به‌صورت سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی عمل می‌کنند. ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در مواد غذایی، ویتامین‌ها، پلی‌فنول‌ها و کاروتن‌ها می‌باشند (۹). با توجه به مطالب پیش گفته لزوم پژوهش برای یافتن داروهایی طبیعی جدید با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا مدنظر است، امروزه گرایش علمی به مطالعه اثر پرتودهی ضد اکسایشی و ضد میکروبی گیاهان دارویی بیش‌تر شده است. تیمار کردن محصولات با پرتوهای یونیزه‌کننده مانند پرتو گاما (ساطع شده از کبالت- ٦٠ یا سزیوم- ۱۳۷) پرتوتابی اطلاق می‌شود. سازمان‌های معتبر بین‌المللی مانند FAO، WHO و آژانس بین‌المللی انرژی اتمی (IAEA) تأیید کردند که پرتودهی، می‌تواند سلامت و ایمنی غذا را بدون اثر نامناسبی در سلامت انسان فراهم کند. ایران یکی از کشورهایی است که این تکنولوژی را در سال‌های گذشته به‌دست آورده است. اما در کشور ما استفاده از این تکنولوژی مفید در صنایع غذایی هنوز به‌طور جدی مورد بررسی قرار نگرفته و مستلزم پژوهش‌های گسترده در این زمینه می‌باشد (۱۰ و ۱۱). گزارشی

مبنی بر افزایش محتوای فنولیک موجود در پوست بادام، دارچین و میخک بر اثر پرتوتابی وجود دارد (۱۲، ۱۳)، این در حالی است که محتوای فنولی در جوز هندی پس از پرتوتابی بدون تغییر باقی ماند (۱۲، ۱٤).

بنابراین هدف از انجام این پژوهش مقایسه محتوای تام فنولی و میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد با دو روش DPPH و ABTS در عصاره الکلی دانه، ساقه و برگ گیاه خارمریم و بررسی اثرات پرتوتابی با دزهای مختلف پرتو گاما بر این گیاه است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره الکلی خارمریم تحت تابش قرار داده شده با پرتو گاما: قسمت‌های مختلف گیاه خار مریم شامل برگ، ساقه و دانه پس از جمع‌آوری از زمین‌های شهرستان خانه‌زنیان واقع در استان فارس، خشک و سپس با استفاده از آسیاب پودر شدند. ۵۰ گرم پودر با ٤۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و با استفاده از دستگاه سوکسله عصاره‌گیری انجام شد (۱۵). عصاره الکلی به‌دست آمده با دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما (توسط چشمه کبالت- ٦۰ (issIedovapel PX-30، روسیه) در یک محدوده دز ۰/۰۲ گری در ثانیه- پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای) پرتوتابی شد. عصاره تهیه شده تا زمان مصرف به دور از نور و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال با روش DPPH: این روش یکی از روش‌های مرسوم برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های گیاهی است. این روش مبتنی بر به دام‌اندازی میزان رادیکال‌های آزاد ماده‌ای به نام ۲و۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) با استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر می‌شود (١٦). موقعی که محلول DPPH با ماده‌ای که می‌تواند دهنده اتم هیدروژن باشد مخلوط می‌شود فرم احیای رادیکال تشکیل می‌شود که همراه با کاهش رنگ است. در مطالعه حاضر برای سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی گیاه خارمریم، ۲ میلی‌لیتر DPPH (۱۰۰ میکرومولار) محلول در متانول با ۲ میلی‌لیتر از عصاره قسمت‌های مختلف گیاه مخلوط شد. مخلوط به‌دست آمده ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. بعد از آن جذب نمونه‌ها در ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر انـدازه‌گیری شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

۱۰۰× جذب نوری کنترل منفی / (جذب نوری نمونه – جذب نوری کنترل منفی)

