

بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدانی اسانس بخش‌های هوایی مریم‌گلی کبیر (*Salvia sclarea*) و ریحان (*Ocimum basilicum*) در پنیر سفید ایرانی

فهیمة توریان^{*۱} - مریم عزیزخانی^۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۹

چکیده

گیاهان دارویی مخلوط طبیعی پیچیده‌ای هستند که به‌عنوان جایگزین بالقوه آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی در مواد غذایی مطرح شده‌اند. در این مطالعه، تاثیر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان بر ماندگاری پنیر سفید ایرانی، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ و ۲۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۹ روز مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها، در سه سطح غلظتی ۰/۵، ۰/۷۵، ۱٪ (وزنی/حجمی) تیمار شدند، کنترل منفی، پنیر بدون آنتی‌اکسیدان و کنترل مثبت، نمونه‌ای با آنتی‌اکسیدان مصنوعی (BHT) ۰/۰۵٪ انتخاب شدند. ترکیب شیمیایی اسانس‌ها مورد بررسی و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH و پایداری اکسایشی با استفاده از تست‌های پراکسید و تیوباربیتریک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین تاثیر در جلوگیری از اکسیداسیون چربی در روز نودم در غلظت ۰/۷۵ و ۱٪ ریحان و ۱٪ درصد اسانس مریم‌گلی کبیر مشاهده شد. در نهایت به‌نظر می‌رسد اسانس ریحان تاثیر بیشتری در مقایسه با اسانس مریم‌گلی کبیر داشت. عدد نهایی پراکسید (میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم) و تیوباربیتریک اسید (مالون‌دی‌آلدهید بر حسب میلی‌مول در ۱۰۰۰ گرم روغن) در غلظت ۱٪ برای اسانس مریم‌گلی کبیر به ترتیب ۱/۸۱۷ و ۰/۰۹۶ و برای اسانس ریحان ۱/۳۷۹ و ۰/۰۶۸۰ بود که اختلاف معناداری با نمونه کنترل داشتند ($p < 0.05$). غنی‌سازی با اسانس‌های طبیعی موجب افزایش ماندگاری و پایداری اکسایشی پنیر می‌شود. همچنین بر خواص ارگانولپتیکی تاثیر چندانی نمی‌گذارد، اما با توجه به ویژگی‌های ذاتی نگهدارندگی، موجب افزایش عمر ماندگاری پنیر می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، ریحان، مریم‌گلی کبیر، پنیر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

فعالیت آنتی‌اکسیدانی شیر و محصولات لبنی انجام شده، اما تحقیقات عمیق‌تری جهت استفاده از پتانسیل آنتی‌اکسیدان‌ها بصورت کاربردی در فرآورده‌های لبنی و بویژه پنیرها، جهت افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این فرآورده‌ها الزامی است. در دهه‌های اخیر، در راستای حذف یا کاهش ترکیبات سنتزی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با انواع طبیعی انجام شد و گزارش‌های متعددی بیان شد که گیاهان دارویی، دارای ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و یا ضدرادیکالی می‌باشند (Kulisc et al., 2004; Lee et al., 2002). در سال‌های اخیر با توجه به افزایش آگاهی مصرف‌کننده‌ها نسبت به ایمنی مواد غذایی، نیاز به شناسایی آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشأ طبیعی روز به روز در حال افزایش است و تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی و میکروبی به‌جای نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند (Moure et al., 2001). اکثر اسانس‌های گیاهی از صدها ترکیب پیچیده فیتوشیمیایی نظیر مونوترپن‌ها،

شیر و فرآورده‌های لبنی، به‌عنوان غذای عملگر، ناشی از حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با اثرات سودمند بر سلامت مصرف‌کنندگان، مطرح است. فرآیندهای اکسیداسیون در شیر و فرآورده‌های آن سبب ایجاد بو و طعم تند شده و منجر به کاهش کیفیت تغذیه‌ای و نیز کاهش ایمنی به‌علت ایجاد ترکیبات سمی می‌شوند (Basti et al., 2007). بنابراین علاوه بر ترکیبات شیر، بکار بردن ترکیباتی که منجر به پایداری اکسایشی شیر و محصولات لبنی شود از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشند. پنیر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های لبنی پرمصرف، از این قاعده استثناء نمی‌باشد. مطالعات زیادی در مورد

۱-استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.

* نویسنده مسئول: (Email: f.tooryan@ausmt@ac.ir)
DOI: 10.22067/iftstr.v1395i0.47142

مواد و روش‌ها

مواد

تمام مواد شیمیایی و حلال‌ها مورد استفاده با درصد خلوص بالا، از شرکت مرک (آلمان) و (BHT) Butylated hydroxyl toluene از شرکت سیگما آلدْرِیج (آلمان) خریداری شدند.

تهیه و آنالیز اسانس‌ها

اسانس‌های مورد استفاده از شرکت Pronarom (بلژیک) تهیه گردیده و در تمام مراحل مطالعه از اتانول ۵۰٪ به‌عنوان حلال اسانس‌ها استفاده شد. آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد (Basti et al., 2007). اسانس‌ها تا زمان انجام آزمایش در یخچال ۴+ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تجزیه اسانس با GC/MS

اسانس‌ها توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) موجود در پژوهشکده گیاهان دارویی ایران تجزیه شد و با استفاده از محاسبه ضرایب بازداری هر یک از اجزای تفکیک شده و طیف جرمی آنها و مقایسه با استاندارد، ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس تعیین و شناسایی شد (Azizkhani et al., 2012).

تهیه پنیر

پنیر مورد استفاده در کارخانه گلا به روش مداوم فرا پالایش (UF) به شرح ذیل تولید گردید. پس از خامه‌گیری، باکتوفوگاسیون و استاندارد کردن، شیر توسط فیلتر شیرتا حدود ۳۸ درصد ماده خشک تغلیظ گردیده، پس از هموژنیزاسیون به تانک‌های استارترزی منتقل شد. پس از افزودن ۲-۱٪ استارتر و کاهش جزئی pH، رتنتیته به دستگاه پرکن انتقال یافت که طی آن ابتدا آنتی‌استیک به داخل ظرف بسته‌بندی اسپری شده، پس از پر شدن قالب، ضدکف روی سطح مایع رتنتیته پاشیده شد، سپس ترکیبات ضدکف اضافه و در ظرف پر می‌شود. در این مرحله غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد (حجمی/حجمی) از هر یک از اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان که به‌وسیله روش فیلتراسیون استریل شده‌اند، با استفاده از سرنگ استریل به روش اسپری سطحی به‌صورت مخلوط با ضدکف به شیر اضافه گردید و به سرعت جهت مخلوط شدن، همزده شد، سپس به تونل انققاد منتقل شد، زمان عبور حداقل ۱۵ دقیقه و سپس ظروف حاوی پنیر به روی نقاله خروجی منتقل و پاشش نمک به میزان ۲/۵ درصد، قرار دادن پوشش کاغذی روی پنیر و اتصال فویل آلومینیومی انجام شد. در مرحله بعدی، گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت و انتقال به سردخانه ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پنیر تولیدی حاوی ۱۵ تا ۱۷

دی‌ترین‌ها، سزکوئی‌ترین‌ها، مشتقات بنزن و... تشکیل شده‌اند که اکثراً در کنار هم دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی هستند (Tepe et al., 2007; Choi et al., 2007). که این ترکیبات می‌توانند علاوه بر افزایش ماندگاری، نقش مفیدی در ویژگی‌های حسی (طعم، بو و رنگ) مواد غذایی داشته باشند (Pokorny et al., 2001).

گیاه ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* و مریم‌گلی کبیر با نام علمی *Salvia sclarea*، گیاهانی علفی متعلق به خانواده لابیاته (نعناعیان)، از گونه‌هایی با خصوصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه می‌باشند (داوند سراب و همکاران، ۱۳۸۷؛ کاظمی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸) و در سراسر جهان رویشی وسیع دارند و ضمن برخورداری از خواص ارزشمند درمانی، به‌عنوان یک افزودنی طعم‌دهنده در انواع مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این گیاهان در بررسی‌های آزمایشگاهی اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدتوموری، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی از خود نشان داده‌اند (Ghasemi et al., 2005; Wannissorn et al., 2013). ترکیبات اسانس مریم‌گلی کبیر و ریحان توسط کمیسیون اروپایی جهت استفاده به‌عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی به ثبت رسیده است که خطری برای سلامت مصرف‌کننده ندارد (کاظمی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۸). در تحقیقات پیشین خاصیت آنتی‌اکسیدانی برخی از گونه‌های ریحان و مریم‌گلی مشخص شده است (Lee et al., 2005; Tomaino et al., 2005). علاوه بر این، برخی از گونه‌های مریم‌گلی به‌عنوان ادویه برای طعم دادن به گوشت خوک، مرغ و سوسیس استفاده می‌شود و به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدان برای افزایش پایداری اکسایشی غذاهای چرب استفاده می‌گردد (Ebrahimabadi et al., 2010). Hussain و همکاران (۲۰۰۸) و Ozkan و همکاران (۲۰۱۰) به‌ترتیب به بررسی ترکیب شیمیایی، فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان و اسانس و عصاره مریم‌گلی پرداختند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها را با استفاده از روش DPPH مورد بررسی قرار دادند. همچنین Juntachote و همکاران (۲۰۰۶) به بررسی تاثیر عصاره ریحان در گوشت چرخ شده خوک و Rasmy و همکاران (۲۰۱۲) به اثر عصاره مریم‌گلی بر سس مایونز پرداختند. اغلب تحقیقات آنتی‌اکسیدانی در محیط آزمایشگاهی انجام شده (Politeo et al., 2007) و یا به تاثیر عصاره‌ها در مواد غذایی اشاره شده، بدین ترتیب، به رغم بومی بودن و دسترسی آسان و ارزان این گیاهان در ایران، اطلاعات اندکی پیرامون تاثیر اسانس‌ها، در ماده غذایی طی دوره نگهداری در دسترس است. (Kristensen et al., 2001) لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی پایداری اکسایشی یک مدل غذایی (پنیر) در حضور اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان انجام شده است.

