مقاله تحقیقی

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل

دوره بیستم، شمارهٔ ۱۰، مهر ۱۳۹۷، صفحه ۴۴-۳۶

ترکیبات شیمیایی، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گیاه مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgar ssp. gracile*) در محیط آزمایشگاهی

فایق مولودی (MSc)[۱]، محمد علیزاده خالدآباد (PhD)[۱]، رزاق محمودی (PhD)[۲و۳*]، محمود رضازاد باری (PhD)[۱]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲-مرکز تحقیقات میکروب شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۳-مرکز تحقیقات ایمنی محصولات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

دریافت: ۹۶/۱۱/۱۶، اصلاح: ۹۷/۲/۲۶، پذیرش: ۹۷/۳/۱

خلاصه

سابقه و هدف: امروزه در راستای بهبود کیفیت بهداشتی و کاهش خطرات ناشی از نگهدارنده های شیمیایی در صنعت غذا نظر محققان به سوی استفاده از ترکیبات طبیعی به ویژه اسانس های گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالایی دارند جلب شده است، با توجه به بالابودن خطرات ناشی از باکتری‌های اشرشیاکلی و لیستریامونوسایتوژنز در مواد غذایی، در این مطالعه ویژگی های ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس مرزنجوش بخارایی در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، گیاه مرزنجوش از کردستان تهیه و پس از خشک کردن و اسانس گیری توسط کلونجر، اجزای اسانس با استفاده از دستگاه GC-MS مورد شناسایی قرار گرفت. سویه ها از آزمایشگاه باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تهیه شد. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی از غلظت های متوالی اسانس (۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۰/۳۱۲ درصد) استفاده گردید، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی با استفاده از روش میکرودایلوشن تعیین گردید. خاصیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش DPPH و سنجش مواد فنولیک تام توسط واکنشگر فولین سیوکالتو انجام گرفت.

یافته ها: بر اساس نتایج حاصل از آنالیز دستگاه GC-MS کارواکرول (۴۹/۳۳٪) دارای بیشترین جزء ترکیبات اسانس مورد نظر بود. MIC و MBC اسانس بر روی باکتری اشرشیاکلی به ترتیب برابر با ۱/۲۵و ۲/۵ درصد و برای باکتری لیستریامونوسایتوژنز به ترتیب ۰/۶۲۵ و ۱/۲۵درصد به دست آمد. همچنین ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی برابر با ۰/۰۳±۱۲/۴۵ میکروگرم بر میلی لیتر و محتوی فنل اندازه گیری شده ۴/۲۳±۳۹/۱۱ میلی گرم اسید گالیک در گرم اسانس ارزیابی شد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که اسانس مرزنجوش خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان داد، همچنین این اسانس بر روی هر دو باکتری خاصیت مهاری داشته و لیستریا مونوسایتوژنز نسبت به اشرشیاکلی در برابر این اسانس مقاومت کمتری داشت.

واژه‌های کلیدی: اسانس مرزنجوش، فعالیت آنتی اکسیدانی، اثر ضد میکروبی، حداقل غلظت مهارکنندگی.

مقدمه

استفاده از اسانس‌های گیاهی در صنایع دارویی و غذایی، طب سنتی و درمان‌های گیاهی بر اساس خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس استوار است(۱). وجود ترکیبات شیمیایی مانند سینئول، کامفور، لینانول، آلفاپینن، برنئول، کارون، لیمونن، کارواکرول، سیمن، کامفن و الفا ترپینئول در اسانس اندام های مختلف گیاه باعث اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس می شود(۲). اسانس‌ها و عصاره‌های حاصل از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات ضد میکروبی، ضد سرطانی، آنتی اکسیدانی و عوامل حذف کننده رادیکال های آزاد از توان بسیار بالایی جهت استفاده به عنوان نگهدارنده های جدید و طبیعی برخوردار می باشند (۳و۴). در بین ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها، ترکیبات فنلی سهم بیشتری نسبت به دیگر ترکیبات دارا می‌باشند، این ترکیبات دارای ویژگی های آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که باعث خنثی کردن رادیکال های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون های فلزی و سبب غیرفعال کردن آنها و جلوگیری از اکسیداسیون می شوند(۵). جنس مرزنجوش (Origanum) متعلق به خانواده نعناعیان (Labiatae) بوده و در برگیرنده بسیاری از گونه‌هایی است که معمولاً به‌صورت وحشی در نواحی مدیترانه‌ای یافت شده (۶) و از تنوع مورفولوژیکی و شیمیایی بالایی در دنیا برخوردار هستند (۷). گونه Origanum vulgare L. دارای شش زیرگونه (ssp. hirtum ssp. vulgare، ssp. virens، ssp. viride، ssp. Gracile و ssp. glandulosum) در سراسر جهان می‌باشد که در ایران تنها سه زیرگونه viride، vulgare و gracile شناسایی شده است (۸). ماده موثره مرزنجوش اسانس می‌باشد که عمدتا شامل کارواکرول و تیمول می‌باشد ولی دارای ترکیبات دیگری نظیر گاما ترپینن، پاراسیمن، لینالول و سابینن نیز می‌باشد (۶). Moradi و همکاران نیز اجزاء اصلی اسانس مرزنجوش را

▣ این مقاله حاصل پایان نامه فایق مولودی دانشجوی دکتری رشته علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر رزاق محمودی

آدرس: قزوین، بلورا شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات میکروب شناسی پزشکی. تلفن: ۰۲۸-۳۳۲۳۷۲۶۹

E-mail: r.mahmodi@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

کارواکرول گزارش کردند و بعد از کارواکرول، بیشترین جزء اسانس را به ترتیب گاما ترپینن و پاراسیمن معرفی کردند(۹). به دلیل ترکیبات خاص اسانس، برگ‌های گیاهان جنس *Origanum* بصورت گسترده‌ای به‌عنوان ادویه‌جات نیز مورداستفاده قرار می‌گیرد (۱۰).

گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) علاوه بر استفاده در طب سنتی به‌عنوان داروی مسکن، مدر و ضدعفونی‌کننده در درمان بیماری‌های مربوط به معده، روده و همچنین یبوست کاربرد فراوانی دارد (۱۱). اخیراً گیاهان ادویه‌ای به دلیل تأثیرات ضد میکروبی، ضد قارچی، حشره کشی و آنتی‌اکسیدانی توجه بسیاری از مصرف‌کنندگان را به خود جلب نموده است (۱۲). امروزه از بخش های گیاه مرزنجوش و عصاره های بیوشیمیایی آن شامل گیاه کامل، برگ، اسانس و غیره به طور معمول در صنایع غذایی به عنوان ادویه و آنتی اکسیدان لیپید ها استفاده می شود. مرزنجوش گیاهی است سرشار از آنتی اکسیدان های فنلی و یک منبع مهم برای افزودنی های غذایی محسوب می شود(۱۳). مطالعات نشان داده که مصرف آنتی اکسیدان ها در رژیم غذایی باعث کاهش خطر بیماری سرطان و به تاخیر انداختن آلزایمر می شود(۱۴).

Penalver و همکاران اثر چندین اسانس گیاه از جمله مرزنجوش را بر علیه گونه های سالمونلا و اشرشیاکلی که از مرغ و خوک جدا شده بودند را مورد بررسی قرار دادند که در بین اسانس ها، اسانس مرزنجوش بالاترین خاصیت ضد میکروبی را نشان داد. این محققان بالا بودن میزان کارواکرول و تیمول را به عنوان عامل مهارکننده عنوان کردند(۱۵). در بررسی مشابهی اسانس مرزنجوش دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری سالمونلا تیفی موریوم بود که غلظت ۱ درصد از اسانس رشد میکروب را مهار نمود(۱۶). Sarikurkcu و همکاران با بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس های مختلف از زیرگونه های مرزنجوش عنوان کردند که تیمول و لینالول به عنوان اجزای اصلی ترکیبات اسانس دارای خاصیت ضدمیکروبی (ضد باکتریایی و ضد قارچی) و آنتی اکسیدانی می باشند(۱۷). همچنین Imtara و همکاران با بررسی خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزنجوش در عسل نشان دادند که این ویژگی ها به میزان محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئید ها بستگی دارد که میزان این ترکیبات در مناطق مختلف متفاوت است(۱۸). بر این اساس اجزای تشکیل دهنده ترکیبات اسانس گیاهان دارویی وابسته به شرایط ژنتیکی، آب و هوایی و جغرافیایی محل های جمع آوری می تواند متفاوت باشد(۱۹).

تاثیر این عوامل، همچنین عوامل اکولوژیکی دیگر سبب ایجاد متابولیت های مجزا می شود که منجر به شناسایی تیپ های جدید می گردد(۲۰). شرایط اقلیمی، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، نحوه اسانس گیری و تفاوت های ژنتیکی گیاه، بر روی نوع و میزان ترکیبات موجود در اسانس گیاه همچنین می‌تواند بر ویژگی های شیمیایی و ضدمیکروبی تاثیر گذار باشد(۲۱). از این رو، با توجه به شواهد موجود در خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس ها، و ازآنجاکه مرزنجوش بخارایی یکی از سه زیرگونه با ارزش جنس مرزنجوش در ایران می‌باشد و به صورت خودرو در مناطق جغرافیایی مختلف رویش دارد می تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی و مقرون به صرفه مورد استفاده قرار گیرد و جهت جلوگیری از اثرات نامطلوب نگهدارنده های شیمیایی و غیرطبیعی جایگزین مطلوبی محسوب شود، لذا هدف از انجام این مطالعه تعیین ترکیبات شیمیایی و اثرات آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس مرزنجوش بخارایی جمع آوری شده از مناطق کوهستانی کردستان می باشد.

مواد و روش ها

تهیه اسانس: برای انجام این مطالعه تجربی، ابتدا گیاه مرزنجوش جمع آوری شده از مناطق کوهستانی کردستان که در دانشگاه ارومیه نگهداری شده بودند پس از شناسایی توسط هرباریوم دانشکده کشاورزی با شماره ثبت ۲۵۹۱۱۱ جهت انجام آزمایشات به کار گرفته شد. جهت تهیه اسانس، گیاه خرد و آسیاب شد سپس با استفاده از یک دستگاه کلونجر اسانس روغنی و فرار گیاه به روش تقطیر با آب استخراج گردید(۲۲). اسانس بدست آمده به کمک سولفات سدیم خشک، آبگیری و پس از عبور از میکروفیلتر ۰/۴۵µm در ظرف شیشه ای تیره به دور از نور خورشید در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا زمان شناسایی و تعیین ترکیبات شیمیایی و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی نگهداری شد. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت MERCK آلمان خریداری شدند.

