

مطالعه اثرات ضد قارچی اسانس گل بی مرگ (*Helichrysum arenarium* L.) بر رشد کاندیدا

آلبیکنز و ساکارومایسز سرویسیه

هدیه داودی مقدم^{۱*}، علی محمدی ثانی^۲، معصومه مهربان سنگ آتش^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۳. گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی، مشهد، ایران.

*نویسنده مسئول: Hedyeh.davoudi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۵

چکیده

گل بی مرگ یک گیاه علفی چندساله، متعلق به خانواده آستراسه است که در بسیاری از کشورها جهت درمان سنتی بسیاری از بیماری‌ها از آن استفاده می‌شود. در این مطالعه، اسانس بخش‌های 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 میکرودايلوشن و در ده غلظت متفاوت بررسی شد. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که اسانس گل بی مرگ تاثیر قابل توجهی در کاهش و حذف مخمرهای مورد بررسی دارد. اگرچه کاندیدا/آلبیکنز با حداقل غلظت بازدارندگی ۱۹۵/۳۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۳۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مقاومت بیشتری نسبت به ساکارومایسز سرویسیه نشان داد، به طوری که میزان رشد ساکارومایسز سرویسیه در تمام غلظت‌ها کم‌تر از کاندیدا/آلبیکنز بود. نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس گل بی مرگ اثر ضد مخمری قابل توجهی دارد. بنابراین می‌توان از این گیاه به عنوان یک عامل ضد قارچ (ضد مخمری) در صنایع غذایی و دارویی استفاده نمود.

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

مقدمه

که برای انسان بیماری‌زا می‌باشند. مهم‌ترین آن‌ها کاندیدا/آلبیکنز، از شایع‌ترین قارچ‌های بیماری‌زا است و در انسان به شکل‌های مختلف ایجاد برفک می‌کند که می‌توان به برفک مخاط عضلانی، برفک جلدی، برفک نای و مجاری ادراری و برفک ریوی که خطرناک‌ترین فرم بیماری است، اشاره کرد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۶). سلول‌های مخمر جنس ساکارومایسز از نظر ظاهری به شکل بیضوی، کروی و یا به صورت کشیده و مستطیلی که در انتها گرد می‌شوند، دیده می‌شوند. تا کنون ۴۰ گونه مختلف از این جنس شناسایی شده است که همگی گلوکز را به خوبی و به سرعت تخمیر می‌نمایند، اما قندهای دیگر را بر حسب گونه به صورت متفاوتی تخمیر می‌کنند (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۶). ساکارومایسز سرویسیه معروف‌ترین گونه این جنس است که رشد کنترل نشده این مخمر در انبهارها باعث تخمیر محصول و افزایش ضایعات می‌شود. امروزه به منظور کاهش یا حذف افزودنی‌های سنتزی شیمیایی در

بیماری‌های با منشأ قارچی در زمره شناخته شده‌ترین بیماری‌هایی هستند که از گذشته تا به حال همواره گریبان‌گیر انسان بوده‌اند و به همین منظور، تلاش‌های زیادی برای شناخت، کنترل و درمان این عوامل بیماری‌زا صورت گرفته است (محمدپور و همکاران، ۱۳۸۹). در این میان، قارچ‌ها و مخمرها علاوه بر این که عامل ایجاد بسیاری از بیماری‌ها و مسمومیت‌های غذایی هستند، به عنوان عوامل موثر در فساد 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 برگزیده مخمرهای کروی، بیضوی و یا مستطیلی شکل است که معمولاً از طریق جوانه زدن در جهات مختلف، تکثیر می‌یابد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۶) و قادر به فساد مواد غذایی حاوی اسید یا نمک زیاد می‌باشد (ویلیام و همکاران، ۱۳۵۸). در بین گونه‌های مختلف جنس کاندیدا، حداقل ۷ گونه مختلف وجود دارد

