



بررسی فعالیت ضدقارچی اسانس بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) و برهمکنش آن با آنتی بیوتیک نیستاتین علیه تعدادی از سویه های قارچی

میترا قدسی شیخ جان^۱، علی فضل آرا^{۲*}، محمد حجتی^۳، بهروز علیزاده بهبهانی^۴

۱- دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استاد گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

اگرچه در حال حاضر اغلب از نگهدارنده های ضدقارچی شیمیایی در فراورده های غذایی مختلف استفاده می شود، ولی استفاده از این مواد به دلیل اثرهای مضر آنها بر سلامت انسان و محیط زیست محدود شده است. در سال های اخیر پژوهشگران به دنبال جایگزین کردن این ترکیب های شیمیایی با مواد طبیعی و کم خطر می باشند. در این راستا استفاده از اسانس گیاهان دارویی به دلیل عوارض جانبی کمتر می تواند جایگزین مناسبی محسوب شود. لذا در پژوهش حاضر پس از تهیه گیاه بادرشبو از مزارع روستای گلمرز واقع در نزدیکی شهرستان ارومیه و خشک کردن آن، اسانس گیری از گیاه بادرشبو به وسیله دستگاه کلونجر انجام شد و اثر ضدقارچی اسانس بادرشبو بر تعدادی از سویه های مهم قارچی با روش های انتشار در دیسک، انتشار در چاهک، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی و برهمکنش اسانس بادرشبو با آنتی بیوتیک نیستاتین انجام شد. نتایج آزمایش های انتشار در دیسک و انتشار در چاهک نشان داد که اسانس بادرشبو تاثیر ضدقارچی قابل توجهی بر همه سویه های قارچی مورد مطالعه داشت. نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس برای سویه های ساکارومایسس سرویزیه، کاندیدا آلبیکانس، آسپرژیلوس نایجر، فوزاریوم سولانی و پنی سیلیوم اکسپنسوم به ترتیب ۸، ۱۶، ۲، ۸ و ۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی برای سویه های مذکور به ترتیب ۳۲، ۶۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود. همچنین نتایج حاصل از برهمکنش اسانس بادرشبو با آنتی بیوتیک نیستاتین نیز حاکی از تاثیر هم افزایی اسانس مذکور با آنتی بیوتیک مورد آزمایش بود. با توجه به اثر قابل ملاحظه ضدقارچی مشاهده شده برای اسانس بادرشبو در پژوهش حاضر، می توان از آن در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۷

کلمات کلیدی:

بادرشبو،

نیستاتین،

حداقل غلظت مهار کنندگی،

حداقل غلظت کشندگی

DOI:10.22034/FSCT.21.156.226.

* مسئول مکاتبات:

a.fazlara@scu.ac.ir

۱- مقدمه

با توجه به این که در سال‌های اخیر فشار قابل توجهی از طرف مصرف‌کننده‌ها برای کاهش یا محدود کردن استفاده از افزودنی‌های شیمیایی در غذاها اعمال می‌شود، یک راه جدید برای جلوگیری از تکثیر میکروارگانیسم‌ها و گسترش عوامل بیماری‌زا استفاده از اسانس‌ها به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی است [۱]. به همین علت فناوری‌های نگهداری زیستی برای بهبود ایمنی، ارزش تغذیه‌ای و خواص حسی در پاسخ به تقاضای مصرف‌کنندگان مورد توجه قرار گرفته‌اند. [۲]. بسیاری از ادویه‌ها، گیاهان دارویی و ترکیب‌ها و اسانس‌های آن‌ها، علاوه بر این که به عنوان مواد اولیه و طعم دهنده‌های سنتی در غذاها مصرف می‌شوند، دارای خواص باکتری‌کشی و قارچ‌کشی نیز هستند [۳]. این فراورده‌های گیاهی، به علت مواد دارویی فعال مانند ترپن‌ها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و گلیکوزیدها عوارض جانبی چندانی روی عملکرد بخش‌های مختلف بدن ندارند و پتانسیل درمانی خوبی نیز دارند [۴]. ویژگی چربی‌دوست اسکلت هیدروکربنی ترکیب‌های موجود در اسانس و همچنین ویژگی آبدوست گروه‌های عاملی آن‌ها، از اهمیت اصلی در خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها برخوردار است [۵]. فساد قارچی مواد غذایی نقشی اساسی در تخریب مواد غذایی و ایجاد بیماری‌های ناشی از غذا ایفا می‌کند [۶]. لذا افزایش مقاومت قارچی در برابر داروهای کلاسیک، سمیت آن‌ها و هزینه‌های موجود، محققان را به انجام پژوهش‌های بیشتر در این حوزه ترغیب می‌کند [۷]. حسینی و همکاران (۱۳۹۴)، که به بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس میخک در همبرگر خام طی نگهداری در انجماد پرداختند، نتیجه گرفتند که با افزایش غلظت اسانس میخک و افزایش زمان نگهداری در فریزر، میزان بار میکروبی کاهش بیشتری نشان داد [۸]. نتایج پژوهش فیاضی و همکاران (۱۴۰۰)، که خواص فیزیکی، مکانیکی و ضد میکروبی فیلم زیست فعال کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس‌های زنیان و تاثیر آن بر ماندگاری گوشت بوقلمون را بررسی کردند، نشان داد که

فیلم حاوی یک درصد زنیان اثر ضد میکروبی بیشتری بر کاهش میزان باکتری‌های کلی‌فرم و اشرشیاکلی داشت و فیلم حاوی اسانس توانست باعث افزایش مدت ماندگاری گوشت بوقلمون شود [۹]. توراحمد و همکاران (۲۰۲۳)، نیز که تاثیر ضد میکروبی اسانس دارچین استخراج شده در آزمایشگاه و نیز اسانس دارچین تجاری را بر تعدادی از پاتوژن‌های مواد غذایی بررسی کردند، اعلام نمودند که هر دوی این اسانس‌ها اثر ضد میکروبی امیدوارکننده‌ای علیه میکروارگانیسم‌های منتقله از غذا داشتند [۱۰].

ایران از لحاظ موقعیت جغرافیایی و تنوع آب و هوایی یکی از بهترین مناطق جهان در زمینه رشد انواع مختلف گیاهان دارویی محسوب می‌شود و در گذشته نیز منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است. البته خواص دارویی و درمانی هر گیاه به نوع و میزان ترکیب‌های موثر آن بستگی دارد [۱۱]. بادرشبو با نام علمی *Dracocephalum moldavica* گیاهی معطر و علفی از خانواده نعنائیان است که به سراردها *Dragon head* نیز معروف است. این گیاه بومی شمال غرب ایران بوده و در تبریز، ارومیه، یزد، مازندران و رشته کوه البرز یافت می‌شود [۱۲]. ارتفاع این گیاه به ۵۰ تا ۷۰ سانتی‌متر می‌رسد و بازده روغن استخراجی از آن در محدوده بین ۰/۱ تا ۰/۸ درصد می‌باشد. روغن فرار بادرشبو عمدتاً از سیترال، ژرانیل، نرال، ژرانیل استات و ژرانیل تشکیل شده است [۱۳]. سیترال با فرمول $C_{10}H_{16}O$ (۳ و ۷ دی‌متیل ۱-۲ و ۶ اکتادینال) یک مایع زرد روشن با بوی سیتریک شبیه بوی لیمو می‌باشد، که ترکیبی از دو ایزومر هندسی ترانس ژرانیل و سیس نرال می‌باشد. این ایزومرها توانایی عبور از غشاهای سلولی دارند و دارای تاثیر ضد قارچی می‌باشند [۱۴]. البته مطابق پژوهش‌های پیشین اجزای اصلی متفاوتی برای اسانس بادرشبو ذکر شده است که این تفاوت‌ها ناشی از عواملی همچون ناحیه رشد گیاه، شرایط اکولوژیکی و اقلیمی و همچنین مدت زمان نگهداری گیاهان دارویی می‌باشد [۱۵]. گیاه بادرشبو منبع خوبی از پروتئین، لیپید و فیبر است. روغن آن سرشار از اسیدهای

