Food Hygiene, Vol. 13, No. 51, Autumn 2023

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2023.1992033.1412**

Investigation of some chemical and antimicrobial properties of *Laurus nobilis* essential oil

Ghaderi, F.[1], Shakerian, A.[2], Mashak, Z.[3], Rahimi, E.[4], Jafari, M.[5]

1. Ph. D. student, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Iran
2. Research Center of Nutrition and Organic Products, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
3. Department of Food Hygiene, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
4. Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
5. Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Iran

*Corresponding author: mashak@kiau.ac.ir

(Received: 2023/9/30 Accepted: 2023/11/22)

Abstract

The dry leaf of trees, their powder, and essential oils are used as flavoring agents in the food industry, and due to their antimicrobial and antioxidant properties, they increase the shelf life of food. This research aims to investigate the chemical and antimicrobial properties of bay leaf essential oil. The extraction of essential oils was done by the Clevenger method. The results showed that the amount of carbohydrate, total fat, and protein in the leaves were 2.93, 6.51, and 6.33 grams per 100 g of dry matter, respectively. Antioxidant activity, total phenol, and flavonoid content of the prepared essential oil, respectively, with IC50 of the number is 0.91 micrograms per milliliter, 0.65 m/g of gallic acid, and 0.07 m/g of quercetin. The results of GC–MS showed that the main components of the essential oil include cineole (33.63 %), camphene (19.76 %), eugenol (11.73 %), terpineol (5.30 %), alpha-pinene (45.45 %.), Sabnin (3.42%), alpha-terpineol (0.45%) and methyl eugenol (0.33%). The evaluation of the antimicrobial activity of Laurus nobilis essential oil indicates that the produced essential oil had antimicrobial activity against Staphylococcus aureus with a halo diameter of 14.60 ± 0.47 mm. Meanwhile, it was effective against Escherichia coli and Salmonella, respectively. It had less effect with a halo diameter of 10.60 ± 0.47 and 9.60 ± 0.47 mm.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Antimicrobial activity, *Laurus nobilis*, chemical properties, Preservative

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2023.1992033.1412

بررسی برخی ویژگی‌های شیمیایی و ضدمیکروبی اسانس روغنی برگ بو

فریده قادری[۱]، امیر شاکریان[۲]، زهره مشاک[۳]*، ابراهیم رحیمی[۴]، مهدی جعفری[۵]

۱-گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۲- مرکز تحقیقات تغذیه و فرآورده های ارگانیک ، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۳-گروه بهداشت مواد غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۴-گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
۵- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: mashak@kiau.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۷/۸ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۹/۱۱)

چکیده

برگ‌های خشک درختان، پودر و اسانس آن‌ها به عنوان طعم‌دهنده در صنعت غذا مورد استفاده قرار گرفته و بواسطه خصوصیت ضدمیکروبی باعث افزایش ماندگاری موادغذایی می‌شوند. هدف از این پژوهش، بررسی خصوصیات شیمیایی و ضدمیکروبی اسانس برگ بو بود. اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج گردید و ویژگی‌های آن با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان کربوهیدرات، چربی کل و پروتئین در برگ‌ها به ترتیب ۲/۹۳، ۶/۵۱ و ۶/۳۳ گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فنل و فلاونوئید کل اسانس تهیه شده به ترتیب با غلظت مهار ۵۰ درصد عدد ۰/۹۱ میکروگرم‌برمیلی‌لیتر، ۰/۶۵ میلی‌گرم‌برگرم برحسب اسیدگالیک و ۰/۰۷ میلی‌گرم‌برگرم برحسب کوئرستین می‌باشد. نتایج آنالیز گازکروماتوگرافی طیف‌سنج جرمی نشان داد که ترکیبات اصلی اسانس شامل ۱و۸-سینئول (۳۳/۶۳ درصد)، کمفن (۱۹/۷۶ درصد)، اوژنول (۱۱/۷۳ درصد)، ترپینول (۵/۳۰ درصد)، آلفاپینین (۴/۴۵ درصد)، سابنین (۳/۴۲ درصد)، آلفاترپینول (۰/۴۵ درصد) و متیل‌اوژنول (۰/۳۳ درصد) بود. ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی اسانس برگ بو حاکی از آن است که اسانس تولیدشده دارای فعالیت ضدمیکروبی بالایی در برابر باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* با قطر هاله ۶۰/۴۷±۱۴/۰ میلی‌متر بوده، درحالی‌که بر روی باکتری *اشریشیا کلی* و *سالمونلا* به ترتیب با قطر هاله ۶۰/۴۷±۱۰/۰ و ۰/۴۷±۹/۶۰ میلی‌متر تأثیر کم‌تری داشت. نتایج کلی نشان داد که اسانس برگ بوی تولیدشده می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی مؤثر در موادغذایی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسانس روغنی، برگ بو، ویژگی ضدمیکروبی، ویژگی‌های شیمیایی، نگه‌دارنده

مقدمه

فساد موادغذایی یک نگرانی عمده برای تولیدکنندگان موادغذایی است، زیرا باعث ضررهای اقتصادی قابل‌توجهی در اثر عواملی مانند آسیب‌های فیزیکی، رشد میکروبی و تغییرات شیمیایی هم‌چون اکسیداسیون شده و باعث تخریب و تغییر خواص اورگانولپتیکی موادغذایی می‌شوند. از طرف دیگر، در سال‌های اخیر تقاضای مصرف‌کنندگان در زمینه مصرف موادغذایی به میزان قابل‌توجهی تغییر یافته است. مثلا، غذا را فقط برای رفع گرسنگی و تأمین موادمغذی استفاده نمی‌کنند بلکه برای جلوگیری از بیماری‌های مرتبط با تغذیه و بهبود سلامت جسمی و روانی نیز مورد استفاده قرار می‌دهند (Muniz-Marquez *et al.*, 2013). با توجه به مضرات نگه‌دارنده‌های مصنوعی برای افزایش ماندگاری موادغذایی، استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌ها به عنوان نگهدارنده، آنتی‌اکسیدان و ترکیب ضدمیکروبی طبیعی روزبه‌روز در حال افزایش است. از جمله این مواد می‌توان به اسانس روغنی برگ بو اشاره کرد (Chahal *et al.*, 2017).