سوش های باکتریایی: جهت ارزیابی اثرات ضدباکتریایی اسانس مرزنجوش از سویه های استاندارد استفاده شد. این سویه ها شامل اشرشیا کولای (ATCC 25922) و لیستریا مونو سیتوژنز (ATCC 19117) از آزمایشگاه باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تهیه شد. در ادامه سویه های مورد مطالعه با استفاده از محیط های کشت و تست های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند.

آنالیز ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از GC-MS: شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری (Retention indices) و بررسی طیف های جرمی ترکیبات و مقایسه آنها با طیف های جرمی استاندارد و مراجع معتبر صورت گرفت. برای این کار ابتدا نمونه آماده شده اسانس به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و مناسب ترین برنامه ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب های اسانس بدست آمد. سپس اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی نیز تزریق شده و طیف جرمی ترکیب ها بدست آمد. در این مطالعه دستگاه GC-MS از نوع Agilent6890 با ستون مویینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا بصورت ۷۰ درجه سانتیگراد با توقف ۲ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا ۲۲۰ درجه سانتیگراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، و افزایش دمای ستون تا ۳۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه استفاده شد(۲۳).

ارزیابی ترکیبات فنولیک: سنجش مواد فنولیک تام با استفاده از واکنشگر فولین سیوکالتو و اسید گالیک به عنوان استاندارد انجام شد(۲۱). ابتدا غلظت های مختلفی از اسانس تهیه و ۰/۱ میلی لیتر از هر غلظت به ارلن مایر اضافه شد، ۴۶ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر واکنشگر فولین سیوکالتو به آن اضافه گردید، سپس محتویات ارلن مایر را به شدت مخلوط و بعد از ۳ دقیقه، ۳ میلی لیتر از محلول ۲٪ کربنات سدیم اضافه شد و محلول را به مدت ۲ ساعت روی صفحه تکان دهنده با شدت متوسط قرار داده و سپس جذب آن به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۷۶۰nm قرائت شد. مراحل قبل نیز برای محلول های استاندارد اسید گالیک (۱۰۰۰-۰ میکروگرم در ۰/۱ میلی لیتر) انجام گرفت و منحنی استاندارد آن را رسم کرده و بر اساس آن غلظت مواد فنولیک را محاسبه و بر حسب میکرو گرم اسید گالیک بر میلی لیتر اسانس بیان شد(۲۴).

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی: ارزیابی توانایی هیدروژن دهندگی عصاره ها و اسانس‌ها، به واسطه بی رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH اندازه‌گیری می شود(۲۵). در این ارزیابی طیف سنجی، از رادیکال پایدار دی فنیل

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

پیکریل هیدرازیل به عنوان عامل واکنش دهنده استفاده می‌شود. روش کار بدین صورت بود که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس(از ۵ تا ۴۰ PPM) به ۵ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH افزوده شد و بعداز ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۵۱۷nm در مقایسه با شاهد قرائت شد. بازداری رادیکال آزاد DPPH بر ساس درصد(I٪)به صورت زیرمحاسبه شد:

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100$$

که A_{blank} جذب محلول شاهد (حاوی همه مواد واکنشگر به جز اسانس) و A_{sample} جذب محلول حاوی غلظت های مختلف اسانس است. آنتی اکسیدان سنتزی BHT نیز به عنوان کنترل مثبت استفاده و آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد و میانگین آن ها بعنوان مقدار مورد نظر اعلام شد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس به صورت مقدار IC_{50} که نشان دهنده غلظتی از اسانس است که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می گردد بیان گردید.

تعیین حداقل غلظت‌مهارکننده (Minimum inhibitory concentration): جهت تعیین حداقل غلظت مهارکننده MIC از غلظت های متوالی اسانس (۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۰/۳۱۲ درصد) استفاده گردید، ابتدا از محیط کشت مولر هینتون براث (مرک آلمان) ۱۰۰ میکرولیتر در داخل ردیف اول تا آخرین غلظت مورد نظر چاهک‌ها ریخته شد (در تمام محیط های کشت مورد استفاده در این تحقیق درصد نمک مورد نیاز هر باکتری افزوده گردید). سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر اسانس یا عصاره اضافه گردید (قبلاً غلظت‌های مورد نظر اسانس توسط حلال دی متیل سولفوکساید ۱۰ درصد DMSO ساخته شد. بعد از مخلوط نمودن محتویات چاهک اول، ۱۰۰ میکرولیتر از آن برداشته و به چاهک بعدی اضافه گردید. از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر دور ریخته شد. برای هر ردیف آزمایش (مربوط به یک اسانس یا عصاره) یک ردیف کنترل در نظر گرفته شد. مراحل تهیه رقت از اسانس به همان روش ردیف آزمایش انجام شد. سپس به گودهای ردیف آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون آماده باکتری مورد نظر (با تراکم $۱۰^{۶}$×۵/ ۱ باکتری در میلی لیتر) اضافه گردید، ولی به ردیف کنترل باکتری اضافه نگردید. جهت انجام این آزمون از روش میکرودایلوشن استفاده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای مناسب برای هر باکتری نتایج توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر قرائت گردید. وجود کدورت (در مقایسه با ردیف کنترل) حاکی از رشد باکتری و شفافیت، نشان دهنده عدم رشد باکتری می‌باشد(۲۷و۲۶).

