



Original Article

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

Arezou Alipour Kakroudi^{ID1}, Somayeh Rahaiee^{ID1*}, Hajar Rajaei Litkohi^{ID2},
Saeed Ghanbari Hassan Kiadeh^{ID1}

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 Litkohi 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 ضدمیکروبی اسانس‌های مختلف گیاهی در شرایط آزمایشگاهی

آرزو علیپور کاکرودی^۱, سمهیه رهایی^{۱*}, هاجر رجایی لیتکوهی^۲, سعید قبیری حسن کیاده^۱

چکیده

زمینه و هدف: اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن مقادیر فراوان از ترکیبات زیست فعال دارای فعالیت‌های بیولوژیکی ضدمیکروبی 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 کشنده (MBC) آن‌ها به روش ماکرودایلوشن 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 $۱۵۷/۰۵ \pm ۲/۳۷$ میلی‌گرم 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، مونوتین‌ها بیشترین اجزای اسانس مرزنجوش را تشکیل می‌دهند که بالاترین مقدار آن متعلق به آلفا-پین (۷۴/۰۴ درصد) بود. همچنین نتایج فعالیت ضدباکتریایی اسانس‌ها نشان داد که بیشترین میزان هاله عدم رشد با قطر $۴۴ \pm ۰/۸۱$ میلی‌متر متعلق به اسانس مرزنجوش است. کمترین مقدار MIC و MBC به ترتیب در غلظت‌های $۰/۲۷۵$ و $۰/۰۵$ میلی‌گرم 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 ضدبacterیایی 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 پیرجنده، ۱۴۰۰: ۳۲۲-۳۳۴.

دربافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۳
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷

^۱ گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
^۲ گروه نانوزیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
آدرس: آمل - دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل - دانشکده زیست فناوری
تلفن: ۰۹۱۸۶۷۵۲۳۴ - ۰۱۱ - ۰۴۱۵۴۲۶۵
نامبر: S.rahaiee@ausmt.ac.ir پست الکترونیکی:

مقدمه

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قابل توجه می‌تواند به عنوان نگهدارنده در بسیاری از محصولات غذایی به خصوص فرآورده‌های *Salvia* گوشتی مورد استفاده قرار گیرد (۷). مریم گلی (۸) 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 عمدۀ از قبیل فعالیت ضد التهابی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی 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، ضدپیروسی، ضد انگلی، آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، 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 پرفروش‌ترین گیاهان دارویی در سراسر جهان به شمار می‌رود (۱۱). مطالعات اخیر نشان داده است که مرزنجوش علاوه بر داشتن خواص ضد باکتریایی، ضدپیروسی و ضدسرطانی 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 ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مختلف گیاهان میخک، مریم گلی، مرزه و مرزنجوش در شرایط آزمایشگاهی است تا بتوان اسانس مناسب با بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی جهت به کارگیری در تهیه پوشش‌های بسته‌بندی مواد غذایی شناسایی کرد.

روش تحقیق

تعیین میزان فنول کل اسانس‌ها

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

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 ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی 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 آنتی‌اکسیدان‌های 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 گسترش‌دار 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^۱‌های 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 پروپن‌ها، اسیدهای فنولیک و اوژنول شناخته می‌شود (۶). اسانس میخک به دلیل دارا بودن

² Folin-Ciocalteu

¹ Nutraceuticals

محلول با متابول به چهار میلی لیتر رسید. در ادامه محلول درون فالکون‌ها 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 انسان‌ها نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

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

که در این رابطه AD جذب کنترل و AS جذب نمونه حاوی انسان است (۱۳).

