

# Evaluation of Inhibitory Effect of Three Phenolic Compounds; Linalool, Menthol and Eugenol on the Yeasts as Food Spoiling Agents

Abbaszadeh S<sup>1</sup>. *PhD*, Sharifzadeh A<sup>2</sup>. *PhD*, Mahmoodzadeh Hosseini H\*. *PhD*

\*Applied Microbiology Research Center, Systems Biology and Poisonings Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>1</sup>Health Research Center, Life style institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

## Abstract

**Aims:** Although the use of yeasts as starters is common in the food industry, it can lead to product corruption and poor quality of food in some cases. Current study was assessed the anti-yeast impacts of three phenolic compounds; linalool, menthol and eugenol against 7 yeast species contaminating food products (*Candida albicans*, *Candida kefir*, *Candida famata*, *Rhodotorula glutinis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*).

**Materials & Methods:** The anti-yeast impacts of three mentioned compounds and the minimum inhibitory concentration (MIC) were investigated using disk diffusion method and micro-dilution method, respectively.

**Findings:** The findings showed that all three compounds had anti-yeast effects on the tested isolates. Eugenol had the anti-yeast properties at the lower concentration (50µg/ml) in comparison with the other two compounds. Furthermore, the MIC of linalool, menthol and eugenol were *Rhodotorula glutinis* (58.3µg/ml), *Saccharomyces cerevisiae* (58.3µg/ml) and *Candida albicans* (50µg/ml), respectively.

**Conclusion:** In conclusion, it could be stated that the natural phenolic compounds; menthol, linalool and eugenol, have toxic and anti-yeast effects and are able to prevent the growth of tested yeast contaminating foods at the lower concentrations.

## Keywords:

Linalool: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/67018584>];

Menthol: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68008610>];

Eugenol: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/6800505>];

Food Products

Yeast: [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68015003>];

---

\*Corresponding Author

Tel: +98 21 82482592

Fax: +98 21 82482592

Address: Applied Microbiology Research Center, systems biology and poisonings institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, , Tehran, Iran. P.O. Box 19395-54872.

Received: 2018/Oct/08

Accepted: 2019/ Mar /16

ePublished: 2019/ May /16

## بررسی اثر مهاری سه ترکیب فنلی لینالول، منتول و اوژنول بر مخمرهای عامل فساد در مواد غذایی

سپیده عباس زاده PhD

مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

عقیل شریف زاده PhD

گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

\* حمیده محمودزاده حسینی PhD

مرکز تحقیقات میکروبیولوژی کاربردی، پژوهشکده سیستم بیولوژی و مسمومیت‌ها، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران.

### چکیده

**اهداف:** اگرچه استفاده از مخمرها به عنوان آغازگر در صنایع غذایی متداول است اما در بعضی موارد می‌تواند باعث فساد محصول و کاهش کیفیت غذا شوند. مطالعه حاضر، به بررسی اثرات ضد مخمری سه ترکیب فنلی لینالول، منتول و اوژنول بر علیه ۷ گونه مخمری آلوده کننده محصولات غذایی (کاندیدا آلبیکانس، کاندیدا کفیر، کاندیدا فاماتا، رودتورولا گلو تینیس، کلایورومایسز فراجیلیس، دباریومایسز هانسینی و ساکارومایسز سروویزه) پرداخته است.

**مواد و روش‌ها:** اثرات ضد مخمری سه ترکیب مذکور و تعیین حداقل غلظت مهاری و کشندگی به ترتیب توسط روش‌های انتشار دیسک و میکروداپلوشن انجام شد.

**یافته‌ها:** یافته‌ها نشان داد که هر سه ترکیب مورد مطالعه دارای اثرات ضد مخمری موثر بر روی ایزوله‌های مورد آزمایش بودند. اوژنول در غلظت کمتری (۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) در مقایسه با دو ترکیب مورد مطالعه دیگر دارای خاصیت ضد مخمری هستند. به علاوه، حداقل غلظت مهاری برای لینالول، منتول و اوژنول به ترتیب در سوبه‌های رودتورولا گلو تینیس (۵۸/۳ میکروگرم بر میلی لیتر)، ساکارومایسز سروویزه (۵۸/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) و کاندیدا آلبیکانس (۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر) بود.

