مطالعه اثرات ضدقارچی اسانس گل بیمرگ (*Helichrysum arenarium* L.) بر رشد *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکارومایسز سرویسیه*

هدیه داودی مقدم[1*]، علی محمدی ثانی[2]، معصومه مهربان سنگآتش[3]

1. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامي واحد قوچان، قوچان، ایران.
2. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامي واحد قوچان، قوچان، ایران.
3. گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، مشهد، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *Hediyeh.davoudi@gmail.com*

چکیده

گل بی‌مرگ یک گیاه علفی چندساله، متعلق به خانواده آستراسه است که در بسیاری از کشورها جهت درمان سنتی بسیاری از بیماری ها از آن استفاده می‌شود. در این مطالعه، اسانس بخش های هوایی گیاه این گل به روش تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر استخراج و تاثیر آن بر دو گونه مخمری *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکارومایسز سرویسیه* به روش میکرودایلوشن و در ده غلظت متفاوت بررسی شد. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که اسانس گل بی مرگ تأثیر قابل توجهی در کاهش و حذف مخمرهای مورد بررسی دارد، اما *کاندیدا آلبیکنز* با حداقل غلظت بازدارندگی 195/31 میکروگرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی 3125 میکروگرم بر میلی لیتر مقاومت بیشتری نسبت به *ساکارومایسز سرویسیه* نشان داد، بهطوریکه میزان رشد *ساکارومایسز سرویسیه* در تمام غلظتها کمتر از *کاندیدا آلبیکنز* بود. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس گل بی‌مرگ اثر ضدمخمری قابل توجهی دارد. بنابراین می‌توان از این گیاه به عنوان یک عامل ضد قارچ (ضد مخمری) در صنایع غذایی و دارویی استفاده نمود.

واژگان کلیدي: اسانس گل بی مرگ، حداقل غلظت بازدارندگی، مخمر.

مقدمه

بیماري‌هاي با منشاء قارچي در زمره شناخته شده‌ترین بیماري‌هایي هستند که از گذشته تا به حال همواره گریبان‌گیر انسان بوده و به همین منظور، تلاش هاي زیادي براي شناخت، کنترل و درمان این عوامل بیماري‌زا صورت گرفته است (Mohammadpour, 2011). در این میان، قارچها و مخمرها علاوه بر این که عامل ایجاد بسیاری از بیماری ها و مسمومیت های غذایی هستند به - عنوان فاسدکننده مواد غذایی نیز مطرح می‌شوند که ضررهای اقتصادی زیادی را به همراه دارند (Demirci et al., 2008; Mahzooni-Kachapi et al., 2012). جنس کاندیدا در برگیرنده مخمرهای کروی، بیضوی و یا مستطیلی شکل است که معمولاً از طریق جوانه زدن در جهات مختلف، تکثیر مییابد (Mortazavi et al., 2008) و قادر به فساد مواد غذایی حاوی اسید یا نمک زیاد میباشد (Frazier and Westhoff, 1978). گونه های مختلف این جنس، قندها را به میزان بسیار متفاوتی تخمیر می‌کنند. در بین گونه‌های مختلف جنس کاندیدا، حداقل 7 گونه مختلف وجود دارد که برای انسان بیماری زا می‌باشند. مهمترین آن ها *کاندیدا آلبیکنز*، از شایع ترین قارچ های بیماریزا است و در انسان به شکل های مختلف ایجاد برفک می‌کند