چرب غیراشباع (حدود ۹۰ درصد) و عمدتاً اسیدهای لینولئیک و لینولئیک (به ترتیب حدود ۶۰ درصد و ۲۰ درصد) است. گزارش شده است که برگ های بادرشبو حاوی پلی فنل های مختلف، به ویژه اسیدهای هیدروکسی سینامیک و فلاونوئیدها، لوتولین و گلیکوزیدهای آن، کورستین، دیوسمتین، کامپفرول، آکاستین، آگاستاکیزید و سالوژنین هستند. همچنین عصاره بادرشبو دارای خواص ضدباکتریایی و ضداسکاسی همراه با اثر محافظت کننده قلبی می باشد. در برخی از کشورها نیز، از عصاره آبی تهیه شده از این گیاه به روش تقطیر، به عنوان یک نوشیدنی استفاده می شود [۱۶]. از گیاه بادرشبو به عنوان چای و نیز به عنوان یک داروی گیاهی به دلیل خواص دارویی معروف آن استفاده می شود، به عنوان مثال برای درمان ناراحتی های معده و کبد، سردرد و احتقان استفاده می شود [۱۷]. همچنین گزارش هایی مبنی بر استفاده از این گیاه برای درمان بیماری های مخاطی، التهاب راه های هوایی و بیماری های قلبی عروقی با اثرات ضداسکیداسیونی، ضدالتهابی، ضدانعقادی و گشادکننده عروق نیز وجود دارد [۱۸]. این گیاه علاوه بر صنایع غذایی در صنعت داروسازی، صنایع آرایشی و بهداشتی و عطرسازی نیز کاربرد دارد [۱۹].

دیزیکی و همکاران (۲۰۱۹)، که تاثیر برگ های بادرشبو را بر کیفیت نان پخته شده از آرد گندم بررسی کردند، گزارش نمودند که نان های غنی شده با گیاه مذکور دارای شاخص سختی خرده نان بالاتر از نان شاهد بودند و محتوای فنل کل به صورت خطی با افزایش درصد گیاه از ۴/۸ به ۱۰/۱ میلی گرم، جرم خشک گیاه، افزایش یافت و در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی نان نیز افزایش پیدا کرد، همچنین ارزیابی حسی حاکی از مقبولیت خوب مصرف کنندگان با افزودن ۳ گرم بادرشبو در ۱۰۰ گرم آرد گندم بود [۱۶]. وجتوویس و همکاران (۲۰۱۷)، کاربرد برگ بادرشبو را به عنوان یک جزء عملکردی ایجاد کننده ارزش غذایی در تنقلات اکستروژ شده ذرت مورد ارزیابی قرار دادند و نتیجه گرفتند که تنقلات ذرت حاصل از کاربرد ۲۰-۵ درصد از برگ بادرشبو دارای ارزش غذایی بهتر و نیز منبع خوبی از

فیبر بود و به دلیل وجود ترکیب های فنلی به ویژه اسید رزماریک در آن، پتانسیل آنتی اکسیدانی بالایی را در این گیاه گزارش کردند و ارزیابی حسی تیمارهای مذکور را نیز مطلوب اعلام نمودند [۲۰]. آسیموویک و همکاران (۲۰۲۰)، ترکیب های شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس بادرشبو را مورد بررسی قرار دادند و ترکیب های اصلی اسانس مذکور را ژرانیل استات، ژرانیل و نرال گزارش کردند و اسانس بادرشبو را به دلیل داشتن خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی جهت استفاده در صنایع غذایی و دارویی تایید نمودند [۱۹]. نتایج علیزاده و همکاران (۱۳۹۴)، نیز که خواص ضدباکتریایی اسانس گیاهان بادرنجویه و بادرشبو در شرایط آزمایشگاهی علیه چهار باکتری لیستریا مونوسایتوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا تیفی موریوم و شریشیاکلی با دو روش انتشار در دیسک و رقیق سازی در مایع بررسی کردند، حاکی از توان مهارکنندگی و خاصیت ضد باکتریایی هردو اسانس مورد مطالعه بود [۲۱]. با توجه به علاقه زیاد مصرف کنندگان امروزی به استفاده از مواد غذایی حاوی نگهدارنده های طبیعی و خواص بسیار مفید ذکر شده برای گیاه بادرشبو و توجه به این موضوع که علی رغم کشت بادرشبو در مناطق مختلف ایران هنوز پژوهش های بسیار اندکی در مورد اثر ضدقارچی اسانس آن وجود دارد، هدف از انجام این پژوهش بررسی فعالیت ضدقارچی اسانس بادرشبو به تنهایی و نیز همراه با آنتی بیوتیک نیستاتین علیه قارچ های ساکارومیسس سرویزیه، کاندیدا آلبیکانس، آسپرژیلوس نایجر، فوزاریوم سولانی و پنی سیلیوم اکسپنسوم می باشد.

۲- مواد و روش ها

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۳، با مشارکت آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه بهداشت و مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و گروه صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد.

۱-۲- تهیه مواد مصرفی مورد نیاز

برای پژوهش حاضر از محیط کشت سابورو دکستروز آگار و سابورو دکستروز براث (شرکت لیوفیل چم)،

دی‌متیل سولفوکساید^۱ (شرکت یونی چم)، دیسک‌های بلانک (ساخت شرکت پادتن طب)، تری‌فنیل تترازولیوم کلراید^۲ (شرکت سولاریو) و فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون استفاده شد.

۲-۲- تهیه بادرشبو و اسانس‌گیری از آن

گیاه بادرشبو از مزارع روستای گل‌مرز از توابع بخش مرکزی شهرستان ارومیه واقع در استان آذربایجان غربی خریداری و توسط دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان با نام علمی *Dracocephalum moldavi L* و کد هرباریوم KUAAU653 تایید شد. گیاه خریداری شده در دمای اتاق خشک گردید و تا زمان اسانس‌گیری در یخچال نگهداری شد. اسانس‌گیری از گیاه با کمک دستگاه کلونجر (MS.E-ایران) انجام شد. به این ترتیب که هر بار ۱۰۰ گرم از گیاه با آسیاب برقی (آسان طوس شرق-ایران) پودر شد و همراه با آب مقطر در دستگاه کلونجر ریخته شد و در عرض ۳ ساعت اسانس‌گیری انجام شد [۲۲].

۲-۳- تهیه سویه‌های میکروبی و استاندارد

نیم‌مک‌فارلند

ابتدا سوسپانسیون‌های میکروبی استاندارد از سویه‌های ذخیره *Candida* PTCC 5052، *Saccharomyces servisiae* PTCC 5027، *Aspergillus niger* PTCC 5010، *albicans* PTCC 5027، *Penicillium expansum*، *Fusarium solani* PTCC 5284، ATCC 24692 موجود در آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شد و در محیط سابورو دکستروز آگار تلقیح و کشت گردید. کدورت استاندارد نیم‌مک‌فارلند، از سوسپانسیون میکروارگانیزم‌های کشت داده شده تهیه شد [۲۳].

۲-۴- آزمون ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس

بادرشبو به روش انتشار در دیسک (DDA)^۳

برای انجام این آزمون از روش الجعفری و همکاران (۲۰۱۱)، با اندکی تغییر استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا

غلظت‌های متوالی ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس بادرشبو با آب مقطر (۹/۵ درصد وزنی حجمی) و امولسیفایر دی‌متیل سولفوکساید (۰/۵ درصد وزنی-حجمی) تهیه شد. غلظت‌های تهیه شده از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرون برای استریل شدن عبور داده شد و در لوله‌های استریل ریخته شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم‌مک‌فارلند هر میکروارگانیزم در سطح محیط کشت سابورو دکستروز آگار پخش گردید. برای بررسی اثر ضدقارچی، دیسک‌های کاغذی بلانک به قطر ۶ میلی‌متر با فاصله معین از یکدیگر و نیز از لبه پلیت روی محیط کشت قرار داده شدند و ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های اسانس تهیه شده بادرشبو روی دیسک‌ها ریخته شد. محیط کشت حاوی قارچ در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور (FG-ایران) گرمخانه‌گذاری گردید و در نهایت قطر هاله‌های تشکیل شده در اطراف دیسک‌ها، برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و گزارش شد [۲۴].

