

بررسی مهار رشد مخمرهای عامل فساد مواد غذایی توسط اسانس بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و عصاره پونه (*Mentha pulegium*)

سمیرا عیسی زاده رازلیقی^{a*}، مرتضی خمیری^b، علیرضا صادقی^b، مهدی کاشانی نژاد^b،
حبیب الله میرزایی^b

^a دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
^b عضو هیئت علمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

چکیده

مقدمه: اسانس بادرنبویه (*Melissa officinalis*) و عصاره پونه (*Mentha pulegium*) به عنوان طعم دهنده در صنعت غذا استفاده می‌شوند و فعالیت ضد میکروبی این گیاهان در مطالعات گوناگون نشان داده شده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر ضد مخمری اسانس بادرنبویه و عصاره پونه علیه سه مخمر عامل فساد مواد غذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ترکیبات شیمیایی اسانس بادرنبویه توسط دستگاه GC/MS شناسایی شد و میزان فنل کل عصاره پونه با استفاده از روش فولین سیوکالتو ارزیابی گردید. فعالیت ضد مخمری اسانس و عصاره با استفاده از روش میکروداپلوشن مورد بررسی قرار گرفت.
یافته‌ها: ژرانیل استات (۲۵/۲۸۷٪)، سیترال (۱۲/۳۷۸٪)، زد-سیترال (۱۴/۳٪)، ای - سیترال (۹/۴۴۷٪) و ژرانیول (۹/۵۵٪) به عنوان ترکیبات عمده اسانس بادرنبویه جداسازی و شناسایی گردید. میزان فنل کل برحسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره پونه برابر ۰/۲ ± ۲۵۲/۴۸ تعیین شد. حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بادرنبویه در برابر ساکارومایسس سرویزیه، کلپورومایسس مارکسیانوس و رودوتورولا گلوتنیس به ترتیب برابر ۱/۵۶۲، ۳/۱۲۵ و ۰/۱۹۵ μL/mL و میزان حداقل غلظت بازدارندگی عصاره پونه نیز به ترتیب ۱۷/۵، ۱۴/۵۸۳ و ۱۴/۵۸۳ mg/mL مشاهده شد.

نتیجه گیری: اسانس بادرنبویه و عصاره پونه دارای فعالیت ضد مخمری مناسبی می‌باشند. بنابراین می‌توان از اسانس بادرنبویه و عصاره پونه به عنوان یک ترکیب نگهدارنده طبیعی در صنعت غذا استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسانس بادرنبویه، تکنیک میکروداپلوشن، عصاره پونه، فعالیت ضد قارچ

مقدمه

حضور و رشد میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی باعث فساد و کاهش کیفیت محصولات غذایی می‌شود (Soliman and Badeaa, 2002). برای مثال در محصولات لبنی از جمله ماست و فرآورده‌های حاصل از آن مانند دوغ مخمرها از عوامل اصلی فساد می‌باشند (Fleet, 1990). مخمرهایی نظیر ساکارومایسس سرویزیه^۱، کلویورومایسس مارکسیانوس^۲، رودوتورولا گلوتهیس^۳ از جمله مخمرهای غالب ایزوله شده از ماست می‌باشند (Viljoen, 2003). از زمان‌های قدیم گیاهان دارویی و چاشنی‌ها به منظور بهبود خواص حسی و طعم غذا کاربرد داشتند و امروزه به طور گسترده علاوه بر کاربرد دارویی در نگه‌داری غذا نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. ارزش دارویی و نگه‌دارندگی آن‌ها بستگی به ترکیبات فیتوشیمیایی و متابولیت‌های ثانویه می‌باشد (Burt, 2004). بخشی از ترکیبات موثره در عصاره‌ها و اسانس‌ها از متابولیت ثانویه گیاهان دارویی هستند که فعالیت ضد میکروبی، ضد قارچی آنها شناخته شده است. فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی به ترکیب شیمیایی آن‌ها بستگی دارد علاوه بر این به دلیل دارا بودن خاصیت آب‌گریزی به غشاء سلولی نفوذ نموده و سبب صدمه به نفوذپذیری و عملکرد غشای سلول و در نهایت تخریب سلول می‌شوند (Palmer et al., 2001).

