

Original Article

Comparison of antioxidant and antibacterial activities of various herbal essential oils: An *In vitro* study

Arezou Alipour Kakroudi¹, Somayeh Rahaiee^{1*}, Hajar Rajaei Litkahi²,
Saeed Ghanbari Hassan Kiadeh¹

ABSTRACT

Background and Aims: Herbal essential oils (EOs) have antimicrobial and antioxidant activities due to the high amount of bioactive compounds; therefore, they are considered good candidates for applications in the food and pharmaceutical industries. The present study aimed to assess the total phenolic content and *in vitro* comparative study of the biological activities of EOs from different plants (e.g., clove, common sage, savory, and organum).

Materials and Methods: In this experimental study, total phenolic content in EOs was determined, and their antioxidant capacity was measured by the DPPH free radical scavenging method. The components of essential oil were identified using a Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) device. Moreover, the antibacterial activity of EOs was evaluated by the disk diffusion method, and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were evaluated by the broth macro dilution method. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range test.

Results: The highest content of total phenol (157.07 ± 2.37 mg GAL/g dry weight) was recorded for EO of organum. Moreover, the highest percentage of free radical scavenging was determined at 98.142% for organum. The results of GC/MS analysis depicted that monoterpenes were the main compounds of Eos of organum, and the highest value was obtained for the alpha-pinene (74.04%). Furthermore, the results of antibacterial activity of EOs demonstrated that the highest zone of inhibition with a diameter of 44 ± 0.81 mm was observed for the EO of organum. The lowest values of MIC and MBC were reported as 0.275 and 0.55 mg/mL for the EOs of organum and savory against gram-positive *Bacillus cereus*, respectively.

Conclusion: As evidenced by the results of the current study, the assessed Eos, specifically those of organum, have effective antioxidant and antibacterial activity against bacteria strains, especially gram-positive ones, and can be used as safe antimicrobial compounds in food and health products.

Keywords: Antibacterial activity, Antioxidant, Bioactive compounds, Essential oil



Citation: Alipour Kakroudi A, Rahaiee S, Rajaei Litkahi H, Ghanbari Hassan Kiadeh S. [Comparison of antioxidant and antibacterial activities of various herbal essential oils: An *In vitro* study]. J Birjand Univ Med Sci. 2021; 28(4): 322-334. [Persian]

DOI <http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.4.101>

Received: July 25, 2021

Accepted: October 19, 2021

¹ Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

² Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

***Corresponding author:** Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
Tel: +989118675234 Fax: +9811-44154265 E-mail: S.rahaiee@ausmt.ac.ir

مقایسه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس‌های مختلف گیاهی در شرایط آزمایشگاهی

آرزو علیپور کاکرودی^۱، سمیه رهایی^{۱*}، هاجر رجایی لیتکوهی^۲، سعید قنبری حسن کیاده^۱

چکیده

زمینه و هدف: اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن مقادیر فراوان از ترکیبات زیست فعال دارای فعالیت‌های بیولوژیکی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند که آن‌ها را به گزینه‌ای مناسب جهت استفاده در صنایع غذایی و دارویی تبدیل کرده است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی محتوای فنولی کل، مقایسه فعالیت‌های بیولوژیکی اسانس‌های مختلف گیاه میخک، مریم گلی، مرزه و مرزنجوش در شرایط *in vitro* است.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، میزان ترکیبات فنولی کل اسانس‌ها تعیین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها (به روش جذب رادیکال آزاد DPPH) سنجیده شد. به منظور شناسایی ترکیبات موجود در اسانس نیز از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. همچنین، فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها به روش انتشار دیسک، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) آن‌ها به روش ماکرودایلوژن براث مورد ارزیابی قرار گرفت. اختلاف معنی‌دار داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) از طریق آزمون چند دامنه دانکن تعیین شد.

یافته‌ها: بیشترین میزان فنول کل به میزان $157/05 \pm 2/37$ میلی گرم گالیک اسید به ازای گرم ماده خشک برای اسانس مرزنجوش به ثبت رسید. بالاترین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH نیز برای اسانس مرزنجوش به میزان ۹۸/۱۴۲ درصد تعیین شد. بر اساس نتایج حاصل از کروماتوگرافی GC/MS، مونوترپن‌ها بیشترین اجزای اسانس مرزنجوش را تشکیل می‌دهند که بالاترین مقدار آن متعلق به آلفا-پینن (۷۴/۰۴ درصد) بود. همچنین نتایج فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها نشان داد که بیشترین میزان هاله عدم رشد با قطر $44 \pm 0/81$ میلی‌متر متعلق به اسانس مرزنجوش است. کمترین مقدار MIC و MBC به ترتیب در غلظت‌های ۰/۲۷۵ و ۰/۵۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر، برای اسانس‌های مرزنجوش و مرزه علیه باکتری گرم مثبت *Bacillus cereus* مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که اسانس‌های مطالعه شده به خصوص اسانس مرزنجوش دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های گرم مثبت بوده و می‌توانند به عنوان یک ترکیب ضدباکتریایی مناسب در محصولات غذایی و فرآورده‌های بهداشتی و درمانی مطرح باشند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات زیست فعال، اسانس

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۰؛ ۲۸ (۴): ۳۲۲-۳۳۴.

دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷

^۱ گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین امل، امل، ایران

^۲ گروه نانوزیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین امل، امل، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین امل، امل، ایران

آدرس: امل - دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین امل - دانشکده زیست فناوری