لائوروس نوبیلیس (*Laurus nobilis L*) درخت یا درختچه‌ای همیشه سبز و چند ساله از خانواده لائوراسه (*Lauraceae*) است، جنس *لائوروس نوبیلیس* در حدود ۲۴۰۰ تا ۲۵۰۰ گونه دارد و از حدود ۱۰۰۰ سال قبل، در بسیاری از مناطق گرم و معتدل کشت می‌شود. در ایران کشت این درخت از دوره قاجار انجام شده است. برگ‌های خشک که خلیج شیرین و یا برگ بو نیز نامیده می‌شود، به‌عنوان یک ماده طعم‌دهنده و عنصر ضروری در آماده‌سازی موادغذایی (سوپ، ماهی، خورشت، گوشت، سس، ترشیجات و سوسیس، روغن، پنیر و غیره) به‌شمار می‌آید (Batool *et al.*, 2020). برگ بو طعمی تند، تلخ و گس‌مانند دارد که عطر و رایحه آن به‌دلیل وجود اسانس در قسمت‌های مختلف گیاه است. هم‌چنین دارای پروتئین، فیبر، کربوهیدرات، مقدار جزئی چربی، آهن، کلسیم، ویتامین A و C، پتاسیم، فلاونوئیدها، تانن، اوژنول، متیل اوژنول، اسیدسیتریک، استروئیدها، آلکالوئیدها، تری‌ترپنوئیدها و اسانس‌ها می‌باشد (Sumono *et al.*, 2008). برگ بو به‌دلیل داشتن ویژگی‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، تحریک سیستم‌ایمنی، کاهش‌دهنده فشارخون، کاهنده قندخون، درمان سردرد، پاک‌سازی مخاط و ریه، سرماخوردگی و غیره بسیار موردتوجه قرارگرفته است. فعالیت بیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی برگ بو به‌طور معمول وابسته به تعداد ترکیبات فنلی و به‌ویژه اوژنول و متیل اوژنول بوده که این ترکیبات مسئول درمانی آن می‌باشند (Politeo *et al.*, 2007).

پژوهش‌های مختلف اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی این اسانس را در شرایط آزمایشگاهی در برابر چندین باکتری گرم‌مثبت و گرم‌منفی تأیید می‌نمایند. برخی از پژوهشگران اسانس برگ بو را با استفاده از اتانول و آب به‌دست آورده و گزارش کردند که برگ بو سرشار از تانن، فلاونوئید، اوژنول و سیترال است و افزاینده قدرت مهار قارچ *کاندیدا آلبیکنس* (*Candida albicans*) نیز هستند. هم‌چنین در بررسی قدرت بازدارندگی این اسانس در برابر رشد باکتری *اشریشیاکلی* (*Escherichia coli*) دریافتند که برگ بو حاوی تانن، فلاونوئید و ساپونین بوده و دارای اثرات ضدمیکروبی می‌باشد. تانن‌ها دارای یک گروه پیروگالول هستند که یک گروه فنلی به‌شمار آمده و می‌توانند رشد

باکتری را مهار نمایند و بر اثر واکنش با سلول‌های پروتئین باکتریایی، منجر به دناتوره شدن پروتئین شده و باعث اختلالات متابولیک در دیواره‌سلولی باکتری گردند و آن را لیز نموده و از بین ببرند (Sırıken *et al.*, 2018; Witari *et al.*, 2019).

در نتایج برخی از پژوهش‌ها آمده است که اسانس استخراجی به مقدار ۴۰ میکروگرم‌درمیلی‌لیتر، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشته و دارای قدرت مهار رادیکال‌آزاد (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)، مهار رادیکال آنیون‌سوپراکسید، مهار پراکسیدهیدروژن و فعالیت‌های شلاته‌کنندگی فلزات بودند (Elmastaş *et al.*, 2006).

اسانس این گیاه در برابر مهار رشد باکتری‌هایی مانند *استرپتوکوکوس‌موتانس* (*Streptococcus mutans*) نیز موثر می‌باشد. در خمیردندان برخی از مهارکننده‌ها مانند کلروهگزیدین‌گلوکونات فقط سطح بیرونی دندان را از این میکروارگانیسم پاک‌سازی می‌کنند اما اسانس برگ بو توانایی پاک‌سازی قسمت‌های درونی دندان را نیز دارد. در مجموع اسانس روغنی برگ بو می‌تواند باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی را مهار نماید. این قدرت مهاری با DNA باکتری تعامل مستقیم دارد و تانن‌ها و فلاونوئیدها ساختار DNA باکتری را مختل می‌نمایند (Aldhaher *et al.*, 2017). هم‌چنین در تحقیقات اخیر اسانس‌ها به طور گسترده‌ای در صنایع غذایی به عنوان نگه‌دارنده‌های طبیعی موادغذایی برای افزایش ماندگاری محصول و به عنوان عوامل طعم‌دهنده استفاده می‌شوند که از آن جمله می‌توان به خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن در نگهداری گندم اشاره کرد (Belasli *et al.*, 2020).

امروزه به‌دلیل نگرانی‌ها درباره ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکربی سنتزی در سلامتی انسان، جایگزین کردن آن‌ها با مواد طبیعی در صنایع غذایی جایگاه ویژه‌ای دارد. لذا با توجه به خواص و ویژگی‌های منحصر به‌فردی که برگ بو دارد، ، هدف از این پژوهش تعیین ویژگی‌های شیمیایی و ضدمیکروبی اسانس برگ بو جهت کاربرد درصنعت غذا به عنوان یک نگه‌دارنده طبیعی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- **آماده‌سازی و استخراج اسانس روغنی برگ بو**

برگ‌های درخت برگ بو از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران جمع‌آوری شده و توسط پژوهشکده گیاهان دارویی واقع در استان البرز تائید گردید. پس از شستشو با آب‌مقطر به مدت ۵ روز در سایه خشک شد. قبل از اسانس‌گیری، مقدار ۵ گرم از نمونه به منظور اندازه‌گیری درصد رطوبت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در داخل آون تا مرحله خشک شدن کامل قرار داده شد. اسانس‌گیری برگ خشک به روش تقطیر با آب در دستگاه کلونجر انجام گرفت. ۱۰۰ گرم از برگ‌های خردشده به بالن ۲ لیتری دستگاه کلونجر منتقل و مقدار ۱ لیتر آب‌مقطر به آن افزوده و به‌مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد. آب اسانس توسط سدیم‌سولفات بدون آب حذف گردید، اسانس استخراجی به‌عنوان ماده‌اولیه تا اتمام آزمون در ظرف تیره و در دمای۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شد (Fidan *et al.*, 2019).

- **تعیین ویژگی‌های شیمیایی برگ‌های درخت برگ بو**

میزان رطوبت برگ بو با روش خشک کردن و توزین ۱۰ گرم برگ بوی پودرشده، در آون (Memer UF55, Germany) اندازه‌گیری شد.