حداقل‌غلظت کشندگی‌باکتری(Minimum bactericidal concentration): برای تعیین حداقل غلظت کشندگی ۱۰ میکرولیتر از محتوای چاهک‌ها در پایان ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری، روی محیط مولر هینتون اگار (مرک آلمان) کشت داده شد. ظرف پتری به منظور بررسی رشد باکتری‌ها به مدت ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و در نهایت کمترین غلظتی از اسانس یا عصاره که در آن ۹۹/۹ درصد باکتری-ها رشد نداشتند بعنوان MBC گزارش شد. تمام آزمایش ها سه بار تکرار شدند(۲۷).

یافته ها

براساس نتایج حاصل از آنالیز اسانس مورد مطالعه میزان بازده اسانس گیاه مرزنجوش ۲٪ بر اساس وزن خشک نمونه می باشد. جدول ۱ ترکیبات عمده تشکیل دهنده اسانس مرزنجوش همراه با زمان بازداری و درصد هر ترکیب را نشان می دهد که این ترکیبات شناسایی شده در مجموع ۹۹/۹۳٪ اسانس را شامل می شوند. بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس را کارواکرول(۴۹/۳۳٪)، گاما ترپینن(۱۵/۳۳٪)، بنزن،اتیل- دی متیل (۶/۱۴٪)، کارواکرول‌متیل‌اتر (۴/۲٪)، میرسن (۳/۳۶٪)، تیمول (۲/۷۹٪)تشکیل می دهند.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس: ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس براساس روش DPPH انجام شد و IC_{50} برای اسانس مورد نظر برابر با ۰/۰۳±۱۲/۴۵ میکروگرم بر میلی لیتر بود که در مقایسه با بوتیلتید هیدروکسی تولوئن (BHT) (با ۰/۰۱±۷/۰۳) ضعیف تر است. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس مهار رادیکال های آزاد با قدرت بیشتری صورت گرفت.

میزان ترکیبات فنولیک اسانس: محتوی فنل اندازه گیری شده اسانس از روش فولین سیوکالتو ۴/۲۳±۳۹/۱۱ میلی گرم اسید گالیک در گرم اسانس بود.

جدول ۱. آنالیز ترکیبات اسانس مرزنجوش با استفاده از GC/MS

ردیف	ترکیبات	زمان بارداری (دقیقه)	درصد	ردیف	ترکیبات	زمان بارداری (دقیقه)	درصد
۱	کارواکرول	۳۴/۵۳	۴۹/۳۳	۱۶	آلفا- پینن	۲۰/۷۲۸	۰/۵۶
۲	گاماترپینن	۲۲/۴۱	۱۵/۵۳	۱۷	آلفا- پینن	۱۵/۹۹۸	۰/۸۳
۳	بنزن،۱-اتیل-۲، ۴-دیمتیل	۲۰/۳۳۶	۶/۱۴	۱۸	بتا پینن	۱۸/۰۶۵	۰/۲۶
۴	کارواکرول متیل اتر	۳۱/۵۵	۴/۲	۱۹	بتا- بیسابولن	۴۴/۳۷۶	۰/۲۷
۵	میرسن	۱۸/۷۳۶	۳/۳۶	۲۰	۱،۳،۶-اکتاترین،۳،۷-دی متیل	۲۱/۶۸۵	۰/۲۹
۶	تیمول	۳۳/۶۶۸	۲/۷۹	۲۱	فلاندرن	۱۹/۴۷۵	۰/۰۲۶
۷	۳-اکتانون	۱۷/۸۶۴	۲/۷۸	۲۲	دی- لیمونن	۲۰/۷۸۵	۰/۲۶
۸	آلفا ترپینن	۲۰/۱۴۵	۲/۳۵	۲۳	ال- لینالول	۲۴/۱۶۸	۰/۲۳
۹	آلفا-فلاندرن	۱۵/۶۳۶	۲/۰۷	۲۴	الفا-ترپینول	۲۹/۰۴۸	۰/۲۳
۱۰	آلفا- کاریوفیلن	۴۵/۷۳۹	۱/۹۹	۲۵	بتا- سزکوئی فلاندرن	۴۴/۹۷۱	۰/۲
۱۱	سیس-اوسمن	۲۱/۰۹۵	۱/۹	۲۶	۲- هگزنال	۱۱/۰۱۷	۰/۱۹
۱۲	۷-اکتن-۴-اول، ۱-اکتن-۵-اول	۱۷/۷۵۷	۱/۱۹	۲۷	کارواکریل استات	۳۷/۳۲۲	۰/۱۶
۱۳	ترپینول، زد- بتا	۲۲/۵۷۸	۰/۹۷	۲۸	کامفن	۱۶/۶۵۲	۰/۱
۱۴	بتا کاریوفیلن	۴۰/۷۷۷	۰/۴۸	۲۹	۳-کارن	۱۹/۸۸۷	۰/۱
۱۵	ترپینول-۴	۲۸/۲۷۱	۰/۸۲	۳۰	ترپینولن	۲۳/۸۸۱	۰/۰۹

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): نتـایج حـداقل غلظـت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس مرزنجوش به روش میکرودایلوشن بـراث بـر میکروارگانیـسم-هـای مـورد مطالعـه در جدول ۲ آمده است. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس دارای اثرات ضد میکروبی می باشد. بطور کلی با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان گفت که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نسبت به اسانس نشان می‌دهند.

