بررسی اثر pH و زمان نگهداری بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس و عصاره گیاه به‌لیمو در سیستم غذایی مدل

علی‌اکبر غلامحسین‌پور [a]، سید محمدباقر هاشمی [b]*، سیمین شکری [c]

[a] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

[b] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا، فسا، ایران

[c] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

Archive of SID

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۳/۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۹/۲۵

چکیده

مقدمه: گیاه به‌لیمو سرشار از ترکیبات فلاوونوئیدی است که می‌تواند فساد میکروبی و اکسایشی مواد غذایی را کاهش داده و منجر به بهبود و ارتقای ماندگاری سیستم‌های غذایی گردد.

مواد و روش‌ها : برای بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس و عصاره در سیستم غذایی مدل، از امولسیون غذایی تیمار شده با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد اسانس و عصاره آبی- الکلی در pHهای ۵، ۷ و ۹ استفاده شد. پارامترهای اکسایشی عدد پراکسید، عدد آنیزیدین و عدد دی‌ان مزدوج و همچنین شمارش کل میکروارگانیسم‌ها طی هشت روز دوره نگهداری اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: اسانس و عصاره آبی- الکلی در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضدمیکروبی خوبی نشان دادند. در آزمون مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) و توان احیاءکنندگی (FRAP)، میان اسانس و عصاره آبی- الکلی تفاوت معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۵) مشاهده نگردید. نتایج فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره آبی- الکلی در سیستم غذایی مدل نیز نشان داد که اسانس و عصاره هر دو تعداد کل میکروارگانیسم‌ها و محصولات اکسایشی را طی ۸ روز نگهداری در مقایسه با نمونه شاهد کاهش دادند. فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره با pH ارتباط مستقیم داشت، به‌گونه‌ای که در pHهای پایین، فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج کلی این پژوهش نشان داد که از اسانس و عصاره به‌لیمو می‌توان در محصولات غذایی به‌عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *اسانس، به‌لیمو، عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضدمیکروبی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: hasshemii@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

فساد مواد غذایی یکی از مشکلات اقتصادی و بهداشتی در صنایع غذایی طی عرضه محصول به بازار می‌باشد. از جمله این فسادها می‌توان به فسادهای میکروبی و اکسایشی اشاره نمود (Tajkarimi *et al.*, 2010). فساد میکروبی، که ناشی از رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی است، ارزش مواد غذایی را پایین آورده و آنها را غیر قابل مصرف می‌سازد. برای کاهش این دسته از فسادها، می‌توان از ترکیبات ضدمیکروبی مجاز در مواد غذایی استفاده نمود. اکسایش چربی‌ها نیز یکی دیگر از مهمترین دلایل فساد مواد غذایی است که بر رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای آنها اثر منفی گذاشته و حتی می‌تواند منجر به ایجاد ترکیبات سمّی در مواد غذایی گردد (Victoria *et al.*, 2012). طبق اظهارات Albayrak و همکاران در سال ۲۰۱۰، آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد باعث کاهش سرعت واکنش‌های اکسایشی شوند.

در سال‌های اخیر، افزودنی‌های طبیعی، به‌دلیل سلامت‌زایی، مورد توجه خاصی قرار گرفته و تحقیقات گسترده‌ای به‌منظور استفاده از این ترکیبات در مواد غذایی، به جای افزودنی‌های سنتزی، انجام شده است. نکته مهم در ارتباط با این ترکیبات طبیعی این است که آنها نه تنها زیان‌های ناشی از مصرف افزودنی‌های مصنوعی را ندارند، بلکه استفاده از آنها می‌تواند به حفظ و تامین سلامت انسان نیز کمک نماید. عصاره و اسانس گیاهان می‌توانند به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی در مواد غذایی به کار رفته و جایگزین ترکیبات سنتزی شوند (Weerakkody *et al.*, 2010).

به‌لیمو با نام علمی *Lippia Citriodora* گیاه معطری از خانواده شاه‌پسند (*Verbenaceae*) می‌باشد. هرچند این گیاه بومی آمریکای جنوبی است اما در نواحی مختلف کشور نیز پرورش می‌یابد. برگ و سرشاخه گل‌دار به‌لیمو دارای اثرات دارویی بوده و برای آن خواص تب‌بری، مسکن، ضد نفخ، ضد تشنج، کمک‌کننده به هضم غذا، آرام‌بخشی، برطرف‌کننده دردهای شکمی، رفع تپش قلب، رفع دردهای عصبی و سرگیجه، رفع صداهای گوش، رفع خستگی بدن، از بین بردن علائم سرماخوردگی و اثر مقوی بر معده را ذکر کرده‌اند. این گیاه، به سبب عطری که دارد، به‌عنوان ادویه در صنعت مواد غذایی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌لیمو سرشار از ترکیبات فلاوونوئیدی است و اسانس آن خاصیت باکتری‌کشی و حشره‌کشی دارد (Bensabah *et al.*, 2015).

اگر چه در ارتباط با ویژگی‌های مختلف برخی از گیاهان دارویی مطالعات گسترده‌ای انجام شده، اما در خصوص اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی گیاه به‌لیمو مطالعات معدودی صورت گرفته است. Ghaemi و همکاران (۲۰۰۷) اثر عصاره الکلی گیاه به‌لیمو بر *استافیلوکوکوس اورئوس* را مورد مطالعه قرار داده و مشاهده کرده‌اند که استفاده از پماد تهیه شده از عصاره اتانولی گیاه به‌لیمو می‌تواند عفونت ناشی از این باکتری را در محل آلودگی آن به تاخیر بیاندازد. مطالعه صورت گرفته در خصوص اثر ضدمیکروبی اسانس گیاه به‌لیمو نیز حاکی از اثر بازدارندگی این اسانس بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متیسیلین (MRSA) بود. در همین مطالعه مشاهده شد که با افزایش پیوسته غلظت اسانس تا ۵۵ µl/ml، درصد بازدارندگی رشد نیز افزایش می‌یابد (Ansari *et al.*, 2012). در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گل به‌لیمو و توانایی آن در مهار آنزیم تیروزیناز، گزارش گردید که اسانس گل به‌لیمو خاصیت ضدمیکروبی شدیدی علیه باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* داشت، هرچند بر باکتری‌های گرم منفی *اشریشیاکلی* و *سودوموناس ائروجینوزا* اثر کمتری از خود نشان داد. همچنین مشاهده گردید که اسانس گل به‌لیمو بر مهار آنزیم تیروزیناز اثر قابل توجهی دارد، به‌گونه‌ای که در رقت‌های مصرفی، آنزیم مذکور را به‌طور کامل مهار نمود (نصیری و همکاران، ۱۳۹۲). در بررسی تغییرات ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس برگ به‌لیمو طی مراحل مختلف رشد مشاهده شد که مراحل رشد، تاثیر معنی‌داری بر درصد ترکیبات اصلی اسانس به‌ویژه سیترال (ژرانیال و نرال)، آرکورکومن، بتاکاریوفیلن اکساید و لیمونن داشت. نتایج همچنین بیان‌گر فعالیت ضدمیکروبی بیشتر اسانس به‌لیمو بر *اشریشیاکلی* در مقایسه با *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی‌موریوم* بود که این اثر در ماه می، به‌دلیل افزایش مقدار سیترال، افزایش می‌یافت. به‌طور کلی، در این پژوهش نوعی همبستگی مثبت میان درصد سیترال و فعالیت ضدمیکروبی به‌دست آمد(Naser AL-Deen *et*

Archive of SID

www.SID.ir

.(*al.*, 2015

در ارتباط با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی اسانس به‌لیمو، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به‌لیمو و تاثیر آن بر پایداری اکسیداتیو روغن سرخ کردنی توسط مسیبی و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد که اسانس به‌لیمو در غلظت‌های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، دارای اثر پراکسیدانی بود و موجب کاهش پایداری روغن سرخ کردنی گردید. تعدادی از پژوهشگران نیز پس از بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و قدرت رادیکال‌گیری عصاره برگ گیاه به‌لیمو، پیشنهاد کرده‌اند که می‌توان پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی، از عصاره متانولی برگ گیاه به‌لیمو به‌عنوان یک منبع آنتی‌آکسیدانی ارزان قیمت و در دسترس، در صنعت غذا و دارو استفاده نمود (نعمت‌شاهی و همکاران، ۱۳۹۳). مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی روبش رادیکالی غلظت‌های مختلف عصاره الکلی برگ به‌لیمو در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در غلظت ppm ۲۰۰، نشان داد که افزایش غلظت عصاره، مقدار ترکیبات فنولی را در مقایسه با نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و این درحالی بود که مقدار ترکیبات فنولی تنها در غلظت‌های ۳۵۰ و ppm ۴۰۰ عصاره، بیشتر از مقدار آنها در غلظت تعریف شده BHT بود. نتایج آنها همچنین حاکی از بالاتر بودن اثر ضد رادیکالی غلظت‌های ۳۰۰، ۳۵۰ و ppm ۴۰۰ عصاره نسبت به BHT بود که دلیل آن را مقادیر بالاتر توکوفرول‌ها و ترکیبات فنولی عصاره‌ها عنوان نمودند (Nemat Shahi *et* .(*al.*, 2014

تاکنون تحقیقات زیادی در مورد اسانس و عصاره گیاهان به‌منظور استفاده در مواد غذایی، به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی، صورت گرفته، اما پژوهش‌های بسیار اندکی در مورد تاثیر عوامل مختلف موجود در مواد غذایی بر فعالیت آن‌ها گزارش شده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر pH و زمان نگهداری بر فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه به‌لیمو در سیستم غذایی مدل می‌باشد تا با شناخت این اثرات، مشکلات و محدودیت‌های استفاده صنعتی از اسانس و عصاره این گیاه در مواد غذایی برطرف گردد.

