اثر اسانس آویشن شیرازی روی آسپرژیلوس فلاووس

حسن گندمی نصرآبادی[۱]، علی میثاقی[۲]*، افشین آخوندزاده‌بستی[۳]، علی‌رضا خسروی[٤]، سعید بکایی[٥]، آرش عباسی‌فر[۱]

۱- دستیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۲- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
۳- دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
٤- استاد، گروه قارچ‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
٥- دانشیار، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان آزادی، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی
صندوق‌پستی: ٦٤٥٣ – ١٤١٥٥، تلفن: ٦٦٩٢٣٥١٠ (٠٢١)، نمابر: ٦٦٩٣٣٢٢٢ (٠٢١)
پست الکترونیک: misaghia@vetmed.ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ٨٦/٥/٢٩ **تاریخ تصویب:** ٨٧/٢/٢٢

چکیده

مقدمه: قارچ‌ها از عوامل مهم فساد مواد غذایی و تولید ترکیبات سمی به نام مایکوتوکسین‌ها هستند. عوارض جانبی ناشی از مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی موجب متمرکز شدن تحقیقات روی استفاده از ترکیبات طبیعی به ویژه اسانس‌ها جهت جلوگیری از رشد قارچ‌ها شده است. اسانس‌ها ترکیبات طبیعی حاوی مخلوطی از اجزای ترپنیک بوده که دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند. آویشن شیرازی یک گیاه بومی ایران بوده که اثرات مختلف از جمله اثر ضدمیکروبی و ضدصرع دارد.

هدف: هدف از این مطالعه، بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی روی رشد، اسپورزایی و مورفولوژی آسپرژیلوس فلاووس است.

روش بررسی: اسانس این گیاه به روش تقطیر با بخار تهیه و آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی انجام شد. ارزیابی اثر اسانس بر رشد کپک به روش رقیق‌سازی آگار انجام شد. جهت بررسی میکروسکوپی ابتدا کپک در محیط آگار کشت داده شد و قطعات آگار با تتراکسید ازمیوم فیکس شده و به دنبال آن پوشش‌گذاری با طلا انجام و توسط میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد.

نتایج: تمام غلظت‌های مورد بررسی دارای اثر معنی‌داری بر رشد و اسپورزایی آسپرژیلوس فلاووس بودند ($p< ٠/٠٥$). میزان **MIC** و **MFC** به ترتیب ٤٠٠ و ١٠٠٠ پی پی ام به دست آمد. اثر اسانس بر اسپورزایی بیشتر از اثر بر رشد میسلیوم بود. در بررسی میکروسکوپ الکترونی، اسپورزایی شدید گروه کنترل در مقابل اسپورزایی اندک گروه تیمار مشاهده شد. هم‌چنین در گروه تیمار تغییرات مورفولوژی شامل چین‌خوردگی و فرورفتگی سطح و از بین رفتن شفافیت و یکنواختی سطح هیفا مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این بررسی بیانگر اثرات بازدارندگی این اسانس روی کپک‌ها بوده و این اسانس را به عنوان جایگزینی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی به صنعت غذایی معرفی می‌نماید.

گل‌واژگان: اسانس آویشن شیرازی، آسپرژیلوس فلاووس، رشد، تولید اسپور، میکروسکوپ الکترونی

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]