درصد چربی بود.

برساند (Ye et al., 2009).

$$\text{Peroxide Value} = (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / 55/84 \times 2 \times m \times W_{\text{sample}} \quad (2)$$

جذب نمونه = A_{sample} جذب بلانک = A_{blank}

وزن اتمی آهن = ۵۵/۸۴

شیب خط منحنی کالیبراسیون غلظت های مختلف آهن $m = 2$

فاکتور تبدیل میلی‌اکی‌والان آهن به میلی‌اکی‌والان پراکسید

وزن نمونه = W_{sample}

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش TBARS^۲

برای تهیه محلول TBARS، حجم‌های مساوی از مخلوط اسید سیتریک و اسید فسفریک به نسبت (۱ به ۱) با معرف TBA مخلوط شد. ۵۰ ml معرف TBA (۰/۲۵ M) در محلول بی‌اثر NaOH و ۵۰ ml مخلوط ۲ M اسید فسفریک / ۲ M اسید سیتریک که دو اسید به‌عنوان چلاته‌کننده‌ی فلزات بکار برده شدند. ۶ گرم پنیر با ۱۸ TBARS مخلوط و مواد همگن شد. سپس مخلوط به قسمت‌های مساوی ۶ ml تقسیم و به لوله‌های آزمایش منتقل گردید و به هر یک از آن‌ها ۳/۵ ml کلروفورم اضافه شد مخلوط به مدت ۵ دقیقه همگن شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق سانتی‌فریژ گردید. مایه رویی جدا شده و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از خشک شدن نمونه جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. اندازه‌گیری TBARS نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد هر ۳ روز یک بار و برای نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هر ۶ روز یک بار انجام شد (Ye et al., 2009).

ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی نمونه‌های پنیر از ۸ نفر پانلیست استفاده شد. ویژگی‌های حسی (پذیرش کلی) با استفاده از مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای (۱: بسیار بد تا ۵: بسیار خوب) مورد ارزیابی قرار گرفت (Ozyurt et al., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمایشات در سه تکرار در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام شد و تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Spss ۲۰ انجام شد و به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شد. تجزیه و تحلیل واریانس با آزمون (One-Way ANOVA) و

استخراج چربی پنیر

در این روش ۲/۵ گرم از نمونه پنیر را به محلول ۵۰ ml کلروفورم/متانول (۱:۲ v/v) اضافه و مخلوط شد. سپس ۱۰ ml CaCl_2 (۱ mM) اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه همگن شد، مخلوط بدست آمده به مدت ۳۰ دقیقه سانتی‌فریژ گردید. فاز کلروفورم جدا شد و به باقی‌مانده آن ۳۰ ml کلروفورم اضافه شد و دوباره به مدت ۳۰ دقیقه سانتی‌فریژ گردید. سپس فاز کلروفورم جدا شده و به کلرفرمی که در مرحله قبل جدا شده بود اضافه شد و در تبخیرکننده مدل Vr 3000 شرکت مهر تجهیز، ایران تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده شد. استخراج چربی پنیر و اندازه‌گیری عدد پراکسید از نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد هر ۳ روز یک بار و برای نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هر ۶ روز یکبار انجام شد (Kristensen et al., 2001).

$$I\% = (A_{\text{Control}} - A_{\text{Extract}} / A_{\text{Control}}) \times 100 \quad (1)$$

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

۲۰ گرم پنیر با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط، و کاملاً همگن شد. نمونه همگن شده را به مدت ۱۰ دقیقه ۲ بار سانتی‌فریژ کرده و مایع رویی، جدا گردید و تا انجام مراحل بعدی آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول ۶۰ میکرومول DPPH در اتانول را با ۲۵۰ میکرولیتر مایع رویی جدا شده در مرحله قبل مخلوط کرده و جذب در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. اندازه‌گیری DPPH از نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد هر ۳ روز یک بار و برای نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد هر ۶ روز یک بار انجام شد (Apostolidis et al., 2007).

اندازه‌گیری عدد پراکسید^۱

۰/۰۲ گرم روغن استخراج شده از پنیر با ۱۵ ml کلروفورم/متانول (۳:۷) مخلوط شد. سپس به آن ۰/۲ ml محلول کلرید آهن ۱٪ و ۰/۲ محلول تیوسیانات آمونیوم ۴ M اضافه شد و با کلروفورم/متانول (۳:۷) به حجم ۲۵ ml رسید. محلول را به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداشته سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب در ۵۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتیجه به‌عنوان میلی‌اکی‌والان اکسیژن در هر کیلوگرم چربی بیان شد. آزمایش فوق یک بار بدون نمونه به‌عنوان بلانک نمونه و یک بار بدون معرف به‌عنوان بلانک معرف انجام شد تا تاثیر رنگ معرف، برای خوانده شدن جذب محلول را به حداقل

عمده ترکیبات را مونوترپن‌های اکسیژن دار به خود اختصاص دادند و اکثرا در ساختمان خود دارای گروه هیدروکسیل می‌باشند. نتایج ما با کار Politeo و همکاران (۲۰۰۷)، تقریبا موافق بود، آنها ۲۲ ترکیب برای اسانس گیاه ریحان گزارش کردند و عمده‌ترین ترکیبات اسانس شامل لینالول، استراگول و آلفا-کادینول اعلام نمودند.

Hussain و همکاران (۲۰۰۸) ترکیبات شیمیایی اسانس ریحان را تحت تاثیر فصل، بررسی و اعلام نمودند بیشترین مقدار اسانس در فصل زمستان و کمترین مقدار در فصل تابستان استحصال گردیده است. آنها بیشترین ترکیبات موجود در تمام فصل‌ها را لینالول (۶/۶۰-۵۶/۷ درصد) اعلام نمودند. Rajabi و همکاران (۲۰۱۴)، بر روی ترکیب و بازده اسانس ۹ گونه مختلف مریم‌گلی کبیر در نقاط مختلف ایران، ترکیبات عمده اسانس را لینالول (۵۱/۵۸-۰/۶ درصد)، لینالیل استات (۰-۵۲/۶۱ درصد)، کاریوفیلین (۳/۰۸-۶۰/۵۸ درصد)، ژرماکرین دی (۰-۲۵/۱۶ درصد)، اسپاتولنول (۰-۴/۳۵ درصد) و کاریوفیلین اکساید (۰-۳۷/۸۹ درصد) گزارش کردند.

حداقل تفاوت‌های معنی‌دار میانگین‌ها توسط تست چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مشخص گردید و $p < 0.05$ مرز معنی‌دار بودن اطلاعات در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

تجزیه اسانس با GC/MS

امروزه برای جداسازی و تشخیص اجزاء موجود در اسانس از دو دستگاه کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) استفاده می‌شود. طبق نتایج GC/MS، ۲۳ ترکیب در مجموع ۹۹/۰۳٪ برای اسانس ریحان و ۳۴ ترکیب در مجموع ۹۸/۹۴٪ برای اسانس مریم‌گلی کبیر شناسایی شد (جدول ۱ و ۲).

مطابق نتایج حاضر، ترکیبات اصلی اسانس ریحان شامل لینالول (۵۸/۶۳٪)، آلفا-کادینول (۱۰/۰۱٪)، آلفا-برگاموتن (۷/۶۲٪) و اوژنول (۶/۹۲٪) و اسانس مریم‌گلی کبیر شامل لینالیل استات (۵۲/۸۳٪)، لینالول (۱۸/۱۸٪) و آلفا-تریپیتول (۵٪) گزارش شده که

جدول ۱- ترکیبات اسانس ریحان

ردیف	ترکیب (انگلیسی)	ترکیب (فارسی)	میزان (درصد)	اندیس کواترن (kI)
۱	Limonene	لیمونن	۰/۲۰	۱۰۳۱
۲	cis-β-Ocimene	سیس-بتا-اسیمن	۰/۶۱	۱۰۴۱
۳	1,8- Cineole	۱و۸- سینتول	۳/۱۴	۱۰۳۴
۴	Fenchone	فنچون	۰/۹۰	۱۰۸۸
۵	Linalool oxide	لینالول اکساید	۰/۰۱	۱۰۹۰
۶	Linalool	لینالول	۵۸/۶۳	۱۰۹۹
۷	Camphor	کامفور	۰/۱۱	۱۱۵۰
۸	α-Terpineol	آلفا- تریپیتول	۱/۰۷	۱۱۹۱
۹	eugenol	اوژنول	۶/۹۲	۱۳۵۵
۱۰	β-Caryophyllene	بتا-کاریوفیلین	۱/۴۰	۱۴۲۱
۱۱	α-Bergamotene	آلفا- برگاموتین	۷/۶۲	۱۴۳۹
۱۲	α-Humulene	آلفا- هومولین	۰/۴۶	۱۴۵۷
۱۳	γ-Murolene	گاما- مورولین	۰/۷۱	۱۴۸۳
۱۴	Germacrene D	ژرماکرین دی	۲/۰۵	۱۴۸۹
۱۵	β-Selinene	بتا- سلینین	۰/۴۴	۱۴۹۱
۱۶	Bicyclogermacrene	بی سیکلوژرماکرین	۰/۸۸	۱۵۰۳
۱۷	γ-Cadinene	گاما- کادینین	۴/۹۲	۱۵۱۵
۱۸	Calamenene	کالامنین	۰/۷۷	۱۵۱۹
۱۹	Spathulenol	اسپاتولنول	۰/۵۱	۱۵۸۰
۲۰	Caryophyllene oxide	کاریوفیلین اکساید	۰/۳۵	۱۵۸۴
۲۱	Viridiflorol	ویریدیفلورول	۳/۳۱	۱۵۹۵
۲۲	(epi-α) Cadinol	کادینول (اپی مر آلفا)	۱۰/۰۱	۱۶۵۴
۲۳	β-Eudesmol	بتا- اودسمول	۰/۳۶	۱۶۵۶
-	Total	مجموع	۹۹/۰۳	-