جهت تعیین میزان چربی برگ بو از روش سوکسله استفاده شد. حلال مورد استفاده در این روش هگزان بود و عمل روغن گیری حدود ۸ ساعت به طول انجامید و نهایتا حلال توسط دستگاه تبخیر کننده چرخان در ۳۰ درجه سلسیوس تبخیر شد. در تعیین میزان پروتئین اسانس برگ بو از دستگاه اتوماتیک کجلدال استفاده گردید. این آزمون از سه قسمت هضم، تقطیر و تیتراسیون تشکیل شده است. برای اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات از روش لین‌آینون استفاده می‌شود. در این آزمون از فهلینگ A و B استفاده می‌شود (Fernandez-Andrade *et al*., 2016).

- **شناسایی کمی و کیفی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس برگ بو**

دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent 6890)، مجهز به آشکارساز جرمی(A 5989) با ستون موبین به طول ۱۳ متر و قطر داخلی ۳/۲۳ میلی‌متر و ضخامت ۳/۲۳ میکرومتر و از نوع M-HP 5 جهت تعیین ترکیبات بیوشیمیایی اسانس برگ بو مورد استفاده قرار گرفت. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید:
جهت تجزیه کمی و کیفی، اسانس روغنی توسط حلال هگزان N نرمال به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق شد. سپس به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد. برنامه‌ریزی دمایی به شرح زیر بود:
دمای اولیه ۶۰ درجه سلسیوس (هر سه دقیقه، گرادیان دمایی ۵ درجه سلسیوس بر دقیقه)، دمای نهایی ۲۲۰، محل تزریق Split/split less، دمای محل تزریق نمونه ۲۵۰ درجه سلسیوس و گاز حامل هلیوم با شدت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد(Jaradat *et al*., 2023).

- **آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR)**

برای این منظور ۱ میلی‌گرم اسانس برگ بو با ۲۰۰ میلی‌گرم پودر پتاسیم‌برمید مخلوط شده و توسط یک پرس هیدرولیک به‌صورت یک قرص شکل داده شد. طیف سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه در حالت عبور با استفاده از دستگاه FT-IR اسپکترفتومتر، (Bruker TENSOR 27, Bruker Optik, Ettlingen, Germany) در محدوده ۴۰۰۰-۴۰۰ سانتی‌متر به‌دست آمد (Lucarini *et al*., 2019).

- **ارزیابی ترکیبات فنلی اسانس روغنی استخراج شده**

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل با روش فولین‌سی‌کالچیو انجام یافت، غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر اسیدگالیک تهیه و ۰/۵ میلی‌لیتر از هر کدام به ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین‌سی‌کالچیو و ۲ میلی‌لیتر کربنات‌سدیم ۷/۵ درصد وزنی-حجمی افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۸ درجه سلسیوس نگهداری شده و سپس جذب نوری آن‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Hatch, DR5000, US) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و نمودار استاندارد رسم گردید. برای تعیین مقدار ترکیبات فنلی نمونه‌ها، مقدار ۰/۱ میلی‌گرم از اسانس برگ بو در ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰

درصد حل و سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه‌شده تا حجم ۵ میلی‌لیتر رقیق شد. ۲ میلی‌لیتر کربنات‌سدیم با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین‌سی‌کالچیو مخلوط شده و به مدت ۸ دقیقه در تاریکی نگه‌داری و جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و مقدار ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم‌برگرم اسیدگالیک محاسبه گردید (Kashkouli *et al*., 2018).

- ارزیابی محتوای فلاونوئید اسانس روغنی استخراج‌شده

این آزمون با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از کلریدآلومینیوم انجام گرفت. یک میلی‌لیتر کلریدآلومینیوم ۲ درصد به یک میلی‌لیتر از اسانس با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزوده شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در داخل کابینت قرار داده شد. جذب نمونه‌ها در ۴۳۰ نانومتر در مقابل بلانک (کلریدآلومینیوم ۲ درصد به همراه آب‌مقطر) قرائت گردید. از کوئرستین (غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم‌برگرم) جهت رسم منحنی استاندارد استفاده شد و محتوای فلاونوئیدی به صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم اسانس گزارش شد (Samarrai *et al*., 2018).

- ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

برای ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال‌آزاد از روش DPPH استفاده شد. ۰/۲۵ گرم از اسانس با اتانول ۷۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول آماده‌شده ۲ میلی‌لیتر معرف ۲و۲- دی‌فنیل۱پیکریل هیدرازیل اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در داخل کابینت قرار گرفت. جذب در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای نمونه شاهد نیز دقیقاً به همین صورت عمل گردید با این تفاوت که به جای نمونه از اتانول ۲۴ درصد استفاده شد. محتوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و توانایی مهار رادیکال‌آزاد DPPH از رابطه (۱) محاسبه گردید (Dhifi *et al*., 2018).

رابطه (۱)

$$DPPH = (\frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}}) \times ۱۰۰$$

- ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی اسانس برگ بو

درآزمون‌های میکروبی برای باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی از روش مهاری انتشار از چاهک استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون (حاوی $۱۰^{۸}$ ×۱/۵ کلنی) باکتری‌های گرم‌مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC, 1112) و گرم‌منفی *اشریشیاکلی* (PTCC, 1330) و *سالمونلاتایفی موریوم* (PTCC,1609) تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران در روی محیط کشت نوترینت‌آگار (Merk, Germany) گسترده شد، به‌وسیله ژل‌پانچر، چاهک‌هایی (۶-۸ میلی‌متر) در محیط کشت ایجاد و درون هر یک از چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر از اسانس افزوده شد. قسمت شفاف ایجاد شده در اطراف چاهک‌ها اندازه‌گیری گردیده و فعالیت‌های ضدمیکروبی نمونه‌ها نشان داده می‌شوند (Merghni *et al*., 2016).

آنالیز آماری

همه آزمون‌ها با سه تکرار انجام و نتایج به‌صورت میانگین داده‌ها ارائه شد. داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS نسخه ۲۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین داده‌های به‌دست آمده، از

واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون توکی در سطح معنی‌دار ۵ درصد استفاده شد.

یافته‌ها

برگ‌های درخت برگ بو و اسانس روغنی تهیه شده از آن پس از انتقال به آزمایشگاه جهت تعیین ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی مورد آزمون قرارگرفته و نتایج زیر (جدول ۱) حاصل شد.

