

Investigation of the chemical characteristics of *Mentha spicata* L. essential oil and the possibility of using it in mayonnaise as a natural antioxidant

Farzaneh Taherimanesh¹, Mohammad Hojjati^{2*}, Hassan Barzegar³,
Mohammadamin Mehrnia³, Behrooz Alizadeh Behbahani³

¹MSc Graduate, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

²Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran, Email: hojjati@asnrukh.ac.ir

³Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2024-6-19
Revised: 2024-7-24
Accepted: 2024-8-25

Keywords:
Mayonnaise
Essential oil
Gas chromatography-Mass spectrometry
Antioxidant activity
Preservative

ABSTRACT

Background and Objectives: Nowadays, there is a growing demand for artificial preservative-free food products due to concerns about their adverse effects. In recent years, numerous studies have led to the identification of various natural compounds that have the potential to be used as preservatives in a variety of food products. For instance, plant metabolites, such as the essential oils of aromatic plants, possess antioxidant and antimicrobial properties. These attributes have led to their widespread use in various industries, particularly in the food industry. Mayonnaise is one of the most popular and widely used sauces in the world, applied to prepare a variety of foods, such as salads and sandwiches. Due to the absence of thermal processing and the use of chemical artificial preservatives in mayonnaise, it is advisable to consume it in moderation and with caution. The aim of this study was to investigate the possibility of using *Mentha spicata* L. essential oil in the formulation of mayonnaise as a natural antioxidant and its effects on some physicochemical and microbiological properties of mayonnaise.

Materials and Methods: Fresh *M. spicata* leaves were collected from the northern part of Iran and dried. The essential oil was extracted by distillation with water using a Clevenger device, and its volatile components were identified and measured by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The total phenolic content of the essential oil was determined by the Folin-Ciocalteu method. In addition, the free radical scavenging activity of the essential oil was evaluated by DPPH and ABTS assays, using BHT as a synthetic antioxidant as a reference. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the essential oil was assessed against Gram-positive (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria innocua*) and Gram-negative (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, and *Pseudomonas aeruginosa*) bacteria. *M. spicata* essential oil was added to the mayonnaise sauce in different concentrations (500, 1000, and 2000 ppm), and its antioxidant activity was investigated under accelerated oxidation conditions (90 °C) for seven days. In

current research, the peroxide, acid, and thiobarbituric acid values of mayonnaise samples containing concentrations of 500, 1000, and 2000 ppm of *M. spicata* essential oil were calculated. Then, they were compared with sauce samples containing concentrations of 100 and 200 ppm of BHT artificial preservative.

Results: Thirty-two compounds were identified in the essential oil by GC-MS, and the results showed that carvone (57.01%), d-limonene (16.79%), 1,8-cineole (7.56%), and beta-caryophyllene (2, 10%) were the main components of *M. spicata* essential oil. The total phenolic contents of the essential oil were found to be 0.246 mg of gallic acid per gram (dry weight). The tests performed for peroxide, acidity, and thiobarbituric acid values showed that the use of high concentrations of the essential oil can be a favorable alternative to artificial antioxidants in mayonnaise. Additionally, the results of the antibacterial activity demonstrated that the diameter of the microbial growth inhibition zone of pathogenic Gram-positive *B. cereus* and *S. aureus* strains was greater than the Gram-negative strains of *P. aeruginosa*, *E. coli*, and *S. typhi*. However, among the pathogenic Gram-positive strains, *L. innocua* strain had the smallest microbial growth inhibition zone. Furthermore, the results of sensory evaluation showed that the essential oil concentrations of up to 1000 ppm had no significant effect on the sensory characteristics of mayonnaise.

Conclusion: Based on the findings of this study, it is possible to propose the use of *M. spicata* essential oil, known for its mild and pleasant aroma, as a natural antioxidant to prevent oil oxidation and extend the shelf life of mayonnaise.

Cite this article: Taherimanesh, F., Hojjati, M., Barzegar, H., Mehrnia, M.A., Alizadeh Behbahani, B. 2024. Investigation of the chemical characteristics of *Mentha spicata* L. essential oil and the possibility of using it in mayonnaise as a natural antioxidant. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(3), 79-100.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/fppj.2024.22555.1817

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی ویژگی‌های شیمیایی اسانس *Mentha spicata* L. و امکان استفاده از آن به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در سس مایونز

فرزانه طاهری منش^۱، محمد حجتی^{۲*}، حسن برزگر^۳، محمدامین مهرنیا^۳، بهروز عزیزاده بهبهانی^۳

^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاکانی، ایران
^۲استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاکانی، ایران، رایانامه: hojjati@asnruk.ac.ir
^۳دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاکانی، ایران

اطلاعات مقاله چکیده

نوع مقاله:

مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۵/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۴

واژه‌های کلیدی:

سس مایونز

اسانس

گاز کروماتوگرافی متصل به

طیف‌سنج جرمی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نگهدارنده

سابقه و هدف: امروزه تقاضای روبه‌رشد مصرف‌کنندگان برای مواد غذایی عاری از مواد نگهدارنده مصنوعی که ناشی از نگرانی در مورد آثار نامطلوب آن‌ها است، وجود دارد. در سال‌های اخیر، محققان ترکیبات طبیعی مختلفی را شناسایی کرده و پتانسیل آن‌ها را به عنوان نگهدارنده در طیف وسیعی از محصولات غذایی مورد بررسی قرار داده‌اند. متابولیت‌های گیاهی، مانند اسانس‌های موجود در گیاهان معطر، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هستند که این ویژگی‌ها باعث استفاده گسترده در صنایع مختلف، به‌ویژه در مواد غذایی شده است. سس مایونز، یکی از محبوب‌ترین و پرمصرف‌ترین سس‌ها در سراسر جهان است که برای تهیه انواع غذاها مانند سالاد و ساندویچ استفاده می‌شود. به دلیل عدم استفاده از فرآیند حرارتی و استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی مصنوعی در سس مایونز، مصرف آن در حد اعتدال و با احتیاط توصیه می‌شود. هدف از انجام پژوهش حاضر شناسایی ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های اسانس گیاه سوسن عنبر و بررسی امکان استفاده از این اسانس معطر به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در سس مایونز و آثار آن بر برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی مایونز بود.

مواد و روش‌ها: برگ‌های تازه سوسن عنبر از شمال ایران جمع‌آوری و خشک گردید. سپس استخراج اسانس آن به کمک دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب انجام گرفت. ترکیبات فرار اسانس با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) شناسایی و اندازه‌گیری شد. مقدار فنل کل اسانس با استفاده از روش فولین-سیوکالتو ارزیابی شد. همچنین فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس با استفاده از آزمون‌های DPPH و ABTS در مقایسه با آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHT بررسی گردید. حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس* و *لیستریا اینوکوا*) و گرم منفی (*سالمونلا تیفی*، *اشرشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا*) مورد بررسی قرار گرفت. اسانس سوسن عنبر در غلظت‌های مختلف (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm) به سس مایونز اضافه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در شرایط اکسیداسیون تسریع شده (دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد) طی

دوره هفت روزه بررسی شد. در این پژوهش، عدد پراکسید، عدد اسیدی و عدد اسید تیوباریتوریک نمونه‌های مایونز حاوی غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm اسانس سوسن عنبر مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس با نمونه‌های سس حاوی غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm از نگهدارنده مصنوعی BHT مقایسه شدند.

یافته‌ها: ۳۲ ترکیب از اسانس سوسن عنبر با کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی شد و نتایج نشان داد که کارون (۰.۱۵۷٪)، دی لیمونن (۷۹.۱۶٪)، ۱ و ۸-سینئول (۵۶.۷٪) و بتاکاریوفیلن (۱۰.۲٪) بیشترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس بودند. حداکثر مقدار کل ترکیبات فنلی موجود در اسانس ۲۴۶.۰ میلی گرم اسید گالیک در هر گرم ماده خشک به دست آمد. آزمایش‌های انجام شده برای اعداد پراکسید، اسیدیته و اسید تیوباریتوریک نشان داد که اسانس سوسن عنبر، زمانی که در غلظت‌های بالا استفاده می‌شود، می‌تواند جایگزینی مطلوب برای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در مایونز باشد. نتایج حاصل از فعالیت ضد میکروبی نشان داد که قطر هاله عدم رشد میکروبی برای سویه‌های بیماری‌زا گرم مثبت باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به سویه‌های گرم منفی سودوموناس اثرورزینوزا، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی بیشتر است. در حالی که، در میان سویه‌های بیماری‌زای گرم مثبت، سویه بیماری‌زا لیستریا اینوکوا قطر هاله عدم رشد کم‌تری داشت. همچنین نتایج ارزیابی حسی نشان داد که غلظت‌های تا ۱۰۰۰ ppm اسانس سوسن عنبر اثر معناداری بر ویژگی‌های ارگانولپتیکی مایونز نداشتند.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های این پژوهش، می‌توان اسانس سوسن عنبر را که حاوی عطر ملایم و مطلوبی است، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی جهت جلوگیری از اکسایش روغن و افزایش عمر نگهداری سس مایونز پیشنهاد داد.

استناد: طاهری منش، فرزانه؛ حجتی، محمد؛ برزگر، حسن؛ مهرنیا، محمدامین؛ علیزاده بهبهانی، بهروز. (۱۴۰۳). بررسی ویژگی‌های شیمیایی اسانس *Mentha spicata* L. و امکان استفاده از آن به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در سس مایونز. *فراوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۶ (۳)، ۷۹-۱۰۰.