تلفن: ۰۹۱۱۸۶۷۵۲۳۴ نمایر: ۰۱۱ - ۴۴۱۵۴۲۶۵ پست الکترونیکی: S.rahaiee@ausmt.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر، عصاره‌ها و به ویژه اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن مقادیر فراوان از ترکیبات زیست فعال با عملکرد مؤثر دارویی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. اسانس‌ها از گیاهان معطر به دست می‌آیند و به دلیل داشتن گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، استروئیدها، ترکیبات فنولی دارای فعالیت‌های بیولوژیک عمده از جمله فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی هستند که آن‌ها را به گزینه‌های جذاب و پرکاربرد جهت استفاده در صنایع مختلف از جمله آرایشی-بهداشتی، صنایع غذایی و دارویی و عطرسازی تبدیل کرده است (۱). تأثیر نامطلوب نگهدارنده‌ها، آنتی بیوتیک‌ها و آنتی اکسیدان‌های مصنوعی بر روی سلامت انسان و محیط زیست و همچنین افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در برخی از سویه‌های باکتریایی، صنایع غذایی را بر آن داشته تا به دنبال استراتژی‌های جایگزین با تکیه بر منابع طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی باشند (۲). وقوع واکنش‌های نامطلوب از قبیل فساد میکروبی و فرآیند اکسیداسیون در اکثر مواد غذایی به ویژه مواد غذایی فساد پذیر، باعث از بین رفتن ارزش مواد غذایی، ایجاد طعم و عطر نامطلوب و همچنین بروز بیماری‌های گسترده در انسان‌ها می‌گردد (۳). برخی از ترکیبات زیست فعال موجود در اسانس‌های گیاهی غشای سلولی باکتری‌ها را هدف قرار داده و باعث افزایش سیالیت و اختلال در نفوذپذیری سلول باکتریایی و در نتیجه جلوگیری از عملکرد آن‌ها می‌شوند (۴). همه این ویژگی‌ها اسانس‌ها را به عنوان ترکیبات غذا-دارو یا نوتراسوتیکال^۱ های بالقوه در صنایع مختلف تبدیل کرده است. ترکیبات غذا-دارو، محصولات یا ترکیباتی هستند که از مواد غذایی استخراج شده و سپس به شکل دارویی عرضه می‌شوند (۵). میخک (*Syzygium aromaticum*) گیاهی با رویکرد دارویی از خانواده Myrtaceae می‌باشد که از آن جهت درمان بیماری‌های مختلف و بیماری‌های ناشی از عفونت‌های مختلف باکتریایی استفاده می‌شود. میخک به عنوان منبع اصلی ترکیبات فنولی مانند اسید هیدروکسی بنزوئیک، فلاونوئیدها، هیدروکسی فنیل پروپین‌ها، اسیدهای فنولیک و اوژنول شناخته می‌شود (۶). اسانس میخک به دلیل دارا بودن

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی قابل توجه می‌تواند به عنوان نگه‌دارنده در بسیاری از محصولات غذایی به خصوص فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گیرد (۷). مریم گلی (*Salvia officinalis*) بزرگترین تیره از خانواده Lamiaceae می‌باشد که از اسانس آن به عنوان چاشنی و طعم دهنده در صنایع غذایی استفاده می‌شود (۸). همچنین مطالعات اخیر نشان داده است که مریم گلی دارای خواص درمانی عمده از قبیل فعالیت ضد التهابی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قابل توجهی است که عمدتاً به دلیل حضور ترکیبات فنلی موجود در آن است (۹). مرزه (*Satureja hortensis*) نیز گونه‌ای دیگر از خانواده Lamiaceae است و می‌تواند به عنوان یک طعم دهنده و نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی به کار گرفته شود. مرزه دارای فعالیت‌های بیولوژیکی چشمگیری از قبیل فعالیت ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد انگلی، آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد درد و ضد اسپاسم است (۱۰). مرزنجوش یا پونه کوهی نیز گیاهی از خانواده Lamiaceae با نام علمی *Origanum vulgare* می‌باشد که یکی از مهم‌ترین و پر فروش‌ترین گیاهان دارویی در سراسر جهان به شمار می‌رود (۱۱). مطالعات اخیر نشان داده است که مرزنجوش علاوه بر داشتن خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد سرطانی می‌تواند در بهبود بیماری‌های قلبی-عروقی، اختلالات گوارشی، ناراحتی‌های تنفسی، مشکلات کبدی و همچنین جلوگیری از التهاب نیز مؤثر باشد (۱۲). هدف از مطالعه حاضر، مقایسه فعالیت‌های ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی اسانس‌های مختلف گیاهان میخک، مریم گلی، مرزه و مرزنجوش در شرایط آزمایشگاهی است تا بتوان اسانس مناسب با بالاترین ظرفیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی جهت به کارگیری در تهیه پوشش‌های بسته بندی مواد غذایی شناسایی کرد.

روش تحقیق

تعیین میزان فنول کل اسانس‌ها

جهت تعیین میزان فنول کل اسانس‌ها از روش فولین سیوکالتو^۲ استفاده شد. برای این منظور، ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از اسانس‌ها

² Folin-Ciocalteu¹ Nutraceuticals

محلول با متانول به چهار میلی‌لیتر رسید. در ادامه محلول درون فاکون‌ها مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفت. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج فرابنفش-مرئی اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت مهارکنندگی هر یک از اسانس‌ها نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times \frac{A_D - A_S}{A_D} = (\%) \text{ میزان مهار رادیکال‌های آزاد}$$

که در این رابطه A_D جذب کنترل و A_S جذب نمونه حاوی اسانس است (۱۳).

بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها

جهت بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها به روش انتشار دیسک (Disk diffusion)، مطابق با استاندارد (CLSI M02-A11)، از ۴ گونه باکتری (*Escherichia coli* (PTCC 1399)، *Salmonella typhimurium* (PTCC 1015)، *Bacillus cereus* (ATCC 25923)، *Staphylococcus aureus* استفاده گردید. برای این منظور، در ابتدا سوسپانسیون‌های باکتریایی رشد یافته و استاندارد شده با محلول نیم مک فارلند تهیه شد و سپس از یک سواب استریل جهت عمل کشت بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار استفاده گردید. در ادامه، دیسک‌های کاغذی آغشته به میزان ۱۵ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (۸۸، ۴۴ و ۱۷/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به سطح محیط کشت اضافه شد (رقیق سازی اسانس‌ها با حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) با غلظت نهایی ۰/۰۲ درصد انجام شد). در مرحله بعدی پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. در نهایت میزان فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها بر اساس اندازه قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها تعیین شد. همچنین از آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین (۱۰ میکروگرم بر دیسک، برای باکتری‌های گرم منفی) و وانکومایسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک، برای باکتری‌های گرم مثبت) نیز به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید (۱۴).

(با رقت ۱۰٪) با ۵۰ میکرولیتر فولین سیوکالتو یک مولار ترکیب و در ادامه به آن ۱/۸۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه گردید. سپس به ترکیب فوق ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰٪ اضافه شده و محلول به‌دست آمده مجدداً مخلوط شد. آن گاه ۱/۷ میلی‌لیتر آب دیونیزه به ترکیب فوق اضافه شده تا حجم نهایی آن به چهار هزار میکرولیتر برسد، محلول نهایی به خوبی مخلوط شده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق در شرایط تاریکی قرار گرفت. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و براساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک محاسبه گردید. همچنین منحنی استاندارد گالیک اسید در غلظت‌های مختلف (۱، ۲/۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد (۱۳).

شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS

به منظور شناسایی ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) شرکت Agilent (GC7890-MS5975) مجهز به یک ستون غیر قطبی با قطر ۰/۲۵ میلی‌متر از جنس HP-5 استفاده شد. برای این منظور ۱ میکرولیتر از اسانس به دستگاه کروماتوگرافی تزریق شد. دمای ستون ابتدا به مدت ۵ دقیقه روی ۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و در ادامه با سرعت ۲/۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، از ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. شناسایی ترکیبات با بررسی طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف جرمی ترکیبات استاندارد و داده‌های موجود در کتابخانه ویلی (Wiley library) با کمک ثابت اندیس کوآتس صورت گرفت.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH

به منظور ارزیابی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد $DPPH^1$ ، یک میلی‌لیتر از رقت‌های متفاوت هر یک از اسانس‌ها (۱، ۱۰، ۱-، ۱۰-۲، ۱۰-۳، ۱۰-۴، ۱۰-۵، ۱۰-۶ درصد) با یک میلی‌لیتر از محلول DPPH (۵۰ میکرومولار) ترکیب شده و سپس حجم نهایی

¹ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC)

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) از روش رقیق‌سازی در محیط مایع در مقیاس ماکرو (Broth Macro Dilution طبق استاندارد (CLSI M07-A8) استفاده گردید و غلظت‌های دو برابری هریک از اسانس‌ها (۰/۰۱۷ تا ۸/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد. بدین منظور، یک میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون برات در لوله‌های آزمایش ریخته و سپس به اولین لوله آزمایش یک میلی‌لیتر محلول پایه اسانس اضافه شد (رقیق‌سازی اسانس‌ها با حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) با غلظت نهایی ۰/۰۲٪ انجام شد). بعد از مخلوط نمودن محتویات لوله اول، ۱ میلی‌لیتر از آن برداشته و به لوله بعدی اضافه گردید. از لوله آخر ۱ میلی‌لیتر دور ریخته شد. سپس به لوله‌های آزمایشی، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون آماده باکتری مورد نظر (با تراکم 5×10^5 CFU/mL) اضافه گردید و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. همچنین آنتی‌بیوتیک آمپی سیلین (با غلظت‌های مختلف ۰/۰۱ تا ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. اولین غلظتی که در آن هیچ گونه کدورتی ناشی از رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) انتخاب شد. جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) نیز مقدار ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های فاقد کدورت، بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار

پخش و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. کمترین غلظتی که در آن غلظت ۹۹/۹٪ باکتری‌ها را بکشد به عنوان غلظت MBC انتخاب گردید (۱۵).

تجزیه و تحلیل آماری

جهت آنالیز نتایج به‌دست آمده از نرم افزارهای SPSS 26 و Origin Pro 2017 استفاده شد. اختلاف معنی‌دار داده‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با استفاده از آزمون تعقیبی دانکن ارزیابی شد. نتایج مطالعه به صورت انحراف استاندارد میانگین ($\text{Mean} \pm \text{SD}$) گزارش گردید. از نظر آماری نیز مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد ($P < 0.05$).

مطالعه حاضر پس از تأیید کمیته اخلاق دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل با کد Ir.ausmt.rec.1400.09 انجام شد.

یافته‌ها

محتوای فنول کل

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین میزان فنول کل به‌ترتیب مربوط به اسانس مرزنجوش با میزان 157.05 ± 2.37 و اسانس مرزه با میزان 60.20 ± 0.58 میلی‌گرم گالیک اسید به ازای گرم ماده خشک بوده است. مقایسه میزان ترکیبات فنولی کل هر یک از اسانس‌ها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- مقایسه میزان فنول کل اسانس‌های مختلف

میخک	مریم‌گلی	مرزنجوش	مرزه	فنول کل
75.86 ± 1.16^c	106.94 ± 0.93^b	157.05 ± 2.37^a	60.20 ± 0.58^d	

* در هر ردیف میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شده است.

میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به روش جذب رادیکال آزاد نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها وابسته به غلظت

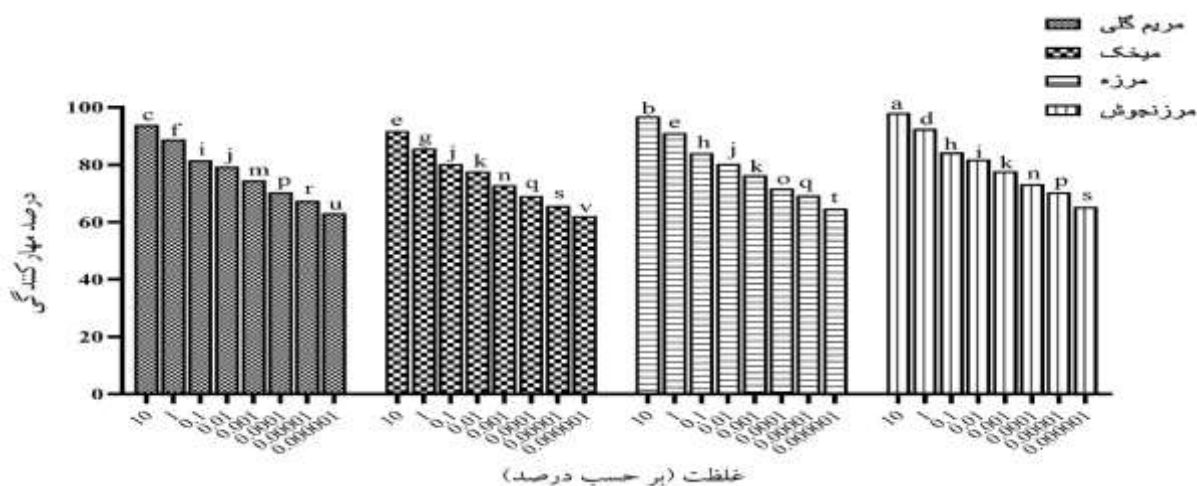
افزایش یافته است. طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها بیشترین مهار رادیکال آزاد DPPH برای اسانس مرزنجوش به میزان ۹۸/۱۴۲٪ در غلظت ۱۰ درصد به‌دست آمد. همچنین کمترین

باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش را دارا بود. همچنین بیشترین میزان حساسیت برای باکتری‌های *E.coli* و *Staphylococcus aureus* نیز در برابر اسانس‌های مرزنجوش و مرزه به ثبت رسید. باکتری گرم منفی *Salmonella typhimurium* نیز بیشترین میزان حساسیت را در برابر اسانس مرزه (در غلظت ۸۸ میلی گرم بر میلی لیتر) با اندازه 26 ± 0.81 میلی‌متر نشان داد. نتایج نشان داد که میزان قطر هاله عدم رشد باکتریایی وابسته به غلظت بوده، به طوری که در غلظت ۸۸ میلی گرم بر میلی لیتر هر یک از اسانس‌ها، بیشترین اندازه قطر هاله عدم رشد مشاهده شده است. جدول ۲ مقایسه کامل قطر هاله‌های عدم رشد باکتریایی اسانس‌های مختلف را نشان می‌دهد.

میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد نیز برای اسانس میخک به میزان $91/857\%$ در غلظت مشابه ۱۰ درصد مشاهده شد. مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مریم گلی، میخک، مرزه و مرزنجوش در تصویر ۱ آمده است.

فعالیت ضدباکتریایی

بررسی میانگین قطر هاله‌های عدم رشد نشان داد که اسانس‌های مورد مطالعه در این پژوهش، اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی را در برابر گونه‌های باکتریایی ذکر شده نشان دادند. به گونه‌ای که بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد برای اسانس مرزنجوش در غلظت ۸۸ میلی گرم بر میلی لیتر در برابر باکتری گرم مثبت *Bacillus cereus* با میانگین قطر 44 ± 0.81 میلی‌متر دیده شد که به‌طور کلی بالاترین میزان قطر هاله عدم رشد در میان



تصویر ۱- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مختلف گیاهی (میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 0.05 تفاوت معنی‌داری ندارند)

باکتری‌های گرم مثبت *Bacillus* و *Staphylococcus aureus* به ثبت رسید (جدول ۳).

با توجه به آنالیزهای انجام گرفته بر روی اسانس‌های مختلف گیاهی، مشخص گردید که اسانس مرزنجوش از خواص بیولوژیکی بهتری برخوردار است؛ لذا به منظور مطالعه و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس کروماتوگرافی GC/MS انجام گرفت که در ادامه نتایج به‌دست آمده ذکر شده است.

حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی (MIC و MBC)

میزان MIC و MBC هر یک از اسانس‌ها در مقابل سویه‌های باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که تمامی اسانس‌ها فعالیت بازدارندگی و کشندگی خوبی را در برابر باکتری‌ها داشته‌اند. چنانچه کمترین مقدار MIC و MBC به ترتیب در غلظت‌های 0.275 و 0.55 میلی گرم بر میلی لیتر، با بیشترین فعالیت ضد باکتریایی برای اسانس مرزنجوش و مرزه بر علیه

شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS

ترکیبات موثره موجود در اسانس مرزنجوش توسط دستگاه کروماتوگرافی GC/MS مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی برای اسانس مرزنجوش ۲۰ ترکیب موثره مختلف شناسایی شد. زمان بازداری و درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مرزنجوش در جدول ۴ آورده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، مونوترپن‌ها با

میزان تقریب ۹۸ درصد، بیشترین اجزای تشکیل دهنده اسانس را تشکیل دادند که در میان آن‌ها ترکیب آلفا-پینن با میزان ۷۴/۰۹ درصد، بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد. همچنین ترکیب فنولی تیمول نیز با ۷/۸۳ درصد در رده بعدی قرار گرفت (تصویر ۲). این درحالی است که سسکوئیترپن‌ها تنها حدود ۲ درصد از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را شامل شدند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به ترکیب شیمیایی کاربوفیلین اشاره کرد.

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در مقابل غلظت‌های مختلف اسانس‌ها (بر حسب میلی‌متر)

سویه باکتری	اسانس	غلظت اسانس‌ها بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر			آنتی بیوتیک
		۸۸	۴۴	۱۷/۵	
<i>E.coli</i> (PTCC 1399)	مرزنجوش	۲۶/۳۳ ± ۰/۹۴ ^c	۲۳ ± ۰/۸۱ ^{bc}	۱۲/۶۷ ± ۰/۴۷ ^{bc}	(GM) ۱۴ ± ۰/۰۰
	مرزه	۲۷/۶۷ ± ۰/۹۴ ^c	۲۲/۶۶ ± ۰/۴۷ ^{bc}	۱۱/۶۷ ± ۰/۹۴ ^{cd}	(GM) ۱۴ ± ۰/۰۰
	مریم گلی	۱۰/۶۷ ± ۰/۹۴ ^h	۸/۳۳ ± ۰/۹۴ ^{gh}	۷/۶۶ ± ۰/۴۷ ^e	(GM) ۱۴ ± ۰/۰۰
	میخک	۱۴/۶۷ ± ۰/۴۷ ^g	۱۰/۳۳ ± ۰/۴۷ ^f	۷/۶۶ ± ۰/۴۷ ^e	(GM) ۱۴ ± ۰/۰۰
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	مرزنجوش	۳۱/۶۶ ± ۰/۴۷ ^b	۲۱/۳۳ ± ۱/۲۴ ^{cd}	۸/۳۳ ± ۰/۹۴ ^e	(VA) ۱۴ ± ۰/۰۰
	مرزه	۳۱ ± ۰/۸۱ ^b	۲۴/۳۳ ± ۰/۹۴ ^b	۱۳/۶۷ ± ۱/۲۴ ^b	(VA) ۱۴ ± ۰/۰۰
	مریم گلی	۱۰ ± ۰/۸۱ ^h	۹ ± ۱/۴۱ ^{fgh}	۸ ± ۰/۸۱ ^e	(VA) ۱۴ ± ۰/۰۰
	میخک	۱۶/۳۳ ± ۰/۹۴ ^{fg}	۹/۶۷ ± ۰/۴۷ ^{fg}	۷/۳۳ ± ۰/۴۷ ^e	(VA) ۱۴ ± ۰/۰۰
<i>Bacillus cereus</i> (PTCC 1015)	مرزنجوش	۴۴ ± ۰/۸۱ ^a	۲۹ ± ۰/۸۱ ^a	۱۰/۳۳ ± ۰/۴۷ ^d	(VA) ۱۹ ± ۰/۰۰
	مرزه	۳۱/۳۳ ± ۱/۸۸ ^b	۲۸/۳۳ ± ۰/۹۴ ^a	۲۳/۳۳ ± ۰/۹۴ ^a	(VA) ۱۹ ± ۰/۰۰
	مریم گلی	۱۶/۶۷ ± ۱/۲۴ ^{fg}	۸ ± ۰/۸۱ ^{gh}	۷/۳۳ ± ۰/۴۷ ^e	(VA) ۱۹ ± ۰/۰۰
	میخک	۱۷ ± ۰/۸۱ ^f	۱۴ ± ۰/۰ ^e	۸ ± ۰/۸۱ ^e	(VA) ۱۹ ± ۰/۰۰
<i>Salmonella typhimurium</i> (بالینی)	مرزنجوش	۲۳/۶۶ ± ۰/۹۴ ^d	۱۲/۶۷ ± ۰/۴۷ ^e	۷/۶۶ ± ۰/۴۷ ^e	(GM) ۲۱ ± ۰/۰۰
	مرزه	۲۶ ± ۰/۸۱ ^c	۲۱ ± ۰/۸۱ ^d	۱۲/۳۳ ± ۱/۲۴ ^{bc}	(GM) ۲۱ ± ۰/۰۰
	مریم گلی	۹/۶۷ ± ۰/۴۷ ^h	۷/۳۳ ± ۰/۴۷ ^h	۷ ± ۰/۰ ^e	(GM) ۲۱ ± ۰/۰۰
	میخک	۲۰ ± ۰/۸۱ ^e	۱۰/۳۳ ± ۰/۴۷ ^f	۷/۶۶ ± ۰/۴۷ ^e	(GM) ۲۱ ± ۰/۰۰