جدول ۲- ترکیبات مریم‌گلی کبیر

ردیف	ترکیب (انگلیسی)	ترکیب (فارسی)	میزان (درصد)	اندیس کواتز (kI)
۱	α -pinene	آلفا- پینن	۴/۵۷	۹۳۹
۲	β -pinene	بتا- پینن	۰/۹	۹۷۹
۳	β -myrcene	بتا- میرسین	۱/۰۱	۹۹۱
۴	p-cymene	پارا- سیمین	۰/۱۸	۱۰۲۶
۵	limonene	لیمونن	۱/۵۵	۱۰۲۹
۶	1,8-cineole	۱ و ۸- سینئول	۲/۲۹	۱۰۳۱
۷	cis- β -ocymene	سیس- بتا- اسیمن	۰/۳۲	۱۰۳۷
۸	trans- β -ocymene	ترانس- بتا- اسیمن	۰/۶۶	۱۰۵۰
۹	Isoterpinolene	ایزوترپینولین	۰/۴۱	۱۰۸۹
۱۰	linalool	لینالول	۱۸/۱۸	۱۰۹۷
۱۱	Camphor	کامفور	۰/۳	۱۱۴۷
۱۲	β -terpineol	بتا- ترپینئول	۱/۱۹	۱۱۶۳
۱۳	borneol	بورنتول	۰/۶۴	۱۱۶۹
۱۴	α -terpineol	آلفا- ترپینئول	۵	۱۱۸۹
۱۵	γ -terpineol	گاما- ترپینئول	۰/۹	۱۱۹۹
۱۶	linalyl formate	لینالیل فرمات	۰/۱۴	۱۲۱۶
۱۷	nerol	نرول	۰/۲۶	۱۲۳۰
۱۸	linalyl acetate	لینالیل استات	۵۲/۸۳	۱۲۵۷
۱۹	bornyl acetate	بورنیل استات	۰/۸۳	۱۲۸۹
۲۰	α -terpinyl acetate	آلفا- ترپینیل استات	۰/۱۸	۱۳۵۰
۲۱	neryl acetate	نریل استات	۰/۵۲	۱۳۶۲
۲۲	α -copaene	آلفا- کوپائین	۰/۵۵	۱۳۷۷
۲۳	β -bourbonene	بتا- بوربونین	۰/۹۴	۱۳۸۸
۲۴	β -cubebene	بتا- کوببین	۰/۶۷	۱۳۹۰
۲۵	β -elemene	بتا- المین	۰/۳۵	۱۳۹۱
۲۶	β -caryophyllene	بتا- کاریوفیلین	۱/۸۳	۱۴۱۸
۲۷	α -humulene	آلفا- هومولین	۰/۰۸	۱۴۵۴
۲۸	germacrene D	ژرماکرین دی	۰/۸۴	۱۴۸۵
۲۹	Bicyclogermacrene	بی سیکلو ژرماکرین	۰/۱۷	۱۵۰۰
۳۰	δ -cadinene	دلتا- کادینن	۰/۱۳	۱۵۲۳
۳۱	spathulenol	اسپاتولنول	۰/۱۳	۱۵۷۶
۳۲	caryophyllene oxide	کاریوفیلین اکساید	۰/۲۷	۱۵۸۱
۳۳	sclareole oxide	اسکلارنول اکساید	۰/۰۸	۲۲۲۰
۳۴	Sclareol	اسکلارنول	۰/۰۶	۲۲۲۳
-	Total	مجموع	۹۸/۹۴	-

اوژنول، آلفا-کادینول، پاراسیمین و گاماترپینین وجود دارند و این گروه از ترکیبات با هم دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هستند (Lee et al., 2005; Politeo et al., 2007) و همراه بودن این ترکیبات بخصوص اوژنول که یک مونوترپن فنلی است، با لینالول، نقش سینرژیستی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی لینالول دارد (Khelifa et al., 2012). البته همانگونه که مشاهده می‌شود در

تمامی ترکیبات بیان شده در اسانس مریم‌گلی کبیر مورد استفاده در مطالعه حاضر نیز موجود می‌باشد. بسیاری از محققین بیان کردند ترکیبات عمده جنس ریحان و مریم‌گلی کبیر از مونوترپن‌های اکسیژن‌دار مثل لینالول^۱ و لینالیل استات^۲ می‌باشد که اغلب به‌همراه

1 Linalool
2 Linalyl acetate

2003). در روز صفر دوره نگهداری (شکل ۱) در دو دمای ۴ و ۲۶ سانتی‌گراد، تمامی غلظت‌های اسانس‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی را از خود نشان دادند و نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری بین فعالیت این اسانس‌ها وجود داشت ($p < 0.05$). در بین اسانس‌ها، بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی در سامانه مهار رادیکال مربوط به اسانس ریحان در غلظت ۱٪ بود که اثر ضدرادیکالی بهتری را نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داد ($p < 0.05$). کمترین میزان فعالیت، در روز صفر دوره نگهداری مربوط به کنترل و با مهار رادیکال ۳۵/۱۸٪ و بیشترین مقدار فعالیت ضدرادیکالی مربوط به غلظت ۱٪ ریحان با ۸۴/۶۶٪ بود (البته سطوح غلظتی ۰/۵ اسانس ریحان با ۰/۷۵٪ در سطح ۰/۵ درصد، اختلاف معناداری باهم نداشتند) ($p > 0.05$). علت فعالیت ضدرادیکالی را می‌توان به حضور ترکیبات مونوتروپن اکسیژن‌دار نظیر لینالول و لینالیل استات نسبت داد که با افزایش غلظت آن‌ها، فعالیت مهارکنندگی آن‌ها نیز افزایش می‌یابد. این ترکیبات در حضور سایر ترکیبات موجود در اسانس، دارای فعالیت سینرژیستی آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. برای مثال لینالول و اوژنول در حضور یکدیگر تاثیر سینرژیستی آنتی‌اکسیدانی دارند و نیز موجب افزایش تاثیر سایر ترکیبات فعال نیز می‌گردند که می‌توان قوی عمل کردن اسانس ریحان را به حضور اوژنول در این اسانس نسبت داد (Khelifa *et al.*, 2012). Shamsavari و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت ضدرادیکالی کمتر غلظت‌های مختلف اسانس نسبت به BHT، را به حضور این ترکیب در اسانس نسبت دادند که به صورت همراه با سایر ترکیبات وجود دارد. نتایج بیانگر این است که اسانس ریحان نسبت به مریم‌گلی کبیر اثر مهاری خوبی را در مهار رادیکال از خود نشان داد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نزدیکی با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشت. با افزایش غلظت هر دو اسانس مریم‌گلی کبیر و ریحان، فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH به‌طور معناداری افزایش یافت. و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالاتر، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی افزایش می‌یابد (Sanchez- Moreno *et al.*, 1999).

در طول مدت نگهداری، غلظت ۱٪ ریحان، در دو دمای نگهداری ۴ و ۲۶ درجه سانتی‌گراد بیشترین فعالیت ضدرادیکالی را نشان داد و غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵٪ ریحان و ۱٪ مریم‌گلی بعد از غلظت ۱٪ ریحان به ترتیب بیشترین اثر را تا آخرین روز داشتند (جدول ۳). هرچند این فعالیت در مقایسه با ابتدای دوره نگهداری کاهش داشته است.

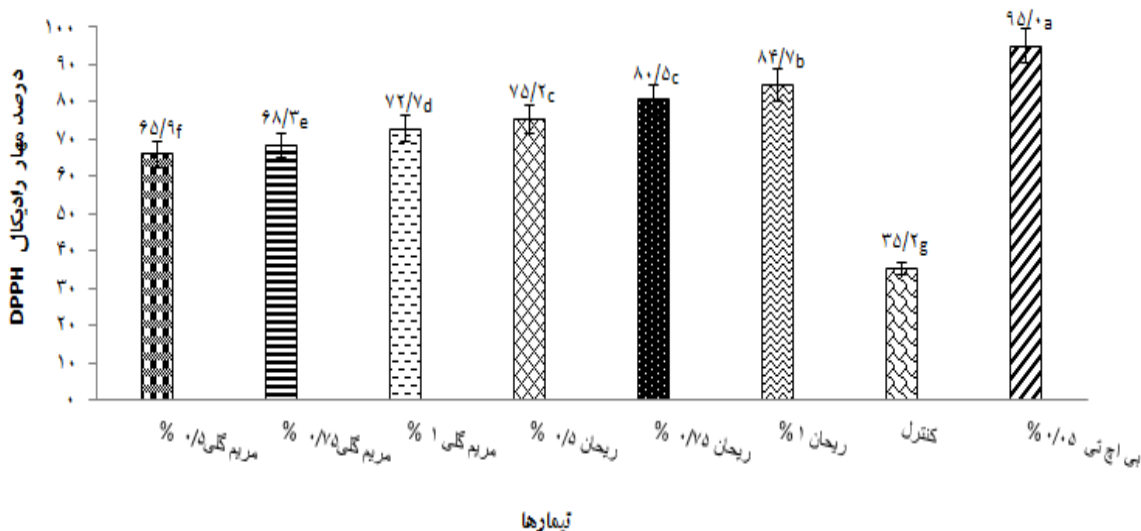
مقدار و نوع این ترکیبات تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود که دلایل مختلفی دارد، بطور کلی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج اسانس، اسانس‌گیری از اندام‌های مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه، می‌تواند تغییر کند و بر روی محتوای اسانس تاثیرگذار باشد (Kothari *et al.*, 2004).