مواد و روش‌ها

- جمع‌آوری گیاه

برگ‌های خشک گیاه به‌لیمو با رطوبت ۱۲ درصد از مراکز فروش استان فارس تهیه گردید. شناسایی و تایید گیاه در بخش گیاه‌شناسی دانشگاه فسا صورت پذیرفت.

- استخراج اسانس

برای هر بار اسانس‌گیری، پس از آسیاب کردن گیاه، مقدار مشخصی از آن درون بالن تقطیر ۲ لیتری قرار داده شد و پس از پر نمودن بالن به نسبت ۱ به ۵ وزنی- حجمی، با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب، به مدت ۴ ساعت اسانس گیاه تهیه گردید. اسانس به‌دست آمده در ادامه با استفاده از سدیم سولفات بی‌آب کاملاً خشک شد و تا زمان آنالیز درون یک ظروف شیشه‌ای در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، نگهداری گردید. بازده اسانس حاصله براساس حجم اسانس و وزن اولیه گیاه آسیاب شده محاسبه شد.

- استخراج عصاره‌ها

- استخراج عصاره الکلی (متانولی)

برای تهیه عصاره الکلی، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده با ۴۰۰ سی‌سی متانول توسط آسیاب مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی صاف شده و جهت حذف متانول وارد دستگاه روتاری گردید. در نهایت، عصاره الکلی حاصله در شیشه‌های تیره‌رنگ و استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد (Hashemi *et al.*, 2016).

- استخراج عصاره آبی

برای تهیه عصاره آبی، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده با ۸۰۰ سی‌سی آب مقطر توسط آسیاب مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس عصاره به‌دست آمده توسط کاغذ صافی صاف شده و به‌منظور حذف آب وارد دستگاه خشک‌کن انجمادی در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد گردید. در پایان، عصاره آبی به‌دست آمده درون لوله فالکون استریل با درب پارافینی ریخته شد و داخل یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (صمصام شریعت، ۱۳۸۶).

Archive of SID

www.SID.ir

- استخراج عصاره آبی- الکلی

برای تهیه عصاره آبی- الکلی، ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده با ۴۰۰ سی‌سی آب مقطر و ۴۰۰ سی‌سی متانول توسط آسیاب مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس عصاره به‌دست آمده، توسط کاغذ صافی صاف شده و وارد دستگاه روتاری گردید. در آخر، عصاره آبی- الکلی به‌دست آمده در شیشه‌های تیره‌رنگ و استریل ریخته و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال نگهداری شد (صمصام شریعت، ۱۳۸۶).

- آماده‌سازی نمونه

برای تهیه نمونه عصاره آبی خشک شده ۰/۵ گرم از گیاه به حجم ۱۰ سی‌سی رسانده شد و برای بقیه نمونه‌های محلول نیاز به آماده‌سازی نبود.

- تهیه امولسیون

برای تهیه امولسیون مدل، ۲ گرم پودر آب‌پنیر و ۰/۴ گرم پودر صمغ عربی به ۸۰ سی‌سی آب‌مقطر اضافه گردید و مخلوط به‌دست آمده به مدت ۲۴ ساعت درون یخچال قرار داده شد. پس از گذشت مدت زمان مذکور، ۲۰ گرم روغن به همراه ۱، ۲ و ۳ درصد عصاره آبی- الکلی و اسانس به مخلوط اضافه گردید و به مدت ۳ تا ۴ دقیقه درون همزن قرار داده شد. در ادامه امولسیون حاصله به مدت ۲۴ ساعت درون آون و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به‌منظور جداسازی روغن از امولسیون، کلروفرم و اتانول به نسبت ۲:۳ به‌عنوان حلال به امولسیون اضافه گردید و جهت جداسازی درون سانتریفیوژ قرار داده شد. امولسیون به‌صورت یک محلول سه فاز در آمد که برای جداسازی کامل روغن از آن، از دکانتور استفاده گردید. در پایان، روغن استخراج شده درون شیشه‌ای تیره‌رنگ در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، تا زمان انجام آزمایش‌ها، نگهداری گردید.

- آزمون‌های اسانس و عصاره

- شناسایی ترکیبات اسانس (کروماتوگرافی گازی)

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس به‌لیمو از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج استفاده گردید. نوع اینلت دستگاه Split/Splitless و دمای آن ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، نوع ستون HP5-MS به طول ۳۰متر، قطر ۰/۲۵میلی‌متر و قطر فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر، نوع فاز ثابت فنیل متیل سیلوکسان، دمای فضای چهار قطبی دتکتور جرمی ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد، بزرگی میدان الکتریکی آن ۱۷۲۰ الکترون‌ولت و محدوده اسکن بار به جرم از ۳۰ تا ۶۰۰ (m/z) متغیر بود. گاز حامل هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد با جریان ثابت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه از ستون عبور نمود و برنامه‌ریزی آون به‌منظور بهترین وضعیت جداسازی اجزای اسانس بدین صورت تعریف گردید: دمای ابتدایی آون: ۶۰ درجه سانتی‌گراد، میزان تدریجی افزایش دما: ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، دمای نهایی: ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ثابت شده روی دمای نهایی: ۱۰ دقیقه. شناسایی نهایی ترکیبات با استفاده تزریق آلکان نرمال سری C7 تا C24 تحت شرایط یکسان و محاسبه شاخص بازداری کواتس هریک از ترکیبات پیشنهاد شده توسط کتابخانه Wiely 7nl و مقایسه آن با کتاب مرجع آدامز چاپ ۲۰۰۷ و همچنین مقالات چاپ شده بین‌المللی صورت پذیرفت.

- اندازه‌گیری فلزات در اسانس و عصاره

برای اندازه‌گیری غلظت عناصر آهن، مس، جیوه، سرب، آرسینک و کادمیوم در نمونه به‌لیمو، از دستگاه جذب اتمی استفاده گردید. برای تزریق نمونه سرب و آرسنیک از روش شعله و برای تزریق نمونه آهن، مس، کادمیوم و جیوه از روش کوره استفاده شد.

- اندازه‌گیری فنول کل

مقادیر فنول کل در نمونه‌های عصاره‌های گیاهی به روش فولین- سیوکالچو اندازه‌گیری گردید. بر این اساس ۴۰۰ میکرولیتر نمونه رقیق شده درون یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۲۰۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیوکالچو اضافه گردیده و محتویات به مدت ۳ دقیقه با یکدیگر مخلوط شدند. در ادامه ۱۶۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم نیز افزوده شده و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و به دور از نور نگهداری گردید. برای تهیه نمونه شاهد، به جای نمونه از ۴۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر استفاده شد. در پایان نیز میزان جذب نمونه‌ها به روش طیف‌سنجی

Archive of SID

www.SID.ir

توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Kähkönen *et al.*, 1999).

- آزمون DPPH

برای انجام این آزمون از روش Choi و همکاران (۲۰۰۲) با اندکی اصلاحات استفاده گردید. در این روش ابتدا رقت‌های مختلف اتانولی از عصاره با ۱ میلی‌لیتر محلول اتانولی ۰/۳ میلی‌مولار DPPH مخلوط شدند. از مخلوط ۱ میلی‌لیتر اتانول و عصاره نیز به‌عنوان شاهد استفاده گردید. جذب نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه واکنش در دمای اتاق در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. در انتها نیز میزان IC50 (غلظتی از عصاره با توان ۵۰٪ بازدارندگی) از طریق رسم نمودار درصد بازدارندگی در مقابل غلظت عصاره محاسبه گردید.

- اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن (FRAP)

برای اندازه‌گیری توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن از روش Benzie و Strain (۱۹۹۶) استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا ۹۰۰ میلی‌لیتر معرف FRAP با ۹۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط و سپس در یک حمام آب دمای آن به ۳۷ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. در ادامه ۳۰ میلی‌لیتر محلول نمونه (۱۰ میلیگرم در ۱۰ میلی‌لیتر n- هگزان) به مخلوط قبل اضافه گردید و جذب آن در مقابل محلول شاهد در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از غلظت‌های مختلف (۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌مول بر لیتر) سولفات آهن ۷ آبه، یک منحنی استاندارد تهیه شد. در نهایت نتایج بر حسب میلی‌مول Fe^{2+} در واحد جرم بیان گردید.