۲-۵- آزمون ارزیابی فعالیت ضدقارچی اسانس

بادرشبو به روش انتشار در چاهک (WDA)^۴

انجام این آزمون با روش نوشاد و همکاران (۲۰۱۸)، با اندکی تغییر انجام شد. به این ترتیب که ابتدا غلظت‌های متوالی ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس بادرشبو به همراه امولسیفایر دی‌متیل سولفوکساید (۰/۵ درصد وزنی-حجمی) و آب مقطر (۹/۵ درصد وزنی حجمی) تهیه شد. غلظت‌های ساخته شده از فیلتر سرسرنگی جهت استریل شدن عبور داده شد و در لوله‌های استریل ریخته شد و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم‌مک‌فارلند هر میکروارگانیزم در سطح محیط کشت سابورو دکستروز آگار پخش گردید. جهت بررسی اثر ضدقارچی، چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر با کمک انتهای پیت پاستور استریل تحت شرایط کاملاً استریل با فاصله معین از یکدیگر و نیز از لبه پلیت روی محیط کشت حفر شد و ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده اسانس بادرشبو درون چاهک ریخته

۳ - Disk Diffusion Agar

۴ - Well Diffusion Agar

۱ - Dimethyl sulfoxide

۲ - Triphenyltetrazolium chloride

شد. محیط کشت حاوی قارچ در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و در ادامه قطر هاله‌های تشکیل شده در اطراف چاهک‌ها، برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری و گزارش شد [۲۵].

۲-۶- آزمون تعیین حداقل غلظت بازدارندگی

(MIC)^۵ اسانس بادرشبو

غلظت‌های متوالی ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از اسانس بادرشبو به همراه امولسیفایر دی‌متیل سولفوکساید (۰/۵ درصد وزنی-حجمی) و آب مقطر (۹/۵ درصد وزنی حجمی) تهیه شد. برای بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی به هر خانه از پلیت چاهک ۹۶ خانه‌ای ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس بادرشبو و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچی (دارای غلظت نیم‌مک‌فارلند) افزوده شد. همچنین از دو چاهک انتهایی هر ردیف به عنوان چاهک‌های کنترل استفاده شد. به این ترتیب که در یکی از چاهک‌ها میزان ۱۲۰ میکرولیتر از غلیظ‌ترین غلظت انتخابی (بدون میکروارگانیزم) و در یکی از چاهک‌ها نیز ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مولر هیتون براث همراه با ۲۰ میکرولیتر از غلظت نیم‌مک‌فارلند هر میکروارگانیزم (بدون اسانس) تلقیح شد. پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت، ۲۰ میکرولیتر معرف تری فینیل تترازولیوم کلراید پنج درصد، به هر خانه افزوده شد و مجدداً به مدت نیم ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. در این روش چاهک‌هایی که دارای رشد قارچی بودند به رنگ قرمز تیره یا ارغوانی تغییر رنگ دادند. اولین چاهکی که در آن رشد قارچی وجود نداشت و تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی رشد ثبت شد [۲۶].

۲-۷- آزمون تعیین حداقل غلظت

کشندگی (MFC)^۶ اسانس بادرشبو

اندازه‌گیری حداقل غلظت کشندگی اسانس بادرشبو مطابق با روش رحمتی جنیدآباد و عزیزاده بهبهانی (۱۳۹۹)، انجام شد. به این ترتیب که از چاهک‌های مشخص شده به

عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی به سمت غلظت‌های بیشتر که هیچ کدام تغییر رنگ نداده بودند به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در پلیت‌های حاوی محیط کشت سابورو دکستروز آگار کشت و در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس رقیق‌ترین غلظت پلیتی که فاقد پرگنه‌ی قارچی بود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس بادرشبو برای هرگونه قارچی مورد مطالعه گزارش گردید [۲۷].

۲-۸- آزمون بررسی برهمکنش اسانس بادرشبو با

آنتی‌بیوتیک نیستاتین

جهت انجام این آزمون از روش جلیل سرقله و همکاران (۱۴۰۲)، استفاده شد. در این آزمایش برهمکنش اسانس بادرشبو با نیستاتین علیه تعدادی از گونه‌های قارچی مورد ارزیابی قرار گرفت. به این ترتیب که پس از تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بادرشبو بر سویه‌های قارچی مورد مطالعه و تعیین غلظت تحت مهاری^۷ هر میکروارگانیزم (۱/۲ حداقل غلظت بازدارندگی) و افزودن آن به محیط سابورو دکستروز آگار، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت نیم‌مک‌فارلند هر میکروارگانیزم در محیط کشت مذکور کشت گردید. سپس دیسک‌های حاوی نیستاتین با فواصل مناسب از لبه هر پلیت کاشته شد و مراحل گرمخانه‌گذاری و اندازه‌گیری هاله بازدارندگی دیسک‌ها و گزارش آن بر حسب میلی‌متر همچون روش انتشار در دیسک انجام گردید [۲۸].

۲-۹- آنالیز آماری

داده‌های به دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS^۸ (ویرایش ۲۰) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به منظور بررسی اثر ضدقارچی غلظت‌های مختلف اسانس بادرشبو بر قارچ‌های مختلف از تحلیل واریانس یک طرفه (one ANOVA) و way برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون مقایسه‌ای چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. مقایسه فعالیت ضدقارچی

^۷ - Sub MIC

^۸ - Statistical package for social science

^۵ - Minimum Inhibitory Concentration

^۶ - Minimum Fungicidal Concentration

نیستاتین و برهمکنش آن با اسانس، توسط آزمون تی مستقل (Two independent t test) تعیین شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- انتشار در دیسک و انتشار در چاهک

در جدول شماره ۱، اثر ضدقارچی اسانس بادرشبو با استفاده از روش انتشار در دیسک ارائه شده است. بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسانس بادرشبو بر بازدارندگی از رشد تعدادی از قارچ‌های استاندارد شامل *کاندیدا آلبیکنس*، *ساکارومایسس سرویزیه*، *پنی‌سیلیوم اکسپانسونم*، *فوزاریوم سلوانی* و *آسپرژیلوس نایجر* نشان داد که با افزایش سطح اسانس از ۲ تا ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، روند افزایشی معنی‌دار ($P < 0.05$) در قطر هاله عدم رشد قارچی برای تمام میکروارگانیسم‌های مذکور (به جز سطح ۲ اسانس که بر رشد *کاندیدا آلبیکنس* بی‌تأثیر بود) مشاهده شد. طبق این جدول، بررسی اثر هر غلظت اسانس بادرشبو بر میزان مهار رشد قارچ‌ها به روش انتشار در دیسک نشان می‌دهد که در دوز ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس، قطر هاله عدم رشد *آسپرژیلوس*

نایجر (۱۰ میلی‌متر) بطور معنی‌داری بیشتر از *ساکارومایسس سرویزیه* (۷/۶۷ میلی‌متر) بود ($P < 0.05$). در غلظت ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس، بیشترین هاله عدم رشد قارچی مربوط به *آسپرژیلوس نایجر* بود. با افزایش غلظت اسانس بادرشبو به ترتیب به ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، به مرور عملکرد اسانس در مهار رشد قارچ‌های مورد مطالعه با در نظر گرفتن قطر هاله عدم رشد افزایش یافت و از غلظت ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس به بعد، *کاندیدا آلبیکنس* بطور معنی‌داری کمترین میزان هاله عدم رشد را در مقایسه با دیگر قارچ‌ها داشت. در غلظت‌های بالای اسانس یعنی ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، میزان هاله عدم رشد در بین قارچ‌های *ساکارومایسس سرویزیه*، *پنی‌سیلیوم اکسپانسونم*، *فوزاریوم سلوانی* و *آسپرژیلوس نایجر* به لحاظ آماری یکسان بود ($P > 0.05$) و با اختلاف معنی‌دار زیادی بیشتر از هاله عدم رشد *کاندیدا آلبیکنس* بودند ($P < 0.05$).