**نتیجه گیری:** در مجموع، می‌توان عنوان کرد ترکیبات فنولی طبیعی منتول، لینالول و اوژنول دارای تاثیرات سمی و ضد مخمری هستند که قادرند در غلظت‌های کم مانع رشد تمامی مخمرهای آلوده کننده مواد غذایی مورد مطالعه شوند.

**واژگان کلیدی:** لینالول، منتول، اوژنول، محصولات غذایی، مخمر.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵

\*نویسنده مسئول: hosseini361@yahoo.com

### مقدمه

در صنایع غذایی از برخی گونه‌های مخمرها به عنوان آغازگر استفاده می‌گردد. اگرچه مخمرها به ندرت می‌توانند باعث شیوع عفونت و مسمومیت غذایی شوند، اما برخی از گونه‌های مخمری در فساد محصول نقش دارند و کیفیت ماده غذایی را کاهش می‌دهند<sup>[1]</sup>. به علاوه، برخی از گونه‌ها در ایجاد آلرژی به خصوص آسم مهم بوده و سموم قارچی تولید می‌کنند که سرطاناتزا می‌باشد. از طرفی استفاده این محصولات توسط افراد با نقص سیستم ایمنی می‌تواند بیماری ایجاد کند از این رو توجه

فصل نامه علمی پژوهشی افق دانش

به آلودگی‌های محصولات غذایی و به حداقل رساندن آن حائز اهمیت است<sup>[2]</sup>. فرآیند نامناسب در مراحل جمع آوری، ذخیره، انتقال و فروش محصول عامل خطر برای رشد عوامل مخمری و تولید سموم قارچی در محصولات غذایی می‌باشد<sup>[3]</sup>. استفاده از مواد شیمیایی در محصولات غذایی به منظور تقلیل یا حذف خطر آلودگی‌های مخمری و قارچی در صنعت به صورت معمول انجام می‌شود. افزودنی‌های شیمیایی مرسوم همچون نمک، نیتريت‌ها، سولفیت‌ها و اسید بنزوئیک و بنزوات در تولید نوشیدنی‌ها، فرآورده‌های میوه‌ای و مارگارین جهت جلوگیری از رشد قارچ‌ها و مخمرها استفاده می‌شود<sup>[4]</sup>. اسیدهای آلی همچون اسید پرپیونیک، پرپیونات، اسید سوربیک، سوربات، اسید استیک و استات جهت محصولات نانوائی و شیرینی پزی، چاشنی‌ها و فرآورده‌های لبنی به طور معمول مور استفاده قرار می‌گیرند<sup>[2]</sup>. با این وجود، مصرف این مواد به علل اقتصادی و مسائل ایمنی غذایی و محیط زیستی مورد بحث می‌باشد<sup>[3]</sup>. کاربرد مواد شیمیایی سنتتیک جهت کنترل فساد مواد غذایی به علت عوارض سمی آنها برای مصارف غذای انسان محدود می‌باشد، از این رو یافتن مواد جایگزین ضروری است. محافظت کننده‌های زیستی با قابلیت مهار رشد قارچ‌ها و مخمرها می‌توانند جایگزین‌های مناسبی برای مواد شیمیایی ضد قارچی باشند. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی روغن‌های آروماتیک هستند که می‌توانند به عنوان یک محافظت کننده زیست سازگار در صنایع غذایی استفاده شوند. امروزه خواص ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد سموم و آفت کشی بسیاری از این اسانس‌های روغنی تأیید شده است که این خواص به حضور و عملکرد مواد موثره این اسانس‌ها مرتبط می‌باشد. ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌های روغنی مهمترین ترکیبات با خاصیت ضد میکروبی می‌باشند که از آن جمله می‌توان به تیمول، منتول، اوژنول، کارواکرول و لینالول اشاره نمود<sup>[5]</sup>. لینالول یک الکل ترپنی با خاصیت آنتی باکتریال وسیع الطیف می‌باشد<sup>[6,7]</sup>. اوژنول ترکیب فنولی دیگری است که در روغن گل میخک، برگ خلیج و برگ دارچین وجود داشته و می‌تواند به عنوان یک داروی ضد قارچ مطرح باشد<sup>[8]</sup>. اوژنول در ابتدا به عنوان ماده معطر در مواد غذایی و آرایشی استفاده می‌شد. لینالول و اوژنول دارای ویژگی‌های بیولوژیک متعددی همچون خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرماخوردگی، ضد اسپاسم و ضد انگل می‌باشند. همچنین در دندانپزشکی به عنوان عوامل ضد عفونی کننده موثر استفاده می‌شوند<sup>[9-12]</sup>. منتول و مشتقات اتری و استری آن ترکیبات منوترپنوئیدی طبیعی هستند که خواص ضد قارچی آنها بر علیه آسپرژیلوس نایجر (*Aspergillus niger*)، آسپرژیلوس اوریزائی (*Aspergillus oryzae*)، کاندیدا کروزویی (*Candida krusei*) و فوزاریوم اکسیسپروم (*Fusarium oxysporum*) گزارش شده است<sup>[13,14]</sup>. مطالعات انجام شده بر مکانیسم عمل اوژنول و آنالوگ‌های آن تاثیر ضد کاندیدائی این ترکیب فنولی را از طریق تخریب پوشش سلول‌های قارچی نشان دادند<sup>[15]</sup>.