- آزمون میکروبی اسانس و عصاره

ابتدا محیط کشت مولر هینتون مایع طبق دستور شرکت سازنده تهیه گردید. حدود ۱۰ سی‌سی از محیط تهیه شده درون ظروف شیشه‌ای ریخته شد و پس از دربندی، ظروف حاوی محیط کشت درون اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ اینچ جیوه به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید. در ادامه و تحت شرایط استریل، باکتری‌های مورد آزمون با استفاده از لوپ استریل درون محیط‌های کشت تلقیح و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری گردیدند. پس از گذشت این مدت زمان، محیط کشت آگار مغذی نیز مطابق دستور شرکت سازنده تهیه شد و درون اتوکلاو استریل گردید. پس از استریلیزاسیون، حدود ۳۵ سی‌سی از این محیط جهت انعقاد درون پلیت‌ها ریخته شد. پس از انعقاد محیط، از باکتری‌های تلقیح شده در محیط‌های مایع، ۱۰۰ میکرولیتر روی سطح پلیت ریخته شد و با استفاده از یک میله شیشه‌ای استریل به‌طور کامل پخش گردید. پس از گذشت یک مدت زمان مشخص، سه چاهک به قطر ۵ میلی‌متر روی سطح پلیت‌ها ایجاد شد و از ترکیبات ضدمیکروبی مورد نظر (اسانس و عصاره به‌لیمو)، ۸۰ میکرولیتر درون چاهک‌ها تزریق گردید. جهت جذب این ترکیبات، محیط‌های کشت مدت زمان معینی در دمای یخچال نگهداری شدند و سپس به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت درون گرمخانه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری گردیدند. پس از مدت زمان مذکور، رشد باکتری‌ها و سطح بازدارندگی این ترکیبات بر رشد آنها، مورد بررسی قرار گرفت.

- آزمون‌های سیستم غذایی مدل

- اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV) و عدد آنیزیدین

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید و عدد آنیزیدین از روش AOCS (1998) به‌ترتیب شماره‌های Cd 8-53 و Cd 18-90 استفاده گردید.

- آزمون دی‌ان مزدوج

این شاخص به روش طیف‌سنجی و در طول موج ۲۳۴ نانومتر اندازه‌گیری گردید و از هگزان به‌عنوان شاهد استفاده شد. در این آزمون، نمونه به نسبت ۱ به ۶۰۰ با هگزان رقیق گردید و از ضریب ۲۹۰۰۰ مول بر لیتر برای تعیین غلظت دی‌ان مزدوج تولید شده طی اکسایش استفاده شد (Hashemi *et al.*, 2016).

- آزمون میکروبی سیستم غذایی مدل

پس از تهیه امولسیون‌ها، در روز اول تولید، نمونه شاهد (فاقد اسانس) کشت داده شد. برای کشت میکروبی، ابتدا محیط کشت آگار مغذی، طبق دستور شرکت سازنده، تهیه گردید. سپس محلول رقیق‌کننده سیلین (۹ گرم در ۱۰۰۰

Archive of SID
www.SID.ir

میلی‌لیتر آب‌مقطر) تهیه و پس از ریختن درون لوله‌های آزمایش به‌میزان ۹ میلی‌لیتر، به‌همراه محیط کشت، درون اتوکلاو، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، استریل گردید. پس از استریلیزاسیون، حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محیط استریل، جهت انعقاد، درون هر پلیت ریخته شد. برای کشت دادن، یک میلی‌لیتر از امولسیون درون اولین لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر سیلین ریخته و کاملاً همگن شد، سپس رقت‌های ده‌دهی تا رقت 10^{-8} به همین صورت تهیه گردید. در ادامه به میزان ۰/۱ سی‌سی از محتوای هر لوله آزمایش روی پلیت‌ها ریخته شد و با استفاده از میله شیشه‌ای استریل در سطح آن پخش گردید. پس از خشک شدن، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون گرمخانه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری گردیدند. پس از گرمخانه‌گذاری، پرگنه‌ها شمارش و تعداد آنها گزارش شدند. ۷ روز پس از تولید، از هر چهار نمونه، یعنی نمونه شاهد و سه نمونه حاوی اسانس و عصاره، به همین صورت کشت داده شد و پس از رشد، تعداد پرگنه‌ها شمارش گردید.

- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفت. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی بر مبنای آزمایش فاکتوریل با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 تجزیه و تحلیل شده و میانگین‌های به‌دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند. رسم منحنی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 صورت پذیرفت.

یافته‌ها

- استخراج و شناسایی ترکیبات موجود در اسانس

بازده استخراج اسانس از برگ‌های خشک گیاه به‌لیمو ۱/۸۸ درصد وزنی- حجمی بود. ترکیبات عمده شناسایی شده در اسانس به‌لیمو در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- آنالیز و طبقه‌بندی فیتوشیمیایی ترکیبات موجود در اسانس به‌لیمو

ترکیبات	زمان بازداری	درصد در اسانس	KI*	KI**	طبقه‌بندی
6-Methyl-5-hepten-2-one	۵/۷۵۶	۲/۷۵	۹۸۵/۹۶۷	۹۸۶	مونوترپن
δ- Limonene	۶/۷۴۱	۴/۵۱	۱۰۲۹/۹۲۹	۱۰۳۱	مونوترپن
1,8-Cineole	۶/۸۲۳	۱/۷۲	۱۰۳۳/۳۶۱	۱۰۳۴	مونوترپن
Trans-β- Ocimene	۷/۱۶۱	۱/۵۰	۱۰۴۷/۵۰۹	۱۰۵۰	مونوترپن
Neral	۱۲/۱۵۶	۲۴/۸۸	۱۲۴۳/۰۹۰	۱۲۴۰	مونوترپن
Geranial	۱۲/۹۳۷	۳۱/۲۳	۱۲۷۲/۷۴۱	۱۲۷۰	مونوترپن
α- Cubebene	۱۵/۸۲۲	۱/۵۱	۱۳۸۴/۴۸۳	۱۳۸۲	سزکویی‌ترپن
Trans-Caryophyllene	۱۶/۸۴۳	۶/۲۵	۱۴۲۵/۳۲۵	۱۴۲۸	سزکویی‌ترپن
Germacrene-D	۱۸/۳۴۶	۱۰/۶۰	۱۴۸۶/۴۲۳	۱۴۸۳	سزکویی‌ترپن
Bicyclogermacrene	۱۸/۷۳۱	۳/۸۳	۱۵۰۲/۱۷۱	۱۴۹۷	سزکویی‌ترپن
Nerolidol	۲۰/۲۲۹	۱/۹۷	۱۵۶۵/۹۴۳	۱۵۶۸	سزکویی‌ترپن
α-AmorpHene	۲۰/۵۹۶	۱/۳۵	۱۵۸۱/۵۶۷	۱۵۸۵	سزکویی‌ترپن
Spathulenol	۲۰/۶۴۹	۲/۶۰	۱۵۸۳/۸۲۳	۱۵۷۷	سزکویی‌ترپن
CaryopHyllene oxide	۲۰/۷۸۸	۲/۲۸	۱۵۸۹/۷۴۰	۱۵۸۱	سزکویی‌ترپن
Nonadecane	۲۷/۳۹۲	۱/۵۲	۱۸۹۸/۴۸۳	۱۹۰۰	هیدروکربن
Unknown compounds	-	۱/۴۹	-	-	-
Total Identification	-	۹۸/۵	-	-	-
Monoterpenes	-	۶۶/۵۹	-	-	-
Sesqueterpenes	-	۳۰/۳۹	-	-	-
Other compounds	-	۱/۵۲	-	-	-

* شاخص بازداری کواتس که قبلاً در کتاب آدامز گزارش شده است.

** شاخص بازداری کواتس که از طریق فرمول محاسبه شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

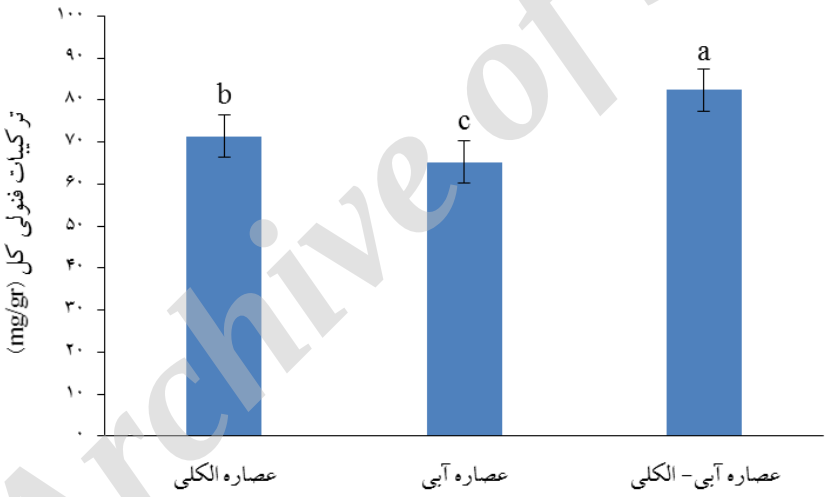
همان‌گونه که مشخص است، منوترپن‌ها ۶۷/۶ ٪ و سزکویی‌ترپن‌ها ۳۰/۹ ٪ از کل ترکیبات شناسایی شده را تشکیل می‌دهند. ژرانیال و نرال، به‌عنوان مهمترین ترکیبات مونوترپن، به‌ترتیب با ۳۱/۷ ٪ و ۲۵/۳ ٪، بیشترین میزان از کل ترکیبات مشخص شده را به خود اختصاص دادند. این دو ترکیب به‌ترتیب با مقادیر ۳۱/۲۳ ٪ و ۲۴/۸۸ ٪، در مجموع ۸۴/۳ ٪ از ترکیبات منوترپن را پوشش دادند. در میان سزکویی‌ترپن‌ها نیز دو ترکیب جرماکرن- دی و ترانس‌کاریوفیلن به‌ترتیب با مقادیر ۱۰/۶ ٪ و ۶/۲۵ ٪، بیشترین میزان را داشته و ۵۵/۴ ٪ از این ترکیبات را تشکیل دادند.