گیاه بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* از راسته Lamiales و از خانواده Lamiaceae است (Bisset & Wichtl, 1994). گیاهی معطر، علفی و چند ساله که ارتفاع آن به ۱۰۰ سانتی‌متر رسیده و خاستگاه آن جنوب اروپا، مدیترانه و بعضی نقاط آذربایجان و شمال ایران می‌باشد (Zargari, 1995). از اسانس بادرنجبویه به عنوان یک عامل ضد باکتری، ضد قارچ، داروی مسکن و داروی درمان بیماری آلزایمر استفاده می‌شود. همچنین به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی در درمان بیماری هرپس بکار می‌رود و از اثرات دیگر آن می‌توان به تحریک سیستم ایمنی بدن در مقابل ایدز نام برد (Santos-Neto et al., 2006). گیاه آروماتیک پونه با نام علمی *Mentha pulegium* نیز متعلق به جنس نعناع و خانواده

Lamiaceae می‌باشد نام‌های دیگر آن نعناع آمریکائی، گیاه پشه و سبزی پودینگ است (Bakkali et al., 2008). از بخش‌های هوایی این گیاه برای درمان سرماخوردگی، مسمومیت غذایی، برونشیت، سل و به عنوان ضد سرفه و ضد نفخ استفاده می‌شود (Mahboubi & Hagh, 2008). شافعی و همکاران در سال ۱۳۹۰ اثر ضد میکروبی اسانس گیاه کاکوتی را در شرایط آزمایشگاهی بر روی مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس بررسی کردند و میزان حداقل غلظت بازدارندگی آن را ۰/۲۵ درصد گزارش کردند. در مطالعه‌ای نوری‌زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰ اثر ضد باکتریایی عصاره آبی و هیدروالکلی پونه، نعناع و آویشن را بر روی هلیکوباکتر بررسی کردند نعناع بیشترین اثر ضدباکتریایی را دارا بوده و بعد از آن به ترتیب شیرین بیان، پونه و آویشن دارای فعالیت ضد باکتریایی بودند. Firouzi و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که اسانس بادرنجبویه دارای اثر مهارکنندگی علیه لیستریا مونوسیتوزنتر^۴ می‌باشد.

امروزه تحقیقات زیادی بر روی اثر ضد میکروبی گیاهان دارویی صورت گرفته است ولی مطالعات کمی بر روی خاصیت ضد مخمری گیاه بادرنجبویه و عصاره پونه انجام شده و تاثیر این گیاهان روی این مخمرها بررسی نشده است لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدقارچی اسانس بادرنجبویه بر روی مخمرهای عامل فساد (ساکارومایسس سرویزیه، کلویورومایسس مارکسیانوس و رودوتورولا گلوتهیس) جهت بررسی کاربرد پتانسیل آن به عنوان ترکیبات طبیعی در محصولات غذایی به منظور تولید غذاهای ارگانیک و سالم بود.

مواد و روش‌ها

- تهیه اسانس بادرنجبویه

اسانس بادرنجبویه که توسط روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شده از شرکت شفا گل سراب تهیه گردید.

- آنالیز اسانس بادرنجبویه

برای تعیین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، ترکیبات تشکیل دهنده توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل

¹ *Saccharomyces cerevisiae*

² *Kluyveromyces marxianus*

³ *Rhodotorula glutinis*

⁴ *Listeria monocytogenes*

۷۶۵، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از همین روش، منحنی استاندارد گالیک اسید رسم گردید (Marinova et al., 2005).

- تهیه سویه میکروبی

سویه‌های مخمری استفاده شده در این تحقیق شامل کلویورومایسس مارکسیانوس (PTCC ۵۱۹۳)، ساکارومایسس سرویزیه (PTCC ۵۰۵۲)، رودتورولا گلوتنیس (PTCC ۵۲۵۶) می‌باشند که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. سویه‌های مورد نظر در محیط کشت YM broth در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و تا سویه‌های مورد نظر فعال گردند. سپس سوسپانسیون مخمر حاوی 10^6 cfu/ml براساس استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تهیه گردید (شافعی و همکاران، ۱۳۹۰).