نمونه بلانک شامل مخلوط ۲ میلی‌لیتر متانول و ۲ میلی‌لیتر عصاره گیاه و نمونه‌ای شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر عصاره با غلظت‌های مورد استفاده به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال با روش +ABTS: مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS عصاره الکلی قسمت مختلف (دانه، برگ و ساقه) گیاه خارمریم با استفاده از روش تشریح شده توسط Jacob و همکاران (۲۰۱۲) تعیین گردید (۱۷). بدین‌ترتیب که محلول رادیکالی + ABTS را با ترکیب نسبت حجمی یکسانی از ABTS و پتاسیم پرسولفات تهیه گردید. محلول در تاریکی و در دمای محیط به‌مدت ١٦-۱۲ ساعت قبل از مصرف قرار داده شد. در این مدت، اکسیداسیون و تولید رادیکال + ABTS به وسیله پتاسیم پرسولفات انجام گرفت. قبل از آزمون، محلول ABTS تا رسیدن به جذب ۰/۰۷ در طول موج ۷۳٤ نانومتر توسط بافر PBS با pH=۷ رقیق شد. سپس ٤۰ میکرولیتر از هر نمونه به حجم

برابر از محلول رقیق شده ABTS افزوده و به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار داده شد. مخلوط به‌مدت ۳۰ ثانیه به شدت ورتکس و مجدداً به‌مدت ٦ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. میزان مهارکنندگی با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

جذب نوری کنترل - جذب نوری نمونه / جذب نوری کنترل × ۱۰۰

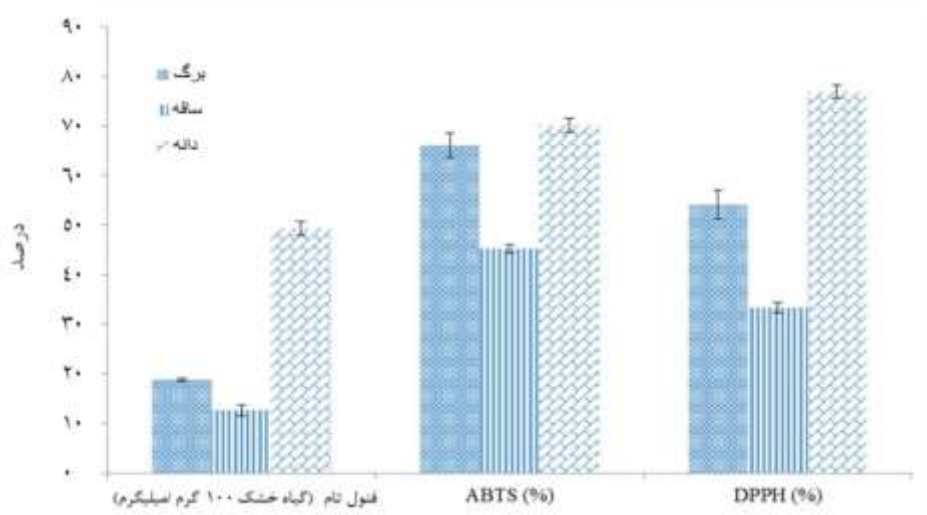
اندازه‌گیری محتوای تام فنولی: محتوای تام فنولی با استفاده از معرف فولین- سیوکالتیو توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. به نیم میلی‌لیتر از عصاره (gml^{-1} ۱:۱۰)، ۲ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین- سیوکالتیو ۱۰ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد کربنات سدیم به آن اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۳ ساعت در طول موج ۲٦۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر در مقایسه با بلانک خوانش شد. گالیک اسید به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و محتوای تام فنولی براساس میزان معادل "میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره" گزارش گردید. آزمایش‌ها ۳ بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد (۱۸).

آنالیز آماری: برای مقایسه میانگین بین تیمارها و نیز وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۹۵ درصد ($P<۰/۰۵$) آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و از آزمون چنددامنه‌ای دانکن برای مقایسه بین تیمارها استفاده شد. داده‌های آماری به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شد. برای بررسی برابری واریانس‌ها از تست لون و از تست کالموگراف اسمیرنوف برای نرمال بودن داده‌ها استفاده شد. تمام محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 و Excel 2010 صورت گرفت.