مقدمه

اسانس‌ها ترکیبات طبیعی حاوی مخلوطی از اجزای ترپنیک بوده که از قسمت‌های مختلف گیاهان و توسط روش‌هایی مانند تقطیر یا بخار استخراج می‌شوند [۱]. خواص نگهدارندگی اسانس ادویه‌ها از زمان‌های باستان شناخته شده است. مصریان باستان از روغن‌هایی مانند دارچین و شبدر برای مومیایی کردن مردگان خود استفاده می‌کردند [۲]. در حال حاضر علاقه فزاینده‌ای به گیاهان معطر و دارویی هم در زمینه صنعت و هم در زمینه تحقیقات علمی وجود دارد و علت آن خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی این مواد است [۳]. قارچ‌ها از عوامل مهم فساد مواد غذایی در طول انبارداری و ذخیره محسوب می‌شوند که از یک طرف باعث کاهش کیفیت و کمیت مواد غذایی شده و از طرف دیگر به علت پتانسیل تولید مایکوتوکسین‌ها باعث ایجاد خطرات برای مصرف‌کننده می‌شوند. مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که دارای اثرات سمی مختلف روی انسان و حیوانات می‌باشند. تقریباً حدود ۲۰ تا ٤٥ درصد از غلات دنیا به مایکوتوکسین‌های تولید شده توسط قارچ‌های انباری آلوده هستند [٤،٥]. آفلاتوکسین‌ها خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌ها هستند که توسط سویه‌های خاصی از آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید شده و دارای اثرات سمی، سرطان‌زایی، جهش‌زایی و تراتوژنیک در انسان و حیوانات است [٦،٧]. کنترل قارچ‌ها معمولاً با استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی انجام می‌شود، اما این مواد در اغلب موارد دارای اثرات جانبی مثل سرطان‌زایی و تراتوژنیسیتی ناشی از باقی‌مانده آنها هستند. این موضوع از یک طرف و افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهای تازه با حداقل فرآوری و فاقد نگهدارنده‌های شیمیایی، از طرف دیگر باعث شده در سال‌های اخیر تحقیقات روی استفاده از ترکیبات طبیعی به ویژه اسانس‌ها جهت جلوگیری از رشد قارچ‌ها و تولید توکسین متمرکز شود [۸،۹،۱۰،۱۱]. آویشن شیرازی یک گیاه معطر ادویه‌ای متعلق به خانواده لامیاسه بوده که در ایران، پاکستان و افغانستان رشد می‌کند [۱۲]. اسانس این گیاه اثرات مختلفی مثل اثر آنتی‌سپتیک، بیهوش‌کنندگی، ضدصرع و ضدباکتریایی دارد [۱۳]. اجزای اصلی این گیاه ترکیبات فنولی مثل کارواکرول و تیمول است [١٤]. این گیاه به عنوان یک عامل عطردهنده در طیف وسیعی از مواد غذایی استفاده می‌شود و دارای محبوبیت عمومی است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر رشد، اسپورزایی و مورفولوژی آسپرژیلوس فلاووس ATCC ١٥٥٤٦ است.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس و آنالیز آن

گیاه آویشن شیرازی از استان فارس در فصل تابستان جمع‌آوری و توسط گیاه‌شناس پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی نام علمی آن تایید شد. پس از تهیه اسانس گیاه از سرشاخه‌های هوایی گیاه، به روش تقطیر با بخار آب، آنالیز اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف نگار جرمی[1] انجام شد. دستگاه GC-MS از نوع Thermoquest Finnigan با ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه دمایی ۵۰ تا ۲٦٥ با افزایش تدریجی ۲/۵ در هر دقیقه و نگهداری ستون در ۲٦٥ به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق ۲۵۰ درجه و گاز حامل هلیم با سرعت ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه بود. از شناساگر EI با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ جهت تشخیص اجزای اسانس استفاده شد [۱۵].

تهیه سوسپانسیون اسپور کپک

کپک مورد بررسی آسپرژیلوس فلاووس ATCC ١٥٥٤٦ بوده که از بخش قارچ‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. ابتدا کپک را در محیط PDA شیب‌دار به مدت ۱۰ – ۷ روز در ۲٦ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری کرده تا اسپور تولید شود. ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ اضافه کرده و با میله شیشه‌ای خمیده استریل، سطح کشت

[1] GC - MS

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]

جهت برداشت اسپور به آرامی خراش داده شد. به منظور حذف قطعات میسلیوم، سوسپانسیون با استفاده از پشم شیشه فیلتر شد. تعداد اسپور به وسیله هموسیتومتر شمارش شده و غلظت اسپور توسط محلول ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ به 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر رسانده شد.