Table 1. The mean inhibition zone diameter (mm) of *Badrashboo* essential oil on some fungi species (disk diffusion agar)

Microorganism	Badrashboo essential oil concentration (mg/mL)						
	2	4	8	16	32	64	128
<i>C. albicans</i>	-	9.67±0.33 ^{dC}	11.00±0.58 ^{dC}	12.00±0.58 ^{cdD}	14.00±0.58 ^{bcE}	16.33±0.67 ^{bb}	22.00±1.73 ^{aB}
<i>S. cerevisiae</i>	7.67±0.33 ^{fB}	10.67±0.33 ^{eBC}	13.00±0.58 ^{deBC}	15.33±0.33 ^{dC}	35.33±0.88 ^{cC}	53.33±2.03 ^{bA}	72.67±0.88 ^{aA}
<i>P. expansum</i>	8.67±0.33 ^{gAB}	11.33±0.33 ^{fB}	13.67±0.33 ^{eB}	24.00±0.58 ^{dB}	38.00±1.15 ^{cB}	52.67±1.20 ^{bA}	70.67±0.33 ^{aA}
<i>F. solani</i>	9.67±0.33 ^{fAB}	11.67±0.88 ^{fB}	21.67±0.88 ^{eA}	26.33±0.88 ^{dA}	32.00±0.58 ^{dD}	55.67±1.86 ^{bA}	71.33±0.33 ^{aA}
<i>A. niger</i>	10.00±1.15 ^{fA}	16.33±0.33 ^{eA}	23.00±1.00 ^{dA}	24.67±0.88 ^{dAB}	45.33±0.88 ^{cA}	57.67±1.33 ^{bA}	73.33±0.88 ^{aA}

* Means (±SE) with different lowercase letters in each row and uppercase letters in each column show a significant difference at $P \leq 0.05$

کاندیدا آلبیکنس حتی در دوز ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر اسانس شد ($P < 0.05$). ارزیابی اثر هر غلظت اسانس بادرشبو بر میزان مهار رشد قارچ‌ها به روش انتشار در چاهک مشخص نمود که در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس، اختلاف آماری معنی‌داری به لحاظ قطر هاله عدم رشد قارچ‌ها وجود ندارد. با افزایش غلظت اسانس به ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، میزان قطر هاله عدم رشد *آسپرژیلوس نایجر* (۱۴ میلی‌متر) بطور معنی‌داری بیشتر از *کاندیدا آلبیکنس* (۱۱/۶۷ میلی‌متر) بود. در دوز ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسانس، بیشترین قطر هاله

در جدول شماره ۲، اثر ضد قارچی اسانس بادرشبو با استفاده از روش انتشار در چاهک ارائه شده است. در این روش نیز با افزایش غلظت اسانس بادرشبو از ۲ تا ۱۲۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، قطر هاله عدم رشد قارچ‌های *کاندیدا آلبیکنس*، *ساکارومایسس سرویزیه*، *پنی‌سیلیوم اکسپانسونم*، *فوزاریوم سلوانی* و *آسپرژیلوس نایجر* روند افزایشی معنی‌داری یافت ($P < 0.05$). روش انتشار در چاهک بر خلاف شیوه انتشار در دیسک، سبب ممانعت رشد قارچ

عدم رشد مربوط به فوزاریوم سولانی با ۲۲/۳۳ میلی متر بود ($P < 0.05$). در غلظت ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر اسانس بادرشبو، قطر هاله عدم رشد فوزاریوم سولانی و آسپیرژیلوس نایجر (به ترتیب ۲۸ و ۲۷ میلی متر) بطور معنی داری بیشتر از دیگر قارچ ها بود. بیشترین و کمترین هاله مهار رشد قارچی در غلظت های ۳۲ و ۱۲۸ میلی گرم بر میلی لیتر اسانس، به

Table 2. The mean inhibition zone diameter (mm) of *Badrashboo* essential oil on some fungi species (well diffusion agar)

Microorganism	Badrashboo essential oil concentration (mg/mL)						
	2	4	8	16	32	64	128
<i>C. albicans</i>	10.33±0.33 ^{fA}	11.67±0.33 ^{efB}	13.00±0.58 ^{deD}	14.00±0.58 ^{dC}	16.33±0.33 ^{cB}	20.00±0.58 ^{bC}	23.67±0.88 ^{aD}
<i>S. cerevisiae</i>	10.67±0.33 ^{fA}	12.67±0.88 ^{efAB}	13.67±0.33 ^{cD}	23.00±0.58 ^{dB}	40.00±0.58 ^{cA}	61.67±0.88 ^{bA}	74.33±0.88 ^{aB}
<i>P. expansum</i>	10.67±0.33 ^{eA}	12.00±0.58 ^{eAB}	14.67±0.33 ^{dC}	15.00±0.58 ^{dC}	41.67±0.33 ^{cB}	57.00±0.58 ^{bB}	72.00±0.58 ^{aC}
<i>F. solani</i>	10.67±0.33 ^{gA}	13.00±0.58 ^{fAB}	22.33±0.33 ^{eA}	28.00±0.58 ^{dA}	34.00±0.58 ^{cD}	60.67±0.66 ^{bA}	72.33±0.33 ^{aBC}
<i>A. niger</i>	10.67±0.33 ^{gA}	14.00±0.58 ^{fA}	18.67±0.33 ^{eB}	27.00±0.88 ^{dA}	48.00±0.58 ^{cA}	56.00±1.53 ^{bB}	78.00±0.58 ^{aA}

* Means (±SE) with different lowercase letters in each row and uppercase letters in each column show a significant difference at $P \leq 0.05$

و پس از آن پونه کوهی اثرات ضدقارچی بیشتری در بین عصاره های مورد آزمایش داشت و قطر هاله بازدارندگی تمام اسانس های مورد مطالعه (به جز اسانس باریجه) از داروی استاندارد کلرگزیدین بیشتر بود [۳۰]. الباکی و همکاران (۲۰۰۸)، که تاثیر ضد میکروبی اسانس بادرشبو مصری را مورد مطالعه قرار داده بودند به این نتیجه رسیدند که اسانس این گیاه بر هر شش گونه باکتریایی و نیز چهار گونه قارچی شامل آسپیرژیلوس نایجر، ریزوپوس استولونیفر، پنسیلیوم اکسینسوم و نیز موکور همالیس می شدند، کاملاً موثر بود [۳۱]. هوئیو و همکاران (۲۰۱۹)، که اثر ضد میکروبی عصاره بادرشبو را علیه جدایه های بیماری زای استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند خاصیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی بادرشبو را ناشی از وجود موادی همچون رزماریک اسید و تانن ها دانستند [۳۲]. ولی در پژوهش آسیموویک و همکاران (۲۰۲۲)، که به بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس بادرشبو بر تعدادی از باکتری ها و قارچ های بیماری زا پرداختند گزارش نمودند که علی رغم این که اسانس مذکور بر باکتری ها اثر ضد میکروبی خوبی

نتایج سنبل و همکاران (۲۰۰۸)، که فعالیت ضد میکروبی اسانس بادرشبو و نیز ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس مذکور شامل سیترال، ژرانیل استات و نیز ژرانیول را به روش انتشار در دیسک علیه تعدادی از باکتری ها و قارچ های بیماری زا بررسی کردند، گزارش نمودند که تمامی موارد ذکر شده سبب ایجاد هاله بازدارندگی علیه هر دو گروه باکتریایی و قارچی گردید. این محققین خاصیت بازدارندگی اسانس بادرشبو را به طور عمده به حضور سیترال نسبت دادند، که خاصیت زیست فعالی قوی را از خود نشان می دهد، و همچنین واکنش های هم افزایی سیترال موجود در اسانس بادرشبو با سایر ترکیبات آن مثل ژرانیول و ژرانیل استات را دلیل بالاتر بودن قطر هاله بازدارندگی اسانس بادرشبو نسبت به هریک از این ترکیب ها به تنهایی دانستند [۲۹]. در پژوهش ناظمی سلمان و همکاران (۱۳۹۶)، که اثر ضد قارچی اسانس گیاهان بادرشبو، باریجه، جاشیر و پونه کوهی را بر کاندیدا آلبیکنس بررسی نمودند، نتایج آزمون های ضد میکروبی نشان داد که اسانس بادرشبو

داشت ولی از میان سه قارچ مورد مطالعه ایشان فقط ساکارومایسس سرویزیه به اسانس بادرشبو حساسیت نشان داد و بر دو قارچ کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس برازیلنسیس بی‌تاثیر بود [۲۲]. حقیقتی و همکاران (۲۰۰۳)، نیز که به بررسی و مقایسه خاصیت ضد میکروبی ده عصاره گیاهی روی سه میکروارگانیسم بیماری‌زای دهانی پرداختند گزارش نمودند که عصاره بادرشبو هیچ‌تاثیر ضد میکروبی روی کاندیدا آلبیکنس نداشت که این نتایج می‌تواند به دلیل متفاوت بودن شرایط آب و هوایی و محیط رویش گیاه و در نتیجه تغییر ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه بادرشبو باشد [۳۳]. رحمتی جنیدآباد و همکاران (۱۴۰۰)، اثر ضدقارچی اسانس مرزه خوزستانی بر آسپرژیلوس نایجر، بوتریتیس سینه‌را و ریزوپوس استولونیفر با دو روش انتشار در دیسک و انتشار در چاهک مورد بررسی قرار دادند، قارچ بوتریتیس سینه‌را را مقاوم‌ترین و آسپرژیلوس نایجر را حساس‌ترین سویه‌ها به اسانس مرزه خوزستانی گزارش کردند [۳۴].