DOI: 10.22069/fppj.2024.22555.1817



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

گیاهان معطر به واسطه‌ی دارا بودن ترکیبات فنلی طبیعی خود، از خواص آنتی‌اکسیدانی قوی برخوردار هستند. آن‌ها علاوه بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، دارای فعالیت‌های زیستی مهم دیگری هستند که می‌توانند جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های مصنوعی باشند (۱). اسیدآسکوربیک، بتاکاروتن همراه با سایر کاروتنوئیدها و اکسی‌کارتنوئیدها مانند لیکوپن‌ها از جمله منابع آنتی‌اکسیدانی موجود در منابع غذایی به شمار می‌روند (۲).

ترکیبات فنلی به دلیل ساختار شیمیایی خاص خود، قدرت احیاء کنندگی بالایی داشته و قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد به‌طور موثری هستند (۳). اسانس‌ها ترکیب‌های معطری هستند که از اندام‌های مختلف گیاهان مانند دانه، ریشه، جوانه، پوست، شاخه، غنچه و گل تهیه می‌شوند (۴). بررسی‌های مختلف نشان داده است که آثار ضد میکروبی اسانس‌ها به ترکیبات فنلی موجود در آن‌ها مرتبط می‌باشد. کارواکرول^۱، سینام‌آلدئید^۲، اوژنول^۳، تیمول^۴ و پی‌سئمین^۵ از جمله‌ی ترکیبات فنلی موجود در اسانس‌ها هستند (۵). جایگزین کردن عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به جای مواد نگهدارنده شیمیایی و مصنوعی روشی ایمن و طبیعی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی بوده و می‌تواند خطرهای و عوارض جانبی ناشی از مصرف این مواد را تا حد قابل توجهی کاهش دهند (۶).

مایونز، امولسیون نیمه جامد روغن در آب است که حاوی زرده تخم‌مرغ، نمک، سرکه، روغن، مواد قوام دهنده و طعم‌دهنده نظیر خردل است و احتمالاً یکی از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین سس‌های

موجود در جهان است (۷). سس مایونز به دلیل pH پایین و چربی بالا، نسبت به فساد میکروبی بسیار پایدار است (۸). اکسیداسیون روغن‌ها و چربی‌ها، مهم‌ترین عامل تخریب غذاهایی با چربی بالا است. در نتیجه اکسیداسیون روغن، ترکیبات فراری تشکیل شده که آستانه بویایی پایینی داشته و می‌توانند روی ویژگی‌های حسی روغن‌ها و محصولات حاوی روغن تأثیر بگذارند (۹). اکسیداسیون، فرآیندی مخرب است که نه تنها ویژگی‌های حسی بلکه سلامت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این فرآیند، عامل از بین رفتن مواد مغذی مانند ویتامین‌ها بوده و با تولید ترکیبات مضر می‌تواند سلامت انسان را به مخاطره اندازد (۱۰).

امروزه به دلیل اثرات نامطلوب نگه‌دارنده‌های سنتزی، اکثر مصرف‌کنندگان مواد غذایی، خواستار استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی مشتق شده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات زیان‌بار نگه‌دارنده‌های شیمیایی مصون باشند (۱۱). این خواسته همراه با قوانین موجود در استفاده از نگه‌دارنده‌های مصنوعی، موجب گسترش دامنه تحقیقات برای یافتن مواد طبیعی با خصوصیات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی شده است. از جمله ترکیبات طبیعی که امروزه به‌طور فزاینده‌ای در مواد غذایی مورد بررسی و استفاده قرار گرفته، اسانس‌ها، ادویه‌ها و گیاهان می‌باشند که نه تنها مانع رشد میکروب‌ها می‌شوند بلکه به عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی کاربرد فراوانی دارند (۱۲). پژوهش‌های مختلفی جهت استخراج آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و بررسی ویژگی‌های ضد باکتریایی، ضد قارچی و پایداری اکسایشی عصاره و اسانس گیاهان مختلف روی سس مایونز از جمله عصاره فلفل سیاه و زنجبیل (۱۳)، ریحان (۱۴)، ترخون (۱۵)، پونه کوهی

¹ Carvacrol

² Cinnamaldehyde

³ Eugenol

⁴ Thymol

⁵ p-Cymene

(۱۶)، بومادران (۱۷)، اسانس آویشن شیرازی (۱۸)، عصاره‌ی پنیرک و نعنای (۱۹)، توکوفرول و اسانس رزماری (۲۰) و اسانس خردل میکروکپسوله شده (۲۱) صورت گرفته و نتایج این پژوهش‌ها نشان داده است که عصاره‌ها و اسانس‌ها می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و جایگزین انواع آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی در سس مایونز مورد استفاده قرار گیرند.

سوسن عنبر (*Mentha spicata* L.)، با نام عمومی Peppermint و نام محلی سرسم که در فارسی نعنای دشتی و پونه سنبله‌ای هم خوانده می‌شود از خانواده نعنائیان است. سوسن عنبر، گیاهی چندساله، علفی، پایا، با ساقه‌های چهارگوش و برگ‌های متقابل و دنداندار که پوشیده از کرک و بدون دم برگ هستند و معمولاً از طریق ساقه‌های زیرزمینی یا ریزوم‌ها تکثیر پیدا می‌کند. این گیاه به دلیل دارا بودن خواص دارویی ارزشمند، کاربرد زیادی در صنایع غذایی، آرایشی-بهداشتی و داروسازی دارد. از مهم‌ترین ترکیبات اصلی اسانس این گیاه می‌توان به کاروون^۱، لیمونن^۲، آلفا‌پینن^۳، میرسن^۴، بتابوربون^۵، سیس دی دی هیدروکاروون^۶، هیدروکارویل استات^۷، پولگون^۸ و ترانس کاریوفیلن^۹ اشاره نمود (۲۲). سوسن عنبر ضد نفخ، ادرارآور و ضد اسپاسم است (۲۳) که می‌تواند برای درمان زخم‌های سطحی ناشی از سوءهاضمه، سزارین و سندرم روده تحریک پذیر^۹ مفید باشد (۲۴). همچنین در فرهنگ عامه، از آن به عنوان یک داروی گیاهی برای درمان سرماخوردگی،

آنفولانزا، مشکلات دستگاه تنفسی، دل‌درد، هموروئید و درد معده استفاده می‌شود (۲۵ و ۲۶). بررسی منابع نشان داد که تاکنون پژوهشی در مورد استفاده از اسانس گیاه سوسن عنبر به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی انجام نشده است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش، استخراج اسانس گیاه سوسن عنبر و بررسی خصوصیات زیست فعالی آن و امکان استفاده از آن به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در پایداری اکسایشی سس مایونز بود.

مواد و روش‌ها

گیاه سوسن عنبر، از منطقه شیرگاه در استان مازندران در پاییز سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری شد. مواد اولیه تهیه مایونز شامل روغن مایع مخصوص پخت‌وپز اویلا حاوی ویتامین D₃ (گروه صنعتی گلرنگ ایران)، سرکه سفید بیدستان (قزوین)، شکر، نمک، پودر فلفل سفید، پودر خردل و تخم‌مرغ از بازار محلی اهواز تهیه گردیدند. DPPH^{۱۰}، معرف فولین سیوکالتو، اسیدگالیک، ABTS، پرسولفات پتاسیم، پتاسیم یدید، تری‌کلرواستیک اسید و تیوباربتوریک اسید (سیگمای آمریکا)، کربوکسی متیل سلولز (شرکت کارگام پارسیان، تهران)، آنتی‌اکسیدان BHT^{۱۱}، کرینات سدیم و تیوسولفات سدیم (مرک، آلمان)، محلول کلروفرم، اسید استیک و اتانول (سامچون کره‌ی جنوبی) با خلوص بالا خریداری گردیدند.

سویه‌های میکروبی: سویه‌های میکروبی شامل /شرشیا کلسی (ATCC 25922)، لیستریا اینوکوس (ATCC 33090)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، باسیلوس سرئوس (ATCC 14579)، سالمونلا تیفی (ATCC 14028) و سودوموناس

¹ Carvone

² Limonene

³ Alpha-Pinene

⁴ Myrcene

⁵ β -Bourbonene

⁶ Dihydrocarvyl acetate

⁷ Pulegone

⁸ Trans-Caryophyllene

⁹ Irritable bowel syndrome

¹⁰ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

¹¹ Butylated hydroxytoluene

wiley7n.1 موجود در دستگاه GC/MS صورت پذیرفت (۲۷).

آماده‌سازی نمونه مایونز: جهت تولید سس مایونز از ۶۵٪ روغن، ۱۳/۸۵٪ تخم‌مرغ، ۷/۷٪ سرکه، ۸/۲٪ آب، ۱/۵٪ نمک، ۳/۸۵٪ شکر، ۰/۲٪ کربوکسی متیل سلولز و ۰/۳٪ خردل استفاده شد. در ابتدا تخم‌مرغ‌ها کاملاً بهم زده شد و بقیه مواد جامد به آن اضافه گردید. سپس مخلوط سرکه و آب اضافه شده و مجدداً مخلوط شدند. درحالی‌که به‌طور مداوم هم زده می‌شد روغن به آرامی اضافه و تا زمان به دست آمدن یک امولسیون یکنواخت هم زدن ادامه یافت.