بررسی فعالیت ضدباکتریایی انسان‌ها

جهت بررسی فعالیت ضدباکتریایی انسان‌ها به روش انتشار دیسک (Disk diffusion)، مطابق با استاندارد (CLSI M02-) گونه باکتری (Escherichia coli (PTCC 1399)، A11 (PTCC 1015)، Salmonella typhimurium (بالینی)، Staphylococcus (ATCC 25923)، Bacillus cereus 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 هیلتون آگار استفاده گردید. در ادامه، دیسک‌های کاغذی آگشته به میزان ۱۵ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف انسان (۴۴، ۸۸ و ۱۷/۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به سطح محیط کشت اضافه شد (رقیق سازی انسان‌ها با حلال دی متیل سولفونکسید (DMSO) با غلظت نهایی ۰/۰۲ درصد انجام شد). در مرحله بعدی پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماخانه گذاری گردید. در نهایت میزان فعالیت ضدباکتریایی انسان‌ها بر اساس اندازه قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها تعیین شد. همچنین از آنتی‌بیوتیک‌های جنتامايسین (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 میلی لیتر آب دیونیزه اضافه گردید. سپس به ترکیب فوق ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰٪ اضافه شده و محلول به دست آمده مجدداً مخلوط شد. آن گاه ۱/۷ میلی لیتر 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، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) تهیه شد (۱۳).

شناسایی ترکیبات انسان با استفاده از دستگاه GC/MS به منظور شناسایی ترکیبات انسان 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 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 ثابت‌اندیس کواتس صورت گرفت.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH

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

^۱ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

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 به دست آمده از نرم افزارهای SPSS 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 (Mean \pm 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 به ترتیب مربوط به اسانس مرزنجوش با میزان $۱۵۷/۰\pm۰/۵$ و اسانس مرزه با میزان $۵۸/۰\pm۰/۶$ میلی‌گرم گالیک اسید به ازای گرم ماده خشک بوده است. مقایسه میزان ترکیبات فنولی کل هر یک از اسانس‌ها در جدول ۱ آمده است..

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

جهت تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) از روش رقیق‌سازی در محیط مایع در مقیاس ماکرو (Broth Macro) 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 هیتنون براث 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 ۵×۱۰^۵ 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 $۱/۰$ 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 کشنندگی (MBC) نیز مقدار ۵۰ میکرو‌لیتر از غلظت‌های فاقد کدورت، بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هیتنون آکار

جدول ۱- مقایسه میزان فنول کل اسانس‌های مختلف

فنول کل	مرزه	مرزنجوش	مریم گلی	میخک
$۶۰/۰\pm۰/۵۸^d$	$۱۵۷/۰\pm۰/۲۷^a$	$۱۰۶/۹۴\pm۰/۹۳^b$	$۷۵/۸۶\pm۱/۱۶^c$	

* در هر ردیف 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.

افزایش یافته است. طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها بیشترین مهار رادیکال آزاد DPPH برای اسانس مرزنجوش به میزان ۹۸/۱۴٪ در غلظت ۱۰ درصد به دست آمد. همچنین کمترین

میزان فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد (DPPH)

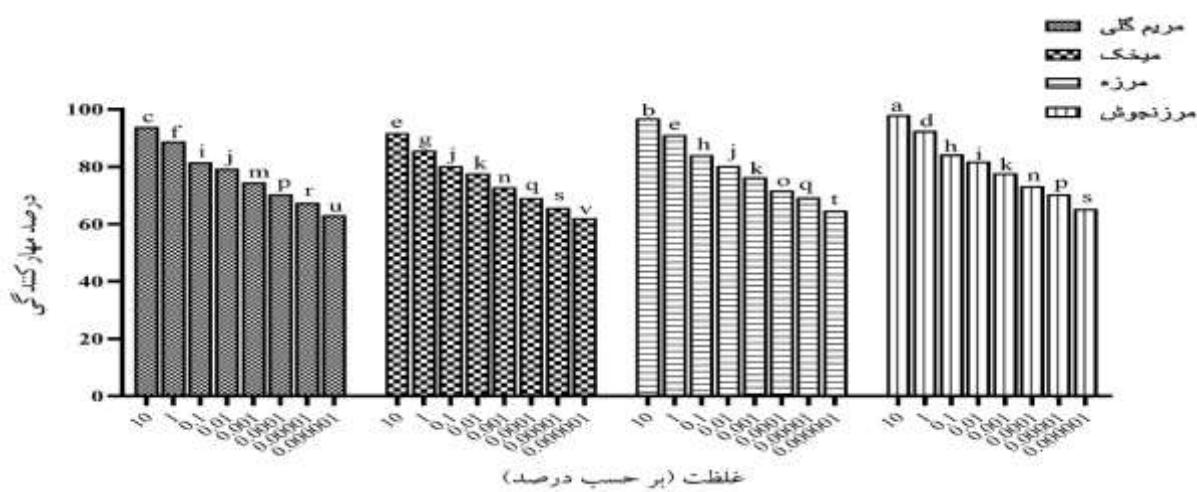
ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به روش جذب رادیکال آزاد نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها وابسته به غلظت

باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش را دارا بود. همچنین بیشترین میزان حساسیت برای باکتری‌های *E.coli* و *Staphylococcus aureus* نیز در برابر انسانس‌های مرزنجوش و *Salmonella typhimurium* نیز بیشترین میزان حساسیت را در برابر انسانس مرزه به ثبت رسید. باکتری گرم منفی *Bacillus cereus* 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 میلی‌گرم بر میلی لیتر هر یک از انسانس‌ها، بیشترین اندازه قطر هاله عدم رشد مشاهده شده است. جدول ۲ مقایسه کامل قطر هاله‌های عدم رشد باکتریایی انسانس‌های مختلف را نشان می‌دهد.

میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد نیز برای انسانس میخک به میزان 91 ± 8.57 در غلظت مشابه 10×10^{-1} درصد مشاهده شد. مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی انسانس‌های مریم گلی، میخک، مرزه و مرزنجوش در تصویر ۱ آمده است.

فعالیت خدباکتریایی

بررسی میانگین قطر هاله‌های عدم رشد نشان داد که انسانس‌های مورد مطالعه در این پژوهش، اثرات خدباکتریایی قابل توجهی را در برابر گونه‌های باکتریایی ذکر شده نشان دادند. به گونه‌ای که بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد برای انسانس مرزنجوش در غلظت ۸۸ میلی‌گرم بر میلی لیتر در برابر باکتری گرم مثبت *Bacillus cereus* با میانگین قطر هاله عدم رشد در میان شد که به طور کلی بالاترین میزان قطر هاله عدم رشد در میان



تصویر ۱- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی انسانس‌های مختلف گیاهی (میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ی دانک در سطح 0.5×10^5 تفاوت معنی‌داری ندارند)

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

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

حداقل غلظت بازدارندگی و کشنندگی (MIC و MBC)

میزان MIC و MBC هر یک از انسانس‌ها در مقابل سویه‌های باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که تمامی انسانس‌ها فعالیت بازدارندگی و کشنندگی خوبی را در برابر باکتری‌ها داشته‌اند. چنانچه کمترین مقدار MIC و MBC به ترتیب در غلظت‌های 0.55×10^5 و 0.275×10^5 میلی‌گرم بر میلی لیتر، با بیشترین فعالیت خد باکتریایی برای انسانس مرزنجوش و مرزه بر علیه

میزان تقریب ۹۸ درصد، بیشترین اجزای تشکیل دهنده اسانس را تشکیل دادند که در میان آن‌ها ترکیب آلفا_پین 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 در حالی است که سسکوئی‌ترین‌ها تنها حدود ۲ درصد از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را شامل شدند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به ترکیب شیمیایی کاریوفیلین اشاره کرد.

شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS

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

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

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

* 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 کراش شده است. (GM) = جنتامايسین (۱۰ میکروگرم بر دیسک)، (VA) = ونکومايسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک)