* در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند. نتایج به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شده است. (GM) = جنتامایسین (۱۰ میکروگرم بر دیسک)، (VA) = ونکومایسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک)

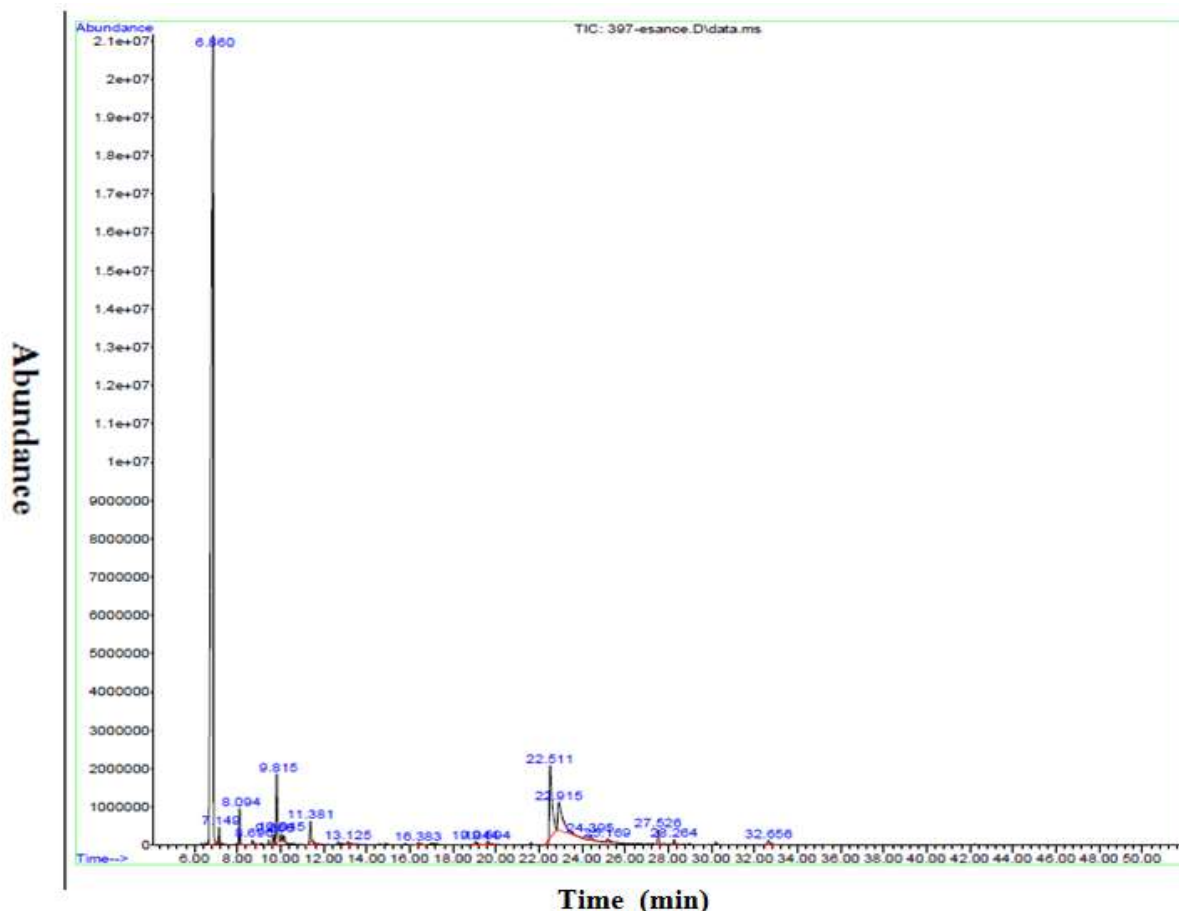
جدول ۳- حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی (بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر)

مرزنجوش		مرزه		مریم گلی		میخک		آمی سیلین		سویه باکتری
MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	
۰/۵۵ ^d	۱/۱ ^c	۰/۵۵ ^d	۱/۱ ^c	۴/۴ ^a	۲/۲ ^b	۴/۴ ^a	۲/۲ ^b	۰/۰۵ ^g	۰/۱ ^f	<i>E.coli</i> (PTCC 1399)
۰/۲۷۵ ^e	۰/۵۵ ^d	۰/۲۷۵ ^e	۰/۵۵ ^d	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	۰/۰۲ ^h	۰/۰۵ ^g	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)
۰/۲۷۵ ^e	۰/۵۵ ^d	۰/۲۷۵ ^e	۰/۵۵ ^d	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	۰/۰۲ ^h	۰/۰۵ ^g	<i>Bacillus cereus</i> (PTCC 1015)
۰/۵۵ ^d	۱/۱ ^c	۰/۵۵ ^d	۱/۱ ^c	۴/۴ ^a	۴/۴ ^a	۴/۴ ^a	۲/۲ ^b	۰/۰۵ ^g	۰/۱ ^f	<i>Salmonella typhimurium</i> (بالینی)

* در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند، بر مبنای آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری ندارند. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد گزارش شده است.