که میتوان به برفک مخاط عضلانی، برفک جلدی، برفک نای و مجاری ادراری و برفک ریوی که خطرناک ترین فرم بیماری است، اشاره کرد (Mortazavi et al., 2008). سلول های مخمر جنس ساکارومایسز از نظر ظاهری به شکل بیضوی، کروی و یا به صورت کشیده و مستطیلی که در انتها گرد می شوند، دیده می - شوند. تا کنون 40 گونه مختلف از این جنس شناسایی شده است که همگی گلوکز را به خوبی و به سرعت تخمیر می نمایند، اما قندهای دیگر را بر حسب گونه به صورت متفاوتی تخمیر می کنند (Mortazavi et al., 2008). *ساکارومایسز سرویسیه* معروف ترین گونه این جنس است که رشد کنترل نشده این مخمر در انبارها باعث تخمیر محصول و افزایش ضایعات می شود. امروزه به منظور کاهش یا حذف افزودنی‌های سنتزی شیمیایی در غذا، از جمله مواد نگهدارنده و تمایل مصرف کنندگان به غذاهای طبیعی و بدون نگهدارنده، تکنولوژی جدید به سمت استفاده از منابع طبیعی از جمله اسانس‌ها و عصاره ها به عنوان نگهدارنده های غذایی گرایش پیدا کرده است (Bluma et al., 2008). گل بی مرگ با نام علمی *Helichrysum arenarium* L یک گیاه علفی چند ساله با ارتفاع 40-15 سانتی متر، ماه های خرداد تا مرداد به گل می نشیند (Eshbakova and Aisa, 2009) و به خانواده گل ستاره ای (Asteraceae) تعلق دارد (Eroglu et al., 2010) و به صورت وحشی در بسیاری از مناطق جهان از جمله اروپا، غرب سیبری و آسیای مرکزی رشد میکند (Yong et al., 2011; Eshbakova and Aisa, 2009). این گیاه، دارای گل هایی به رنگ های مختلف از جمله زرد تا نارنجی مایل به قرمز یا حتی قهوه ای می- باشد (Radusiene and Judzentiene, 2008)، این گل ها منبع گیاهی با ارزشی میباشند که از زمان قرون وسطی

شناخته شده اند و در داروها و لوازم آرایشی استفاده می شوند (Sawilska and Mielcarek, 2009). از کاربردهای این گیاه میتوان در استفاده به عنوان چای گیاهی در درمان سنگ کلیه، اختلالات ادراری، دل درد، یرقان، اسهال و تنگی نفس (Eroglu et al., 2010)، درمان اختلالات کیسه صفرا، تورم مثانه، ورم مفصل (Radusiene and Judzentiene, 2008)، دیابت و تحریک ترشح شیره معده (Albayrak et al., 2010b) اشاره کرد. همچنین این گیاه دارای خواص آنتی اکسیدانی (Yong et al., 2011) نیز میباشد. تحقیقات زیادی در ارتباط با خاصیت ضدباکتریایی عصاره گونه های مختلف گیاه گل بیمرگ به اثبات رسیده است (Albayrak et al., 2010 ab; Aslan et al., 2007) اما اطلاعات اندکی در زمینه خواص ضدقارچی و ضدمخمری اسانس گل بی مرگ در دسترس می‌باشد. در تحقیقی به منظور تعیین قابلیت استفاده عصاره گیاهان در کنترل بیولوژیکی *اگروباکتریوم تیومفاسیینس*[1] در شرایط آزمایشگاهی به بررسی خواص ضدباکتریایی عصاره آبی، اتانولی و اتیل استات شش نوع گیاه از خانواده آستراسه از جمله گل بی‌مرگ پرداخته شد. نتایج نشان داد که عصاره این گیاه به طور قابل ملاحظه ای نقش بازدارندگی روی باکتری مذکور دارد (Stanojkovic et al., 2009). نتایج بررسی دیگری نشان داد که عصاره متانولی گل بی‌مرگ می تواند از رشد *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جلوگیری کند، در حالیکه تأثیر قابل ملاحظه ای روی *باسیلوس سوبتیلیس* مشاهده نشد (Albayrak et al., 2010a). در مطالعه دیگری، اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی دو زیرگونه گیاه گل بی مرگ بر *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده شد، اما در مورد باکتری های *باسیلوس سوبتیلیس* و *اشریشیا کلی* و همچنین مخمرهای *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکاروماسیز سرویسیه* هیچ گونه فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی مشخص نشده است (Albayrak et al., 2010b). محققین همچنین با بررسی عصاره اتانولی و عصاره پترولیوم اتر گیاه گل‌بی‌مرگ نشان دادند که عصاره این گیاه، خاصیت ضدباکتریایی علیه *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوژنز* دارد، اما بر باکتری های *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* فاقد اثر است (Aslan et al., 2007). نتایج مطالعه دیگری نشان داد که عصاره اتانول اتیل استات گونه گیاهی *ملیچریسوم چاسمولیسیکوم*[2] خاصیت ضدباکتریایی زیادی در مقابل *سودوموناس آئروجینوزا* دارد در حالی که عصاره پترولیوم اتر- 60 درصد اتانول کلروفرم و 3 و 5 دی‌هیدروکسی- 6 و 7 و 8 تری متوکسی فلاون خاصیت ضد قارچی بالایی نسبت به *کاندیدا آلبیکنز* نشان می دهد (Süzgeç-Selçuk, and Birteksöz., 2011). همچنین خواص ضد قارچی و ضد باکتریایی عصاره