در این آزمون از اسانس سوسن عنبر با غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm در روغن به‌کاررفته در مایونز (روغن فاقد آنتی‌اکسیدان) به‌جای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی استفاده شد؛ همچنین یک نمونه‌ی شاهد بدون آنتی‌اکسیدان و دو نمونه به همراه آنتی‌اکسیدان مصنوعی TBHQ (در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) در نظر گرفته شد (۲۸).

جداسازی روغن از مایونز: به منظور بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف اسانس سوسن عنبر بر سس مایونز، می‌بایست امولسیون سس شکسته شده و روغن آن جدا گردد. بدین منظور از روش لاگونز گالوز و همکاران (۲۰۰۲)، استفاده شد. ابتدا سس مایونز در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منجمد و سپس با قرار گرفتن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجماد زدایی انجام شد و در نهایت با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه روغن آن جداسازی گردید (۲۹).

آزمون‌های پیشرفت اکسیداسیون مایونز: به‌منظور سرعت بخشیدن به روند اکسیداسیون بر اساس روش نوروزی و همکاران (۱۳۹۶)، نمونه‌های روغن جداشده از مایونز در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد

اثرورژینوزا (ATCC 27853) بودند که از کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شدند.

استخراج اسانس: برگ‌های گیاه سوسن عنبر در سایه و به مدت یک هفته خشک و با استفاده از آسیاب برقی (شرکت پارس خزر، مدل GR-123P، ساخت ایران) به پودر تبدیل شدند. اسانس گیری از ۳۰۰ گرم پودر خشک شده گیاه با استفاده از روش تقطیر با آب (۱ لیتر آب) و به کمک دستگاه کلونجر به مدت زمان ۴ ساعت انجام پذیرفت (۲۷).

شناسایی ترکیبات اسانس: شناسایی ترکیبات اسانس استخراج شده با تزریق ۰/۵ میکرولیتر اسانس استخراجی به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890A ساخت کشور چین حاوی ستون HP5 (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۵ میکرومتر) متصل به طیف‌سنج جرمی مدل Agilent 5975 انجام پذیرفت. برنامه دمایی ستون به این طریق تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد بود و دما با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و در این دما یک دقیقه باقی ماند و سپس دما با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و یک دقیقه در این دما توقف نمود. گاز هلیوم با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان گاز حامل به کار گرفته شد و دمای محفظه تزریق ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال آلکان‌ها (C₈-C₂₄) و به دست آوردن شاخص بازداري آن‌ها و مقایسه با شاخص کواتز (KI) گزارش شده ترکیبات در نرم‌افزار NIST05 و مقایسه طیف جرمی هریک از اجزای ترکیبات اسانس با طیف جرمی در کتابخانه

آنتی اکسیدان BHT به عنوان نمونه ی کنترل مثبت استفاده شد (۲۹).

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار رادیکال ABTS: ابتدا یک محلول ۱:۱ از اختلاط ۲ محلول پایه ABTS (۷ میلی مولار) و پرسولفات (۴۵.۲ میلی مولار) تهیه و به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق و در یک مکان تاریک قرار گرفت. سپس محلول حاصل با متانول به نسبت ۱:۳۰ رقیق و پس از آن میزان ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه ی مورد آزمایش به دو میلی لیتر محلول تازه تهیه شده ی ABTS افزوده شد. سپس جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شده و درصد بازدارندگی نمونه از طریق رابطه (۱) محاسبه و گزارش گردید (۳۲).

$$I\% = \left(\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \right) \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

تهیه استاندارد نیم مک فارلند و سوسپانسیون میکروبی: برای تهیه ی کشت تازه، ابتدا تمامی سویه های میکروبی در محیط کشت مولر هیتون آگار و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. برای تهیه ی سوسپانسیون باکتریایی مطابق استاندارد نیم مک فارلند اقدام شد. و در نهایت سوسپانسیون باکتریایی حاوی $(10^8 \text{ cfu/ml} \times 1/5)$ از آن ها تهیه گردید (۳۳).

بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس سوسن عنبر روش دیسک دیفیوژن: پس از آماده سازی محیط کشت مولر هیتون آگار، ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون های میکروبی تهیه شده از هر میکروارگانیسم در سطح محیط کشت پخش گردید. سپس با استفاده از یک پنس استریل شده دیسک های خالی (قطر ۶ میلی متر) با فاصله معین از یکدیگر و از دیواره ی پتری دیش روی محیط کشت قرار داده شدند. مقدار ۲۰ میکرولیتر از اسانس سوسن عنبر در غلظت های (۴، ۲، ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵) گرم، استریل شده

گرمخانه گذاری شد و طی هفت روز متوالی (روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶) میزان پیشرفت اکسیداسیون با آزمون های عدد پراکسید، تیوباربتوریک اسید و عدد اسیدی مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه گیری اندیس پراکسید از روش AOCS شماره Cd8-53، اندیس عدد تیوباربتوریک اسید از روش AOCS شماره Cd19-90 و عدد اسیدی از روش AOCS شماره Cd3a-63 استفاده گردید.

تعیین محتوی فنل کل اسانس: میزان فنل کل اسانس گیاه سوسن عنبر با استفاده از روش فولین-سیوکالتو اندازه گیری شد. در این روش به ۰/۵ میلی لیتر از فاز استخراجی مورد نظر، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) به هر لوله اضافه گردید و به مدت ۳۰ ثانیه به وسیله ورتکس هم زده شدند سپس ۲ میلی لیتر از محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم به آن اضافه شده و پس از ۳۰ ثانیه نگهداری در تاریکی میزان جذب هر کدام از نمونه ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Cambridge, UK, WPA, BiowaveII, Biochrom) خوانده شد (۳۰).

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH: به منظور ارزیابی پتانسیل ضد اکسایشی اسانس، از روش رایج احیاء رادیکال های آزاد DPPH استفاده شد. به همین منظور یک میلی لیتر از محلول متانولی DPPH به ۳ میلی لیتر از نمونه های مورد آزمایش با غلظت های مختلف اسانس (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm) و نیز آنتی اکسیدان مصنوعی BHT (۱۰۰ و ۲۰۰) افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نهایت درصد مهار رادیکال های آزاد DPPH با استفاده ۵۰٪ بازدارندگی (IC₅₀) گزارش گردید (۳۱). در این آزمایش از

با فیلتر سرسرنگی (اندازه ذرات ۰/۲۲ میکرون) به هرکدام از دیسک‌های خالی اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در یخچال نگهداری شدند. سپس پتری‌دیش‌ها در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گذشت زمان فوق، ناحیه‌ی بازدارندگی در اطراف هریک از دیسک‌ها با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و نتایج نهایی برحسب میلی‌متر ثبت شد (۳۳).

حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی: از روش میکرو‌دیلوشن براث، با استفاده از پلیت ۹۶ خانه و معرف تری فنیل تترازولیوم جهت اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی از رشد میکروارگانیسم‌ها استفاده شد. به این منظور، غلظت‌های مختلف اسانس (۷۸.۰، ۵۶.۱، ۱۲۵.۳، ۲۵.۶، ۵.۱۲، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) تهیه و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌های تهیه و درون چاهک ریخته شد، سپس ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی (سویه‌های میکروبی گرم مثبت و منفی) به چاهک‌ها اضافه گردید. پلیت ۹۶ خانه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از گذشت زمان فوق، ۲۰ میکرولیتر محلول تری‌متیل-تترازولیوم کلراید ۵ درصد به هر کدام از چاهک‌ها اضافه و مجدداً به مدت زمان ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. عدم مشاهده‌ی تغییر رنگ قرمز تیره یا ارغوانی در اولین غلظت به‌عنوان حداقل غلظت بازدارندگی گزارش گردید (۳۴). جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی اسانس سوسن‌عنبر، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که در آن‌ها تغییر رنگی مشاهده نشده بود، روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌صورت سطحی کشت داده و در دمای ۳۷ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. کمترین غلظت اسانس فاقد کشتی، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید (۳۴).

ارزیابی حسی: تعیین ویژگی‌های حسی نمونه‌های سس مایونز، با استفاده از آزمون هدونیک ۱۱ نقطه‌ای توسط ۱۰ نفر ارزیاب (۵ مرد و ۵ زن) در محدوده‌ی سنی ۲۴ تا ۳۱ سال انجام گرفت. به این منظور مزه، بو، رنگ ظاهری، بافت و پذیرش کلی نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها با اعداد ۲ رقمی تصادفی شناسه (کد) گذاری شده و سپس در ظروف پلاستیکی قرار داده شده و به ارزیاب‌ها ارائه شدند. در نهایت پذیرش کلی نمونه‌ها گزارش گردید (۲۸).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه‌ی آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ انجام گرفته و برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین داده‌ها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ($P < 0.05$) استفاده شد. ترسیم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیبات موجود در اسانس سوسن‌عنبر: در این پژوهش، ۳۲ ترکیب شیمیایی در اسانس گیاه سوسن‌عنبر توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی-طیف‌سنج جرمی شناسایی شد که به همراه شاخص بازدارندگی و مقدار ترکیب در جدول ۱ آورده شده است. کاروون (57.1%)، دی‌لیمونن^۱ (79.16%)، ۱-ا-سینول^۲ (56.7%)، بتاکاریوفیلن^۳ (10.2%) و سابین هیدرات^۴ (0.81%) بیشترین مقدار ترکیبات شناسایی شده در این اسانس بودند. و از دیگر ترکیبات شناسایی شده می‌توان به پی-سیمن^۵ (99.0%)، میرسن^۱ (85.0%).

