

بررسی خواص ضدجهشی عصاره‌های مختلف شیرابه و ژل آلوئه‌ورا با آزمون ایمز

صدیقه مهرابیان^{1*}، احمد مجد¹، پریسا جنوبی²، علی خیری³

1- استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

2- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران

3- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی تکوینی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 89/12/24 تاریخ پذیرش: 90/4/29

چکیده

زمینه و هدف: سرطان از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان بوده و مواد جهش‌زا عامل مرگ میلیون‌ها بیمار سرطانی هستند. با توجه به عوارض جانبی داروها در درمان سرطان، دانشمندان به دنبال عوارض جانبی کمتر با اثرات درمانی بهتر هستند و پژوهش در این زمینه در حال گسترش است. این مطالعه، با هدف ارزیابی اثر ضدجهشی عصاره‌های مختلف شیرابه و ژل آلوئه‌ورا در برابر ماده جهش‌زای آزید سدیم، تحت آزمون ایمز در غیاب و حضور میکروزوم‌های کبدی موش (S₉) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی پس از تهیه عصاره‌های مختلف آبی و الکلی شیرابه و ژل آلوئه‌ورا، اثر ضدجهشی عصاره‌ها با آزمون ایمز بررسی گردید که در آن سوش جهش یافته باکتری سالمونلا تیفی موریوم بر روی محیط حداقل دارای ماده جهش‌زا کشت شد و تنها باکتری‌هایی که جهش برگشتی داشتند تشکیل کلنی دادند. ماده ضدجهش (عصاره‌های آلوئه‌ورا)، تعداد کلنی‌های برگشتی را کاهش داد. اختلاف بین متوسط تعداد کلنی‌های برگشتی در هر پلیت در ارتباط با ماده جهش‌زا، توسط نرم‌افزار SPSS و با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که عصاره‌های اتانولی شیرابه و آبی ژل به ترتیب با درصد بازدارندگی 91 و 56 درصد بیشترین و کمترین اثر ضدجهشی را دارند.

نتیجه‌گیری: در این ارزیابی اثر ضدجهشی قوی تمام عصاره‌ها نمایان گردید که ناشی از وجود انواع ترکیبات آنتی‌اکسیدان مثل آنتراکینون‌های مختلف، فلاونوئیدها و ویتامین‌های A، C و E می‌باشد. بالاترین میزان مهار جهش در عصاره اتانولی شیرابه مشاهده شد که با نتایج حاصل از به کارگیری مخلوط میکروزومی و یافته‌های مطالعات پیشین مطابقت دارد.

واژگان کلیدی: آلوئه‌ورا، آزمون ایمز، ضدجهشی، سرطان، سالمونلا تیفی موریوم

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه زیست‌شناسی

Email: mehrabian_s@yahoo.com

مقدمه

گیاهان از ابتدای تاریخ به عنوان یکی از مهم ترین منابع غذایی و دارویی به شمار می رفته اند. بررسی های تاریخی نشان می دهد که هندی ها از 3000 سال قبل از میلاد و چینی ها از 4000 سال پیش از گیاهان در درمان بیماری های مختلف استفاده می کردند. چینی ها درمان را مخلوطی از گیاهان، پیام ها و طب سوزنی می دانند (1). مشخص شده است که تولیدات طبیعی نقش مهمی در زیست شناسی مربوط به داروسازی بازی می کنند. در طی هزاران سال، گیاهان همواره به عنوان یکی از منابع مهم درمانی و دارویی مطرح بوده اند و حتی امروزه بیش از 80 درصد افراد غالباً به درمان های سنتی اعتقاد دارند. در واقع بسیاری از درمان های رایج امروزی کاملاً یا به طور جزئی درون مایه طبیعی دارند. پس از بیماری های قلبی، سرطان دومین عامل مرگ و میر در جهان محسوب می شود. استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد سرطان اولین بار توسط هارتول و همکاران در اواخر دهه 1960 انجام شد و پس از آن اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی عصاره های مختلف گیاهی از طرف محققین به طور مجدد مورد توجه قرار گرفت (2).

