

## بررسی اثر خشک کردن به وسیله اشعه گاما، شرایط و مدت زمان نگهداری بر اسانس و برخی از خصوصیات فیزیولوژیک *Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss.

مهديه جعفری قوشچی<sup>۱</sup>، بهلول عباسزاده<sup>۲\*</sup>، مهدی اورعی<sup>۳</sup>، راضیه عظیمی<sup>۴</sup> و علی فرامرزی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

پست الکترونیک: babaszadeh@rifr-ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران

۴- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۵- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد میانه، دانشگاه آزاد اسلامی، میانه، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۰

### چکیده

در این تحقیق، برای بررسی اثر پرتو گاما به عنوان یک روش برای خشک کردن ماده گیاهی، شرایط و مدت زمان نگهداری گیاه بر درصد و ترکیب‌های اسانس و برخی از صفات فیزیولوژیک مرزه سنبله‌ای (*Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss.)، سرشاخه‌های گیاه در مرحله گلدهی جمع‌آوری شد. تابش پرتو گاما، در سازمان انرژی اتمی، در ۵ سطح ۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ کیلوگرمی انجام گردید. نگهداری در دو شرایط یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و هوای اتاق انجام شد. مدت زمان نگهداری در سه سطح ۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ ساعت بود. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. استخراج اسانس از سرشاخه گل‌دار نمونه‌های مرزه به روش تقطیر با آب انجام شد. ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مورد شناسایی قرار گرفت. اثر اشعه گاما بر درصد اسانس و مقدار پارا-سیمین، تیمول، کارواکرول، فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. مدت زمان نگهداری بر درصد اسانس و میزان پارا-سیمین، تیمول و کارواکرول اثر معنی‌دار داشت. شرایط نگهداری بر محتوای تام فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی مرزه اثر معنی‌دار نشان داد. مقایسه میانگین اثر تابش گاما نشان داد که بیشترین درصد اسانس با ۱/۱۲٪ و ۱/۰۳٪ به ترتیب از نمونه شاهد و پرتو دهی ۵ کیلوگرمی اشعه گاما بدست آمد. حداکثر مقدار تیمول (۱۳/۵۷٪) از تابش ۱۰ کیلوگرمی پرتو گاما حاصل شد و میزان کارواکرول در شاهد (۳۴/۷۳٪) بیشتر از بقیه بود. با پرتو دهی ۲/۵ کیلوگرمی اشعه گاما، میزان ترکیب‌های فنلی ۱/۴ برابر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱/۷۶ برابر نسبت به شاهد افزایش داشت. البته با نگهداری گیاه در یخچال از مقدار تیمول آن کاسته شد. بیشترین درصد اسانس مربوط به نگهداری در مدت ۱۲۰ ساعت بود. استفاده از پرتو گاما با شدت زیاد برای دستیابی به اسانس با تیمول بالا مناسب است. همچنین استفاده از اشعه کم می‌تواند برای خشک کردن گیاه مرزه سنبله‌ای برای دست یافتن به عصاره‌ای با کیفیت بهتر حاوی ترکیبات فنولی بیشتر، مفید باشد. ولی استفاده از اشعه گاما برای خشک کردن به منظور اسانس‌گیری مناسب نیست.

واژه‌های کلیدی: مرزه چندساله، اشعه گاما، تیمول، اسانس.

### مقدمه

نیستند. واردکنندگان و صادرکنندگان اهمیت زیادی به پاکیزگی و سالم بودن گیاهان دارویی از جمله ویژگی‌های فیزیکی درونی (مقدار رطوبت، محتوای میکروبی)، انواع

کیفیت محصولات یکی از مهمترین و حیاتی‌ترین عوامل در بازار جهانی بوده و گیاهان دارویی از این نظر استثناء

بین عملکرد اسانس نمونه خشک شده در آون در مقایسه با نمونه‌های خشک شده در سایه و زیر نور خورشید وجود ندارد. خشک کردن طبیعی و خشک کردن با هوای داغ به دلیل هزینه‌های کمتر هنوز هم از پرکاربردترین روش‌های مورد استفاده در خشک کردن گیاه به‌شمار می‌روند؛ با این حال، معایب متعدد مانند عدم امکان جابه‌جایی مقادیر زیاد ماده گیاهی، عدم دستیابی به استانداردهای ثابت کیفیت، بازده کم و زمان بر بودن فرایند از جمله معایب روش خشک کردن در هوای داغ است. انتخاب روش، دما و زمان مناسب خشک کردن با توجه به نوع مواد مؤثره متفاوت است. اگرچه خشک کردن اندام‌های مورد نظر یک گیاه دارویی در درجه حرارت‌های بالا به دلیل خروج آب و نیز حرارت بالا باعث از بین رفتن جمعیت قارچ‌ها و باکتری‌های آنها می‌شود، ولی باید توجه کرد که افزایش بیش از حد دما، سبب کاهش مقدار اسانس می‌شود (Wang et al., 2021). کاربرد اشعه گاما (تولید شده از رادیوایزوتوپ‌های کبالت ۶۰ یا سزیم ۱۳۷) برای محافظت از محصولات غذایی مورد تأیید سازمان غذا و کشاورزی (FAO)، سازمان بین‌المللی انرژی اتمی (IAES) و سازمان جهانی بهداشت (WHO) قرار گرفته است (Joint, 2009). از استریل کردن محصولات غذایی با استفاده از این روش به‌عنوان یک روش دوستدار محیط‌زیست و مقرون به صرفه یاد شده است. همچنین از این روش به‌عنوان یک فرایند صنعتی برای استریل کردن گیاهان دارویی در تعدادی از کارخانه‌های مهم استفاده شده و مشخص گردیده است که تحت تابش گاما، ترکیب‌های شیمیایی برگ‌ها و ریشه‌ها دستخوش تغییرات قابل ملاحظه نمی‌گردد (Garg & Gupta, 2016). در این راستا، در پژوهشی که توسط Ibrahim و همکاران (۲۰۱۸) روی تأثیر تابش اشعه گاما بر عملکرد سزکوئی‌ترین‌ها در گیاه تاپسیا (*Thapsia garganica*) انجام دادند، نشان داده شد که تابش گاما هیچ‌گونه تأثیری روی پروفایل فیتوشیمیایی عصاره گیاهان یا ویژگی آنتی‌اکسیدانی ندارد و اینگونه دریافت شد که استفاده از اشعه گاما می‌تواند یک روش مناسب برای ضدعفونی گیاه تاپسیا توصیه گردد. در پژوهشی اثر تابش گاما بر محتوای میکروبی و کورکومینوئیدهای گیاه *Crucuma amada* با استفاده از