ارزیابی فعالیت ضدرادیکالی اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان به روش DPPH[•]

در روز صفر دوره نگهداری (شکل ۱) در دو دمای ۴ و ۲۶ سانتی‌گراد، مهارکنندگی رادیکالی اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مورد مقایسه قرار گرفت. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که بطور موثر و به طرق مختلف اثر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را در سامانه‌های بیولوژیکی و غذایی کم می‌کند و موجب سمیت‌زدایی می‌شوند (Sharififar *et al.*, 2007). جهت بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی، توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در این ترکیبات، با تست DPPH[•] که کاربرد زیادی دارد، مورد سنجش قرار می‌گیرد (Lee *et al.*, 2003). در این آزمون، با سنجش میزان بی‌رنگ شدن محلول بنفش رادیکال پایدار ۲-۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل DPPH[•] به‌عنوان معرف، فعالیت مهارکنندگی رادیکال (RSA) اسانس اندازه‌گیری می‌شود. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (Shamsavari *et al.*, 2008).

$$RSA \% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank}) \times 100 \quad (3)$$

که در این رابطه A_{blank} جذب نوری کنترل منفی (دارای تمام معرف‌ها به جز غلظت مشخص از اسانس مورد نظر) می‌باشد. A_{sample} میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس را بیان می‌کند. ارتباط مستقیمی بین غلظت‌های اسانس‌ها با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا فعالیت مهارکنندگی رادیکال و پایداری اکسایشی آنها وجود داشت، به‌طوری که با افزایش غلظت و کاهش دمای نگهداری، فعالیت ضدرادیکالی و پایداری اکسایشی به‌طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.05$). قدرت مهارکنندگی رادیکالی اسانس‌ها با BHT مورد مقایسه قرار گرفت. اسانس‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات مختلف گیاهی از قبیل مونوتروپن‌های فنلی و الکلی که دارای عامل هیدروکسیل می‌باشند، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت بالایی برای اهدای اتم هیدروژن یا الکترون می‌باشند (Shon *et al.*,



× حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنادار تیمارها در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$)

شکل ۱ - اثر غلظت‌های اسانس‌های مریم‌گلی، ریحان، کنترل و BHT بر درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در روز صفر

جدول ۳ - مقایسه فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH بر حسب درصد در آخرین روز دوره نگهداری

غلظت اسانس (%)	دمای ۲۶ C°		دمای ۴ C°	
	آخرین روز دوره نگهداری (۳۹ ام)	آخرین روز دوره نگهداری (۹۰ ام)	بازداری (%)	بازداری (%)
مریم‌گلی	a.	a ^{۷/۳۲}	۰	۰
۰/۵	b ^{۲/۴۵}	b ^{۴۵/۱۲}	۰/۵	۰/۵
۰/۷۵	c ^{۳/۷۸}	b ^{۴۹/۴۵}	۰/۷۵	۰/۷۵
۱	d ^{۵/۹۱}	c ^{۶۱/۱۵}	۱	۱
ریحان	a.	a ^{۷/۳۲}	۰	۰
۰/۵	d ^{۶/۳۴}	d ^{۶۷/۲۶}	۰/۵	۰/۵
۰/۷۵	e ^{۸/۱۲}	c ^{۷۵/۴۸}	۰/۷۵	۰/۷۵
۱	f ^{۱۳/۲۳}	e ^{۸۲/۰۴}	۱	۱
BHT				
۰/۵	g ^{۸۶/۲۵}	g ^{۹۰/۵}	۰/۵	۰/۵

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار تیمارها در سطح ۵ درصد است ($p < 0.05$)

داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است.

نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشت. علت آن را، بیشتر بودن درصد مونوترین‌های اکسیژن دار در فصل زمستان نسبت به فصل تابستان اعلام نمودند. آنها بیشترین ترکیبات موجود در تمام فصل‌ها را لینالول (۶۰/۶-۵۶/۷ درصد) اعلام نمودند و بیان کردند که با تغییرات زمان برداشت جهت اسانس‌گیری، می‌توان تولید مواد موثر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد. آنها همچنین به اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس کامل نسبت به لینالول خالص اشاره نمودند.

در حالیکه برای گروه کنترل در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد، برای هر دو اسانس، کمترین فعالیت مهارکنندگی گزارش شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌طور معناداری کاهش یافت ($p < 0.05$) که علت این امر را می‌توان فساد اکسایشی پنی‌ر نگهداری شده در دمای محیط دانست. Hussain و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی اثر فصل بر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، اعلام نمودند اسانس ریحان در فصل زمستان فعالیت قابل توجهی در مهار رادیکال آزاد DPPH

بر کیلوگرم روغن) در طی نگهداری در دو دمای ۴ و ۲۶ درجه، در شکل‌های ۲، ۳ (الف و ب) مشخص شده است. داده‌ها نشان دادند که میزان پراکسید اولیه در تمامی نمونه‌ها پایین بود و در طی نگهداری افزایش یافت. در کنترل منفی میزان شکل‌گیری هیدرو پراکسید نسبت به بقیه تیمارها در تمامی روزهای نمونه‌گیری بالاتر بود ($p < 0.05$). این شاخص برای گروه کنترل منفی در شرایط یکسان، در روزهای ۳۹ و ۹۰، ۴/۲ - ۱/۲۶ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن گزارش شد در حالیکه افزایش شاخص پراکسید در کنترل مثبت (پنیر حاوی آنتی‌اکسیدان BHT) در حدود مرزی بود و کمترین میزان را نسبت به بقیه تیمارها داشت.

در مقایسه با کنترل منفی، نمونه‌های تیمار شده شاخص پراکسید کمتری را داشتند ولی در مقایسه با کنترل مثبت این شاخص بالاتر بود. قابل ذکر است پنیر با غلظت بالای اسانس ریحان ۱٪ در هر دو دمای نگهداری (شرایط محیط و شرایط یخچالی) پایین‌ترین میزان پراکسید داشت و شکل‌گیری هیدرو پراکسیدها را بطور معنادار به تعویق انداخت ($p < 0.05$) و در مقایسه با اسانس مریم‌گلی در همین غلظت، قوی‌تر عمل کرد، ولی تیمارهای هر دو اسانس نسبت به کنترل منفی بسیار قویتر عمل کرده و شاخص پراکسید را کاهش دادند. در حقیقت افزایش غلظت اسانس سبب کاهش شاخص پراکسید شد ($p < 0.05$) و نتایج حاصل نشان داد که این تاثیر دارای الگوی وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت اسانس‌ها اثر آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. علت این امر را می‌توان افزایش غلظت ترکیبات موثره نظیر لینالول و لینالیل استات به‌همراه سایر ترکیبات بخصوص اوژنول دانست که این نتیجه با نتایج Khelifa و همکاران (۲۰۱۲) منطبق است و می‌تواند بطور موثرتری مانع فساد اکسایشی پنیر شود. این اثر با کاهش دمای نگهداری نیز، ارتباط مستقیمی داشت. در شرایط ۴ درجه سانتی‌گراد تفاوت معناداری در اثرات آنتی‌اکسیدانی غلظت ۰/۵٪ اسانس ریحان با غلظت ۱٪ مریم‌گلی کبیر دیده نشد ($p > 0.05$). بعد از دوره نگهداری در دو دمای ۴ و ۲۶ درجه سانتی‌گراد در شاخص پراکسید تفاوت معناداری بین تیمارهای ۰/۷۵ و ۱٪ اسانس ریحان با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷۵٪ اسانس مریم‌گلی در پنیر دیده شد ($p < 0.05$). سایر محققین نیز نتایج مشابهی در ارتباط با افزایش غلظت اسانس و عصاره در جلوگیری از فساد اکسایشی مواد غذایی اعلام نمودند (Mohdaly et al., 2011; Abdolahi et al., 2014; اسماعیل زاده و مهدی پور، ۱۳۹۱).

در شرایط ۴ درجه سانتی‌گراد در طول مدت نگهداری، تا روز ۳۰ ام، تغییرات پراکسید نامحسوس بود و اختلاف معناداری مشاهده نشد ($p > 0.05$). Ye و همکاران (۲۰۰۹) پیشنهاد نمودند علت عدم تغییر عدد پراکسید در ابتدای دوره در یخچال به علت کند شدن دوره کمون

در مطالعه Politeo و همکاران (۲۰۰۷) اسانس ریحان را به علت دارا بودن درصد بالای لینالول^۵ به‌همراه اوژنول^۶، چاویکول^۷، و آلفاترپینول^۸ واجد فعالیت بالایی در مهار رادیکال آزاد DPPH در غلظت ۲۰ g/l نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT معرفی نمودند اما در مطالعه حاضر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی متوسطی را نشان داد. علت تفاوت می‌تواند به دلیل غلظت پایین‌تر آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در مطالعه حاضر (۰/۰۵ درصد) نسبت به مطالعه آنها و همچنین بالاتر بودن غلظت ترکیبات فنولی نظیر اوژنول در مطالعه آنها دانست.

Tenore و همکاران (۲۰۱۱) و Sepahvand و همکاران (۲۰۱۴) در اسانس مریم‌گلی، فعالیت مهار رادیکالی بالایی را به دلیل حضور ترکیباتی نظیر کارواکرول^۹ و توژن^{۱۰}، لینالول و بتا-کاربوفیلین^{۱۱} گزارش کردند و با توجه به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس مریم‌گلی، می‌توان از این اسانس در پیشگیری از فساد اکسایشی مواد غذایی استفاده نمود. در مطالعه مطالعه حاضر، عمده ترکیبات اسانس مریم‌گلی، کموتایپ^{۱۲} لینالیل استات / لینالول گزارش شد که نسبت به کموتایپ لینالول / اوژنول در ترکیبات اسانس ریحان از اثر آنتی‌اکسیدانی ضعیف‌تری برخوردار بود (Khelifa et al., 2012). همچنین می‌توان به حضور اوژنول در اسانس ریحان اشاره کرد به طوری که کاهش درصد اوژنول در اسانس ریحان، باعث کاهش اثر آنتی‌اکسیدانی تا حدود ۸۷٪ می‌شود (Pripdeevech et al., 2012; Khelifa et al., 2010).