¹ D-Limonene

² Sinol

³ Beta-Caryophyllene

⁴ Sabinene hydrate

⁵ P-Cymene

ایزوبرونیل استات^۲ (%۷۷.۰) و سابینن^۳ (%۷۱.۰) اشاره کرد. در ارتباط با گیاه نعناع، پژوهشگران در پژوهش‌های خود مقادیر مختلفی برای ترکیبات این گیاه ارائه کرده‌اند.

^۱ Myrcene

^۲ Isobornyl acetate

^۳ Sabinene

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس سوسن عنبر

Table 1. Chemical composition essential oil of *Mentha spicata*

Peak number	Components	Retention time (min)	% Amount	Peak number	Components	Retention time (min)	%Amount
شماره پیک	ترکیبات	زمان بازداری (دقیقه)	مقدار (%)	شماره پیک	ترکیبات	زمان بازداری (دقیقه)	مقدار (%)
1	α -Pinene	11.04	0.69	17	Terpinolene	16.585	0.32
2	Camphene	11.575	0.28	18	p-1,3,8-Menthatriene	17.296	0.45
3	Sabinene	12.541	0.71	19	Limonene oxide	17.496	0.22
4	β -Pinene	12.608	0.63	20	δ -terpineol	17.663	0.52
5	Myrcene	12.908	0.85	21	cis-Carveol	17.996	0.68
6	3-octanol	13.219	0.51	22	Pulegone	21.251	0.14
7	α -terpinene	13.497	0.12	23	Carvone	21.873	57.01
8	3-Carene	13.630	0.7	24	isobornyl acetate	22.651	0.77
9	α -terpinene	14.524	0.46	25	Trans-carvyl acetate	22.807	0.38
10	p-cymene	14.441	0.99	26	β -Bourbonene	24.351	0.15
11	D-Limonene	14.652	16.79	27	β -caryophyllene	24.851	2.10
12	1,8-cineole	14.872	7.56	28	β -copaene	24.851	0.26
13	(Z)- β -ocimene	15.230	0.28	29	germacrene D	26.862	0.61
14	(E)- β -ocimene	15.563	0.38	30	germacrene A	27.350	0.47
15	p-Mentha-1,4-dien-7-al	15.930	0.28	31	spathulenol	29.517	0.24
16	cis-Sabinene hydrate	16.643	1.08	32	caryophyllene oxide	30.417	0.41

RT*: زمان بازداری متناسب با ستون آلکان‌های نرمال C₈-C₂₄ روی ستون HP-5 بر حسب دقیقه

دارد. رسولی و همکاران (۲۰۰۸)، اجزای اصلی تشکیل‌دهنده اسانس نعنای دشتی و نعنای فلفلی کشت شده در کشور ایران را آلفا-ترپین^۳ (۷.۱۹٪)، اکسید پپیریتون^۴ (۳.۱۹٪)، ایزومنتون^۵ (۳.۱۰٪) و بتاکاریوفیلن (۶.۷٪) گزارش کردند (۳۷). مقدار کارون در نمونه‌های نعنای دشتی ایران، ۰۴.۲۲ (۳۸) و مراکش، ۲۳٪ (۳۹) گزارش شده است. زلجاکوف و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش کردند کارون و لیمون ترکیبات غالب اسانس دوگونه کاردیاکا و اسپیکاتا می‌باشد (۴۰). برخلاف آن اسانس گیاه تازه نعنای دشتی

طی پژوهش‌های فرحبخش و همکاران (۲۰۲۱) در شناسایی ترکیبات نعنای دشتی، کارون (۴۹.۹۱) بیشترین مقدار و ترکیبات لیمون، سینئول و میرسن نیز در این اسانس شناسایی شدند. که از نظر وجود این ترکیبات با پژوهش حاضر مطابقت دارد (۳۵). مخیری و همکاران (۱۳۹۶)، ۳۳ ترکیب در اسانس نعنای دشتی شناسایی کردند که بیشترین ترکیبات آن را، کارون (۳۵.۲۸ درصد)، منتول^۱ (۳۵.۱۴ درصد)، متیلن^۲ (۵۹.۱۴ درصد)، و لیمون (۳۰.۳۹ درصد) تشکیل داده بودند (۳۶). مطالعه فوق از نظر وجود ترکیبات کارون و لیمون با پژوهش حاضر مطابقت

³ Alpha-Terpinene

⁴ Piperitone oxide

⁵ Isomenthone

¹ Menthol

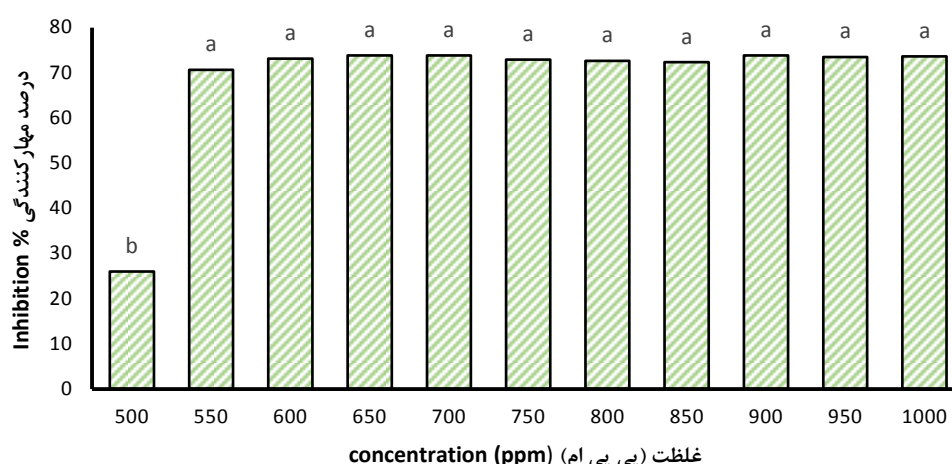
² Methylene

کشت شده در مصر (۴۱) و ترکیه (۴۲) حاوی مقدار کمی یا فاقد کاروون بوده است. می توان گفت کمیت و کیفیت اسانس تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، اقلیمی، خاکی و عملیات به زراعی قرار می گیرد (۳۴).

میزان فنول کل اسانس: بیشترین میزان ترکیبات فنل کل اسانس گیاه سوسن عنبر ۲۴۶.۰ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک است. فرحبخش و همکاران (۲۰۲۱)، طی پژوهش خودروی نعنای دشتی، ۴ نوع ترکیبات فنلی رزمارینیک اسید، هسپریدن، ترانس فرولیک اسید و کوئرستین به ترتیب با مقادیر ۱۹.۶۴، ۴.۹۵، ۰.۶۳ و ۰.۴۴ را شناسایی کردند (۳۵). در پژوهشی دیگر برای *Mentha Cervina* مقدار ترکیبات فنلی 14.81 ± 1.09 گزارش شد. همچنین در پژوهش های دیگر مقادیر بالا و مختلفی برای ترکیبات فنلی گونه های مختلف نعنا گزارش شده است (۴۳). به عنوان مثال، رحمتی جنیدآباد و همکاران در بررسی های خودروی گیاه نعنای فلفلی، میزان فنل و فلاونوئید کل را به ترتیب ۱۵.۵۵ میلی گرم گالیک اسید و ۲۵.۲۹ میلی گرم کوئرستین بر گرم اسانس را گزارش کردند (۴۴). آتاناسوا و همکاران (۲۰۱۱)، میزان فنل و فلاونوئید در گیاه نعنای فلفلی را به ترتیب ۳/۴۵ و ۲/۲۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گیاه خشک گزارش کردند

(۴۵). در مطالعه ای دیگر، عصاره الکلی نعنای فلفلی در طول موج های 285 ± 3 و 326 ± 2 نانومتر دارای حداکثر جذب نوری است که به ترتیب نشان دهنده وجود ترکیبات فلاونوئیدی و اسیدهای فنولی بود (۴۶). شاید بتوان گفت سطح ترکیبات فنلی گیاه و تفاوت در ترکیبات فنلی به مراحل فنولوژیکی گیاه بستگی دارد (۴۳).

خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس با روش DPPH: فعالیت ضد اکسایشی به دست آمده در غلظت های مختلف اسانس 14.0 ± 2.0 میکروگرم در میلی لیتر محاسبه شد. با توجه به شکل ۱ با افزایش غلظت اسانس فعالیت ضد اکسایشی افزایش پیدا کرد. شاید بتوان آن را به خاصیت ضد اکسایشی اسانس نعنای نسبت داد (۳۵)، از سوی دیگر نتایج نشان داد فعالیت ضد اکسایشی اسانس سوسن عنبر به مراتب کمتر از آنتی اکسیدان مصنوعی BHT است. فرحبخش و همکاران (۲۰۲۱)، میزان فعالیت ضد اکسایشی برای نعنای دشتی را ۱.۹۶ میلی گرم بر گرم گزارش کردند. می توان به دارا بودن خاصیت ضد اکسایشی نعنای نسبت داد (۳۵)، پژوهش های دیگر روی نعنای دشتی در کشورهای مختلف مقادیر مختلفی از فعالیت ضد اکسایشی را گزارش کردند (۴۷)، به عنوان مثال در کشور ترکیه (۴۰.۷۷ میکروگرم در میلی لیتر) (۴۸) و کشور مصر (۸۰.۶۳ میکروگرم در میلی لیتر) گزارش شده است (۴۹ و ۵۰). شاید بتوان متفاوت بودن مقادیر ترکیبات شیمیایی در یک گونه نعنای را به عوامل مختلفی از جمله شرایط منطقه ای و روش استخراج نسبت داد (۵۰).