نتایج

در مطالعه حاضر محتوای تام فنولی و درصد مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره الکلی دانه، ساقه و برگ گیاه خارمریم پرتوتابی نشده و پرتوتابی شده با دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما با دو روش DPPH و ABTS اندازه‌گیری شد (جدول‌های ۱، ۲ و ۳). نتایج پژوهش حاضر بیانگر آن بود که فعالیت مهارکنندگی رادیکالی در عصاره‌ها، وابسته به دز پرتوتابی است. نتایج آنالیز واریانس نیز نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی پرتوتابی شده تمام قسمت‌های گیاه خارمریم با دز ۲۰ کیلوگری تأثیر معنی‌داری بر مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH داشت ($P<۰/۰۵$). اما به‌طورکلی دانه در گیاه خارمریم فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به عصاره الکلی برگ و ساقه نشان داد ($P<۰/۰۵$) (شکل ۱). هم‌چنین از سوی دیگر می‌توان بیان نمود که فعالیت ضدرادیکالی قسمت‌های مختلف دانه، برگ و ساقه با افزایش دز پرتو گاما تا سطح ۳۰ کیلوگری افزایش معنی‌داری را نسبت گروه غیرپرتوتابی شده نشان دادند ($P<۰/۰۵$).

یکی دیگر از شاخص‌های ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم، مهار رادیکال کاتیونی ABTS است. نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر اثر قابل‌توجه فرآیند پرتوتابی گاما بر مقدار این شاخص در عصاره الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خار مریم به‌خصوص دانه گیاه بود (شکل ۱). بدین شکل که بالاترین میزان فعالیت مهار رادیکال ABTS در عصاره الکلی در قسمت دانه گیاه خار مریم دیده شد که این میزان از حدود ۷۰ درصد در نمونه پرتوتابی شده به حداکثر ۸۳، ۹۵ و ۷۸ درصد، به ترتیب در دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری رسید ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲).



شکل ۱- محتوای تام فنولی (گیاه خشک ۱۰۰ گرم/ میلی‌گرم) و درصد مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان عصاره الکلی دانه، ساقه و برگ گیاه خارمریم با دو روش DPPH و ABTS.

اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار است. اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

جدول ۱- درصد مهارکنندگی عصاره‌های الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) در آزمون DPPH.

دز پرتوتابی گاما (KGy)	دانه	ساقه	برگ
۰	۷۶/۹۹ ± ۱/۲۸^{d}	۳۳/۳۸ ± ۰/۹۸^{b}	۵٤/۱۷ ± ۲/۸۹^{a}
۱۰	۹۰/۱۱ ± ۳/۳۱^{b}	۳۷/۱٤ ± ۱/٤۸^{a}	۵۸/۳۲ ± ۲/٤۲^{b}
۲۰	۹۵/۱٤ ± ۵/۱٦^{a}	۳۷/۸۸ ± ۲/۳۹^{a}	۷۱/۹۸ ± ۳/۱۷^{a}
۳۰	۸۸/۷۲ ± ۳/٦۷^{c}	۳۰/۹۸ ± ۲/۳۳^{b}	۵۹/۹۳ ± ۳/۰۸^{b}

اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

جدول ۲- درصد مهارکنندگی عصاره‌های الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) در آزمون ABTS.

دز پرتوتابی گاما (KGy)	دانه	ساقه	برگ
۰	۷۰/۲۵ ± ۱/٤۱^{d}	٤۵/۳۳ ± ۰/۸٦^{c}	٦٦/۱۱ ± ۲/۵۷ ^{b}
۱۰	۸۳/۱۲ ± ۲/٦۵^{b}	۵۰/۹۱ ± ۱/۵٦^{b}	۷۵/۸۳ ± ۳/۲۲^{a}
۲۰	۹۵/٤٤ ± ۲/۳۸^{a}	٦۸/۸۹ ± ۱/۹۰^{a}	۸۳/۸۱ ± ٤/۰۹^{a}
۳۰	۷۸/۵۳ ± ۱/۷۹^{c}	٤۱/۸۲ ± ۱/٤۳^{c}	۷۳/۵٦ ± ۳/۷۷ ^{a}

اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵)

محتوای تام فنولی عصاره الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم پرتوتابی شده در سطح‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری با پرتو گاما و پرتوتابی نشده بر مبنای مقادیر جذب ناشی از واکنش عصاره با معرف فولین سیوکالتو و براساس مقایسه آن با محلول‌های استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید (جدول ۳). نتایج نشان داد که محتوای تام فنولی عصاره الکلی در قسمت دانه گیاه خارمریم نسبت به

برگ و ساقه میزان بالاتری دارد (شکل ۱) و هم‌چنین در دز ۲۰ کیلوگری میزان بالاتری محتوای تام فنولی از بافت دانه، برگ و ساقه نسبت به سایر دزهای پرتو و گروه پرتوتابی‌نشده ماده گیاهی خارمریم استخراج گردید ($P<0/05$).