جدول (۱)- ویژگی شیمیایی (مقدار ماده در ۱۰۰ گرم ماده خشک) برگ بو

کربوهیدرات	پروتئین	چربی کل	رطوبت
۲/۰±۹۳/۰۹ گرم	۶/۰±۳۳/۱ گرم	۶/۰±۵۱/۱۴ گرم	۰٪/۰±۳۱/۰۷

اعداد به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌است.

نمودار کروماتوگرام GC- MS اسانس روغنی برگ بو، ۴۹ پیک را در زمان بازداری ۲۸ دقیقه نشان داد که در میان آن‌ها، ۷ پیک مهم قابل تشخیص است. با توجه به پیک‌های شناسایی شده، مطابق جدول (۲)، ترکیبات زیر در اسانس حاصل شناسایی شد که بر مبنای سطح زیر پیک اجزای کروماتوگرام بیش از ۹۶/۰۸ درصد ترکیبات موجود در اسانس را تشکیل می‌دهند.

بر این اساس بیشترین جزء اسانس را ۱، ۸-سینئول با ۳۴/۶۳ درصد تشکیل می‌داد، پس از آن کامپن با ۱۹/۷۶ درصد، **۴**-ترپینئول با ۵/۳۰ درصد، آلفا-پینن با ۴/۴۵ درصد، متیل اوژنول با ۳/۶۸ درصد، آلفا ترپینئول با ۳/۵۷ درصد و سابینن با ۳/۴۲ درصد بیشترین مقدار را بین اجزای اسانس دارا بودند.

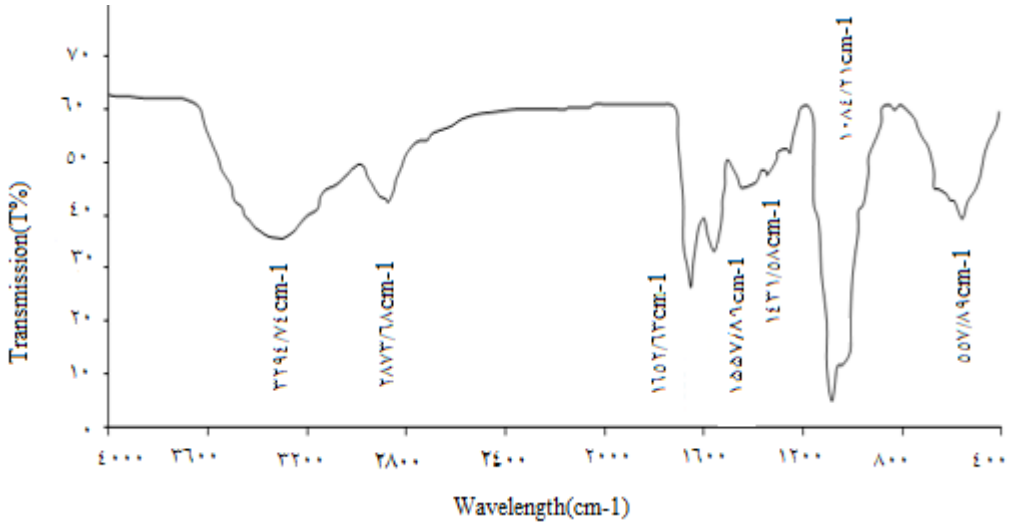
جدول(۲) - نتایج کروماتوگرافی گازی اسانس برگ بو

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری(دقیقه)
۱	آلفا توجین	۰/۷۷	۶/۱۹
۲	آلفا- پینن	۴/۴۵	۶/۴۹
۳	کامپین	۰/۳۱	۶/۹۱
۴	سابینن	۳/۴۲	۷/۹۷
۵	۲- بتا پینن	۰/۲۷	۸/۰۵
۶	بتا مرسین	۱/۰۵	۸/۵۱
۷	آلفا فلاندرین	۰/۲۸	۹/۰۰
۸	آلفا- ترپینن	۰/۴۵	۹/۵۳
۹	۱و۸- سینئول	۳۴/۶۳	۱۰/۶۳
۱۰	گاما ترپینن	۱/۵۴	۱۱/۴۱
۱۱	ترانس سابینن هیدرات	۰/۴۱	۱۱/۷۲
۱۲	آلفا ترپینولین	۰/۶۰	۱۲/۶۰
۱۳	سیس بتا ترپینئول	۰/۲۵	۱۳/۰۴

۱۴	لینالول ال	۱/۹۷	۱۳/۳۰
۱۵	۱-ترپینول	۰/۵۰	۱۴/۰۸
۱۶	ترانس پینوکاروئول	۰/۲۴	۱۴/۸۳
۱۷	نرول اکسید	۰/۱۷	۱۵/۵۹
۱۸	پینوکاروون	۰/۱۴	۱۵/۸۶
۱۹	آلفا ترپینول	۰/۸۵	۱۶/۳۳
۲۰	۴- ترپینئول	۵/۳۰	۱۶/۸۴
۲۱	آلفا- ترپینئول	۳/۵۷	۱۷/۴۶
۲۲	مرتینول	۰/۱۹	۱۷/۶۱
۲۳	ترانس پی منس ۱ای ان ۳ اول	۰/۱۲	۱۸/۰۶
۲۴	ترانس کارواول	۰/۱۹	۱۸/۶۱
۲۵	نراول	۰/۵۲	۱۹/۱۵
۲۶	بنزن ۱ اتیل ۳و۵ دی متیل	۰/۱۲	۲۰/۳۱
۲۷	۲ آن دی کانن	۰/۲۲	۲۰/۶۶
۲۸	۴ تاژن ۲ آلفا ایل استات	۰/۱۹	۲۱/۵۲
۲۹	۱ بورنیل استات	۰/۶۴	۲۱/۹۹
۳۰	۲ آن دی کانن	۰/۲۳	۲۲/۴۶
۳۱	کارواکرول	۰/۱۱	۲۳/۱۱
۳۲	آلفا ترپینول استات	۱/۷۹	۲۳/۵۲
۳۳	کامپن	۱۹/۷۶	۲۵/۳۰
۳۴	فنل، ۲ متوکسی ۳و۲ پروپینیل	۱/۶۴	۲۷/۴۶
۳۵	متیل اوژنول	۳/۶۸	۲۷/۸۶

طیف‌سنجی مادون قرمز (Fourier Transform Infrared Spectrometer) اغلب به‌عنوان یک ابزار مناسب جهت تعیین گروه‌های عاملی خاص و یا پیوندهای شیمیایی که در یک ماده وجود دارد، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Phisalaphong and Jatupaiboon, 2008).