[1] *Agrobacterium tumefaciens*

[2] *Helichrysum chasmolycicum*

اتانول کلروفرم و اتانول اتیل‌استات *ملیچریزوم کامپکتوم* توسط این دو محقق در سال 2005 به اثبات رسیده است (Süzgeç et al., 2005). هدف از این تحقیق تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گیاه گل بی‌مرگ بر مخمرهای *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکارومایسز ویسیه* تعیین حساس ترین آن ها نسبت به اسانس این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌کار

گیاه و تهیه اسانس

گیاه گل بی مرگ (شماره هرباریوم: 38393) از اطراف کوه‌های بینالود در فصل مناسب به مقدار مورد نیاز تهیه و جمع‌آوری شد و از نظر گیاه شناسی مورد تائید بخش پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد قرار گرفت. بخش‌های هوایی گیاه، خشک شد و اسانس آن به روش تقطیر با آب به روش کلونجر مدل دارونامه بریتانیا به مدت 2/5 ساعت استخراج و جمع آوری گردید. اسانس جمع آوری شده پس از رطوبت‌زدایی به وسیله سولفات سدیم بدون آب در شیشه‌های رنگی و دربسته، در یخچال نگهداری شدند (Aoudou et al., 2012; Bluma et al., 2008; Chitsaz et al., 2007).

تهیه سوسپانسیون مخمری

در این آزمایش از مخمرهای *کاندیدا آلبیکنز* ATCC10231 و *ساکارومایسز سرویسیه* PTCC5052 استفاده شده است. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، مخمرها روی محیط کشت شیبدار پوتیتو دکستروز آگار، کشت خطی داده شدند و به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری گردیدند. سلول‌های مخمری با افزودن 10 میلی‌لیتر محلول نرمال سالین از سطح محیط کشت شیبدار شسته شدند، سپس بهمنظور ایجاد غلظت نهایی 10^6 سلول در میلی‌لیتر، به سوسپانسیون غلیظ، مقادیر بیشتر محلول سرم فیزیولوژی اضافه شد. غلظت و تعداد سلول های مخمر توسط لام هموسیتومتر تعیین و شمارش گردید (Sanchez et al., 2005; Aoudou et al., 2012).

بررسی خواص ضد میکروبی

به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس گل بی مرگ از روش میکروبراث دایلوشن استفاده شد. ابتدا

