Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2322 - 2069
Online ISSN: 2322 - 2794

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

Study on the effect of gamma radiation and aerobic, vacuum, and atmospheric modified packaging on the quality of *Mentha longifolia* L. plant

Pezhman Golzar Afkham[1], Nassim Shavisi[2]*

[1]Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
[2]Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran,
Email: nassim.shavisi@yahoo.com, nassimshavisi@razi.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2021/10/09
Revised: 2021/11/31
Accepted: 2021/11/13

Keywords:
Mentha longifolia essential oil
Gamma irradiation
Packaging

ABSTRACT

Background and objectives: Spices and medicinal plants, like other agricultural products, may be contaminated with bacteria, soil, and insects during planting, harvesting, transportation, and processing. Gamma irradiation is a useful way to remove contamination. Therefore, the main objectives of the present study were to evaluate the effects of different doses of gamma irradiation (0, 5, 10, and 15 kGy) on color indices and the microbial population of *Mentha longifolia* L. under modified atmosphere (MAP), vacuum, and aerobic packaging conditions. Also, its effect on chemical composition and antioxidant and antimicrobial properties of *M. longifolia* essential oil were evaluated.

Materials and methods: *M. longifolia* L. was collected in spring (from April to May) 2020 from Gilanegharb, located in Kermanshah, Iran. Irradiation of the packaged *M. longifolia* samples was performed under MAP (N_2 = 100%), vacuum and aerobic conditions using doses of 5, 10, and 15 kGy (radiation source = 60 cobalt and dose rate = 4.18 kGy h^{-1}) in the Atomic Energy Organization of Iran. After irradiation, the color parameters and microbial population of the packaged samples were evaluated. Moreover, the chemical composition of *M. longifolia* essential oil using gas chromatography-mass spectrometry and antioxidant property via 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and Beta-carotene bleaching inhibition were evaluated. Also, antimicrobial activity of *M. longifolia* essential oil against *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus subtilis* using the disk diffusion method was performed.

Results: Results of this study indicated that gamma irradiation under 5 and 10 kGy (aerobic condition) and 15 kGy (aerobic, vacuum, and modified atmosphere conditions) resulted in significant reduction values of a* and b* and increased L* in comparison with a control group ($P < 0.05$). The gamma irradiation under 10 and 15 kGy inhibited the growth of total viable bacteria, coliforms as well as yeast and mold in packaged samples into lower than the count limit of 1 log CFU g^{-1}. Based on our findings, nineteen chemical compounds were identified in *Mentha longifolia* essential oil. Eucalyptol (18.23%-19.55%), menthone (12.36%-13.55%), and pulegone (47.69%-49.55%) were the main identified chemical constituents in *Mentha longifolia* essential oil. Moreover, gamma irradiation (0, 5, 10, and 15 kGy) and types of packaging (aerobic, vacuum, and modified atmosphere conditions) had no significant effects on the

changes of chemical compounds, as well as antimicrobial and antioxidant properties of *Mentha longifolia* essential oil ($P > 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the use of gamma radiation at the doses of 10 and 15 kGy is a suitable method for disinfection of packaged *M. longifolia* under aerobic, vacuum and MAP conditions, without affecting their chemical composition, antimicrobial, and antioxidant properties.

Cite this article: Golzar Afkham, P., Shavisi, N. 2022. Study on the effect of gamma radiation and aerobic, vacuum, and atmospheric modified packaging on the quality of *Mentha longifolia* L. plant. *Food Processing and Preservation Journal*, 14 (1), 1-20.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/EJFPP.2021.19568.1677
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

فرآوری و نگهداری مواد غذایی
شاپا چاپی: ۳۵٤٤-۲٤۲۳
شاپا الکترونیکی: ۳۸۰۳-۲٤۲۳

بررسی تأثیر پرتودهی گاما و بسته‌بندی هوازی، خلأ و اتمسفر اصلاح شده بر کیفیت گیاه پونه کوهی

پژمان گلزار افخم[۱]، نسیم شاویسی[۲*]

[۱]گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
[۲]گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، رایانامه: nassimshavisi@yahoo.com; nassimshavisi@razi.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰۷/۱۷
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۰/۰۸/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۸/۲۲

واژه‌های کلیدی:
اسانس پونه کوهی
پرتودهی گاما
بسته‌بندی

چکیده

سابقه و هدف: ادویه‌ها و گیاهان دارویی مانند سایر محصولات کشاورزی در طول فرآیند کاشت، برداشت، حمل و نقل و فرآوری توسط باکتری‌ها، خاک و حشرات آلوده می‌شوند. یکی از روش‌های حذف آلودگی استفاده از پرتودهی گاما می‌باشد. لذا، اهداف مطالعه حاضر بررسی تأثیر پرتودهی گاما (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری) بر پارامترهای رنگ و جمعیت میکروبی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی‌شده تحت شرایط اتمسفر اصلاح‌شده، خلأ و هوازی و همچنین تأثیر آن بر ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی بود.

مواد و روش‌ها: گیاه پونه کوهی در فصل بهار (فروردین-اردیبهشت) سال ۱۳۹۹ از شهرستان گیلانغرب واقع در استان کرمانشاه جمع‌آوری گردید. پرتودهی نمونه‌های گیاه پونه کوهی بسته‌بندی‌شده تحت شرایط اتمسفر اصلاح‌شده (۱۰۰ درصد نیتروژن)، خلأ و هوازی با استفاده از دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری (منبع پرتودهی= کبالت ٦۰ و نرخ دوز پرتودهی= ٤/۱۸ کیلوگری بر ساعت) در سازمان انرژی اتمی ایران انجام شد. پس از پرتودهی، بررسی پارامترهای رنگ و وضعیت میکروبی نمونه‌های بسته‌بندی شده مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین، ترکیبات شیمیایی اسانس حاصل از گیاه پونه کوهی با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال DPPH و مهار رنگ‌بری بتاکاروتن-اسید لینولئیک بررسی شد. بررسی ویژگی ضدمیکروبی *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس سرئوس* به‌روش دیسک دیفیوژن صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد، پرتودهی با دوزهای ۵ و ۱۰ کیلوگری (تحت شرایط هوازی) و ۱۵ کیلوگری (تحت شرایط هوازی، خلأ و اتمسفر اصلاح‌شده) موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های a و b و افزایش معنی‌دار شاخص L در مقایسه با گروه کنترل شد ($P<$ ۰/۰۵). پرتودهی با دوزهای ۱۰ و ۱۵ کیلوگری باعث از بین‌رفتن کامل تعداد باکتری‌های هوازی کل، کلی‌فرم‌ها و کپک و مخمر در نمونه‌های بسته‌بندی‌شده به کمتر از حد قابل شمارش $\log CFU\ g^{-1}$ ۱ گردید. بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، ۱۹ ترکیب در اسانس پونه کوهی شناسایی گردید. اوکالیپتول (۱۹/۵۵-۱۸/۲۳ درصد)، منتون (۱۳/۵۵-۱۲/۳٦ درصد) و پولگون (٤۹/۵۵-٤۷/٦۹ درصد) اصلی‌ترین ترکیبات شناسایی‌شده در این اسانس بودند. همچنین، دوزهای مختلف پرتودهی و نوع بسته‌بندی تأثیری در تغییر ترکیبات شیمیایی، ویژگی ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی نداشت ($P>$۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان داد، استفاده از پرتودهی گاما با دوزهای ۱۰ و ۱۵ کیلوگری بدون اثرگذاری بر ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس، روشی مناسب به‌منظور ضدعفونی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و اتمسفر اصلاح شده است.

استناد: گلزار افخم، پ.، شاویسی، ن. (۱۴۰۱). بررسی تأثیر پرتودهی گاما و بسته‌بندی هوازی، خلأ و اتمسفر اصلاح شده بر کیفیت گیاه پونه کوهی. *فرآوری و نگهداری مواد غذایی*، ۱۴ (۱)، ۲۰-۱.