- فعالیت ضد قارچی

جهت تعیین فعالیت ضدقارچی اسانس بادنرجوبیه و عصاره پونه از روش میکروداپلوشن استفاده شد (NCCLS, 2000). در این روش از محیط کشت سابورد دکستروز برات (SDB) حاوی ۰/۵ درصد توئین ۸۰ استفاده شد. غلظت‌های مختلف اسانس (۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۳/۵۶۲، ۰/۷۸۱، ۰/۳۹ و $0.195 \mu\text{L/mL}$) تهیه گردید. سپس توسط فیلتر سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر استریل و بعد در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای حدود $180 \mu\text{L}$ اسانس به همراه محیط کشت و $20 \mu\text{L}$ سوسپانسیون مخمر اضافه گردید و در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و بعد از ۴۸ ساعت در طول موج 620 nm توسط دستگاه الایزا ریدر جذب خوانده شد و در نهایت حداقل غلظت از اسانس که تغییری در جذب آن صورت نگرفته به عنوان MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) معرفی شد سپس برای تعیین MFC (حداقل غلظت کشندگی قارچ) از چاهک‌هایی که جذبشان تغییر نکرده است $5 \mu\text{L}$ بر روی محیط کشت سابورد دکستروز آگار انتقال و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰°C گرمخانه‌گذاری شد و حداقل غلظتی که در آن رشد نداشته باشد به عنوان MFC معرفی می‌شود.

Agilent 6890 N با ستون HP 5MS (طول ۳۰ mm، قطر ۰/۲۵ mm، ضخامت فیلم $0.25 \mu\text{m}$) جداسازی شد سپس شناسایی ترکیبات توسط دستگاه طیف‌سنج جرمی مدل Agilent 5973 با انرژی یونشی ۷۰eV صورت گرفت. گاز حامل (هلیوم ۹۹/۹۹۹٪) با شدت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه وارد ستون می‌شد.

جدول ۱- برنامه‌ریزی دمایی ستون دستگاه طیف سنج

نگهداری (Min)	دما (°C)	گرادیان دمایی (°C / Min)
۳	۷۰	-
۲	۱۲۰	۱۰
۲	۱۵۰	۱۰
۵	۲۴۰	۷

- تهیه گیاه پونه

گیاه پونه از مراتع رامسر در خرداد ماه سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری شده و توسط گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان شناسایی شد.

- استخراج عصاره پونه

ابتدا گیاه خشک شده در دمای اتاق را پودر کرده و براساس روش خیساندن عصاره‌گیری شد. در این روش حدود ۵۰ گرم پودر خشک گیاه به ارلن اضافه شد و 500 mL متانل ۷۰٪ به نسبت (۱:۱۰) افزوده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکر دار در دمای اتاق با ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری گردید. سپس عصاره صاف شده با کاغذ صافی توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰°C تغلیظ شده و توسط دستگاه فریز درایر به پودر خشک تبدیل گردید و در دمای ۴°C در ظروف غیر قابل نفوذ به هوا نگهداری شد (Radji et al, 2013).

- میزان فنل تام عصاره هیدروالکلی پونه

به منظور تعیین محتوی فنل عصاره هیدروالکلی پونه، در هر لوله آزمایش، ۲ میلی لیتر آب مقطر و $100 \mu\text{L}$ محلول ۷٪ فولین سیوکالتو و $20 \mu\text{L}$ نمونه عصاره هیدروالکلی پونه اضافه گردید. بعد از سه دقیقه، $300 \mu\text{L}$ کربنات سدیم ۶٪ اضافه شد و محلول‌ها به مدت ۲ ساعت تکان داده شد. سپس جذب محلول‌ها در طول موج 410 nm

یافته‌ها

نتایج میزان حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس بادرنجبویه و عصاره پونه در جدول ۲ آمده است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد اسانس بادرنجبویه با حداقل غلظت مهاری $0/195 \mu\text{L/mL}$ بر علیه رودوتورولا گلوتنیس بیشترین اثر مهارکنندگی را داشت. همچنین