- مقدار فنول کل

در نمودار ۱ مقادیر کل فنول موجود در عصاره‌های مختلف نشان داده شده است. مطابق نمودار، میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره آبی- الکلی به‌طور معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۵) بیشتر از سایر عصاره‌ها بود. نتایج به‌دست آمده از بررسی‌های انجام شده بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی با حلال‌های مختلف از بافت‌های گیاهی، بیان‌گر وجود مقادیر بالایی از این ترکیبات در عصاره متانولی بود.

- میزان فلزات در اسانس و عصاره

مقادیر غلظت عناصر آهن، مس، آرسینک، سرب، کادمیوم و جیوه در نمونه به‌لیمو در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، مس و پس از آن آهن در میان عناصر بیشترین مقادیر را به خود اختصاص دادند، در حالی‌که عناصر آرسینک، سرب، کادمیوم و جیوه در هیچ یک از نمونه‌های مورد آزمایش، در سطح قابل اندازه‌گیری، وجود نداشت. همچنین مقادیر آهن و مس در عصاره آبی بیشتر از عصاره الکلی و اسانس تعیین گردید.



نمودار ۱- میزان ترکیبات فنولی کل در عصاره‌های مختلف گیاه به‌لیمو

جدول ۲- میزان فلزات در اسانس و عصاره‌های گیاه به‌لیمو

اسانس		عصاره آبی		عصاره الکلی	
عنصر	مقدار (ppm)	عنصر	مقدار (ppm)	عنصر	مقدار (ppm)
Fe	۰/۸۰۵ ± ۰/۰۴ [c]	Fe	۲/۷۸ ± ۰/۰۵ [a]	Fe	۱/۲۸ ± ۰/۰۴ [b]
Cu	N.D	Cu	۴/۵۲ ± ۰/۰۳ [a]	Cu	۳/۹۶ ± ۰/۰۶ [a]
As	N.D	As	N.D	As	N.D
Pb	N.D	Pb	N.D	Pb	N.D
Cd	N.D	Cd	N.D	Cd	N.D
Hg	N.D	Hg	N.D	Hg	N.D

* ND: کمتر از ۰/۵ ppm

* حروف کوچک لاتین متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

- آزمون DPPH

در این آزمون میزان توان حذف رادیکال‌های آزاد اسانس و عصاره‌های آبی، آبی- الکلی و الکلی به‌لیمو بر حسب شاخص IC50 اندازه‌گیری گردید. مطابق نمودار ۲، کمترین کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر مربوط به عصاره آبی و پس از آن عصاره الکلی بود. اگر چه عصاره آبی- الکلی و اسانس کاهش جذب بیشتری از عصاره الکلی داشتند اما تفاوت مقادیر کاهش جذب آنها با یکدیگر معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۵) نبود. در واقع قدرت آنتی‌اکسیدانی یا همان توانایی جذب رادیکال‌های DPPH اسانس و عصاره آبی- الکلی از عصاره آبی و عصاره الکلی بیشتر بود.

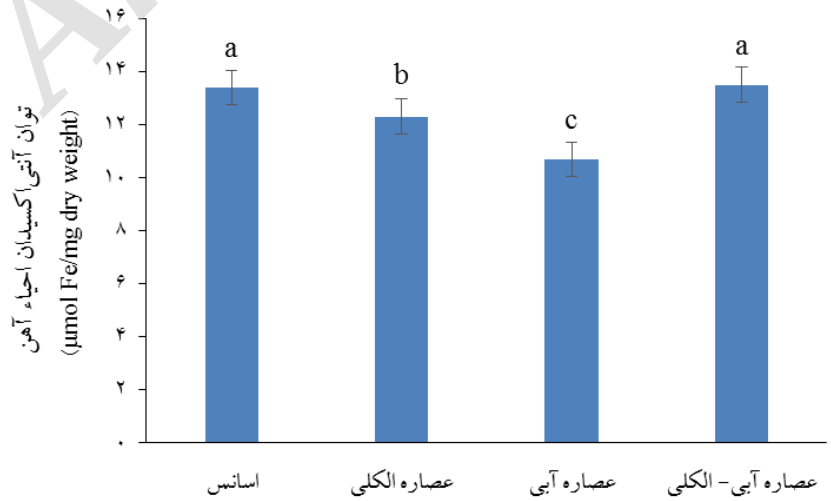
- آزمون توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن (FRAP)

توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن توسط اسانس و عصاره‌های مختلف در نمودار ۳ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشخص است، بیشترین خاصیت احیاءکنندگی به اسانس و عصاره آبی- الکلی مربوط می‌شود، درحالی‌که این توانایی در آنها تفاوت معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۵) ندارد. عصاره الکلی و عصاره آبی نیز به ترتیب در رتبه‌های بعدی توان احیاکنندگی آهن قرار گرفتند.

- آزمون میکروبی اسانس و عصاره‌ها

اثر اسانس و عصاره‌های آبی، الکلی و آبی- الکلی بر باکتری‌های *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *لیستریا مونوسیتوژنز*در جدول ۳ نشان داده شده است. اعداد درون جدول نشان‌دهنده قطر هاله بازدارندگی (بر حسب میلی‌متر) بوده و افزایش آن‌ها

نمودار ۲- میزان DPPH در اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه به‌لیمو



نمودار ۳- میزان FRAP اسانس و عصاره‌های مختلف گیاه به‌لیمو

Archive of SID

www.SID.ir

نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی بیشتر می‌باشد. به‌طور کلی و بدون توجه به نوع باکتری، بالاترین اثر بازدارندگی مربوط به اسانس بود و پس از آن عصاره‌های آبی- الکلی، الکلی و آبی بیشترین اثر ضدمیکروبی را از خود نشان دادند. در ارتباط با نوع میکروارگانیسم‌های تحت تاثیر نیز، *باسیلوس سرئوس*، حساس‌ترین و *لیستریا مونوسیتوژنز* مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اسانس و عصاره به‌لیمو بودند.

- سیستم غذایی مدل

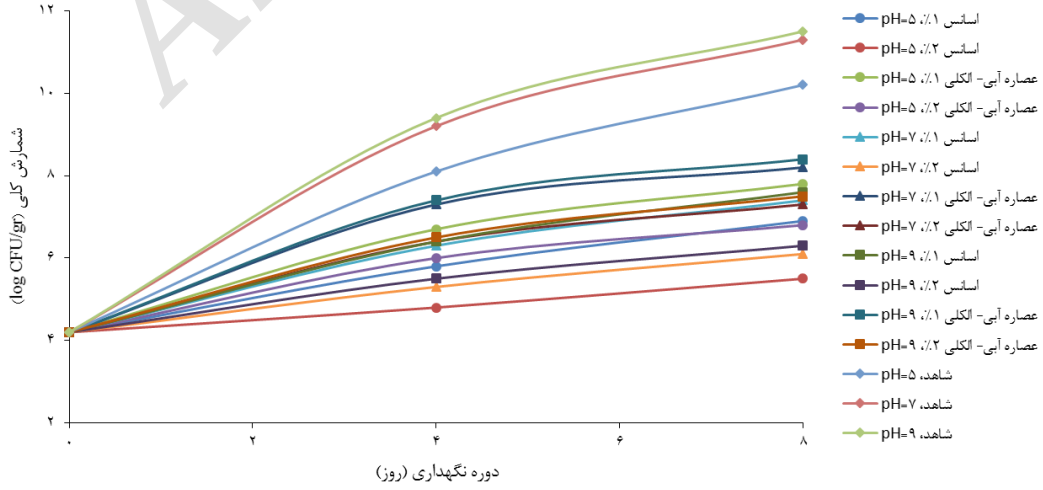
- آزمون میکروبی

از آزمون شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها به‌منظور بررسی ویژگی‌های ضد میکروبی اسانس و عصاره آبی- الکلی برگ به‌لیمو استفاده گردید. نمودار ۴ میانگین تعداد کل میکروارگانیسم‌های سیستم غذایی مدل را در pHهای ۵، ۷ و ۹ طی هشت روز نگهداری نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود با گذشت زمان، در تمام تیمارها و همچنین نمونه شاهد (فاقد اسانس و عصاره)، تعداد میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت و درصد این افزایش در چهار روز اول بیشتر از چهار روز پایانی بود که شیب نمودار در این دو بازه زمانی نیز موید این مطلب می‌باشد. در تمامی pHها و دوره‌های نگهداری، با افزایش غلظت اسانس و عصاره، تعداد میکروارگانیسم‌ها کاهش پیدا کرد که نشان‌دهنده اثر بازدارندگی بیشتر غلظت بالاتر اسانس و عصاره بر میکروارگانیسم‌ها است. همچنین، در تمامی pHها اثر بازدارندگی افزایش غلظت اسانس بیشتر از اثر مذکور برای عصاره آبی- الکلی بود که این نشان‌دهنده قدرت بازدارندگی بالاتر اسانس در مقایسه با عصاره می‌باشد. در ارتباط با اثر pH نیز نتایج نشان داد که در تمام غلظت‌های اسانس و عصاره و زمان‌های مختلف نگهداری، اثر بازدارندگی اسانس و عصاره با افزایش pH کاهش یافت؛ به‌عبارت دیگر، pH پایین‌تر اثر بازدارندگی بیشتری بر رشد میکروارگانیسم‌ها داشت. در کاهش pH سیستم غذایی مدل از ۷ به ۵ در مقایسه با کاهش pH آن از ۹ به ۷، در تمامی غلظت‌های اسانس و عصاره و زمان‌های نگهداری، تعداد میکروارگانیسم‌ها کاهش بیشتری نشان دادند. در ارتباط با نمونه شاهد نیز کاهش pH منجر به کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها گردید اما تعداد آنها همچنان بالاتر از تعداد میکروارگانیسم‌ها در سایر تیمارها بود.