جمعیت میکروبی (توانایی برای تشکیل اسپور، سازگاری به شرایط خشک، هوازی یا غیرهوازی)، شرایط جابه‌جایی و انبار (عملیات کشاورزی و برداشت، ضدعفونی تجهیزات، دما و رطوبت، روش‌های تفکیک مانند بسته‌بندی و محفظه‌های انبار) و استفاده از فرایندهای ضدعفونی میکروبی مانند خشک کردن می‌دهند (Banerjee & Sarkar, 2004). کیفیت گیاهان دارویی به منشأ جغرافیایی، گونه، رقم، مرحله رشد در زمان جمع‌آوری و حمل و نقل پس از برداشت، نحوه خشک کردن و نحوه انبارداری بستگی دارد (Pandey & Das, 2014). برای اهداف حمل و نقل و انبارداری، کاهش محتوای آب گیاهان دارویی موضوعی ضروریست. به‌نحوی که با کاهش درصد رطوبت، مواد گیاهی به راحتی جابه‌جا شده و کمتر به آلودگی محیطی مستعد می‌شوند. خشک کردن با هوای طبیعی آسان بوده و به‌ندرت به محصول آسیب می‌رساند (Downs & Compton, 1955). انواع روش‌های خشک کردن مکانیکی شامل خشک کردن انجمادی، خشک کردن مصنوعی، خشک کردن در میکروویو، خشک کردن به‌وسیله مادون قرمز، خشک کردن تحت خلأ و خشک کردن پاششی (spray drying) است (Cai et al., 2004). فرایند پس از برداشت مرزه نیز مانند سایر گیاهان دارویی از اهمیت شایانی در چرخه تولید برخوردار است. هدف اصلی در این فرایند، کاهش سطح آب اندام گیاهی مرزه به زیر ۱۵٪ است تا رشد میکروبی مهار شود و تغییرات بیوشیمیایی حداقل و ویژگی‌هایی نظیر رنگ، عطر و دیگر موارد حفظ شوند (Hossain et al., 2010). اثر روش‌های خشک کردن گیاه روی تغییرات کمی و کیفی اسانس حاصل از *Satureja bachtiarica* مورد ارزیابی قرار گرفته است. نتایج نشان داده که بیشترین عملکرد اسانس در تیمار آون ۴۵ درجه سانتی‌گراد، یخچال، آون ۶۵ درجه سانتی‌گراد، سایه، نور خورشید و نمونه‌های تازه به ترتیب تولید شده است (Ghasemi Pirbalouti et al., 2017). Sefidkon و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر روش‌های خشک کردن گیاه و استخراج اسانس را بر روی عملکرد و ترکیب‌های شیمیایی اسانس مرزه *Satureja hortensis* مطالعه کردند. نتایج آنالیز داده‌ها حکایت از این داشت که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری

خشک کردن و ضدعفونی کردن گیاه بر درصد اسانس، ترکیب‌های اسانس و برخی ترکیب‌های فیزیولوژیک مرزه سنبله‌ای (*S. spicigera*) اجرا شد.

### مواد و روش‌ها

سرشاخه گل‌دار مرزه سنبله‌ای (*S. spicigera*) از مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور واقع در جنوب شرق کرج (با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه، ۴۶ دقیقه و ۲۱ ثانیه شمالی و ۵۰ درجه، ۴۶ دقیقه و ۷ ثانیه شرقی، ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا، متوسط بارندگی منطقه حدود ۲۳۵ میلی‌متر، حداقل درجه حرارت آن ۲۰- درجه سانتی‌گراد و حداکثر درجه حرارت آن ۳۸ درجه سانتی‌گراد، جهت باد غالب منطقه از شرق و جنوب شرق) جمع‌آوری شد (IRMO, 2015).

نمونه‌هایی از این گیاه به سازمان انرژی اتمی انتقال داده شد تا بر روی آنها تیمار تابش اشعه گاما اعمال گردد. از پرتودهی گاما به میزان ۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ کیلوگری استفاده شد و نمونه‌ها پس از پرتودهی در کیسه‌های دربسته در یخچال دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط اتاق نگهداری شدند. نمونه‌های گیاهی در فواصل مدت زمان نگهداری در سه سطح ۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ ساعت از گیاهان انبار شده تهیه شد. بنابراین، منابع تغییر شامل شدت پرتودهی گاما در پنج سطح ۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ کیلوگری، شرایط نگهداری در دو شرایط دمای اتاق ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و عامل مدت زمان نگهداری در سه سطح ۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ ساعت بودند. در نتیجه تعداد تیمارهای مورد مطالعه با احتساب ۳ تکرار برای هر تیمار برابر ۹۰ واحد آزمایشی بود که در قالب فاکتوریل و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد.

### استخراج و شناسایی اجزای اسانس

۲۰۲ گرم از نمونه تر و تازه (برابر ۸۰ گرم ماده خشک با توجه به محاسبه درصد رطوبت در گیاه) و ۸۰ گرم از نمونه‌های خشک شده در سایر تیمارها، به روش تقطیر با آب (طرح کلونجر) در ۳ تکرار به مدت ۲ ساعت اسانس‌گیری شدند. اسانس‌ها با استفاده از سولفات سدیم آبگیری شده و بازده اسانس براساس وزن گیاه خشک

دوزهای ۵ و ۱۰ کیلوگری مورد مطالعه قرار گرفت (Rahayu et al., 2016) و نتایج نشان داد که استفاده از دوز ۵ کیلوگری موجب کاهش جمعیت میکروبی شد، اما ترکیب‌های مؤثره گیاه کاهش پیدا نکرد. همچنین در تحقیق دیگری، اثر تابش گاما بر خصوصیات رشدی و عملکرد رازیانه بررسی شد (Verma et al., 2017) که نتایج نشان داد پرتودهی بذر موجب طولانی شدن دوره رشد، کاهش درصد جوانه‌زنی و کاهش تعداد برگ، تعداد ریشه، وزن تر و خشک گیاه و وزن هزارانه گردید. اثرهای تابش گاما بر عصاره و برگ‌های خشک سه گیاه دارویی از لحاظ آزمایش محدودیت میکروبی، محتوای فنل، فعالیت مهار رادیکال DPPH و غیره مطالعه شد، که نتایج متفاوت بود. مشاهده شد که برای بهبود کیفیت عصاره *Euodio malayana*، دوزهای ۱۲-۶ کیلوگری و در گیاه خشک، دوزهای ۱۳-۹ کیلوگری مؤثر بودند و تجمع گالیک اسید هم در برگ‌های تحت تیمار افزایش یافت. به طوری که از محدوده ۵۱-۳۰ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره قبل تیمار به ۱۰۳-۵۷ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره افزایش یافت. البته در گیاه *Khaya senegalensis* ترکیب‌های فنلی به شدت کاهش یافت. در تحقیق دیگری برگ‌های گیاه را با دوزهای ۱، ۵ و ۱۰ کیلوگری تیمار کردند و ترکیب‌های فنلی و سطح مایکوتوکسین‌ها بررسی شد، نتایج نشان داد که در دوزهای ۱ و ۱۰ کیلوگری ترکیب‌های فنلی حفظ شد اما مایکوتوکسین‌ها کاهش پیدا کردند. با توجه به مزیت نسبی اشعه گاما به دلیل سرعت بالا و امکان استفاده از آن در سطح وسیع از یک سو و نیاز کشور به معرفی مزیت‌های استفاده از آن در صنایع غیرنظامی از سوی دیگر، برتری این روش نسبت به سایر روش‌های خشک کردن و ضدعفونی، همچنین وجود نتایج ضد و نقیض در رابطه با اثر پرتودهی اشعه گاما بر گیاهان دارویی موجب انتخاب موضوع تحقیق شد. همچنین با توجه به اهمیت گونه‌های مرزه در ایران و تحقیقات گسترده بر روی گونه‌های مختلف آن و قرار گرفتن در آستانه معرفی ارقام مختلفی از این گیاهان به‌ویژه مرزه سنبله‌ای، نیاز به تحقیقات در همه زمینه‌ها به‌ویژه در زمینه خشک کردن می‌باشد. بنابراین، این تحقیق برای بررسی اثر سطوح مختلف پرتودهی گاما به‌عنوان یک روش انتخابی

(Mashayekhi & Atashi, 2016) اندازه‌گیری شد.

### تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS software (version 18) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح  $P \leq 0.05$  تجزیه و تحلیل شد.

### نتایج

آنالیز واریانس اثر اشعه گاما بر ترکیب‌های اسانس *S. spicigera*، نشان داد که عامل گاما و مدت نگهداری بر درصد اسانس و سه ترکیب عمده اسانس شامل پارا-سیمن، تیمول و کارواکرول در سطح ۱٪ اثر معنی‌دار داشت. این در حالیست که درصد اسانس و درصد کارواکرول تحت تأثیر شرایط نگهداری تغییر نیافت، اما درصد پارا-سیمن و تیمول تغییر پیدا کردند. البته میزان ترکیب‌های فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه در سطح ۱٪ تحت تأثیر معنی‌دار عامل گاما و شرایط نگهداری قرار گرفت.