DOI: 10.22069/EJFPP.2021.19568.1677

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

گیاه پونه کوهی با نام علمی *Mentha longifolia* متعلق به خانواده Laminaceae می‌باشد. این گیاه بصورت وحشی در مکان‌های مرطوب مانند حاشیه رودخانه‌ها روییده و در سراسر مناطق معتدله نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب‌غربی آسیا و استرالیا رشد می‌کند. برگ، ساقه و گل گونه‌های مختلف پونه کوهی در چای‌های گیاهی یا به عنوان افزودنی در مخلوط ادویه‌های تجاری برای طعم‌دادن به انواع غذاها استفاده می‌شود (۱۳). این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، برونشیت، نفخ و بی‌اشتهایی بکار گرفته می‌شود. ویژگی‌های کاربردی اسانس پونه کوهی (به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدان، ضدمیکروب و طعم‌دهنده) موجب شده است استفاده از آن در مواد غذایی به‌عنوان یک ماده نگهدارنده و افزودنی در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گیرد (۲٤).

ادویه‌ها و گیاهان دارویی مانند سایر محصولات کشاورزی در طول فرآیند کاشت، برداشت، حمل و نقل و فرآوری توسط باکتری‌ها، خاک و حشرات آلوده می‌شوند. یکی از روش‌های حذف آلودگی استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی نظیر اتیلن اکسید، متیل بromید و پروپیلن بوده است. اما به‌دلیل سمیت اتیلن اکسید و واکنش‌دهنده‌های آن و از بین رفتن مواد مغذی نظیر ویتامین B و همچنین اثرات سوء آن‌ها در محیط زیست، استفاده از آن در بسیاری از کشورها ممنوع و پرتودهی جایگزین آن شده است (۲۷). در سال‌های اخیر، پرتودهی به‌عنوان یک روش غیرحرارتی برای حذف آلودگی‌های پس از برداشت ادویه‌جات و گیاهان دارویی مورد توجه قرار گرفته شده است. در پرتودهی تجاری ادویه‌جات، گیاهان فصلی و سبزیجات معطر خشک شده، عمدتاً از پرتو گاما، پرتو ایکس و الکترون‌های شتاب‌یافته استفاده می‌شود (۱۱). منبع تأیید شده پرتوی گاما برای پرتودهی مواد غذایی رادیوایزوتوپ‌های کبالت ٦۰ یا سزیم ۱۳۷ است. رادیوایزوتوپی که بیشتر در پرتودهی مواد غذایی با پرتو گاما مورد استفاده قرار می‌گیرد، کبالت ٦۰ است که توسط بمباران نوترونی فلز کبالت ٦۰ در راکتورهای هسته‌ای تولید می‌شود (۱٤). بطورکلی، اثرات پرتودهی در حذف آلودگی میکروبی سبزیجات و ادویه‌جات نسبت به فرآیندهای حرارتی و استفاده از ترکیبات شیمیایی نظیر اتیلن اکسید، متیل بromید و پروپیلن بیشتر بوده و همچنین تأثیر کمتری بر ترکیبات مغذی آن‌ها دارد (۹). پرتو گاما می‌تواند مستقیماً به تمام بخش‌های سلولی باکتری‌ها به‌خصوص DNA آسیب رساند و موجب مرگ سلولی شود. اثر غیرمستقیم پرتو گاما به‌واسطه عملکرد رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشد که بر بازهای آلی موجود در ساختار DNA باکتری اثر دارند و قادر به تولید باقیمانده تیمین گلیکول[1] می‌باشند (۱٤).

بسته‌بندی تحت شرایط اتمسفر اصلاح‌شده[2] (MAP) و خلاء[3] به‌صورت رایج برای بسته‌بندی مواد غذایی خام، خشک و فرآوری‌شده و افزایش مدت زمان ماندگاری آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این نوع بسته‌بندی‌ها، شرایط اتمسفری داخل بسته غذایی تغییر داده می‌شود و گاز اکسیژن بصورت کامل حذف و یا با درصد مشخصی از دی اکسید کربن و نیتروژن جایگزین می‌گردد. هر دو نوع بسته‌بندی می‌توانند رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد و بیماری‌زا را به تأخیر بیندازند، میزان تغییرات شیمیایی و بیوشیمیایی را کاهش و ویژگی‌های حسی محصول را بهبود بخشند (۱٤). مطالعات مختلف و متناقضی درباره تأثیر پرتودهی گاما بر ترکیبات شیمیایی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس‌های

1. Thymine glycol
2. Modified atmosphere packaging (MAP)
3. Vacuum

حاصل از گیاهان دارویی مختلف انجام شده است (۱۷، ۲۱). اما تاکنون مطالعه‌ای درباره تأثیر آن بر ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی صورت نگرفته است. لذا، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی تأثیر پرتودهی گاما بر پارامترهای رنگ و جمعیت میکروبی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط MAP، خلأ و هوازی و همچنین تأثیر آن بر ترکیب شیمیایی و ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: گیاه پونه کوهی در فصل بهار (فروردین- اردیبهشت) سال ۱۳۹۹ از شهرستان گیلانغرب واقع در استان کرمانشاه جمع‌آوری گردید. عمده مواد شیمیایی مورد استفاده از جمله کیسه‌های چندلایه از جنس پلی‌اتیلن ترفتالات / پلی‌اتیلن- کوپلیمر اتیلن وینیل الکل- پلی‌اتیلن[1]، محلول رقیق‌سازی بافر پپتون واتر[2] و محیط کشت‌های BHI agar[3]، BHI براث، PCA[4] و SDA[5] از شرکت Merck آلمان و محیط کشت Violet Red Bile Lactose agar از شرکت HiMedia هند خریداری گردید. دیسک‌های بلانک با قطر ٦ میلی‌متر از شرکت پادتن طب ایران تهیه شدند.

بسته‌بندی گیاه پونه کوهی: تأیید گونه و جنس گیاه پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.)، کد هرباریوم= ۲٦۲٦) با همکاری دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی (کرمانشاه) صورت گرفت. گیاه جمع‌آوری‌شده در مکان مناسب و تاریک در دمای اتاق (۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۱۰ روز خشک گردید. به‌منظور بسته‌بندی گیاه پونه کوهی تحت شرایط MAP، ابتدا ۲۰۰ گرم از گیاه مورد نظر با استفاده از دستگاه خردکن (Moulinex، فرانسه) پودر و در کیسه‌های چندلایه از جنس پلی‌اتیلن ترفتالات/پلی‌اتیلن-کوپلیمر اتیلن وینیل الکل-پلی‌اتیلن با قابلیت نفوذ بسیار پایین به اکسیژن و رطوبت قرار داده شد. نمونه‌های گیاه پونه کوهی با استفاده از دستگاه MAP (مدل FPMV 1BFG 45، Fer plast، ایتالیا) و تزریق گاز نیتروژن به میزان ٪۱۰۰ بسته‌بندی شدند. برای بسته‌بندی گیاه پونه کوهی تحت شرایط هوازی و خلأ، ۲۰۰ گرم از گیاه خرد شده به ترتیب در داخل کیسه‌های معمولی پلی‌اتیلن و کیسه‌های چند لایه از جنس پلی‌اتیلن ترفتالات/ پلی‌اتیلن-کوپلیمر اتیلن وینیل الکل- پلی‌اتیلن قرار داده و بدون تزریق گاز نیتروژن با استفاده از دستگاه MAP بسته‌بندی شدند (۱۸).

پرتودهی نمونه‌های بسته‌بندی‌شده گیاه پونه کوهی: پرتودهی نمونه‌های گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط MAP، خلأ و هوازی با استفاده از دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری (منبع پرتودهی=کبالت ٦۰ و نرخ دوز پرتودهی= ٤/۱۸ کیلوگری بر ساعت) با همکاری سازمان انرژی اتمی ایران[6] انجام شد. به‌منظور اطمینان از پرتودهی مناسب، به‌همراه نمونه‌ها ۳ دوزیمتر در داخل بسته‌بندی قرار داده شد. مدت زمان پرتودهی برای دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری به‌ترتیب ۸۰، ۱٦۰ و ۲٤۰ دقیقه بود. پس از پرتودهی، نمونه‌های بسته‌بندی‌شده حداکثر ۲٤ ساعت در دمای اتاق (۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و برای سایر آزمایشات مورد بررسی قرار گرفتند (۱۲).