درون همه چاهک ها 95 میکرولیتر محیط کشت مولرهینتون براث (مرک، آلمان) اضافه شد سپس به اولین چاهک هر ردیف 100 میکرولیتر از اسانس با غلظت 50000 میکروگرم بر میلیلیتر (بالاترین غلظت اسانس مورد آزمون) حل شده در در دی متیل سولفوکسید (اپلیچم، آلمان) 5% افزوده شد (Naeini et al., 2009). پس از چند مرتبه پر و خالی کردن، به منظور مخلوط شدن کامل اسانس با محیط کشت، توسط سمپلر، 100 میکرولیتر از چاهک اول برداشته و به چاهک دوم انتقال داده شد. این عمل تا آخرین چاهک به استثنای چاهک شماره 11 ادامه یافت تا در نهایت 100 میکرولیتر از چاهک آخر دور ریخته شد. از محلول استوک تهیه شده، سوسپانسیون مخمری با غلظت 10^6 سلول در میلی لیتر بهمیزان پنج میکرولیتر به تمام میکروپلیت ها به استثنای چاهک شماره 12 هر ردیف افزوده شد. چاهکهای شماره 11 هر ردیف به عنوان شاهد مثبت، فاقد اسانس و چاهکهای شماره 12 هر ردیف به عنوان شاهد منفی، فقط حاوی محیط کشت و اسانس می-باشند. میکروپلیت‌ها به مدت 15 ثانیه با سرعت 300 دور در دقیقه در دستگاه قرائت الایزا ELX808 (بیوتک، آمریکا) شیک شدند و پس از این مدت میزان کدورت اولیه چاهکها در طول موج 630 نانومتر خوانده شد. سپس میکروپلیت‌ها به مدت 48 ساعت در انکوباتور با دمای 25 درجه سانتیگراد گرم-خانه‌گذاری شدند. پس از این مدت، میزان جذب یا کدورت چاهکها توسط دستگاه قرائت الایزا ELX808 (بیوتک، آمریکا) با همان شرایط قبلی مجدداً خوانده شد و میزان رشد مخمر تعیین گردید. کمترین غلظت اسانس که مانع از رشد مخمر شده بود (محیط، شفاف باقی مانده بود) به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی[1] در نظر گرفته شد (Gulluce et al., 2007; Ozturk et al., 2007; NCCLS, 2002).

تعیین حداقل غلظت کشندگی

برای مشخص نمودن حداقل غلظت کشندگی[2]، از رقت هایی که کدورت ی در آن ها مشاهده نشد، کشت سطح ی در محیط مولر ه ینتون آگار صورت گرفت، سپس پل یت‌ها به مدت 48 ساعت در دما ی 25 درجه سانت ی گراد گرم خانه‌گذاری شدند. غلظت ی از اسانس که در آن ه یچ مخمری رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت قارچ‌کشی یا مخمرکشی تعیین شد (Khosravi et al., 2011; Chitsaz et al., 2007).

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل نتایج از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایش شامل اسانس گل بی‌مرگ در 10 غلظت متفاوت و بر روی دو میکروارگانیسم و در سه تکرار صورت گرفت. جهت تجزیه داده‌ها از نرم افزار SPSS در سطح معنی‌داری 0/05 استفاده شد. مقایسه میانگین های مربوطه به وسیله آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج

در این تحقیق به بررسی تأثیر اسانس گل بی‌مرگ روی مخمرهایی که عمدتاً آلوده کننده مواد غذایی

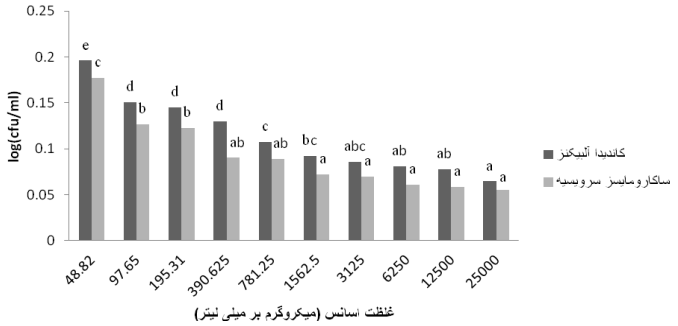
[1] Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
[2] Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

هستند پرداخته شده است. نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گل‌بی‌مرگ روی مخمرهای مورد آزمون در جدول 1 ذکر شده است. تحقیقات انجام شده در این آزمون روی دو گونه مخمر *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکارومایسز سرویسیه* نشان داد که این اسانس قادر است بر رشد و فعالیت مخمرهای منتخب، موثر باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که *ساکارومایسز سرویسیه* با حداقل غلظت بازدارندگی 97/65 میکروگرم بر میلیلیتر و حداقل غلظت کشندگی 781/25 میکروگرم بر میلیلیتر، حساسیت بیشتری نسبت به *کاندیدا آلبیکنز* در مقابل اسانس گل بی - مرگ دارد، به طوری که میزان رشد *ساکارومایسز سرویسیه* در تمام غلظت ها از *کاندیدا آلبیکنز* کمتر بود.