ارزیابی فعالیت ضدقارچی در محیط آگار

محیط مذاب PDA استریل حاوی غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام از اسانس آویشن شیرازی آماده شده و به ازای هر غلظت در ۳ پلیت توزیع شد. یک دیسک ۵ میلی‌متری کاغذ واتمن شماره ۱ در مرکز پلیت قرار داده و با ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور تلقیح شده و پلیت‌ها به مدت ۱۰ روز در ۲۶ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شده و قطر کلنی روزانه اندازه‌گیری شد تا موقعی‌که در گروه کنترل تمام قطر پلیت توسط قارچ پوشانده شد. در مورد پلیت‌هایی که رشدی نشان ندادند، دیسک‌ها به محیط فاقد اسانس انتقال داده شده تا اثر بازدارندگی[1] یا کشندگی[2] مشخص شود. کل آزمایش ۲ بار تکرار شد.

ارزیابی تولید اسپور

۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور در پلیت‌های PDA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس تلقیح شده و در تمام سطح محیط پخش شد. پلیت‌ها در ۲۶ درجه به مدت ۷ روز گرم‌خانه گذاری شدند. کل توده میسلیوم تولید شده در هر پلیت به یک فلاسک حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال و به شدت تکان داده شد. غلظت کنیدی به وسیله هموسیتومتر شمارش شده و به صورت تعداد اسپور در هر سانتی‌متر مربع از پلیت محاسبه شد. به ازای هر غلظت ۳ پلیت استفاده و کل آزمایش ۲ بار تکرار شد.

میکروسکوپ الکترونی اسکنینگ[3]

در این مرحله از کشت‌های ۷ روزه رشد داده شده در محیط PDA بدون اسانس و محیط حاوی ۲۰۰ ppm اسانس استفاده شد. قطعات چند سانتی‌متری از آگار به دقت بریده شده و در پلیت قرار داده شد. یک بشر کوچک حاوی تتراکسید ازمیوم ٤ درصد در کنار کشت قرار داده شده و درب پلیت توسط پارافیلم به طور کامل بسته شد و فیکس کردن کشت‌ها به مدت ٤٨ ساعت با بخار تتراکسید ازمیوم انجام شد. بعد از فیکس کردن، قطعات ۱ سانتی‌متر مربع از کشت‌ها تهیه شده و توسط چسب مخصوص روی پایک‌های مربوطه قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه با طلا پوشانده شده و توسط میکروسکوپ الکترونی مدل Obducat Cam Scan MV2300 مشاهده شد.

تحلیل آماری

ابتدا از تجزیه واریانس یک طرفه جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در مواردی که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت، از تست Tukey جهت جداکردن آنها استفاده شد. میانگین‌ها در سطح اعتماد ۹۵ درصد از لحاظ آماری متفاوت قلمداد شدند. آنالیزهای آماری با استفاده از برنامه SPSS 10 انجام شد.

نتایج

بازده اسانس ۱/٦٦ درصد (V/W) بود. نتیجه آنالیز اسانس در جدول شماره ۱ آمده است. همان‌گونه که از جدول پیداست کارواکرول مهم‌ترین جزء این اسانس را تشکیل می‌دهد.

نتایج اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی روی رشد آسپرژیلوس فلاووس در جدول شماره ۲ آمده است. تمام غلظت‌های مورد استفاده دارای اثر مهارکنندگی معنی‌داری روی رشد کپک بودند ($p < ۰/۰۵$). نتایج حاصل نشان می‌دهد که این اثر دارای الگوی وابسته به دوز بوده و با افزایش غلظت اسانس اثر مهارکنندگی افزایش می‌یابد، به طوری‌که در غلظت ۲۰۰ پی پی ام درصد مهار رشد به ۷۹/٤ درصد رسید. در غلظت ۲۰۰ پی پی ام تا روز سوم هیچ رشدی مشاهده نشد و بعد از آن هم سرعت رشد نسبت به نمونه کنترل بسیار کمتر بود. غلظت ٤۰۰ پی پی ام دارای ۱۰۰ درصد اثر مهارکنندگی