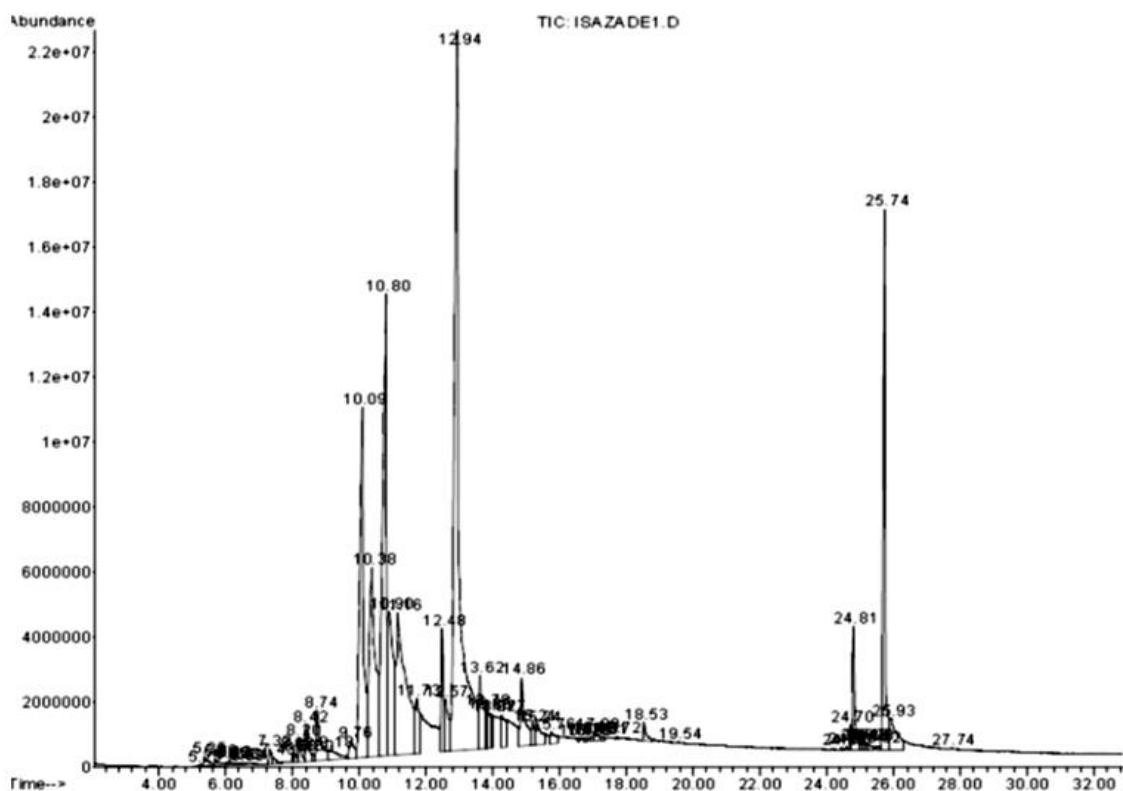
کمترین اثر مهارکنندگی را با حداقل غلظت مهاری $1/562 \mu\text{L/mL}$ عصاره پونه نیز کمترین اثر مهارکنندگی را با حداقل غلظت مهاری $17/5 \text{ mg/mL}$ در برابر ساکارومایسس سرویزیه سرویزیه نسبت به کلیورومایسس مارکسیانوس و رودوتورولا گلوتنیس از خود نشان داده است.

جدول ۲- میزان حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی اسانس بادرنجبویه ($\mu\text{L/mL}$) و عصاره پونه (mg/mL)

گیاه/ مخمر	کلیورومایسس مارکسیانوس	رودوتورولا گلوتنیس	ساکارومایسس سرویزیه
اسانس بادرنجبویه	MIC 3/125	0/195	1/562
	MFC 25	12/5	25
عصاره پونه	MIC 14/583	14/583	17/5
	MFC 70	70	70

جدول ۳- ترکیبات اسانس بادرنجبویه

نام ترکیب	RT	درصد	نام ترکیب	RT	درصد
6-Methyl-5-Hepten-2-One	5/358	0/279	1-Dodecyne	8/763	1/367
Geraniol	13/781	0/56	Nerol	9/752	0/576
Geraniol	13/847	0/731	Z-Citral	10/096	8/928
(Z)-Nerol	14/269	1/018	GERANIOL	10/374	8/249
Germacrene-d	14/868	2/068	Citral	10/807	12/378
trans-Farnesyl acetate	15/345	0/704	Z-Citral	10/906	5/381
4,6-bis(4'-Methylpent-3'-en-1'-yl)-6-methylcyclohexane	25/743	7/283	E-Citral	11/162	9/447
4,6-bis(4'-Methylpent-3'-en-1'-yl)-6-methylcyclohexane	25/931	1/345	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	11/728	1/435
Mayurone..	24/811	1/747	Neryl acetate	11/482	1/852
Trans-Caryophyllene	13/614	1/972	Nerol	12/571	1/418
			Geranyl acetate	12/937	25/287