جدول ۴- ترکیبات شناسایی شده اسانس مرزنجوش توسط آنالیز GC/MS

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازدارندگی	شاخص بازدارندگی منابع	شاخص بازدارندگی نمونه
۱	β -Myrcene	۰/۰۲	۶/۱۸۴	۹۹۱	۹۸۹
۲	Tricyclene	۰/۰۹	۶/۳۴۱	۹۳۴	۹۱۰
۳	α -Thujene	۰/۱۴	۶/۵۰۳	۹۳۰	۹۲۲
۴	α -Pinene	۷۴/۰۹	۶/۸۶	۹۳۹	۹۳۹
۵	Camphene	۰/۵۳	۷/۱۴۸	۹۵۴	۹۴۸
۶	β -Pinene	۱/۴۲	۸/۰۹۷	۹۷۹	۹۷۷
۷	β -Myrcene	۰/۳۲	۸/۶۹۴	۹۷۹	۹۹۱
۸	Δ -3-Carene	۰/۲۰	۹/۴۴۴	۱۰۳۰	۱۰۲۸
۹	α -Terpinene	۰/۴۰	۹/۶۵۹	۱۰۱۷	۱۰۱۸
۱۰	Cymene	۳/۴۸	۹/۸۱۶	۱۰۲۶	۱۰۲۶
۱۱	γ -Terpinene	۱/۵۲	۱۱/۳۴۸	۱۰۶۰	۱۰۶۲
۱۲	α -Terpinolene	۰/۱۹	۱۲/۶۶۳	۱۰۸۹	۱۱۹۱
۱۳	4-Terpineol	۰/۲۱	۱۶/۳۸۴	۱۱۷۹	۱۱۹۰
۱۴	Carvacrol Methyl ether	۰/۳۶	۱۹/۵۹۳	۱۲۴۴	۱۲۴۸
۱۵	Thymol	۷/۸۳	۲۲/۵۱۲	۱۲۸۶	۱۳۰۲
۱۶	Carvacrol	۵/۹۳	۲۲/۹۱۶	۱۲۹۸	۱۲۹۹
۱۷	Thymol acetate	۰/۴۰	۲۴/۳۹۴	۱۳۵۱	۱۳۴۶
۱۸	Trans-Caryophyllene	۰/۷۷	۲۷/۵۳۴	۱۴۱۹	۱۴۱۸
۱۹	(+)-Aromadendrene	۰/۳۶	۲۸/۲۶۳	۱۴۴۱	۱۴۶۳
۲۰	Caryophyllene oxide	۰/۴۹	۳۲/۶۵۶	۱۵۸۱	۱۵۸۸



تصویر ۲- نمودار کروماتوگرافی GC/MS اسانس مرزنجوش

بحث

در سال‌های اخیر تأثیر عصاره و به ویژه اسانس‌های گیاهی بر روی سلامت انسان و محیط زیست مورد توجه زیادی قرار گرفته است. اثرات مثبتی که عمدتاً به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در آن‌ها نسبت داده می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معمولاً در گیاهانی یافت می‌شوند که دارای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بالایی هستند. در مطالعه حاضر علاوه بر اندازه‌گیری محتوای فنول کل اسانس‌های مرزنجوش، مرزه، مریم گلی و میخک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها نیز از طریق روش مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت. آزمون مهارکنندگی DPPH براساس واکنش رادیکال آزاد DPPH با ترکیبات دهنده هیدروژن از قبیل ترکیبات

فنلی استوار می‌باشد. پتانسیل بالای ترکیبات فنولی جهت از بین بردن رادیکال‌های آزاد ممکن است به دلیل حضور گروه‌های فنلی هیدروکسیل موجود در آن‌ها باشد (۱۶). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسانس‌های مورد بررسی، حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی بودند. به گونه‌ای که بیشترین مقدار فنول کل در اسانس مرزنجوش با میزان $157/05 \pm 2/37$ میلی گرم گالیک اسید به ازای گرم ماده خشک مشاهده شد. در مطالعه‌ای که Raeisi و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی بررسی ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مرزنجوش، بادیان رومی و زیره سبز انجام دادند مشخص شد که اسانس مرزنجوش دارای ترکیبات فنولی بالا به میزان $162/17 \pm 0/45$ بوده که تا حد زیادی مشابه نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر است. موقعیت جغرافیایی، شرایط آب و

هوایی، فصل برداشت و نوع خاک از جمله عواملی است که می‌تواند بر میزان ترکیبات فنولی اسانس‌ها موثر باشد (۱۷). همچنین بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نیز رای اسانس مرزنجوش به ثبت رسید. این نتیجه می‌تواند بیانگر وجود همبستگی بین محتوای ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در اسانس‌های گیاهی باشد. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که این ترکیبات دارای فعالیت‌های ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند (۱۸). در مطالعه‌ای که فاضلی نسب و همکاران انجام دادند مشخص شد گیاهانی که دارای میزان بالایی از ترکیبات فنولی بودند، به نسبت فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی قوی‌تری را نشان دادند؛ به طور کلی مطالعات نشان داده‌اند که هر چه مقدار ترکیبات فنولیک موجود در اسانس‌ها بالاتر باشد، خواص ضدباکتریایی آن‌ها علیه پاتوژن‌های غذایی نیز بیشتر خواهد بود. از این رو ارزیابی میزان کل فنول‌های موجود در اسانس‌های گیاهی امری حیاتی و مهم تلقی می‌گردد (۱۹).

همچنین شناسایی ترکیبات موثره اسانس مرزنجوش توسط دستگاه کروماتوگرافی GC/MS نشان داد که ترکیبات منوترپنی بالاترین درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس را به خود اختصاص داده‌اند به گونه‌ای که در رأس آن‌ها ترکیب آلفا-پینن قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که Andi و همکاران بر روی اسانس گونه‌های دیگر مرزنجوش انجام دادند، ترکیبات تشکیل دهنده غالب در مرحله بذر دهی را به ترتیب کارواکرول، آلفا-پینن، بتا-پینن و ترانس کاربوفیلین گزارش نمودند که از نظر ترکیبات تشکیل دهنده با مطالعه حاضر مشابه است؛ اما از لحاظ درصد با هم تفاوت‌های زیادی دارد که این امر را می‌توان به عوامل متعددی از قبیل نوع گونه، مراحل رشد، شرایط رشد، شرایط آب و هوایی و اقلیم گیاه نسبت داد (۲۰). این ترکیبات به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدویروسی و ضدالتهابی قابل توجه، جزء ترکیبات منحصر به فرد و پرکاربرد در صنایع غذایی محسوب می‌شوند. آلفا-پینن با تأثیر بر روی دیواره سلولی باکتری‌ها، نفوذپذیری دیواره سلولی را افزایش داده و باعث اختلال در عملکرد آن‌ها می‌شود (۲۱). همچنین ترکیب فنولی تیمول نیز یکی دیگر از این منوترپن‌ها است که به دلیل

داشتن خواص متنوع بیولوژیکی و دارویی مانند آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدسرطانی و ضدالتهابی مورد توجه فراوانی قرار گرفته است؛ به طور کلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی آلفا-پینن و تیمول به وجود عامل هیدروکسیل متصل به حلقه‌های آروماتیک آن‌ها نسبت داده می‌شود (۲۲). از این رو، فعالیت آنتی-اکسیدانی بالای اسانس مرزنجوش را تا حد زیادی می‌توان به حضور این ترکیبات نسبت داد.