بسیاری از مواد جهش زا و سرطانزا از طریق رادیکال های آزاد از جمله رادیکال های آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species- ROS) اثر تخریبی خود را نشان می دهند. موادی که به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند، می توانند آثار زیان بار ROS را کاهش دهند. ROS در سبب شناسی بیماری هایی مانند سرطان، مشکلات عصبی و پیری دخالت دارد، لذا مصرف روزانه آنتی اکسیدان ها دفاع و ایمنی بدن را در مقابل تولید رادیکال های آزاد افزایش داده و به عنوان ضد سرطان عمل می کند (3-5). برخی گیاهان به علت داشتن مقادیر فراوان ویتامین های A، C، E، بتا کاروتن و لیپوتن و ترکیبات آنتراکینون از منابع اصلی ضد سرطان هستند (6). آلوئه ورا (*Aloe vera*) گیاهی پایا، مقاوم به خشکی با برگ هایی گوشتی و آبدار متعلق به تیره سوسن (*Liliaceae*) است که به صورت تاریخی برای تنوعی از اهداف درمانی به کار

می رفته است. بررسی های بالینی مشخص کرده است که اجزای فعال دارویی در ژل و بخش سبز رنگ برگ های آلوئه ورا وجود دارند. این ترکیبات فعال زیستی در درمان های مختلفی نظیر سوختگی ها، واکنش های حساسیتی و جراحات، بیماری های پوستی، ضد دیابت (7)، ضد عفونت (8)، ضد باکتریایی (9)، ضد جهش و ضد سرطان (10) موثر هستند. اجزای فعال دارای عوامل ضد التهاب و ضد حساسیت (11)، آنتی اکسیدان (12) و ضد سرطان (13) هستند. متداول ترین روش ها در بررسی اثرات ضد جهشی و ضد سرطانی آزمون ایمز با به کارگیری باکتری های دارای جهش خاص و تاثیر مواد مورد نظر همراه با مواد جهش زا بر باکتری های ذکر شده می باشد (14، 15). هدف پژوهش حاضر بررسی تجربی اثر ضد جهشی عصاره های مختلف ژل و شیرابه آلوئه ورا بر باکتری های جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم (*Salmonella typhimurium*) با استفاده از روش ایمز می باشد که برای اولین بار در این بررسی تاثیر جداگانه شیرابه و ژل بررسی شده است.

مواد و روش ها

مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه تجربی از شرکت مرک تهیه شد. در این بررسی آزید سدیم به عنوان ماده جهش زا مورد استفاده قرار گرفت. سوش باکتری سالمونلا تیفی موریوم TA100 به عنوان میکروارگانیسم های مورد آزمون، مستقیماً از پروفوسور ایمز تهیه و پس از تایید جهش مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تایید ژنوتیپ سوش باکتری، از کشت شبانه نوترینت براث استفاده شد. سوبه های سالمونلا تیفی موریوم دارای یک نقص یا موتاسیون در ژن ترمیم در برابر پرتو فرابنفش (uvrB) بوده دارای حساسیت به کریستال ویوله بوده و قادر به سنتز پروتئین دیواره سلولی نیستند (rfa). هم چنین سوش ها برای حضور فاکتور مقاومت به آمپی سیلین بررسی شدند. این فاکتور یک شناساگر متداول بوده که می تواند حضور پلاسمید فاکتور R را نشان دهد.

مخلوط میکروزومی: تهیه مخلوط S₉ مطابق

روش شرح داده شده توسط مارون و ایمز (15) انجام شد.

تاپ آگار انجام گرفت. در همه آزمایشات برای شاهد‌های منفی 100 میکرولیتر آب مقطر استریل و برای شاهد‌های مثبت 100 میکرولیتر آزید سدیم اضافه شد. به منظور انجام چند چرخه تقسیم سلولی و ایجاد یک زمینه رشد باکتریایی که با چشم غیر مسلح قابل رویت و شمارش باشد، 100 میکرولیتر محلول 0/5 میلی مولار هیستیدین/بیوتین به هر لوله اضافه شد. پس از ریختن محتویات لوله‌های تاپ آگار بر روی پلیت‌های گلوکز آگار حداقل و نگهداری 48 ساعته در دمای 37 درجه انکوباتور، تعداد کلنی‌های برگشتی در هر پلیت شمارش شد. اختلاف بین متوسط تعداد کلنی‌های برگشتی در هر پلیت در ارتباط با ماده جهش‌زا، توسط نرم‌افزار SPSS و با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه تجزیه و تحلیل گردید. جهت اطمینان از درستی نتایج، برای هر ماده پلیت‌های سه‌گانه در نظر گرفته شد. آزمون ضدتومورزایی مطابق با روش ضدجهشی در حضور مخلوط میکروزیومی کبد موش (S₉) انجام شد (17). اثر جهش‌زایی آزید سدیم در غیاب نمونه‌های مورد آزمایش به صورت ممانعت 100 درصد یا صفر درصد تعیین شد. محاسبه درصد بازدارندگی مطابق رابطه زیر انجام شد:

$$S = \left(1 - \frac{T}{M}\right) * 100$$

که در آن T، تعداد کلنی‌های برگشتی در هر پلیت در حضور عامل ضد جهش، S درصد بازدارندگی از جهش و M تعداد کلنی‌های برگشتی در هر یک از پلیت‌های کنترل مثبت می‌باشد (تعداد کلنی‌های برگشتی خود به خودی در کنترل منفی باید از صورت و مخرج کسر کاسته شود). بر اساس تحقیقات انگک، هنگامی که درصد بازدارندگی بین 40-25 درصد باشد اثر ضدجهشی نمونه آزمایشی متوسط تلقی می‌شود و مادامی که درصد بازدارندگی بیش از 40 درصد باشد، اثر ضدجهشی نمونه قوی است و در صورتی که کمتر از 25 درصد باشد اثر ضد جهشی نمونه ضعیف می‌باشد (18).

یافته ها

نتایج این آزمایش به روشنی نشان داد که کلیه عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی شیرابه و ژل آلونته ورا

عدم آلودگی فراورده با افزودن 50 میکرولیتر از مخلوط S₉ به محیط‌های کشت تاپ آگار و ریختن آن روی محیط گلوکز آگار حداقل انجام شد. سپس به مدت 48 ساعت در انکوباتور در دمای 37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و از استریل بودن مخلوط تهیه شده اطمینان به عمل آمد و برای آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه نمونه گیاهی: گیاه آلونته‌ورا در اواخر

پاییز از منطقه چهارباغ شهرستان کرج تهیه و پس از انتقال به آزمایشگاه به روش زیر عمل شد. برگ‌ها از محل نزدیک به ساقه بریده شده و پس از شستشوی سطحی، شیرابه و ژل آنها استخراج شد. جهت استخراج شیرابه، برگ‌ها بلافاصله پس از برش به صورت وارونه درون ظروف استریل قرار داده شدند و پس از 8 ساعت شیرابه استخراج شده از آنها جمع‌آوری شد. برای استخراج ژل، بخش سبز بالایی برگ با تیغ بریده و جدا شد و ژل بی‌رنگ چسبناک درون آن استخراج گردید. سپس هر دو نمونه درون انکوباتور در دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از خشک شدن با استفاده از هاون چینی پودر ژل و شیرابه تهیه و برای اطمینان از عدم آلودگی، پودرها با استفاده از روش تندالیزاسیون استریل شده و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شدند.

جهت تهیه عصاره‌های مختلف، 0/1 میلی‌گرم پودر ژل یا شیرابه در 0/9 میلی‌لیتر حلال مورد نظر که شامل آب، اتانول و متانول بود حل شده و به مدت 3 ساعت در دمای اتاق روی شیکر قرار داده شد. پس از این مرحله، نمونه‌ها تا زمان آزمایش در ظروف استریل در بسته داخل یخچال نگهداری شدند.

آزمون ضدجهشی: آزمون ضدجهشی بر اساس

آزمون سالمونلا/میکروزوم شرح داده شده توسط مارون و ایمز و نیز آزمون تغییر داده شده توسط مورتلانز و زایگر انجام گرفت (16). روش کار با استفاده از طی کردن 10 دقیقه دوره پیش انکوباسیون در دمای 45 درجه سانتی‌گراد با اضافه کردن 100 میکرولیتر از سوش‌های باکتری رشد داده شده (کشت شبانه 24 ساعته) و 100 میکرولیتر عصاره استریل و 100 میکرولیتر عامل جهش‌زا در لوله‌های استریل

اتانولی با 91 درصد بیشترین اثر ضد جهشی و عصاره آبی ژل با 56 درصد کمترین اثر ضد جهشی را در بین عصاره های مختلف داشتند. جداول 1 و 2 به ترتیب نتایج حاصل از شیرابه و ژل را بر روی ماده جهش زای آزید سدیم نشان می دهند.