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 به‌طور قابل ملاحظه‌ای نقش بازدارندگی بر باکتری مذکور دارد (Stanojkovic et al., 2009). نتایج بررسی دیگری نشان داد که عصاره متانولی گل بی‌مرگ می‌تواند از رشد *اشریشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* جلوگیری کند، در حالی که تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر *باسیلوس سوبتیلیس* مشاهده نشد (Albayrak et al., 2010a). در مطالعه دیگری، اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی دو زیرگونه گل بی‌مرگ بر *باسیلوس سرئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده شد، اما در مورد باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس* و *اشریشیا کلی* و هم‌چنین مخمرهای *کاندیدا آلبیکنز* و *ساکارومایسز سرویسیه* هیچ گونه فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی مشخص نشده است (Albayrak et al., 2010b). محققین هم‌چنین با بررسی عصاره اتانولی و عصاره پترولیم اتر گیاه گل بی‌مرگ نشان دادند که عصاره این گیاه، خاصیت ضدباکتریایی علیه *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسیتوزنز* دارد، اما بر باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* فاقد اثر است (Aslan et al., 2007). نتایج مطالعه دیگری نشان داد که عصاره اتانول اتیل استات گونه گیاهی *هلیچریسوم جاسمولیسیکوم*^۲ خاصیت ضدباکتریایی زیادی در مقابل *سودوموناس آئروژینوزا* دارد در حالی که عصاره پترولیم اتر ۶۰ درصد، اتانول کلروفرم و ۳ و ۵ دی‌هیدروکسی-۶ و ۷ و ۸ تری متوکسی فلاون خاصیت ضد قارچی بالایی نسبت به *کاندیدا آلبیکنز* نشان می‌دهد (Süzgeç-Selçuk and Birteksöz, 2011). هم‌چنین خواص ضد قارچی و ضد باکتریایی عصاره اتانول کلروفرم و اتانول اتیل استات *هلیچریسوم کامپکتوم* در سال ۲۰۰۵ به اثبات رسیده است (Süzgeç et al., 2005). هدف از این تحقیق تعیین

غذا، از جمله مواد نگهدارنده و تمایل مصرف‌کنندگان به غذاهای طبیعی و بدون نگهدارنده، تکنولوژی جدید به‌سمت استفاده از منابع طبیعی از جمله اسانس‌ها و عصاره‌ها به‌عنوان نگهدارنده‌های غذایی گرایش پیدا کرده است (Bluma et al., 2008). گل بی‌مرگ با نام علمی *Helichrysum arenarium* یک گیاه علفی چند ساله با ارتفاع ۴۰-۱۵ سانتی‌متر، ماه‌های خرداد تا مرداد به گل می‌نشیند (Eshbakova and Aisa, 2009) و به خانواده گل ستاره‌ای (Asteraceae) تعلق دارد (Eroglu et al., 2010). این گیاه به‌صورت وحشی در بسیاری از مناطق جهان از جمله اروپا، غرب سبیری و آسیای مرکزی رشد می‌کند (Yong et al., 2011; Eshbakova and Aisa, 2009). گیاه گل بی‌مرگ دارای گل‌هایی به رنگ‌های مختلف از جمله زرد تا نارنجی مایل به قرمز یا حتی قهوه‌ای می‌باشد (Radusiene and Judzentiene, 2008). این گل‌ها منبع گیاهی با ارزشی می‌باشند که از زمان قرون وسطی شناخته شده‌اند و در داروها و لوازم آرایشی استفاده می‌شوند (Sawilska and Mielcarek, 2009). از کاربردهای این گیاه می‌توان به استفاده به‌عنوان چای گیاهی در درمان سنگ کلیه، اختلالات ادراری، دل‌درد، 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 اسید معده (Albayrak et al., 2010b) اشاره کرد. هم‌چنین این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشد (Yong et al., 2011). تحقیقات زیادی در ارتباط با خاصیت ضدباکتریایی عصاره گونه‌های مختلف گیاه گل بی‌مرگ به اثبات رسیده است (Albayrak et al., 2010ab; Aslan et al., 2007) اما اطلاعات اندکی در زمینه خواص ضدقارچی و ضدخمیری اسانس گل بی‌مرگ در دسترس می‌باشد. در تحقیقی به‌منظور تعیین قابلیت استفاده عصاره گیاهان در کنترل بیولوژیکی *اگروباکتریوم تیموفاسیینس*^۱ در شرایط آزمایشگاهی به بررسی خواص