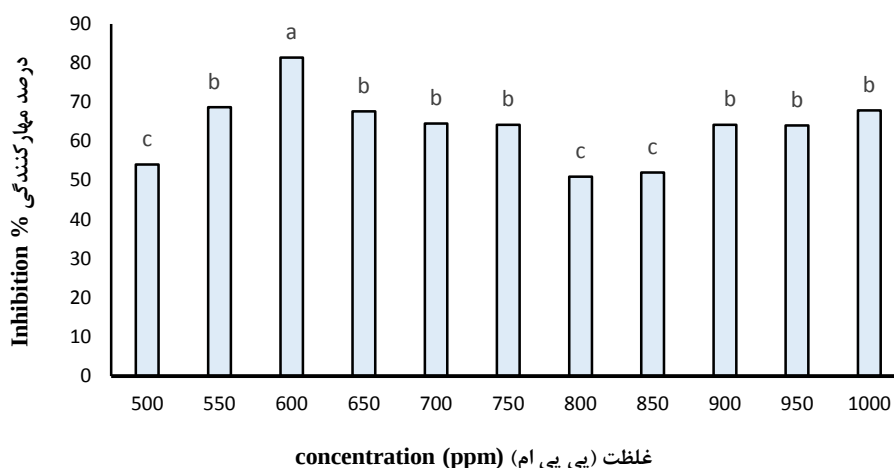


شکل ۱- فعالیت مهار کنندگی رادیکال DPPH اسانس سوسن عنبر در سس مایونز

Figure 1. DPPH radical scavenging activity (%) of *Mentha spicata* essential oil in mayonnaise

پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که از غلظت ۱ تا ۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره‌ی پنی‌رک مورد استفاده، رابطه‌ای مستقیم بین غلظت عصاره و قدرت آن در مهار رادیکال ABTS وجود داشته و با افزایش غلظت عصاره در این محدوده غلظت، قدرت آنتی رادیکالی آن افزایش یافت به طوری که در غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر درصد بازدارندگی آن ۳۷٪ بود. و نمونه‌ی مایونز حاوی ۶۰۰ ppm اسانس سوسن عنبر بهترین تیمار بود. ولی در غلظت‌های بالاتر تأثیر مثبتی مشاهده نگردید که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد (۵۲). شاید بتوان فعالیت ضد اکسایشی اسانس بر اساس ABTS را به وجود کارون در ترکیبات اسانس نسبت داد (۵۰). نتایج پژوهش‌های دیگر نشان داده است که خاصیت آنتی اکسیدانی گیاهان خانواده نعناع به حضور ترکیبات فنلی که به عنوان جمع آوری کننده‌ی رادیکال‌های آزاد و مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده‌اند، وابسته است.

خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس با روش ABTS: فعالیت آنتی اکسیدانی غلظت‌های مختلف اسانس سوسن عنبر با روش ABTS و سه بار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در محدوده‌ی غلظت ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر، رابطه‌ای مستقیم بین غلظت اسانس نعناع و قدرت آن در مهار رادیکال‌های ABTS وجود ندارد. حروف مشخص شده در نمودار معنی‌داری در احتمال ۵ درصد را نشان می‌دهد به طوری که در سطح معنی‌داری ۵ درصد غلظت‌های ۵۵۰، ۶۵۰، ۷۰۰، ۷۵۰، ۹۰۰، ۹۵۰ و ۱۰۰۰ دارای میانگین بازدارندگی ۶۷ درصد هستند که می‌توان آن را به عنوان میانگین بازدارندگی اسانس سوسن عنبر بیان نمود. نوروزی و همکاران (۲۰۱۷)، برای اسانس ترخون بیشترین مقدار بازدارندگی (۵۷۵٪) را گزارش کردند (۲۸). هاشمی و همکاران (۲۰۱۳)، در مطالعه خود به میزان بازدارندگی ۶۴٪ برای برگ نارنج اشاره کردند (۵۱). در مطالعه‌ای دیگر



شکل ۱- فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS اسانس سوسن عنبر در سس مایونز

Figure 2. ABTS radical scavenging activity (%) of *Mentha spicata* essential oil in mayonnaise

اثرگذار بودن اسانس می باشد. آنتی اکسیدان ها از عوامل اصلی خنثی کننده رادیکال های آزاد می باشند، می توان اثرگذار بودن اسانس در کاهش عدد پراکسید را به وجود ترکیبات ضد اکسایشی موجود در اسانس نسبت داد (۵۳). عوامل مختلفی مانند نور، یون های فلزی و اکسیژن قادر به افزایش عدد پراکسید می باشند. کاهش عدد پراکسید پس از رسیدن به بیشترین مقدار طی مراحل ابتدایی اکسایش می تواند بیانگر ناپایدار بودن پراکسیدها و شکست آنها به فرآورده های ثانویه طی مراحل بعدی باشد (۵۳). نتایج پژوهش حاضر با، نتایج به دست آمده از پژوهش روی استفاده از اسانس پونه کوهی در سس مایونز، اثر اسانس ترخون در سس مایونز مطابقت دارد (۲۸) و (۵۴).

ویژگی های آنتی اکسیدانی اسانس گیاه نعناع در سس مایونز

عدد پراکسید: عدد پراکسید محصول اولیه ی اکسایش چربی ها بوده که شاخصی برای سنجش میزان اکسیداسیون روغن و چربی ها می باشد. به عبارت دیگر، روغن های با عدد پراکسید بالا، بیشتر در معرض فساد ناشی از اکسیداسیون قرار دارند. تغییرات مقادیر اندیس پراکسید نمونه های مختلف مایونز طی دوره ی ماندگاری ۷ روزه در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش مشاهده شد که اثر اسانس و زمان ماندگاری در میزان شاخص پراکسید نمونه های مایونز معنی دار بود. به طوری که در انتهای دوره ی ماندگاری بیشترین میزان عدد پراکسید مربوط به نمونه ی شاهد سپس نمونه ی حاوی ۵۰۰ ppm اسانس سوسن عنبر می باشد. که این نشان دهنده ی

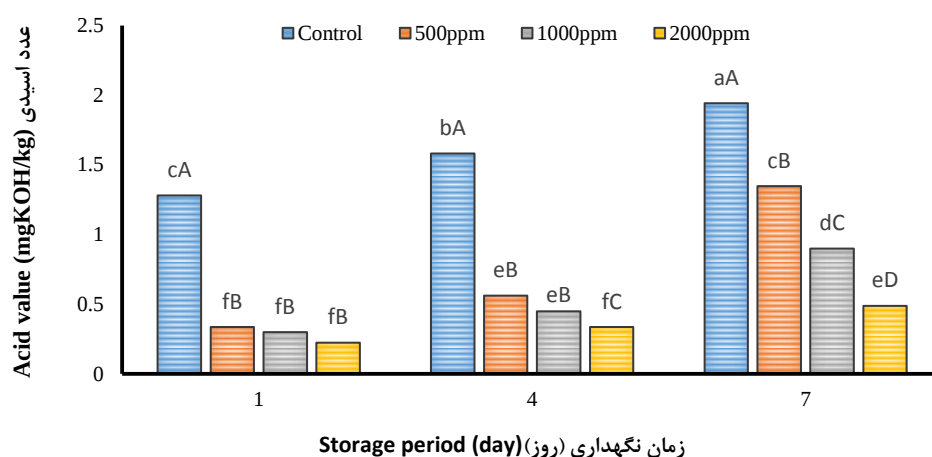
جدول ۲- بررسی اثر فعالیت ضد اکسایشی اسانس سوسن عنبر بر عدد پراکسید در سس مایونز

Table 2. Antioxidant activities of *Mentha spicata* essential oil in mayonnaise in terms of peroxide index

Sample نمونه	Peroxide index during the 7-day period عدد پراکسید طی هفت روز نگهداری
0%	73.3±5.78 ^a
500 ppm	73.3±5.78 ^a
1000 ppm	53.4 ±11.54 ^b
2000 ppm	23.3 ±23.02 ^c

غلظت ۵.۱٪ بین غلظت‌های مختلف عصاره کمترین بوده و همچنین بین غلظت ۵.۱٪ و آنتی‌اکسیدان BHA تفاوت معناداری نبوده ولی با این وجود از این آنتی‌اکسیدان تأثیر کم‌تری دارد (۵۵). همانطور که انتظار می‌رفت مقدار متوسط عدد اسیدی هر نمونه در طی دوره هفت روزه با افزایش غلظت اسانس کاهش می‌یابد و به معنی اثر آنتی‌اکسیدانی بالای آسانی نعنای در نمونه‌ها می‌باشد. بررسی نتایج حاصل از آزمون عدد اسیدی میوه‌ی طالبی نشان داد که بیشترین تأثیر مربوط به غلظت ۶۰۰ پی‌پی‌ام طالبی بوده و بین غلظت ۴۰۰ و ۶۰۰ تفاوت معناداری نبوده و تأثیر بیشتری از BHA دارد (۵۶). نتایج پژوهش‌های دیگر نشان دادند که بیشترین تأثیر در کاهش عدد اسیدی ۴.۰ بوده به‌طوری‌که از آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHA تأثیر بیشتری داشته و این نشان دهنده تأثیر غلظت بر عدد اسیدی است (۵۷) که در پژوهش حاضر نیز تأیید شد.