بررسی میزان شاخص‌های پراکسید و تیوباربتوریک اسید در پنیر

در تحقیق حاضر غلظت‌های مختلف از اسانس مریم‌گلی کبیر و ریحان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در پنیر بکار گرفته شد. اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها بر روی پایداری اکسایشی چربی پنیرها با اندازه‌گیری متناوب شاخص‌های اکسیداسیون اولیه و ثانویه (PV (TBA), در شرایط نگهداری در یخچال دمای ۴ درجه و نگهداری در محیط دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. نمونه پنیر با آنتی‌اکسیدان BHT به‌عنوان کنترل مثبت، و بدون افزودنی به‌عنوان کنترل منفی و تیمارهایی از غلظت‌های مختلف اسانس مریم‌گلی کبیر و ریحان ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱٪ (وزنی/حجمی) تهیه شد. شاخص پراکسید برای ارزیابی میزان اکسیداسیون اولیه چربی (میلی‌اکی‌والان اکسیژن

- 5 Linalool
- 6 Eugenol
- 7 Chavicol
- 8 α -terpineol
- 9 Carvacrol
- 10 Thujene
- 11 β -caryophyllene
- 12 Chemotype

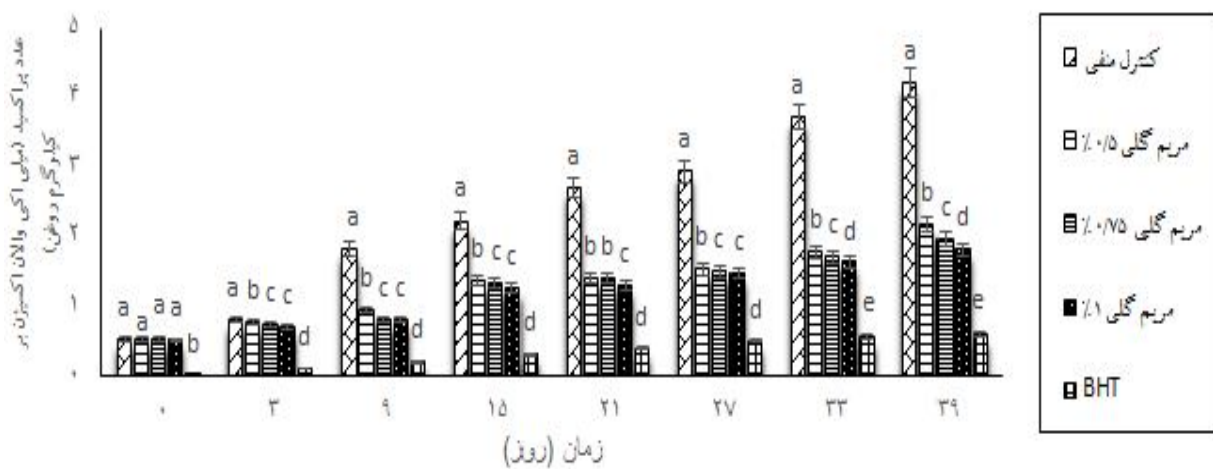
میزان انرژی فعال‌سازی اکسایش لیپید، هر چه دمای نگهداری بالاتر، انرژی سریع‌تر تأمین می‌شود و سرعت اکسایش افزایش می‌یابد. شعاعی و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی تاثیر زمان و دما بر تغییرات عدد پراکسید دوغ غنی شده با امگا ۳ پرداختند و اعلام نمودند با افزایش زمان، میزان عدد پراکسید افزایش و این افزایش در دمای محیط بیشتر از دمای یخچال بوده است. نتایج مطالعات آنها با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. Rasmy و همکاران (۲۰۱۲) و Olmedo و همکاران (۲۰۱۳) با افزایش غلظت عصاره مریم‌گلی کبیر و اسانس‌های مرزنجوش و رزماری توانستند بطور موثرتری فساد اکسایشی سس و پنیر خامه‌ای را در طول مدت نگهداری به تعویق بیندازد.

اکسیداسیون در دمای یخچالی می‌باشد.

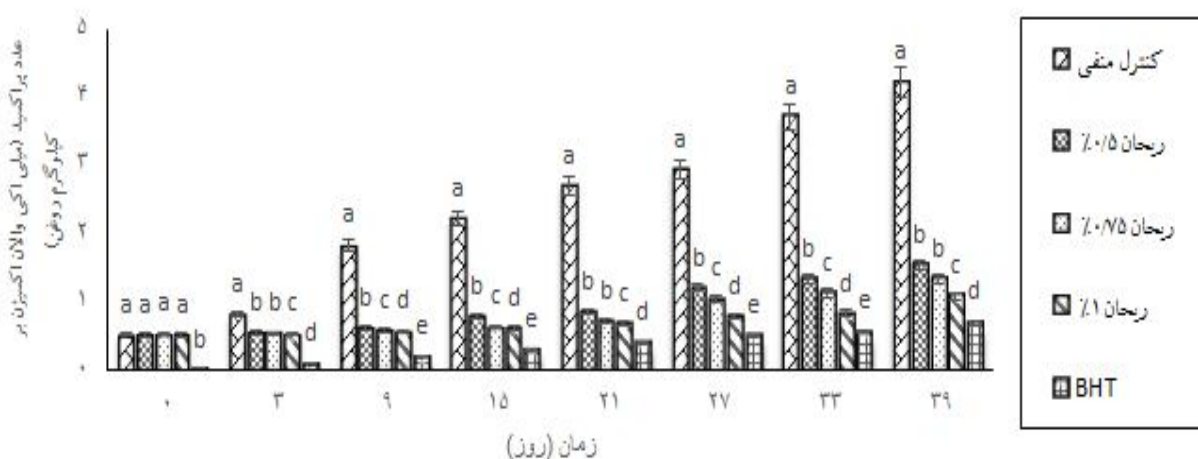
غلظت ۱٪ اسانس ریحان بطور معناداری در به تعویق انداختن اکسیداسیون لیپیدها موثر عمل نمود. و نسبت به اسانس مریم‌گلی کبیر در هر دو شرایط دمایی موثرتر بود. می‌توان علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را به درصد بالاتر لینالول و حضور اوژنول در اسانس ریحان و قوی‌تر عمل کردن کموتایپ لینالول / اوژنول نسبت به لینالیل استات / لینالول نسبت داد (Pripdeevech *et al.*, 2012; Khelifa *et al.*, 2010).

در ارتباط با افزایش بیشتر میزان پراکسید در نمونه‌های نگهداری شده در دمای محیط باید گفت که اکسایش لیپید اساساً به دما و مدت زمان نگهداری وابسته است (Sathivel *et al.*, 2008). نمونه‌های نگهداری شده در یخچال با شیب ملایم‌تری نسبت به نمونه نگهداری شده در دمای محیط عدد پراکسیدشان افزایش یافت که با توجه به

(الف)

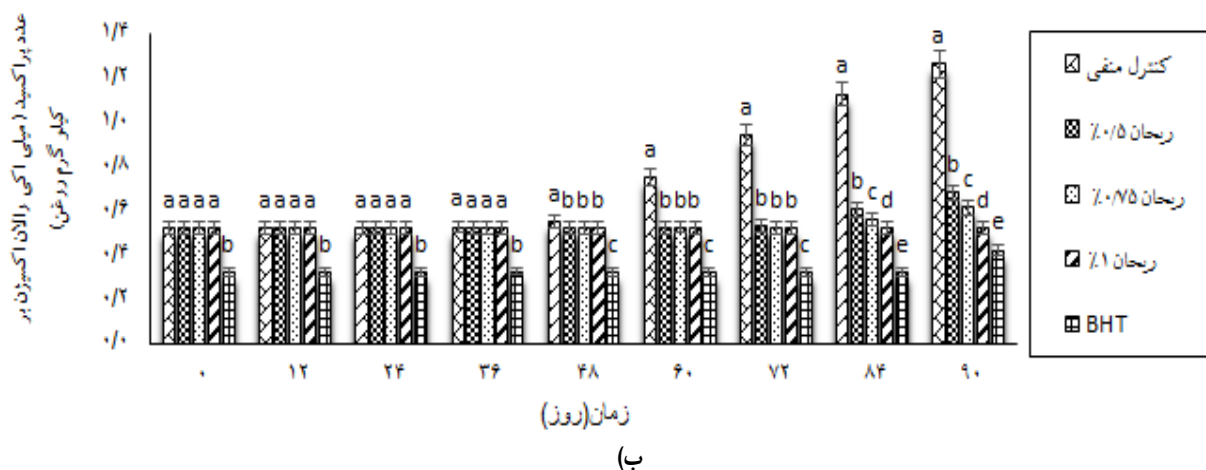


(ب)