جدول 1- حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گل بیمرگ بر مخمرهای آزمون شده در آزمایش میکروبراث دایلوشن

نام مخمر و قارچ	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)
کاندیدا آلبیکنز	195/31	3125
ساکارومایسز سرویسیه	97/65	781/25

* تمامی آزمون ها در سه تکرار انجام شد.



نمودار 1- تاثیر اسانس گل بی‌مرگ بر میزان رشد *ساکارومایسز سرویسیه* و *کاندیدا آلبیکنز*. حروف یکسان در این نمودار بیانگر عدم تفاوت آماري معني‌دار بین غلظت‌ها ($p < 0/05$) برای هر میکروارگانیسم بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

بحث

نمودار 1 نتایج اثر ده غلظت متفاوت اسانس گل بی‌مرگ بر میزان رشد مخمرهای *ساکارومایسز سرویسیه* و *کاندیدا آلبیکنز* را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده میشود رشد هر دو گونه مخمر با افزایش غلظت اسانس گل بی‌مرگ کاهش می‌یابد ولی اسانس گل بی‌مرگ در تمام غلظت ها روی مخمر *ساکارومایسز سرویسیه* موثرتر از *کاندیدا آلبیکنز* است. طبق نتایج به دست آمده از جدول 1 اسانس گل بیمرگ در غلظتهای قابل قبولی، از رشد مخمرها جلوگیری می کند و اثرات بازدارندگی آن روی رشد *ساکارومایسز سرویسیه* بیشتر از *کاندیدا آلبیکنز* است که این

مورد ممکن است به دلیل مرحله تقسیم سلولی باشد که مخمر در آن قرار دارد به علاوه این احتمال وجود دارد که ساختار و فعالیت سلولی مخمر کاندیدا به گونه ای باشد که ترکیبات فلاونوئیدی که عامل اصلی ضدمخمری در گیاه گل بیمرگ هستند تاثیر کمتری در عملکرد آنها داشته باشد. تا کنون مطالعات زیادی در زمینه خواص ضدباکتریایی اسانس و عصاره گونه‌های مختلف هلیچریزوم از جمله گل بی‌مرگ (Albayrak et al, 2010 ab; Aslan et al, 2007; Stanojkovic et al., 2009) به ثبت رسیده است اما اطلاعات کافی راجع به تأثیرضدقارچی و ضدمخمری اسانس گل بی‌مرگ وجود ندارد. طبق نتایج بهدست آمده، اسانس گل بی‌مرگ در کاهش و حذف مخمر *کاندیدا آلبیکنز* تأثیر بسزایی دارد. این نتایج با نتایج بهدست آمده از مطالعات (Süzgeç-Selçuk and Birteksöz 2005, 2011) بر روی عصاره *هلیچریزوم چاسمولیتیکوم* و *هلیچریزوم کامپکتوم* همخوانی داشت. ایشان طی تحقیقاتی نشان دادند که عصاره اتانول اتیل‌استات گونه گیاهی *هلیچریسوم چاسمولیسیکوم*[1] خاصیت ضدباکتریایی زیادی در مقابل *سودوموناس آئروجینوزا* دارد، در حالی که عصاره پترولیوم اتر- 60 درصد اتانول کلروفرم و 3 و 5 دی‌هیدروکسی- 6 و 7 و 8 تری‌متوکسی‌فلاون خاصیت ضدقارچی بالایی نسبت به *کاندیدا آلبیکنز* نشان می دهد (Süzgeç-Selçuk and Birteksöz, 2011). همچنین ایشان در مطالعات قبلی در سال 2005 نشان دادند که عصاره اتانول کلروفرم و اتانول اتیل استات *هلیچریزوم کامپکتوم*[2] خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی با مقدار حداقل غلظت ممانعت از رشد، 40 میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه *باسیلوس سوبتیلیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروجینوزا* و *کاندیدا آلبیکنز* دارد (Süzgeç et al., 2005). تحقیقاتی نیز بر روی اثر ضدباکتریایی و ضد قارچی اسانس، ترپن ها (هیدروکربن) و ترپنوئیدهای (ترکیبات حاوی اکسیژن) موجود در گیاه *هلیچریسوم ایتالیکوم* انجام دادند. طبق یافته های گزارش شده، خاصیت ضدمیکروبی اسانس و اجزای ترپنوئیدی *هلیچریسوم ایتالیکوم* علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنز* بسیار قابل ملاحظه است (Mastelic et al., 2005). نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج مطالعات مطالعات قبلی بر روی عصاره متانولی دو زیرگونه گل بی‌مرگ متفاوت بود (Albayrak et al, 2010b). ایشان گزارش کردند که عصاره متانولی این گیاه هیچ گونه اثر ضد قارچی و ضدمخمری علیه مخمرهای *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکارومایسز سرویسیه* ندارند. علیرغم وجود شباهت‌ها در ترکیبات شیمیایي موجود در اسانس گیاه مورد بررسي در این تحقیق با سایر گونه ها، اسانس‌های استخراج شده به روش های مختلف از گیاهان از لحاظ کمیت، کیفیت و ترکیب بر اساس شرایط آب و هوایی، ترکیب خاک، اندام گیاه، سن و مرحله چرخه گیاهی با یکدیگر متفاوتند