عدد اسیدی: روند فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برحسب عدد اسیدی در طول ۷ روز دوره‌ی ماندگاری در شکل ۳ آورده شده است. اگر اسیدیته‌ی سس از ۱.۵ درصد بیشتر باشد سس حاصل طعم نامطلوب و اگر کمتر از ۰.۶ درصد باشد زمینه برای رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌شود، مقدار اسیدیته‌ی بهینه‌ی مایونز را ۰.۷-۱.۲ گزارش کرده‌اند (۵۳). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده بیشترین مقدار عدد اسیدی در نمونه‌ی شاهد و کمترین مقدار مربوط به نمونه‌های مایونز حاوی بیشترین غلظت اسانس مرتبط بود. شاید بتوان آن را به بالا بودن فعالیت ضد اکسایشی اسانس سوسن عنبر نسبت داد (۵۳). از سوی دیگر دوره‌ی ماندگاری اثر معنی‌داری روی نمونه‌ها داشت به‌طوری‌که با افزایش دوره‌ی ماندگاری میزان عدد اسیدی نیز افزایش پیدا کرده است. یکی از دلایل این امر، می‌تواند تبدیل ترکیبات ثانویه اکسایش به اسیدهای کربوکسیلیک باشد (۵۳). نتایج پژوهش‌های ابوزیاد و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که عدد اسیدی در پایان دوره‌ی نگهداری (۱۲ هفته) در



شکل ۳- بررسی اثر فعالیت ضد اکسایشی اسانس سوسن عنبر بر عدد اسیدی در سس مایونز

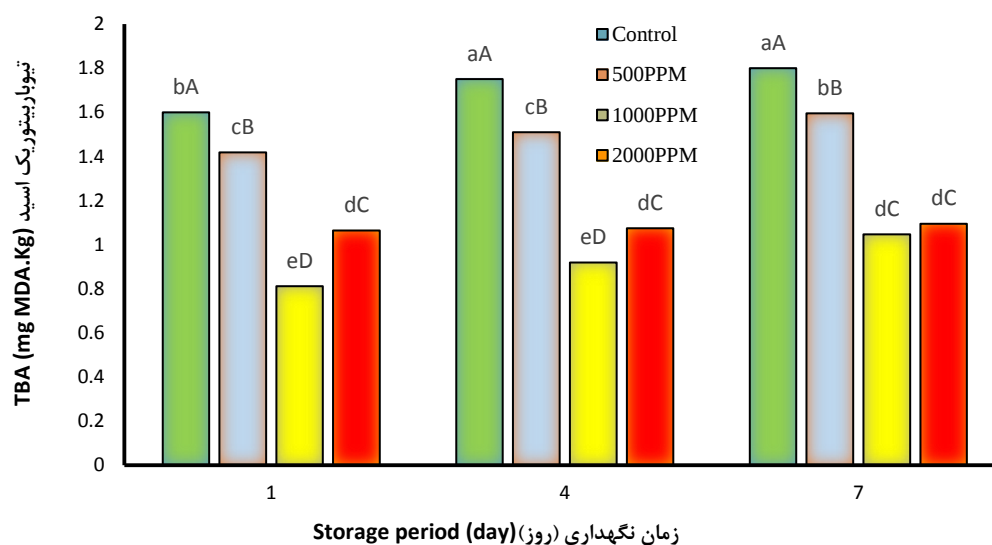
Figure 3. Antioxidant activity of *Mentha spicata* essential oil in mayonnaise in terms of acid value

شد (۵۸). نتایج اکسیداسیون نمونه‌ها بر اساس جذب تیوباریتوریک اسید به‌عنوان شاخصی از ترکیبات

تیوباریتوریک اسید: آزمون TBA جهت تعیین فراورده‌های اکسیداسیون ثانویه در سس مایونز انجام

و در نتیجه ترکیبات مالون آلدهید شود (۵۸). در مطالعات پیشین گزارش شده است عصاره‌های گیاهان می‌توانند تشکیل محصولات اکسیداسیون را به تأخیر اندازند (۵۹). نوروزی و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که در بین اسانس‌های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ (ppm)، ترخون کمترین مقدار جذب در ۲۰۰۰ ppm رخ داده است (۲۸).

تانویه اکسیداسیون در شکل ۴ نشان داده شده است. کمترین جذب نشان‌دهنده‌ی بالاترین فعالیت بازدارندگی تیوباربتوریک اسید است. با توجه به شکل، بیشترین فعالیت ضد اکسایشی مربوط به غلظت ۱۰۰۰ ppm است و بین غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ (ppm) اسانس اختلاف معناداری مشاهده نمی‌شود. ترکیبات فنلی در به تأخیر انداختن واکنش‌های اکسیداتیو اثرگذار بوده و می‌تواند مانع تشکیل محصولات ثانویه



شکل ۴- بررسی اثر فعالیت ضد اکسایشی اسانس سوسن عنبر در سس مایونز (تیوباربتوریک اسید)

Figure 4. Antioxidant activity of *Mentha spicata* essential oil in mayonnaise in terms of TBA

سودوموناس ائروژینوزا، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی بیشتر بود. درحالی‌که در بین سویه بیماری‌زا گرم مثبت، سویه بیماری‌زاییستریا/ینوکوا قطر هاله عدم رشد کم‌تری داشت. به‌طوری‌که بیشترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت ۴۰۰ میلی گرم برای باکتری گرم مثبت باسیلوس سرئوس و کمترین قطر هاله بازدارندگی در غلظت ۴۰۰ میلی گرم برای باکتری گرم منفی سالمونلا تیفی مشاهده گردید. که قطر هاله عدم رشد برای آن‌ها به ترتیب ۵۸.۳۴ میلی متر و ۹۵.۱۳ میلی متر بود. نتایج بیانگر این است باکتری‌های گرم مثبت حساس‌تر از باکتری‌های گرم منفی هستند. اثر

آزمون‌های دیسک دیفیوژن MIC و MBC: نتایج بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس عنبر با روش دیسک دیفیوژن آگار بر سویه‌های بیماری‌زا در جدول (۳)، آورده شده است. نتایج نشان داد که قطر هاله بازدارندگی با افزایش غلظت اسانس برای همه سویه‌ها بیماری‌زا مورد بررسی در این پژوهش به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. شاید آن را به خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها نسبت داد (۳۴). نتایج نشان داد که قطر هاله عدم رشد میکروبی برای سویه‌های بیماری‌زا گرم مثبت باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به سویه‌های گرم منفی

اسانس نعناع در برابر تعداد از باکتری‌های گرم مثبت و منفی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاصل از پژوهش آن‌ها نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس نعناع فلکلی اثر بازدارندگی بالاتری داشت. که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۶۱ و ۶۲).

ضدمیکروبی بیشتر آن‌ها نسبت به اسانس را می‌توان به وجود یک غشای خارجی غنی از لیپوساکارید در باکتری‌های گرم مثبت نسبت داد (۶۰). طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که کمترین قطر هاله عدم رشد برای اسانس نعنا فلکلی مربوط به سویه گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا بود. یزدانی و همکاران (۱۳۹۸)، در طی پژوهشی اثر ضدمیکروبی

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) اسانس سوسن عنبر به روش انتشار در دیسک بر سویه‌های بیماری‌زا
Table 3- average diameter of inhibition zone (mm) against different pathogens in different concentrations of *Mentha spicata* L. essential oil.

Bacteria باکتری	Concentration(mg/ml) غلظت (میلی گرم در میلی لیتر)			
	50	100	200	400
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.09±0.025 ^{dB}	15.29±0.05 ^{cA}	18.93±0.09 ^{bA}	32.50±0.70 ^{aD}
<i>Listeria monocytogenes</i>	0±0	8.24±0.03 ^{bC}	10.10±0.11 ^{bC}	15.15±1.35 ^{aCD}
<i>Bacillus cereus</i>	8.32±0.01 ^{dA}	14.22±0.31 ^{cB}	17.2±0.04 ^{bB}	34.58±0.66 ^{aA}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0±0	7.06±0.07 ^{cD}	9.36±0.12 ^{bD}	14.94±0.9 ^{aCD}
<i>Escherichia coli</i>	8.32±0.01 ^{dA}	7.37±0.2 ^{cD}	8.83±0.07 ^{bE}	16.93±0.38 ^{aC}
<i>Salmonella typhi</i>	0±0	0±0	13.95±0.99 ^{aD}	13.95±0.99 ^{aD}

حروف غیر مشابه کوچک (a, b و c) در یک ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ بین غلظت‌های مختلف اسانس می‌باشد.

حروف غیر مشابه بزرگ (a, b و c) در یک ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح $p > 0.05$ میان باکتری‌های مختلف است.