مقایسه میانگین اثر تابش گاما بر خصوصیات اسانس *S. spicigera* (جدول ۱) نشان داد که بیشترین درصد اسانس با ۱/۱۲٪ و ۱/۰۳٪ به ترتیب از تیمارهای شاهد و اعمال ۵ کیلوگری گاما بدست آمد و با افزایش شدت اشعه گاما از درصد اسانس کاسته شد. با اعمال اشعه گاما مقدار پارا-سیمن افزایش یافت، به عبارتی از کیفیت اسانس کاسته شد. در مقابل، حداکثر تیمول (۱۳/۵۷٪) از تابش ۱۰ کیلوگری حاصل شد ولی درصد کارواکرول (۳۴/۷۳٪) در شاهد بیشتر از بقیه تیمارها (۲۸/۹۳-۳۲/۷۹٪) بود، هرچند با تیمارهای ۵ و ۷ کیلوگری اختلاف آماری نداشت.

اثر شرایط نگهداری بر خصوصیات اسانس *S. spicigera* (جدول ۲) نشان داد که با نگهداری گیاه در یخچال از مقدار تیمول آن نسبت به سایه کاسته می‌شود.

مقایسه میانگین اثر مدت نگهداری بر خصوصیات اسانس *S. spicigera* (جدول ۳)، نشان داد که بیشترین درصد اسانس مربوط به نگهداری ۱۲۰ ساعت بود و بالاترین درصد پارا-سیمن با ۳۹/۵۷٪ از نگهداری ۲۴۰ ساعت بدست آمد. همچنین با نگهداری گیاه، میزان تیمول افزایش و از مقدار کارواکرول کاسته شد.

محاسبه شد. اسانس‌ها تا زمان تزریق به دستگاه‌های GC و GC/MS، در شیشه‌های دربسته در دمای ۴°C نگهداری شدند. شناسایی ترکیب‌ها با استفاده از شاخص بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات کتابخانه‌ای (Adams, 2017)، انجام شد.

### مشخصات دستگاه‌های GC و GC/MS

از کروماتوگراف گازی فوق‌سریع (GC-FID) با مدل Thermo-UFM ساخت کشور ایتالیا، مجهز به آشکارساز FID و داده‌پرداز با نرم‌افزار Chrom-card 2006 استفاده شد. ستون DB-5 نیمه‌قطبی (به طول ۱۰ متر، قطر داخلی ۰/۱ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۴ میکرون) بود. دمای محفظه تزریق ۲۸۵°C و دمای آشکارساز ۲۸۰°C تنظیم شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون شامل افزایش دما از ۶۰ تا ۲۸۰°C با سرعت افزایش ۴۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود و بعد به مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۸۰°C نگه داشته شد. گاز حامل استفاده شده هلیوم با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. دستگاه GC/MS شامل کروماتوگراف گازی Agilent 7890A متصل به طیف‌سنج جرمی Agilent 5975C از نوع چهار قطبی (ساخت آمریکا)، مجهز به ستون DB-5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون) بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و بعد افزایش به ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت افزایش ۲۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه بود و در نهایت ۳ دقیقه در این دما نگه داشته شده است. درجه حرارت محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای ترانسفرلاین ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۰/۶ سانتی‌متر بر ثانیه در طول ستون حرکت می‌کند. زمان اسکن برابر یک ثانیه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و اسکن ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است.

### اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

صفات فیزیولوژیک شامل میزان کربوهیدرات، فنل و فلاونوئید و مهار رادیکال DPPH طبق روش

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر تابش گاما بر اسانس *Satureja spicigera*

**Table 1. Means comparison of gamma radiation effects on essential oil of *Satureja spicigera***

Gamma treatment (kGy)*	Essential oil (%)	$\alpha$ -thujene (%)	$p$ -cymene (%)	thymol (%)	carvacrol (%)	<i>E</i> -caryophyllene (%)	$\beta$ -bisabolene (%)	thymo hydroquinone (%)	spathulenol (%)	caryophyllene oxide (%)
0	1.12a	0.45b	31.07c	7.52c	34.73a	9.3a	1.79ab	0.87b	0.75bc	1.89a
2.5	0.7c	0.77a	39.53a	7.07c	28.93c	7.64b	1.92a	0.76b	0.88b	1.19b
5	1.03a	0.65a	38.61a	6.29c	32.79ab	5.81c	2.01a	1.11a	1.09a	1.67a
7.5	0.88b	0.65a	36.55ab	10.12b	32.55ab	5.95c	1.57bc	0.88b	0.86b	1.73a
10	0.32d	0.7a	34.46b	13.57a	30.44bc	6.88bc	1.44c	0.71b	0.62c	1.81a

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

\*: kilo gray

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر شرایط نگهداری بر اسانس *Satureja spicigera*

**Table 2. Means comparison of storage conditions effects on essential oil of *Satureja spicigera***

Storage conditions treatment	$\rho$ -cymene (%)	thymol (%)	carvacrol (%)	caryophyllene oxide (%)
Shadow	35.65a	9.4a	31.34a	1.55b
Refrigerator	36.44a	7.45b	32.43a	1.78a

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر مدت نگهداری بر اسانس *Satureja spicigera*

**Table 3. Means comparison of shelf life effects on essential oil of *Satureja spicigera***

Shelf life treatment (h)	Essential oil (%)	$\alpha$ -thujene (%)	$p$ -cymene (%)	thymol (%)	carvacrol (%)	<i>E</i> -caryophyllene (%)	thymo hydroquinone (%)	caryophyllene oxide (%)
0	0.6c	0.55b	33.98b	7.58b	35.01a	7.27a	0.99a	1.87a
120	0.95a	0.56b	34.59b	9.48a	31.76b	7.69a	0.8b	1.51b
240	0.87b	0.81a	39.57a	9.68a	28.89c	6.28b	0.8b	1.59ab

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تابش گاما × شرایط نگهداری بر اسانس *Satureja spicigera*

**Table 4. Means comparison of gamma radiation × storage conditions interaction effects on essential oil of *Satureja spicigera***

Storage conditions treatment	Gamma treatment (kGy)*	Essential oil (%)	$\alpha$ -thujene (%)	<i>p</i> -cymene (%)	thymol (%)	carvacrol (%)	<i>E</i> -caryophyllene (%)	$\beta$ -bisabolene (%)	thymo hydroquinone (%)	spathulenol (%)	caryophyllene oxide (%)
Shadow	0	0.95bc	0.33d	26.7d	8.17cd	35.47a	9.73a	1.91abc	1.06ab	0.79bcd	1.99a
Refrigerator	0	1.27a	0.57bc	35.45bc	6.87cde	34.002ab	8.86a	1.67bc	0.68c	0.71bcd	1.8a
Shadow	2.5	0.74de	0.73abc	40.66a	7.89cd	28.08d	6.18b	2.06ab	0.64c	0.83bcd	0.86b
Refrigerator	2.5	0.66e	0.81a	38.4abc	6.25de	29.77cd	8.74a	1.77abc	0.87abc	0.94abc	1.52a
Shadow	5	0.99bc	0.75ab	39.74ab	7.65cd	30.42cd	5.76b	1.84abc	1.06ab	1.15a	1.46a
Refrigerator	5	1.06b	0.54c	37.48abc	4.94e	35.17a	5.86b	2.18a	1.17a	1.02ab	A1.88a
Shadow	7.5	0.9c	0.66abc	36.44abc	9.4bc	33.06abc	6.37b	1.66bc	0.72bc	0.94abc	1.69a
Refrigerator	7.5	0.86cd	0.63abc	36.66abc	10.83b	32.04abc	5.53b	1.48c	1.04ab	0.77bcd	1.78a
Shadow	10	0.35f	0.64abc	34.73c	13.78a	29.69cd	6.76b	1.44c	0.69c	0.65cd	1.73a
Refrigerator	10	0.3f	0.76ab	34.19c	13.36a	31.2bcd	6.99b	1.45c	0.72bc	0.58d	1.9a