بررسی پارامترهای رنگی نمونه‌های بسته‌بندی‌شده گیاه پونه کوهی: بررسی پارامترهای رنگی نمونه‌های پرتودهی‌شده گیاه پونه کوهی شامل شفافیت (L)،

1. Polyethylene terephthalate/polyethylene-ethylene vinyl alcohol copolymer-polyethylene
2. Buffered Peptone Water
3. Brain Heart Infusion (BHI) agar
4. Plate count agar (PCA)
5. Sabouraud dextrose agar (SDA)
6. Atomic Energy Organization of Iran

سبزی-قرمزی (a)، آبی-زردی (b) و $\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2}$ با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج و بر اساس مطالعه احمد و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد (۲). شاخص L^*، a^* و b^* پلیت استاندارد سفید به‌ترتیب ۹٤/۲٤، ۰/۵۲- و ٤/۱۹ اندازه‌گیری شد.

بررسی وضعیت میکروبی نمونه‌های بسته‌بندی‌شده گیاه پونه کوهی: به‌منظور شمارش تعداد باکتری‌های کل[1] (TVC)، مقدار ۱۰ گرم نمونه را با ۹۰ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده آب پپتونه ۰/۱ درصد در استومیکر (مدل 400 W، InterSience، فرانسه) مخلوط کرده و از آن رقت‌های مختلف تهیه و میزان ۱ میلی‌لیتر در پلیت‌های PCA بصورت پورپلیت[2] کشت داده و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳٦-۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری صورت گرفت (۹). با توجه به فاکتور رقت تعداد آن‌ها به‌صورت $\log CFU\ g^{-1}$ گزارش گردید. برای شمارش تعداد باکتری‌های کلی‌فرم از محیط کشت Violet Red Bile Lactose agar و گرمخانه‌گذاری در دمای ۱±۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۸-۲٤ استفاده گردید. برای شمارش کپک و مخمر از محیط کشت SDA و گرمخانه‌گذاری در دمای ۱ ± ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ روز استفاده گردید (۱٤).

تهیه اسانس پونه کوهی و آنالیز ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن: به‌منظور اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر و بر اساس روش تقطیر با بخار آب، مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه‌های گیاه پونه کوهی خرد شده، با ٤۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به‌مدت ٤ ساعت اسانس‌گیری در دمای اتاق صورت گرفت (۱۰). نگهداری اسانس بدست‌آمده در داخل شیشه‌های تیره‌رنگ در دمای یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) انجام شد.

آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس پونه کوهی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی[3] (GC-MS) با همکاری پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران صورت گرفت. دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، نمونه که توسط n-هگزان رقیق شده بود به‌مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC-MS تزریق شد. برنامه دمایی ستون به‌صورت ذیل تنظیم گردید: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به‌مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد بصورت split ۱ به ۲۵ بود و از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن MS از ٤۰ تا ۵۰۰ تنظیم گردید. نرم‌افزار مورد استفاده Chemstation بود. شناسایی طیف‌ها به‌کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت.

1. Total viable count (TVC)
2. Pour plate
3.Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS)

اندازه‌گیری میزان فنول کل اسانس پونه کوهی: به‌منظور اندازه‌گیری میزان فنول کل اسانس پونه کوهی، مقدار ۳۰۰ میکرولیتر اسانس پونه کوهی به ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو و ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد اضافه و مخلوط حاصل به‌مدت ۱ دقیقه ورتکس گردید. در مرحله بعد، به‌مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری انجام شد. متانول به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. جذب نوری در طول موج ۷٦۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و نتایج به‌صورت میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر گزارش گردید (۳۱).

بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی: برای تعیین قدرت اسانس پونه کوهی در به دام انداختن رادیکال‌های ۲ و ۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل[1] (DPPH)، ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس پونه کوهی به ۲ میلی‌لیتر محلول اتانولی DPPH (۰/۰٦ میلی‌مولار) اضافه و پس از ٦۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. معرف بدون اسانس به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT[2] به‌عنوان کنترل مثبت مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH به‌عنوان معیاری از میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی اسانس مطابق رابطه ۱ محاسبه شد؛ که در این فرمول، I: درصد به دام‌انداختن رادیکال آزاد، Ab: جذب نمونه شاهد و As: جذب نمونه اسانس می‌باشد (۱۹، ۲۸). نتایج به‌صورت IC50 (مقداری از ترکیب آنتی‌اکسیدان که لازم است غلظت DPPH به ۵۰ درصد مقدار اولیه برسد) بیان گردید.

رابطه ۱. $$I\ (\%) = \frac{[Ab-As]}{Ab} \times 100$$

1. 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
2. Butylated hydroxytoluene (BHT)

به‌منظور تعیین مهار رنگ‌بری بتاکاروتن-اسید لینولئیک[3]، ۱ میلی‌لیتر بتاکاروتن (۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفورم حل و سپس ۱ میلی‌لیتر از این محلول به ۲۰۰ میلی‌گرم توین ۸۰ و ۲۵ میکرولیتر اسید لینولئیک خالص در یک ارلن در حال جوش اضافه گردید. کلروفورم با استفاده از روتاری در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه تبخیر و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. مقدار ۵ میلی‌لیتر از امولسیون نهایی با ۲۰۰ میکرولیتر اسانس مخلوط و جذب آن در زمان صفر و پس از ٦۰ دقیقه در طول موج ٤۷۰ نانومتر ثبت و مهار رنگ‌بری بتاکاروتن-اسید لینولئیک با استفاده رابطه ۲ اندازه‌گیری گردید (۱۹).

رابطه ۲.

β- Carotene bleaching inhibition (%) = β-Carotene absorbance after 60 min/Initial absorbance × 100

بررسی ویژگی ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی: *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 6538)، *لیستریا مونوسیتوژنز* (ATCC 19118)، *باسیلوس سوبتیلیس*[4] (ATCC 6633) و *باسیلوس سرئوس*[5] (ATCC 11774) از آرشیو کشت میکروبی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی تهیه گردید. باکتری‌های مذکور روی محیط کشت BHI agar به‌صورت سطحی کشت داده شد و در دمای ۱±۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری صورت گرفت. دو کلونی خوب رشد یافته از هر کدام از باکتری‌ها به‌صورت جداگانه به محیط کشت BHI براث انتقال داده و در دمای ۱±۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌صورت شبانه گرمخانه‌گذاری انجام شد (۲۹). سپس، سلول‌های هر کدام از باکتری‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (Sigma، انگلستان) در دور g× ٤۰۰۰ به‌مدت ۲۰ دقیقه در

3. Beta-Carotene bleaching inhibition
4. *Bacillus subtilis*
5. *Bacillus cereus*

دمای یخچال (۱ ± ٤ درجه سانتی‌گراد) جداسازی گردید. مایع رویی دور ریخته شد و قسمت زیرین سه بار با استفاده از بافر پپتون واتر شستشو داده شد (۵). رسوب نهایی به ۱۰ میلی‌لیتر بافر پپتون واتر ۰/۱ درصد اضافه و جذب نوری در ٦٦۰ nm برای *استافیلوکوکوس اورئوس* (CFU/mL ۱/۲ ×۱۰^{۹}) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (CFU/mL ۱/۱٦×۱۰^{۹}) در ۰/۱، *باسیلوس سرئوس* (CFU/Ml ۱×۱۰^{۹}) در ۰/٦ و *باسیلوس سوبتیلیس* (CFU/mL ۱/۱۳×۱۰^{۹}) در ۰/۸ تنظیم گردید.