[1] Fungistatic
[2] Fungicidal
[3] SEM

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]

جدول شماره ۱- ترکیب اسانس آویشن شیرازی که به روش گاز کروماتوگرافی - طیف سنج جرمی شناسایی شده است

ترکیبات	شاخص بازداری	درصد
توجن	۹۳۰	۰/۱۹
آلفا پینن	۹۳۷	٤/۲٦
بتا پینن	۹۷٦	۰/٤۳
بتا میرسن	۹۸۵	۰/۸۵
اکالیپتول	۱۰۲٤	۳/۳۷
گاما ترپینن	۱۰۵۵	۳/۳٤
لینالول	۱۰۹۰	۰/٦۸
تیمول متیل اتر	۱۲۳٦	۰/٤۷
کارواکرول متیل اتر	۱۲٤۳	۰/٤٦
کارواکرول	۱۲۹۹	۷۱/۱۲
ترانس کاریوفیلن	۱٤۱۸	۰/٤۱
گلوبولول	۱۵۸۲	۲/۳۲
مجموع		**۹۱/۹**

جدول شماره ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی روی رشد و تولید اسپور به وسیله آسپرژیلوس فلاووس در محیط PDA

غلظت اسانس (ppm)	قطر کلونی (میلی‌متر)[1]	درصد مهار رشد	تعداد اسپور در هر سانتی‌متر مربع[2]	درصد مهار تولید اسپور
۰	$۱۱۷ \pm ٤/۱^{c}$	۰	$(۲/٤ \pm ۰/٤) \times ۱۰^{۸ c}$	۰
۵۰	$۸۸ \pm ۳/۲^{d}$	۲٤/۷	$(۱/۸ \pm ۰/۱) \times ۱۰^{۸ d}$	۲۱/۷
۱۰۰	$٦۷ \pm ٤/۵^{e}$	٤۲/۷	$(۵/۰ \pm ۰/۲) \times ۱۰^{۷ e}$	۷۵/۸
۲۰۰	$۲٤ \pm ۵/۳^{f}$	۷۹/٤	$(۱/۸ \pm ۰/٦) \times ۱۰^{۷ f}$	۹۲/۵
٤۰۰ [a]	بدون رشد [g]	۱۰۰	-	-
٦۰۰ [b]	بدون رشد [g]	۱۰۰	-	-
۱۰۰۰	بدون رشد [g]	۱۰۰	-	-

۱- SE ± قطر کلونی: که SE خطای معیار ۳ آزمایش مجزا با ۳ تکرار در هر بار آزمایش است.

۲- SE ± تعداد اسپور: که SE خطای معیار ۲ آزمایش مجزا با ۳ تکرار در هر بار آزمایش است.

a: غلظت معادل MIC b: غلظت معادل MFC

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانه اختلاف آماری معنی‌دار است ($p < ۰/۰۵$).