1. *Agrobacterium tumefaciens*

2. *Helichrysum chasmolyticum*

مولر هینتون برات (مرک، آلمان) اضافه شد و سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر از اسانس با غلظت ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر (بالاترین غلظت اسانس مورد آزمون) حل شده در در دی متیل سولفوکسید (اپلیچم، آلمان) ۵٪ افزوده شد (Naeini et al., 2009). پس از چند مرتبه پر و خالی کردن، به منظور مخلوط شدن کامل اسانس با محیط کشت، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول توسط سمپلر برداشته و به چاهک دوم انتقال داده شد. این عمل تا آخرین چاهک به استثنای چاهک شماره ۱۱ ادامه یافت تا در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک آخر دور ریخته شد. از محلول ذخیره تهیه شده، سوسپانسیون مخمری با غلظت ۱۰۶ سلول در میلی لیتر به میزان پنج میکرولیتر به تمام میکروپلیت‌ها به استثنای چاهک شماره ۱۲ هر ردیف افزوده شد. چاهک‌های شماره ۱۱ هر ردیف به عنوان شاهد مثبت، فاقد اسانس و چاهک‌های شماره ۱۲ هر ردیف به عنوان شاهد منفی، فقط حاوی محیط کشت و اسانس می‌باشند. میکروپلیت‌ها به مدت ۱۵ ثانیه با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه در دستگاه قرائت الیزا ELX808 (بیوتک، آمریکا) شیک شدند و پس از این مدت میزان کدورت اولیه چاهک‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. سپس میکروپلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در گرم‌خانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. پس از این مدت، میزان جذب یا کدورت چاهک‌ها توسط دستگاه قرائت الیزا 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 در نظر گرفته شد (Gulluce et al., 2007; Ozturk et al., 2007; NCCLS, 2002).

تعیین حداقل غلظت کشندگی

برای مشخص نمودن حداقل غلظت کشندگی^۱، از رقت‌هایی که کدورتی در آن‌ها مشاهده نشد، کشت سطحی در محیط مولر هینتون آگار صورت گرفت، سپس

حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گیاه گل بی‌مرگ بر مخمرهای کاندیدا آلبیکنز و ساکارومایسز سرویسیه و تعیین حساس‌ترین گونه نسبت به اسانس این گیاه می‌باشد.

مواد و روش کار

گیاه و تهیه اسانس

گیاه گل بی‌مرگ (شماره هر بار یوم: ۳۸۳۹۳) از اطراف کوه‌های بینالود در فصل مناسب به مقدار مورد نیاز تهیه و جمع‌آوری شد و از نظر گیاه‌شناسی مورد تأیید پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد قرار گرفت. بخش‌های هوایی گیاه، خشک شد و اسانس آن به روش تقطیر با آب به روش کلونجر با مدل دارونامه بریتانیا به مدت ۲/۵ ساعت استخراج و جمع‌آوری گردید. اسانس جمع‌آوری شده پس از رطوبت‌زدایی به وسیله سولفات سدیم بدون آب در شیشه‌های رنگی و دربسته، در یخچال نگهداری شدند (چیت ساز و همکاران، ۱۳۸۶; Aoudou et al., 2012; Bluma et al., 2008).

تهیه سوسپانسیون مخمری

در این آزمایش از مخمرهای کاندیدا آلبیکنز ATCC10231 و ساکارومایسز سرویسیه PTCC5052 استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، مخمرها بر روی محیط کشت شیب‌دار پوتیتو دکستروز آگار، کشت خطی داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردیدند. سلول‌های مخمری با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی از سطح محیط کشت شیب‌دار شسته شدند، سپس به منظور ایجاد غلظت نهایی ۱۰^۶ سلول در میلی‌لیتر، به سوسپانسیون غلیظ، مقادیر بیشتر محلول سرم فیزیولوژی اضافه شد. غلظت و تعداد سلول‌های 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 بی‌مرگ از روش میکروبراث دایلوژن استفاده شد. ابتدا درون همه چاهک‌ها، ۹۵ میکرولیتر محیط کشت

1. Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

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 ۹۷/۶۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۷۸۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، حساسیت بیشتری نسبت به *کاندیدا آلبیکنز* در مقابل اسانس گل بی‌مرگ دارد، به طوری که میزان رشد *ساکارومایسز سرویسیه* در تمام غلظت‌ها از *کاندیدا آلبیکنز* کم‌تر بود.

نمودار ۱ نتایج اثر ده غلظت متفاوت اسانس گل بی‌مرگ بر میزان رشد مخمرهای *ساکارومایسز سرویسیه* و *کاندیدا آلبیکنز* را نشان می‌دهد.

پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند. غلظتی از اسانس که در آن هیچ مخمری رشد نکرده بود به عنوان حداقل غلظت قارچ‌کشی یا مخمرکشی تعیین شد (چیت ساز و همکاران، ۱۳۸۶; Khosravi et al., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری به منظور تجزیه و تحلیل نتایج از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. تیمارهای آزمایش شامل اسانس گل بی‌مرگ در ۱۰ غلظت متفاوت و بر روی دو میکروارگانیسم و در سه تکرار صورت گرفت. جهت تجزیه داده‌ها از نرم افزار SPSS در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. مقایسه میانگین‌های مربوطه به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

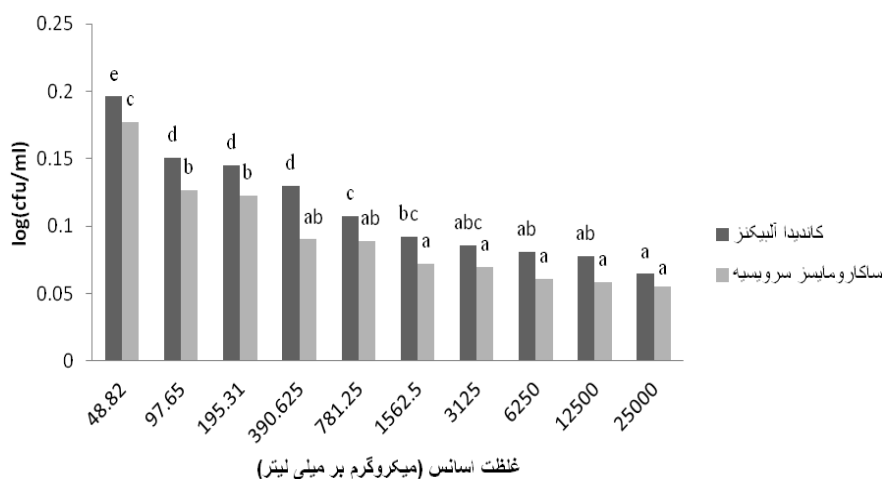
نتایج

نتایج حاصل از مطالعه حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گل بی‌مرگ بر روی مخمرهای مورد آزمون، در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱- حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس گل بی‌مرگ بر مخمرهای آزمون شده

نام مخمر و قارچ	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	MBC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>کاندیدا آلبیکنز</i>	۱۹۵/۳۱	۳۱۲۵
<i>ساکارومایسز سرویسیه</i>	۹۷/۶۵	۷۸۱/۲۵

* تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.



نمودار ۱- تاثیر اسانس گل بی‌مرگ بر میزان رشد *ساکارومایسز سرویسیه* و *کاندیدا آلبیکنز*. حروف یکسان در این نمودار بیانگر عدم تفاوت آماری معنی‌دار بین غلظت‌ها ($p < 0.05$) برای هر میکروارگانیسم بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

بحث

کلروفورم و اتانول اتیل استات هلیچریزوم کامپکتوم^۱ خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی با مقدار حداقل غلظت ممانعت از رشد، ۴۰ میکروگرم بر میلی لیتر علیه باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی، سودوموناس آئروجینوزا و کاندیدا آلبیکنز دارد (Süzgeç et al., 2005). تحقیقاتی نیز در خصوص اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس، ترینها (هیدروکربن) و ترپنوئیدهای (ترکیبات حاوی اکسیژن) موجود در گیاه هلیچریسوم ایتالیکوم انجام شده است و طبق یافته‌های گزارش شده، خاصیت ضد میکروبی اسانس و اجزای ترپنوئیدی هلیچریسوم ایتالیکوم بر استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنز بسیار قابل ملاحظه است (Mastelic et al., 2005). نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج مطالعات قبلی بر روی عصاره متانولی دو زیرگونه گل بی مرگ متفاوت بود (Albayrak et al, 2010b). ایشان گزارش کردند که عصاره متانولی این گیاه هیچ گونه اثر ضد قارچی و ضدخمیری علیه مخمرهای کاندیدا آلبیکنز و ساکارومایسز سرویسیه ندارند. اسانس‌های استخراج شده به روش‌های 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 متفاوت اند (Bakkali et al., 2008; Rasooli, 2007). مطالعات انجام شده بر روی گونه‌های مختلف هلیچریسوم در منطقه ترکیه نشان می‌دهد که این گونه‌ها غنی از فلاونوئید هستند. مقدار فلاونوئید برای واریته‌های مختلف گل بی مرگ در محدوده ۱/۹۵-۱ درصد گزارش شده است که مقدار آن کم‌تر از اکثر گونه‌های هلیچریسوم می‌باشد (Aslan et al, 2007). به‌طور کلی تأثیر گونه‌های هلیچریسوم به دلیل تأثیر فلاونوئیدهای آن است (Yong et al., 2011).