به‌منظور تست دیسک دیفیوژن[1]، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر BHI براث حاوی $\log$ CFU ml^{-1} ۹ باکتری روی محیط کشت BHI agar اضافه و با استفاده از سواپ استریل به‌صورت کامل کشت داده شد. دیسک‌های بلانک به قطر ٦ mm بر روی پلیت حاوی BHI agar قرار داده و میزان ۱۰ میکرولیتر اسانس پونه کوهی به دیسک‌ها اضافه شد. پلیت‌های کشت داده شده به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۱ ± ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد (۲۳). همچنین، از تتراسایکلین به‌عنوان دیسک کنترل مثبت استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تمامی آزمایشات در سه بار تکرار صورت پذیرفت. از آزمون آنالیز واریانس و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ جهت تجزیه و تحلیل آماری نتایج این تحقیق استفاده گردید. سطح P<۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

پارامترهای رنگ نمونه‌های بسته‌بندی‌شده گیاه پونه کوهی: تأثیر پرتودهی گاما با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری بر پارامترهای رنگ شامل شفافیت (L)، سبزی-قرمزی (a) و آبی-زردی (b) نمونه‌های گیاه پونه‌کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج این مطالعه نشان داد، پرتودهی با دوزهای ۵ و ۱۰ کیلوگری (تحت شرایط هوازی) و ۱۵ (تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP) موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های a و b و افزایش معنی‌دار شاخص L در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (P<۰/۰۵). بر این اساس، پرتودهی با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری موجب رنگ‌پریدگی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده گردید. میزان اثر پرتودهی بر تغییر شاخص‌های رنگی در شرایط MAP نسبت به شرایط خلأ و هوازی به‌صورت غیرمعنی‌داری کمتر بود (P>۰/۰۵). نتایج مطالعه پولوکا و سهاج (۲۰۱۰) نیز نشان داد که پرتودهی با دوزهای ۳۰ و ۱۰ کیلوگری موجب کاهش معنی‌دار شاخص سبزی-قرمزی و افزایش شاخص شفافیت در نمونه‌های فلفل سیاه شده است (۲۷). رنگ‌پریدگی نمونه‌های پونه کوهی پس از پرتودهی را می‌توان به کاهش کلروفیل ذخیره در گیاه مذکور نسبت داد. در مطالعه ای نشان داده شده است که رنگدانه کلروفیل در سبزیجات به دوزهای پرتودهی بالاتر از ۵ کیلوگری بسیار حساس می‌باشد و تا ٧٦ درصد از ذخیره کلروفیل گیاهان، می‌تواند در اثر پرتودهی از بین برود (١٦). در اثر پرتودهی گاما دامنه وسیعی از گونه‌های رادیکالی و غیررادیکالی از یونیزه‌شدن آب درون سلولی ایجاد می‌گردد که قادر هستند کلروفیل و فعالیت آنزیمی را از بین ببرند و در نتیجه موجب بی‌رنگ شدن آن‌ها گردند (۹). در تطبیق با نتایج پژوهش حاضر، کیرکین و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند پرتودهی گاما با دوزهای ۷، ۱۲ و ۱۷ کیلوگری موجب رنگ‌پریدگی قابل‌توجه گیاه آویشن و رزماری شده است (۱۸). از طرف دیگر، کمبود اکسیژن باعث کندی واکنش‌های اکسایشی در اثر پرتودهی می‌گردد

1. Disk diffusion test

(۱٤)، لذا در نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت شرایط MAP و خلأ به‌صورت غیرمعنی‌داری تغییرات رنگ در نمونه‌ها کمتر از نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی بود. بنابراین، با استفاده از بسته‌بندی MAP و خلأ قبل از پرتودهی می‌توان اثرات منفی تغییر رنگ را در نمونه‌ها کاهش داد.

جدول ۱- تأثیر پرتودهی گاما بر پارامترهای رنگ گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP.

Table 1- Effect of gamma irradiation on color parameters of *Mentha longifolia* L. plant packaged under aerobic, vacuum, and modified atmosphere conditions.

دوز پرتودهی (کیلوگری) Irradiation dose (kGy)	بسته‌بندی Packaging	پارامترهای رنگ Color parameters			
		L	*a*	*b*	Δ*E*
0	هوازی Aerobic	48.34 ± 0.01 aA	4.77 ± 0.01 aA	25.19 ± 0.05 aA	40.47
	خلأ Vacuum	48.13 ± 0.02 aA	4.75 ± 0.03 aA	25.22 ± 0.07 aA	39.27
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	48.32 ± 0.03 aA	4.76 ± 0.02 aA	25.21 ± 0.06 aA	40.58
5	هوازی Aerobic	56.24 ± 0.62 aB	3.89 ± 0.02 aB	19.98 ± 0.05 aB	34.28
	خلأ Vacuum	53.28 ± 0.24 aB	4.11 ± 0.04 bA	22.44± 0.03 aA	36.37
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	51.12 ± 0.13 aA	4.31 ± 0.02 bA	23.65± 0.08 aA	38.19
10	هوازی Aerobic	57.09 ± 0.14 aB	2.15 ± 0.05 aB	18.32 ± 0.02 aB	34.25
	خلأ Vacuum	56.19 ± 0.05 aB	2.67 ± 0.02 aB	21.55 ± 0.24 aA	28.91
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	54.58 ± 0.08 aA	3.88± 0.04 bAB	22.48 ± 0.19 aA	34.91
15	هوازی Aerobic	65.81 ± 0.25 aC	1.76 ± 0.01 aC	13.48 ± 0.16 aB	26.77
	خلأ Vacuum	62.01 ± 0.06 aB	1.99 ± 0.02 aC	15.65 ± 0.25 aB	30.01
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	60.49 ± 0.03 aB	3.29 ± 0.03 bB	19.34 ± 0.09 aB	29.91

a-b حروف غیرمشابه کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در پارامترهای رنگ نمونه‌های بسته‌بندی‌شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP می‌باشد (P<۰/۰۵).

a-b Different lowercase letters indicate significant difference in color parameters of samples packaged under aerobic, vacuum, and modified atmosphere conditions (P<0.05).

A-C حروف غیرمشابه بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در پارامترهای رنگ نمونه‌های بسته‌بندی‌شده با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

A-B Different capital letters indicate significant difference in color parameters of samples packaged under irradiation doses of 5, 10, and 15 kGy (P<0.05).

وضعیت میکروبی نمونه‌های بسته‌بندی‌شده گیاه پونه کوهی: وضعیت میکروبی نمونه‌های گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP در جدول ۲ نشان داده شده است. بر این اساس، تعداد باکتری‌های کل (TVC)، کلی‌فرم‌ها و کپک و مخمر نمونه‌های گیاه پونه کوهی در روز صفر مطالعه در

نمونه‌های پرتودهی نشده به‌ترتیب ۶/۳۸ log CFU g^{-1}، ۳/۵۳ و ۵/۵۲ بود. پرتودهی با دوزهای ۱۰ و ۱۵ کیلوگری باعث کاهش جمعیت میکروبی مورد مطالعه در نمونه‌های بسته‌بندی شده به کمتر از حد قابل شمارش ۱ log CFU g^{-1} گردید. پرتودهی با دوز ۵ کیلوگری باعث کاهش معنی‌دار تعداد باکتری‌های کل و کپک و مخمر نسبت به گروه کنترل و کاهش کلی‌فرم‌ها به کمتر از حد قابل شمارش ۱ log CFU g^{-1} گردید ($P < ۰/۰۵$). حد قابل قبول تعداد باکتری‌های کل در ادویه‌جات ۵ log CFU g^{-1} می‌باشد (۹).

جدول ۲- تأثیر پرتودهی گاما بر جمعیت میکروبی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP

Table 2- Effect of gamma irradiation on microbial population of *Mentha longifolia* L. packaged under aerobic, vacuum, and modified atmosphere conditions.

دوز پرتودهی (کیلوگری) Irradiation dose (kGy)	بسته‌بندی Packaging	جمعیت میکروبی (log CFU g^{-1}) Microbial population (log CFU g^{-1})		
		TVC	کلیفرم‌ها (Coliforms)	کپک و مخمر Yeast and mold
0	هوازی Aerobic	6.38 ± 0.04 ^{aA}	3.53 ± 0.05^{a}	5.52 ± 0.12 ^{aA}
	خلأ Vacuum	6.38 ± 0.02 ^{aA}	3.53 ± 0.09^{a}	5.52 ± 0.11 ^{aA}
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	6.38 ± 0.01 ^{aA}	3.53 ± 0.02^{a}	5.52 ± 0.15 ^{aA}
5	هوازی Aerobic	4.39 ± 0.08 ^{aB}	ND	3.73 ± 0.02 ^{aB}
	خلأ Vacuum	3.78 ± 0.25 ^{aB}	ND	3.18 ± 0.16 ^{aB}
	اتمسفر اصلاح شده MAP	3.59 ± 0.11 ^{aB}	ND	2.45 ± 0.25 ^{aB}
10	هوازی Aerobic	ND	ND	ND
	خلأ Vacuum	ND	ND	ND
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	ND	ND	ND
15	هوازی Aerobic	ND	ND	ND
	خلأ Vacuum	ND	ND	ND
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	ND	ND	ND

$^{a-b}$ حروف‌غیرمشابه کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در جمعیت میکروبی نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

$^{a-b}$ Different lowercase letters indicate significant difference in microbial population of samples packaged under aerobic, vacuum, and modified atmosphere conditions ($P < 0.05$).