جدول ۲. حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) و حداقل غلظت کشندگی(MBC) اسانس مرزنجوش برروی باکتری های مورد مطالعه بر حسب درصد

باکتری	نوع باکتری	اسانس مرزنجوش Mean±SD	
		MIC	MBC
لیستریا مونو سیتوژنز	+	۰/۶۲۵±۰/۰۱	۱/۲۵±۰/۰۲
اشیرشیاکولای	–	۱/۲۵±۰/۰۲	۲/۵±۰/۰۱

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج، اسانس مرزنجوش بخارایی دارای اثر مهاری بر روی باکتری های مورد مطالعه بود، به طوری که لیستریا مونوسایتوژنز نسبت به اشرشیاکلی در برابر اسانس مقاومت کمتری از خود نشان داد. همچنین نتایج نشان دهنده خصوصیات آنتی اکسیدانی اسانس مذکور بود. نتایج حاکی از این است که قدرت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضدمیکروبی اسانس متاثر از وجود ترکیبات فنلی موجود در اسانس می باشد، ترکیبات به دست آمده از این پژوهش با سایر مطالعات انجام شده همخوانی دارد(۲۹و۲۸).

Andi و همکاران در مطالعه ای که بر روی اسانس گونه های دیگر مرزنجوش جمع آوری شده از جنوب چالوس انجام دادند، ترکیبات تشکیل دهنده غالب در مراحل گلدهی لینالیل استات (۲/۲۷٪)، گاماترپین (۱۶/۵٪)، ۳-اکتانون (۱۰/۹٪)، کارواکرول (۶/۴٪) و در مرحله بذر دهی کارواکرول (۲۳/۲٪)، آلفا پینن (۱۵/۸)، بتاپینن (۱۰/۷) و ترانس کاربوفیلن (۵/۳٪) را گزارش نمودند که از نظر ترکیبات، مشابه با این مطالعه بود ولی از لحاظ درصد ترکیبات تشکیل دهنده با هم متفاوت هستند(۸). در مطالعه ای که توسط Tahmasebi و همکاران بر روی اسانس گیاه مرزنجوش انجام گرفته بود نشان داد که بیشترین ترکیب اجزای اسانس سزکوئی ترپن، و در گونه های دیگر غالب ترین اجزای اسانس ترپینولن-۴-ال و گاما ترپینن می باشد (۳۰).

در پژوهشی دیگر در هند که بر روی دو گونه O. majorana و O. vulgare spp. Hirtium انجام شده بود نیز بیشترین مقدار اسانس مربوط به ترپینولن-۴-ال گزارش شده بود(۳۱). Sokmen و همکاران با آنالیز اسانس گیاه مرزنجوش نشان دادند که بالاترین میزان ترکیب موجود در اسانس کارواکرول می باشد(۳۲) که با نتایج آنالیز اسانس این مطالعه شباهت دارد. محققان با بررسی ویژگی های ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی فیلم خوراکی حاوی اسانس آویشن نشان دادند که افزایش غلظت اسانس، غلظت ترکیبات فنولیک را به طور معنی داری افزایش داده، به دنبال آن خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی هم افزایش می‌یابد (۳۳). ارزیابی اثرات ضداکسایشی اسانس و عصاره متانولی آویشن شیرازی، مریم گلی، رزماری، خالواش و دارچین نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای بیشترین اثر آنتی اکسیدانی (IC50=۶۶۷µg/ml) بود که این مقدار نسبت به این مطالعه بسیار بالا و به طبع آن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی ضعیفتری می باشد(۳۴). درصد مهارکنندگی به طور معکوس با فعالیت آنتی رادیکالی ترکیب ها در ارتباط است، در پژوهشی دیگر درصد مهارکنندگی اسانس جعفری برابر با ۸۰/۲۱ میلی گرم بر میلی تر بود که نشان از پایین بودن خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه جعفری می باشد(۳۵). Alma و همکاران در بررسی اثرات آنتی اکسیدانی نوعی مرزنجوش دریافتند که اثرات آنتی اکسیدانی اسانس وابسته به غلظت می باشد و اندکی کمتر از اسید اسکوربیک یا BHT بود، آنها این اثر را به غلظت بالای ترکیبات فنلی از قبیل کارواکرول (۲۶/۹۷٪) تیمول متیل اتر (۱/۳٪) در اسانس گیاه نسبت دادند (۳۶) که در این مطالعه نیز بالا بودن میزان کارواکرول (۴۹/۳۳٪) می تواند دلیلی بر بالا بودن قدرت آنتی اکسیدانی گیاه مرزنجوش باشد که این بازدارندگی نسبت به BHT ضعیف تر بود.

در مطالعات دیگری با بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن و مرزه، با درصد مهار کنندگی به ترتیب ۸/۹ و ۵/۸ میلی گرم در میلی لیتر (۳۷) و عصاره متانولی و اسانس نعناع، به ترتیب با درصد مهار کنندگی µg/ml ۷۴/۴ و µg/ml ۱۰۷۰۰(۳۸) نشان از بالا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه مرزنجوش بخارایی می باشد. Mahmoudzadeh و همکاران با بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس کهلیک اوتی نشان دادند که میزان IC50 اسانس کهلیک اوتی در مهار رادیکال های آزاد ۳۲/۳۵ میکرو گرم بر میلی لیتر بود که قدرت مهارکنندگی آن نسبت به اسانس مرزنجوش پایین تر است، همچنین اسانس کهلیک اوتی نیز نسبت به BHT خاصیت آنتی اکسیدانی ضعیف تری نشان داده است که با این مطالعه همخوانی دارد(۳۹).