با توجه به نتایج بدست آمده، رشد هر دو گونه مخمر با افزایش غلظت اسانس گل بی مرگ کاهش می‌یابد ولی اسانس گل بی مرگ در تمام غلظت‌ها بر مخمر ساکارومایسز سرویسیه موثرتر از کاندیدا آلبیکنز است. طبق نتایج به دست آمده از جدول ۱ اسانس گل بی مرگ در غلظت‌های قابل قبولی، از رشد مخمرها جلوگیری می‌کند و اثرات بازدارندگی آن بر 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 گونه‌ای باشد که ترکیبات فلاونوئیدی که عامل اصلی ضدخمیری در گیاه گل بی مرگ هستند تأثیر کم‌تری در عملکرد آن‌ها داشته باشد. تاکنون مطالعات زیادی در زمینه خواص ضدباکتریایی اسانس و عصاره گونه‌های مختلف هلیچریزوم از جمله گل بی مرگ (Albayrak et al., 2010a; Aslan et al., 2007; Stanojkovic et al., 2009) به ثبت رسیده است اما اطلاعات کافی راجع به تأثیر ضدقارچی و ضدخمیری اسانس گل بی مرگ وجود ندارد. طبق نتایج به دست آمده، اسانس گل بی مرگ در کاهش و حذف مخمر کاندیدا آلبیکنز تأثیر به‌سزایی دارد. این نتایج با نتایج به دست آمده از مطالعات (Süzgeç-Selçuk and Birteksöz, 2011) بر عصاره هلیچریزوم چاسمولیتیکوم و هلیچریزوم کامپکتوم هم‌خوانی داشت. ایشان طی تحقیقاتی نشان دادند که عصاره اتانول اتیل استات گونه گیاهی هلیچریسوم چاسمولیتیکوم خاصیت ضدباکتریایی زیادی در مقابل سودوموناس آئروجینوزا دارد، در حالی که عصاره پترولیوم اثر- ۶۰ درصد اتانول کلروفورم و ۳ و ۵ دی هیدروکسی- ۶ و ۷ و ۸ تری متوکسی فلاون خاصیت ضد قارچی بالایی نسبت به کاندیدا آلبیکنز نشان می‌دهد (Süzgeç-Selçuk and Birteksöz, 2011). همچنین اثبات شده است که عصاره اتانول

1. *Helichrysum compactum*

منابع

۱. چیت ساز، محسن، پرگر، افسانه، ناصری، محسن، کمالی نژاد، محمد، بازرگان، مریم، منصور، صادق و انصاری، فریبا. (۱۳۸۶). ترکیب اسانس و آثار آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی و اسانس گیاه آویشن باریک (*Ziziphora clinopodiodes*: LAM) بر باکتری‌های منتخب. دانشور، دوره ۱۴، شماره ۶۸، صفحه ۲۲-۱۵.
۲. شافعی، مریم، شریفان، انوشه و آقازاده مشگی، مهزاد. (۱۳۹۰). شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس کاکوتی و بررسی اثر ضد میکروبی آن بر روی مخمر کلپورومایسس مارکسیانوس. علوم غذایی و تغذیه، سال نهم، شماره ۱، صفحه ۱۰۸-۱۰۱.
۳. محمدپور، قاسم، مجد، احمد، نژادستاری، طاهر، مهربان، صدیقه و حسین زاده کلاگر، اباصت. (۱۳۸۹). بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس گونه‌هایی از سه جنس آویشن (*Thyme*) و دو اکوتیپ کاکوتی و گونه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*). علوم پایه (دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات)، دوره ۲۰، شماره ۷۸/۱، صفحه ۱۲۰-۱۱۱.
۴. مرتضوی، سید علی، خانی پور، الهام و حسینی پور، سید هاشم. (۱۳۸۶). اطلس میکروبیولوژی مواد غذایی. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۲۴۳-۱۰۶.
۵. ویلیام، فریزیر و دنیس، وستهوف. (۱۳۵۸). میکروبیولوژی مواد غذایی. ترجمه: مرتضوی، علی، کاشانی نژاد، مهدی و ضیاءالحق، سیدحمیدرضا، چاپ اول، مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ص ۵۰-۳۸.
6. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., and Hamzaoglu, E. 2010a. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species