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

\*: kilo gray

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تابش گاما × مدت نگهداری بر اساس *Satureja spicigera*

**Table 5. Means comparison of gamma radiation × shelf life interaction effects on essential oil of *Satureja spicigera***

Shelf life treatment (h)	Gamma treatment (kGy)*	Essential oil (%)	$\alpha$ -thujene (%)	$\alpha$ -terpinene	<i>p</i> -cymene (%)	thymol (%)	carvacrol (%)	<i>E</i> -caryophyllene (%)	$\beta$ -bisabolene (%)	thymo hydroquinone (%)	spathul enol (%)	caryophyllene oxide (%)
0		1.2ab	0.23f	0.44ab	21.68e	8.24ef	41.99a	11.25a	1.83ab	0.96abc	0.81b	2.46a
120	0	1.11bc	0.37f	0.47ab	30.57d	7.37ef	33.79bcd	8.06bc	1.64ab	0.86bc	0.7b	1.38bc
240		1.01cd	0.74abc	0.64ab	40.98ab	6.95ef	28.42fg	8.58b	1.92ab	0.79bc	0.75b	1.84abc
0		0.48fg	0.76abc	0.84a	42.78a	5.05f	29.04efg	6.16cde	2.23a	0.82bc	0.97b	1.02c
120	2.5	0.82e	0.62bcd	0.55ab	33.7cd	7.43ef	31.31cdef	11.33a	1.8ab	0.77bc	0.86b	1.15c
240		0.81e	0.94a	0.73ab	42.11a	8.73de	26.43g	4.9e	1.73ab	0.69bc	0.83b	1.41bc
0		0.51f	0.42def	0.55ab	34.86cd	5.05f	36.42b	5.96de	1.88ab	1.33a	1.34a	2.14ab
120	5	1.24ab	0.68bc	0.65ab	35.85abc	7.29ef	31.41cdef	5.63de	1.9ab	0.95abc	0.99b	1.52bc
240		1.33a	0.84ab	0.38ab	42.12a	6.53ef	30.55defg	5.85de	2.24a	1.07ab	0.93b	1.33bc
0		0.51f	0.65bcd	0.62ab	36.33bcd	7.94ef	35.46bc	6.51cde	1.62ab	0.99abc	0.89b	1.87abc
120	7.5	1.24ab	0.52cde	0.66ab	36.02bcd	9.84cde	33.26bcde	6.23cde	1.58b	0.87bc	0.8b	1.72abc
240		0.88de	0.78ab	0.6ab	37.3abc	12.56abc	28.93efg	5.12de	1.52b	0.8bc	0.89b	1.62bc
0		0.32g	0.69abc	0.68ab	34.24cd	11.63bcd	32.16 bcdef	6.39cde	1.53b	0.88bc	0.61b	1.88abc
120	10	0.33fg	0.63bcd	0.38ab	33.81cd	15.47a	29.05efg	7.2bcd	1.32b	0.58c	0.58b	1.8abc
240		0.31g	0.77ab	0.31b	35.33bcd	13.61ab	30.12defg	6.95bcde	1.38b	0.65bc	0.66b	1.76abc

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.\*: kilo gray

مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر خصوصیات اسانس *S. spicigera* (جدول ۶) نشان داد که مقدار پارا-سیمن در دو تیمار ۲۴۰ ساعت نگهداری در سایه و ۲۴۰ ساعت نگهداری در یخچال بیشترین بود. کارواکرول هم در شرایط بدون نگهداری بالاترین درصد را داشت.

مقایسه میانگین اثر متقابل اشعه گاما × شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر پروفایل اسانس *S. spicigera* نشان داد که هر سه ترکیب اصلی *S. spicigera* در تیمارهای مختلف نتایج متفاوتی داشتند و خیلی روند ثابتی را نمی‌توان مشاهده کرد (جدول آورده نشده است).

همبستگی ساده صفت ترکیب‌های اسانس *S. spicigera* تحت تأثیر اشعه گاما، نشان داد (جدول ۷) که پارا-سیمن با ترتیپینن-۴-آل، کارواکرول و ای-کاریوفیلین همبستگی منفی معنی‌دار داشت. تیمول با کارواکرول، ای-کاریوفیلین و سایر ترکیب‌های بعد از خودش همبستگی منفی معنی‌دار نشان داد. کارواکرول با ای-کاریوفیلین، تیموئیدروکینون و کاریوفیلین اکسید همبستگی مثبت معنی‌دار داشت.

مقایسه میانگین اثر متقابل شدت تابش گاما × شرایط نگهداری بر خصوصیات اسانس *S. spicigera* (جدول ۴) نشان داد که بیشترین درصد اسانس با ۱/۲۷٪ متعلق به تیمار شاهد × نگهداری در یخچال بود. بالاترین درصد پارا-سیمن از تیمارهای پرتودهی ۲/۵ تا ۷/۵ کیلوگری در شرایط سایه و یخچال بدست آمد. بالاترین درصد تیمول از تابش ۱۰ کیلوگری در شرایط سایه و یخچال حاصل شد. البته میزان کارواکرول روند کاملاً مشخصی نداشت اما در شدت‌های بالای تابش، درصد آن کاهش نشان داد.

مقایسه میانگین اثر متقابل شدت تابش گاما × مدت نگهداری بر پروفایل اسانس *S. spicigera* (جدول ۵) نشان داد که بیشترین درصد اسانس را تیمارهای شاهد، ۵ کیلوگری × ۱۲۰ ساعت نگهداری، ۵ کیلوگری در ۲۴۰ ساعت نگهداری و ۷/۵ کیلوگری در ۱۲۰ ساعت نگهداری داشت. بیشترین درصد پارا-سیمن در مدت نگهداری ۱۲۰ و ۲۴۰ ساعت با شدت تابش ۲/۵ و ۵ کیلوگری بدست آمد. بیشترین درصد تیمول نیز از نگهداری ۱۲۰ و ۲۴۰ ساعت و شدت تابش ۱۰ کیلوگری حاصل شد. بیشترین درصد کارواکرول در شاهد (بدون پرتودهی و بدون نگهداری) با ۴۱/۲٪ نتیجه دیده شد.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر اسانس *Satureja spicigera*

Table 6. Means comparison of storage conditions × shelf life interaction effects on essential oil of *Satureja spicigera*

Shelf life treatment (h)	Storage conditions treatment	$\alpha$ -thujene (%)	<i>p</i> -cymene (%)	thymol (%)	carvacrol (%)	<i>E</i> -caryophyllene (%)	caryophyllene oxide (%)
0		0.52b	33.78b	7.28c	34.77a	7.53ab	1.87a
120	Shadow	0.53b	33.99b	9.55ab	31.69b	7.43ab	1.44ab
240		0.82a	39.19a	11.31a	27.57c	5.93c	1.33b
0		0.59b	34.18b	7.88bc	35.26a	7.02abc	1.88a
120	Refrigerator	0.6b	35.19b	9.41ab	31.83b	7.95a	1.59ab
240		0.81a	39.94a	8.05bc	30.21b	6.63bc	1.86a

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.