جدول ۳- محتوای تام فنول (گیاه خشک ۱۰۰ گرم/ میلی‌گرم) در عصاره‌های الکلی قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم (*Silybum marianum*).

دز پرتوتابی گاما (KGy)	دانه	ساقه	برگ
۰	۴۹/۳۴ ± ۱/۳۸^{b}	۱۲/۶۶ ± ۱/۱۲^{b}	۱۸/۸۲ ± ۰/۲۴^{d}
۱۰	۵۵/۸۹ ± ۱/۱۸^{a}	۱۵/۲۷ ± ۱/۱۱^{a}	۳۹/۴۸ ± ۰/۳۷^{c}
۲۰	۵۵/۷۳ ± ۲/۲۲^{a}	۱۵/۰۹ ± ۱/۱۴^{a}	۵۸/۲۵ ± ۰/۳۲^{a}
۳۰	۵۱/۴۸ ± ۲/۲۵^{b}	۱۰/۳۵ ± ۲/۱۲^{b}	۵۵/۱۳ ± ۰/۴۸^{b}

اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. اعداد با حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار است ($P<0/05$)

بحث

در مطالعه حاضر محتوای تام فنولی و درصد مهارکنندگی آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره الکلی دانه، ساقه و برگ گیاه خارمریم پرتوتابی‌نشده و پرتوتابی‌شده با دزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری پرتو گاما با دو روش DPPH و ABTS اندازه‌گیری شد. یافته‌های این پژوهش بیانگر اثر افزایشی هر یک از دزهای گاما در ایجاد تغییرات مفید در عصاره الکلی حاصل از قسمت‌های مختلف گیاه خارمریم با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی متفاوت است؛ که این امر می‌تواند به دلیل ایجاد برخی تغییرات ساختاری ناشی از پرتوتابی در ساختار محتویات فنولی گیاه خارمریم باشد. در گیاهان ترکیبات پلی‌فنولی، فلاوونوئیدی و آنتوسیانین‌ها نقش زیادی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند. که این فعالیت مربوط به خاصیت اکسایش و کاهش آن‌ها است (۱۹). فرایند پرتودهی گاما می‌تواند موجب افزایش فعالیت ضد اکسایشی در برخی از نمونه‌ها شود. به‌عنوان مثال، در پرتودهی ریشه گیاه شیرین‌بیان با دزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری مشاهده شد که با افزایش دز پرتودهی میزان EC_{50} به‌طور معنی‌داری کاهش و در نتیجه فعالیت ضداکسایشی افزایش می‌یابد (۲۰). نتایج حاصل از بررسی اثر پرتودهی گاما با دزهای ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری بر دارچین نیز نشان داد که پرتودهی نمونه‌ها تا دز ۲۵ کیلوگری اثر سویی بر فعالیت ضداکسایشی و ضدمیکروبی آن ندارد و تنها افزایش فعالیت ضداکسایشی در دزهای بالاتر از ۱۰ کیلوگری در آزمون مشاهده شد (۲۱). Jo و همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که استفاده از روش پرتودهی گاما با دزهای ۱۰ تا ۲۰ کیلوگری برگ‌های چای سبز موجب افزایش قدرت مهارکنندگی DPPH عصاره اتانولی آن بلافاصله پس از پرتودهی شده است. در پژوهشی دیگر مشاهده شد که فعالیت مهاری سویا با افزایش دز پرتوتابی از ۰/۵ به ۵ کیلوگری افزایش یافت (۲۲). اما از سوی دیگر، افزایش دز پرتو با کاهش اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره لوبیا گرگی همراه بود (۲۳). نتایج حاصل از تیمار عصاره متانولی فلفل سیاه با پرتو گاما دزهای بین ۵ تا ۳۰ کیلوگری پرتو گاما بیانگر تمایل کاهش فعالیت آن‌ها بلافاصله پس از پرتوتابی بود (۲۴). پرتوفراوری گیاه رزماری با دزهای ۳۰ و ۴۰ کیلوگری پرتو گاما منجر به افزایش فعالیت مهارکنندگی آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH و به میزان