$^{A-C}$ حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در جمعیت نمونه‌های بسته‌بندی شده با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

$^{A-B}$ Different capital letters indicate significant difference microbial population of samples packaged under irradiation doses of 5, 10, and 15 kGy ($P < 0.05$). ND: Not detected.

بـر ایـن اسـاس، پرتـودهی بـا دوز ۵ کیلـوگری می‌تواند تعداد باکتری‌های کل را به کمتر از حد قابـل قبول برساند. همچنین، تفاوت معنی‌داری در جمعیـت میکروبی گروه‌های بسته‌بندی شده با MAP، هوازی و خلأ مشاهده نگردید (P> ۰/۰۵). برخـی از مطالعـات نشان داده‌اند، با توجه بـه میـزان آلـودگی اولیـه، نـوع میکروارگانیسم، حضور یا عدم حضور اکسیژن و نـوع ترکیبات ماده غذایی پرتودهی شده، دوزهای بـالاتر از ۱۰ کیلوگری می‌توانند تعداد باکتری‌های هوازی کـل، باکتری‌های مولد اسپور، کلی‌فرم‌ها و کپک و مخمـر را به کمتر از حد قابل قبول $\log CFU\ g^{-1}$ ۱ برسـانند (۱، ۳، ۱۵). در واقـع پرتـو گامـا هماننـد سـایر پرتوهـای یونیزه‌کننده نظیر X و بتا با رادیـولیز آب آزاد موجـود در یک ماده غذایی موجب تولید رادیکـال‌هـای آزاد و پراکسـید هیـدروژن مـی‌شـود کـه مـی‌توانـد میکروارگانیسم‌های مولـد فسـاد و بیمـاریزا را از بـین ببرد (۱۵).

ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پونـه کـوهی: نتـایج ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس پونه کـوهی در جداول ۳ تا ۵ ارائه شده است. بر اساس یافتـه‌هـا، در بین ۱۹ ترکیب تشکیل‌دهنده در ساختار اسـانس پونـه کـوهی اوکـالیپتول[1] (۱۹/۵۵-۱۸/۲۳ درصـد)، منتـون[2] (۱۳/۵۵-۱۲/۳٦ درصـد) و پولگـون[3] (٤۹/۵۵-٤۷/٦۹ درصد) اصلی‌ترین ترکیبات شناسـایی‌شـده بودنـد. بـر اسـاس نتـایج پـژوهش حاضـر، دوزهـای مختلـف پرتودهی و نوع بسته‌بندی تـأثیری در تغییـر ترکیبـات تشکیل دهنده اسانس پونـه کـوهی نـدارد. در مطالعـه مکاددم و همکاران، (۲۰۰۹)، پولگون (٥٤/٤۱ درصد) و ایزومنتـون (۱۲/۰۲ درصـد) بیشـترین ترکیبـات شناسایی شده در اسانس حاصـل از بـرگ گیـاه پونـه کوهی گزارش شده است (۲٤). گـالونس و همکـاران (۲۰۰۷) اسـانس حاصـل از پونـه کـوهی را بـه روش GC-MS گـزارش کردنـد سـیس- پیپریتـون اکسـاید (۱۸/٤ درصـد)، پولگـون (۱۵/۵ درصـد)، پیپریتـون اکسـاید (۱٤/۷ درصـد) و منتـون (۷/۹ درصـد) اصلی‌ترین ترکیبات موجود در این اسـانس مـی‌باشـد (۱۳). پولگـون (٦٦/۹۵ درصـد) و منتوفـوران (۱۰/۸۹ درصد) بیشترین ترکیبـات شناسـایی‌شـده در اسـانس حاصل از پونه کوهی جمع‌آوری شده از کشـور ایـران بودند (۸). در پـژوهش اویـدجی و افـولاین (۲۰۰٦)، منتـون (۵۰/۹ درصـد) و پولگـون (۱۹/۳ درصـد) به‌عنوان بیشترین ترکیبـات شناسـایی‌شـده در اسـانس پونه کـوهی در آفریقـای جنـوبی گـزارش شـد (۲۵). بطورکلی، تفاوت در ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهـان مختلـف بـه فاکتورهـای متعـددی از قبیـل روش اسانس‌گیری، شرایط جغرافیایی، آب و هـوا و فصـل، گونه گیاه، سن آن و نحوه خشک کردن گیـاه بسـتگی دارد (٦). نتایج این مطالعه نشان داد، دوزهای مختلف پرتودهی و نوع بسته‌بندی تـأثیری در تغییـر ترکیبـات تشکیل‌دهنده اسانس پونـه کـوهی نـدارد (P> ۰/۰۵). نتایج این مطالعه با قانون اتحادیه اروپا مبنی بر استفاده از پرتودهی با دوز ۱۰ کیلوگری برای ضدعفونی‌کردن ادویه‌جات و گیاهان بدون تأثیر بـر سـاختار ترکیبـات شیمیایی همخوانی دارد. بر اساس گزارشات فاطمی و همکاران (۲۰۱٤) اسـتفاده از دوزهـای پرتـودهی ۱۰ و ۲۵ کیلوگری تأثیر قابل توجهی بر ساختار و ترکیبـات شیمیایی اسانس و عصاره نعناع نـدارد (۱۲). کومـار و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردنـد ترکیبـات اصـلی اسـانس وانیـل شـامل وانیلـین، وانیلیـک اسـید، بتاهیدروکسی بنزالدهید، هیدروکسی بنزوئیک اسـید و وانیلین گلوکوزید به دوزهای پرتودهی ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری مقاومت دارند (۲۲). بر خـلاف نتـایج پژوهش حاضـر، آلـوتمن و همکـاران (۲۰۰۹) نشـان دادند پرتودهی با دوز ۱۵ کیلوگری موجـب تغییـر در سـاختار شـیمیایی اسـانس فلفـل سـیاه و تولیـد رادیکـال‌هـای آلـی و کـاهش ترکیبـات فـرار در ایـن

1. Eucalyptol
2. Menthone
3. Pulegone

اسانس شد (٤). بطورکلی، تفاوت در تـأثیر پرتـودهی گاما بر ترکیبات شیمیایی اسانس‌های مختلف می‌تواند به‌دلیل تفاوت در نوع اسانس، مدت زمـان پرتـودهی، روش پرتودهی و دوز مورد استفاده باشد (٤).

جدول ۳- تأثیر پرتودهی گاما بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی.

Table 3- Effect of gamma irradiation on chemical composition of *Mentha longifolia* L. essential oil packaged under aerobic condition.