دارای اثر ضد جهشی قوی بر علیه آزید سدیم بودند و با مقایسه نتایج به دست آمده از عصاره های ژل و شیرابه مشخص شد که تفاوت معنی داری بین عصاره های ژل و شیرابه وجود دارد که نشان از تاثیر ضد جهشی بیشتر شیرابه دارد. هم چنین در بین عصاره های مختلف شیرابه، عصاره

جدول 1. ارزیابی اثر ضد جهشی شیرابه آلوئه ورا در شرایط آزمایشگاه بر روی آزید سدیم با استفاده از سوش باکتری سالمونلا تیفی موریوم در غیاب و حضور عصاره کبدی موش (S₉)

سالمونلا تیفی موریوم (+S ₉)TA100		سالمونلا تیفی موریوم (-S ₉)TA100		عصاره های شیرابه
درصد مهار جهش	p	تعداد کلنی های برگشتی	درصد مهار جهش	
-		22±2	-	شاهد منفی
-		138±5/62	-	شاهد مثبت
57	.05	72±11/53	60	عصاره آبی شیرابه
63		66±4/36	62	عصاره متانولی شیرابه
87		38±11/36	91	عصاره اتانولی شیرابه

جدول 2. ارزیابی اثر ضد جهشی ژل آلوئه ورا در شرایط آزمایشگاه بر روی آزید سدیم با استفاده از سوش باکتری سالمونلا تیفی موریوم در غیاب و حضور عصاره کبدی موش (S₉)

سالمونلا تیفی موریوم (+S ₉)TA100		سالمونلا تیفی موریوم (-S ₉)TA100		عصاره های ژل
درصد مهار جهش	p	تعداد کلنی های برگشتی	درصد مهار جهش	
-		22±2	-	شاهد منفی
-		138±15/62	-	شاهد مثبت
54	.05	76±7/21	56	عصاره های آبی ژل
63		65±9/16	68	عصاره های متانولی ژل
75		52±12/76	76	عصاره های اتانولی ژل

(مانان استیله) و ATF1011 است که این ترکیبات بیشتر در ژل برگ یافت می شوند. با توجه به این که بر اساس نظر انگل زمانی که درصد مهار جهش بیش از 40 درصد باشد اثر ضد جهشی نمونه قوی است و در این بررسی نیز ژل عصاره اتانولی ژل، 76 درصد اثر بازدارندگی نشان داد، این اثر در سطح بالایی بود و مربوط به ترکیبات آنتی اکسیدانی ژل می باشد (18، 19). آنتراکینون های تلخ مزه باربالوئین، آلوئه امودین، اکتاپتید و آلوئوزین با فعالیت های آنتی اکسیدانی در شیرابه برگ وجود دارند. در مطالعه ما شیرابه این گیاه در عصاره اتانولی 91 درصد اثر بازدارندگی نشان داد که قوی تر از ژل این گیاه بود که با مطالعات

بحث
آلوئه ورا لینه مترادف با آلوئه باربادنسیس میلر (Aloe barbadensis M)، گیاهی کاکتوس مانند با برگ های سبز خنجری شکل و گوشتی است که در لبه ها نوک تیز بوده و در حاشیه منتهی به خار می شود و درون برگ ها با ژل شفاف چسبناکی پر شده است. در تحقیق حاضر ژل خام شبیه ژلاتین بی رنگ با رشته های مو مانند درون آن مطالعه شد که گاهی به آن عصاره هم می گویند. آلوئه ورا دارای ویتامین های زیادی از جمله ویتامین های دارای خواص آنتی اکسیدانی مثل ویتامین های A، C، E و پلی ساکاریدها و گلیکوپروتئین های آلوکئین A، آسمانان

جهشی را تایید می کند، چرا که تفاوت معنی داری بین تاثیر عصاره ها در حضور و عدم حضور S₀ مشاهده نشد زیرا ترکیبات ضد جهش برای عمل ضد جهشی خود در بدن جانوران دیگر نیازمند ترکیبات فعال متابولیکی هستند (21). محدودیت اصلی این مطالعه آغستگی ژل و شیرابه در روند استخراج و هم چنین سن بلوغ آلوده را می باشد چرا که در این گیاه از زمان گلدهی (4 سالگی) به بعد ترکیبات موثر دارویی سنتز می شوند و تا قبل از بلوغ هیچ ترکیب موثر دارویی در آن وجود ندارد.