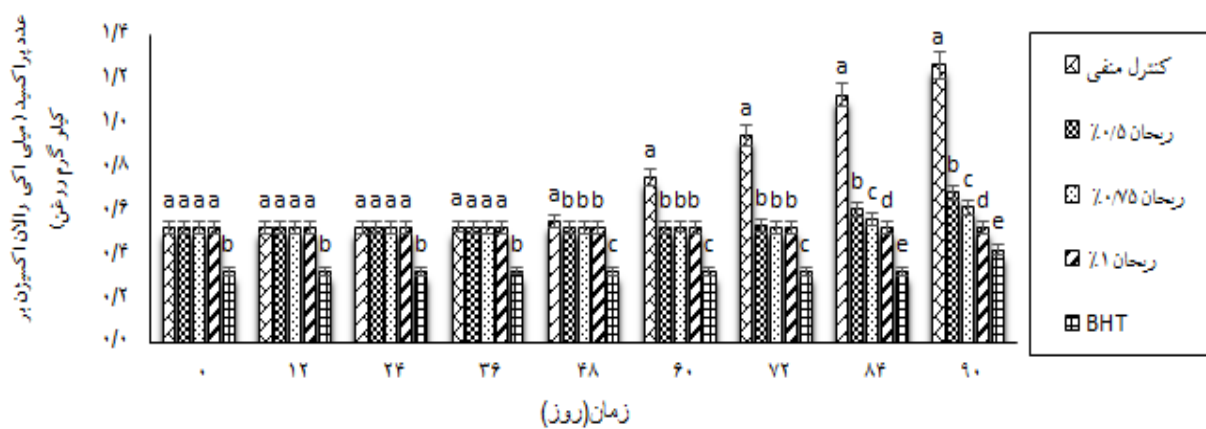


شکل ۲- تاثیر اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان بر عدد پراکسید در مقایسه با کنترل در دمای ۲۶ C° در پنیر

(الف)



(ب)



شکل ۳ - تاثیر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان بر عدد پراکسید در مقایسه با کنترل در دمای ۴ °C در پنیر

برای تیمارهای تهیه شده با اسانس‌های ریحان و مریم‌گلی کبیر در غلظت ۱٪ به ترتیب ۰/۰۱۱ و ۰/۰۳۲ بود که در دامنه قابل قبول قرار داشت، در حالیکه در روز صفر این شاخص ۰/۰۱ بود. در شرایط نگهداری در سرما (۴ درجه سانتی‌گراد) گروه کنترل تفاوت معناداری با بقیه تیمارها داشت ($p < 0/05$). بعد از کنترل، مریم‌گلی کبیر با غلظت ۰/۵٪ بیشترین مقدار را داشت. تا پایان دوره نگهداری، اسانس ریحان بخصوص در دو غلظت ۱ و ۰/۷۵٪ همگام با BHT موجب کاهش TBA شده و بین سطوح غلظتی اسانس ریحان نسبت به مریم‌گلی کبیر تفاوت معنادار بود.

به‌طور کلی اسانس ریحان به میزان بیشتری موجب کاهش TBA گردید. اسانس‌ها در هر سه سطح غلظت، نسبت به گروه کنترل، دارای تاثیر آنتی‌اکسیدانی بوده‌اند که این نتایج، مثل عدد

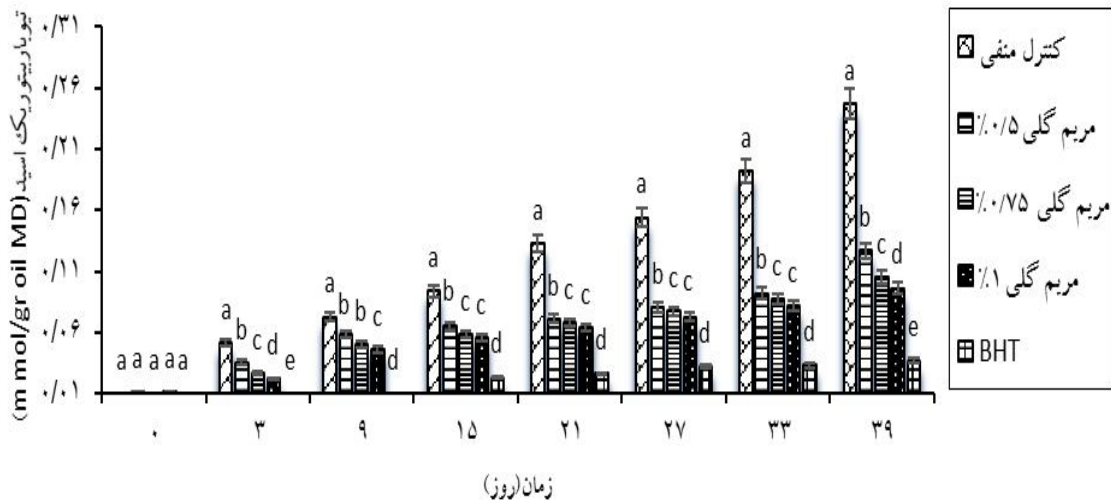
به‌منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون لیپید در مواد غذایی بطور وسیعی از شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA)، استفاده می‌شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون بویژه آلدهیدها را نشان می‌دهد. در این مطالعه، تغییرات این شاخص در طول مدت نگهداری، برای غلظت‌های مختلف اسانس مریم‌گلی کبیر و ریحان (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱٪) بر حسب مالون‌دی‌آلدهید برحسب میلی‌مول در ۱۰۰ گرم روغن در شکل ۴ و ۵ نشان داده شده است.

میان غلظت‌های مختلف اسانس‌ها و آنتی‌اکسیدان BHT و نمونه کنترل منفی اختلاف معناداری در سطح احتمال ($p < 0/05$) وجود داشت. هر چند کنترل منفی بالاترین میزان این شاخص (۰/۳۴) مالون دی‌آلدهید برحسب میلی‌مول در ۱۰۰ گرم روغن را در طول مدت ۳۹ روز در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نشان داد، ولی این شاخص

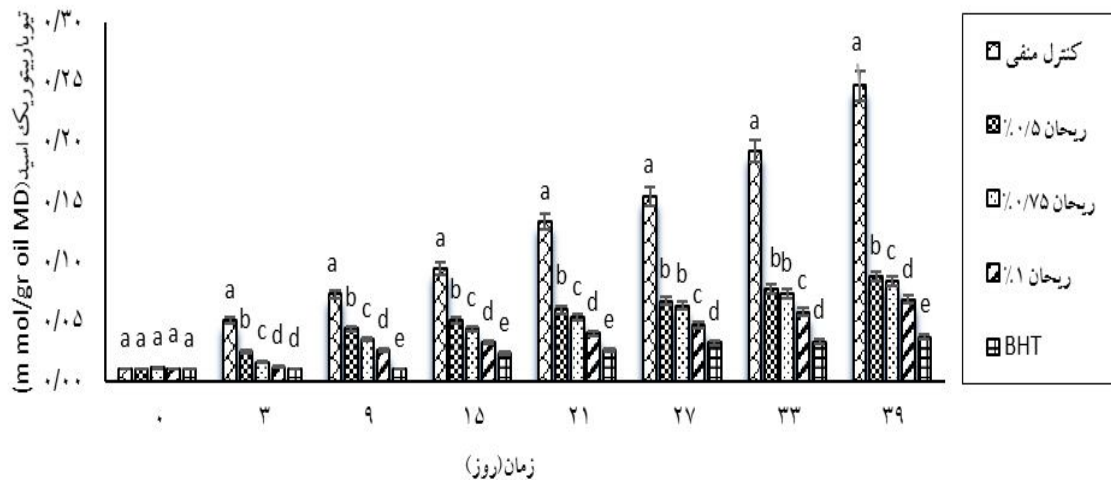
دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد بود ولی در رنج قابل قبول قرار داشت. Santos و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده نمودند با افزودن عصاره مرزنجوش و رزماری به پنیر سرعت تولید مالون‌دی‌آلدئید در پنیر کاهش می‌یابد.

پراکسید به ارتباط غلظت و اثر آنتی‌اکسیدانی اشاره می‌کند. در نمونه‌های پنیر تهیه شده با غلظت‌های مختلف اسانس‌ها، کاهش غلظت اسانس‌ها شاخص TBA افزایش یافت که در این مورد اسانس مریم‌گلی کبیر ضعیف‌تر از اسانس ریحان عمل کرد و شاخص TBA بالاتری داشت. افزایش همین شاخص در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای هر دو اسانس در تیمارهای تهیه شده پایین‌تر از

(الف)

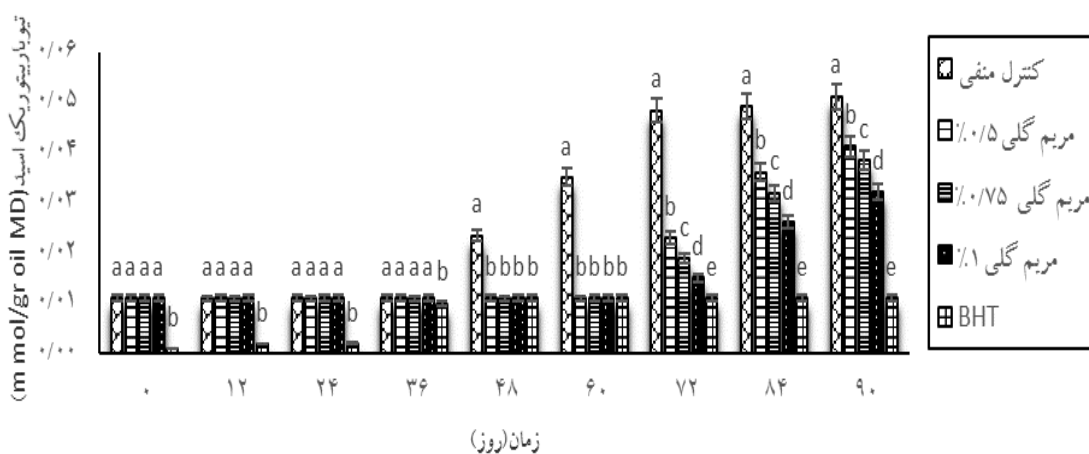


(ب)