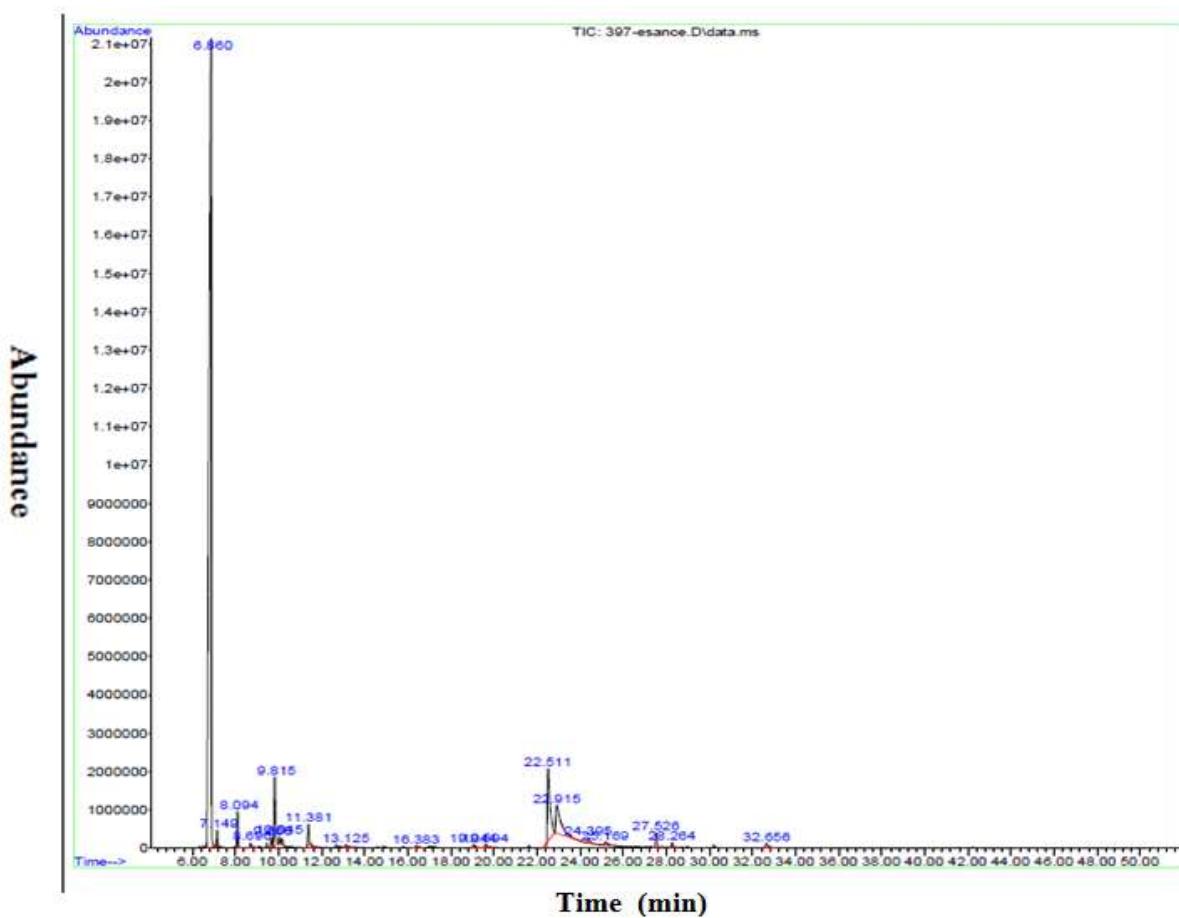
جدول ۳- حداقل غلظت بازدارندگی و کشنندگی (بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر)

آمپی سیلین		میخک		مریم گلی		مرزه		مرزنجوش		سویه باکتری
MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	
./۱ ^f	./۰۵ ^g	۴/۴ ^a	۲/۲ ^b	۴/۴ ^a	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	./۵۵ ^d	۱/۱ ^c	./۵۵ ^d	<i>E.coli</i>
./۰۵ ^g	./۰۴ ^h	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	./۵۵ ^d	./۲۷۵ ^e	./۵۵ ^d	./۲۷۵ ^e	(PTCC 1399) <i>Staphylococcus aureus</i>
./۰۵ ^g	./۰۴ ^h	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	۲/۲ ^b	۱/۱ ^c	./۵۵ ^d	./۲۷۵ ^e	./۵۵ ^d	./۲۷۵ ^e	(ATCC 25923) <i>Bacillus cereus</i>
./۱ ^f	./۰۵ ^g	۴/۴ ^a	۲/۲ ^b	۴/۴ ^a	۴/۴ ^a	۱/۱ ^c	./۵۵ ^d	۱/۱ ^c	./۵۵ ^d	(PTCC 1015) <i>Salmonella typhimurium</i>
										(باینی)

* 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.