قاسمی و همکاران (۲۰۱۶)، که ترکیب شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس نعنا بومی اردبیلی را روی استرپتوکوک موتانس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و اکتینومایسس ویسکوسوس با روش انتشار در دیسک بررسی کردند، نتیجه گرفتند که لاکتوباسیلوس رامنوسوس حساس‌ترین و اکتینومایسس ویسکوسوس مقاوم‌ترین سویه باکتریایی در بین باکتری‌های مورد مطالعه بود [۳۵]. جعفرپور و عطایی (۱۴۰۱)، که به بررسی اثر ضدقارچی اسانس‌های زنیان، مرزه و نعنا فلفلی برکپک‌های آلوده کننده پنیر سفید ایرانی پرداختند، حساس‌ترین قارچ را، کپک تریکودرما هارزیانوم، با هاله‌های بازدارندگی ۵/۱، ۵/۳ و ۲/۹ سانتی‌متر به ترتیب برای اسانس‌های مرزه، زنیان و نعنا فلفلی اعلام نمودند. همچنین در بین کپک‌های مورد مطالعه، پسیلومایسس واریوتی، آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس اوریزا بیشترین مقاومت را نسبت به اسانس‌ها از خود نشان دادند [۳۶]. حسینی و همکاران (۱۳۹۰)، که اثر مهارتی اسانس کارواکرول بر سویه‌های

کاندیدا آلبیکنس با استفاده از روش بررسی قطر هاله مهارکنندگی و حداقل غلظت مهارکنندگی با استفاده از محیط کشت مایع ارزیابی کردند، گزارش نمودند که اسانس کارواکرول اثر ضدقارچی مناسبی علیه سویه‌های مقاوم و حساس به فلوکنازول از خود نشان داد [۳۷]. در پژوهش برزگر و همکاران (۱۴۰۰)، که فعالیت ضد میکروبی عصاره حنا را بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا بررسی کردند، کمترین غلظت مهارکنندگی مربوط به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و بیشترین غلظت مهارکنندگی در باکتری‌های اشرشیا کلی و سالمونلا تایفی‌موریوم مشاهده شد و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های اشرشیا کلی و سالمونلا تایفی‌موریوم بیشتر از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و لیستریا اینوکوا بود [۳۸].

نتایج پژوهش حاضر حاکی از بالاتر بودن قطر هاله بازدارندگی اسانس بادرشبو در روش انتشار در چاهک نسبت به روش انتشار در دیسک می‌باشد که این نتایج با پژوهش‌های نوشاد و عزیزاده بهبهانی (۱۴۰۲)، که فعالیت ضد میکروبی عصاره تاتوره و اسانس آویشن تالشی را بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در صنایع غذایی بررسی کردند، همسو بود. این امر می‌تواند ناشی از تماس مستقیم اسانس با میکروارگانیسم‌ها در روش انتشار در چاهک نسبت به روش انتشار در دیسک باشد، چون در روش انتشار در دیسک اسانس باید از سطوح دیسک به محیط پخش شود تا بتواند نقش ضد میکروبی خود را ایفا نماید [۳۹ و ۴۰].

۲-۳- نتایج آزمون‌های MIC و MBC

در جدول شماره ۳، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی رشد (MFC) اسانس بادرشبو بر قارچ‌های مورد آزمایش مشاهده می‌شود. اسانس بادرشبو در رقت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، به ترتیب بر آسپرژیلوس نایجر و پنی‌سیلیوم اکسپانسونم اثر مهارکنندگی داشتند. خاصیت این اسانس در مهار رشد ساکارومایسس سرویزیه و فوزاریوم سولانی در دوز ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

اثر کشندگی علیه ساکارومایسس سرویزیه و پنیسیلیوم اکسیانوسوم داشت. خاصیت کشندگی اسانس بادرشبو بر *کاندیدا آلبیکنس*، در غلظت بالاتر آن (۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر) مشاهده شد.

آن مشاهده شد. اسانس بادرشبو در غلظت بالاتر یعنی ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر سبب مهار رشد *کاندیدا آلبیکنس* شد. اسانس بادرشبو در غلظت های ۸ و ۱۶ میلی گرم بر میلی لیتر، به ترتیب اثر کشندگی بر *آسپرژیلوس نایجر* و *فوزاریوم سولانی* داشت. این اسانس در دوز ۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر،

Table 3. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the *Badrashboo* essential oil on some fungi strains

Microorganism	MIC (mg/mL)	MFC (mg/mL)
<i>C. albicans</i>	16	64
<i>S. cerevisiae</i>	8	32
<i>P. expansum</i>	4	32
<i>F. solani</i>	8	16
<i>A. niger</i>	2	8

فرایندهای متابولیکی سلول، احتمالاً به دلیل تعامل با آنزیم های مسئول این فرایندها، تداخل ایجاد می کنند [۴۱]. همچنین محققین خاصیت ضدقارچی اسانس های گیاهی را وابسته به فعالیت ضد میکروبی ترکیب های فنولی موجود در آن ها می دانند که احتمالاً ناشی از حضور هسته آروماتیک و گروه هیدروکسیلی فنولی واکنشگر در ساختار آن ها می باشد که قابلیت تشکیل پیوند هیدروژنی با گروه های سولفیدریلی موجود در مکان فعال آنزیم های هدف را دارا بوده و از این طریق سبب غیرفعال شدن آنزیم های قارچی می شوند. علاوه بر این اسانس های گیاهی به علت ماهیت آبگریز بودن خود جذب میسلایوم آبگریز شده و به این طریق از رشد میسلایوم قارچ جلوگیری می کنند [۲۹]. عزیزاده بهبهانی و همکاران (۱۳۹۲)، که به بررسی اثر ضد قارچی عصاره های آبی و متانولی برگ گیاه حرا بر *آلترناریا آلترناریا* و پنیسیلیوم سیتینوم پرداختند، میزان حداقل غلظت بازدارندگی عصاره متانولی برگ حرا را برای *آلترناریا آلترناریا* و پنیسیلیوم سیتینوم به ترتیب ۱۶ و ۸ میلی گرم بر میلی لیتر و برای عصاره آبی برگ حرا ۳۲ و ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش نمودند. در حالیکه میزان حداقل کشندگی عصاره متانولی ۱۶ و ۳۲ و میزان حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی ۶۴ و ۲۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر برای قارچ های مذکور گزارش گردید [۴۲]. در پژوهش ایزدی و همکاران (۱۳۹۳)، که اثر ضد میکروبی گیاه سرخارگل را بررسی کردند، کلبسیلا

سنبل و همکاران (۲۰۰۸)، میزان حداقل غلظت بازدارندگی اسانس بادرشبو را علیه سه قارچ *کاندیدا آلبیکنس*، ساکارومایسس سرویزیه و *آسپرژیلوس نایجر* را ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش کردند [۳۱]. در مطالعه الباک و همکاران (۲۰۰۸)، میزان حداقل غلظت بازدارندگی گزارش شده برای اسانس بادرشبو مصری علیه قارچ های *آسپرژیلوس نایجر*، *رایزوپوس استولونیفر*، پنیسیلیوم اکسیانوسوم و موکور همالیس به ترتیب ۰/۰۷۵، ۰/۰۸۵، ۰/۰۷۸ و ۰/۰۸۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود. این محققین وجود مقادیر بالای ترکیب های ضد میکروبی موجود در اسانس بادرشبو که دارای ساختمان کتونی، الکلی و مونوترپن های فنولی از جمله مقادیر قابل توجهی از ژرانیول، نرول، لینالول ژرانیال و نرال بودند، نسبت دادند که از راه های مختلفی مثل اختلال در انواع سیستم های آنزیمی قارچ که در تولید انرژی سلولی و سنتز ترکیب های ساختمانی آن دخیل هستند و نیز غیر فعال کردن یا تخریب مواد ژنتیکی موجود در سلول عملکرد ضد میکروبی خود را ایفا می کنند [۳۳]. ترکیب های ضد میکروبی موجود در اسانس روی غشاهای سیتوپلاسمی نیز اثر می گذارد و باعث ایجاد تغییرهایی در نفوذپذیری آن ها می شود که سبب آزادسازی محتوای سلول می شود. همچنین این ترکیب ها در انتقال الکترون، جذب مواد مغذی، سنتز اسیدهای چرب، فعالیت آدنوزین تری فسفاتاز و سایر

۵/۱۲، ۵/۱۲، ۲/۵ و ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی اسانس را برای باکتری های ذکر شده به ترتیب ۱۰، ۱۰، ۵/۱۲ و ۵/۱۲ بودند که اختلاف معنی داری بین باکتری های گرم مثبت و منفی مشاهده نشد ($P>0.05$) [۴۴].