[1] *Helichrysum chasmolycicum*

[2] *Helichrysum compactum*

(Bakkali et al., 2008; Rasooli, 2007) مطالعات انجام شده بر روی گونه های مختلف هلیچریسوم در منطقه ترکیه نشان می دهد که این گونه ها غنی از فلاونوئید هستند. مقدار فلاونوئید برای واریته های مختلف گل بی‌مرگ 1/95- 1 درصد گزارش شده است که مقدار آن کمتر از اکثر گونه های *هلیچریسوم* می‌باشد (Aslan et al, 2007). به طور کلی تأثیر گونه های *هلیچریسوم* به دلیل تأثیر فلاونوئیدهای آن است (Yong et al., 2011). نارینجنین [1]، نارینجنین-5-گلوکوزید[2] (هلیچریزین A[3] و هلیچریزین B) و نارینجنین-5- دی گلوکوزید[4] به عنوان مهمترین ترکیبات فلاونوئیدی گونه گل بیمرگ معرفی کرده اند (Czinner et al., 1999). با توجه به ترکیبات شیمیایی متعددی که در اسانس ها موجود است، فعالیت ضدمیکروبی آن ها مشابه نبوده و هر یک جایگاه عمل متفاوتی در سلول دارند. مهمترین ویژگی اسانس‌ها خاصیت هیدروفوبیک آن‌ها می باشد که آن ها را قادر می‌سازد در لیپیدهای موجود در غشای سلولی حل شوند و ساختار دیواره سلولی را به هم بزنند و باعث افزایش نفوذپذیری غشا می‌شوند، در نتیجه یون ها و دیگر ترکیبات سلول، به بیرون تراوش می‌کنند (Burt, 2004). همچنین مشخص شده است که اثر بازدارندگي برخي از اسانسهاي روغني با قابليت تشكيل كلني ارتباط دارد. تفاوت در حساسیت مخمرهاي مختلف به اسانس‌ها، علاوه بر نوع مخمر و ترکیب شیمیایي اسانس، به مرحله رشد سلول نیز وابسته است. به گونه اي كه سلولها در مرحله تقسیم سلولي نسبت به اثر ضدميكروبي اسانس بسیار حساس‌تر هستند و نفوذ اسانس در این مرحله بیشتر است (Shafei et al., 2012). با توجه به تأکید سازمان بهداشت جهاني (WHO) بر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعي در مواد غذايي و تمایل مصرف کنندگان به غذاهای طبیعی و بدون نگهدارنده و نتایج بهدست آمده از این تحقیق می توان نتیجه گرفت که استفاده از این اسانس، راهی مناسب برای افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی و کنترل فساد آنها و پیشگیری از ابتلا به مسمومیتهای ناشی از مواد غذایی است که از این طریق استفاده از نگهدارندههای سنتتیکی نیز کاهش می یابد و سلامت مصرف کننده تأمین میشود.