کم‌تر ABTS گردید (۲۵). در گزارشی نیز بیان گردید که هیچ تغییرات معنی‌داری در فعالیت مهارکنندگی عصاره رزماری پس از پرتوتابی مشاهده نشد (۲۱). این تفاوت‌ها در اثر پرتو گاما در مورد فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در عصاره‌های مختلف گیاهان ممکن است به‌دلیل تفاوت آن‌ها در ترکیب شیمیایی، حلال‌های مورد استفاده برای استخراج و سایر خصوصیات مرتبط شود (۲۶). از سوی دیگر براساس نتایج این پژوهش می‌توان به این نکته نیز اشاره نمود که استخراج محتوای تام فنولی در حالت پرتوتابی‌شده با دز ۲۰ کیلوگری منجر به خروج بیش‌تر ترکیبات فنولی از بافت دانه، ساقه و برگ می‌گردد. بنابراین می‌توان میزان قابل‌توجه فعالیت مهارکنندگی آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی را به مقدار بالای محتوای تام فنولی در عصاره الکلی گیاه خارمریم به‌خصوص در دانه گیاه نسبت داد (۲۷). بسیاری از ترکیبات فنولی گیاهی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی توسط پژوهش‌گران مختلف مورد بررسی قرار گرفته و نتایج گزارش شده‌اند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً به دلیل وجود ساختارهای حلقوی مزدوج و گروه‌های هیدروکسیل است که به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به عنوان عوامل کاهنده، اهداکنندگان هیدروژن عمل کنند (۲۸). برخی مطالعات نشان دادند که پرتودهی تا دز ۳۰ کیلوگری باعث افزایش معنی‌داری در میزان کلی ترکیبات فنولی می‌گردد به عنوان مثال در مطالعه‌ای نشان داده شد که میزان ترکیبات فنولی در دانه‌های سویا تیمار شده با دز ۱۰ کیلوگری افزایش یافته است (۲۹). پرتوتابی پوست انار منجر به افزایش میزان کل ترکیبات فنولی در دزهای بیش‌تر از ۱۰ کیلوگری شد (۳۰). هم‌چنین مقادیر بیش‌تری اسیدهای فنولیک در میخک و جوز هندی تحت تابش قرار گرفته مشاهده شد (۳۱). محتوای تام فنولی در عصاره متانولی رزماری مشابه گروه پرتوتابی‌نشده گزارش شد (۲۱). پس از بررسی انجام شده بر دانه‌های زیره و برگ‌های چای فرآوری شده با روش پرتوتابی افزایش قابل‌توجهی در میزان تام فنولی مشاهده نشد (۳۲، ۳۳). در پژوهش دیگر دز ۸ کیلوگری به‌کار رفته باعث افزایش محتوای تام فنولی در ترکیبات موجود در سویا شد البته این در حالی است که محتوای تام فنولی در دزهای ۲ و ٤ کیلوگری کاهش یافت (۳٤). به‌طورکلی تفاوت در اثرات پرتوتابی را می‌توان به ترکیبات فنولی موجود در گیاهان مختلف نسبت داد. هم‌چنین افزایش محتوای فنولی پس از پرتوتابی را می‌توان به آزادسازی ترکیبات فنولی از جزء گلیکوزیدی و تجزیه ترکیبات فنولی بزرگ‌تر به ترکیبات کوچک‌تر توسط پرتو گاما مرتبط دانست. فرآیندهای مخرب اکسیداسیون و پرتو گاما قادر به شکستن پیوندهای شیمیایی پلی‌فنول‌ها و در نتیجه آزادسازی مواد فنولی محلول با وزن مولکولی کم هستند (۳۵).