جدول ۷- همبستگی ساده ترکیب‌های اساسی *Satureja spicigera* تحت تأثیر اشعه گاما

Table 7- Simple correlation of *Satureja spicigera* essential oil compounds influenced by gamma radiation

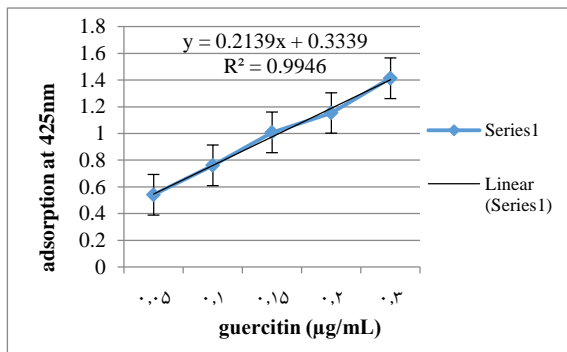
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	$\alpha$ -thujene	$\alpha$ -pinene	$\alpha$ -terpinene	$\rho$ -cymene	cis-sabinene hydrate	borneol	terpinen-4-ol	carvacrol methyl ether	thymoquinone	thymol	carvacrol	<i>E</i> -caryophyllene	$\beta$ -bisabolene	thymo hydroquinone	spathulenol	caryophyllene oxide
1	1															
2	0.24*	1														
3	0.3**	0.36**	1													
4	0.64**	0.15ns	0.27**	1												
5	0.08ns	0.02ns	0.002ns	-0.09ns	1											
6	0.04ns	0.54**	0.09ns	-0.15ns	0.3**	1										
7	-0.02ns	0.4**	0.22*	-0.21*	0.31**	0.52**	1									
8	0.1ns	0.6**	0.28**	-0.07ns	0.27**	0.62**	0.72**	1								
9	-0.24*	-0.5**	-0.16ns	0.17ns	-0.19*	-0.62**	-0.69**	-0.71**	1							
10	0.07ns	-0.04ns	-0.07ns	-0.08ns	0.01ns	0.09ns	0.04ns	0.03ns	-0.2*	1						
11	-0.6**	-0.32**	-0.34**	-0.68**	0.02ns	-0.14ns	-0.17ns	-0.21*	0.28**	0.38**	1					
12	-0.36**	-0.07ns	-0.05ns	-0.55**	-0.1ns	0.03ns	0.09ns	0.04ns	-0.08ns	-0.22*	0.4**	1				
13	-0.06ns	0.02ns	0.08ns	0.16ns	0.04ns	-0.02ns	0.09ns	0.06ns	0.09ns	0.36**	0.03ns	-0.05ns	1			
14	-0.28**	0.07ns	0.14ns	-0.19*	0.33**	0.17ns	-0.02ns	0.12ns	0.05ns	-0.23*	0.25*	0.03ns	0.09ns	1		
15	0.02ns	0.4**	0.18*	-0.06ns	0.28**	0.44**	0.57**	0.62**	-0.41**	-0.26*	-0.04ns	-0.02ns	0.23*	0.31**	1	
16	-0.29**	-0.26*	-0.28**	-0.47**	0.17ns	-0.03ns	-0.08ns	-0.22*	0.14ns	0.15ns	0.64**	0.16ns	-0.1ns	0.14ns	-0.03ns	1

ns, \*, and \*\*: not significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

میزان کربوهیدرات، فنل و فلاونوئید و مهار رادیکال DPPH طبق روش Mashayekhi و Atashi (۲۰۱۶) اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد مربوط در شکل‌های ۱-۳ نشان داده شده است. میزان کربوهیدرات برحسب معادل «میکروگرم گلوکز در میلی‌لیتر عصاره»، محتوای تام فنولی عصاره براساس میزان معادل «میکروگرم گالیک‌اسید در گرم عصاره» و میزان فلاونوئید براساس معادل «میکروگرم کوئرستین در میلی‌لیتر عصاره» در جدول ۱۰ گزارش شد.

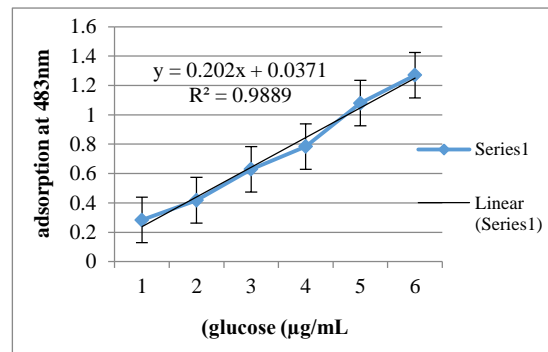
نتایج آنالیز واریانس اثر اشعه گاما بر برخی از صفات فیزیولوژی *S. spicigera* نشان داد که میزان محتوای تام فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی این گیاه در سطح ۱٪ اختلاف آماری تحت تأثیر پرتودهی اشعه گاما قرار گرفت. شرایط نگهداری بر فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱٪ و بر فلاونوئید در سطح ۵٪ اختلاف داشت. همچنین اثر متقابل گاما × شرایط نگهداری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف آماری در سطح ۱٪ نشان داد.

صفات فیزیولوژیک عصاره اتانولی مرزه سنبله‌ای شامل



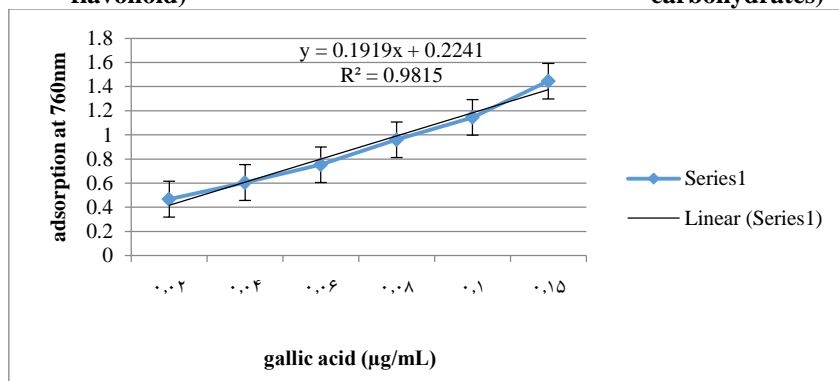
شکل ۲- منحنی استاندارد کوئرستین (محاسبه فلاونوئید)

Figure 2. Standard quercetin curve (calculation of flavonoid)



شکل ۱- منحنی استاندارد گلوکز (محاسبه کربوهیدرات)

Figure 1. Standard glucose curve (calculation of carbohydrates)



شکل ۳- منحنی استاندارد اسید گالیک (محاسبه فنل)

Figure 3. Standard gallic acid curve (calculation of phenol)

یافت و در ۵ و ۷/۵ کیلوگرمی پرتودهی نیز این میزان بالا حفظ شد، اما در ۱۰ کیلوگرمی از مقدار فنل تولیدی در گیاه بشدت کاسته شد. مقدار فلاونوئید در تیمارهای ۲/۵ و ۵

مقایسه میانگین اثر شدت تابش گاما بر برخی از صفات فیزیولوژی *S. spicigera* (جدول ۸) نشان داد که با پرتودهی گاما ۲/۵ کیلوگرمی، میزان فنل بشدت افزایش

کیلوگری در بیشترین حد بود. حداکثر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۲/۵ کیلوگری بود. مقدار کربوهیدرات در پرتودهی ۱۰ کیلوگری نسبت به شاهد و بقیه تیمارها کاهش معنی‌دار نشان داد.