شکل ۱- کروماتوگرافی اسانس بادرنجبویه

بحث

- آنالیز اسانس بادرنجبویه

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی بررسی گردید و حدود ۵۷ ترکیب اسانس بادرنجبویه شناسایی شد. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس این گیاه در جدول ۳ ذکر شده است در این جدول فراوانی مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و زمان جداسازی این ترکیبات مشخص گردیده است. ترکیبات اصلی این اسانس عبارتند از ژرانیل استات (۲۵/۲۸۷٪)، سیترال (۱۲/۳۷۸٪)، زد- سیترال (۱۴/۳٪)، ای - سیترال (۹/۴۴۷٪)، ژرانیول (۹/۵۵٪). با وجود اینکه تحقیقات زیادی در مورد شناسایی اجزای تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی صورت گرفته است ولی اجزا تشکیل دهنده اسانس گیاهان تولید شده در مناطق مختلف به دلیل تفاوت در شرایط محیطی و ارتفاع محل رشد نیازمند بررسی می‌باشند. به عنوان مثال ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس گیاه بادرنجبویه در کشور ترکیه به ترتیب درصد فراوانی شامل سیترونللال، سیترال، تیمول،

بتا-کاریوفیلین می‌باشد (Ipek *et al.*, 2009). Saeb و Gholamrezae در سال ۲۰۱۲ ترکیبات اسانس بادرنجبویه را در سه دوره رشد (قبل گل دهی، بعد گل دهی و گل دهی) مورد بررسی قرار دادند و ژرانیول، ژرانیل استات، کاریوفیلین اکسید، دی کادینال را به عنوان ترکیبات عمده اسانس تعیین کردند. Uyanik و Gurbuz در سال ۲۰۱۴ نیز اجزای تشکیل دهنده اسانس برگ و گل بادرنجبویه را بررسی نمودند و گزارش کردند ترکیبات عمده اسانس سیترال، کاریوفیلین اکسید، زد-سیترال می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود در اکثر مطالعات سیترال و ژرانیول ترکیبات عمده را تشکیل می‌دهند که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد و دلیل تفاوت در نوع و فراوانی ترکیبات شیمیایی را می‌توان به تفاوت در آب و هوای کشت این گیاه در مناطق مختلف نسبت داده می‌شود. Onawunmi و همکاران در سال ۱۹۸۴ نشان داد که سیترال، نرال و ژرانیول دارای فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌باشند.

- میزان فنل عصاره

میزان فنل کل برحسب میلی گرم گالیک اسید بر گرم عصاره پونه برابر $0.2 \pm 252/48$ بود. Hajlaoui و همکاران (۲۰۰۹) میزان فنل کل در عصاره متانولی *M. longifolia* و *M. pulegium* را بررسی نمودند و به ترتیب میزان فنل کل را بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره حدود $89/1$ و $37/41$ گزارش کردند همچنین Dorman و همکاران (۲۰۰۳) میزان فنل کل انواع عصاره (الکلی و آبی) پونه را حدود $128-230$ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش کردند. میزان فنل کل عصاره مورد بررسی در مطالعه حاضر بالاتر از این میزان می باشد که تفاوت در ترکیبات گیاه به تفاوت در آب و هوای محل رشد نسبت داده می شود.

- فعالیت ضدقارچی

نتایج نشان می دهد اسانس بادرنجبویه و عصاره پونه فعالیت ضد میکروبی در حد قابل قبولی را دارا می باشند. همانطور که قبلاً ذکر شد به ترتیب مخمر *Rodotorula* گلوتنیس، ساکارومایسس سرویزیه و کلیورومایسس مارکسیانوس نسبت به فعالیت ضد قارچی اسانس بادرنجبویه از خود حساسیت نشان دادند. علاوه بر آن ساکارومایسس سرویزیه نیز نسبت به کلیورومایسس مارکسیانوس و *Rodotorula* گلوتنیس از مقاومت بیشتری نسبت به عصاره پونه برخوردار بود. حساسیت میکروارگانیسمها علاوه بر فعالیت ضد میکروبی اسانسها و عصارهها با توانایی سرعت رشد آنها نیز ارتباط مستقیم دارد. علاوه بر این تفاوت در حساسیت جنسهای مختلف مخمر به اسانسها و عصارهها به ترکیب شیمیایی فرآورده گیاهی، مرحله رشد سلول و نوع مخمر وابسته است. سلولها در مرحله تقسیم سلولی نسبت به اثر ضد میکروبی اسانس و عصاره بسیار حساس تر هستند بدلیل اینکه که در هنگام تقسیم سلولی نفوذ متابولیتهای گیاهی (اسانسهای روغنی و عصاره) موثرتر صورت می گیرد (Bakkali et al., 2004; Bruni et al., 2005). فعالیت ضد قارچی اسانس بادرنجبویه و ترکیب سیترال (ترکیب عمده اسانس بادرنجبویه) به اثبات رسیده است (Viollon &