نمودار (۱) طیف FTIR اسانس برگ بو را نشان می‌دهد. نوار پهن در ۳۲۹۴ برسانتی‌متر به دلیل ارتعاش کششی OH و در ۲۸۷۳ به دلیل کشش نامتقارن CH است. نوار در ۱۶۵۲ برسانتی‌متر مشخصه NH2 و همچنین وجود OH در اسانس بوده و هم‌چنین این باند نشان‌دهنده ارتعاشات خمشی CH2 می‌باشد. نوار ۱۰۸۴ برسانتی‌متر منسوب به کشش باند C-O است (Vijayakumar *et al*., 2016).



نمودار (۱)- طیف FTIR اسانس برگ بو

ارزیابی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی اسانس نشان داد که میزان کل ترکیبات فنلی و نیز محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل در اسانس روغنی تهیه شده به ترتیب ۰/۶۵ میلی‌گرم‌برگرم بر حسب اسیدگالیک و ۰/۰۷ میلی‌گرم‌برگرم بر حسب کوئرستین به‌دست آمد که نشان‌دهنده کیفیت بالا و غنی بودن اسانس تهیه‌شده از ترکیبات زیست‌فعال بیولوژیکی می‌باشد، همچنین در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH با محاسبه غلظت مهار ۵۰ درصد عدد ۰/۰۰ ± ۰/۹۱ به‌دست آمد.

فعالیت ضدباکتریایی اسانس برگ بو در برابر باکتری گرم‌مثبت (*استافیلوکوکوس‌اورئوس*) و باکتری‌های گرم‌منفی (*اشریشیاکلی* و *سالمونلا تایفی موریوم*) که در قطر منطقه شفاف ایجادشده، آشکار می‌شود در شکل(۱) نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اسانس مورد آزمون برعلیه باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و *اشریشیا کلی* و *سالمونلا* فعال بود و میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری مطابق جدول ۳ اندازه‌گیری شد.

جدول (۳)- بررسی مهار رشد باکتریها (قطر هاله مهار رشد) توسط اسانس برگ بو

میکروارگانیسم	استافیلوکوکوس اورئوس	اشرشیاکلی	سالمونلا تیفی موریوم
قطر هاله مهار رشد(میلی‌متر)	۱٤/٦۰±۰/۴۷^{a}	۱۰/٦۰±۰/۴۷^{b}	۹/۶۰±۰/۴۷^{b}

(میانگین ± انحراف استاندارد)، حروف مختلف در سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵می‌باشند (p<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

محققان مختلف ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی اسانس برگ بو را مورد بررسی قرار داده‌اند. گزارش‌های آن‌ها با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش قابل مقایسه بوده و از نظر کمی در برخی از موارد تفاوت‌هایی داشتند (Da Silveira *et al.*, 2014; Nabila *et al.*, 2022).

در این پژوهش بیشترین جزء اسانس را ۱و۸-سینئول با ۳۳/۶۳ درصد تشکیل می‌داد. پس از آن کمفن با ۱۹/۷۶ درصد، اوژنول با ۱۱/۷۳ درصد، ۴-ترپینئول با ۵/۳۰ درصد و آلفا-پینن با ۴/۴۵ درصد و متیل اوژنول با ۳/۶۸ درصد و آلفاترپینئول با ۰/۴۵ درصد و سابینن با ۳/۴۲ درصد بیشترین مقدار را بین اجزای اسانس دارا بودند. در مطالعه‌ای بر روی اسانس یرگ بو، ۱۵۰ ماده موثره در نتایج کروماتوگرافی ثبت گردید که مهم‌ترین جزء آن ۱و۸ سینئول بود (Sangun *et al.*, 2007). در مطالعات برخی از محققان حدود ۹۹ درصد مواد موجود در اسانس از ۳۶ ترکیب تشکیل شده است و بیشتر متابولیت‌های مشخص شده، ترپنوئیدهای اکسیژن‌دار هستند به‌طوری‌که ۱، ۸-سینئول جزء اصلی بوده (۴۰/۳۸ درصد)، پس از آن ترپینیل‌استات (۱۵/۰۶ درصد) و سابینن (۱۰/۳۵ درصد) قرار دارند (Jaradat *et al.*, 2023).

در یکی از مطالعات که بر روی برگ بو در کشور مصر انجام شده است، گزارش کرده‌اند که ۱، ۸-سینئول ۵۰/۳۸ درصد، α-ترپنیل‌استات ۱۹/۹۷ درصد، ۴-ترپینئول ۶/۴۸ درصد و سابینن ۴/۸۲ درصد اجزای اصلی برگ بو می‌باشد (El-Sawi *et al.*, 2009). هم‌چنین ۱و۸-سینئول (۳۱/۹ درصد)، سابینن (۱۲/۲ درصد) و لینالول (۱۰/۲ درصد) اجزای اصلی برگ بوی کشور ایتالیا هستند (Caputo *et al.*, 2017). علاوه‌براین، ۱و۸-سینئول (۵۲/۴۳ درصد)، α-ترپینیل‌استات (۸/۹۶ درصد)، و سابینن (۶/۱۳ درصد) اجزای فراوان شناسایی شده در برگ بوهای مراکشی بودند (Benziane *et al.*, 2009).

نتایج حاصل از این تحقیق در مورد شناسایی ترکیب‌های موجود در اسانس برگ بو در مقایسه با تحقیق محققان دیگر شباهت‌ها و تفاوت‌هایی دارد که می‌تواند ناشی از شرایط اقلیمی باشد.

با توجه به اینکه طیف FTIR اسانس برگ بو منعکس‌کننده ترکیب شیمیایی کلی آن است، شناسایی نوارهای جذب، یعنی تعیین گروه‌های عملکردی مواد خالص اسانس باعث شناسایی ترکیبات‌آلی موجود در این ماده می‌شود. با استفاده از این آنالیز پیوندهای عناصر موجود در اسانس، گروه‌های عاملی و همچنین لیگاندهای فلزی را در محدوده‌ی ۴۰۰ الی ۴۰۰۰ سانتی‌متر می‌توان به‌دست آورد. اسانس برگ بو دارای ترکیبات فنلی، آلکنی، آلکانی، آلکینی، آروماتیک، استری، فسفینی، فسفات، کربوکسیلی، آلدهیدی، کربونیلی و آمیدی می‌باشد که در طول‌موج ذکر شده قابل‌مشاهده هستند. این پیوندها مربوط به پیوندهای دوگانه کربن-کربن، کربن-هیدروژن، کربن-اکسیژن، کربن-نیتروژن، اکسیژن-گوگرد و فسفر-اکسیژن هستند که در مواد احیاکننده طبیعی مانند اسیداستیک، اسیدآسکوربیک و فلاوونوئیدها موجود می‌باشند. این داده‌ها با نتایج تحقیقات سایر محققان مطابقت داشت و آن‌ها هم در تحقیقات خود طی آزمون FTIR به این نتیجه رسیده‌اند که گروه‌های عاملی کربن-کربن، کربن-

هیدروژن و کربن-اکسیژن، کربن-نیتروژن و غیره در برگ بو وجود دارد و برخی از خصوصیات مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس مربوط به این عوامل می‌باشد (Oliveira *et al*., 2016).