مطالعه حاضر، به بررسی اثرات ضد مخمری سه ترکیب فنلی لینالول، منتول و اوژنول بر علیه ۷ گونه مخمری آلوده کننده محصولات غذایی کاندیدا آلبیکانس (*Candida albicans*)، کاندیدا کفیر (*Candida kefir*)، کاندیدا فاماتا (*Candida famata*)، رودتورولا گلو تینیس

*glutinis*، کلاپورومایسز فراجیلیس (*Kluyveromyces fragilis*)، دباریومایسز هانسینی (*Debaryomyces hansenii*) و ساکارومایسز سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) پرداخته است.

## مواد و روش‌ها

### سویه‌های مخمر

سویه‌های مخمر بررسی شده در این مطالعه شامل کاندیدا آلیکانس ATCC ۹۰۰۲۹، کاندیدا کفیر ATCC ۴۲۲۶۵، کاندیدا فاماتا ATCC ۳۶۲۳۹، رودتورولا گلوآینیس ATCC ۹۰۷۸۱، کلاپورومایسز فراجیلیس ATCC ۲۸۲۴۴، دباریومایسز هانسینی ATCC ۲۰۱۸۴۹ و ساکارومایسز سرویزیه ATCC ۹۷۶۳ بودند که از کلکسیون قارچ مرکز تحقیقات قارچ شناسی دانشگاه تهران تهیه گردید.

### آنالیز اثرات ضد مخمری

به منظور بررسی اثرات ضد مخمری سه ترکیب لینالول (Sigma-Aldrich Crop., St. Louis, MO, USA, L۲۶۰۲)، منتول (Sigma-Aldrich Crop., St. Louis, MO, USA, W۲۶۶۵۹۰) و اوژنول (Sigma-Aldrich Crop., St. Louis, MO, USA E۵۱۷۹۱) از روش‌های انتشار دیسک، تعیین حداقل غلظت مهار کننده (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC) استفاده شد.

در روش انتشار دیسک، ابتدا سوسپانسیون مخمری از مخمرهای مورد مطالعه با جذب نوری ۰/۱ تهیه شده و سپس با استفاده از سواب، در سطح پلیتهای حاوی محیط مولر هینتون (مرک، آلمان) تلقیح شد. بعد از خشک شدن سطح پلیت، دیسکهای کاغذی ۶ میلیمتری حاوی ۲۰ میکرولیتر از لینالول، منتول و اوژنول به پلیت منتقل شده و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید و بعد از گرمخانه گذاری قطراله مهار رشد مخمرها اندازه گیری شد.

به منظور تعیین حداقل غلظت مهار کننده و حداقل غلظت کشندگی از روش میکروداپلوشن استفاده شد. محلول ذخیره لینالول، منتول و اوژنول حاوی ۱ میلی گرم در دی متیل سولفو کساید ۵٪ تهیه شد و سپس با استفاده از محیط کشت RPMI ۱۶۴۰ حاوی ال-گلوتامین فاقد بیکربنات سدیم (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA) رقیق شد. PH محیط کشت مذکور توسط ۰/۱۶۵ (USA) بافر MOPS در ۷ تنظیم شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول‌های رقیق شده به هر خانه از پلیت میکروتیتر ۹۶ خانه منتقل گردید. غلظت‌های نهایی مورد مطالعه برای هر سه ترکیب موثره ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخمری به هر خانه از پلیت ۹۶ خانه اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. نمونه‌های کنترل مثبت حاوی محیط کشت RPMI و سوسپانسیون مخمری و نمونه‌های کنترل منفی حاوی محیط کشت مایع و محلول لینالول، منتول و اوژنول همراه با نمونه‌های آزمایش مورد بررسی قرار گرفت. کدورت یا عدم کدورت در چاهک‌ها به صورت چشمی مشاهده شد و اولین چاهک بدون کدورت به عنوان حداقل غلظت مهارتی ثبت گردید. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی،