نتیجه‌گیری

بنابراین با در نظر گرفتن اثرات منفی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و نیز با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش عصاره الکلی گیاه خارمریم به‌خصوص قسمت دانه به عنوان جانشینی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتری پیشنهاد می‌شود. هم‌چنین می‌توان به این مهم نیز اشاره نمود که پرتوفرآوری عصاره الکلی گیاه با دز ۲۰ کیلوگری پرتو گاما نقش مهمی در بهبود و افزایش میزان آنتی‌اکسیدانی این گیاه دارد. این در حالی است که کاربرد عصاره مذکور به انجام مطالعات گسترده‌تری نیاز دارد که در صورت موفقیت‌آمیز بودن و سپس استاندارد ساختن نتایج، به عنوان یک افزودنی خوراکی کاربردی برای پرورش حیوانات آبزی، یک استراتژی امیدوارکننده برای محافظت از آن‌ها در برابر استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از رژیم غذایی پرچرب خواهد بود.

منابع

1.Karimian, V., Vahabi, M. R., Fazilati, M., & Soleimani, F. (2013). Chemical composition in two species of Verbascum collected from natural habitats, southern Iran. *Journal of Herbal Drugs*. 4 (3), 127-132.

2.Tooiserkani, F., Hormati, A., Moradi, H., & Ali, F. A. (2019). Glimpse of *Silybum marianum* from the perspective of Iranian traditional medicine and modern studies. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 13 (1), 78-86.

3.Vogel, G., Trost, W., Braatz, R., & Seeger, R. (2005). Pharmacodynamics, site and mechanism of action of silimarin. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research*. 2, 5-18.

4.Shaker, E., Mahmoud, H., & Mnaa, S. (2010). Silymarin, the antioxidant component and *silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (3), 803-806.

5.Jia, R., Cao, L., Du, J., Xu, P., Jeney, G., & Yin, G. (2013). The protective effect of silymarin on the carbon tetrachloride (CCL4)-induced liver injury in common carp (*cyprinus carpio*). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*. 49 (3), 155-61.

6.Adams, L. A. (2011). Biomarkers of liver fibrosis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 26, 802-9.

7.Heidarieh, M., Naeimi, S., Resae, A., & Heidarieh, T. (2023). Changes in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance, digestive enzyme Activity, hematological profile and serum biochemical markers after dietary administration of γ -irradiated Cinnamon. *Turkish journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 23, 6.

8.Juránek, I., & Bezek, S. (2005). Controversy of free radical hypothesis: reactive oxygen species-cause or consequence of tissue injury? *General Physiology and Biophysics*. 24, 263-78.

9.Jebelli Javan, A., Bolandi, M., Jadidi, Z., Parsaeimehr, M., & Javaheri Vayeghan, A. (2015). Effects of Scrophularia striata water extract on quality and shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during superchilled storage. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 16 (2), 315-21.

10.Fatemi, F., Asri, Y., & Naij, S. (2015). The effect of gamma irradiation on the antioxidant property of hydroalcoholic extract and essential oils derived from *Chelidonium majus* L. *Journal of Plant Research*. 29 (3), 567-577.

11.Abedi, A., Ferdowsi, R., Fazelifard, R., Zabihzadeh, M., Eskandari, S., & Shah-Hosseini, G. (2019). Effects of Gamma Irradiation on Residual Nitrite, Lipid Oxidation, Total Volatile Nitrogen and Color in Meat Products with Various Meat Contents. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*. 14 (3), 117-127.

12.Heidarieh, M., Gholamhosseini, A., Sheikhzadeh, N., & Angeles Esteban, M. (2023). Effects of gama irradiated date (*Phoenix dactylifera*) fruit on parameters of Goldfish (*Carassius auratus*). *Fishes*. 8 (5), 251-57.

13.Harrison, K., & Were, L. M. (2007). Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of almond skin extracts. *Food Chemistry*. 102, 932-937.

14.Variyar, P. S., Limaye, A., & Sharma, A. (2004). Radiation-induced enhancement of antioxidant contents of soybean (*Glycine max Merrill*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52, 3385-3388.

15.Harikrishnan, R., Nisha, R., & Balasundaram, C. (2014). Hematological and biochemical parameters in common carp (*Cyprinus carpio*), following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture*. 221, 41-50.