نتیجه گیری

در این مطالعه تمام عصاره های آبی و الکلی ژل و شیرابه آلوده را با داشتن درصد مهار جهش بالای 40 درصد، اثر آنتی اکسیدانی قوی از خود نشان می دهند و در بین تمام عصاره های مورد آزمایش، عصاره شیرابه اتانولی با 91 درصد بیشترین تاثیر ضد جهشی و عصاره آبی ژل با 56 درصد پایین ترین اثر ضد جهشی را در بین عصاره های مورد آزمایش دارد که نشان دهنده حضور کمتر ترکیبات آنتی اکسیدان در ژل است. صدمه ژنتیکی از راه ها و مکانیسم های مختلفی ایجاد می شود و هیچ یک از این آزمون ها به تنهایی نمی تواند تمام مکانیسم های احتمالی را بررسی کند و این کار نیاز به مطالعات بیشتری دارد و باید به صورت *in vivo* ادامه یابد. برای مثال می توان در این زمینه آزمون کشندگی غالب را انجام داد، لذا باید از مجموعه ای از تحقیقات برای بررسی های بیشتر بهره جست.

تشکر و قدردانی

از خانم ملاباشی، کارشناس آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه تربیت معلم تهران و آقایان اسماعیل احمدی، مهدی عربزاده و خانم ماجده پورصمصام که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند سپاسگزار می شود. این پژوهش نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد آقای علی خیری دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی سلولی تکوینی گیاهی است که برای انجام آن از امکانات آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه تربیت معلم تهران استفاده شد.

محققین دیگر هم سویی داشت (19). تحقیقات نشان داده است که عصاره متانولی پودر استخراج شده از گیاه آلوده آربروسنس جهش تغییر قالب ناشی از 3- آمینو-1- متیل-5- هیدروپیریدو ایندول را در سالمونلا تیفی موریوم TA98 مهار می کند (20) که در مطالعه ما نیز عصاره متانولی شیرابه و ژل هر دو با درصد مهار جهش بالای 40 درصد اثر ضد جهشی را بر علیه آزید سدیم نشان دادند. هم چنین ژل دارای مقادیر بالایی از فلاونوئیدهاست که ترکیباتی شناخته شده با خواص آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی و نیز خواص ضد التهابی هستند (19). بررسی ها نشان داده است که ترکیبات فنولی باعث مهار آسیب DNA در حضور رادیکال های آزاد می شود (21) که در مطالعه ما نیز عصاره های ژل اثر ضد جهشی قوی را نشان دادند که با این یافته ها هم سویی داشت. مشخص شده است که تیمار با عصاره های استخراج شده از آلوده و باعث کاهش اندازه تومور و فراوانی متاستاز در مراحل مختلف پیشرفت تومور بدون تاثیر عمده بر رشد تومور می گردد (22) و در این تحقیق نیز با اضافه نمودن میکروزوم کبد موش اثر ضد سرطانی قوی مشاهده شد.

تحقیقات نشان داده است که عصاره های آلوده و در انسان و حیوانات ویژگی های آنتی اکسیدانی را نشان می دهند (19، 23). در مطالعات ما با سالمونلا تیفی موریوم TA100 تمام عصاره های مورد آزمایش (در حضور و عدم حضور S₀) توانایی مهار جهش را در مورد ماده جهش زای آزید سدیم نشان دادند. هم چنین مشخص شده است عصاره های آبی اتانولی آلوده و در دارای تاثیر ضد جهش زایی قوی بر روی AF-2 در سالمونلا تیفی موریوم می گردد (24) که در مطالعه ما نیز عصاره های آبی و اتانولی اثر ضد جهش زایی قوی را نشان دادند که با مطالعات مذکور هم سویی داشت. از سوی دیگر مشخص شد که در بین عصاره های مختلف، عصاره اتانولی شیرابه با 91 درصد دارای بیشترین اثر بازدارندگی می باشد که نشان دهنده حضور ترکیبات موثر آنتی اکسیدان در شیرابه و حل شدن بهتر آنها در اتانول است. هم چنین آزمون ضد تومورزایی بر پایه نتایج آزمون میکروزوم با مخلوط S₀، نتایج آزمون ضد