[1] Naringenin
[2] Naringenin-5-glucoside
[3] Helichrysin A
[4] Naringenin-5-diglucoside

References

1. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., and Hamzaoglu, E. 2010a. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. Food Chem. 119: 114-122.
2. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., and Budak, U. 2010. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. Turk J Biol 34: 463-473.(b)
3. Aoudou, Y., Ngoune Léopold, T., Dongmo Pierre Michel, J., and Carl Moses, M. 2012. Inhibition of fungal development in maize grains under storage condition by essential oils. Int J Biosci. 2:41-48.
4. Aslan, M., Katircioglu, H., Orhan, I., Atici, T., and Sezik, E. 2007. Antibacterial potential of the capitula of eight Anatolian *heichrysum* species. Turkish J Pharm Sci. 4: 71-77.
5. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. Food Chem Toxicol. 46: 446–475
6. Bluma, R. V. and Etcheverry, M. G. 2008. Application of essential oil in maize grain: Impacked of aspergillus section flavi growth parameter and aflatoxin accumulation. J Food Microbiol. 25: 324-334.
7. Burt, S. A. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int J Food Microbiol. 94: 223-253.
8. Chitsaz, M., Pargar, A., Naseri, M., Bazargan, M., Kamalinezhad, M., and Mansouri, S., et al. 2007. Essential oil composition and antibacterial effects of *Ziziphora clinopodioides (Lam*) on selected bacteria. Daneshvar Med. 14: 15-22.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS). 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition. 22: 3-9.
10. Czinner, E., Kery, A., Hagymasi, K., Blazovics, A., Lugasi, A., Szoke, E and Lemberkovics, E. 1999. Biologically active compounds of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Europ J drug Metabolism Pharm. 24: 309-313.
11. Demirci, F., Guven, K., Demirci, B., Dadandi, M.Y. and Baser, K.H.C. 2008. Antibacterial activity of two phlomis essential oils against food pathogens. Food Control. 19: 1159-1164
12. Eroglu, H. E., Hamzaoglu, E., Aksoy, A., Budak, U. and Albayrak, S. 2010. Cytogenetic effects of *Helichrysum arenarium* in human lymphocytes cultures. Turk J Biol. 34: 253-259.
13. Eshbakova, K.A. and Aisa, H.A. 2009. Components of *Helichrysum arenarium.* Chem Nat Compd. 6: 46-51.
14. Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. 1978. Food microbiology.In: Mortazavi, A., Khashaninezhad, M., Zeaolhagh, H.R. Ferdowsi University Publications, Mashhad. First edition.
15. Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., et al. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and

methanol extract from *Mentha longifolia L.* ssp. *Longifolia*. Food Chem. 103: 1449–1456.