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

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری	شاخص بازداری	نمایع	شاخص بازداری	شناخت بازداری	ردیف
۱	β-Myrcene	۰/۰۲	۶/۱۸۴	۹۹۱	۹۸۹			
۲	Tricyclene	۰/۰۹	۶/۳۴۱	۹۱۰				
۳	α-Thujene	۰/۱۴	۶/۵۰۳	۹۲۲				
۴	α-Pinene	۷۴/۰۹	۶/۸۶	۹۳۹				
۵	Camphene	۰/۰۳	۷/۱۴۸	۹۴۸				
۶	β-Pinene	۱/۴۲	۸/۰۹۷	۹۷۷				
۷	β-Myrcene	۰/۳۲	۸/۶۹۴	۹۷۹				
۸	Δ-3-Carene	۰/۰۲۰	۹/۴۴۴	۱۰۳۰				
۹	α.-Terpinene	۰/۰۴۰	۹/۶۵۹	۱۰۱۷				
۱۰	Cymene	۳/۴۸	۹/۸۱۶	۱۰۲۶				
۱۱	γ-Terpinene	۱/۵۲	۱۱/۳۴۸	۱۰۶۰				
۱۲	α-Terpinolene	۰/۱۹	۱۲/۶۶۳	۱۰۸۹				
۱۳	4-Terpineol	۰/۲۱	۱۶/۳۸۴	۱۱۷۹				
۱۴	Carvacrol Methyl ether	۰/۰۳۶	۱۹/۵۹۳	۱۲۴۸				
۱۵	Thymol	۷/۸۳	۲۲/۵۱۲	۱۲۸۶				
۱۶	Carvacrol	۵/۹۳	۲۲/۹۱۶	۱۲۹۸				
۱۷	Thymol acetate	۰/۰۴۰	۲۴/۳۹۴	۱۳۵۱				
۱۸	Trans-Caryophyllene	۰/۰۷۷	۲۷/۵۲۴	۱۴۱۹				
۱۹	(+)-Aromadendrene	۰/۰۳۶	۲۸/۲۶۳	۱۴۴۱				
۲۰	Caryophyllene oxide	۰/۰۴۹	۳۲/۶۵۶	۱۵۸۱				



تصویر ۲- نمودار کروماتوگرافی GC/MS اسانس مرزنجوش

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 ± 5 میلی‌گرم 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 ± 45 بوده که تا حد زیادی مشابه نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر است. موقعیت جغرافیایی، شرایط آب و

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 عمدها به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدرادیکالی 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

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

همچنین فعالیت ضدبacterیایی انسانس‌ها نیز در برابر چهار سویه باکتریایی *S. typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus* و *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 سمومیت‌های غذایی مشکلات عدیدهای را برای انسان به وجود آورند (۲۳). از این‌رو شناسایی گیاهان دارویی و بومی با ظرفیت‌های ضدمیکروبی بالا می‌تواند راهکاری مناسب جهت مهار فعالیت آن‌ها تلقی گردد. نتایج فعالیت ضدمیکروبی انسانس‌های مورد مطالعه نشان داد که هر چهار سویه باکتریایی نسبت به انسانس‌ها حساس بوده‌اند. همچنین یافته‌ها حاکی از آن بود که فعالیت ضدبacterیایی انسانس‌ها وابسته به غلظت است. چنانچه میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۸۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از انسانس‌های مرزنجوش و مرزه، به طور معنی داری بیشتر از قطره‌های عدم رشد سایر انسانس‌های مورد آزمایش بوده که می‌تواند آن‌ها را به جایگزینی طبیعی و ارزان قیمت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های سنتیک تبدیل نماید؛ با این حال، ارزیابی فعالیت ضدبacterیایی انسانس‌ها به دو روش دیفیوژن و *S. aureus* ثابت کرد که باکتری‌های گرم منفی *B. cereus* و *S. typhimurium* و *S. aureus* نسبت به باکتری‌های گرم منفی *E. coli* حساس‌تر بوده‌اند؛ به طوری که بالاترین میزان قطر هاله عدم رشد و همچنین کمترین مقدار MIC و MBC با بیشترین فعالیت ضدبacterیایی برای انسانس مرزنجوش علیه باکتری گرم مثبت *B. cereus* به ثبت رسید. همچنین نتایج مطالعات گذشته نشان می‌دهد که اثر ضدبacterیایی انسانس‌ها در برابر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. این امر تا حد زیادی