وجود ساختار متفاوت در دیواره باکتری های گرم مثبت و منفی، باعث تغییر میزان مقاومت آنها به ترکیبات ضد میکروبی می شود. با توجه به اینکه قسمت اعظم ساختمان دیواره باکتری های گرم منفی از لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید تشکیل شده است، همچنین وجود لایه نازک موکوپپتید در دیواره آن ها، می توان مقاومت بالاتر این باکتری ها را به غشای فسفولیپیدی خارجی نسبت داد که این امر در نتایج سایر محققان نیز گزارش شده است (۴۰). Mahmoudi و همکاران نشان دادند که اثرات ضد میکروبی اسانس پونه کوهی بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برابر با غلظت ۰/۰۱۵ و ۰/۰۳ درصد می باشد(۴۱). در مطالعه ای نشان داده شد باکتری های عامل عفونت بیمارستانی حساسیت بالایی نسبت به مرزنجوش داشته و بسته به نوع میکروب و غلظت اسانس یا عصاره گیاه، می تواند اثرات ضدباکتریایی از خود نشان دهد.

در این بررسی اثرات اسانس مرزنجوش بر باکتری های پاتوژن شامل، اشرشیا کلی، باسیلوس اورئوس، کلبسیلیا پنمونیا، هلیکوباکتر پیلوری انجام گرفت. مرزنجوش بر تمام ارگانیسم های مورد آزمایش اثرات بازدارندگی نشان داد. این محققین پیشنهاد کردند که مرزنجوش به تنهایی و یا به صورت ترکیب می تواند در درمان عفونت ها موثر واقع شود(۴۲) که مطالعه ما هم بر اساس نتایج آزمایش مبنی بر خاصیت ضدمیکروبی اسانس مرزنجوش بخارایی می تواند موید این مطلب باشد. در مطالعه دیگری با بررسی توام پونه و نعناع بر روی باکتری اشریشیاکلی میزان MIC پونه بر باسیلوس سرئوس برابر با ۵۰۰۰ و اشریشیاکلی ۴۱۶۶ میکروگرم بر میلی لیتر و اسانس نعناع بر دو باکتری ۱۰۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود که این

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

نتایج با پژوهش ما همخوانی دارد. همچنین Sefidkon و همکاران اثرات سه گونه مرزه بر روی باکتری سالمونلا پاراتیفی را مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد اسانس مرزه در غلظت های ۲/۵ و ۵ درصد خاصیت مهار کنندگی دارد که نسبت به اسانس مرزنجوش خاصیت ضدمیکروبی پایین تری دارد(۴۳). یک مطالعه، نشان داد که اسانس مرزنجوش دارای اثرات ضد میکروبی بر روی باکتری سالمونلا تیفی موریوم بود که غلظت ۱ درصد از اسانس رشد میکروب را مهار نمود(۱۶). نتایج MIC این پژوهش نمایان ساخت که اسانس این گونه از مرزنجوش در غلظت کمتری (۰/۶۲۵٪) می تواند نسبت به باکتری‌ها اثرات بازدارندگی از خود نشان دهد. در بررسی دیگری مشاهده شد اسانس مرزنجوش به طور موثری مانع رشد میکروب های تولید شده در غذا مانند سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسایتوژنز، باسیلوس سرئوس و اشرشیاکلی شد(۴۴).

در نهایت می‌توان گفت تفاوت در نتایج به دست آمده در تحقیقات مختلف می‌تواند در ارتباط با تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان، مکانیزم مختلف واکنش آنها و سینتیک متفاوت واکنش‌های مهاری آنها (تحت تاثیر ژنتیک، آب، هوا، محیط، فصل برداشت و...) در روش‌های انتخابی باشد. همچنین رابطه مستقیم بین میزان فنل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی وجود دارد(۴۵). با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر و نیاز به استفاده از نگه دارنده های طبیعی می توان از اسانس مورد نظر در صنعت غذا جهت افزایش مدت زمان ماندگاری و محافظت آن در برابر عوامل اکسایشی و میکروبی و کنترل بیماری های میکروبی ناشی از غذا، استفاده بهینه نمود. پیشنهاد می شود در مطالعات آتی از این اسانس در مدل های غذایی و به صورت ترکیب با سایر اسانس ها مورد توجه و بررسی بیشتر قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه ارومیه و همچنین از همکاری جناب آقای مهندس اسدی کارشناس آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Essential Oil of *Origanum vulgar ssp. Gracile*

F. Moulodi (MSc)[1], M. Alizade Khaledabad (PhD)[1], R. Mahmoudi (PhD)*[2,3], M. Rezazad Bari (PhD)[1]

1.Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I.R.Iran

2.Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran

3.Health Products Safety Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 20(10); Oct 2018; PP: 36-44

Received: Feb 11th 2018, Revised: May 21st 2018, Accepted: May 26th 2018.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Nowadays, in order to improve the health and reduce the risks of chemical preservatives in the food industry, researchers have focused on the use of natural compounds, especially plants essential oils that have antioxidant and antimicrobial properties, due to the increased risk of bacteria Escherichia coli and Listeria monocytogenes in foods, in this study the antimicrobial and antioxidant properties of Origanum vulgar ssp. Gracile essential oil were investigated in vitro.