مقایسه میانگین اثر شرایط نگهداری بر برخی از صفات فیزیولوژی مرزه *S. spicigera* (جدول ۹)، نشان داد که با نگهداری در یخچال، میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر تابش گاما بر برخی صفات فیزیولوژیک *Satureja spicigera*

Table 8. Means comparison of gamma radiation effects on some physiological traits of *Satureja spicigera*

Gamma treatment (kGy)*	Phenol ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Flavonoid ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Antioxidant (%)	Carbohydrate ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)
0	13.23b	13.23c	21.87c	5.75ab
2.5	18.51a	19.52ab	38.58a	5.1ab
5	16.84a	20.14a	31.75b	4.51b
7.5	17.07a	17.33b	24.5c	6.3a
10	13.97b	14.82c	24.85c	4.41b

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

\*: kilo gray

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر شرایط نگهداری بر برخی صفات فیزیولوژیک *Satureja spicigera*

Table 9. Means comparison of storage conditions effects on some physiological traits of *Satureja spicigera*

Storage conditions treatment	Phenol ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Flavonoid ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Antioxidant (%)
Shadow	14.96b	16.04b	26.97b
Refrigerator	16.89a	17.97a	29.65a

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل تابش گاما  $\times$  شرایط نگهداری بر برخی صفات فیزیولوژیک *Satureja spicigera*

Table 10. Means comparison of gamma radiation  $\times$  storage conditions interaction effects on some physiological traits of *Satureja spicigera*

Storage conditions treatment	Gamma treatment (kGy)*	Phenol ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Flavonoid ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Antioxidant (%)	Carbohydrate ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)
Shadow	0	12.87d	12.77e	19.77e	6.03ab
Refrigerator		13.6d	13.7de	23.97de	5.47ab
Shadow	2.5	16.38bcd	17.69abc	34.62b	5.11ab
Refrigerator		20.64a	21.36a	42.55a	5.09ab
Shadow	5	16.1bcd	18.92ab	29.51c	4.43ab
Refrigerator		17.59abc	21.36a	33.99b	4.58ab
Shadow	7.5	15.31cd	16.75bcd	26.47cd	6.22a
Refrigerator		18.82ab	17.9abc	22.53de	6.38a
Shadow	10	14.13d	14.09cde	24.46d	5.08b
Refrigerator		13.8d	15.55bcde	25.23d	3.75b

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

\*: kilo gray

مقایسه میانگین اثر متقابل شدت تابش گاما × مدت نگهداری بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک *S. spicigera* (جدول ۱۱) نشان داد که با پرتودهی ۲/۵، ۵ و ۷/۵ کیلوگری بدون توجه به شرایط نگهداری، مقدار فنل نسبت به شاهد افزایش یافته و بعد با پرتودهی ۱۰ کیلوگری از میزان فنل کاسته شده و دوباره به سطح شاهد برگشته است. همچنین به طور دقیق وضع مشابهی در فلاونوئید مشاهده می شود. مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در تیمار پرتودهی ۲/۵ کیلوگری و هر سه زمان نگهداری حداکثر بود.

مقایسه میانگین اثر متقابل شدت تابش گاما × شرایط نگهداری بر برخی از صفات فیزیولوژی *S. spicigera* (جدول ۱۰) نشان داد که بیشترین مقدار فنل از پرتودهی ۲/۵، ۵ و ۷/۵ کیلوگری و نگهداری در یخچال بدست آمد. کمترین فلاونوئیدها هم متعلق به تیمار عدم پرتودهی و نگهداری در سایه و یخچال و نیز پرتودهی ۱۰ کیلوگری در نگهداری در سایه و یخچال بود. بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از تیمار پرتودهی ۲/۵ کیلوگری × نگهداری در یخچال با ۴۲/۵٪ بود. البته کمترین کربوهیدرات هم از پرتودهی ۱۰ کیلوگری و نگهداری در شرایط یخچال حاصل شد.

جدول ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تابش گاما × مدت نگهداری بر برخی صفات فیزیولوژیک *Satureja spicigera*  
Table 11. Means comparison of gamma radiation × shelf life interaction effects on some physiological traits of *Satureja spicigera*

Shelf life treatment (h)	Gamma treatment (kGy)*	Phenol ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Flavonoid ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Antioxidant (%)
0		12.95e	12.87d	18.61e
120	0	13.3de	13.29d	23.15de
240		13.45cde	13.54d	23.85d
0		17.38abcde	18.73abc	36.95ab
120	2.5	18.26ab	19.54ab	38.58a
240		19.89a	20.31a	40.21a
0		16.2abcde	18.99abc	30.55c
120	5	16.44abcde	20.2a	31.82bc
240		17.9abc	21.23a	32.89bc
0		16.56abcde	16.75abcd	24.26d
120	7.5	17.07abcde	16.8abcd	24.75d
240		17.57abcd	18.44abc	24.5d
0		13.95bcde	15.04bcd	25.4d
120	10	14.26bcde	14.34cd	24.25d
240		13.7cde	15.08bcd	24.9d

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

\*: kilo gray

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار عدم پرتودهی و بدون نگهداری و بیشترین آن در پرتودهی ۱۰ کیلوگری در نگهداری ۲۴۰ ساعت بود.

مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک *S. spicigera* (جدول ۱۲) نشان داد که کمترین مقدار فنل، فلاونوئید و

جدول ۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر برخی صفات فیزیولوژیک *Satureja spicigera*

Table 12. Means comparison of storage conditions × shelf life interaction effects on some physiological traits of

*Satureja spicigera*

Shelf life treatment (h)	Storage conditions treatment	Phenol ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Flavonoid ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Antioxidant (%)
0	Shadow	14.26b	15.53b	24.92b
120		14.93ab	15.75ab	27.47ab
240		15.68ab	16.85ab	28.51a
0	Refrigerator	16.55ab	17.42ab	29.38a
120		16.8ab	17.91ab	29.55a
240		17.32a	18.59a	30.03a

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

زمان نگهداری در بالاترین میزان بود. نتایج همبستگی ساده صفات فیزیولوژیک اثر پرتودهی گاما بر خصوصیات *S. spicigera* (جدول ۱۴) نشان داد که بین فنل با فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۱٪ همبستگی مثبت معنی‌دار وجود داشت. همچنین بین فلاونوئید با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح ۱٪ مشاهده شد. کربوهیدرات با هیچ یک از صفات رابطه معنی‌دار نشان نداد.

مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه تابش شدت اشعه گاما × شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر خصوصیات اسانس *S. spicigera* (جدول ۱۳) نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید از تیمارهای پرتودهی ۲/۵ تا ۷/۵ در همه حالت‌های نگهداری و مدت زمان نگهداری نسبت به شاهد افزایش یافته و با پرتودهی ۱۰ کیلوگری شروع به کاهش کرده و به سطح شاهد برگشته است. مشاهده شد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار پرتودهی ۲/۵ کیلوگری، در شرایط نگهداری در یخچال و در هر سه

جدول ۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تابش گاما × شرایط نگهداری × مدت نگهداری بر برخی صفات فیزیولوژیک

*Satureja spicigera*

Table 13. Means comparison of gamma radiation × storage conditions × shelf life interaction effects on some physiological traits of *Satureja spicigera*

Shelf life treatment (h)	Storage conditions treatment	Gamma treatment (kGy)*	Phenol ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Flavonoid ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of extract)	Antioxidant (%)
0			12.5d	12.45e	13.42i
120	Shadow		13cd	12.89de	22.3h
240		0	13.11cd	12.99de	23.6gh
0			13.4cd	13.3de	23.8gh
120	Refrigerator		13.6cd	13.7cde	24gh
240			13.8cd	14.1cde	24.11gh
0			15.45abcd	16.57abcde	33.45cdef
120	Shadow		15.69abcd	17.59abcde	34.65cde
240		2.5	0.18abcd	18.92abcde	35.76bcd
0			19.32abc	20.89abc	40.46abc
120	Refrigerator		20.84ab	21.5ab	42.52ab
240			21.78a	21.7ab	44.67a
0			15.4abcd	18.3abcde	27.65defgh
120	Shadow		16abcd	18.7abcde	29.7defgh
240		5	16.9abcd	19.76abcde	31.2defg
0			17abcd	19.68abcde	33.45cdef
120	Refrigerator		16.89abcd	21.7ab	33.94cd <sup>۳</sup>
240			18.9abcd	22.7a	34.58cde
0			14.75bcd	16.56abcde	27.12efgh
120	Shadow		15.66abcd	16.71abcde	26.7efgh
240		7.5	15.54abcd	17abcde	25.6fgh
0			18.38abcd	16.94abcde	21.4h
120	Refrigerator		18.49abcd	16.89abcde	22.8gh
240			19.6abc	19.89abcd	23.4gh
0			13.22cd	13.79cde	23gh
120	Shadow		14.32bcd	12.89de	24gh
240		10	14.87bcd	15.6abcde	26.4efgh
0			14.69bcd	16.3abcde	27.8defgh
120	Refrigerator		14.2cd	15.8abcde	24.5gh
240			12.53d	14.56bcde	23.4gh

The same letters in each column indicate that there is no significant difference between the means.