16. Khosravi, A.R., Minooeianhaghighi, M.H., Shokri, H., Emami, S.A., Alavi, S.M. and Asili, J. 2011. The potential inhibitory effect of *cuminum cyminum*, *ziziphora clinopodioides* and *nigella sativa* essential oil on the growth of *aspergillus fumigatuse* and *aspergillus flavuse*. Braz J Microbiol. 42: 216-224.
17. Mahzooni-Kachapi, S. S., Mahdavi, M., Roozbeh-Nasira'ei, L., Akbarzadeh, M. and Rezazadeh, F. 2011. Investigation of Compositions and Anti-bacterial Effects of the Essential Oils in *Stachys lavandulifolia.vahl* Collected from Baladeh Region. Food industrial conferences. Quachan, Iran.
18. Mastelic, J., Politeo, O., Jerkovic, I. and Radosevic, N. 2005. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. Chem Nat Compd. 41: 35-40.
19. Mohammadpour, GH., Majd, A., Najhadsatari,T., Mehrabian, S., and Hossinzadehkalagar, A. 2011. Antibacterial and antifungal effects of three genus of Thyme plants and two ecotype of *Ziziphora* and *Satureja Bachtiarica* essential oils. J Sci. 20: 111-120.
20. Mortazavi, S. A., Khanipor, E. and Hoseiniparvar, S. H. 2008. Atlas of food microbiology. Ferdowsi University Publications, Mashhad. Second edition. PP: 106-243
21. Naeini, A., Khosravi, A. R., Chitsaz, M., Shokri, H. and Kamlnejad, M. 2009. Anti-Candida albicans activity of some Iranian plants used in traditional medicine. J Mycol Med. 19: 168-172.
22. Ozturk, S. and Ercisli, S. 2007. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. Food Control. 18: 535-540.
23. Radusiene, J. and Judzentiene, A. 2008. Volatile composition of *Helichrysum arenarium* field accessions with differently coloured inflorescences. Biol. 54: 116-120.
24. Rasooli, I. 2007. Food preservation-A biopreservative approach. Global Science Books. pp: 111-136.
25. Sanchez, E., Heredia, N. and Garcia, S. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of Aspergillus flavus and *Aspergillus parasiticus* by extracts of Agave species. Int J Food Microbiol. 98: 271-279.
26. Sawilska, A. K., and Mielcarek, S. 2009. The content of flavonoids and polyphenolic acids in inflorescences of Sandy Everlasting [*Helichrysum arenarium* (L.) Moench] from natural stands and plantations. Herba Pol J. 55:118-126.
27. Shafei, M., Sharifan, A. and Aghazade Meshki, M. 2012. Composition of Essential Oil of *Ziziphora clinopodioides* and Its Antimicrobial Activity on *Kluyveromyces marxianus*. Food Technol Nutr. 9: 101-107.
28. Stanojkovic, A., Pivic, R., Jošic, D. and Stanojkovic. A. 2009. The possibility of using plant extracts in control of *Agrobacterium tumefaciens* (Schmit and Townsend) Conn. *Original scientific paper*. 44th Croatian & 4th International Symposium on Agriculture. pp: 99-103.

29. Süzgeç-Selçuk, S. and Birteksöz, A. S. 2011. Flavonoids of *Helichrysum chasmolycicum* and its antioxidant and antimicrobial activities. Afr J Bot. 77: 170-174.
30. Süzgeç, S., Meriçli, A. H., Houghton, P.J. and Çubukçu, B. 2005. Flavonoids of *Helichrysum compactum* and their antioxidant and antibacterial activity. Phytotherap. 76: 269-272.
31. Yong, F., Aisa, H. A., Mukhamatkhanova, R. F., Shamyanov, I. D. and Levkovich, M. G. 2011. New flavanone and other constituents of *Helichrysum arenarium* indigenous to china. Chem Nat Compd. 46: 872-875.

Comment [z1]: دو ستون مساوی

Study of Antifungal activity of *Helichrysum arenarium* essential oil on growth of *Candida albicans* and *Saccharomyces cereviciae*

Hediyeh Davoudi Moghadam[1*], Ali Mohamadi Sani[1], Masoomeh Mehraban Sangatash[2]

1. Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

2. Food Science and Technology Research Institute, ACECR, Mashhad, Iran.

[*]**Corresponding Author:** *Hediyeh.davoudi@gmail.com*

Abstract

Helichrysum arenarium L. is a perennial herbaceous plant that belongs to asteraceae family and traditionally used to treat various diseases in many countries. In this study, the essential oil from the aerial parts of the *H. arenarium* L. was extracted with hydro-distillation using a clevenger approach and then its antimicrobial effects was studied on the growth of two yeasts species, *Candida albicans* and *Saccharomyces cereviciae*, using micro-dilution method at ten different concentrations. The results of this study indicated that the essential oil of *H. arenarium* had significant effects on reducing and eliminating tested yeasts ($P< 0.05$) but *C. albicans* with MIC=195.31 and MFC=3125 µg/ml indicated more resistant than *S. cereviciae* so that growth of *S. cereviciae* in all concentrations was lower than that of the *C. albicans.* The results revealed that the essential oil of *H. arenarium* had a significant anti yeast activity ($P<0.05$); therefore, it can be used as an antifungal agent in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: *Helichrysum arenarium*, Essential oil, MIC, yeast.