METHODS: In this experimental study, Origanum vulgar ssp. Gracile plant was prepared from Kurdistan and after drying and extraction of essential oils, components were identified using GC-MS device. Strains were prepared from the bacteriology laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz University. In order to determine the minimum inhibitory and fatality concentration, various concentrations of extract were used (0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5 and 10 %), the minimum inhibitory and fatality concentration were determined using microdilution method. The antioxidant activity was performed by using the DPPH method and Total phenolic material was measured by Folin Ciocalteu reagent.

FINDING: Based on the results of GC-MS analysis, carvacrol (49.33%) had the most component of the extract composition. The MIC and MBC of essential oils on Escherichia coli were 1.25 and 2.5%, respectively, and 0.625 and 1.25% for Listeria monocytogenes, respectively. In addition, the antioxidant activity 12.45±0.03 µg/ml, and the content of phenol 39.13±4.13 mg of gallic acid in grams of essence was calculated.

CONCLUSION: The results of this study showed that Origanum vulgar ssp. Gracile essential oil had antioxidant properties, and the essence had an inhibitory effect on both bacteria and Listeria monocytogenesis was less resistant than Escherichia coli to the essential oil.

KEY WORDS:*Origanum Vulgar Essential Oil, Antioxidant Activity, Anti-Microbial Activity, Minimum Inhibitory Concentration.*

Please cite this article as follows:

Moulodi F, Alizade Khaledabad M, Mahmoudi M, Rezazad Bari M. Chemical Composition, Antimicrobial And Antioxidant Properties of Essential Oil of *Origanum vulgar ssp. Gracile*. J Babol Univ Med Sci. 2018;20(10):36-44.

***Corresponding Author: R. Mahmoudi (PhD)**

Address: Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Bahonar Blv., Qazvin, I.R.Iran

Tel: +98 28 33237269

E-mail: r.mahmodi@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]

[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

References

1.Nascimento GG. Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. Braz J Microbiol. 2000; 31(4): 245-56.

2.Soltanipoor M, Rezaei M, Moradshahi A, Kholdebarin B, Barazandeh M. The Comparison of Constituents of Essential Oils of Zhumeria majdae Rech. f. & Wendelbo at Flowering Stages in Various Parts of Hormozgan Province. J Med Plants. 2007;1(21) :42-47.

3.Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chem. 2008;108(3):986-95.

4.Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N, Anackov G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. J Agricul Food Chem. 2006;54(5):1822-8.

5.Ahmadi F, Kadivar M, Shahedi M. Antioxidant activity of Kelussia odoratissima Mozaff in model and food systems. Food Chem. 2007;105(1):57-64.

6. Kintzios SE. editor. Oregano: The Genera Origanum and Lippia. Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profiles. USA: Taylor and Francis/CRC Press. 2002. p. 67-108.

7.Kokkini S. Taxonomy, diversity and distribution of Origanum species. In: Padulosi, S. (ed.) Oregano. Proceeding of the 14th IPGRI International Workshop. Italy: Rome. 1996; 2-12.

8.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. Iran J Horticul Sci. 2012;43(2):153-9.

9.Moradi M. Hassani A. Sefidkon F. Maroofi H. Chemical composition of leaves and flowers essential oil of Origanum vulgare ssp. gracile growing wild in Iran. J Essent Oil Bear Plants. 2015;18(1):242-7.

10.Azizi A. Yan F, Honermeie B. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (Origanum vulgare L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. Indust Crops Prod. 2009;29(2):554-61.

11.Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. Bioresour Technol. 2008;99(18):8788-95.

12.Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-a review. Food Chem Toxicol. 2008;46(2):446–75.

13.Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chem. 2004;85(4): 633-40.

14.Moreira PI, Smith MA, Zhu X, Honda K, Lee HG, Aliev G, et al. Oxidative damage and Alzheimer's disease: are antioxidant therapies useful. Drug News Perspect. 2005;18(1):13-9.

15.Peñalver P, Huerta B, Borge C, Astorga R, Romero R, Perea A. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae famil. APMIS. 2005;113(1):1-6.

16.Dakhili M, Zahraei Salehi T, Torabi Goodarzi M, Khavari A. Evaluation of Antimicrobial Effects of 4 Medicinal Plants Against Salmonella typhymurium and Comparision them with Common Antibiotics in Veterinary Medicine. J Med Plants. 2006; 4(20):21-6. [In Persian]

17.Sarikurkcu C, Zengin G, Oskay M, Uysal S, Ceylan R, Aktumsek A. Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two Origanum vulgare subspecies (subsp. vulgare and subsp. hirtum) essential oils. Indust Crops Prod.2015; 70:178-84.

18.Imtara H, Elamine Y, Lyoussi B. Honey Antibacterial Effect Boosting Using Origanum vulgare L. Essential Oil. Evid-Based Comple Alternat Med. 2018; 2018:Article ID 7842583.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

19..Mockute D, Bernotiene G, Judzentiene A. The ß-ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from Origanum vulgare ssp. vulgare growing wild in Lithuania. Biochem Syst Ecol. 2003; 31(3): 269-78.

20.Baranska M, Schulz H, Kruger H, Quilitzsch R. Chemotaxonomy of aromatic plants of the genus Origanum via vibrational spectroscopy. Anal Bioanal Chem. 2005; 381(6): 1241-7.

21.Reichert S, Wust M, Beck T, Masandl A. Stereoisomeric flavor conpounds LXXXI: dill ether and its cis-Stereoisomers: synthesis and enantioselective analysis. J High Resol Chromatogr.1998; 21(3):185-9.