دوز پرتودهی (کیلوگری) Irradiation dose (kGy)				Kovats index	شاخص بازداری Retention index	ترکیب شیمیایی Chemical compound	ردیف Number
15	10	5	0				
1.33	1.32	1.33	1.42	934	11.33	*α*-Pinene	1
1.45	1.48	1.38	1.52	975	13.40	Sabinene	2
2.61	2.75	2.63	2.54	981	13.67	*β*-Pinene	3
0.61	0.61	0.61	0.61	992	14.24	Myrcene	4
0.53	0.55	0.50	0.52	1004	14.83	3-Octanol	5
0.15	0.13	0.18	0.14	1031	16.22	*o*-Cymene	6
0.85	0.74	0.85	0.86	1034	16.39	Limonene	7
18.55	19.32	19.16	18.23	1038	16.59	Eucalyptol	8
0.05	0.06	0.07	0.05	1107	20.14	Linalool	9
12.36	12.39	12.39	12.37	1168	23.17	Menthone	10
0.94	0.98	0.95	0.98	1176	23.58	Isomenthone	11
0.91	0.91	0.91	0.91	1183	23.90	α-Terpineol	12
0.24	0.26	0.29	0.27	1192	24.33	Terpinen-4-ol	13
49.55	48.50	47.69	49.50	1254	27.34	Pulegone	14
0.52	0.52	0.52	0.51	1268	28	Piperitone	15
1.86	1.82	1.85	1.84	1355	31.94	Piperitenone	16
0.38	0.42	0.49	0.35	1427	35.05	Caryophyllene	17
0.12	0.12	0.11	0.13	1456	36.29	*β*-farnesene	18
1.11	0.99	1.08	0.97	1596	41.90	Caryophyllene oxide	19
94.12	93.87	92.99	93.72			جمع کل Sum	

جدول ٤- تأثیر پرتودهی گاما بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط خلأ.

Table 4- Effect of gamma irradiation on chemical composition of *Mentha longifolia* L. essential oil packaged under vacuum condition.

دوز پرتودهی (کیلوگری) Irradiation dose (kGy)				Kovats index	شاخص بازداری Retention index	ترکیب شیمیایی Chemical compound	ردیف Number
15	10	5	0				
1.31	1.38	1.32	1.45	934	11.33	*α*-Pinene	1
1.49	1.49	1.49	1.49	975	13.40	Sabinene	2
2.73	2.65	2.62	2.66	981	13.67	*β*-Pinene	3
0.62	0.63	0.60	0.65	992	14.24	Myrcene	4
0.51	0.53	0.52	0.50	1004	14.83	3-Octanol	5
0.16	0.12	0.15	0.17	1031	16.22	*o*-Cymene	6
0.82	0.83	0.82	0.83	1034	16.39	Limonene	7
19.41	19.45	19.34	19.55	1038	16.59	Eucalyptol	8
0.04	0.04	0.04	0.04	1107	20.14	Linalool	9
13.41	13.42	13.51	13.55	1168	23.17	Menthone	10
0.96	0.96	0.94	0.95	1176	23.58	Isomenthone	11
0.90	0.90	0.90	0.90	1183	23.90	α-Terpineol	12
0.22	0.27	0.28	0.25	1192	24.33	Terpinen-4-ol	13
48.52	48.53	48.51	48.42	1254	27.34	Pulegone	14
0.51	0.51	0.51	0.53	1268	28	Piperitone	15
0.85	0.85	0.86	0.87	1355	31.94	Piperitenone	16
0.42	0.46	0.45	0.37	1427	35.05	Caryophyllene	17
0.13	0.13	0.12	0.11	1456	36.29	*β*-farnesene	18
1.06	1.08	1.01	0.95	1596	41.90	Caryophyllene oxide	19
94.07	94.23	93.99	94.24			جمع کل Sum	

جدول ۵- تأثیر پرتودهی گاما بر ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط MAP.

Table 5- Effect of gamma irradiation on chemical composition of *Mentha longifolia* L. essential oil packaged under MAP condition.

ردیف Number	ترکیب شیمیایی Chemical compound	شاخص بازداری Retention index	Kovats index	دوز پرتودهی (kGy) Irradiation dose (kGy)			
				0	5	10	15
1	*α*-Pinene	11.33	934	1.43	1.45	1.45	1.45
2	Sabinene	13.40	975	1.34	1.35	1.38	1.36
3	*β*-Pinene	13.67	981	2.74	2.75	2.72	2.74
4	Myrcene	14.24	992	0.65	0.64	0.66	0.65
5	3-Octanol	14.83	1004	0.49	0.48	0.49	0.47
6	*o*-Cymene	16.22	1031	0.17	0.18	0.17	0.16
7	Limonene	16.39	1034	0.92	0.88	0.79	0.88
8	Eucalyptol	16.59	1038	18.72	19.35	18.66	18.45
9	Linalool	20.14	1107	0.09	0.06	0.05	0.04
10	Menthone	23.17	1168	12.44	12.42	12.43	12.44
11	Isomenthone	23.58	1176	0.98	0.98	0.98	0.98
12	α-Terpineol	23.90	1183	0.99	0.99	0.99	0.99
13	Terpinen-4-ol	24.33	1192	0.56	0.56	0.58	0.59
14	Pulegone	27.34	1254	48.53	47.79	48.67	48.11
15	Piperitone	28	1268	0.73	0.75	0.74	0.73
16	Piperitenone	31.94	1355	1.75	1.73	1.74	1.82
17	Caryophyllene	35.05	1427	0.44	0.48	0.48	0.48
18	*β*-farnesene	36.29	1456	0.66	0.64	0.62	0.65
19	Caryophyllene oxide	41.90	1596	0.55	0.54	0.64	0.56
	جمع کل Sum			94.18	94.02	94.24	93.55

میزان فنول کل و ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی: بر اساس نتایج پژوهش حاضر، میزان فنول کل، DPPH و مهار رنگ‌بری بتاکاروتن-اسید لینولئیک اسانس پونه کوهی به‌ترتیب ٦٣/٤٥-٦٣/١٢ میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر، ٨/٨٨-٧/٨٢ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ٨١/٦٦-٨١/١٢ درصد تعیین گردید (جدول ٦). نتایج این مطالعه نشان داد دوزهای مختلف پرتودهی ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری و نوع بسته‌بندی تأثیری در افزایش یا کاهش ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی ندارد (P>۰/۰۵). مقدار IC50 BHT به‌عنوان ترکیب استاندارد ۰/۰۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید. ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی در شرایط آزمایشگاهی و مدل غذایی توسط برخی از محققین گزارش شده است (۱۳، ۲۳، ٢٤، ۳۰). این ویژگی در اسانس و عصاره‌های گیاهی مختلف به گروه‌های هیدروکسیل و متوکسی ترکیبات پلی‌فنولی آن‌ها نسبت داده می‌شود که توانایی تأمین اتم هیدروژن مورد نیاز برای رادیکال‌های آزاد فعال را دارند (٦). نتایج این مطالعه نشان داد، دوزهای مختلف پرتودهی ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری و نوع بسته‌بندی هوازی، خلأ و MAP تأثیری در افزایش یا کاهش ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی ندارد (P>۰/۰۵). زانتار و همکاران (۲۰۱۵)، اثر پرتودهی گاما (۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری) در بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن کوهی و نعناع نشان دادند پرتودهی موجب بهبود ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های موردمطالعه شده است (۳۳). در مطالعه جو و همکاران (۲۰۰۳)، استفاده از پرتودهی گاما در دوزهای ۱۰ و ۲۰ کیلوگری برگ‌های چای سبز موجب افزایش قدرت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH عصاره اتانولی بلافاصله پس از پرتودهی شده است (۱۵). در مطالعه کیم و همکاران (۲۰۰۹)، پرتودهی ۱، ۳، ۵ و ۱۰ کیلوگری زیره سبز موجب افزایش قدرت مهار رادیکال DPPH شده و این افزایش با افزایش

دوز پرتودهی به‌صورت غیرمعنی‌داری افزایش پیدا کرده است (۲۰). کیتازورو و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند پرتودهی گاما در دوزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ کیلوگری بر ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و آبی دارچین تأثیری نداشت (۲۱). در مطالعه پرز و همکاران (۲۰۱۱)، پرتودهی گاما در دوز ۳۰ کیلوگری اثر معنی‌داری بر ویژگی آنتی‌اکسیدانی و میزان کل ترکیبات فنولی عصاره‌های متانولی و آبی گیاه مریم گلی نداشته است (۲٦).

جدول ٦- تأثیر پرتودهی گاما بر میزان فنول کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی.

Table 6- Effect of gamma irradiation on total phenol and antioxidant property of *Mentha longifolia* L. essential oil.