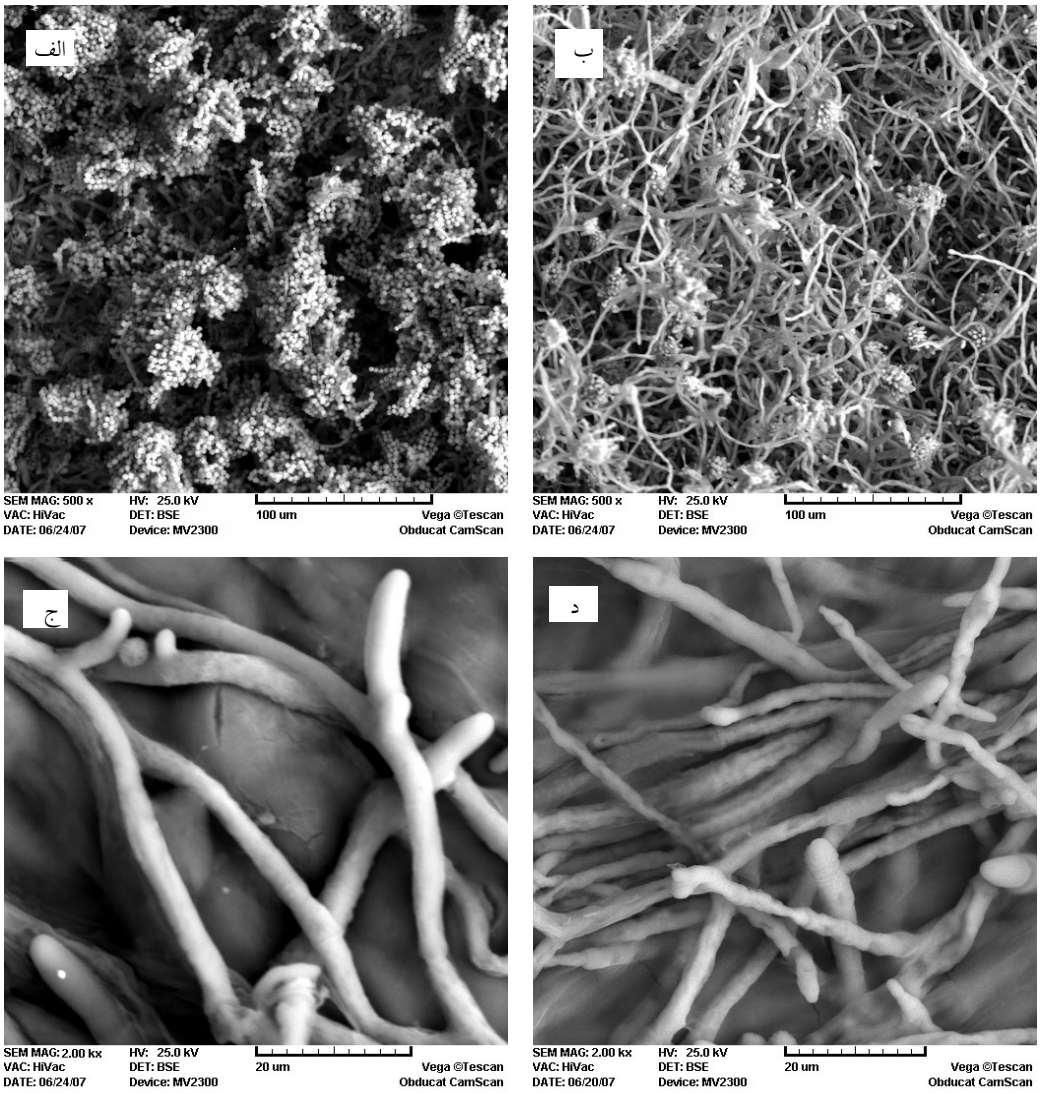
روی رشد بوده و در طول ۱۰ روز هیچ رشدی مشاهده نشد. حداقل غلظت مهارکنندگی[1] اسانس ٤۰۰ پی پی ام و حداقل غلظت کشنده معادل ۱۰۰۰ پی پی ام به دست آمد. نتایج حاصل از تولید اسپور نشان می‌دهد که اسانس روی اسپورزایی هم اثر بازدارنده داشته و این اثر در تمام غلظت‌های مورد بررسی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). این اثر هم وابسته به دوز بوده و بیشترین اثر بازدارندگی در غلظت ۲۰۰ پی پی ام دیده می‌شود (۹۲/۵ درصد). نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی در شکل شماره ۱ آورده شده است. تصویر الف ساختار کلنی رشد کرده در محیط فاقد اسانس را نشان می‌دهد. کلنی رشد کرده در محیط فاقد اسانس به شدت اسپورزایی کرده و ساختار تشکیل‌دهنده اسپور تمام سطح کلنی را پوشانده، به طوری که توده میسلیوم قارچ قابل رویت نیست. تصویر ب کلنی رشد یافته در حضور ۲۰۰ پی پی ام اسانس را نشان می‌دهد. شدت

[1] MIC

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]