هوایی، فصل برداشت و نوع خاک از جمله عواملی است که می‌تواند بر میزان ترکیبات فنولی انسانس‌ها موثر باشد (۱۷). همچنین بیشترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نیز رای انسانس مرزنجوش به ثبت رسید. این نتیجه می‌تواند بیانگر وجود همبستگی بین محتوای ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در انسانس‌های 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 ضدبacterیایی قوی‌تری را نشان دادند؛ به طور کلی مطالعات نشان داده‌اند که هر چه مقدار ترکیبات فنولیک موجود در انسانس‌ها بالاتر باشد، خواص ضدبacterیایی آن‌ها علیه پاتوزن‌های غذایی نیز بیشتر خواهد بود. از این‌رو ارزیابی میزان کل فنول‌های موجود در انسانس‌های گیاهی امری حیاتی و مهم تلقی می‌گردد (۱۹).

همچنین شناسایی ترکیبات موثره انسانس مرزنجوش توسط دستگاه کروماتوگرافی GC/MS نشان داد که ترکیبات منوترپنی بالاترین درصد اجزای تشکیل دهنده انسانس را به خود اختصاص داده‌اند به گونه‌ای که در رأس آن‌ها ترکیب آلفا-پین قرار گرفته است. در مطالعه‌ای که Andi و همکاران بر روی انسانس گونه‌های دیگر مرزنجوش انجام دادند، ترکیبات تشکیل دهنده غالب در مرحله بذر دهی را به ترتیب کارواکرول، آلفا-پین، بتا-پین و ترانس کاربوفیلن 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، ضدبacterیایی، ضدپیروسی و ضدالتهابی قابل توجه، جزء ترکیبات منحصر به فرد و پرکاربرد در صنایع غذایی محسوب می‌شوند. آلفا-پین 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 منوترپین‌ها است که به دلیل

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 ضدبакتریایی خوبی علیه باکتری‌های مورد مطالعه به‌ویژه باکتری‌های گرم مثبت بوده‌اند. از این رو می‌توانند به عنوان یک جایگزین طبیعی و ارزان قیمت برای آنتی‌بیوتیک‌های سنتیک در نظر گرفته شوند و یا به عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی 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 *in vivo* و *in vitro* اثرات سمیت سلولی اسانس در شرایط مورد توجه قرار خواهد گرفت.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجو 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

نویسنده‌گان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی 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 ضدبакتریایی به دست آمده در مطالعه حاضر با نتایج گزارش شده توسط سایر محققان کاملاً مطابقت داشت (۲۴). در مطالعه‌ای که ایزدی و همکاران بر روی بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس مریم گلی انجام دادند، مشخص شد که فعالیت ضدبакتریایی اسانس در برابر سویه‌های گرم مثبت به مراتب قوی‌تر از سویه‌های گرم منفی بوده‌است (۲۵). همچنین در پژوهش صورت گرفته توسط Zhou و همکاران بر روی بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس مرزنجوش تثبیت شده با نانوبلورهای سلولی نیز کمترین اثر مهارکنندگی اسانس بر روی باکتری گرم منفی اشرشیا کلای و بیشترین اثر مهارکنندگی بر روی باکتری گرم مثبت با سیلوس سرئوس به ثبت رسید (۲۶). Royo و همکاران و خانقاہ و همکاران، فعالیت ضدمیکروبی اسانس مرزنجوش را به وجود ترکیبات زیست فعال موجود در آن از جمله فنول‌ها، آلدھیدها و ترپن‌وئیدها نسبت داده‌اند (۲۷، ۲۸). اگرچه به دلیل وجود ترکیبات شیمیایی متنوع، مکانیسم خاصی برای اثرات ضدبакتریایی 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 ضدبакتریایی اسانس‌ها نسبت داده می‌شود (۲۹). تفاوت در نتایج به دست آمده از عملکرد ضدبакتریایی 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10727.x)
- 6- Batiha GE, Beshbishi 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.ttbdis.2019.04.016](https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.17179%2Fexcli2016-832)
- 9- Rguez S, Msadaa 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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%2Fcccd.ccd_537_17](https://doi.org/10.4103%2Fcccd.ccd_537_17)
- 13- Ghanbari Hassan Kiadeh S, Rahaei 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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, Márquez 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 pekinensis*. *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)