Chaumont, 1994). مونو و سزکویی ترینها به عنوان ترکیبات اصلی عصارهها می باشند که در طبیعت به صورت ترکیبات فنولیک هستند (Deba & Xuan, 2007). ترکیبات مونوترپنهای حلقوی و α -ترپنین بر روی ژنهای بیوسنتز کننده ارگوسترول و جذب استرول در ساکارومایسس سرویزیه تاثیر می گذارند (Parveen et al., 2004). همچنین مونو ترینها، α -ترپنین و لیمونین علاوه بر اینکه باعث تخریب سلول (از طریق صدمه به غشای سلول، اختلال در انتقال الکترون، سنتز پروتئین و در نهایت نشت مواد داخل سلولی) می شوند دارای اثر مهارکنندگی بر روی سیستم تنفسی در میتوکندری سلولهای مخمر نیز می باشند (Uribe et al., 1985). Teixeira و همکاران (۲۰۱۲) میزان حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی پونه را بر روی لیستریا اینوکوا^۱، لیستریا مونوسیتوزنر و بروکوتریکس ترموسفاکتا^۲ به ترتیب 15000 ، 15000 ، 30000 ppm گزارش کردند. در مطالعه ای حساسیت مخمرها در برابر ۱۱ اسانس بررسی شد و نشان دادند که میزان حساسیت بترتیب برابر *Rodotorula* گلوتنیس < یاروویا لیپولیتیکا^۳ < ساکارومایسس سرویزیه < ساکارومایسس پومب^۴ با حداقل غلظت مهارکنندگی در حدود 30 ppm- 540 می باشد (Sachetti et al., 2005). به طوری که مشاهده می شود همین روند حساسیت در در غلظت بالاتر اسانس مطالعات ما هم نمایان شده است. ولی در مطالعه ای دیگر Ozcakmak و همکاران (۲۰۱۲) ترکیبات اسانس بادرنجبویه و مریم گلی را شناسایی و اثر ضد قارچی آنها را در برابر پنی سیلیوم و رکوزومی^۵ مولد سم اکرآتوکسین جدا شده از پنیر بررسی نمودند و میزان حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بادرنجبویه و مریم گلی را به ترتیب حدود 125 و 62 میکرولیتر بر میلی لیتر و حداقل غلظت مهارکنندگی آنها بترتیب حدود 250 و 125 میکرولیتر بر میلی لیتر نشان دادند که در مقایسه با گیاه بادرنجبویه که در این تحقیق بررسی شده، حداقل غلظت مهاری بالاتری را دارا می باشند که این تفاوت ممکن است ناشی از تفاوت آب و هوای کشت این گیاه در مناطق مختلف، تفاوت در سوشهای میکروبی مورد آزمون یا شرایط آزمون باشد.

¹ *Listeria innocua* ² *Brochothrix thermosphacta*
³ *Yarrowia lypolitica* ⁴ *Saccharomyces pombe*
⁵ *Penicillium verrucosum*

نتیجه‌گیری

باتوجه به اینکه اسانس بادرنجبویه (به علت وجود ترکیباتی مانند سیترال و ژرانیول) و عصاره پونه در غلظت‌های پایین روی مخمرهای عامل فساد مواد غذایی موثر هستند لذا استفاده از آن‌ها در محصولات لبنی و سایر محصولات غذایی به عنوان یک ترکیب ضد قارچی طبیعی جایگزین برای ترکیبات ضد قارچی سنتزی مانند سوربات پتاسیم، بنزوات سدیم و ناتامایسین که دارای اثرات مضر مشخصی می‌باشند به نظر مفید است و می‌تواند در جهت تولید غذاهای ارگانیک یک گام مناسب باشد.