β- Carotene (%)	DPPH (IC50; mg ml^{-1})	فنول کل Total phenol (mg gallic acid ml^{-1})	بسته‌بندی Packaging	دوز پرتودهی (کیلوگری) Irradiation dose (kGy)
81.23 ± 0.02	8.32 ± 0.04	63.24 ± 0.05	هوازی Aerobic	0
81.25 ± 0.08	7.82 ± 1.55	63.18 ± 0.01	خلأ Vacuum	
81.28 ± 1.28	8.52 ± 0.23	63.12 ± 0.25	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	
81.56 ± 0.03	8.18 ± 0.09	63.12 ± 0.08	هوازی Aerobic	5
81.66 ± 0.01	8.45 ± 0.07	63.12 ± 0.03	خلأ Vacuum	
81.12 ± 0.02	8.22 ± 0.11	63.45 ± 0.04	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	
81.55 ± 0.46	8.45 ± 0.07	63.22 ± 0.28	هوازی Aerobic	10
81.23 ± 0.24	8.78 ±0.14	63.38 ± 0.21	خلأ Vacuum	
81.25 ± 0.05	8.21 ± 0.09	63.19 ± 0.15	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	
81.21 ± 0.03	8.88 ± 0.03	63.42 ± 0.01	هوازی Aerobic	15
81.28 ± 0.38	8.42 ± 0.42	63.16 ± 0.01	خلأ Vacuum	
81.19 ± 0.12	8.64 ± 0.05	63.34 ± 0.03	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	

پرتودهی گاما و نوع بسته‌بندی تأثیر معنی‌داری بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی گروه‌های مختلف بسته‌بندی گیاه پونه کوهی نداشت (P > ۰/۰۵).

The gamma irradiation and type of packaging had no significant effects on antioxidant property of different packing groups of *Mentha longifolia* L. plant (P > 0.05).

بنابراین، در این مطالعات، پرتودهی باعث حفظ ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی این گیاهان در شرایط آزمایشگاهی شده است. عدم تأثیر پرتودهی بر ویژگی آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی را می‌توان با اصول شیمی پرتودهی توضیح داد. اگر میزان آب کم باشد، امکان تشکیل رادیکال‌های آزاد محدود می‌شود. در

شرایط خشک، رادیکال‌های تولید شده در نتیجه پرتوهای یونیزه کننده شانسی برای حرکت ندارند یا تحرک کمتری دارند و بدین ترتیب از ترکیبات دیگر محافظت می‌شود. برخی از مطالعات نشان دادند پرتودهی به‌دلیل آزاد سازی ترکیبات فنولی از ترکیبات گلیکوزیدی و تجزیه ترکیبات فنولی بزرگتر به ترکیبات کوچک‌تر، موجب افزایش ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. این تفاوت اثر پرتودهی گاما بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات فنولی ممکن است به‌دلیل تفاوت در نوع گیاه، ترکیبات شیمیایی آن‌ها، شرایط محیطی و جغرافیایی، نوع حلال و روش استخراج اسانس و عصاره، ترکیب محتوای فنولی و دوز پرتودهی گاما باشد (۱۷). از آنجایی که تیمارهای حرارتی همواره موجب کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های گیاهی می‌شود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت پرتودهی گاما روشی مناسب در ضدعفونی ادویه‌جات و گیاهان دارویی می‌باشد.

ویژگی ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی: نتایج ویژگی ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* در جدول ۷ ارائه شده است. بر طبق یافته‌های پژوهش حاضر، اسانس پونه کوهی دارای ویژگی ضدمیکروبی مناسب علیه رشد باکتری‌های مذکور بود. بیشترین و کمترین حساسیت به‌ترتیب مربوط به *استافیلوکوکوس اورئوس* (قطر هاله عدم رشد= ۸/۷۷–۸/۲۵ mm) و *باسیلوس سرئوس* (قطر هاله عدم رشد= ٤/۵۲–٤/۲٦ mm) بود. همچنین، نتایج نشان داد پرتودهی با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری و نوع بسته‌بندی هوازی، خلأ و MAP در افزایش یا کاهش ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه کوهی تأثیر معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵). قطر هاله عدم رشد دیسک تتراسایکلین به‌عنوان کنترل مثبت برای باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* به‌ترتیب ۰/۰۱±۱۰/۱۲، ۰/۰۲ ± ۱۳/۲۲، ۰/۰۱± ۱٤/۰۲ و ۰/۰۲± ۱/۵ میلی‌لیتر تعیین گردید. ویژگی ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی علیه *سالمونلا انتریتیدیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۳)، *اشریشیا کلی* O157:H7 (۸)، *لیستریا مونوسیتوژنز* (۲٤) و *باسیلوس سوبتیلیس* (۲۵) در بسیاری از تحقیقات اثبات شده است. با توجه به تعدد ترکیبات شیمیایی در اسانس گیاهان، نمی‌توان ساز و کار واحدی برای اثرات ضدباکتریایی آن‌ها در نظر گرفت. از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و اجزاء تشکیل‌دهنده آن‌ها ویژگی آب‌گریزی آن‌ها می‌باشد که با نفوذ به لیپیدهای غشاء سلول باکتری و میتوکندری‌ها و اختلال در ساختمان‌های آن‌ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر موجب رهایش یون‌ها و دیگر محتویات سلولی می‌شود. اگرچه خروج این مواد در مقادیر محدود برای باکتری قابل تحمل است؛ ولی در عملکرد زیستی آن اثر گذاشته و خروج مقادیر بیشتر محتویات سلولی، یون‌ها و مولکول‌های زیستی موجب مرگ سلول خواهد شد (٦). همچنین، نتایج این مطالعه نشان داد، پرتودهی با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری و نوع بسته‌بندی هوازی، خلأ و MAP در افزایش یا کاهش ویژگی ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی تأثیر معنی‌داری ندارد (P>۰/۰۵). چاتری و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند پرتودهی گاما با دوز ۱۰ کیلوگری موجب تغییرات معنی‌دار در ویژگی ضدمیکروبی عصاره زردچوبه و ترکیبات شیمیایی آن شامل پاراسیمن، ۱، ۸ سینئول، بتا–کاریوفیلن و نرولیدول می‌گردد (۷). فاطمی و همکاران (۲۰۱٤) اثر پرتودهی گاما را بر ترکیب شیمیایی و ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره هیدروالکلی نعناع

مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، پرتودهی موجب بهبود ویژگی ضد میکروبی اسانس و عصاره نعناع نشد. عدم تأثیر پرتودهی بر فعالیت ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی در این مطالعه به‌دلیل عدم تأثیر آن بر ساختار و ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس می‌باشد (۱۲).

جدول ۷- تأثیر پرتودهی گاما بر خاصیت ضدمیکروبی اسانس پونه کوهی.

Table 7- Effect of gamma irradiation on antimicrobial property of *Mentha longifolia* L. essential oil.

دوز پرتودهی (کیلوگری) Irradiation dose (kGy)	بسته‌بندی Packaging	قطر هاله عدم رشد (mm) Inhibition zone diameter (mm)			
		استافیلوکوکوس اورئوس *S. aureus*	*لیستریا مونوسیتوژنز* *L. monocytogenes*	*باسیلوس سرئوس* *B. cereus*	*باسیلوس سوبتیلیس* *B subtilis*
0	هوازی Aerobic	8.35 ± 0.01	7.34 ± 0.02	4.29 ± 0.02	5.69 ± 0.07
	خلأ Vacuum	8.42 ± 0.02	7.35 ± 0.04	4.35 ± 0.05	5.68 ± 0.01
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	8.56 ± 0.03	7.35 ± 0.01	4.26 ± 0.02	5.69 ± 0.03
5	هوازی Aerobic	8.45 ± 0.02	7.38 ± 0.01	4.36 ± 0.04	5.70 ± 0.01
	خلأ Vacuum	8.77 ± 0.01	7.35 ± 0.05	4.52 ± 0.02	5.70 ± 0.02
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	8.45 ± 0.03	7.36 ± 0.01	4.42 ± 0.06	5.73 ± 0.04
10	هوازی Aerobic	8.25 ± 0.05	7.42 ± 0.01	4.35 ± 0.02	5.72 ± 0.05
	خلأ Vacuum	8.34 ± 0.02	7.55 ± 0.01	4.38 ± 0.04	5.73 ± 0.02
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	8.42 ± 0.05	7.56 ± 0.03	4.34 ± 0.01	5.75 ± 0.01
15	هوازی Aerobic	8.36 ± 0.02	7.35 ± 0.05	4.28 ± 0.01	5.67 ± 0.01
	خلأ Vacuum	8.55 ± 0.03	7.35 ± 0.02	4.27 ± 0.03	5.68 ± 0.02
	اتمسفر اصلاح‌شده MAP	8.42 ± 0.02	7.35 ± 0.04	4.32 ± 0.02	5.67 ± 0.04

پرتودهی گاما و نوع بسته‌بندی تأثیر معنی‌داری بر خاصیت ضدمیکروبی در میان گروه‌های مختلف بسته‌بندی گیاه پونه کوهی نداشت ($P > ۰/۰۵$).