\*: kilo gray

جدول ۱۴- همبستگی ساده صفات فیزیولوژیک *Satureja spicigera* تحت تأثیر اشعه گاما

Table 14. Simple correlation of physiological traits of *Satureja spicigera* influenced by gamma radiation

	Phenol	Flavonoid	Antioxidant	Carbohydrate
Phenol	1			
Flavonoid	0.49**	1		
Antioxidant	0.44**	0.51**	1	
Carbohydrate	-0.01ns	-0.17ns	0.04ns	1

ns, \* and \*\* indicate the absence of significant correlation and the existence of significant correlation between the traits, respectively.

## بحث

کیلوگری گاما اختلاف معنی دار نداشت. از این رو به نظر می رسد در تیمارهای بالاتر از ۵ کیلوگری، گرمای ناشی از پرتودهی موجب تغییراتی در درصد اسانس شده است، این در حالیکه تیمار ۲/۵ کیلوگری نیاز به بررسی های بیشتری دارد. البته مشاهده شد که حداکثر تیمول از تابش ۱۰ کیلوگری حاصل شد و کارواکرول در شاهد بیشتر از بقیه بود که این نتیجه، موضوع تغییرات ترکیبها در مرحله خشک شدن را به شدت تأیید می کند. هر چند نتایج این بخش از تحقیقات ما با نتایج تحقیقات Rahayu و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت نداشت. میزان ترکیبهای فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی تحت تأثیر معنی دار عامل تابش گاما قرار گرفت، بنابراین نتایج حکایت از آن دارد که علاوه بر اسانس که یک ماده فرار است و امکان خروج آن از طریق تعرق و همراه رطوبت ناشی از خشک شدن وجود دارد، سایر ترکیبها نیز در حال واکنش و تغییر هستند، به طوری که مقایسه میانگینها (جدول ۱) نشان داد که با پرتودهی گاما ۲/۵ کیلوگری، میزان فنل بشدت افزایش یافت و در ۵ و ۷/۵ کیلوگری پرتو نیز این میزان بالا حفظ شد، اما در ۱۰ کیلوگری از مقدار فنل تولیدی در گیاه بشدت کاسته شد. فنل یکی از ترکیبهای آنتی اکسیدانی بوده و در شرایط تنش که در این آزمایش تنش حرارتی بوده، شروع به افزایش می نماید و با افزایش شدت تنش، مسیر دیگری فعال شده و تولید فنل کاهش یافته است. Abbaszadeh و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که در تنش های ملایم درصد اسانس و برخی از ترکیبهای فیزیولوژیک گیاه افزایش پیدا می کند

ضد عفونی با استفاده از تابش گاما یک فرایند سرد است، به طوری که دما تا چند درجه سانتی گراد افزایش پیدا نمی کند. بنابراین پرتودهی گاما به ویژه برای ضد عفونی در مقیاس تجاری محصولات حساس به حرارت مانند گیاهان دارویی اسانس دار مناسب است. دوز تابش مورد نیاز برای از بین بردن قارچها و بیشتر باکتریها در محدوده ۱/۵ تا ۱۵ کیلوگری گزارش شده و دوز تابش ۲۵ کیلوگری به عنوان دوز پذیرفته شده رسمی برای ضد عفونی محصولات دارویی در بسیاری از کشورهاست (Martins et al., 2001). آزمایشها حکایت از این داشته است که گیاهان دارویی با محتوای آبی ۱۲-۵٪ در برابر تغییرات فیزیکی و شیمیایی در موقع تابش مقاوم تر هستند (Gupta et al., 2011).

بوجود آمدن تغییرات معنی دار در بین تیمارها در صفات درصد اسانس و ترکیبهای عمده پارا-سیمن، تیمول و کارواکرول نشان دهنده انتخاب مناسب موضوع و تیمارها است، همچنین نشان می دهد که در فرایند خشک کردن، درصد تلفات اسانس گیاه بالا بوده و امکان تبدیل ترکیبها و در نتیجه کاهش یا افزایش مقدار آنها وجود دارد، بنابراین باید با بررسی مقایسه میانگینها موضوع را بیشتر مورد بررسی قرار داد. مقایسه میانگین اثر تابش گاما بر خصوصیات *S. spicigera* (جدول ۱) نشان داد که در تیمار شاهد، درصد اسانس بیشتر از پرتودهی گاما بود، اما با تیمار ۵

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که نتایج حاصل از این تحقیق مؤید آن است که استفاده از اشعه گاما در گیاه دارویی *S. spicigera* با توجه به کاهش درصد اسانس و درصد کارواکرول مناسب نیست، ولی اگر هدف بالا بردن مقدار ترکیب‌های فنلی و یا تیمول و پارا-سیمن بالا باشد، می‌توان از اشعه گاما با شدت به ترتیب ۲/۵، ۱۰ و ۱۰ کیلوگری استفاده کرد. همچنین نتایج نشان داد هر چقدر فاصله بین خشک شدن با اسانس‌گیری کمتر باشد، کیفیت اسانس (کارواکرول) بیشتر خواهد بود و با نگهداری گیاه به‌ویژه نگهداری در یخچال از کیفیت اسانس کاسته می‌شود. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که با وجود تبلیغات گسترده در زمینه کارایی اشعه گاما در گیاهان مختلف و برخلاف بسیاری از منابع در رابطه با تأثیر مثبت اشعه گاما در گیاهان دارویی، در گیاه مرزه سنبله‌ای با توجه به هزینه‌های انتقال و محدودیت‌های استفاده از اشعه گاما، استفاده از پرتودهی در سطح وسیع قابل توصیه نیست.

## References

- Abbaszadeh, B., Layeghhighi, M., Azimi, R. and Hadi, N., 2020. Improving water use efficiency through drought stress and using salicylic acid for proper production of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 144: 111893.
- Adams, R.P., 2017. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, 804p.
- Banerjee, M. and Sarkar, P.K., 2004. Growth and enterotoxin production by sporeforming bacterial pathogens from spices. *Food Control*, 15(6): 491-496.
- Bendini, A., Toschi, T.G. and Lercker, G., 1998. Influence of  $\gamma$ -irradiation and microwaves on the linear unsaturated hydrocarbon fraction in spices. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 207(3): 214-218.
- Cai, T., Chen, F. and Qi, J., 2004. Dehydrated oriental mushrooms, leafy vegetables, and food preparation herbs and condiments: 373-394. In: Hui, Y.H., Ghazala, S., Graham, D.M., Murrel, K.D. and Nip, W.K., (Eds.). *Handbook of Vegetable Preservation and Processing*. CRC Press, 752p.
- Downs, S. and Compton, E., 1955. Crop drying with heated air. *Agricultural Engineering*, 36: 90-92.
- Garg, N. and Gupta, P.C., 2016. Irradiation: A Technique for Microbial Decontamination of

و با افزایش شدت تنش، مسیرهای جدید فعال شده و ترکیب‌های جدیدی از جمله قندها و پرولین در گیاه افزایش پیدا می‌کند. کاهش مقدار فنل در شدت بالای پرتودهی نشان‌دهنده همین موضوع می‌باشد. مقدار فلاونوئید نیز در تیمارهای پرتودهی با شدت کم و متوسط در بیشترین حد بودند و با افزایش شدت پرتودهی از مقدار آنها نیز کاسته شد. حداکثر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار تابش‌دهی با شدت کم بود که به دلیل وجود محتوای بالای ترکیب‌های فنل و فلاونوئید در این تیمار است. در نهایت مقدار کربوهیدرات در پرتودهی ۱۰ کیلوگری نسبت به شاهد و بقیه تیمارها کاهش معنی‌دار نشان داد. به‌طوری که اداره غذا و داروی ایالات متحده محدوده‌ای برای تابش گیاهان دارویی تعیین کرده است که نباید فراتر از ۳۰ کیلوگری باشد (Bendini et al., 1998). بنابراین به نظر می‌رسد هر گونه تغییرات مثبت در محدوده دوزهای اعمال شده به دلیل بی‌ضرر بودن، می‌تواند قابل استفاده باشد.