مطابق نوارهای جذب، برگ بو شامل گروه‌های فنلی است که ترکیبات فنلی فعالیت‌های بیولوژیکی را به‌عنوان پتانسیل آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد. زیرا در ساختار شیمیایی خود دارای ترکیبات معطر و گروه‌های هیدروکسیل هستند که پتانسیل اکسیداسیون و احیاء را از خود نشان می‌دهند . محققان با مطالعه آنتی‌اکسیدان‌ها در برگ بو، ترکیبات فنلی را به عنوان عوامل دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد که به طور طبیعی در ارگانیسم‌های هوازی در طول متابولیسم سلولی تولید می‌شوند، معرفی کرده‌اند (Gulcin, 2012).

یکی از مهم‌ترین گروه‌های ترکیبات فعال زیستی در برگ‌های درخت بو، ترکیبات پلی‌فنلی هستند محتوای کل ترکیبات فنلی در برگ بو بین ۵۳ تا ۹۲۰۰ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک، با توجه به‌روش استخراج، گزارش شده است (Alejo-Armijo *et al*., 2019).

ترکیبات فنلی به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی از جمله ترکیبات مهم در اسانس‌ها به حساب می‌آید و این ترکیبات نقش مهمی در حذف رادیکال‌های‌آزاد و جلوگیری از تبدیل هیدروپراکسیدها به رادیکال‌های‌آزاد دارند (Dobroslavić *et al*., 2022). برگ‌های درخت بو منبع متعددی از ترکیبات فنلی هستند که شامل فلاونوئیدها، اسیدهای‌فنولیک، تانن‌ها (پروآنتوسیانیدین‌ها) و لیگنان‌ها می‌باشند در برخی از پژوهش‌ها گزارش شده است که فلاونوئیدها ترکیبات اصلی اسانس برگ درخت بو می‌باشد، فلاونول‌ها در بالاترین مقدار وجود دارند و کامفرول و گلیکوزیدهای آن در حدود ۵۰ درصد نمایندگان اصلی هستند، هم‌چنین کوئرستین و ایزورامنتین و گلیکوزیدهای آن‌ها نیز به مقدار قابل‌توجهی وجود دارند (Rincon *et al*., 2019).

یکی از بزرگ‌ترین گروه از فنل‌ها در گیاهان فلاونوئیدها هستند و تقریبا بیش از ۸۰۰۰ ترکیب فنلی طبیعی را شامل می‌شوند. این ترکیبات توسط جاروب‌کردن رادیکال‌های‌آزاد و یا سازوکارهایی مثل خاموش کردن اکسیژن منفرد از اکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کنند. گزارش‌های متعددی از وجود فلاونوئیدها در برگ درخت بو وجود دارد و در برخی از این گزارش‌ها مقدار آن را ۲۱/۵۷ میلی‌گرم‌برگرم و ۲/۰۹ میلی‌گرم‌برگرم بر حسب کوئرستین بیان کرده‌اند. از جمله فلاونوئیدها می‌توان به فلاون‌ها، فلاونول‌ها (روتین و کورستین به عنوان نمایندگان اصلی)، فلاوان-۳-اول‌ها و پروآنتوسیانیدین‌ها و فنولیک‌اسیدها اشاره کرد (Kashkouli *et al*., 2018). احتمالا دلیل متغیر بودن مقدار این ترکیبات در اسانس‌های مختلف و در پژوهش‌های مختلف شرایط آب و هوایی و نوع خاک منطقه می‌باشد.

یکی از روش‌های ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاهان استفاده از قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های‌آزاد DPPHاست و با حذف این رادیکال می‌توان به روشی آسان، سریع و دقیق، توانایی آنتی‌اکسیدانی را ارزیابی نمود. درحال‌حاضر یکی از مهم‌ترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی در گیاهان می‌باشند، آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی یک گروه از

متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند که نقش مهمی در حفاظت بافت‌ها در مقابل اثرات اکسیدکنندگی رادیکال‌های‌آزاد اکسیژن و سایر گونه‌های فعال ایفا می‌کنند، به‌طوری‌که از بروز بیماری‌های متعددی از جمله بیماری‌های التهابی، سرطان، دیابت، سکته‌قلبی، آلزایمر و پارکینسون جلوگیری می‌نمایند.

در برخی از پژوهش‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ بو با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (= IC50 0.0001 ± 7/71 میکروگرم‌برمیلی‌لیتر) و اسیدآسکوربیک (IC50 = 1/83 ± 0.0001 میکروگرم‌برمیلی‌لیتر) مقایسه شده است و آن‌ها دریافته‌اند که قدرت آنتی‌اکسیدانی این اسانس بالاتر است، در برخی از موارد تفاوت در نتایج به‌دست آمده در اعداد ناشی از روش استخراج و اسانس‌گیری می‌باشد (Abdillah *et al*., 2015).

نتایج نشان می‌دهد که اسانس برگ بو فعالیت فوق‌العاده‌ای در به دام انداختن رادیکال‌های‌آزاد از خود بروز می‌دهد، همچنین به نظر می‌رسد قدرت بالای آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ بو به‌دلیل وجود همین ماده و نیز اثرات هم‌افزایی و آنتاگونیستی بین این ماده و برخی از اجزای اسانس باشد. در این مطالعه ترکیب اصلی اسانس، ماده ۱،۸-سینئول به مقدار ۳۴/۶۳ درصد است و این با یافته‌های برخی از محققان مطابقت دارد (Ciftci *et al*., 2011).

فعالیت ضدباکتریایی اسانس برگ بو را می‌توان با حضور برخی از ترکیبات فنلی، مانند فلاونوئیدها که توسط آزمون‌های ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و آنالیز Gc-MS که مشهود است، توضیح داد. گزارش شده است که ترکیبات فنلی سنتز پپتیدوگلیکان را مهار نموده، به ساختار غشای میکروبی آسیب رسانده و آب‌گریزی سطح غشای باکتریایی را اصلاح می‌نمایند (Santoyo *et al*., 2006).