۱۰۰ میکرولیتر از هر خانه ای که رشد قابل مشاهده ای نداشت بر روی پلیت آگار ساپرو دکستروز آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. کمترین غلظتی که اجازه رشد مخمر را نمی‌دهد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد.

### آنالیز آماری

نتایج بدست آمده از آزمایشات با آزمون One-Way ANOVA توسط نرم افزار SPSS ۱۴ مورد بررسی قرار گرفت. *P value* کمتر از ۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنادار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در مطالعه حاضر اثر مهاری سه ترکیب فنولی لینالول، منتول و اوژنول بر ۷ مخمر آلوده کننده مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، قطراله عدم رشد پس از استفاده از لینالول در بازه ۶/۳۳ تا ۷/۳۳ میلی متر بود. کمترین قطراله عدم رشد برای دباریومایسز هانسینی و بیشترین قطراله عدم رشد برای رودتورولا گلوآینیس مشاهده شد. اختلاف قطراله عدم رشد در دو مخمر مذکور از نظر آماری معنادار بود ( $p = ۰/۰۲۸$ ) (جدول ۱). در آزمایش انجام شده با استفاده از منتول قطراله عدم رشد در بازه ۶/۸۳ تا ۷/۳۳ میلیمتر بود که تفاوت معناداری در بین مخمرهای مورد مطالعه دیده نشد. در آزمایش انتشار دیسک با استفاده از اوژنول بیشترین قطراله عدم رشد مربوط به رودتورولا گلوآینیس (۸/۵۰ میلیمتر) بود که در مقایسه با کاندیدا کفیر (۷/۱۷ میلیمتر)، کلاپورومایسز فراجیلیس (۷ میلیمتر) و دباریومایسز هانسینی (۷/۱۷ میلیمتر) تفاوت معناداری را نشان داد ( $p \geq ۰/۰۵$ ) (جدول ۱).

جدول ۱) قطراله عدم رشد چند مخمر آلوده کننده مواد غذایی در مجاورت سه ترکیب لینالول، منتول و اوژنول به روش انتشار در دیسک

ترکیب مخمر	لینالول (قطر هاله (میلی متر))	منتول (قطر هاله (میلی متر))	اوژنول (قطر هاله (میلی متر))
کاندیدا آلیکانس	۶/۸۳±۰/۱۹	۷/۳۳±۰/۱۹	۷/۶۷±۰/۲۹
کاندیدا کفیر	۶/۶۷±۰/۱۹	۷/۰±۰/۵۰	۷/۱۷±۰/۲۹
کاندیدا فاماتا	۷/۱۷±۰/۱۹	۶/۸۳±۰/۱۹	۷/۸۳±۰/۱۹
رودتورولا گلوآینیس	۷/۳۳±۰/۱۹	۷/۶۷±۰/۱۹	۸/۵۰±۰/۵۰
کلاپورومایسز فراجیلیس	۶/۵۰±۰/۵۰	۷/۰±۰/۵۰	۷/۰±۰/۰۰
دباریومایسز هانسینی	۶/۳۳±۰/۱۹	۶/۸۳±۰/۱۹	۷/۱۷±۰/۲۹
ساکارومایسز سرویزیه	۷/۱۷±۰/۱۹	۷/۰±۰/۵۰	۷/۸۳±۰/۵۸

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، حداقل غلظت مهار کننده برای لینالول در بازه ۵۸/۳ تا ۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر بود. رودتورولا گلوآینیس حساسترین مخمر و کلاپورومایسز فراجیلیس مقاومترین مخمر به لینالول در این مطالعه بودند. یافته‌ها نشان دادند که لینالول در غلظت‌های بالاتری باعث مهار رشد کلاپورومایسز فراجیلیس (۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) در مقایسه با کاندیدا فاماتا (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر)، رودتورولا گلوآینیس (۵۸/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) و ساکارومایسز

سرئویزه (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) می شود ( $p < 0.05$ )