جدول ۳- مقایسه اثر بازدارندگی اسانس و عصاره به‌لیمو بر باکتری‌ها (قطر هاله بر حسب میلی‌متر)

باکتری	اسانس	عصاره الکلی	عصاره آبی- الکلی	عصاره آبی
باسیلوس سرئوس	۱۸/۵±۰/۴ [a]	۱۰/۱±۰/۶ [a]	۱۲/۴±۰/۷ [a]	۷/۵±۰/۳ [a]
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۵/۳±۰/۵ [b]	۸/۲±۰/۱ [b]	۹/۳±۰/۵ [b]	۴/۳±۰/۱ [b]
اشریشیاکلی	۱۲/۱±۰/۳ [c]	۴/۶±۰/۷ [c]	۶/۹±۰/۴ [c]	-
لیستریامونوسیتوژنز	۶/۷±۰/۶ [d]	-	-	-

* حروف کوچک لاتین متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد می‌باشد.



نمودار ٤- شمارش کل میکروارگانیسم‌ها در سیستم‌های غذایی مدل

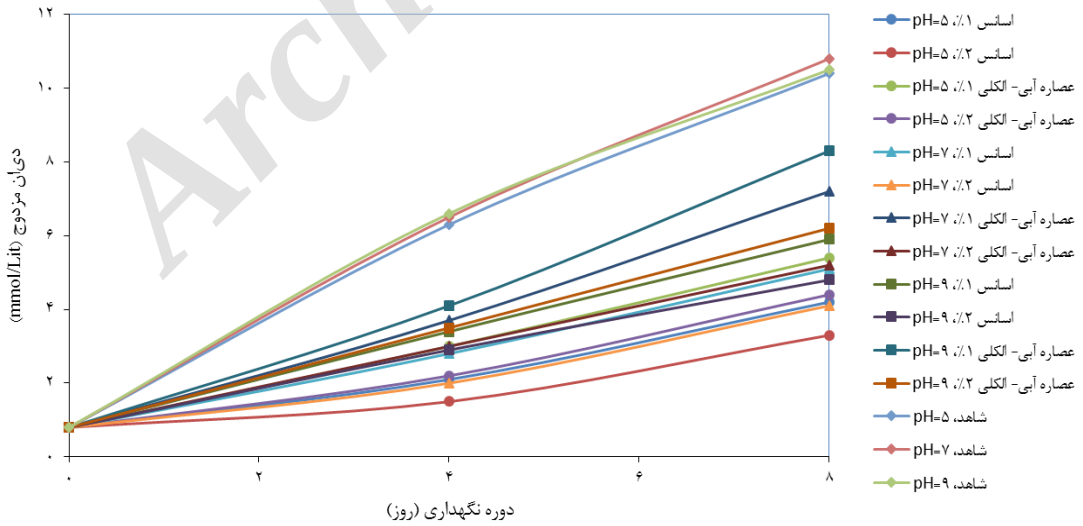
Archive of SID
www.SID.ir

- دی‌ان مزدوج

دی‌ان مزدوج (CDV)[1] ترکیبات اولیه اکسیداسیون حاوی باندهای دوگانه مزدوج هستند که به‌وسیله یک باند یگانه از یکدیگر جدا شده و به دلیل ناپایداری به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون تبدیل می‌شوند. هر چه میزان این شاخص بیشتر باشد میزان اکسیداسیون نیز بیشتر خواهد بود. مقادیر دی‌ان مزدوج به‌عنوان تابعی از pH سیستم غذایی مدل، زمان نگهداری، نوع اسانس یا عصاره و همچنین غلظت آنها در نمودار ۵ نشان داده شده است. مطابق نمودار ، با گذشت زمان، در همه تیمارها و همچنین نمونه شاهد، مقدار دی‌ان مزدوج افزایش یافت که درصد این افزایش در چهار روز ابتدایی بیشتر از چهار روز پایانی بود. در ارتباط با نوع اسانس و عصاره و غلظت آنها نیز در همه زمان‌ها و مقادیر pH مشاهده شد که اسانس در مقایسه با عصاره آبی- الکلی، به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر، اثر بیشتری بر کاهش CDV داشت و افزایش غلظت نیز در هر دو مورد منجر به کاهش CDV گردید. افزایش pH سیستم غذایی مدل نیز باعث افزایش CDV در تمام زمان‌ها و غلظت‌ها اسانس و عصاره شد و این نشان می‌دهد که می‌توان با تنظیم pH در مقادیر پایین‌تر میزان CDV را کاهش داد. نمونه‌های شاهد مقادیر CDV به مراتب بالاتری نسبت به تیمارهای حاوی اسانس و عصاره داشتند و با افزایش pH میزان CDV در آنها نیز افزایش یافت.

- عدد پراکسید

تغییرات عدد پراکسید، به‌عنوان محصول اولیه اکسایش مواد چرب، در نمودار ۶ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشخص است، افزایش غلظت اسانس و عصاره باعث کاهش عدد پراکسید در تمام مقادیر pH و زمان‌های نگهداری گردید. همچنین میزان عدد پراکسید سیستم غذایی مدل در حضور اسانس پایین‌تر از مقدار آن در حضور عصاره آبی- الکلی بود که نشان‌دهنده اثر بالاتر اسانس در کاهش عدد پراکسید می‌باشد. با گذشت زمان نیز مقدار عدد پراکسید در تمام pHها و مقادیر مختلف اسانس و عصاره افزایش یافت. در ارتباط با اثر pH نیز مشخص شد که کاهش pH بر میزان عدد پراکسید اثر بازدارندگی داشته و باعث کاهش مقدار آن در تمام زمان‌ها و غلظت‌های اعمال شده اسانس و عصاره گردید. نمونه‌های شاهد مقادیر عدد پراکسید بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس و عصاره داشتند اما از تغییرات مشابهی نسبت به نمونه‌های مذکور طی زمان نگهداری و در pHهای مختلف برخوردار بودند.



نمودار ۵- عدد دی‌ان مزدوج در سیستم‌های غذایی مدل

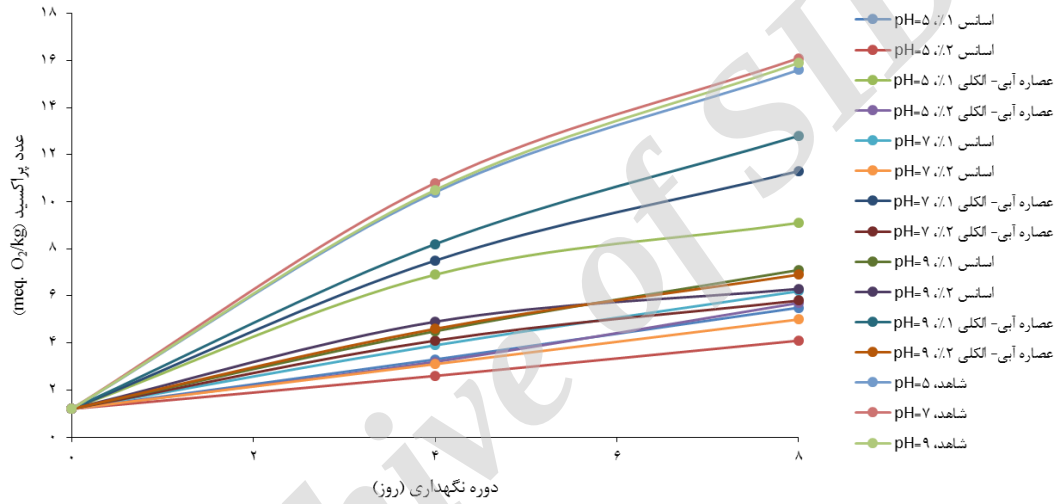
[1] Conjugated Diene Value (CDV)