ترکیبات فنلی موجود در این اسانس منجر به افزایش نفوذپذیری غشای سلولی باکتری‌ها شده و نهایتا سلول باکتری متورم شده و از بین می‌رود. در باکتری‌های گرم‌مثبت نظیر *استافیلوکوکوس‌اورئوس*، مواد ضدمیکروبی و ترکیبات فنلی به راحتی دیواره‌سلولی باکتری و نیز غشای آن را تخریب کرده و باعث نشت مواد درون باکتری به محیط بیرون می‌شوند. از دیگر فعالیت‌های ضدمیکروبی ترکیبات فنلی، توانایی آنها در شکل‌دهی ترکیبات محلول با پروتئین‌ها است که باعث خراب شدن گیرنده‌های سطحی باکتری شده و سنتز پروتئین در باکتری را با اختلال مواجه می‌کند، هم‌چنین برخی از محققان به این نتیجه رسیده‌اند که ساختار تشکیل‌دهنده ترپن‌ها مسئول فعالیت ضدباکتریایی هستند که نتایج کروماتوگرافی گازی این نتیجه را در این پژوهش تائید می‌کند (Caputo *et al*., 2017).

گزارش شده است که اسانس برگ بو طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها را می‌تواند مهار کند، به‌طوری‌که باکتری‌های گرم‌مثبت در مقایسه با گرم‌منفی‌ها نسبت به عملکرد اسانس‌ها حساس‌تر هستند. این به‌دلیل وجود یک غشای خارجی اضافی در باکتری‌های گرم‌منفی است که ممکن است غشای سیتوپلاسمی را در مقابل ترکیبات ضدمیکروبی مانند ۱و۸-سینئول، بهتر محافظت نماید. محققان در بررسی تاثیر اسانس‌ها بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* به این نتیجه رسیده‌اند که باکتری‌های گرم منفی علاوه

بـر لایـه پپتیـدوگلیکان دارای یـک غشـای خـارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند. سطح هیدروفیلی این غشـا که غنی از مولکـول‌هـای لیپـویلی‌سـاکاریدی مـی‌باشـد به‌عنوان مانع در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها عمل می‌کند، امـا در مورد باکتری‌های گرم مثبت مواد ضدمیکروبی به‌راحتـی دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی را تخریب کـرده و منجـر بـه نشـت سیتوپلاسـم و انعقـاد آن مـی‌شوند(Salmanian *et al*., 2013).

نتایج حاصل از این مطالعه با گزارش‌های محققـان دیگر مطابقت دارد. آن‌ها در گزارشات خود اعلام کردند اسانس برگ بو قدرت مهـار رشـد بـاکتری گـرم مثبـت *استافیلوکوکوس‌اورئوس* با قطـر ۰/۲۰±۱۵ میلـی‌متـر را دارد و در نتایج خود اعلام کردند که این اسانس حـاوی ترپن ها (لینالول)، لاکتون ها، اکسیدها (۱،۸ سـینئول) و مونوترپن ها (کـامفن، آلفـا پیـنن) اسـت و هـم افزایـی خوبی بین این مواد برای فعالیت ضـد میکروبـی وجـود دارد(Sırıken *et al*., 2018). *اسـتافیلوکوکوس‌اورئوس* دارای حساسیت بالایی نسبت به اسانس بـرگ بـو بـود. این نتیجه برای استفاده از برگ بو بـه عنـوان نگه‌دارنـده طبیعی موادغذایی، ارزشمند است. بـه دلیـل اینکـه ایـن پاتوژن فرصت‌طلب می‌تواند باعث ایجاد طیف وسـیعی از مسمومیت‌ها مانند بیماری‌های منتقله از *اسـتافیلوکوک* شـود کـه یکـی از شـایع‌ترین بیماری‌هـای منتقلـه از موادغذایی در سراسر جهـان اسـت و ناشـی از آلـودگی موادغـذایی توسـط انتروتوکسـین‌های *استافیلوکوکوس‌اورئوس* می‌باشد.

به‌طورکلی نتایج آزمون شیمیایی و میکروبی اسانس برگ بو حاکی از آن است که این ماده حـاوی ترکیبـاتی مانند ۱و۸-سینئول، کامپن، ۴-ترپینئـول، آلفـاپینن، متیـل اوژنول، آلفاترپینئول، سابینن می‌باشد که بسیاری از ایـن ترکیبات در گـروه ترکیبـات فنلـی و فلاونوئیـدی قـرار داشـته و باعـث ایجـاد خاصـیت آنتی‌اکسـیدانی و ضدباکتریایی در این اسانس می‌شوند. ترکیبـات موجـود در ایـن گیـاه می‌توانـد بـه‌دلیل عـواملی ماننـد محـل جمع‌آوری، ویژگی‌هـای خـاک، شـرایط آب و هـوایی، زمـان برداشـت، تفاوت‌هـای احتمـالی در ژنوتیپ‌هـای گیاهی، فرآیندهای پـس از برداشـت و روش اسـتخراج متفاوت باشد. به‌طورکلی نتایج نشـان داد اسـانس بـرگ بـوی تولیـد شـده دارای خاصـیت ضـدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و می‌تواند به‌عنوان یـک مـاده نگه‌دارنـده بـاارزش در موادغـذایی و فرمولاسـیون‌های دارویی، استفاده گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منـافعی بـرای اعـلام ندارند.

منابع

- Abdillah, S., Tambunan, R.M., Farida, Y., Sandhiutami, N.M.D. and Dewi, R.M. (2015). Phytochemical screening and antimalarial activity of some plants traditionally used in Indonesia. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 5(6), 454-457.