معناداری بیشتر از ساکارومایسز سرئویزه (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر)، رودتورولا گلویتینیس (۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر) و کاندیدیا فاماتا (۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر) تعیین شد ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲) اثرات ضد مخمری لینالول، منتول و اوژنول بر ضد چند مخمر مهم آلوده کننده مواد غذایی

ترکیب مخمر	لینالول		منتول		اوژنول	
	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)
کاندیدیا آلیکنس	۹۱/۷±۱۴/۴	۱۱۶/۷±۲۸/۹	۷۵/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰	۵۰/±۰/۰	۷۵/±۰/۰
کاندیدیا کفیر	۹۱/۷±۱۴/۴	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰
کاندیدیا فاماتا	۶۶/۷±۱۴/۴	۷۵/±۰/۰	۶۶/۷±۱۴/۴	۵۸/۳±۱۴/۴	۵۸/۳±۱۴/۴	۵۸/۳±۱۴/۴
رودتورولا گلویتینیس	۵۸/۳±۱۴/۴	۶۶/۷±۱۴/۴	۶۶/۷±۱۴/۴	۱۱۶/۷±۲۸/۹	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰
کلاپورومایسز فراجیلیس	۱۱۶/۷±۲۸/۹	۱۳۳/۳±۲۸/۹	۹۱/۷±۱۴/۴	۱۰۰/±۰/۰	۹۱/۷±۱۴/۴	۹۱/۷±۱۴/۴
دباریومایسز هانسنی	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰	۱۱۶/۷±۲۸/۹	۱۳۳/۳±۲۸/۹	۱۰۰/±۰/۰	۱۰۰/±۰/۰
ساکارومایسز سرئویزه	۶۶/۷±۱۴/۴	۷۵/±۰/۰	۶۶/۷±۱۴/۴	۵۸/۳±۱۴/۴	۵۸/۳±۱۴/۴	۵۸/۳±۱۴/۴

حداقل غلظت کشندگی اوژنول برای کاندیدیا فاماتا (۵۸/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) به طور معناداری کمتر از کاندیدیا کفیر (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، رودتورولا گلویتینیس (۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر)، کلاپورومایسز فراجیلیس (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) و دباریومایسز هانسنی (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) تعیین شد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲). به علاوه، حداقل غلظت کشندگی اوژنول برای رودتورولا گلویتینیس به طور معناداری بیشتر از ساکارومایسز سرئویزه (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) و کاندیدیا آلیکنس (۵۸/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) بود ( $p < 0.05$ ).

### بحث

امروزه، روغن‌ها و اسانس‌های گیاهی متعددی جهت مصارف ضد قارچی و مخمری در صنایع دارویی و غذایی به کار می‌رود. این روغن‌ها و عصاره‌ها حاوی متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات با پایه ساختارهای ایزوپرنی هستند که تحت عنوان ترپن‌ها شناخته می‌شوند. مشتقات ایزوپرن‌ها که در ترکیبات گیاهی وجود دارد شامل دی ترپن‌ها، تری ترپن‌ها و تترا ترپن‌ها هستند که به صورت همی ترپن‌ها و سسکوئی ترپن‌ها وجود دارند<sup>[16]</sup>. ساختار مولکولی ترپن‌ها دارای ویژگی هیدروفوب بوده و این مولکول‌ها قادرند بر روی ساختار چربی دوست غشاء پلاسمائی میکرو ارگانیسم‌ها رسوب کنند. این امر باعث افزایش نفوذپذیری غشاء و متعاقب آن از دست دادن الکترولیت‌های ضروری برای حیات سلول می‌گردد<sup>[17]</sup>. مکانیسم عمل دیگر ضد میکروبی ترکیبات ترپنی، مانع از جوانه زدن اسپور، تکثیر قارچ و تنفس سلولی می‌باشد<sup>[18]</sup>. در این مطالعه، اثر ضد مخمری سه ترکیب اوژنول، منتول، لینالول بر روی مهار رشد چند مخمر مهم آلوده کننده مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