Archive of SID

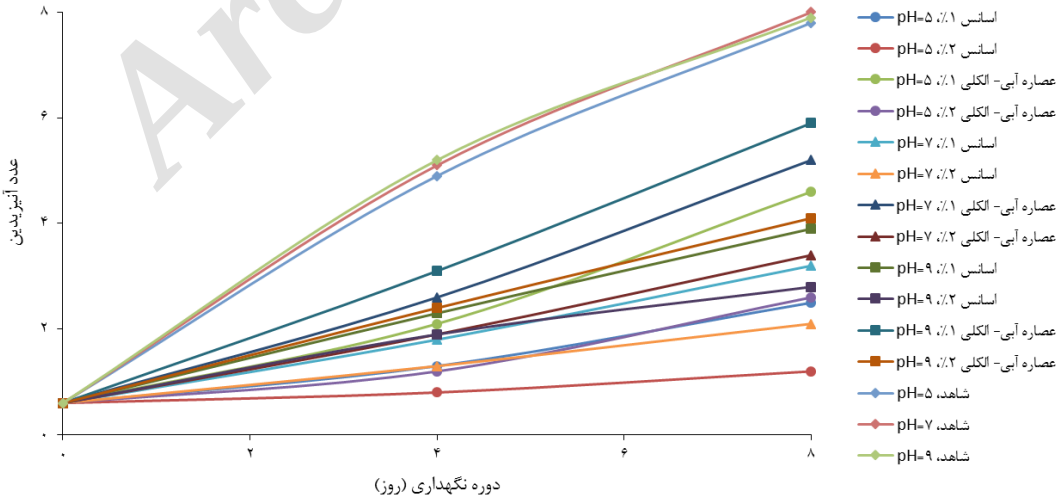
www.SID.ir

- عدد آنیزیدین

عددآنیزیدین شاخصی جهت بررسی مراحل ثانویه اکسایش و ارزیابی محصولات ناشی از آن می‌باشد. نتایج حاصل از تغییرات عدد آنیزیدین در نمودار ۷ نشان داده شده که بر اساس آن در تمام مقادیر pH و غلظت‌های اسانس و عصاره، با افزایش زمان نگهداری مقدار عدد آنیزیدین افزایش یافت. همچنین در مقادیر ثابت pH و زمان نگهداری، افزایش غلظت اسانس و عصاره باعث کاهش مقدار عدد آنیزیدین شدند که مقدار آن در صورت استفاده از اسانس در مقایسه با عصاره آبی- الکلی کمتر بود و این نشان‌دهنده تاثیر بالاتر اسانس در کاهش اکسایش در مقایسه با عصاره می‌باشد. بررسی اثر pH بر میزان عدد آنیزیدین نیز حاکی از کاهش عدد آنیزیدین طی کاهش pH سیستم غذایی مدل بود. بنابراین، می‌توان با کاهش pH تا محدوده قابل قبول، میزان اکسایش سیستم غذایی را کاهش داد. در مقایسه نمونه‌های شاهد با نمونه‌های تحت تیمار مشخص گردید که مقادیر عدد آنیزیدین در نمونه‌های شاهد حتی از بالاترین مقادیر مشاهده شده در تیمارها نیز به مراتب بالاتر بودند، با این حال، روند مشاهده در خصوص تغییرات عدد آنیزیدین طی تغییرات pH و زمان در نمونه‌های شاهد مشابه تغییرات مذکور در نمونه‌های تیمار بود.



نمودار ٦- عدد پراکسید در سیستم‌های غذایی مدل



نمودار ۷- عدد آنیزیدین در سیستم‌های غذایی مدل

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که منوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها بیشترین مقدار ترکیبات موجود در اسانس را تشکیل می‌دهند که در این میان ژرانیال و نرال بالاترین مقادیر را داشتند. در یک بررسی صورت گرفته بر روی گیاه به‌لیمو نیز مشخص گردید که از ۲۶ ترکیب موجود در اسانس، که شامل ۹۴/۶ درصد از کل مقدار اسانس بود، بیشترین مقدار مربوط به ترپنوئیدها، شامل مونوترپنوئید و سزکوئی‌ترپنوئیدها، بودند که به ترتیب۷۳/۳ و ۱۲/۷ درصد کل اسانس را به خود اختصاص دادند (مجاب و همکاران، ۱۳۸۱). مطالعه ترکیب شیمیایی اسانس برگ به‌لیمو در دو مرحله حداکثر سرعت رشد (ماه می) و شکوفه‌دهی کامل (ماه سپتامبر) توسط Argyropoulou و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز نشان داد که ژرانیال، نرال و لیمونن در هر دو مرحله، به‌ترتیب با ۶۶/۳ ٪ و ۶۹٪ کل اسانس، مهمترین ترکیبات موجود در اسانس بودند. در واقع تولید اسانس به میزان زیادی متاثر از فیزیولوژی گیاه بود و به مرحله رشد آن بستگی داشت.

در ارتباط با مقدار کل فنول موجود در عصاره، اگرچه در این تحقیق بالاترین مقدار مربوط به عصاره آبی- الکلی بود اما نتایج برخی از بررسی‌های انجام شده بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی با حلال‌های مختلف از بافت‌های گیاهی، بیان‌گر وجود مقادیر بالایی از این ترکیبات در عصاره متانولی است که این می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط استخراج و نوع نمونه مورد آزمون باشد. برای مثال در بررسی میزان بازده استخراج وفنول کل عصاره‌های متانولی، استونی و آبی برگ‌های شاه‌توت، بیش‌ترین میزان بازدهی استخراج و فنول کل، مربوط به عصاره متانولی بود (Arabshahi-Delouee and Urooj, 2007).

در ارتباط با قدرت آنتی‌اکسیدانی، اسانس و عصاره آبی- الکلی به‌لیمو بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان دادند که به‌دلیل توان بالای آنها در جذب رادیکال‌های DPPH می‌باشد. مطالعه خصوصیات آنتی‌اکسیدانی فراکسیون‌های مختلف گیاهان آویشن، مریم‌گلی، رزماری، خالواش و دارچین توسط حسینی و همکاران (۱۳۹۱) نیز نشان داد که بالاترین توان مهار رادیکال‌های آزاد مربوط به اسانس آویشن شیرازی با IC50 = ۶۷۷ µg/ml بود که در مقایسه با اسانس برگ به‌لیمو با IC50 = ۳۳/۶ µg/ml به‌طور قابل توجهی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تری برخوردار است. در پژوهش دیگری توان اسانس مرزه جهت کاهش رادیکال‌های آزاد IC50 = ۳۴/۳ µg/ml تعیین و عنوان شد که می‌توان از این اسانس به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در غذا استفاده کرد (Hashemi *et al.*, 2012).

به‌طور کلی، افزایش غلظت ترکیبات فنولی، به‌طورمستقیم، میزان توانایی عصاره‌های مختلف در مهار رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال احیاء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و به‌دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره بیشتر می‌شود (Sánchez-Moreno *et al.*, 1999).

قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف، علاوه بر تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل، به وزن مولکولی ترکیبات فنولی نیز بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین‌تر، گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند. علاوه بر این، ترکیبات فنولی پس از دادن هیدروژن خود، به رادیکال‌های آزاد فنوکسیل تبدیل می‌شوند. میزان ظرفیت این رادیکال‌ها می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی را تحت تاثیر قرار دهد، چرا که رادیکال‌های فنوکسیل ناپایدارتر در جذب اتم‌های هیدروژن با رادیکال‌های DPPH وارد رقابت شده و بدین ترتیب به‌دام‌اندازی رادیکال DPPH کاهش می‌یابد(Jung *et al.*, 2006).

با اینکه توان آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن توسط اسانس و عصاره آبی- الکلی بالاترین مقدار را داشت اما این ویژگی ممکن است بسته به شرایط و نوع اسانس و عصاره متفاوت باشد. در مطالعه قادری قهفرخی و همکاران در سال ۱۳۹۰ بر روی قدرت احیاکنندگی گیاه داروئی موره، نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های بالاتر از ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره اتانولی، بیشترین میزان قدرت احیاکنندگی را داشت. همچنین اختلاف معنی‌داری بین قدرت احیاکنندگی عصاره آبی و متانولی در غلظت های ۲۵ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر دیده نشد، اما در غلظت‌های بالاتر، میزان جذب عصاره متانولی به‌طور معنی‌داری از عصاره آبی بیشتر بود.

Archive of SID

www.SID.ir

در پژوهش دیگری نیز که توسط خلیقی سیگارودی و همکاران (۱۳۹۲) صورت گرفت، قدرت احیاکنندگی گیاه *Nepta poyono sperma* معادل ۱/۰۶ میلی‌مول آهن در هر گرم عصاره و معادل ۰/۰۶ میلی‌مول آهن در هر گرم پودر خشک گیاه بیان گردید.

باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *سودوموناس ائروژینوزا*، *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *اشریشیاکلی* از جمله باکتری‌های مهم در بحث ایمنی مواد غذایی می‌باشند. در رابطه با قدرت ضدمیکروبی، نتایج حاضر نشان داد که اسانس از بیشترین و عصاره آبی از کمترین قدرت ضدمیکروبی برخوردار بود و باسیلوس سرئوس نیز بیشترین حساسیت را داشت. در مطالعه آزمایشگاهی دیگری نیز مشخص گردید که عصاره الکلی گیاه به‌لیمو می‌تواند از رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* جلوگیری نماید (Ghaemi *et al.*, 2007). در مقایسه اثر بازدارندگی عصاره‌های الکلی و آبی برگ گیاه ترشک بر دو باکتری *سودوموناس ائروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نیز نتایج حاکی از اثر بازدارندگی عصاره‌های اتانولی و متانولی این گیاه بر باکتری‌های مذکور بود، در حالی‌که عصاره آبی آن تاثیری بر این دو باکتری نشان نداد. همچنین مشاهده شد که اثر بازدارندگی عصاره‌های الکلی بر رشد باکتری‌های *سودوموناس ائروژینوزا* بیشتر از *استافیلوکوکوس اورئوس* بود (Mohammadi-Sichani *et al.*, 2013). در پژوهش دیگری نیز اثر ضدمیکروبی عصاره دانه گوارانا بر سه قارچ غذایی *آسپرژیلوس*، *تریکودرما* و *پنی‌سلیوم* وسه باکتری بیماری‌زای *اشریشیاکلی*، *سودوموناس* و *باسیلوس* توسط Majhenič و همکاران (۲۰۰۷) بررسی شد و نتایج نشان داد که عصاره الکلی دانه گوارانا در مقایسه با عصاره آبی آن اثر ضدمیکروبی قویتری در برابر میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش داشت. همچنین درمطالعه گندمی نصرآبادی و همکاران در سال ۱۳۹۱، ترکیب شیمیایی اسانس گیاه آفسنطین و اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره آبی و الکی (اتانولی و متانولی) آن بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تایفی‌موریوم*، *اشریشیاکلی*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس*، که مهم‌ترین باکتری‌های ایجادکننده مسمومیت غذایی هستند، مورد بررسی قرار گرفت و عنوان شد که در روش انتشار دیسک، *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *اشریشیاکلی* حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به اسانس و عصاره‌های این گیاه بودند.

گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات ضد باکتریایی حساس‌ترند و این حساسیت بالاتر نیز به‌دلیل عدم وجود دیواره سلولی لیپوپلی‌ساکاریدی است که در باکتری‌های گرم منفی ممکن است از ورود ترکیبات فعال به غشای سیتوپلاسمی جلوگیری نماید. مقاومت باکتری‌های گرم منفی در برابر مواد ضد باکتریایی، با سطح هیدروفیلی غشای خارجی باکتری‌ها، که غنی ازمولکول‌های لیپوپلی‌ساکارید است و یک حائل در برابر نفوذ مولکول‌های آنتی‌بیوتیکی مختلف ایجاد می‌کند و نیز با آنزیم‌های فضای پری‌پلاسمی، که قادر به شکستن مولکول‌های وارد شده از خارج هستند، مرتبط می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت چنین غشای خارجی در ساختار دیواره سلولی خود نداشته و برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند به آسانی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی آنها را تخریب نموده و منجر به خروج سیتوپلاسم آنها گردند. با این حال، مقاومت بالای باکتری‌های گرم منفی یک قاعده کلی نیست، چرا که مطالعاتی وجود دارند که به مقاومت مشابه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و حتی مقاومت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی اشاره نموده اند (Shan *et al.*, 2007).

اغلب تحقیقات در زمینه اثرات ضدمیکروبی اسانس‌ها ابتدا در محیط‌های آزمایشگاهی انجام گرفته و سپس ویژگی‌های کاربردی آنها در سیستم‌های غذایی مدل ارزیابی شده‌اند. لزوم به‌کارگیری غلظت‌های بالاتر اسانس در مواد غذایی در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی نشان‌دهنده پیچیده بودن شرایط رشد در غذا است که می‌تواند بر میکروارگانیسم‌ها در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی، اثرات حفاظتی داشته باشد. استفاده صرف از اسانس‌های گیاهی در مواد غذایی از نظر خواص ارگانولپتیکی و همچنین مسائل اقتصادی چالش‌برانگیز است. در صورت استفاده از مواد نگهدارنده در یک سیستم ترکیبی، می‌بایست از نظر توجیه اقتصادی تولید و نیز بهداشت و ایمنی مواد غذایی اطمینان حاصل نمود (Daferera *et al.*, 2003).

مشخص شده که ترکیبات غذایی بر پایداری آنتی‌اکسیدان‌ها و همچنین تاثیر اسانس و عصاره بر روی

Archive of SID
www.SID.ir

میکروارگانیسم‌ها موثر است. در تحقیق حاضر کاهش pH سیستم غذایی مدل، در تمام غلظت‌های اسانس و عصاره و زمان‌های نگهداری، تعداد میکروارگانیسم‌ها کاهش بیشتری نشان دادند که این به‌دلیل اثر بازدارندگی بیشتر pHهای پایین‌تر بر فعالیت‌های سلولی از جمله نفوذپذیری غشای سلولی می‌باشد. پایین‌تر بودن تعداد میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های غیر شاهد در مقایسه با نمونه شاهد نیز به‌دلیل اثر بازدارندگی اسانس و عصاره، به‌عنوان عوامل بازدارنده مضاعف در کنار افت pH، بود که باعث کاهش بیشتر تعداد میکروارگانیسم‌ها گردید. Almajano و همکاران (۲۰۰۷) نیز در تحقیق دیگری اثر pH و غلظت اسانس و عصاره بر ویژگی‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی سیستم غذایی مدل را تایید کردند.

در این پژوهش مشخص گردید که با افزایش غلظت اسانس و عصاره توان آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی نیز افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر افزایش غلظت باعث کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها و همچنین کاهش شاخص‌های اکسایش، یعنی دی‌ان مزدوج، عدد پراکسید و عدد آنیزیدین، گردید. اثر غلظت اسانس‌ها و عصاره‌های مختلف در پژوهش‌های دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در یکی از این مطالعات عنوان شده که توانایی آنتی‌اکسیدان‌های اسانس و عصاره در مهار اکسیداسیون وابسته به غلظت بوده و نمونه‌های حاوی مقادیر بیشتر اسانس و عصاره طی زمان ثبات اکسیداتیو بیشتری از خود نشان می‌دهند (Miyashita and Takagi, 1986). همچنین در بررسی روند تغییرات عدد پراکسید نمونه روغن حاوی غلظت‌های مختلف عصاره متانولی میوه بلوط مشاهده گردید که افزایش زمان باعث افزایش مقدار عدد پراکسید نمونه‌ها می‌شود (قادری قهفرخی و همکاران، ۱۳۹۱). لازم به ذکر است، مطالعات صورت گرفته در خصوص تغییرات عدد پراکسید طی دوره نگهداری حاکی از کاهش آن پس از افزایش اولیه می‌باشد که Miyashita و Takagi (۱۹۸۶) دلیل آن را تجزیه احتمالی بخشی از هیدروپراکسیدهای تشکیل شده در مرحله انتشار به محصولات ثانویه اکسایش، نظیر آلدهیدها و کتون‌ها، عنوان کرده‌اند. مطالعه دیگری نیز موید اثر کاهشی اسانس، در تمام غلظت‌های مورد استفاده، بر مقدار عدد آنیزیدین نمونه‌های مورد آزمایش بود (Hashemi *et al.*, 2012).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست آمده، ترکیبات ژرانیال، نرال، جرماکرن-D، ترانس‌کاریوفیلن و گامالیمونن به‌ترتیب با ۳۱/۲۳، ۲۴/۸۸، ۱۰/۶۰، ۶/۲۵ و ۴/۵۱ درصد، بیشترین مقادیر از ترکیبات اسانس به‌لیمو را به خود اختصاص دادند. نتایج آزمون میکروبی حاکی از فعالیت ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های مختلف بود. بدون توجه به نوع میکروب، اسانس بالاترین اثر ضدمیکروبی را داشت و این ظرفیت پس از آن به‌ترتیب مربوط به عصاره‌های آبی- الکلی، عصاره الکلی و عصاره آبی بود. در ارتباط با نوع میکروارگانیسم‌های تحت تاثیر نیز، *باسیلوس سرئوس*، حساس‌ترین و *لیستریا مونوسیتوژنز* مقاوم‌ترین باکتری نسبت به اسانس و عصاره به‌لیمو بودند. آنالیز عناصر فلزی اسانس و عصاره نیز نشان داد که مقادیرآهن و مس در عصاره آبی در مقایسه با عصاره الکلی و اسانس بالاتر بود. بر اساس نتایج آزمون‌های DPPH و FRAP، قدرت آنتی‌اکسیدانی و توان احیاءکنندگی اسانس و عصاره آبی- الکلی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما دو خاصیت مذکور در مقایسه با عصاره‌های آبی و الکلی در آنها بالاتر بود. نتایج ضدمیکروبی اسانس و عصاره آبی- الکلی در سیستم غذایی مدل نشان داد که تعداد کل میکروارگانیسم‌ها تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسانس و عصاره طی دوره نگهداری افزایش یافت. همچنین افزایش غلظت اسانس و عصاره و کاهش pH باعث کاهش تعداد کل میکروارگانیسم‌ها گردید. در ارتباط با توان ضدمیکروبی نیز نتایج حاکی از توان ضدمیکروبی بالاتر اسانس در مقایسه با عصاره آبی- الکلی بود. نتایج آزمون‌های اکسایشی (عدد پراکسید، عدد آنیزیدین، دی‌ان مزدوج) نیز نشان داد که طی دوره نگهداری مقادیر موارد مذکور افزایش یافته و با کاهش pH و افزایش غلظت اسانس و عصاره آبی- الکلی مقادیر آنها کاهش می‌یابد. در ارتباط با هر سه مورد نیز تاثیر اسانس بالاتر از اثر عصاره آبی- الکلی بود. نتایج کلی این پژوهش نشان داد که با توجه به موارد فوق می‌توان از اسانس و عصاره به‌لیمو به‌عنوان عوامل آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی در محصولات غذایی استفاده نمود. از آنجا که نگهداری مواد غذایی به‌صورت سالم و با کیفیت بالا در طول مراحل تولید، نگهداری و مصرف، از جمله دغدغه‌های اصلی متخصصان صنایع

Archive of SID

www.SID.ir

غذایی می‌باشد، می‌توان با توسعه گیاهان دارویی در صنعت مواد غذایی و تبیین خواص سلامت‌بخشی آن‌ها، نه تنها سلامت مصرف‌کننده را تضمین نمود، بلکه با وجود ترکیبات معطر در ترکیبات ثانویه گیاه، باعث بهبود عطر و طعم مواد غذایی و رضایت‌مندی هر چه بیشتر مصرف‌کننده نیز گردید.