- Aldhaher, Z.A., Merza, W.M., Amelan, M.F., Shaker, R.M. and Yas, L.S. (2017). Effectiveness of bay leaves aqueous extract on streptococcus mutans in comparison to chlorhexidine gluconate. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 12(4), 12-16.
- Alejo-Armijo, A., Tello-Abolafia, A., Salido, S. and Altarejos, J. (2019). Phenolic compounds in laurel wood: A New source of proanthocyanidins. Journal of Wood Chemistry and Technology, 39(6), 436-453.
- AL-Samarrai, O.R., Naji, N.A. and Hameed, R.R. (2018). Effect of Bay leaf (Laurus nobilis L.) and its isolated (flavonoids and glycosides) on the lipids profile in the local Iraqi female rabbits. Tikrit Journal of Pure Science, 22(6), 72-75.
- Batool, T., Ali, S., Seleiman, M.F., Naveed, N.H., Ali, A., Ahmed, K. et al., (2020). Plant growth-promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potatoes in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzyme activities. Scientific Reports, 10(1), 16975.
- Belasli, A., Ben Miri, Y., Aboudaou, M., Aït Ouahioune, L., Montañes, L., Ariño, A. et al., (2020). Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (Laurus nobilis L.): Potential use as wheat preservative. Food Science and Nutrition, 8(9), 4717-4729.
- Benziane, Z. and Boukir, A. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of Laurus nobilis from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(4), 3818-3824.
- Caputo, L., Nazzaro, F., Souza, L.F., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F. et al., (2017). Laurus nobilis: Composition of essential oil and its biological activities. Molecules, 22(6), 930.
- Chahal, K.K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N. and Kaur, A. (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis L.* essential oil. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(4), 1153-1161.
- Ciftci, O., Ozdemir, I., Tanyildizi, S., Yildiz, S. and Oguzturk, H. (2011). Antioxidative effects of curcumin, β-myrcene, and 1, 8-cineole against 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver. Toxicology and industrial health, 27(5), 447-453.
- Da Silveira, S.M., Luciano, F.B., Fronza, N., Cunha Jr, A., Scheuermann, G.N. and Vieira, C.R.W. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of Laurus nobilis essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 C. LWT-Food Science and Technology, 59(1), 86-93.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Nasr, S.B., El Beyrouthy, M. and Mnif, W. (2018). Phytochemical composition and antioxidant activity of Tunisian Laurus nobilis. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 31(6), 2397-2402.
- Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V. and Elez Garofulić, I. (2022). Isolation of Laurus nobilis leaf polyphenols: A review on current techniques and future perspectives. Foods, 11(2), 235.
- Elmastaş, M., Gülçin, I., Işildak, O., Küfrevioğlu, Ö.İ., İbaoğlu, K. and Aboul-Enein, H.Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. Journal of the Iranian Chemical Society, 3, 258-266.
- El-Sawi, S., Ibrahim, M. and Ali, A. (2009). In vitro cytotoxic, antioxidant, and antimicrobial activities of essential oil of leaves of *Laurus nobilis L.* grown in Egypt and its chemical composition. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 200, 16-23.
- Fernandez-Andrade, C.M., da Rosa, M.F., Borges, F., Iwanaga, C.C., Cortez, D.A., Martins, C.V.B. et al., (2016). Chemical composition and antifungal activity of essential oil and fractions extracted from the leaves of *Laurus nobilis L.* cultivated in Southern Brazil. Journal of Medicinal Plants Research, 10(48), 865-871.
- Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, I., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A. et al., (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis L.* essential oils from Bulgaria. Molecules, 24(4), 804.
- Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. Archives of toxicology, 86, 345-391.

- Jaradat, N., Abualhasan, M., Hawash, M., Qadi, M., Al-Maharik, N., Abdallah, S. et al., (2023). Chromatography analysis, in light of vitro antioxidant, antidiabetic, antiobesity, anti-inflammatory, antimicrobial, anticancer, and three-dimensional cancer spheroids' formation blocking activities of Laurus nobilis aromatic oil from Palestine. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 10(1), 25.
- Kashkouli, S., Jamzad, M. and Nouri, A. (2018). Total phenolic and flavonoids contents, radical scavenging activity and green synthesis of silver nanoparticles by Laurus nobilis L. leave aqueous extract. Journal of Medicinal Plants and By-product, 7(1), 25-32.
- Lucarini, M., Durazzo, A., Kiefer, J., Santini, A., Lombardi-Boccia, G., Souto, E.B. et al., (2019). Grape seeds: chromatographic profile of fatty acids and phenolic compounds and qualitative analysis by FTIR-ATR spectroscopy. Foods, 9(1), 10.
- Merghni, A., Marzouki, H., Hentati, H., Aouni, M. and Mastouri, M. (2016). Antibacterial and antibiofilm activities of Laurus nobilis L. essential oil against Staphylococcus aureus strains associated with oral infections. Current Research in Translational Medicine, 64(1), 29-34.
- Muñiz-Márquez, D.B., Martínez-Ávila, G.C., Wong-Paz, J.E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R. and Aguilar, C.N. (2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Laurus nobilis L. and their antioxidant activity. Ultrasonics Sonochemistry, 20(5), 1149-1154.
- Nabila, B., Piras, A., Fouzia, B., Falconieri, D., Kheira, G., Fedoul, F.F. et al., (2022). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of Laurus nobilis leaves. Natural Product Research, 36(4), 989-993.
- Oliveira, R.N., Mancini, M.C., Oliveira, F.C.S.D., Passos, T.M., Quilty, B., Thiré, R.M.D.S.M. et al., (2016). FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plant extracts used in wound healing. Matéria (Rio de Janeiro), 21, 767-779.
- Phisalaphong, M. and Jatupaiboon, N. (2008). Biosynthesis and characterization of bacteria cellulose–chitosan film. Carbohydrate Polymers, 74(3), 482-488.
- Politeo, O., Jukic, M. and 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(1), 379-385.
- Rincon, E., Balu, A.M., Luque, R. and Serrano, L. (2019). Mechanochemical extraction of antioxidant phenolic compounds from the Mediterranean and medicinal Laurus nobilis: A comparative study with other traditional and green novel techniques. Industrial Crops and Products, 141, 111805.
- Sangun, M.K., Aydin, E., Timur, M., Karadeniz, H., Caliskan, M. and Ozkan, A. (2007). Comparison of the chemical composition of the essential oil of Laurus nobilis L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. Journal of Environmental Biology, 28(4), 731-733.
- Santoyo, S., Lloria, R., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, Fand Reglero, G. (2006). Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from Laurus nobilis L. Chemical and functional characterization. European Food Research and Technology, 222, 565-571.
- Sırıken, B., Yavuz, C. and Güler, A. (2018). Antibacterial Activity of Laurus nobilis: A review of the literature. Medical Science and Discovery, 5(11), 374-379.
- Sumono, A. and Wulan, A. (2008). The use of bay leaf (Eugenia polyantha Wight) in dentistry. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi), 41(3), 147-50.
- Vijayakumar, S., Vaseeharan, B., Malaikozhundan, B. and Shobiya, M. (2016). Laurus nobilis leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications. Biomedicine and Pharmacotherapy, 84, 1213-1222.
- Witari, N.P.D., Nahak, T.M. and Semadha, W. (2019). The difference in inhibitory power between extract of Guava Leaves and Bay Leaves against Escherichia coli Bacterial growth. In Journal of Physics. 1402, No. 5, 55085.