22.Sefidkon F, Rahimi Bidgoli A. Quantitative and qualitative variation of essential oil of thymus kotschyanus by different methods of distillation and stage of plant growth. Iran J Med Aromat Plants. 2003; 15:1-22. [In Persian]

23.Mahmoudi R. Effect of Mentha longifolia L. Essential oil on physicochemical properties of the bio-ayran. J Essential oil Bearn Plant. 2014; 17(1):56-66.

24.Mahmoudi R, Nosratpor S. Teucrium polium L. essential oil: Phytochemiacl component and antioxidant properties. Int Food Res J. 2013; 20(4):1697-701.

25.Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytother Res. 2000; 14(5):323-8.

26.Akbar Jafari A, Shohrati M, Mahmoudi R, Haj Hoseini R, Nosratpour S, Pajohi-Alamoti M, et al. Chemical composition and biological activities of Scrophularia striata extracts. Minerva Biotechnol. 2014; 26(3):183-9.

27.Keykavousi M, Ghiassi Tarzi B, Mahmoudi R, Bakhoda B, Kabudari A, Rahimi Pir Mahalleh F. Study of antibacterial effects of Teucrium polium essential oil on Bacillus cereus in cultural laboratory and commercial soup Carpathian. J Food Sci Technol. 2016;8(2):193-201.

28.Rasooli I, Mirmostafa SA. Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from Thymus kotschyanus and Thymus persicus. J Agric Food Chem. 2003; 51(8):2200-5.

29.Bagci E, Baser, KH. Study of the essential oils of Thymus haussknechtii Velen and Thymus kotschyanus Boiss. et Hohen var. kotschyanus (Lamiaceae) taxa from the eastern Anatolian region in Turkey. Flavour Fragrance J. 2005; 20(2):199-202.

30.Tahmasebi S, Majd A, Mehrafarin A, Jonoubi P. Qualitative and Quantitative Assessment of the Essential Oils of Origanum vulgare and Origanum majorana in Iran. J Med Plants. 2014; 2(50):163-71. [In Persian]

31. Raina AP, Negi KS. Essential oil composition of origanum majorana and origanum vulgare ssp. Hirtum growing in India. Chem Nat Compd. 2011; 47(6):1015-7.

32.Sokmen M, Serkedjieva J, Daferera D, Gulluce M, Polissiou M, Tepe B, Akpulat HA, Sahin F, Sokmen A. In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of Origanum acutidens. J Agric Food Chem. 2004; 52(11): 3309-12

33.Mehdizadeh T, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR. Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing Thymus kotschyanus essential oil. Vet Res Forum. 2012; 3(3):167-73.

34.Hosseini N, Malekirad A, Changizi Ashtiani S, Nazemi M. Free radicals scavenging activity of essential oils and different fractions of methanol extract of zataria multiflora, salvia officinalis, rosmarinus officinalis, mentha pulegium and cinnamomum zeylanicum. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci. 2012; 20(1):28-38. [In Persian]

35.Zhang H, Chen F, Wang X, Yao H. Evaluation of antioxidant activity of parsley (Petroselinum crispum) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Res Int. 2006; 39(8):833-9.

36.Alma MH, Mavi A, Yildirim A, Digrak M, Hirata T. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from origanum syriacum L. growing in Turkey. Biol Pharm Bull. 2003; 26(12):1725-9.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]

37.Fazel M, Omidbeygi M, Barzegar M and Naghdi Badi H. Influence of heating on antiradical activity of essential oils of Thyme, Summer Sarvory and Clove by 2, 2- Diphenyl- 1- Picrylhydrazyl (DPPH•) Method. J Med Plants. 2007; 2(22):54-63. [In Persian]

38.Gulluce M, Sahin F, Sokman M, Ozer H, Daferera D, Sokman A. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. longifolia. Food Chemistry. 2007; 103(4): 1449-56.

39.Mahmoudzadeh F, Mahmoudi R, Ghajarbeygi P, Kezeminia M. Chemical composition and antioxidant properties of essential oil of thymus kotschyanus L. collected from east azarbaijan province, Iran. Mljgoums. 2017; 11(1):1-6.

40.Calo JR, Crandall PG, O'Bryan CA, Ricke SC. Essential oils as antimicrobials in food systems–A review. Food Control. 2015; 54: 111-9.

41.Mahmoudi R, Ehsani A, Tajik H, Akhonzade Bastiand A, Khosrowshahi A. Antimicrobial effects of mentha longifolia l. essential oil and lactobacillus casei against staphylococcus aureus in iranian white cheese. J Food Res. 2010; 3(1):147-61.

42.Preuss HG, Echard B, Enig M, Brook I, Elliott TB. Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. Mol Cell Biochem. 2005; 272(1-2):29-34.

43.Sefidkon L, Sadeghzadeh M, Teimouri F, Asgari and Sh. Ahmadi. Antimicrobial effects of the essential oils of two Satureja species (S. Khuzistanica Jamzad and S. bachtiarica Bunge) in two harvesting time. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2007; 23(2):148-53

44.Chorianopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitaku S, Nychas GJ, Haroutounian SA. Essential oils of Satureja, Origanum, and Thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. J Agric Food Chem. 2004; 29;52(26):8261-7.

45.Muret K, Sevgi K, Sengul K, Esra U, Cemalettin B and Fedra V. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry. 2007; 100:534-26.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1397.20.10.5.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.20.10.36]