در شکل ۱، نمایی از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس بادرشبو بر گونه های قارچی مورد مطالعه در پژوهش حاضر مشاهده می شود.

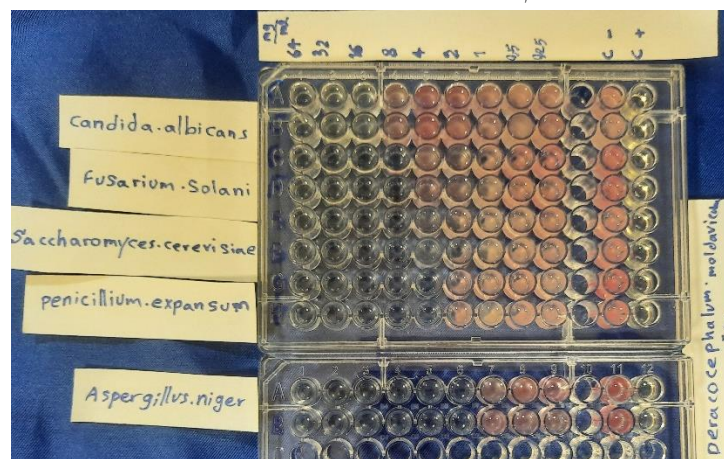


Fig. 1. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *Badrashboo* essential oil on some fungi strain

کاهش یافت. همچنین تجمع روغن های فرار در دوره زایشی گیاه افزایش و در زمان پایان شکوفه دهی به حداکثر رسید [۴۶]. این امر می تواند دلیل تفاوت ها یا شباهت های نتایج پژوهش حاضر با مطالعه های پیشین را توجیه نماید.

۳-۳- برهمکنش اسانس با آنتی بیوتیک نیستاتین

فعالیت ضدقارچی نیستاتین و اثر برهمکنش آن با اسانس بادرشبو طی ارزیابی به روش انتشار در دیسک در شکل ۲، ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، برهمکنش نیستاتین با اسانس بادرشبو سبب افزایش قطر هاله مهار رشد بر هر پنج قارچ مورد آزمایش یعنی قارچ های *کاندیدا*، *آلبیکنس*، *ساکارومایسس سرویزیه*، *پنی سیلیوم اکسپانسونم*، *فوزاریوم سولانی* و *آسپرژیلوس نایجر* در مقایسه با تیمار ضد قارچ نیستاتین به تنهایی شد ($P<0.05$).

پنومونیه نسبت به سایر باکتری های گرم منفی حساس تر بود و حداقل غلظت کشندگی رشد *باسیلوس سرئوس*، *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* چند برابر سایر میکروارگانیسم های مورد مطالعه بود [۴۳]. علیزاده آملی و همکاران (۱۳۹۹)، نیز که به بررسی مقایسه ای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی و اسانس گیاه نعناع آبی پرداختند، حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس در مقابل *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلای* و *سالمونلا تیفی موریوم* را به ترتیب

چنانچه قبلا نیز ذکر شد خاصیت ضد میکروبی اسانس بادرشبو ارتباط مستقیمی با ترکیب های موثر موجود در آن دارد. تحقیقات نشان داده است که تفاوت در خاستگاه ژنتیکی، فاکتورهای اکولوژیک، تفاوت های ژنتیکی، تکنیک ها و روش های مورد استفاده در کشت و کار و حتی روش های خشک کردن گیاه برای اسانس گیری باعث ایجاد تفاوت های کمی و کیفی در ترکیب های اسانس در گیاهان دارویی و معطر می شوند [۴۵]. دوموکوس و همکاران (۱۹۹۴)، که به بررسی ویژگی های اسانس بذر بادرشبو پرداختند، اعلام کردند که گیاه تازه بادرشبو تقریباً حاوی ۰/۴ درصد روغن های فرار بود که حدود ۴۳ درصد آن را سیترال تشکیل می داد. این محتوا بسته به ارتفاع محل کشت افزایش یافت (به عنوان مثال افزایش ۷۰ درصدی در ۸۰۰ متر)، در حالی که محتوای ژرانیول موجود در آن تحت شرایط مشابه

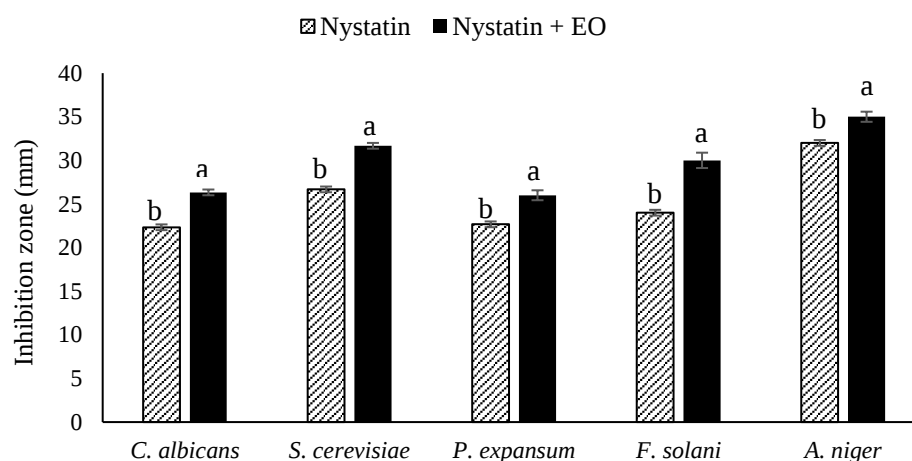


Fig. 2. The antifungal activity of Nystatin and its interaction with the *Badrashboo* essential oil by disk diffusion agar method. Means ($\pm$ SE) with different letters in each fungus show a significant difference at $P \leq 0.05$

[۴۸]. تناور و همکاران (۱۳۹۸)، که به ارزیابی اسانس پونه بر تعدادی از پاتوژن‌های غذایی و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل پرداختند نیز تاثیر هم‌افزایی اسانس پونه را با دو آنتی‌بیوتیک ذکر شده تایید کردند [۴۹]. ولی در مطالعه صفاری و همکاران (۱۴۰۰)، که برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و کلرامفنیکل، علیه تعدادی از باکتری‌ها بررسی کردند، برهمکنش اسانس آویشن و آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش فقط بر باکتری *لیستریا اینوکوا* سبب افزایش قطر هاله عدم رشد نسبت به حالت تکی گردید [۵۰]. در شکل ۳، نمایی از اثر هم‌افزایی اسانس بادرشبو با آنتی‌بیوتیک نیستاتین علیه *فوزاریوم سولانی* نشان داده شده است.

احمدنژاد و همکاران (۱۴۰۲)، که به بررسی تاثیر ضد قارچی عصاره آبی استبرق بر *آلترناریا آلترناریا*، *آلترناریا سولانی*، *ساکارومایسس سرویزیه* و *فوزاریوم سولانی* پرداختند اثر هم‌افزایی عصاره ذکر شده با نیستاتین را بر تمامی قارچ‌های مورد آزمایش گزارش کردند و اعلام نمودند که بیشترین اثر هم‌افزایی اسانس با نیستاتین در برابر *ساکارومایسس سرویزیه* بوده است [۴۷]. زمانپور بروجنی و همکاران (۱۴۰۲)، اثر ضد میکروبی روغن سیاهدانه بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زا و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل را بررسی نمودند و گزارش کردند که اسانس مذکور بر تمامی باکتری‌های مورد آزمایش اثر هم‌افزایی با کلرامفنیکل داشت و سبب افزایش قطر هاله بازداندگی شد



Fig. 3 The interaction of *Badrashboo* essential oil with Nystatin on *Fusarium solani*

بودن ویژگی‌های حسی و رایحه دلپذیر، می‌تواند جایگاه ارزشمندی به عنوان یک نگهدارنده ضد قارچی در صنایع غذایی داشته باشد. علاوه بر این، پیشنهاد می‌شود تحقیق‌های بالینی در خصوص خواص درمانی اسانس بادرشبو نیز

۴- نتیجه‌گیری

با استناد به یافته‌های پژوهش حاضر، احتمالاً اسانس بادرشبو به واسطه داشتن خواص ضدقارچی قابل توجه و نیز دارا

صورت پذیرد تا شاید بتوان از این گوهر طبیعت به عنوان یک داروی ضد میکروبی طبیعی بهره برد. بی گمان، کشف روش های درمانی کم هزینه و با عوارض جانبی کمتر، گامی ارزشمند در جهت ارتقای سلامت بشر خواهد بود.