اوژنول یک ترکیب فنیل پروین بوده و اثرات ضد میکروبی این ترکیب به علت حضور گروه‌های هیدروکسیل آزاد، پیوند دوگانه در موقعیت‌های آلفا و بتا زنجیره جانبی و گروه متیل واقع در موقعیت گاما آن می‌باشد<sup>[19]</sup>. در مطالعه انجام شده توسط *El-Baky* و همکاران، حداقل غلظت مهاری رشد و اوژنول و لینالول برای کاندیدیا آلیکنس برابر با ۲۵ میلی مولار و حداقل غلظت کشندگی به ترتیب برابر با ۲۵ و ۵۰ میلی مولار گزارش شد<sup>[20]</sup>. به علاوه، مطالعات متعددی در گذشته فعالیت و اثرات ضد قارچی اوژنول را بر ضد مخمرها و قارچ‌های رشته ای همچون گونه‌های قارچی آلوده کننده مواد غذایی و قارچ‌های بیماری‌زای انسانی گزارش کرده‌اند<sup>[21,22]</sup>. در مطالعه حاضر، یافته‌ها نشان داد که ترکیب فنولی اوژنول در غلظت‌های کمتری در مقایسه با دو ترکیب مورد مطالعه، منتول و لینالول، دارای خاصیت ضد مخمری هستند و در با غلظت ۵۰ تا ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر باعث مهار رشد مخمرهای آلوده کننده مواد غذایی بوده و در همین بازه غلظت اثر کشندگی بر روی سویه‌های مورد مطالعه داشت.

به علاوه، حداقل غلظت مهار کننده برای منتول در بازه ۵۸/۳ تا ۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. ساکارومایسز سرئویزه حساسترین مخمر و دباریومایسز هانسنی مقاومترین مخمر به منتول در این مطالعه بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که منتول در غلظت‌های بالاتری باعث مهار رشد و دباریومایسز هانسنی (۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) در مقایسه با کاندیدیا فاماتا (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر)، رودتورولا گلویتینیس (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) و ساکارومایسز سرئویزه (۵۸/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) می‌شود ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲).

یافته‌های حاصل از آزمایشات نشان دادند که ترکیب فنولی اوژنول در غلظت‌های کمتری در مقایسه با دو ترکیب مورد مطالعه دیگر دارای خاصیت ضد مخمری هستند به طوری که حداقل غلظت مهار کننده برای اوژنول ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد که از آزمایش بر روی کاندیدیا آلیکنس بدست آمد. مقاومترین مخمرها به این ترکیب عبارتند از کاندیدیا کفیر، رودتورولا گلویتینیس و دباریومایسز هانسنی (۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر) بود. حداقل غلظت مهار کننده اوژنول بر روی کاندیدیا آلیکنس، ساکارومایسز سرئویزه و کاندیدیا فاماتا به طور معناداری کمتر از کاندیدیا کفیر، رودتورولا گلویتینیس، کلاپورومایسز فراجیلیس و دباریومایسز هانسنی تعیین شد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲).

حداقل غلظت کشندگی سه ترکیب فنولی لینالول، منتول و اوژنول به ترتیب در بازه ۶۶/۷ تا ۱۳۳/۳، ۶۶/۷ تا ۱۳۳/۳ و ۵۸/۳ تا ۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر تعیین شد. حداقل غلظت کشندگی لینالول برای رودتورولا گلویتینیس (۶۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر)، ساکارومایسز سرئویزه (۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر) و کاندیدیا فاماتا (۷۵ میکروگرم بر میلی لیتر) کمتر از کلاپورومایسز فراجیلیس (۱۳۳/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) می‌باشد ( $p < 0.05$ ). به علاوه حداقل غلظت کشندگی لینالول برای رودتورولا گلویتینیس کمتر از کاندیدیا آلیکنس (۱۱۶/۷ میکروگرم بر میلی لیتر) بود ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲).

به علاوه، حداقل غلظت کشندگی منتول برای دباریومایسز هانسنی (۱۳۳/۳ میکروگرم بر میلی لیتر) به طور

**منابع مالی:** هزینه‌های این مطالعه به صورت شخصی تامین شده است.

**سهم نویسندگان:** سپیده عباس زاده (نویسنده اول، ۳۵٪)، عقیل شریف زاده (نویسنده دوم، ۳۵٪) و حمیده محمودزاده حسینی (نویسنده مسئول، ۳۰٪).

#### منابع

1- Boekhout T, Robert, V. Yeasts in Food: Beneficial and Detrimental Aspects. Hamburg, Germany.: B.Behr's Verlag GmbH & Co.; 2003.

2- Ho PH, Luo JB, Adams MC. Lactobacilli and dairy propionibacterium with potential as biopreservatives against food fungi and yeast contamination. Prikładna biokhimiia i mikrobiologija. 2009;45(4):460-4.