یزدانی و همکاران (۱۳۹۸)، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) اسانس نعناع فلکلی در برابر سویه‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتلیس و استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی کلبسیلا پنومونیه و شیگلا دیسانتری به ترتیب ۲۵.۳۱، ۲۵.۳۱ و ۵۰.۶۲ و ۵۰.۶۲ و ۲۵.۳۱ میلی گرم بر میلی لیتر بود. طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۷) بیان داشتند که حداقل غلظت بازدارندگی اسانس نعنا فلکلی برای سویه‌های استافیلوکوکوس اپیدرمیس، لیستریا اینوکوا، سالمونلا تیفی و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۲.۹، ۴.۱۸، ۶.۷۳ و ۶.۴ میلی گرم بر میلی لیتر است (۶۰ و ۶۱).

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس سوسن عنبر بر سویه‌های بیماری‌زای باکتریایی در جدول (۴) نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، حداقل غلظت اسانس سوسن عنبر برای مهار باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوزنس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی به ترتیب ۵.۱۲، ۵.۱۲، ۲۵.۶، ۲۵.۶ و ۵.۱۲ و ۲۵.۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود. با توجه به نتایج (جدول ۴)، حداقل غلظت کشندگی برای همه سویه‌های مورد بررسی برای اسانس نعنا فلکلی بزرگ‌تر از ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. در مطالعه انجام شده توسط

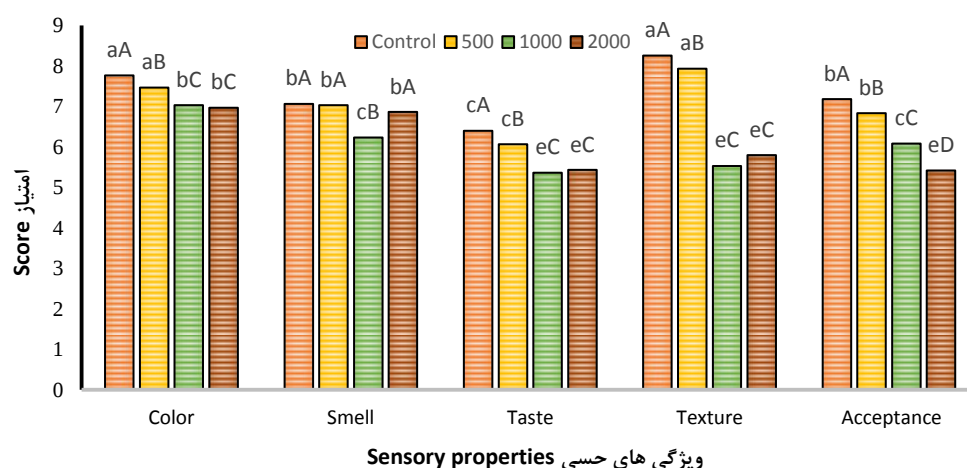
جدول ۴. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس سوسن عنبر بر سویه‌های بیماری‌زا

Table 4- MIC and MBC of *Mentha spicata* L. essential oil for different pathogens

Microorganism میکروارگانسیم	MIC(mg/ml) حداقل غلظت بازدارندگی (میلی گرم در میلی لیتر)	MBC(mg/ml) حداقل غلظت کشندگی (میلی گرم در میلی لیتر)
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.5	>400
<i>Listeria monocytogenes</i>	12.5	>400
<i>Bacillus cereus</i>	6.25	>400
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.25	>400
<i>Escherichia coli</i>	12.5	>400
<i>Salmonella typhi</i>	12.5	>400

ارزیابی حسی: نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های مایونز در شکل ۵ نشان داده شده است. با توجه به شکل از نظر ویژگی‌های رنگ ظاهری، بو و طعم بین نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلفی از اسانس تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. اما از نظر ویژگی بافت بین نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های حاوی غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm از اسانس تفاوت معنی‌داری مشاهده

می‌شود. از سوی دیگر، بیشترین امتیاز در هر پارامتر مربوط به نمونه‌ی شاهد و سپس نمونه‌ی حاوی کمترین غلظت از اسانس بود. می‌توان آن را به ذائقه‌ی افراد ارزیاب نسبت داد. در نهایت بررسی پذیرش کلی نمونه‌ها، نشان‌دهنده‌ی مشابه و نزدیک بودن خواص ارگانولیتیکی نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های مایونز حاوی غلظت‌های مختلفی از اسانس می‌باشد.



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف اسانس سوسن عنبر بر ویژگی‌های حسی سس مایونز

Figure 5. Effect of *Mentha spicata* L. essential oil on the sensory properties of mayonnaise sauces

نتیجه‌گیری

اسانس نعنای به علت داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی، توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد تولید شده ناشی از واکنش اکسیداسیون را دارا بوده، به‌طوری‌که تأثیر آن در غلظت ۸۰۰ ppm معادل غلظت ۱۰۰ ppm

آنتی‌اکسیدان مصنوعی BHT بود. همچنین می‌تواند به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان TBHQ به‌کار گرفته شود. بنابراین اسانس نعنای می‌تواند منبع امیدوارکننده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و به‌عنوان یک جایگزین مناسب برای استفاده از

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

آنتی اکسیدان های مصنوعی مورد مصرف قرار گیرد. نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن اسانس نعناع در مایونز روی ویژگی های کیفی و ارگانولپتیکی آن آثار سوء نداشته و می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی جهت استفاده در این محصول پیشنهاد شود.

References

1. Amarowicz, R., & Pegg, R.B. (2019). Natural antioxidants of plant origin. In *Advances in food and nutrition research*. Academic Press. Vol. 90: pp. 1-81.
2. Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J. P., Srivastva, S., & Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review. *Res. Environ. Life Sci.* 9(11): 1328-1331.
3. Naeini, A., Khosravi, A., Chitsaz, M., Shokri, H. and Kamlnejad, M. (2009). Anti- *Candida albicans* activity of some Iranian plants used in traditional medicine. *Journal mycologic medicale*. 19:168-172. 48.
4. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International Food Microbiology*. 94(3): 223-253.
5. Torabian Kakhki, M., Sedaghat, N., Mohsenzadeh, M. (2020). Chemical composition, antioxidative, antibacterial, and time-kill activities of some selected essential oils against foodborne pathogenic and spoilage organisms. *Vet Res Forum*. 11(4): 339-346.
6. McClements D, editor. (2005). *Food Emulsions: Principles. Practice, and Techniques*. 2th ed. Boca Raton, Florida: CRC Press,. p. 189.
7. Depree, J.A., Savage, G.P. (2001). Physical and flavor stability of mayonnaise. *Trends Food Sci Tech.*, 12(5- 6):157-63.
8. Beltran, G., Aguilera, M.P., and Gordon, M.H. (2005). Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. *Food Chem*. 92(3): 401-6.
9. Sherwin, E.R. (1978). Oxidation and antioxidants in fat and oil processing. *J Am Oil Chem Soc*. 55(11): 809-14.
10. Shariat, M., Lakzadeh, L., & Mirmohammady, M. (2017). Comparison of Spectrophotometry and HPLC methods in measurement of potassium sorbate in industrial fruit juices. *Journal of Food Hygiene*. 4 (2 4): 63 -74.
11. Pajohi, M. R., Tajik, H., Akhondzadeh, A., Gandomi, H., Ehsani, A., & Shokohi Sabet Jalali, F. (2010). Evaluation of chemical composition and antibacterial efficacy of *cuminum* L. and *menthe longifolia* L. alone and combined with nisin. *Studies in Medical Sciences*. 21 (4): 324 -331.
12. Patra, N.K. and Kumar, B. (2006). *Spearmint in: Hand book of herbs and apices*. cambridge, England, wood head publishing limited, 3: 502-517.
13. Mahmoudi Surestani, M., and Akbarzadeh, M. (2014). Investigating the effect of harvesting time on the percentage, yield and components of *Mentha spicata* essential oil in Hamidiyeh region. *Plant Production Scientific Journal of Agriculture*. 38(1):115-129.
14. Tetik, F., Civelek, S., and Cakilcioglu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of Food Engineering*. 146(1): 331-346.
15. Mahboubi, M. (2021). *Mentha spicata* L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 11(2): 75-81.
16. Asekun, O.T., Grierson, D.S., and Afolayan, A.J. (2007). Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. *Capensis*. *Food Chemistry*. 101(3): 995-998.