۵- تقدیر و تشکر

Ammi, Myrtus Communis essential oils and the effects on shelf life of Turkey meat. *Journal of Iranian Journal of Food Science and Technology*, 111 (18) 233–250.

[10] Tohura Ahmed, S., Israt Dilruba, M., Marufa Zerine, A., & Md. Mahfuzul, H. (2023). Comparative Antimicrobial Efficacy, Kinetic Destruction Pattern and Microbial Inactivation Dynamics of Extracted Cinnamon Essential Oil and Commercial Cinnamaldehyde against Foodborne Pathogens. *Journal of Iran J Med Microbiol*, 17 (2) 230–242.

[11] Farahani, M., Shahidi, F., & Tabatabaei yazdi, F. (2019). Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja Hortensis L.* essential Oil against some food born pathogenic and spoilage microorganism. *Journal of Food Science Industry*, 85 (15) 393–405.

[12] Karimzadeh Asla, Kh., Sefidkon, F., Ebrahimi, M., Farajpour, M & Marefatzadeh, M. (2015). Sequential Path Analysis of Effective Characters on the Essential Oil Yield of *Dracocephalum moldavica L.* *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(3), 702–712.

[13] Holm, Y., & Hiltunen, R. (1988). Capillary Gas Chromatographic - Mass Spectrometric Determination of the Flavour Composition of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica L.*). *Journal of Flavour and fragrance*. 3 (1988), 109–112.

[14] Carolliny Moreira Lustoza Rodrigues, T., Matilde Ferreira dos Santos, A., Paiva de Moura, J., Justo Emídio, J., Sérgio da Silva Pereira, P., Mikael Alves de Araujo, I., Durand Trigueiro, N., Karoline Silva de Aquino Vitala, A., Tullius Scotti, M., Scottia, L., & France Messias Monteiro, A. (2022). Physicochemical differences and antifungal activity of citral isomers: neral and geranial. *Journal of Molecules*, 8, 2624–5078.

[15] Khadem Arabbaghi, E., Gurbuz, B., Afshar Pour Rezaeieh, K., & Uyanik, M. (2014). GC/MS analysis of bioactive components of *Dracocephalum moldavica L.*, treated by Boric acid doses. *Journal of Tarim Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7(1), 19–21.

[16] Dziki, D., Cacak-Pietrzak, G., Gawlik-Dziki, U., Sufek, A., Kocira, S., & Biernacka, B. (2019). Effect of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica L.*) leaves on the baking properties of wheat flour and quality of bread. *Journal of Food*, 17 (1) 536–543.

[17] Dastmalchi, K., Damien, HJ., Dorman, I., & Hiltunen, LR. (2007). Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm

هزینه های انجام پژوهش حاضر از طریق پژوهانه سال ۱۴۰۳ دانشگاه شهید چمران اهواز به شماره SCU.VF1403.417 تامین شده است، بدین وسیله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه سپاسگزاری می شود.

۶- منابع

[1] Dadashpour, m., Rsouli, I., Sarvari Zanjani, R., Sefidkon, F., Taghizadeh, M., & Darvish A lipour Astaneh, SH. (2011). Antimicrobial activity, nitric oxide radical removal and cytotoxicity of thyme essential oil. *Journal of Biological Pathology*, 14(1), 37–47.

[2] Tahmasebi, M., Golmohammadi, A., Nematollahzadeh, A., Davari, M., & Chamani, E. (2019). Modeling and Optimization of Antifungal effects of Some Essential oils against soft rot (*Rhizopus stolonifer*) through response surface methodology. *Journal of Biological controll of pests and plant disease*, 8(2), 39–49.

[3] Gomez sanchez, A., Palou, E., & Lopez Malo, A. (2011). Antifungal activity evaluation of Mexican Oregano (*Lippia berlandieri Schauer*) essential oil on the growth of *Aspergillus flavus* by gaseous contact. *Journal of Food Protection*, 74(12), 2192–2198.

[4] Akhzari, AR., Nsrollahi, Z., Yzdanpanah, M., Abolhasani, A & Abdollahyan, H. (2021). Antimicrobial evaluation of aqueous and ethanolic extract of Iranian *Dandelion root*, compared whit Fluconazol and Nystatin. *Journal of Qom university of medical science*, 15(1), 20–27.

[5] Goncalves MJ., Cruzb, MT., Cavaleiroa, C., Lopesb, MC., & Salgueiro, L. (2010). Antifungal and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Thymus zygis subsp. sylvestris*. *Journal of Industrial Crops and Products*, 32(2010), 70–75.

[6] Nasrollahzadeh, A., & Khomeiri, M. (2019). Application of lactic acid bacteria to biological control of fungal spoilage in food; metabolites, mechanisms and health effects. *Journal of Food Industry*, 16(92), 113–127.

[7] Silvaa, F., Ferreira, S., Duarte, A., Mendonça, D., & Domingues, FC. (2011). Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. *Journal of Phytomedicine*, 19 (2011), 42–47.

[8] Hoseini, SE., Shabani, SH., & Delfan Azari, F. (2015). Antimicrobial properties of clove essential oil on raw hamburger during storage in freezer. *Journal of Food Hygiene*, 17 (5), 67–107.

[9] Fayazi, A., Hashemiravan, M., Jannatiha, N., & Moslehishad, M. (2021). Physical, mechanical and microbial properties of Carboxymethyl Cellulose (CMC) bioactive film containing *Trachyspermum*