3- Wagacha JM, Muthomi JW. Mycotoxin problem in Africa: current status, implications to food safety and health and possible management strategies. International journal of food microbiology. 2008;124(1):1-12.

4- Davidson PMaB, A.L. Antimicrobials in Food. In: Davidson PM, Sofos, J.N., and Branen, A.L., editor. London: Boca Raton: CRC Press/Taylor Francis; 2005.

5- Lopez-Malo A, Alzamora SM, Palou E. Aspergillus flavus dose-response curves to selected natural and synthetic antimicrobials. Int J Food Microbiol. 2002;73(2-3):213-8.

6- Alviano WS, Mendonca-Filho RR, Alviano DS, Bizzo HR, Souto-Padron T, Rodrigues ML, et al. Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. Oral Microbiol Immunol. 2005;20(2):101-5.

7- Kunduhoglu B. Anti-Yeast Activity of Cinnamaldehyde, Eugenol and Linalool. World Journal of Research and Review 2017;5(5):32-4.

8- Carrasco H, Raimondi M, Svetaz L, Di Liberto M, Rodriguez MV, Espinoza L, et al. Antifungal activity of eugenol analogues. Influence of different substituents and studies on mechanism of action. Molecules. 2012;17(1):1002-24.

9- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. Int J Food Microbiol. 2004;94(3):223-53.

10- Oussalah M CS, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control. 2007;18(5):414-20.

11- Hassan HA, Geniady MM, Abdelwahab SF, Abd-Elghany MI, Sarhan HA, Abdelghany AA, et al. Topical Eugenol Successfully Treats Experimental

لینالول یکی از متداولترین ترپنوئیدها است که دارای یک مولکول اکسیژن اضافه است که یک گروه متیل به واسطه آنزیم اختصاصی از آن حذف شده است<sup>[23]</sup>. خصوصیات ضد قارچی و ضد بیوفیلمی لینالول بر روی کاندیدا تروپیکالیس (*Candida tropicalis*) توسط سوزا و همکاران مشاهده شد<sup>[24]</sup>. به علاوه، گزارشاتی مبنی بر اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی لینالول بر روی استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)، اشرشیا کلی (*Escherichia coli*)، اسپریژیلوس نیجر<sup>[25]</sup> و ایزوله‌های بالینی و غیر بالینی کاندیدا آلیکنس وجود دارد<sup>[26]</sup>. یافته‌های حاصل از مطالعه ما نیز موید خاصیت ضد مخمری ترکیب لینالول در بازه ۶۶/۷ تا ۱۳۳/۳ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

منتول ترپنوئیدی است که در گیاهان خانواده نعناع همچون نعناع فلفلی و نعناع کوهی دیده می‌شود. در مطالعه انجام شده توسط عباس زاده و همکاران، اثرات ضد قارچی این ترکیب بر گونه‌های کلادوسپوریوم (*Cladosporium*)، گونه‌های اسپریژیلوس، فوزاریوم اکسیزپوروم، گونه‌های پنسیلیوم (*Penicillium*)، ریزوپوس اوریزائی (*Rhizopus oryzae*)، بوتریتیس سینره آ (*Botrytis cinerea*) و آلترناریا آلترناتا (*Alternaria alternata*) گزارش شده است<sup>[27]</sup>. به علاوه، فعالیت ضد قارچی قوی منتول بر ضد قارچ‌های بیماریزای اسپریژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) اسپریژیلوس فومیگوس، اسپریژیلوس نیجر و فوزاریوم اکسیزپوروم وسط تیم تحقیقاتی کاظمی و همکاران مشاهده شد<sup>[28]</sup>. همچنین دیده شده است که این ترکیب در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر دارای خواص کشندگی برای اسپور قارچ‌های اسپریژیلوس نیجر و ریزوپوس استولونیفیر (*Rhizopus stolonifer*) می‌باشد<sup>[29]</sup>. اگرچه خواص ضد قارچی منتول به وضوح مشخص نشده است اما به نظر می‌رسد این فعالیت را از طریق اختلال در لیبید غشاء پلاسمائی و در نتیجه آن تغییر در نفوذپذیری و نشت مواد و یون‌های داخل سلولی انجام می‌دهد<sup>[30]</sup>. در مطالعه حاضر، رفتار و فعالیت منتول شبیه ترکیب لینالول بود و با غلظت مشابه اثرات مهاری و کشندگی بر روی سویه‌های مخمر مورد مطالعه داشت.