از این رو، مشاهده شد که شرایط نگهداری بر درصد پارا-سیمن و تیمول اثر معنی‌دار داشت، این نتیجه نیز تأییدکننده آن است که موضوع انبارداری در گیاهان دارویی مهم بوده و باید بخشی از تحقیقات به این سمت‌وسو هدایت شود. کاهش مقدار تیمول در حالت نگهداری در یخچال نسبت به سایه نشان‌دهنده امکان مدیریت ثابت نگهداشتن، کاهش و یا افزایش یک ترکیب با انتخاب شرایط نگهداری گیاه وجود دارد. همچنین با نگهداری گیاه، میزان تیمول افزایش و از مقدار کارواکرول کاسته شد که می‌تواند یک نکته مهم مدیریتی در تولید ماده مؤثره باشد. به‌عبارتی، استفاده از اشعه گاما موجب کاهش کیفیت اسانس (کارواکرول) شد. همچنین وجود همبستگی منفی بین ترکیب‌های اصلی اسانس نشان می‌دهد که با افزایش یکی، دیگری کاهش خواهد یافت، بنابراین این مسئله برای اهداف اصلاحی، اهداف مدیریت نحوه خشک کردن، مدت و شرایط نگهداری بسیار مهم خواهد بود. حداکثر تیمول از تابش ۱۰ کیلوگری حاصل شد و کارواکرول در شاهد بیشتر از بقیه بود.



- International Journal of Food Microbiology, 68(12): 149-153.
- Mashayekhi, K. and Atashi, S., 2016. Guide to Plant Physiology Tests (Pre- and Post-Harvest Studies). Areeo (Agriculture Research, Education, And Extension), 317p.
  - Pandey, A.K. and Das, R., 2014. Good field collection practices and quality evaluation of medicinal plants: Prospective approach to augment utilization and economic benefits. Research Journal of Medicinal Plants, 8(1): 1-19.
  - Rahayu, D.P., Saputri, F.C. and Darwis, D., 2016. The effect of gamma radiation on microbial content and curcuminoids of *Curcuma amada* Roxb. rhizomes. Atom Indonesia, 42(2): 53-58.
  - Sefidkon, F., Abbasi, K. and Khaniki, G.B., 2006. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. Food chemistry, 99(1): 19-23.
  - Verma, A.K., Sharma, S., Kakani, R.K., Meena, R.D. and Choudhary, S., 2017. Gamma radiation effects seed germination, plant growth and yield attributing characters of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(5): 2448-2458.
  - Wang, J., Li, Y., Lu, Q., Hu, Q., Liu, P., Yang, Y., Li, G., Xie, H. and Tang, H., 2021. Drying temperature affects essential oil yield and composition of black cardamom (*Amomum tsao-ko*). Industrial Crops & Products, 168(2021): 113580.
  - Medicinal Plants. Garg, N., Abdel-Aziz, S.M. and Aeron, A., (Eds.). Microbes in Food and Health. Springer, 372p.
  - Ghasemi Pirbalouti, A., Salehi, S. and Craker, L., 2017. Effect of drying methods on qualitative and quantitative properties of essential oil from the aerial parts of coriander. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 4: 35-40.
  - Gupta, P.C., Garg, N. and Joshi, P., 2011. Effect of gamma irradiation on the extraction yield and microbial contamination of medicinal plants. Internet Journal of Food Safety, 13: 351-354.
  - Hossain, M.B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B. and Brunton, N.P., 2010. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. Food Chemistry, 123(1): 85-91.
  - Ibrahim, A.M.M., Martinez-Swatson, K.A., Benkaci-Ali, F., Cozzi, F., Zoulikha, F. and Simonsen, H.T., 2018. Effects of gamma irradiation and comparison of different extraction methods on sesquiterpene lactone yields from the medicinal plant *Thapsia garganica* L. (Apiaceae). Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 8: 26-32.
  - IRMO, 2015. Islamic Republic of Iran Meteorological Organization Climatology Methods, www.IRMO.ir
  - Joint, F.A.O., 2009. Irradiation to ensure the safety and quality of prepared meals. Results of the coordinated research project, 2002-2006.
  - Martins, H.M., Martins, M.L., Dias, M.I. and Bernardo, F., 2001. Evaluation of microbiological quality of medicinal plants used in natural infusions.

## Study on gamma ray drying method and conditions and storage duration effects on essential oil and some physiological traits of *Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss.

M. Jafari Ghoshchi<sup>1</sup>, B. Abbaszadeh<sup>2\*</sup>, M. Oraei<sup>3</sup>, R. Azimi<sup>4</sup> and A. Faramarzi<sup>5</sup>

1- Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

2\*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: babaszadeh@rifr-ac.ir

3- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

4- Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

5- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Miyaneh Branch, Islamic Azad University, Miyaneh, Iran

Received: July 2021

Revised: January 2022

Accepted: January 2022

### Abstract

In this study, to investigate the effects of gamma ray to dry plant materials, conditions, and storage duration of the plants on the percentage and essential oil composition and some physiological traits of *Satureja spicigera* (C. Koch) Boiss., plant top shoots were collected at the flowering stage. Gamma ray irradiation was performed in the Atomic Energy Organization at five levels of 0, 2.5, 5, 7.5, and 10 kGy (kilo gray). Storage was carried out under two refrigerator (4°C) and room air temperature conditions at three storage duration levels of 0, 120, and 240 hours. The experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with three replications. Essential oil of flowering shoots was extracted by water distillation method and analyzed by GC and GC/MS quantitatively and qualitatively. According to the obtained results, gamma radiation affected the essential oil percentage and amount of *p*-cymene, thymol, carvacrol, phenols, flavonoids, and antioxidant activity significantly at the level of 1%. Storage duration had a significant effect on the essential oil percentage and amount of *p*-cymene, thymol, and carvacrol. Storage conditions showed a significant effect on the total phenols and flavonoids content and antioxidant activity of ethanol extract of *S. spicigera*. Means comparison of gamma radiation effects showed that the highest percentage of essential oil with 1.12% and 1.03% was obtained in the control and 5 kGy treatments, respectively. The highest amount of thymol (13.57%) and carvacrol (34.73%) was observed in the 10 kGy and control treatments, respectively. With 2.5 kGy gamma irradiation, the amount of phenolic compounds and antioxidant activity respectively increased by 1.4 and 1.76 times compared to the control. Of course, by keeping the plant in the refrigerator, the amount of thymol was reduced. The highest percentage of essential oil was related to the storage for 120 hours. The use of high intensity gamma radiation is suitable to achieve high thymol essential oil. The use of low radiation can also be useful for drying *S. spicigera* to obtain extracts containing more phenolic compounds. However, gamma radiation is not appropriate for plant materials drying to obtain essential oils of this species.

**Keywords:** Perennial Savory, gamma rays, thymol, essential oil.