- (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 40 (2007). 1655–166.
- [18] Maimaitiming, M., Remila, R., & Parha, A. (2019). Study on the protective effect of different extraction sites of *Hyssopus officinalis* and *Dracocephalum moldavica* combination on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Traditional Medicine and Modern Medicine*, 2 (4). 171–177.
- [19] Acimovic, M., Sovljanski, O., Seregelj, V., Pezo, L., Zheljaskov, VD., Ljubic, J., Tomic, A., Cetkovic, G., Canadanovic Brunet, J., Miljkovic, A., & Ljubodrag Vujisic. (2022) Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activity of *Dracocephalum moldavica* L. Essential Oil and Hydrolate. *Journal of Plants*, 11(941), 1-16.
- [20] Wojtowicz1, A., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Kocira, S., Kocira, S., Wojtunik, K., Mitrus, M., Kocira, A., Widelski, J., & Skalicka-Wozniak, K. (2017). Application of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) leaves addition as a functional component of nutritionally valuable corn snacks. *Journal of Food Science Tecnology*, 2(2017), 1-12.
- [21] Ehsani, A., Alizadeh, O., Hashemi, M., Afshari, A., Aminzare, M., & Khalili, S. (2015). Comparative antibacterial effects of essential oils of *Melissa officinalis* and *Deracocephalum moldavica* L. against some pathogenic bacteria in food in vitro. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 17(4), 80-87.
- [22] Fakhari, F., Maktabi, S., Fazlara, A., Bavarsad, N., & Pormehdi Brojeni, M. (2022). Comparison of antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and Nano-emulsion of *Ferulago angulata* (Chavir) collected from the western regions of Iran. *Journal of Iran veterinary*. 4(17), 71-147.
- [23] Rahmati Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Investigation of the antifungal effect of *Myrtus communis* essential oil on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* (the green and blue fungi of orange). *Journal of Iranian Food Science industry*. 109(17), 1-8.
- [24] Al-Ja'fari, Ah., Vila, R., Freixa, B., Tomi, F., Casanova, J., Costa, J., & Cañiguer a, S. (2011). Composition and antifungal activity of the essential oil from the rhizome and roots of *Ferula hermonis*. *Journal of Phytochemistry* 72 (2011) 1406–1413.
- [25] Noshada, M., Hojjatia, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2018). Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Journal of Microbial Pathogenesis*. 116 (2018) 153–157.
- [26] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Tabatabaei Yazdi, F., & Mortazavi Mohebbat Mohebhi, SA. (2016). Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *Journal of Biological Macromolecules*. 94 (2017), 515-526.
- [27] Rahmati Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis* essential oil against spoilage fungi causing apple rot. *Journal of Iranian Food Science and Technology Research*. 17(5), 691-700.
- [28] Jalil Sarghaleh, Sh., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Noshad, M. (2024). Antimicrobial effect of *Prangos ferulacea* aqueous extract on some pathogenic fungal species and its interaction with nystatin antibiotic. *Journal of Food Science And Thecnology*. 143(20), 140-149.
- [29] Sonboli, A., Mojarad, M., Gholipour, A., Nejad Ebrahimi, S., & Arman, M. (2008). Biological Activity and Composition of the Essential Oil of *Dracocephalum moldavica* L. Grown in Iran. *Journal of Natural Product Communications*, 3(9), 1547-1550.
- [30] Nazemisalman, B., Yazdinejad, A., Salah, S., & Sajedinejad, N. (2017). Antifungal activity of essential oils of *Prangos frulacea*, *Ziziphora tenuior*, *Ferula gummosa* and *Dracocephalum moldavica* against *candida albicans*. *Journal of Ghazvin medical science university*, 21(1), 4-11.
- [31] El-Baky, HHA., & El-Baroty, GS. (2007). Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian Moldavian balm. *Journal of Advances in Food Sciences*, 2(2), 74-80.
- [32] Yu, H., Liu, M., Liu, Y., Qin, L., Jin, M., & Wang, Z. (2019) Antimicrobial Activity and Mechanism of Action of *Dracocephalum moldavica* L. Extracts Against Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Frontiers in Microbiology*, 10(1249), 1-10.
- [33] Haghighati F, Jafari S, Beyt EJ. (2003) Comparison of antimicrobial effects of ten herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens; an in vitro study. *Journal of Hakim*. 6(3): 71-6.
- [34] Rahmati Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2021). Antifungal effect of *Satureja khuzestanica* essential oil on *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, and *Rhizopus stolonifer* causing strawberry's rot and mold. *Journal of Iranian Food Science industry*. 115(18), 171-180.
- [35] Ghasemi, M., Radjabalizade, K., Gharari, K., Yaghoobi, H., & Asgarpoor, D (2016). Chemical Composition and in Vitro Antibacterial Activity of Native *Mentha longifolia* Essential Oil from Ardabil, Iran on *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Actinomyces viscosus*. *Journal of Infect Epidemiol Med*. 2(2016), 11-14.
- [36] Jafarpour, D., & Ataei, P. (2022). Study the antifungal activities of *Trachyspermum ammi*, *Satureja hortensis*, and *Mentha piperita* essential oils against molds contaminating Iranian white cheese. *Journal of Food Science and Technology*. 124(19), 185-196.

- [37] Hoseyni, S., Roodbar Mohammadi, Sh., Joshaghani HR. (2012). Evaluation of the antifungal activity of Carvacrol essential oil on standard strains of *Candida albicans* sensitive and resistant to Fluconazole. *Journal of Medical science*. 5(2), 28-33.
- [38] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2021). Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of Lawsonia inermis aqueous extract against some Gram - positive and Gram - negative bacteria. *Journal of Food Science and Technology*. 116(18), 327-335.
- [39] Noshad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2024). Evaluation of chemical properties and antimicrobial effect of Thymus trautvetteri essential oil on a number of bacteria causing infection and food poisoning: a laboratory study. *Journal of Food Science and Technology*. 145(20), 99-110.
- [40] Noshad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2023). Antimicrobial activity of Datura stramonium ethanolic extract on some pathogenic bacteria causing infection and food poisoning in vitro. *Journal of Food Science and Technology* 142(20), 161-170.
- [41] Vio Michelis, S., Apablaza-Hidalgo, G., Gomeaz, M., Pena-Vera, R., & Montengro, G. (2012). Antifungal activity of three Chilean plant extracts on Botrytis cinerea. *Journal of Botanical Sciences*. 90(2) 179-183.
- [42] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M. (2014). Antifungal effect of aqueous and methanolic *Avicennia Marina* leaves extracts on *Alternaria Alternata* and *Penicillium Citrinum*. *Journal of Rafsanjan medical science university*. 12(12), 1015-1024.
- [43] Izadi, Z., Sorooshzadeh, A., Modarres Sanavi, SAM., Esna-Ashari, M., & Davoodi, P. (2012). Investigation on antimicrobial effects of essential oil of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) and identification of its chemical compounds. *Journal of Booshehr medical science university*, 17(1) 58-69.
- [44] Alizadeh Amoli, Z., Mehdizadeh, T., & Tajik, H. (2021). Copmarative study of antioxidant and antimicrobial properties of *Menta aquatic* L. ethanolic extract and essential oil. *Journal of Studies in Medical Sciences*, 31(11) 863-873.
- [45] yousefzadeh, S. (2016). Investigating the variation of essential oil content and composition of Moldavian balm in several areas of East and West Azerbaijan provinces. *Journal of Crop Production*, 10(1), 21-37.
- [46] Domokos, J., Peredi, J., & Halasz Zelnik K (1994). Characterization of seed oils of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) and catnip (*Nepeta cataria* var. *citriodora* Balb). *Journal of Industerial crops and products*, 3(1994), 91-94.
- [47] Ahmad Nejhad, A., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, AR., & Mehrnia, MA. (2024). Investigation of the inhibitory, fungicidal and interactive effects of the aqueous extract of *Calotropis procera* on *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Fusarium solani* “in vitro”. *Journal of Food Science And Thecnology*. 143(20), 204-214.
- [48] Zamanpour Boroujeni, A., Alizadeh Behbahani, B., Mehrnia, MA., Hojjati, M., & Noshad, M. (2023). Evaluation of antioxidant activity and antimicrobial effect of *Nigella sativa* oil on some pathogenic bacteria and its interaction with chloramphenicol antibiotic. *Journal of Food Science and Technology*, 145(20), 111-121.
- [49] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, MA. (2020). Evaluation of the antimicrobial activity of *Menthapulegium* essential oil on some foodborne pathogens and its interaction with gentamicin and chloramphenicol in vitro. *Journal of Food Science Industry*, 97(16), 77-87.
- [50] Saffari Samani, E., Jooyandeh, H., & Alizadeh Behbahani, B. (2020). Evaluation of reciprocal pharmaceutical effect and antimicrobial activity of Shirazi thyme essential oil against some Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Food Science Industry*, 104(17), 1-11.



Scientific Research

Evaluation of the antifungal effect of *Badrashboo* (*Dracocephalum moldavica*) essential oil and its interaction with Nystatin on some fungal strains

Mitra Ghodsi Sheykhjan¹, Ali Fazlara^{2*}, Mohammad Hojjati³, Behrooz Alizadeh Behbahani⁴

- 1- Ph.D. Student of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 2- Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
- 3- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
- 4- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/5/29

Accepted: 2024/7/17

Keywords:

Badrashboo,
Minimum fungicidal concentration,
Minimum inhibitory concentration,
Nystatin

DOI: 10.22034/FSCT.21.156.226.

*Corresponding Author E-
a.fazlara@scu.ac.ir

Although chemical antifungal preservatives are often used in various food products, the use of these substances has been limited due to their harmful effects on human health and the environment. Researchers have recently sought to replace these chemical compounds with natural and less dangerous substances. In this regard, using essential oils of medicinal plants can be considered a suitable alternative due to fewer side effects. Therefore, in the present research, after preparing the *Badrashboo* plant from the fields of Golmarz village located near Urmia city and drying it, extracting the essential oil from the *Badrashboo* was carried out using a Clevenger, and the antifungal effect of *Badrashboo* essential oil on some important fungal strains with disc diffusion agar and well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, minimum fungicidal concentration and the interaction of *Badrashboo* essential oil with Nystatin were performed. The results of disk diffusion agar and well diffusion agar tests showed that *Badrashboo* essential oil had a significant antifungal effect on all studied fungal strains. The results of the minimum inhibitory concentration of essential oil for strains of *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, and *Penicillium expansum* were 8, 16, 2, 8, and 4 mg/mL, respectively. The minimum fungicidal concentration for the mentioned strains was 32, 64, 8, 16, and 32 mg/mL respectively. Also, the results of the interaction of *Badrashboo* essential oil with Nystatin indicated the synergistic effect of *Badrashboo* essential oil with Nystatin. Considering the significant antifungal effect observed for *Badrashboo* essential oil in the present study, it can be used in the food and pharmaceutical industries.