#### نتیجه گیری

در مجموع، بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان عنوان کرد ترکیبات فنولی طبیعی منتول، لینالول و اوژنول دارای تاثیرات سمی و ضد مخمری هستند که قادرند در غلظت‌های کم مانع رشد تمامی مخمرهای آلوده کننده مواد غذایی مورد مطالعه شوند. از آنجائیکه تحقیق حاضر ارائه کننده نتایج آزمایشگاهی می‌باشد، مطالعات بیشتر در سطح مدل‌های حیوانی و انسانی ضروری است.

**تشکر و قدردانی:** از کلیه عزیزانی که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

**تاییدیه اخلاقی:** پژوهشگران کلیه قوانین اخلاقی مرتبط با تحقیقات بر روی میکروارگانیسم‌ها را رعایت نمودند.

**تعارض منافع:** هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

Food Sciences and Nutrition. ed n, editor. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Academic Press; 2003.

24- Souza CM, Pereira Junior SA, Moraes Tda S, Damasceno JL, Amorim Mendes S, Dias HJ, et al. Antifungal activity of plant-derived essential oils on *Candida tropicalis* planktonic and biofilms cells. *Med Mycol*. 2016;54(5):515-23.

25- Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem*. 2008;108(3):986-95.

26- Hsu CC, Lai WL, Chuang KC, Lee MH, Tsai YC. The inhibitory activity of linalool against the filamentous growth and biofilm formation in *Candida albicans*. *Med Mycol*. 2013;51(5):473-82.

27- Abbaszadeh S, Sharifzadeh A, Shokri H, Khosravi AR, Abbaszadeh A. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *J Mycol Med*. 2014;24(2):e51-6.

28- Kazemi M, Roštami H, Shafiei S. Antibacterial and Antifungal Activity of some Medicinal Plants from Iran. *Journal of Plant Sciences*. 2012;7(2):55-66.

29- Mathur A, Prasad GBKS, Rao N, Babu P, Dua VK. Isolation And Identification Of Antimicrobial Compound From *Mentha Piperita L.* *Rasayan Journal of Chemistry*. 2011;4(1): 36-42.

30- Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristiani M, Daniele C, et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(6):2474-8.

*Candida albicans*-Induced Keratitis. *Ophthalmic Res*. 2018;60(2):69-79.

12- Guedes da Silva I, de Pontes Santos H, Cavalcanti Y, Weege Nonaka C, Alves de Sousa S, Dias de Castro R. Antifungal Activity of Eugenol and its Association with Nystatin on *Candida albicans*. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* 2017;17(1):e3235.

13- Dewang PM, Nikumbh VP, Tare VS, Mahulikar PP. Eco-friendly Pest Management Using Monoterpenoids II—Antifungal Efficacy of Menthol Derivatives. *Journal of Scientific & Industrial Research* 2003;62:990-5.

14- Sharifzadeh A, Khosravi AR, Shokri H, Tari PS. Synergistic anticandidal activity of menthol in combination with itraconazole and nystatin against clinical *Candida glabrata* and *Candida krusei* isolates. *Microb Pathog*. 2017;107:390-6.

15- Chami N, Bennis S, Chami F, Aboussekhra A, Remmal A. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo. *Oral microbiology and immunology*. 2005;20(2):106-11.

16- Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12(4):564-6.

17- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446-75.

18- de Castro RD, de Souza TM, Bezerra LM, Ferreira GL, Costa EM, Cavalcanti AL. Antifungal activity and mode of action of thymol and its synergism with nystatin against *Candida* species involved with infections in the oral cavity: an in vitro study. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:417.

19- Jung HG, GC F. Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: A review. *Journal of Animal Science*. 1983;56(1):206-19.

20- El-Baky RMA, Hashem ZS. Eugenol and linalool: Comparison of their antibacterial and antifungal activities. *African Journal of Microbiology Research*. 2016;10(44):1860-72.

21- Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *J Agric Food Chem*. 2005;53(17):6939-46.

22- Chaieb K, Zmantar T, Ksouri R, Hajlaoui H, Mahdouani K, Abdely C, et al. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. *Mycoses*. 2007;50(5):403-6.

23- Caballero B, Trugo LC, PM F. *Encyclopedia of*