اسپورزایی نسبت به نمونه کنترل بسیار کمتر بوده و میسلیوم قارچ به خوبی دیده می‌شود. علاوه بر پراکنده بودن ساختار تشکیل‌دهنده اسپورها، تعداد اسپورهای هر کونیدیوفور هم کمتر از گروه کنترل است. تصویر ج و د مورفولوژی هیفای قارچی در محیط بدون اسانس و محیط حاوی اسانس را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در تصویر ج مشخص است، کپک نمونه کنترل دارای هیفای سالم و با ساختار برآمده و متسع و سطح صاف می‌باشد. در هیفای تیمار یافته با ۲۰۰ پی پی ام اسانس تغییر مورفولوژی دیده می‌شود که شامل چین‌خوردگی و فرورفتگی سطح و از بین رفتن شفافیت و یکنواختی سطح هیفا است.



تصویر شماره ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی از کشت‌های رشد یافته در محیط فاقد اسانس و محیط حاوی اسانس

الف- کشت رشد یافته در محیط فاقد اسانس با بزرگنمایی ۵۰۰ ×

ب- کشت رشد یافته در محیط حاوی اسانس با بزرگنمایی ۵۰۰ ×

ج- کشت رشد یافته در محیط فاقد اسانس با بزرگنمایی ۲۰۰۰ ×

د- کشت رشد یافته در محیط حاوی اسانس با بزرگنمایی ۲۰۰۰ ×

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]

بحث

اثرات ضدقارچی اسانس ادویه‌ها و گیاهان معطر در بررسی‌های بسیاری ثابت شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌گر اثر مهارکنندگی اسانس آویشن شیرازی روی رشد و اسپورزایی آسپرژیلوس فلاووس است که از الگوی وابسته به دوز پیروی می‌کند. نتایج نشان می‌دهد که اثر بازدارندگی این اسانس روی اسپورزایی بیشتر از اثر روی رشد است. زرزاکیس و همکاران در مطالعه‌ای اثر غلظت‌های مختلف گیاه گربه دشتی روی کپک‌های پاتوژن گیاهی را بررسی و مشاهده کردند که این اسانس دارای اثر بازدارندگی معنی‌داری روی رشد و تولید اسپور در تمام کپک‌های مورد بررسی است [۱۶]. در بررسی دافررا و همکاران روی اثر بازدارندگی اسانس‌ها و ترکیبات مختلف از جمله اسانس مرزنگوش، آویشن و دیکتاموس و کارواکرول، تیمول و آلفاترپینول روی کپک پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم مشخص شد که تمام این اسانس‌ها در غلظت ۲۵۰ پی پی ام تولید اسپور را به طور کامل مهار نمودند. میزان MIC این ۳ اسانس به ترتیب ۳۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ پی پی ام و برای کارواکرول و تیمول به ترتیب ۱۶۰ و ۲۰۰ پی پی ام به دست آمد [۱]. بعضی محققین عقیده دارند که تنظیم سنتز آفلاتوکسین و تولید اسپور به یکدیگر پیوسته بوده و علت عدم تولید آفلاتوکسین در سویه‌های غیرتوکسیژنیک آسپرژیلوس پارازیتیکوس را به تغییرات مورفولوژی کنیدی‌ها و یا عدم توانایی تولید کنیدی نسبت داده‌اند [۱۷،۱۸]. هم‌چنین گزارش شده که مهار رشد قارچ در اثر اسانس‌های آویشن، نعناع و اسطوخودوس با دژنره شدن هیفای قارچ مرتبط است [۱۹]. در بررسی میکروسکوپیک اثر اکونازول روی میکروسپوروم کانیس، اثراتی مشابه اثرات این بررسی از جمله چین خوردگی و بدشکلی و غیرعادی بودن هیفای قارچ و ماکروکنیدی مشاهده شد [۲۰]. نتایج بررسی حاضر اثر مهارکنندگی اسانس آویشن شیرازی روی آسپرژیلوس فلاووس را به خوبی ثابت می‌نماید و این اسانس را به عنوان جایگزینی برای نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی معرفی می‌نماید، اما با این حال استفاده عملی از این اسانس نیازمند انجام بررسی‌های سم‌شناسی، اقتصادی و میکروبی بیشتر است.