The gamma irradiation and type of packaging had no significant effects on antimicrobial property of different packing groups of *Mentha longifolia* L. plant ($P > 0.05$).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد، استفاده از پرتودهی گاما با دوزهای ۱۰ و ۱۵ کیلوگری روشی مناسب به‌منظور ضدعفونی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP می‌باشد، بدون آنکه تأثیری بر ترکیبات شیمیایی و خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس داشته باشد. با این وجود، پیشنهاد می‌گردد تأثیر پرتودهی گاما بر

ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی گیاه پونه کوهی بسته‌بندی شده تحت شرایط هوازی، خلأ و MAP حین نگهداری طولانی‌مدت در دمای اتاق مورد ارزیابی قرار گیرد.

References

1. Abdel-Khalek, H.H. 2008. Effect of Gamma Irradiation on the Microbial, Chemical Quality and the Biological Activity of Some Spices and Herbs. Ph.D. Thesis (EG0900035). Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt
2. Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., and Agustini, T.W. 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocoll. 28:1.189-199.
3. Alam, M.K., Choudhury, N., Chowdhury, N.A., and Youssouf, Q.M. 1992. Decontamination of spices by gamma radiation. Letters Appl. Microbiol. 14:5.199-202.
4. Alothman, M., Bhat, R., and Karim, A. A. 2009. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. Trends Food Sci. Technol. 20:5.201-212.
5. Ban, G.H., and Kang, D.H. 2018. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on cherry tomatoes and oranges by superheated steam. Food Res. Int. 112:38-47.
6. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int. J. Food Microbiol. 94:3.223-253.
7. Chatterjee, S., Variyar, P.S., Gholap, A. S., Padwal-Desai, S.R., and Bongirwar, D.R. 2000. Effect of γ-irradiation on the volatile oil constituents of turmeric (*Curcuma longa*). Food Res. Int. 33:2.103-106.
8. Ekhtelat, M., Bahrani, Z., Siahpoosh, A., and Ameri, A. 2019. Evaluation of antibacterial effects of *Mentha spicata* L., *Cuminum cyminum* L. and *Mentha longifolia* L. essential oils individually and in combination with sodium benzoate against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Jundishapur* J. Natur. Pharm. Prod. 14:3.e59092.
9. Esmaeili, S., Berengi-Ardestani, S., Khanniri, E., Barzegar, M., and Sahari, M.A. 2021. Effect of storage time on the microbial and physicochemical properties of gamma irradiated turmeric powder under various atmospheres of packaging. Radiat. Phys. Chem. 109580.
10. European pharmacopoeia. 1997. 3th ed. Royal Society of Medicine Press, Strasbourg.
11. Faezeh, F., Salome, D., Abolfazl, D., and Reza, Z. M. 2015. Considering the antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss essential oil treated with gamma-irradiation *in vitro* and *in vivo* systems. Radiat. Phys. Chem. 106:145-150.
12. Fatemi, F., Dini, S., Rezaei, M. B., Dadkhah, A., Dabbagh, R., and Naij, S. 2014. The effect of γ-irradiation on the chemical composition and antioxidant activities of peppermint essential oil and extract. J. Essent. Oil Res. 26:2.97-104.
13. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., and Ozkan, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. Food Chem. 103:4.1449-1456.
14. Jay, J.M., Loessner, M.J., and Golden, D.A. 2008. Modern food microbiology. Springer Science & Business Media.
15. Jo, C., Son, J.H., Lee, H.J., and Byun, M.W. 2003. Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extract. Radiat. Phys. Chem. 66:2.179-184.
16. Ling, A.P.K., Chia, J.Y., Hussein, S., and Harun, A.R. 2008. Physiological responses of Citrus sinensis to gamma irradiation. World Appl. Sci. J. 5:1.12-19.
17. Khattak, K.F., and Simpson, T.J. 2010. Effect of gamma irradiation on the antimicrobial and free radical

scavenging activities of Glycyrrhiza glabra root. Radiat. Phys. Chem. 79:4.507-512.
18. Kirkin, C., Mitrevski, B., Gunes, G., and Marriott, P.J. 2014. Combined effects of gamma-irradiation and modified atmosphere packaging on quality of some spices. Food Chem. 154:255-261.
19. Kirkin, C., and Gunes, G. 2018. Modified atmosphere packaging and gamma-irradiation of some herbs and spices: Effects on antioxidant and antimicrobial properties. J. Food Process. Preserv. 42: 8.e13678.
20. Kim, J.H., Shin, M.H., Hwang, Y.J., Srinivasan, P., Kim, J.K., Park, H.J., and Lee, J.W. 2009. Role of gamma irradiation on the natural antioxidants in cumin seeds. Radiat. Phys. Chem. 78:2.153-157.
21. Kitazuru, E.R., Moreira, A.V.B., Mancini-Filho, J., Delincee, H., and Villavicencio, A.L.C.H. 2004. Effects of irradiation on natural antioxidants of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* N.). Radiat. Phys. Chem. 71:1.39-41.
22. Kumar, K.K., AnanthaKumar, A.A., Ahmad, R., Adhikari, S., Variyar, P.S., and Sharma, A. 2010. Effect of gamma-radiation on major aroma compounds and vanillin glucoside of cured vanilla beans (*Vanilla planifolia*). Food Chem. 122:3.841-845.
23. Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Mihajlović, B., and Matavulj, M. 2003. Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. Planta Med. 69:5.413-419.
24. Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., and Romdhane, M. 2009. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha* (*longifolia* L. and *viridis*) essential oils. J. Food Sci. 74:7.M358-M363.
25. Oyedeji, A., and Afolayan, A. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from South African *Mentha longifolia* (L.) subsp. *capensis* (Thunb.) Briq. J. Essent. Oil Res. 18:1.57-59.
26. Pérez, M.B., Banek, S.A., and Croci, C.A. 2011. Retention of antioxidant activity in gamma irradiated argentinian sage and oregano. Food Chem. 126: 1.121-126.
27. Polovka, M., and Suhaj, M. 2010. The effect of irradiation and heat treatment on composition and antioxidant properties of culinary herbs and spices-A review. Food Rev. Int. 26:2.138-161.
28. Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Veiskarami, G.H., and Ghasemian-Yadegari, J. 2014. Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. Asian Pac. J. Trop. Med. 7:S491-S496.
29. Shahbazi, Y., and Shavisi, N. 2016. Interactions of *Ziziphora clinopodioides* and *Mentha spicata* essential oils with chitosan and ciprofloxacin against common food-related pathogens. LWT-Food Sci. Technol. 71:364-369.
30. Singh, S., Das, S., Singh, G., Perotti, M., Schuff, C., and Catalán, C. A. 2015. *In vitro* antioxidant potentials and chemistry of essential oils and oleoresins from fresh and sun-dried *Mentha longifolia* L. J. Essent. Oil Res. 27:1.61-69.
31. Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J., and Pérez-Álvarez, J.A. 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. Flavour Fragr. J. 25:1.13-19.
32. Yadollahi, M., Gholamali, I., Namazi, H., and Aghazadeh, M. 2015. Synthesis and characterization of antibacterial carboxymethylcellulose / CuO bio-nanocomposite hydrogels. Int. J. Biol. Macromol. 73:109-114.
33. Zantar, S., Haouzi, R., Chabbi, M., Laglaoui, A., Mouhib, M., Boujnah, M., and Zerrouk, M. H. 2015. Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. Radiat. Phys. Chem. 115:6-11.