منابع

- شافعی، م.، شریفیان، ا. و آقازاده مشگی، م. (۱۳۹۰). شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس کاکوتی و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر روی مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس. مجله علوم غذایی و تغذیه. سال نهم، شماره ۱، صفحات ۱۰۱-۱۰۷.
- نوری زاده، ع.، میرزاپور، ط.، قاسمی، ک.، رضوی، س. م و لطیفی نوید، س. (۱۳۸۳). بررسی آثار ضد باکتریایی عصاره‌های نعناع، شیرین بیان، پونه، بابونه و آویشن بر هلیکوباکتر پیلوری. دو ماهنامه علمی-پژوهشی دانشور پزشکی، سال یازدهم، شماره ۵۲، صفحات ۶۷-۷۲.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Zhiri, A. & Idaomar, M. (2005). Cytotoxicity and gene induction by some essential oils in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 585(1), 1-13.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—A review, Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M. & Sacchetti, G. (2004). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. Food chemistry, 85(3), 415-421.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology, 94(3), 223-253.
- Bisset, N. G. & Wichtl, M. (1994). Herbal druge. Medpharm Stuttgart, pp, 329-332 .
- Deba, F. & Xuan, T. (2007). Antifungal activity of *thyme*, *summer savory* and *clove* essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control, 18, 1518-1523.
- Dorman, H. D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. & Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(16), 4563-4569.
- Fleet, G. H. (1990). Yeasts in dairy products. A review. Journal of Applied Bacteriology, 68, 199-211.
- Firouzi, R., Azadbakht, M. & Nabinedjad, A. (1998). Anti-listerial activity of essential oils of some plants. Journal of Applied Animal Research, 14, 75-80.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R. & Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25(12), 2227-2238.
- Ipek, A., Gurbuz, B. & Cosge, B. (2009). GC/MS Analysis of herbage essential oil from lemon balms (*Melissa Officinalis* L.) grown in turkey. Journal of Applied Biological Sciences, 3(2), 149-152.
- Mahboubi, M. & Hagh G. (2008) Journal of Ethnopharmacology, 119, 325-327.
- Marinova, D., Ribarov, F. & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy, 40(3), 255-260.
- NCCLS. (2000). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard, M7-A5.
- Ozcakmak, S., Dervisoglu, M. & Yilmaz, A. (2012). Antifungal activity of lemon balm and sage essential oils on the growth of ochratoxigenic *Penicillium verrucosum*. African Journal of Microbiology Research, 6(12), 3079-3084.
- Onawunmi, G. O., Yisak, W. A. & Ogunlana, E. O. (1984). Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Journal of Ethnopharmacol, 12, 279-86.

- Parveen, M., Hasan, K., Tkahashi, J., Murata, Y., Kitagawa, E., Kodama, O. & Iwahas, H. (2004). Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54, 46-55.
- Palmer, A. S., Steward, J. & Fyfe, L. (2001). The potential application of plant essential oils as natural preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18, 463-70.
- Radji, M., Agustama, R. A., Elya, B. & Tjampakasari, C. R. (2013). Antimicrobial activity of green tea extract against isolates of methicillin resistant staphylococcus aureus and multi drug resistant pseudomonas. *Asian Pacific Journal of tropical biomedicine*, 3 (8), 663-667.
- Sachetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, R. & Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621-632.
- Santos-Neto, L. L. D., de Vilhena Toledo, M. A., Medeiros-Souza, P. & de Souza, G. A. (2006). The use of herbal medicine in Alzheimer's disease—a systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 3(4), 441-445.
- Soliman, K. M. & Badaea, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1669–1675.
- Saeb, K. & Gholamrezaee, S. (2012). Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis L.* leaves during different stages of plant growth. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S547-S549.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O. & Nunes, M. L. (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 81-87.
- Uyanik, M. & Gurbuz, B. (2014) Chemical diversity in essential oil compositions of leaf, herb and flower in lemon balm (*Melissa officinalis L.*). *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 1(2), 210–214.
- Uribe, S., Ramirez, J. & Pena, A. (1985). Effects of α -pinene on yeast membrane function. *Journal of Bacteriology*, 161, 1195-1200.
- Viljoen, B. C. (2003). Temperature abuse initiating yeasts growth in yoghurt. *Food Research International*, 36, 193-197.
- Viollon, C. & Chaumont, J. P. (1994). Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*, 128, 151-3.
- Zargari, A. (1995). *Medical plants*. 5th edition. Tehran University Press.