نارینجین^۱، نارینجین-۵-گلوکوزید^۲ (هلیچریزین^۳A و هلیچریزین B) و نارینجین-۵-دی گلوکوزید^۴ را به عنوان مهم ترین ترکیبات فلاونوئیدی گونه گل بی مرگ معرفی کرده اند (Czinner et al., 1999). با توجه به ترکیبات شیمیایی متعددی که در اسانس‌ها موجود است، فعالیت ضد میکروبی آن‌ها مشابه نبوده و هر یک جایگاه عمل متفاوتی در سلول دارند. مهم ترین ویژگی اسانس‌ها خاصیت هیدروفوبیک آن‌ها می باشد که آن‌ها را قادر می سازد در لیپیدهای موجود در غشای سلولی حل شوند و ساختار دیواره سلولی را به هم بزنند و باعث افزایش نفوذپذیری غشاء شوند، در نتیجه یون‌ها و دیگر ترکیبات سلول، به بیرون تراوش می کنند (Burt, 2004). همچنین مشخص شده است که اثر بازدارندگی برخی از اسانس‌های روغنی با قابلیت تشکیل کلسی ارتباط دارد. تفاوت در حساسیت مخمرهای مختلف به اسانس‌ها، علاوه بر نوع مخمر و ترکیب شیمیایی اسانس، به مرحله رشد سلول نیز وابسته است. به گونه‌ای که سلول‌ها در مرحله تقسیم سلولی نسبت به اثر ضد میکروبی اسانس بسیار حساس تر هستند و نفوذ اسانس در این مرحله بیشتر است (شافعی و همکاران، ۱۳۹۰). با توجه به تأکید سازمان بهداشت جهانی (WHO) بر استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و تمایل مصرف کنندگان به غذاهای طبیعی و بدون نگهدارنده و نتایج به دست 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 مصنوعی نیز کاهش می یابد و سلامت مصرف کننده تأمین می شود.

1 Naringenin
2 Naringenin-5-glucoside
3 Helichrysin A
4 Naringenin-5-diglucoiside

- collected from Turkey. Food Chem. 119: 114-122.
7. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., and Budak, U. 2010b. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. Turk J Biol. 34: 463-473.
 8. 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.
 9. 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.
 10. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. Food Chem Toxicol. 46: 446–475.
 11. Bluma, R. V., and Etcheverry, M. G. 2008. Application of essential oil in maize grain: Impacted of aspergillus section flavi growth parameter and aflatoxin accumulation. J Food Microbiol. 25: 324-334.
 12. Burt, S. A. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int J Food Microbiol. 94: 223-253.
 13. Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS). 2002. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Second Edition. 22: 3-9.
 14. Czinner, E., Kery, A., Hagymasi, K., Blazovics, A., Lugasi, A., Szoke, E., and Lemberkovics, E. 1999. Biologically active compounds of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 24: 309-313.
 15. 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.
 16. 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.
 17. Eshbakova, K.A., and Aisa, H.A. 2009. Components of *Helichrysum arenarium*. Chem Nat Compd. 6: 46-51.
 18. 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.
 19. Khosravi, A.R., Minoeeianhaghighi, 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 fumigatus* and *Aspergillus flavus*. Braz J Microbiol. 42: 216-224.
 20. 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.
 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. Biologija. 54: 116-120.
24. Rasooli, I. 2007. Food preservation-A biopreservative approach. Global Science Books, p 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*) from natural stands and plantations. Herba Pol J. 55: 118-126.
27. 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. Opatija, Croatia.
28. Süzgeç-Selçuk, S., and Birteksöz, A. S. 2011. Flavonoids of *Helichrysum chasmolycicum* and its antioxidant and antimicrobial activities. Afr J Bot. 77: 170-174.
29. 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.
30. Yong, F., Aisa, H. A., Mukhamatkhanova, R. F., Shamyayov, I. D., and Levkovich, M. G. 2011. New flavanone and other constituents of *Helichrysum arenarium* indigenous to china. Chem Nat Compd. 46: 872-875.