منابع

1. Daferera DJ, Ziogas BN and Polissiou MG. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on Penicillium digitatum. *J. of Agriculture and Food chemistry* 2000; 48, 6: 2576 - 81.

2. Bullerman L B, Lieu FY and Seier SA. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *J. of Food Protection* 1977; 42, 4: 1107 - 9.

3. Singh G, Maurya S, Lampasona MP and Catalan C. Chemical constituent, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgare volatile and its acetone extract. *Food Control* 2006; 17: 745 - 52.

4. Kumar R, Mishra AK, Dubey NK and Tripathi YB. Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* as a potential source of antifungal, antiaflatoxigenic and antioxidant activity. *International J. of Food Microbiology* 2006; 115: 159 - 64.

5. Patkar K, Usha C, Shetty H, Paster N and Lacey. Effect of spice essential oils on growth and aflatoxin B_1 production by *A. flavus*. Letters in *Applied Microbiology* 1993; 17: 49 – 51.

6. Jayashree T and Subramanyam C. Antiaflatoxigenic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation. *Letters in Applied Microbiology* 1999; 28: 179 - 83.

7. Fan JJ and Chen JH. Inhibition of aflatoxin-producing fungi by welsh onion extract. *J. of*

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]

Food Protection 1999; 62, 4: 414 - 7.

8. Rasooli I, Rezaei MB and Allameh A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlok*. *Food Control* 2006; 17: 359 - 64.

9. Sa´nchez E, Heredia N, Garcıa S. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. *International J. of Food Microbiology* 2005; 98: 271 - 9.

10. Soliman KM, Badeaa RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and chemical toxicology. 2002; 40: 1669 - 75.

11. Basilico MZ and Basilico JC. Inhibitory effects of some spice essential oils on *Aspergillus ochraceus* NRRL 317 growth and Ochratoxin A production. *Letters in Applied Microbiology* 1999; 29: 238 – 41.

12. Ali MS, Saleem M, Ali Z and Ahmad VU. Chemistry of *Zataria multiflora* (Lamiaceae). *Phytochemistry* 2000; 55: 933 - 6.

13. Hossinzadeh H, Ramezani H and Salmani G. Antinociceptive, anti-inflamatory and acute toxicity effect of *Zataria multiflora* Boiss. extract in mice and rat. *J. of Ethnopharmacology* 2000; 73: 379 - 85.

14. Shaffiee A and Javidnia K. Composition of essential oil of *Zataria multiflora. Planta Medicine* 1997; 63: 371 - 2.

15. Misaghi A, Akhonzadeh Basti A. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATCC 11778. *Food Control* 2007; 18: 1043 - 9.

16. Tzortzakis NG and Economakis CD. Antifungal activity of lemongrass (*Cympopogon citratus* L.) essential oil against posthrvest pathogens. Innovative Food Science and Emerging *Technology*. 2007; 8: 2530258.

17. Rasooli I and Owlia P. Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry*. 2005; 66: 2851 - 6.

18. Kale S, Cary JW, Bhatnagar D and Bennett JW. Characterization of experimentally induced,non aflatoxigenic variant strain of *Aspergillus parasiticus*. *Appliea and Environmental Microbiology* 1996; 62, 9: 3399 - 404.

19. Zambonelli A, D'Aurelio AZ, Bianchi A and Albasini A. Effect of essential oils on phytopathogenic fungi. *J. of Phytopathology* 1996; 144: 491 - 4.

20. Mazabrey D, Nadal J, Seguela JP and Linas MD. Scaning and transmission electron microscopy: study of effect of econazole on *Microsporium canis. Mycopathologia*. 1985; 91: 151 - 7.

[Downloaded from jmp.ir on 2025-09-16]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2008.7.27.4.4]