منابع

حسینی، ن.، ملکی‌راد، ع. ا.، چنگیزی آشتیانی، س. و ناظمی، م. (۱۳۹۱). بررسی قابلیت اسانس و فراکشن‌های مختلف عصاره متانولی آویشن شیرازی، مریم‌گلی، رزماری، خالواش و دارچین در مهار رادیکال‌های آزاد. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، سال نهم، دوره بیستم، شماره یک، صفحات ۳۸-۲۸.

خلیقی سیگارودی، ف.، اهوازی، م.، ابراهیم‌زاده معبود، ح. و رحیمی‌فرد، ن. (۱۳۹۲). بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس و اثرات آنتی‌اکسیدانی، محتوای تام فنلی و فلاونوئیدی عصاره گیاه Nepeta pogonosperma. فصلنامه گیاهان دارویی، سال سیزدهم، دوره دوازدهم، شماره چهل و هشتم، صفحات۱۹۸-۱۸۵.

صمصام شریعت، س. ه. (۱۳۸۶). عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی. انتشارات مانی.

قادری قهفرخی، م.، اعلمی، م.، صادقی ماهونک، ع. ر.، عزیزی، م. ح. و قربانی، م. (۱۳۹۱). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی دو واریته‌ی بلوط *Q. branti* var *persica* و*Q. castaneifolia* var *castaneifolia* و در روغن آفتاب گردان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، سال نهم، دوره نهم، شماره سی و چهارم، صفحات ۱۲۷-۱۱۷.

قادری قهفرخی، م.، ممشلو، س.، صادقی ماهونک، ع. ر. و اعلمی، م. (۱۳۹۰). بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد رادیکالی و قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های مختلف گیاه دارویی مورد *Artemisia annua* L. فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، سال پنجم، دوره ششم، شماره اول، صفحات ۵۷-۴۶.

گندمی نصرآبادی، ح.، عباس‌زاده، س.، طیار هشتجین، ن. و یمرلی، آ. (۱۳۹۱). مطالعه ترکیب شیمیایی اسانس گیاه آفسنطین (Artemisia absinthium) و اثر مهاری اسانس و عصاره‌های آبی، الکلی آن بر برخی از باکتری‌های بیماریزای غذایی. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی، سال دوازدهم، دوره یازدهم، شماره چهل و دوم، صفحات، ۱۲۷-۱۲۰.

مجاب، ف.، جاویدنیا، ک.، زرقی، ا. و یامحمدی، م. (۱۳۸۱). بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه به‌لیمو. فصلنامه گیاهان دارویی، سال دوم، دوره چهارم، شماره چهارم، صفحات ۴۶-۴۱.

مسیبی، م.، میرزایی، ح.، سید النگی، س. ز. و شهدادی، ف. (۱۳۹۲). بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به‌لیمو و تاثیر آن بر پایداری اکسیداتیو روغن سرخ کردنی. اولین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، همدان، ایران.

نصیری، ا. گلمکانی، م. ت. شکرفروش، س. ب. و موسوی‌نسب، م. (۱۳۹۲). بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گل به‌لیمو و توانایی آن درمهار آنزیم تیروزیناز. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

نعمت‌شاهی، م. م.، الهامی‌راد، ا. ح.، پدرام‌نیا، ا. و نعمت‌شاهی، ن. (۱۳۹۳). بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره برگ گیاه به لیمو Lippia Citriodora. همایش ملی الکترونیکی دستاوردهای نوین در علوم مهندسی و پایه، تهران، ایران.

Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O. & Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (*Asteraceae*) species collected from Turkey. Food Chemistry, 119 (1), 114-122.

Almajano, M., Carbo, R., Delgado, M. & Gordon, M. (2007). Effect of pH on the antimicrobial activity and oxidative stability of oil-in-water emulsions containing caffeic acid. Journal of Food Science, 72 (5), C258-C263.

Ansari, M., Larijani, K. & Saber-Tehrani, M. (2012). Antibacterial activity of Lippa Citriodora herb essence against MRSA *Staphylococcus aureus*. African Journal of Microbiology Research, 6 (1), 16-19.

AOCS. (1998). Official methods and recommended practices of the american oil chemists' society, 5th ed., American Oil Chemist's Society, S Champaign, IL (USA), Methods: Cd 8–53 (peroxide value), Cd 18–90 (anisidine value).

Arabshahi-delouee, S. & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. Food Chemistry, 102 (4), 1233-1240.

Argyropoulou, C., Daferera, D., Tarantilis, P. A., Fasseas, C. & Polissiou, M. (2007). Chemical composition of the essential oil from leaves of Lippia citriodora HBK (Verbenaceae) at two developmental stages. Biochemical Systematics and Ecology, 35 (12), 831-837.

Archive of SID

www.SID.ir

Bensabah, F., Lamiri, A. & Naja, J. (2015). Effect of purified wastewater from the city of Settat (Morocco) on the quality of Lippia citriodora essential oil and infusion. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 14 (2), 101-108.

Benzie, I. F. & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239 (1), 70-76.

Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H. & Kim, S. K. (2002). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science, 163 (6), 1161-1168.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N. & Polissiou, M. G. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection, 22 (1), 39-44.

Ghaemi, E., Khorshidi, D., Moradi, A., Seifi, A., Mazendrani, M., Bazouri, M. & Mansourian, A. R. (2007). The efficacy of ethanolic extract of Lemon Verbena on the skin infection due to *Staphylococcus aureus* in an animal model. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10 (22), 4132-4135.

Hashemi, S. M. B., Brewer, M. S., Safari, J., Nowroozi, M., Abadi Sherahi, M. H., Sadeghi, B. & Ghafoori, M. (2016). Antioxidant activity, reaction mechanisms, and kinetics of Matricaria recutita extract in commercial blended oil oxidation. International Journal of Food Properties, 19 (2), 257-271.

Hashemi, S. M. B., Mousavi Khaneghah, A. & Akbarirad, H. (2016). The effects of amplitudes ultrasound-assisted solvent extraction and pretreatment time on the yield and quality of Pistacia Khinjuk hull oil. Journal of Oleo Science, 65 (9), 733-738.

Hashemi, M. B., Niakousari, M., Saharkhiz, M. J. & Eskandari, M. H. (2012). Effect of Satureja khuzestanica essential oil on oxidative stability of sunflower oil during accelerated storage. Natural Product Research, 26 (15), 1458-1463.

Jung, C. H., Seog, H. M., Choi, I. W., Park, M. W. & Cho, H. Y. (2006). Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. LWT-Food Science and Technology, 39 (3), 266-274.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. & Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (10), 3954-3962.

Majhenič, L., Škerget, M. & Knez, Ž. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemistry, 104 (3), 1258-1268.

Miyashita, K. & Takagi, T. (1986). Study on the oxidative rate and prooxidant activity of free fatty acids. Journal of the American Oil Chemists' Society, 63 (10), 1380-1384.

Mohammadi-sichani, M., Sadeghzadeh, P. & Madani, M. (2013). Evaluation of antibacterial activity of extract of rumex alveollatus leaf against*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 15 (6), 58-61.

Naser al-deen, M. G., Mansoor, R. & Aljoubbeh, M. (2015). Fluctuations of chemical composition of essential oil and antimicrobial of Lemon Verbena (Lippia Citriodora) during growth stages in syria. International Journal of ChemTech Research, 8 (6), 704-710.

Nemat shahi, M. M., Elhami rad, A. H., Pedram nia, A. & Nemat shahi, N. (2014). Study of antioxidant activity and free radical scavenging ability of Lemon Verbena (Lippia Citriodora). Advances in Natural and Applied Sciences, 8 (10), 59-63.

Sánchez-moreno, C., Larrauri, J. A. & Saura-calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32 (6), 407-412.

Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J. D. & Corke, H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (Cinnamomum burmannii): activity against foodborne pathogenic bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55 (14), 5484-5490.

Tajkarimi, M., Ibrahim, S. A. & Cliver, D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21 (9), 1199-1218.

Victoria, F. N., Radatz, C. S., Sachini, M., Jacob, R. G., Alves, D., Savegnago, L., Perin, G., Motta, A. S., Silva, W. P. & Lenardão, E. J. (2012). Further analysis of the antimicrobial activity of α-phenylseleno citronellal and α-phenylseleno citronellol. Food Control, 23 (1), 95-99.

Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S. & Dykes, G. A. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. Food Control, 21 (10), 1408-1414.

Archive of SID

www.SID.ir