17. Kanatt, S.R., Chander, R., and Sharma, A. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. Food Chemistry. 100(2): 451-458.
18. Patra, N.K. and Kumar, B. (2006). Spearmint in: Hand book of herbs and apices. cambridge, England, wood head publishing limited, 3: 502-517. 32.
19. Safiaghda, M, Alizadeh, A, Soofi, M. (2021). Investigating the effect of peppermint essential oil and malva sylvestris extract as a natural preservative on the quality and antioxidant properties of mayonnaise sauce. FSCT. 18 (114) :147-158.
20. Alizadeh, L., Abdolmaleki, K., Nayebyzadeh, K., & Shahin, R. (2019). Effects of tocopherol, rosemary essential oil and Ferulago angulata extract on oxidative stability of mayonnaise during its shelf life: A comparative study. Food chemistry, 285, 46-52.
21. Goli, S. A. H., Keramat, S., Soleimanian-Zad, S., & Baghabrishami, R.G. (2024). Antioxidant and antimicrobial efficacy of microencapsulated mustard essential oil against Escherichia coli and Salmonella Enteritidis in mayonnaise. International Journal of Food Microbiology, 410, 110484.
22. Mahmoudi Surestani, M., and Akbarzadeh, M. (2014). Investigating the effect of harvesting time on the percentage, yield and components of Mentha spicata essential oil in Hamidiyeh region. Plant Production Scientific Journal of Agriculture. 38(1): 115-129.
23. Tetik, F., Civelek, S., and Cakilcioglu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). Journal of Food Engineering. 146(1): 331-346.
24. Mahboubi, M. (2021). *Mentha spicata* L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. Journal of Traditional and Complementary Medicine. 11(2): 75-81.
25. Asekun, O.T., Grierson, D.S., and Afolayan, A.J. 2007. Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. Capensis. Food Chemistry. 101(3): 995-998.
26. Kanatt, S.R., Chander, R., and Sharma, A. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. Food Chemistry. 100(2): 451-458.
27. Azizi Tabrizi N, Seyedin Ardebili S.M., and Hojjati M. (2019). Investigation of chemical compounds and antibacterial activity of pennyroyal, mint and thyme essential oils, Food Science and Technology. 15(12), 447-457. (In Persian)
28. Noruzi, F., Hojjati, M., Jooyandeh, H., and Barzegar, H. (2017). Study of the possibility of application of farragon essential oil in mayonnaise as a natural additive. Journal of food research. 28(3): 85-99. (In Persian)
29. Lagunes-Galvez, L., Cuvelier, M.E., Ordonnaud, C. and Berset, C. (2002). Oxidative stability of some mayonnaise formulations during storage and daylight irradiation. Journal of Food Lipids. 9: 211-224.
30. Gomes, I. A., Terra Lindenblatt, C., Pessôa Masson, L. M., Santos Gomes, F., Freitas -Silva, O., and Lima da Silva, J. P. (2016). Effect of Oregano Essential Oil On Oxidative Stability of Low -Acid Mayonnaise. Journal of Food Science and Technology. 6(11): 45 -52
31. Ghorbani, Sh. Roozbeh Nasirani, L. Juri, M.H. (2014). The antimicrobial effects of *Mentha longifolia* L. essential oil on *Salmonella enteritidis* in mayonnaise sauce". Journal of Food Microbiology, 2 (3): 2015, 15-26.
32. Proestos, C., Lytoudi, K., Mavromelanidou, O.K., Zoumpoulakis, P. and Sinanoglou, V.J. (2013). Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. Antioxidant 2, 11-22.
33. Ahmad Nejhad, A., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Mehrnia, M. A. (2023). Identification of phytochemical, antioxidant, anticancer and antimicrobial potential of *Calotropis procera* leaf aqueous extract. Scientific Reports, 13(1), 14716.
34. Zamanpour Boroujeni, A., Alizadeh Behbahani, B., Mehrnia, M. A., Noshad, M., & Hojjati, M. (2024). Evaluation of antioxidant activity and antimicrobial effect of *Nigella sativa* oil on some pathogenic bacteria and its interaction with chloramphenicol antibiotic. Journal of food science and technology (Iran), 20(145), 111-121. (In Persian)
35. Farahbakhsh, J., Najafian, S., Hosseini Farahi, M., & Gholipour, S. (2021). Essential oil composition and phytochemical properties from leaves of felty germander (*Teucrium polium*

- L.) and spearmint (*Mentha spicata* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 24(1), 147-159.
36. Mokhayeri, K., Koohsari, H. and Seyyed Alangi, S.Z. (2017). Determination of chemical composition and minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of *Mentha spicata* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. JFM. 4 (4), 9-19. (In Persian)
37. Rasoli I, Gachkar L, Yadegarinia D, and Rezaee, M.B. 2008. Antibacterial and antioxidative characterisation of essential oils from *Mentha piperita* and *Mentha spicata* grown in Iran. Acta Alimentaria. 37(1):41-52. (In Persian)
38. Hadjiakhoondi, A., Aghel, N., Zamanizadeh-Nadgar, N. and Vatandoost, H. (2000). Chemical and biological study of *Mentha spicata* L. essential oil from Iran. Daru, 8 (1 and 2): 19-21
39. Znini, M., Bouklah, M., Majidi, L., Kharchouf, S., Aouniti, A., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Costa, J. and Al-Deyab, S.S. (2011). Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. International Journal of Electrochemical Science, 6: 691-704.
40. Zheljaskov, V. D., Cantrell, C. L., Astatkie, T. and Ebelhar, M. W. (2010 b). Productivity, oil content, and composition of two spearmint species in Mississippi. Agronomy Journal, 102 (1): 129-133.
41. Omar, N. A., El- Sayed, Z. I. A. and Romeh, A. A. (2009). Chemical constituents and biocidal activity of the essential oil of *Mentha spicata* L. grown in Zagazig region, Egypt. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 5 (6): 1089-1097.
42. Telci, I., Demirtas, I., Bayram, E., Arabaci, O. and Kacar, O. (2010). Environmental variation on aroma components of pulegone. piperitone rich spearmint (*Mentha spicata* L.). Industrial Crops and Products, 32: 588-592.
43. Čavar Zeljković, S., Šišková, J., Komzáková, K., De Diego, N., Kaffková, K., & Tarkowski, P. (2021). Phenolic compounds and biological activity of selected *Mentha* species. Plants, 10(3), 550.
44. Rahmati Junidabad, Mustafa, Alizadeh Behbahani, Behrouz, and Noshad, Mohammad. (2022). Evaluation of total phenol and flavonoid, antioxidant power and antifungal effect of spearmint essential oil on the strains responsible for spoilage of strawberry fruit. Applied microbiology in food industry, 8(1), 1-11. SID. <https://sid.ir/paper/985636/fa>
45. Atanassova, M., Georgieva S. and Ivancheva, K. (2011). Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs. J. Chem. Technol. Metall.; 46 (1): 81-88.
46. Olennikov, D.N. and Tankhaeva, L.M. (2010). Quantitative determination of phenolic compounds in *Mentha piperita* leaves. Chem. Nat. Compd, 46 (1): 22-27.
47. Galoburda, R., Kruma, Z., and Ruze, K. 2012. Effect of Pretreatment Method on the Content of Phenolic Compounds, Vitamin C and Antioxidant Activity of Dried Dill. World Academy of Science Engineering and Technology. 6(4): 251-255.
48. Ghorbani, Sh. Roozbeh Nasirani, L. Juri, M. H. 2014 The antimicrobial effects of *Mentha longifolia* L. essential oil on *Salmonella enteritidis* in mayonnaise sauce". Journal of Food Microbiology, 2 (3): 2015, 15-26.
49. Nickavar B, Alinaghi A, Kamalinejad M. (2008). Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. Iranian J Pharm Res. 7:203-9.
50. Adli, D. E., Brahmi, M., Ziani, K., Brahmi, K., Kahloula, K., & Slimani, M. (2022). Chemical Composition, in vitro Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Mentha spicata* Essential Oil: A Review. *Phytothérapie*, 20(6), 320-327.
51. Hashemi, Z, Hojjati, M, and Tahanjad, M. 2014. Investigating the antacid activity of orange leaf essential oil (*Citrus aurant* L.) in comparison with synthetic antacid TBH in edible oil. New technologies in the food industry (new food technologies), 2(6): 43-57. (In Persian)

52. Ranjbar, M., Kiani, M., and Nikpay, A. 2020. Antioxidant and scolicidal activities of four Iranian *Mentha* species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. *Journal of Herbmmed Pharmacology*. 9(3): 200-208.
53. Tahanjad, M., Barzgar, M., Sahari, M.A., and Naqdi Badi, H.A. (2012). Evaluation of the anti-radical activity of *Malva sylvestris* L. extract and its application in the oil system. *Medicinal Plants*, 11(42), 86-97. (In Persian)
54. Ozkan, M. (2003). Antioxidant activities of rosemary, sage, and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil. *Journal of Medicinal Food*. 6: 267-270.
55. Abou-Zaid, Atef A., Abdelahafez, A. and Amer, May M. (2015). Effect of basil leaves extracted Juice addition on mayonnaise and cake oxidative stability and their sensory Agricutury. *Food Chemistry*. 53: 4290–4302
56. Ezz El-Din Ibrahim, M. and Gaber El-Masry, H. 2016. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo* var. cantalupensis) and food application. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5: 16-24
57. Li, Chun-Ying., Kim, Hee-Woong., Li, He., Lee, Deug-Chan and Rhee, Hae-Ik. (2014). Antioxidative effect of purple corn extracts during storage of mayonnaise. *Food Chemistry*. 152 (2014): 592–596.
58. Gorjian, H., Raftani Amiri, Z., Mohammadzadeh Milania, J., & Ghaffari Khaligh, N. (2021). Comparison of the effect of natural preservatives (nanoliposome and nanoniosome containing myrtle extract) and sodium benzoate on physicochemical, microbial, sensorial and properties of Mayonnaise sauce. *Journal of food science and technology (Iran)*, 18(116), 313-325.
59. Khajavi, H., and Dastgerdi A. Ahmadi. 2021. "The effect of essential oil of thyme (*Zataria multiflora* boiss) on the sensory properties and oxidative stability of mayonnaise." 49-60.
60. Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
61. Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A.R., Mortazavi, S.A., & Shahidi, F. (2018). Evaluation antioxidant activity, phytochemical constituents and antimicrobial of *Mentha Piperita* essential oil on some infectious and poisonous microorganisms. *J. Food Sci Technol.*, 15(76), 67-76. (In Persian)
62. Yazdani, M. (2019). Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 13(3), 210-219. (In Persian)