16.Heidarieh, M., Nabipour Chakoli, A., Shahbazi, S., Shawrang, P., & Zhang, B. (2023). Effect of gamma irradiation processing on total phenol and antioxidant capacities of the Iranian extract of propolis. *Radiochemical Acta*. 109 (8), 635-641.

17.Jacob, S. J. P., Finub, J., & Narayanan, A. (2012). Synthesis of silver nanoparticles using piper longum leaf extracts and its cytotoxic activity against

Hep-2 cell line. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 91, 212-4.
18. Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105, 940-949.
19. Shahidi, F., & Wanasundara, P. K. J. P. D. (1992). Phenolic antioxidant. *Critical Reviews in Food Science and Nutritions*. 32, 67-103.
20. Khattak, K. F., & Simpson, T. J. (2010). Effect of gamma irradiation on the antimicrobial and free radical scavenging activity of *Glycyrrhiza glabra* root. *Radiation Physics and Chemistry*. 79, 507-12.
21. Perez, M. B., Caldero, N. L., & Croci, C. A. (2007). Radiation induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry*. 104, 585-92.
22. Jo, C., Son, J. H., Lee, H. J., & Byun, M. W. (2003). Irradiation for color removal and purification of green tea leaves extract. *Radiation Physics and Chemistry*. 66, 179-84.
23. Lampart-Szczapa, E., Korczak, J., Nogala-Kalucka, M., & Zawirska-Wojtasiak, R. (2003). Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chemistry*. 83, 279-285.
24. Suhaj, M., Racova, J., Polovka, M., & Brezova, V. (2006). Effect of γ-irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Food Chemistry*. 97, 696-704.
25. Rezanejad, R., Heidarieh, M., Ojagh, S. M., Rezaei, M., Raeisi, M., & Alishahi, A. (2020). Values of antioxidant activities (ABTS and DPPH) and ferric reducing and chelating powers of gamma-irradiated rosemary extract. *Radiochimica Acta*. 108 (6), 477-482.
26. Gumus, T., Albayrak, S., Sagdic, O., & Arici, M. (2011). Effect of Gamma Irradiation on Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of *Satureja Hortensis*, *Thymus Vulgaris*, and *Thymbra Spicata* from Turkey. *International Journal of Food Properties*. 14 (4), 830-839.
27. Mohammadi, M., Kazemi Tabar, K., Asili, J., & Kamali, H. (2014). Study of the antioxidant and antibacterial activity in methanolic, dichloromethan and hexane extracts of aerial parts of *Cyperus longos*. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*. 6 (1), 161-168.
28. Pokorny, J. (2001). Introduction. In Antioxidants in food: Practical applications; Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.H., Eds., Woodhead Publishing Limited: *Cambridge*, 1-3.
29. Štajner, D., Milošević, M., & Popović Boris, M. (2007). Irradiation effects on phenolic content, lipid and protein oxidation and scavenger ability of soybean seeds. *International Journal of Molecular Sciences*. 8 (7), 618-627.
30. Mali, A. B., Khedkar, K., & Lele, S. S. (2011). Effect of gamma irradiation on total phenolic content and *in vitro* antioxidant activity of pomegranate (*Punicagranatum* L.) peels. *Food and Nutrition Sciences*. 2, 428-433.
31. Variyar, P. S. (1998). Effect of gamma-irradiation on the phenol acids of some Indian spices. *International Journal of Food Science and Technology*. 33, 533-537.
32. Kim, J. H., Shin, M. H., Hwang, Y. J., Srinivasan, P., Kim, J. K., Park, H. J., Byun, M. W., & Lee, J. W. (2009). Role of gamma irradiation on the natural antioxidants in cumin seeds. *Radiation Physics and Chemistry*. 78, 153-157.
33. Mishra, B. B., Gautam, S., & Sharma, A. (2006). Microbial decontamination of tea (*Camellia sinensis*) by gamma radiation. *Journal of Food Science*. 71, 151-156.
34. De-Toledo, T. C. F., Canniatti-Brazaca, S. G., Arthur, V., & Piedade, S. M. S. (2007). Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains. *Radiation Physics and Chemistry*. 76, 1653-1656.
35. Adamo, M., Capitani, D., Mannina, L., Cristinzio, M., Ragni, P., Tata, A., & Coppola, R. (2004). Truffle's decontamination treatment by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 71, 165-168.