منابع

1. Bedi MK, Shenefelt PD. Herbal therapy in dermatology. Arch Dermatol. 2002;138(2):232-42.
2. Hartwell JL. Plants used against cancer: a survey: Quarterman Publications; 1982.
3. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am J Clin Nutr. 2000;72(2 Suppl): 637S-46S.
4. Fujiki H, Suganuma M, Imai K, Nakachi K. Green tea: cancer preventive beverage and/or drug. Cancer Lett. 2002;188(1-2):9-13.
5. Chen SC, Chung KT. Mutagenicity and antimutagenicity studies of tannic acid and its related compounds. Food Chem Toxicol. 2000; 38(1): 1-5.
6. Ghasemian A, Mehrabian S, Majd A. Peel extracts of two Iranian cultivars of Pomegranate (*Punica granatum*) have antioxidant and antimutagenic activities. Pak J Biol Sci. 2006; 9(7): 1402-5.
7. Yongchaiyudha S, Rungpitarangsi V, Bunyapraphatsara N, Chokeychajaroenporn O. Antidiabetic activity of Aloe vera L. juice. I. Clinical trial in new cases of diabetes mellitus. Phytomedicine. 1996;3(3):241-3.
8. Hirat T, Suga T. The efficiency of aloe plants, chemical constituents and biological activities. Cosmetics and toiletries. 1983; 98: 105-8.
9. Rabe T, van Staden J. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. J Ethnopharmacol. 1997;56(1):81-7.
10. Snežana S. Anti-genotoxic effect of aloe vera gelR on the mutagenic action of ethyl methanesulfonate. Arch Biol Sci. 2007; 59(3): 223-6.
11. Shelton RM. Aloe vera. Its chemical and therapeutic properties. Int J Dermatol. 1991; 30(10): 679-83.
12. Kardosová A, Machová E. Antioxidant activity of medicinal plant polysaccharides. Fitoterapia. 2006; 77(5):367-73.
13. Silalahi J. Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. Asia Pac J Clin Nutr. 2002;11(1):79-84.
14. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat Res. 1983; 113(3-4):173-215.
15. FDA. Introduction to the template for in vitro bacterial reverse mutation (Ames) test. Center for food safety and applied nutrition; 2004.
16. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutat Res. 2000;455(1-2):29-60.
17. Horn RC, Vargas VM. Antimutagenic activity of extracts of natural substances in the Salmonella/microsome assay. Mutagenesis. 2003;18(2):113-8.
18. Ong TM, Whong WZ, Stewart J, Brockman HE. Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixtures. Mutat Res. 1986;173(2):111-5.
19. Loots dT, van der Westhuizen FH, Botes L. Aloe ferox leaf gel phytochemical content, antioxidant capacity, and possible health benefits. J Agric Food Chem. 2007; 55(17): 6891-6.
20. Nakasugi T, Komai K. Antimutagen of Aloe plants. Kinki Daigaku Nogakubu Kiyō. 1994; 27: 47-54.
21. Thériault M, Caillet S, Kermasha S, Lacroix M. Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. Food Chemistry. 2006; 98(3): 490-501.
22. Gribel' NV, Pashinskiĭ VG. [Antimetastatic properties of aloe juice]. Vopr Onkol. 1986; 32(12): 38-40.
23. Lim BO, Seong NS, Choue RW, Kim JD, Lee HY, Kim SY, et al. Efficacy of dietary aloe vera supplementation on hepatic cholesterol and oxidative status in aged rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 2003;49(4):292-6.
24. Lee K, Kang H, Cho C, Lee M, Lee J, Kim C. Antimutagenic and antileukemic activities of *Aloe vera* L. Natural Product Sciences. 2000; 6(2): 56-60.