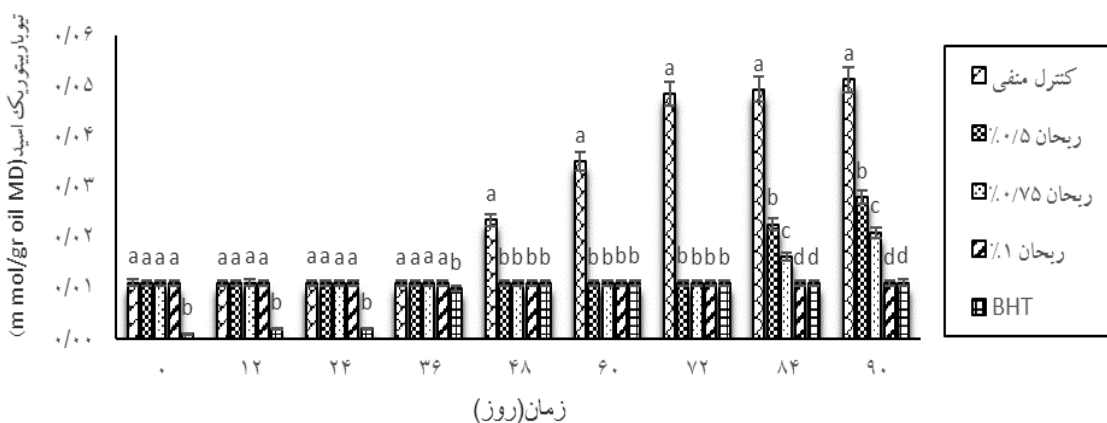


شکل ۴- تاثیر اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان بر عدد تیو باربیتوریک اسید در مقایسه با کنترل در دمای ۲۶°C در پنیر

(الف)



(ب)



شکل ۵- تاثیر اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان بر عدد تیوباربیتریک اسید در مقایسه با کنترل در دمای ۴°C در پنیر

مقایسه آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT گزارش کردند، تغییرات در تیمارهای هر سه نگهدارنده نسبت به تیمار کنترل کمتر بود، همچنین فعالیت دو اسانس نسبت به هم اختلاف معناداری نداشت اما نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌طور موثرتری عمل نمودند که با نتایج ما در تناقض بود.

پنیر تهیه شده با BHT در مقایسه با کنترل منفی و تیمارهای مختلف از اسانس‌های مریم‌گلی کبیر و ریحان، اثر آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نشان داد ولی در مقایسه با کنترل منفی، اسانس‌ها به‌طور معناداری ($p < 0.05$) اثر داشتند و قوی‌ترین اثر مربوط به ریحان حتی

Shan و همکاران (۲۰۱۱) تاثیر عصاره‌های گیاهان مختلف را در پنیر، در طی دوره نگهداری، بر روی تغییرات تیوباربیتریک اسید در دمای محیط مورد مطالعه قرار دادند که در مطالعه آنان تمامی عصاره‌های طبیعی، به‌طور موثری فساد اکسایشی پنیر را به تعویق انداختند. علت این امر، بالاتر بودن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، پرو آنتوسیانیدها و تانن در عصاره‌ها اعلام گردید. Shan *et al.*, (2011). Estevez و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی تاثیر اسانس مریم‌گلی کبیر و رزماری بر تغییرات تیوباربیتریک اسید پاته جگر^{۱۳} و

تحقیق، با بررسی خواص ارگانولپتیکی قابل قبول بود. پنی‌های تیمار شده با غلظت ۱٪ اسانس‌ها، علاوه بر رتبه بالا در ارزشیابی خواص ارگانولپتیکی، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی مناسب بودند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن نسبتاً قابل توجه بود.

نتیجه‌گیری

نتایج بالا نشان داد که اسانس ریحان در غلظت ۱٪ خواص آنتی‌اکسیدانی بهتری در هر دو دمای نگهداری نسبت به اسانس مریم‌گلی کبیر نشان داد ولی نسبت به تیمار کنترل مثبت که پنی‌ر حاوی BHT بود، ضعیف‌تر عمل کرد. البته ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتر اسانس‌ها، نسبت به BHT، به علت حضور ترکیب موثره در اسانس و عدم استفاده از ماده موثره بصورت خالص باشد که بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن اثر بگذارد. باتوجه به نتایج بدست آمده و مقایسه با مطالعات سایر محققین مشخص شد که اسانس‌های مورد مطالعه، از فعالیت ضد‌رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده و می‌توان از آن‌ها، در صنعت بعد از انجام آزمایشات تکمیلی جهت افزایش عمر ماندگاری پنی‌ر استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی دانشگاه مازندران انجام شده است. بدینوسیله از حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه مازندران صمیمانه قدردانی می‌شود.

در غلظت‌های پایین بود. نتایج ما نشان داد که اسانس‌های بکار گرفته شده در تیمارها، بخصوص در دمای پایین اثر آنتی‌اکسیدانی داشتند.

ارزیابی حسی نمونه‌های پنی‌ر

ارزیابی کلی با در نظر گرفتن ویژگی‌های حسی (پذیرش کلی) در غلظت‌های مختلف اسانس‌ها طی مدت نگهداری در مقایسه با نمونه کنترل صورت گرفت. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، اسانس ریحان بیشترین امتیاز پذیرش کلی را از نظر ارزیابی کنندگان در مقایسه با اسانس مریم‌گلی کبیر، در طی دوره‌ی نگهداری نود روزه، نشان داد و که اختلاف معناداری با نمونه کنترل و سایر تیمارها نشان داد در صورتی که نمونه کنترل پس از گذشت ۶۰ روز قابل مصرف نبود. از روز ۴۵ تا انتهای دوره نگهداری غلظت ۰/۷۵ و ۱ درصد اسانس ریحان بالاترین امتیاز را به خود اختصاص داد ($p < 0.05$). Maria و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی تاثیر اسانس ریحان بر پارامترهای حسی نوعی پنی‌ر پرداخته و اعلام نمودند افزودن اسانس ریحان سبب بهبود خواص حسی پنی‌ر می‌شود، همچنین اعلام نمودند اسانس ریحان سبب افزایش ماندگاری پنی‌ر می‌گردد. Olmedo و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر اسانس رزماری و پونه کوهی بر ویژگی‌های حسی پنی‌ر خامه‌ای پرداختند. استفاده از دو اسانس باعث کاهش عطر و عطم ناشی از فرآیندهای اکسیداسیون چربی شد و از نظر رتبه بندی، طعم، رنگ و بو بالاتر از پنی‌ر فاقد اسانس قرار گرفت. وقتی اسانس‌های گیاهی در مدل‌های غذایی مثل پنی‌ر بکار می‌روند مقدار مورد نیاز اسانس برای اثرگذاری، بیشتر خواهد شد که می‌تواند بر خصوصیات ارگانولپتیکی اثر نامطلوب بگذارد. غلظت‌های بکارگرفته شده در این

منابع

- Abdollahi, M., Rezaei, M., & Farzi, G., 2014, Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *Food Science & Technology*, 49, 811-818.
- Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., & Hosseini, H., 2014, Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35, 177-183.
- Apostolidis, E., Kwon, Y.-I., & Shetty, K., 2007, Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative food science and Emerging Technologies*, 8, 46-54.
- Azizkhani, M., Basti, A., Misaghi, A., & Tooryan, F., 2012, Effects of *Zataria multiflora* Boiss., *Rosmarinus Officinalis* L. and *Mentha longifolia* L. essential oils oil on growth and gene expression of enterotoxins A, C and E in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Journal of Food Safety*, 32, 508-516.
- Basti, A.A., Misaghi, A., & Khaschabi, D., 2007, Growth response and modelling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Food Science and Technology*, 40, 973-981.
- Choi, Y., Jeong, H. S., & Lee, J., 2007, Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chemistry*, 103, 130-138.
- Dadvand Sarab, M., Naghdi Badi, H., Nasri, M., Makkizadeh, M. & Omid, H., 2008, Changes in Essential Oil Content and Yield of Basil in Response to Different Levels of Nitrogen and Plant Density. *Journal of medical plant*, 3, 60-70.
- Ebrahimabadi, A.H., Ebrahimabadi, E.H., Djafari-Bidgoli, Z., Jookar Kashi, F., Mazoochi, A. & Batooli, H., 2010,

- Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. *Food Chemistry*, 119, 452-458.
- Esmailzadeh Kenari, R., & Mehdipour, Z., 2012, The antioxidant effect of Kiwi peel extract on stabilization of sunflower oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 8, 245-250.
- Estevez, M., Ramírez, R., Ventanas, S., & Cava, R., 2007, Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pate. *LWT- Food Science and Technology*, 40, 58-65.
- Ghani, A., Ebrahimpour, A., Tehrani-far, A., & Hassanzadeh-Khayyat, M., 2010, Evaluation of growth and development adaptability and medicinal ornamental potential of Clary sage (*Salvia sclarea* L.) cultivated in Mashhad climatic conditions. *Journal of Plant Production*, 17, 77-90.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Mahdad, E. & Craker, L., 2013, Effects of drying methods on qualitative and quantitative properties of essential oil of two basil landraces. *Food Chemistry*, 141, 2440-2449.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S.T., & Przybylski, R., 2008, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108, 986-995.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F., 2006, the antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Science*, 72,446-456.
- Kazemizadeh, Z., Habibi, Z., Yousefzadi, M., As, habi, MA. & Heidari-Rikan, M., 2010, Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Salvia macrochlamys* Boiss. & Kotschy, from West Azarbayjan. Province. *Journal of medical plant*, 1, 82-89.
- Khelifa, L. H., Brada, M., Brahmi, F., Achour, D., Fauconnier, M.L., & Lognay, G., 2012, Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of *Ocimum basilicum* leaves from the Northern region of Algeria. *Journal of Herbal Medicine*, 1, 25-30.
- Kothari, S.K., Bhattacharya, A.K., & Ramesh, S., 2004, Essential oil yield and quality of methyl eugenol rich *Ocimum tenuiflorum* L.f. (syn. *O. sanctum* L.) grown in south India as influenced by method harvest. *Chromatography*, 1054, 67-72.
- Kristensen, D., Hansen, E., Arndal, A., Trinderup, R.A., & Skibsted, L.H., 2001, Influence of light and temperature on the colour and oxidative stability of processed cheese. *International Dairy Journal*, 11, 837-843.
- Kulisic, T., Radonic, A., & Katalinic, V., 2004, Use of different methods for testing antioxidative of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85, 633 -640.
- Lee, K.G., & Shibamoto, T., 2002, Determination of antioxidative potential of volatile extracts isolated from various spices and herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4947 - 52.
- Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Jeong, H.S., & Kim, J.H., 2003, Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sciences*, 73, 167-179.
- Lee, S. J., Umamo, K., Shibamoto, T., & Lee, K. G., 2005, Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91, 131-137.
- Maria, I., & Savvaidis, N., 2013, Effect of packaging and basil essential oil on the quality characteristics of whey cheese "Anthotyros". *Food Bioprocess Technology*, 6: 124-132.
- Mohdaly, M., Smetanska, I., Ramadan, M., Sarhan, M., & Mahmoud, A., 2011, Antioxidant potential of sesame (*Sesamum indicum*) cake extract in stabilization of sunflower and soybean oils. *Industrial Crops and Products*, 34, 952-959.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., José Nuñez, M. & Carlos Paraj, J., 2001, Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- Olmedo, R.H., Nepote, V. & Grosso, N.R., 2013, Preservation of sensory and chemical properties in flavoured cheese prepared with cream cheese base using oregano and rosemary essential oils. *Food Science and Technology*, 53, 409-417.
- Ozkan, G., Sagdic, O., Gokturk, R.S., Unal, O. & Albayrak, S., 2010, Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisidica*. *Food Science and Technology*, 43,186-190.
- Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S., & Ozogul, F., 2009, Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 114: 505-510.
- Pokorny, J., 2007, Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 629-642.
- Politeo, O., Jukic, M. M., & Milos, M., 2007, Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chemistry*, 101, 379-385.
- Pripdeevech, P., Chumpolsri, W., Suttiarporn, P., Wongpornchai, S., 2010, the chemical composition and antioxidant activities of basil from Thailand using retention indices and comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75, 1503-1513.
- Rajabi, Z., Ebrahimi, M., Farajpour, M., Mirza, M., & Ramshini, H., 2014, Compositions and yield variation of essential oils among and within *Salvia* species from various areas of Iran. *Industrial Crops and Products*, 61,

- 233-239.
- Rasmy, N., Hassan, A., Mervat, I., & El-Moghazy, M., 2012, Assessment of the Antioxidant Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts on the Shelf Life of Mayonnaise. *Dairy & Food Sciences*, 7 (1), 28-40.
- Rustaian, A., 1982, Essential oil of *Salvia lerifolia* and *Salvia sclarea*. *Phytochemistry*, 21, 1812-1813.
- Sanchez-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, 407-412.
- Santos, R., Shetty, K., Cecchini, A., & Miglioranza, D., 2012, Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. *Semina ciencias agrarias*, 33, 655-666.
- Sathivel, S., Huang, J., & Prinyawiwatkul, W., 2008, Thermal properties and applications of the Arrhenius equation for evaluating viscosity and oxidation rates of unrefined pollock oil. *Journal of Food Engineering*, 88, 187-193.
- Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Hassan Veiskarami, G., & Ghasemian-Yadegari, J., 2014, Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, 491-496.
- Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A., & Naghdibadi, H., 2008, Antioxidant activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. In soy oil. *Journal of Medical Plants*, 28, 56 – 68.
- Shan, R., CAI, Y., John Brooks, D., & Corke, H., 2011, Potential Application of Spice and Herb Extracts as Natural Preservatives in Cheese. *Journal of Medicinal Food*, 14, 284-290.
- Sharififar, F., Moshafi, M., & Mansouri, S., 2007, in vitro evaluation of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18, 800 -805.
- Shoaei, F., Abbasi, S., & Sahari, MA. 2013, Effects of various factotrs on the oxidative stability of ω -3 fatty acid-enriched Doogh (Iranian yoghurt drink). *Iranian journal of Nutrition science & Food Technology*, 7, 1-10.
- Shon, M. Y., Kim, T.H., & Sung, N.J., 2003, Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*, 82, 593-597.
- Tenore, G., Ciampaglia, R., Apostolides Arnol, N., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D., & Senatore, F., 2011, Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 238-243.
- Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A., Polissiou, M., & Sokmen, A., 2007, Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepta flavida* Hud.-Mor. From Turkey. *Food Chemistry*, 103, 1358_1364.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., & De Pasquale, A., 2005, Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89, 549–554.
- Wannissorn, B., Jarikasem, S., Siriwangchai, T., & Thubthimthed, S., 2005, Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76, 233–236.
- Ye, A., Cui, J., Taneja, A., Zhu, X., & Singh, H., 2009, Evaluation of processed cheese fortified with fish oil emulsion. *Food Research International*, 42, 1093-1098.

Antioxidant effect of the aerial parts of basil (*Ocimum basilicum*) and clary sage (*Salvia sclarea*) essential oils in Iranian white cheese

F. Tooryan^{1*}, M Azizkhani¹

Received: 2015.05.27

Accepted: 2015.10.30

Introduction: There have been great efforts to find safe and potent natural antioxidants from various plant sources. There is, at present, increasing interest both in the industry and scientific research for spices and aromatic herbs because of their strong antioxidant and antimicrobial properties, which exceed many currently used natural and synthetic antioxidants. Medicinal plants are complex natural mixtures which contain compounds at quite different concentrations, have antioxidant activities. These properties are due to many substances, including some vitamins, flavonoids, terpenoids, carotenoids, phytoestrogens, minerals, etc. and render spices and some herbs or their antioxidant components as preservative agents in food and they were proposed as potential substitutes of synthetic antioxidants in food stuff. The number of contributions to isolation methods, techniques and activity testing of plant-origin antioxidants has significantly increased in recent years. Antioxidants are also widely used as additives in fats and oils and in food processing to prevent or delay spoilage of foods regarding to the harmful effects of synthetic preservatives on consumers' health, there is an increasing attention, both in food industry and authorities, to medicinal and aromatic plants as natural preservatives in food products. Oxidation is one of the major causes of chemical spoilage, resulting in rancidity and deterioration of the nutritional quality, colour, flavour, texture and safety of foods. Oxidation occurrence in cheese especially full-fat types causes rancid odor and taste and loss of nutritional quality. The objectives of the present study were evaluation of aerial parts of basil (*Ocimum basilicum*) and clary sage (*Salvia sclarea*) essential oils (EOs), study their antioxidant effect on the lipid oxidation and sensorial acceptability when applied to Iranian white cheese.

Materials and methods: Investigations were carried out to assess the efficiency of two plant essential oils; clary sage and basil as natural food preservatives. In this study, the antioxidant effect of clary sage (*Salvia sclarea*) and basil (*Ocimum basilicum*) essential oils in Iranian white cheese shelf-life, at 26 °C for 39 and 4 °C for 90 days, were examined. Samples at three levels 0.5%, 0.75%, 1% (w/v) were treated, negative control cheese without antioxidant and positive control sample with synthetic antioxidant (BHT) 0.05% were selected. The Essential oils chemical composition were determined by gas chromatography equipped with mass spectroscopy (GC/MS). GC-MS analysis of the essential oil was performed using Agilent-Technologies 6890N Network gas chromatographic (GC) system, equipped with Agilent Technologies 5975 inert XL Mass selective detector and Agilent-Technologies 7683B series auto injector (Agilent- Technologies, Little Falls, CA, USA). The antioxidant capacity of the essential oils were assessed by measuring their scavenging abilities to 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl stable radicals using DPPH method and anti-oxidative stability with peroxide value (PV) and thiobarbituric acid (TBARS) test were evaluated.

Results & discussion: Main components of clary sage EO included linalyl acetate, linalool, α -terpineol and α -pinene and the major aroma constituents of basil EO consisted of linalool and α -cadinol, eugenol, α -Bergamotene and 1,8- Cineole. Linalyl acetate and linalool (oxygenated monoterpenes) showed stronger antioxidant activities than did the other components tested in the assays. Maximum free radical scavenging activity for clary sage and basil EOs at 1% concentration was 84.66% and 72.72% respectively that was weaker than (BHT) free radical scavenging activity (95%) by DPPH test. At 1% concentration, clary sage and basil EOs were most effective treatment at 4 and 26 °C, in free radical scavenging activity comparing to other concentrations. At 4 °C there is no any difference between all treatments up to 30th days in PV and TBARS number. The most effective treatment against lipid oxidation was at 0.75, 1% concentration basil and 1% salvia EOs at 90th days observed. Finally it seems that Basil EO was more effective than clary sage EO at both 0.75 and 1% concentration. At 1% concentration of basil EO according at 90th day storage time not observed significant difference in peroxide value and tio barbituric acid number comparing to first day. At 26 °C highest

14. Assistant professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.

(*Corresponding Author Email: f.tooryan@ausmt@ac.ir).

antioxidant activity was obtained at 1% concentration of basil EO. Final peroxide value (meq O₂/Kg oil) and tio barbituric acid (m mol/gr oil MD) number using basil and saliva EOs was 1.379, 0.0680 and 1.817, 0.096 respectively. That significant deference was observed comparing to control sample (p<0.05).

Finally it seems that basil EO was more effective than clary sage EO to protection against lipid oxidation and anti-oxidative activity was increased significantly by increasing the concentration of essential oils. In sensorial evaluation test best quality was obtained for 0.75% basil EO at 90 days storage time and obtained the highest score of overall organoleptic acceptance. Regarding to this study basil and clary sage EOs as natural antioxidant substances can be used to replace the synthetic antioxidants and fortification with natural EOs increased shelf-life and anti-oxidative stability of cheese and enhance the quality of white cheese. It also does not have much impact on the organoleptic properties but increasing food product shelf life resulting from their preservative inherent features.

Key words: Essential oil, Basi, Clary sage, Cheese, Antioxidant activity