همچنین فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها نیز در برابر چهار سویه باکتریایی *S. typhimurium*، *E. coli*، *S. aureus*، *B. cereus* مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش جزء آن دسته از میکروارگانیسم‌هایی هستند که می‌توانند کیفیت و ایمنی مواد غذایی را تحت تأثیر قرار داده و با ایجاد مسمومیت‌های غذایی مشکلات عدیده‌ای را برای انسان به وجود آورند (۲۳). از این رو شناسایی گیاهان دارویی و بومی با ظرفیت‌های ضد میکروبی بالا می‌تواند راهکاری مناسب جهت مهار فعالیت آن‌ها تلقی گردد. نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های مورد مطالعه نشان داد که هر چهار سویه باکتریایی نسبت به اسانس‌ها حساس بوده‌اند. همچنین یافته‌ها حاکی از آن بود که فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها وابسته به غلظت است. چنانچه میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس‌های مرزنجوش و مرزه، به طور معنی داری بیشتر از قطر هاله عدم رشد سایر اسانس‌های مورد آزمایش بوده که می‌تواند آن‌ها را به جایگزینی طبیعی و ارزان قیمت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک تبدیل نماید؛ با این حال، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها به دو روش دیسک دیفیوژن و MIC ثابت کرد که باکتری‌های گرم مثبت *B. cereus* و *S. aureus* نسبت به باکتری‌های گرم منفی *S. typhimurium* و *E. coli* حساس‌تر بوده‌اند؛ به طوری که بالاترین میزان قطر هاله عدم رشد و همچنین کمترین مقدار MIC و MBC با بیشترین فعالیت ضدباکتریایی برای اسانس مرزنجوش علیه باکتری گرم مثبت *B. cereus* به ثبت رسید. همچنین نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها در برابر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. این امر تا حد زیادی

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که اسانس‌های مورد بررسی به ویژه اسانس مرزنجوش و مرزه دارای فعالیت ضدباکتریایی خوبی علیه باکتری‌های مورد مطالعه به‌ویژه باکتری‌های گرم مثبت بوده‌اند. از این رو می‌توانند به عنوان یک جایگزین طبیعی و ارزان قیمت برای آنتی بیوتیک‌های سنتتیک در نظر گرفته شوند و یا به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی مناسب در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرند؛ از این رو در ادامه پژوهش حاضر، قابلیت‌ها و کاربرد اسانس مرزنجوش به عنوان یک ترکیب زیست فعال مناسب در تهیه فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی مورد بررسی و ارزیابی قرار خواهد گرفت؛ همچنین در این زمینه مطالعات بیشتری از قبیل بررسی اثرات سمیت سلولی اسانس در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد نیاز است که در تحقیقات آینده مورد توجه قرار خواهد گرفت.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجوی با کد رهگیری ۱۵۸۶۳۲۷ بوده و از دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

به دلیل وجود ساختار لیپوپلی ساکاریدی (LPS) در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی است. بخش پلی ساکاریدی موجود در ساختار لیپوپلی ساکاریدها و همچنین کاتیون‌های دو ظرفیتی موجود در غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی دارای خاصیت آب دوست هستند که این امر تا حد زیادی مانع از تماس مواد تشکیل دهنده آب گریز اسانس‌ها به سلول باکتریایی شده و در نتیجه باعث مقاومت بیشتر باکتری‌ها در برابر اسانس‌ها می‌شوند. نتایج ضدباکتریایی به دست آمده در مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده توسط سایر محققان کاملاً مطابقت داشت (۲۴، ۱۷). در مطالعه‌ای که ایزدی و همکاران بر روی بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس مریم گلی انجام دادند، مشخص شد که فعالیت ضدباکتریایی اسانس در برابر سویه‌های گرم مثبت به مراتب قوی‌تر از سویه‌های گرم منفی بوده است (۲۵). همچنین در پژوهش صورت گرفته توسط Zhou و همکاران بر روی بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزنجوش تثبیت شده با نانوبلورهای سلولزی نیز کمترین اثر مهارکنندگی اسانس بر روی باکتری گرم منفی / *اشرشیا کلای* و بیشترین اثر مهارکنندگی بر روی باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* به ثبت رسید (۲۶). Royo و همکاران و خانقاه و همکاران، فعالیت ضد میکروبی اسانس مرزنجوش را به وجود ترکیبات زیست فعال موجود در آن از جمله فنول‌ها، آلدهیدها و تربنویدها نسبت داده‌اند (۲۸، ۲۷). اگرچه به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی متنوع، مکانیسم خاصی برای اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها در نظر گرفته نمی‌شود؛ اما اختلال در دیواره سلول باکتریایی، از بین بردن محتوای سلول، انعقاد در سیتوپلاسم و همچنین اختلال در عملکرد انتقال پروتون‌ها از مهم‌ترین مکانیسم‌هایی است که به عملکرد ضدباکتریایی اسانس‌ها نسبت داده می‌شود (۲۹). تفاوت در نتایج به‌دست آمده از عملکرد ضدباکتریایی متفاوت اسانس‌ها، می‌تواند در ارتباط با تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان، مکانیزم مختلف واکنش آن‌ها، ژنتیک، آب و هوا، محیط و فصل برداشت آن‌ها باشد (۳۰).

منابع:

- 1- El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EA, Casabianca H, et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. *Int J Pharm*. 2015; 483 (1-2): 220-43. [Link](#)
- 2- Fisher K, Phillips C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer. *Trends Food Sci Technol*. 2008; 19(3): 156-64. DOI: [10.1016/j.tifs.2007.11.006](#)
- 3- Sanches-Silva A, Costa D, Albuquerque TG, Buonocore GG, Ramos F, Castilho MC, et al. Trends in the use of natural antioxidants in active food packaging: a review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2014; 31(3): 374-95. DOI: [10.1080/19440049.2013.879215](#)
- 4- Adelakun OE, Oyelade OJ, Olanipekun BF. Use of essential oils in food preservation. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. 2016; 71-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00007-9>
- 5- Shahidi F. Functional foods: their role in health promotion and disease prevention. *J Food Sci*. 2004; 69(5): R146-9. DOI: [10.1111/j.1365-2621.2004.tb10727.x](#)
- 6- Batiha GE, Beshbishy AM, Tayebwa DS, Shaheen HM, Yokoyama N, Igarashi I. Inhibitory effects of *Syzygium aromaticum* and *Camellia sinensis* methanolic extracts on the growth of *Babesia* and *Theileria* parasites. *Ticks Tick Borne Dis*. 2019; 10(5): 949-58. DOI: [10.1016/j.tbd.2019.04.016](#)
- 7- Astuti RI, Listyowati S, Wahyuni WT. Life span extension of model yeast *Saccharomyces cerevisiae* upon ethanol derived-clover bud extract treatment. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2019; 299(1): 012059. DOI: [10.1088/1755-1315/299/1/012059/meta](#)
- 8- Khedher MR, Khedher SB, Chaieb I, Tounsi S, Hammami M. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI J*. 2017; 16: 160-73. DOI: [10.17179%2Fexcli2016-832](#)
- 9- Rguez S, Msaada K, Daami-Remadi M, Chayeb I, Bettaieb Rebey I, Hammami M, et al. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Salvia officinalis* aerial parts as affected by diurnal variations. *Plant Biosystems*. 2019; 153 (2): 264-72. DOI: [10.1080/11263504.2018.1473305](#)
- 10- Efe D. Carbonic anhydrase enzyme inhibition and biological activities of *Satureja hortensis* L. essential oil. *Ind Crops Prod*. 2020; 156: 112849. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112849>
- 11- Elshafie HS, Camele I. Investigating the effects of plant essential oils on postharvest fruit decay. *Fungal Pathogenicity*; InTech: London, UK. 2016. P: 83-98. DOI: [10.5772/62568](#).
- 12- Bhat V, Sharma SM, Shetty V, Shastry CS, Rao CV, Shenoy S, et al. Characterization of herbal antifungal agent, *Origanum vulgare* against Oral *Candida* spp. isolated from patients with *Candida*-associated denture stomatitis: an in vitro study. *Contemp Clin Dent*. 2018; 9 (5): 3-10. DOI: [10.4103%2Fccdc.ccd_537_17](#)
- 13- Ghanbari Hassan Kiadeh S, Rahaiee S, Azizi H, Govahi M. Evaluation of biological activities of raw and cooked *Brassica oleracea* sprout extracts rich in bioactive compound Sulforaphane. *J Birjand Univ Med Sci*. 2021; 28(3): 236-47. [Persian]. DOI: [10.32592/JBirjandUnivMedSci.2021.28.3.102](#)
- 14- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard. 7th ed. CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012. [Link](#)
- 15- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. CLSI document M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. [Link](#)
- 16- Roginsky V and Lissi EA. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem*. 2005; 92(2): 235 - 54. DOI: [10.1016/j.foodchem.2004.08.004](#)
- 17- Raeisi M, Hashemi M, Aminzare M, Sadeghi M, Jahani T, Keshavarzi H, et al. Comparative Evaluation of phytochemical, antioxidant, and antibacterial properties from the essential oils of four commonly consuming plants in Iran. *J Food Qual Hazards Control*. 2016; 3: 107-13. [Link](#)

- 18- de la Fuente B, López-García G, Máñez V, Alegría A, Barberá R, Cilla A. Evaluation of the bioaccessibility of antioxidant bioactive compounds and minerals of four genotypes of Brassicaceae microgreens. *Foods*. 2019; 8(7): 250. DOI: [10.3390/foods8070250](https://doi.org/10.3390/foods8070250)
- 19- Govahi M, Ghorbani F, Ranjbar M, Rahaiee S, Azizi H. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity, and Determination of Phenolic and Flavonoid Content of Aqueous and Methanolic Extracts of *Scutellaria peginensis*. *J Ilam Univ Med Sci*. 2019; 27(3): 91-100. [Persian] DOI: [10.29252/sjimu.27.3.91](https://doi.org/10.29252/sjimu.27.3.91)
- 20- Andi S, Nazeri V, Hadian J. A comparison of the essential oil chemical composition of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* collected in its flowering and seed stages from Southern region of Chalus. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 2012; 43(2): 153-9. DOI: [10.22059/ijhs.2012.25107](https://doi.org/10.22059/ijhs.2012.25107)
- 21- Oskoueian E, Dalir M. A review of the most widely used medicinal plant active compounds and their effects on growth, health and production parameters in the poultry industry. *Veterinary Researches & Biological Products*. 2019; 32(4): 2-12. DOI: [10.22092/vj.2019.124480.1537](https://doi.org/10.22092/vj.2019.124480.1537)
- 22- Suntres ZE, Coccimiglio J, Alipour M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Critical reviews in food science and nutrition* 2015; 55(3): 304-18. DOI: [10.1080/10408398.2011.653458](https://doi.org/10.1080/10408398.2011.653458)
- 23- Moghri SA, Kiadeh SG, Rahaiee S. In silico investigation of lysostaphin-producing novel strains as an enzybiotic against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Inform Med Unlocked*. 2021; 24: 100623. DOI: [10.1016/j.imu.2021.100623](https://doi.org/10.1016/j.imu.2021.100623)
- 24- Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food control*. 2014; 35(1): 177-83. DOI: [10.1016/j.foodcont.2013.07.004](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.07.004)
- 25- Izadi Z, Mirazi N. Identification of Chemical Compounds and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Properties of Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil at Different Harvest Times. *Qom Univ Med Sci J*. 2020; 14(9): 1-15. [Persian] DOI: [10.52547/qums.14.9.1](https://doi.org/10.52547/qums.14.9.1)
- 26- Zhou Y, Sun S, Bei W, Zahi MR, Yuan Q, Liang H. Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. *Int J Biol Macromol*. 2018; 112: 7-13. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2018.01.102](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.102)
- 27- Royo M, Fernández-Pan I, Maté JI. Antimicrobial effectiveness of oregano and sage essential oils incorporated into whey protein films or cellulose-based filter paper. *J Sci Food Agric*. 2010; 90(9): 1513-9. DOI: [10.1002/jsfa.3977](https://doi.org/10.1002/jsfa.3977)
- 28- Khaneghah AM, Hashemi SM, Limbo S. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food Bioprod Process*. 2018; 111: 1-19. DOI: [10.1016/j.fbp.2018.05.001](https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.001)
- 29- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—a review. *Food Chem Toxicol*. 2008; 46(2): 446-75. DOI: [10.1016/j.fct.2007.09.106](https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106)
- 30- Molodi F, Mahmoudi R, Rezaazdbari M. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant Properties of essential oil of *Origanum vulgare* ssp. *Gracile*. *J Babol Uni Med Sci*. 2018; 20(10): 36-44. [Persian] DOI: [10.18869/acadpub.jbums.20.10.36](https://doi.org/10.18869/acadpub.jbums.20.10.36)